



苑志强,李俊,李志伟,等.亚麻种质生氰糖苷含量测定与评价[J].黑龙江农业科学,2024(4):81-85.

亚麻种质生氰糖苷含量测定与评价

苑志强¹,李俊²,李志伟¹,李佳娜¹,李小萌¹,伊六喜¹

(1. 内蒙古农业大学 科技园区/农学院,内蒙古 呼和浩特 010019; 2. 内蒙古大学 生命科学学院,内蒙古 呼和浩特 010070)

摘要:为进一步评价亚麻种质亚麻苦苷和百脉根苷含量的变异特征,本研究以 20 份亚麻种质为材料,利用高效液相色谱结合蒸发光检测仪测定亚麻苦苷和百脉根苷含量。结果表明,亚麻苦苷含量的均值为 $0.56 \pm 0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,变异系数和遗传多样性指数分别为 42.19% 和 31.26%;百脉根苷含量均值为 $0.25 \pm 0.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,变异系数和遗传多样性指数分别为 60.67% 和 41.96%;亚麻籽亚麻苦苷、百脉根苷和二者总含量相互之间均极显著正相关。亚麻苦苷和百脉根苷含量与亚麻产量和品质相关性状的相关性分析表明,亚麻苦苷与棕榈酸之间显著负相关(-0.133),与其他脂肪酸相关性状之间不显著;亚麻籽亚麻苦苷、百脉根苷和二者总含量均与株高极显著正相关,其中与二者总含量的相关系数最大(0.216);聚类分析结果表明,遗传相似系数 0.70 时分为 20 个亚麻种质 3 个类群,第一类群种质的亚麻苦苷和百脉根苷平均含量较低,分别为 0.46 和 $0.11 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,这一类群中的内亚六号、H 140、内亚七号、内蒙红、CDC ARRAS、NOR MAN 和晋亚 8 号这 7 个品种可以加以推广利用。

关键词:亚麻;生氰糖苷;变异系数

亚麻(*Linum usitatissimum* L.)又称胡麻,是亚麻科亚麻属一年生草本植物^[1]。我国是亚麻主产国之一,在甘肃、宁夏、内蒙古、山西和新疆等地广泛种植^[2]。亚麻籽富含不饱和脂肪酸(亚麻酸、亚油酸、油酸)、蛋白质、维生素及木酚素等,具有增强机体免疫力、延缓衰老、提高记忆力、降血糖和抗肿瘤等保健功能,但亚麻籽含有亚麻苦苷、百脉根苷等生氰糖苷有毒物质^[3],影响了亚麻籽的综合应用。

生氰糖苷(Cyanogenic glycosides)亦称氰苷、氰醇苷,是由氰醇衍生物的羟基和 D-葡萄糖缩合形成的糖苷。广泛存在于豆科和蔷薇科等 10 000 余种植物中^[4]。生氰糖苷主要有单糖苷和二糖苷两种结构类型,前者包括亚麻苦苷和百脉根苷,后者包括 β -龙胆二糖丙酮氰醇和 β -龙胆二糖甲乙酮氰醇。生氰糖苷本身不呈现毒性,但含有生氰糖苷的植物被动物采食、咀嚼后,植物组织的结构遭到破坏,在适宜的条件下,生氰糖苷与其共存的水解酶作用产生 HCN 会引起动物中毒。生氰糖苷的毒性较强,对人的致死量每公斤体重为 18 mg。生氰糖苷的毒性主要是氰氢酸和醛类化合物的毒性。氰氢酸被吸收后,随血液循环进入组织细胞,并透过细胞膜进入线粒体,氰化

物通过与线粒体中细胞色素氧化酶的铁离子结合,导致细胞的呼吸链中断。

亚麻籽中主要以单糖苷(亚麻苦苷和百脉根苷)为主,它在 β -葡萄糖苷酶的作用下可生成剧毒的氢氰酸。因此,选育低生氰糖苷含量的亚麻品种或亚麻籽中生氰糖苷的高效去除已成为亚麻籽开发利用时必须突破的关键技术问题。国内外学者对降低亚麻籽中生氰糖苷含量进行了大量研究,建立多种去除亚麻籽中生氰糖苷的脱毒方法,如水煮法、烘烤法、微波法和溶剂提取法^[5-6]。但是对亚麻种质生氰糖苷含量的评价研究报道较少。亚麻籽中生氰糖苷的含量与亚麻品种、种植方式、气候等因素有关^[7-9],因此,以不同地区来源的亚麻材料为研究对象,采用高效液相色谱结合蒸发光检测仪精准测定亚麻籽生氰糖苷(亚麻苦苷和百脉根苷)含量,评价品种之间差异及与其他品质性状之间的相关性,为亚麻育种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为具有地区代表的 20 份亚麻种质,材料名称和来源见表 1。

收稿日期:2023-09-17

基金项目:内蒙古自治区直属高校基本科研业务费项目(BR231513);国家自然科学基金项目(32160448);内蒙古自然科学基金项目(2023MS03008);内蒙古自治区高校生物种质资源保护与利用工程研究中心(21400-222526)。

第一作者:苑志强(1993—),男,硕士,助理研究员,从事特色油料作物育种研究。E-mail:79304056@qq.com。

通信作者:伊六喜(1985—),男,博士,副教授,从事特色油料作物育种研究。E-mail:yiliuxivip@163.com。

表 1 亚麻材料名称及来源

序号	品种名称	来源	序号	品种名称	来源
1	伊亚 3 号	新疆	11	CDC ARRAS	加拿大
2	黑亚 30	黑龙江	12	NOR MAN	加拿大
3	晋亚 8 号	山西	13	内蒙红	内蒙古
4	伊亚 4 号	新疆	14	天水渭南	甘肃
5	内亚六号	内蒙古	15	礼县	甘肃
6	宁亚 15 号	宁夏	16	天亚 1 号	甘肃
7	宁亚 2 号	宁夏	17	内亚七号	内蒙古
8	CF1089	荷兰	18	陇亚 11 号	甘肃
9	CF1095	荷兰	19	定亚 18 号	甘肃
10	H 140	匈牙利	20	庆阳老	甘肃

1.2 方法

1.2.1 生氰糖苷含量的测定 2022 年 4 月,20 份亚麻材料种植于内蒙古呼和浩特市内蒙古农业科学院试验基地,8 月份收获后分别称取 200 mg 种子,粉碎后加入 50%的乙腈和 50%的水溶液,用超声提取 30 min(提取温度为 50 ℃,功率为 250 W),振荡混匀后离心 5 min,提取上清液用 0.45 μm 的过滤膜过滤后液相检测。本试验中液相分析条件为 Atlantis¹⁸C 色谱柱,流动相,乙腈-水(85:15, V/V)流速 1 mL·min⁻¹,柱的温度为 30 ℃,进样量为 5 μL,采用蒸发光检测器(ELSD),气体的流速为 2 L·min⁻¹,漂移管的温度为 85 ℃,增益值为 2。准确称量 100 μg 亚麻苦苷和百脉根苷标准品,加入 1 mL 的 50%乙腈和 50%水溶液,分别取 1,2,3,4 和 5 mL 用 50%乙腈和 50%水定容至 50 mL,分别进样 10 μL 进行高效液相分析,以浓

度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线并进行线性回归,得到亚麻苦苷和百脉根苷标准方程 $y=1\,218\,643.73x-1\,026\,758.21(R^2=0.999\,8)$ 和 $y=973\,812.60x-859\,633.52(R^2=0.999\,9)$,得到的样品峰面积和标准曲线方程计算出样品的亚麻苦苷和百脉根苷浓度^[10]。

1.2.2 数据分析 采用 SAS 9.2 软件进行偏度、峰度、Shapiro-Wilk 检验和正态性检验。统计分析表型性状的样本平均数(μ)及 95%置信区间、标准差(s)、变异系数(CV)、极差(R)。采用 SPSS 19.0 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 亚麻种质生氰糖苷含量的统计分析

利用高效液相色谱仪对 20 份亚麻种质的亚麻苦苷和百脉根苷含量进行测定,结果见表 2,亚麻苦苷含量的最大值为 1.93 mg·kg⁻¹,最小值为 0.08 mg·kg⁻¹,均值为 0.56±0.25 mg·kg⁻¹,变异系数和遗传多样性指数分别为 42.19%和 31.26%;百脉根苷含量的最大值为 1.09 mg·kg⁻¹,最小值为 0.04 mg·kg⁻¹,均值为 0.25±0.24 mg·kg⁻¹,变异系数和遗传多样性指数分别为 60.67%和 41.96%;总含量指的是亚麻苦苷和百脉根苷总含量,不同材料之间亚麻苦苷和百脉根苷总含量的差异较大,最大值为 2.77 mg·kg⁻¹,最小值为 0.38 mg·kg⁻¹,均值为 0.75±0.24 mg·kg⁻¹,变异系数和遗传多样性指数分别为 36.26%和 28.74%。

表 2 20 份亚麻种质的生氰糖苷含量统计

测定指标	最小值/(mg·kg ⁻¹)	最大值/(mg·kg ⁻¹)	均值/(mg·kg ⁻¹)	变异系数/%	遗传多样性指数/%
亚麻苦苷	0.08	1.93	0.56±0.25	42.19	31.26
百脉根苷	0.04	1.09	0.25±0.24	60.67	41.96
总含量	0.38	2.77	0.75±0.24	36.26	28.74

2.2 亚麻籽生氰糖苷含量与品质性状相关性分析

由表 3 可知,亚麻苦苷、百脉根苷和二者总含量相互之间均呈极显著正相关,其中亚麻苦苷和总含量之间的相关系数最大,为 0.872,说明亚麻苦苷含量是影响亚麻籽生氰糖苷含量的主要因子。亚麻苦苷与棕榈酸之间显著负相关(0.133),与其他脂肪酸相关性不显著,与油酸和亚油酸呈负相关,与硬脂酸和亚麻酸呈正相关,且相关系数均较小。说明选育低亚麻苦苷含量的亚麻品种对亚麻脂肪酸含量的影响不大。

2.3 亚麻籽生氰糖苷含量与产量性状相关性分析

由表 4 可知,亚麻苦苷、百脉根苷和二者总含量均与株高极显著正相关,其中生氰糖苷总含量与株高的相关系数最大,为 0.216,表明株高与亚麻生氰糖苷含量密切相关。总含量与千粒重呈显著负相关,相关系数为 0.062,说明亚麻籽生氰糖苷总含量与千粒重大小有一定关联。亚麻苦苷、百脉根苷和二者总含量与单株果数、果粒数、单株粒重之间均无显著相关,说明亚麻苦苷和百脉根苷含量与产量相关农艺性状相关性较小。

表 3 亚麻生氰糖苷含量与脂肪酸含量的相关性分析

性状	亚麻苦苷	百脉根苷	总含量	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
亚麻苦苷	1							
百脉根苷	0.191**	1						
总含量	0.872**	0.626**	1					
棕榈酸	-0.133*	0.042	-0.081	1				
硬脂酸	0.066	0.119	0.108	0.476**	1			
油酸	-0.012	0.147*	0.060	0.391**	0.543**	1		
亚油酸	-0.112	-0.011	-0.088	0.023	-0.118	-0.238**	1	
亚麻酸	0.090	-0.118	0.017	-0.464**	-0.515**	-0.585**	-0.579**	1

注:**表示在 0.01 水平显著相关;*表示在 0.05 水平显著相关。下同。

表 4 亚麻生氰糖苷含量与产量性状的相关性分析

性状	亚麻苦苷	百脉根苷	总含量	株高	单株果数	果粒数	千粒重	单株粒重
亚麻苦苷	1							
百脉根苷	0.191**	1						
总含量	0.872**	0.624**	1					
株高	0.161**	0.163**	0.216**	1				
单株果数	0.005	0.060	0.031	0.159*	1			
果粒数	-0.120	-0.011	-0.091	0.000	0.084	1		
千粒重	-0.076	-0.005	-0.062*	-0.006	-0.134*	-0.119	1	
单株粒重	-0.100	0.066	-0.043	0.129	0.267**	0.143*	0.420**	1

2.4 聚类分析

为了进一步评价 20 份亚麻种质的亲缘关系,用亚麻苦苷、百脉根苷、5 种脂肪酸和产量相关性状(株高、单株果数、果粒数、千粒重、单株粒重)的表型数据进行聚类分析,结果如图 1 所示,遗传相似系数 0.70 时 20 份亚麻种质可分为 3 个类群,第一类群有内亚六号、H 140、内亚七号、内蒙红、CDC ARRAS、NOR MAN 和晋亚 8 号,这 7 个品种的亚麻苦苷($0.46\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和百脉根苷($0.11\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)平均含量偏低;第二类群有天水渭南、礼县、庆阳老、天亚 1 号、陇亚 11 号、定亚 18 号和宁亚 15 号和宁亚 2 号,这 8 个品种的亚麻苦苷($0.52\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和百脉根苷($0.13\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)平均含量中等;第三类有 CF1089、CF1095、黑亚 30、伊亚 3 号和伊亚 4 号,这 5 个品种为纤维亚麻,亚麻苦苷($0.72\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和百脉根苷($0.21\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)平均含量偏高。

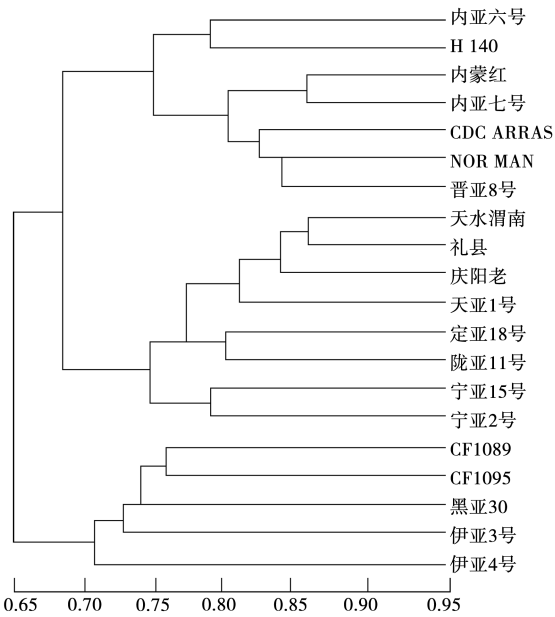


图 1 20 份亚麻种质的聚类图

3 讨论

内源性毒素引起的食物中毒是一个全球性的食品安全问题。生氰糖苷是食品中常见的天然毒素。亚麻易种植、抗旱,作为重要特色油料作物,全球有20多个国家种植,在粮食安全方面是一种很有前途的作物,但其含有的生氰糖苷是其推广过程中应当注意的问题^[11]。近年来,诸多学者在农产品中内生毒素——生氰糖苷的检测技术、风险评估以及风险管控等方面开展了相关研究,并取得了多项重要的研究成果^[12-15]。精准测定亚麻籽中的生氰糖苷含量,可评估亚麻籽系列产品的使用安全,保证亚麻籽资源的利用对人与动物的安全性,还可以为无毒或者低毒性亚麻籽的育种提供依据。亚麻籽中生氰糖苷的含量与亚麻籽成熟度及品种有关。完全成熟的籽极少含亚麻苦苷,油用亚麻籽亚麻苦苷含量较少,纤维用亚麻籽由于其收获较早(一般在籽成熟前收获),其籽中亚麻苦苷含量较高^[16-19]。本研究中纤维亚麻黑亚30的亚麻苦苷含量最高($0.72\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),荷兰的CF1089材料百脉根苷含量最高($0.21\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),油用亚麻内亚6号亚麻苦苷含量最低($0.46\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),晋亚8号百脉根苷含量最低($0.11\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。Oomah等^[20]对10个不同品种进行分析,发现各品种中的亚麻苦苷、 β -龙胆二糖丙酮氰醇和 β -龙胆二糖甲乙酮氰醇含量分别为 $13.8\sim 31.9\text{ mg}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 、 $218\sim 538\text{ mg}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 和 $73\sim 454\text{ mg}\cdot(100\text{ g})^{-1}$ 。邹良平等^[21]采用高效液相色谱结合蒸发光检测仪测定的亚麻籽亚麻苦苷和百脉根苷含量分别为0.37和 $0.15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。本研究以20份亚麻种质为材料,测定获得了亚麻苦苷和百脉根苷平均含量分别为 $0.56\pm 0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.25\pm 0.24\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,与前人研究结果基本一致。

亚麻籽生氰糖苷含量与产量和品质性状密切相关,亚麻籽含油量越多,生氰糖苷含量越少;含油量越少,生氰糖苷含量越高^[22-24]。本研究中发现亚麻苦苷与棕榈酸之间显著负相关(-0.133),与其他脂肪酸相关不显著;亚麻籽亚麻苦苷、百脉根苷和总含量均与株高呈极显著正相关,其中生氰糖苷总含量与株高的相关系数最大(0.216),说

明株高与亚麻生氰糖苷含量密切相关。为了更好地鉴定亚麻种质生氰糖苷的含量及其他性状之间的相关性,后续还需要进行多年多点鉴定,获得更精准的表型数据,进而更好地揭示亚麻生氰糖苷的遗传特征。

4 结论

本研究对20份亚麻种质的亚麻苦苷和百脉根苷含量进行测定分析,结果表明,亚麻苦苷含量的均值为 $0.56\pm 0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,变异系数和遗传多样性指数分别为42.19%和31.26%;百脉根苷含量均值为 $0.25\pm 0.24\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,变异系数和遗传多样性指数分别为60.67%和41.96%;亚麻苦苷、百脉根苷和二者总含量相互之间均极显著正相关。亚麻苦苷和百脉根苷含量与亚麻产量和品质相关性状的相关性分析表明,亚麻苦苷与棕榈酸之间显著负相关(-0.133),与其他脂肪酸相关性不显著;亚麻苦苷、百脉根苷和二者总含量均与株高极显著正相关,其中生氰糖苷总含量与株高的相关系数最大(0.216);聚类分析结果表明,遗传相似系数0.70时,20个亚麻种质分为3个类群。

参考文献:

- [1] 王利民.我国胡麻生产现状及发展建议[J].甘肃农业科技,2014(4):60-61.
- [2] 党占海.胡麻产业现状及其发展对策[J].农产品加工,2008(7):20-21.
- [3] 魏长庆,刘文玉,许程剑.胡麻籽活性成分研究应用进展[J].粮食与油脂,2012,25(4):6-8.
- [4] 孙兰萍,许晖.亚麻籽生氰糖苷的研究进展[J].中国油脂,2007,32(10):24-27.
- [5] 许光映,李群,高忠东,等.辐照处理对亚麻产量及生氰糖苷含量的影响[J].山西农业科学,2020,48(11):1741-1745.
- [6] 李次力,缪铭.双螺杆挤压亚麻籽粕脱除生氰糖苷的研究[J].食品与发酵工业,2006,32(11):63-67.
- [7] 梅莺,黄庆德,邓乾春,等.亚麻饼粕微生物脱毒工艺[J].食品与发酵工业,2013,39(3):111-114.
- [8] 柳春梅,吕鹤书.生氰糖苷类物质的结构和代谢途径研究进展[J].天然产物研究与开发,2014,26(2):294-299.
- [9] 吴显荣,刘建卫.植物体内的生氰糖苷[J].北京农业大学学报,1984(4):345-352.
- [10] 孙红.水相法提取亚麻籽油与蛋白质的研究[D].无锡:江南大学,2015.

[11] 郭宝珠,蔡辉益,王茂森,等.生氰糖苷脱毒菌株筛选及其发酵亚麻籽饼研究[J].饲料工业,2020,41(22):24-28.

[12] 曹伟伟,黄庆德,田光晶,等.微波预处理亚麻籽对其压榨饼生氰糖苷含量及压榨油品质的影响[J].食品工业科技,2016,37(9):134-138.

[13] 齐文良,胡麻饼粕微生物脱毒工业化生产技术研究[D].太谷:山西农业大学,2019.

[14] 汤华成,赵蕾.三种脱毒方法降低亚麻籽中氰化氢含量的效果比较[J].中国农学通报,2007,23(7):139-142.

[15] 王月圆,刘向敏,周明兵,等.小佛肚竹生氰糖苷合成关键酶 CYP79 家族同源基因的克隆和鉴定[J].浙江农林大学学报,2012,29(4):510-515.

[16] 齐燕妮,李闻娟,赵丽蓉,等.亚麻生氰糖苷合成关键酶 CYP79 基因家族的鉴定及表达分析[J].作物学报,2023,49(3):687-702.

[17] WU M,LI D,WANG L J,et al. Extrusion detoxification technique on flaxseed by uniform design optimization[J]. Separation and Purification Technology, 2008, 61 (1): 51-59.

[18] READE M C,DAVIES S R,MORLEY P T,et al. Review article:management of cyanide poisoning[J]. Emergency Medicine Australasia,2012,24(3): 225-238.

[19] WU C F. Construction of recombinant *Pichia* strain GS115-Ch-Glu expressing β -glucosidase and cyanide hydratase for cyanogenic glycosides detoxification[J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(19):4424-4433.

[20] OOMAH B D,MAZZA G,KENASCHUK E O. Cyanogenic compounds in flaxseed[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(8):1346-1348.

[21] 邹良平,起登凤,李玖慧,等.高效液相色谱-蒸发光检测法测定木薯生氰糖苷的含量[J].中国农学通报,2014,30(24):47-51.

[22] REINTANZ B,LEHNEN M,REICHELT M,et al. Bus, a bushy *Arabidopsis* CYP79F1 knockout mutant with abolished synthesis of short-chain aliphatic glucosinolates[J]. The Plant Cell,2001,13(2):351.

[23] 李高阳,丁霄霖.亚麻籽油中脂肪酸成分的 GC-MS 分析[J].食品与机械,2005,21(5):30-32.

[24] 陈海华.亚麻籽的营养成分及开发利用[J].中国油脂,2004,29(6):72-75.

Determination and Evaluation of Cyanoside Content in Flax Germplasm

YUAN Zhiqiang¹, LI Jun², LI Zhiwei¹, LI Jiana¹, LI Xiaomeng¹, YIN Liuxi¹

(1. Agricultural College, Inner Mongolia Agricultural University / Science and Technology Park, Hohhot 010019, China; 2. School of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot 010070, China)

Abstract: In order to further evaluate the variation characteristics of the content of linamarin and lotaustralin in flax germplasm, this study was carried with 20 flax accessions and measure of high-performance liquid chromatography combined with evaporative luminescence detection determining the content of flaxseed linamarin and lotaustralin. The result showed that the average content of linamarin in flaxseed was $0.56 \pm 0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the coefficient of variation and genetic diversity index were 42.19% and 31.26% respectively. The average content of lotaustralin was $0.25 \pm 0.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the coefficient of variation and genetic diversity index were 60.67% and 41.96% respectively. There was a significant positive correlation between the content of flaxseed linamarin and lotaustralin and total content. The correlation analysis between the content of flaxseed linamarin and lotaustralin and the yield and quality related traits of flaxseed showed a significant negative correlation (-0.133) between flaxseed linamarin and lotaustralin, but not significant with other fatty acid traits. Flaxseed linamarin and lotaustralin and total content were positive correlation significantly with plant height, and the correlation coefficient (0.216) with the total content of cyanogenic glycosides was the highest Clustering analysis showed while the genetic similarity coefficient value was 0.70 accessions was divided into three groups, and the average content of linamarin and lotaustralin in the first group was low, $0.46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $0.11 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. Seven varieties of Neiya 6, H 140, Neiya 7, Neimenghong, CDC ARRAS, NOR MAN and Jinya 8 in this group could be widely used.

Keywords: flax; cyanogenic glycosides; coefficient of variation