

四角蛤蜊多糖的吸湿保湿性及体外抗氧化性研究

刘新, 王令充, 吴皓*, 庄铭, 朱蕴茵, 蒋金来, 窦娟
(南京中医药大学药学院, 江苏南京 210029)

摘要:以透明质酸为参照,分别在两种相对湿度条件下考察了四角蛤蜊多糖的吸湿和保湿性及其随时间的变化情况,结果表明,四角蛤蜊多糖具有一定程度的吸湿性和较持久的保湿性,并且有一定的湿度依赖性;以V_C为对照,考察了其羟自由基清除能力、DPPH自由基清除能力以及还原能力,结果显示,四角蛤蜊多糖具有一定的抗氧化性能,尤其对羟自由基的清除能力很强。所以,四角蛤蜊多糖作为天然的保湿剂和抗氧化剂有一定的应用前景。

关键词:四角蛤蜊,吸湿,保湿,抗氧化

Study on moisture absorption, moisture retention and antioxidant activity in vitro of *Macra veneriformis* polysaccharide

LIU Xin, WANG Ling-chong, WU Hao*, ZHUANG Ming, ZHU Yun-han, JIANG Jin-lai, DOU Juan

(College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract: Moisture absorption and moisture retention of *Macra Veneriformis* polysaccharide were investigated under two kinds of humidity conditions with hyaluronic acid as a reference. The result showed that polysaccharide had a certain degree of moisture absorption and long lasting moisture retention, and a certain degree of humidity-dependent. Taking V_C as a referential substance, hydroxyl radical scavenging ability, DPPH scavenging ability and reducing capacity of *Macra veneriformis* polysaccharide were studied. The result showed that it had a certain degree of antioxidant capacity, especially the capacity of scavenging the hydroxyl radical. These results clearly established the possibility that *Macra Veneriformis* polysaccharide could be effectively employed as type of natural moisturizer and antioxidant.

Key words: *Macra veneriformis* polysaccharide; moisture absorption; moisture retention; antioxidant activity

中图分类号: TS241

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)24-085-04

四角蛤蜊 (*Macra veneriformis*) 为软体动物门 (Mollusca), 瓣鳃纲 (Lamellibranchia), 蛤蜊科 (Mactridae) 的动物, 是中国海域常见的海洋底栖较大经济贝类, 生活于沿海的泥沙质潮间带, 广泛分布于我国南北沿海。《本草纲目》记载: 蛤蜊肉润五脏, 止消渴, 开胃, 解酒毒, 具有滋阴利水、化痰软坚的功效。四角蛤蜊含有丰富的多糖、蛋白质、不饱和脂肪酸、维生素和微量元素等。研究表明, 四角蛤蜊中的小分子以及肽类具有抗氧化作用^[1-2], 多糖具有降血糖、保肝、调节免疫力等活性^[3], 另外多糖还可以作为药物的载体材料, 制备成微球^[4], 四角蛤蜊的贝壳还可以制备柠檬酸钙^[5]。四角蛤蜊多糖为从四角蛤蜊软体中提取的水溶性多糖, 其分子量在40万左右, 是由D-葡萄糖构成的 α 构型的链状葡聚糖^[6]。文献研究表明, 很多海洋多糖具有吸湿保湿性能以及抗氧化的能力, 如透明质酸, 不仅具有保水、保湿的作

用^[7], 还可以结合在皮肤表面, 发挥抗氧化作用^[8]; 壳聚糖的保湿能力^[9]较强, 同时其衍生物还具有较强的抗氧化能力^[10]。另外, 还有一些微生物多糖, 也同时具有保湿及抗氧化能力^[11]。所以我们对四角蛤蜊多糖的吸湿保湿性及抗氧化性能进行研究, 考察其作为吸湿剂及抗氧化剂的应用前景。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

四角蛤蜊软体 江苏省海洋水产研究所提供; 透明质酸钠 山东福瑞达生物医药有限公司; 1,1-二苯基苦基苯肼 上海华蓝化学科技有限公司; 铁氰化钾、三氯乙酸 上海凌峰化学试剂有限公司; 三氯化铁 国药集团化学试剂有限公司; 其余试剂 均为国产分析纯。

BP211D型电子天平 德国Sartorius公司; 202型电热恒温干燥箱 上海索谱仪器有限公司; Spectra Max 190型酶标仪 美国AD公司; TGL-16G型台式离心机 上海安亭科学仪器厂; HH-4型恒温水浴锅 巩义市英峪予华仪器厂; Rotavapor R114薄膜旋转蒸发仪 BUCHI; 干燥器, 称量瓶 (25cm×40cm), 其

收稿日期: 2012-07-05 * 通讯联系人

作者简介: 刘新 (1987-), 女, 硕士在读, 研究方向: 海洋药物。

基金项目: 国家自然科学基金 (30900293)。

他常规仪器。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的制备^[12-13] 四角蛤蜊软体解冻、沥干,加3倍水煎煮30min,煎煮两次,合并浓缩,冷却后离心,离心液用80%醇沉12h,抽滤,真空干燥得到四角蛤蜊粗多糖。一定量水溶解粗多糖,加入等体积5%三氯乙酸,静置离心,取上清液,将NaOH调至pH=7,80%醇沉过夜,抽滤,真空干燥,得四角蛤蜊精多糖。再用透析法进一步精制,硫酸蒽酮法测多糖含量,得多糖含量为92.4%的四角蛤蜊精多糖。

1.2.2 吸湿保湿性研究^[14]

1.2.2.1 吸湿性实验 将饱和NaCl溶液和饱和MgCl₂溶液置于密闭的干燥器内,以造成相对湿度为73%和33%的环境,接着将干燥器置于恒温环境中。精密称取一定量已干燥至恒重的四角蛤蜊精多糖样品于已干燥至恒重的称量瓶中,将称量瓶分别敞口置于相对湿度为73%和33%的干燥器中,室温一直保持20℃,分别于3、12、24、36、48、60、72、84、96h称量各称量瓶重量,取2次平行实验均值。按下式计算样品的吸湿率:

$$\text{吸湿率}(\%) = (W_1 - W_0) / W_0 \times 100$$

式中:W₀为干燥样品质量;W₁为放置一定时间后样品质量。

1.2.2.2 保湿性实验 精密称取一定量已干燥至恒重的四角蛤蜊精多糖样品置于已干燥至恒重的称量瓶中,加入三倍量水,搅拌均匀,精密称重。将称量瓶分别敞口置于相对湿度为33%和硅胶干燥器中,室温一直保持20℃,分别于3、12、24、36、48、60、72、84、96h称量各称量瓶重量,取两次平行实验值。按下式计算样品的保湿率:

$$\text{保湿率}(\%) = W_2 / W_1 \times 100$$

式中:W₁为放置前水分重量;W₂为放置一定时间后水分质量。

1.2.3 抗氧化性研究

1.2.3.1 羟自由基清除能力测定^[15] 采用不同浓度四角蛤蜊精多糖溶液对Fenton体系产生的羟自由基清除率的体外实验进行测定。取0.2mL的FeSO₄-EDTA混合液(10.0mmol/L)置于试管中,加入0.5mL的2-脱氧核糖溶液(10.0mmol/L)和0.6mL四角蛤蜊多糖溶液,用磷酸缓冲液(pH=7.4, 0.1mol/L)定容至1.8mL,再加入0.2mL H₂O₂(10.0mol/L),混匀后置于37℃恒温水浴中反应1h。然后加入2.8%(w/w)三氯乙酸(TCA)溶液1.0mL,在4000r/min下离心20min,取上清液2.0mL置于另一支试管中,加入1.0%(w/w)硫代巴比妥酸(TBA)溶液1.0mL,混匀后置沸水浴反应15min,冷却后稀释5倍,在532nm波长处测吸光度值。四角蛤蜊多糖溶液对羟自由基的清除效果用清除率(SA, %)表示,按下式计算:

$$\text{清除率}SA(\%) = [(A_c - A_s) / (A_c - A_0)] \times 100$$

式中:A_c为不加清除剂的吸光度;A_s为加入四角蛤蜊酶解液后的吸光度;A₀为试剂空白的吸光度。

1.2.3.2 DPPH自由基清除能力测定^[16] 取不同浓度四角蛤蜊多糖溶液1mL分别加入到干净的10mL具塞

试管中,再加入0.6mmol/L DPPH无水乙醇溶液0.5mL,然后以50%乙醇补充体积至5mL,30min室温避光反应后于517nm处测定吸光值A,空白组以等体积无水乙醇溶液代替DPPH溶液,对照组以等体积蒸馏水代替样品溶液,并以50%乙醇溶液空白调零。按下式计算:

$$\text{清除率}SA(\%) = [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100$$

式中:A₀为对照组吸光度;A_i为样品组吸光度;A_j为空白组吸光度。

1.2.3.3 还原能力的测定^[17] 采用普鲁士蓝反应法测定不同浓度四角蛤蜊多糖溶液的还原能力。比色管中分别加入受试样品、溶剂对照2.5mL,另加入磷酸盐缓冲液(0.2mol/L, pH=7)及10mg/mL铁氰化钾各2.5mL,混匀后于50℃水浴20min,然后加入100mg/mL三氯乙酸2.5mL,混匀后3000r/min离心10min。准确移取上清液2.5mL,加入蒸馏水2.0mL以及1mg/mL三氯化铁0.5mL,混匀后于700nm处测定吸光度值,吸光度值(OD值)越大表明还原力越强。

2 结果与分析

2.1 吸湿保湿性实验

2.1.1 吸湿性实验 以透明质酸作为对照,考察四角蛤蜊多糖及对照品在不同相对湿度条件下吸湿率随着时间的变化,结果如图1所示。

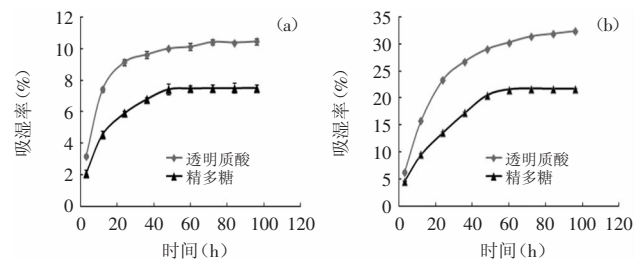


图1 不同湿度下的吸湿曲线

Fig.1 Absorption curve of different humidity conditions

注:图(a)湿度为33%;图(b)湿度为73%。

由图1可知,四角蛤蜊多糖具有一定的吸湿性;由图1(a)可知,其在相对湿度为33%条件下,平衡吸湿量可达7.50%;由图1(b)可知,在相对湿度73%条件下,平衡吸湿量可达21.70%;在两种相对湿度条件下,都是大约在48h处达到吸湿平台期,且吸湿率随着环境相对湿度的增加而增大。

2.1.2 保湿性实验 以透明质酸作为对照,考察四角蛤蜊多糖及对照品在不同相对湿度条件下随着时间的变化其保湿率的变化,结果如图2所示。

由图2可知,四角蛤蜊多糖具有一定的保湿性;由图2(a)可知,在相对湿度33%条件下,精多糖在大约84h处水分含量到达最低点;由图2(b)可知,在干燥硅胶条件下,在72h处就已经到达最低点;且随着环境相对湿度的降低,四角蛤蜊多糖和对照品的失水率都有所增加。

2.2 抗氧化能力测试

对不同浓度的四角蛤蜊多糖溶液及对照品溶液的羟自由基清除能力、DPPH清除能力及还原能力进行测试,以V_c作为对照,结果如图3所示。

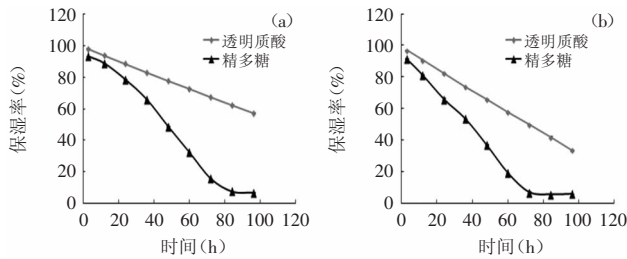


图2 不同湿度下的保湿曲线

Fig.2 Moisture curve of different humidity conditions

注:图(a)为33%湿度;图(b)为干燥硅胶。

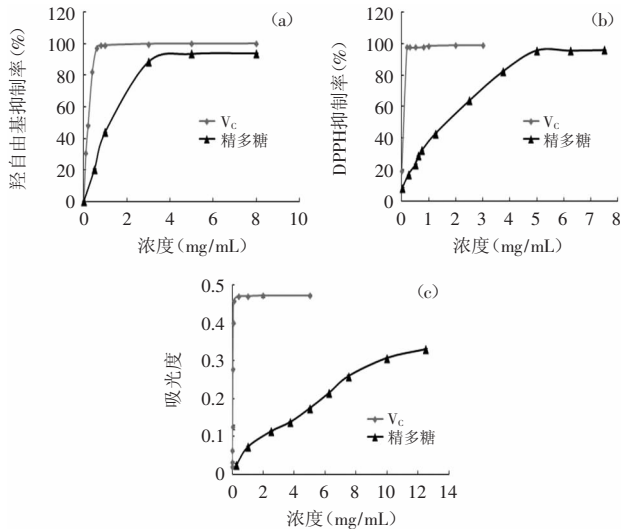


图3 不同浓度的四角蛤蜊多糖溶液及对照品的抗氧化能力

Fig.3 Antioxidation capabilities of various concentrations of polysaccharide and reference

注:图(a)为羟自由基抑制率;图(b)为DPPH抑制率;图(c)为还原能力。

由图3(a)中结果可知,四角蛤蜊多糖对羟自由基的抑制率较强,最高可达94%,且随着多糖浓度的增加,对羟自由基的抑制能力增强,具有一定的浓度依赖性,且当多糖浓度为3mg/mL时,达到抑制率的平台期。

由图3(b)中结果可知,四角蛤蜊多糖对DPPH自由基具有一定程度的抑制率,且随着多糖浓度的增加,对DPPH自由基的抑制能力增强,当多糖浓度达到5mg/mL时,达到抑制率的平台期。

由图3(c)中结果可知,多糖的还原能力虽然低于Vc,但在一定浓度范围内,四角蛤蜊多糖也表现出了一定的还原能力,且随着浓度的增加,其还原能力增强,还原能力和多糖浓度存在着明显的量效关系。

3 结论

以透明质酸为参照物,分别考察了四角蛤蜊多糖在两种湿度下的吸湿、保湿性以及随时间的变化情况,结果表明,四角蛤蜊精多糖的吸湿保湿性随着湿度的增加,能力增强,具有一定的湿度依赖性,且到达一定时间后,吸湿保湿到达一个平台期。

以Vc作为参照物,研究了四角蛤蜊多糖的抗氧化能力,其中,对于对人体破坏最大的羟自由基的抑

制率最大,多糖浓度为3mg/mL时,抑制率就能够达到将近95%;对DPPH的抑制率也较大,多糖浓度为5mg/mL的时候,能够到达抑制的平台期;还原能力较弱,与Vc比较还有一定的差距。市场上许多人工的抗氧化剂如BHA、BHT和TBHQ等被广泛用作食品添加剂^[18],然而这些通过合成出来的抗氧化剂可能有诱导癌症发生的潜在危险^[19],所以,四角蛤蜊多糖作为天然抗氧化剂有一定潜力,为抗氧化性多糖的进一步研究和开发利用奠定了一定的理论基础。

参考文献

- [1] 王令充,刘睿,郑文文,等. 酶解制备四角蛤蜊抗氧化活性肽的工艺研究[J]. 食品工业科技,2011,32(10):285-287.
- [2] 嵇晶,刘睿,王令充,等. 四角蛤蜊提取物抗氧化活性研究[J]. 中药新药与临床药理,2012,23(1):20-24.
- [3] 王令充,吴皓,张坤,等. 四角蛤蜊的降血糖、保肝和免疫活性研究[J]. 南京中医药大学学报,2010,26(4):283-285.
- [4] 吴秋惠,王令充,吴皓,等. 壳聚糖/四角蛤蜊多糖载药微球的制备与表征[J]. 中国药师,2011,14(10):1403-1406.
- [5] 陈士勇,王令充,刘睿,等. 四角蛤蜊贝壳制备柠檬酸钙的工艺研究[J]. 中国海洋药物,2011,30(6):18-22.
- [6] Wang L C, Zhang K, Di L Q, et al. Isolation and structural elucidation of novel homogenous polysaccharide from *Mactra veneriformis*. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(2):982-987.
- [7] Pietrasik Z, Chan L. Binding and textural properties of beef gels as affected by protein, κ -carrageenan and microbial transglutaminase addition[J]. Food research international, 2002, 35(1):91-95.
- [8] Zhou G F, Sun Y P, Xin H, et al. *In vivo* anti-tumor and immunomodulation activities of different molecular weight lambda-carrageenans from *chondrus ocellatus*[J]. Pharmacological Research, 2004, 50(1):47-53.
- [9] 赵峡,杨海,于广利,等. 海洋多糖保湿乳剂的制备研究[J]. 中国海洋大学学报,2007,37(4):605-608.
- [10] 姚倩,孙涛,周冬香,等. 不同取代度羧甲基壳聚糖的抗氧化性能研究[J]. 安徽农业科学,2008,9(1):5-7.
- [11] 刘凤,叶淑红,王际辉,等. 海洋假单胞菌pf-6胞外多糖吸湿保湿和抗氧化性研究[J]. 食品工业科技,2011,32(11):68-71.
- [12] 金燕,吴皓,常念,等. 四角蛤蜊多糖的提取工艺与单糖组分研究[J]. 中华中医药学刊,2010,28(3):479-481.
- [13] 张坤,吴皓,王令充,等. 四角蛤蜊多糖脱蛋白方法比较[J]. 食品科学,2011,32(8):50-53.
- [14] 石学连,张晶晶,宋厚芳,等. 浒苔多糖的分级纯化及保湿活性研究[J]. 海洋科学,2010,34(7):81-85.
- [15] Hee Guk Byun, Jung Kwon Lee, Heum Gi Park, et al. Antioxidant peptides isolated from the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis*[J]. Process Biochemistry, 2009, 44:842-846.
- [16] Kim S Y, Je J Y, Kim S K. Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (*Johnius belengerii*) frame protein by gastrointestinal digestion[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2007, 18(1):31-38.
- [17] 董欢欢,曹树稳,余燕影. 半枝莲、白花蛇舌草及其药对提

兰州百合不同部位多糖含量及抗氧化活性的比较

李霞¹, 张峰², 李永才^{1,*}, 吴庆华¹

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃兰州 730070;

2. 甘肃省分析测试中心, 甘肃兰州 730000)

摘要: 采用水提醇沉法分别提取兰州百合不同部位多糖, 苯酚硫酸法测定多糖含量, 并以V_C为阳性对照, 分别研究了不同部位多糖对1,1-二苯基-2-苦苣肟自由基(DPPH·)、超氧阴离子自由基(O₂⁻·)、羟基自由基(·OH)的清除作用及其还原力。结果表明, 百合外片多糖含量为1.47%, 显著高于芯片和根, 而芯片和根多糖含量无显著性差异; 在0.2~1.0mg/mL浓度范围内, 对DPPH·的清除作用: V_C>芯片>根>外片; 对O₂⁻·的清除作用: V_C>外片>芯片, 根多糖不具有清除作用; 对·OH的清除作用: 根>外片>V_C>芯片; 还原力: V_C>根>外片>芯片。百合不同部位多糖具有不同程度的抗氧化活性。

关键词: 兰州百合, 多糖, 抗氧化

Comparative study on the polysaccharide contents and antioxidant activities of different parts of Lanzhou Lily

LI Xia¹, ZHANG Feng², LI Yong-cai^{1,*}, WU Qing-hua¹

(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

2. Gansu Analysis and Test center, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Polysaccharides from different parts of Lanzhou Lily were obtained and determined by hot water extraction, ethanol precipitation and phenol-sulfuric acid method respectively. Antioxidant activities of polysaccharide from different parts of Lanzhou Lily were assessed by scavenging activity of DPPH radical, superoxide anion radical, hydroxyl radical and reducing power with vitamin C as a positive control. The result showed that polysaccharide content of outer layer was 1.47%, which was significantly higher than inner layer and root, but there were no significant difference between inner layer and root. The scavenging activity of DPPH radical, concentration from 0.2 to 1.0mg/mL, V_C>inner layer>root>outer layer. The scavenging activity of superoxide anion radical, V_C>outer layer>inner layer, root had no activity. The scavenging activity of hydroxyl radical, concentration from 0.2 to 1.0mg/mL, root>outer layer>V_C>inner layer; reducing power, V_C>root>outer layer>inner layer. In conclusion, the experiment demonstrated that polysaccharides from different parts of lily were promising free radical scavenger and antioxidant.

Key words: Lanzhou Lily; polysaccharides; antioxidant activities

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)24-0088-04

百合(Bulbus Lily), 又名白百合、家百合、喇叭筒

等, 为我国卫生部首批审批通过的药食两用植物^[1]。兰州百合(Lanzhou Lily)是百合科(Liliaceae)百合属(Lilium)川百合的一个变种, 是一种多年生鳞茎类草本植物, 其鳞茎硕大, 颜色洁白, 鳞片丰满白嫩, 质地细腻, 营养丰富, 口味甜美而幽香; 其花单生, 大而美丽, 香味浓郁, 所以兰州百合有很高的食用、药用、保

收稿日期: 2012-06-25 * 通讯联系人

作者简介: 李霞(1987-), 女, 在读硕士, 研究方向: 采后生物学。

基金项目: 甘肃省技术研究与开发专项计划(1004TCYA039); 兰州市高新技术产业化项目(2011-1-34)。

取物抗氧化及清除自由基活性[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(5): 782-786, 802.

[18] Cheung L M, Peter C K, Vincent E C O. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts[J]. Food Chemistry, 2003, 81: 249-255.

[19] Botterweck A A M, Verhagen H, Goldbohm R A, et al. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study[J]. Food and Chemical Toxicology, 2000, 38: 599-605.