

郭志红,周鸿立. 玉米须多糖和黄酮的半仿生提取及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):273-276.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.099

玉米须多糖和黄酮的半仿生提取及抗氧化活性

郭志红^{1,2}, 周鸿立¹

(1. 吉林化工学院化学与制药工程学院, 吉林吉林 132022; 2. 吉林大学化学学院, 吉林长春 130012)

摘要:通过正交试验设计,采用半仿生水浸提、醇提玉米须 2 种方法,并与传统水提、传统醇提方法作比较,以多糖、黄酮的提取量和抗氧化活性为考察指标,确定最佳提取条件。结果表明,半仿生水提多糖提取量为 35.29 mg/g,比传统水提法提高了 14.39%,半仿生水提黄酮提取量为 5.16 mg/g,比传统水提低 36.6%。2 种水提取物均有抗氧化活性且半仿生法更弱。半仿生醇提多糖提取量为 49.53 mg/g,比传统醇提提高了 19.75%,醇提黄酮提取量为 15.59 mg/g,比传统醇提提高了 59.4%。2 种醇提取物均有抗氧化活性且半仿生法较强。半仿生水提有利于玉米须多糖的提取;半仿生醇提玉米须黄酮、多糖均提高,且有较高的生物活性,是提取分离玉米须活性成分的有效方法。

关键词:玉米须;多糖;黄酮;半仿生;抗氧化;正交试验

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0273-04

玉米须为禾本科玉蜀黍属植物玉米的花柱及柱头,含有黄酮类、多糖类、皂苷、生物碱、单宁酸、绿原酸、蛋白质、挥发性油、类固醇等多种生物活性成分^[1-2]。现代药理研究证明,玉米须具有显著的利尿、降血糖、抑菌、降压、增强免疫、抗癌等功效^[3]。目前多糖、黄酮的提取方法主要包括浸渍法、煎煮法、回流提取法、连续回流提取法等,新兴的提取方法包括超声波辅助提取法、微波辅助提取法、酶解法、超临界流体萃取法、半仿生提取法(semi-bionic extraction, SBE)、破碎提取法、空气爆破法、亚临界流体萃取等,其中半仿生提取法是模拟口服药物在人体胃肠道中的转运过程,采用选定 pH 值的酸性、碱性溶剂依次提取得到活性混合物^[4]。目前,半仿生法提取法已被应用于提取柚皮总黄酮^[8-9](水提)、了哥王总黄酮^[6](醇提)、半边莲黄酮苷^[7](醇提)、叶下珠总黄酮^[8](水提)等,尚未见玉米须多糖、黄酮的半仿生浸提工艺研究报道。本研究运用半仿生法原理,以特定 pH 值的水、乙醇为

溶剂,比较相同条件下传统水提、醇提黄酮、多糖的提取率以及粗提取物的抗氧化性能,旨在为提高玉米须的药用价值提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

玉米须(安徽省亳州市药材市场),芸香苷对照品(批号:0080-9705,纯度>98%,购于中国药品生物制品检定所)。试验用水为蒸馏水,无水乙醇、浓盐酸、氢氧化钠、浓硫酸、苯酚、无水氯化铝均为分析纯。752 型紫外可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司)、FA2004N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司)、GZX-GW-2-BS 高温干燥箱(上海博泰实验设备有限公司)、PHS-3C 型数字酸度计(上海理达仪器厂)、SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)、RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 多糖含量测定 以葡萄糖为对照品,采用苯酚-硫酸法^[10]测定玉米须多糖含量,得回归方程: $y = 6.6671x + 0.0202$, $r^2 = 0.9994$,多糖质量浓度在 20.84~125.04 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈良好的线性关系。多糖提取率计算公式如下:

多糖提取率 = 样品中多糖质量/药材质量 $\times 100\%$ 。(1)

物药分册,2002,17(3):93-96.

[2] 丁莉,杜凡,张大才. 云南外来入侵植物研究[J]. 西部林业科学,2006,35(4):98-103,108.

[3] Sharma O P, Makar H P S, Dawra R K. A review of the noxious plant of *Lantana camara* [J]. Toxicon, 1988, 26(11):975-987.

[4] 王华娟,曲韵智,潘辉. 马缨丹化学成分及药理研究进展[J]. 中国医药技术经济与管理,2011(3):76-78.

[5] 李容,蒋林斌,覃涛,等. 红花羊蹄甲花色素的提取及其稳定性研究[J]. 食品工业科技,2013,34(20):326-329.

[6] 陈杰. 紫甘薯色素提取、纯化及稳定性研究[D]. 无锡:江南大学,2011:23-29.

收稿日期:2014-05-21

基金项目:吉林省科技厅科研项目(编号:20130303050NY);吉林省教育厅 2013 第 319 号。

作者简介:郭志红(1987—),女,河北邯郸人,硕士研究生,从事有机化学研究。E-mail:gz81011@163.com。

通信作者:周鸿立,博士,教授,从事天然产物研究与开发。E-mail:zh167@126.com。

果可知,色素在酸性、低温、光照条件下稳定,在含有 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 条件下稳定;但 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 等离子、高温和氧化剂或还原剂的存在会影响色素稳定性。

但本试验的工艺条件主要适用于实验室,色素的不稳定性是许多天然色素普遍存在的问题,如何提高天然色素的稳定性是以后研究的方向,规模化的生产工艺条件需要在色素的化学成分、生理活性、毒理学等方面进一步研究。

参考文献:

[1] 朱小薇,李红珠. 马缨丹化学成分与生物活性[J]. 国外医药:植

1.2.2 黄酮的含量测定 以芸香苷为对照品,采用氯化铝显色法^[11]测定玉米须黄酮含量,得回归方程: $y = 24.834x + 0.0071$, $r^2 = 0.9995$,黄酮质量浓度在 10~30 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈良好的线性关系。黄酮提取率计算公式如下:

黄酮提取率 = 样品中黄酮含量/药材质量 $\times 100\%$ 。(2)

1.2.3 提取溶剂的制备 根据仿生学原理,人体消化道胃、小肠、大肠体液的 pH 值分别为 2.0、7.5、8.3^[9]。水作溶剂时,由于磷酸缓冲溶液与氯化铝溶液混合后有白色的絮状沉淀,经多次尝试,改用 5% 盐酸溶液、2% 氢氧化钠溶液调节 pH 值;乙醇作溶剂时用磷酸缓冲溶液调节 pH 值,备用。

1.2.4 样品的处理与制备 玉米须清洗去尘,晾干,粉碎,过 60 目筛,称取 2.0 g 置于 250 mL 圆底烧瓶中,先在 pH 值为 2.0 的溶剂中提取,冷却过滤,收集滤液,所得滤渣再在 pH 值为 7.5、8.3 的溶剂中各提取 1 次,合并滤液,减压浓缩得提取液,定容到 100 mL 容量瓶中备用。

1.2.5 正交试验设计 半仿生水提取试验选取提取时间、提取温度、料液比 3 个因素,进行 3 因素 3 水平试验,优选提取工艺条件;每试验分别在 pH 值为 2.0、7.5、8.3 的水溶剂中提取 1 次,合并滤液后测定多糖、黄酮的含量(表 1)。半仿生法醇提试验选取提取时间、提取温度、料液比、乙醇体积分数 4 个因素进行 4 因素 4 水平试验,其他同水提试验(表 2)。

表 1 半仿生水提正交试验因素水平

水平	因素		
	A:时间 (h)	B:温度 (℃)	C:料液比 (g : mL)
1	1.0	70	1 : 15
2	1.5	80	1 : 25
3	2.0	90	1 : 35

表 2 半仿生醇提正交试验因素水平

水平	因素			
	A:乙醇体积 分数 (%)	B:时间 (h)	C:温度 (℃)	D:料液比 (g : mL)
1	50	1.0	70	1 : 15
2	60	1.5	80	1 : 20
3	70	2.0	90	1 : 30

1.2.6 玉米须黄酮、多糖传统提取工艺 传统水提取玉米须多糖、黄酮的工艺为半仿生中水提取最佳工艺,蒸馏水提取 3 次,合并滤液,蒸发浓缩,用蒸馏水定容至 100 mL 容量瓶,分别测量多糖、黄酮的提取量。传统醇提玉米须多糖、黄酮的工艺为半仿生中乙醇提取最佳工艺,乙醇提取 3 次,合并滤液,蒸发浓缩,用 60% 乙醇定容到 100 mL 容量瓶中,测定多糖、黄酮的提取量。

1.2.7 抗氧化能力试验 分别取半仿生水提取液、传统水提取液、半仿生醇提液、传统醇提液各 1、2、3、4、5 mL,用蒸馏水(或 60% 乙醇)定容到 10 mL 容量瓶中,备用。

1.2.8 还原力的测定 采用 Zou 等的方法^[12],以维生素 C 作为阳性对照,在 700 nm 波长处测定吸光度,以吸光度的大小判断还原能力。

1.2.9 清除 DPPH 自由基能力测定 以维生素 C 作为阳性对照,DPPH 自由基清除率计算公式如下^[13]:

清除率 = $[D_0 - (D_i - D_j)/D_0] \times 100\%$ 。(3)

式中: D_0 2 mL 95% 乙醇加 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 溶液所测得的吸光度为 D_0 ;2 mL 样品液加 2 mL 95% 乙醇所测得的吸光度为 D_j ;2 mL 样品液加 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 溶液所测得的吸光度为 D_i 。

2 结果与分析

2.1 半仿生水提正交试验

半仿生水提玉米须多糖、黄酮含量及其方差分析见表 3、表 4。从表 3、表 4 可知,影响多糖提取量的因素主次关系为 C(料液比) > B(温度) > A(时间),料液比 C 为主要因素,半仿生水提取玉米须多糖的最佳工艺条件为 $A_3B_2C_3$ 即提取时间为 2 h,提取温度为 80 ℃,料液比为 1 g : 35 mL。料液比对多糖的提取量的影响微显著,温度有一定影响,提取时间影响极小,与极差分析一致。3 个因素中,对黄酮提取量影响主次关系为 B > C > A,温度为主要因素。半仿生水提取玉米须黄酮的最佳工艺条件为 $A_3B_3C_1$ 即提取时间为 2 h,提取温度为 90 ℃,料液比为 1 g : 15 mL。

表 3 半仿生水提取正交试验直观分析

序号	因素水平			多糖含量 (mg/g)	黄酮含量 (mg/g)
	A:时间 (h)	B:温度 (℃)	C:料液比 (g : mL)		
1	1.0	70	1 : 15	18.86	3.72
2	1.0	80	1 : 25	29.63	3.94
3	1.0	90	1 : 35	32.50	3.55
4	1.5	70	1 : 25	21.25	3.02
5	1.5	80	1 : 35	37.46	3.91
6	1.5	90	1 : 15	25.40	4.65
7	2.0	70	1 : 35	35.26	2.89
8	2.0	80	1 : 15	26.50	4.37
9	2.0	90	1 : 25	30.53	4.35
k_1	27.00	25.12	23.59		
k_2	28.04	31.20	27.14		
k_3	30.76	29.48	35.07		
R	3.76	6.07	11.49		
k_1'	3.74	3.21	4.25		
k_2'	3.86	4.07	3.77		
k_3'	3.87	4.18	3.45		
R'	0.14	0.97	0.80		

注: R 是多糖极差, R' 是黄酮极差。

表 4 半仿生水提试验结果方差分析

考察 指标	方差来源	偏差平方和	df	均方和	F 值	P 值	显著性
多糖	A	22.704	2	11.352	1.308	0.433	
	B	58.795	2	29.398	3.388	0.228	
	C	207.537	2	103.768	11.958	0.077	*
	误差	17.355	2	8.678			
黄酮	A	0.033	2	0.017	0.183	0.845	
	B	1.705	2	0.852	9.453	0.096	*
	C	0.964	2	0.482	5.347	0.158	
	误差	0.180	2	0.090			

注: $F_{0.1}(2,2) = 9$,“*”微显著; $F_{0.05}(2,2) = 19$,“**”显著; $F_{0.01}(2,2) = 99$,“***”极显著,下表同。

2.2 半仿生醇提正交试验

半仿生醇提玉米须多糖、黄酮正交试验结果如表 5、表 6

所示。从表 5、表 6 可以看出,对多糖提取量的影响因素主次关系为温度 > 时间 > 乙醇体积分数 > 料液比,最佳提取工艺为 A₃B₂C₃D₁,即乙醇体积分数为 70%,提取时间为 1.5 h,温度为 90 ℃,料液比为 1 g : 15 mL,温度对多糖提取量影响微显著,其他因素影响不显著。对黄酮提取量的影响因素主次关系为温度 > 料液比 > 时间 > 乙醇体积分数,最佳提取工艺为 A₂B₃C₃D₁,即乙醇体积分数为 70%,提取时间为 2 h,温度为 90 ℃,料液比为 1 g : 30 mL。温度对黄酮提取量影响微显著,其他因素影响不显著。

表 5 半仿生醇提正交试验直观分析

因素水平					多糖提取量(mg/g)	黄酮提取量(mg/g)
序号 A:乙醇体积分数(%)	B:时间(h)	C:温度(℃)	D:料液比(g : mL)			
1	50	1.0	70	1 : 15	13.55	7.57
2	50	1.5	80	1 : 20	33.10	7.87
3	50	2.0	90	1 : 30	48.55	14.13
4	60	1.0	80	1 : 30	31.56	10.22
5	60	1.5	90	1 : 15	58.45	14.93
6	60	2.0	70	1 : 20	25.09	8.26
7	70	1.0	90	1 : 20	41.47	11.14
8	70	1.5	70	1 : 30	33.72	9.55
9	70	2.0	80	1 : 15	50.34	12.07
k ₁	31.73	28.86	24.12	40.78		
k ₂	38.37	41.76	38.33	33.22		
k ₃	41.84	41.33	49.49	37.94		
R ₁	10.11	12.90	25.37	7.56		
k ₁ '	9.86	9.64	8.46	11.52		
k ₂ '	11.14	10.78	10.05	9.09		
k ₃ '	10.92	11.49	13.40	11.30		
R ₁ '	1.28	1.84	4.94	2.43		

注:R₁是多糖极差;R₁'是黄酮极差。

表 6 半仿生醇提试验结果方差分析

考察指标	方差来源	偏差平方和	df	均方和	F 值	P 值	显著性
多糖	A	158.300	2	79.150	1.809	0.356	
	B	321.927	2	160.963	3.679	0.214	
	C	970.127	2	485.063	11.086	0.083	*
	误差(D)	87.510	2	43.755			
黄酮	B	5.192	2	2.596	1.844	0.352	
	C	38.142	2	19.071	13.545	0.069	*
	D	10.855	2	5.428	3.855	0.206	
	误差(A)	2.816	2	1.408			

注:将最不显著项作为误差项。

2.3 验证试验结果

分别按表 3、表 5 最佳试验条件以及传统水提、醇提条件做验证性试验,相同条件下平行 3 次,结果见图 1。从图 1 可以看出,半仿生水提多糖的提取量比传统水提多糖提取量高 14.39% 左右,提取黄酮的量比传统水提降低约 36.6%;半仿生醇提多糖量比传统醇提提取量提高 19.75%,黄酮的量比传统醇提的提取量提高 59.4%。由此可知,半仿生水溶剂提取法适合玉米须多糖的提取而不利于提取黄酮,半仿生醇提多糖、黄酮均优于传统醇提方法。2 种提取方法下多糖的提取量由高到低为:半仿生醇提 > 传统醇提 > 半仿生水提 > 传统水提,黄酮的提取量由高到低为:半仿生醇提 > 传统醇提 > 传统水提 > 半仿生水提,半仿生醇提取液中多糖、黄酮提

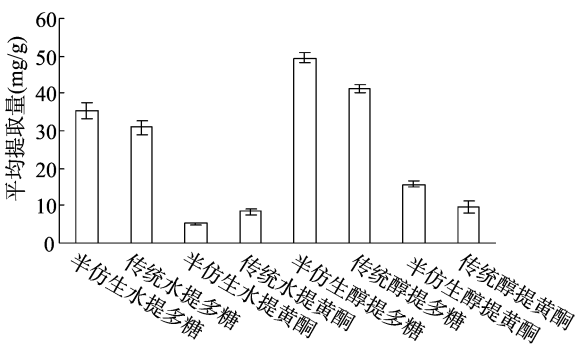


图 1 验证性试验结果

取量均最高。

2.4 2 种方法提取液的抗氧化活性

以不同玉米须提取液的抗氧化活性为指标,以维生素 C 为对照,考察不同方法提取液总还原能力、清除 DPPH 自由基能力,结果见图 2 至图 5。

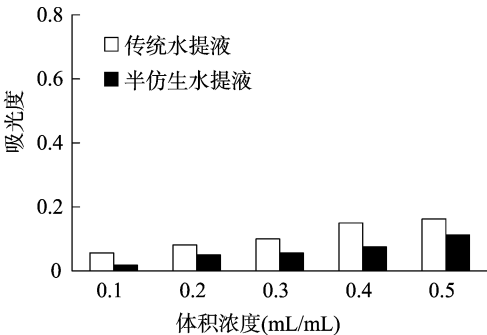


图 2 2 种方法水提取液的总还原能力

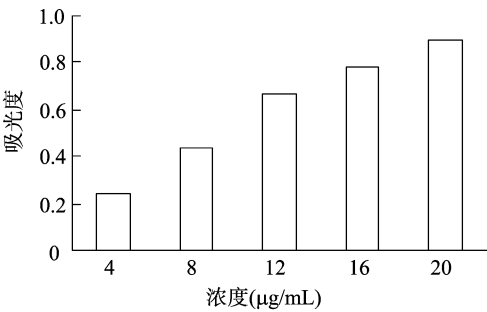


图 3 维生素 C 总还原能力

从图 2 至图 5 可以看出,2 种水提取液均有总还原能力、清除 DPPH 自由基能力,随着体积浓度的增加,总还原能力、清除 DPPH 能力也随之增强,呈现良好的量效关系。传统水提取液的总还原能力、清除自由基能力均比半仿生水提取法强,原因可能是由于玉米须中黄酮、多糖等抗氧化活性物质被破坏,使得抗氧化能力减弱。

从图 5、图 6、图 7 可以看出,半仿生醇提法、传统醇提法均有总还原能力、清除 DPPH 自由基的能力,且随着溶液浓度的增加,吸光度也随之增加。

3 结论与讨论

本研究表明,半仿生法水提多糖提取量可达 35.29 mg/g,比传统水提高 14.39%。多糖包括酸性多糖、中

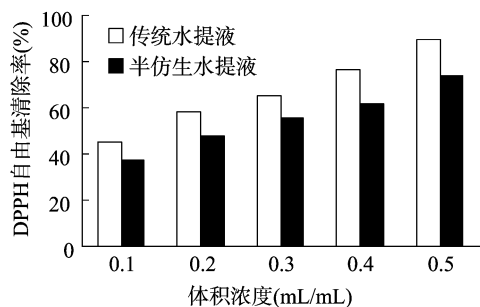


图4 2种方法水提取液清除 DPPH 自由基能力

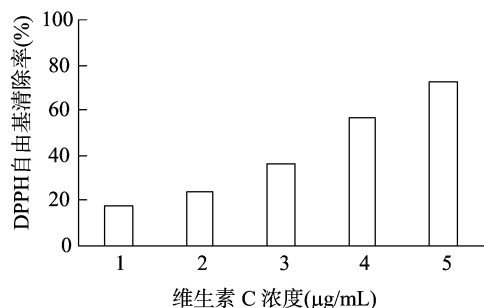


图5 维生素 C 清除 DPPH 自由基能力

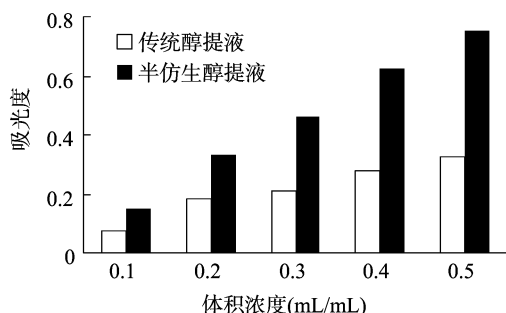


图6 2种方法醇提取液总还原能力

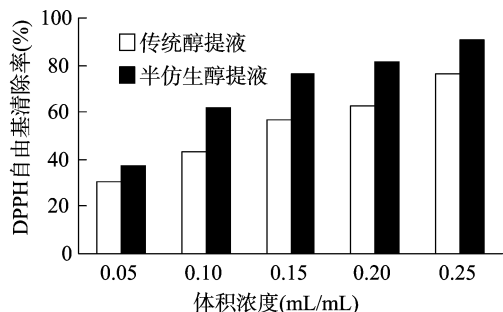


图7 2种方法醇提取液清除 DPPH 自由基能力

性多糖及碱性多糖,不同 pH 值的溶剂对多糖的溶解度影响不同。半仿生法有利于多糖的析出,是提取多糖的有效方法,但黄酮的量比传统水提降低了约 38.6%。原因可能是黄酮、黄酮醇、查耳酮等平面性强的分子间排列紧密,分子间引力较

大,故难溶于水。半仿生法醇提多糖提取量为 49.53 mg/g,比传统醇提高 19.75%。多糖不溶于乙醇,可能是由于提取液中含有较多的黄酮苷、游离的苷元等,苯酚-硫酸法测多糖时硫酸和黄酮上的糖基发生了显色反应,提高了多糖含量,具体原因还有待进一步考证。半仿生法醇提玉米须黄酮提取量达 15.59 mg/g,比传统醇提高 59.4%。一般的黄酮类游离苷元难溶或不溶于水,溶于有机溶剂(如乙醇)及稀碱水溶液中,有芳环的化合物在乙醇-水溶液中的溶解度大于单纯在水中的溶解度,有利于玉米须中黄酮提取。半仿生法醇提法多糖、黄酮含量均高,且杂质的浸出率低。半仿生醇提取液具有较高的还原能力、自由基清除能力,初步判断半仿生醇提物具有较好的抗氧化活性,是提取分离玉米须活性成分的有效方法。

参考文献:

- [1] Hu Q L, Deng Z H. Protective effects of flavonoids from corn silk on oxidative stress induced by exhaustive exercise in mice[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(16): 3163-3167.
- [2] Hu Q L, Zhang L J, Li Y N, et al. Purification and anti-fatigue activity of flavonoids from corn silk[J]. International Journal of the Physical Sciences, 2010, 5(4): 321-326.
- [3] 任顺成, 丁霄霖. 不同品种玉米须黄酮类含量研究[J]. 玉米科学, 2007, 15(6): 135-137, 139.
- [4] 孙秀梅, 张兆旺. 建立中药用“半仿生提取”研究的技术平台[J]. 中成药, 2006, 28(4): 614-616.
- [5] 庞中磊, 唐文. 柚皮总黄酮半仿生提取工艺研究[J]. 上海应用技术学院学报: 自然科学版, 2012, 12(1): 6-8, 49.
- [6] Lai H F, Wu Z H, Deng X C. Study on the semi-bionic extraction technology of total flavonoids from radix wikstroemae[J]. Medicinal Plant, 2011, 2(8): 52-55.
- [7] 黄秀香, 韦汉龙, 盘玉芬. 超声辅助半仿生法提取半边莲黄酮苷及抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(3): 140-142.
- [8] 蓝峻峰, 谢济运. 叶下珠总黄酮的半仿生提取工艺[J]. 中成药, 2012, 34(4): 742-744.
- [9] 王惠, 付燕, 郎久义, 等. 酶法及半仿生法提取银杏黄酮的工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009(2): 146-148.
- [10] 钟方晓, 任海华, 李岩. 多糖含量测定方法比较[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1916-1917.
- [11] 郑媛媛, 李辰, 封士兰, 等. 油橄榄叶中总黄酮含量测定方法探讨[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(2): 547-550.
- [12] Zou Y P, Lu Y H, Wei D Z. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(16): 5032-5039.
- [13] Salem M Z, Ali H M, El-Shanhorey N A. Evaluation of extracts and essential oil from *Callistemon viminalis* leaves: Antibacterial and antioxidant activities, total phenolic and flavonoid contents[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2013, 6(10): 785-791.