

非生物催芽花生白藜芦醇富集及对 HEK293T 细胞的保护作用

孙 畅, 徐浩然, 秦凤贤, 吕呈蔚, 李倬林, 刘 建, 李铁柱*

(吉林省农业科学院农产品加工研究所 长春 130033)

摘要 目的:探究非生物诱导催芽对花生中白藜芦醇(RES)富集的影响,并测定在最优富集条件下 RES 对 HEK293T 细胞氧化损伤的保护作用。方法:以光照种类、超声强度、硫酸铜浓度、发芽时间为单因素条件诱导花生发芽,根据单因素实验和正交试验探究非生物诱导催芽对 RES 的含量影响以及最优富集条件。通过细胞活力测定,得到 RES 对 HEK293T 细胞的最大毒性。通过检测细胞内活性氧(ROS)含量、细胞超氧化物歧化酶(SOD)活力和过氧化氢酶(CAT)活力,探究 RES 对 H₂O₂ 诱导的 HEK293T 细胞的抗氧化损伤的保护效果。结果:光照、超声、硫酸铜都有促进发芽花生中白藜芦醇含量的效果,复合催芽对白藜芦醇富集呈促进作用。最佳花生芽白藜芦醇富集参数为:蓝光照射、超声强度 120 W/cm³、CuSO₄ 浓度 0.6 mmol/L、发芽 3 d,此时白藜芦醇含量为 35.79 μg/g。RES 干预处理可以明显恢复 H₂O₂ 诱导产生氧化损伤的 HEK293T 细胞活力,减少细胞内 ROS 的生产,增加 SOD、CAT 的活力。结论:光照等多重催芽可以富集发芽花生中白藜芦醇,RES 对细胞有明显的氧化应激损伤保护作用。

关键词 非生物诱导催芽;花生;白藜芦醇;氧化应激损伤

文章编号 1009-7848(2025)02-0070-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2025.02.006

氧化损伤是指体内活性氧(ROS)的生产超过抗氧化系统,从而引发氧化应激带来的损伤^[1]。氧化应激会导致机体蛋白质、核酸和脂质氧化损伤,还会引发各种危害人类健康的疾病,包括心血管疾病、动脉粥样硬化等^[2]。抗氧化剂能够预防氧化应激,缓解氧化应激损伤。合成抗氧化剂工序复杂且有潜在的毒性,而天然抗氧化剂副作用小,安全系数高^[3-4],因此人们越来越喜欢使用天然的抗氧化剂^[5]。

白藜芦醇为一种黄酮类多酚化合物,具有抗氧化、保护心血管、降血脂、防癌、抗衰老、预防肝纤维化等多种生理作用^[6-8]。花生是含有白藜芦醇的常见植物之一,在民间被称为“长生果”和“植物肉”,其蛋白营养价值高,抗营养因子含量低,易为人体消化吸收,并且花生制品种类多样,在全球范围广受喜爱。中国是最大的花生生产国,探究花生中白藜芦醇的富集可以提高其利用度,并为开发新型抗氧化天然食品提供研究思路。

发芽是提高种子功能性物质利用率的手段之一^[9]。花生发芽过程中,大量生物活性物质被富集,大量酶被激活和释放,蛋白质分解为肽和氨基酸,过敏蛋白含量降低^[10-12],营养因子得到改善,尤其是白藜芦醇含量迅速增加^[4]。通过发芽积累白藜芦醇是一个缓慢的过程,如果根据酚类生物合成的原理,应用适当的技术来提高发芽率,可提高白藜芦醇含量,同时加快白藜芦醇的富集进程。有研究称,当植物体受到外界刺激或者受到创伤时,可以激发白藜芦醇合酶在植物体的表达,进一步实现白藜芦醇的富集^[13],因此诱导催芽方式不同会影响花生芽中的白藜芦醇含量。前人研究了光照、超声、化学物质等^[14-16]单一或双重诱导花生发芽情况,未探究多种因素复合诱导对花生中白藜芦醇的富集作用,多因素诱导最佳富集条件以及诱导催芽后白藜芦醇(RES)的抗氧化效果。

本试验探究非生物因素诱导催芽花生,对其 中白藜芦醇含量富集的影响,同时探究最优富集发芽条件时 RES 对细胞抗氧化损伤的保护作用,为天然抗氧化剂大剂量提取提供了新思路。

收稿日期: 2024-02-24

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20240601088RC);吉林省创新创业人才项目(第 19 批)(2023QN11);2024 年度吉林省中医药科技项目(2024129,2024130)

第一作者: 孙畅,女,硕士,研究实习员

通信作者: 李铁柱 E-mail: ltzjlu@126.com

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

吉花 23 号,吉林省农业科学院提供;

HREK293T 细胞,中国科学院细胞库;TEMED,上海雅酶生物医药科技有限公司;半纤维素酶(2 U/mg),上海源叶生物科技有限公司;硫酸铜(食品级),中国医药集团有限公司;胎牛血清(FBS),Biological Industries;DMEM 培养基、过氧化氢酶(CAT)活性检测试剂盒、10×PBS 缓冲液,北京索莱宝科技有限公司;MTT 粉末,Gibco 公司;二甲基亚砜(DMSO),西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;乙酸(冰醋酸),北京化工厂;ROS 试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、过氧化氢酶(CAT),试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

3528 发光二极管(LED),深圳勤达兴电子;RF-6000 荧光分光光度计,日本岛津制作所;DHP-9052 恒温培养箱,上海捷呈科技有限公司;VS-840K(-U)/1300L(-U)超净工作台,安泰科技股份有限公司;BPN-80CH(UV)CO₂ 细胞培养箱,梅特勒-托利多仪器(仪器)上海有限公司;iMark 多功能酶标仪,伯乐生命医学(上海)有限公司(Bio-Rad);TA8121 数字照度,苏州特安斯电子实业;CKX41 倒置显微镜,上海木森生物科技有限公司;XD-2000A 旋转蒸发仪,上海贤德实验仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 花生发芽 根据 Bao 等^[17]的方法进行一些改动,挑选外观饱满、大小一致、无霉变的新鲜花生,清洗干净,置于体积分数 1%次氯酸钠溶液浸泡 10 min 进行消毒,用蒸馏水反复冲洗至中性,沥干后花生的置于纱布铺满的托盘上,按料液比 1:3 加入蒸馏水,于 25 °C 下避光发芽,每 3 h 加一次水。

1.3.2 白藜芦醇提取、纯化

1.3.2.1 提取 按照王凤舞等^[18]方法进行白藜芦醇提取。按荧光光度法^[19-21],绘制白藜芦醇含量标准曲线,得到线性方程 $y=1670.6x-79.732$, $R^2=0.9961$ 。

1.3.2.2 纯化 按照参考文献^[22]的方法采用静态法利用大孔树脂对白藜芦醇粗提液进行纯化。

1.3.3 非生物诱导对花生芽白藜芦醇富集影响及流程优化

1.3.3.1 单因素实验 由于发芽时间会影响白藜

芦醇的含量^[14],而且为了同时探究非生物诱导对花生芽白藜芦醇富集影响和优化最佳富集流程,以光照种类、超声强度、CuSO₄ 浓度,发芽时间为因素进行单因素实验。

按照 1.3.1 节进行花生发芽,当光照是变量时(无光、白光、红光、紫光、蓝光),控制硫酸铜浓度为 0,超声强度为 0,保持光照强度统一,取第 3 天发芽花生测量其白藜芦醇含量;对未发芽种子进行超声试验,当超声强度是变量(0,40,80,120,160 W/cm³)时,控制硫酸铜浓度为 0,无光照,取第 3 天发芽花生测量其白藜芦醇含量;当变量是硫酸铜浓度时(0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mmol/L),控制超声诱导为 0,无光照,取第 3 天发芽花生测量其白藜芦醇含量;当发芽时间为变量时(0,1,2,3,4 d)、硫酸铜浓度为 0、超声强度为 0、无光照。

1.3.3.2 正交试验 在单因素实验的基础上,选取硫酸铜浓度、超声强度、光照种类、发芽时间为考察因素,以白藜芦醇含量为评价指标,采用 L₉(4³)正交表进行试验设计,确定白藜芦醇含量最佳的建模条件。

表 1 正交试验表

Table 1 Orthogonal test table

水平	因素			
	CuSO ₄ 浓度(A)/ (mol/L)	超声强度(B)/ (W/m ³)	光照种类(C)	发芽时间(D)/d
-1	0.4	140	红	1
0	0.6	160	蓝	2
1	0.8	120	紫	3

1.3.4 细胞培养 HEK293T 细胞在 DEME 中培养,辅以 10%胎牛血清、100 U/mL 链霉素和 100 mg/mL 青霉素。将细胞置于 37 °C 和 5% CO₂ 下孵育过夜,每 1~2 d 换一次液。

1.3.5 细胞活力试验

1.3.5.1 H₂O₂ 对细胞毒性作用 用 MTT 测定法测量细胞活力^[23]。H₂O₂ 浓度为 100,200,300,400,500,600 μmol/L。

1.3.5.2 RES 对细胞毒性作用 试验步骤同 1.3.5.1 节一致。RES 质量浓度为 0,15,30,60,100,200 μg/mL。

1.3.6 细胞 ROS 相对含量测定 按照试剂盒步骤进行 ROS 相对含量测定。

1.3.7 细胞抗氧化损伤能力测定 按照试剂盒步骤,分别测定白藜芦醇 SOD、CAT 含量。

1.4 数据处理

使用 SPSS 22.0 进行差异显著性分析 ($P < 0.05$), 差异显著; 所有试验进行 3 次平行, 测定结果以平均值 \pm 标准差表示。并使用 Origin 8.1 和 Excel 2016 进行图、表的绘制。

2 结果与分析

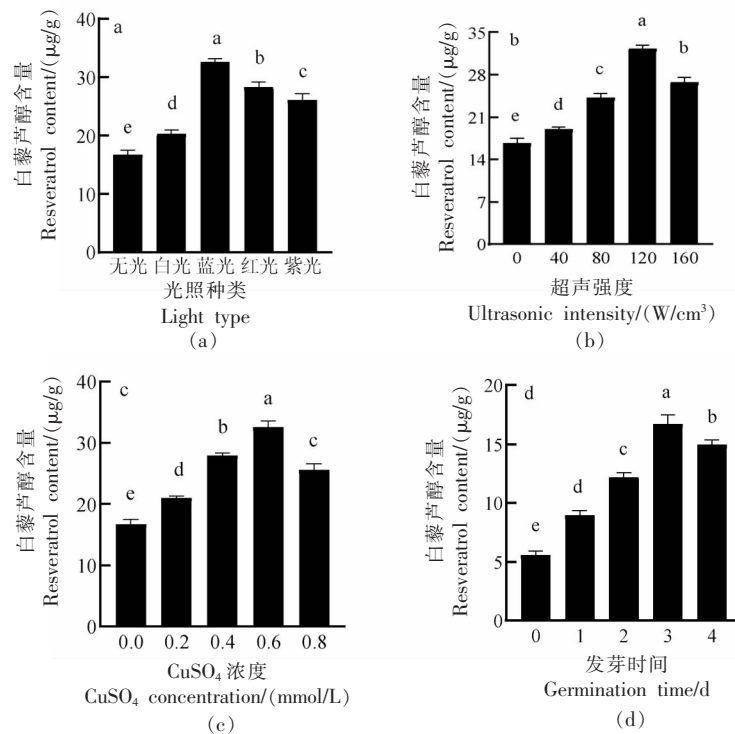
2.1 单因素实验

光照是光合能量的唯一来源, 是重要的环境信号, 在驱动光合生物合成中起着重要作用, 合理的光照条件对优化植物化学物质的积累至关重要^[24-25]。由图 1a 可知, 光照对发芽花生中的白藜芦醇富集具有显著促进作用 ($P < 0.05$), 光照为蓝光时, 发芽花生中白藜芦醇含量最高, 这与前人的结果相同^[26], 蓝光诱导花生中白藜芦醇含量最高, 这可能是因为与酚类合成相关基因的激活强烈依赖

光的种类, 在蓝色光照下, 编码类黄酮生物合成初始阶段酶的 *PAL* 基因被激活。同时, 有研究表明红光和紫光会增加花生芽中白藜芦醇, 白光对白藜芦醇的影响随发芽时间的变化而改变^[27-28]。

超声会引起植物空化, 形成气体或蒸汽气泡, 导致氧化应激, 触发防御酚类化合物形成, 从而增加酚类化合物含量^[29]。由图 1b 可知, 白藜芦醇含量随着超声强度的增加呈现先上升再下降的趋势 ($P < 0.05$), 在超声强度为 120 W/cm^3 时, 达到最大值。这与前人研究相同, 超声会增加花生中白藜芦醇含量^[30], 不同功率的超声对豆类酚类积累和抗氧化能力的积累作用效果不同^[31], 可能是因为超声强度的增加, 促进了植物细胞次生代谢产物的产生, 也可能由于超声处理导致苯氨基裂解酶浓度迅速增加, 因此得到了更多的白藜芦醇^[32]。

由图 1c 可知, 随着 CuSO_4 溶液浓度的升高, 发芽花生中白藜芦醇含量呈先升高后下降的趋势, 当 CuSO_4 浓度 0.6 mmol/L 时, 发芽花生中白藜芦醇含量最高。硫酸铜最适诱导浓度可能与花生品种有关, 有研究称, 当诱导花生发芽的硫酸铜浓



注: 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 光照种类(a)、超声强度(b)、 CuSO_4 浓度(c)、发芽时间(d)对发芽花生中白藜芦醇富集的影响

Fig.1 Effects of light type (a), ultrasound intensity (b), CuSO_4 concentration (c) and germination time (d) on resveratrol enrichment in germinated peanuts

度在 0.1~0.5 mmol/L 时,花生中白藜芦醇的含量成上升趋势^[17],而硫酸铜浓度过高会抑制植物生长^[33]。

由图 1d 可知,白藜芦醇含量随着发芽时间的增加呈上升趋势($P<0.05$),在第 3 天达到最大值。

第 4 天时花生芽开始生根(图 2),不适宜进一步加工,并且发芽时间太长耗能过大,不适宜用于产业化加工。不同品种的花生发芽是白藜芦醇含量最高的发芽天数不同,长根后发芽花生中白藜芦醇含量会降低^[11]。

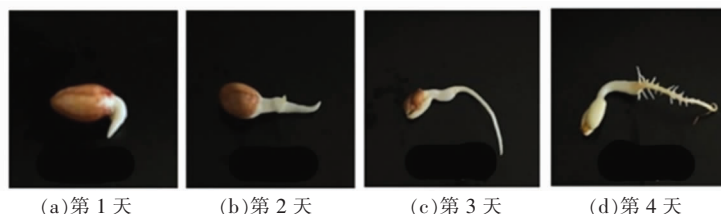


图 2 花生发芽形态

Fig.2 Peanut germination pattern

2.2 复合非生物诱导对白藜芦醇富集的影响

光照种类、超声强度、硫酸铜浓度,单一诱导花生发芽时,对花生中白藜芦醇富集有促进作用,而双重因素组合诱导会产生促进或者拮抗富集作用^[14]。本研究根据单因素实验的结果,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,结果见表 2。

极差 r 值越大表明各因素对试验结果影响越大,反之越小。由表 2 可知,因素影响的显著性依

次是: $D>C>A>B$,最佳发芽参数是:光照为蓝光、超声强度为 120 W/cm^3 、 CuSO_4 浓度为 0.6 mmol/L 、发芽时间为 3 d,此时白藜芦醇的含量为 $35.79 \mu\text{g/g}$,是正常发芽花生白藜芦醇的 2.14 倍,是单因素诱导发芽白藜芦醇最高含量的 1.12 倍,复合诱导没有出现拮抗,这可能因为共同作用促进了植物次级代谢物的生成^[14]。

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal test results

序号	因素与水平				白藜芦醇含量/ ($\mu\text{g/g}$)
	光照种类(A)	超声强度(B)/(W/cm^3)	CuSO_4 浓度(C)/(mmol/L)	发芽时间(D)/d	
1	红	100	0.4	3	9.87
2	红	120	0.8	2	4.35
3	红	160	0.6	1	3.59
4	紫	100	0.8	1	4.49
5	紫	120	0.6	3	23.35
6	紫	140	0.4	2	22.44
7	蓝	100	0.6	2	13.56
8	蓝	120	0.4	3	22.10
9	蓝	140	0.8	1	5.59
K_1	5.94	9.31	18.14	18.44	
K_2	16.76	16.60	13.50	13.45	
K_3	13.75	10.54	4.81	4.56	
r	10.82	7.29	13.33	13.88	

2.3 RES 及 H_2O_2 诱导 HEK293T 细胞活力的影响

研究表明,当细胞存活率为 50%时,处理浓度符合试验的理想状态^[34]。图 3a 显示,添加不同浓

度的 H_2O_2 处理 HEK293T 细胞 24 h 后,细胞活力相比空白组均有所下降,当 H_2O_2 浓度为 $500 \mu\text{mol/L}$ 时,细胞活力急剧下降至 52.5%,接近半抑制浓度。这与前人的研究一致,当 H_2O_2 浓度为

500 $\mu\text{mol/L}$ 时最为接近半抑制浓度^[24]。由图 3b 可知, RES 质量浓度在 150 $\mu\text{g/mL}$ 和 200 $\mu\text{g/mL}$ 时对细胞活力有明显的抑制作用 ($P<0.05$), 与对照

组相比, 两者细胞存活率分别为 $(54.28\pm 4.23)\%$ 和 $(40.85\pm 3.89)\%$ 。

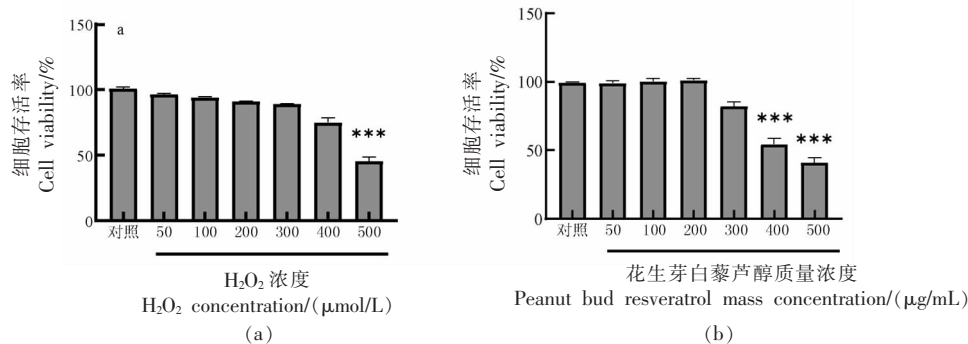


图3 暴露于不同浓度 H₂O₂(a)和不同质量浓度 RES(b)24 h 后 HEK293T 细胞的存活率

Fig.3 Survival rate of HEK293T cells exposed to different concentration H₂O₂ (a) and different mass concentration RES (b) for 24 h

H₂O₂ 对 HEK293T 细胞氧化损伤造成的形态变化如图 4 所示, 正常细胞生长良好, 贴壁牢固, 细胞间紧密链接成梭形或多角形, 大小均匀, 边缘清晰, 成铺路石状单层镶嵌排列^[34]。于倒置显微镜下观察 H₂O₂ 对的细胞影响, 500 $\mu\text{mol/L}$ 处理细胞数量大量减少, 严重拉丝脱落, 400 $\mu\text{mol/L}$ 处理细胞间隙增大, 边界模糊, 而细胞间批次尚连, 300 $\mu\text{mol/L}$ 处理细胞与正常对照形态相似无明显差异。

2.4 RES 对 H₂O₂ 诱导的 HEK293T 细胞 ROS 相对含量的影响

ROS 是细胞氧化损伤的重要标志因子^[35]。如图 5 所示, H₂O₂ 诱导 HEK293T 细胞内 ROS 相对含量显著升高至对照组的 2.02 倍 ($P<0.05$)。不同质量浓度的 RES 干预处理会显著抑制 H₂O₂ 诱导的细胞内 ROS 相对含升高 ($P<0.05$), 其中 RES 质量浓度为 60 $\mu\text{g/mL}$ 时干预作用最强。结果表明, 花生芽白藜芦醇能显著降低 H₂O₂ 诱导氧化损伤的 HEK293T 细胞内 ROS 相对含量, 有效减轻细胞氧化应激, 从而保护细胞。

2.5 RES 对 H₂O₂ 诱导的 HEK293T 细胞氧化还原状态

细胞内 SOD、CAT 等抗氧化酶是细胞氧化应激防御系统的重要组成部分, 能有效清除自由基, 阻止脂质过氧化产物 MDA 产生, 这些物质水

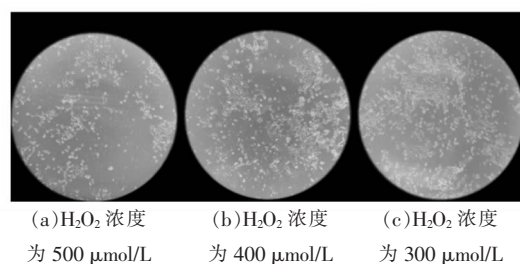


图4 暴露于不同浓度 H₂O₂ 24 h 后的细胞形态图

Fig.4 Cell morphology after 24 h exposure to different concentrations of H₂O₂

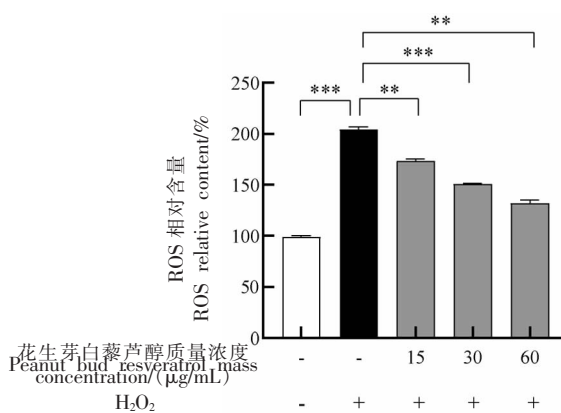


图5 花生芽白藜芦醇对 H₂O₂ 诱导 HEK293T 细胞 ROS 含量的影响

Fig.5 Effects of resveratrol from peanut buds on H₂O₂ induced ROS content in HEK293T cells

平均可以间接反映细胞氧化应激损伤的程度^[36]。由图 6 可知,与空白组相比,经 H₂O₂ 诱导后的 HEK293T 细胞内的 SOD 和 CAT 活力量均显著降低,表明 H₂O₂ 处理会打破 HEK293T 细胞内的抗氧化系统平衡($P<0.05$),对细胞造成氧化损伤。3 种不同质量浓度的花生芽白藜芦醇干预处理对受

损细胞内 SOD、CAT 水平均有不同程度的改善,且呈现质量浓度依赖性,花生芽白藜芦醇质量浓度为 60 μg/mL 时,细胞活性提高得最多。上述结果表明,花生芽白藜芦醇能显著增强 H₂O₂ 诱导 HEK293T 细胞的抗氧化能力,保护细胞免受氧化应激损伤。

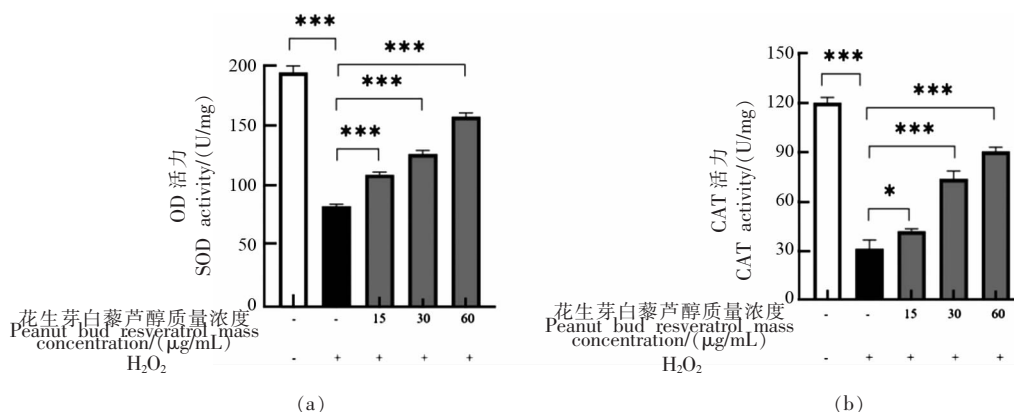


图 6 花生芽白藜芦醇对 H₂O₂ 诱导的 HEK293T 细胞 SOD、CAT 活力的影响

Fig.6 Effects of resveratrol from peanut buds on SOD and CAT activities in H₂O₂ induced HEK293T cells

3 结论

本研究利用非生物因素诱导花生发芽,探究对其中白藜芦醇富集的影响,同时优化最优复合诱导流程,进一步研究 RES 对在细胞水平上抵御氧化应激的能力。结果表明,光照种类、超声强度、硫酸铜浓度、发芽时间都对能发芽花生白藜芦醇的含量有显著影响,最佳复合富集诱导参数为确定选择光照种类为蓝光、CuSO₄ 浓度为 0.6 mmol/L、超声强度为 120 W/cm³、发芽时间为 3 d。细胞试验中,RES 对 H₂O₂ 造成的氧化损伤有一定的调节作用,RES 能降低细胞内 ROS 含量,提高 SOD 含量,降低 MDA 含量。本研究为提高花生的利用度及提取大剂量天然抗氧化剂提供了新思路。

参 考 文 献

- [1] FENG J, ZHENG Y L, GUO M Y, et al. Oxidative stress, the blood-brain barrier and neurodegenerative diseases: The critical beneficial role of dietary antioxidants[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2023, 13(10): 3988-4024.
- [2] 岳颖, 严斌, 刘丽娅, 等. 小麦蛋白水解物对肠道上皮细胞抵御氧化应激损伤的作用[J]. 中国食品学

报, 2020, 20(10): 68-75.

- YUE Y, YAN B, LIU L Y, et al. Effect of wheat protein hydrolysates on the resistance of intestinal epithelial cell to resist oxidative stress[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(10): 68-75.
- [3] RUAN L, LU L, ZHAO X Y, et al. Effects of natural antioxidants on the oxidative stability of *Eucommia ulmoides* seed oil: Experimental and molecular simulation investigations [J]. Food Chemistry, 2022, 383(30): 132640.
- [4] LV K, SONG X, ZHANG P, et al. Effects of *Siraitia grosvenorii* extracts on high fat diet-induced obese mice: A comparison with artificial sweetener aspartame [J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(4): 865-873.
- [5] LIU J Z, LYU H C, FU Y J, et al. Simultaneous extraction of natural organic acid and flavonoid antioxidants from *Hibiscus manihot* L. flower by tailor-made deep eutectic solvent [J]. LWT, 2022, 163: 113533.
- [6] GUO S T, ZHOU Y, XIE X J. Resveratrol inhibiting TGF/ERK signaling pathway can improve atherosclerosis: Backgrounds, mechanisms and effects [J].

- Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 155(11): 113775.
- [7] AHMAD M, GANI A. Development of novel functional snacks containing nano-encapsulated resveratrol with anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant properties[J]. Food Chemistry, 2021, 352: 129323.
- [8] YANG G, ZHAN J, YANG Y, et al. Inhibitory effects of oxyresveratrol on ERK and Smad 1/2 phosphorylation and HSC activation in preventing carbon tetrachloride-induced rat liver fibrosis[J]. Food Science and Human Wellness, 2021, 10(1): 6-12.
- [9] LIU S Y, WANG W, LU Y H, et al. New perspectives on physiological, biochemical and bioactive components during germination of edible seeds: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 123: 187-197.
- [10] XIE M X, YU M, ZHANG L C, et al. Transcriptome and proteome analysis of ultrasound pretreated peanut sprouts[J]. Food Chemistry: Molecular Sciences, 2022, 4(30): 100102.
- [11] 于淼. 花生发芽过程中白藜芦醇富集技术与机理研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- YU M. Research on resveratrol accumulation and regulation mechanism in the process of peanut germination[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016.
- [12] 许倩. 花生籽粒与花生芽中多酚类化合物比较代谢组学分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- XU Q. Comparative analysis of polyphenols in peanut kernel and peanut sprout based on metabolomics[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.
- [13] 詹玉婷. 花生发芽过程中白藜芦醇的富集及发芽花生乳饮料的制备研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- ZHAN Y T. Enrichment of resveratrol during peanut germination and preparation of germinated peanut beverage[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019.
- [14] 李淑莹. 富含白藜芦醇花生芽油的制备及品质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- LI S Y. Research on preparation and properties of resveratrol-riched germinated peanut oil[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.
- [15] YU M, ZHOU Y T, WANG X H, et al. Effect of ultrasonic pre-treatment on Arachidol in peanut sprouts[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 75: 105607.
- [16] YIN Y Q, HU J J, YANG Z F, et al. Effects of methyl jasmonate and NaCl treatments on the resveratrol accumulation and defensive responses in germinated peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2023, 194: 664-673.
- [17] BAO X F, LIN G L, DONG X, et al. Synergistic effects of copper and ethylene on resveratrol synthesis in peanuts[J]. Food Science & Nutrition, 2021, 9: 1471-1479.
- [18] 王凤舞, 李鹏, 朴美子. 纤维素酶法提取花生红衣中的白藜芦醇[J]. 中国食品学报, 2009, 9(5): 76-80.
- WANG F W, LI P, PIAO M Z. Study on enzymatic extraction of resveratrol from peanut red skin[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2009, 9(5): 76-80.
- [19] 熊海涛, 徐艺凤, 徐承娥, 等. 过氧化氢-茚三酮体系荧光光度法检测食品中的焦磷酸盐[J]. 中国食品学报, 2023, 23(7): 374-381.
- XIONG H T, XU Y F, XU C E, et al. Fluorescence spectrophotometric method for the detection of pyrophosphates in food samples with hydrogen peroxide-ninhydrin system[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(7): 374-381.
- [20] 张寒俊. 荧光光度法测定花生红衣提取物中白藜芦醇含量[J]. 中国油脂, 2006(11): 48-49.
- ZHANG H J. Determination of resveratrol in peanut skin extracts by fluorescence spectrophotometer[J]. China Oils and Fats, 2006(11): 48-49.
- [21] 穆宏磊, 邵海燕, 陈杭君, 等. 荧光光度法测定芦笋中总黄酮含量[J]. 中国食品学报, 2010, 10(2): 201-205.
- MU H L, GAO H Y, CHEN H J, et al. Determination of total flavanoid content in *Asparagus officinalis* Linn by spectrofluorimetry[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2010, 10(2): 201-205.
- [22] 武鹏程. 花生芽中白藜芦醇的提取纯化、抗氧化及抑制酶活性研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2021.
- WU P C. Research on extraction and purification, antioxidant and inhibitory enzyme activity of resveratrol from peanut sprout[D]. Alaer: Tarim University, 2021.

- [23] MA X Q, LI Y Q, LV C Y, et al. Modulation of Keap1-Nrf2-ARE signaling pathway by oxyresveratrol, a derivative of resveratrol from grape skin[J]. Food Bioscience, 2022, 50(12): 102162.
- [24] BIANZ H, YANG Q C, LIU W K. Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: A review[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 95: 869-877.
- [25] 李煜博, 王梦雨, 陈浩, 等. 光照时间对采后芥蓝芽菜生物活性物质的影响[J]. 中国食品学报, 2023, 23(3): 300-308.
- LI Y B, WANG M Y, CHEN H, et al. Effect of postharvest illumination time on bioactive compounds in Chinese kale sprouts[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(3): 300-308.
- [26] CHUNG I M, LEE C, HWANG M H, et al. The influence of light wavelength on resveratrol content and antioxidant capacity in *Arachis hypogaeas* L.[J]. Agronomy, 2021, 11: 305.
- [27] DEMOTES-M S, PERONT, COROT A, et al. Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture [J]. Environmental and Experimental Botany, 2016, 121(1): 4-21.
- [28] 李先翠, 李保国, 姜元荣, 等. 光照处理对花生萌发过程中营养成分和活性成分的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(4): 47-53.
- LI X C, LI B G, JIANG Y R, et al. Effects of light on nutrients and bioactive in peanut during germination [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(4): 47-53.
- [29] DING J, ULANOV A V, DONG M, et al. Enhancement of gamma-aminobutyric acid (GABA) and other health-related metabolites in germinated red rice (*Oryza sativa* L.) by ultrasonication[J]. Ultrason Sonochemistry, 2018, 40(1): 791-797.
- [30] SALES J M, RESURRECCION A V A. Maximising resveratrol and piceid contents in UV and ultrasound treated peanuts[J]. Food Chemistry, 2009, 117(4): 674-680.
- [31] AMPOFA J O, NGADI M. Ultrasonic assisted phenolic elicitation and antioxidant potential of common bean (*Phaseolus vulgaris*) sprouts[J]. Ultrasonics-Sonochemistry, 2020, 64(6): 104974.
- [32] YU M, LIU H Z, SHI A, et al. Preparation of resveratrol-enriched and poor allergic protein peanut sprout from ultrasound treated peanut seeds[J]. Ultrasonics-Sonochemistry, 2016, 28(1): 334-340.
- [33] 傅涵. 萌发期硫酸铜胁迫对绿豆生长的影响及其细胞内密度变化反应[D]. 广州: 暨南大学, 2018.
- FU H. Effects of copper sulphate stress during germination on the growth of mung bean and the intracellular density change response[D]. Guangzhou: Jinan University, 2018.
- [34] 吴登宇, 韦体, 马忠仁, 等. 牦牛乳酪蛋白抗氧化肽对HEK293细胞氧化应激损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2023, 44(23): 142-150.
- WU D Y, WEI T, MA Z R, et al. Protective effect of yakcasein antioxidant peptide on oxidative stress injury in HEK293 cells [J]. Food Science, 2023, 44(23): 142-150.
- [35] 陈玉洁, 关荣发, 黄海智, 等. 越橘花青素脂质体对Caco-2细胞的抗氧化作用[J]. 中国食品学报, 2023, 23(6): 56-63.
- CHEN Y J, GUAN R F, HUANG H Z, et al. The antioxidative activity of lingonberry anthocyanin liposomes on Caco-2 cells[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(6): 56-63.
- [36] 杨兆艳, 胡红娟, 李新, 等. 蓝莓花色苷对H₂O₂诱导A549细胞氧化损伤的保护作用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(12): 33-45.
- YANG Z Y, HU H J, LI X, et al. Protective effective of blueberry anthocyanins on H₂O₂-induced oxidative damage in A549 cells[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(12): 33-45.

Resveratrol Enrichment in Abiotic Sprouted Peanuts and Its Protective Effect on HEK293T Cells

SUN Chang, XU Haoran, QIN Fengxian, LÜ Chengyu, LI Zhuolin, LIU Jian, LI Tiezhu*

(*Institute of Agricultural Products Processing, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033*)

Abstract Objective: To investigate the effect of abiotic induction of germination on the enrichment of resveratrol (RES) in peanut, and to determine the protective effect of RES on the oxidative damage of HEK293T cells under the optimal enrichment conditions. Methods: Light type, ultrasound intensity, copper sulphate concentration and germination time were used as univariate conditions to induce peanut germination, and the effects of abiotic induction of germination on RES and the optimal enrichment conditions were investigated based on univariate and orthogonal experiments. The highest toxicity of RES on HEK293T cells was determined by cell viability assay. The protective effect of RES against H₂O₂-induced antioxidant damage in HEK293T cells was investigated by measuring intracellular reactive oxygen species (ROS) content, cellular superoxide dismutase (SOD) activity and catalase (CAT) activity. Results: Light, ultrasound and copper sulphate were all effective in promoting resveratrol content in germinated peanuts, and the combined germination showed a promoting effect on resveratrol enrichment. The optimal parameters for resveratrol enrichment in peanut buds were: Blue light irradiation, ultrasound intensity of 120 W/cm³, CuSO₄ concentration of 0.6 mmol/L, and germination for 3 d. At this time, the resveratrol content of peanut buds was 35.79 μg/g. RES intervention treatment significantly restored the viability of H₂O₂-induced oxidative damage-producing HEK293T cells, reduced the production of intracellular ROS, and increased the viability of SOD, CAT viability. Conclusion: Multiple germination such as light could enrich resveratrol in germinated peanuts, and RES has a significant protective effect on cells against oxidative stress damage.

Keywords abiotic induction of germination; peanut; resveratrol; oxidative stress injury