

青海亚麻籽总酚含量测定及其抗氧化活性研究

王兴瑞^{1,2}, 陈昫昫¹, 韩玉泽¹, 李应霞¹, 王进英^{1,2}

(1. 青海大学农牧学院, 西宁 810016; 2. 青海大学三江源生态与高原农牧业国家重点实验室, 西宁 810016)

摘要:以4种青海本地(贵德、互助、三合、民和)和3种分别来自甘肃、山西和内蒙古产地亚麻籽为原料,采用超声辅助提取法提取总酚,福林酚法测定总酚含量,并采用DPPH自由基清除能力实验评价其抗氧化活性。结果表明:超声辅助提取亚麻籽总酚的最佳工艺条件为固液比1:17、超声温度40℃、超声时间15 min,在此条件下总酚含量为30.21 mg/g。青海贵德、互助、三合、民和的亚麻籽总酚含量为23.16~28.70 mg/g, DPPH自由基清除率为42.62%~51.06%,而山西、内蒙古、甘肃产亚麻籽总酚含量为19.97~22.38 mg/g, DPPH自由基清除率为41.84%~42.43%,表明青海亚麻籽总酚含量及抗氧化能力具有一定优势,具有较好的应用前景。

关键词:亚麻籽;总酚;超声辅助提取法;抗氧化活性

中图分类号:TS222+.1;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)08-0121-05

Determination of total phenol content and antioxidant activity of flaxseeds in Qinghai

WANG Xingrui¹, CHEN Yunyun¹, HAN Yuze¹, LI Yingxia¹, WANG Jinying^{1,2}

(1. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China;

2. State Key Laboratory of Plateau Ecology and Agriculture, Xining 810016, China)

Abstract: Using four Qinghai flaxseeds and three flaxseeds from Shanxi, Inner Mongolia and Gansu as raw materials, total phenol were extracted by ultrasound-assisted extraction, the total phenol contents were determined by Folin method, and the antioxidant activity of total phenol was evaluated by DPPH free radical scavenging test. The results showed that the optimal process for ultrasound-assisted extraction of total phenol from flaxseeds was obtained as follows: solid-liquid ratio 1:17, ultrasonic temperature 40℃, and ultrasonic time 15 min. Under these conditions, the total phenol content was 30.21 mg/g. The total phenol contents in the flaxseeds from Qinghai Guide, Huzhu, Sanhe and Minhe were 23.16-28.70 mg/g, and the DPPH free radical scavenging rates were 42.62%-51.06%, however, the total phenol contents of flaxseeds from Shanxi, Inner Mongolia and Gansu were 19.97-22.38 mg/g, and the DPPH free radical scavenging rates were 41.84%-42.43%, indicating that the total phenol content and antioxidant capacity in Qinghai flaxseed had certain advantages and had a good application prospect.

Key words: flaxseed; total phenol; ultrasound-assisted extraction; antioxidant activity

收稿日期:2019-10-19;修回日期:2020-03-27

基金项目:青海省青年自然科学基金(2018-ZJ-970Q);青海大学省部共建三江源生态与高原农牧业国家重点实验室自主课题(2019-ZZ-06)

作者简介:王兴瑞(1998),男,在读硕士,研究方向为油脂加工(E-mail) wangjinying0128@126.com。

通信作者:王进英,讲师(E-mail) wangjinying0128@126.com。

亚麻(*Linum usitatissimum* L.)是亚麻科、亚麻属的一年生草本植物,可分为纤维用亚麻、油用亚麻和油纤兼用亚麻3种类型。亚麻是世界十大油料作物之一,居世界油料总产量第7位^[1]。亚麻是我国的重要经济作物,主要分布在西北和华北北部的干旱、半干旱高寒冷凉地区^[2-3]。其中,青海亚麻种植历史悠久,青海特有的高原地理和气候特征使得青海

亚麻成为了一种具有栽培价值的油料作物,在青海亚麻俗称胡麻^[4]。

亚麻籽含脂肪 30% ~ 41%、纤维素 20% ~ 35%、蛋白质 20% ~ 30%、水分 4% ~ 8%、灰分 3% ~ 4% 和单糖 1%^[5]。除此之外,亚麻籽中还含有一定的微量组分,包括生氰糖苷、植酸、酚类物质、胰蛋白酶抑制剂、谷酰胺脯氨酸、木脂素、矿物质、维生素等^[6]。研究^[7-8]发现,酚类化合物具有抗氧化、抗癌、抗炎等功效,能有效预防高血脂、高血糖、心脑血管疾病、肿瘤等慢性疾病。

亚麻籽中酚类物质的含量水平与基因或品种、收获时间、产地与环境有关^[9]。目前国内对亚麻籽酚类物质组成及抗氧化活性研究主要集中在新疆、内蒙、山西及甘肃等主产区,而对青海亚麻籽的相关研究较少。因此,本文以山西、内蒙、甘肃产地的亚麻籽为对照,选择了青海贵德、互助、三合、民和 4 个不同地区的亚麻籽,利用超声辅助提取法提取总酚,福林酚法测定总酚含量, DPPH 法测定其清除自由基的能力,以期为青海亚麻籽多酚的开发利用提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

4 个青海贵德、互助、民和、三合产地的亚麻籽样品, 3 个甘肃、山西、内蒙古产地的亚麻籽样品。

无水碳酸钠、没食子酸、福林酚试剂、95% 乙醇、正丁烷、正己烷、氢氧化钠, 盐酸、正丁醇、1, 1 - 二苯基 - 2 - 苦肼基 (DPPH) 等, 均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

HHS - 4S 粉碎机; 电子恒温不锈钢水浴锅; RE - 52 旋转蒸发仪; UV - 1780 紫外可见分光光度计, 岛津仪器 (苏州) 有限公司; FA1004 电子天平; DHG 9070A 热风鼓风干燥箱; KQ - 300E 型台式机械超声波清洗器; PHSJ - 4A pH 计; DRG9070A 热鼓风干燥箱; TGL20MW 冷冻离心机。

1.2 实验方法

1.2.1 总酚提取

将亚麻籽清洗, 烘干 12 h, 粉碎, 与正己烷按 1:6 混合脱脂 12 h, 倒入离心管中, 在 3 000 r/min 离心 20 min, 倒出上清液, 沉淀在 40 °C 下热风干燥, 得到脱脂亚麻籽粉样品。准确称取脱脂亚麻籽粉样品 3 g 放入烧杯中, 加入 60% 乙醇溶液, 封口, 在一定超声温度下超声一段时间, 抽滤, 收集提取液。取 30 mL 提取液放入烧杯中, 加入 10 mL 1 mol/L 的 NaOH 溶液, 将提取液中 NaOH 浓度调至 0.25

mol/L, 反应 2 h。反应结束后加入 1 mol/L 的盐酸调节 pH 为 4.0。用 0.45 μm 醋酸纤维素膜过滤, 滤液减压浓缩, 加入 30 mL 60% 乙醇复溶, 移至容量瓶中保存备用。

1.2.2 总酚含量测定

标准曲线绘制: 精密称取没食子酸标准品 0.020 0 g, 用蒸馏水溶解并定容至 100 mL 容量瓶中, 得质量浓度为 0.2 mg/mL 的标准液。准确移取没食子酸标准液 0、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5、1.8 mL 于玻璃管中, 各加 1 mL 1 mol/L 福林酚试剂, 涡旋混合 1 min 使其反应, 再加入 3 mL 10% Na₂CO₃ 溶液振摇, 加蒸馏水至 10 mL, 于 45 °C 水浴中反应 1.5 h, 以不加标准液的溶液为空白对照, 在 765 nm 波长下测定吸光值, 以没食子酸质量浓度为横坐标, 吸光值为纵坐标, 建立没食子酸标准曲线。得到的标准曲线回归方程为 $y = 6.575x + 0.0183$, $R^2 = 0.998$ 。

样品中总酚含量测定: 取 0.3 mL 1.2.1 提取的总酚复溶液于 10 mL 玻璃管中, 然后加入 1 mL 1 mol/L 福林酚试剂, 涡旋混合 1 min 使其反应, 再加入 3 mL 10% Na₂CO₃ 溶液振摇, 加蒸馏水至 10 mL, 于 45 °C 水浴中反应 1.5 h, 以不加标准液的溶液为空白对照, 在 765 nm 波长下测定吸光值。通过标准曲线计算样品中的总酚含量。

1.2.3 亚麻籽总酚 DPPH · 清除能力测定

取 1 mg DPPH 溶于 24 mL 95% 乙醇中, 充分振摇均匀, 避光保存备用。在 10 mL 玻璃管中加入 3.0 mL DPPH 溶液和 1.0 mL 95% 乙醇溶液, 混匀, 反应稳定后, 以 95% 乙醇为参比, 在 517 nm 处测吸光值 (A_0); 同法依次加入 3.0 mL 95% 乙醇溶液和 1.0 mL 样品溶液, 测定吸光值 (A_2); 依次加入 3.0 mL DPPH 溶液和 1.0 mL 样品溶液, 测定吸光值 (A_1)。DPPH · 清除率按下式计算。

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率} = \frac{A_0 - A_1 + A_2}{A_0} \times 100\%$$

1.2.4 数据处理与分析

所有数据平行测定 3 次, 结果取平均值, 采用 Microsoft Excel 2010 软件对数据进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 亚麻籽总酚提取工艺优化

2.1.1 单因素实验

2.1.1.1 固液比对提取效果的影响

在超声时间 20 min、超声温度 40 °C 条件下, 研究不同固液比对亚麻籽总酚提取的影响, 结果见图 1。

从图 1 可以看出, 随固液比增大, 总酚含量增

大,在固液比 1:15 时总酚含量最高,此后随固液比继续增大总酚含量下降。此趋势与孙伟洁^[10]的研究结果一致。主要原因可能是乙醇用量较小时,不能将亚麻籽粉中的总酚提取出来。当乙醇用量过多时,导致超声对亚麻籽粉的作用减弱,使提取过程受到影响^[10]。因此,固液比 1:15 最佳。

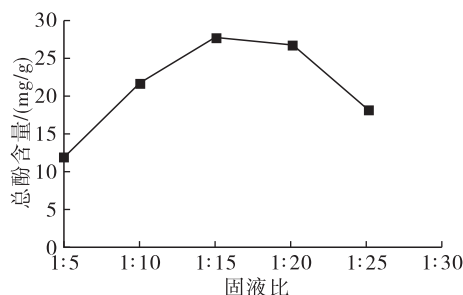


图1 固液比对总酚提取效果的影响

2.1.1.2 超声温度对提取效果的影响

在固液比 1:15、超声时间 20 min 条件下,研究不同超声温度对亚麻籽总酚提取的影响,结果见图 2。

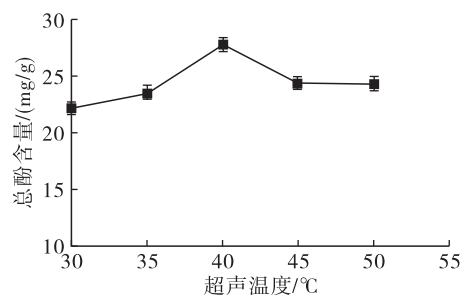


图2 超声温度对总酚提取效果的影响

从图 2 可以看出,随超声温度升高,总酚含量增大,在超声温度 40 °C 时总酚含量最高,之后随超声温度继续上升总酚含量下降。这可能是随着温度升高,分子运动加速使酚类物质容易穿透植物组织,但温度太高会使酚类与其他物质发生化学反应,导致结构发生变化^[11]。此外,当温度过高时溶出的亚麻胶会粘在细胞壁上,从而影响多酚提取效果。因此,超声温度 40 °C 最佳。

2.1.1.3 超声时间对提取效果的影响

在固液比 1:15、超声温度 40 °C 条件下,研究不同超声时间对亚麻籽总酚含量的影响,结果见图 3。

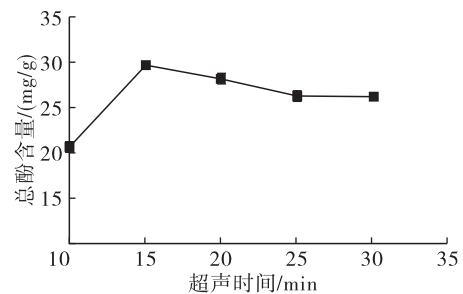


图3 超声时间对总酚提取效果的影响

从图 3 可以看出,随超声时间延长,总酚含量增大,在超声时间 15 min 时总酚含量最高,之后随着超声时间继续延长总酚含量降低,这与刘滨等^[12]对巴山冷杉针叶多酚提取的结果相同。可能原因是超声时间较短时对亚麻籽的作用较小,不能使亚麻籽中的总酚全部提取出来,超声时间过长会使活性物质流出,溶液黏度增加,从而影响亚麻籽总酚的提取。因此,超声时间 15 min 最佳。

2.1.2 响应面优化实验

2.1.2.1 模型建立和方差分析

在单因素实验基础上,以固液比、超声温度、超声时间为因素,以总酚含量为指标,采用 Design - Expert 7.0 软件进行 Box - Behnken 响应面实验设计。响应面实验设计及结果见表 1。方差分析见表 2。

表 1 响应面实验设计及结果

实验号	A 固液比	B 超声温度/°C	C 超声时间/min	总酚含量/(mg/g)
1	1:20	45	15	26.12
2	1:15	35	20	23.25
3	1:20	35	15	27.30
4	1:15	40	15	29.52
5	1:10	35	15	19.66
6	1:10	40	20	21.85
7	1:15	35	10	24.92
8	1:10	45	15	24.04
9	1:15	40	15	30.02
10	1:15	45	20	25.71
11	1:15	40	15	30.17
12	1:10	40	10	21.99
13	1:15	45	10	24.67
14	1:15	40	15	31.11
15	1:20	40	20	28.45
16	1:20	40	10	26.75
17	1:15	40	15	29.85

由表 1 数据得到模型回归方程:总酚含量 = $30.07 + 2.64A + 0.6B + 0.12C - 1.39AB + 0.46AC + 0.68BC - 2.83A^2 - 2.96B^2 - 2.48C^2$ 。

由表 2 可知,模型 $P < 0.0001$, 此模型极显著。 A 、 AB 、 A^2 、 B^2 、 C^2 影响极显著, B 影响显著,由此可以看出各因素对实验的影响不是单纯线性关系。该方程 R^2 为 0.9579, R^2_{Adj} 为 0.9677, 失拟项不显著 ($P > 0.05$), 均表明该回归方程的拟合度较高,可信程度高,可用来分析和预测实验结果。各因素对亚麻籽总酚含量影响的主次顺序为固液比 (A) > 超声温度 (B) > 超声时间 (C)。

表2 方差分析

方差来源	自由度	平方和	均方	F	P	显著性
模型	9	177.41	19.71	54.29	<0.000 1	**
A	1	55.55	55.55	152.98	<0.000 1	**
B	1	3.66	3.66	10.08	0.015 6	*
C	1	0.11	0.11	0.30	0.602 2	
AB	1	7.73	7.73	21.29	0.002 4	**
AC	1	0.85	0.85	2.33	0.170 6	
BC	1	1.84	1.84	5.06	0.059 3	
A ²	1	33.81	33.81	93.12	<0.000 1	**
B ²	1	36.80	36.80	101.35	<0.000 1	**
C ²	1	25.82	25.82	71.11	<0.000 1	**
误差项	7	2.54	0.36			
失拟项	3	1.06	0.35	0.95	0.496 1	
纯误差	4	1.48	0.37			
总计	16	179.85				

注: * 表示显著($P < 0.05$); ** 表示极显著($P < 0.01$)。

2.1.2.2 验证实验

通过 Design - Expert 7.0 软件得到亚麻籽总酚最佳提取工艺条件为固液比 1:17.3、超声温度 40.1℃、超声时间 15.3 min, 此条件下总酚含量为 30.69 mg/g。根据实际情况将实验条件修正为超声温度 40℃、超声时间 15 min、固液比 1:17, 实际总酚含量为 30.21 mg/g。

2.2 不同产地亚麻籽中总酚含量及抗氧化活性 (见图4、图5)

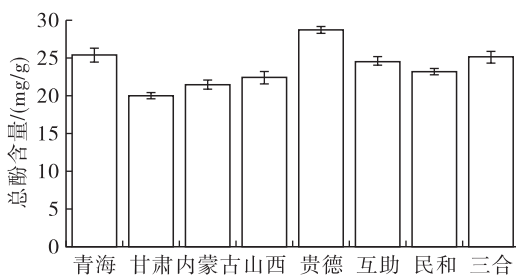


图4 不同产地亚麻籽中总酚含量

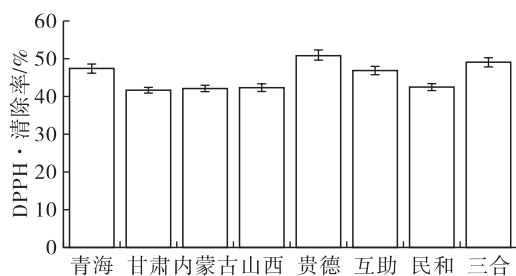


图5 不同产地亚麻籽总酚抗氧化活性

从图4可以看出,青海贵德、互助、民和、三合亚麻籽总酚含量依次为 28.70、24.51、23.16、25.11

mg/g,平均含量为 25.37 mg/g,青海贵德的亚麻籽总酚含量明显高于青海其他3个地区亚麻籽的,而民和的亚麻籽总酚含量最低。甘肃、内蒙古、山西产地亚麻籽总酚含量依次为 19.97、21.43、22.38 mg/g。

从图5可以看出,青海、甘肃、内蒙、山西4个产地亚麻籽样品都具有较强的抗氧化能力,但不同产地样品间存在差异性。其中产自青海的亚麻籽总酚抗氧化能力较强,DPPH·清除率平均为 47.44%;其次为山西、内蒙古,DPPH·清除率分别为 42.43%、42.18%。产自甘肃的亚麻籽总酚抗氧化能力最弱,DPPH·清除率为 41.48%。结果表明,青海亚麻籽总酚在含量水平和抗氧化能力方面占一定优势。

青海本地不同地区亚麻籽总酚 DPPH·清除率大小依次为贵德 (51.06%) > 三合 (49.13%) > 互助 (46.94%) > 民和 (42.62%)。结果表明,不同产地及同一产地不同地区间亚麻籽中总酚含量及抗氧化能力存在差异,这与臧茜茜等^[13]的研究结果一致。研究表明,油料的总酚含量及抗氧化活性会受品种、生长环境、气候条件、贮藏时间等因素的影响,导致总酚含量及抗氧化活性存在不同程度的差异。且不同品种的同一种物种间,营养成分含量也不同^[14-16]。

3 结论

在单因素实验基础上,通过 Box - Behnken 响应面实验设计,得到亚麻籽总酚提取的最佳工艺条件为固液比 1:17、超声温度 40℃、超声时间 15 min,在此条件下总酚含量达到 30.21 mg/g。

总酚含量及 DPPH·清除能力实验表明,青海亚麻籽中总酚含量和抗氧化能力高于其他产地,且青海本地不同地区亚麻籽间总酚含量及抗氧化能力存在差异。青海贵德、三合、互助、民和的亚麻籽总酚含量依次为 28.70、25.11、24.51、23.16 mg/g, DPPH·清除率依次为 51.06%、49.13%、46.94%、42.62%。山西、内蒙古、甘肃产亚麻籽中总酚含量依次为 22.38、21.43、19.97 mg/g, DPPH·清除率依次为 42.43%、42.18%、41.48%。总体来说,青海亚麻籽的总酚含量及抗氧化能力高于其他产地,具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] 胡晓军. 胡麻食品开发的研究综述[J]. 农产品加工(下), 2017(7): 42-44.
- [2] 吴瑞香, 杨建春. 晋西北地区胡麻发展优势及对策[J]. 内蒙古农业科技, 2012(6): 4-5.
- [3] 王燕春, 陈丽华, 李高原, 等. 青海省油用亚麻的发展现状及对策[J]. 北方园艺, 2011(23): 163-165.

(下转第 137 页)

- detection using deuterated 3 - chloropropane - 1,2 - diol as internal standard [J]. Czech J Food Sci, 2004, 22: 182 - 189.
- [11] KUSTERS M, BIMBER U, OSSENBRUGGEN A, et al. Rapid and simple micromethod for the simultaneous determination of 3 - MCPD and 3 - MCPD esters in different foodstuffs [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58: 6570 - 6577.
- [12] RACAMONDE I, GONZALEZ P, LORENZO R A, et al. Determination of chloropropanols in foods by one - step extraction and derivatization using pressurized liquid extraction and gas chromatography - mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(39): 6878 - 6883.
- [13] BERGER P E, GERLING S, APEL E, et al. Development and validation of an analytical method for determination of 3 - chloropropane - 1,2 - diol in rat blood and urine by gas chromatography - mass spectrometry in negative chemical ionization mode [J]. Anal Bioanal Chem, 2010, 398: 313 - 318.
- [14] CHUNG W C, HUI K Y, CHENG S C. Sensitive method for the determination of 1,3 - dichloropropan - 2 - ol and 3 - chloropropane - 1,2 - diol in soy sauce by capillary gas chromatography with mass spectrometric detection [J]. J Chromatogr A, 2002, 952: 185 - 192.
- [15] MATTHEW B M, ANASTASIO C. Determination of halogenated mono - alcohols and diols in water by gas chromatography with electron - capture detection [J]. J Chromatogr A, 2000, 866: 65 - 77.
- [16] BEL - RHLID R, TALMON J P, FAY L B, et al. Biodegradation of 3 - chloro - 1,2 - propanediol with *Saccharomyces cerevisiae* [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 6165 - 6169.
- [17] ROBERT M C, OBERSON J M, STADLER R H. Model studies on the formation of monochloropropanediols in the presence of lipase [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 5102 - 5108.
- [18] HU Z X, CHENG P, GUO M L, et al. A novel approach of periodate oxidation coupled with HPLC - FLD for the quantitative determination of 3 - chloro - 1,2 - propanediol in water and vegetable oil [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(27): 6614 - 6621.
- [19] VIRTÀ P, HOLMSTRÖM T, MATTIAS U, et al. New nucleoside analogs from 2 - amino - 9 - (β - D - ribofuranosyl) purine [J]. Org Biomol Chem, 2004, 2(6): 821 - 827.
- [20] HUANG Z, WAXMAN D J. High - performance liquid chromatographic - fluorescent method to determine chloroacetaldehyde, a neurotoxic metabolite of the anticancer drug ifosfamide, in plasma and in liver microsomal incubations [J]. Anal Biochem, 1999, 273(1): 117 - 125.
- [21] MATTHEW B M, ANASTASIO C. Determination of halogenated mono - alcohols and diols in water by gas chromatography with electron - capture detection [J]. J Chromatogr A, 2000, 866: 65 - 77.
-
- (上接第124页)
- [4] 帅瑞艳, 刘飞虎. 亚麻起源及其在中国的栽培与利用 [J]. 中国麻业科学, 2010, 32(5): 282 - 286.
- [5] BEKHITA E D A, SHAVANDI A, JODJAJA T, et al. Flaxseed: composition, detoxification, utilization, and opportunities [J]. Biocatal Agric Biotechnol, 2018(3): 129 - 152.
- [6] SHIM Y Y, GUI B, ARNISON 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.
- [7] RODRIGUEZ - BONILL P, GANDI - HERRERO F, MATENCIO A, et al. Comparative study of the antioxidant capacity of four stilbenes using ORAC, ABTS⁺, and FRAP techniques [J]. Food Anal Meth, 2017, 10(9): 2994 - 3000.
- [8] 李达, 马聪玉, 吕青林, 等. 不同产地脱脂乳木果仁总酚含量测定及其生物活性 [J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(5): 572 - 579.
- [9] ZUK M, RICHTER D, MATULA J, et al. Linseed, the multipurpose plant [J]. Ind Crops Prod, 2015, 75: 165 - 177.
- [10] 孙伟洁. 亚麻木酚素的提取和分离纯化技术研究 [D]. 黑龙江 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2009.
- [11] 李媛, 陈媛梅. 超声波法提取加杨叶总酚条件的优化 [J]. 林业科技开发, 2010, 24(6): 96 - 99.
- [12] 刘滨, 樊金拴, 冯慧英, 等. 响应面法优化巴山冷杉针叶多酚的超声提取及纯化研究 [J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2015, 36(2): 41 - 48.
- [13] 臧茜茜, 魏晓珊, 陈鹏, 等. 不同品种亚麻籽木酚素多聚体水解物的组成及含量 [J]. 中国油料作物学报, 2017, 39(2): 253 - 259.
- [14] 禹晓, 黄沙沙, 程晨, 等. 不同品种亚麻籽组成及抗氧化特性分析 [J]. 中国油料作物学报, 2018, 40(6): 879 - 888.
- [15] 朱秀灵, 戴清源, 木朝丽, 等. 安徽不同产地芝麻中木酚素和总酚含量及芝麻提取物抗氧化能力比较 [J]. 农产品加工(上), 2018(8): 38 - 43.
- [16] 杨希娟. 青海蚕豆多酚的提取工艺优化及不同品种(系)酚类含量及抗氧化活性 [J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(11): 237 - 243.