

# 紫椴花多糖的微波提取及体外抗氧化活性

王婧杰<sup>1</sup>, 陈玉霞<sup>2</sup>, 穆立蔷<sup>\*1</sup>

(1. 东北林业大学 林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 哈尔滨市园林科学研究所, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** 以干燥紫椴花为原料, 微波提取水溶性多糖, 考察了微波时间、微波功率、料液比 3 个因素对多糖得率的影响, 通过响应面法对紫椴花多糖微波提取工艺进行了优化, 根据二次回归模型得到的最佳工艺条件为: 微波时间 9 min, 微波功率 585 W, 料液比 1:67 (g/mL), 在此条件下, 紫椴花多糖理论得率为 12.57%。理化性质实验及红外光谱分析表明, 紫椴花多糖具有多糖的通性。以抗坏血酸 (VC) 为对照品, 测定了紫椴花粗多糖的总还原能力、清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 和羟自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 的能力, 及对亚铁离子 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) 诱发的脂质过氧化的抑制作用, 对紫椴花粗多糖的体外抗氧化活性进行了评价。结果表明: 紫椴花粗多糖具有一定的还原能力、清除自由基能力, 及抗脂质过氧化能力, 其抗氧化活性弱于相同浓度的抗坏血酸 (VC)。

**关键词:** 紫椴; 多糖; 提取; 体外抗氧化

中图分类号: S 7-9 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2014)03-0321-09

## Microwave-Assisted Extraction and Antioxidant Activity in Vitro of Polysaccharides from *Tilia amurensis* Rupr. Flowers

WANG Jingjie<sup>1</sup>, CHEN Yuxia<sup>2</sup>, MU Liqiang<sup>\*1</sup>

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; 2. Harbin landscape gardening Research Institute, Harbin 150040, China)

**Abstract:** In this manuscript, water soluble polysaccharides were extracted from *Tilia amurensis* Rupr. flowers by microwave-assisted method was developed. The effect of microwave time, microwave power and ratio of raw material to liquid on the yield of polysaccharides was investigated and the microwave-assisted extraction process was optimized by response surface method. According to quadratic regression model, the optimum extraction parameters was 9 min, 585 W and 1:67 (g: mL). Under this optimum conditions, the yield of polysaccharides in theory was achieved at 12.57%. The physical and chemical properties experiment and infrared spectrum analysis indicated that polysaccharides extracted from *Tilia amurensis* Rupr. flowers presented typical properties of polysaccharides. The antioxidant activity in vitro of polysaccharides from *Tilia amurensis* Rupr. was evaluated by determining the reducing power, scavenging capacities on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical and hydroxyl free radical and the inhibition effect on lipid peroxidation

收稿日期: 2013-07-19

基金项目: 哈尔滨市科技创新人才研究专项资金(2013RFXXJ027)。

\* 通信作者: 穆立蔷(1966—), 女, 黑龙江宁安人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事树木学及植物分类学、植物资源学保护与利用、植物抗逆性及树种筛选等方面的研究。E-mail: mlq0417@163.com

induced by ferrous ion. The results showed that polysaccharides from *Tilia amurensis* Rupr. had certain reducing power, scavenging capacities on free radical and inhibition effect on lipid peroxidation, which were appreciably weaker than ascorbic acid (VC).

**Keywords:** *Tilia amurensis* Rupr, polysaccharides, extraction, antioxidant activity in vitro

紫椴(*Tilia amurensis* Rupr.)是我国东北地区重要的经济树种,是优质的蜜源和木材<sup>[1]</sup>。《中华本草》记载,紫椴花具有清热解表的药效<sup>[2]</sup>。椴树属植物是传统的药用植物,可以作为镇静剂、利尿剂、祛痰剂和发汗剂<sup>[3-4]</sup>。紫椴花中含有较多的多糖、黄酮类化合物、酚类、香豆素等多种天然活性物质<sup>[5]</sup>。紫椴花乙醇提取物具有较好的抗急性炎症及镇痛作用<sup>[6]</sup>,紫椴树皮提取物中的黄酮和脂肪酸能够抑制 DNA 拓扑异构酶的活性<sup>[7]</sup>。紫椴花中多糖含量丰富,盛花期可达到约 163.21 mg/g<sup>[8-9]</sup>,是一种理想的植物多糖原料。国内外学者采用热水浸提<sup>[10]</sup>、微波辅助<sup>[11]</sup>、超声波辅助<sup>[12]</sup>、酶法辅助<sup>[13]</sup>等诸多方法提取植物中的多糖并对多种植物多糖进行了抗氧化活性评价。目前尚未发现对紫椴花多糖生物活性进行研究的相关文献报道。作者采用响应面法优化了紫椴花多糖的微波提取工艺,并对其体外抗氧化活性进行了研究,旨在为紫椴资源的合理开发和深度利用提供科学的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

紫椴花,采于东北林业大学校园,经东北林业大学穆立蓄教授鉴定为紫椴花,自然风干,粉碎后过 60 目筛;市售鲜鸡蛋;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),美国 Sigma 公司产品;其他试剂均为国产分析纯。

756PC 紫外可见分光光度计,北京通用仪器有限公司制造;WD800LG 微波炉,天津乐津电子有限公司制造;NKTHZ-A 空气恒温摇床,常州诺基仪器有限公司制造;TDL-40B-W 台式低速大容量离心机,湖南星科科学仪器有限公司制造;FW-100 型高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司制造;TGL-16G 高速离心机,北京佳源兴业科技有限公司制造;TDA-8002 型恒温水浴锅,上海博讯实业有限公司制造;ALC-110 型电子天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司制造;RE-52A 旋转蒸发器,上海亚

荣生化仪器厂制造;LGJ-10 台式冷冻干燥机,北京松源华兴科技发展有限公司制造;Magna-IR560 型傅里叶变换红外光谱仪,美国尼高力(Nicolet)公司制造。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 紫椴花多糖提取工艺流程** 紫椴花干粉→石油醚脱脂→微波提取→离心→提取液浓缩→Sevage 法除蛋白质→体积分数 95%乙醇沉淀→洗涤沉淀→冷冻干燥→紫椴花粗多糖。

**1.2.2 葡萄糖标准曲线的绘制** 采用苯酚-硫酸比色法<sup>[14]</sup>,得到葡萄糖标准曲线回归方程:

$$y=0.0860x-0.0037, R^2=0.9993. \quad (1)$$

式(1)中, $y$  为反应液在 490 nm 处的吸光值; $x$  为反应液中的葡萄糖质量浓度,μg/mL。

**1.2.3 提取液中多糖得率计算方法** 多糖提取液定容至 100 mL,再吸取 1.0 mL 定容至 25 mL。取定容液 2.0 mL,按标准曲线的步骤操作测定吸光度,根据标准曲线回归方程计算多糖得率。

**1.2.4 单因素实验** 考察微波时间(min)、微波功率(W)和料液比(g/mL)3 个因素对紫椴花多糖得率的影响,每个处理实验重复 3 次。

**1.2.5 响应面法优化紫椴花多糖提取工艺** 在单因素实验基础上利用 Minitab16.0 软件,以紫椴花多糖得率为响应值,设计微波时间、微波功率和料液比三因素三水平 Box-Behnken 中心组合实验,建立二次回归方程模型,优化微波提取紫椴花多糖工艺参数,并进行验证实验。Box-Behnken 实验设计因素水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 实验设计因素水平表

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken experiment design

因素	水平		
	-1	0	1
微波时间(A)/min	6	8	10
微波功率(B)/W	320	480	640
料液比(C)/(g/mL)	1:50	1:60	1:70

1.2.6 紫椴花粗多糖定性分析及红外光谱分析

观察紫椴花粗多糖的颜色、状态及其在水、甲醇、无水乙醇、丙酮等试剂中的溶解性。配制 1 mg/mL 紫椴花粗多糖溶液,分别通过硫酸-咔唑反应、碘化反应、斐林试剂和班氏试剂反应、考马斯亮蓝反应和三氯化铁反应,检测紫椴花粗多糖中是否含有糖醛酸、淀粉、还原糖、蛋白质和酚类化合物。精确称取紫椴花粗多糖粉末 2 mg,在远红外灯照射下与干燥的 KBr 研磨混合压片后,以 KBr 为本底,用红外光谱仪在 4 000~400 cm<sup>-1</sup> 红外波数范围内进行扫描。

1.2.7 紫椴花粗多糖体外抗氧化活性研究

1) 紫椴花粗多糖清除 DPPH 自由基能力的测定:参照文献[15]方法,以 VC 作阳性对照。抗氧化剂清除 DPPH 自由基的能力( $E_0$ )由式(2)计算:

$$E_0 = [1 - (A_2 - A_1) / A_0] \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中,  $A_0$  为 2 mL DPPH 甲醇溶液+2 mL 溶剂的吸光度值;  $A_1$  为 2 mL 甲醇+2 mL 多糖溶液的吸光度值;  $A_2$  为 2 mL DPPH 甲醇溶液+2 mL 多糖溶液的吸光度值。

2) 紫椴花粗多糖总还原能力的测定:参照文献[16]的方法,略做修改,以 VC 作阳性对照。

3) 紫椴花粗多糖清除羟自由基能力的测定:参照文献[17]的测定方法,略做调整,以 VC 作阳性对照。羟自由基清除率( $E_1$ )计算公式如下式(3):

$$E_1 = [1 - (A - A_j) / A_0] \times 100\% \quad (3)$$

式(3)中,  $A$  为不同多糖质量浓度下的吸光度;  $A_j$  为用水代替水杨酸时测得某质量浓度多糖的本底吸光度;  $A_0$  为用水代替抗氧化剂时测得的空白对照吸光度。

4) 紫椴花粗多糖抗脂质过氧化能力的测定:参照文献[18]的方法,略做修改,以 VC 作阳性对照。抑制率( $E_2$ )计算公式为

$$E_2 = [(A_0 - A) / A_0] \times 100\% \quad (4)$$

式(4)中,  $A_0$  为空白对照组吸光度值,  $A$  为不同质量浓度抗氧化剂作用体系的吸光度值。

2 结果与分析

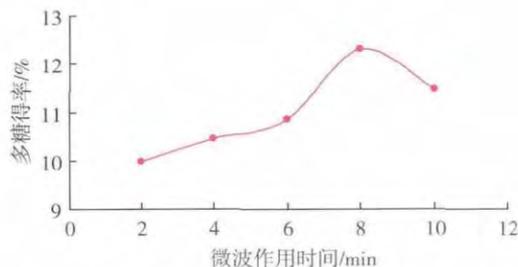
2.1 单因素实验结果分析

2.1.1 微波时间对多糖得率的影响 由图 1 (a)可知,紫椴花多糖得率随着微波作用时间的延长而提高,微波作用时间达到 8 min 时,紫椴花多糖得率达到最大,而后有下降的趋势。出现这种趋势的原因

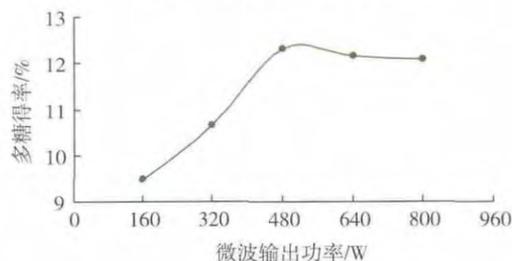
可能是较短时间内,微波对植物细胞壁及细胞膜的破坏作用大,导致细胞内物质大量溶出,多糖得率显著提高;另一方面,随着细胞破碎程度越来越大,细胞中其他杂质的溶出也增加,多糖得率反而下降<sup>[19]</sup>。因此,8 min 为较优的微波作用时间,选择 6 min、8 min、10 min 作为响应面实验的 3 个水平。

2.1.2 微波功率对多糖得率的影响 由图 1 (b)可知,紫椴花多糖得率随着微波功率的提高呈现先升高而后略有下降的趋势,微波功率为 480 W 时,多糖得率最大。出现这种趋势的原因可能是在一定范围内,微波功率升高时,物料吸收的微波热能随之增加,有效促进植物细胞的破碎,溶出物质增加;当微波功率达到一定水平后,会引起多糖降解,多糖得率稍有下降<sup>[20]</sup>。因此,480 W 为较优的微波输出功率,选择 320 W、480 W、640 W 作为响应面实验的 3 个水平。

2.1.3 料液比对多糖得率的影响 由图 1(c)可知,紫椴花多糖得率随着料液比的增加呈现先升高而后下降的趋势,料液比为 1:60(g/mL)时,多糖得率达到最大值。出现这种趋势的原因可能是在一定范围内,水量的增加使得原料与水边界层浓度差增大,有利于多糖的溶出和扩散,传质速率提高;随着水量进一步增加,温度上升趋于缓慢,能耗效率下降,同时杂质溶出增加,相当于多糖被稀释,得率反而降低<sup>[21]</sup>。因此,1:60(g/mL)为较优的料液比,选择 1:50、1:60、1:70(g/mL)作为响应面实验的 3 个水平。



(a) 微波时间对多糖得率的影响



(b) 微波功率对多糖得率的影响

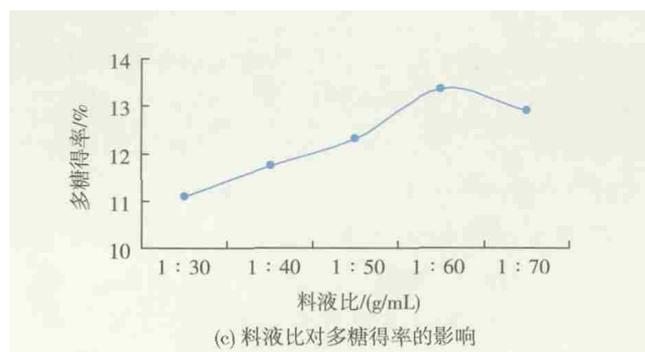


图1 微波时间、微波功率和料液比对多糖得率的影响  
Fig. 1 Effect of microwave time, microwave power and ratio of raw material to liquid on the extraction rate of polysaccharides

## 2.2 响应面实验结果分析

2.2.1 工艺优化实验设计方案及结果 Box-Behnken 实验设计方案及结果见表 2。

2.2.2 数学二次回归模型的建立及方差分析 根据实验结果进行多元拟合分析,得到的二次多项回归方程模型为

$$Y=12.2500+0.325625A+0.546625B+0.17925C-0.462875A^2-0.402375B^2-0.207125C^2+0.05575AB+0.251AC-0.079BC \quad (5)$$

式(5)中, Y 代表多糖得率, A、B、C 分别代表微波时间、微波功率和料液比。

对上述模型进行方差分析,结果见表 3。回归方

程 F 检验  $P < 0.01$ , 差异极显著; 失拟检验  $P = 0.310 > 0.05$ , 不显著; 相关系数  $R^2 = 98.13\%$ 。综上所述, 响应值的变化有 98.13% 来源于所选变量, 模型对实验实际情况拟合较好, 可用来预测不同提取条件下的紫椴花多糖理论得率。

表 2 Box-Behnken 实验设计方案及结果

Table 2 Program and result of Box-Behnken experiment design

实验号	微波时间 (A)/min	微波功率 (B)/W	料液比 (C)/(g/mL)	多糖得率(Y)/%
1	-1	-1	0	10.636
2	1	-1	0	11.027
3	-1	1	0	11.641
4	1	1	0	12.255
5	-1	0	-1	11.194
6	1	0	-1	11.492
7	-1	0	1	11.176
8	1	0	1	12.478
9	0	-1	-1	10.915
10	0	1	-1	12.143
11	0	-1	1	11.306
12	0	1	1	12.218
13	0	0	0	12.367
14	0	0	0	12.236
15	0	0	0	12.162

表 3 Box-Behnken 设计二次模型方差分析

Table 3 Variance analysis of the regression quadratic model of Box-Behnken design

方差来源	自由度	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P	显著性
回归	9	5.15466	5.15466	0.57274	29.11	0.001	**
线性	3	3.49569	3.49569	1.16523	59.22	0.000	**
平方	3	1.36958	1.36958	0.45653	23.20	0.002	**
交互作用	3	0.28940	0.28940	0.09647	4.90	0.060	不显著
失拟	3	0.07683	0.07683	0.02561	1.42	0.310	不显著
纯误差	2	0.02155	0.02155	0.01078	-	-	-
合计	14	5.25305	-	-	-	-	-

注: “\*\*” 差异极显著 ( $p < 0.01$ ); “\*” 差异显著 ( $p < 0.05$ )。

回归方程系数显著性检验见表 4。可知, 对多糖得率的影响达到极显著水平的项为 A、B、 $A^2$  和  $B^2$ ; 达到显著水平的项为 C、AC 和  $C^2$ 。其中微波功率对多糖得率影响最大, 微波时间次之。图 2 为根据回归方程模型做出的 3 个因素之间交互作用的三维曲面图。自变量的改变对响应值的影响可以通过三

维曲面图直观地反映出来。

2.2.3 提取工艺的优化结果与验证实验 根据二次回归方程, 将得率 Y 设定为最大值, 计算相应的变量值, 得到提取工艺的优化结果: 微波时间 9.14 min, 微波功率 585 W, 料液比 1:67 (g/mL), 多糖得率模型理论预测值为 12.57%。由于实验所用微

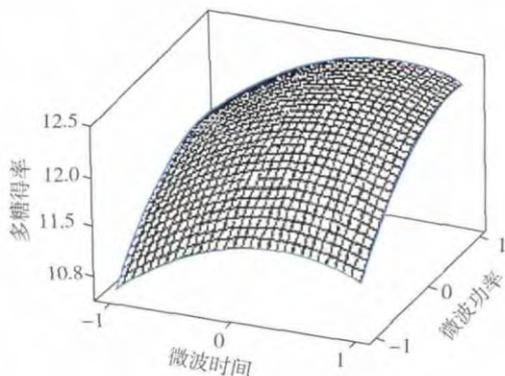
表 4 二次模型回归方程系数显著性检验

Table 4 Coefficient estimates of regression quadratic model

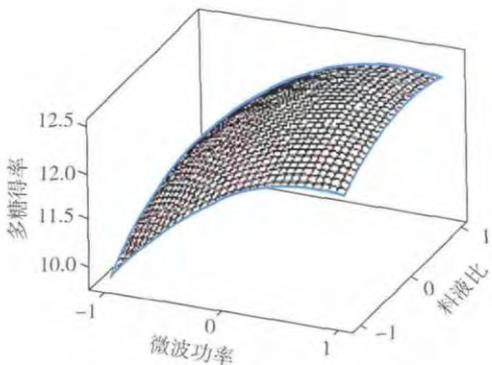
项	系数	系数标准误差	T	P	显著性
常量	12.255 0	0.080 99	151.316	0.000	—
A	0.325 6	0.049 60	6.566	0.001	**
B	0.546 6	0.049 60	11.022	0.000	**
C	0.179 2	0.049 60	3.614	0.015	*
A <sup>2</sup>	-0.462 9	0.073 00	-6.341	0.001	**
B <sup>2</sup>	-0.402 4	0.073 00	-5.512	0.003	**
C <sup>2</sup>	-0.207 1	0.073 00	-2.837	0.036	*
AB	0.055 8	0.070 14	0.795	0.463	不显著
AC	0.251 0	0.070 14	3.579	0.016	*
BC	-0.079 0	0.070 14	-1.126	0.311	不显著

注:“\*\*” 差异极显著( $p < 0.01$ );“\*” 差异显著( $p < 0.05$ )。

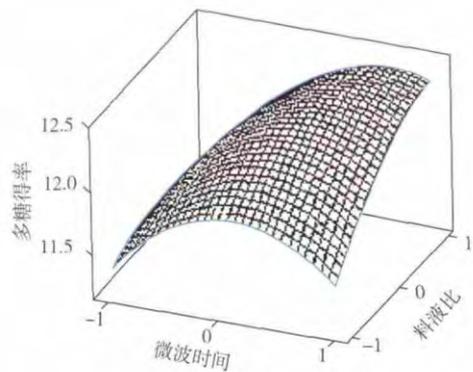
波炉功率设定的局限性,选择微波时间 9 min,微波功率 640 W,料液比 1:67(g/mL)的工艺条件进行验证实验,在此条件下实际多糖得率为 12.05%,模型理论预测值为 12.11%,实际值与理论值接近,说明可以通过该模型对实际操作条件下的理论多糖得率进行相对准确的预测。



(a) 三因素交互作用影响一



(b) 三因素交互作用影响二



(c) 三因素交互作用影响三

图 2 微波时间、微波功率和料液比交互作用影响的三维曲面图

Fig. 2 Response surface plot of mutual influence for microwave time, microwave power and solid-liquid ratio on yield

### 2.3 紫椴花多糖的定性分析及红外光谱分析结果

**2.3.1 物化性质分析结果** 紫椴花粗多糖为淡黄色纤维状固体,溶于水和甲醇,不溶于无水乙醇和丙酮。碘化反应、斐林试剂反应、班氏试剂反应及三氯化铁反应呈阴性,说明紫椴花粗多糖中不含淀粉、还原糖及酚类化合物;硫酸-咔唑反应和考马斯亮蓝反应呈阳性,说明紫椴花粗多糖中含有糖醛酸和蛋白质。

**2.3.2 红外光谱分析结果** 由图 3 可见,3 418  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰是很强的 O—H 键的伸缩振动吸收峰;2 926  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰是  $\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2$  和  $\text{CH}$  的 C—H 键的伸缩振动吸收峰;1 727  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰为羰基吸收峰,说明含有糖醛酸<sup>[22]</sup>;1 419  $\text{cm}^{-1}$  和

1 378  $\text{cm}^{-1}$  处的多重吸收峰是 C—H 的伸缩和变角振动吸收峰<sup>[23]</sup>; 1 323  $\text{cm}^{-1}$  处是 C—H 弯曲振动吸收峰; 1 043  $\text{cm}^{-1}$  处的则是醇羟基—OH 的变角振动吸收峰; 1 150  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰是环上碳—氧(C—O)吸收峰; 909  $\text{cm}^{-1}$  处的小吸收峰是  $\beta$ -糖苷键吸收

峰, 说明存在  $\beta$ -糖苷键; 813  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰是甘露糖的特征吸收峰, 表明多糖的糖基中含有甘露糖<sup>[24]</sup>; 在 1 616  $\text{cm}^{-1}$  处有  $\text{NH}_2$  和  $-\text{NH}_3^+$  的特征吸收峰, 说明紫椴花粗多糖中有蛋白多糖。

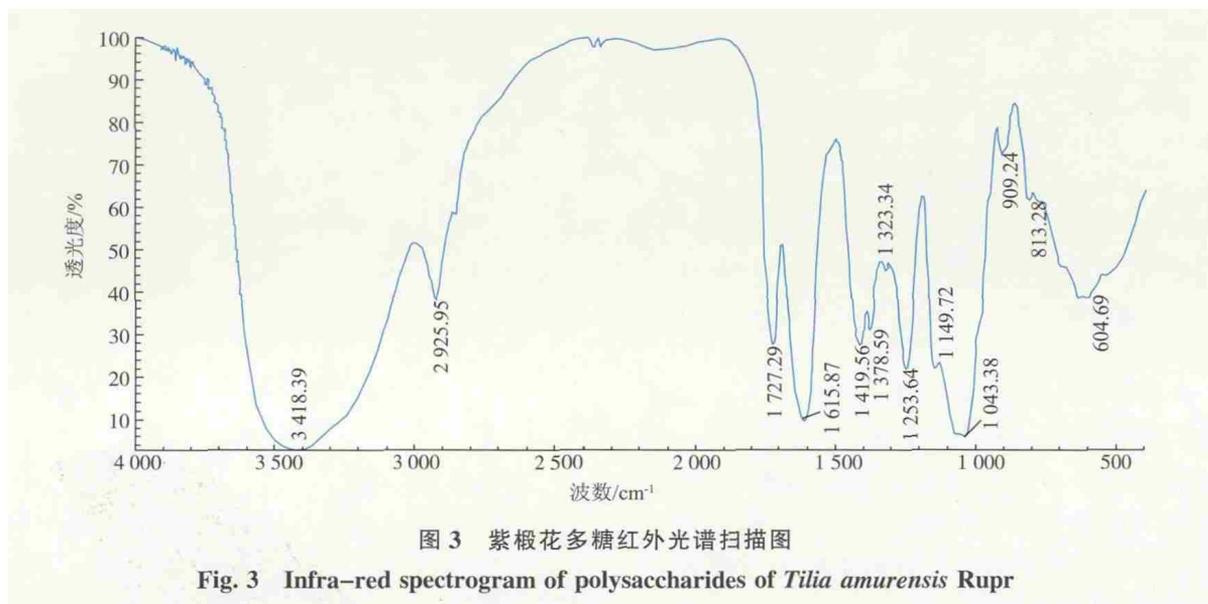


图 3 紫椴花多糖红外光谱扫描图

Fig. 3 Infra-red spectrogram of polysaccharides of *Tilia amurensis* Rupr

## 2.4 紫椴花多糖体外抗氧化活性的测定结果分析

### 2.4.1 紫椴花粗多糖清除 DPPH 自由基能力的测定结果分析

DPPH 自由基在有机溶剂中是一种稳定的自由基, 溶液在波长 517 nm 处有特征吸收峰, 呈紫红色。自由基清除剂可与其单电子配对而使其吸收减弱, 减弱程度与其所接受的电子数成定量关系, 因此可用分光光度法评价自由基的清除情况<sup>[25]</sup>。如图 4(a) 所示, 一定质量浓度范围内的 VC 和紫椴花多糖对 DPPH 自由基都具有一定的清除效果, 随着质量浓度的增加, VC 对 DPPH 的清除率基本保持在 50% 左右, 没有显著的量效关系。大多数研究植物多糖清除 DPPH 自由基活性的文献报道中, VC 对 DPPH 自由基的清除率基本上能达到 100%, 本实验中未出现这一现象的原因可能是由于 DPPH 的溶剂不同造成的, 因为紫椴花多糖遇乙醇沉淀, 故选择用甲醇溶解 DPPH; 紫椴花多糖对 DPPH 的清除效果在较低质量浓度范围内时呈现较好的量效关系, 质量浓度达到 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  后, 逐渐趋于稳定; 且同质量浓度的 VC 对 DPPH 的清除效果优于紫椴花多糖的。

### 2.4.2 紫椴花粗多糖总还原能力的测定结果分析

抗氧化剂的抗氧化能力与其还原力有关, 还原力越

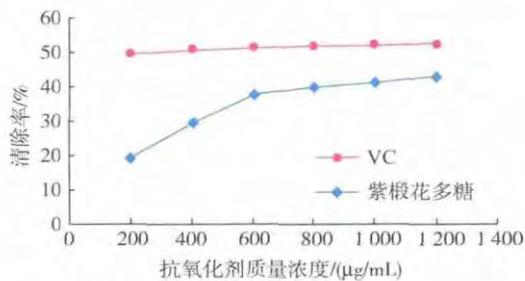
大, 抗氧化能力越强。抗氧化剂能够在一定的条件下将  $\text{Fe}^{3+}$  还原为  $\text{Fe}^{2+}$ 。根据 1.2.7 之 2) 的方法, 反应后的生成物在 700 nm 处的吸光度的大小即反映了其抗氧化能力的大小, 值越大则样品的还原能力越强<sup>[26]</sup>。如图 4(b) 所示, 不同质量浓度 (8~80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的紫椴花多糖溶液具有一定的总还原能力, 且随着质量浓度增加呈现线性升高趋势, 与同质量浓度的 VC 相比, 紫椴花多糖的总还原能力相对较弱。

### 2.4.3 紫椴花粗多糖清除羟自由基能力的测定结果分析

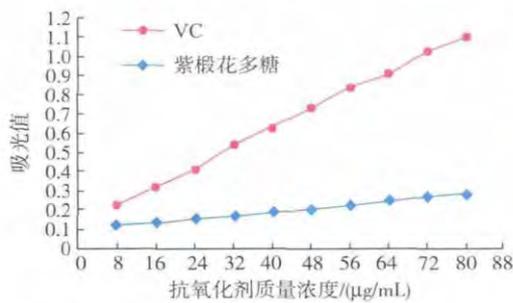
$\text{H}_2\text{O}_2$  与  $\text{FeSO}_4$  反应 (Fenton 反应) 会产生羟自由基, 羟自由基具有很强的氧化能力, 通过攻击水杨酸分子中的苯环使其发生氧化反应, 生成的有色物质在 510 nm 处的吸光值与羟自由基的量成正比<sup>[27]</sup>。若在反应体系中加入抗氧化剂, 羟自由基受到抑制, 有色物质生成量将会减少。如图 4(c) 所示, 不同质量浓度 (200~1800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的紫椴花多糖对羟自由基具有明显的清除作用, 且清除率随着质量浓度的增加而升高, 当其质量浓度为 1 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 对羟自由基的清除率高达 88.19%。VC 对羟自由基的清除能力强于同质量浓度的紫椴花多糖, 当 VC 质量浓度为 1 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 羟自由基清除率达到 100%。

2.4.4 紫椴花粗多糖抑制脂质过氧化能力的测定

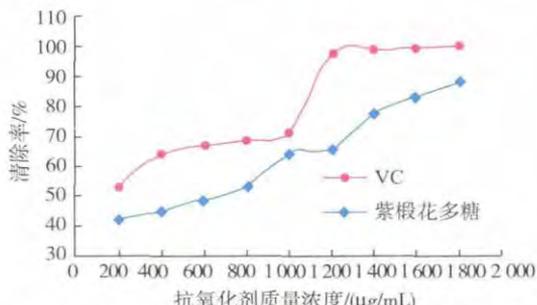
结果分析  $Fe^{2+}$ 能诱导卵黄中磷脂 C-2 位上所含的多不饱和脂肪酸(PUFA)发生脂质过氧化反应,生成的过氧化产物丙二醛(MDA)等在加热条件下可与硫代巴比妥酸(TBA)反应生成粉红色的化合物,在波长 532 nm 处有特征吸收峰,抗氧化剂可在一定程度上延缓或抑制脂质过氧化过程<sup>[28-29]</sup>。如图 4(d)所示,不同质量浓度(400~2000  $\mu\text{g/mL}$ )的紫椴花多糖对  $Fe^{2+}$ 诱发的脂质过氧化具有显著的抑制作用,且质量浓度越大,抑制作用越强。当紫椴花多糖质量浓度为 1 600  $\mu\text{g/mL}$  时,其对脂质过氧化的抑制作用已接近于同质量浓度的 VC; 当紫椴花多糖质量浓度为 2 000  $\mu\text{g/mL}$  时,对脂质过氧化的抑制率已达到 75.42%,高于相同质量浓度的 VC。



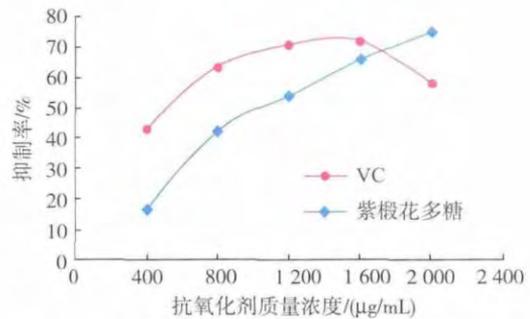
(a) 紫椴花多糖和VC清除DPPH活性



(b) 紫椴花多糖和VC总还原力



(c) 紫椴花多糖和VC清除羟自由基活性



(d) 紫椴花多糖和VC抗脂质过氧化活性

图 4 紫椴花多糖和 VC 的体外抗氧化活性

Fig. 4 Antioxidant activity in vitro of *Tilia amurensis* Rupr. polysaccharides and VC

3 结 语

微波辅助提取技术具有时间短、效率高、节能等特点。采用微波法提取紫椴花多糖,在单因素实验的基础上,以多糖得率为响应值,微波时间、微波功率和料液比作为自变量,利用 Minitab 软件进行响应面优化设计实验,得到微波提取紫椴花多糖的最佳工艺条件:微波时间 9.14 min,微波功率 585 W,料液比 1:67(g/mL),多糖得率模型理论预测值可达到 12.57%。验证实验表明,回归模型可以较准确地对实际操作条件下的多糖得率进行预测。

研究表明,机体的衰老、炎症、癌症和免疫疾病等均与体内过剩氧自由基(ROS)有关,其中羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )可直接作用于生物膜,引起脂质过氧化反应,危害最大<sup>[30-31]</sup>。植物多糖作为一类天然自由基清除剂,能够清除和平衡多种活性氧自由基,减少自由基对人体的损伤。本实验的研究结果表明,紫椴花多糖具有还原能力,能够清除 DPPH 自由基和 Fenton 反应产生的  $\cdot\text{OH}$ ,同时对  $Fe^{2+}$ 诱发的脂质过氧化反应有较强的抑制作用,显示出较好的体外抗氧化活性。与同质量浓度的 VC 相比,其还原力、清除自由基能力稍弱,但其抑制脂质过氧化的效果在达到一定质量浓度后,有强于同质量浓度 VC 的趋势。紫椴花多糖清除自由基的机制可能与多糖链的结构有关,抑制脂质过氧化的机理可能是其具有螯合金属离子的能力,使其不能产生启动脂质过氧化反应的羟自由基,进而抑制脂质过氧化反应的发生<sup>[32]</sup>。

作者对紫椴花多糖粗提物进行了体外抗氧化活性评价,有必要在此基础上对其纯化组分的结构、功能及单糖组成进行更加深入的研究,以期为

其构效关系提供更加充分的理论依据。同时,可在体外抗氧化实验的基础上对紫椴花多糖的体内抗氧化活性进行研究,为开发安全性高的天然抗氧化剂和保健产品奠定理论基础。

## 参考文献:

- [1] 马微微,许颖,穆立蕾.紫椴的研究进展及其资源的开发利用[J].中国林副特产,2009(2):88-90.  
MA Weiwei,XU Ying,MU Liqiang. The resource development and research progress of *Tilia amurensis* Rupr.[J]. **Forest By-product and Specialty in China**,2009(2):88-90.(in Chinese)
- [2] 国家中医管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999:4312.
- [3] Ahn D K. Illustrated Book of Korean Medicinal Herbs[M]. **Seoul:Kyo-Hak Publishing Co Ltd**,2003:56.
- [4] Park J H. Medicinal Plants of Korea[M]. **Seoul:Shinil Book Co**,2004:896-900.
- [5] 穆立蕾,郑健,王洋,等.紫椴花和果实化学成分及其地理变异[J].林业科学,2009,45(4):46-52.  
MU Liqiang,ZHENG Jian,WANG Yang,et al. Chemical compositions and geographic variation in flowers and fruits of *Tilia amurensis*[J]. **Scientia Silvae Sinicae**,2009,45(4):46-52.(in Chinese)
- [6] 马微微.紫椴花抗炎镇痛及抗菌的药效学研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2009.
- [7] Choi J Y,Seo C S,Zheng M S,et al. Topoisomerase I and II inhibitory constituents from the bark of *Tilia amurensis*[J]. **Archives of Pharmacol Research**,2008,31(11):1413-1418.
- [8] 刘立平.紫椴地上器官化学成分的初步研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2009.
- [9] MU Liqiang,LIU Liping,MA Dalong.Optimal ultrasonic extraction condition and determination of polysaccharides in *Tilia amurensis* flowers[J]. **Journal of Forest Research**,2010,21(1):77-80.
- [10] WU Yan,Steve W Cui,TANG Jian,et al. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds by response surface methodology[J]. **Food Chemistry**,2007,105:1599-1605.
- [11] 卢丹,吕森华,姚善涇.微波辅助法提取猕猴桃多糖的条件优化[J].食品与生物技术学报,2010,29(3):401-405.  
LU Dan,LY Miaohua,YAO Shanjing.Optimization of the extraction of polysaccharides with microwave-assisted extraction from *Actinidia chinensis*[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2010,29(3):401-405.(in Chinese)
- [12] ZHONG Kui,WANG Qiang. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from dried longan pulp using response surface methodology[J]. **Carbohydrate Polymers**,2010,80:19-25.
- [13] 郭辉娟,魏定国.半夏多糖提取工艺优化及其清除自由基能力研究[J].安徽农业科学,2010,38(34):19341-19342,19345.  
GUO Huijuan,WEI Dingguo. Study on optimization of extraction process of *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. polysaccharide and its scavenging effect on radical[J]. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**,2010,38(34):19341-19342,19345.(in Chinese)
- [14] 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 Xianjun,SUN Xiyun,ZHU Jinyan,et al. Extraction and antioxidant capability of blueberry polysaccharides[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2010,29(1):56-60.(in Chinese)
- [15] SONG Houfang,ZHANG Quanbin,ZHANG Zhongshan,et al. In vitro antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Bryopsis plumosa*[J]. **Carbohydrate Polymers**,2010,80:1057-1061.
- [16] 谢佳,张静.不同苦瓜多糖的体外抗氧化活性研究[J].广州化工,2010,38(5):87-90.  
XIE Jia,ZHANG Jing. Study on antioxidant activity in vitro of different polysaccharides from *Momordica charantia* [J]. **Guangzhou Chemical Industry**,2010,38(5):87-90.(in Chinese)
- [17] 王希,吴向阳,仰榴青,等.大麦多糖的提取及清除羟自由基活性研究[J].食品研究与开发,2008,29(11):64-67.  
WANG Xi,WU Xiangyang,YANG Liuqing,et al. Study on extraction and ability to scavenge hydroxyl radicals of polysaccharides from barely[J]. **Food Research and Development**,2008,29(11):64-67.(in Chinese)
- [18] 张尔贤,方黎,张捷,等.菊花提取物的抗氧化活性研究[J].食品科学,2000,21(7):6-9.  
ZHANG Erxian,FANG Li,ZHANG Jie,et al. Study on anti-oxidative activity of flos chrysanthemum extract [J]. **Food Science**,2000,21(7):6-9.(in Chinese)
- [19] 杨颖,孙文武,周晨,等.响应曲面法优化玉竹水溶性多糖提取及体外抗氧化研究[J].食品与生物技术学报,2013,32(3):298-306.  
YANG Ying,SUN Wenwu,ZHOU Chen,et al. Optimization of water-soluble polysaccharides extraction from rhizome of

- Polygonatum odoratum* using response surface methodology and its antioxidant activities in vitro [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2013, 32(3):298-306. (in Chinese)
- [20] 陈小梅,甘纯玑,陈彩玲,等. 响应面法优化微波辅助提取浒苔多糖工艺[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(4):44-48.  
CHEN Xiaomei, GAN Chunji, CHEN Cailing, et al. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* (EP) by response surface methodology[J]. **Food Research and Development**, 2011, 32(4):44-48. (in Chinese)
- [21] 王磊,刘秀凤,邱芳萍,等. 微波辅助提取玉米须多糖及其组成的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(1):72-75.  
WANG Lei, LIU Xiufeng, QIU Fangping, et al. Extraction of corn-silk polysaccharides by microwave-assisted technology[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(1):72-75. (in Chinese)
- [22] 夏朝红,戴奇,房韦,等. 几种多糖的红外光谱研究[J]. 武汉理工大学学报, 2007, 29(1):45-47.  
XIA Chaohong, DAI Qi, FANG Wei, et al. Research on the IR spectroscopy of kinds of polysaccharide [J]. **Journal of Wuhan University of Technology**, 2007, 29(1):45-47. (in Chinese)
- [23] 张赛金,李文权,邓永智,等. 海洋微藻多糖的红外光谱分析初探[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2005, 44(z1):212-214.  
ZHANG Saijin, LI Wenquan, DENG Yongzhi, et al. Analysis of marine microalgal polysaccharides by gas chromatography and IR spectroscopy[J]. **Journal of Xiamen University: Natural Science**, 2005, 44(z1):212-214. (in Chinese)
- [24] 盖英萍,牟志美,冀宪领,等. 桑叶多糖的提取与分析[J]. 蚕业科学, 2005, 31(1):31-35.  
GAI Yingping, MU Zhimei, JI Xianling, et al. The extracting and analyses of polysaccharides in mulberry leaf [J]. **Acta Sericologica Sinica**, 2005, 31(1):31-35. (in Chinese)
- [25] 张汇,鄢嫣,聂少平,等. 黑灵芝不同部位多糖成分分析及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2011, 32:56-61.  
ZHANG Hui, YAN Yan, NIE Shaoping, et al. Monosaccharide composition and antioxidant activity in vitro of polysaccharides from different parts of *Ganoderma atrum*[J]. **Food Science**, 2011, 32:56-61. (in Chinese)
- [26] LIU Xin, SUN Zhenliang, ZHANG Miansong, et al. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of polysaccharides from sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. **Carbohydrate Polymers**, 2012, 90:1664-1670.
- [27] XIONG Shuangli, LI Anlin, HUANG Ni, et al. Antioxidant and immunoregulatory activity of different polysaccharide fractions from tuber of *Ophiopogon japonicus*[J]. **Carbohydrate Polymers**, 2011, 86:1273-1280.
- [28] 曹炜,宋纪蓉,陈卫军,等. 蜂胶对脂质过氧化的抑制作用[J]. 食品科学, 2004, 25(1):34-36.  
CAO Wei, SONG Jirong, CEHN Weijun, et al. Study on the action of propolis inhibit the peroxidation of polyunsaturated fatty acid from yolk lipoprotein induced by Fe<sup>2+</sup>[J]. **Food Science**, 2004, 25(1):34-36. (in Chinese)
- [29] 张强,王松华,孙玉军,等. 洋葱中黄酮类化合物体外抗氧化活性研究[J]. 农业机械学报, 2009, 40(8):139-142.  
ZHANG Qiang, WANG Songhua, SUN Yujun, et al. Study on antioxidant activity in vitro of onion flavonoids [J]. **Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery**, 2009, 40(8):139-142. (in Chinese)
- [30] 丁红秀,高荫楠,晁红娟,等. 毛竹叶多糖体内抗氧化作用研究[J]. 食品科学, 2008, 29(5):427-430.  
DING Hongxiu, GAO Yinyu, CHAO Hongjuan, et al. Study on antioxidation effect in vivo of polysaccharide from moso bamboo leaves[J]. **Food Science**, 2008, 29(5):427-430. (in Chinese)
- [31] 王德才,高丽君,高艳霞. 泰山四叶参多糖体外抗氧化活性的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(2):104-106.  
WANG Decai, GAO Lijun, GAO Yanxia. Antioxidative effects of polysaccharide extracted from *Radix Codonopsis Lanceolatae* from Mount Taishan in vitro[J]. **Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics**, 2008, 29(2):104-106. (in Chinese)
- [32] 梁俊,李建科,赵伟,等. 石榴皮多酚体外抗脂质过氧化作用研究[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(2):159-165.  
LIANG Jun, LI Jianke, ZHAO Wei, et al. Effect of pomegranate peel polyphenols on lipid peroxidation in vitro[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(2):159-165. (in Chinese)