

乌饭树叶提取物的抗氧化能力探讨*

魏国华¹ 刘钟栋¹ 许新德² 何志伟¹ 张莉华²

1(河南工业大学,郑州,450052) 2(新昌制药厂,新昌,312500)

摘要 对乌饭树叶提取物的抗氧化能力进行了研究。以 V_C 为对照,分别测定了乌饭树叶精提物和粗提物的还原力、清除 DPPH· 自由基能力和抑制脂质过氧化能力。结果表明,在还原力和抑制脂质过氧化能力上与 V_C 相近,约为 V_C 的 90%;而在清除 DPPH· 自由基的能力上,是 V_C 的 1.4 倍。

关键词 抗氧化能力,还原力,清除 DPPH· 自由基能力,抑制脂质过氧化能力

乌饭树 (*Vaccinium bracteatum* Thunb), 隶属越橘科,是一类珍贵的、极具开发前景的食用、观赏型植物,为常绿或落叶灌木,全国各地均有分布,尤其以长江流域以南山区分布最多。乌饭树叶富含浓缩型单宁(condensed tannin)、槲皮素^[1]等为代表的多酚类化合物,浓缩型单宁主要由儿茶素或表儿茶素构成,但至今已分离到的绝大多数浓缩型单宁的黄烷单元都没有超过 6 个^[2]。浓缩型单宁无毒、水溶性,且具有较强抗氧化性。

本文通过对乌饭树叶提取物进行抗氧化能力研究,欲为开发相关保健食品和医药用品提供理论依据,为工业化生产新的天然抗氧化物提供原料资源。

1 材料

1.1 原料与试剂

乌饭树叶:采自浙江新昌,自然阴干,粉碎、过 40 目筛,密闭冷藏备用。

二苯代苦味酰基自由基 DPPH· (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl), ALDRICH, USA; 亚油酸, Fluka, USA; V_C (L-坏血酸), 食品级; 甲醇, 色谱纯; 赤血盐、FeCl₃、Tween 60 及其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

紫外-可见分光光度计 (UV-2450, SHIMADZU Corporation), 真空旋转蒸发器 (RE-52D, 上海安亭实验仪器有限公司), 超声波振荡器 (SK2200LH, 上海科导超声仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 乌饭树叶提取物的制备

2.1.1 乌饭树叶粗提物的制备

称取 5.00 g 乌饭树叶粉末于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 75 mL 体积分数 60% 乙醇,在室温下,于超声波振荡器中以 59kHz 的频率进行震荡提取 20 min,重复 2 次,合并提取液,用真空旋转蒸发器浓缩至大约 20 mL (水浴温度不得超过 70℃^[5]),待浓缩液冷却至室温后,加入到 20 mL 无水乙醇中,振摇,滤除沉淀,滤液用真空旋转蒸发器浓缩直至得到浸膏,此即乌饭树叶粗提物。将乌饭树叶粗提物配制成浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1 mg/mL 的溶液,冷藏,备用。

2.1.2 乌饭树叶精提物的制备

取 20 mL 乌饭树叶粗提物浸膏于 100 mL 锥形瓶中,然后向瓶中加入 20 mL CHCl₃,振摇,过滤,收集滤渣,滤渣继续加入 20 mL 乙酸乙酯,振摇,过滤,收集滤渣,此即为乌饭树叶精提物。将乌饭树叶精提物配制成浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1 mg/mL 的溶液,冷藏,备用。

2.2 V_C 溶液的配制

将 V_C 配成浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1 mg/mL 的溶液,冷藏,备用。

2.3 抗氧化活性的测定

测定抗氧化活性的方法有很多,本研究采用还原力测定、脂质过氧化能力测定及 DPPH· 自由基清除能力测定 3 种方法。

2.3.1 还原力测定^[6]

分别取 4mL 乌饭树叶粗提物、乌饭树叶精提物和 V_C 的系列溶液置于 10 mL 试管中,分别向其中加入 1 mL 的磷酸缓冲液 (pH=6.6) 和 1mL 的质量分数 1% 的赤血盐溶液,于 50℃ 下反应 20 min,冰浴。冷却到室温后,向试管内加入 1 mL 10% 三氯乙酸,然后以 2 500 r/min 的速度离心,时间为 20 min。取 5

第一作者:硕士研究生。

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 20976762)

收稿日期:2006-09-19,改回日期 2006-10-24

mL 上清液于另一试管中,并加入 5 mL 的去离子水,最后加入 1 mL 质量分数 0.1% 的 FeCl_3 溶液。10 min 后,用紫外-可见分光光度计于 700 nm 下测定其吸光值。同时进行空白实验。

还原力 = 样品吸光值 - 空白对照组的吸光值

2.3.2 清除 DPPH· 自由基能力的测定^[6]

分别取 4 mL 乌饭树叶粗提物、乌饭树叶精提物和 Vc 的系列溶液置于 10 mL 试管中,然后向试管中加入 4 mL 浓度为 0.08 mg/mL 的 DPPH 甲醇溶液,混合均匀,以锡箔遮盖试管,静置 30 min,用紫外-可见分光光度计于 517 nm 处测定其吸光值。同时进行空白实验。

$$\text{清除能力}/\% = \frac{\text{空白吸光值} - \text{样品吸光值}}{\text{空白吸光值}} \times 100$$

2.3.3 抑制脂质过氧化能力的测定^[6]

分别取 0.5 mL 乌饭树叶粗提物、乌饭树叶精提物和 Vc 的系列溶液置于 10 mL 试管中,然后向试管中加入 10 mL 的 0.01 mol/L 亚油酸溶液(将 0.28 g 的亚油酸与 0.28g Tween 60 混合均匀,然后用 pH=6.5 的磷酸盐缓冲溶液定容至 100 mL),在 37℃ 恒温暗室中反应 15 h 后,冰浴。冷却后,取反应液 0.5 mL,加入 20 mL 体积分数 80% 的甲醇溶液,用紫外-可见分光光度计在波长 234 nm 下测定其吸光值。同时进行空白实验。

$$\text{抑制率}/\% = \frac{\text{空白吸光值} - \text{样品吸光值}}{\text{空白吸光值}} \times 100$$

3 结果及分析

3.1 还原力测定结果

从图 1 中可知,Vc、乌饭树叶粗提物和精提物的还原力都随着浓度的升高而增大,但增幅有所不同,Vc 的还原能力虽明显强于后两者。如果将 1mg/mL 的 Vc 的还原力定为 1,那么同浓度的乌饭树叶精提物和粗提物的还原力分别为 0.88 和 0.51。

Vc 是一种有强还原性的不稳定酸性物质,虽不含自由羧基,但它有 2 个邻位烯醇式的羟基,此羟基又能各释放出一个 H^+ ,而成为脱氢抗坏血酸,因而不但具有酸性,且有很强的还原性,可使活性氧自由基在此邻位羟基上发生共振,以稳定自由基^[7];此外,Vc 还具有一个羰基($-\text{C}=\text{O}$)官能团,可提高共振结构的稳定度,因此 Vc 的还原能力最佳。而对于乌饭树叶提取物中的浓缩单宁,其主要由儿茶素通过 C-4 位和另一单元的 C-8 或 C-6 位连接而成,其 B 环上虽也有 2 个邻位烯醇式羟基,但并无羰基,此为其

还原能力要较 Vc 差的原因。

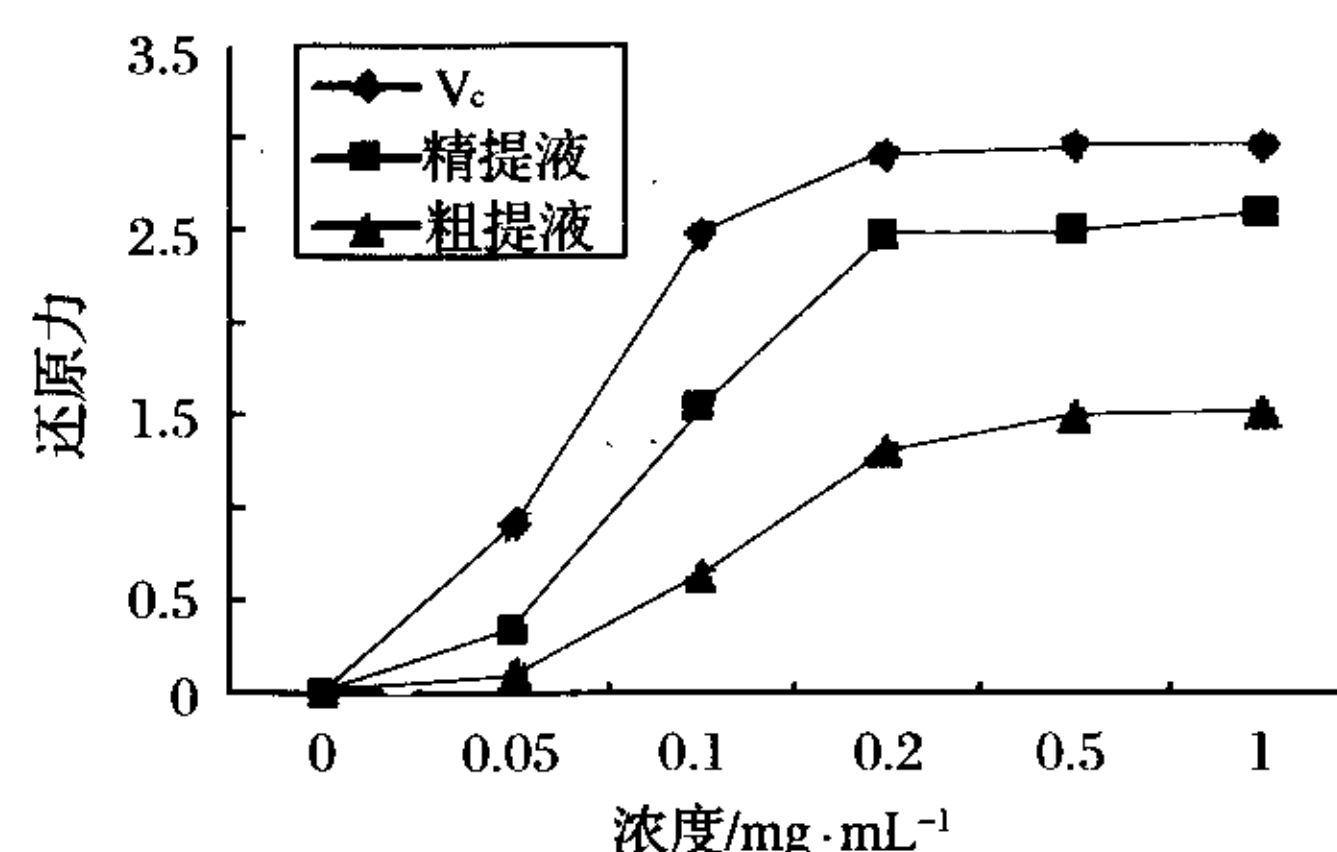


图1 乌饭树叶提取物中抗氧化物与 Vc 的还原力比较图

3.2 清除 DPPH· 自由基能力的测定结果

DPPH· 为一相当稳定的自由基,其甲醇溶液在 517 nm 附近有强的吸光值,当被抗氧化剂还原,或与另外一个自由基结合时,吸光值都会降低,其褪色程度与其接受的电子数量成定量关系。因而可用分光法进行定量分析,并以此来判断样品捕捉自由基的能力。清除 DPPH· 自由基的能力主要与酚环结构上的羟基有关,其羟基越多,供给 DPPH· 自由基的 H^+ 也就越多,那么其清除自由基的能力也就越强。

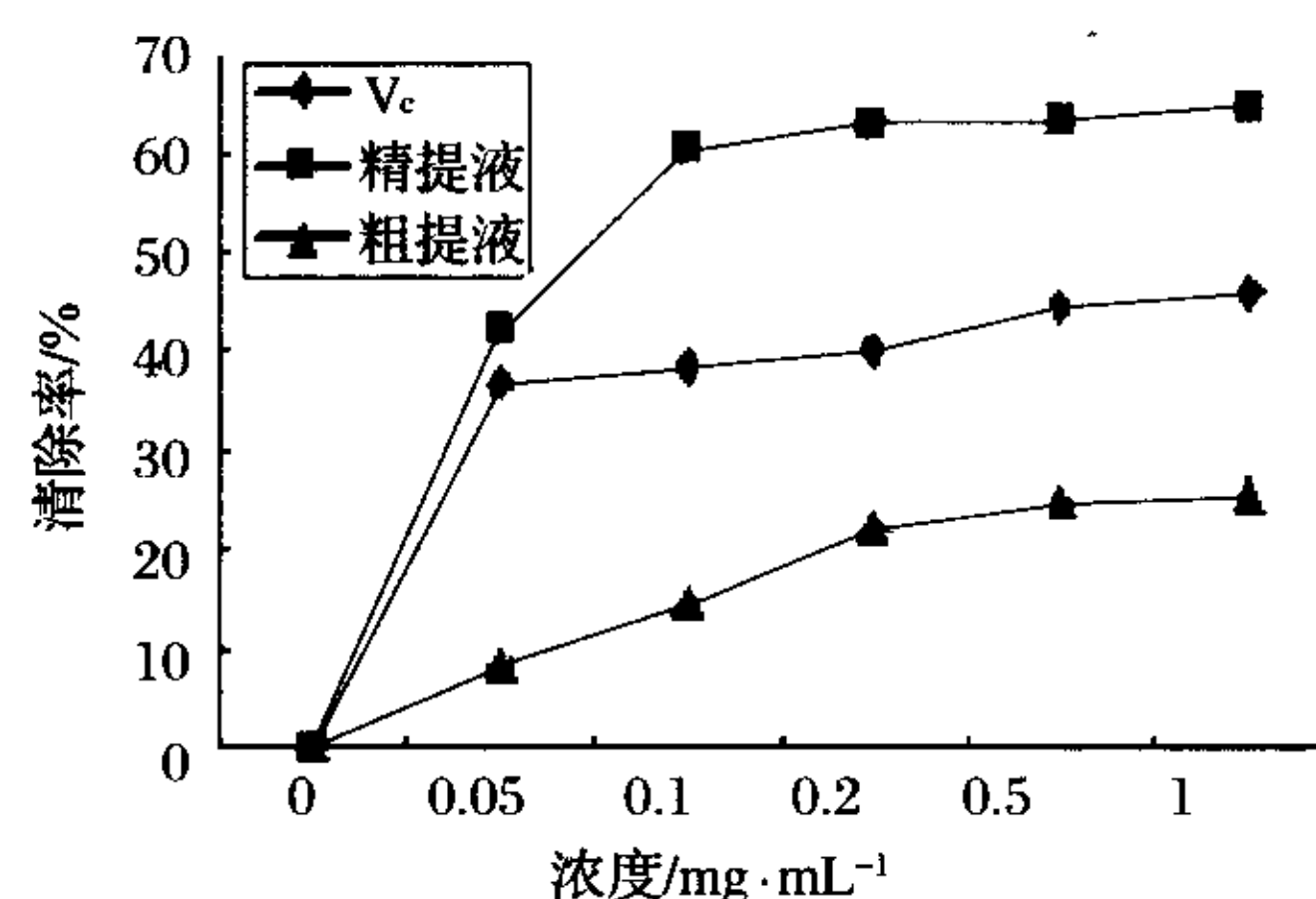


图2 乌饭树叶提取物中抗氧化物与 Vc 的清除 DPPH· 自由基的能力比较图

如图 2 所示,乌饭树叶精提物的清除率最高,因为精提物中的浓缩单宁的每一个结构单元上都具有 4~5 个酚羟基,可以很容易地向 DPPH· 自由基供应 H^+ ,而 Vc 只有 2 个易供氢的双烯醇式羟基,所以乌饭树精提物的清除率要高于 Vc。至于乌饭树粗提物,因为浓缩单宁的含量相对较低,所以其清除 DPPH· 自由基的能力也低。如果将 1 mg/mL 的 Vc 清除 DPPH· 自由基的能力定为 1,那么同浓度的乌饭树叶精提物和粗提物的清除能力分别为 1.4 和 0.55。

3.3 抑制脂质过氧化能力的测定结果

脂质一旦被氧化,就会变成脂质过氧化自由基,其氧化能力很强,会去攻击周围的脂肪酸,而后产生

新的脂质自由基,此为一连锁循环反应,除非有抗氧化剂的存在,可以接受自由基电子,且本身又非常稳定,否则此反应会一直连续下去。

脂质自由基的抑制效果主要取决于化合物本身是否可供 H^+ ,并使脂质自由基在此化合物的结构中共振,进而使产生的过氧化物稳定下来。因为 Vc 供 H^+ 能力虽然要比乌饭树叶精提物弱,但因其结构中有一个羰基($-C=O$)官能团,可使脂质自由基在双烯醇式羟基上的共振更加稳固下来。另外,在抗脂质过氧化作用的研究中发现,在所有的黄酮类化合物中具有儿茶素结构的类黄酮活性最低^[8],所以如图 3 所示,Vc 对脂质自由基的抑制率最高。如果将 1 mg/mL 的 Vc 抑制脂质过氧化能力定为 1,那么同浓度的乌饭树叶精提物和粗提物的抑制能力分别为 0.89 和 0.55。

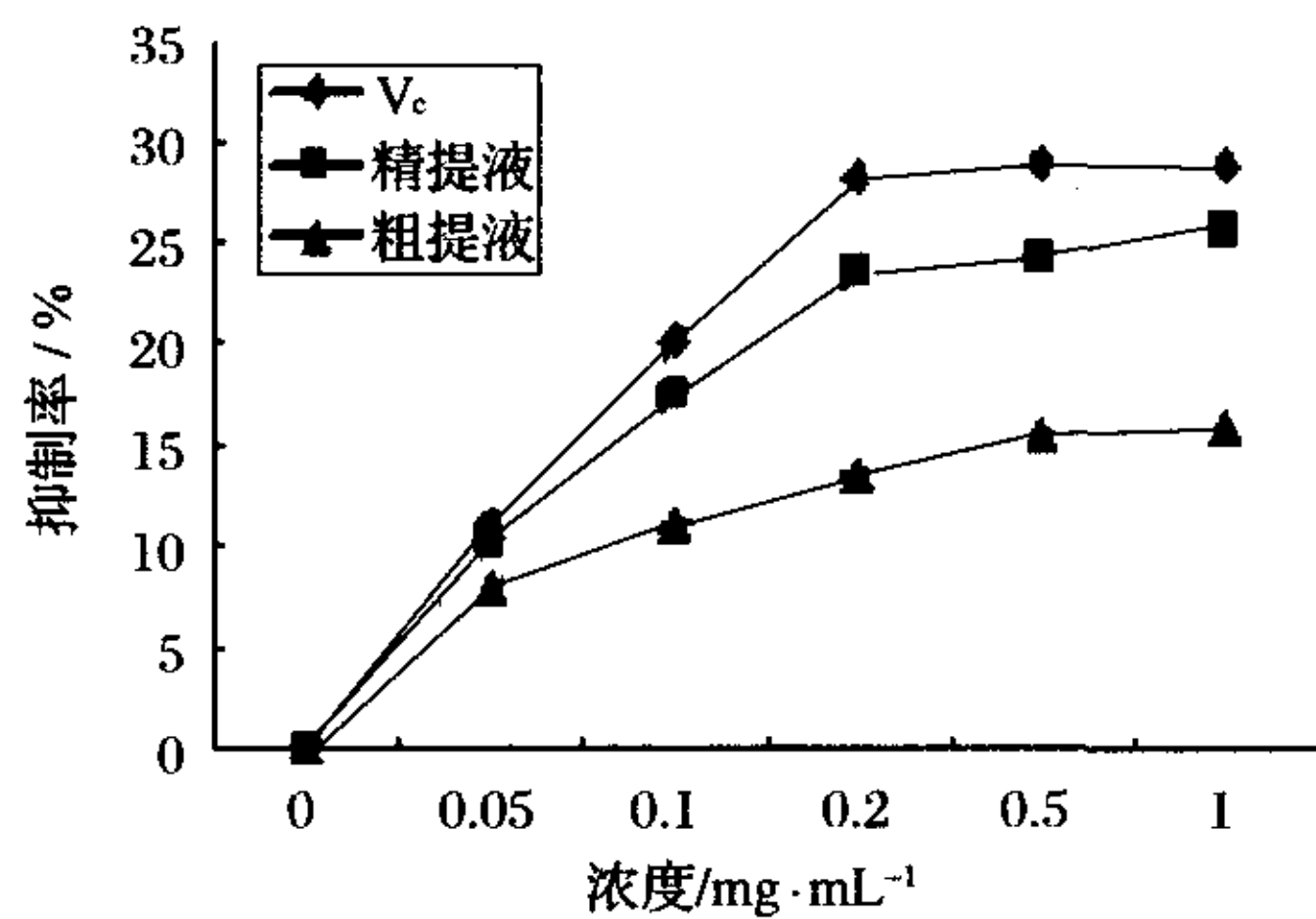


图 3 乌饭树叶提取物中抗氧化物与 Vc 抑制脂质自由基的能力比较图

4 结 论

当浓度同为 1 mg/mL 时,乌饭树叶精提物在还原力和抑制脂质过氧化能力与 Vc 接近,约为 Vc 的 90%;而在清除 DPPH· 自由基的能力方面,乌饭树叶精提物是 Vc 的 1.4 倍。

参 考 文 献

- 1 王立,姚惠源.乌饭树叶中黄酮类色素的提取与分离纯化[J].食品与发酵工业,2004,30(9):120~124
- 2 唐传核编著.植物生物活性物质[M].北京:化学工业出版社,2005.42~43
- 3 Grundhorer P. Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolysable tannins[J]. Phytochemistry, 2000, 57: 915~927
- 4 Michael N C, Augustin S. Ellagitannins——nature, occurrence and dietary burden[J]. J Sci Food Agric, 2000, 80: 1118~1125
- 5 侯团章编著.中草药提取物(第一卷)[M].北京:中国医药科技出版社,2004.75~76
- 6 黄丽蓉.葡萄籽中前花青素的分离纯化与分析检测探讨[D].台湾:朝阳科技大学,2003,75~78
- 7 凌关庭编.抗氧化食品与健康[M].北京:化学工业出版社,2004.80~85
- 8 唐传核编著.植物生物活性物质[M].北京:化学工业出版社,2005.180~181

The Research of Antioxidant Activitie of *Vaccinium bracteatum* Thunb Leaves Extraction

Wei Guohua¹ Liu Zhongdong¹ Xu Xinde² He Zhiwei¹ Zhang Lihua²

1(Henan University of Technology, Zhengzhou 450052, China)

2(Xinchang Pharmaceutical Factory, Xingchang 312500, China)

ABSTRACT The Antioxidant activitie of the extraction of *Vaccinium bracteatum* Thunb leaves was studied. Three parameters were tested to determine the oxidation resistance, they were deoxidization ability, scavenging DPPH· effect and inhibition of peroxidation. By compared with vitamin C, it is confirmed that the Antioxidant activitie of the purified extraction of *Vaccinium Bracteatum* Thunb leaves is close to or exceed the ability of vitamin C.

Key words oxidation resistance, deoxidization ability, scavenging DPPH· effect, inhibition of peroxidation