玉米麸皮阿拉伯木聚糖咖啡酸酯的制备及其抗氧化活性

李颜利[1]，孙劲毅[2]，杨成[3]

（1.四川轻化工大学化学工程学院，四川自贡 643000）（2.岭南师范学院化学化工学院，广东湛江 524037）

（3.江南大学化学与材料工程学院，江苏无锡 214122）

摘要：利用碱-H_2O_2法从玉米麸皮中提取出阿拉伯木聚糖（CAX），将咖啡酸（CA）通过酯键连接到 CAX 上得到阿拉伯木聚糖咖啡酸酯（CA-CAX），用红外，核磁氢谱、碳谱确定了结构，用高效液相色谱确定了 CA 的取代度，调整 CA 用量，得到不同取代度的 CA-CAX-s（s 表示取代度），并用高效凝胶渗透色谱测定不同取代度的分子量，CAX、CA-CAX-0.27、CA-CAX-0.51 和 CA-CAX-0.65 的重均分子量分别为 3.07×10^5、3.09×10^5、3.36×10^5和 3.68×10^5 g/mol。通过紫外检测表明，CA-CAX-s 在 UVB 具有较高的紫外吸收，而且 CA-CAX-s 水溶液的黏度明显增大，紫外吸收及黏度的大小均随 CA 含量的增加而增大。CA-CAX-0.27、CA-CAX-0.51 和 CA-CAX-0.65 清除 DPPH 自由基的 IC_{50}分别为 0.28、0.13 和 0.12 mg/mL。脂质过氧化物的检测 CA-CAX-0.65 用量为 4 mg/mL 时可以将丙二醛（MDA）的含量从 120 ng/mL 降低到最低值 51.80 ng/mL。抗氧化能力指数（ORAC）测定结果表明改性后 CA-CAX-s 可将荧光消失的时间从 13 min 延长至 60 min 以上，ORAC 值也从 7 上升至 62.83。CA-CAX 的抗氧化性较 CAX 有明显提高，而且咖啡酸含量越高 CA-CAX-s 的抗氧化性越好。

关键词：阿拉伯木聚糖；玉米麸质；咖啡酸；改性；抗氧化活性

文章篇号：1673-9078(2020)09-164-171 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.9.0096

Preparation and Antioxidant Activityof Caffeic Acid Arabinoxylanesters from Corn Bran

LI Yan-li[1], SUN Jing-yi[2], YANG Cheng[3]

(1.School of Chemical Engineering, Sichuan University of Science and Engineering, Zigong 643000, China)

(2.School of Chemical and chemistry Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, China)

(3.School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Arabinoxylan (CAX) was extracted from corn bran by the alkali-H_2O_2 method, and then caffeic acid (CA) was connected to CAX through ester bonding to yield caffeic acid arabinoxylanesters (CA-CAX). The structure of CA-CAX was characterized by FT-IR and H- and C-NMR, and its degree of substitution (DS) was determined by HPLC.CA-CAXs with different DSs (s represents degree of substitution) were obtained through using different amounts of CA, and their molecular weights were determined by high performance gel permeation chromatography(3.09×10^5, 3.36×10^5 and 3.68×10^5 g/mol for CAX, CA-CAX-0.27, CA-CAX-0.51 and CA-CAX-0.65, respectively). UV detection showed that CA-CAX-s had higher UVB absorption, and its aqueous solution exhibited significantly increased viscosity. Both the UV absorption and viscosity increased with an increase of CA content. In terms of DPPH free radical scavenging activity, the IC50 values of CA-CAX-0.27, CA-CAX-0.51 and CA-CAX-0.65 were 0.28, 0.13 and 0.12 mg/mL, respectively. Lipid peroxide detection of CA-CAX-0.65 at

引文格式：

李颜利,孙劲毅,杨成.玉米麸皮阿拉伯木聚糖咖啡酸酯的制备及其抗氧化活性[J].现代食品科技,2020,36(9):164-171

LI Yan-li, SUN Jing-yi, YANG Cheng. Preparation and antioxidant activity of caffeic acid arabinoxylanesters from corn bran [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(9): 164-171

收稿日期：2020-02-03

基金项目：四川省科技厅重点研发项目（2019YFG0174）；四川轻化工大学人才引进项目（2018RCL02）

通讯作者：李颜利（1987-），女，博士，讲师，研究方向：天然产物和香妆品化学

4 mg/mL could reduce the content of malondialdehyde (MDA) from 120 ng/mL to the lowest value of 51.80 ng/mL. The analysis of antioxidant capacity index (ORAC) showed that the modified CA-CAX-s could delay the disappearance of fluorescence from 13 min to over 60 min, and also increased the ORAC value from 7 to 62.83.The antioxidant activity of CA-CAX was significantly higher than that of CAX, and a higher CA content led to a higher antioxidant activity of CA-CAX-s.

Key words: arabinoxylan; corn bran; caffeic acid; modify; antioxidant activity

玉米是世界上食用的主食作物之一，据美国农业部统计，全球每年的玉米产量约 10 亿 t，中国玉米年产量居世界第二位[1]，每年有大约玉米总量的 14%~20%的玉米麸皮产生[2]。玉米麸皮富含膳食纤维，但其水溶性差，口感粗糙，目前对玉米麸皮的开发利用较为局限[3]，只有少数玉米麸皮作为牲畜饲料、制备玉米醇溶蛋白、提取玉米黄色素等，大部分的玉米麸皮没有得到充分利用，主要被用作饲料，经济价值低，造成了资源浪费[4,5]，因此，利用废弃玉米麸质生产高附加值产品，不仅能够提高玉米的经济价值，还能够解决环境问题等。

玉米麸皮含有很多膳食纤维，约占麸皮总量的 60%~70%，其主要成分为阿拉伯木聚糖(AX)[6]。AX 的基本构造主要是由 β-D-吡喃木糖残基(Xylp)形成线性骨干，侧链取代物 α-L-阿拉伯呋喃糖(Araf)通过 C(O)-2、C(O)-3 或 C(O)-2,3 键连接到木聚糖主链上[7,8]，此外，少量阿拉伯糖基的 C(O)-5 位上存在着酯键连接的阿魏酸(Ferulic acid，FA)[9,10]。经研究发现，阿魏酸不仅可提高 AX 的生物活性，还对 AX 的溶解性、氧化凝胶性质、粘度特性等都有非常重要的影响[11]，但是 AX 提取过程中会使阿魏酸酯键水解，降低阿魏酸含量[12]。

咖啡酸（caffeic acid，CA）和阿魏酸都是具有羟基苯烯酸结构的天然酚类化合物[13]，广泛存在于多种植物及中草药中[14]。咖啡酸不仅影响食物的稳定性、色泽、风味和营养价值[15]，还具多种生物活性，并且多效低毒[16]，应用广泛。咖啡酸结构不稳定，水溶性较差，在体内易迅速转化降解，因此咖啡酸主要以衍生物形式存在[17]。

本文将 CA 通过酯化反应改性玉米麸皮中提取的阿拉伯木聚糖（CAX）上，以此提高 CAX 中酚类化合物的含量，从而提高 CAX 的抗氧化性，同时改善 CA 结构不稳定、水溶性差等缺点。

1 材料与方法

1.1 原料与实验仪器

玉米麸皮购自徐州市为天科技有限公司工业级；玉米麸质阿拉伯木聚糖（CAX）根据实验室前期方法提取[18]；咖啡酸，抗坏血酸（Vc）均为分析纯，购自中国阿达玛斯试剂公司；三乙胺、氯化亚砜、N,N-二甲基乙酰胺（DMA）、荧光素钠盐、浓硫酸、乙醇、氯化锂、二氯甲烷、2-硫代巴比妥酸、三氯乙酸等均为分析纯，购自中国国药集团化学试剂有限公司；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）自由基、α-亚麻酸、2,2'-偶氮双（2-脒基丙烷）二盐酸盐（AAPH）、6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸（trolox）等均为分析纯，购自 Sigma 试剂公司。

双光束紫外分光光度仪 UV-1901 型；高效液相色谱仪 Waters 1525 μ 型、Waters 600 型、Waters 2695 型；核磁共振谱仪 AVANCE III 400 型；傅立叶红外光谱仪 Nico-let6700 型；流变仪 Discovery DHR-2 型；多功能酶标仪 Synergy H4 型。

1.2 实验方法

1.2.1 玉米麸皮阿拉伯木聚糖咖啡酸酯（CA-CAX）的合成

将 1 g（5.55 mmol）咖啡酸和 40 mL 绝干二氯甲烷加入 100 mL 三口烧瓶中，磁力搅拌，用 10 mL 二氯甲烷稀释 0.81 mL 氯化亚砜（11.1 mmol），N_2 保护，于 0 ℃下缓慢滴入反应液中，滴加完毕反应液缓慢升温至回流反应 4 h，停止反应。蒸馏除去过量的氯化亚砜和溶剂，得到咖啡酸酰氯（现制现用）。

在 250 mL 三口烧瓶中加入 2 g CAX、80 mg LiCl 和 50 mL DMA，加热匀速搅拌，直至 CAX 彻底溶解，停止加热，直至冷却到室温，向三口瓶中加入一定量（咖啡酸酰氯物质量的 1.5 倍）Na_2CO_3，用 DMA 溶解咖啡酸酰氯（实验室自备），N_2 保护下，缓慢逐滴加入到反应液中，然后升温至 80 ℃反应 10 h，反应结束，过滤，将滤液倒入烧杯中冷却至室温，缓慢地向烧杯中加入 200 mL 无水乙醇，边加边搅拌，溶液中析出白色絮状物，过滤，固体用乙醇索氏提取 36 h，固体冷冻干燥后得到纯净的阿拉伯木聚糖咖啡酸酯（CA-CAX）。

1.2.2 咖啡酸含量的测定

将 5 mL 4%的 NaOH 溶液加入 25 mg CA-CAX 中，再加入 1 mg 无水 Na_2SO_3，40 ℃下超声 0.5 h，用稀 HCl 将溶液 pH 值调至 3，离心，取上清液，用乙

酸乙酯萃取三次，容量瓶定容，摇匀，用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。咖啡酸用 Waters 1525 μ 高效液相色谱仪检测。检测方法参照文献[19]。将咖啡酸标准品配制成不同浓度测量并绘制出标准曲线，CA 的取代度(DS)按照下式计算：

$$DS=\frac{Ms/Ws}{\frac{M}{W_X+W_A\left(\frac{A}{X}\right)}}$$

式中 A/X 是指阿拉伯糖和木糖的比值，W_X 代表木糖的分子量，W_A 代表阿拉伯糖分子量，M_S 是 CA 的质量，W_S 是 CA 的分子量，M 是 CA-CAX 的质量。阿拉伯木聚糖咖啡酸酯表示为（CA-CAX-s，s 代表取代度）。

1.2.3 分子量分布测试

采用凝胶渗透色谱法测试，测试方法参照文献[19]。

1.2.4 结构检测

CAX 和 CA-CAX-s 的结构通过红外光谱、核磁共振、紫外测试，测试方法参照文献[19]。

1.2.5 水溶液黏度测定

分别配制不同浓度的 CA-CAX-s 和 CAX 的溶液，然后用流变仪测定各自的黏度。测试方法参照文献[20]。

1.2.6 对 DPPH 自由基清除能力的测定

测试方法参照文献[20]。吸取不同浓度的样品溶液 2 mL，分别加入 2 mL 浓度为 0.2 mmol/L 的新鲜 DPPH 乙醇溶液，混合均匀，室温下避光放置 30 min，然后测定波长为 517 nm 的吸光度，重复三次。清除率(A_I)计算公式如下所示：

$$A_I/\%=\left(1-\frac{A_s-A_b}{A_c}\right)\times 100\%$$

式中：A_s 表示样品 DPPH 混合溶液的吸光度；A_c 为空白样品的吸光度；A_b 为样品的吸光度。

1.2.7 脂质过氧化物的检测

实验方法参照文献[21,22]，α-亚麻酸易被过氧化，因此用 α-亚麻酸模拟皮肤角质层，CA-CAX-s 作为抗氧化剂可抑制 α-亚麻酸过氧化，CAX 作为对照组，然后用硫代巴比妥酸法测定 α-亚麻酸的过氧化物，过氧化物含量用 Waters 2695 高效液相色谱仪检测，测试条件参照文献[20]。

1.2.8 抗氧化能力指数（ORAC）的测定

ORAC 的实验方法参考 Ou 等[23]。向 96 孔板中加入 25 μL 不同浓度的样品溶液（磷酸盐缓冲溶液（75 mM，pH=7.0）配制）、缓冲液、20 μmol/L 的 trolox（缓冲液配制），预热 30 min，再向微孔板加入 50 μL 78 nmol/L 荧光素钠溶液（缓冲液配制），37 ℃温育 15 min，向微孔板中迅速加入 25 μL 221 mmol/L AAPH（缓冲液配制），放入荧光酶标仪中，震荡 5 s 开始读数，每 2 min 测定一次荧光强度，直至荧光强度衰减至基线后为止，测试条件参考文献[19]。

抗氧化剂的保护面积（AUC）计算方法如下：

AUC=1+f1/f0+f2/f0+f3/f0 +…+fi/f0

式中，f0 为初始荧光强度，fi 为第 i 次的荧光强度。

抗氧化指数（ORAC）可根据公式计算：

$$ORAC=\frac{C_{Trolox}\left(AUC_{sample}-AUC_{blank}\right)}{C\left(AUC_{Trolox}-AUC_{blank}\right)}$$

式中：C_{Trolox} 表示 trolox 的浓度，C_{sample} 表示样品的浓度。

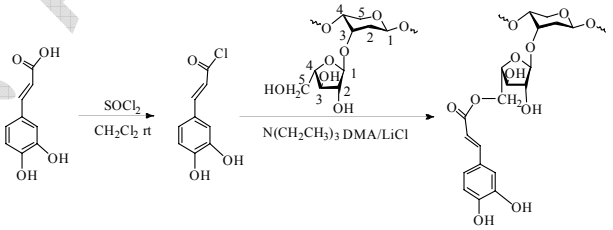
1.2.9 数据处理

所有数据均为 3 次平行试验的平均值，数据采用 Origin 软件处理作图，不同字母表示显著性差异（p<0.05）。

2 结果与讨论

2.1 CA-CAX 的制备及表征

本文将 CA 通过酯键连接到玉米麸皮中提取的阿拉伯木聚糖(CAX)得到改性产物 CA-CAX，其合成路线如下：



CAX 是谷物外层和胚乳细胞壁中一种功能性半纤维素，半纤维素具有很强的氢键，结构复杂，很难溶于普通有机溶剂中成为分子分散的均相溶液[24]。只有强的极性非质子溶剂能阻止半纤维素主链聚集，促进半纤维素和溶剂之间的相互作用[25]。CAX 溶解在 DMA/LiCl 体系中形成均相反应体系，然后依次加入缚酸剂三乙胺和咖啡酸酰氯[26]。均相体系酯化反应比多相反应产生的产物更均匀，收率更高，减少半纤维素主链解聚[27]。玉米麸质提取的阿拉伯木聚糖中并不含有咖啡酸，CAX 中仅含有少量阿魏酸[28]。CAX 的糖苷键与 CA 的摩尔比为 1:1~1:5 的取代度和产率如表 1 所示，比值越大，CA-CAX-s 的取代度越高，且改性产率均在 90%以上。经研究表明，取代度越高，热稳定性越高。CA 的含量会影响多糖的物理和化学性质，如水溶性、溶胀性等，因此，CA 的含量并不是越高越好。

表 1 CA-CAX 合成的取代度和产率

Table 1 The yield and degree of substitute (DS) of CA-CAX

R	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5
Yield/%	90.20±0.36	92.84±0.19	92.50±0.21	91.60±0.56	91.30±0.34
DS	0.27±0.12	0.51±0.24	0.59±0.16	0.65±0.18	0.68±0.27

注：R：糖苷键和 CA 的摩尔比值。

2.2 CAX 与 CA-CAX 的分子量分布

表 2 CAX 和 CA-CAX 的分子量分布

Table 2 Relative molecular weight distribution of CAX and CA-CAX

Samples	Mw/(g/mol)	Mn/(g/mol)	Mw/Mn
CAX	306539	95547	3.21
CA-CAX-0.27	309151	88107	3.51
CA-CAX-0.51	336296	93351	3.60
CA-CAX-0.65	368698	93146	3.96

注：Mw：重均分子量；Mn：数均分子量。

高效凝胶渗透色谱法是一种有效的分离、测定天然产物的相对分子质量的方法，可客观、直观、快速、准确的表征多糖，采用此方法分别测得 CAX 与 CA-CAX 的重均分子量（M_w）、数均分子量（M_n）如表 2 所示。CAX、CA-CAX-0.27、CA-CAX-0.51 和 CA-CAX-0.65 的重均分子量分别为 3.07×10^5、3.09×10^5、3.36×10^5 和 3.68×10^5 g/mol，通过计算多分散性指数（M_w/M_n）分别为 3.2、3.5、3.6 和 3.9，多分散性指数表明聚合物分子量分布的广度，M_w/M_n 越大，说明分子量分布越宽，反之说明分子量分布越窄[29]。实验结果表明 CA-CAX-s 的分子量随取代度增大而增大，CAX 分子量分布相对比较集中，改性后取代度越大分子量分布也越来越广泛。

2.3 红外光谱分析

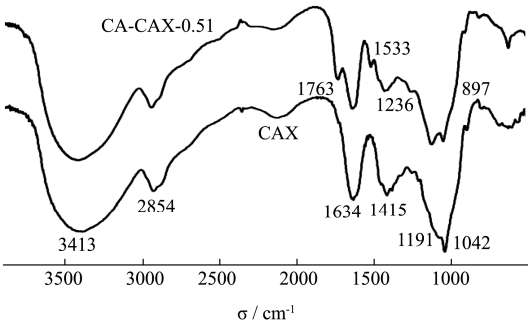


图 1 CAX 与 CA-CAX-0.51 的红外图谱

Fig.1 FT-IR spectra of CAX and CA-CAX-0.51

CAX 和 CA-CAX-0.51 的红外谱图如图 1 所示。图中 CAX，897 cm^{-1} 处的吸收峰表示糖苷键构型为 β 型，1042 cm^{-1} 代表 C-OH 键的弯曲振动，1415 cm^{-1} 和 2854 cm^{-1} 分别是 C-H 的弯曲振动和伸缩振动，1634 cm^{-1} 表示醛基中 C=O 键的，3413 cm^{-1} 是 O-H 的伸缩振动[28]。CA-CAX-0.51 与 CAX 相比，CA-CAX-0.51 不仅具有多糖的特征吸收峰，还在 1763 cm^{-1} 处出现一个新的吸收峰，代表芳香酯键上的 C=O 键的伸缩振动，证明对咖啡酸以酯键形式成功接枝到 CAX 上[19]。

2.4 核磁谱图分析

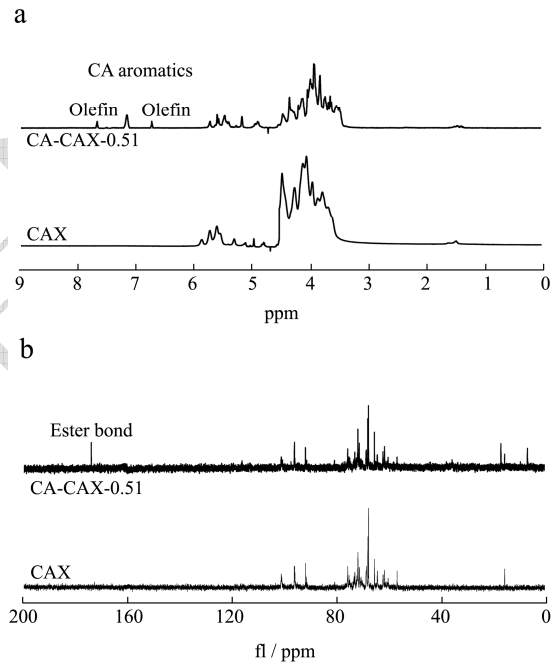


图 2 CAX 和 CA-CAX-0.51 的 NMR 谱图

Fig.2 NMR spectra of CAX and CA-CAX-0.51

注：a 是核磁氢谱；b 是核磁碳谱。

CAX 和 CA-CAX-0.51 的核磁氢谱如图 2a 所示。图中 CAX，δ2.0~4.8 ppm 处的峰是 CAX 主链木聚糖环的氢，δ3.5~4 ppm 处的峰为吡喃木糖氢，δ4.2~4.5 ppm 处的峰是阿拉伯呋喃糖的氢，δ 4.5 ppm 的峰是 CAX 的木糖 C-3 位的侧链氢[28]。对比 CA-CAX-0.51 和 CAX 的谱图，CA-CAX-0.51 不仅具有阿拉伯木聚糖的特征峰，还在 δ6.7、7.5 和 7.8 ppm 处出现三个新的峰，δ 7.5 ppm 处的峰代表咖啡酸的苯环氢，δ 6.7 和 7.8 ppm 处两个的峰，分别代表连接在 CAX 上的咖啡酸烯烃[19]。

CAX 和 CA-CAX-0.51 的核磁碳谱如图 2b 所示。CAX 的核磁碳谱图中，δ50~100 ppm 处的峰表示木糖

主链，δ101、76、68、57 ppm 处的峰分别表示阿拉伯糖的 C-1、C-3/C-4、C-2、C-5 的碳，δ 70~72 ppm 处的峰代表阿拉伯呋喃糖连接在吡喃木糖的 C-2 或 C-3 位[28]。比较 CA-CAX-0.51 和 CAX、CA-CAX-0.51 不仅具有阿拉伯木聚糖的特征峰，在 δ 174 ppm 处出现一个新的峰代表咖啡酸连接到 CAX 上的酯键。通过核磁氢谱碳谱表明咖啡酸成功连接在 CAX 上[19]。

2.5 CAX 和 CA-CAX 的紫外吸收

CAX 和 CA-CAX 在 200~400 nm 波段的紫外吸收见图 3。由图 3 可知，CAX 在 280 nm 和 260 nm 没有紫外吸收，表明原料 CAX 不含蛋白质和核酸等杂质成分[30]。CA-CAX-s 在 320 nm 左右处具有一个最大的紫外吸收峰，表明 CA-CAX-s 对 UVB 波段的紫外线有屏蔽作用，有可能是酚酸连接在阿拉伯残基上引起的紫外吸收[31,32]。CA-CAX-0.27 的浓度为 0.5 mg/mL、1 mg/mL 和 2 mg/mL 时，紫外吸收强度依次增强，2 mg/mL 时吸光度为 2.2 左右；CA-CAX-0.27、CA-CAX-0.51 和 CA-CAX-0.65 的浓度都在 0.5 mg/mL 时，最强紫外吸光度为 0.3、1.2 和 2.6。通过比较，同一个样品浓度升高，CA-CAX-s 的紫外吸收性越强；浓度相同时，CA 取代度的增加紫外吸收增强。

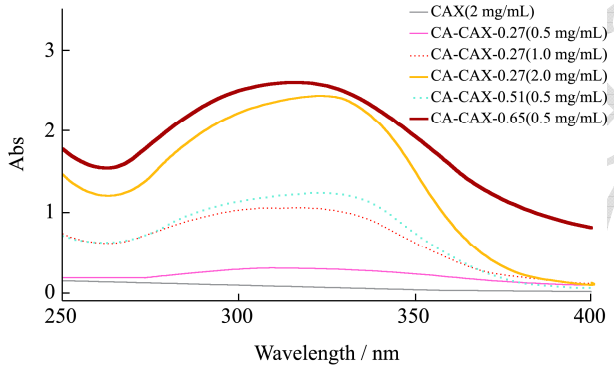


图 3 CAX 和 CA-CAX 的紫外图谱

Fig.3 UV spectra of CAX and CA-CAX

2.6 流变性能

CAX 和 CA-CAX-s 的黏度见图 4。如图 4 所示，不同浓度的 CA-CAX 和 CAX 水溶液粘度均随剪切速率的增大而下降，故 CA-CAX-s 和 CAX 水溶液都是假塑型流体。在同一浓度下，CA-CAX-s 的粘度比原料 CAX 大，CA-CAX-s 溶液的粘度随着取代度的增加而增加；在同一剪切速率下，CA-CAX-0.65 水溶液粘度随浓度的增加而增加，当浓度达到 3%时，水溶液粘度大幅度上升。CA 以酯键形式连接在 CAX 上是一个疏水改性，改性后产物 CA-CAX-s 在水溶液中形成了疏水聚集，随着 CA 含量的增加，其疏水聚集程度增加，粘度也随之增大。CAX 羟基基团酯化反应可减少 CAX 形成强氢键结合网络的倾向，能提高 CAX 膜的柔韧性，从而提高 CAX 的应用潜力[20]。

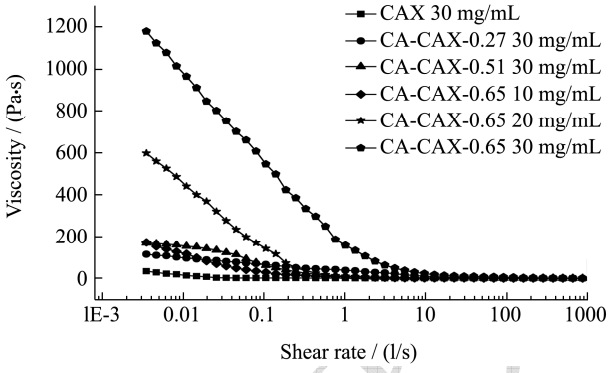


图 4 25 ℃时 CA-CAX 和 CAX 水溶液粘度随剪切速率的变化

Fig.4 The relationship between viscosity and concentration of CAX and CA-CAX solution

2.7 对 DPPH 自由基的清除作用

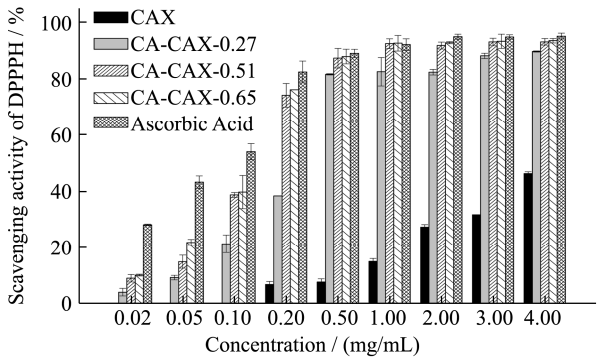


图 5 CAX 和 CA-CAX 对 DPPH 自由基的清除率

Fig.5 Scavenging ability of CAX andCA-CAX against DPPH radical

相同条件下，对各浓度梯度的 CAX 和 CA-CAX-s、抗坏血酸（Vc）对 DPPH 自由基清除率如图 5 所示。由图 5 可知，CAX 浓度在 0.2~4 mg/mL 的范围内具有一定的清除 DPPH 自由基的能力，在 4 mg/mL 时清除率最大仅达 46.29%，CAX 的 IC_{50} 值为 4.30 mg/mL。与 CAX 比较，CA-CAX-s 的清除率显著增加，且随着取代度增加清除率提高，CA-CAX-0.27、CA-CAX-0.51 和 CA-CAX-0.65 清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 分别为 0.28±0.13，0.13±0.08 和 0.12±0.05 mg/mL。CA-CAX-s 在 0.02~4 mg/mL 浓度范围内随着浓度的上升增加，浓度低于 0.2 mg/mL，清除率迅速增加，用量在 0.5 mg/mL 时 CA-CAX-s 对 DPPH 自由基的清除率均能达到 90%以上。抗坏血酸（Vc）是一种较强的抗氧化剂，该实验用 Vc 对 DPPH 自由基清除能力作为对照来衡量 CA-CAX-s 对 DPPH 自由基的清除能力。CA-CAX-s 的浓度高于 0.2 mg/mL 时抗氧化性增

加缓慢，和 Vc 的清除能力相当，改性后多糖的抗氧化性好。实验说明，同一个样品，浓度越高抗氧化性越强；同一浓度下，CA 的取代度越高抗氧化性越强。

2.8 脂质过氧化物检测

多不饱和脂肪酸是人体构成细胞膜和皮肤角质层的主要成分，在人体内起着重要作用，其中 α-亚麻酸是一种对细胞膜具有较强亲和力的短链多不饱和脂肪酸，是人体的必需脂肪酸，能深入肌肤，且补充肌肤营养。同时具有超强的修复皮肤损伤、保湿、抗过敏等功效，含有烯丙基双键，其结构容易被紫外线、过渡金属、活性氧等破坏[33]。本文选取亚麻酸模为不饱和脂肪酸。CA-CAX-s 抑制 α-亚麻酸氧化，α-亚麻酸过氧化产物是丙二醛（MDA），丙二醛的含量代表 α-亚麻酸被氧化的程度，含量越低抗氧化剂的抗氧化性越强。CAX 和 CA-CAX-s 抑制 α-亚麻酸过氧化产生的底物丙二醛含量如表 3 所示。

由硫代巴比士酸法测试结果可知，不加入任何抗氧化剂，脂质过氧化产物的量达到 120 ng/mL，CAX、CA-CAX-s 可降低丙二醛的含量，CA-CAX-s 对 α-亚麻酸的抑制作用更为显著。随着 CA-CAX-s 浓度的增高，丙二醛含量越低；在同一浓度下，咖啡酸取代度越高丙二醛含量越低，CA-CAX-0.65 用量为 4 mg/mL 时 MDA 的含量最低为 51.80 ng/mL。实验说明，同一个样品，浓度越高抗氧化性越强；同一浓度下，咖啡酸取代度越高抗氧化性越强，和 DPPH 自由基清除率结果相符。

表 3 CAX 和 CA-CAX 对脂质体过氧化的抑制作用

Table 3 Inhibition of lipid peroxidation of CAX and CA-CAX

Samples	MDA concentration (ng/mL)				
	0.2 mg/mL	0.5 mg/mL	1 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL
CAX	99.03±7.61	109.2±1.12	101.87±2.20	95.40±1.37	92.40±0.11
CA-CAX-0.27	75.00±2.85	69.60±3.72	65.60±3.76	63.50±3.52	58.93±1.72
CA-CAX-0.51	71.30±1.14	64.80±1.61	61.81±1.05	57.20±1.93	52.00±1.28
CA-CAX-0.65	71.57±0.92	64.63±1.12	62.47±1.12	57.83±2.87	51.80±3.20

2.9 ORAC 的测定

AAPH 产生的过氧自由基与荧光素钠反应，使其荧光特性消失，抗氧化剂加入，和荧光素钠竞争与过氧自由基反应，可延缓荧光衰减[34]。

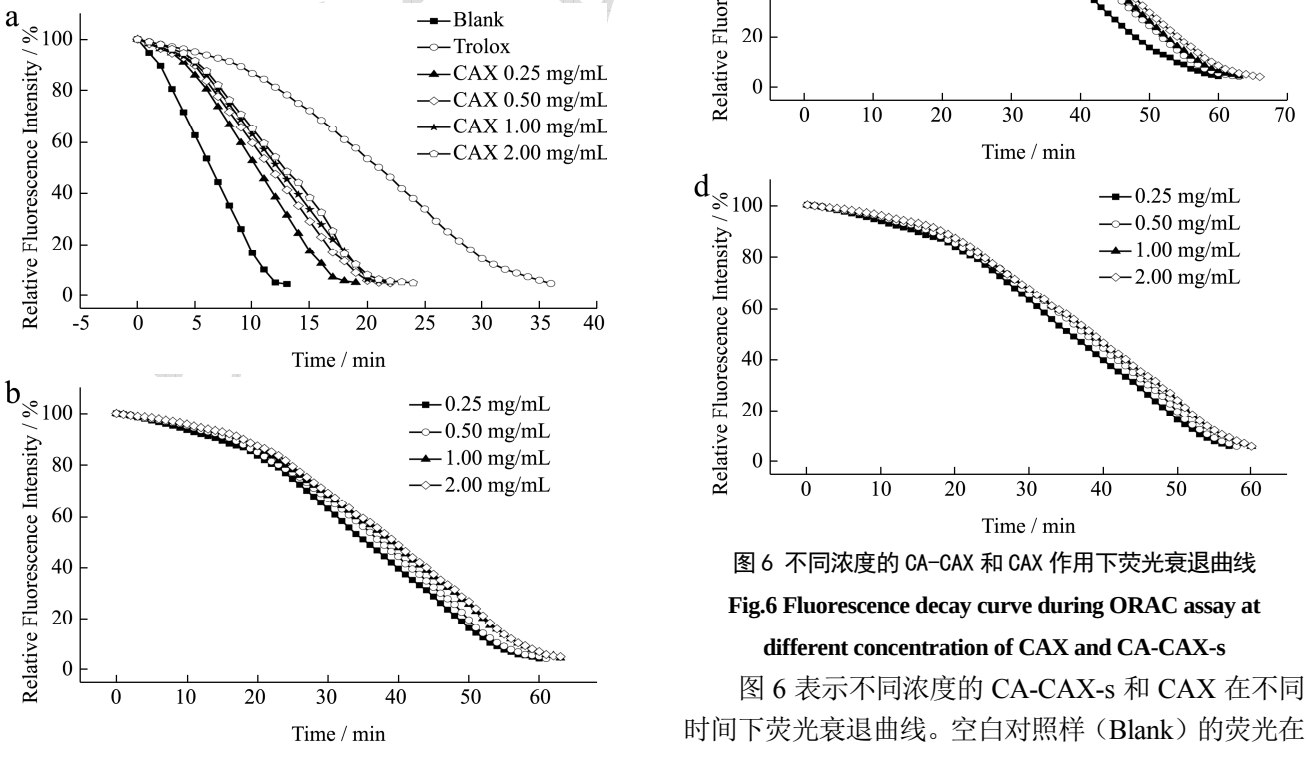


图 6 不同浓度的 CA-CAX 和 CAX 作用下荧光衰退曲线

Fig.6 Fluorescence decay curve during ORAC assay at different concentration of CAX and CA-CAX-s

图 6 表示不同浓度的 CA-CAX-s 和 CAX 在不同时间下荧光衰退曲线。空白对照样（Blank）的荧光在

13 min 左右消退至基线（图 6a），标准品（trolox）在 37 min 左右荧光消失，CAX 加入延长了荧光衰减的时间，加入浓度为 2 mg/mL 时荧光消失的时间为 25 min，与 CAX 相比，CA-CAX-s 荧光消失的时间进一步延长，而且随着取代度增大荧光消退时间更长，CA-CAX-s 荧光消退时间大于 60 min，各样品浓度增加荧光消退时间液随之增长。

CA-CAX-s 作用下的 ORAC 值如表 4 所示，ORAC 值越大抗氧化性能越好，CA-CAX-s 明显高于 CAX，随着浓度的增加和取代度的增加，ORAC 值也随之增加，这和 DPPH 自由基清除率与脂质过氧化物检测的结果一致。咖啡酸的酚羟基是供氢体，可与自由基结合，从而终止自由基的链式反应，因此咖啡酸对自由基具有清除作用[35]。改性后多糖的抗氧化性主要受咖啡酸含量的影响，咖啡酸含量越高改性多糖的抗氧化性越强。

表 4 CAX 和 CA-CAX 的相对 ORAC 值

Table 4 The relative ORAC values of CAX and CA-CAX

Samples	ORAC			
	0.25 mg/mL	0.5 mg/mL	1.0 mg/mL	2.0 mg/mL
CAX	7.00	9.28	10.28	11.19
CA-CAX-0.27	51.00	53.69	56.44	57.23
CA-CAX-0.51	52.22	57.58	59.23	62.83
CA-CAX-0.65	50.73	53.42	55.34	55.40

3 结论

本文从玉米麸皮中提取出水溶性阿拉伯木聚糖并以此为原料，与不同量的咖啡酸酯化反应，合成了阿拉伯木聚糖咖啡酸酯（CA-CAX-s），并通过红外光谱、核磁共振确定了其结构，高效液相色谱确定取代度，凝胶渗透色谱确定了不同取代度的 CA-CAX-s 的分子量，CAX、CA-CAX-0.27、CA-CAX-0.51 和 CA-CAX-0.65 的重均分子量分别为 3.07×10^5，3.09×10^5，3.36×10^5 和 3.68×10^5 g/mol。通过紫外测定表明 CA-CAX-s 在 270~320 nm 波段内有较强的紫外吸收，并且咖啡酸含量越高紫外吸收强度越大。CA-CAX-s 水溶液的粘度随 CA 含量增加而增大。通过三种化学方法：对 DPPH 自由基的清除能力、脂质过氧化物的检测、抗氧化能力指数（ORAC）的测定，综合评价了 CA-CAX-s 的抗氧化性。CA-CAX-0.27、CA-CAX-0.51 和 CA-CAX-0.65 清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 分别为 0.28、0.13 和 0.12 mg/mL。脂质过氧化物的检测 CA-CAX-0.65 用量为 4 mg/mL 时可以将 MDA 的含量从 120 ng/mL 降低到最低值 51.80 ng/mL。ORAC 测定结果表明 CA-CAX-s 可将荧光消失的时间从 13 min 延长至 60 min 以上。抗氧化性综合评价表明，CA-CAX-s 的抗氧化性比 CAX 强，并且抗氧化性随着取代度的增加和浓度的增加而增加。改性后多糖 CA-CAX-s 具有紫外吸收性能、抗氧化性，而且黏度提高，因此 CA-CAX-s 在化妆品、食品、保健品等领域具有广阔的应用前景。

参考文献

[1] 李勤勤,耿欣.玉米麸皮不同处理及其成分分析[J].食品研究与开发,2012,33(8):36-39
LI Qin-qin, GENG Xin. Different processes of corn bran and determination of main components [J]. Food Reaearch and Development, 2012, 33(8): 36-39

[2] 王文侠,尚庆,李馥邑,等.纤维素酶法提取玉米麸皮多糖的工艺条件优化[J].中国食品添加剂,2016,145(3):47-56
WANG Wen-xia, SHANG Qing, LI Fu-yi, et al. Optimization of extraction of polysaccharides from corn fiber by celluclast [J]. China Food Additives, 2016, 145(3): 47-56

[3] Chanliaud E, Saulnier L, Thibault J F. Alkaline extraction and characterisation of heteroxylans from maize bran [J]. Journal of Cereal Science, 1995, 21(2): 195-203

[4] Melinda Gáspár, Gergely Kálmán, Kati Réczey. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production [J]. Process Biochemistry, 2007, 42(7): 1135-1139

[5] 焦昆鹏,朱文学,马丽苹,等.玉米麸皮发酵法制备阿魏酰低聚糖及膳食纤维的研究[J].食品科技,2014,39(8):172-176
JIAO Kun-peng, ZHU Wen-xue, MA Li-ping, et al. Fermentation production of feruloyl oligosaccharides and dietary fiber from maize bran [J]. Food Science and Technology, 2014, 39(8): 172-176

[6] 曾凤彩,王文侠,宋春丽.酶解玉米麸皮制备阿魏酰低聚糖的研究[J].粮食与饲料工业,2012,2:36-40
ZENG Feng-cai, WANG Wen-xia, SONG Chun-li. Enzymicpruduction of feruloyl oligosaccharides from maize bran [J]. Cereal and Food Industry, 2012, 2: 36-40

[7] Roberto C, Giulia S, Alessandro C, et al. Variations in content and extractability of durum wheat (*Triticumturgidum L.* var Durum) arabinoxylans associated with genetic and environmental factors [J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(7): 4536-4549

[8] Cleemput G, Bleukx W, Vanoort M, et al. Evidence for the presence of arabinoxylan hydrolysing enzymes in European wheat flours [J]. J Cereal Sci, 1995, 22(2): 139-145

[9] Bataillon M, Mathaly P, Cardinali A P N. Extraction and

purification of arabinoxylan from destarched wheat bran in a pilot scale [J]. Ind Crop Prod, 1998, 8: 37-43

[10] Maes C, Delcour J A. Alkaline hydrogen peroxide extraction of wheat bran non-starch polysaccharides [J]. J Cereal Sci, 2001, 34(1): 29-35

[11] Berlanga-Reyes C M, Lizardi-Mendoza J, Islas-Rubio A R. Enzymatic cross-linking of alkali extracted arabinoxylans: gel rheological and structural characteristics [J]. Int J MolSci, 2011, 12(9): 5853-5861

[12] 李雪,苏东民,苏东海,等.不同碱性提取剂对小麦麸皮水不溶性阿拉伯木聚糖提取效果的比较研究[J].中国农学通报, 2012,28(21):272-276
LI Xue, SU Dong-min, SU Dong-hai, et al. Investigation on the extraction of water-unextractable arabinoxylans from wheat bran using different alkaline extractant [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(21): 272-276

[13] 范金波,蔡茜彤,冯叙桥,等.咖啡酸体外抗氧化活性的研究[J].中国食品学报,2015,15(3):65-73
FAN Jin-bo, CAI Xi-tong, FENG Xu-qiao, et al. Studies on the antioxidant activity *in vitro* of caffeic acid [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(3): 65-73

[14] Aytekin A O, Morimura S, Kida K. Synthesis of chitosan-caffeic acid derivatives and evaluation of their antioxidant activities [J]. J Biosci Bioeng, 2011, 111(2): 212-216

[15] Naczk M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis [J]. J Pharmaceut Biomed, 2006, 41(5): 1523-1542

[16] LIU Rui-hai. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action [J]. J Nutr, 2004, 134(12): 3479-3485

[17] Papandreou M A, Dimakopoulou A, Linardaki Z I, et al. Effect of a polyphenol-rich wild blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity [J]. Behav Brain Res, 2009, 198(2): 352-358

[18] Viljanen K, Kylli P, Kivikari R,et al. Inhibition of protein and lipid oxidation in liposomes by berry phenolics [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2004, 52(24): 7419-7424

[19] 李颜利,骆正哲,何彤,等.玉米麸质阿拉伯木聚糖对香豆酸酯的制备及性能研究[J].日用化学工业,2018,48(2):82-87
LI Yan-li, LUO Zheng-zhe, HE Tong, et al. Preparation and property of corn gluten arabinoxylan p-coumarate [J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2018, 48(2): 82-87

[20] LI Yan-li, HE Tong, LIANG Rong, et al. Preparation and properties of multifunctional sinapic acid corn bran arabinoxylan esters [J]. Int J BiolMacromol, 2018, 106, 1279-1287

[21] Trommer H. Neubert R H. The examination of polysaccharides as potential antioxidative compounds for topical administration using a lipid model system [J]. Int J Pharm, 2005, 298(1): 153-163

[22] Trommer H, Heinrich G. Neubert R H. The examination of skin lipid model systems stressed by ultraviolet irradiation in the presence of transition metal ions [J]. Euro J Pharm Biopharm, 2001, 51(3): 207-214

[23] OU Bo-xin, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe [J]. J Agri Food Chem, 2001, 49(10): 4619-4627

[24] Fang J M, Fowle P, Tomkinso J, et al. Esterification of wheat straw hemicelluloses in the N, N-dimethylformamide/lithium chloride homogeneous system [J]. J Applied PolymSci, 1999, 74(9): 2301-2311

[25] SUN Run-cang, Tomkinson J, Jones G L, et al. Acetylation of wheat straw hemicelluloses in N, N-dimethylacetamide/LiCl solvent system [J]. Ind Crop Prod, 1999, 10(3): 209-218

[26] Biranchinarayan T, Narendra N, Dass. Homogeneous esterification of cellulose in the lithium chloride-N, N-dimethylacetamide solvent system: effect of temperature and catalyst [J]. Carbohyd Res, 2000, 327(3): 345-352

[27] Kylli P, Nousiainen P, Biely P, et al. Antioxidant potential of hydroxycinnamic acid glycoside esters [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(12): 4797-4805

[28] LI Yan-li, YANG Cheng. Synthesis and properties of feruloyl corn bran arabinoxylan esters [J]. Int J Cosmetic Sci, 2015, 38(3): 238-245

[29] Popa V I, Dumitru M, Volf I, et al. Lignin and polyphenols as allelochemicals [J]. IndCrop Prod, 2008, 27(2): 144-149

[30] SUN Li-wei, FENG Kai, JIANG Rui, et al. Water-soluble polysaccharide from *Bupleurum chinense* DC: isolation, structural features and antioxidant activity [J]. CarbohydPolym, 2010, 79(1): 180-183

[31] Scalbert A, Guittet J, Lallemand Y. Comparison of wheat straw lignin preparations - I. chemical and spectroscopic characterizations [J]. Holzforschung, 1986, 40(2): 119-127

（下转第 276 页）