

网络优先数字出版时间: 2016-05-12

网络优先数字出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/45.1075.N.20160512.1517.016.html>

## 油梨不同部位总酚含量、抗氧化及抗菌活性\* Total Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities from Different Parts of Avocado *Persea americana* Mill.

黄思思<sup>1</sup>, 宁德生<sup>1</sup>, 夏梦雯<sup>2</sup>, 程玲<sup>2</sup>, 潘争红<sup>1\*</sup>

HUANG Sisi<sup>1</sup>, NING Desheng<sup>1</sup>, XIA Mengwen<sup>2</sup>, CHENG Ling<sup>2</sup>, PAN Zhenghong<sup>1</sup>

(1. 广西植物研究所, 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西桂林 541006; 2. 云南师范大学化学化工学院, 云南昆明 650500)

(1. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guilin, Guangxi, 541006, China; 2. Faculty of Chemistry and Chemical Engineering of Yunnan Normal University, Kunming, Yunnan, 650500, China)

**摘要:**【目的】研究油梨 (*Persea americana* Mill.) 不同部位(果皮、果肉、果核、叶子)50%(V/V)甲醇提取物的总酚含量、抗氧化及抗菌活性, 并分析总酚含量和抗氧化活性间的相关性。【方法】采用福林酚(Folin-Ciocalteu)法测定总酚含量, DPPH·(1,1-二苯基-2-苦肼基)自由基清除法测定抗氧化活性, SPSS 19.0 双变量相关分析法分析总酚含量与抗氧化活性间的相关性, 纸片法测定抗菌活性。【结果】油梨果皮的总酚含量最高, 果核和叶子次之, 果肉的最低。果皮、果核和叶子均具有较强的清除 DPPH· 自由基的能力, 果肉的则相对较弱。4个部位清除 DPPH· 自由基能力与其所含的总酚含量存在显著的正相关关系, 相关系数  $r$  值达 0.983, 即抗氧化能力随总酚含量的增加而增强。油梨皮和核部位对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 有抗菌作用, 但对白色念珠菌 (*Candida albicans*) 没有抑菌作用。【结论】油梨具有较强的抗氧化活性和一定的抗菌活性, 为更好地综合开发和利用油梨提供理论依据。

**关键词:** 油梨 总酚 抗氧化 抗菌

**中图分类号:** TS255.1 **文献标识:** A **文章编号:** 1002-7378(2016)02-0151-05

**Abstract:**【Objective】The aim was to investigate 50% methanol extracts of different parts (peel, pulp and seed, leaf) from avocado (*Persea americana* Mill.) for total phenolic content, *in vitro* antioxidant activity, and antimicrobial activities. The correlation between antioxidant activity and total phenolic content was also analyzed. 【Methods】The contents of total phenol were measured by Folin-Ciocalteu assay. *In vitro* antioxidant activity was evaluated

using the DPPH· assay. Correlation between antioxidant activity and total phenolic content was analyzed by using the Bivariate correlation analysis of SPSS 19.0 version. Antimicrobial activities were performed by disk diffusion. 【Results】Peel had a higher phenolic content than seed and leaf, whereas the pulp's was the lowest. Peel, seed and leaf had more intense *in vitro*

收稿日期: 2015-11-20

作者简介: 黄思思(1989-), 女, 硕士, 主要从事植物资源与利用研究。

\* 广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 14010)资助。

\*\* 通讯作者: 潘争红(1979-), 男, 博士, 研究员, 主要从事天然药物利用及农产品深加工研究, E-mail: pan7260@126.com。

antioxidant potential than the pulp. The positive correlation between the antioxidant capacity and total phenolic content was significantly ( $P < 0.05$ ), which correlation coefficient was up to 0.983. In other words, the antioxidant capacity was enhanced along with the increase of total phenolic content. The peel and the seed displayed moderate antimicrobial effects against *Staphylococcus aureus*, but had no inhibitory effects against *Candida albicans*. **【Conclusion】** The avocado shows great intense in antioxidant potential and moderate antimicrobial effects, which provide a scientific basis to the research about comprehensive development and utilization of the avocado.

**Key words:** avocado (*Persea americana* Mill.), total phenols, antioxidant activity, antimicrobial activity

## 0 引言

**【研究意义】**油梨(*Persea americana* Mill.),又称牛油果、鳄梨、樟梨、酪梨,属樟科(Lauraceae)鳄梨属(*Persea*),常绿乔木,其果实富含不饱和脂肪酸、蛋白质、矿物质和多种维生素<sup>[1]</sup>,具有极高的营养、药用和经济价值<sup>[2]</sup>。**【前人研究进展】**国外许多学者也一直关注油梨中功能成分的开发与利用,发现油梨的果皮、果肉和果核中含有丰富的多酚<sup>[3]</sup>,并从中获得一些具有抗病毒<sup>[4]</sup>、抗真菌<sup>[5]</sup>、细胞毒性<sup>[6]</sup>和保肝<sup>[7]</sup>等作用的活性成分。**【本研究切入点】**目前,我国油梨引种栽培已初具规模,但由于缺少技术支持,油梨生产加工产生大量的果皮、果核(较大,约占鲜果重的13%)和果渣无法被利用,致使我国油梨产业后续发展受到严重的制约。同时由于环境、气候等因素的影响,与国外产的油梨相比,国内油梨的内在成分也会存在差异,而且生物量较多的油梨叶子同样具有开发价值,但国内对此研究较少。**【拟解决的关键问题】**本研究以广西栽培的油梨为试验对象,探索油梨不同部位的总酚含量、抗氧化能力及抗菌活性,为我国油梨产业的综合开发提供科学依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料和试剂

油梨鲜果采自广西柳州市郊,油梨叶子采自桂林植物园;金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 由本实验室保存,白色念珠菌 *Candida albicans* 由北京北纳创联生物技术研究院提供(CMCC(F)98001)。

没食子酸(中国食品药品检定研究院),福林酚试剂(上海荔达生物科技有限公司), $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (国产分析纯),DPPH·试剂(Sigma公司),抗坏血酸(湖

南省南化化学品有限公司),营养琼脂(广东环凯微生物科技有限公司),葡萄糖(西陇化工股份有限公司),琼脂粉(北京陆桥),马铃薯(购于市场)。

BS110S赛多利斯电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),HH-S数显恒温水浴锅(郑州长城科工贸有限公司),RT-9100半自动生化分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司),超净工作台(BioBSE),立式压力蒸汽灭菌锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),MJ-系列霉菌培养箱(上海一恒科技有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 油梨不同部位提取物制备

油梨鲜果1.6 kg,分果皮、果肉、果核,与叶子一同放入50℃烘箱鼓风24 h,粉碎,叶子、果皮、果核用50%(V/V)甲醇超声提取3次,每次30 min,果肉先采用石油醚超声提取3次,萃取去油,剩余残渣再用50%(V/V)甲醇超声提取3次,合并上清液,旋干即得各部位提取物,叶子(14 g),果皮(20 g),果核(22 g),果肉(9.7 g)。

待测样品液配制:分别精密称取油梨4个部位提取物10 mg,50%(V/V)甲醇溶解完全并定容至10 mL容量瓶中,摇匀即得 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的待测样品母液。

#### 1.2.2 总酚含量的测定

参考关小丽等<sup>[8]</sup>的福林酚(Folin-Ciocalteu)法进行测定,精密称取10.5 g没食子酸对照品,配制成质量浓度 $0.105\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分别精确吸取 $0\ \mu\text{L}$ 、 $50\ \mu\text{L}$ 、 $100\ \mu\text{L}$ 、 $150\ \mu\text{L}$ 、 $200\ \mu\text{L}$ 、 $250\ \mu\text{L}$ 、 $300\ \mu\text{L}$ 于试管中,加水至1 mL,加Folin试剂0.5 mL,充分混匀静置5 min后,加入质量分数为7.5%的 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液1.5 mL,加水至5 mL,混匀后在40℃水浴中避光放置1 h,冷却,在760 nm波长下测定其吸光度(A),以没食子酸浓度为横坐标(X),吸光值为纵坐

标(Y), 绘制标准曲线。

样品总酚含量测定: 分别精确吸取叶子、果皮、果核待测液 100  $\mu\text{L}$  和果肉待测液 1 000  $\mu\text{L}$  于试管中, 加水至 1 mL, 以下步骤从加入 Folin 试剂起按上述标准曲线方法操作, 分别测定各样品的吸光值(A)。

### 1.2.3 抗氧化能力测定

采用 DPPH· 自由基清除法<sup>[9]</sup>。DPPH· 溶液配制: 精密称取 DPPH· 19.716 mg, 无水乙醇溶解并定容至 500 mL 容量瓶中, 摇匀即得 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> 的储备液。

抗坏血酸(Vc)标准品溶液配制: 精密称取 Vc 标准品 5 mg 于 25 mL 的容量瓶中, 配制成 0.2 g·L<sup>-1</sup> 溶液。

分别精确吸取上述样品溶液和 Vc 标准品溶液于试管中(果皮和果核溶液分别吸取 5  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{L}$ 、15  $\mu\text{L}$ 、20  $\mu\text{L}$ 、25  $\mu\text{L}$ 、30  $\mu\text{L}$ 、35  $\mu\text{L}$ ; 叶子和 Vc 溶液分别吸取 10  $\mu\text{L}$ 、20  $\mu\text{L}$ 、30  $\mu\text{L}$ 、40  $\mu\text{L}$ 、50  $\mu\text{L}$ 、60  $\mu\text{L}$ 、70  $\mu\text{L}$ ; 果肉溶液分别吸取 30  $\mu\text{L}$ 、80  $\mu\text{L}$ 、130  $\mu\text{L}$ 、180  $\mu\text{L}$ 、230  $\mu\text{L}$ ;) , 加纯水至 2 mL 配制成一系列梯度的样品溶液, 再分别加入 DPPH· 储备液 2 mL, 混匀后, 在室温下避光反应 20 min, 在 517 nm 下测定其吸光值。样品对 DPPH· 自由基清除率(%) =  $[A_0 - (A_s - A_c)] / A_0 \times 100\%$ , 以样品各浓度为横坐标, 相应的清除率为纵坐标, 作回归曲线, 并计算出半数清除浓度(IC<sub>50</sub>值)。

公式中 A<sub>0</sub>: 2 mL 50%(V/V) 甲醇+2 mL DPPH· 溶液的吸光度值; A<sub>s</sub>: 2 mL 样品溶液+2 mL DPPH· 溶液的吸光度值; A<sub>c</sub>: 2 mL 样品溶液+2 mL 50%(V/V) 甲醇的吸光度值。

### 1.2.4 纸片法<sup>[10]</sup>测定油梨不同部位的抗菌活性

参照沈萍等<sup>[11]</sup>的配方, 金黄色葡萄球菌采用营养琼脂培养基, 白色念珠菌采用自制马铃薯培养基(PDA), 进行斜面活化, 活化后的菌种用无菌生理盐水配成 0.5 号麦氏比浊度(约  $1 \times 10^8$  CFU·mL<sup>-1</sup>) 的菌悬液, 并分别取 0.1 mL 待试菌液均匀涂于平板上, 每一平板中放置 4 片直径为 6 mm 的带有油梨不同部位提取液(浓度 1 g·mL<sup>-1</sup>) 的无菌纸片, 于 37℃ 条件下培养 24 h, 十字交叉法测抑菌圈直径。

### 1.2.5 统计学相关分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。统计学处理采用 SPSS 19.0 软件中 ANOVA 单因素方差分析、LSD 法作均数间多重两两比较和双变量相关分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 油梨不同部位的总酚含量

没食子酸标准曲线: 在本实验条件下, 没食子酸浓度与吸光值呈良好线性关系, 其回归方程为  $y = 0.1182x + 0.0039$ ,  $R^2 = 0.9996$ 。

由表 1 可知, 油梨 4 个部位的总酚含量为果皮>果核>叶子>果肉, 4 个部位的总酚含量存在极显著差异( $P < 0.01$ )。

表 1 油梨 4 个部位的总酚含量

部位 Part	总酚含量 Total phenolic content(%)
果皮 Peel	29.95±0.06**
果肉 Pulp	1.11±0.03**
果核 Seed	16.44±0.03**
叶子 Leaf	15.08±0.03**

注: \*\* 表示各部位两两相比,  $P < 0.01$ , 差异极显著

Note: compared with different part, \*\* represents  $P < 0.01$ , the difference is extremely significant

### 2.2 油梨不同部位的抗氧化能力

由表 2 可知, DPPH· 自由基的半数清除浓度(IC<sub>50</sub>值)越低, 表明抗氧化能力越强。以抗坏血酸(Vc)作为阳性对照, 油梨 4 个部位的抗氧化能力强弱顺序为 Vc>果皮>果核>叶子>果肉。4 个部位的抗氧化能力存在极显著差异( $P < 0.01$ )。

表 2 油梨 4 个部位抗氧化能力的 IC<sub>50</sub> 值

Table 2 The IC<sub>50</sub> value of antioxidant effect of four parts from avocado

部位 Part	回归方程 Regression equation	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
果皮 Peel	$y = 4.4516x + 2.3957$ $R^2 = 0.9983$	10.69±0.06**
果肉 Pulp	$y = 0.1243x + 3.9177$ $R^2 = 0.9938$	370.73±0.26**
果核 Seed	$y = 3.1411x + 0.5471$ $R^2 = 0.9991$	15.75±0.21**
叶子 Leaf	$y = 1.9721x + 2.4971$ $R^2 = 0.9982$	24.08±0.19**
Vc	$y = 12.2950x - 1.2429$ $R^2 = 0.9906$	4.17±0.13**

注: \*\* 表示各部位两两相比,  $P < 0.01$ , 差异极显著

Note: compared with different part, \*\* represents  $P < 0.01$ , the difference is extremely significant

### 2.3 抗氧化能力与总酚含量的相关性

综合表 1 和表 2 的结果分析, 发现油梨 4 个部位的抗氧化能力强弱与各自含有的总酚含量的多少一一对应, 总酚含量越高, 其抗氧化能力越强。采用 SPSS 19.0 的双变量相关分析法对 4 个部位

DPPH·自由基清除率(各样品浓度相同的条件下)与总酚含量进行相关分析,各部位样品浓度相同时的 DPPH·自由基清除率与其中总酚含量间的相关系数  $r=0.983$ ,且显著性检验的  $P<0.05$ ,表明两者存在显著的正相关关系,即抗氧化能力随总酚含量的增加而增强。

## 2.4 油梨不同部位的抗菌活性

从表3可看出,在提取液  $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的浓度下,果皮和果核部位对受试的细菌有较强的抑菌活性,而对受试的真菌无抑菌活性;果肉和叶子部位均未表现出对受试细菌和真菌的抑菌活性。

表3 油梨不同部位的抑菌效果

菌株 Strains	抑菌圈直径 Inhibition zone diameters(mm)			
	果皮 Peel	果肉 Pulp	果核 Seed	叶子 Leaf
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	6.3	—	4.6	—
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	—	—	—	—

注:—表示无抑菌作用

Note:—indicates no inhibitory effect

## 3 讨论

本研究选择对广西产油梨4个部位50%(V/V)甲醇提取物的总酚含量测定发现,油梨含有丰富的多酚,不同部位的多酚含量差别较大,果皮的含量最高,约占粗提物总质量的30%,其次是果核和叶子的,果肉的最低。对4个部位的抗氧化能力进行测定,发现总体来看油梨具有较强的抗氧化能力,强弱为果皮>果核>叶子>果肉,果皮与Vc的 $IC_{50}$ 值相接近。Rodríguez-Carpena等<sup>[2]</sup>对其他品种油梨的酚类物质组分研究表明,油梨果皮和果核是绿原酸和新绿原酸聚集的优势部位,果肉中则富含对香豆酸衍生物。而从结构上看,绿原酸和新绿原酸较对香豆酸具有更多的酚性羟基,抗氧化能力应较强。关炳峰等<sup>[12]</sup>的研究结果也表明,金银花提取物的抗氧化活性与绿原酸含量密切相关,具有较强的还原力,其清除羟基自由基能力比Vc好。另外,本研究还对油梨叶子的抗氧化能力进行比较研究,发现叶子的抗氧化能力比果肉的强,说明对油梨的深开发利用应主要从果皮、果核和叶子入手。油梨4个部位的抗氧化能力强弱与多酚含量多少一一对应,存在正相关的关系,这与文献<sup>[13]</sup>蔬菜和水果中含有的酚类物质与其抗氧化能力存在较高正相关的

结果一致。

本研究分别选用较常见的金黄色葡萄球菌、白色念珠菌作为细菌、真菌的代表来筛选油梨的抗菌活性,发现果皮和果核部位对受试的细菌有较强的抑菌活性。本研究发现果皮和果核是多酚含量较高的部位,根据植物多酚对微生物(细菌、真菌和病毒等)具有广谱抗性<sup>[14]</sup>的理论,这两个部位的抗菌活性可能跟其多酚含量较高相关联。严守雷<sup>[14]</sup>对莲藕多酚提取分离鉴定及生物活性研究的结果也发现,莲藕多酚组分I、组分II对金黄色葡萄球菌有良好的抑菌效果。然而,油梨果皮和果核部位中的抑菌物质是否真的是多酚类成分,以及其中的抑菌成分抑制微生物的机理尚未确定,有待进一步研究。

## 4 结论

本研究结果表明,油梨叶子及其在食品和工业利用后产生的废弃物(主要为果皮和果核)含有丰富的多酚成分,具有明显的抗氧化活性和一定的抗菌活性。但多酚类化合物结构复杂、类型多样,有待继续跟踪鉴定并分离出发挥抗氧化及抗菌活性作用的单体组分,将其开发应用于食品、制药和化妆品行业,为油梨的综合利用提供重要的指导意义。

### 参考文献:

- [1] 汤秀华,王文林,谭德锦.油梨的营养功效与经济价值[J].中国热带农业,2014,4:014.  
TANG X H, WANG W L, TAN D J. Nutritive effect and economic value of avocado[J]. China Tropical Agriculture, 2014, 4:014.
- [2] RODRÍGUEZ-CARPENA J G, MORCUENDE D, ANDRADE M J, et al. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(10):5625-5635.
- [3] KOSIŃSKA A, KARAMA Ć M, ESTRELLA I, et al. Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. peels and seeds of two varieties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60:4613-4619.
- [4] MIRANDA M M F S, ALMEIDA A P, COSTA S S, et al. *In vitro* activity of extracts of *Persea americana* leaves on acyclovir-resistant and phosphonoacetic resistant herpes simplex virus [J]. Phytomedicine, 1997, 4(4):347-352.
- [5] DOMERGUE F, HELMS G L, PRUSKY D, et al. An-

- tifungal compounds from idioblast cells isolated from avocado fruits [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54(2): 183-189.
- [6] OBERLIES N H, ROGERS L L, MARTIN J M, et al. Cytotoxic and insecticidal constituents of the unripe fruit of *Persea americana* [J]. *Journal of Nature Products*, 1998, 61(6): 781-785.
- [7] KAWAGISHI H, FUKUMOTO Y, HATAKEYAMA M, et al. Liver injury suppressing compounds from avocado (*Persea americana*) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(5): 2215-2221.
- [8] 关小丽, 杨子明, 颜小捷, 等. 8 种壳斗科植物多酚含量及抗氧化能力[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(2): 65-69.
- GUAN X L, YANG Z M, YAN X J, et al. Content and antioxidant activity of polyphenols from 8 Fagaceae plants[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2015, 21(2): 65-69.
- [9] 陈玉霞, 刘建华, 林峰, 等. DPPH 和 FRAP 法测定 41 种中草药抗氧化活性[J]. *实验室研究与探索*, 2011, 30(6): 11-14.
- CHEN Y X, LIU J H, LIN F, et al. Determination of antioxidative activity of 41 kinds of Chinese herbal medicines by using DPPH and FRAP methods[J]. *Research and Exploration in Laboratory*, 2011, 30(6): 11-14.
- [10] 周丽明. 芒果多酚的提取, 分离纯化及抗氧化, 抑菌作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- ZHOU L M. Study on Extraction, Separation, Purification, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Mango Polyphenols[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007.
- [11] 沈萍, 范秀容, 李广武, 等. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1989.
- SHEN P, FAN X R, LI G W, et al. *Microbiology Experiment*[M]. Beijing: Higher Education Press, 1989.
- [12] 关炳峰, 谭军, 周志娣. 金银花提取物的抗氧化作用与其绿原酸含量的相关性研究[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(10): 127-129.
- GUAN B F, TAN J, ZHOU Z D. Correlation of antioxidant effect and chlorogenic acid content of honeysuckle extraction[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007, 28(10): 127-129.
- [13] GIL M I, TOMÁS-BARBERÁN F A, HESS-PIERCE B, et al. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(10): 4581-4589.
- [14] 严守雷. 莲藕多酚提取分离鉴定及生物活性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003.
- YAN S L. Studies on the Extraction, Separation, Identification and Biological Activity of Polyphenol from Lotus Root[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2003.

(责任编辑: 竺利波)