

尖叶胡枝子黄酮抗氧化活性的研究

吴洪新¹, 单昌辉², 阿拉木斯¹, 夏 明¹

(1 中国农业科学院 草原研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010; 2 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要:通过尖叶胡枝子黄酮(*Lespedeza hedysaroides* flavonoids, LBF)清除羟自由基、超氧阴离子的效果及抑制猪油、菜油、和亚油酸的自氧化来研究尖叶胡枝子黄酮的抗氧化活性。结果表明, 尖叶胡枝子黄酮对羟自由基和超氧自由基有较强的清除作用, 清除率随黄酮浓度的增加而增大, 分别达到 98.85% 和 100%, 且能够明显抑制猪油、菜油、亚油酸的自氧化, 抑制作用随浓度的增大而增强。作为天然的抗氧化剂, 尖叶胡枝子黄酮具有一定的开发利用价值。

关键词:尖叶胡枝子; 黄酮; 抗氧化

中图分类号: S718.43

文献标识码: A

文章编号: 1001-7461(2009)05-0118-03

Antioxidative Activity of Flavonoids Extracted from *Lespedeza hedysaroides*

WU Hong-xin¹, SHAN Chang-hui², Alamusi¹, XIA Ming¹

(1. Grassland Research Institute of CAAS, Huhhot, Inner Mongolia 010010, China; 2. College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Through the scavenging effect of *Lespedeza hedysaroides* flavonoids (LBF) on hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$) and superoxide anion (O_2^-), the inhibition of LBF on lard, collesed oil and linoleic acid were measured to study the antioxidant activity of the LBF. The results showed that LBF had some functions to clear free radicals and superoxide anion, and the effect of clearance became more obvious with the content of flavonoids increased; LBF can decrease the POV of lard and collesed oil and autoxidation of linoleic acid remarkably, and the effect became more obvious with the content of flavonoids increased. LBF are worth exploring as a natural antioxidant material.

Key words: *Lespedeza hedysaroides*; flavonoids; antioxidative activity

黄酮类化合物(flavonoids)广泛存在于自然界,是目前倍受关注的天然活性产物之一。近年来,大量的体内和体外研究表明黄酮类化合物具有较强的抗氧化和清除自由基的活性,某些黄酮类化合物的抗氧化活性是化学合成抗氧化剂的3~5倍,由于它们同时还具有抑菌、抗衰老、抗突变、降血脂、降血压等药理保健功能且毒副作用很小,是一类极具开发前景的天然有机抗氧剂^[1-3]。

胡枝子属植物多为民间常用草药,富含黄酮类化合物,是胡枝子的主要次生代谢产物,也是胡枝子中最为重要的生物及药理活性物质。迄今已从该属的圆叶胡枝子、兴安胡枝子、截叶铁扫帚、头状胡枝子、短梗胡枝子、大叶胡枝子、山豆花、美丽胡枝子中

分离出64种黄酮类化合物,并对其活性做了相关的研究,而对于尖叶胡枝子(*Lespedeza hedysaroides*)黄酮及其活性研究目前报道尚少^[4]。本试验对尖叶胡枝子黄酮的清除自由基、抑制动物和植物油脂的氧化酸败、抑制亚油酸的氧化等抗氧化活性进行研究,为进一步开发尖叶胡枝子黄酮作为天然食品抗氧化剂及天然药物提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

尖叶胡枝子粗黄酮粉(实验室制备,总黄酮含量32.71%,黄酮溶液为粗黄酮粉的酒精溶液)、猪油(市售板油熬制)、菜油(市售)。

收稿日期:2008-12-15 修回日期:2009-02-16

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国农业科学院草原研究所)资助项目。

作者简介:吴洪新,女,实习研究员,主要研究方向:牧草资源的开发与利用。E-mail:wuhongxin168@163.com

1.1.1 试剂 无水乙醇、邻苯三酚、浓盐酸、硫酸亚铁铵、邻二氮菲、双氧水、可溶性淀粉、硫代硫酸钠、碘化钾、冰乙酸、三氯甲烷、氯化亚铁、硫氰酸铵均为分析纯。

1.1.2 仪器 旋转蒸发仪-RE2000(上海亚荣生化仪器厂), SHB-III 循环式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司), UV-2450 紫外可见光光度计(日本岛津), 恒温振荡器 SHA-B(常州国华电器有限公司), pHs-pl 型酸度计(上海大浦仪器有限公司), 电热恒温培养箱(湖北黄石医疗器械厂)。

1.2 试验方法

1.2.1 尖叶胡枝子黄酮对羟自由基的清除作用

按 Fenton 反应原理^[5-7], 取 12 支 25 mL 比色管, 依次加入 0.2 mL 75 mmol · L⁻¹ 硫酸亚铁铵溶液、0.2 mL 75 mmol · L⁻¹ 邻二氮菲溶液、1 mL pH 为 7.47 的 Tris-HCl 缓冲溶液, 在 2~12 号比色管中各加入 0.2 mL 75 mmol · L⁻¹ 的 H₂O₂, 然后在 3~12 号比色管中加入 0.2 mL 浓度为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mg · mL⁻¹ 的尖叶胡枝子黄酮溶液, 用双蒸水定容至刻度, 37 °C 的水浴中反应 1 h, λ = 508 nm 处测吸光度, 计算羟自由基的清除率。

计算方法: 清除率(%) = (A₃ - A₂) / (A₁ - A₂) × 100

其中: A₁ 为羟自由基体系不加 H₂O₂ 及黄酮液的吸光度; A₂ 为羟自由基体系加 H₂O₂ 但不加黄酮液时的吸光度; A₃ 为加入提取液的羟自由基体系的吸光度。

1.2.2 尖叶胡枝子黄酮对超氧阴离子的清除作用

按邻苯三酚自氧化反应方法^[5-7], 取 8 支 25 mL 比色管, 依次加入 5 mL 25 °C 预热 20 min 的 pH 为 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液, 在 3~8 号加入 5 mL 浓度为 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mg · mL⁻¹ 的尖叶胡枝子黄酮溶液, 然后在 2~8 号加入 2.5 mL 25 °C 预热 20 min 的 0.5 mmol · L⁻¹ 的邻苯三酚溶液, 用双蒸水定容至刻度, 波长 325 nm 下每隔 30 s 测 1 次吸光值; 以不加邻苯三酚和黄酮溶液的作为空白对照。

抑制率(%) = [(ΔA₁/Δt - ΔA₂/Δt) / ΔA₁/Δt] × 100

其中: ΔA₁/Δt 为邻苯三酚自氧化速率; ΔA₂/Δt 为加入黄酮液后的氧化速率

1.2.3 尖叶胡枝子黄酮对猪油的抗氧化作用 按 GB/T5009.3721996 油脂卫生标准的分析方法进

行, 精密称取尖叶胡枝子黄酮粉 50、100、150、200、250 mg, 用 25 mL 乙醇溶解, 加入到装有 50 g 经熔化处理猪板油的碘量瓶中, 搅拌均匀, 使抗氧化剂(总黄酮)均匀分散在油样中, 塞紧瓶塞, 置于 70 °C 恒温箱中培养, 每 24 h 将瓶中的油样搅拌均匀, 测定其 POV(过氧化值)。以不加抗氧化剂的油样为空白对照, 每组做 3 个重复。计算公式如下:

$$POV = 1000 \times (V_1 - V_2) \times C/M$$

式中: V₁ 为试样消耗硫代硫酸钠标准溶液体积(mL); V₂ 为空白试验消耗硫代硫酸钠标准溶液体积(mL); C 为硫代硫酸钠标准溶液的摩尔浓度(mol · L⁻¹); M 为样品质量(g)。

1.2.4 尖叶胡枝子黄酮对菜油的抗氧化作用 按 GB/T5009.3721996 油脂卫生标准的分析方法进行, 精密称尖叶胡枝子粗黄酮粉 10、20、30、40 mg, 用 25 mL 乙醇溶解, 加入到装有 30 g 菜油的碘量瓶中, 搅拌均匀, 使黄酮液均匀分散在油样中, 塞紧瓶塞, 置于 70 °C 恒温箱中培养, 每 24 h 将瓶中的油样搅拌均匀, 测定其 POV。以不加抗氧化剂的油样为空白对照, 每组做 3 个重复。计算公式与尖叶胡枝子总黄酮对猪油抗氧化一致。

1.2.5 尖叶胡枝子黄酮对亚油酸的抗氧化作用

精密称尖叶胡枝子粗黄酮粉 10、20、30、40 mg, 用适量乙醇溶解, 加入到装有 30 mL 0.5% 的亚油酸乙醇溶液的碘量瓶中, 搅拌均匀, 置于 40 °C 恒温箱中培养。每 24 h 将瓶中的培养液搅拌均匀, 并各取 0.1 mL, 分别加入 9.7 mL 75% 乙醇、0.1 mL 30% 硫氰酸铵, 然后再加入 0.1 mL 0.02 mol · L⁻¹ 氯化亚铁溶液, 准确反应 3 min, 于波长 500 nm 下测吸光值^[9-12], 每组做 3 个重复。

2 结果与分析

2.1 对羟自由基的清除作用

由图 1 所示, 尖叶胡枝子黄酮对羟自由基有较强的清除作用, 而且在一定的浓度范围内, 清除作用随着黄酮浓度的增加清除效果增强, 当黄酮浓度为 0.04 mg · mL⁻¹ 时清除率高达 98.85%。

2.2 对超氧阴离子的清除作用

尖叶胡枝子黄酮对超氧阴离子的清除效果与清除羟自由基的作用相似(图 2)。尖叶胡枝子黄酮对超氧阴离子有较强的清除作用, 随着黄酮浓度升高, 对邻苯三酚自氧化速率的抑制作用越明显, 当黄酮浓度为 0.012 mg · mL⁻¹ 时, 清除率达到 100%, 能够完全清除抑制超氧阴离子的产生。

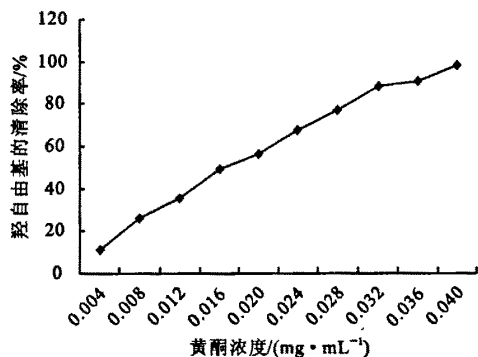


图1 尖叶胡枝子黄酮对羟自由基的清除效果

Fig. 1 Scavenging effect of LBF on hydroxyl radicals

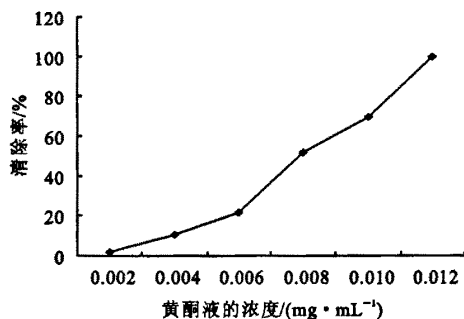


图2 尖叶胡枝子黄酮对超氧阴离子的清除效果

Fig. 2 Scavenging effect of LBF On superoxide anion

2.3 尖叶胡枝子黄酮对油脂的抗氧化作用

2.3.1 对猪油的抗氧化作用 由图3可知,尖叶胡枝子黄酮可抑制猪油POV值的升高,7 d以前,不同剂量的黄酮对猪油的氧化抑制效果没有明显的区别;7 d之后,随着尖叶胡枝子黄酮添加量的增加猪油过氧化值的变化速度缓慢,抗氧化效果明显。添加量为250 mg时抗氧化效果最佳。

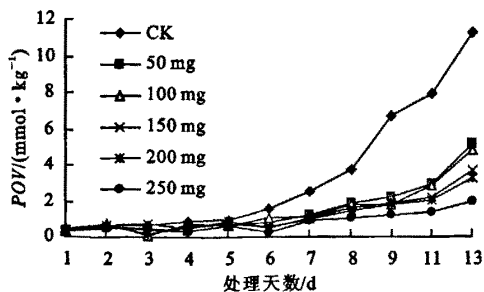


图3 尖叶胡枝子黄酮对猪油的抗氧化作用

Fig. 3 The antioxidative activity of LBF on lard

2.3.2 对菜油的抗氧化作用 由图4可知,菜油中添加尖叶胡枝子黄酮可抑制菜油的氧化酸败,且表现出较好的抗氧化活性。在4 d内,添加不同剂量的黄酮对抑制菜油的氧化酸败没有显著性变化;4 d以后,随着尖叶胡枝子黄酮添加量的增加,菜油的过

氧化值升高速度变慢,抗氧化效果更显著。

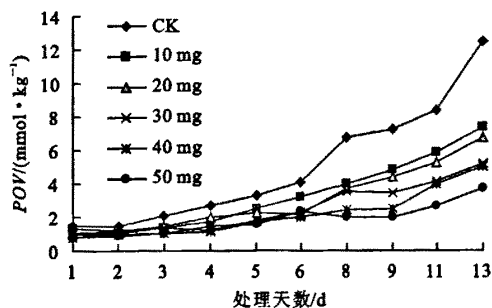


图4 尖叶胡枝子黄酮对菜油的抗氧化作用

Fig. 4 The antioxidative activity of LBF on collected seed oil

2.4 对亚油酸的抗氧化作用

由图5可知,亚油酸中添加尖叶胡枝子黄酮可抑制亚油酸的自氧化。随着添加量的增大抑制效果越好,且随着时间的延长,抑制效果越显著。

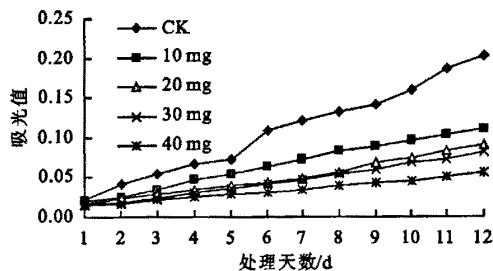


图5 尖叶胡枝子黄酮对亚油酸的抗氧化作用

Fig. 5 The antioxidant activity of LBF on linoleic acid

3 结论与讨论

人体内可以产生氧和羟基自由基,已经证实,这些自由基与人的病理(肿瘤、炎症、动脉粥样硬化等)和生理(衰老)现象有密切关系,它是人体过早衰老的主要原因之一,大多数的自由基具有较强的氧化性,极少量的自由基也将对人体健康造成极大的危害。黄酮类化合物是具有酚羟基的一类还原性的化合物,在复杂的生物化学反应过程中,由于黄酮类化合物的自身氧化而使其具有较强的抗氧化性^[8]。本试验通过Fenton反应体系和邻苯三酚自氧化体系表明:尖叶胡枝子黄酮能够明显地清除体系中已产生羟自由基和超氧阴离子及抑制其的再产生在一定范围内,清除效果随添加浓度升高而加强。当添加浓度为0.04 mg·mL⁻¹时,对羟自由基的清除作用最大可达98.85%;当添加浓度为0.012 mg·mL⁻¹时,对超氧阴离子的清除作用最大可达100%,完全清除了已产生的超氧阴离子还抑制了超氧阴离子的产生。

(下转第160页)

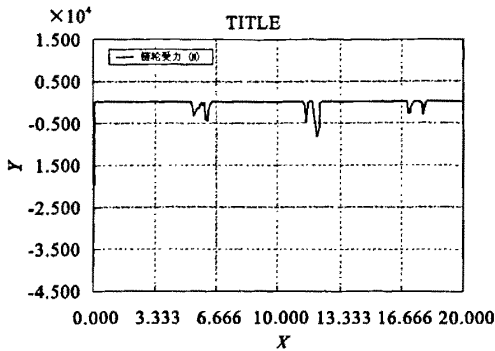


图 6 链轮受力

Fig. 6 Stress of sprocket

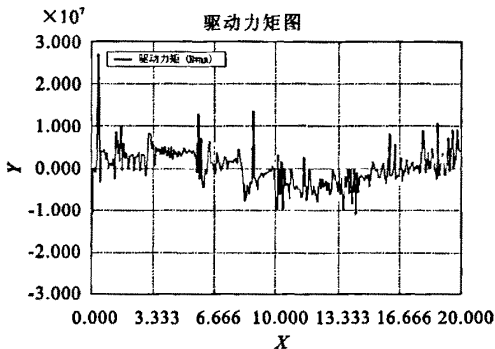


图 7 驱动力矩

Fig. 7 Drive torque

3 结论

虚拟试验技术是在履带式采伐机产品设计伊始,根据履带式伐木机实际参数在计算机上建立试验伐木机履带的三维实体模型,根据林区道路试验环境,建立简单虚拟试验地面模型,虚拟伐木机履带

在虚拟林区试验不平道路上行驶,以三维实体模型的运动,观察车辆行驶履带对地面压力。虚拟试验技术应用于车辆的通过性试验,针对履带式伐木机通过性仿真,及早发现伐木机设计缺陷,减少物理样车试验次数,降低产品开发过程中试验和制造的费用并提供求解方案。对伐木机有一个更深入和更全面的了解,提高产品的市场竞争力。

参考文献:

- [1] 蒋晓光,刘星荣. 4×4 越野汽车驱动力分配[J]. 北京汽车, 1998(3): 1-3.
- [2] KITANO M, JYOZAKI H. A theoretical analysis of steerability of tracked vehicles[J]. J. of Terramechanics, 1976, 13(4): 22-23.
- [3] JAKOBI N. From animals to animats 5: proceedings of the fifth international conference on simulation of adaptive behavior[M]. USA: MIT Press Cambridge MA, 1998: 92-97.
- [4] DHIR A, SANKAR S. Ride dynamics of high-speed tracked vehicles[J]. Vehicle System Dynamics, 1994, 23: 379-409.
- [5] 格里斯比(美). 车辆动力学基础[M]. 北京: 清华大学出版社, 2006: 18-26, 30-35, 40-48, 70-78.
- [6] 项昌乐. 装甲车辆传动系统动力学[M]. 北京: 国防工业出版社, 2007: 21-26, 42-45, 50-58, 80-92.
- [7] 许爱军, 张文金, 易丹. 基于 VRML 的虚拟现实技术及应用[J]. 计算机与数字工程, 2009(4): 25-27.
- [8] 费琳琳, 单洪伟. 虚拟现实技术及应用浅析[J]. 科技资讯, 2008, 36: 28-30.
- [9] 周廷美. 汽车零部件的虚拟现实设计技术[J]. 汽车工程, 2001(6): 41-43.
- [10] 三维资源在线(3DSOURCE)-CAD 模型, 3D 模型, 三维模型, 模型插件, 3Dlib [EB/OL]. [2008-10-16]. <http://www.3dsources.cn/sindy.html>.

(上接第 120 页)

油脂发生过氧化反应从化学本质来讲, 主要因为油脂中含有不饱和脂肪酸, 尤其是亚麻酸和亚油酸。黄酮类化合物的抗氧化作用的机理与其他酚类抗氧化剂相似, 自身作为优良的供氢体, 向活泼自由基提供氢后, 形成的自由基可通过共振杂化与其他自由基结合成稳定的二聚体, 从而切断链式反应, 发挥抗氧化作用^[6]。通过对猪油、菜油、亚油酸的抗氧化试验, 表明尖叶胡枝子黄酮对猪油、菜油、亚油酸有极强的抗氧化作用, 能够明显地抑制猪油、菜油 POV 值的升高, 抑制亚油酸的氧化, 这种效果随着添加浓度的升高而增强。

参考文献:

- [1] 张德权, 台建祥, 付秦. 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.
- [2] 刘仲则. 黄酮类化合物心血管活性成分概述[J]. 中草药, 1987, 18(4): 34-36.
- [3] 朱丹, 袁芳, 孟坤, 等. 黄酮类化合物的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(6): 387-389.
- [4] 王威, 闫喜英, 王永奇, 等. 胡枝子属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2000, 31(2): 144-145.
- [5] 赵二芳, 张海容, 盖青青. 沙棘黄酮的测定及其抗氧化作用[J]. 化学研究与应用, 2003, 15(2): 284-286.
- [6] 陈乃东, 胡金蓉, 周守标, 等. 春花胡枝子黄酮的提取及抗氧化能力测定[J]. 中国林副特产, 2006, 84(5): 1-4.
- [7] 吴春, 陈林林. 菟丝子黄酮体外清除自由基活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(5): 553-556.
- [8] 赵继红, 梁宇, 颜达予. 黄酮类化合物抗氧化性的结构因素[J]. 北方工业大学学报, 2001, 13(1): 36-43.