

四十种瓜菜中超氧化物歧化酶含量测定

卢 皎 陈家梅

(北京市农林科学院植保环保所,北京 100081)

金道山

(中国人民解放军总医院老年医学研究所,北京 100853)

摘 要 采用化学发光法测定了 40 种蔬菜、瓜、果中的超氧化物歧化酶(SOD)的含量,并在此基础上探讨了 9 种蔬菜中维生素 E、C、蛋白对 SOD 的影响以及它们之间的关系,还观察了蔬菜中 SOD 的热稳定性。结果表明,不同蔬菜、瓜、果间 SOD 含量的差异很大,其范围在 $1.26 \sim 176.10 \times 10^{-3} \text{g/g}$ 蛋白之间;去除脂溶性维生素 E 时 SOD 有不同程度的下降;维生素 C 及蛋白与 SOD 无明显对应关系;加热处理后样品的 SOD 仍得到较好保存。

关键词 蔬菜 瓜 超氧化物歧化酶 维生素 E 维生素 C

超氧化物歧化酶(简称 SOD)广泛存在于需氧代谢细胞中,在机体内催化超氧化物阴离子发生歧化反应,是生物体内重要的氧自由基清除剂。它能保护活体细胞抵御有毒的氧化诱导剂,起到抗衰、抗炎、抗辐射等作用^[1,6]。目前有关 SOD 的研究国际上已深入到医学、生物学及农业等许多领域;国内在医学方面论述较多,对蔬菜瓜果中 SOD 的观察测定^[3]虽有报道,但数量较少。因此我们测定了 40 种蔬菜瓜果中的 SOD,以便进一步阐明多吃蔬菜瓜果有益身体健康的原因。

1 材料和方法

1.1 试剂及仪器

1.1.1 试剂 鲁米诺(Luminol)、黄嘌呤(Xanthine),Serva 公司出品;黄嘌呤氧化酶,中国科学院上海生化研究所出品;改良的考马斯亮兰,上海化学试剂供应站分装;2,6-二氯酚钠盐,北京西中化工厂出品;实验所用蔬菜瓜果多数由北京蔬菜研究中心提供。

1.1.2 仪器 WDP-1 型发光仪;美国 SMOIA 微板多道多波长扫描仪;84-1 型 VC 测定仪。

1.2 测定步骤

1.2.1 溶液的配制 用 pH10.2、0.05mol/L 的 Na_2CO_3 - NaHCO_3 缓冲液(含 $0.1 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ EDTA)配制 $2 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的鲁米诺和黄嘌呤,

1.2.2 样品提取 将 40 种蔬菜瓜果分别用水洗净、擦干,取可食部分切碎,加入生理盐水,用玻璃匀浆器磨成匀浆 10000r/min 离心 5min,取上清液稀释后待用。

1.2.3 SOD 的化学发光法测定^[3] 黄嘌呤氧化酶与鲁米诺 1:1000 的体积比混匀后取 0.5×10^{-3} L 与 0.5×10^{-3} L 黄嘌呤混合计时,30s 后上机,记下混合 1min 时的读数即为空白值。取 0.5×10^{-3} L 鲁米诺(加过酶的)加 5×10^{-6} L 样品的上清稀释液与 0.5×10^{-3} L 黄嘌呤混合计

表 1 40 种瓜菜的 SOD 及蛋白含量

蔬菜种类	拉丁文名	科	样品中 SOD	样品中蛋白含量
			含量(10^{-6} g/g)	(10^{-3} g/g)
白苦瓜	<i>Momordica charantia</i> L.	葫芦科	1.1	0.870
黄 瓜	<i>C. sativus</i> L.	葫芦科	1.9	0.803
北森 4 号甜瓜	<i>C. melo</i> L. var <i>reticulatus</i> Naudin	葫芦科	2.0	1.133
北森 1 号甜瓜	<i>C. melo</i> L. var <i>reticulatus</i> Naudin	葫芦科	2.1	0.938
绿苦瓜	<i>Momordica charantia</i> L.	葫芦科	2.1	0.784
番 茄	<i>L. esculentum</i> var. <i>vulgare</i> BAILEY	茄 科	2.4	0.702
伊里沙白甜瓜	<i>C. melo</i> L.	葫芦科	2.7	1.117
丝 瓜	<i>Luffa cylindrica</i>	葫芦科	3.1	1.279
平 菇	<i>Pleurotus ostreatus</i>	侧身科	14.5	1.271
番 杏	<i>Tetragonia expansa</i> M.	番杏科	31.0	4.324
辣 椒	<i>Capicum annuum</i> L.	茄 科	32.7	0.891
水前寺菜	<i>Gynura bicolor</i> DC.	菊 科	37.3	2.287
香 菇	<i>Lentinus shiitake</i>	蘑菇科	41.7	1.373
蘿 菜	<i>Ipomoea aquatica</i> FORSK.	旋花科	42.7	2.743
木耳菜	<i>Auricularia auricula</i>	木耳科	43.0	3.923
豇 豆	<i>V. sinensis</i> SAVI.	豆 科	48.0	1.065
婆罗门参	<i>Tragopogon porrifolius</i> L.	菊 科	48.3	0.913
桔 梗	<i>Campanula rapunculus</i> L.	桔梗科	55.1	1.009
黄秋葵	<i>Hibiscus esculentus</i> L.	锦葵科	59.2	0.880
紫菜头	<i>B. vulgaris</i> L. var. <i>rubra</i> MOQ.	藜 科	59.8	0.934
尖叶苋菜	<i>A. mangostanus</i> L.	苋 科	69.3	1.450
苦蕒菜	<i>Ixeris denticulata</i> STEBB.	菊 科	72.0	3.007
石刁柏	<i>Asparagus officinalis</i> L.	百合科	72.7	3.047
黄花菜	<i>H. flava</i> L.	百合科	73.0	0.949
棠朱红苋菜	<i>A. mangostanus</i> L.	苋 科	75.0	3.857
罗 勒	<i>Ocimum basilicum</i> L.	唇形科	76.2	1.425
柿子椒	<i>C. annuum</i> var. <i>groszum</i> SENDT.	茄 科	83.5	0.996
菊 巨	<i>Cichorium endivia</i> L.	菊 科	88.2	3.623
薄 荷	<i>Mentha arvensis</i> L.	唇形科	101.5	1.454
地 肤	<i>Kochia scoparia</i> SCHRAD.	藜 科	106.2	1.550
紫 苏	<i>Perilla frutescens</i> BRITT.	唇形科	106.5	1.021
留兰香	<i>Mentha spicata</i> L.	唇形科	106.7	1.374
菊花脑	<i>C. nankingense</i> HANDMZT	菊 科	113.5	2.825
鼠尾草	<i>Salvia japonica</i>	唇形科	115.0	1.395
马 兰	<i>Asteromaea indica</i> BL.	菊 科	117.7	1.363
茄 子	<i>Solanum melongena</i> L.	茄 科	136.0	1.065
豆瓣菜	<i>Nasturtium officinale</i> R. BR.	十字花科	147.0	1.337
香 椿	<i>Toona sinensis</i> A. JUSS.	楝 科	175.3	1.454
紫甘兰	<i>Brassica oleracea</i> & var. Red.	十字花科	183.5	1.042
牛 至	<i>Origanum vulgare</i> L.	唇形科	187.8	3.032

时,方法同上,1min 后读数即为实测值。根据空白值与实测值求抑制率,并以抑制率为 50% 含 3.5×10^{-9} g SOD 为标准进行计算。

1.2.4 样品的不同处理 选 9 种蔬菜取可食部分切碎,加生理盐水用匀浆器磨成匀浆,取 1/3 匀浆煮沸 30min,10000r/min 离心 5min,取上清液稀释后待用,一份与乙醇、三氯甲烷按

1:1:2 的比例分别混合振荡 30s 后 4500r/min 离心 10min,取水相,与上述样品稀释同等倍数待用,按步骤 3 进行测定。分别记下不同处理后样品的空白值和实测值,并计算 SOD 含量。

1.2.5 蛋白的快速测定法^[9] 按照改良的考马斯亮兰法测定,取 5×10^{-6} L 匀浆上清液加入 0.195×10^{-3} L 考马斯亮兰在微板多道多波长扫描仪上,620nm 波长下测其光密度,标准为 1g/L 的牛血清白蛋白。

1.2.6 维生素 C 的滴定法测定 蔬菜的可食部分切碎后用 2% 的草酸捣碎提取,提取液用 2,6—二氯酚酚钠滴定,用 84—1 型 VC 测定仪指示终点。记下消耗 2,6—二氯酚酚钠的毫升数,吸取 10ml 2% 的草酸溶液,用染料作空白滴定,记下用量,以此计算维生素 C 含量。

2 结果与讨论

通过测定 40 种蔬菜瓜果中的 SOD 含量发现,不同种类的蔬菜瓜果其 SOD 含量相差很大,高低之间可以相差百倍;同时测定蛋白含量未发现二者有平行对应关系(表 1)。在广泛测定的基础上,我们选取了 9 种蔬菜,观察了维生素 E、C 及加热与 SOD 的关系。因为维生素 E、C 也是很重要的自由基清除剂^[1],维生素 E 为脂溶性化合物,维生素 C 为水溶性化合物。为了排除维生素 E 的影响,我们用萃取法对样品进行处理,可以看到萃取后大多数样品的 SOD 有不同程度的下降。同时测定这 9 种蔬菜的维生素 C 含量,也未发现其与 SOD 活性及含量有明显对应关系。为了观察蔬菜瓜果中 SOD 的热稳定性对样品进行煮沸处理后看到黄瓜等三种蔬菜显著下降,而香椿却显著升高。样品中的 SOD 经加热处理后并没有完全丧失,而是在多数样品中得到了较好的保存,这可能是酶分子中的金属辅基^[5]或其他一些小分子化合物的作用^[2]其具体原因还有待于进一步研究。结果见表 2。

表 2 9 种蔬菜中维生素 C 及不同处理后 SOD 的含量

蔬 菜	SOD 含量 (10^{-6} g/g)	萃取后 SOD 含量 (10^{-6} g/g)	加热后 SOD 含量 (10^{-6} g/g)	VC 含量 (mg/100g)
菠 菜	44.28	39.05	37.39 *	168.00
溴香薷	211.05	198.11 * *	202.10 * *	204.00
洋苏叶	106.59	85.77 *	107.80	300.00
香 椿	177.63	166.04 * *	209.70 * *	18.25
豇 豆	64.00	47.17 * *	60.61	11.25
茄 子	101.08	79.61 * *	108.55	6.50
小白菜	58.33	46.06 * *	51.94	37.00
韭菜苔	31.72	31.22	22.28 * *	44.00
黄 瓜	2.84	2.84	2.46 * *	9.00

注: * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$

不同蔬菜,不同生长期或同种蔬菜不同生育期的 SOD 含量有很大差别。以香菇为例,生长期短未完全长开香菇的 SOD 与生长期长全部长开的 SOD 含量分别为 48.79 和 41.44×10^{-6} g/g ($P < 0.01$),相差 15% 左右。因此采样时间不同往往会造成实验结果的较大偏差。

3 小结

经过测定,我们可以看到蔬菜瓜果中不仅含有大家已知的丰富的水、无机盐、纤维素及维生素等人体所必需的物质^[4],同时还含有丰富的抗氧化活性物质 SOD。因此为了防止和减

少超氧化物自由基对细胞膜的损伤^[7],延缓机体的衰老过程,可以对 SOD 活性较低的老年人适当调整饮食以补充一定量的 SOD,用来提高机体的抗衰老能力^[8]。

蔬菜瓜果中所含的 SOD 是较易利用且无毒无害的,广泛测定蔬菜瓜果以及其他植物中的 SOD 含量,不仅有利于合理调配饮食,指导科学采收,还将为培育优良品种以及从含量较高的植物中分离、提取 SOD 提供科学依据。

参 考 文 献

- 1 莫简. 医用自由基生物学导论. 北京:人民卫生出版社,1989,12~66
- 2 袁勤生. 超氧化物歧化酶的研究进展. 中国药学杂志,1989,24(7):387~391
- 3 张佃志,方允中. 某些蔬菜与水果的抗氧化活性观察. 营养学报,1990,12(2):191~195
- 4 中国医学科学院卫生研究所. 食物成份表. 北京:人民卫生出版社,1985,47~96
- 5 Fridovich I et al. On the stability of bovine superoxide dismutase. J Biol Chem, 1973, 248(8):2645~2649
- 6 陶宗晋等. 大白鼠细胞的超氧化物歧化酶纯化及其性质的研究. 生物化学与生物物理学报,1991,23(2):126~128
- 7 Burton GW. Antioxidant action of carotenoids. J Nutr, 1989, 119(1):109~111
- 8 朱咸中等. 220 健康人红细胞内超氧化物歧化酶测定结果分析. 中华老年医学,1990,9(1):53~55
- 9 金道山等. 快速测定微量蛋白质的方法. 解放军军医进修学院学报,1986,7(3):196~198

Determination of Superoxide Dismutase Content in Forty Kinds of Vegetables and Melons

Lu Jiao Chen Jiamei

(Beijing Municipal Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing)

Jin Daoshan

(Chinese PLA General Hospital, Beijing)

Abstract Superoxide dismutase content in forty kinds of vegetables and melons were determined by the method of chemiluminescence. The effects of Vitamin E, C and protein on SOD and the relationship among the contents were studied for nine kinds of vegetables. The thermal stability of SOD in the vegetables was observed after heating treatment. The main results were as follows:

1. Great differences in SOD content existed among vegetables and melons ranging from 1.26 to 176.10×10^{-3} g/g protein.
2. The SOD content decreased in varying degrees when the fat-soluble vitamin E was removed.
3. There was no obvious corresponding relationship between SOD and Vitamin C or protein.
4. Much SOD content remained intact after the heating treatment.

Key words: Vegetables; Melons; Superoxide dismutase; Vitamin E; Vitamin C