

8 种海藻和 3 类海带的色素抗氧化活性的研究

王晓楠^{1,2}, 王茂剑^{3,4}, 张 健², 徐英江², 赵云革^{2,*}, 刘 芳², 王共明², 井月欣²

(1.上海海洋大学, 上海 200000;

2.山东省海洋资源与环境研究院, 山东烟台 264006;

3.山东省海洋生态修复重点实验室, 山东烟台 264006;

4.山东省淡水渔业研究院, 山东济南 250013)

摘 要:实验选取褐藻、绿藻、红藻及微藻中的 8 种代表性海藻, 采取酶辅助有机溶剂法提取色素, 测其含量及抗氧化活性, 筛选出一种高抗氧化活性的海藻, 研究其不同加工方式对色素的抗氧化活性产生的影响, 并对色素含量与抗氧化活性进行了相关性分析。结果表明, 8 种海藻色素粗提物都具有一定的体外抗氧化活性, 海带、裙带菜、石莼的色素粗提物体外抗氧化活性较好, 尤以海带为佳。在海带色素粗提液终浓度 0.8 mg/mL 下, DPPH 自由基的清除率为 52.58%, 羟自由基清除率为 68.14%, 超氧阴离子自由基清除率为 60.79%。3 种海带色素的含量和抗氧化活性的大小均为: 新鲜海带 > 盐渍海带 > 晒干海带。相关性和线性回归分析表明, 三种自由基清除率与叶绿素含量和类胡萝卜素含量的相关性都达到了 0.75 以上, 且显著性都呈极显著, 叶绿素含量与类胡萝卜素含量对三种自由基的清除率的影响是具有共同作用的, 但类胡萝卜素含量与三种自由基的清除率的相关性更高。

关键词:海藻, 海带, 色素, 抗氧化活性, 加工方式

Study on antioxidant activity of pigment in 8 kinds of seaweed and three *Laminaria japonica*

WANG Xiao-nan^{1,2}, WANG Mao-jian^{3,4}, ZHANG Jian², XU Ying-jiang²,
ZHAO Yun-ping^{2,*}, LIU Fang², WANG Gong-ming², JING Yue-xin²

(1.College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 200000, China;

2.Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China;

3.Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Yantai 264006, China;

4.Shandong Freshwater Fisheries Research Institute, Jinan 250013, China)

Abstract: Enzyme-assisted organic solvent was used to extract the pigment from eight kinds of seaweeds such as brown algae, green algae, red algae and microalgae. A seaweed with highly antioxidant activity was selected by measuring pigment content and antioxidant activity by studying the effects of different processing methods on its antioxidant activity. The correlation between pigment content and antioxidant activity was analyzed. The results showed that the crude extracts of eight kinds seaweed on pigments had certain antioxidant activity *in vitro*. The antioxidant activity of *Laminaria japonica*, *Undaria pinnatifida* (Harv.) Suringar and *Ulva pertusa* were better, especially in *Laminaria japonica*. At the final concentration of 0.8 mg/mL, its scavenging rate of DPPH radical, hydroxyl radical and the superoxide anion radical were 52.58%, 68.14% and 60.79%, respectively. The pigment content and antioxidant activity of three kinds of *Laminaria japonica* were: fresh *Laminaria japonica* > salted *Laminaria japonica* > dried *Laminaria japonica*. Correlation and linear regression showed that the correlation between the three free radical scavenging rates and the content of chlorophyll and carotenoid were both up to 0.75, and there was significant correlation between them. The effects of chlorophyll content and carotenoid content on the three free radical scavenging rates was synergistic, but the relation between carotenoid content was more correlated with the three free radical scavenging rates.

Key words: seaweeds; *Laminaria japonica*; pigment; antioxidant activity; processing methods

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)03-0065-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.03.014

收稿日期: 2017-08-14

作者简介: 王晓楠(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物活性研究, E-mail: 18754512238@163.com。

* 通讯作者: 赵云革(1978-), 女, 本科, 助理研究员, 研究方向: 水产品加工, E-mail: sdshch@126.com。

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系藻类产业创新团队建设项目(SDAIT-26-05); 山东省重点研发计划项目(2016GSF115034; 2016ZDJQ0205)。

我国植物资源丰富,一大批新的植物天然色素正在被研究和利用,我国现已开发出 80 多种天然色素^[1],它们之中大多数都是从陆生植物中提取出来的。由于陆生植物的生长易受季节、气候及地域等因素的影响,仅依靠陆生植物资源提取天然色素很难满足市场需求。因此,开发新型的天然色素资源时,海藻引起了人们的关注。海藻中的色素含量较陆生植物高,具有不同于陆生植物的特征色素岩藻黄素,研究发现,海藻色素具有良好的清除自由基的作用^[2-8]。杨立群^[9]测定海带总色素和岩藻黄素的抗氧化活性,结果表明,总色素和岩藻黄素的浓度与自由基清除率成正比,当总色素浓度和岩藻黄素浓度相同时,总色素的 DPPH 自由基清除率大,说明其他色素也具有 DPPH 自由基清除能力。严小军等^[10]从 6 种不同海藻中制备不同的类胡萝卜素并对其进行抗氧化活性研究,证明它们都具有很好的清除 $O_2^{\cdot-}$ 作用,不同类胡萝卜素的超氧自由基清除能力的差别较大。这些研究结果表明,不同海藻中所含色素不同,它们的抗氧化活性也有差异。

海藻从其形体上可分为大型海藻和微藻两大类,其中大型海藻主要包括褐藻、红藻、绿藻,微藻代表物种有硅藻、金藻及等鞭微藻^[11]。我国是褐藻生产大国,海带产量约占世界总产量的 95%,为了长期保存海带,对海带进行简单的初加工,例如盐渍、晒干等。但色素的稳定性差,这些加工方式会对色素产生不同程度的影响。因此,本实验基于前人的研究基础^[9,12-18],选取褐藻、红藻、绿藻和微藻等不同的藻类,比较它们的粗色素含量和抗氧化活性,选择出一种高活性的海藻,并研究其不同加工方式对色素产生的影响,以期对海藻加工和天然色素的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

褐藻:鲜海带、裙带菜 采购于长岛养殖场,铜藻 采购于浙江舟山;红藻:江蓠 采购于荣成养殖场,紫菜 采购于日照金水源食品有限公司;绿藻:浒苔 采购于荣成养殖场,石莼 采购于长岛养殖场;微藻:微绿球藻 购买于无棣绿奇生物生物工程有限公司;纤维素酶(10000 U/g) 阿拉丁试剂有限公司;抗坏血酸、盐酸、无水乙醇、焦性没食子酸、十二水合磷酸氢二钠(磷酸氢二钠)、氢氧化钠、DTT(二硫苏糖醇) 国药集团化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-苦肼基自由基 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;过氧化氢 30% 天津市大化实验厂;1,10-菲啰啉 天津市科密欧化学试剂有限公司;硫酸亚铁 天津市光复精细化工研究所;本实验所使用的试剂均为分析纯。

电子分析天平 美国 Ohaus 公司;S210 pH 计 METTLER-TOLEDO 公司;SHA-C 恒温振荡器 常州国华电器有限公司;5430R 高速离心机 德国 Eppendorf 公司;S1 移液管电动移液器 美国 Thermo 公司;TU-1810 紫外可见分光光度计 北京谱析通用仪器有限公司;电热恒温水浴锅 龙口市

先科仪器公司;ALPHA 1-4 LDplus 冷冻干燥机 德国 Christ 公司;XW80-A 漩涡混合仪 上海精科实业有限公司;EYELA 冷却水循环装置 上海爱朗仪器有限公司;IKA RV8 系列旋转蒸发仪 德国 IKA 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 原料预处理 分别用自来水、蒸馏水清洗鲜海藻,去除其表面的泥沙、盐类及其他的附着物,阴暗处沥干表面水分后真空冷冻干燥(冷阱温度 -40°C ,真空度 400 Pa 下干燥 36 h),然后粉碎,经 80 目过筛,密封避光存放于 -20°C 冰箱内。

1.2.2 色素的提取 参考文献[16],称 5.0 g 海藻冻干粉,加无水乙醇溶液使料液比为 1:10 (g/mL),用 0.1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 溶液调整 pH 至 5,加入 0.3% (以原料质量计)的纤维素酶,于 40°C 恒温水浴振荡器避光提取 30 min,抽滤,提取 2 次,合并滤液,沸水浴灭酶 5 min,7000 r/min 离心 15 min,取上清液。

1.2.3 色素含量的测定 取样品液 3 mL 至光径 1 cm 的石英比色杯中,以无水乙醇为空白,分别在 450、663、645 和 630 nm 波长下测定吸光度,每次实验平行 3 次,将其平均值带入含量测定公式计算。色素浓度的计算公式如下:

叶绿素的含量^[19-20]按照公式(1)计算:

$$\text{叶绿素 a 浓度 (mg/L)} = 11.64A_{663} - 2.16A_{645} + 0.10A_{630}$$

$$\text{叶绿素 b 浓度 (mg/L)} = 20.97A_{645} - 3.94A_{663} - 3.66A_{630}$$

$$\text{叶绿素 c 浓度 (mg/L)} = 54.22A_{630} - 14.18A_{645} - 5.53A_{663}$$

$$W(\text{mg/g}) = \frac{c \times V \times n}{m} \quad \text{式(1)}$$

式中:W 为 1 g 海藻冻干粉中所含叶绿素的质量 mg;c 为叶绿素的浓度 mg/mL;V 为色素粗提液的总体积 mL;n 为稀释倍数;m 为海藻冻干粉质量 g。

根据 Beer-Lambert 定律^[21],样品(g)中类胡萝卜素的含量(mg)按公式(2)计算:

$$W(\text{mg/g}) = \frac{A_{450} \times V \times n \times 10 \times 2500}{m(\text{g})} \quad \text{式(2)}$$

式中:W 为 1 g 海藻冻干粉中所含类胡萝卜素的质量 mg; A_{450} 为样品在 450 nm 波长处的吸光值;V 为样品液体积 mL;2500 为类胡萝卜素的消光系数;m 为海藻冻干粉质量 g。

1.2.4 海藻色素粗提物体外抗氧化活性的研究

1.2.4.1 待测液的制备 按 1.2.2 的方法提取海藻色素,28 $^{\circ}\text{C}$ 下浓缩蒸去溶剂后真空冷冻干燥(冷阱温度 -40°C ,真空度 400 Pa 下干燥 48 h),于 -20°C 保存在棕色瓶中。用前配制成 0.8 mg/mL 的母液,再稀释到所需浓度。

1.2.4.2 DPPH 自由基清除能力的测定 根据 Brand-Williams, Cuvelier 和 Berset 描述的改进方法进行测定^[22]。配制 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 DPPH 标准液,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。将 1 mL 不同浓度色素粗提液加入 3 mL DPPH,避光反应 30 min,517 nm 处测吸光值 A_1 ;吸取 1 mL 无水乙醇加 3 mL DPPH 测吸光值 A_0 ;1 mL 色

素溶液加入 3 mL 无水乙醇测吸光值 A_j 。DPPH 自由基清除率按以下公式(3)计算:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_1 + A_j}{A_0} \times 100$$

式(3)

1.2.4.3 羟自由基清除能力的测定 采用水杨酸法测定羟自由基清除能力^[23]。利用 H_2O_2 与 Fe^{2+} 混合产生 $\cdot OH$, 在体系内加入水杨酸捕捉 $\cdot OH$ 并产生有色物质, 该物质在 510 nm 下有最大吸收。反应体系中含 2 mL pH7.4 的磷酸盐缓冲液, 9 mmol/L $FeSO_4$ 和 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液各 1 mL, 样品溶液 0.5 mL, 最后加入 0.88 mmol/L H_2O_2 0.5 mL 启动反应, 37 °C 反应 0.5 h, 以蒸馏水为参比, 在 510 nm 下测定吸光值。考虑到样品本身的吸光值, 以蒸馏水代替 H_2O_2 作为样品的本底吸收值。按下式(4)计算羟自由基清除率。

$$\text{羟自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100$$

式(4)

式中: A_0 为空白对照液的吸光值; A_1 为加入样品溶液后的吸光值; A_2 为样品溶液本底的吸光值。

1.2.4.4 超氧阴离子自由基清除能力的测定 采用的是邻苯三酚自氧化法^[24]。25 °C 恒温水浴 5 mL 0.1 mol/L pH8.2 的 Tris-HCl 缓冲液 20 min, 加入 50 μ L 样品, 然后加入 40 μ L 25 mmol/L 邻苯三酚溶液, 25 °C 反应 3 min, 迅速滴加 50 μ L 50 mg/mL DTT 终止反应, 室温静置 10 min, 测定 316 nm 处吸光值。

超氧阴离子自由基清除率按公式(5)计算:

$$\text{超氧阴离子自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100$$

式(5)

式中: A_1 为样品跟邻苯三酚反应后的吸光值; A_2 为样品本身的吸光值; A_0 为邻苯三酚自氧化的吸光值。

1.2.5 不同处理方式的海带色素含量及体外抗氧化活性 将新鲜海带按以下 2 种方式加工处理^[25]。晒干海带: 鲜海带冲洗后直接晒干, 然后真空冷冻干燥, 粉碎, 经 80 目过筛, 备用。盐渍海带: 海带 100 °C 漂烫 2 min, 自来水冷却后, 沥水, 盐渍 72 h, 冲洗 3 次, 自来水浸泡 12 h, 再冲洗 3 次, 真空冷冻干燥, 粉碎, 经 80 目过筛, 备用。

新鲜海带、晒干海带和盐渍海带的色素含量分析以及色素粗提物体外抗氧化活性的实验方法与 1.2.2、1.2.3 和 1.2.4 相同。

1.2.6 统计分析 用 Spss 17.0 和 Origin 8.6 进行了相关统计学分析。所有实验均做三组平行实验。

2 结果与分析

2.1 不同藻类色素含量及其色素粗提物抗氧化活性分析

2.1.1 不同藻类色素含量 不同藻类色素含量测定结果如表 1 所示, 表 2 是各色素含量占总色素含量的比例。从表中可以看出, 在色素总含量上, 裙带菜 > 石莼 > 紫菜 > 浒苔 > 海带 > 微绿球藻 > 铜藻 > 江蓠, 其中不同藻类中叶绿素含量与总色素含量的排序相同, 但类胡萝卜素含量的排序稍有不同, 类胡萝

表 1 不同藻类色素含量对比
Table 1 Pigment content in different seaweeds

海藻名称	色素含量(mg/g)					
	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素 c	总叶绿素	类胡萝卜素	总色素
海带	0.855 ± 0.033	0.039 ± 0.007	0.294 ± 0.036	1.188 ± 0.052	0.548 ± 0.036	1.736 ± 0.077
裙带菜	3.008 ± 0.089	0.736 ± 0.009	1.057 ± 0.094	4.801 ± 0.191	1.450 ± 0.188	6.251 ± 0.378
铜藻	0.531 ± 0.015	0.239 ± 0.005	0.151 ± 0.004	0.921 ± 0.014	0.272 ± 0.008	1.193 ± 0.022
紫菜	1.134 ± 0.012	0.973 ± 0.015	0.032 ± 0.006	2.139 ± 0.004	0.672 ± 0.016	2.779 ± 0.014
江蓠	0.430 ± 0.017	0.085 ± 0.013	0.021 ± 0.002	0.536 ± 0.033	0.119 ± 0.013	0.655 ± 0.047
浒苔	0.801 ± 0.023	0.484 ± 0.010	0.651 ± 0.007	1.936 ± 0.040	0.519 ± 0.035	2.455 ± 0.020
石莼	2.442 ± 0.009	0.989 ± 0.004	0.198 ± 0.000	3.629 ± 0.013	1.726 ± 0.010	5.157 ± 0.005
微绿球藻	1.157 ± 0.002	0.020 ± 0.002	0.002 ± 0.006	1.177 ± 0.002	0.236 ± 0.001	1.413 ± 0.004

表 2 各色素含量占总色素含量的比例
Table 2 The ratio of each pigment content to total pigment content

海藻名称	各色素含量占总色素含量的比例(%)				
	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素 c	总叶绿素	类胡萝卜素
海带	49.25	2.25	16.93	68.43	31.57
裙带菜	48.12	11.77	16.91	76.80	23.20
铜藻	44.51	20.03	12.66	77.20	22.80
紫菜	40.81	35.01	1.15	76.97	24.13
江蓠	65.65	12.98	3.21	81.84	18.17
浒苔	32.63	19.71	26.52	78.86	21.14
石莼	45.60	18.47	3.70	67.77	32.23
微绿球藻	81.88	1.41	0.14	83.30	16.70

卜素含量最多的是石莼,远远高于海带中类胡萝卜素的含量,但石莼类胡萝卜素含量占总色素的百分比与海带的相近;对比叶绿素和类胡萝卜素含量可知,叶绿素的含量远大于类胡萝卜素的含量。

从总体上看,褐藻、绿藻、红藻及微藻中叶绿素含量均大于类胡萝卜素含量,且叶绿素含量约为类胡萝卜素含量的3倍;同一类型下的不同藻体其叶绿素含量和类胡萝卜素含量差异较大,褐藻中的裙带菜、红藻中的紫菜、绿藻中的石莼总色素含量相对较高。

2.1.2 DPPH 自由基清除能力 从图1可以看出,与其他藻类相比,海带的DPPH自由基清除率,在任何提取液浓度下都是最高的,其次是裙带菜,这两种与其他的有较大差异。其中海带色素DPPH自由基清除率随浓度的增大而升高,提升率最大;而裙带菜呈先升高后平稳的趋势,在0.3 mg/mL前提升率与海带差异不大,随着浓度的增加,DPPH自由基清除率呈平缓的上升趋势,而江蓠在所测色素粗提液浓度下,DPPH自由基清除率趋于平缓,是8种藻类中DPPH自由基清除率最小的一种海藻。浒苔和紫菜除初始浓度下有一定差异外,随着浓度的增加差异越来越小,几乎相同。在终浓度下只有海带色素的DPPH自由基清除率达到50%以上,为52.58%。

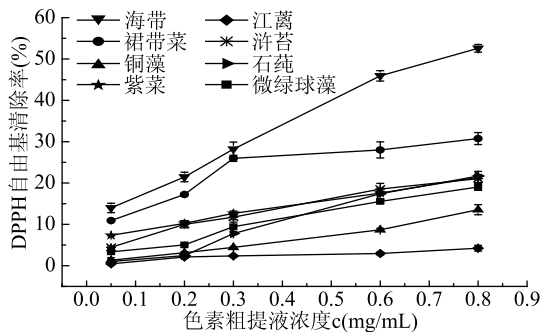


图1 不同藻类色素粗提液对DPPH自由基的清除作用

Fig.1 Scavenging effects of the pigments extract from various seaweeds against DPPH radical

2.1.3 羟自由基清除能力 从图2可以看出,随着浓度的增加,所有藻类羟自由基清除率都呈上升趋势。其中海带虽然在初始浓度下羟基自由基清除率较低,但在整个浓度梯度中呈快速上升趋势,上升幅度最大,在终浓度下清除率最高;铜藻初始浓度下羟基自由基清除率要高于海带,其呈先平稳上升后极具上升的趋势,终浓度下的羟自由基清除率接近于海带;裙带菜和石莼在初始浓度下羟基自由基清除率分别接近于铜藻和浒苔,两者趋势相似,仅在开始两个浓度下有较大的差异;微绿球藻在初始浓度下羟基自由基清除率分别接近于裙带菜和海带,终浓度下分别小于紫菜和江蓠,且上升幅度相比于其他藻类都较小;浒苔的初始浓度清除率与石莼相接近,其随浓度的增加呈快速升高后缓慢升高的趋势,终浓度清除率小于石莼;江蓠与紫菜初始浓度清除率相近,但随着浓度的增加,差异越来越大,两者终浓度清除率分别小于浒苔和微绿球藻。在终浓度下海带、铜藻、裙带菜、石莼的色素对羟自由基清除率达到50%以上,其中海带色素对羟自由基的清除率最

高,为68.14%。

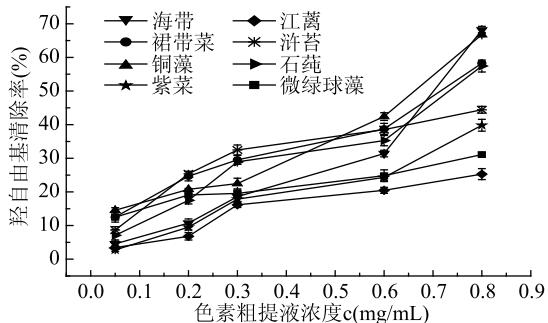


图2 不同藻类色素粗提液对羟自由基的清除作用

Fig.2 Scavenging effects of the pigments extract from various seaweeds against hydroxy radical

2.1.4 超氧阴离子自由基清除能力 从图3可以看出,整体上看所有的藻类随浓度的增加都呈上升趋势。其中,在低于0.6 mg/mL浓度下海带色素的超氧阴离子清除率均高于其他藻类色素,终浓度下略低于浒苔,而微绿球藻在整个浓度范围内清除率最小。浒苔从初始浓度到终浓度清除率上升幅度最大,初始浓度清除率大于铜藻小于紫菜,终浓度的清除率与海带相同。其余几种藻类色素的变化幅度较为接近。终浓度下海带、石莼、浒苔的色素对超氧阴离子自由基清除率达到50%,其中海带色素对超氧阴离子自由基的清除率略低于浒苔色素对超氧阴离子自由基的清除率,为60.79%。

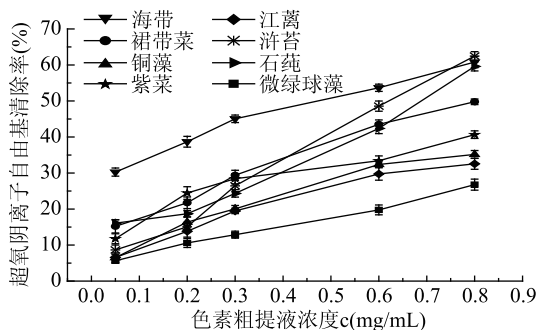


图3 不同藻类色素粗提液对 $O_2^{\cdot-}$ 清除作用

Fig.3 Scavenging effects of the pigments extract from various seaweeds against superoxide anion radical

综上所述,从藻类的色素粗提液色素成分和活性比较分析,可以看出海带色素抗氧化活性的综合效果最好,因此选择海带作为一种活性色素来源材料。

2.2 不同处理方式海带的色素含量及其抗氧化活性的研究

2.2.1 不同处理方式海带的色素含量 分析结果如表3所示,新鲜海带的各种色素含量最高,其次是盐渍海带,其与新鲜海带差异不大,说明盐渍处理造成海带色素含量的损失较小,这也许与色素大部分是脂溶性有关;然而晒干海带的各种色素含量都有较大的下降,说明晒干对海带的色素损失影响很大,这一结果与赵鹏^[18]研究的光照对岩藻黄素的稳定性的结果类似。

2.2.2 不同处理方式海带色素的抗氧化活性 从图4可以看出,三种处理方式的海带色素粗提液随着浓

表3 不同处理方式的海带色素含量
Table 3 The pigment content of kelp under different treatment methods

海藻名称	色素含量(mg/g)					
	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素 c	总叶绿素	类胡萝卜素	总色素
新鲜海带	0.877 ± 0.022	0.047 ± 0.002	0.333 ± 0.012	1.257 ± 0.012	0.555 ± 0.014	1.812 ± 0.027
盐渍海带	0.726 ± 0.010	0.024 ± 0.002	0.301 ± 0.015	1.051 ± 0.010	0.452 ± 0.014	1.503 ± 0.007
晒干海带	0.178 ± 0.013	0.025 ± 0.001	0.066 ± 0.003	0.269 ± 0.012	0.028 ± 0.008	0.297 ± 0.019

表4 三种海带的色素含量与抗氧化活性的相关性分析
Table 4 Correlative analysis of pigment content and antioxidant activity on three types of Kelp

	相关性		显著性	
	叶绿素含量	类胡萝卜素含量	叶绿素含量	类胡萝卜素含量
DPPH 自由基清除率	0.889	0.905	0.00001	0.00000
羟自由基清除率	0.764	0.784	0.00092	0.00055
超氧自由基清除率	0.772	0.851	0.00075	0.00006

表5 三种海带的色素含量与抗氧化活性的回归分析
Table 5 Regression analysis of pigment content and antioxidant activity on three types of Kelp

抗氧化活性	R ²	回归方程	显著性
DPPH 自由清除率(Y)	0.9725	Y = 5.7283 - 688.9797X ₁ + 3028.9492X ₂ + 600054.0121X ₁₂ + 4.35234E6X ₂₂ - 3.2825E6X ₁ X ₂	**
超氧自由基清除率(Y)	0.8927	Y = 12.4827 - 1920.4998X ₁ + 6796.565X ₂ + 627193.2246 X ₁₂ + 4.4851E6X ₂₂ - 3.4117E6X ₁ X ₂	**
羟自由基清除率(Y)	0.9358	Y = 9.5130 + 1593.2752X ₁ - 4023.0611X ₂ + 305727.5532X ₁₂ + 2.385E6X ₂₂ - 1.7285E6X ₁ X ₂	**

注: X₁ 和 X₂ 分别为叶绿素含量和类胡萝卜素含量。

度的增加,三种自由基的清除率也随之升高,这说明盐渍和晒干两种方式并不会使色素完全失活。对比三种海带处理方式,在 DPPH 和超氧阴离子自由基清除活性上,晒干海带的抗氧化活性最小,盐渍海带居中,新鲜海带最大,这与三种海带中色素含量的排序一致。这说明经过晒干和一段时间的盐渍后,随着色素含量的下降,抗氧化活性也会随之下降。然而,新鲜海带在低浓度下,比盐渍和晒干海带的羟基自由基清除活性要稍小,但随着浓度的增加,其与其他两者之间的差异变小再增大,在 0.3 mg/mL 和 0.8 mg/mL 的浓度下分别大于晒干和盐渍海带。整体上讲,新鲜海带的色素的抗氧化活性明显要高于其他两种,盐渍海带要高于晒干海带,这与三种海带中色素含量排序一致。

2.2.3 海带中的色素含量与抗氧化活性的关系分析 为了更好的揭示海带色素与抗氧化活性的内在关系,以不同浓度下三种处理方式的海带色素提取液中叶绿素含量和类胡萝卜素含量以及相应的三种自由基清除率作为数据,对三种海带的抗氧化活性与两类色素之间的关系进行了总结,结果见表 4 和表 5。

表 4 为三种自由基的清除率与两类色素含量的相关性分析,从表中可以看出,三种自由基清除率与两类色素含量的相关性良好,都达到了 0.75 以上,且显著性都呈极显著,说明海带色素是一种主要的抗氧化物质。从表中还可以看出,三种自由基清除率与类胡萝卜素含量的相关性更高,这说明类胡萝卜素在其中起的作用更大。表 5 为海带抗氧化活性与两种色素之间建立的回归方程,三个方程都呈极显

著,而且 R² 都在 0.89 以上,这说明该模型能很好的解释抗氧化活性。从模型中可以看出,叶绿素与类胡萝卜素对抗氧化活性的影响并不是相互独立的;与 X₁ 相关的回归系数之和要比 X₂ 小一个数量级,这说明类胡萝卜素对抗氧化活性的影响要大于叶绿素。这与相关性分析结果一致。

综上所述,如果在这三种海带中叶绿素相差在一个数量级之内,可通过比较类胡萝卜素的含量来比较海带色素的抗氧化活性高低。结合表 3 三种不同处理方式的海带色素含量可知,三种海带色素粗提液的抗氧化活性高低为:新鲜 > 盐渍 > 晒干。

3 结论

海带是一种营养价值很高的海产品,同时具有一定的药用价值。可作为许多功能性成分和工业原料的提取原料,然而在这些功能性成分提取的同时会留下许多很少会被利用的废料。本实验通过藻类色素粗提物活性的比较发现,海带色素活性在藻类中最好,具有很好的开发潜力,如果海带色素得到良好的利用,将为海带产业带来一定的增值。为了更好的保持海带贮藏方式,进行了三种保藏方式的对比分析,发现与新鲜海带相比,不论用何种方式处理,均会使海带色素含量减少。盐渍海带相比之下,色素含量损失较少,但抗氧化能力较新鲜海带小;而晒干海带由于长时间的进行光照,会使色素严重流失,这一结果与任丹丹等^[17]测定的不同处理方式海带类胡萝卜素的含量的结果相似。

综上所述,海带是藻类中值得开发利用的一种

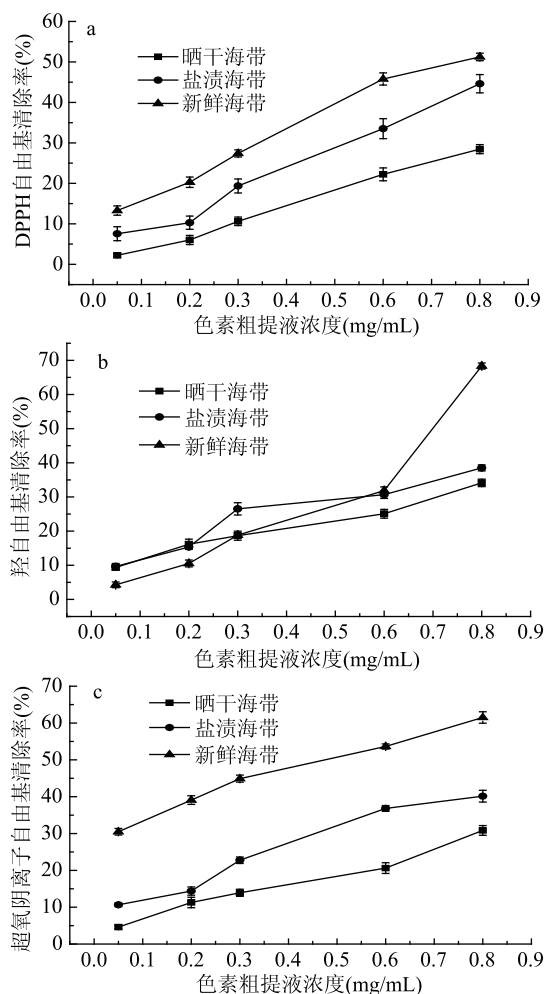


图4 不同处理方式下海带色素粗提液的抗氧化活性

Fig.4 Scavenging effects of the pigments extract from different treatments on Kelp

色素原料,在海带的生产食用过程中,最好能保持新鲜,若要长期保持可选择盐渍处理方式。

参考文献

- [1] 杨志娟.我国天然色素的现状与发展方针[J].食品研究与开发,2003,24(2):3-5.
- [2] K Chakraborty, N K Praveen, K K Vijayan, et al. Evaluation of phenolic contents and antioxidant activities of brown seaweeds belonging to *Turbinaria* spp. (Phaeophyta, Sargassaceae) collected from Gulf of Mannar [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2013, 3(1): 8-16.
- [3] Su Chern Foo, Fatimah Md Yusoff, Maznah Ismail, et al. Antioxidant capacities of fucoxanthin - producing algae as influenced by their carotenoid and phenolic contents [J]. Journal of Biotechnology, 2017, 241(1): 175-183.
- [4] Amal Maadane, Nawal Merghoub, Tarik Ainane, et al. Antioxidant activity of some Moroccan marine microalgae: Pufa profiles, carotenoids and phenolic content [J]. Journal of

Biotechnology, 2015, 215(23): 13-19.

- [5] 胡永东.铜藻岩藻黄质的制备及其抗氧化、免疫调节活性研究[D].舟山:浙江海洋学院,2015.
- [6] 纪晓林,李裕博,朱洪日,等.裙带菜孢子叶岩藻黄质提取工艺与抗氧化活性的研究[J].食品科技,2016,41(1): 199-203.
- [7] 闫相勇,刘翼翔,吴永沛,等.海带岩藻黄素的提取及纯化工艺研究[J].中国食品学报,2014,14(3): 115-121.
- [8] 周卫松.裙带菜中岩藻黄质、岩藻多糖的综合提取纯化研究[D].杭州:浙江大学,2014.
- [9] 杨立群.海带中总色素和褐藻黄素的提取分离及其生物活性研究[D].济南:山东师范大学,2008.
- [10] 严小军,范晓,姜清香,等.海藻中类胡萝卜素抗超氧自由基活性研究[J].海洋科学集刊,2001,43(43): 115-118.
- [11] 王丽.海藻类胡萝卜素结构鉴定及微胶囊化的研究[D].大连:大连海洋大学,2015.
- [12] 陈文佳.海带中岩藻黄素提取工艺优化及性质研究[D].济南:山东轻工业学院,2012.
- [13] 李斌,吴永沛,刘翼翔,等.海带渣中岩藻黄素的酶法提取工艺研究[J].食品工业科技,2014,35(21): 192-196.
- [14] 刘辉,贺菊萍,秦杰,等.海带中叶绿素的提取及间接测定方法研究[J].食品科学,2010,31(18): 178-181.
- [15] 潘柯伊,芮汉明,张立彦.复绿海带中叶绿素稳定性研究[J].食品工业科技,2012,33(1): 141-143, 147.
- [16] 秦云,孟丽媛,王凤舞.复合酶法提取海带岩藻黄素及其抗氧化活性分析[J].食品科学,2013,34(16): 279-283.
- [17] 任丹丹,陈倩,秦振中,等.不同处理方式对海带类胡萝卜素含量的影响[J].水产科学,2011,30(11): 673-676.
- [18] 赵鹏.海带中岩藻黄素的提取与纯化工艺研究[D].北京:北京化工大学,2010.
- [19] G R Seely, M J Duncan, W E Vidaver. Preparative and analytical extraction of pigments from brown algae with dimethyl sulfoxide [J]. Marine Biology, 1972, 12(2): 184-188.
- [20] 戴荣继,黄春,佟斌,等.藻类叶绿素及其降解产物的测定方法[J].中央民族大学学报(自然科学版),2004,13(1): 75-80.
- [21] Noel R, Krieg John, G Holt, et al. Bergery's Manual of Determinative Bacteriology (Ninth Edition) [J]. Williams & Wilkins, 1994, 19(3): 544-551.
- [22] W. Brand-Williams, Cuvelier M E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity [J]. LWT- Food Science and Technology, 1995, 28(1): 25-30.
- [23] 张丽华,李顺峰,刘兴华,等.猕猴桃果肉叶绿素的提取及抗氧化活性研究[J].中国食品学报,2012,12(7): 29-35.
- [24] 杨明琰,张晓琦,沈俭,等.超氧化物歧化酶两种邻苯三酚自氧化测定活力方法的比较[J].微生物学杂志,2006,26(3): 40-42.
- [25] 赵梦醒,刘淇,江志刚,等.三种加工方式海带中砷形态和含量的比较[J].食品与生物技术学报,2013,32(5): 529-535.

(上接第64页)

工业大学学报自然科学版,2009,30(2): 42-45.

- [15] ShuCC, C' hungRS, Yuh CK, et al. The Constituents and

Their Bioactivities of *Houttuynia cordata* [J]. Pharmaceutical Society of Japan, 2009, 57(11): 1227-1230.