

4种新疆地产芳香植物精油抗氧化作用 比较研究

甘露, 刘婷, 匡文波, 张红翠, 郑秋生, 王振华*

(新疆特种植物药资源教育部重点实验室, 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002)

摘要: 采用体外研究方法比较新疆地产玫瑰、迷迭香、椒样薄荷和罗马甘菊4种芳香植物精油的抗氧化活性。测定4种精油对1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH)自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基的清除能力, 同时用硫代巴比妥酸(TBA)法测定4种挥发油对脂质过氧化反应的抑制作用。结果表明: 4种精油均可清除DPPH自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基, 并可抑制卵黄不饱和脂肪酸过氧化, 且清除各类自由基及抑制脂质过氧化作用与样品挥发油质量浓度正向相关。4种精油抗氧化活性顺序为玫瑰>迷迭香>椒样薄荷>罗马甘菊。

关键词: 新疆; 玫瑰; 迷迭香; 椒样薄荷; 罗马甘菊; 精油; 抗氧化

Essential Oils from Four Species of Aromatic Plants Cultivated in Xinjiang: A Comparative Study of Antioxidant Effect

GAN Lu, LIU Ting, SHE Wen-bo, ZHANG Hong-cui, ZHENG Qiu-sheng, WANG Zhen-hua*

(Key Laboratory of Xinjiang Endemic Phytomedicine Resources, Ministry of Education, School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832002, China)

Abstract: The antioxidant effects of the essential oils from four species of aromatic plants cultivated in Xinjiang, *Rose rugosa* Thumb., *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha piperita* L. and *Chamaemelum nobile* L., were assessed and compared by measuring their DPPH, hydroxyl and superoxide anion free radical scavenging capacities and their inhibitory effect on lipid peroxidation in a triobarbituric acid (TBA) reaction system. The four essential oils were all able to scavenge DPPH, hydroxyl and superoxide anion free radicals and inhibit the peroxidation of unsaturated fatty acids in egg yolk in a positive concentration-dependent fashion. Rose oil had the most excellent antioxidant activity, followed by rosemary oil, peppermint oil and roman chamomile oil.

Key words: Xinjiang; *Rose rugosa* Thumb.; *Rosmarinus officinalis* L.; *Mentha piperita* L.; *Chamaemelum nobile* L.; volatile oil; antioxidant

中图分类号: R962

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)23-0036-04

自由基过量引起的氧化还原失衡是许多疾病如肿瘤、心脑血管疾病、神经退行性疾病、类风湿性关节炎等发生发展的病理基础之一^[1]。采用抗氧化剂对抗氧化应激是维持机体健康的重要手段, 众所周知, 植物中蕴含着的抗氧化活性成分被广泛地应用于医药和保健^[2]。我国具有丰富的植物资源, 因此, 在众多天然植物成分中, 比较和筛选无毒副作用的具有良好效果的抗氧化剂, 预防和缓解相关疾病的发生发展, 是近年来人们研究的热点^[3]。新疆地区独特的自然气候条件孕育了大

量优质芳香植物资源, 目前仅新疆伊犁地区就已种植了包括椒样薄荷(*Mentha piperita* L.)、玫瑰(*Rose rugosa* thumb.)、迷迭香(*Rosmarinus officinalis* L.)、罗马甘菊(又名春黄菊, *Chamaemelum nobile* L.)、薰衣草(*Lavandula angustifolia* Mill.)等30余种芳香植物, 种植面积超过10万亩。芳香植物种植和精油加工已经成为新疆地区重要的特色产业之一。

椒样薄荷(*Mentha piperita* L.)为唇形科薄荷属多年生宿根性草本植物, 其精油主要含薄荷脑、薄荷酮、

收稿日期: 2010-03-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(30760058); 新疆建设兵团基础 Research 计划项目(2007JC03);

新疆生产建设兵团博士资金项目(2007JC04)。

作者简介: 甘露(1985—), 女, 硕士研究生, 研究方向为分子药理学。E-mail: lucille1985@sina.com

*通信作者: 王振华(1973—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为自由基生物学与医学。E-mail: zhenhuawang@tom.com

薄荷烯、柠檬烯、蒎烯等化学成分,用于缓解神经紧张,止痛、抗痉挛等^[4]。玫瑰(*Rose rugosa* Thunb.)为蔷薇科蔷薇属多年生常绿或落叶灌木,其精油主要含有蒎烯、柠檬烯、月桂烯、香茅醇、香叶醇、芳樟醇、橙花醇等化学成分,用于缓解胀痛、肝胃气痛、解毒、稳定情绪、抗抑郁、排毒养颜、缓解神经性头痛等^[5]。迷迭香(*Rosmarinus officinalis* L.)为唇形科迷迭香属亚灌木或多年生草本植物,其精油主要含樟脑、龙脑、松油萜、桉叶素、蒎烯、柠檬烯等化学成分,用于收敛皮肤,提神醒脑,增强记忆力,抗感冒,止痛等^[6]。罗马甘菊(*Chamaemelum nobile*)为菊科黄春菊属多年生草本植物,其精油主要含天蓝烃、洋甘菊萜、樟脑萜、松油萜、蒎烯、桉叶素、月桂烯等化学成分,用于治疗溃疡、关节炎、神经痛、失眠、风湿病等^[7-8]。

本实验在化学体系中观察4种精油体外抗氧化活性,寻求其作为功能性抗氧化剂应用的可能,为精油的综合开发利用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

玫瑰精油(rose oil)、迷迭香精油(rosemary oil)、椒样薄荷精油(mentha oil)、罗马甘菊精油(chamomile oil)均由新疆伊犁依帕尔汗香料发展有限责任公司提供,采用水蒸汽蒸馏工艺制备。

1,1-二苯基-2-苦肟基(DPPH)自由基、Tris碱、2-硫代巴比妥酸、焦性没食子酸 美国 Sigma 公司。

本研究所用试剂均以 Millipore Milli-Q 超纯水配制。

1.2 仪器与设备

VARIOSKAN FLASH 多功能酶标仪 美国 Thermo 公司; AR-2140 型万分之一电子天平 美国梅特勒-托利多仪器有限公司; Biocel 型 Millipore Mill-Q 超纯水系统 美国 Millipore 公司。

1.3 方法

1.3.1 DPPH 自由基的清除活性测定

参照文献[9]方法测定精油对 DPPH 自由基清除能力。于 96 孔酶标板内各孔加入 100 μL 的 DPPH 乙醇溶液(终浓度为 0.06 mmol/L),再于各孔中分别加入 100 μL 含不同浓度精油的无水乙醇使总体积达到 200 μL,各种精油在反应体系的终质量浓度均为 50、100、150、200、250 mg/L。混匀,室温,避光放置 30 min 后,以多功能酶标仪测定各孔在 517 nm 处吸光度,计算清除率。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: A_0 为 DPPH 溶液 100 μL + 无水乙醇 100 μL 的

吸光度; A_1 为 DPPH 溶液 100 μL + 样品溶液 100 μL 的吸光度; A_2 为样品溶液 100 μL + 无水乙醇 100 μL 的吸光度。公式中引入 A_2 是为了消除样品溶液本身颜色对实验结果的干扰。每次实验同一处理设 3 个平行孔,相同实验重复 3 次,结果取 3 次平均值。

1.3.2 羟自由基清除能力测定

精油对羟自由基清除能力测定采用邻二氮菲法,方法如文献[10]所述。于 96 孔酶标板进行如下测定。空白组: 30 μL 0.75 mmol/L 邻二氮菲溶液中加入 60 μL 0.15 mol/L 的 PBS (pH7.4), 加入 30 μL 的蒸馏水,充分混匀后,加入 30 μL 0.75 mmol/L 的硫酸亚铁,混匀后,再加入 30 μL 的 1% 的 H_2O_2 混匀。37℃ 的水浴中 60 min 后,在 536 nm 波长处,测定吸光度为 A_1 ; 空白对照组: 以 30 μL 的蒸馏水代替 H_2O_2 重复上述操作,在 536 nm 处,测定吸光度为 A_2 ; 样品组: 以 30 μL 的待测样品(反应体系的终质量浓度为 50、100、150、200、250 mg/L)代替 30 μL 的蒸馏水重复损伤管组操作,在 536 nm 波长处,测定吸光度为 A_3 ; 样品对照组: 60 μL 0.15 mol/L 的 PBS 中加 30 μL 的样品,充分混匀后,加入 90 μL 的蒸馏水,在 536 nm 处测定吸光度为 A_4 ; 空白参比组: 60 μL 0.15 mol/L 的 PBS 加入 120 μL 的蒸馏水,在 536 nm 波长处测定吸光度为 A_5 。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_3 - A_4 - A_1 + A_5}{A_2 - A_1} \times 100 \quad (2)$$

每次实验同一处理设 3 个平行孔,相同实验重复 3 次,结果取 3 次平均值。

1.3.3 超氧阴离子自由基清除能力测定

超氧阴离子自由基清除能力测定采用邻苯三酚法测定,方法如文献[11]所述。反应于 96 孔酶标板进行。取浓度为 0.05 mol/L 的 Tris-HCl (pH8.2) 缓冲液 100 μL, 25℃ 预热 20 min, 加入 50 μL 不同浓度待测样品溶液(待测样品在反应体系中的终质量浓度为 50、100、150、200、250 mg/L), 立即加入 50 μL 的 3 mmol/L 的邻苯三酚,振荡使之充分反应,4 min 后,用 10 μL 的 3 mol/L 的 HCl 终止反应,在 325 nm 波长处测定吸光度(A_1),平行测定 3 次。模型对照组(A_0)用 50 μL 的蒸馏水代替样品液。空白对照组(A_2)用 40 μL 的蒸馏水代替邻苯三酚。计算超氧阴离子自由基清除率。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

每次实验同一处理设 3 个平行孔,相同实验重复 3 次,结果取 3 次平均值。

1.3.4 抗脂质过氧化能力测定

以TBA法测定待测挥发油对卵黄脂质过氧化的影响^[2]。卵黄悬液的配制:新鲜鸡蛋去卵清,卵黄用等体积的pH7.4的0.1mol/L PBS配成1:1悬液,并用磁力搅拌器搅拌10min,4℃冷藏备用,使用前用PBS稀释成1:25的悬液。吸取1:25的卵黄悬液20μL,加入20μL的不同质量浓度待测精油溶液(反应体系中的终质量浓度为50、100、150、200、250 mg/L),再加入20μL的7.5mmol/L的FeSO₄,用pH 7.4, 0.1mol/L的PBS补至200μL,37℃振荡15min,取出后再加入50μL的体积分数20%的三氯乙酸,5740×g离心8min,吸取上清液100μL,加入50μL质量分数0.8%的TBA溶液,封口,沸水浴中煮15min,在532nm波长处测定各孔吸光度。以不加样品管的吸光度为A₀,以样品加PBS管的吸光度为A₁。精油对卵黄脂质过氧化按式(4)计算。

$$\text{抑制率}/\% = \frac{A_0 - A + A_1}{A_0} \times 100 \quad (4)$$

每次实验同一处理设3个平行孔,相同实验重复3次,结果取3次平均值。

1.3.5 统计分析

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 10.0软件进行统计学处理,采用t检验进行两样本均值比较。采用Microcal Origin 8.0软件对各种精油量效关系进行线性回归后,计算各种精油抗氧化能力的半数抑制浓度IC₅₀。

2 结果与分析

2.1 4种精油清除DPPH能力比较

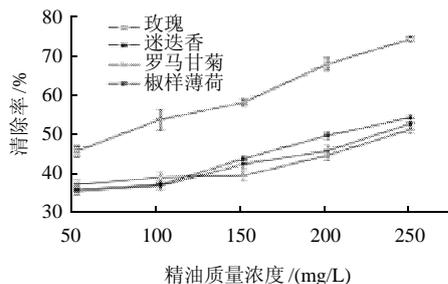


图1 4种精油清除DPPH能力

Fig.1 DPPH radical scavenging capacities of essential oils from different plants

由图1可知,4种精油均可清除DPPH自由基,且与质量浓度正向相关。相同质量浓度下,玫瑰精油的最高清除率为74.83%,明显优于罗马甘菊、迷迭香和椒样薄荷3种精油($P < 0.01$),而三者相同质量浓度间差别不大。采用线性回归计算得到玫瑰精油、迷迭香精油、椒样薄荷精油、罗马甘菊精油清除DPPH自由基的IC₅₀分别为75.5、199.2、228.0、239.2mg/L。

2.2 4种精油清除羟自由基能力比较

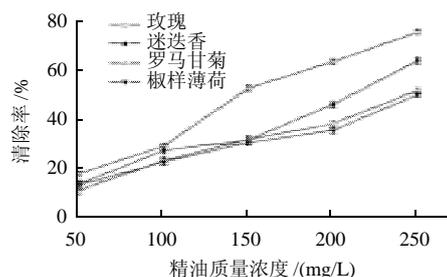


图2 4种精油清除羟自由基能力

Fig.2 Hydroxyl radical scavenging capacities of essential oils from different plants

由图2可知,4种精油均可清除羟自由基,且与质量浓度正向相关。相同质量浓度下,玫瑰精油作用明显优于其他3种精油(在100mg/L水平, $P < 0.05$;在50、150、200mg/L和250mg/L水平, $P < .01$),迷迭香精油次之,椒样薄荷精油和罗马甘菊精油相差不多。玫瑰精油、迷迭香精油、椒样薄荷精油和罗马甘菊精油清除羟自由基的IC₅₀分别为144.2、210.2、249.5、243.2mg/L。

2.3 4种精油清除超氧阴离子自由基能力比较

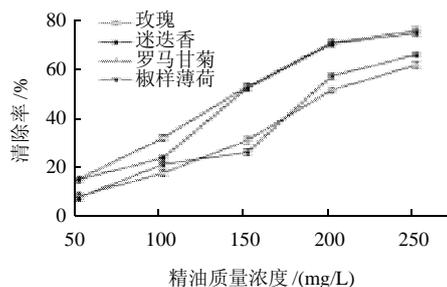


图3 4种精油清除超氧阴离子自由基能力

Fig.3 Superoxide anion radical scavenging capacities of essential oils from different plants

由图3可知,4种精油均可清除超氧阴离子自由基,且与精油质量浓度正向相关,玫瑰精油和迷迭香精油清除超氧阴离子自由基能力相当,IC₅₀分别为142.7、145.0mg/L。椒样薄荷精油和罗马甘菊精油的清除能力稍弱。玫瑰精油、迷迭香精油、椒样薄荷精油、罗马甘菊精油清除超氧阴离子自由基的IC₅₀分别为142.7、145.0、187.7、196.7mg/L。

2.4 4种精油抑制卵黄脂质过氧化能力比较

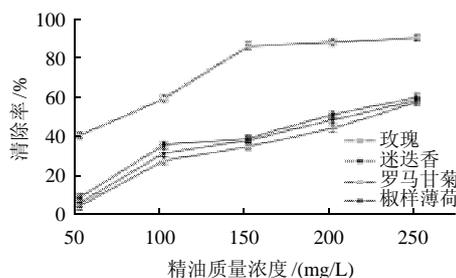


图4 4种精油抑制卵黄脂质过氧化能力

Fig.4 Inhibitory effects of essential oils from different plants against the peroxidation of unsaturated fatty acids in egg yolk

由图4可知,4种精油均能质量浓度依赖性地抑制卵黄脂质过氧化。玫瑰精油对脂质过氧化的抑制能力优于其他3种精油,250mg/L时最高抑制率可达91.66%;其他3种精油中迷迭香精油活性稍好,椒样薄荷精油次之,最高抑制率分别为61.01%和59.58%;罗马甘菊精油最弱,仅为58.62%。玫瑰精油、迷迭香精油、椒样薄荷精油、罗马甘菊精油抑制脂质过氧化的 IC_{50} 分别为73.7、192.0、204.7、218.5mg/L。

3 结论

3.1 新疆地产4种芳香植物挥发油均具有较强抗氧化活性,在50~250mg/L范围内,其抗氧化活性与质量浓度正向相关。

3.2 4种精油抗氧化能力从大到小依次为:玫瑰精油>迷迭香精油>椒样薄荷精油>罗马甘菊精油,后两者差别不大。

参考文献:

- [1] FANG Y Z, YANG S, WU G Y. Free radicals, antioxidants, and nutrition [J]. Nutrition, 2002, 18 (10): 872-879.
- [2] 刘小红,张尊听,段玉峰,等.市售天然植物香料的抗氧化作用研究

- [J]. 食品科学, 2002, 23(1): 143-145.
- [3] 曹剑锋,侯国鹏,李嘉宏,等.五种抗氧化剂抗氧化活性的比较研究[J].食品科学,2008,29(2):403-405.
- [4] 许鹏翔,贾卫民,毕良武,等.中国新疆椒样薄荷油的化学成分分析及品质研究[J].林产化学与工业,2003,23(1):43-45.
- [5] 程劫,谢建春,孙宝国.国产玫瑰精油的化学成分及香气特征[J].中国食品添加剂,2007(5):65-70.
- [6] 石晶,王金美.天然抗氧化剂迷迭香在动物性食品中的应用[J].肉类研究,2009(2):80-83.
- [7] 刘昭明,田玉红,黄翠姬,等.迷迭香挥发油成分及抑菌活性研究[J].安徽农业科学,2009,37(2):654-656.
- [8] 刘婷,庠文波,王婷,等.水蒸气蒸馏和超临界萃取薰衣草精油抗氧化作用研究[J].时珍国医国药,2009,20(12):3035-3037.
- [9] FERESIN G E, TAPIA A, GUTIÉRREZ R A, et al. Free radical scavengers, anti-inflammatory and analgesic activity of *Acaena magellanica*[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2002, 54(6): 835-844.
- [11] SIDDHURAJU P, BECKER K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.)Walp.) seed extracts[J]. Food Chemistry, 2007, 101: 10-19.
- [12] ZHAO Yaping, YU Wenli, WANG Dapu. Chemiluminescence determination of free radical scavenging abilities of 'tea pigments' and comparison with 'tea polyphenols' [J]. Food Chemistry, 2003, 80: 115-118.
- [13] TSUDA T, WATANABE M, OHSHIMA K, et al. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-beta-D-glucoside and cyanidin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(11): 2407-2410.