

玉米须中不同极性多酚体外抗氧化活性比较研究

关海宁,刁小琴,乔秀丽,李杨,刘丽美

(绥化学院 食品与制药工程学院,黑龙江 绥化 152061)

摘要:采用石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇对玉米须多酚进行提取,通过还原能力、清除 DPPH 自由基、超氧自由基、羟基自由基与 ABTS⁺自由基 5 种体系对其体外抗氧化活性进行评价。结果表明,不同极性的多酚,抗氧化活性表现出一定的差异,总酚含量与还原力、DPPH 自由基和超氧自由基的清除能力呈显著相关性($p<0.05$),而与羟基自由基和 ABTS⁺自由基清除能力无显著的相关性,但抗氧化能力的顺序一致,依次为水层>正丁醇层>乙酸乙酯层>氯仿层>石油醚层。总体来说,具有高抗氧化活性的玉米须多酚以极性酚为主。因此通过富集极性多酚,以期获得具有高抗氧化活性的玉米须多酚。

关键词:玉米须;多酚;极性提取物;体外;抗氧化活性

Comparison of Antioxidant Activity of Corn Silk Polyphenols with Different Polarities

GUAN Hai-ning, DIAO Xiao-qin, QIAO Xiu-li, LI Yang, LIU Li-mei

(College of Food and Pharmaceutical Engineering, Suihua College, Suihua 152061, Heilongjiang, China)

Abstract: Petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and n-butanol were used to extract polyphenols from corn silk. The antioxidant activities of different polarity extract from corn silk were evaluated by five systems including reduction capacity, DPPH free radical scavenging assay, superoxide free radical scavenging assay, hydroxyl free radical scavenging assay and ABTS free radical scavenging assay. The results showed that the antioxidant activities of polyphenols with different polarity were different. The total phenol content was significantly correlated with the reduction capacity, DPPH free radical and superoxide free radical scavenging ability ($p<0.05$), but not with hydroxyl free radical and ABTS free radical scavenging ability. However, the order of antioxidant capacity was consistent, followed by water>n-butanol>ethyl acetate>chloroform>petroleum ether. In conclusion, most corn silk polyphenols with high antioxidant activity were polar phenols. Therefore, strong polarity polyphenols should be enriched to obtain corn silk polyphenols with high antioxidant activity.

Key words: corn silk; polyphenol; polar extracts; *in vitro*; antioxidant activity

引文格式:

关海宁,刁小琴,乔秀丽,等.玉米须中不同极性多酚体外抗氧化活性比较研究[J].食品研究与开发,2019,40(12):46-50
GUAN Haining, DIAO Xiaoqin, QIAO Xiuli, et al. Comparison of Antioxidant Activity of Corn Silk Polyphenols with Different Polarities[J]. Food Research and Development, 2019, 40(12): 46-50

人体在新陈代谢过程中会产生具有强氧化性的

基金项目:绥化市科技计划项目(SHKJ2017-074);黑龙江省省属高等学校基本科研业务费基础研究项目(2016-KYYWF-0928);绥化学院第四批科研创新团队基金资助项目(SIT04B016)

作者简介:关海宁(1980—),男(锡伯),副教授,博士,研究方向:食品营养与分析检测及副产物综合利用。

活性氧和自由基等物质,这些物质若未能及时清除,会对生物膜及细胞功能等造成损伤,进而引发衰老、心血管疾病及癌症的发生^[1-2]。研究表明,抗氧化剂具有明显清除自由基的能力,进而减少其对人体的危害^[3-4]。然而,由于人工合成的抗氧化剂存在安全隐患,因此,开发低毒、安全、高效的天然抗氧化剂已成为研

究的热点^[5-6]。近些年研究发现,酚类化合物是植物组织中广泛存在的重要的次级代谢产物,具有抗衰老、抗氧化、抗炎症、抗癌、抗肿瘤和抗心血管疾病等多种生理功能^[7-9],从而引起了国内外研究者极大的兴趣。目前,关于多酚抗氧化活性研究中存在的主要问题是提取物纯度较低,强效多酚含量较少,有相关研究表明^[10-12]不同极性的溶剂可以实现不同极性多酚的提取分离,从而筛选出强效多酚。

玉米须来源丰富、价格低廉、含有多糖、多酚、黄酮、绿原酸等多种活性成分,作为药用资源具有广阔的发展前景。试验采用不同极性溶剂对玉米须多酚粗提液进行分离,并通过5种抗氧化体系对不同极性玉米须多酚进行了抗氧化活性比较,并且分析了总多酚含量与5种抗氧化检测方法的相关性,该研究为开发天然无毒的抗氧化剂提供了理论参考,对玉米副产物的综合开发利用奠定了理论基础和实践经验。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

玉米须:采自绥化市田间,干燥,粉碎,过30目筛,备用。

没食子酸标准品(含量:99%):天津市光复精细化工研究所;福林酚试剂:国药集团化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-苦基肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Free Radical, DPPH)(分析纯):美国 sigma 公司;2,2-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)[Diammonium 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), ABTS]:湖南汇百特生物科技有限公司;乙酸乙酯(分析纯):无锡市晶科化工有限公司;石油醚(分析纯):天津市富宇精细化工有限公司;氯仿(分析纯):天津市康科德科技有限公司;正丁醇(分析纯):天津市致远化学试剂有限公司。

1.2 仪器及设备

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司;KQ-200VDE 双频数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;85-2 数显恒温磁力搅拌器:上海梅香仪器有限公司;RE-52A 旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂;80-2B 台式离心机:湖南星科科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 不同极性玉米须多酚的提取分离

称取玉米须样品 5 g,加 50% 的乙醇,料液比 1:20(g/mL),于超声温度 50℃、超声功率 200 W 的条件下超声提取 30 min,离心(或抽滤)得滤液,滤渣重复提取 2 次,合并滤液,减压蒸干,定容至 25 mL,即为玉

米须多酚粗提物。

向 25 mL 多酚粗提液中加入等体积的石油醚,磁力搅拌 30 min 后,于分液漏斗中分层,得石油醚层和水层;在水层中加入等体积的氯仿,得氯仿层和水层;利用上述方法,在水层中依次加入等体积乙酸乙酯和正丁醇,分别得到乙酸乙酯层、正丁醇层和水层。每种溶剂萃取各重复 3 次,合并各极性部位的萃取液,石油醚层、氯仿层、乙酸乙酯层、正丁醇层分别利用旋转蒸发器进行减压浓缩去除有机溶剂,减压后不同极性萃取物加 50% 乙醇定容至 25 mL,备用。

1.3.2 不同极性多酚含量的测定

采用福林酚比色法测定^[13],以没食子酸为标准品,在最大吸收波长 760 nm 处测不同浓度标准品的吸光度,制作标准曲线。取 1 mL 不同极性的萃取物,在同样的条件下测定不同样品的吸光度值,计算各极性萃取物中多酚的含量,结果以各极性萃取物中含有相当没食子酸的毫克数表示(mg/g)。

1.3.3 抗氧化能力的测定

还原能力的测定,采用吸光值法^[14];1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)自由基清除能力的测定,参照 Atoui 等^[15]的方法;超氧自由基清除能力的测定,参照 Xiang 等^[16]的方法;羟自由基清除能力的测定参照 Chen 等^[17]的方法;2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)自由基清除能力的测定,参照 Re 等^[18]的方法测定。

1.3.4 数据处理与相关性分析

所有试验均重复 3 次,计算结果以均值±标准差表示,采用 Excel 2010 作图,差异显著性分析采用 Statistix 8.0 软件及相关性分析采用 SPSS 软件进行。

2 结果与分析

2.1 玉米须多酚含量的测定

2.1.1 没食子酸标准曲线的绘制

没食子酸标准曲线见图 1。

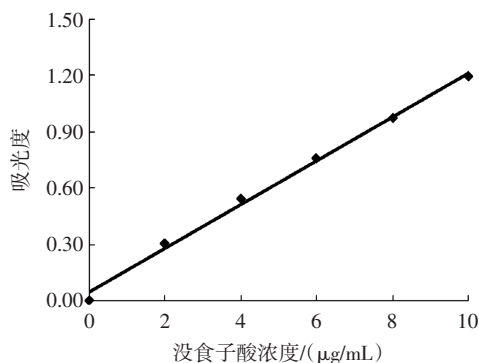


图1 没食子酸标准曲线

Fig.1 Standard curve of gallic acid

以没食子酸浓度($\mu\text{g/mL}$)对吸光度 y 进行线性回归,线性回归方程为 $y=0.1171x+0.0414$,相关系数 $R^2=0.9961$,由图可知,线性相关性良好。

2.1.2 不同极性玉米须多酚的含量

溶剂萃取法是一种分级纯化方法,根据溶剂与提取物极性相似相溶的原理,将目标物从植物组织中萃取出来。玉米须中多酚成分较为复杂,采用极性不同的有机溶剂可以将不同极性的多酚萃取分离,结果见表1。

表1 不同极性玉米须多酚的含量

Table 1 Phenolic contents of corn silk with different polarities

提取物	总酚含量/(mg 没食子酸/g)
石油醚层	0.6205 ± 0.015^d
氯仿层	0.7173 ± 0.013^c
乙酸乙酯层	0.7461 ± 0.006^{bc}
正丁醇层	0.7802 ± 0.012^b
水层	0.8609 ± 0.006^a

注:数据表示为平均值 $\pm$ 标准差($n=3$);字母 a~d 不同表示同一列之间差异显著($p < 0.05$)。

表1看出,溶剂极性的变化对总酚含量影响较大,水层的总酚含量显著高于其它有机层($p < 0.05$),而非极性溶剂石油醚层的总酚含量最低,说明玉米须多酚以极性酚为主,极性酚与弱极性酚含量具有显著差异($p < 0.05$)。也有研究也表明地参多酚和红枣多酚也均以极性酚为主^[6,12],这与本研究的结果相一致。食品功能成分研究的关键不是提取出更多的成分,而是得到更多具有高活性的功能成分。因此在采用不同极性溶剂分离多酚的同时,还应考虑各极性酚的抗氧化活性,便于后续具有强抗氧化多酚的分离纯化。

2.2 不同极性相提取物抗氧化活性分析

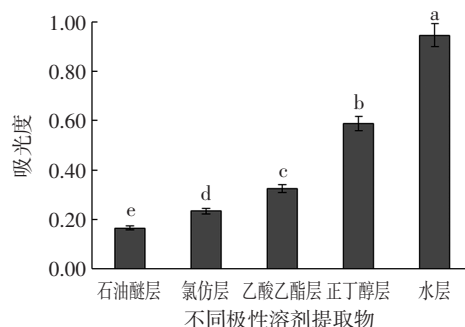
2.2.1 不同极性多酚的还原能力比较

还原力的测定是评价化合物抗氧化能力的一个重要指标,还原力越强,抗氧化能力越强。不同极性多酚的还原能力见图2。

图2看出,不同极性的多酚,其还原能力各不相同。其中,水层相的还原能力最强,显著高于其他溶剂的提取物($p < 0.05$),而非极性的石油醚层的还原能力显著低于其他溶剂的提取物($p < 0.05$),说明玉米须中极性酚的抗氧化能力较强。

2.2.2 不同极性多酚的 DPPH 自由基清除能力

DPPH 自由基是测定样品具有抗氧化作用的一种稳定的自由基,若其能被待测物清除,则说明该待测物具有打断脂质过氧化链反应的能力^[9],清除率越高,抗氧化能力越强。不同极性多酚的 DPPH 自由基清除

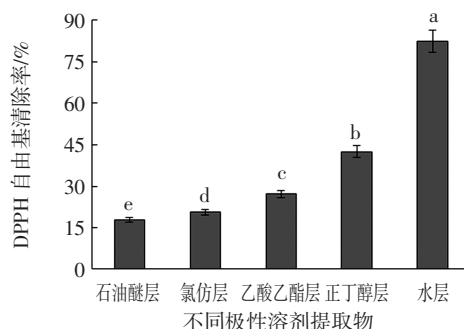


字母 a~e 不同表示差异显著($p < 0.05$),相同表示差异不显著($p > 0.05$)。

图2 不同极性多酚的还原能力

Fig.2 Reducing ability of corn silk polyphenols with different polarities

能力见图3。



字母 a~e 不同表示差异显著($p < 0.05$),相同表示差异不显著($p > 0.05$)。

图3 不同极性多酚的 DPPH 自由基清除能力

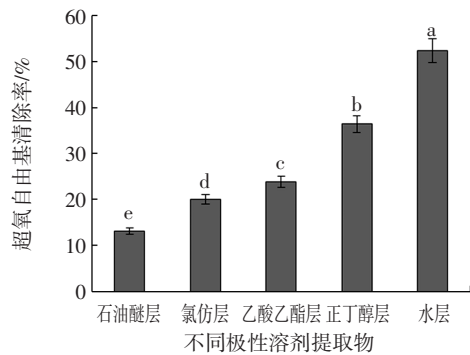
Fig.3 DPPH radical scavenging ability of corn silk polyphenols with different polarities

图3可知,随着萃取溶剂极性的增强,提取物的 DPPH 自由基清除能力显著增强($p < 0.05$),其中水层 DPPH 自由基清除率达到 82.3%,其次为正丁醇层,而乙酸乙酯层相对较弱,石油醚层最弱,清除能力只有 17.8%。由此可知玉米须多酚水层提取物对 DPPH 自由基具有很强的清除作用,这与还原能力的顺序一致。

2.2.3 不同极性多酚的超氧自由基清除能力

超氧自由基是生命体代谢过程中产生的一种氧化能力较强的自由基,能够加快人体衰老进程,诱发各种疾病,危害人体健康。不同极性玉米多酚的超氧自由基的清除能力见图4。

图4可知,水层对超氧自由基的清除能力最强,清除率达到 52.4%,正丁醇次之为 36.4%,乙酸乙酯层与氯仿层分别为 23.8%和 20.0%,而石油醚层最弱,清除能力仅为水层的 25%。由此可见,不同极性多酚的超氧自由基的清除能力与极性呈正相关。



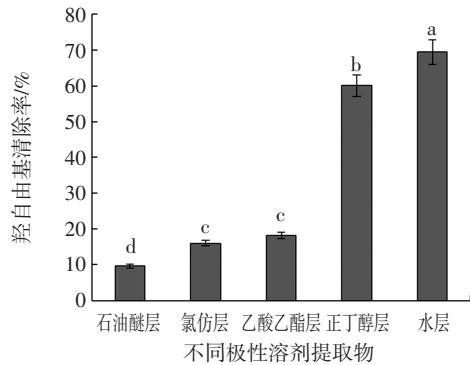
字母 a~e 不同表示差异显著($p<0.05$),相同表示差异不显著($p>0.05$)。

图 4 不同极性多酚的超氧自由基清除能力

Fig.4 Superoxide anion radical scavenging ability of corn silk polyphenols with different polarities

2.2.4 不同极性多酚的羟基自由基清除能力

羟基自由基是一种活性氧自由基,具有极强的氧化能力。人体内若有较多的羟基自由基,容易引发组织细胞病变,各种疾病的发生以及加速机体的衰老,因此对羟基自由基的清除作用是评价抗氧化物质能力高低的一个重要指标。不同极性多酚的羟自由基清除能力见图 5。



字母 a~d 不同表示差异显著($p<0.05$),相同表示差异不显著($p>0.05$)。

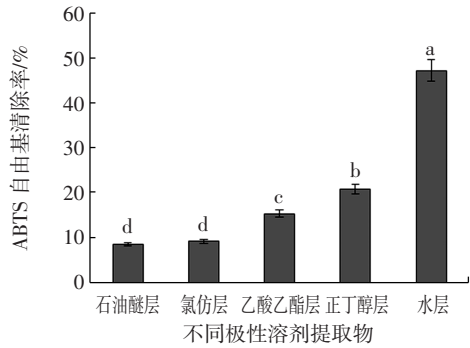
图 5 不同极性多酚的羟自由基清除能力

Fig.5 Hydroxyl radical scavenging ability of corn silk polyphenols with different polarities

图 5 看出,不同极性溶剂的玉米须提取液对羟基自由基的清除率有显著差异($p<0.05$)。极性强的溶剂清除率高,极性弱的溶剂清除率低,非极性的溶剂清除率最低。水层的羟基自由基清除率为 69.57%,其次是正丁醇层为 60.12%,而乙酸乙酯层与氯仿层显著低于水层和正丁醇层($p<0.05$),但二者抗氧化能力相当。非极性石油醚层的羟基自由基清除能力最弱,与上述 DPPH 自由基清除能力、超氧自由基清除能力研究结果基本一致。

2.2.5 不同极性多酚的 ABTS⁺自由基清除能力比较

ABTS 是一种供氢体,它与过硫酸钾反应生成稳定的蓝绿色阳离子自由基 ABTS⁺,清除 ABTS⁺的方法被作为一种测定物质体外抗氧化能力的新方法。不同极性多酚的 ABTS⁺自由基清除能力见图 6。



字母 a~d 不同表示差异显著($p<0.05$),相同表示差异不显著($p>0.05$)。

图 6 不同极性多酚的 ABTS 自由基清除能力

Fig.6 ABTS radical scavenging ability of corn silk polyphenols with different polarities

图 6 可以看出,水层、正丁醇层、乙酸乙酯层以及氯仿层中的极性多酚萃取物清除 ABTS⁺自由基能力具有显著差异($p<0.05$),以水层最高,为 47.23%,而非极性石油醚层提取物的清除能力最低,为 9.5%,但与弱极性层氯仿差异不显著($p>0.05$)。

2.3 相关性分析

对玉米须不同极性多酚的酚含量与抗氧化活性进行相关性分析,结果见表 2。

表 2 不同极性玉米须多酚抗氧化能力的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of antioxidant activity of corn silk polyphenols with different polarities

项目	多酚含量	还原力	DPPH 自由基	超氧自由基	羟基自由基	ABTS ⁺ 自由基
多酚含量	1	0.922 [*]	0.888 [*]	0.952 [*]	0.872	0.877
还原力		1	0.987 ^{**}	0.996 ^{**}	0.955 ^{**}	0.974 ^{**}
DPPH 自由基			1	0.975 ^{**}	0.902 [*]	0.996 ^{**}
超氧自由基				1	0.957 [*]	0.959 ^{**}
羟基自由基					1	0.866
ABTS ⁺ 自由基						1

注:*表示相关性显著($p<0.05$),**表示相关性极显著($p<0.01$)。

表 2 看出,总酚含量与还原力、DPPH 自由基和超氧自由基的清除能力呈显著相关性($p<0.05$),而与羟

基自由基和 ABTS⁺自由基清除能力无显著的相关性,说明这两种体系中,除了多酚类物质外,提取物中还存在非酚类化合物对羟基自由基和 ABTS⁺自由基也具有一定的清除能力。不同的抗氧化体系间,还原力与 DPPH 自由基、超氧自由基、羟基自由基和 ABTS⁺自由基的清除能力呈极显著相关性 ($p < 0.01$),DPPH 自由基和超氧自由基和 ABTS⁺自由基的清除能力相关性极显著 ($p < 0.01$),与羟基自由基的清除能力相关性显著 ($p < 0.05$)。羟基自由基清除能力与 ABTS 自由基清除能力间无显著相关性。综合看来,不同的抗氧化体系之间并不都呈显著正相关,这可能是由于不同检测方法的反应机理稍有差异所致。

3 结论

随着萃取溶剂极性的增加,玉米须多酚含量逐渐升高,即水层>正丁醇层>乙酸乙酯层>氯仿层>石油醚层,表明玉米须多酚中强极性多酚含量高于弱极性多酚含量。

由于不同抗氧化检测方法的反应机理不同,为获得较为准确的结果,本研究利用还原力、DPPH 自由基清除法、羟基自由基清除法、超氧自由基清除法、ABTS⁺自由基清除法对不同极性溶剂萃取得到的多酚抗氧化能力进行了比较。5 种评价体系得出不同极性的多酚,抗氧化活性表现出一定的差异,这可能由于不同极性溶剂提取物中起抗氧化作用物质的结构和性质不同^[20],但抗氧化能力的顺序一致,即水层>正丁醇层>乙酸乙酯层>氯仿层>石油醚层,总体来说,水层提取物的抗氧化能力最强。为获得较高抗氧化活性的玉米须多酚,可以先除去提取物中的弱极性部位,富集抗氧化活性最强的水层多酚,这可为高抗氧化活性多酚的组成分析及分离鉴定奠定基础。

参考文献:

- [1] 赵强,赵二劳,赵昀,等.玉米须中黄酮类化合物的抗氧化活性研究[J].食品工业,2011(1): 36-38
- [2] 鲁彦,吴绍宇,姚嵩坡,等.玉米须对老年小鼠细胞免疫功能的影响[J].中国老年学杂志,2005,25(11): 1387-1388
- [3] 刘刚,姜唯唯,吴京,等.芒果叶不同极性部位提取物的抗氧化活性[J].食品研究与开发,2014,35(11): 10-14
- [4] 陈安均,葛焱,郭双霜,等.18 种常见水果对自由基清除作用的研究[J].食品研究与开发,2013(9): 92-94
- [5] 杨洋,韦小英,阮征.国内外天然食品抗氧化剂的研究进展[J].食品科学,2002,23(10): 137-140
- [6] 桑鹏,高春燕.不同极性多酚抗氧化活性的比较[J].食品研究与开发,2016,37(17): 6-9
- [7] RUBIO L, MOTILVA M J, ROMERO M P. Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2013, 53(9): 943-953
- [8] KHURANA S, VENKATARAMAN K, HOLLINGSWORTH A, et al. Polyphenols: benefits to the cardiovascular system in health and in aging[J]. Nutrients, 2013, 5(10): 3779-3827
- [9] ATHANASIOS V, THOMAS V. Plant polyphenols: recent advances in epidemiological research and other studies on cancer prevention[J]. Studies in Natural Products Chemistry, 2013(39): 269-295
- [10] 杨龙,刁文超,王成荣.西兰花多酚纯化、不同极性组分分离及其抗氧化活性研究[J].中国食品学报,2013,13(4): 33-42
- [11] 向进乐,李志西,李欢,等.枳椇果梗不同极性多酚及抗氧化活性研究[J].食品科学,2011,32(15): 25-29
- [12] 王毕妮,黄庆瑗,高慧,等.不同极性红枣多酚的抗氧化活性比较[J].食品与发酵工业,2014,40(10): 142-145
- [13] 韩菊,魏福祥. Folin-Ciocalteu 比色法测定苹果渣中的多酚[J].食品科学, 2010, 31(4): 179-182
- [14] 吴峰华,刘相真,杨虎清,等.覆盆子醇提物及其不同极性部位抗氧化活性研究[J].中国食品学报,2012, 12(2): 24-29
- [15] ATOUI A K, MANSOURI A, BOSKOU G, et al. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile[J]. Food Chemistry, 2005, 89(1): 27-36
- [16] XIANG Z N, NING Z X. Scavenging and antioxidant properties of compound derived from chlorogenic acid in South China honeysuckle[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 2008, 41(7): 1189-1203
- [17] CHEN R Z, Liu Z Q, Zhao J M, et al. Antioxidant and immunobiological activity of water-soluble polysaccharide fractions purified from Acanthopanax senticosu[J]. Food Chemistry, 2011, 127(2): 434-440
- [18] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9): 1231-1237
- [19] MARIA J B, FRANCISCO A T. Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices[J]. European Food Research and Technology, 2004, 219(2): 133-141
- [20] 蒲成伟,阚欢,刘云.核桃仁皮不同极性提取物的体外抗氧化活性分析[J].食品工业科技,2018,39(2): 65-69

收稿日期:2018-11-29