

文章编号: 1001-411X(2001)04-0088-04

沙田柚果皮精油、中果皮和果核提取物的 抗氧化活性研究

吴青, 黄晓钰, 雷红涛, 谌国莲

(华南农业大学食品科学系, 广东 广州 510642)

摘要: 用硫氰酸铁法测定了沙田柚外果皮精油、中果皮和果核提取物在亚油酸体系中的抗氧化活性, 发现沙田柚中果皮的乙醚提取物和果核的乙酸乙酯提取物对亚油酸的过氧化抑制率高达 99.17% 和 92.55%, 它们的抗氧化活性前者高于丁基羟基茴香醚(BHA)而后者与 BHA 相当; 果皮精油对亚油酸的过氧化抑制率为 55.24%; 研究证明中果皮乙醚提取物和果核乙酸乙酯提取物的抗氧化活性与所含的酚类物质有关。

关键词: 沙田柚; 精油; 中果皮; 果核; 抗氧化活性

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

由于有的合成抗氧化剂的毒性和致癌作用^[1], 近年来研究开发天然抗氧化剂成为食品科学领域的热点。沙田柚系芸香科柑桔属, 为我国特有的著名柚品种; 近年来沙田柚种植发展迅速, 广东梅州已成为全国最大的沙田柚生产基地。沙田柚外果皮富含精油, 中果皮富含果胶, 果核又富含油脂, 因此, 有效地利用沙田柚食用后废弃的部分, 对资源的充分利用、减少环境污染和提高沙田柚经济价值具有重要意义。

关于一些柑桔类果实果皮精油、果核的抗氧化活性最近已有报道, Chio 等人^[2]研究了 34 种柑桔精油对自由基的清除活性, 发现所有的精油对自由基有 17.7%~64.0% 的清除效果。Bocco 等人^[3]研究了 7 种柑桔果实果核和整个果皮的甲醇提取物在香茅醛体系中的抗氧化活性, 发现桔、甜橙和柚果核的甲醇提取物有较高的抗氧化活性。但是, 有关我国特有品种沙田柚精油和果核以及中果皮的抗氧化活性研究报道较少, 为此, 本研究采用硫氰酸铁法来测定沙田柚精油、果核和中果皮提取物对亚油酸的抗氧化活性, 并测定果核和中果皮提取物中的酚类物质含量, 以期从沙田柚鲜食后废弃的大量不食用部分中开发天然抗氧化剂提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

沙田柚购于华南农业大学三角市市场; 花生油购自广州五山农贸市场; 亚油酸为化学纯, 上海来泽精细化学品厂生产; 丁基羟基茴香醚(BHA)为食用级; 没食子酸为分析纯, Sigma 公司产品; Folin 试剂根

据鞠志国^[4]介绍的方法自行配制; 试验所用其他试剂均为分析纯。

1.2 外果皮、中果皮和果核样品的制备

洗净沙田柚果实表面, 擦干, 将沙田柚的果皮(包括外果皮和中果皮)剥下, 用刀切成 1.0~1.5 cm 宽的长条形, 用刀慢慢削下白色部分的中果皮, 将中果皮置于 50℃ 的烘箱中干燥, 用 Philips HR 2838/39 捣碎机(珠海经济特区飞利浦家电有限公司)粉碎, 过 40 目筛, 贮存于广口瓶中; 把削下的黄色外果皮迅速装入放于冰块中的塑料袋里, 并尽快进行精油制取; 沙田柚的果核(包括外皮)在 50℃ 的烘箱中干燥, 用 Philips 捣碎机粉碎, 过 40 目筛, 贮存于广口瓶中。

1.3 沙田柚外果皮精油的制备及中果皮和果核提取物的制备

(1)外果皮精油制备: 根据 Sawamura 等人^[5]介绍的冷压法射出外果皮所含的精油, 具体方法如下: 用双手手指一点一点弯折外果皮使油泡破裂, 让精油射出, 从置于含饱和氯化钠溶液的玻璃离心管管口的漏斗进入离心管中(离心管放于冰浴里), 用 TDL-5 离心机(北京医用离心机厂)在 4 000 r/min 下离心 10 min, 用吸管吸出上层液, 加入无水硫酸钠脱水, 于 5℃ 冰箱中放置过夜, 于 4 000 r/min 下再离心 10 min, 得冷压精油。

(2)中果皮提取物制备: 称取 5 份 10 g 粉碎后的中果皮于三角瓶中, 分别加入甲醇、丙酮、乙酸乙酯和乙醚各 100 mL, 用胶塞塞住瓶口, 用 HQL150C 恒温摇床(中国科学院武汉科学仪器厂)于 30℃、150 r/min 下振摇提取 2 h; 提取液用慢速定量滤纸(杭州新华纸业公司)过滤, 残渣在相同条件下再提取 1 次,

提取液过滤, 合并滤液, 滤液用 RE-52A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂) 于 45 ℃ 下真空蒸发去除溶剂, 称质量, 计算提取得率[得率= 提取物质量/ 原料质量×100%].

(3) 果核提取物制备: 称取 10 g 粉碎后的果核于索氏提取器中, 先用正己烷提取出油脂后, 再按极性增加的顺序分别用乙醚、乙酸乙酯、丙酮和甲醇各 200 mL 逐次提取 24 h, 每种溶剂提取完后, 将装有样品的滤纸筒取出置于通风橱中挥干溶剂, 再进行下一种溶剂的提取; 提取液于 45 ℃ 下真空蒸发去除溶剂, 称质量, 计算提取得率.

1.4 抗氧化试验

抗氧化试验采用 Kikuzaki 等人^[6]介绍的方法, 并作了适当的改变, 用无水乙醇溶解中果皮和果核的各溶剂提取物和外果皮精油, 制成 1 mg/mL 的样品溶液; 在 10 mL 刻度试管中加入 2 mL 样品溶液或 1 mg/mL 的 BHA 无水乙醇溶液 2 mL, 再加入 2 mL 含亚油酸 (φ=2.51%) 的 φ 为 99.5% 乙醇溶液、4 mL 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 和 2 mL 蒸馏水; 对照管为在 10 mL 刻度试管中加入 2 mL 无水乙醇、2 mL 亚油酸溶液、4 mL 磷酸盐缓冲液和 2 mL 蒸馏水; 各试管用黑胶袋罩住, 于 40 ℃ 恒温箱中进行加速氧化试验, 于 96 h 后取样, 用硫氰酸铁法测定各提取物和精油的抗氧化活性.

1.5 化学分析

(1) 基本组成分析: 沙田柚中果皮和果核的基本组成成分的测定采用《食品生理想化检验标准手册》^[7] 所介绍的方法. 水分含量用常压烘箱干燥法测定, 蛋白质含量 (N×6.25) 用凯氏定氮法测定, 脂质含量用索氏提取法测定 (正己烷作溶剂), 灰分含

量用高温灰化法 (550 ℃) 测定, 碳水化合物含量则由下列公式计算而得: 碳水化合物含量=[1-(水分+蛋白质+脂质+灰分)]×100%.

(2) 硫氰酸铁法测定抗氧化活性: 从抗氧化试验的刻度试管中取出 0.1 mL 混合液, 加入 9.7 mL φ=75% 乙醇和 0.1 mL 300 g/L 硫氰酸铵溶液, 再加入 0.1 mL 含 0.02 mol/L 氯化亚铁的 φ=3.5% 盐酸溶液后, 准确计时 3 min, 于 500 nm 处测定形成的红色化合物的吸光度; 用下列公式计算各提取物和精油的抗氧化活性 (antioxidant activity, AA) 或称对亚油酸过氧化的抑制率 (inhibition of peroxidation):

AA 或过氧化抑制率=[1-(加入提取物的样品在 96 h 的吸光度/对照在 96 h 的吸光度)]×100%.

(3) 总酚类物质含量测定: 总酚类物质含量测定采用 Coseteng 等人^[8]介绍的方法, 即首先将各提取物用无水乙醇稀释至所获吸光度在标准物 (没食子酸, 20~60 μg/mL) 的吸光度之间, 吸取 1 mL 提取物稀释液于 10 mL 蒸馏水中, 加入 2 mL Folin 试剂, 混合均匀, 5 min 后加入 2 mL 饱和碳酸钠溶液, 振摇, 放置 1 h 后于 640 nm 测定溶液的吸光度; 若溶液混浊, 可在 8 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液测定吸光度; 同时绘制没食子酸的标准曲线, 由标准曲线计算酚类物质含量.

2 结果与分析

2.1 沙田柚果皮和果核的基本组成成分

由表 1 看出, 中果皮的主要成分为碳水化合物, 蛋白质和脂质含量很少, 其中脂质含量 (w) 仅有 0.91%, 而果核中含有非常高量的脂质和蛋白质, 其中脂质含量 w 达 44.94%.

表 1 沙田柚中果皮和果核的基本组成成分质量分数 (x±SD)

Tab. 1 Content of primary constituents in mesocarp and seed of Shatian Shaddock					%
样品 samples	水分 moisture	蛋白质 protein	脂质 lipid	灰分 ash	碳水化合物 ¹⁾ carbohydrate
中果皮 mesocarp	3.54±0.15	3.90±0.11	0.91±0.032	2.16±0.067	89.94
果核 seed	4.93±0.14	22.42±0.34	44.94±0.92	3.62±0.22	24.42

1) 由差值计算而得

2.2 沙田柚中果皮和果核提取物的性状和得率

从表 2 看出, 中果皮和果核的甲醇提取物都呈棕黄色液态, 而各自的其他 3 种溶剂提取物均为淡黄色固态. 从表中还看出, 中果皮的不同溶剂提取物的得率随溶剂极性的增加而增加, 果核的不同溶剂提取物的得率在乙醚和乙酸乙酯间随溶剂极性的

增加而减少, 它们各自的得率均高于相应的中果皮的得率, 这与二者所含成分不同有关, 果核中主要含油脂和其他脂溶性物质 (表 1), 因而表现为极性低的溶剂提取得率高; 果核经乙醚和乙酸乙酯逐次提取后, 残渣用丙酮和甲醇提取的得率又随溶剂极性的增加而增加, 但提取得率都低于相应中果皮的得率.

表 2 用各种溶剂所得沙田柚中果皮和果核提取物的性状和得率($\bar{x} \pm SD$)

Tab. 2 Character and yield of extracts obtained from mesocarp and seed of Shatian Shaddock

溶剂 solvents	中果皮 mesocarp		果核 seed	
	性状 character	得率 yield/ %	性状 character	得率 yield/ %
乙醚 diethyl ether(DE)	淡黄色固态	0.46±0.021	黄色固态	1.54±0.11
乙酸乙酯 ethyl acetate (EA)	淡黄色固态	0.53±0.070	黄色固态	1.22±0.17
丙酮 acetone (AT)	淡黄色固态	2.09±0.32	黄色固态	0.98±0.14
甲醇 methanol (ME)	棕黄色浓稠态	53.92±2.59	棕黄色液态	9.73±0.23

2.3 沙田柚果皮精油、中果皮和果核提取物的抗氧化活性

中果皮的4种溶剂提取物均表现出抗氧化活性(图 1),对亚油酸过氧化的抑制率为 2.79% ~ 99.17%,抗氧化活性降低的顺序是乙醚提取物> 乙酸乙酯提取物> 丙酮提取物> 甲醇提取物;乙醚提取物在 4 种提取物中抗氧化活性最高,对亚油酸过氧化的抑制率接近 100%,比同量 BHA 的抗氧化活性还高,两者相比达显著水平;其他 3 种提取物的抗氧化活性均显著低于乙醚提取物和 BHA,乙酸乙酯提取物显示一定的抗氧化活性,而丙酮和甲醇提取

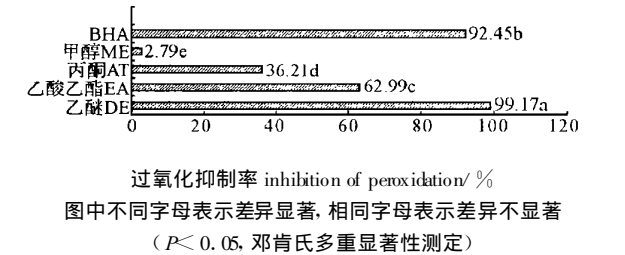


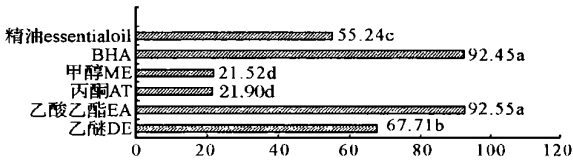
图 1 用硫氰酸铁法测定的中果皮各提取物的抗氧化活性
Fig.1 Antioxidant activity of extracts from mesocarp determined by ferric thiocyanate method

物的抗氧化活性较低,其中甲醇提取物的抗氧化活性最低,对亚油酸过氧化的抑制率仅有 3%左右.

从图 2 可看出,精油和果核的 4 种溶剂提取物均表现出抗氧化活性,对亚油酸过氧化的抑制率为 21.52% ~ 92.55%,抗氧化活性降低的顺序是乙酸乙酯提取物> 乙醚提取物> 精油> 丙酮提取物、甲醇提取物;乙酸乙酯果核提取物的抗氧化活性最高,与 BHA 相当,两者无显著差别;乙醚提取物和精油表现出一定的抗氧化活性,对亚油酸过氧化抑制率超过了 50%以上;丙酮和甲醇提取物的抗氧化活性较低,对亚油酸过氧化的抑制率仅有 20%左右.

2.4 沙田柚中果皮和果核提取物中的总酚类物质含量

中果皮和果核的 4 种溶剂提取物都含有一定的酚类物质(表 3),含量在 5.28 ~ 51.65 mg/g 之间;在中果皮的 4 种溶剂提取物中,乙醚提取物含最多的酚类物质;在果核的 4 种溶剂提取物中,乙酸乙酯提取物含最多的酚类物质



过氧化抑制率 inhibition of peroxidation / %
图中不同字母表示差异显著,相同字母表示差异不显著
($P < 0.05$, 邓肯氏多重显著性测定)

图 2 用硫氰酸铁法测定的果核各提取物和精油的抗氧化活性
Fig.2 Antioxidant activity of extracts from seed and essential oil from flavelo determined by ferric thiocyanate method

表 3 沙田柚中果皮和果核提取物中的总酚类物质质量分数($\bar{x} \pm SD$)

Tab. 3 Total phenolic content in extracts from mesocarp and seed of Shatian Shaddock $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		
样品 samples	中果皮 mesocarp	果核 seed
乙醚提取物 DE extract	51.65 ± 1.72	25.42 ± 0.95
乙酸乙酯提取物 EA extract	29.63 ± 0.62	36.16 ± 0.43
丙酮提取物 AT extract	29.01 ± 0.58	26.53 ± 0.25
甲醇提取物 MA extract	15.14 ± 0.19	5.84 ± 0.17

3 讨论

本研究发现沙田柚中果皮的乙醚提取物和果核的乙酸乙酯提取物在亚油酸体系中显示出较高的抗氧化活性,其抗氧化活性前者高于 BHA,而后者与 BHA 相当;在对中果皮和果核提取物所含酚类物质的分析中发现中果皮乙醚提取物和果核乙酸乙酯提取物在各自的 4 种溶剂提取物中含最高量的酚类物质,这表明乙醚和乙酸乙酯分别是提取沙田柚中果皮和果核中酚类物质的最佳提取溶剂,各自提取物所具有的高的抗氧化活性是由所含的酚类物质所赋予;这些结果与许多文献报道的从不同材料中提取酚类物质的有效提取溶剂有乙醇、甲醇、乙醚和乙酸乙酯^[9]以及植物中许多酚类物质具有抗氧化活性的结论^[9,10]相一致.关于酚类物质具有抑制脂质发生过氧化作用的机理,大量研究表明酚类物质可捕捉

食品脂质中不饱和脂肪酸在自动氧化过程中形成的过氧化物 ROO[·]自由基,从而可有效抑制食品中脂质的氧化^[1]。

本研究还发现沙田柚外果皮精油也显示一定的抗氧化活性,其在亚油酸体系中的活性相当于同量 BHA 的 60%。林正奎等^[12]曾分析了沙田柚果皮冷压精油的成分,发现主要含柠檬烯[*w*(柠檬烯)=95%],*w*(月桂烯)为 1.7%, γ -蒎品烯含量极低,未检测到蒎品油烯和香叶醇;而 Ruberto 等^[13]在对植物油所含成分的抗氧化活性研究中发现多数单蒎类碳氢化合物表现出明显的对脂质体系的保护作用,其中以蒎品油烯、 α -和 γ -蒎品烯的活性最高,从这一结果分析沙田柚果皮精油活性较低的原因可能因其含非常低量的 γ -蒎品烯和不含蒎品油烯和香叶醇所造成。

今后应对沙田柚不食用部分作为潜在天然抗氧化剂的来源加以进一步的开发利用研究,应对它们在加工食品和在生物体系中的抗氧化活性作进一步的探讨,对中果皮和果核所含的酚类物质进行鉴定,以期为开发利用沙田柚不可食部分提供理论依据。

参考文献:

[1] BRANEN A L. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene[J] . J Am Oil Chem Soc, 1975, 52: 59—63.
[2] CHIO H S, SONG H S, UKEDA H, et al. Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1, 1-diphenyl 1-2-picrylhydrazyl [J] . J Agric

Food Chem, 2000, 48: 4 156—4 161.
[3] BOCCO A, CUVELIER M E, RICHARD H, et al. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts[J] . J Am Oil Chem Soc, 1998, 46: 2 123—2 129.
[4] 鞠志国. 一种改进的酚类物质测定方法[J] . 莱阳农学院学报, 1989, 6(2): 48—51.
[5] SAWAMURA M, KURIYAMA T. Quantitative determination of volatile constituents in the pummelo (*Citrus grandis* Osbeck foma Tosa-buntan)[J] . J Agric Food Chem, 1988, 36: 567—569.
[6] KIKUZAKI H, NAKATARI N. Antioxidant effects of some ginger constituents[J] . J Food Sci, 1993, 58: 1 407—1 410.
[7] 戴 寅,王叔淳,杨惠芬,等. 食品卫生理化检验标准手册[S] . 第 2 版. 北京: 中国标准出版社, 1998. 38—53.
[8] COSETENG M Y, LEE C Y. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning[J] . J Food Sci, 1987, 52: 985—989.
[9] BONILLA F, MAYEN M, MERIDA J, et al. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants[J] . Food Chem, 1999, 66: 209—215.
[10] WANASUNDARA U N, SHAHIDI F. Stabilization of seal blubber and menhaden oils with green tea catechins[J] . J Am Oil Chem Soc, 1996, 73: 1 183—1 190.
[11] GIESE J. Antioxidants: tools for preventing lipid oxidation [J] . Food Technology, 1996, 50(11): 73—81.
[12] 林正奎,华映芳. 中国特有沙田柚果皮精油化学成分研究[J] . 植物学报, 1989, 31(1): 73—76.
[13] RUBERTO G, BARATTA M T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems [J] . Food Chem, 2000, 69: 167—174.

Study on Antioxidant Activity of Essential Oil from Flavelo and Extracts of Mesocarp and Seed of Shatian Shaddock

WU Qing, HUANG Xiao-yu, LEI Hong-tao, CHEN Guo-lian
(Dept. of food Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642 China)

Abstract: The antioxidant activity of essential oil from flavelo and extracts from mesocarp and seed of Shatian shaddock in linoleic acid system was investigated by ferric thiocyanate method. The results showed that the inhibition of linoleic acid peroxidation of diethyl ether extract from mesocarp (DEEM) and ethyl acetate extract from seed (EAES) was *w*=99.17% and 92.55% respectively. The antioxidant activity of DEEM was higher than that of BHA and EAES was as high as BHA. The inhibition of linoleic acid peroxidation of essential oil was *w*=55.24%. The study results proved that antioxidant activity of DEEM and EAES was correlated with total phenolic compounds contained in them.

Key words: Shatian shaddock; essential oil; mesocarp; seed; antioxidant activity

【责任编辑 柴 焰】