

赵辰路,周文美,张建敏. 富硒对荞麦苗抗氧化物质含量及活性的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):100-102.

# 富硒对荞麦苗抗氧化物质含量及活性的影响

赵辰路,周文美,张建敏

(贵州大学贵州省发酵工程与生物制药重点实验室/贵州大学食品与酿酒工程学院,贵州贵阳 550025)

**摘要:**采用亚硒酸钠溶液作为富硒原料,对甜、苦 2 种荞麦苗进行富硒处理。荞麦苗中的主要抗氧化物质包括黄酮类化合物及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)。单因素和正交试验结果表明,富硒后能有效提高甜荞麦、苦荞麦中黄酮类化合物含量及 GSH-Px 活性,其中苦荞麦富硒后的效果优于甜荞麦;正交设计优化结果显示,最佳富硒方案为生长 16 d、亚硒酸钠溶液培养浓度为 40 mg/L、荞麦品种为苦荞、亚硒酸钠溶液 20 mg/L 浸种处理。

**关键词:**富硒;荞麦苗;黄酮类化合物;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)

**中图分类号:**S517.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)08-0100-03

硒是人体必需的微量元素之一,人体缺硒可引起某些重要器官功能失调,导致许多严重疾病发生<sup>[1]</sup>。通过对硒的补充,可以提高机体免疫能力,维护心脏、肝脏等重要器官的正常功能,预防老年性心脑血管疾病的发生,同时具有多种保健功能。荞麦营养成分全面,有“五谷之王”的美称。荞麦富含淀粉、蛋白质、脂肪、维生素、粗纤维、矿物元素等,同时富含类黄酮化合物。大量研究表明,芦丁是荞麦中起保健作用的主要功能成分,它能有效降低微血管脆性和渗透性,具有多种保健功能<sup>[2]</sup>。荞麦芽作为一种新兴芽菜,具有良好的风味及保健作用。相关文献报道,通过对植物进行富硒处理,能提升植物中硒含量、黄酮类化合物含量及 GSH-Px 活性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

**材料:**市售甜荞及苦荞种子发芽后生长 13~20 d 并经过富硒处理的荞麦苗,干燥粉碎后,过 40 目筛备用。

**试剂:**柠檬酸钠、叠氮钠、乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、二硫二硝基苯甲酸(DTNB)、谷胱甘肽(GSH)标准品、芸香苷标准品、无水乙醇、30% 过氧化氢;试验提取与分析用水为超纯水。

电子天平 FA2004N(上海菁海仪器有限公司)、可见分光光度计 722S(上海菁华科技仪器有限公司)、KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、SF-170 型高速粉碎机(上海中药机械厂)、HG-101-1 电热鼓风干燥箱(南京盈鑫实验仪器有限公司)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 黄酮类化合物含量的测定** 采用分光光度计法<sup>[3-6]</sup>测定。吸取 0.2 mg/mL 芸香苷标准溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置于 6 个 25 mL 的容量瓶中,依次编号;各加 5%

NaNO<sub>2</sub> 溶液 0.4 mL,摇匀后放置 6 min,分别加入 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液 0.4 mL,摇匀后放置 6 min;然后再各自加入 1 mol/L NaOH 溶液 4 mL,最后用 50% 乙醇定容至刻度线,摇匀,放置 15 min,在波长 510 nm 处测定吸光度。精确称取 1.0 g 复习荞麦芽,加入 10 mL 50% 乙醇,超声处理(240 W)在 45 ℃ 下提取 30 min,多次离心去不溶物,用相同浓度乙醇定容至 25 mL,吸取 1.0 mL 按照标准曲线测定方法,在波长 510 nm 处测定吸光度。

**1.2.2 GSH-Px 活性测定** 采用 DTNB 比色法<sup>[7-8]</sup>测定,用 13~20 d 生长期的甜荞苗及苦荞苗整株。取 1 g 新鲜材料,加 10 mL 磷酸提取液冰浴中研磨成匀浆,12 000 r/min 离心 15 min,分别取 200 μL 上清液置于 2 支试管中,将其中 1 支放在沸水浴中加热 10 min。分别向以上 2 支试管中加入 400 μL GSH 溶液和 200 μL 37 ℃ 预热的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液,迅速置于 37 ℃ 水浴 3 min,加入 4 mL 偏磷酸溶液,12 000 r/min 离心 10 min,保留上清液,其余步骤与黄爱缨等方法<sup>[7-8]</sup>相同。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素对荞麦苗中黄酮类化合物含量的影响

**2.1.1 标准曲线的绘制** 按照“1.2.1”中的标准曲线的绘制方法,测得对应浓度下的吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线(图 1)。

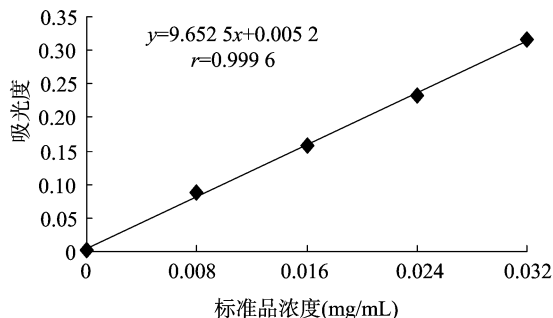


图1 不同浓度芸香苷对应的吸光度

**2.1.2 不同生长时期荞麦苗中黄酮类化合物的含量** 在常温环境下分别使甜荞麦苗、苦荞麦苗生长 14~19 d,烘干粉碎后,采用分光光度法分别测定甜荞麦苗、苦荞麦苗不同生长期下的黄酮类化合物含量。由图 2 可知,苦荞麦苗中黄酮类

收稿日期:2014-04-08

基金项目:贵州省科学技术厅重大专项(编号:[2012]601-5号)。

作者简介:赵辰路(1989—),女,贵州贵阳人,硕士研究生,研究方向为食品资源利用。E-mail:815868298@.com。

通信作者:周文美,硕士,教授,主要从事生物化学研究及发酵食品开发。E-mail:zwm45@126.com。

化合物含量远远高于甜荞麦苗。当苦荞麦苗生长至 14 d 时,黄酮类化合物含量为 10.117 mg/g;而甜荞麦苗生长至 14 d 时黄酮类化合物含量为 5.748 mg/g,随着生长天数增加,荞麦苗中的黄酮类化合物含量逐渐升高。当生长至 17 d 时,苦荞麦苗中黄酮类化合物含量达到最大值,为 12.584 mg/g;甜荞麦苗中黄酮类化合物含量则在生长 18 d 时达到最大值,为 8.125 mg/g,随后荞麦苗中的黄酮类化合物含量逐渐降低。

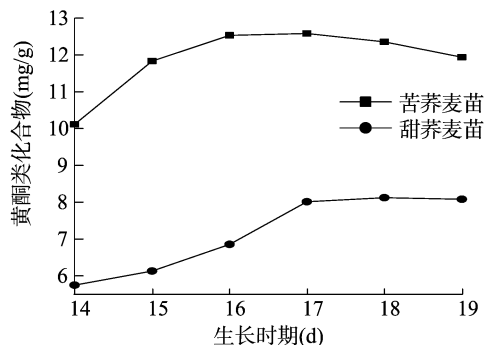


图2 不同生长时期荞麦苗中黄酮类化合物含量比较

### 2.1.3 富硒后不同生长时期荞麦苗中黄酮类化合物的含量

荞麦苗在 20 mg/L 亚硒酸钠溶液影响下,生长开始受到一定抑制,当使用亚硒酸钠溶液浓度达到 40 mg/L 时,生长受到较为严重的抑制,发芽率降低至 70% 左右,当使用浓度达到 60 mg/L 时,发芽率降低至 50% 以下。本试验用浓度为 20 mg/L 的亚硒酸钠溶液分别培养甜荞麦、苦荞麦,当荞麦苗生长至 14~19 d 时,烘干粉碎,采用分光光度法分别测定富硒后不同生长时期荞麦苗中黄酮类化合物的含量。由图 3 可知,经过富硒后,荞麦苗中黄酮类化合物含量有所提升,其中苦荞麦苗中的黄酮含量提高的幅度高于甜荞麦苗中的黄酮含量。当富硒苦荞麦苗生长至 14 d 时,黄酮类化合物含量为 10.424 mg/g;而甜荞麦苗生长至 14 d 时,黄酮类化合物含量为 6.878 mg/g,随着生长天数增加,荞麦苗中的黄酮类化合物含量逐渐增高。当生长至 17 d 时,苦荞麦苗中黄酮类化合物含量达到最大值,为 12.847 mg/g;甜荞麦苗中黄酮类化合物含量则在生长 18 d 时达到最大值,为 8.895 mg/g,随后荞麦苗中的黄酮类化合物含量逐渐降低。

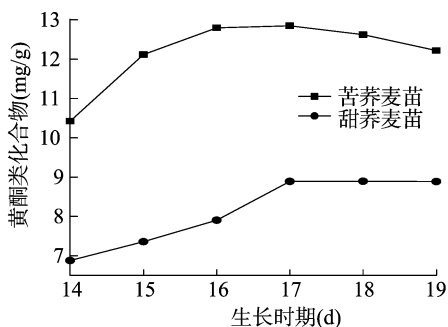


图3 富硒后不同生长时期荞麦苗中黄酮类化合物含量比较

## 2.2 单因素对荞麦苗中 GSH-Px 活性的影响

2.2.1 标准曲线的绘制 按照“1.2.2”中的方法绘制 GSH-Px 标准曲线,GSH 浓度分别为 0、20、40、60、80、100  $\mu\text{mol/L}$ ,以 GSH 浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线(图 4)。

2.2.2 不同生长时期荞麦苗中 GSH-Px 活性的变化 在常

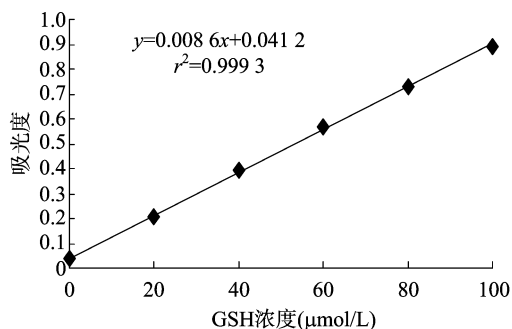


图4 GSH标准曲线

温环境下甜荞麦、苦荞麦生长 14~19 d,烘干粉碎后,采用分光光度法测定甜荞麦、苦荞麦苗不同生长时期的 GSH-Px 活性,结果见图 5。甜荞麦苗的 GSH-Px 活性高于苦荞麦苗,当生长至 13 d 时,甜荞麦 GSH-Px 活性为  $0.7244 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$ ,而苦荞麦苗 GSH-Px 活性为  $0.3061 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$ ,随着生长天数增加,荞麦苗中的 GSH-Px 活性也逐渐增高。当生长至 17 d 时,甜荞麦苗、苦荞麦苗中 GSH-Px 活性都达到最大值,分别为  $0.8477$ 、 $0.5977 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$  随后荞麦苗中 GSH-Px 活性逐渐降低。

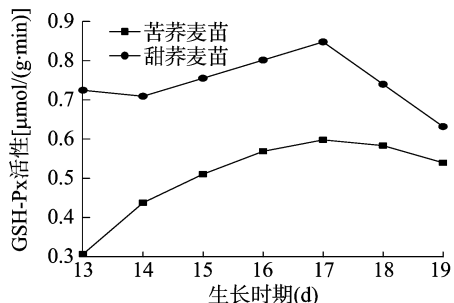


图5 不同生长时期荞麦苗中GSH-Px活性变化

2.2.3 富硒后荞麦苗中 GSH-Px 活性的变化 在常温环境下甜荞麦、苦荞麦生长 14~19 d,生长过程中以浓度为 20 mg/L 亚硒酸钠溶液水培富硒,烘干粉碎后,采用分光光度法测定甜荞麦苗、苦荞麦苗不同生长时期下的 GSH-Px 活性,结果见图 6。

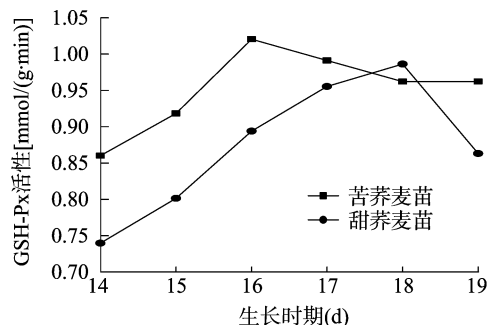


图6 不同生长时期富硒荞麦苗中GSH-Px活性变化

经 20 mg/L 亚硒酸钠溶液富硒处理的荞麦苗 GSH-Px 活性发生了较大变化,苦荞麦苗的 GSH-Px 活性普遍高于甜荞麦苗。生长至 14 d 时,甜荞麦苗 GSH-Px 活性为  $0.7398 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$ ,苦荞麦苗 GSH-Px 活性为  $0.8601 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$ ,随着生长天数增加,荞麦苗中的 GSH-Px 活性也逐渐增高。当苦荞麦苗生长至 16 d 时 GSH-Px

活性达到最大值,为 1.020 5  $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$ ,当甜荞苗生长至 18 d 时 GSH-Px 活性达到最大值,为 0.986 4  $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$ ,随后荞麦苗中的 GSH-Px 活性逐渐降低。

2.3 正交试验结果

通过正交试验设计方法,对不同品种荞麦、浸种处理、生长时间、硒使用浓度 4 个因素对荞麦苗中 GSH-Px 活性、黄酮类化合物含量的影响进行研究(表 1、表 2)。结果表明,当亚硒酸钠溶液浓度高于 40 mg/L 时对荞麦发芽及生长产生了较大的抑制作用。

表 1 荞麦苗生长  $L_{16}(4^2\times 2^2)$  正交设计试验因素及水平

水平	因素			
	A:生长时间(d)	B:亚硒酸钠溶液浓度(mg/L)	C:荞麦品种	D:浸种
1	15	5	甜荞	硒溶液 20 mg/L 浸种
2	16	10	苦荞	蒸馏水浸种
3	17	20		
4	18	40		

表 2 荞麦苗生长  $L_{16}(4^2\times 2^2)$  正交设计试验结果分析

试验号	A:生长天数	B:亚硒酸钠溶液浓度	C:荞麦品种	D:浸种	黄酮类化合物含量(mg/g)	GSH-Px 活性[ $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$ ]
1	1	1	1	1	6.744	0.773 2
2	1	2	1	1	6.788	0.784 0
3	1	3	2	2	12.128	0.918 6
4	1	4	2	2	12.841	0.982 4
5	2	1	1	2	6.870	0.803 4
6	2	2	1	2	7.013	0.849 1
7	2	3	2	1	12.980	1.028 4
8	2	4	2	1	13.115	1.141 5
9	3	1	2	1	12.903	0.693 7
10	3	2	2	1	12.926	0.788 2
11	3	3	1	2	9.310	0.957 6
12	3	4	1	2	8.993	1.058 1
13	4	1	2	2	12.175	0.586 5
14	4	2	2	2	12.341	0.673 8
15	4	3	1	1	9.090	1.064 4
16	4	4	1	1	9.625	1.107 8
$k_1(a)$	9.625	9.673	8.054	10.521		
$k_2(a)$	9.995	9.767	12.676	10.209		
$k_3(a)$	11.033	10.877				
$k_4(a)$	10.808	11.144				
$R(a)$	1.408	1.470	4.622	0.313		
$k_1(b)$	0.864 6	0.714 2	0.924 7	0.922 6		
$k_2(b)$	0.955 6	0.773 8	0.851 6	0.853 7		
$k_3(b)$	0.874 4	0.992 3				
$k_4(b)$	0.858 1	1.072 4				
$R(b)$	0.097 5	0.358 2	0.073 1	0.069 0		

注:a 为黄酮类化合物含量,b 为 GSH-Px 活性。

表 2 结果表明,以黄酮类化合物含量为指标,荞麦品种的极差最大,表明荞麦品种的影响最大,各因素对黄酮类化合物的影响程度依次为 C>B>A>D,且 C 因素对黄酮类化合物含量的影响达到了显著性差异,反应条件最佳组合为  $C_2B_4A_3D_1$ 。以 GSH-Px 活性为指标,富硒处理中的亚硒酸钠溶液浓度影响最大,不同因素对 GSH-Px 活性的影响依次为 B>A>C>D,最佳组合为  $B_4A_2C_1D_1$ ,综合考虑黄酮类化合物和 GSH-Px 活性 2 个指标,荞麦品种对黄酮类化合物的影响

显著,对 GSH-Px 活性的影响相对较小,亚硒酸钠溶液浓度及浸种处理选择一致的  $B_4$  和  $D_1$ 。从荞麦品种考虑,苦荞黄酮类化合物含量远高于甜荞,富硒后 GSH-Px 活性显著提高。从生长天数考虑为 16 d。综合考虑,最佳组合应为  $A_2B_4C_2D_1$ ,即生长时间 16 d、亚硒酸钠溶液培养浓度为 40 mg/L、荞麦品种为苦荞、20 mg/L 亚硒酸钠溶液浸种处理。

3 讨论与结论

经过试验证实,苦荞麦苗中黄酮类化合物含量远远高于甜荞麦苗,甜荞麦苗的 GSH-Px 活性高于苦荞麦苗。随着生长时间延长,荞麦苗中的黄酮类化合物含量逐渐增高。当生长至 17 d 时,苦荞麦苗中黄酮类化合物含量值达到最大,为 12.584 mg/g;甜荞麦苗中黄酮类化合物含量则在生长 18 d 时达到最大值,为 8.125 mg/g;当生长至 17 d 时,甜荞麦苗、苦荞麦苗中 GSH-Px 活性都达到最大值,分别为 0.847 7、0.597 7  $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。随后荞麦苗中的黄酮类化合物含量及 GSH-Px 活性逐渐降低。

经过富硒后,荞麦苗中的黄酮类化合物含量有所提高,苦荞麦苗中的黄酮含量提高的幅度高于甜荞麦苗;荞麦苗的 GSH-Px 活性发生了较大变化,苦荞麦苗的 GSH-Px 活性普遍高于甜荞麦苗。随着生长天数增加,荞麦苗中的黄酮类化合物含量及 GSH-Px 活性逐渐增高。当生长至 17 d 时,苦荞麦苗中黄酮类化合物含量达最大值,为 12.847 mg/g;甜荞麦苗中黄酮类化合物含量则在生长 18 d 时达到最大值,为 8.895 mg/g。当苦荞苗生长至 16 d 时,GSH-Px 活性达到最大值,为 1.020 5  $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$ ,当甜荞苗生长至 18 d 时 GSH-Px 活性达到最大值,为 0.986 4  $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。随后荞麦苗中的黄酮类化合物含量及 GSH-Px 活性逐渐降低。

经过正交试验得出结论,综合考虑富硒试验中最佳组合应为  $A_2B_4C_2D_1$ ,即生长天数 16 d、亚硒酸钠溶液培养浓度为 40 mg/L、荞麦品种为苦荞、20 mg/L 亚硒酸钠溶液浸种处理。

参考文献:

[1]Moskovitz J,Stadtman E R. Selenium-deficient diet enhances protein oxidation and affects methionine sulfoxide reductase (MsrB) protein level in certain mouse tissues[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100 (13):7486-7490.

[2]黄凯丰,时 政,欧 腾,等. 荞麦苗的营养保健成分分析[J]. 北方园艺,2011(10):22-24.

[3]查甫本,陈向明. 山核桃外果皮黄酮提取条件的研究[J]. 合肥学院学报:自然科学版,2009,19(3):68-72.

[4]陆 英,吴朝比,蒋华军,等. 红薯叶黄酮分离纯化工艺及抗氧化性研究[J]. 食品科学,2009,30(14):114-118.

[5]杨 乐,王洪新. 笋壳黄酮分离纯化工艺及其抗氧化性[J]. 食品与发酵工业,2010,36(8):184-189.

[6]吴建中,欧仕益,汪 勇. 甘蔗叶中黄酮类物质的提取及其抗氧化性研究[J]. 现代食品科技,2009,25(2):165-167.

[7]黄爱纛,吴珍龄. 水稻谷胱甘肽过氧化物酶的测定法[J]. 西南农业大学学报,1999,21(4):24-27.

[8]Flohe L. Assay of glutathione peroxidase [J]. Methods in Enzymology,1984,104:114-117.