第 28 卷,第 3 期 光 谱 实 验 室 Vol.28,No.3
2011 年 5 月 Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory May,2011

# 甘肃临泽小枣多糖提取及抗氧化性①

吴冬青② 安红钢 徐新建 林 敏 潘红红
(河西学院化学系 甘肃省张掖市河西学院化学系 110 信箱 734000)

摘 要 研究了甘肃临泽小枣的抗氧化活性。采用邻二氮菲-$Fe^{2+}$-$H_2O_2$ 氧化法、邻苯三酚自氧化法以及卵黄脂蛋白不饱和脂肪酸过氧化体系对小枣多糖抗氧化作用进行了测定。临泽小枣多糖对羟自由基、超氧阴离子自由基均有清除能力,并能抑制卵黄脂蛋白脂质过氧化作用,在相同浓度下,多糖提取液对羟自由基清除能力最强、抑制卵黄脂蛋白脂质过氧化作用最弱。小枣多糖具有抗氧化活性,在一定浓度范围内抗氧化活性与多糖含量呈正相关。

关键词 枣多糖;提取;抗氧化性
中图分类号:O657.32 文献标识码:A 文章编号:1004-8138(2011)03-1066-05

## 1 引言

枣(*Zizyphus jujube Mill*)为鼠李科属木本植物,枣果又名红枣。根据果实的大小可分为大枣和小枣[1]。枣果营养丰富,含糖类、蛋白质、脂肪及多种矿物元素,它还具有滋阴补肾、强身健体、软化血管、开胃健脾等多种药用功能[2]。

多糖类化合物是中草药的有效成分之一,具有多种生物活性,近 10 多年来的研究证实高等植物多糖具有提高和恢复机体免疫功能抗应激,抗肿瘤,降血脂等多种生物活性,还可以用于治疗包括艾滋病在内的多种疾病[3]。

甘肃临泽小枣是当地的主要农产品,临泽枣虽然不大,但其色泽、肉细、含糖量高、无虫蛀而闻名遐尔。目前,对枣化学成分、活性成分的提取以及药理活性研究报道较多,关于枣提取物的抗氧化活性研究报道较少[4]。有关甘肃临泽小枣多糖提取及抗氧化活性未见报道,因此,本文对甘肃临泽小枣中的多糖进行了提取纯化,并对临泽小枣中多糖抗氧化作用进行了研究,以期为甘肃临泽小枣进一步开发利用提供理论参考。

## 2 实验部分

### 2.1 材料、试剂与仪器

优质甘肃临泽小枣,采集于临泽农家。将小枣洗净,去核,晾干,粉碎,备用。

无水乙醇、浓硫酸、葡萄糖、苯酚、邻二氮菲、硫酸亚铁、无水磷酸二氢钾、无水磷酸氢二钾、邻苯三酚、三羟甲基氨基甲烷等均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

RE-52 型旋转蒸发仪(上海青浦沪西仪器厂);WFJ 2100 型可见分光光度计(上海尤尼柯仪器

① 甘肃省教育厅科研资助项目(0509-02);西部资源环境化学重点实验室科研资助项目(xz0603)
② 联系人,电话:(0936)8282566;手机:(0)13014110331;E-mail:hxuwdq@163.com
作者简介:吴冬青(1961—),女,沈阳市人,教授,主要从事无机及分析化学教学工作和研究天然产物活性物质提取与分析工作。
收稿日期:2010-07-10;接受日期:2010-08-10
© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.c

有限公司) ; SHB-III 循环式多用真空泵( 郑州长城科工贸有限公司) ; HH-6 型数显恒温水浴锅( 常州国华电器有限公司) 等。

## 2.2　实验方法

### 2.2.1　多糖的提取与纯化[3—6]

称取 50g 的枣粉, 加入石油醚, 40℃回流 2h, 抽滤并挥干滤渣溶剂, 滤渣加定量水, 100℃回流两次, 每次 2h, 抽滤, 滤液合并, 浓缩至 20mL, 加 3 倍于浓缩液体积的 95% 乙醇, 静置过夜。将过夜后的滤液 4000r/ s 离心分离 15min, 收集沉淀, 加入少量蒸馏水溶解, 置于分液漏斗, 按照提取液体积 1/ 4 量加 Sevag( 氯仿与正丁醇以 4 ∶1 混合) 试剂, 振荡、静置、4000r/ s 分离 15min, 直至无乳白色变性蛋白质析出为止, 收集上清液, 加入活性炭脱色, 过滤、醇沉、洗涤、干燥, 得多糖样品。称取适量多糖样品, 加少量水溶解, 转移并定容于 50mL 容量瓶, 备用。

### 2.2.2　小枣多糖含量测定—苯酚硫酸法[6—9]

#### 2.2.2.1　校准曲线的绘制

准确称取 105℃下干燥至恒重的葡萄糖 0. 1000g, 加少量水溶解, 移入 50mL 容量瓶中, 用水定容至刻度。分别吸取葡萄糖储备液 0. 2、0. 4、0. 6、0. 8、1. 0、1. 2mL 于比色管中, 加水稀释至 4mL, 再分别加入 5% 苯酚溶液 2mL, 摇匀, 隔时 1min, 沿管壁缓慢加入浓硫酸 10mL, 摇匀, 放入冰水浴中冷却 5min, 以水为空白, 490nm 处测其吸光度值。以葡萄糖浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制校准曲线。回归方程式为: $y = 0.6823x + 0.0563$, $r^2 = 0.9995$。

#### 2.2.2.2　多糖含量的测定

取 2mL 样品液于比色管中, 加入 5% 苯酚溶液 2mL, 摇匀, 隔时 1min, 沿管壁缓慢加入浓硫酸 10mL, 摇匀, 放入冰水浴中冷却 5min, 490nm 处测其吸光度值。按下式计算换算因子:

$$F = W_1 / (C_1 \times D_1)$$

式中: $W_1$—— 多糖质量( mg) ; $C_1$—— 多糖中葡萄糖的浓度( mg/ mL) ; $D_1$—— 多糖的稀释因子。

$$多糖含量(\%) = C_2 \times D_2 \times F / W_2 \times 100\%$$

式中: $C_2$——样品溶液的葡萄糖质量( mg) ; $D_2$——样品溶液的稀释倍数; $F$——换算因子; $W_2$——样品的质量( mg) 。

### 2.2.3　枣多糖抗氧化作用的测定[8—18]

#### 2.2.3.1　对羟基自由基清除作用

向 10mL 容量瓶中加入 0. 5mL 5mmol/ L 邻二氮菲、2. 0mL pH 7. 4 的磷酸缓冲液, 充分摇匀, 加入 1. 0mL 7. 5mmol/ L 硫酸亚铁, 立即摇匀, 加入 1. 0mL 2% 过氧化氢, 最后用水补至 10mL。在 37℃水浴下反应 1h, 然后在 536nm 波长下测定吸光度 $A_{536}$( 损伤) 。同上法, 分别加 0. 5、1. 0、1. 5、2. 0、2. 5、3. 0、3. 5、4. 0mL 提取液后加过氧化氢测定 $A_{536}$( 加药) 。同上法, 不加过氧化氢和提取物测定 $A_{536}$( 未损伤) 。

羟基自由基清除率 $d$ 计算公式:

$$d = [A_{536}(加药) - A_{536}(损伤)] / [A_{536}(未损伤) - A_{536}(损伤)]$$

#### 2.2.3.2　对超氧阴离子( $O_2^-$ ) 的抑制作用

取 2mL pH 8. 2 的 HCl-三羟甲基氨基甲烷缓冲液 5 份, 分别加入 0. 5、1. 0、2. 5、5. 0、6. 0mL 样品, 立即加入 0. 3mL 5mmol/ L 邻苯三酚后计时并用水定容到 10mL 容量瓶中, 摇荡使之充分反应, 3min 后在 420nm 波长处每隔 30s 测定一次吸光度( 不加样为自氧化反应), 绘制吸光度对时间的曲

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.c

线, 曲线斜率即为自氧化的速率。

抑制率计算公式:

$$O_2^{-}\ 抑制率\ s(\%) = (K_0 - K_{样}) / K_0 \times 100\%$$

式中: $K_0$——不加样自氧化速率; $K_{样}$——加样氧化速率。

2.2.3.3 多糖对 LPO 的抑制作用的测定

卵黄悬浊液的制备, 新鲜鸡蛋去卵清, 卵黄用等体积的 pH 7.4 的 0.1mol/L 的磷酸钠缓冲液(PBS)配成 1∶1 的悬浊液, 磁力搅拌 10min, 再用 PBS 稀释成 1∶25 的悬浊液(置于冰箱中备用)。吸取 1∶25 的卵黄悬浊液 0.2mL 置于 10mL 试管中, 加入 1.0mL 样品, 加入 0.2mL 25mmol/L $FeSO_4$, 用 pH 7.4, 0.1mol/L 的 PBS 补至 2mL, 37℃振荡 15min, 取出后再加入 0.5mL 20% 三氯乙酸(TCA), 5000r/min 离心 8min, 吸取 2mL 上清液加入 1mL 0.8% 硫代巴比妥酸(TBA), 封口, 沸水浴中煮 15min 后冷却, 在 532nm 处测定吸光度($A$), 不加样品管的吸光度($A_0$)。卵黄脂蛋白脂质过氧化(LPO)的抑制率计算公式:

$$LPO\ 的抑制率(\%) = (A_0 - A) / A_0 \times 100\%$$

# 3 结果与讨论

## 3.1 多糖含量

准确吸取一定量的样品备用液, 根据 2.2.2.2 方法测定样品在 490nm 的吸光度值, 代入回归方程, 得出样品溶液中葡萄糖的浓度。然后通过多糖含量计算公式, 得出小枣中的多糖含量为 25.08%。

## 3.2 小枣多糖抗氧化能力

### 3.2.1 对羟基自由基的清除能力

按方法 2.2.3.1 测定样品在 536nm 处吸光度值, 代入清除率 d 的计算公式, 结果见图 1。

由图 1 可以看出, 枣多糖对羟基自由基(·OH)有一定程度的清除作用, 其清除能力与提取物浓度有明显的量效关系。当提取物浓度为 0.8mg/mL 时, 其清除率达到 57.64%。由于多糖浓度不够高, 清除羟基自由基作用未完全达到理想状态。

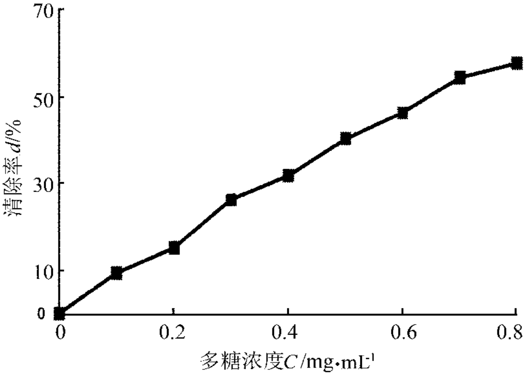


图 1 多糖对羟基自由基清除作用

### 3.2.2 对超氧阴离子($O_2^{-}$)的抑制作用

按方法 2.2.3.2 测定样品在 420nm 处吸光度值, 代入抑制率的计算公式, 结果见图 2。

图 2 可看出, 小枣多糖在一定浓度范围内对超氧阴离子的抑制作用随着提取物浓度增大而增加, 但当浓度大于 0.6mg/mL(抑制率为 21.30%)时, 抑制率增加缓慢。

### 3.2.3 多糖对 LPO 的抑制作用

按 2.2.3.3 方法测定多糖样品在 532nm 处测定吸光度, 然后计算多糖对卵黄脂蛋白脂质过氧化的抑制率, 结果见图 3。

由图 3 可看出, 随着提取物含量的升高, 其抑制率也随之增加。在 0.2—1.0mg/mL 范围内增高较明显, 当浓度继续增大时, 抑制率增加不太显著。

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.c

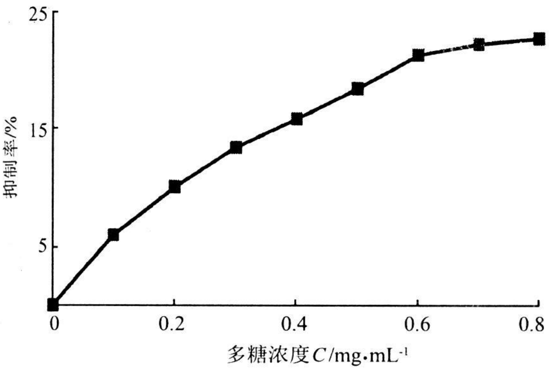


图 2　多糖对超氧阴离子的抑制作用

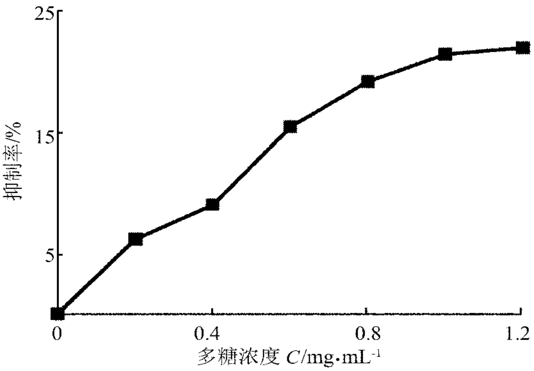


图 3　多糖对卵黄脂蛋白 LPO 抑制作用

## 4　结论

本文采用苯酚-硫酸法测定小枣多糖,得临泽小枣多糖含量为25.08%。临泽小枣多糖具有一定的抗氧化能力,且抗氧化能力随提取液浓度的升高而升高。在多糖浓度相同(0.6mg/mL)情况下,对羟基自由基的清除率是46.20%;对超氧阴离子的抑制率为21.30%;对卵黄脂蛋白LPO的抑制率是15.48%,这说明小枣多糖对不同类型自由基的清除能力存在差异,这与枣多糖种类、结构有密切关系。临泽小枣对环境的适应力很强,极易生长,资源丰富,是一种原料广、效果好、安全可靠、性价比高的天然抗氧化食物,味道甘甜可口,经常食用可以提高自身的免疫力,具有理想的食疗作用,有良好的开发和应用前景。

## 参考文献

[1] 齐小菊,王向红,迟建等.枣中糖测定的研究进展[J].河北林果研究,2005,**20**(2):179—181.

[2] 曲泽洲,王永蕙.中国枣树志・枣卷[M].北京:中国林业出版社,1993.121—125.

[3] 刘晓红,肖凯军.金樱子粗多糖的脱蛋白研究[J].食品科技,2007,**32**(1):102—104.

[4] 李进伟,范柳萍,丁霄霖.五种枣提取物抗氧化活性的比较[J].食品工业科技,2009,**30**(2):142—144.

[5] 高秋萍,阮红.紫心甘薯多糖提取工艺[J].食品科学,2009,**30**(20):113—117.

[6] Oosterveld A, Harmsen J S, Voragen A G J. Extraction and Characterization of Aolysaccharides from Green and Roasted Coffea Arabica Beans[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2003, **52**(3): 285—296.

[7] 杨永杰,姜瑞芝,陈英红等.苯酚-硫酸法测定杂多糖含量的研究[J].中成药,2005,**27**(6):706—708.

[8] Yin Y Q, Li Y, Kong L Y. Pentasaccharide Glycosides from the Tubers of Sweet Potato (Ipomoea Batatas) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, **56**(7): 2363—2368.

[9] Ismail A, Marian Z M, Foong C W. Total Antioxidant Activity and Phenolic Content in Selected Vegetables[J]. *Food Chemistry*, 2004, **87**(4): 581—586.

[10] 吴冬青,安红钢,齐亚娥等.九种药用植物花黄酮类物质提取及对羟自由基清除能力的研究[J].天然产物研究与开发,2008,**20**(3):514—517.

[11] 丁利君,周圳辉,林燕如.芒箕中黄酮物质的提取及其抗氧化研究[J].食品科学,2005,**26**(8):77—81.

[12] Assimopulou A N, Zlatanos S N, Papageorgiou V P. Antioxidant Activity of Natural Resins and Biotive Triterpenes in Oil Substrates[J]. *Food Chemistry*, 2005, **92**(4): 721—727.

[13] Gallardo C, Jimenez L, Garcia-Conesa M T. Hydroxycinnamic Acid Composition and in Vitro Antioxidant Activity of Selected Grain Fractions[J]. *Food Chemistry*, 2006, **99**(3): 455—463.

[14] 吴学辉,黄永芳,高强等.肉桂精油的抗氧化作用[J].食品科技,2007,**186**(4):85—88.

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.c

[15] 何永艳, 冯佰利, 邓涛等. 荞麦提取物抗氧化活性研究[J]. 西北农业学报, 2007, **16**(6): 76—79.

[16] Heo S J, Jeon Y J. Radical Scavenging Capacity and Cytoprotective Effect of Enzymatic Digests of Ishige Okamurae[J]. *J. Appl. Phycol.*, 2008, **20**(6): 1087—1095.

[17] 李彩霞, 焦扬, 张锐等. 甘青铁线莲花水提取物的抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, **20**(2): 134—137.

[18] 鲁晓翔, 唐津忠. 紫背天葵中总黄酮的提取及其抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2007, **28**(4): 144—148.

# Extraction and Antioxidant Activity of Polysaccharide from Gansu Linze Jujube

WU Dong-Qing AN Hong-Gang XU Xin-Jian LIN Min PAN Hong-Hong

(*Department of Chemistry, Hexi University, Zhangye, Gansu* 734000, *P. R. China*)

**Abstract** The antioxidative activity of Linze jujube was studied. The method of phenanthroline-$Fe^{2+}$-$H_2O_2$ reaction system and autoxidation reaction system of pyrogallol and the system of lipid peroxide were used to measure the antioxidation of the Linze jujube. The polysaccharide of jujube had scavenging action on hydroxyl radical and superoxide anion, and restraining action on lipid peroxidation of lecithin lipoprotein. In the same concentration, the polysaccharide of jujube had more strong scavenging effect on hydroxyl radical, moreover the restraining action as the most weak on lipid peroxidation of lecithin lipoprotein. The antioxidative activity was positive correlation to extract concentration within given concentration.

**Key words** Polysaccharide of Jujube; Extraction; Antioxidation Activity

## 如何上网查阅核心期刊发表的论文

(你的论文在发表之后两个月左右, 上网才能检索到)

1. 在浏览器的地址栏上输入"核心期刊"。当出现菜单后, 点击"核心期刊目录", 再点击"中文核心期刊要目总览(2008 版)", 即可查阅各学科的"核心期刊"。若要查阅《光谱实验室》, 请查第 4 编: 自然科学, 再查"O6/O7—化学/晶体学", 第 21 号即是。

也可以在浏览器的地址栏上输入 www.google.cn 或 www.baidu.com, 再输入"核心期刊"后, 点击"中文核心期刊要目总览(2008 版)", 即可查阅各学科的"核心期刊"。

2. 上中国期刊网, 点击"核心期刊导航"。

1) 在浏览器上输入"www.cnki.net"然后回车, 进入中国知网(即中国期刊网)首页。

2) 找到"学术文献总库特色导航", 点击"期刊大全(9268 种)", 进入"中国学术文献网络出版总库"。

3) 点击左侧"核心期刊导航", 首页出现后, 找到"第四编自然科学(351 种期刊)", 即可查阅自然科学各学科的"核心期刊"。若要查阅《光谱实验室》, 请点击"化学/晶体学类", 出现期刊的"图形方式"(即期刊的封面)后, 在第 1 页的第 3 排左起第 2 图即为《光谱实验室》。点击《光谱实验室》即可查阅有关内容。

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.c