

椰衣提取物总酚含量及抗氧化活性研究

张军锋¹, 杜宁², 牛成^{1*}, 张名楠¹, 周雪晴¹

(1. 热带生物资源教育部重点实验室, 海南大学材料化工学院, 海南海口 570228; 2. 海南政法职业学院, 海南海口 571100)

摘要 [目的] 测定椰衣不同提取物的总酚含量, 考察椰衣不同提取物的抗氧化活性。[方法] 采用不同极性的溶剂对椰衣粉的 60% 乙醇提取物进行萃取, 得到石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水等 4 个提取物, 以清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的能力评价椰衣提取物的抗氧化活性, 并采用 Folin-Ciocalteu 法测定提取物中总酚含量。[结果] 椰衣各提取物均有不同程度的抗氧化能力, 顺序为正丁醇提取物 > 乙酸乙酯提取物 > 水提取物 > 石油醚提取物。[结论] 椰衣不同提取物均具有抗氧化能力, 其与酚类物质含量基本呈正相关, 其乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物具有较强的抗氧化活性。

关键词 椰衣; 提取物; 抗氧化; 总酚含量

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)22-07389-02

The Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Coconut Extracts

ZHANG Jun-feng, NIU Cheng et al (Key Laboratory of Tropical Biological Resources, College of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan 570228)

Abstract [Objective] Determination of total phenolic content and the antioxidant activity of different extracts of coconut. [Method] The 90% ethanol extracts of coconut powder was extracted by petroleum ether, ethyl acetate, n-butanol and water. The antioxidant activities were assessed by DPPH radical scavenging activity. The total phenolic content in the extracts was determined by Folin-Ciocalteu method. [Result] The extracts of coconut had different antioxidative ability: n-butanol extracts > ethylacetate extracts > water extracts > petroleum ether extracts. [Conclusion] The different extracts of coconut have antioxidant capacity, and are positively correlated with phenolic substances content, the ethyl acetate extract and n-butanol extract has strong antioxidant activity.

Key words Coconut; Extracts; Antioxidant; Total phenolic content

椰子(*Cocos nucifera* Linn.)为棕榈科椰子属,是热带地区主要油料作物,主要产于我国广东南部诸岛及雷州半岛、海南、台湾及云南南部热带地区,是海南岛特产之一。椰子具有极高的经济价值,全株各部分均有用途。在医药上椰子壳用于治疗杨梅疮、筋骨痛,熬膏外用于体癣、脚癣,椰肉用于治疗姜片虫病,椰子油用于治疗疥癣、冻疮、神经性皮炎,椰子液用于治疗心脏性水肿、口干烦渴^[1]。到目前为止,对椰子总酚含量和抗氧化活性的研究尚未见详细的报道。笔者在此对这方面问题进行了探讨,为椰子的进一步开发利用提供依据。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 研究对象。椰子,购买于海口市海南大学南门,海南大学园艺园林学院吴友根副教授鉴定为棕榈科植物椰子(*Cocos nucifera* Linn.)的果实。

1.1.2 主要仪器。UV-2550 紫外可见分光光度计(日本 SHIMADZU 公司);BP211D 电子分析天平(d:0.0001 g,德国 Sartorius 公司);DFY-200 型粉碎机(浙江温岭市大德中药机械有限公司);RE-2000A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

1.1.3 主要试剂。钨酸钠、钼酸钠、磷酸、盐酸、双氧水、硫酸锂等购自上海国药集团。没食子酸和 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)购自美国 Sigma 公司。

1.2 方法

1.2.1 提取物的制备。取粉碎过的干燥椰子外衣(椰衣)100.00 g,加入 60% 乙醇 200 ml,提取 3 次,每次提取 72 h,合并次提取液,减压浓缩至 150 ml,分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇对浓缩液进行萃取,所得萃取液减压浓缩并蒸干待用^[2]。

1.2.2 椰衣不同提取物总酚含量的测定^[3]。

1.2.2.1 Folin-Ciocalteu 试剂的配制。称取 20.00 g 钨酸钠和 5.00 g 钼酸钠于圆底烧瓶中,用 140.00 ml 蒸馏水溶解,加入 85% 磷酸溶液 10.00 ml,浓盐酸 50.00 ml,文火回流 10 h,然后依次加入 3.00 g 硫酸锂及 15.00 ml 双氧水,摇匀,去除冷凝器,继续煮沸 15 min,以去除多余的双氧水,溶液呈金黄色,冷却后,定容至 250 ml,过滤后的滤液即福林酚试剂,置于棕色瓶中保存。

1.2.2.2 线性关系考察。称取没食子酸 0.0075 g,用蒸馏水溶解并定容至 50 ml,得浓度为 0.15 mg/ml 的标准液。准确吸取 0、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00 ml 上述没食子酸溶液分别用蒸馏水稀释于 10 ml,得没食子酸标准稀释溶液。分别取 2.00 ml 不同浓度的没食子酸标准稀释溶液于 10 ml 的比色管中,加入 2.00 ml 福林酚试剂,混匀,在 0.5~8 min 内加入 0.75 ml 7.5% 的碳酸钠溶液,充分混合后用蒸馏水定容至刻度,放置 2 h,于 765 nm 下测定吸光度,空白试剂做参比。以没食子酸在反应体系中的质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.2.3 椰衣粉总酚含量的测定。分别取石油醚提取物(石油醚相)、乙酸乙酯提取物(乙酸乙酯相)、水提取物(水相)、正丁醇相提取物(正丁醇相)20 mg,加入 20.00 ml 蒸馏水溶解,稀释 5 倍,分别得到 0.20 mg/ml 样品 100 ml,按照上

基金项目 海南大学青年基金(qnj1222)。

作者简介 张军锋(1977-),男,河南邓州人,副教授,硕士,从事南药植物资源与活性成分研究。*通讯作者,实验师,从事南药植物资源与活性成分研究。

收稿日期 2014-07-02

述测定没食子酸标准曲线的方法,测定它们的吸光度,测定3次,根据公式计算得到总酚含量,取平均值。

1.2.3 椰衣提取物抗氧化能力的测定^[4]。

1.2.3.1 DPPH 标准溶液的配制。精确称取 DPPH 0.004 0 g,置于 50 ml 的容量瓶中,加入无水乙醇溶解定容后,得浓度为 0.08 mg/ml, DPPH 标准储备溶液。置于 4 °C 冰箱中保存备用。

1.2.3.2 样品对 DPPH 的清除能力的测定。分别准确称取 50 mg 石油醚相、乙酸乙酯相、水相、正丁醇相的样品用无水乙醇定容至 50 ml,稀释 10 倍,得到 0.10 mg/ml 母液备用。分别移取 1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00、7.00、8.00 ml 于 10 ml 比色管中,用无水乙醇定容至刻度得到 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08 mg/ml 的样品稀溶液。分别从比色管取 1.00 ml 样品溶液置于试管中,再加入配好的 DPPH 溶液 3.00 ml,充分混匀,室温避光保存 30 min 后在 517 nm 处测定吸光度,以无水乙醇为空白对照。每个试验重复 3 次,结果取平均值。清除 DPPH 的能力按下式计算,即 DPPH 的清除率 $d(\%) = [1 - (A1 - A2)/A3] \times 100\%$,式中, A1 为 1.00 ml 样品溶液 3.00 ml DPPH 溶液的混合液在 517 nm 处的吸光度; A2 为 1.00 ml 样品溶液与 3.00 ml 无水乙醇混合液在 517 nm 处的吸光度; A3 为 1.00 ml 无水乙醇和 3.00 ml DPPH 混合液在 517 nm 处的吸光度。

2 结果与分析

2.1 椰子不同提取物总酚含量的测定 由图 1 可知,没食子酸样品在 0~0.018 mg/ml 范围内吸光度与浓度呈良好的线性关系,其回归方程为 $A = 48.167x + 0.0011$,相关系数 $R^2 = 0.9991$ 。石油醚相、乙酸乙酯相、水相、正丁醇相的平均总酚含量分别为 100.713、357.199、80.169、415.374 mg/g(表 1),可见总酚含量正丁醇相 > 乙酸乙酯相 > 石油醚相 > 水相;计算得吸光度的相对标准偏差 RSD 为 0.35%,表明精密度良好。

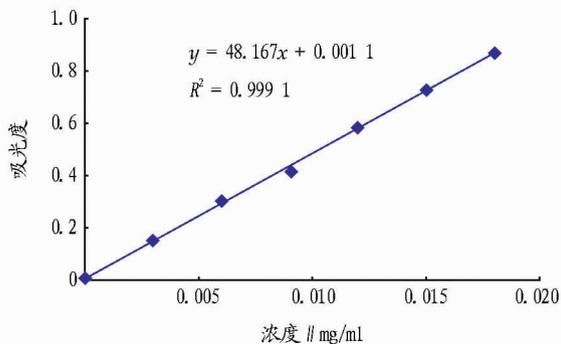


图 1 总酚含量测定标准曲线

2.2 各提取部位清除 DPPH 的能力 由图 2 和表 2 可知,椰衣各提取物对 DPPH 的清除率随着浓度的增大而增大,正丁醇相和乙酸乙酯相对 DPPH 的清除率效果较好,其中正丁醇相清除效果比乙酸乙酯相好。在同等浓度下各提取物对 DPPH 的清除率高低与其中的总酚含量大小基本是一致的。图 2 显示,各部位的抗氧化能力大小依次为正丁醇提取物 > 乙酸乙酯提取物 > 水提取物 > 石油醚提取物。

表 1 椰衣不同提取部位总酚含量测定结果

提取液	吸光度	总酚含量//mg/g	平均值//mg/g
石油醚相	0.154	99.199	100.713
	0.156	100.497	
	0.159	102.443	
乙酸乙酯相	0.558	361.308	357.199
	0.547	354.171	
	0.550	356.118	
水相	0.121	77.789	80.169
	0.124	79.736	
	0.129	82.981	
正丁醇相	0.622	402.831	415.374
	0.627	406.074	
	0.675	437.216	

表 2 椰衣不同提取部位对 DPPH 的清除率结果

浓度 mg/ml	A1(石 油醚相)	清除率 %	A1(水相)	清除率 %	A1(乙酸 乙酯相)	清除率 %	A1(正 丁醇相)	清除率 %
0.01	0.972	3.00	0.961	4.10	0.821	18.08	0.772	22.98
0.02	0.961	4.10	0.937	6.49	0.702	29.97	0.561	44.06
0.03	0.937	6.49	0.902	9.99	0.603	39.86	0.483	51.85
0.04	0.925	7.69	0.894	10.79	0.524	47.75	0.436	56.54
0.05	0.912	8.99	0.851	15.08	0.481	52.05	0.312	68.93
0.06	0.899	10.29	0.821	18.08	0.392	60.94	0.215	78.62
0.07	0.852	14.99	0.817	18.48	0.315	68.63	0.178	82.32
0.08	0.821	18.08	0.799	20.28	0.206	79.52	0.096	90.51

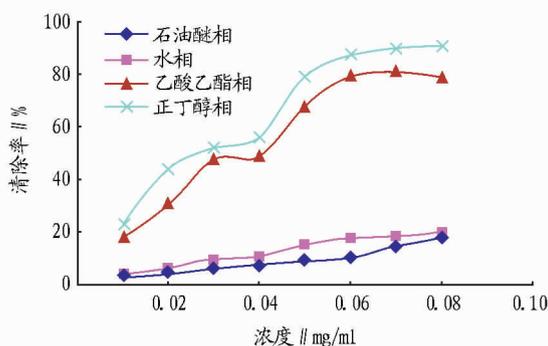


图 2 椰衣不同提取部位的清除 DPPH 能力

3 结论与讨论

研究表明,椰衣提取物中的总酚含量为正丁醇提取物 > 乙酸乙酯提取物 > 石油醚提取物 > 水提取物;各提取物对 DPPH 的清除率均是随着浓度的增大而增大,在同等浓度下各提取物对 DPPH 的清除率高低与其中的总酚含量大小基本是一致的;各部位的抗氧化能力大小为正丁醇提取物 > 乙酸乙酯提取物 > 水提取物 > 石油醚提取物,这与所测得的各提取物总酚含量大小基本一致,可推断酚类成分含量的大小对抗氧化能力的强弱影响较大,正丁醇提取物和乙酸乙酯提取物为椰衣中抗氧化最主要的活性部位,其具体化学组分和药效作用有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [2] 吴周新, 牛成, 吴勇, 等. 椰衣粉中多酚类物质提取工艺的优化[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(10): 5310-5311.
- [3] 黄莹, 储大可, 邓晓婷, 等. 8种市售茶类饮料抗氧化活性及总酚含量的研究[J]. 广东农业科学, 2013(18): 101-104.
- [4] 胡楚娇, 王崇云, 和兆荣, 等. 基于 DPPH 法对紫茎泽兰提取物抗氧化活性的研究[J]. 杂草科学, 2013, 31(4): 9-12.