

藤椒冷榨油饼粕中黄酮类物质的提取 及体外抗氧化活性研究

Extraction and antioxidant activity in vitro of flavonoids in cold pressed
cake of *Zanthoxylum armatum* DC. *Prodr.*

王春霞¹ 蒲彪¹ 蒋燕² 付本宁¹

WANG Chun-xia¹ PU Biao¹ JIANG Yan² FU Ben-ning¹

(1. 四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川省宜宾市食品药品检验检测中心, 四川 宜宾 644000)

(1. Sichuan Agricultural University College of Food Science, Ya'an, Sichuan 625014, China;

2. Food and Drug Inspection and Testing Center in Yibin, Yibin, Sichuan 644000, China)

摘要:采用响应面法优化了藤椒冷榨油饼粕中黄酮类物质的微波辅助提取工艺,并对黄酮类提取物进行体外抗氧化活性测定。研究表明,最佳提取工艺条件为:微波功率506 W,微波处理时间256 s,乙醇浓度75%,液料比50:1 (mL/g),所得饼粕黄酮得率(以芦丁计)为(0.40±0.04)%。藤椒冷榨油饼粕黄酮的还原力、自由基清除能力随其质量浓度增加而总体呈现增强趋势,0.05 mg/mL饼粕黄酮的还原力和0.03 mg/mL的抗坏血酸溶液还原力相当;饼粕黄酮、抗坏血酸对·OH的IC₅₀值分别为0.074, 0.053 mg/mL;对DPPH·的IC₅₀值为0.024, 0.016 mg/mL。研究结果证明饼粕黄酮具有较高的体外抗氧化活性,具备天然抗氧化剂开发价值。

关键词:藤椒;冷榨油;饼粕;微波辅助提取;黄酮;抗氧化活性

Abstract: Response surface methodology was used to optimize the microwave-assisted extraction of flavonoids from cold pressed cake in *Zanthoxylum armatum* DC. *Prodr.*, and the antioxidant activity in vitro of flavonoids were analyzed. The results showed that the optimum extraction process of flavonoids were: microwave power 506 W, microwave treatment time 256 seconds, ethanol concentration 75%, ratio of liquid to material 50:1. Under this condition, extraction ratio of flavonoids was 0.40%±0.04% (in terms of rutin). The reducing power, the hydroxyl free radicals, DPPH free radicals, scavenging capacity of flavonoid extracts were increased gradually with the increasing of the mass concentration, and the reducing power of

0.05 mg/mL flavonoids from cold pressed cake was equal with 0.03 mg/mL VC; the half inhibition concentration of hydroxyl free radical scavenging rate of flavonoids from cold pressed cake and VC were 0.074, 0.053 mg/mL while the half inhibition concentration of DPPH free radical scavenging rate were 0.024, 0.016 mg/mL. The flavonoids from cold pressed cake had a certain antioxidant activity in vitro, and had the value of developing into natural antioxidants.

Keywords: *Zanthoxylum armatum* DC. *Prodr.*; cold pressed oil; cake; microwave-assisted extraction; flavonoids; antioxidant activity

藤椒,学名竹叶花椒(*Zanthoxylum armatum* DC. *Prodr.*),是芸香科花椒属的一个优良品种代表^[1]。藤椒具有消费者更易接受的浓郁香气及麻辣稍淡的口感,因而被直接用于川菜调味。但和传统红花椒不同,藤椒干制易发生褐变,且香麻味及营养物质也会有所损失,而藤椒油麻香味浓郁、口感更加丰满,因此藤椒油是藤椒的主要食用方式之一^[2-3]。

目前,中国藤椒制油工业已广泛采用冷榨制油工艺。因为冷榨制油工艺采用低温物理机械压榨,与传统制油工艺相比,可避免高温造成油脂结构向反式脂肪酸、油脂聚合物等有害物质转变,也可降低重金属、酸、碱等有害物质残留,最大限度地保留活性成分,从而提高油的品质^[4]。在冷榨制油过程中,冷榨油饼粕是主要副产物,已有的研究证明冷榨油饼粕中多含有高利用价值的物质,如琉璃苣冷榨油饼粕中提取的多酚具有较好的DPPH·清除能力^[5],菜籽冷榨油饼粕替代传统蛋白饲料,可显著降低雄性阉猪对于饲料中粗蛋白的回肠表现和标准回肠消化率^[6],葡萄籽冷榨饼粕超微粉对衰老小鼠内脏具有抗氧化、抗衰老作用^[7]等。目前对于藤椒冷榨油饼粕的报道较少,仅有姜欢笑^[8]研究了其基本成分,并采用不同方法提取了藤椒冷榨油饼粕中的油脂及蛋白质。

基金项目:国家林业局林业公益性行业科研专项(编号:201304703);
国家自然科学基金面上项目(编号:31171726)

作者简介:王春霞,女,四川农业大学在读硕士研究生。

通信作者:蒲彪(1956—),男,四川农业大学教授,博士生导师。

E-mail:pubiao2002@163.com

收稿日期:2016-11-03

黄酮类物质是从天然原料中筛选出来的具有较强抗氧化活性的天然产物之一,已成为食品以及医药等领域的研究热点^[9]。研究表明,花椒属植物含有丰富的黄酮类物质^[10],且黄酮类物质是花椒果皮抗氧化活性的主要功能成分^[11]。在藤椒黄酮物质的研究方面,罗雅杰等^[12-13]研究发现藤椒中黄酮(芦丁)含量为(23.03±0.18) mg/g,且具有较好的体外抗氧化活性,可望开发为新一代的天然抗氧化剂。

近年在四川境内,洪雅、三台、广安等地已建立多个藤椒种植基地,藤椒产量不断提高,藤椒制油后副产物的综合利用问题亟待解决,对其冷榨饼粕中活性物质进行提取、性质鉴定等,是藤椒制油后副产物开发利用的研究基础。

微波辅助提取因具有穿透力强、对目标成分进行选择快速提取等优势,被广泛应用于黄酮类物质的提取中^[14-15]。综合上述研究现状,本研究提出以藤椒冷榨油饼粕为原料,采用响应面法优化微波辅助提取饼粕中黄酮类物质的条件,并对饼粕中黄酮类物质的体外抗氧化活性进行初步分析,旨在为藤椒冷榨油饼粕中的黄酮类物质提取、利用提供一定理论基础,为天然抗氧化剂的开发提供优质价廉的原料。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

藤椒冷榨油饼粕:洪雅么麻子藤椒油食品有限公司,55℃鼓风干燥后粉碎至60目并经石油醚脱脂后备用;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):纯度≥98%,美国Sigma公司;

芦丁:纯度≥98%,天津一方生物科技有限公司;

无水乙醇、抗坏血酸、铁氰化钾、三氯酸、三氯化铁、过氧化氢、七水合硫酸亚铁、水杨酸等:分析纯,成都市科龙化工厂。

1.2 仪器与设备

微波科学实验炉:ORW08S-3H型,南京澳润微波科技有限公司;

数控超声波清洗器:KQ-250DB型,昆山市超声仪器有限公司;

高速万能粉碎机:FW-100型,北京永光明医疗仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-3100型,上海美普达仪器有限公司;

电子天平:CP225D型,德国Sartorius股份公司;

台式离心机:Thermo MULTIFUGE X3R型,美国Thermo公司。

1.3 试验方法

1.3.1 芦丁标准曲线的绘制 采用亚硝酸钠—硝酸铝显色法^[16]。准确称取121℃干燥至恒重的芦丁标准品,以60%乙醇为溶剂,配制浓度为1 mg/mL的芦丁标准溶液,梯度稀释成芦丁浓度为0.0,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6 mg/mL,取1 mL不同浓度样品于10.0 mL容量瓶中,加入5%的亚硝酸钠0.30 mL,混匀后放置6 min,加10%的硝酸铝0.3 mL,混匀后放置6 min,加入4%的氢氧化钠4.0 mL,最后用60%乙

醇定容,放置15 min。测定各溶液在510 nm波长下的吸光度。以芦丁标准液浓度为横坐标 x ,以吸光度为纵坐标 y ,拟合所得线性回归方程为 $y = 12.332x - 0.00011$,相关系数 $R^2 = 0.9998$,芦丁浓度线性范围0.00~0.06 mg/mL。

1.3.2 藤椒冷榨油饼粕黄酮类物质的微波辅助提取工艺及工艺条件优化 称取5.0 g处理好的饼粕,按设定的液料比加入设定浓度的乙醇溶液,经设定的微波条件处理后,抽滤,滤液在常温下3 000 r/min离心10 min,以提取剂定容,测定黄酮浓度,结合1.3.1中标准曲线线性回归方程和式(1)计算从藤椒冷榨油饼粕中提取出的黄酮得率(以芦丁含量计),并以此作为提取工艺的评价指标。

$$Y = \frac{c \times v}{m \times 100} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

Y ——黄酮得率,%;

c ——提取液总黄酮浓度,mg/mL;

v ——提取液定容体积,mL;

m ——饼粕质量,g。

(1) 单因素试验设计:参照文献^[17~18]设定提取条件,分别考察液料比[30:1,40:1,50:1,60:1,70:1(mL/g)],微波处理时间(60,120,180,240,300 s),乙醇浓度(50%,60%,70%,80%,90%),微波功率(300,400,500,600,700 W)4个因素对饼粕中黄酮得率的影响。考察某一单因素时,仅改变该单因素条件,其他因素固定条件。考察时,各因素的固定条件分别为:液料比30:1(mL/g)、微波处理时间120 s、乙醇浓度60%,微波功率400 W。

(2) 响应面试验设计:在单因素试验结果的基础上,根据Box-Benken试验设计原理,以黄酮得率为响应值,对料液比、微波处理时间、乙醇浓度、微波功率4个因素进行响应面试验。

1.3.3 藤椒冷榨油饼粕黄酮类物质的体外抗氧化活性测定

(1) 样品溶液制备:将饼粕黄酮提取物按倍比稀释法配置成一系列浓度(以芦丁计):0.010,0.015,0.020,0.025,0.030,0.035,0.040,0.045,0.050 mg/mL,做体外抗氧化活性分析。同时配置相同浓度梯度的抗坏血酸溶液做阳性对照。

(2) 总还原力测定:参考张宇思等^[19-20]的方法,略作调整。分别加入不同浓度的样品溶液2 mL、0.2 mol/L pH值为6.6的磷酸盐缓冲液2.5 mL、1%铁氰化钾溶液2.5 mL,充分混匀后放入50℃水浴保温20 min,快速冷却,加入10%的三氯乙酸2.0 mL,充分混匀,在低速离心机中,3 000 r/min离心10 min。取离心样液的上清液2.5 mL并过滤膜,加蒸馏水2.5 mL和0.1%三氯化铁0.5 mL,充分混匀,静置10 min后在700 nm处测定吸光度。

(3) 清除羟自由基($\cdot OH$)能力测定:在试管中分别依次加入9 mmol/L的 $FeSO_4$ 溶液1 mL,不同梯度浓度的样品溶液1 mL,8.8 mmol/L的 H_2O_2 溶液1 mL,摇匀,静置10 min后加入9 mmol/L的水杨酸—乙醇溶液1 mL,摇匀,37℃恒温水浴反应30 min,于510 nm处测其吸光度 A_x 。以样品溶剂代替样品溶液做反应体系本底吸收值 A_0 ,考虑

到样品本身的吸光值影响,以 1 mL 蒸馏水代替 H_2O_2 溶液作为样品的本底吸收值 A_{x0} ^[21]。按式(2)计算清除率。

(4) 清除 DPPH· 能力测定:分别在 10 mL 的试管中加入 0.2 mmol/L DPPH· 溶液 2 mL,不同浓度的样品溶液 2 mL,混匀后,避光静置 30 min,于 517 nm 处测吸光值 A_x ,以无水乙醇代替 DPPH· 溶液做样品本底吸收 A_{x0} ,以样品溶剂替代样品溶液做 DPPH· 本底吸收 A_0 ^[21]。同时以抗坏血酸做阳性对照。按式(2)计算清除率。

$$D = \left(1 - \frac{A_x - A_{x0}}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

D ——自由基清除率, %;

A_x ——反应体系吸光度;

A_{x0} ——样品本底吸光度;

A_0 ——反应体系本底吸光度。

1.4 数据处理方法

单因素试验结果及体外抗氧化活性 IC_{50} 值计算采用 Origin 8.5.1 软件进行分析,响应面试验结果采用 Design-Expert.8.05b 软件进行分析。每个试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 藤椒冷榨油饼粕中黄酮类物质提取单因素试验结果

微波辅助提取工艺单因素试验结果见图 1。由图 1(a)可知,随着液料比的增加,饼粕黄酮的得率呈现先上升后下降的趋势,液料比 50 : 1 (mL/g) 时得率最大,继续增加液料比,得率反而下降,原因可能是:在液料比增大的同时固液两

相的浓度差也在增大,使得黄酮从细胞内往外扩散的速率和溶解量相应增大,得率升高,液料比持续增加,饼粕中其他活性物质如多糖溶出从而影响黄酮的提取^[17]。为避免引入杂质,节约溶剂成本,选择 50 : 1 (mL/g) 为最佳液料比。

由图 1(b)可知,在 60 ~ 240 s 时,随着微波处理时间的延长,溶出的黄酮物质质量增多,得率上升,说明微波处理有助于饼粕中黄酮物质的提取;超过 240 s 以后得率开始下降,有可能是长时间微波处理,辐射作用和产生的局部高温导致黄酮类产物发生氧化,活性成分结构被破坏^[22],导致得率下降。同时从节约能源方面考虑,选择最优微波处理时间为 240 s,可能是原料不同的原因,相较焦土蓉等^[23]采用微波提取黄酮时间长。

由图 1(c)可知,乙醇浓度为 50% ~ 70% 时,饼粕黄酮得率逐渐上升,70% 的乙醇对应得率最高,可能是 70% 的乙醇同藤椒冷榨油饼粕中的黄酮类物质极性相近^[17],而高浓度乙醇可能会导致细胞内蛋白质凝固,使得黄酮类物质溶出受阻^[24],故最适宜的乙醇浓度为 70%,与刘军海^[25]的研究结果一致。

由图 1(d)可知,在 300 ~ 500 W 时,得率随微波功率的增大而不断上升,500 W 以后,微波功率继续增大,黄酮得率反而下降,可能是大功率产生的局部过热使得目标产物黄酮类物质被破坏,故选择 500 W 为最佳微波功率,这与 He 等^[26]所得最优功率条件一致。

2.2 响应面试验结果

在单因素试验基础上,以黄酮得率为响应值,采用响应面试验考察微波处理时间、微波功率、乙醇浓度、液料比对饼

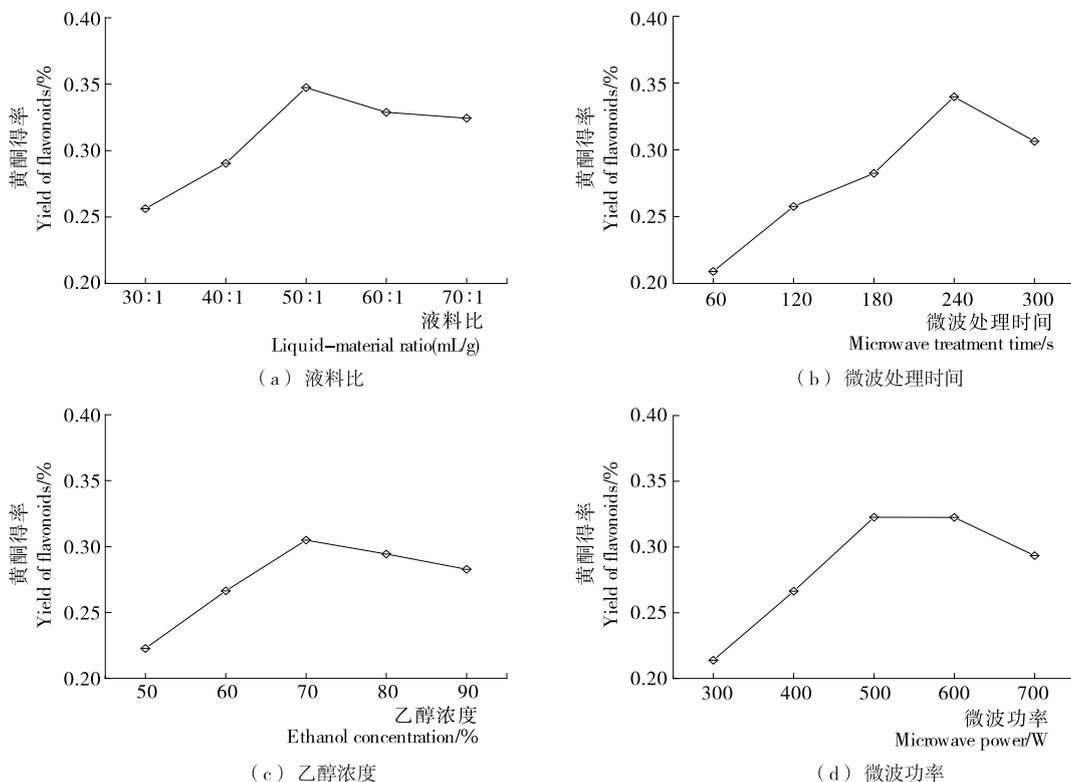


图 1 微波处理工艺各因素对饼粕黄酮的提取效果影响

Figure 1 Effect of different factors of microwave-treatment on the yield of flavonoids from cold pressed oil cake

粕黄酮得率的影响,因素水平见表1,试验方案及结果见表2。

2.2.1 响应面回归模型的建立与方差分析 运用 Design-Expert.8.05b 数据统计分析软件对试验结果进行分析,经多元回归拟合得到二次回归方程为:

$$Y = 0.40 + 0.017A + 0.010B + 0.019C + 0.005D - 0.001AB + 0.009AC + 0.011AD - 0.007BC - 0.018BD - 0.004CD - 0.04A^2 - 0.046B^2 - 0.022C^2 - 0.053D^2 \quad (3)$$

表1 响应面试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	A 微波处理 时间/s	B 微波 功率/W	C 乙醇 浓度/%	D 液料比 (mL/g)
-1	180	400	60	40:1
0	240	500	70	50:1
1	300	600	80	60:1

表2 响应面试验方案及结果

Table 2 RSM design matrix and the responses

试验号	A	B	C	D	得率 Y/%	
					试验值	预测值
1	0	0	0	0	0.40	0.40
2	0	0	0	0	0.39	0.40
3	0	0	0	0	0.39	0.40
4	1	0	1	0	0.38	0.38
5	0	0	-1	1	0.32	0.31
6	1	0	0	-1	0.30	0.30
7	0	-1	-1	0	0.29	0.29
8	0	0	-1	-1	0.30	0.29
9	0	1	0	1	0.30	0.29
10	0	1	-1	0	0.32	0.33
11	-1	1	0	0	0.40	0.40
12	0	0	0	0	0.39	0.40
13	1	-1	0	0	0.39	0.40
14	-1	-1	0	0	0.38	0.38
15	-1	0	0	-1	0.32	0.31
16	0	0	1	1	0.30	0.30
17	0	-1	1	0	0.29	0.29
18	0	1	1	0	0.30	0.29
19	0	-1	0	-1	0.30	0.29
20	0	-1	0	1	0.32	0.33
21	-1	0	1	0	0.31	0.30
22	0	1	0	-1	0.40	0.40
23	1	1	0	0	0.32	0.32
24	0	0	0	0	0.28	0.28
25	-1	0	0	1	0.30	0.29
26	1	0	-1	0	0.34	0.34
27	0	0	1	-1	0.35	0.34
28	1	0	0	1	0.40	0.40
29	-1	0	-1	0	0.39	0.40

由表3可知,经软件分析所得模型 $P < 0.0001$,为极显著;失拟项 $P = 0.1945 > 0.05$ 为不显著,说明试验误差较小,且模型的相关系数 $R^2 = 0.9824$,修正相关系数 $R_{adj}^2 = 0.9648$,预测相关系数 $R^2 = 0.9089$,模型实际值和预测值拟合较好,表明该二次回归方程对试验的拟合性良好,用于分析和预测饼粕黄酮的得率可靠。

由表3还可知,除因素D和交互因素AC为显著外,模型的一次项和二次项及交互因素AD、BD对响应值的影响均为极显著;影响饼粕黄酮得率的各因素主次因素排序依次为 $C > A > B > D$ 。模型的交互因素AB、BC、CD对响应值的影响不显著,剔除不显著项后可将模型简化为:

$$Y = 0.40 + 0.017A + 0.010B + 0.019C + 0.005D + 0.009AC + 0.011AD - 0.018BD - 0.04A^2 - 0.046B^2 - 0.022C^2 - 0.053D^2 \quad (4)$$

由回归分析可知,AC、AD、BD因子交互作用对黄酮得率的影响显著,图2~4给出了影响因素交互作用的响应面3D图及等高线图。由图2~4可以看出,在试验所选范围内,响应曲面较为陡峭,响应值是存在极值的,且两因素间互作的等高线图呈椭圆,再次说明互作是显著的^[27]。

2.2.2 验证实验 通过回归模型对微波提取工艺进行优化所得最佳提取工艺为:微波时间256.27 s,微波功率506.2 W、乙醇浓度74.83%、液料比50.5:1(mL/g),在此参数下,模型预测黄酮得率为0.40%。为方便进行试验,将最优条件调整为:微波时间256 s,微波功率506 W,乙醇浓度75%,液料比50:1(mL/g),此条件下进行5次验证实验,所得黄酮得

表3 方差分析表[†]

Table 3 Analysis of variance for the fitted regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P	显著性
A	0.003 324	1	0.003 324	63.13	< 0.000 1	**
B	0.001 213	1	0.001 213	23.03	0.000 3	**
C	0.004 443	1	0.004 443	84.37	< 0.000 1	**
D	0.000 341	1	0.000 341	6.48	0.023 3	*
AB	0.000 006	1	0.000 006	0.12	0.736 6	
AC	0.000 352	1	0.000 352	6.68	0.021 6	*
AD	0.000 498	1	0.000 498	9.45	0.008 2	**
BC	0.000 177	1	0.000 177	3.36	0.088 2	
BD	0.001 241	1	0.001 241	23.57	0.000 3	**
CD	0.000 067	1	0.000 067	1.28	0.276 6	
A ²	0.010 000	1	0.010 000	195.31	< 0.000 1	**
B ²	0.014 000	1	0.014 000	259.59	< 0.000 1	**
C ²	0.003 062	1	0.003 062	58.14	< 0.000 1	**
D ²	0.018 000	1	0.018 000	339.87	< 0.000 1	**
模型	0.042 000	14	0.003 025	57.44	< 0.000 1	**
剩余项	0.000 737	14	0.000 053			
失拟项	0.000 658	10	0.000 066	3.31	0.130 1	不显著
纯误差	0.000 080	4	0.000 020			
总变异	0.043 000	28				

[†] P<0.05 记 * 为显著;P<0.01 记 ** 为极显著。

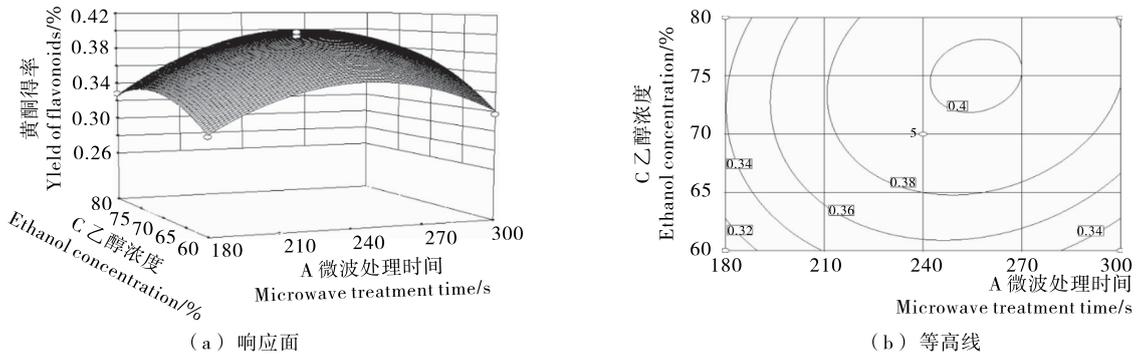


图 2 乙醇浓度和微波处理时间对黄酮得率的影响

Figure 2 Influences of ethanol concentration and microwave treatment time on the extraction yield of cold pressed oil cake flavonoids

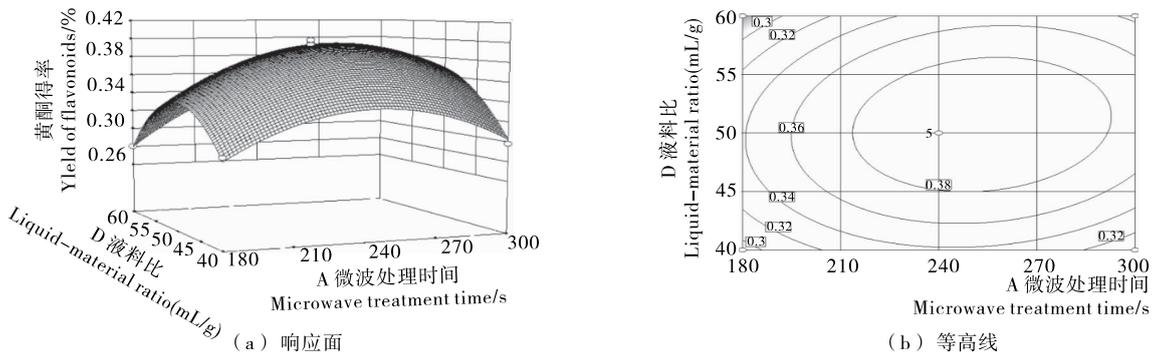


图 3 液料比和微波处理时间对黄酮得率的影响

Figure 3 Influences of liquid-material ratio and microwave treatment time on the extraction yield of cold pressed oil cake flavonoids

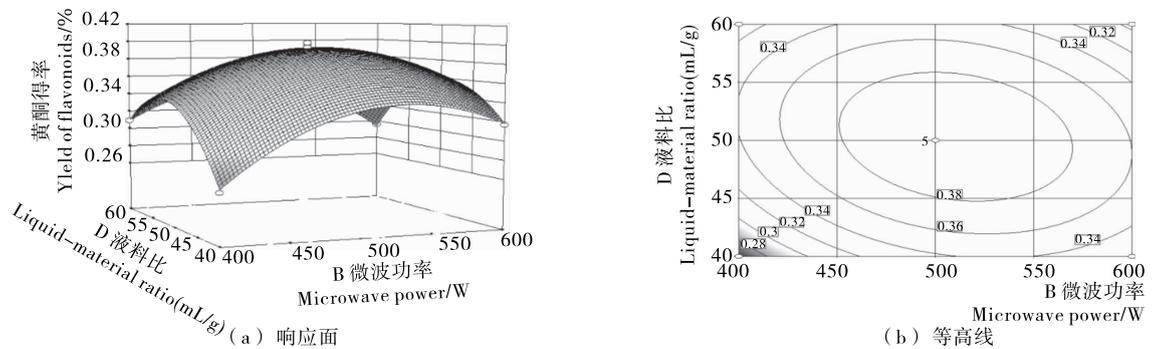


图 4 液料比和微波功率对黄酮得率的影响

Figure 4 Influences of liquid-material ratio and microwave power on the extraction yield of cold pressed oil cake flavonoids

率为 $(0.40 \pm 0.04)\%$,与预测值基本一致,说明该模型能较好地预测微波辅助提取饼粕中黄酮类物质的得率。

2.3 体外抗氧化活性测定结果

较体内抗氧化活性测定而言,体外抗氧化活性测定因具有简单、方便、快捷的优点而被广泛应用^[28]。采用典型的体外抗氧化模型,以总还原力、羟自由基清除能力、DPPH 自由基清除能力为指标考察饼粕黄酮的体外抗氧化活性。

2.3.1 总还原能力 物质的还原能力与抗氧化活性之间存在十分密切的关系,还原力强,表示其具有强的抗氧化性^[29]。由图 5 可知,在 0.01~0.05 mg/mL 时,饼粕黄酮提

取物、抗坏血酸均在较低质量浓度下有较高的还原力,且还原力均是随质量浓度的增大而增大。饼粕黄酮的还原力虽不及相同浓度的抗坏血酸,但 0.05 mg/mL 饼粕黄酮的还原力与 0.03 mg/mL 抗坏血酸相当,说明饼粕黄酮是具有还原力的。此外,饼粕黄酮还原力大小与其质量浓度的相关系数 R^2 为 0.983 4,藤椒冷榨油饼粕提取物的还原力和黄酮含量存在显著正相关关系。

2.3.2 清除 $\cdot\text{OH}$ 能力 由图 6 可知,在 0.01~0.05 mg/mL 时,样品溶液对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率随浓度的增加逐渐升高,清除效果与浓度呈一定的正相关,两种样品最大清除率分别为

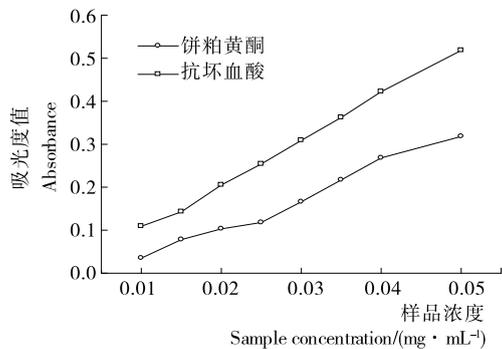


图5 样品总还原力测定

Figure 5 The result of total reducing power

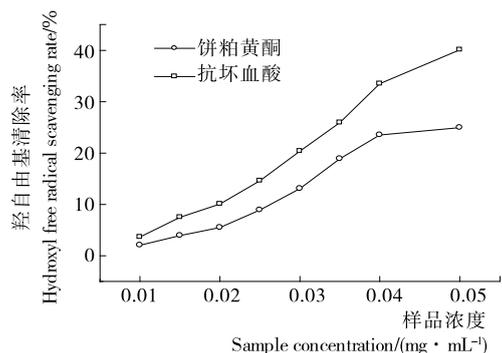


图6 样品对·OH的清除效果

Figure 6 The result of hydroxyl free radical scavenging rate

24.95%, 40.11%, 饼粕黄酮对·OH的清除能力约为抗坏血酸的62.2%, 经计算, 饼粕黄酮、抗坏血酸的 IC_{50} 值分别为0.074, 0.053 mg/mL, 表明饼粕黄酮提取物对·OH具有一定的清除作用。

2.3.3 清除DPPH·能力 由图7可知, 在0.01~0.05 mg/mL时, 样品溶液对DPPH·的清除率随浓度的增加逐渐升高, 且在较低浓度时即可达到90%以上的清除率。饼粕黄酮 IC_{50} 值为0.024 mg/mL, 抗坏血酸的 IC_{50} 值则为0.016 mg/mL。虽然饼粕黄酮的 IC_{50} 值高于牛欣欣等^[30]试验中红花椒提取物的 IC_{50} 值(0.013 8 mg/mL), 但仍表明饼粕黄酮提取物具有较高的清除DPPH·能力, 进一步证明饼粕黄酮提取物具有较高的体外抗氧化活性。

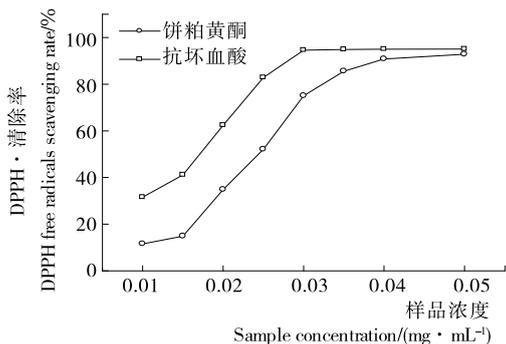


图7 样品对DPPH·的清除效果

Figure 7 The result of DPPH free radicals scavenging rate

3 结论

(1) 经响应面优化拟合得到的二次回归方程能较好地预测藤椒冷榨油饼粕中黄酮类物质的得率。优化所得微波辅助提取黄酮的最佳工艺为: 微波功率506 W, 微波处理时间256 s, 乙醇浓度75%, 液料比50:1(mL/g), 在此条件下, 藤椒冷榨油饼粕黄酮得率(0.40±0.04)%, 约为罗雅杰等^[13]测得藤椒黄酮得率的17.37%, 说明藤椒冷榨油饼粕中残留的黄酮类物质较多。

(2) 藤椒冷榨油饼粕黄酮的体外抗氧化活性随着黄酮提取物质量浓度增加而总体呈现增强趋势。0.05 mg/mL 饼粕黄酮的还原力和0.03 mg/mL 抗坏血酸的还原力相当。饼粕黄酮对羟自由基和DPPH自由基的 IC_{50} 值分别为0.074, 0.024 mg/mL, 饼粕中的黄酮类物质对羟自由基的清除能力弱于对DPPH自由基的清除能力。

(3) 从藤椒冷榨油饼粕中所提取的黄酮类物质在试验中表现出了较好的体外抗氧化活性, 下一步可对其进行分离纯化分析测定, 以获得具有明确抗氧化作用的组分, 并与未经冷榨处理的藤椒果实中黄酮类物质做对比, 为藤椒冷榨油饼粕的进一步开发利用提供依据。

参考文献

- [1] 张华, 叶萌. 青花椒的分类地位及成分研究现状[J]. 北方园艺, 2010(14): 199-203.
- [2] 张茜. 藤椒在川菜中的运用及展望[J]. 中国调味品, 2013(3): 116-120.
- [3] 向娜. 藤椒油调查报告[J]. 四川烹饪, 2009(9): 54-55.
- [4] 刘林, 邱树毅, 周鸿翔. 油料冷榨技术的研究进展[J]. 粮油加工, 2010(9): 5-8.
- [5] SOTO C, CHAMY R, ZUNIGA M E. Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing[J]. Food Chemistry, 2007, 102(3): 834-840.
- [6] PRESTO M H, LYBERG K, LINDBERG J E. Digestibility of amino acids in organically cultivated white-flowering faba bean and cake from cold-pressed rapeseed, linseed and hemp seed in growing pigs[J]. Archives of Animal Nutrition, 2011, 65(1): 21-33.
- [7] 刘霞, 杨继红, 王海瑞, 等. 冷榨葡萄籽饼粕超微粉对衰老小鼠内脏抗氧化功能的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(17): 299-304.
- [8] 姜欢笑. 藤椒冷榨油饼粕中基本成分的提取及其理化性质的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2015: 47.
- [9] 柯春林, 任茂生, 王娣, 等. 黄酮化合物抗菌机理的研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 388-391.
- [10] 杜丽君, 郑国华, 牛先前, 等. 花椒属植物的药理研究进展与展望[J]. 热带作物学报, 2013, 34(5): 995-999.
- [11] 张艳军, 杨途熙, 魏安智, 等. 花椒果皮中总黄酮与多酚的积累及其抗氧化活性研究[J]. 西北植物学报, 2013, 33(3): 620-625.
- [12] 吴亮亮. 花椒黄酮成分提取分离及抗氧化活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2010: 67.
- [13] 罗雅杰, 曹瑜, 何强, 等. 三种花椒抗氧化活性对比研究[J]. 中国调味品, 2016(2): 26-30.

(下转第152页)

参考文献

- [1] 陈波, 俞惠新, 谭成, 等. 白藜芦醇及其衍生物抗氧化抗肿瘤活性研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(4): 52-55.
- [2] 刘婷, 欧阳梦云, 王燕, 等. 刺葡萄酒渣中白藜芦醇的超声辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 160-164.
- [3] CANTOS E, ESPÍN J C, FERNÁNDEZ M J, et al. Postharvest UV-C irradiated grapes as a potential source for producing stilbene-enriched red wines [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2003, 51(5): 1 208-1 214.
- [4] 于晶, 任朝阳, 苍晶. 次生代谢物白藜芦醇研究概述[J]. 中国农学通报, 2005, 21(7): 104-107, 280.
- [5] 韩晶晶, 刘炜, 毕玉平. 白藜芦醇的研究进展[J]. 生物工程学报, 2008, 24(11): 1 851-1 859.
- [6] 陈波, 俞惠新, 谭成, 等. 白藜芦醇及其衍生物抗氧化抗肿瘤活性研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(4): 52-55.
- [7] SCHUSTER S, PENKE M, GORSKI T, et al. Resveratrol differentially regulates NAMPT and SIRT1 in hepatocarcinoma cells and primary human hepatocytes [J]. *Cancer & Metabolism*, 2014, 9(3): e91045.
- [8] 王玉涛, 招穗珊, 关文达, 等. 白藜芦醇对常见肠道病毒抑制作用的试验研究[J]. 新中医, 2015, 47(2): 222-224.
- [9] PASINETTI G M, WANG Jun, HO L, et al. Roles of resveratrol and other grape-derived polyphenols in Alzheimer's disease prevention and treatment [J]. *Biochimica ET Biophysica Acta*, 2014, 1 852(6): 1 202-1 208.
- [10] 郜海燕, 于震宇, 陈杭君, 等. 白藜芦醇功能和作用机理研究进展[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 411-416.
- [11] 李晓东, 何卿, 郑先波, 等. 葡萄白藜芦醇研究进展[J]. 园艺学报, 2011, 38(1): 171-184.
- [12] 陈雷, 韩雅珊. 葡萄不同品种和组织白藜芦醇含量的差异[J]. 园艺学报, 1999, 26(2): 50-51.
- [13] 孟宪军, 杜彬. 野生山葡萄皮、籽中白藜芦醇的含量测定[J]. 食品科技, 2006, 31(2): 96-99.
- [14] 李婷, 李胜, 张青松, 等. 葡萄不同组织部位白藜芦醇含量的比较[J]. 甘肃农业大学学报, 2009, 44(2): 64-67.
- [15] 孙崇德, 徐昌杰, 李鲜, 等. 5 个葡萄品种果实生物活性物质的检测与抗氧化活性评价[J]. 果树学报, 2008, 25(5): 635-639.
- [16] 冯涛, 董凌杰, 杜宁. 葡萄籽白藜芦醇的纯化及体外抗氧化功能的研究[J]. 食品工业, 2010(2): 1-3.
- [17] 刘林丽, 王跃进. 华东野生葡萄果皮中白藜芦醇的提取及其抗氧化活性分析[J]. 中国食品学报, 2011, 11(7): 185-189.
- [18] 阳梅芳. 柚子黄酮类物质提取、分离及生物特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013: 24.
- [19] 毛俊霞. 葡萄叶中白藜芦醇的提取和分离纯化研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2013: 19-20.
- [20] 刘金串, 孟江飞, 郭志君, 等. 膨大处理对红地球葡萄酚类物质及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(5): 7-12.
- [21] OKUDA T, YOKOTSUKA K. Trans-resveratrol concentration in berry skins and wines from grapes grown in Japan [J]. *American Journal of Enology & Viticulture*, 1996, 47(1): 93-99.
- [22] 李阿英, 王西成, 刘丹, 等. 4 个鲜食葡萄品种生长发育过程中各器官白藜芦醇含量的变化[J]. 果树学报, 2014, 31(6): 1 079-1 085, 1 199.
- [23] 张上隆, 陈昆松. 果实品质形成与调控的分子生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 113-118.
- [23] 焦士蓉, 郑贵菊. 柚皮黄酮类物质的微波辅助提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(1): 73-75.
- [24] 张禄捷, 李荣, 姜子涛. 茼蒿叶中总黄酮的提取纯化及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2015, 36(24): 40-45.
- [25] 刘军海. 微波辅助提取花椒叶黄酮及其抗氧化活性研究[J]. 中国调味品, 2015(7): 16-20.
- [26] HE Qing-feng, LI Yan-jie, ZHANG Ping-ping, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and phenolics from celery (*Apium graveolens* L.) leaves by response surface methodology[J]. *Food Technology and Economy*, 2016, 34(4): 341-349.
- [27] 喻俊, 王涛, 贾春红, 等. 响应面优化牛蒡子多糖的提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(6): 207-212.
- [28] ALAM M N, BRISTI N J, RAFIQUZZAMAN M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity [J]. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2013, 21(2): 143-152.
- [29] LIN C L, WANG C C, CHANG S C, et al. Antioxidative activity of polysaccharide fractions isolated from *Lycium barbarum* Linnaeus [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2009, 45(2): 146-151.
- [30] 牛欣欣, 何强, 赵志峰, 等. 红花椒果实抗氧化活性研究[J]. 中国调味品, 2015(1): 4-8.

(上接第 142 页)

- [14] WANG Chang-lu, LI Zhen-jing, LI Feng-juan, et al. Optimization of Microwave Assisted Extraction Conditions for Total Flavonoids in *Toona Sinensis* Leaves Using Response Surface Methodology[J]. *International Journal of Food Engineering*, 2012, 8(4): 295-300.
- [15] 王玮, 李苑新. 提取新技术用于黄酮类化合物的研究进展[J]. 中国药房, 2014(31): 2 958-2 960.
- [16] 朱玲玲, 张广文, 杨婷婷, 等. 微波提取白鹃梅黄酮类物质及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(23): 239-244.
- [17] 彭飞, 杨越冬, 程才红, 等. 安梨总黄酮微波辅助提取工艺的优化及其成分初步分析[J]. 食品科技, 2015(11): 196-203.
- [18] 吴亮亮, 石雪萍, 张卫明. 花椒总黄酮提取技术研究及黄酮成分分析[J]. 食品研究与开发, 2011(2): 16-20.
- [19] 邢利沙, 陈海霞, 王佳, 等. 大蒜不同极性萃取物的体外抗氧化活性[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(4): 219-222.
- [20] 张宇思, 龚祝南, 石雪萍. 花椒总黄酮的抗氧化作用[J]. 食品科学, 2011(15): 70-73.
- [21] 徐林, 蒲彪, 蒋燕, 等. 藤椒水提液的体外抗氧化能力[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(2): 140-143.
- [22] 张曦, 吴道宏, 何芳. 花椒总黄酮的提取工艺条件研究[J]. 应用化工, 2012, 41(1): 96-98.