

杨迪, 朱于鹏, 傅琴, 等. 富硒与普通小球藻提取物成分差异及抗氧化活性比较 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(16): 312–318. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100076

YANG Di, ZHU Yupeng, FU Qin, et al. Comparison of Components and Antioxidant Activity between Selenium-enriched and Common Chlorella Extract[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(16): 312–318. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100076

· 分析检测 ·

富硒与普通小球藻提取物成分差异及 抗氧化活性比较

杨迪^{1,2}, 朱于鹏³, 傅琴³, 庄洋¹, 莫开菊^{1,*}

(1.湖北民族大学生物与食品工程学院, 湖北恩施 445000;

2.国家富硒产品质量检验检测中心, 湖北恩施 445000;

3.硒圣植物科技有限公司, 湖北恩施 445000)

摘要: 为了研究富硒小球藻提取物与普通小球藻提取物基本成分和抗氧化活性的差异及相关性, 测定了富硒小球藻和普通小球藻提取物中总氮、总糖、多酚、黄酮、皂苷、总硒、多糖和多糖硒的含量, 及其还原 Fe^{3+} 、清除 $\text{DPPH}^{\cdot}$ 、 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 、羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 和超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 的能力, 并分析了成分与抗氧化能力之间的 Person 相关。结果表明, 富硒小球藻提取物中总糖、多酚、黄酮、总硒、多糖和多糖硒含量显著高于普通小球藻提取物 ($P<0.05$), 但总氮和皂苷含量显著低于普通小球藻提取物 ($P<0.05$)。富硒小球藻提取物还原 Fe^{3+} 、清除 $\text{DPPH}^{\cdot}$ 和 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 的活性强于普通小球藻提取物, 但清除 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力低于普通小球藻提取物。相关性分析表明含氮化合物、总糖、多酚、黄酮、总皂苷、总硒、多糖和多糖硒含量的增加均能在一定程度上增加抗氧化能力 ($P<0.05$)。·OH 清除能力与总硒和多糖硒呈显著负相关 ($P<0.05$)。总之, 富硒小球藻提取物含有较多的生理活性物质 (除含氮化合物和皂苷) 和较强的抗氧化活性, 具有作为保健食品开发的潜力。

关键词: 富硒, 小球藻提取物, 化学成分, 抗氧化活性, 相关性分析

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)16-0312-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100076

本文网刊:



Comparison of Components and Antioxidant Activity between Selenium-enriched and Common Chlorella Extract

YANG Di^{1,2}, ZHU Yupeng³, FU Qin³, ZHUANG Yang¹, MO Kaiju^{1,*}

(1.College of Biological and Food Engineering, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China;

2.National Selenium Rich Product Quality Inspection and Testing Center, Enshi 445000, China;

3.Se-Sun Plant Technology Co., Ltd., Enshi 445000, China)

Abstract: To investigate the difference of the components and antioxidant activity between the Se-enriched and the common chlorella extract, as well as the correlation between the components and antioxidant activity. This study determined the content of total nitrogen, total sugar, polyphenols, flavonoids, saponins, total selenium, polysaccharide and polysaccharide selenium in selenium-enriched and common chlorella extract and their ability to reduce Fe^{3+} , scavenge $\text{DPPH}^{\cdot}$, $\text{ABTS}^{\cdot+}$, $\cdot\text{OH}$ and $\text{O}_2^{\cdot-}$, as well as the correlation between the content and antioxidant capacity. The results showed that compared with common chlorella extract, selenium-enriched chlorella extract contained more content of total sugar, polyphenol, flavonoid, total selenium, polysaccharide and polysaccharide selenium ($P<0.05$), but less total nitrogen and saponins ($P<0.05$). The Se-enriched chlorella extract had higher activity in reducing Fe^{3+} and scavenging $\text{DPPH}^{\cdot}$ and $\text{ABTS}^{\cdot+}$, but lower activity in scavenging $\cdot\text{OH}$ and $\text{O}_2^{\cdot-}$ than that of common chlorella extract. Correlation analysis showed

收稿日期: 2023-10-13

基金项目: 硒蛋白开发配套技术及产业创新示范 (ZYD2023000035)。

作者简介: 杨迪 (1989-), 女, 硕士, 助理工程师, 研究方向: 食品、种子检验检测, Email: 2744984102@qq.com。

* 通信作者: 莫开菊 (1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工及资源开发的研究工作, Email: 2641975010@qq.com。

that higher content of nitrogen, total sugar, polyphenols, flavonoids, saponins, total selenium, polysaccharide and polysaccharide selenium could strengthen the antioxidant activity ($P<0.05$). The $\cdot\text{OH}$ scavenging capacity was negatively correlated with total selenium and polysaccharide selenium ($P<0.05$). In general, Se-enriched chlorella extract had more physiological active substances (except total nitrogen and saponins) and stronger antioxidant activity, which would provide the potential application for Se-enriched chlorella extract in health food products.

Key words: selenium-enriched; chlorella extractive; chemical composition; antioxidant activity; correlation analysis

人体的部分慢性疾病和衰老过程与体内的氧化应激反应相关。氧化应激会激活炎症调节因子 NF- κ B, 促进炎症发生。持续的氧化应激反应会导致机体细胞和组织损伤, 称为“自由基疾病”^[1]。氧化应激反应还可诱发心血管疾病、阿尔兹海默症甚至癌症^[2-3]。有研究报道, 活性氧会促进食品酸败, 产生异味, 并导致质地退化和营养价值降低, 进而给人们带来健康风险^[3-4], 因此活性氧的清除显得尤为重要。通过天然抗氧化物清除活性氧是一种简单、廉价且行之有效的办法^[5-6]。如今, 越来越多的科学工作者积极开展天然抗氧化物的分离, 提纯, 鉴定研究^[3,7]。

硒是人类、动物和某些微生物必需的微量元素, 具有调节人体免疫、延缓衰老和抗癌等作用^[8]。硒本身具有较强抗氧化活性^[9], 有研究表明, 植物产品或提取物可以通过富硒来增强抗氧化能力^[9-10]。由于生物硒的低毒性和高生物利用率, 目前对富硒食品的开发和利用主要集中在天然富硒化合物提取^[11]。藻类提取物的抗氧化特性是当前研究热点之一^[12-13]。藻类提取物具有较好的抗氧化活性, 其中小球藻提取物的抗氧化活性高于豌豆、藜麦、黑豆等提取物^[14], 且小球藻具有较强富硒能力, 富集的硒具有较高生物有效性^[15], 对急性肝损伤有一定治疗和预防作用^[16]。但关于富硒对小球藻抗氧化能力的影响鲜有研究。因此, 本文测定了富硒小球藻和普通小球藻提取物的 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除能力和总铁离子还原力, 以比较富硒小球藻提取物与普通小球藻提取物抗氧化活性差异, 以期对富硒小球藻或其提取物的开发利用提供一定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

富硒小球藻提取物(水分含量 11.3%)、普通小球藻提取物(水分含量 12.7%) 圣硒生物科技有限公司; 芦丁 西亚公司; 纤维素酶(50 U/mg)、果胶酶(50 U/mg)、蛋白酶(150 U/mg) BR 级, 上海源叶生物科技有限公司; 苯酚、冰醋酸、福林酚、过硫酸钾、过氧化氢、邻苯三酚、无水磷酸二氢钾、无水磷酸氢二钾、硫酸、硫酸钾、硫酸铜、没食子酸、氢氧化钠、三氯化铁、无水醋酸钠、硝酸铝、亚硝酸钠 国药集团化学试剂有限公司; 葡萄糖 Sigma 公司; ABTS (2,2'-二氮(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐)、TPTZ(2,4,6-三(2-吡啶基)-1,3,5-三嗪)、Trolox(6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-甲酸) 东京化成工业株式会社; DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯肼)

山东西亚化学工业有限公司; 齐墩果酸 上海源叶生物科技有限公司; 香草醛 天津光复精细化工研究所; 硫酸亚铁 天津市北方天医化学试剂厂; 三羟甲基氨基甲烷(Tris) 天津市博迪化工有限公司; 高氯酸 天津市东方化工厂; 水杨酸 天津市福晨化学试剂厂; 无水碳酸钠 天津市永大化学试剂开发中心; 硼酸、无水乙醇、盐酸 武汉市中天化中有限责任公司; 上述试剂均为 AR 级。

Infinite M200 Pro 多功能酶标仪 瑞士帝肯公司; RC-HH-6 数显恒温水浴锅 北京睿诚永创科技有限公司; GL224I-1SCN 电子天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 富硒或普通小球藻提取物的制备 小球藻粉末与水按质量比 1:4 进行混合, 搅拌均匀并浸泡 30 min, 使小球藻充分吸水。然后用 30% 的磷酸溶液调节 pH 为 4.0 ± 0.2 。加入纤维素酶(4.0 g/kg 干料)、果胶酶(0.05 g/kg 干料)、蛋白酶(0.05 g/kg 干料), 在 48~50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下酶解 2 h。酶解结束后升温至 70 $^{\circ}\text{C}$ 并快速搅拌 30 min, 使酶解更充分。再升温至 90~100 $^{\circ}\text{C}$ 并保持 2 h, 同时全力开启搅拌乳化泵, 将酶灭活。灭活后的提取液装入离心管, 室温(25 $^{\circ}\text{C}$)4000 r/min 离心 30 min 后收集上清液, 固体进行重复提取。将两次得到的提取液合并添加适量麦芽糊精, 搅拌均匀后进行喷雾干燥。干燥得到的提取物粉末密封保存以用于后续实验。

1.2.2 总氮含量的测定 称取 100 mg 普通或富硒小球藻提取物粉末用蒸馏水定溶于 10 mL 容量瓶, 得到 10 mg/mL 的样品溶液。取 5 mL 样液用凯氏定氮法测定总氮含量^[17]。

1.2.3 总糖含量和多糖含量测定 采用苯酚硫酸法测定样品溶液中总糖含量^[17]。以葡萄糖为标准品在 490 nm 测定吸光度并计算样品中总糖含量。提取液加入无水乙醇使最终乙醇浓度为 80%, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置过夜后 4000 r/min 离心得沉淀, 将沉淀用无水乙醇洗两次得到多糖, 得到的多糖同样用苯酚硫酸法测定并计算提取液中的多糖浓度。

1.2.4 多酚含量测定 采用福林-酚法测定样品溶液中多酚含量^[17]。以没食子酸为标准品于波长 765 nm 处测定吸光度, 并计算样品中多酚含量。

1.2.5 总黄酮含量测定 采用亚硝酸钠—硝酸铝体系测定样品溶液中的总黄酮含量^[17]。以芦丁为标准

品在波长 510 nm 处测定吸光度,并计算样品中总黄酮含量。

1.2.6 总皂苷含量测定 采用香草醛-高氯酸法测定总皂苷含量^[18]。以齐墩果酸为标准品,在 560 nm 处测定吸光度,并计算标准曲线和样品中总皂苷含量。

1.2.7 总硒和多糖硒含量测定 总硒测定:取 0.2 mL 样液加入 8 mL 硝酸和 2 mL 高氯酸浸泡过液后,先 120 ℃ 消化 60 min,后 170 ℃ 消化至 2 mL 透明溶液。待溶液冷却后加入 2.5 mL 盐酸(6 mol/L)并于 100 ℃ 还原 10 min,最后冷却至室温,用超纯水定容至 25 mL,同时配制硒标液,采用原子荧光法测定并计算样液中总硒含量^[17]。

多糖硒测定:取 50 mL 样品溶液(10 mg/mL),200 mL 无水乙醇于 4 ℃ 冰箱中冷藏过夜,然后 4000 r/min 离心 10 min 取沉淀,得到的沉淀用无水乙醇洗两次后烘干并记下重量,取 10 mg 干燥样品按总硒法测定多糖硒。

1.2.8 FRAP 法测定抗氧化能力 将 1.2.2 中得到的样品(10 mg/mL)用蒸馏水稀释成不同浓度(0.4、0.8、1.2、1.6 和 2.0 mg/mL)进行抗氧化活性实验。将 300 mmol/L、pH3.6 的醋酸缓冲液、10 mmol/L TPTZ 溶液和 20 mmol/L 三氯化铁溶液以体积比 10:1:1 配制成 FRAP 工作液。分别取 150 μL FRAP 工作液和 50 μL 样液于酶标板中,37 ℃ 孵育 10 min 后于 593 nm 波长处测定吸光度,同时以蒸馏水为对照,以 Trolox 标准液做标准曲线: $y=10.709x+0.0183$, $R^2=0.9977$,并计算不同浓度下小藻提取物的总铁离子还原能力^[19]。

1.2.9 DPPH 法测定抗氧化能力 取 DPPH(5.0 mg)溶于用 30 mL 70% 乙醇中,超声溶解 5 min 后转入 50 mL 容量瓶中,用 70% 乙醇定容得 DPPH 工作液,取 DPPH 溶液(100 μL)于酶标板中,再加入 100 μL 不同浓度样液,混匀静置 30 min 后测定 520 nm 处吸光度,同时测定样品底物吸光度^[17]。每个样品重复 3 次。DPPH·清除率的计算如公式(1)。

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: A_0 为空白对照液的吸光度; A_1 为加入样品后的吸光度; A_2 为提取液的吸光度。

1.2.10 ABTS 法测定抗氧化能力 将浓度为 7 mmol/L ABTS 溶液和 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液等体积混合,室温 25 ℃ 避光反应 12~16 h,制备 ABTS 储备液。使用磷酸盐缓冲液(10 mmol/L, pH7.4)将储

备液稀释至适宜吸光度,备用。取各浓度样品 50 μL,加入 150 μL ABTS 溶液,于暗处反应 5 min,测定其在 734 nm 处的吸光度^[18]。以蒸馏水代替样品作为空白。每个样品重复 3 次。ABTS⁺·清除率的计算如公式(2)。

$$\text{ABTS}^+\cdot\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: A_0 为空白对照液的吸光度; A_1 为加入样品后的吸光度; A_2 为提取液的吸光度。

1.2.11 水杨酸法测定抗氧化能力 在比色管中依次加入 20 μL FeSO₄(9 mmol/L), 20 μL 乙醇-水杨酸(9 mmol/L), 100 μL 的不同浓度样液, 40 μL 蒸馏水和 20 μL H₂O₂(8.8 mmol/L)。37 ℃ 孵育 15 min 后于 510 nm 测吸光度^[20-21]。同时测定参比溶液,参比溶液为不加双氧水的体系。每个样品重复 3 次。清除率的计算如公式(3)。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中: A_0 为空白对照液的吸光度(以蒸馏水代替样品); A_1 为加入样品后的吸光度; A_2 为不加显色剂 H₂O₂ 的吸光度(以蒸馏水代替双氧水)。

1.2.12 邻苯三酚自氧化法测定抗氧化能力 在酶标板中依次加入 60 μL 的 Tris 缓冲液(0.05 mol/L, pH=8.2)、100 μL 不同浓度的样液和 20 μL 邻苯三酚(3 mmol/L),以蒸馏水为对照,反应 5 min 后加入 20 μL 盐酸终止反应,于波长 300 nm 测吸光度^[22-23]。每个样品重复 3 次。清除率的计算如公式(4)。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中: A_0 为空白对照液的吸光度(以蒸馏水代替样品); A_1 为加入样品后的吸光度; A_2 为不加显色剂邻苯三酚的吸光度(以蒸馏水代替邻苯三酚)。

1.3 数据处理

所有实验均重复三次。采用 SPSS 21.0 软件对实验数据进行处理分析;采用 Duncan 法进行差异显著性分析, $P<0.05$ 表示差异显著。采用 GraphPad Prism 9.0 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 富硒或普通小球藻提取物中基本化学成分

实验分析了普通小球藻和富硒小球藻的化学成分并进行差异性分析,结果见表 1。富硒小球藻提取物和普通小球藻提取中各化学成分含量具有明显差

表 1 两种小球藻提取物中各化学成分的含量

Table 1 Contents of compound in extract of Se-enriched chlorella and common chlorella

样品	氮含量(mg/mL)	总糖(mg/mL)	多酚(mg/mL)	黄酮(mg/mL)	总皂苷(mg/mL)	总硒(μg/mL)	多糖(mg/mL)	多糖硒(μg/g)
普通小球藻提取物	0.41±0.00 ^b	1.45±0.19 ^a	0.04±0.00 ^a	0.09±0.01 ^a	1.29±0.01 ^b	0.10±0.04 ^a	0.76±0.11 ^a	15.82±2.95 ^a
富硒小球藻提取物	0.09±0.01 ^a	8.13±0.11 ^b	0.06±0.00 ^b	0.11±0.01 ^b	1.16±0.01 ^a	33.44±0.25 ^b	1.55±0.06 ^b	461.55±0.37 ^b

注:不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

异,普通小球藻提取物中氮含量和总皂苷含量显著高于富硒小球藻提取物($P<0.05$),含氮化合物主要为各类蛋白质,也包含少量脱氧核糖和生物碱等物质。普通小球藻提取物中总糖、多酚、黄酮、总硒、多糖和多糖硒显著低于富硒小球藻($P<0.05$)。两种小球藻中化学成分含量的差异可能与富硒培养有关。有研究表明富硒培养会影响植物体内物质与能量的合成与代谢^[24-25],导致物质含量差异^[17,24]。

2.2 富硒和普通小球藻提取物抗氧化能力

抗氧化活性可通过 DPPH 法、ABTS 法、邻苯三酚自氧化法和 FRAP 法等方法进行测定,不同的测定方法作用机制不同,因此通过不同方法测定出的抗氧化结果可能有所差异^[21]。富硒或普通小球藻提取物还原 Fe^{3+} ,清除 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 或 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力如图 1~图 5。

FRAP 法基于电子转移测定抗氧化剂的抗氧化活性^[19]。图 1 为不同浓度富硒或普通小球藻提取物还原 Fe^{3+} 的能力。在 0.4~2.0 mg/mL 范围内,富硒小球藻提取物对 Fe^{3+} 的还原能力线性增加。在 0.4~1.6 mg/mL 范围内,普通小球藻提取物对 Fe^{3+} 的还原能力同样增加了,但当普通小球藻提取物浓度大于 1.6 mg/mL 后,继续增加样品浓度,对 Fe^{3+} 还原能力影响不显著($P>0.05$)。在相同浓度下,富硒小球藻提取物还原 Fe^{3+} 的能力显著高于普通小球藻提取物($P<0.05$)。

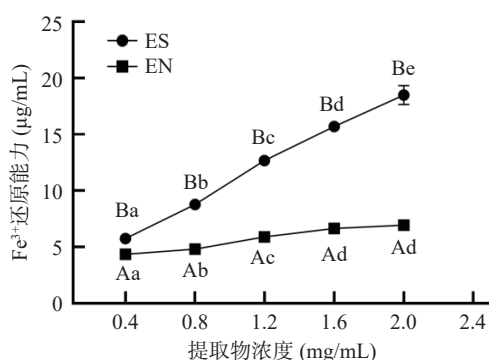


图 1 富硒或普通小球藻提取物与总 Fe^{3+} 还原能力

Fig.1 Effects of ES or EN chlorella extract on Fe^{3+} reducing capacity

注: ES 和 EN 分别代表富硒小球藻提取物和普通小球藻提取物;不同字母表示平均值差异有统计学意义($P<0.05$),大写字母用于比较组间差异性,小写字母用于比较组内差异间;图 2~图 5 同。

DPPH $\cdot$ 是一种稳定的自由基,在乙醇溶液中显紫色,可以接受抗氧化剂提供的氢原子而使颜色变浅,从而测定抗氧化剂的抗氧化能力^[20-21]。两种小球藻提取物清除 DPPH $\cdot$ 的能力如图 2。从图 2 中可以看出富硒小球藻提取物浓度较低时,抗氧化能力随浓度的增加而缓慢上升($P<0.05$)。当富硒小球藻提取物浓度为 1.2~2.0 mg/mL 时,清除 DPPH $\cdot$ 的能力不再显著增加($P>0.05$)。普通小球藻提取物浓度在 0.4~2.0 mg/mL 之间时清除 DPPH $\cdot$ 的能力无显著

差异($P>0.05$)。当提取物浓度相同时,富硒小球藻提取物清除 DPPH $\cdot$ 的能力显著高于普通小球藻提取物($P<0.05$)。

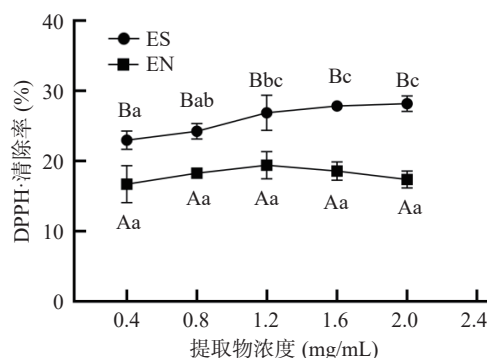


图 2 富硒或普通小球藻提取物清除 DPPH $\cdot$ 能力

Fig.2 Effects of ES or EN chlorella extract on DPPH $\cdot$ scavenging rate

ABTS 可被过硫酸钾氧化成 ABTS $^{+}$,抗氧化剂通过提供质子以清除 ABTS $^{+}$,达到抗氧化的目的^[21,26]。从图 3 看出,富硒和普通小球藻提取物清除 ABTS $^{+}$ 的能力均随浓度增加而显著上升($P<0.05$),且富硒小球藻清除 ABTS $^{+}$ 的能力要显著强于普通小球藻提取物($P<0.05$)。

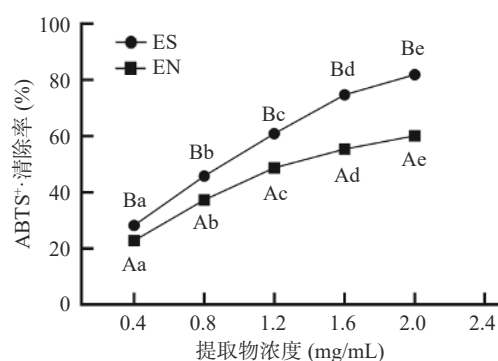


图 3 富硒或普通小球藻提取物清除 ABTS $^{+}$ 能力

Fig.3 Effects of ES or EN chlorella extract on ABTS $^{+}$ scavenging rate

羟自由基清除法可测定抗氧化剂清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力^[22]。小球藻提取物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力如图 4。从

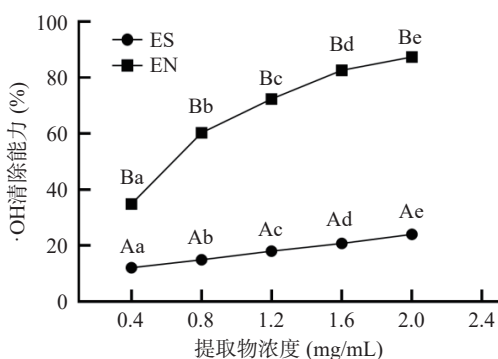


图 4 富硒或普通小球藻提取物清除羟自由基能力

Fig.4 Effects of ES or EN chlorella extract on $\cdot\text{OH}$ scavenging rate

图中可以看出,富硒和普通小球藻提取物清除·OH的能力均随底物浓度增加而显著上升($P<0.05$)。普通小球藻提取物随浓度增加,清除·OH的能力先迅速增加而后增加速率逐渐降低。富硒小球藻提取物清除·OH的能力在浓度范围内呈线性关系,但清除能力显著低于普通小球藻提取物($P<0.05$)。

通过邻苯三酚自氧化法可获得超氧阴离子,样品的抗氧化能力可通过清除 $O_2^{\cdot-}$ 来表示^[22-23]。两种小球藻提取物清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力如图5。从图5中看出,富硒小球藻提取物清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力受浓度影响较小,在0.4~2.0 mg/mL内没有发生显著改变($P>0.05$)。普通小球藻提取物清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力随浓度增加而增加($P<0.05$)。当浓度达到1.6 mg/mL后,继续增加富硒小球藻提取物, $O_2^{\cdot-}$ 清除率变化不显著($P>0.05$);当浓度 ≥ 1.6 mg/mL时,普通小球藻提取物清除 $O_2^{\cdot-}$ 的能力显著高于富硒小球藻提取物($P<0.05$)。

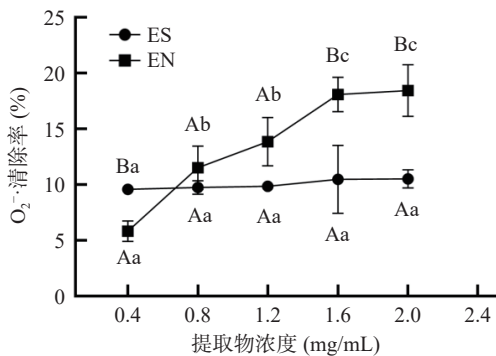


图5 富硒或普通小球藻提取物清除超氧阴离子能力

Fig.5 Effects of ES or EN chlorella extract on $O_2^{\cdot-}$ scavenging rate

自由基是含有未配对电子的原子、分子或离子,它们高度不稳定,并且能活跃地与其它分子产生化学反应^[27]。正常情况下生物体内自由基的产生与抗氧化维持一个平衡状态^[28]。当这种平衡被打破后,过量的自由基可能导致机体氧化损伤并破坏细胞功能,并进一步通过破坏DNA、RNA、蛋白质和脂质,导致细胞死亡^[29-30]。摄入外源抗氧化剂是增强机体保护的一种途径^[31]。一些生物基本成分如还原糖^[32]、含氮化合物^[33]、多酚^[33-34]、黄酮^[34-35]、皂苷^[32]、硒^[36-37]、硒多糖^[36-37]以及硒化蛋白^[38]等均具有抗氧化活性。富硒小球藻提取物和普通小球藻提取物中均含有一定浓度的含氮化合物、总糖、多酚、黄酮、皂苷、总硒和多糖等物质(表1),导致两种小球藻提取物能在一定程度上还原 Fe^{3+} 、清除DPPH·、ABTS $^{+}$ ·、·OH和 $O_2^{\cdot-}$ 。小球藻提取物对不同自由基清除能力的差异,可能与自由基的分子状态或活性有关^[19]。此外,在同一种抗氧化测定方法中,两种小球藻的抗氧化能力有所差异,这是由于两种小球藻提取物中各物质含量不同。为进一步探究小球藻提取物中各物质对抗

氧化特性的影响,采用Pearson相关分析小球藻提取物中各物质与抗氧化特性间的相关性。

2.3 相关性分析

Pearson相关分析可以简洁直观的反应两个变量间的线性关系^[39]。从表2可以看出, Fe^{3+} 还原能力与总糖、多酚、黄酮、总硒、多糖和多糖硒含量呈极显著正相关($P<0.01$)。DPPH·清除能力与总糖、总硒、多糖和多糖硒含量呈极显著正相关($P<0.01$)。ABTS $^{+}$ ·清除能力与总糖、多酚、黄酮、皂苷、总硒、多糖和多糖硒含量呈极显著正相关($P<0.01$)。·OH清除能力与总氮呈极显著正相关($P<0.01$),与总硒和多糖硒呈显著负相关($P<0.05$)。 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力与总氮和皂苷含量呈极显著($P<0.01$)或显著($P<0.05$)正相关。

表2 化学成分与抗氧化特性的Pearson相关分析

Table 2 Pearson correlation analysis between compounds and antioxidant activity

成分	Fe^{3+} 还原能力	DPPH·清除能力	ABTS $^{+}$ ·清除能力	·OH清除能力	$O_2^{\cdot-}$ 清除能力
总氮	-0.327	-0.581	0.164	0.963**	0.911**
总糖	0.993**	0.922**	0.819**	-0.560	-0.223
多酚	0.836**	0.581	0.985**	0.059	0.383
黄酮	0.789**	0.522	0.975**	0.140	0.451
皂苷	0.496	0.204	0.842**	0.499	0.726*
总硒	0.970**	0.953**	0.731**	-0.669*	-0.350
多糖	0.967**	0.783**	0.956**	-0.258	0.091
多糖硒	0.972**	0.951**	0.738*	-0.662*	-0.341

注: *表示差异显著相关($P<0.05$), **表示极显著相关($P<0.01$)。

众所周知,多酚^[33,40]、黄酮^[33,35]和皂甙^[32-31]都是生物活性物质,具有较强的抗氧化能力,因此这些物质都与抗氧化能力存在显著正相关。另外,一些含氮化合物,如多肽和抗氧化物酶等都具有较好的抗氧化活性^[38,41],这些含氮化合物与小球藻提取物的·OH和 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力显著正相关。此外,多糖是一类具有一定抗氧化活性的生物活性物质^[42]。而硒与多糖结合形成的硒多糖具有更强的抗氧化活性^[36-37,43],这是由于硒与多糖结合可以形成氢硒基或硒酸酯基团,导致多糖中异构碳上的氢原子更加活跃,贡献氢原子的能力更强^[44-45]。因此,总硒、多糖和多糖硒与 Fe^{3+} 还原、DPPH·和ABTS $^{+}$ ·清除能力呈显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)正相关,即富硒小球藻提取物较高的还原 Fe^{3+} 和清除DPPH·及ABTS $^{+}$ ·能力可能与较高的硒和多糖硒含量有关。然而,也有研究报道富硒培养的植物提取物清除ABTS $^{+}$ ·和DPPH·的能力弱于无硒培养的植物提取物^[46]。此外,硒多糖浓度较低时,增加硒多糖浓度有利于增加体外抗氧化活性,而浓度过高的硒多糖反而会降低·OH和 $O_2^{\cdot-}$ 的清除能力^[47],这与过量的硒或硒化物可诱导产生大量活性氧自由基或引起活性氧自由基的积累,导致体外抗氧化能力下降有关^[48-49]。在植物体内,过量的硒也

会诱导细胞膜系统的脂质过氧化损伤,造成活性氧自由基含量升高,抗氧化能力下降^[41,49]。因此可能由于富硒小球藻提取物中的硒和多糖硒含量远高于普通小球藻提取物(表 1),在一定程度上促进了·OH 的产生或抑制了对·OH 的清除,导致富硒小球藻提取物清除·OH 的能力低于普通小球藻提取物(图 4),以及·OH 清除能力与硒和多糖硒呈显著负相关($P < 0.01$)(表 2)。

3 结论

植物富硒可能会对植物体内的化学组分和抗氧化特性造成一定影响,相较于普通小球藻,富硒小球藻提取物中含有更多总糖、多酚、黄酮、总硒、多糖和多糖硒而含有较少含氮化合物和皂苷。两种小球藻提取物的抗氧化能力与抗氧化测定方法和提取物浓度有关,并且富硒小球藻提取物还原 Fe^{3+} 、清除 DPPH· 和 ABTS· 活性强于普通小球藻提取物,但清除·OH 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力低于普通小球藻提取物。相关性分析表明总氮、总糖、多酚、黄酮、皂苷、总硒、多糖或多糖硒均能与某一抗氧化指标呈显著或极显著正相关,然而总硒和多糖硒与·OH 清除能力呈显著负相关。综上,富硒改变了小球藻提取物中化学成分含量以及抗氧化特性,本研究有助于为富硒小球藻提取物的开发利用提供理论基础。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] JONES D P. Radical-free biology of oxidative stress[J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2008, 295(4): C849–C868.
- [2] 王瑞雪,孙洋,钱方. 抗氧化肽及其研究进展[J]. *食品科技*, 2011, 36(5): 83–86. [WANG Ruixue, SUN Yang, QIAN Fang. Antioxidant peptides and its research advance[J]. *Food Techlogy*, 2011, 36(5): 83–86.]
- [3] 张强,李伟华. 抗氧化肽的研究现状[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(2): 298–304. [ZHANG Qiang, LI Weihua. Research progress of antioxidant peptides[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(2): 298–304.]
- [4] ZENG Y Y, JIAN H Q. Comparison of antioxidant activities of melanin fractions from chestnut shell[J]. *Molecules*, 2016, 21(4): 487–498.
- [5] GESSNER D, RINGSEIS R, EDER K. Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2017, 101(4): 605–628.
- [6] ZHANG Y J, GAN R Y, LI S, et al. Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases[J]. *Molecules*, 2015, 20(12): 21138–21156.
- [7] 黎露露,张健,陆伦维,等. 黍子营养成分、功能特性及开发利用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2023. [LI L L, ZHANG J, LU L W, et al. Research progress of nutritional ingredients, functional properties and development utilization of finger millet[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023.]
- [8] BROWN K M, ARTHUR J R. Selenium, selenoproteins and human health: a review[J]. Cambridge University Press, 2001, 4(2): 593–599.
- [9] 贺栋,祁珊珊,郑红星,等. 硒的生理功能及富硒产品研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(1): 191–196. [HE Dong, QI Shanshan, ZHENG Hongxing, et al. Physiological functions of selenium and selenium-enriched products: A review[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(1): 191–196.]
- [10] 杜朝东,朱松,于添,等. 富硒碎米芥不同提取物抗氧化性能研究[J]. *食品与机械*, 2019, 35(4): 174–178. [DU Chaodong, ZHU Song, YU Tian, et al. Study on antioxidant capacity of selenium-substance form cardamine[J]. *Food and Machinery*, 2019, 35(4): 174–178.]
- [11] 何羿文,黄乐,周锡红,等. 硒和硒蛋白与宿主肠道健康的相互作用调节机制[J]. *中国科学: 生命科学*, 2023, 53(8): 1055–1066. [HU Y W, HUANG L, ZHOU X H, et al. Role of selenium and selenoprotein in gut health[J]. *Scientia Sinica(Vitae)*, 2023, 53(8): 1055–1066.]
- [12] 何宛诗,郑钦生,陈小艳,等. 雨生红球藻新型抗氧化肽的制备纯化、鉴定筛选及其对秀丽线虫抗氧化能力的影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(22): 116–125. [HE Wanshi, ZHEN Qinsheng, CHEN Xiaoyan, et al. Isolation, identification and evaluation by *Caenorhabditis elegans* of Haematococcus pluvialis novel antioxidant peptide[J]. *Food Science*, 2023, 44(22): 116–125.]
- [13] 王天鸽,赵志刚,支添添,等. 富硒藻类研究进展[J]. *宜春学院学报*, 2021, 43(9): 87–91. [WANG T G, ZHAO Z G, ZHI T T, et al. Research progresson selenium-enriched algae[J]. *Journal of Yichun University*, 2021, 43(9): 87–91.]
- [14] 宋林,张炜,乜世成,等. 响应面法优化小球藻抗氧化肽的制备工艺研究[J]. *化学研究与应用*, 2023, 35(1): 135–144. [SONG Ling, ZHANG Wei, NIE Shicheng, et al. Optimization of preparation technology of antioxidant peptides from chlorella by response surface methodology[J]. *Chemical Research and Applications*, 2023, 35(1): 135–144.]
- [15] VERONICA G J, FRANCISCO N R, INES G N, et al. *In vitro* selenium bioaccessibility combined with *in vivo* bioavailability and bioactivity in Se-enriched microalga (*Chlorella sorokiniana*) to be used as functional food[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020(66): 103817.
- [16] 王雪儿,杨欣宇,朱婷,等. 富硒小球藻提取物对小鼠急性肝损伤的预防和治疗作用[J]. *湖北民族大学学报(医学版)*, 2023, 40(2): 24–28. [WANG X E, YANG X Y, ZHU T, et al. Preventive and therapeutic effects of selenium-enriched chlorella extract on acute liver injury in mice[J]. *Journal of Hubei Minzu University (Medical Edition)*, 2023, 40(2): 24–28.]
- [17] 尚露彤. 三种富硒茶与普通茶降血糖活性比较及机制初探[D]. 上海: 上海师范大学, 2022. [SHANG Lutong. Comparison of hypoglycemic activities of three selenium-enriched teas and common teas and preliminary study on their mechanisms[D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2002.]
- [18] 郭丽丽,李小兰,田小丽,等. 黄芪茎叶总皂苷的响应面提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(4): 158–167. [GUO Lili, LI Xiaolan, TIAN Xiaoli, et al. Optimization of extraction technology of total saponins from stems and leaves of *Astragalus membranaceus* by response surface methodology and their antioxidant activity[J]. *Chinese Food Additives*, 2023, 34(4): 158–167.]
- [19] BENZIE I F F, STRAIN J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay[J]. *Analytical Biochemistry*, 1996, 239(1): 70–76.
- [20] STANDLEY L, WINTERTON P, MARNEWICK J L, et al. Influence of processing stages on antimutagenic and antioxidant potentials of rooibos tea[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(1): 114–117.

- [21] 杨继涛. 柿(*Diospyros kaki* L.)果实抗氧化能力的分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2009. [YANG Jitao. Analysis of anti-oxidation ability of persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2009.]
- [22] HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M, ARUOMA O I. The deoxyribose method: A simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals[J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 165(1): 215–219.
- [23] QUICK K L, HARDT J I, DUGAN L L. Rapid microplate assay for superoxide scavenging efficiency[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2000, 97(2): 139–144.
- [24] 张亚园. 外源硒对茶树生长和茶叶品质的影响[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2022. [ZHANG Yayuan. Effects of exogenous selenium on the growth and quality of tea[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology, 2002.]
- [25] 司振兴, 梁帮哲, 钱建财, 等. 植物对硒的吸收, 转运及代谢机制研究进展[J]. 作物杂志, 2023, 39(2): 1–9. [SI Zhenxing, LIANG Zhizhe, QIAN Jiancai, et al. Research progress on absorption, transportation and metabolism mechanism of selenium in plants[J]. *Corps*, 2023, 39(2): 1–9.]
- [26] MILLER N J, RICE-EVANS C, DAVIES M J, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates[J]. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 1993, 84(4): 407–412.
- [27] GULCIN İ. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview[J]. *Archives of Toxicology*, 2020, 94(3): 651–715.
- [28] HUYUT Z, BEYDEMİR Ş, GÜLÇİN İ. Antioxidant and anti-radical properties of selected flavonoids and phenolic compounds[J]. *Biochemistry Research International*, 2017, 2017: 1–10.
- [29] IŞIK M, BEYDEMİR Ş, YILMAZ A, et al. Oxidative stress and mRNA expression of acetylcholinesterase in the leukocytes of ischemic patients[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 87: 561–567.
- [30] KRAWCZYK H. The stilbene derivatives, nucleosides, and nucleosides modified by stilbene derivatives[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2019, 90: 103073.
- [31] ALAM M N, BRISTI N J, RAFIQUZZAMAN M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity[J]. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2013, 21(2): 143–152.
- [32] 刘野婷, 白羽辛, 刘小康, 等. 红参不同部位抗氧化活性与还原糖、皂苷含量相关性分析[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(6): 1354–1356. [LIU Yeting, BAI Yuxin, LIU Xiaokang, et al. Correlation analysis of antioxidant activity with reducing sugar and saponin content in different parts of red ginseng[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2021, 32(6): 1354–1356.]
- [33] 庄洋. 恩施传统腐乳加工工艺特征及其理化和抗氧化特性研究[D]. 恩施: 湖北民族学院, 2018. [ZHUANG Yang. Study on the processing technology, physicochemical properties and anti-oxidation properties of enshi traditional beancurd[J]. Enshi: Hubei Minzu University, 2018.]
- [34] 宋妍, 李粟晋, 陶阳, 等. 青稞籽粒富硒发芽条件优化及其抗氧化能力分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(14): 188–195, 202. [SONG Yan, LI Liji, TAO Yang, et al. Optimization of Selenium enriched germination conditions and its antioxidant abilities in highland barley seeds[J]. *Science and Technology of Food*, 2019, 40(14): 188–195, 202.]
- [35] 梁志, 胡鑫鑫. 废弃龙眼核壳多酚、黄酮含量与抗氧化性的相关性研究[J]. 山东化工, 2022, 51(24): 132–134. [LIANG Zhi, HU Xinxin. Correlation of antioxidant properties with contents of total polyphenols and total flavonoids in solvent extracts of abandoned Longan seeds and shells[J]. *Shandong Chemical Industry*, 2022, 51(24): 132–134.]
- [36] WEI D F, CHEN T, YAN M F, et al. Synthesis, characterization, antioxidant activity and neuroprotective effects of selenium polysaccharide from *Radix hedysari*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 125: 161–168.
- [37] ZHAN Q P, CHEN Y, GUO Y F, et al. Effects of selenylation modification on the antioxidative and immunoregulatory activities of polysaccharides from the pulp of *Rose laevigata* Michx fruit[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 206: 242–254.
- [38] SHEN Q, ZHANG B W, XU R H, et al. Antioxidant activity in vitro of the selenium-contained protein from the Se-enriched *Bifidobacterium animalis* 01[J]. *Anaerobe*, 2010, 16(4): 380–386.
- [39] PEARSON K. Contributions to the mathematical theory of evolution. II. Skew variation in homogeneous material[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A*, 1895, 186: 343–414.
- [40] 刘文强, 董壮壮, 孙庆, 等. 桑叶茶中多酚、黄酮含量与抗氧化作用的相关性研究[J]. 食品科技, 2023, 48(2): 239–245. [LIU Wenqiang, DONG Zhuangzhuang, SUN Qing, et al. Correlation between the contents of active substances in mulberry leaf tea and their antioxidant activities[J]. *Food Technology*, 2023, 48(2): 239–245.]
- [41] 夏方山, 王勃, 阴禹舟, 等. 硒引发对紫花苜蓿幼苗抗氧化特性的影响[J]. 草地学报, 2023, 31(9): 2875–2881. [XIA Fangshan, WANG Bo, YIN Yuzhou, et al. Priming influence of selenium on the antioxidant characteristics of *Alfalfa* seedlings[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(9): 2875–2881.]
- [42] 周林珠, 杨祥良, 周井炎, 等. 多糖抗氧化作用研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2002, 23(4): 210–212. [ZHOU Linzhu, YANG Xiangliang, ZHOU Jinyan, et al. Research progress on antioxidant of polysaccharides[J]. *Chinese Journal of Biochemical Medicine*, 2002, 23(4): 210–212.]
- [43] YUAN B, YANG X Q, KOU M, et al. Selenylation of polysaccharide from the sweet potato and evaluation of antioxidant, antitumor, and antidiabetic activities[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2017, 65(3): 605–617.
- [44] WANG L, ZHANG P Z, SHEN J W, et al. Physicochemical properties and bioactivities of original and Se-enriched polysaccharides with different molecular weights extracted from *Pleurotus ostreatus*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 141(C): 150–160.
- [45] WANG J L, ZHAO B T, WANG X F, et al. Synthesis of selenium-containing polysaccharides and evaluation of antioxidant activity *in vitro*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, 51(5): 987–991.
- [46] FREEMAN J L, TAMAOKI M, STUSHNOFF C, et al. Molecular mechanisms of selenium tolerance and hyperaccumulation in *Stanleya pinnata*[J]. *Plant Physiology*, 2010, 153(4): 1630–1652.
- [47] 宋振. 蛹虫草胞内硒多糖提取及其抗氧化活性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009. [SONG Zhen. Extraction of intracellular selenium polysaccharide from *Cordyceps militaris* and its antioxidant activity[D]. Taian: Shandong Agriculture University, 2009.]
- [48] 马秀杰, 张跃安. 硒对人体健康影响研究进展[J]. 中国公共卫生, 2009, 25(8): 1021–1023. [MA Xiujie, ZHANG Yuean. Effect of selenium on human health. A review[J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2009, 25(8): 1021–1023.]
- [49] 高菲, 戴志华, 韩丹, 等. 硒影响植物抗氧化系统的作用与机制[J]. 生物技术进展, 2017, 7(5): 467–472. [GAO Fei, DAI Zhihua, HAN Dan, et al. Effects and mechanisms of selenium on antioxidant system in plants[J]. *Biotechnology Progress*, 2017, 7(5): 467–472.]