

陈文娟,陈丽娇,曾稍俏. 大黄鱼鱼卵磷脂的自由基清除及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2014,42(1):247-250.

大黄鱼鱼卵磷脂的自由基清除及抗氧化活性

陈文娟^{1,2}, 陈丽娇², 曾稍俏^{1,2}

(1. 漳州城市职业学院生物与环境工程系, 福建漳州 363000; 2. 福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350002)

摘要:研究了大黄鱼鱼卵磷脂的清除羟基自由基、超氧阴离子自由基、DPPH·自由基的能力和对油脂的抗氧化能力,并与合成抗氧化剂维生素 C 进行了比较。结果表明,在试验浓度范围内,大黄鱼鱼卵磷脂对羟基自由基的清除效果明显,与维生素 C 接近,清除超氧阴离子自由基和 DPPH·自由基的能力比维生素 C 弱。大黄鱼鱼卵磷脂对菜籽油、芝麻油、大豆油和猪油均有良好的抗氧化作用,当添加量达到 0.1% 时,其抗氧化效果与 0.02% 的 TBHQ 相近。维生素 C 对大黄鱼鱼卵磷脂在菜籽油、芝麻油、大豆油和猪油中均具有协同增效作用,能增强其抗氧化效果。柠檬酸和酒石酸与大黄鱼鱼卵磷脂复配对猪油具有较好的抗氧化协同增效作用,但会削弱其对菜籽油、芝麻油、大豆油的抗氧化效果。

关键词:大黄鱼;鱼卵;磷脂;自由基清除;抗氧化活性

中图分类号: TS254.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)01-0247-03

人体内自由基产生过多或清除自由基能力下降时,会导致各种病变,因此寻求人体易于吸收的、能清除体内过量自由基的外源天然抗氧化剂具有重要的生理意义^[1]。油脂氧化是食品工业中经常遇到、并严重影响食品品质的主要问题之一,因此需要加入抗氧化剂来延缓油脂自动氧化及光氧化反应^[2]。然而传统化学合成的抗氧化剂由于其安全性问题在使用上越来越受到限制,因此开发安全、高效的抗氧化剂成为研究热点。本研究测定大黄鱼鱼卵磷脂清除羟基自由基、超氧阴离子自由基、DPPH·自由基和体外抗氧化活性及抗油脂氧化的能力,为大黄鱼鱼卵磷脂新型功能食品的开发和进一步综合利用提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

UV-2000 型紫外可见分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司],HH-4 型数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司),电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司),DHG-9203A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏试验设备有限公司),TDL-5 大容量低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

大黄鱼鱼卵磷脂,按文献[3]优化后的最佳工艺提取磷脂;羟基自由基测定试剂盒,抗超氧阴离子自由基与产生超氧阴离子自由基试剂盒(南京建成生物工程研究所);1,1-二苯基-2-苦苯肼自由基(DPPH·)(美国 Sigma 公司);叔丁基对苯二酚(TBHQ)(东莞市广益食品添加剂实业有限公司);

猪油,市购猪板油,湿法熬制,双层纱布过滤后,冷却密封放入 4℃ 冰箱保存;菜籽油、芝麻油、大豆油,购自福州永辉超市;其他常见试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 半数清除率 IC_{50} IC_{50} 是表示当样品对自由基的清除率达到 50% 时的浓度。

1.2.2 自由基清除能力测定 磷脂的自由基清除能力^[4-5]主要考察羟基自由基清除、超氧阴离子自由基清除、DPPH·自由基清除 3 个方面。

1.2.3 不同油脂的抗氧化作用 称取 50 g 油脂 6 份置于烧杯中,1 份为空白对照,4 份分别按油脂质量的 0.05%、0.1%、0.2%、0.5% 添加鱼卵磷脂,另一份按油脂质量的 0.02% 添加 TBHQ 为对照,置于烘箱中强化保存,定时取样测定油脂的过氧化值,每个数值测定 3 次取平均值。

1.2.4 不同增效剂复配对油脂的抗氧化协同作用 以维生素 C、柠檬酸、酒石酸为增效剂,与鱼卵磷脂按一定比例加入油脂中,按“1.2.3”节方法进行观察、测定。

2 结果与讨论

2.1 大黄鱼鱼卵磷脂对羟基自由基的清除作用

羟基自由基($OH\cdot$)是已知的最强的氧化剂,反应性极强,寿命极短,几乎可以和所有细胞成分发生反应,对人体危害极大^[6]。因此羟基自由基清除率是反映物质抗氧化能力的重要指标。采用试剂盒测定鱼卵磷脂与维生素 C 清除羟基自由基的能力,结果见图 1。从图 1 中可以看出,在 0.05~0.5 mg/mL 的浓度范围内,磷脂清除 $OH\cdot$ 的能力随着浓度的增加而增强。磷脂、维生素 C 的 IC_{50} 分别为 0.23、0.16 mg/mL,说明鱼卵磷脂对羟基自由基表现出较强的清除作用,与维生素 C 接近。

2.2 大黄鱼鱼卵磷脂对超氧阴离子自由基的清除作用

超氧阴离子自由基($O_2^-\cdot$)是人体正常代谢和病理条件下由氧衍生出来的第 1 个氧自由基,超氧阴离子自由基氧化性较弱,但它会分解为氧化性很强的单线态氧自由基或者羟

收稿日期:2013-05-26

基金项目:福建省教育厅 A 类科技项目(编号:JA12447)。

作者简介:陈文娟(1984—),女,福建漳州人,硕士,助教,从事食品科学与工程的教学及科研工作。E-mail: chenwenjuan8491@126.com。

通信作者:陈丽娇(1962—),教授,硕士生导师,主要研究方向为水产品资源综合利用。Tel: (0591) 83754682; E-mail: chenlijiao606@126.com。

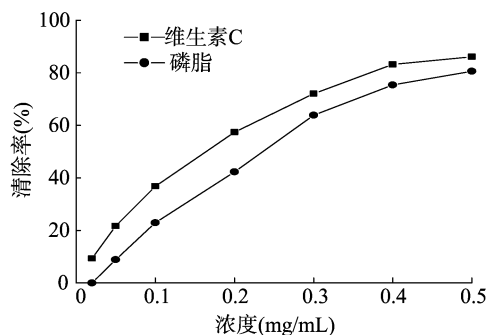
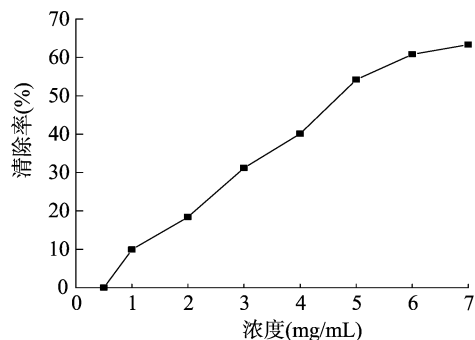
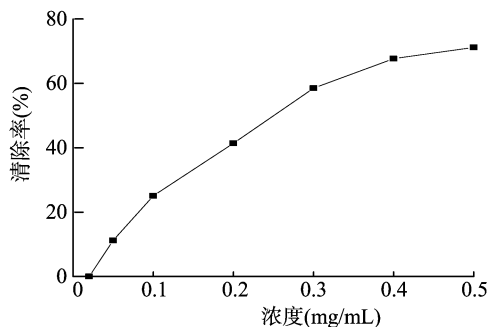


图1 磷脂和维生素C对OH·的清除能力

自由基,单线态氧和羟自由基能使DNA股链断裂,对机体造成极大的伤害^[7]。磷脂与维生素C对 $O_2^{\cdot-}$ 清除作用的试验结果如图2、图3所示。从图2中可以看出,在1~7 mg/mL的浓度范围内,随着磷脂浓度的增加,其清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力逐渐增强。从图3中可以看出,维生素C的 IC_{50} 为0.24 mg/mL,磷脂的 IC_{50} 为4.7 mg/mL,是维生素C的20倍,说明与维生素C相比,鱼卵磷脂清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力较差。

图2 磷脂对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除能力图3 维生素C对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除能力

2.3 大黄鱼鱼卵磷脂对DPPH·自由基的清除作用

DPPH·(1,1-二苯基-2-苦苯肼自由基)是一种很稳定的以氮为中心的自由基,呈紫色,在517 nm处有强吸收峰,是评价抗氧化物清除自由基能力的常用自由基。如果样品能清除它,则说明样品具有降低羟自由基、过氧自由基或烷自由基的有效浓度和切断脂质过氧化链反应的作用^[8]。DPPH·有个单电子,当存在自由基清除剂时,DPPH·会和清除剂提供的质子结合形成DPPH·-H,使溶液颜色由紫色变为黄色,在最大吸收波长处的吸光度变小^[9],进而可计算出其清除率。图4是磷脂和维生素C对DPPH·的清除作用的结果,可以看出,在2.5~20 μ g/mL的浓度范围内,随着磷脂浓

度的增加,清除DPPH·自由基能力在增强。维生素C的 IC_{50} 为7.6 μ g/mL,磷脂在此浓度范围内未达到 IC_{50} 值。20 μ g/mL的磷脂对DPPH·的清除率仅为47.8%,说明磷脂对DPPH·有一定的清除作用,但与维生素C相比较弱。

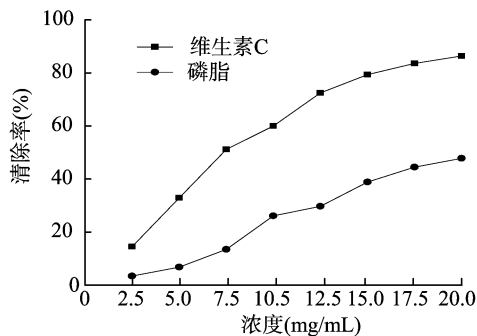


图4 磷脂和维生素C对DPPH·的清除能力

2.4 大黄鱼鱼卵磷脂对不同油脂的抗氧化作用

不同添加量的磷脂和TBHQ对不同油脂的抗氧化作用如图5至图8所示。结果显示,随着强行氧化时间的延长,各种油脂的过氧化值(POV)均呈增大趋势。与空白样品对比,磷脂对菜籽油、芝麻油、大豆油、猪油均有较好的抗氧化作用,并且随着磷脂添加量的增大,其抗氧化作用越明显。磷脂添加量为0.1%时,对油脂的抗氧化作用与添加0.02% TBHQ的抗氧化作用相近。当磷脂添加量增大到0.5%时,对4种油脂的抗氧化作用均优于0.02% TBHQ,但是当磷脂的添加量由0.1%增大到0.5%,对油脂的抗氧化能力增加幅度不明显,因此在生产中添加0.1%磷脂就能够达到良好的抗氧化效果。

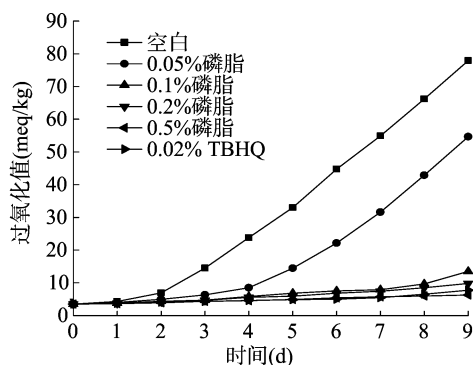


图5 磷脂对菜籽油的抗氧化能力

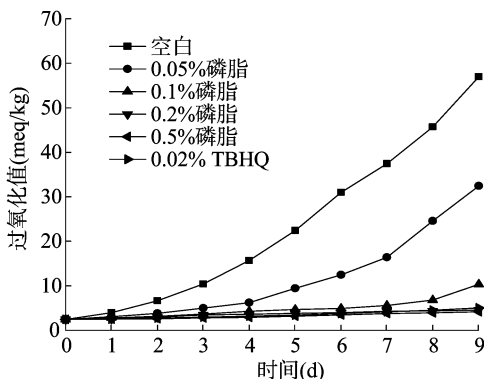


图6 磷脂对芝麻油的抗氧化能力

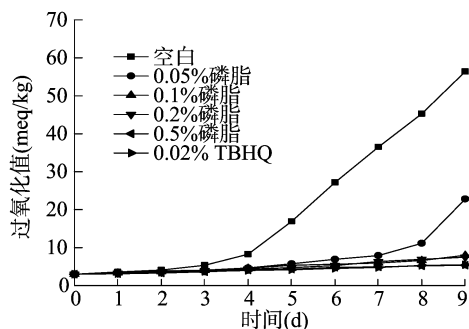


图7 磷脂对大豆油的抗氧化作用

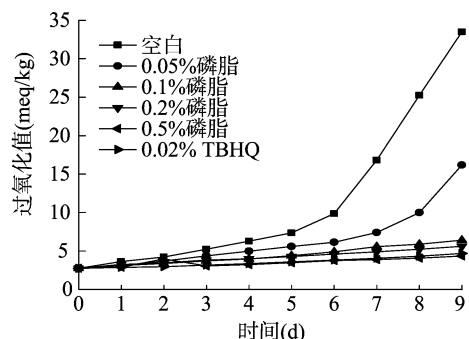


图8 磷脂对猪油的抗氧化作用

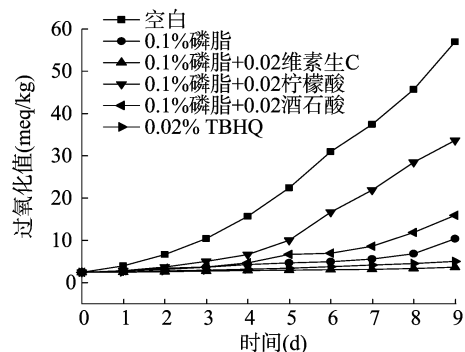


图10 增效剂与磷脂复配对芝麻油的抗氧化作用

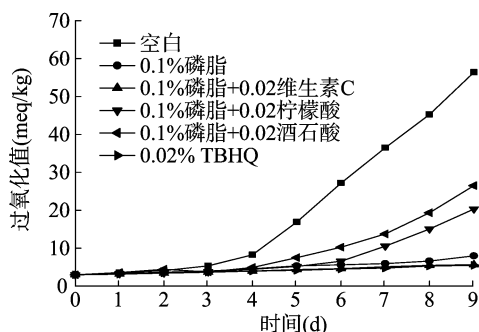


图11 增效剂与磷脂复配对大豆油的抗氧化作用

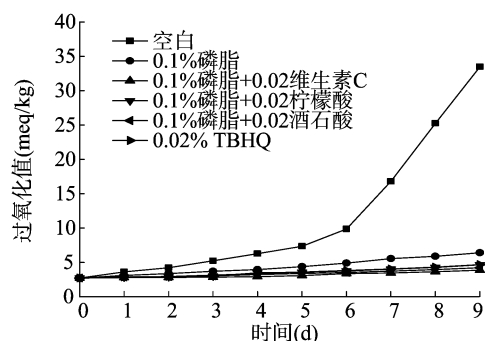


图12 增效剂与磷脂复配对猪油的抗氧化作用

2.5 大黄鱼鱼卵磷脂与增效剂复配对不同油脂的抗氧化作用

有机酸与抗氧化剂协同使用可增强其抗氧化效果^[10],为此考察了维生素 C、柠檬酸、酒石酸对鱼卵磷脂的抗氧化协同效果。从图 9 至图 12 可以看出,0.02% 维生素 C、柠檬酸、酒石酸与磷脂复配对猪油具有较好的抗氧化协同增效作用,这是因为有机酸对猪油中的某些金属离子如 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 等具有螯合作用,形成金属盐,钝化能促使油脂氧化的微量金属离子,使其不再具有催化油脂氧化的能力,从而增强了磷脂的抗氧化效果。但是在菜籽油、芝麻油和大豆油中,维生素 C 与磷脂复配能增强磷脂的抗氧化效果,而柠檬酸和酒石酸与磷脂复配反而减弱了磷脂的抗氧化效果,是因为柠檬酸和酒石酸与磷脂反应,削弱了磷脂的抗氧化效果。

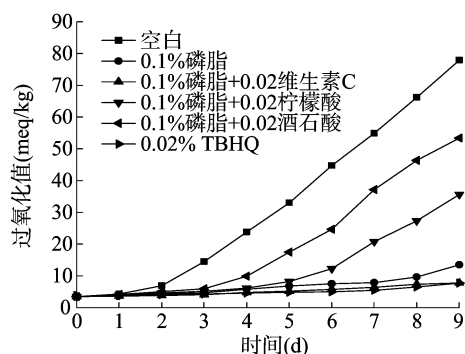


图9 增效剂与磷脂复配对菜籽油的抗氧化作用

3 总结

在试验浓度范围内,大黄鱼鱼卵磷脂对羟自由基的清除效果明显,与维生素 C 接近,清除超氧阴离子自由基和 $\text{DPPH} \cdot$ 自由基的能力比维生素 C 弱。大黄鱼鱼卵磷脂对菜

籽油、芝麻油、大豆油和猪油均有良好的抗氧化作用,当添加量达到 0.1% 时,其抗氧化效果与 0.02% 的 TBHQ 相近。维生素 C 对大黄鱼鱼卵磷脂在菜籽油、芝麻油、大豆油和猪油中均具有协同增效作用,能增强其抗氧化效果。柠檬酸和酒石酸与大黄鱼鱼卵磷脂复配对猪油具有较好的抗氧化协同增效作用,但会削弱其对菜籽油、芝麻油、大豆油的抗氧化效果。试验表明大黄鱼鱼卵磷脂具有较强的抗氧化活性,可作为一种天然的抗氧化剂用于食品工业中,且可以避免合成抗氧化剂给人们带来的毒副作用。因此,大黄鱼鱼卵磷脂是一种多功能的、具有极大研究价值和开发潜力的海洋生物磷脂。

参考文献:

- [1] Vladimiro C, Thaddao W, Maria T, et al. Antioxidant and prooxidant activity behavior of phospholipids in stripped soybean oil - in - water emulsions[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2011, 88(9): 1409 - 1416.
- [2] 崔永明, 余龙江, 敖明章, 等. 甘草总黄酮对油脂抗氧化作用研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 119 - 121.

刘海青,刘富平,胡文婷. 壮实鹿角珊瑚生物碱的体外抗菌活性[J]. 江苏农业科学,2014,42(1):250-251.

壮实鹿角珊瑚生物碱的体外抗菌活性

刘海青^{1,2}, 刘富平¹, 胡文婷^{1,2}

(1. 海南大学海洋学院热带生物资源教育部重点实验室, 海南海口 570228; 2. 海南大学海洋学院海洋生物实验教学中心, 海南海口 570228)

摘要:为获得低毒廉价新型鱼药,采用牛津杯法和试管二倍稀释法分别测定壮实鹿角珊瑚生物碱对溶珊瑚弧菌、塔氏弧菌、鲨鱼弧菌的敏感性、最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC),并与对照环丙沙星进行比较。结果表明,壮实鹿角珊瑚生物碱对3种弧菌的体外抗菌活性与环丙沙星相近。

关键词:壮实鹿角珊瑚;生物碱;病原性海洋弧菌;体外抗菌活性

中图分类号: S482.2⁺92 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)01-0250-02

病原性海洋弧菌是一群在海洋环境中最常见的条件致病菌。霍乱弧菌和副溶血弧菌是引起人类细菌性食物中毒的首要食源性致病菌^[1],大部分鱼类易患的弧菌病一般由溶藻弧菌所引起^[2],溶珊瑚弧菌则会导致杂色鲍幼苗急性死亡脱落症大规模暴发,其毒性比溶藻弧菌更强^[3]。为了预防水产动物疾病,大量抗生素类药物被用作水产药物,但长期过度使用又使得菌株的耐药性和抗生素残留问题日益突出。来源于自然界的生物碱类化合物资源丰富、抗菌谱广,对包括耐药菌在内的菌株抗菌效果良好。经研究发现,珊瑚所处环境虽艰难恶劣却极少被鱼类或其他生物捕食,而且能够排斥海藻生长,防止其他生物栖息,具有自身产生的各种次生代谢产物构建的防御体系^[4]。所以,本研究以海南岛蜈支洲海域壮实鹿角珊瑚为试验材料,提取生物碱及其他含氮杂环,以对水产品危害较大的致病弧菌为受试菌种进行抗菌活性筛选,希望获得低毒廉价的抗菌活性良好的化合物,应用于弧菌病害的防治。

1 材料与方法

收稿日期:2013-05-30

基金项目:长江学者和创新团队发展计划(编号:IRT1123);海南省教育厅高等学校科学研究资助(编号:Hkj);海南大学青年基金(编号:qnjj1151)。

作者简介:刘海青(1971—),女,山西大同人,硕士研究生,副教授,从事天然产物活性研究。Tel:(0898)66289567;E-mail:892035892@qq.com。

通信作者:刘富平(1974—),男,山西榆次人,博士,副教授,从事微生物制药研究。Tel:(0898)66289567;E-mail:892035892@qq.com。

1.1 受试菌种

溶珊瑚弧菌(*Vibrio coralliilyticus*)、塔氏弧菌(*Vibrio tubiashii*)、鲨鱼弧菌(*Vibrio carchariae*)由中国水产科学研究院南海水产研究所提供。壮实鹿角珊瑚(*Acropora robusta*)采自海南岛蜈支洲海域。

1.2 培养基的制备

液体培养基:蛋白胨5g、酵母浸出膏1g、磷酸铁0.01g、过滤陈海水1000mL,pH值为7.6~7.8,121℃高压蒸汽灭菌20min备用。

固体培养基:蛋白胨5g、酵母浸出膏1g、磷酸铁0.01g、琼脂粉18g、过滤陈海水1000mL,pH值为7.6~7.8,121℃高压蒸汽灭菌20min,置4℃冰箱保存备用。

1.3 药液的制备

1.3.1 体外抑菌试验药液的配制 准确称取适量的药品,用无菌蒸馏水分别配制成浓度为500、1000μg/mL的药液各100mL,经0.22μm的微孔滤膜过滤除菌后分装,使用前配制。

1.3.2 抗生素后效应(PAE)药液的配制 用上述方法配制100、200、400倍的MIC(最小抑菌浓度)的各种药液,121℃高压蒸汽灭菌20min,-20℃贮存备用,临用前稀释到所需要的倍数。

1.4 鹿角珊瑚生物碱的提取

称取湿重壮实鹿角珊瑚4kg的样品,粉碎,分为4份,每份1kg,分别加入珊瑚样品10倍量的1% HCl、30%乙醇、70%乙醇、90%乙醇,回流提取1h。记录每份提取液的体积,采用HPLC法测定珊瑚生物碱含量,以珊瑚生物碱含量作为考察指标,结果表明,以70%乙醇提取的珊瑚生物碱含量较

[3] 陈文娟,陈丽娇. 大黄鱼鱼卵磷脂提取及磷脂成分分析[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2012,41(4):498-502.

[4] 夏树林,潘燕龙. 姜油树脂的超声提取及其抗氧化性的研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(3):235-237.

[5] 朱沛沛,李嘉乐,曾懿,等. 菜籽饼粕多酚的提取及其清除羟自由基活性研究[J]. 粮油食品科技,2013,21(1):23-26.

[6] Halliwell B, Gutteridge J M. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease[J]. Journal of Biochemistry, 1984, 219(1): 1-14.

[7] Benavente-Garia O, Castillo J, Marin F R, et al. Use and properties

of citrus flavonoids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(12):4505-4515.

[8] 张丽霞,周剑忠,顾振新,等. 黑莓花色苷的分离纯化与抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学,2012,40(8):244-247.

[9] Yokozawa T, Dong E, Natsagawa T, et al. In vitro and in vivo studies on the radical-scavenging activity of tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(6):2143-2150.

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