文章编号:1009-038X(2003)06-0059-05

厚朴的抗氧化性能

付学军, 董新伟, 金海珠
(烟台大学 生物化学系, 山东 烟台 264005)

摘 要: 采用不同极性的溶剂对厚朴粉末进行提取,采用 OSI(Oxidative Stability Instrument)法对提取和分离所得各部分的抗氧化活性作了比较研究。结果发现,用乙酸乙酯提取的厚朴抗氧化剂对猪油、鱼油等油脂具有较强的抗氧化活性且得率较高;没食子酸辛酯(OG)、没食酯酸十二酯(DG)对厚朴抗氧化剂具有较强的协同增效作用. 研究表明,厚朴乙酸乙酯提取物作为抗氧化剂有望应用于食品和医疗保健.

关键词: 厚朴;天然抗氧化剂;鱼油
中图分类号: TS 202.3 **文献标识码**: A

The Antioxidant of *Magnolia officinalis*

FU Xue-jun, DONG Xin-wei, JIN Hai-zhu
(Department of Biochemistry, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract: In this paper, the Hou-Pu (*Magnolia officinalis*) powder was extracted with different solvents. The antioxidative activity of each fraction extracted or isolated from Hou-Pu was tested by OSI method. The result showed that ethyl acetate is the optimal solvent for extraction of Hou-Pu antioxidant; the Hou-Pu antioxidant has strong antioxidative activity to lard and fish oil; OG and DG have remarkable synergism to the Hou-Pu antixidant, and the main effective antioxidant components are magnolol, honokiol and flavonoid. The investigation indicated that Hou-Pu antioxidant has the potenial of being used in foods and in medical care, and it is significant to study and exploit Hou-Pu antioxidant furthermore.

Key words: Hou-Pu (*Magnolia officinalis*); natural antioxidant; fish oil

抗氧化剂是所有能够阻止或延缓氧化过程的物质的总称,在食品、化工、医药及临床上有着广泛的应用. 抗氧化剂不仅可以防止由空气氧化引起的食物腐败及各种不利变化(如褐变或产生"虎皮"),而且还可消除人体有氧代谢中产生的内源性活性氧自由基,阻断过多自由基对人体细胞膜及大分子(如蛋白质、DNA)的损伤,防止炎症及恶性肿瘤的发生[1],因此出现了"抗氧化剂营养"的概念[2]. 另外,人类不断的暴露于多种毒物的侵害中,如烟酒、药物副作用、农药等环境污染. 现已证明,这些有毒物质对人体的损害大多是通过自由基起作用,而抗氧化剂治疗是有效的方法[3].

目前,合成抗氧化剂被广泛应用于食品添加剂,对丁基羟基茴香醚(BHA)、二丁基羟基甲苯

收稿日期:2003-04-28; 修回日期:2003-06-07.
作者简介: 付学军(1968-),女,山东烟台人,讲师,理学硕士.
万方数据

(BHT)、没食子酸丙酯(PG)为 3 种占主导地位的合成抗氧化剂,但是它们可能存在一定的毒性[4~6].许多国家都有过它们导致肿瘤、肾病、发育障碍等疾病的报道[7].此外,BHA 等合成抗氧化剂的耐热性较差,应用受限制.因此筛选高效、安全及耐热性强的天然抗氧化剂显得十分重要.用于抗氧化剂开发的天然资源非常广泛,主要有食品类原料(谷物、油脂、蔬菜、水果)、香辛料、中草药、蛋白质水解物、氨基酸、微生物和藻类等,普遍认同的天然抗氧化剂有 VE、甘草抗氧化物、茶多酚(茶叶提取物)、迷迭香提取物、鼠尾草提取物等[8~12].我国的中草药资源丰富,通过对 700 余种中草药和香辛料的抗氧化性筛选[13],发现厚朴的抗氧化性能较好.厚朴主要成分(质量分数)为[14]:挥发油(主要成分为 β-桉叶醇 eudesmol)1%,厚朴酚(magnolol)及和厚朴酚(honokio)约 5%.以及四氢厚朴酚、异厚朴酚(isomagnolol),此外还含木兰箭毒碱等生物碱约 0.07%,皂苷约0.45%,鞣酸以及微量烟酸等.作者在 700 余种中草药和香蕈料的抗氧化性筛选的基础上采用不同极性的溶剂对厚朴抗氧化有效成分进行提取,再用不同的 pH 碱液进一步提取、分离其中的抗氧化活性成分,并将它与 VE 的抗氧化性进行比较,测定了它们之间的增效协同效应.

1 材料与方法

1.1 原料、仪器及试剂

厚朴原料购于烟台药材采购供应站,并由烟台中医院中医药博士孙喜灵教授鉴定;氧化稳定性自动测定仪:美国 Omnion 公司产品;所用试剂均为 A.R 级.

1.2 实验方法

1.2.1 猪油的制备 市售猪板油,湿法熬制,经 10 层纱布过滤后,置冰箱中备用.

1.2.2 厚朴中抗氧化剂的提取 将厚朴用粉碎机粉碎,各取 15~20 g 粉末用滤纸包好,置于小索氏提取器中,分别用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、无水乙醇提取 8 h 左右,至粉末无色.将提取液用旋转蒸发器减压浓缩(0.05 MPa,水浴温度<90℃,下同)浓缩,然后在真空干燥箱中,于 60~80℃、0.067 MPa 条件下(下同)干燥至棕色浸膏状,计量.

1.2.3 提取物抗氧化活性测定(OSI 法) OSI 法为美国油脂化学家协会规定的标准方法[16],测定温度为 65℃或 100 ℃,连续通入空气,空气流量为 20 L/h.

具体方法:将制备好的猪油(每管 5 g)加入上述厚朴溶剂提取物,加入量为猪油质量(5 g)的 0.04%和 0.08%,各做两个平行试验,同时进行空白对照.

1.2.4 不同 pH 值条件下抗氧化活性比较 分别用 0.5 mol/L $NaHCO_3$ 溶液(pH 8.24),Na_2CO_3 溶液(pH 11.8),NaOH 溶液(pH 13.66)对厚朴乙酸乙酯提取物进一步分离.将浸膏状的提取物置于研钵中,先用 $NaHCO_3$ 溶液作溶剂充分研磨,然后转入分液漏斗加乙酸乙酯萃取,再将萃取液用旋转蒸发器蒸干,称重.提取后的残渣(仍为浸膏状)依次用 Na_2CO_3、NaOH 溶液以同样方法提取.

以 5 g 猪油质量的 0.01%,0.02%,0.04%,0.08%加入 3 种提取物,用 OSI 法进行测定,比较各种提取物的抗氧化活性.

1.2.5 厚朴抗氧化剂与其它抗氧化剂的协同和增效作用比较 将厚朴抗氧化剂与其它抗氧化剂(国标限定浓度)一起加入鱼油中,测抗氧化活性,并与各种抗氧化剂单独作用时的活性进行比较.

2 结果与讨论

2.1 不同溶剂提取厚朴所得抗氧化剂的评价结果

不同极性溶剂提取厚朴粉末所得提取液的颜色均为深棕色,但产率不同.由表 1 可见,4 种溶剂提取后产物的得率大小顺序为:乙酸乙酯>乙醇>石油醚>氯仿

表 1 不同溶剂提取厚朴抗氧化剂的产率*

Tab.1 The extraction rate of Hou-Pu antioxidant with different solvents

编号	提取溶剂	提取时间/h	粉末质量/g	浸膏质量/g	浸膏产率/%
1	石油醚	8	14.20	1.13	8.02
2	氯仿	8	15.10	0.75	5.15
3	乙酸乙酯	8	14.50	2.69	18.52
4	乙醇	8	20.00	2.74	13.72

注:产率 =浸膏质量/粉末质量

将不同溶剂提取物经旋转蒸发器蒸干并真空干燥所得的浸膏用 OSI 法作氧化性评价,选择猪油作试验用油,是因为猪油含天然抗氧化剂很少,对新加入的抗氧化剂的抗氧化强度的测定干扰也较少,适合作为筛选天然抗氧化剂的底物.在反应管中加入 5.00 g 猪油,按国标规定[7,15](天然抗氧化剂使用量在 0.02%~0.10%之间)厚朴不同溶剂提取物选择两种添加量,即猪油质量的 0.04%和 0.08%,测定抗氧化性,所得结果见表 2.表中 P_f

万方数据

值即抗氧化保护系数,表示抗氧化性能的强弱,主要是加入抗氧化剂前后,底物诱导期(IP)长短的比较:P_f=IP(加入氧化剂后)/IP(加入氧化剂前). P_f 值越大,说明底物诱导期越长,猪油越不易被氧化,则抗氧化剂的活性越高.

表 2 可见,厚朴的乙酸乙酯与氯仿提取物均有较强的抗氧化活性,且乙酸乙酯提取物的抗氧化活性最强. 同时由表 1 可见,用乙酸乙酯提取厚朴中抗氧化剂得率最高;氯仿提取物抗氧化活性虽较强,但得率太低(仅为 5.15%),且毒性太大;石油醚与乙醇抗氧化活性相当,乙醇的活性更低一些,但石油醚的得率比乙醇低. 综合抗氧化活性、得率及安全性等因素,确定乙酸乙酯为提取厚朴抗氧化剂的适宜溶剂.

表 2　不同溶剂厚朴提取物的 OSI 评价(P_f 值)

Tab. 2　OSI evalution on Hou-Pu extracted with different solvents

序号	石油醚	氯仿	乙酸乙酯	乙醇
1	3.37	2.61	4.67	3.22
2	3.20	4.31	4.64	2.29
3(添加量 0.04%)	2.91	2.93	3.84	2.93
4	2.58	3.02	3.22	2.55
平均值	3.31	3.63	4.43	2.83
1	4.95	7.04	7.41	3.71
2	5.51	6.68	7.08	4.37
3(添加量 0.08%)	4.56	4.99	6.69	4.78
4	4.00	5.16	5.20	3.51
平均值	5.08	6.37	6.78	4.56

2.2　不同质量分数提取物抗氧化活性的趋势

食品添加剂的使用量需经毒理学试验确定. 在对 BHA,BHT 和其它致癌物联合作用的研究中发现:BHA,BHT 与其它几种抗氧化剂(如 VC,VE 等)一样,对于致癌物的致癌作用既可有抑制作用又可有促进作用,关键取决于抗氧化剂的质量分数、作用时间及致癌作用的靶器官[2]. 这些化合物在高质量分数下会失去抗氧化的活性而表现出促氧化活性. 如生育三烯酚在油脂应用的最适剂量为 150 mg/kg(0.015%),如果质量分数升高为 0.03% 或 0.05%,则抗氧化能力降低[7]. 对 4 种溶剂提取物在质量分数 0.01%～0.08%内的抗氧化活性作了测定,如图 1 所示,它们的活性是依次增加的,没有发现促氧化现象.

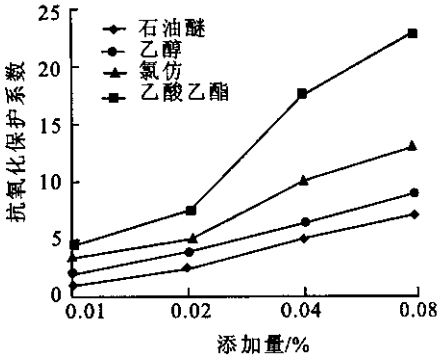


图 1　不同提取物添加量的抗氧化保护系数

Fig. 1　P_f of different indicator of extraction

2.3　碱液提取和评价

已有文献报道,抗氧化活性成分黄酮类、酚类均有一定的酸性,所以将厚朴粉末经乙酸乙酯提取出大多数成分后,再用 pH 值不同的碱液进一步分离提取:先用 $NaHCO_3$ 溶液提取强酸性物质,再用 Na_2CO_3 溶液提取弱酸性物质,后用 NaOH 溶液提取酚类物质,剩余的便是中性和碱性物质. 3 种碱液的提取结果见表 3,碱液提取物的抗氧化评价见表 4.

表 3　不同 pH 碱液提取厚朴乙酸乙酯浸膏的得率

Tab. 3　The extraction rate of Hou-Pu ethyl acetate with alkali liquor at different pH

序号	溶液	提取浸膏质量/g	得率/%
1	$NaHCO_3$(pH<0)	5.32	9.80
2	$NaHCO_3$(pH=6)	0.85	1.57
3	Na_2CO_3	2.16	3.97
4	NaOH	12.48	22.98

表 4　不同碱液提取乙酸乙酯浸膏的 OSI 评价(P_f 值)

Tab. 4　OSI evalution on Hou-Pu ethyl acetate extracted with different alkali liquor

添加量/%	$NaHCO_3$ (pH 6.00)	$NaHCO_3$ (pH<0)	Na_2CO_3 (pH 3.55)	NaOH (pH 4.00)	剩余物
0.04%	6.11	1.10	4.21	2.71	1.45
0.08%	8.71	1.28	6.40	4.74	2.37

由上表可见:$NaHCO_3$ 溶液(pH 6.0)提取物的抗氧化能力强于 Na_2CO_3 溶液提取物,但其提取产率很低. 而 $NaHCO_3$ 溶液(pH<0)提取物的产率要比前两者高,但抗氧化能力很低. 说明 $NaHCO_3$ 溶液提取物大部分是抗氧化活性较低的物质,只有一小部分具有较强的抗氧化活性且较易提取;Na_2CO_3 溶液提取物产率及抗氧化活性较高且较易提取. 由此可见,Na_2CO_3 溶液更适合在工业生产中作进一步提取厚朴抗氧化剂的碱液.

2.4　厚朴抗氧化剂的协同增效问题

万方数据

一种抗氧化剂很难适应各种食品的要求，但有一些物质可以辅助食品抗氧化剂发挥作用或使抗氧化剂发挥更强烈的作用，成为增效剂，主要是金属离子螯合剂、过氧化物分解剂等，如柠檬酸、磷酸、酒石酸、氨基酸、抗坏血酸等. 作者对市场上常用的几种抗氧化剂与厚朴抗氧化剂作了协同增效试验(抗氧化剂的添加量均选择国标规定的最大量)，结果见表 5，6.

表 5 几种抗氧化剂对鱼油的抗氧化效果

Tab. 5 The antioxidative effect of different antioxidants to fish oil

抗氧化剂	添加量/%	P_f
厚朴抗氧化剂	0.08	1.22
厚朴抗氧化剂	0.04	1.53
BHA	0.02	1.42
BHT	0.02	1.54
DG	0.02	1.25
OG	0.02	1.44
VC	0.02	0.99(促氧化)
柠檬酸	0.02	0.76(促氧化)
磷脂	0.02	0.82(促氧化)

从表 5 可见，厚朴抗氧化剂对鱼油的抗氧化活性与目前常用抗氧化剂的活性相近，且添加量 0.040%的厚朴抗氧化活性几乎是最高的(稍逊于 0.02%BHT)，所以从厚朴中提取抗氧化剂纯品很有价值.

表 6 厚朴抗氧化剂与几种抗氧化剂的增效作用

Tab. 6 The synergism effects of Hou-Pu and other antioxidants

抗氧化剂	P_f	抗氧化剂	P_f
0.08%厚朴抗氧化剂+BHT	1.49	0.04%厚朴抗氧化剂+BHT	2.33
0.08%厚朴抗氧化剂+BHA	1.45	0.04%厚朴抗氧化剂+BHA	2.34
0.08%厚朴抗氧化剂+DG	2.05	0.04%厚朴抗氧化剂+DG	3.00
0.08%厚朴抗氧化剂+OG	2.20	0.04%厚朴抗氧化剂+OG	3.13
0.08%厚朴抗氧化剂+VC	1.44	0.04%厚朴抗氧化剂+VC	1.89
0.08%厚朴抗氧化剂+柠檬酸	1.28	0.04%厚朴抗氧化剂+柠檬酸	1.53
0.08%厚朴抗氧化剂+磷脂	1.26	0.04%厚朴抗氧化剂+磷脂	1.47

由表 5，6 数据对比可以看出：添加量 0.08%的厚朴提取物加入 DG，OG 后，活性明显增加，说明 DG，OG 对 0.08%的厚朴抗氧化剂有较强的协同作用. 相比之下，BHA，BHT 对其几乎没有协同作用. 柠檬酸、磷脂对厚朴抗氧化剂几乎没有增效作用，反而它们自身还会有微弱的促氧化作用，P_f 分别为 0.76和 0.82，加入厚朴提取物之后，活性也没有明显增加；抗坏血酸(VC)对鱼油没有抗氧化作用，对厚朴抗氧化剂也没有明显的增效作用；对 0.40%的厚朴抗氧化剂来说，BHA，BHT 有明显的协同作用，DG，OG 的协同效果更好，可见高添加量的厚朴抗氧化剂与 BHT，BHA，DG，OG 有协同作用.

2.5 厚朴抗氧化剂在鱼油中与 VE 的活性比较

由表 7 可知：添加量为 0.08%的 Na_2CO_3 溶液提取物抗氧化活性与现在市场最常用于鱼油的抗氧化剂 VE 相当，因作者所得提取物为浸膏非粉末，且不是纯品，所以又将提取物在鱼油中的添加量增至0.4%测定其抗氧化活性. 可见，在 0.4%范围内 Na_2CO_3 提取物的活性仍在增加，且 0.4% Na_2CO_3 提取物的活性($P_f=1.53$)比 0.02%VE($P_f=1.20$)还强. 国标规定 VE 的最大添加量是 0.02%. 由于条件的限制，未能进行安全评价及毒理学研究，对于食品中厚朴抗氧化剂添加量的上限不知，且未见报道，所以需要作进一步的工作；另外，厚朴提取物与天然 VE 混合后，抗氧化活性比单独使用任一种活性稍高一点，但并不显著，说明厚朴抗氧化剂与天然 VE 协同作用不明显.

表 7 厚朴 Na_2CO_3 提取物与 VE 抗氧化活性比较及对鱼油的协同作用

Tab. 7 Comparison of VE and Hou-Pu extracted with Na_2CO_3 antioxidative activity and the synergistic effect to fish oil

添加量/%	Na_2CO_3 提取物	天然 VE	人工 VE	厚朴提取物+0.02%VE
0.02	1.10	1.20	0.08(促氧化)	—
0.08	1.22	1.40	—	—
0.10	1.24	—	—	1.50
0.20	1.41	—	—	1.62
0.40	1.53	—	—	1.81

3 结 论

乙酸乙酯是提取厚朴抗氧化剂的适宜溶剂；DG，OG 对厚朴乙酸乙酯提取物的抗氧化性有较强的协同作用，厚朴乙酸乙酯提取物在鱼油中的抗氧化活性应用效果与天然 VE 相当. 厚朴乙酸乙酯提取物的抗氧化活性较强，对其进一步开发和研究富

万方数据

有意义.

参考文献:

[1] 杨晓泉,张水华,高建华,等.小茴香甲醇提取物的抗氧化性质的研究[J].中国粮油学报,1998,13(3):37.

[2] Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, *et al*. The characterization of antioxidants[J]. **Food Chem Toxic**, 1995, 33: 601.

[3] 万素英,赵亚军,李琳,等,食品抗氧化剂[M].北京:中国轻工业出版社,1998.

[4] Inatani R N, H Fuwa. Toxicity of dibutyl hydroxytoluene in food[J]. **Agri Biol Chem**, 1983, 47 (3): 521.

[5] Chinain M. Harmfulness of synthelic pigment for health[J]. **Applied and Environmental Microboilogy**. 1980, 40(6): 1093.

[6] 凌关庭.天然食品添加剂手册[M].北京:化学工业出版社,2001.

[7] Chen Q, shi H, HO, *et al*. Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybeanlipoxygenase activity[J]. **J Am Oil Chem Soc**, 1992, 69(6), 999.

[8] Cuvelier ME, Bereset C, Rechard H. Antioxidant constituents in sage (*Salvia of finalis*)[J]. **J Agric Food Chem**, 1994, 42: 665.

[9] Fukuda Y, Ossawa T, Namiki M, *et al*. Studies on antioxidative substances in sesame seed[J]. **Agri Biol Chem**, 1985, 49: 301.

[10] Duh P D, Ye h D B, Yen G C. Extraction and identification of an antioxidative component from peanut hulls[J]. **J Am Oil Chem Soc**, 1992, 69: 814.

[11] Yen G C, Duh P D. Autioxidative properties of methanolicextracts from peanut hulls[J]. **J Am Oil Chem Soc**, 1993, 70: 383.

[12] 翁新楚,任国谱,段杉,等.天然抗氧化剂的筛选[J].中国粮油学报,1998,13(4):47.

[13] 宋万志,崔建芳.木莲属土厚朴的研究[J].药学学报,1989,24(4):26.

[14] 刘玉鹏,段杉,董新伟.紫草抗氧化成分的提取及活性测定.中国粮油学报,1998,3:34.

[15] Mitsuru. Watanabe. Catechins as antioxidants from buckwheat(Fagopyrum esculentum Moench) groats[J]. **J Agric Food Chem**, 1998, 46: 841.

(责任编辑:朱 明)

(上接第 58 页)

3　结　论

通过对不同氮源的研究,并用响应面分析法,回归方程寻优获得适宜的细菌培养基 C/N(质量比)为 12∶1～13∶1,同时确定了优化后的适合于进行乳酸杆菌代谢网络分析的培养基组成:葡萄糖 120.13 g/L,蛋白胨 19.342 g/L,NH_4Cl 4 g/L,$(NH_4)_2HPO_4$ 2.010 g/L. 优化后的培养基适合于对干酪乳杆菌进行代谢网络分析.

参考文献:

[1] 张惠展.途径工程——第三代基因工程[M].北京:中国轻工业出版社,2002.

[2] 杨洁彬,郭兴华,李芳,等.乳酸菌——生物学基础及应用[M].北京:中国轻工业出版社,1999.

[3] 刘伟雄.乳酸和聚乳酸的最新进展[J].食品与发酵工业,2001,27(3):61－64.

[4] 潘军华,潘中明,曾嵋娟,等.乳酸发酵短杆菌中碳架流向赖氨酸的导向与分析[J].食品与生物技术,2002,21(1):38－42.

[5] Michiel Kleerebezem, Pascal Hols. Lactic acid bacteria as a cell factory: rerouting of carbon metabolism in Lactocouus lactis by metabolic engineering [J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2000, 26(4): 840－848.

[6] Kari Kyla-Nikkila, Mervi Hujanen, Matti Leisola. Metabolic engineering of lactobacillus helveticus CNRZ32 for production of pure L-(t)-lactic Acid[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2000, 66(9): 3835－3841.

[7] Stephane Groupry, Thomas Crognennec. Emmannel gentrl metabolic flux in glucose/citrate co-fermentation by lactic acid bacteria as measured by isotopic ratio analusis[J]. **FEMS Microbiology letters**, 2000, 182: 207－211.

[8] John J, Fitzpatrick, Malte Ahrens, *et al*. Effect of managa nese on *Lactobacillus casei* fermentation to produce lactic acid from whey permeate[J]. **Process Biochencistry**, 2001, 36: 671－675.

[9] K V Venkatesh. Metabolic flux analysis of lactic acid fermentation : effects of pH and lactate in concentration[J]. **Process Biochencistry**, 1997, 32(8): 651－655.

[10] Arvid Garde, Gunnar Jonsson, Anette S Schmidt. Lactic acid production from wheat straw hemi cellulose hydrolysate by *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus brecis*[J]. **Bioresource Technology**, 2002, 81: 217－223.

[11] Pinar Calik, Tuncer H Ozdamar. Carbon sources affect metabolic capacities of *Bacillus* for the production of industrial enzyme: theoretical analuses for serine and neutral proteases and α-amylase[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 2001, 8: 61－81.

万方数据

(责任编辑:李春丽)