

二氢槲皮素衍生物的制备及其抗氧化性能研究

席丹莹¹, 王正平², 宁正祥¹

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640) (2. 广州大学化学化工学院, 广东 广州 510006)

摘要: 通过曼尼希(mannich)反应由二氢槲皮素制备其衍生物-曼尼希碱盐, 考察其对 DPPH 自由基清除能力及其在 KI-H₂O₂ 体系和猪油中的抗氧化性能。通过实验证明, 二氢槲皮素曼尼希碱盐常温下在水中的溶解度大于二氢槲皮素。其对 DPPH 自由基的清除能力比二氢槲皮素有所增加。在 KI-H₂O₂ 体系中二氢槲皮素曼尼希碱盐的抗氧化能力比二氢槲皮素、槲皮素和抗坏血酸都要强。其对猪油的抗氧化能力比二氢槲皮素弱, 但是比 BHT 强, 在猪油中最佳添加量为 2.0 mmol/L。

关键词: 二氢槲皮素; 曼尼希碱盐; 抗氧化作用; DPPH; 油脂

中图分类号: TQ351; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2007)10-0029-03

Preparation and Antioxidant Activity of a Dihydroquercetin Derivative

XI Dan-ying¹, WANG Zheng-ping², NING Zheng-xiang¹

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. College of Chemical Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Dihydroquercetin mannich salt, a dihydroquercetin derivative, was prepared *via* mannich reaction. Its capability of scavenging the free radicals and antioxidant ability in KI-H₂O₂ system and lard were all studied. The results showed that the solubility of dihydroquercetin mannich salt in water was higher than that of dihydroquercetin. Its capability of scavenging the DPPH radicals was also improved. Besides, its antioxidant activity in KI-H₂O₂ system was better than those of dihydroquercetin, quercetin and vitamin C. Its antioxidant activity in lard was higher than that of dihydroquercetin, but lower than that of BHT. The optimal amount of dihydroquercetin mannich salt in lard was 2.0 mmol/L.

Key words: dihydroquercetin; mannich salt; antioxidant effect; DPPH; lard

二氢槲皮素是一种黄酮类化合物, 可以有效地消除人体中过量的自由基, 改善免疫功能, 减少癌细胞的形成, 防止心血管疾病^[1]。它也是高效的天然食品抗氧化剂^[2]。但是, 二氢槲皮素在水相的溶解度不高, 机体难以吸收、代谢, 极大地限制了其生物利用度和药效的发挥。通过曼尼希反应制备二氢槲皮素的衍生物——二氢槲皮素曼尼希碱盐, 可以在不改变二氢槲皮素分子母核和保持其结构的条件下, 增强其水溶性, 提高其在人体内的代谢活性^[3]。

本文利用曼尼希反应由二氢槲皮素制备二氢槲皮素曼尼希碱盐, 以 DPPH 法测定它们清除自由基的能力, 并与槲皮素、抗坏血酸作比较测定它们在 KI-H₂O₂ 体系中的抗氧化性, 同时将它们添加到猪油中, 通过测定不同时期内的过氧化值(POV), 研究其对猪油的抗氧化性能^[4-9], 并确定二氢槲皮素曼尼希碱盐在猪油中的最佳添加量。

1 材料与方法

收稿日期: 2007-06-02

作者简介: 席丹莹(1983-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品化学

1.1 材料和仪器

二氢槲皮素粗品: 购于市场; 猪油: 市售新鲜猪板油熬制; 异丙醇、吗啡啉、甲醛、盐酸、硫酸、双氧水、碘化钾、硫代硫酸钠、可溶性淀粉、氯化铜、三氯甲烷、冰乙酸、DPPH(1,1-二丙基-2-苦味酰自由基)、BHT(二丁基羟基甲苯)均为国产分析纯试剂。

78-1 型磁力搅拌器(杭州仪表电机厂); DZG-6050SA 型真空干燥箱(上海森信实验仪器有限公司); DHG-900A 型电热鼓风干燥箱(上海傅迅实业有限公司医疗设备厂); HSG-IB-2 型恒温水浴锅(深圳天南海北有限公司); 721 型分光光度计(上海第三分析仪器厂); XS225A 型电子天平(瑞士 Precisa 仪器有限公司); TSP-2000A 型高效液相色谱仪(美国热电分析仪器公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 二氢槲皮素的纯化

将二氢槲皮素粗品用水重结晶 5 次以上, 得到纯度为 95% 的二氢槲皮素。

1.2.2 二氢槲皮素曼尼希碱盐的制备

准确称取一定量二氢槲皮素，溶解于异丙醇中，按一定摩尔比加入甲醛和吗啡琳，再加入几滴盐酸，反应液在 80~85 °C 条件下回流搅拌 1.5 h。反应结束后有大量固体析出，减压过滤，在 55 °C 下真空干燥，得到淡黄色粉末状产物。

1.2.3 溶解度的测定

在两个 250 mL 锥形瓶中各加入 100 mL 水，分别定量添加二氢槲皮素及其曼尼希碱盐，在室温下振荡 1 h 后静置 10 h 观察溶解情况。若完全溶解，则重复上述操作。

1.2.4 二氢槲皮素曼尼希碱盐抗氧化性的测定

1.2.4.1 DPPH 自由基清除试验

将二氢槲皮素及其曼尼希碱盐分别配制成一定浓度的溶液，量取 2.00 mL，加入含 2×10^{-4} mol/L DPPH 的乙醇溶液 2.00 mL。摇匀，于室温下放置 30 min 后以乙醇为空白测定其在 517 nm 处的吸光度 A_i 。同时测定样液空白，以扣除试样本身颜色的影响。对 DPPH 的清除率按下式计算：

$$\text{自由基清除率}(\%) = \{1 - (A_i - A_j) / A_c\} \times 100\%$$

其中： A_i - (2.00 mL 含 DPPH 溶液+2.00 mL 样液) 的吸光度； A_j - (2.00 mL 样液+2.00 mL 乙醇) 的吸光度； A_c - (2.00 mL 含 DPPH 的乙醇溶液+2.00 mL 乙醇) 的吸光度。

1.2.4.2 KI-H₂O₂ 体系中抗氧化测试

称取槲皮素、抗坏血酸、二氢槲皮素及其曼尼希碱盐样品各 0.50 g，分别用乙醇定容至 100 mL，准确吸取样液 1.0 mL，加入 0.25 mL 1.0 mol/L H₂SO₄ 和 5 mL 0.25 mol/L H₂O₂，室温下反应 10 min，再加入 10% KI 溶液 20 mL，暗处静置 5 min，用 0.05 mol/L Na₂S₂O₃ 滴定，以 1%~2% 淀粉溶液指示终点，同时作空白对照。抗氧化值 (AOV) 按下式计算：

$$AOV = (V_{\text{空}} - V_{\text{样}}) * M * 34 / 0.1$$

其中： $V_{\text{空}}$ 和 $V_{\text{样}}$ 分别空白样和样品消耗的 Na₂S₂O₃ 的体积 (mL)，M 为 Na₂S₂O₃ 的摩尔浓度，34 为 H₂O₂ 的摩尔质量。

1.2.4.3 对猪油的抗氧化试验

将 BHT、二氢槲皮素及其曼尼希碱盐分别添加到 20 g 新鲜猪油中，添加浓度为 1 mmol/L。然后加入 0.1 mL 2 mg/mL 的 CuCl₂ 乙醇液，以加速体系氧化^[10]。在 70 °C 加热作用下对猪油进行加速氧化，定时测定猪油的过氧化值 (POV)。同时以空白为对照。

称 20 g 新鲜猪油，二氢槲皮素曼尼希碱盐的添加量分别为 1 mmol/L、2 mmol/L、3 mmol/L、5 mmol/L，加入 0.1 mL 2 mg/mL 的 CuCl₂ 乙醇液，在 70 °C 加热作用下对猪油进行加速氧化，定时测定猪油的过氧化值 (POV)。同时以空白为对照。过氧化值按照

GB5009.37-85 方法进行测定。

2 结果与讨论

2.1 二氢槲皮素及其曼尼希碱盐的溶解性

表 1 二氢槲皮素及其曼尼希碱盐在水中溶解度

Table 1 Solubility of dihydroquercetin and mannich salt in

water		
	二氢槲皮素	二氢槲皮素曼尼希碱盐
溶解度 (g/100 mL 水)	0.014	19.53

由表 1 可知，二氢槲皮素在常温下，在水中的溶解度很小，经曼尼希反应后制得的曼尼希碱盐在水中的溶解度大大地提高。

2.2 二氢槲皮素及曼尼希碱盐清除 DPPH 自由基效果

DPPH 在有机溶剂中是一种稳定的自由基，在 517 nm 处对光有较强的吸收，当有自由基消除剂存在时，其孤电子被配对，吸收消失或减弱^[6,8,9,11]。因此，可通过检测自由基的清除情况，从而评价某物质的氧化能力。自由基清除率越大，物质的抗氧化能力越强。此处用自由基清除率来评价二氢槲皮素及其曼尼希碱盐的抗氧化活性。结果见图 1。

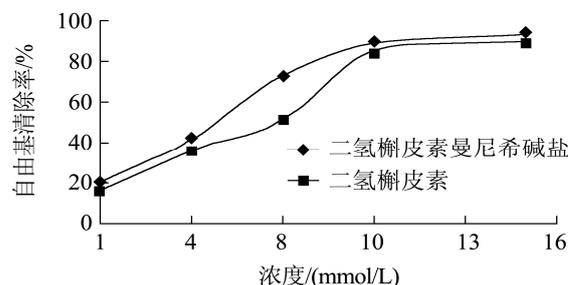


图 1 二氢槲皮素及其曼尼希碱盐清除自由基的能力

Fig.1 The ability to scavenge the free radicals of dihydroquercetin and mannich salt

由图 1 可知，二氢槲皮素及其曼尼希碱盐对 DPPH 自由基的清除率都随物质浓度的增加逐渐增高，但是二氢槲皮素曼尼希碱盐对自由基的清除效果比二氢槲皮素好。

2.3 KI-H₂O₂ 体系中抗氧化性能

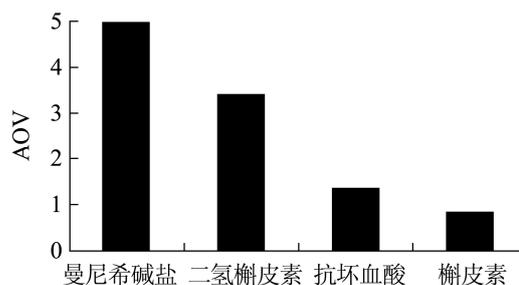


图 2 KI-H₂O₂ 体系中抗氧化性能

Fig.2 Antioxidant activity in KI-H₂O₂ system

由图 2 可知, 二氢槲皮素曼尼希碱盐在 KI-H₂O₂ 体系中的抗氧化能力比二氢槲皮素、槲皮素和抗坏血酸好。这可能因为 KI-H₂O₂ 体系是水相体系, 二氢槲皮素曼尼希碱盐在水相溶解性较好, 有利于其在水相体系中的抗氧化性能的发挥。

2.4 对猪油的抗氧化作用

2.4.1 BHT、二氢槲皮素及其曼尼希碱盐对猪油的抗氧化作用

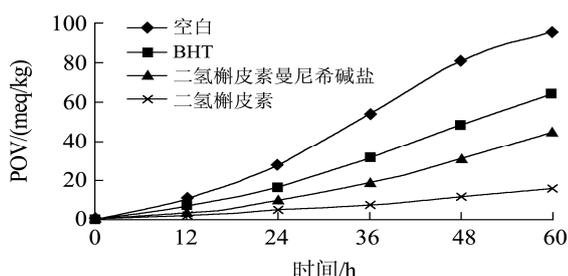


图 3 二氢槲皮素及其曼尼希碱盐在猪油中的抗氧化性

Fig.3 Antioxidant activity of dihydroquercetin and mannich salt in lard

POV 值即过氧化值越大, 猪油氧化程度越大, 说明抗氧化剂的活性越低。由图 3 可知, 二氢槲皮素曼尼希碱盐的在猪油中的抗氧化能力比二氢槲皮素差。这可能是因为在油相的溶解性差, 与油溶性自由基接触反应的可能性也小, 所以清除油中过氧化物的效果较差。但其抗氧化能力始终比 BHT 要好。

2.4.2 不同的二氢槲皮素曼尼希碱盐添加量对猪油的抗氧化作用

由图 4 可知, 随着二氢槲皮素曼尼希碱盐添加量的增大, 对猪油的抗氧化抑制作用越强。当二氢槲皮素曼尼希碱盐添加量达到 2.0 mmol/L 时, 再增加用量, 其对猪油的抗氧化作用增加不大。若从经济和实用角度考虑, 二氢槲皮素曼尼希碱盐在猪油中添加量为 2.0 mmol/L 时即可。

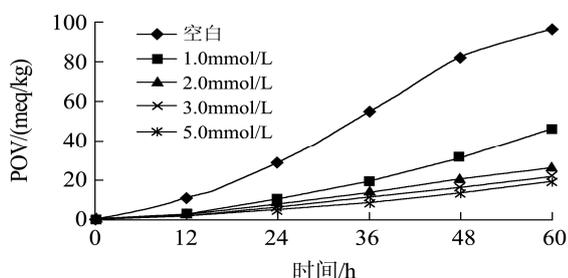


图 4 二氢槲皮素曼尼希碱盐不同添加量对猪油抗氧化影响

Fig.4 Effects of amount of dihydroquercetin mannich salt on anti-lard peroxides

3 结论

通过曼尼希反应, 由二氢槲皮素制备的衍生物—曼尼希碱盐常温下在水中的溶解度大大提高。其对 DPPH 自由基的清除能力与二氢槲皮素相比, 也有所增加。在 KI-H₂O₂ 体系中二氢槲皮素曼尼希碱盐的抗氧化能力比二氢槲皮素、槲皮素和抗坏血酸都要好。由于二氢槲皮素曼尼希碱盐在油相的溶解性较差, 其对猪油的抗氧化能力比二氢槲皮素弱, 但是比 BHT 的抗氧化能力强。从经济和实用角度考虑, 二氢槲皮素曼尼希碱盐在猪油中的添加量以 2.0 mmol/L 为宜。

参考文献

- [1] 金建忠, 申屠超, 许惠英, 等. 落叶松中二氢槲皮素的提取及鉴定[J]. 浙江林业科技, 2004, 24(5): 15-17
- [2] Sergey V. Geodakyan, Inna V. Voskoboinikova, Jury A. Kolesnik, Nonna A. Tjukavkina, Vasiliy Litvinenko I. and Vladimir I. Glyzin. High-performance liquid chromatographic method for the determination of mangiferin, likviritin and dihydroquercetin in rat plasma and urine[J]. Biomedical Applications, 1992, 577(2): 371-375
- [3] Spencer J P E, Kuhnle G G C, Williams R J. Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites[J]. Biochem Journal. 2003, 372: 173-181
- [4] 张克梅, 唐世洪, 欧阳辉, 等. 生姜超临界 CO₂ 萃取物的抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2005, 26(11): 90-93
- [5] 黄雪松. 生姜中天然抗氧化剂的研究现状[J]. 中国调味品, 1997, (8): 2-4
- [6] 胡迎芬, 杭瑚. 秦皮抗氧化物的提取及对食用油抗氧化作用的研究[J]. 中国食品添加剂, 2002, (1): 22-25
- [7] 郑立红. 生姜乙醇提取物在猪油中的抗氧化作用的研究[J]. 中国食品添加剂, 2001, (5): 39-42
- [8] 李文林, 黄凤洪. 天然抗氧化剂研究现状[J]. 粮食与油脂, 2003, (10): 10-13
- [9] 郑诗超, 张锐利. 天然抗氧化剂在油脂中的应用研究[J]. 食品与机械, 2003, (5): 7-8
- [10] H Osman, R Nasarudin, S L Lee. Extracts of cocoa (Theobroma cacao L.) leaves and their antioxidation potential [J]. Food Chemistry. 2004, 86: 41-46
- [11] 魏洪媛, 苏子贵. 食品中使用的天然抗氧化剂[J]. 肉类工业, 1997, (3): 38-40