

文章编号: 1674-7054(2016)03-0373-03

小叶榕气生根总酚酸和总黄酮含量测定 及其抗氧化活性比较

谢冬惠¹ 徐静² 李治明² 梁振益²

(1. 海南省产品质量监督检验所, 海口 570203; 2. 海南大学 材料与化工学院, 海口 570228)

摘要: 以小叶榕(*Ficus microcarpa* L.) 气生根为研究对象, 在测定其不同部位的总酚酸及总黄酮含量的基础上, 选用 DPPH 和 ABTS 2 种体外抗氧化评价方法比较不同部位的抗氧化活性。结果表明: 首部的总酚酸和总黄酮含量高于其他部位, 其总酚酸含量分别为首部 $0.34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 中部 $0.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 尾部 $0.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 总黄酮含量分别为首部 $3.88 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 中部 $3.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 尾部 $2.91 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。抗氧化活性首部最强, 中部次之, 尾部较弱。总酚酸的含量和抗氧化活性之间具有很高的相关性, 表明抗氧化活性可能与酚酸类物质有关。

关键词: 小叶榕; 抗氧化活性; DPPH; ABTS

中图分类号: R 284.1

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2016.03.017

小叶榕 *Ficus microcarpa* L. 为桑科榕属植物^[1], 又名不死树、细叶榕等, 常绿乔木, 枝具下垂须状气生根, 在我国主要分布在福建、广东、广西、海南和浙江等地。小叶榕的叶片和气生根皆可入药, 其气生根又名老公须, 是岭南常用中草药, 《中药大辞典》记载其性味淡、凉, 具有活血、解热、理湿的功效, 常用于治疗跌打损伤、慢性支气管炎、心脑血管等疾病^[2-4]。笔者对小叶榕气生根不同部位的总酚酸、总黄酮含量进行测定, 并采用 2 种常用的体外抗氧化活性评价方法, 对小叶榕气生根不同部位乙醇提取物的抗氧化活性进行比较, 旨在为小叶榕气生根进一步综合应用于医药和开发新型保健品提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 小叶榕气生根于 2014-07 采集于海南大学校内, 经过海南大学邓世明教授鉴定, 为桑科植物小叶榕。根长 95~105 cm, 三等分为首部、中部和尾部, 自然晾干后, 粉碎, 过 40 目筛, 冷藏备用。

芦丁和没食子酸对照品(由中国药品生物制品检定所提供); 1,1-苯基-2-苦肼基自由基(DPPH)和 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)(由美国 Sigma 公司生产)。

1.2 仪器与设备 UV-2450 紫外可见分光光度计(日本岛津公司), BP211D 电子天平(瑞士赛多利斯公司)。

1.3 样品的制备 分别称取干燥的小叶榕气生根的首部、中部、尾部各 1 g, 以 60% 的乙醇溶液为溶剂, 各加入 50 mL, 置于 100 mL 锥形瓶中, 混匀, 放入 50 °C 热水浴中加热 4 h, 趁热过滤取滤液, 进行 2 次提取, 合并滤液, 定容至 50 mL, 密闭冷藏保存, 备用。取样品液 1 mL, 作为试样待测。

1.4 总黄酮、总酚酸含量的测定 总黄酮含量的测定采用硝酸铝-亚硝酸钠比色法, 标准曲线为 $y = 0.9480x - 0.0063$, $R^2 = 0.9991$, 其中: x 为吸光度, y 为提取液中总黄酮含量($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。检测波长 510 nm, 以芦丁来计算。

总酚酸含量的测定采用 Folin-Ciocalteu 法, 标准曲线为 $y = 7.635x - 0.006$, $R^2 = 0.9992$, 其中: x 为总

收稿日期: 2015-07-01

基金项目: 科技部国家支撑项目(2013BAJ15B04)

作者简介: 谢冬惠(1969-)女, 高级工程师。研究方向: 产品质量检验。E-mail: 18689846633@163.com

通信作者: 梁振益(1969-)男, 高级工程师。研究方向: 天然产物化学和分析化学。E-mail: liangzhenyi@63.com

酚含量($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) γ 为吸光度 检测波长为 765 nm,以没食子酸来计算。

1.5 抗氧化活性的测定^[4]

1.5.1 DPPH 自由基清除能力的测定 DPPH 溶液的配制:精确称取 DPPH 自由基 12.9 mg,置于 250 mL 的容量瓶中,加入无水乙醇溶解并定容至刻度,放入冰箱中保存,DPPH 自由基标准储备液溶液的质量浓度为 $51.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。向 2.0 mL DPPH 的乙醇溶液中加入 1 mL 样品,混合均匀,40 min 后用分光光度计在 517 nm 波长处测定吸光度 A_i ,同时测定 2.0 mL DPPH 的乙醇溶液与 1.0 mL 80% 乙醇溶液混合液的吸光度 A_c 及 2.0 mL 乙醇与 1.0 mL 样品混合液的吸光度 A_j ,清除率按以下公式计算:

$$K = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100,$$

式中: K 为样品溶液的 DPPH 自由基清除率(%); A_i 为 2 mL DPPH 自由基标准储备溶液 + 2 mL 样品溶液的吸光度值; A_j 为 2 mL 样品溶液 + 2 mL 无水乙醇的吸光度值。

1.5.2 ABTS⁺ 清除能力的测定 ABTS⁺ 标准储备溶液的配制:准确称量 0.038 4 g ABTS⁺,用蒸馏水溶解并定容至 10 mL 容量瓶,使 ABTS⁺ 浓度为 $7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;准确称量 0.006 6 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (高硫酸钾),用蒸馏水溶解并定容至 10 mL 容量瓶,使 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 的浓度为 $2.45 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。然后,将这 2 种溶液混合于棕色瓶中,在室温下置于暗处过夜(12 ~ 16 h),可得 ABTS⁺ 溶液。将 ABTS⁺ 溶液用磷酸缓冲液($10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH7.4) 稀释,使其在 30 °C 734 nm 波长下的吸光度为 0.700 ± 0.020 ,即得到 ABTS⁺ 工作液。

分别取 1 mL 稀释适当倍数的样品溶液至试管中,加入 ABTS⁺ 工作液 3 mL,充分混合均匀,室温避光保存 10 min,在 734 nm 处测定吸光度,以无水乙醇为空白对照。ABTS⁺ 清除率按下式计算:

$$D = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100,$$

式中 D 为 ABTS⁺ 清除率(%); A_i 为 1 mL 样品溶液 + 3 mL ABTS⁺ 溶液的混合液的吸光度值; A_j 为 1 mL 样品溶液 + 3 mL 无水乙醇的混合液的吸光度值; A_c 为 1 mL 无水乙醇 + 3 mL ABTS⁺ 溶液的混合液的吸光度值。

2 结果与分析

2.1 小叶榕气生根不同部位总酚酸和总黄酮含量 从表 1 可知,小叶榕气生根各部位均含有总酚酸、总黄酮成分,但含量存在一定差异,其中,首部的总酚、总黄酮含量最高,分别为 3.882 、 $0.341 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 1 小叶榕气生根不同部位的有效成分含量

Tab. 1 Content of active components of different parts of the roots of *Ficus microcarpa* $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

不同部位 Different root parts	总酚酸含量 Total phenolic acids	总黄酮含量 Total flavonoids
首部 Top part	0.341	3.882
中部 Middle part	0.304	3.425
尾部 Bottom part	0.212	2.916

2.2 小叶榕气生根不同部位的抗氧化能力

2.2.1 DPPH 抗氧化性评价体系 DPPH 自由基是人工合成的稳定自由基,它在可见光区有特征吸收,使用方法简便、快速且重现性好,因此,可以通过测定样品对 DPPH 自由基的清除能力来评价抗氧化剂的性能。

从图 1 可以看出,随着样品粗提物浓度的逐渐提高,DPPH 自由基清除率也逐渐提高,当样品提取物达到一定浓度以后,DPPH 自由基清除率基本不再变化,达到一个恒定值。小叶榕气生根的首部对 DPPH 自由基的清除率最大尾部最小。 EC_{50} 值为:首部($10.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),中部($19.55 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),尾部($39.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

2.2.2 ABTS⁺ 抗氧化性评价体系 ABTS⁺ 自由基清除法广泛用于总抗氧化能力的测定。在反应体系中,ABTS⁺ 经氧化后生成相对稳定的蓝绿色的 ABTS⁺ 水溶性自由基。抗氧化剂与 ABTS⁺ 自由基反应后使其溶液褪色,特征吸光度降低,吸光度越低,表明所检测物质的总抗氧化能力越强。

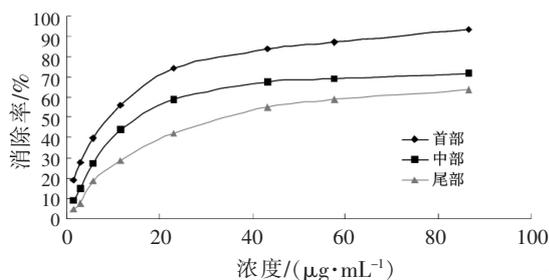


图1 小叶榕气生根不同部位的DPPH自由基清除率
Fig.1 DPPH free radical scavenging rates of various parts of the roots of *F. microcarpa*

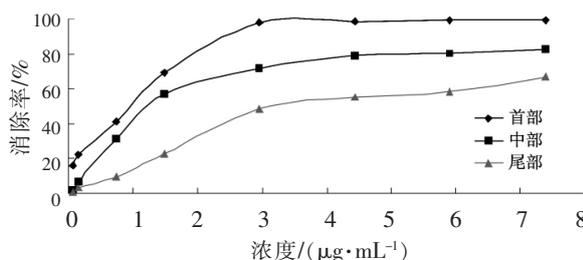


图2 不同部位的ABTS⁺自由基清除率
Fig. 2 ABTS⁺ free radical scavenging rates of different root parts

从图2可以看出,小叶榕气生根的各部位对ABTS⁺自由基都有很好的清除作用,并且随着浓度的逐渐提高,ABTS⁺自由基的清除率也逐渐提高。小叶榕气生根的首部对ABTS⁺自由基的清除率最大,中部次之,尾部最小。 EC_{50} 值为:首部($1.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、中部($1.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、尾部($4.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

3 结论

笔者对小叶榕气生根不同部位的总酚酸、总黄酮含量进行了测定,并通过对总酚酸、总黄酮与抗氧化活性的分析发现,其抗氧化活性与总酚酸含量之间存在着显著的线性相关,与黄酮类物质含量间也有一定的相关性。酚酸类成分的抗氧化活性强。本实验结果表明,小叶榕气生根乙醇提物具有优良的抗氧化活性,且对水溶性自由基的清除率明显高于脂溶性自由基,作为功能食品具有广阔的开发和应用前景。

参考文献:

- [1] 谢主兰,吴文龙. 榕树叶抑菌作用的试验研究[J]. 食品研究与开发 2002(2):7-9.
- [2] 李欣,薛治浦,朱文学. 丹参不同部位总酚酸和总黄酮含量分析及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学 2011,(32):108-111.
- [3] 程辉,莫石林,韦春,等. 细叶榕水提物镇痛抗炎作用的实验研究[J]. 右江民族医学院学报 2007(5):695-697.
- [4] 戴臻. 小叶榕叶化学成分及质量控制研究[D]. 广州:广东药学院 2008.
- [5] 梁振益,王军,陈祯平,等. 桉树叶不同提取物对自由基的清除能力研究[J]. 食品科技 2009,34(5):204-206.

Determination of Total Phenolic Acids and Total Flavonoids in Aerial Roots of *Ficus microcarpa* L. and Their Antioxidation Activity

XIE Donghui¹, XU Jing², LI Zhiming², LIANG Zhenyi²

(1. Hainan Institute of Products Quality Supervision and Inspection, Haikou, Hainan 570203, China;

2. Materials Science and Chemical Engineering School, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Different parts of aerial roots of *Ficus microcarpa* L. were collected to determine their content of total phenolic acids and total flavonoids, and the antioxidant activities of the extracts of different root parts were tested by using the DPPH and ABTS methods for assessment of in vitro free radical scavenging activities. Results showed that the top part of the roots contained the highest total phenolic acids and flavonoids, and that the top, middle and bottom parts of the roots contained total phenol of $0.34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, and total flavonoids of $3.88 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $3.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $2.91 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The top root part contained the highest antioxidant activity, followed by the middle and bottom root parts. Total phenolic acids were highly correlated with antioxidant activity, which indicates that the antioxidant activity might be related to phenolic acids.

Keywords: *Ficus microcarpa*; antioxidant activity; DPPH; ABTS