

梁永锋,李嘉会,曹江平. 杏花中多糖提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学,2018,46(7):208-210.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.07.052

# 杏花中多糖提取工艺及其抗氧化活性研究

梁永锋,李嘉会,曹江平

(宁夏师范学院化学化工学院,宁夏固原 756000)

**摘要:**为探索超声波辅助下杏花多糖的最佳提取工艺,测定杏花多糖的抗氧化活性。在超声波辅助下,采用水提醇沉的方法提取杏花中的多糖,通过正交试验,探索超声波辅助下的浸泡时间、超声功率、超声时间和料液比对杏花中植物多糖提取率的影响,利用对 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{DPPH}\cdot$ 的消除效率来评价杏花中多糖的抗氧化活性。结果表明,杏花中植物多糖的最佳工艺条件为浸泡时间 90 min、超声功率 80 W、超声时间 60 min,料液比 1 g : 20 mL;杏花多糖在浓度为 32.7  $\mu\text{g/mL}$  时,对 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{DPPH}\cdot$ 的消除率分别为 71.5%、85.1%;杏花中植物多糖含量高达 6.54%,具有较强的抗氧化活性,杏花可以作为植物多糖的来源之一。

**关键词:**杏花多糖含量;提取工艺;抗氧化活性;超声波辅助;正交试验

**中图分类号:** O657.32;R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)07-0208-03

植物多糖具有调节免疫、降血糖、抗衰老、抗肿瘤、抗氧化和抗凝血等作用,且毒副作用低、安全性好。因此,作为药物和保健食品,近年来越来越受到国内外的重视。杏花也称为“中医之花”,是被子植物门、木兰花纲、蔷薇目、蔷薇科杏树的花。味苦、性温、无毒,常用来治疗痤疮、祛斑,且具有中医美容的功效。杏花中含有丰富的苦杏仁苷、多酚、黄酮类、酶类、多糖以及不饱和脂肪酸等活性成分<sup>[1-2]</sup>。本研究在测定杏花中多糖含量的基础上,通过对杏花多糖提取工艺和抗氧化性的研究,为进一步研究杏花的药用价值和提高杏花的经济价值提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 材料与试剂** 杏花样品采集于宁夏回族自治区固原市原州区宁夏师范学院古雁校区校园。将所采样品放入恒温箱中,在 60  $^{\circ}\text{C}$  下烘干至恒质量,自然阴干,粉碎,过 80 目筛,依次用石油醚、丙酮处理 2 次,除去脂类和色素,再用 80% 乙醇处理 2 次,除去单糖等物质,干燥至恒质量,备用。

收稿日期:2016-10-18

基金项目:宁夏回族自治区科技支撑计划(编号:NXKJZC2015);宁夏师范学院“六盘山资源开发与利用工程中心”资助项目(编号:HG16-08)。

作者简介:梁永锋(1963—),男,甘肃庆阳人,硕士,教授,研究方向为天然产物分析及应用。E-mail:qylyf338@163.com。

葡萄糖(优级纯,上海谱振生物科技有限公司)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH,美国 Sigma 公司)、苯酚、 $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%)、 $\text{NaOH}$ 、 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (无水)、 $\text{CHCl}_3$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{FeSO}_4$ 、水杨酸、正丁醇等均为国产分析纯,水为纯净水。

**1.1.2 主要试验仪器** UV-2450 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);SK3300LHC 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);FW-177 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);L-S 电子天平[0.1 mg,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 标准曲线的建立** 取一定量的葡萄糖标品(优级纯)在 105  $^{\circ}\text{C}$  烘干至恒质量<sup>[3-4]</sup>,精确称取 100 mg,用纯净水溶解并定容至 10 mL,配制成浓度为 10 mg/mL 的标准溶液。分别精确移取葡萄糖标准液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 25 mL 具塞刻度试管中,再各以纯净水补至 2.0 mL,然后顺序加入 1.0 mL 5% 苯酚溶液和 5.0 mL 98%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,振摇均匀,静置 20 min,以试剂空白为参照,在 490 nm 波长下测定其吸光度,以吸光度为纵坐标( $D$ ),相对应的葡萄糖浓度为横坐标( $C$ ),绘制标准曲线(图 1),标准曲线方程为  $D = 0.4061C - 0.0020$ , $r^2 = 0.9987$ 。结果表明,葡萄糖标准品在 0.01 ~ 0.40 mg/mL 之间,与吸光度具有良好的线性关系。

**1.2.2 杏花多糖的提取** 准确称取经过预处理的杏花样品 1.00 g,于 50  $^{\circ}\text{C}$  加适量纯净水浸泡,按一定的浸泡时间、料液

[14]仇是胜,张一宾. 新烟碱类杀虫剂的发展及趋向[J]. 世界农药,2014,36(5):5-6,36.

[15]魏立娜,叶非. 新烟碱类杀虫剂的作用机制、应用及结构改造的研究进展[J]. 农药科学与管理,2013,34(5):27-34.

[16]吴迟,姜辉,王长宾,等. 四种新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性及初级风险评估[J]. 农药学报,2015,17(4):486-491.

[17]张国生,侯广新. 烟碱类杀虫剂的应用、开发现状及展望[J].

农药科学与管理,2004,25(3):22-26.

[18]程霞,亦冰. 第二代新烟碱类杀虫剂噻虫嗪的开发[J]. 世界农药,2001,23(4):17-25.

[19]严莉,李龙山,倪细炉,等. 5 种湿地植物对土壤重金属的富集转运特征[J]. 西北植物学报,2016,36(10):2078-2085.

[20]韩宝华,李建国,马炳辉. 90Sr、137Cs 在非人类物种——植物中的转移系数[C]//第四届中国核学会省市“三核”论坛论文集,天津,2007:306-310.

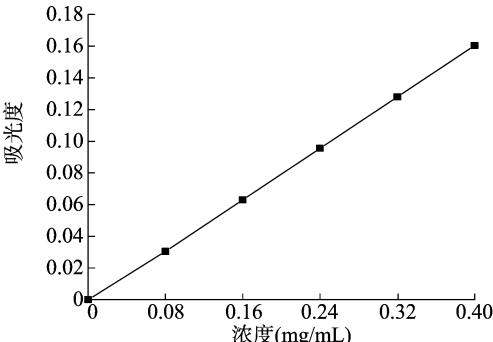


图1 葡萄糖标准曲线

比、超声功率和超声辐射时间进行超声波辅助提取<sup>[5]</sup>,以 4 000 r/min 离心 15 min,取出上清液,将滤渣在同样的条件下再浸提 1 次,合并 2 次所得滤液,减压浓缩,向浓缩液中加入 1/4 倍体积的三氯甲烷-正丁醇(体积比为 4:1),静置 20 min,再以 3 500 r/min 离心 10 min,取上清液,重复 5~6 次,至中间无明显沉淀为止。将上清液转移到 100 mL 容量瓶中,用纯水定容至刻度,作为供试样品溶液。

1.2.3 杏花多糖含量的测定 取样品液 0.1 mL,置于 25.0 mL 容量瓶中,按照制作标准曲线溶液的方法配制样品溶液并定容至 25.0 mL,在波长 490 nm 处测定样品的吸光度。

多糖的提取量(g/mL) = 多糖质量浓度(mg/mL) × 10<sup>-3</sup> × 稀释倍数;

多糖含量 = 多糖提取量/杏花样品质量 × 100%。

1.2.4 杏花多糖提取工艺研究 分别考察浸泡时间、料液比、超声辐射时间和超声功率 4 个因素对杏花多糖提取率的影响。同时,为了综合考查浸泡时间、料液比、超声辐射时间和功率对提取率的综合影响,采用 4 个因素 3 个水平正交试验对提取过程中料液比(A)、浸泡时间(B)、超声功率(C)和超声辐射时间(D)进行了研究。

1.2.5 杏花多糖抗氧化活性研究

1.2.5.1 杏花多糖清除羟基自由基(·OH)的活性研究 准确取不同浓度的杏花多糖溶液 1 mL,向其中加入 1 mL 9 mmol/L FeSO<sub>4</sub>、1 mL 9 mmol/L 水杨酸-乙醇,最后加入 1 mL 8.8 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,以蒸馏水为参照,常温下保持 30 min,在 510 nm 下测定其吸光度<sup>[6]</sup>。以 1 mL 9 mmol/L FeSO<sub>4</sub>、1 mL 9 mmol/L 水杨酸-乙醇、1 mL 不同浓度的杏花多糖溶液和蒸馏水作为多糖的本底吸收值。每个浓度重复 3 次,取吸光度的平均值。·OH 消除率的计算公式为

$$\cdot\text{OH 消除率} = [D_0 - (D_1 - D_2)] / D_0 \times 100\%。$$

式中:D<sub>0</sub> 为不加多糖空白对照液的吸光度;D<sub>1</sub> 为加入多糖溶液后的吸光度;D<sub>2</sub> 为不加显色剂 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的吸光度。

1.2.5.2 杏花多糖清除 DPPH 自由基的活性研究 取不同浓度的杏花多糖溶液 1 mL,向其中加入 2 mL 0.2 mmol/L DPPH 自由基无水乙醇溶液,常温下黑暗处放置 30 min,在 517 nm 下测得吸光度为 D<sub>x</sub>;以 2 mL 95% 的乙醇溶液代替 DPPH 溶液为空白组;2 mL 0.2 mmol/L DPPH 溶液与 2 mL 蒸馏水为对照组;以等体积蒸馏水和 95% 乙醇混合液作为空白调零<sup>[7]</sup>。每个浓度重复 3 次,取吸光度的平均值。按下式计算 DPPH 自由基消除率:

$$\text{DPPH 自由基消除率} = [D_0 - (D_x - D_y)] / D_0 \times 100\%。$$

式中:D<sub>0</sub> 为对照组吸光度;D<sub>y</sub> 为空白组吸光度;D<sub>x</sub> 为加入杏花多糖后溶液的吸光度。

2 结果与分析

2.1 单因素对杏花中多糖提取的影响

2.1.1 料液比对杏花中多糖提取的影响 称取经过预处理的杏花样品 1.00 g 各 4 份,固定超声波辐射 60 min,超声波功率 80 W,浸泡时间 90 min,分别取料液比为 1:10、1:15、1:20、1:25(g:mL)进行试验,多糖得率依次为 5.26%、5.39%、5.41%、5.36%。试验表明,多糖的提取率开始随料液比的增大而增加,但是当料液比大于 1 g:20 mL 时,提取率随着料液比的增大而降低。因此,确定料液比 1 g:20 mL 是杏花中多糖提取适宜的料液比。

2.1.2 浸泡时间对杏花中多糖提取的影响 称取经过预处理的杏花样品 1.00 g 各 4 份,固定超声功率 80 W,料液比 1 g:20 mL,超声波辐射时间 60 min,依次在浸泡时间为 30、60、90、120 min 下进行试验,多糖得率依次为 4.71%、5.18%、5.83%、5.84%。试验表明,开始多糖的提取率随浸泡时间的延长而增加,但是当浸泡时间大于 90 min 时,随着浸泡时间的延长,提取率增大明显趋于缓慢,为了节约时间,确定浸泡时间 90 min 是提取杏花多糖的最适宜浸泡时间。

2.1.3 超声功率对杏花中多糖提取的影响 称取经过预处理的杏花样品 1.00 g 各 4 份,固定超声波辐射时间 60 min,料液比 1 g:20 mL,浸泡时间 90 min,依次在超声功率为 40、60、80、100 W 下进行试验,多糖得率分别为 5.46%、5.78%、5.79%、5.81%,结果表明随着超声波辐射功率的增大,多糖的得率也在增大,当超声波功率超过 80 W 时,杏花中多糖得率增大明显趋于缓慢,因此,确定杏花多糖提取适宜的超声波功率为 80 W。

2.1.4 超声辐射时间对杏花中多糖提取的影响 称取经过预处理杏花样品 1.00 g 各 4 份,固定超声波辐射功率 80 W,料液比 1 g:20 mL,浸泡时间 90 min,依次在超声波辐射时间为 30、60、90、120 min 下进行试验,多糖得率为 5.42%、5.56%、5.52%、5.48%。结果表明,开始多糖的提取率随着超声波辐射时间的延长而增加,但当辐射时间大于 60 min 时,提取率反而开始降低。因此确定适宜的超声波辐射时间为 60 min。

2.2 多因素对杏花中多糖提取的影响

根据单因素试验结果,确定各因素的合理水平见表 1,本试验为 3 个水平 4 个因素的试验,故选用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表安排试验,试验方案及结果见表 1、表 2。

表 1 杏花中多糖提取正交试验因素水平

| 因素水平 | A:料液比<br>(g:mL) | B:浸泡时间<br>(min) | C:超声功率<br>(W) | D:超声辐射时间<br>(min) |
|------|-----------------|-----------------|---------------|-------------------|
| 1    | 1:15            | 60              | 60            | 30                |
| 2    | 1:20            | 90              | 80            | 60                |
| 3    | 1:25            | 120             | 100           | 90                |

表 2 直观分析结果表明,影响杏花中多糖提取的主要因素是超声功率,最佳工艺条件为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即:料液比 1 g:20 mL,浸泡时间 120 min,超声功率 80 W,超声辐射时间 60 min。

表 2 杏花中多糖提取正交试验结果

| 编 号   | 因素   |      |      |      | 多糖含量<br>(%) |
|-------|------|------|------|------|-------------|
|       | A    | B    | C    | D    |             |
| 1     | 1    | 1    | 3    | 2    | 5.52        |
| 2     | 2    | 1    | 1    | 1    | 5.74        |
| 3     | 3    | 1    | 2    | 3    | 6.07        |
| 4     | 1    | 2    | 2    | 1    | 5.91        |
| 5     | 2    | 2    | 3    | 3    | 5.68        |
| 6     | 3    | 2    | 1    | 2    | 5.79        |
| 7     | 1    | 3    | 1    | 3    | 5.96        |
| 8     | 2    | 3    | 2    | 2    | 6.54        |
| 9     | 3    | 3    | 3    | 1    | 5.58        |
| $k_1$ | 5.80 | 5.78 | 5.83 | 5.74 |             |
| $k_2$ | 5.99 | 5.79 | 6.17 | 5.95 |             |
| $k_3$ | 5.81 | 6.03 | 5.59 | 5.90 |             |
| $R$   | 0.19 | 0.25 | 0.58 | 0.21 |             |

方差分析结果显示,超声波辐射下提取杏花中多糖的影响显著因素是料液比,而浸泡时间和超声辐射时间对多糖提取的影响较小。因此,提取过程中应严格控制料液比,浸泡时间和超声辐射时间可适当缩短。根据正交试验结果的直观分析和方差分析,综合考虑,最佳提取工艺为料液比 1 g : 20 mL,浸泡时间 90 min,超声波功率 80 W,超声辐射时间 60 min,

2.3 验证试验

取适量预处理后的杏花样品,在正交试验所得优化提取工艺条件下进行验证试验,得到多糖质量分数为 6.54% ( $n=3$ )。

表 3 杏花中多糖提取正交试验结果方差分析

| 方差来源   | 偏差平方和 | 自由度 | F 值   | $F_{0.1}(2,2)$ | $F_{0.05}(2,2)$ | 影响程度 |
|--------|-------|-----|-------|----------------|-----------------|------|
| 料液比    | 2.17  | 2   | 31.00 | 9.0            | 19.0            | 显著   |
| 浸泡时间   | 0.12  | 2   | 1.71  | 9.0            | 19.0            |      |
| 超声波功率  | 0.51  | 2   | 7.29  | 9.0            | 19.0            |      |
| 超声辐射时间 | 0.07  | 2   | 1.00  | 9.0            | 19.0            |      |
| 误差     | 0.07  | 2   |       |                |                 |      |

2.4 杏花多糖的抗氧化性

准确称取 1.00 g 预处理过的杏花样品,在最优化的提取工艺条件下按“1.2.4”节的方法提取杏花多糖,提取量为 65.4 mg/g,提取液用蒸馏水定容至 100 mL,再分别稀释 10、20、30、40、50、70、90 倍,多糖的浓度分别为 65.4、32.7、21.8、16.35、13.03、9.34、7.27  $\mu\text{g/mL}$ ,按“1.2.5.1”节的方法测其吸光度,计算对  $\cdot\text{OH}$  的消除率依次为 74.8%、71.5%、67.2%、54.6%、43.1%、31.2%、21.5% (图 2)。

按“1.2.5.2”节的方法测其吸光度,计算对 DPPH  $\cdot$  的消除率依次为 86.7%、85.1%、74.3%、65.6%、51.2%、43.5%、30.7% (图 3)。

试验结果表明,杏花多糖对非细胞体系产生的  $\cdot\text{OH}$  和 DDDP  $\cdot$  均有明显的清除作用,在相同浓度下,对 DPPH  $\cdot$  的清除率高于  $\cdot\text{OH}$ 。具体来说当多糖浓度  $< 32.7 \mu\text{g/mL}$  时,对  $\cdot\text{OH}$  和 DPPH  $\cdot$  的清除率随着多糖浓度的增大而提高,且有较好的量效关系,当多糖浓度为  $32.7 \mu\text{g/mL}$  时,对  $\cdot\text{OH}$  的消除率是 71.5%,对 DPPH  $\cdot$  的消除率是 85.1%;当多糖浓度大于  $32.7 \mu\text{g/mL}$  时,随着杏花多糖浓度的增大,对自由基

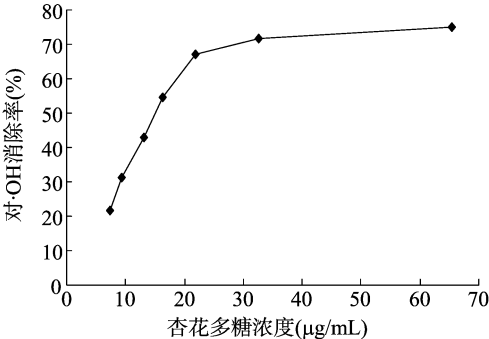


图 2 杏花多糖对  $\cdot\text{OH}$  消除率的影响

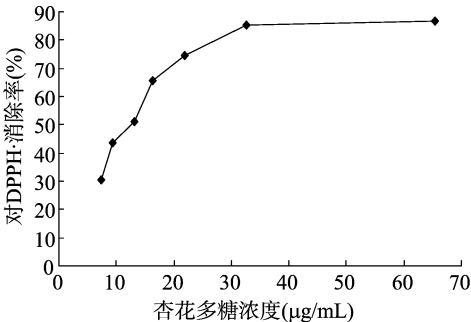


图 3 杏花多糖对 DPPH  $\cdot$  消除率的影响

清除率提高的趋势变缓。

3 结论

利用直观分析法和方差分析,影响超声波辅助下提取杏花中多糖含量的显著因素是料液比,浸泡时间和超声辐射时间对杏花中多糖的提取无明显影响。最佳工艺条件为  $\text{A}_2\text{B}_3\text{C}_2\text{D}_2$ ;最佳提取工艺为料液比 1 g : 20 mL,超声辐射功率 80 W,超声波辐射时间 60 min,浸泡时间 90 min。

杏花多糖对  $\cdot\text{OH}$  和 DPPH  $\cdot$  均具有较强的还原能力,并且对二者自由基的清除作用和还原能力与其浓度呈正相关。杏花多糖具有较强的清除自由基的能力,可作为人体系统中的抗氧化剂。

杏花中植物多糖含量高达 6.54%。因此,杏花完全能够作为提取植物多糖的来源之一,且提取工艺简单。

参考文献:

[1]高凌宇,田文礼. 杏花花粉中功能性成分的研究进展[J]. 农产品加工学刊,2010,18(11):74-76.  
[2]于佳佳,克热木·伊力,李焕荣. 微波辅助提取杏花总黄酮工艺的研究[J]. 新疆农业科学,2010,47(3):577-582.  
[3]梁永锋. 人工种植与道地野生金莲花多糖含量比较及微波辅助提取工艺研究[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):332-334.  
[4]付学鹏,杨晓杰. 蒲公英多糖的提取及含量测定[J]. 现代食品科技,2007,23(5):37-39.  
[5]杨 芳,曹 银,廖绪标,等. 板栗多糖的超声波辅助提取技术[J]. 湖北农业科学,2012,51(12):2552-2555.  
[6]钟耀广,林 楠,王淑琴,等. 香菇多糖的抗氧化性能与抑菌作用研究[J]. 食品科技,2007(7):141-144.  
[7]许 平. 黄瓜多糖抗氧化活性研究[J]. 重庆工商大学学报(自然科学版),2009,26(1):54-56.