

发芽温度对绿豆芽抗氧化成分和抗氧化能力的影响

黄六容, 蔡梅红, 仲元华, 姚萍, 马海乐

(江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013)

摘要: 研究了发芽温度对绿豆芽多种抗氧化成份和抗氧化能力的影响, 其中抗氧化成份包括维生素 C、维生素 E、总多酚和黄酮类化合物。当绿豆于 20℃发芽时, 维生素 C 和类黄酮化合物的含量(鲜重)达到最大, 分别为 66.4 和 693.5 mg·kg⁻¹, 而维生素 E 和总多酚的含量(鲜重)在 15℃时达到最大, 分别为 5.1 和 145.8 mg·kg⁻¹。抗氧化能力包括 1, 1-二苯基-2-苦基苯基 (DPPH·) 清除率、羟基 (·OH) 清除率和总还原力等都在 20℃时达到最大。

关键词: 绿豆芽; 发芽温度; 抗氧化成份; 抗氧化能力

中图分类号: S522

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2011)01-0031-04

Effects of germination temperature on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of mung bean sprouts

HUANG Liu-rong, CAI Mei-hong, ZHONG Yuan-hua, YAO Ping, MA Hai-le

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013)

Abstract: In this study, the effects of germination temperature on the antioxidant compound contents and antioxidant capacity of mung bean sprouts were investigated. Antioxidant compounds, such as vitamin C, vitamin E, total phenolic and flavonoid compounds were studied. When mung bean were germinated at 20 °C, the maximum contents of vitamin C and total flavonoid compounds were achieved, and their contents were 66.4 and 693.5 mg·kg⁻¹ fresh weight, respectively. However, for vitamin E and total phenolic compounds, the optimum germination temperature was 15°C, and their contents were 5.1 and 145.8 mg·kg⁻¹ fresh weight. Antioxidant capacity was measured by 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH·) scavenging activity, hydroxyl radical (·OH) scavenging activity and total reducing power. These results showed that mung bean sprouts germinated at 20°C exhibited the highest antioxidant capacity.

Key words: mung bean sprouts; germination temperature; antioxidant compounds; antioxidant capacity

绿豆又名青小豆, 含有丰富的蛋白质、氨基酸和可溶性纤维。食用芽菜是近年来的新时尚, 芽菜中以绿豆芽最为便宜, 而且营养丰富, 是自然食用主义者所推崇的食品之一, 它具有解毒、降血脂、抗肿瘤、抗菌抑菌、解暑和抗衰老等重要药用价值^[1]。研究表明, 许多抗氧化成份如黄酮、多酚、维生素 C 和维生素 E 与这些疾病有关^[2]。如维生素 C 能阻断身体内形成的某些致癌物质, 有防治癌瘤的效应^[3], 维生素 E 能保护生物体的细胞质、溶酶体、线粒体、核 DNA 免遭氧化损伤等^[4]。豆类作物在发芽过程中经过复杂的新陈代谢作用, 发生了一系

列生理和化学变化。英国食品化学专家通过研究发现, 大豆经过适当的发芽处理后, 其化学成分均有所改变, 营养价值得以提高, 并可形成独特的风味及口感, 有的还增加了一些药用成分^[5]。胡亮等研究发现, 生长条件对黄豆芽维生素 C 的含量影响很大^[6]。但是目前对于温度对绿豆芽中多种抗氧化能力和抗氧化成份的影响研究甚少。因此为了有效获得高抗氧化能力的食物, 减小自由基对人体的危害, 作者主要针对温度对绿豆发芽后的抗氧化活性以及抗氧化成份的影响进行了研究, 为高抗氧化效果绿豆芽的生产提供理论基础。

收稿日期: 2010-02-20

基金项目: 江苏大学高级专业人才科研启动基金项目 (07JGD049) 资助。

作者简介: 黄六容, 女, 博士研究生, 讲师。E-mail: hlr88888@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

仪器：电热恒温水浴锅 DK-S26（上海精宏实验设备有限公司）；紫外可见分光光度计 UV-2100（上海尤尼柯仪器有限公司）；数显不锈钢鼓风机干燥箱（上海博迅实业有限公司医疗设备厂）；生化培养箱（上海博迅实业有限公司医疗设备厂）。

试剂：绿豆购买于镇江子公司；1, 1-二苯基-2-苦基苯基(DPPH·) (Sigma 公司)；其它均为国药集团化学试剂有限公司分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 豆芽培养及预处理方法 选择饱满成熟、没有破损、大小均匀的豆粒 200 颗,洗净后用 10 倍水浸泡 12 h (W/V)。浸泡后的豆子清洗后表面用纱布盖盖置于相对湿度为 100%，不同温度的培养箱中培养发芽，每天早晚用水喷淋一次。发芽 96 h 后取样称重并测定芽长。取其中 10 g 豆芽用 40 mL 磷酸缓冲液(pH 6.8, 200 mmol·L⁻¹)匀浆后于 4 000 r·min⁻¹ 离心处理 10 min，上清液用于抗氧化能力的测定。剩余的豆芽于 40℃烘干后磨碎过 100 目筛，粉末用于抗氧化成份的测定。

1.2.2 芽长、鲜重和含水量的测定 芽长和鲜重分别用直尺和电子天平测定，含水量根据豆芽烘干前后的重量求得。

$$\text{含水量} = (\text{干重}/\text{鲜重}) \times 100\%$$

1.2.3 维生素 E 的测定 以 α -生育酚为标准，采用邻菲罗啉显色法测定^[7]。

1.2.4 维生素 C 的测定 2,4-二硝基苯肼法测定^[6]。

1.2.5 总酚含量的测定 取 3 g 烘干的豆芽干粉与 100 mL、80%的乙醇于 70℃回流提取 2 h，提取物于 4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min，分离上清液并参照 Singleton 等的 Foiln-Ciocalteu 法测定^[8]，以焦性没食子酸为标样。

1.2.6 总黄酮的测定 样品预处理同总酚含量的测定，以芦丁为对照品，Al(NO₃)₃ 比色法测定^[9]。

1.2.7 二苯代苦味酰基自由基 (DPPH·) 清除率的测定^[10] 取 2 mL 上清稀释液于试管中，加入 2 mL 浓度为 0.04 mg·mL⁻¹ 的 DPPH·溶液，混合反应 20 min，3 500 r·min⁻¹ 离心分离 10 min，取上清液在 517 nm 处测其吸光值为 A_i；另取 2 mL 稀释液于试管中，加入无水乙醇 2 mL，反应 20 min，3 500 r·min⁻¹ 离心分离 10 min，取上清液在 517 nm 处测其吸光值为 A_j；以 2 mL DPPH·溶液和 2 mL 无水乙醇反应做为参比，其吸光值记为 A₀。

$$\text{DPPH·清除率}(\%) = [1 - (A_i - A_j)/A_0] \times 100$$

1.2.8 羟自由基 (·OH) 清除率的测定^[11] 取 2 mL 上清稀释液依次加入 2 mL 6 mmol·L⁻¹ 的 FeSO₄、2 mL 6 mmol·L⁻¹ 的 H₂O₂，混匀后静置 10 min，再加入 2 mL 6 mmol·L⁻¹ 水杨酸，混匀静置 30 min，在 510 nm 处测其吸光值记为 A_i，当用双蒸水代替水杨酸时的吸光值记为 A_j。空白对照组以双蒸水代替稀释液的吸光值记为 A₀。

$$\cdot\text{OH 清除率}(\%) = [1 - (A_i - A_j)/A_0] \times 100$$

1.2.9 还原力的测定^[12] 1 mL 上清稀释液加入 2.5 mL pH 6.6 磷酸盐缓冲液、1.0%铁氰化钾 2.5 mL，混合均匀后于 50℃恒温 20 min，再加 2.5 mL 10.0% 三氯乙酸，然后 3 000 r·min⁻¹ 离心分离 10 min，取上层清液加蒸馏水 2.5 mL 和 0.1% FeCl₃ 0.5 mL，在 700 nm 处测定吸光度。

1.2.10 统计方法 所有结果均取样测定 3 次求平均值，图用软件 Origin6.1 制作。

2 结果与分析

2.1 发芽温度对豆芽鲜重和含水量的影响

绿豆芽于不同温度下发芽培养 96h 后的芽长、鲜重和含水量的结果见表 1。可见，在 15 至 30℃之间，鲜重、芽长和含水量随着温度的升高而增加。30℃时得到的豆芽的含水量是 92.07%，其鲜重和芽长分别是 15℃时的 2.42 和 5.45 倍。然而，当豆芽于 35℃发芽时，芽长、鲜重和含水量都比 30℃时要小，说明高温抑制部分酶的活性从而抑制了芽的生长。由此可见，30℃是得到豆芽鲜重最多的温度。

表 1 发芽温度对生物量和含水量的影响
Table 1 The effect of germination temperature on the biomass and percent moisture content

温度/℃ Temperature	芽长/cm Sprout length	鲜重/g Fresh weight	含水量/% Moisture content
15	1.55	47.00	76.07
20	4.45	60.20	83.32
25	6.83	96.68	90.50
30	8.45	113.88	92.07
35	6.35	80.10	87.88

2.2 发芽温度对绿豆芽抗氧化化合物含量的影响

绿豆芽中含有的维生素 C 和维生素 E 是天然的优良的抗氧化物质，它们可以清除自由基并抑制脂质过氧化^[13]。黄酮和多酚在许多提取物中也表现出很好的抗氧化能力^[14]。不同温度下得到的豆芽的维生素 C、维生素 E、总黄酮和总多酚的含量见表 2。由表 2 可见发芽温度对抗氧化化合物的含量的影响

较大。发芽温度为 20℃ 时, 维生素 C 的含量(鲜重)达到最大为 66.4 mg·kg⁻¹, 这与 Fernandez-Orozco 等报道的绿豆芽于 20℃ 发芽 4 d 后维生素 C 的含量(鲜重)70.2 mg·kg⁻¹ 比较接近^[15], 其微小差别可能是由于所使用的绿豆品种不同引起。维生素 E 的含量(鲜重)随着温度的增加而降低, 15℃ 发芽时维生素 E 的含量为 5.1 mg·kg⁻¹。当绿豆分别于 15、20、25、30

和 35℃ 发芽时, 多酚的含量呈现下降的趋势, 其含量分别(鲜重)为 145.8、138.8、90.5、73.0 和 62.5 mg·kg⁻¹。由此可见, 多酚和维生素 E 可能是对温度比较敏感的抗氧化物质, 高温不利于他们的合成或活性的发挥, 所以其含量随着温度的升高而降低。总黄酮的含量(鲜重)在 20℃ 时达到最大, 为 693.5 mg·kg⁻¹, 说明该温度最有利于黄酮的合成。

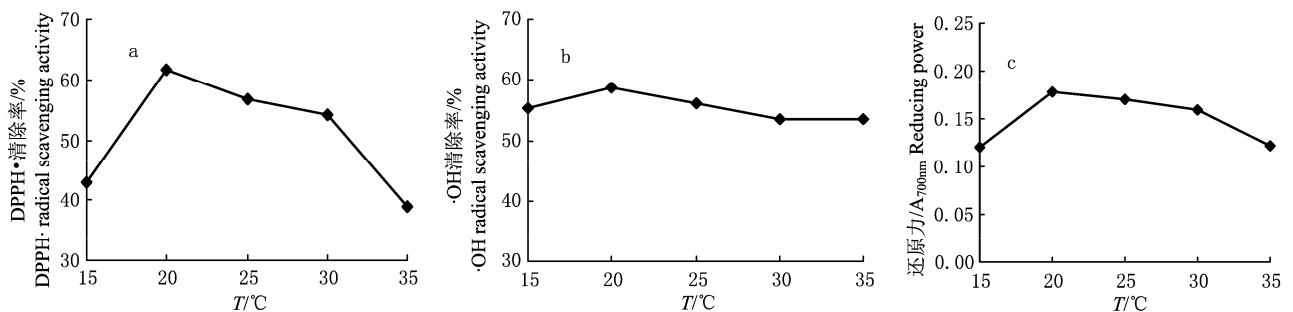
表 2 发芽温度对抗氧化化合物含量的影响
Table 2 The effect of germination temperature on the contents of antioxidant compounds

温度/℃ Temperature	维生素/mg·kg ⁻¹ C/Vc	维生素/mg·kg ⁻¹ E/V _E	总多酚/mg·kg ⁻¹ Total ployphenol	总黄酮/mg·kg ⁻¹ Flavone
15	58.4	5.1	145.8	674.0
20	66.4	2.2	138.8	693.5
25	60.3	1.2	90.5	466.8
30	57.9	0.2	73.0	372.3
35	54.6	0.1	62.5	351.9

2.3 发芽温度对绿豆芽抗氧化能力的影响

二苯代苦味酰基自由基一种很稳定的以氮为中心的自由基, 若受试物能清除它, 则提示受试物具有降低羟自由基、烷自由基或过氧自由基的有效浓度和打断脂质过氧化链反应的作用。羟自由基可以与生物体内的多种分子作用, 造成糖类、氨基酸、核酸和脂类等物质的氧化性损伤, 使细胞坏死或突变。羟自由基清除率也是反映药物抗氧化作用的重要指标。不同温度下培养得到的豆芽提取液对 DPPH·和·OH 的清除率的试验结果如图 1 所示。由图 1 可见, 当发芽温度为 20℃, 豆芽对 DPPH·和·OH

的清除率均达到最大, 分别为 61.70%和 58.67%。Yen 等研究表明, 抗氧化剂的抗氧化性越强, 则其还原力也越强。由维生素 C 知吸光度越高, 这种反应混合物的还原性越强^[16]。当豆芽分别于 15、20、25、30 和 35℃ 发芽时, 总还原力测定在 700 nm 的吸光度分别为 0.12、0.18、0.17、0.16 和 0.12。由此可见, 当豆芽于 20℃ 培养时, 表现出的抗氧化能力最好, 而抗氧化化合物维生素 C 和总黄酮的含量也在 20℃ 时最高, 说明豆芽的维生素 C 和总黄酮对豆芽的抗氧化能力的贡献最大。



(a) DPPH·清除率 DPPH radical scavenging activity; (b) ·OH 清除率 OH radical scavenging activity; (c) 还原力 Reducing power
图 1 发芽温度对抗氧化能力的影响

Figure 1 The effect of germination temperature on antioxidant capacity

3 结论

在试验的绿豆发芽温度范围里, 30℃ 时豆芽的产量最大为 113.88 g。而此时得到的豆芽抗氧化化合物含量和抗氧化能力却不是最高的。对于维生素

C 和总黄酮的含量, 20℃ 是最佳的发芽温度, 维生素 E 和总多酚含量在 15℃ 达到最大。通过对 DPPH·清除率、·OH 清除率和总还原力的测定发现, 绿豆于 20℃ 发芽得到的豆芽的抗氧化性最好, 这与得到维生素 C 和总黄酮的最高含量的温度是一致的, 说

明在豆芽中,这两种成份的总抗氧化能力比维生素E和总多酚的总抗氧化力要强,根据含量的测定和抗氧化能力的分析可知,主要是由于维生素C和总黄酮的含量远大于维生素E和总多酚。

参考文献:

- [1] Frias, J, Rosa D, Concepción V. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. *multolupa* [J]. Food Chem, 2005, 92: 211-220.
- [2] Cadenas E, Packer L. Handbook of antioxidants[M]. New York: Marcel Dekker, 2002: 1-5.
- [3] 胡宁英. 大剂量维生素 C 的抗癌作用[J]. 吉林医学, 1983(3): 42-44.
- [4] Thomas S R, Stock R. Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation[J]. Free Radic Biol Med, 2000, 28: 1795-1805.
- [5] 邓放明, 尹华. 应用芽类食品制备类咖啡饮料的研究[J]. 饮料工业, 2002(5): 36-42.
- [6] 胡亮, 黄培池. 生长条件对黄豆芽中 Vc 含量的影响[J]. 现代食品科技, 2006, 22: 113-115.
- [7] 张延威, 韩燕峰, 梁建东, 等. 5 种虫生拟青霉高产 VE 菌株的筛选及优化[J]. 安徽农业科学, 2008, 36: 1314-1315.
- [8] Singleton V I, Rossi J A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents[J]. Am J Enol Vitic, 1965, 16: 144-158.
- [9] Jia Z S, Tang M C, Wu J M. The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals[J]. Food Chem, 1999, 64: 555-559.
- [10] Bersuder P, Hole M, Smith G. Antioxidants from a heated histidine-glucose model system. I: Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high performance liquid chromatography[J]. J Am Oil Chem Soc, 1998, 75: 181-187.
- [11] Zhou H H, Ma H L. Study on the antioxidative activity of coriolus versicolor polysaccharides[J]. Food Res Develop, 2008, 29: 44-48.
- [12] Yildirim A, Mavi A, Kara A A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts [J]. J Agri Food Chem, 2001, 49: 4083-4089.
- [13] Burton G W, Traber M G. Vitamin E antioxidant activity, biokinetics and bioavailability[J]. Annu Rev Nutr, 1990, 10: 357-382.
- [14] Devi R R, Arumughan C. Phytochemical characterization of defatted rice bran and optimization of a process for their extraction and enrichment[J]. Bioresource Technol, 2007, 98: 3037-3043.
- [15] Fernandez-Orozco R, Frias J, Zielinski H, et al. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. *emerald*, *Glycine max* cv. *Jutro* and *Glycine max* cv. *merit*[J]. Food Chem, 2008, 111: 622-630.
- [16] Yen G C, Duh P D, Tsai C L. Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls[J]. J Agric Food Chem, 1993, 41: 67-68.