

两种方法测定坚果类食物抗氧化活性的比较

郭长江 杨继军 韦京豫 李云峰 徐 静 蒋与刚
(军事医学科学院卫生学环境医学研究所,天津 300050)

摘 要:为比较 FRAP(ferric reducing/antioxidant power)法和 ORAC(oxygen radical absorbance capacity)法测定抗氧化活性的异同,用这两种方法测定了 9 种坚果类食物的抗氧化活性。FRAP 法测定结果显示,9 种坚果类食物的还原活性排序为葵花子 > 核桃 > 花生 > 白果 > 栗子 > 莲子 > 榛子 > 松子 > 南瓜子,最强与最弱相差 681.4 倍;ORAC 法测定结果与 FRAP 法测定结果高度相关($r = 0.9754$, $P < 0.01$),但是,食物的抗氧化活性排序有所差异,最强与最弱仅相差 9.2 倍。进行抗氧化研究时应注意两种方法的差异。
关键词:坚果; 抗氧化; 食品分析

Comparison between two methods for determination of antioxidizing capacity of nuts
Guo Changjiang, et al.
(Institute of Hygiene and Environmental Medicine, Tanjin 300050, China)

Abstract: To define the difference between ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay for determination of antioxidizing capacity of nuts, nine kinds of nuts commonly consumed by Chinese were determined by the two methods. The results of FRAP assay showed that the order of antioxidizing capacity from the highest to the lowest was sunflower seed, walnut, peanut, ginkgo, Chinese chestnut, lotus seed, hazelnut, pine nut and pumpkin seed. The highest value was 681.4 times higher than the lowest. The values obtained by ORAC were correlated positively with those obtained by FRAP. However, the ranking order based on ORAC values was different from that based on FRAP values with the highest value only 9.2 times higher than the lowest. The result suggests that attention should be paid to the difference between the two methods when they are used to study the antioxidant capacity of foodstuffs.
Key Words: Nuts; Antioxidant Capacity; Food Analysis

本研究采用 FRAP(ferric reducing/antioxidant power)法和 ORAC(oxygen radical absorbance capacity)法对我国常见的坚果类食物的抗氧化活性进行了测定比较,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 坚果类食物样品的处理 测试所用坚果类食物购自本地市场,包括葵花子、核桃、花生、白果、栗子、莲子、榛子、松子、南瓜子,除了栗子外,均为干燥样品。测定时称取 1~5 g 分离的可食果仁部分,在研钵内按 1:9 比例加入蒸馏水,研磨成匀浆液,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液按下述 FRAP 法

和 ORAC 法测定抗氧化活性。

1.2 FRAP 法 参照 Benzie 与 Strain 的方法。^[1]该法原理为 Fe^{3+} - 三吡啶三吡嗪 (tripyridyl-triazine, TPTZ, Sigma) 可被样品中还原性物质还原为二价铁形式,呈现出明显的蓝色,并于 593 nm 处具有最大光吸收,根据吸光度的大小计算试样抗氧化活性的强弱。步骤如下:取适量试样上清液(必要时稀释),加入 1.8 mL TPTZ 工作液(由 0.3 mol/L 醋酸盐缓冲液 25 mL、10 mmol/L TPTZ 溶液 2.5 mL、20 mmol/L $FeCl_3$ 溶液 2.5 mL 组成),混匀后 37℃ 反应 10 min,测定 593 nm 处吸光度,以 1.0 mmol/L $FeSO_4$ 为标准,试样还原活性(FRAP 值)以达到同样吸光度所需的 $FeSO_4$ 的毫摩尔数表示,每份试样重复测定 3 次。

1.3 ORAC 法 参照 Cao 等的方法。^[2]以藻红蛋白

作者简介:郭长江 男 研究员

(phycoerythrin, PE, Sigma 公司产品)作为指示蛋白, 2,2'-偶氮(2-咪唑烷)二盐酸盐[2,2'-azobis(2-amidino propane) dihydrochloride, AAPH, Wako]作为ROO[·]自由基的发生器,当上述两种化合物混合后, PE在AAPH释放的ROO[·]攻击下,一定波长下的荧光强度不断衰减,直到降至本底水平,由于不同试样清除自由基的能力不同,因此加入上述体系后对PE的保护也不同,最后根据PE荧光强度衰减曲线下面积计算被测试样的抗氧化能力。上述反应最终体积为500 μL, PE最终浓度为1.67 × 10⁻⁸ mol/L, AAPH最终浓度为3 × 10⁻⁸ mol/L,试样处理同前。以维生素E水溶性衍生物 Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-2-carboxylic acid, Acros)作为标准参照物。上述试剂均用0.01 mol/L pH7.0磷酸缓冲液配制,测定时激发波长、发射波长分别为540 nm、565 nm,反应温度37℃,采用日立MPF-4型荧光分光光度计每五分钟测定1次荧光强度变化,最后结果以Trolox当量表示。每份试样重复测定5次。

2 结果

2.1 坚果类食物的抗氧化活性 根据FRAP法测定的结果(表1),9种坚果类食物的还原活性排序为葵花子>核桃>花生>白果>栗子>莲子>榛子>松子>南瓜子,最强与最弱相差681.4倍;ORAC法显示,9种坚果类食物的排序与FRAP法测定结果的排序不尽相同,主要差别是白果、栗子、莲子、榛子、松子的排序,而且,ORAC法测定结果最强与最弱仅相差9.2倍。相关分析结果显示,坚果类食物FRAP值与ORAC值呈高度正相关($r = 0.9754, P < 0.01$;图1)。

表1 坚果类食物的抗氧化活性测定

种类	FRAP 值	ORAC 值
	Fe ⁺² μmol/g, n=3	Trolox μmol/g, n=5
葵花子	115.84 ±0.62	76.64 ±17.25
核 桃	49.86 ±1.32	24.56 ±4.88
花 生	26.46 ±1.91	16.40 ±2.70
白 果	21.84 ±0.95	13.06 ±3.12
栗 子	14.20 ±0.36	13.73 ±4.54
莲 子	14.06 ±0.46	12.00 ±2.80
榛 子	12.24 ±0.50	14.13 ±2.12
松 子	7.23 ±0.20	13.29 ±3.08
南瓜子	0.17 ±0.04	8.36 ±2.61

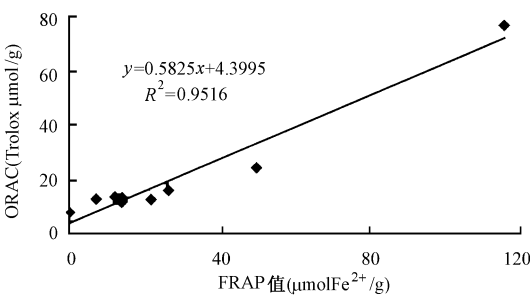


图1 坚果类食物FRAP值与ORAC值相关分析

3 讨论 目前大多数测定食物抗氧化活性的方法往往是针对某一种自由基而言,而食物样品对一种自由基的清除能力不能完全代表其对另一种自由基的清除能力,许多学者已经对“总抗氧化力”的提法提出了不同看法。国外目前应用较多方法有ORAC法,^[2]它可以用来测定样品清除ROO[·]、OH[·]等自由基的能力,但是,该法的自动化程序需要昂贵的全自动生化分析仪,而手工操作程序费时费力,所以很难在国内一般实验室推广应用。由Benzie和Strain建立的FRAP法原理明确,操作简便,不需特殊仪器,易于标准化,已用于测定不同抗氧化物质、食物与生物样品的抗氧化活性,但是它所测结果反映的不是样品针对某一种自由基的清除活性,而是样品总的还原能力,一些学者因此认为该法测定结果可用来反映样品的总抗氧化活性。^[1,3,4]我们将本研究中ORAC法测定的坚果类食物对ROO[·]清除活性与FRAP法测定的还原活性进行相关分析,结果显示虽然二者结果差异显著但有明显的相关关系。

参考文献:

[1] Benzie I F F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay [J]. Anal Biochem, 1996, 239:70—76.
[2] Cao G, Alessio H M, Cutler R G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants [J]. Free Radical Biol Med, 1993, 14:303—311.
[3] Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48:3396—3402.
[4] Halvorsen B L, Holte K, Myhrstad M C W, et al. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants[J]. J Nutr, 2002, 132:461—471.

[收稿日期:2003-10-16]