

菠菜提取物抗氧化性研究

徐清萍, 安广杰, 王素珍

(郑州轻工业学院食品与生物工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 本文研究了菠菜的抗氧化性。采用不同极性溶剂对菠菜中的抗氧化性物质进行提取, 测定不同极性提取物中的总酚、总黄酮含量及 DPPH 自由基清除率, 发现 95%乙醇提取效果最好。95%乙醇提取率为 4.96%; 总酚含量为 39.60 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 样品; 总黄酮含量为 17.53 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 样品; 终浓度 0.5 mg/mL 时对 DPPH 自由基的清除率为 62.09%。

关键词: 菠菜; 抗氧化; 总酚; 总黄酮; DPPH

中图分类号: TS218; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)02-0031-03

Antioxidant Activity of Spinach Extracts

XU Qing-ping, AN Guang-jie, WANG Su-zhen

(School of Food and Biological engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China.)

Abstract: Antioxidant activity of spinach extracts was studied in this paper. Antioxidants from spinach were extracted by different polar organic solvent and the total phenolic compounds, total flavones and DPPH radical scavenging activity were all determined. It was found that the optimal ethanol concentration was 95%, with which the extracting ratio, content of total phenolic compounds and content of total flavones reached 4.96%, 39.60 $\mu\text{g}/\text{mg}$ and 17.53 $\mu\text{g}/\text{mg}$, respectively. Besides, DPPH radical scavenging capacity was 62.09% in 0.5 mg/mL extracts.

Key words: spinach; antioxidant activity; total phenolic compounds; total flavones; DPPH

菠菜含有较多的蛋白质、多种维生素和铁、钙、镁等多种矿物质^[1], 被营养学家誉为“维生素的宝库”。此外, 菠菜还有很好的药用价值。中医认为, 菠菜性冷, 能清理肠胃之热毒而减轻症状。《本草纲目》中认为, 食用菠菜可以“通血脉, 开胸膈, 下气调中, 止咳润燥”。现代医学也常把菠菜作为滑肠药用, 主治习惯性便秘及痔漏等。最新药理研究表明, 菠菜叶中含有一种类胰岛素样物质, 其作用与哺乳动物体内的胰岛素非常相似, 故糖尿病患者(尤其 II 型糖尿病患者)可经常吃些菠菜以便保持体内血糖稳定。菠菜还含有十分丰富的叶绿素, 有消除口臭、健美皮肤、预防蛀牙等功效。菠菜中所含的酶, 能促进胃液和胰腺的分泌, 有助于食物消化和营养的吸收。菠菜具有较强的抗氧化性, 富含 β -胡萝卜素、Vc、V_E等抗氧化剂。本文主要对菠菜的抗氧化性进行初步研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

新鲜菠菜, 市售; 芦丁, Fluka 公司; 没食子酸, 国药集团化学试剂有限公司; DPPH, 纯度 90%, Sigma 公司; Folin-酚试剂(本实验室配制^[2]); 乙醇、石油

收稿日期: 2006-11-19

作者简介: 徐清萍博士, 讲师, 主要研究方向为生物制药

醚(60~90 °C)、乙酸乙酯、丙酮等, 均为市售分析纯。

1.2 实验仪器

轧果汁机, 上海亚荣生化仪器厂; 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; 真空干燥箱, 上海福玛实验设备有限公司; 723可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菠菜样品的制备

1.3.1.1 菠菜汁提取物制备

将新鲜菠菜洗净后榨汁, 减压抽滤, 将抽滤液在旋转蒸发器中真空浓缩, 50 °C 真空干燥。称取干燥后的样品 100 mg 用 60% 乙醇稀释至 10 mL , 配成 10 mg/mL 的母液。测定总黄酮、总酚含量及 DPPH 自由基清除率。

1.3.1.2 不同极性菠菜提取物的制备

将菠菜风干, 真空干燥, 粉碎成粉末。称干菠菜粉末 5 g 于 150 mL 三角瓶中, 分别用 60 mL 95% 乙醇、石油醚、乙酸乙酯、丙酮、蒸馏水、石油醚-乙醇(V_(石油醚):V_(95%乙醇)=3:2)避光处浸提 6 h , 抽滤, 将滤液真空浓缩, 50 °C 真空干燥, 干燥提取物称重。用 60% 的乙醇溶解后, 测定总黄酮含量、总酚含量及 DPPH 自由基清除率。

1.3.2 总黄酮含量的测定^[3]

菠菜提取物溶液(10 mg/mL)适当稀释,取一定体积(0.3~1.0 mL)样品溶液于10 mL比色管,加入30%(体积分数)乙醇补充至2.5 mL,加入140 μL NaNO_2 (5%,质量分数)摇匀,放置5 min;再加入140 μL $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (10%,质量分数),放置6 min后加入1 mL 5%(质量分数)NaOH混匀,用30%乙醇定容至5 mL,10 min后于500 nm处(以不加样品为空白)比色测定,总黄酮含量以芦丁等价物表示,根据芦丁标准曲线线性方程 $A=0.0104C$, $R^2=0.9951$ 来计算总黄酮含量,其中A为吸光度,C为芦丁等价物(mg/mL)。换算成干燥菠菜提取物中总黄酮 mg/mg 样品。

1.3.3 总酚含量的测定^[3]

菠菜提取物溶液(1 mg/mL),分别取一定体积(0.3~1.0 mL)样品溶液,依次加1.0 mL Folin-酚(稀释10倍后),加入1.0 mL 7.5% Na_2CO_3 溶液,蒸馏水定容至5 mL,室温下静置30 min,0.5 cm直径比色杯在765 nm处比色测定,试剂空白为参比。总酚含量以没食子酸等价物表示,根据标准曲线线性方程 $A=0.048C$, $R^2=0.986$ 来计算总酚含量。其中A为吸光度,C为样品浓度($\mu\text{g/mL}$)。

1.3.4 DPPH清除活性的测定^[3]

取1 mL待测液及等体积0.2 mmol/L DPPH溶液加入同一具塞试管中,摇匀,30 min后用无水乙醇做参比测定其吸光度 A_i 。同时测定0.2 mmol/L DPPH溶液与等体积无水乙醇混合液的吸光度 A_c ,以及待测液与无水乙醇混合液的吸光度 A_j 。根据下列公式计算清除率:

$$\text{清除率}\%=[1-(A_i/A_j)/A_c]\times 100\%$$

其中, A_c :未加待测液时DPPH溶液的吸光度; A_i :加待测液时DPPH溶液的吸光度; A_j :待测液在测定波长吸光度;测定波长517 nm。

2 结果与讨论

2.1 菠菜提取物总酚质量分数及各组分比例

将不同极性菠菜提取物真空干燥后称重,测定各极性组分得率。由于大部分天然抗氧化剂都是酚类化合物,我们同时比较各极性组分的总酚含量。总酚含量以没食子酸等价物(μg)表示,根据没食子酸标准曲线线性方程 $A=0.0077C+0.0105$, $R^2=0.9994$ 来计算镇江香醋各极性组分总酚含量,结果如表1。

由表1可见不同极性菠菜提取物得率:其中蒸馏水提取得率最大,为25.75%。其次为95%乙醇提取物,得率为4.96%。总酚含量最高的为石油醚-乙醇提取物,其次为丙酮提取物和95%乙醇提取物。

2.2 菠菜提取物总黄酮质量分数

不同极性菠菜提取物总黄酮含量如表1所示。由表1可见,各极性提取物中总黄酮含量均较低。其中95%乙醇提取物所含总黄酮量最高,约为17.53 $\mu\text{g/mg}$,其次为石油醚-乙醇提取物,约为17.11 $\mu\text{g/mg}$ 。

表1 不同极性菠菜提取物的总酚、总黄酮含量

提取介质	得率/%	总酚含量/($\mu\text{g/mg}$ 样品)	总黄酮含量/($\mu\text{g/mg}$ 样品)
新鲜榨汁	/	30.72	14.47
蒸馏水	25.75	31.87	13.32
石油醚	1.43	29.56	13.24
丙酮	1.12	40.75	10.08
乙酸乙酯	2.12	26.92	8.91
95%乙醇	4.96	39.60	17.53
石油醚-乙醇	3.83	59.90	17.11

2.3 菠菜不同极性提取物DPPH自由基清除活性

分别测定菠菜不同极性提取物在终浓度为0.5 mg/mL、2.5 mg/mL、5 mg/mL时对DPPH自由基的清除率,结果如表2所示。由表2可见,自由基清除率最高的为95%乙醇提取物和石油醚-乙醇提取物,在终浓度为0.5 mg/mL时对DPPH自由基的清除率分别为62.09%和47.74%,在终浓度为2.5 g/mL时对DPPH自由基的清除率均超过了90%。说明95%乙醇菠菜提取物和石油醚-乙醇的菠菜提取物的抗氧化性高于其他极性的提取物。由表1与表2结果还可以看出,各极性提取物总酚含量或总黄酮含量较高的,对DPPH自由基的清除率也相对较高,说明菠菜提取物的抗氧化性与其中含有的酚类或黄酮类结构化合物具有一定相关性。

表2 不同浓度样品的DPPH清除率

样品的DPPH清除率/%	样品浓度/(mg/mL)		
	0.5	2.5	5
新鲜榨汁	38.32	70.43	73.70
蒸馏水提	4.51	58.91	69.48
石油醚提	0	39.63	63.92
丙酮提	29.32	86.91	95.17
乙酸乙酯提	0	0.62	14.88
95%乙醇提	62.09	96.52	97.39
石油醚乙醇提	47.14	91.70	93.98

3 结论

用95%的乙醇作浸提剂,固液比为1:12,避光提取6h时所得的菠菜提取物中抗氧化性物质含量较高。

(下转第36页)