

柑橘的抗氧化活性研究

黄莉娟¹, 胡蝶¹, 张萍¹, 聂迎春²

(1. 陕西师范大学化学化工学院, 陕西西安 710062) (2. 陕西教育学院, 陕西西安 710062)

摘要: 基于抗氧化成分对鲁米诺-NaClO 体系化学发光强烈的抑制作用, 建立了一种评价不同品种柑橘总体抗氧化性大小的方法, 并测定了四种柑橘的抗氧化性。用 IC₅₀ 值来评价柑橘的抗氧化性, IC₅₀ 越小, 柑橘的抗氧化性越强。结果表明实验所用柑橘均具有良好的抗氧化性, 其中甜橙抗氧化性最强, 青橘和沙糖橘次之, 金橘最弱。本文建立的鲁米诺-NaClO 化学发光法可作为一种高效、快速的抗氧化性测定的分析法, 能广泛用于观察多种水果或其他食品的抗氧化性。

关键词: 抗氧化性; 柑橘; 化学发光; 抑制率

文章编号: 1673-9078(2012)4-399-401

Study on Antioxidant Activities of Different Varieties of Citrus

HUANG Li-juan¹, HU Die¹, ZHANG Ping¹, NIE Ying-chun²

(1. School of Chemistry & Chemical Engineering of Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

(2. Shaanxi Institute of Education, Xi'an 710062, China)

Abstract: A method for evaluating antioxidant activities of different varieties of citrus was developed based on the strong inhibition of the antioxidant constituents on the chemiluminescence of luminol-NaClO system, and the antioxidant activities of four kinds of citrus were determined. Antioxidant activities of citrus were evaluated according to IC₅₀. The results showed that all of the tested citrus had good antioxidant activities, among which the sweet orange showed the highest activity, followed by green tangerine and orange Shatang. And the weakest activity was found with kumquat. The method based on chemiluminescence of luminol-NaClO system was efficient, rapid and can widely used in evaluating the antioxidant activities of varieties of fruits or other food.

Key words: antioxidant activities; citrus; chemiluminescence; inhibition rate

随着自由基医学和自由基生物学的发展, 人们认识到, 自由基是带有未成对电子的分子或离子, 具有很高的反应活性。它可对机体产生毒害, 如破坏生物大分子, 影响细胞活性, 并引起一系列有害的生化反应^[1-2]。而且自由基对身体的损伤随着年龄的增长而加剧, 从而引起衰老, 并常常伴随一些慢性疾病的产生和发展。因此, 清除自由基能延缓衰老以及避免各种疾病的发生。要降低人体内自由基的含量, 不仅要依靠自身的清除系统, 还要靠外界的帮助, 而抗氧化剂就是我们所要寻求的帮助。

常用的丁基羟基茴香醚(BHA)和二十烷基羟基甲苯(BHT)等化学合成的抗氧化剂通常作为食品添加剂用在食品工业上, 用于防止食品的氧化变色或者因氧化导致的品质劣变^[3]。然而这些合成的抗氧化剂存在对健康的潜在危害, 在食品上的应用越来越受到限制。在最近的几十年里, 人们把目光转向来自于

动植物的天然的、安全的抗氧化剂。

蔬菜、水果不仅提供人体所需的一些维生素、矿物质和纤维素等, 而且还含有许多具有抗氧化性的成份, 除了众所周知的有V_C、V_E、类胡萝卜素外, 一些蔬菜水果还含有丰富的多酚类物质, 如类黄酮、花色素等, 这些物质都具有较强的抗氧化性^[4]。而水果中的柑橘产量居百果之首, 柑橘汁占果汁的 3/4, 柑橘的果实营养丰富, 色香味俱全, 既可鲜食, 又可加工成以果汁为主的各种加工制品, 受广大消费者的青睐。本实验选取了四种不同品种柑橘作为研究对象, 对其抗氧化性进行测定。已有的有关蔬菜、水果抗氧化性的研究方法有POV值的测定^[5]; FRAP法^[6]; ABTS法^[7]; DPPH法^[8,9]等。但是, 这些方法结果不尽一致。本文利用柑橘中的抗氧化剂对鲁米诺-NaClO化学发光体系的强烈抑制作用, 建立了一种简单而灵敏的方法, 对四种柑橘的抗氧化性进行了对比研究。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

青橘(青涩的橘子), 贡橘(金钱蜜橘), 甜橙(俗

收稿日期: 2012-01-06

基金项目: 陕西教育学院青年项目(10KJ036)

作者简介: 黄莉娟(1986-), 女, 硕士研究生, 研究方向为光分析

通讯作者: 聂迎春(1981-), 女, 博士研究生, 研究方向为光分析

名广柑), 沙糖橘 (又名十月桔)。

鲁米诺储备液 (1×10^{-2} mol/L); 抗坏血酸 (Vc), 天津市天力化学试剂有限公司; 次氯酸钠, 西安化学试剂厂; 氢氧化钠, 国药集团化学试剂有限公司。实验所用药品均为分析纯, 实验用水均为二次蒸馏水。

BPCL 超微弱发光分析仪, 中国科学院生物物理研究所; 蠕动泵, 上海青浦沪西仪器厂; 多功能食品加工机, 康福尔; SHZ-D(III)循环水式真空泵, 巩义市子华仪器有限责任公司。

1.2 试验方法

1.2.1 柑橘汁的制备

所有的柑橘首先剥皮, 获得日常食用部分, 分别称取 50.00 g 的青橘、贡橘、甜橙和沙糖橘, 放入多功能食品加工机, 加入 250 mL 冰蒸馏水, 匀浆 5 min, 将匀浆液抽滤, 得到滤液备用。

1.2.2 柑橘抗氧化性的测定^[10]

如图 1 所示, 鲁米诺和样品在三通 1 处汇合, 经采样阀采样后以水为载流, 在另一个三通 2 处与 NaClO 混合后流经置于光电倍增管上方的圆形盘管中, 此时, 反应产生的化学发光信号转变为电信号并被 BPCL 超微弱发光分析仪记录。以二次水为空白, 分别记录空白和样品的化学发光强度, 用下式计算抑制率:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100\%$$

注: I_0 为空白的化学发光强度; I 为样品的化学发光强度。

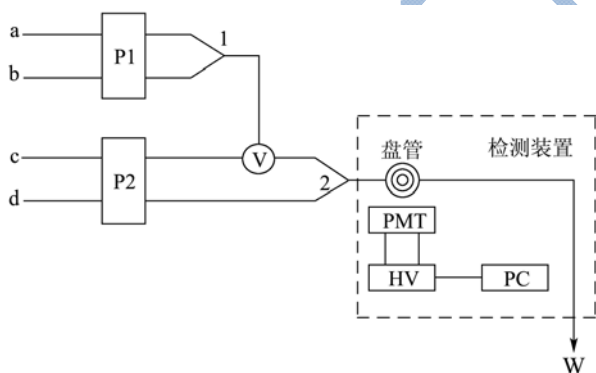


图 1 流动注射化学发光系统流程图

Fig.1 Sketch map of the flow injection chemiluminescence manifold

注: a-鲁米诺, b-样品 (Vc 溶液、橘子提取液), c-载流 (水), d-NaClO 溶液 P-蠕动泵, V-采样阀, PMT-光电倍增管, HV-负高压, PC-计算机, W-废液。

2 结果与讨论

2.1 反应条件优化

2.1.1 鲁米诺浓度对化学发光抑制率的影响

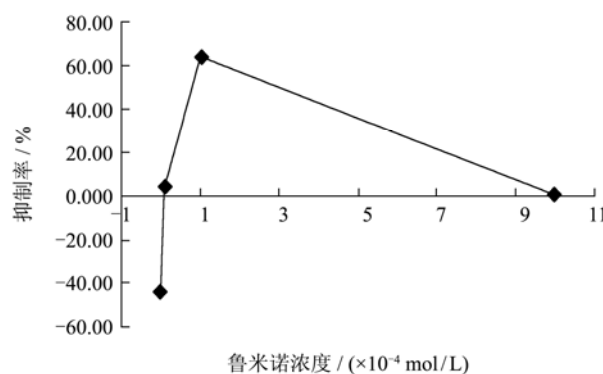


图 2 鲁米诺浓度对化学发光抑制率的影响
Fig.2 Influence of Luminol concentration on chemiluminescence inhibition rate

在 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3}$ mol/L 浓度范围内, 考察了鲁米诺溶液浓度对体系化学发光抑制率的影响。结果如图 2 所示, 当 1×10^{-4} mol/L Vc 溶液作为抗氧化剂, NaOH 溶液和 NaClO 溶液的浓度分别为 0.1 mol/L 和 1×10^{-3} mol/L, 鲁米诺的浓度为 1×10^{-4} mol/L 时, 化学发光抑制率最大, 因此选择鲁米诺浓度为 1×10^{-4} mol/L。

2.1.2 次氯酸钠浓度对化学发光抑制率的影响

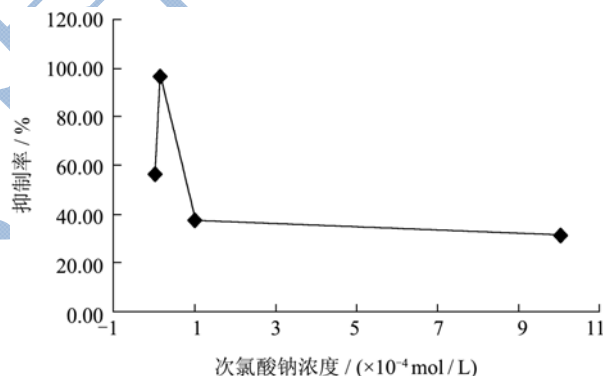


图 3 次氯酸钠浓度对化学发光抑制率的影响
Fig.3 Influence of sodium hypochlorite concentration on chemiluminescence inhibition rate

在 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3}$ mol/L 浓度范围内, 考察了 NaClO 溶液浓度对体系化学发光抑制率的影响。结果如图 3 所示, 当 1×10^{-4} mol/L Vc 溶液作为抗氧化剂, NaOH 溶液和鲁米诺溶液的浓度分别为 0.1 mol/L 和 1×10^{-4} mol/L, NaClO 溶液浓度为 1×10^{-5} mol/L 时, 化学发光抑制率最大, 因此选择 NaClO 溶液浓度为 1×10^{-5} mol/L。

2.1.3 氢氧化钠浓度对化学发光强度的影响

在 0.001~1.000 mol/L 浓度范围内, 考察了 NaOH 溶液浓度对体系化学发光抑制率的影响。结果如图 4 所示, 当 1×10^{-4} mol/L Vc 溶液作为抗氧化剂, 鲁米诺溶液和 NaClO 溶液的浓度分别为 1×10^{-4} mol/L、 1×10^{-5} mol/L, NaOH 的浓度为 0.1 mol/L 时, 化学发

光抑制率最大,因此选取NaOH的浓度为0.100 mol/L。

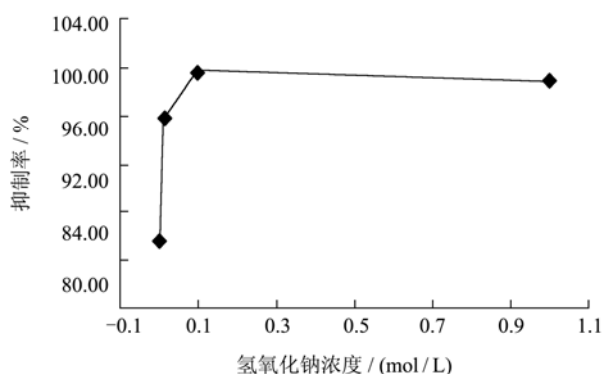


图4 氢氧化钠浓度对化学发光抑制率的影响

Fig.4 Influence of sodium hydroxide concentration on chemiluminescence inhibition rate

2.2 不同种类柑橘抗氧化性的比较

在选定的最优条件下,分别测定了四种柑橘在不同浓度下的化学发光强度,并且绘制了柑橘浓度与抑制率的曲线图,如图5所示。

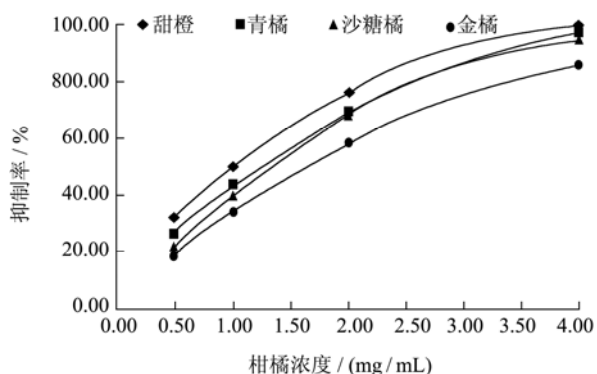


图5 四种柑橘对化学发光抑制率的影响

Fig.5 Influence of four kinds of citrus on chemiluminescence inhibition rate

一般用化学发光抑制率为50%的样品浓度 IC_{50} 值来评价样品的抗氧化性, IC_{50} 越小,样品的抗氧化性越强^[11]。由图5得到拟合方程,计算得到,当抑制率为50%时各种柑橘的浓度,如表1所示。当抑制率为50%时,计算得到甜橙、青橘、沙糖橘、金橘的 IC_{50} 分别为1.0341 mg/mL, 1.2366 mg/mL, 1.3379 mg/mL, 1.6304 mg/mL,因此,这四种柑橘的抗氧化性大小依次为:甜橙>青橘>沙糖橘>金橘。

表1 四种柑橘 IC_{50} (mg/mL)

Table 1 IC_{50} values of four kinds of citrus (mg/mL)

样品	抑制率/%	拟合方程	IC_{50} /(mg/mL)
甜橙	50%	$y=-0.0546x^2+0.4394x+0.104$	1.0341
青橘	50%	$y=-0.0326x^2+0.34x+0.1294$	1.2366
沙糖橘	50%	$y=-0.0471x^2+0.42x+0.0224$	1.3379
金橘	50%	$y=-0.035x^2+0.3473x+0.0268$	1.6304

3 结论

3.1 四种柑橘对鲁米诺-NaClO体系的化学发光均有强烈的抑制作用,据此建立了流动注射化学发光用于测定与评价不同品种柑橘抗氧化性的方法。结果显示实验所用柑橘均具有良好抗氧化性,但不同品种柑橘抗氧化性没有显著性差异,其中甜橙抗氧化性最强,青橘和沙糖橘次之,金橘最弱。

3.2 不同水果抗氧化成分的组成不同,且水果的抗氧化性是由多种抗氧化成分共同作用的结果。目前,水果的抗氧化性研究缺少一种标准方法。现有的各种方法的测定结果不尽一致,使抗氧化性强弱往往难以比较。因此,建立一种高效、快捷的测定水果总体抗氧化性的方法成为必要,本文所建立的鲁米诺-NaClO化学发光法可作为一种高效、快速的抗氧化性测定的分析方法,可广泛用于观察多种水果或其他食品的抗氧化性,不仅能为建立标准方法提供参考,而且对合理搭配饮食提供科学依据。

参考文献

- [1] 周志东,赵伟康.机体抗氧化系统研究进展[J].国外医学老年医学分册,1999,20(4):172-176
- [2] D.Ritter, J.W.Knebel, M.Aufderheide et al. Development of a Cell Culture Model System for Routine Testing of Substances Inducing Oxidative Stress [J]. Toxicology in Vitro, 1999, 13: 745-751
- [3] 余世望,肖小年,范青生等.60种药食两用植物抗氧化作用研究[J].食品科学,1995,16(11):3-5
- [4] 方敏,王耀峰,宫智勇.15种水果和33种蔬菜的抗氧化活性研究[J].食品科学,2008,29(10):97-100
- [5] 王川.葡萄籽单宁的抗氧化性研究[J].食品科技,2009,34(2):184-187
- [6] 郭长江,杨继军,李云峰等. FRAP法测定水果不同部分抗氧化活性[J].中国公共卫生,2003,19(7):841-843
- [7] 李华,李勇,吴莹等.ABTS+法测定葡萄酒抗氧化活性的研究[J].西北农林科技大学学报自然科学版,2009,37(11):90-96
- [8] 李春阳,许时婴,王璋.DPPH法测定葡萄籽原花青素清除自由基的能力[J].食品与生物技术学报,2006,25(2):102-106
- [9] 吴建中,欧仕益,汪勇.甘蔗叶中黄酮类物质的提取及其抗氧化性研究[J].现代食品科技,2009,25(2):165-167
- [10] 王元颖,郝再彬,李子院,等.不同花中总黄酮的提取及其抗氧化强度的比较[J].现代食品科技,2008,24(11):1145-1147
- [11] 严建刚,张名位,杨公明,等.芹菜提取物清除自由基作用研究[J].食品科学,2004,25(8):39-42