

火棘果黄酮对油脂的抗氧化活性

王晓静, 陈莉华*, 黄玉龙

吉首大学化学化工学院, 吉首 416000

摘要: 超声波辅助乙醇提取火棘果中的总黄酮(PFF)并用 D-101 大孔树脂纯化, 分别得到粗提物 PFF1 和纯化物 PFF2, 以芦丁为对照品测定含量。考察了 PFF1、PFF2 对油脂的抗氧化活性及抗酸败水解能力并与 V_E 作比较。结果表明, 在实验条件下, PFF1、PFF2 的黄酮含量分别为 2.25、3.49 g/L, 火棘果黄酮提取率为 5.11%, 纯度为 22.84%。当黄酮质量浓度为 0.258 g/L 时, PFF1 对菜籽油、橄榄油、鹅油、鸡油、猪油、牛油的保护率分别为 27.56%、19.66%、16.12%、24.05%、24.06%、20.61%, PFF2 对这 6 种油脂的保护率分别为 46.17%、38.15%、37.15%、42.31%、32.78%、28.43%; PFF1 使上述油脂的酸价降低值(ΔAV)分别为 0.68、0.56、0.44、0.8、0.48、0.28 mg/g, PFF2 的分别为 1.0、0.6、0.56、0.96、0.52、0.36 mg/g, 在 0.04~0.26 g/L 浓度范围内, PFF1 及 PFF2 对油脂的抗氧化作用及抗酸败水解能力随黄酮质量浓度增大而增强。在 50~80 °C 温度范围内, PFF1 及 PFF2 对油脂的抗氧化作用随着烘箱强化温度的升高而逐渐增大。相同条件下对油脂的抗氧化效果 PFF2 强于 PFF1, 但均比 V_E 弱。

关键词: 火棘果; 黄酮; 过氧化值; 酸价; 抗氧化活性

中图分类号: R284.2; R285.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.05.031

Antioxidant Activity of Flavonoids from *Pyracantha fortuneana* to Oils and Fats

WANG Xiao-jing, CHEN Li-hua*, HUANG Yu-long

College of Chemistry and Chemical Engineering, Jishou University, Jishou 416000, China

Abstract: The flavonoids were extracted from *Pyracantha fortuneana* with ultrasonic-assisted ethanol extraction and purified through D-101 macroporous resin to afford crude extracts (PFF1) and purified flavonoids (PFF2), respectively. The content of PFF1 and PFF2 were determined using rutin as index. The antioxidant activity of PFF1 and PFF2 were investigated by testing the peroxidation and acid value of oils and fats, and compared with V_E . The results showed that under the experiment conditions, the flavonoids mass concentration of PFF1 and PFF2 were 2.25 g/L and 3.49 g/L, respectively. The extraction rate was 5.11% and the purity rate was 22.84%. At the flavonoids mass concentration of 0.258 g/L, the protection rate to oils and fats from rapeseed, olive, goose, chicken, pork suet, beef tallow were 27.56%, 19.66%, 16.12%, 24.05%, 24.06%, 20.61% for PFF1, and 46.17%, 38.15%, 37.15%, 42.31%, 32.78%, 28.43% for PFF2, respectively. ΔAV of oils and fats were 0.68, 0.56, 0.44, 0.8, 0.48, 0.28 mg/g for PFF1, and 1.0, 0.6, 0.56, 0.96, 0.52, 0.36 mg/g for PFF2, respectively. In the range of 0.04-0.26 g/L, the antioxidant effect of PFF1 and PFF2 increased with the flavonoids mass concentration increasing. In the range of 50-80 °C, the antioxidant effects of PFF1 and PFF2 increased with the temperature rising. Under the same concentration, the antioxidant activity of PFF2 was higher than that of PFF1, but lower than that of V_E .

Key words: *Pyracantha fortuneana*; flavonoids; peroxide value; acid value; antioxidant activity

火棘果为蔷薇科苹果亚科 (*Maloideae*) 火棘属 (*Pyracantha Roeme*) 的常绿野生灌木的果实, 具有抗

氧化、增强免疫力、利胆、助消化、抗疲劳、降血脂、促进血凝等作用^[1]。在临床药用上, 主治脾胃虚弱, 消化不良、泻泄、痢疾、疝积等病症^[2]。现有的研究中多偏重于火棘果黄酮的提取鉴定与测定, 如用丙酮或乙醇提取火棘果黄酮^[3,4], 用微乳薄层色谱法分离鉴定火棘果黄酮^[5], 用分光光度法测定火棘果黄酮^[6,7]。在其抗氧化性能的研究方面, 发现火棘果黄酮有清除自由基的作用^[4], 但尚未见火棘果黄

收稿日期: 2014-11-17 接受日期: 2015-04-03

基金项目: 科技部科技型中小企业技术创新基金 (10C2621430242 1, 11C26214305373); 吉首大学武陵山区特色植物资源开发与应用湖南省研究生培养创新基地开放项目; 湖南省科技厅科技计划 (2013FJ3026)

* 通讯作者 E-mail: chenlihua99@163.com

酮对油脂的抗氧化研究的报道。黄酮类化合物除了可以清除自由基,对油脂氧化也具有较好的抑制功能^[8]。本研究以超声波辅助乙醇提取火棘果黄酮,采用 D-101 大孔吸附树脂进行纯化,探讨了粗提液与纯化液对植物油、家禽油及动物油三大类共 6 种油脂氧化体系的抗氧化性能,并与油脂常用的抗氧化剂 V_E 进行比较,以期为火棘果的进一步开发利用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

火棘果于 12 月采于吉首马颈坳,经吉首大学资环学院植物教研室鉴定为蔷薇科苹果亚科 (*Mal-oideae*) 火棘属 (*Pyracantha Roeme*) 的常绿野生灌木的果实,自然干燥,备用;菜籽油、橄榄油、鹅油、鸡油、猪板油、牛油市购,95% 乙醇、浓盐酸、氢氧化钠、石油醚、无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、冰醋酸、三氯甲烷、酚酞、碘化钾、淀粉等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

KQ250-E 型超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司),SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),GZX-9070MBE 数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂),K-201B-II 旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司),HH-S 恒温水浴锅(郑州长城科工贸有限公司),721 可见分光光度计(上海菁华分析仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 火棘果总黄酮(PFF)的提取

称取 5 g 火棘果,用去离子水清洗干净,自然风干,转移到 250 mL 锥形瓶中,按料液比 1:10(g:mL)加入 60% 的乙醇,置于功率 40 W 的超声波发生器中,在温度 50 °C 下超声提取 40 min,抽滤,减压旋蒸回收乙醇,浓缩液用石油醚脱色后用 95% 的乙醇浸泡并静置 16 h,抽滤,滤液减压旋蒸回收乙醇后得到火棘果黄酮粗提液,简称为 PFF1。

1.3.2 火棘果黄酮含量测定

以芦丁为黄酮对照品按 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 法^[9] 绘制标准曲线,以质量浓度(c)对吸光值 A 进行线性回归,得出回归曲线方程。准确吸取 1.00 mL 已定容的黄酮提取液,置于 25 mL 容量瓶中,按照标准曲线绘制方法测吸光值 A ,通过回归曲线方程求得火棘果黄酮含量。

1.3.3 火棘果黄酮的纯化、提取率及纯度测定

按文献^[9] 预处理 D-101 大孔树脂并装柱,将 PFF1 按文献^[9] 最佳参数纯化得火棘果黄酮纯化液,简称为 PFF2。将得到的 PFF2 浓缩烘干制备火棘果黄酮粉末,精密称取干燥 PFF2 样品 0.1 g,用 95% 乙醇溶解并定容至 100 mL 备用。移取 1.00 mL 于 25 mL 容量瓶中,按照标准曲线绘制方法测定吸光值 A ,由回归曲线方程求出火棘果黄酮质量 m_1 ,火棘果黄酮提取率 $P(\%)$ 和纯度 $D(\%)$ 计算式如下:

$$P(\%) = \frac{m}{M} \times 100 \quad (1)$$

$$D(\%) = \frac{m_1}{m} \times 100 \quad (2)$$

式中: M —火棘果干果质量,g; m —PFF2 干燥后的质量,g; m_1 —火棘果黄酮质量,g。

1.3.4 火棘果黄酮抗油脂氧化

采用国际通用的烘箱储藏法使油脂氧化酸败变质并测定过氧化值(peroxide value, POV)。比较 PFF1 与 PFF2 加入前后油脂的过氧化值,计算出提取物对油脂的保护率,进而探讨 PFF1、PFF2 对油脂氧化体系的抗氧化作用。

在无水酸性条件下,油脂中的过氧化物使 I 定量氧化成 I_2 , I_2 与 I 结合生成易溶于水的 I_3 ,利用 I_3 的颜色与标准碘液进行比较定量。参照^[8,10] 的方法进行实验,在烘箱温度 70 °C 强化 1 h 的条件下,浓度在 0.043 ~ 0.258 g/L 范围内,考察了 PFF1、PFF2 作为抗氧化剂对 3 类油脂即植物油、家禽油、动物油共 6 个种类,即菜籽油、橄榄油、鹅油、鸡油、猪油、牛油的氧化抑制作用,并与 V_E 进行比较。

按下式计算油脂过氧化值(POV)及提取液对油脂的保护率(η):

$$POV(\text{mmol/Kg}) = \frac{M}{W} \quad (3)$$

$$\eta(\%) = \left(1 - \frac{POV_{\text{未}1} - POV_{\text{初}}}{POV_{\text{未}2} - POV_{\text{初}}}\right) \times 100 \quad (4)$$

式中: M —碘生成物质的量,mmol; W —油脂质量,kg; η —提取液对油脂的保护率; $POV_{\text{初}}$ —未对油脂进行强化氧化时的过氧化值,mmol/kg; $POV_{\text{未}1}$ —添加提取液的油脂强化氧化后的过氧化值,mmol/kg; $POV_{\text{未}2}$ —未添加提取液的油脂强化氧化后的过氧化值,mmol/kg。

1.3.5 火棘果黄酮抗油脂酸败水解

酸价(acid value, AV)是脂肪中游离脂肪酸含

量的标志,脂肪在长期保藏过程中,由于微生物、酶和热的作用发生缓慢水解,产生游离脂肪酸,使油中酸价增大,贮藏稳定性降低。酸价越小,说明油脂质量越好,新鲜度和精炼程度越好。如果酸价过高,则会导致人体肠胃不适、腹泻并损害肝脏。酸价是评价油脂氧化过程中产生酸性物质的量的一个有效指标^[11]。采用国际通用的烘箱储藏法使油脂发生氧化酸败变质,酸价的测定参照食用植物油卫生标准即 GB/T 5009.37-2003。在烘箱温度 70 °C 强化 1 h 的条件下,浓度在 0.043 ~ 0.258 g/L 范围内,测定 PFF1、PFF2 及对照品 V_E 加入前后油脂的酸价,用于衡量其抗油脂酸败水解能力。

按下式计算酸价 (AV) 及酸价降低值 (ΔAV):

$$AV(\text{mgNaOH/g}) = \frac{1000 \times C_{\text{NaOH}} V_{\text{NaOH}} \times 40}{W} \quad (5)$$

$$\Delta AV(\text{mgNaOH/g}) = AV_2 - AV_1 \quad (6)$$

式中: AV—酸价, mg/g; W—油脂的质量, g; C_{NaOH} —氢氧化钠物质的量浓度, 0.1 mol/L; V_{NaOH} —消耗氢氧化钠的体积, L; AV_1 —添加提取液的油脂强化氧化后的酸价, mg/g; AV_2 —未添加提取液的油脂强

氧化后的酸价, mg/g; ΔAV —酸价降低值, mg/g。

2 结果与分析

2.1 火棘果黄酮的含量测定

吸光值 (A) 与芦丁质量浓度 (c) 之间的线性回归方程为: $c = 0.0939A (R^2 = 0.9998)$ 。浓度 0 ~ 0.05 g/L 之间具有良好的线性关系。测定火棘果黄酮含量结果表明, PFF1 中黄酮质量浓度为 2.25 g/L, PFF2 中黄酮质量浓度为 3.49 g/L, 50 mL PFF2 干燥后的质量为 0.766 g, PFF2 黄酮含量为 0.175 g。以 PFF2 为指标, 火棘果黄酮提取率为 5.11%。用 D-101 大孔吸附树脂纯化后纯度为 22.84%。

2.2 火棘果黄酮对油脂氧化的抑制效果

碘量 M (μmol) 与吸光度 (A) 在 0.0 ~ 0.96 μmol 间有良好的线性关系, 回归方程为 $M = 4.0153A + 0.0039, R^2 = 0.9986$ 。

2.2.1 火棘果黄酮质量浓度对油脂抗氧化效果的影响

PFF1、PFF2 对 3 类油脂氧化抑制作用结果见图 1。

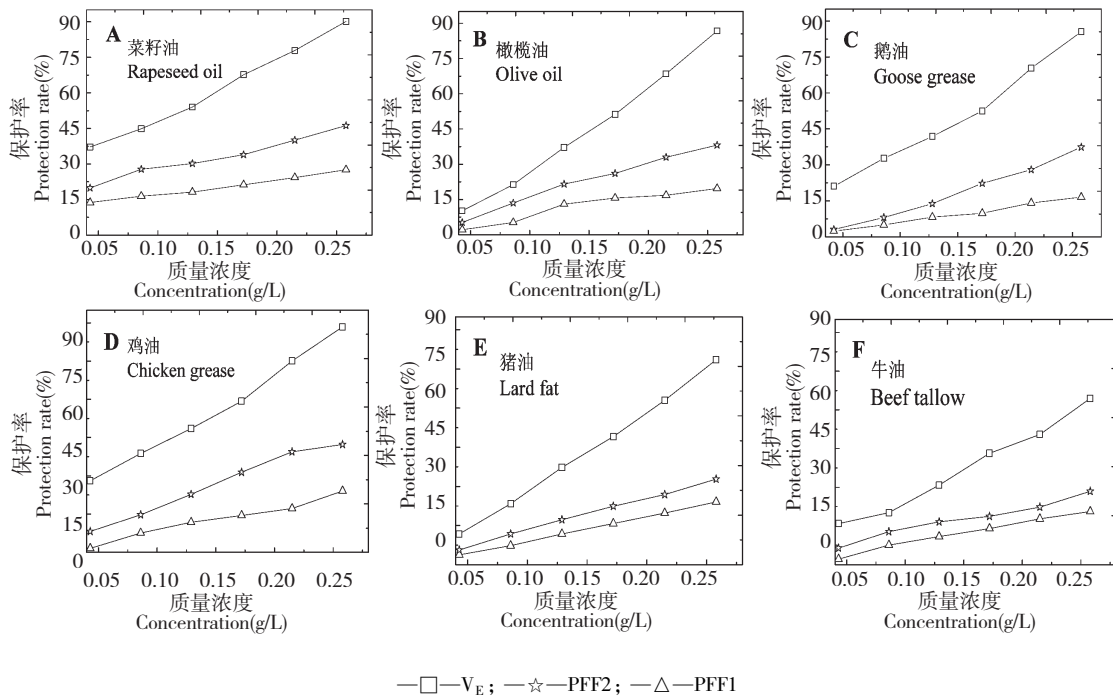


图 1 不同质量浓度的火棘果黄酮对油脂抗氧化性的影响

Fig. 1 Antioxidant activity of PFF with different mass concentrations on oils and fats

由图 1 可知, PFF1、PFF2 对该 6 种油脂氧化体系的保护率均随着其质量浓度的增大而逐渐增大, 呈现剂量相关效应; PFF2 对各种油脂的保护作用较

PFF1 的大, 但两者对各种油脂的保护作用不及 V_E 。PFF2 中黄酮含量较 PFF1 的大, 说明提取物中黄酮含量高有利于油脂的抗氧化。比较图 1 中的 A 与 B

可知,同一质量浓度下的 PFF1、PFF2 对菜籽油的保护率明显较橄榄油的大,说明火棘果黄酮对菜籽油的抗氧化效果较橄榄油的好。但图 1 中 B 的增长趋势大,说明火棘果黄酮对橄榄油抗氧化效果受其浓度影响很大。比较图 1 的 C 与 D, PFF1、PFF2 对鸡油保护作用较鹅油的略大,图 1 中 D 增长趋势大,说明火棘果黄酮对鸡油的抗氧化效果其浓度影

响大。比较图 1 的 E 与 F, PFF1 与 PFF2 在对该 2 种动物油的抗氧化效果上差别不是很大,火棘果黄酮对猪油保护作用较牛油的略大。

2.2.2 温度对火棘果黄酮抗油脂氧化效果的影响
火棘果黄酮质量浓度为 0.215 g/L 时,不同烘箱温度下 PFF1、PFF2 对油脂的抗氧化效果见图 2。

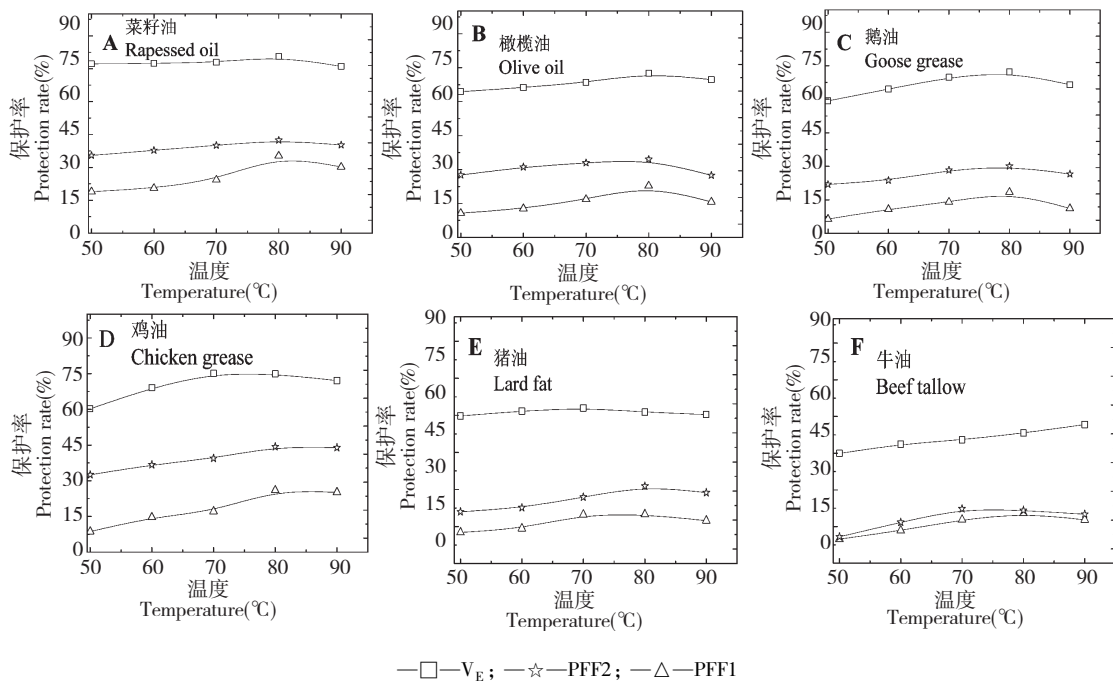


图 2 不同温度对火棘果黄酮抗油脂氧化的影响

Fig. 2 Antioxidant activity of PFF on oils and fats under different temperatures

由图 2 可知,温度在 50 ~ 80 °C 范围内, PFF1、PFF2 对该 6 种油脂的保护率随着烘箱强化温度的升高而逐渐增大,但温度高于 90 °C 时,保护率反而下降。温度逐渐升高,油脂氧化越剧烈, PFF1、PFF2 的抗氧化活性越强。温度过高,油脂氧化剧烈,油脂自氧化反应程度加大,表现出抗氧化剂在不同的氧化温度所发挥的抗氧化效果有所不同,所以温度过高,其保护率反而减小;同时,在高温下 PFF1 及 PFF2 的活性成分减少,抗氧化能力降低。比较图 2 中的 A、B、C、D 可知, PFF1 对该 4 种油脂保护作用受温度的影响较 PFF2 的大, PFF2 对这 4 种油脂的保护效果较 PFF1 的好。80 °C 时, PFF1 对鸡油的保护率与 PFF2 对鹅油的相当,说明在较高温度时,火棘果黄酮是一种优异的鸡油抗氧化剂。比较图 2 的 E 与 F 可知, PFF1 与 PFF2 对猪油、牛油的保护作用受温度的影响均不是很大, PFF2 对猪油的保护效果较

PFF1 的好, PFF2 与 PFF1 对牛油的保护作用相当。

2.3 火棘果黄酮抗油脂酸败水解

2.3.1 火棘果黄酮质量浓度对油脂酸价的影响

以酸价降低值为指标,考察了不同质量浓度的 PFF1、PFF2 对油脂酸败水解的影响,结果见图 3。

由图 3 可知,各种油脂氧化体系的酸价降低值随着 PFF1、PFF2 质量浓度的增大而逐渐增大,说明火棘果黄酮对各种油脂具有抗酸败水解的作用,并且这种作用与火棘果黄酮存在一定的剂量关系。由图 3 中的 6 个图可知,黄酮含量较高的 PFF2 对该 6 种油脂的抗酸败水解效果优于黄酮含量较低的 PFF1,但两者的抗酸败水解效果不及 V_E。比较这 6 个图,同一质量浓度下,菜籽油、鸡油的酸价降低值明显较橄榄油、鹅油、猪油、牛油的大,说明火棘果黄酮对菜籽油、鸡油的抗酸败水解效果较其他 4 种油脂好。图 3 中的 A 与 D, PFF1、PFF2 增长趋势大均

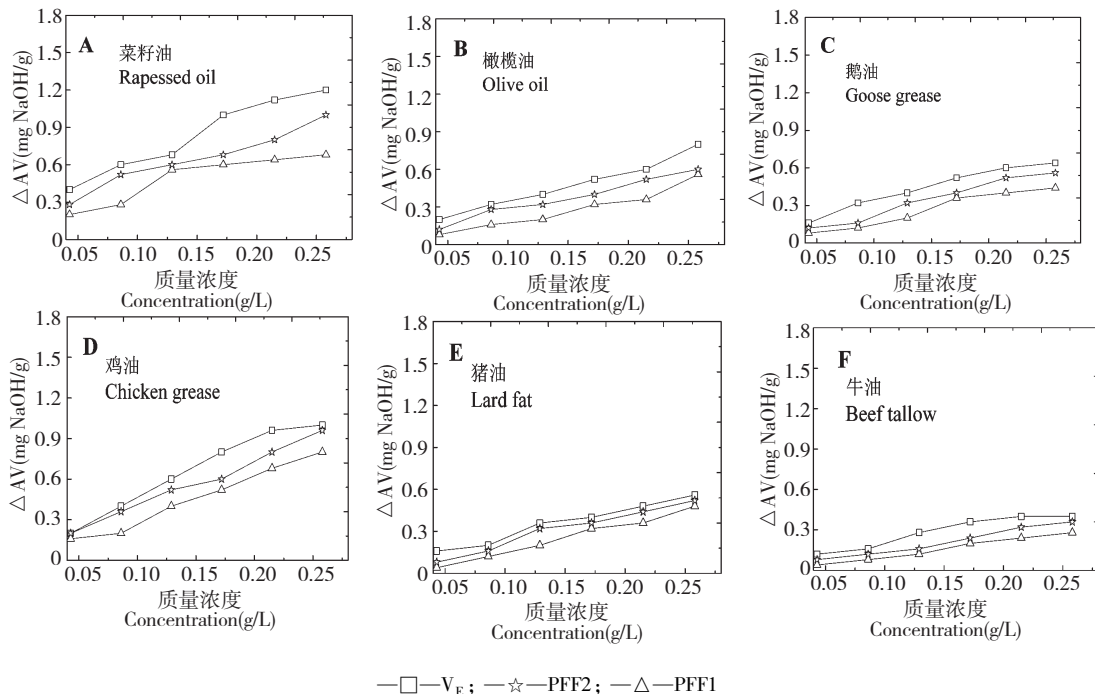


图3 不同质量浓度的火棘果黄酮对油脂酸败的影响

Fig. 3 Anti-rancidity of PFF with different mass concentrations on oils and fats

较大,说明火棘果黄酮对菜籽油、鸡油的抗酸败水解效果受黄酮浓度影响大。图3中的F,PFF1与PFF2十分相近,说明PFF1与PFF2在对牛油的抗酸败水解效果上差别不是很大。

2.3.2 温度对火棘果黄酮抗油脂酸败水解的影响
火棘果黄酮质量浓度为0.215 g/L时,不同烘箱温度下PFF1、PFF2对油脂的抗酸败水解效果,结果见图4。

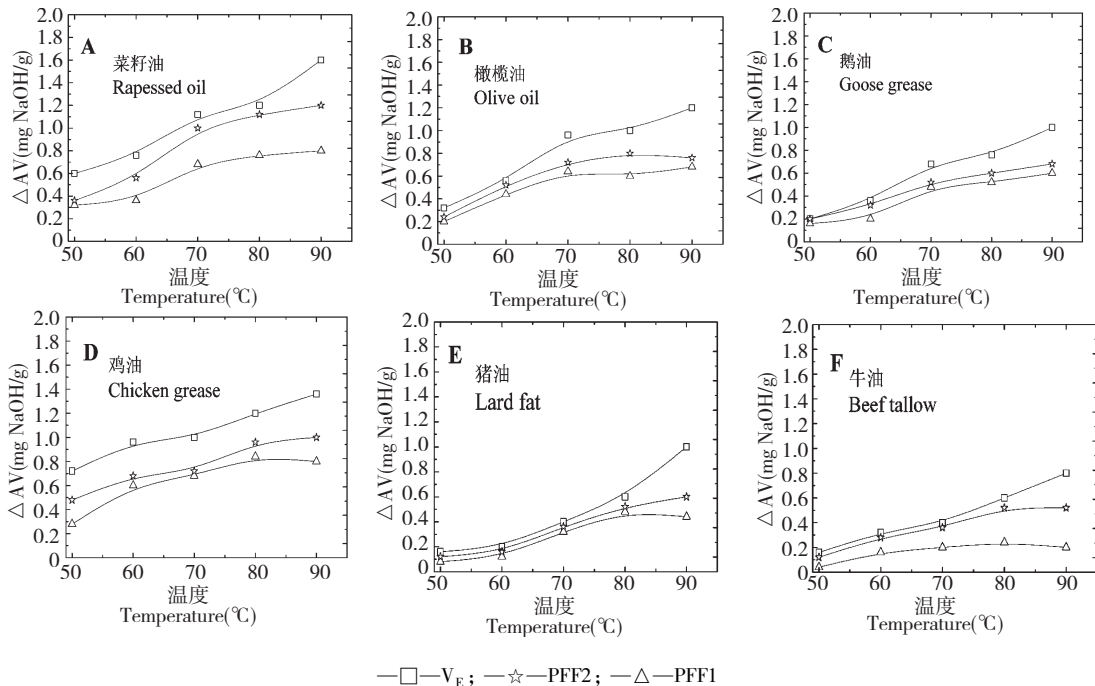


图4 不同温度对火棘果黄酮抗油脂酸败的影响

Fig. 4 Anti-rancidity of PFF on oils and fats under different temperatures

由图 4 可知,各种油脂的酸价降低值随着烘箱强化温度的升高而逐渐增大,但温度高于 90 °C 时, ΔAV 的变化趋势趋于平坦。温度逐渐升高,油脂氧化酸败变质加剧, PFF1 及 PFF2 的抗酸败水解的效果越好。但温度过高,油脂加速水解,有过多的游离脂肪酸产生,使油中酸价剧增,并且过高的温度使 PFF1 及 PFF2 的抗氧化活性成分减少,从而使黄酮抗氧化酸解的能力减弱,表现为酸价降低趋势下降。比较图 4 中的 A 与 B 可知,火棘果黄酮对菜籽油的抗酸败水解效果较橄榄油的好。比较图 4 中的 C 与 D, PFF 对鸡油的抗酸败水解效果较鹅油的好。比较图 4 的 E 与 F,猪油、牛油的 ΔAV 受温度的影响均不是很大,并且 PFF1、PFF2 对猪油氧化体系的抗酸败水解效果较牛油的好。

3 结论

在乙醇浓度 60%,料液比为 1:10 (g: mL),超声功率 40 W,温度 50 °C 的条件下,提取 40 min, PFF1 中黄酮质量浓度为 2.25 g/L, PFF2 中黄酮质量浓度为 3.49 g/L,以 PFF2 为指标,火棘果黄酮提取率为 5.11%。用 D-101 大孔吸附树脂纯化后纯度为 22.84%。PFF1、PFF2 对菜籽油、橄榄油、鹅油、鸡油、猪油、牛油 6 种油脂的抗氧化效果明显,且均与浓度有剂量效应关系,火棘果黄酮能增加油脂的抗氧化能力,相同条件下黄酮含量高的 PFF2 较黄酮含量低的 PFF1 抗氧化作用大。在 50 ~ 80 °C 温度范围内, PFF1、PFF2 对油脂氧化体系的保护作用随着烘箱强化温度的升高而逐渐增大。但温度过高, PFF1 及 PFF2 的活性成分减少,抗氧化能力降低。油脂的酸价降低值随着 PFF1、PFF2 质量浓度的增大而逐渐增大,说明火棘果黄酮能抑制油脂酸败水解成游离脂肪酸,表明火棘果黄酮具有良好的抗氧化酸败能力。在 50 ~ 80 °C 温度范围内, PFF1、PFF2 能抑制油脂酸败水解,使游离脂肪酸含量逐渐减少,体系的酸价降低。但温度过高,酸价降低趋势下降。火棘果黄酮是一种优良的油脂抗氧化剂,具有广阔的发展前景。

参考文献

1 Liu SB(刘世彪), Yi LB(易浪波), Li K(李宽), et al. The nutritional compositions of *Pyracantha fortuneana* fruit in dif-

ferent producing areas of autonomous prefecture of west Hunan. *Chin Wild Plant Res* (中国野生植物资源), 2007, 26(3):58-60.

2 Gan XH(甘秀海), Zhao Y(赵杨), Zhou X(周欣), et al. Comparison of the contents of quercetin in various medicinal parts of *Pyracantha fortuneana*. *China J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, 18:100-102.

3 Gan XH(甘秀海), Zhao C(赵超), Zhou X(周欣), et al. Study on process of extracting flavonoids from the fruit of *Pyracantha fortuneana* (Maxim.) Li. *Guangzhou Chem Ind Tech* (广州化工), 2012, 40(8):78-79.

4 Li W(李伟), Tian C(田成), Wang M(汪满), et al. Extraction optimization and its antioxidant activities of flavonoids from *Pyracantha fortuneana* (Maxim.) Li fruits. *J Hubei Nat Inst, Nat Sci* (湖北民族学院学报, 自科版), 2013, 31:145-148.

5 Liang SF(梁淑芳), Ma RL(马绒利), Ma BL(马柏林). Extraction and separation and identification of *Pyracantha fortuneana* flavonoids. *J Northwest Forestry Univ* (西北林学院学报), 2003, 18(3):60-62.

6 Huang R(黄荣), Fu XH(傅小红), Chang B(常波). The research on the determination of the extracts from *Pyracantha* with spectrophotometry. *West China J Pharm Sci* (华西药理学杂志), 2013, 28:642-643.

7 Gan XH(甘秀海), Chen GH(陈国华), Zhou X(周欣), et al. Determination of total flavonoids in fruit of *Pyracantha fortuneana* (Maxim.) Li. *Chin J Spec Lab* (光谱实验室), 2012, 29:1223-1226.

8 Zhang JS(张俊生), Chen LH(陈莉华), Zhang WL(张文龙). Adsorption and desorption characteristics of macroporous resin to flavonoids from leaves and rattan of *Lonicera japonicab*. *Food Sci* (食品科学), 2013, 25:383-387.

9 Chen LH(陈莉华), Xiao B(肖斌), He CZ(贺诚志), et al. Adsorption and desorption characteristics of macroporous resin to flavonoids from leaves and rattan of *Lonicera japonicab*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25:383-387.

10 Chen LH(陈莉华), He CZ(贺诚志), Tan LY(谭林艳), et al. Investigation of antioxidant activities of extracts of Hong Guo Shen. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26:174-177.

11 Yang RY(杨如义). Study on the influencing factors of corn oil acid value. *J West Anhui Univ* (皖西学院学报), 2014, 30:104-106.