

鲜姜黄不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除作用

陈丛瑾¹, 潘柳姣², 韦龙宾³

(1. 广西大学化学化工学院, 广西南宁 530004; 2. 广西国有黄冕林场, 广西鹿寨 545619; 3. 广西林业干部学校, 广西南宁 530001)

摘要 采用甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯 4 种有机溶剂冷浸提取, 分别得到了甲醇提取物 (ME)、乙醇提取物 (EE)、丙酮提取物 (AE) 和乙酸乙酯提取物 (EAE)。然后采用二苯代苦味酰肼自由基 (DPPH) 法对不同质量浓度的各提取物进行了自由基清除实验。结果表明, 4 种溶剂提取得到的姜黄提取物对 DPPH 自由基均有一定的清除作用, 不同溶剂所得提取物对自由基的清除作用有差别, 其中以丙酮提取物的效果最佳。鲜姜黄可作为抗氧化物质资源加以开发利用。

关键词 鲜姜黄; 自由基; 清除作用

中图分类号 Q946 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)36-11879-02

Study on DPPH Free Radical Scavenging Activities of Extracts from Fresh *Curcuma Longa* L. with Different Solvents

CHEN Congjin et al (Chemistry and Chemical Engineering College, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004)

Abstract Fresh *Curcuma Longa* L. was extracted with four different solvents dipping at normal temperature to get methanol extract (ME), ethanol extract (EE), acetone extract (AE) and ethyl acetate extract (EAE) respectively. Then their free radical scavenging activities were measured with 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results showed that: extracts from fresh *Curcuma Longa* L. with different solvents had DPPH free radical scavenging activities. With different extraction solvents, the free radical scavenging activities of the extracts were also different and AE was the best. Fresh *Curcuma Longa* L. may develop and utilize as antioxidant.

Key words Fresh *Curcuma Longa* L.; Free radical; Scavenging activity

消费者非常关心食品的安全性, 特别是合成添加剂对身体健康的潜在影响。因此, 在过去的几十年里, 对于合成食品添加剂的安全性进行了大量的测试, 实验显示它们确实对人类的健康存在潜在的危险^[1]。向食品中添加合成抗氧化物质, 是防止和延缓油脂或富油脂食品氧化变质的重要手段之一, 然而研究发现, 合成抗氧化剂对人体具有潜在的威胁, 如 BHA 可造成老鼠前胃增生、乳状瘤甚至癌变, 在日本已被禁用; BHT 能使人的 W-38 胚胎细胞分裂后期发生阳性的染色体异常, 甚至导致死亡, 因此在美国和日本已经停止使用^[2-4]。随着消费者自身健康意识的提高, 天然抗氧化剂日益受到重视。因此, 研究开发广谱、高效、安全的天然抗氧化剂, 已经成为当今食品添加剂研究领域中的热点之一^[5-7]。

姜黄系姜科多年生草本植物, 主产于四川、广东、广西、云南、福建、贵州、湖南、台湾等地^[8], 性温、味辛、苦, 具有活血、散瘀、舒肝解郁的功效^[9]。近年来其抗肿瘤^[10]、抗炎^[11]、抗氧化^[12]等活性受到广泛关注。

为了探讨鲜姜黄中的抗氧化物质, 笔者采用甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯 4 种有机溶剂冷浸提取, 分别得到了甲醇提取物 (ME)、乙醇提取物 (EE)、丙酮提取物 (AE) 和乙酸乙酯提取物 (EAE)。再用 DPPH 法, 分别测定了 4 种提取物的抗氧化活性, 比较了它们的自由基清除能力, 为其应用提供了参考。

1 材料与实验方法

1.1 材料 鲜姜黄于 2007 年 3 月采自广西药用植物园, 由中南林业科技大学黄克瀛教授鉴定。2,2-二苯代苦味酰基苯肼基 (DPPH), $C_{18}H_{12}N_5O_6$, 相对分子质量 394.33, Sigma-Aldrich 公司产品; 其他试剂均为国产 AR。

1.2 仪器 UV/VIS2802PCS 型分光光度计, 尤尼柯 (上海) 仪器有限公司产品; 7230G 可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司产品; SHMADZUAY120AY120 型电子分析天平, 岛

津国际贸易 (上海) 有限公司产品。

1.3 姜黄中抗氧化物质的提取 将鲜姜黄切碎后放入锥形瓶中, 用甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯 4 种有机溶剂冷浸提取, 分别得到了鲜姜黄的甲醇提取物、乙醇提取物、丙酮提取物和乙酸乙酯提取物。

1.4 DPPH 法测定抗氧化活性 (对自由基的清除作用)^[5]

在试管中依次加入 4.0 ml 51.54 ng/L DPPH 乙醇溶液和 1.0 ml 样品提取、稀释溶剂, 总体积为 5.0 ml, 混匀后, 用 1 cm 比色皿在 517 nm 波长处测吸光值 (A), 记为 A_0 ; 加入 4.0 ml 51.54 ng/L DPPH 乙醇溶液的溶剂 (乙醇) 和 1.0 ml 待测试样溶液, 测定值记为 A_1 ; 加入 4.0 ml 51.54 ng/L DPPH 溶液和 1.0 ml 待测试液混匀后测 A 值, 记为 A_2 。按 (1) 式计算自由基清除率 (Y)。

$$Y = 1 - (A_2 - A_1) / A_0 \quad (1)$$

姜黄提取物所清除 DPPH 自由基能力采用清除的 IC_{50} 值表示。将待测姜黄提取液配制成系列溶液, 测定待测姜黄提取液浓度与 DPPH 自由基清除率, 并绘制 DPPH 自由基清除率对姜黄提取液浓度曲线, 由曲线读取或用方程计算出 DPPH 自由基清除率为 50% 时所需姜黄提取液浓度 C_{50} , 计算出姜黄提取液中溶质质量, 按 (2) 式计算 IC_{50} 值。重复测定 2 次, 平均值即为测定结果。因此, IC_{50} 的物理意义为: 当达到 50% 清除率时, 单位质量鲜姜黄提取物所清除 DPPH 的质量。 IC_{50} 值越高, 提取物所得自由基清除能力越强^[16]。

$$IC_{50} = 50\% \times \frac{\text{加入的 DPPH 质量}}{\text{加入的试样溶液中溶质质量}} \quad (2)$$

1.5 姜黄提取物中总固物的测定 取 5.0 ml 试液用烘干法测定固含物。

2 结果与分析

姜黄不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除作用如图 1 所示。由曲线可求出姜黄不同溶剂提取物对 DPPH 自由基清除率为 50% 时的提取物总固物浓度 C_{50} , 并由 (2) 式计算出 IC_{50} 值, 结果见表 1。

作者简介 陈丛瑾 (1970 -), 女, 湖北咸宁人, 讲师, 从事天然产物化学与利用的教学和研究工作。

收稿日期 2007-08-22

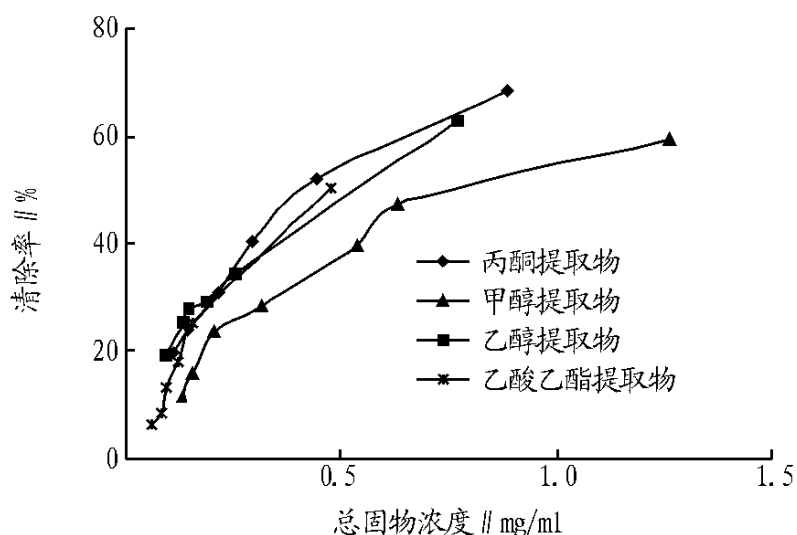


图1 姜黄不同溶剂提取物的DPPH清除率曲线

由表1可知,4种溶剂提取得到的姜黄提取物对DPPH自由基均有一定的清除作用,强弱顺序为:丙酮提取物>乙酸乙酯提取物>乙醇提取物>甲醇提取物,用丙酮提取得到的提取物抗氧化效果最好。姜黄提取物有一定的抗氧化性,尤其是对自由基的清除效果较好,稳定性好,可作为抗氧化物质资源加以开发利用。

表1 姜黄不同溶剂提取物清除DPPH自由基的 C_{50} 和 IC_{50}

提取物	C_{50} ng/ml	IC_{50} g/g
甲醇提取物	0.681 2	0.127 1
乙醇提取物	0.547 2	0.153 9
丙酮提取物	0.413 9	0.200 6
乙酸乙酯提取物	0.460 5	0.176 0

3 结论

(1) 4种溶剂提取得到的鲜姜黄提取物对DPPH自由基均有一定的清除作用,强弱顺序为:丙酮提取物>乙酸乙酯

提取物>乙醇提取物>甲醇提取物,用丙酮提取得到的提取物抗氧化效果最好。

(2) 鲜姜黄提取物具有广泛的药理活性和一定的抗氧化性,尤其是对自由基的清除效果较好,稳定性好,可作为天然抗氧化物质加以开发利用。

参考文献

- [1] BANDONENE D, PUKALSKAS A, VENSKUTONS P R, et al. Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil [J]. Food Research International, 2000, 33: 785 - 791.
- [2] PANY M, INAG Y, WANG H S, et al. Antioxidant activity of several Chinese medicine herbs [J]. Food Chemistry, 2004, 88: 347 - 350.
- [3] 潘英明, 梁英, 黄志清, 等. 苏木、紫草等5种中草药抗氧化活性的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(1): 43 - 45.
- [4] SHAHDI F, WANASUNDARA P K. Phenolic antioxidants [J]. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1992, 32: 67 - 103.
- [5] 陈丛瑾, 黄克瀛, 李德良, 等. 香椿叶提取物清除DPPH自由基的测定方法 [J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 69 - 72.
- [6] SCARTEZZI P, SPERON E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2000, 71: 23 - 43.
- [7] 熊皓平, 杨伟丽, 张友胜, 等. 天然植物抗氧化剂的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(5): 75 - 79.
- [8] 肖小河, 苏中武, 乔传卓, 等. 姜黄属药用植物研究进展 [J]. 中草药, 1997, 28(2): 114 - 119.
- [9] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 [G]. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 568 - 569.
- [10] 袁守军, 韩锐. 姜黄素的癌化学预防作用 [J]. 国外医学: 肿瘤学分册, 1997, 24(5): 264 - 267.
- [11] ARATANEHEMUGI Y, KOMIYA T, MOIEKI H, et al. Selective induction of apoptosis by α -turnerone isolated from turnerone (*Circuna longis* L) in two human leukemia cell lines, but not in human stomach cancer cell line Irtan [J]. J of Mil Med, 2002(9): 481 - 484.
- [12] SELVAM C, JACHAKS M, THILAGAVATHR, et al. Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking of curcumin analogues as antioxidant, cyclooxygenase inhibitory and anti-inflammatory agents [J]. Biorg Med Chem Letters, 2005, 15(3): 525 - 531.

参考文献

- [1] 周卫, 林葆. 植物钙素影响机理研究进展 [J]. 土壤学进展, 1995(2): 12 - 17.
- [2] ALI A A, IKEDA M, YAMAYA Y. Effect of the supply of K, Ca, and Mg on the absorption and assimilation of ammonium and nitrate nitrogen in tomato plants [J]. Soil Sci Plant Nutr, 1991, 37: 24 - 26.
- [3] 王晓明, 余小平, 雷萍, 等. Ca^{2+} 和CAM抑制剂在尾穗苋幼苗苋红素形成重点效应 [J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(3): 169 - 171.
- [4] 周卫, 林葆, 朱海舟. 硝酸钙对花生生长和钙素吸收的影响 [J]. 土壤通报, 1995, 26(5): 225 - 227.
- [5] GUPTA U C, MACLEOD J C. Influence of Calcium and Magnesium sources on boron uptake and yield of alfalfa and rutabagas as related to soil pH [J]. Soil Sci, 1977, 124: 279 - 284.
- [6] PAULSEN G M, HARPER J E. Evidence for a role of calcium in nitrate assimilation in wheat seedlings [J]. Plant Physiol, 1968, 43: 775 - 780.
- [7] 关军锋. 钙离子对苹果细胞膜透性、保护酶活性和保护物质含量的影响 [J]. 植物学通报, 1999, 16(1): 72 - 74.

(上接第11878页)

要将库中的 Ca^{2+} 泵入到细胞质中,所以,叶绿体 Ca^{2+} -ATPase活性较高;而随着外源 Ca^{2+} 浓度升高,外源 Ca^{2+} 被动运输进入细胞质以满足细胞质内 Ca^{2+} 水平需要,叶绿体 Ca^{2+} -ATPase活性逐渐降低;而外源 Ca^{2+} 浓度过高, Ca^{2+} 进入细胞质中的过多,就会启动叶绿体 Ca^{2+} -ATPase,使其活性升高,将细胞质中的 Ca^{2+} 泵出,以维持细胞内外 Ca^{2+} 的平衡。在该试验中,叶绿体 Ca^{2+} -ATPase活性对产量有很大影响,但影响机理有待于进一步研究。

总的来说,钙肥可明显提高盾叶薯蓣产量和皂素产量。试验还显示, Ca^{2+} 可通过影响叶绿体 Ca^{2+} -ATPase的活性而影响 Ca^{2+} 的吸收,进而影响盾叶薯蓣的产量,但是 Ca^{2+} -ATPase的活性变化与皂素含量在该试验中显示无相关性。