

汉麻籽壳多酚的提取及抗氧化活性评价

李晓辉¹, 刘海杰¹, 陈天鹏^{1,2}, 何锦风²

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

(2. 总后勤部军需装备研究所军用汉麻材料研究中心, 北京 100082)

摘要: 汉麻籽壳是汉麻籽加工的副产物, 其中含有丰富的抗氧化物质。本文以汉麻籽抗氧化多酚得率为指标, 筛选出汉麻籽壳抗氧化多酚提取的适宜条件, 并对提取物的抗氧化性能进行评价。结果表明, 汉麻籽壳中抗氧化成分最适宜提取的条件为液料比(10:1)、提取时间(30 min)、提取次数(3次)、提取液浓度(60%乙醇溶液); 市售大孔树脂中 HPD-600 对汉麻籽壳抗氧化成分的吸附能力最强; 汉麻籽壳中抗氧化成分最适宜的洗脱条件为洗脱流速(1 mL/min)的梯度洗脱, 40%乙醇洗脱溶液为目标产物; 经过大孔树脂分离提取的汉麻籽壳抗氧化多酚对于质粒 DNA、人血低密度脂蛋白(LDL)和牛血清蛋白(BSA)的氧化损伤都有显著的保护作用。

关键词: 汉麻籽壳; 多酚; 大孔树脂; 抗氧化; 氧化损伤;

文章编号: 1673-9078(2012)7-1007-1012

Extraction and Anti-oxidant Activity Evaluation of Polyphenol from Hempseed Hull

LI Xiao-hui¹, LIU Hai-jie¹, CHEN Tian-peng^{1,2}, HE Jin-feng²

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China) (2. The Research Center of China-Hemp Materials of the Quartermaster Research Institute of the General Logistic Department, Beijing 100082, China)

Abstract: Hempseed hull, a by-product in hempseed oil processing, is rich in antioxidants. In this study, the conditions of polyphenol extraction from hempseed hull by ultrasonic were optimized on base of yield, and *in vitro* antioxidant properties of the extract were evaluated. Solvent extraction and macroporous resin absorption were employed in polyphenol separation. The results showed that the optimal extraction conditions were as follows: solid-liquid ratio 1:10, extraction time 30 min, extraction times 3 times and ethanol concentration 60%. HPD-600 was determined as the optimal macroporous resins for hempseed hull antioxidant polyphenol extraction and eluted by 40% ethanol was the target extract with the highest antioxidant activity and yield. The extract presented significant protective capacities of human low density lipoprotein (LDL), protein, and DNA against oxidation evaluated by electrophoresis. The hempseed hull extract was valuable in antioxidant properties and can be utilized as a natural antioxidant dietary supplement.

Key words: hempseed hull; polyphenol; macroporous resin; antioxidant; oxidant damage

汉麻(*Cannabis sativa* L., Hemp), 是一年生桑科植物, 又名大麻、火麻、线麻、寒麻等, 在中国各地均可种植。中国利用汉麻已有 3000 多年的历史^[1]。汉麻在人类历史上占有重要的地位。几千年来, 人们种植汉麻以获取纤维制作衣物、收获麻籽制取食物和油料^[2]。四氢大麻酚(Δ -9-tetrahydrocannabinol, THC)是汉麻植株中特有的一种具有精神致幻作用的酚类物质, 国际上将 THC 含量低于 0.3% 的汉麻品种定义为工业大

收稿日期: 2012-03-31

作者简介: 李晓辉(1990-), 女, 研究方向: 食品科学与工程

通讯作者: 刘海杰(1973-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏工程及食品科学

麻(Industrial hemp)。中国种植的汉麻多为无毒品种^[3]。

2001 年, 汉麻籽被卫生部列为“药食同源”植物资源之一。有调查表明, 广西巴马地区居民的长寿与食用汉麻籽有关^[4]。目前, 汉麻籽油仍是甘肃、陕西、广西和内蒙某些地区居民的日常食用油。在欧洲, 汉麻籽的食用历史可追溯至古希腊。如今, 在波罗的海地区, 人们仍保留食用汉麻籽油和麻仁的习俗^[5]。

汉麻籽壳约占全籽重量的 40%, 在汉麻籽油、蛋白质和制药工业中, 籽壳是第一步被脱除的废弃物。汉麻籽壳中的主要成分是纤维素和少量未脱除干净的麻仁, 作为加工废弃物, 不仅是生物质资源的浪费, 而且污染环境。研究发现, 汉麻籽壳的抗氧化活性与

总酚含量显著相关, 60% 乙醇提取物的抗氧化活性最高。

大孔吸附树脂是以苯乙烯和丙烯酸酯为单体, 加入交联剂和致孔剂, 制成的一类具有多孔骨架结构的聚合物。在各类分离方法中, 大孔树脂法由于吸附容量大、选择性好、解吸容易等优点^[6], 成为工业化制备天然产物和制药工业的研究热点。本论文的主要研究目的是优化溶剂提取和大孔树脂吸附分离提取汉麻籽壳中抗氧化多酚的条件, 并测定提取物的体外抗氧化活性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

新脱汉麻籽壳, 产区为广西巴马, 由广西巴马常春藤生命科技发展有限公司提供。籽壳粉碎过 40 目, 真空包装, 避光冷藏备用。

收集市售 11 种大孔树脂, 其型号、生产厂家及物理性能详见表 1。

表 1 大孔树脂的物理性能

Table 1 Physical properties of 11 kinds of macroporous resins used

树脂型号	生产厂家	极性	比表面积 (m ² /g)	平均孔 径/nm	含水 率/%
ADS-7	河北宝恩	强,基团	≥100	25~30	63.82
HPD-600	河北宝恩	极性	550~600	8	71.67
HP-2MG	三菱	中极性	470	17	64.78
HPD-450	河北宝恩	中极性	500~550	9~11	71.76
ADS-17	河北宝恩	中,氢键	90-150	25-30	58.06
AB-8	河北宝恩	弱极性	480~520	13~14	68.51
HP-20	三菱	非极性	600	26	61.59
D101	河北宝恩	非极性	≥400	10~11	68.78
NK107	南开化工厂	非极性	1000~1300	8~9	48.15
NK109	南开化工厂	非极性	1000~1100		68.77
HPD-826	河北宝恩	氢键	500~600	9~10	63.92

1.2 主要仪器及试剂

恒流泵(HL-1, 上海沪西分析仪器厂); 自动收集器(SBS-100, 上海沪西分析仪器厂); 旋转蒸发器(RE 52-99, 上海亚荣生化仪器厂); 水浴恒温振荡器(SHZ-88, 金坛市医疗仪器厂); 自动水分测定仪(MA 150, Sartorius AG); 酶标仪(Model 550, BIO-RAD); 紫外可见分光光度计(T6 新世纪, 北京普析通用仪器有限责任公司); 恒温磁力搅拌器(S21-1, 上海司乐仪器有限公司); 分析天平(AL204, 梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 多用振荡器(MS-1, Shimadzu); 高速粉碎机(FW135, 天津泰斯特仪器有限公司); 超声清

洗机(KQ-600DE, 昆山市超声仪器有限公司); 冷冻干燥机(LGJ-18A, 北京四环科学仪器设备有限公司); 凝胶成像系统(JY04S-3C, 北京君意东方电泳设备有限公司)。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、pBR322 质粒 DNA 和 Folin-Ciocalteu 试剂购自 Sigma 公司; 琼脂糖 G-10 购自 Biowest (Spain); 人血低密度脂蛋白(LDL) 购自北京大学医学院。

抗氧化性测定对照品: 大豆异黄酮提取物(ISO, 40%)、葡萄花青素提取物(OPC, 90%) 购自长沙绿蔓生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 总酚含量及标准曲线

总酚含量测定采用文献^[7]中的 Folin-Ciocalteu 法, 结果以每毫升溶液中没食子酸(GAE)当量表示样品中总酚含量。线性回归标准曲线: $y=x+2.8$ ($R^2=0.9969$), y 为没食子酸浓度(mg GAE/mL), x 为吸光值。

1.3.2 DPPH 自由基清除率测定方法

提取液清除 DPPH 自由基能力测定方法参考文献^[8], 有所修改。取 100 μ L 样品液和 100 μ L 200 μ M DPPH 溶液在 96 孔板中混合均匀, 避光静置 10 min 后, 于 520 nm 处测定吸光值。清除率计算公式: $I\%=(1-A/A_0)\times 100\%$, A 为样品吸光值, A_0 为对照样吸光值。

1.3.3 粗提条件优化

汉麻籽壳经高速粉碎后过 40 目筛, 密封于 4 $^{\circ}$ C 冷藏备用。原料中抗氧化成分的溶剂粗提采取超声提取的方式。本实验选取了液料比、超声时间、提取次数、提取液浓度 4 个因素对汉麻籽壳中抗氧化多酚的提取进行单因素实验研究, 以优化粗提条件。

1.3.3.1 液料比对提取效果的影响

准确称取六份全籽壳粉, 每份 20.00 g, 分别按照液料比 4:1, 6:1, 8:1, 10:1, 12:1, 14:1 (V/m) 的比例加入 50% 乙醇溶液, 超声提取 30 min, 抽滤, 收集滤液于 45 $^{\circ}$ C 旋蒸, 通过旋蒸除去乙醇后冷冻干燥, 记录冻干物质量, 计算得率。

1.3.3.2 提取时间对提取效果的影响

准确称取六份全籽壳粉, 每份 20.00 g, 均按照最适液料比加入 50% 乙醇溶液, 分别提取 10 min、20 min、30 min、40 min, 抽滤, 收集滤液, 于 45 $^{\circ}$ C 旋蒸, 通过旋蒸除去乙醇后冷冻干燥, 记录冻干物质量, 计算得率。

1.3.3.3 提取次数对提取效果的影响

准确称取 20.00 g 全籽壳粉, 按照最适液料比加入 50% 乙醇溶液、按照最佳提取时间提取, 抽滤, 分

别收集滤液和滤渣,完成一次后,再次对滤渣重复上述步骤,一共提取5次,滤液于45℃旋蒸除去乙醇后分别冷冻干燥,记录冻干物质质量,计算得率。

1.3.3.4 提取液浓度对提取效果的影响

准确称取11份全籽壳粉,每份20.00g,按照最适液料比分别加入0%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%的乙醇溶液,按照最佳提取时间提取,抽滤,将滤液过膜,稀释10倍后测其DPPH·清除率。

1.3.4 树脂吸附和分离优化

1.3.4.1 粗提液制备

按照液料比为1:10加入已粉碎的汉麻籽壳和60%乙醇,超声功率100W提取30min,期间间歇搅拌。抽滤取滤液,于45℃旋转蒸发除去乙醇。每100mL滤液旋转蒸发后定量至30mL,粗提液低温保存,用于树脂吸附实验。

1.3.4.2 树脂预处理

大孔树脂经95%乙醇浸泡12h后,水洗至无明显乙醇味道,加入5%盐酸溶液浸泡12h,水洗,再用5%NaOH溶液浸泡12h,然后水洗至中性备用。

1.3.4.3 树脂筛选

准确称取已预处理的大孔树脂各5.00g置于100mL三角瓶中,分别加入50mL相同浓度的粗提液,保鲜膜封口,室温置于摇床中,60r/min振荡吸附12h后,测定DPPH·清除率。吸附效果以吸附率表示。

$$\text{吸附率}(\%) = (I_0 - I) \times 100\% / I_0$$

注:其中 I_0 和 I 分别为吸附前后的DPPH·清除率。

1.3.4.4 洗脱液浓度的筛选

准确称取3g已预处理的大孔树脂湿法装入 $\Phi 10 \times 100$ mm层析柱中,用去离子水清洗至流出液无明显紫外吸收为止,接入浓度为0.62mg/mL的粗提液至吸附饱和后,采用梯度洗脱,分别用去离子水、20%乙醇、40%乙醇、60%乙醇、80%乙醇洗脱,洗脱流速为1mL/min,分别收集各组分,挥发除乙醇后冷冻干燥,计算得率并测定各组分的DPPH·清除率。

1.3.5 抗氧化评价方法

用优化后的大孔树脂法分离提取的汉麻籽壳提取物(hempseed hull extract, HHE)需要进行抗氧化评价,确定其抗氧化活性,进而判断本实验对汉麻籽壳中抗氧化多酚的分离提取方式是否有效。

1.3.5.1 对pBR322 DNA链断裂的保护作用

APPH可引发DNA链断裂,利用琼脂糖凝胶电泳即可测定pBR322质粒DNA断裂程度。具体实验方法参考文献^[9]而有所修改:把10 μ L pBR322 DNA

溶液,即含有100ng DNA的PBS(0.01M、pH7.4)溶液,与不同浓度的样品PBS溶液(0.01、0.05、0.10、0.20、0.50、1.0mg/mL)在试管中混合均匀,加入10 μ L AAPH(20mM)后,于37℃下孵育1h。孵育后立即点样电泳。1%琼脂糖以TAE电泳缓冲液配制,80V下电泳15min,于凝胶成像分析系统中观察照相。以芦丁作为对照。

1.3.5.2 对LDL氧化的抑制作用

测定方法参考文献^[10]而有所修改:将低密度脂蛋白用PBS(pH7.4)配制为100 μ g/mL的蛋白溶液。首先测定0.4mL LDL被诱导氧化前后的TBARS含量,再测定不同浓度样品溶液与0.4mL LDL混合,再诱导氧化后的TBARS含量。通过对比不同浓度样品反应后的TBARS含量,即可判断其抗氧化活性。

取0.4mL LDL溶液与不同浓度的样品水溶液(0.01、0.05、0.10、0.15、0.20mg/mL)混合均匀,加入40 μ L CuSO₄(20M),于37℃下孵育4h。再与3mL 0.67%硫代巴比妥酸(TBA)混合,加入1mL 15%的三氯乙酸(TCA),将混合物于沸水浴中保温45min后再冷却至室温。将反应后的溶液于3000r/min转速下离心10min。不添加样品溶液即可测定LDL氧化前后的TBARS含量。TBARS的量以532nm处的吸光值表示。吸光值越高则表明样品抑制LDL氧化的能力越弱。以OPC、ISO和芦丁作为对照。

低密度脂蛋白琼脂糖凝胶电泳方法如下:将20 μ L LDL(0.8mg/mL)与梯度浓度(1.0、0.5、0.2、0.1、0.05和0.01mg/mL)的样品溶液混合,加入10 μ M的CuSO₄,于37℃下孵育12h,加入0.02% BHT终止反应。于0.5%的琼脂糖凝胶上点样,在pH8.6的巴比妥酸缓冲液中进行电泳(30mA,120min)。考马斯亮蓝(R250)染色30min(37℃),用甲醇-醋酸-水溶液(2:3:35,V/V)脱色。

1.3.5.3 对BSA氧化的保护作用

由AAPH诱导牛血清白蛋白(BSA)蛋白质氧化的具体方法如下:用PBS溶液(0.01M,pH7.4)将BSA稀释至3mg/mL,取10 μ L已稀释的BSA溶液与10 μ L不同浓度样品PBS溶液(0.01、0.05、0.10、0.20、0.50、1.0mg/mL)混合,在37℃下保温10min。加入10 μ L的140mM AAPH,氧化反应开始。在37℃下保温24h,加入0.02% BHT,终止反应。通过12%的SDS-PAGE测定其对BSA氧化损伤的保护作用。以芦丁作为对照。

2 结果与分析

2.1 样品液中总酚含量与DPPH·清除率的关系

DPPH·是一种稳定的自由基,可以测定食品中组分的供氢能力,广泛用于体外评价天然产物的抗氧化性,尤其是多酚类物质^[1]。前期的研究结果也发现,汉麻籽壳中的抗氧化物质主要是总酚,而采用 DPPH 法测定抗氧化性的高低与总酚含量呈极显著相关。本研究测定了不同总酚浓度的粗提物对 DPPH·的清除率,利用剂量-效应(Dose-response)模型回归出两者的换算公式:

$$x = -1.30665 - \log(113.04604 / (y - 8.24149) - 1) / 1.58813 \quad (R^2 = 0.99761)$$

其中 x 为 Inc, c 为样品中总酚浓度(mg/mL), y 为 DPPH·清除率(%)。

总酚含量测定耗时较长, DPPH·法测定抗氧化性简便快捷,在测定树脂吸附量时,采用后者不仅可以跟踪组分抗氧化性变化,而且可以利用公式 1 计算总酚含量。

2.2 粗提条件优化

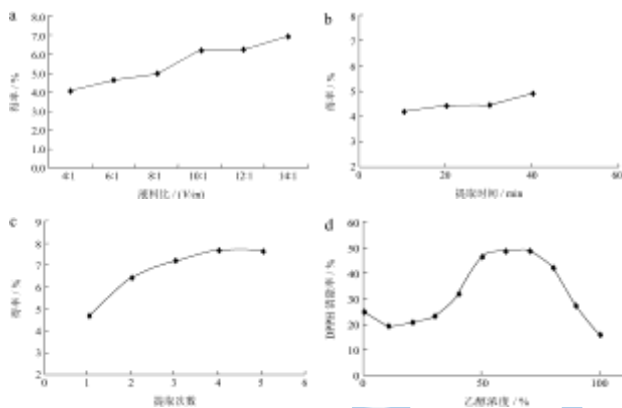


图 1 粗提单因素实验结果

Fig. 1 Results of single factors experiments on extraction

注: a 为液料比(V/W)对提取效果的影响; b 为提取时间对提取效果的影响; c 为提取次数对提取效果的影响; d 为乙醇提取液浓度对提取效果的影响。

汉麻籽壳中抗氧化多酚的提取受各因素的影响如图 1 所示。由图 1a 可知,随着液料比的升高,原料充分分散在提取液中,提取物得率逐渐增大。而当液料比达到 10:1 以后,得率增大的幅度减缓,可见最佳的提取液料比为 10:1,此条件下的得率为 6.24%。由图 1b 可知,随着提取时间的增大,提取物的得率并无明显增大。然而提取时间过长,会使溶液温度升高,进而降低汉麻籽壳中抗氧化成分的活性。故最佳提取时间为 30 min。由图 1c 可知,随着提取次数的增多,提取物的得率在不断增加。当提取 3 次以后,提取物得率增大幅度减缓。实验时间过长会使活性成分氧化而降低活性,故提取次数确定为 3 次。由图 1d 可知,随着提取液浓度增大,提取物的 DPPH·清除率先升高

后降低。70%乙醇溶液的提取物 DPPH·清除率最高,达到 49.01%。但 70%乙醇溶液中除了较高含量的抗氧化成分,还含有较多的叶绿素等杂质,使得后续分离较为繁琐。而 60%乙醇溶液提取物的 DPPH·清除率也高达 48.88%,与 70%乙醇提取液的 DPPH·清除率相差无几,而且并没有明显的叶绿素等杂质。故最佳的提取液为 60%的乙醇溶液。

2.3 大孔树脂提吸附和分离条件优化

2.3.1 大孔树脂的筛选

大孔树脂的吸附性能主要取决于树脂表面与样品的极性,以及树脂的比表面积。实验选取了市售较为常见的树脂类型,包含了从强极性到非极性的 11 种树脂(参数见表 1)。

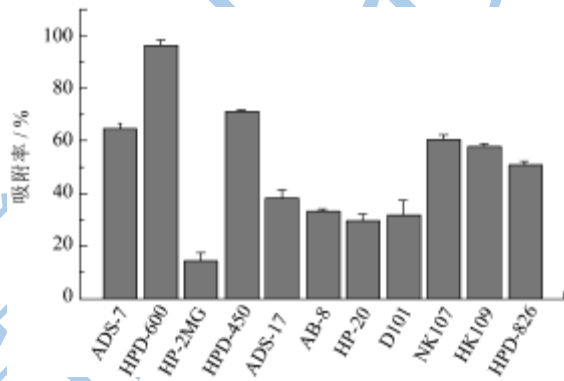


图 2 11 种大孔树脂静态吸附率

Fig.2 Static absorption ratio of 11 kinds of macroporous resin

大孔树脂的筛选以吸附率为指标,结果如图 2 所示。从图 2 可知,不同树脂类型的吸附率存在明显差异,HPD-600 的吸附率最高,达到 96.13%,而 HP-2MG 的吸附率最低,只有 14.46%。HPD-600 是一种极性树脂,说明被吸附物质属于弱极性或者中等极性,可以与该型树脂形成较强的氢键。因此,选用 HPD-600 作为汉麻籽壳抗氧化多酚的吸附树脂。

2.3.2 洗脱液浓度的筛选

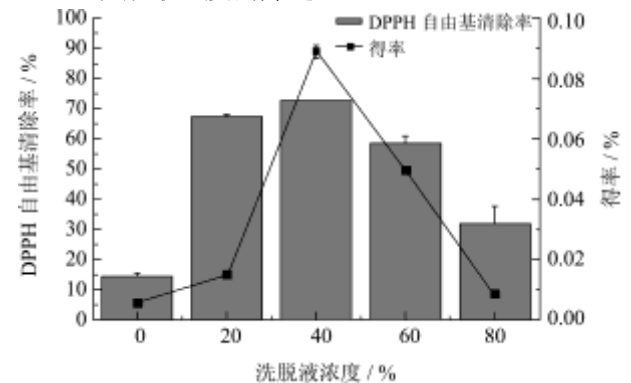


图 3 不同乙醇浓度洗脱物的 DPPH 自由基清除率和得率

Fig.3 DPPH radical scavenging rate and yield of different collections by gradient ethanol elution

动态洗脱采用乙醇梯度洗脱法,乙醇相比其它溶

剂具有较高的安全性，而且价格低廉。采用梯度洗脱可将不同极性的杂质依次除去，达到纯化的目的。本实验依次采用水、20%、40%、60%和 80%乙醇作为洗脱剂，收集每个浓度的洗脱物，干燥后测定得率和 DPPH 自由基清除能力的结果如图 3 所示，从图 3 可见，40%乙醇洗脱物的 DPPH 自由基清除率和得率都是最高的，说明汉麻籽壳中抗氧化多酚主要集中在 40%乙醇洗脱液中。另外，其它浓度的洗脱液中也含有抗氧化活性物质，说明汉麻籽壳提取物中抗氧化活性物质成分较为复杂，但得率较低，因此，最终选择 40%乙醇作为目标物的洗脱剂。

2.4 抗氧化性能评价

2.4.1 对 pBR322 DNA 链断裂的保护作用

DNA 的氧化修饰会导致 DNA 由超螺旋结构变为开环型或开环型变为直线型^[2]，并可能会导致基因突变或恶性转化，进而引起衰老和各种疾病。因此可用 AAPH 诱导 pBR322 质粒 DNA 氧化损伤，根据 DNA 链断裂的不同，判断汉麻籽壳提取物的对 DNA 的保护作用。

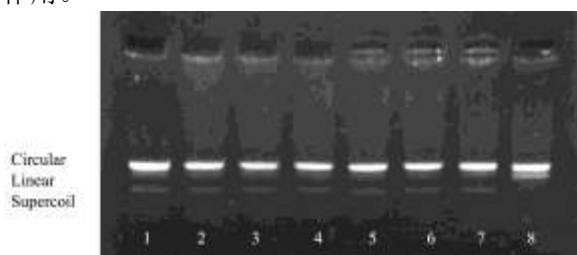


图 4 汉麻籽壳提取物对 pBR322 DNA 氧化损伤的保护作用

Fig.4 Protective activity of HHE against oxidative pBR322 DNA strand breakage by AAPH

注：Line 1: native DNA molecule; line 2: 1.0 mg/mL HHE + AAPH; line 3: 0.5 mg/mL HHE + AAPH; line 4: 0.2 mg/mL HHE + AAPH; line 5: 0.1 mg/mL HHE + AAPH; line 6: 0.05 mg/mL HHE + AAPH; line 7: 0.01 mg/mL HHE + AAPH; line 8: oxidative DNA。

图 4 显示了由 AAPH 引发 pBR322 DNA 断裂后在汉麻籽壳提取物及对照品的保护作用下的 DNA 断裂情况。在电泳图中有三条带：上面的为开环型 DNA；中间的为直线型 DNA；最下面的为超螺旋 DNA。与未氧化的 DNA(1)相比，从 0.01 mg/mL(2)至 1 mg/mL (7) 不同浓度的汉麻籽壳提取物溶液对 DNA 的保护作用并没有明显的差异。这几个浓度的提取物电泳结果都呈现出两个明显的条带，即都没有严重的氧化。然而，没有汉麻籽壳提取物 (8 线) 的对照样品却被严重破坏，由开环型转变为直线型。本实验中并未发现明显的剂量反应，可能是因为提取物的有效浓度较低。由此推测出，对于自由基引起的 DNA 损伤，汉

麻籽壳抗氧化多酚是有效的抗氧化剂。

2.4.2 对 LDL 氧化的抑制作用

LDL 以对身体无害的还原型状态广泛存在于人体血液中。但是，如果机体受到自由基的攻击，LDL 会转化为氧化型低密度脂蛋白 (Ox-LDL)。Ox-LDL 被证明在动脉粥样硬化、心血管疾病 (CVD) 等疾病产生方面有至关重要的作用^[3]。因此补充抗氧化剂，有利于防止心血管疾病。从植物中提取的酚类物质已证明有防止 LDL 氧化的作用。在这项研究中，由 Cu²⁺ 诱导 LDL 生成 TBARS，通过测定 TBARS 的生成量即可判断汉麻籽壳抗氧化多酚对 LDL 的抗氧化作用。

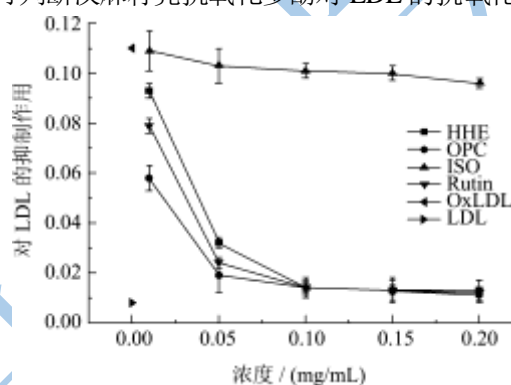


图 5 不同样品对 LDL 氧化的抑制能力

Fig.5 Inhibition of human LDL oxidation induced by Cu²⁺ of HHE compared with that of OPC, ISO, and rutin at different concentrations.

注：The OxLDL means the oxidative LDL without antioxidant and the LDL means the native LDL without oxidation. Values represent the mean ± standard deviation (n = 3)。



图 6 不同样品对 LDL 氧化抑制能力

Fig. 6 Effect of HHE against Cu²⁺ induced human LDL oxidation

注：Line 1: native LDL; line 2: 1.0 mg/mL HHE + 10 μM Cu²⁺; line 3: 0.5 mg/mL HHE + 10 μM Cu²⁺; line 4: 0.2 mg/mL HHE + 10 μM Cu²⁺; line 5: 0.1 mg/mL HHE + 10 μM Cu²⁺; line 6: 0.05 mg/mL HHE + 10 μM Cu²⁺; line 7: 0.01 mg/mL HHE + 10 μM Cu²⁺; line 8: oxidative LDL.

如图 5 所示，纵轴以 532 nm 处吸光值表示 TBARS 的量，横轴是不同浓度的样品及对照品。较低的吸光

值显示了对 LDL 较强的抑制氧化能力。由图可知,除了 ISO 没有明显的抑制作用,其他样品均有效地抑制了 LDL 氧化,并有着很强的剂量-反应关系。汉麻籽壳提取物显示出了和芦丁、OPC 一样强的抑制能力,而且自 0.10 mg/mL 至 0.20 mg/mL 并无显著性差异 ($P<0.05$)。这一结果可能是由于汉麻籽壳抗氧化多酚的金属螯合和自由基清除能力。这意味着,它可以作为一种抗氧化剂使用,防止低密度脂蛋白氧化。

通过琼脂糖凝胶电泳图(图 6)可以看出各样品对 LDL 具有明显的抗氧化活性。从 1.0 mg/mL (2 号样)到 0.01 mg/mL (7 号样),颜色逐渐退去,从而显示出剂量依赖效应,这一点和 TBARS 分析相符。这个结果为汉麻籽壳提取物对 LDL 氧化的抑制能力提供了另一种证据。

2.4.3 对 BSA 氧化的保护作用

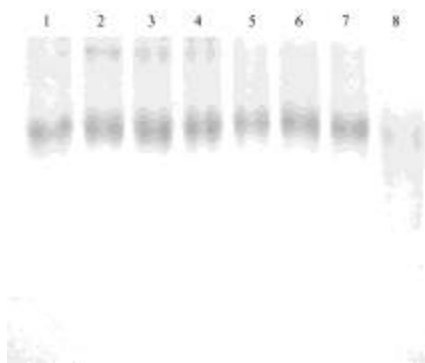


图 7 不同样品对 BSA 的抗氧化作用

Fig.7 Protective activity of HHE against degradation of BSA by AAPH

注: Line 1: native BSA protein; line 2: 1.0 mg/mL HHE + AAPH; line 3: 0.5 mg/mL HHE + AAPH; line 4: 0.2 mg/mL HHE + AAPH; line 5: 0.1 mg/mL HHE + AAPH; line 6: 0.05 mg/mL HHE + AAPH; line 7: 0.01 mg/mL HHE + AAPH; line 8: oxidative BSA.

AAPH, 一种水溶性的引发剂,可以生成烷基自由基,可与氧发生快速反应生产烷基过氧自由基,这种自由基可引发生理温度下蛋白质或 DNA 的氧化损伤。SDS-PAGE 电泳图显示出各样品对由 AAPH 引发的 BSA 氧化损伤的保护作用。结果表明,与天然 BSA (1 号样)和氧化的 BSA (8 号样)相比,不同浓度(1.0 g/mL 至 0.01 mg/mL)的汉麻籽壳提取物均具有很强的抗氧化作用。

3 结论

本研究以提取的活性物质得率为指标,筛选出汉麻籽壳抗氧化多酚提取的最适条为液料比(10:1)、提取时间(30 min)、提取次数(3 次)、提取液(60%乙

醇溶液);以吸附率为指标,从 11 种市售大孔树脂中筛选出 HPD-600 型为最适树脂,该树脂对汉麻籽抗氧化多酚的吸附能力最强。动态吸附和梯度洗脱研究表明,40%乙醇洗脱物的抗氧化能力和得率都最高,为目标产物。对 DNA、LDL、BSA 氧化损伤保护作用的测定结果表明,汉麻籽壳提取物表现出相对较高的抗氧化活性,对大分子物质免受自由基攻击方面有着较强的保护能力。这说明利用 HPD-600 大孔树脂吸附纯化效果明显,是一种简便可行的汉麻籽壳抗氧化多酚的纯化方法。

参考文献

- [1] Pate D W. Advances in Hemp Research [M]. New York: Haworth Press, 1999
- [2] Zhang J C. The comprehensive using technology of China-Hemp [M]. Beijing: Great Wall Publisher, 2006
- [3] 张建春.汉麻籽综合利用加工技术[M].北京:中国轻工业出版社,2010
- [4] 黄克林.世界第五长寿之乡广西巴马长寿因素综合分析[J].广西医学,1993,15(1):17
- [5] Callaway J C. Hempseed as a nutritional resource: an overview [J]. Euphytica, 2004, 140(1, 2): 65-72
- [6] 谢碧秀,孙智达.金银花中主要有机酸的研究进展[J].现代食品科技,2007,23(9):93-97
- [7] Bonoli M, Verardo V, Marconi E, et al. Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: Comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(16): 5195-5200
- [8] 李孟婕,范秀萍,吴红棉,等.翡翠贝糖胺聚糖的体外抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2011,27(7): 759-762
- [9] 杨庆明.大麦及麦芽提取物抗氧化活性研究[D].兰州:西北师范大学,2009
- [10] 王丽丽.紫丁香叶多酚物质的提取及抗氧化性能研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2007
- [11] 王会,郭立,谢文磊.抗氧化剂抗氧化活性的测定方法(一)[J].食品与发酵工业,2006,32(3):92-97
- [12] Wei Q Y, Zhou B, Cai Y J, et al. Synergistic effect of green tea polyphenols with trolox on free radical-induced oxidative DNA damage.[J] Food Chemistry, 2006, 96: 90-95
- [13] Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance [J]. Journal of Biological Chemistry, 1997, 272: 20963-20966

现代食品科技