

提取方法对红枣色素抗氧化活性的影响

郑安然, 邵佩兰, 郭晓丹, 周华佩, 李宛陶

(宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:以枣皮为试材,采用碱提、超声辅助碱提、酶-超声辅助碱提3种方法提取红枣色素,并比较了不同提取方法获得的红枣色素清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH·)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)、超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、亚硝基($\text{NO}_2^{\cdot-}$)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)自由基、 H_2O_2 能力及还原能力,以探究红枣色素的最适提取方法。结果表明:3种方法提取的红枣色素均具有较好的自由基清除能力,且碱提取色素对DPPH·、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{NO}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 清除能力较强;当色素质量浓度大于 $0.25\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,酶-超声辅助碱提取色素对ABTS $^+$ 清除能力最强;当色素质量浓度大于 $0.4\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,还原能力强弱依次为碱提取色素>酶-超声辅助碱提取色素>超声辅助碱提取色素。不同方法提取色素的抗氧化活性有一定差异,以碱提取色素最佳。

关键词:红枣色素;碱提法;超声辅助碱提法;酶-超声辅助碱提法;抗氧化活性

中图分类号:TS 255.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)23-0129-05

随着人们物质生活水平的提高,食品营养与健康受到更加广泛的关注。而影响健康的主要因素之一就是不健康的生活方式及饮食导致机体在代谢过程中产生的过量自由基,导致衰老、癌症、肺气肿、眼疾等多种疾病的发生,对健康造成极大的伤害^[1-3]。如何控制自由基的含量,使其维持在正常水平,有助于机体的正常生命活动,一直是科学研究的热点。抗氧化剂可直接清除过剩自由基,有效防止或减轻体内自由基所导致的氧化损伤,从而起到治疗与活性氧毒性有关的疾病^[4]。研究表明,植物中的天然抗氧化物质可消除人体代谢过程中多余的内源性活性氧自由基,阻断自由基对人体内大分子物质的伤害,减少心脑血管疾病的发生^[5]。因此,建立多种自由基清除体系对天然色素进行体外抗氧化活性研究具有重要意义。

红枣色素是从大枣枣皮中提取的一种天然植物色素,属多酚黄酮类物质^[6-7],具有一定的止泻、抗菌、抗癌、抗病毒等功能^[8]。研究表明^[9-10],枣中多酚类及黄酮类物质具有较好的抗氧化活性。李勇^[11]指出红枣色素的乙醚分级分离部分对亚硝基和超氧阴离子具有较好的抗氧化活性,对羟自由基的清除能力较弱,而对其它自

由基的清除活性尚鲜见报道。目前对红枣色素提取工艺的研究已较为成熟,常见的提取方式主要有碱提法、超声辅助碱提法、微波辅助碱提法以及酶法提取等^[12],不同的提取方法可能造成提取物纯度及某些活性物质含量不同,进而影响红枣色素的理化性质。现以枣皮为试材,采用碱提取、超声辅助碱提取、酶-超声辅助碱提取3种方法提取红枣色素,并比较了不同提取方法获得的红枣色素的清除DPPH·、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{NO}_2^{\cdot-}$ 、ABTS $^+$ 、 H_2O_2 能力及还原能力,探讨不同方法提取的红枣色素的抗氧化活性,以期为开发利用、选择抗氧化能力高的红枣色素提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试枣皮为“灵武长枣”加工枣汁废渣,经预处理后用清水清洗2~3次,40℃烘干,粉碎过60目筛备用;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate, ABTS)购自美国Sigma公司;FeSO₄、氯化钾、盐酸、醋酸钠、醋酸、无水乙醇、亚硝酸钠、甲醇、过硫酸钾、水杨酸、维生素C、邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、铁氰化钾等均为分析纯。

KQ-100DB型数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);TDL-5-A型台式离心机(上海安亭科学仪器厂);101-3型电热恒温鼓风干燥箱(上海东星建材试验设备有限公司);JDG-0.2真空冻干试验机(兰州科近真

第一作者简介:郑安然(1993-),女,硕士研究生,研究方向为食品化学与营养。E-mail:zhenganran17@163.com.

责任作者:邵佩兰(1963-),女,本科,教授,研究方向为食品化学与营养及天然产物提取与应用。E-mail:nxshpl@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260375)。

收稿日期:2016-09-29

空冻干技术有限公司);UV-2000 紫外可见分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司);7230G 可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 试验方法

碱提取条件:取粉碎枣皮粉,以 1:10(w/v)料液比加入 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液,75 °C 浸提 1 h,过滤得澄清滤液,将所得滤液真空旋转蒸发至浓稠状,真空干燥的粉末状红枣色素。超声辅助碱提取条件^[13]:加入 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液于 75 °C、80 W 超声提取 30 min。酶-超声辅助碱提取条件:先将枣皮粉用 1.25% 果胶酶酶解 30 min 后,进行超声辅助碱提取。

1.3 项目测定

1.3.1 DPPH·清除活性 参照文献[14]的方法,取不同浓度样品溶液 2.0 mL,加入 $0.4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DPPH 无水乙醇溶液 2.0 mL 充分混匀,室温避光静置 30 min 后,以溶剂为空白对照,517 nm 处测得吸光度 A_i ;以同体积蒸馏水代替样品溶液做阴性对照,测得吸光度 A_0 ;以同体积无水乙醇代替 DPPH 溶液做空白组,测得吸光度 A_j ,3 次重复,取平均值。计算清除率。清除率(%) = $(1 - (A_i - A_j) / A_0) \times 100$ 。

1.3.2 ABTS⁺·清除活性 参照文献[15]的方法,将样品配制成不同浓度的样品液,分别取各样品液 0.1 mL,加入 3.9 mL 的 ABTS 溶液($A_{734\text{nm}} = 0.70 \pm 0.02$),充分混合,室温避光放置 6 min,在 734 nm 处测定吸光度 A_i 。空白对照用蒸馏水代替样品液,测定吸光度 A_0 ,3 次重复,计算清除率。清除率(%) = $(A_i - A_j) / A_0 \times 100$ 。

1.3.3 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除活性 参照文献[16]的方法,取 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲溶液(pH 8.2)和 $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻苯三酚溶液 25 °C 恒温水浴保温 20 min,取 4.5 mL 缓冲溶液,1.0 mL 样品液,0.4 mL 邻苯三酚溶液,摇匀,反应 5 min,加入 1.0 mL $8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 终止反应,以 Tris-HCl 缓冲液为参比,于 420 nm 波长处测定吸光度 A_i 。以相同体积无水乙醇代替邻苯三酚溶液,测吸光度 A_j ,空白对照组以相同体积无水乙醇代替样品溶液测得吸光度 A_0 。3 次重复,计算清除率的方法同 1.3.1。

1.3.4 $\cdot\text{OH}$ 清除活性 分别取 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ FeSO_4 溶液 3 mL, $9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 溶液 3 mL, $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水杨酸溶液 3 mL,依次加入到 10 mL 比色管中,用乙醇定容后摇匀,放入 $(37 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ 水浴中,反应 15 min,然后取出用流水冷却,离心(转速为 $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)10 min,以乙醇做参比溶液,在 510 nm 波长处测定吸光度为 A_0 。分别以 1 mL 不同浓度的红枣色素溶液代替乙醇,测得吸光度为 A_i 。再以 1 mL 不同浓度红枣色素溶液代替水杨酸,测得吸光度为 A_j 。3 次重复,计算清除率的方法

同 1.3.1。

1.3.5 NO_2^- 清除活性 分别取 2 mL 不同浓度红枣色素溶液于试管中,各加入 $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ NaNO_2 溶液 1 mL,置于 37 °C 恒温水浴锅中 30 min,分别向其中加入 0.4% 对氨基苯磺酸溶液 1 mL,振荡混匀后静置 5 min,加入 0.2% 盐酸萘乙二胺溶液 0.5 mL,混匀后加蒸馏水定容至 25 mL,静置 15 min,在 538 nm 下测定吸光度为 A_i ,以 2.0 mL 蒸馏水代替红枣色素,测得吸光度为 A_0 ,计算 NO_2^- 清除率。清除率(%) = $(A_0 - A_i) / A_0 \times 100$ 。

1.3.6 H_2O_2 清除活性 取 2.8 mL 由 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲溶液(pH 7.4)配制的 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 溶液,分别加入 1.0 mL 不同质量浓度红枣色素溶液,用蒸馏水定容至 10 mL,25 °C 放置 10 min,于 230 nm 处测定吸光度 A_i 。以蒸馏水代替红枣色素溶液,重复上述步骤,记吸光度值 A_0 ,计算 H_2O_2 清除率。清除率(%) = $(A_i - A_0) / A_0 \times 100$ 。

1.3.7 还原能力测定 分别取 0.5 mL 不同质量浓度红枣色素溶液,分别加入 2.5 mL $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 6.6)磷酸钠缓冲液和浓度为 1% 铁氰化钾溶液,充分混匀后于 50 °C 恒温水浴 20 min,分别加入 10% 三氯醋酸溶液 2.5 mL,离心($3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min),取上清液 2.5 mL,加入蒸馏水 2.5 mL 和 0.1% 氯化铁溶液 1 mL,充分混匀,静置 10 min,在 700 nm 处测吸光度,由吸光度的大小来判断还原能力的强弱。

1.4 数据分析

所有样品均平行测定 3 次,测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 18.0 进行差异分析,以 $P < 0.05$ 判断为差异性显著。

2 结果与分析

2.1 红枣色素对 DPPH·的清除作用

当自由基清除剂存在时,DPPH·能接受 1 个电子或氢离子,使溶液褪色,吸光值降低^[17],是简便、快速、稳定的自由基清除体系,被广泛应用于天然植物色素的抗氧化评价。由图 1 可知,3 种方法提取的红枣色素对 DPPH·均有较好的清除能力。在 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下,碱提色素对 DPPH·的清除能力与维生素 C 相当,随浓度增加,碱提取色素的清除能力较维生素 C 增长幅度慢。碱提取色素对 DPPH·的清除能力明显高于超声辅助碱提取色素和酶-超声辅助碱提取色素($P < 0.05$)。在 $0.07 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下,超声辅助碱提取色素与酶-超声辅助碱提取色素差异不显著($P > 0.05$),但随色素浓度的增加超声辅助碱提取色素清除能力显著增强,与酶-超声辅助碱提取色素差异显著($P < 0.05$)。

2.2 红枣色素对 ABTS⁺·的清除作用

ABTS 法广泛应用于总抗氧化能力的测定。ABTS

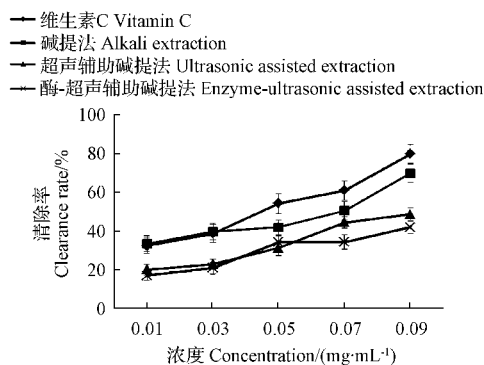


图1 红枣色素对 DPPH· 的清除率

Fig. 1 Scavenging rate of jujube red pigment on DPPH radical. 在氧化剂的作用下被氧化成绿色的 $ABTS^+ \cdot$, 其在 734 nm 波长处有特征吸收峰^[18], 当抗氧化活性物质存在时, $ABTS^+ \cdot$ 的产生受到抑制, 溶液颜色变浅。因此, 通过测定溶液在 734 nm 波长处的吸光度即可测定并计算出样品的总抗氧化能力。由图 2 可知, 3 种提取方法提取的红枣色素对 $ABTS^+ \cdot$ 均具有一定的清除能力, 且随色素浓度的增加而增强。在 $0.500 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下, 色素的清除能力随浓度增加缓慢, 其中碱提取色素的清除能力较强, 超声辅助碱提取色素次之。在 $0.500 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上, 色素的清除能力随浓度变化增大, 以酶-超声辅助碱提取色素的清除能力较佳, 但不同方法间差异不显著 ($P > 0.05$)。

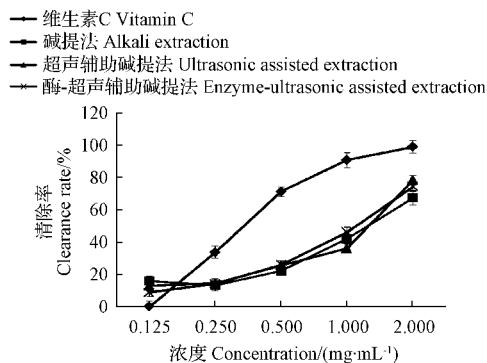
图2 红枣色素对 $ABTS^+ \cdot$ 的清除率

Fig. 2 Scavenging rate of jujube red pigment on ABTS radical

2.3 红枣色素对 O_2^- 的清除作用

O_2^- 是生物体内的氧分子受单一电子还原的产物 ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$), 性质活泼, 具有很强的氧化性和还原性, 与羟基结合后可生成损坏细胞 DNA 的产物, 破坏机体生理功能。由图 3 可知, 3 种方法提取的红枣色素对 O_2^- 均有较强的清除能力, 随着色素浓度的增加, 清除能力增加, 且与浓度呈明显的量效关系, 其中以碱提取色素清除能力最强。碱提取色素对 O_2^- 的清除能力显著高于超声辅助碱提、酶-超声辅助碱提取色素 ($P < 0.05$)。

在 $0.06 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下, 超声辅助碱提取色素和酶-超声辅助碱提取色素对 O_2^- 的清除能力相当, 无显著性差异 ($P > 0.05$)。超过 $0.06 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 酶-超声辅助碱提取色素的清除能力显著高于超声辅助碱提取色素 ($P < 0.05$)。

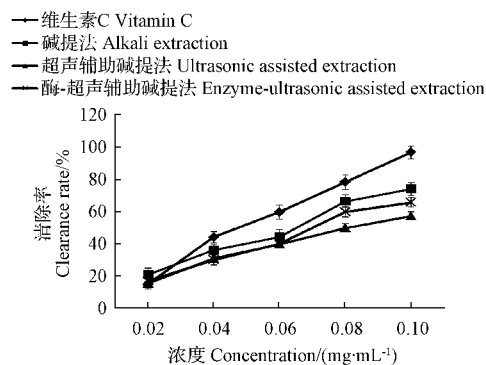
图3 红枣色素对 O_2^- 的清除率

Fig. 3 Scavenging rate of jujube red pigment on superoxide radical

2.4 红枣色素对 $\cdot OH$ 的清除作用

羟基自由基非常活泼, 是自然界中仅次于氟的氧化剂, 它可通过加成、脱氢及电子转移等多种方式与生物体内分子作用, 使细胞突变或坏死, 造成机体氧化损伤^[19-20], 所以对 $\cdot OH$ 的清除作用是抗氧化能力的一项重要指标。红枣色素对 $\cdot OH$ 的清除结果显示 (图 4), 3 种方法提取的红枣色素对 $\cdot OH$ 的清除能力与浓度呈量效关系, 但随着浓度的增加, 色素的清除能力均增加缓慢, 显著低于维生素 C ($P > 0.05$)。在浓度小于 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 3 种方法提取的红枣色素的清除能力顺序为碱提取色素 > 酶-超声辅助碱提取色素 > 超声辅助碱提取色素, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 可能超声或酶解作用会对红枣色素的清除 $\cdot OH$ 的活性物质有一定程度的破坏作用。

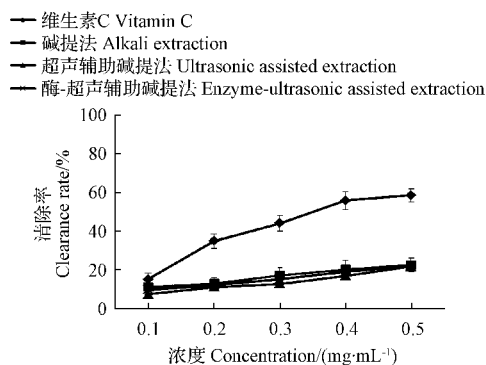
图4 红枣色素对 $\cdot OH$ 的清除率

Fig. 4 Scavenging rate of jujube red pigment on OH radical

2.5 红枣色素对 NO_2^- 的清除作用

NO_2^- 在机体内可破坏维生素 A 的形成, 还可与胺

类物质生成具有强致畸、致癌作用的亚硝基胺^[21]。由图5可知,红枣色素在 $0.2\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下时,3种方法提取的红枣色素对 NO_2^- 的清除能力均随浓度的增加变化较快;但超过 $0.2\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,3种方法提取的红枣色素对 NO_2^- 的清除能力趋于平缓。碱提取色素对 NO_2^- 的清除作用显著高于酶-超声辅助碱提取色素和超声辅助碱提取色素($P<0.05$)。 $0.3\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下,超声辅助碱提取色素的清除能力大于酶-超声辅助碱提取色素;超过 $0.3\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,酶-超声辅助碱提取色素的清除能力随浓度增加较快,逐渐大于超声辅助碱提取色素。

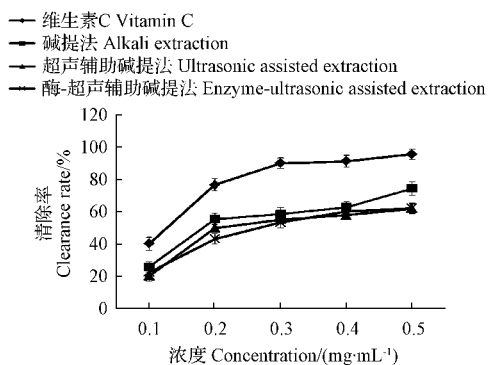


图5 红枣色素对 NO_2^- 的清除率

Fig. 5 Scavenging rate of jujube red pigment on NO_2^- radical

2.6 红枣色素对 H_2O_2 的清除作用

H_2O_2 具有极强的氧化作用,是活性氧的三大主要物质之一。红枣色素对 H_2O_2 的清除能力结果显示(图6),随着色素浓度增加,色素对 H_2O_2 的清除作用增强。碱提取色素对 H_2O_2 清除能力显著高于维生素C($P<0.05$)。酶-超声辅助碱提取色素在 $0.20\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下与维生素C的清除能力相当,在 $0.20\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上显著高于维生素C($P<0.05$)。超声辅助碱提取色素在 $0.25\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下低于维生素C,在 $0.25\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上显著高于维生素C($P<0.05$)。在 $0.30\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下,碱提取色素具有最强的清除能力,差异性显著($P<$

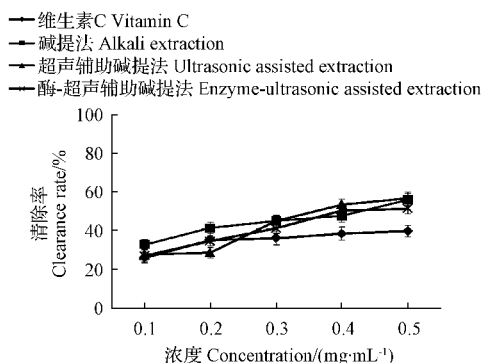


图6 红枣色素对 H_2O_2 的清除率

Fig. 6 Scavenging rate of jujube red pigment on H_2O_2

0.05);在 $0.30\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上,超声辅助碱提取色素的清除能力最强。碱提取色素在 $0.20\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以后随浓度变化不明显,对 H_2O_2 清除能力最为稳定。

2.7 红枣色素的还原能力

还原力与抗氧化活性呈明显的量效关系,吸光值越大,还原力越强,即抗氧化活性越强^[18]。由图7可知,当色素浓度小于 $0.30\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,其还原能力随浓度增加缓慢,当质量浓度大于 $0.30\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,色素的还原能力随浓度增加较快,其中碱提取色素上升程度最大,差异显著($P<0.05$)。当质量浓度大于 $0.40\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,还原能力大小为碱提取色素>酶-超声辅助碱提取色素>超声辅助碱提取色素,差异显著($P<0.05$)。

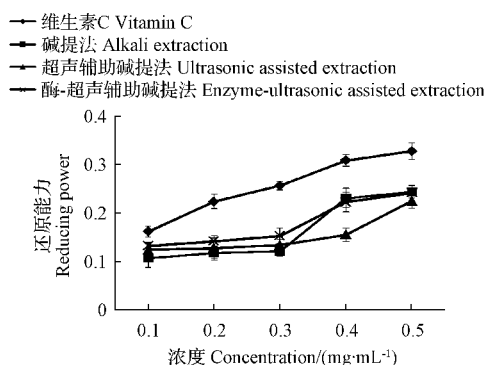


图7 红枣色素的还原能力

Fig. 7 Reducing power of jujube red pigment

3 讨论与结论

研究表明^[22-24],植物中酚类化合物是一种天然抗氧化剂,其结构中的酚羟基结构是良好的氢供体和电子供体。当有金属离子存在时,邻位的酚羟基结构可与金属离子发生络合反应生成金属螯合物,降低金属离子对反应的催化作用;在有氧气的环境中,邻位酚羟基结构极易与氧发生反应生成醌类物质,从而阻止或降低环境中组织发生氧化反应的几率。而黄酮类物质具有的多酚和吡喃环结构也使其具有良好的抗氧化活性^[25]。

红枣色素的抗氧化活性与总酚含量、总黄酮含量呈一定相关性,抗氧化活性越高,总酚、总黄酮含量越高^[25]。不同方法提取色素均具有不同程度的抗氧化活性,且与其质量浓度呈一定浓度依赖性;但抗氧化活性强弱顺序各不相同,这可能与不同方法提取红枣色素所含抗氧化活性物质含量不同有关。超声辅助提取,酶-超声辅助碱提取色素过程均不同程度的影响了抗氧化活性物质的浸出,从而降低了抗氧化活性和清除自由基的能力。

试验结果表明,碱提取色素对 $\text{DPPH} \cdot$ 、 O_2^- 、 $\cdot\text{OH}$ 、 NO_2^- 、 H_2O_2 清除能力明显大于超声辅助碱提取色素和酶-超声辅助碱提取色素;质量浓度大于 $0.25\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,酶-超声辅助碱提取色素对 ABTS^+ ·

清除能力大于碱提取色素和超声辅助碱提取色素;质量浓度大于 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,枣皮色素的还原能力大小为碱提取色素>酶-超声辅助碱提取色素>超声辅助碱提取色素。综上所述,碱提取色素较超声辅助碱提取色素和酶-超声辅助碱提取色素具有更强的体外抗氧化能力。

参考文献

- [1] 李勇,孔令青,高洪,等. 自由基与疾病研究进展[J]. 动物医学进展, 2008, 29(4): 85-88.
- [2] GENG M J, REN M X, LIU Z L, et al. Free radical scavenging activities of pigment extract from *Hibiscus syriacus* L. petals *in vitro*[J]. African Journal of Bio-technology, 2014, 11(2): 429-435.
- [3] 李云. 综述自由基对人体健康的影响及目前的预防措施[J]. 内蒙古石油化 T, 2011(1): 87-89.
- [4] HER D, JUNOD A F. Role of oxygen free radicals in cancer development [J]. European Journal of Cancer, 1996, 32(1): 30-38.
- [5] 戴青原. 内脏脂肪素对氧化应激 HUVECs 的作用及其分子机制研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2014.
- [6] ZHANG Q, SHEN G N, WANG S Z, et al. Identification of pigments from jujube fruit skin[J]. Agricultural Science and Technology, 2010, 11(4): 110-112, 183.
- [7] YOU F, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Preliminary study on spectrums and structure properties of pigments from *Ziziphus jujube* peel[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(13): 99-102.
- [8] 向延菊, 王大伟. 利用微波技术提取红枣色素工艺研究[J]. 保鲜与加工, 2010, 10(1): 45-47.
- [9] 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): 153-158.
- [10] 袁亚娜. 冬枣黄酮类提取、纯化及其抗氧化性能的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013.
- [11] 李勇. 大枣参皮红色素的分离、生物活性及稳定性的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- [12] 游凤, 黄立新, 张彩虹, 等. 红枣红色素的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2012(4): 223-230.
- [13] 马奇虎. 枣皮红色素的提取、纯化及稳定性研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2014.
- [13] SHUKLA S, MEHTA A, MEHTA P, et al. Studies on anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of *Caesalpinia bonducella* f. seed in experimental animal models[J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(1): 61-64.
- [14] CHENG D, ZHU C Q, CAO J K, et al. The protective effects of polyphenols from jujube peel (*Ziziphus jujube* Mill.) on isoproterenol-induced myocardial ischemia and aluminum-induced myocardial ischemia and aluminum-induced oxidative damage in rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50: 1302-1308.
- [15] ZHANG H, JIANG L, YE S, et al. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanol extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujube* Mill.) from China[J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48: 1461-1465.
- [16] CHEUNG L M, CHEUNG C K, VINCENT E C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts[J]. Food Chemistry, 2003, 81: 249-255.
- [17] 许璇, 乔旭光. 大蒜绿色素体外抗氧化能力的研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2013, 44(1): 56-60.
- [18] 余双菊. 羟基自由基的特性及检测方法比较[J]. 广东化 T, 2010, 37(9): 141-143.
- [19] 盛伟, 方晓阳, 吴萍. 白灵菇、杏鲍菇、阿魏菇多糖体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(5): 103-106.
- [20] 高海宁, 李彩霞, 张勇, 等. “黑美人”土豆色素体外抗氧化性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012(24): 224-228, 233.
- [21] GINJOM I R, D'ARCY B R, CAFFIN N A, et al. Phenolic contents and antioxidant activities of major Australian red wines throughout the winemaking process[J]. Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58, 10133-10142.
- [22] TABART J, KEVERS C, PINCEMAIL J, et al. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests[J]. Food Chemistry, 2009, 113: 1226-1233.
- [23] AMAROWICZ R, ESTRELLA I, HERNANDEZ T et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*) [J]. Food Chemistry, 2010, 121(3): 705-711.
- [24] AMAROWICZ R, PEGG R B. Legumes as a source of natural antioxidants [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2008, 110(1): 865-878.
- [25] 王毕妮. 红枣多酚的种类及抗氧化活性研究[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2011.

Effect of Extraction Methods on Antioxidant Activity of Jujube Pigment

ZHENG Anran, SHAO Peilan, GUO Xiaodan, ZHOU Huapei, LI Wantao
(College of Agriculture Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: Jujube skin was taken as test material, there kinds of methods of alkali extraction, ultrasonic assisted extraction and enzyme-ultrasonic assisted extraction for jujube red pigment were used in the study. The effect of different extraction methods on the antioxidant activity of jujube pigment were researched to find out the best method for red pigment extraction. The results showed that the three extraction methods of jujube pigment had good free radical scavenging abilities. The scavenging ability of alkali extraction pigment on DPPH \cdot , $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$, $\text{NO}_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 was stronger. When the concentration was greater than $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the scavenging abilities of enzyme-ultrasonic assisted extraction of pigment on $\text{ABTS}^{\cdot+}$ was the strongest in the three extraction methods of jujube pigment. When the concentration was greater than $0.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the reducing powers were ranked as follows: alkali extraction pigment > enzyme-ultrasound assisted extraction of pigment > ultrasound assisted extraction of pigment. The antioxidant activity of pigment extracted by different methods was different, and alkali extraction was the best.

Keywords: jujube pigment; alkali extraction; ultrasonic assisted extraction; enzyme-ultrasonic assisted extraction; antioxidant activity