

## 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<sup>[1]</sup>, 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<sup>[2,3]</sup>。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<sup>[4]</sup>, 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(北京瑞丽分析仪器有限公司)、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  $R_2 = 0.9998$ 。

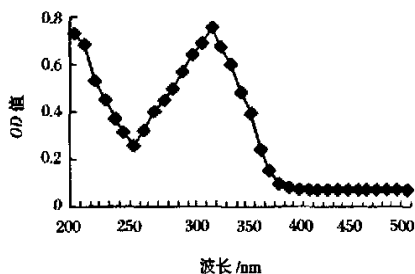


图1 绿原酸标准溶液扫描图

##### 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<sup>[2]</sup>。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

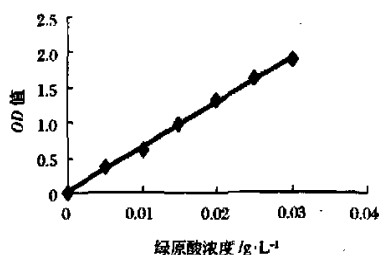


图2 绿原酸标准曲线

mL 100 g/L 三氯乙酸,离心(3 000 r/min)10 min,取上清液 2.5 mL,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。

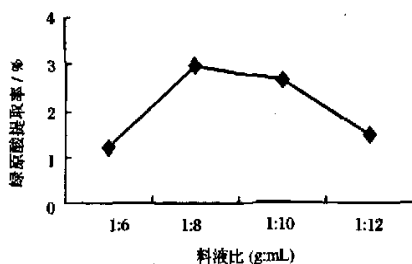


图3 料液比对沙米绿原酸产率的影响

##### 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%。

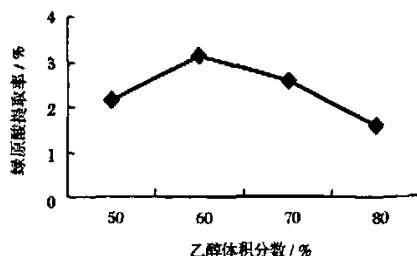


图4 乙醇体积分数对沙米绿原酸产率的影响

##### 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。

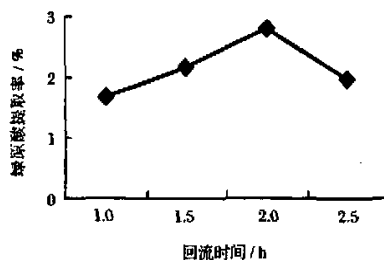


图5 回流时间对沙米绿原酸产率的影响

##### 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 12 h 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。

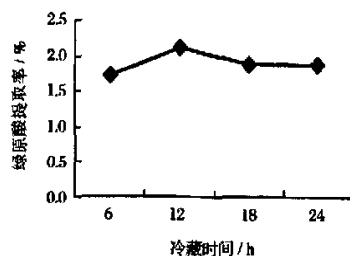


图6 冷藏时间对沙米绿原酸产率的影响

### 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 <sup>-1</sup>	(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 <sub>1</sub>	6.227	7.327	7.405	6.879	
K <sub>2</sub>	8.511	7.733	7.822	7.631	
K <sub>3</sub>	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  $A_2B_2C_2D_2$ , 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  $A_2B_1C_1D_3$  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。

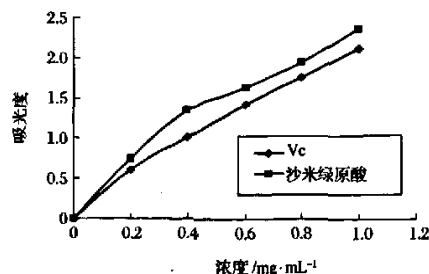


图7 沙米绿原酸与Vc还原能力比较

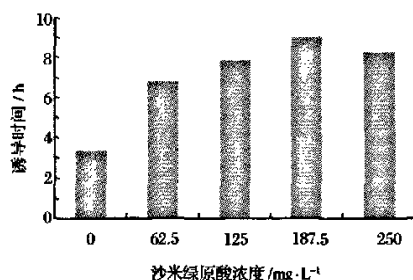


图8 沙米绿原酸浓度对猪油抗氧化活性的影响

#### 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187.5mg/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。

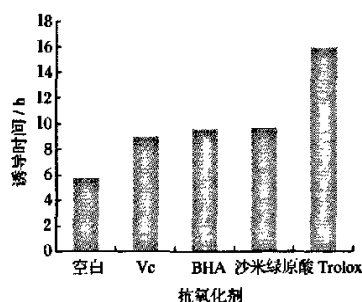


图9 不同抗氧化剂对猪油诱导时间的影响

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经自由基作用的研究[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, Lan Zhou 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<sub>A</sub>、V<sub>E</sub>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、CO<sub>2</sub>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增长点,对将玉米资源优势转变为产业优势具有重要意义。