

体外化学模拟体系中洋葱黄酮类化合物抗氧化活性的研究*

张 强,周正义,蒋圣娟,王美荣

(安徽科技学院生命科学学院,安徽 凤阳, 233100)

摘 要 通过测定洋葱黄酮类化合物对亚油酸过氧化、油脂过氧化和脱氧核糖氧化损伤的抑制作用及 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血实验和大鼠肝匀浆脂质过氧化实验,研究了洋葱黄酮类化合物的抗氧化作用。实验结果表明:洋葱黄酮类化合物对亚油酸过氧化、油脂过氧化及脱氧核糖的氧化损伤均有良好的抑制作用,并能明显抑制 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血反应和肝组织匀浆脂质过氧化反应的发生,即洋葱黄酮类化合物具有很强的体外抗氧化活性,有望作为天然抗氧化剂及功能性食品得到开发应用。

关键词 洋葱,黄酮类化合物,抗氧化活性

洋葱(*Allium cepa* L.),又名玉葱、圆葱、葱头等,属百合科(Liliaceae)葱属(*Allium*),2 a 生蔬菜。洋葱营养丰富,被誉为“蔬菜皇后”,除营养成分外,洋葱还具有抗癌、降血压、降血脂、抗动脉硬化、治疗哮喘病、抗菌、抗衰老、减肥等多种功效^[1]。洋葱中的主要生物活性成分为黄酮类化合物和含硫化合物^[2]。目前,对洋葱中活性成分的研究还主要集中在含硫化合物上^[3],对洋葱黄酮类化合物的研究很少,对其体外抗氧化活性的研究尚未见报道。本文旨在通过几个体外化学模拟体系来研究洋葱黄酮类化合物的抗氧化活性,以期为洋葱在天然抗氧化剂方面的开发利用提供参考,为进一步开发洋葱的保健效用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

新鲜红皮洋葱、大豆色拉油均为市售;SD 雄性大鼠:体重 200~250 g,由安徽科技学院动物房提供;芦丁:生化试剂 BR,国药集团化学试剂有限公司;三氯乙酸(TCA):AR,国药集团化学试剂有限公司;2'-脱氧核糖:Product of South Korea;2, 6-二叔丁基-4-甲基酚(BHT):食品级,河南食品添加剂有限公司;亚油酸:纯品;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器

HH-4 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),TDL-5 离心机(上海安亨科学仪器厂),101AS-3 型

不锈钢数显恒温干燥箱(上海浦东跃欣科学仪器厂),B 型玻璃仪器气流烘干机(郑州长城科工贸有限公司),FA/JA 电子天平(上海精密科学仪器有限公司),7230G 可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),XP-2CA 型电冰箱(青岛海尔股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 洋葱黄酮类化合物的制备

新鲜红皮洋葱→去外皮→切丝→烘干(60 ℃ 烘 24 h)→粉碎→脱脂(石油醚按液料比 15 mL/g,脱脂三次)→体积分数 70%乙醇浸提(液料比 20 mL:1 g,温度 70 ℃,时间 1.5 h)→离心(4 500 r/min,10 min)→上清液(洋葱黄酮类化合物)

1.3.2 洋葱黄酮类化合物浓度的测定

以芦丁为标准品,参照文献[4]的方法测定洋葱黄酮类化合物的浓度。

1.3.3 洋葱黄酮类化合物抗氧化活性测定

1.3.3.1 对亚油酸过氧化抑制能力的测定

采用硫氰酸盐法^[5],略修改。将 2.5 mL 不同浓度的洋葱黄酮类化合物放入具塞试管中,对照管用体积分数 70%乙醇代替,分别加入亚油酸乳状液 2.5 mL。亚油酸乳状液由 0.284 0 g 亚油酸、0.280 4 g 吐温-20(乳化剂)和 50 mL 磷酸盐缓冲液(0.02 mmol/L, pH 7.0)均质而成。将混合液放入 50 ℃ 培养箱中避光培养 8 h。从中取样 0.1 mL,添加体积分数 75%乙醇 4.7 mL,质量分数 30%的硫氰酸铵 0.1 mL 和 0.02 mmol/L 的氯化亚铁溶液 0.1 mL,摇匀,37 ℃ 准确计时 3 min,在波长 500 nm 处测定吸光度,以等浓度的 BHT 作为阳性对照。对照管的吸光度 A_0 ,样品管的吸光度 A ,洋葱黄酮类化合物对亚油酸过氧化的抑制率为:

第一作者:硕士,讲师。

*安徽科技学院引进人才项目(No. ZRC200680)

收稿日期:2008-08-18,改回日期:2008-10-20

$$\text{抑制率}/\%=(A_0-A)/A_0\times 100$$

1.3.3.2 对油脂过氧化抑制能力的测定

参照文献[6],略有改动。洋葱黄酮类化合物以不同的添加量加入到大豆色拉油中进行测试,对照以体积分数 70% 的乙醇代替。利用油脂过氧化产物——丙二醛(MDA)与硫代巴比妥酸(TBA)反应产生紫红色复合物,显色后用三氯甲烷将少量油脂溶解并沉入管底,取上清液在波长 532 nm 处比色测定,以等量的 BHT 作为阳性对照。测出样品管的吸光度值为 A,对照管的吸光度值为 A_0 ,样品对油脂过氧化的抑制率为:

$$\text{抑制率}/\%=(A_0-A)/A_0\times 100$$

1.3.3.3 对脱氧核糖氧化损伤的影响^[7]

取一定浓度的洋葱黄酮类化合物溶液于试管中,对照管以体积分数 70% 乙醇代替,分别加入 FeCl_3 (4 mmol/L), EDTA (400 $\mu\text{mol/L}$), KH_2PO_4 -KOH 缓冲液 (20 mmol/L, pH 7.4), H_2O_2 (3 mmol/L), 2'-脱氧核糖 (6 mmol/L) 和抗坏血酸 (400 $\mu\text{mol/L}$) 溶液各 1.0 mL, 混合均匀。将此试液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 1 h, 然后加入 2.0 mL TCA-TBA-HCl (15 g TCA, 0.375 g TBA, 及 2.1 mL HCl 依次放入 100 mL 甲醇中) 溶液, 沸水浴反应 15 min, 冷却后测其 532 nm 处吸光值, 以等浓度的 BHT 作为阳性对照, 测出样品管的吸光度值为 A, 对照管的吸光度值为 A_0 , 样品对脱氧核糖氧化损伤的抑制率为:

$$\text{抑制率}/\%=(A_0-A)/A_0\times 100$$

1.3.3.4 对 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血的影响^[8]

取大鼠, 眼球取血, 分离红细胞, 生理盐水洗涤 3 次后制成体积分数 0.5% 的红细胞悬液。取悬液 1.0 mL 于试管中, 加入不同浓度的洋葱黄酮类化合物, 对照以体积分数 70% 的乙醇代替, 最后加 100 mmol/L 的 H_2O_2 0.1 mL, 混匀后于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 60 min, 取出后用生理盐水将反应混合物稀释 5 倍, 3 000 r/min 离心 5 min, 上清液于 415 nm 处比色, 以等浓度的 BHT 作为阳性对照, 测出样品管的吸光度为 A, 对照管吸光度为 A_0 , 洋葱黄酮类化合物对红细胞氧化溶血的抑制率为:

$$\text{抑制率}/\%=(A_0-A)/A_0\times 100$$

1.3.3.5 对大鼠肝匀浆脂质过氧化的影响^[9]

取大鼠, 颈椎脱臼处死, 迅速取出肝脏, 用冷 (4 $^{\circ}\text{C}$) 生理盐水洗净血液, 用 Tris 缓冲液 (10.0 mmol/L Tris-HCl, 0.1 mmol/L EDTA-2Na, 10.0 mmol/L 蔗糖, 8.0 g/L NaCl, pH 7.4) 制成 5% 的组织匀浆,

取匀浆 1 mL 及不同浓度的样品于反应管, 37 $^{\circ}\text{C}$ 温浴 20 min, 对照以体积分数 70% 的乙醇代替。除空白管外各管加入 50 $\mu\text{mol/L}$: 50 $\mu\text{mol/L}$ (终浓度) 的抗坏血酸+硫酸亚铁溶液, 继续温浴 30 min, 用 TBA 比色法进行测定, 以等浓度的 BHT 作为阳性对照, 样品管吸光度为 A, 对照管吸光度为 A_0 , 洋葱黄酮类化合物对大鼠肝匀浆脂质过氧化的抑制率为:

$$\text{抑制率}/\%=(A_0-A)/A_0\times 100$$

2 结果与分析

2.1 洋葱黄酮类化合物对亚油酸过氧化的抑制作用

亚油酸过氧化体系是检测抗氧化剂抗脂肪氧化能力最常用的方法^[10]。由图 1 可以看出, 洋葱黄酮类化合物对亚油酸过氧化有较强的抑制作用, 随着洋葱黄酮类化合物浓度的增大, 抑制作用增强, 40 $\mu\text{g/mL}$ 的洋葱黄酮类化合物对亚油酸过氧化的抑制效果几乎与等浓度的 BHT 相当。

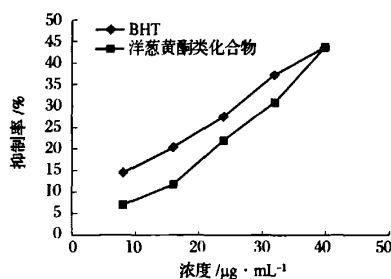


图 1 洋葱黄酮类化合物对亚油酸过氧化的抑制作用

2.2 洋葱黄酮类化合物对油脂过氧化的抑制作用

在油脂体系中, 抗氧化剂的强弱取决于其自身提供氢原子给过氧化自由基的快慢、数量及提供氢原子后自身所形成的自由基的稳定性, 还和抗氧化剂在油脂中的溶解度有关^[6]。由图 2 知, 洋葱黄酮类化合物对油脂过氧化具有良好的抑制作用, 随着洋葱黄酮类化合物浓度的增加, 抑制率增强。在相同的浓度和实验条件下, 洋葱黄酮类化合物对油脂过氧化的抑制作用明显优于 BHT。

2.3 洋葱黄酮类化合物对脱氧核糖氧化损伤的影响

氧自由基不但可以引发脂质体的过氧化, 还可以通过攻击核酸, 一方面可直接攻碱基使其互相结合或生成过氧化物, 造成碱基破坏; 另一方面还可以从戊糖部分提取氢(H), 会造成 DNA 主链断裂。本研究采用的实验体系是利用 Fenton 反应发生羟自由基, 攻击脱氧核糖, 评估样品对脱氧核糖氧化损伤的抑制作用。由图 3 可知, 在本实验所测定的浓度范围内,

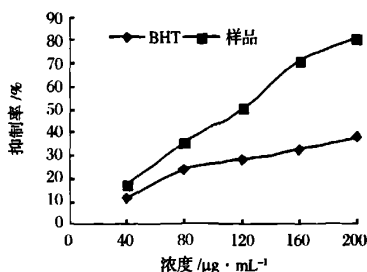


图2 洋葱黄酮类化合物对油脂过氧化的抑制作用

洋葱黄酮类化合物与 BHT 对脱氧核糖氧化损伤的抑制作用均随其浓度的增大而增强,洋葱黄酮类化合物对脱氧核糖氧化损伤的抑制作用优于 BHT。

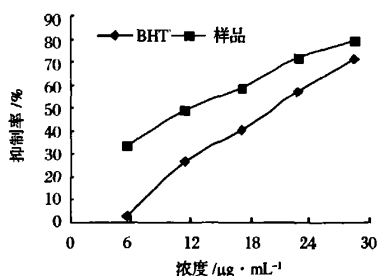


图3 洋葱黄酮类化合物对脱氧核糖氧化损伤的抑制作用

2.4 洋葱黄酮类化合物对 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血的影响

红细胞膜是常用的分析和筛选天然抗氧化剂的实验体系,考察对红细胞膜结构和功能上的影响是迄今被公认的研究细胞氧化损伤的重要方法之一^[11]。本实验中, H_2O_2 与 Fe^{2+} 结合后产生羟自由基引发氧化作用,使得红细胞膜损伤,物质外流, H_2O_2 自身也可引发氧化反应,从而引起脂质过氧化作用破坏红细胞膜,导致红细胞溶血。抗氧化剂则可以抑制 H_2O_2 对红细胞的这种作用,降低溶血率。由图 4 可看出,洋葱黄酮类化合物对 H_2O_2 诱导的红细胞溶血现象有一定的抑制作用,而且其抑制率随着浓度的增加而增大。同等条件下,洋葱黄酮类化合物对 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血的抑制效果优于 BHT。

2.5 洋葱黄酮类化合物对大鼠肝匀浆脂质过氧化的影响

根据 Fenton 反应,抗坏血酸与硫酸亚铁反应可产生羟自由基,羟自由基可诱发肝组织匀浆发生脂质过氧化反应,而抗氧化剂的加入能使肝组织匀浆脂质过氧化水平受到不同程度的抑制。由图 5 知,洋葱黄酮类化合物对抗坏血酸-硫酸亚铁体系所造成的大鼠

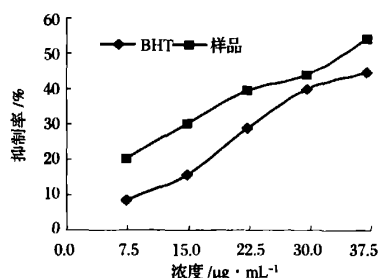


图4 洋葱黄酮类化合物对过氧化氢诱导的红细胞氧化溶血的抑制作用

肝组织匀浆脂质过氧化具有明显抑制作用,且存在一定的量效关系,说明它可以有效抑制羟自由基对组织的伤害,减弱体外脂质过氧化反应的发生,在同等条件下其抑制效果优于 BHT。

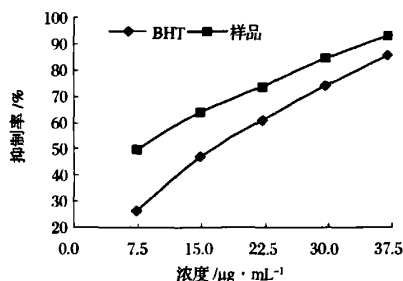


图5 洋葱黄酮类化合物对肝匀浆脂质过氧化的抑制作用

3 讨论

许多研究证实,氧化与人类及其他动物的许多疾病,诸如癌症、老化、动脉硬化等的发病机理有关。人体通过适当摄入具有抗氧化活性的物质,可以降低体内自由基水平,防止脂质过氧化,帮助机体抵御疾病。目前,食品工业采用的合成类抗氧化剂如 BHT、BHA、TBHQ 等虽然能抑制油脂氧化,却带来食品安全性的问题,因此,寻找高效低毒的天然抗氧化剂一直是近年来研究者们关注的课题。天然抗氧化剂主要来自植物体,许多由植物中提取的黄酮类化合物都具有较强的抗氧化活性,但由于含量、资源、提取成本等原因,大多不能批量生产。洋葱作为一种量大面广的“药食两用的天然植物”,其安全性早已为消费者所广泛接受。同时,洋葱中黄酮类化合物又具有良好的抗氧化活性,因此,洋葱黄酮类化合物作为天然抗氧化剂而得到开发应用的前景十分可观。

抗氧化功能的研究方法可以分为体内试验和体外试验两大类,其中体外试验简单、快速,应用较多。抗氧化剂在不同的体系或介质中由于作用机理不同,

所显示出的抗氧化效果也不尽相同,所以对任何一种抗氧化剂的评估都与试验体系紧密相关,单一的体系往往很难全面体现其生物学意义,需要多种体系相互补充,来研究其在不同体系的真实效应。本研究通过多种体外化学模拟体系证明了洋葱黄酮类化合物的确具有较强的抗氧化活性,但其确切的抗氧化机理还不是很清楚,有待于今后进一步研究。

4 结 论

洋葱黄酮类化合物对亚油酸过氧化、油脂过氧化以及脱氧核糖氧化损伤均具有良好的抑制作用,能明显抑制 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血反应和大鼠肝组织匀浆脂质过氧化反应的发生,表明洋葱黄酮类化合物具有很强的体外抗氧化活性,作为天然抗氧化剂具有很好的开发潜力,在食品、医药领域有广泛的应用前景,值得进一步研究开发。

参 考 文 献

- 1 孙守义,王文亮,王守经,等.洋葱的保健作用及其开发前景[J].农产品加工·学刊,2008,(1):93~94
- 2 黎乃维,赵玉平,杨建荣,等.水浸提法提取洋葱黄酮类化

- 合物的工艺条件研究[J].食品科技 2007,(3):110~113
- 3 王 辉,李景明,马 钊,等.洋葱中含硫化合物的生理功效[J].食品工业科技,2005,26(5):187~189
- 4 孙墨琰,宋湛谦,方桂珍.核桃楸总黄酮的提取工艺[J].东北林业大学学报,2006,34(1):38~39
- 5 Gülcin I, Oktay M, Kirecci E, et al. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts[J]. Food Chemistry, 2003, 83 (3): 371 ~ 382.
- 6 陶高峰,叶小利,袁吕江,等.天然抗氧化剂木犀草素抗氧化活性的研究[J].食品与发酵工业,2005,31(8):27~29
- 7 吕晓玲,朱惠丽,姜平平,等.紫苏提取物抗氧化活性体外实验研究[J].中国食品添加剂,2003,(5):22~25
- 8 刘培勋,高小荣,徐文清,等.银耳碱提多糖抗氧化活性的研究[J].中药药理与临床,2005,21(4):35~37
- 9 张振明,葛 斌,许爱霞,等.太子参醇提物对大鼠组织和红细胞的抗氧化活性[J].第四军医大学学报,2005,26(22):2 062~2 064
- 10 曹如燕,徐学明.猪血球蛋白酶水解物抗氧化活性的研究[J].食品与发酵工业,2006,32(12):15~18
- 11 阳冠明,叶司原.山萘酚对红细胞自氧化的影响[J].中国药理学通报,1999,15(5):460~461

Studies on Antioxidant Activity of Onion Flavonoids *in vitro* Chemical Systems

Zhang Qiang, Zhou Zhengyi, Jiang Shengjuan, Wang Meirong

(Life Science College, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China)

ABSTRACT The antioxidant activity of onion flavonoids was investigated by measuring its inhibition effects on peroxidation of linoleic acid and oil, and oxidation of 2'- deoxyribose, as well as their protective effects on hemolysis of red cells induced by H_2O_2 and lipid peroxidation of rat liver homogenate. The results showed that the onion flavonoids did not only significantly inhibit the peroxidation of linoleic acid, linoleic esters, and oxidation of 2'- deoxyribose, but also restrained remarkably on the hemolysis of red cells induced by H_2O_2 and lipid peroxidation homogenate rat liver. Due to its strong *in vitro* antioxidation ability, onion flavonoids has a high potential to be used as natural antioxidant in the future.

Key words onion, flavonoids, antioxidant activity

市
场
动
态

金威啤酒淡季推新品

深圳金威啤酒有限公司推出新装“精品 2008”,进一步优化工艺,强化产品的质量和品质追求,为消费者打造更加健康、安全、绿色的产品,力促此产品成为都市休闲消费的中坚。

10度“精品 2008”采用优质原料和德国先进技术酿造,从原料选购、工艺优化、质量检验以及品种纯度、酿酒性能、啤酒口味等方面,均确保产品健康安全,让消费者在品味纯正清爽的“精品 2008”的同时,领略到金威啤酒的关爱、责任和诚信。

此外,为满足广大消费者健康时尚的个性需求,“精品 2008”在瓶型及包装上进行了创新,600mL 绿瓶动感清新,融入了健康、绿色、时尚的流行元素,是广大年轻消费者追求健康生活方式的首选啤酒。