

诃子抗氧化活性物质提取工艺与抗氧化活性研究^{*}

江慎华^{1,2} 吴士云^{2,3} 马海乐² 黄星奕² 王振斌² 廖亮¹

(1. 九江学院生命科学院, 九江 332000; 2. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013;

3. 安徽科技学院食品药品学院, 凤阳 233100)

【摘要】 对诃子抗氧化活性物质提取工艺、抗氧化活性及其初步物质基础进行了研究。结果表明,最佳提取工艺为:乙醇体积分数 50%、液料比 20、提取温度 60℃、提取次数 4 次、提取时间 7 min;总还原力、FRAP 法抗氧化能力和 DPPH 自由基清除能力的结果均显示诃子粗提物具有很强的抗氧化活性。生物活性追踪结果发现,诃子抗氧化活性物质主要由存在于乙酸乙酯相的弱极性化合物组成,该相质量浓度为 25、50 $\mu\text{g/mL}$ 样品的总还原力 OD700 值分别为 0.197 ± 0.002 和 0.380 ± 0.006 ,FRAP 法抗氧化能力 OD593 分别为 0.272 ± 0.023 和 0.631 ± 0.002 ,DPPH 自由基清除率分别为 $(86.838 \pm 0.600)\%$ 和 $(90.318 \pm 0.917)\%$ 。相关关系表明,诃子抗氧化活性的主要物质基础为总黄酮和总多酚。

关键词: 诃子 抗氧化 提取工艺 生物活性追踪法

中图分类号: TS201 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2011)04-0120-07

Extraction Technology and Antioxidant Activities of Bioactive Components from *Terminalia chebula* Retz.

Jiang Shenhua^{1,2} Wu Shiyun^{2,3} Ma Haile² Huang Xingyi² Wang Zhenbin² Liao Liang¹

(1. College of Life Science, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China

2. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

3. College of Food and Drug, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China)

Abstract

The extraction technology and antioxidant activities of the bioactive components from *Terminalia chebula* Retz. were studied. The results showed that the optimal parameters of the extraction technology were that the concentration of ethanol was 50%, the ratio of extraction solution to sample was 20, the extraction temperature was 60℃, the extraction times was 4 and the extraction time was 7 min. The crude extracts from this plant were proved to have strong antioxidant activities through the results of the reducing power, the FRAP assay and the DPPH radicals scavenging percentages. The bioactive antioxidants of *Terminalia chebula* Retz. were mainly laid in the ethyl acetate fraction based on the bioassay-guided method. The OD values at 700 nm (reducing power), FRAP values (OD593 nm) and DPPH radicals-scavenging percentages of this fraction with the concentrations of 25 and 50 $\mu\text{g/mL}$ were 0.197 ± 0.002 and 0.380 ± 0.006 , 0.272 ± 0.023 and 0.631 ± 0.002 , $(86.838 \pm 0.600)\%$ and $(90.318 \pm 0.917)\%$, respectively. The correlation showed that the strong antioxidant activity mainly resulted from the high contents of total phenols and total flavonoids.

Key words *Terminalia chebula* Retz., Antioxidant, Extraction technology, Bioassay guided method

收稿日期: 2010-08-09 修回日期: 2010-11-09

^{*} “十一五”国家科技支撑计划资助项目(2006BAD27B06)、中国博士后科学基金资助项目(20100481099)、江苏大学博士后科研基金资助项目和九江学院高级专业人才科研启动基金资助项目

作者简介: 江慎华,副教授,江苏大学博士后,主要从事天然产物、食品营养学和功能性食品研究,E-mail: jiangshenhua@data@yahoo.com.cn

通讯作者: 马海乐,教授,博士生导师,主要从事食品科学与工程研究,E-mail: mhl@ujs.edu.cn

引言

诃子(*Terminalia chebula* Retz.)具有降血糖、抗诱变、防治肝脏疾病、抗癌等^[1-2]多种功能活性。尽管国内外已有对诃子抗氧化功能及活性成分提取工艺的报道^[3-9],但目前对诃子提取工艺的研究仅限于单一类别功能因子,暂未发现对诃子总抗氧化活性物质提取工艺的研究。同时,前人对诃子抗氧化活性的研究也仅限于从中提取出混合物,对其混合物抗氧化功能进行活性追踪以便进一步明确功能因子性质等未见相关报道。本实验室前期对卫生部公布的 114 种可用于保健食品的原料进行筛选时发现,诃子抗氧化活性高居第一。为此,本文对诃子抗氧化活性物质提取工艺及采用生物活性追踪法对其抗氧化活性和初步物质基础进行研究,以期为开发诃子抗氧化功能食品奠定基础。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

诃子,购自江苏镇江芝林大药房,产地广西,买回后立即粉碎干燥、过 50 目筛后置冰箱中备用。

1.2 化学试剂

三吡啶三𠔁嗪(tripyridyl triazine,简称 TPTZ)、1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH) 购自 Sigma 公司,其余化学试剂均为国产色谱纯或分析纯。

1.3 试验方法

1.3.1 诃子抗氧化活性物质最佳提取工艺确定

称取 5 g 诃子干粉,对乙醇体积分数、提取时间、提取温度、液料比和提取次数进行单因素试验,

单因素试验条件为:乙醇体积分数 60%、提取时间 7 min、提取温度 60℃、液料比 15、提取次数 3 次,对某一因素做试验时,其他因素数值均保持不变。各提取液合并、定容、稀释至适当倍数后采用测定三价铁还原抗氧化能力(ferric reducing antioxidant power,简称 FRAP)^[10]以波长 593 nm 处的吸光度为评价指标计算提取率。所有试验均重复 3 次,并做正交试验,以确定最佳提取工艺。

1.3.2 诃子粗提物制备

称取 100 g 诃子干粉,采用本文确定的最佳工艺条件进行提取,提取液合并、浓缩、冷冻干燥后获得诃子粗提物干粉,将该粗提物配制成质量浓度为 25、50、100 μg/mL 的样液,以相同质量浓度 BHT(2,6-二叔丁基对甲酚)和维生素 C(VC)作为阳性对照,采用测定总还原力(以 OD700 表示)、FRAP 法抗氧化能力和 DPPH 自由基清除能力 3 种评价方法分析诃子粗提物的抗氧化活性,其中,OD700 是指各样品在波长 700 nm 处的吸光度。

1.3.3 抗氧化能力评价

总还原力、FRAP 法抗氧化能力和 DPPH 自由基清除能力的测定分别采用文献[11]、[10]和[12]提出的方法,略有修改。

1.3.4 诃子抗氧化活性物质追踪

采用生物活性追踪法^[13]对诃子抗氧化活性物质进行追踪。称取 160 g 诃子干粉,采用本文确定的最佳工艺提取,提取液合并、浓缩后加入一定体积的蒸馏水制成悬浊液,分别采用极性逐渐增大的正己烷、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取,最后剩余水相部位,处理流程如图 1 所示。

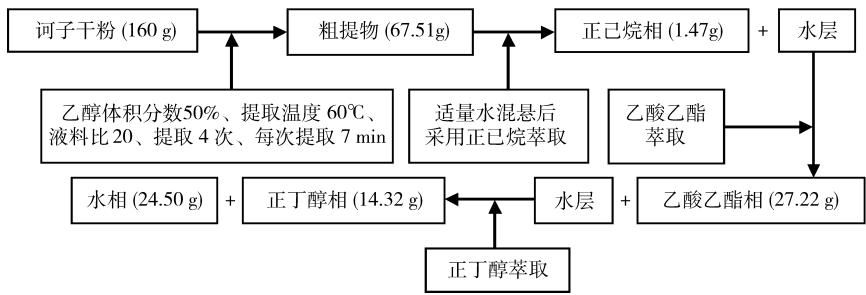


图 1 生物活性追踪法对诃子粗提物梯度萃取流程图
Fig. 1 Fraction scheme of *Terminalia chebula* Retz. based on bioassay guided method

各萃取液真空浓缩、经冷冻干燥后获得正己烷相、乙酸乙酯相、正丁醇相和水相干粉。将这些干粉配制成质量浓度为 25、50 μg/mL 的样液,以相同质量浓度的 BHT 和 VC 作为阳性对照,分别进行总还原力、FRAP 法抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力的测定,以追踪诃子抗氧化功能的活性部位。

1.3.5 诃子抗氧化活性物质成分初步分析

对诃子不同极性萃取部位的总黄酮和总多酚含量进行测定,并分析不同极性部位样品抗氧化能力(总还原力、FRAP 法抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力)与总黄酮、总多酚含量之间的相关关系。总黄酮与总多酚含量的测定均采用文献[14]提出的

方法,略有修改。

2 试验结果与分析

2.1 单因素试验结果

采用 FRAP 法(以 OD593 表示)评价单因素试验中各因素对样品抗氧化活性物质提取率的影响。其中,OD593 是指各样品在 593 nm 处的吸光度。

(1)乙醇体积分数

当乙醇体积分数为 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 和 100% 时,OD593 分别为 0.504 ± 0.023 、 0.598 ± 0.027 、 0.615 ± 0.019 、 0.617 ± 0.015 、 0.604 ± 0.040 、 0.555 ± 0.023 、 0.419 ± 0.038 和 0.345 ± 0.038 。当乙醇体积分数为 30% ~ 60% 时,提取率随着体积分数的增加而逐渐增大,其中体积分数为 60% 时提取率最高。当体积分数超过 60% 以后,随着体积分数的增大提取率逐渐下降,这可能是高体积分数乙醇难溶出水溶性活性物质的缘故。选定 50%、60% 和 70 % 乙醇体积分数做正交试验。

(2)提取时间

当提取时间为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 和 10 min 时,OD593 分别为 0.468 ± 0 、 0.478 ± 0.011 、 0.493 ± 0.002 、 0.492 ± 0.016 、 0.494 ± 0.043 、 0.503 ± 0.023 、 0.576 ± 0.008 、 0.516 ± 0.007 、 0.503 ± 0.005 和 0.467 ± 0.004 。提取时间在 1 ~ 6 min 内,提取率缓慢上升,当提取时间为 7 min 时,提取率最大,7 min 以后提取率反而逐渐下降。提取时间较短的原因可能是作为药材的诃子已经经过炮制工艺处理,使得活性物质更容易溶出,7 min 以后提取率逐渐下降的原因可能是随着提取时间的延长,一些热敏性活性物质抗氧化能力逐渐下降。选定提取时间为 7 min。

(3)提取温度

当提取温度为 30、40、50、60、70、80 和 90℃ 时,OD593 分别为 0.568 ± 0.013 、 0.580 ± 0.009 、 0.581 ± 0.006 、 0.600 ± 0.010 、 0.596 ± 0.007 、 0.589 ± 0.009 和 0.584 ± 0.010 。在 30 ~ 60℃ 范围内提取率逐渐增加,60℃ 时提取效果最好;70 ~ 90℃ 范围内的提取率缓慢下降。选定 50、60 和 70℃ 进行正交试验。

(4)液料比

当液料比为 5、10、15、20 和 30 时,OD593 分别为 0.404 ± 0.052 、 0.446 ± 0.021 、 0.461 ± 0.007 、 0.519 ± 0.030 和 0.545 ± 0.051 。随着液料比的增大,提取率持续增加,但提取成本也会急剧上升。综合提取效率和成本因素,选定液料比 10、15 和 20 做正交试验。

(5)提取次数

当提取次数为 1、2、3、4 和 5 次时,OD593 分别为 0.331 ± 0.032 、 0.374 ± 0.004 、 0.400 ± 0.036 、 0.405 ± 0.018 和 0.417 ± 0.055 。随着提取次数的增加,提取率也逐渐增大,当提取次数高于 2 次后,提取率增加缓慢,而提取成本也会急剧增加。选定提取 2、3、4 次做正交试验。

2.2 正交试验结果及最佳提取工艺

在单因素试验的基础上,选定乙醇体积分数、提取温度、液料比和提取次数做正交试验(表 1),采用 FRAP 法测定抗氧化活性物质提取率的试验结果如表 2 所示。

表 1 诃子抗氧化活性物质提取工艺正交试验因素水平

Tab.1 Design method of orthogonal experiments for extracting antioxidants from *Terminalia chebula* Retz.

水平	因素			
	提取温度 A/℃	乙醇体积分 数 B/%	液料比 C	提取次数 D/次
1	50	50	10	2
2	60	60	15	3
3	70	70	20	4

由表 2 的极差分析可知,影响提取率因素的主次顺序为:乙醇体积分数、液料比、提取次数、提取温度,所得最佳提取工艺为 $A_2B_1C_3D_3$,即乙醇体积分数 50%、提取温度 60℃、液料比 20 和提取 4 次。采用此最佳提取工艺进行 3 次验证试验,提取液 OD593 为 0.332 ± 0.007 ,优于正交表中最大值。

2.3 诃子粗提物抗氧化活性的测定

将诃子粗提物、阳性对照(BHT、VC)配制成质量浓度为 25、50 和 100 μg/mL 样液,采用测定总还原力、FRAP 法抗氧化能力和 DPPH 自由基清除率 3 种方法测定诃子粗提物抗氧化能力,其结果如表 3 所示。

由表 3 可见,浓度在 25 ~ 100 μg/mL 范围内 3 种样品抗氧化能力均随着质量浓度的增大而提高,呈现出剂量依赖性关系。

当粗提物质量浓度为 25、50 和 100 μg/mL 时,总还原力 OD700 分别为 0.130 ± 0.001 、 0.281 ± 0.051 和 0.486 ± 0.004 ,均不及相同质量浓度 VC ($P < 0.001$ 或 $P < 0.05$)。但随着质量浓度的增大,诃子粗提物总还原力大幅增加,尽管在 25 μg/mL 时其总还原力不及同质量浓度的 BHT 和 VC ($P < 0.001$),但在 50 μg/mL 时和同质量浓度 BHT 的总还原力无显著性差异,当浓度为 100 μg/mL 时诃子粗提物的总还原力甚至高于 BHT($P < 0.05$)。

表 2 正交试验结果
Tab.2 Results of orthogonal experiments

试验编号	A	B	C	D	OD593
1	1	1	1	1	0. 302 ± 0. 025
2	1	2	2	2	0. 307 ± 0. 019
3	1	3	3	3	0. 301 ± 0. 010
4	2	1	2	3	0. 325 ± 0. 022
5	2	2	3	1	0. 322 ± 0. 029
6	2	3	1	2	0. 288 ± 0. 012
7	3	1	3	2	0. 317 ± 0. 019
8	3	2	1	3	0. 312 ± 0. 012
9	3	3	2	1	0. 279 ± 0. 072
均值 k_1	0. 3033	0. 3147	0. 3007	0. 3010	
均值 k_2	0. 3117	0. 3137	0. 3037	0. 3040	
均值 k_3	0. 3027	0. 2893	0. 3133	0. 3127	
极差	0. 0084	0. 0254	0. 0126	0. 0117	
因素主次	$B、C、D、A$				
优化方案	$A_2B_1C_3D_3$				

表 3 诃子粗提物抗氧化能力
Tab.3 Antioxidant activities of the crude extracts from *Terminalia chebula* Retz.

抗氧化活性参数	样液质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	样品			显著性 水平
		BHT	诃子粗提物	VC	
总还原力 (OD700)	25	0. 170 ± 0. 003 ^B	0. 130 ± 0. 001 ^C	0. 274 ± 0. 002 ^A	$P < 0. 001$
	50	0. 291 ± 0. 003 ^B	0. 281 ± 0. 051 ^B	0. 523 ± 0. 007 ^A	$P < 0. 001$
	100	0. 466 ± 0. 005 ^C	0. 486 ± 0. 004 ^B	0. 846 ± 0. 012 ^A	$P < 0. 05$
FRAP 法抗氧化能力 (OD593)	25	0. 052 ± 0. 004 ^C	0. 162 ± 0. 013 ^B	0. 308 ± 0. 008 ^A	$P < 0. 001$
	50	0. 188 ± 0. 012 ^C	0. 397 ± 0. 008 ^B	0. 765 ± 0. 028 ^A	$P < 0. 001$
	100	0. 394 ± 0. 060 ^C	0. 908 ± 0. 020 ^B	1. 609 ± 0. 012 ^A	$P < 0. 001$
DPPH 自由基清除率/%	25	60. 061 ± 1. 801 ^C	65. 053 ± 0. 786 ^B	84. 115 ± 0. 227 ^A	$P < 0. 001$
	50	75. 643 ± 1. 763 ^B	88. 956 ± 0. 347 ^A	90. 545 ± 0. 472 ^A	$P < 0. 001$
	100	84. 493 ± 2. 181 ^B	92. 360 ± 0. 472 ^A	93. 797 ± 0. 571 ^A	$P < 0. 001$

注:同一行不同字母表示各样品之间存在显著性差异

当粗提物质量浓度为 25、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, OD593 分别高达 $0. 162 \pm 0. 013$ 、 $0. 397 \pm 0. 008$ 和 $0. 908 \pm 0. 020$ 。尽管在该质量浓度范围内的 OD593 均低于相同质量浓度的 VC ($P < 0. 001$), 但显著高于同质量浓度的 BHT ($P < 0. 001$)。

当粗提物质量浓度为 25、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, DPPH 自由基清除率分别为 $(65. 053 \pm 0. 786)\%$ 、 $(88. 956 \pm 0. 347)\%$ 和 $(92. 360 \pm 0. 472)\%$, 均显著高于同质量浓度的 BHT ($P < 0. 01$)。当质量浓度为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 粗提物的清除率尽管低于同质量浓度的 VC, 但显著高于同质量浓度的 BHT ($P < 0. 01$)。随着质量浓度增加诃子粗提物清除率持续

上升, 在 50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度时, 其清除率甚至和 VC 无显著性差异, 同时显著高于同质量浓度的 BHT ($P < 0. 01$)。

诃子粗提物为混合物, 含非抗氧化活性杂质较多, 尚具备和分析纯 BHT 相当甚至更强的抗氧化能力, 显示出诃子具有非常强的抗氧化活性。Jeong^[15]在采用以上 3 种方法评价桔梗醇提物抗氧化活性时也取得较好的研究结果。

2.4 诃子抗氧化活性物质研究结果

在前期得出诃子粗提物具有很强抗氧化活性的基础上, 进一步采用生物活性追踪法对诃子抗氧化活性进行追踪, 以分析其强抗氧化功能的物质来源

及主要物质基础。该方法的主要原理是采用极性逐渐增大的溶剂正己烷、乙酸乙酯、正丁醇和水对诃子粗提物依次进行梯度萃取,从而将其功能成分根据极性大小划分为从弱到强的 4 个不同极性组分:正

己烷相、乙酸乙酯相、正丁醇相和水相,然后根据不同极性组分功能活性的大小确定其有效部位,为后续分离、纯化和最终阐明功能活性的物质基础提供条件。其试验结果如表 4 所示。

表 4 诃子不同极性部位抗氧化能力的测定结果
Tab.4 Antioxidant activities of different fractions from *Terminalia chebula* Retz.

抗氧化 活性参数	样液质量 浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	样品						显著性 水平
		BHT	正己烷相	正丁醇相	水相	乙酸乙酯相	VC	
总还原力 (OD700)	25	0.170 $\pm$ 0.003 ^C	0.017 $\pm$ 0.001 ^F	0.093 $\pm$ 0.002 ^E	0.101 $\pm$ 0.002 ^D	0.197 $\pm$ 0.002 ^B	0.274 $\pm$ 0.002 ^A	$P < 0.001$
	50	0.291 $\pm$ 0.003 ^C	0.035 $\pm$ 0.001 ^F	0.186 $\pm$ 0.002 ^E	0.216 $\pm$ 0.002 ^D	0.380 $\pm$ 0.006 ^B	0.523 $\pm$ 0.007 ^A	
FRAP 法抗氧化能力 (OD593)	25	0.052 $\pm$ 0.004 ^D	0.044 $\pm$ 0.005 ^D	0.082 $\pm$ 0.0126 ^C	0.082 $\pm$ 0.0168 ^C	0.272 $\pm$ 0.023 ^B	0.308 $\pm$ 0.008 ^A	$P < 0.05$
	50	0.188 $\pm$ 0.012 ^E	0.066 $\pm$ 0.004 ^F	0.292 $\pm$ 0.024 ^D	0.328 $\pm$ 0.009 ^C	0.631 $\pm$ 0.002 ^B	0.765 $\pm$ 0.028 ^A	
DPPH 自由基清除率/%	25	60.061 $\pm$ 1.801 ^C	3.480 $\pm$ 1.594 ^F	48.487 $\pm$ 1.135 ^D	33.964 $\pm$ 0.600 ^E	86.838 $\pm$ 0.600 ^A	84.115 $\pm$ 0.227 ^B	$P < 0.05$
	50	75.643 $\pm$ 1.763 ^C	14.675 $\pm$ 2.165 ^E	87.216 $\pm$ 0.917 ^B	68.230 $\pm$ 2.967 ^D	90.318 $\pm$ 0.917 ^{AB}	90.545 $\pm$ 0.472 ^A	

注:同一行不同字母表示各样品之间存在显著性差异

由表 4 可知,在 25 ~ 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度范围内,所有样品随着质量浓度增大抗氧化能力逐渐增强。在不同极性萃取组分中,均以弱极性乙酸乙酯相的抗氧化能力(总还原力、FRAP 法抗氧化能力和 DPPH 自由基清除能力)最强。

质量浓度为 25、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时乙酸乙酯相的 OD700 分别高达 0.197 $\pm$ 0.002 和 0.380 $\pm$ 0.006,均显著高于其他 3 个极性部位 ($P < 0.001$)。和两个阳性对照相比,乙酸乙酯相总还原力尽管均低于相同质量浓度的 VC,但均显著高于相同质量浓度的 BHT ($P < 0.001$)。

质量浓度为 25、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时乙酸乙酯相在波长 593 nm 处的 OD 值分别为 0.272 $\pm$ 0.023 和 0.631 $\pm$ 0.002。和阳性对照相比,该相的抗氧化能力尽管低于相同质量浓度的 VC,但仍显著高于相同质量浓度的 BHT ($P < 0.01$)。

质量浓度为 25、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时乙酸乙酯相 DPPH 自由基清除率分别为 (86.838 $\pm$ 0.600)% 和 (90.318 $\pm$ 0.917)%,均显著高于其他 3 个极性部位 ($P < 0.05$)。和阳性对照相比,当质量浓度为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,乙酸乙酯相的清除率甚至同时高于两个阳性对照 VC 和 BHT ($P < 0.05$)。在质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时尽管乙酸乙酯相的清除率稍低于 VC,

但无显著性差异 ($P > 0.05$),仍显著高于 BHT ($P < 0.05$)。

不同极性部位抗氧化活性测定结果再次证实诃子具有很强的抗氧化能力,其强抗氧化活性物质主要存在于乙酸乙酯萃取相中,由弱极性化合物组成。

Yu^[16]采用极性逐渐增大的溶剂石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水对瞿麦的乙醇提取液进行依次萃取研究其抗氧化活性时也发现,在 4 个不同极性部位中乙酸乙酯相抗氧化能力最强。Chua^[17]采用和本文相同的研究方法对土肉桂嫩芽的醇提取物进行液液萃取以追踪各萃取相的抗氧化活性,结果发现抗氧化功能因子主要由存在于正丁醇部位的中等极性化合物所组成。

2.5 诃子抗氧化活性物质基础的初步分析

总黄酮和总多酚通常被认为是植物抗氧化活性的主要物质基础^[14]。为此,在明确诃子提取物抗氧化活性物质主要存在于乙酸乙酯萃取相的基础上,进一步通过测定各萃取部位总黄酮和总多酚含量以初步分析该活性的物质基础,其结果如表 5 所示。

由表 5 可知,在诃子 4 个不同极性部位中,乙酸乙酯相的总多酚与总黄酮含量最高,均极显著高于其他 3 个萃取组分 ($P < 0.001$)。

表 5 诃子不同极性萃取部位总多酚、总黄酮质量比
Tab.5 Contents of the total phenols and flavonoids

成分	正己烷相	乙酸乙酯相	正丁醇相	水相
总多酚	0.19 $\pm$ 0.02 ^D	100.12 $\pm$ 0.44 ^A	24.76 $\pm$ 0.22 ^C	62.47 $\pm$ 1.86 ^B
总黄酮	0.21 $\pm$ 0.06 ^D	19.80 $\pm$ 0.19 ^A	7.82 $\pm$ 0.11 ^C	15.03 $\pm$ 0.70 ^B

注:同一行不同字母表示各样品之间存在极显著性差异 ($P < 0.001$)

另外,诃子 4 个不同极性萃取组分的总多酚含量与总还原力、FRAP 法抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力高度相关,相关系数 R^2 分别高达 0.981 3、0.956 9 和 0.713 9;4 个不同极性萃取组分的总黄酮含量与总还原力、FRAP 法抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力也高度相关, R^2 分别高达 0.957 7、0.897 1 和 0.914 4。这充分说明诃子抗氧化活性的物质基础主要由其所含的总多酚和总黄酮类化合物所贡献。由前人^[15,18~21]和本文的研究结果可见,诃子具有极强抗氧化活性的主要物质基础为其所含的弱极性多酚、黄酮类化合物。

3 结束语

通过单因素试验和正交试验确定了诃子抗氧化活性物质的最佳提取工艺为:乙醇质量浓度 50%、液料比 20、提取温度 60℃、提取次数 4、提取时间 7 min,所得诃子粗提物抗氧化活性较强,其 FRAP 法抗氧化能力及 DPPH 自由基清除能力均高于相同质量浓度的阳性对照 BHT。生物活性追踪发现诃子抗氧化活性物质主要存在于弱极性的乙酸乙酯部位。诃子抗氧化活性的主要物质基础是总黄酮和总多酚类化合物。

参 考 文 献

- 1 Gao H, Huangb Y N, Xu P Y, et al. Inhibitory effect on α -glucosidase by the fruits of *Terminalia chebula* Retz. [J]. Food Chemistry, 2007, 105(2): 628 ~ 634.
- 2 Saleem A, Husheem M, Harkonen P, et al. Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of *Terminalia chebula* Retz. fruit [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2002, 81(3): 327 ~ 336.
- 3 孟洁, 杭瑚. 诃子抗氧化作用的研究[J]. 食品科学, 2000, 21(2): 9 ~ 12.
Meng Jie, Hang Hu. The antioxidant activities of *Terminalia chebula* Retz. [J]. Food Science, 2000, 21(2): 9 ~ 12. (in Chinese)
- 4 贝玉祥, 郭英, 范逸平, 等. 诃子多酚清除活性氧自由基及体外抗氧化作用研究[J]. 云南民族大学学报:自然科学版, 2009, 18(1): 51 ~ 54.
Bei Yuxiang, Guo Ying, Fan Yiping, et al. Scavenging effects of myrobalam polyphenols on oxygen free radical scavenging activity and its antioxidant activities in vitro [J]. Journal of Yunnan Nationalities University: Natural Sciences Edition., 2009, 18(1): 51 ~ 54. (in Chinese)
- 5 项朋志, 刘丽梅, 贝玉祥, 等. 诃子多糖的提取及其抗氧化活性研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2009, 30(2): 46 ~ 48.
- 6 Naik G H, Priyadarsini K I, Naik D B, et al. Studies on the aqueous extract of *Terminalia chebula* as a potent antioxidant and a probable radioprotector [J]. Phytomedicine, 2004, 11(6): 530 ~ 538.
- 7 石章锁, 郑曙明, 崔秋芳. 正交试验优选诃子醇提工艺研究 [J]. 河北渔业, 2007, 162(6): 11 ~ 13.
Shi Zhangsuo, Zheng Shuming, Cui Qiufang. Study on the process for extracting medicine terminalia fruit by orthogonal experiment [J]. Hebei Fisheries, 2007, 162(6): 11 ~ 13. (in Chinese)
- 8 贝玉祥, 郭英, 和万芬, 等. 诃子中总多酚含量的测定及其超声提取工艺的研究[J]. 生物技术, 2008, 18(2): 82 ~ 84.
Bei Yuxiang, Guo Ying, He Wanfen, et al. Study on polyphenols extraction from terminalia by ultrasonic and its content determination [J]. Biotechnology, 2008, 18(2): 82 ~ 84. (in Chinese)
- 9 Rangsiwong P, Rangkadilok N, Satayavivad J, et al. Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from *Terminalia chebula* Retz. fruits [J]. Separation and Purification Technology, 2009, 66(1): 51 ~ 56.
- 10 Wijngaard H H, R   le C, Brunton N. A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants [J]. Food Chemistry, 2009, 116(1): 202 ~ 207.
- 11 Liang C H, Syu J L, Mau J L. Antioxidant properties of solid-state fermented adlay and rice by *Phellinus linteus* [J]. Food Chemistry, 2009, 116(4): 841 ~ 845.
- 12 Lai P, Li K Y, Lu S, et al. Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from Japonica rice bran [J]. Food Chemistry, 2009, 117(3): 538 ~ 544.
- 13 Jiang S H, Wang C L, Chen Z Q, et al. Antioxidant properties of the extract and subfractions from old leaves of *toona sinensis* roem (meliaceae)[J]. Journal of Food Biochemistry, 2009, 33(3): 425 ~ 441.
- 14 Bakar M F A, Mohamed M, Rahmat A, et al. Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of bambangan (*Mangifera pajang*) and tarap (*Artocarpus odoratissimus*) [J]. Food Chemistry, 2009, 113(2): 479 ~ 483.
- 15 Jeong C H, Choi G N, Kim J H, et al. Antioxidant activities from the aerial parts of *Platycodon grandiflorum*[J]. Food Chemistry, 2010, 118(2): 278 ~ 282.
- 16 Yu J O, Liao Z X, Lei J C, et al. Antioxidant and cytotoxic activities of various fractions of ethanol extract of *Dianthus*

superbus [J]. Food Chemistry, 2007,104(3): 1 215 ~ 1 219.

17 Chua M T, Tung Y T, Chang S T. Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum* [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(6): 1 918 ~ 1 925.

18 江慎华,王书源,马海乐,等. 丁香活性物质提取工艺及其抗氧化活性的研究[J].农业机械学报, 2010,41(1):132 ~ 138.
Jiang Shenhua, Wang Shuyuan, Ma Haile, et al. Extracting technology and antioxidant activity of bioactive components from clove [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010,41(1):132 ~ 138. (in Chinese)

19 Lee H S, Jung S H, Yun B S, et al. Isolation of chebulic acid from *Terminalia chebula* Retz. and its antioxidant effect in isolated rat hepatocytes [J]. Archives of Toxicology, 2007, 81(3): 211 ~ 218.

20 Cheng H Y, Lin T C, Yu K H, et al. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Terminalia Chebula* [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin,2003,26(9):1 331 ~ 1 335.

21 Rangsiwong P, Rangkadilok N, Satayavivad J, et al. Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from *Terminalia chebula* Retz. fruits [J]. Separation and Purification Technology, 2009, 66(1): 51 ~ 56.

~~~~~

(上接第 119 页)

7 Wang C Y, Chen C T, Wang S Y. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries illumination with UV-C [J]. Food Chemistry, 2009, 117(3): 426 ~ 431.

8 Erkan M, Wang S Y, Wang C Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 48(2): 163 ~ 171.

9 Alothman M, Bhat R, Karim A A. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits [J]. Innovative Food Science and Emerging Technology, 2009, 10(4): 512 ~ 516.

10 Kaur C, Kapoor H C. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2002, 37(2): 153 ~ 161.

11 曹建康,姜微波,赵玉梅,等. 果蔬采后生理生化实验指导 [M]. 北京:中国轻工业出版社, 2007.

12 Saltveit M E. Fruit ripening fruit quality [M]. Wallingford, UK: CAB International, 2005: 145 ~ 170.

13 Arias R, Lee T C, Logendra L, et al. Correlation of lycopene measured by HPLC with the  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  colour readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with colour and lycopene content [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(5): 1 697 ~ 1 702.

14 Shi J, Maguer M L. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing [J]. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2000, 40(1): 1 ~ 42.

15 Frankel E N, Meyer A S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80(13): 1 925 ~ 1 941.

16 Dalton D A. Antioxidant defenses of plants and fungi [M]. New York: Chapman and Hall, 1995: 298 ~ 355.