

文章编号: 1673-1689(2011)05-0641-07

# 黄粉虫多糖响应面法提取及抗氧化活性

何钊<sup>1,2</sup>, 冯颖\*<sup>1,2</sup>, 孙龙<sup>1,2</sup>, 陈智勇<sup>1,2</sup>, 陈晓鸣<sup>1,2</sup>

(1. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224; 2. 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室, 云南 昆明 650224)

**摘要:** 采用响应面分析法研究黄粉虫多糖提取的工艺条件, 同时检测提取多糖的抗氧化活性。通过对关键影响因子的最佳水平范围的研究, 依据回归分析确定了黄粉虫多糖最佳提取条件为: 提取温度 90 °C、液固比 12、提取时间 158 min, 在此条件下黄粉虫多糖提取率的理论值为 1.99%, 实测值为 1.94%。分析表明, 黄粉虫多糖主要由葡萄糖组成, 并含少量甘露糖和半乳糖。体外抗氧化试验显示, 黄粉虫多糖具有一定的抗氧化作用, 可作为潜在的天然抗氧化剂来源。

**关键词:** 黄粉虫; 多糖; 响应面; 抗氧化

中图分类号: Q 539

文献标识码: A

## Optimization of Extraction Process by Using Response Surface Methodology and Antioxidant Activity of Polysaccharide from Yellow Mealworm

HE Zhao<sup>1,2</sup>, FENG Ying\*<sup>1,2</sup>, SUN Long<sup>1,2</sup>, CHENG Zhi-yong<sup>1,2</sup>, CHENG Xiao-ming<sup>1,2</sup>

(1. Research Institute of Resource Insects, CAF, Kunming 650224, China; 2. Key Laboratory of Cultivation and Utilization of Resource Insects, State Forestry Administration, Kunming 650224, China)

**Abstract:** In this study, response surface analysis methodology (RSM) was applied to optimize the extraction conditions of polysaccharide from yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.). Antioxidant capability of the polysaccharide was studied in vitro. The optimal range of key factors were studied by regression analysis and listed as follows: temperature 90 °C, time 158 min, the ratio of liquid to solid 12. With the optimum conditions, the yield of polysaccharide was achieved at 1.94% (the predicted yield was 1.99%). The polysaccharide from yellow mealworm was constituted glucose mainly, mannose and galactose. The results also demonstrated that yellow mealworm polysaccharide has antioxidant activity in vitro, which means it could be explored as a potential natural antioxidant.

**Key words:** yellow mealworm, polysaccharide, response surface methodology, antioxidant activity

多糖是广泛存在于自然界的天然高分子化合物, 具有增强机体免疫、抗肿瘤、降血糖、抗衰老等

收稿日期: 2010-09-05

基金项目: 国家林业局引进国外先进农业技术项目(20064116)。

作者简介: 何钊(1976-), 男, 浙江义乌人, 药用昆虫学博士研究生。Email: hezhao@163.com

\* 通信作者: 冯颖(1960-), 女, 云南昆明人, 理学博士, 研究员, 博士研究生导师, 主要从事药用昆虫学方面的研究。Email: yingf@hotmail.com

多种生物活性<sup>[1]</sup>。近年来对植物来源多糖和真菌来源多糖的自由基清除、抗氧化功效研究报道较多<sup>[2]</sup>,对昆虫来源多糖的提取和活性研究相对较少。已有的研究主要涉及昆虫多糖免疫活性等方面,如蚕蛹多糖<sup>[3-4]</sup>能够增强小鼠的非特异性免疫、细胞免疫和体液免疫;蟑螂多糖<sup>[5]</sup>具有非特异性免疫和体液免疫功能;虻虫多糖<sup>[6]</sup>具有抗凝血作用等。目前还未见昆虫多糖的抗氧化活性研究的报道。

黄粉虫(*Tenebrio molitor* L.)属昆虫纲、鞘翅目、拟步甲科、粉甲属,又称黄粉甲,俗称面包虫<sup>[7]</sup>。营养分析表明黄粉虫具有高蛋白、高脂肪且氨基酸含量全面<sup>[8]</sup>,人工饲养繁殖较易,幼虫已作为高蛋白活体饲料广泛用于鸟类、牛蛙等经济动物的饲养,经过加工可以作为食用昆虫<sup>[7]</sup>。此外,研究发现,黄粉虫中还含有具有生物活性的抗氧化肽<sup>[9]</sup>、抗菌肽<sup>[10]</sup>和抗冻蛋白<sup>[11]</sup>,但对黄粉虫中多糖组分的提取和抗氧化活性还未见研究报道。作者在单因素试验的基础上,应用响应面曲线法对黄粉虫幼虫多糖提取工艺进行优化,并对提取的多糖的性质和体外进行抗氧化活性进行了研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 黄粉虫** 幼虫购至云南昆明景星花鸟市场,60℃下烘干后粉碎过30目筛脱脂后备用。

**1.1.2 实验试剂** 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP):美国Acros公司;葡萄糖(Glc):上海生工;阿拉伯糖(Ara)、木糖(Xyl)、鼠李糖(Rha)、甘露糖(Man)、半乳糖(Gal):美国Acros公司;二苯代苦味肼基自由基(DPPH·)、三吡啶三吡嗪(tripyriddy-triazine, TPTZ):美国Sigma公司;其余试剂皆为分析纯。

**1.1.3 FRAP试剂** 10 mmol/L的TPTZ(用40 mmol/L盐酸溶解),20 mmol/L的FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O和pH 3.6的乙酸缓冲液以1:1:10的体积比混匀,在37℃下保温备用。

**1.1.4 仪器** Beckman-Coulter DU 800 核酸蛋白分析仪、Beckman-Coulter P/ACE MDQ 高效毛细管电泳仪及相应工作站,二极管阵列检测器(DAD),50 μm×58.5 cm 石英毛细管,有效长度50 cm,河北永年锐泽色谱器件有限公司制造。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 多糖提取** 黄粉虫样品中加入一定体积(液固比为5~20)NaOH溶液(0~0.05 mol/L),水浴(50~90℃)搅拌提取60~300 min,共提取3次,

过滤后合并滤液减压浓缩,浓缩液中加入4倍体积无水乙醇沉淀多糖,沉淀加蒸馏水溶解后用Sevag试剂萃取10次脱蛋白质,脱蛋白质后的溶液减压浓缩后再加乙醇沉淀,真空干燥得到黄粉虫粗多糖,测定多糖含量并计算提取率。

**1.2.2 响应面试验设计** 在单因素试验的基础上,确定0.02 mol/L NaOH为提取液。根据Box-Behnken中心组合试验设计原理,选择对多糖提取率影响较大的3个因素:液固比、提取时间、提取温度为自变量,多糖提取率为响应值,设计三因素三水平响应面分析试验。具体试验因素与水平数见表1。

表1 响应面试验因素与水平表

Tab. 1 Variables and levels in the three-variable, three-level Box-Behnken experimental design

水平	因素		
	X <sub>1</sub> 提取时间/ min	X <sub>2</sub> 提取温度/ ℃	X <sub>3</sub> 液固比
-1	120	70	5
0	150	80	10
1	180	90	15

**1.2.3 黄粉虫多糖性质分析** 多糖含量分析:采用苯酚-硫酸法<sup>[4]</sup>;蛋白质含量分析:采用福林-酚法<sup>[5]</sup>;黄粉虫多糖中单糖组成分析:采用柱前PMP衍生-毛细管电泳法<sup>[12]</sup>。

**1.2.4 黄粉虫多糖体外抗氧化活性**

1) 总还原能力:采用铁离子总还原/抗氧化能力(Ferric reducing/antioxidant power, FRAP)法<sup>[13]</sup>,0.1 mL不同浓度(0.05~1.0 mg/mL)多糖溶液,加入3.9 mL FRAP试剂,混匀后37℃反应10 min,593 nm下测定吸光值。以去离子水作为空白对照,样品还原能力以达到同样吸光度所需的FeSO<sub>4</sub>的摩尔浓度表示。以维生素C为阳性对照。

2) 清除DPPH·自由基<sup>[14]</sup>:0.4 mmol/L DPPH·乙醇溶液0.2 mL与1.0 mL不同质量浓度(0.05~10.0 mg/mL)的多糖样品混和,再加2 mL去离子水,充分混匀后在暗处静置30 min,517 nm处测定其吸光度。清除率计算公式为:清除率(%)=[A<sub>0</sub>-(A<sub>i</sub>-A<sub>j</sub>)]/A<sub>0</sub>×100%,式中A<sub>i</sub>为样品与DPPH·反应后体系的吸光度;A<sub>j</sub>为样品本身吸光度(以0.2 mL乙醇替代DPPH·);A<sub>0</sub>为未加样品空白值(以去离子水替代样品)的吸光度。以维生素C为阳性对照。

3) 清除·OH自由基<sup>[15-16]</sup>:采用Fenton反应产生羟自由基。反应体系中含0.5 mL

8.8 mmol/L  $H_2O_2$ , 0.5 mL, 9 mmol/L  $FeSO_4$ , 0.5 mL, 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液、不同浓度(0.05~2.0 mg/mL)多糖 4 mL, 混匀后加 0.5 mL, 9 mmol/L  $H_2O_2$  启动反应, 37 °C 水浴反应 30 min, 在 510 nm 下测量吸光值。清除率计算公式为:  $\cdot OH$  清除率(%) =  $[A_0 - (A_i - A_j)]/A_0 \times 100\%$ , 式中,  $A_0$  为未加样品(以去离子水代替样品)的空白对照液吸光度;  $A_i$  为加入多糖溶液后反应体系的吸光度;  $A_j$  为不加  $H_2O_2$  的多糖溶液(以去离子水代替  $H_2O_2$ ) 本底吸光度。以维生素 C 为阳性对照。

4) 清除超氧阴离子( $O_2^{\cdot -}$ )活性<sup>[17]</sup>: 采用邻苯三酚自氧化法测定清除  $O_2^{\cdot -}$  活性。50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 8.0, 含 1 mmol/L EDTA) 2.8 mL 与 0.1 mL 各质量浓度(1~10 mg/mL)样品混和, 置于 25 °C 水浴中预热 20 min, 再加入 0.2 mL、6 mmol/L 邻苯三酚溶液(以 10 mmol/L HCl 配制), 迅速混匀并计时, 以 10 mmol/L HCl 为参比, 325 nm 处每隔 30 s 测定反应体系的吸光值, 记录前 4 分钟, 吸光度值随时间的变化值(邻苯三酚自氧化速率)。清除率计算公式为:  $O_2^{\cdot -}$  抑制率(%) =  $(1 - \text{样品自氧化速率}/\text{空白自氧化速率}) \times 100\%$ 。以 VC 为阳性对照。

### 1.3 数据处理

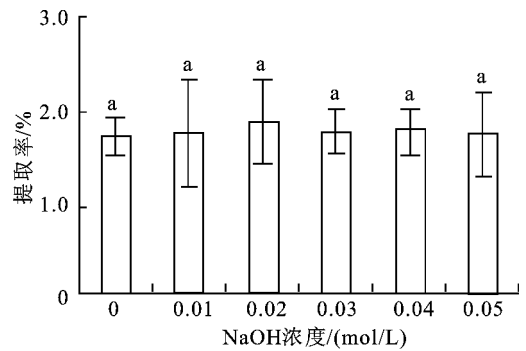
试验重复 3 次进行, 数据处理采用 Excel 2003 和 Spss 16.0 软件处理, 结果采用  $\bar{x} \pm S_d$  表示, 组间差异比较采用 Duncan 方差分析。采用 Design-Expert 7.1 软件进行响应面试验的设计和分

## 2 结果与分析

### 2.1 黄粉虫多糖提取单因素试验结果

**2.1.1 碱液浓度对黄粉虫多糖提取率的影响** 试验选择 0、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 mol/L NaOH 溶液浓度进行黄粉虫多糖提取, 其余条件为液固比 10、提取温度 90 °C、提取时间 180 min。不同浓度 NaOH 溶液对黄粉虫多糖提取率的影响见图 1。在试验范围内, NaOH 浓度对黄粉虫多糖的提取率有一定的影响, 但方差分析表明, 各浓度下的提取率无显著性差异。由于在 0.02 mol/L 浓度下黄粉虫多糖的提取率较高, 而且在此浓度下提取多糖后的提取液 pH 降至 6~7, 故选择 0.02 mol/L NaOH 为提取黄粉虫多糖溶液。

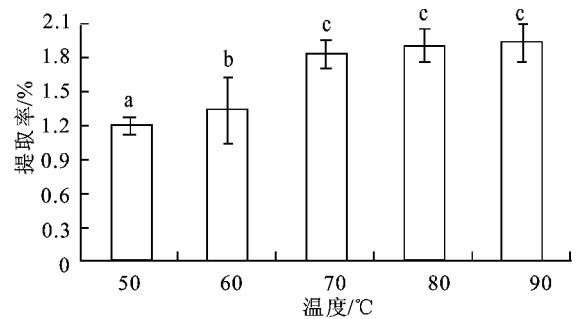
**2.1.2 温度对黄粉虫多糖提取率的影响** 试验分别在 50、60、70、80、90 °C 下以 10 倍体积(v/w) 0.02 mol/L NaOH 溶液搅拌提取 180 min, 结果见图 2。



相同字母表示差异不显著, 不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 1 NaOH 浓度对黄粉虫水溶多糖提取率的影响

Fig. 1 Effect of NaOH concentrations on the polysaccharide yield from yellow mealworm



相同字母表示差异不显著, 不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 2 温度对黄粉虫多糖提取率的影响

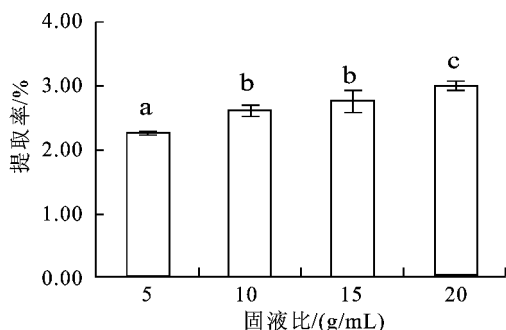
Fig. 2 Effect of different temperatures on the polysaccharide yield from yellow mealworm

由图 2 可知, 黄粉虫多糖提取率随着提取温度的提高而相应增加。方差分析表明, 50、60 °C 下提取率与 70、80、90 °C 下提取率存在显著性差异, 70、80、90 °C 的多糖提取率无显著性差异, 选择 70~90 °C 进行优化。

**2.1.3 液固比对黄粉虫多糖提取率的影响** 试验选择 5、10、15、20 的液固比条件下以 0.02 mol/L NaOH 溶液, 70 °C 下提取黄粉虫多糖, 提取时间 180 min, 结果见图 3。黄粉虫多糖的提取率随液固比增加而增加。但由于多糖提取后还需要进行浓缩和沉淀, 液固比较大对后续试验带来不便, 因此选择液固比为 5~15 进行优化。

**2.1.4 提取时间对黄粉虫多糖提取率的影响** 选择 30~300 min 的提取时间, 70 °C 下以 10 倍体积 0.02 mol/L NaOH 提取黄粉虫多糖, 结果见图 4。由图 4 可知, 提取时间在 120 min 以前, 黄粉虫多糖提取率随时间延长而显著提高, 120 min 后开始增加缓慢, 180 min 时达到最大, 此后开始逐渐降低。这可能是由于随着提取时间的增加, 长时间的热效应使得多糖分子开始降解, 形成对提取率的负效

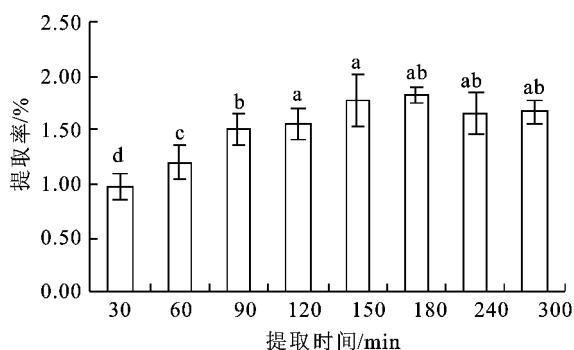
应。因此提取时间选择 120~180 min 进一步优化。



相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

图3 液固比对黄粉虫多糖提取的影响

Fig. 3 Effect of different ratios of liquid to solid on the polysaccharide yield from yellow mealworm



相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

图4 提取时间对黄粉虫多糖提取的影响

Fig. 4 Effect of different extracting times on the polysaccharide yield from yellow mealworm

## 2.2 响应面曲线法优化黄粉虫多糖提取

根据单因素试验结果,确定提取液为 0.02 mol/L NaOH,选取提取温度、提取时间和液固比 3 个因素设计响应面实验,研究三因素不同组合对多糖提取率的影响。试验因素和水平及试验结果见表 2。其中标准序的 1~12 为析因点实验,13~17 为中心点实验,共重复 5 次。

表 2 Box-Behnken 试验设计及黄粉虫多糖提取响应值

Tab. 2 Arrangement and result of the three-variable, three-level Box-Behnken experimental design

标准序	运行序	$X_1$ 提取温度/ $^{\circ}\text{C}$	$X_2$ 提取时间/min	$X_3$ 液固比/(ml/g)	响应值 Y 提取率/%
14	1	80	150	10	1.90
3	2	70	180	10	1.78
12	3	80	180	15	1.76
9	4	80	120	5	1.59
17	5	80	150	10	1.85
1	6	70	120	10	1.56
7	7	70	150	15	1.79

续表 2

标准序	运行序	$X_1$ 提取温度/ $^{\circ}\text{C}$	$X_2$ 提取时间/min	$X_3$ 液固比/(ml/g)	响应值 Y 提取率/%
16	8	80	150	10	1.78
8	9	90	150	15	1.89
13	10	80	150	10	1.85
15	11	80	150	10	1.83
10	12	80	180	5	1.60
11	13	80	120	15	1.72
4	14	90	180	10	1.97
2	15	90	120	10	1.83
5	16	70	150	5	1.57
6	17	90	150	5	1.87

利用 Design-Expert 7.1 软件进行试验结果的数据分析,二次回归拟合得到黄粉虫多糖提取率回归方程:  $Y = 1.84 + 0.11X_1 + 0.051X_2 + 0.066X_3 - 0.02X_1X_2 - 0.05X_1X_3 + 0.0075X_2X_3 + 0.028X_1^2 - 0.085X_2^2 - 0.090X_3^2$ 。回归方程项前系数的显著性检验见表 3。表中  $P > F$  值表示大于  $F$  值的概率,根据  $P$  值判断( $P < 0.05$ ),因素提取温度( $X_1$ )、提取时间( $X_2$ )、液固比( $X_3$ )、 $X_2 \times X_2$ 及  $X_3 \times X_3$ 对多糖的提取率有显著性影响,其余交互项等不显著。其中在实验范围内三因素对提取率影响程度为:提取温度 > 液固比 > 提取时间。回归方程的方差分析表明,相关系数平方  $R^2 = 0.9189$ ,校正相关系数平方为 0.8146,回归方程与实验数据具有一定契合度,可以分析和预测试验数据;模型变异系数 CV 为 3.02, CV 值越低表明试验稳定性越好<sup>[18]</sup>。综上所述,该回归方程可用于描述黄粉虫多糖提取工艺的各因素与提取率间的关系。

表 3 回归方程显著性检验

Tab. 3 Significance test for coefficients of the regression model developed

项	系数	系数标准差	均方	F 值	P 值 ( $P > F$ )
$X_1$	0.11	0.019	0.025	31.95	0.0008
$X_2$	0.051	0.019	0.092	7.26	0.0309
$X_3$	0.066	0.019	0.021	12.13	0.0102
$X_1X_2$	-0.02	0.027	0.0016	0.55	0.4813
$X_1X_3$	-0.05	0.027	0.01	3.46	0.1054
$X_2X_3$	-0.0075	0.027	0.0002	0.078	0.7884
$X_1^2$	0.028	0.026	0.003	1.12	0.3250
$X_2^2$	-0.085	0.026	0.03	10.45	0.0144
$X_3^2$	-0.090	0.026	0.034	11.72	0.0111

续表 3

项	系数	系数标准差	均方	F 值	P 值 ( $Pr > F$ )
模型			0.025	8.81	0.0045
线性			0.01	5.57	0.0568
失拟			0.00426	2.28	0.2216
纯误差			0.00187		
残差			0.00289		

图 5 为根据回归方程所绘制的响应面分析图和等高线关系图。从图 5 可以看出,随着提取温度的升高,提取率逐渐增加,但液固比和提取温度在达到一定值后开始下降,通过分析得到黄粉虫提取优化后的工艺条件为:90 °C 下以液固比 12 3(v/w) 提取 157.5 min,理论提取率为 1.99%;结合实际条件调整提取条件为 90 °C 下液固比 12(v/w) 提取 158 min,根据优化条件进行 3 次验证试验,实际平均提取率为(1.94±0.4)%,与理论值基本符合,证明该模型得出的黄粉虫多糖提取的参数是可行的,具有实用价值。

### 2.3 黄粉虫多糖的性质

提取的黄粉虫多糖为土黄色粉末,糖质量分数为 7.6%(以葡萄糖计);蛋白质质量分数为 52.9%(以牛血清白蛋白计);组成黄粉虫多糖的单糖主要

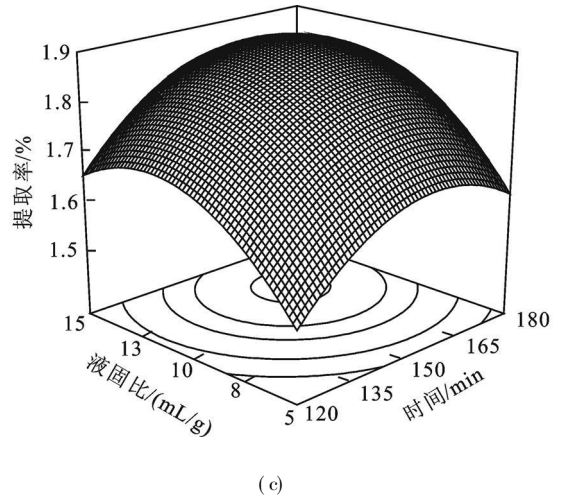


图 5 提取时间、提取温度及液固比对提取率的响应面与等值线

Fig. 5 Response surface plot and contour plots showing the effect of extracting temperature, time and ratio of liquid to solid on the polysaccharide yield from yellow mealworm

为葡萄糖,还含有少量的甘露糖和半乳糖,各单糖组成的摩尔比为葡萄糖:甘露糖:半乳糖= 10.3:1:1.3。分析结果表明,本研究条件下提取的黄粉虫多糖可能为富含葡萄糖的多糖-蛋白质复合物。

### 2.4 黄粉虫多糖体外抗氧化活性

2.4.1 总还原力 FRAP 抗氧化体系反映样品的总还原力,FRAP 值越大表明抗氧化剂的还原能力越强,抗氧化活性越高<sup>[19]</sup>。由图 6 可知,黄粉虫多糖和 Vc 的 FRAP 随着多糖质量浓度的升高而增强,且具有良好的线性关系,表明黄粉虫多糖质量浓度与其还原力呈正相关,但低于 Vc 的总还原力。

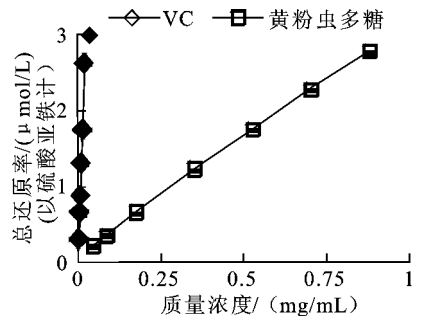
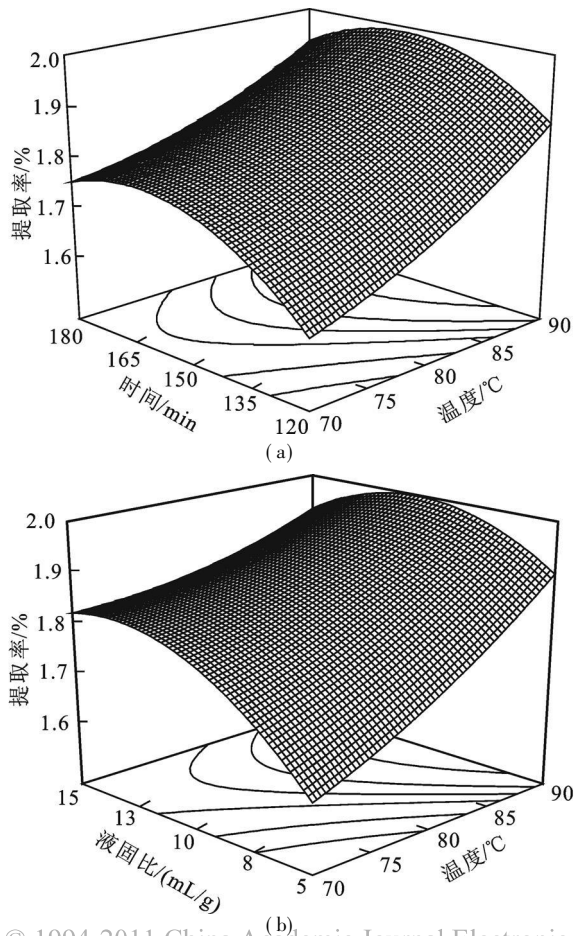


图 6 黄粉虫多糖铁离子还原/抗氧化能力

Fig. 6 Ferric reducing/antioxidant power of polysaccharide extracted from yellow mealworm

2.4.2 清除 DPPH·能力 DPPH·在有机溶剂中是一种稳定的氮自由基,通过测定与自由基清除剂反应前后吸收减弱的程度,可评价自由基清除剂的活性<sup>[18]</sup>。由图 7 可见,黄粉虫多糖对 DPPH·存在一定的清除能力。在 0.055~0.88 mg/mL 范围



内,随着质量浓度的升高,清除 DPPH· 自由基能力逐渐增加,两者之间具有量效关系,当黄粉虫多糖质量浓度达到 1.65 mg/mL 后,清除率趋于稳定。由图 7 计算出对黄粉虫多糖对 DPPH· 清除率为 50% 时的浓度 ( $IC_{50}$  值) 为 0.65 mg/mL, 高于 Vc 的  $IC_{50}$  值(0.050 mg/mL)

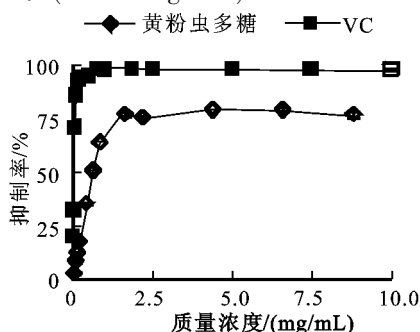


图 7 黄粉虫多糖清除 DPPH· 能力

Fig. 7 Scavenging effects of polysaccharide extracted from yellow mealworm on DPPH radical

**2.4.3 清除羟自由基能力** 羟自由基是人体中最活泼、对机体危害较大的自由基<sup>[20]</sup>。黄粉虫多糖对羟自由基的清除率见图 8。多糖质量浓度低于 0.5 mg/mL 时,对羟自由基的清除率随质量浓度的增加缓慢增强,当多糖质量浓度高于 0.5 mg/mL 后,清除率随多糖质量浓度的变化较为明显,当多糖质量浓度为 1.76 mg/mL 时,对羟自由基的清除率达到 99.3%。由图 8 得黄粉虫多糖清除羟自由基的  $IC_{50}$  值为 0.67 mg/mL, 高于 VC 的  $IC_{50}$  值(0.047 mg/mL)。

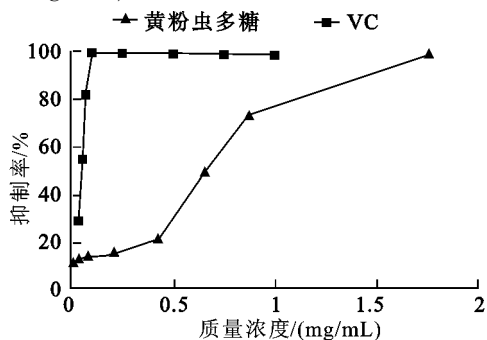


图 8 黄粉虫多糖清除·OH 能力

Fig. 8 Scavenging effects of polysaccharide extracted from yellow mealworm on hydroxyl radical

**2.4.4 清除超氧阴离子** 试验结果见图 9。黄粉虫多糖对超氧阴离子的清除能力随浓度的增加而增强,存在一定的量效关系;但在实验范围内,黄粉虫多糖对超氧阴离子的清除率均在 50% 以下,表明在实验范围内黄粉虫多糖对  $O_2^{\cdot-}$  有一定的清除能力,但效果较不显著。

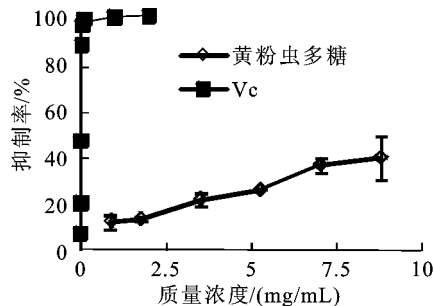


图 9 黄粉虫多糖清除  $O_2^{\cdot-}$  能力

Fig. 9 Scavenging effects of polysaccharide extracted from yellow mealworm on superoxide radical

### 3 结 语

采用响应面曲线法对黄粉虫多糖提取过程中各因素进行优化,得到最佳提取工艺条件: 0.02 mol/L NaOH 在 90 °C 下以液固比 12 (v/w) 提取 158 min, 并进行了验证试验。分析表明: 黄粉虫多糖可能为蛋白质多糖的复合物, 多糖部分主要由葡萄糖组成, 还含有少量的甘露糖和半乳糖; 对提取的黄粉虫多糖进行体外抗氧化性能研究表明, 其具有一定的清除自由基能力。

通过响应面优化法可以确定各因素及其交互作用在工艺过程中对响应值的影响, 精确表达因素和响应值之间的关系, 并为寻找最优试验条件并降低开发的时间和成本<sup>[21]</sup>。作者采用响应面法优化从黄粉虫中进行多糖提取工艺优化, 能有效降低工艺条件组合的复杂性, 为黄粉虫综合利用和黄粉虫多糖的产业化提供理论指导。

多糖作为一种天然抗氧化剂能够清除自由基, 可减少自由基对人体的损伤及减缓慢性疾病的发生<sup>[22]</sup>。体外抗氧化试验表明, 黄粉虫多糖同样具有清除自由基能力, 同黄粉虫体内提取的抗氧化肽<sup>[9]</sup>相比, 多糖在清除羟自由基和超氧阴离子方面均强于抗氧化肽, 但弱于维生素 C 的抗氧化能力。维生素 C 是酸性多羟化合物, 能通过逐级供给电子而实现清除活性氧自由基<sup>[23]</sup>。作者提取的黄粉虫多糖的抗氧化能力明显弱于维生素 C, 可能其供电子不及维生素 C。同时有研究认为, 多糖中的糖醛酸残基对多糖的性质和水溶解性能密切相关, 从而对多糖的生物活性有较大的影响<sup>[24]</sup>。由于作者提取的黄粉虫多糖中未检测出糖醛酸残基, 有可能是其抗氧化能力低于维生素 C 的原因之一。此外, 研究表明, 抗氧化肽在分离纯化后清除自由基的效果得到增强<sup>[9]</sup>, 如果对黄粉虫多糖进行分离纯化, 是否能得到清除自由基效果更好的多糖组分还需要进一步研究。

## 参考文献(References):

- [ 1 ] 季宇彬. 中药多糖的化学与药理[ M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [ 2 ] 方积年, 丁侃. 天然药物—多糖的主要生物活性及分离纯化方法[ J]. 中国天然药物, 2007, 5( 5): 338– 345.  
FANG Ji-nian, DING Kan. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharide[ J]. **Chinese Journal of Natural Medicines**, 2007, 5(5): 338– 345. (in Chinese)
- [ 3 ] 黄林清, 周世文, 张寺平, 等. 蚕蛹多糖对小鼠免疫功能的影响[ J]. 解放军药学报, 2002, 18(1): 11– 14.  
HUANG Lin-Qing, ZHOU Shi-Wen, ZHANG Shi-Ping, et al. Effect of polysaccharide of silkworm pupa on immunological function in mice[ J]. **Pharm J Chin PLA**, 2002, 18(1): 11– 14. (in Chinese)
- [ 4 ] 孙龙, 冯颖, 何钊, 等. 蚕蛹多糖的碱液提取及免疫活性粗步研究[ J]. 林业科学研究, 2007, 20(6): 782– 786.  
SUN Long, FENG Ying, HE Zhao, et al. Studies on alkaline solution extraction of polysaccharide from silkworm pupa and its immunomodulating activities[ J]. **Forest Research**, 2007, 20(6): 782– 786. (in Chinese)
- [ 5 ] 孙龙, 冯颖, 何钊, 等. 蟑螂水溶性多糖提取、分析及免疫活性研究[ J]. 林业科学研究, 2009, 22( 2): 256– 26.  
SUN Long, FENG Ying, HE Zhao, et al. Study on extraction, analysis of water soluble polysaccharide from cockroaches and its immunologic activities[ J]. **Forest Research**, 2009, 22(2): 256– 26. (in Chinese)
- [ 6 ] 金伟, 王亚威. 虻虫抗凝血物质的提取与鉴定[ J]. 中医药学报, 2000, 28(3): 58– 60.  
JING Wei, WANG Ya-Wei. Extraction and identification of anticoagulant from tabanid [ J]. **Acta Chinese Medicine and Pharmacology**, 2000, 28(3): 58– 60. (in Chinese)
- [ 7 ] 陈晓鸣, 冯颖. 资源昆虫学概论[ M]. 北京: 科学出版社, 2009: 161.
- [ 8 ] 黄琼, 周祖基, 周定刚, 等. 七种昆虫的营养成分分析[ J]. 营养学报, 2007, 29(1): 94– 96.  
HUANG Qiong, ZHOU Zu-ji, ZHOU Ding-gang, et al. Analysis of nutritional components of seven species of insects [ J]. **Acta Nutrimenta Sinica**, 2007, 29(1): 94– 96. (in Chinese)
- [ 9 ] 张莉莎, 张建新, 欧晓峰, 等. 黄粉虫抗氧化活性肽的分离纯化研究[ J]. 食品科学, 2009, 30( 22): 180– 183.  
ZHANG Li-sha, ZHANG Jian-xin, OU Xiao-feng, et al. Separation and purification of antioxidant peptides from yellow mealworm[ J]. **Food Science**, 2009, 30(22): 181– 183. (in Chinese)
- [ 10 ] Hyun-Joo M, So-Young L, Shoichiro K, et al. Purification and molecular cloning of cDNA for an inducible antibacterial protein from larvae of the coleopteran, *Tenebrio molitor* [ J]. **Biochem**, 1994, 116: 53– 58.
- [ 11 ] Wensheng Q, Virginia K. *Tenebrio molitor* antifreeze protein gene identification and regulation[ J]. **Gene**, 2006, 367 : 142 – 149.
- [ 12 ] 何钊, 孙龙, 冯颖, 等. 白蜡虫多糖的提取及单糖组分分析[ J]. 林业科学研究, 2008, 21(6): 792– 796.  
HE Zhao, SUN Long, FENG Ying, et al. The extraction of polysaccharide from white wax scale and analysis of monosaccharide compositions[ J]. **Forest Research**, 2008, 21(6): 792– 796. (in Chinese)
- [ 13 ] Iris F F Benzie, J J Strain. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay [ J]. **Analytical Biochemistry**, 1996, 239(1): 70– 76.
- [ 14 ] Nabasree D, Bratai D. Antioxidant activity of *Piper betle* L. leaf extract in vitro[ J]. **Food Chemistry**, 2004, 88( 2): 219 – 224.
- [ 15 ] 丁利君, 苏桂良. 微波辅助提取蜈蚣草黄酮及其抗氧化[ J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(5): 623– 626.  
DING Li-jun, SU Gui-liang. Extraction of flavonoids from ladder brake with microwave and its antioxidative[ J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(5): 623– 626. (in Chinese)
- [ 16 ] 杨小生, 杨江涛, 杨娟, 等. 刺梨多糖粗品与纯品体外抗氧化作用[ J]. 食品工业科技, 2008, 29(2): 94– 96.  
YANG Xiao-sheng, YANG Jiang-tao, YANG Juan, et al. The antioxidative activities of crude and pure polysaccharides from *Rosa roxburghii* in vitro[ J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2008, 29( 2): 94– 96. (in Chinese)
- [ 17 ] 孟宪军, 孙希云, 朱金艳, 等. 蓝莓多糖的优化提取及抗氧化性研究[ J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(1): 56– 60.  
MENG Xian-jun, SUN Xi-yun, ZHU Jin-yan, et al. Extraction and antioxidant capability of blueberry polysaccharides [ J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010, 29(1): 56– 60. (in Chinese)
- [ 18 ] Hou X J, Chen W. Optimization of extraction process of crude polysaccharide from wild BaChu mushroom by response surface methodology[ J]. **Carbohydrate Polymers**, 2008, 72: 67– 74.
- [ 19 ] Moon J K, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components[ J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2009, 57( 5): 1655– 1666.
- [ 20 ] 王建英, 任引哲, 王迎新. 氧自由基与人体健康[ J]. 化学世界, 2006, 47( 1): 61– 63.  
WANG Jian-ying, REN Yin-zhe, WANG Yin-xin. The relation of oxygen radical and human health [ J]. **Chemistry world**, 2006, 47(1): 61– 63. (in Chinese)
- [ 21 ] 陈燕, 王文平, 邱树毅, 等. 响应面法优化超声波强化提取薏苡仁酯[ J]. 食品科学, 2010, 31(8): 46– 50.  
CHEN Yan, WANG Wen-ping, QIU Shu-yi, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of coix lacryma-jobi seed ester using response surface methodology[ J]. **Food Science**, 2010, 31(8): 46– 50. (in Chinese)
- [ 22 ] Xu W T, ZHANG F F, LUO Y B, et al. Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *pteridium aquilinum*[ J]. **Carbohydrate Research**, 2009, 344: 217– 222.
- [ 23 ] 谭楹新, 叶涛, 刘湘新, 等. 植物提取物抗氧化成分及机理研究进展[ J]. 食品科学, 2010, 31( 15): 288– 292.  
TAN Yin-xin, YE Tao, LIU Xiang-xin, et al. Research advances in antioxidant composition of botanical extracts and their action Mechanisms[ J]. **Food Science**, 2010, 31( 15): 288– 292. (in Chinese)
- [ 24 ] TIAN L M, ZHAO Y, GUO C, et al. A comparative study on the antioxidant activities of an acidic polysaccharide and various solvent extracts derived from herbal *Houttuynia cordata*[ J]. **Carbohydrate Polymers**, 2011, 83: 537– 544.