

周中英,朱雪晶,潘润天,等.花生壳中黄酮类化合物的抗氧化活性[J].江苏农业科学,2015,43(1):306-308.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.102

花生壳中黄酮类化合物的抗氧化活性

周中英¹,朱雪晶¹,潘润天²,祝水兰¹,刘光宪¹,闵华¹,冯健雄¹

(1.江西省农业科学院农产品加工研究所,江西南昌 330020; 2.江西农业大学食品学院,江西南昌 330045)

摘要:采用不同方法测定花生壳中黄酮类物质的抗氧化活性,并与常用的合成抗氧化剂的抗氧化性能进行对比。结果表明,天然抗氧化剂黄酮类化合物的抗氧化活性高于合成抗氧化剂 TBHQ,且超声波辅助提取法提取花生壳中黄酮类化合物的抗氧化活性明显高于索氏萃取法提取花生壳中黄酮类化合物的抗氧化活性。可见,超声波辅助法提取花生壳中黄酮类化合物是一种简单、可行的方法。

关键词:花生壳;黄酮类化合物;抗氧化剂;抗氧化性;自由基

中图分类号: S565.201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0306-02

抗氧化剂可分为天然抗氧化剂、合成抗氧化剂,目前使用最多的合成抗氧化剂包括叔丁基-4-甲氧基苯酚(butylated hydroxyanisole, BHA)、定基羟基甲苯(butylated hydroxytoluene, BHT)、叔丁基氢醌(ter-butylhydroquinone, TBHQ)等,合成抗氧化剂能有效捕捉自由基,从而达到抑制氧化反应进行的目的,但是合成抗氧化剂存在危害人类健康的风险^[1-2]。由于人工合成的抗氧化剂存在安全隐患,因此,寻求高效、安全的抗氧化剂已成为研究热点^[3-5]。花生壳营养价值较高,含有多种具有抗氧化活性的物质,其中粗蛋白含量为 4.8%~7.2%,粗脂肪含量为 1%,粗纤维含量为 65.7%~79.3%,可溶性碳水化合物含量为 10.6%~21.2%。花生壳不仅具有降低血压、血脂等作用,还具有抗氧化、抗菌抗炎、增强免疫等药理活性^[6-8]。笔者研究采用不同方法提取出的花生壳中黄酮类物质的抗氧化活性,并与常用的合成抗氧化剂的抗氧化性能进行对比,以期花生壳提取物的应用提供依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

二苯基苦味酰基苯肼(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2-连氮-双-(3-乙基苯并噁唑啉-6-磺酸磷酸氢二胺盐)[2,2'-Azion-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt), ABTS]、无水乙醇、磷酸、高硫酸钾、磷酸钠、钼酸铵、硫酸、紫外-可见分光光度计、分子电子天平、离心机。叔丁基对苯二酚(tertiary butylhydroquinone, TBHQ)、超声波辅助法提取花生壳中黄酮类化合物(ultrasonic assisted extraction of peanut shell, UEPS)、索氏萃取法提取花生壳中黄酮类化合物(soxhlet extraction of peanut

shell, SEPS)。

1.2 方法

1.2.1 DPPH·自由基清除率的测定 根据 Hatano 等的方法^[9]清除 DPPH·自由基。在样品管中加入一定量的样品及 DPPH·溶液(样品最终浓度为 5、7.5、10、12.5、15 μg/mL),摇匀并于 30℃下放置 30 min。在 515 nm 处测定不同浓度样品与 DPPH·反应后的吸光度、样品在无水乙醇溶剂中的吸光度、DPPH·在无水乙醇溶剂中的吸光度,以无水乙醇溶剂为空白样品, TBHQ 为参照物,每处理重复 3 次。

样品的消除率 = $[1 - (D_{\text{样品}} - D_{\text{对照}}) / D_{\text{空白}}] \times 100\%$ 。(1)
式中: $D_{\text{空白}}$ 代表 DPPH·与溶剂混合液的吸光度, $D_{\text{样品}}$ 代表 DPPH·与样品反应后的吸光度, $D_{\text{对照}}$ 代表样品与溶剂混合的吸光度。

1.2.2 ABTS⁺·自由基清除率的测定 ABTS⁺·工作液配制方法:将 5 mL 7 mmol/L ABTS 与 88 μL 140 mmol/L 高硫酸钾混合,室温下避光放置过夜,制成 ABTS⁺·自由基贮备液^[10]。使用前用无水乙醇稀释成工作液,并要求其在 734 nm 处的吸光度约为 0.70 ± 0.02。取 0.1 mL 不同浓度的样品与 1.9 mL ABTS⁺·工作液混合均匀,室温下避光放置 10 min,在 734 nm 处测定其吸光度,以无水乙醇为空白, TBHQ 为参照物,每处理重复 3 次。

样品的消除率 = $[1 - (D_{\text{样品}} - D_{\text{对照}}) / D_{\text{空白}}] \times 100\%$ 。(2)
式中: $D_{\text{空白}}$ 代表 ABTS⁺·空白对照吸光度, $D_{\text{样品}}$ 代表 ABTS⁺·与样品反应后的吸光度, $D_{\text{对照}}$ 代表样品空白吸光度。

1.2.3 总抗氧化能力(total antioxidant capacity, TAC)的测定 分别取不同样品溶液 1.0 mL 加入 10 mL 离心管中,再加入 3.0 mL 磷钼试剂溶液(磷钼试剂溶液包括 0.6 mol/L 硫酸、28 mmol/L 磷酸钠、4 mmol/L 钼酸铵)混合均匀,混合液在 95℃水浴锅中分别水浴 30、60、90、120、150、180 min,放置冷却至室温,在 695 nm 处检测样品的吸光度^[11],以蒸馏水为空白, TBHQ 为对照,重复 3 次,取平均值。

1.2.4 还原性能力(reducing power)的测定 在 10 mL 离心管中分别加入 2.5 mL 0.2 mol/L pH 值为 6.6 的磷酸缓冲液及不同含量(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mg/mL)的黄酮提取液 1 mL,加入 2.5 mL 1% 铁氰化钾,混合均匀后 50℃下

收稿日期:2014-02-27

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201303072);国家自然科学基金青年项目(编号:31301590);江西省农业科学院博士启动基金(编号:2013CBS002)。

作者简介:周中英(1983—),女,江西吉安人,博士,助理研究员,从事天然抗氧化剂研发及其活性的研究。E-mail:lyjgstgy@126.com。

通信作者:冯健雄,研究员,从事农副产品加工研究。E-mail:fxj630320@163.com。

放置 20 min,取出冷却至室温后加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液 2.5 mL,加入 2.5 mL 蒸馏水及 0.5 mL FeCl_3 ,混匀后静置 10 min,在 700 nm 处检测样品的吸光度,TBHQ 作为对照。

2 结果与分析

2.1 DPPH·自由基清除率

DPPH·自由基是一种以氮为中心的稳定自由基,其乙醇溶液为紫红色,在波长 515 nm 处有最大吸光度。此方法是基于抗氧化剂能给自由基提供氢原子或电子引起紫红色消退来检测样品的抗氧化活性。自由基分为羟基自由基、烷基自由基、过氧自由基。若提取物能够清除 DPPH·自由基,则表示它含有降低羟基自由基、烷基自由基、过氧自由基有效浓度的能力,可以有效阻断脂质过氧化反应,从而抑制氧化过程。抗氧化剂清除 DPPH·自由基的清除率越高,其抗氧化能力越强。由图 1 可知,UEPS、SEPS 对 DPPH·自由基清除能力较强,并且清除率与黄酮含量呈正相关性,随着黄酮含量的增大,其对 DPPH·自由基的清除能力也逐渐增强。UEPS、SEPS 对 DPPH·自由基的清除率均高于 TBHQ,UEPS 对 DPPH·自由基的清除能力高于 SEPS。

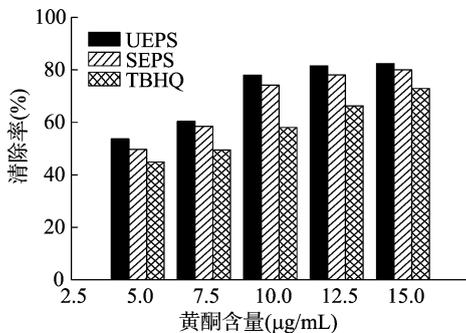


图1 不同样品清除 DPPH·自由基的量效关系

2.2 ABTS⁺·自由基清除率

ABTS 法可用于亲水性、亲脂性物质抗氧化能力检测,ABTS 与过硫酸钾反应可生成稳定的蓝绿色工作液即 ABTS⁺·自由基。向 ABTS⁺·工作液中加入抗氧化剂,该抗氧化剂可与 ABTS⁺·反应,ABTS⁺·将会减少,在 734 nm 处溶液的吸光度也发生变化,同时 ABTS⁺·工作液褪色,褪色越明显,表明该抗氧化剂的抗氧化能力越强。由图 2 可知,UEPS、SEPS 对 ABTS⁺·自由基清除能力较强,并且清除率与黄酮含量呈正相关性,随着黄酮含量的增大,其对 ABTS⁺·自由基的清除能力也逐渐增强。UEPS、SEPS 对 ABTS⁺·自由基的清除率均高于 TBHQ,且 UEPS 对 ABTS⁺·自由基的清除能力高于 SEPS。

2.3 总抗氧化能力

磷钼络合物法通常被用于酚类、维生素 E、类胡萝卜素等抗氧化物的抗氧化活性测定,其原理是抗氧化物质中的氢或电子转移到 Mo(VI) 并将其还原成绿色的 Mo(V) 络合物,其最大吸收波长为 695 nm,吸光度越大,表示抗氧化剂活性越强。由图 3 可知,随着反应时间的延长,溶液的吸光度增大,即抗氧化剂的抗氧化活性逐渐增强。UEPS、SEPS 抗氧化活性较高,总抗氧化活性的从强到弱依次为 UEPS > SEPS > TBHQ。

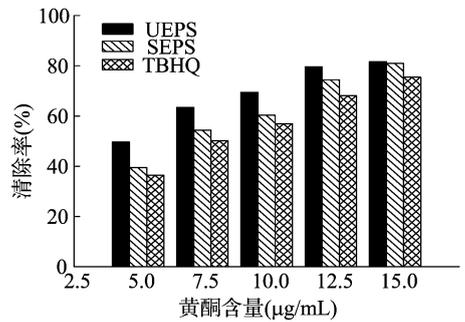


图2 不同样品抑制 ABTS⁺·自由基的量效关系

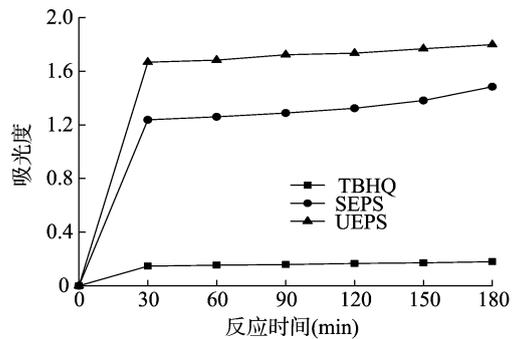


图3 不同样品的总抗氧化能力

2.4 还原能力

测定还原能力是为了检验样品是否是一个良好的电子供给体,还原能力强的样品是良好的电子供给体,其供给的电子除了把 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} 外,还可与自由基反应,生成稳定的物质。一般情况下,样品的还原能力与其抗氧化活性存在一定的相关性,样品的还原能力可间接反映其抗氧化能力。由图 4 可知,在所检测的浓度范围内,各个样品的还原能力随着黄酮含量的增加逐渐增强。当检测样品黄酮含量为 1.0 mg/mL 时,UEPS、SEPS、TBHQ 在 700 nm 处对应的吸光度分别为 1.956、1.455、0.721,表明不同提取法提取花生壳中黄酮类化合物具有一定的还原能力。在相同含量下,各个样品的还原能力由强到弱依次为 UEPS > SEPS > TBHQ。

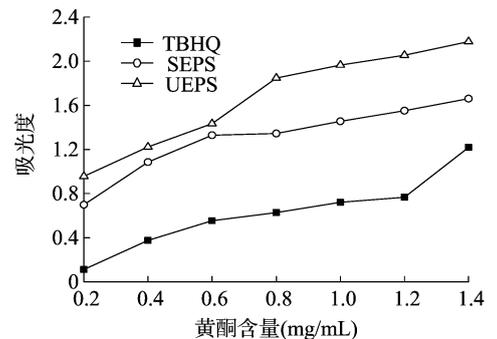


图4 不同样品还原能力的量效关系

3 结论

本研究表明,UEPS、SEPS、TBHQ 均表现出不同程度的抗氧化能力。对 DPPH·、ABTS⁺·自由基的清除能力由强到弱依次为 UEPS > SEPS > TBHQ。花生壳提取出的黄酮类化合物抗氧化活性均高于合成抗氧化剂 TBHQ,且超声波辅助提

黄仁术, 易凡. 金荞麦(-)表儿茶素类活性物质体外抑菌试验[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(1): 308-310.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.103

金荞麦(-)表儿茶素类活性物质体外抑菌试验

黄仁术^{1,2}, 易凡²

(1. 植物细胞工程安徽省工程技术研究中心, 安徽六安 237012; 2. 皖西学院生物与制药工程学院, 安徽六安 237012)

摘要:为了探讨金荞麦(*Fagopyrum dibotrys*)提取液的抑菌效果, 试验测得其乙醇提取液中(-)表儿茶素类活性物质含量达到 10.019 mg/mL, 占其块根干物质重的 1.85%; 牛津杯法表明金荞麦(-)表儿茶素类活性物质对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、大肠杆菌均有抑制作用, 但对黑曲霉、灰绿青霉没有抑制作用; 二倍稀释法表明(-)表儿茶素类活性物质对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母的 MIC 分别为 1.252、2.505、5.010、5.010 mg/mL, 对金黄色葡萄球菌的 MBC 为 5.010 mg/mL。

关键词:金荞麦; (-)表儿茶素; 体外抑菌

中图分类号: S482.2⁺92 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0308-03

植物是抑菌活性物质的天然宝库, Grange 等报道约有 2 400 种植物具有防治有害生物的活性^[1]。金荞麦(*Fagopyrum dibotrys*)作为一种具有开发前途的资源植物, 目前有关其抑菌方面的研究较少, 且未涉及具体的抗菌活性物质成分。如有关文献报道金荞麦乙醇提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、链球菌、沙门氏菌等有抑制作用^[2-5]; 而陈福勇等发现金荞麦乙醇提取物对鸡白痢沙门氏菌、金黄色葡萄球菌有较好的抑菌作用, 对大肠杆菌无抑制作用^[6]; 张永仙等则报道金荞麦乙醇提取物对猪霍乱沙门氏菌、鸡白痢

沙门氏菌、猪与鸡的致病性大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、猪链球菌、克氏肺炎球菌等几乎无抗菌作用, 但在体内却有明显的抗感染作用^[7]。实际上, 金荞麦乙醇提取物为一类含原花色素的缩合性单宁混合物, 主要由(-)表儿茶素及其二聚体组成, 其中(-)表儿茶素单元的含量占 65%~70%^[8]。为此, 本研究对金荞麦乙醇提取物——(-)表儿茶素类活性物质的含量进行测定, 并在此基础上确定其对一些代表性细菌和真菌的抗菌效果, 从而为无残留、无毒副作用及细菌不易产生耐药性的抗菌药物开发奠定基础。

收稿日期: 2014-02-18

基金项目: 安徽省高校省级自然科学研究重点项目(编号: KJ2012A280); 国家级大学生创新创业训练计划(编号: 201210376004)。

作者简介: 黄仁术(1976—), 女, 新疆阿克苏人, 硕士, 副教授, 主要从事天然活性物质研究。E-mail: ahhrs@126.com。

取法提取花生壳中黄酮类化合物的抗氧化活性明显高于索氏萃取法提取花生壳中黄酮类化合物的抗氧化活性。可见, 超声波辅助提取法是一种提取天然活性成分的有效方法。

参考文献:

- [1] Zhong S Y, Ma C W, Lin Y C, et al. Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) processing by β -product protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry[J]. Food Chemistry, 2011, 126(4): 1636-1642.
- [2] Goli A H, Barzegar M, Sahari M A. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts[J]. Food Chemistry, 2005, 92(3): 521-525.
- [3] 张守媛, 李太村, 栾波, 等. 响应面优化茄子皮色素的提取及抗氧化性研究[J]. 中国酿造, 2013, 32(4): 118-122.
- [4] 蔡奕文, 赵谋明, 彭志英. 天然抗氧化剂发展近况[J]. 中国油脂, 1999, 24(4): 45-47.
- [5] 周向军, 高义霞, 谢天柱, 等. 天然抗氧化剂茶多酚的研究进展[J]. 资源开发与市场, 2010, 26(11): 1034-1036.

1 材料与方

1.1 试验材料

金荞麦采集于安徽省潜山县; (-)表儿茶素纯度为 98% (中国药品生物制品检定所); 试验菌株包括革兰阳性菌、革兰阴性细菌和真菌, 其中革兰阳性细菌以金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 为代

- [6] 许晖, 孙兰萍, 张斌, 等. 花生壳黄酮类化合物的研究进展[J]. 农产品加工·学刊, 2008, 3(3): 11-15.
- [7] 杨国峰, 周建新, 汪海峰, 等. 花生壳提取物的制备及其抗氧化与抗菌活性的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(2): 97-101.
- [8] 张伟敏, 张盛林, 钟耕. 木犀草素的研究概况[J]. 中国食品添加剂, 2005(2): 11-16.
- [9] Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, et al. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1988, 36(6): 2090-2097.
- [10] Li X C, Lin J, Gao Y X, et al. Antioxidant activity and mechanism of *Rhizoma cimicifugae*[J]. Chemistry Central Journal, 2012, 6: 140-149.
- [11] Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex. Specific application to the determination of vitamin E[J]. Analytical Biochemistry, 1999, 269(2): 337-341.