

大麦麸皮发酵液的体外抗氧化活性研究

李秀丽, 韩建春*, 郭荣佳, 李静雪, 刘润清, 孙英杰
(东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:大麦麸皮经过高活性干酵母发酵, 对大麦麸皮发酵液的还原能力、DPPH 自由基清除能力和羟基自由基清除能力进行测定, 研究发酵时间对大麦麸皮发酵液的体外抗氧化活性的影响。结果表明, 随着发酵时间增加, 发酵液中多酚含量呈明显的上升趋势, 于 6d 左右趋于平稳, 含量达到 420.4 μg GAE/mL。通过与 300 μg /mL 的 BHT 和抗坏血酸溶液相比较, 大麦麸皮发酵液表现出良好的抗氧化性能。

关键词:大麦麸皮, 发酵液, 还原能力, DPPH 自由基, 羟自由基

Study on vitro antioxidant activity of barley bran fermentation liquid

LI Xiu-li, HAN Jian-chun*, GUO Rong-jia, LI Jing-xue, LIU Run-qing, SUN Ying-jie

(Food Institute of Northeast Agricultural University, Harbin 150030 China)

Abstract: Barley bran fermentation liquid was obtained by high-active dry yeast, and the reducing power, scavenging ability of DPPH free radical and scavenging ability of hydroxyl free radical had been measured, researching the influence of different fermentation time on the antioxidant activity of barley bran fermented liquid *in vitro*. Studies had found that with the increase of fermentation time, polyphenol content in fermented liquid had an obvious rising trend, and stabilized at about 6d, content reached 420.4 μg GAE/mL. Compared with 300 μg /mL ascorbic acid and BHT, Barley bran fermented liquid showed good antioxidant properties.

Key words: Barley bran; fermented liquid; reducing power; DPPH free radical; hydroxyl free radicals

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)07-0112-04

大麦是人类栽培的最古老的作物之一, 已经有 5000 多年的历史。大麦中含有丰富的多酚类物质, 其含量大约是小麦的 40 倍, 而多酚物质主要存在于大麦麸皮中。在我国, 大麦和大麦麸皮大部分用作饲料, 小部分用于酿造和医药行业, 其价值得不到充分地利用, 附加值比较低^[1]。

Ohba^[2] 等人的研究发现, 大麦麸皮发酵液在发酵储藏过程中, 颜色由金黄色变为紫红色, 并且在储藏阶段会有紫色沉淀产生, 他们将这种沉淀命名为大麦素。履新等人对大麦素的性质进行了初步的探索, 发现将大麦素添加到饮料当中存在可行性^[3-4]。大麦麸皮中含有丰富的多酚类物质^[5], 具有抗氧化、抗衰老的作用, 具有潜在的开发利用价值。近年来, 麸皮健康食品的开发得到越来越多人的重视, 大麦麸皮中多酚提取多以化学方法为主^[6], 利用高活性干酵母对大麦麸皮进行发酵提取鲜见报道, 从健康和环保的角度出发, 大麦麸皮发酵液有着广阔的发展前景, 为了全面的反映大麦麸皮发酵液的体外抗氧化水平, 本实验选取三种不同的抗氧化体系^[7-10] 对大麦麸皮发酵液的体外抗氧化活性进行评价, 为大麦麸皮的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方 法

收稿日期: 2013-08-09 * 通讯联系人

作者简介: 李秀丽(1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工与贮藏工程。

1.1 材料与仪器

大麦麸皮 黑龙江省北安市红星农场提供; 高活性干酵母 安琪酵母股份有限公司; 糖化酶 上海金穗生物科技有限公司; 所用试剂均为分析纯。

DHP-9272 型培养箱 上海一恒科技有限公司; PHS-25 型 pH 计 上海精密科技仪器有限公司; 721 型分光光度计 上海荆和分析仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大麦麸皮发酵液的制备 取 100g 大麦麸皮和 10g 酵母混合均匀后溶解于 1000mL 去离子水中搅拌均匀, 同时加入 0.05% 糖化酶促进发酵。将上述溶液置于 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中发酵 6d, 离心 (5000r/min, 15min) 后取上清液待用^[11]。

1.2.2 多酚含量的测定

1.2.2.1 标准曲线的绘制 参照 GB/T 8313-2008 的方法, 分别取 1.0mL 不同浓度的没食子酸标准液 (10、20、30、40、50 μg /mL) 于试管中, 在每个试管中分别加入 5.0mL 的 10% 福林酚 (Folin-Ciocalteu) 试剂, 充分摇匀后反应 5min 内加入 4.0mL 7.5% Na_2CO_3 溶液, 加水定容至 10mL, 室温静置 60min 后于 765nm 波长条件下用分光光度计测定吸光度值, 并绘制标准曲线。

1.2.2.2 发酵液多酚测定 将大麦麸皮发酵液 1mL 稀释 10 倍, 取 1mL 代替没食子酸标准液, 按照 1.2.2.1 的方法测不同发酵时间大麦麸皮发酵液中多酚含量, 含量以没食子酸当量计^[12]。

1.2.3 体外抗氧化活性测定

1.2.3.1 还原能力的测定 分别取不同体积的不同发酵时间的大麦麸皮发酵液用蒸馏水稀释至 1.0mL, 再加入 2.5mL 0.2mol/L, pH 为 6.6 的磷酸盐缓冲液, 然后加入 2.5mL 的 1% 铁氰化钾于 50℃ 水浴反应 20min, 冷却后加入 2.5mL 10% 三氯乙酸混合, 离心 (3000r/min, 10min) 后取 2.5mL 上层液加蒸馏水 2.5mL 和 0.5mL 的 0.1% 三氯化铁。15min 后在 700nm 处测吸光度值^[13]。

1.2.3.2 DPPH 自由基清除能力 取不同体积的不同发酵时间的大麦麸皮发酵液, 用蒸馏水稀释至 2mL, 加入 2mL 0.1mmol/L 的 DPPH, 充分摇匀后室温下避光放置 30min, 以乙醇为参比, 在 517nm 条件下测量吸光度值^[14-17], 实验中用抗坏血酸和 BHT 作为对比。其清除率公式为

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100$$

A_0 为不加样液的吸光度值, A_x 为加入不同样液的吸光度值。

1.2.3.3 羟自由基清除能力 参照 Fenton 反应的方法^[12,18], 在试管中分别加入不同体积的不同发酵时间的大麦麸皮发酵液各 2mL, 分别加入 2mL 6mmol/L FeSO_4 和 2mL 6mmol/L 水杨酸-乙醇溶液, 最后加入 2mL 6mmol/L H_2O_2 , 将反应液放置 37℃ 水浴 30min, 以蒸馏水为参比, 在 510nm 条件下测量吸光值^[18]。实验中用抗坏血酸和 BHT 作为对比, 羟自由基清除率公式:

$$p(\%) = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100$$

A_0 为不加样液的吸光度值, A_x 为加入不同样液的吸光度值。

1.2.4 数据分析处理 本实验采用 Excel 软件分析作图, 每组数据均采用 3 次重复实验, 数据用平均值 \pm SD 值来表示。

2 结果与分析

2.1 标准曲线

根据 1.2.2.1 的方法, 以没食子酸浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 得到标准曲线, 见图 1, 回归方程为 $y = 0.0121x - 0.0021$, 相关系数 R^2 为 0.9955。表明没食子酸在质量浓度为 0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与其吸光度呈良好的线性关系, 该方程可用于多酚含量的测定。

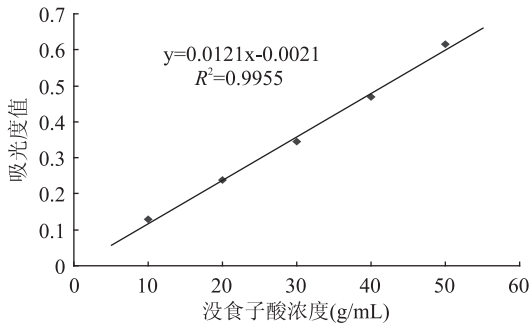


图 1 没食子酸标准曲线

Fig.1 Gallic acid standard curve

2.2 不同发酵时间大麦麸皮发酵液多酚含量

根据 1.2.2.2 的方法, 不同发酵时间的大麦麸皮发酵液多酚的变化情况见图 2, 从图中可以看出, 随着时间的增加, 发酵液多酚含量有明显的增加, 在 6d 左右趋于稳定, 多酚含量在 430 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左右, 在发酵 8d 后多酚含量会有所下降, 这是因为糖化过程中多酚物质发生了游离、聚合和沉淀反应。Ohba 等^[2] 人发现, 在低温条件下, 大麦麸皮发酵液可生成具有类似多酚性质的沉淀物质—大麦素 (hordeumin), 这为多酚含量下降的实验结果提供了依据。

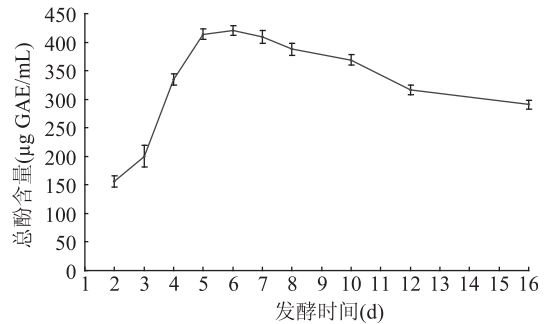


图 2 不同发酵时间的多酚含量

Fig.2 Polyphenol content of different fermentation time

2.3 还原能力测定

对发酵时间为 2、4、6d 的发酵液还原能力进行测定, 并与浓度为 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 BHT 和抗坏血酸进行比较, 结果见图 3。随着试样加入量的增加, 其还原性增强。同时, 随着发酵时间增加, 发酵液的还原性也增强, 这与发酵液中多酚含量随时间的变化是一致的。与 BHT 和抗坏血酸相比, 发酵 6d 的大麦麸皮发酵液还原性最高。所取试样体积分别为 0.1、0.2、0.3mL 时, 多酚含量与还原能力之间存在一定的相关性, 其相关系数分别为 0.96782、0.78648、0.82720。在发酵液中, 随着发酵时间的增加, 会产生具有抗氧化活性的多肽、美拉德反应产物以及部分矿物质, 相关系数降低趋势的变化表明试样体积增加时, 对大麦麸皮发酵液还原能力存在干扰效应, 从图中表现出, 发酵 2d 和发酵 4d 的发酵液的还原能力没有太大的提升, 除多酚之外的具有抗氧化活性的物质对发酵液的还原能力有较大影响, 因此会出现发酵 6d 的发酵液体积从 0.2mL 到 0.3mL 时, 还原能力有明显的增长, 当试样体积加入量为 0.3mL 时, 其吸光值达到了 0.979, 其还原能力超过了抗坏血酸。在相同浓度下, 抗坏血酸的还原性要比 BHT 高。

2.4 DPPH 自由基清除能力

对发酵时间为 2、4、6d 的发酵液 DPPH 自由基清除能力进行测定, 并与浓度为 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 BHT 和抗坏血酸进行比较, 结果见图 4。随着发酵时间的增加, DPPH 自由基清除能力增加, 同时可以看出, 随着试样加入量的增加, DPPH 自由基清除能力有增大的趋势。所取试样体积分别为 0.1、0.2、0.3mL 时, 多酚含量与 DPPH 自由基清除能力之间存在显著的相关性, 其相关系数分别为 0.98871、0.9998、0.99658。发酵过程中产生的多肽、美拉德反应产物^[18] 以及矿物质都对 DPPH

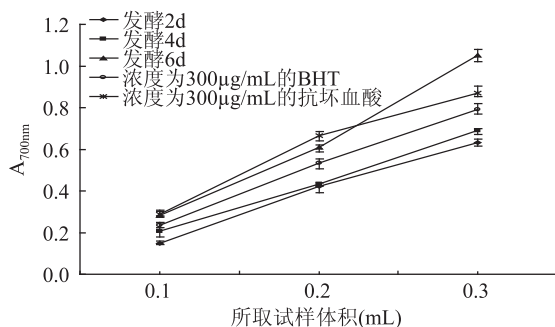


图3 不同试样的还原能力比较

Fig.3 Reducing power of different sample

自由基清除能力有明显的影响,因此图中表现出发酵4、6d的发酵液比抗坏血酸和BHT的DPPH自由基清除能力要强。发酵6d的发酵液有较高的对DPPH自由基清除能力,在试样加入量为0.3mL时,其清除率达到了77.8%。相同浓度下,抗坏血酸要比BHT清除能力强。

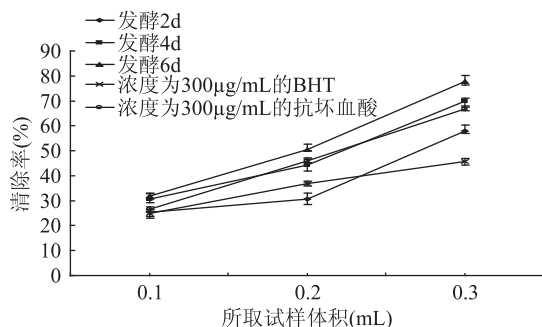


图4 不同试样的DPPH自由基清除能力比较

Fig.4 DPPH radical scavenging capacity of different sample

2.5 羟自由基清除能力

对发酵时间为2、4、6d的发酵液羟自由基清除能力进行测定,并与浓度为300μg/mL的BHT和抗坏血酸进行比较,从图5中可以看出,随着发酵时间的增加,羟自由基清除能力有大幅度的增强。不同发酵时间的发酵液间羟自由基清除能力有较大的差异,同时,随着试样体积加入的增加,其羟自由基清除能力有增大的趋势,但增幅不明显。所取试样体积分别为0.1、0.2、0.3mL时,多酚含量与羟基自由基清除能力之间存在一定的相关性,其相关系数分别为0.79522、0.87614、0.92919。BHT与水杨酸竞争羟基自由基的能力较弱,因此表现出较低的羟自由基清除能力。发酵6d的发酵

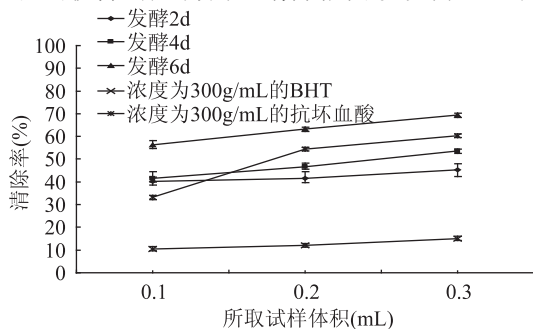


图5 不同试样羟基自由基清除能力比较

Fig.5 Hydroxyl radical scavenging capacity of different sample

液明显高于其他试样,当试样加入体积为0.3mL时,其清除率达到69.32%。相同浓度下,抗坏血酸要比BHT的羟自由基清除能力要强。

3 结论

不同的抗氧化体系,由于其作用机制不同,结果可能存在一定的差异,因此本实验采用三种不同的抗氧化体系对大麦麸皮发酵液的体外抗氧化活性进行评价。实验结果表明,大麦麸皮发酵液具有较强的抗氧化活性,大麦麸皮发酵液中多酚含量随着发酵时间的增加而增加,发酵6d达到最大值。

300μg/mL的抗坏血酸的体外抗氧化活性比相同浓度的BHT强;发酵6d的发酵液还原能力和DPPH自由基清除能力要比300μg/mL的抗坏血酸和BHT强。

总体来说,大麦麸皮发酵液的体外抗氧化活性要高于300μg/mL的BHT和抗坏血酸,由此说明大麦麸皮有着广阔的应用前景,为大麦麸皮的进一步开发利用提供了理论依据。

参考文献

- [1]夏岩石,冯海兰.大麦食品及其生理活性成分的研究进展[J].粮食与饲料工业,2010,(6):27-30.
- [2] Ohba R, Kitaoka S, Ueda S. Properties and precursor of hordeumin produced from uncooked barley bran by ethanol fermentation[J]. Ferment. Bioeng, 1993, 75(2):121-125.
- [3]履新.大麦麸皮发酵液大麦素及其着色和生理功能[J].粮食与油脂,2004,(7):11-15.
- [4]履新.大麦麸皮多酚类提取物抗氧化活性和抗突变性[J].粮食与油脂,2004,(6):9-12.
- [5]夏向东,吕飞杰,台建祥.大麦中的生理活性成分及其生理功能[J].中国食品学报,2002,2(3):63-67.
- [6]王立克.生物发酵对小麦麸皮营养成分的影响[J].安徽技术师范学院学报,2002,16(3):31-33.
- [7]王晓宇,杜国荣,李华.抗氧化能力的体外测定方法研究进展[J].食品与生物学报,2012,31(3):247-252.
- [8]傅裕.体外抗氧化功能评价方法研究进展[J].肉类研究,2010,141(11):47-52.
- [9]刘清,李玉,姚惠源.大麦提取物的体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2007,28(2):131-136.
- [10]冯昕,孙浩,王吉中,等.中普黑麦麸皮色素提取物体外抗氧化性能研究[J].食品工业,2013,34(5):129-132.
- [11]大庭理一郎,出口智昭.大麦糠からのアントシアニン系色素の生産[J].環境技術,2005,34(7):485-490.
- [12]刘清,李玉,姚惠源.Folin-Ciocalteu比色法测定大麦提取液中总多酚的含量[J].食品科技,2007,32(4):175-177.
- [13]谢广发.黄酒的体外抗氧化性及其机理研究[J].食品与发酵工业,2005,(10):5-7.
- [14]Chen Y, Wang M F, Rosen R T, et al. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging active components from Polygonum multiflorum Thunb [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1999, 47:2226-2228.
- [15] R Amarowicz. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian

掺伪茶油的化学模式识别方法研究

郑艳艳, 吴雪辉*

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要:为研究掺伪茶油的定性鉴别方法,选取折光率、碘值、皂化值、色泽和酸价等5个理化指标作为变量,对31个茶油掺菜籽油、大豆油、米糠油、玉米油和棕榈油的样品进行测定。采用主成分分析和判别分析两种方法处理数据。结果表明,主成分分析中,样品前三个主成分的累计贡献率为95.55%,已含样本的大部分信息,前三个主成分构成的三维得分图(PC1-PC2-PC3)显示,31个样品在三维空间内按照掺伪种类的不同被分为5个区域,从而对油样进行识别。通过判别分析方法推测单一样品属于各个掺伪总体的概率,可实现掺伪茶油中掺杂其它植物油的鉴别,准确率达97%。

关键词:茶油,掺伪,主成分分析,判别分析

Study on chemical pattern recognition of camellia oil adulteration

ZHENG Yan-yan, WU Xue-hui*

(Food College, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 31 samples of camellia oil adulterated with rapeseed oil, soybean oil, rice bran oil, corn oil and palm oil were prepared to measure their physicochemical properties, such as refractive index, iodine value, saponification value, color and acid value. Principal component analysis and discriminant analysis were used to processing the test data. According to the results, the cumulative contribution efficiency of the first three principal components accounts for 95.55%, including almost all information of the samples. From the three-dimensional score (PC1-PC2-PC3) composed of the first three principal components, it was obvious that the 31 samples could be divided into five groups based on adulteration category. By discriminant analysis, the probability of a sample belonged to the different population was calculated, in order to predict the adulteration species of camellia oil adulteration, the accuracy rate was 97%.

Key words: camellia oil; adulteration; principal component analysis; discriminant analysis

中图分类号: TS225.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)07-0115-04

茶油是我国特有的木本油脂,其脂肪酸组成合理,主要包括油酸、亚油酸、亚麻酸和少量的饱和脂肪酸,符合人体的需要,容易消化吸收^[1]。茶油中含有茶多酚、甾醇、生育酚、角鲨烯等多种功能性成分,对提高人体免疫力、降低胆固醇以及预防和治疗高血压有明显功效;另外,茶油中还含有丰富的 V_E 、 V_D 、 V_K 和胡萝卜素,具有维持骨骼肌的结构和功能、促进生育机能以及增强体液的免疫功能等作用^[2-3]。

近年来,随着生活水平的提高和消费观念的改变,茶油以其媲美橄榄油的合理脂肪酸组成和丰富的营养价值受到越来越多消费者的青睐,国内外消费量迅速增长,价格节节高升,助长了茶油的掺假,

出现了将菜籽油、大豆油、棕榈油等掺混到茶油的现象。

为了保护合法生产经营者和消费者的权益,迫切需要建立科学、快速、有效的检测方法,对茶油的掺假进行鉴别。目前,国内外已有采用气质联用法^[4]、近红外光谱^[5]以及电子鼻技术^[6]鉴别掺伪茶油的研究报道。杨柳^[7]等通过顶空-气质联用法对比茶油及其他食用油挥发性特征物质的种类及相对含量,得出鉴别茶油真伪的方法,可检测出掺假浓度大于5%的茶油。Li SF^[8]等采用近红外光谱结合四种不同的模式识别方法,对茶油真伪进行鉴别,准确率达98.3%。Xie J^[9]等利用气质联用获取油脂的脂肪酸组成,结合油酸和亚油酸的比值以及亚麻酸含量,引进一个掺伪参数的概念,从而实现大豆油掺混茶油的定量检测,检出限低至5%。

但是现存的方法大多都是局限于对特定掺伪种类的掺伪茶油进行定量分析,本实验研究的目的是

收稿日期: 2013-08-12 * 通讯联系人

作者简介: 郑艳艳(1990-),女,在读硕士,主要从事粮油加工方面的研究。

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目(201213091100380, 2012B091100090)。

prairies[J]. Food Chemistry, 2004, 84: 551-562.

[16] 杨燕萍. 啤酒大麦和麦芽中的酚类物质及其抗氧化特性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2010.

[17] 陆健, 樊伟, 孔维宝, 等. 大麦总多酚不同溶剂提取物对

DPPH 自由基清除能力的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(1): 57-61.

[18] 李超. 回心草总黄酮清除羟基自由基活性研究[J]. 食品工程, 2010, (8): 163-165.