

添加苦荞黄酮提取物的裸燕麦挤压膨化产品 抗氧化及降血脂功效研究

薛朕钰¹, 薛淼¹, 王雪¹, 王聪¹, 肖萍^{1,2}, 王步江^{1,2}, 刘金福^{1,2,*}

(1. 天津农学院 食品科学与生物工程学院, 天津 300384; 2. 天津市农副产品深加工技术工程中心, 天津 300384)

摘要:以裸燕麦粉和玉米淀粉为原料, 添加苦荞黄酮提取物, 采用 DSE-30 双螺杆挤压膨化机生产挤压膨化产品, 通过清除 DPPH、羟基自由基和三价铁还原能力的测定, 考察产品膨化前后与添加苦荞黄酮提取物的膨化产品的体外抗氧化能力, 通过高脂动物模型考察产品降血脂功效。结果表明, 添加苦荞黄酮提取物的燕麦挤压膨化产品的抗氧化活性得到明显提高, 对小鼠的糖脂代谢紊乱具有更好的改善作用。该技术可用于强化抗氧化能力和调节血脂的膨化食品或食品配料的生产。

关键词:裸燕麦粉; 玉米淀粉; 苦荞黄酮; 体外抗氧化; 糖脂代谢

Study on Antioxidant and Hypolipidemic Effects of Nude Oat Extruded Products with Flavones in Buckwheat

XUE Zhen-yu¹, XUE Miao¹, WANG Xue¹, WANG Cong¹, XIAO Ping^{1,2}, WANG Bu-jiang^{1,2}, LIU Jin-fu^{1,2,*}

(1. College of Food Science and Biotechnology, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China;
2. Tianjin Engineering and Technology Research Center of Agricultural Products Processing, Tianjin 300384, China)

Abstract: Naked oat flour and corn starch were used as raw materials, flavonoid in buckwheat were added, and extruded products were produced by DSE-30 twin-screw extruder. The antioxidant activities *in vitro* of the extruded products before and after extrusion and those of the extruded products with flavones in buckwheat were investigated by measuring DPPH scavenging capacity, hydroxyl radical scavenging capacity and trivalent iron reducing capacity. The results showed that the antioxidant activity of the extruded oats with flavones in buckwheat was significantly improved, and the glucose and lipid metabolism disorder in mice was better improved. This technology could be used to enhance antioxidant capacity and production of expanded foods or ingredients that regulate blood lipids.

Key words: naked oat flour; corn starch; flavones in buckwheat; antioxidant activities *in vitro*; glucose and lipid metabolism

引文格式:

薛朕钰, 薛淼, 王雪, 等. 添加苦荞黄酮提取物的裸燕麦挤压膨化产品抗氧化及降血脂功效研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(12): 33-38

XUE Zhenyu, XUE Miao, WANG Xue, et al. Study on Antioxidant and Hypolipidemic Effects of Nude Oat Extruded Products with Flavones in Buckwheat[J]. Food Research and Development, 2019, 40(12): 33-38

基金项目: 天津市科技计划项目(17ZX YENC00090); 天津农学院研究生教育改革项目(2017YJG012)

作者简介: 薛朕钰(1992—), 男(汉), 硕士研究生, 研究方向: 天然产物化学与动物性食品安全。

* 通信作者: 刘金福(1961—), 男(汉), 教授, 硕士, 研究方向: 食品营养与功效。

裸燕麦本身含有丰富的营养物质,诸如优质球型颗粒蛋白质、各种不饱和脂肪酸、各种可溶和不可溶纤维素和丰富的矿物质;燕麦中 β -葡聚糖含量较高,可有效改善糖尿病肾病大鼠肾脏功能,延缓肾脏组织结构损伤^[1-3]。燕麦中黄酮含量较低,游离型含量变幅为128.83 $\mu\text{g RE/g}$ ~286.83 $\mu\text{g RE/g}$,结合型含量范围在65.64 $\mu\text{g RE/g}$ ~123.05 $\mu\text{g RE/g}$,不同品种的燕麦中多酚组成存在差异显著^[4]。而苦荞中含有丰富的生物类黄酮化合物,其主要成分为芦丁,具有多种生理功能,如抗氧化、降血糖、降血脂和降胆固醇等作用^[5]。

通过前期试验确定了挤压膨化工艺参数^[6],添加苦荞黄酮提取物来增强裸燕麦挤压膨化产品的抗氧化能力,为开发生产具有抗氧化、降血脂等生物功效的燕麦膨化食品或食品配料提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

裸燕麦:产地为内蒙古呼和浩特市;精制玉米淀粉(直链淀粉含量约为70%):天津中英保健食品有限公司;苦荞黄酮提取物(芦丁含量为82.92%):内蒙古通辽市开鲁县昶辉生物技术有限公司。

SPF级雄性昆明小鼠、高脂饲料(含78.8%基础饲料、10%猪油、10%蛋黄粉、1%胆固醇、0.2%胆盐)、基础饲料:中国食品药品检定研究院;胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL):英科新创(厦门)科技有限公司。

DSE-30双螺杆挤压膨化机:济南鼎润机械设备有限公司;UV-1200紫外可见分光光度计:上海美谱达仪器有限公司;pH酸度计:奥豪斯仪器有限公司;Elmasonic P180H超声波清洗机:德国Elma Schmidbauer公司;MD3000魅力全自动生化仪:美国MD仪器公司;GM505K血糖分析仪:湖南可孚医疗用品有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 挤压膨化产品的制备

以裸燕麦与玉米淀粉混合为原料,采用DSE-30双螺杆高温挤压膨化技术,螺杆转速设定为25 Hz,喂料速度40 g/min,选用直径为5.0 mm的模口,物料加水量4%、IV区膨化温度180℃、燕麦与玉米淀粉的质量比4:6,进行生产制备。以上述方法在燕麦与玉米淀粉混合原料中添加质量分数为1%的苦荞黄酮提取物,按照上述工艺条件进行膨化,得到了强化苦荞黄

酮的挤压膨化产品。

1.2.2 DPPH自由基清除能力的测定

1.2.2.1 标准曲线的绘制

据DPPH自由基溶液的质量浓度与吸光度的关系,得到线性方程: $y=0.263\ 3x-0.001\ 2$, $R^2=0.999\ 6$, $RSD=0.96\ %$ 。

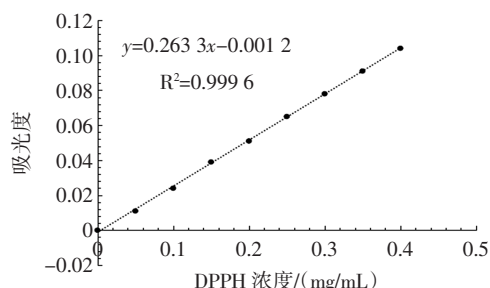


图1 DPPH标准曲线

Fig.1 DPPH standard curve

1.2.2.2 燕麦膨化产品的DPPH自由基清除能力测定方法

取两支试管,一支加入2 mL DPPH溶液和2 mL待测样品溶液;另一支试管中加入2 mL DPPH溶液和2 mL超纯水,混合均匀后,静置30 min,在517 nm处测其吸光度。重复3次,取平均值。

待测样品经过与DPPH自由基作用后,DPPH自由基的剩余量可由下式得到:

$\text{DPPH 自由基剩余量}/\% = (\text{DPPH 自由基 } t/\text{DPPH 自由基 } 0) \times 100^{[7]}$

式中:DPPH自由基0为0时刻体系中DPPH自由基的起始质量浓度,mg/mL;DPPH自由基t为t时刻体系中DPPH自由基的质量浓度,mg/mL;以100%减去DPPH自由基的剩余含量,即为样品对DPPH自由基的清除率。

1.2.3 羟基自由基清除能力的测定方法

在试管中先后加入6 mmol/L的硫酸亚铁溶液2 mL,待测样品2 mL,6 mmol/L的过氧化氢溶液2 mL,摇匀,静置10 min,接着加入6 mmol/L的水杨酸溶液2 mL,摇匀,放置在37℃的水浴锅中加热30 min,然后取出试管,在510 nm处测得吸光度值(A_i),另取2支试管,分别做空白(A_0)和样品对照(A_j)。

待测样品对羟基自由基的清除率按照下列公式计算:清除率/ $\% = 1 - (A_i - A_j)/A_0 \times 100$

1.2.4 铁离子还原能力测定方法

取一支试管,加入1 mL的待测样品,再加入1 mL质量浓度为1%的铁氰化钾溶液,混合均匀后,放入50℃水浴锅中水浴20 min,急速冷却后,在3 000 r/min

离心 10 min,然后取上清液 1 mL,加入 1 mL 蒸馏水和 200 μ L 的氧化铁溶液。另取一支试管做对照试验。在 700 nm 处测得吸光度值。吸光度值越大表明对铁离子的还原能力越强^[8]。

1.2.5 高脂动物模型建立和分组及血清指标测定

40 只健康 SPF 级雄性昆明小鼠,体重 15 g~20 g。适应性饲养 1 周后,随机分为 5 组,每组 8 只。分别为空白对照组(CK)、高脂模型阳性对照组(AC)、未加黄酮膨化组(WJH)、添加黄酮膨化组(TJH)、苦荞黄酮提取物组(KH)。空白对照组饲喂基础饲料,其余各组饲喂高脂饲料 4 周建立高脂小鼠模型后,高脂模型组与苦荞黄酮组继续饲喂高脂饲料,未加黄酮膨化组饲喂燕麦膨化食品,添加黄酮膨化组饲喂苦荞黄酮强化膨化食品(芦丁含量为 0.613 %)。

空白对照组、高脂模型组、无黄酮膨化组、添加黄酮膨化组给予蒸馏水灌胃 4 周,苦荞黄酮组给予 400 mg/kg 苦荞黄酮提取物灌胃 4 周。

血清指标测定:末次灌胃后禁食 12 h,乙醚麻醉后,摘眼球取血,所取血液 4 $^{\circ}$ C 静置 20 min,4 000 r/min 离心 20 min,吸出上清液即为血清,采用全自动生化仪测定 TC、TG、HDL、LDL 的含量。

葡萄糖耐量(oral glucose tolerance test,OGTT)实验:末次给药后禁食 12 h,尾部取血用血糖仪测定空腹血糖值(fasting blood glucose,FBG),然后各组经口给予葡萄糖 2.5 g/kg,测定灌胃葡萄糖后 0、0.5、1、2 h 的血糖值。并按下式方法分别计算血糖下面积(AUC)^[9]。

血糖下面积(AUC)=(空腹血糖+0.5 h 血糖值) $\times$ 0.5/2+(0.5 h 血糖值+1 h 血糖值) $\times$ 0.5/2+(1 h 血糖值+2 h 血糖值)/2

1.2.6 数据处理

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学组间 t 检验分析。

2 结果与分析

2.1 清除 DPPH 自由基的能力

样品的 DPPH 自由基清除率见表 1。

表 1 样品 DPPH 自由基清除率

Table 1 DPPH scavenging rate of samples

样品	DPPH 自由基剩余量/%	DPPH 自由基清除率/%
膨化前原料	58.94	41.06
膨化后产品	59.32	40.68
添加 1 %苦荞黄酮膨化后产品	29.24	70.76

由表 1 可知膨化前原料和膨化后产品的 DPPH 自由基清除率相近,约为 40.86 %,其起到抗氧化作用的

可能主要为燕麦本身含有的 β -葡聚糖、多酚类物质等,添加 1 %苦荞黄酮提取物后,DPPH 自由基清除率显著上升,与膨化前原料相比增长了 72.34 %,说明强化苦荞黄酮类物质在抗氧化功效方面作用显著。

2.2 清除羟自由基的能力

样品对羟自由基清除能力如图 2 所示。

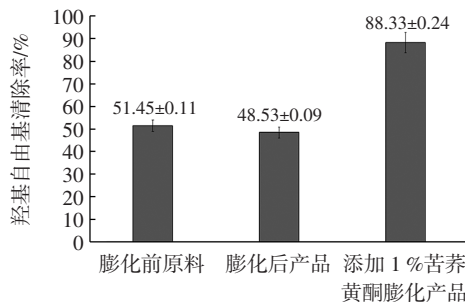


图 2 羟自由基清除率

Fig.2 Hydroxyl radical scavenging rate

膨化前原料对羟自由基的清除率为 51.45 %,膨化后产品对羟自由基的清除能力有所降低,抗氧化活性受到影响。添加 1 %苦荞黄酮提取物的燕麦膨化产品对羟自由基的清除率达到 88.33 %,进一步证实了膨化产品中添加黄酮类化合物可显著增强清除羟自由基的能力,提高抗氧化活性。

2.3 三价铁离子的还原能力

样品对铁离子还原能力的测定如图 3 所示。

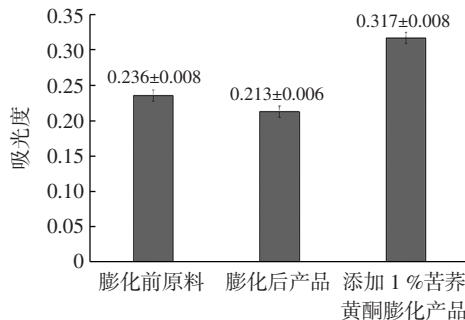


图 3 铁离子的还原能力测定

Fig.3 Determination of iron ion reduction

通过原料及产品对铁离子还原能力的测定,在 700 nm 处测得 4 种样品的吸光度大小排列为:添加 1 %苦荞黄酮膨化产品>膨化前原料>膨化后产品。吸光度越高代表对三价铁还原能力越高,说明添加苦荞黄酮提取物对燕麦膨化食品抗氧化能力有显著提升。

2.4 高脂动物模型血脂 4 项指标的统计分析

小鼠灌胃前后摄食量、饮水量和体重指标如图 4~6 所示。

试验中空白对照组灌胃后摄食量稳定水平,趋于中间水平;未加黄酮膨化组更换饲料前饮水量较大趋

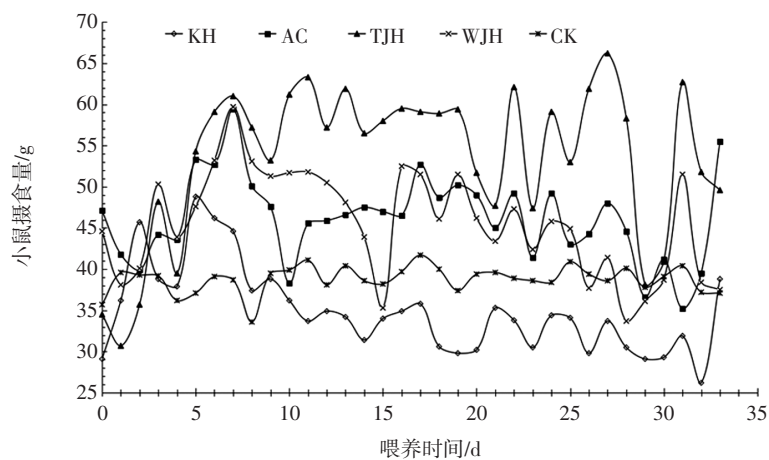


图4 灌胃后各组小鼠摄食量变化

Fig.4 Change of food intake in mice after gavage

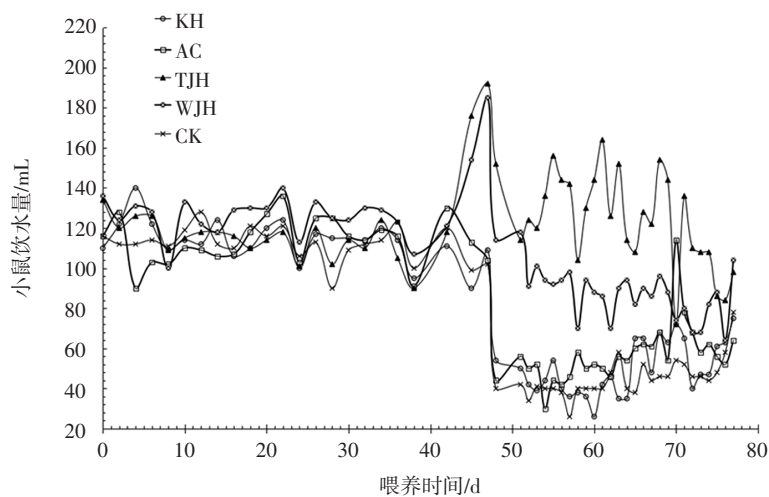


图5 各组小鼠饮水量变化

Fig.5 Changes of water content in each group mice

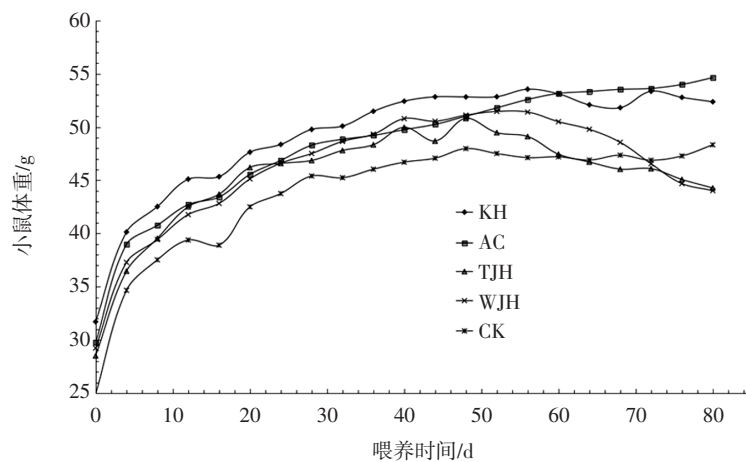


图6 各组小鼠体重变化

Fig.6 Changes of body weight in each group mice

于平稳状态且更换饲料后饮水量有所降低后趋于平稳;更换饲料前小鼠体重呈上升趋势至最高体重51.42g,更换饲料后小鼠体重平稳下降状态;添加黄酮膨化组更换饲料前饮水量平稳且更换饲料后饮水量有所提升后呈上下波动形态,更换饲料前小鼠体重呈上升趋势,体重增长迅速,更换饲料后呈平稳下降趋势后逐渐趋于平稳状态;苦荞黄酮组灌胃前小鼠饮水量较大,灌胃后迅速降低,且呈波动状态略有提升,灌胃前小鼠体重逐渐升高后趋于平稳,灌胃后小鼠体重略有降低,但体重依然较高且保持平稳状态。

小鼠血清指标的测定结果如表2所示。

表2 各组小鼠脂代谢相关指标测定结果($\bar{x} \pm S$, n=6)
Table 2 The lipid metabolism parameter of rats in each group ($\bar{x} \pm S$, n=6)

组别	TG/(mmol/L)	TC/(mmol/L)	HDL/(mmol/L)	LDL/(mmol/L)
CK	0.81±0.07 ^c	2.63±0.28 ^c	2.34±0.24 ^c	0.20±0.11 ^c
AC	1.24±0.12 ^a	4.39±0.23 ^a	2.30±0.19 ^b	0.74±0.08 ^a
TJH	0.80±0.05 ^c	3.64±0.21 ^b	3.75±0.20 ^a	0.35±0.06 ^{bc}
WJH	1.11±0.14 ^{ab}	4.18±0.16 ^{ab}	3.64±0.15 ^{ab}	0.55±0.06 ^{ab}
KH	0.94±0.14 ^{bc}	4.57±0.45 ^{ab}	3.63±0.32 ^{ab}	0.63±0.05 ^a

注:同一列肩注字母不同表示组间有显著差异 $P<0.05$, 含有相同字母表示组间无显著差异 $P>0.05$ 。

分析可知高脂模型组与空白对照组小鼠的各项指标均有显著性的差异($P<0.05$),表明造模后的高脂小鼠糖脂代谢发生明显紊乱。通过4周提取物的灌胃与更换饲料后饲喂的TG、TC、HDL、LDL指标对比中发现,添加黄酮膨化组与高脂模型组小鼠存在显著性差异($P<0.05$),其中TG与LDL含量其与空白对照组小鼠相比无显著差异,说明小鼠甘油三酯的代谢和低密度脂蛋白的水平恢复明显,HDL含量与空白对照组小鼠相比有所提升,说明添加1%苦荞黄酮提取物的挤压膨化食品对高脂小鼠的糖脂代谢有积极的影响;未加黄酮膨化组的血脂4项指标与高脂模型组比较无显著差异($P>0.05$),但TG、TC、LDL含量指标有所降低,HDL含量有所升高,说明燕麦挤压膨化产品对小鼠血脂4项水平也存在一定的影响,可能是因为产品中含有 β -葡聚糖和抗性淀粉的作用。

2.5 高脂动物模型葡萄糖耐量和血糖下面积

各组小鼠糖耐量的变化如图7所示。

高脂模型组大鼠葡萄糖耐量与空白对照组相比有较为明显的上升,血糖急剧上升,添加苦荞黄酮提取物的挤压膨化食品对小鼠糖耐量有较好的调节作用,血糖上升水平最低;未添加提取物的膨化产品组小鼠与空白对照的糖耐量相似,但血糖下降趋势相对缓慢;各组小鼠血糖下面积(AUC)的变化如图8所示。

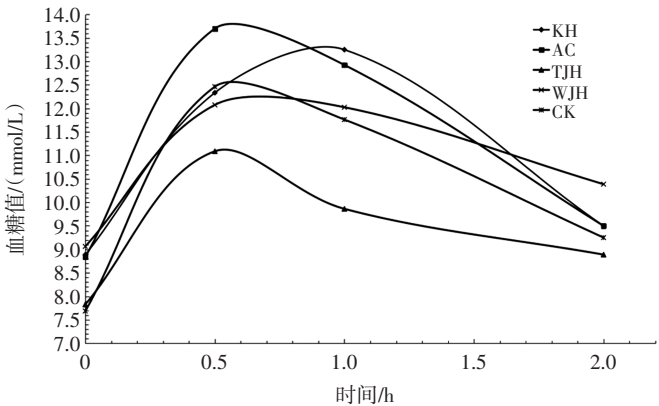


图7 各组小鼠糖耐量的变化($\bar{x} \pm S$, n=6)

Fig.7 Changes of glucose tolerance in mice in each group($\bar{x} \pm S$, n=6)

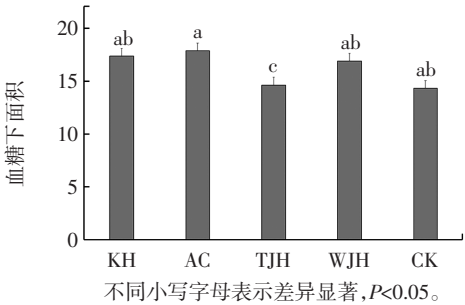


图8 各组小鼠血糖下面积(AUC)的变化($\bar{x} \pm S$, n=6)

Fig.8 Changes of AUC in mice of each group($\bar{x} \pm S$, n=6)

对各组小鼠的血糖下面积进一步分析可知,加黄酮膨化组小鼠的血糖下面积显著低于其余各组($P<0.05$),未添加提取物组与添加提取物组小鼠的血糖下面积相近,与高脂模型组小鼠相比有所下降,程度不明显,而添加组小鼠血糖下面积与空白对照组有显著的降低($P<0.05$)。

3 结论与讨论

本研究前期试验对挤压膨化原料、挤压膨化前后

黄酮类物质含量的变化进行了研究,发现在一定的挤压膨化条件下,黄酮类物质有一定的损失,但并不十分显著^[9],进而可对强化黄酮类物质的产品的生物活性作进一步的研究。试验发现生产原料具有抗氧化能力,可能主要与燕麦中含有的 β -葡聚糖、少量的多酚类物质等有关,他们具有一定的抗氧化能力。通过DPPH 自由基清除率、羟基自由基清除率和三价铁还原能力的试验结果可以看出,添加苦荞黄酮提取物后的挤压膨化产品其抗氧化能力得到显著提高。黄酮类化合物等的抗自由基活性与其结构中的C 环C3 位的羟基基团和B 环上的邻位二羟基结构密切相关^[10],从试验结果来看,在高温高压挤压膨化加工的条件下,羟基基团还具有相当的稳定性,保持了较高的清除自由基的能力。从 Fe^{3+} 被还原为 Fe^{2+} 的能力也可以看出,强化了苦荞黄酮提取物的燕麦挤压膨化产品的还原性、抗氧化活性得到明显增强。

在高脂动物模型对比实验中,通过4 周提取物的灌胃与更换饲料喂养小鼠的对比发现,未加黄酮膨化组的血脂4 项指标中TG、TC、LDL 指标有所降低。医学界普遍认为 β -葡聚糖具有清肠、调节血糖、降低胆固醇、提高免疫力4 大生理作用^[11]。添加苦荞黄酮提取物的挤压膨化产品对高脂血症小鼠的糖脂代谢有积极地影响,使得高脂血症小鼠症状得到改善,调整了糖脂代谢机能,可能使其胰岛、肝脏等器官的功能得到改善和恢复;而在糖耐量指标中,苦荞膨化组低于空白对照组模型但不显著,而添加苦荞黄酮组显著低于空白对照组,可能是苦荞黄酮提取物和燕麦 β -葡聚糖均有降血脂的功效,从而进一步降低了糖耐量指标。前期试验还发现,添加苦荞黄酮提取物的产品淀粉结构有所变化,抗性淀粉的含量有一定的增加,也可能是降低血脂水平的原因之一。可见,利用挤压膨化技术强化一定量的黄酮类物质可以开发生产具有更强生物活性的食品。

燕麦和淀粉混合原料对DPPH 自由基的清除率达到41.06 %、对羟自由基的清除率是51.45 %;原料经挤压膨化后的膨化产品对DPPH 自由基的清除率达到40.68 %、对羟自由基的清除率是48.53 %;添加1 %苦荞黄酮提取物的燕麦挤压膨化产品对DPPH 自由基的清除率达到70.76 %、对羟自由基的清除率是88.33 %;

对三价铁离子的还原能力分别为添加1 %苦荞黄酮膨化产品0.317、膨化前原料0.236、膨化后产品0.213。

添加苦荞黄酮提取物的裸燕麦挤压膨化产品对高脂血症小鼠具有较好的糖脂代谢调节作用,在血脂指标TG、HDL、HDL、LDL 中,加黄酮膨化组与高脂模型组存在显著性差异($P<0.05$),其中TG 与LDL 含量与空白对照组相比无显著差异;HDL 含量有显著性提升,其糖耐量与血糖下面积显著优于其余各组。以燕麦和淀粉为主要原料进行挤压膨化食品的生产中通过强化苦荞黄酮提取物可显著提高膨化产品的抗氧化能力,改善小鼠糖脂代谢紊乱效果更加明显,此技术可用于生产具有更好生物功能的挤压膨化食品或食品配料。

参考文献:

- [1] 刘迎春,周青平. 燕麦研究最新进展[J]. 青海科技,2011(6): 20-23
- [2] MARTINEZ-VILLALUENGA C, PENAS E. Health benefits of oat: current evidence and molecular mechanisms[J]. Current Opinion in Food Science, 2017, 14: 26-31
- [3] 任锦丽,张黎,王思惟,等. 燕麦 β -葡聚糖对糖尿病大鼠肾病干预作用及机制[J]. 中国公共卫生,2018,34(6): 819-822
- [4] 赵霞. 热加工和发芽处理对燕麦多酚含量和抗氧化性的影响[D]. 无锡:江南大学,2016
- [5] Lee C C, Shen S R, Lai Y J, et al. Rutin and quercetin, bioactive-compounds from tartary buckwheat, prevent liver inflammatory injury[J]. Food Funct, 2013,4(5): 794-802
- [6] 薛朕钰,刘金福,薛森,等. 裸燕麦与玉米淀粉混合挤压膨化技术研究[J]. 食品研究与开发,2018,39(2): 137-142
- [7] 杨虎,张生堂,高国强. 玫瑰黄酮的提取及其清除DPPH 自由基活性研究[J]. 食品科学,2012(24): 152-155
- [8] 蔡茜彤. 牛蒡根多酚类化合物提取工艺优化及抗氧化活性的研究[D]. 锦州:渤海大学,2015
- [9] 李毅腾,王晓闻,何庆峰,等. 苦瓜皂苷与南瓜多糖或苦荞黄酮联合作用改善2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的研究[J]. 现代食品科技, 2015,31(9): 14-19
- [10] 郭一萌. 黄酮类化合物对血小板聚集、自由基清除及与血清白蛋白相互作用的差异及机制的初步研究[D]. 大连:大连医科大学, 2011
- [11] 熊涛,徐立荣,曾哲灵. β -葡聚糖酶的研究进展[J]. 四川食品与发酵,2006(6): 1-4

收稿日期:2018-10-26