

红枣果汁果渣与果酒果渣中 色素抗氧化活性的比较

邢珂慧,黄凤玲,邵佩兰*,鲁倩茹
(宁夏大学农学院,宁夏银川 750021)

摘要:为比较红枣果汁果渣与果酒果渣中色素抗氧化活性的差异,以红枣果汁及果酒果渣为原料,碱法提取红枣色素,运用比色法测定红枣果汁果渣、果酒果渣色素中抗氧化活性成分含量,测定 DPPH·、ABTS⁺·、·OH、O₂⁻·清除能力和还原力,比较红枣果汁果渣与果酒果渣色素的抗氧化活性,采用 SPSS 软件分析抗氧化活性成分含量与抗氧化活性之间的相关性。结果表明:红枣果汁果渣与果酒果渣色素抗氧化活性成分含量间存在显著差异($P < 0.05$),且随着发酵时间延长,色素抗氧化活性成分含量逐渐降低;红枣果汁果渣与果酒果渣色素清除 DPPH·、ABTS⁺·、·OH、O₂⁻·能力和还原力差异显著($P < 0.05$),随着发酵时间延长,色素抗氧化活性逐渐降低;相关性研究显示,果汁果渣色素抗氧化活性成分含量与抗氧化活性相关性较强,果酒果渣色素总黄酮含量与抗氧化活性相关性相对较弱,表明红枣果汁果渣色素抗氧化活性显著高于果酒果渣($P < 0.05$)。

关键词:红枣,果汁果渣,果酒果渣,色素,抗氧化活性

The Comparative Study of Antioxidant Activity of Pigment from Jujube Juice Pomace and Wine Pomace

XING Ke-hui, HUANG Feng-ling, SHAO Pei-lan*, LU Qian-ru

(College of Agriculture Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: To explore the difference of antioxidant activity of pigment from jujube juice pomace and wine pomace, the pomace of jujube juice and wine were used as raw materials and alkaline method was used to extract jujube pigments. The contents of active components in the pigment from jujube juice pomace and wine pomace were determined by colorimetric method, the scavenging ability of DPPH·, ABTS⁺·, ·OH, O₂⁻· and reducing power of pigment were detected, the antioxidant activities of pigment were compared, and the correlative relationships between the contents of active components and antioxidant activity of pigment were analyzed by SPSS statistical analysis software. The results showed that there were significant differences in the antioxidation active components contents of pigment between jujube juice pomace and wine pomace ($P < 0.05$), with the extension of fermentation time, the contents of antioxidant active components of pigment decreased gradually. The pigments extracted from jujube juice pomace and wine pomace had better antioxidant activity, and had a significant difference on scavenging ability of DPPH·, ABTS⁺·, ·OH, O₂⁻· and reducing power ($P < 0.05$), with the extension of fermentation time, the antioxidant activity of pigment decreased gradually. The results of correlation study showed that antioxidation active components contents were highly correlated with antioxidant activity of pigment from jujube juice pomace, while the content of total flavones of pigment from wine pomace was weak correlated with antioxidant activity. It was indicated that the antioxidant activity of pigment from jujube juice pomace was significantly higher than that in wine pomace ($P < 0.05$).

Key words: jujube; juice pomace; wine pomace; pigment; antioxidant activity

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)05-0274-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.05.045

引文格式: 邢珂慧, 黄凤玲, 邵佩兰, 等. 红枣果汁果渣与果酒果渣中色素抗氧化活性的比较[J]. 食品工业科技, 2020, 41(5): 274-280.

红枣富含多糖、酚类、环磷酸腺苷等生物活性成分, 因其营养丰富, 除鲜食外, 现已被开发为枣汁、枣

酒等多种产品, 但加工产生的残渣大多被废弃处理, 易造成资源浪费和环境污染。枣渣中含有大量色

收稿日期: 2019-05-08

作者简介: 邢珂慧(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品化学与营养, E-mail: xkh11243524@163.com。

* 通讯作者: 邵佩兰(1963-), 女, 本科, 教授, 研究方向: 食品化学与营养、天然产物提取及应用, E-mail: nxshpl@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金(31260375)。

鲜艳的水溶性红色素,安全无毒^[1],且有一定止泻、抗菌、抗癌、抗病毒等功能^[2],是一种理想的天然色素资源。大量研究表明红枣色素具有较好的体外抗氧化活性,且多酚和黄酮可能是其发挥抗氧化作用的物质基础^[3-4],对 H_2O_2 诱导血管内皮细胞氧化应激损伤^[5]、常压缺氧、拘束应激性肝损伤^[6]、 $KBrO_3$ 诱导氧化应激性肾损伤小鼠均有保护作用^[7],属无毒级物质^[8],因此,研究开发红枣色素是大势所趋。但天然色素极其不稳定,易受温度、光照、pH、金属离子等影响^[9]。因从枣汁、枣酒废弃枣渣中提取的红色素加工处理方式不同,可能会导致抗氧化活性物质及抗氧化活性发生变化。枣汁果渣含有大量环核苷酸、黄酮类、五环三萜类化合物和多酚类等生理活性物质^[10],资料表明,枣渣中红枣色素发挥抗氧化作用的主要物质是多酚和黄酮^[4],在发酵过程中多酚和黄酮等活性物质会浸入酒中,且发酵使活性物质发生聚合、缩合、水解及氧化等化学反应,而导致活性物质含量发生变化^[11]。曹延俊^[12]研究表明,发酵导致石榴中鞣花单宁、花青素等抗氧化活性物质含量下降是由于酵母细胞释放自由基氧化所致。易桥宾等^[13]研究显示发酵使可可豆中多酚类物质含量明显降低,抗氧化能力减弱。王大为等^[14]比较了欧李果汁果渣与果酒果渣的基本成分,发现果酒果渣中多酚、原花青素和白藜芦醇等活性物质含量低于果汁果渣。

目前对于红枣果汁果渣色素的抗氧化活性已进行了较系统的研究,但对红枣果酒果渣色素的抗氧化活性,以及果汁果渣与果酒果渣色素抗氧化活性的比较研究未见报道,本实验以红枣果汁果渣、果酒果渣为原料,探究其色素抗氧化活性成分含量及抗氧化活性的差异,以期开发天然抗氧化剂、提高红枣附加值、扩大枣渣利用途径提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红枣果汁果渣 宁夏灵武长枣榨汁后的副产物;红枣果酒果渣 宁夏灵武长枣发酵枣酒的副产物;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、芦丁标准品、没食子酸标准品、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS) 美国 Sigma 公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris)、邻苯三酚、水杨酸、硫酸亚铁、过氧化氢、过硫酸钾、铁氰化钾、三氯醋酸 均为国产分析纯。

UV-2250 型紫外可见分光光度仪 日本岛津公司;RE-52-05 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;DZF-6053 真空干燥箱 上海恒科学仪器有限公司;5417R 台式离心机 德国 Eppendorf 公司;SHA-C 水浴恒温振荡器 江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;101-3 型电热鼓风恒温干燥箱 上海车星建材实验设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 红枣色素的提取 红枣果汁果渣经发酵 8 d 后,残糖量不再发生变化,且无气泡产生,无明显发酵迹象,说明发酵结束,即得果酒果渣。将红枣果汁果渣、果酒果渣分别用清水清洗 3 次,烘干、粉碎,过 40 目筛。分别取一定量红枣果汁果渣粉和发酵 2、

4、6、8 d 的果酒果渣粉,以料液比 1:20 (g/mL)加入 0.4 mol/L NaOH 液于 75 °C 提取 2 h,过滤、3000 r/min 离心 5 min、浓缩、真空冷冻干燥制得色素^[15]。

1.2.2 总多酚含量的测定 采用 Aspe^[16] Folin-Ciocalteu 法,没食子酸为标准品,绘得标准曲线为 $y = 0.0012x + 0.0007$, $R^2 = 0.9996$ 。分别取 2 μ g/mL 红枣果汁果渣色素和发酵不同天数(同 1.2.1)的果酒果渣色素溶液 0.5 mL,分别加 5.0 mL 水,混匀,加 1.5 mL 福林酚试剂,混匀,室温放置 6 min,加 3.0 mL 10% 碳酸钠溶液,用水稀释至 25 mL,30 °C 水浴加热 30 min 后,取出,摇匀,试剂空白为参比,在 765 nm 处测定吸光度,结合标准曲线计算样品中的多酚含量。

$$\text{多酚含量}(\text{mg}/100\text{ g}) = \frac{c_1 \times \text{稀释倍数} \times V}{1000 W} \quad \text{式(1)}$$

式中: c_1 为样品多酚浓度(mg/mL); V 为样品液体积(mL); W 为样品质量(g)。

1.2.3 总黄酮含量的测定 采用 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ 显色法^[17],芦丁为标准品,绘得标准曲线为 $y = 0.0123x + 0.0018$, $R^2 = 0.9993$ 。分别取 2 mg/mL 红枣果汁果渣色素和发酵不同天数果渣色素液各 300 μ L 和 5% NaNO_2 溶液 90 μ L,加至装有 1.5 mL 去离子水的离心管中,振荡混匀,静置 6 min,加 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液 180 μ L,振荡混匀,待反应 5 min 后再加入 1 mol/L NaOH 溶液 0.6 mL,加水稀释至 3.00 mL,测定 510 nm 处吸光度值,根据标准曲线计算样品中总黄酮含量。

$$\text{总黄酮含量}(\text{mg}/100\text{ g}) = \frac{c_2 \times \text{稀释倍数} \times V}{1000 W} \quad \text{式(2)}$$

式中: c_2 为样品总黄酮浓度(mg/mL); V 为样品液体积(mL); W 为样品质量(g)。

1.2.4 DPPH·清除率的测定 分别取 1.0 mg/mL 果汁果渣色素和发酵不同天数果渣色素液 4 mL,加 0.2 mmol/L DPPH 乙醇溶液 2 mL,摇匀,25 °C 水浴 20 min,在 517 nm 波长处测定吸光度,实验三次取平均值,计算清除率^[3]。

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_0}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中: A_i 为色素液与 DPPH 乙醇溶液混合后的吸光度; A_j 为色素液与体积分数 95% 乙醇溶液代替 DPPH 乙醇溶液混合后的吸光度; A_0 为蒸馏水代替样液做空白对照测定的吸光度。

1.2.5 ABTS⁺·清除率的测定 参照文献[18],配制 ABTS 工作液备用。分别取 1.5 mg/mL 果汁果渣和发酵不同天数果渣色素液 0.1 mL,加 3.9 mL ABTS 溶液,混匀,室温下反应 6 min,734 nm 处测定吸光度,实验三次取平均值,计算清除率。

$$\text{ABTS}^+ \cdot \text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中: A_i 为色素液与 ABTS 自由基工作液混合后的吸光度; A_0 为 0.1 mL 蒸馏水代替样液作空白对照测定的吸光度。

1.2.6 ·OH 清除率的测定 参照文献[19],分别取

1.0 mg/mL 发酵不同天数果酒果渣和果汁果渣色素液 1 mL, 加 6 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液 3 mL, 3 mmol/L FeSO₄ 溶液 3 mL 和 9 mmol/L H₂O₂ 溶液 3 mL, 摇匀后于 510 nm 处测定吸光度, 实验三次取平均值, 计算清除率。

$$\cdot\text{OH 清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(5)}$$

式中: A_i 为样液反应后测定的吸光度; A_j 为 3 mL 蒸馏水代替硫酸亚铁溶液测定的吸光度; A_0 为蒸馏水代替样液做空白对照测定的吸光度。

1.2.7 O₂⁻ 清除率的测定 参照文献[20], 取 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH8.2) 4 mL, 置于 25 °C 水浴预热 20 min, 分别取 1.0 mg/mL 发酵不同天数果酒果渣和果汁果渣色素液 1 mL 和 25 mmol/L 邻苯三酚溶液 1 mL, 混匀后于 25 °C 水浴反应 5 min, 加 100 μL 质量分数 8% HCl 终止反应, 在 325 nm 处测定吸光度, 实验三次取平均值, 计算清除率。

$$\text{O}_2^{\cdot-} \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(6)}$$

式中: A_i 为样液反应后测定的吸光度; A_j 为蒸馏水代替邻苯三酚溶液测定的吸光度; A_0 为蒸馏水代替样液做空白对照测定的吸光度。

1.2.8 还原能力测定 参考文献[18], 分别取 2.0 mg/mL 发酵不同天数果酒果渣和果汁果渣色素液 0.5 mL, 加入 0.2 mol/L 磷酸钠缓冲液 (pH6.6) 和 1% 铁氰化钾溶液各 2.5 mL, 混匀, 50 °C 水浴 20 min, 加 10% 三氯醋酸溶液 2.5 mL, 离心 (3000 r/min, 10 min), 取上清液 2.5 mL, 加蒸馏水 2.5 mL 和 0.1% FeCl₃ 溶液 1 mL, 混匀后静置 10 min, 在 700 nm 处测定吸光度, 实验三次取平均值, 由吸光度的大小来判断还原能力的强弱。

1.3 数据处理

所有实验进行 3 次重复测定, 测定结果以平均数 ± 标准差表示, 采用 SPSS 18.0 进行差异分析, 以 $P < 0.05$ 判断为差异显著, 相关性分析采用相关系数法, 并用 Microsoft Excel 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 红枣果汁果渣与果酒果渣色素的活性成分含量

红枣色素中抗氧化活性成分含量结果显示 (图 1), 果汁果渣色素中总多酚、总黄酮含量均较高, 分别为 (11.293 ± 0.739) 和 (3.059 ± 0.044) mg/100 g, 且果汁果渣色素中抗氧化活性成分含量显著高于 8 d 发酵结束的果酒果渣色素 ($P < 0.05$); 果酒果渣色素中活性成分含量随发酵时间延长而明显降低 (图 2), 其总多酚含量变化范围为 5.481 ~ 11.293 mg/100 g, 总黄酮含量变化范围为 0.742 ~ 3.059 mg/100 g。多酚是存在于植物体内的具有多个羟基的酚类成分, 黄酮类化合物是指 2 个具有酚羟基的苯环相互连接并具有多羟基、双键、芳香环等结构的一类化合物^[21]。杨艳艳等^[22]在枣醋发酵时发现, 与枣汁相比, 枣醋中多酚类、黄酮类物质含量明显下降。酵母菌在发酵中会产生如丙酮酸、乙醛等代谢产物, 与果渣中多酚类物质反应生成一些大分子物质^[23]。另外,

在果胶酶和微生物的作用下, 随发酵时间延长, 酒精含量逐渐升高, 果渣中活性成分被浸出^[24], 从而使果酒果渣中活性成分含量明显低于果汁果渣。

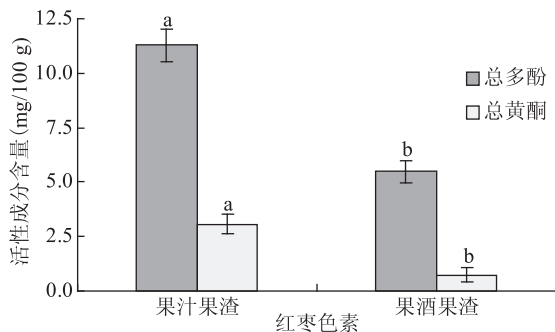


图1 红枣果渣色素的活性成分含量

Fig.1 The active components contents of pigment from jujube pomace

注: 不同小写字母表示在 $P < 0.05$

水平差异显著, 图 2~图 12 同。

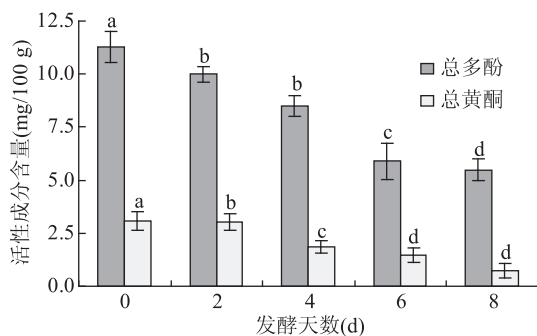


图2 发酵对红枣果渣色素活性成分含量的影响

Fig.2 The effect of the fermentation on the content of the active components of pigment from jujube pomace

注: 0 d 代表未经过发酵的果汁果渣色素, 8 d 代表发酵结束的果酒果渣色素; 图 4、图 6、图 8、图 10、图 12 同。

2.2 红枣果汁果渣与果酒果渣色素清除 DPPH·能力

DPPH·是一种稳定的以氮为中心的有机自由基, 能够被具有抗氧化能力的物质清除^[25]。红枣果汁果渣与果酒果渣色素均具有较好的清除 DPPH·能力 (图 3), 且果汁果渣色素清除 DPPH·能力显著强于果酒果渣色素 ($P < 0.05$); 但果渣发酵 6 d 后, 色素清除 DPPH·能力降低速率减缓 (图 4)。发酵过程中, 黄酮类物质因其酚羟基和羰基发生氧化、聚合而导致含量减少^[13]。研究发现^[3], 总多酚、总黄酮与红枣色素抗氧化活性有较强的相关性, 发酵使红枣果渣色素抗氧化活性降低可能是由于果渣中活性成分浸入到酒中, 使活性成分含量下降所致。

2.3 红枣果汁果渣与果酒果渣色素清除 ABTS⁺能力

ABTS 法是一种被广泛用于测定总抗氧化能力的方法^[26], 红枣果汁果渣与果酒果渣色素均具有一定的清除 ABTS⁺能力 (图 5), 且果汁果渣色素清除 ABTS⁺能力显著强于果酒果渣色素 ($P < 0.05$); 随发酵时间延长, 果渣色素清除 ABTS⁺能力逐渐降低

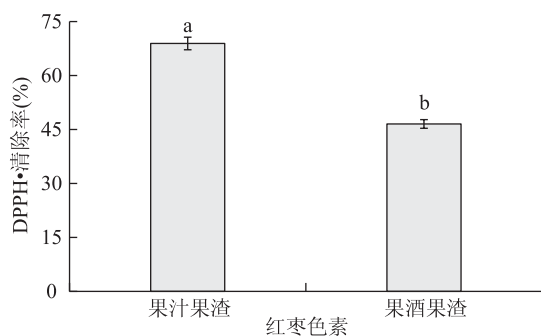


图3 红枣果渣色素清除 DPPH·的能力

Fig.3 The DPPH· scavenging ability of pigment from jujube pomace

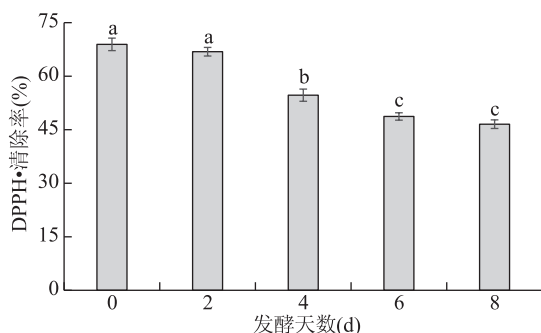


图4 发酵对红枣果渣色素清除 DPPH·能力的影响

Fig.4 The effect of the fermentation on the

DPPH· scavenging ability of pigment from jujube pomace

(图6),发酵4 d后,清除能力降速减缓,并趋于稳定。发酵后果渣色素清除 ABTS⁺·能力降低可能是因酵母菌活动与抗氧化活性成分生成大分子物质及酒精含量逐渐升高有关^[23]。

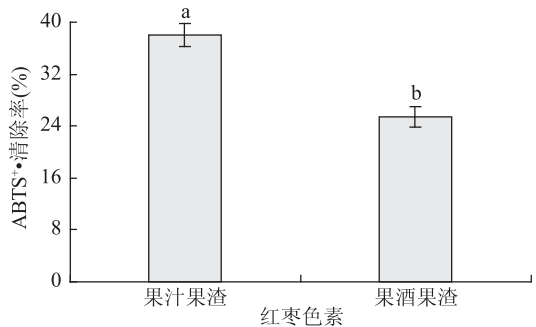


图5 红枣果渣色素清除 ABTS⁺·的能力

Fig.5 The ABTS⁺· scavenging ability of pigment from jujube pomace

2.4 红枣果汁果渣与果酒果渣色素清除·OH能力

羟自由基(·OH)是生物体内最活泼且最具进攻性的活性氧自由基^[27],因此·OH的检测对评价清除自由基活性物质的活性作用研究具有重要意义。红枣果汁果渣与果酒果渣色素清除·OH能力均较弱(图7),但果汁果渣色素的清除能力显著高于果酒果渣色素($P < 0.05$);发酵能明显降低果渣色素清除·OH能力(图8),发酵8 d的果渣色素清除·OH能力较未发酵的果汁果渣色素降低了10.32%。果渣经发酵处理后,色素清除·OH能力降低,可能是发酵促使枣渣中活性成分溶出,微生物破坏了枣渣中黄酮类

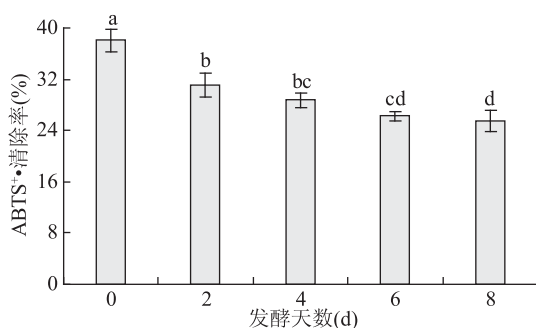


图6 发酵对红枣果渣色素清除 ABTS⁺·能力的影响

Fig.6 The effect of the fermentation on the

ABTS⁺· scavenging ability of pigment from jujube pomace

和多酚类物质所致。

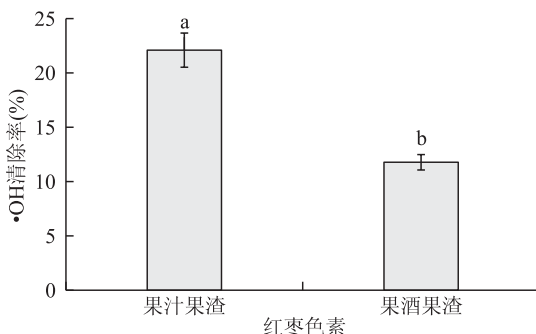


图7 红枣果渣色素清除·OH的能力

Fig.7 The ·OH scavenging ability of pigment from jujube pomace

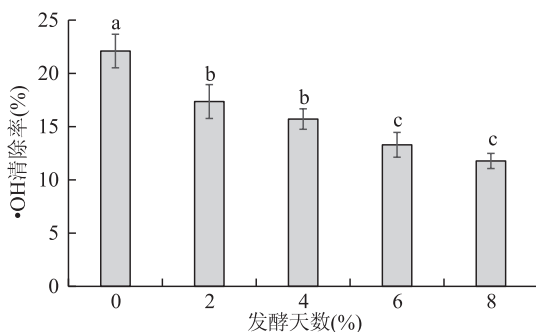


图8 发酵对红枣果渣色素清除·OH能力的影响

Fig.8 The effect of the fermentation on the

·OH scavenging ability of pigment from jujube pomace

2.5 红枣果汁果渣与果酒果渣色素清除 O₂⁻·能力

超氧阴离子自由基(O₂⁻·)的氧化性较弱,但易分解为氧化性更强的单线态氧自由基(¹O₂)或·OH,从而对大分子包括蛋白质、DNA 等进行破坏^[28]。红枣果汁果渣、果酒果渣色素均有较强的 O₂⁻·清除能力(图9),且果汁果渣色素清除能力显著高于果酒果渣色素($P < 0.05$)。随发酵时间延长,果渣色素清除能力显著下降($P < 0.05$,图10),可能是发酵使黄酮和多酚含量降低导致。多酚是多羟基酚类衍生物的混合物,多以结合酚形式存在^[29],黄酮类化合物具有共轭双键结构^[18],易发生聚合、缩合、水解及氧化反应等,表明发酵能降低红枣果渣色素清除 O₂⁻·能力。

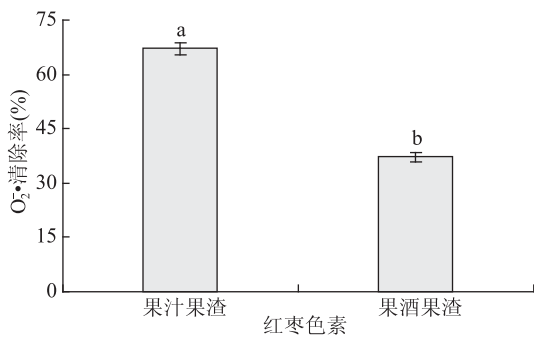


图9 红枣果渣色素清除 O₂⁻·的能力

Fig.9 The O₂⁻· scavenging ability of pigment from jujube pomace

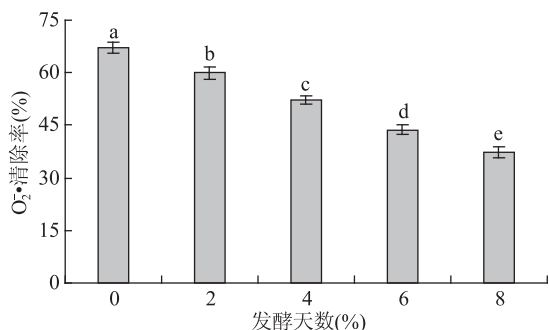


图10 发酵对红枣果渣色素清除 O₂⁻·能力的影响

Fig.10 The effect of the fermentation on the O₂⁻· scavenging ability of pigment from jujube pomace

2.6 红枣果汁果渣与果酒果渣色素的还原力

抗氧化剂通过自身的还原作用,给出电子而使自由基变为稳定的分子,其本身失去活性^[27],还原力与抗氧化活性呈明显的量效关系,供电子能力越强,吸光值越大,还原力越强,即抗氧化活性越强^[30]。红枣果汁果渣与果酒果渣色素的还原力结果显示(图11),果汁果渣色素的还原力显著高于果酒果渣($P < 0.05$)。发酵能降低红枣果渣色素的还原力(图12),但变化不甚明显。抗氧化活性成分通过提供电子而使自由基被还原,起到抗氧化作用^[31]。经过试验表明发酵会影响红枣果渣色素的还原力,但影响相对较小。

2.7 抗氧化活性成分含量与抗氧化活性的相关性分析

为明确红枣果汁果渣、果酒果渣色素抗氧化活

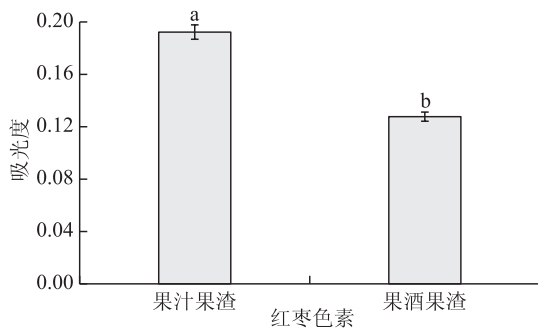


图11 红枣果渣色素的还原力

Fig.11 The reducing power of pigment from jujube pomace

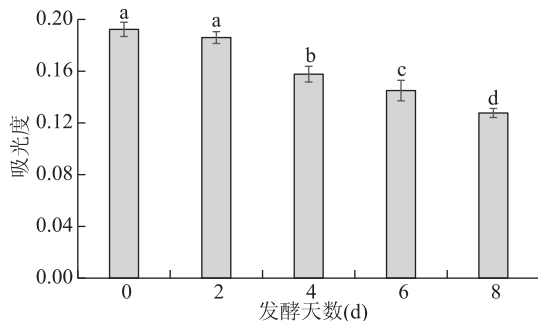


图12 发酵对红枣果渣色素的还原力的影响

Fig.12 The effect of the fermentation on the reducing power of pigment from jujube pomace

性与总多酚、总黄酮含量之间的关系,对果渣色素中抗氧化活性成分与其抗氧化活性进行相关性分析(表1、表2)。由表1可知,果汁果渣色素总多酚含量、总黄酮含量均与 DPPH·、清除能力极显著相关($P < 0.01$);总多酚含量与 ABTS⁺·、·OH、O₂⁻·清除能力,总黄酮含量与 O₂⁻·、·OH 清除能力显著相关($P < 0.05$);总多酚含量与还原力、总黄酮含量与 ABTS⁺·清除能力、还原力之间无显著相关($P > 0.05$)。从表2看出,果酒果渣色素总多酚含量与·OH 清除能力极显著相关;总多酚含量与 DPPH·、ABTS⁺·、O₂⁻·总黄酮含量与 DPPH·、O₂⁻·清除能力之间具有显著相关($P < 0.05$);总多酚含量与还原力,总黄酮含量与 ABTS⁺·、·OH 清除能力、还原力之间无显著相关($P > 0.05$)。不同抗氧化指标所依赖的物质基础不同导致不同抗氧化指标与抗氧化活性成分相关性不同^[32]。研究表明^[33],植物中酚类化合物是一种良好的天然抗氧化

表1 红枣果汁果渣色素抗氧化活性物质含量与抗氧化活性的相关性

Table 1 Correlation between antioxidant components and antioxidant activity of pigment from jujube juice pomace

相关系数	DPPH·清除能力	ABTS ⁺ ·清除能力	·OH 清除能力	O ₂ ⁻ ·清除能力	还原力
总多酚	0.997 **	0.843 *	0.969 *	0.998 *	0.830
总黄酮	0.981 **	0.884	0.946 *	0.973 **	0.780

注:*,显著相关($P < 0.05$);**,极显著相关($P < 0.01$),表2同。

表2 红枣果酒果渣色素抗氧化活性物质含量与抗氧化活性的相关性

Table 2 Correlation between antioxidant components and antioxidant activity of pigment from jujube wine pomace

相关系数	DPPH·清除能力	ABTS ⁺ ·清除能力	·OH 清除能力	O ₂ ⁻ ·清除能力	还原力
总多酚	0.972 *	0.986 *	0.931 **	0.988 *	-0.802
总黄酮	0.997 *	0.947	0.862	0.896 *	0.697

剂,其结构中的酚羟基结构可以作为氢供体和电子供体,而具有较强的抗氧化活性。Vignoli 等^[34]报道咖啡饮料中酚酸含量与 DPPH·清除能力呈明显正相关性;Huang 等^[35]报道 pH 和代谢产物均可使多酚类化合物的结构发生改变,从而会影响其抗氧化活性。由此可见,红枣色素具有清除自由基的能力,但清除能力大小受多种因素控制。本研究发现,不论是红枣果汁果渣色素还是经过发酵的果酒果渣色素,其抗氧化活性与总酚含量、总黄酮含量均呈一定相关性,由此说明抗氧化活性物质含量越高,抗氧化活性越高。

3 结论

本实验探究了红枣果汁果渣与果酒果渣色素活性成分及抗氧化活性的差异,结果显示红枣果汁果渣色素抗氧化活性成分含量、抗氧化活性均显著高于 8 d 发酵结束的果酒果渣色素($P < 0.05$),随发酵时间延长,果渣色素抗氧化活性成分含量、抗氧化活性均明显降低,说明发酵可使果渣色素抗氧化活性成分含量降低、抗氧化活性减弱,但果汁果渣色素抗氧化活性成分含量与抗氧化活性相关性较强,而果酒果渣色素总黄酮含量与抗氧化活性相关性相对较弱。综上所述,红枣果汁果渣或者发酵初期果酒果渣含有较多抗氧化活性成分,具有较高的抗氧化活性,可为开发天然抗氧化剂、提高红枣附加值、开发功能性保健产品提供一定的理论参考。

参考文献

[1] 马奇虎. 枣皮红色素的提取、纯化及稳定性研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2014.

[2] Zhang Q, Shen G N, Wang S Z, et al. Identification of pigments from jujube fruit skin[J]. Agricultural Science and Technology, 2010, 11(4): 110-112, 183.

[3] 郑安然, 邵佩兰, 郭晓丹, 等. 提取方法对红枣色素抗氧化活性的影响[J]. 北方园艺, 2016(23): 129-133.

[4] 邵佩兰, 徐明, 郭晓丹, 等. 红枣色素中活性成分含量与抗氧化活性的相关性[J]. 食品工业科技, 2016, 37(17): 171-174.

[5] 邵佩兰, 徐明, 郭晓丹, 等. 红枣色素对 H_2O_2 诱导血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 173-178.

[6] 周华佩. 枣皮红色素对常压缺氧及拘束应激肝损伤的保护作用[D]. 银川: 宁夏大学, 2016.

[7] 李宛陶. 枣皮红色素对小鼠氧化应激性肾损伤的保护作用[D]. 银川: 宁夏大学, 2016.

[8] 郑安然, 张丽芬, 谢惠, 等. 红枣色素对小鼠急性毒性作用研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(9): 349-352.

[9] 魏俊, 陈义伦, 李毓, 等 3 种天然果蔬色素稳定性研究[J]. 中国食物与营养, 2016, 22(10): 39-42.

[10] 翟龙飞. 枣中黄酮类化合物及枣皮红色素的初步研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2014.

[11] 李华, 王华, 袁春龙. 葡萄酒化学[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 117-122.

[12] 曹延俊. 发酵对石榴中抗氧化活性物质的影响[J]. 山东化工, 2016, 45(20): 14-15.

[13] 易桥宾, 谷凤林, 那治国, 等. 发酵和焙烤对可可豆多酚、黄酮和风味品质的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(15): 62-69.

[14] 王大为, 李娜, 赵鑫. 欧李果汁果渣与果酒果渣膳食纤维的理化性质及结构研究[J]. 食品科学, 2016, 37(7): 11-15.

[15] 邵佩兰, 徐明. 正交试验优化红枣色素提取工艺[J]. 食品科技, 2014, 39(3): 232-235.

[16] Aspe E, Fernandez K. The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* bark[J]. Industrial Crops and Products, 2011, 34(1): 838-844.

[17] Kim D O, Chun O K, Kim Y J, et al. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(22): 6509-6515.

[18] 谢惠, 张丽芬, 邵佩兰, 等. 紫外辐射对红枣色素抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(23): 44-48.

[19] 刘凤喜, 李志东, 李娜, 等. Fenton 法中的羟基自由基的测定技术简介[J]. 环境研究与监测, 2007, 20(4): 1-5.

[20] 吴琼. 高粱红色素抗氧化作用的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2004.

[21] 赵磊, 高民, 马燕芬. 茶多酚的抗氧化作用及其机制[J]. 动物营养学报, 2017, 29(6): 1861-1865.

[22] 杨艳艳, 许牡丹, 王俊华. 枣醋发酵过程中多酚、黄酮变化分析[J]. 中国调味品, 2012, 37(1): 56-59.

[23] 吴志明, 陈亮, 李双石. 赤霞珠葡萄酒发酵过程中总酚和花色苷的含量变化[J]. 酿酒科技, 2013(11): 18-20.

[24] 高年发, 陈志顿, 姜丽, 等. 葡萄酒发酵过程中白藜芦醇含量变化的研究[J]. 酿酒科技, 2006(12): 33-36.

[25] Sharma O P, Bhat T K. DPPH antioxidant assay revisited[J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1202-1205.

[26] Gulcin I. Antioxidant activity of 1-adrenaline: A structure-activity insight[J]. Chemico-Biological Interactions, 2009, 179(2): 71-80.

[27] 余双菊. 羟基自由基的特性及检测方法比较[J]. 广东化工, 2010, 37(9): 141-143.

[28] Wang B S, Li B S, Zeng Q X, et al. Antioxidant and free radical scavenging activities of pigments extracted from molasses alcohol wastewater[J]. Food Chemistry, 2008, 107(3): 1198-1210.

[29] 雷昌贵, 陈锦屏, 卢大新, 等. 食品中多酚类化合物的测定方法及其研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(1): 100-104.

[30] 田艳花, 李榆梅, 杜学勤. 桑籽皮多酚的抗氧化活性研究[J]. 农产品加工学刊, 2011(6): 31-35.

[31] 刘莉华, 宛晓春. 黄酮类化合物抗氧化活性构效关系的研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(3): 265-270.

[32] 王妍. 3 种野生浆果花色苷体外抗氧化活性的相关性研究[J]. 防护林科技, 2013(2): 23-26.

[33] Tabart J, Kevers C, Pincemai J, et al. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests[J]. Food Chemistry, 2009, 113: 1226-1233.

[34] Vignoli J A, Bassoli D G, Benassi M T. Antioxidant activity,

人参多糖对氧化应激损伤肝细胞的保护作用机制研究

杨松¹,王隶书^{1,2},刘美辰¹,陈艳艳¹,白雪媛¹,王思明^{1,*}

(1.长春中医药大学,吉林长春 130117;

2.吉林省中医药科学院,吉林长春 130012)

摘要:目的:以氧化应激损伤模型,通过对人参中物质基础的筛选,研究其对氧化应激造成的肝细胞损伤的保护作用及其可能的作用机制的初步探讨。方法:采用浓度为 25 $\mu\text{mol/L}$ 的过氧化氢溶液建立肝细胞损伤模型,对人参中总蛋白、总多糖、总皂苷的保护作用进行筛选。在此基础上,采用流式细胞术检测其凋亡程度、线粒体膜电位的改变,活性氧的含量变化。并采用 ELISA 法测肝糖原,超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、葡萄糖-6-磷酸酶(G6P)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)及 ATP 酶等指标的变化情况。结果:经过氧化氢诱导后的肝细胞,细胞活力极显著降低($P<0.01$),通过对比人参中活性成分,发现人参多糖的保护作用较强,且呈现浓度依赖性;与模型组比较,人参多糖高剂量组大鼠肝细胞中 MDA 含量非常显著降低($P<0.001$);中、高剂量组大鼠肝细胞中 SOD 含量显著升高($P<0.05$);低剂量组大鼠肝细胞中 G6P 含量显著升高($P<0.05$),中、高剂量组中 G6P 含量极显著升高($P<0.01$);中剂量组大鼠肝细胞中 PEPCK 的含量显著升高($P<0.05$),高剂量组中 PEPCK 的含量极显著升高($P<0.01$);低、中剂量组大鼠肝细胞中 ATP 酶含量极显著升高($P<0.01$);中、高剂量组大鼠肝细胞中肝糖原含量显著升高($P<0.05$)。结论:人参多糖通过提高肝细胞中 ATP 酶的活力,升高线粒体膜电位来恢复肝细胞线粒体的功能,通过恢复 G6P 与 PEPCK 的含量来恢复肝脏糖异生的功能,同时通过升高 SOD,降低 MDA 来减弱氧化应激带来的损伤,为后续研究氧化应激造成肝损伤提供一定的基础。

关键词:人参多糖,氧化应激,肝细胞,糖异生

Mechanism of Protective Effect of Ginseng Polysaccharide on Hepatocytes Induced by Oxidative Stress

YANG Song¹, WANG Li-shu^{1,2}, LIU Mei-chen¹, CHEN Yan-yan¹, BAI Xue-yuan¹, WANG Si-ming^{1,*}

(1.Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

2.Jilin Provincial Academy of Chinese Medicine, Changchun 130012, China)

Abstract: Objective: Based on the oxidative stress injury model, the protective effect of oxidative stress on hepatocyte injury and its possible mechanism were studied by screening the material basis of ginseng. Methods: A hepatocellular injury model was established by using a hydrogen peroxide solution with the concentration of 25 $\mu\text{mol/L}$ to screen protective effects of total protein, total polysaccharide, total saponin in ginseng. On this basis, cytometry was used to detect the degree of apoptosis, changes in mitochondrial membrane potential, changes in reactive oxygen species, and changes in hepatic glycogen. Changes in hepatic glycogen, superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glucose-6-phosphatase (G6P), phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), and atpase were observed by ELISA. Result: After liver cells induced by hydrogen peroxide, cells viability were significantly reduced ($P<0.01$). By comparing the active ingredients in ginseng, it was found that the protective effect of ginseng polysaccharide was stronger and showed concentration dependence. Compared with the model group, the MDA

收稿日期:2019-05-08

作者简介:杨松(1995-),女,硕士,研究方向:中药化学,E-mail:13634313817@163.com。

*通讯作者:王思明(1987-),男,硕士,助理研究员,研究方向:中药有效成分及其传统功效研究,E-mail:lwsml26030@126.com。

基金项目:人参产业关键技术研究及大健康产品开发,“十三五”国家重点研发计划(2017YFC1702100);国家自然科学基金青年基金(81703663)。

polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material [J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 863-868.

[35] Huang D, Ou B, Prior R L. The chemistry behind antioxidant capacity assays [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(6): 1841-1856.