

大叶苦丁茶抗氧化成分及抗氧化性能研究(I)

陈 薇¹, 王恒山², 黄世稳³, 邓彦兴¹, 钟代信¹

(1. 广西工学院轻化系, 广西柳州 545006; 2. 广西师范大学化学系, 广西桂林 541004;
3. 右江民族医学院, 广西百色 533000)

摘 要: 对冬青科大叶苦丁茶进行了初步的成分分析, 同时采用可见分光光度计法测定其活性部位的 POV 值, 并进行抗氧化性能分析, 其中所含多酚和黄酮部位的抗氧化性能较强, 具有进一步开发及应用的价值。

关键词: 大叶苦丁茶; POV 值; 抗氧化性能分析

中图分类号: R282.6; S571.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)05-0463-04

Analysis of antioxidant properties of components from *Ilex latifolia* Thumb.

CHEN Wei¹, WANG Heng-shan², HUANG Shi-wen³,
DENG Yan-xing¹, ZHONG Dai-xin¹

(1. Department of Light and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou 545006, China; 2. Department of Chemistry Guangxi Normal University, Guilin 541004, China;
3. YouJiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, China)

Abstract: Antioxidant activity of the components from *Ilex latifolia* Thumb. was estimated by testing the effect of main components to POV value using ultraviolet and visible spectrophotometry. Results showed that antioxidant activity of polyphenol and flavonoides was rather strong and worth further developing and applying.

Key words: *Ilex latifolia* Thumb.; POV value; antioxidant activity

抗氧化剂在食品中使用主要是为了防止食品氧化变质, 合成抗氧化剂存在着它本身是否会带来毒性, 特别是慢性致癌、致突、致畸等问题; 因而随着对食品安全的日益关注及人类回归自然的心理影响, 天然抗氧化剂的研究和应用成为当今食品行业最活跃的领域。大量比较发现一些天然植物和中药材的溶剂提取物有很强的抗氧化活性, 大部分的天然抗氧化剂的化学成分与化学合成的抗氧化剂(如 BHA、BHT)结构有相似之处, 在性能上除了有相似的抗氧化性能以外, 还可以赋予食品在感官上特殊的

风味及生理保健功能, 及抑菌防腐、抗氧矫臭的作用。据报道迷迭香醚、茶多酚等, 其抗氧化活性超过了常用的食品使用的合成抗氧化剂, BHT、BHA、PG、TBHQ, 同时它们还具有耐高温的特异性, 可被选用在烧烤油的添加剂中, 也可以作为抗氧化增效剂配合使用, 是新开发的高效植物抗氧化剂^[1]。

苦丁茶是民间一种传统优良饮料, 具有消炎镇痛、清凉解毒、降脂、降压、抑菌、减肥之良效^[2], 国内对苦丁茶的研究主要是其药理临床^[3]应用及成分分析^[4], 而对其具抗氧化性能的研究只有对有关广西

收稿日期: 2001-09-10

作者简介: 陈 薇(1962-), 女, 广西柳州人, 讲师, 有机化学专业, 从事有机合成及天然产物化学的教学及研究。

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(桂科自 0146008); 广西工学院青年科学研究基金资助项目(00219)。

苦丁 Vc 及 Ve 含量较高可以阻止人体中脂质的过氧化过程,有一定的抗衰老效应的简单报道,也主要是观察苦丁茶提取物对体外大鼠肝组织脂质过氧化的抑制作用,以探讨其治疗炎症可能依据^[5],而没有其抗氧有效物方面的成分及性能的全分析。本研究采用系统分离的方法,结合抗氧化性能测定,初步分析大叶苦丁茶(*Ilex latifolia* Thumb.)中抗氧有效物的抗氧化效果。大叶苦丁茶主要含有多酚、多糖、生物碱、甾体及三萜、皂甙及黄酮类等,在此重点针对其中的多酚类、多糖类、生物碱及黄酮这四类提取物,采用可见分光光度法测定他们的过氧化值(POV值),并进行抗氧化性能分析及评价;测定结果,它们均具有一定的抗氧化性能,其中所含多酚和黄酮类提取物的抗氧化性能较强。本项研究对筛选出高效、低毒的天然抗氧剂的新品种,提高大叶苦丁茶的综合开发利用有一定的意义。

1 实验部分

1.1 材料、试剂、药品及仪器设备

材料:大叶苦丁茶(百色产);95%乙醇;石油醚;氯仿等,有机试剂、溶剂均为分析纯。

主要试剂及药品:显色剂——碘化铋钾(Dragendorff)试剂;苦味酸试剂;碱性酒石酸铜(Fehling)试剂;双缩脲(Biuret)试剂;茚三酮试剂;菲林氏试剂;10%KOH;1%AlCl₃;醋酐—浓硫酸;香草—醛硫酸;5%FeCl₃等。

仪器设备:SHA-C 恒温振荡器;离心分离器,722 光栅分光光度计;YNG-OSM 远红外快速恒温干燥箱。

1.2 大叶苦丁茶成分分析预试验^[6]

按天然植物有效成分系统预实验的方法,分别采用水、95%乙醇和石油醚提取大叶苦丁茶,喷洒各类显色剂可初步判断该大叶苦丁茶中所含主要成分。

通过预试验确定大叶苦丁茶提取液中含有机酸、酚类、甙类或多糖、皂甙和生物碱、甾体或三萜类、挥发油等,与文献报道的所含成分类别基本一致。

1.3 大叶苦丁茶主要成分提取^[7]

借鉴植物有效成分系统分析方法,分别对大叶苦丁茶中总黄酮、茶多酚、生物碱、多糖类进行提

取,所得各部分用分光光度计测定其抗氧化活性,最终由测定结果对其抗氧化性能进行评价。

1.3.1 黄酮提取 取 50 g 粗茶粉末用 70%~80% 乙醇回流提取,提取液放置过夜,除去析出的蜡状物后,减压浓缩除去乙醇加水溶解,用乙醚萃取除脂,再用乙酸乙酯萃取,浓缩蒸干,得黄色固体 1.43 g,为粗黄酮。

1.3.2 生物碱提取 另取 50 g 粗茶末加 5 倍量 95%乙醇回流加热提取 4 h,冷滤,渣再加乙醇提取 4 次,合并提取液,减压浓缩,得膏。于膏中加水,加浓盐酸调 pH=2,加氯仿震荡除油脂和脂性杂质共 3 次,分离,氯仿用量均为水的 1/3,加氨水调 pH=10,再加入其体积 1/3 量的氯仿,振荡萃取游离生物碱,分出氯仿层,水层同样萃取,共萃取 3 次,合并萃取液,回收氯仿,蒸干,得淡黄色固体 1.5 g,为粗生物碱。

1.3.3 多酚提取 将氯仿萃取的水相,依次加入 60 mL 乙酸乙酯萃取 3 次,合并萃取液,用旋转蒸发器在 40~50 °C 下浓缩,回收乙酸乙酯,放入真空干燥箱中干燥,得固体 2.4 g,为多酚粗品。

1.3.4 多糖提取 将多酚萃取的水相加入 100 mL 丙酮,有黄褐色沉淀生成,抽滤,分离,放入真空干燥箱在 50 °C 下恒温干燥,得固体 1.2 g。

1.3.5 有效成分提取结果 见表 1。

表 1 大叶苦丁茶有效成分提取结果
Table 1 Extraction result of main components from *Ilex latifolia* Thumb.

品种 Items	提取量(g) Extraction amount	提取率(%) Extraction ratio
生物总碱 Total alkaloids	1.5	3.0
多酚 Polyphenol	2.4	4.8
多糖 Polysaccharide	1.2	2.4
总黄酮 Flavonoids	1.43	2.86
苦丁茶总量 Total <i>Ilex latifolia</i> Thumb.	50 g	

1.4 提取物抗氧化(POV)值的测定

1.4.1 猪油、花生油中抗氧化试验 分别在油样中加入上述提取物多酚类、多糖类、生物碱及黄酮类,加入量均为油样量的 0.1%,将猪油、花生油试样放于恒温振荡器中在 65±0.5 °C、85±0.5 °C 下进行强化氧化,作抗氧化试验,以空白为对比每隔两天取出,用紫外可见分光光度法测定其过氧化值^[8](POV)。该法主要是针对油样中的过氧化物可把 KI 氧化成 I₂,稀释所生成的 I₂,用淀粉溶液直接对 I₂ 显

色,在 585 nm 处测其吸光度值,从而确定其过氧化值,过氧化值最终以 $I_2\%$ 表示,故与空白比较 I_2 越小,其过氧化值越小,则样品的抗氧化性能越强。测定方法按文献^[9]进行。

1.4.2 试验结果 分别见表 2 和表 3。

表 2 在 $65\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $85\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 下猪油的过氧化值($I_2\%$)

Table 2 Effect of extracts to POV value of lard under $65\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $85\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$

温度 Temp.	品种 Components	时间 Time(d)									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	平均值
$65\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$	多酚 Polyphenol	1.87	2.01	2.98	3.52	4.65	12.86	24.82	26.71	29.13	12.01
	总黄酮 Flavonoids	1.87	2.79	4.46	7.26	10.04	13.90	24.09	26.98	28.26	13.30
	多糖 Polysaccharide	1.87	2.20	5.53	8.82	10.18	14.77	24.78	25.94	30.81	13.88
	总生物碱 Total Alkalids	1.87	2.91	6.69	7.58	12.31	15.78	24.58	28.68	31.68	14.68
	参比液 Blanks	1.87	2.78	7.12	9.26	14.60	18.88	26.43	31.56	37.52	16.67
$85\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$	多酚 Polyphenol	1.87	2.44	3.14	7.84	8.16	13.80	26.18	28.76	31.52	13.63
	黄酮 Flavonoids	1.87	3.08	6.16	8.48	12.50	15.78	17.24	28.80	30.98	13.92
	多糖 Polysaccharide	1.87	3.72	7.22	10.54	13.92	17.17	25.20	28.68	34.74	15.90
	总生物碱 Total Alkalids	1.87	3.42	9.08	9.81	14.59	17.06	27.02	31.76	34.37	16.55
	参比液 Blanks	1.87	4.34	10.35	12.88	21.42	22.96	29.28	36.12	41.80	20.12

表 3 在 $65\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $85\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 下花生油的过氧化值($I_2\%$)

Table 3 Effect of extracts to POV value of peanut oil under $65\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $85\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$

温度 Temp.	品种 Components	时间 Time(d)									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	平均值
$85\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$	多酚 Polyphenol	2.74	6.92	11.03	13.72	18.66	23.75	27.32	34.56	37.72	19.60
	黄酮 Flavonoids	2.74	5.86	10.04	13.33	17.68	19.27	25.80	31.54	39.80	18.45
	多糖 Polysaccharide	2.74	8.40	10.78	13.92	17.08	21.30	24.10	29.90	37.73	18.66
	总生物碱 Total Alkalides	2.74	8.61	12.54	16.29	17.82	19.06	25.14	28.63	33.20	18.22
	参比液 Blanks	2.74	9.90	12.64	18.51	24.04	27.22	30.26	37.72	46.59	23.29
$65\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$	多酚 Polyphenol	2.74	4.80	9.61	12.47	17.93	21.46	25.96	30.02	32.47	17.50
	黄酮 Flavonoids	2.74	4.29	8.66	11.06	14.64	17.85	21.58	28.58	32.37	15.75
	多糖 Polysaccharide	2.74	7.45	9.50	11.72	16.70	20.28	23.16	25.41	32.37	16.70
	总生物碱 Total Alkalides	2.74	8.32	12.10	14.69	16.28	17.05	22.75	25.29	30.75	16.67
	参比液 Blanks	2.74	9.89	10.87	16.12	19.31	23.22	29.97	32.38	39.24	20.41

2.2 表数据分析

2.2.1 对表 2、表 3 数据分析 将大叶苦丁茶提取物多酚、多糖、生物碱及黄酮添加至油样以后与参比相比,无论从单项的(POV)值(均以 $I_2\%$ 表示),还是从其平均值来看,各项都比同等条件下所测定的参比值低,但程度有所差别,说明上述 4 种提取物均有一定的抗氧化性能。

花生油中,多糖类、生物碱、黄酮的过氧化值(POV) $I_2\%$ 差别不大,但均比参比值低,都有一定的抗氧化性;同时黄酮类的过氧化值在同样条件下最低,表明黄酮类提取物在花生油中有较好的抗氧化性能,且抗氧化值在第十天时仍能保持有较低增长值,也说明黄酮类提取物在花生油能有相对长效的

2 结果分析

2.1 POV-T 变化系列图

见图 1、2、3、4。系列 1-多酚;系列 2-黄酮;系列 3-多糖;系列 4-生物碱;系列 5-参比样。

抗氧化性能;而多酚的 POV 值较高,说明多酚的抗氧化性能在花生油中效果不太好,结果与 POV-T 性能变化图 1、2 的分析基本一致。另外,在所测定的时间期限内,它们的变化随时间的改变不大,说明它们可能具有较长效的抗氧效果。

猪油中,根据表 2、3 中的各提取物过氧化值(POV) $I_2\%$ 的单项值以及平均值的比较,可以得出大叶苦丁茶的 4 种提取物在猪油中的抗氧化效果次序:8 d 内,无论在 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 、还是 $85\text{ }^\circ\text{C}$,其抗氧化效果次序为:多酚>黄酮>多糖类>生物碱;其中多酚类提取物的过氧化值(POV 值)与其他相应的提取物比,相当的低,表明它在猪油中有很好的抗氧化性能。

10~12 d后,在强化条件下,上述4种提取物的POV值有一突变性的增大,说明10 d后它们的抗氧化效能降低。

2.2.2 POV-T变化图分析 花生油中,各提取物的抗氧化性能曲线明显都在参比变化线的下方,走势平缓,故它们在花生油中都有不同程度的抗氧化性能;随时间增长其过氧化值(POV)/I₂%升高,并且有时间影响比温度影响大的趋势,但几条曲线之间相距较近,还有一定的交叉,若仅从曲线获得它们之间抗氧化效果大小比较结果相对较难。

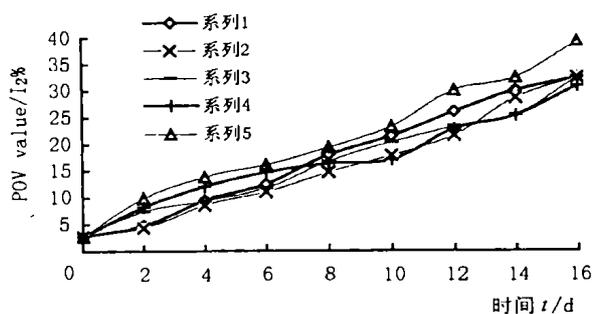


图1 在 65 ± 0.5 °C 花生油中的 POV 变化
Fig. 1 Changes of POV value in peanut oil under 65 ± 0.5 °C

猪油中,各提取物抗氧化性能曲线较其在花生油中的曲线有很大的差异,它更加明显。由图3.4可以看出,多酚在猪油中,前8 d有较强的抗氧化性,在第8 d达最大值。

大叶苦丁茶提取物在猪油中抗氧化性能次序为 65 °C 时,多酚 > 黄酮 > 多糖类 > 总生物碱; 85 °C 时在 10 d 内它们的大小次序也与上相同,而随时间及温度的增加黄酮提取物的抗氧化效果增强得更趋明显;另外,由图1~4表明,除黄酮以外各提取物受温度的影响程度不大。

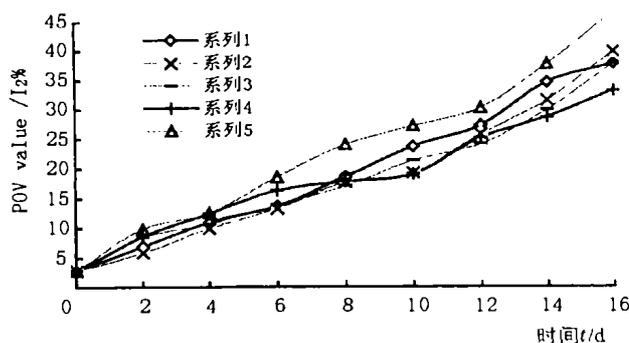


图2 在 85 ± 0.5 °C 花生油中的 POV 变化
Fig. 2 Changes of POV value in peanut oil under 85 ± 0.5 °C

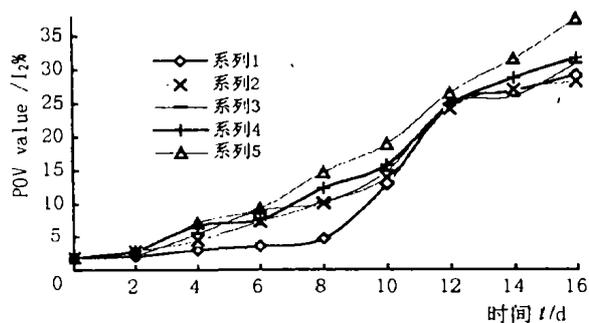


图3 在 65 ± 0.5 °C 猪油中的 POV 变化
Fig. 3 Changes of POV value of lard under 65 ± 0.5 °C

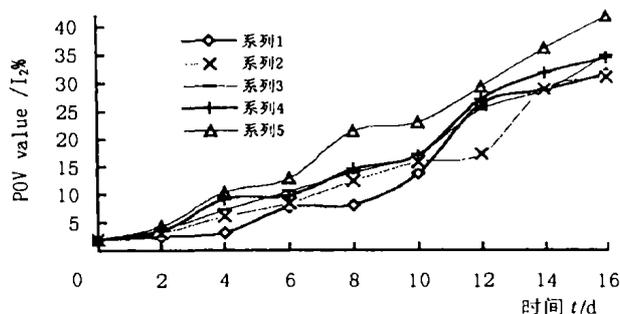


图4 85 ± 0.5 °C 猪油中的 POV 变化
Fig. 4 Changes of POV value of under 85 ± 0.5 °C

3 结论

据报道,化合物分子中的酚羟基可能是其抗氧化作用的功能基团,其抗氧化活性与所含酚羟基数目有关,大叶苦丁茶中所含的多酚类物质如苯丙素苷等,均为含有多酚羟基的化合物,这可能是其抗氧化作用的结构基础^[10],另外大叶苦丁茶中黄酮类化合物含量较高,为绿茶中含量的 1.6~14.7 倍^[11],使其具有保健作用和药理功效,是否也是由于其中

黄酮成分作用还有待进一步证实。但通过该实验,可以获得,大叶苦丁茶中茶多酚、黄酮、多糖类及生物碱类提取物在不同油脂(猪油、花生油)、不同温度($65, 85 \pm 0.5$ °C)下都具有明显的抗氧化性能;其中多酚及黄酮类的抗氧化性能较强;特别是实验结果中表明,多酚类提取物用于猪油中抗氧化效果较好,黄酮类提取物则用于花生油中抗氧化效果较好。因此,可根据不同的应用要求,分别利用各类大叶(下转第 443 页 Continue on page 443)

分化性能不好。去掉生长素仅存 6-BA 时利于芽的分化(表 1)。

2.3 激素对试管苗生根的影响

待芽长至 2~3 cm 时切下, 接种到生根培养基(1)、(2)上, 1 周后(2)长出少量的根, 10 d 后, (1)也长出根。20 d 后观察, (1)根细长, 诱导率 96%, (2)根粗壮, 分枝多, 诱导率 100%。可见, 生长素 NAA 提高根的诱导率并使根健壮。

2.4 试管苗的移栽

待根较繁茂, 试管苗长至 5~6 cm 时, 打开瓶口, 阴处放置 5 d, 取出, 洗去根部残余的培养基, 移栽到装有田园土和发酵过的锯木面各一半的花钵中, 浇足水, 阴湿处管理 3~4 d, 1 周后浇 0.1% 的尿素 1 次, 以后正常生长。

参考文献:

[1] 阮雪珠. 观赏樱桃番茄的盆栽技术[J]. 中国蔬菜,

2100, (5): 37-38.

[2] 高建珍. 樱桃番茄良种简介[J]. 农业科技与信息, 2000, (10): 6.

[3] 孙莉娜. 樱桃番茄的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(2): 135.

[4] 张明生, 蒋有条. 秘鲁番茄和多毛番茄的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(2): 125-126.

[5] 卫志明, 许智宏. 番茄叶组织培养中植株再生的初步研究. 植物生理学通讯, 1979, (1): 10-11.

[6] Atherton J G, Rudich J, (郑光华). 番茄[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1989.

[7] 袁开楠, 朱德蔚, 连 勇, 等. 番茄游离小孢子培养形成胚状体的初步研究[J]. 农业生物技术学报, 1999, 7(1): 85-87.

[8] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学出版社, 1990.

(上接第 466 页 Continue from page 466)

苦丁茶提取物所具有的长效、耐温等抗氧化特性, 将其中多酚、黄酮类提取物作为有效的油脂、食品及日化产品的抗氧化剂, 对其进行更进一步的研究和开发是富有意义的^[12,13]。

参考文献:

[1] 汪秋安. 天然抗氧化剂的开发利用[J]. 广西轻工业, 1999, 2: 6-9.

[2] 梁远发, 王家伦. 冬青科苦丁茶化学成分研究[J]. 贵州农业科学, 1997, 25(4): 46-48.

[3] 王少石, 陈建华, 刘晓娟. 茶叶药理作用的初步研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1994, 14(11): 670-672.

[4] 沈程文, 罗军武, 魏 勇. 苦丁茶应用研究进展综述[J]. 茶叶通讯, 2000, 3: 27-30.

[5] 杨 彪, 龙盛京, 覃振江, 等. 苦丁茶提取物抗氧化作用的研究[J]. 广西民族学院学报(自然科学版), 2000, 6(2): 108-110.

[6] 肖崇厚, 杨松松, 洪筱波. 中药化学[M]. 上海: 上

海科学技术出版社, 1997. 595-601.

[7] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993. 11: 1 288.

[8] 张 唯, 高斌富, 常 新. 紫外法与碘量法测定实用植物油中过氧化值的比较[J]. 中国油脂, 1993, 18(5): 37-39.

[9] 江秀明, 周长智, 李建伟, 等. 可见分光光度法测定食用油过氧化值[J]. 郑州粮食学院学报, 1999, 20(2): 55-57.

[10] 陈国珍, 贺震旦, 陈 鹏, 等. 云南昭通产苦丁茶配糖体抗脂质过氧化研究[J]. 中国药理学通报, 2000, 16(3): 268-271.

[11] 邱以祥. 中国苦丁茶资源极其开发利用[J]. 自然资源, 1997, (4): 63-68.

[12] 魏安池, 周瑞宝. 诃子抗氧化剂的研究[J]. 中国油脂, 1998, 23(3): 43-46.

[13] 谷利伟, 翁新楚. 食用天然抗氧化剂研究进展[J]. 中国油脂, 1997, 22(3): 37-40.