

稻壳中黄酮提取物的抗氧化性质研究

蔡碧琼, 蔡珠玉, 张福娣, 黄明培

(福建农林大学 生命科学学院 福建 福州 350002)

摘要: 通过不同浓度的 Vc、BHT(2,6-二叔丁基对-甲酚)和稻壳黄酮乙醇溶液的还原能力比较,对二苯代苦味酰自由基(DPPH·)、超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)的清除能力比较,以及在卵黄脂蛋白、猪油等不同体系中抗脂质过氧化的能力比较。实验结果表明:稻壳黄酮对 DPPH·、 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 都具有较强的清除能力,而且对多不饱和脂肪酸(PUFA)过氧化体系也有很强的抑制作用,其作用随着溶液浓度的增大而增强;从抑制猪油氧化实验可以看出,稻壳中黄酮提取物具有较强的抗脂质过氧化能力。但以上3者对不同的自由基和抗脂质过氧化体系表现出的抗氧化能力差异不尽相同。

关键词: 稻壳; 黄酮类物质; 抗氧化性质; 自由基; 清除率

中图分类号: S792.95 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2010)04-0813-06

A Study on Antioxidant Activities of Flavonoided Extracts from Rice Hull

CAI Bi-qiong, CAI Zhu-yu, ZHANG Fu-di, HUANG Ming-jie

(College of Life and Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002 China)

Abstract: The oxidation-resistant experiments were conducted with different concentrations of Vc, BHT and the flavonoids from rice hull to compare their reducing power, scavenging activity on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH·), superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$) and hydroxyl radical ($\cdot OH$), and their inhibiting capacity to peroxidation from livetin and lard oil. The results showed that rice hull flavonoids had a strong scavenging activity to DPPH·, $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, the inhibiting capacity of rice hull flavonoids to peroxidation from polyunsaturated fatty acid (PUFA) was strong, and its antioxidant activity increased with the solution concentrations. Moreover the experiment on the inhibiting capacity to lard oil oxidation proved that the flavonoids of rice hull have a better antilipid peroxidation ability. But their antioxidant activities are different in their abilities of scavenging series radical and inhibiting capacity to peroxidation.

Key words: rice hull; flavonoids; antioxidant activities; radical; scavenging rate

目前由于一些合成抗氧化剂如 BHT(2,6-二叔丁基对-甲酚)、BHA(丁基羟基茴香醚)、TBHQ(特丁基对苯二酚)等合成抗氧化剂被动物实验发现有毒, TBHQ 在日本已被禁用, BHT 在美国也已被禁用, 以及人们越来越追求绿色环保消费, 因而寻找安全、天然的抗氧化剂日益成为研究热点^[1]。黄酮类化合物是一类多酚类物质, 广泛存在于高等植物及以植物为原料的食品中, 是植物在长期自然选择过程中产生的一些次级代谢的产物, 作为抗氧化剂、抗菌剂、感光器、外观引诱剂等而存在。其中最为重要的是黄酮类化合物的抗氧化活性, 主要表现在减少自由基的产生和清除自由基两个方面^[2]。

收稿日期: 2010-04-19 修回日期: 2010-05-26

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(B0510012)和福建农林大学青年教师科研资助项目(06A11)

作者简介: 蔡碧琼(1977-), 女, 实验师, 硕士, 主要从事生物资源的开发和利用研究, E-mail: Lrbq11@163.com。

生物类黄酮具有清除自由基和抗氧化的能力,其作用机理在于它阻止了自由基在体内产生的 3 个阶段:即与 $O_2^{\cdot -}$ 反应阻止自由基引发;与金属离子螯合阻止 $\cdot OH$ 生成;充当自由基接受体,与脂质过氧基($ROO\cdot$)反应阻止脂质过氧化过程,黄酮类化合物可以提供氢给它,从而阻断自由基的连锁反应^[3-5]。另外,其在抗氧化反应中起到预防和断链双重作用。

水稻属禾本科植物,是我国南方地区广泛种植的主要粮食作物,总产量居世界第一。稻壳作为稻米加工副产物,资源丰富,但利用率低。若能从廉价、易得的稻壳中开发出具有特殊功能的黄酮类化合物,既可获得天然的油脂抗氧化剂和具有保健功能的食品添加剂,同时也为这种农产品废弃物的利用寻找有效途径^[6]。本研究选用了稻壳作为提取黄酮类化合物的原料,考察了稻壳黄酮还原能力以及对 $DP\text{-}PH\cdot$ 、 $O_2^{\cdot -}$ 、 $\cdot OH$ 这 3 种自由基的清除能力,并分析了它在卵黄脂蛋白、猪油等不同体系中抗脂质过氧化的能力。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验用稻壳来源于福建省莆田市梧塘镇农民种植(D 优 130 中稻),24 h 烘干后,粉碎过 40 目筛,备用。BHT(2,6-二叔丁基对-甲酚)、Vc(维生素 C)、Tris(三羟甲基氨基甲烷):均为 A R 国药集团化学试剂有限公司;DPPH·自由基(二苯代苦味酰自由基):A R 美国 Sigma 公司;TBA(硫代巴比妥酸):A R 中国医药集团上海化学试剂公司。

1.2 主要仪器

Cary 50 紫外可见分光光度计(美国 VARIAN 公司);TGL-16G 高速离心机(上海安亭科学仪器厂);PB-10 酸度计(北京赛多利斯仪器系统有限公司);DSHZ-300 多用途水浴恒温振荡器(江苏太仓市实验设备厂);FD-1B 冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司);FW100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HH·S6 数显电热恒温水浴锅(上海锦屏仪器仪表有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 稻壳中黄酮提取液的制备 按照文献[6]通过乙醇浸提的单因素及正交试验,得到从水稻谷壳中提取黄酮所得的黄酮提取量为 9.52 mg/g。据文献[7]制得稻壳黄酮粗品,溶于乙醇溶液,然后经 AB-8 大孔吸附树脂纯化,得精制后的稻壳乙醇提取液,备用。

1.3.2 还原能力的测试 pH=6.6 磷酸盐缓冲液(Phosphate buffer saline, PBS):A 液(0.2 mol/L Na_2HPO_4):7.16 g Na_2HPO_4 (S)溶于水中,定容至 100 mL;B 液(0.2 mol/L NaH_2PO_4):3.12 g NaH_2PO_4 (S)溶于水中,定容至 100 mL;取 A 液 37.5 mL 与 B 液 62.5 mL 混合,得到 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液,精密试纸测其 pH=6.0~6.6。

分别在 1 mL 不同浓度(稻壳黄酮提取物浓度梯度为 40,60,100,120,140 mg/L)的稻壳黄酮乙醇溶液中,加入 1.3 mL 0.2 mol/L pH=6.6 磷酸盐缓冲液和 1.3 mL 铁氰化钾溶液(ρ (铁氰化钾)=1%),然后将混合物放入 50 °C 水浴中保温 20 min;加入 1.3 mL 三氯乙酸(ρ (三氯乙酸)=0.1%),之后,于转速为 650 r/min 下离心 10 min,取上层清液(3 mL),加入 3 mL 去离子水和 0.5 mL 三氯化铁(ρ (三氯化铁)=0.1%),混合均匀,在 700 nm 下测定吸光度,吸光度越高,说明还原力越高^[8]。并以相同浓度梯度的 BHT、Vc 的乙醇溶液为对照,重复上述反应,以上每组做 3 个重复实验。

1.3.3 稻壳黄酮提取物对 DPPH·自由基的清除作用 测定方法参照彭长连^[9]的方法稍作修改。取 2 mL 2×10^{-4} mol/L DPPH·溶液加入 2 mL 不同浓度(浓度梯度同 1.3.2)的稻壳黄酮乙醇溶液,充分混合,30 min 后用无水乙醇作参比,在 517 nm 处测定其吸光度 A_1 ;同时测定 2 mL 2×10^{-4} mol/L DPPH·溶液与 2 mL 无水乙醇混合液的吸光度 A_0 ;以及不同浓度的稻壳黄酮乙醇溶液与 2 mL 无水乙醇混合液的吸光度 A_2 ,每个处理样品均做 3 个平行实验。清除效果以半数清除率浓度(EC_{50})来表示, EC_{50} 为 DPPH·自由基清除率为 50% 时所需的抗氧化物的浓度值。根据下列公式计算测定液对 DPPH·的清除率。并以相同浓度梯度的 BHT、Vc 的乙醇溶液为对照,重复上述反应。

$$DPPH\cdot\text{自由基的清除率} = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 \times 100\% \quad (1)$$

(1) 式中: A_0 : 2 mL 乙醇溶剂 + 2 mL DPPH · 溶液的吸光度; A_1 : 2 mL 提取液 + 2 mL DPPH · 溶液的吸光度; A_2 : 2 mL 提取液 + 2 mL 乙醇溶剂的吸光度。

1.3.4 稻壳黄酮提取物对 $O_2^{\cdot -}$ 自由基的清除作用 0.05 mol/L, pH = 8.2 的 Tris - HCl 缓冲液: 称取 25 g 三羟甲基氨基甲烷溶于水, 加 8 mL 浓盐酸, 并用蒸馏水稀释至 1 000 mL。取 4.5 mL 0.05 mol/L, pH = 8.2 的 Tris - HCl 缓冲液于干燥具塞比色管中, 置 25 °C 水浴中预热 20 min, 分别加入不同浓度(浓度梯度同 1.3.2) 的 Vc、BHT 和稻壳黄酮乙醇溶液各 2 mL, 然后均加入 0.4 mL 25 mmol/L 邻苯三酚, 混匀后, 在 25 °C 水浴中准确反应 4 min, 立即加入 2 滴 8 mol/L HCl 终止反应, 蒸馏水清零, 在 320 nm 处测定吸光度 A , 以上每组做 3 个重复实验。

$$\text{清除率} = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{样品空白}}) / A_{\text{空白}}] \times 100\% \quad (2)$$

(2) 式中: $A_{\text{空白}}$ 为加邻苯三酚但不加抗氧化剂; $A_{\text{样品}}$ 为加邻苯三酚和抗氧化提取物; $A_{\text{样品空白}}$ 为不加邻苯三酚但加抗氧化提取物。

1.3.5 稻壳黄酮提取物清除 $\cdot OH$ 自由基的能力分析测定 在锥形瓶中依次移入 25 mL 2 mmol/L 硫酸亚铁溶液和 25 mL 6 mmol/L 过氧化氢溶液, 混合均匀后加入 75 mL 6 mmol/L 水杨酸溶液。在 36 ~ 37 °C 的恒温水浴中反应 15 min 后于 510 nm 处测定其吸光度值, 此值记为 A_0 。将 A_0 值的测定体系分成 4 等份, 放入 50 mL 比色管中, 每份 25.0 mL, 依次加入 3.0 mL 不同浓度(浓度梯度同 1.3.2) 的稻壳黄酮乙醇溶液、Vc 和 BHT 乙醇溶液, 36 ~ 37 °C 的恒温水浴中反应 15 min 后于 510 nm 处测定其吸光度值, 此值记为 A_1 , 以上每组做 3 个重复实验。

$$\text{清除率} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\% \quad (3)$$

1.3.6 稻壳黄酮提取物对 Fe^{2+} 诱发卵黄脂蛋白 PUFA 过氧化体系的抑制作用 测定方法参照文献 [10] 方法稍作修改。卵黄悬液的配制: 以新鲜鸡蛋去蛋清, 卵黄用等体积的 pH = 7.45, 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS) 配成 1:1 的悬液, 磁力搅拌 10 min, 再用 PBS 稀释成 1:25 的悬液, 置于冰箱中备用。在 2 mL 不同浓度(浓度梯度同 1.3.2) 的稻壳黄酮乙醇溶液中, 分别加入 0.4 mL 1:25 的卵黄悬液和 0.4 mL 25 mmol/L $FeSO_4$, 用 pH = 7.45, 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液补充至 4 mL, 37 °C 水浴中振荡 15 min。取出后各自加入 1 mL 25% 的三氯乙酸, 在转速为 3 500 r/min 下离心 10 min 后, 吸取 2.0 mL 上清液加入 1 mL 0.8% TBA, 加塞, 放入沸水浴中 15 min, 冷却后, 于 532 nm 处测定其吸光度 A 值。以不加样品管的溶液吸光度记为 A_0 值。样品抗氧化活性(AOA) 用对卵黄脂蛋白脂质过氧化(LPO) 的抑制率(%), 表示为 AOA(%). 并以相同浓度梯度的 BHT、Vc 的乙醇溶液为对照, 重复上述反应, 以上每组做 3 个重复实验。

$$AOA = (A_0 - A) / A_0 \times 100\% \quad (4)$$

1.3.7 稻壳黄酮提取物抗猪油氧化性试验 测定方法参照文献 [11] 方法稍作修改。猪油: 由市售肥猪肉煎制。取 3 个锥形瓶, 分别加入 80 g 新炼猪油, 再分别加入不同浓度(浓度梯度同 1.3.2) 的稻壳黄酮乙醇溶液、Vc、BHT 乙醇液, 余下一瓶做空白对照实验, 把锥形瓶放入烘箱, 控制温度为 60 °C 并保持良好的通风, 36 h 后取样检测猪油的过氧化值 POV, 以过氧化值来表示油脂的氧化速度, 进而衡量抗氧化剂的活性。过氧化值的测定参照 GB/T (5538—1995) [12], 具体操作如下: 取样前, 将油样振摇均匀。精确称取 1 g 待测的油样, 置于 100 mL 碘量瓶中, 加入 10 mL 氯仿, 使样品完全溶解。再加入 5 mL 冰乙酸和 1 mL 饱和 KI 溶液, 立即塞好瓶盖, 并轻轻振荡 1 min, 然后在暗处放置 3 min。取出加 5 mL 水, 摇匀, 立即用 0.001 mol/L $Na_2S_2O_3$ 标准溶液滴定, 至淡黄色时, 加 0.5 mL 2% 淀粉指示剂, 继续滴定至蓝色消失为终点, 同时以不加油样的试液按同一方法, 做试剂空白试验, 以上每组做 3 个重复实验。油样的过氧化值 POV 值按下式计算:

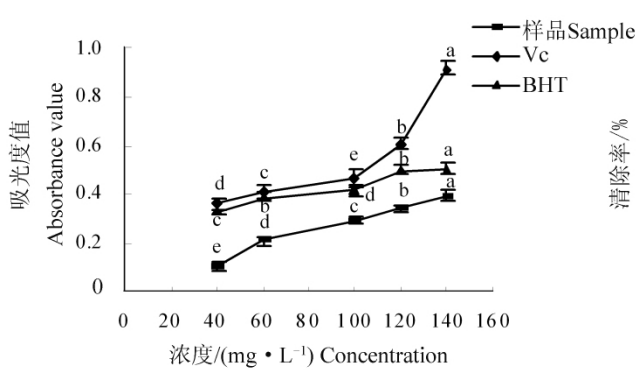
$$POV = \frac{(V_1 - V_2) \times C}{m} \times 1000 \quad (5)$$

(5) 式中: POV: 油样的过氧化值(mmol/kg); V_1 : 样品消耗 $Na_2S_2O_3$ 标准溶液的体积(mL); V_2 : 试剂空白消耗 $Na_2S_2O_3$ 标准溶液体积(mL); C: $Na_2S_2O_3$ 标准溶液的摩尔浓度(mol/L); m: 油样的质量(g)。

2 结果与分析

2.1 还原能力的测定

黄酮类化合物可络合诱导氧化的过渡金属离子如 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 等 [13]。 Fe^{3+} 离子可催化 Haber - Weiss

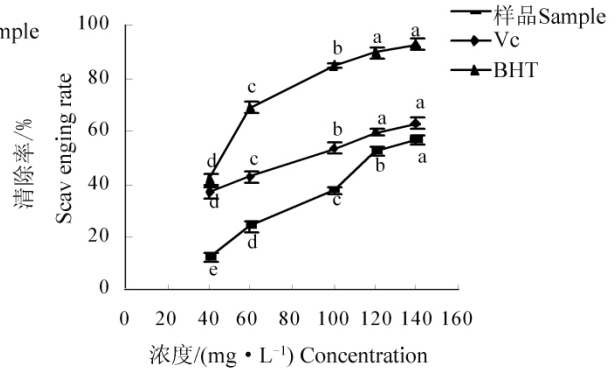


同系列上标不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Values with different small letters in the same series means significant difference ($P < 0.05$).

图 1 稻壳黄酮、Vc 和 BHT 的还原能力比较

Fig. 1 Comparison to reduction activity of rice hull flavonoids with Vc、BHT



同系列上标不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Values with different small letters in the same series means significant difference ($P < 0.05$).

图 2 稻壳黄酮、Vc 和 BHT 对 DPPH· 的清除能力

Fig. 2 Scavenging activity on DPPH· of rice hull flavonoids、Vc and BHT

反应使 $O_2^{\cdot -}$ 生成危害性更大的 $\cdot OH$ ， Cu^{2+} 可催化低密度脂蛋白 LDL 氧化。所以抗氧化剂与金属离子的反应在清除自由基等抗氧化过程具有重要的作用。此实验是还原铁的一个体系，具有较强还原力的物质能把 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} ，溶液的颜色由黄色变为绿色。故可以通过显色反应来判断还原的程度，反应后绿色越深，吸光度越大，说明该物质的还原能力越强。

实验比较了不同浓度的 Vc、BHT 和稻壳黄酮乙醇溶液的还原能力，实验结果见图 1。从图 1 中可以看出，这几种物质的还原能力都随溶液浓度的升高而增加，其中 Vc 的还原能力最强，BHT 次之，稻壳黄酮较差。稻壳黄酮浓度为 120 mg/L 时和 40 mg/L 的 Vc 还原能力相当。

2.2 稻壳黄酮提取物对 DPPH· 自由基的清除作用

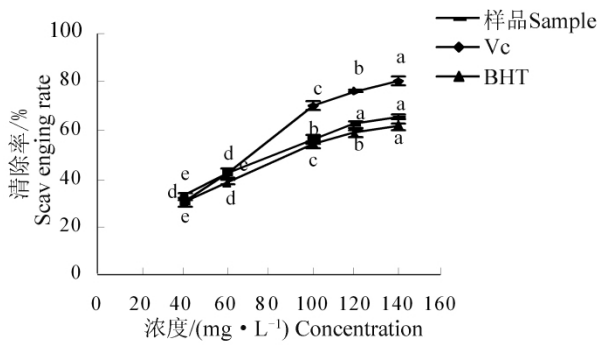
DPPH· 是一种稳定的自由基，其结构中含有 3 个苯环，1 个 N 原子上有 1 个孤对电子，其乙醇溶液呈紫色，它在 517 nm 处有强吸收，当 DPPH· 溶液中加入自由基清除剂时，由于与其电子配对而使其吸收逐渐消失，溶液颜色由紫色向黄色变化，在 517 nm 处的吸光度值变小，其变化程度与自由基清除程度呈线性关系。因此，可以通过在此波长处吸光度减弱的程度来评价自由基被清除的情况，抗氧化剂清除自由基的能力越强，其抗氧化活性越高^[14]。

不同抗氧化物对 DPPH· 自由基的清除作用，结果见图 2。从图 2 可以看出，稻壳黄酮提取物、Vc 和 BHT 对 DPPH· 自由基均有一定的清除能力，对自由基的清除能力在一定范围随着反应体系溶液浓度的增大而逐渐增强，并呈现一定的量效关系，当达到一定的浓度时清除率增加趋于平稳。稻壳黄酮提取物、Vc 和 BHT 的 EC_{50} 值分别为 116、95、54 mg/L。稻壳黄酮提取物清除 DPPH· 自由基的能力弱于 Vc 和 BHT，但当浓度达到 120 mg/L 时，其清除能力趋近于 Vc。

2.3 稻壳黄酮提取物对 $O_2^{\cdot -}$ 自由基的清除作用

邻苯三酚自氧化的机理极为复杂，至今不十分清楚。邻苯三酚在碱性条件下发生反应，在反应滞后 30 ~ 45 s 后，产生稳定浓度的超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot -}$) 与中间物 (M)，中间物 M 与超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot -}$) 反应，得到一种具有颜色的中间产物 (E)，此物在紫外区有吸收，引起波长 320 nm 处吸光值的线性积累，来反映抗氧化剂的清除能力大小。因此在该段时间内，通过测定含被测物反应液的吸光度随时间的变化率，并与空白液比较便可得出被测物抑制 $O_2^{\cdot -}$ 积累的作用能力。

超氧阴离子自由基是生命代谢过程中产生的一种自由基，具有很强的氧化能力。本实验采用邻苯三酚自氧化反应测定各抗氧化剂对其产生的超氧阴离子自由基的清除作用。实验选择不同浓度的稻壳黄酮、Vc 和 BHT 溶液进行对比，结果见图 3。从图 3 中可以看出，随着反应体系中溶液浓度的增加，对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除率呈增大趋势，当浓度为 40 ~ 60 mg/mL 稻壳黄酮提取物、Vc 和 BHT 三者对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除率接近，当浓度大于 60 mg/mL 时，Vc 对 $O_2^{\cdot -}$ 清除率的增长速率大于稻壳黄酮提取物、BHT。而且，稻壳黄酮提取物和 BHT 对 $O_2^{\cdot -}$ 清除率曲线相近且几乎相似。

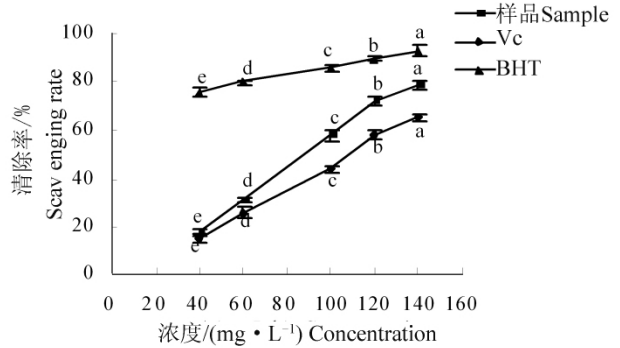


同系列上标不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Values with different small letters in the same series means significant difference ($P < 0.05$).

图 3 稻壳黄酮、Vc 和 BHT 对 $O_2^{\cdot -}$ 自由基的清除能力

Fig.3 Superoxide radical scavenging activity of rice hull flavonoids、Vc and BHT



同系列上标不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Values with different small letters in the same series means significant difference ($P < 0.05$).

图 4 稻壳黄酮、Vc 和 BHT 对 $\cdot OH$ 自由基的清除能力

Fig.4 Hydroxyl radical scavenging activity of rice hull flavonoids、Vc and BHT

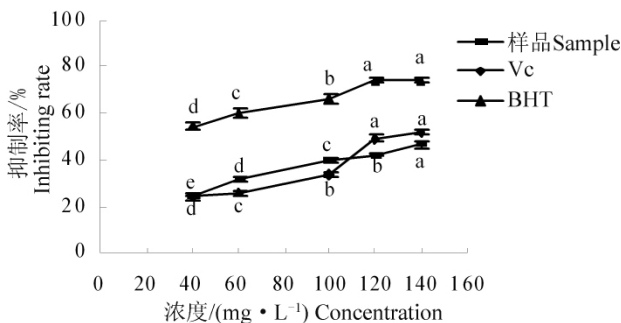
2.4 稻壳黄酮提取物对 $\cdot OH$ 自由基的清除作用

$\cdot OH$ 自由基对细胞和组织的破坏作用极大。利用 H_2O_2 与 Fe^{2+} 混合产生 $\cdot OH$,但由于 $\cdot OH$ 具有很高的反应活力 ,存活时间短 若在反应体系中加入水杨酸 ,就能有效的捕捉 $\cdot OH$,并能产生有色产物 2,3-二羟基苯甲酸 ,该产物在 510 nm 有强吸收 ,若在此反应体系中加入具有清除 $\cdot OH$ 功能的待测物 ,便会与水杨酸竞争 $\cdot OH$,从而使有色产物生成量减少。

从图 4 可知 随着反应体系中溶液浓度的增加 稻壳黄酮、Vc 和 BHT 对 $\cdot OH$ 自由基的清除率呈增大趋势 ,而且在较低浓度时对 $\cdot OH$ 自由基就有一定的清除作用。对 Fenton 反应体系产生的羟基自由基 ,BHT 的清除能力最强 ,清除率大于 60% 稻壳黄酮提取物的清除能力次之 , EC_{50} 为 90 mg/L ,Vc 的清除能力最差 EC_{50} 为 110 mg/L。

2.5 稻壳黄酮提取物对 Fe^{2+} 诱发卵黄脂蛋白 PUFA 过氧化体系的抑制作用

卵黄中磷脂 C-2 位上所含极低密度脂蛋白 (VLDL) 和低密度脂蛋白 (LDL) 中的 PUFA 在铁离子的催化下 ,经振荡 ,能诱发过氧化 ,产生烷氧基 ($LO\cdot$) 和烷过氧基 ($LOO\cdot$) ,再引发链式反应。在加热的条件下 ,过氧化产物可与硫代巴比妥酸 (TBA) 反应产生红色络合物 ,并在 532 nm 波长处有显著吸收 ,其吸光度的高低可间接表征物质在 PUFA 过氧化体系中的抗氧化活力。

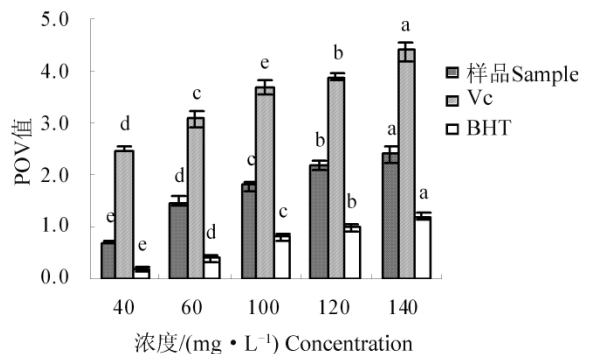


同系列上标不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Values with different small letters in the same series means significant difference ($P < 0.05$).

图 5 稻壳黄酮、Vc 和 BHT 对 PUFA 过氧化体系的抑制作用

Fig.5 The inhibiting result of rice hull flavonoids、Vc and BHT on peroxidation from PUFA



同系列上标不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Values with different small letters in the same series means significant difference ($P < 0.05$).

图 6 稻壳黄酮、Vc 和 BHT 对油脂氧化的抑制作用

Fig.6 The inhibiting result of rice hull flavonoids、Vc and BHT on lipid oxidation

不同抗氧化物对 PUFA 过氧化体系的抑制作用如图 5 所示。由图 5 可以看出 稻壳中黄酮提取物、Vc 和 BHT 3 者对 PUFA 过氧化体系有很强的抑制作用 这种抑制作用随着反应体系中溶液浓度的增大

而增强,当浓度达到 120 mg/L 时,抑制率变化不明显。BHT 对体系的抑制作用最强。溶液浓度在 40 ~ 100 mg/L 内,稻壳黄酮提取物对体系的抑制作用强于 Vc,当浓度大于 110 mg/L 时,Vc 对体系的抑制作用强度反而超过稻壳黄酮提取物。

2.6 稻壳黄酮提取物抗猪油氧化性作用

食用油脂由于含有不饱和脂肪酸,在光、热、金属离子等催化剂的活化下,以及油脂中水和酶的作用,常会发生变质腐败等复杂变化,这种变化称为酸败。油脂的酸败分为水解酸败和氧化酸败两种。一般油脂主要发生氧化酸败,在氧化过程中生成过氧化物和氢过氧化物等中间产物,抗氧化剂能提供氢与自由基($R\cdot$)和氧化自由基($ROO\cdot$)作用,分别与其生成原来的油脂分子(RH)和氢过氧化物($ROOH$),其本身则生成没有活性的氧化剂自由基,从而中断自由基反应。

据报道^[15],在动物油脂氧化 36 h 以后,所有油样的过氧化值就已超过动物油酸败的临界点(20 mmol/kg),故动物油样过氧化值的测定到第 36 h 为止。在本实验中,油脂氧化 36 h 后滴定油样反应过程中生成的过氧化物,计算它们的过氧化值(POV),得到各油样的过氧化值(POV)与浓度(mg/L)的关系如图 6 所示。从图 6 中可以看到,添加 BHT 的油样 POV 值最小,那么 BHT 的抗氧化能力最强,可能是由于 BHT 易溶于猪油,能均匀地分布在油脂中,其抗氧化作用得到充分发挥,而稻壳黄酮与 Vc 在动物油样中溶解度稍差,不能充分发挥其抗氧化能力,如能添加合适的乳化剂就能更好地发挥其抗猪油氧化作用。由图 6 可见这 3 种抗氧化剂在猪油油样中的 POV 值大小依次为:Vc、稻壳中黄酮提取物、BHT,那么它们在猪油油样中的抗氧化能力大小依次为:BHT、稻壳中黄酮提取物、Vc。

3 讨 论

通过不同浓度的 Vc、BHT 和稻壳黄酮乙醇溶液的还原能力比较、对 DPPH \cdot 、 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 的清除能力比较、以及在卵黄脂蛋白、猪油等不同体系中抗脂质过氧化的能力比较。实验表明:稻壳黄酮对 DPPH \cdot 、 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 都具有较强的清除能力,对多不饱和脂肪酸(PUFA)过氧化体系和猪油氧化实验有很强的抑制作用,它们的抗氧化作用随着反应体系中溶液浓度的增大而增强。实验证明稻壳黄酮提取物具有较强的抗氧化性质,能与常用的抗氧化剂 Vc 和 BHT 相媲美,甚至在对一些自由基的清除能力上表现出更加优异的抗氧化性能。稻壳黄酮资源丰富,而且无毒、安全、绿色,故有望作为合成抗氧化剂(BHT)的替代物添加到食品或保健品中,但作为实际应用中的代替品还需在今后的研究中结合动物试验进行进一步研究和完善。

参考文献:

- [1] 幸宏伟. 玫瑰花醇提取物对油脂的抗氧化作用[J]. 重庆工商大学学报:自然科学版, 2006, 23(2): 150-153.
- [2] 刘莉华, 宛晓春, 李大祥. 黄酮类化合物抗氧化活性构效关系的研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(3): 265-270.
- [3] 曹平. 天然抗氧化剂抑制油脂氧化的研究进展[J]. 中国油脂, 2005, 30(7): 49-53.
- [4] Frankel E N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality[J]. Food Chemistry, 1996, 57(1): 51-55.
- [5] 李文林, 黄凤洪. 天然抗氧化剂研究现状[J]. 粮食与油脂, 2003(10): 10-13.
- [6] 蔡碧琼, 余萍, 何海滨, 等. 水稻谷壳中总黄酮提取工艺及其性质表征[J]. 江西农业大学学报, 2007, 29(1): 142-147.
- [7] 蔡碧琼, 吴琼洁, 陈新香. 大孔吸附树脂分离纯化稻壳黄酮的研究[J]. 河南工业大学学报:自然科学版, 2009, 30(3): 20-24.
- [8] Joan-Hwa Yang, Hsiu-Ching Lin, Jeng-Leun Mau. Antioxidant properties of several commercial mushrooms[J]. Food Chemistry, 2002, 77(2): 229-235.
- [9] 彭长连, 陈少薇, 林植芳, 等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27(6): 658-661.
- [10] 莫晓燕, 徐静, 张安宁. 银杏中种皮提取物抗氧化活性的研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2005, 33(11): 83-88.
- [11] 唐津忠, 鲁晓翔, 陈瑞芳. 金莲花中黄酮类化合物的提取及其抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2003, 24(6): 88-91.
- [12] 王肇慈. 粮油食品品质分析[M]. 2 版. 北京: 中国轻工业出版社, 2000: 190-202.
- [13] Sestili P, Guidarelli A, Dacha M. Quercetin prevents DNA single strand breakage and cytotoxicity caused by tert-butylhydroperoxide: free radical scavenging versus iron chelating mechanism[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1998, 25(2): 196-200.
- [14] 许中鸿, 杭瑚. 用 DPPH \cdot 分析法研究野生植物的抗氧化活性[J]. 青岛大学学报:自然科学版, 1999, 12(3): 75-78.
- [15] 凌关庭. 食品添加剂手册[M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 1997.