

干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质 得率及抗氧化活性的影响

王莹, 邓慧, 黄大川, 曾祥辉, 张钦, 贺秋平

(邵阳学院食品与化学工程学院, 湖南邵阳 422000)

摘要:通过研究不同生长期对迷迭香脂溶性抗氧化物质(鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸)得率的影响筛选出最佳生长期,在此基础上测定不同干燥方式(阴干、烘干(45℃)和晾晒)下迷迭香脂溶性抗氧化物质得率,DPPH自由基、ABTS⁺自由基、羟自由基清除能力和铁还原力,以考察不同干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质抗氧化活性的影响。结果表明:迷迭香抗氧化物质积累的最佳生长期为10个月,3种不同干燥方式中烘干处理的迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的得率最大,DPPH自由基、ABTS⁺自由基、羟自由基清除能力和铁还原力均最强,但弱于TBHQ,其清除DPPH自由基、ABTS⁺自由基、羟自由基的半抑制浓度(IC₅₀)分别为0.034、0.068、0.067 mg/mL。因此,采用生长期10个月、烘干处理的迷迭香所提脂溶性抗氧化物质具有较强的抗氧化活性,能较好地保留迷迭香脂溶性抗氧化物质,适用于工业生产。

关键词:迷迭香;生长期;干燥方式;脂溶性;抗氧化物质;抗氧化活性

中图分类号:TQ654;TQ651

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2022)04-0087-05

Effects of drying methods on yield and antioxidant activity of fat – soluble antioxidant components from *Rosmarinus officinalis*

WANG Ying, DENG Hui, HUANG Dachuan, ZENG Xianghui, ZHANG Qin, HE Qiuping

(College of Food and Chemistry Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, Hunan, China)

Abstract: The optimal growth period was selected by studying the effect of different growth periods on the yield of fat – soluble antioxidant components (carnosic acid, carnosol and ursolic acid) in *Rosmarinus officinalis*, then the yield of *Rosmarinus officinalis* fat – soluble antioxidant components, the scavenging capacity of DPPH radical, ABTS⁺ radical, hydroxyl radical and iron reducing power were determined under different drying methods (shade drying, sun drying and hot air drying at 45℃) to investigate the effect of different drying methods on the antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis* fat – soluble antioxidant components. The results showed that ten months was the optimal growth period for the accumulation of fat – soluble antioxidant components in *Rosmarinus officinalis*. *Rosmarinus officinalis* treated with hot air drying had the highest yield of fat – soluble antioxidant components, the strongest scavenging ability of DPPH radical, ABTS⁺ radical, hydroxyl radical and iron reducing power, but

weaker than TBHQ, and its semi – inhibitory concentration (IC₅₀) of scavenging DPPH radical, ABTS⁺ radical and hydroxyl radical were 0.034, 0.068, 0.067 mg/mL, respectively. In general, the hot air – dried *Rosmarinus officinalis* grew for ten months showed stronger antioxidant activity, which could well retain the fat – soluble antioxidant components of *Rosmarinus officinalis*,

收稿日期:2021-06-28;修回日期:2022-01-01

基金项目:湖南省教育厅双一流学科优秀青年项目(18B422);邵阳市指导性科技计划项目(2020GZ87);邵阳学院新引进高层次人才专项科研项目(17ZX16);邵阳学院研究生科研创新项目(CX2020SY038)

作者简介:王莹(1988),女,助理研究员,硕士生导师,博士,研究方向为食品质量与安全(E-mail)wdjcsx@163.com。

and it was suitable for industrial production.

Key words: *Rosmarinus officinalis*; growing period; drying method; fat-soluble; antioxidant component; antioxidant activity

迷迭香(*Rosmarinus officinalis* L.)属唇形科迷迭香属小灌木,是一种名贵的天然香料植物,原产于欧洲、地中海沿岸^[1-2],目前我国海南、云南、广西、贵州、新疆、浙江等多省份(自治区)都有大面积种植。迷迭香中含有酚类、黄酮类与萜类化合物^[3-4],具有抑菌、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老和提高免疫力等作用^[5-8]。

迷迭香抗氧化物质分为脂溶性抗氧化物质和水溶性抗氧化物质,水溶性抗氧化物质主要是迷迭香酸,脂溶性抗氧化物质主要为鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸。目前大部分研究仅关注迷迭香活性成分的提取方法,针对迷迭香叶干燥方式的研究较少,综合比较不同干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质活性影响的研究鲜见报道。

常用的干燥方式主要有晒干、阴干、冻干、烘干、微波干燥和喷雾干燥等^[9-14]。本研究考虑实际情况,首先筛选出迷迭香的最佳生长期,在此基础上对迷迭香叶进行自然阴干、烘干和晾晒3种不同干燥方式处理,通过测定鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率以及迷迭香脂溶性抗氧化物质的ABTS⁺自由基、DPPH自由基、羟自由基清除率和铁还原力,探讨不同干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质得率及抗氧化活性的影响,以期选出最佳生长期及适宜干燥方法,最大限度地保留脂溶性抗氧化物质,旨在为迷迭香综合开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

鲜迷迭香叶,采摘于湖南省邵东市迷迭香种植基地。乙腈、甲醇、磷酸均为色谱纯;鼠尾草酸标准品(HPLC级,纯度≥98%),大连美仑生物技术有限公司;熊果酸标准品(纯度≥98%),成都普菲德生物技术有限公司;DPPH(纯度≥97%),酷尔化学科技有限公司;ABTS(纯度≥98%),如吉科技有限公司;TBHQ,阿拉丁试剂有限公司;乙醇、过硫酸钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、三氯化铁、铁氰化钾、三氯乙酸等,均为分析纯。

FW高速万能粉碎机;CP114分析天平;TD4台式离心机;U3000高效液相色谱仪,Thermo Fisher公司;SB-700DTY超声波清洗机;RE-52AA旋转蒸发仪;H2-16K真空冷冻干燥器;DZKW-4恒温水浴锅;UV-1780紫外可见分光光度计,日本岛津仪

器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 原料处理及迷迭香脂溶性抗氧化物质提取

选取生长期分别为6、8、10、12、24个月的鲜迷迭香叶,采用回流法对不同生长期迷迭香叶脂溶性抗氧化物质进行提取^[15];将筛选出的最优生长期的迷迭香叶分别采用阴干、晾晒、45℃低温烘干3种方式干燥至恒重,粉碎后过筛,采用超声波辅助法对不同干燥方式的迷迭香叶脂溶性抗氧化物质进行提取^[16],备用。

1.2.2 鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率的测定

参照文献[17-18],采用高效液相色谱法分别测定1.2.1所得迷迭香脂溶性抗氧化物质中鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸质量浓度,按公式(1)计算得率(Y)。

$$Y = \frac{C \times V}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中:C为提取物的质量浓度,mg/mL;V为提取液体积,mL;m为试样质量,mg。

1.2.3 迷迭香脂溶性抗氧化物质的分离

1.2.1所得脂溶性抗氧化物质中含有少量水溶性抗氧化物质,通过水溶解法将迷迭香脂溶性抗氧化物质和水溶性抗氧化物质分离^[19],将得到的迷迭香脂溶性抗氧化物质进行抗氧化活性试验。

1.2.4 迷迭香脂溶性抗氧化物质抗氧化活性的测定

1.2.4.1 DPPH自由基清除率测定

参考Tian等^[20]的方法测定DPPH自由基清除率。取2mL不同质量浓度的迷迭香脂溶性抗氧化物质样液,加入2mL DPPH无水乙醇溶液,避光静置30min,在波长517nm处测定吸光度,根据公式(2)计算DPPH自由基清除率(R_1)。

$$R_1 = [1 - (A_i - A_0)/A_j] \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 为阴性对照吸光度; A_i 为样液吸光度; A_j 为空白对照吸光度。

1.2.4.2 ABTS⁺自由基清除率测定

参考李娜等^[21]的方法测定ABTS⁺自由基清除率。吸取0.3mL不同质量浓度的迷迭香脂溶性抗氧化物质样液,加入2.7mL ABTS⁺工作液,混合摇匀,室温避光条件下反应30min,并测定其在734nm处的吸光度,根据公式(3)计算ABTS⁺自由基清

除率(R_2)。

$$R_2 = (1 - A_s/A_0) \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_0 为空白对照吸光度; A_s 为样液吸光度。

1.2.4.3 铁还原力测定

参考 Yen 等^[22] 的方法测定铁还原力。取 1 mL 不同质量浓度的迷迭香脂溶性抗氧化物质样液,加入 2.5 mL 磷酸盐缓冲液和 2.5 mL 铁氰化钾溶液混合均匀,在 50℃ 水浴中反应 20 min 后加入 2.5 mL 三氯乙酸溶液中止反应,静置 10 min,取上清液 2.5 mL,依次加入 2.5 mL 蒸馏水、0.5 mL 三氯化铁溶液,混匀后室温放置 10 min,在 700 nm 波长处测定吸光度。

1.2.4.4 羟自由基清除率测定

参考 Smirnov 等^[23] 的方法稍作改动。取 2 mL 不同质量浓度的迷迭香脂溶性抗氧化物质样液,加入 0.25 mL 9 mmol/L FeSO_4 溶液、0.25 mL 9 mmol/L 水杨酸溶液和 0.25 mL 8.8 mmol/L H_2O_2 溶液,摇匀,室温下反应 10 min,于 510 nm 波长处测定吸光度,根据公式(4)计算羟自由基清除率(R_3)。

$$R_3 = [1 - (A_s - A_b)/A_c] \times 100\% \quad (4)$$

式中: A_c 为空白对照吸光度; A_s 为样液吸光度; A_b 为阴性对照吸光度。

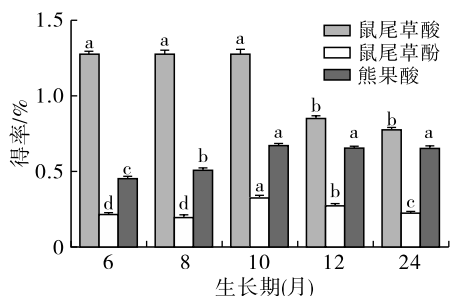
1.2.5 数据处理

所有试验均重复 3 次,结果以“平均值 \pm 标准差”表示,并利用 Prism 8.0 数据软件进行数据处理及统计分析。

2 结果与分析

2.1 生长期对迷迭香鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率的影响

6、8、10、12、24 个月生长期迷迭香中鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率如图 1 所示。



注:相同指标柱子上的不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。下同

图 1 生长期对迷迭香鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率的影响

从图 1 可以看出:迷迭香生长期为 6~10 个月

时,鼠尾草酸得率变化不显著,但到生长期 10 个月时,鼠尾草酸得率迅速下降;鼠尾草酚得率随着生长期的延长先增加后降低,在生长期 10 个月时,鼠尾草酚得率最高,达到 0.334 7%;熊果酸得率先随着生长期延长不断增加,到生长期 10 个月得率达到最大值,随后趋于稳定。由此可见,迷迭香生长期越长,所提脂溶性抗氧化物质得率不一定越高。综合考虑,迷迭香最优生长期为 10 个月。

2.2 干燥方式对迷迭香鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率的影响

阴干、晾晒、烘干处理迷迭香中鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率如图 2 所示。

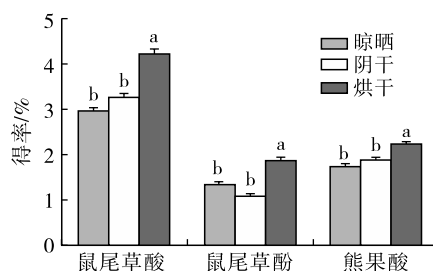


图 2 干燥方式对迷迭香鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率的影响

由图 2 可知,经 3 种不同干燥方式处理,烘干迷迭香中鼠尾草酸得率最高,达到 4.285%,然后依次为阴干和晾晒。烘干迷迭香中鼠尾草酚得率最高,达到 1.895%,其次为晾晒、阴干。烘干迷迭香中熊果酸得率最高,其次为阴干、晾晒。烘干迷迭香中 3 种脂溶性抗氧化物质得率与阴干、晾晒的相比差异显著,说明烘干处理对迷迭香中脂溶性抗氧化物质的影响最小。因此,烘干能有效降低迷迭香抗氧化物质的损失。

2.3 干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质抗氧化活性的影响

2.3.1 DPPH 自由基清除能力

3 种不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的 DPPH 自由基清除能力测定结果如图 3 所示。

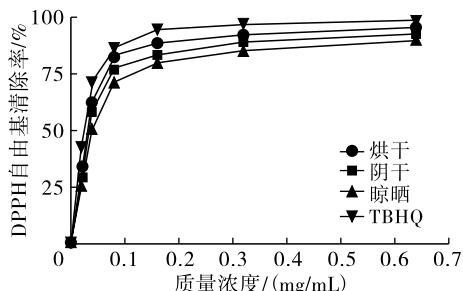


图 3 不同干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质 DPPH 自由基清除能力的影响

由图3可知,DPPH自由基清除能力随着脂溶性抗氧化物质质量浓度的升高而增强,当质量浓度为0.64 mg/mL时,烘干、阴干与晾晒迷迭香所提脂溶性抗氧化物质对DPPH自由基清除率分别为95.18%、92.48%和89.59%。烘干、阴干和晾晒迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的DPPH自由基清除率的半抑制浓度(IC_{50})分别为0.034、0.040、0.047 mg/mL。因此,不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的DPPH自由基清除能力强弱顺序为烘干>阴干>晾晒。结果表明烘干处理可更好地保留迷迭香叶中脂溶性抗氧化物质。

2.3.2 ABTS⁺自由基清除能力

3种不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的ABTS⁺自由基清除能力测定结果如图4所示。

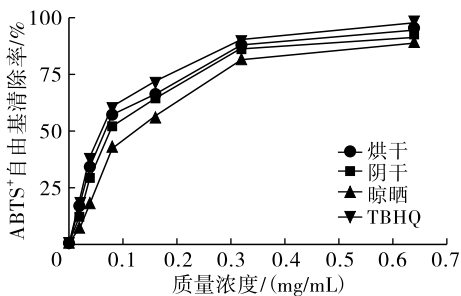


图4 不同干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质ABTS⁺自由基清除能力的影响

由图4可知,3种干燥方式处理的迷迭香所提脂溶性抗氧化物质对ABTS⁺自由基均有较强的清除作用,且随着质量浓度的增加而增强,但弱于TBHQ。当质量浓度为0.64 mg/mL时,烘干迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的ABTS⁺自由基清除能力达到94.72%,强于阴干、晾晒。烘干、阴干及晾晒迷迭香所提脂溶性抗氧化物质清除ABTS⁺自由基的 IC_{50} 分别为0.068、0.075、0.122 mg/mL,表明烘干处理能减少迷迭香脂溶性抗氧化物质的损失。

2.3.3 铁还原力

3种不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的铁还原力见图5。

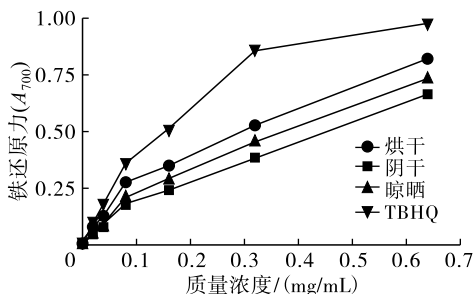


图5 不同干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质铁还原力的影响

从图5可看出,3种不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的抗氧化活性均随着质量浓度的增加逐渐增强。当质量浓度由0.02 mg/mL增加到0.64 mg/mL,烘干迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的铁还原力从0.069增加到0.819,阴干迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的铁还原力由0.044增加到0.663,晾晒迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的铁还原力由0.055增加到0.733。因此,与阴干、晾晒相比,烘干迷迭香所提脂溶性抗氧化物质具有更好的铁还原力。

2.3.4 羟自由基清除能力

3种不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的羟自由基清除能力测定结果如图6所示。

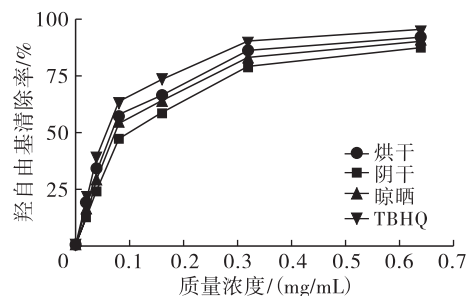


图6 不同干燥方式对迷迭香脂溶性抗氧化物质羟自由基清除能力的影响

从图6可以看出,当质量浓度为0.64 mg/mL时,烘干、阴干和晾晒迷迭香所提脂溶性抗氧化物质对羟自由基的清除率分别达到92.00%、87.42%、90.85%,但均弱于TBHQ。烘干、阴干和晾晒迷迭香所提脂溶性抗氧化物质对羟自由基的 IC_{50} 分别为0.067、0.084、0.071 mg/mL。不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的羟自由基清除能力大小依次为烘干>晾晒>阴干,这与铁还原力强弱顺序一致。

综上,不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质对ABTS⁺自由基、DPPH自由基的清除能力趋势是一致的,当质量浓度为0.64 mg/mL时,其清除能力大小均为烘干>阴干>晾晒,不同干燥方式迷迭香所提脂溶性抗氧化物质对羟自由基的清除能力和铁还原力大小顺序为烘干>晾晒>阴干,说明烘干迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的抗氧化活性最强。

3 结论

本文对迷迭香最佳生长期进行探讨,并在此基础上研究迷迭香经过不同干燥方式处理后,对所提脂溶性抗氧化物质抗氧化能力的影响。结果表明:迷迭香最佳生长期为10个月;45℃低温烘干迷迭香所提脂溶性抗氧化物质中鼠尾草酸、鼠尾草酚和熊果酸得率最高,且抗氧化能力最强,能有效保护迷

迭香的脂溶性活性物质。阴干和晾晒处理的迷迭香可能由于长时间与空气接触,干燥过程中也易受温度、光照等因素的影响,迷迭香中脂溶性抗氧化物质发生氧化或分解,导致迷迭香脂溶性抗氧化物质损失较多。因此,采用10个月生长期,经烘干处理的迷迭香所提脂溶性抗氧化物质的抗氧化能力最强,适于工业生产。

参考文献:

- [1] CARRILLO J D, TENA M T. Determination of volatile compounds in antioxidant rosemary extracts by multiple headspace solid - phase microextraction and gas chromatography[J]. *Flavour Fragr J*, 2006, 21(4): 626 - 633.
- [2] THORSEN M A, HILDEBRANDT K S. Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 995(1): 119 - 125.
- [3] NIETO G, ROS G, CASTILLO J. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): a review[J]. *Medicines*, 2018, 5(3): 98 - 103.
- [4] ROCHA J, EDUARDO - FIGUEIRA M, BARATEIRO A, et al. Anti - inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2015, 116(5): 398 - 413.
- [5] 吕岱竹,王明月,袁宏球,等. 高效液相色谱法测定迷迭香超临界提取物中的鼠尾草酸和鼠尾草酚[J]. *分析测试学报*, 2006(3): 109 - 111.
- [6] SAIKO P, STEINMANN M T, SCHUSTER H, et al. Epigallocatechin gallate, ellagic acid, and rosmarinic acid perturb dNTP pools and inhibit de novo DNA synthesis and proliferation of human HL - 60 promyelocytic leukemia cells: synergism with arabinofuranosylcytosine [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22(1): 213 - 222.
- [7] LEE D K, LEE S H, JANG H D. The anti - osteoclastic effect of rosemary ethanol extract is due to the down - regulation of ROS level via NADPH oxidase1 and Nrf2 signal pathway by carnosic acid[J/OL]. *FASEB J*, 2021, 35(S1): 03397 [2021 - 06 - 01]. <https://doi.org/10.1096/fasebj.2021.35.S1.03397>.
- [8] BOUCHRA S. Combined antibacterial activity of essential oils extracted from *Lavandula maroccana* (Murb.), *Thymus pallidus* Batt. and *Rosmarinus officinalis* L. against antibiotic - resistant Gram - negative bacteria[J/OL]. *Eur J Integr Med*, 2021, 43(3): 101312 [2021 - 06 - 05]. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2021.101312>.
- [9] 张钟元,朱翠平,李大婧,等. 不同干燥方式对牛蒡片多酚含量及抗氧化能力的影响[J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(1): 172 - 178.
- [10] KASUNMALA I G G, NAVARATHNE S B, WICKRAMASINGHE I. Effect of drying methods on antioxidant activity of *Syzygium caryophyllatum* (L.) fruit pulp[J]. *Int J Fruit Sci*, 2021, 21(1): 634 - 644.
- [11] KOLLA M C, LAYA A, BAYANG J P, et al. Effect of different drying methods and storage conditions on physical, nutritional, bioactive compounds and antioxidant properties of doum (*Hyphaene thebaica*) fruits[J/OL]. *Heliyon*, 2021, 7(4): e006678 [2021 - 06 - 05]. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e006678>.
- [12] TAN S, KE Z L, CHAI D, et al. Lycopene, polyphenols and antioxidant activities of three characteristic tomato cultivars subjected to two drying methods[J/OL]. *Food Chem*, 2021, 338(15): 128062 [2021 - 06 - 05]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128062>.
- [13] 黄小丹,吴银秀,林刚云,等. 不同干燥方式对桑椹活性成分含量的影响[J]. *广西蚕业*, 2020, 57(1): 32 - 36.
- [14] 李晓英,薛梅,樊汶樵,等. 不同干燥方式对蓝莓叶中酚类物质及其抗氧化活性的影响[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(13): 2570 - 2578.
- [15] 许秋雁,张坤,谢朝阳,等. 同时提取迷迭香中鼠尾草酸和迷迭香酸的工艺研究[J]. *中国食品添加剂*, 2013(3): 72 - 76.
- [16] 张磊,杨国恩,李超凡,等. 迷迭香三种脂溶性成分的联合提取工艺[J]. *中国调味品*, 2016, 41(10): 18 - 21, 45.
- [17] 王莹,曾祥辉,黄大川,等. 迷迭香脂溶性抗氧化剂提取工艺的优化研究[J]. *中国油脂*, 2020, 45(9): 72 - 76.
- [18] 刘刚,李亚欢,郭荣,等. 响应面法优化锁阳熊果酸提取工艺[J]. *吉林农业大学学报*, 2014, 36(6): 723 - 729.
- [19] 肖香,黄达明,王洪新,等. 迷迭香水溶性和脂溶性抗氧化剂的分离[J]. *食品研究与开发*, 2007(1): 188 - 191.
- [20] TIAN S, LIU F, ZHANG X, et al. Phytochemical composition and antioxidant capacity of *Cordia dichotoma* seeds[J]. *Pakistan J Pharmac Sci*, 2014, 27(5): 1123 - 1129.
- [21] 李娜,燕平梅,乔宏萍,等. 南瓜果实黄酮提取工艺条件优化及其抗氧化性研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(8): 24 - 30.
- [22] YEN G C, CHEN H Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity[J]. *J Agric Food Chem*, 1995, 43(1): 27 - 32.
- [23] SMIRNOFF N, CUMBES Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(4): 1057 - 1060.