

# 甘蔗不同组织中游离态和结合态酚酸的分布及抗氧化活性

扶雄, 周惠芳, 李超, 赵振刚, 于淑娟

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 为了探讨甘蔗不同组织中酚酸的存在形式, 本文利用反相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 对蔗汁、蔗叶及蔗渣三个组织中游离态和结合态的酚酸进行了定性和定量检测分析。结果表明, 甘蔗组织中的酚酸主要以结合态形式存在, 但在甘蔗三个组织中的含量和存在形式有差别。甘蔗叶、蔗渣中游离的酚酸含量最高, 蔗汁较低。蔗汁、蔗叶及蔗渣中总游离态酚酸含量分别为 317.18 mg/kg (干固体), 1568.37 mg/kg (干基) 及 1504.57 mg/kg (干基); 总结合态酚酸含量分别为 740.32 mg/kg (干固体), 2725.41 mg/kg (干基), 2452.13 mg/kg (干基)。在蔗汁中, 咖啡酸、没食子酸主要以游离态存在, 阿魏酸、香豆酸主要以结合态存在, 而在蔗叶和蔗渣中, 咖啡酸、阿魏酸、香豆酸主要以结合态形式存在。甘蔗不同组织中游离态酚酸的 DPPH 和 ABTS 自由基清除活性优于结合态酚酸, 不同组织中的游离态酚酸和结合态酚酸含量分别与抗氧化活性呈正相关性。

**关键词:** 甘蔗; 反相高效液相色谱; 游离态酚酸; 结合态酚酸; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2014)11-17-22

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.11.004

## Distribution and Antioxidant Activity of Free and Bound Phenolic Acids in Sugarcane Tissues

FU Xiong, ZHOU Hui-fang, LI Chao, ZHAO Zhen-gang, YU Shu-juan

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** In order to explore the different forms of phenolic acids in the tissues of sugarcane, qualitative and quantitative analyses of free and bound phenolic acids in the cane juice, leaves, and bagasse of sugarcane were performed using reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). The results showed that phenolic acids primarily existed in the bound form in sugarcane; however, the content and form were different in the three different tissues. The leaves and bagasse had higher phenolic acid content than cane juice. The free phenolic acid content in cane juice, leaves, and bagasse was 317.18 mg/kg (dry solids), 1568.37 mg/kg (dry basis), and 1504.57 mg/kg (dry basis), respectively. The bound phenolic acid content in cane juice, leaves and bagasse was 740.32 mg/kg (dry solids), 2725.41 mg/kg (dry basis), and 2452.13 mg/kg (dry basis). In cane juice, caffeic acid and gallic acid were primarily in the free form, whereas ferulic acid and coumaric acid were primarily in the bound form. Caffeic acid, ferulic acid, and coumaric acid were primarily in the bound form in cane leaves and bagasse. In the different sugarcane tissues, free phenolic acids exhibited better free-radical removal activities towards DPPH and ABTS than bound phenolic acids. The free and bound phenolic acid content in sugarcane tissues was positively correlated with antioxidant activity.

**Key words:** sugarcane; reversed-phase high-performance liquid chromatography; free phenolic acid; bound phenolic acid; antioxidant activity

酚酸类物质是植物的次级代谢产物, 包括羟基苯甲酸及其衍生物, 羟基肉桂酸及其衍生物和鞣花酸及

收稿日期: 2014-04-02

基金项目: 广州市科技计划项目 (2013J4500036); 广东省科技计划项目 (2012B050500003); 国家自然科学基金青年基金 (31301506); 中央高校基本科研业务费重点项目 (2014ZZ0060)

作者简介: 扶雄 (1971-), 男, 教授, 博导, 主要研究方向为功能碳水化合物

通讯作者: 赵振刚 (1979-), 男, 博士, 讲师, 研究方向为功能碳水化合物

其衍生物。植物中广泛分布着酚酸类成分, 大部分的水果、蔬菜、谷物、豆类植物中都含有丰富的酚酸类物质。酚酸只有少部分以游离态的形式存在, 多数与纤维素、蛋白质、木质素、类黄酮、糖基、有机酸结合的形式存在于植物组织的初生壁和次生壁中<sup>[1]</sup>。各植物组织中, 酚酸的存在形式和含量都不相同, 在不同的生长阶段, 各植物组织中酚酸的存在形式和含量也发生相应的变化。

随着人们对于健康的日益重视, 具有抗氧化活性

的酚类物质越来越受到关注,植物组织中酚酸的存在形式目前已经成为酚酸的研究热点之一<sup>[2-4]</sup>。然而,天然酚酸类物质的结构复杂,在植物组织中的含量低,杂质干扰成分多,紫外检测法、纸层析法、薄层色谱法等都不能准确有效地检测出多种酚酸类物质。高效液相色谱法因其快速、准确并且可以定性定量的优点,成为研究酚酸存在形式的重要方法。目前高效液相色谱已经成功分析了大米、葡萄和啤酒等物质中的酚类物质成分<sup>[2-4]</sup>。

蔗汁在加工过程中颜色逐渐加深,部分原因是甘蔗中酚酸类物质参加了酶促褐变反应,在制糖生产过程中与蛋白质等反应生成了有色物质。了解甘蔗酚酸的分布与存在形式,对于研究制糖过程多酚色素的生成具有重要意义。因此,本研究采用反相高效液相色谱法,对蔗汁、蔗叶、蔗渣三个不同组织部位的酚酸的主要存在形式及其含量进行研究,并对其抗氧化活性进行评价,为甘蔗制糖过程色值的控制和多酚类物质的有效、充分利用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与仪器

#### 1.1.1 原材料

新鲜甘蔗 Y93159 采自广东省湛江市,砍割后袋子密封置于 18~20 °C 下贮藏。蔗渣、蔗叶及蔗汁从新鲜甘蔗中现榨现取。蔗叶和蔗渣置于 40 °C 烘箱中烘干,破碎成粉状,过 80 目筛,保存备用,蔗汁冷冻干燥后保存备用。

#### 1.1.2 试剂

2, 2-二苯基-1-三硝基苯肼(DPPH), 2, 2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS), 没食子酸、原儿茶酸、香豆酸、阿魏酸、芥子酸、咖啡酸、香草酸、绿原酸、丁香酸、p-羟基苯甲酸标准品购自美国 Sigma-Aldrich 公司;甲醇、乙腈、冰乙酸购自美国 Dikma 公司;其他均为分析纯。

#### 1.1.3 仪器设备

Waters 600E 高效液相色谱仪,美国 Waters 公司; TU-1901 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司; RE-52C 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂; TG16-WS 离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;超纯水系统,美国 Millipore 公司;小型不锈钢甘蔗榨汁机,广州旭众食品机械厂; Scientz-18N 冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 游离态酚酸的分离

游离态酚酸的分离参考 Kumar<sup>[5]</sup>和 Nardini<sup>[6]</sup>的方法,略为改进。分别精确称取蔗汁干固体、蔗叶、蔗渣各 2 g,采用 100 mL 70%乙醇搅拌提取 3 次,每次提取 2 h,离心分离 15 min,用 2 mol/L HCl 调 pH 至 2.0,然后加入 50 mL 乙酸乙酯,萃取 4 次,搅拌 5 min,加 10 g 无水硫酸钠,过滤,乙酸乙酯相在 40 °C 真空旋转蒸发至干,再用 2 mL 纯甲醇溶解,0.45 μm 膜过滤,低温保存备用。

#### 1.2.2 结合态酚酸的分离

结合态酚酸的提取方法参考 Kumar<sup>[5]</sup>, Nardini<sup>[6]</sup>和 Wang<sup>[7]</sup>的方法,略为改进。分别精确称取蔗汁干固体、蔗叶、蔗渣各 2 g,其中蔗叶、蔗渣用石油醚-氯仿(1:1, V/V)在索式提取器中脱脂 2 h,根据方法 1.2.1,采用 100 mL 70%乙醇将游离态酚酸提取出来,然后在除去游离态酚酸后的样品中,在氮气条件下,加入 1 mol/L 含有 0.5% 硼氢化钠的 NaOH (2×100 mL),离心收集上清液。用 2 mol/L HCl 调 pH 至 2.0,最后酚酸的提取同游离态酚酸的提取方法。

#### 1.2.3 总酚酸的提取

总酚酸的提取参考 Nardini 的方法<sup>[6]</sup>,略为改进。分别精确称取蔗汁干固体、蔗叶、蔗渣各 2 g,其中蔗叶、蔗渣用石油醚-氯仿(1:1, V/V)在索式提取器中脱脂 2 h,加入 2 mol/L NaOH 溶液 100 mL (含有 10 mmol/L EDTA, 1% 抗坏血酸),30 °C 条件下水解 30 min,然后用 2 mol/L HCl 调 pH 至 2.0,最后酚酸的提取与游离态酚酸的提取方法相同。

#### 1.2.4 标准溶液的配制

分别称取标准品没食子酸、原儿茶酸、香豆酸、阿魏酸、芥子酸、咖啡酸、香草酸、绿原酸、丁香酸、p-羟基苯甲酸 10 种酚酸各约 10 mg,用甲醇分别定容至 10 mL 棕色容量瓶中,获得每个标品的标准贮备液,在-30 °C 保存备用。使用前,根据实验需要将此标准贮备液用甲醇稀释至相应的浓度,配制标准工作液和混合标准工作液。

#### 1.2.5 RP-HPLC 分析条件

使用 RP-HPLC 方法分析游离态和结合态的酚酸,具体色谱条件根据实验室前期的研究结果确定。RP-HPLC 条件:美国 Waters 公司 XTerra RP18 色谱柱(4.6 mm×150 mm ID, 5.0 μm);保护柱为美国 Waters 公司产 XTerra RP18 (3.9 mm×20 mm);紫外检测波长 280 nm;温度 28 °C;进样量 20 μL;样品测定采用色谱峰的保留时间定性,并以紫外吸收光谱图辅助定性,采用外标法以峰面积定量。流动相为 A:冰乙酸:水(2:98, V/V), B:冰乙酸:乙腈:水(2:20:78, V/V),

流速 1 mL/min; 洗脱程序: 0~45 min, B 为 5%~5%; 45~70 min, B 为 5%~90%; 70~75 min, B 为 90%。

### 1.2.6 总多酚含量的测定

总多酚的测定采用 Folin-Ciocalteu 法测定<sup>[8]</sup>。准确吸取 1 mL 样品溶液于 100 mL 容量瓶中, 加入 5 mL Folin-Ciocalteu 试剂, 摇匀后加入 20% 的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液 15 mL, 混合均匀, 室温下放置 1 h, 用蒸馏水定容至刻度, 在 750 nm 波长处测定样品溶液的吸光度。总多酚含量用 mg/kg 原料表示。

### 1.2.7 DPPH 自由基清除活性测定

DPPH 自由基清除活性的测定依据 Wang<sup>[7]</sup> 的方法, 稍作改进。50 μL 的样品溶液与 4.0 mL 的 0.2 mM DPPH 乙醇溶液混合均匀, 暗处室温放置 30 min, 利用紫外分光光度计在 517 nm 处测定反应液的吸光值。

DPPH 抑制率计算式为:

$$\text{DPPH抑制率}/\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$$

注: A<sub>0</sub> 为不加样品的控制组溶液在 0 min 的吸光值, A<sub>1</sub> 为样品组在 30 min 的吸光值。

### 1.2.8 ABTS 自由基清除活性测定

ABTS 自由基清除活性的测定依据 Re<sup>[9]</sup> 的方法, 稍作改进。ABTS (5 mL, 7 mM) 和过硫酸钾 (5 mL, 2.45 mM) 混合制成 ABTS 溶液, 混合液在室温暗处放置 16 个小时, 使用前用乙醇溶液稀释混合液至 734 nm 处的吸光值为 0.70±0.02。20 μL 样品溶液与 3 mL ABTS 工作液混合均匀, 暗处室温反应 30 min, 然后在 734 nm 处测定吸光值。

ABTS 自由基清除率根据下式计算:

$$\text{ABTS自由基清除率}/\% = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100\%$$

注: A<sub>c</sub> 是不加样品的控制组吸光值, A<sub>s</sub> 是样品组的吸光值。

## 1.3 数据分析

所有的测定都重复 3 次, 数据利用 Microsoft Office Excel 2007 进行处理和分析, 试验结果表示为平均值±标准偏差, SPSS 软件分析实验数据的差异显著性, 当 p<0.05 时认为具有显著性差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 甘蔗不同组织中游离态酚酸含量的测定

植物多酚是一类广泛存在于植物体内的多酚类物质, 主要存在于植物的皮、根、叶、果实中。溶剂抽提是一种分离游离酚酸的有效方法。通常的溶剂有: 热水、甲醇、乙醇、丙酮、甲苯-乙醇混合液, 用溶剂抽提主要根据酚酸的极性、酸性、芳环的羟基氢键结合能力不同以及使用的原料不同使酚酸分离出来。10

种酚酸的标准品 HPLC-UV 色谱图和蔗汁中酚酸的 HPLC-UV 色谱图如图 1 和图 2。

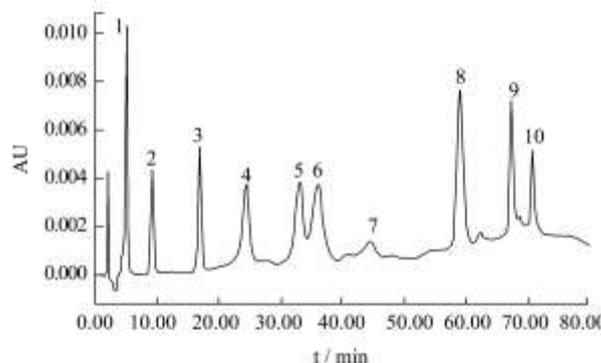


图 1 10 种酚酸标准品 HPLC-UV 色谱图

Fig.1 HPLC-UV chromatograms of ten standard phenolic acids

注: 1、没食子酸 2、原儿茶酸 3、p-羟基苯甲酸 4、香草酸 5、绿原酸 6、咖啡酸 7、丁香酸 8、香豆酸 9、阿魏酸 10、芥子酸。

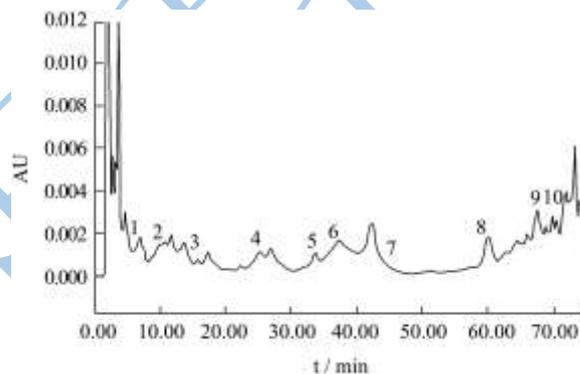


图 2 蔗汁中酚酸色谱图

Fig.2 Chromatograms of the phenolic acids in cane juice

注: 1、没食子酸 2、原儿茶酸 3、p-羟基苯甲酸 4、香草酸 5、绿原酸 6、咖啡酸 7、丁香酸 8、香豆酸 9、阿魏酸 10、芥子酸。

表 1 甘蔗不同组织中游离态酚酸含量

Table 1 The free phenolic acid content in different sugarcane tissues

酚酸	蔗汁/(mg/kg) (干固物)	蔗叶/(mg/kg) (干物质)	蔗渣/(mg/kg) (干物质)
没食子酸	6.51±0.12 <sup>b</sup>	24.27±0.87 <sup>d</sup>	38.58±1.25 <sup>d</sup>
原儿茶酸	5.03±0.10 <sup>c</sup>	14.61±0.59 <sup>e</sup>	42.28±1.51 <sup>c</sup>
p-羟基苯甲酸	4.84±0.12 <sup>c</sup>	27.02±1.08 <sup>d</sup>	34.85±1.27 <sup>e</sup>
香草酸	5.48±0.14 <sup>c</sup>	19.22±0.69 <sup>f</sup>	27.67±1.05 <sup>f</sup>
绿原酸	4.56±0.16 <sup>c</sup>	34.73±1.40 <sup>c</sup>	27.54±1.17 <sup>f</sup>
咖啡酸	12.74±0.31 <sup>a</sup>	35.91±1.39 <sup>c</sup>	29.93±1.38 <sup>f</sup>
丁香酸	2.62±0.09 <sup>d</sup>	20.93±0.67 <sup>e</sup>	21.19±0.73 <sup>g</sup>
香豆酸	5.22±0.12 <sup>c</sup>	94.73±3.75 <sup>b</sup>	67.92±2.55 <sup>b</sup>
阿魏酸	6.38±0.12 <sup>b</sup>	124.30±4.25 <sup>a</sup>	119.73±4.29 <sup>a</sup>
芥子酸	2.39±0.07 <sup>e</sup>	25.70±0.83 <sup>d</sup>	8.05±0.39 <sup>h</sup>

注：表中数据为平均值±标准偏差，n=3，蔗叶、蔗渣中酚酸量以干基计。字母 a、b、c、d、e、f、g 表示差异显著(p≤0.05)，同一列中的字母相同表示无显著性差异。

从表 1 可知，甘蔗组织中游离态酚酸的含量因生长部位不同而存在差异。甘蔗叶、甘蔗渣中的酚酸含量很高，蔗汁中含量相对较低。其中，没食子酸、香豆酸，阿魏酸、咖啡酸、绿原酸在甘蔗各组织部位中均有较高含量；在蔗汁中，咖啡酸含量最高，达到 12.74 mg/kg（干固物）左右；而蔗叶和蔗渣中，以阿魏酸含量最高，均占到总酚酸的 28% 左右。蔗汁、蔗叶及蔗渣中所测定的 10 种游离态酚酸总含量分别为 55.77 mg/kg（干固物），421.10 mg/kg（干基）及 417.50 mg/kg（干基）。

通常，在植物细胞壁中酚酸类物质的分布是不均一的，生长条件(如温度、气候、环境)不同，酚酸类物质的含量也不同<sup>[10]</sup>。如在一些谷物中，品种不同，栽培条件不一致，酚酸的存在形式和含量差异较大<sup>[4]</sup>。

## 2.2 甘蔗不同组织中结合态酚酸含量的测定

表 2 甘蔗组织中结合态酚酸含量

Table 2 The bound phenolic acid content in different sugarcane tissues

酚酸	蔗汁/(mg/kg) (干固物)	蔗叶/(mg/kg) (干物质)	蔗渣/(mg/kg) (干物质)
没食子酸	18.39±0.12 <sup>d</sup>	20.77±0.75 <sup>h</sup>	37.99±1.06 <sup>f</sup>
原儿茶酸	2.72±0.08 <sup>i</sup>	11.37±0.68 <sup>j</sup>	51.76±0.77 <sup>d</sup>
p-羟基苯甲酸	20.90±0.18 <sup>c</sup>	29.81±0.97 <sup>e</sup>	78.91±0.89 <sup>c</sup>
香草酸	5.89±0.10 <sup>g</sup>	24.41±1.25 <sup>e</sup>	28.43±0.97 <sup>e</sup>
绿原酸	13.14±0.18 <sup>c</sup>	18.19±0.45 <sup>i</sup>	15.78±1.28 <sup>i</sup>
咖啡酸	3.70±0.07 <sup>h</sup>	78.09±0.98 <sup>c</sup>	46.90±1.06 <sup>e</sup>
丁香酸	11.14±0.07 <sup>f</sup>	27.37±0.86 <sup>f</sup>	18.58±0.48 <sup>h</sup>
香豆酸	49.68±0.40 <sup>b</sup>	246.20±4.67 <sup>b</sup>	187.85±2.08 <sup>b</sup>
阿魏酸	108.74±0.29 <sup>a</sup>	290.44±5.21 <sup>a</sup>	207.81±3.09 <sup>a</sup>
芥子酸	11.27±0.09 <sup>f</sup>	64.78±0.86 <sup>d</sup>	26.72±1.56 <sup>e</sup>

注：表中数据为平均值±标准偏差，n=3，蔗叶、蔗渣中酚酸量以干基计。字母 a、b、c、d、e、f、g、h、i、j 表示差异显著 (p≤0.05)，同一列中的字母相同表示无显著性差异。

经过碱液水解后，甘蔗不同组织部分所释放出来的酚酸的含量如表 2 所示。通常，大部分酚酸类物质通过酯键、醚键或乙酰基与细胞壁组分(半纤维素、木素、纤维素和蛋白质)或少量有机分子(如葡萄糖或酒石酸)联接，只有很少部分以游离态存在。因此，使用碱水解可以有效的释放出植物组织中结合态的酚酸。一般结合态酚酸的提取，先用碱水解后再进行酸水解，即先用碱处理法使羟基肉桂酸类化合物游离出来，水

解产物酸化至 pH=1~2，然后用乙醚或乙酸乙酯等有机溶剂提取。如表 2 所示，甘蔗组织中(蔗汁、蔗叶、蔗渣)总酚酸在碱水解前含量很低，水解后含量增加很大。阿魏酸、香豆酸、p-基肉桂酸、丁香酸、香草酸、没食子酸等都能很明显的释放出来。其中，10 种结合态酚酸在蔗汁、蔗叶和蔗渣中所测定的含量分别为 245.53 mg/kg(干固物)，811.40 mg/kg(干基)和 700.70 mg/kg(干基)。表 1 和 2 也反映了在蔗汁中，咖啡酸、没食子酸主要以游离态存在；阿魏酸、香豆酸主要以结合态存在；蔗叶、蔗渣中，咖啡酸、阿魏酸、香豆酸主要以结合态形式存在。在甘蔗组织中，其酚酸主要以结合态形式存在。

有研究表明，葡萄浆果 20%~25% 的酚酸都以游离态的形式存在，其余一般与糖、有机酸以及各种醇以酯化形式存在，葡萄浆果中的酚酸主要贮存在葡萄果肉细胞中，破碎时容易被浸出<sup>[11]</sup>。另外，由于植物的组织不同、生长条件不同，以及对环境刺激的反应不同，使代谢过程不断变化，导致酚酸类物质的代谢途径特别复杂。如在蔗渣中，其细胞壁中主要是多糖和酚类物质<sup>[2]</sup>。多糖可以从细胞壁中分离出来，但是由于酚类物质以酯键与多糖键合或以醚键与木素联接，在细胞壁聚合物之间形成交联的桥式结构，从而阻碍了多糖的分离。现已确认，含有羧基和酚羟基双官能团化合物阿魏酸主要以酯键与细胞壁多糖结合，同时又以醚键与木质素结合<sup>[13]</sup>。因此，通过强碱性溶液的水解，能有效的释放出植物组织中以结合态方式存在的酚酸类成分。从表 3 也可以看出，通过采用 Folin-Ciocalteu 法测定总酚，甘蔗不同组织部分多酚提取物总酚含量分别为：蔗汁 1057.50 mg/kg(固形物)，蔗叶 4293.78 mg/kg(干基)，蔗渣 3956.70 mg/kg(干基)。蔗汁中游离态酚酸和结合态酚酸的含量有较大差别，其总酚含量都比蔗叶和蔗渣低，而蔗叶和蔗渣中游离态和结合态酚酸的含量差别不大。

表 3 甘蔗不同组织中总酚酸含量

Table 3 The total phenolic acid content in different sugarcane tissues

甘蔗组织	游离态酚酸 (mg/kg)(干固物 或干物质)	结合态酚酸 (mg/kg)(干固 物或干物质)	总酚 (mg/kg)(干固 物或干物质)
蔗汁	317.18±2.38 <sup>c</sup>	740.32±4.46 <sup>c</sup>	1057.50±6.89 <sup>c</sup>
蔗叶	1568.37±5.18 <sup>b</sup>	2725.41±6.34 <sup>a</sup>	4293.78±11.57 <sup>a</sup>
蔗渣	1504.57±4.76 <sup>a</sup>	2452.13±5.61 <sup>b</sup>	3956.70±10.52 <sup>b</sup>

注：表中数据为平均值±标准偏差，n=3；蔗叶、蔗渣中酚酸量以干基计。字母 a、b、c 表示差异显著 (p≤0.05)，同一列中的字母相同表示无显著性差异。

### 2.3 甘蔗不同组织中酚酸抗氧化活性的测定

甘蔗不同组织中游离态和结合态酚酸的抗氧化活性如表 4 和表 5 所示。DPPH 和 ABTS 自由基清除能力试验结果显示相似的趋势，同质量的蔗叶和蔗渣中游离态和结合态酚酸的抗氧化活性差别不大，蔗叶和蔗渣中游离态和结合态酚酸都有较高的抗氧化能力。同时从表中可知不同组织中的游离态酚酸和结合态酚酸含量分别与其抗氧化活性呈正相关性，含量越高，抗氧化活性越高，含量相近，其抗氧化活性相当，这说明酚类是甘蔗组织中总最主要的抗氧化活性物质。甘蔗不同组织中游离态酚酸清除 DPPH 和 ABTS 自由基的 IC<sub>50</sub> 值，蔗叶的最低而蔗汁的最高；结合态酚酸清除 DPPH 和 ABTS 自由基的 IC<sub>50</sub> 值，蔗渣的最低而蔗汁的最高。甘蔗中游离态和结合态酚酸的抗氧化活性有较大的差别，游离态酚酸清除 DPPH 和 ABTS 自由基的 IC<sub>50</sub> 值均比结合态酚酸的 IC<sub>50</sub> 值低，游离态酚酸和结合态酚酸在不同甘蔗组织中的 IC<sub>50</sub> 值相差不大，两种抗氧化方法都显示游离态酚酸的抗氧化活性比结合态酚酸高。

表 4 甘蔗不同组织中游离态和结合态酚酸抗氧化活性

**Table 4 The antioxidant activity of free and bound phenolic acids in different sugarcane tissues**

甘蔗组织	DPPH 抑制率/%		ABTS 抑制率/%	
	游离态	结合态	游离态	结合态
蔗汁	5.04±0.10 <sup>c</sup>	10.18±0.30 <sup>c</sup>	17.17±0.26 <sup>c</sup>	33.56±0.18 <sup>c</sup>
蔗叶	78.63±0.21 <sup>a</sup>	77.62±0.40 <sup>a</sup>	92.45±0.09 <sup>a</sup>	89.38±0.22 <sup>a</sup>
蔗渣	77.22±0.12 <sup>b</sup>	71.80±0.43 <sup>b</sup>	88.64±0.09 <sup>b</sup>	80.73±0.49 <sup>b</sup>

注：表中数据为平均值±标准偏差，n=3；蔗叶、蔗渣中酚酸量以干基计。字母 a、b、c 表示差异显著 (p≤0.05)，同一列中的字母相同表示无显著性差异。

表 5 甘蔗不同组织中游离态和结合态酚酸对 DPPH 和 ABTS 半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>)

**Table 5 IC<sub>50</sub> values of free and bound phenolic acids in different sugarcane tissues on DPPH and ABTS**

甘蔗组织	IC <sub>50</sub> /(mg/mL)			
	DPPH		ABTS	
	游离态	结合态	游离态	结合态
蔗汁	0.966	1.758	0.757	1.434
蔗叶	0.942	1.542	0.722	1.250
蔗渣	0.951	1.510	0.743	1.198

游离态酚酸和结合态酚酸的抗氧化活性的差别也体现在枣的皮、果肉和种子组织中，枣的各个组织中游离态酚酸的 DPPH 和 FRAP 自由基清除能力均低于结合态酚酸，这表明不同的植物其游离态和结合态酚

酸对抗氧化活性的贡献不同<sup>[9]</sup>。Harish Nayaka 的研究证实不同的酚酸其抗氧化活性有很大差别，丁香酸的清除 DPPH 自由基的 IC<sub>50</sub> 值约为没食子酸的 60 倍，各个组织中各种酚酸的组成不同，其总酚酸的抗氧化活性会有差别<sup>[4]</sup>。甘蔗各个组织中游离态酚酸抗氧化活性优于结合态酚酸，可能是因为甘蔗各个组织的游离态和结合态酚酸的组成不同，游离态酚酸中高抗氧化活性的成分比例大于结合态酚酸，使得游离态酚酸的抗氧化活性偏高。

### 3 结论

在甘蔗不同组织中游离态酚酸和结合态酚酸的分布和抗氧化活性存在较大差异。甘蔗组织中大部分酚酸都以结合态存在，特别是蔗汁。蔗汁、蔗叶和蔗渣中都存在 10 种酚酸，但在各组织中存在形式不同。在蔗汁中，咖啡酸含量最高，且咖啡酸、没食子酸主要以游离态存在，而阿魏酸、香豆酸主要以结合态存在；在蔗叶和蔗渣中，阿魏酸含量最高，咖啡酸、阿魏酸、香豆酸主要以结合态形式存在。甘蔗不同组织中游离态和结合态酚酸都表现出很强的抗氧化活性，且游离态酚酸的抗氧化活性优于结合态酚酸。蔗叶和蔗渣这两种制糖工业的副产品，具有较高的抗氧化活性，因此可以被用作抗氧化剂的提取原料，实现资源的有效利用。

### 参考文献

- [1] Naczki M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41(5): 1523-1542
- [2] Govardhan Singh R S, Negi P S, Radha C. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of Moringa Oleifera seed flour [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(4): 1883-1891
- [3] Min B, Gu L, McClung A M, et al. Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza Sativa* L.) of different bran colours [J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 715-722
- [4] Allen D, Bui A D, Cain N, et al. Analysis of free and bound phenolics in wine and grapes by GC-MS after automated SPE [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, 405(30): 9869-9877
- [5] Kumar G S, Nayaka H, Dharmesh S M, et al. Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Emblca Officinalis*) and

- turmeric (*Curcuma Longa*) [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, 19(5): 446-452
- [6] Nardini M, Ghiselli A. Determination of free and bound phenolic acids in beer [J]. *Food Chemistry*, 2004, 84(1): 137-143
- [7] Wang B N, Liu H F, Zheng J B, et al. Distribution of phenolic acids in different tissues of jujube and their antioxidant activity [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(4): 1288-1292
- [8] Mathew S, Abraham T E. Studies on the Antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum Verum*) bark extracts, through various in vitro models [J]. *Food Chemistry*, 2006, 94(4): 520-528
- [9] 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(9-10): 1231-1237
- [10] Germano M P, D Angelo V, Biasini T, et al. Evaluation of the antioxidant properties and bioavailability of free and bound phenolic acids from *Trichilia Emetica* Vahl. [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 105(3): 368-373
- [11] 陈建业. 葡萄酒中酚酸及葡萄果实苯丙烷类代谢途径研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005
- CHEN Jian-ye. Study on the phenolic acids in wines and phenylpropanoid metabolism in grape berries [D]. Beijing: China Agricultural University, 2005
- [12] Colombo R, Lancas F M, Yariwake J H. Determination of flavonoids in cultivated sugarcane leaves, bagasse, juice and in transgenic sugarcane by liquid chromatography-UV detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1103(1): 118-124
- [13] Morrison T A, Jung H G, Buxton D R, et al. Cell-wall composition of maize internodes of varying maturity [J]. *Crop Science*, 1998, 38(2): 455-460
- [14] Harish Nayaka M A, Sathisha U V, Dharmesh S M. Cytoprotective and antioxidant activity of free, conjugated and insoluble-bound phenolic acids from swallow root (*Decalepis hamiltonii*) [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(4): 1307-1312