

基于螯合机理的 桑叶提取物抗氧化活性研究

邹碧群^{1,2}, 张业¹, 王凯², 杨新平³, 义祥辉^{1,2,*}

(1. 桂林师范高等专科学校化学与工程技术系, 广西桂林 541001;

2. 广西师范大学化学化工学院, 广西桂林 541004;

3. 桂林医学院药学院, 广西桂林 541004)

摘要:用超声波提取法以及大孔树脂对桑叶进行初步提取, 得到三个提取物(I、II、III)。在对三个提取物进行DPPH自由基清除能力研究的基础上, 利用紫外吸收光谱法研究了桑叶提取物与 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 的螯合作用。结果表明, 三个桑叶提取物皆对DPPH自由基具有良好的清除效果, 提取物I、II对 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 具有良好的螯合作用, 提取物III仅对 Fe^{3+} 表现出良好的螯合作用。

关键词:桑叶, 抗氧化, 螯合

Study on antioxidant activity of extracts of *Morus alba* L. leaves based on chelation mechanism

ZOU Bi-qun^{1,2}, ZHANG Ye¹, WANG Kai², YANG Xin-ping³, YI Xiang-hui^{1,2,*}

(1. Department of Chemistry and Engineering Technology, Guilin Normal College, Guilin 541001, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China;

3. College of Pharmacy, Guilin Medical College, Guilin 541004, China)

Abstract: Leaves of *Morus alba* L. was extracted with ultrasonic wave, then was dealt with macroporous adsorption resin to get three extract I, II and III. Based on the study of scavenging activities of I, II and III against DPPH free radical, UV-vis spectroscopy was employed to study their chelation abilities with ferrous and iron ion. The results showed that all extracts exhibited good scavenging activities on DPPH free radical. Extract I and II showed favorable chelation abilities with both of ferrous and iron ion, while extract III demonstrated only good chelation ability with iron ion.

Key words: *Morus alba* L.; antioxidant; chelation

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2010)02-0065-03

自由基(free radical)通常指独立存在的带有未成对电子的原子或原子基团、分子或离子, 如 $O_2 \cdot^-$ 、 $HO \cdot$ 、 $ArO \cdot$ 等。人体生命活动进程中, 自由基发挥着重要的作用。正常情况下, 人体内自由基的产生和清除是平衡的, 一旦自由基产生过多或抗氧化体系出现故障, 体内自由基代谢就会出现失衡, 可引起蛋白质、核酸(DNA)变性, 导致细胞和组织器官损伤, 诱发各种疾病, 加速机体衰老^[1]。过渡金属阳离子是自由基生成强有力的催化剂, 它们可参与人体中的Fenton反应^[2], 将超氧化物转变为极其活跃的

羟自由基和氧自由基^[3]:



因此, 研究与开发既具有清除自由基能力, 又能够通过螯合过渡金属阳离子来阻止人体Fenton反应发生的抗氧化剂, 已经成为了抗氧化剂新的研究热点之一^[4-5]。桑叶始载于《神农本草经》, 为桑科落叶乔木桑树(*Morus alba* L.)的叶, 味苦、性寒, 有散风祛热、清肝明目等功效, 且含黄酮类化合物, 约占1%~3%^[6-7]。而黄酮类化合物正是一类天然抗氧化剂, 可以减少和清除自由基, 具有延缓人体衰老、防治疾病的作用^[8], 更重要的是部分黄酮类化合物还具有与金属离子螯合的能力, 抑制人体Fenton反应^[4]。基于上述背景, 本文在利用DPPH法对桑叶三个提取物自由基清除能力进行研究的基础上, 对其与铁离子以及亚铁离子的螯合性能进行了研究, 旨在为进一步研究桑叶的抗氧化活性奠定基础。

1 材料与方法

收稿日期: 2009-03-18 * 通讯联系人

作者简介: 邹碧群(1982-), 女, 硕士生, 从事药物合成和天然产物的研究与开发工作。

基金项目: 国家自然科学基金(20762001); 广西科技开发计划(桂科能05112001-3B2); 广西区教育厅科研项目(200507067、200807MS076、200807MS075)。

1.1 材料与仪器

桑叶 采自桂林师范高等专科学校生物园,自然干燥,粉碎过筛;大孔吸附树脂 天津市津科细化工研究所生产;其他试剂 均为分析纯。

JBT/FCT 型釜罐式超声波提取设备, KQ5200-B 型超声波清洗机, RE501 型旋转蒸发仪, SHB-III 循环水式真空泵, TU-1901 双光束紫外可见分光光度计, DJ 灵巧型粉碎机。

1.2 实验方法

1.2.1 桑叶不同提取物的制备 称 50.0g 粉碎的桑叶于 600mL 蒸馏水中, 85℃ 恒温, 置于超声波提取设备中提取 1h, 重复三次, 抽滤。减压浓缩滤液得 5.21g 膏状提取物 I, 收率 10.42%。把浸膏 I 以 1mL/min 的速度过大孔树脂柱, 水洗至无色, 浓缩得 1.35g 提取物 II, 收率 2.7%。继续用 80% 乙醇洗脱大孔树脂吸附物至完全, 浓缩得 2.48g 棕黑色微晶提取物 III, 收率 4.97%。

1.2.2 抗氧化活性的测定 采用 DPPH 法, 桑叶提取物对 DPPH 自由基的清除作用的测定见参考文献[9]。将各提取物浸膏配制成系列溶液, 测定待测桑叶提取液对 DPPH 自由基清除率, 并绘制 DPPH 自由基清除率对桑叶提取液浓度曲线式(1), 并以此计算 IC_{50} 值。

$$DPPH \cdot \text{自由基清除率}(\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\% \quad \text{式(1)}$$

式中: A_0 与 A_1 分别代表自由基在 517nm 时空白与样品对其作用后的吸光度。

1.2.3 螯合作用的测定 室温下, 将 I、II、III 分别配成 1mg/mL 的水溶液, 进行紫外光谱扫描。然后, 把铁离子、亚铁离子分别配制成不同浓度的溶液。分别移取各离子不同浓度的溶液 0.1mL, 加入到 3.9mL 提取物水溶液中, 混合振荡, 30min 后扫描紫外光谱, 由紫外光谱的变化探讨桑叶提取物与铁离子、亚铁离子的螯合情况。

2 结果与讨论

2.1 桑叶提取物对 DPPH 自由基的清除作用

IC_{50} 常用来比较清除 DPPH 自由基的能力大小, IC_{50} 值越低, 表明其清除自由基的能力越强, 抗氧化能力越强。结果表明, 桑叶提取物 I、II、III 的 IC_{50} 分别为 2.78、0.38、0.48mg/mL, 这说明了桑叶提取物对 DPPH 自由基有良好的清除作用。

2.2 桑叶提取物的紫外吸收光谱

由图 1 可以看出, 提取物 I 有 $\lambda_1 = 216.0\text{nm}$, $\lambda_2 = 271.0\text{nm}$ 这两个紫外吸收峰, 最大吸收波长、最大吸收值和质量吸收系数分别为 $\lambda_{\max} = 216.0\text{nm}$, $A_{\max} = 7.6$, $\varepsilon = 76\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; 提取物 II 有一个吸收峰, 吸收波长、吸收值和质量吸收系数分别为 $\lambda_{\max} = 206.0\text{nm}$, $A_{\max} = 4.3$, $\varepsilon = 43\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; 提取物 III 有三个吸收峰, 分别为 $\lambda_1 = 214.0\text{nm}$, $\lambda_2 = 272.0\text{nm}$, $\lambda_3 = 319.0\text{nm}$, 其中最大吸收波长、最大吸收值和质量吸收系数分别为 $\lambda_{\max} = 214.0\text{nm}$, $A_{\max} = 5.7$, $\varepsilon = 57\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。每个提取物的最大吸收峰的位置与黄酮类化合物的吸收值基本一致, 说明了桑叶提取物的主

要成分是黄酮类化合物^[10]。

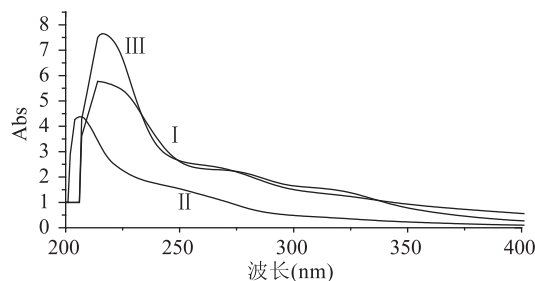


图 1 I、II、III 的紫外吸收谱

2.3 桑叶提取物与 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 的螯合作用

抗氧化剂与 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 的螯合作用很复杂, 目前一般可以通过紫外光谱法和荧光光谱法等来进行表征^[4]。本文中, 我们采用紫外光谱法。提取物 I、II、III 对不同浓度 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 螯合结果见图 2~图 4。由图 2 可见, 提取物 I 随着 Fe^{2+} 浓度的增加, 最大吸收峰发生红移, 吸收度也逐渐增加; 同时, 随着 Fe^{3+} 浓度的增加, 其最大吸收波长发生大范围红移。

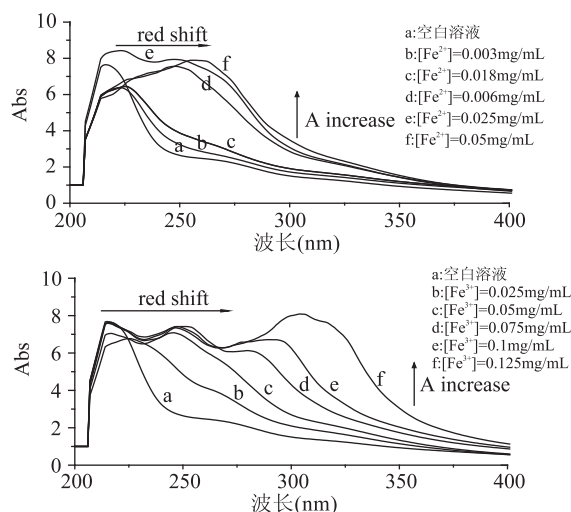


图 2 提取物 I 对 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 的螯合光谱

由图 3 可见, 提取物 II 的吸收峰随着 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 浓度的增加而发生红移现象, 吸收度也相应地增大, 并且产生新的吸收峰。

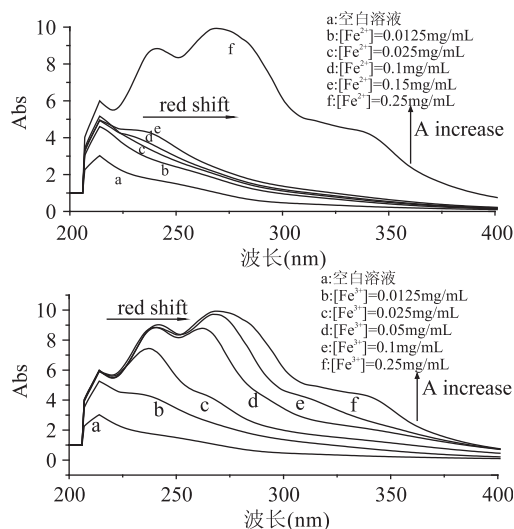


图 3 提取物 II 对 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 的螯合光谱

(下转第 69 页)

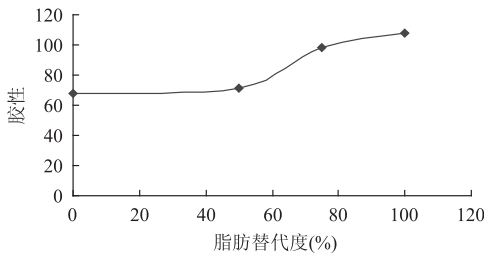


图6 不同脂肪替代度对冰淇淋胶性的影响

3 结论

小麦麸脂肪替代品替代冰淇淋中的脂肪后,冰淇淋硬度降低,冰淇淋粘附性、弹性、胶性增大,聚性有略微降低,但基本上能维持常规冰淇淋应有的细腻程度,总体说来小麦麸脂肪替代品对冰淇淋质构没有太大的不利影响。同时,小麦麸脂肪替代品属于纯天然的食品添加剂,制备工艺简单,应用效果明显,所以具有较好的应用前景。

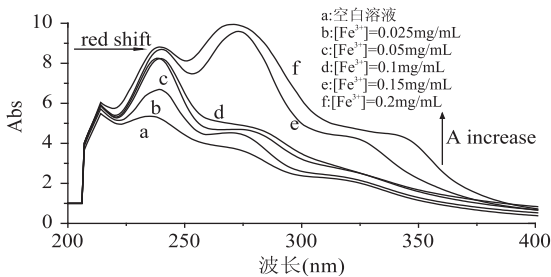
参考文献

- [1] 杨湘庆,沈悦玉,徐仲莉,等.冰淇淋中脂肪的理化性质及其主要功能[J].冷饮与速冻食品工业,2004,10(4):3-6.
- [2] 王秀军,张晖,王立.小麦麸皮淀粉水解工艺的研究[J].粮食与饲料工业,2009(1):20-21.
- [3] 王秀军,张晖,王立.小麦麸脂肪替代品的制备及其性质研究[J].粮食与油脂,2009(1):21-23.
- [4] 钱镭,付尧,霍贵成.质构分析仪对不同种类冰淇淋质地品质的研究[J].中国乳品工业,2007,35(6):42-44.
- [5] 钱镭,付尧,霍贵成.影响冰淇淋膨胀率主要的质构因素

- [J].食品工业科技,2007,28(10):113-115.
- [6] 文仁贵,扶雄,杨连生,等.脂肪替代品模拟脂肪的机理[J].中国油脂,2006,31(5):28-31.
- [7] 周建芹,罗发兴.碳水化合物模拟脂肪[J].食品科技,2001(1):15-17.
- [8] 卢蓉蓉,李玉美,许时婴,等.以酶法改性乳清蛋白为基质的脂肪替代品在冰淇淋中的应用[J].食品与机械,2006(5):23-26.
- [9] 卢蓉蓉,李玉美,许时婴,等.以乳清蛋白为基质的脂肪替代品对冰淇淋品质的影响[J].中国乳品工业,2007,35(1):31-34.
- [10] 郑建仙,李璇.以蛋白质为原料制备脂肪替代品的研究[J].食品工业,1998(3):6-8.
- [11] Ordonez M, Rovira J, Jaime I. The relationship between the composition and texture of conventional and low-fat frankfurters [J]. Food Science and Technology International, 2001, 36: 749-758.
- [12] Ruthif D J, Sider D, Mecking-Gill K A. Health benefits of dietary fat reducing by a novel fat replacer: Mimix [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2001, 2(5): 61-69.
- [13] 赵凯,张守文,方桂珍.低热量冰淇淋的开发研究[J].食品工业科技,2003,24(10):104-106.
- [14] 杨湘庆,沈悦玉,徐仲莉,等.冰淇淋中脂肪的理化性质及其主要功能[J].冷饮与速冻食品工业,2004,10(4):3-6.
- [15] Aime D B, Arntfield S D, Malcolmson L J, et al. Textural analysis of fat reduced vanilla ice cream products [J]. Food Research International, 2001, 34: 237-246.

(上接第66页)

由实验发现,提取物Ⅲ仅与 Fe^{3+} 发生螯合作用(图4),其吸收峰随着 Fe^{3+} 浓度的增加而发生相应的红移,且吸收度逐渐增大。

图4 提取物Ⅲ对 Fe^{3+} 的螯合光谱

总之,随着 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 浓度的增加,提取物的紫外特征吸收峰发生了红移现象,吸收度逐渐增大,说明桑叶提取物与 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 发生了螯合,生成了新的物质。由此可见,桑叶提取物是良好的螯合剂,可螯合 Fe^{2+} 或 Fe^{3+} ,防止其参与 Fenton 反应,能够间接降低了羟自由基和氧自由基的产生。

3 结论

实验结果表明,桑叶提取物对 DPPH 自由基有良好的清除作用,是一种良好的自由基清除剂;同时,桑叶提取物 I、II 对 Fe^{2+} 或 Fe^{3+} 具有很好的螯合作用,能间接降低了羟基自由基和氧自由基的产生,是良好的螯合剂,以上研究对桑叶进行基于抗氧化活性的进一步筛选具有重要的指导意义。

参考文献

- [1] 赵保路.氧自由基和天然抗氧化剂[M].北京:科学出版社,1999:53-382.
- [2] 陈媛,周玫.自由基医学[M].北京:人民军医出版社,1991:5-7.
- [3] Neyens E, Baeyens J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique [J]. Hazard Mater, 2003, 98: 33-50.
- [4] Leopoldini M, Russo N, Chiodo S, et al. Iron Chelation by the Powerful Antioxidant Flavonoid Quercetin [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54: 6343-6351.
- [5] Bermejo P, Piñero E, Villar Á M. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of Spirulina platensis [J]. Food Chem, 2008, 110: 436-445.
- [6] 张雁冰,王克让,刘宏民,等.桑叶中黄酮类化合物的分离提取及结构鉴定[J].中草药,2006,37(3):341-343.
- [7] 孙敏耀,唐照文,卢霞,等.分光光度法测定不同采收时间桑叶总黄酮[J].中草药,2004,35(10):1190-1191.
- [8] 方允中,郑荣梁.自由基生物学的理论与应用[M].北京:科学出版社,2002:592-620.
- [9] Pan Y M, Zhu J C, Wang H S, et al. Antioxidant activity of ethanolic extract of Cortex fraxini and use in peanut oil [J]. Food Chem, 2007, 103: 913-918.
- [10] 赵丽君,齐凤兰,瞿晓华,等.桑叶的营养保健作用及综合利用[J].中国食物与营养,2004(2):22-25.