

平欧榛子副产物不同溶剂提取物的生物活性评价及超高效液相色谱-质谱分析

苏可欣¹, 赵玉红^{1,2,*}

(1.东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2.黑龙江省森林食品资源利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 采用不同极性溶剂(水、甲醇、80%乙醇溶液和乙酸乙酯)对平欧榛子的副产物(叶、果苞、壳、枝条和种皮)进行酚类物质提取, 对其体外抗氧化、降血糖、抗炎活性进行评估, 并利用超高效液相色谱-质谱(ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry, UPLC-MS)联用技术对其多酚类物质进行鉴定。榛子叶和枝条提取物比果苞、壳和种皮提取物具有更强的体外抗氧化、降血糖和抗炎活性, 主要与榛子副产物中的总酚和原花青素相关, 其中榛子枝条的甲醇提取物中总酚(以干质量中没食子酸质量计)和原花青素(以干质量中原花青素质量计)含量最高, 分别为(37.13±0.22) mg/g和(2.27±0.04) mg/g, 榛子叶的80%乙醇溶液提取物中的总黄酮(以干质量中芦丁质量计)含量最高, 为(18.21±1.37) mg/g。乙酸乙酯提取物的总酚、总黄酮和原花青素含量在相同部位提取物中最低, 但是对 α -淀粉酶活性和脂氧合酶活性具有显著抑制能力($P<0.05$), 其中果苞的乙酸乙酯提取物抑制 α -淀粉酶的效果最好, 叶的乙酸乙酯提取物对脂氧合酶的抑制作用最强。经UPLC-MS分析可知, 平欧榛子副产物中的酚类物质以黄酮类化合物居多, 另外还含有萜类、生物碱、木脂素和有机酸等多种活性物质。平欧榛子副产物中的活性成分具有应用于功能食品或药品中的潜能。

关键词: 平欧榛子副产物; 酚类物质; 生物活性; 主成分分析; 相关性分析

Different Solvent Extracts from By-products of *Corylus heterophylla* Fisch. × *Corylus avellana* L.: Bioactivity Evaluation and Phenolic Composition Analysis by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

SU Kexin¹, ZHAO Yuhong^{1,2,*}

(1. School of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

2. Key Laboratory of Forest Food Resources Utilization of Heilongjiang Province, Harbin 150040, China)

Abstract: Phenolics were extracted from the by-products (leaves, green leafy covers, shells, branches and seed coats) of the hybrid hazelnut *Corylus heterophylla* Fisch. × *Corylus avellana* L. using four different polar solvents (water, methanol, 80% ethanol and ethyl acetate) and their antioxidant, hypoglycemic and anti-inflammatory activities were evaluated *in vitro*. The phenolics were identified by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS). The leaf and branch extracts showed stronger antioxidant, hypoglycemic and anti-inflammatory activities *in vitro* than the extracts from green leafy covers, shells and seed coats. The biological activities were largely correlated with total phenols and proanthocyanidins in the by-products of hazelnut. The methanol extract of hazelnut branches had the highest content of total phenols (calculated as gallic acid equivalent per dry mass) and procyanidins (calculated as proanthocyanidin equivalent per dry mass), which were (37.13 ± 0.22) and (2.27 ± 0.04) mg/g, respectively. The content of total flavonoids (calculated as rutin equivalent per dry mass) in the 80% ethanol extract of hazelnut leaves was the highest, which was (18.21 ± 1.37) mg/g. For each plant part, the contents of total phenols, total flavonoids and proanthocyanidins in the ethyl acetate extract were lower than those in the other solvent extract, but the ethyl acetate extract inhibited the activities of α -amylase and lipoxigenase significantly ($P < 0.05$). The ethyl acetate extract of green leafy covers had the best inhibitory effect on α -amylase, while the ethyl acetate extract of leaves showed the strongest inhibitory activity on lipoxigenase.

收稿日期: 2023-02-25

基金项目: 黑龙江省科技厅重点攻关项目(GC12B203)

第一作者简介: 苏可欣(1997—)(ORCID: 0009-0009-2724-1983), 女, 硕士, 研究方向为食品安全与检测。

E-mail: 1972700290@qq.com

*通信作者简介: 赵玉红(1968—)(ORCID: 0000-0002-0322-526X), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然产物化学。

E-mail: zhaoyuhong08@163.com

According to UPLC-MS analysis, the majority of phenolic compounds in hybrid hazelnut by-products were flavonoids along with many bioactive compounds such as terpenes, alkaloids, lignans and organic acids. Bioactive ingredients in hybrid hazelnut by-products have the potential to be used in functional foods or pharmaceuticals.

Keywords: hybrid hazelnut by-products; phenolic compounds; biological activity; principal component analysis; correlation analysis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230225-230

中图分类号: TS209

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 01-0032-10

引文格式:

苏可欣, 赵玉红. 平欧榛子副产物不同溶剂提取物的生物活性评价及超高效液相色谱-质谱分析[J]. 食品科学, 2024, 45(1): 32-41. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230225-230. <http://www.spkx.net.cn>

SU Kexin, ZHAO Yuhong. Different solvent extracts from by-products of *Corylus heterophylla* Fisch. × *Corylus avellana* L.: bioactivity evaluation and phenolic composition analysis by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2024, 45(1): 32-41. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230225-230. <http://www.spkx.net.cn>

榛子 (*Corylus heterophylla* Fisch.) 为桦木科榛属植物的一种树坚果, 平欧杂交榛 (*Corylus heterophylla* Fisch. × *Corylus avellana* L.) 是我国培育的一种杂交品种, 结合了平榛和欧洲榛的特点, 抗寒性强且果仁品质高, 既解决了欧洲榛在国内种植的适应性问题, 还改善了平榛利用率低的状况, 利于全国推广种植^[1]。随着榛子应用量增大, 产生了榛子副产物回收利用的问题, 有文献报道称榛子副产物中含有大量的植物化学物质, 其中最主要的是酚类化合物^[2], 研究平欧榛子副产物中的多酚类物质有利于促进平欧榛子产业的多向发展。

酚类化合物主要分成两大类, 类黄酮 (如花青素、黄烷醇、黄烷酮、黄酮醇、二氢黄酮和异黄酮等) 和非类黄酮 (如酚酸、氧杂蒽酮、二苯乙烯、木脂素和单宁)^[3]。食品和农业加工业的副产物是天然多酚的廉价来源, 榛子采集加工过程中产生的副产物以及修剪废料都是提取多酚的途径^[4]。朱小芳等^[5]研究了8种平欧榛子壳、皮和种仁的活性成分及抗氧化性, 本实验在此基础上增加对平欧榛子叶、果苞和枝条的比较研究, 目前缺少对平欧榛子枝条酚类成分的研究, 通过综合比较分析平欧榛子副产物中的酚类物质和功能活性, 可以提高平欧榛子副产物的利用度, 减少这些食品工业废弃物给环境带来的负面影响^[6]。

酚类物质是一类植物次级代谢物, 大量研究表明酚类化合物具有显著的生物活性, 特别是在抗氧化、抑菌、降血糖、抗炎、预防神经退行性疾病、抗癌、调节肠道菌群等方面取得很大的进展^[7-9]。多酚在食品和药品行业有很大的潜在价值, 而提取方法对多酚的生物活性以及提取出的多酚组成会产生一定的影响, 其中超声技术可以提高多酚的提取率, 同时结合不同极性溶剂可提取出种类不同的多酚^[10]。超高效液相色谱-质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry, UPLC-MS) 技术具有灵敏度高、速度

快、分辨率高的特点, 在植物、食品、药物和环境分析中被广泛应用^[11]。由于植物本身的化学组成较为复杂, 加上单一指标评价生物活性的方式有限, 因此采用多种方法比较植物原料的生物活性, 建立标准化的评价方法可以更加全面地展现天然活性物质的特性。主成分分析 (principal component analysis, PCA) 是一种利用降维的原理, 把多个变量转化为少数几个不相关的综合变量的一种多元统计分析方法^[12], 适用于对多指标的综合分析。

榛子副产物中的活性成分对于预防和治疗人类疾病具有重要意义, 本实验旨在评估榛子副产物潜在的生物活性, 对其中的酚类化合物作定性分析, 合理利用食品副产物资源, 提高农业生态系统的可持续性, 以期对功能食品和药物开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

根据黑龙江省林业科学院对黑龙江省哈尔滨市尚志市榛子科研基地中的平欧榛子品质评价, 采集“辽榛7号”的榛子叶、果苞、壳、枝条和种皮作为实验原料, 烘干后粉碎过40目筛。

芦丁、原花青素、2,4,6-三吡啶基三嗪、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine, DPPH)、VC、猪胰腺 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶、对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (*p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, pNPG)、阿卡波糖、双氯芬酸钠、脂肪氧化酶、二甲酚橙、去甲二氢愈创木酸 (nordihydroguaiaretic acid, NDGA) 上海源叶生物科技有限公司; 2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), ABTS) 美国Sigma-Aldrich公司; 牛血清白蛋白

(bovine serum albumin, BSA)、福林-酚 北京索莱宝科技有限公司; 甲醇(质谱级) 美国Fisher Chemical公司; 碘、亚油酸 上海麦克林生化科技有限公司; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

FW177中草药粉碎机、DK-98-II电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司; KQ-300DE数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; 722型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; RE-2000A旋转蒸发器 巩义市予华仪器有限责任公司; 全波长酶标仪 BioTek Instruments Inc公司; TGL-16C台式离心机 上海安亭科学仪器厂; 超高效液相色谱联用Q-Exactive™ Focus组合型四极杆静电场轨道阱高分辨质谱仪 赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品提取

称取一定量脱脂样品^[13], 按料液比1:30(g/mL)分别加入水、甲醇、80%乙醇和乙酸乙酯, 在45℃超声波装置(120 W、40 kHz)中振荡50 min, 抽滤, 将提取液经旋转蒸发器减压浓缩, 将浓缩液置于烘箱干燥至浸膏状^[14]。

1.3.2 总酚含量测定

参照刘春丽等^[15]的方法并稍作修改。分别取不同体积的0.1 mg/mL没食子酸溶液于试管中, 加水稀释至1 mL, 然后加入0.5 mL福林-酚试剂, 避光室温反应5 min, 再加入1.5 mL 7.5% Na₂CO₃溶液, 最后加入2 mL水稀释, 摇匀, 在避光条件下反应1 h, 于760 nm波长处测定样品吸光度, 以没食子酸为标准溶液绘制标准曲线 $y=74.924x+0.057$ ($R^2=0.9992$), 其中 x 为没食子酸质量浓度(mg/mL), y 为吸光度。取一定量样品测得样品吸光度, 样品中总酚含量以提取物干质量中的没食子酸含量表示(mg/g)。

1.3.3 总黄酮含量测定

参照Moreno等^[16]的方法并稍作修改, 向样品溶液中加入0.1 mL的10%硝酸铝溶液、0.1 mL 1 mol/L的醋酸钾溶液, 再定容至5 mL, 混合均匀, 于室温下静置40 min, 测定415 nm波长处的吸光度, 采用芦丁标准液测定并绘制标准曲线 $y=19.303x+0.0055$ ($R^2=0.9999$), 其中 x 为芦丁质量浓度(mg/mL), y 为吸光度。取一定量的样品按上述方法计算总黄酮含量, 结果以提取物干质量中的芦丁质量表示(mg/g)。

1.3.4 原花青素含量测定

采用正丁醇-盐酸法^[17]测定样品中的原花青素含量, 得到标准曲线为 $y=12.406x+0.0178$ ($R^2=0.9998$), 其中 x 为原花青素质量浓度(mg/mL), y 为吸光度。结果以提取物干质量中的原花青素质量表示(mg/g)。

1.3.5 体外抗氧化活性测定

1.3.5.1 DPPH自由基清除能力

按照李欣等^[18]的方法测定样品对DPPH自由基的清除率, 将2.5 mL的DPPH自由基乙醇溶液(2×10^{-4} mol/L)与1 mL的样品混合均匀, 于室温避光反应30 min, 测定517 nm波长处的吸光度。清除能力大小以半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)值表示, 用VC作阳性对照。DPPH自由基清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_i - A_b}{A_c}\right) \times 100 \quad (1)$$

式中: A_i 为样品组测定的吸光度; A_b 为乙醇与样品混合溶液的吸光度; A_c 为DPPH自由基与样品溶剂混合溶液的吸光度。

1.3.5.2 ABTS阳离子自由基清除能力

配制ABTS阳离子自由基工作液: 将pH 7.4的7 mmol/L ABTS溶液与2.45 mmol/L过硫酸钾等体积混合, 然后在室温下避光储存12~16 h, 使用前用pH 7.4的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)稀释至在734 nm波长处的吸光度为 0.70 ± 0.02 。取一定量样品, 加入ABTS阳离子自由基工作液, 暗置反应6 min, 734 nm波长处测定吸光度, 用IC₅₀值表示抗氧化活性^[19], 以VC作为阳性对照。ABTS阳离子自由基清除率计算公式如下:

$$\text{ABTS阳离子自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_s - A_c}{A_0}\right) \times 100 \quad (2)$$

式中: A_s 为样品组的吸光度; A_c 为PBS代替ABTS阳离子自由基测定的吸光度; A_0 为空白组的吸光度。

1.3.5.3 羟自由基清除能力

参照玄红专等^[20]的方法稍作修改, 将1.4 mL的0.2 mmol/L甲基紫、1 mL的Tris-HCl缓冲液(pH 3.5)、1 mL的5 mmol/L FeSO₄溶液和0.5 mL的样品溶液混合均匀, 再加入0.4 mL的1% H₂O₂溶液, 最后定容至10 mL, 静置反应5 min, 测定588 nm波长处的吸光度。结果以IC₅₀值表示, VC作阳性对照。羟自由基清除率计算公式如下:

$$\text{羟自由基清除率}/\% = \frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \times 100 \quad (3)$$

式中: A_1 为样品组的吸光度; A_2 为蒸馏水代替H₂O₂测定的吸光度; A_0 为空白组的吸光度。

1.3.5.4 铁离子还原力(ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)

参照贾东升等^[21]的方法稍作修改。取一系列浓度的FeSO₄溶液各100 μL, 分别加入3 mL FRAP试剂, 37℃水浴10 min, 于593 nm波长处测定吸光度, FeSO₄浓度为横坐标, 以吸光度为纵坐标制作标准曲线。按标准曲线制作方法, 以样品溶液代替FeSO₄测定吸光度。根据标准曲线计算样品抗氧化活性(FRAP值), 样品的抗氧化能力单位以mmol/L表示, 以VC作阳性对照。

1.3.6 体外降血糖活性测定

1.3.6.1 α -淀粉酶抑制活性

参考Podsedek等^[22]的方法,将含有样品液和 α -淀粉酶(0.5 U/mL)的混合液置于37 °C条件下10 min,再加入0.2%淀粉溶液(PBS溶解),于37 °C反应10 min,加入1 mol/L的HCl终止反应,加入5 mmol/L的I₂-KI溶液显色,在600 nm波长处测定吸光度,以阿卡波糖作阳性对照。

1.3.6.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性

根据王静等^[23]的方法稍作修改。取0.2 U/mL的 α -葡萄糖苷酶与不同浓度样品混合均匀,在37 °C孵育15 min,再加入5 mmol/L的pNPG溶液,在37 °C反应10 min,然后加入0.2 mol/L的Na₂CO₃溶液终止反应,在405 nm波长处测定吸光度,以阿卡波糖作为阳性对照。

1.3.7 体外抗炎活性测定

1.3.7.1 BSA变性抑制率

参考Grant等^[24]的方法,取BSA溶液于试管中,再加入相同体积的样品溶液,先在37 °C保温20 min,再于70 °C水浴10 min,然后静置冷却至室温,测定660 nm波长处的浊度,以蒸馏水代替样品测定浊度作为空白对照,用双氯芬酸钠作阳性对照。BSA变性抑制率计算公式如下:

$$\text{BSA变性抑制率}/\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (4)$$

式中: A₁为样品组的吸光度; A₀为空白组的吸光度。

1.3.7.2 脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)抑制活性

根据郭瑞等^[25]的方法稍作修改。向样品溶液中加入0.8 U/mL LOX,在30 °C反应5 min,然后加入体积分数0.1%的亚油酸,稀释到0.5 mL,在30 °C反应10 min,最后加入0.5 mL FOX试剂(甲醇:水=9:1、高氯酸110 mmol/L、二甲酚橙150 μ mol/L、硫酸亚铁2 mmol/L)终止反应,然后显色10 min,于560 nm波长处测定吸光度,以去甲二氢愈创木酸为阳性对照。对照组在加完FOX试剂之后再加入亚油酸。

1.3.8 UPLC-MS联用分析

样品液制备:取一定量的浓缩提取液加水分散至一定体积,依次经石油醚、氯仿和乙酸乙酯各萃取3次,最后将乙酸乙酯层进行烘干,用50%甲醇溶解,离心取上清液,再经0.22 μ m聚四氟乙烯膜过滤。

检测条件:色谱条件参考Lee等^[26]的方法,采用正负离子同时扫描,质谱条件与文献中负离子检测模式下的条件一致。本实验UPLC-MS联用的测定,感谢森林植物生态学教育部重点实验室液相色谱-质谱平台提供技术支持。

1.4 数据处理

实验重复测定3次,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用Origin 2021软件绘图,SPSS 26软件进行显著性分析,SIMCA 14.1

软件进行PCA,Xcalibur软件导出基峰离子流图,Compound Discoverer 3.3软件分析UPLC-MS数据。

2 结果与分析

2.1 平欧榛子副产物的得率及总酚、总黄酮和原花青素含量

如表1所示,提取溶剂和部位对活性成分含量都产生了显著影响(P<0.05),其中枝条甲醇提取物的总酚和原花青素含量最高,分别为(37.13 \pm 0.22) mg/g和(2.27 \pm 0.04) mg/g,叶子的80%乙醇溶液提取物的总黄酮含量最高,为(18.21 \pm 1.37) mg/g。从提取物部位来看,平欧榛子副产物总酚含量从高到低依次为枝条、叶、壳、果苞、种皮,叶的总黄酮含量显著高于果苞、壳、枝条和种皮(P<0.05),原花青素含量从高到低依次为枝条、叶、果苞、壳、种皮。根据不同溶剂提取物的得率可知,80%乙醇溶液更利于酚类物质的溶出,壳的水提物的总酚和总黄酮含量在4种壳提取物中最高,可能是榛子壳提取物中的强极性的酚类物质较多。乙酸乙酯提取物的总酚含量相对较低,但是壳的乙酸乙酯提取物原花青素含量占提取物得率的比例相对较大,可能是因为榛子壳中的原花青素种类比较丰富^[27]。平欧榛子副产物中多酚的含量因选取部位和溶剂而异,如Lee等^[28]利用甲醇、乙醇和热水提取裙带菜不同部位的活性化合物,发现总酚和总黄酮含量最高的是叶片的甲醇提取物。在利用平欧榛子副产物开发功能性材料或其他用途时可以根据应用目的选择性提取其活性成分。

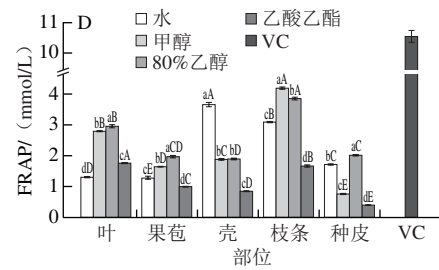
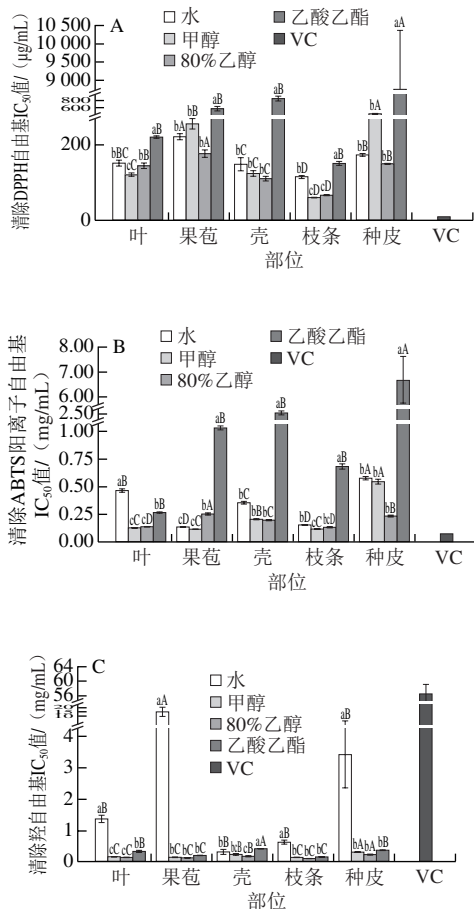
表1 平欧榛子副产物不同溶剂提取物的得率及总酚、总黄酮和原花青素含量

| 指标 | 溶剂 | 叶 | 果苞 | 壳 | 枝条 | 种皮 |
|---------------|---------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 得率/% | 水 | 24.49 \pm 1.74 ^{4A} | 14.94 \pm 2.06 ^{4B} | 0.69 \pm 0.27 ^{4D} | 5.06 \pm 0.28 ^{4C} | 2.44 \pm 0.57 ^{4CD} |
| | 甲醇 | 18.39 \pm 0.55 ^{5A} | 9.58 \pm 0.92 ^{5B} | 1.23 \pm 0.21 ^{5D} | 4.73 \pm 0.20 ^{5C} | 5.33 \pm 2.05 ^{5E} |
| | 80%乙醇溶液 | 21.31 \pm 3.05 ^{6A} | 12.51 \pm 0.35 ^{6B} | 1.47 \pm 0.38 ^{6D} | 6.11 \pm 0.57 ^{6C} | 2.83 \pm 1.03 ^{6CD} |
| | 乙酸乙酯 | 2.85 \pm 0.50 ^{7A} | 1.05 \pm 0.69 ^{7B} | 0.34 \pm 0.18 ^{7D} | 0.78 \pm 0.08 ^{7C} | 0.92 \pm 0.51 ^{7E} |
| 总酚含量/(mg/g) | 水 | 10.01 \pm 1.79 ^{8B} | 7.03 \pm 1.57 ^{8C} | 18.35 \pm 0.19 ^{8A} | 20.02 \pm 0.11 ^{8A} | 6.98 \pm 0.45 ^{8C} |
| | 甲醇 | 22.16 \pm 0.33 ^{9B} | 8.23 \pm 0.17 ^{9D} | 14.76 \pm 0.26 ^{9C} | 37.13 \pm 0.22 ^{9A} | 3.58 \pm 0.03 ^{9E} |
| | 80%乙醇溶液 | 21.87 \pm 0.70 ^{9B} | 10.32 \pm 0.17 ^{9D} | 15.07 \pm 0.14 ^{9C} | 31.28 \pm 0.23 ^{9A} | 10.28 \pm 0.11 ^{9D} |
| | 乙酸乙酯 | 7.24 \pm 0.99 ^{9B} | 3.56 \pm 0.08 ^{9D} | 5.84 \pm 0.11 ^{9C} | 9.73 \pm 0.17 ^{9A} | 3.62 \pm 0.05 ^{9D} |
| 总黄酮含量/(mg/g) | 水 | 8.46 \pm 1.97 ^{10A} | 3.11 \pm 0.19 ^{10C} | 5.58 \pm 0.21 ^{10B} | 2.74 \pm 0.03 ^{10C} | 3.02 \pm 0.21 ^{10C} |
| | 甲醇 | 17.48 \pm 0.08 ^{10A} | 4.01 \pm 0.04 ^{10D} | 5.31 \pm 0.07 ^{10C} | 6.48 \pm 0.14 ^{10B} | 2.37 \pm 0.28 ^{10E} |
| | 80%乙醇溶液 | 18.21 \pm 1.37 ^{10A} | 3.84 \pm 0.02 ^{10C} | 3.23 \pm 0.06 ^{10C} | 6.19 \pm 0.15 ^{10B} | 4.06 \pm 0.05 ^{10C} |
| | 乙酸乙酯 | 3.86 \pm 0.65 ^{10A} | 1.28 \pm 0.04 ^{10C} | 0.37 \pm 0.09 ^{10D} | 4.22 \pm 0.10 ^{10A} | 2.58 \pm 0.16 ^{10B} |
| 原花青素含量/(mg/g) | 水 | 0.57 \pm 0.24 ^{11A} | 0.35 \pm 0.10 ^{11B} | 0.33 \pm 0.03 ^{11B} | 0.59 \pm 0.04 ^{11A} | 0.15 \pm 0.07 ^{11B} |
| | 甲醇 | 1.61 \pm 0.04 ^{11B} | 0.77 \pm 0.03 ^{11C} | 0.53 \pm 0.06 ^{11D} | 2.27 \pm 0.04 ^{11A} | 0.24 \pm 0.02 ^{11E} |
| | 80%乙醇溶液 | 1.32 \pm 0.12 ^{11B} | 0.94 \pm 0.12 ^{11C} | 0.77 \pm 0.08 ^{11C} | 1.82 \pm 0.03 ^{11A} | 0.23 \pm 0.04 ^{11D} |
| | 乙酸乙酯 | 0.59 \pm 0.21 ^{11A} | 0.51 \pm 0.04 ^{11A} | 0.18 \pm 0.06 ^{11B} | 0.11 \pm 0.02 ^{11B} | 0.09 \pm 0.02 ^{11B} |

注:同一指标同列小写字母不同表示差异显著,同行大写字母不同表示差异显著,P<0.05。表2、3同。

2.2 平欧榛子副产物提取物的体外抗氧化活性

由图1A、B可知,榛子枝条提取物在相同溶剂下表现出最强的DPPH自由基和ABTS阳离子自由基清除能力,以其甲醇提取物的清除能力为最佳,IC₅₀值分别为(61.922±0.562) μg/mL和(0.117±0.003) mg/mL。酚类化合物可以通过提供氢原子清除自由基^[29],枝条甲醇提取物的总酚含量最高,这可能是其清除DPPH自由基和ABTS阳离子自由基能力强的原因。羟自由基积累过多会对生物机体造成严重损害,由图1C可知,所有提取物均表现出优于VC的羟自由基清除能力,并且各组提取物均以80%乙醇提取物的清除能力为最佳。在活性成分含量较低的水提取物组中,壳的水提取物清除羟自由基能力最强,IC₅₀值为(0.333±0.083) mg/mL,可能是榛子壳水提取物中的酚类物质更利于清除羟自由基,又或者是水提取物中的其他活性物质与酚类物质产生了抗氧化增效作用^[30]。由图1D可知,甲醇和80%乙醇溶液提取物的FRAP较强,其中榛子枝条甲醇提取物的FRAP最强,达到(4.189±0.033) mmol/L。5组平欧榛子副产物提取物的FRAP与总酚含量趋势几乎一致,表明多酚与抗氧化活性之间存在一定的相关性。



小写字母不同表示同一部位不同溶剂提取物差异显著,大写字母不同表示同一溶剂不同部位提取物差异显著, $P < 0.05$ 。下同。

图1 平欧榛子副产物提取物的DPPH自由基(A)、ABTS阳离子自由基(B)、羟自由基(C)清除能力的IC₅₀值及FRAP值(D)

Fig. 1 IC₅₀ values for DPPH radical (A), ABTS radical cation (B), and hydroxyl radical-scavenging (C) and FRAP values (D) of the extracts from hybrid hazelnut by-products

2.3 平欧榛子副产物提取物的体外降血糖活性

平欧榛子副产物提取物对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制作用如表2、3所示。有机溶剂提取物 α -淀粉酶抑制活性的IC₅₀值都显著低于水提取物的IC₅₀值($P < 0.05$),其中乙酸乙酯提取物的 α -淀粉酶抑制能力相对较强,这与Zengin等^[31]的研究结果相似。总体来看,甲醇和80%乙醇溶液提取物 α -葡萄糖苷酶抑制能力较强,其中甲醇和80%乙醇溶液提取物组中分别以果苞和枝条对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力为最强。各组提取物 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制活性的IC₅₀值都大于阿卡波糖的IC₅₀值,但是在榛子果苞组中都各有一种提取物分别对这两种酶的抑制活性最强,表明榛子果苞可能具有显著的改善高血糖症的潜力。

表2 平欧榛子副产物提取物 α -淀粉酶抑制活性的IC₅₀值

Table 2 IC₅₀ values of hybrid hazelnut by-product extracts for inhibition of α -amylase activity

| | mg/mL | | | | | 阿卡波糖 |
|-------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------|-------------|
| 溶剂 | 叶 | 果苞 | 壳 | 枝条 | 种皮 | |
| 水 | 18.869±2.996 ^c | 51.064±7.783 ^{ab} | 15.623±3.743 ^c | 0.917±0.021 ^{ac} | 113.216±22.337 ^{aa} | |
| 甲醇 | 0.382±0.002 ^{ba} | 0.112±0.005 ^{bd} | 0.098±0.001 ^{de} | 0.139±0.004 ^{bc} | 0.200±0.005 ^{ab} | 0.007±0.002 |
| 80%乙醇 | 0.477±0.008 ^{ba} | 0.195±0.002 ^{bd} | 0.118±0.006 ^{bc} | 0.104±0.003 ^{cd} | 0.195±0.006 ^{ab} | |
| 乙酸乙酯 | 0.132±0.011 ^{bc} | 0.094±0.016 ^{bd} | 0.330±0.012 ^{ba} | 0.125±0.002 ^{bc} | 0.196±0.005 ^{ab} | |

表3 平欧榛子副产物提取物 α -葡萄糖苷酶抑制活性的IC₅₀值

Table 3 IC₅₀ values of hybrid hazelnut by-product extracts for inhibition of α -glucosidase activity

| | μg/mL | | | | | 阿卡波糖 |
|-------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|-------------|
| 溶剂 | 叶 | 果苞 | 壳 | 枝条 | 种皮 | |
| 水 | 69.481±3.874 ^{ab} | 98.676±8.693 ^{aa} | 38.651±3.235 ^c | 6.155±1.814 ^{bd} | 12.247±0.595 ^{cd} | |
| 甲醇 | 2.484±0.429 ^{cd} | 2.199±0.840 ^{bd} | 4.696±0.276 ^{ab} | 4.219±0.952 ^{bcd} | 26.928±1.127 ^{aa} | 0.977±0.128 |
| 80%乙醇 | 6.517±0.281 ^{ab} | 13.255±1.379 ^{ca} | 5.967±1.629 ^{ab} | 3.173±0.657 ^{bc} | 7.638±0.173 ^{ab} | |
| 乙酸乙酯 | 15.550±1.087 ^{bc} | 38.372±2.187 ^{bc} | 720.365±90.029 ^{aa} | 21.936±0.734 ^{ca} | 531.547±56.416 ^{ab} | |

2.4 平欧榛子副产物提取物的体外抗炎活性

组织蛋白变性是引起炎症的重要原因之一,通过测定BSA热变性的抑制作用可以初步筛选抗炎化合物,是

一种不需要动物实验且方便快捷的方法^[32]。由表4可知, 榛子副产物具有一定的抗炎活性, 保护BSA在热诱导条件下不发生变性。相同部位的提取物中总酚含量高的样品抑制效果较好, 乙酸乙酯提取物在同一部位中表现出最弱的抑制活性, 另外3种溶剂提取物的抑制活性皆因部位不同而表现出显著差异, 其中比较接近阳性组的分别是果苞的水提物和壳的甲醇提取物。若只考虑部位对抑制BSA变性的影响, 榛子果苞提取物抑制BSA热变性的优势更加明显, IC₅₀值在1.824~72.313 μg/mL之间。

表4 平欧榛子副产物提取物抑制BSA变性的IC₅₀值
Table 4 IC₅₀ values of hybrid hazelnut by-product extracts for inhibition of the denaturation of bovine serum albumin

| 部位 | 水 | 甲醇 | 80%乙醇 | 乙酸乙酯 |
|-------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| 叶 | 7.109±0.945 ^{ac} | 68.484±1.620 ^{ab} | 32.493±2.481 ^c | 242.507±3.100 ^{ab} |
| 果苞 | 1.824±0.865 ^{bd} | 17.483±8.448 ^{bd} | 28.425±2.427 ^{bc} | 72.313±3.424 ^{ab} |
| 壳 | 92.619±0.970 ^{ab} | 1.279±0.330 ^{de} | 12.294±4.599 ^{bd} | 1 920.693±78.977 ^{ab} |
| 枝条 | 91.471±1.873 ^{ab} | 45.945±3.159 ^{bc} | 103.358±5.466 ^{ba} | 205.562±57.168 ^{ab} |
| 种皮 | 127.084±3.997 ^{ba} | 95.169±5.177 ^{ba} | 49.037±6.780 ^{ab} | 14 526.565±3 380.941 ^a |
| 双氯芬酸钠 | 0.341±0.009 | | | |

注: 同行小写字母不同表示差异显著, 同列大写字母不同表示差异显著, P<0.05。

LOX是一种将花生四烯酸转换成促炎白三烯的关键酶, 白三烯是过敏反应和炎症的介质, 抑制酶实验是寻找有效低副作用的抑制剂的常用模型^[33]。如图2所示, 与抗氧化结果不同的是, 有3组乙酸乙酯提取物在相同部位提取物中表现出较强的抑制活性, 叶、果苞和壳乙酸乙酯提取物的IC₅₀值分别为(0.008±0.003)、(0.199±0.013) mg/mL和(0.070±0.004) mg/mL, 其中叶提取物的活性强于NDGA(IC₅₀值为(0.026±0.012) mg/mL)。有研究发现柑橘副产物的乙酸乙酯组分对LOX的抑制效果最好, 组分中所含的单萜和倍半萜含量较高, 经分析发现其倍半萜与LOX抑制能力有关^[34], 说明乙酸乙酯有利于提取出抑制LOX活性的重要物质。

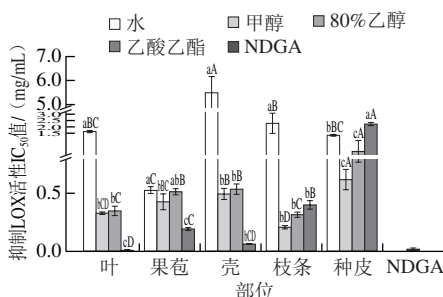
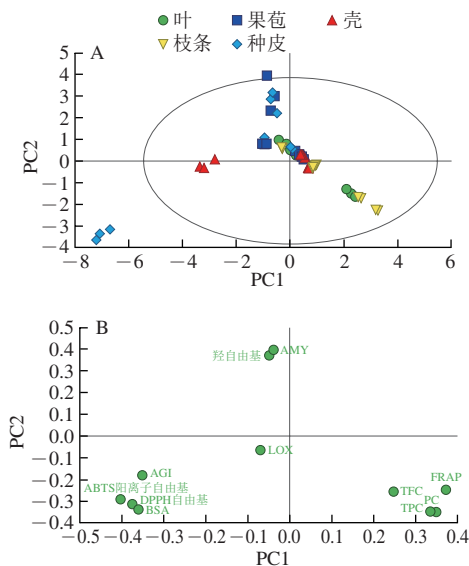


图2 平欧榛子副产物提取物抑制LOX活性的IC₅₀值

Fig. 2 IC₅₀ values of hybrid hazelnut by-product extracts for inhibition of lipoxygenase activity

2.5 PCA

如图3所示, 所测数据的累计总方差贡献率为62.8%, 其中PC1贡献方差为42.1%, 综合反映样品的总酚、总黄酮、原花青素、FRAP、ABTS阳离子自由基清除能力、DPPH自由基清除能力、抑制BSA变性能力、LOX抑制活性和α-葡萄糖苷酶抑制活性的情况, PC2贡献方差为20.7%, 综合反映了样品α-淀粉酶抑制活性和羟自由基清除能力的情况。从得分图(图3A)来看, 各组的样本点重合部分较多, 说明平欧榛子5组副产物之间可能具有较高的相似度。枝条提取物样本点与总酚、原花青素和总黄酮距离最近, 表示其具有更多的活性成分。以IC₅₀值表示结果的指标与样本点之间呈负相关性, 即在PC1正方向和PC2负方向上样品的抗氧化、降糖及抗炎效果较好, 因此可知枝条的甲醇提取物、枝条的80%乙醇溶液提取物和叶的甲醇提取物都是活性相对较强的提取物。另外, 果苞的80%乙醇溶液提取物、壳的甲醇提取物和壳的80%乙醇溶液提取物样本点都距离中心点较近并位于右边的象限, 表明这些提取物虽然不具有最多的活性成分, 但是都具有比较可观的生物活性, 有可能是提取物中的各种活性成分之间产生协同效应, 如Lee等^[35]研究发现用低浓度的ε-聚赖氨酸、栗子提取物和肉桂提取物进行混合比单一提取物抑制金黄色葡萄球菌的效果好, 这一现象有利于未来针对抗氧化、降糖或抗炎作用研究开发新型价廉的有效复合物。



A.得分图。B.载荷图。TPC.总酚含量; TFC.总黄酮含量; PC.原花青素含量; AMY. α-淀粉酶抑制能力; AGI. α-葡萄糖苷酶抑制能力。下同。

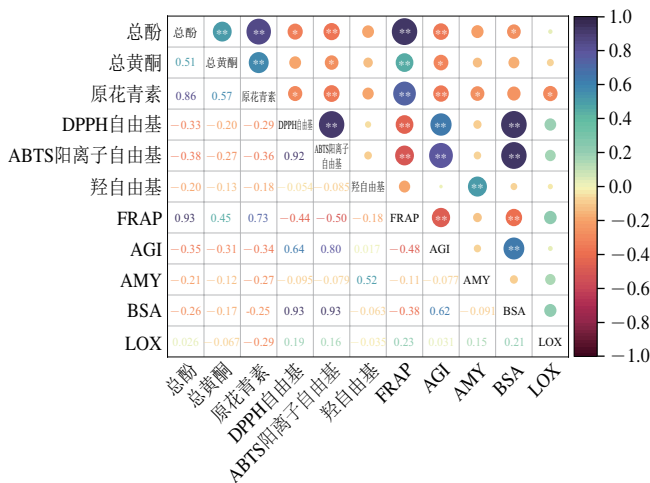
图3 PCA图

Fig. 3 Principal component analysis plots

2.6 相关性分析

平欧榛子副产物活性成分含量与抗氧化、降糖及抗炎活性之间Pearson相关性分析结果如图4所示。FRAP

与总酚、总黄酮和原花青素含量之间呈极显著正相关 ($P < 0.01$)，相关系数分别为0.93、0.45和0.73。其余以 IC_{50} 值表示结果的指标与活性成分含量之间呈负相关性。总酚对抗氧化活性的影响最大，其次是原花青素和总黄酮。与降糖及抗炎活性之间的相关性较强的是总酚和原花青素含量，对于LOX抑制活性，原花青素表现出显著高于总酚和总黄酮的相关性 ($P < 0.05$)，其相关系数为-0.29，由此推测平欧榛子副产物酚类物质中的原花青素在测定的生物活性评价中起到了重要作用。以生物活性作为筛选方向，并根据总酚和原花青素含量作为参考选择适宜溶剂提取平欧榛子副产物的活性成分进而作定性分析。此外， α -淀粉酶抑制活性与羟自由基清除能力和 α -葡萄糖苷酶抑制活性与抑制BSA变性之间呈较强相关，有研究表明氧化应激可以由高血糖诱导发生^[36]，同时产生炎症介质，导致自由基的产生进而加速糖尿病并发症的发展，植物抗氧化剂清除自由基的同时还可以有助于治疗一些糖尿病的并发症。



*.显著相关 ($P < 0.05$)；**.极显著相关 ($P < 0.01$)。

图4 相关性分析

Fig. 4 Correlation heatmap

2.7 平欧榛子副产物提取物的UPLC-MS分析

选择平欧榛子叶和枝条的甲醇提取物以及果苞、壳和种皮的80%乙醇提取物进行超高压液相色谱质谱联用分析，各提取物的基峰离子流图如图5所示。经UPLC-MS分析得到的平欧榛子副产物中主要酚类物质如表5所示。

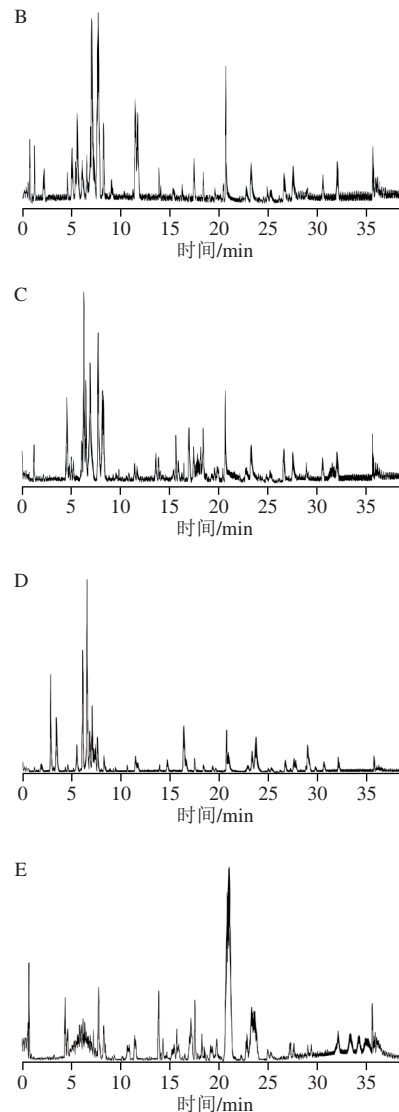
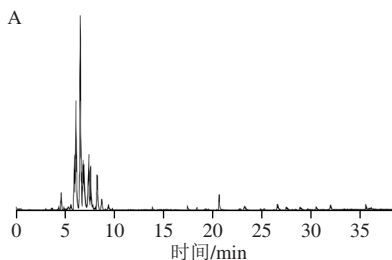


图5 平欧榛子叶 (A)、果苞 (B)、壳 (C)、枝条 (D) 和种皮 (E) 提取物的基峰离子流图

Fig. 5 Base peak ion chromatograms of the extracts from leaves (A), green leafy covers (B), hard shells (C), branches (D) and seed coats (E) of hybrid hazelnut by-products

从表5可明显看到，平欧榛子副产物提取物中的黄酮类化合物种类较多，如槲皮素、杨梅素和山柰酚等，此外还有酚酸类化合物，萜类化合物以及生物碱、有机酸、二芳基庚烷、木脂素和甾醇等。与先前报道^[37-39]的研究结果类似的是，在平欧榛子副产物中也检测到新绿原酸、杨梅苷、山柰酚、儿茶素、紫云英苷、绿原酸等酚类化合物。平欧榛子叶、果苞和壳中检测出奎宁酸，它和绿原酸在咖啡豆中的含量丰富，属于风味酚类物质，赋予咖啡在冲泡后产生的苦味，涩味和酸度。Contini等^[40]向浓缩咖啡中添加榛子皮提取物后发现其冲泡后的抗氧化能力有所提高，可见榛子副产物有作为食品添加剂的潜力并相应地提高食品的功能活性。另外，本实验在果苞提取物中检测到三尖杉宁碱，Hoffman等^[41]利用

表5 平欧榛子副产物提取物的UPLC-MS分析

Table 5 UPLC-MS analysis of hybrid hazelnut by-product extracts

| 序号 | 保留时间/min | 分子式 | m/z | 离子模式 | 碎片离子 | 化合物 | 叶 | 果苞 | 壳 | 枝条 | 种皮 |
|----|----------|--|------------|---------------------|--|----------------------|---|----|---|----|----|
| 1 | 0.058 | C ₁₅ H ₁₂ O | 208.088 99 | [M+H] ⁺ | 194, 181, 166, 152, 139, 103, 95, 53 | 查耳酮 | - | - | - | - | + |
| 2 | 1.882 | C ₁₅ H ₁₄ O ₇ | 306.073 59 | [M-H] ⁻ | 257, 224, 179, 164, 139, 137, 125, 109, 69, 57 | 桔儿茶素 | - | - | - | + | - |
| 3 | 2.192 | C ₃₀ H ₂₀ O ₁₃ | 594.137 99 | [M+H] ⁺ | 287, 257, 179, 151, 139, 127 | 银槲寄生 | - | - | - | + | - |
| 4 | 3.083 | C ₁₈ H ₁₄ O ₆ | 290.079 3 | [M-H] ⁻ | 203, 164, 161, 147, 139, 123, 119, 95 | 表儿茶素 | - | - | - | + | - |
| 5 | 3.421 | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ | 290.079 03 | [M-H] ⁻ | 245, 173, 159, 137, 123, 109, 97, 83, 69, 57 | 儿茶素 | + | - | + | + | - |
| 6 | 4.363 | C ₁₅ H ₂₀ O ₉ | 416.110 47 | [M+H] ⁺ | 321, 307, 297, 267, 239, 211, 195, 165, 121, 107, 91 | 大豆昔元-7-O-葡萄糖苷 | - | - | - | - | + |
| 7 | 4.607 | C ₃₀ H ₂₂ O ₁₃ | 592.122 4 | [M-H] ⁻ | / | 原花青素A ₁ | - | - | + | + | - |
| 8 | 4.804 | C ₂₀ H ₂₀ O ₇ | 372.119 22 | [M+H] ⁺ | 279, 191, 97, 84, 69, 64 | 橘皮素 | - | - | + | - | + |
| 9 | 5.22 | C ₂₁ H ₂₀ O ₉ | 416.111 36 | [M+H] ⁺ | 255, 226, 164, 137, 84 | 黄豆昔(异黄酮昔) | - | - | - | - | + |
| 10 | 5.242 | C ₁₆ H ₁₀ O ₄ | 254.058 12 | [M+H] ⁺ | 199, 181, 165, 152, 137, 114, 91, 83, 65 | 大豆昔元 | - | - | - | - | + |
| 11 | 5.305 | C ₃ H ₂ O ₁₃ | 480.090 38 | [M-H] ⁻ | 316, 287, 271, 259, 214, 151, 124 | 杨梅素-3-O-β-D-半乳糖苷 | + | - | - | - | - |
| 12 | 5.921 | C ₁₈ H ₁₀ O ₈ | 318.037 43 | [M+H] ⁺ | 273, 245, 217, 179, 165, 153, 137, 68 | 杨梅素 | + | + | + | - | + |
| 13 | 5.924 | C ₁₆ H ₁₄ O ₆ | 302.079 45 | [M+H] ⁺ | 229, 201, 153, 137, 123, 95, 81, 68 | 橙皮素 | - | - | - | + | - |
| 14 | 5.939 | C ₃ H ₂ O ₁₂ | 464.095 72 | [M-H] ⁻ | 316, 287, 271, 259, 242, 214, 163, 151, 124, 102, 84 | 杨梅昔 | + | - | + | + | - |
| 15 | 6.067 | C ₂ H ₂ O ₁₂ | 464.095 6 | [M-H] ⁻ | 316, 300, 287, 271, 255, 243, 214, 151, 124, 102 | 槲皮素-3-β-D-葡萄糖苷 | + | + | + | + | + |
| 16 | 6.164 | C ₂ H ₂ O ₁₃ | 478.074 85 | [M-H] ⁻ | 301, 255, 178, 163, 151, 121, 107, 83, 65 | 槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷 | + | + | - | + | - |
| 17 | 6.891 | C ₁₈ H ₁₀ O ₇ | 302.042 54 | [M+H] ⁺ | 229, 201, 153, 137, 121, 115, 81, 68 | 槲皮素 | + | + | + | + | + |
| 18 | 6.897 | C ₂ H ₂ O ₁₁ | 448.099 62 | [M-H] ⁻ | 300, 284, 255, 227, 211, 183 | 紫云英昔 | + | - | - | - | + |
| 19 | 6.899 | C ₃ H ₂ O ₁₁ | 470.083 04 | [M+H] ⁺ | 458, 366, 325, 289, 257, 204, 169, 88, 63 | 三叶豆昔 | - | - | + | - | - |
| 20 | 7.125 | C ₃ H ₂ O ₁₀ | 418.090 22 | [M-H] ⁻ | 349, 336, 284, 255, 227, 211, 183, 164, 84 | 山柰酚-3-O-阿拉伯糖苷 | - | - | + | + | + |
| 21 | 7.211 | C ₁₅ H ₁₂ O ₄ | 256.073 6 | [M-H] ⁻ | 135, 120, 119, 91, 81, 65, 53 | 异甘草素 | - | - | + | - | - |
| 22 | 7.703 | C ₃ H ₂ O ₁₀ | 432.105 4 | [M-H] ⁻ | 284, 255, 227, 211, 107 | 阿福豆昔 | + | + | + | + | + |
| 23 | 7.714 | C ₃ H ₂ O ₁₀ | 454.087 85 | [M+H] ⁺ | 350, 309, 275, 203, 169, 136, 85, 71 | 芹菜素 | - | + | + | - | + |
| 24 | 7.774 | C ₁₈ H ₁₀ O ₆ | 286.047 66 | [M+H] ⁺ | 269, 258, 241, 231, 213, 185, 165, 153, 121, 107, 95, 68 | 山柰酚 | + | + | + | + | + |
| 25 | 7.838 | C ₁₅ H ₂ O ₁₂ | 592.159 35 | [M+H] ⁺ | 441, 382, 336, 303, 289, 151, 139, 123, 84, 50 | 原花青素A | - | - | - | + | - |
| 26 | 7.936 | C ₁₆ H ₁₂ O ₇ | 316.059 01 | [M+H] ⁺ | 302, 285, 257, 245, 229, 217, 203, 153, 121, 92 | 异鼠李素 | - | - | - | - | + |
| 27 | 8.223 | C ₁₉ H ₂₀ O ₅ | 328.131 18 | [M-H] ⁻ | / | 2',3',4',6'-四甲氧基查耳酮 | - | + | + | + | - |
| 28 | 10.039 | C ₁₅ H ₁₀ O ₃ | 270.053 3 | [M+H] ⁺ | 215, 203, 197, 153, 141, 136, 131, 115, 107, 91, 65 | 染料木黄酮 | - | - | - | - | + |
| 29 | 10.191 | C ₂₇ H ₂ O ₁₄ | 580.179 95 | [M+Na] ⁺ | 521, 495, 458, 427, 393, 335, 279, 257, 203, 165, 119, 97, 84, 57 | 柚皮昔 | - | - | - | - | + |
| 30 | 11.225 | C ₃ H ₂ O ₁₃ | 550.169 36 | [M+H] ⁺ | / | 异甘草素-葡萄糖芹糖苷 | - | - | - | - | + |
| 31 | 11.671 | C ₁₈ H ₁₀ O ₆ | 286.048 2 | [M+H] ⁺ | 213, 165, 157, 153, 136, 121, 95, 91, 68 | 漆黄素 | - | - | + | + | + |
| 32 | 18.557 | C ₂₀ H ₂ O ₁₅ | 610.183 27 | [M+H] ⁺ | 596, 517, 411, 336, 257, 234, 164, 136, 97 | 新橙皮昔 | + | + | - | + | - |
| 33 | 0.727 | C ₇ H ₄ O ₆ | 192.062 36 | [M-H] ⁻ | 164, 108, 93, 85, 59 | D(-)-奎宁酸 | + | + | + | - | - |
| 34 | 0.979 | C ₁₇ H ₁₆ O ₁₀ | 332.074 38 | [M-H] ⁻ | / | 葡萄糖没食子酸昔 | + | + | - | - | - |
| 35 | 0.988 | C ₁₅ H ₁₄ O ₁₀ | 354.057 02 | [M+H] ⁺ | / | 2-咖啡酰异柠檬酸 | - | + | - | - | - |
| 36 | 1.201 | C ₇ H ₄ O ₅ | 170.020 4 | [M-H] ⁻ | 124, 116, 97, 95, 84, 69, 67, 53 | 没食子酸 | + | + | + | + | - |
| 37 | 1.822 | C ₁₆ H ₈ O ₈ | 302.006 61 | [M+H] ⁺ | / | 鞣花酸 | - | + | - | + | - |
| 38 | 2.16 | C ₇ H ₆ O ₄ | 154.025 39 | [M-H] ⁻ | 109, 108, 97, 91, 85, 65 | 龙胆酸 | + | + | + | + | - |
| 39 | 3.576 | C ₁₆ H ₁₀ O ₉ | 354.095 | [M-H] ⁻ | 191, 179, 164, 136, 133, 127, 114, 93, 85 | 新绿原酸 | + | + | - | - | - |
| 40 | 3.59 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 354.095 17 | [M-H] ⁻ | 191, 163, 135, 127, 93, 85, 59 | 绿原酸 | + | + | - | - | - |
| 41 | 4.605 | C ₁₀ H ₁₂ O ₂ | 164.083 89 | [M+H] ⁺ | 137, 124, 105, 95, 79, 62 | 覆盆子酮 | - | - | - | - | + |
| 42 | 4.934 | C ₈ H ₈ O ₃ | 152.047 46 | [M+H] ⁺ | 134, 111, 88, 70, 65, 53 | 香兰素 | - | - | + | - | - |
| 43 | 5.433 | C ₁₀ H ₁₀ O ₃ | 178.063 16 | [M+H] ⁺ | 161, 147, 146, 136, 133, 119, 118, 107, 105, 91, 79, 77, 65 | 松柏醛(阿魏醛) | + | - | - | + | + |
| 44 | 6.138 | C ₁₃ H ₁₄ O ₃ | 218.094 45 | [M+H] ⁺ | / | 泽兰色原烯 | - | - | - | + | - |
| 45 | 6.517 | C ₉ H ₈ O ₃ | 164.047 38 | [M+H] ⁺ | / | (E)-对香豆酸 | + | - | - | - | - |
| 46 | 11.199 | C ₁₇ H ₁₂ O ₈ | 344.053 05 | [M-H] ⁻ | 328, 312, 297, 285, 269, 241, 213, 197, 185, 169, 157, 142, 130, 118, 86, 65 | 3,4,3'-三-O-甲基鞣花酸 | - | + | - | - | - |
| 47 | 7.957 | C ₉ H ₁₀ O ₈ | 470.192 03 | [M+H] ⁺ | 457, 336, 257, 179, 129, 114, 57 | 柠檬苦素 | + | + | - | + | - |
| 48 | 17.15 | C ₂₀ H ₂₈ O ₃ | 316.204 21 | [M+H] ⁺ | 271, 238, 201, 189, 175, 149, 121, 105, 91, 79, 55 | 咖啡醇 | + | - | - | - | + |
| 49 | 17.612 | C ₄₃ H ₃₃ NO ₁₄ | 831.342 97 | [M-H] ⁻ | / | 三尖杉宁碱 | - | + | - | - | - |
| 50 | 21.774 | C ₂₀ H ₂₈ O ₃ | 456.361 07 | [M-H] ⁻ | 455, 336, 257, 203, 164, 136, 97, 91, 83 | 熊果酸 | - | - | - | + | - |
| 51 | 0.762 | C ₈ H ₁₁ NO ₃ | 169.073 99 | [M+H] ⁺ | 152, 146, 134, 124, 106, 95, 80, 71, 65 | 吡哆醇 | - | - | - | - | + |
| 52 | 0.946 | C ₆ H ₈ O ₇ | 192.026 09 | [M-H] ⁻ | 114, 82, 63, 55 | 柠檬酸 | - | + | - | - | - |
| 53 | 3.723 | C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₂ | 194.080 7 | [M+H] ⁺ | 151, 138, 133, 123, 110, 109, 108, 83, 68, 56, 42 | 咖啡因 | - | - | + | - | + |
| 54 | 6.424 | C ₃₀ H ₂ O ₁₁ | 544.192 25 | [M+H] ⁺ | 395, 291, 273, 251, 193, 167, 129 | 落叶松脂素-4-O-葡萄糖昔 | + | + | - | + | - |
| 55 | 7.18 | C ₈ H ₁₀ O ₄ | 188.103 97 | [M-H] ⁻ | 164, 139, 136, 84, 82, 76, 57 | 壬二酸 | + | - | + | + | - |
| 56 | 8.127 | C ₁₇ H ₁₄ O ₂ | 250.099 61 | [M+H] ⁺ | 218, 208, 178, 155, 133, 119, 105, 95 | 巨盘木色原酮 | + | + | - | - | - |
| 57 | 8.427 | C ₁₀ H ₂₄ O ₄ | 316.167 83 | [M-H] ⁻ | 299, 286, 257, 233, 213, 203, 164, 147, 119, 106, 93, 84, 73, 67 | 1,7-双(4-羟苯基)-3,5-庚二醇 | + | + | + | - | - |
| 58 | 16.419 | C ₁₈ H ₂₀ NO ₃ | 317.292 96 | [M+H] ⁺ | 300, 282, 270, 264, 257, 203, 109, 95, 83, 60 | 植物鞘氨醇 | - | + | + | + | + |
| 59 | 31.741 | C ₂₅ H ₄₈ O | 412.371 17 | [M+H] ⁺ | 395, 336, 328, 295, 257, 123, 109, 97, 81, 69 | 谷甾醇 | - | - | - | - | + |

注: +.检测到; -.未检测到; /.无碎片离子。

LC-MS法也曾在榛子壳和榛子叶中检测到该物质,这是一种紫杉醇类似物并且具有较强的抗癌作用,也可用于合成紫杉醇,这为利用榛子副产物研发药物的功效成分增加了可能性。本实验基于UPLC-MS技术对平欧榛子副产物多酚类物质的测定结果为榛子副产物研究提供了新的信息,未来可以进一步研究平欧榛子副产物中的活性成分与生物活性之间的联系。

3 结论

平欧榛子副产物含有丰富的酚类物质,其不同溶剂提取物具有不同程度的抗氧化、降血糖和抗炎活性,这是由于溶剂和部位不同导致提取物中的化学组成不同从而影响了各提取物生物活性的强弱顺序。通过UPLC-MS对平欧榛子副产物化学组成的分析,榛子叶和种皮的酚类物质以类黄酮为主,榛子枝条和壳含有较多的原花青素,榛子果苞中含有三尖杉宁碱等活性成分,平欧榛子副产物有望成为功能性食品或药品的基料。

参考文献:

- [1] 王贵禧. 中国榛属植物资源培育与利用研究(III): 育种、育苗与栽培[J]. 林业科学研究, 2018, 31(1): 122-129. DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2018.01.015.
- [2] BOTTONE A, CERULLI A, D'URSO G, et al. Plant specialized metabolites in hazelnut (*Corylus avellana*) kernel and byproducts: an update on chemistry, biological activity, and analytical aspects[J]. *Planta Medica*, 2019, 85(11/12): 840-855. DOI:10.1055/a-0947-5725.
- [3] DURAZZO A, LUCARINI M, SOUTO E B, et al. Polyphenols: a concise overview on the chemistry, occurrence, and human health[J]. *Phytotherapy Research*, 2019, 33(9): 2221-2243. DOI:10.1002/ptr.6419.
- [4] REGUENGO L M, SALGAÇO M K, SIVIERI K, et al. Agro-industrial by-products: valuable sources of bioactive compounds[J]. *Food Research International*, 2022, 152: 110871. DOI:10.1016/j.foodres.2021.110871.
- [5] 朱小芳, 杨凯, 赵玉红. 平欧榛子活性成分含量及抗氧化性比较[J]. 食品科学, 2017, 38(19): 130-136. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201719021.
- [6] ALLEGRINI A, SALVANESCHI P, SCHIRONE B, et al. Multipurpose plant species and circular economy: *Corylus avellana* L. as a study case[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2022, 27(1): 11. DOI:10.31083/j.fbl2701011.
- [7] RAHMAN M M, RAHAMAN M S, ISLAM M R, et al. Role of phenolic compounds in human disease: current knowledge and future prospects[J]. *Molecules*, 2021, 27(1): 233. DOI:10.3390/MOLECULES27010233.
- [8] FAKHRI S, PIRI S, MORADI S Z, et al. Phytochemicals targeting oxidative stress, interconnected neuroinflammatory, and neuroapoptotic pathways following radiation[J]. *Current Neuropharmacology*, 2022, 20(5): 836-856. DOI:10.2174/1570159X19666210809103346.
- [9] LUCA S V, MACOVEI I, BUJOR A, et al. Bioactivity of dietary polyphenols: the role of metabolites[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 60(4): 626-659. DOI:10.1080/10408398.2018.1546669.
- [10] GIL-MARTÍN E, FORBES-HERNÁNDEZ T, ROMERO A, et al. Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products[J]. *Food Chemistry*, 2022, 378: 131918. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131918.
- [11] KHARBACH M, VIAENE J, YU H W, et al. Secondary-metabolites fingerprinting of *Argania spinosa* kernels using liquid chromatography-mass spectrometry and chemometrics, for metabolite identification and quantification as well as for geographic classification[J]. *Journal of Chromatography A*, 2022, 1670: 462972. DOI:10.1016/j.chroma.2022.462972.
- [12] 荆瑞勇, 卫佳琪, 王丽艳, 等. 基于主成分分析的不同水稻品种品质综合评价[J]. 食品科学, 2020, 41(24): 179-184. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20191218-198.
- [13] SHAHIDI F, ALASALVAR C, LIYANA-PATHIRANA C M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(4): 1212-1220. DOI:10.1021/jf062472o.
- [14] 杨文娟, 侯旭杰, 阿依古丽·吾斯曼, 等. 超声辅助提取花生根多酚工艺优化及组成分析[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(1): 107-111. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2021.01.018.
- [15] 刘春丽, 颜小捷, 杨子明, 等. 龙眼果皮及果核中植物多酚含量的测定及抗氧化能力研究[J]. 食品科技, 2014, 39(11): 203-206; 211. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2014.11.042.
- [16] MORENO M I N, ISLA M I, SAMPIETRO A R, et al. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 71(1): 109-114. DOI:10.1016/S0378-8741(99)00189-0.
- [17] 郝艳丽, 周旋, 霍明洋, 等. 响应面法优化女贞子原花青素提取工艺及抗氧化研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(17): 74-81. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2020.17.012.
- [18] 李欣, 薛治浦, 朱文学. 丹参不同部位总酚酸和总黄酮含量分析及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(3): 108-111.
- [19] 张勇, 黄思涵, 林大都, 等. 福建观音座莲叶提取物不同萃取部位成分含量及与抗氧化相关性分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(14): 49-54. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020110040.
- [20] 玄红专, 吴玉厚, 桑青, 等. 不同蜂蜜抗氧化活性的测定[J]. 食品研究与开发, 2008(3): 116-118.
- [21] 贾东升, 李荣乔, 谢晓亮, 等. 连翘叶不同溶剂提取物体外抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(2): 14-18. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2016.02.004.
- [22] PODSEDEK A, MAJEWSKA I, REDZYNIA M, et al. *In vitro* inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(20): 4610-4617. DOI:10.1021/jf5008264.
- [23] 王静, 刘丁丽, 罗丹, 等. 体外模拟消化对藜麦抗氧化活性、 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性影响研究[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(4): 51-58.
- [24] GRANT N H, ALBURN H E, KRYZANAUSKAS C. Stabilization of serum albumin by anti-inflammatory drugs[J]. *Biochemical Pharmacology*, 1970, 19(3): 715-722. DOI:10.1016/0006-2952(70)90234-0.
- [25] 郭瑞, 李焱, 王萍. 三种龙葵果提取物的体外抗氧化及抗炎活性评价[J]. 现代食品科技, 2020, 36(2): 94-101. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.2.014.
- [26] LEE T H, LEE C H, WONG S, et al. UPLC-orbitrap-MS/MS based characterization of phytochemical compounds from Malaysia purple corn (*Zea mays*) [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2021, 32: 101922. DOI:10.1016/J.BCAB.2021.101922.

- [27] YUAN B, LU M, ESKRIDGE K M, et al. Extraction, identification, and quantification of antioxidant phenolics from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shells[J]. Food Chemistry, 2018, 244: 7-15. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.09.116.
- [28] LEE H H, KIM J S, JEONG J H, et al. Effect of different solvents on the extraction of compounds from different parts of *Undaria pinnatifida* (Harvey) suringar[J]. Journal of Marine Science and Engineering, 2022, 10(9): 1193. DOI:10.3390/jmse10091193.
- [29] ZEB A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(9): e13394. DOI:10.1111/jfbc.13394.
- [30] 李慧卿, 曹叶霞, 黄坊娇. DPPH·和ABTS⁺·比较研究毛建草多酚、黄酮和多糖的抗氧化协同作用[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2022, 42(3): 98-105. DOI:10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202107004.
- [31] ZENGIN G, AUMEERUDDY M Z, DIUZHEVA A, et al. A comprehensive appraisal on *Crocus chrysanthus* (Herb.) Herb. flower extracts with HPLC-MS/MS profiles, antioxidant and enzyme inhibitory properties[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 164: 581-589. DOI:10.1016/j.jpba.2018.11.022.
- [32] FRATIANNI F, D'ACIERNO A, OMBRA M N, et al. Fatty acid composition, antioxidant, and *in vitro* anti-inflammatory activity of five cold-pressed prunus seed oils, and their anti-biofilm effect against pathogenic bacteria[J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8: 775751. DOI:10.3389/fnut.2021.775751.
- [33] LONČARIĆ M, STRELEC I, MOSLAVAC T, et al. Lipoxigenase inhibition by plant extracts[J]. Biomolecules, 2021, 11(2): 152. DOI:10.3390/biom11020152.
- [34] SÁNCHEZMARTÍNEZ J D, BUENO M, ALVAREZRIVERA G, et al. *In vitro* neuroprotective potential of terpenes from industrial orange juice by-products[J]. Food & Function, 2020, 12(1): 302-314. DOI:10.1039/d0fo02809f.
- [35] LEE D U, PARK Y J, KANG C E, et al. Synergistic antimicrobial activity of ϵ -polylysine, chestnut extract, and cinnamon extract against *Staphylococcus aureus*[J]. Food Science and Biotechnology, 2022, 31(5): 607-615. DOI:10.1007/s10068-022-01065-4.
- [36] BASHKIN A, GHANIM M, ABU-FARICH B, et al. Forty-one plant extracts screened for dual antidiabetic and antioxidant functions: evaluating the types of correlation between α -amylase inhibition and free radical scavenging[J]. Molecules, 2021, 26(2): 317. DOI:10.3390/molecules26020317.
- [37] LELLI V, MOLINARI R, MERENDINO N, et al. Detection and comparison of bioactive compounds in different extracts of two hazelnut skin varieties, *Tonda Gentile Romana* and *Tonda di Giffoni*, using a metabolomics approach[J]. Metabolites, 2021, 11(5): 296. DOI:10.3390/metabo11050296.
- [38] 赵明慧, 姜子涛, 刘韬, 等. 平榛叶中黄酮类化合物成分的研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(12): 235-240. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.12.040.
- [39] DI MICHELE A, PAGANO C, ALLEGRINI A, et al. Hazelnut shells as source of active ingredients: extracts preparation and characterization[J]. Molecules, 2021, 26(21): 6607. DOI:10.3390/molecules26216607.
- [40] CONTINI M, BACCELLONI S, FRANGIPANE M T, et al. Increasing espresso coffee brew antioxidant capacity using phenolic extract recovered from hazelnut skin waste[J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(1): 137-146. DOI:10.1016/j.jff.2011.09.005.
- [41] HOFFMAN A, SHAHIDI F. Paclitaxel and other taxanes in hazelnut[J]. Journal of Functional Foods, 2008, 1(1): 33-37. DOI:10.1016/j.jff.2008.09.004.