

## 陈窖豆豉粬类黑精组分体外抗氧化活性研究\*

秦礼康<sup>1,2</sup> 丁霄霖<sup>1</sup>

1(江南大学食品学院,无锡,214036) 2(贵州大学生命科学学院,贵阳,550025)

**摘要** 药食资源中天然存在的抗氧化活性物质对人体健康的保护作用被日益关注。发酵期 18 个月的陈窖豆豉粬类黑精的不同组分,经体外抗氧化活性实验表明,粗提物(DCBM)及其 S-8 树脂粗组分(DCBM-W 和 DCBM-E)均显示出一定的抗亚油酸氧化能力,样品浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,活性强于  $\text{V}_\text{C}$ ,低于 BHT,其中 DCBM-E 可达 BHT 的 1/2,并且 DCBM-E 经 ODS-AQ 反相  $\text{C}_{18}$  柱分离后,其还原力、[DPPH] 和  $[\cdot\text{OH}]$  自由基清除能力虽不及 BHT 或  $\text{V}_\text{C}$ ,但组分间差异较大,进一步分离纯化可望筛选到抗氧化活性极强的化合物。

**关键词** 陈窖豆豉粬,类黑精,体外抗氧化活性

食品体系脂质氧化劣变的抑制和人体异常生理氧化胁迫的干预一直是食品界和医药界的 2 个研究热点。但是,近年来随着外源合成抗氧化剂食用安全性的质疑和人体毒副作用的揭示,筛选鉴定天然药食资源中安全有效的抗氧化活性物质已日益引起了国内外学者的极大关注<sup>[1,2]</sup>。类黑精(melanoidin),作为食品热加工和贮藏过程中普遍发生的 Maillard 反应所形成的重要终产物(MRPs),不仅特有的外观褐色决定着消费者对产品的可接受度,而且较强的生理活性和保健功能更引起了世界各国的高度重视<sup>[3]</sup>,“食品体系类黑精抗氧化特性”已被列入欧盟 COST Action 919 行动<sup>[4]</sup>中的五大协作研究专题。

陈窖豆豉粬,作为贵州独有的传统豆豉类发酵调味品,浓郁持久的滋香味和黑亮油润的外观色泽是其 2 大突出的品质特征<sup>[5]</sup>。作者前期研究<sup>[6]</sup>表明,发酵期 18 个月的陈窖豆豉粬,其类黑精含量为 4.76% (以干基计),高于阚建全等人<sup>[7]</sup>测定的重庆永川豆豉的类黑精含量(3.61%),可视为产品中的常量成分。因此,本文首次以发酵期 18 个月的大方陈窖豆豉粬为材料,提取分离类黑精不同组分,同时以抗亚油酸氧化能力、还原能力、 $[\cdot\text{OH}]$  和  $[\text{DPPH}\cdot]$  自由基清除能力为指标,探讨各分离组分的体外抗氧化潜力,以期为豆豉、酱油、豆酱等低温大豆发酵食品体系最具代表性的功能成分,类黑精的开发利用提供科学依据。

## 1 材料和方法

## 1.1 材料与仪器

陈窖豆豉粬取自贵州省大方县(陈窖期 18 个月);大孔吸附树脂,S-8 型(20~60 目); $\text{C}_{18}$  填料(50  $\mu\text{m}$ ),ODS-AQ 型(YMC, Japan);亚油酸、邻菲罗啉和 DPPH 均为 Sigma 公司产品,其他化学试剂均为分析纯。

UV755B 型 UV-VIS 分光光度仪(上海精密科学仪器有限公司),SHG-C 型生物化学发光测定仪(上海上立检测仪器厂),18LFD 型冷冻干燥机(LAB-CONCO, USA)等。

## 1.2 陈窖豆豉粬类黑精提取及组分分离

## 1.2.1 类黑精提取

大方陈窖豆豉粬→切粒(0.3~0.5  $\text{cm}^3$ )→浸提(体积分数 10% 乙醇水为溶剂;料液比(g:mL) 1:3;室温静置 24 h)→滗析、过滤→滤液离心(3 000 r/min)→上清液醇析(体系最终乙醇体积分数 70%~80%,室温静置 12 h)→丙酮沉淀[(料液):(丙酮)=1:2;室温静置 12 h]→沉淀物冻干→类黑精粗提物 DCBM(待用)。

## 1.2.2 类黑精组分大孔吸附树脂柱分离

S-8 大孔吸附树脂(20~60 目)→乙醇浸泡→装柱(3.8 cm×70 cm)→用①蒸馏水②2% NaOH③蒸馏水④5% HCl⑤蒸馏水⑥乙醇⑦蒸馏水依次洗脱净化→适量 DCBM 水溶后上样吸附→用蒸馏水和无水乙醇洗脱→分别收集各组分浓缩、冻干→DCBM-W 和 DCBM-E 类黑精组分(待用)。

1.2.3 类黑精组分反相  $\text{C}_{18}$  柱分离

ODS-AQ 型填料→甲醇浸泡→装柱(1.6 cm×50

第一作者:博士研究生,副教授。

\* 贵州省自然科学基金项目(No. 黔科合 2005-2023),贵州省教育厅自然科学基金项目(No. 黔教科 2004-204)

收稿日期:2005-09-12

cm)→蒸馏水平衡→DCBM-E 用乙醇超声溶解后上样→依次用体积分数 10%、20%、30%、40%、50%、100% 的乙醇水洗脱→分别收集各组分浓缩、冻干→DCBM-E-10、DCBM-E-20、DCBM-E-30、DCBM-E-40、DCBM-E-50 和 DCBM-E-100 类黑精组分(待用)。

## 2.3 类黑精组分体外抗氧化活性测定

### 2.3.1 抗亚油酸氧化能力

采用 Ycen 等人<sup>[8]</sup>报道的硫氰酸铁法(ferric thiocyanate method, FTC 法)测定反应混合物在 500 nm 处的吸光度  $A_{500}$  来评价。该试验以 Vc 和 BHT 作为阳性对照。

### 2.3.2 还原力

按 Oyaizu (1986)方法<sup>[9]</sup>测定反应混合物在 700 nm 处的吸光度  $A_{700}$  来确定,并根据样品浓度对吸光度  $A_{700}$  的线性回归方程求出吸光度为 0.5 时所需的样品有效浓度  $EC_{50}$ 。该试验亦以 Vc 和 BHT 作为阳性对照。

### 2.3.3 [DPPH·]自由基清除能力

采用 Sánchez-Moreno 等人<sup>[10]</sup>报道的方法测定样品和空白反应混合物在 517 nm 处的吸光度 ( $A_{517\text{sample}}$  和  $A_{517\text{blank}}$ )。[DPPH·]清除率按公式“清除率/% =  $(A_{517\text{blank}} - A_{517\text{sample}}) \div A_{517\text{blank}} \times 100$ ”计算,并根据样品浓度对 [DPPH·]自由基清除率(%)的线性回归方程求出清除率为 50% 时所需的样品半抑制浓度  $IC_{50}$ 。该试验亦以 Vc 和 BHT 作为阳性对照。

### 2.3.4 羟基自由基[·OH]清除能力

采用范小兵等人<sup>[11]</sup>报道的邻菲罗啉- $\text{CuSO}_4$ -Vc- $\text{H}_2\text{O}_2$  化学发光体系测定样品和空白反应混合物第 6 个 6 s 的发光强度 ( $CP_{6s,\text{sample}}$  和  $CP_{6s,\text{blank}}$ )。[·OH]清除率按公式“清除率/% =  $(CP_{6s,\text{blank}} - CP_{6s,\text{sample}}) \div CP_{6s,\text{blank}} \times 100$ ”进行计算,并根据样品浓度对 [·OH]自由基清除率(%)的线性回归方程求出清除率为 50% 时所需的样品半抑制浓度  $IC_{50}$ 。

## 3 结果与讨论

### 3.1 陈窖豆豉粳类黑精组分抗亚油酸氧化能力

油脂作为大部分食品营养价值和感官质量的重要贡献因素,其氧化酸败引起的货架期缩短、营养价值降低、异味以及毒物产生,一直是食品加工和安全控制中的关键问题<sup>[12]</sup>。自 Franzke 和 Iwainsky 首次发现 Maillard 反应产物(MRPs)的抗氧化能力以来,大量研究表明,一些模式体系美拉德反应产物

(MRPs)能有效抑制谷物、乳制品、肉类、果汁、坚果等不同食品体系的脂质氧化,甚至有的组分可与常用的食品抗氧化剂媲美<sup>[13]</sup>。评价化合物总的抗氧化活性(TAA),常以亚油酸乳液为模式体系,采用硫氰酸铁法(FTC 法),测定反应混合物的吸光值来表示,吸光值越大,抗氧化能力越弱。图 1 结果表明,供式浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$  时,发酵期 18 个月的陈窖豆豉粳类黑精粗提物(DCBM)及其 S-8 树脂粗组分(DCBM-W 和 DCBM-E)均显示不同程度的抗亚油酸氧化能力,其中无水乙醇洗脱组分(DCBM-E)最强,类黑精粗提物(DCBM)其次,蒸馏水洗脱组分(DCBM-W)最小。但总体看,陈窖豆豉粳类黑精组分抗亚油酸氧化能力好于 Vc,低于 BHT,其中 DCBM-E 组分可达 BHT 的 1/2。

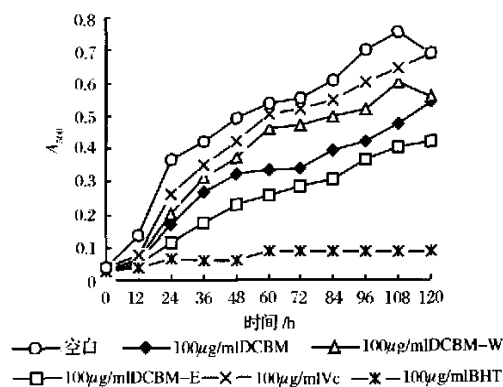


图1 陈窖豆豉粳类黑精组分抗亚油酸氧化能力

### 3.2 陈窖豆豉粳类黑精组分的还原力

Maillard 反应产物(MRPs)抗氧化效果与还原力密切相关<sup>[8]</sup>。以  $\text{Fe}^{3+}$ - $\text{Fe}^{2+}$  转化为原理的 Oyaizu 方法是通过测定反应混合物 700 nm 处吸光值来评价化合物的还原力,吸光值越大,还原力越强。表 1 结果说明,所有陈窖豆豉粳类黑精组分随样品浓度的增加,吸光值增大,呈显著的直线相关( $R^2 = 0.9845 \sim 0.9998$ ),并且作为还原力强弱比较指标的  $EC_{50}$ (吸光值达 0.5 时所需的样品有效浓度  $\text{mg/mL}$ ;该值越小,还原力越强),在不同类黑精组分间却存在一定差异,其中  $\text{DCBM-E}(1.426) < \text{DCBM}(1.657) < \text{DCBM-W}(1.733)$ ,这种还原力递减趋势与抗亚油酸氧化能力相同,而 DCBM-E 经 ODS-AQ 型反相  $\text{C}_{18}$  柱分离的各组分中,DCBM-E-20 还原力最强( $EC_{50}$  为 0.197),DCBM-E-10、-30、-40 和 -50 居中( $EC_{50}$  为 0.632 ~ 0.801),DCBM-E-100 最小( $EC_{50}$  为 4.404),但所有

这些组分的还原力均不及 BHT 和  $V_c$  ( $EC_{50}$  分别为 0.099 和 0.046) 好。

表 1 陈蓉豆豉粳类黑精组分的还原力<sup>1)</sup>

类黑精组分	浓度(mg/mL)及还原力(A700 nm)					线性回归方程	$EC_{50}/mg \cdot mL^{-1}$
DCBM	0.384	0.768	1.152	1.536	1.920	$y = 0.234 6x + 0.111 3$	1.657
	0.214	0.285	0.376	0.452	0.581	$R^2 = 0.988$	
DCBM-E	0.345	0.69	1.036	1.381	1.726	$y = 0.285x + 0.093 7$	1.426
	0.208	0.291	0.359	0.481	0.605	$R^2 = 0.9841$	
DCBM-W	0.387	0.774	1.160	1.547	1.934	$y = 0.275 4x + 0.022 6$	1.733
	0.134	0.234	0.339	0.441	0.563	$R^2 = 0.9986$	
DCBM-E-10	0.193	0.386	0.578	0.771	0.964	$y = 0.760 3x + 0.019 2$	0.632
	0.180	0.326	0.407	0.613	0.769	$R^2 = 0.9845$	
DCBM-E-20	0.083	0.166	0.249	0.332	0.415	$y = 3.086 7x - 0.107 8$	0.197
	0.175	0.363	0.666	0.925	1.175	$R^2 = 0.9962$	
DCBM-E-30	0.624	1.248	1.872	2.496	3.120	$y = 0.543 8x + 0.076 7$	0.778
	0.418	0.758	1.092	1.423	1.752	$R^2 = 0.9998$	
DCBM-E-40	0.14	0.280	0.42	0.56	0.700	$y = 0.616 4x + 0.071 7$	0.695
	0.165	0.242	0.324	0.409	0.513	$R^2 = 0.9966$	
DCBM-E-50	0.505	1.010	1.515	2.020	2.525	$y = 0.538 2x + 0.069$	0.801
	0.332	0.630	0.886	1.136	1.438	$R^2 = 0.9988$	
DCBM-E-100	1.598	3.196	4.794	6.392	7.99	$y = 0.091 3x + 0.097 9$	4.404
	0.242	0.399	0.533	0.666	0.838	$R^2 = 0.9979$	
BHT	0	0.010	0.050	0.100	0.200	$y = 4.265 5x + 0.076 5$	0.099
	0	0.120	0.338	0.582	0.878	$R^2 = 0.966$	
$V_c$	0	0.010	0.050	0.100	0.200	$y = 9.453x + 0.064 8$	0.046
	0	0.427	1.330	1.932	2.527	$R^2 = 0.9822$	

1)  $EC_{50}$ : 吸光值达 0.5 时所需的样品有效浓度 (mg/mL)。

### 3.3 陈蓉豆豉粳类黑精组分的 [DPPH·] 自由基清除能力

稳定的 DPPH 自由基清除模型是一种广泛用于评价抗氧化剂自由基清除能力的快速方法,其主要原理是测定反应混合物 517 nm 处吸光值的降低,因为 DPPH· 接受供试物的电子或氢自由基后,形成稳定的抗磁分子,原 517 nm 处的吸光值明显减小,色泽由紫变黄<sup>[2]</sup>。从表 2 结果可看出,随着样品浓度增加,陈蓉豆豉粳类黑精各组分的 [DPPH·] 自由基清除能力增强,呈显著的直线相关 ( $R^2 = 0.989 3 \sim 0.999 6$ )。就半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 而言,DCBM 及其 S-8 树脂粗组分 (DCBM-W 和 DCBM-E) 分别为 1 465.31、1 680.40 和 1 366.21  $\mu g/mL$ , 差异不大,其变化趋势与抗亚油酸氧化能力相同,但 DCBM-E 经 ODS-AQ 型反相 C18 柱分离的组分 (DCBM-E-20、-30、-40 和 -50) 却差异明显,分别为 209.97、1 499.79、660.65 和 8 036.88  $\mu g/mL$ 。要说明的是, BHT 和  $V_c$  清除 [DPPH·] 自由基所需的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 仅 5.70 和 5.23  $\mu g/mL$ , 优于陈蓉豆豉粳类黑精各组分。

### 3.4 陈蓉豆豉粳类黑精组分的 [ $\cdot OH$ ] 自由基清除能

### 力

具三电子氧的 [ $\cdot OH$ ] 自由基是所有活性氧中反应活性最强的自由基,几乎可攻击核酸、蛋白、脂质及醌类等任何生物大分子,当其过量积累或生物体抗氧化防御体系削弱时,极易损伤细胞及组织,引起机体衰老或癌变等<sup>[14]</sup>。然而因 [ $\cdot OH$ ] 自由基半衰期短 (平均为  $10^{-3} s$ ), 检测极其困难。目前研究表明,与 ESR (电子自旋共振)、EPR (电子顺磁共振)、HPLC/MS、GC/MS 等相比,邻菲罗啉- $CuSO_4 - Vc - H_2O_2$  化学发光体系是一种价廉、有效、方便、快速的 [ $\cdot OH$ ] 自由基测定方法,其原理是 [ $\cdot OH$ ] 攻击邻菲罗啉所产生的发光强度与 [ $\cdot OH$ ] 的量呈显著正相关<sup>[10]</sup>。表 3 结果表明,随着样品浓度增加,陈蓉豆豉粳类黑精各组分的 [ $\cdot OH$ ] 自由基清除能力增强,其中 DCBM、DCBM-E 和 DCBM-E-100 呈显著的直线相关 ( $R^2 = 0.969 8 \sim 0.984 7$ ) 外,而 DCBM-W、DCBM-E-10、-20、-30、-40 和 -50 呈显著的指数相关 ( $R^2 = 0.969 8 \sim 0.984 7$ )。从半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 看,DCBM、DCBM-W 和 DCBM-E 分别为 1.056、1.440 和 0.599 mg/mL,其变化趋势与抗亚油酸氧化能力相同,但 DCBM-E 的分离组分 DCBM-E-10、-20、-30、-40、-50 和 -100 则分别为

0.553、0.350、2.772、0.639、1.9879 和 3.011 mg/mL,与[DPPH·]自由基清除率变化趋势相同,存在明

表 2 陈蓉豆豉粳类黑精组分的[DPPH·]自由基清除能力<sup>1)</sup>

类黑精组分		浓度(μg/mL)及清除率(%)				线性回归方程	IC <sub>50</sub> /μg·mL <sup>-1</sup>
DCBM	14.08	70.40	352.00	1762.00		$y = 0.032\ 1x + 2.963\ 4$	1 465.31
	0.654	4.92	18.07	58.88		$R^2 = 0.989\ 3$	
DCBM-E	15.36	76.80	384	1920		$y = 0.033\ 4x + 4.368\ 6$	1 366.21
	3.10	6.88	19.45	67.99		$R^2 = 0.996\ 8$	
DCBM-W	15.47	77.36	386.80	1934.00		$y = 0.025\ 8x + 6.645\ 8$	1 680.40
	4.99	8.26	19.62	55.93		$R^2 = 0.991\ 6$	
DCBM-E-20	3.32	16.60	83.00	415.00		$y = 0.204\ 7x + 7.018\ 5$	209.97
	4.99	9.12	28.92	91.05		$R^2 = 0.992\ 8$	
DCBM-E-30	24.96	124.80	624.00	3120.00		$y = 0.023\ 7x + 14.455$	1 499.79
	11.53	17.9	33.01	87.61		$R^2 = 0.992\ 4$	
DCBM-E-40	5.60	28.00	140.00	700.00		$y = 0.069\ 2x + 4.283\ 3$	660.65
	5.28	5.33	14.29	52.71		$R^2 = 0.999\ 2$	
DCBM-E-50	20.20	101.00	505.00	2525.00		$y = 0.005\ 7x + 4.189\ 8$	8 036.88
	4.13	4.82	7.23	18.59		$R^2 = 0.999\ 6$	
BHT	0	0.80	4.00	5.70		$y = 8.144\ 6x + 3.605$	5.70
	0	13.00	38.40	49.70		$R^2 = 0.990\ 8$	
Vc	0	0.80	4.00	5.70		$y = 9.849\ 8x - 1.504\ 3$	5.23
	0	10.20	28.60	53.60		$R^2 = 0.971$	

1)IC<sub>50</sub>: [DPPH·]自由基清除率为 50% 时所需的样品有效浓度(μg/mL)。

表 3 陈蓉豆豉粳类黑精组分的[·OH]自由基清除能力<sup>1)</sup>

DCBM 组分		浓度(mg/mL)及清除率(%)				线性回归方程	IC <sub>50</sub> /mg·mL <sup>-1</sup>
DCBM	0.345	0.690	1.036	1.381	1.726	$y = 28.243x + 20.173$	1.056
	31.73	39.81	47.10	56.14	72.33	$R^2 = 0.969\ 8$	
DCBM-E	0.384	0.768	1.152	1.536	1.920	$y = 25.354x + 34.814$	0.599
	47.21	52.81	60.18	75.23	84.68	$R^2 = 0.971\ 7$	
DCBM-W	0.387	0.774	1.160	1.547	1.934	$y = 17.873e^{0.7143x}$	1.440
	25.25	29.11	40.16	51.69	75.40	$R^2 = 0.981\ 2$	
DCBM-E-10	0.193	0.386	0.578	0.771	0.964	$y = 37.714e^{0.510\ 2x}$	0.553
	42.93	45.40	49.26	54.02	64.34	$R^2 = 0.952\ 5$	
DCBM-E-20	0.083	0.166	0.249	0.332	0.415	$y = 14.912e^{3.453\ 8x}$	0.350
	21.63	25.17	33.36	43.24	69.19	$R^2 = 0.965$	
DCBM-E-30	0.624	1.248	1.872	2.496	3.120	$y = 0.193\ 2e^{2.004\ 1x}$	2.772
	0.76	1.88	8.19	35.56	90.77	$R^2 = 0.992\ 3$	
DCBM-E-40	0.140	0.280	0.420	0.560	0.700	$y = 3.260\ 7e^{4.269\ 4x}$	0.639
	5.89	9.64	22.76	37.82	59.05	$R^2 = 0.987$	
DCBM-E-50	0.505	1.010	1.515	2.020	2.525	$y = 19.705e^{0.468\ 4x}$	1.9879
	26.46	30.77	38.16	48.13	69.04	$R^2 = 0.974\ 9$	
DCBM-E-100	1.598	3.196	4.794	6.392	7.99	$y = 8.703\ 4x + 23.796$	3.011
	39.22	52.71	60.78	79.55	95.34	$R^2 = 0.984\ 7$	

1)IC<sub>50</sub>: [·OH]自由基清除率为 50% 时所需的样品有效浓度(mg/mL)。

4 结 论

发酵期 18 个月的陈蓉豆豉粳类黑精粗提物(DCBM)及其 S-8 树脂粗分组分(DCBM-W 和 DCBM-E)均显示一定的抗亚油酸氧化能力,样品浓度为 100 μg/mL 时,活性强于 V<sub>C</sub>,低于 BHT,其中无

水乙醇洗脱组分(DCBM-E)可达 BHT 的 1/2。有意义的是,DCBM-E 经 ODS-AQ 型反相 C18 柱用乙醇梯度洗脱分离的各组分(DCBM-E-10、DCBM-E-20、DCBM-E-30、DCBM-E-40、DCBM-E-50 和 DCBM-E-100),其还原力、[DPPH·]和[·OH]自由基清除能力(EC<sub>50</sub>或 IC<sub>50</sub>)虽不及 BHT 和 V<sub>C</sub>,但组分间差异很

大,进一步分离纯化可望筛选到抗氧化活性极强的化合物。

目前,大量研究的天然抗氧化活性物质(如  $V_E$ 、 $V_C$ 、 $\beta$ -胡萝卜素、中药提取物等),因高成本和不良风味以及溶解分散性能或热、氧稳定性的影响,使其工业应用受到一定限制,而富含还原糖和氨基化合物(氨基酸、短肽或蛋白等)的许多食品,在热加工和贮藏过程中,具抗氧化活性的 Maillard 反应产物(MRPs)却不断积累。因此,象陈窖豆豉粬等褐变食品体系以常量存在的类黑精(Melanoidin),作为抗氧化活性的主要功能成分,将具较大的开发应用潜力。

### 参 考 文 献

- 1 Ilhami Güllü, Sükrü Beydemir H, et al. Ahmet Alici, *In vitro* antioxidant properties of morphine [J]. Pharmacological Research, 2004, 49: 59~66
- 2 Juntachote T, Berghofer E. Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal [J]. Food Chemistry, 2005, 92: 193~202
- 3 Lara Manzocco, Sonia Calligaris, Dino Mastrocola, et al. Review of nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods [J]. Trends in Food Science & Technology, 2001, 11: 340~346
- 4 Jennifer M Ames. EU COST action 919 melanoidins in food and health [J]. International Congress Series, 2002, 1245: 389~390
- 5 秦礼康, 丁霄霖. 传统陈窖豆豉粬和霉菌型豆豉挥发性风味化合物研究[J]. 食品科学, 2005, 309 (8): 275~

280

- 6 秦礼康, 丁霄霖. 陈窖豆豉粬类黑精提取及骨架肽段氨基酸组成分析[J]. 食品科学(已录用)
- 7 阚建全. 豆豉非透析类黑精抗氧化和抑制亚硝酸胺合成的研究[J]. 营养学报, 1999, 21(3): 349~352
- 8 Gow Chin Yen, Pin Der Duh, Da Yon Chuang. Antioxidant activity of anthraquinones and anthrone [J]. Food Chemistry, 2000, 70: 437~441
- 9 Oyaizu M. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine [J]. Japanese Journal of Nutrition, 1986, 44: 307~315
- 10 Sánchez-Moreno, Concepción A. Larrauri José, et al. Fulgencio. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents [J]. Food Research International, 1999, 32: 407~412
- 11 范小兵, 李慈娟, 沙大年, 等. 邻菲罗啉化学发光体系测定羟自由基的建立[J]. 基础医学与临床, 1998, 18 (6): 68~71
- 12 Francisco J H, Fátima Nogales, Rosario Z. Effect of the pyrrole polymerization mechanism on the antioxidative activity of nonenzymatic browning reactions [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51: 5703~5708
- 13 Wagner K H, Derkits S, Herr M, et al. Antioxidative potential of melanoidins isolated from a roasted glucose-glycine model [J]. Food Chemistry, 2002, 78: 375~382
- 14 Qingjiang Wang, Fei Ding, Ningning Zhu, et al. Determination of hydroxyl radical by capillary zone electrophoresis with amperometric detection [J]. Journal of Chromatography A, 2003(1016): 123~128

## Studies on *in vitro* Antioxidant Activities of the Melanoidin Fractions Separated from Long-ripened Douchiba (DCB)

Qin Likang<sup>1, 2</sup> Ding Xiaolin<sup>1</sup>

1(Food School of Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

2(Life Science School of Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**ABSTRACT** Increasing attention has lately been paid to the protective role of the natural antioxidants in both dietary and medicinal resources for human health. *In vitro* antioxidant activities of the melanoidin fractions separated from the 18-month ripened Douchiba (DCB) were evaluated. The results indicated that the total antioxidant activities (TAA) in a linoleic acid system of the primary extract (DCBM) and its sub-fractions (DCBM-W and DCBM-E) coarsely separated by resin (S-8) column were confirmed to a different extent. At the concentration of 100  $\mu\text{g/mL}$ , the antioxidant activities of all three fractions were prior to  $V_C$ , but inferior to BHT, among which the more active DCBM-E has the activity amount to 1/2 of BHT. Interestingly, the significant differences in the radical scavenging activity in the reducing power, [DPPH $\cdot$ ] and [ $\cdot\text{OH}$ ] separated by reverse-phase ODS-AQ ( $C_{18}$ ) column were existed, but inferior to BHT or  $V_C$ . Further isolations and purifications should be studied to obtain the melanoidin compounds with significant antioxidant activities.

**Key words** Long-ripened Douchiba (DCB), Melanoidin, *In vitro* antioxidant activities