

文章编号: 1674-7054(2014)04-0388-04

宽叶十万错抗氧化性测定

李奕星, 臧小平, 林兴娥, 袁德保, 谭琳, 梁冬梅, 马蔚红

(中国热带农业科学院海口实验站/海南省香蕉遗传改良重点实验室, 海南海口 570102)

摘要: 采用分光光度法, 并以抗坏血酸为阳性对照, 考察宽叶十万错浸膏的多酚含量及其对 1,1-二苯基-2,2-三硝基苯肼(DPPH) 自由基、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵(ABTS) 自由基及羟自由基的清除活性。结果表明: 宽叶十万错浸膏的多酚含量为 $197 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 对 DPPH 自由基、ABTS 自由基及羟自由基均具有一定的清除活性。结果表明, 宽叶十万错具有一定的抗氧化活性, 对人体具有良好的营养保健功效。

关键词: 宽叶十万错; 多酚; 抗氧化性

中图分类号: R 284.2 **文献标志码:** A

宽叶十万错(*Asystasia gangetica*(L.) T. Anders) 为爵床科 Acanthaceae 十万错属 *Asystasia* 植物, 十万错属植物共有 70 种, 多为草本或灌木, 主要分布于热带地区, 我国有 3 种^[1]。在云南和海南, 宽叶十万错被当作一种泛热带杂草, 被人们作为野菜食用; 因其叶和嫩茎具有通便排毒的功效, 还可作为解药食用^[2]。但有关宽叶十万错的现代化学及药理研究鲜有报道。人体在新陈代谢过程中, 会产生很多自由基, 如果不及时清除, 会对健康产生很大影响。植物多酚是植物的次生代谢产物, 也是近几年多酚研究的重点之一, 其广泛存在植物的枝叶、果、皮中, 具有清除自由基、抗炎、抗肿瘤、抗菌等生理活性^[3-4]。为此, 本实验以宽叶十万错为研究对象, 以多酚含量、DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力、羟自由基清除能力为指标, 对其抗氧化活性进行了测定, 为其作为野菜的綜合应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料 宽叶十万错, 采自海南省海口市郊区, 由中国热带农业科学院海口实验站马蔚红研究员鉴定。

1.2 试剂与仪器 实验试剂: 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS) 和 1,1-二苯基-2,2-三硝基苯肼(DPPH), 为梯希爱(上海)化成工业发展有限公司生产; Folin-酚, 为美国 sigma 公司生产; 没食子酸, 为阿拉丁试剂(上海)有限公司生产; 水杨酸、抗坏血酸、水杨酸、铁氰化钾、三氯乙酸、过硫酸钾、双氧水等均为分析纯, 为广州化学试剂厂生产。仪器: RF-UV1240 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); TGL-20bR 高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂); AXLD-1830 超纯水系统(美国阿修罗科技有限公司)。

1.3 方法

1.2.1 宽叶十万错多酚的制备 取新鲜的宽叶十万错食用部分, 洗净后烘干, 粉碎过 60 目筛, 用 $\varphi = 95\%$ 的乙醇超声浸提 3 次, 抽滤, 合并滤液, 减压浓缩至干, 得到的浸膏即为宽叶十万错多酚提取物。

1.2.2 宽叶十万错多酚含量的测定 参照 Hanmmerschmidt 等^[5]的方法, 先建立没食子酸的标准曲线, 再

收稿日期: 2014-08-11

作者简介: 李奕星(1985-) 女, 研究实习员, 主要从事天然药物化学及水果采收贮藏与加工研究工作. E-mail: yixing0221@163.com

通信作者: 马蔚红(1968-) 女, 云南人, 研究员, 主要从事热带果树栽培生理研究工作. E-mail: zjwhma@163.com

根据其曲线测定方法对宽叶十万错多酚提取物进行多酚含量测定,重复3次,结果取平均值,再按照标准曲线计算多酚含量。

1.2.3 DPPH 自由基清除能力 参照文献[6]的方法进行测定,用无水乙醇将宽叶十万错多酚提取物配制成0.05、0.10、0.20、0.50、1.0、1.5、2.0 g·L⁻¹的待测样品溶液。取各待测样品溶液0.2 mL,分别加入4 mL浓度为0.1 mol·L⁻¹的DPPH乙醇溶液,摇匀,置暗处反应30 min后,于波长517 nm处测其吸光度A₁,同时以抗坏血酸溶液代替待测样品溶液作为阳性对照,重复3次,结果取平均值。按公式(1)计算DPPH自由基清除率。

$$\text{清除率} = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\% \quad (1)$$

式中:A₁为各体积分数的样品+DPPH溶液的吸光度;A₂为各体积分数的样品+无水乙醇的吸光度;A₃为无水乙醇+DPPH溶液的吸光度。

1.2.4 ABTS 自由基清除能力 参考Villano D等^[7]报道的方法,稍加改进。取超纯水将样品分别配制成0.05、0.10、0.20、0.50、1.0、1.5、2.0 g·L⁻¹的待测样品溶液,取各待测样品溶液0.2 mL,分别加入1.9 mL ABTS自由基工作液,准确反应6 min后于734 nm处测定吸光度A₁,同时以1 g·L⁻¹抗坏血酸溶液代替样品溶液作为阳性对照,重复3次,结果取平均值。按公式(2)计算ABTS自由基清除率。

$$\text{ABTS 自由基清除率} = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\% \quad (2)$$

式中:A₁为各体积分数的宽叶十万错多酚提取物+ABTS溶液的吸光度;A₂为各体积分数的宽叶十万错多酚提取物+超纯水的吸光度;A₃为超纯水+ABTS溶液的吸光度。

1.2.5 羟自由基清除能力 采用孙红男^[8]的方法,并稍加改进。以无水乙醇为溶剂分别配置0.05、0.10、0.20、0.50、1.0、1.5、2.0 g·L⁻¹的宽叶十万错多酚提取物溶液。在反应体系中加入5 mmol·L⁻¹的水杨酸-乙醇2 mL和10 mmol·L⁻¹的FeSO₄ 1 mL,混匀,分别加入1 mL各待测样品溶液,并用去离子水使反应体系补至7 mL,最后加2 mL H₂O₂启动反应,37℃保温30 min,于510 nm处测定吸光值,以抗坏血酸作为阳性对照,重复3次,结果取平均值。按公式(3)计算羟自由基清除率。

$$\text{羟自由基清除率} = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\% \quad (3)$$

式中:A₁为加入各体积分数宽叶十万错多酚提取物的吸光度;A₂为不加H₂O₂时加入各体积分数的待测样品溶液的本底吸光度;A₃为空白对照的吸光度。

2 结果与分析

2.1 没食子酸的标准曲线 当没食子酸质量浓度为0、20、40、60、80、100 μg·mL⁻¹时,吸光度分别为0.056、0.081、0.111、0.144、0.178、0.210。根据测得的吸光度值,绘制出没食子酸的标准曲线(见图1)。

2.2 宽叶十万错浸膏的多酚含量 Folin-Denis改良法测定宽叶十万错多酚提取物中多酚含量为197 μg·mg⁻¹。

2.3 宽叶十万错浸膏对DPPH自由基的清除作用 由图2可见,随着浓度的递增,抗坏血酸和宽叶十万错浸膏的DPPH自由基清除率也随之增高,且当样品浓度范围为0.05~0.20 g·L⁻¹时,抗坏血酸对DPPH的清除率迅速增高,其清除率最终达到96.1%。与阳性对照抗坏血酸相比,在试验浓度范围内,宽叶十万错浸膏对DPPH自由基的清除率呈现明显的量效关系,最终其对DPPH自由基的清除率达到100%,高于抗坏血酸的96.1%。

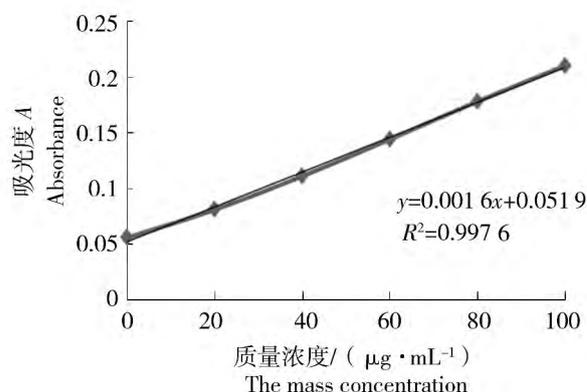


图1 没食子酸的标准曲线

Fig. 1 The standard curve of gallic acid

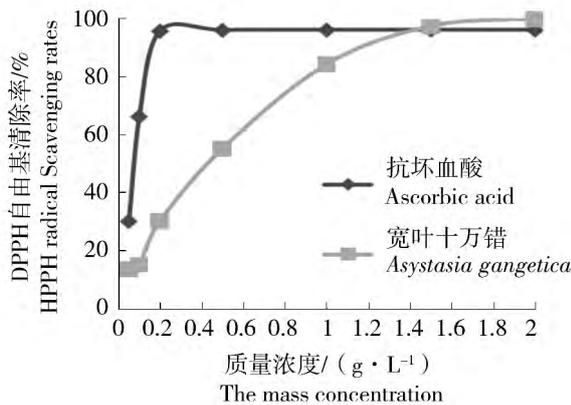


图2 宽叶十万错多酚提取物对 DPPH 自由基的清除效果
Fig. 2 DPPH radical scavenging rates of the extract from *Asystasia gangetica*

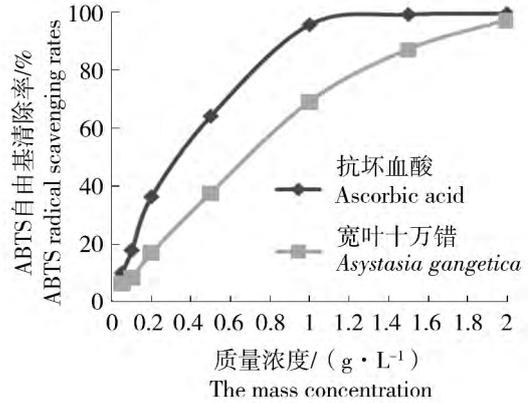


图3 宽叶十万错多酚提取物对 ABTS 自由基的清除效果
Fig. 3 ABTS radical scavenging rates of the extract from *Asystasia gangetica*

2.4 宽叶十万错浸膏对 ABTS 自由基的清除作用

由图3可知,在试验浓度范围内,宽叶十万错浸膏和抗坏血酸对 ABTS 自由基的清除率逐渐增高。在样品浓度为 0.50 ~ 1.0 g · L⁻¹ 时,宽叶十万错对 ABTS 自由基的清除率达到 50%,而阳性对照抗坏血酸对 ABTS 自由基的清除率提前达到 50%,但随着浓度逐渐升高,二者对 ABTS 清除率的差别越来越小,最终宽叶十万错浸膏对 ABTS 自由基的清除率达到 99.2%,抗坏血酸为 99.3%。

2.5 宽叶十万错浸膏对羟自由基的清除作用 由图4可见,宽叶十万错浸膏对羟自由基有清除作用,且随着样品浓度的增加,其对羟自由基的清除率也增强,说明多酚物质的浓度增加时,其清除率也增大,当样品浓度达到 1.0 g · L⁻¹ 时,其对羟自由基的清除率达到 100%,高于抗坏血酸的 98.9%。

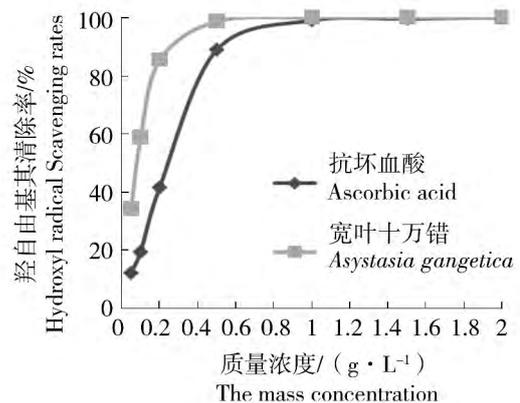


图4 宽叶十万错浸膏对羟自由基的清除效果
Fig. 4 Hydroxyl free radical scavenging rates of the extract from *Asystasia gangetica*

3 结论

本试验测得的宽叶十万错浸膏的多酚含量为 197 μg · mg⁻¹ 与李凤英等^[9]的 21 种野菜(香椿 94.84 mg · g⁻¹,长裂苦苣菜 31.42 mg · g⁻¹,独行菜 39.1 mg · g⁻¹,刺儿菜 21.81 mg · g⁻¹,地肤 12.08 mg · g⁻¹,地黄 25.20 mg · g⁻¹,苋菜 6.80 mg · g⁻¹,蒲公英 50.63 mg · g⁻¹,车前草 32.78 mg · g⁻¹等),几种日常蔬菜(莴苣叶 10.04 mg · g⁻¹,油麦菜 7.08 mg · g⁻¹,小白菜 9.50 mg · g⁻¹等)和郑奎玲等^[10]报道的 8 种黔产野菜(蕨菜 19.5 mg · g⁻¹,灰菜 7.7 mg · g⁻¹,西洋菜 20.1 mg · g⁻¹,水芹菜 20.7 mg · g⁻¹,剪刀菜 28.6 mg · g⁻¹,清明菜 19.4 mg · g⁻¹,马齿苋 12.2 mg · g⁻¹,蓝不正 65.6 mg · g⁻¹)相比,多酚含量明显较高。且其清除自由基的能力,随着宽叶十万错浸膏浓度增加而增强,并最终能达到甚至超过阳性对照抗坏血酸。宽叶十万错作为一种野菜,生长于自然环境,少受化肥、农药的污染,口味独特,多酚含量高,具有较大的开发潜力,且可以作为提取多酚的植物来源。

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 215 - 217.

- [2] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代化研究与应用[M]. 北京:学苑出版社,1997:597-625.
- [3] KIM J S, AHN J, LEE S J, et al. Phytochemicals and antioxidant activity of fruits and leaves of paprika (*Capsicum annuum* L. var. *Special*) Cultivated in Korea [J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(2): 193-198.
- [4] GANIYU O, OMODESOLA O, OGUNRUKU. Cyclophosphamide-induced oxidative stress in brain: Protective effect of hot short pepper (*Capsicum frutescens* L. var. *abbreviatum*) [J]. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2010, 62: 227-233.
- [5] HANMMERSCHMIDT P A, PRATT D E. Phenolic antioxidants of dried soybeans [J]. *Food Science*, 1978, 43(2): 556-559.
- [6] 张淑娟,徐怀德,米林峰. 光皮木瓜汁体外抗氧化活性研究[J]. *食品科学*, 2011, 32(21): 56-60.
- [7] VILLANO D, PACHON M, TRONCOSO A M, et al. The antioxidant activity of wines determined by the ABTS⁺ method: influence of sample dilution and time [J]. *Talanta*, 2004, 64(2): 501-509.
- [8] 孙红男. 苹果渣中多酚类物质的高压脉冲电场处理及其生物活性研究[D]. 北京:北京林业大学. 2011.
- [9] 李凤英,李润丰,肖月娟,等. 21种野菜抗氧化活性的分析比较[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(2): 221-225.
- [10] 郑奎玲,刘程程,师仲,等. 黔产八种野菜主要抗氧化成分比较分析[J]. *食品工业*, 2013, 34(8): 208-210.

Determination of Antioxidant Activities of *Asystasia gangetica*

LI Yixing, ZANG Xiaoping, LIN Xinge, YUAN Debao, TAN Lin, LIANG Dongmei, MA Weihong
(Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Hainan Key Laboratory of Banana
Genetic Improvement, Haikou 570102, China)

Abstract: The fresh edible part of *Asystasia gangetica* (L.) T. Anders was collected and extracted, and the polyphenolic content in the extract was determined. The antioxidant activities of the extract were analyzed by using spectrophotometry with the ascorbic acid as control, including the scavenging activities of the extract on DPPH radical, ABTS radical and hydroxyl radical. The results showed that the extract from *A. gangetica* contained $197 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ of polyphenols and had scavenging activities against DPPH radical, ABTS radical, and hydroxyl radical. *A. gangetica* contained antioxidant activity and hence is beneficial to human health.

Key words: *Asystasia gangetica*; polyphenolic; antioxidant activities

(上接第387页)

Inventory and Development of Medicinal Ferns at the Jianfengling Nature Reserve in Hainan, China

CHEN Neng¹, ZHONG Qiongxin^{1,2}

(1. College of Life Science, Hainan Normal University, Haikou 571158, China; 2. Ministry of Education Key Lab for Tropical Animal and Plant Ecology, Hainan Normal University, Haikou 571158, China)

Abstract: An inventory was made of ferns at the Jianfengling Nature Reserve in Hainan, China and the literatures describing the ferns therein were consulted. At this Natural Reserve 165 species fern plants under 84 genera and 41 families were collected, of which 70 species can be used as Chinese medicine. These medicinal ferns and their medicinal values are described, and some suggestions are put forward for conservation and rational development for utilization of the ferns resources at the Natural Reserve in the future.

Key words: medicinal ferns; conservation; exploitation; Jianfengling