

食用豆匀浆液抗活性氧的研究*

A Study on the Resistance of the Homogenate of Food Legumes to Active Oxygen

龙盛京 覃爱娟 李毅
Long Shengjing Qin Aijuan Li Yi

(广西医科大学 南宁市滨湖路6号 530021)
(Guangxi Medical University, 6 Binhu Road, Nanning, Guangxi, 530021)

摘要 运用化学发光分析方法研究了8种食用豆匀浆液抗活性氧的作用,结果表明8种食用豆类匀浆液对H₂O₂以及由酶体系和非酶体系产生的O₂⁻都有清除作用,并呈量效关系。揭示食用豆中含有抗氧自由基的成分,而可能具有抗衰老的作用。

关键词 化学发光分析法 抗氧化作用 清除活性氧 食用豆

Abstract The resistance of the homogenate of eight food legumes to active oxygen was studied by chemiluminescence. The results show that eight food legumes can effectively scavenge H₂O₂ and O₂⁻ produced by both the enzyme system and the non-enzyme system, and that has the quantitative effect. It suggests that there be some antioxidant substances existing in the food legumes, which might have anti-senility effect.

Key words chemiluminescence, antioxidant, scavenging of active oxygen, food legume

近年来,随着自由基与营养关系的研究深入发展,食品自身抗氧自由基能力大小已经引起了人们极大关注,并成为评价食品营养的重要指标之一。为了解我国主要食用豆抗氧自由基能力,为保健食品的开发利用提供科学依据,我们用化学发光分析方法研究了8种食用干豆的匀浆液抗活性氧的作用。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 豆类:大豆、绿豆、多花菜豆、红豆、饭豆、豇豆、豌豆、黑豆,这8种干豆均购自南宁市场。

1.1.2 试剂:黄嘌呤(X)、黄嘌呤氧化酶(XO)为Sigma公司产品,鲁米诺为Merch-Schuchrat公司产品,连苯三酚、H₂O₂为国产分析纯试剂。

1.1.3 仪器:DG3030发光光度计,ZK高速自控组织捣拌机。

1.2 方 法

1.2.1 样品制备:取20g干豆样品洗净,放入150mL 60℃的蒸馏水中浸泡4h后,用高速自控组织捣拌机匀浆3min,匀浆液过滤,豆渣加50mL蒸

馏水搅拌,过滤,合并2次滤液,滤液沸水浴20min后放到室温,冰箱静置,取上部液体做为供试液,试液1mL相当于生豆0.1g。

1.2.2 测定方法

1.2.2.1 样品清除由黄嘌呤—黄嘌呤氧化酶(X/XO)体系产生O₂⁻的酶体系按文献〔1〕的方法测定。

1.2.2.2 样品清除H₂O₂作用按文献〔2〕的方法测定。

1.2.2.3 样品清除由碱性连苯三酚产生O₂⁻的非酶体系的测定方法参照文献〔3〕、〔4〕的方法略加改进。在测定管中加入5mmol/L鲁米诺溶液800μL(用pH=10.16, 0.1mol/L的Na₂CO₃—NaHCO₃缓冲液配制),加入不同量的试样溶液(或用同体积双蒸水做空白),混匀后置于发光仪中,于35℃用仪器加样器加入6mmol/L连苯三酚溶液100μL,启动反应,测定5s内发光强度的平均值,每样品平行做3次,取平均值,按下式计算清除率

$$\text{清除率}(\%) = \frac{\text{空白对照值} - \text{样品值}}{\text{空白对照值}} \times 100\%$$

2 结 果

2.1 豆类匀浆液对X/XO—鲁米诺体系产生O₂⁻的作用

表1表明8种豆类匀浆液对发光强度均有抑制作

1994-03-18收稿。

*国家自然科学基金资助项目。

用。提示,豆类匀浆液对 \bar{O}_2 有清除作用,但这种清除作用可能是匀浆液对 \bar{O}_2 的直接清除,也可能是匀浆液对黄嘌呤氧化酶的活性有抑制作用,从而减少了 X/XO 体系产生 \bar{O}_2 的量,而达到间接清除作用,或许两种作用兼有之。豆类匀浆对 \bar{O}_2 是否有直接清除作用,还有待用非酶体系来加以判定。从量效曲线回归方程所推出的 CI_{50} (当清除率为50%时,所需要匀浆液的量)来看,红豆、豌豆、大豆的清除能力相对较强,多花菜豆清除能力相对较弱。

表1 食用豆匀浆液对 X/XO 体系 \bar{O}_2 的清除百分率

Table 1 Percentages of \bar{O}_2 scavenged by food legume homogenate from xanthine-xanthine oxidase cell-free system

豆种 Legume	\bar{O}_2 的清除百分率 Percentages of \bar{O}_2 scavenged (%)			CI_{50} (μL)
	50*	30*	10*	
	多花菜豆 Multiflora bean	57.68	38.72	
红豆 Adzuki bean	97.21	83.39	44.15	11.70
绿豆 Mung bean	87.95	70.46	5.89	22.51
饭豆 Rice bean	71.93	52.39	15.94	27.09
大豆 Soybean	72.22	59.44	35.05	19.35
豇豆 Cowpea	60.62	47.39	34.45	33.84
豌豆 Pea	83.98	63.99	33.13	17.66
黑豆 Black Soybean	57.82	46.36	35.19	36.26

* 10%匀浆液用量 Dosage of 10% Homogenate (μL)

2.2 食用豆匀浆液清除由碱性连苯三酚产生 \bar{O}_2 的作用

供试的8种豆匀浆液对非酶体系产生的 \bar{O}_2 均具有清除作用(表2);而这种清除作用是匀浆液对 \bar{O}_2 的直接清除,并且具有量效关系。从表2, CI_{50} 看,豇豆、大豆和黑豆清除作用相对较强,而绿豆相对较弱。结果提示豆类匀浆液具有抗 \bar{O}_2 的作用。

2.3 食用豆匀浆液清除 H_2O_2 的作用

表3表明,饭豆、多花菜豆,绿豆清除 H_2O_2 的能力较高,而大豆和豇豆的清除能力随用量的增大,反而出现下降的趋势;表明供试的豆类匀浆液对 H_2O_2 都具有一定的清除能力,但品种不同清除能力也不同,除大豆和豇豆之外,这种清除 H_2O_2 作用都具有量效关系。

表2 食用豆匀浆液对碱性连苯三酚体系 \bar{O}_2 的清除百分率

Table 2 Percentages of \bar{O}_2 scavenged by food legume homogenate from alkaline pyrogallol autoxidation system

豆种 Legume	\bar{O}_2 的清除百分率 Percentages of \bar{O}_2 scavenged (%)			CI_{50} (μL)
	90*	25*	10*	
	多花菜豆 Multiflora bean	75.69	51.61	
红豆 Adzuki bean	65.61	50.10	30.72	30.46
绿豆 Mung bean	82.03	47.94	34.45	33.29
饭豆 Rice bean	87.10	48.41	23.25	25.54
大豆 Soybean	76.95	64.69	38.83	15.46
豇豆 Cowpea	86.45	62.79	46.44	12.24
豌豆 Pea	76.79	53.98	28.12	24.63
黑豆 Black Soybean	82.05	60.68	37.42	17.11

* 10%匀浆液用量 Dosage of 10% Homogenate (μL)

表3 食用豆匀浆液对 H_2O_2 的清除百分率

Table 3 Percentages of H_2O_2 scavenged by food legume homogenate

豆种 Legume	H_2O_2 的清除百分率 Percentages of H_2O_2 scavenged (%)			CI_{50} (μL)
	70*	40*	10*	
	多花菜豆 Multiflora bean	74.11	65.48	
红豆 Adzuki bean	87.51	80.07	33.11	16.99
绿豆 Mung bean	82.65	71.78	44.31	13.32
饭豆 Rice bean	91.23	84.51	57.28	6.45
大豆 Soybean	33.06	42.69	27.58	
豇豆 Cowpea	46.70	48.22	23.76	
豌豆 Pea	44.65	35.06	1.88	84.23
黑豆 Black Soybean	67.91	58.00	33.16	25.64

* 10%匀浆液用量 Dosage of 10% Homogenate (μL)

(下转第65页 Continue on page 65)

$$DL_2 = -(20.49'' + 17.2'' \times \sin Q) / 3600 \quad (3)$$

$$L = L_0 + DL_1 + DL_2 \quad (4)$$

其中 $T = (JD - 2415020) / 36525$

$$M = 357.528^\circ + 35999.05^\circ E$$

$$Q = 125.045^\circ - 1934.136E$$

$$E = (JD - 245/545) / 36525$$

JD——所要求太阳黄经的日期时刻对应的儒略日及小数，可由《天文年历》附表内插得出。

式(1a)、式(1b)可根据所用计算器有效位数任选其一，结果相同，得出太阳平黄经 L_0 后，经过中心差改正 DL_1 (2)，再做简单光行差、章动改正 DL_2 (3)，最终得出太阳黄经 L (4)。

经考查，对于近三四百年的节气时刻，上式可准确到5~10 min (平均<5 min)，对于过去3500年，它可准确到10~20 min (平均<10 min)。

对于早于公元1600年的计算，所得节气时刻还需减去以下的时间改正：

$$\Delta T = 24^s.349 + 72^s.318T + 29^s.957T^2$$

这里 $\Delta T = ET - UT$ ，是历书时(ET)换算成世界时(UT)的改正。

参考文献

- 1 Newcomb S. Tables of the Earth on axis and around the Sun. Astronomical paper, Washington, 1898, 6.

(责任编辑：蒋汉明)

(上接第36页 Continue from page 36)

3 讨论

自从1969年 Mccord 和 Fridovich 首次分离出超氧化物歧化酶(SOD)以来，人们对机体中产生的 \bar{O}_2 以及氧的毒性研究日益深化。现普遍认为由氧自由基和 H_2O_2 等活性氧所引发的生物大分子和细胞的膜损伤所引起的脂质过氧化，是造成病理过程或引起衰老的重要原因^[5]。但是在同样不利条件下，不同人的受害情况差别很大，这主要与机体的生理及营养状态有关^[6]。不少研究表明营养状况适宜与否直接或间接关系到生物体内活性氧产生与清除的平衡^[7]。因此从生物自由基的角度来研究食物营养价值具有重要的理论意义和广阔的应用价值。

食用豆是我国的主要粮食品种之一，也是重要的蛋白质来源。有些豆既可以药用，也可作蔬菜食用。本研究结果表明食用豆具有清除 \bar{O}_2 和 H_2O_2 的作用。故而适当增加豆类制品的食用量，特别是中老年人，则有利于清除体内过多的活性氧，从而可能有益于健康和长寿。由于各种豆类抗氧自由基的能力不同，因而食用豆类的品种宜广而杂，并合理搭配，这样才有利于发挥各种豆类的优势，取长补短，进而达到有效抑制体内自由基反应，延缓衰老的作用。

豆中含有多种营养成分，这些营养成分抗活性氧的作用，除公认的一些维生素类、多酚类化合物之外，豆中所含 SOD 的成分^[8]也可能具有清除 \bar{O}_2 的能力，问题是用常规食用方法处理后的豆制品中 SOD 的活性还有多大，这有待于进一步研究。

参考文献

- 1 龙盛京，谢云峰，覃爱娟等，七种治疗心血管疾病的中成药抗氧自由基作用的研究。广西医学院学报，1993，10(1)：1。
- 2 龙盛京，覃爱娟，李毅，化学发光分析法研究广西茶叶水提取物抗活性氧的作用。广西医学院学报，1992，9(3)：1。
- 3 郭嵩光，王振益，邻苯三酚自氧化—化学发光法测定 SOD 活性。植物生理学通讯，1989，(3)：54~57。
- 4 Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidant of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem, 1974, 47: 469.
- 5 程伯基，氧化还原循环和超氧负离子的产生。生理科学，1989，9(4)：14~17。
- 6 中国营养学会特殊营养专业组，我国特殊营养研究近况和展望。营养学报，1991，13(4)：368。
- 7 方允中，营养与活性氧。生理学报，1989，9(4)：5。
- 8 方允中，李文杰，自由基与酶。北京：科学出版社，1989：105。

(责任编辑：蒋汉明)