

特级初榨橄榄油中酚类化合物不同提取方法对比研究

李 雪^{1,2,3}, 张 玉^{1,2,3}, 王君虹^{1,3}, 朱作艺^{1,3}, 李 利⁴, 章国祥⁴, 关荣发⁵,

Ayton Jamie⁶, 李 文⁵, 王 伟^{1,2,3}, 刘 军⁴

(1. 浙江省农业科学院 农产品质量标准研究所, 杭州 310021; 2. 农业农村部农产品信息溯源重点实验室, 杭州 310021; 3. 木本油料品质营养国际联合实验室, 杭州 310021; 4. 杭州出入境检验检疫局, 杭州 310012; 5. 中国计量大学 生命科学学院, 杭州 310018; 6. 澳大利亚初级产业部 油脂研究实验室, 澳大利亚 沃加沃加 2650)

摘要:采用液液萃取法(LLE)、固相萃取法(SPE)和液液微萃取法(LLME)分别对特级初榨橄榄油中酚类成分进行提取,应用超高效液相色谱-高分辨质谱法(UPLC-HRMS)及Folin-Ciocalteus比色法分别进行酚类化合物组成研究和总酚含量测定,比较3种方法的提取效率。结果表明:特级初榨橄榄油中共检测到40种酚类化合物,其中液液萃取样品检出33种,固相萃取样品检出20种,液液微萃取样品检出15种,液液萃取法提取酚类化合物种类显著多于其他两种方法;液液萃取法提取的总酚含量分别为固相萃取法及液液微萃取法的2.9倍和3.7倍,液液萃取法对酚类化合物的提取效率明显优于其他两种方法;但从实验过程角度考量,液液微萃取法具有操作简单、省时省力、有机溶剂用量少、对实验人员伤害小、环境污染小等优点,具有进一步优化的潜力。

关键词:特级初榨橄榄油;酚类化合物;液液萃取法;固相萃取法;液液微萃取法

中图分类号:TS225.19;TS227 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)01-0102-07

Comparison of different extraction methods of phenolic compounds in extra virgin olive oil

LI Xue^{1,2,3}, ZHANG Yu^{1,2,3}, WANG Junhong^{1,3}, ZHU Zuoyi^{1,3}, LI Li⁴,

ZHANG Guoxiang⁴, GUAN Rongfa⁵, AYTON Jamie⁶,

LI Wen⁵, WANG Wei^{1,2,3}, LIU Jun⁴

(1. Institute of Quality and Standards for Agricultural Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; 2. Key Laboratory of Information Traceability for Agricultural Products, Ministry of Agriculture, Hangzhou 310021, China; 3. International Joint Laboratory for Quality and Nutrition of Woody Oils, Hangzhou 310021, China; 4. Hangzhou Entry Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hangzhou 310012, China; 5. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China; 6. Australian Oils Research Laboratory, New South Wales Department of Primary Industries, Wagga Wagga 2650, Australia)

Abstract: The phenolic compounds in extra virgin olive oil were extracted by liquid-liquid extraction (LLE), solid-phase extraction (SPE) and liquid-liquid microextraction (LLME), respectively. The

收稿日期:2019-04-02;修回日期:2019-04-28

基金项目:省部共建国家重点实验室自主设计课题(ZZ1809);浙江省农业科学院B类学科建设项目;浙江检验检疫局重点科研计划项目(2017-ZKZ-02);浙江省农业科学院国际合作项目

作者简介:李 雪(1986),女,助理研究员,博士,研究方向为农产品及油脂的营养品质分析及机理探讨(E-mail) hei.semeng@163.com。

通信作者:王 伟,研究员(E-mail) wangwei5228345@126.com;刘 军(E-mail) 723280623@qq.com。

composition of phenolic compounds was investigated by ultra performance liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS), and the total content of phenols (TCP) was determined by Folin-Ciocalteus colorimetric method to compare the extraction efficiency of the three methods. The results showed that a total of 40 phenolic compounds were detected from the extra virgin olive oil by the three methods, among which 33 phenolic compounds were extracted by

LLE, 20 phenolic compounds were extracted by SPE, and 15 phenolic compounds were extracted by LLME. The type of phenolic compounds extracted by LLE was significantly higher than that by the other two methods. The TCP extracted by LLE was 2.9 and 3.7 times of that by SPE and LLME, respectively. The extraction efficiency of phenolic compounds by LLE was significantly superior to that by SPE and LLME. However, considering the experimental processes of the three methods, LLME had the advantages of simple operation, small workload, short analytic time, low amount of organic solvent, little environmental pollution and low cost, so LLME had potential for further optimization to extract the phenolic compound from extra virgin olive oil.

Key words: extra virgin olive oil; phenolic compound; liquid – liquid extraction; solid – phase extraction; liquid – liquid microextraction

橄榄油是从油橄榄鲜果中直接压榨的植物油,其含有丰富的不饱和脂肪酸、甾醇、多酚及多种微量元素,因而具有极高的营养价值及保健功能^[1],被称为“植物油皇后”和“地中海甘露”。橄榄油中含有多种极性酚类化合物,能够提高橄榄油的氧化稳定性,延长橄榄油的货架期,影响橄榄油的色泽和风味^[2]。该类化合物具有抗氧化^[1-3]、抗菌^[4]、抗炎^[4-6]、抗肿瘤^[7]、降血脂^[8-9]、预防阿尔茨海默病^[10-13]等多种生理活性,其潜在的医药价值越来越受到研究者的关注。

橄榄油中的多酚类化合物种类繁多,但含量较低,因此有效的提取方法是对其深入研究的前提。橄榄油中酚类化合物的提取方法已有较多报道,其中应用最广泛的萃取方法分别为液液萃取法^[3,14-17]和固相萃取法^[18-20]。前者主要以正庚烷作为溶剂,以甲醇-水溶液作为萃取液进行目标化合物萃取,该方法重现性较好;后者主要应用二醇基固相萃取柱,以甲醇作为洗脱液进行油中多酚组分分离提取,与液液萃取法相比,其有机溶剂用量较少。液液微萃取法是近年兴起的液液萃取新技术,是将微量萃取溶剂通过微量注射器针头尖端,直接浸入样品分散液中进行萃取,该方法操作简单,耗时短,有机溶剂使用量仅在微升级^[21]。目前,已有研究应用液液微萃取的方法进行橄榄油中多酚类组分的提取^[22-23]。以上3种方法各有优势,但其对于橄榄油中极性酚类提取效果的比较鲜见报道。目前,已报道的橄榄油中多酚组分分析方法主要为液相色谱法^[24-26]及液相色谱质谱法^[14],前者定量准确可靠且重现性好,但对于橄榄油中复杂酚类化合物的鉴别分析具有一定的局限性,后者在定量同时可获得目标化合物结构相关信息,但化合物峰分离度较差。因此,高效、快速的分析方法有待进一步开发。

本研究分别应用液液萃取法、固相萃取法及液液微萃取法对特级初榨橄榄油中极性酚类化合物进行提取,通过超高效液相色谱-高分辨质谱法(UPLC-HRMS)及Folin-Ciocalteus比色法对提取物中酚类化合物组成的研究和总酚含量的测定,比较3种方法对酚类化合物的提取效率,筛选最佳的方法,为提取方法的进一步优化提供依据,以期对橄榄油酚类化合物的深入研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

原材料为西班牙原装进口托雷多特级初榨橄榄油。没食子酸标准品(纯度>99%),阿拉丁试剂公司;甲醇、乙醇、正庚烷、正己烷、乙酸乙酯、福林酚试剂、碳酸钠均为分析纯;乙腈为色谱纯,德国默克公司;超纯水,Millipore纯水仪制备。二醇基固相萃取柱(500 mg, 3 mL),济南博纳生物技术有限公司。

Waters Acquity UPLC液相色谱串联Waters Synapt G2S四级杆飞行时间高分辨质谱仪,美国Waters公司;RV10-D-V型旋转蒸发器,艾卡(广州)仪器设备有限公司;722型紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 不同方法提取特级初榨橄榄油酚类化合物

1.2.1.1 液液萃取法

准确称取油样10.00 g,加入20 mL正庚烷,振摇,使油样完全溶解,加入20 mL甲醇-水溶液(体积比60:40),在50 mL分液漏斗中振摇2 min,静置分层,收集下层清液;上层液体加入20 mL甲醇-水溶液(体积比60:40)重复操作,静置分层,收集下层清液,合并两次清液后加入20 mL正庚烷进行洗涤,得到澄清下层液体。将下层液体进行低温减压旋蒸除溶剂后,密封,于-20℃避光保存,备用。

1.2.1.2 固相萃取法

准确称取油样 1.25 g,溶于 3 mL 正己烷中。分别用 3 mL 甲醇和 3 mL 正己烷平衡固相萃取柱,真空抽滤;上样,用 3 mL 正己烷淋洗萃取柱,重复 1 次,再用 3 mL 正己烷-乙酸乙酯(体积比 90:10)淋洗萃取柱,弃去全部淋洗液;最后用 5 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液,于低温条件下旋转蒸发仪蒸干溶剂,-20℃避光保存,备用。

1.2.1.3 液液微萃取法

参照文献[23]方法,准确称取 2.00 g 油样于带塞试管中,配制 1 mL 正庚烷与 150 μ L 乙醇-水溶液(体积比 60:40)混合液,用 2 mL 注射器将混合液快速注入油样中,涡旋 1 min,4 000 r/min 离心 5 min,用微量注射器吸取下层液体,氮气吹干,-20℃避光保存,备用。

1.2.2 提取物中酚类化合物组成的超高效液相色谱质谱分析

不同方法获得的提取物分别用 500 μ L 甲醇-水溶液(体积比 1:1)复溶,涡旋振荡 1 min,用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,用于液质分析。

超高效液相色谱条件:Waters Acquity UPLC RP18 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm,1.7 μ m);柱温 35℃;样品室温度 10℃;流动相 A 为 0.1% 甲酸-水,B 为乙腈;洗脱梯度为 0~10 min 95.0%~75.0% A,10~25 min 75.0%~70.0% A,25~50 min 70.0%~0.0% A,50~51 min 0.0%~95.0% A,51~60 min 95.0%~95.0% A;流速 0.3 mL/min。

质谱条件:ESI 电喷雾离子源(美国 Waters);负离子模式;毛细管电压 2.5 kV;锥孔电压 35 V;离子源温度 120℃;脱溶剂气温度 350℃;锥孔气流量 50 L/h;脱溶剂气流量 600 L/h;质谱采集范围(m/z) 100~1 000。校正曲线:甲酸钠,分辨率模式。实时校正:2 ng/mL 亮氨酸脑啡肽,15 s 校正 1 次,每次 0.5 s,5 μ L/min。

1.2.3 总酚含量的测定

参考 LS/T 6119—2017 采用 Folin-Ciocalteu 比色法于 750 nm 波长处测定提取物的吸光度,并根据没食子酸标准工作曲线计算样品中的总酚含量。

1.2.4 数据分析

本研究获得的数据采用 3 次重复实验的平均值和相对标准偏差(RSD)表示。利用 GraphPad Prism5 软件进行数据统计分析, $P < 0.05$ 被认为是显著, $P < 0.01$ 被认为是极显著。

2 结果与讨论

2.1 特级初榨橄榄油中酚类化合物组成的液相色谱质谱分析

橄榄油中酚类化合物种类繁多,结构复杂,因此应用色谱技术对其分离分析具有一定的挑战性。UPLC-HRMS 针对含有复杂组分的样品具有分离速度快、灵敏度高、可同时获得目标化合物结构相关信息等优点。因此,UPLC-HRMS 可成为橄榄油酚类化合物分离分析的强有力工具。本研究首先对多酚组分的仪器条件进行了优化。对于液相色谱条件,首先对流动相进行了考察,分别以纯水、0.1% 甲酸-水及 0.2% 甲酸-水作为水相,对比分离结果,由于多酚类组分呈弱酸性,在酸性流动相中获得更好的峰形,而两种酸性水相差别不大,因此选择 0.1% 甲酸-水作为水相;本研究还对比了 Waters Acquity UPLC BEH C18(100 mm \times 2.1 mm,1.7 μ m)及 Waters Acquity UPLC RP18 两种色谱柱的分离效果,前者所需时间长,且分离度较低,因此选择 RP18 柱用于色谱分离。对于质谱条件,主要考察了待测成分在正负谱中的信号响应,结果显示,负离子模式能提供更多的化合物种类信息,因此采用负离子模式进行分析;其他质谱参数通过仪器自动优化获得。优化后的液相色谱质谱条件见 1.2.2。

应用优化的条件对提取物进行检测。得到的总离子流图见图 1。由图 1 可以看出,该分析方法的色谱峰分离度较好。通过文献[14,17,27]对照及高分辨质谱信息对化合物的结构进行推断,结果见表 1。

由表 1 可知,3 种方法从特级初榨橄榄油中共检测到 40 种酚类成分,按照结构的不同可以分为酚酸类、酚醇类、裂环烯醚萜类、黄酮类及其他等 5 类化合物,其中酚醇类和裂环烯醚萜类为主要成分,酚醇类主要为羟基酪醇,裂环烯醚萜类主要为橄榄苦苷元、女贞苷元。液液萃取法提取的酚类化合物种类明显多于液液微萃取法和固相萃取法。液液萃取样品中共检测到 33 种酚类化合物,包括酚酸类、酚醇类、裂环烯醚萜类、黄酮类等;固相萃取样品中共检测到 20 种酚类化合物,包括酚醇类、裂环烯醚萜类、黄酮类等;液液微萃取样品中共检测到 15 种酚类化合物。以上结果表明,不同萃取方法导致橄榄油样品的酚类化合物在其组成上出现较大差别。其中,液液萃取法对于含量较低的酚酸类(咖啡酸)及多种橄榄苦苷和女贞苷的衍生物具有较好的提取效率;固相萃取法对女贞苷元和羟基酪醇的提取效率较高;而液液微萃取法仅对橄榄苦苷元和羟基酪醇具有较好的提取效果,对其他成分提取效率较低。

表1 特级初榨橄榄油中酚类化合物组成

峰号	保留时间/min	实测值 [M+H] ⁺	理论值 [M+H] ⁺	偏差	化合物鉴定	a	b	c
酚酸类								
2	3.87	179.034 5	179.034 4	-0.6	咖啡酸	+	-	-
酚醇类								
1	2.41	153.055 3	153.055 2	0.7	羟基酪醇	+	+	+
4	7.43	195.065 3	195.065 7	-3.1	羟基酪醇乙酸酯	-	+	-
10	9.98	195.065 1	195.065 7	-3.1	羟基酪醇乙酸酯(同分异构体1)	-	+	+
裂环烯醚萜类								
3	3.90	257.066 1	257.066 1	0.0	羟基榄香醇酸	+	-	-
5	7.85	241.071 2	241.071 8	0.8	榄香醇酸	+	+	+
6	8.56	319.118 0	319.118 2	-0.6	脱羧甲基橄榄苦苷元	+	-	-
7	8.89	377.123 7	377.123 6	0.3	橄榄苦苷元	+	-	-
8	9.08	377.123 5	377.123 6	-0.3	橄榄苦苷元(同分异构体1)	+	+	-
9	9.18	319.118 5	319.118 2	0.9	脱羧甲基橄榄苦苷元(同分异构体1)	+	-	-
11	10.09	393.118 5	393.118 6	-0.3	10-羟基-橄榄苦苷元	+	+	+
12	10.18	335.113 8	335.113 1	2.1	羟基-脱羧甲基橄榄苦苷元	+	+	+
13	10.20	377.123 6	377.123 6	0.0	橄榄苦苷元(同分异构体2)	+	-	-
14	10.85	377.123 8	377.123 6	0.5	橄榄苦苷元(同分异构体3)	-	+	+
15	10.94	391.139 0	391.139 3	-0.8	甲基-橄榄苦苷元	+	-	-
16	11.22	303.123 5	303.123 2	1.0	脱羧甲基女贞苷元	+	-	-
17	11.36	391.139 2	391.139 3	-0.3	甲基-橄榄苦苷元(同分异构体1)	+	-	-
18	11.52	377.124 9	377.123 6	3.4	橄榄苦苷元(同分异构体4)	+	-	-
19	11.71	377.124 2	377.123 6	1.6	橄榄苦苷元(同分异构体5)	+	-	-
20	12.05	333.134 2	333.133 8	1.2	甲基-脱羧甲基橄榄苦苷元	+	-	-
21	12.47	377.123 6	377.123 6	0.0	橄榄苦苷元(同分异构体6)	+	+	+
22	12.65	319.118 3	319.118 2	0.3	脱羧甲基橄榄苦苷元(同分异构体2)	+	+	+
23	12.86	361.128 2	361.128 7	-1.4	女贞苷元	-	+	+
24	13.04	333.134 3	333.133 8	1.5	甲基-脱羧甲基橄榄苦苷元(同分异构体1)	+	-	-
25	13.18	377.122 6	377.123 6	-2.7	橄榄苦苷元(同分异构体7)	+	+	-
26	13.65	361.129 6	361.128 7	2.5	女贞苷元(同分异构体1)	+	+	+
27	13.88	377.123 4	377.123 6	-0.5	橄榄苦苷元(同分异构体8)	+	-	-
28	14.12	393.118 7	393.118 6	0.3	10-羟基-橄榄苦苷元(同分异构体1)	+	-	-
30	14.22	391.139 3	391.139 3	0.0	甲基-橄榄苦苷元(同分异构体2)	+	-	-
31	14.58	377.123 4	377.123 6	-0.5	橄榄苦苷元(同分异构体9)	+	-	-
32	14.78	361.129 0	361.128 7	0.8	女贞苷元(同分异构体2)	+	-	-
34	16.70	377.123 9	377.123 6	0.8	橄榄苦苷元(同分异构体10)	+	+	+
37	18.54	377.122 9	377.123 6	-1.9	橄榄苦苷元(同分异构体11)	+	+	-
38	23.37	361.129 3	361.128 7	1.7	女贞苷元(同分异构体3)	+	+	+
40	26.61	391.139 8	391.139 3	1.3	甲基-橄榄苦苷元(同分异构体3)	-	+	+
黄酮类								
35	17.18	285.039 7	285.039 9	-0.7	木犀草素	+	+	+
39	24.41	269.044 3	269.045 0	-2.6	芹菜素	-	+	-
其他								
29	14.19	365.160 3	365.160 0	1.1	未知	-	+	+
33	16.10	455.170 3	455.170 6	-0.7	未知	+	-	-
36	17.60	455.171 7	455.170 6	2.4	未知	+	-	-

注:a.液液萃取法;b.固相萃取法;c.液液微萃取法;“+”检出,“-”未检出。

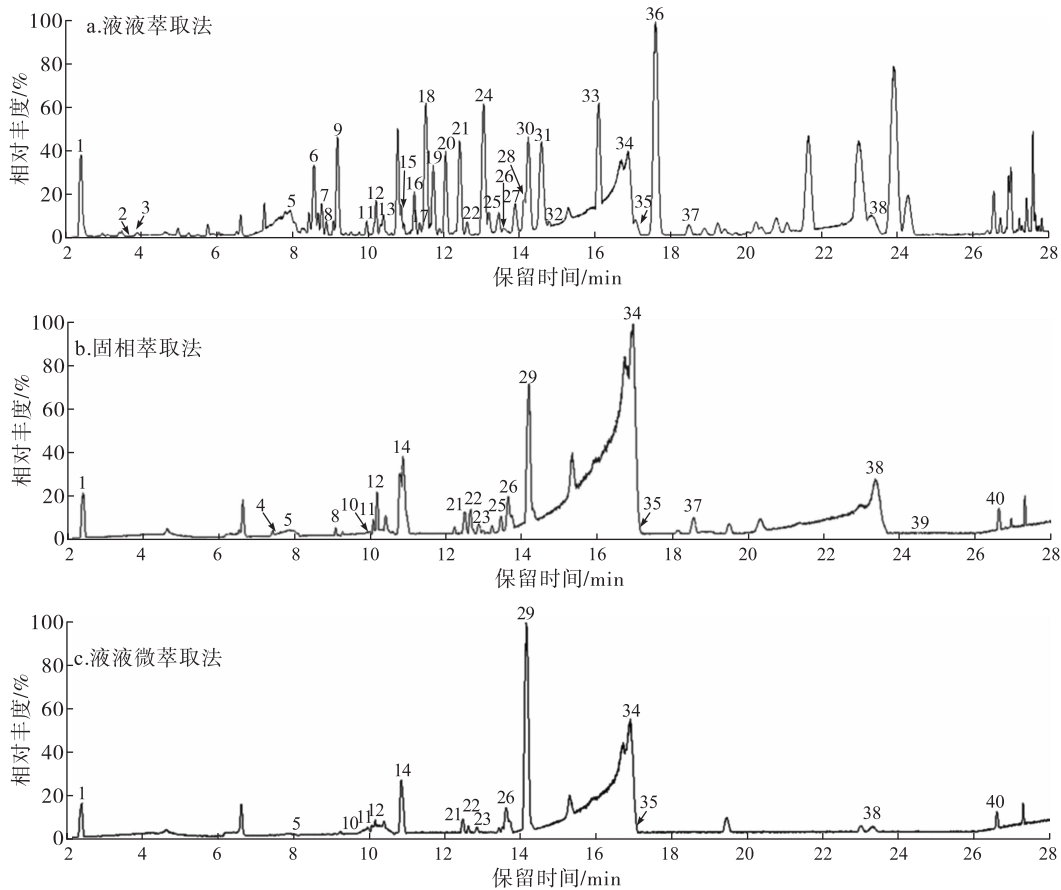


图1 不同方法提取特级初榨橄榄油中酚类化合物 UPLC-HRMS 总离子流图

2.2 不同方法提取特级初榨橄榄油总酚含量比较

本研究采用 Folin-Ciocalteus 比色法对 3 种方法提取的样品进行总酚含量测定。以吸光度(x)为横坐标,没食子酸标准溶液的质量浓度(y)为纵坐标,绘制标准曲线,线性回归方程为: $y = 96.82x + 0.8387$ ($R^2 = 0.9998$),结果表明其线性关系良好。依据此回归方程计算 3 组样品中总酚含量,结果见表 2。

表 2 不同方法提取特级初榨橄榄油中总酚的含量 ($n=3$)

提取方法	总酚含量/ (mg/kg)	平均值/ (mg/kg)	相对标准 偏差/%
液液萃取法	183.31	176.79	5.17
	180.71		
	166.35		
固相萃取法	61.03	60.91	1.47
	61.74		
	59.96		
液液微萃取法	47.97	48.38	0.79
	48.44		
	48.73		

由表 2 可见,不同方法提取的橄榄油总酚含量差异明显,3 种方法提取总酚的含量高低顺序为液液萃取法 > 固相萃取法 > 液液微萃取法。液液萃取

法提取的总酚含量明显高于其他两种方法,液液微萃取法提取的总酚含量最低。统计分析表明,3 种方法提取结果比较均具有极显著差异 ($P < 0.01$)。

2.3 不同提取方法实验过程比较

本研究对 3 种提取方法实验过程中所需的材料及时间等进行比较,结果见表 3。

表 3 不同提取方法实验过程比较结果

提取方法	耗油量/g	有机溶剂 体积/mL	实验 步骤	实验时间/ min
液液萃取法	10.00	64.00	7	112
固相萃取法	1.25	20.00	9	30
液液微萃取法	2.00	1.09	4	10

由表 3 可见:液液萃取法所需的油量是固相萃取法的 8 倍,液液微萃取法的 5 倍;使用有机溶剂体积分别是固相萃取法和液液微萃取法的 3.2 倍和 58.7 倍;所需实验时间是固相萃取法的 3.7 倍,液液微萃取法的 11.2 倍。结果表明,液液萃取法相对于另外两种方法耗费油量最多,费时费力,且需有机溶剂最多,而液液微萃取法操作简单,耗时短,所需有机溶剂量远低于液液萃取法及固相萃取法。

3 结论

本研究应用液液萃取法、固相萃取法和液液微萃取法提取特级初榨橄榄油中酚类化合物,通过对

提取样品中酚类化合物的组成分析和总酚含量测定对比研究3种方法的提取效率。结果表明:液液萃取法提取的酚类化合物种类明显多于其他两种方法,同时总酚含量也最高,与其他两种方法相比具有极显著差异。通过实验过程比较,液液萃取法存在耗油量多、步骤烦琐、耗时长、需消耗大量的有机试剂等不足。而液液微萃取法具有溶剂用量少、耗时短、操作简单的优点,符合绿色环保样品前处理的发展方向,可对其进行进一步优化,以期达到多种类酚类化合物的高效、快速、无污染提取。

参考文献:

- [1] FUENTES E, PAUCAR F, TAPIA F, et al. Effect of the composition of extra virgin olive oils on the differentiation and antioxidant capacities of twelve monovarietals [J]. *Food Chem*, 2018, 243:285–294.
- [2] CONDELLI N, CARUSO M C, GALGANO F, et al. Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area [J]. *Food Chem*, 2015, 177: 233–239.
- [3] ABDALLAH M, MARZOCCO S, ADESSO S, et al. Olive oil polyphenols extracts inhibit inflammatory markers in J774A. 1 murine macrophages and scavenge free radicals [J]. *Acta Histochem*, 2018, 120(1): 1–10.
- [4] CICERALE S, LUCAS L J, KEAST R S J. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil [J]. *Curr Opin Biotech*, 2012, 23(2): 129–135.
- [5] BEAUCHAMP G K, KEAST R S J, MOREL D, et al. Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil [J]. *Nature*, 2005, 437: 45–46.
- [6] BONVINO N P, VERVERIS K, LIANG J, et al. Utilisation of a new comprehensive database to investigate anti-inflammatory effects of olive phenolics [J]. *J Nutr Int Met*, 2017, 8: 105.
- [7] CARRERA – GONZÁLEZ M P, RAMÍREZ – EXPÓSITO M J, MAYAS M D, et al. Protective role of oleuropein and its metabolite hydroxytyrosol on cancer [J]. *Trends Food Sci Tech*, 2013, 31(2): 92–99.
- [8] COVAS M I. Olive oil and the cardiovascular system [J]. *Pharmacol Res*, 2007, 55(3): 175–186.
- [9] HOHMANN C D, CRAMER H, MICHALSEN A, et al. Effects of high phenolic olive oil on cardiovascular risk factors: a systematic review and meta-analysis [J]. *Phyto-medicine*, 2015, 22(6): 631–640.
- [10] ABUZNAIT A H, QOSA H, BUSNENA B A, et al. Olive-oil-derived oleocanthal enhances β -amyloid clearance as a potential neuroprotective mechanism against Alzheimer's disease: in vitro and in vivo studies [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2013, 4(6): 973–982.
- [11] BATARSEH Y S, KADDOUMI A. Oleocanthal-rich extra-virgin olive oil enhances donepezil effect by reducing amyloid- β load and related toxicity in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 55: 113–123.
- [12] BATARSEH Y S, MOHAMED L A, AL RIHANI S B, et al. Oleocanthal ameliorates amyloid- β oligomers' toxicity on astrocytes and neuronal cells: in vitro studies [J]. *Neuroscience*, 2017, 352: 204–215.
- [13] DACCACHE A, LION C, SIBILLE N, et al. Oleuropein and derivatives from olives as Tau aggregation inhibitors [J]. *Neurochem Int*, 2011, 58(6): 700–707.
- [14] FIGUEIREDO – GONZÁLEZ M, REBOREDO – RODRÍGUEZ P, GONZÁLEZ – BARREIRO C, et al. Evaluation of the neuroprotective and antidiabetic potential of phenol-rich extracts from virgin olive oils by in vitro assays [J]. *Food Res Int*, 2018, 106: 558–567.
- [15] BAJOUB A, MEDINA – RODRÍGUEZ S, GÓMEZ – ROMERO M, et al. Assessing the varietal origin of extra-virgin olive oil using liquid chromatography fingerprints of phenolic compound, data fusion and chemometrics [J]. *Food Chem*, 2017, 215: 245–255.
- [16] BAJOUB A, AJAL E A, FERNÁNDEZ – GUTIÉRREZ A, et al. Evaluating the potential of phenolic profiles as discriminant features among extra virgin olive oils from Moroccan controlled designations of origin [J]. *Food Res Int*, 2016, 84: 41–51.
- [17] OUNI Y, TAAMALLI A, GÓMEZ – CARAVACA A M, et al. Characterisation and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils according to their geographical origin by a rapid and resolute LC-ESI-TOF MS method [J]. *Food Chem*, 2011, 127(3): 1263–1267.
- [18] FRANCO M N, GALEANO – DÍAZ T, LÓPEZ Ó, et al. Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil [J]. *Food Chem*, 2014, 163: 289–298.
- [19] ALLALOUT A, KRICHÈNE D, METHENNI K, et al. Characterization of virgin olive oil from Super Intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia [J]. *Sci Hortic – Amsterdam*, 2009, 120(1): 77–83.
- [20] BENGANA M, BAKHOUCHE A, LOZANO – SÁNCHEZ J, et al. Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil [J]. *Food Res Int*, 2013, 54(2): 1868–1875.
- [21] SHALASH M, MAKAHLEH A, SALHIMI S M, et al. Vortex-assisted liquid-liquid-liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography for

- [2] 赵利, 党占海, 李毅, 等. 亚麻籽的保健功能和开发利用[J]. 中国油脂, 2006, 31(3):71-74.
- [3] 左洋. 亚麻籽及其环肽的研究进展[C]//食品工业新技术与新进展学术研讨会暨2014年广东省食品学会年会论文集. 广州:广东省食品学会, 2014.
- [4] LAO Y W, MACKENZIE K, VINCENT W, et al. Characterization and complete separation of major cyclolinopeptides in flaxseed oil by reversed-phase chromatography[J]. Sep Sci, 2014, 37(14):1788-1796.
- [5] SHIM Y Y, GUI B, AMISON P G, et al. Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature: a review[J]. Trends Food Sci Technol, 2014, 38(1):5-20.
- [6] GUI B, SHIM Y Y, DATLA R S S, et al. Identification and quantification of cyclolinopeptides in five flaxseed cultivars[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60: 8571-8579.
- [7] OKINYO-OWITI D P, BURNETT P G, REANEY M J T. Simulated moving bed purification of flaxseed oil orbitides: unprecedented separation of cyclolinopeptides C and E[J]. Chromatogr B, 2014, 965:231-237.
- [8] 孙雪文, 邓洪渊, 谭红. 环肽的分析方法与研究[J]. 世界科技研究与发展, 2005(4):72-78.
- [9] AFONSO R, MENDES A, GALE L. Peptide-based solids: porosity and zeolitic behavior[J]. Mater Chem, 2012, 22:1709-1723.
- [10] ALADEDUNYE F, SOSINSKA E, PRZYBYLSKI R. Flaxseed cyclolinopeptides: analysis and storage stability[J]. J Am Oil Chem Soc, 2013, 90:419-428.
- [11] GUI B, SHIM Y Y, REANEY M J T. Distribution of cyclolinopeptides in flaxseed fractions and products[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60:8580-8589.
- [12] 蔡子哲, 汪勇, 王丽丽, 等. 鱼油脂肪酸组成气相色谱法快速分析条件优化研究[J]. 农业机械, 2011(29):75-79.
- [13] 连莹君, 江紫琦, 陆学茸, 等. HPLC外标法测定亚麻籽油中4种环肽含量的研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(5):90-94.
- [14] JADHAY P D, ZUO Y, SHIM Y Y, et al. Metal binding novel flaxseed peptides (*linusorbs*) [J]. Int J Food Sci Technol, 2018, 53(8):1972-1982.
- [15] 左洋, 陆学茸, 滕英来, 等. 亚麻籽环肽 HPLC 分析和氧化还原产物研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(8):32-36.
- [16] 刘尊, 汪勇, Martin J T Reaney, 等. 亚麻籽环肽混合物抑制霉菌生长繁殖活性[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(3):30-34.
- [17] 利嘉祥, 连莹君, 张参, 等. 乙醇萃取-HPLC法快速分析亚麻籽油中四种环肽研究[J]. 粮食与食品工业, 2016, 23(2):8-12, 18.
- [18] WIECZOREK Z, BENGTTSSON B, TROJNAR J, et al. Immunosuppressive activity of cyclolinopeptide A [J]. Pept Res, 1991, 4:275-283.
- [19] 易志, 吴雪辉, 沈冰, 等. 温度及光照对亚麻籽油贮藏稳定性影响研究[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(6):17-21.

(上接第107页)

- the simultaneous determination of fourteen phenolic acids in honey, iced tea and canned coffee drinks[J]. Talanta, 2017, 174: 428-435.
- [22] FERNÁNDEZ E, VIDAL L, CANALS A. Rapid determination of hydrophilic phenols in olive oil by vortex-assisted reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction and screen-printed carbon electrodes[J]. Talanta, 2018, 181: 44-51.
- [23] DAIRI S, GALEANO-DÍAZ T, ACEDO-VALENZUELA M I, et al. Monitoring oxidative stability and phenolic compounds composition of myrtle-enriched extra virgin olive during heating treatment by flame, oven and microwave using reversed phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME)-HPLC-DAD-FLD method[J]. Ind Crop Prod, 2015, 65:303-314.
- [24] 王强, 王镔, 黄梅桂, 等. LLE-UPLC-FLD法测定橄榄油中羟基酪醇和酪醇的含量[J]. 食品工业科技, 2018, 39(9):233-238.
- [25] 向春蓉, 徐洲, 王寒冬, 等. 3个引进油橄榄品种初榨油多酚类化合物含量及抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(9):94-98.
- [26] 向春蓉, 邓俊琳, 刘露, 等. HPLC同时测定橄榄油中4种多酚类化合物的含量[J]. 中国油脂, 2015, 40(12):84-87.
- [27] 张东, 薛雅琳, 朱琳, 等. 我国陇南地区初榨橄榄油多酚类化合物组成研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(4):37-40.