

金银花尺蠖幼虫粪便乙醇提取物体外抗氧化活性

向玉勇*, 刘冲, 王宗炜

滁州学院 生物与食品工程学院, 滁州 239000

摘要: 自由基过量累积会影响生物体正常机能, 筛选具有自由基清除功能的昆虫代谢产物对于开发虫茶至关重要。为了解金银花尺蠖幼虫粪便提取物的抗氧化活性, 在室内测定了金银花尺蠖幼虫粪便乙醇提取物的体外抗氧化活性。结果表明, 金银花尺蠖幼虫粪便乙醇提取物具有一定的体外抗氧化活性: 对二苯代苦味酰自由基(DPPH)、羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、 $\text{ABTS}^+ \cdot$ 自由基均具有一定的清除能力, 在 0.05 mg/mL 时的清除率分别为 37.78%、25.31%、21.41% 和 35.82%; 随着提取物浓度的增大, 对自由基的清除率逐渐增加, 当浓度上升到 0.65 mg/mL 时的清除率分别为 95.52%、69.07%、63.27% 和 72.46%, 分别增加了 57.74%、43.76%、41.86% 和 36.64%, 差异达显著水平; 对卵黄脂蛋白脂质过氧化也具有一定的抑制作用, 在 0.05 mg/mL 时的抑制率为 26.78%, 随着提取物浓度的增大, 对脂质过氧化的抑制率也逐渐增加, 当浓度上升到 0.65 mg/mL 时的抑制率为 50.63%, 增加了 23.85%, 差异达显著水平。在 0.05~0.65 mg/mL 的浓度范围内, 对自由基的清除率、对脂质过氧化的抑制率与浓度之间呈显著的线性关系。综上, 金银花尺蠖幼虫粪便提取物具有开发为虫茶的潜力。

关键词: 金银花尺蠖; 粪便提取物; 自由基; 抗氧化活性

中图分类号: Q964

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.2.018

Antioxidant Activity of Alcohol Extracts of Larva Feces of Honeysuckle Geometrid, *Heterolochoa jinyinhuaphaga* in vitro

XIANG Yu-yong*, LIU Chong, WANG Zhong-wei

School of Biology and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou 239000, China

Abstract: The excessive accumulation of free radicals would affect the normal function of the organism, hence it is very important for developing sandy tea to select insect metabolites with free radical scavenging function. In order to know the antioxidant activity of extracts from larva feces of *Heterolochoa jinyinhuaphaga* Chu, the antioxidant activity of alcohol extracts from larva feces of *H. jinyinhuaphaga* in vitro was tested in the laboratory. The results showed that, extracts from larva feces of *H. jinyinhuaphaga* had a certain clearing effects on DPPH, $\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$ and $\text{ABTS}^+ \cdot$. At the concentration of 0.05 mg/mL, its clearing rate on them were 37.78%, 25.31%, 21.41% and 35.82% separately. With the increasing of concentrations, the clearing rate on them increased, and reached 95.52%, 69.07%, 63.27% and 72.46% at 0.65 mg/mL, which increased 57.74%, 43.76%, 41.86% and 36.64% separately, the difference between them reached significant level. The extracts also had a certain prevention effects on peroxidation of yolk lipoprotein with a preventing rate of 26.78% at the concentration of 0.05 mg/mL, it would also increase with the concentrations added, and reached 50.63% at 0.65 mg/mL, which added 23.85%, the difference between them reached significant level. From 0.05 mg/mL to 0.65 mg/mL, the clearing rate on free radicals and prevention rate on peroxidation of yolk lipoprotein all showed a linear connection with the concentrations. Altogether, extracts from larva feces of *H. jinyinhuaphaga* had the potentiality to be exploited as sandy tea.

Key words: *Heterolochoa jinyinhuaphaga*; feces extract; free radicals; antioxidant activity

生物体在代谢过程中常伴随有自由基的产生,

自由基累积过多, 就会产生一系列的疾病^[1]。如超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)和羟基自由基($\cdot\text{OH}$)是人体代谢中产生的活性氧自由基, 累积过多就会引起脂质过氧化, 损伤生物膜, 促使人体衰老, 诱发心血管疾病及肿瘤^[2], 严重危害人体健康。随着生活水

收稿日期: 2017-08-09

接受日期: 2017-11-28

基金项目: 安徽省高校优秀中青年骨干人才国内外访学研修重点项目(gxfxZD2016249); 安徽省大学生创新创业训练计划(201510377052)

* 通信作者 E-mail: xyy10657@sohu.com

平的不断提高,人们越来越关注自身的健康,迫切需要开发保健(功能性)食品来清除体内的活性氧自由基,保护身体免受损伤。因此,从生物体内筛选出能够清除自由基的活性物质已成为当前的研究热点。

昆虫广泛分布于自然界中,种类多、繁殖迅速、生物量大,是一类具有良好开发潜力的生物资源。目前,人们对昆虫资源利用的研究主要集中在昆虫营养成分分析及多糖的抗氧化活性方面^[3-5],对其粪便提取物活性研究却非常少。已有研究表明,一些鳞翅目昆虫的幼虫啃食特种植物叶片后排泄的粪便(虫茶)具有一定的抗氧化作用,能很好地清除超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)和羟基自由基($\cdot OH$)。如老鹰茶虫茶无水乙醇提取物对超氧阴离子的清除率随浓度梯度一直呈上升趋势,在 6.5 mg/mL 时,清除率达到 94.97%;对羟基自由基的清除率均随处理浓度升高而增加,为 22.91%~94.41%^[6];在浓度为 25、50、75 和 100 $\mu g/mL$ 时,苦丁茶叶制虫茶粗多酚对 DPPH 自由基的清除率分别为 27.8%、46.6%、85.9% 和 99.8%^[7]。深入研究昆虫粪便提取物的抗氧化活性可以为虫茶资源的开发利用提供科学依据。中国的昆虫种类占世界种类总量的 10%^[8],尚有很多种类未进行相关研究。因此,拓宽对自然界中其它昆虫粪便提取物抗氧化活性的研究,为更好地开发新虫茶提供科学依据。

金银花尺蠖 *Heterolocha jinyinhuaphaga* Chu 属鳞翅目 Lepidoptera 尺蛾科 Geometridae 昆虫,别名拱腰虫,是近年来新发现的金银花 *Lonicera japonica* 主要食叶害虫之一,在河南、山东、安徽等地已有报道^[9-11]。该虫常将金银花叶片咬成缺刻,甚至全部吃光,造成大面积减产,严重损害金银花的生产。目前,国内对金银花尺蠖的研究主要是关于其生物学特性及防治方面^[9-12],还未见有关其粪便提取物抗氧化活性的研究。因此,本研究对金银花尺蠖幼虫粪便乙醇提取物的体外抗氧化活性进行研究,以期开发天然抗氧化药物和虫茶提供科学依据,从而达到变害为宝的目的。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

723C 可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司)、20011243 型精密烘箱(西班牙 Selecta 公司)、RXZ-288A 型人工气候箱(宁波江南仪器制造厂)、

FW80 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)、HH-6 数显恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造厂)、SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)、RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、800B 型台式离心机(上海市安亭科学仪器制造厂)。

1.2 试剂

磷酸二氢钠(天津市致远化学试剂有限公司,99%)、磷酸氢二钠(天津市北辰方正试剂厂,99%)、无水乙醇(上海实意化学试剂有限公司,99.9%)、95%乙醇(上海实意化学试剂有限公司,95%)、铁氰化钾(天津市鼎盛鑫化学试剂有限公司,95%)、三氯化铁(无锡市亚泰联合化工有限公司,99%)、二苯代苦味酰自由基(DPPH, Sigma 公司,96%)、三氯乙酸(天津市大茂化学试剂厂,99%)、邻菲罗啉(天津市致远化学试剂有限公司,99%)、过氧化氢(无锡市展望化工试剂有限公司,30%)、硫酸亚铁(天津永晟精细化工有限公司,99%)、二乙基三胺五乙酸(DTPA)(上海展云化工有限公司,99%)、盐酸(上海博河精细化学品有限公司,36%)、邻苯三酚(天津市北辰方正试剂厂,99%)、三羟甲基氨基甲烷(上海山浦化工有限公司,99.5%)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)(酷尔化学科技北京有限公司,98%)、过硫酸钾(Sigma 公司,99.5%)、2-硫代巴比妥酸(TBA)(南京奥多福尼生物科技有限公司,99%)、标准抗坏血酸(Vc)(酷尔化学科技北京有限公司,99%),均为分析纯,海南大叶苦丁茶(海南茗品实业有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 供试昆虫饲养

供试昆虫金银花尺蠖幼虫于 2015 年 5 月采自安徽省明光市三界镇(东经 117°15'~118°25',北纬 32°57'~33°13'之间),寄主植物为 3 年生的金银花。放在 600 mL 的罐头瓶内(10 头幼虫/瓶),然后置于人工气候箱中用新鲜的金银花叶片饲养。人工气候箱光周期(L:D)为 14:10,温度为(25±1)℃,相对湿度(RH)为 70%±7%。

1.3.2 金银花尺蠖幼虫粪便提取物的制备

将金银花尺蠖幼虫新鲜粪便用烘箱(45℃)烘干,粉碎机粉碎后过 40 目筛,制成干粉。称取 50 g 粪便干粉放于广口瓶中,加入 500 mL 95%乙醇充分浸泡,48 h 后过滤,滤液用旋转蒸发器(45℃)减压

浓缩至浸膏,经 45 ℃ 烘干即得粪便提取物,置于冰箱中(4 ℃)保存备用。实验前用 95% 乙醇配制成 0.05、0.2、0.35、0.5 mg/mL 和 0.65 mg/mL 5 种不同浓度的溶液。

1.3.3 金银花尺蠖幼虫粪便提取物总还原力的测定

采用铁氰化钾法测定^[13]。取 2.0 mL 不同浓度样品溶液放入各具塞试管中,分别加入 2.5 mL 0.2 mol/L⁻磷酸盐缓冲液(pH = 6.6)和 2.5 mL 1% 铁氰化钾溶液,摇匀,经 50 ℃ 恒温水浴保温 20 min,快速冷却,加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸,摇匀,4 000 rpm 离心 10 min,取 2.5 mL 上清液,加 2.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL 0.1% 三氯化铁,混匀,静止 10 min,测定 700 nm 处的吸光度值(A_{700}),用 95% 乙醇替代样品溶液进行参比测定实验。以同浓度的维生素 C (Vc)水溶液和苦丁茶提取物作阳性对照,实验重复 3 次。苦丁茶提取物的制备方法同 1.3.2。

1.3.4 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对二苯代苦味酰自由基(DPPH)的清除作用

参照文献^[14]方法,用无水乙醇做溶剂,配制成 0.1 mmol/L 的 DPPH 溶液,取 10 mL 具塞试管,分别加入 2.0 mL DPPH 溶液和 2.0 mL 样品溶液,混匀,静置 30 min(避光),以无水乙醇为参比,在 517 nm 处测定吸光度值 A_1 ;取 2.0 mL 无水乙醇和 2.0 mL 样品溶液混合,测定 517 nm 处的吸光度值 A_2 ;再取 2.0 mL 0.1 mmol/L DPPH 与 2.0 mL 无水乙醇混合,测定 517 nm 处的吸光度值 A_0 。根据下列公式计算样品溶液对 DPPH 的清除率:清除率(%) = $(1 - (A_1 - A_2) / A_0) \times 100$ 。以同浓度的维生素 C 和苦丁茶提取物作阳性对照,实验重复 3 次。

1.3.5 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的清除作用

参考文献^[2]方法,在样品管中分别加入各浓度的样品溶液 1.0 mL,再加入 PBS 缓冲溶液(0.4 mol/L, pH 值为 7.4)1.0 mL、2.5 mmol/L 邻菲罗啉溶液 1.0 mL、2.5 mmol/L 硫酸亚铁溶液 1.0 mL、20 mmol/L H_2O_2 溶液 0.5 mL,摇匀,经恒温水浴(37 ℃)保温 1 h,迅速测定 536 nm 处的吸光度值 A_2 。用 1 mL 无水乙醇替代样品溶液作为空白组,测定吸光度值 A_1 ;用 1.5 mL 无水乙醇代替 H_2O_2 溶液和样品溶液作为对照组,测定吸光度值 A_0 。根据下列公式计算样品溶液对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的清除率:清除率(%) = $[(A_2 - A_1) / (A_0 - A_1)] \times 100$ 。以同浓度的维生素 C 和苦丁茶提取物作阳性对照,实验重

复 3 次。

1.3.6 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)的清除作用

采用邻苯三酚自氧化法^[2],取 10 mL 具塞试管,分别加入 3 mmol/L DTPA 溶液 2.0 mL、150 mmol/L Tris-HCL 缓冲液(pH 值为 8.2)2.0 mL、各浓度样品溶液 0.5 mL,经恒温水浴(25 ℃)保温 20 min,迅速加入预热(25 ℃)的 45 mmol/L 邻苯三酚溶液 0.1 mL,摇匀,每隔 30 s 测定 1 次溶液在 325 nm 处的吸光度值,计算 3.5 min 内吸光度值随时间的变化率。空白管中以 0.6 mL 95% 乙醇替代 0.5 mL 样品溶液和 0.1 mL 邻苯三酚溶液。根据下列公式计算样品溶液对超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)的清除率:清除率(%) = $[(F_0 - F_x) / F_0] \times 100$ 。其中:空白溶液吸光度值随时间的变化率为 F_0 ;样品溶液吸光度值随时间的变化率为 F_x 。以同浓度的维生素 C 和苦丁茶提取物作阳性对照,实验重复 3 次。

1.3.7 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对 $\text{ABTS}^+ \cdot$ 自由基的清除作用

参考文献^[15]方法,用蒸馏水作溶剂,配制 140 mmol/L 过硫酸钾溶液和 7 mol/L 的 $\text{ABTS}^+ \cdot$ 溶液,取 88 μL 过硫酸钾溶液和 5.0 mL $\text{ABTS}^+ \cdot$ 溶液,混匀,避光反应 12 ~ 16 h,形成 $\text{ABTS}^+ \cdot$ 储备液。使用前用蒸馏水稀释,形成 734 nm 处吸光度值为 0.7 ± 0.02 的工作液。取 1.0 mL 不同浓度的样品溶液和 4.0 mL $\text{ABTS}^+ \cdot$ 溶液混合,振荡 30 s,常温下避光反应 6 min,测定 734 nm 处的吸光度值 A_1 ;取 1.0 mL 样品溶液,加入 4.0 mL 蒸馏水,测定吸光度值 A_0 ;取 4.0 mL $\text{ABTS}^+ \cdot$ 工作液,加 1 mL 蒸馏水,测定吸光度值 A_2 。根据下列公式计算样品溶液对 $\text{ABTS}^+ \cdot$ 自由基的清除率(%) :清除率(%) = $[A_2 - (A_1 - A_0)] / A_2 \times 100$ 。以同浓度的维生素 C 和苦丁茶提取物作阳性对照,实验重复 3 次。

1.3.8 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对脂质过氧化的抑制作用

参考文献^[16]方法。将卵黄用 PBS 缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.4)配制成体积分数为 3.85% 的悬液,在试管中加入 0.2 mL 卵黄悬液、0.2 mL 样品溶液和 0.2 mL 浓度为 25 mmol/L 的 FeSO_4 ,用 PBS 缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.4)补齐至 2 mL,37 ℃ 恒温振荡 15 min,加入 20% 的三氯乙酸(TCA)0.5 mL,离心 10 min(3 500 rpm),取上清液 2.0 mL,加入 1.0 mL 质量分数为 0.28% 的硫代巴比妥酸(TBA),加塞,沸

水浴加热 15 min,冷却,测定 532 nm 处的吸光度值。以 PBS 缓冲液(0.1mol/L,pH7.4)为空白对照,根据下列公式计算样品溶液对脂质过氧化的抑制率:抑制率(%) = (A₀-A)/A₀ × 100。空白对照管的吸光度值为 A₀,样品管或阳性对照管的吸光值为 A。以同浓度的 Vc 和苦丁茶提取物作为阳性对照,实验重复 3 次。

1.4 数据统计

采用 SPSS11.5 统计软件进行数据分析,采用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验(P < 0.05)。

2 结果与分析

2.1 金银花尺蠖幼虫粪便提取物的总还原力

结果表明,金银花尺蠖幼虫粪便提取物具有一定的还原能力,在浓度为 0.05 mg/mL 时的吸光度值为 0.22,吸光度值随着粪便提取物浓度的增加而不断增大,当浓度上升到 0.65 mg/mL 时,吸光度值为 1.80,增加了 1.58,各浓度之间的差异达显著

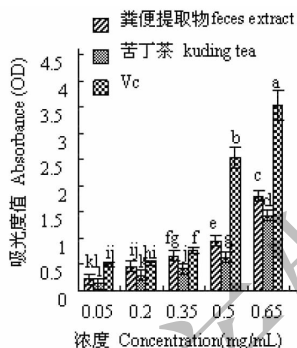


图 1 粪便提取物的总还原力

Fig. 1 General reducing ability of feces extract

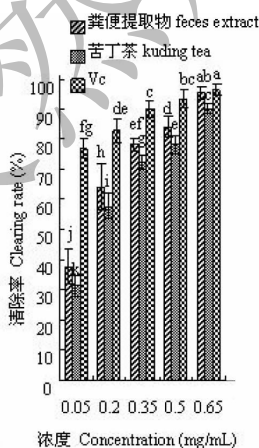


图 2 粪便提取物对 DPPH 的清除作用

Fig. 2 Clearing effects of feces extract on DPPH

水平(P < 0.05),这说明随着粪便提取物浓度的增加,其还原力在不断增大。粪便提取物各浓度下的还原力均高于苦丁茶,除 0.05 mg/mL 外,其它浓度下的还原力与苦丁茶的差异显著(P < 0.05),但各浓度下的还原力均低于维生素 C,除 0.2 mg/mL 和 0.35 mg/mL 外,其它浓度下的还原力与维生素 C 的差异显著(P < 0.05)。粪便提取物在 0.05 ~ 0.65 mg/mL 的浓度范围内,总还原力(y)与浓度(x)之间呈显著的线性关系,拟合方程为 y = 2.4333x - 0.0337, R² = 0.8926。

2.2 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对二苯代苦味酰自由基(DPPH)的清除作用

由图 2 可知,金银花尺蠖幼虫粪便提取物对 DPPH 自由基具有一定的清除能力,在浓度为 0.05 mg/mL 时的清除率为 37.78%,清除率随着粪便提取物浓度的增加而不断增大,当浓度上升到 0.65 mg/mL 时,清除率已达到 95.52%,增加了 57.74%,各浓度之间的差异显著(P < 0.05)。粪便提取物各浓度下的清除率均高于苦丁茶,差异显著(P < 0.05),但各浓度下的清除率均低于维生素 C,除 0.65 mg/mL 外,其他浓度下的清除率与维生素 C 的差异显著(P < 0.05)。粪便提取物在 0.05 ~ 0.65 mg/mL 的浓度范围内,对 DPPH 自由基的清除率(y)与浓度(x)之间呈显著的线性关系,拟合方程为 y = 90.32x + 40.4, R² = 0.9301。

2.3 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对羟基自由基(·OH)的清除作用

由图 3 可知,金银花尺蠖幼虫粪便提取物对羟基自由基(·OH)有一定的清除作用,在浓度为

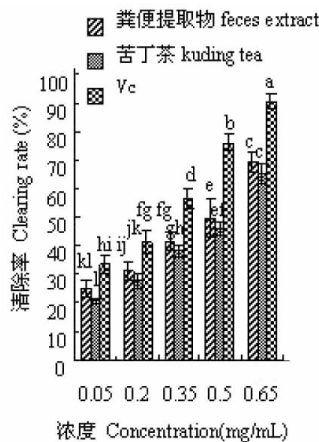


图 3 粪便提取物对羟基自由基(·OH)的清除作用

Fig. 3 Clearing effects of feces extract on hydroxy radical

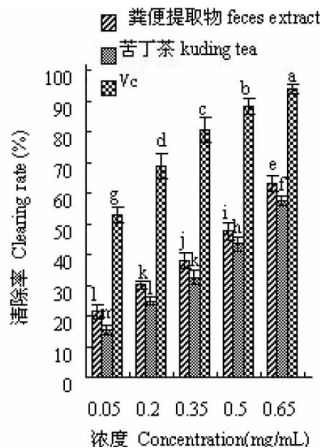


图4 粪便提取物对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)的清除作用

Fig. 4 Clearing effects of feces extract on superoxide anion radical

0.05 mg/mL时,清除率为25.31%,其清除作用随着提取物浓度的升高而逐渐加强,当浓度上升到0.65 mg/mL时,清除率达到69.07%,增加了43.76%,各浓度之间的差异显著($P < 0.05$)。各浓度下的清除率均高于苦丁茶,但差异不显著($P > 0.05$),各浓度下的清除率均显著地低于维生素C($P < 0.05$)。粪便提取物在0.05~0.65 mg/mL的浓度范围内,对羟基自由基($\cdot OH$)的清除率(y)与浓度(x)之间呈显著的线性关系,拟合方程为 $y = 70.507x + 18.739, R^2 = 0.9543$ 。

2.4 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)的清除作用

由图4可知,金银花尺蠖幼虫粪便提取物在体外对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)具有一定的清除作用,在浓度为0.05 mg/mL时,清除率为21.41%,清除率随着粪便提取物浓度的增加而逐渐增加,当浓度上升到0.65 mg/mL时,清除率达63.27%,增加了41.86%,各浓度之间的差异显著($P < 0.05$)。各浓度下的清除率均显著地高于苦丁茶($P < 0.05$),但显著地低于Vc($P < 0.05$)。粪便提取物在0.05~0.65 mg/mL的浓度范围内,对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)的清除率(y)与浓度(x)之间呈显著的线性关系,拟合方程为 $y = 67.427x + 16.457, R^2 = 0.978$ 。

2.5 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对 $ABTS^+ \cdot$ 的清除作用

金银花尺蠖幼虫粪便提取物在体外对 $ABTS^+ \cdot$ 具有一定的清除作用(图5),在浓度为0.05 mg/mL时,对 $ABTS^+ \cdot$ 的清除率为35.82%,清除率随着粪

便提取物浓度的增加而逐渐增加,当浓度上升到0.65 mg/mL时,清除率达72.46%,增加了36.64%,各浓度之间的差异显著($P < 0.05$)。各浓度下的清除率均显著地高于苦丁茶($P < 0.05$),但显著地低于Vc($P < 0.05$)。粪便提取物在0.05~0.65 mg/mL的浓度范围内,对 $ABTS^+ \cdot$ 的清除率(y)与浓度(x)之间呈显著的线性关系,拟合方程为 $y = 58.207x + 31.914, R^2 = 0.9755$ 。

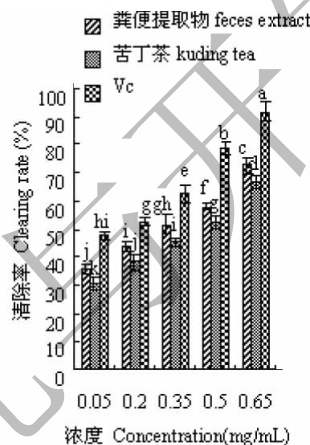


图5 粪便提取物对 $ABTS^+ \cdot$ 的清除作用

Fig. 5 Clearing effects of feces extract on $ABTS^+ \cdot$

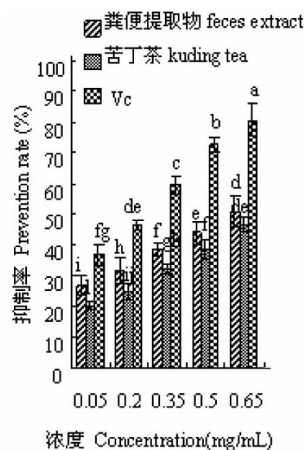


图6 粪便提取物对脂质过氧化的抑制作用

Fig. 6 Prevention effects of feces extract on lipid peroxidation

2.6 金银花尺蠖幼虫粪便提取物对脂质过氧化的抑制作用

图6表示,金银花尺蠖幼虫粪便提取物对 Fe^{2+} 诱导的卵黄脂蛋白脂质过氧化有一定的抑制作用,在浓度为0.05 mg/mL时,对脂质过氧化的抑制率为26.78%,抑制率随着粪便提取物浓度的增加而逐渐增加,当浓度上升到0.65 mg/mL时,抑制率达

50.63%,增加了23.85%,各浓度之间的差异显著($P < 0.05$)。各浓度下的抑制率均高于苦丁茶,除0.65 mg/mL外,其它浓度下的差异显著,各浓度下的抑制率均显著地低于Vc($P < 0.05$)。粪便提取物在0.05~0.65 mg/mL的浓度范围内,对脂质过氧化的抑制率(y)与浓度(x)之间呈显著的线性关系,拟合方程为 $y = 5.993x + 20.339$, $R^2 = 0.9977$ 。

3 讨论与结论

自由基是代谢过程中的副产物,积累过量可损伤机体。抗氧化剂可以清除自由基,避免机体氧化,从而预防炎症反应。化学合成的抗氧化剂因安全性问题,使用范围和使用量受到严格地限制。因此,从生物中提取活性物质进行体外抗氧化实验,筛选出安全、高效的具有清除自由基和抑制脂质过氧化的天然抗氧化剂已成为学者们的研究重点。笔者的实验结果表明,金银花尺蠖幼虫粪便提取物对DPPH自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基和 $ABTS^+ \cdot$ 自由基均有一定的清除作用,在0.05 mg/mL时的清除率分别为37.78%、25.31%、21.41%和35.82%,随着粪便提取物浓度的增加,对各自由基的清除率不断增强,呈明显的线性关系。其它昆虫的粪便提取物,如老鹰茶虫茶提取物对超氧阴离子和羟基自由基的清除率^[6],苦丁茶叶制虫茶粗多酚对DPPH自由基的清除率^[7],也呈类似变化趋势。金银花尺蠖幼虫粪便提取物对卵黄脂蛋白脂质过氧化也具有好的抑制作用,在0.05 mg/mL时的抑制率为26.78%,随着提取物浓度的增加,抑制率也不断增加,呈明显的线性关系。这表明金银花尺蠖幼虫粪便提取物具有较强的抗氧化活性,具有一定的开发利用价值,是一种很好的虫茶资源。

已有的研究表明,虫茶含有多酚物质、有机酸、黄酮类、维生素、矿物质元素和多种氨基酸等多种功能性成分,从而具有比普通茶叶更多的保健功能,如虫茶中的多酚物质具有很强的清除自由基能力,能够阻断脂质过氧化,从而起到抗突变、抗癌症效果^[17];黄酮类物质具有抗氧化、抗肝纤维化、抗炎、降血糖、降血脂及免疫调节等功效^[18,19]。笔者的研究表明,金银花尺蠖幼虫粪便提取物具有一定的抗氧化作用,但还未分离出粪便提取物的具体成分,尚不清楚其抗氧化活性与哪种成分呈显著相关性。今后还需进一步分析粪便提取物的具体成分,以及抗氧化效果与成分的关系。

赵欣报道,苦丁茶虫茶的成分与原料茶有较大的差异,两者清除自由基的能力也不同,由于昆虫特殊的生化作用,虫茶对自由基的清除能力优于原料茶,提高了品质^[9]。金银花是一种中药材,本身就含有多种活性成分^[20],金银花尺蠖幼虫取食金银花后排泄的粪便中含的活性成分与原植物的活性成分的比较还需进一步研究,以明确之间的变化关系,为科学评价粪便提取物的体外抗氧化效果提供依据。

参考文献

- 1 Marx JL. Oxygen free radicals linked to many diseases[J]. *Science*, 1987, 235: 529-531.
- 2 Shan B (单斌), Zhang WG (张卫国), Zhao Q (赵强), et al. Study on the antioxidant activity of polysaccharide from *Momordica Charantia* L[J]. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2009, 37(1): 182-183.
- 3 Wang YP (王彦平), Liu J (刘洁), Wu YM (吴予明), et al. Analysis of nutrition composition on silkworm pupa[J]. *J Zhengzhou Uni, Med Sci* (郑州大学学报, 医学版), 2009, 44: 638-641.
- 4 Pu ZY (蒲正宇), Shi JY (史军义), Yao J (姚俊), et al. Comparative analysis of nutritional components of *Cethosia cyane* larva and pupa[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26: 1252-1256.
- 5 Zhao QR (赵秋蓉), Li JP (李建平), Wu D (吴迪), et al. Studies on the extraction, purification of the polysaccharides in *Cordyceps sinensis* and its autoxidation[J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2012, 28: 238-242.
- 6 Ao C (敖纯). Scavenging effects of Sandy-tea ethanol extract on super oxide anion and hydroxyl radical. *Meat Res* (肉类研究), 2010, 4: 60-64.
- 7 Zhao X (赵欣), Wang Q (王强). Antioxidant, antimutagenic and *in vitro* anticancer effects of crude polyphenols in insect tea made from Kuding tea leaves. *Mod Food Sci Tech* (现代食品科技), 2015, 31(3): 24-28.
- 8 Cai WZ (彩万志), Pang XF (庞雄飞), Hua BZ (花保祯), et al. General Entomology[M]. Beijing: Chinese Agricultural University Press, 2001: 8.
- 9 Wang GJ (王广军), Zhang GY (张国彦), Wang JR (王江蓉). Occuring laws of *Heterolocha jinyinhuaephaga* Chu and the control methods[J]. *Chin Plant Prot* (中国植保导刊), 2005, 25(3): 22-23.
- 10 Jiang M (姜敏), Shao MG (邵明果), Zhao BL (赵伯林). Biology characteristic of *Heterolocha jinyinhuaephaga* Chu and the control methods[J]. *Shandong Sci Tech* (山东林业科技), 2005, 1: 62-63.