

文章编号: 1000-5692(2006)05-0527-05

# 苹果渣中多酚物质的体外抗氧化活性

仇农学, 王 宏, 李 艳, 郝少莉

(陕西师范大学 食品工程系, 陕西 西安 710062)

**摘要:** 通过研究苹果渣多酚(APPs)的还原能力、羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )和1, 1-二苯基-2-苦苯肼自由基(DPPH $\cdot$ )的清除能力、 $\text{Fe}^{2+}$ 诱导的脂质过氧化反应和 $\beta$ -胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制作用, 对苹果渣多酚的体外抗氧化活性进行了评价, 并与2, 6-二叔丁基对甲酚(BHT)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)进行了对比。结果表明: 苹果渣中多酚还原能力高于BHT和TBHQ; 对 $\cdot\text{OH}$ 和DPPH $\cdot$ 的半数清除率( $I_{C50}$ )分别为522.4和15.8  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 对 $\text{Fe}^{2+}$ 诱导的脂质过氧化反应的抑制作用小于BHT和TBHQ,  $I_{C50}$ 为126.4  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 对 $\beta$ -胡萝卜素/亚油酸自氧化体系具有明显的抑制作用,  $I_{C50}$ 为25.2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。图5参11

**关键词:** 植物学; 苹果渣; 多酚物质; 体外抗氧化活性

**中图分类号:** Q946      **文献标识码:** A

苹果渣中含有大量的多酚类物质, 这些多酚类物质通常被总称为苹果渣多酚(APPs)。医药上, 苹果渣多酚具有抗衰老, 抗突变, 抗癌, 抑制高血压、高血脂及心脑血管疾病的作用, 有抑制脂质过氧化、清除自由基和抑制微生物生长作用, 还可对酶类活性产生影响<sup>[1]</sup>; 能抑制各种炎症、龋齿和脱发<sup>[2]</sup>。苹果 *Malus pumila* 中的酚类物质主要存在于果皮和果肉中, 因此, 在榨汁过程中大量的酚类物质随果皮进入果渣当中。试验从鲜榨富士苹果渣中分离提取苹果渣多酚, 并从还原能力、清除自由基能力和抑制脂质过氧化能力3个方面, 对其体外抗氧化活性进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

富士苹果购自西安市场; D4020大孔吸附树脂由南开大学化工厂提供。1, 1-二苯基-2-苦苯肼自由基(DPPH $\cdot$ )、 $\beta$ -胡萝卜素、亚油酸购自美国Sigma公司; 邻二氮菲(1, 10-菲罗啉)、双氧水( $\text{H}_2\text{O}_2$ )、三氯化铁、2, 6-二叔丁基对甲酚(BHT)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、铁氰化钾、钨酸钠、钼酸钠、硫酸锂、浓磷酸、浓盐酸和无水乙醇等均为国产分析纯。

### 1.2 主要仪器设备

WFJ 2000型分光光度计由龙尼柯(上海)有限公司生产; 10, 100, 1 000  $\mu\text{L}$ 精密微量移液器由德国Eppendorf公司生产; WF-A2000榨汁机由浙江永康市伟丰电器厂生产。

### 1.3 试验方法

1.3.1 苹果渣制备 新鲜富士苹果经清洗、榨汁得到鲜果渣, 并于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存备用。

收稿日期: 2005-10-28; 修回日期: 2006-02-11

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2002AA245091)

作者简介: 仇农学, 教授, 博士生导师, CASE高级会员, 从事现代果汁加工研究。E-mail: qiunx@163.com

1.3.2 苹果渣多酚的制取 取一定量的鲜果渣按照预试验所确定的条件进行超声提取。果渣与体积分数为50%乙醇溶液按1:16的比例混合,在温度50℃、超声功率250W的条件下提取2h,然后过滤。滤液经45℃真空旋转蒸发,4200 r·min<sup>-1</sup>离心30min,上清液经D4020大孔吸附树脂柱吸附后,以无水乙醇洗脱并自然干燥,得到苹果渣多酚粉末。

1.3.3 苹果渣多酚溶液的配制 将1.3.2中的苹果渣多酚粉末配制成高质量浓度的溶液,以单宁酸为标准对照品,按照FC(Folin-Ciocalteu)法<sup>[3,4]</sup>测定其质量浓度。取此溶液进行梯度稀释,配制成不同质量浓度的苹果渣多酚溶液,低温保存备用。

1.3.4 苹果渣多酚抗氧化活性测定 抗氧化能力评定的方法有多种,有直接的也有间接的。这些方法都有一定的优缺点或局限性,测定原理各不相同,为了获得确切的评价结论,通常需要用多种方法进行测定,以获得满意的结果。此试验从还原能力、清除自由基能力和抑制脂质过氧化能力3个方面考虑,进行以下5个试验。①苹果渣多酚的还原能力测定。参照Joseph<sup>[5]</sup>和Juntachote<sup>[6]</sup>的方法进行,设计多个质量浓度多酚样品(指加入反应体系前样品的质量浓度,以下同),试验重复3次,取平均值。②苹果渣多酚对·OH的清除作用测定。参照冯志华等<sup>[7]</sup>采用邻二氮菲-Fe<sup>2+</sup>氧化法,首先进行预试验并确定此试验中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的最佳使用体积分数为0.02%。操作如下:终体积为10mL的反应体系中含邻二氮菲0.75mmol·L<sup>-1</sup>,FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.75mmol·L<sup>-1</sup>,pH 7.4的PBS 0.15mmol·L<sup>-1</sup>和不同质量浓度的待测样品,最后加入H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,使其最终为0.02%,混匀后37℃水浴振荡1h,立即在536nm下测吸光度值。按下式计算样品中羟自由基的清除率R:  $R = [1 - (A_s - A_x) / (A_0 - A_f)] \times 100 (\%)$ 。其中A<sub>s</sub>为不加H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>而添加有样品的反应管,A<sub>x</sub>为添加样品和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的反应管,A<sub>0</sub>为不加样品也不加H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的反应管,A<sub>f</sub>为不加样品而添加H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的反应管。试验重复3次,取平均值。③苹果渣多酚对1,1-二苯基-2-苦苯肼自由基(DPPH·)清除作用测定。

试验方法参照Vattem等<sup>[8]</sup>的报道:在3.0mL<sup>-1</sup>60μmol·L<sup>-1</sup>DPPH·无水乙醇溶液中加入500μL样品溶液,用力摇均后于室温下放置30min,测定其在517nm下的吸光度值(A<sub>s</sub>);以500μL无水乙醇代替样品为空白对照(A<sub>0</sub>);以500μL样品与3.0mL无水乙醇混合液为样品对照(A<sub>x</sub>)以消除样品本身颜色的影响;以无水乙醇调仪器零点,同时以BHT和TBHQ进行对比试验。试验重复3次,取平均值。清除率R按下式计算:  $R = [A_0 - (A_s - A_x)] / A_0 \times 100 (\%)$ 。④苹果渣多酚对Fe<sup>2+</sup>诱导的脂质过氧化反应的抑制作用参照张尔贤等<sup>[9]</sup>的试验方法进行测定。⑤苹果渣多酚对β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制作用参照Shon等<sup>[10]</sup>的试验方法进行测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 苹果渣多酚的还原能力

一般情况下,物质的还原能力越强,其抗氧化活性也越高。根据1.3.4的方法,各个样品反应后的生成物在700nm处的吸光度的大小即反映了其抗氧化能力的大小,值越大则样品的还原能力越强。由图1可见,在所测定的质量浓度范围内,APPs的还原能力随着质量浓度的增加而增强;在质量浓度均为20mg·L<sup>-1</sup>时,APPs反应生成物的A<sub>700</sub>值分别是DHT和TBHQ的1.49和1.16倍。这表明APPs具有较强的还原能力。

### 2.2 苹果渣多酚对·OH的清除作用

由图2可见,在100~1000mg·L<sup>-1</sup>质量浓度范围内,APPs对·OH的清除能力随质量浓度的增加而增大,其半数清除率(I<sub>50</sub>)为522.4mg·L<sup>-1</sup>。在质量浓度均为500mg·L<sup>-1</sup>时,APPs对·OH的清除率分别是BHT和TBHQ的49.0倍和8.4倍。由此可见,APPs对邻二氮菲法产生的·OH的清除率远远高于BHT和TBHQ。

### 2.3 苹果渣多酚对DPPH·的清除作用

DPPH·是一种很稳定的以氮为中心的自由基,若受试物能将其清除,则表明受试物具有降低羟基自由基、烷基自由基或过氧化自由基的有效浓度和打断脂质过氧化链反应的作用<sup>[11]</sup>。由图3可知,

APPs 对 DPPH<sup>·</sup> 具有很强的清除作用, 在较低的质量浓度下即有较高的清除效果, 且随其质量浓度的增加而不断增强, 其  $I_{C50}$  为  $15.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在质量浓度均为  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 其清除 DPPH<sup>·</sup> 的作用分别是 BHT 和 TBHQ 的 4.85 倍和 1.06 倍。

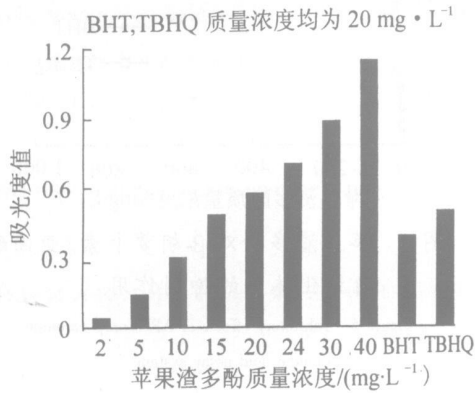


图 1 苹果渣多酚的还原能力

Figure 1 Reducing power of APPs

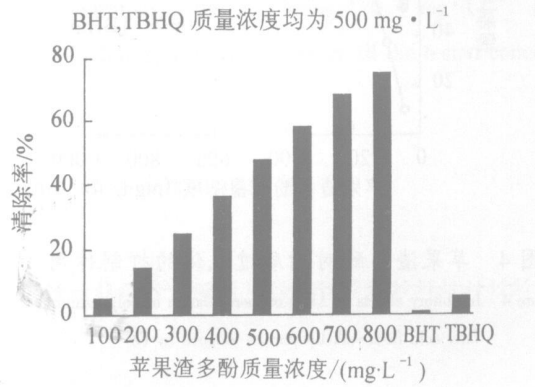


图 2 苹果渣多酚对<sup>·</sup>OH 的清除作用

Figure 2 Scavenging effects of APPs on hydroxyl radical

#### 2.4 苹果渣多酚对 Fe<sup>2+</sup> 诱导的脂质过氧化反应的抑制作用

图 4 表示 APPs, BHT 和 TBHQ 三者 在  $50 \sim 1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  质量浓度范围内对 Fe<sup>2+</sup> 诱导的脂质过氧化反应抑制作用的变化趋势。可以看出, 在  $50 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内, 三者的抑制效果随质量浓度的增加而增大, 且 BHT 和 TBHQ 优于 APPs; 当质量浓度高于  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 抑制效果几乎不再增大, 并且三者的抑制效果相当。由此可见, APPs 对 Fe<sup>2+</sup> 诱导的脂质过氧化反应的抑制作用较 BHT 和 TBHQ 弱, 其  $I_{C50}$  为  $126.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

#### 2.5 苹果渣多酚对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制作用

β-胡萝卜素是一种多烯色素, 易被氧化而褪去黄色。在反应体系中, 亚油酸氧化产生的过氧化物能使 β-胡萝卜素褪色, 当反应体系中有抗氧化剂时, 褪色速度减缓, 且褪色程度与抗氧化活性的呈负相关。由图 5 可知, APPs, BHT 和 TBHQ 对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系均有明显的抑制作用, 抑制能力大小顺序为 BHT > APPs > TBHQ; 在  $10 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  质量浓度范围内, 随着质量浓度的增大, 三者的抑制作用均快速增强; 质量浓度继续增大, 抑制效果增加趋势变缓, 其中 APPs 的  $I_{C50}$  为  $25.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 3 结论

体外试验结果表明, 苹果渣多酚具有较强的还原能力、清除自由基能力和抑制脂质过氧化能力, 其效果高于或接近于 BHT 和 TBHQ。苹果渣多酚的还原能力超过 BHT 和 TBHQ; 对邻二氮菲法产生的<sup>·</sup>OH 的清除效果强于 BHT 和 TBHQ, 但是需要在较高质量浓度 ( $522.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下才能达到半数清除; 对 DPPH<sup>·</sup> 具有很强的清除作用, 其  $I_{C50}$  为  $15.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 对 Fe<sup>2+</sup> 诱导的脂质过氧化反应表现出较好的抑制作用, 其  $I_{C50}$  为  $126.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制作用显著, 在较低的质量浓度下即可达到较高的抑制效果, 其  $I_{C50}$  为  $25.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

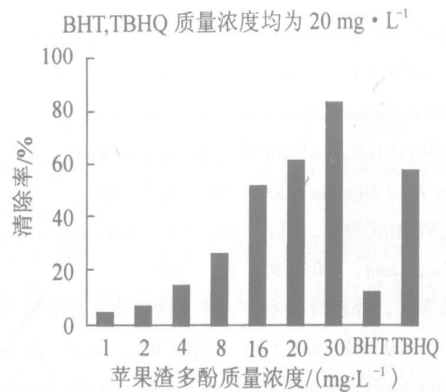


图 3 苹果渣多酚对 DPPH<sup>·</sup> 的清除作用

Figure 3 Scavenging effects of APPs on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical

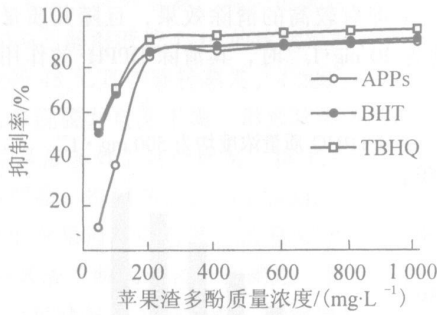


图4 苹果渣多酚对脂质过氧化抑制作用

Figure 4 Inhibitory effects of APPs on peroxidation of polyunsaturated fatty acid from yolk lipoprotein induced by  $Fe^{2+}$

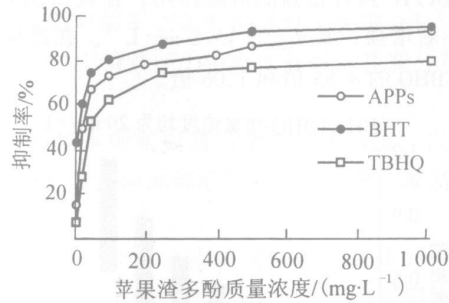


图5 苹果渣多酚对β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制作用

Figure 5 Inhibitory effects of APPs on β-carotene/linoleic acid assay system

### 参考文献:

- [1] 孙健霞, 孙爱东, 白卫滨. 苹果多酚的功能性质及应用研究[J]. 中国食物与营养, 2004(10): 38-41.
- [2] 金宗濂. 保健食品的功能评价与开发[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [3] 曹炜, 索志荣. Folin-Ciocalteu 比色法测定蜂蜜中总酚酸的含量[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(12): 80-82.
- [4] VLADIMIR G, JADRANKA V. Prevalidation in pharmaceutical analysis (part I) Fundamentals and critical discussion [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 35: 489-512.
- [5] JOSEPH G S, JAYAPRAKASHA G K, SELVI, A T, *et al.* Antiaflatoxic and antioxidant activities of garcinia extracts [J]. *Int Food Microbiol*, 2005, 101: 153-160.
- [6] JUNTAHCOTE J, BERGHOFER E. Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of holybasil and galangal [J]. *Food Chem*, 2005, 92: 193-202.
- [7] 冯志华, 孙启玲, 米坤, 等. 微生物发酵泡制对红花抗氧化活性的影响[J]. 中草药, 2004, 35(6): 630-633.
- [8] VATTEM D A, LIN Y T, LABBE R G, *et al.* Phenolic antioxidant mobilization in cranberry pomace by solid-state bioprocessing using food grade fungus *Lentis edodes* and effect on antimicrobial activity against select food borne pathogens [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2004, 5: 81-91.
- [9] 张尔贤, 俞丽君, 周意琳, 等.  $Fe^{2+}$  诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价[J]. 生物学与生物物理学报, 1996, 28(2): 218-222.
- [10] SHON M Y, CHOI S D, KAHNG G G, *et al.* Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethylacetate extracts from white, yellow and red onions [J]. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42: 659-666.
- [11] 凌关庭. 抗氧化食品与健康[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.

## In vitro antioxidant activity of polyphenols extracted from apple pomace

QIU Nong-xue, WANG Hong, LI Yan, HAO Shao-li

(Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, Shaanxi, China)

**Abstract:** The antioxidant activity of the apple pomace polyphenols (APPs) was evaluated employing various established in vitro model systems, such as reducing power method, scavenging hydroxyl radical method, scavenging, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH<sup>•</sup>) method, peroxidation of polyunsaturated fatty acid from yolk lipoprotein induced by  $Fe^{2+}$  method, and β-carotene/linoleic acid assay system. APPs showed better reducing power than butylated hydroxytoluene (BHT) and tert-Butyl hydroquinone (TBHQ). APPs showed more

scavenging hydroxyl radical activity compared with BHT and TBHQ, the  $I_{C50}$  (inhibitory concentration 50%) being  $522.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . APPs showed more effective scavenging DPPH $^{\circ}$  activity than BHT and TBHQ, the  $I_{C50}$  was  $15.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Furthermore, APPs showed powerful inhibitory effects on peroxidation of polyunsaturated fatty acid from yolk lipoprotein induced by  $\text{Fe}^{2+}$  at all the tested concentrations, the  $I_{C50}$  being  $126.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Besides, APPs also showed very good inhibitory effects on  $\beta$ -carotene/linoleic acid assay system at all the tested concentration levels, the  $I_{C50}$  being  $25.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  [Ch, 5 fig. 11 ref.]

**Key words:** botany; apple pomace; polyphenols; in vitro antioxidant activity

## “制造柔性大幅面装饰微薄竹生产技术研究” 通过验收和成果鉴定

2006年6月25日,浙江省科技厅组织有关专家对浙江林学院主持的“制造柔性大幅面装饰微薄竹生产技术研究”项目进行验收和成果鉴定。与会专家听取项目汇报并审查了相关技术资料,进行了质疑。经过有关专家的认真答辩,该项目顺利通过验收和鉴定。

大幅面装饰微薄竹生产技术及应用是竹材资源高效加工和深度开发的工业化利用新途径,产品科技含量附加值高,具有很好的推广应用前景。浙江林学院与企业有关人员一直以来致力微薄竹的攻关、开发和产业化推广工作。

由北京林业大学、南京林业大学、浙江省林科院组成的鉴定委员会评审后认为:此项目以竹材为原料制造大幅面刨切微薄竹,为竹材资源工业化利用开辟了新途径。此项目开发了竹板温水加压快速增湿技术,研制了耐湿耐温胶黏剂和新型实用薄竹指型接长机,形成了大幅面刨切微薄竹生产新工艺,创新显著,获得了国家发明专利1项,实用新型专利2项。项目研究成果在浙江、安徽和福建等省的7家企业得到了推广应用。近3年来,共生产0.6mm厚的刨切微薄竹746万 $\text{m}^2$ ,实现产值2.2亿元,利税5419万元,出口创汇2517万美元,经济社会效益显著。

鉴定委员会一致认为,此项目研究目标明确,方法科学,技术资料齐全,数据翔实,结论可靠,效益十分显著,整体研究成果达到国际先进水平。

(李延军 凌申坤)