

滇橄榄的总黄酮含量和 SOD 活性研究

郭蕴苹, 杨 硕, 殷 睿, 姚建菊, 杨荣珺, 柳 波
(昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500)

[摘要] **目的** 研究滇橄榄系列产品的总黄酮含量和 SOD 活性. **方法** 分别测定滇橄榄鲜果、干果、干粉和鲜榨汁有效成分, 总黄酮量的测定采用 UV-VIS 分光光度法; SOD 活性测定采用氮蓝四唑 (NBT) 法; 结果处理采用 SPSS 软件统计分析. **结果** 滇橄榄干果的总黄酮含量和干粉的 SOD 活性分别为 2 145.39 mg/100 g、2 029.8 NU/g, 不同产品中总黄酮含量和 SOD 活性比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$). **结论** 滇橄榄不同产品中总黄酮含量和 SOD 活性不同, 干果和干粉较高, 具有较好加工性和贮存能力.

[关键词] 滇橄榄; 总黄酮; 超氧化物歧化酶

[中图分类号] R915 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 06 - 0035 - 04

Study on the Content of Total Flavonoid and SOD Activity in Fructus Phyllanthi

GUO Yun - ping, YANG Shuo, YIN Rui, YAO Jian - ju, YANG Rong - jun, LIU Bo
(School of Pharmaceutic Science and Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To study the content of total flavonoid and SOD activity in Fructus phyllanthi and its products. **Methods** We determined the content of total flavonoids in Fructus phyllanthi and its products by employing the UV-VIS spectrophotometric method with the rutin as a control. We also measured SOD activities by using NBT method. **Results** The level of total flavonoid in dried Fructus phyllanthi powder and its SOD were 2145.39 mg/100g and 2029.8 NU/g, respectively. The content of total flavonoid and SOD activities have significant difference between different products. **Conclusion** Fructus phyllanthi has stable properties which are good to commercial production and storage

[Key words] Fructus phyllanthi; Total flavonoid; SOD

滇橄榄 (Fructus phyllanthi) 又名余甘果, 系大戟科叶下珠属植物余甘子 (Phyllanthus emblica Linn) 的果实, 广泛分布于我国西南和东南多个省区. 滇橄榄作为一种重要的药食两用植物资源, 收载于 1974 年版《云南省药品标准》、1978 年版《藏药标准》、1977 年至 2005 年版《中华人民共和国药典》, 在我国中草药和民族药等传统中药体系中, 有十分悠久的历史^[1]. 滇橄榄除风味独特, 营养丰富, 含有多种维生素、氨基酸和微量元素外, 还含有大量的超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)^[2]及黄酮类化合物^[3]. 因此滇橄榄具有抗氧化、清除自由基、抗肿瘤、防衰老等作用^[4].

云南省是全国野生滇橄榄分布最广、产量最高的省, 据调查统计有成片滇橄榄林达 60 ~ 70 万亩, 适生面积达 300 万亩以上, 年产鲜果大约万吨左右^[5]. 目前, 云南省的余甘子尚未被充分开发, 资源利用率低, 随着经济发展, 它具有良好的市场前景. 本文通过对滇橄榄鲜果、干果、干粉和鲜榨汁总黄酮含量及 SOD 活性的分析, 为滇橄榄的综合利用提供一些指导信息.

1 材料与方法

1.1 材料

[基金项目] 昆明医学院本科生创新基金资助项目 (CX201006)

[作者简介] 郭蕴苹 (1962~), 女, 云南玉溪市人, 医学硕士, 副教授, 主要从事植物有机化学的研究工作.

[通讯作者] 柳波. E-mail:liukaibaobao@yahoo.com.cn

新鲜滇橄榄产自于云南元谋县。芦丁对照品(中国医药集团贵州生物试剂公司提供),无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、核黄素、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、甲硫氨酸、氮蓝四唑均为国产分析纯。

1.2 仪器

EL-204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)、Z64-1 真空干燥箱(北京试验设备厂),SHB-III A 循环水式多用真空泵(上海豫康科教仪器设备有限公司),8500 型 UV-VIS 分光光度计(上海天美科学仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品制作 (1) 干粉样品:选用云南元谋新采摘的滇橄榄为原料,经去除霉烂果子,洗净后,破碎、脱核,取滇橄榄果肉 250 g,75%乙醇索氏提取,连续回流 3 次,对所得滤液进行减压浓缩、真空干燥制取干粉,保存;(2) 干果样品:选用云南元谋新采摘的滇橄榄为原料,经去除霉烂果子,洗净去核后,取滇橄榄果肉 200 g,使用自然风干的方法晒成干果,采用 75%乙醇索氏提取,连续回流 3 次,提取干果试液,低温保存;(3) 鲜果样品:选用云南元谋新采摘的滇橄榄为原料、经去除霉烂果子,洗净后,破碎、脱核,取滇橄榄果肉 100 g,用 75%乙醇索氏提取,连续回流 3 次,提取鲜果试液,低温保存;(4) 鲜榨汁样品:选用云南元谋新采摘的滇橄榄为原料,经去除霉烂果子,洗净后,破碎、去核,按样品:75%乙醇=1:1 加乙醇打浆,过滤得到滇橄榄果汁,低温保存。

1.3.2 标准曲线的制作 精确称取 120 °C 减压干燥至恒重的芦丁对照品 10.00 mg,用 30%的乙醇溶液溶解后转移至 100 mL 容量瓶内,用 30%的乙醇溶液稀释至刻度配成 0.100 0 mg/mL 的对照品溶液。

精确吸取对照品溶液 0.00、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 分别置于 10 mL 比色管中。用 30%乙醇补充至 5.00 mL,加入 0.30 mL 5%NaNO₂,摇匀,放置 5 min 后,加入 0.30 mL 10%Al(NO₃)₃,摇匀,放置 6 min 后,再加入 2 mL 4%NaOH 溶液,混匀,加 30%乙醇至刻度后摇匀,静止 10 min,以溶剂为空白参比,测得该标准品在 UV-VIS 的最大吸收波长为 500 nm,在 500 nm 波长下分别测定吸光度,以对照品浓度为横坐标,吸光度(A)为纵坐标做标准曲线(见图 1)。

1.3.3 样品中总黄酮含量及 SOD 活性的测定 (1) 样品测试液配置:分别取 1.3.1 制好的样品,用 30%的乙醇溶液溶解后转移至 100 mL 容量瓶内,

用 30% 的乙醇溶液稀释至刻度配成样品溶液;(2) 样品总黄酮含量的测定:精确吸取各样品溶液 1.00 mL 分别置于 10 mL 比色管中,按照标准曲线的配置方法,以溶剂为空白参比,在 500 nm 波长下分别测定吸光度,从标准曲线上读出样品浓度,从而计算样品的质量百分含量;(3) SOD 活性的测定:①测定空白溶液的 A_{CK}(照光对照管的吸光度)值:配制空白溶液,560nm 处测定吸光度。空白溶液的配制:取 0.50 mL pH7.5 的磷酸盐缓冲液于 10.00 mL 刻度比色管中,加入 0.30 mL 0.050 mmol/L 核黄素,0.25mL 0.02mol/L 甲硫氨酸,0.25 mL 0.51 mmol/L 氮蓝四唑和 1.00 mL 30%的乙醇溶液,再加去离子水定容至 5.00 mL,摇匀,40 W 日光灯照射 20 min,于 560 nm 处测定吸光度,得到 A_{CK} 值。②测定样品溶液的 A_E(样品的吸光度)值:配制鲜果、干果、果汁、干粉样品液:分别取样品测试液 1.00 mL 于 10.00 mL 刻度比色管中,其余试剂与空白溶液相同,同等条件下测定吸光度,通过公式计算其 SOD 值。

$$\text{SOD 总活性} = \frac{(A_{CK} - A_E) \times V}{A_{CK} \times 0.5 \times W \times a}$$

1.4 统计学处理

数据采用 SPSS 统计软件进行统计学处理,方差分析法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 标准曲线制作

用紫外分光光度计在波长 $\lambda_{\text{max}} = 500 \text{ nm}$ 处测吸光度,以芦丁对照品浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标制作标准曲线(见图 1)。

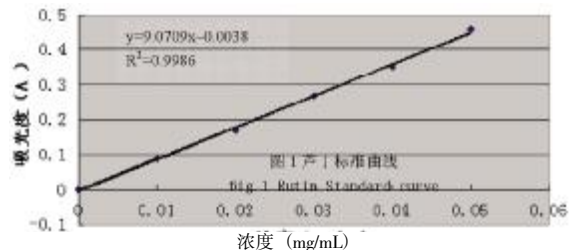


图 1 芦丁标准曲线

Fig. 1 Rutin Standard curve

2.2 样品总黄酮含量测定

滇橄榄干粉、干果、鲜果和鲜榨汁总黄酮含量测定结果见表 1,表中同时列出按照鲜果重量计算出的总黄酮含量。

4 种性状的滇橄榄所含的总黄酮含量分别测定了 4 次, 结果经方差分析 $F = 2915.30$, $P < 0.01$, 差异有统计学意义, 说明 4 种性状的滇橄榄所含的总黄酮含量不全相同, 见表 1.

2.3 SOD 活性的测定

使用氮蓝四唑 (NBT) 法测定滇橄榄样品 SOD 活性结果见表 2, 表中分别列出按样品重量和按鲜果重量折算的结果.

4 种性状的滇橄榄所含的 SOD 分别测定了 4 次, 结果经方差分析 $F = 304.81$, $P < 0.01$, 差异有统计学意义, 说明 4 种性状的滇橄榄所含的 SOD 不全相同, 见表 2.

2.4 样品有效成分比较

根据表 1 及表 2 测定结果对滇橄榄干果、干粉和果汁中有效成分的变化与鲜果进行对照比较结果见表 3.

表 1 总黄酮含量 $[(\bar{x} \pm s)$, mg/100 g]

Tab. 1 The content of total flavonoid $[(\bar{x} \pm s)$, mg/100 g]

样品名称	测定次数 (n)	总黄酮含量 $(\bar{x} \pm s)$	总黄酮含量 (按鲜果折算) $(\bar{x} \pm s)$
滇橄榄干粉	4	1 852.18 \pm 9.93	396.18 \pm 13.82
滇橄榄干果	4	2 145.39 \pm 6.85	770.11 \pm 10.52
滇橄榄鲜果	4	988.50 \pm 5.70	988.50 \pm 5.70
滇橄榄鲜榨汁	4	1 578.67 \pm 7.34*	846.36 \pm 4.10*

4 组比较, * $P < 0.05$.

表 2 SOD 活性 $[(\bar{x} \pm s)$, NU/g]

Tab. 2 The activity of SOD $[(\bar{x} \pm s)$, NU/g]

样品名称	测定次数 (n)	SOD 活性 (平均值)	SOD 活性 (按鲜果折算)
滇橄榄干粉	4	2 029.8 \pm 45.32	434.3 \pm 8.15
滇橄榄干果	4	1 682.5 \pm 36.58	593.0 \pm 4.22
滇橄榄鲜果	4	8 76.6 \pm 33.83	876.6 \pm 33.83
滇橄榄鲜榨汁	4	1 407.2 \pm 22.53*	745.4 \pm 26.25*

4 组比较, * $P < 0.05$.

表 3 总黄酮含量、SOD 活性与鲜果的对比

Tab. 3 Changes of the content of total flavonoid and the activity of SOD

样品名称	总黄酮含量 (%)	SOD 活性 (%)
滇橄榄干粉	40.1	49.5
滇橄榄干果	82.2	67.6
滇橄榄鲜果	-	-
滇橄榄鲜榨汁	90.4	85.0

3 讨论

滇橄榄鲜果中所含的总黄酮和 SOD 从表 1、表 2 中可以看出是最低的, 是因为鲜果含有大量水分所致, 同时鲜果也含有单宁类成分^[6]使食用时苦涩味重, 直接药用或食用价值较低. 果汁中含有的有效成分相对高一些, 可以看出果汁在加工过程中与鲜果相比有效成分变化较小, 可以通过单宁酶对单宁进行处理^[7]来改善口感. 干粉和干果通过加工后虽然有效成分损失较大尤其是干粉超

过了 50%, 但按样品干重计算却含有更高的有效成分, 无论是药用还是食用都有更高的价值. 滇橄榄中的 SOD 耐热、耐酸、耐贮藏, 与一般 SOD 性质截然不同^[8], 在很多植物中黄酮类物质起主要的抗氧化作用在滇橄榄中却表现出较好稳定性, 原因是滇橄榄富含的多酚类物质表现出与抗氧化活性显著的线性相关性^[9], 在加工或贮存过程中很好地保护了总黄酮和 SOD, 使得滇橄榄在加工和贮存之后保持很高的生物活性.

滇橄榄具有很好的加工性和贮存能力, 在药品和保健食品开发方面具有较大的潜力.

[参考文献]

- [1] 师冰, 徐榕雪, 牛云壮, 等. 余甘子的现代研究和开发利用[J]. 云南中医中药杂志, 2006, 27(3): 76-77.
- [2] 刘凤书. 余甘果抗衰老作用的研究: 余甘果中超氧化物歧化酶的活性测定[J]. 食品科学, 1991, (3): 1-3.
- [3] 蔡英卿, 赖钟雄, 许婉珍, 等. 余甘子各器官总黄酮含量分析[J]. 热带作物学报, 2005, 26(1): 79-83.

- [4] 李秀丽,叶峰,俞腾飞. 余甘子的药理研究进展[J]. 时珍国医国药,2006,17(2):266-267.
- [5] 吴荣书,戈振扬. 滇橄榄系列产品的开发利用[J]. 农牧产品开发,1996,10:13-15.
- [6] 吴雪辉,谢治芳,黄永芳. 余甘子的化学成分和保健功能作用[J]. 中国野生植物资源,2003,22(6):69-71.
- [7] 郭鲁宏,杨亚力,金丹,等. 黑曲霉单宁酶产生菌的筛选及处理滇橄榄汁的研究[J]. 天然产物研究与开发,2006,18(4):16-18.
- [8] 程伟贤,陈鸿雁,张义平,等. 余甘子功能食品的开发及其类SOD活力测定 [J]. 食品与生物技术学报,2006,25(4):113-115
- [9] 刘晓丽,赵谋明. 余甘子果汁活性成分与抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业,2006,32(5):151-154.
(2012-03-24 收稿)

(上接第 34 页)

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中国药典2010版一部1.2版 [M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:106.
- [2] 陈国栋. 冬虫夏草类生态、培植应用[M]. 北京:科学技术出版社,1995:91-100.
- [3] 许超德. 冬虫夏草的研究进展[J]. 菌物研究,2006,4(2):60.
- [4] 魏鑫丽,印象初,郭英兰,等. 冬虫夏草及其相关类群的分子系统学分析[J]. 菌物学报,2006,25(2):192-202.
(2012-03-03 收稿)