

黑莓籽油化学成分及抗氧化活性

尹震花, 张伟, 张娟娟, 张勇, 康文艺*
(黄河科技学院, 郑州 450063)

[摘要] 目的:研究黑莓籽油化学成分及抗氧化活性。方法:采用溶剂法从黑莓籽中提取籽油,并通过 GC-MS 对黑莓籽油中的化学成分进行分析,以及测定黑莓籽油清除 ABTS 自由基和还原铁离子能力,以此评价黑莓籽油的抗氧化能力。结果:黑莓籽油中含有不饱和脂肪酸、烷烃、烯烃和醛类等化合物,但未检测到饱和脂肪酸成分;抗氧化评价发现籽油具有清除 ABTS 自由基的能力(IC_{50} 214.64 $mg \cdot L^{-1}$)和还原铁离子能力[Trolox 当量 (22.53 ± 2.92) $\mu mol \cdot g^{-1}$]。结论:黑莓籽油可以作为一种优质保健性食用油加以开发利用。

[关键词] 黑莓籽油; 化学成分; 抗氧化活性; ABTS; 还原铁离子能力

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)24-0041-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015240041

Chemical Components of Blackberry Seed Oil and Its Antioxidant Activity YIN Zhen-hua, ZHANG Wei, ZHANG Juan-juan, ZHANG Yong, KANG Wen-yi* (Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical components and antioxidant activity of blackberry seed oil. **Method:** Solvent method was used to extract seeds oil from Blackberry seeds; GC-MS was used to analyze the chemical components of black berry seeds oil and determine its ability of ABTS radical scavenging and ferric ion recovering to assess its antioxidant activity. **Result:** Unsaturated fatty acid, alkanes, alkenes and aldehydes were detected in oil, but saturated fatty acid was not detected. The oil showed ABTS radical scavenging activity ($IC_{50} = 214.64 mg \cdot L^{-1}$) and ferric ion recovering ability [Trolox equivalent (22.53 ± 2.92) $\mu mol \cdot g^{-1}$]. **Conclusion:** The blackberry seeds oil could be tapped and utilized as a kind of high quality health edible oil.

[Key words] blackberry seeds oil; chemical components; antioxidant activity; ABTS; ferric ion recovering ability

黑莓果实营养价值和药用价值高,主要作为加工型水果制成黑莓饮料、酒和果酱等。其中黑莓籽油是黑莓加工副产物中的产品之一,约占黑莓籽的 80% 左右,富含功能性油脂^[1]。

现有研究较多的是黑莓籽油甲酯化后的脂肪酸组成,及其对 DPPH 和羟基自由基等活性的作用。朱小莉和张东升等^[2-5]研究表明,黑莓籽的脂肪酸主要由棕榈酸、亚油酸、硬脂酸和 α -亚麻酸等组成,能有效清除 DPPH 和羟基自由基,且能有效抑制 H_2O_2 诱导的小鼠红细胞氧化溶血作用和 VC-FeSO₄

体系诱导的小鼠肝组织丙二醛生成的作用及 VC-FeSO₄体系诱导的小鼠肝线粒体肿胀。在前期的研究中,本课题组研究发现黑莓籽油具有体内纠正四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠脂质代谢紊乱和增强机体抗氧化防御体系的能力^[6];黑莓籽油能够调节高血脂小鼠脂质代谢和抗脂质过氧化,改善脂质在小鼠肝脏和脾中的蓄积,减少氧化应激^[7];对于四氯化碳诱导小鼠急性肝损伤,黑莓籽油的抗氧化机制是其保肝作用机制之一^[8],说明黑莓籽油降血糖、降血脂及保肝活性与其体内抗氧化能力有一定的关

[收稿日期] 20150411(001)

[基金项目] 河南省高等学校青年骨干教师计划项目(2013GGJS-220);郑州市科技局科技攻关计划项目(20120684,20140790);河南省科技厅重点科技攻关项目(142102310147)

[第一作者] 尹震花,硕士,助教,从事中药活性成分研究,Tel:0371-87541018, E-mail:yinzenhua1000@126.com

[通讯作者] *康文艺,博士,硕士生导师,从事天然药物活性研究与开发,Tel:0371-3880680, E-mail:kangweny@hotmail.com

系。但有关黑莓籽油甲酯化前成分及对 ABTS 自由基和铁离子还原能力研究未见报道。本文采用溶剂法提取黑莓籽油,通过 GC-MS 分析黑莓籽油中化学成分,并研究黑莓籽油清除 ABTS 自由基及铁离子还原能力,评价其抗氧化能力,为有效开发利用黑莓籽资源,探索其生理活性提供一定的理论基础。

1 材料

6890-5975 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦科技公司),Multiska MK3 型酶标仪(美国 Thermo Electron 公司)。

黑莓籽于 2013 年 7 月购买于河南省封丘县,由河南大学生药教研室李昌勤教授鉴定为蔷薇科悬聚合果类植物黑莓 *Rubus spp* 的籽,标本存于黄河科技学院天然药物研究所; C₆ ~ C₂₆ 正构烷烃(Alfa Aesar), Fe³⁺-三吡啶三啉(TPTZ, 比利时 Acros Organics 公司), 二丁基羟基甲苯(BHT, 比利时 Acros Organics 公司), 2,2'-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐(ABTS, 美国 Fluka 公司), Trolox(6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Aldrich 公司)。

2 方法

2.1 油的提取 黑莓籽 10 kg 粉碎,用石油醚浸泡 4 次,每次 3 d,过滤除去籽渣,回收溶剂至无醚味,得到淡黄色透明油状物,即为黑莓籽油。

2.2 GC-MS 分析条件 气相色谱为 DB-5 ms 型石

英弹性毛细管柱(250.0 μm × 30.0 m, 0.1 μm),载气高纯氦气(99.999%),流速 1.0 mL·min⁻¹,进样口温度 250 °C;升温程序:初始温度 50 °C,保持 2.0 min,以 4 °C·min⁻¹升温至 120 °C,保持 2 min,最后以 6 °C·min⁻¹升温至 230 °C,保持 10 min。分流进样,分流比 10:1。

质谱条件为离子源 EI,电离能量 70 eV,离子源温度 230 °C,四极杆温度 150 °C,传输线温度 280 °C,电子倍增器电压 1 553 V。质量扫描范围 m/z 30 ~ 400,谱图检索采用 Nist08.L 进行检索,并进行 KI(Kovats 保留指数)计算。

2.3 黑莓籽油抗氧化能力测定

2.3.1 清除 ABTS 自由基能力的测定 参考文献[9]的方法,每份样品平行 3 次,取平均值,计算清除 ABTS 自由基的能力

2.3.2 铁离子还原能力的测定 参考文献[10]的方法,每份样品平行 3 次,取平均值,计算铁离子还原能力。

2.4 黑莓籽油分析 按上述实验方法和条件进行实验,对黑莓籽油进行 GC-MS 分析,峰面积归一化法确定各组分在挥发性物质中的相对含量。根据 GC-MS 联用所得的质谱信息经系统检索与标准图谱对照,并结合有关文献从基峰、相对丰度和 KI 等几个方面进行直观比较,从而确定了其中的部分化学成分,结果见表 1。

表 1 黑莓籽油化学成分

Table 1 Blackberry seed oil chemical composition

No.	保留时间 /min	相对质量 分数/%	化学成分	计算 KI 值 /参考 KI 值	定性方法	相似度 /%
1	2.14	0.49	hexane 己烷	618/600	MS, KI	91
2	2.58	1.88	2,3-dimethyl-pentane 2,3-二甲基戊烷	674	MS	90
3	2.62	2.36	3-methylhexane 3-甲基己烷	680	MS	95
4	2.73	0.56	1,2-dimethylcyclopentane 1,2-二甲基环戊烷	693	MS	96
5	2.85	0.95	heptane 庚烷	705/700	MS, KI	94
6	3.16	0.07	trans-1,3-dimethylcyclopentane 反式-1,3-二甲基环戊烷	728	MS	90
7	3.18	0.06	methylcyclohexane 甲基环己烷	729/716	MS, KI	91
8	3.22	0.03	2,4-dimethylhexane 2,4-二甲基己烷	732	MS	93
9	3.30	0.02	ethylcyclopentane 乙基环戊烷	738	MS	95
10	3.68	0.01	2-methylheptane 2-甲基庚烷	765	MS	94
11	3.80	0.01	3-methylheptane 3-甲基庚烷	774	MS	90
12	4.23	0.06	hexanal 己醛	804	MS	90
13	8.11	0.03	(E,E)-2,4-heptadienal (E,E)-2,4-庚二烯醛	999/981	MS, KI	94
14	9.38	0.01	(E)-2-octenal (E)-2-辛烯醛	1 061/1 031	MS, KI	90

续表 1

No.	保留时间 /min	相对质量 分数/%	化学成分	计算 KI 值 /参考 KI 值	定性方法	相似度 /%
15	9.58	0.01	3,5-octadien-2-one 3,5-辛二烯-2-酮	1 070/1 078	MS, KI	90
16	10.30	0.01	nonanal 壬醛	1 105/1 085	MS, KI	91
17	15.07	0.09	(E, E)-2,4-decadienal (E,E)-2,4-癸二烯醛	1 300/1 288	MS, KI	93
18	29.46	0.12	1-octadecene 十八烯	1 802/1 789	MS, KI	94
19	30.39	0.38	1-nonadecene 十九烯	1 839/1 875	MS, KI	93
20	33.01	2.07	hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester 己二酸二(2-乙基己)酯	1 943	MS	98
21	33.81	1.91	1-eicosene 二十烯	1 972/1 988	MS, KI	95
22	34.76	1.07	estra-1,3,5(10)-trien-17 β -ol	1 915	MS	90
23	36.88	0.17	oleic acid 油酸	2 105/2 112	MS, KI	92
24	37.52	64.98	linoleic acid 亚油酸	2 132/2 133	MS, KI	98
25	38.89	4.42	1-docosene 二十二烯	2 190/2 189	MS, KI	99
26	39.19	0.02	docosane 二十二烷	2 196/2 200	MS, KI	92
27	41.71	1.11	tricosane 二十三烷	2 295/2 300	MS, KI	90

注:参考 KI 由 www.vcf-online.nl 检索而得。

由表 1 可知,从黑莓籽油中鉴定出 27 种成分, 占色谱总流出峰面积的 82.90%, 其含有烷烃、烯 烃、醛类、脂肪酸类等成分,其主要成分为亚油酸,占 总成分的 64.98%。

2.5 黑莓籽油抗氧化活性结果分析 由成分分析 可知,油黑莓籽油主要化学成分为亚油酸,其对心脏 病、高血压和高血脂等有较好的治疗效果,对人体有 较好的保健作用。通过黑莓籽油清除 ABTS 自由基

及铁离子还原能力考察黑莓籽油的抗氧化能力,结 果见表 2,3 和图 1。

采用半数清除率(IC₅₀)来表示黑莓籽油清除 ABTS 的能力,并以 BHT 为阳性对照,由表 2 和图 1 看出,黑莓籽油对 ABTS 自由基的清除率随着质量浓 度的增加而增强,并且呈现出一定的线性关系(相关 系数为 0.983 4),其 IC₅₀为 214.64 mg·L⁻¹,弱于阳性 对照 BHT(IC₅₀为 8.51 mg·L⁻¹)。

表 2 不同质量浓度的黑莓籽油对 ABTS 自由基的清除率的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Blackberry seed oil of different concentrations of ABTS radical clearance($\bar{x} \pm s, n=3$)

黑莓籽			BHT		
质量浓度 /mg·L ⁻¹	清除率 /%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	质量浓度 /mg·L ⁻¹	清除率 /%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹
238.1	58.37 ± 0.47		47.62	97.83 ± 0.78	
190.48	41.22 ± 0.82		23.81	91.27 ± 1.06	
142.86	28.90 ± 0.87	214.64 ± 1.91	11.9	64.64 ± 0.91	8.51 ± 0.23
95.24	5.54 ± 0.10		5.95	38.22 ± 0.76	
47.62	2.14 ± 0.06		2.98	29.37 ± 0.75	

采用 Trolox 当量(即每克样品的自由基清除能 力相当于 Trolox 的自由基清除能力的微摩尔数)表 示。常用比较 Trolox 当量的大小,来说明铁离子还 原能力,即 Trolox 当量越大,铁离子还原能力越强。 由结果可以看出,黑莓籽油还原铁离子能力很弱 [Trolox 当量(22.53 ± 2.92) μmol·g⁻¹],远弱于低 于阳性对照 BHT 的 Trolox 当量(1 301.03 ± 64.32)

μmol·g⁻¹。

3 讨论

从上述分析结果中可以看出,黑莓籽油甲酯化 前后成分有很大的区别,张东升等^[3]采用石油醚提 取黑莓籽油,并对其进行甲酯化,从中检测到棕榈酸 和硬脂酸等饱和脂肪酸质量分数为 9.34%,亚油酸 和亚麻酸等不饱和脂肪酸质量分数占 68.48%,而

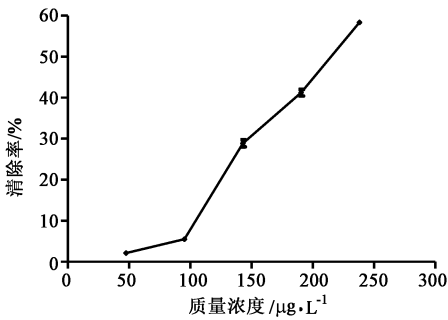


图1 黑莓籽油清除 ABTS 自由基的作用
Fig.1 Blackberry seed oil to remove ABTS radical role

本研究同样采用石油醚提取黑莓籽油, 未经过甲酯化处理, 不仅检测出不饱和脂肪酸, 还鉴定出烷烃、烯烃、醛类等化合物, 但未检测到饱和脂肪酸成分, 可见为了更清楚地研究黑莓籽油的化合物成分, 需要同时研究甲酯化前后的化学成分。另外, 抗氧化数据显示, 黑莓籽油具有一定的清除 ABTS 自由基和铁离子还原能力。据报道, 不饱和脂肪酸对人体有很多保健作用, 如抗动脉粥样硬化, 降低血中胆固醇和三酰甘油; 降低血液黏稠度, 防止血栓形成, 提高脑细胞活性; 辅助治疗糖尿病, 显著降低糖尿病患者血清甘油三酯水平等^[11-12], 这些作用是否与其抗氧化活性有关。在我们前期的一系列体内实验中得到了证实, 黑莓籽油能增强糖尿病小鼠、高血脂小鼠和急性肝损伤小鼠机体抗氧化防御体系的能力, 减少氧化应激^[6-8]。可见, 黑莓籽油营养价值高, 且具有抗氧化活性, 可以深加工作为一种优质保健性食用油加以开发利用。

[参考文献]

[1] Van Hoed V, De Clercq N, Echim C, et al. Berry

seeds: a source of specialty oils with high content of bioactives and nutritional value [J]. J Food Lipids, 2009, 16(1):33-49.

[2] 朱红叶, 马永昆, 白洁, 等. 超声波提取黑莓籽油的体外抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(5):53-56.

[3] 张东升, 陈亮, 辛秀兰, 等. 黑莓籽油脂肪酸成分及抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(11):55-58.

[4] 刘小莉, 黄开红, 周剑忠, 等. 黑莓籽油的超临界萃取及脂肪酸成分分析[J]. 农业工程学报, 2011, 27(增刊2):312-315.

[5] 刘小莉, 周剑忠, 朱佳娜, 等. 黑莓籽油提取及成分分析[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(6):1430.

[6] 张伟, 尹震花, 彭涛, 等. 黑莓籽对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 35(19):351-354, 358.

[7] 尹震花, 张伟, 冯发进, 等. 黑莓籽降血脂有效部位研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(24):210-215.

[8] 张伟, 尹震花, 冯发进, 等. 黑莓籽保护急性肝损伤的有效部位研究[J]. 食品科技, 2014, 39(12):94-97.

[9] 卢引, 李光勇, 魏金凤, 等. 清除 ABTS 自由基微量模型的建立[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(11):1533-1535.

[10] 卢引, 尹震花, 康文艺. FRAP 法微量模型的建立[J]. 食品工业科技, 2009, 34(5):312-314.

[11] 孙翔宇, 高贵田, 段爱莉, 等. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7):418-423.

[12] 陈银基, 周光宏, 徐幸莲, 等. n-3 多不饱和脂肪酸对疾病的预防与治疗作用[J]. 中国油脂, 2006, 31(9):31-34.

[责任编辑 顾雪竹]