

苹果多酚铝镁盐沉淀的特性及 自由基清除研究

庞伟, 宋纪蓉*, 徐抗震, 黄洁, 马海霞

(西北大学食品科学与工程系, 陕西物理无机化学重点实验室, 陕西 西安 710069)

摘要: 选取不同溶剂对冷冻干燥的苹果疏果粉末进行浸提, 利用某些金属盐与酚类的沉淀特性, 使提取液中酚含量形成差异, 进而用 DPPH· 和 ABTS·⁺ 研究苹果中酚类的抗氧化特性。结果表明: 镁盐有较好的降总酚能力, 铝盐对黄烷醇类有很好的沉淀效果, 总酚含量与 DPPH· 的清除率有一致性, 而黄烷醇类(包括儿茶素、聚原花青素)的多少明显影响 ABTS·⁺ 的清除率, 且酚含量低时, 铝镁盐有助于自由基的清除。

关键词: 苹果多酚; 铝镁盐; 抗氧化

Deposition Performance of Apple Polyphenol with Aluminium and Magnesium Salt and Free Radical Scavenging

PANG Wei, SONG Ji-rong*, XU Kang-zhen, HUANG Jie, MA Hai-xia

(Shaanxi Key Laboratory of Physical-Inorganic Chemistry, Department of Food Science and Engineering,
Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: Different solvents were added in freeze-dried apple for thinning out the fruit powder, and metal salt were used to deposit apple polyphenol to change the content of polyphenol in high content leach liquor. DPPH· (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS·⁺ (2,2'-azino-bis-[3-ethylthiazoline-6-sulfonate) were used also to investigate the antioxidant ability of apple polyphenol. The results showed that the magnesium salt can decrease more total polyphenol, but aluminium salt is better for the deposition of flavanol. Scavenging rate of DPPH· is related to the contents of total polyphenol, however the contents of total flavanol (include catechin and polyprocyanidin) affect obviously the scavenging rate of ABTS·⁺. When the total polyphenol content is low, the aluminium and magnesium salts can promote free radical scavenging.

Key words apple polyphenol; aluminium and magnesium salt; antioxidant

中图分类号: TS255

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)06-0036-03

多酚类物质, 由于其所具有的多重功效, 被广泛的应用于医药、食品和化妆品等领域中^[1-2]。苹果为我国产量最大的水果, 资源十分丰富, 其酚含量在疏果期较高^[3-4], 而这些资源常常被白白浪费掉, 因而有必要对这类资源进行深入的研究和开发。

苹果多酚可分为五类: 黄烷醇类、羟基苯丙烯酸类、二氢查尔酮类、花色素类、黄酮醇类^[5], 这些物质由于生成机理及产生位置不同, 对水、醇、酯的溶解性能各异。其较多的邻位酚羟基, 能以两个以上的配位原子和一个中心离子络合(如钙、镁、锌、铝离子等), 形成环状的螯和沉淀物, 常被用于多酚的分离。多酚类物质又是很好的抗氧化剂, 可

通过酚羟基与自由基进行抽氢反应生成稳定的半醌自由基, 从而中断链式反应以完成抗氧化作用。也可通过抗氧化剂的还原作用直接给出电子而清除自由基。DPPH· (1,1-二苯基苦基苯肼) 和 ABTS·⁺ (2,2'-连氮-3-乙苯-二噻唑-6磺酸) 自由基分析法是两种筛选自由基清除剂的简便方法, 目前在外国有着广泛的应用。本研究试图通过不同溶剂提取苹果多酚, 利用沉淀实验, 使溶液中酚含量发生不同的变化, 研究苹果中酚类物质与 DPPH· 和 ABTS·⁺ 自由基清除效果的关系。

1 材料与amp;方法

收稿日期: 2006-06-21

*通讯作者

基金项目: 科技部国家级星火计划项目(2002EA850028); 陕西省科技攻关重点资助项目(2000K12-G9)

作者简介: 庞伟(1982-), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品化学与分离工程。

1.1 材料

冷冻干燥的苹果蔬果粉末(直径小于0.8mm), 没食子酸、芦丁、DPPH Sigma公司; 原花青素 天津市尖峰天然产物公司; 香荚兰素 光华化学厂; ABTS Fluka公司; 721型分光光度计 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 检测方法

总酚含量的测定采用Folin-ciocalteu方法^[6], 以没食子酸为标准品。总黄酮的测定参考侯冬岩等的方法^[7], 以芦丁为标准品。儿茶素的测定采用香荚兰素比色法^[8]。聚原花青素的测定采用采用正丁醇-盐酸法^[9], 以原花青素为标准品。总黄烷醇的测定采用香草醛-盐酸法^[10], 以原花青素为标准品。DPPH·清除能力参考杨怀霞等的方法^[11]。ABTS·⁺清除能力的测定采用K. M. Lo的方法^[12]。

1.3 方法

1.3.1 浸提实验

分别称取4g 冷冻干燥的苹果蔬果粉末, 加水、甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯各150ml, 浸泡1h, 用超声波振动15min后, 过滤待分析。

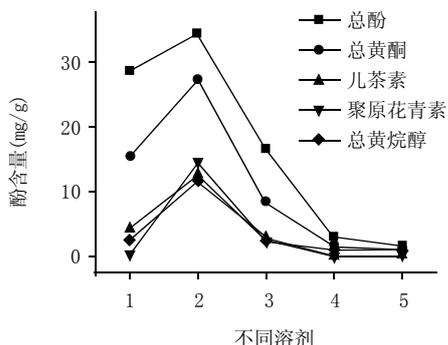
1.3.2 Al、Mg 沉淀实验

分别量取30ml 甲醇、乙醇、水的苹果多酚浸提液, 加入0.5mol/L的MgCl₂或0.5mol/L的AlCl₃ 15ml, 观察酚类及其抗氧化能力的变化。

2 结果与分析

2.1 纯溶剂对酚类的溶出影响

利用几种纯溶剂进行苹果多酚浸提实验, 并分别对总酚、总黄酮、儿茶素、聚原花青素、总黄烷醇类的含量进行检测, 结果见图1。



1. 水; 2. 甲醇; 3. 乙醇; 4. 丙酮; 5. 乙酸乙酯。

图1 不同溶剂提取对酚类的溶出影响

Fig.1 Effects of different solvents for elution of different kinds of polyphenols

图1中数据显示甲醇有最好的溶出效果, 各类酚溶出值均为最高。水是仅次于甲醇的较好溶出剂, 只是对聚原花青素的溶出效果较差, 比乙醇的还低, 可能

是这类物质大多是难溶于水的缘故。丙酮和乙酸乙酯是较差的溶出剂, 各类酚值均很低, 且实验中没有检测到儿茶素和聚原花青素。综合各类酚结果, 几种溶剂溶出效果如下: 甲醇>水>乙醇>丙酮>乙酸乙酯。可见对于醇溶和酯溶的酚类, 溶剂的极性对酚类溶出有很大影响。随着提取液的极性降低(甲醇>乙醇>丙酮>乙酸乙酯)溶出效果变差。

2.2 沉淀剂对酚含量的影响

在上面实验基础上用水、甲醇、乙醇浸提液进行沉淀实验, 通过加入一定量的MgCl₂、AlCl₃水溶液, 观察溶液中酚类的变化。结果如表1所示。

表1 铝镁盐沉淀剂对酚含量的影响(mg/g)
Table 1 Effects of polyphenol contents as aluminium and magnesium salt (mg/g)

类别	总酚	儿茶素	聚原花青素	总黄烷醇类
水 未加	28.678	4.234	0.323	2.534
提 铝盐	24.940	3.96	未检出	1.213
液 镁盐	18.235	4.164	未检出	1.504
甲 未加	34.374	12.578	14.467	11.771
醇 铝盐	33.399	10.397	3.254	8.637
液 镁盐	27.577	11.927	12.976	9.252
乙 未加	16.656	2.886	2.332	2.333
醇 铝盐	11.598	1.415	未检出	0.864
液 镁盐	7.912	2.035	0.321	1.207

注: 以上实验结果均为三次的平均值。

表1中显示镁盐比铝盐有更强的降总酚能力。据文献报道^[13], 用镁盐沉淀茶多酚时, 必须先是在碱作用下生成茶多酚的钠盐才可形成沉淀, 但本实验中, 镁盐的加入即有沉淀生成。总黄酮类物质由于检测过程中有较多的氢氧化镁和氢氧化铝产生, 影响了吸光度, 难以检测出准确值, 但其变化趋势和总酚相同。而儿茶素、聚原花青素、总黄烷醇类通过镁和铝盐的沉淀实验, 发现铝盐能使这三类物质减少的更多, 而镁盐则相对少些, 且铝盐对于聚原花青素有更好的沉淀能力, 这可能是由于铝的三价特性及总黄烷醇类有更多的羟基因素, 使得两者更易生成螯合物。利用水提液实验, 测得在未加碱的情况下水提液、铝镁盐沉淀液中总酚含量分别为28.678、24.940、18.235mg/g, 加碱后的铝镁盐沉淀液中总酚含量分别为: 14.87、7.16mg/g, 可见在碱性溶液中, 镁和铝盐的降总酚能力均增强, 这主要是由于在碱性环境下, 一个金属离子可与更多的酚分子进行螯合, 形成多螯合沉淀物。

2.3 沉淀液对抗氧化性的影响

通过在水、甲醇、乙醇浸提液中加入一定量的MgCl₂、AlCl₃水溶液, 观察沉淀液和原溶液中随着各类酚含量的变化对DPPH·和ABTS·⁺清除率的影响。

结合表1、2可见, 随着总酚含量的降低, DPPH·

表2 不同溶液对 DPPH· 和 ABTS·⁺ 清除率的影响
Table 2 Effects of scavenging rates of DPPH· and ABTS·⁺ as different solvents

类别	水提液			甲醇液			乙醇液		
	未加	铝盐	镁盐	未加	铝盐	镁盐	未加	铝盐	镁盐
DPPH· 清除率(%)	80.06	60.15	45.18	94.9	92.3	84.97	46.26	65.8	30.33
ABTS· ⁺ 清除率(%)	76.94	53.82	56.74	96.64	71.17	86.08	36.6	26.14	48.36

注：以上实验结果均为三次的平均值。

的清除能力也随着降低，在一定范围内有较好的线性关系， $R=0.986$ ， $p < 0.0001$ (见图 2)，这与 Amakura、Ting S^[14-15] 等的报道一致。而不同提取液中总黄酮醇、儿茶素、聚原花青素含量的降低明显地影响了 ABTS·⁺ 清除率。从而说明可用 DPPH· 清除率表征总酚的抗氧化能力，用 ABTS·⁺ 清除率表征总黄酮醇类的抗氧化能力。提取物对这两种自由基均有较高的清除效果，这是由于多酚类物质中儿茶素结构；双键与羰基共轭体系；以及多个单独的羟基结构均为清除自由基的重要位置，易于传递电子或氢原子给自由基。

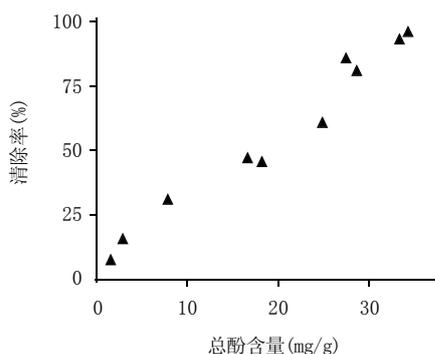


图2 DPPH· 的清除率随总酚变化线性图

Fig.2 Changes of clearance rate of DPPH· following variety of total polyphenol

另外，实验中发现，乙醇浸提液的 DPPH· 清除率为 46.258%，而乙醇浸体液通过铝盐沉淀后，DPPH· 清除率为 65.8%，显示出铝盐对 DPPH· 的清除有促进作用。而对于铝盐和镁盐沉淀后的乙醇液，在 6min 时镁盐显示出更高的 ABTS·⁺ 清除能力，远高于乙醇液的清除能力。此时，三者的清除率分别为：36.6%、26.14%、48.36%，但在 30min 后，乙醇液，以及通过铝、镁盐沉淀后的浸提液对 ABTS·⁺ 清除能力分别为 37.5%、47.05%、82.48%。可见 30min 后，乙醇浸提液的清除能力没有多少变化，但铝盐和镁盐沉淀液的清除率均有较大的增高，且都比乙醇液的清除率高。而对于酚含量较高的甲醇液进行同样实验，30min 后，甲醇液的镁盐沉淀液对 ABTS·⁺ 的清除率几乎接近 100%，而铝盐沉淀液略低于前两者。因而，可以说明当酚含量较低时，铝、镁离子有促进 DPPH· 和 ABTS·⁺ 清除的能力。

3 结论

3.1 纯溶剂的浸提实验表明，几种溶剂提取效果如下：甲醇 > 水 > 乙醇 > 丙酮 > 乙酸乙酯。

3.2 沉淀实验证实，镁盐有较强的降总酚能力，铝盐则对黄酮醇类有很好的沉淀效果。两种盐在碱性环境下，沉淀效果更强。

3.3 抗氧化性能的研究结果显示 DPPH· 的清除率的降低，在一定范围内与总酚含量有较好的线性关系，黄酮醇类物质的多少明显影响 ABTS·⁺ 的清除率。此外，当酚含量较低时，铝、镁离子则显示出提高 DPPH· 和 ABTS·⁺ 的清除能力。

参考文献：

- [1] YOKI A. Characteristics and physiological functions of polyphenols from apples[J]. Biofactors, 2004, 22: 311-314.
- [2] 唐传核, 彭志英. 苹果多酚的开发及应用[J]. 中国食品添加剂, 2001(2): 41-45.
- [3] 王思新, 刘杰超, 焦中高, 等. 苹果中多酚物质及其在果实发育过程中的变化[J]. 果树学报, 2003, 20(6): 427-431.
- [4] STANISLAW B, WIESLAW O, CHANG Y L. Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage[J]. J Agric Food Chem, 1990, 38(4): 945-948.
- [5] ROSA M A, KARINE N, EMERSON F Q. On-line characterisation of apple polyphenols by liquid chromatography coupled with mass spectrometry and ultraviolet absorbance detection[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1046(1): 89-100.
- [6] 刘硕谦, 刘仲华, 黄建安. 紫外分光光度法检测水皂角总多酚的含量[J]. 食品工业科技, 2003, 24(6): 76-77.
- [7] 侯冬岩, 回瑞华, 杨梅, 等. 金银花中总黄酮的光谱分析及抗氧化性能测定[J]. 分析实验室, 2004, 23(11): 52-55.
- [8] 何照范, 张迪清. 保健食品化学及其检测技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [9] 姚开, 何强, 吕远平, 等. 葡萄籽提取物中原花青素含量不同测定方法比较[J]. 化学应用于研究, 2002, 14(2): 230-232.
- [10] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 北京工业出版社, 2000.
- [11] 杨怀霞, 马庆一, 吴平格. DPPH· 法评价葡萄籽提取物淬灭自由基的方法研究[J]. 河南科学, 2004, 22(6): 764-767.
- [12] LO K M, CHEUNG P C K. Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegeri* tavar. alba[J]. Food Chemistry, 2005, 89(4): 533-539.
- [13] 赵元鸿, 杨富佑, 谢冰, 等. 茶多酚的制备及沉淀机理探讨[J]. 云南大学学报, 1999, 21(4): 317-318.
- [14] TING S, CHI TANG H. Antioxidant of buckwheat extracts[J]. Food Chemistry, 2005, 90(4): 743-749.
- [15] AMAKURA Y, UMINO Y, TSUJI S, et al. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(12): 6292-6297.