

盐地碱蓬中黄酮类物质的提取及抗氧化性研究*

高 健

(盐城工学院 化学与生物工程学院 江苏 盐城 224003)

摘 要 :论述了从 65%乙醇浸提法从盐生植物—盐地碱蓬中提取黄酮类化合物,得到粗黄酮,并经聚酰胺柱层析得精制黄酮。利用分光光度法测定其总黄酮含量,并通过 NBT 法对所提取的黄酮类化合物的抗氧化性进行了研究。同时研究表明,盐地碱蓬中黄酮类化合物对猪油的自氧化有一定的抑制作用。

关键词:盐地碱蓬;黄酮;提取;抗氧化性

中图分类号:Q949.95

文献标识码:A

文章编号:1671-532X(2005)02-0055-03

盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)为藜科、碱蓬属一年生草本植物,又名盐蓬、黄须菜、盐蒿。幼苗可作蔬菜,种子可榨油。富含不饱和脂肪酸、维生素和微量元素,对人体具有重要的保健作用^[1]。近年来,一些研究表明,盐地碱蓬中有黄酮类化合物存在。黄酮类化合物是一大类天然产物,具有抗癌、抗衰老、抗炎、降血糖、降血压、调节内分泌等多种功能^[2~3],另外,研究还显示,黄酮类物质与活性氧自由基清除有关,是一类具有广泛开发前景的天然抗氧化剂^[4]。盐地碱蓬广泛生于沿海滩涂沙地、盐碱地,但迄今对盐地碱蓬中黄酮类物质的提取研究鲜有报道,本文旨在研究盐地碱蓬中黄酮类物质的提取、测定其总黄酮含量及抗氧化活性,为盐地碱蓬黄酮的提取及保健功能等研究做些基础研究,从而开拓盐地碱蓬的用途。

1 材料与方 法

1.1 材 料

盐地碱蓬幼苗采自射阳县射阳港盐碱土中。

1.2 仪器和试剂

721 紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司);101-2 型鼓风干燥箱(上海市实验仪器厂);HH-8 数显恒温水浴锅(江苏金坛市荣华仪

器制造有限公司);旋转蒸发器 RE-52A(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-III 型循环水真空泵(河南省巩义市英峪仪器厂)。

标准品芦定(北京中国药品生物制品检定所);氮蓝四唑(NBT, Sigma);三氯化铝(上海金山区兴塔美兴化工厂);其余试剂均为国产分析纯。

1.3 盐地碱蓬总黄酮的提取分离

取盐地碱蓬幼苗洗净、阴干后,置于干燥箱中 65℃烘干,剪成碎段,然后粉碎成粉末,精密称取干燥粉末样品 40 g,先用石油醚脱脂 30 min,除去色素、树脂等杂质,然后用 200 ml 的 65%乙醇溶液在 70~75℃条件下加热提取 3 次,每次 4 h,趁热过滤,合并提取液,把提取液放在旋转蒸发器中减压浓缩至 1/3,过滤,滤液用乙酸乙酯萃取数次,用无水硫酸钠干燥,回收溶剂,得提取液 50 ml,加水至 100 ml 后上聚酰胺柱。聚酰胺事先经 103℃活化 2 hr,装柱 40 cm 高,柱内径为 2.5 cm。上柱充分吸附后,先用蒸馏水洗至无色,然后用浓度为 95%的酒精洗脱,洗脱速度为 1.5 ml/min,洗脱至无色为止,收集洗脱液在旋转蒸发器上浓缩至 36 ml,在冷冻真空干燥器上蒸干得粉末状精制黄酮粉,通过计算得黄酮类化合物的得率。实验重复 3 次。

* 收稿日期 2005-04-24

作者简介:高 健(1973-),男,江苏建湖县人,盐城工学院讲师,硕士,主要研究方向生物活性物质提取、海洋藻类、生物化学等。

1.4 盐地碱蓬总黄酮含量测定

参照贾冬英等人的方法^[5],利用分光光度计测定总黄酮含量,即利用黄酮类物质与铝盐反应生成红色络合物,以芦丁(纯度 98%)为标准品,配制标准溶液,在 510 nm 处测定吸光度,利用标准曲线得回归方程计算总黄酮的含量。标准曲线回归方程:

$$y = 7.74x + 0.0846$$

相关系数: $r = 0.9929$

y —吸光度; x —芦丁浓度(g/L)

1.5 盐地碱蓬总黄酮的抗氧化性测定

1.5.1 盐地碱蓬总黄酮及芦丁体外去除超氧阴离子的作用

按照衣海青等方法^[6]进行,即利用氮蓝四唑(NBT)光还原法测定黄酮类化合物清除超氧阴离子的能力。分别取 1 mg/ml 的盐地碱蓬黄酮液及芦丁液各 10 μ 、20 μ 、30 μ 、40 μ 、50 μ 、60 μ 、70 μ 、80 μ 与 3 ml NBT 反应液充分混合,在 4000 Lex 光强下 15 cm 处照光 15 min,于 610 nm 处测其吸光值,采用抑制 NBT 光化学还原作用 50% 的样品量作为一个类 SOD 活性单位,根据所得结果来衡量总黄酮的体外去除超氧阴离子能力。

1.5.2 盐地碱蓬总黄酮对猪油抗氧化性的测定

称取不等量的总黄酮提取物,用少量的无水乙醇溶解后分别加入到 3 只装有 50 g 猪油的 100 ml 烧杯中搅拌均匀,另外做空白样进行对照。将所有试样于 60 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中保存,每隔一定时间进行一次搅拌,并交换位置,以保证环境条件相同。过氧化值的测定按石锦芹等方法^[7]进行,每隔相同天数测定猪油的过氧化值(POV),以次来表示猪油的氧化速度,进而衡量提取物的抗氧化性能。

过氧化值计算公式:

$$y(\text{mmol/kg}) = [(v_1 - v_0) \times C/m] \times 1000$$

公式中: y —样品的过氧化值;

v_1 —样品消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积(ml);

v_0 —空白试剂消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积(ml);

C —硫代硫酸钠标准溶液的浓度(mol/L);

m —样品质量(g)

2 结果与分析

2.1 盐地碱蓬黄酮类化合物的得率及含量测定

利用 65% 乙醇浸提法得到盐地碱蓬黄酮类

化合物粗提取液,经聚酰胺柱分级洗脱纯化后在冷冻真空干燥器上蒸干得粉末状精制黄酮粉,相对于盐地碱蓬干粉得到精制黄酮粉末的得率为 14.78%,以芦丁为标样,得标准曲线(见图 1),经测定精制黄酮粉末中黄酮的纯度为 39.6%,由上述结果表明,提取的精制黄酮粉末得率超过 5%,经纯化后精制黄酮粉末中黄酮类化合物含量很高,因此盐地碱蓬是获取黄酮类化合物的良好材料,有很好的开发前景。

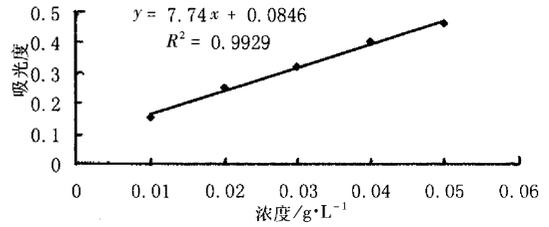


图 1 标准品芦丁的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of the standard product rutin

2.2 盐地碱蓬黄酮类化合物体外去除超氧阴离子的能力

提取的黄酮类化合物经 NBT 光还原法测定了其清除超氧阴离子的能力,结果显示,芦丁的抑制曲线为 $y = 35.34x + 0.0385$,相关系数 $r = 0.9943$,提取的黄酮类化合物的抑制曲线为 $y = 23.89x + 0.0811$,相关系数 $r = 0.9916$, y 为抑制百分率, x 为反应体系中黄酮类化合物毫克数。以抑制率达 50% 的 mg 数相当于一个类 SOD 活性单位,经测定,1mg 芦丁清除超氧阴离子的能力相当于 41.56 个类 SOD 活性单位,1mg 盐地碱蓬精制黄酮粉相当于 26.28 个类 SOD 活性单位,结果表明盐地碱蓬中黄酮类化合物在体外具有清除超氧阴离子的能力。

2.3 不同浓度黄酮提取物对猪油的抗氧化性能

表 1 不同浓度提取物的抗氧化性能比较(POV)

Table 1 The antioxidative activity of different density extract(POV)

添加量	时间(d)				
	0	4	8	12	16
空白	3.67	8.02	13.14	80.65	176.35
0.1%	3.67	7.26	11.32	22.33	90.14
0.2%	3.67	6.18	9.63	13.28	24.79
0.4%	3.67	5.03	7.94	11.06	19.51

由表 1 可看出各样品的 POV 值随时间的变化情况,相对于空白对照组,试验的样品组 POV 值均低些,都可以显著的抑制猪油的自动氧化,表明盐地碱蓬中黄酮类化合物对猪油有较强的抗氧化作用,随着提取物的浓度升高,对猪油的抗氧化能力也随之增强,效果越好,两者在试验剂量范围内呈正相关;并且,随贮藏时间的延长,其抗氧化效果更加显著。

3 结论

用 65% 乙醇浸提法从盐地碱蓬提取的黄酮类化合物,并经聚酰胺柱纯化,等到精制黄酮粉,

得率和纯度都很高,且乙醇浸提法操作简单易行,无毒无害,成本低,是一条行之有效的提取方法。

提取的黄酮类化合物体外去除超氧阴离子实验表明,其有较强的清除氧自由基的能力,1 mg 精制黄酮粉相当于 36.28 个类 SOD 活性单位;盐地碱蓬中提取的黄酮类化合物对猪油也有一定的抗氧化作用,随添加量的增加,抗氧化能力也随之增强,在试验剂量范围内呈正相关。

本实验首次尝试从盐生植物盐地碱蓬中提取黄酮类化合物,并获得了成功,这将有利于天然抗氧化剂、天然保健品和药物的开发,从而为盐地碱蓬的深度研究利用打下良好基础。

参考文献:

- [1] 邵秋玲,李玉娟. 盐地碱蓬开发前景广阔[J]. 植物杂志,1998(3):12-12.
- [2] 白风梅,蔡同一. 类黄酮的生物活性及其机理的研究进展[J]. 食品科学,1999(8):11-13.
- [3] 张德权等. 生物类黄酮的研究及应用状况[J]. 食品与发酵工业,1999(6):52-57.
- [4] 谷利伟,翁新楚. 食用天然抗氧化剂研究进展[J]. 中国油脂,1997(3):37-38.
- [5] 贾冬英,乔玉兰. 用正交法探讨苦荞麦茎及籽壳中总黄酮(芦丁)的乙醇提取工艺[J]. 食品科学,1997,18(6):22-27.
- [6] 衣海青,王建华. 芦丁和抗坏血酸对 NBT 光还原法测定植物组织 SOD 活性的干扰[J]. 植物生理学通讯,1996,32(4):276-278.
- [7] 石锦芹,黄绍华. 柿叶乙醇提取物在猪油中的抗氧化性研究[J]. 食品工业科技,1999,20(5):21-23.

A Study of the Extraction of Flavonoids and in Suaeda Salsa

GAO Jian

(Department of Chemical and Biological Engineering, Yancheng Institute of Technology, Jiangsu Yancheng 224003, China)

Abstract: Total flavonoid was extracted from Suaeda salsa by using 65% alcohol, followed by purification with polyamide pole to obtain refined flavonoid. The contents were determined by spectrophotometric methods. The antioxidant property of total flavonoid was studied by NBT. The present study also shows lard autoxidation can has inhibited in some degree by the flavonoid in Suaeda salsa.

Keywords: suaeda salsa; flavonoids; extraction; antioxidation