

# 蛤蒻叶水提取物抗氧化活性的热稳定性研究

林震<sup>#</sup>, 王嘉欣<sup>#</sup>, 陈秋莹, 李嘉伟, 罗萍<sup>\*</sup>

(广东海洋大学化学与环境学院, 湛江 524088)

**摘要:** **目的** 探究较高温条件下蛤蒻叶水提取物抗氧化活性的热稳定性。**方法** 采用不同温度水浸提蛤蒻叶, 检测不同温度提取物对 DPPH 及羟自由基清除能力, 评估抗氧化活性, 并定量其中总多酚、总多糖和总黄酮含量。**结果** 蛤蒻叶水提取物有较好的抗氧化能力, 呈现浓度依赖性。当提取温度为 50 °C 和 80 °C 时, 水提取物分别对羟自由基和 DPPH 自由基有最强的清除能力。相应的 IC<sub>50</sub> 值分别为 (0.604±0.004) mg/mL、(0.314±0.002) mg/mL, 其活性物质含量的变化与抗氧化能力的变化呈现出相关性, 提取温度为 80 °C 时, 提取物中总黄酮、总多糖、总多酚有较高的含量, 分别为 24.91、232.07、34.98 mg/mL。**结论** 蛤蒻叶水提取物对 2 类自由基有最佳清除能力时的提取温度不同, 其中对 DPPH 自由基清除活性具有一定的热稳定性, 而对羟自由基的清除活性的热稳定性则较差。而总黄酮、总多糖、总多酚在 80 °C 时能被充分提取, 同时不受热分解。**关键词:** 蛤蒻叶; 抗氧化活性; 热稳定性

## Thermal stability of antioxidant property in aqueous extract of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf

LIN Zhen<sup>#</sup>, WANG Jia-Xin<sup>#</sup>, CHEN Qiu-Ying, LI Jia-Wei, LUO Ping<sup>\*</sup>

(College of Chemistry & Environment, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the thermal stability of the antioxidant activity of the aqueous extract of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf. **Methods** The extraction of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf with water at different temperatures was used to detect the DPPH and hydroxyl radical scavenging ability of the extracts at different temperatures, and to evaluate the antioxidant activity, and the content of total polyphenols, total polysaccharides and total flavonoids were quantified. **Results** The aqueous extract of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf had antioxidant capacity in a dose-dependent manner. When the extraction temperature was 50 °C and 80 °C, the aqueous extract had the strongest scavenging ability to hydroxyl radical and DPPH radical and the corresponding IC<sub>50</sub> numerical values were (0.604±0.004) mg/mL and (0.314±0.002) mg/mL, respectively. The changes in the content of active substances were correlated with the changes in antioxidant capacity. When the extraction temperature was 80 °C, the content of total flavonoids, total polysaccharides and total polyphenols in the extract was higher, they were 24.91, 232.07 and 34.98 mg/mL, respectively. **Conclusion** When the aqueous extract of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf has the best scavenging ability for 2 kinds of free radicals, the extraction temperature is different, and the scavenging activity of

基金项目: 广东省大学生创新创业训练计划项目(CXXL2017085)

Fund: Supported by Guangdong University Students Innovation and Entrepreneurship Training Program (CXXL2017085)

<sup>#</sup>林震、王嘉欣为共同第一作者。

<sup>#</sup>LIN Zhen and WANG Jia-Xin are co-first authors.

\*通讯作者: 罗萍, 主要研究方向为天然生物活性物质。E-mail: luopingna@163.com

\*Corresponding author: LUO Ping, College of Chemistry & Environment, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China. E-mail: luopingna@163.com

DPPH free radical has a certain thermal stability, while the scavenging activity of hydroxyl free radical has a poor thermal stability. However, total flavonoids, total polysaccharides and total polyphenols can be fully extracted at 80 °C without thermal decomposition.

**KEY WORDS:** *Piper sarmentosum* Roxb. leaf; antioxidant activities; thermal stability

## 1 引言

蛤蒻(*Piper sarmentosum* Roxb.)又名假蒟、毕拔菜等,为胡椒科胡椒属植物,是分布在东南亚的一种植物,其地上茎叶部分常以各种形式烹饪作为蔬菜食用。蛤蒻具有利湿、消肿、行气、通窍、温胃等功能,常用于治疗胃痛、胃肠炎、头痛、牙痛、鼻炎、皮肤湿疹、水肿、疝气痛、风寒咳嗽等症状<sup>[1]</sup>。蛤蒻叶还是南方人餐桌上的美味,常被用来做成各种菜品、汤品、面食小吃等,具有较高开发和利用价值<sup>[2]</sup>。研究表明蛤蒻叶的提取物具有抗氧化作用<sup>[3]</sup>,其中含有的粗多糖发挥了抗氧化的活性<sup>[4]</sup>,同时其抗氧化活性与总酚、黄酮类化合物和酰胺的含量之间有正相关性<sup>[5]</sup>。植物中所含的黄酮<sup>[6]</sup>、多酚<sup>[7]</sup>以及多糖<sup>[8]</sup>具有抗氧化的作用,这些具有抗氧化能力的分子可以干预和抑制链式氧化反应的发生与传导,从而保护细胞内的一些关键蛋白免受活性自由基的损害<sup>[9]</sup>。通过食用富含强抗氧化活性分子的水果和蔬菜可以减少氧化应激的发生<sup>[10]</sup>。然而,这些抗氧化活性物质受温度影响较大。因此,为更好地利用蛤蒻叶的营养价值,本研究进一步探索提取温度对新鲜蛤蒻叶提取物清除自由基能力的影响,同时对其中的总黄酮、总多酚以及总多糖的含量进行检测,作为其抗氧化能力的辅助判断,为蛤蒻叶的食用加工提供参考。

## 2 材料与方 法

### 2.1 试剂与仪器

新鲜蛤蒻(胡椒目胡椒科)地上茎叶于夏季采自湛江湖光岩景区。

无水乙醇、碳酸钠、亚硝酸钠、十二水合磷酸氢二钠、二水合磷酸二氢钠、30%过氧化氢、七水合硫酸亚铁、葡萄糖、氢氧化钠(分析纯,西陇化工有限公司);芦丁标准品(HPLC≥98%)、福林酚试剂(1 mol/L)(源叶生物有限公司);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、九水合氢氧化铝、一水合没食子酸(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);浓硫酸(分析纯,廉江市爱廉化试剂有限公司);苯酚(分析纯,广东翁江化学试剂有限公司);邻二氮菲(纯度99%,广东光华科技股份有限公司)。

BL25B37 搅拌机(广东美的集团);AUY120 分析天平(日本岛津公司);TGL-16G 台式高速离心机(湖南星科科学有限公司);UV-5500 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 蛤蒻叶提取物的制备

将洗净的新鲜蛤蒻叶放入搅拌机中打碎,称取5 g 蛤蒻叶碎片于锥形瓶中,以料液比为1:15(g/mL)加入蒸馏水,分别放在温度为50、65、80、95 °C下恒温提取2 h,4500 r/min 离心10 min后,取上清液,即得蛤蒻叶提取物<sup>[11]</sup>。

#### 2.2.2 抗氧化能力测定

##### (1)蛤蒻叶提取物清除 DPPH 自由基能力的测定

将在4个不同提取温度(50、65、80、95 °C)下得到的蛤蒻叶提取物设置为4组,每组分别取0.350、0.245、0.171、0.120、0.084 mL,加蒸馏水至2.0 mL,加入2.0 mL DPPH 溶液( $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L),混匀后放置于暗处30 min,以蒸馏水作参比溶液,测定溶液在517 nm 波长处的吸光度( $A_i$ )<sup>[12]</sup>。

按照上述操作,以同样方法测定上述样品溶液2.0 mL 与2.0 mL 蒸馏水,记为 $A_j$ ,以及测定2.0 mL DPPH 溶液与2.0 mL 蒸馏水,记为 $A_0$ 。每组测定均平行3次,最终结果取平均值。

$$\text{DPPH 清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100$$

##### (2)蛤蒻叶提取物清除羟自由基能力的测定

将在4个不同提取温度(50、65、80、95 °C)下得到的蛤蒻叶提取物设置为4组,每组分别取5个不同体积的蛤蒻叶提取物,用蒸馏水定容至25.0 mL,采用邻二氮菲- $\text{Fe}^{2+}$ - $\text{H}_2\text{O}_2$ 法测定上述样品对羟自由基的清除作用。按表1方法加样后,混合均匀,于37 °C恒温水浴20 min,测定在510 nm 处的吸光度。每组测定均平行3次,结果取平均值<sup>[13,14]</sup>。

表1 邻二氮菲- $\text{Fe}^{2+}$ - $\text{H}_2\text{O}_2$ 法加样表

Table 1 Table of sample addition by o-diazophene- $\text{Fe}^{2+}$ - $\text{H}_2\text{O}_2$  method

| 试剂                     | 空白管<br>/mL | 未损伤管<br>$A_1$ /mL | 损伤管<br>$A_2$ /mL | 样品管<br>$A_3$ /mL |
|------------------------|------------|-------------------|------------------|------------------|
| 磷酸盐缓冲液                 | 2          | 2                 | 2                | 2                |
| 邻二氮菲                   |            | 1                 | 1                | 1                |
| 硫酸亚铁                   |            | 1                 | 1                | 1                |
| 蒸馏水                    | 28         | 26                | 25               |                  |
| 样品                     |            |                   |                  | 25               |
| $\text{H}_2\text{O}_2$ |            |                   | 1                | 1                |
| 总体积                    | 30         | 30                | 30               | 30               |

注:磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH 7.4);邻二氮菲溶液(5.0 mmol/L);硫酸亚铁溶液(5.0 mmol/L); $\text{H}_2\text{O}_2$ (6.0 mmol/L)。

$$\text{羟基自由基清除率(\%)} = \frac{A_3 - A_2}{A_1 - A_2} \times 100$$

式中  $A_1$ -未损伤管;  $A_2$ -损伤管;  $A_3$ -样品管。

### 2.2.3 蛤蒺叶提取物的全波长扫描

取在不同提取温度下取得的蛤蒺叶提取物于波长 190~800 nm 条件下进行全波长扫描<sup>[15]</sup>。

### 2.2.4 蛤蒺叶提取物得率的测定

取在不同提取温度下取得的蛤蒺叶提取物 5 mL 于平皿中, 置烘箱中烘干至恒重, 每组测定均平行 3 次, 最终结果取平均值<sup>[16]</sup>。计算公式如下:

$$\text{得率} = \frac{m_1 - m_0}{5 \times 0.0667} \times 100\%$$

$m_0$  为平皿的质量, g;  $m_1$  为提取物烘干至恒重后与平皿的质量总和, g; 0.0667 表示 1 mL 蛤蒺叶提取物理论上 0.0667 g 蛤蒺叶原料。

### 2.2.5 蛤蒺叶提取物抗氧化活性成分含量的测定

#### (1) 总黄酮含量的测定(硝酸铝显色法)

精密称取干燥至恒重的芦丁标准品 5.0 mg, 用 60% 微热乙醇溶解并定容至 50 mL, 摇匀, 即得 0.1 mg/mL 芦丁标准溶液。准确吸取上述标准溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 6 支具塞试管, 分别加入 30% 乙醇至 5 mL, 加入 5%  $\text{NaNO}_2$  溶液 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min 后, 加入 10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 0.3 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再加入 1 mol/L  $\text{NaOH}$  溶液 4.0 mL, 最后加入 0.4 mL 蒸馏水, 摇匀, 放置 10 min 后, 于 510 nm 波长处测定吸光度。

将在不同提取温度下得到的蛤蒺叶提取物稀释一倍后分别取 3.0 mL 于 4 支具塞试管中, 按上述方法测定样品的总黄酮含量, 每组测定均平行 3 次, 最终结果取平均值<sup>[17,18]</sup>。

#### (2) 总糖含量的测定(苯酚-硫酸法)

精密称取无水葡萄糖 59.7 mg, 用蒸馏水溶解后定容至 100 mL, 即可得到 0.597 mg/mL 的标准葡萄糖溶液, 取该标准溶液 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL, 分别加蒸馏水定容至 25 mL 后, 吸取该溶液各 2.0 mL 于 6 支试管中, 分

别加入 6% 苯酚溶液 1.0 mL, 摇匀, 再加入浓硫酸 5.0 mL, 摇匀, 放置 30 min 后, 于 490 nm 处测吸光度。

将在不同提取温度下得到的蛤蒺叶提取物稀释一倍后分别取 0.2 mL 于 4 支试管中, 按上述方法测定样品的总糖含量, 每组测定均平行 3 次, 最终结果取平均值<sup>[19,20]</sup>。

#### (3) 总多酚含量的测定(Folin-Ciocalteu 法)

精确称量一水合没食子酸标准品 11.1 mg, 用水溶解后定容于 100 mL 容量瓶中, 得到 0.1 mg/mL 的没食子酸标准液。分别取没食子酸标准液 0.0、0.15、0.3、0.45、0.6、0.75 mL 置于 10 mL 试管中, 分别加入 Folin-酚试剂(1:3, V:V) 2.0 mL, 摇匀, 放置 5 min, 再加入质量分数 7.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液 3.0 mL, 用蒸馏水定容至 10 mL, 摇匀, 于 45 °C 显色 30 min, 在 760 nm 波长下测定吸光度。

分别取在不同提取温度下得到的蛤蒺叶提取物 0.2 mL, 置于 4 支 10 mL 试管中, 按上述方法测定样品的多酚含量, 每组测定均平行 3 次, 最终结果取平均值<sup>[21,22]</sup>。

### 2.2.6 数据处理

实验数据采用 SPSS 25.0 与 Origin 2018 软件进行处理, 数据结果均以平均值±SD 表示。组间差异采用单因素方差分析检验。

## 3 结果与分析

### 3.1 提取温度对蛤蒺叶提取物抗氧化活性的影响

#### 3.1.1 提取温度对蛤蒺叶提取物清除 DPPH 自由基能力的影响

由表 2 可知, 不同温度所得提取物对 DPPH 自由基均具有一定清除效果, 且呈现出浓度依赖关系。随着温度升高, 提取物对 DPPH 自由基清除能力有显著影响( $P < 0.05$ ), 在 80 °C 时  $\text{IC}_{50}$  值最低, 其清除能力达到最强。而温度低于 80 °C 时或高于 80 °C 时, 其对 DPPH 自由基的清除能力低。这可能是由于温度低时, 抗氧化活性物质得不到充分提取, 而当温度高于 80 °C 时, 大部分抗氧化活性物质受热被破坏。

表 2 不同提取温度的蛤蒺叶提取物对 DPPH 自由基清除能力

Table 2 DPPH radical scavenging ability of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf's extract at different extraction temperatures

| 提取温度/°C |            | DPPH 自由基清除效率 |       |       |       |       | $\text{IC}_{50}/(\text{mg/mL})$ |
|---------|------------|--------------|-------|-------|-------|-------|---------------------------------|
| 50      | 浓度/(mg/mL) | 0.68         | 0.47  | 0.33  | 0.23  | 0.16  | 0.351±0.002 <sup>b</sup>        |
|         | 清除率/%      | 78.04        | 62.63 | 43.98 | 31.81 | 22.02 |                                 |
| 65      | 浓度/(mg/mL) | 0.58         | 0.41  | 0.28  | 0.20  | 0.14  | 0.387±0.003 <sup>a</sup>        |
|         | 清除率/%      | 68.92        | 49.23 | 36.55 | 24.13 | 17.31 |                                 |
| 80      | 浓度/(mg/mL) | 0.50         | 0.35  | 0.24  | 0.17  | 0.12  | 0.314±0.002 <sup>d</sup>        |
|         | 清除率/%      | 70.52        | 51.20 | 37.56 | 28.09 | 19.64 |                                 |
| 95      | 浓度/(mg/mL) | 0.71         | 0.50  | 0.35  | 0.24  | 0.17  | 0.336±0.002 <sup>c</sup>        |
|         | 清除率/%      | 70.92        | 67.65 | 51.37 | 37.65 | 27.65 |                                 |

注:  $\text{IC}_{50}$  值后不同小写字母表示各组间的差异显著性( $P < 0.05$ )。

3.1.2 提取温度对蛤蒻叶提取物清除羟自由基能力的影响

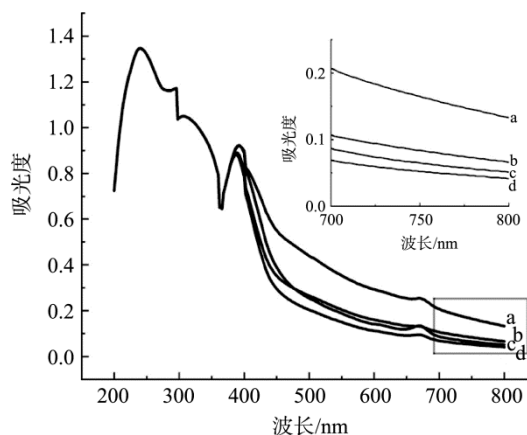
由表 3 可知, 不同温度所得提取物对羟自由基均具有一定清除效果, 且呈现出浓度依赖关系。当温度高于 50 °C 时, 蛤蒻叶提取物对羟自由基的清除能力显著变弱 ( $P<0.05$ ), 这可能是由于某些能高效清除羟自由基的物质受热不稳定而被破坏, 但当温度高于 65 °C 时, 其清除羟自由基的能力又有显著增强的趋势, 这可能是温度升高使得提取物中其他抗氧化活性物质含量增多以及部分抗氧化活性物质被破坏的综合作用结果。

3.2 在不同提取温度下得到的蛤蒻叶提取物的全波长扫描

由图 1 可知, 在不同提取温度下, 蛤蒻叶提取物在 200~400 nm 范围内的吸收曲线一致, 在 400~800 nm 范围内则出现显著差异, 从 700~800 nm 范围内的放大图可知, 蛤蒻叶提取物的吸光度值大小关系依次为 50 °C>65 °C>95 °C>80 °C。随着温度升高, 在该波长区域内的吸光值逐渐减小, 这可能是由于温度的变化对提取物中的热不稳定的物质产生了影响, 使得这些物质含量的显著减少或是结构上发生改变。而当温度达到 95 °C 时, 吸光值又回升, 这可能是由于高温下, 细胞膜结构受到破坏, 大量胞内物质释放导致的吸光值回升。

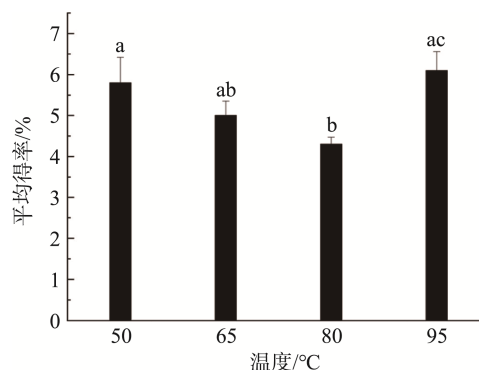
3.3 提取温度对蛤蒻叶提取物得率的影响

由图 2 可知, 随提取温度升高, 蛤蒻叶提取物得率呈现先下降后上升趋势。当温度大于 50 °C 时, 温度每升高 15 °C, 其粗提物得率显著下降, 可能是由于温度高于 50 °C 时, 挥发性成分大量流失, 当提取温度为 80 °C 时, 蛤蒻叶提取物得率最低, 而当温度达到 95 °C 时得率突然极显著上升达到最高值为(6.10±0.46)% ( $P<0.01$ ), 这可能是由于高温使得细胞膜通透性急剧改变, 大量物质溶出导致得率大幅度上升, 这与全波长扫描的结果相符合。



注: a、b、c、d 分别是 50、65、95、80 °C 下提取得到的蛤蒻叶提取物的全波长扫描。

图 1 不同提取温度得到的蛤蒻叶提取物的全波长扫描谱图  
Fig.1 All wavelength scanning spectra of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf's extract were obtained at different extraction temperatures



注: 柱形图中不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

图 2 提取温度对蛤蒻叶提取物得率的影响  
Fig.2 Effect of extraction temperature on the yield of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf's extract

表 3 不同提取温度的蛤蒻叶提取物对羟自由基清除能力

Table 3 Hydroxyl radical scavenging ability of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf's extract at different extraction temperatures

| 提取温度/°C |            | 羟自由基清除效率 |       |       |       |       | IC <sub>50</sub> /(mg/mL) |
|---------|------------|----------|-------|-------|-------|-------|---------------------------|
| 50      | 浓度/(mg/mL) | 0.93     | 0.65  | 0.45  | 0.33  | 0.22  | 0.604±0.004 <sup>a</sup>  |
|         | 清除率/%      | 80.52    | 50.65 | 28.57 | 15.58 | 10.39 |                           |
| 65      | 浓度/(mg/mL) | 1.15     | 0.80  | 0.56  | 0.39  | 0.28  | 1.121±0.058 <sup>a</sup>  |
|         | 清除率/%      | 52.41    | 29.17 | 12.28 | 8.33  | 2.20  |                           |
| 80      | 浓度/(mg/mL) | 0.99     | 0.69  | 0.48  | 0.33  | 0.24  | 0.831±0.048 <sup>b</sup>  |
|         | 清除率/%      | 61.96    | 34.83 | 23.07 | 12.72 | 3.07  |                           |
| 95      | 浓度/(mg/mL) | 0.98     | 0.68  | 0.47  | 0.34  | 0.23  | 0.745±0.042 <sup>b</sup>  |
|         | 清除率/%      | 66.23    | 44.08 | 21.49 | 18.64 | 2.41  |                           |

注: IC<sub>50</sub> 值后不同小写字母表示各组间的差异显著性 ( $P<0.05$ )。

### 3.4 提取温度对蛤蒻叶提取物中总黄酮、总糖、总多酚含量的影响

#### 3.4.1 提取温度对蛤蒻叶提取物中总黄酮含量的影响

以浓度为横坐标, 以吸光度值为纵坐标, 绘制芦丁标准品标准曲线, 如图 3。

由图 3 可知, 随提取温度升高, 蛤蒻叶提取物中总黄酮的含量呈现先下降后上升的趋势, 其中从 50 °C 升高到 65 °C 黄酮含量显著下降 ( $P < 0.05$ ), 从 65 °C 升高到 80 °C 黄酮含量则显著升高 ( $P < 0.05$ ), 当升高到 95 °C 后总黄酮含量达到最大值为  $(25.67 \pm 0.15)$  mg/g 并趋于平稳 ( $P > 0.05$ )。

#### 3.4.2 提取温度对蛤蒻叶提取物中总糖含量的影响

以浓度为横坐标, 以吸光度值为纵坐标, 绘制葡萄糖标准品标准曲线, 如图 4。

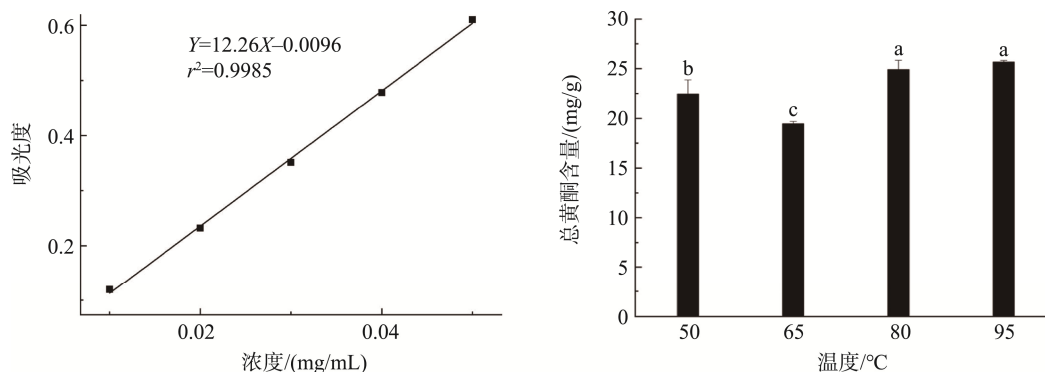
由图 4 可知, 随提取温度升高, 蛤蒻叶提取物中总糖的含量呈现先上升后下降的趋势。当提取温度由 50 °C 升高到 80 °C 时, 每升高 15 °C, 总糖量都有显著上升 ( $P < 0.05$ )

这说明温度的升高有利于糖类物质的溶出, 当温度达到 80 °C 时, 提取物中总糖含量达到最高为  $(232.07 \pm 15.43)$  mg/g, 当温度再升高到 95 °C 时, 总糖含量极显著下降 ( $P < 0.01$ ), 说明温度超过 80 °C 时, 蛤蒻叶的糖类物质被破坏而导致含量减少。

#### 3.4.3 提取温度对蛤蒻叶提取物中总多酚含量的影响

以浓度为横坐标, 以吸光度值为纵坐标, 绘制没食子酸标准品标准曲线, 如图 5。

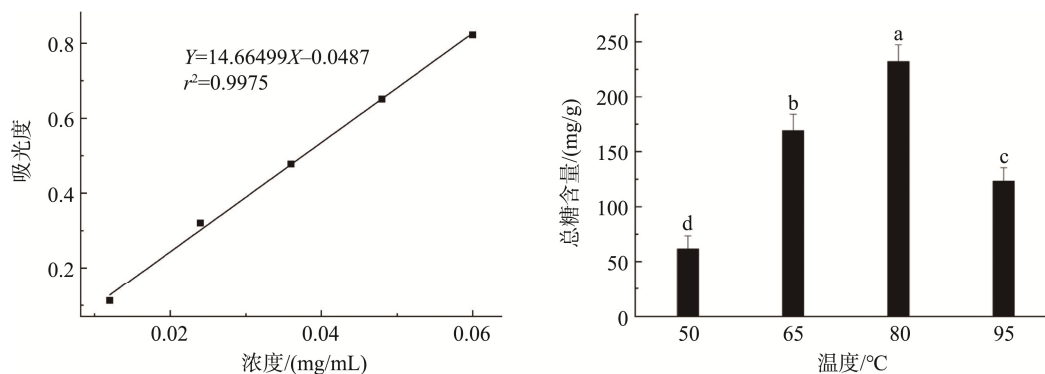
由图 5 可知, 随提取温度升高, 蛤蒻叶提取物中总多酚的含量呈现先上升后下降的趋势。当温度由 50 °C 上升至 65 °C 时, 提取物中总多酚含量显著上升 ( $P < 0.05$ ), 随着温度继续上升至 80 °C, 总多酚含量略微有上升 ( $P > 0.05$ ) 并达到最大值为  $(34.98 \pm 0.39)$  mg/g, 超过 80 °C 后, 总多酚含量极显著下降 ( $P < 0.01$ ), 这和总多糖含量变化趋势一致, 高温有利于蛤蒻叶中酚类物质的溶出, 但高于 80 °C 时, 多酚类物质则被破坏而导致含量下降。



注: 柱形图中不同小写字母表示各组间差异显著性 ( $P < 0.05$ )。

图 3 芦丁标准品标准曲线及不同提取温度下蛤蒻叶提取物中总黄酮的含量

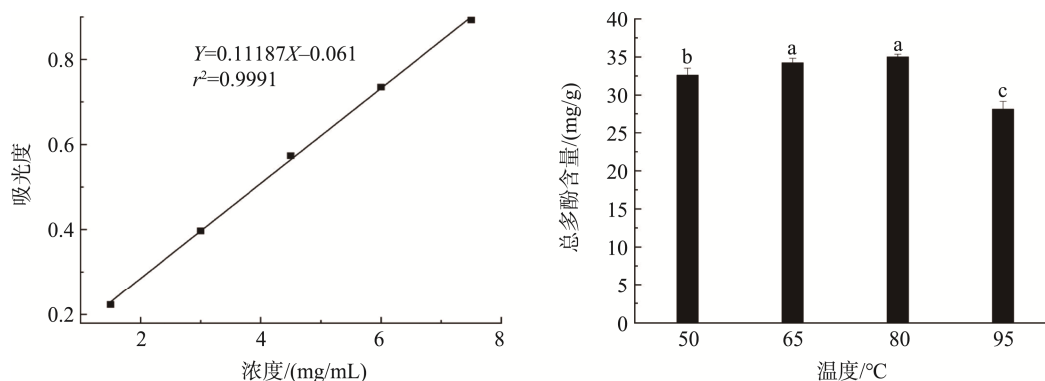
Fig.3 Standard curve of rutin standard product and flavonoids content in *Piper sarmentosum* Roxb. leaf's extract at different extraction temperatures



注: 柱形图中不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 4 葡萄糖标准品标准曲线及不同提取温度下蛤蒻叶提取物中总糖的含量

Fig.4 Glucose standard curve and total sugar content in *Piper sarmentosum* Roxb. leaf's extract at different extraction temperatures



注: 柱形图中不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图5 没食子酸标准品标准曲线及不同提取温度下蛤蒻叶提取物中总多酚的含量

Fig.5 Gallic acid standard product standard curve and the content of total polyphenols in *Piper sarmentosum* Roxb. leaf's extract at different extraction temperatures

## 4 结论与讨论

随蛤蒻叶提取物质量浓度的增大,在不同温度下提取得到的蛤蒻叶提取物对 DPPH 自由基清除能力和羟自由基清除能力均表现增强,同时其提取物对 DPPH 自由基的清除能力均强于对羟自由基的清除能力,可能是因为对应清除两者自由基的活性物质不同所致。

研究还发现,温度对提取物的抗氧化能力和提取物中活性物质的含量有显著影响并且蛤蒻叶提取物对 DPPH 自由基清除能力和羟自由基清除能力与总黄酮、总多酚和总糖含量有一定的相关性,当温度达到 80 °C 时,总多酚含量和总糖含量达到最高分别为 (34.98±0.39) mg/g 和 (232.07±15.43) mg/g,总黄酮含量也接近于最高值,此时提取物也表现出最强的 DPPH 自由基清除能力,说明 80 °C 的提取温度,有利于蛤蒻叶中含有的总黄酮、总多酚以及总糖的提取,同时也能维持这些活性物质的活性,不至于受热失活,也说明了这 3 类活性物质的含量与清除 DPPH 自由基能力有一定正相关,他们对 DPPH 的清除起到主要的作用。

当温度为 50 °C 时,提取物对羟自由基有最强的清除能力,但此时所测的 3 类活性物质含量均不是最高,其中总糖含量为各个样品中的最低值,说明样品中的糖类对羟自由基的清除能力所起到的作用很弱,也说明此时对羟自由基清除起主导作用的,可能是其他活性物质。温度升高到 65 °C 时,羟自由基的清除能力显著降低达到最低值,超过 65 °C 时,羟自由基清除能力又显著回升,说明超过 50 °C,很不利于除黄酮、多酚以及糖类外其他能有效清除羟自由基的物质的提取以及其活性,但超过 65 °C 时,总黄酮和总多酚含量的增大对羟自由基的清除起到一定作用,所以提取物清除羟自由基的能力又表现出回升的趋势。提取物中所测得的总糖含量最多,其次为总多酚含量,总黄

酮含量最少,这主要是因为大部分黄酮都不溶于水,仅部分带有糖苷键的黄酮化合物易溶于水<sup>[22]</sup>。蛤蒻叶中除了黄酮、多糖和多酚等活性物质,还含有维生素 E 和叶黄素等活性物质<sup>[23]</sup>共同起抗氧化的作用,故表现出复杂性关系,还需对其他活性成分的含量进一步研究。

总的来说,蛤蒻叶水提取物对 2 类自由基有最佳清除能力时的提取温度不同,其中对 DPPH 自由基清除活性具有一定的热稳定性,而对羟自由基的清除活性的热稳定性则较差。而总黄酮、总多糖、总多酚在 80 °C 时能被充分提取,同时不受热分解。

## 参考文献

- [1] 邓世明. 海南常用中草药名录[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2006.  
Deng SM. A list of herbs commonly used in Hainan [M]. Beijing: Science and Technology of China Press, 2006.
- [2] 程淳烽, 苗小荣, 李金伟, 等. 假蒻叶系列菜品的开发利用现状[J]. 现代园艺, 2018, (1): 37-38.  
Cheng CF, Miao XR, Li JW, et al. Present situation of development and utilization of *Piper sarmentosum* Roxb. leaf's series dishes [J]. Xiandai Hortic, 2018, (1): 37-38.
- [3] Hafizah AH, Zaiton Z, Zulkhairi A, et al. *Piper sarmentosum* as an antioxidant on oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells induced by hydrogen peroxide [J]. J Zhejiang Univ-Sc B, 2010, 11(5): 357-365.
- [4] 陈丹丹, 郭源鑫, 陈建平, 等. 不同提取温度对蛤蒻叶粗多糖抗氧化作用的影响研究[J]. 农产品加工(上), 2016, (2): 1-4, 11.  
Chen DD, Guo YX, Chen JP, et al. Study on effect of different extraction temperatures on antioxidant activity of crude polysaccharides from *Piper sarmentosum* Roxb. [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2016, (2): 1-4, 11.
- [5] Hussain K, Ismail Z, Sadikun A, et al. Antioxidant, anti-TB activities, phenolic and amide contents of standardized extracts of *Piper sarmentosum* Roxb. [J]. Nat Prod Res, 2009, 23(3): 238-249.
- [6] 鲁晓翔. 黄酮类化合物抗氧化作用机制研究进展[J]. 食品研究与开发,



- 2012, 33(3): 220–224.
- Lu XX. Research progress in antioxidant mechanism of flavonoids [J]. Food Res Dev, 2012, 33(3): 220–224.
- [7] 王雪飞, 张华. 多酚类物质生理功能的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(2): 211–214.
- Wang XF, Zhang H. Research advances of polyphenols physiology function [J]. Food Res Dev, 2012, 33(2): 211–214.
- [8] 俞慧红, 竺巧玲, 戴飞, 等. 多糖抗氧化作用的研究现状[J]. 食品研究与开发, 2008, (3): 172–176.
- Yu HH, Zhu QL, Dai F, *et al.* Advances of the antioxidative activities research of polysaccharides [J]. Food Res Dev, 2008, (3): 172–176.
- [9] Ismail, Marjan AZM, Foong CW. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables [J]. Food Chem, 2004, 87: 581–586.
- [10] Alam MN, Bristi NJ, Rafiqzaman M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity [J]. Saudi Pharm J, 2013, 21(2): 143–152.
- [11] 王芸, 位思清, 王雪, 等. 不同方式提取的生姜粗、精多糖体外抗氧化研究[J]. 中国调味品, 2018, 43(3): 9–13.
- Wang Yun, Wei SQ, Wang X, *et al.* Antioxidant activity of ginger coarse and pure polysaccharides by different extraction ways [J]. China Cond, 2018, 43(3): 9–13.
- [12] 高燕. 野生薄荷精油的提取分离及其抗氧化活性研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2015.
- Gao Y. Study on extraction and isolation of wild peppermint essential oil and its antioxidant activity [D]. Shihezi: Shihezi University, 2015.
- [13] 金鸣, 蔡亚欣, 李金荣, 等. 邻二氮菲-Fe<sup>2+</sup>氧化法检测 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>产生的羟自由基[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, (6): 553–555.
- Jin M, Cai YX, Li JR, *et al.* Hydroxyl radicals produced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup> were detected by o-diazophene-Fe<sup>2+</sup> oxidation [J]. Prog Biochem Biophys, 1996, (6): 553–555.
- [14] 罗秋水, 杜华英, 熊建华, 等. 葛根异黄酮类化合物提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(2): 104–110.
- Luo QS, Du HY, Xiong JH, *et al.* Extraction process optimization of pueraria isoflavones and studies on its antioxidant activity [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2015, 15(2): 104–110.
- [15] 张蕾蕾. 紫苏黄酮的提取分离及其应用研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2012.
- Zhang LL. Extraction, separation and applied research of flavonoids from perilla [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2012.
- [16] 林震, 林玉彬, 谢华杰, 等. 蛤蒺叶提取物抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(12): 3135–3141.
- Lin Z, Lin YB, Xie HJ, *et al.* Antioxidant capacity of the extractive from *Piper sarmentosum* Roxb. leaf [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(12): 3135–3141.
- [17] 裴颖. 裸燕麦麸皮抗氧化活性的热稳定性及皂苷鉴定[D]. 天津: 天津科技大学, 2009.
- Pei Y. Thermal stability of antioxidant activity and saponins identification of naked oat bran [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2009.
- [18] 金钟. 沙棘叶黄酮提取物体内抗氧化活性、应用与护肝作用的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- Jin Z. *In vivo* and *in vitro* antioxidant activity of seabuckthorn leaves flavonoid extract and their hepatoprotective effect and application in pork patties [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014.
- [19] 常秀莲. 两种芦荟活性成份及其热稳定性比较研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2006.
- Chang XL. Comparative study on the active ingredients and thermal stability of aloe vera [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2006.
- [20] 魏欢, 颜小捷, 杨建文, 等. 核桃叶多酚含量的测定和抗氧化能力的研究[J]. 广西植物, 2018, 38(5): 596–601.
- Wei H, Yan XJ, Yang JW, *et al.* Determination of polyphenols content and antioxidant capacity of walnut leaf [J]. Guihaia, 2018, 38(5): 596–601.
- [21] 吴晓青, 陈丹, 邱红鑫, 等. 芙蓉李中总多酚含量测定方法的优选[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(2): 131–133.
- Wu XQ, Chen D, Qiu HX, *et al.* Optimization of determination methods of polyphenol in *Prunus salicina* Lindl. Cv. "Furong" [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol, 2011, 18(2): 131–133.
- [22] 宋晓凯. 天然药物化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016.
- Song XK. Natural pharmacology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2016.
- [23] Chanwitheesuk A, Teerawutgulrag A, Rakariyatham N. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand [J]. Food Chem, 2005, 92(3): 491–497.

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介

林震, 硕士, 主要研究方向为海洋天然产物化学。

E-mail: linz199771@163.com

王嘉欣, 本科, 主要研究方向为海洋天然产物化学。

E-mail: wangjx003@163.com

罗萍, 主要研究方向为天然生物活性物质。

E-mail: luopingna@163.com