

甾醇阿魏酸酯的功能、制备及检测方法研究进展

陆柏益^{1,2}, 杨佳佳¹, 熊丽娜¹

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江杭州 310058)

(2. 浙江大学馥莉食品研究院, 浙江杭州 310058)

摘要: 甾醇阿魏酸酯是甾醇 C3 位上的羟基与阿魏酸结合脱水形成的结合态植物甾醇衍生物, 可分为环木菠萝烯醇阿魏酸酯、 β -谷甾醇阿魏酸酯、豆甾醇阿魏酸酯、菜油甾醇阿魏酸酯、二氢谷甾醇阿魏酸酯等, 是甾醇酚酸酯主要的天然存在形式, 广泛存在于水稻、玉米、大豆、小麦等粮油产品中。由于甾醇阿魏酸酯兼具植物甾醇和阿魏酸的结构, 研究表明其比游离甾醇和阿魏酸具有更显著和更综合的生物功效。本文概述了甾醇阿魏酸酯的分布、结构和理化性质, 综述了其降低血清胆固醇水平、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等生物活性和植物萃取法、化学合成法、生物合成法、分离纯化等制备方法, 比较分析了其高效液相色谱、气相色谱、薄层色谱等分析检测方法的优劣, 并从制备方法、分析技术、功效评价及其机理研究等方面对甾醇阿魏酸酯研究开发前景进行了分析和展望, 为甾醇阿魏酸酯进一步研究开发利用指明方向。

关键词: 甾醇阿魏酸酯; 分析检测; 提取; 合成

文章编号: 1673-9078(2013)12-3063-3069

Bioactivity, Synthesis, Extraction and Analysis of Sterol Ferulate: A Review

LU Bai-yi^{1,2}, YANG Jia-jia¹, XIONG Li-na¹

(1. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

(2. Fuli Institute of Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Sterol ferulate is a kind of plant sterol derivatives, including cycloartenyl ferulate, β -sitosterol ferulate, stigmasterol ferulate, campesterol ferulate and dihydrogen sitosterol ferulate etc., which is of phytocholesterol derivatives by dehydration reaction of ferulic acid and the hydroxyl group at C3 site of sterol. Sterol ferulate is the main existence of natural sterol mofetil, which widely exists in rice bran, corn, soybean, wheat and other grains. Some researchers have confirmed that it owns better biological activities than phytosterol and ferulic acid due to its structure of both phytosterol and ferulic acid. The review was briefly introduced its distribution, structure, physical and chemical properties, and biological activities in terms of cholesterol-lowering, anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-tumor, and immuno-enhancement. Furthermore, the preparation methods of extracting from plants, chemical and biological synthesis were summarized, and the advantages and disadvantages about the detecting techniques by HPLC, GC and TLC were discussed. The advances and trends of sterol ferulate on preparation methods, detecting techniques, biological activities and mechanisms of action were proposed.

Key words: sterol ferulate; analysis; extraction; synthesis; bioactivity

植物甾醇是一类含有环戊烷多氢菲核结构的天然生物活性物质, 主要存在于粮油、水果、蔬菜等农产品中, 根据甾醇 C3 位上不同的衍生基团, 可将其分为游离甾醇、甾醇脂肪酸酯、甾醇酚酸酯、甾醇糖苷和酯酰基甾醇糖苷等形式。植物甾醇被认为具有降低胆固醇水平、抗氧化、消炎、抗肿瘤、提高免疫、调

收稿日期: 2013-08-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31271847; 30901001); 公益性行业科研专项 (201110015)

作者简介: 陆柏益 (1980-), 男, 博士, 副教授, 博导, 研究方向为天然产物化学与人类健康

节生长等作用, 可广泛应用于食品、医药等领域。甾醇阿魏酸酯是植物甾醇 C3 位上的羟基与阿魏酸结合, 脱水形成的一种衍生物^[1], 可分为环木菠萝烯醇阿魏酸酯、 β -谷甾醇阿魏酸酯、豆甾醇阿魏酸酯、菜油甾醇阿魏酸酯、二氢谷甾醇阿魏酸酯等^[2-3]。甾醇阿魏酸酯是甾醇酚酸酯主要的天然存在形式, 广泛分布于米糠、玉米、小麦等谷物中^[4]。不同谷物中含有不同种类的甾醇阿魏酸酯^[5], 米糠中以环木菠萝烯醇类阿魏酸酯为主, 玉米中以二氢谷甾醇阿魏酸酯为主, 小麦中的甾醇阿魏酸酯以亚甲基烯醇阿魏酸酯为主。阿魏酸作为一种常见酚酸, 具有较强的抗氧化、抗肿瘤等生

物活性,甾醇阿魏酸酯兼具植物甾醇和阿魏酸的结构,具有较好的亲脂性,更易透过生物膜,因此比游离甾醇和阿魏酸具有更显著的抗炎、抗病毒和抗肿瘤等生物功效^[4],已成为国内外甾醇研究领域的新热点。本文概述了甾醇阿魏酸酯的分布、结构和性质,以及目前国内外对其生物活性、提取合成、分析检测等方面的研究进展,并对甾醇阿魏酸酯研究发展前景进行了分析和展望。

1 甾醇阿魏酸酯的分布

甾醇阿魏酸酯广泛存在于各类农产品中,含量较丰富的有大米、玉米、小麦、燕麦等^[5]。表 1 总结了儿种常见谷物产品中甾醇阿魏酸酯的含量。目前对甾醇阿魏酸酯种类的研究以大米为主,玉米和小麦中的种类研究较少。

表 1 谷物产品中甾醇阿魏酸酯的含量

Table 1 The contents of sterol ferulates in several grains

样品种类	甾醇阿魏酸酯 总量/($\mu\text{g/g}$)	环木菠萝烯醇 阿魏酸酯/%	24-亚甲基环木菠 萝烯醇阿魏酸酯/%	菜油甾醇阿 魏酸酯/%	β -谷甾醇阿 魏酸酯/%	参考 文献
糙米	324-544	32	39	10	19	[6]
米糠	2510-6860	32	40	9	19	[7]
未碾过的米	145-159	32	41	8	19	[8]
未处理的米	429-474	34	38	8	20	[9]
精白米	25-27	32	41	8	19	[9]
乳白米	11-13	33	46	9	12	[9]
玉米内仁	98-113					[10]
玉米麸皮	200-250					[10]
玉米纤维质	440-1530					[10]
混种小麦	62-63					[11]
小麦糠皮	297-390					[11]
燕麦全麦面粉	55-64					[11]
燕麦糠皮	150-251					[11]

1.1 大米中的甾醇阿魏酸酯

大米中含有丰富的甾醇阿魏酸酯,含量范围在 200~750 $\mu\text{g/g}$,主要结构形式为 24-亚甲基环木菠萝烯醇、环木菠萝烯醇和菜油甾醇的阿魏酸酯等,它们主要富集在糠皮中,含量可达 2510~6860 $\mu\text{g/g}$ ^[12],其中环木菠萝烯醇类阿魏酸酯的比例可达 75~80%,菜油甾醇阿魏酸酯的比例为 10~12%。大米中甾醇阿魏酸酯的含量和种类,与大米种植条件、种植品种密切相关。Miller 等^[6]的研究表明欧洲大米中的甾醇阿魏酸酯含量与其品种密切相关,其中意大利种植的 Cripto 型号大米含量最为丰富,为 595~627 $\mu\text{g/g}$ 。

1.2 玉米中的甾醇阿魏酸酯

玉米中同样存在着丰富的甾醇阿魏酸酯,尤其在玉米纤维质中含量丰富,为 440~1530 $\mu\text{g/g}$;而在玉米麸皮和玉米内仁中含量较少^[5],分别为 200~250 $\mu\text{g/g}$ 和 98~113 $\mu\text{g/g}$ 。与大米中不同,玉米中含量较多的有二氢谷甾醇阿魏酸酯、菜油甾醇阿魏酸酯和 β -谷甾醇阿魏酸酯,含量较少的有豆甾醇阿魏酸酯和环木菠萝

类甾醇阿魏酸酯^[10]。

1.3 小麦和燕麦中的甾醇阿魏酸酯

与大米、玉米相比,小麦和燕麦中甾醇阿魏酸酯含量相对较少,分别为 62~94 $\mu\text{g/g}$ 、29~65 $\mu\text{g/g}$ ^[11]。小麦和燕麦中甾醇阿魏酸酯的种类与大米、玉米有很大不同,小麦中仅有 4-亚甲基烯醇阿魏酸酯和菜油甾醇阿魏酸酯,燕麦主要含有菜油甾醇阿魏酸酯、二氢谷甾醇阿魏酸酯和 β -谷甾醇阿魏酸酯等。小麦和燕麦的不同部位对甾醇阿魏酸酯含量影响较大,小麦麸糠中甾醇阿魏酸酯含量显著高于内仁^[13],但不同品种对甾醇阿魏酸酯含量的影响尚未见报道。

2 甾醇阿魏酸酯的结构和理化性质

甾醇属于甾族化合物,分子骨架由三个六元环和一个五元环组成。根据 C17 位上的 R 基不同和 C3 位上羟基结合的物质不同,甾醇又可分为 β -谷甾醇、豆甾醇、菜油甾醇、燕麦甾醇、菠菜甾醇和麦角甾醇等。甾醇酚酸酯是指甾醇 C3 位上羟基与酚酸结合,脱水形成的一种甾醇衍生物^[1],主要包括甾醇阿魏酸酯、

肉桂酸甾醇酯等。甾醇阿魏酸酯是来源于 3-羟基化的多环异戊烷酯，含有 1,2-环戊烷菲的结构，碳原子数目为 27 到 30，连在 C17 位上的侧链碳原子数量大于或等于 7^[4]。根据与阿魏酸酯化的甾醇种类不同，甾醇阿魏酸酯可分为两类，一类由游离甾醇酯化形成的甾醇阿魏酸酯，如豆甾醇阿魏酸酯、菜油甾醇阿魏酸酯等；另一类由环木菠萝醇类酯化形成的甾醇阿魏酸酯，如环木菠萝烯醇阿魏酸酯、24-亚甲基环木菠萝烯醇阿魏酸酯等^[4]。图 1 列举了常见甾醇阿魏酸酯的化学结构。

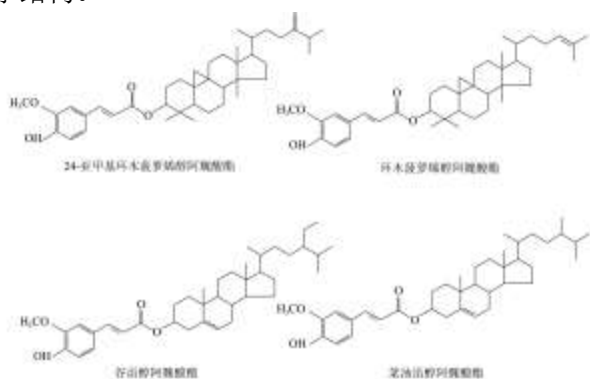


图 1 甾醇阿魏酸酯结构

Fig.1 Structures of sterol ferulates

甾醇阿魏酸酯易溶于各类植物油、脂肪酸及其与石油醚的混合液中，不溶于水。不同种类甾醇阿魏酸酯的熔点也不同，环木菠萝醇类阿魏酸酯的熔点为 159~168 °C，游离甾醇类阿魏酸酯的熔点为 146~150 °C^[6]。纯净的甾醇阿魏酸酯为纯白色结晶粉末，它在不同溶剂中晶型也不同，在甲醇中为针状结晶；在酸性甲醇中为粒状结晶；在丙酮中为板状结晶^[5]。甾醇阿魏酸酯遇碱变黄色，在浓碱水溶液中会发生分解反应。不同种类甾醇阿魏酸酯分解难易程度不同，甾醇类阿魏酸酯易分解，环木菠萝醇类阿魏酸酯不易分解^[10]。

3 甾醇阿魏酸酯的生物功效

植物甾醇具有降低胆固醇水平、防治心血管疾病、抗氧化、消炎、抗肿瘤、提高免疫、调节生长等作用^[15]。甾醇阿魏酸酯兼具植物甾醇和阿魏酸的结构，因此被认为具有更显著和综合的生物功效。

3.1 降低血清中胆固醇

植物甾醇具有公认的降低血清胆固醇的功效。甾醇阿魏酸酯作为一种甾醇衍生物，同样具有较强降低胆固醇的能力。甾醇阿魏酸酯降胆固醇的机理是破坏胆固醇进入肠细胞的过程，同时降低 HMG-辅酶 A 还原酶的活性^[16]。Ghatak 等^[17]在研究中发现甾醇阿魏酸

酯不但能显著降低血清中胆固醇、三酰基甘油酯、LDL（低密度脂蛋白）、VLDL（极低密度脂蛋白）等含量，增加血清中 HDL（高密度脂蛋白）和肝脏中的抗氧化酶含量，同时可改善动脉粥样硬化、调节 LDL 与 HDL 的比例，对高血脂疾病的综合防治效果优于游离甾醇。研究表明甾醇阿魏酸酯比游离阿魏酸有更强的降低胆固醇的作用，低剂量的甾醇阿魏酸酯（0.09%）与较高剂量的植物甾醇混合物（0.25%）降低胆固醇能力相当^[18-19]。因此，甾醇阿魏酸酯比游离阿魏酸和甾醇具有更强降低胆固醇的能力，可作为降胆固醇类保健品的原料。

3.2 抗氧化性

由于甾醇阿魏酸酯酚羟基可提供自由氢离子，因而具有良好的抗氧化性。Nystrom 等^[20]研究表明甾醇阿魏酸酯比游离甾醇具有更显著的抑制亚油酸氧化及清除 DPPH 的能力。Butsat 等^[21]研究表明米糠中的甾醇阿魏酸酯具有极强的清除 DPPH 的能力，其能力与游离酚酸相当。Tuncel 等^[9]对不同加工程度大米的抗氧化活性进行了分析，结果发现抗氧化能力排序如下：米糠>未加工的种子>糙米>精白米>垩白米，与其中甾醇阿魏酸酯的含量排序相同，因此推测稻米中主要的抗氧化物质为甾醇阿魏酸酯。甾醇阿魏酸酯还可预防视网膜中脂质氧化从而保护视力，且其抗氧化能力与维生素 E 相当^[5]。

3.3 抗炎性

甾醇阿魏酸酯具有良好的抗炎功效。Akihisa 等^[22]研究发现甾醇阿魏酸酯在消除老鼠内耳炎方面表现出较好的剂量依赖关系，其活性要高于相应的游离甾醇与槲皮素。Nagasaka 等^[23]发现甾醇阿魏酸酯可增加白细胞在体液环境中的免疫活性，增加凝血反应中抗体数量，延迟过敏反应时间。Saenjum 等^[24]研究表明甾醇阿魏酸酯还具有抑制 NO 与单核巨噬细胞的结合，从而对炎症的发生有一定的抑制作用。正由于它在炎症抑制方面的效果，甾醇阿魏酸酯在医药领域上也具有较好的发展前景。

3.4 抗肿瘤

与游离甾醇相似，甾醇阿魏酸酯同样具有抗肿瘤的功效。Iwatsuki 等^[25]以 TPA 诱导 EB 病毒产生的抗原为原料，比较了 24-亚甲基胆烷醇阿魏酸酯、豆烷醇阿魏酸酯、 β -谷甾醇阿魏酸酯与相应游离甾醇在抗肿瘤功效上的差异，结果发现甾醇阿魏酸酯具有更显著的抗肿瘤活性，且不同甾醇阿魏酸酯组分具有不同

的生物效价。研究者还发现 β -谷甾醇阿魏酸酯能显著抑制核转录因子 NF- κ B^[26], 而 NF- κ B 参与调节与机体免疫、炎症反应、癌细胞分化有关的基因转录。Forster 等^[27]研究表明从米糠中提取的甾醇阿魏酸酯可以有效抑制直肠癌细胞的增殖。Kim 等^[28]研究结果表明从米糠中提取的甾醇阿魏酸酯通过感应 NK 细胞活性, 激活吞噬细胞和抑制血管生成来抑制肿瘤细胞的增殖。诸多研究结果表明甾醇阿魏酸酯对于癌细胞增殖有较好的抑制作用。

4 甾醇阿魏酸酯的制备和纯化

4.1 植物萃取法

植物甾醇的提取常常从植物, 特别是农产品的加工废弃物中进行。常用的提取方法为植物萃取法, 又包括有溶剂直接提取法、络合法、干式皂化法、分子蒸馏法等^[29]。植物萃取法富集较为困难, 但提取方便, 成本较低。甾醇阿魏酸酯的提取多利用溶剂直接提取法, 提取步骤为: ①溶剂浸提; ②皂化; ③酸化; ④正己烷提取; ⑤纯化。不同提取方法的区别在于第一步浸提溶剂的不同。Miller 等^[7]利用二氯甲烷:甲醇 (V/V=2:1) 来进行浸提, 二氯甲烷-甲醇溶液提取选择性好, 但溶剂毒性大, 提取率低且后续处理困难; Laura 等^[5]利用丙酮来进行浸提, 丙酮提取率高, 毒性较小, 易于挥发, 但杂质较多。

4.2 化学合成法

化学合成法是利用植物甾醇与阿魏酸的酯化反应来实现的。它的优点是得率较高; 缺点是有机试剂危害较大, 操作存在一定的危险性。Esche 等^[30]利用植物甾醇和阿魏酸的酯化反应成功合成了甾醇阿魏酸

酯, 合成步骤为: ①阿魏酸的乙酰化; ②激活反应; ③酯化; ④脱保护作用; ⑤纯化。此反应中, 吡啶作为催化剂加快了反应的进行, 但吡啶危害较大, 催化反应时间较长。昆察·马杜苏丹纳等^[31]发明了一种使用多相催化剂 12-钨磷酸的单铵盐和乙酸酐在微波辅助的条件下将阿魏酸乙酰化的方法, 已将反应时间从 3 小时缩短为 10~20 min, 同时避免了吡啶的使用。

4.3 生物合成法

生物合成法的优点是专一性强, 反应条件温和。目前已有研究者利用生物催化法成功合成甾醇阿魏酸酯。Nyaradzo 等^[32]用乙烯基阿魏酸和二氢胆甾醇按 8:1 摩尔比溶于甲基叔丁基醚中, 并用 *C. rugosa* 脂肪酶在 45 °C 下震荡反应, 最终得到 56% 的二氢胆甾醇阿魏酸酯。该合成方法在 45 °C 进行, 反应温度较低, 并且可得到纯净的二氢胆甾醇阿魏酸酯, 但其成本较高, 技术较为复杂, 因而尚未得到推广。

4.4 分离纯化

甾醇阿魏酸酯分离纯化方法较多, 目前已有超过 40 种获得了专利授权^[33], 常见的有超临界 CO₂ 萃取法、重结晶法、膜分离法等。超临界 CO₂ 萃取法可得到含量较高的甾醇阿魏酸酯, 但纯化效果不佳^[34]。Zullaikah 等^[35]通过两步重结晶的方法成功获得了高纯度 (93~95%) 的甾醇阿魏酸酯, 但无法实现对甾醇阿魏酸酯单体的分离。Manjula 等^[36]利用无孔疏水性薄膜富集米糠油的甾醇阿魏酸酯, 可使其中甾醇阿魏酸酯浓度提高一倍以上, 但其一次性样品处理量仅为 10 mg。目前尚未有高提取率、高纯度、低成本的方法来分离纯化甾醇阿魏酸酯。

5 甾醇阿魏酸酯的分析检测方法

表 2 甾醇阿魏酸酯的 HPLC 检测方法

Table 2 The determination method of sterol ferulates by HPLC

柱子类型	规格(mm×mm)	流动相	流速/(mL/min)	检测波长/nm	样品	成分	参考文献
硅胶柱	250×2	正己烷:甲基叔丁基醚: 异丙醇=95:5:0.5	0.2	290	米糠油	24-亚甲基环木菠萝烯 醇阿魏酸酯 环木菠萝烯醇阿魏酸酯 菜油甾醇阿魏酸酯 β -谷甾醇阿魏酸酯	[7]
C18 反相柱	250×4.6	甲醇:水:醋酸=97:2:1	1.5	325	大米、小麦	24-亚甲基环木菠萝烯 醇阿魏酸酯 菜油甾醇阿魏酸酯 β -谷甾醇阿魏酸酯	[34]

转下页

接上页

C18 反相柱	150×3.9	乙腈:甲醇:异丙醇 =50:40:10(A)乙腈:甲醇: 异丙醇=30:65:5(B) 0~5 min, 100%A; 5~10 min, 0~100%B; 10~15 min, 100%B	1	290	米糠油	24-亚甲基环木菠萝烯 醇阿魏酸酯 环木菠萝烯醇阿魏酸酯 菜油甾醇阿魏酸酯 β-谷甾醇阿魏酸酯	[38]
硅胶柱	250×2	正己烷:甲基叔丁基醚: 异丙醇=95:5:0.5	1	325	棕米	菜油甾醇阿魏酸酯 环木菠萝烯醇阿魏酸酯 β-谷甾醇阿魏酸酯 豆甾醇阿魏酸酯	[6]
XDBC18 柱	150×4.6	甲醇:乙腈:二氯甲烷:醋 酸=50:44:3:3	1	315	大米、玉米	24-亚甲基环木菠萝烯 醇阿魏酸酯 菜油甾醇阿魏酸酯 二氢谷甾醇阿魏酸酯	[13]
正相硅胶 色谱柱	250×4.6	正己烷:四氢呋喃=97:3	1.5	325	米糠油	24-亚甲基环木菠萝烯 醇阿魏酸酯 环木菠萝烯醇阿魏酸酯 菜油甾醇阿魏酸酯 β-谷甾醇阿魏酸酯	[12]
C18 反相柱	150×4.6	甲醇:乙腈:醋酸=52:45:3	1	300	玉米	二氢谷甾醇阿魏酸酯 豆甾醇阿魏酸酯 菜油甾醇阿魏酸酯	[11]

植物甾醇的分析方法比较多,例如酶法、薄层色谱法(TLC)、可见光比色法(VS)、气相色谱法(GC)和高效液相色谱法(HPLC)等^[7]。但是,甾醇阿魏酸酯种类繁多,不同甾醇阿魏酸酯单体的结构极其相似,完全采用植物甾醇的分析方法很难对甾醇阿魏酸酯进行准确的结构分析和含量测定。目前常用的检测方法中,GC 法进样温度很高,甾醇阿魏酸酯在此温度下会发生分解反应;不同甾醇阿魏酸酯单体的极性较为相似,TLC 法也很难对其分离。目前普遍利用 HPLC 法对甾醇阿魏酸酯进行分析检测(表 2)。HPLC 法中常用色谱柱为 C18 反相柱和正相硅胶柱,C18 反相柱检测时的流动相通常为甲醇、乙腈和水,硅胶柱检测时的流动相通常为正己烷、异丙醇和四氢呋喃;它们都利用 FDA 检测器来进行检测,检测波长为 290~325 nm。但是,甾醇阿魏酸酯尚无单体标品出售,检测时利用的标品为谷维素,它不是单一的组分,含有环木菠萝烯醇阿魏酸酯、24-亚甲基环木菠萝烯醇阿魏酸酯等甾醇阿魏酸酯组分,因此甾醇阿魏酸酯的准确定量分析仍存在较大的问题。

6 展望

植物甾醇及其衍生物由于其特有的理化特性和生物功效,已被广泛的应用于医药、食品、化妆品、饲

料等行业中,而甾醇阿魏酸酯比游离甾醇具有更加优异的生物学功效,因此具有良好的发展前景,逐渐成为国内外甾醇研究的新热点。在制备上,应致力于开发成本低、得率高、环境友善的甾醇阿魏酸酯生物合成技术,进行单体的大规模制备研究,为甾醇阿魏酸酯功效实验研究和准确定量奠定基础;在分析检测上,利用 UPLC-MS 等现代分析方法建立甾醇阿魏酸酯多组分快速精确的定性定量技术,为甾醇阿魏酸酯资源调查、摄入量评估及产品质量控制提供技术支持具有重要意义;在功效上,应继续深入挖掘甾醇阿魏酸酯抗病毒、抗癌等新功能,探讨其构效关系和作用机理,为甾醇阿魏酸酯进一步开发利用提供理论依据。

参考文献

- [1] Nyström L, Paasonen A, Lampi A M, et al. Total plant sterols, steryl ferulates and steryl glycosides in milling fractions of wheat and rye [J]. Journal of Cereal Science, 2007, 45(1): 106-115
- [2] Moreau R A, Hicks K B. The in vitro hydrolysis of phytosterol conjugates in food matrices by mammalian digestive enzymes [J]. Lipids, 2004, 39(8): 769-776
- [3] Cho J Y, Lee H J, Kim G A, et al. Quantitative analyses of individual γ-Oryzanol (Steryl Ferulates) in conventional and

- organic brown rice [J]. *Journal of Cereal Science*, 2012, 55(3): 337-343
- [4] Mandak E, Nystrom L. The Effect of In Vitro Digestion on Steryl Ferulates from Rice (*Oryza sativa* L.) and Other Grains [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2012, 60(24): 6123-6130
- [5] Nyström L. Occurrence and properties of steryl ferulates and glycosides in wheat and rye [D]. Helsinki: University of Helsinki, 2007
- [6] Miller A, Engel K H. Content of γ -oryzanol and composition of steryl ferulates in brown rice (*Oryza sativa* L.) of European origin [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006, 54(21): 8127-8133
- [7] Miller A, Frenzel T, Schmarr H G, et al. Coupled liquid chromatography-gas chromatography for the rapid analysis of γ -oryzanol in rice lipids [J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 985(1): 403-410
- [8] Khatoon S, Gopalakrishna A G. Fat-soluble nutraceuticals and fatty acid composition of selected Indian rice varieties [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2004, 81(10): 939-943
- [9] Tuncel N B, Yilmaz N. Gamma-oryzanol content, phenolic acid profiles and antioxidant activity of rice milling fractions [J]. *European Food Research and Technology*, 2011, 233(4): 577-585
- [10] Hakala P, Lampi A M, Ollilainen V, et al. Steryl phenolic acid esters in cereals and their milling fractions [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2002, 50(19): 5300-5307
- [11] Moreau R A, Singh V, Eckhoff S R, et al. Comparison of yield and composition of oil extracted from corn fiber and corn bran [J]. *Cereal chemistry*, 1999, 76(3): 449-451
- [12] Angelis A, Urbain A, Halabalaki M, et al. One - step isolation of γ - oryzanol from rice bran oil by non - aqueous hydrostatic countercurrent chromatography [J]. *Journal of separation science*, 2011, 34(18): 2528-2537
- [13] Winkler-Moser J K, Rennick K A, Palmquist D A, et al. Comparison of the impact of γ -oryzanol and corn steryl ferulates on the polymerization of soybean oil during frying [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2012, 89(2): 243-252
- [14] Abidi S L. Capillary electrochromatography of sterols and related steryl esters derived from vegetable oils [J]. *Journal of chromatography A*, 2004, 1059(1): 199-208
- [15] Singh P, Haldar S, Chattopadhyay A. Differential effect of sterols on dipole potential in hippocampal membranes: Implications for receptor function [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2012
- [16] Mäkyänen K, Chitchumroonchokchai C, Adisakwattana S, et al. Effect of gamma-oryzanol on the bioaccessibility and synthesis of cholesterol [J]. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2012, 16(1): 49-56
- [17] Ghatak S B, Panchal S J. Anti-hyperlipidemic activity of oryzanol, isolated from crude rice bran oil, on Triton WR-1339-induced acute hyperlipidemia in rats [J]. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2012, 22(3): 642-648
- [18] Wilson T A, Nicolosi R J, Woolfrey B, et al. Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters [J]. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2007, 18(2): 105-112
- [19] Mineyuki Y, Hiroyuki T, Tetsuya S, et al. External skin treatment composition: European Patent EP 0815838 [P]. 2004
- [20] Nyström L, Mäkinen M, Lampi A M, et al. Antioxidant activity of steryl ferulate extracts from rye and wheat bran [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2005, 53(7): 2503-2510
- [21] Butsat S, Siriamornpun S. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(2): 606-613
- [22] Akihisa T, Yasukawa K, Yamaura M, et al. Triterpene alcohol and sterol ferulates from rice bran and their anti-inflammatory effects [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(6): 2313-2319.
- [23] Nagasaka R, Yamsaki T, Uchida A, et al. γ -Oryzanol recovers mouse hypoadiponectinemia induced by animal fat ingestion [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(8): 669-671
- [24] Saenjum C, Chaiyasut C, Chansakaow S, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of gamma-oryzanol rich extracts from Thai purple rice bran [J]. *J. Med. Plant Res.*, 2012, 6: 1070-1077
- [25] Iwatsuki K, Akihisa T, Tokuda H, et al. Sterol ferulates, sterols, and 5-alk(en)ylresorcinols from wheat, rye, and corn bran oils and their inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003, 51(23): 6683-6688
- [26] Forster G M, Raina K, Kumar A, et al. Rice Varietal Differences in Bioactive Bran Components for Inhibition of Colorectal Cancer Cell Growth [J]. *Food Chemistry*, 2013,

- 141(2): 1545-1552
- [27] Yoon H, Liu R H. Effect of selected phytochemicals and apple extracts on NF- κ B activation in human breast cancer MCF-7 cells [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2007, 55(8): 3167-3173
- [28] Kim S P, Kang M Y, Nam S H, et al. Dietary rice bran component γ -oryzanol inhibits tumor growth in tumor-bearing mice [J]. Molecular nutrition & food research, 2012, 56(6): 935-944
- [29] 陆柏益. 竹笋中甾醇类化合物的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2007
- Lu Bai-yi. The research of sterol compounds in bamboo shoots [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2007
- [30] Esche R, Barnsteiner A, Scholz B, et al. Simultaneous analysis of free phytosterols/phytostanols and intact phytosteryl/phytostanyl fatty acid and phenolic acid esters in cereals [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2012, 60(21): 5330-5339
- [31] 昆察·马杜苏丹, 普拉卡什·瓦曼劳·迪万. 用于制备甾醇阿魏酸酯的方法: 中国, 201080018210.3 [P] 2010
- Kucca M, Prakasi W D. Synthesis method of sterol ferulates: China, 201080018210.3 [P] 2010
- [32] Compton D L, Laszlo J A, Berhow M A. Lipase-catalyzed synthesis of ferulate esters [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2000, 77(5): 513-519
- [33] Xu Z, Godber J S. Purification and identification of components of γ -oryzanol in rice bran oil [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(7): 2724-2728
- [34] Narayan A V, Barhate R S, Raghavarao K. Extraction and purification of oryzanol from rice bran oil and rice bran oil soapstock [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2006, 83(8): 663-670
- [35] Zullaikah S, Melwita E, Ju Y H. Isolation of oryzanol from crude rice bran oil [J]. Bioresource technology, 2009, 100(1): 299-302
- [36] Manjula S, Subramanian R. Enriching oryzanol in rice bran oil using membranes [J]. Applied biochemistry and biotechnology, 2008, 151(2-3): 629-637
- [37] Lerma-García M J, Simó-Alfonso E F, Méndez A, et al. Fast separation and determination of sterols in vegetable oils by ultraperformance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry detection [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2010, 58(5): 2771-2776
- [38] Pestana-Bauer V R, Zambiasi R C, Mendonça C R B, et al. γ -Oryzanol and tocopherol contents in residues of rice bran oil refining [J]. Food Chemistry, 2012, 134(3): 1479-1483