

文章编号:1673-1689(2005)06-0083-05

花生衣红抗氧化活性的研究

张红梅, 金征宇*, 朱立贤, 王静

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要:花生衣是花生产品的副产物,经济价值低,但是含有大量的多酚物质.作者研究了从花生衣中提取的红色素对超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($OH\cdot$)的清除作用及其对脂质过氧化物的抑制作用.实验结果表明,花生衣红色素对超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($OH\cdot$)有不同程度的清除作用,对脂质过氧化有明显的抑制,且呈剂量依赖关系.

关键词:花生衣红; 抗氧化; 自由基

中图分类号: S 565.2

文献标识码: A

Study on the Antioxidant Activity of Peanut Skin

ZHANG Hong-mei, JIN Zheng-yu*, ZHU Li-xian, WANG Jing

(School of Food Science and Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Peanut skin is a by-product of the peanut industry with low economic value despite of its high content of antioxidants such as phenol. The scavenging activity of peanut skin on superoxide anion and hydroxyl free radicals, and inhibitory ability of lipid per oxidation were studied in this study. The results indicated that peanut skin has high antioxidant activity based on the test performed, and seems to be a promising source of natural antioxidant.

Key words: peanut-skin red; antioxidant; free radical

自由基可与生物体内的许多物质如脂肪酸、蛋白质等作用,夺取它们的氢原子,造成相关细胞的结构与功能的破坏,而食用油脂和富脂食品的酸败也是自由基所引发的,它不仅使油脂本身受破坏失去营养,更重要的是其氧化产物和中间产物会伤害生物膜、酶、维生素、蛋白质及活细胞功能,其中一些是公认的致癌物^[1].鉴于上述原因,有关抗氧化剂清除自由基的研究得到普遍关注,人们越来越趋向于使用天然抗氧化剂.

花生衣为红棕色,膜质,其主要成分质量分数为:纤维素 37%~42%,脂肪 10%~14%,蛋白质 11%~18%,灰分 8%~21%,此外,还含约 7%的单宁及多种色素^[2].花生衣味甘、微苦、性平,有止

血散淤,消肿之功,且有一定的营养价值及药用价值.有研究表明,花生衣的药用效力比花生米强 50 倍^[3].同时花生衣中还含有大量多酚物质,具有抗氧化^[3~4],阻碍蛋白糖化反应^[3].作者研究了从花生衣中提取的红色素的抗氧化活性,以期花生衣红(peanut-skin red)研究开发提供一些理论依据.

1 材料与amp;方法

1.1 仪器和材料

花生衣:市售;乙醇:分析纯;猪油、亚油酸:食品级;黄嘌呤氧化酶、次黄嘌呤:美国 Sigma 公司产品;抗坏血酸:南京化学试剂厂产品;其它试剂均为国产分析纯.

收稿日期:2004-10-26; 修回日期:2004-12-15.

作者简介:张红梅(1975-),女,湖北潜江人,食品科学与工程硕士研究生;* 责任作者.

万能高速粉碎机;RE-5AA 旋转蒸发仪;UV-2001 分光光度计;SHB-ⅢA 循环水式多用真空泵;ZK-82AB 电热真空干燥箱。

1.2 实验方法

1.2.1 花生衣红色素的提取工艺路线

花生衣粉碎→乙醇溶液提取→过滤→滤渣→

加乙醇溶液提取→过滤→滤液合并→旋转蒸发→真空干燥→成品^[5~7]

1.2.2 紫外光谱的测定 将色素配制成适当浓度的溶液,以相应的溶剂为对照,在分光光度计上进行紫外光谱扫描。

1.2.3 在不同自由基体系中测定花生衣红色素的抗氧化活性

1) 猪油体系

在新鲜纯猪油中按不同添加量添加花生衣红色素(0.1,0.2,0.4,0.8 g/kg)及BHT(0.2 g/kg),置于70℃恒温烘箱中,测定猪油过氧化值(POV)的变化情况。^[1,8]

POV的测定方法:用移液管移取2 mL油样至250 mL三角瓶中,加入体积比为1:1的冰醋酸与氯仿的混合液20 mL,及饱和KI溶液1 mL,暗处放置3 min后加入30 mL蒸馏水,以1 mL质量分数为1%的淀粉溶液做指示剂,用标准的0.01 mol/L的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液滴定,同时做空白试验,最后计算过氧化值。

$$\text{过氧化值 POV}(\%) = \frac{(V_1 - V_2) \times C_s}{m} \times 0.269 \times 100\%$$

式中: V_1 为试样耗用标准 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的体积(mL), V_2 空白耗用标准 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的体积(mL), C_s 为 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液的浓度, m 为试样的质量(g);0.269为 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液1 mL相当于碘的克数^[9]。

2) 烷基自由基引发的亚油酸氧化体系

将不同质量分数的色素样品、BHT和VC溶液4 mL分别放入具塞试管中,加入4.1 mL体积分数为2.5%的亚油酸、8 mL 0.05 mol/L磷酸缓冲液(pH=7.0)和3.9 mL无离子水和一定量的蔗糖酯,置于(40±1)℃电热恒温培养箱中,每隔24 h用FTC(Ferric Thiocyanate Methods)法测定一次过氧化物生成量,以吸光度值表示。对照用4 mL溶剂代替样液。

FTC法:取(40±1)℃电热恒温培养液0.1 mL,分别加入9.7 mL体积分数为75%的乙醇溶液和0.1 g/L质量分数为30%硫氰酸铵溶液,然

后加入0.1 mL含0.02 mol/L氯化亚铁的3.5%盐酸溶液,准确反应3 min后,于500 nm波长处测定吸光度值($A_{500\text{nm}}$),吸光度值越大,亚油酸被氧化的程度越大。各样品的抗氧化能力的强弱以168 h的氧化程度计算,以抑制率表示

$$\text{抑制率: } P = \frac{(A_0 - A_i)}{(A_0 - A'_0)}$$

式中, A_0 为168 h时空白吸光度, A'_0 为0 h时空白吸光度, A_i 为样品的吸光度^[10,11]。

3) 超氧阴离子自由基体系

取3.5 mmol/L次黄嘌呤100 μL ,50 mmol/L的盐酸羟胺100 μL ,不同质量分数的色素样品和VC100 μL ,50 mmol/L的pH为8.0的缓冲溶液700 μL 于试管中,混匀后在37℃的恒温水浴中加热5 min,再加入黄嘌呤氧化酶后,继续在恒温水浴中加热30 min,取出后冷却,加入溶于1.36 mol/L冰醋酸中,1.73 mmol/L的对氨基苯磺酸和29.29 $\mu\text{mol/L}$ N-1-萘-乙二胺2 mL,混匀后避光10 min后在550 nm处比色,测定吸光度 A_i 。对照组不加样品和VC,以等体积缓冲溶液700 μL 代替,其余步骤同上,测的吸光度 A_0 。空白以溶剂代替样品提取液,实验中不加黄嘌呤氧化酶且不在37℃水浴中反应,其他处理同上^[12]。测定其空白吸光度(A_1);清除超氧阴离子自由基活性的计算公式为:

$$P = \frac{((A_0 - A_1) - (A_i - A_1))}{(A_0 - A_1)}$$

4) 羟基自由基体系

在10 mL试管中依次加入饱和水杨酸溶液0.5 mL,0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH=7.4)3 mL,3.8 mol/L Fe^{2+} -EDTA溶液0.5 mL,不同质量分数的色素溶液1 mL,最后加入1 mL 4 mmol/L H_2O_2 启动反应,于25℃水浴中反应90 min之后,加入1 mL 6 mol/L的盐酸溶液终止反应,再加入0.5 g NaCl,4 mL冷的乙醚充分混匀,静置后移取上层乙醚于10 mL离心管内,于40℃恒温水浴中蒸干乙醚,然后依次加入10 g/dL三氯乙酸0.15 mL,10 g/dL钨酸钠0.25 mL,0.5 g/dL NaNO_2 0.25 mL,放置5 min后,加入1 mol/L NaOH 0.25 mL,滴加去离子水至4 mL,混匀。空白用1 mL蒸馏水代替样液于510 nm处测定吸光度 A_i ,清除羟基自由基活性的计算公式为:

$$P = (A_0 - A_i) / A_0$$

式中 A_0 为空白吸光度^[13]。

2 结果与讨论

2.1 花生衣红的紫外光谱图

花生衣红的紫外吸收光谱(见图1)在220 nm

和 280 nm 处有两个最大吸收峰,与其他具有抗氧化能力的色素的紫外吸收图谱(在 190~260 nm 和 260~360 nm 之间分别有两个最大吸收峰)非常相似,与可可色素、高粱红色素和洋葱红色素的紫外吸收图谱(在 205 nm 附近有一个较大的吸收峰和在 280 nm 附近有一个较小的吸收峰)更为相近^[14],说明花生衣红色素具有与可可色素、高粱红色素和洋葱红色素相类似的结构.而且花生衣红在可见光区内没有最大吸收峰,这与可可色素和高粱红色素(在可见光区没有明显的最大吸收峰)也很相似.

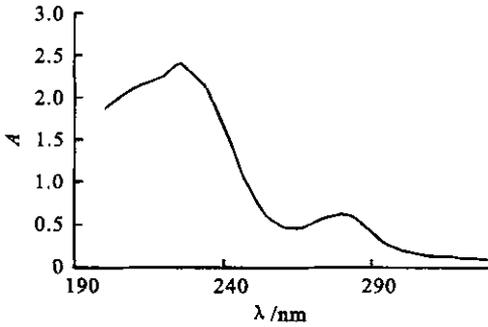


图 1 花生衣红色素的紫外吸收光谱图

Fig. 1 UV absorption spectrum of peanut-skin red

2.2 花生衣红对猪油的抗氧化作用

图 2 可见,从第 3 天开始,加有花生衣红的猪油的过氧化值明显低于空白的值,但是猪油的过氧化值还是随着时间的延长而不断增加,第 7 天 POV 也都超过了 0.19. 而加有合成抗氧化剂 BHT 的猪油的 POV 变化并不大,到第 7 天 POV 也只有 0.0669. 因此,花生衣红虽然对猪油的 POV 有一定的抑制作用,但是与 BHT 有着显著的差别. 而且花生衣红的质量分数梯度并没有很明显的与猪油的过氧化值的高低相对应,这可能是因为样品是水溶的物质,尽管加有乳化剂,但是在高温下还是不能很好的分散在猪油体系中.

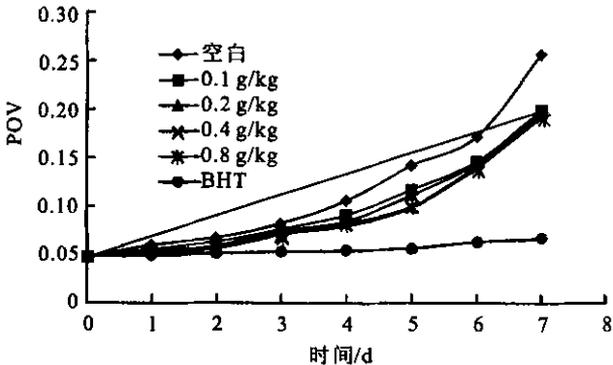


图 2 花生衣红对猪油的抗氧化作用

Fig. 2 The effect of peanut-skin red on inhibiting peroxidation of lard

2.3 花生衣红抑制亚油酸过氧化作用

亚油酸乳化体系是用以检验抗氧化剂在食品体系中抗氧化作用的最常用的体系,吸光度值越小抗氧化能力越好. 图 3 是不同质量浓度的花生衣红在亚油酸体系中抗氧化的效果的比较,可以看出,在 120 h 以前,花生衣红的抗氧化能力并不是很明显,120 h 后,加有花生衣红的溶液的吸光值明显的低于空白,而且添加量越大,防止亚油酸酸败的能力越强,但是不同质量浓度之间的抗氧化能力差异并不是很显著.

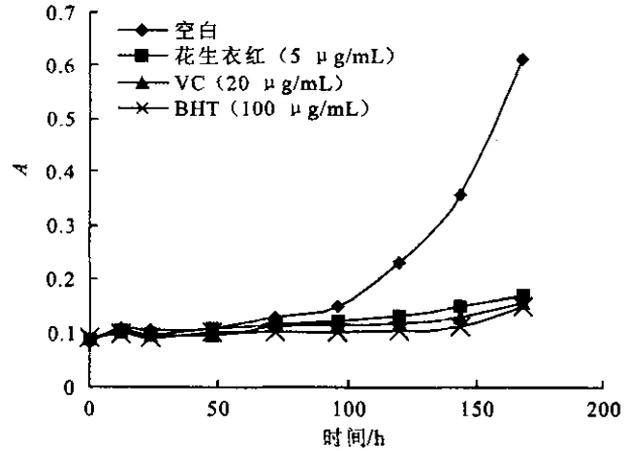


图 3 花生衣红抑制亚油酸过氧化作用

Fig. 3 The effect of peanut-skin red on inhibiting peroxidation of linoleic acid

图 4~6 是不同质量浓度的花生衣红、BHT 和 VC 在亚油酸体系中抗氧化效果的比较. 实验结果表明,加有抗氧化剂的吸光值明显的低于空白的吸光值,而且加有花生衣红的溶液的吸光值都比加有 VC 的要低,比加有 BHT 的要高,因此花生衣红的抗氧化能力要比 VC 强,比 BHT 弱.

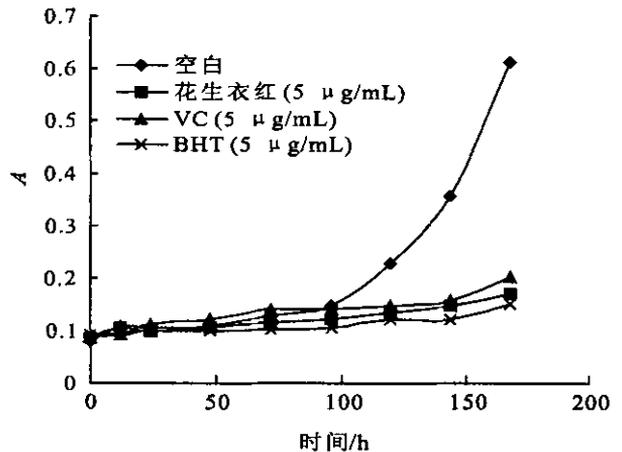


图 4 5 μg/mL 花生衣红、BHT 和 VC 抑制亚油酸过氧化作用

Fig. 4 The effect of peanut-skin red, BHT and VC on inhibiting peroxidation of linoleic acid at 5 μg/mL

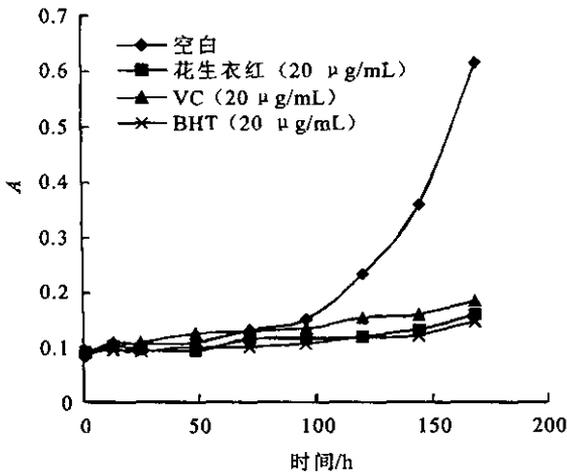


图5 20 µg/mL 花生衣红、BHT 和 VC 抑制亚油酸过氧化作用

Fig. 5 The effect of peanut-skin red, BHT and VC on inhibiting peroxidation of linoleic acid at 20 µg/mL

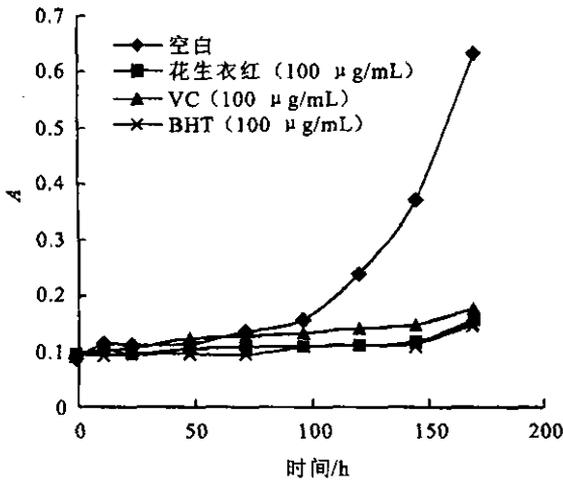


图6 100 µg/mL 花生衣红、BHT 和 VC 抑制亚油酸过氧化作用

Fig. 6 The effect of peanut-skin red, BHT and VC on inhibiting peroxidation of linoleic acid at 100 µg/mL

在 168 h 时,不同质量浓度花生衣红的抑制率分别为 85%,88%和 89%,VC 的抑制率为 79%,83%和 85%,BHT 的抑制率为 89%,90%和 91%,因此 BHT 比花生衣红和 VC 的抗氧化能力都要强,但是当花生衣红的质量浓度增加到 100 µg/mL 时,可以与 BHT 在低质量浓度的时的抗氧化能力相当,因此在应用中可以适当提高花生衣红的质量浓度达到与 BHT 相近的抗氧化强度。

2.4 花生衣红对氧自由基的清除作用

该体系是模拟人体中黄嘌呤与黄嘌呤氧化酶反应系统,产生超氧阴离子自由基。由实验表明(见表 1)花生衣红和 VC 同样具有清除超氧阴离子自

由基的作用,在质量浓度较低时,花生衣红对超氧阴离子自由基的清除能力比 VC 强,是 VC 的 1.34~1.87 倍。但是在高质量浓度时,却要比 VC 低,这可能是由于花生衣红除了含有多酚类物质外,还含有其他成分的缘故。由表 1 得出花生衣红的 IC_{50} 为 10.6 µg/mL,而 VC 的 IC_{50} 为 14.1 µg/mL,这说明花生衣红的抗氧化能力要比 VC 强,也说明花生衣红具有良好的清除超氧阴离子自由基的能力。

表 1 花生衣红与 VC 对氧自由基的清除作用

Tab.1 Effect of peanut-skin red and VC on scavenging superoxide anion

剂量/ (µg/mL)	氧自由基清除率/%	
	花生衣红	VC
2.5	42.61	22.78
5	46.41	33.76
10	51.48	38.45
25	59.49	74.68

2.5 花生衣红对羟基自由基的清除作用

不同质量浓度的花生衣红对羟基自由基活性清除率进行测定,并与同质量浓度的 VC 进行比较,结果见表 2 羟基自由基通过 Fenton 反应产生,反应式如下: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH \cdot$ 反应产生的羟自由基进攻水杨酸分子上的苯环,产生 2,3-二羟基苯甲酸,通过分光光度法可测定其含量,从而来描述羟基的量及待测物质清除羟基自由基的能力^[13]。由表 2 可知,花生衣红和 VC 在该体系中均有一定的清除能力,但是花生衣红与 VC 不同是,VC 质量浓度越高,对羟自由基的清除能力越强,而随着花生衣红的质量浓度增加,花生衣红的清除自由基的能力反而下降,这可能是由于色素中的酚类物质的还原性较强,当其质量浓度达到一定时,能将反应 $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH \cdot$ 中的 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} ,从而促进了羟基自由基的产生。

表 2 花生衣红与 VC 对羟基自由基的清除作用

Tab.2 Effect of peanut-skin red and VC on scavenging hydroxyl free radicals

剂量/ (µg/mL)	羟基自由基清除率/%	
	花生衣红	VC
10	75.10	18.81
20	68.40	23.55
40	64.58	35.68
100	31.05	55.72
200	24.20	76.30

3 结 论

花生红色素在猪油体系中的抗氧化能力不明显,这可能是由于色素溶液不能很好的分散在猪油体系中,使得抗氧化能力较弱。

花生衣红色素在亚油酸体系中具有一定的抗氧化能力,比 VC 要强,但是与 BHT 相比,其抗氧化能力相对较弱。

在一定质量浓度范围内,花生衣红色素对超氧

自由基有明显的清除效果,而且其抗氧化活性比 VC 还要强,花生衣红的 IC_{50} 为 $10.6 \mu\text{g/mL}$,而 VC 的 IC_{50} 为 $14.1 \mu\text{g/mL}$ 。花生衣红和 VC 对羟自由基均有一定的清除能力,但是花生衣红质量浓度越高,清除自由基的能力反而下降。

花生衣资源丰富,价格低廉,从中提取的花生衣红色素营养价值和医用价值都很高,而且还具有良好的抗氧化能力,因此在食品、医药等行业中将有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 胡迎芬. 火炬果穗提取物的抗氧化作用研究[J]. 食品科技, 2003, (9): 66—68.
- [2] 曹凯光, 潜学基. 从花生红衣皮中提取花生红衣粉的研究[J]. 食品工业科技, 1995, (5): 21—23.
- [3] 亦森. 花生皮生理活性. 粮食与油脂[J], 2001, 4: 44—45.
- [4] Hongxiang Lou, Huiqing Yuan. Polyphenols from peanut skins and their free radical scavenging effects[J]. *Phytochemistry*, 2004, 65: 2391—2399.
- [5] 曾卫国. 花生内衣色素稳定性研究[J]. 安徽技术师范学院学报, 2003, 17(1): 57—59.
- [6] 杨志孝, 王声明. 花生内衣色素的提取[J]. 食品科学, 1992, (10): 23—24.
- [7] 邵晓芬, 王国玲, 李培凡. 花生衣色素的提取及其理化性质[J]. 中草药, 1997, 28(3): 15.
- [8] 肖丽霞, 张建良. 槐花抗氧化剂的提取及其抗氧化的测定[J]. 江苏农学院学报, 1996, 17(2): 71—73.
- [9] 王秉冬. 食品卫生检验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003.
- [10] Larrauri J A, Rupere Z P, Calixto F S. Antioxidant activity of wine pomance[J]. *Am J Enol Vitic*, 1996, 47(4): 369—372.
- [11] Kikuzaki H, Nakatani N. Antioxidant Effects of some ginger constituents[J]. *J Food Sci*, 1993, 58: 1407—1410.
- [12] 鲍建伟, 张金龙, 徐晓华. 炮制对黄芩抗氧化作用的影响[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(9): 661—663.
- [13] 张燕平, 张虹, 洪泳平, 等. 羊栖菜提取物体外自由基清除能力的研究[J]. 郑州工程学院学报, 2003, 24(1): 50—53.
- [14] 王威. 常用天然色素抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(6): 96—100.

(责任编辑:朱明)

(上接第 82 页)

- [20] 梁俊荣, 张西臣, 柳增善. 抗疲劳功能性食品复方添加剂作用机理研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2004, 35(3): 331—334.
- [21] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学(第 3 版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [22] Chaoulloff, Elghozi J L, Guezennec Y. Effect of conditioned running on plasma, liver and brain tryptopgan and on brain 5-hydroxytryptamine metabolism of the rat[J]. *Br J Pharmacol*, 1985, 86: 33—41.
- [23] 聂金雷. 5-羟色胺、运动性中枢疲劳与营养促力手段[J]. 中国运动医学杂志, 2003, 22(1): 102—105.
- [24] 窦兰君. 氨基酸代谢对运动和疲劳的影响[J]. 解放军预防医学杂志, 1995, 13(3): 244—248.

(责任编辑:朱明)