

桃叶鸦葱鞣质的提取及体外抗氧化作用

杨辉, 王治宝*

(河北北方学院 药学系, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 测定桃叶鸦葱根及地上部分中鞣质的含量, 考察鞣质抗氧化活性。方法: 采用正交设计优化鞣质提取工艺, 采用络合滴定法测定鞣质含量。采用碘量法测定 0.01~0.05 g·mL⁻¹ 鞣质对过氧化氢(H₂O₂)的作用, 采用分光光度法测定其对羟自由基(·OH)的作用。结果: 桃叶鸦葱根及地上部分中鞣质含量分别为 8.18% 和 9.27%。桃叶鸦葱鞣质的体外抗氧化具一定的剂量依赖性, 质量浓度为 0.05 g·mL⁻¹ 时对 H₂O₂ 及·OH 的平均清除率分别达到 8.89%, 88.24%。结论: 桃叶鸦葱鞣质有一定抗氧化作用。

[关键词] 桃叶鸦葱; 鞣质; 正交试验; 抗氧化; 过氧化氢; 羟自由基

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0244-03

Extraction and Antioxidative Activity of Tannins from *Scorzonera Sinensis*

YANG Hui, WANG Zhi-bao*

(Pharmacy Department, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of tannins in above and under ground parts of scorzonera sinensis. To observe antioxidative activity of tannin from scorzonera sinensis. **Method:** The complexometric titration was used to determine the content of tannins. Iodometric and spectrophotometry were used to determine the effects of tannins on H₂O₂ and ·OH. **Result:** The tannins in above and under ground parts of scorzonera sinensis was 8.18% and 9.27% accordingly. With the Concentration of 0.05 g·mL⁻¹, the clearance rates on H₂O₂ and ·OH were 8.89% and 88.24%. **Conclusion:** Tannins of scorzonera sinensis have a strong ability to resistance oxidation.

[Key words] Scorzonera sinensis; tannin; orthogonal design; antioxidative; H₂O₂; hydroxyl radical

桃叶鸦葱是菊科植物桃叶鸦葱的干燥全草, 广泛分布于内蒙古、河北、辽宁等地。具有清热解毒、解毒疗疮的功效, 民间多用于外感风热、疗毒恶疮、乳痈等的治疗。桃叶鸦葱主要有苯丙素、木脂素及其苷、倍半萜及其苷、三萜及其苷和黄酮等成分^[1-3]。目前尚无桃叶鸦葱中鞣质方面的报道。

本实验运用正交设计方案, 对桃叶鸦葱鞣质的提取工艺进行了优选, 采用络合滴定法测定并对比了桃叶鸦葱根和地上部分的鞣质含量, 并考察了桃叶鸦葱鞣质体外抗氧化作用。

1 材料

1.1 样品与试剂 药材桃叶鸦葱采自河北赤城县, 由河北北方学院中药鉴定室赵恒成教授鉴定为桃叶鸦葱 *Scorzonera sinensis* Lipsch. 邻二氮菲, 天津市化学试剂研究所, 批号 20091415; 其余试剂均为国产分析纯, 实验用水为去离子水。

1.2 仪器 UV2100 型紫外-可见分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司], 中兴高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司), BP211D 1/10 万电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

[收稿日期] 20120319(018)

[基金项目] 张家口市科技计划攻关项目(11110017D)

[第一作者] 杨辉, 硕士, 讲师, 从事中药化学教学研究, Tel: 18931316112, E-mail: yangkcer@163.com

[通讯作者] *王治宝, 学士, 高级实验师, 从事中药化学教学研究, Tel: 18931316763, E-mail: tom123609@sohu.com

2 方法

2.1 桃叶鸦葱鞣质提取^[4] 分别称取桃叶鸦葱根和地上部分粗粉 10 g,各 9 份,在单因素分析的基础上,选用不同浓度的乙醇溶液为提取溶剂,选取料液比,提取时间,乙醇浓度 3 个因素,并各设置 3 个水平,按 $L_9(3^4)$ 正交表设计实验方案,采用常温超声波提取,提取液过滤后,浓缩,定容至 100 mL。水平因素见表 1,正交表见表 2。

表 1 提取工艺正交试验的因素与水平

水平	因素			D 空白
	A 料液比	B 乙醇浓度 /%	C 提取时间 /min	
1	1:10	30	30	-
2	1:20	50	60	-
3	1:30	70	120	-

2.2 含量测定^[5] 精密量取鞣质提取液 50 mL,于水浴中温热至 33 ~ 37 °C。精密量取 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸锌溶液 4 mL 于 100 mL 容量瓶中,加浓氨水 2.8 mL,摇匀至黄色沉淀完全溶解。将前液定量移入容量瓶中,并不断振摇,加蒸馏水稀释至刻度,继续振摇 1 min,再置于 33 ~ 37 °C 水浴中继续温热 30 min (间歇振摇数次)取出,冷至室温,摇匀后过滤得样品液。精密量取样品液 20 mL 置于锥形瓶中,加蒸馏水 130 mL, $\text{NH}_3 \cdot \text{NH}_4\text{Cl}$ 缓冲液 (pH 10) 11.25 mL, 铬黑 T 指示剂少许,摇匀,用 EDTA-2Na 标准溶液滴定至溶液由紫变蓝,结果用空白校正。按下式计算鞣质含量:

$$\text{鞣质} = 0.1556 \times (V_0 - V_s) \times M \times 20 / W \times 100\%$$

式中: V_0 为空白消耗 EDTA-2Na 的量; V_s 为样品液消耗 EDTA-2Na 的量; M 为 EDTA-2Na 的浓度; W 为样品质量

2.3 验证实验 分别称取桃叶鸦葱根和地上部分粗粉 10 g,各 3 份,依据所选最佳条件,提取鞣质并进行含量测定。

2.4 桃叶鸦葱鞣质体外抗氧化研究

2.4.1 供试样品的制备 取一定量的桃叶鸦葱根粗粉,按照所选最佳条件提取鞣质,减压浓缩,定容到每毫升相当于 0.05 g 鞣质。

2.4.2 对 H_2O_2 的影响 采用碘量法^[6] 测定。每个样品平行测定 3 次,取其平均值。结果按下式计算:

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 清除率 } E = (V_1 - V_2) / (V_1 - V_0) \times 100\%$$

式中: V_0 为阴性对照消耗 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的体积 (mL); V_1 为阳性对照消耗 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的体积 (mL); V_2 为样品消耗 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的体积 (mL)。

2.4.3 对 $\cdot\text{OH}$ 的影响 根据文献[7]进行,并稍作修改。每个样品平行测定 3 次,取其平均值。结果按下式计算:

$$\cdot\text{OH} \text{ 清除率 } (E) = (A_2 - A_1^1) / (A_1 - A_1^1) \times 100\%$$

式中: A_2 为样品的吸光度; A_1^1 为溶剂的吸光度; A_1 为对照组的吸光度。

3 结果

3.1 正交试验结果 由表 2 可知超声提取桃叶鸦葱根中鞣质的最佳工艺条件为 $A_3B_2C_3$, 即液料比为 30:1,乙醇浓度为 50%,提取 120 min。方差分析见表 3,表明从桃叶鸦葱根中提取鞣质以液料比影响最大,其次为提取时间,乙醇浓度影响最小。超声提取桃叶鸦葱地上部分鞣质的最佳工艺条件为 $A_2B_2C_1$, 即液料比为 20:1,乙醇浓度为 50%,提取 30 min。方差分析见表 4,表明从桃叶鸦葱地上部分提取鞣质以乙醇浓度影响最大,其次为液料比,提取时间影响最小。

表 2 提取工艺正交试验设计及结果 ($n=3$)

试验号	A	B	C	D	提取率 %/根	提取率 %/地上
1	1	1	1	1	5.17	7.40
2	1	2	2	2	5.43	9.07
3	1	3	3	3	6.08	6.75
4	2	1	2	3	6.32	8.57
5	2	2	3	1	8.15	9.25
6	2	3	1	2	7.08	8.87
7	3	1	3	2	8.11	6.75
8	3	2	1	3	8.16	9.01
9	3	3	2	1	7.89	7.13
根 K_1	5.560	6.533	6.803	7.070		
K_2	7.183	7.247	6.547	6.873		
K_3	8.053	7.017	7.447	6.853		
Ra	2.493	0.714	0.900	0.217		
地上 K_1	7.740	7.573	8.427	7.927		
K_2	8.897	9.110	8.257	8.230		
K_3	7.630	7.583	7.583	8.110		
Rb	1.267	1.537	0.844	0.303		

表 3 桃叶鸦葱根中鞣质提取率方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	P
料液比	9.609	2	111.733	19	0.05
醇浓度	0.795	2	9.244	19	
提取时间	1.29	2	15	19	
误差	0.09	2			

表 4 桃叶鸦葱地上部分中鞣质提取率方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	P
料液比	2.954	2	21.1	19	0.05
醇浓度	4.692	2	33.514	19	0.05
提取时间	1.193	2	8.521	19	
误差	0.14	2			

3.2 验证实验 验证试验结果表明桃叶鸦葱根及地上部分的鞣质平均含量为 8.18% ($n=3$, RSD = 2.43%) 和 9.27% ($n=3$, RSD = 1.15%)。

3.3 桃叶鸦葱鞣质体外抗氧化作用

3.3.1 对 H_2O_2 的影响 由表 5 可知,桃叶鸦葱鞣质对 H_2O_2 有一定的清除作用,并呈现一定的剂量依赖关系,但清除作用较弱。

3.3.2 对 $\cdot OH$ 的影响 由表 5 可知,桃叶鸦葱鞣质对 $\cdot OH$ 有较强的清除作用,并呈现一定的剂量依赖关系。

表 5 桃叶鸦葱鞣质对 H_2O_2 及 $\cdot OH$ 的影响

组别	鞣质质量浓度 /g·mL ⁻¹	H_2O_2 的清除率 /%	$\cdot OH$ 的清除率 /%
1	0.01	2.51	12.44
2	0.015	3.76	21.76
3	0.02	3.79	30.64
4	0.025	4.02	65.58
5	0.03	5.50	72.13
6	0.04	6.77	81.34
7	0.05	8.89	88.24

桃叶鸦葱地上部分及根中鞣质含量较高,通过正交试验所得提取工艺具有良好的稳定性,桃叶鸦葱鞣质具有一定体外抗氧化作用。

4 讨论

络合滴定法是利用鞣质分子中多个邻位酚羟基可作为多基配体与一个中心离子络合,形成环状螯合物,在不同 pH 下发生沉淀反应,通过用 EDTA 反滴定过量金属离子来确定总鞣质的含量,该法准确

度和精确度高^[8]。因此本实验采用络合滴定法对桃叶鸦葱鞣质进行定量分析。

鞣质具有较强的极性并且稳定性较差,遇酸碱和高温均易降解,因此本实验采用常温超声提取桃叶鸦葱鞣质,可以提高鞣质的提取率。

近年来研究发现鞣质的药理作用包括收敛作用、抑制肝脏线粒体和微粒体的脂质过氧化、抗诱变、降低血中尿素氮浓度、抑制纤维蛋白溶酶活性、抗菌和抗病毒、抗肿瘤和抗癌变作用等^[9]。本实验研究发现桃叶鸦葱根及地上部分鞣质含量均较高,并有一定抗氧化作用。桃叶鸦葱安全无毒,为药食两用的植物,该实验为将桃叶鸦葱开发为抗氧化剂及功能食品提供了一定的依据。

[参考文献]

- [1] 王斌,李国强,管华诗. 蒙古鸦葱挥发油成分元素的 GC-MS 和 ICP [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10):2364.
- [2] Paraschos Sotiris, Magiatis Prokopios, Kalpoutzakis Eleftherios, et al. Three new dihydroisocoumarins from the greek endemic species scorzonera cretica [J]. Nat. Prod, 2001, 64(12):1585.
- [3] Christian Zidorn, Ernst P Ellmerer, et al. Tyrolobibenzyls E and F from scorzonera humilis and distribution of caffeic acid derivatives, lignans and tyrolobibenzyls in European taxa of the subtribe Scorzonerinae (Lactuceae, Asteraceae) [J]. Phytochemistry, 2003, 63(1):61.
- [4] 郑明昱,郑玲玲,温丽颖,等. 老鹳草鞣质超声循环提取工艺研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12):7.
- [5] 万祺,龙凌云,裴月湖,等. 旋覆花中鞣质的含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(11):2758.
- [6] 彭雪萍,马庆一,刘艳芳,等. 苹果废渣中天然抗氧化物的提取、分离及活性研究 [J]. 食品工业科技, 2006, 27(11):111.
- [7] 曹燕,庞市宾,徐磊,等. 金鸡菊提取物体外抗氧化活性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12):144.
- [8] 蔺桂华,贾敏如. 四川产九牛造中总鞣质和没食子酸的含量测定 [J]. 华西药学杂志, 2000, 15(4):306.
- [9] 徐勤. 鞣质的研究进展 [J]. 华夏医学, 2004, 17(1):113.

[责任编辑 何伟]