

罗爱国,胡变芳,赵 健. 花椒叶提取物抗氧化性及协同效应[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):240-242.

花椒叶提取物抗氧化性及协同效应

罗爱国^{1,2}, 胡变芳³, 赵 健³

(1. 山西药科职业学院食品工程系, 山西太原 030012; 2. 山西大学生命科学学院, 山西太原 030006;

3. 晋中学院生物科学与技术学院, 山西晋中 030600)

摘要:以大豆油为底物,采用碘量法,研究花椒叶提取物的抗氧化作用及其协同增效作用。结果表明,花椒叶粗提取物对油脂有一定的抗氧化作用,随着提取物添加量增加,其抗氧化作用增强,两者在试验剂量范围内呈正相关,随着作用时间延长,抗氧化性减小;花椒叶粗提取物与维生素 C 和柠檬酸均具有一定的协同增效作用;温度对花椒叶粗提取物抗氧化作用影响最明显,起拮抗作用。由于花椒叶来源充足,提取方法简便,研究结果可为今后开发利用新的天然抗氧化剂资源、变废为宝提供技术依据。

关键词:花椒叶提取物;抗氧化性;协同效应

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)05-0240-02

食用油脂由于含有不饱和脂肪酸,易与空气中的氧发生氧化和分解,导致其褪色、褐变,其中维生素、必需脂肪酸等营养成分遭到破坏,不但影响食品的风味,也降低了食用价值,甚至可引起食物中毒^[1]。为了防止食用油脂的氧化酸败,通常在油脂和含油食品的加工过程中添加抗氧化剂。从植物原料中提取的天然抗氧化剂,具有安全、无毒等优点,越来越受到欢迎,天然抗氧化剂的研究也成为油脂化学的一个研究热点^[2]。

花椒(*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.)是重要经济植物,在我国广泛种植,是山区群众致富的重要经济树种之一^[3]。我国中药学很早就将花椒作为一种中药材进行疾病治疗^[4]。近年来,随着我国传统中医药学的发展,传统中草药的研究及开发已越来越引起世界关注,花椒作为其中的一员,国内外报道很多^[5-7],如生物活性成分、临床医用、生理活性研究、药理作用等。但相关报道主要是对花椒果皮成分及籽油进行研究^[3,8-10],对花椒叶的研究报道很少。本试验主要对花椒叶提取物的抗氧化性及其他物质的协同增效作用进行了初步研究,旨在为今后开发利用新的天然抗氧化剂提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 花椒叶采集于山西省阳泉盂县南小坪村,三餐源食用油采购于山西省榆次成信油脂公司。试剂三氯甲烷、冰乙酸、维生素 C、柠檬酸、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 、碘化钾、无水乙醇等均为分析纯。

1.1.2 仪器 HZS-H 型水浴振荡器(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司)、DHX-9143B 型循环水式真空泵(河南巩义市英峪豫华仪器厂);RE-52 型旋转式蒸发器(上海安亭实验仪器有限公司);HUANGPINGFA1004 型电子分析天平

(上海精科天平制造公司);电热套(北京科伟永兴仪器有限公司);F2102 型微型植物试样粉碎机(北京中兴仪器有限公司);DK-98-II A 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 活性成分的提取

1.2.1.1 样品预处理 采收的花椒叶用去离子水清洗,室温下阴干 6 d,用微型植物试样粉碎机粉碎过 3 号筛 50 目,装于棕色试样瓶,置于 4℃ 冰箱中保存备用。

1.2.1.2 提取试验 采用乙醇蒸馏法提取花椒叶活性成分。称取 25 g 花椒叶干粉,置于 250 mL 圆底烧瓶内,加入 250 mL 无水乙醇,减压回流提取 1 h,用 4 层纱布过滤;滤渣加等量的无水乙醇提取 1 h,并过滤;合并 2 次滤液,减压浓缩花椒叶提取液成浸膏,经室温干燥恒重后可得提取物,密封冷冻保存。

1.2.2 抗氧化性试验

1.2.2.1 不同浓度花椒提取液的抗氧化性 称取油脂各 25 g 于 50 mL 锥形瓶中,按油重的百分比分别添加 0.02%、0.04%、0.06%、0.08% 花椒叶提取物,在 70℃ 水浴加热搅拌至充分溶解,置于 37℃ 的恒温箱进行氧化,每 6 h 搅拌 1 次,分别在 3、6、9、12 d 测定其过氧化值(POV 值,%),比较各浓度下花椒提取液的抗氧化性,同时作空白对照,平行测定 3 次,按“1.2.3”节中碘量法测定 POV 值。

1.2.2.2 抗氧化性能的比较 称取油脂各 25 g 于 50 mL 锥形瓶中,按油重的百分比分别添加 0.04% 花椒叶提取物、0.04% 维生素 C、0.04% 柠檬酸、0.02% 维生素 C + 0.02% 粗提物、0.02% 柠檬酸 + 0.02% 粗提物,在 70℃ 水浴加热搅拌至充分溶解,置于 37℃ 的恒温箱进行氧化,每 6 h 搅拌 1 次,分别在 3、6、9、12 d 测定其过氧化值,比较不同添加物的抗氧化性,同时作空白对照,平行测定 3 次,按“1.2.3”节中碘量法测定 POV 值。

1.2.2.3 温度对花椒叶提取物抗氧化性的影响 称取油脂各 25 g 于 50 mL 锥形瓶中,按油重的百分比分别添加 0.04% 花椒叶提取物,分别置于 4、25、37℃ 的恒温箱进行氧化,每 6 h 搅拌 1 次,分别在 3、6、9、12 d 测定其过氧化值,比较各浓

收稿日期:2013-09-25

基金项目:山西省高等学校科技创新项目(编号:20131116)。

作者简介:罗爱国(1980—),男,山西五台人,博士研究生,讲师,主要从事食品工程研究。E-mail:hubianfang168@126.com。

度下花椒提取液的抗氧化性,同时作空白对照,平行测定 3 次,按“1.2.3”节方法测定 POV 值。

1.2.3 抗氧化值的测定方法 参考 GB/T 5538—2005《动植物油脂 过氧化值测定》,采用碘量法测定油脂的过氧化值。分别称取上述抗氧化试验的油脂 2.000 g 于碘量瓶中,加入 25 mL 三氯甲烷-冰乙酸(2:3)混合液,使样品完全溶解,加入 1 mL 饱和碘化钾溶液,紧密塞好瓶盖,并轻轻振摇 1 min,然后在暗处放置 2 min,取出加入 100 mL 蒸馏水,摇匀,立即加入 1 mL 1% 淀粉指示剂,用 0.01 mg/L Na₂S₂O₃ 标准溶液滴定至蓝色消失为终点,同时做空白试验^[9]。

$$\text{POV 值} = 0.1269 \times C \times (V - V_0) / m \times 100\%$$

式中:C(mol/L)为 Na₂S₂O₃ 标准溶液浓度;V(mL)为试样消耗 Na₂S₂O₃ 标准溶液体积;V₀(mL)为空白试样消耗 Na₂S₂O₃ 标准溶液体积;m(g)为样品质量;0.1269 为换算常数。

2 结果与分析

2.1 不同浓度花椒叶粗提物的抗氧化性比较

由表 1 可以看出,所有试验组的 POV 值均低于空白对照组的值,表明花椒叶粗提物对油脂有一定的抗氧化作用;随着提取物添加量增加,抗氧化作用增强,两者在试验剂量范围内呈正相关;随着作用时间延长,抗氧化性减小;但 0.06% 和 0.08% 2 个浓度过氧化值差异不大,表明 0.06% 以上浓度增加增强抗氧化作用效果不明显。

表 1 不同浓度花椒叶粗提物的抗氧化性比较

粗提物(%) (25 g 油脂)	POV 值(%)			
	3 d	6 d	9 d	12 d
0.02	0.098	0.113	0.140	0.259
0.04	0.090	0.109	0.135	0.243
0.06	0.081	0.093	0.112	0.215
0.08	0.081	0.089	0.105	0.214
空白	0.183	0.201	0.286	0.406

注:初始值为 0.054。表 2、表 3 同。

2.2 相同浓度花椒叶粗提物与其他抗氧化剂的协同作用

由表 2 可以看出,同样浓度抗氧化剂作用下,花椒叶粗提物的抗氧化性较维生素 C 及柠檬酸低;但花椒叶粗提物在与维生素 C 及柠檬酸的协同作用下与纯维生素 C 及柠檬酸的抗氧化性接近,表明有较好的协同增效作用;同时随着作用时间延长,增效作用越明显。

表 2 花椒叶纯粗提物与其他合成抗氧化剂的协同比较

样品 (25 g 油脂)	POV 值(%)			
	3 d	6 d	9 d	12 d
0.04% 粗提物	0.090	0.119	0.135	0.243
0.04% 维生素 C	0.082	0.095	0.120	0.220
0.04% 柠檬酸	0.082	0.094	0.138	0.218
0.02% 维生素 C + 0.02% 粗提物	0.086	0.104	0.125	0.228
0.02% 柠檬酸 + 0.02% 粗提物	0.085	0.112	0.124	0.205
空白	0.191	0.213	0.298	0.412

2.3 相同浓度花椒叶粗提物在不同温度下对油脂的抗氧化性比较

由表 3 可以看出,温度对花椒叶粗提物抗氧化作用的影

表 3 相同浓度粗提物在不同温度下的抗氧化性比较

温度(℃) (25 g 油脂)	POV 值(%)			
	3 d	6 d	9 d	12 d
4	0.058	0.063	0.072	0.078
25	0.069	0.075	0.090	0.102
37	0.090	0.119	0.135	0.243
空白	0.190	0.215	0.291	0.418

响较明显,温度升高,抗氧化性作用效果减弱。

3 讨论与结论

花椒叶中含有抗氧化活性物质,抗氧化性的强弱与花椒叶提取物的量及作用时间有关,添加的花椒叶提取物量越多,抗氧化作用越强;一定范围内添加量与抗氧化作用呈正相关,当添加量超过 0.06% 时,抗氧化作用变化不明显;作用时间越长,抗氧化作用越弱,作用时间长于 9 d 时,其 POV 值变化减小。本研究抗氧化作用的变化趋势与李志洲、张鹏等的研究结果^[11-12]基本一致。

花椒叶粗提物在与维生素 C 及柠檬酸的协同作用下与纯维生素 C 及柠檬酸的抗氧化性接近,显示了花椒叶在食用油脂抗氧化方面的巨大潜力。这种增效作用并不是简单的加合作用或相乘作用,而是各种抗氧化剂在抗氧化的不同方面起作用,从整体上表现为抗氧化效果大大增强。

温度对花椒叶粗提物抗氧化作用起拮抗作用,初步分析可能是因为温度升高,促进脂质氧化,相比之下,使花椒叶提取物抗氧化性减小。在 25 ℃ 以下添加花椒叶提取物,能充分起到抗氧化作用。

随着食品工业的不断发展,开发天然抗氧化剂已成为未来食品工业的发展趋势,而绿色、高效、成本低廉的天然抗氧化剂将不断占据食品市场。花椒叶作为花椒的副产品,资源丰富,活性成分提取方法简便,与其他抗氧化剂的抗氧化协同作用强,是开发天然抗氧化剂的宝贵资源。花椒叶开发利用,将变废为宝,对增加椒农收入具有一定意义。本试验虽发现花椒叶提取液具有抗氧化作用,但抗氧化活性成分及其机理还有待于进一步深入研究。

参考文献:

[1] 胡迎芬,孟洁,胡博路,等. 厚朴提取物对猪油抗氧化作用的研究[J]. 食品科学,2000,21(7):29-31.
[2] 唐津忠,鲁晓翔,陈瑞芳. 金莲花中黄酮类化合物的提取及其抗氧化性研究[J]. 食品科学,2003,24(6):88-91.
[3] 吕可. 花椒叶和土壤浸提液对土壤微生物、土壤酶及土壤化学性质的影响[D]. 成都:中国科学院研究生院成都生物研究所,2006.
[4] 徐国钧,王强. 中草药彩色图谱[M]. 福州:福建科学技术出版社,1989:412.
[5] Wu S J, Chen I S, Chern C Y, et al. Structure and synthesis of simulansamide, A platelet aggregation inhibitor from *Zanthoxylum simulans* [J]. J Chin Chem Soc, 1996, 43(2):195-198.
[6] Sheen W S, Tsai I L, Teng C M, et al. Indolopyridoquinazoline alkaloids with antiplatelet aggregation activity from *Zanthoxylum integrifol-*

霍丽妮,刘华钢,廖艳芳,等. 两粤黄檀体外抗氧化及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):242-244.

两粤黄檀体外抗氧化及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

霍丽妮¹, 刘华钢¹, 廖艳芳², 黄茂春³, 陈睿³, 韦建华⁴, 胡越³

(1. 广西医科大学, 广西南宁 530021; 2. 广西化工研究院, 广西南宁 530001;

3. 广西中医药大学赛恩斯新医药学院, 广西南宁 530022; 4. 广西中医药大学, 广西南宁 530001)

摘要:研究了两粤黄檀茎不同溶剂(95% 乙醇、丙酮、乙酸乙酯)提取物的抗氧化和 α -葡萄糖苷酶抑制活性。采用清除 DPPH 自由基、清除 ABTS⁺ 自由基和铁离子(Fe²⁺)还原能力检测体外抗氧化活性;体外建立酶反应体系,以 pNPG 作为底物,检测其 α -葡萄糖苷酶抑制活性。结果表明,两粤黄檀茎乙酸乙酯提取物具有优异的抗氧化能力及 α -葡萄糖苷酶抑制活性,两粤黄檀茎乙酸乙酯提取物具有作为天然抗糖尿病药物研究和开发的潜力。

关键词:两粤黄檀;DPPH;ABTS⁺;还原能力; α -葡萄糖苷酶抑制活性;乙酸乙酯提取物

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)05-0242-03

糖尿病是一组以高血糖以及糖、脂肪、蛋白质代谢紊乱为特征的慢性疾病^[1]。氧化应激(oxidative stress, OS)是指机体在遭受各种有害刺激时,体内高活性分子如活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)产生过多导致体内氧化与抗氧化作用失衡,引起细胞和组织损伤导致糖尿病等许多疾病的恶化^[2-3]。在糖尿病中,自由基是通过葡萄糖的氧化、蛋白质的非酶糖基化和对糖化蛋白的氧化降解 3 种途径形成,因此,抗氧化物质对于糖尿病病人非常有好处,不仅可以维持体内抗氧化水平,而且能够治疗糖尿病引起的并发症^[4]。 α -葡萄糖苷酶能催化淀粉或蔗糖消化的最后一步而产生丰富的糖类物质,因此能抑制 α -葡萄糖苷酶活性的物质也被认为具有抗糖尿病作用^[5]。 α -葡萄糖苷酶抑制剂如阿卡波糖、米格列醇和伏格列波糖能延缓在饮食中对糖类物质的摄取以及抑制餐后高血糖症,对治疗糖尿病和肥胖症非常有效^[6-7]。合成的降血糖药具有胃胀气、腹痛等副作用^[8],从药用植物中寻找抗糖尿病药物被认为更加经济和安全。

根据《中国植物志》记载,黄檀属植物(*Dalbergia*)在我国有 28 种,目前,只有 2 种被研究,尤其是降香(*Dalbergia odor-*

ifera)被研究得最多^[9-11]。许多药理活性均表明降香具有抗糖尿病、抗氧化、抗高血糖、抗炎、抗肿瘤以及抗菌等作用,从该属植物中开发出糖尿病药物非常有意义。两粤黄檀(*Dalbergia benthami* Prain),又名蕉藤麻、两粤檀,藤本,生于疏林和灌木丛中,分布在广东、广西、海南等地;药用部位为茎,可用于通经活血,主治跌打损伤、筋骨疼痛和气滞血瘀所致月经不调等症^[12]。目前,对该植物的研究报道较少,本课题组针对前述的糖尿病的 2 个关键靶点,采用各种体外模型对该植物的抗氧化和 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行研究,以期找到更好的治疗糖尿病的药物。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料 两粤黄檀经广西中医药大学韦松基教授鉴定为豆科黄檀属植物(*Dalbergia benthami*),将茎自然晾干,粉碎。

1.1.2 仪器 美国安捷伦 8453 紫外可见分光光度计;美国赛默飞世尔 Multiskan MK3 酶标仪;德国赛多利斯 BS224S 电子天平;上海亚荣生化仪器厂 RE-52A 型旋转蒸发仪。

1.1.3 试剂 DPPH(二苯代苦味酰自由基)、ABTS[2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)]、 α -葡萄糖苷酶(来源于酿酒酵母)购于美国 Sigma Aldrich 公司;BHT(2,6-二叔丁基对甲酚)购于上海国药集团化学试剂有限公司;阿卡波糖购于南宁药店,厂家为拜耳医药保健有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 两粤黄檀茎提取物的制备 将两粤黄檀茎阴干,粉碎

liolum[J]. *Planta Medica*, 1996, 62(2): 175-176.

[7] Chang C T, Doong S L, Tsai I L, et al. Coumarins and antiHBV constituents from *Zanthoxylum schinifolium*[J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(7): 1419-1422.

[8] 李克坤. 花椒叶液在炸伤及烧伤中的应用[J]. 西北国防医学杂志, 1991, 12(3): 42.

[9] 樊经建. 花椒、花椒叶芳香油及椒籽油的成分分析[J]. 中国油

脂, 1992(1): 32-34.

[10] 弭向辉. 花椒挥发油的提取分离及其抗菌和抗肿瘤作用研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2004.

[11] 李志洲. 苦瓜中黄酮类化合物的提取及抗氧化性研究[J]. 中国生化药物杂志, 2007, 28(4): 264-266.

[12] 张鹏. 银杏叶黄酮的微波提取及其抗氧化性研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(12): 5496-5497, 5730.