

文章编号:1671-6833(2011)03-0028-03

## FRAP法测定大枣枣皮红色素的总抗氧化能力

赵文恩, 李茜倩

(郑州大学 化工与能源学院, 河南 郑州 450001)

**摘 要:**采用FRAP法测定枣皮中红色素的总抗氧化能力,试验表明枣皮红色素具有一定的抗氧化活性.枣皮红色素的总抗氧化能力与其含量之间呈正相关性.通过溶剂分级萃取,将枣皮红色素分离成极性不同的成分,各极性成分的抗氧化能力与浓度之间呈依赖关系.由此可以考虑把大枣枣皮作为食品与化妆品等行业中的一种良好的天然色素和天然抗氧化剂资源.

**关键词:**FRAP法;抗氧化能力;大枣枣皮;红色素

**中图分类号:** O629.9 **文献标志码:** A

### 0 引言

大枣(Chinese Jujube)是鼠李科枣属植物(*Ziziphus Jujuba* MILL)的干燥成熟果实,是起源于我国的特有资源,枣不仅资源丰富,而且还具有药食两用的价值<sup>[1-2]</sup>.其枣皮是大枣深加工过程中的废弃物,目前还没有有效的开发利用,且对环境造成污染,目前关于枣肉化学成分、活性成分,以及枣皮红色素提取工艺的研究较多<sup>[3-5]</sup>,关于枣皮红色素抗氧化活性的研究报道较少<sup>[6-7]</sup>.有研究<sup>[8-9]</sup>表明,枣皮中含有类黄酮类物质,或羟基蒽醌类物质,属多酚类色素,因而可以预见其具有一定的抗氧化活性,笔者通过试验进一步确定枣皮红色素的总抗氧化能力.目前关于枣皮中起抗氧化作用的物质的化学属性尚不十分明确,有待进一步研究.

笔者采用FRAP法测定大枣枣皮红色素总的抗氧化能力,该方法原理明确,简便易操作,不需特殊仪器,重复性良好,易于标准化<sup>[10]</sup>.该研究不仅为进一步开发利用枣皮提供理论依据,而且对于综合利用大枣资源,变废为宝,具有重要的经济价值和生态意义.

### 1 实验材料和方法

#### 1.1 主要仪器和试剂

721分光光度计,上海精密科学仪器有限公

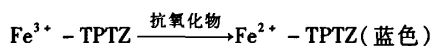
司;RE-52AA旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;501型超级恒温水浴,上海浦东荣丰科技仪器有限公司;SHZ-D循环水式真空泵,巩义市予华仪器有限责任公司;PHS3-3C型精密酸度计,上海大普仪器有限公司.

乙酸乙酯、无水乙醇、氢氧化钠、盐酸、冰醋酸、三氯化铁( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )、亚硫酸铁( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )、醋酸钠( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )等均为国产分析纯;三吡啶三吡嗪(2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine, TPTZ)购自上海Sigma公司;大枣枣皮由河南新郑好想枣业股份有限公司提供.

#### 1.2 实验方法

##### 1.2.1 铁离子还原/抗氧化能力分析法(Ferric Reducing/Antioxidant Power, FRAP)

参照Benzie与Strain的方法,并扩大了溶液用量<sup>[10-11]</sup>,该法原理为在酸性条件下, $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ可被样品中还原性物质还原为 $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ形式,并呈现出明显的蓝色,于593 nm处具有最大光吸收.在 $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ过量的情况下,检测蓝色物质的生成量可以反映待测样品的还原能力,即样品的总抗氧化能力.以 $\text{FeSO}_4$ 为标准溶液,根据反应后的A值,在标准曲线上求得相应 $\text{FeSO}_4$ 的浓度(mmol/L),定义为FRAP值.FRAP值越大,抗氧化活性越强.



##### 1.2.2 样品的制备

收稿日期:2011-01-10;修订日期:2011-03-16

基金项目:河南省科技攻关项目(072102110005)

作者简介:赵文恩(1950-),男,山西临猗人,郑州大学教授,博士,博士生导师,主要从事天然产物化学与生物化学研究,E-mail: zhaowenen@zzu.edu.cn.

分别称取 10 g 枣皮于三角瓶中,依次加入乙酸乙酯(1号)、50%乙醇水溶液(2号)、0.8% NaOH 溶液(3号)、0.2 mol/L HCl 溶液(4号)、蒸馏水(5号)各 300 mL,60 ℃水浴条件下保温 12 h 后,抽滤并收集滤液,得样品溶液,其中 3 号和 4 号样品溶液需分别用一定浓度的盐酸、NaOH 溶液调 pH 值至中性后测定。

### 1.2.3 红色素总抗氧化能力的测定

在反应管中加入 200  $\mu$ L 样品溶液(必要时适当稀释),再准确加入 6 mL FRAP 工作液(由 0.3 mol/L 醋酸盐缓冲液,10 mmol/L TPTZ 溶液,20 mmol/L  $\text{FeCl}_3$  溶液以 10:1:1 的比例组成,现配现用),600  $\mu$ L 蒸馏水,混匀,37 ℃条件下反应 10 min,于 593 nm 处测定吸光值。每个实验重复三次。

同样,按照上述方法,以 0.1~1.6 mmol/L 的  $\text{FeSO}_4$  的标准溶液代替样品绘制标准曲线。

## 2 结果与讨论

### 2.1 $\text{FeSO}_4$ 标准曲线的绘制

图 1 为  $\text{FeSO}_4$  标准曲线,由图 1 可知, $\text{FeSO}_4$  浓度在 0.1~1.6 mmol/L 范围内与其在 593 nm 处的吸光度成良好线性关系。直线方程为: $Y = 0.00355 + 0.30371X$ ;Y 为 593 nm 处的吸光度,X 为  $\text{FeSO}_4$  浓度,mmol/L;相关系数  $R^2 = 0.9996$ 。因此以 593 nm 处的吸光值换算成  $\text{FeSO}_4$  当量浓度是可行的,如果需要,允许个别测定点的 FRAP 值不在线性范围内<sup>[6]</sup>,即样品最终的总抗氧化能力以硫酸亚铁的当量浓度表示,单位为 mmol/L。

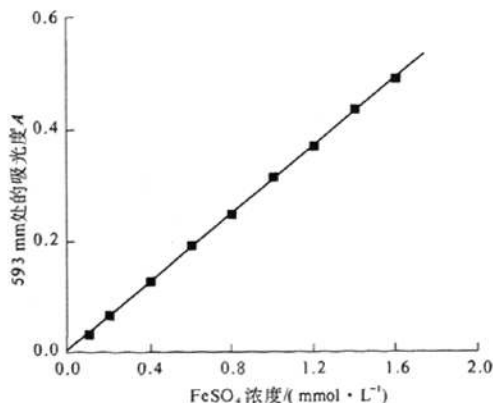


图1 硫酸亚铁标准曲线

Fig.1 Standard curve of  $\text{FeSO}_4$

### 2.2 不同提取溶剂之间枣皮红色素粗提取抗氧化能力的比较

称取适量枣皮,依次采用不同的溶剂浸取,分万方数据

别得乙酸乙酯提取液、50%乙醇提取液、0.8% 碱水提取液、0.2 mol/L 的酸水提取液、蒸馏水提取液。其提取效果如表 1 所示。

表 1 红色素提取效果

Tab.1 The effect of solvents on extraction of red pigment

提取溶剂	乙酸乙酯	50%乙醇	0.8% 的碱水	0.2mol/L 的酸水	蒸馏水
提取效果	极浅黄色	橙黄色	深枣红色	浅黄色	黄色

采用 FRAP 法测定不同溶剂提取的枣皮红色素粗提物的抗氧化能力,结果如图 2 所示,抗氧化能力由高到低为:0.8% NaOH 粗提物>50%乙醇粗提物>蒸馏水粗提物>0.2 mol/L HCl 粗提取>乙酸乙酯粗提物。结果表明对于抗氧化活性物质的提取,碱性水溶液效果最好,乙酸乙酯最差,并且这一结果与枣皮红色素的提取效果是一致的,说明枣皮红色素中含有抗氧化活性成分,并且枣皮红色素含量与抗氧化活性存在一定的相关性。

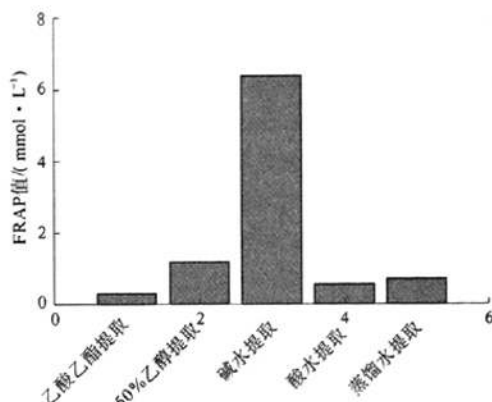


图2 不同粗提物的抗氧化能力比较

Fig.2 The comparison of antioxidant ability between different crude extract

### 2.3 抗氧化能力与枣皮红色素含量的相关性

为进一步确定枣皮红色素含量与其抗氧化能力,选取 0.8% NaOH 溶液的色素粗提物为研究对象,考察了红色素浓度 0.225,0.45,0.675,0.9,1.125,1.35 mg/mL 对总抗氧化活性的影响结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出,随着红色素浓度的增加,FRAP 值也在不断增加,即抗氧化活性不断增加。色素浓度与其抗氧化活性总体呈浓度依赖关系。

### 2.4 枣皮红色素不同极性萃取部位的总抗氧化活性比较

将碱提红色素粗提物,用适量水分散,然后采

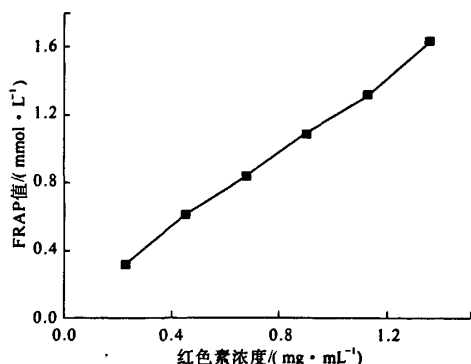


图3 色素含量与抗氧化能力的相关性

Fig.3 The correlation between the content and antioxidant activity

用乙醚、乙酸乙酯、正丁醇依次分级萃取,将枣皮色素分离成极性不同的成分。

采用FRAP法测定各萃取相的抗氧化能力,结果如图4所示。总体上,乙醚萃取相的抗氧化能力最强,正丁醇相次之,乙酸乙酯相最小,而萃取相的抗氧化能力很小,同等浓度下几乎测不出来,不予考虑。从图4中还可以看出来,低浓度条件下,3种萃取相的抗氧化能力基本相当,而在高浓度条件下,其抗氧化能力呈现明显差别。该结果表明,枣皮色素分离后得到的各极性成分的抗氧化能力总体上都与各自的色素含量呈浓度依赖关系。

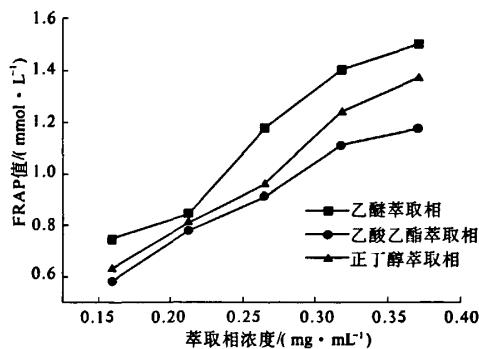


图4 不同萃取相的抗氧化能力

Fig.4 The antioxidant ability of different extract phase

### 3 结论

(1)枣皮色素中含有抗氧化活性成分,其抗氧化能力较强,并且碱性溶液有利于枣皮中抗氧化活性成分的提取。

(2)枣皮红色的抗氧化活性与其含量之间呈

正相关性,采用溶剂法分级萃取后得到的各极性成分,它们的抗氧化活性与各自的色素含量都呈浓度依赖关系。

(3)该研究确定了枣皮红色素的抗氧化活性,并明确了枣皮红色素抗氧化活性与其含量之间的相关性,表明大枣枣皮红色素不仅是一种良好的天然色素,而且是一种优良的天然抗氧化剂,具有很高的开发潜力。本研究不仅为红色素成分的进一步探索提供了一定的理论依据,也为枣皮的综合利用及开发提供了一定的参考价值。

### 参考文献:

- [1] 苗明三,孙丽敏. 大枣的现代研究[J]. 河南中医, 2003,23(3):59.
- [2] 樊君,吕磊,尚红伟,等. 大枣的研究与开发进展[J]. 食品科学,2003,24(4):161-162.
- [3] 牛继伟. 大枣化学成分研究[D]. 陕西:西北农林科技大学动物医学院,2008.
- [4] 范立通. 大枣的抗活性氧功能[J]. 食品研究与开发,1995,16(1):35-36.
- [5] 张秀凤,张光先. 大枣红色素的提取及稳定性研究,西南农业大学学报[J]. 1998,20(1):72-74.
- [6] GUO Chang-jiang, YANG Ji-jun, WEI Jing-yu, et al. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay[J]. Nutrition Research,2003,23:1719-1726.
- [7] 薛自萍,曹建康,姜微波. 枣果皮中酚类物质提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 农业工程学报, 2009,25:153-157.
- [8] 张琼,沈广宁,王淑贞,等. 枣果皮色素物质的初步研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(19):10034-10036.
- [9] 李晓,赵文恩,田武韬,等. 枣皮红色素的成分分离分析研究[J]. 天津化工,2009,23(3):37-39.
- [10] BENZIE I, STRAIN J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay[J]. Analytical Biochemistry, 1996, 239:70-76.
- [11] XU Jin-rui, ZHANG Ming-wei, ZHANG Rui-fen et al. Correlation between antioxidation and the content of total phenolics and anthocyanin in black soybean accessions[J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(2):150-158.

(下转第35页)

## Measurement and Correlation of Solubilities of Cortisone Acetate in Five Different Solvents

ZHANG Ya-dong, LI Li-li

(School of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** The solubilities of cortisone acetate in ethyl acetate, acetone, 1,4-dioxane, DMF and ethanol were determined with the synthetic method. The experimental data were correlated with the Apelblat equation and the  $\lambda h$  equation, which showed good correlation results. And the correlation results of the Apelblat equation were better than those of  $\lambda h$  equation. The results show that the solubility of cortisone acetate in above five solvents increases with the increase of temperature, the temperature sensitivity is high in the 1,4-dioxane, acetone and DMF. This study provides essential data for the solvent selection in the process of cortisone acetate crystallization, as well as the significant solid-liquid equilibrium data for its industrial production, recovering, purifying, and its theoretical studies.

**Key words:** cortisone acetate; solubility; Apelblat equation;  $\lambda h$  equation

(上接第30页)

## Determination of Total Antioxidant Capacity of Red Pigments from Chinese Jujube Peel by the Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay

ZHAO Wen-en, LI Qian-qian

(School of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay was used to determine the total antioxidant capacity of red pigments from Chinese jujube peel. The results showed that the red pigments from Chinese jujube peel had certain antioxidant activity. Furthermore, there was a positive correlation between the antioxidant capacity of red pigments and its content. Different polarity ingredients were separated from the red pigments in Chinese jujube peel with solvent fractionated extraction. And all of them appeared the concentration dependence with their content. The present study showed that the red pigments from Chinese jujube peel can be considered as a kind of good sources of natural pigments and natural antioxidants.

**Key words:** FRAP assay; antioxidant capacity; Chinese jujube peel; red pigments