

五种芽苗菜提取物抗氧化活性的比较

王元军

(山东济宁学院 生工系, 山东 济宁 273100)

摘 要:芽苗菜是普遍食用的保健型蔬菜,通过比较 5 种芽苗菜提取液对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)和羟基自由基($\cdot OH$)的清除率来研究 5 种芽苗菜的抗氧化活性。结果表明:5 种芽苗菜不同浓度和不同部位取材提取液对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)和羟基自由基($\cdot OH$)清除率比较结果一致,香椿芽>黑豆芽>萝卜苗>绿豆芽>豌豆苗;5 种芽苗菜叶对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)和羟基自由基($\cdot OH$)的清除率高于茎,但不同芽苗菜茎叶对自由基的清除率有差别;5 种芽苗菜叶绿素、VC、类黄酮 3 种活性物质含量不同反映了抗氧化物质和抗氧化机制不同;叶绿素是影响抗氧化活性的因素,但其作用有限。

关键词:香椿芽;黑豆芽;萝卜苗;绿豆芽;豌豆苗;抗氧化活性

中图分类号:TS202. 3 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2015. 02. 0260

Comparative Study on the Antioxidant Activity of Five Kinds of Sprouts

WANG Yuan-Jun

(Department of Life Science and Engineering of Jining University, Jining 273100, China)

Abstract: Sprouts were healthy and commonly consumed vegetables. The antioxidant activities of Chinese toona sprouts, black bean sprouts, pea shoot, mung bean sprouts and radish sprouts were compared by measuring the clearance rates of superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) and hydroxyl radical ($\cdot OH$) of the sample extracts. The results showed that for extractions from different parts and different concentrations of five kinds of sprouts comparison results of clearance rates of superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) and hydroxyl radical ($\cdot OH$) were consistent, and the antioxidant activities were in the order: Chinese toona sprouts, black bean sprouts, radish sprouts, mung bean sprouts, pea shoot. The leaves of sprouts had higher antioxidant ability than stems of sprouts, but for different sprouts clearance rates were different between leaves and stems. Also, active substances contents of chlorophyll, VC and flavonoids were different, which reflected different sprouts had different antioxidant components and antioxidant mechanisms. Chlorophyll was the influencing factor of antioxidant activity, but had limited role.

Keywords: Chinese toona sprouts; Black bean sprouts; Pea shoot; Mung bean sprouts; Radish sprouts; Antioxidant activity

芽苗菜是具有抗氧化作用的“活体蔬菜”,香椿芽、黑豆芽、绿豆芽、萝卜苗、豌豆苗是 5 种常见的芽苗菜。研究表明体芽菜香椿芽含有多酚类物质、黄酮、萜类、鞣质、甾体、生物碱等重要药用成分,多酚类化合物含有丰富的黄烷醇衍生物,分子结构中酚羟基是天然的抗氧化剂^[1-3];种芽菜黑豆芽、绿豆芽、萝卜苗、豌豆苗种子发芽过程中不仅胡萝卜素、维生素等营养素的成分明显增多,生物活性物质如类黄酮也增加,具有良好的抗氧化保健功效^[4]。尽管近年来许多学者对芽苗菜抗氧化性进行了研究,然而对于常见芽苗菜抗氧化活性系统比较研究还未见报道。此外,光照有利于抗氧化物质的形成,徐茂军^[6]研究认为异黄酮类物质在植物体中的主要功能是作为一种防御系统参与植物的防御反应,白光和蓝光有利于能促进发芽大豆中异黄酮含量增加。5 种芽苗菜中香椿芽、黑豆芽、萝卜苗、豌豆苗是一类生产过程中需要照光以形成富含叶绿素

的芽苗菜,绿豆芽生产及销售的过程中也会受光照的影响而形成叶绿素。然而,关于芽苗菜叶绿素含量与抗氧化性活性关系的研究也鲜有报道。本文从 5 种芽苗菜中提取抗氧化物质,比较其抗氧化活性,并结合对活性物质的分析,揭示芽苗菜抗氧化的作用机制,为芽苗菜食品的深入开发提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

超市购买新鲜香椿芽(体芽菜)、黑豆芽、豌豆芽(幼苗)、萝卜苗和绿豆芽。

邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、EDTA-2Na、盐酸(HCl)、乙醇、FeSO₄、H₂O₂、水杨酸等均为国产分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

UV754 紫外可见分光光度计;上海精密科学仪

器有限公司;FA 2004N 电子天平:上海精科;pH 计:汕头市粤新电子有限公司;数显恒温水浴锅。

1.3 试验方法

1.3.1 芽苗菜抗氧化物质提取 5 种新鲜芽苗菜样品去杂,清水漂洗并沥干水分,阴干;置于研钵中,加入 10 mL 60% 乙醇研磨,研磨液置于试管,60℃ 恒温水浴锅中浸提 4 h;取上清液,冷却至室温备用^[3]。

1.3.2 样品不同浓度及不同部位取材对自由基清除率的影响 分别称取 1,2,3,4 g 样品,2 g 叶(子叶或幼叶)和茎(胚轴或幼茎)样品,按照 1.3.1 提取抗氧化物质配制相应样品溶液,测定并计算清除率,分析比较 5 种芽苗菜不同样品浓度和不同部位取材抗氧化活性。

1.3.3 测定项目与方法 叶绿素含量测定采用 95% 乙醇浸提法^[7]。维生素 C 含量测定采用 2,6-二氯酚靛酚滴定法^[8]。类黄酮含量测定采用甲醇-盐酸浸提比色法,以波长 325 nm 处吸光度值表示含量相对大小^[8]。超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)清除活性测定采取邻苯三酚自氧化一分光光度法^[9]。羟基自由基($\cdot OH$)清除活性采用分光光度法测定 Fenton 反应产生的羟基自由基^[10]。

1.4 数据分析

超氧阴离子清除率计算公式:清除率(%) = $(\Delta A_0 - \Delta A_1) / \Delta A_0 \times 100$

式中对照溶液吸光度值随时间的变化率 ΔA_0 ,测定加样后自氧化速率 ΔA_1 ;

自由基清除率计算公式: $D = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100\%$

式中空白管的吸光度 A_0 ,加入样品提取液后的吸光度 A_s 。

采用 SPSS 19.0 进行数据的方差分析及 Duncan 多重比较。

2 结果与分析

2.1 5 种芽苗菜活性成分比较

由表 1 可看出,5 种芽苗菜均含有叶绿素,豌豆苗、香椿芽、萝卜苗,食用部分主要为子叶或者幼苗,叶绿素含量高;黑豆苗、绿豆芽食用部分主要为胚轴,叶绿素含量相对低。除绿豆芽和豌豆苗 VC 含量差异不显著外,其他芽苗菜间 VC 含量差异极显著;类黄酮含量上,5 种芽苗菜间差异极显著。可见,不同芽苗菜的抗氧化活性机理存在差异。

表 1 五种芽苗菜活性成分的测定结果(鲜重)

Table 1 Determination results of active ingredients in five sprouts (fresh weight)

样品 Sample	叶绿素 Chlorophyll	VC	类黄酮 Flavonoids
	/mg·g ⁻¹	/mg·100 g ⁻¹	OD _{325nm}
香椿芽 Chinese toona sprouts	0.82 bAB	62.42 aA	0.91 aA
黑豆芽 Black bean sprouts	0.67 cC	23.44 cC	0.56 cC
绿豆芽 Pea shoot	0.41 dD	14.69 dD	0.36 eE
豌豆苗 Mung bean sprouts	0.95 aA	15.77 dD	0.77 bB
萝卜苗 Radish sprouts	0.74 bcBC	32.05 bB	0.45 dD

同列数值后不同大小写字母分别代表在 0.01 和 0.05 水平差异显著,下同。
Values in the same column followed by different capital and lowercase letters are significant at 0.01 and 0.05 level, respectively. The same below.

2.2 超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)清除活性的比较

2.2.1 不同浓度芽苗菜提取液对超氧阴离子自由($O_2^{\cdot-}$)的清除率 由表 2 可知,5 种芽苗菜不同浓度下对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)清除效果呈现一致的规律,在 0.1~0.4 g·mL⁻¹ 浓度范围内均随样品浓度的增加而增强,0.4 g·mL⁻¹ 时增幅已经明显减少。另一方面,5 种芽苗菜清除效果差异极显著,以香椿芽的清除效果最好,香椿芽的叶绿素、VC 和类黄酮 3 种活性物质含量均较高(表 2),其较高的抗氧化活性可能是 3 种活性物质综合作用的结果。

4 种种芽菜中黑豆芽的清除效果最好,但其类黄酮、VC 和叶绿素含量在 5 种芽苗菜中并不特别突出,这表明黑豆芽可能还有另外的抗氧化物质,或者是 3 种抗氧化物质的协同作用的结果,这都值得进一步深入研究。再者,豌豆苗虽然类黄酮、叶绿素含量较高,但在 5 种芽苗菜中,清除效果却最差,而萝卜苗则由于其较高的 VC 含量,反而清除效果优于豌豆苗,这反映出 VC 可能是影响种苗菜抗氧化效果的重要因素,叶绿素是影响抗氧化活性的因素,但其作用有限。

表 2 不同浓度样品提取液的抗氧化效果

Table 2 Extracts antioxidation by different concentrations(O²⁻·)

样品 Sample	清除率 Clearance rates /%			
	0. 1/g·mL ⁻¹	0. 2/g·mL ⁻¹	0. 3/g·mL ⁻¹	0. 4/g·mL ⁻¹
香椿芽 Chinese toona sprouts	54. 25	56. 29	58. 65	58. 69 A
黑豆芽 Black bean sprouts	47. 45	47. 73	48. 02	48. 30 B
绿豆芽 Pea shoot	32. 15	34. 27	35. 41	35. 50 D
豌豆苗 Mung bean sprouts	24. 08	25. 07	27. 48	27. 48 E
萝卜苗 Radish sprouts	32. 57	39. 38	43. 48	43. 49 C

2.2.2 不同部位取材提取液对超氧阴离子自由基(O²⁻·)的清除率 5种芽苗菜主要食用部分是不同的,香椿芽、豌豆苗、萝卜苗主要是幼叶,黑豆芽、绿豆芽、则主要是胚轴,这是基于人们的食用习惯,从营养价值来看有的未必合理。由表3可知,首先5种芽苗菜之间比较,无论叶(子叶或幼叶)和茎(胚轴或幼茎)抗氧化的效果比较与前述一致。其次,从叶茎清除率比可看出,子叶或幼叶清除效果明显大于胚轴或幼茎。因此,从抗氧化而言,食用子叶或幼叶较之胚轴幼茎等更具价值。再者,同属于食用幼叶的香椿芽、豌豆苗对超氧阴离子自由基(O²⁻·)的清除作用差别明显,这可能与二者抗氧化物质不同有关。

表 3 样品不同部位提取液的抗氧化效果

Table 3 Extracts antioxidation by different parts(O²⁻·)

样品 Sample	清除率 Clearance rate/%		
	叶 Leaf(a)	茎 Stem(b)	叶茎比 a/b
香椿芽 Chinese toona sprouts	57. 13	50. 26	1. 14
黑豆芽 Black bean sprouts	48. 16	42. 92	1. 12
绿豆芽 Pea shoot	34. 41	31. 32	1. 10
豌豆苗 Mung bean sprouts	26. 32	24. 43	1. 08
萝卜苗 Radish sprouts	40. 23	37. 54	1. 07

2.3 羟基自由基(·OH)清除活性的比较

2.3.1 不同浓度芽苗菜提取液对羟基自由基(·OH)清除率 抗氧化物质的浓度是影响抗氧化效果的重要因素,如多酚类物质清除自由基的效果

表 4 不同浓度样品提取液的抗氧化效果

Table 4 Extracts antioxidation by different concentrations(·OH)

样品 Sample	清除率 Clearance rate/%			
	0. 1/g·mL ⁻¹	0. 2/g·mL ⁻¹	0. 3/g·mL ⁻¹	0. 4/g·mL ⁻¹
香椿芽 Chinese toona sprouts	62. 71	62. 80	62. 81 A	62. 80
黑豆芽 Black bean sprouts	48. 66	48. 93	48. 96 B	48. 95
绿豆芽 Pea shoot	35. 15	35. 37	35. 41 D	35. 38
豌豆苗 Mung bean sprouts	25. 06	25. 17	25. 18 E	25. 16
萝卜苗 Radish sprouts	40. 47	42. 53	44. 08 C	44. 07

就在一定程度上受其浓度的影响,而且在一定质量浓度范围内清除自由基的效果随样品质量浓度的增加而增强,但质量浓度过高,清除效果会呈下降趋势^[12]。由表4可看出,5种芽苗菜体现出与对超氧阴离子自由基(O²⁻·)一致的作用规律,香椿芽>黑豆芽>萝卜苗>绿豆芽>豌豆苗,但浓度0.4g·mL⁻¹时清除效果已经开始降低。这表明对羟基自由基(·OH)更强的敏感性,而且5种芽苗菜对羟基自由基(·OH)具有更高的清除率。这种差别的根本原因可能在于羟基自由基(·OH)和超氧自由基(O²⁻·)作为生物体内活性氧代谢产生的物质,其中(O²⁻·)经一系列反应最终会生成(·OH),而(·OH)是一种氧化性很强的自由基,可以引发不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,使糖类、蛋白质、核酸及脂类等发生氧化损伤。

2.3.2 芽苗菜不同部位提取液对羟基自由基(·OH)的清除率 从表5可看出,不同部位提取液对羟基自由基(·OH)的清除率与对超氧阴离子自由基(O²⁻·)的作用规律一致。然而,从叶茎清除率比则表现出明显的不同,结合表3和表5,香椿芽和黑豆芽叶具有更强清除超氧阴离子自由基(O²⁻·)的能力,绿豆芽和豌豆苗叶具有更强的对羟基自由基(·OH)的清除能力,萝卜苗茎在清除自由基上均比其余4种芽苗菜发挥更重要的作用,这可能与芽苗菜抗氧化物质的分布有关,也充分说明了不同芽苗菜在抗氧化的防御体系中采用不同的策略。

表 5 样品不同部位取材提取液抗氧化效果
Table 5 Extracts antioxidation by different parts (·OH)

样品 Sample	清除率 Clearance rate/%		叶茎比 a/b
	叶 Leaf(a)	茎 Stem(b)	
香椿芽 Chinese toona sprouts	63. 43	59. 62	1. 06
黑豆芽 Black bean sprouts	49. 12	45. 23	1. 09
绿豆芽 Pea shoot	36. 11	32. 52	1. 11
豌豆苗 Mung bean sprouts	27. 12	23. 33	1. 16
萝卜苗 Radish sprouts	43. 13	42. 12	1. 02

3 结论与讨论

芽苗菜作为一种“活体蔬菜”,重要的价值在于其良好的抗氧化保健功效,本文对 5 种绿色芽苗菜抗氧化功能进行比较评价,并没有发现叶绿素对于芽苗菜抗氧化效果的明显提升。其次,近些年来相继开展了较多关于植物抗氧化能力的研究以寻找较好的抗氧化剂,这些研究往往仅局限于某一个方面。然而,通过对 5 种芽苗菜活性成分和自由基清除能力的研究,发现芽苗菜抗氧化能力是多种活性物质综合作用的效果,如香椿芽优良的抗氧化能力就可能与其类黄酮、多酚、VC、叶绿素含量等综合作用有关,所以单纯某一方面研究并不能完全揭示抗氧化能力全貌,因而在食品开发中应注重全方位、综合利用的问题。还有,更为重要的本次研究中通过对不同部位、不同自由基抗氧化能力的分析充分说明,每种植物具有一套与之相应的、完整的、全方位、多层次的抗氧化防御体系,揭示其作用规律,是可以提高其抗氧化能力以获取优良抗氧化物质的前提,这方面深入的基础研究还有待加强。

参考文献

[1] 张仲平,孙英,牛超,等. 香椿多酚类化合物的提取、分离和薄层研究[J]. 中国野生植物资源,2002,21(4):52-53. (Zhang Z P,Sun Y, Niu C, et al. Extraction, isolation and TLC study of polyphenols from *Toona sinensis* [J]. Chinese Wild Plant Resources,2002,21(4):52-53.)

[2] 杜健,杨颖,赵明烨,等. 贮藏中香椿多酚抗氧化性的变化研究[J]. 北京林业大学学报,2011,33(2):120-125. (Du J,Yang Y,Zhao M Y,et al. Changes of antioxidant activity of phenolics in *Toona sinensis* during storage[J]. Journal of Beijing Forestry University,2011,33 (2):120-125.)

[3] 王昌禄,江慎华,陈志强. 香椿老叶中活性物质提取及其抗氧

化活性的研究[J]. 农业工程学报,2002,23 (10):229-234. (Wang C L, Jiang S H, Chen Z Q, et al. Extracting technology and antioxidant activity of bioactive components from the old leaves of *Toona sinensis* [J]. Transactions of the CSAE, 2007,23 (10): 229-234.)

[4] 来吉祥,魏少敏,方云,等. 黑豆萌发后主要成分变化及其生物活性研究进展[J]. 大豆科学,2013,32(6):840-844. (Lai J X,Wei S M,Fang Y,et al. Research advances on variation of main compositions and its biological activities of black soybean after germination[J]. Soybean Science,2013,32(6):840-844.)

[5] 黄六容,蔡梅红,仲元华,等. 发芽温度对绿豆芽抗氧化成分和抗氧化能力的影响[J]. 安徽农业大学学报,2011,38 (1): 31-34. (Huang L R,Cai M H,Zhong Y H,et al. Effects of germination temperature on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of mung bean sprouts [J]. Journal of Anhui Agricultural University,2011,38(1):31-34.)

[6] 徐茂军. 不同品种发芽大豆中异黄酮含量变化的比较研究 [J]. 营养学报,2002,24 (4):444-446. (Xu M J. Comparative studies on the content of isoflavone of different soybean cultivar sprouts[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2002, 24(4):444-446.)

[7] 王元军. 黑豆芽苗菜叶绿素的提取方法[J]. 食品研究与开发,2010,31 (2): 27-29. (Wang Y J. Research on extraction methods of chlorophyll from black bean sprout[J]. Food Research and Development,2010,31(2):27-29.)

[8] 曹建康,姜微波,赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007. (Cao J K, Jiang W B, Zhao Y M. Physiological and biochemical experiment guidance to postharvest fruits and vegetables [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007.)

[9] 许申鸿,杭璐,李运平. 超氧化物歧化酶邻苯三酚测活法的研究及改进[J]. 化学通报,2001, (8):516-519. (XU S H, Hang H,Li Y P. Study and improvement on the pyrogallol autoxidation assay method for SOD activity[J]. Assay Chemistry,2001, (8): 516-519.)

[10] 颜军,苟小军,邹全付,等. 分光光度法测定 Fenton 反应产生的羟基自由基[J]. 成都大学学报(自然科学版),2009,28 (2):91-93 (Yan J,Gou X J,Zou Q F,et al. Determination of hydroxyl radical generating from fenton reaction by spectrophotometry [J]. Journal of Chengdu University (Natural Science), 2009,28 (2):91-93.)

[11] 郭婕,张杰. 黄豆、黑豆、黄豆芽总黄酮含量及抗氧化活性 [J]. 周口师范学院学报,2009(5):83-85. (Guo J, Zhang J. The total flavones content and the antioxidant activity of soybean, black bean and soybean sprout[J]. Journal of Zhoukou Normal University,2009(5):83-85.)

[12] Kulkarni A P,Aradhya S M,Divakar S. Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant-punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit[J]. Food Chemistry,2004, 87(4):551-557.