

宋 娟, 宁喜斌, 陈璐璐, 等. 壳聚糖处理桑叶水提液的抗氧化性研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(8): 306–307.

# 壳聚糖处理桑叶水提液的抗氧化性研究

宋 娟, 宁喜斌, 陈璐璐, 朱莉莉, 李晓晖

(上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

**摘要:** 为了提高桑叶的利用率, 应用壳聚糖进行絮凝除杂试验, 测量不同环境条件(pH 值、絮凝温度、壳聚糖加入量、絮凝时间)对桑叶水提液抗氧化性的影响。结果表明, 最佳壳聚糖投入量为 1.6 mL, pH 值为 5, 絮凝温度为 35 ℃, 絮凝时间为 3 h, 通过壳聚糖处理明显提高了桑叶水提液的抗氧化性, 该法具有广泛推广价值。

**关键词:** 壳聚糖; 桑叶; 絮凝; 抗氧化性

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2014)08–0306–02

桑叶是桑科植物桑的干燥叶, 又称家桑、荆桑、桑椹树等, 始载于《神农本草经》, 是一种常用的中药, 桑叶的化学成分有黄酮及黄酮苷类、生物碱类、多糖类、氨基酸类、维生素类、挥发油成分等<sup>[1]</sup>。桑叶中总黄酮含量占桑叶干重的 1.0% ~ 3.0%, 是所有植物茎叶中黄酮类化合物含量较高的一种<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明, 桑叶具有抗凝血、降血糖、抗肿瘤、抗衰老、抗疲劳、改善肠功能、抗菌、抗病毒等多种药理活性, 获得人们广泛的关注。

壳聚糖是由甲壳素脱乙酰基而得来的一种天然高分子化合物, 具有成本低、耐碱、耐腐蚀、无毒、无味、易降解等特点, 可作为吸附剂、絮凝剂、抑菌剂等被广泛应用于很多领域, 如农业、生物医学、环境保护等<sup>[3–4]</sup>。絮凝是一种简单有效的分离固液两相的技术, 絮凝剂起“桥连”“电中和”作用<sup>[5–6]</sup>, 吸附沉淀, 去除大分子杂质, 絮凝技术应用方便、操作简单、净化时间短, 壳聚糖作为絮凝剂本身具有很强的“架桥”作用, 使溶液中有沉淀趋势的悬浮颗粒沉淀, 壳聚糖分子带正电荷, 能与溶液中的蛋白质、氨基酸等负电荷化合物分子结合<sup>[7]</sup>, 通过这 2 个因素壳聚糖可产生有效的絮凝效果。

桑叶水提液制备过程中会产生某些无用杂质, 如碎桑叶的纤维、蛋白质等, 这些杂质直接或间接影响桑叶水提液中有有效成分运用, 为了提高桑叶的利用率, 本试验用壳聚糖除去桑叶水提液中的杂质, 研究此法在不同环境条件下对桑叶的抗氧化性有无影响, 以期桑叶的合理应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

干桑叶, 产自浙江省湖州市; 壳聚糖(90% 脱乙酰度); 1% 冰醋酸; DPPH(1–二苯基–2–三硝基苯肼), (上海华蓝化学科技有限公司); 其余试剂都为分析纯。

### 1.2 仪器

离心机(Thermofisher 公司); 紫外可见分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司); 水浴锅(THZ82)(江苏省金坛市精达

仪器制造厂)。

### 1.3 方法

**1.3.1 桑叶水提液的制作** 取干桑叶, 剪碎以料液比 2 g : 180 mL 的标准配制, 调 pH 值为 10, 在 100 ℃ 的水浴锅中浸提 90 min, 后取出并冷却至室温, 抽滤, 定容, 测总黄酮含量及抗氧化性。

**1.3.2 壳聚糖溶液的制备** 用 1% 冰醋酸溶液配制 1% 的壳聚糖溶液, 备用。

**1.3.3 絮凝** 取适量桑叶水提液, 测黄酮总含量, 调 pH 值, 加入一定量的壳聚糖溶液, 搅拌 10 min, 在一定温度的水浴中放置一段时间, 3 000 r/min 离心 15 min, 测总黄酮量及抗氧化性。壳聚糖的加入使得待测液的体积发生变化, 为了使试验结果更为精确, 在测量各影响因素时, 每组试验均做相应的对照, 每个对照组用相同体积的水代替加入的壳聚糖的量。

**1.3.4 抗氧化性测定** 称取 DPPH 7.886 4 mg, 无水乙醇定容至 100 mL 的容量瓶中, 使其浓度为 200 μmol/L, 取不同浓度的待测样品, 加入 1 mL 的 200 μmol/L 的 DPPH 溶液, 将该混合液混匀, 室温下静置 30 min, 以无水乙醇为参比, 测定其在 517 nm 处的吸光度, 对照组以无水乙醇代替样品, 计算自由基清除率:

$$\text{自由基清除率} = [1 - (D_s - D_r) / D_o] \times 100\%$$

式中:  $D_s$  表示待测液与 DPPH 反应液的吸光度;  $D_r$  表示待测液与无水乙醇混合液的吸光度;  $D_o$  表示 DPPH 与无水乙醇混合液的吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 壳聚糖加入量对絮凝效果的影响

取桑叶水提液 50 mL, 调 pH 值为 6.0, 平行 5 份, 每份 10 mL, 分别加入壳聚糖溶液 0.8、1.2、1.6、2.0、2.4 mL, 搅拌 10 min, 于 45 ℃ 的水浴中放置 3 h, 3 000 r/min 离心 15 min, 过滤, 取滤液, 测该液和对照组的抗氧化性。如图 1 所示, 壳聚糖的加入明显提高了桑叶的抗氧化性, 当投放量在 1.6 mL 时, 抗氧化性最好, 因为此时壳聚糖与桑叶抗氧化成分的协同作用最好。

### 2.2 絮凝时间对絮凝效果的影响

取桑叶水提液 50 mL, 调 pH 值为 6.0, 平行 5 份, 每份 10 mL, 分别加入壳聚糖溶液 1.6 mL, 搅拌 10 min, 分别在 45 ℃

收稿日期: 2013–10–10

作者简介: 宋 娟(1988—), 女, 硕士研究生, 主要从事分子生物学方面的研究。E-mail: 929795520@qq.com。

通信作者: 李晓晖, 博士, 副教授。E-mail: xhli@shou.edu.cn。

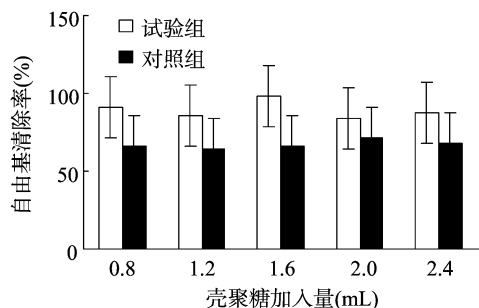


图1 壳聚糖加入量对桑叶水提液抗氧化性的影响

的水浴中放置 1、2、3、4、5 h, 于 3 000 r/min 离心 15 min, 过滤, 测该液和对照组的抗氧化性。如图 2 所示, 经处理后溶液的抗氧化性强于对照组, 处理 3 h 后抗氧化性有降低的趋势, 因为温度增加破坏了某些黄酮类化合物。

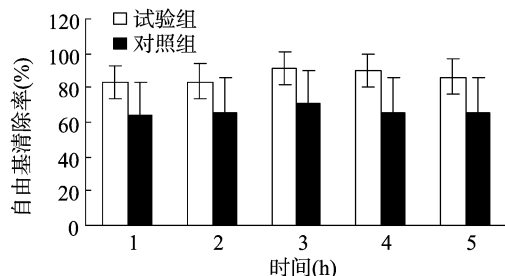


图2 絮凝时间对桑叶水提液抗氧化性的影响

### 2.3 温度对絮凝效果的影响

取桑叶水提液 50 mL, 调 pH 值为 6.0, 平行 5 份, 每份 10 mL, 分别加入壳聚糖溶液 1.6 mL, 搅拌 10 min, 分别于 25、35、45、55、65 ℃ 的恒温水浴中放置 3 h, 于 3 000 r/min 离心 15 min, 过滤, 测该液和对照组的总黄酮量及抗氧化性。结果 (图 3) 表明, 温度对抗氧化性的影响较大, 经壳聚糖处理后试验组的抗氧化性强于对照组, 在 35 ℃ 时, 抗氧化性最高, 与对照组的差距最大, 55、65 ℃ 时抗氧化性下降, 与对照组的差距缩小, 因为壳聚糖的絮凝影响桑叶水提液中抗氧化成分。据研究, 温度较低时, 体系内胶体粒子热运动速度较低, 与壳聚糖粒子碰撞的几率变小, 使絮凝不充分<sup>[8-9]</sup>; 而当温度过高时, 易使壳聚糖分子老化, 从而影响了壳聚糖的絮凝作用。

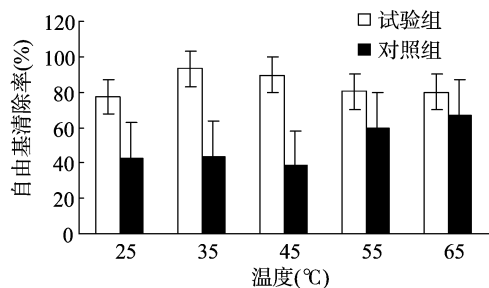


图3 絮凝温度对桑叶水提液抗氧化性的影响

### 2.4 pH 值对絮凝效果的影响

取桑叶水提液 5 mL, 平行 5 份, 每份 10 mL, 调 pH 值为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0, 分别加入壳聚糖溶液 1.6 mL, 搅拌 10 min, 与 45 ℃ 水浴中放置 3 h, 于 3 000 r/min 离心 15 min, 过滤, 测该液和对照组的总黄酮量及抗氧化性。如图 4 所示, 试验组抗氧化性总体上弱于对照组, 表明 pH 对抗氧化性有很大的影响。在 pH 值为 3 左右时, 抗氧化性最强, 酸性过大

可能造成黄酮析出, 但此时抗氧化性却最强, 因为桑叶水提液成分中不仅是黄酮有抗氧化的特点, 黎小萍等证明了多糖也具有抗氧化性<sup>[10]</sup>。考虑到酸性过大对人体的影响, 该条件不建议使用, 因此, pH 值为 5 时较为适合。

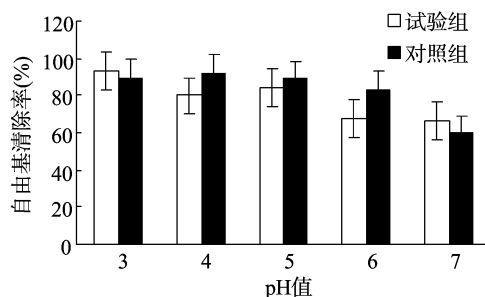


图4 pH值对桑叶水提液抗氧化性的影响

## 3 结论

本试验使用壳聚糖对桑叶水提液进行处理, 对 pH 值、壳聚糖含量、时间、温度 4 种条件进行研究。壳聚糖处理增加了桑叶的抗氧化性, 提高了桑叶的利用率, 经壳聚糖处理后, 桑叶水提液的抗氧化性基本在 80% 以上, 从而增加了桑叶的应用领域。在壳聚糖处理的 4 种条件中, pH 值的变化对抗氧化性的影响大于其他 3 个条件, 絮凝时间影响最小; 当壳聚糖投入量为 1.6 mL、pH 值为 5、絮凝温度为 35 ℃、絮凝时间为 3 h 时, 抗氧化性较好。

壳聚糖本身成本低, 无毒无害, 来源广泛, 对人体无不良影响, 壳聚糖处理桑叶水提液是一种安全有效的方法, 具有广泛推广价值。

## 参考文献:

- [1] 欧阳臻, 陈 钧. 桑叶的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 江苏大学学报: 自然科学版 2003, 24(6): 40-42.
- [2] 任 君, 毛丽萍, 卫天业, 等. 桑叶汁饮料的工艺技术研究[J]. 食品工业科技, 2001, 22(6): 71-72.
- [3] Wu Z J, Li S Y, Wan J F, et al. Cr(VI) adsorption on an improved synthesised cross-linked chitosan resin[J]. Journal of Molecular Liquids, 2012, 170: 25-29.
- [4] 董怡华, 李 亮, 胡筱敏, 等. 壳聚糖改性阳离子絮凝剂的制备及其应用研究[J]. 环境保护科学, 2006, 32(5): 20-22.
- [5] 张建伟, 袁 因, 王春雨. 壳聚糖对桑白皮水提液净化除杂的研究[J]. 高校化学工程学报, 2010, 2(24): 346-349.
- [6] 王龙虎, 吴国良, 程冀宇. 壳聚糖及其衍生物在中药工业中的应用[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4): 289-292.
- [7] 邓 良, 袁 华, 喻宗沅. 杜仲叶提取液除杂与脱色研究[J]. 化学与生物工程, 2006, 23(7): 28-30.
- [8] Chang J, Ren X W, Wei M, et al. A study on the extraction of Chinese herbal medicine shengmai Yin purified with natural flocculation (II) [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 1998, 3(3): 26-29.
- [9] Zhang Z G, Kang Y, Feng Y, et al. Application of flocculation technology in the purification of Chinese traditional medicine[J]. Chemical Industry and Engineering, 2003, 20(6): 377-384.
- [10] 黎小萍, 陈华玲. 桑叶的药用与保健价值及其开发利用现状[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2005, 21(1): 8-9.