

金莲花精油抗氧化活性研究

韦永江¹ 梁志远^{2*} 姚文泰¹ 林 辉¹

(1. 贵州师范学院化学与生命科学学院, 贵州 贵阳 550018;
2. 贵州师范学院药用植物研究所, 贵州 贵阳 550018)

摘要: 采用水蒸气蒸馏方法提取金莲花精油, 研究金莲花精油的抗氧化活性。以抗坏血酸(V_C)为阳性对照, 用紫外可见分光光度法测定精油对羟基自由基(·OH)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基(DPPH·)的清除能力。结果显示, 金莲花精油对·OH和DPPH·有一定的清除率能力, 说明金莲花精油具有一定的抗氧化活性。

关键词: 金莲花; 精油; 水蒸气蒸馏; 抗氧化活性

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1674-7798(2015)03-0035-03

DOI:10.13391/j.cnki.issn.1674-7798.2015.03.010

Research on antioxidant activity of essential oil from *Trollius chinensis* Bunge

WEI Yong-jiang¹, LIANG Zhi-yuan^{2*}, YAO Wen-tai¹, LIN Hui¹

(1. School of Chemistry and Life Science, Guizhou Normal College, Guiyang, Guizhou, 550018;

2. The Research Institute of Medicinal Plant, Guizhou Normal College, Guiyang, Guizhou, 550018)

Abstract: The antioxidant activity of essential oils from *Trollius chinensis* Bunge is evaluated in this paper. The essential oil was extracted by steam distillation method, and the antioxidant activity of essential oil was evaluated by UV spectrophotometry on OH and DPPH radical compared with V_C. The results show that the essential oil can scavenging OH· and DPPH·. Therefore, the essential oil from *Trollius chinensis* Bunge have certain antioxidant activity.

Key words: *Trollius chinensis* Bunge; essential oil; steam distillation; antioxidant activity

金莲花为毛茛科植物金莲花(*Trollius chinensis* Bunge)的干燥花及花蕾, 又名“旱金莲”、“旱地莲”。在我国, 金莲花主要分布于内蒙古东部、吉林西部、辽宁等地, 是一种应用历史悠久的传统蒙药^[1]。金莲花味苦、性寒、无毒, 具有清热解毒、疏散风热、抗菌消炎、抗氧化等功效^[2,3], 可治口疮、目痛、耳疼、浮热牙宣等症, 对于扁桃体炎、咽炎以及上呼吸道感染有较好的疗效^[4], 民间广泛用金莲花代茶泡饮用于治疗较轻的上呼吸道感染及凉拌食用^[5], 在食品工业上用作抗氧化剂^[6]。植物精油具有一定抗氧化活性, 如栀子花精油^[8]、花椒油^[9]、八角茴香油^[10]等。金莲花的活性成分主要有生物碱、黄酮、精油^[7]等, 目前对精油研究主要是提取方法和成分, 尚未见抗氧化

活性研究的相关报道。本研究以V_C为阳性对照, 通过测定金莲花精油对·OH和DPPH·清除率, 评价其氧化能力, 以期金莲花精油在抗氧化方面的应用提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

722S 可见分光光度计, 上海精密仪器有限公司; RE-2000A 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; HH-8 数显恒温水浴锅, 上海梅香仪器有限公司; BSA124S 电子天平, 赛多利斯科学仪器有限公司。

1.2 试剂

实验所用金莲花(*Trollius chinensis* Bunge)购

收稿日期: 2015-01-12

基金项目: 贵州省应用化学特色重点学科(黔教科研发[2012]442号); 贵州师范学院大学生项目(贵师[201306]005号)。

作者简介: 韦永江(1990-), 男, 贵州师范学院化学与生命科学学院2011级本科生。

* 通讯作者: 梁志远 教授. E-mail: gzh24000@sina.com

于贵州省贵阳市药材市场,经贵阳医学院席先蓉教授鉴定;抗坏血酸(Vc),北京市金诺欣成化工有限公司生产;2,2-联苯基-1-苦基苯肼(DPPH·),美国SIGMA公司生产;1,10-菲咯啉、无水乙醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、硫酸亚铁铵、30%过氧化氢、正己烷、无水硫酸钠均为分析纯。

2 实验方法

2.1 金莲花精油的提取

称取适量的金莲花药材,剪碎,置于2000 mL圆底烧瓶中,按固液比1:10(g/mL)加蒸馏水,组装好蒸馏装置,用精油提取器收集,微沸下蒸馏6 h。用少许正己烷冲洗精油提取器3次,合并后用无水硫酸钠干燥1 h,减压蒸出正己烷,得浅黄色金莲花精油,称量,计算产率,置于4℃冰箱,备用。

2.2 精油的抗氧化活性研究

2.2.1 对·OH清除能力的测定

2.2.1.1 最大吸收波长的选择

取1支10 mL比色管,依次加入pH 7.4磷酸盐缓冲溶液(PBS) 2 mL,1.5 mmol/L的邻二氮菲溶液1.5 mL,7.5 mmol/L硫酸亚铁铵溶液1 mL,摇匀,室温下避光反应60 min,在400-600 nm范围内连续测定吸光度(A),确定最大吸收波长。

2.2.1.2 清除·OH的测定方法

参考文献[11]方法,稍有改动。取9支10 mL比色管,依次加入pH 7.4磷酸盐缓冲溶液(PBS) 2 mL,1.5 mmol/L的邻二氮菲溶液1.5 mL,7.5 mmol/L硫酸亚铁铵溶液1 mL,分别加入不同浓度金莲花精油无水乙醇溶液1 mL,再各加入0.01%过氧化氢(H₂O₂)溶液1 mL,用蒸馏水定容至刻度。在37℃下恒温反应60 min,在最大吸收波长处测其吸光度,其吸光值称为A_{样品}。同前步,不加精油溶液和H₂O₂的吸光值称为A_{未损伤},不加精油的吸光值称为A_{损伤}。取磷酸盐缓冲溶液2.0 mL和8.0 mL蒸馏水于试管中,混匀作空白管。平行测定三次,取其平均值。用V_c作比较。清除率计算式如下:用下式计算对·OH的清除率,并计算出半数抑制率IC₅₀值。

$$\cdot\text{OH清除率} = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{损伤}}}{A_{\text{未损伤}} - A_{\text{损伤}}} \times 100\%$$

注意加样时每加一种试剂后要立即摇匀,否则会使局部颜色过深,影响重复性,并且H₂O₂要

最后加。

2.2.2 对DPPH·清除率的测定

2.2.2.1 最大吸收波长的选择

参考文献[11]方法,稍有改动。精密移取2 mL 0.2 mmol/L的DPPH乙醇溶液和2 mL无水乙醇,摇匀,室温下避光反应30 min,在400-600 nm范围内连续测定吸光度(A),确定最大吸收波长。

2.2.2.2 清除DPPH·的测定方法

分别取不同浓度的金莲花精油乙醇溶液5 mL于10 mL比色管中,各加入浓度为0.2 mmol/L的DPPH乙醇溶液各5 mL,摇匀,室温下避光反应30 min,在最大吸收波长下测其吸光值(A_i),用5 mL无水乙醇代替金莲花精油溶液,测定其吸光值(A₀),取5 mL不同浓度精油溶液加5 mL无水乙醇混合均匀,测定其吸光值(A_j)。平行测定三次,取其平均值。用V_c作比较。用下式计算对DPPH·的清除率,并计算出半数抑制率IC₅₀值。

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}(\%) = [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100$$

3 结果与分析

3.1 金莲花精油提取率

用水蒸气蒸馏法提取金莲花精油,6 h精油基本提取完全,平均提取率为0.11%。延长时间,不仅提取率不会增加,且浪费能源和破坏精油中热敏性成分。

3.2 精油对·OH的清除作用

3.2.1 最大吸收波长的确定

通过对邻二氮菲-Fe²⁺络合物在400-700 nm范围内波长的扫描,得到最大吸收波长为536 nm,以此作为后续实验的测定波长。

3.2.2 精油对·OH的清除结果

邻二氮菲-Fe²⁺形成络合物,呈樱桃红色,一旦Fe²⁺被氧化为Fe³⁺后,颜色褪去,因此,邻二氮菲-Fe²⁺形成络合物体系是常用的氧化还原指示剂,颜色变化能敏锐地反映溶液氧化还原状态的改变。基于此原理,建立邻二氮菲-金属铁离子-H₂O₂体系,可通过Fenton反应产生·OH,促使邻二氮菲-Fe²⁺被·OH氧化为邻二氮菲-Fe³⁺后,在最大吸收波长处峰消失。如果反应体系中同时存在·OH清除剂,则Fenton反应产生的·OH将被此清除剂全部或部分清除,邻二氮菲-Fe²⁺络合物受到的破坏将会随之减少^[12]。精油和Vc对·OH的清除结果见表1。

表1 精油和 Vc 对 ·OH 的清除结果

| 精油 | | Vc | |
|------|-------|------|-------|
| 量/mg | 清除率/% | 量/mg | 清除率/% |
| 3.5 | 3.08 | 0.02 | 17.68 |
| 7.0 | 6.16 | 0.04 | 35.55 |
| 14.0 | 9.22 | 0.06 | 47.72 |
| 21.0 | 38.24 | 0.08 | 54.75 |
| 28.0 | 65.04 | 0.10 | 62.14 |

注: 利用 Origin 软件处理表1中 精油和 Vc 对 ·OH 清除率而得到 IC₅₀。

从上表1可知 在测定的加量范围内 随着加入金莲花精油或 Vc 量增加 对 ·OH 清除率都随着增大 金莲花精油加入量在 3.5 - 14 μg 范围 清除率增加比较缓慢 在 14 - 28 μg 范围清除率增加比较显著 呈线性上升; Vc 的清除率随着加入量的增加 呈线性上升。从总体上看 Vc 清除 ·OH 的能力比金莲花精油的强得多 半数抑制率 IC₅₀ 值分别为 24 mg 和 68 μg。

3.3 精油对 DPPH · 的清除作用

3.3.1 最大吸收波长的确定

通过对 DPPH · 在 400 - 700 nm 范围内波长的扫描 得到 DPPH · 最大吸收波长为 517nm 以此作为后续实验的测定波长。

3.3.2 精油对 DPPH · 的清除结果

DPPH · 在有机溶剂(如甲醇、乙醇)中是一种稳定的自由基 可以长时间保存。其乙醇溶液显深紫色 当它遇到能释放质子的物质或者被还原时 其孤电子被配对 溶液颜色发生显著变化 从紫色褪至黄色 因而吸收消失或减弱。通过测定吸收减弱的程度 可评价样品对 DPPH · 清除能力的强度。精油和 Vc 对 DPPH · 的清除结果见表2。

表2 精油和 Vc 对 DPPH · 的清除结果

| 精油 | | Vc | |
|------|-------|-------|-------|
| 量/mg | 清除率/% | 量/mg | 清除率/% |
| 3.5 | 15.59 | 0.025 | 19.82 |
| 7.0 | 20.71 | 0.050 | 32.45 |
| 14.0 | 29.18 | 0.075 | 48.00 |
| 21.0 | 38.26 | 0.100 | 59.55 |
| 28.0 | 51.67 | 0.150 | 79.27 |

注: 利用 Origin 软件处理表2中 精油和 Vc 对 DPPH · 清除率而得到 IC₅₀。

由表2可知 在测定的加量范围内 随着加入

金莲花精油或 Vc 量增加 对 DPPH · 清除率呈线性增大 半数抑制率 IC₅₀ 值分别为 31 mg 和 0.080 mg。Vc 清除 DPPH · 的能力明显强于金莲花精油的 随着加入量的增加 差异更显著。

4 结论

通过对 ·OH 和 DPPH · 的清除率两个指标来评价金莲花精油的抗氧化能力。结果表明 金莲花精油对 ·OH 和 DPPH · 具有一定的清除效果 且呈一定的量效关系。实验结果说明 金莲花精油具有一定的抗氧化活性 可以作为天然抗氧化剂的来源。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册) [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 1398.
- [2] 杨宏昕, 常亮, 赵阳等. 蒙药金莲花药理作用研究 [J]. 中国药业, 2012, 21(20): 29-30.
- [3] 周欣, 范国荣, 吴玉田. 短瓣金莲花总黄酮及指标性成分的体外抗氧化活性研究 [J]. 中药材, 2007, 30(8): 1000-1002.
- [4] Li X Q, Huo T G, Qin F *et al.* Determination and pharmacokinetics of orientin in rabbit plasma by liquid chromatography after intravenous administration of orientin and *Trollius chinensis* Bunge extract [J]. Journal of Chromatography B, 2007, 853: 221-226.
- [5] 卢颖. 药用花卉金莲花 [J]. 中华养生保健, 2006(12): 43.
- [6] 唐津忠, 鲁晓翔, 陈瑞芳. 金莲花中黄酮类化合物的提取及其抗氧化性研究 [J]. 食品科学, 2003, 24(6): 88-91.
- [7] 甘秀海, 赵超, 赵阳等. 栀子花精油化学成分及抗氧化作用的研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(1): 77-84.
- [8] 徐坤, 孟晓, 孙俊秀等. 花椒油抗氧化活性研究 [J]. 中国调味品, 2010, 35(7): 48-59.
- [9] 阳小勇, 黄初生, 刘红星. 八角茴香油的化学成分及其抗氧化性研究 [J]. 中国调味品, 2010, 35(7): 38-44.
- [10] 黄建茹, 索全伶, 朱明达等. 金莲花属药用植物的研究与应用 [J]. 内蒙古石油化工, 2006(7): 4-5.
- [11] 陈建平, 苏建裕, 陈玲等. 梅片树叶挥发油的抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 22(5): 149-180.
- [12] 金鸣, 蔡亚欣, 李金荣等. 邻二氮菲-Fe²⁺-氧化法检测 H₂O₂/Fe²⁺ 产生的羟自由基 [J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(6): 553-555.

[责任编辑: 袁向芬]