

玉米须中不同极性黄酮类化合物的抗氧化活性比较^{*}

牛鹏飞, 段玉峰, 仇农学, 刘 平

(陕西师范大学食品工程系, 西安 710062)

摘 要: 通过比较玉米须中不同极性的黄酮类化合物对羟基自由基生成体系以及对 Fe^{2+} 诱发脂蛋白多不饱和脂肪酸(PUFA)过氧化体系的抑制作用, 研究了不同极性黄酮类化合物的抗氧化活性(AOA)。结果表明不同极性的黄酮类化合物的抗氧化活性有较大差别。在羟基自由基生成体系中, 抗氧化活性顺序依次为氯仿>正丁醇>乙酸乙酯。而在 Fe^{2+} 诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系中, 抗氧化活性顺序依次为氯仿>乙酸乙酯>正丁醇, 严格按照极性由小到大的顺序排列。同时发现, 即使极性相同的黄酮类化合物, 在不同抗氧化体系中, 其抗氧化活性也有着明显的差别。

关键词: 玉米须; 黄酮; 抗氧化活性

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 1004 1389(2006)05 0072 03

Studies on Anti oxidative Activity of Different Polarity Flavonoids from Corn Silk

NIU Peng fei, DUAN Yu feng, QIU Nong xue and LIU Ping

(Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: This paper studied the anti oxidative activity (AOA) of flavonoids with different polarity in corn silk. Through comparing their inhibition of the hydroxyl free radical production system with the peroxidation system of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in lipoprotein that is induced by Fe^{2+} , the results showed that the AOA in the flavonoids with different polarity changes greatly. The AOA order is successively: Chloroform>Straight cube alcohol>Acetic ether in the system of the free radical of hydroxyl. But in the system of PUFA, the AOA order is successive: Chloroform>Acetic ether>straight cube alcohol, which are arranged from small to the great order according to polarity strictly. And the AOA also changes obviously in different anti oxidant systems, even if the flavonoids are with the same polarity. It has significant importance to the application of natural antioxidant in food processing.

Key words: Corn silk; Flavonids; Anti oxidative activity

黄酮类化合物(Flavonoids), 又称生物类黄酮(Bioflavonoids), 早期是指基本母核为 2 苯基色原酮(2 phenylchromone)的一类黄色素, 现指具有色酮环与苯环为基本结构的一类化合物的总称^[1]。现代医学证明, 黄酮类化合物有抗癌抗肿瘤、对心脑血管的保护、抗炎镇痛、免疫调节、抗菌抗病毒以及抗氧化抗衰老等作用。其在生物体外和体内都具有较强的清除自由基和活性氧的作用。近年来, 由于食品工业的发展, 抗氧化剂的需

求量逐年增长。天然抗氧化剂的开发迫在眉睫。

玉米须是禾本科作物玉米的花柱和柱头, 为《中华人民共和国卫生部药材标准》1985 版(一部)收录的常用药材品种之一^[2], 主产于四川、河北、山东及东北等地。其中含有多钟对人体有益的化学成分, 如挥发油、皂苷、生物碱、黄酮类、多聚戊糖、尿囊素、有机酸等。然而人们对它的开发利用却非常有限, 除少量入药外, 大部分被白白丢弃。玉米须既有明显的药理价值, 又具备一定的

^{*} 收稿日期: 2006 02 16 修回日期: 2006 03 09

作者简介: 牛鹏飞(1982-), 男, 汉族, 在读硕士研究生, 研究方向: 现代果汁加工技术。

食疗特征, 进行工业化开发利用前景相当广阔。

本实验以玉米须为原料, 研究其中所含的不同极性黄酮类化合物的体外抗氧化活性, 为寻找天然强效抗氧化剂以及我国食用级抗氧化剂的发展提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米须(采于陕西周至县); 芦丁标准品(Sigma 公司); 其余化学试剂均为分析纯, 蒸馏水为离子交换水。

1.2 主要仪器

RE 52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); WFJ 21CU 600 型可见分光光度计[尤尼柯(上海)仪器有限公司]。

1.3 方法

1.3.1 玉米须中黄酮类化合物的提取^[3] 称取干燥粉碎的玉米须 100 g, 先用石油醚冷浸脱脂, 然后以浓度 60%乙醇为溶剂, 在料液比(g/mL)1 : 20、提取温度 80℃条件下提取 3 h, 过滤, 4 000 r/min 离心 0.5 h, 上清液减压浓缩至膏状。

1.3.2 不同极性黄酮的萃取分离 用少量蒸馏水溶解所得浓缩物, 依次用氯仿、乙酸乙酯、正丁醇作萃取剂, 分离出不同极性的萃取物, 减压回收萃取剂, 用 95%乙醇依次溶解并定容。

1.3.3 芦 标准溶液的配制与标准曲线的绘制^[4] 准确称取经干燥恒重的芦丁标准品 20.00 mg, 用浓度 30%乙醇溶解并定容至 100 mL, 摇匀得浓度为 0.20 mg/mL 标准溶液。分别取此溶液 0、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL 于 7 只 25 mL 的容量瓶中, 用 30%乙醇补充至 12.5 mL, 加入 0.7 mL 质量分数 5% NaNO₂ 溶液, 摇匀, 放置 5 min 后加入 0.7 mL 质量分数 10%的 Al(NO₃)₃ 溶液, 6 min 后加入 5.0 mL 1 mol/L NaOH 溶液, 混匀, 用 30%乙醇定容至刻度, 以蒸馏水为空白参比, 10 min 后于 506 nm 处测定吸光度值, 并绘制标准曲线。

1.3.4 样品中黄酮含量的测定 取不同萃取组分溶液 2 mL 于 25 mL 容量瓶中, 按 1.3.3 方法测吸光度, 计算得出黄酮浓度, 并换算成相应萃取液中的黄酮浓度。

1.3.5 抗氧化活性的测定 ①黄酮类化合物清除羟基自由基^[5]: 在 250 mL 的锥形瓶中依次移取 25.0 mL 2 mmol/L FeSO₄ 溶液和 25 mL 的 6

mmol/L 双氧水溶液, 混合均匀后加入 75.0 mL 6 mmol/L 水杨酸溶液。在 36~37℃的恒温水浴中反应 15 min 后于 510 nm 处测其吸光值。此值即为 A₀ 值。将 A₀ 值的测定体系分成 4 等份, 放入 25 mL 比色管中, 每份 24.0 mL, 依次加入 1.0 mL 一定浓度的不同极性的黄酮液, 36~37℃的恒温水浴中反应 15 min 后于 510 nm 处测其吸光值。此值即为 A_x 值。清除率=(A₀-A_x)/A₀×100%。②黄酮类化合物对 Fe²⁺ 诱发卵黄脂蛋白 PUFA 过氧化体系的抑制作用: 卵黄悬液的配制^[6] 是以新鲜鸡蛋去卵清, 卵黄用等体积的 pH 7.45, 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液(PBS)配成 1 : 1 的悬液, 磁力搅拌 10min, 再用 PBS 稀释成 1 : 25 的悬液, 置于冰箱中备用。吸取 1 : 25 的卵黄悬液 0.4 mL, 加入 0.1 mL 不同浓度的样品, 加入 25 mmol/L FeSO₄ 0.4 mL, 用 pH 7.45, 0.1 mol/L 的 PBS 补充至 4 mL, 37℃振荡 15 min, 取出后加入 1 mL 20%的三氯乙酸, 3 500 r/min 离心 10 min, 吸取 2.0 mL 上清液加入 1 mL 0.8% 硫代巴比妥酸, 加塞, 放入沸水浴中 15 min, 冷却后, 于 532 nm 处测吸光度 A 值^[7]; 以不加样品管的吸光度为 A₀ 值。样品抗氧化活性(AOA)用对卵黄脂蛋白脂质过氧化(LPO)的抑制率(%)表示为 AOA(%)=(A₀-A)/A₀×100%。

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线

图 1 所示为芦丁标准曲线, 在 0 到 80 μg/mL 浓度范围内, 呈良好线性关系。其方程为: y = 0.0097x + 0.0023(R² = 0.9992)。

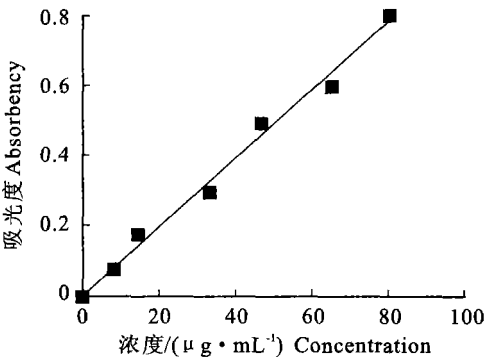


图 1 芦丁标准曲线

Fig. 1 Standard curve of rutin

2.2 黄酮类化合物对羟基自由基的清除效果

分别采用 0.105、0.212、0.423、0.846

mg/mL浓度的各类萃取物清除羟基自由基,实验结果如图2所示。

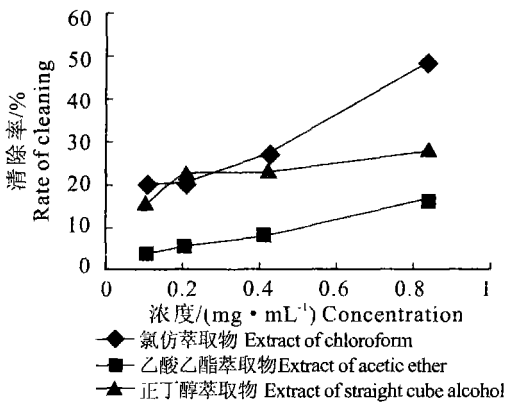


图2 不同极性黄酮类化合物
对羟基自由基的清除效果

Fig. 2 Cleaning effects of hydroxyl radicals
by different polarity flavonoid

由图2可以看出,玉米须中黄酮类化合物对羟基自由基均有一定的清除作用,并且随着黄酮类化合物浓度的增加而增强。同时,不同极性的黄酮对羟基自由基的清除效果又有着较大差别。其中,氯仿萃取物的活性最大,其次为正丁醇萃取物,乙酸乙酯萃取物效果最差。不同极性黄酮的抗氧化活性差别很大,这对于天然强效抗氧化剂的寻找有着极大的指导意义。

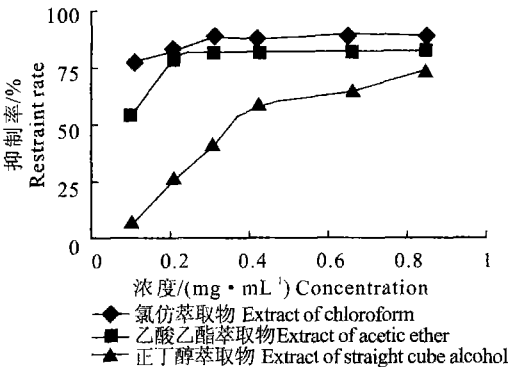


图3 不同极性黄酮类化合物对卵黄
脂蛋白PUFA过氧化体系的抑制结果

Fig. 3 Restraint results of different polarity flavonoid
for the peroxidation of polyunsaturated
fatty acid from lipoprotein induced by iron

2.3 黄酮类化合物对卵黄脂蛋白PUFA过氧化体系的抑制结果

分别采用浓度为0.105、0.212、0.310、0.423、0.658、0.846 mg/mL的各类萃取物抑制卵黄脂蛋白PUFA过氧化体系,测定抑制率,结果如图3所示。

由图3可以看出,玉米须中不同极性的黄酮类化合物对PUFA过氧化体系均有较强的抑制作用,这种抑制作用随着黄酮类化合物浓度的增大而增强,其中氯仿萃取物在浓度为0.310 mg/mL条件下抑制率(AOA%)高达87.5%,但当氯仿和乙酸乙酯的萃取物浓度继续增加时,AOA%的增长趋于平缓。而正丁醇萃取物的活性随着溶液浓度的增大增幅一直比较高,在0.423 mg/mL之后增幅有所降低。由此可见,不同极性黄酮的抗氧化效能是绝然不同的。

2.4 PUFA氧化体系氧化底物的稳定性考察^[7]

卵黄中磷脂G2位上所含极低密度脂蛋白(VLDL)和低密度脂蛋白(LDL)中的PUFA在铁离子的催化下,经振荡,能诱发过氧化,产生烷氧基(LO·)和烷过氧基(LOO·),再引发链式反应。在加热的条件下,过氧化产物可与TBA反应产生红色络合物,该络合物在532 nm处有显著光吸收。本文采用1:1的卵黄悬液冰箱存放5 d内532 nm处吸光度A值相当稳定,测定值没有显著的变化。3份样品存放1、2、3、4、5天的测定值分别为0.481、0.482、0.481、0.480、0.483,这就证明采用卵黄悬液为底物的LPO模型是稳定的。

3 结论与讨论

3.1 不同极性的黄酮类化合物的抗氧化活性有着较大的差别

在羟基自由基生成体系中,抗氧化活性顺序依次为氯仿萃取物>正丁醇萃取物>乙酸乙酯萃取物。在PUFA过氧化体系中,抗氧化活性顺序依次为氯仿萃取物>乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物,抗氧化强弱顺序明显不同。

3.2 即使极性相同的黄酮类化合物,在不同抗氧化体系中,其抗氧化活性也有着明显的差别

在对·OH清除作用体系中,各种黄酮类化合物的抗氧化活性虽有一定效果但均不太强。其中,氯仿萃取物在浓度0.310 mg/mL条件下的清除率不到25%;而在PUFA过氧化体系中,各种黄酮类化合物的抗氧化活性与羟基自由基生成体系中相比较,均有极大的提高。其中,氯仿萃取物在浓度0.310 mg/mL条件下抑制率(AOA%)高达87.5%。

(下转第79页)

3 讨论

洛阳市主要植烟土壤速效氮、磷、钾和有机质的平均含量均属于中水平, 处于中等含量水平的分别占总土壤样品的 78. 0%、87. 0%、74. 6%和 69. 4%, 这说明通过多年对土壤的培肥实践, 土壤氮磷状况已得到明显改善, 所以应重视适当控制氮、磷肥用量, 尤其是部分土壤速效氮 $> 65 \text{ mg/kg}$ 或速效磷 $> 20 \text{ mg/kg}$ 的地块, 更应注意调节氮磷肥的比例。洛阳植烟土壤主要属褐土、红粘土和粗骨土, 一般钾含量比较丰富, 但由于长期重施氮、磷肥, 不施或少施钾肥, 导致土壤速效钾含量降低^[13], 所以在控制氮、磷肥的同时应配合施用适量的钾肥。

土壤有机质和速效氮、磷的含量分布接近正态分布, 但经 K-S 检验均未达到显著水平 ($P< 0. 05$), 土壤速效钾含量分布经 K-S 检验 ($P> 0. 05$) 符合正态分布, 这可能与该区域的施肥习惯和土壤类型有关, 该区域长期重施氮、磷肥, 不施或少施钾肥, 土壤有机质和速效氮、磷的含量受施肥水平的影响较大, 而不同土壤类型不同行政区域的施肥水平存在较大差异; 在长期不施或少施钾肥的情况下, 土壤速效钾含量与土壤母质类型有密切的关系, 具有相对的稳定性和规律性。所以在研制和开发烟草专用肥时必须考虑土壤类型和不同养分的分布特点, 烟草专用肥的配方要多

样化。

参考文献:

[1] 王人潮. 农业资源信息系统[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.

[2] 许自成, 肖汉乾, 赵献章, 等. 植烟土壤养分丰缺状况评价的统计方法[J]. 土壤通报, 2004, 35(5): 558 ~ 561.

[3] 张翔, 皇甫湘荣, 范艺宽, 等. 河南烟区土壤有机质和氮的含量及施肥技术[J]. 土壤肥料, 2004(2): 44 ~ 45.

[4] 梁颂捷, 朱其清, 林毅, 等. 福建烟区土壤养分丰缺状况及施肥对策[J]. 烟草科技, 2002, 177(4): 31 ~ 38.

[5] 马京民, 马聪, 李彰, 等. 信阳市不同类型植烟土壤养分现状及平衡施肥[J]. 河南农业科学, 2003(10): 38 ~ 42.

[6] 洛阳市农牧局, 洛阳市土壤普查办公室. 洛阳土壤[M]. 北京: 海洋出版社, 1991.

[7] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987.

[8] 魏克循. 河南土壤地理[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1995.

[9] 刘鉴家. 烤烟生产技术[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1988.

[10] 胡国松, 郑纬, 李智勇, 等. 烤烟营养机理[M]. 北京: 科学技术出版社, 2000.

[11] 三味工作室. SPSS V10. 0 应用基础教程[M]. 北京: 希望电子出版社, 2001.

[12] 王福亭, 程相国. 农业应用试验统计[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1992.

[13] 雷全奎, 杨小兰, 郭建秋, 等. 豫西耕地土壤速效钾现况与冬小麦施钾效果[J]. 土壤通报, 2003, 34(2): 158 ~ 159.

(上接第 74 页)

因此, 在不同的食品中, 抗氧化剂种类的选择与添加量的确定应区别对待, 这对于食品工业尤其是抗氧化剂工业的发展有着极大的指导意义。

参考文献:

[1] 宋慧. 黄酮类化合物的保健作用[J]. 中国食物与营养, 2001(11): 45 ~ 47.

[2] 王英平, 李向高. 玉米须化学成分和药理作用研究进展[J]. Special sild economic animal and plant Research, 2004(2): 42 ~ 47.

[3] 杨洋. 柚皮黄酮类化合物提取方法和抗氧化性的研究[J]. 研究报告, 2002, 28(6): 9 ~ 12.

[4] 陈运中. 苦荞麦黄酮含量的测定[J]. 食品科学, 1998, 19(3): 54 ~ 56.

[5] 王永宁, 石玉平, 郭珍, 等. 沙枣花中黄酮类化合物对羟基自由基的清除研究[J]. 青海医学院学报, 2003, 24(4): 281 ~ 283.

[6] 张尔贤. 菊花提取物的抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2000, 1(21): 6 ~ 9.

[7] 张尔贤, 俞丽君, 周意琳, 等. Fe^{2+} 诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价[J]. 生物化学与生物物理学报, 1996(2): 218 ~ 222.