

# 麦冬提取物的抗氧化活性和抑菌作用研究

王昭晶

(华侨大学生物工程与技术系, 福建泉州, 362021)

**摘 要** 采用乙醇回流提取, 热水煮提和稀碱提取方法分别从麦冬中提取出醇溶性提取物, 水溶性提取物和稀碱提取物。利用超氧阴离子清除实验和羟自由基清除实验研究 3 种提取物的抗氧化活性。结果表明, 稀碱提取物和热水提取物均有较强的羟自由基清除能力, 且高于  $V_c$  的清除能力。稀碱提取物在低浓度时与  $V_c$  相比有更强的超氧阴离子清除作用。乙醇提取物对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌有较强的抑制作用, 最低抑菌浓度是 1 mg/mL。而热水提取物对革兰氏阴性菌大肠杆菌和真菌假丝酵母有一定的抑制作用, 最低抑菌浓度分别是 9.7 mg/mL 与 6.5 mg/mL。

**关键词** 麦冬, 提取物, 抗氧化活性, 抑菌作用

麦冬为百合科沿阶草属植物 [*Ophiopogon japonicus* (L. f.) ker-Gral] 的干燥块根, 是常用的滋阴中药, 始载于《神农本草经》, 有滋阴生津, 润肺清心的功能<sup>[1]</sup>。

目前对于麦冬提取物的研究未见报道。为了合理利用麦冬资源并寻找新的麦冬有效成分, 笔者对其乙醇提取物、水提醇沉物和碱提醇沉物的抗氧化活性及抑菌作用进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

#### 1.1.1 材 料

麦冬: 购于福建泉州百合药店。

#### 1.1.2 试剂与仪器

氯化硝基氮蓝四唑 (NBT), 吩嗪硫酸甲酯 (PMS), 脱氧核糖, 硫代巴比妥酸 (TBA) 及还原型辅酶 I ( $NADH \cdot 2Na$ ) 为 Sigma 公司试剂。FeSO<sub>4</sub>、 $V_c$ 、双氧水、三氯乙酸均为上海化学试剂有限公司分析纯。

DK-S2-4 型电热恒温水浴锅, 上海精宏实验设备有限公司; LD4-2 离心机, 北京医用离心机厂; SHB-III 循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; 721 可见分光光度计, 上海光谱仪器; THZ-2 恒温培养摇床, 江苏太仓; sw-cj-2fd 超净工作台。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 麦冬活性成分的乙醇提取

准确称取麦冬 200g, 加入一定体积的体积分数为 80% 的乙醇, 在 50℃ 水浴中回流提取 6h, 间隙搅

拌。提取完毕, 过滤, 离心得提取液, 残渣再用相同体积和浓度的乙醇提取 1 次, 合并提取液, 离心分离, 上清液旋转蒸干, 得乙醇提取物。残渣烘干用于热水提取。

### 1.2.2 麦冬活性成分的热水提取

将上述残渣 100 g 加入 4 000 mL 的蒸馏水, 封口, 在 90℃ 恒温水浴下提取 2 h, 过滤, 滤渣烘干留作下一步提取用。将滤液合并, 60℃ 减压旋转蒸发浓缩, 直至浓缩液开始挂壁为止, 然后离心, 弃去沉淀物, 上清液中加入 4 倍体积无水乙醇进行醇沉, 4℃ 冰箱中放置 12 h。次日, 3 000 r/min 离心 10 min, 取沉淀, 常规干燥得热水提取物。

### 1.2.3 麦冬活性成分的稀碱提取

将热水浸提过的残渣, 按照料液比 1:20 (g/mL) 加入 0.5 mol/L NaOH 溶液中, 封口, 4℃ 下提取 15h, 离心, 上清液用 1 mol/L 的醋酸中和至 pH7.0, 加入唾液淀粉酶, 37℃ 保温去除淀粉, 每隔 3 h 补加 1 次唾液淀粉酶, 直至碘检验颜色不变蓝为止, 离心弃沉淀, 将上清液浓缩, 加 4 倍体积无水乙醇醇沉 10 h, 沉淀经干燥得稀碱提取物。

### 1.2.4 超氧阴离子清除能力的测定

参照 Robak 的方法<sup>[2]</sup>, 并改进。将样品配制成浓度为 0 (对照), 25, 50 和 100 mg/mL 的水溶液, 取 0.1 mL, 分别加入 1 mL 含 557  $\mu$ mol/L NADH 的 16 mmol/L Tris-HCl (pH8.0) 溶液, 1 mL 含 45  $\mu$ mol/L PMS 的 16 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0) 溶液, 以及 1 mL 含 108  $\mu$ mol/L NBT 的 16 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0) 溶液。25℃ 温浴 5 min, 取出, 在 560 nm 下测吸光值。实验重复 3 次, 根据下式计算超氧阴离子清除率。

作者: 硕士, 讲师。

收稿日期: 2007-05-14

$$\text{清除率}/\% = \frac{1 - \text{样品管 } A_{560}}{\text{对照管 } A_{560}} \times 100$$

### 1.2.5 羟自由基清除作用的测定

以 Ghiselli 等的方法为基础并改进<sup>[3]</sup>, 即将样品配制成浓度为 0 (对照), 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25 和 50 mg/mL 的水溶液, 取 0.1 mL 分别加入 0.6 mL 反应缓冲液 (含 2.67 mmol/L 脱氧核糖和 0.13 mmol/L EDTA 的 0.2 mol/L pH 7.4 磷酸盐缓冲溶液), 0.4 mmol/L FeOSO<sub>4</sub> 0.2 mL, 2.0 mmol/L 抗坏血酸 0.05 mL, 以及 20 mmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.05 mL, 37℃ 下温浴 15 min, 取出后加入 1% 硫代巴比妥酸 1 mL 和 2% 三氯乙酸 1 mL, 沸水浴 15 min, 取出立即放在冰上冷却, 532 nm 测吸光值。

$$\text{清除率}/\% = \frac{1 - \text{样品管 } A_{532}}{\text{对照管 } A_{532}} \times 100$$

### 1.2.6 微生物及其培养

革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis* Cohn), 革兰氏阴性菌大肠杆菌 (*Escherichia coli* Castellani et Chalme) 和真菌假丝酵母 (*Candida glycerolgenesis*) 由华侨大学微生物教研室提供。先在平板上选取单菌落到液体培养基上培养约 10 h, 冷处理备用。大肠杆菌选用 LB 培养基, 枯草芽孢杆菌选用牛肉膏培养基, 假丝酵母选用马铃薯培养基。

### 1.2.7 抑制细菌活性的评价

取无菌三角瓶, 加入 90 mL 的液体培养基, 按 0.6% 接种, 所用样品在紫外下灭菌 30 min, 乙醇提取物用 80% 乙醇溶解, 其他用无菌水溶解。每个三角瓶加入一定质量浓度的样品, 对照加 80% 乙醇或无菌水, 每个样品作 3 个重复操作。

将制备完的三角瓶加盖密封, 细菌和真菌分别在 37℃ 和 30℃ 环境下轻摇, 连续 10 h, 以空白三角瓶为对照测定吸光值  $A_{660}$ , 每 1 h 测定吸光值, 确定细菌的生长情况并获得生长曲线<sup>[4]</sup>。

### 1.2.8 数据处理

将所有吸光值数据被输入 Microsoft Excel 进行数据处理分析, 并以时间为横坐标, 吸光值为纵坐标得到细菌的生长曲线。从生长曲线可以得到麦冬提取物抑制细菌生长的情况及最低抑制浓度 MIC。

### 1.2.9 提取物活性成分定性检测

皂苷类成分采用 CHCl<sub>3</sub>-浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 反应和三氯醋酸反应<sup>[5]</sup>; 黄酮类成分采用 HCl-镁粉反应<sup>[6]</sup>; 生物碱类的检测利用碘-碘化钾沉淀反应<sup>[6, 6]</sup>; 多糖采用苯酚硫酸法<sup>[7]</sup>; 蒽醌类化合物利用浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-乙醚反应

检测<sup>[5]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取物体外清除超氧阴离子的作用

超氧阴离子是机体代谢过程中产生的一种活性氧自由基。如图 1 所示, 麦冬稀碱提取物对超氧阴离子的清除作用较强, 与 Vc 相比, 此提取物在反应体系含量 2.5 mg 时, 对超氧阴离子的清除率达 33.72%, 远高于 Vc 的清除率, 随反应体系中提取物添加量的增加, 稀碱提取物对超氧阴离子的抑制率缓慢升高, 而 Vc 对超氧阴离子的抑制率迅速增大且超过稀碱提取物。热水提取物和乙醇提取物对超氧阴离子基本没有清除作用。

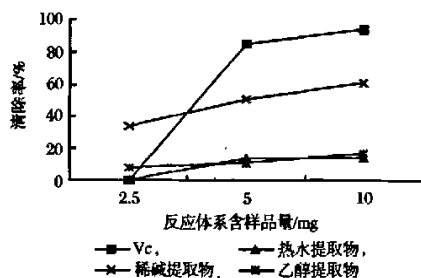


图1 麦冬提取物超氧阴离子清除作用

### 2.2 提取物体外清除羟自由基的作用

从图 2 可以看出, 麦冬热水提取物和稀碱提取物体外均有显著的清除羟自由基的作用, 整个反应体系含 0.625 mg 热水提取物或稀碱提取物时, 即显示清除羟自由基的能力, 随着提取物质量浓度的升高, 清除作用也逐渐加强, 呈现量效关系。相对 Vc 而言, 在反应体系含样品量 0.16~5 mg, 稀碱提取物显示最强的羟自由基清除活性, 热水提取物对羟自由基的清除作用介于两者之间。乙醇提取物基本没有清除作用。

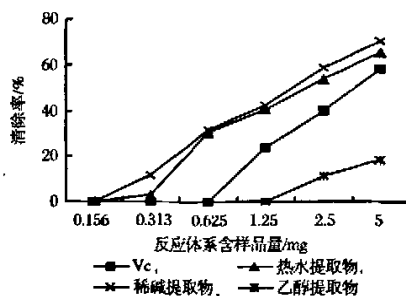


图2 麦冬提取物羟自由基清除作用

热水提取物在用量 0.156~5 mg 时, 对羟自由基的清除作用介于 0 和 65.58% 之间, 稀碱提取物在

此范围内的清除作用是 0~70.88%。而  $V_c$  对羟自由基的清除作用在此范围内时是 0~58.84%。这个结果证明,麦冬热水提取物和稀碱提取物均有较强的羟自由基清除作用,并且可能比  $V_c$  的羟自由基清除作用强。

### 2.3 提取物的抑菌作用

图 3 和图 4 分别为革兰氏阴性菌大肠杆菌和真菌假丝酵母在不同质量浓度麦冬热水提取物下的生长曲线。

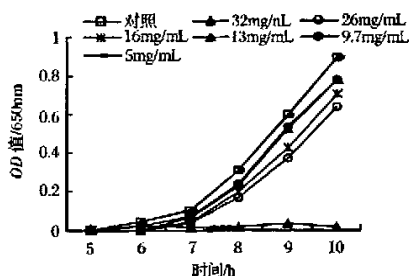


图 3 热水提取物对大肠杆菌的抑制作用

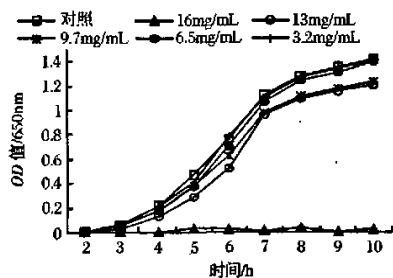


图 4 热水提取物对假丝酵母的抑制作用

比较图 3 和图 4 可以发现,热水提取物对大肠杆菌和假丝酵母的抑菌浓度范围分别是 9.7~32 mg/mL 和 6.5~16 mg/mL,并且随提取物质量浓度的增加抑菌作用逐渐增强。最低抑菌质量浓度分别是 9.7 mg/mL 与 6.5 mg/mL。麦冬热水提取物在同一质量浓度下对真菌假丝酵母比较敏感,对革兰氏阴性菌大肠杆菌稍次之,而对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌基本没有抑制作用。

图 5 给出了革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌在不同质量浓度麦冬乙醇提取物下的生长曲线。由图 5 可知,当提取物质量浓度超过 1 mg/mL 时,枯草芽孢杆菌的生长开始受到抑制,随提取物质量浓度的增加,抑制效果逐渐增大,当提取物质量浓度超过 6.5 mg/mL 时,枯草芽孢杆菌即全部被抑制生长。最低抑菌质量浓度是 1 mg/mL。乙醇提取物对大肠杆菌和假丝酵母基本没有抑制作用。

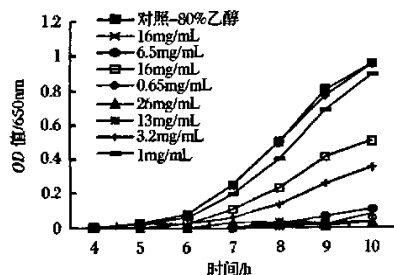


图 5 乙醇提取物对枯草芽孢杆菌的抑制作用

### 2.4 麦冬提取物活性物质的定性检测

3 种提取物的主要活性成分检测结果如表 1。热水煮提醇沉的提取物和碱提醇沉的提取物均是水溶性成分,它们的有效活性成分可能主要是多糖,在热水提取物中也有少量皂苷检出。而乙醇提取物种主要含有皂苷和蒽醌类成分。以上实验结果表明,热水极提取物中发挥抗扭送化活性和抑菌作用的主要成分及多糖和皂苷。稀碱提取物中起抗氧化作用的活性成分可能是多糖类。据报道,蒽醌类成分多数均有抑菌活性,因而在抑菌活性较强的乙醇提取物中主要行使功能的可能是蒽醌类成分。

表 1 三种提取物的活性物质检测

活性成分	乙醇提取物	热水提取物	稀碱提取物
多 糖	-	+	+
皂 苷	+	+	-
蒽醌类	-	-	-
生物碱类	-	-	-
蒽醌类	+	-	-

## 3 结 论

麦冬热水提取物和稀碱提取物均有较强的抗氧化作用。其中稀碱提取物对羟自由基的清除作用最强,其次是热水提取物,同时 2 者的羟自由基清除能力均高于  $V_c$  的清除能力。稀碱提取物对超氧阴离子的清除能力与  $V_c$  相比,在反应体系含样品量 2.5 mg 时稀碱提取物对超氧阴离子的清除能力可达 33% 左右,高于同一浓度下  $V_c$  的超氧阴离子清除能力。随着样品含量的升高, $V_c$  的抑制率继续提高而稀碱提取物对超氧阴离子的抑制率趋于稳定,最大清除率只能达到 60% 左右。乙醇提取物对羟自由基和超氧阴离子均没有抑制活性。

麦冬热水提取物对革兰氏阴性菌大肠杆菌和真菌假丝酵母均有一定的抑制作用,且在同一质量浓度下对真菌假丝酵母更敏感。与热水提取物相比较,乙

醇提取物仅对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌有较强的抑制作用,且在同一质量浓度下,乙醇提取物的抑菌作用最强。稀碱提取物对3种菌均无抑制作用。

对提取物活性物质检测结果表明,水提取物中主要活性成分可能是多糖和皂苷,稀碱提取物中多糖可能是主要的活性成分。乙醇提取物中主要起抑菌作用的成分可能是蒽醌类。

#### 参考文献

- 1 徐德生,冯怡,林晓,等.麦冬多糖 MDG-1 的分离纯化和结构分析[J].药学报,2005,40(7):636~639
- 2 Robak J, Gryglewski R. Flavonoids are scavengers of superoxide anions[J]. Journal of Biochemical Pharmacology,

1988, 37: 837~841

- 3 Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, et al. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine[J]. Journal of Agricultural Food and Chemistry, 1998, 46, 361~367
- 4 杨典洱,林晓怡,王艳丽,等.壳多糖抑制细菌生长的构效关系[J].高等学校化学学报,2006,27(7):1 277~1 281
- 5 北京医学院,北京中医学院编.中草药成分化学[M].北京:人民卫生出版社,1980.92
- 6 沙世炎,徐礼桑.中草药有效成分分析法[M].北京:人民卫生出版社,1982.211~213
- 7 张惟杰,复合多糖生化研究技术[M].上海:上海科学技术出版社 1987.6~7

## Antioxidant Activities of Extracts from *Ophiopogon japonicus*

Wang Zhaojing

(Department of Bioengineering and Biotechnology, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**ABSTRACT** The ethanol soluble extracts, water soluble extracts and alkali extracts were obtained from the *Ophiopogon japonicus* by ethanol-circumfluence extraction, boiling-water extraction and alkali extraction. On the basis of superoxide radical assay and hydroxyl radical assay, their antioxidant activities were investigated. Among them, alkali extracts and water soluble extracts had higher inhibitory activities than that of Vc for hydroxyl radical. In addition, alkali extracts has higher inhibitory activity of superoxide radical than Vc at low concentration. The ethanol-soluble extracts had remarkable antimicrobial activities for *Bacillus subtilis* Cohn, and the MIC was 1mg/mL. *E. coli* and *Candida glycerolgenesis* can be strongly inhibited by water soluble extracts, at the MIC 9.7mg/mL and 6.5mg/mL respectively.

**Key words** *Ophiopogon japonicus*, extracts, antioxidant activities, antimicrobial activities

行业动态

### 保龄宝公司被授予全国食品安全示范单位称号

在第五届中国食品安全年会上,山东保龄宝生物技术有限公司被授予“全国食品安全示范单位”荣誉称号。

中国食品安全年会是我国食品安全信息发布的重要平台,也是贯彻落实食品安全政策的重要窗口。2007年年会主题为“确保食品安全,构建和谐社会”,旨在通过政府、协会、专家、企业多方互动,推动食品安全信用体系建设,确保全面实现食品安全。

国家发改委公众营养与发展中心于2007年年初启动了公众营养改善“欧力多”项目。这是我国第1个针对人体微生态失衡的公众营养改善项目,是“推进公众营养改善行动”纳入“十一五”规划后,我国推出的最新公众营养项目。该项目通过在食物中添加低聚糖,激活与增殖人体的益生菌群,从而达到促进微生物生态平衡,改善公众营养健康的目的。作为国家级重点高新技术企业、中国食品添加剂百强企业,山东保龄宝生物技术有限公司研发出的低聚糖系列产品,国内市场占有率高达70%以上,并出口欧美、亚太、非洲等众多国家和地区。在“欧力多”项目启动伊始,国家发改委公众营养与发展中心经过考察评审,以保龄宝公司为核心组建了低聚糖生产基地。它标志着保龄宝公司的低聚糖产品已加入到国家公众营养链。

来自全国食品安全监管部门、科研院所、食品企业等1000多名代表参加了此次中国食品安全年会,与会人员共同签署了《食品营养与安全北京宣言》。经专家组审核通过,从全国数十万食品企业中表彰了一批“全国食品安全示范单位”、“全国食品安全承诺单位”、“全国食品安全优秀管理企业家”和“全国食品安全工程先进个人”。保龄宝公司被授予“全国食品安全示范单位”荣誉称号,董事长、总经理刘宗利和副总经理杨远志被评为“全国食品安全优秀管理企业家”(保龄宝公司王涛、李建、杨海军供稿)。