

张晓文,郑思琪. 商洛蕨菜总黄酮体外抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(13):225-228.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.13.046

# 商洛蕨菜总黄酮体外抗氧化活性研究

张晓文,郑思琪

(商洛学院,陕西商洛 726000)

**摘要:**以 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)为阳性对照,利用紫外-可见分光光度计测定不同浓度梯度的蕨菜总黄酮样品溶液来探究其对 1,1-二苯基-2-苦肟基(DPPH)、羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )、超氧阴离子( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )的清除能力以及总还原力,探究商洛野生蕨菜总黄酮的抗氧化活性。当样品溶液浓度达到 4.0 mg/mL 时,对 DPPH 自由基、羟基自由基、超氧阴离子的清除率分别达到 55.34%、71.30%、81.00%,总还原力的吸光度为 0.735。试验结果表明,商洛野生蕨菜总黄酮具有较强的体外抗氧化活性,其抗氧化活性的强弱与其质量浓度呈正相关关系,在试验浓度范围内,总黄酮的抗氧化活性低于 BHT。

**关键词:**蕨菜;总黄酮;抗氧化活性;自由基

**中图分类号:** S647.01;TQ914.1;R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)13-0225-03

蕨菜属凤尾蕨科蕨属多年生草本植物,别称如意菜、龙头菜、拳头菜、商芝等,在我国各地都有分布。蕨菜味道甘甜、性味寒凉,具有清热、滑肠、降气、祛风、化痰的功效,以治疗食隔、气隔、肠风热毒等症为主,对于女子红崩白带、男子咳嗽、泄痢腹痛、发热不退、湿疹等方面有很好的疗效<sup>[1]</sup>。蕨菜含有多种人体所需的营养成分,例如脂肪、多糖、黄酮、蛋白质、碳水化合物和 Ca、Fe、Zn 等微量元素<sup>[2]</sup>,尤其是所含有的多糖、黄酮,有很强的抗氧化活性,药用价值较高。蕨菜含有的黄酮最主要的药理作用是降血脂、抗氧化、清除自由基以及抗衰老,除此之外,还具有降血压、抗突变、保护肝脏、抗动脉粥样硬化、免疫调节、抗血栓、关节疼痛、脱肛、痢疾以及预防麻疹、流感等作用,近年来还发现蕨菜黄酮具有一定的抗宫颈癌和肝癌肿瘤作用<sup>[3]</sup>。

陕西省商洛市自古以来就有采食蕨菜的饮食文化<sup>[4]</sup>,传说“商山四皓”因采食蕨菜而长寿。近年来商芝更是作为名菜销往东南亚、日本以及韩国等地。正是由于商洛地区蕨菜资源丰富,具有良好的发展前景和药用及食用价值,所以主要针对该地区蕨菜的抗氧化活性研究,以期为该地蕨菜资源的进

一步综合利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜商洛蕨菜购于商洛市集,并经李筱玲药师鉴定为凤尾蕨科蕨属,除掉杂质淋洗,置 60℃ 烘箱中干燥,粉碎,过 40 目筛,贮干燥器中备用。

试剂:无水乙醇(EtOH)、乙二胺四乙酸(EDTA)、磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )、磷酸氢二钾( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )、磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )、盐酸(HCl)、碳酸氢钠( $\text{NaHCO}_3$ )、氢氧化钠(NaOH)、亚硝酸钠( $\text{NaNO}_2$ )、硝酸铝 $[\text{Al}(\text{NO}_3)_3]$ 、三氯化铁( $\text{FeCl}_3$ )、双氧水( $\text{H}_2\text{O}_2$ )、铁氰化钾 $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 、三氯乙酸(TCA)、氮蓝四唑(NBT)、1,1-二苯基-2-苦肟基(DPPH)、还原型辅酶(NADH)、吩嗪甲硫酸盐(PMS)、二丁基羟基甲苯(BHT)。试剂均为分析纯,试验用水为蒸馏水。

### 1.2 主要试验仪器与设备

HYP-150 型粉碎机;SPX-250C 型恒温恒湿培养箱;超声波提取器;RE-210D 型旋转蒸发仪;755B 型紫外可见分光光度计;电热恒温水浴锅;超速离心机。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 蕨菜总黄酮的提取** 准确称取蕨菜粉末 20 g,置于小烧杯中,加入 120 mL 70% 乙醇,温度为 60℃,超声提取 3 次,每次 30 min<sup>[5]</sup>,滤去残渣,加入活性炭进行脱色处理,按体积比为 1:1 加入石油

收稿日期:2019-08-14

基金项目:陕西省教育厅专项(编号:18JK0246);商洛学院横向科研项目(编号:19HKY003);陕西省大学生创新创业项目(编号:S201911396025)。

作者简介:张晓文(1980—),女,陕西商洛人,硕士,副教授,主要从事中药学研究。E-mail:510080487@qq.com。

醚脱脂,弃去石油醚层,减压浓缩至一定体积,干燥,得到蕨菜总黄酮。

**1.3.2 DPPH 自由基清除能力测定** 分别取 1 mL 不同质量浓度的蕨菜总黄酮样品(1.2、1.6、2.0、2.4、2.8、3.2、3.6、4.0 mg/mL)放于标记好的试管中,然后依次加入 3 mL 0.004% DPPH 乙醇溶液,充分混匀,避光静置 20 min 后<sup>[6-7]</sup>,以乙醇作空白对照,在 517 nm 波长处测吸光度( $D_1$ ),以蒸馏水代替样品液作阴性对照( $D_2$ ),BHT 作阳性对照。

$$\text{清除率} = (1 - D_1/D_2) \times 100\%$$

**1.3.3 羟自由基清除能力测定** 利用 Fenton 体系法<sup>[8-10]</sup>测定,羟自由基在波长 510 nm 处有最大吸收峰,如果在反应体系中加入有清除·OH 能力的物质,与水杨酸竞争·OH,使有色物质生成量减少。在 510 nm 波长处测定吸光度。分别取 1 mL 不同质量浓度样品(1.2、1.6、2.0、2.4、2.8、3.2、3.6、4.0 mg/mL)放于标记好的试管中,先后加入 1.50 mL 反应液(含 0.1 mmol/L EDTA、0.1 mmol/L  $\text{FeCl}_3$  和 2.8 mmol/L 磷酸盐缓冲液,pH 值为 7.4)、0.35 mL 20 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,加入 2.00 mL 6 mmol/L 水杨酸,37 °C 恒温水浴作用 40 min 后,终止反应,于 532 nm 波长处测定吸光度( $D_3$ ),以蒸馏水为阴性对照( $D_4$ ),BHT 作为阳性对照。

$$\text{清除率} = (1 - D_3/D_4) \times 100\%$$

**1.3.4 总还原力测定法** 分别取 1 mL 不同质量浓度样品(1.2、1.6、2.0、2.4、2.8、3.2、3.6、4.0 mg/mL)放于标记好的试管中,依次加入 2.5 mL PBS(pH 值为 6.6)、2.5 mL 1%  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ,混匀后于 50 °C 水浴中孵育 20 min,再加 2.5 mL 10% TCA 终止反应,离心 5 min,取上清 2.5 mL,依次加入 2.5 mL 无水乙醇和 0.5 mL 0.1%  $\text{FeCl}_3$ <sup>[6-7,11]</sup>,混匀后于 700 nm 波长处测定吸光度,以蒸馏水为阴性对照,BHT 为阳性对照。

**1.3.5 超氧阴离子清除能力测定法** 分别取 1 mL 不同质量浓度样品(1.2、1.6、2.0、2.4、2.8、3.2、3.6、4.0 mg/mL)放于标记好的试管中,依次加入 2 mL 0.078 mol/L NBT、2 mL 0.468 mmol/L NADH,最后加入 0.8 mL 0.060 mol/L PMS 溶液,室温摇匀后,静置 10 min,离心 5 min<sup>[6-7,12]</sup>,于 560 nm 波长处测定吸光度( $D_5$ ),调零孔用不同质量浓度样品液 2 mL、0.8 mL 蒸馏水代替 PMS 溶液调零,用蒸馏水作阴性对照( $D_6$ ),BHT 作阳性对照。

$$\text{清除率} = (1 - D_5/D_6) \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 蕨菜总黄酮对 DPPH 自由基的清除作用

由图 1 可知,在一定浓度梯度范围内,蕨菜总黄酮和 BHT 对 DPPH 自由基的清除率都呈上升趋势。在 1.2~4.0 mg/mL 的浓度范围内,蕨菜总黄酮对 DPPH 的清除能力弱于 BHT,当浓度低于 2.8 mg/mL 时,蕨菜总黄酮对 DPPH 的清除能力迅速增加,但随着浓度的递增,BHT 对 DPPH 的清除能力无明显变化。当蕨菜总黄酮质量浓度为 4.0 mg/mL 时,清除率为 55.34%。

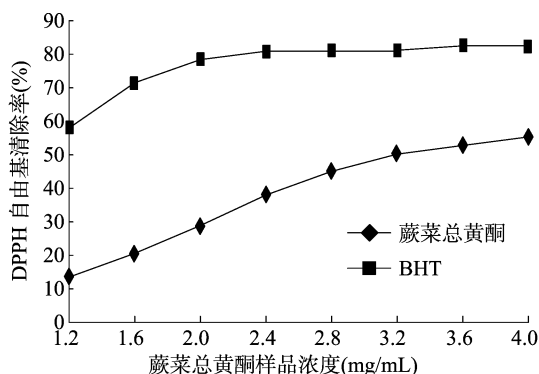


图1 蕨菜总黄酮对 DPPH 自由基的清除率

### 2.2 蕨菜总黄酮对羟基自由基的清除能力

由图 2 可知,蕨菜总黄酮与 BHT 相比,在试验测试的质量浓度范围内,其对羟基自由基的清除能力比 BHT 弱,可是蕨菜总黄酮对羟基自由基清除能力的增幅却大于 BHT。随着蕨菜总黄酮浓度的增加,其清除率也同时增强,当蕨菜总黄酮质量浓度为 4.0 mg/mL 时,清除率为 71.30%,表明蕨菜总黄酮对羟基自由基具有较好的清除能力。

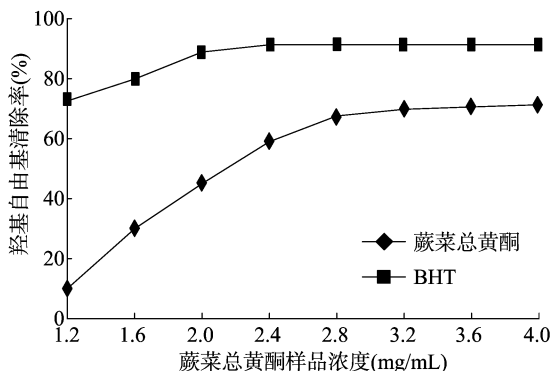


图2 蕨菜总黄酮对羟基自由基的清除率

### 2.3 蕨菜总黄酮总还原力的测定

由图 3 可知,BHT 的还原能力比蕨菜总黄酮的总还原力高。当蕨菜总黄酮质量浓度达到

4.0 mg/mL 时,吸光度为 0.735,这说明在试验测试的质量浓度范围内,蕨菜总黄酮具有较好的还原能力。

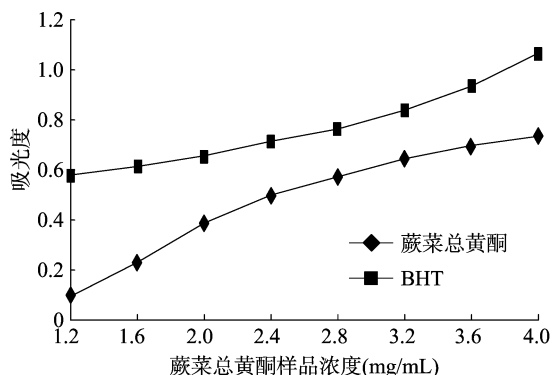


图3 蕨菜总黄酮的总还原力

#### 2.4 蕨菜总黄酮对超氧阴离子的清除能力

由图 4 可知,蕨菜总黄酮对超氧阴离子的清除作用与其浓度呈正相关关系,在同一质量浓度下,蕨菜总黄酮对超氧阴离子的清除率低于 BHT,在低浓度时,二者清除能力都迅速增加,达到 2.0 mg/mL 以后,BHT 的超氧阴离子清除能力趋于平稳,而蕨菜总黄酮的清除能力仍在增加,在 4.0 mg/mL 以后,清除力不再增加。这说明在蕨菜总黄酮试验浓度范围内,蕨菜总黄酮具有较强的清除超氧阴离子的作用。

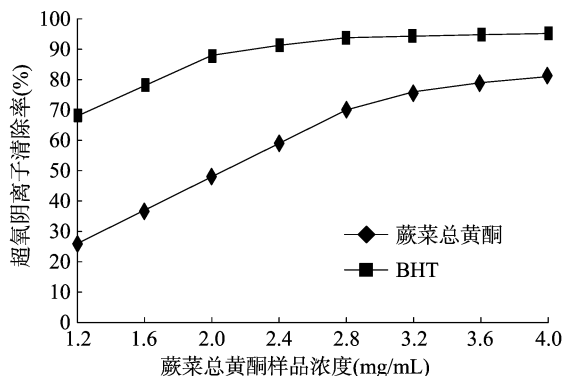


图4 蕨菜总黄酮对超氧阴离子的清除率

### 3 结论与讨论

通过对商洛地区蕨菜总黄酮的研究发现,商洛蕨菜总黄酮对 DPPH 自由基、羟基自由基、超氧阴离子都具有较好的清除能力,说明商洛蕨菜总黄酮具有一定的抗氧化、清除自由基、抗衰老作用。

研究中还发现,在试验质量浓度范围内,蕨菜总黄酮样品溶液质量浓度较小时,其与 BHT 的清除能力相差较大,但蕨菜总黄酮对自由基的清除率增幅大于 BHT。当质量浓度为 4.0 mg/mL 时,蕨菜总

黄酮对 DPPH 自由基的清除率可达到 55.34%,对超氧阴离子自由基的清除率达到 81.00%,表明商洛蕨菜总黄酮的部分抗氧化能力趋近于 BHT,可以作为一种天然抗氧化剂来利用。

陈燕芹等研究蕨菜总黄酮在 4.0 mg/mL 时对 DPPH 自由基的清除率为 38%<sup>[13]</sup>,本研究结果表明,商洛蕨菜总黄酮在 2.4 mg/mL 时对 DPPH 自由基的清除率就已达到 38%,当浓度大于 2.8 mg/mL 时,清除率增幅变缓。蔡丽等研究表明,黄酮浓度在 0.56 mg/mL 时就已达到羟基自由基最大清除率,而在 1.20 mg/mL 之后略有减小<sup>[14]</sup>,本研究中,总黄酮浓度在 1.2 mg/mL 时对羟基的清除率仅为 10%,此后清除率随浓度增加而增加,当达到 3.2 mg/mL 以后,清除率增幅逐渐减缓,趋于平稳。陈乃东等研究的蕨菜总提物和本试验所测蕨菜总黄酮在 1.2 mg/mL 时对超氧阴离子的清除率基本相近;在 2.4 mg/mL 时,陈乃东等研究表明清除率已达到 73%<sup>[15]</sup>。而本研究结果仅为 59%,但在试验浓度范围内清除率一直呈增加趋势,在 4.0 mg/mL 时,已达到 81.00%。这可能与不同产地蕨菜中总黄酮含量及分离纯化方法不同有关。

#### 参考文献:

- [1] 陈贵廷. 本草纲目通释(下册)[M]. 北京:北京出版社,1992.
- [2] 曾小玲,杨海涛. 陕南蕨菜有效成分的分析[J]. 开发与研究, 2007,24(2):17-19.
- [3] 王子辉. 夷齐·四皓与蕨菜[J]. 食苑杂谭,2001(3):9.
- [4] 张云,华智锐. 商洛野生蕨菜资源产业化开发思考[J]. 陕西农业科学,2011(4):150-151.
- [5] 裴凌鹏,李文册,唐粉芳. 葛根总黄酮成分的超声提取及抗氧化作用[J]. 北京联合大学学报,2003,17(3):25-27.
- [6] 吕喜茹,郭亮,常明昌. 姬松茸多糖抗氧化作用[J]. 食用菌学报,2010,17(1):69-71.
- [7] Tian L M, Zhao Y, Guo C. A comparative study on the antioxidant activities of an acidic polysaccharide and various solvent extracts derived from herbal *Houttuynia cordata*[J]. Carbohydrate Polymers, 2011,83(2):537-544.
- [8] 陈留勇,孟宪军. 黄桃水溶性多糖的抗肿瘤作用及清除自由基、提高免疫活性研究[J]. 食品科学,2004,25(1):167-170.
- [9] 张泽生,王玉本,黄闾. 囊荷乙醇提取物的体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2010,31(12):282-286.
- [10] Wang C C, Chang S C, Stephen I B. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2010, 120(1):184-192.
- [11] Li X M, Li X L, Zhao A G. Evaluation of antioxidant activity of the

柴 智,黄 琼,冯 进,等. 不同冻藏温度对鳊鱼鱼肉品质变化的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(13):228-235.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.13.047

# 不同冻藏温度对鳊鱼鱼肉品质变化的影响

柴 智,黄 琼,冯 进,崔 莉,黄午阳,李 莹

(江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏南京 210014)

**摘要:**以鱼肉理化性质、蛋白二级结构相对含量、质构特性、微观结构等为指标,探讨不同冻藏温度(-20、-30、-40℃)对鳊鱼贮藏过程中鱼肉品质变化的影响。结果表明,在不同冻藏温度下,鳊鱼肌肉的 pH 值、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性、总巯基含量均呈下降趋势,而表面疏水性指数和挥发性盐基氮含量均呈上升趋势;同时冻藏温度越低,样品的硬度、弹性、咀嚼性下降幅度越小;-40℃冻藏的鳊鱼样品具有更高的  $\alpha$ -螺旋含量,其蛋白变性程度较小,-20℃冻藏的样品蛋白质无序程度明显增加。扫描电镜结果表明,不同冻藏条件下鱼肌纤维均发生一定变形,-20℃冻藏条件下的肌纤维结构遭到的破坏最严重,而-40℃冻藏条件下的肌纤维结构保持的相对比较完整。综合来看,-40℃冻藏时鳊鱼鱼肉品质各指标明显优于其他冻藏温度。

**关键词:**鳊鱼;鱼肉;冻藏;温度;品质;理化性质;蛋白二级结构;质构特性;微观结构

**中图分类号:** S984 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)13-0228-08

鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)别称桂花鱼,属鲈形目鱼旨科鳊鱼属,其肉质细腻,肌间少刺,营养丰富,是我国名贵的淡水鱼类<sup>[1]</sup>。鳊鱼经济价值高,近年来已突破繁养技术难关被广泛养殖,但鳊鱼暂养耗氧量大大不易存活,这导致了大量鳊鱼不能被市场及时消化、积压于市,一旦失去食用价值将造成极大的经济损失,严重时将污染环境破坏水质。随着人们生活水平的提高,对水产品品质的要求也逐步提升,因此亟需采取保鲜措施以减缓鳊鱼鱼肉品质的劣变。寻找合适的贮藏方式,不仅能从原料上解决鳊鱼浪费的问题,同时对于保证鳊鱼的新鲜口感和质量安全也具有重要意义。

水产品常用的保鲜方式有低温保鲜、气调保鲜

和高压静电场保鲜等技术,其中低温保鲜是应用最广泛的保鲜技术。低温冻藏保鲜技术是采用低温的手段把水产品的中心温度降至-15℃以下,并且在冷冻条件下贮藏和流通的一种保鲜措施<sup>[2]</sup>。目前已有利用冻藏技术对鲢鱼<sup>[3]</sup>、秋刀鱼<sup>[4]</sup>、河豚鱼<sup>[5]</sup>等进行保鲜的研究。低温冻藏可抑制水产品内微生物生长和内源酶的分解,从而延长产品的货架期,保持鱼肉品质。国内外研究表明,在冻藏温度、冻藏时间、冻结速率等条件影响下,鱼肉会在冻藏过程中发生蛋白质变性在内的多重理化反应,其中冻藏温度是最为关键的因素。

本研究选取不同冻藏温度(-20、-30、-40℃),以冻藏期内鳊鱼肌肉的 pH 值、 $\text{Ca}^{2+}$ -三磷酸腺苷酶(ATPase)活性、总巯基含量、表面疏水性指数、挥发性盐基氮含量、总蛋白二级结构相对含量、质构特性、微观结构等为指标,研究不同冻藏温度对冻结鳊鱼品质的影响,以期对鳊鱼的低温贮藏和保鲜提供理论依据和技术支撑。

收稿日期:2020-06-11

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(19)2006]。

作者简介:柴 智(1986—),女,安徽淮南人,博士,助理研究员,主要从事营养与食品加工领域研究。E-mail:sophia\_chai@163.com。

通信作者:李 莹,博士,副研究员,主要从事功能食品领域研究。E-mail:hijoly@163.com。

polysaccharides extracted from *Lycium barbarum* fruits in vitro[J].

European Polymer Journal,2007,43(2):488-497.

[12] Xu W T, Zhang F F, Luo Y B, et al. Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum* [J]. Carbohydrate Research,2009,344(2):217-222.

[13] 陈燕芹,刘 红,蔡 丽. 蕨菜总黄酮的提取及抗氧化性[J].

江苏农业科学,2014,42(12):299-301.

[14] 蔡 丽,万 敏,刘 红. 微波提取蕨菜总黄酮及其抗氧化性研究[J]. 山东化工,2014,43(6):24-27.

[15] 陈乃东,陈乃富,钱立武,等. 蕨菜乙醇提取物不同萃取部位抗氧化活性及其组分 HPLC 分析[J]. 食品工业科技,2013,34(17):49-52.