

文章编号: 1009 - 0568 (2008) 02 - 0044 - 03

胡杨花粉提取物清除 DPPH 自由基作用的研究

汪河滨^{1,2} 杨磊^{1,2} 曹亚龙^{1,2} 田松^{1,2}

(1 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300)

(2 塔里木大学生命科学学院, 新疆 阿拉尔 843300)

摘要 本文以胡杨花粉为材料, 研究其提取物清除 DPPH 自由基的作用。探索不同提取方法、不同条件、不同溶剂对花粉提取物清除 DPPH 自由基能力的影响。结果表明, 用 60% 的乙醇溶液作为提取溶剂, 选用超声微波协同萃取法提取 30min, 得到的胡杨花粉提取物清除 DPPH 自由基效果最佳。

关键词 胡杨花粉; DPPH 自由基; 抗氧化作用

中图分类号: Q944.42

文献标识码: A

Research on the scavenging effect of extracts from the pollen of *Populus euphratica Oliv* on DPPH free radical

Wang Hebin^{1,2} Yang Lei^{1,2} Cao Yalong^{1,2} Tian Song^{1,2}

(1 Key Laboratory of Biological Resource Protection and Utilization of Tarim Basin, Xinjiang Production and Construction Group, Alar, Xinjiang 843300)

(2 College of life Sciences, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300)

Abstract *Populus euphratica Oliv* pollen were used to study the scavenging DPPH free radical ability of its pollen extraction at different extraction methods, different conditions and in different solvents. The results showed that with 60% of ethanol as solvent extraction, ultrasonic - microwave synergistic extraction for 30 mins, the ability of scavenging DPPH free radical was best.

Keywords *Populus euphratica Oliv* Pollen; DPPH free radical; antioxidation

胡杨 (*Populus euphratica Oliv*) 隶属杨柳科 (*Salicaceae*) 胡杨组 (*Sect I Turang*)^[1]。胡杨是一种很古老的树种, 是新疆干旱荒漠区植被的建群种和优势种, 具有较强的抗逆特性; 胡杨自然分布于北非、中东及我国西北干旱区的河岸和低湿的盐渍地, 目前仅在我国的荒漠区保存大面积林地, 集中分布于塔里木盆地^[2]。

花粉作为健康食疗食品已有上千年的历史, 并且其含营养物质的完全和均衡在自然界中是别的天然产物所无可比拟的, 因而在国际上被称为“完全营

养品”受到人们的重视, 并在世界范围内逐渐掀起花粉保健热^[3]。

自由基是一类外层轨道含有未配对电子的原子、原子团或特殊状态分子, 它是一种高能物质, 具有顺磁性和高度活性, 很容易进行氧化还原反应^[4]。近年来, 衰老的自由基损伤学说受到重视, 衰老过程往往伴随着超氧化物歧化酶活性的降低和脂氧合酶活性的升高, 导致生物体内自由基产生与消除的平衡被破坏, 以致积累过量的自由基, 对细胞膜及许多生物大分子产生破坏作用^[5]。因此, 自由基生物学及

收稿日期: 2008 - 06 - 03

基金项目: 新疆维吾尔自治区高等学校科学研究计划资助项目 (XJ EDU2005G07;

新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室开放课题 (BR0707)

作者简介: 汪河滨 (1980 -) 男, 讲师, 研究方向为天然产物化学。 E - mail: wanghebin329@163.com.

具有清除自由基活性物质的研究越来越受到人们的关注。本文以 DPPH 自由基清除率为评价指标,探索不同提取方法、不同条件、不同溶剂花粉提取物清除 DPPH 自由基的能力,为开发利用胡杨资源提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

1.1.1 仪器

Sartorius S210S 电子天平(北京塞多利斯天平有限公司);超声波清洗器(上海精密仪器仪表有限公司);超声-微波协同萃取仪(上海新拓微波溶样测试有限公司);超纯水仪(美国 Millipore 公司);T6-紫外可见分光光度计(北京普析通用有限公司);循环水式多用真空泵 SHB-III(郑州长城科工贸有限公司)。

1.1.2 材料与amp;试剂

材料:胡杨花粉,采自新疆阿拉尔市农一师农科所。

试剂:二苯代苦味酰肼自由基(DPPH),Sigma 公司;无水乙醇、乙酸乙酯、氯仿(均为国产分析纯)。

1.2 方法

1.2.1 DPPH 溶液的配制

准确称取一定量的 DPPH,用无水乙醇溶解并定容,使其浓度为 $1\mu\text{mol/L}$,避光保存(0~4)。

1.2.2 胡杨花粉提取溶剂的选择

准确称取胡杨花粉 4 份,每份 0.25 g,分别加 95% 乙醇、乙酸乙酯、氯仿和水 50 mL,在室温下超声波辅助提取 30 min,过滤,收集滤液,作为供试液。

准确移取不同胡杨花粉提取液 0.5 mL 与 3.0 mL $1\mu\text{mol/L}$ DPPH 溶液加入同一试管中,摇匀,在黑暗中放置 30 min,以无水乙醇为空白在 517 nm 测定其吸光度 A,并按下式计算其清除率,结果见表 1。

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

式中 A_c : 0.5 mL 无水乙醇加 3.0 mL DPPH 溶液的吸光度;

A_i : 0.5 mL 待测液加 3.0 mL DPPH 溶液的吸光度。

1.2.3 胡杨花粉提取溶剂浓度的选择

准确称取胡杨花粉 5 份,每份 0.25 g,分别加 20%、40%、60%、80%、95% 的乙醇溶液 50 mL,在

室温下超声波辅助提取 30 min,过滤,收集滤液,按 1.2.2 的方法测定,计算其清除率,结果见表 2。

1.2.4 胡杨花粉提取温度的选择

准确称取胡杨花粉 4 份,每份 0.25 g,加 60% 的乙醇溶液,定容到 50 mL 的容量瓶中,在室温、30、40、50 条件下超声波辅助提取 30 min,过滤,收集滤液,按 1.2.2 的方法测定,计算其清除率,结果见表 3。

1.2.5 胡杨花粉提取时间的选择

准确称取胡杨花粉 5 份,每份 0.25 g,加 60% 的乙醇溶液,定容到 50 mL 的容量瓶中,在室温下超声波辅助提取,时间分别为 10、20、30、40、50 min,过滤,收集滤液,按 1.2.2 的方法测定,计算其清除率,结果见表 4。

1.2.6 胡杨花粉辅助提取方法的选择

准确称取胡杨花粉 4 份,每份 0.25 g,加 60% 的乙醇溶液 50 mL,在室温下分别用超声波辅助提取、微波辅助提取、超声微波协同萃取以及常规水浴提取,时间为 30 min,过滤,收集滤液,按 1.2.2 的方法测定,计算其清除率。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择结果

分别用 95% 乙醇、乙酸乙酯、氯仿和水四种提取溶剂提取胡杨花粉,提取液清除 DPPH 的效果见表 1。

表 1 不同溶剂提取液对 DPPH 的清除效果

溶剂	浓度 (5mg/mL)	清除率 (%)	差异显著性	
			= 0.05	= 0.01
95% 乙醇	0.5	65.19	a	A
水	0.5	63.15	b	B
乙酸乙酯	0.5	41.04	c	C
氯仿	0.5	9.64	d	D

由表 1 可知四种提取液对 DPPH 都有清除作用,清除作用大小为:95% 乙醇 > 水 > 乙酸乙酯 > 氯仿;乙醇提取液对 DPPH 的清除效果较好,所以选用乙醇作为提取溶剂。通过单因素方差分析表明四种溶剂之间均有显著性差异。

2.2 胡杨花粉提取溶剂浓度的选择结果

用不同浓度的乙醇提取胡杨花粉,提取液对 DPPH 的清除作用见表 2。

表2 不同浓度乙醇提取液对 DPPH 的清除效果

乙醇浓度 (%)	浓度 (5mg/mL)	清除率 (%)	差异显著性	
			= 0.05	= 0.01
95	0.5	65.20	a	A
80	0.5	67.12	ab	A
60	0.5	66.38	b	AB
40	0.5	64.08	c	BC
20	0.5	62.71	c	C

由表2可知80%的乙醇提取液对DPPH的清除作用好于其它浓度的提取液。但通过单因素方差分析表明80%的乙醇提取液和90%、60%的乙醇提取液之间没有显著性差异,基于对成本的考虑选用60%的乙醇提取即可。

2.3 胡杨花粉提取温度的选择结果

在不同温度条件下提取的胡杨花粉,其提取液对DPPH的清除作用见表3。

表3 不同温度胡杨花粉提取液对 DPPH 的清除率

温度 (°C)	浓度 (5mg/mL)	清除率 (%)	差异显著性	
			= 0.05	= 0.01
室温	0.5	68.1	a	A
30	0.5	68.06	a	A
40	0.5	68.01	a	A
50	0.5	67.95	a	A

由表3可知从室温到50℃不同温度下胡杨花粉提取液对DPPH的清除率相差很小,各温度之间没有显著性差异,所以选择常温下进行提取即可。

2.4 胡杨花粉提取温度的选择结果

用不同时间提取胡杨花粉,提取液对DPPH的清除作用见表4。

表4 不同时间胡杨花粉提取液对 DPPH 的清除率

时间 (min)	浓度 (5mg/mL)	清除率 (%)	差异显著性	
			= 0.05	= 0.01
30	0.5	67.13	a	A
40	0.5	65.01	b	B
20	0.5	64.11	b	BC
50	0.5	63.32	bc	BC
10	0.5	62.47	c	C

由表4可知当提取时间为30min时,胡杨花粉提取液对DPPH的清除作用好于其它时间段。通过

单因素方差分析可知,30min提取时间与其它提取时间都存在显著性差异。

2.5 胡杨花粉辅助提取方法的选择结果

用不同辅助方法提取胡杨花粉,提取液对DPPH的清除作用见表5。

表5 不同辅助提取方法花粉提取液对 DPPH 的清除率

提取方法	浓度 (5mg/mL)	清除率 (%)	差异显著性	
			= 0.05	= 0.01
超声微波协同提取法	0.5	68.25	a	A
超声波提取法	0.5	67.13	a	A
微波提取法	0.5	67.11	a	A
水浴提取法	0.5	63.67	b	B

由表5可知超声微波协同提取法提取胡杨花粉的提取液对DPPH的清除作用好于用其它方法提取的提取液。通过单因素方差分析可知,超声波微波协同提取法、超声波提取法、微波提取法之间没有显著性差异,但都与常规水浴提取法有显著性差异。

3 结论

实验结果表明60%的乙醇溶液作为提取溶剂,选用超声波微波协同萃取法提取30min,得到的胡杨花粉提取液清除DPPH自由基效果最佳。

参考文献

- [1] 郭建成,吴平.胡杨花粉贮存条件对其生活力影响的研究[J].内蒙古草业,2005,3:36~37.
- [2] 李志军,刘建平,于军,等.胡杨、灰叶胡杨生物生态学特性调查[J].西北植物学报,2003,23(7):1292~1296.
- [3] 腾燕华,张红.松花粉与人类健康[M].北京:中国轻工业出版社,2002:46.
- [4] 韩强,林惠芬,朱玲莉.一些天然提取物对超氧自由基和羟基自由基的清除作用[J].日用化学工业,2000,3:14~17.
- [5] 王中,顾蕴洁,陈刚,等.植物生理学[M].北京:科学技术文献出版社,2003:386.