

不同品种蓝莓提取物抗氧化作用的研究

孙波¹, Alaa EL-din A Bekhit², 王坤波³

(1. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 740021;

2. 新西兰林肯大学动物与食品系, 新西兰 基督城 84 3. 湖南农业大学, 湖南 长沙 410128)

摘要: 本实验以蓝莓甲醇提取物为研究对象, 在测定其提取物中总酚酸含量的基础上, 利用体外法研究了蓝莓提取物的对 DPPH 自由基的抑制作用以及对超氧阴离子自由基的清除作用。结果表明, 四个品种的蓝莓甲醇提取物均有显著的抗氧化性, 呈剂量效应关系, 酚酸含量、抗氧化能力之间呈正相关。

关键词: 蓝莓; 多酚; 抗氧化

Antioxidant Activities of Methonal Extracts of Different Blueberries

SUN Bo¹, Alaa EL-din A Bekhit², WANG Kun-bo³

(1. College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 740021, China;

2. Division of Food and Animal Science, Lincoln University, Christchurch PO Box 84, New Zealand;

3. Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Blueberry fruits from four commercial cultivars grown under same conditions at the same location were analyzed for total phenolics (TP) DPPH radical scavenging activity and superoxide radical scavenging ability (SRSA). The results demonstrated that all tested blueberries extracts showed very good antioxidant activity with dose-effect dependent, and the positive correlation among the content of total phenolics and antioxidant activity were also observed.

Key words: blueberry; polyphenol; antioxidation

中图分类号 S517

文献标识码 A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0061-03

蓝莓是杜鹃科越橘属野生落叶灌木, 浆果成熟之后为蓝紫色, 球形或椭圆形, 果皮有白霜。原产于欧美, 果实具有较高的营养价值。除了含有丰富的 VA 和 VC, 还具有多种生物活性, 如抗氧化性、抗生素作用及潜

在的抗癌作用和保护心血管作用^[1]。由于蓝莓汁所含多酚类物质有促进视网膜“杆细胞”生成, 增加眼球血流量, 改善眼部肌肉疲劳以及提高“视紫质”等重要眼生理物质生成量等多种护目作用, 因此作为高经济效

收稿日期: 2007-01-31

作者简介: 孙波(1974 -), 女, 讲师, 硕士, 主要从事植物成分的分离与提取研究。

水解大豆蛋白, 从而随机的产生大量的小片段多肽, 导致其水解度最大; 胃蛋白酶对蛋白的水解作用专一性较差, 除粘液蛋白外, 只能促进各种水溶性蛋白质水解成为多肽, 主要水解苯丙氨酸、酪氨酸和亮氨酸组成的肽键, 所以其水解能力相对较弱; 其它蛋白酶如胰蛋白酶只作用于由精氨酸残基和赖氨酸残基构成的肽键, 底物位点的专一性较高, 水解能力低下。因此, 作为食源性降压肽的制备探讨还需要从食物蛋白、蛋白酶、酶解物的分子组成及氨基酸结构、蛋白肽的相关受体亲和性等相关方面进行深入研究。

参考文献:

- [1] 周娟娟, 王海滨, 柯雪梅, 等. 碱性蛋白酶水解鸭血工艺条件的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2007(3): 42-44.
- [2] 川岸舜朗. 食品中の生体機能調節物質研究法[M]. 东京: 学会出版セターン, 1996: 116-129.
- [3] 李建武, 萧能康, 余瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 2000: 174-176.
- [4] CHIANG Wen-Dee, TSOU May-June, CHU Yan-hua. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from soy protein hydrolysate and produced by using membrane reactor[J]. Food Chemistry, 2006, 98: 725-732.
- [5] 檀志芬, 生庆海, 邱泉若, 等. 蛋白质水解度的测定方法[J]. 食品工业科技, 2005, 26(7): 174-175.
- [6] 毋瑾超, 汪依凡, 方长富, 等. 鲢鱼酶解降血压肽的降压活性与分子量之关系研究[J]. 中国医学理论与实践, 2005, 15(8): 1161-1163.

益作物, 近些年我国也开始引种, 但目前国内关于蓝莓品种之间抗氧化能力的比较研究还未见报道。为此, 本研究采用两种体外法抗氧化性实验, 对种植于新西兰的Atlanta、Jersey、Burlington和Stanley四个品种的蓝莓的抗氧化性进行初步研究, 为我国引种高抗氧化活性品种的蓝莓提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

Atlanta、Burlington、Jersey和Stanley四个蓝莓品种均由新西兰基督城当地果园提供。

1.2 试剂

1, 1- 苯基-2- 苦肼基自由基(DPPH)、硝基四唑氮蓝(NBT)、还原性辅酶 I (β -NADH)、吩嗪硫酸甲脂(PMS)、没食子酸(gallic acid)和槲皮素(querccetin) Sigma公司; Folin酚试剂 Merk公司。

1.3 仪器

2100 紫外-可见分光光度计 美国Unico公司; 组织匀浆仪; RE-52A 旋转蒸发器。

1.4 方法

1.4.1 蓝莓提取物的制备方法

精密称定蓝莓冷冻品 2 g, 用组织匀浆机匀浆后, 取 0.6 g 匀浆液用 2 ml 含 1% HCl 的 80% 甲醇溶液避光振摇 2 h 后, 在 4℃ 下离心 (4000 × g) 20 min。收集上清液, 残渣再用含 2 ml 1% HCl 的 80% 甲醇液依上法提取, 合并上清液用于酚酸含量的测定。

精密称定蓝莓冷冻品 2 g, 加入 15 ml 1% HCl 50% 甲醇液用组织匀浆机匀浆后, 洗至 40 ml 溶液后避光振摇 2 h 后, 在 4℃ 下离心 (4000 × g) 20 min。收集上清液, 定容于 50 ml 容量瓶中, 用于蓝莓提取物对 DPPH 自由基的清除实验及超氧阴离子自由基的清除实验。

1.4.2 蓝莓提取物酚酸含量的测定方法

酚酸含量的测定采用 Folin-Ciocalteu 法, 用没食子酸作标准物。准确移取一定浓度的各待测样品提取液 500 μl, 分别加入 Folin 酚试剂 2.5 ml, 7.5% Na_2CO_3 溶液 2 ml, 然后用水定容至 10 ml, 混合均匀, 在 45℃ 水浴中反应 15 min。取出样品混合 10 s 后, 4000 × g 离心 20 min, 于 765 nm 波长下测定吸光度。蓝莓提取物中的酚酸含量表示为每 100 g 鲜重相当于没食子酸的毫克数。

1.4.3 蓝莓提取物对 DPPH 自由基的清除实验

参考 Yamaguchi^[2] 的方法并进行改进, 用微量进样器移取一定浓度待测样品, 加 DPPH 溶液 (6×10^{-5} mol/L) 3 ml, 用水定容至 3.5 ml, 混合均匀, 常温避光反应 30 min 后于 515 nm 波长下测定吸光度。蓝莓提取物对 DPPH 自由基的清除效果通常用对 DPPH 被清除一半时所需样品

提取物的量表示。

$$\text{抑制率}(\%) = (1 - \frac{A_s - A_b}{A}) \times 100$$

式中, A_b 为未加样 DPPH 溶液的空白吸光度; A_s 为加样后 DPPH 溶液的吸光度; A_c 为样品溶液自身的吸光度。公式中引入 A_c 是为了消除样品溶液本身颜色对实验结果的影响。

1.4.3 蓝莓提取物对超氧阴离子自由基的清除实验

样品取 DPPH 法制得样品 100 μl、150 μmol/L NBT, 60 μmol/L PMS, 468 μmol/L NADH, pH7.4 的 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液加至 1 ml 混合液, 室温培养 15 min, 避光, 检测波长 560 nm, 清除能力以超氧阴离子自由基清除能力和没食子酸当量 (每 100 g 鲜重相当于没食子酸的毫克数) 计算。

$$\text{SRSA}(\%) = (1 - \frac{\text{样品吸光度}}{\text{空白吸光度}}) \times 100$$

2 结果与分析

2.1 不同品种蓝莓提取物中的总酚含量

酚类化合物是广泛存在于水果、蔬菜和谷类食物中的植物次生代谢产物, 有多种生物活性, 尤其在预防心脑血管、癌症以及衰老方面发挥着十分重要的作用。本实验采用 Folin-Ciocalteu 法测定主产于新西兰基督城果园的四个品种蓝莓甲醇提取物中的总酚含量, 结果见表 1。

表 1 蓝莓甲醇提取物的总酚含量 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)
Table 1 Effects of blueberry extract on dry matter, moisture and total phenolics content ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

栽培品种	干物质质量 (%)	含水量 (%)	总酚含量 (相当于 mg 没食子酸/100g)
Atlanta	14.67 ± 0.02	85.33 ± 1.73	269.50 ± 23.60
Burlington	20.52 ± 0.03	79.48 ± 2.99	547.70 ± 66.70
Jersey	14.42 ± 0.01	85.58 ± 0.49	268.90 ± 16.62
Stanley	15.74 ± 0.01	84.26 ± 0.59	296.49 ± 15.44

从表 1 可知, 四种蓝莓甲醇提取物中总酚含量存在一定差异, 其中 Stanley 总酚含量较 Atlanta、Jersey 高, Burlington 总酚含量最高, 每 100 g 蓝莓相当于含有 547.70 ± 66.70 mg 没食子酸。其它三种总酚含量差异较小, 这可能与各品种含水量不同有关。

2.2 蓝莓甲醇提取物对 DPPH 自由基的清除作用

DPPH 自由基是一种十分稳定的自由基。它的稳定性主要来自共振稳定作用及三个苯环的空间障碍, 使其氮原子上的不成对电子不能发挥其应有的电子配对而使吸收逐渐消失, 其褪色程度与其接受的电子数呈定量

表2 蓝莓甲醇提取物的DPPH自由基清除能力
Table 2 Effects of blueberry extract on DPPH radical scavenging activity

栽培样品	EC ₅₀ (mg)
Atlanta	7.84
Burlington	3.17
Jersey	7.40
Stanley	5.73
Quercetin	0.036

关系。

从表2可以看出,当DPPH自由基被清除一半时槲皮素所需的量最小,仅为0.036mg,其次是Burlington为3.17mg,Stanley为5.73mg,Jersey为7.40mg,Atlanta最弱为7.84mg。对DPPH自由基的抑制能力由强到弱依次为Quercetin > Burlington > Stanley > Jersey > Atlanta。

2.3 蓝莓甲醇提取物对超氧阴离子自由基的清除能力

表3 蓝莓甲醇提取物对超氧阴离子自由基的清除能力
Table 3 Effects of blueberry extract on superoxide radical scavenging ability

栽培样品	GAE(相当于mg没食子酸/100g)
Atlanta	975.43
Burlington	1368.80
Jersey	1010.86
Stanley	988.12

从图1可以看出,蓝莓提取物对超氧阴离子自由基清除结果,Burlington略高于Atlanta,Jersey和Stanley,但并不显著。这一结果与Ehlenfeldt^[3]、Howard^[4]等人的研究结果相一致,酚酸的含量受品种的影响较大,Burlington的抗氧化能力高于其他三个品种。同时,结果显示总酚酸与超氧阴离子自由基清除结果有很强的相关性($r=0.82$)。

3 结论

不同品种蓝莓甲醇提取物中总酚含量存在差异,

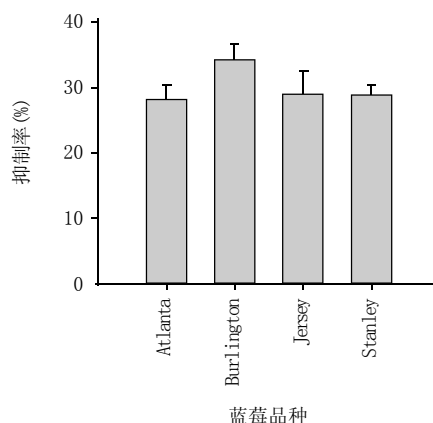
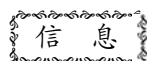


图1 蓝莓提取物超氧阴离子自由基的清除结果
Fig.1 Effects of blueberry extract on superoxide radical scavenging ability

Burlington甲醇提取物中的总酚含量高于其它三个品种。蓝莓甲醇提取物的抗氧化能力与其中酚类物质的含量有相关性,即提取物中总酚含量越高的品种,对DPPH自由基和超氧阴离子自由基的清除能力也越大。酚酸含量高的Burlington品种对DPPH自由基和超氧阴离子自由基的清除能力均大于其它三个品种。上述研究对引种蓝莓时筛选高抗氧化活性的蓝莓品种具有一定意义。

参考文献:

- [1] National Nutrient Database for Standard Reference: Release 17 [EB/OL]. <http://www.blueberry.org>, 2004.
- [2] YAMAGUCHI T, TAKAMURA H, MATOBA T, et al. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl[J]. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 1998, 62: 1201-1204.
- [3] EHLENFELDT M K, DRIOR R L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry[J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 2222-2227.
- [4] HOWARD L R, CLARK J R, BROWNMILLER C. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2003, 83: 1238-1247.



巴西培育出抗亚洲锈病真菌大豆品种

巴西农业科研人员经过多年努力,最近培育出一种可以抵抗亚洲锈病真菌的大豆品种。

据巴西农牧业研究院网站9月25日发布的消息,该院科研人员在现有大豆品种中筛选出11个具有部分抗亚洲锈病真菌能力的品种,然后通过杂交,培育出可完全抗亚洲锈病真菌的新品种。新品种预计于2008年1月上市。

亚洲锈病真菌破坏力极强,主要通过风力传播,农作物一旦受害将减产90%以上。自从巴西2000年首次发现亚洲锈病病例以来,巴西全国15个种植大豆的州中已有14个暴发过亚洲锈病疫情,至今已给巴西大豆产业造成70亿美元以上的损失。

亚洲锈病真菌传播速度快、范围广,使用农药成本高而且效果不佳,因此,培育具有抗病基因的大豆是一种较好的解决办法。