

# 核桃壳抗氧化 和 清除活性氧自由基的研究

(青岛大学化学系, 青岛 266071) 胡博路 杭 瑚

**摘 要** 用化学发光法和硫代巴比妥酸法研究了核桃壳的抗氧化作用。结果表明, 核桃壳对超氧阴离子自由基  $O_2^{\cdot-}$  无清除作用, 但能清除羟基自由基  $OH\cdot$  并可有效地抑制脂质过氧化, 其正己烷、乙酸乙酯提取物抑制脂质过氧化的效果可与茶多酚相媲美。提示核桃壳含有良好的抗氧化物质, 如加以利用, 可变废为宝, 使核桃壳资源得到充分利用。

**关键词** 核桃壳 抗氧化 清除自由基 化学发光

**Abstract** Anti-oxidative effects of *Juglans regia* L. shell were measured using chemiluminescence and thiobarbituric acid method. The results showed that shell extracts could effectively scavenge  $OH\cdot$  but had no effects on  $O_2^{\cdot-}$ . Also, extracts could give significant resistance to the lipid peroxidation of linolenic acid, and extracts obtained with solvent hexane and ethyl acetate were as good as that of tea polyphenol. By extracting antioxidants from *Juglans regia* L. shell, we can make full use of resources of *Juglans regia* L. shell.

**Key words** shell of *Juglans regia* L.; anti-oxidative effects; radical scavenging; chemiluminescence

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A  
文章编号: 1002-0306(2002)03-0015-02

油脂及含油脂食品在贮存过程中, 油脂中的不饱和脂肪酸极易氧化, 造成食品色泽、风味及质地的改变, 损害消费者的身体健康。研究认为, 从饮食中摄入的脂类过氧化物或体内形成的脂类过氧化物和自由基是产生或诱发癌症和心脑血管病及人体老化的重要原因之一<sup>[1-3]</sup>, 防止此种危害的最经济有效的方法是添加高效抗氧化剂。传统的合成抗氧化剂已被证明有累积性致癌作用<sup>[4]</sup>, 天然抗氧化剂取代它们是必然趋势。

核桃是非常受人们喜爱的营养食品, 但核桃壳则多被弃置。本文用化学发光法和 TBA 法对核桃壳清除活性氧自由基及抑制脂质过氧化进行了研究。对于寻找新型高效天然抗氧化剂及进一步开发利用核桃壳有一定意义。

收稿日期: 2001-07-04

基金项目: 山东省自然科学基金资助

作者简介: 胡博路 (1964-), 女, 副教授, 研究方向: 应用物理化学。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

核桃取自山东临沂; 鲁米诺 德国 Merck-Schuchardt 公司产品; 茶多酚 福建松溪生物化工厂, 纯度 >95%; 硫代巴比妥酸、亚油酸、连苯三酚、抗坏血酸、硫酸铜、过氧化氢、乙醇、石油醚 (沸程 30~60℃) 等试剂 均为分析纯。

OX-7 型化学发光分析仪 日本;

UV-754 型分光光度计。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 核桃壳活性成分的提取** 称取 10g 粉碎后的核桃壳, 加入 50ml 石油醚于 25℃ 振荡浸泡 6h, 过滤, 滤渣再重复浸泡二次, 以除去其中的油脂、腊质、树脂等。石油醚挥发后将滤渣称重, 得产率为 97.2%。分别称取 5g 经石油醚处理后的核桃壳共四份, 按固液比为 1:10 分别加入水、乙醇、乙酸乙酯、正己烷, 40℃ 恒温振荡提取 6h, 过滤。滤渣再加等量溶剂同法提取一次, 合并滤液, 然后一分为二。一半减压浓缩至浸膏, 于 40℃ 真空干燥, 计算浸提率; 另一半减压浓缩并定容, 备用。

**1.2.2 产生  $O_2^{\cdot-}$  的化学发光体系** 参照文献<sup>[5]</sup>, 用化学发光法测定样品对碱性连苯三酚体系 (非酶体系) 产生的  $O_2^{\cdot-}$  的清除作用。具体方法: 在测定管中加入 5mmol/L 鲁米诺溶液 800 $\mu$ l (用 pH=10.16 0.1mmol/L 的  $Na_2CO_3$ - $NaHCO_3$  缓冲溶液配制), 加入不同量的供试液, 或用去离子水做空白对照, 混匀后, 加入 6mmol/L 连苯三酚溶液 100 $\mu$ l (用 10mmol/L HCl 配制), 迅速置于发光仪测定室中, 启动反应, 测定 5s 内发光强度的平均值, 每个样品平行做三次, 取平均值, 按下式计算样品液的清除率。清除率 (%) = { (空白对照值 - 样品值) / 空白对照值 }  $\times$  100%

**1.2.3 产生  $OH\cdot$  的化学发光体系** 按文献<sup>[6]</sup>报道, 采用抗坏血酸-CuSO<sub>4</sub>-酵母-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生的发光体系。具体方法: 1.8mmol/L 抗坏血酸 0.2ml, 1.8mmol/L CuSO<sub>4</sub> 溶液 0.4ml, 75mg/ml 酵母溶液 0.2ml (以上溶

液均用 50mmol/L pH6.2 的磷酸钠缓冲液配制), 0.6ml 磷酸钠缓冲液, 加入不同量的待测液, 注入 60mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 0.6ml, 快速混匀, 启动发光反应, 延迟 10s 后, 测出 15s 的积分发光强度。

1.2.4 亚油酸脂质过氧化体系 以过氧化脂质代谢产物丙二醛 (MDA) 作为检测脂质过氧化物 (LPO) 含量的指标, 用硫代巴比妥酸法 (TBA 法)<sup>7)</sup>测定。

配制 0.5% 的亚油酸溶液共六份作为底物, 其中一份不加任何抗氧化剂作为空白对照, 另五份中分别加入占底物质量 0.02% 的四种溶剂核桃壳提取物及茶多酚, 混匀。将上述各试样置于培养箱中于 40±1℃ 下恒温培养, 定时取样用 TBA 法测定丙二醛的生成量。其生成量的多少以吸光度 A 值表示。A 值越小, 表明对脂质过氧化反应的抵制作用越强。

## 2 结果与分析

### 2.1 对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除作用

实验表明, 核桃壳对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 自由基无清除作用 (数据略)。

### 2.2 对 OH· 的清除作用

羟自由基 (OH·) 是最活泼也是最具危害性的自由基, 往往也最难清除, 已发现许多抗氧化物质清除 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, 但却不能清除 OH·<sup>[8]</sup>。实验发现, 核桃壳对 OH· 有清除作用, 其结果见图 1。

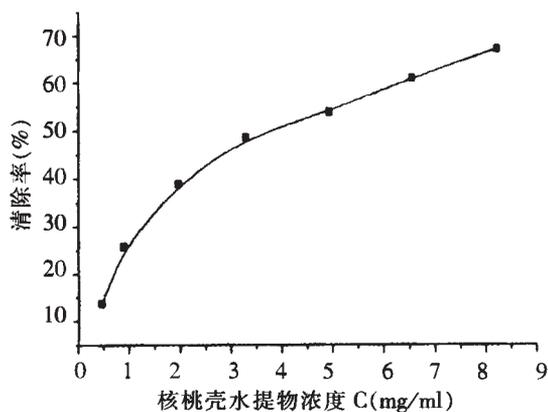


图 1 核桃壳对 OH· 的清除作用

由图 1 可见, 核桃壳能显著地清除 OH· 自由基, 并具有量效关系, 其 CI<sub>50</sub> 为 3.70mg/ml。

### 2.3 对脂质过氧化反应的抑制作用

不同溶剂的核桃壳提取物对亚油酸脂质过氧化的抑制效果见图 3。

由图 3 可知, 核桃壳的水、乙酸乙酯、正己烷提取物对亚油酸脂质过氧化均有一定的抑制作用; 乙醇提取物开始时略有抑制作用, 随时间增长显示出促氧化效果, 表现为图中其吸光度值比同期空白样还要高。四种提取物抑制脂质过氧化能力依次为正己烷>乙酸乙酯>水>乙醇。其中正己烷、乙酸乙酯提取物的抑制效果非常好, 甚至可与同浓度的茶多酚相媲美。

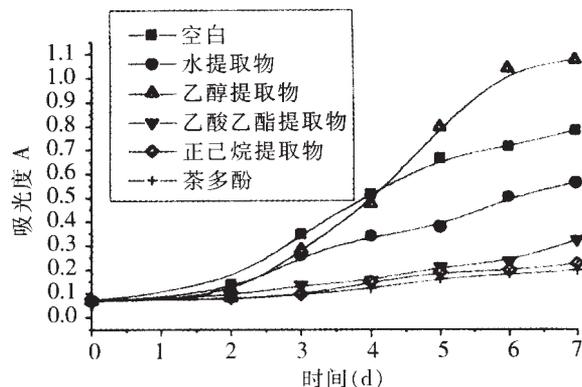


图 2 对亚油酸脂质过氧化的抑制作用

## 3 讨论

### 3.1 由自由基引发的对机体的各种氧化损伤中, 脂质过氧化反应被认为是主要的损伤

它以链式反应的形式不断地形成脂质过氧化物, 后者的分解产物能引起细胞成分的损伤, 最终导致细胞功能和结构的改变。本文采用亚油酸自氧化体系观察核桃壳提取物对脂质过氧化的抑制作用。实验结果表明, 核桃壳提取物可有效地抑制亚油酸的脂质过氧化, 其中以正己烷和乙酸乙酯提取物的抑制效果为好, 可与同浓度的茶多酚相媲美。

### 3.2 清除自由基是抗氧化剂发挥抗氧化作用的主要机制

为了探讨核桃壳提取物抑制脂质过氧化反应的机理, 本文利用化学发光法检测了核桃壳对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 OH· 的清除作用, 实验表明核桃壳能有效地清除 OH·, 而对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 无清除作用, 提示核桃壳可能主要是通过清除 OH· 自由基来达到其抑制脂质过氧化目的的。鉴于核桃壳多被弃置, 如能从中提取抗氧化物质, 则可变废为宝, 更充分、合理地利用资源。

### 参考文献

- 1 陈可冀主编. 抗衰老中药学 (第一版) 北京: 中医古籍出版社, 1989.82~86
- 2 程伯基. 氧化还原循环和超氧负离子的产生. 生理科学, 1989, 9 (4): 14~17
- 3 莫简主编. 医用自由基生物学导论. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 21~25
- 4 詹沛鑫. 食品与发酵工业, 1996, (2) 30
- 5 龙盛京, 覃爱娟, 李毅. 食用豆匀浆液抗活性氧研究. 食品科学, 1994 (9): 50~52
- 6 陈季武, 胡天喜. 测定 OH· 产生与清除的化学发光体系. 生物化学与生物物理进展, 1992, 19 (2): 136~140
- 7 黄雪松, 王建华, 等. 生姜抗氧化作用的研究. 食品工业科技, 1997 (4): 16~17
- 8 陈季武, 胡天喜. 大黄清除活性氧的作用. 中国药学杂志, 1996, 31 (8): 461~463