

文章编号: 1674-7054(2012)03-0243-04

八角茴香提取物抗氧化活性分析

谢冬惠

(海南省产品质量监督检验所, 海口 570203)

摘要: 以蒸馏水、乙醇、丙酮、正丁醇为溶剂对八角茴香进行提取, 采用 DPPH 法对各提取物进行自由基清除实验, 同时, 以挥发性油和乙酸乙酯提取物作为抗氧化剂, 定量加入油脂中, 通过对强化保存期间过氧化值(POV)的测定, 比较它们不同的添加量对猪油抗氧化性能的影响。结果表明, 同一质量浓度不同溶剂的提取物对 DPPH 自由基的清除能力作用强弱是: 乙醇提取物 > 正丁醇提取物 > 丙酮提取物 > 蒸馏水提取物; 挥发性油抗氧化效果不明显, 乙酸乙酯提取物具有很强的抗氧化活性, 当乙酸乙酯提取物添加量达 $w = 0.10\%$ 时, 抗氧化效果优于 $w = 0.02\%$ 的 BHT, 且添加量越高抗氧化效果越好。

关键词: 八角茴香提取物; DPPH 自由基; 抗氧化活性

中图分类号: TS 202.3

文献标志码: A

八角茴香为木兰科植物八角茴香(*Illicium verum* Hook. f.) 的干燥成熟果实, 具有强烈的山楂花香气, 主要分布在我国的广西、广东、贵州、云南等省区^[1]。八角茴香味甘、性温, 具有开胃下气散寒、暖肾等功效, 为我国的特产香辛料和中药, 也是居家必备的调料。近年来的研究表明, 八角茴香水溶性挥发成分具有广谱的抗菌性^[2], 八角茴香精油可使蛋白质脱水、变性, 损害细胞膜而具杀菌能力^[3]。油脂在加工储运过程中, 易受空气的作用使油脂发生水解和氧化等反应, 导致酸败。加入抗氧化剂可以阻止或减缓油脂自动氧化, 减缓腐败。传统的抗氧化剂是丁基羟基茴香醚(BHA)及二丁基羟基甲醚(BHT)等合成抗氧化剂, 由于其具有很强的副作用(如致癌), 现在很多国家已经停用或严格限制其使用。以天然食用抗氧化剂取代合成抗氧化剂是今后食品工业的发展趋势, 研究开发广谱、高效、安全的天然抗氧化剂已经成为食品添加剂研究领域中的热点。因此, 笔者从八角茴香中提取天然抗氧化剂, 并研究其抗氧化性能, 旨在为其在食品防腐添加剂方面的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验原料 八角茴香购于海南源安隆药品有限公司, 产地为广西。

1.2 试剂与仪器 无水乙醇、丙酮、正丁醇、氢氧化钠、亚硝酸钠、硝酸铝(分析纯, 广州化学试剂厂); 二苯代苦味酰肼自由基(DPPH)(分析纯, 美国 Sigma 公司); BHT、BHA(食品级, 国药集团化学试剂有限公司); 电子天平(BP211D, Satorius 公司); 旋转蒸发仪(Laborota400, 德国海道尔夫公司); 紫外可见分光光度计(UV-2450, 日本岛津公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 八角茴香提取物的制备 取 100 g 的八角茴香, 用粉碎机进行粉碎, 过 20 目筛, 收集筛出粉末。分别准确称取样品 10.00 g, 按 $m_{\text{料}} : V_{\text{液}} = 1 \text{ g} : 10 \text{ mL}$ 的比例分别加入无水乙醇、丙酮、蒸馏水、正丁醇。水浴锅加热, 回流 3 h, 过滤, 滤液旋转蒸发回收溶剂, 干燥即得提取物, 计算提取率。提取率的计算公式为

收稿日期: 2012-06-06

作者简介: 谢冬惠(1969-)女, 海南海口人, 海南省产品质量监督检验所工程师。

$$\text{提取率} = \frac{m}{M} \times 100\% ,$$

式中: M 为原料质量 m 为提取物质量。

1.3.2 DPPH 自由基清除率的测定 按文献[4]的方法进行。准确称取 DPPH 1.25 mg, 用无水乙醇溶解并定容至 25 mL, 配制质量浓度为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液, 避光保存。取 2 mL 质量浓度为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液加入到 2 mL 一定浓度的提取液中, 充分混匀, 30 min 后在波长 517 nm 处测定其吸光度 (A)。提取物对 DPPH 自由基的清除率计算公式为

$$K = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\% ,$$

式中: K 为样品溶液的 DPPH 自由基清除率; A_i = 2 mL DPPH 溶液 + 2 mL 提取液混合液的吸光度; A_j = 2 mL 提取液 + 2 mL 无水乙醇的吸光度; A_c = 2 mL DPPH 溶液 + 2 mL 无水乙醇的吸光度。

1.3.3 过氧化值 (POV) 的测定 按文献[5]的方法进行。称取样品 2.00 ~ 3.00 g, 置于碘瓶中, 加入氯仿-冰乙酸混合液 ($V_{\text{氯仿}} : V_{\text{冰乙酸}} = 2 : 3$) 30 mL, 饱和碘溶液 1 mL, 摇匀, 于暗处静置 3 min, 然后加水 50 mL, 以 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫代硫酸钠溶液滴定至淡黄色时, 加入 1 mL 的淀粉指示剂, 继续滴定至蓝色消失为止, 得样品消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积。以同样的方法作空白对照。POV 按下列公式计算:

$$POV = V \times M \times 1000 / W ,$$

式中: V 为样品对硫代硫酸钠标准溶液的消耗量 (mL); M 为硫代硫酸钠标准溶液的浓度 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); W 为样品质量 (g) POV 的单位为 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂提取物的比较 不同溶剂八角茴香提取物的提取率见表 1。从表 1 可以看出, 用乙醇作溶剂的提取率最高, 为 13.84%; 其次是丙酮, 提取率为 10.48%; 最差的是水, 提取率只有 8.02%。

表 1 不同溶剂八角茴香提取物的提取率

溶剂种类	正丁醇	丙酮	乙醇	水
提取率/%	9.635	10.48	13.84	8.02

2.2 八角茴香提取物的抗氧化活性实验

2.2.1 不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除作用 将不同溶剂提取的提取物样品配成 0.04, 0.08, 0.12, 0.15 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 4 种质量浓度, 各加入 2 mL 的 DPPH 乙醇溶液, 测定不同提取物对 DPPH 的消除率, 结果见表 2。

表 2 不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的消除率

质量浓度 / ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	水提取物	乙醇提取物	丙酮提取物	正丁醇提取物
0.04	23.1	64.5	27.9	39.5
0.08	28.0	81.5	38.6	42.2
0.12	32.3	85.9	52.0	56.2
0.15	39.8	86.5	57.2	64.3

从表 2 可以看出 4 种八角茴香提取物对 DPPH 自由基都有明显的清除作用, 其中效果最好的是乙醇提取物, 所试的最低质量浓度 ($0.04 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 对 DPPH 自由基的消除效果均较其他 3 种提取物的最高质量浓度的好, 当乙醇提取物质量浓度为 $0.15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对 DPPH 自由基的消除率达到了 86.5%。就同种提取物而言, 清除 DPPH 自由基的能力随着其质量浓度的升高而增强。4 种提取物对 DPPH 自由基的清除作用强弱顺序为: 乙醇提取物 > 正丁醇提取物 > 丙酮提取物 > 蒸馏水提取物。由此可见, 乙醇提取物的抗氧化活性最高, 蒸馏水提取物的抗氧化活性最低。

2.2.2 不同提取物过氧化活性的比较 由于研究的对象为油脂,为了使提取物在油脂中有较大的溶解度,选择了八角茴香挥发油和乙酸乙酯提取物进行实验,以增加提取物的溶解度。用挥发油提取器提取八角茴香挥发油,八角茴香乙酸乙酯提取物的提取方法同 1.3.1。

向盛有 25.00 g 猪油的 100 mL 烧杯中,加入一定量的八角茴香挥发油、乙酸乙酯提取物、BHT 及 BHA,搅拌,使其充分溶解,置于(70±1)℃恒温箱中强化保存,每隔 24 h 搅拌 1 次,并交换其在恒温箱中的位置,以确保外界条件相同,每隔 48 h 测定 1 次过氧化值(POV)^[6],并设空白对照。结果见表 3 和表 4。

表 3 八角茴香挥发油的 POV 值 mmol·kg⁻¹

<i>w</i> (挥发油) / %	测定时间 / h							
	48	96	144	192	240	288	336	384
0.02	6.00	12.20	34.20	74.80	136.75	193.31	250.58	289.10
0.04	5.80	12.10	27.30	66.20	117.78	168.98	207.59	263.26
0.06	5.60	12.90	32.20	69.70	121.05	167.74	205.04	262.26
0.08	5.30	12.50	31.00	71.40	134.70	171.76	206.21	265.97
0.10	5.10	12.60	30.80	70.90	128.41	171.79	209.61	262.16
0.12	5.00	12.50	30.50	70.70	130.95	166.52	207.71	263.23
CK	7.90	24.90	45.40	94.80	147.25	217.93	313.87	330.50

注: CK 为对照

表 4 八角茴香乙酸乙酯提取物的 POV 值 mmol·kg⁻¹

处理	测定时间 / h								
	48	96	144	192	240	288	336	384	432
1	4.10	4.50	4.60	6.10	6.97	7.93	8.27	8.78	10.83
2	4.90	5.80	6.80	8.80	11.23	13.20	17.49	21.08	24.75
3	3.46	4.00	5.90	7.16	8.43	14.76	20.83	28.68	34.85
4	3.40	4.07	4.55	5.39	6.67	9.61	9.77	11.50	12.49
5	3.36	3.62	4.23	4.79	6.45	7.83	8.19	8.68	10.40
6	3.31	3.54	4.10	4.49	6.34	7.67	7.79	8.16	9.26
CK	7.90	24.90	45.40	94.80	147.25	217.93	313.87	330.50	425.32

注: 处理 1 为 $w = 0.02\%$ 的 BHT,处理 2 为 $w = 0.02\%$ 的 BHA,处理 3 ~ 处理 6 分别为 $w = 0.06\%$,
 $w = 0.08\%$ $w = 0.10\%$ $w = 0.12\%$ 的八角茴香乙酸乙酯提取物,CK 为对照

从表 3 可以看出,八角茴香挥发油也有一定的抗氧化活性,但抗氧化效果不够明显,与对照相比,差异不大。

从表 4 可以看出,八角茴香乙酸乙酯提取物具有很强的抗氧化活性,随着乙酸乙酯提取物加入量的增加,抗氧化效果明显增强,加入量越大抗氧化效果越好。当加入量为 $w = 0.08\%$ 时,432 h 的 POV 值为 12.49 mmol·kg⁻¹,而 $w = 0.02\%$ 的 BHA 432 h 的 POV 值为 24.75 mmol·kg⁻¹,其抗氧化效果优于 $w = 0.02\%$ 的 BHA;当加入量为 $w = 0.10\%$ 时,抗氧化效果(432 h 的 POV 值为 10.40 mmol·kg⁻¹) 优于 $w = 0.02\%$ 的 BHT(432 h 的 POV 值为 10.83 mmol·kg⁻¹)。

3 讨 论

自由基的清除实验结果表明,所试的八角茴香 4 种溶剂提取物对 DPPH 自由基都有明显的清除作用,清除作用强弱顺序为:乙醇提取物 > 正丁醇提取物 > 无水丙酮提取物 > 蒸馏水提取物。

八角茴香挥发油虽然也有一定的抗氧化作用,但抗氧化效果不明显,这可能与强化保存期间高温造成挥发性成分的挥发损失有关,具体原因尚需进一步研究。八角茴香乙酸乙酯提取物的抗氧化效果较好,添加量为 $w = 0.08\%$ 的抗氧化效果优于 $w = 0.02\%$ 的 BHA,添加量为 $w = 0.10\%$ 的抗氧化效果优于 $w = 0.02\%$ 的 BHT,与缪晓平等人^[7]的结果基本一致。

八角茴香提取物具有广泛的药理活性^[8]及抗氧化性^[7,9],尤其是乙醇提取物对自由基的清除效果明显,稳定性好,将其开发作为天然抗氧化物用于食品工业具有良好的市场前景。

参考文献:

- [1] 王琴,蒋林,温其标.八角茴香的研究进展[J].中国调味品,2005(5):13-16.
- [2] 王同禹,田玉红,周小柳.八角茴香水溶性挥发成分的抑菌活性研究[J].中国调味品,2010(6):46-49.
- [3] 郭朝辉,张西玲,谢楠,等.中药作为防腐剂的实验研究(I)——4种中药挥发油的体外抑菌作用[J].甘肃中医学院学报,2002,19(2):16-17.
- [4] 梁振益,王军,陈祎平,等.桉树叶不同提取物对自由基的清除能力研究[J].食品科技,2009,34(5):204-206.
- [5] 梁振益,吴娟.薄荷提取物的氧化性能的研究[J].中国油脂,2008(2):26-28.
- [6] 中国标准出版社第1编辑室.粮油标准汇编[M].北京:中国标准出版社,2005:34-35.
- [7] 缪晓平,何泳欣,邓开野.八角茴香提取物抗氧化的研究[J].中国调味品,2010(8):56-58.
- [8] 尉玲芬.八角茴香提取液抑菌效果的药理研究[J].海峡药学,2011,23(4):45-47.
- [9] 杜丹,王晨,艾凤伟,等.微波提取八角茴香挥发油的工艺及抗氧化活性研究[J].吉林中医药,2011,31(5):466-468.

Oxidation Resistance of the Extracts from *Illicium verum* Hook. f.

XIE Dong-hui

(Hainan Provincial Products Quality Supervision and Inspection Institute, Haikou 570203, China)

Abstract: Star anise (*Illicium verum* Hook. f.), an important source of natural anti-oxidants, was extracted with solvents of water, ethanol, acetone and n-butanol, respectively. The extracts were determined in free radical scavenging activity by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay. The volatile oil and the ethyl acetate extract from these extracts were used as antioxidants and added into the lard quantitatively, and the peroxide value (POV) of the lard stored for a given time was measured to compare the influence of different rates of the volatile oil and the ethyl acetate extract on oxidation resistance of the lard. The results showed that the extracts varied in free radical scavenging activity which was the highest in the ethanol extract with the order of ethanol > n-butanol > acetone > water under the same concentration. The volatile oil was low in anti-oxidative activity while the ethyl acetate extract had very high anti-oxidative activity. The ethyl acetate extract was higher in oxidation resistance when added into the lard at a rate of 0.10% (w) than the butylated hydroxytoluene (BHT) at a rate of 0.02% (w), and had higher anti-oxidative activity when added at a higher rate.

Key words: star anise extract; DPPH free radical; antioxidant activity