

疏毛罗勒提取物抗氧化活性分析

姬云涛¹, 季雅静¹, 王新鲁¹, 吴启中², 屈长青^{1,2*}

¹ 阜阳师范学院生命科学学院; ² 抗衰老中草药安徽省工程技术研究中心, 阜阳 236037

摘要: 本文研究了疏毛罗勒抗氧化活性。实验中用 7 种不同溶剂提取疏毛罗勒活性成份, 以维生素 C(Vc) 为对照, 通过 FRAP 法对比不同提取液总抗氧化能力、采用改良的邻苯三酚自氧化法检测了水提物对超氧阴离子的清除作用。结果表明, 7 种不同溶剂提取的疏毛罗勒活性成分中, 以水提物的总抗氧化效果最好, 但随着提取浓度的增加总抗氧化能力反而减弱, 疏毛罗勒水提物对超氧阴离子的清除率接近 Vc 的作用。

关键词: 疏毛罗勒; 抗氧化; 超氧阴离子

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

Antioxidant Activity of Bioactive Components of *Ocimum basilium* Linn var. *ppilosum* (wild.) Benth

Ji Yun-tao¹, Ji Ya-jing¹, WANG Xin-lu¹, WU Qi-zhong², QU Chang-qing^{1,2*}

¹ School of Life Science, Fuyang Normal College; ² China Engineering Technology Research Center of

Anti-aging Chinese Herbal Medicine, Fuyang 236037, China

Abstract: The extraction method and antioxidant activities of bioactive components of *Ocimum basilium* Linn var. *ppilosum* (wild.) Benth were investigated. *O. basilium* were extracted with 7 different solvents. The total antioxidant activities of different extracts of *O. basilium* were tested by FRAP method and the superoxide scavenging effects were measured by modified pyrogallol autoxidation assay. The results showed that the aqueous extract of *O. basilium* had the best total antioxidant activity, but with the increasing concentration of extracts, the total antioxidant capacity decreased, the scavenging rate of *O. basilium* aqueous extract against superoxide anion was similar to that of Vc.

Key words: *Ocimum basilium*; antioxidant activity; superoxide anion

疏毛罗勒 [*Ocimum basilium* Linn var. *ppilosum* (wild.) Benth], 一年生草本植物, 为唇形科植物, 是一种药食两用植物, 可广泛应用于食用、食品工业、日用化工和医药保健等方面。兰瑞芳等^[1] 研究表明, 罗勒全草用药, 有驱风、健胃和发汗等作用, 可治疗肠胃病、风湿性关节炎等。罗勒的茎、叶富含芳香油, 是重要的调香原料, 杨洪霞等^[2] 分析发现, 疏毛罗勒油的主要成分是萜烯及其含氧衍生物。本实验室前期研究发现^[3], 罗勒多糖与维生素 C(Vc) 一样, 对酪氨酸酶具有明显抑制作用, 证明罗勒是一种非常有潜力的酪氨酸酶抑制产品。本文通过 7 种提取剂分别提取疏毛罗勒有效成分并进行抗氧化活性分析, 以期疏毛罗勒的产业化开发打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

疏毛罗勒均购于阜阳市农贸市场, 4 月份采摘, 经阜阳师范学院生命科学学院董金廷教授鉴定, 洗净晾干。

三吡啶三吡嗪(TPTZ)和 Vc 购于南京奥多福尼生物科技有限公司; KH_2PO_4 、盐酸、三氯化铁、冰乙酸、甲醇、乙醇、乙醚、石油醚、乙酸乙酯、丙酮、邻苯三酚等均为国产分析纯。

JP300G 超声波提取仪(武汉嘉鹏电子有限公司); RE-6000A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); DU730 分光光度计(美国 BECKMAN 公司); ELX800 型酶标仪(美国宝特公司); 恒温水浴锅(金坛市荣华仪器制造有限公司); AR224CN 电子天平(奥豪斯仪器有限公司); LK-600 中药粉碎机(上海隆拓仪器设备有限公司)。

1.2 实验方法

收稿日期: 2013-06-25 接受日期: 2013-11-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172182, 31201788); 安徽省高校自然科学基金项目(KJ2012Z315, KJ2013A206)

* 通讯作者 E-mail: qucq518@163.com

1.2.1 活性成分提取

分别称取 5 g 罗勒样品 7 份,粉碎后分别置于不同烧杯中,分别加入水、甲醇、乙醇、乙醚、石油醚、乙酸乙酯、丙酮 50 mL,封口膜封口后超声波提取 1.5 h。过滤除去残渣,旋转蒸发仪浓缩并蒸馏水定容至 10 mL,4 ℃ 冰箱保存备用。

1.2.2 FRAP 法总抗氧化能力测定

采用 Wijngaard 等^[4]报道方法,略有修改。分别取上述提取液 10 μL,蒸馏水定容至 10 mL,然后加入 1.8 mL FRAP 工作液,37 ℃ 恒温水浴反应 10 min,分光光度计波长 593 nm 处检测吸光度。FRAP 工作液由 0.3 mol/L 的磷酸盐缓冲液 25 mL、10 mmol/L TPTZ 溶液 2.5 mL、20 mmol/L 三氯化铁溶液 2.5 mL 配制而成。以 1.0 mmol/L FeSO₄ 为标准,样品总抗氧化能力(Total Antioxidant Capacity, TAC)计算公式为: $TAC = 118 \cdot c/m$ 。式中: T_{AC} (mmol/g) 表示样品总抗氧化能力; c (mmol/L) 表示达到同样吸光度所需 FeSO₄ 的浓度; m (g) 表示试样质量(干样)。

1.2.3 超氧阴离子清除率测定

采用改良的邻苯三酚自氧化法产生 O₂^{·-}^[5]。取 4 支试管标号 1 至 4,分别加入浓度为 0.5、0.75、1、1.5 mg/mL 的罗勒水提取物,然后向各试管分别加入 4.5 mL 磷酸盐缓冲液(pH 8.34、50 mmol/L)和 3.2 mL 水,25 ℃ 恒温水浴保温 20 min,加入 25 ℃ 预热的 0.2 mmol/L 邻苯三酚 0.3 mL 迅速摇匀,酶标仪波长 325 nm 处每隔 30 s 进行检测,每分钟吸光度增加值为 ΔA₁。ΔA₀ 为蒸馏水替代提取液每分钟变化值。O₂^{·-} 清除率 Sp 计算公式为: $Sp = (\Delta A_0 - \Delta A_1) / \Delta A_0 \times 100\%$

2 结果与分析

2.1 提取优化

抗氧化剂是抑制氧化及提高机体清除活性氧酶系统活性和数量的物质,通过自身的还原给电子作用而清除自由基,其还原力越强,抗氧化活性就越强^[6]。采用 FRAP 法测定的 TAC 能够反映抗氧化剂的还原能力,从而反映抗氧化活性的大小。本试验以 TAC 为评价指标,比较不同溶剂对罗勒提取效果的影响,结果由图 1 可知,水提效果最好,甲醇次之,乙醚最差。

2.2 不同浓度下罗勒总抗氧化能力

分别检测 10、15、20 μg/mL 罗勒的水、乙醇、甲

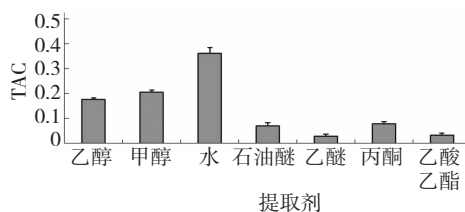


图 1 不同溶剂提取后疏毛罗勒总抗氧化能力的对比

Fig. 1 Total antioxidant capacities of different extracts of *O. basilium*

醇提取物总抗氧化能力,由图 2 可知随着罗勒提取物浓度增加,三种提取剂所提取抗氧化物质 TAC 值均呈下降趋势,二者存在一定的剂量相关。

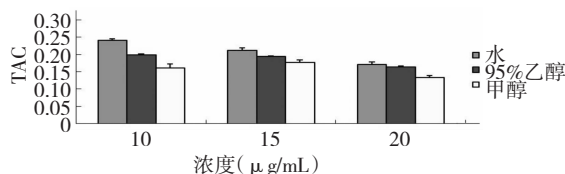


图 2 三种溶剂提取物在不同浓度下的总抗氧化能力对比

Fig. 2 Total antioxidant capacities of aqueous, 95% ethanol and methanol extracts of *O. basilium* with different concentrations

2.3 对超氧阴离子的清除作用

由下图 3 可知罗勒对超氧阴离子有较强清除能力,并呈现明显剂量效应。当罗勒浓度为 1.5 mg/mL 时抑制率为 73.64%,其半抑制率为 0.75 mg/mL,而维生素 C 在 1 mg/mL 时达到百分之百。

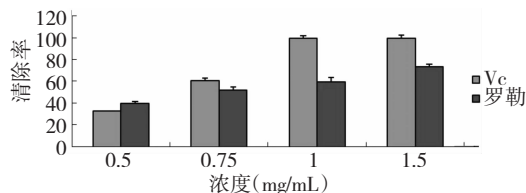


图 3 不同浓度罗勒水提取物对超氧阴离子的清除作用

Fig. 3 Scavenging effects of different concentrations' aqueous extract of *O. basilium* and Vc against superoxide anion

3 讨论

氧化作用不但在生产生活中给人们带来了巨大损失,而且对人们的身体健康带来了一定的危害。如铁钉的生锈,暴露在空气中的食物的氧化腐败,过氧化的脂质还容易引起动脉硬化、糖尿病、高血压、皮肤病等^[7]。自由基理论是 21 世纪重大发现之一,人体在新陈代谢过程中会产生自由基,其产生过多

或清除过慢就会攻击生命大分子物质和各种细胞器,造成机体损伤,加速机体衰老进程并诱发多种疾病。因此,抗氧化研究越来越受到人们的重视^[8,9]。现有的抗氧化剂主要有丁基羟基茴香醚、二丁基羟基甲苯、没食子酸丙酯及维生素 C 等,其绝大多数为合成产品。在天然、营养、回归大自然的热潮中,人们越来越趋向于在食品、化妆品中尽可能的使用天然抗氧化剂。药食两用植物在我国有着悠久的历史,从中筛选出高效低毒经济的抗氧化活性物质为天然抗氧化剂的开发提供了一个重要途径。

疏毛罗勒的茎、叶富含芳香油,是重要的调香原料,但其在抗氧化和超氧阴离子清除方面的研究报道较少。本研究使用 7 种提取剂提取疏毛罗勒抗氧化活性成分,FRAP 法测定总抗氧化能力发现,水提效果最佳,甲醇次之,乙醚提取效果最差。检测不同浓度罗勒提取物总抗氧化能力,结果显示随着提取浓度的升高,总抗氧化能力反而逐渐下降,而且在水、甲醇、乙醇中都表现出这种趋势。

维生素 C(Vc) 又称抗坏血酸(ascorbic acid),在蔬菜和水果中大量存在。具有较为广泛的生物学功能,作为抗氧化剂能够较好的防止自由基对人体的伤害。本实验以 Vc 为阳性对照,从图 3 可以看出 Vc 对超氧阴离子的清除作用随浓度升高变化较为平稳。Vc 的浓度在 0.5 mg/mL 到 1 mg/mL 的梯度范围内时,对超氧阴离子的清除率呈上升趋势,Vc 浓度达到 1 mg/mL 时清除率为 100%,之后就不再变化。通过与 Vc 的对比可知,罗勒水提物总体对超氧阴离子的清除效果略弱于 Vc,半清除率浓度为 0.75 mg/mL,在浓度为 1.5 mg/mL 时清除率达到了 73.64%。

综上所述,罗勒水提物相比其它提取剂提取物具有更好的总抗氧化能力,而且具有较好的超氧阴离子的清除作用,这为以后罗勒纯天然化妆品的开

发提供了理论支持。

参考文献

- 1 Lan RF(兰瑞芳),Feng S(冯姗). Studies on the chemical constituents of essential oil of *Ocimum basilicum* growing in Fujian province. *Strait Pharm J*(海峡药学),2001,13:51-52.
- 2 Xu HX(徐洪霞),Pan J(潘见),Yang Y(杨毅),et al. Study on chemical components of the volatile oil from *Ocimum basilicum* Linn var. *ppilosum*(wild.) Benth. *Flavour Fragr Cos*(香料香精化妆品),2004,3:5-8.
- 3 Qu CQ(屈长青),Zhang CK(张传开),Lin L(林莉),et al. Inhibition of the polysaccharide of *Ocimum basilicum* Linn var. *ppilosum*(wild.) Benth on the activity of tyrosinase. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2013,1:110-112.
- 4 Wijngaard HH,Röbke C,Brunton N. A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Chem*,2009,116:202-207.
- 5 Zeng XL(曾小玲). A study of scavenging action of purslane aqueous extracts on oxygen free radical. *Bull Hunan Med Univ*(湖南医科大学学报),1999,24:133-135.
- 6 Huang DJ,Qu BX,Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem*,2005,53:1841-1856.
- 7 Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc*,1998,75:199-212.
- 8 Liu ZD(刘志东),Guo BH(郭本恒),Wang YY(王荫榆). Methods to determine antioxidative activity. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2008,3:563-567.
- 9 Ni QX(倪勤学),Gao QX(高前欣),Huo YR(霍艳荣),et al. Extraction and antioxidant activity of pigment from purple yam. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2012,2:229-233.