

黑莓红色素对 活性氧自由基和亚硝基的清除作用

(中国农业科学院郑州果树研究所 , 郑州 450009)

焦中高 刘杰超 王思新

(河南省邓州市农技中心 , 邓州 474150)

郑 恒

摘 要: 黑莓红色素对光照核黄素产生的 $O_2^{\cdot-}$ 和 Fenton 反应产生的 $\cdot OH$ 及 NO_2^{\cdot} 均具有很强的清除作用, 且在一定浓度范围内随浓度的增大而增强。在试验浓度范围(0.1~2.5mg/mL)内, 黑莓红色素对 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 及 NO_2^{\cdot} 的最大清除率分别可达到 96.27%、93.58% 和 98.94%。因此, 黑莓红色素还是一种优良的自然自由基清除剂和 NO_2^{\cdot} 清除剂。

关键词: 黑莓红色素, 超氧阴离子自由基, 羟自由基, 亚硝基, 清除作用

Abstract: Blackberry red color had very strong scavenging effects on the superoxide radical generating from illuminating riboflavin, hydroxyl radical generating from Fenton reactions and nitroso. The scavenging effects became stronger with the increasing of the concentration of blackberry red color in a certain range. In the test concentration range from 0.1 to 2.5 mg/mL, the maximum scavenging rate for $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$ and NO_2^{\cdot} were 96.27%, 93.58% and 98.94% respectively. Thus, the blackberry red color was also a good natural scavenger to free radicals and nitroso.

Key words: blackberry red color; superoxide radical; hydroxyl radical; nitroso; scavenging effect

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2004)04-0127-02

黑莓红色素的主要成分为花色苷, 属于多酚类天然植物色素, 因此可能具有抗氧化和清除自由基等生物活性。本文在前文^[1]对黑莓红色素抗氧化活性进行初步研究的基础上, 进一步研究了其对光照核黄素产生的超氧阴离子自由基和 Fenton 反应产生的羟自由基及亚硝酸盐的清除能力, 以揭示黑莓红色素抗氧化作用的机理, 并为其开发应用提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

黑莓红色素 将黑莓果实经热水浸提后再以大孔吸附树脂分离纯化, 并经减压浓缩、干燥后得到的

固体色素。

1.2 黑莓红色素清除超氧阴离子自由基效果的测定

采用光照核黄素法^[2]测定黑莓红色素对超氧阴离子自由基的清除效果。

用 pH 为 7.8 的 0.05mol/L 混合磷酸盐缓冲液为溶剂, 配制含 3.3×10^{-6} mol/L 核黄素, 0.01mol/L 蛋氨酸和 4.6×10^{-5} mol/L 氯化硝基四氮唑蓝(NBT), 加入一定浓度的样品溶液, 在 25℃、4000lx 照度下光照 30min, 于 560nm 处测定溶液的吸光度, 按下面的公式计算 $O_2^{\cdot-}$ 清除率:

$$\text{清除率} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$$

式中 A_0 为不加样品时的吸光值, A 为加入样品后测得的吸光值。

1.3 黑莓红色素清除羟自由基效果的测定

利用 Fenton 反应产生羟自由基, 采用 2-脱氧-D-核糖法^[3]测定黑莓红色素对羟自由基的清除效果。

在具塞试管中依次加入 50mmol/L、pH7.4 的 KH_2PO_4 -KOH 缓冲液 0.8mL, 一定浓度的样品溶液 0.2mL, 1.04mmol/L EDTA 0.2mL, 1mmol/L $FeCl_3$ 0.2mL, 12mmol/L H_2O_2 0.2mL, 60mmol/L 2-脱氧-D-核糖(2-DR) 0.2mL 和 2mmol/L 抗坏血酸 0.2mL, 然后将试管置于 37℃ 恒温水浴锅中保持 1h, 取出后迅速加入 2mL 25% HCl 和 2mL 1% TBA, 在 100℃ 沸水中加热 15min 后取出, 冷却。于 532nm 处测定吸光值, 按下式计算 $\cdot OH$ 清除率:

$$\text{清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

式中 A_0 为不加样品时吸光值, A_1 为加入样品后测得的吸光值, A_2 为试剂空白吸光值。

1.4 黑莓红色素清除 NO_2^{\cdot} 效果的测定

取一定浓度的样品溶液 2mL 于 25mL 比色管中, 加入 $5\mu g/mL$ 的 $NaNO_2$ 标准溶液 1mL, 在 37℃ 恒温水浴中反应 30min。取出后用重氮偶合比色法^[4]测定残留的 $NaNO_2$ 量, 并按以下公式计算 NO_2^{\cdot} 清除率:

收稿日期: 2003-09-25

作者简介: 焦中高(1972-), 男, 硕士, 助研, 现主要从事果蔬保鲜与加工研究。

$$\text{NO}_2^- \text{清除率} = \frac{\text{加入标准 NaNO}_2 \text{ 的量} - \text{NaNO}_2 \text{ 残留量}}{\text{加入标准 NaNO}_2 \text{ 的量}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 黑莓红色素对 O₂⁻· 的清除作用

采用光照核黄素法研究了黑莓红色素对超氧阴离子自由基的清除作用,结果见图 1。

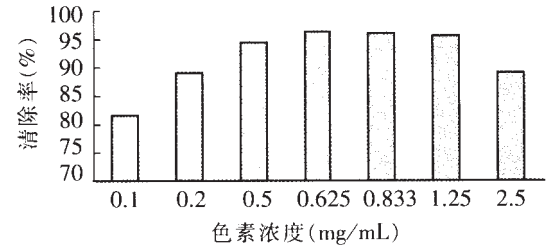


图 1 黑莓红色素对光照核黄素体系产生 O₂⁻· 的清除效果

由图 1 可以看出,不同浓度的黑莓红色素对光照核黄素体系产生的超氧阴离子自由基均具有显著的清除作用,且在一定范围(0.1~0.625mg/mL)内随浓度的增大而增强。0.1mg/mL 的黑莓红色素即可清除 81.71%的 O₂⁻·;而当浓度增大为 0.5mg/mL 时,清除率即可达到 94.32%;但当浓度进一步增大时,对 O₂⁻· 清除率却没有显著影响;当浓度过高时,甚至呈下降趋势,其原因有待于进一步研究。

2.2 黑莓红色素对羟自由基的清除作用

黑莓红色素对 Fenton 反应产生的·OH 的清除效果如图 2 所示。由图 2 可以看出,在试验浓度范围内,黑莓红色素对 Fenton 反应产生的羟自由基均具有很强的清除作用,且在一定浓度范围(0.1~1.25mg/mL)内随浓度的增大而增强。当黑莓红色素浓度为 1.25mg/mL 时,其对羟自由基的清除率达到最高,为 93.58%;但当浓度再继续增大时,清除率反而略有下降。

2.3 黑莓红色素对 NO₂⁻ 的清除作用

黑莓红色素对 NO₂⁻ 的清除作用结果见表 1。由表 1 可以看出,在低浓度条件下,黑莓红色素对 NO₂⁻ 的清除作用较弱,但随着浓度的增大,黑莓红色素对 NO₂⁻ 的清除作用也明显增强。在试验浓度范围内,其对 NO₂⁻ 的最大清除率为 98.94%。这说明黑莓红色素还是一种良好的 NO₂⁻ 清除剂。

2.4 黑莓红色素与维生素 C 对 O₂⁻·、·OH 及 NO₂⁻

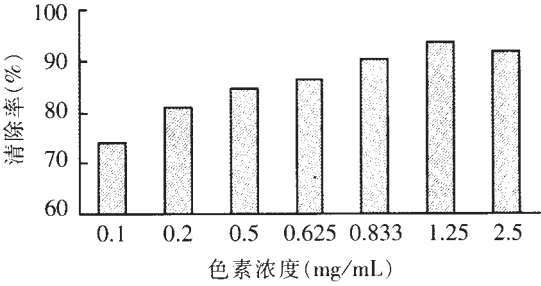


图 2 黑莓红色素对 Fenton 反应产生的·OH 的清除效果

清除作用的比较

对黑莓红色素与维生素 C 对·OH、O₂⁻· 及 NO₂⁻ 清除作用进行了比较,结果见表 2。

由表 2 可见,在相同浓度条件下,黑莓红色素对光照核黄素产生的 O₂⁻· 和 Fenton 反应产生的·OH 的清除效果明显优于维生素 C,表明黑莓红色素较维生素 C 具有更强的自由基清除活性,从而可能在疾病防治方面发挥更大的作用。

3 结论

通过体外试验研究表明,黑莓红色素对羟自由基和超氧阴离子自由基具有显著的清除效果,且明显优于维生素 C,说明黑莓红色素是一种良好的天然自由基清除剂,因此可以延缓人体衰老并防止疾病的发生,从而起到很好的保健作用。此外,黑莓红色素对亚硝基还具有很好的清除作用,从而可以阻碍亚硝胺的生成,减少由亚硝胺引起的癌变。因此,黑莓红色素是一种优良的功能性天然食用色素。但以上只是体外试验的研究结果,还需要进行体内试验研究来证实。

参考文献:

[1] 焦中高,刘杰超,王思新.黑莓红色素抗氧化活性的研究[J].食品科技,2003(8):63~65.
[2] 李春美,谢笔钧.茶多酚及其氧化产物清除不同体系产生的活性氧自由基的分光光度法研究[J].精细化工,2000,17(4):241~244.
[3] 戚向阳,王小红,容建华.不同苹果多酚提取物清除·OH 效果的研究[J].食品工业科技,2001,22(4):7~9.
[4] 刘福岭,戴行钧.食品物理与化学分析方法[M].北京:中国轻工业出版社,1987.177~183.

表 1 黑莓红色素对 NO₂⁻ 的清除效果

色素浓度(mg/mL)	0.10	0.20	0.50	1.00	1.50	2.00	2.50
加入 NaNO ₂ 量(μg)	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
残留 NaNO ₂ 量(μg)	4.46	3.65	2.57	1.66	0.50	0.26	0.05
NO ₂ ⁻ 清除率(%)	10.79	26.98	48.65	66.85	89.98	94.89	98.94

表 2 黑莓红色素与维生素 C 对·OH、O₂⁻· 及 NO₂⁻ 清除作用的比较

样品类别	样品浓度(mg/mL)	O ₂ ⁻ · 清除率(%)	·OH 清除率(%)	NO ₂ ⁻ 清除率(%)
黑莓红色素	0.20	89.21	80.74	26.98
维生素 C	0.20	68.21	75.12	71.19