

挤压膨化对青稞中不同形态多酚组成及抗氧化活性的影响

Effect of extrusion process on different forms of phenolic compounds and antioxidant activities of hulless barley

何扬航¹ 刘刚^{1,2} 夏陈³ 邓俊琳³

HE Yang-hang¹ LIU Gang^{1,2} XIA Chen³ DENG Jun-lin³

林长彬³ 向卓亚³ 陈建³ 张文会⁴

LIN Chang-bin³ XIANG Zhuo-ya³ CHEN Jian³ ZHANG Wen-hui⁴

(1. 四川师范大学生命科学学院, 四川 成都 610101; 2. 四川师范大学食品功能及加工应用研究所, 四川 成都 610101; 3. 四川省农业科学院农产品加工研究所, 四川 成都 610066;

4. 西藏自治区农牧科学院农产品开发与食品科学研究所, 西藏 拉萨 850000)

(1. College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu, Sichuan 610101, China;

2. Institute of Food Function and Application Research, Chengdu, Sichuan 610101, China;

3. Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Sichuan Academy of Agricultural Science, Chengdu, Sichuan 610066, China; 4. Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Food Science Institute, Lasa, Tibet 850000, China)

摘要:以独立花青稞为材料,探究挤压膨化对青稞中不同形态多酚组分及抗氧化活性的影响。采用福林酚法测定膨化前后青稞样品的多酚含量;采用高效液相色谱法测定醇提物中的 7 种多酚单体含量;采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除法测定抗氧化能力的变化。结果表明,经挤压膨化处理后,总多酚、游离型多酚和结合型多酚分别降低了 52.7%, 89.3%, 23.7%, 酯化型多酚含量较低,略微增加了 2.49 mg/100 g;游离型多酚中检测出的多酚种类增加了 3 种,7 种多酚单体在结合型多酚中均有测出;其中阿魏酸含量最高且主要以结合态存在,其含量处理后显著增加;此外,两种条件下青稞提取物抗氧化活性分别为 1.76, 0.93 mg/g, 多酚含量与抗氧化活性呈极显著正相关。表明挤压膨化技术运用于青稞加工之中,在改变青稞质构和口感的同时会降低多酚含量及抗氧化活性。

关键词:青稞;挤压膨化;多酚;抗氧化活性

Abstract: This study was aimed at determining the contents of different forms of polyphenols and antioxidant activities of hulless barley. The contents and types of polyphenols were detected by Folin-ciocalteu and HPLC, respectively. The antioxidant activity was investigated by testing the scavenging ability of DPPH radicals. Results showed that the free, bind and total phenolic content of hulless barley decreased respectively by 89.3%, 23.7% and 52.7%, and esterified polyphenols slightly increased by 2.49 mg/100 g after processing. The variety of polyphenols segregated from free polyphenol extracts increased three. Besides, 7 phenolic compounds were all tested in bind polyphenols. Ferulic acid had the highest content mainly existing in bound state. Simultaneously, its content significantly increased after extrusion process. Under the control of these two conditions, antioxidant activities were 1.76 mg/g and 0.93 mg/g, respectively. Moreover, a strong positive correlation between polyphenol and antioxidant activity was found. It could be concluded that extrusion process could change the texture and taste of hulless barley, while the polyphenol content and its antioxidant activity were reduced.

Keywords: hulless barley; extrusion process; polyphenol; antioxidant activity

基金项目:国家现代农业(大麦、青稞)产业技术体系建设经费项目(编号: CARS-05)

作者简介:何扬航,男,四川师范大学在读硕士研究生。

通信作者:刘刚(1968—),男,四川师范大学副教授,硕士。

E-mail: rh682@sohu.com

夏陈(1983—),男,四川省农业科学院农产品加工研究所副研究员,硕士。E-mail: 154541462@qq.com

收稿日期:2020-09-07

青稞(*Hordeum vulgare* Linn var. nudum Hook. f.) 又称元麦或裸大麦,年产量占西藏自治区粮食总产量的65%以上,种植面积约为 $1.18 \times 10^6 \text{ hm}^2$ [1-2]。青稞常用于制作成糌粑、面、馒头、饼干等食品[3]。因富含多酚[4-5]、维生素[6]等物质,青稞对糖尿病[7-8]、心血管疾病[9]、肠道癌[10]等有预防和缓解作用。多酚是青稞中含量丰富的次级代谢产物[11],能通过调节氧化酶活性的方式起到抗氧化的效果,与青稞的功能活性有着紧密联系[12]。

挤压膨化是青稞比较成熟的加工方式之一,也广泛应用于薯类和其他谷物类的原料加工中。经过加工后,原料中的淀粉、蛋白质、纤维素等物质在高温、高压及高剪切力的作用下结构会发生变化,其制品的口感、营养价值随之改变[13]。目前相关研究主要集中于挤压膨化加工对青稞产品的质构、消化性和氨基酸等方面[14-15],关于挤压膨化对青稞多酚组分的影响还未见报道。试验拟采用工业化的挤压膨化技术设备与条件处理青稞,比较膨化前后青稞中不同形态多酚构成及抗氧化活性的变化,以期对挤压膨化技术更广泛地应用到青稞的加工之中以及青稞食品的营养价值评估提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

青稞:独立花,产自四川阿坝自治州若尔盖县;

碳酸钠、福林酚、无水乙醇、甲醇、氯化钾、硝酸铝、氢氧化钠、盐酸、亚硝酸钠:分析纯,成都市科龙化工试剂厂;

没食子酸、水溶性维生素 E:北京索莱宝科技有限公司;

高效液相色谱仪:1260 型 HPLC 仪,美国 Agilent 公司;

高速离心机:H2050R-1 型,湖南湘仪离心机仪器有限公司;

旋转蒸发仪:Hei-VAP Advantage ML 型,德国 Heidolph 公司;

紫外分光光度计:UV-1750 型,日本岛津公司;

超声波清洗仪:KQ-250DB 型,昆山超声仪器厂;

旋转双螺杆挤出机:DS30 型,山东赛信膨化机械有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 青稞挤压膨化处理 将青稞粉碎过 80 目筛,称取 100 kg,加入至螺旋双杆挤出机中,通过喷淋和搅拌的方式进行水分调节,使原料含水率达到 22% 左右。设置挤压前、中、后段温度分别为 50, 125, 135 °C,螺杆旋转速率为 28 Hz,进料速度为 3 kg/min,制得挤压膨化青稞,含水量为 8%。置于烘箱 40 °C 干燥 4 h 后,装入自封袋,待

测试用。

1.2.2 青稞多酚的提取与测定

(1) 青稞游离型多酚的提取:参照时东方等[16]的方法,略作修改。精确称取青稞粉 1.00 g,加入体积分数为 80% 的甲醇溶液 8 mL 室温下超声 40 min,离心 (6 000 r/min, 10 min) 收集上清液。残渣用同样方法提取 2 次,合并 3 次上清液,45 °C 下真空浓缩蒸出丙酮,用 6 mol/L 盐酸调 pH 至 2.0 左右,先用等体积正己烷萃取 2 次,弃掉正己烷层,再用等体积乙酸乙酯萃取 3 次,合并有机相,45 °C 下真空浓缩至干,用 80% 体积分数的甲醇溶液定容至 5 mL,通过 0.22 μm 有机膜过滤,得青稞游离态多酚。

(2) 青稞酯化型多酚的提取:在上述萃取后的水相中,加入等体积的 4 mol/L 的氢氧化钠,室温避光密封碱解 4 h,用 6 mol/L 盐酸调 pH 至 2.0 左右,再用等体积乙酸乙酯萃取 3 次,合并有机相,45 °C 下真空浓缩至干,用体积分数为 80% 的甲醇溶液定容至 5 mL,通过 0.22 μm 有机膜过滤,得酯化型多酚。

(3) 青稞结合型多酚的提取:在上述提取过游离酚的残渣中加入 20 mL 正己烷,离心 (3 000 r/min, 10 min),弃去上清液,再加入 2 mol/L NaOH 溶液 20 mL,密封后室温下震荡 2 h。所得水解液用 6 mol/L 盐酸调 pH 至 2.0 左右,用等体积乙酸乙酯萃取 3 次,离心 (3 000 r/min, 5 min),合并乙酸乙酯萃取相,45 °C 下真空浓缩至干。用体积分数为 80% 的甲醇溶液定容至 5 mL,0.22 μm 有机膜过滤,得结合型多酚。

3 种形态青稞多酚提取物 -20 °C 避光保存,所有提取操作重复 3 次。

(4) 总多酚的测定:参照夏陈等[17]的方法,略作修改。将多酚提取液进行稀释,使样品没食子酸含量在标准曲线 0.0~600.0 μg 可测范围内。每种提取液加入 20 μL 福林酚 (Folin-Ciocalteu) 试剂,混合均匀、放置 10 min,加入碳酸钠终止反应。室温下避光静置 80 min 后,于 765 nm 处测定吸光度。配制不同质量浓度梯度的没食子酸标准品制作标准曲线,线性回归方程为: $y = 0.0029x \pm 0.0263$, $R^2 = 0.9982$ 。多酚含量以每 100 g 样品等同于没食子酸的毫克数表示,总多酚含量为分别测定的结合型、酯化型和游离型多酚含量之和。

1.2.3 多酚单体组成分析 采用 HPLC 法。色谱条件: Poroshell 120 PFP column 柱 (4.6 × 100 mm, 2.7 μm); 流动相为 0.005% 的甲醇 (A) 和乙腈 (B); 梯度洗脱程序: 0~10 min, 5%~10% B; 10~20 min, 10%~20% B; 20~35 min, 20%~40% B; 35~40 min, 40%~70% B; 40~45 min, 70%~95% B。流速 0.8 mL/min; 柱温 30 °C; 二极管阵列检测器; 检测波长 245, 280, 320 nm。

通过与 7 种多酚化合物标准品 (表 1) 的保留时间对

表 1 回归方程及线性范围

Table 1 Regression equation and linear range

成分	检测波长/nm	回归方程	R^2	线性范围/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
对羟基苯甲酸	254	$y=40.37x+4.554$	0.999	0.64~320.90
香草酸	254	$y=19.58x+1.253$	0.999	1.00~250.20
香草醛	280	$y=23.89x-0.69$	0.999	1.20~301.50
对香豆酸	320	$y=40.14x-11.39$	0.999	0.67~167.04
阿魏酸	320	$y=37.17x-7.404$	0.999	0.47~117.60
芥子酸	320	$y=28.36x-1.624$	0.999	0.51~202.80
肉桂酸	280	$y=52.692x-2.642$	0.999	0.59~293.00

比,确定色谱峰所代表的化合物种类,通过峰面积计算出检测的多酚化合物含量。

1.2.4 抗氧化活性测定 参照刘刚等^[18]的方法,略作修改。准确吸取 50 μL 3 种类型多酚提取液于试管中,加体积分数 80% 的甲醇溶液 80 μL ,混合均匀后加入 0.2 mmol/L DPPH 溶液 100 μL ,充分摇匀,25 $^{\circ}\text{C}$ 下避光反应 30 min,于 517 nm 处测定吸光值。每组试验 3 个平行。配制不同浓度梯度的水溶性维生素 E 标准品制作标准曲线,线性回归方程为: $y=0.942\ 8x-0.420\ 2$, $R^2=0.997$ 。抗氧化能力(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)用水溶性维生素 E 当量表示。计算公式:

$$K=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100\%, \quad (1)$$

式中:

K ——DPPH 自由基清除率,%;

A_1 ——样品吸光度值;

A_2 ——对照吸光度值;

A_0 ——空白吸光度值。

1.3 数据分析

使用 t 检验比较两种工艺样品多酚组间差异性, $P<0.05$ 表示有显著性差异。用 Pearson 相关分析比较多酚组分含量与总 ORAC 的相关性, $P<0.05$ 表示有显著相关性。

相关性分析采用 SPSS 20.0 统计学软件进行,图样使用 Sigmaplot 14.0 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 不同形态多酚含量

挤压膨化前后青稞中不同形态多酚含量见表 2。未

膨化青稞的总多酚含量为(164.29 ± 8.09) mg/100 g,与董吉林等^[19]对青稞营养分析的结果相近。经挤压膨化处理后,总多酚降低了 52.7% ($P<0.01$),游离型和结合型多酚分别降低了 89.3% ($P<0.01$),23.7%。相关研究^[20]表明,双螺杆挤出机是一个温度和剪切力不均匀的反应器,挤压膨化过程可能会导致物质化学键断裂、分子量变化,推测青稞主要的多酚可能在反应时被破坏,含量降低;而酯化型多酚本身含量较低,处理后略微增加($P<0.05$),可能是在较高温度、压力下,与纤维素等连接的糖苷型多酚断裂释放出来,被检测出的酯化型多酚含量增加^[15]。同时,在有关糙米的类似试验^[21]中,也发现结合型多酚含量高于游离型多酚和酯化型多酚,结合型多酚可能是青稞多酚最稳定的形式。

2.2 多酚单体

对青稞中 3 类多酚的 7 种单体分别进行 HPLC 分析,结果见图 1。

由图 1 可知,在该色谱条件下 7 种酚类化合物标准品均能清晰分离。样品条带上 7 个目标峰的保留时间与多酚标准品条带上的 7 个色谱峰时间一致,表明在该色谱条件下青稞样品中的 7 种酚类化合物能够得到很好的分离。

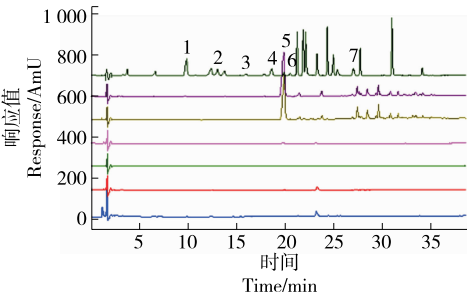
由表 3 可知,经挤压膨化处理后,游离型多酚提取物中对羟基苯甲酸、阿魏酸含量分别增加了 0.05,2.02 $\mu\text{g/g}$,检测出的多酚总含量增加了 6.94 $\mu\text{g/g}$ ($P<0.01$),种类由 3 种增加到 6 种,可能是因为高温、高剪切力条件下,结合型的香草醛、对香豆酸和芥子酸从青稞中释放出来。酯化型多酚提取物中仅检测出阿魏酸(1.66 $\mu\text{g/g}$)。结合型多酚提取物中 7 种酚类化合物均有测出,其中对羟基

表 2 青稞中不同形态的多酚含量[†]

Table 2 Polyphenol content in different forms of hulless barley ($n=3$) mg/100 g

样品	游离型	酯化型	结合型	总多酚
未膨化青稞	70.97 ± 0.65	1.24 ± 0.47	92.08 ± 7.96	164.29 ± 8.09
膨化青稞	$7.60\pm 0.26^{**}$	$3.73\pm 0.18^{*}$	70.28 ± 2.58	$81.61\pm 2.45^{**}$

[†] 与未膨化青稞比较,* 有显著性差异($P<0.05$),** 有极显著差异($P<0.01$)。



1. 对羟基苯甲酸 2. 香草酸 3. 香草醛 4. 对香豆酸 5. 阿魏酸 6. 芥子酸 7. 肉桂酸 检测样品从下至上依次为:标准品、膨化游离酚、未膨化游离酚、膨化酯型酚、未膨化酯型酚、未膨化结合酚、膨化结合酚

图1 青稞中3种形态多酚的HPLC检测

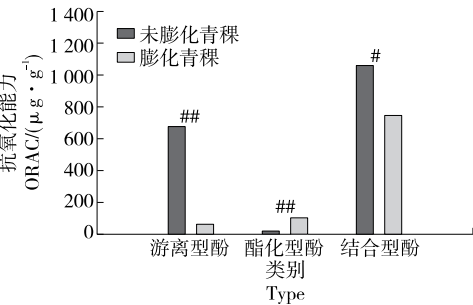
Figure 1 HPLC detection of three forms of polyphenols in hulless barley

表3 青稞中7种多酚单体的检测[†]

Table 3 Detection of 7 polyphenols in hulless barley μg/g DW

样品	对羟基苯甲酸	香草酸	香草醛	对香豆酸	阿魏酸	芥子酸	肉桂酸	总计
未膨化游离酚	0.31	1.34	nd	nd	1.74	nd	nd	3.39
膨化游离型酚	0.36 * *	1.58	3.13	0.90	3.76 * *	0.60	nd	10.33 * *
未膨化酯化型酚	nd	0.99	nd	nd	5.92	nd	nd	6.91
膨化酯化型酚	nd	nd	nd	nd	4.26 * *	nd	nd	4.26 * *
未膨化结合酚	0.69	2.42	4.04	5.51	324.74	5.40	10.53	353.33
膨化结合酚	0.53 * *	1.37 * *	2.99 * *	7.77 * *	358.21 * *	5.84 *	8.51 * *	385.22

[†] nd代表未检测出;与未膨化青稞提取物相比,*有显著性差异(P<0.05),**有极显著差异(P<0.01)。



#. 有显著性差异(P<0.05),##. 有极显著差异(P<0.01)。

图2 青稞多酚化合物抗氧化能力指数

Figure 2 ORAC value of polyphenolic compounds in hulless barley (n=3)

果发现,3种形态多酚抗氧化能力与其多酚含量呈一定程度的正相关。

2.4 相关性分析

通过统计学软件 SPSS 20.0 分析青稞中多酚含量与 ORAC 的相关性,结果见表 4。青稞总多酚含量与 ORAC 值,决定系数 R^2 为 0.997,呈极显著正相关($P<0.01$),同时,各种形态多酚含量与其抗氧化能力指数之间均存在极显著性正相关($P<0.01$),其中游离多酚含量与多酚

苯甲酸、香草酸、香草醛、肉桂酸含量均显著降低($P<0.01$),分别降低了 0.16,0.69,1.05,2.02 μg/g,对香豆酸、阿魏酸、芥子酸含量分别增加了 2.26,33.74,0.44 μg/g;推测可能是经挤压膨化处理后其结构更为蓬松,NaOH 更易作用于与纤维素、多糖等,使阿魏酸更易溶出。在各种形态的多酚提取物中,均为阿魏酸含量最高,Zhu 等^[4]的研究结果与此相近,阿魏酸是青稞中最丰富的多酚化合物,主要是以不溶性结合态存在于青稞中。

2.3 抗氧化活性

青稞中游离型、酯化型及结合型多酚的抗氧化能力(ORAC)见图 2。挤压膨化处理后青稞游离型和结合型多酚提取物抗氧化能力分别降低了 89.9%($P<0.01$),29.5%($P<0.05$),酯化型多酚提取物抗氧化能力增加了 78.5%($P<0.01$)。结合 2.1 各种形态多酚含量的检测结

表4 青稞中游离型、酯化型、结合型多酚含量与抗氧化能力指数的相关性分析[†]

Table 4 Correlation analysis of free, ester, binding phenolic and ORAC in hulless barley

指标	游离型	酯化型	结合型	总多酚
ORAC	0.994 * *	-0.973 * *	0.943 * *	0.997 * *

[†] * * 相关性极显著(P<0.01)。

ORAC 值的决定系数最高, R^2 为 0.994,表明青稞多酚含量对其抗氧化能力的大小的重要影响,不同形态青稞多酚对抗氧化能力的贡献有区别^[22]。

3 结论

从青稞独立花中提取了游离型、酯化型和结合型 3 种形态的多酚,分别测定了不同形态多酚含量、酚类单体组成以及抗氧化活性。发现与挤压前的青稞粉相比,总多酚含量显著性下降,其中游离型、结合型多酚含量均下降,酯化型多酚含量增加;不同形态多酚提取物中检测出的多酚单体种类发生改变,阿魏酸是青稞中最丰富的多酚化合物且主要以结合态存在;两种状态下的青稞多酚含量与抗氧化能力呈显著正相关。

挤压膨化在改变青稞口感风味^[14]的同时,对青稞中

的多酚组分及其抗氧化能力也有显著影响。后续可增加检测的青稞品种数量和多酚化合物种类,深入探究挤压膨化工艺对青稞多酚组成及其抗氧化能力的影响。

参考文献

- [1] SHEN Ying-bin, HU Chu-ran, ZHANG Hui, et al. Characteristics of three typical Chinese highland barley varieties: Phenolic compounds and antioxidant activities[J]. Journal of Food Biochemistry, 2018, 42(2): e12488.
- [2] DAI Fei, NEVO Eviatar, WU De-zhi, et al. Tibet is one of the centers of domestication of cultivated barley[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(42): 16 969-16 973.
- [3] AMES N, RHYMER C, ROSSNAGEL B, et al. Utilization of diverse hullless barley properties to maximize food product quality[J]. Cereal Foods World, 2006, 51(1): 23-28.
- [4] ZHU Yong, LI Tong, FU Xiong, et al. Phenolics content, antioxidant and antiproliferative activities of dehulled highland barley (*Hordeum vulgare* L.)[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 19: 439-450.
- [5] XU Fei-fei, BAO Jin-song, KIM Tae-sung, et al. Genome-wide association mapping of polyphenol contents and antioxidant capacity in whole-grain rice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(22): 4 695-4 703.
- [6] PACIOLLA C, FORTUNATO S, DIPIERRO N, et al. Vitamin C in plants: From functions to biofortification[J]. Antioxidants, 2019, 8(11): 519.
- [7] BALAKRISHNAN J, THAMILARASAN S K, RAVI M S, et al. Comparison of phytochemicals, antioxidant and hypoglycemic activity of four different Brown rice varieties[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019, 21: 101351.
- [8] DENG Na, ZHENG Bi-sheng, LI Tong, et al. Assessment of the phenolic profiles, hypoglycemic activity, and molecular mechanism of different highland barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(4): 1 175.
- [9] LILLIOJA S, NEAL A L, TAPSELL L, et al. Whole grains, type 2 diabetes, coronary heart disease, and hypertension: Links to the aleurone preferred over indigestible fiber[J]. Biofactors, 2013, 39(3): 242-258.
- [10] HULLINGS A G, SINHA R, LIAO L M, et al. Whole grain and dietary fiber intake and risk of colorectal cancer in the NIH-AARP diet and health study cohort[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2020, 112(3): 603-612.
- [11] YANG Xi-juan, DANG Bin, FAN Ming-tao. Free and bound phenolic compound content and antioxidant activity of different cultivated blue highland barley varieties from the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Molecules, 2018, 23(4): 879.
- [12] YOUSEFIAN M, SHAKOUR N, HOSSEINZADEH H, et al. The natural phenolic compounds as modulators of NADPH oxidases in hypertension [J]. Phytomedicine, 2019, 55: 200-213.
- [13] 杜双奎, 魏益民, 张波. 挤压膨化过程中物料组分的变化分析[J]. 中国粮油学报, 2005(3): 39-43, 47.
- [14] 刘萍, 徐慧静. 挤压处理对青稞粉质构性质及消化性的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 49(17): 28-34.
- [15] 张晓梅, 姜铁民, 刘妍, 等. 挤压膨化对西藏青稞中氨基酸组分含量的影响分析[J]. 食品科技, 2019, 44(7): 218-224.
- [16] 时东方, 任长忠, 李丽, 等. 燕麦中多酚类化合物的分析及抗氧化活性的研究[J]. 安徽农业科学, 2008(30): 13 000-13 002, 13 050.
- [17] 夏陈, 向卓亚, 朱永清, 等. 不同品种青稞中总多酚、总黄酮含量及抗氧化性比较[J]. 食品与机械, 2020, 36(6): 162-165.
- [18] 刘刚, 伍佩珂, 蒋小妹, 等. 桂花果皮醇提物的抑菌活性和抗氧化活性的研究[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2018, 41(5): 672-676.
- [19] 董吉林, 李鹏冲, 申瑞玲, 等. 青稞萌发工艺优化及营养成分分析[J]. 食品与机械, 2017, 33(2): 158-161.
- [20] FARAHANCHI A, MALLOY R, SOBKOWICZ M J. Effects of ultrahigh speed twin screw extrusion on the thermal and mechanical degradation of polystyrene[J]. Polymer Engineering & Science, 2016, 56(7): 743-751.
- [21] GONG Er-sheng, LUO Shun-jing, LI Tong, et al. Phytochemical profiles and antioxidant activity of brown rice varieties[J]. Food Chemistry, 2017, 227: 432-443.
- [22] LI Qing, YANG Shi-hua, LI Yong-qiang, et al. Antioxidant activity of free and hydrolyzed phenolic compounds in soluble and insoluble dietary fibres derived from hullless barley [J]. LWT-Food Science & Technology, 2019, 111: 534-540.