

新疆地产商品化精油的抗氧化活性研究

孙 蕾¹, 曹艳红^{2*}, 黄耀广³¹新疆产品质量监督检验研究院, 乌鲁木齐 830011; ²乌鲁木齐市水业集团水质监测中心, 乌鲁木齐 830000;³喀什地区食品药品检验所, 喀什 844000

摘要: 通过采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除率法和 β -胡萝卜素漂白法, 对不同品牌新疆地产的商品化薰衣草精油、薄荷精油、迷迭香精油进行体外抗氧化活性研究。抗氧化能力评价实验结果表明, 三种商品化精油均具有一定的抗氧化能力, 但与文献和阳性对照 2,6-二叔丁基-4-甲基苯 (BHT) 相比, 抗氧化能力明显很低, 可能是由于大规模的提取工艺和储存时间较长所致。

关键词: 精油; 自由基清除率; β -胡萝卜素漂白法; 抗氧化

中图分类号: TQ201

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.011

Study on Antioxidant Activities of The Commercial Essential Oils in Xinjiang

SUN Lei¹, CAO Yan-hong^{2*}, HUANG Yao-guang³¹Xinjiang Product Quality Supervision and Inspection Research Institute, Urumqi, 830011, China;²Water Quality Monitoring Center Urumqi Water Industry Group, Urumqi, 830000, China;³Kashgar Region Institute For Food and Drug Control, Kashgar, 844000, China

Abstract: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and β -carotene bleaching method was employed to evaluate the *in vitro* antioxidant activities of the studied commercial lavender essential oils, mint essential oils, rosemary essential oils from different sources and brands in Xinjiang. In the DPPH radical scavenging and β -carotene bleaching experiment, it was showed that the studied essential oils had a certain antioxidant activities, but all the tested commercial essential oils exhibited much lower content level compared with literatures and positive control butylated hydroxytoluene (BHT), which may due to the large scale extraction process and longer placed time after extraction.

Key words: essential oil; radical scavenging; β -carotene bleaching method; antioxidant

精油 (Essential oil), 人称“液体黄金”, 芳香植物最主要的商品形态之一, 是一种天然的芳香植物次生代谢产物和高挥发性物质, 主要为萜类、烃类及含氧化合物^[1,2]。目前, 新疆已成为中国主要的芳香植物种植产区, 精油产业正不断发展壮大, 产量位居全国前列。精油作为一种植物提取物, 除具备的天然特性外, 同时兼具很多药物活性, 诸如抗菌^[3,4]、止痛、镇静、消炎、解痉等多种功效^[5,6], 其抗氧化作用也被大量文献所证实^[7-10]。但精油的相关生理活性报道多是通过现提取现分析的方法^[11-13], 而商品化精油则是在提取之后装瓶储存, 因此放置一段时间后, 化学成分可能发生了一些变化, 进而影响其相关活性, 目前有关于商品化精油的活性研究鲜有报道。

基于此, 本文通过采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除法^[14], 羟基自由基清除法和 β -胡萝卜素漂白法, 对不同来源的新疆地产的商品化薰衣草精油、薄荷精油、迷迭香精油和洋甘菊精油进行体外抗氧化能力研究, 从而对该地区的精油抗氧化活性有进一步的了解, 为该地区生产的精油的进一步研发和利用提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试剂

新疆地产薰衣草精油 (品牌 1-品牌 7)、薄荷精油 (品牌 1-品牌 3) 和迷迭香精油 (品牌 1-品牌 2) 均由新疆质量监督检验研究院提供, 品牌 8 的薰衣草样品由新疆商检局提供。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH, 北京百灵威 J&K 科技有限公司), 2,6-二叔丁基对甲酚 (BHT, 北京百灵威 J&K 科技有限公司), 维生素 C (99.7%,

成都科龙化工试剂厂), 甲醇(99.5%, 分析级, 天津市致远化学试剂有限公司), 丙酮(分析纯, 天津永晟精细化工有限公司), 氯仿(分析纯, 天津永晟精细化工有限公司), 亚油酸(分析纯, 天津光复精细化工研究所), 吐温 40(分析纯, 天津市河东区红岩试剂厂), β -胡萝卜素(上海士锋生物科技有限公司), 蒸馏水(自制)。

1.2 试验仪器

电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司), T6 新世纪紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 天平 FB224 自动内校电子分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)

1.3 试验方法

1.3.1 DPPH 法测定精油抗氧化能力

DPPH 溶液的配制: 精密称取 12.0 mg DPPH \cdot , 用溶剂溶解, 定容至 500 mL 的容量瓶中, 得浓度为 6.086×10^{-5} mmol/L 的 DPPH \cdot 溶液, 避光保存, 待用。考虑到样品的溶解性, 薰衣草样品的测定选用甲醇配制, 其它三种精油的测定选用丙酮来配制。

1.3.2 精油样品的配制和 DPPH \cdot 自由基清除能力的测定

薰衣草精油样品: 分别移取不同量的精油样品(5、10、15、20、30、40、50、60、70、80 μ L) 置于 5 mL 离心管中, 加入甲醇至 2.0 mL, 并加入 2.0 mL 的 DPPH 甲醇溶液摇匀, 室温避光处放置, 反应 1 h, 以甲醇作为空白校正, 于 517 nm 处测定不同浓度样品溶液的吸光度, 每个浓度做三次取平均值, 并由下列公式计算 DPPH \cdot 自由基的清除能力。

$$\text{清除率} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$$

其中 A_0 为 2 mL 的甲醇 + 2 mL DPPH 溶液 1 h 后的吸光值; A_1 为 2 mL 的精油甲醇溶液 + DPPH 溶液反应 1 h 后的吸光值。

薄荷精油样品和迷迭香精油样品样品的配制选用丙酮为溶剂, 除此之外, 采用和薰衣草精油样品相同的配制方法。

维生素 C 样品: 精密称取 25.0 mg 维生素 C 于 50 mL 容量瓶中, 用蒸馏水定容, 得浓度为 0.5 mg/mL 的母液, 取 1 mL 于 25 mL 容量瓶中, 定容后得浓度为 0.02 mg/mL 的维生素 C 溶液。取不同量的 0.02 mg/mL 溶液用蒸馏水配成 0.0005、0.001、0.0015、0.002、0.0025、0.003、0.0035、0.004、0.0045 mg/mL, 分别准确取 2 mL 于 5 mL 离心管中, 加入 2 mL DPPH 溶液摇匀, 室温避光处放置, 反

应 1 h 后测定吸光值。

BHT 样品: 精密称取 12.5 mg BHT 于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 得浓度为 0.5 mg/mL 的 BHT 溶液, 分别取不同量的上述溶液用甲醇配制成 0.001、0.002、0.004、0.006、0.01、0.015、0.02 mg/mL, 准确取 2 mL 于 5 mL 离心管中并加入 2 mL DPPH 溶液摇匀, 室温避光放置 1 h 后测定吸光值。

1.3.3 β -胡萝卜素漂白法测定精油抗氧化能力

将 25.0 mg β -胡萝卜素, 2.50 g 亚油酸和 40 g 吐温 40, 分别溶于 50 mL 氯仿中(β -胡萝卜素-氯仿液使用前现配), 测定前取 β -胡萝卜素溶液 0.5 mL, 亚油酸溶液 0.2 mL, 吐温 40 溶液 1.0 mL 放于 250 mL 的锥形瓶中, 然后置于 50 $^{\circ}$ C 水溶液中去氯仿, 加入 50 mL 热蒸馏水充分摇匀, 于超声波中形成乳化液, 另取一锥形瓶, 不加 β -胡萝卜素溶液, 其它同前, 作空白调零用。

分别将薰衣草精油(薄荷精油、迷迭香精油)配制成 20 mg/mL 的丙酮样品液(阳性对照 BHT 配制成 2 mg/mL), 取 200 μ L 待试液置于 10 mL 比色管中, 加入 5 mL 乳化液, 充分混合, 以不加精油样品的等量丙酮代替与乳化液混合作为空白样品。试液混合后, 立即于波长为 470 nm 处测定吸光度, 记录相应读数, 然后每隔 15 min 测一次。每次测定后, 将样品重新置于 50 $^{\circ}$ C 恒温槽内保温。测三个平行样取平均值, 以所得吸收度为纵坐标, 时间为横坐标作图。

2 结果与分析

2.1 DPPH \cdot 自由基清除法

2.1.1 薰衣草精油对 DPPH \cdot 的清除作用

采用 DPPH \cdot 自由基清除法对七个品牌的新疆地产商品化薰衣草精油的抗氧化活性进行研究, 图 1 为阳性对照维生素 C 和 BHT 的抗氧化活性曲线。

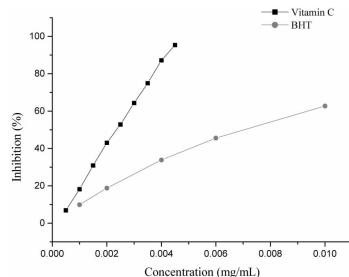


图 1 维生素 C 和 BHT 对自由基清除作用曲线图

Fig. 1 Graph of scavenging effect of Vitamin C and BHT on free radicals

通过图 1 中阳性对照对自由基清除作用的曲线

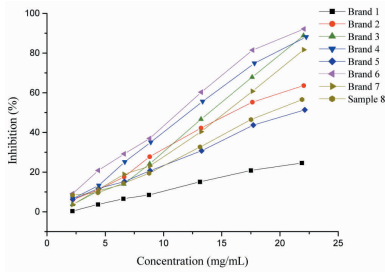


图2 八种薰衣草精油对自由基清除曲线图

Fig. 2 Graph of scavenging effect of eight *Lavandula angustifolia* L. oils on free radicals

拟合,可得出维生素 C 和 BHT 的半数清除率 IC₅₀分

表 1 不同品牌薰衣草精油对 DPPH·清除能力

Table 1 The DPPH· free radical scavenging ability of eight brands of *Lavandula angustifolia* oil

精油样品	1	2	3	4	5	6	7	8
IC ₅₀ (mg/mL)	-	16.61	13.74	12.53	21.23	11.38	14.76	19.51

根据文献报道,薰衣草精油对于 DPPH· 的具有很强的清除作用,而在本实验中得到的半数清除率 IC₅₀却远远高于文献值。

2.1.2 薄荷精油对自由基清除作用曲线图

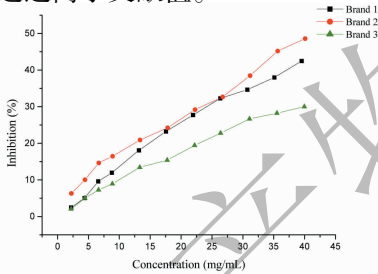


图3 薄荷精油对自由基清除作用曲线图

Fig. 3 Graph of scavenging effect of three *Menthapiperita* L. oils on free radicals

采用 DPPH 法对三个品牌的新疆地产商品化薄荷精油进行体外抗氧化活性研究,所得结果列于图 3 中。由图可以看出,随着精油浓度的增大,自由基清除能力呈逐步上升趋势,但对 DPPH· 自由基的清除能力太低,在所研究的 2 ~ 40 mg/mL 浓度范围内,对其量效关系进行线性回归分析表明,薄荷精油的自由基半数清除浓度 IC₅₀不存在。在薄荷精油浓度为 30 mg/mL 时,三个品牌的薄荷精油的清除率分别为 34.25%、37.79% 和 24.54%。

2.1.3 迷迭香精油对 DPPH· 的清除作用

采用 DPPH 法对两个品牌的新疆地产商品化迷

迭香精油进行体外抗氧化活性研究,所得结果列于图 4 中。随着精油浓度的增大,自由基清除能力呈不明显的上升趋势。在测试浓度为 30 mg/mL 时,两种品牌迷迭香精油的清除率分别为 15.46% 和 14.39%。

别为 0.0024 mg/mL 和 0.0073 mg/mL。
如下图 2 为七个品牌的薰衣草精油对 DPPH· 自由基清除能力曲线图。样品 1-7 分别为品牌 1-品牌 7,样品 8 为农家采用水蒸气蒸馏法粗提的薰衣草精油。从图中可以看出,八种薰衣草精油对 DPPH· 均具有清除能力,随着精油浓度的增大,自由基清除能力有所增强,在 2 ~ 22 mg/mL 浓度范围内呈良好的线性关系,但均远远低于两种阳性对照。对八种薰衣草精油浓度与自由基清除率的量效关系进行线性回归分析,计算所得 IC₅₀列于表 1 中,其中品牌 6 的抗氧化活性最强。

迭香精油进行体外抗氧化活性研究,所得结果列于图 4 中。随着精油浓度的增大,自由基清除能力呈不明显的上升趋势。在测试浓度为 30 mg/mL 时,两种品牌迷迭香精油的清除率分别为 15.46% 和 14.39%。

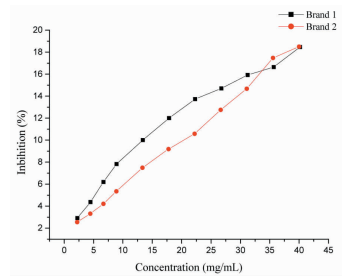


图4 迷迭香精油对自由基清除作用曲线图

Fig. 4 Graph of scavenging effect of two *Rosmarinus officinalis* L. oils on free radicals

2.1.4 精油对三种新疆地产商品化精油的 DPPH· 清除作用

通过上述对 DPPH· 自由基清除能力实验结果,表明了虽然四种商品化精油均具有一定的抗氧化能力,但却远远小于文献报道的自由基清除能力,究其原因可能是商品化精油采用的是大规模的提取工艺,且在长期的储存过程中,对抗氧化能力有贡献的物质会逐渐发生不可逆转的化学变化,导致其抗氧化能力大大降低。

2.2 β -胡萝卜素漂白法

β -胡萝卜素是一种多烯类色素,极易被氧化而褪去黄色。在反应介质中,由亚油酸氧化产生的过氧化物等能使 β -胡萝卜素褪色,随着时间的延长在最大波长下吸光度越来越小。当样品在恒温水浴中加热,由于 β -胡萝卜素褪色,溶液的吸光度不同程度减小,而 β -胡萝卜素的褪色程度,与体系中样品的抗氧化活性的强弱有关。在 β -胡萝卜素漂白法中,样品通过在相同浓度下吸光度随时间变化来反映抗氧化程度,吸光度下降越慢,则抗氧化能力越强。

2.2.1 β -胡萝卜素漂白法测定薰衣草精油的抗氧化活性

在薰衣草精油 β -胡萝卜素漂白抗氧化能力分析中,测定了八种不同品牌和来源的薰衣草精油样品,470 nm 下吸光度随时间的变化曲线如图 5 所示。

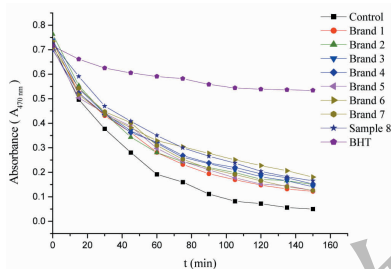


图 5 八种薰衣草精油样品的吸光度-时间曲线

Fig. 5 The A-t curve of eight kindss of *Lavandula angustifolia* oil samples

由图 5 可以看出,不同品牌的薰衣草精油与对照组相比,均表现出一定的抗氧化能力,但合成抗氧化剂 BHT 吸光度下降更慢,因而抗氧化活性比八种薰衣草精油样品更强。

2.2.2 β -胡萝卜素漂白法测定薄荷精油的抗氧化活性

在薄荷精油 β -胡萝卜素漂白抗氧化能力分析中,测定了三种品牌的薄荷精油,470 nm 下吸光度随时间的变化曲线如图 6 所示。

2.2.3 β -胡萝卜素漂白法测定迷迭香精油的抗氧化活性

在迷迭香精油 β -胡萝卜素漂白抗氧化能力分析中,测定了两种品牌迷迭香精油,470 nm 下吸光度随时间的变化曲线如图 7 所示。

由图可知,在 0 ~ 120 min 时间范围内,通过与对照组相比,两种迷迭香精油均具有一定的抗氧化

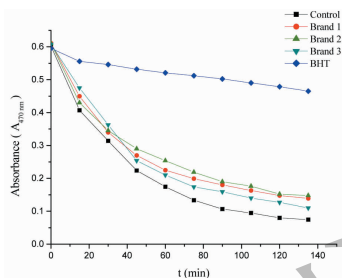


图 6 三种薄荷精油样品的吸光度-时间曲线

Fig. 6 The A-t curve of three brands of *Menthapiperita* L. oil samples

活性,但与阳性对照 BHT 相比,抗氧化能力明显较低。

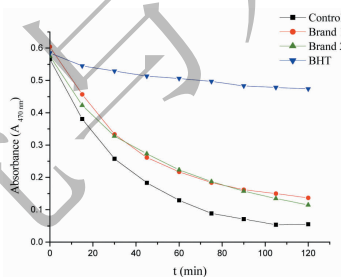


图 7 两种迷迭香精油样品的吸光度-时间曲线

Fig. 7 The A-t curve of two brands of *Rosmarinus officinalis* L. oil samples

2.2.4 β -胡萝卜素漂白法对三种精油的抗氧化活性评价

对不同品牌的薰衣草精油、薄荷精油和迷迭香精油的抗氧化能力测定结果表明,三个品种的新疆地产商品化精油均表现出一定的抗氧化活性,但与合成抗氧化剂 BHT 相比,随着时间的增长吸光度下降较快,因而相比而言抗氧化活性弱于 BHT。

3 结论

采用 DPPH·自由基清除法和 β -胡萝卜素漂白法,对不同品牌的新疆地产商品化薰衣草精油、薄荷精油和迷迭香精油的抗氧化性能予以评价,表明均具有一定的抗氧化能力。但与阳性对照结果相比,样品的抗氧化活性明显很低,可能是由于商品化精油采用的是大规模的提取工艺,且在长时间储存后,其中的化学成分发生变化,导致对抗氧化活性的降低。

通过对新疆地产三种商品化精油的抗氧化能力测定,为新疆地产商品化精油抗氧化能力和精油品质评估提供了一定的评价指标,为精油的进一步开

发和生理活性研究提供数据参考。

参考文献

- 1 Yang J(杨君), Zhang XZ(张献忠), Gao HJ(高宏建), *et al.* Reviewed of natural plant essential oil extraction method. *Food Nutr China*(中国食物与营养), 2012, (09): 31-35.
 - 2 Wang GY(王广要), Zhou H(周虎), Zeng XF(曾晓峰). Progress in application of plant essential oil. *Food Sci Technology*(食品科技), 2006, (05): 11-14.
 - 3 Hu LF(胡林峰), Xu ML(许明录), Zhu HX(朱红霞). The research progress of the bacteriostatic activity in essential oil. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2011, (02): 384-391.
 - 4 Zhang Y(张鹰), Wang MS(王满生), Zeng XA(曾新安), *et al.* The study on optimization of extraction conditions of pomelo peel oil and its antibacterial properties. *The Food Industry*(食品工业), 2014, (05): 54-58.
 - 5 Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, *et al.* Biological effects of essential oils-A review. *Food and Chemical Toxicology*. 2008, 46: 446-475.
 - 6 Golmakani M-T, Rezaei K. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*. 2008, 109: 925-930.
 - 7 Zhao C(赵晨). Study on antioxidant properties of cassia and cardamom. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2008, (05): 896-898.
 - 8 Zhang YD(张艳东), Cheng CL(程翠林), Fan ZL(樊梓鸢), *et al.* Study on antioxidant activity of plant essential oil. *Science and Technology of Food Industry*(食品工业科技), 1-8.
 - 9 Zhang YD(张艳东), Cheng CL(程翠林), Fan ZL(樊梓鸢), *et al.* Study on extraction, component analysis and antioxidant activity of plant essential oil. *Science and Technology of Food Industry*(食品工业科技), 2017, (03): 390-394.
 - 10 Lu J(卢靖), Zhang LZ(张丽珠), Wang XP(王秀萍), *et al.* Study on antibacterial activity and antioxidant activity of essential oil. *The Food Industry*(食品工业), 2014, (04): 91-94.
 - 11 Clayson D, Iverson F, Nera E, *et al.* Histopathological and radioautographical studies on the forestomach of F344 rats treated with butylatedhydroxyanisole and related chemicals. *Food and Chemical Toxicology*, 1986, 24: 1171-1182.
 - 12 Safer A, Al-Nughamish A. Hepatotoxicity induced by the antioxidant food additive, butylatedhydroxytoluene (BHT), in rats: an electron microscopical study. *Histology and Histopathology*, 1999, 14: 391-406.
 - 13 Shahidi F. Antioxidants: extraction, identification, application and efficacy measurement. *J Agric Food*, 2008, 7: 3325-3330.
 - 14 Feng X(冯雪), Jiang ZT(姜子涛), Li R(李荣), *et al.* Research on the scavenging free radical ability of Chinese and Indian cardamom essential oil. *Science and Technology of Food Industry*(食品工业科技), 2012, (02): 137-139.
-
- (上接第 320 页)
- 12 Xiong XF(熊雪峰). Present situation and development countermeasure of water quality inspection ability of disease control center in Lu County. *Strait J Prev Med*(海峡预防医学杂志), 2015, 05(12): 77-79.
 - 13 Xu J(许杰), Qu GJ(曲桂娟). Determination of heavy metals in water quality inspection of disease control center. *World Latest Medicine Information*(世界最新医学信息文摘), 2017, 17: 147.
 - 14 The study found that root and melon vegetables can reduce the harm caused by arsenic in drinking water. *Food & Machinery*(食品与机械), 2011, 27(01): 145.
 - 15 Guo WP(郭伟鹏), Wu QQ(吴清平), Liang QQ(梁达清), *et al.* Study on migration of bisphenol A in PC barrel. *Food & Machinery*(食品与机械), 2014, 30(01): 78-81.