

不同产地菱角壳(欧菱果壳)中总多酚含量及 抗氧化活性和对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用的比较

左袁袁¹, 吕寒¹, 吴月娴¹, 陈剑¹, 简瞰昱¹, 任冰如^{1,①}, 李维林²

[1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园) 江苏省抗糖尿病药物筛选技术服务中心, 江苏 南京 210014;

2. 南京林业大学, 江苏 南京 210037]

Comparison on total phenols content and antioxidant activity and inhibitory effect on α -glucosidase activity of water chestnut shells (*Trapa natans* shells) from different locations ZUO Yuanyuan¹, LYU Han¹, WU Yuexian¹, CHEN Jian¹, JIAN Tunyu¹, REN Bingru^{1,①}, LI Weilin² (1. Jiangsu Provincial Service Center for Anti-diabetic Drugs Screening, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2018, 27(3): 112-114

Abstract: Total phenols of water chestnut shells (*Trapa natans* Linn. shells) from 11 provinces (autonomous regions) were extracted, and their total phenols content were analyzed. Their antioxidant activity and inhibitory effect on α -glucosidase activity were also compared. The results show that total phenols contents of tested samples are 8.15-54.54 mg·g⁻¹, and DPPH· scavenging rate, ABTS⁺· scavenging rate, and α -glucosidase activity inhibition rate of their total phenols extracts are 33.76%-80.60%, 22.54%-70.19%, and 29.09%-78.02%, respectively. All indexes of samples from Jiaxing of Zhejiang are the highest and show significant differences ($P < 0.05$) with those of samples from other locations in general, indicating that there are differences in total phenols content and antioxidant activity and inhibitory effect on α -glucosidase activity of total phenols extracts of water chestnut shells from different locations. The correlation analysis result shows that total phenols content in water chestnut shells shows significantly positive correlations with DPPH· scavenging rate, ABTS⁺· scavenging rate, and α -glucosidase activity inhibition rate of total phenols extracts, and correlation coefficients are 0.788, 0.916, and 0.977, respectively, suggesting that total phenols might be the major components responsible for antioxidant activity and inhibitory effect on α -glucosidase activity of water chestnut shells.

关键词: 欧菱果壳; 总多酚含量; 抗氧化活性; α -葡萄糖苷酶; 抑制作用

Key words: *Trapa natans* Linn. shell; total phenols content; antioxidant activity; α -glucosidase; inhibitory effect

中图分类号: Q946.8; R284.1; S645.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2018)03-0112-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2018.03.15

国产菱属(*Trapa* Linn.)植物仅包含欧菱(*T. natans* Linn.)和细果野菱(*T. incisa* Sieb. et Zucc.)2种^[1],全国各地均有分布,长江流域为主要分布区和栽培区。该属植物的果实统称为菱角,《本草纲目》中记载菱角具有解暑、解伤寒积热、止消渴和解酒毒的功效;子叶富含淀粉,可食用;菱角壳具有降血糖、抗氧化、抗癌和抗肿瘤等^[2-4]药理活性,含黄酮类^[5-6]、总多酚类^[3,6]、萜类和甾体类^[7]、苯丙素类^[6]以及生物碱类^[8]等成分,主要活性成分为总多酚。

为明确不同产地菱角壳中总多酚含量的差异,作者对来源于11个省(自治区)13个产地的菱角壳中总多酚含量进行测定,并对其抗氧化活性和对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用进行了比较,以期对菱角壳的深度研究和开发提供基础数据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试欧菱果实于2017年8月取自广西(桂林)、山东(枣庄)、浙江(嘉兴和金华)、河南(信阳)、湖北(洪湖)、福建(建瓯)、安徽(马鞍山)、湖南(沅江)、江西(新余)、江苏(南京和苏州)和广东(揭阳)11个省(自治区)的13个产地,经江苏省中国科学院植物研究所任冰如研究员鉴定。各产地分别采集新鲜欧菱果实(菱角)约1kg,人工剥取菱角壳,自然阴干,粉碎,过60目筛,备用。

主要仪器:EL204电子天平[梅特勒-托利多(上海)有限

收稿日期: 2017-12-26

基金项目: 江苏省重点研发计划——现代农业项目(BE2016383); 江苏省药用植物研究重点实验室项目(YY201401)

作者简介: 左袁袁(1992—),女,广西贺州人,硕士研究生,主要从事植物天然产物化学方面的研究。

①通信作者 E-mail: bingruen@126.com

公司)、SpectraMax Plus384 光吸收酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)、KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、Thermo Finnpiptette 精密单通道加样器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)和 Transferpette-8 型精密八通道移液排枪(德国 Brand 公司)。

主要试剂:没食子酸对照品(纯度大于 98%,成都瑞芬思生物科技有限公司)、 α -葡萄糖苷酶(美国 Sigma-Aldrich 公司)、对硝基苯- α -D-葡萄糖吡喃苷(pNPG,纯度 99%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司)、Folin-Ciocalteu 试剂(美国 Sigma-Aldrich 公司)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(分析纯,美国 Sigma-Aldrich 公司)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(分析纯,上海生工生物工程有限公司); $K_2S_2O_8$ 、 $Na_2PO_4 \cdot 12H_2O$ 、 K_2PO_4 、无水乙醇和 Na_2CO_3 均为分析纯,购自南京化学试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线绘制 精密称取没食子酸对照品适量,用超纯水溶解并配制成质量浓度 $99.70 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,并按照文献[9]的方法,采用 Folin-Ciocalteu 试剂法测定吸光度。以吸光度为纵坐标(y)、没食子酸含量为横坐标(x)绘制标准曲线,获得回归方程 $y = 0.4116x + 0.2062 (r = 0.9975)$,线性范围 $0.0000 \sim 4.9900 \mu\text{g}$ 。

1.2.2 样品中总多酚的提取 通过前期对提取溶剂(体积分数 40%、50%、60%、70%、80%和 90%乙醇以及 50%丙酮)的预实验确定以体积分数 60%乙醇为提取溶剂。分别称取各样品粉末 1.00 g,精密加入体积分数 60%乙醇 50.0 mL,超声(300 W, 30 $^{\circ}\text{C}$)提取 40 min,冷却后过滤,滤液即为总多酚提取液。用体积分数 60%乙醇将总多酚提取液稀释 4 倍,制成供试液。分别精密量取供试液 5 μL ,按对照品溶液的测定方法测定吸光度,并根据标准曲线计算样品中的总多酚含量。每

份样品均重复测定 3 次。

1.2.3 方法学考察 精密吸取对照品溶液 5 μL ,按对照品溶液的测定方法,连续测定 6 次吸光度, RSD 值为 0.04%,表明仪器精密度良好。取湖北洪湖产样品的供试液,按对照品溶液的测定方法测定吸光度,并分别显色反应 0、20、40、60、80、100 和 120 min, RSD 值为 1.20%,表明供试液显色后在 2 h 内稳定性较好。取湖北洪湖产样品粉末 6 份并按上述方法制成供试液,按对照品溶液的测定方法测定吸光度, RSD 值为 0.80%,表明该方法重复性较好。取广西桂林产样品粉末(总多酚含量已知)6 份,每份 0.05 g,分别加入体积分数 60%乙醇 50 mL 和质量浓度 $99.70 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 没食子酸对照品溶液 7.5 mL,按上述样品中总多酚的提取和测定方法测定吸光度,并且计算回收率,平均回收率为 99.96%, RSD 值为 0.08%。

1.2.4 抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性的测定 用体积分数 60%乙醇将上述各样品的总多酚提取液稀释 16 倍,制成供试液。分别测定供试液对 DPPH \cdot 和 ABTS $^{+}$ 的清除率及对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率^[10]。

1.3 数据统计分析

采用 GraphPad Prism 6 软件对数据进行差异显著性分析,采用 EXCEL 2013 软件对数据进行相关性分析。

2 结果和分析

不同产地菱角壳样品中总多酚含量及其总多酚提取物对 DPPH \cdot 和 ABTS $^{+}$ 的清除率及对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率见表 1。结果表明:浙江嘉兴产样品中总多酚含量最高($54.54 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),山东枣庄产样品中总多酚含量最低($8.15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)且与其他产地样品中总多酚含量差异显著($P < 0.05$);其他产

表 1 不同产地菱角壳(欧菱果壳)中总多酚含量及其总多酚提取物的 DPPH \cdot 清除率、ABTS $^{+}$ 清除率和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率($\bar{X} \pm SD$)¹⁾
Table 1 Total phenols contents in water chestnut shells (*Trapa natans* Linn. shells) from different locations and DPPH \cdot scavenging rate, ABTS $^{+}$ scavenging rate, and α -glucosidase activity inhibition rate of their total phenols extracts ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

产地 Location	总多酚含量/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) Total phenols content	DPPH \cdot 清除率/% DPPH \cdot scavenging rate	ABTS $^{+}$ 清除率/% ABTS $^{+}$ scavenging rate	α -葡萄糖苷酶活性抑制率/% α -glucosidase activity inhibition rate
广西桂林 Guilin of Guangxi	15.11 \pm 0.03e	33.76 \pm 1.58h	22.54 \pm 1.07j	34.43 \pm 1.09h
山东枣庄 Zaozhuang of Shandong	8.15 \pm 0.01f	44.01 \pm 1.89g	25.80 \pm 1.04i	29.65 \pm 1.02i
浙江嘉兴 Jiaxing of Zhejiang	54.54 \pm 0.02a	80.60 \pm 4.47a	70.19 \pm 3.68a	78.02 \pm 3.74a
浙江金华 Jinhua of Zhejiang	38.05 \pm 0.04b	48.76 \pm 2.65f	55.41 \pm 2.12d	57.85 \pm 1.56d
河南信阳 Xinyang of He'nan	34.85 \pm 0.02b	77.76 \pm 4.47a	55.38 \pm 2.79d	53.23 \pm 1.63e
湖北洪湖 Honghu of Hubei	35.54 \pm 0.01b	75.51 \pm 3.30b	52.22 \pm 1.48e	55.24 \pm 2.86d
福建建瓯 Jian'ou of Fujian	27.46 \pm 0.04d	66.24 \pm 1.04d	58.36 \pm 2.86c	41.73 \pm 1.30g
安徽马鞍山 Ma'anshan of Anhui	32.50 \pm 0.02c	74.66 \pm 3.85b	49.16 \pm 2.39f	49.12 \pm 1.45f
湖南沅江 Yuanjiang of Hu'nan	30.12 \pm 0.03c	66.42 \pm 2.65d	55.53 \pm 1.77d	47.44 \pm 1.79f
江西新余 Xinyu of Jiangxi	31.71 \pm 0.03c	61.98 \pm 1.82e	45.38 \pm 2.19g	47.30 \pm 2.24f
江苏南京 Nanjing of Jiangsu	39.70 \pm 0.05b	72.56 \pm 3.91c	54.77 \pm 2.83d	66.17 \pm 2.88c
江苏苏州 Suzhou of Jiangsu	13.39 \pm 0.01e	44.85 \pm 2.79g	34.19 \pm 1.53h	29.09 \pm 2.00i
广东揭阳 Jieyang of Guangdong	47.87 \pm 0.09a	73.48 \pm 3.77c	63.86 \pm 4.75b	71.82 \pm 3.60b

¹⁾以体积分数 60%乙醇为溶剂 Taking volume fraction of 60% ethanol as solvent. 同列中不同的小写字母表示差异显著($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

地样品中总多酚含量均存在不同程度的差异。

浙江嘉兴产样品的总多酚提取物对 DPPH· 和 ABTS⁺· 的清除率最高,分别达到 80.60% 和 70.19%;广西桂林产样品的总多酚提取物对 DPPH· 和 ABTS⁺· 的清除率最低,分别仅为 33.76% 和 22.54%,且与其他产地的样品差异显著。浙江嘉兴产样品的总多酚提取物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率最高(78.02%);江苏苏州产样品的总多酚提取物对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率最低(29.09%),且总体上与其他产地的样品差异显著。总体上看,不同产地样品的总多酚提取物均具有清除 DPPH· 和 ABTS⁺· 的活性及对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用,但不同产地间存在差异。浙江嘉兴产样品中总多酚含量及其总多酚提取物对 DPPH· 清除率、ABTS⁺· 清除率和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率均显著高于其他产地。

相关性分析表明:菱角壳中总多酚含量与其 DPPH· 清除率、ABTS⁺· 清除率和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率均呈显著正相关,相关系数分别为 0.788、0.916 和 0.977。

3 讨论和结论

上述实验结果表明:不同产地菱角壳中总多酚含量及其总多酚提取物对 DPPH· 清除率、ABTS⁺· 清除率和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率均存在差异,除与各产地栽培品种本身的遗传差异有关外,还可能与产地的气候和水土环境等因子以及栽培管理措施有关。

菱角壳分为内果皮和外果皮,内果皮由质地坚硬的木质化纤维组织组成,而外果皮呈膜质,在果壳总质量中占比很小,但却是总多酚及其他化学成分存在的主要场所。从果皮结构上看,浙江嘉兴产菱角壳的内果皮相对较薄且质地较疏松,在果壳质量中占比相对较小,而其外果皮占比相对较大,总多酚含量相对较高,因而,浙江嘉兴产菱角壳中总多酚含量及其总多酚提取物对 DPPH· 清除率、ABTS⁺· 清除率和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率总体上显著高于其他产地。

相关性分析表明:菱角壳中总多酚含量与其总多酚提取物对 DPPH· 清除率、ABTS⁺· 清除率和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率均呈显著正相关,表明多酚类成分可能是菱角壳抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性的主要活性成分。相关研究表明:氧化应激与糖尿病^[11]、肿瘤^[12] 和炎症^[13] 等疾病密切相关,因此,菱角壳可作为抗糖尿病及其他疾病的药用植物资源

进一步研究和开发。鉴于浙江嘉兴产菱角壳中总多酚含量较高,且抗氧化活性和对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用均较强,可首先用于研究和开发。

参考文献:

- [1] WU Z Y, RAVEN P H, HONG D Y. Flora of China; Vol. 13[M]. Beijing: Science Press, 2007: 290-291.
- [2] KANG M J, LEE S K, SONG J H, et al. Water chestnut (*Trapa japonica* Flerov.) exerts inhibitory effect on postprandial glycemic response in rats and free radical scavenging activity *in vitro*[J]. Food Science and Biotechnology, 2009, 18: 808-812.
- [3] 牛凤兰,尹建元,董威严,等.菱角中抗肿瘤活性成分的分离、提纯及结构鉴定[J].高等学校化学学报,2005,26(5): 852-855.
- [4] 牛凤兰,李晨旭,董威严,等.菱角水提取物对胃癌细胞抑制作用的实验研究[J].白求恩医科大学学报,2001,27(5): 495-497.
- [5] 赵文亚.菱角功能性成分研究进展[J].食品工程,2008(1): 7-8, 27.
- [6] HUANG H C, CHAO C L, LIAW C C, et al. Hypoglycemic constituents isolated from *Trapa natans* L. pericarps[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64: 3794-3803.
- [7] 陈百泉,张倩,王微,等.南湖菱壳中 α -葡萄糖苷酶抑制活性成分研究[J].中国中药杂志,2012,37(10): 1408-1411.
- [8] 尚庆坤,玄玉实,朱东霞,等.高效制备液相色谱法分离制备菱角壳中的生物碱[J].东北师大学报(自然科学版),2007,39(2): 82-86.
- [9] 吕寒,简曦昱,陈剑,等.菱角壳中多酚的纯化及 α -糖苷酶抑制活性研究[J].时珍国医国药,2017,28(11): 2628-2630.
- [10] 汪洋,汪少华,吕寒.刺梨乙醇提取物体外抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性的研究[J].中国现代应用药学,2016,33(8): 1003-1006.
- [11] 盛冲霄,黎红华,崔敏,等.糖尿病与氧化应激在颈动脉粥样硬化大鼠内皮功能障碍中的作用研究[J].中国全科医学,2016,19(9): 1015-1020.
- [12] 魏静,张厚德,杜冀晖.过氧化物酶体氧化应激与肿瘤关系的研究进展[J].医学综述,2013,19(24): 4453-4455.
- [13] 杨红兰,王勇.氧化应激与炎症反应在老年糖尿病视网膜病变中的作用[J].长江大学学报(自科版),2017,14(4): 48-50.

(责任编辑:郭严冬)