

刺山柑提取物对 DPPH 自由基的清除作用

吴翠云^{1,2}, 周忠波^{1,3}, 邓小勤², 白红进^{1,3*}

(1. 塔里木大学 塔里木盆地生物资源保护利用兵团重点实验室, 新疆阿拉尔 843300;
2. 塔里木大学 植物科技学院, 新疆阿拉尔 843300; 3. 塔里木大学 生命科学学院, 新疆阿拉尔 843300)

摘要: 以石油醚、甲醇、乙酸乙酯和水作为提取溶剂, 用冷浸法提取刺山柑果实中化学成分, 采用 DPPH 自由基清除法测定提取物的体外抗氧化活性, 研究刺山柑果实不同溶剂提取物清除 DPPH 自由基的作用。结果表明: 不同样品对 DPPH[·] 的清除能力依次为甲醇提取物>水提物>乙酸乙酯提取物>石油醚提取物。*vC*、BHT、甲醇提取物和水提物清除 DPPH[·] 的 AE 值大小次序为 111.11>17.86>1.38>1.31。4 种提取物对 DPPH[·] 均有一定的清除效果。

关键词: 刺山柑果实; DPPH 自由基; 抗氧化活性

中图分类号:S663.1

文献标识码:A

文章编号:1004-1389(2009)01-0230-04

Scavenging Effect of Different Extracts from *Capparis spinosa* L. Fruit on DPPH Free Radical

WU Cuiyun^{1,2}, ZHOU Zhongbo^{1,3}, DENG Xiaoqin² and BAI Hongjin^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Protection & Utilization of Biological Resources in Tarim Basin of Xinjiang Production and Construction Corps, Tarim University, Alar Xinjiang 843300, China; 2. College of Plant Science and Technology of Tarim University, Alar Xinjiang 843300, China; 3. College of Life Science of Tarim University, Alar Xinjiang 843300, China)

Abstract: The scavenging effect of different extracts from *Capparis spinosa* fruit on DPPH free radical was investigated in this paper. Different solvents, including petroleum ether, acetic ester, methanol and water, was used to extract the compounds from fruit by cold maceration individually. The antioxidant activity of different extracts in vitro was determined by DPPH free radical assay. The results showed that antiradical efficiency of different extract were: methanol extracts >water extracts >acetic ester extracts>petroleum ether extracts, but their AE valuer lower than *vC* and BHT.

Key words: *Capparis spinosa* fruit; DPPH free radical; Antioxidative activity

刺山柑(*Capparis spinosa* L.)为山柑科山柑属植物, 又称野西瓜、老鼠瓜、瓜儿菜、楂果藤、波里克果和伯格-塔乌孜等^[1]。它是生长在炎热干旱气候条件下的半灌木, 茎多分枝, 平铺地面或向上斜生, 叶圆形、倒卵形或椭圆形, 果期 8 月^[2]。在我国主要分布于新疆、甘肃、西藏等省区。在国外主要分布在地中海地区, 生长期为 5~10 月^[3]。

目前, 国内外对植物提取物的抗氧化作用的研究很多^[4-5], 主要因为天然抗氧化剂比人工合成的抗氧化剂安全。我国植物资源丰富, 原料易得, 从中筛选提取天然抗氧化物质具有重要意义。

国内外关于刺山柑的研究较多, 主要集中在化学成分和药理研究方面^[6-8]。刺山柑是一种民间药材, 具有降血糖活性, 抗凝血作用, 抗菌、抗癌

收稿日期:2008-06-26 修回日期:2008-07-25

基金项目:新疆生产建设兵团科技局政策成果转化与推广项目(2006YD29); 新疆维吾尔自治区高等学校科研计划资助项目(XJEDU2005G07)。

作者简介:吴翠云(1968—),女,江苏人,副教授,硕士,从事园艺植物种质资源与遗传育种工作。E-mail: wcyby@163.com

* 通讯作者:白红进。E-mail: bhj67@163.com

作用,抗干细胞毒性等药理作用,民间主要用于治疗风湿、肩周炎和痛风等疾病^[9]。

已有对新疆野生刺山柑化学成分及药理作用的研究报道,但对其果实抗氧化性的研究未见报道。本文研究了刺山柑果实提取物的抗氧化活性,为其进一步研究开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

材料 刺山柑果实于2006年7月采集于新疆和硕,经鉴定为山柑科山柑属植物刺山柑(*Capparis spinosa L.*)。

试剂 石油醚、乙酸乙酯、甲醇(工业级,经减压蒸馏后使用),对二苯代苦味酰肼自由基(DPPH)(sigma公司)、2,6-叔丁基对甲酚(BHT)(天津市光复精细化工研究所)、维生素C(上海山浦化工有限公司)、无水乙醇(天津市化学试剂三厂)等试剂均为国产分析纯。

仪器 T6紫外可见分光光度计(北京普析通用有限责任公司);SK-1型快速混匀器(江苏金坛医疗仪器厂);DHG-9101-2SA型电热恒温鼓风干燥箱(扬州鸿都电子有限公司);旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司);SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义英峪豫华仪器厂);超纯水仪(美国Millipore公司)。

1.2 方法

1.2.1 提取物的制备 精密称取一定质量的刺山柑果粉,采用冷浸法,依次用石油醚、乙酸乙酯、甲醇和水提取,每种溶剂浸提3次,第1次浸泡7d,第2次浸泡5d,第3次浸泡3d,合并相同提取物,在45℃和60℃下减压浓缩,50℃真空干燥,分别获得石油醚提取物、乙酸乙酯提取物、甲醇提取物和水提物,密封,冷藏(0~4℃),备用。

1.2.2 DPPH溶液的配制 精密称取12.0 mg DPPH,用无水乙醇溶解并定容于250 mL容量瓶中,DPPH浓度为 2×10^{-4} mol/L,避光保存(0~4℃)。

1.2.3 待测液的配制 精密称取刺山柑果实不同提取物0.4 g,用80%的乙醇溶解并定容于100 mL容量瓶中,即得到4 mg/mL的不同提取物的母液。再用移液管分别移取2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 mL母液,用80%的乙醇定容至50 mL

的5个容量瓶中,浓度分别为0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL。

1.2.4 BHT溶液的配制 精密称取0.1000 g BHT,用无水乙醇溶解并定容于100 mL容量瓶中,即得到1 mg/mL BHT母液。再用移液管分别移取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL母液,用无水乙醇定容至25 mL的5个容量瓶中,浓度分别为0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL。

1.2.5 vC溶液的配制 精密称取0.0100 g vC,用蒸馏水溶解并定容于100 mL容量瓶中,即得到0.1 mg/mL vC母液。再用移液管分别移取3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 mL母液,用蒸馏水定容至50 mL的5个容量瓶中,浓度分别为0.006、0.007、0.008、0.009、0.01 mg/mL。

1.2.6 自由基的清除率、半抑制浓度的计算与清除自由基能力的评价方法 将2 mL待测液及2 mL DPPH溶液置试管中,摇匀,放置30 min,以溶剂为参比,于517 nm测其吸光度A_c,每个试样作3个平行样,按下式计算清除率:

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_i - A_j)/A_c] \times 100\%$$

式中,A_c:2 mL溶剂加2 mL DPPH溶液的吸光度;A_i:加2 mL待测液加2 mL DPPH溶液的吸光度;A_j:2 mL待测液加2 mL溶剂的吸光度。

同时将各浓度转换成对数,与其相对应的清除率转换成几率值,进行曲线的一次拟合,得出几率值在0.5的浓度对数,最后转换成浓度即为EC₅₀值。

自由基清除能力(antiradical efficiency),AE=1/EC₅₀。根据AE大小判断抗氧化剂清除自由基能力的大小,AE越大清除自由基的能力越强。

2 结果与分析

2.1 甲醇提取物对DPPH自由基的清除效果

随着提取物加入量的增加,对DPPH·清除率增高。在试验浓度范围内,加入提取物的浓度与DPPH·清除率呈量效关系(表1)。

2.2 水提物对DPPH自由基的清除效果

随着提取物加入量的增加,对DPPH·清除率增高。在试验浓度范围内,提取物的加入量与DPPH·的清除率呈量效关系(表2)。甲醇提取物对DPPH·的清除效果略高于水提物,但二者差异不显著。

表 1 甲醇提取物对 DPPH 自由基的清除效果
Table 1 The effect of methanol extracts on scavenging DPPH free radical

编号 No.	提取物浓度 /(mg/mL) Concentration of extracts	清除率/% Scavenging rate	半抑制浓度 /(mg/mL) 50% Effective concentration	自由基清除能力 /(mL/mg) Antiradical efficiency
				DPPH free radical
1	0.2	17.31		
2	0.4	29.93		
3	0.6	41.37	0.723	1.38
4	0.8	52.88		
5	1.0	63.21		

表 2 水提物对 DPPH 自由基的清除效果
Table 2 The effect of water extracts on scavenging DPPH free radical

编号 No.	提取物浓度 /(mg/mL) Concentration of extracts	清除率/% Scavenging rate	半抑制浓度 /(mg/mL) 50% Effective concentration	自由基清除能力 /(mL/mg) Antiradical efficiency
				DPPH free radical
1	0.2	8.49		
2	0.4	22.67		
3	0.6	35.75	0.765	1.31
4	0.8	51.33		
5	1.0	65.29		

2.3 石油醚提取物和乙酸乙酯提取物对 DPPH 自由基的清除效果

在试验浓度最大为 1.0 mg/mL 时, 石油醚提取物和乙酸乙酯提取物对 DPPH⁺ 的清除率分别为 28.01% 和 31.64%, 说明其清除效果较差, 远低于甲醇提取物和水提物(表 3 和表 4)。

表 3 石油醚提取物对 DPPH 自由基的清除效果

Table 3 The effect of petroleum ether extracts on scavenging DPPH free radical

编号 No.	提取物浓度 /(mg/mL) Concentration of extracts	清除率/% Scavenging rate	半抑制浓度 /(mg/mL) 50% Effective concentration	自由基清除能力 /(mL/mg) Antiradical efficiency
				DPPH free radical
1	0.2	1.23		
2	0.4	8.07		
3	0.6	9.13	/	/
4	0.8	19.04		
5	1.0	28.01		

2.4 vC 对 DPPH 自由基的清除效果

随着 vC 加入量的增加, 对 DPPH⁺ 的清除率增高。在试验浓度范围内, 提取物的加入量与 DPPH⁺ 的清除率呈量效关系(表 5)。由表 1~表 5 可知, vC 清除 DPPH⁺ 的效果高于 4 种溶剂提取物。

2.5 BHT 对 DPPH 自由基的清除效果

随着 BHT 浓度的增加, 对 DPPH⁺ 清除率

愈高。在试验浓度范围内, 提取物的加入量与 DPPH⁺ 的清除率呈量效关系(表 6)。

表 4 乙酸乙酯提取物对 DPPH 自由基的清除效果
Table 4 The effect of acetic ester extracts on scavenging DPPH free radical

编号 No.	提取物浓度 /(mg/mL) Concentration of extracts	清除率/% Scavenging rate	半抑制浓度 /(mg/mL) 50% Effective concentration	自由基清除能力 /(mL/mg) Antiradical efficiency
				DPPH free radical
1	0.2	1.31		
2	0.4	8.37		
3	0.6	11.55	/	/
4	0.8	21.96		
5	1.0	31.64		

表 5 vC 对 DPPH 自由基的清除效果

Table 5 The effect of vC on scavenging DPPH free radical

编号 No.	vC 浓度 /(mg/mL) Concentration of vC	清除率/% Scavenging rate	半抑制浓度 /(mg/mL) 50% Effective concentration	自由基清除能力 /(mL/mg) Antiradical efficiency
				DPPH free radical
1	0.006	34.61		
2	0.007	39.73		
3	0.008	45.55	0.009	111.11
4	0.009	53.60		
5	0.010	57.65		

表 6 BHT 对 DPPH 自由基的清除效果

Table 6 The effect of BHT on scavenging DPPH free radical

编号 No.	BHT 浓度 /(mg/mL) Concentration of BHT	清除率/% Scavenging rate	半抑制浓度 /(mg/mL) 50% Effective concentration	自由基清除能力 /(mL/mg) Antiradical efficiency
				DPPH free radical
1	0.02	17.64		
2	0.04	38.21		
3	0.06	52.39	0.056	17.86
4	0.08	62.96		
5	0.10	69.64		

由表 1、表 2、表 5 和表 6 可知, 根据自由基清除能力大小, 不同供试样品对 DPPH⁺ 的清除能力次序为 vC>BHT>甲醇提取物>水提物。根据清除率来看, 不同样品对 DPPH⁺ 的清除效果依次为 vC>BHT>甲醇提取物>水提物>乙酸乙酯提取物>石油醚提取物。浓度为 0.10 mg/mL 时, 供试样品对 DPPH⁺ 的清除效果依次为 vC>BHT>水提物>甲醇提取物>乙酸乙酯提取物>石油醚提取物。

3 讨论

在试验条件下, 4 种提取物对 DPPH⁺ 均有一定的清除作用, 且随着提取物加入量的增加, 其清除率增高, 可见提取物的抗氧化性与提取物的

浓度呈量效关系。

4种提取物对DPPH·清除能力随着提取溶剂极性的增强呈现增强趋势,但低于BHT和vC,这与各提取物中含有的黄酮类、酚类、皂甙类、鞣质类、生物碱类、多糖类等抗氧化物质的含量及组成有关^[10]。另外,各种微量元素、叶绿素等物质,也可能对试验的结果造成影响。4种提取物究竟含有哪些具有清除DPPH自由基能力的化学成分,还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 张立运,杨春.保护风蚀的刺山柑[J].植物杂志,2004,1(3):35-37.
- [2] 朱江丽.尊麻、老鼠瓜治风湿[J].中国民族民间医药杂志,1996,20:24-25.
- [3] Mohamed S, Mohamed A. Flavonoids of four cleome and three Capparis Species[J]. Biochemical Systematics and Ecology,1997,25(2):161-166.
- [4] Suk E B. The oxidation stability of soybean, palm Fish oil and lard affected by crude ginero[J]. Korean Soc. Food Sci,1993, 9 (4): 298.
- [5] 李爱华.生姜抗氧化作用的研究[J].食品科学,1995,16(12): 35.
- [6] 季宇彬,郭守东,汲晨峰.野西瓜的化学和药理研究[J].哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2006(1):6-11.
- [7] 姜薇,林文翰,郭守东.野西瓜果实的化学成分研究[J].哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2005,12(6):685-688.
- [8] 于洋,吴兆华,吴立军.山柑属植物化学成分及药理活性研究进展[J].沈阳药科大学学报,2007,24(2):124-126.
- [9] 郝婕,董金皋.天然抗氧化剂的提取分离及功能研究[J].河北林果研究,2005(3):369-372.
- [10] 丁克样,刘卫国.抗衰老实验与基础研究[M].北京:原子能出版社,1995:65-72.

(上接第224页)

- [17] Di MC, Delfine S, Pizzuto R, et al. Free amino acids and glycine betaine in leaf osmoadjustment of spinach responding to increasing salt stress [J]. New Phytologist, 2003,158(3):455-463.
- [18] 蒋明义,郭绍川.水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J].植物生理学通讯,1996,32.
- [19] Epstein E. Silicon. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol,1999,50:641-664.
- [20] Liang Y. C., C. G Yang and H. H. Shi. Effects of silicon on growth and mineral composition of barley grown under toxic levels of aluminium[J]. J. Plant Nutr,1999,24(2): 229-243.
- [21] 张亚冰,刘崇怀,潘兴,等.盐胁迫下不同耐盐性葡萄砧木丙二醛和脯氨酸含量的变化[J].河南农业科学,2006(4):84-86.
- [22] 张恩平,张淑红,司龙亭,等. NaCl 胁迫对黄瓜幼苗子叶膜脂过氧化的影响[J].沈阳农业大学学报,2001,32(6): 446-448.
- [23] Liang Y C. Effect of silicon on leaf ultrastructure, chlorophyll content and photosynthetic activity of barley under salt stress [J]. Pedosphere, 1998,8(4):289-296.
- [24] 陈阳,王贺,张福锁,等.硅盐互作下小麦植株体内元素分布及生理特性的研究[J].植物生态学报,2003, 27(2):189-195.
- [25] 束良佐,刘英惠.硅对盐胁迫下玉米幼苗叶片膜脂过氧化和保护系统的影响[J].厦门大学学报:自然科学版,2001,40(6):1295-130.

刺山柑提取物对DPPH自由基的清除作用

作者: 吴翠云, 周忠波, 邓小勤, 白红进, WU Cuiyun, ZHOU Zhongbo, DENG Xiaoqin, BAI Hongjin
作者单位: 吴翠云, WU Cuiyun(塔里木大学, 塔里木盆地生物资源保护利用兵团重点实验室, 新疆阿拉尔, 843300; 塔里木大学, 植物科技学院, 新疆阿拉尔, 843300), 周忠波, 白红进, ZHOU Zhongbo, BAI Hongjin(塔里木大学, 塔里木盆地生物资源保护利用兵团重点实验室, 新疆阿拉尔, 843300; 塔里木大学, 生命科学学院, 新疆阿拉尔, 843300), 邓小勤, DENG Xiaoqin(塔里木大学, 植物科技学院, 新疆阿拉尔, 843300)
刊名: 西北农业学报 ISTIC PKU
英文刊名: ACTA AGRICULTURAE BOREALI-OCCIDENTALIS SINICA
年, 卷(期): 2009, 18(1)
被引用次数: 12次

参考文献(10条)

1. 张立远;杨春 保护风蚀的刺山柑[期刊论文]-植物杂志 2004(03)
2. 朱江丽 莩麻、老鼠瓜治风湿 1996
3. Mohamed S;Mohamed A Flavonoids of four cleomc and three Capparis Species 1997(02)
4. Suk E B The oxidation stability of soybean, palm Fish oil and lard affected by crude ginero 1993(04)
5. 李爱华 生姜抗氧化作用的研究 1995(12)
6. 季宇彬;郭守东;汲晨峰 野西瓜的化学和药理研究[期刊论文]-哈尔滨商业大学学报(自然科学版) 2006(01)
7. 姜薇;林文翰;郭守东 野西瓜果实的化学成分研究[期刊论文]-哈尔滨商业大学学报(自然科学版) 2005(06)
8. 于洋;吴兆华;吴立军 山柑属植物化学成分及药理活性研究进展[期刊论文]-沈阳药科大学学报 2007(02)
9. 郝婕;董金皋 天然抗氧化剂的提取分离及功能研究[期刊论文]-河北林果研究 2005(03)
10. 丁克样;刘卫国 抗衰老实验与基础研究 1995

本文读者也读过(10条)

1. 刺老芽根提取物对DPPH自由基的清除能力及抑菌作用[期刊论文]-安徽农业科学2010, 38(11)
2. 李姣娟.周尽花.戴瑜.黄克瀛. LI Jiao-juan, ZHOU Jin-hua, DAI Yu, HUANG Ke-ying 川桂叶总黄酮清除DPPH·自由基作用的研究[期刊论文]-中南林业科技大学学报2010, 30(10)
3. 郑桐.王向楠.梅之南.陈玉.王德彬. ZHENG Tong, WANG Xiangnan, MEI Zhinan, CHEN Yu, WANG Debin 9种傣药提取物对DPPH自由基清除作用的研究[期刊论文]-华中师范大学学报(自然科学版) 2009, 43(4)
4. 葛飞.桂琳.陶玉贵.朱龙宝.黄寅. GE Fei, GUI Lin, TAO Yu-gui, ZHU Long-bao, HUANG Yin 大豆豆渣粗提物清除DPPH自由基活性及其协同效应的研究[期刊论文]-大豆科学2010, 29(1)
5. 王毅红.方玉梅.谭萍.张春生. WANG Yi-hong, FANG Yu-mei, TAN Ping, ZHANG Chun-sheng 车前草黄酮类化合物清除DPPH自由基的作用[期刊论文]-贵州农业科学2010, 38(8)
6. 贺晓华.许龙.谈满良.杜方麓.曾建国. HE Xiao-hua, XU Long, TAN Man-liang, DU Fang-lu, ZENG Jian-guo 不同提取方法赶黄草提取物清除DPPH自由基的作用研究[期刊论文]-时珍国医国药2009, 20(8)
7. 曾佑炜.刘肖珍.彭永宏. Zeng Youwei, Liu Xiaozhen, Peng Yonghong 玫瑰花不同部位清除DPPH·能力的比较研究[期刊论文]-中国农学通报2008, 24(6)
8. 李鸿梅.李玉扩.李红.倪鹏.宋欣.徐力. LI Hong-mei, LI Yu-kuo, LI Hong, NI Peng, SONG Xin, XU Li 玉米源活性肽的分离纯化及清除DPPH自由基的活性[期刊论文]-吉林大学学报(理学版) 2010, 48(2)
9. 王少朋.刘海英.杨晓翠.彭会贞.杨振江.张东玲. WANG Shaopeng, LIU Haiying, YANG Xiaocui, PENG Huizhen, YANG Zhenjiang, ZHANG Dongling 菊花花青素的粗提及其对DPPH·的清除作用[期刊论文]-西北农业学报

10. 陆健, 樊伟, 孔维宝, 赵海锋, 董建军, 单连菊, 林艳, LU Jian, FAN Wei, KONG Wei-bao, ZHAO Hai-feng, DONG Jian-jun, SHAN Lian-ju, LIN Yan 大麦总多酚不同溶剂提取物对DPPH自由基清除能力的影响[期刊论文]-食品与生物技术学报2008, 27(1)

引证文献(12条)

1. 黄小红, 邓开野 番荔枝果皮抗氧化活性的研究[期刊论文]-安徽农业科学 2010(23)
2. 陈莉, 肖永成, 林晶 刺山柑果实醇提取物的体外抗氧化活性[期刊论文]-福建中医药大学学报 2010(5)
3. 梁振益, 孙达远, 张敬迎, 林栖凤 芦荟皮的抗氧化活性研究[期刊论文]-时珍国医国药 2011(5)
4. 陈义磊, 马国财, 白红进 刺山柑茎总黄酮提取液体外抗氧化活性的研究[期刊论文]-新疆农业科学 2010(12)
5. 李南薇, 李燕杰, 袁彩云 柚皮总黄酮的抗氧化活性研究[期刊论文]-食品研究与开发 2011(6)
6. 李南薇, 李燕杰, 唐凤欣 柚皮黄酮的提取工艺优化[期刊论文]-广东农业科学 2011(6)
7. 白建华, 赵晋宇, 赵二劳 花生壳提取物抗氧化能力的研究[期刊论文]-江苏农业科学 2010(2)
8. 张霁红, 李新明, 曾朝珍, 张芳 锁阳提取物对DPPH自由基的清除能力研究[期刊论文]-中国食品工业 2011(6)
9. 黄敬德, 杨玲 微胶囊化喀什小檗花色素抗氧化特性研究[期刊论文]-安徽农业科学 2011(6)
10. 刺老芽根提取物对DPPH自由基的清除能力及抑菌作用[期刊论文]-安徽农业科学 2010(11)
11. 郭巧茹, 陈莺莺, 李琳, 吴冬茹, 林贤, 陈炳华 南丹参不同器官提取物清除DPPH·能力的研究[期刊论文]-福建师范大学学报(自然科学版) 2012(1)
12. 王威, 陈清西 果实活性成分及其抗氧化作用的研究进展[期刊论文]-中国农学通报 2010(6)

引用本文格式: 吴翠云, 周忠波, 邓小勤, 白红进, WU Cuiyun, ZHOU Zhongbo, DENG Xiaoqin, BAI Hongjin 刺山柑提取物对DPPH自由基的清除作用[期刊论文]-西北农业学报 2009(1)