

蒲公英绿原酸白芨多糖包合物的抗氧化作用

沈 奇^{1,2}, 沈小青², 吴国荣²

(1 南京特殊教育职业技术学院, 江苏 南京 210038)

(2 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210046)

[摘要] 主要比较了绿原酸及其白芨多糖包合物(B-CA)的体外抗氧化作用, 分别研究了在化学模拟条件下清除超氧阴离子(O_2^-)、羟自由基($\cdot OH$)以及模拟高温促腐败、酸败环境对猪油过氧化值(POV)与酸价(AV)的影响。结果表明, 绿原酸及其包合物都能够有效的清除 O_2^- 、 $\cdot OH$ 及在高温环境中可抑制 POV 以及 AV 值的增加, 并且超过阳性对照物茶多酚的作用。白芨多糖包合物比未包含的绿原酸有更强的抗氧化作用, 这可能与包含后的稳定性增加相关。

[关键词] 蒲公英, 绿原酸, 包含, 白芨多糖, 抗氧化

[中图分类号] Q946.3 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2010)03-0081-04

Study on the Anti-lipid Peroxidation of Em bedded Ch brogenic Acid in Dandelion

Shen Qi^{1,2}, Shen Xiaoqing², Wu Guorong²

(1 China Nanjing Technical College of Special Education, Nanjing 210038, China)

(2 School of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

Abstract Embedded ch brogenic acid in dandelion with neutral heteropolysaccharide of *Bletilla striata* (BSPS) was studied in this paper. In order to investigate the difference of the anti-lipid peroxide between CA and B-CA, the clearing function on superoxide anion(O_2^-) and hydroxyl radical($\cdot OH$) of CA and B-CA was evaluated in this paper. And the inhibition on POV value and AV value of oil was studied in this paper too. The results showed that CA and B-CA had clearing function on O_2^- and OH. And they had the inhibition on POV value and AV value of oil too. Their function exceeds the function of CHA which is commonly used as positive control drug. B-CA has a better antioxidative function than CA which is according to the enhance of stability of inclusion.

Key words dandelion, ch brogenic acid, inclusion, neutral heteropolysaccharide of *Bletilla striata*, antioxidation

绿原酸(ch brogenic acid), 又名 3-咖啡酰奎尼酸(3-caffeoylquinic acid), 是植物细胞在有氧呼吸过程中经磷酸戊糖途径(HMS)的中间产物合成的一种苯丙素类物质^[1]。它具有较强生物学活性, 对消化系统、血液系统等均有药理作用; 除此之外, 在抗氧化、抗紫外、抗癌等方面也有作用, 从而在食品、化妆品等方面有着极大的应用潜力^[2,3]。而白芨多糖自古以来一直作为中药使用, 并且也作为保湿剂与粘稠剂广泛应用于各种化妆品中^[4]。由于绿原酸的性质不稳定^[5], 见光条件下接触氧气易分解。而白芨多糖是由甘露糖和葡萄糖聚合而成的, 两种糖基的比例大约为 4:1。一般以 β 型糖苷键为主, 具有大段 α -螺旋, 具有作为包合物的一种基本结构。因此采用白芨多糖将其包含旨在增加其稳定性。本文主要探究绿原酸包含前后在化学模拟上以及实际应用上的抗氧化作用变化, 并初步探讨其作用机制, 为增加开发绿原酸的利用作些基础性研究。

收稿日期: 2009-00-00

基金项目: 国家科学技术部科研院所开发研究专项课题(2002EG163191)、国家基础科学人才培养基金(J0730650)。

通讯联系人: 吴国荣, 教授, 研究方向: 植物生理生化。E-mail: wsgjyng@163.com

1 材料与方 法

1.1 材料

绿原酸 (CA) 自制, 沈奇, 吴国荣^[6], 从蒲公英提取出绿原酸, 纯度为 87.6%. 白 芨多糖 (BSPS) 采取芮海云、吴国荣^[4]的方法.

猪油: 市售新鲜猪板油, 湿法熬制, 过滤后置于冰箱内备用.

1.2 试剂

超氧阴离子 (O_2^-)、羟自由基 ($\cdot OH$) 测定试剂盒均购于南京建成生物工程研究所. 甲醇、氢氧化钠、蒸馏水、乙醚、乙醇、酚酞、三氯甲烷、乙酸、碘化钾、淀粉、 $Na_2S_2O_3$ 、重铬酸钾、浓硫酸等均为分析纯.

1.3 方 法

1.3.1 绿原酸白 芨多糖包合物 (B-CA) 的制备

按照环糊精包合物的制法^[7]: 精确称取白 芨多糖 100 mg 加入 10 mL 蒸馏水. 混匀后, 加绿原酸 20 mg 搅拌. 充分搅拌 10 h 后, 过滤, 冷冻干燥, 备用.

1.3.2 体外去除羟自由基作用

参照文献 [5] 的方法.

1.3.3 体外去除超氧阴离子作用

超氧阴离子的产生量的测定用亚硝酸盐显色法^[9].

1.3.4 猪油的处理

见参考文献 [10]. 本试验采用同批体积相同的玻璃瓶, 分别装入 10 g 的猪油, 按 0.02% 加入抗氧化剂, 其中每种抗氧化剂的每个浓度均配制 3 瓶, 测定结果取平均值, 尽量减少误差. 混合均匀保存于 65℃ 的烘箱中. 每隔 24 h 开箱搅拌 1 次, 并交换它们在烘箱中的位置. 每隔 4 d 测 1 次酸价 (AV) 和过氧化值 (POV), 测出猪油在 70℃ 环境下的情况. 重复 3 次. 数据用 STAT IC 软件处理.

1.3.5 过氧化值 (POV) 的测定

按 GB/T 5009 37 96 的标准方法测定放置过程中的过氧化值 (POV).

1.3.6 酸价 (AV) 的测定

参考侯曼玲的方法^[11].

2 结果与分 析

2.1 绿原酸及其包合物对羟自由基和超氧阴离子的抑制作用

实验结果显示: 在化学模拟环境下, CA 与 B-CA 对超氧阴离子以及羟自由基的形成均有明确的抑制作用, 且有明显的剂量 - 效应关系, 并且去除羟自由基的效果明显强于清除超氧阴离子. 在去除羟自由基作用中 (图 1), 我们可以明显看出 CA 的效果比其包合物的效果要弱, 在 400 mg/L 的各样品处理组之间可以看出 B-CA 处理组分别比 CA 处理组以及茶多酚 (CHA) 处理组要高 26.5% 和 43.9% ($p < 0.05$). 在去除羟自由基作用中 (图 2), 400 mg/L B-CA 处理组分别比同浓度的 CA 处理组和 CHA 处理组分别高出 5.3% 和 36.5%. 在 200 mg/L 的各样品处理组中可以看出 B-CA 处理组比 CA 处理组高 19.98%, 比 CHA 处理组高 41.5%, 差异显著 ($p < 0.05$).

2.2 绿原酸及其包合物对猪油过氧化值 (POV) 的影响

我们可以看出绿原酸及其白 芨多糖包合物各处理组的抑制作用都是呈现剂量关系 (图 3), 即反应液浓度与作用效果呈正比 ($r = 0.99$ $r = 0.91$). 在第 16 d 绿原酸处理组及其包合物处理组都优于茶多酚处理组的抗氧化效果, POV 值分别比茶多酚处理组多 70.3% ($p < 0.01$) 和 33.0% ($p < 0.01$). 绿原酸处理组与对照组降低了 1.5% ($p < 0.05$). 在保鲜效果后期, 绿原酸处理组比其包合物处理组升高了 57.7% ($p < 0.01$).

2.3 绿原酸及其包合物对猪油酸价 (AV) 的影响

我们仍然可以看出绿原酸及其白 芨多糖包合物的各处理组的抑制作用同样也呈现剂量关系 (图 4),

即反应液浓度与作用效果呈正比 ($r = 0.94$ $r = 0.91$). 两者都优于茶多酚处理组的效果, 抑制酸价的增加. 400mg/L 绿原酸处理组与同浓度的茶多酚处理组降低了 12.7%. 同样, 同浓度的绿原酸白芨包合物处理组比茶多酚处理组下降了 31.1% ($p < 0.05$). 绿原酸和包合物分别与对照比较, 它们之间差异性极其显著 ($p < 0.01$; $p < 0.01$). 我们也可以看到包合物各处理组的抑制效果明显比绿原酸各处理组好.

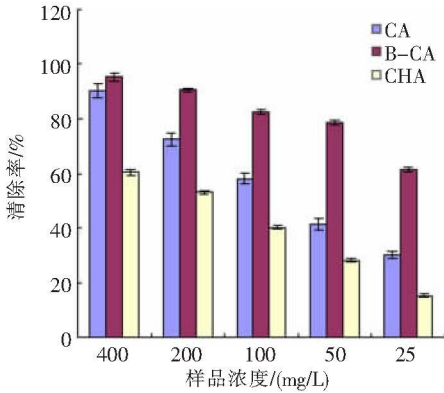


图1 绿原酸及其包合物对羟自由基的清除作用 ($n=5$)

Fig.1 The clearing function on hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) of CA and B-CA ($n=5$)

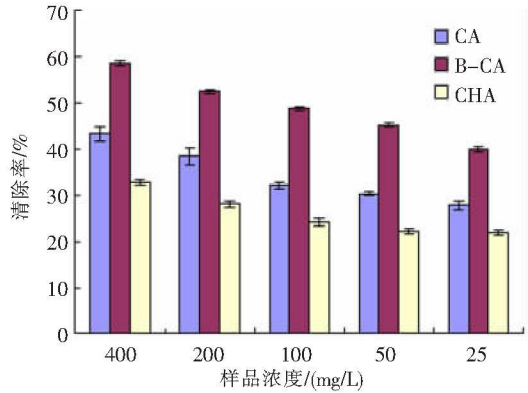


图2 绿原酸及其包合物对超氧阴离子的清除作用 ($n=5$)

Fig.2 The clearing function on superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$) of CA and B-CA ($n=5$)

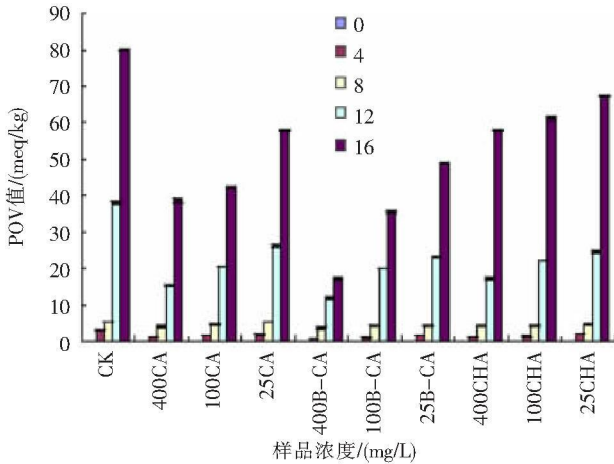


图3 绿原酸及其包合物对猪油 POV 值的影响 ($n=5$)

Fig.3 The effect of chlorogenic acid and its inclusive on POV value of oil ($n=5$)

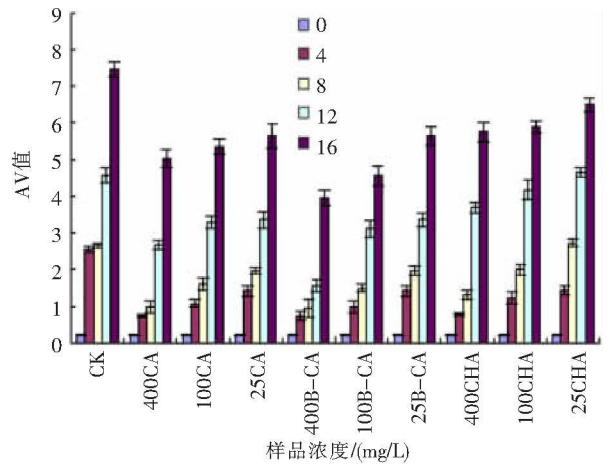


图4 绿原酸及其包合物对猪油 AV 值的影响 ($n=5$)

Fig.4 The effect of chlorogenic acid and its inclusive on AV value of oil ($n=5$)

3 小结

我们通过实验研究发现绿原酸及其包合物都具有一定的清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot\text{OH}$ 的能力, 并且要强于茶多酚. 原因可能是, 绿原酸及其包合物都具有酚羟基, 易被氧化成醌类物质, 其结构上的 X 电子能与氧原子不成对的单电子互相作用, 发生共轭效应, 使不成对的单电子向苯环靠近, 使氧自由基的能量下降^[12-14], 从而抑制了 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot\text{OH}$ 的形成.

在高温促腐败、酸败环境下我们直接运用猪油为我们实验底物, 构建模型来探讨绿原酸及其包合物对猪油抗氧化的过程, 从而反映出它们对脂质过氧化的抑制作用. 猪油的 POV 值指的是可以了解油脂的自动氧化进行的程度. 成熟、新鲜的油料中所榨取的油脂, 几乎全是甘油三酸酯, 用碱液检查时呈中性. 但油脂中由于解酯酶的存在, 以及细菌、霉菌、环境条件的影响, 则会水解产生一定量的游离脂肪酸, 从而使油脂的品质变劣, 严重时甚至发生酸败而不能食用. 酸价是反应油脂质量的主要技术指标之一^[9]. 而我们的高温促酸败和腐败环境的实验结果表明, B-CA 可抑制 POV 值和 AV 值升高, 与对照相比, 达到显著和极显著的水平.

白芨多糖作为胶囊包合中药已经用于临床实验^[15]. 它之所以具有抗氧化的性质, 原因可能是:

①使得绿原酸更加稳定; ②白芨多糖与绿原酸具有协同作用, 二者都具有酚羟基.

因此, 白芨多糖包合绿原酸可以两种可能形式:

①由于其相对分子质量较大, 因此可能形成包裹, 成为微囊体结构. 目前应用的白芨和其它物质共同作用形成微囊包合技术是比较成熟的; ②其结构比较整齐, 而三种糖苷键结合起来都可以形成螺旋结构, 因此可以认为其中空部位的羟基与绿原酸奎宁酸的羟基可能通过疏水键以及氢键作用包合起来.

[参考文献]

- [1] Hume A C. The isolation of chlorogenic acid from the apple fruit[J]. Biochem J 1953, 53(3): 337-340.
- [2] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 396-397.
- [3] Y Kono, S Kashine, T Yoneyama et al. Iron chelation by chlorogenic acid as a natural antioxidant[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1998.
- [4] 芮海云, 吴国荣, 陈景耀, 等. 白芨中性杂多糖的分离纯化与结构分析[J]. 安徽农业大学学报, 2004, 31(1): 30-33.
- [5] 顾利红. 日光和温度对绿原酸供试液稳定性的影响[J]. 中成药, 1999, 21(11): 568-569.
- [6] 沈奇, 赵厚民. 蒲公英绿原酸提取分离工艺的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(7): 140-144.
- [7] 沈奇, 吴晓慧, 王敏, 等. 蒲公英绿原酸- β -环糊精包合物的鉴定及抗氧化作用的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 30-34.
- [8] 董季平, 吴珍岭. 黑豆皮醇提物清除自由基效果的研究[J]. 西南农业大学学报, 2002, 24(5): 445-449.
- [9] 陈红红, 胡昱新, 张亚妮, 等. 苯酚类螯合剂清除氧自由基及抗辐射脂质过氧化作用研究[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 1999, 17(4): 209-213.
- [10] 李平, 王艳辉, 马润宇. 水提山茱萸多糖的理化性质及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2003, 24(7): 133-137.
- [11] 侯曼玲. 食品分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 1-222.
- [12] Guo Q, Zhao B L, Li M J et al. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols (GTP) against lipid peroxidation in synaptosomes[J]. Biochem Biophys Acta 1996, 1304: 210-222.
- [13] Lee S R, Im K J, Suh S I et al. Protective effect on green tea polyphenol(-)-epigallocatechin gallate and other antioxidants on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates[J]. Phytotherapy Res 2003, 17(3): 206-209.
- [14] 方允中, 李文杰. 自由基与酶[M]. 北京: 科学出版社, 1989: 17-63.
- [15] 薛春兰, 苗靖, 曹海燕, 等. 白芨胶-聚乙烯醇后马托品眼用膜的药效观察[J]. 中国医药工业杂志, 1999, 30(2): 70-73.

[责任编辑: 孙德泉]