

藜麦生物活性成分提取技术的研究现状分析

高娟, 焦斐

金昌市食品检验检测中心, 甘肃金昌 737100

【摘要】藜麦自身具有较高的营养价值, 此代谢产物类型十分丰富, 具备抗氧化、抗菌、免疫应答等诸多生物活性, 在防治很多疾病方面体现出良好效能。本文主要概括藜麦内黄酮、多糖、多酚及皂苷等生物成分的提取技术, 相关人员应利用先进的计算机技术, 积极学习国内外先进的藜麦生物活性成分提取方法, 通过不断地优化与调整, 确定最佳的提取方式, 通过相关人员的自主创新后, 促使藜麦生物活性成分提取工作有效地开发并合理应用。

【关键词】藜麦; 生物活性成分; 提取技术; 现状分析

【中图分类号】R284.2 **【文献标识码】**A **【DOI】**10.12325/j.issn.1672-5336.2022.21.020

引言

众所周知, 藜麦是藜科藜属植物, 富含的维生素、多酚、类黄酮类、皂苷和植物甾醇类物质具有多种健康功效。进一步了解后发现, 其内有大量的优质蛋白, 并且总含量和肉类含量不相上下, 具有人体必需的8种必需氨基酸(表1)。另外, 藜麦内也有十分丰富的淀粉、维生素及矿物质元素等, 是能满足机体基本营养需求的唯一全类谷物^[1]。藜麦具备均衡人体营养状态、强化组织器官功能、调控免疫及内分泌系统等功用, 且还能起到一定预防疾病、抵抗衰老过程等作用, 是降低人类慢性病发生率的一种功能性食品, 在未来将会有广袤的发展空间。

表1 陇藜1-4内氨基酸含量统计(g/kg)

	陇藜1	陇藜2	陇藜3	陇藜4
天冬氨酸	10.89	10.39	11.46	12.15
苏氨酸	4.12	3.91	4.31	4.48
丝氨酸	4.44	4.26	4.66	4.82
谷氨酸	17.24	16.51	17.99	18.56
甘氨酸	12.71	13.38	13.05	13.33
丙氨酸	5.1	4.87	5.38	5.46
胱氨酸	2.92	2.78	3.03	3.1
缬氨酸	5.19	4.94	5.47	5.69
蛋氨酸	2.25	2.12	2.35	2.38
异亮氨酸	4.12	3.93	4.33	4.45
亮氨酸	6.83	6.53	7.2	7.48
络氨酸	3.89	3.7	4.1	4.17
苯丙氨酸	4.94	4.73	5.21	5.29
组氨酸	5.22	4.98	5.51	5.73
赖氨酸	6.85	6.52	7.19	7.47
精氨酸	8.96	8.56	9.44	9.48

脯氨酸	5.52	5.28	5.81	5.83
总氨基酸	111.2	106.39	116.5	119.84
必需氨基酸	38.2	36.38	40.15	41.39
非必需氨基酸	73	70.01	76.35	78.45

1 藜麦内黄酮提取技术

在科学技术水平迅速发展的时代背景下, 国内外相关人员对黄酮的提取技术相对较多, 主要的提取方法有闪式提取、微波提取、超临界萃取和酶解提取等多种方法。据有关资料显示, 植物内部重要的生理活性的次生代谢产物离不开黄酮类化合物的组成, 经过科研人员的反复开发与应用, 适量的黄酮类化合物在实际应用中逐步呈现抗病毒、抗氧化、降血压、降血脂等诸多功效, 进一步了解后发现, 黄酮类成分还包含在藜麦等植物之中, 平均含量可达59mg/100g中。针对黄酮测定的方法, 具体如下: 即操作人员可以严格按照试验要求, 选择 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 比色法来完成。首先, 操作人员可以借助测量设备量取0.110g芦丁标准样品, 加入51mL的混合调配比例为71%的乙醇溶液, 采用特定模式配制浓度为0.21mg/mL的芦丁标准溶液, 及时吸取0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0的芦丁标准溶液, 及时加入至10mL的标准器具。在此期间, 及时加入2.0、1.6、1.2、0.8、0.4、0mL的71%乙醇溶液, 与此同时, 加入5.1%亚硝酸盐溶液0.5mL于器具内部, 采用适当力度均匀摇晃, 静置7min后, 再次加入10%的硝酸铝溶液0.5mL于器具内部, 采用适当力度均匀摇晃, 静置7min后, 再次加入4.1%氢氧化钠溶液4.1mL, 混入71%乙醇定容, 静置16min后, 最后操作人员应采用适当方式完成全波长扫描处理, 得

基金项目: 甘肃省市场监督管理局科技计划项目“‘陇藜1-4号’藜麦品种多糖抑菌及抗氧化性研究”(项目编号: SSCJG-SP-202113)

作者简介: 高娟(1989.10—), 女, 汉族, 甘肃省永昌县, 本科, 工程师, 研究方向: 食品检验检测。

到最大吸收波长为 5100nm。

2 藜麦内多酚提取技术

多酚是一种典型的次生代谢产物,有酚酸类、单宁类、花色苷类等多种类型,藜麦中多酚总含量大概为 3.75 mg/g,明显大于大部分谷物与豆类^[2]。溶剂提取是提取植物多酚的一种传统方法。阙森森等^[3]探究了藜麦种内多酚的水浴加热提取工艺,基于响应面法初步确定了影响多酚提取率高低的因素:提取时间<料液比<提取温度<乙醇浓度,最佳工艺下乙醇体积分数、料液比。提取温度及时间分别是 56%、1:40 (g/mL)、84℃、1h,多酚提取量能达到 2.273mg/g,并且通过试验分析发现,不同品质的藜麦种内多酚含量有很大差别。超声辅助提取的原理是应用超声波于溶液内生成的空化、机械振动剪切及热效应,能够有效地破坏细胞壁结构,促进有效成分的溶出过程,有助于提高物质的提取效率。王桂林等^[4]运用单因素试验改进了超声辅助提取藜麦多酚工艺:选择体积分数是 70%乙醇溶液作为溶剂、料液比、超声功率、超声温度及时间分别是 1:25 (g/mL)、320W、50℃、20min,多酚所得率是 0.215%。和传统溶剂提取法相比较,科研人员合理运用超声辅助提取方法能够全面促使整个藜麦内多酚元素的提取时间,在实际提取效果全面提升的基础上,一旦没有严格遵守试验操作流程,可能对外界自然环境造成破坏,不利于现代工业化行业的可持续发展。

3 藜麦内多糖提取工艺

动物细胞膜与植物细胞壁内部包含的糖分相对较多,藜麦内的多糖、黄酮等活性物质具备较好的抗菌性与体外抗氧化活性。超声波辅助提取固体试样即是物理粉碎的过程,产生热效应与乳化功能,能提升固体内多糖的提取率,具备节能、提取率高、节约提取时间等优势。超声辅助提取多糖的试验方法如下:

3.1 试验设计

3.1.1 制备藜麦多糖

(1) 预处理原材料:挑选市售藜麦内颗粒饱满的陇藜 1、2 种子,将其安置在 50℃烘箱内持续烘干到恒质量,粉碎后采用 40 目筛过筛,密封以备。

(2) 脱脂:分别量取陇藜 1、2 各 5 份,各份 0.2g,将其安置在离心管内。朝向其内添加 2ml 石油醚,静置过夜,4000r/min 连续离心处理 10min,剔除上层清液。

(3) 剔除单糖与低聚糖:将 2ml 95%乙醇溶液添加至已脱脂处理的藜麦内,静置过夜,3800r/min 连续离心处理 12min,去除上层清液,把沉淀物安置在 50℃烘箱

内烘干处理。

3.1.2 提取多糖

参照试验设计方案,运用超声波技术辅助提取藜麦种粒内的多糖。具体是依照 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25 等 5 个不同的料液比 (g:mL),将适量蒸馏水添加到各个离心管内。设定超声功率 320W,温度 50℃的处理条件下持续下浸提 45min,以提取出藜麦内的多糖成分。浸提完毕后,3800r/min 离心处理 12min,将滤液倒进另一个离心管内,弃除沉淀物。将 4 倍体积的 95%乙醇添加到离心管内,放置于低温 (4℃冰箱) 环境内连续醇沉 24h,4000r/min 处理 10min,采集沉淀物。依次使用无水乙醇、丙酮、无水乙醚洗涤沉淀物,真空环境下干燥,获得粗多糖。

3.1.3 脱蛋白

取 5mL 蒸馏水溶解粗多糖,加入 1.2ml 的 Sevage 试剂,把 20ml 正丁醇混入其内,放进棕色瓶内以备用 (Sevage 法除蛋白: $V_{\text{多糖溶液}}:V_{\text{氯仿}}:V_{\text{正丁醇}}=25:5:1$)^[5],采用小型旋涡混合仪持续震荡混合物 20min,3800r/min 离心处理 12min。谨慎提取上层多糖溶液,剔除下层有机相遇中间蛋白沉淀物。

3.1.4 醇沉

依照文献^[6]的方法进行醇沉处理,获得精制多糖。采用 2ml 蒸馏水溶解所得多糖以获得多糖溶液,将其安置在 4℃冰箱内以备用。

3.1.5 试验设计

依照不同料液比提取所得藜麦多糖质量浓度结果,选用多糖提取率最高的料液比,按照以上操作方法,逐一提取 2g 陇藜 1、2 种子藜麦多糖。均采用 20mL 蒸馏水溶解,配制成多糖溶液,将其安置在冰箱内以备用。

3.1.6 制备标准曲线

准确称取 105℃干燥至质量恒定 10 mg 葡萄糖对照品,添加蒸馏水定容到 100ml,获得 0.1 mg/ml 葡萄糖标准液。分别取此溶液 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0ml 在 10ml 带塞试管内,用蒸馏水定容到 1ml,添加 5ml 现配的蒽酮-硫酸试剂,混合均匀,盖好瓶塞,于沸水浴内 15min,取出以后快速使用冷水冷却到室温。采用 0 号管进行调零,于 620nm 波长之下逐一测得 $D_{620\text{nm}}$ 。把 $D_{620\text{nm}}$ 作为纵坐标,葡萄糖质量浓度作为横坐标,绘制标准化曲线。

3.1.7 测量藜麦多糖的抗氧化作用

配备 DPPH 溶液:准确量取 50mg DPPH,乙醇定容至 100mL,使 DPPH 终浓度 0.5 mg/mL。称量 10mL 0.5 mg/mL DPPH 溶液,乙醇定容 100mL, DPPH 终浓度 0.05 mg/mL。用棕色瓶装 DPPH 溶液,放进冰箱内备用。

选用维生素 C 作为阳性对照, 把配好的 0.01 mg/ml 维生素 C 标准液放在棕色瓶内, 置于冰箱内以备用。检测抗氧化能力: 分别吸取 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mL 维生素 C 标准液, 蒸馏水定容至 2 mL, 添加 2 mL 0.05 mg/mL DPPH, 置于黑暗处理, 静置约 0.5 h, 检测其于 517 nm 的吸光度 $D_{517\text{nm}}$ 。

3.2 统计与分析结果

3.2.1 多糖质量浓度

(1) 绘制标准曲线

选择 77 支有塞试管, 依照浓度梯度调配葡萄糖溶液, 将 $D_{620\text{nm}}$ 、葡萄糖质量浓度分别作为纵、横坐标, 绘制出标准曲线。采用最小二乘法获线性回归方程: $y=0.00668x+0.0291$, $r^2=0.99108$ 。依照以上方程, 能够测算出试样内多糖质量浓度 (图 1)。

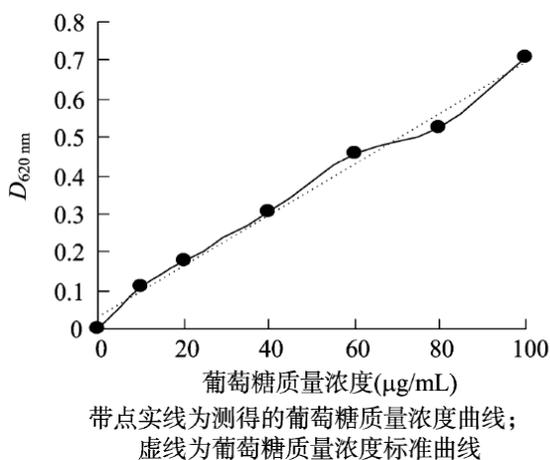


图 1 葡萄糖标准曲线

(2) 多糖提取率: 采用超声波技术辅助提取藜麦多糖, 于超声波功率 320 W, 温度 50 °C、提取时间 40 min, 料液比约 1 g:10 mL 的条件下, 陇藜 1、2 种子的藜麦多糖提取率都抵达最高, 陇藜 1 的藜麦多糖提取率明显高于陇藜 2 (表 2)。故而, 在同等的提取工艺条件下, 本试验用 1 g:10 mL 料液比提取陇藜 1、2 种子的藜麦各 2 g, 获得精制多糖溶液。

表 2 不同品种藜麦种子的多糖提取率

品种	多糖提取率 ($\mu\text{g/g}$)			
	重复 1	重复 2	重复 3	$\bar{x} \pm s$
陇藜 1	1989	2095.2	2204	2094.8 ± 108.1
陇藜 2	1713	1780.5	1853	1782.5 ± 70.1

3.2.2 抗氧化作用

(1) 维生素 C 对 DPPH· 的清除能力: 伴随维生素 C 标准液体积 (0 ~ 2 mL) 和维生素 C 浓度的增加, 标准液对 DPPH· 的清除率也提高, 表现出较强的清除作用, 表明抗氧化剂维生素 C 自身具备较好的抗氧化性。

(2) 样品对 DPPH· 的清除情况: 伴随多糖溶液体积的增加, 陇藜 1、2 种子藜麦多糖对 DPPH· 的清除率相应提高, 两者对 DPPH· 的清除趋势大体相同。陇藜 1、2 多糖提取率分别是 2095.2 $\mu\text{g/g}$ 、1780.5 $\mu\text{g/g}$, 提示陇藜 1 藜麦多糖对 DPPH· 的清除率更高。

4 藜麦皂苷的提取工艺

杜静婷等^[7]研究了超声波辅助提取藜麦皂苷的最佳工艺条件是: 乙醇溶液体积分数、液料比、超声作用时间分别是 74%、39:1 (mL:g)、33 min, 在以上这种工艺条件下藜麦皂苷得率是 23.371 mg/g。

5 结束语

国内藜麦产品的销售以电商为主, 缺乏实体店销售, 藜麦市场有待进一步完善。在国民经济发展的时代背景下, 藜麦国际市场需求强劲, 发展前景十分广阔, 因其具有很高的营养价值与保健功效。尽管当前我国很多地区种植了藜麦, 但其生物活性成分的研究并不多, 且缺乏系统性。现代社会提倡回归自然, 人们主观上十分重视自身保健, 故而加大藜麦生物活性成分的开发应用力度具有很大现实意义, 逐渐实现生物活性成分的产业化、规模化, 使其在现实生活中创造出更高的价值与效益。

参考文献:

- [1] 孙雪婷, 袁俊杰, 蒋玉蓉, 等. 藜麦种子总黄酮提取及其抗氧化性 [J]. 江苏农业科学, 2015, 13(10): 355-358.
- [2] 董施彬, 宁亚萍, 杨品, 等. 藜麦总黄酮提取及大孔树脂纯化工艺的研究 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(16): 272-278.
- [3] 阙森森, 蒋玉蓉, 曹美丽, 等. 响应面试验优化藜麦种子多酚提取工艺及其品种差异 [J]. 食品科学, 2016, 37(4): 7-12.
- [4] 王桂林, 董晶, 弓志花, 等. 超声波辅助提取藜麦多酚及其活性的研究 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(6): 68-71.
- [5] 赵强, 刘乐, 杨洁, 等. 响应面法优化藜麦糠中多酚超声提取工艺及其抗氧化活性 [J]. 中国粮油学报, 2020, 35(07): 143-149.
- [6] 朱秀灵, 戴清源, 冯宏波. 超声辅助提取银杏叶多糖工艺研究 [J]. 安徽工程科技学院学报, 2010, 25(3): 6-8.
- [7] 杜静婷, 陈超, 范三红. 响应面法优化藜麦糠皂苷的提取及抗氧化活性 [J]. 山西农业科学, 2016, 44(7): 932-937.