

荸荠皮提取物的抗氧化活性研究

郭艳华, 胡思前

(江汉大学化学与环境工程学院, 湖北武汉, 430056)

摘要 用邻苯三酚自氧化法、Fetion 反应法、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\text{-I}_2$ 滴定法研究了荸荠皮提取物的抗氧化活性。结果表明:荸荠皮提取物的有明显的抗氧化活性,当浓度为 0.10 g/L 时,对超氧离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)的抑制率为 48.45%,对羟自由基($\cdot\text{OH}$)的清除率为 67.52%,其 0.1% 提取物对猪油的抗氧化效果优于 0.02% 的抗氧化剂 BHT,且其活性具有剂量效应关系。荸荠皮提取物是一种应用前景广阔的具有抗氧化活性的天然资源。

关键词 荸荠皮提取物, 抗氧化活性, 邻苯三酚自氧化法, Fetion 反应

植物中的水果、蔬菜不仅能给人类提供维生素、矿物质等一些重要的营养成分,同时还具有抗氧化、抗变异、防癌、提高免疫力、抗过敏、调节血压和胆固醇等功能。其中抗氧化活性对于预防癌症、心血管疾病以及抗衰老有很重要的生理功能^[1]。为此,近些年来研究果蔬的抗氧化活性已成为热门课题^[2,3]。

荸荠为药食两用的植物球茎^[4],主要用于食用。荸荠皮是人们在食用荸荠时习惯于丢弃的部分,但它营养丰富,故造成浪费。作者已对荸荠皮色素的提取工艺和稳定性进行了系统的研究^[5],结果表明:荸荠皮色素是易于提取,且相对稳定的天然色素。本文用邻苯三酚自氧化法、Fetion 反应法、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\text{-I}_2$ 滴定法,进一步研究了荸荠皮提取物的抗氧化活性,为天然抗氧化剂及抗氧化保健食品的开发利用提供有用的信息。

1 试验部分

1.1 材料和仪器

荸荠皮(武汉集贸市场收集)。邻二氮菲, $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$, 质量分数 30% 的 H_2O_2 , 邻苯三酚, 三羟甲基甲胺(Tris), 盐酸, 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT), 以上均为分析纯试剂。

UV-2401 紫外可见分光光度计(日本岛津), 721 可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司), RE-52 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), pHs-2c 型精密酸度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 荸荠皮提取物的制备

将荸荠皮洗净, 晾干, 粉碎。用参考文献^[5]的方

法制取荸荠皮提取物, 滤渣用同样方法浸提 2 次, 抽滤, 合并滤液, 用旋转蒸发器减压浓缩, 再将浓缩液真空干燥, 得棕黄色粉末, 提取率为 4.8%。

1.2.2 荸荠皮提取物吸收光谱的测定

准确称取少量荸荠皮提取物用体积分数 50% 的乙醇配制成 0.100 g/L 的色素乙醇溶液, 以溶剂为参比, 在紫外可见分光光度计上进行 250~700 nm 范围内的扫描, 得到荸荠皮提取物的吸收光谱图(见图 1)。

1.2.3 荸荠皮提取物抗氧化活性的测定

1.2.3.1 抑制超氧离子自由基的测定

采取邻苯三酚自氧化法^[6,7]。邻苯三酚自氧化反应速率被抑制的大小显示超氧离子自由基被荸荠皮提取物清除作用的强弱。

抑制率/% = $(\Delta A_1/\Delta t - \Delta A_2/\Delta t)/\Delta A_1/\Delta t \times 100$

$\Delta A_1/\Delta t$ 为邻苯三酚自氧化反应速率, $\Delta A_2/\Delta t$ 为加入荸荠皮提取物后的邻苯三酚的自氧化反应速率。

取 3 支 10 mL 比色管, 依次标上 a、b、c, 各加入 2.00 mL pH=9.50 的 Tris-HCl 缓冲溶液, 在 b、c 中分别加入一定量的荸荠皮提取物使其浓度为 0.0100 g/L, 在 a、c 中分别加入新配制的 60 mmol/L 的邻苯三酚 0.50 mL, 再用 Tris-HCl 缓冲溶液稀释至刻度。以 Tris-HCl 缓冲溶液为参比, 在吸收波长 420 nm 处从第 6 min 开始每隔 30 s 测一次吸光度 A 值, 测定 6 min。按同样方法分别取荸荠皮提取物不同量进行实验, 再按同样方法用常用抗氧化剂 BHT 进行实验, 计算抑制率。

1.2.3.2 清除羟自由基的测定

采取 Fenton 反应法^[8]。Fenton 反应产生羟自由基: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} = \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$, Fe^{2+} 与邻二氮菲生成红色配合物, 加入荸荠皮提取物后, 减弱

第一作者: 学士, 副教授。

收稿日期: 2007-07-12, 改回日期: 2007-08-28

了 $\cdot\text{OH}$ 对 Fe^{2+} /F/邻二氮菲的氧化作用,从而减弱最大吸收波长处的吸光度的变化。

$$\text{清除率}/\% = \frac{(A_{\text{样}} - A_{\text{未}})}{(A_{\text{未}} - A_{\text{参}})} \times 100$$

$A_{\text{参}}$ 、 $A_{\text{未}}$ 及 $A_{\text{样}}$ 分别为加入提取物的羟自由基体系、不加 H_2O_2 及加入 H_2O_2 的羟自由基体系的吸光度值。

取5支10 mL比色管,编号1、2、2*、3、3*,向2、3、3*试管中分加入1.00 mL 1.00×10^{-2} mol/L 邻二氮菲溶液,1.00 mL 1.00×10^{-2} mol/L 硫酸亚铁铵溶液,向2、2*中分别加入一定量的荸荠皮提取物,向2、3*中分别加入0.06% H_2O_2 溶液0.50 mL。再分别在5支试管中加入 $\text{pH}=7.44$ 的Tris-HCl缓冲液2.00 mL。均用二次蒸馏水定容至10.0 mL,置于37℃水浴中反应1h,以1中溶液为参比,在可见光区对3中溶液进行扫描,得最大吸收波长,并在此波长下测定吸光度值。以1中溶液为参比,分别测定3、3*中溶液的吸光度,得 $A_{\text{参}}$ 、 $A_{\text{未}}$,以2*中溶液为参比,测定2中溶液的吸光度,得 $A_{\text{样}}$ 。按同样方法分别取荸荠皮提取物不同量进行实验,再按同样方法用常用抗氧化剂BHT取不同量代替提取物进行实验,计算清除率。

1.2.4 对猪油的抗氧化活性测定

取几份不同量的荸荠皮提取物,分别加入50 g 温热猪油,搅匀,放入70℃烘箱中强化保存,定时搅拌,并交换在恒温箱中的位置。在保存50、70 h时分别取样,按照GB5009.37—1985方法测定猪油的过氧化值(POV值)。按同样的方法对BHT进行实验。

2 结果与讨论

2.1 荸荠皮提取物的吸收光谱

荸荠皮提取物的紫外-可见光谱见图1。

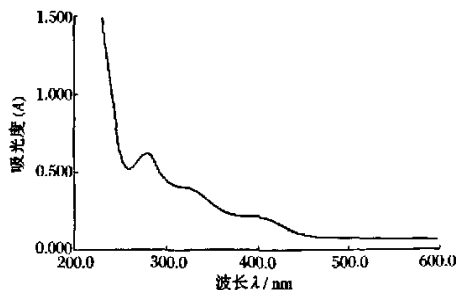


图1 荸荠皮提取物的吸收光谱

从图1可见,可见光区无明显吸收,而在紫外区

270~290 nm有较强的吸收,400 nm左右有很弱的吸收,这说明荸荠皮提取物抗氧化活性的主要成分不是花色素及其苷类,而是黄酮类化合物^[9]。

2.2 荸荠皮提取物对超氧离子自由基的抑制作用

按实验方法1.2.3.1进行实验,测定结果如表1所示。

表1 抑制超氧离子自由基的测定结果

样品用量 /mg · L ⁻¹	抑制率 /%	样品用量 /mg · L ⁻¹	抑制率 /%
10.0	9.10	70.0	21.50
20.0	10.97	80.0	45.80
25.0	11.21	100.0	48.45
30.0	12.55	120.0	50.62
50.0	16.00	140.0	51.34

由表1可知,荸荠皮提取物对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的抑制率随着荸荠皮提取物浓度的增大而增大。当浓度从70.0 mg/L增加到80.0 mg/L时,抑制率发生突增,当荸荠皮提取物浓度继续增大时抑制率缓慢增大。测定的BHT的用量为100.0 mg/L,抑制率为61.52%,同样条件下荸荠皮提取物对超氧离子自由基抑制率是BHT的78.8%。

2.3 荸荠皮提取物对羟自由基的清除作用

在 Fe^{2+} -邻二氮菲溶液的最大吸收波长510 nm处,测定不同含量的荸荠皮提取物清除羟自由基的清除率见表2。

表2 清除羟自由基的测定结果

样品用量 /mg · L ⁻¹	清除率/%	样品用量 /mg · L ⁻¹	清除率/%
20.00	26.40	80.00	65.78
40.00	37.43	100.0	67.52
50.0	49.25	120.0	67.97

由此可知,荸荠皮提取物对羟自由基的有明显清除作用。当荸荠皮提取物的浓度为0.10 g/L时,清除羟自由基的清除率为67.52%。同浓度的BHT清除羟自由基的清除率为70.4%,同等条件下,荸荠皮提取物清除羟自由基的清除率是常用抗氧化剂BHT的95.91%。且随着荸荠皮提取物浓度的增大,对羟自由基的清除率增大,抗氧化活性增强。

2.4 荸荠皮提取物对猪油的抗氧化活性测定

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ - I_2 滴定法是通过过氧化物的生成量评价食品抗氧化剂抗氧化能力最常用的方法。

按1.2.3实验,将加入不同量的荸荠皮提取物的猪油在70℃恒温烘箱中保存50、70 h时不同浓度荸

莽皮提取物对猪油的抗氧化活性的 POV 值分别列入表 3、表 4, 并与抗氧化剂 BHT 比较。

表 3 50 h 时不同浓度莽荠皮提取物
对猪油的抗氧化活性

浓度/%	莽荠皮提取物					BHT
	空白	0.2	0.1	0.05	0.02	0.02
POV/mg · kg ⁻¹	52.5	1.0	1.5	38.0	43.1	20.0

表 4 70 h 时不同浓度莽荠皮提取物对猪油的抗氧化活性

浓度/%	莽荠皮提取物					BHT
	空白	0.2	0.1	0.05	0.02	0.02
POV/mg · kg ⁻¹	120.2	4.0	7.1	82.0	90.5	42.5

由表 3、表 4 可知, 随着莽荠皮提取物浓度的增大, 对猪油的抗氧化能力增强。当莽荠皮提取物在猪油中的添加量为 0.1% 时, 其抗氧化能力优于 0.02% 抗氧化剂 BHT, 但添加量为 0.02% 时, 却不如同浓度的 BHT。

3 结 论

(1) 莽荠皮色素含量高, 提取方法简单, 提取率达 4.8%。

(2) 实验结果表明: 莽荠皮提取物有较强的抗氧化活性。当莽荠皮提取物的浓度为 0.10 g/L 时, 莽荠皮提取物对羟自由基的清除率为 67.52%, 是同浓度常用抗氧化剂 BHT 的 95.91%; 对 O₂⁻ · 自由

基的抑制率为 48.45%, 是常用抗氧化剂 BHT 的 78.80%。莽荠皮提取物的抗氧化活性随着浓度的增大而增强。实际上当莽荠皮提取物的浓度很小仅为 0.10 g/L 时, 清除自由基的能力已相当显著。

(3) 莽荠皮提取物有阻断猪油脂质过氧化作用, 其 0.1% 提取物对猪油的抗氧化效果优于 0.02% 的食品抗氧化剂 BHT, 且其活性具有剂量效应关系。

参 考 文 献

- 1 Ricci Evans C, Miller N J. Antioxidants the case for fruit and vegetables in the diet[J]. British Food Journal, 1997, (9): 35~40
- 2 Marina Heinonen I, Pekka J Lehtonen, Anu I Hopia. antioxidant activity of berry and wines and liquors[J]. Food Chem, 1998, (46): 25~31
- 3 Nicole C, Jean Luc B, Jean Pierre C, et al. Antioxidant properties of hydroxy-flavones[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1996, 20(1): 35
- 4 刘绍贵. 中药处方手册[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2003. 259
- 5 郭艳华. 莽荠皮色素的提取和稳定性研究[J]. 食品科学, 2004, 25(12): 115~121
- 6 邹国林, 桂兴芬, 钟晓凌, 等. 一种 SOD 的测活方法—邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展, 1986, (4): 71~73
- 7 赵二芳, 张海容, 盖青青, 等. 沙棘黄铜的测定及其抗氧化作用[J]. 化学研究与应用, 2003, 15(2): 284~285
- 8 金 鸣, 李亚欣, 李金荣, 等. 邻二氮菲-Fe³⁺ 氧化法测 H₂O₂ / Fe²⁺ 产生的羟自由基[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(6): 553~557
- 9 陈业高. 植物化学成分[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004. 236

Study on Antioxidant Activities of Eleocharis Tuberosa Peel

Guo Yanhua, Hu Siqian

(School of Chemistry & Environmental Engineering, Jiangnan University, Wuhan 430056, China)

ABSTRACT Antioxidant activity of extract of Eleocharis Tuberosa peel were studied by pyrogallol autoxidation method, Feton reaction and Na₂S₂O₃-I₂ titrimetric method. The results showed: Antioxidant activity was very strong; at the concentration of 0.10 g/L, The inhibition rate of superoxide anion free radical(O₂⁻ ·) was 48.45%, The scavenging rate of hydroxyl free radical (·OH) was 67.52%. Adding 0.1% (molar percentage) of the extracts to lard, its antioxidant activity was better than that of 0.02% BHT. The extracts from peel showed higher activities than from juice. Extract of eleocharis tuberosa peel was a natural resource of strong antioxidant activity.

Key words extract of eleocharis tuberosa peel, antioxidant activity, pyrogallol autoxidation method, feton reaction

三项饮料产品标准在京顺利通过审定

2007年9月27~28日, 中国饮料工业协会和全国食标委饮料分委会共同组织了《茶饮料》国家标准、《含乳饮料》

国家标准、《植物蛋白饮料 豆奶(豆浆)和豆奶饮料》行业标准3项标准的审定会。3项标准均由中国饮料工业协会技术工作委员会牵头起草, 目前, 技术工作委员会已完成包括这3项标准及《饮料通则》、《浓缩苹果汁》、《植物蛋白饮料 杏仁露》、《植物蛋白饮料 椰子汁及复原椰子汁》、《碳酸饮料》在内的8项国家、行业标准。