



裸燕麦皂苷的提取分离及其抗氧化活性

毕重铭^{1,2}, 曹小红¹, 田惠光³, 张民¹

(1.天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457; 2.天津开发区卫生防病站, 天津 300457;
3.天津市卫生局, 天津 300040)

摘要: 从裸燕麦麸皮中提取得到总燕麦皂苷, 研究了乙酸乙酯对异黄酮的脱除效果, 采用薄层色谱法对裸燕麦总皂苷进行了初步分离, 并研究了裸燕麦皂苷对卵磷脂质过氧化、小鼠肝自发性脂质过氧化和 Fe^{2+} - H_2O_2 诱导的小鼠肝脂质过氧化的抑制作用。结果表明, 乙酸乙酯可有效去除异黄酮, 裸燕麦总皂苷中有 6 种皂苷类化合物, 裸燕麦皂苷对卵磷脂质过氧化、小鼠肝自发性脂质过氧化和 Fe^{2+} - H_2O_2 诱导的小鼠肝脂质过氧化均具有极显著的 ($P<0.01$) 抑制作用, 抑制率分别达到 58.7%、42.4% 和 18.6%。

关键词: 裸燕麦; 燕麦皂苷; 抗氧化

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A 文章编号: 1672-6510 (2008) 04-049-03

Extraction of Oat Saponin and Its Antioxidant Activity

BI Chong-ming^{1,2}, CAO Xiao-hong¹, TIAN Hui-guang³, ZHANG Min¹

(1. College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;
2. Tianjin TEDA Sanitation and Epidemic Prevention Station, Tianjin 300457, China;
3. Tianjin Health Bureau, Tianjin 300040, China)

Abstract: The total oat saponin was extracted from naked oat. The separation effects of acetic ether on isoflavone were explored. The total saponin was separated by TLC. The antioxidant activity of oat saponin was assayed by the method of lecithin peroxidation, mice liver lipid peroxidation trial induced by itself or by Fe^{2+} - H_2O_2 . The results show that acetic ether can separate isoflavone from saponin and there are six kinds of saponin in total saponin. The inhibition rate of saponin to lecithin peroxidation, mice liver lipid peroxidation induced by itself or by Fe^{2+} - H_2O_2 are 58.7%, 42.4% and 18.6%, respectively.

Keywords: *A.nuda L.*; oat saponin; antioxidant activity

燕麦是禾本科燕麦属粮饲兼用作物。栽培的燕麦主要有两类, 即带壳燕麦和裸燕麦。外国栽培的燕麦多为皮燕麦, 而我国广泛栽培的燕麦是大粒裸燕麦 (*A.nuda L.*), 俗称莜麦、玉麦、铃铛麦。裸燕麦起源于我国, 是我国的特产^[1]。国外对皮燕麦的加工利用进行了广泛研究^[2-4], 从皮燕麦中制备了一种新型脂肪替代物燕麦皂苷 (Datrim), 它适用于制作低热能食品、低脂肪或无脂肪的冷冻甜食品以及在低温或室温下生产的其他食品。另外, 皮燕麦皂苷还是燕麦

抗氧化活性的重要成分。但国内外对裸燕麦皂苷的提取制备及其抗氧化活性研究报道很少。本研究从裸燕麦麸皮中提取制备燕麦皂苷, 并研究其抗氧化活性。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

裸燕麦, 产于河北省石家庄市, 购于当地市场。
硫代巴比妥酸, 分析纯, 上海恒信化工厂; 卵磷

收稿日期: 2008-04-28; 修回日期: 2008-05-29

基金项目: 天津市科技计划项目 (07ZCKFNC01800)

作者简介: 毕重铭 (1970—), 男, 天津人, 副主任医师, 硕士研究生。

脂, 生化试剂, 上海伯奥生物科技有限公司; 其他试剂均为分析纯.

1.2 主要仪器

DG404 型真空电热干燥箱, 天津市天宇实验仪器有限公司; 722E 型可见分光光度计、RE52AA 型旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂.

1.3 实验方法

1.3.1 裸燕麦皂苷制备方法

裸燕麦皂苷提取方法参见文献[5].

裸燕麦皂苷总提取物悬浮于蒸馏水, 依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取, 收集正丁醇萃取物得裸燕麦皂苷. 将裸燕麦皂苷用蒸馏水配成适当浓度用于后续实验.

1.3.2 乙酸乙酯对异黄酮的脱除

分别将乙酸乙酯处理前后的样品在薄层色谱上显色, 比较处理前后黄酮的变化. 异黄酮鉴定方法参考文献[6]. 薄层板: 硅胶 G 制成 0.25 mm 薄板; 点样及显色: 分别将乙酸乙酯处理前后的样品于薄层板上点样, 在薄板上喷显色剂 ($m_{\text{氯化钾}} : m_{\text{氯化铁}} = 1 : 1$), 异黄酮板在室温下 10 min 即可显色良好.

1.3.3 薄层色谱对裸燕麦皂苷的分离

采用薄层色谱分离裸燕麦皂苷^[7]. 薄层板: 硅胶 G 制成 0.25 mm 薄板; 点样: 取薄层板, 在距底端 2.5 cm 处点样; 皂苷展开剂: $V_{\text{氯仿}} : V_{\text{甲醇}} : V_{\text{水}} = 60 : 40 : 10$; 展开: 点样后晾干, 放入层析缸中, 上行展开至距顶端约为 2 cm 处取出; 皂苷的显色剂: 10% 硫酸乙醇溶液; 显色: 待展开剂挥发后, 在薄板上喷显色剂, 皂苷板放入烘箱中 110 °C、20 min 显色.

1.3.4 裸燕麦皂苷对卵磷脂质体氧化的影响

于样品管中加入 1.00 mL 脂质体磷酸盐缓冲液分散系 (LLS)、1.00 mL 400 μmol/L FeCl₃、1.00 mL 400 μmol/L 抗坏血酸、1.00 mL 样品, 充分混匀, 避光 37 °C 水浴 60 min, 加入 2.00 mL 三氯乙酸 (TCA) - 硫代巴比妥酸 (TBA) - 盐酸 (HCl), 90 ~ 100 °C 水浴 15 min, 迅速冷却, 2 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 535 nm 测定吸光度 (A_s). 空白管以 1.00 mL 相应溶剂代替样品, 操作方法同样品管, 535 nm 测定吸光度 (A_c); 对照管中加入 1.00 mL 磷酸缓冲液 (PBS) 和 5.00 mL 相应溶剂, 不加热, 作为参比.

$$\text{抑制率} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%$$

1.3.5 裸燕麦皂苷对小鼠肝自发性脂质过氧化的影响

20 只雄性昆明种小鼠, 体重 (20 ± 2) g, 颈椎脱臼处死. 迅速分离肝组织, 冰冷的生理盐水洗净后称重, 冰浴下匀浆, 制成 0.5% 的悬浮液, 3 000 r/min 离

心得匀浆液. 取匀浆液 1.0 mL, 加入 200 μL 不同浓度的样品, 37 °C 温浴 1 h, 不断振摇. 加 20% TCA 1.0 mL, 混匀, 加 0.67% TBA 1.5 mL, 沸水浴 15 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 532 nm 测定上清液吸光度.

1.3.6 裸燕麦皂苷对 Fe²⁺-H₂O₂诱导小鼠肝脂质过氧化的影响

取试管, 先加入 1 mol/L 的 FeSO₄ 及 30 mol/L 的 H₂O₂ 各 0.1 mL, 再依 1.3.5 的方法加入组织匀浆和样品, 37 °C 温浴 1 h, 不断振摇. 加 20% TCA 1.0 mL, 混匀, 加 0.67% TBA 1.5 mL, 沸水浴 15 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 532 nm 测定上清液吸光度.

2 结果与分析

2.1 乙酸乙酯对异黄酮的脱除效果

乙酸乙酯对异黄酮的脱除效果见图 1. 由图 1 可见, 裸燕麦提取物中的异黄酮的含量很高, 而经过乙酸乙酯处理后异黄酮含量甚微. 说明乙酸乙酯可有效去除燕麦提取物中的异黄酮.

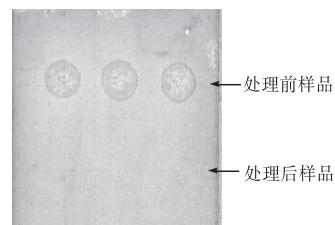


图 1 乙酸乙酯对异黄酮的脱除

Fig. 1 Separation of acetic ether on isoflavone

2.2 薄层色谱对裸燕麦皂苷的分离

图 2 是薄层色谱对裸燕麦皂苷的分离结果. 由图 2 可见有 6 个斑点出现, 初步确定裸燕麦中含有 6 种皂苷类化合物.



图 2 薄层色谱对裸燕麦皂苷的分离

Fig. 2 Separation of oat saponin by TLC

2.3 裸燕麦皂苷对卵磷脂质过氧化的作用

裸燕麦皂苷对脂质过氧化的作用见表 1. 由表 1 可知: 5 ~ 160 mg/L 的燕麦皂苷对卵磷脂质过氧化都具有极显著的 ($P < 0.01$) 抑制作用, 但其作用未表现出规律的量效关系, 其中, 质量浓度为 5、20 和 160 mg/L 时表现出了较高的抗氧化活性. 造成这种不规律表现的原因尚需进一步研究.

表1 裸燕麦皂苷对卵磷脂质过氧化的作用**Tab. 1 Effects of naked oat saponin on liposome peroxidation**

样品	质量浓度/(mg·L ⁻¹)	A ₅₃₅	抑制率/%
空白	—	1.755±0.172	—
燕麦皂苷	5	0.724±0.019**	58.7
	10	1.084±0.144**	38.2
	20	0.760±0.021**	56.7
	40	1.356±0.216**	22.7
	80	1.378±0.028**	21.5
	160	0.870±0.077**	50.4

注:n=3;**P<0.01,与空白比较.

2.4 裸燕麦皂苷对小鼠肝自发性脂质过氧化的作用

由表2裸燕麦皂苷对小鼠肝自发性脂质过氧化的作用可知:20~160 mg/L的燕麦皂苷对小鼠肝匀浆自氧化MDA的形成均有极显著的(P<0.01)抑制作用,当质量浓度为5~160 mg/L时,其作用随浓度的增加而提高.

表2 裸燕麦皂苷对小鼠肝自发性脂质过氧化的作用**Tab. 2 Effects of naked oat saponin on liver lipid peroxidation**

样品	质量浓度/(mg·L ⁻¹)	A ₅₃₅	抑制率/%
空白	—	0.330±0.017	—
燕麦皂苷	5	0.310±0.021	6.0
	10	0.265±0.016	19.7
	20	0.202±0.027**	38.8
	40	0.195±0.030**	40.9
	80	0.198±0.028**	40.0
	160	0.190±0.014**	42.4

注:n=3;**P<0.01,与空白比较.

2.5 裸燕麦皂苷对Fe²⁺-H₂O₂诱导小鼠肝脂质过氧化的作用

裸燕麦皂苷对Fe²⁺-H₂O₂诱导小鼠肝脂质过氧化的作用见表3.由表3可知:20~160 mg/L燕麦皂苷对Fe²⁺-H₂O₂诱导的小鼠肝脂质过氧化有极显著的(P<0.01)抑制作用,且随着浓度的增加而提高,表现出明显的量效关系,但抑制作用较小.

表3 裸燕麦皂苷对Fe²⁺-H₂O₂诱导小鼠肝脂质过氧化的作用**Tab. 3 Effects of oat saponin on liver lipid peroxidation induced by Fe²⁺-H₂O₂**

样品	质量浓度/(mg·L ⁻¹)	A ₅₃₅	抑制率/%
空白	—	0.392±0.014	—
燕麦皂苷	5	0.384±0.019	2.0
	10	0.369±0.016	5.9
	20	0.340±0.017**	13.3
	40	0.335±0.011**	14.5
	80	0.326±0.013**	16.8
	160	0.319±0.014**	18.6

注:n=3;**P<0.01,与空白比较.

“受质特异性”是物质的抗氧化活性最重要的特点,即没有任何一种抗氧化活性物质能清除所有的自由基.本研究结果显示:裸燕麦皂苷对不同的抗氧化实验模型表现出不一致的抗氧化活性,这一现象符合抗氧化的一般规律;裸燕麦麸皮提取物中的皂苷类物质是燕麦中的重要抗氧化活性物质之一,具有较强的抗氧化活性.

3 结语

乙酸乙酯对异黄酮具有良好的清除作用,裸燕麦中含有6种皂苷类化合物.5~160 mg/L的燕麦皂苷对卵磷脂质过氧化都具有极显著的(P<0.01)抑制作用,当质量浓度为5 mg/L时,抑制率最大,达到58.7%;裸燕麦皂苷有抑制小鼠肝自发性脂质过氧化的作用,且随着浓度的增加,抑制作用增强,质量浓度为160 mg/L时,抑制率为42.4%,达到最大值;裸燕麦皂苷对Fe²⁺-H₂O₂诱导小鼠肝脂质过氧化有显著的抑制作用,且抑制作用随浓度的增加而增强,但作用较小.当质量浓度为160 mg/L时,抑制率最高达到18.6%.

参考文献:

- [1] 陈是宇,方程,孙彦,等.燕麦属牧草根尖组织染色体观察方法的优化研究[J].草原与草坪,2008,2:23—26.
- [2] YV Wu, DC Doehlert. Enrichment of β-glucan in oat bran by fine grinding and air classification [J]. Lebensm-wiss U- Technol, 2002, 35: 30—33.
- [3] B Svihus, M Gullord. Effect of chemical content and physical characteristics on nutritional value of wheat, barley and oats for poultry [J]. Animal Feed Science and Technology, 2002, 102: 71—92.
- [4] D I Givens, T W Davies, R M Laverick. Effect of variety, nitrogen fertilizer and various agronomic factors on the nutritive value of husked and naked oats grain [J]. Animal Feed Science and Technology, 2004, 113: 169—181.
- [5] 张民.裸燕麦皂苷提取工艺研究[J].食品科技,2005,6:54—56.
- [6] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室.黄酮类化合物鉴定手册[M].北京:科学出版社,1981.
- [7] 徐任生,方圣鼎,孔繁华.天然产物化学[M].北京:科学出版社,1993:510.