

沙米绿原酸提取工艺优化及抗氧化性能研究

王雅, 赵萍, 赵坤, 宋勇

(兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州, 730050)

摘要 通过单因素试验和正交试验研究了沙米绿原酸的提取工艺条件, 用还原能力和 Rancimat 法对其抗氧化活性和其他抗氧化剂进行了比较分析。从沙米中提取绿原酸的最佳条件为: 料液比(g:mL) 1:8, 乙醇体积分数 60%, 回流时间 2 h, 冷藏时间 12 h, 绿原酸产率达 3.137%; 沙米绿原酸有较强的还原能力, 当浓度为 187.5 mg/L 时, 它对猪油的抗氧化活性最强, 且其抗氧化活性优于同浓度的 Vc、BHA, 但弱于 Trolox。

关键词 沙米, 绿原酸, 提取工艺, 还原能力, 抗氧化活性

沙米, 学名 *Agtiopllyllum squarrosum*, 属黎科沙蓬属, 一般多指它的种子, 是沙漠野生植物, 安全, 营养, 无污染, 中医称之为天然减肥食品和心脑血管、肾脏功能减退、糖尿病人的理想食品^[1], 故沙米是一种“药食同源”的绿色食品。绿原酸为咖啡酰奎尼酸衍生物, 是一种重要的生理活性物质, 具有显著的清热解毒、抗菌消炎和抗衰老等功效^[2,3]。目前, 绿原酸的提取研究主要集中在以金银花、杜仲叶为原料上^[4], 而以沙米提取绿原酸尚未见报道, 因此, 如果能够对其加以开发利用, 既能充分利用野生资源, 增加农民收入, 又能不断满足人们对纯天然绿色保健食品消费的需求。本实验对沙米绿原酸的提取工艺及抗氧化活性进行了研究, 以便为更好地开发利用野生沙米资源提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料、仪器和试剂

优质沙米: 采自甘肃武威市古浪县, 粉碎过 40 目筛; 市售新鲜猪板油: 购于兰州理工大学前门菜市场。

Trolox (238813-1G, SIGMA-ALDRICH, Inc)、BHA (25013-16-5, SIGMA-ALDRICH, Inc)、无水乙醇(山东莱阳市双双化工有限公司)、甲醇(色谱纯, 天津市光复精细化工研究所)、Vc(天津市医药工业技术研究所)、铁氰化钾(国药集团化学试剂有限公司)、绿原酸标准品(光谱纯, 德国进口分装), 其他试剂均为分析纯。

RE52-86A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), UV-9000 紫外分光光度计(北京瑞丽分析仪器公司), 743 型 Rancimat 仪(瑞士万通)。

第一作者: 在读博士, 讲师。

收稿日期: 2007-08-07, 改回日期: 2007-10-20

1.2 实验方法

1.2.1 绿原酸提取工艺

沙米 → 粉碎 → 乙醇液回流浸提 2 次 → 抽滤 → 减压浓缩 → 冷沉 → 离心 → 绿原酸提取液

1.2.2 绿原酸含量的测定

1.2.2.1 标准曲线的制定

准确称取绿原酸标准品 5.0 mg, 用体积分数 30% 甲醇溶液溶解并定容于 50 mL 容量瓶, 再准确取标准溶液 0.50、0.75、1.00、1.25、1.50、2.00、2.50、3.00 mL 分别置于 10 mL 比色管中, 用 30% 甲醇溶液定容。取 0.05 mol/L 的绿原酸标准溶液用紫外分光光度计于 200~500 nm 扫描, 得绿原酸最大吸收峰为 324 nm, 以 324 nm 分别测定不同浓度标准溶液的吸光值, 以绿原酸标准品浓度(g/L) 为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制标准曲线, 得其回归方程为: $Y=57.495x+0.0481$, 相关系数 $R_2=0.9998$ 。

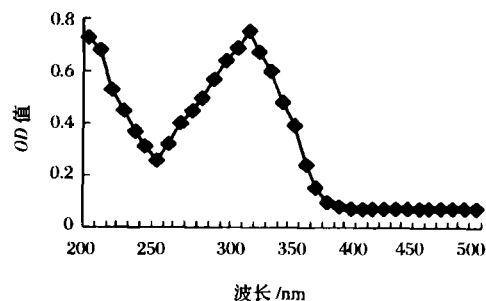


图 1 绿原酸标准溶液扫描图

1.2.2.2 绿原酸产率的计算

$$\text{绿原酸产率}/\% = \frac{\text{样品中绿原酸含量}(g)}{\text{提取样品质量}(g)} \times 100$$

1.2.3 沙米绿原酸还原能力的测定

采用铁氰化钾还原法评价沙米绿原酸还原能力^[2]。在不同浓度的沙米绿原酸溶液中加入 2.5 mL (0.2 mol/L pH=6.6) 的磷酸盐缓冲液, 加入 2.5 mL 10 g/L 铁氰化钾, 混匀, 50℃ 恒温 20 min, 加 2.5

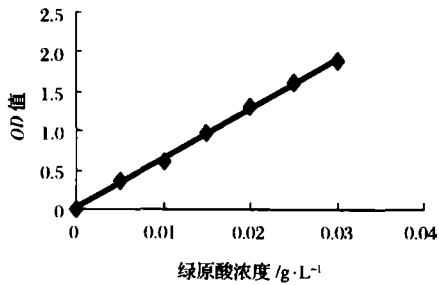


图2 绿原酸标准曲线

mL 100 g/L 三氯乙酸,离心(3 000 r/min)10 min,取上清液 2.5mL,加 2.5 mL 蒸馏水,加 0.5 mL 1g/L 三氯化铁,于 700 nm 波长测定吸光度。用对应浓度的 Vc 作还原能力比较试验。

1.2.4 沙米绿原酸抗氧化活性的测定

准确称取 2.500 0 g 猪油,配制不同浓度的沙米绿原酸溶液,用 743 型 Rancimat 仪测其诱导时间,诱导时间越长,表明油样抗氧化稳定性越好。选取抗氧化性最优的沙米绿原酸溶液浓度与同浓度 Vc、Trolox 及 BHA 做对猪油的抗氧化性对比试验。

2 结果与讨论

2.1 影响绿原酸产率的因素

2.1.1 单因素实验

2.1.1.1 料液比对沙米绿原酸产率的影响

在乙醇体积分数 60%,回流时间 1.5 h,冷藏时间 12 h,分别用 1:6、1:8、1:10、1:12 的料液比(g:mL)提取绿原酸,结果表明:随料液比的增大,绿原酸产率逐渐增大,当料液比为 1:8 时绿原酸产率达最高,说明此时绿原酸已提取完全,因此,最佳料液比为 1:8。

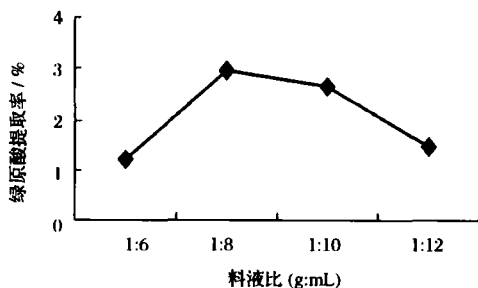


图3 料液比对沙米绿原酸产率的影响

2.1.1.2 乙醇体积分数对沙米绿原酸产率的影响

在回流时间 1.5 h,冷藏时间 12 h 及优化的料液比下,考察乙醇体积分数对绿原酸产率的影响。结果表明,绿原酸产率随乙醇体积分数的增加而升高,当

乙醇体积分数>60%以后,绿原酸产率减少,因此,最佳乙醇体积分数为 60%。

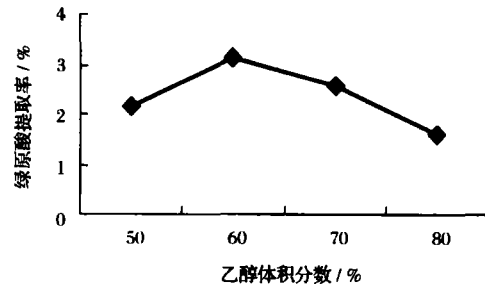


图4 乙醇体积分数对沙米绿原酸产率的影响

2.1.1.3 回流时间对沙米绿原酸产率的影响

在冷藏时间 12 h 及优化的乙醇体积分数和料液比条件下,随回流时间的增大,绿原酸产率逐渐增大,当回流时间为 2 h 时,绿原酸产率最高,说明此时绿原酸已提取完全;随回流时间的增加,绿原酸产率减少,原因可能是绿原酸有酯间,性质不稳定,长时间加热易分解。

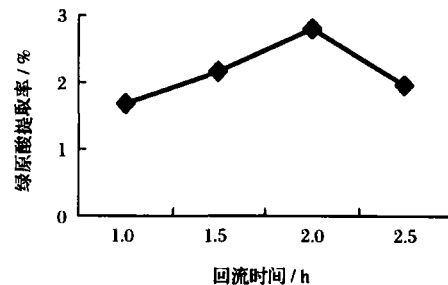


图5 回流时间对沙米绿原酸产率的影响

2.1.1.4 冷藏时间对沙米绿原酸产率的影响

在上述优化条件下,当冷藏时间为 12h 时,绿原酸的产率最高,随冷藏时间的增加,绿原酸产率降低,原因可能是随绿原酸在空气中暴露时间的增大,被氧化的程度加大。

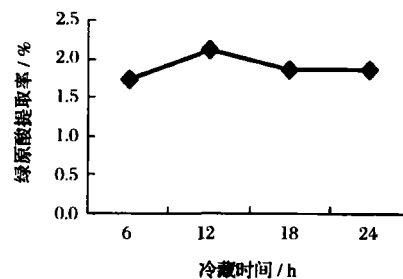


图6 冷藏时间对沙米绿原酸产率的影响

2.1.2 正交试验设计及结果

表3 因素水平

水平号	(A) 料液比 /g·mL ⁻¹	(B) 乙醇体积分数 /%	(C) 回流时间 /h	(D) 冷藏时间 /h
1	1:6	50	1.5	6
2	1:8	60	2.0	12
3	1:10	70	2.5	18

表2 正交实验结果

试验号	A	B	C	D	绿原酸产率/%
1	1:6	50	1.5	6	1.954
2	1:6	60	2.0	12	2.479
3	1:6	70	2.5	18	1.794
4	1:8	50	2.0	18	3.050
5	1:8	60	2.5	6	2.632
6	1:8	70	1.5	12	2.829
7	1:10	50	2.5	12	2.323
8	1:10	60	1.5	18	2.622
9	1:10	70	2.0	6	2.293
K ₁	6.227	7.327	7.405	6.879	
K ₂	8.511	7.733	7.822	7.631	
K ₃	7.238	6.916	6.749	7.466	
R	2.284	0.817	1.073	0.752	

从表2中直观分析的极差R值可知, $R_1 > R_3 > R_2 > R_4$, 即4个因素对沙米绿原酸产率影响的主次顺序依次为:A(料液比) > C(回流时间) > B(乙醇体积分数) > D(冷藏时间), 因素的最佳组合为A₂B₂C₂D₂, 即料液比1:8、乙醇体积分数60%、回流时间2.0h、冷藏时间12h。

2.1.3 正交实验结果的验证

按照料液比1:8、乙醇体积分数60%、回流时间1.5h、冷藏时间12h进行3次平行实验, 沙米绿原酸平均产率为3.137%, 明显高于正交实验中最高组A₂B₁C₂D₃ 绿原酸产率。

2.2 沙米绿原酸抗氧化活性的测定

2.2.1 绿原酸还原能力

由图7可知, 沙米绿原酸的还原能力随浓度的增大而增大, 且相同浓度的沙米绿原酸还原能力强于Vc。一般情况下, 样品的还原能力与抗氧化活性之间有显著的相关性, 其还原能力越强, 则物质的抗氧化性越强

2.2.2 沙米绿原酸抗氧化活性

2.2.2.1 不同浓度沙米绿原酸溶液对猪油抗氧化活性的影响

由图8可知, 对猪油抗氧化活性最优的沙米绿原酸溶液浓度为187.5mg/L。

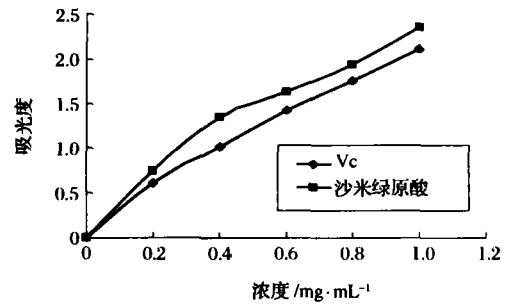


图7 沙米绿原酸与Vc还原能力比较

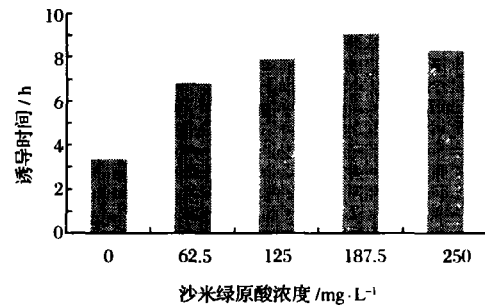


图8 沙米绿原酸浓度对猪油抗氧化活性的影响

2.2.2.2 相同浓度的不同抗氧化剂对猪油抗氧化性的影响

配制浓度为187.5 mg/L的Vc、Trolox和BHA溶液, 与沙米绿原酸作对猪油的抗氧化性对比实验, 结果见图9。

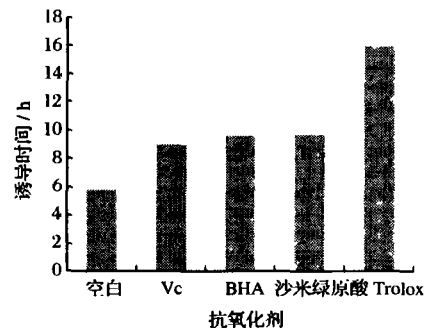


图9 不同抗氧化剂对猪油诱导时间的影响

由图9可知, 沙米绿原酸、Vc、BHA和Trolox在猪油中的抗氧化效果都很明显, 但是, 在浓度相同的条件下, 沙米绿原酸对猪油的抗氧化活性强于Vc、BHA而弱于Trolox。

3 结论

(1) 沙米绿原酸的最佳提取工艺条件为: 料液比1:8(g:mL), 乙醇体积分数60%, 回流时间2h, 冷藏时间12h, 绿原酸产率可达3.137%。因素的主次顺序为: 料液比 > 乙醇体积分数 > 回流时间 > 冷藏时间。

(2)沙米绿原酸的还原能力高于 Vc。

(3)通过 Rancimat 仪测定表明,对猪油抗氧化性最优的沙米绿原酸溶液浓度为 187.5mg/L,且其抗氧化活性强于 Vc、BHA,但弱于 Trolox。

参 考 文 献

- 1 任文明,刘雪峰,倪春梅.毛乌素沙漠天然沙米营养成分的分析[J].内蒙古农业大学学报,2005,26(2):88~90
- 2 乌兰,张泽生.金银花中绿原酸的提取及检测[J].食品科学,2005,28(6):130~134
- 3 林学政,柳春燕,陈靠山,等.不同地域牛蒡叶绿原酸的含

量比较及其抑菌实验[J].天然产物研究与开发,2004,16(4):328~331

- 4 吴燕分,刘常坤,李晶.超声波法提取鱼腥草中的绿原酸[J].化学与生物工程,2004(4):19~22
- 5 陈美珍,余杰,郭慧敏.大豆分离蛋白酶解物羟自由基作用的研究[J].食品科学,2002,23(1):43~46
- 6 詹沛鑫.美拉德反应产物的抗氧化活性研究[J].四川轻化工学院学报,1998,11(1):62~65
- 7 胡传荣,谷文英.D-α-高生育酚抗氧化活性研究[J].中国油脂,2003,28(6):37~40

Study on the Extracting Conditions and Antioxidant Activity of Chlorogenic Acid in *Agriophyllum squarrosum*

Wang Ya, Zhao Ping, Zhao Kun, Song Yong

(College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT To study the extracting conditions and antioxidant activity of chlorogenic acid in *Agriophyllum squarrosum*. Extraction technology of chlorogenic acid in *Agriophyllum squarrosum* was studied by single factor and orthogonal experiment. The antioxidant activity of chlorogenic acid in *Agriophyllum squarrosum* was compared with other antioxidants by using reducing power and Rancimat method. The optimum extraction conditions were established as follows: 60% ethanol as solvent, ratio of material to solvent 1:8 (W/V), extracting 2h and frozen 12 h. In this extracting condition, the yield of chlorogenic acid was up to 3.137%. Chlorogenic acid in *Agriophyllum squarrosum* had strong reducing power. It had highest antioxidant activity at the concentration of 187.5mg/L. Compared with Vc and BHA at the same concentration, it had better antioxidant activity, but no better than Trolox. Chlorogenic acid in *Agriophyllum squarrosum* was a natural and strong antioxidant.

Key words *Agriophyllum squarrosum*, chlorogenic acid, extracting conditions, reducing power, antioxidant activity

行
业
动
态

我国超临界萃取玉米胚芽油技术获突破

一种具有我国自主知识产权、出油率大于90%并可一步获得高品质玉米胚芽油的新工艺,日前由中科院长春应用化学研究所研发成功并在长春通过鉴定。专家认为,该工艺技术在降低酸价、提高萃取率、改善油品质等方面取得了突破性进展,达到国内领先水平。

玉米胚芽油是在玉米深加工中产生的大量辅料玉米胚芽中获得的,含有大量对预防心脑血管疾病、有利于婴幼儿成长、延缓衰老的亚油酸、脂肪酸、V_A、V_E等成分。中科院长春应用化学所与长春工业大学、长春大成玉米开发有限公司协作,于2006年开展了长春市高技术成果产业化计划项目“超临界萃取制备玉米胚芽油新工艺”的研发。经过一年的艰苦拼搏、协力攻关,他们先后优化了萃取温度、压力、CO₂流速、萃取时间、玉米胚芽粒度和前处理等影响萃取效率的工艺参数,突破了在萃取的同时完成脱酸、脱臭、脱胶、脱色的精制过程等技术关键,成功研发出具有我国自主知识产权、出油率大于90%、酸价低于0.5的超临界萃取一步获得精制玉米胚芽油的新工艺。

有关专家认为,该工艺具有工艺简单、出油率高、萃取温度低、不破坏生物活性物质,并能有效防止热敏性物质的氧化,最大限度地保留营养成分等特点,而且无需有机溶剂,无废弃物产生,是一个环境友好的绿色工艺流程,可广泛应用于植物油的提取和精制。同时,该新工艺为玉米深加工提供了新的经济生长点,对将玉米资源优势转变为产业优势具有重要意义。