

苦荞黄酮抗氧化作用的研究

李 丹 , 肖 刚 , 丁 霄 霖

(无锡轻工大学食品学院 , 江苏无锡 214036)

摘 要 : 苦荞黄酮对猪油和亚油酸的抗氧化效果不同 . 在猪油体系中 , 含槲皮素较多的苦荞黄酮抗氧化作用较强 ; 在亚油酸体系中 , 苦荞黄酮各组分协同抗氧化效果较好 .

关键词 : 苦荞 , 黄酮 , 生物活性 , 抗氧化

中图分类号 S 517

文献标识码 : A

Study on Antioxidant Effect of Tartary Buckwheat Flavonoid

LI Dan , XIAO Gang , DING Xiao-lin

(School of Food Science and Technology , Wuxi University of Light Industry , Wuxi 214036 , China)

Abstract : The flavonoid of tartary buckwheat showed different antioxidant effects in lard and linoleic acid . The flavonoid of tartary buckwheat with high quercetin content made a good antioxidant result in lard system . The flavonoid of tartary buckwheat with different components proved to be an excellent cooperative result in linoleic acid system .

Key words : Tartary Buckwheat ; flavonoid ; bioactivity ; antioxidation

抗氧化剂在阻止食品风味和营养品质劣化方面起着十分重要的作用 . 抗氧化剂也可以减弱一些疾病引起的组织损伤^[1,2] . 合成抗氧化剂被广泛用于食品添加剂 , 但是它们可能存在的毒性以及在降解过程中可能形成致癌物质促使人们一直努力寻找效果良好的天然抗氧化剂 .

荞麦中含有较多的黄酮类化合物 . M. Watanabe^[3]等和 R. Przybylski 等^[4]均发现甜荞种子的醇提取物表现出较高的抗氧化活性 . 苦荞是中国特有的荞麦品种 , 其黄酮类化合物的含量是甜荞的 30 倍左右 . 苦荞黄酮所表现出的生理功能大多是基于其抗氧化作用 .

黄酮或酚性化合物一直是人们所关注的天然

抗氧化剂之一 . 黄酮类化合物具有各种不同取代情况的酚羟基 , 分子中心的 α, β 不饱和吡喃酮使其表现出一定的抗氧化活性 . 对于黄酮类化合物在食用油脂中的抗氧化效果已经进行了大量的研究 . 但是 , 不同的研究者往往仅以一种实验体系来测定其抗氧化特性 , 这样就难以全面体现黄酮类化合物的生物学意义 . 对于任何一种抗氧化剂的评估都与相应的试验体系紧密相关 , 所以需用多种体系相互补充来研究 , 从而搞清每种天然或合成化合物在不同体系的真实效应^[5] .

作者的目的在于研究苦荞黄酮在两种脂类体系中的抗氧化效果 .

收稿日期 2000 - 03 - 29 ; 修订日期 2000 - 11 - 07 .

作者简介 : 李 丹 (1972 -) , 男 , 内蒙古赤峰人 , 食品科学博士研究生 .

万方数据

1 材料与方法

1.1 试验材料

苦荞分别购自山西晋城和四川西昌 ;甜荞购自吉林通榆 ;芦丁购自上海试剂二厂 ;槲皮素购自中国预防医学科学院劳卫所 ;茶多酚购自无锡新世纪生物工程有限公司。

1.2 荞麦黄酮的分离

荞麦粉用乙醇索氏抽提至回流液无色后 ,将提取液减压浓缩至适当的体积。

1.3 黄酮的定量

1.3.1 苦荞粉黄酮组成和含量

美国 Varian 公司 5000 型高效液相色谱仪 ,UV-100 型紫外检测器 ,SP 型记录积分仪 ,Supelcosil™ LC-18-DB (25 cm×4.6 mm 5 μm)反相色谱柱。

洗脱条件为 :0~10 min 45%(体积分数)甲醇和 55%(体积分数)乙酸溶液(乙酸体积分数为 1%);10 min 以后为 65% 甲醇(体积分数)和 35%(体积分数)乙酸溶液(乙酸体积分数为 1%)。检测波长为 350 nm。将苦荞粉黄酮乙醇粗提液过 0.45 μm 微孔滤膜 ,进样量 10 μL ,采用外标法定量。

1.3.2 苦荞粉总黄酮测定

准确吸取一定量样品液置于 25 mL 容量瓶 ,用 30% 乙醇补充至 10 mL。先精确加 5% 的亚硝酸钠溶液 1.0 mL ,摇匀 ,放置 6 min ;次加 10% 硝酸铝溶液 1.0 mL ,摇匀 ,放置 6 min ;再加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 10 mL ,用蒸馏水稀释至刻度 ,振摇 ,放置 15 min。以不加样品为参比 ,用分光光度计在 510 nm 波长处测定吸光度。

标准曲线的制作 :准确称取芦丁标准品(120 ℃ 干燥至恒重)109.1 mg 置于 100 mL 容量瓶中 ,加 60% 乙醇适量 ,微热使溶解 ,待凉后加 60% 乙醇稀释至刻度 ,摇匀。准确吸取此溶液 10 mL 置于 50 mL 容量瓶中 ,加 30% 乙醇稀释至刻度 ,摇匀 ,备用(无水芦丁质量浓度为 0.218 mg/mL)。准确吸取上述母液 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 和 6.0 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中 ,依前述方法进行比色测定 ,标准曲线见图 1。

1.4 抗氧化试验

1.4.1 猪油体系 将新鲜炼制的猪油 2.5 g 放入脂肪酸败仪的样品瓶中 ,再加黄酮化合物乙醇溶液 ,在脂肪酸败仪 Rancimat-617(瑞士生产)上测定。根据记录曲线到达拐点时的时间长短判断其抗氧化性能的强弱。测定条件为温度 110 ℃ ,空气流量

20 L/h。

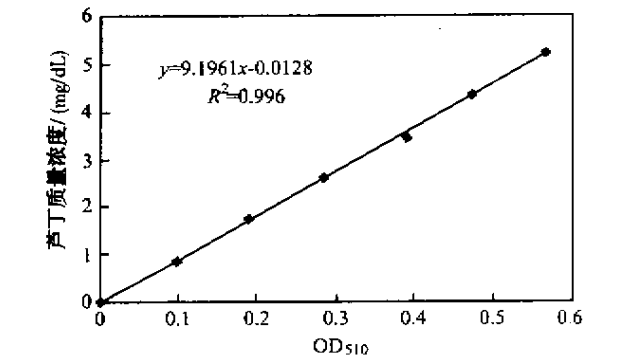


图 1 芦丁标准曲线

Fig.1 Standard curve of rutin

1.4.2 亚油酸体系^[6] 取 2 mL 已溶解于无水乙醇的黄酮 ,加入 2 mL 体积分数为 2.51% 的亚油酸无水乙醇溶液 4 mL 0.05 mol/L pH 7.0 的磷酸盐缓冲液 2 mL 蒸馏水 ,密闭后放在暗处并保持 40 ℃ 恒温。空白不加黄酮 ,其余处理步骤同上。取 0.1 mL 这种混合溶液 ,加入 9.7 mL 体积分数为 75% 的乙醇和 0.1 mL 体积分数为 30% 的硫氰酸铵 ,再加入 0.1 mL 0.02 mol/L 已溶解于体积分数为 3.5% 盐酸中的氯化亚铁 ,准确反应 3 min 后 ,在 500 nm 测定吸光度。以后 ,每隔 24 h 就进行一次测定。则氧化指数为

$$OI(氧化指数) = \frac{A_t}{A_0}$$

式中 A_t 为反应时间为 t 时刻的吸光度 , A_0 为初始吸光度。

2 结果与讨论

2 种不同产地的苦荞 ,其种子粉中的黄酮类化合物均由槲皮素-3-葡萄糖芸香糖甙、槲皮素-3-芸香糖甙(芦丁)、山奈酚-3-芸香糖甙和槲皮素等 4 种主要成分组成。并且其比例基本一致 ,以糖苷形式为主。芦丁含量最高 ,大约占 4 种黄酮化合物的 85% 以上。

表 1 苦荞粉乙醇粗提液黄酮的组成和质量浓度
Tab.1 Flavanoid composition and amount of ethanolic extract of tartary buckwheat flour

品种	mg/mL			
	槲皮素-3-葡萄糖芸香糖甙	槲皮素-3-芸香糖甙	山奈酚-3-芸香糖甙	槲皮素
四川苦荞	0.2844	4.5583	0.3562	0.1105
山西苦荞	0.2396	4.2116	0.3564	0.1160

甜荞种子中的黄酮类化合物与苦荞有所不同 ,主要为儿茶素和芦丁 ,也含有少量的槲皮素和栲皮

素.有报道说,儿茶素的含量和抗氧化活性在甜荞中均高于芦丁^[7].

基于此,在比较苦荞黄酮、甜荞黄酮、茶多酚的抗氧化性质时,采用了常用的分光光度法来定量它们的总黄酮含量.

由于黄酮类抗氧化剂主要是通过酚羟基与氧自由基反应,形成共振稳定的半醌式自由基而中断链式反应的,因此共振半醌式自由基的稳定性与抗氧化剂活性成正相关.所以,抗氧化剂形成半醌式自由基前后的生成热(简称 HOF)之差(ΔHOF)是最好的衡量其活性的理论参数. ΔHOF 越低说明自由基越稳定,相应的抗氧化剂活性越强.

从黄酮类抗氧化剂结构上分析,B 环酚羟基与 A 环酚羟基有两点差别.首先前者的两个羟基多处于邻位,而后者多处于间位.显然邻位上羟基被脱氢产生自由基后可借助形成分子内氢键得以稳定,因而抗氧化活性更高;而且,邻位羟基的自由基可通过共振形成邻苯醌,这也可降低其内能从而提高自由基的稳定性,而间位酚羟基不具备这两种稳定机制.其次,A 环与 C 环的共轭较好,从理论上分析色原酮类 C 环的吸电子性质使 A 环上羟基的 O—H 键能增大,不利于 H 的解离,因而降低 A 环上羟基的活性,而与 C 环共轭较差的 B 环受这种影响较小.儿茶素的 C 环由于具有一定的推电子性质,故 A 环酚羟基反而得到一定的活化.总起来看 A 环与 B 环的这两点差别可能是导致 B 环羟基活性高的原因^[8].黄酮类化合物所表现出的抗氧化活性在一些体系可能是以上因素综合作用的结果,而在另外一些体系则有可能是主要某一因素起作用的结果.

用 AM1(Austin Model 1)法计算了槲皮素、山奈酚和儿茶素(图 2)B 环羟基的 ΔHOF 值,结果为:槲皮素 3'-OH 133.28 kJ/mol、4'-OH 133.03 kJ/mol;山奈酚 4'-OH 160.78 kJ/mol;儿茶素 3'-OH 130.09 kJ/mol、4'-OH 134.92 kJ/mol^[8,9].从理论上可以推测出,槲皮素和儿茶素的抗氧化活性应高于山奈酚.

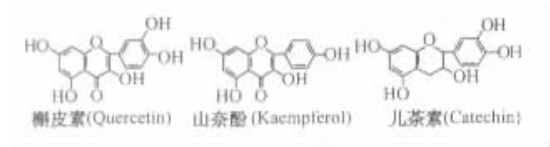


图 2 荞麦 3 种主要黄酮苷元的结构

Fig. 2 Molecular structure of flavonoid aglucone of buckwheat

图 3 的结果表明了油脂允许使用抗氧化剂的添加量 0.02% 的水平上,各样品对猪油的抗氧化效果.芦丁抑制猪油自动氧化的能力比槲皮素要弱

得多,从 RANCIMAT 曲线上得到的诱导期也仅比空白对照延长 50 min,因此在实际上没有使用价值.芦丁和槲皮素分子结构上的差别仅仅是 3-OH 被芸香糖取代,这说明在阻止猪油自动氧化中的 3-OH 和 C₄ 位羰基可能起着更重要的作用.槲皮素抑制猪油自动氧化的效果较好,其诱导期接近油脂常用抗氧化剂茶多酚.荞麦黄酮在猪油体系中抗氧化活性均较低,这可能与芦丁含量多、槲皮素含量少有关.山西苦荞黄酮的槲皮素含量较四川苦荞黄酮略高,所以诱导期也略长.吉林甜荞黄酮由于含有一定数量的儿茶素,其抗氧化效果较 2 种苦荞黄酮略好.

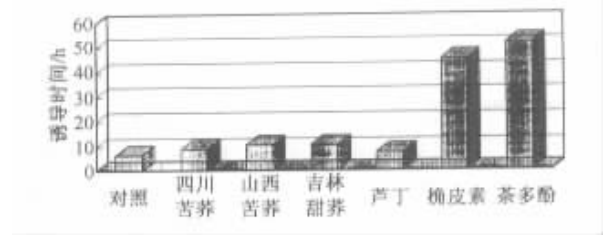


图 3 0.02% 添加量的黄酮对猪油的抗氧化效果
Fig. 3 Antioxidant effect of buckwheat flavonoid of 0.02% concentration in lard system

图 4 出示了不同添加量的荞麦黄酮和在猪油体系中抗氧化效果.虽然一些添加量超过了常用油脂抗氧化剂的范围,但是从研究角度上应是可行的.随着添加量的增加,其诱导时间均有不同程度的增加.但是,其抗氧化效果并不显著.在添加量增加一倍时,即使相对抗氧化活性较好的吉林甜荞黄酮的诱导时间也不超过 5 h.由此表明,荞麦黄酮阻止猪油自动氧化的效果较差,苦荞黄酮在猪油体系中的抗氧化作用取决于其槲皮素含量.

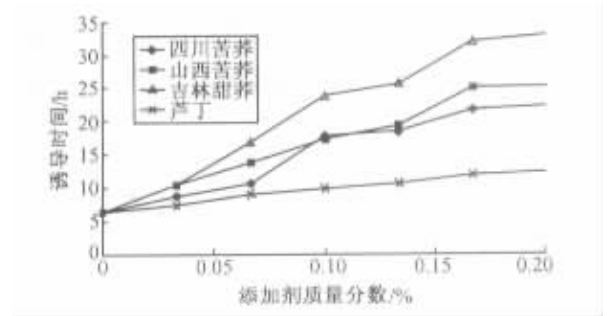


图 4 不同添加量的荞麦黄酮对猪油的抗氧化效果
Fig. 4 Antioxidant effect of buckwheat flavonoid of different concentration in lard system

图 5 显示了荞麦黄酮在亚油酸体系中的抗氧化效果.与猪油体系不同,荞麦黄酮对亚油酸表现出了较好的抗氧化作用,24 h 以后与不加抗氧化剂的对照相比效果十分明显.其中 2 种苦荞黄酮的抗氧化作用最好,甜荞次之.说明在亚油酸体系中,苦

荞黄酮多种组分的协同抗氧化作用要好于芦丁。

苦荞黄酮在不同的体系中表现出不同的抗氧化效果,可能涉及不同的作用机制,有待于在实际应用中进一步探讨。

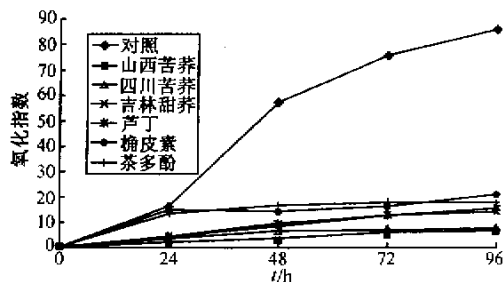


图 5 荞麦黄酮在亚油酸体系中的抗氧化效果

Fig. 5 Antioxidant effect of buckwheat flavonoid in linoleic acid system

参考文献:

- [1] SHAHIDI F, JANITHA P K, WANASANDURA P D. Phenolic Antioxidants[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1992, 32: 67 ~ 103.
- [2] LABUZA T D. Kinetics of Lipid Oxidation in Foods[J]. *Crit Rev Food Technol*, 1971, 7: 355 ~ 395.
- [3] WATANABE M, SATO A, OSAWA R. Antioxidative Activity of Buckwheat Seed Extracts and its rapid Estimate for Evaluation of Breeding Material[J]. *J Jpn Soc Food Sci Technol*, 1995, 42: 649 ~ 655.
- [4] PRZYBYLSKI R, LEE Y C, ESKIN N A M. Antioxidant and Radical-Scavenging Activities of Buckwheat Seed Components[J]. *JAOCS*, 1998, 75(11): 1595 ~ 1601.
- [5] 胡 春. 黄酮类化合物抗氧化性质的研究[D]. 无锡: 无锡轻工大学, 1994.
- [6] CONCEPCION S M, JOSE A L, FULGENCIO S C. Free Radical Scavenging Capacity and Inhibition of Lipid Oxidation of Wines, Grape Juices and Related Polyphenolic Constituents[J]. *Food Research International*, 1999, 32: 407 ~ 412.
- [7] MITSURU Watanabe. Catechins as Antioxidants from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Groats[J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 839 ~ 845.
- [8] 张红雨. 黄酮类抗氧化剂结构-活性关系的理论解释[J]. 中国科学(B辑), 1999, 29(1): 91 ~ 96.
- [9] ZHANG Hong-yu. Selection of Theoretical Parameter Characterizing Scavenging Activity of Antioxidants on Free Radical[J]. *JAOCS*, 1998, 75(12): 1705 ~ 1709.