

不同提取方法的红树莓籽油品质及体外抗氧化活性对比

唐琳琳¹, 桑英¹, 陈思睿¹, 唐莹¹, 冯建文², 孙丽娜³, 王金玲^{1,4}

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040) (2. 呼伦贝尔众合源农业科技有限公司, 内蒙古呼伦贝尔 021000) (3. 大连市现代农业生产发展服务中心, 辽宁大连 116023) (4. 黑龙江省森林食品资源利用重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要: 以红树莓籽为原料, 采用索氏提取、超声提取、高剪切-超声提取法提取红树莓籽油, 比较三种提取方法对红树莓籽油理化性质、脂肪酸组成成分、籽油中 β -谷甾醇和 α -生育酚含量以及体外抗氧化能力的影响, 探究提取的最佳方法。结果表明, 高剪切-超声提取法提取的红树莓籽油酸值、皂化值、过氧化值低, 碘值高, 在红树莓籽油中检测出19种脂肪酸, 占红树莓籽油总成分的98.22%, 其中亚麻酸和亚油酸分别为29.98%和48.07%; 索氏提取法提取的红树莓籽油中 β -谷甾醇和 α -生育酚含量高, 分别为97.37 mg/100 g和18.88 mg/100 g, 对ABTS自由基的清除作用最强, 与超声提取和高剪切-超声提取法有极显著性差异; 超声提取法提取的红树莓籽油对DPPH自由基清除作用最强, 只与高剪切-超声提取法有显著性差异。综合考虑, 采用高剪切-超声提取法提取红树莓籽油, 籽油品质好, 活性成分丰富, 且具有一定抗氧化活性。

关键词: 提取方法; 红树莓籽油; 体外抗氧化

文章编号: 1673-9078(2020)03-80-88

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.3.011

Comparison of Antioxidant Activity and Quality of Red Raspberry Seed Oil Extracted by Different Methods

TANG Lin-lin¹, SANG Ying¹, CHEN Si-rui¹, TANG Ying¹, FENG Jian-wen², SUN Li-na³, WANG Jin-ling^{1,4}

(1.School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

(2.Hulunbair Zhongheyuan Agricultural Technology Co. Ltd., Hulunbair 021000, China)

(3.Dalian Modern Agricultural Production and Development Service Center, Dalian 116023, China)

(4.Key Laboratory of Forest Food Resources Utilization of Heilongjiang Province, Harbin 150040, China)

Abstract: Red raspberry seed was used as raw material to extract red raspberry seed oil by soxhlet extraction, ultrasonic extraction and high-speed shear-ultrasonic extraction. The effects of three extraction methods on the physical and chemical properties of red raspberry seed oil, fatty acid composition, β -sitosterol and α -tocopherol content in seed oil and antioxidant capacity *in vitro* were investigated to optimize the best extraction condition. The results showed that, compared to the other methods, red raspberry seed oil extracted by the high-speed shear-ultrasonic method had low acid value, low saponification value, low peroxide value and high iodine value. The 19 fatty acids were detected in red raspberry seed oil, accounting for 98.22% of the total composition of red raspberry seed oil, of which linolenic acid was 29.98% and linoleic acid was 48.07%. The content of β -sitosterol and α -tocopherol in red raspberry seed oil extracted by soxhlet extraction were 97.37 mg/100 g and 18.88 mg/100 g, respectively. The red raspberry seed oil extracted by soxhlet extraction had the strongest scavenging effect on ABTS free radical.

唐琳琳, 桑英, 陈思睿, 等. 不同提取方法的红树莓籽油品质及体外抗氧化活性对比[J]. 现代食品科技, 2020, 36(3): 80-88

TANG Lin-lin, SANG Ying, CHEN Si-rui, et al. Comparison of antioxidant activity and quality of red raspberry seed oil extracted by different methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(3): 80-88

收稿日期: 2019-09-26

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目(2572018BA07); 哈尔滨市应用技术与开发项目(2017RAYXJ012)

作者简介: 唐琳琳(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 王金玲(1975-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 生物活性物质

radicals. There was a significant difference between soxhlet extraction and the other methods. The red raspberry seed oil extracted by ultrasonic extraction had the strongest scavenging effect on DPPH free radicals. There was a significant difference between ultrasonic extraction and high shear-ultrasonic extraction. In conclusion, the high-speed shear-ultrasonic extraction method could be used to extract red raspberry seed oil, which has good quality, rich active ingredients and certain antioxidant activity.

Key words: extraction method; red raspberry seed oil; antioxidant *in vitro*

红树莓(*Rubus idaeus* L.)属蔷薇科悬钩子属^[1],又名覆盆子、托盘等^[2],广泛种植在温带地区^[3]。红树莓因具有较高的药用价值及保健作用^[4],被誉为“黄金水果”^[5]。在过去的十年里,红树莓的消费量在美国、英国等国家急剧增加,仅在英国消费量就增长了132%^[6]。红树莓成熟后柔软多汁,不宜贮藏^[7],据统计95%以上的红树莓果实用于加工成果汁、果酒等^[8]。红树莓果籽作为加工副产物没有得到充分的利用,只有少部分用做膳食纤维的研究^[9],但是树莓果籽中的脂肪含量约为20%。植物油提取方法普遍采用机械压榨法、溶剂浸提法等,存在提取率低、操作复杂等缺点,选择简单、高效的提取方法为植物油后续研究做铺垫。迟超^[10]等对红树莓籽脂肪酸进行研究,发现红树莓籽油中主要成分为亚油酸、亚麻酸、油酸等。旷慧^[8]等对6种东北地区红树莓果渣提取物抗氧化活性进行研究,发现红树莓加工后的果渣提取物其抗氧化活性与总酚、总黄酮、原花青素、花色苷相关,DPPH自由基清除率与原花青素、花色苷含量相关性较大,ABTS自由基清除率与总酚和总黄酮含量相关性较大。据文献报道,由于籽油的提取方法^[11]、原料品种^[12]、产地^[13]、采收季节^[14]以及其他因素的影响,导致籽油理化性质、脂肪酸成分和含量也不尽相同。

目前,国内外主要单独从理化指标、脂肪酸组成成分、抗氧化方面对红树莓籽油进行研究,对提取方法对红树莓籽油品质、组成成分及体外抗氧化能力的影响分析较少。本试验探讨了索氏提取、超声提取、高剪切-超声提取法对红树莓籽油品质、组成成分及体外抗氧化活性的影响。确定红树莓籽油的最佳提取方法,为红树莓籽的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

红树莓(秋福),采自黑龙江省尚志市,速冻处理后运回东北林业大学食品科学与工程实验室冻藏;噻唑兰(3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide),美国 Amresco 公司; β -谷甾醇标品、 α -生育酚标品,上海源叶生物科技有限公司;其他试剂均

为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备

DK-S 电热恒温水浴锅,上海森信试验仪器有限公司;KQ-300DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;FA25 型高剪切分散乳化机,上海弗鲁克流体机械制造有限公司;RE-2000A 旋转蒸发器、SHZ-D(III)循环水式真空泵,巩义市予华仪器有限责任公司;Agilent GC 6890-MS 5973N 型气相色谱-质谱联用仪、Agilent1200 型高效液相色谱(配紫外检测器),美国安捷伦科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 红树莓籽制备

将红树莓冻果于室温解冻,用榨汁机将红树莓破碎榨汁,8层纱布过滤后将红树莓果渣置于20目筛中用清水冲洗至剩余红树莓籽,置于37℃烘箱中干燥10h,即得红树莓籽。

1.3.2 红树莓籽油的提取

索氏提取法:单因素试验中,考察粉碎度(20、40、60、80、100目),料液比(1:5、1:10、1:15、1:20、1:25 g/mL),提取温度(70、80、90、100℃)提取时间(0.5、1、1.5、2、2.5 h),对红树莓籽油得率的影响。固定条件为:粉碎度40目,料液比1:10 g/mL,提取温度80℃提取时间1 h。通过单因素试验和正交试验,以籽油得率确定索氏提取法的最佳工艺条件为:提取溶剂为正己烷,红树莓籽粉碎度为80目,料液比1:15 g/mL,提取温度70℃提取时间2 h。

超声提取法:在张佰清^[15]方法的基础上进行试验,对红树莓籽粉碎度再加摸索。考察粉碎度(20、40、60、80、100目)对红树莓籽油得率的影响。以籽油得率确定超声提取法的最佳工艺条件为:提取溶剂为正己烷,红树莓籽粉碎度为80目,料液比1:11 g/mL,超声温度30℃超声时间25 min,超声功率100 W。

高剪切-超声提取法:单因素试验中,考察粉碎度(20、40、60、80、100目),料液比(1:5、1:10、1:15、1:20、1:25 g/mL),超声温度(30、35、40、45、50℃)超声时间(5、10、15、20、25 min),高剪切速率(12000、15000、18000、21000、24000 r/min)对红树莓籽油得

率的影响。固定条件为: 粉碎度 40 目, 料液比 1:10 g/mL, 提取温度 35 °C, 提取时间 15 min, 超声功率 300 W, 高剪切速率 12000 r/min。通过单因素试验和正交试验, 以籽油得率确定高剪切-超声提取法的最佳工艺条件为: 提取溶剂为正己烷, 红树莓籽粉碎度为 100 目, 料液比 1:15 g/mL, 提取温度 45 °C, 在超声波中间歇性的高剪切(启动高剪切 10 s, 暂停 20 s 为一个周期)提取 20 min, 高剪切速率 15000 r/min。

1.3.3 红树莓籽油理化指标分析

酸值: 参考 GB 5009.229-2016 方法; 皂化值: 参考 GB/T 5534-2008 方法; 过氧化值: 参考 GB 5009.227-2016 方法; 碘值: 参考 GB/T 5532-2008 方法。

1.3.4 脂肪酸成分分析

1.3.4.1 脂肪酸的甲酯化

参考李梅青^[16]的方法略有修改, 取红树莓籽油 300 μ L, 置于 100 mL 容量瓶, 加入 10 mL 正己烷, 轻轻摇动使之溶解。再加入 10 mL 0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液, 摇匀, 室温静置 30 min, 加蒸馏水至刻度线, 静置分层, 取上层有机相清液, 加无水硫酸钠干燥, 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤后用于气相色谱-质谱联用仪分析。

1.3.4.2 GC/MS 分析

色谱条件: 色谱柱为 DB-5 (60 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m film thickness, J&W Sci. USA)。进样口温度 250 °C, 载气 He, 流速 1.0 mL/min。采用程序升温方式, 由室温升至 140 °C 保持 5 min, 然后以 2.5 °C/min 升至 240 °C, 在此温度下保持 5 min。分流进样, 分流比 50:1。进样量 1 μ L。溶剂延迟 5 min。

质谱条件: MS 离子源在 225 °C 扫描, 电离方式: EI, 电子能量 70 eV; 扫描质量范围: 50~500 amu。

结果分析: 经计算机质谱数据库(NIST02.L)检索, 与标准谱图对照、比较, 确认红树莓籽油的化学成分, 并按峰面积归一化计算各峰面积的相对百分含量, 结果以图表表示。

1.3.5 红树莓籽油中 β -谷甾醇、 α -生育酚含量的测定

1.3.5.1 外标法标准溶液的配制

准确称取 20 mg β -谷甾醇标品、8 mg α -生育酚标品, 分别用甲醇定容于 10 mL 容量瓶中, 分别配制成 2 mg/mL β -谷甾醇标品、0.8 mg/mL α -生育酚标品标准溶液。以此为母液, 稀释梯度为 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mg/mL β -谷甾醇标品标准溶液和 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 mg/mL α -生育酚标品标准溶液, 以标准浓度为对照计算红树莓籽油中目标物质的浓度。

1.3.5.2 红树莓籽油样品前处理

参考李龙英^[17]的方法略有修改, 准确称取 3 g 红树莓籽油加入 50 mL, 1 mol/L 氢氧化钾甲醇溶液于 250 mL 圆底烧瓶中, 85 °C 水浴回流 2 h, 停止加热。冷却至室温, 加 30 mL 蒸馏水, 将皂化液置于分液漏斗中。分别用 50 mL 石油醚萃取两次, 收集有机相。用蒸馏水洗至中性, 加无水硫酸钠干燥, 将溶液进行真空旋转蒸发, 直至质量恒重。将残留物用甲醇定容于 5 mL 容量瓶中。用 0.45 μ m 滤膜过滤进高效液相。

1.3.5.3 色谱条件

参考林树真^[18]等人的方法略有修改, 色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈(3.0 mm \times 50 mm, 1.8 μ m), 流动相为 100% 甲醇, 等度洗脱, 流速 0.7 mL/min, 柱温 37 °C, 检测波长: 205 nm。

1.3.6 红树莓籽油体外抗氧化活性分析

1.3.6.1 红树莓籽油对 DPPH 自由基清除作用

参考常晨^[19]等人的方法略有修改, 以无水乙醇为溶剂, 测定红树莓籽油和 VE 质量浓度梯度为 5、10、15、20、25、30 mg/mL 时清除 DPPH 自由基清除能力, 按公式(1)计算清除率。并求出 DPPH 自由基清除率为 50% 时, 所需的样品质量浓度, 即 IC₅₀。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_i 为样品与 DPPH 自由基混合溶液的吸光度; A_j 为样品与无水乙醇混合溶液的吸光度; A_0 为无水乙醇与 DPPH 自由基混合溶液的吸光度。

1.3.6.2 红树莓籽油对 ABTS 自由基清除作用

参考王芳^[20]等人的方法略有修改, 以无水乙醇为溶剂, 测定红树莓籽油和 VE 质量浓度梯度为 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55 mg/mL 时清除 ABTS 自由基清除能力, 按公式(1)计算清除率。并求出 ABTS 自由基清除率为 50% 时, 所需样品质量浓度, 即 IC₅₀。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_i 为样品与 ABTS 自由基混合溶液的吸光度; A_j 为样品与无水乙醇混合溶液的吸光度; A_0 为无水乙醇与 ABTS 自由基混合溶液的吸光度。

1.4 数据处理与分析

每个处理进行平行 3 次试验, 结果表示为平均值 \pm 标准差。采用 Origin、SPSS 软件对数据进行处理与分析。

2 结果与讨论

2.1 红树莓籽油理化指标分析

表 1 红树莓籽油理化指标分析

项目	索氏提取法	超声提取法	高剪切-超声提取法
籽油得率/(g/100 g)	19.96±0.52 ^{Bb}	20.34±0.32 ^{Bb}	23.24±0.49 ^{Aa}
酸值/(mg/g)	3.89±0.05 ^{Aa}	3.57±0.23 ^{Aa}	3.02±0.18 ^{Bb}
碘值/(g/100 g)	134.96±0.48 ^{Bb}	135.61±0.34 ^{Bb}	137.40±0.57 ^{Aa}
过氧化值/(mmol/kg)	0.25±0.01 ^{Aa}	0.18±0.02 ^{Bb}	0.10±0.02 ^{Cc}
皂化值/(mg/g)	127.47±1.56 ^{Aa}	121.98±1.32 ^{Bb}	121.58±0.60 ^{Bb}

注：同行大写字母不同表示极显著性差异($p < 0.01$)，小写字母不同表示显著性差异($p < 0.05$)。表 3~5 同。

红树莓籽油理化指标分析见表 1。

三种提取方法的红树莓籽油得率在 19.96~23.24 g/100 g 之间，高剪切-超声提取法的得率最高且与其他两种方法有极显著性差异。三种提取方法的红树莓籽油酸值在 3.02~3.89 mg/g 之间，碘值在 134.96~137.40 g/100 g 之间。索氏提取法与超声提取法的酸值和碘值没有显著性差异，但与高剪切-超声提取法的酸值和碘值有极显著性差异。三种提取方法的红树莓籽油过氧化值在 0.10~0.25 mmol/kg 之间，高剪切-超声提取的红树莓籽油过氧化值低于索氏提取法和超声提取法，且有极显著性差异。三种提取方法的红树莓籽油皂化值在 121.58~127.47 mg/g 之间，超声提取法与高剪切-超声提取法没有显著性差异，但与索氏提取法有极显著性差异。Zhou^[21]等研究不同提取方法对杏仁油品质的影响，结果表明 120 °C 热压提取法与 40 °C 冷压提取法相比，120 °C 热压提取法的酸值高且具有显著性差异，过氧化值高但无显著性差异。Sunmonu^[22]等研究浸提法和索氏提取法对两种南瓜籽油理化性质的影响，结果表明索氏提取法比浸提法的过氧化值、皂化值低，碘值高，理化性质与提取方法关系较大，与原料品种关系较小。

2.2 红树莓籽油脂肪酸成分分析

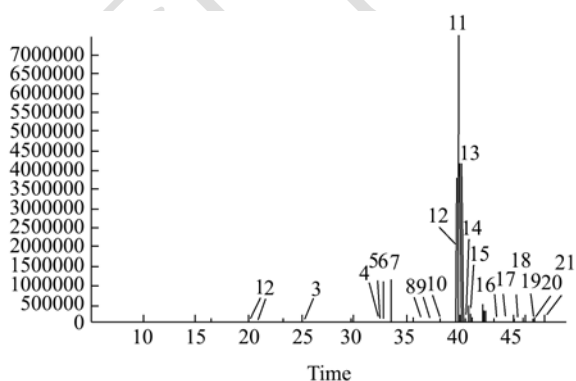


图 1 红树莓籽油脂肪酸甲酯总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of fatty acid methyl ester of red raspberry seed oil

三种提取方法的红树莓籽油甲酯化后经气相色谱

质谱分析，以高剪切-超声提取法为例，脂肪酸甲酯的总离子流图如图 1 所示。

经计算机质谱数据库(NIST02.L)检索，与标准谱图进行对照和比较，确认了三种提取方法的红树莓籽油的化学成分，并按峰面积归一化计算各峰面积的相对百分含量，结果见表 2。

由表 2 可知，三种提取方法的红树莓籽油共检测出 21 种脂肪酸。总脂肪酸占红树莓籽油总成份的 95.23~98.22%。其中饱和脂肪酸有 6 种，占总脂肪酸的 3.78~3.98%，不饱和脂肪酸有 15 种，占总脂肪酸的 89.05~90.49%。饱和脂肪酸中主要含有软脂酸 2.14~2.19%、硬脂酸 1.09~1.10%和花生酸 0.44~0.52%。不饱和脂肪酸中主要含有油酸 11.50~12.55%、亚油酸 47.92~48.07%和亚麻酸 29.56~29.98%。Teng^[23]采用微波辅助萃取法提取韩国红树莓籽油，共检测出 20 种脂肪酸，饱和脂肪酸有 11 种占总脂肪酸的 2.74%，其中以硬脂酸 1.28%、花生酸 0.58%和 3-羟基硬脂酸 0.33%为主。不饱和脂肪酸有 9 种占总脂肪酸的 92.88%，其中以亚油酸 60.66%和亚麻酸 31.04%为主。与本实验结果相比，饱和脂肪酸含量较低，不饱和脂肪酸含量较高，但不饱和脂肪酸中未检测出油酸。这可能与品种、生长区域、提取工艺等相关。

三种提取方法中，索氏提取法总脂肪酸占红树莓籽油总成分较低，可能索氏提取法温度较高，使小分子物质的结构遭到破坏^[24]。索氏提取法检测到木蜡酸，高剪切-超声提取法检测到 7-十六烯酸、14-甲基十六烷酸、10-甲基十八烷酸、2-十一烷基环丙烷戊酸和 7,10,13-十六碳三烯酸，超声提取法没有检测到上述几种脂肪酸。迟超^[10]采用超声提取法测定五种红树莓籽油脂肪酸也没有检测到上述几种脂肪酸。这可能与提取方法不同相关，这些脂肪酸是否为不同提取方法提取红树莓籽油所特有的，需要进一步实验验证。

红树莓籽油中亚油酸、亚麻酸含量丰富，分别占总脂肪酸的 47.92%~48.07%、29.56%~29.98%。亚油酸是结构脂质和细胞膜合成的主要组成部分，并且可能与预防某些慢性疾病如心血管疾病、炎症性疾病相

关^[24]。亚麻酸是所有 ω -3多不饱和脂肪酸的前体物质,可在人体合成二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic Acid, EPA)和二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic Acid, DHA)^[25]。富含亚麻酸的亚麻籽油能够加速脂肪氧化的同时降低脂肪的生成,降低TG和LDL-C含量^[26]。三种提取方法的红树莓籽油中亚油酸(ω -6)与亚麻酸

(ω -3)的比值为1.60-1.62。英国卫生部建议理想的 ω -6/ ω -3比率最大为4.0^[27]。较低的 ω -6/ ω -3比率可以更好地减缓癌症的发展,降低心血管疾病的风险,并改善骨骼健康^[28]。Artemis^[29]研究表明 ω -6/ ω -3的比值与体重增加有关,降低比值可以预防超重和肥胖。

表2 红树莓籽油脂肪酸成分分析

Table 2 Analysis of fatty acid composition of red raspberry seed oil

序号	RT/min	化合物名称	相对含量/%		
			索氏提取法	超声提取法	高剪切-超声提取法
1	20.28	15-甲基-11-十六碳烯酸甲酯(C16:1)	0.16	0.14	-
2	20.90	14-甲基十六烷酸甲酯(C16:0)	-	-	0.07
3	25.54	十四烷酸(豆蔻酸)甲酯(C14:0)	-	0.02	0.02
4	32.56	9-十六碳烯酸(棕榈油酸)甲酯(C16:1)	0.07	0.06	0.03
5	32.73	十六烷酸(棕榈酸/软脂酸)甲酯(C16:0)	2.19	2.15	2.14
6	32.74	7-十六烯酸甲酯(C17:1)	-	-	0.10
7	33.53	14-甲基十五烷酸甲酯(C15:0)	-	2.52	2.89
8	36.46	2-己基环丙烷辛酸甲酯(C19:1)	0.13	-	0.15
9	37.33	十七烷酸甲酯(C17:0)	0.06	0.07	0.08
10	38.19	3-羟基十八烷酸甲酯(C18:0)	0.19	0.43	0.08
11	40.14	9,12-十八碳二烯酸(亚油酸)甲酯(C18:2)	47.92	47.93	48.07
12	40.31	9-十八碳烯酸(油酸)甲酯(C18:1)	12.55	11.50	12.33
13	40.39	9,12,15-十八碳三烯酸(亚麻酸)甲酯(C18:3)	29.95	29.56	29.98
14	40.64	7,10,13-十六碳三烯酸甲酯(C16:3)	-	-	0.20
15	41.02	十八烷酸(硬脂酸)甲酯(C18:0)	1.10	1.10	1.09
16	43.60	2-十一烷基环丙烷戊酸甲酯(C19:1)	-	-	0.08
17	44.52	10-甲基十八烷酸甲酯(C18:0)	-	-	0.02
18	45.70	二十四烷酸(木蜡酸)甲酯(C24:0)	0.14	-	-
19	47.04	10,13-二十碳二烯酸甲酯(C20:2)	-	0.15	0.09
20	47.20	11-二十碳烯酸甲酯(C20:1)	0.28	0.32	0.28
21	48.17	二十烷酸(花生酸)甲酯(C20:0)	0.49	0.44	0.52
饱和脂肪酸			3.98	3.78	3.85
不饱和脂肪酸			90.49	89.05	90.41
单不饱和脂肪酸			12.62	11.56	12.36
多不饱和脂肪酸			77.87	77.49	78.05
总脂肪酸			95.23	96.39	98.22
ω -6/ ω -3			1.60	1.62	1.60

注: -表示未检测到。

2.3 红树莓籽油中 β -谷甾醇、 α -生育酚含量测定

定

β -谷甾醇标品、 α -生育酚标品和红树莓籽油样品色谱图如图2,红树莓籽油色谱图以高剪切-超声提取法为例,三种提取方法的红树莓籽油中 β -谷甾醇、 α -

生育酚含量结果见表3所示。

通过 β -谷甾醇、 α -生育酚标品色谱图,与红树莓籽油样品色谱图进行比对。由表3可知,对于 β -谷甾醇和 α -生育酚,索氏提取法可以得到最高含量,且与其他两种方法有极显著性差异,这可能是由于适当的热处理能促进甾醇的溶出^[30]。陶冶^[31]等采用索氏提取和超声提取法提取酸枣仁油,测定 γ -生育酚含量,结

果表明索氏提取法提取的酸枣仁油中 γ -生育酚含量高于超声提取法, 这与本试验结果相同。Yuan^[32]等通过 HPLC 方法对四种常见植物油中植物甾醇(β -谷甾醇和豆甾醇)和总生育酚(α -、(β + γ)-和 δ -生育酚)含量进行测

定, 结果表明山茶籽油和大豆油中 β -谷甾醇含量分别为 69.46、106.70 mg/100 g, 玉米油、橄榄油和大豆油中 α -生育酚含量分别为 10.87、11.54、14.06 mg/100 g, 与本文中含量相近。

表 3 三种提取方法的红树莓籽油中 β -谷甾醇、 α -生育酚含量

Table 3 Contents of β -sitosterol and α -tocopherol in red raspberry seed oil by three extraction methods

项目	RT/min	标准曲线	索氏提取法	超声提取法	高剪切-超声提取法
β -谷甾醇/(mg/100 g)	23.398	$y=5363.5992x-68.9793$ $R^2=0.9993$	97.37 ± 0.38^{Aa}	78.29 ± 0.85^{Cc}	84.65 ± 0.95^{Bb}
α -生育酚/(mg/100 g)	14.263	$y=14376x-10.648$ $R^2=0.9985$	18.88 ± 0.05^{Aa}	13.97 ± 0.44^{Bc}	14.98 ± 0.13^{Bb}

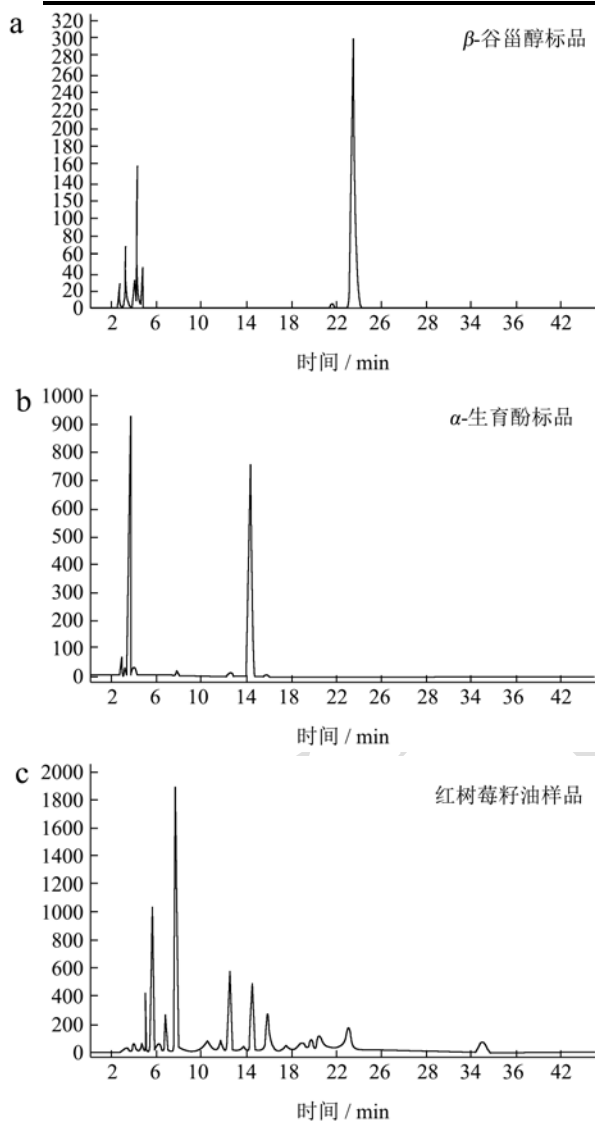


图 2 β -谷甾醇标品、 α -生育酚标品、红树莓籽油样品色谱
Fig.2 Chromatogram of β -sitosterol, α -tocopherol, and red raspberry seed oil samples

2.4 红树莓籽油体外抗氧化活性分析

2.4.1 红树莓籽油对 DPPH 自由基清除作用

红树莓籽油和 VE 对 DPPH 自由基清除作用如图 3 所示。

由图 3 可知, 三种提取方法的红树莓籽油对 DPPH

自由基清除率随红树莓籽油质量浓度的增加而增大, 且均能达到 90% 以上。三种提取方法的红树莓籽油 DPPH 自由基清除能力的 IC_{50} 值由大到小为: 高剪切超声提取 7.18 mg/mL>VE 6.49 mg/mL>索氏提取 6.21 mg/mL>超声提取 5.80 mg/mL。三种提取方法中, 超声提取法对 DPPH 自由基清除作用最强, 和索氏提取法相比没有显著性差异, 但与高剪切-超声提取法相比有显著性差异。不同提取方法的红树莓籽油抗氧化能力存在差异, 这可能与籽油中脂肪酸、脂溶性维生素等成分相关。张思桐^[33]等人通过对不同品系红松籽油脂肪酸分析及其抗氧化活性进行研究, 结果表明, 不同品种松籽油的脂肪酸含量与抗氧化活性存在复杂的正负相关性。

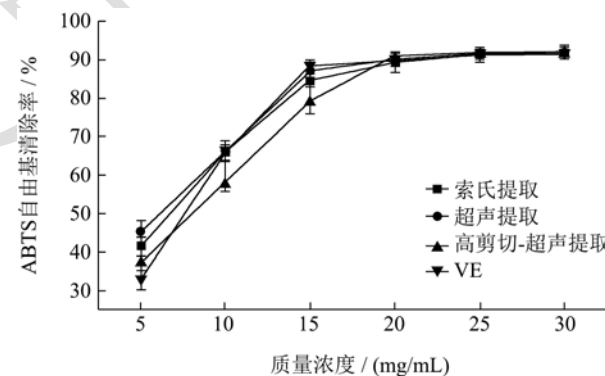


图 3 红树莓籽油和 VE 对 DPPH 自由基清除作用

Fig.3 DPPH radical scavenging capacity of red raspberry seed oil seed oil and VE

表 4 三种提取方法的红树莓籽油和 VE 对 DPPH 自由基清除能力的 IC_{50} 值

Table 4 IC_{50} values of red raspberry seed oil and VE on DPPH free radical scavenging ability by three extraction methods

项目	索氏提取	超声提取	高剪切-超声提取	VE
$IC_{50}/(mg/mL)$	6.23 ± 0.35^{Bb}	5.80 ± 0.36^{Ab}	7.18 ± 0.41^{Aa}	6.95 ± 0.32^{Aa}

2.4.2 红树莓籽油对 ABTS 自由基清除作用

红树莓籽油和 VE 对 ABTS 自由基清除作用如图 4 所示。

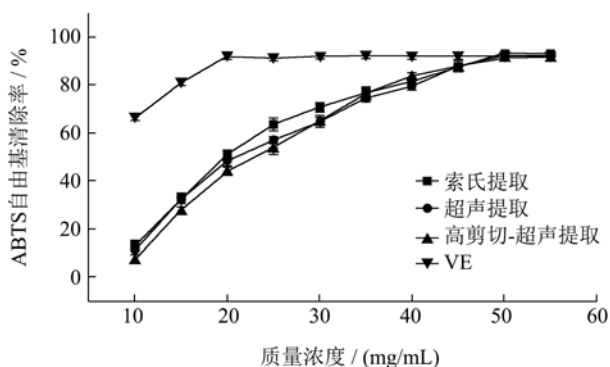


图4 红树莓籽油和VE对ABTS自由基清除作用

Fig.4 DPPH radical scavenging capacity of red raspberry seed oil seed oil and VE

由图4可知,三种提取方法的红树莓籽油对DPPH自由基清除率随红树莓籽油质量浓度的增加而增大,且均能达到90%以上。三种提取方法的红树莓籽油ABTS自由基清除能力的IC₅₀值由大到小为:高剪切-超声提取22.68 mg/mL>超声提取21.66 mg/mL>索氏提取20.41 mg/mL>VE 4.26 mg/mL。三种提取方法中,索氏提取法对ABTS自由基的清除作用最强,与超声提取法、高剪切超声提取法相比有极显著性差异。这与红树莓籽油DPPH自由基清除能力的IC₅₀趋势不同,这可能是因为ABTS自由基清除能力测定的是电子和质子转移的双重能力,能反应籽油的总抗氧化能力^[30]。徐广新^[34]通过对松籽油极性提取物DPPH、ABTS自由基清除率进行测定,结果显示提取物对DPPH、ABTS自由基清除率结果不完全一致。

表5 三种提取方法的红树莓籽油和VE对ABTS自由基清除能力的IC₅₀值

Table 5 IC₅₀ values of red raspberry seed oil and VE on ABTS free radical scavenging ability by three extraction methods

项目	索氏提取	超声提取	高剪切-超声提取	VE
IC ₅₀ / (mg/mL)	20.41±0.27 ^{Bc}	21.66±0.57 ^{Ab}	22.69±0.58 ^{Aa}	4.26±0.27 ^{Cd}

3 结论

3.1 本试验比较了索氏提取、超声提取、高剪切-超声提取法三种方法提取的红树莓籽油的理化性质、脂肪酸组成成分、籽油中β-谷甾醇和α-生育酚含量,以及体外抗氧化活性。高剪切-超声提取法提取的红树莓籽油品质好,脂肪酸种类多,含量高。索氏提取法提取的红树莓籽油中β-谷甾醇和α-生育酚含量高,且对ABTS自由基清除作用强。超声提取法对DPPH自由基清除作用强。综合考虑,高剪切-超声提取法提取的红树莓籽油提取时间短,得率高,酸值、过氧化值、

皂化值低,碘值高,检测出的脂肪酸种类多,含量高;籽油中β-谷甾醇、α-生育酚也能较好的得到保留,高质量浓度下抗氧化活性与最佳提取方法相同,因此选用高剪切-超声提取法提取红树莓籽油。

3.2 索氏提取法利用油脂与有机溶剂相似相溶原理达到油脂提取目的。超声提取法利用超声波的空化效应,促进了油脂在溶剂中扩散达到油脂提取目的^[35]。高剪切-超声提取法是通过物料的高速剪切和超声波产生的强烈振动、空化效应的作用从而彻底破坏细胞壁,大大加强溶剂与物料的接触面积,对油脂进行提取^[11]。高剪切-超声提取法较单一超声提取法相比,籽油得率高、品质好,总脂肪酸含量高且脂肪酸种类多,籽油中β-谷甾醇和α-生育酚含量高,在高质量浓度下抗氧化能力与超声提取相同。

3.3 综上所述,不同提取方法对红树莓籽油品质及体外抗氧化活性有一定影响。高剪切-超声提取法可以高效地提取红树莓籽油且籽油品质好,活性成分丰富,具有一定抗氧化活性。选取合适的方法提取红树莓籽油为红树莓籽的精深加工,提供理论依据,也对其他植物油提取提供一条新思路。

参考文献

- [1] 迟超,杨宪东,孙琪,等.不同品种红树莓果籽营养成分分析[J].食品与发酵工业,2017,43(12):218-223
CHI Chao, YANG Xian-dong, SUN Qi, et al. Assessment of nutritional components in five cultivars of red raspberry seeds [J]. Food and Fermentation Industry, 2017, 43(12): 218-223
- [2] 刘畅,张海华,柴洋洋,等.红树莓提取物降低油酸诱导HepG2细胞脂肪的积累[J].现代食品科技,2019,35(2):24-31,178
LIU Chang, ZHANG Hai-hua, CHAI Yang-yang, et al. Effect of raspberry extract on reduceing oleic acid-induced fat accumulation in HepG2 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(2): 24-31, 178
- [3] Giuffere A M, Louadj L, Rizzo P, et al. Packaging and storage condition affect the physicochemical properties of red raspberries (*Rubus idaeus* L cv Erika) [J]. Food Control, 2019, 97: 105-113
- [4] 李艳霞,邓纪峰.树莓在我国的引种栽培、繁殖研究[J].中国林副特产,2017,1:56-59
LI Yan-xia, DENG Ji-feng. Study on the cultivation and breeding of *Rubus corchorifolius* in China [J]. Forest by-Product and Speciality in China, 2017, 1: 56-59
- [5] Teng H, Fang T, Lin Q, et al. Red raspberry and its anthocyanins: Bioactivity beyond antioxidant capacity [J].

- Trends in Food Science & Technology, 2017, 66: 153-165
- [6] Giongo L, Ajelli M, Poncetta P, et al. Raspberry texture mechanical profiling during fruit ripening and storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 149: 177-186
- [7] 饶炎炎,唐琳琳,陈思睿,等.红树莓果酒发酵过程中功效成分、香气物质及体外降血糖功效的动态变化[J/OL].食品科学:1-14[2019-09-24].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20190710.0950.024.html>
- RAO Yan-yan, TANG Lin-lin, CHEN Si-ru, et al. Dynamic changes of aroma and functional components of red raspberry wine during fermentation and its hypoglycemic effect *in vitro* [J/OL]. Food Science: 1-14[2019-09-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20190710.0950.024.html>
- [8] 旷慧,王金玲,姚丽敏,等.6种东北地区红树莓果渣提取物的抗氧化活性差异[J].食品科学,2016,37(1):63-68
- KUANG Hui, WANG Jin-ling, YAO Li-min, et al. Antioxidant capacities of six varieties of red raspberry pomace extracts in northeast China [J]. Food Science, 2016, 37(1): 63-68
- [9] Kosmala M, Zdunczyk Z, Juskiewicz J. et al. Chemical composition of defatted strawberry and raspberry seeds and the effect of these dietary ingredients on polyphenol metabolites, intestinal function, and selected serum parameters in rats [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(11): 2989-2996
- [10] 迟超,杨宪东,王萍,等.不同品种红树莓籽油理化性质及脂肪酸组成比较[J].中国粮油学报,2018,33(2):36-43
- CHI Chao, YANG Xian-dong, WANG Ping, et al. Physicochemical properties and fatty acid compositions analysis of red raspberry seed oil from five cultivars [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2018, 33(2): 36-43
- [11] 夏欣欣.山葡萄籽油高速均质-超声一体化提取及其质量评估[D].哈尔滨:东北林业大学,2016
- XIA Xin-xin. An integrated ultrasonic-assisted ultra-turrax homogenization extraction of oil from *Vitis Amurensis Rupr* seeds and evaluation of its quality [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2016
- [12] Li S S, Yuan R Y, Chen L G, et al. Systematic qualitative and quantitative assessment of fatty acids in the seeds of 60 tree peony (*Paeonia section Moutan* DC.) cultivars by GC-MS [J]. Food Chemistry, 2015, 173: 133-140
- [13] Torres-Moreno M, Trrescasana E, Salas-Salvado J, et al. Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions [J]. Food Chemistry, 2015, 166: 125-132
- [14] Matthaus B, Ozcan M M, Al Juhaimi F. Fatty acid composition and tocopherol content of the kernel oil from apricot varieties (*Hasanbey*, *Hacihaliloglu*, *Kabaasi* and *Soganci*) collected at different harvest times [J]. European Food Research and Technology, 2016, 242(2): 221-226
- [15] 张佰清,公谱.超声波辅助提取红树莓籽油工艺优化[J].食品科学,2010,31(2):67-69
- ZHANG Bai-qing, GONG Pu. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of red raspberry seed oil by orthogonal array design [J]. Food Science, 2010, 31(2): 67-69
- [16] 李梅青,周鑫,王增蕾.凤丹籽油对肝癌 HepG2 细胞抑制作用的研究[J].中国粮油学报,2018,33(1):80-84,91
- LI Mei-qing, ZHOU Xin, WANG Zeng-lei. Fatty acid of *Paeonia ostii* seed on inhibition in liver cancer cell HepG2 [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2018, 33(1): 80-84, 91
- [17] 李龙英,金青哲,朱跃进,等.茶叶籽油分子蒸馏脱酸工艺研究[J].中国油脂,2014,39(4):19-22
- LI Long-ying, JIN Qing-zhe, ZHU Yue-jin, et al. Deacidification of tea seed oil by molecular distillation [J]. China Oils and Fats, 2014, 39(4): 19-22
- [18] 林树真,龙婷,段明慧,等.HPLC法同时测定油茶籽油中的 γ -生育酚、 β -谷甾醇和角鲨烯[J].现代食品科技,2018,34(6):218-223
- LIN Shu-zhen, LONG Ting, DUAN Ming-hui, et al. Simultaneous determination of γ -antisterility vitamin, β -sitosterol, squalene in camellia oil by HPLC [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(6): 218-223
- [19] 常晨,阮青俊,包怡红,等.不同山体红松松籽油脂脂肪酸组成及抗氧化活性[J].东北林业大学学报,2017,45(4):84-87
- CHANG Chen, RUAN Qing-jun, BAO Yi-hong, et al. Fatty acid composition and antioxidant activity of pinenut oils from different mountains [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2017, 45(4): 84-87
- [20] 王芳,张雅,李婕,等.山楂籽油化学成分及抗氧化活性的研究[J].中国粮油学报,2018,33(10):71-77
- WANG Fang, ZHANG Ya, LI Jie, et al. The research on chemical composition and antioxidant activities of hawthorn seed oil [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2018, 33(10): 71-77
- [21] Zhou B, Wang Y, Kang J, et al. The quality and volatile-profile changes of Longwangmo apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel oil prepared by different oil-producing

- processes [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2016, 118(2): 236-243
- [22] Sunmonu M O, Ajala E O, Odewole M M. et al. Comparative analysis of physico-chemical properties of oil extract from two varieties of fluted pumpkin seeds using different extraction methods [J]. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, 2017, 13(2): 48-60
- [23] Teng H, Chen L, Huang Q, et al. Ultrasonic-assisted extraction of raspberry seed oil and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities [J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0153457
- [24] Zhang T T, Jiang J G. Analyses on essential oil components from the unripe fruits of *Rubus chingii* Hu by different methods and their comparative cytotoxic and anti-complement activities [J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(4): 937-944
- [25] 吴俏瑾,杜冰,蔡尤林,等. α -亚麻酸的生理功能及开发研究进展[J].食品工业科技,2016,37(10):386-390
- WU Qiao-jin, DU Bing, CAI You-lin, et al. Research development of alpha-linolenic acid [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(10): 386-390
- [26] Devarshi P P, Jangale N M, Ghule A E, et al. Beneficial effects of flaxseed oil and fish oil diet are through modulation of different hepatic genes involved in lipid metabolism in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rats [J]. Genes & Nutrition, 2013, 8(3): 329
- [27] Kafkas E, Ozgen M, Ozogul Y, et al. Phytochemical and fatty acid profile of selected red raspberry cultivars: A comparative study [J]. Journal of Food Quality, 2008, 31(1): 67-78
- [28] Li Q, Wang J, Shahidi F. Chemical characteristics of cold-pressed blackberry, black raspberry, and blueberry seed oils and the role of the minor components in their oxidative stability [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(26): 5410-5416
- [29] Artemis S. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity [J]. Nutrients, 2016, 8(3): 128
- [30] 夏钰.提取方式对葡萄籽油伴随物及其抗氧化活性的影响[D].无锡:江南大学,2018
- XIA Yu. Effects of extraction methods on accompaniments and antioxidant activities of grapeseed oil [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018
- [31] 陶冶,程铭,焦文佳,等.不同提取方法对酸枣仁油成分与品质的影响[J].食品工业科技,2018,39(14):165-170,176
- TAO Ye, CHENG Ming, JIAO Wen-jia, et al. Effects on components and quality of jujube kernel oil extracted by different extraction methods [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(14): 165-170, 176
- [32] Yuan C, Xie Y, Jin R, et al. Simultaneous analysis of tocopherols, phytosterols, and squalene in vegetable oils by high-performance liquid chromatography [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(11): 3716-3722
- [33] 张思桐,杨凯,赵玉红.不同品系红松籽油脂肪酸分析及其抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2018,34(3):231-241
- ZHANG Si-tong, YANG Kai, ZHAO Yu-hong. Fatty acid analysis and antioxidant activity of kernel oils from different Korean pine (*Pinus koraiensis*) varieties [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(3): 231-241
- [34] 徐广新.松籽油提取、成分分析及其抗氧化活性[D].扬州:扬州大学,2015
- XU Guang-xin. Pine seed oil extraction, composition analysis and antioxidant activity [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2015
- [35] 白章振.牡丹籽油不同提取方法及其氧化稳定性研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2017
- BAI Zhang-zhen. Different extraction methods for tree peony seed oil and its oxidation stability [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2017