

5种香蕉果肉多酚的抗氧化活性和抑制 α -葡萄糖苷酶活性

Antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory activity of five banana pulp polyphenols

冉静凤^{1,2,3,4,5}陈小爱^{2,3,4,5}易翠平¹张彦军^{2,3,4,5}RAN Jingfeng^{1,2,3,4,5} CHEN Xiaoai^{2,3,4,5} YI Cuiping¹ ZHANG Yanjun^{2,3,4,5}

(1. 长沙理工大学食品与生物工程学院,湖南长沙 410114;2. 中国热带农业科学院香料饮料研究所,海南万宁 571533;3. 国家重要热带作物工程技术研究中心,海南万宁 571533;
4. 海南省特色热带作物适宜性加工与品质控制重点实验室,海南万宁 571533;
5. 海南省热带香料饮料作物工程技术研究中心,海南万宁 571533)

(1. School of Food Science and Bioengineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410114, China; 2. Spice and Beverage Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wanning, Hainan 571533, China; 3. National Center of Important Tropical Crops Engineering and Technology Research, Wanning, Hainan 571533, China; 4. Key Laboratory of Processing Suitability and Quality Control of the Special Tropical Crops of Hainan Province, Wanning, Hainan 571533, China; 5. Hainan Provincial Engineering Research Center of Tropical Spice and Beverage Crops, Wanning, Hainan 571533, China)

摘要:目的:比较不同品种香蕉果肉多酚的活性差异。方法:超声萃取5种香蕉果肉多酚,利用高效液相色谱分析酚类组成,分析其抗氧化能力和对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制能力。结果:5种香蕉果肉间的多酚含量、黄酮含量和单宁含量差异显著($P<0.05$);在5种香蕉果肉中检测出8种主要单体酚,包括4种酚酸及其衍生物和4种黄酮类化合物;5种香蕉果肉多酚具有一定的DPPH自由基清除能力、ABTS自由基清除能力和铁离子还原能力,均能抑制 α -葡萄糖苷酶活性,主要活性成分芦丁、儿茶素与抑制能力呈显著正相关($P<0.05$)。南角42号香蕉果肉多酚的抗氧化能力和抑制 α -葡萄糖苷酶活性的能力最强,通过混合型抑制的方式抑制酶活,其与 α -葡萄糖苷酶的相互作用为放热反应。结论:香蕉果肉多酚具有很好

的抗氧化能力和对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制能力,有望成为良好的 α -葡萄糖苷酶选择性抑制剂。

关键词:香蕉果肉;品种;多酚;体外抗氧化能力; α -葡萄糖苷酶抑制活性

Abstract: Objective: The purpose of this study was to compare the activity difference of polyphenols in banana pulp of different varieties and to provide scientific basis for the exploitation and utilization of banana pulp polyphenols. Methods: Five banana pulp polyphenols were extracted by ultrasonic extraction, and the phenolic components were analyzed by ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC). The antioxidant capacity and inhibition ability of α -glucosidase were determined. Results: The total polyphenols, flavonoids and tannins content were significant differences among five varieties ($P < 0.05$). Eight phenolic compounds were identified in five banana pulps, including four phenolic acids and their derivatives, and four flavonoid compounds. The five kinds of banana pulp polyphenols had certain antioxidant activities of scavenging DPPH, ABTS free radical, and reducing iron ion. All the five kinds of banana pulp polyphenols could inhibit α -glucosidase. The major bioactive components in banana pulp, catechin acid and rutin, were significantly positively correlated with the ability of α -glucosidase inhibition ($P < 0.05$). The antioxidative ability and inhibitory

基金项目:海南省重点研发计划项目(编号:ZDYF2022SHFZ122);中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金(编号:1630142022007)

作者简介:冉静凤,女,长沙理工大学在读硕士研究生。

通信作者:易翠平(1973—),女,长沙理工大学教授,博士。

E-mail:109823769@qq.com

张彦军(1982—),男,中国热带农业科学院香料饮料研究所研究员,博士。

E-mail:zhangyanjun0305@163.com

收稿日期:2023-06-12 **改回日期:**2023-08-17

activity of α -glucosidase were the strongest in the pulp polyphenols of Nanjiao No.42 banana. The enzyme activity was inhibited by mixed inhibition, and the interaction with α -glucosidase was exothermic. Conclusion: Banana pulp polyphenols have good antioxidant ability and inhibition ability to α -glucosidase activity, and are expected to be a good selective inhibitor of α -glucosidase.

Keywords: banana pulp; variety; polyphenol; antioxidant capacity; α -glucosidase inhibition activity

香蕉是一类热带季节性水果,属于芭蕉科芭蕉属。它是世界上最受欢迎的水果之一,也是世界贸易中第五大农业作物^[1]。世界上种植生产香蕉的国家和地区数量超过 130 个,以中美洲、南美洲和亚洲最为集中^[2]。其中,亚洲是世界上最大的香蕉生产国,占全球香蕉产量的 54.4%。2020 年,中国香蕉产量超过 1 100 万 t,香蕉消耗量超过 1 300 万 t,香蕉产业产值超过 400 亿美元^[3]。

香蕉中含有多酚、蛋白质和多糖等多种成分^[4],其中多酚是一类次生代谢产物,普遍存在于植物中,对健康有益处。研究^[5-6]表明,植物多酚可能参与人类健康维护和疾病预防,特别是降低患慢性疾病的风脸,如心血管疾病和某些类型的癌症。不同品种的香蕉酚类组成及生物活性差异显著,香蕉皮和香蕉果肉之间也存在较大差异,香蕉的抗氧化能力与其多酚含量呈显著正相关^[7]。彭思琪等^[8]研究发现,相同浓度下香蕉皮黄酮羟自由基、ABTS 自由基清除能力及铁离子还原能力均显著强于抗坏血酸。覃翠钠等^[9]研究了 5 种不同成熟度香蕉果肉及果皮的多酚含量及抗氧化活性,发现熟香蕉果、肉、皮的抗氧化活性优于生香蕉的。还有研究表明,香蕉皮多酚具有较好的抑菌活性^[10],对食用油脂、H₂O₂、超氧阴离子和亚硝酸盐也有一定的清除能力^[11]。此外,植物多酚可通过抑制 α -葡萄糖苷酶的活性,抑制碳水化合物转化为葡萄糖,从而延缓肠道对葡萄糖的吸收,降低餐后血糖水平^[12]。且与现有的药物治疗方案相比,植物多酚的副作用更少,有望成为改善血糖的药物替代品^[13]。然而,目前关于香蕉果肉多酚的降血糖潜力活性影响尚不清楚。

研究拟以 5 个品种的香蕉果肉为原料,采用超声辅助醇法提取多酚,分析不同品种香蕉多酚的酚类组成和抗氧化活性,探讨香蕉果肉多酚的降血糖潜力,旨在为香蕉果肉多酚在食品工业中的开发及应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

粉蕉(Dwarf banana,DB):中国热带农业科学院香料饮料研究所;

东莞大蕉(Dongguan plantain, DP)、桂蕉 6 号(Guijiao No.6,GJ-6)、南角 42 号(Nanjiao No.42,NJ-42)

和威廉斯矮化突变体(8188-1):中国热带农业科学院南亚热带作物研究所;

α -葡萄糖苷酶:26.5 U/mg,上海源叶生物科技有限公司;

没食子酸、儿茶素、芦丁、槲皮素、对羟基苯甲酸、山奈酚、丁香酸、咖啡酸:色谱级,上海源叶生物科技有限公司;

乙酸、乙腈:色谱级,美国 Tedia 公司;
其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱仪:1290Infinity II 型,美国 Agilent 公司;

全波长扫描式多功能读数仪:SynergyH1 型,美国 BioTek 公司;

荧光分光光度计:F-7000 型,日立高新技术公司;

食品真空冷冻干燥机:TFDX0.25 型,烟台中孚冷链设备有限公司;

低温超声波萃取仪:VOSHIN-1500C 型,无锡沃信仪器制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 香蕉果肉多酚提取 采后的香蕉于 3 d 内完成预处理:香蕉去皮后,切成薄片,于护色液(将 20 g 柠檬酸、2 g 抗坏血酸和 0.5 g 焦亚硫酸钠溶于 1 000 mL 蒸馏水配制而成)中浸泡 20 min,沥干水分后置于 -20 ℃ 超低温保存箱中预冻一晚,设置冻干机冷阱温度 -40 ℃,维持冻干仓压强 15 Pa 左右,55 ℃ 真空冷冻干燥 12 h,经粉碎研磨通过 100 目筛后得到香蕉粉,贮藏于干燥器中备用。

多酚的提取参考张顺等^[14]的方法并稍作修改。称取 20 g 香蕉粉,加入 150 mL 预冷的 80% 乙醇,400 W 常温下超声 30 min,抽滤后收集滤液,用 100 mL 80% 乙醇重复提取滤渣。所得滤液在 45 ℃ 下旋转蒸发至 15 mL,定容至 25 mL 后即得香蕉多酚提取液,冷藏于 4 ℃ 冰箱,同时取部分提取液于 -20 ℃ 超低温保存箱中预冻一晚,设置冻干机冷阱温度 -40 ℃,维持冻干仓压强 15 Pa 左右,55 ℃ 冷冻干燥 24 h 后备用。

1.3.2 香蕉果肉总酚、黄酮和单宁含量测定

(1) 总酚含量:根据福林—酚法^[15]。移取 0.1 mL 样品溶液,加入 0.4 mL 福林酚试剂、1.0 mL 20% Na₂CO₃,避光静置 1 h,于 760 nm 处测定其吸光度。以没食子酸标准品作标准曲线并计算总酚含量。

(2) 黄酮含量:根据亚硝酸钠—硝酸铝法^[16]。移取 0.3 mL 样品溶液,加入 0.2 mL 5% NaNO₂,反应 6 min 后加入 50 μ L 10% Al(NO₃)₃ 溶液,反应 6 min 后加入 0.5 mL 1 mol/L NaOH,立即于 510 nm 处测定其吸光度。以芦丁标准品制作标准曲线并计算黄酮含量。

(3) 单宁含量:根据 Feng 等^[17]的方法。移取 100 μL 样品溶液,加入 0.75 mL 4% 香草醛甲醇溶液,混匀后加入 0.75 mL 30% 硫酸甲醇溶液,避光静置 20 min,于 510 nm 处测定吸光度。以儿茶素标准品制作标准曲线并计算单宁含量。

1.3.3 香蕉果肉酚类物质组成及含量测定 采用超高效液相色谱法。将 5 种香蕉果肉多酚的冻干粉末和多酚标准品分别用甲醇溶解,经过 0.22 μm 滤膜后上样。

根据 Zhang 等^[18]的方法并适当修改,色谱柱为 Agilent C₁₈;检测器为紫外检测器;进样量 10 μL ;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;流速 1.0 mL/min;波长 280 nm;流动相 A 为 0.4% 乙酸水溶液;流动相 B 为乙腈;洗脱梯度:0~40 min B 5%~25%,40~45 min B 25%~50%,45~50 min B 50%~60%;50~55 min B 60%~5%。通过与多酚标准品对比出峰时间,确定所属化合物,通过峰面积计算单体酚含量。

1.3.4 香蕉果肉多酚抗氧化能力测定

(1) DPPH 自由基清除能力:根据肖星凝等^[19]的方法并稍作修改。移取 100 μL 适宜浓度的样品溶液,加入 1 mL 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液,室温下避光静置 30 min 后于 517 nm 测吸光度。用无水乙醇分别代替 DPPH 溶液和样品溶液做对照组和空白组,按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$R_s = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R_s —自由基清除率,%;

A_1 —样品组的吸光度;

A_2 —对照组的吸光度;

A_0 —空白组的吸光度。

(2) ABTS 自由基清除能力:根据韦芳媚^[20]的方法并稍作修改。配制含 7 mmol/L ABTS、2.45 mmol/L K₂S₂O₈ 的混合溶液,避光静置 16 h 以上得到 ABTS 母液,使用前用无水乙醇稀释母液使其在 734 nm 的吸光值为 0.700 ± 0.050。取 0.1 mL 适宜浓度的样品溶液与 1.0 mL ABTS 溶液混合,避光静置 10 min 后于 734 nm 测吸光度,以无水乙醇分别代替 ABTS 溶液和样品溶液做对照组和空白组,按式(1)计算 ABTS 自由基清除率。

(3) 铁离子还原能力:根据郭俊彤^[21]的方法并稍作修改。将 100 mL 30 mmol/L 醋酸钠缓冲溶液(pH 3.6)、10 mL 10 mmol/L TPTZ 溶液(用 40 mmol/L HCl 溶解)以及 10 mL 20 mmol/L FeCl₃ · 6H₂O 均匀混合,使用前在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 10 min。移取 75 μL 适宜浓度的样品溶液,加入 1.43 mL 混合溶液,避光静置 30 min,593 nm 处测定吸光度。

1.3.5 α -葡萄糖苷酶抑制率测定 根据廖天柱^[22]的方法

并稍作修改。将 50 μL 不同浓度的样品溶液与 50 μL α -葡萄糖苷酶(1 U/mL)混合,室温反应 10 min 后,加入 50 μL 5 mmol/L α -pNPG。10 min 后加入 100 μL 20% Na₂CO₃ 终止反应,立即在 405 nm 处测得吸光值,以 PBS 溶液分别代替 α -葡萄糖苷酶溶液和样品溶液做对照组和空白组。以阿卡波糖为阳性对照,按式(2)计算 α -葡萄糖苷酶抑制率。

$$R_i = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R_i — α -葡萄糖苷酶抑制率,%;

A_1 —样品组的吸光度;

A_2 —对照组的吸光度;

A_0 —空白组的吸光度。

1.3.6 抑制动力学 根据谢星等^[23]的方法并稍作修改。保持 α -葡萄糖苷酶的添加量不变(2 U/mL),以不同浓度的 α -pNPG(0.5,1.0,2.0,2.5 mmol/L)为底物,加入 NJ-42 果肉多酚溶液,测定其在 405 nm 处的吸光度。通过 Lineweaver-Burk 双倒数曲线图计算米氏常数(K_m)、最大反应速度(V_{max})、竞争性(K_{ic})和非竞争性抑制常数(K_{iu}),判断 NJ-42 果肉多酚对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型,计算公式:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{[S] \cdot V_{max}} + \frac{1}{V_{max}}, \quad (3)$$

$$S = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{K_m}{\alpha K_{ic}} [I], \quad (4)$$

$$I = \frac{1}{V_{max}} + \frac{1}{\alpha K_{iu} V_{max}} [I], \quad (5)$$

式中:

V —初始反应速度, $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{min})$;

K_m —米氏常数, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

V_{max} —最大反应速度, $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{min})$;

$[S]$ —底物浓度,mmol/L;

S —Lineweaver-Burk 双倒数曲线图中的斜率;

K_{ic} —竞争性抑制常数, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

$[I]$ —多酚质量浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

I —Lineweaver-Burk 双倒数曲线图中的纵截距;

K_{iu} —非竞争性抑制常数, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

α —表观系数。

1.3.7 荧光淬灭 采用荧光分光光度计测定 NJ-42 果肉多酚与 α -葡萄糖苷酶的荧光淬灭光谱。将 0.5 mL 不同浓度的样品溶液与 2 mL α -葡萄糖苷酶溶液混合,分别在 297.15,303.15,307.15 K 下反应 10 min。用 PBS 溶液代替样品溶液作为对照组,激发波长 295 nm、发射波长 300~400 nm,狭缝宽度 2.5 nm。采用 Stern-Volmer 方程判断淬灭类型,计算公式:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q], \quad (6)$$

$$\lg\left(\frac{F_0 - F}{F}\right) = \lg K_a + n \lg [Q], \quad (7)$$

式中：

F_0 、 F ——加入淬灭剂前后的荧光强度；
 K_{sv} ——Stern-Volmer 淬灭常数, mL/mg;
 K_a ——多酚与 α -葡萄糖苷酶的结合常数, mL/mg;
 n ——结合位点数；
 $[Q]$ ——多酚质量浓度, mg/mL。

1.4 数据处理

每组数据平行测定 3 次, 用 Origin 2022 绘图, 用 SPSS(17.0) 软件进行数据分析及显著性检验 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 总酚、黄酮和单宁含量

5 种香蕉果肉的总酚、黄酮和单宁含量见图 1。不同品种香蕉果肉的总酚含量为 4.53~11.51 mg GAE/g DW, 黄酮含量为 6.23~11.72 mg RE/g DW, 单宁含量为 3.70~12.77 mg CE/g DW。不同品种香蕉果肉的活性成分含量差异显著 ($P < 0.05$), 其中, NJ-42 的总酚、黄酮和单宁含量均最高且显著高于其他品种的 ($P < 0.05$)。覃翠钠等^[9]对比了 5 种香蕉的多酚含量, 发现 DP 的总酚含量高于 DB, Aboul-Enein 等^[24]报道埃及不同品种香蕉的黄酮含量为 8.56~16.15 mg RE/g DW, 与试验结果相似。而 Bashmil 等^[25]研究表明, 澳大利亚未成熟香蕉果肉的单宁含量为 1.52 mg CE/g DW, 低于试验的测定结果, 可能是不同的品种或提取溶剂造成的。此外, 香蕉中活性物质的含量还与成熟度、提取方法等因素有关^[26], 比如冷冻干燥技术可以使植物细胞的组织结构发生变化, 促进活性成分的释放^[27]。不同于以往研究中直接对鲜香蕉进行打浆处理, 试验采用真空冷冻干燥法处理采后的香蕉, 可能是其活性成分含量较高的原因。

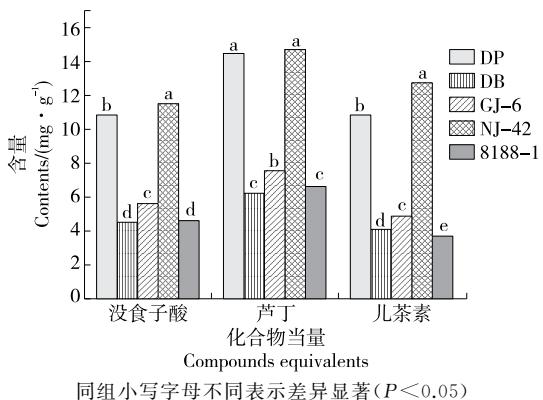


图 1 5 种香蕉果肉的总酚、黄酮和单宁含量

Figure 1 The total polyphenol, flavone and tannins content in five varieties of banana pulps

2.2 5 种香蕉果肉多酚组成及含量

超高效液相色谱表明香蕉果肉多酚中主要含有没食子酸、对羟基苯甲酸、儿茶素、咖啡酸、丁香酸、芦丁、槲皮素和山奈酚 8 种单体酚, 标准品的 HPLC 图谱见图 2, 各组分含量见表 1。

5 种香蕉果肉中, NJ-42 果肉的总多酚含量最高, 其中单体酚含量最高的是儿茶素和芦丁, 含量最低的是丁香酸; DB 果肉的总多酚含量最低, 其中单体酚含量最高的是儿茶素, 含量最低的是对羟基苯甲酸。Axelle 等^[28]检测了法国 6 种热带水果中的酚类组成, 发现香蕉中含量最高的酚类化合物是表没食子儿茶素没食子酸酯, 属于儿茶素类化合物。王娟等^[29]比较了不同提取工艺对香蕉皮中多酚含量的影响, 发现香蕉皮中含有儿茶素、咖啡酸、芦丁等 6 种主要单体酚, 其中儿茶素的含量最高, 上述结果与试验结果相似。

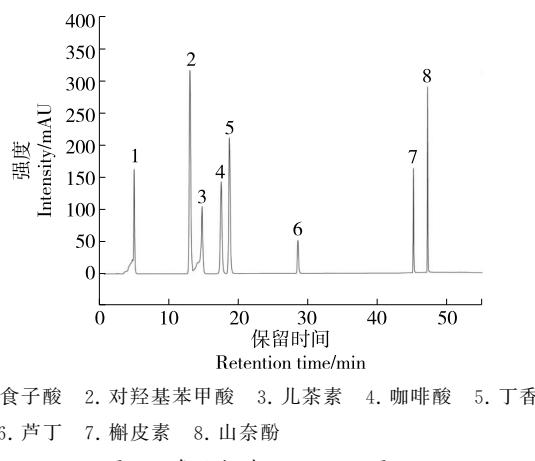


图 2 多酚标准品 HPLC 图

Figure 2 Chromatogram of polyphenol standard mixture

2.3 5 种香蕉果肉多酚提取物的抗氧化活性

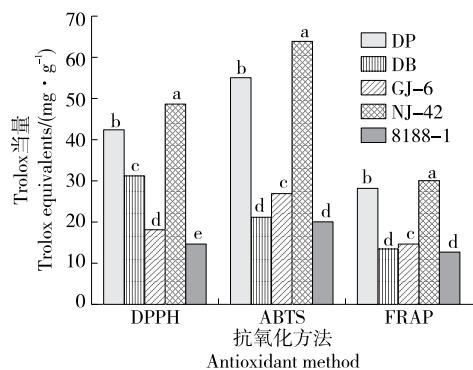
如图 3 所示, 5 种香蕉果肉对 DPPH 自由基的清除能力差异较大, 其中 NJ-42 (48.63 mg TE/g DW) 的清除能力最强, 显著高于 DP (42.38 mg TE/g DW) ($P < 0.05$), 而 8188-1 (14.81 mg TE/g DW) 的清除能力最弱。在不同国家生长的 23 个变异香蕉品种的 DPPH 抗氧化值为 0.68~66.9 mg TE/g^[7], 试验结果与部分品种较为接近。5 种香蕉果肉均对 ABTS 自由基有较强的清除能力, 其清除能力变化范围为 20.02~63.95 mg TE/g DW, NJ-42 的清除能力最强, 而 DB 和 8188-1 的清除能力最弱。根据 Hagerman 等^[30]的研究, 单宁作为高分子量酚类物质, 具有较强的清除 ABTS 自由基的能力, 这也许是试验中香蕉果肉多酚有效清除 ABTS 自由基的原因之一。香蕉果肉还原力的强弱与 ABTS 自由基清除能力一致, 其中, 除 DB 和 8188-1 外, 品种之间有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 1 不同品种香蕉果肉中单体酚的含量[†]

Table 1 Contents of free phenols in different varieties of banana pulps mg/g

品种	没食子酸	对羟基苯甲酸	儿茶素	咖啡酸	丁香酸	芦丁	槲皮素	山奈酚
DP	0.89±0.04 ^d	0.56±0.05 ^c	5.42±0.43 ^b	1.71±0.03 ^a	1.20±0.03 ^a	3.30±0.04 ^b	0.83±0.08 ^b	0.37±0.04 ^c
DB	1.65±0.05 ^b	0.41±0.01 ^d	5.16±0.02 ^b	0.56±0.04 ^e	0.50±0.02 ^b	2.19±0.04 ^d	—	0.54±0.06 ^b
GJ-6	1.22±0.24 ^c	0.57±0.01 ^c	5.68±0.08 ^b	1.27±0.02 ^c	1.03±0.13 ^a	2.78±0.07 ^c	0.99±0.07 ^b	—
NJ-42	2.37±0.04 ^a	2.83±0.06 ^a	7.08±0.24 ^a	1.46±0.01 ^b	1.16±0.01 ^a	4.69±0.28 ^a	2.91±0.04 ^a	1.36±0.08 ^a
8188-1	0.89±0.04 ^d	0.74±0.03 ^b	4.48±0.10 ^c	1.00±0.03 ^d	1.01±0.04 ^a	2.23±0.06 ^d	0.42±0.09 ^c	0.42±0.05 ^{bc}

[†] 同列上标小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)；“—”表示未被检出。



同组小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)

图3 5种香蕉果肉多酚的抗氧化活性

Figure 3 Antioxidant activity of polyphenols in five varieties of banana pulp

Hang 等^[7]研究表明,不同品种香蕉多酚 FRAP 抗氧化能力为 0.32~17.64 mg TE/g, 试验中,DB、GJ-6 和 8188-1 3 种香蕉果肉的结果均处于该范围内,而 NJ-42 (30.08 mg TE/g DW) 和 DP (28.20 mg TE/g DW) 高于该研究结果,这是因为果实的抗氧化活性会因地理位置、品种、收获或贮藏时间的不同而有所差异。

综上,5个香蕉品种的体外抗氧化能力可排序为 NJ-42>DP>GJ-6>DB>8188-1,这一结果也与总酚含量的大小排序一致。研究^[31]表明,许多植物来源物质的抗氧化活性与酚类含量成正比,因此总酚含量与抗氧化活性之间可能存在因果关系。

2.4 5种香蕉果肉多酚对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力

如图4所示,阿卡波糖和5种香蕉果肉多酚均能有效抑制 α -葡萄糖苷酶的活性,且抑制效果呈明显的浓度依赖性。由表2可知,5种香蕉果肉多酚抑制 α -葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 值的顺序为 DB>8188-1>GJ-6>DP>NJ-42。其中,NJ-42 果肉多酚抑制 α -葡萄糖苷酶的效果最强,DB 果肉多酚提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用最弱。虽然5种香蕉果肉多酚对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用均低于阿卡波糖[IC₅₀ 为(22.13±0.68) $\mu\text{g}/\text{mL}$],但其酶抑制作用结果仍表明香蕉果肉多酚可以作为 α -葡萄糖苷酶的有效抑制剂,即香蕉果肉多酚可替代现有的部分治疗药物,进

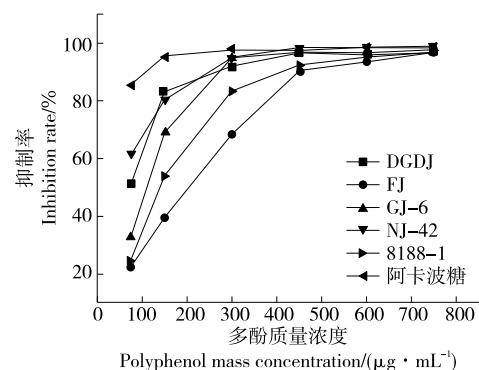


图4 5种香蕉多酚对 α -葡萄糖苷酶的抑制

Figure 4 Inhibition effects of α -glucosidase by five bananas phenolics and acarbose

表 2 5种香蕉果肉多酚抑制 α -葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 值[†]

Table 2 IC₅₀ values of five banana pulps inhibiting α -glucosidase

品种	IC ₅₀ /($\mu\text{g}/\text{mL}$)
DP	39.82±4.95 ^d
DB	219.90±10.43 ^a
GJ-6	99.35±0.96 ^c
NJ-42	28.11±2.09 ^e
8188-1	156.92±2.47 ^b

[†] 同列上标小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

而减少药物的摄入。

2.5 多酚各组分与抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制能力的相关性

由表3可知,咖啡酸、丁香酸、芦丁、槲皮素与 α -葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 值相关性最好,具有极显著相关性($P<0.001$),儿茶素与 α -葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 值相关性次之,具有较显著的相关性($P<0.01$),而没食子酸和山奈酚与之的相关性较弱。研究^[32]表明,黄酮类物质对 α -葡萄糖苷酶活性具有很强的抑制作用,结合 HPLC 鉴定的结果,芦丁可能是香蕉果肉多酚中对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制贡献较大的化合物,高芦丁含量使其能较好地发挥对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用。

表 3 香蕉果肉中主要成分与抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制的 IC_{50} 的相关数值[†]

Table 3 Correlation values of major phenolic components in banana pulp and antioxidant activity and IC_{50} value of α -glucosidase inhibition

指标	GAE	PHBA	CE	CAE	SAE	RE	QE	KE	DPPH	ABTS	FRAP	IC_{50}
GAE	1.000											
PHBA	0.776 ^{**}	1.000										
CE	0.740 ^{**}	0.790 ^{**}	1.000									
CAE	-0.068	0.354	0.447	1.000								
SAE	-0.065	0.396	0.328	0.878 ^{**}	1.000							
RE	0.616 [*]	0.867 ^{**}	0.827 ^{**}	0.671 ^{**}	0.576 [*]	1.000						
QE	0.671 ^{**}	0.943 ^{**}	0.846 ^{**}	0.578 [*]	0.568 [*]	0.944 ^{**}	1.000					
KE	0.791 ^{**}	0.892 ^{**}	0.639 [*]	0.117	0.132	0.706 ^{**}	0.730 ^{**}	1.000				
DPPH	0.580 [*]	0.613 [*]	0.683 ^{**}	0.482	0.242	0.775 ^{**}	0.618 [*]	0.712 ^{**}	1.000			
ABTS	0.451	0.709 ^{**}	0.736 ^{**}	0.789 ^{**}	0.619 [*]	0.906 ^{**}	0.799 ^{**}	0.631 [*]	0.893 ^{**}	1.000		
FRAP	0.391	0.655 ^{**}	0.683 ^{**}	0.796 ^{**}	0.613 [*]	0.882 ^{**}	0.747 ^{**}	0.604 [*]	0.903 ^{**}	0.994 ^{**}	1.000	
IC_{50}	-0.219	-0.599 [*]	-0.655 ^{**}	-0.950 ^{**}	-0.824 ^{**}	-0.851 ^{**}	-0.782 ^{**}	-0.374	-0.656 ^{**}	-0.919 ^{**}	-0.907 ^{**}	1.000

[†] GAE、PHBA、CE、CAE、SAE、RE、QE、KE 分别代表没食子酸、对羟基苯甲酸、儿茶素、咖啡酸、丁香酸、芦丁、槲皮素和山奈酚的含量；* 相关性在 0.05 水平显著，** 相关性在 0.01 水平显著。

由表 3 还可知，香蕉果肉多酚各组分均与其抗氧化值有不同程度的相关性，说明香蕉的抗氧化能力可能与其酚类组成相关。其中，儿茶素、芦丁和 DPPH 抗氧化值、ABTS 抗氧化值、FRAP 抗氧化值均具有极显著的相关性，这是因为黄酮类化合物对多酚抗氧化活性有贡献^[33]。此外，酚类物质的抗氧化能力还取决于它们的分子量、芳香环的数量以及附着在芳香环上的羟基的数量和位置^[34]。

2.6 NJ-42 果肉多酚抑制 α -葡萄糖苷酶活性的机制

2.6.1 动力学分析 由图 5 可知，NJ-42 果肉多酚的 Lineweaver-Burk 曲线呈良好的线性关系，且相交于第二象限。由表 4 可知，随着多酚质量浓度的增加， V_{max} 值下降 ($P<0.05$)， K_m 值上升 ($P<0.05$)，表明香蕉果肉多酚对 α -葡萄糖苷酶是混合型抑制，该结果与谢星等^[23]报道的海蒿子多酚的混合型抑制作用类似，即 NJ-42 果肉多酚既可以与 α -葡萄糖苷酶结合，也可与酶—底物复合物结合。

由表 4 可知，香蕉果肉多酚的 K_{ic} 值 (4.84 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 低于 K_{iu} 值 (18.38 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，其商为 3.79 (介于 2.0~5.0)，表

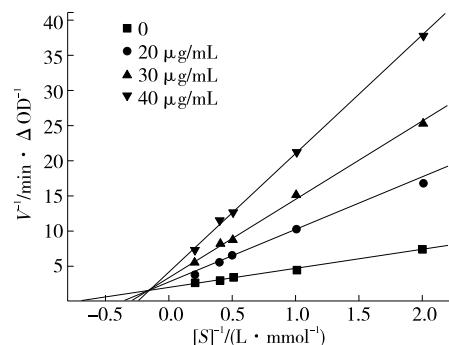


图 5 NJ-42 多酚抑制 α -葡萄糖苷酶的 Lineweaver-Burk 曲线

Figure 5 Lineweaver-Burk plots of the interaction of α -glucosidase with NJ-42 pulp phenolics

明在混合型抑制中竞争型抑制占主导地位，即 NJ-42 果肉多酚与 α -葡萄糖苷酶的结合能力强于酶—底物复合物^[35]。

2.6.2 荧光猝灭分析 如图 6 所示，当激发波长位于 295 nm 时，在 330~340 nm 出现 α -葡萄糖苷酶的最大发

表 4 NJ-42 多酚与 α -葡萄糖苷酶作用后的抑制动力学参数[†]

Table 4 Kinetic parameters for the inhibition of α -glucosidase by banana phenolics

多酚质量浓度 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	V_{max} / ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	K_m / ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	K_{ic} / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	K_{iu} / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
0	0.52 ^a	1.42 ^d	—	—
20	0.37 ^b	2.78 ^c	4.84	18.38
30	0.30 ^c	3.37 ^b		
40	0.24 ^d	4.11 ^a		

[†] 同列上标小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

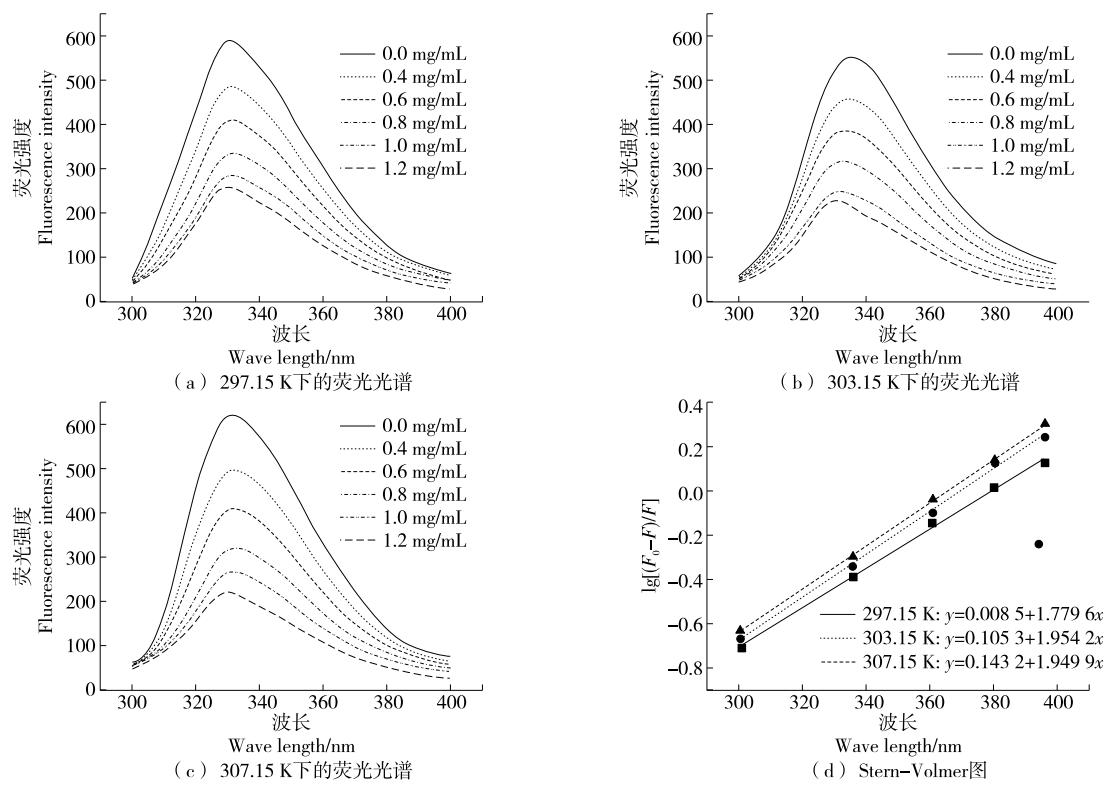
图 6 3 种温度下 NJ-42 果肉多酚与 α -葡萄糖苷酶相互作用的荧光光谱及 Stern-Volmer 图

Figure 6 Fluorescence spectra of the interaction of NJ-42 pulp polyphenolic with α -glucosidase at 297.15 K, 303.15 K and 307.15 K, and Stern-Volmer plots

射峰。同时,最大发射峰的荧光强度随 NJ-42 果肉多酚质量浓度的增加而降低,且最大发射波长出现轻微蓝移,Wu 等^[36]研究的橡子仁多酚与 α -葡萄糖苷酶相互作用的荧光淬灭也呈现了类似的特征。荧光强度的降低表明 NJ-42 果肉多酚可以通过与 α -葡萄糖苷酶结合来淬灭酶的固有荧光,改变了酶的构象;微弱的蓝移表明 α -葡萄糖苷酶周围微环境的极性降低^[36]。此外,从表 5 可知, K_a 值随反应温度的升高而升高,表明 NJ-42 果肉多酚与 α -葡萄糖苷酶的亲和力随温度的升高而变强,推测其淬灭过程可能为放热反应^[16]。

表 5 NJ-42 果肉多酚抑制 α -葡萄糖苷酶的荧光淬灭参数和结合常数

Table 5 Fluorescence quenching parameters and binding constants of NJ-42 pulp polyphenol inhibiting α -glucosidase at different temperatures

T/K	$K_{sv}/(mL \cdot mg^{-1})$	$K_a/(mL \cdot mg^{-1})$	n
297.15	0.493	1.020	1.778
303.15	0.544	1.274	1.954
307.15	0.566	1.391	1.950

3 结论

研究利用超声辅助醇提法萃取 5 种香蕉果肉多酚并测定其抗氧化活性和对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制能力,发现 5 种香蕉果肉多酚提取液均有抗氧化活性,但存在一定差异,其中 NJ-42 的抗氧化能力最强,8188-1 的抗氧化能力最弱。通过单体酚的检测发现儿茶素和芦丁是香蕉多酚中含量最高的单体酚。此外,5 种香蕉果肉多酚均对 α -葡萄糖苷酶有抑制作用,其中 NJ-42 果肉多酚通过混合型抑制的方式抑制酶活,竞争型抑制占主导地位,与 α -葡萄糖苷酶的相互作用为放热反应,在 5 种香蕉果肉多酚中抑制效果最优。以上研究结果表明,香蕉果肉可以作为良好的植物多酚来源用于制备 α -葡萄糖苷酶选择性抑制剂。后续可深入研究香蕉果肉多酚对其他降血糖相关酶的抑制能力,为香蕉果肉在食品工业中的开发及应用以及香蕉果肉多酚的高值化利用提供理论依据。

参考文献

- [1] LI B, XIE B G, LIU J, et al. A study of starch resources with high-amylose content from five Chinese mutant banana species [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 1073368.
- [2] SINGH B, SINGH J P, KAUR A, et al. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits: A review [J]. Food

- Chemistry, 2016, 206: 1-11.
- [3] 王梦阳. 香蕉皮膳食纤维的理化性质及其降血糖效果的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2022: 1-5.
- WANG M Y. Study on physicochemical properties and hypoglycemic effect of banana peel dietary fiber[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2022: 1-5.
- [4] AURORE G, PARFAIT B, FAHRASMANE L. Bananas, raw materials for making processed food products[J]. Trends in Food Science & Technology, 2009, 20(2): 78-91.
- [5] KAN L J, CAPUANO E, FOGLIANO V, et al. Inhibition of α -glucosidases by tea polyphenols in rat intestinal extract and Caco-2 cells grown on Transwell[J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130047.
- [6] UMENO A, HORIE M, MUROTOMI K, et al. Antioxidative and antidiabetic effects of natural polyphenols and isoflavones [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2016, 21(6): 708.
- [7] HANG T V, SCARLETT C J, QUAN V V. Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: A review[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 40: 238-248.
- [8] 彭思琪, 王娟. 香蕉皮总黄酮的提取及其抗氧化和抑制酪氨酸酶的活性[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(20): 132-140.
- PENG S Q, WANG J. Antioxidant activity and inhibition on tyrosinase of total flavonoids extracted from banana peels[J]. Food Research & Development, 2022, 43(20): 132-140.
- [9] 覃翠钠, 李志春, 何雪梅, 等. 基于成熟度研究不同品种香蕉多酚含量及抗氧化活性的差异[J]. 食品工业科技, 2022, 43(22): 52-60.
- QIN C N, LI Z C, HE X M, et al. Polyphenol content and antioxidant capacity from banana with different varieties and maturity[J]. Science & Technology of Food Industry, 2022, 43(22): 52-60.
- [10] 柯薇. 香蕉皮中多酚类物质的抑菌活性研究[J]. 现代食品, 2016(15): 93-95.
- KE W. Study on antimicrobial activity of polyphenols from banana peel[J]. Modern Food, 2016(15): 93-95.
- [11] 郭丽萍. 香蕉皮中多酚物质抗氧化性能的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2006: 56-67.
- GUO L P. Study on antioxidant activity of polyphenol from banana peel[D]. Nanning: Guangxi University, 2006: 56-67.
- [12] 陈超. 刺梨多酚黄酮类物质分离纯化、降血糖活性及机理研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022: 4-8.
- CHEN C. Study on the purification, hypoglycemic activity and mechanism of polyphenol flavonoids of Roxanthia Roxanthi[D]. Guiyang: Guizhou University, 2022: 4-8.
- [13] PAPOUTSIS K, ZHANG J Y, BOWYER M C, et al. Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review [J]. Food Chemistry, 2021, 338: 128119.
- [14] 张顺, 惠哲哲, 王宏亮, 等. 玉兰叶多酚物质提取及特性研究[J/OL]. 中国粮油学报. (2023-04-19) [2023-05-16]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000177>.
- ZHANG S, HUI Z Z, WANG H L, et al. Extraction and characteristics of magnolia polyphenols [J/OL]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association. (2023-04-19) [2023-05-16]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000177>.
- [15] LIU Y, CHEN L, XU H, et al. Understanding the digestibility of rice starch-gallic acid complexes formed by high pressure homogenization [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 134: 856-863.
- [16] 杨成峻, 陈明舜, 刘成梅, 等. 花椒果皮多酚类成分鉴定及降血糖活性[J]. 食品科学, 2023, 44(2): 271-278.
- YANG C J, CHEN M S, LIU C M, et al. Chemical composition and hypoglycemic activity of phenolic extract from Zanthoxylum bungeanum pericarps[J]. Food Science, 2023, 44(2): 271-278.
- [17] FENG Y, DUNSHEA F R, SULERIA H A R. LC-ESI-QTOF/MS characterization of bioactive compounds from black spices and their potential antioxidant activities[J]. Journal of Food Science & Technology, 2020, 57(1): 4 671-4 687.
- [18] ZHANG R Q, ZENG Y, DENG M, et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China[J]. Food Chemistry, 2013, 136(3): 1 169-1 176.
- [19] 肖星凝, 李苇舟, 石芳, 等. 不同品种李子多酚组成及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2017, 38(15): 31-37.
- XIAO X N, LI W Z, SHI F, et al. Antioxidant activity and phenolic contents of peel and pulp of different plum varieties [J]. Food Science, 2017, 38(15): 31-37.
- [20] 韦芳媚. 桑叶提取物、茶多酚及其复配物的抗氧化和降血糖活性[D]. 广州: 华南理工大学, 2019: 28-44.
- WEI F M. Antioxidant and hypoglycemic activities of mulberry leaf extract, tea polyphenols and their compounds[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019: 28-44.
- [21] 郭俊彤. 覆盆子多酚的提取、抗氧化活性及胃肠道可及性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2021: 20-37.
- GUO J T. Study on extraction, antioxidant activity and gastrointestinal accessibility of raspberry polyphenols[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2021: 20-37.
- [22] 廖天柱. 六种含笑属植物提取物的多酚成分及生物活性研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2022: 22-39.
- LIAO T Z. Study on polyphenol constituents and biological activities of extracts of six Michelia L. species [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2022: 22-39.
- [23] 谢星, 王思宇, 王佩欣, 等. 海蒿子多酚组分的化学成分、抗氧化和降血糖活性分析[J]. 食品科学, 2023, 44(10): 281-290.
- XIE X, WANG S Y, WANG P X, et al. Chemical composition, antioxidant and hypoglycemic activities of phenolics fractions from Sargassum pallidum[J]. Food Science, 2023, 44(10): 281-290.
- [24] ABOUL-ENEIN A M, SALAMA Z A, GAAFAR A A, et al. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradaisica* L.) as antioxidant and antimicrobial agents[J]. Journal

- of Chemical and Pharmaceutical Research, 2016, 8: 46-55.
- [25] BASHMIL Y M, ALI A, BK A, et al. Screening and characterization of phenolic compounds from Australian grown bananas and their antioxidant capacity[J]. Antioxidants, 2021, 10: 1 521.
- [26] LI D N, MENG X J, LI B. Profiling of anthocyanins from blueberries produced in China using HPLC-DAD-MS and exploratory analysis by principal component analysis[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2016, 47: 1-7.
- [27] CASTAGNINI J M, BETORET N, BETORET E, et al. Vacuum impregnation and air drying temperature effect on individual anthocyanins and antiradical capacity of blueberry juice included into an apple matrix[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 64(2): 1 289-1 296.
- [28] AXELLE S M, GIOVEDIE S, ELISABETH D, et al. Evaluation of nutritional and antioxidant properties of the tropical fruits banana, litchi, mango, papaya, passion fruit and pineapple cultivated in Réunion French Island[J]. Food Chemistry, 2016, 212: 225-233.
- [29] 王娟, 谢静, 张伟, 等. 香蕉皮中6种多酚的HPLC检测及制备工艺研究[J]. 食品工业, 2016, 37(3): 187-190.
WANG J, XIE J, ZHANG W, et al. Determination and preparation of six polyphenols in banana peel by HPLC method and the influence of extraction condition on components' contents[J]. Food Industry, 2016, 37(3): 187-190.
- [30] HAGERMAN A E, RIEDL K M, JONES G A, et al. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46: 1 887-1 892.
- [31] RICE-EVANS C, MILLER N, PAGANGA G. Antioxidant properties of phenolic compounds[J]. Trends in Plant Science, 1997, 2(4): 152-159.
- [32] CARDULLO N, MUCCILI V, PULVIRENTI L, et al. C-glucosidic ellagitannins and galloylated glucoses as potential functional food ingredients with anti-diabetic properties: A study of α -glucosidase and α -amylase inhibition[J]. Food Chemistry, 2020, 313: 126099.
- [33] ABDENNACER B, KARIM M, YASSINE M, et al. Determination of phytochemicals and antioxidant activity of methanol extracts obtained from the fruit and leaves of Tunisian *Lycium intricatum* Boiss[J]. Food Chemistry, 2014, 174: 577-584.
- [34] LI H B, WONG C C, CHENG K W, et al. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants[J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41 (3): 385-390.
- [35] NI M T, HU X, GONG D M, et al. Inhibitory mechanism of vitexin on α -glucosidase and its synergy with acarbose [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105824.
- [36] WU M X, YANG Q X, WU Y W, et al. Inhibitory effects of acorn (*Quercus variabilis* Blume) kernel-derived polyphenols on the activities of α -amylase, α -glucosidase, and dipeptidyl peptidase IV [J]. Food Bioscience, 2021, 43(4): 101224.

(上接第 138 页)

- [12] 韩馨仪, 赵松松, 刘斌, 等. 分体式空调室内气流组织 CFD 仿真优化[J]. 制冷与空调, 2021, 21(11): 41-45.
HAN X Y, ZHAO S S, LIU B, et al. CFD simulation and optimization of indoor air flow organization in split air conditioning[J]. Refrigeration and Air-Conditioning, 2021, 21(11): 41-45.
- [13] 王少鹏, 张益诚, 罗君, 等. 基于空气制冷系统的高密度冷库降温—维持工况仿真计算特性分析[J]. 船海工程, 2022, 15(5): 37-41.
WANG S P, ZHANG Y C, LUO J, et al. Simulation calculation of cooling and maintenance condition of high density cold storage based on air refrigeration system[J]. Ship & Ocean Engineering, 2022, 15(5): 37-41.
- [14] 段宇飞, 寿旭日, 童欢, 等. 船用高温冷库气流组织对温度分布的影响[J]. 船舶工程, 2021, 43(12): 126-131, 171.

(上接第 152 页)

- [31] YI R K, WEI Y X, TAN F G, et al. Antioxidant capacity-related preventive effects of Shoumei (slightly fermented *Camellia sinensis*) polyphenols against hepatic injury [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020, 2 020(19): 1-17.
[32] 蒋丽, 殷劲. 当归红花汤对糖酵解供能条件下力竭性游泳训

- DUAN Y F, SHOU X R, TONG H, et al. Effect of air distribution on temperature distribution in marine high temperature cold storage[J]. Ship Engineering, 2021, 43(12): 126-131, 171.
[15] 沈希, 晏晓燕, 黄跃进, 等. 制冷压缩机变工况运行的热力性能研究[J]. 制冷学报, 2009, 30(6): 15-19.
SHEN X, WANG X Y, HUANG Y J, et al. Thermodynamic performance of refrigeration compressor running at variable condition[J]. Journal of Refrigeration, 2009, 30(6): 15-19.
[16] 张晟, 张晓虎, 赵亮, 等. 基于 Ergun 方程的菱镁球团填充床层阻力特性实验[J]. 东北大学学报(自然科学版), 2021, 42(3): 347-352.
ZHANG S, ZHANG X H, ZHAO L, et al. Experiment of resistance characteristics for magnesite pellets packed bed based on ergun equation[J]. Journal of Northeastern University (Natural Science), 2021, 42(3): 347-352.

- 练小鼠耐缺氧能力、抗疲劳能力的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(18): 4 492-4 494.
JIANG L, YIN Q. Effects of Danggui Honghua decoction on hypoxia tolerance and fatigue resistance of exhaustive swimming training mice under glycolysis energy supply condition[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2013, 33(18): 4 492-4 494.