

油橄榄中多酚类物质的研究进展

谢碧秀¹, 马建英¹, 刘滕¹, 何强¹, 杨泽身², 朱华荣¹

(1. 眉山职业技术学院, 四川眉山 620020; 2. 凉山州中泽新技术开发有限责任公司, 四川西昌 615000)

摘要 油橄榄富含多种功能活性成分, 主要介绍了油橄榄中多酚类物质的含量特点、提取分离、分析鉴定和生物活性, 以期为进一步开发利用提供参考。

关键词 油橄榄; 多酚; 提取分离; 分析鉴定; 生物活性

中图分类号 S509.9; TS201.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)14-254-02

Research Progress of Polyphenols in Olive (*Olea europaea* L.)

XIE Bi-xiu, MA Jian-ying, LIU Teng et al (Meishan Vocational and Technical College, Meishan, Sichuan 620020)

Abstract Olive (*Olea europaea* L.) is rich in various functional components. The characteristics of contents, extraction and separation, analysis and identification, biological activity of polyphenols in olive were introduced, in order to provide a reference for the further development and utilization.

Key words Olive (*Olea europaea* L.); Polyphenols; Extraction and separation; Analysis and identification; Biological activity

油橄榄 (*Olea europaea* L.) 又名洋橄榄、齐敦果, 在植物分类上属于木犀科木犀属, 属常绿乔木, 原产小亚细亚^[1], 经希腊扩展到地中海沿岸地区栽培已有 4 000 年的历史^[2], 在我国油橄榄主要分布在甘肃、广东、广西、云南、四川等省区^[3]。油橄榄全身都是宝, 其果实含油量可高达 40.07%^[4], 而橄榄油是食用植物油中少有的未经提炼的, 其含有固醇类、维生素、多酚等生物活性物质; 油橄榄果榨油后产生的果渣及废水富含三萜类、黄酮类、多酚类物质, 油橄榄叶富含橄榄苦苷、羟基酪醇、山楂酸、黄酮等抗氧化物^[3]。多酚类化合物是指分子结构中有若干个酚性羟基的植物成分的总称, 广泛存在于许多植物中, 多酚的结构特点使其具有较强的抗氧化以及清除自由基的能力。

1 多酚的含量特点

油橄榄中多酚的含量受诸多因素的影响, 不同季节、树龄、品种、植株部位以及原料预处理方式都会影响多酚的含量。

1.1 季节对多酚含量的影响 油橄榄生长发育过程中的各种内部生理因素是影响其叶片中多酚含量变化的重要因素, 比如开花、结果、抽枝、冬眠等生理作用对其植株各部位叶片多酚含量影响极为显著。同时, 光照、温度、水分等气象因子会影响植物的生长发育和多酚类物质的积累。不同品种油橄榄叶片多酚含量从春季到冬季都呈逐渐减少的趋势^[2], 叶片多酚含量均以 2、3 月份较高, 10、11 月份达到最低^[5]。

1.2 树龄对多酚含量的影响 幼龄植株生长旺盛, 合成代谢大于分解代谢, 而老树龄的刚好相反, 幼龄植株的多酚含量比老树龄的高。高彩霞等研究发现, 不同树龄油橄榄叶中多酚含量相差较大, 3 年生油橄榄叶中多酚的含量高达 11.30%, 而 20 年以上树龄的油橄榄叶仅为 5.14%^[6]。

1.3 品种对多酚含量的影响 多酚类物质在植物体内的合

成受遗传因素的影响, 不同品种油橄榄中多酚含量差异很大。耿树香等以云南引种的 16 个品种油橄榄叶样及 13 个品种的果渣样为原料, 测定其中多酚物质的含量发现, 叶样多酚含量鄂植 8 号中的最低, 为 1.02%, 城固 53 中最高, 为 8.29%; 果渣样品中多酚含量, 阿斯最低, 为 0.64%, 而莱星最高, 为 1.56%^[7]。高彩霞对阿斯、莱星、皮削利 3 个品种油橄榄叶中多酚的含量进行了比较研究, 其最高含量分别为 9.72%、9.39%、7.58%^[5]。

1.4 植株部位对多酚含量的影响 多酚类物质及其前体物质的合成代谢频道分布在植物不同的器官、组织、细胞或细胞内不同的细胞器内, 其合成部位和积累部位不同, 因而多酚的含量在同一植株的不同器官中是有差异的。耿树香等研究发现, 油橄榄叶样中多酚含量平均值 (4.21%) 大于果渣中多酚平均含量 (1.10%)^[7]。这说明油橄榄中的多酚可能是由叶片合成, 并输送到果实中去的, 但多数仍然存在于叶片中。

1.5 原料预处理方式对多酚含量的影响 新鲜橄榄果榨油后, 果实被破坏, 其所含有的多酚与空气接触很快被氧化, 若不立即进行提取测定或者不立即进行真空包装, 其含量将会产生差异。不同的干燥方式对多酚的含量影响也很大, 多酚类化合物中有些物质对光不稳定, 长期在太阳光下照射, 易分解, 从而使样品中多酚含量下降。高彩霞等研究发现, 阴干树叶中多酚的含量较晒干的多, 20 年生大树叶, 自然阴干的为 5.14%, 太阳晒干的为 2.78%; 3 年生的小树叶, 自然阴干的为 11.30%, 太阳晒干的为 6.90%^[5]。

2 提取分离

2.1 提取

2.1.1 加热回流提取。 回流提取法是用乙醇等易挥发的有机溶剂提取原料成分, 将浸出液加热蒸馏, 其中挥发性溶剂馏出后又被冷却, 重复流回浸出容器中浸提原料, 这样周而复始, 直至有效成分回流提取完全的方法。根据多酚类化合物的极性特点, 常用甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯等作为溶剂, 进行提取; 多酚类化合物易氧化分解, 因而提取温度不宜太

基金项目 四川省技术创新工程专项项目 (2013ZZ0038)。

作者简介 谢碧秀 (1982 -), 女, 四川资阳人, 讲师, 硕士, 从事果蔬加工研究。

收稿日期 2015-03-25

高,提取时间不宜过长。饶命等采用乙醇溶剂浸提法提取广元地区油橄榄叶多酚物质,在料液比 1:35 g/ml,乙醇体积分数为 60%,浸提温度 55 ℃,浸提时间 1.75 h 的条件下,油橄榄叶多酚提取量为 57.22 mg/g^[8]。

2.1.2 微波辅助提取。由于微波加热是高频电磁波穿透萃取介质到达物料内部使其温度迅速上升导致细胞内部压力超过细胞壁膨胀所能承受的压力,结果细胞破碎,使细胞液溢出并扩散至溶剂中,从而加快了萃取速率,微波辅助提取方法具有穿透力和选择性强、加热效率高、操作方法简单、清洁高效等优点^[9]。耿树香等采用微波辅助法提取了油橄榄叶样及果渣样中多酚物质^[7];孔维宝等也利用微波辅助技术提取油橄榄果渣,多酚含量可达 1.02%,得率比常规溶剂提取方法提高 18%~38%^[10]。

2.1.3 超声波提取。超声波提取是利用超声产生的强烈振动和空化效应,加速植物细胞内物质的释放、扩散并溶解到溶液中,从而达到分离的目的,具有提取效率高、提取时间短、提取温度低、适应性广、提取液杂质少、提取工艺运行成本低、操作简单易行、综合效益显著等优点。夏俊雅等使用甲醇为溶剂,采用超声波法提取油橄榄叶中多酚的最佳条件为:温度 30 ℃,超声功率 125 W,料液比 1:125 g/ml,提取时间 1 h,粉末连续提取 2 次^[11]。

2.2 分离

2.2.1 柱层析法。多酚类物质溶于水、醇等溶剂中,在测定时很难用溶剂提取等一般分离方法使其与粗提液中水溶性杂质分开。大孔树脂吸附特别适合于水溶性化合物纯化分离。该法具有吸附容量大、选择性好、易于解吸、机械强度高、再生处理简单、操作简单、得率恒定、产品质量稳定、成本低等特点,且吸附法仅用少量溶媒洗脱树脂就能达到浓缩目的,但耗用时间长,吸附树脂清洗困难^[12]。高彩霞等用 D101 大孔树脂吸附多酚类物质,精制后的提取物中多酚含量达 87.3%^[6]。

2.2.2 反相中压制备液相色谱法。液相色谱法是基于混合物中各组分对两相亲和力的差别,从而达到分离的目的。反相色谱法是以表面非极性载体为固定相,以比固定相极性强的溶剂为流动相的一种液相色谱分离模式,其固定相大多是硅胶表面键合疏水基团,基于样品中的不同组分和疏水基团之间疏水作用的不同而分离。反相液相色谱柱效高、分离能力强、保留机理清楚,是液相色谱分离模式中使用最为广泛的一种。夏俊雅等采用反相中压制备液相色谱技术从油橄榄叶中分离多酚类物质,通过 DAC-HB 动态轴向压缩柱进行第一次分离,共得到 8 个组分。在此基础上,对第 1 次制备得到的组分进行第 2 次制备,共分离纯化得到质量分数较高的 5 种多酚类物质^[13]。

2.3 含量测定 测定多酚含量的方法主要有 Folin-Ciocalteu 法、酒石酸铁法、紫外分光光度法等。

2.3.1 Folin-Ciocalteu 法。Folin-Ciocalteu 比色法是 Folin-Denis 法的改进方法,Folin-Ciocalteu 试剂中的钨钼酸可以将多酚类化合物定量氧化,自身被还原(使 W^{6+} 变为 W^{5+})生成

蓝色的化合物,颜色的深浅跟多酚含量成正相关,因此可以通过在 765 nm 处测定吸光值来对多酚进行定量^[14]。该法测得的除了多酚类物质,也包括含有酚羟基基团的物质及具有还原能力的抗坏血酸^[15-16]。

2.3.2 酒石酸铁法。酒石酸铁法是测多酚类物质的总含量,是利用 Fe^{2+} 与多酚类物质络合形成蓝色物质,在 540 nm 波长处有最大吸收峰^[16-17],但因该法测得的仅是多酚类物质,且不同多酚类化合物对酒石酸铁呈色能力不同,因而测得多酚的含量低于 Folin-Ciocalteu 比色法^[18,16]。

2.3.3 紫外分光光度法。紫外分光光度法是根据酚类物质在紫外区有吸收光谱的原理,直接通过光谱扫描测定多酚含量^[19,16]。其中,紫外分光光度法测定的不仅是所有酚类物质的含量,还包括带有酚羟基基团的物质^[20,16]。

2.3.4 高效液相色谱法。夏俊雅等建立了 HPLC 法同时测定油橄榄叶抗糖尿病有效部位中的 5 种多酚类化合物含量:脱咖啡酰基毛蕊糖苷 0.426 1 mg/g、木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷 1.633 mg/g、6''-O- β -D-吡喃葡萄糖-橄榄苦苷 0.809 3 mg/g、裂环马钱子苷 3.847 mg/g、橄榄苦苷 48.94 mg/g^[11]。

3 分析鉴定

3.1 核磁共振法 核磁共振波谱法是研究处于强磁场中的原子核对射频辐射吸收后引起核自旋能级的跃迁所产生的波谱,从而获得有关化合物分子结构信息的分析方法。王晓飞等采用核磁共振分别对从油橄榄叶醋酸乙酯部位中分离得到的 15 个多酚类化合物进行鉴定,分别为酪醇、羟基酪醇、羟基酪醇乙酯、1H-2-苯并吡喃-6,7-二醇、3,4-二羟基苯甲酸、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸、异鼠李素、圣草酚、花旗松素、槲皮素、木犀草素、女贞苷、橄榄苦苷、芹菜素-7-O-葡萄糖苷、木犀草素-7-O-葡萄糖苷^[21]。

夏俊雅等采用核磁共振法对通过中压制备色谱法从油橄榄叶中分离出的 5 个组分进行鉴定,均为多酚类化合物^[13]。

3.2 质谱法 质谱法即用电场和磁场将运动的离子(带电荷的原子、分子或分子碎片,有分子离子、同位素离子、碎片离子、重排离子、多电荷离子、亚稳离子、负离子和离子-分子相互作用产生的离子)按它们的质荷比分离后进行检测的方法。王百川等建立了国产油橄榄叶中酚类化合物的超高压液相色谱-飞行时间质谱(UPLC/Q-TOF-MS)定性分析方法,采用该方法得到了国产油橄榄叶提取物的紫外检测的色谱图、负离子监测的总离子流图以及一级质谱图,成功鉴定了国产油橄榄叶中的 15 种酚类化学成分^[22]。

4 生物活性

油橄榄多酚物质作为一类氧化还原电位很低的还原剂,具有很强供氢能力, H^+ 与羟基自由基结合,能使之还原为惰性化合物或较稳定的自由基,从而清除人体内过多的有害自由基,在人体中可通过抑制低密度脂蛋白的氧化有助于防止冠心病、动脉粥样硬化的发生^[7,23]。王昱等研究发现,油橄榄叶提取物能对海洛因造成的肺损害起到保护作用^[24],对铅中毒小鼠有一定的疗效,能减轻铅中毒引起的海马脂质过

- [6] SALMAN A Z, AL-KARABLIH E K, FISHER F M. An inter-seasonal agricultural water allocation system (SAWAS) [J]. *Agricultural Systems*, 2001, 68(3): 233-252.
- [7] FRANK MESSNER, OLIVER ZWIRNER, MATTHIAS KARKUSCHKE. Participation in multi-criteria decision support for the resolution of a water-allocation problem in the Spree River basin [J]. *Land Use Policy*, 2006, 23(1): 63-75.
- [8] 左其亭, 陈曦. 面向可持续发展的水资源规划与管理[M]. 北京: 中国水利水电出版社, 2003.
- [9] 姚华荣, 郑度, 吴绍洪. 首都圈防沙治沙典型区水土资源优化配置——以河北省怀来县为例[J]. *地理研究*, 2002, 21(5): 531-542.
- [10] 徐燕, 龙健. 贵州喀斯特山区土壤物理性质对土壤侵蚀的影响[J]. *水土保持学报*, 2005, 19(1): 157-159.
- [11] 韦启播. 我国南方喀斯特地区土壤侵蚀特点及防治途径[J]. *水土保持研究*, 1996, 3(4): 72-76.
- [12] 林昌虎, 解德蕴, 涂成龙, 等. 贵州山区坡耕地综合利用与整治[J]. *水土保持研究*, 2004, 11(3): 211-213.
- [13] 何腾兵. 贵州喀斯特山区水土流失状况及生态农业建设途径探讨[J]. *水土保持学报*, 2000, 1(5): 28-34.
- [14] 解德蕴. 贵州省坡耕地的利用与整治探讨[J]. *耕作与栽培*, 2002(1): 1-2.
- [15] 林昌虎. 贵州山区坡耕地的利用与保护[J]. *水土保持通报*, 1992, 12(4): 43-47.
- [16] 陈文贵. 贵州省喀斯特地区解决小流域粮食问题途径[J]. *水土保持通报*, 1999, 19(1): 52-55.
- [17] 廖晓勇, 陈治谏, 罗辑. 农耕地坡改梯增值评价[J]. *水土保持研究*, 2004, 11(2): 173-175.
- [18] 朱钟麟, 卿明福, 刘定辉, 等. 藜草根特征及藜草经济植物埂的水土保持功能[J]. *土壤学报*, 2006, 43(1): 164-167.
- [19] 蔡雄飞, 王玉宽, 徐佩, 等. 我国南方山区坡耕地水土保持措施研究进展[J]. *贵州农业科学*, 2012, 40(9): 97-100.
- [20] 叶红, 周芸. 四川坡面水系水土保持成技术应用简介[J]. *四川水利*, 2005(1): 30-34.
- [21] 李成亮, 何圆球, 林天. 种植制度对地表径流的影响[J]. *水土保持通报*, 2004, 24(1): 29-31.
- [22] 袁东海, 王兆骞, 陈欣, 等. 不同农作措施下红壤坡耕地土壤钾素流失特征的研究[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(8): 1257-1261.
- [23] 张汉雄. 系统动力学在水土保持规划中的应用[J]. *水土保持通报*, 1996, 16(1): 124-129.
- [24] 张正栋. 榆中县灌溉型水土资源利用系统模型的调控与优化[J]. *西北师范大学学报: 自然科学版*, 1995, 31(2): 73-79.
- [25] 姚华荣, 吴绍洪, 曹明明, 等. 区域水土资源的空间优化配置[J]. *资源科学*, 2004, 26(1): 99-106.
- [26] 徐建华. 现代地理学中的数学方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [27] 康慕谊, 姚华荣, 刘硕. 陕西关中地区土地资源优化配置研究[J]. *自然资源学报*, 1999, 14(4): 363-367.
- [28] 徐东瑞, 朱建军. 河北低平原农业技术体系与水土资源的空间配置研究[J]. *河南农业科学*, 2003(8): 45-47.
- [29] 姚华荣, 吴绍洪, 曹明明. GIS 支持下的区域土地资源优化配置研究[J]. *农业工程学报*, 2004, 20(2): 31-35.

(上接第 255 页)

氧化损伤^[25], 能影响肌肉组织 DNA 甲基化水平^[26]、视网膜结构^[27]、脾脏和胸腺细胞周期进程^[28-29]、抗氧化能力, 阻止铅对肌肉、视网膜、脾脏和胸腺的毒害作用, 能改善染铅小鼠的肾功能^[30]。

5 前景与展望

我国甘肃陇南、四川广元和西昌大力推广油橄榄种植, 但缺乏除橄榄油外其他产品的深加工, 油橄榄叶及榨油所产生的果渣和废液不仅没有得到充分利用, 还造成了环境污染。因此研究适于工业化提取纯化油橄榄多酚类物质的方法, 最大限度地发挥资源优势, 开发以油橄榄多酚为主要原料的产品, 对于满足市场需求, 提高油橄榄的深加工水平, 创造极为显著的经济效益和社会效益具有深远意义。

参考文献

- [1] 王贵禧, 俞宁, 邓明全, 等. 中国油橄榄发展概况[J]. *林业科技通讯*, 2000(1): 32-34.
- [2] 梁剑. 三种油橄榄叶片中多酚含量的季节动态变化研究[J]. *北方园艺*, 2010(1): 57-59.
- [3] 王成章, 陈强, 罗建军, 等. 中国油橄榄发展历程与产业展望[J]. *生物质化学工程*, 2013, 47(2): 41-46.
- [4] 梁剑, 苏光灿, 王自生. 四种油橄榄品种部分果实品质比较[J]. *北方园艺*, 2009(3): 91-93.
- [5] 高彩霞. 油橄榄叶抗氧化物有效成分及其含量变化规律研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2007.
- [6] 高彩霞, 王成章, 陈文英, 等. 油橄榄叶中多酚和黄酮的含量分析[J]. *生物质化学工程*, 2006, 40(4): 4-6.
- [7] 耿树香, 宁德鲁, 李勇杰, 等. 微波辅助提取不同品种油橄榄叶及果渣多酚物质[J]. *西部林业科学*, 2014, 43(4): 27-30.
- [8] 饶瑜, 焦士蓉, 龚丽, 等. 广元地区油橄榄叶多酚提取条件及抗氧化活性研究[J]. *西华大学学报: 自然科学版*, 2013, 32(5): 96-99.
- [9] 杨俊江, 郭锦棠. 中草药的不同提取方法与强化传质机理研究[J]. *化工进展*, 2002, 21(9): 660-662.
- [10] 孔维空, 李阳, 白万明, 等. 微波辅助提取油橄榄果渣多酚[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(4): 233-237.
- [11] 夏俊雅, 孙小明, 张佳, 等. HPLC 法同时测定油橄榄叶中的 5 种多酚类化合物含量[J]. *分析实验室*, 2014, 3(7): 766-770.
- [12] 郑虎占, 黄泽宏, 余靖. 中药现代化研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1998: 2938-2956.
- [13] 夏雅俊, 刘永峰, 裴栋, 等. 中压制各色谱法分离制备油橄榄叶中多酚类化合物[J]. *中草药*, 2014, 45(12): 1689-1692.
- [14] 何志勇, 夏文水. Folin-Ciocalteu 比色法测定橄榄中多酚含量的研究[J]. *林产化学与工业*, 2006, 26(4): 15-18.
- [15] ROBBINS R J, BEAN S R. Development of a quantitative high-performance liquid chromatography-photodiode array detection measurement system for phenolic acids[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1038(1): 97-105.
- [16] 谢倩, 王威, 陈清西. 橄榄多酚含量测定方法的比较[J]. *食品科学*, 2014, 35(8): 204-207.
- [17] 黄皓, 涂云飞, 孙艳娟. 两种方法测定茶叶中茶多酚含量的比较[J]. *中国茶叶加工*, 2009(2): 43-44.
- [18] 陈惠衡, 施玲, 刘芳, 等. 酒石酸铁比色法和 Folin-Denis 法测定茶多酚的比较[J]. *中华预防医学杂志*, 2009, 42(4): 272-274.
- [19] 张丽莹. 紫外分光光度法测定水中酚[J]. *光谱实验室*, 2006, 23(4): 890-892.
- [20] 卜彦花, 周娜娜, 王春悦, 等. 福林酚试剂法和紫外分光光度法测定冬枣多酚含量的比较研究[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(1): 212-217.
- [21] 王晓飞, 李辰, 郑媛媛, 等. 油橄榄叶多酚类成分研究[J]. *中草药*, 2011, 42(5): 848-851.
- [22] 王百川, 付绍平, 王丹, 等. 超高压液相色谱-飞行时间质谱法分析过程油橄榄叶中酚类化合物[J]. *食品科学*, 2011, 32(18): 225-229.
- [23] ZARZUELO A, DUARTE J, JIMENEZ J, et al. Vasodilator effect of olive leaf [J]. *Planta Med*, 1991, 57(5): 417-419.
- [24] 王昱, 王胜青. 油橄榄叶提取物对海洛因依赖小鼠肺组织结构及 IL-1 β 和 TNF- α 表达的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2014, 49(6): 19-24.
- [25] 王昱. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠大脑海马组织抗氧化酶及 NO 与 NOS 的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2012, 47(2): 21-24.
- [26] 王昱. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠肌肉组织 DNA 甲基化水平及抗氧化能力的影响[J]. *西北民族大学学报: 自然科学版*, 2012, 33(4): 47-50.
- [27] 王昱. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠视网膜组织结构及抗氧化能力的影响[J]. *四川园艺*, 2013, 32(3): 429-433.
- [28] 王昱. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠脾脏的保护作用[J]. *甘肃高师学报*, 2014, 19(2): 34-36.
- [29] 王昱. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠胸腺的影响[J]. *德州学院学报*, 2012, 29(2): 41-44.
- [30] 王昱. 油橄榄叶提取物对染铅中小鼠肾功能的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2013, 48(6): 23-28.