

兰州百合芯多糖的提取工艺及其体外抗氧化活性

王昭珺, 刘晓风, 徐也

(兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730050)

摘要: 本文以甘肃兰州百合为原料, 按照 DB62/T 412 标准依次进行分级, 选取百合(百合片宽度 ≤ 14.90 mm)的芯为原料, 探究了热水浸提法提取百合芯多糖的工艺条件, 并对多糖的抗氧化活性进行了比较分析。在单因素试验的基础上, 选取料液比、提取时间和提取温度进行三因素三水平 Box-Behnken 试验, 利用 Design-Expert 11.0 软件进行试验数据分析, 得到最佳提取条件, 并对最佳提取条件的粗多糖进行抗氧化活性的研究。结果表明, 百合芯多糖的最佳提取条件是料液比为 1:11.50, 提取温度为 69.18 $^{\circ}\text{C}$, 提取时间为 53.82 min, 在此条件下多糖得率为 10.30%, 与响应面法验证结果为 10.29%。相对误差 0.09%, 误差较小。百合芯多糖在不同的抗氧化体系中有不同的抗氧化活性, 百合芯多糖浓度在 1.0 mg/mL 时抗氧化活性最佳, 对 $\cdot\text{OH}$ 清除率为 65.00%, 对 DPPH 清除率为 58.00%, 但百合芯多糖的还原力较弱且远远低于同浓度的 Vc 还原力。因此, Box-Behnken 响应面法可用于百合芯多糖提取工艺, 优化效果好, 同时百合芯多糖有一定的抗氧化活性, 百合芯可以在多糖提取方面应用, 以便于百合资源的最大化利用。

关键词: 兰州百合; 多糖提取; 响应面优化; 抗氧化; 热水浸提

文章编号: 1673-9078(2020)09-219-227

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.9.0258

Extraction Process of Polysaccharides from Lanzhou Lily Cores and Evaluation of their Antioxidant Activity *in vitro*

WANG Zhao-jun, LIU Xiao-feng, XU Ye

(School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

Abstract: The Lanzhou lily core in Gansu Province, China was used as the raw material for this study. According to the DB62/T 412 standard for grading, the core (lily slice width ≤ 14.90 mm) was extracted from the lily. The technological conditions for isolating polysaccharides from lily cores by hot water extraction were studied, and the antioxidant activity was compared and analyzed. Based on the single-factor test, the material-liquid ratio, extraction time, and extraction temperature were selected for the three-factor three-level Box-Behnken test. The experiment data were analyzed using Design-Expert 11.0 software to obtain the best extraction conditions, and the crude polysaccharides that were extracted under the best conditions were evaluated for antioxidant activity. The results showed that the best lily core polysaccharide extraction conditions were a material-liquid ratio of 1:11.50, an extraction temperature of 69.18 $^{\circ}\text{C}$, and an extraction time of 53.82 min. Under these conditions, the polysaccharide yield was 10.30%, and the response surface test verification result was 10.29%. The relative error was 0.09%, which was relatively small. Lily core polysaccharides had different antioxidant activities in different antioxidant systems. Specifically, lily core polysaccharides had the best antioxidant activity at a concentration of 1.0 mg/mL, with an OH scavenging rate of 65.00% and a DPPH scavenging rate of 58.00%. However, the reducing power of lily core polysaccharides was weak and much lower than that of Vc at the same concentration. Therefore, the Box-Behnken response surface method can be used in the lily core polysaccharide extraction process, and the optimization effect is good. At the same time, lily core polysaccharides have certain antioxidant activities, and the extraction of polysaccharides can be applied to lily cores in order to maximize the utilization of lily resources.

引文格式:

王昭珺, 刘晓风, 徐也. 兰州百合芯多糖的提取工艺及其体外抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2020, 36(9): 219-227

WANG Zhao-jun, LIU Xiao-feng, XU Ye. Extraction process of polysaccharides from Lanzhou lily cores and evaluation of their antioxidant activity *in vitro* [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(9): 219-227

收稿日期: 2020-03-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660581)

作者简介: 王昭珺 (1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品功能成分研究与开发

通讯作者: 刘晓风 (1966-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 功能性食品研发

Key words: Lanzhou lily; polysaccharide extraction; response surface optimization; antioxidant; hot water extraction

百合(*Lilium*)是百合科(*Liliaceae*)百合属(*Lilium*)的多年生草本植物^[1],始载于我国现存最早的药学专著《神农本草经》^[2],具有较高的营养价值和药用价值,它的蛋白质含量比一般蔬菜高3~5倍,糖含量高10倍,含有17~19种游离氨基酸及人体必需的多种微量元素^[3]。兰州百合是一种流行的食用鳞茎蔬菜,是全国四大百合品系之一,也是中国唯一的药用甜百合,它主要生长在中国西北的甘肃省,主要通过鳞茎繁殖^[4,5]。兰州百合鳞茎生产的经济重要性在过去十年中有所提高,这是由于国内外市场需求的快速增长。目前兰州百合远销香港,日本,东南亚和欧洲,与此同时建立了兰州百合加工生产链,使许多农民受益,兰州百合也根据非正式区域质量标准对大小,重量和形状进行分级,但是在分级时会将百合芯、老皮、斑痕片以及变色的鳞片剔除,然后进行销售。百合芯是百合分级的产物,是百合最内层的鳞片,而多糖是百合芯中的主要功能成分之一,具有抗肿瘤、抗衰老、降血糖、抗病毒、降血脂、免疫调节、抗凝血、润肺止咳等生理功能^[6]。故研究百合芯多糖的提取工艺及体外抗氧化活性,这对百合芯资源的利用很有意义,旨在变废为宝,增加了百合资源的利用价值。

最近几十年以来,糖的研究已成为人们关注的一个热点而逐步活跃起来,主要是因为结构生物学和分子生物学的快速发展以及相关研究,包括对新药资源的探索以及膜的化学功能,免疫物质的研究等,这些都加速了多糖的研究进程。科学家们发现糖类具有多种多样的生物学功能:在生物体中不仅可以作为供能物质以及结构材料,还它参与了细胞的各种活动^[7,8]。当前,对百合多糖的研究集中在多糖的提取工艺及分离纯化^[9,10],而对响应面优化百合芯多糖提取工艺及抗氧化活性的研究较少^[11]。如果过程中的任何因素,它们相互作用可能影响了提取率,则可将响应面法视为一种有效的优化方法。响应面法已经被用来研究各种过程中实验变量之间的相互作用^[12,13]。当前,百合芯多糖提取及抗氧化活性的研究较少,本文采用热水浸提法从百合芯中提取多糖,以料液比、提取温度和提取时间为影响因素,进行响应面优化试验得出最佳提取工艺条件,并评价了多糖的抗氧化活性,这对我国兰州百合资源的进一步开发利用具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验原料

原料:七里河西果园的新鲜百合,品种鉴定由兰州理工大学生命科学与工程学院植物学教研室鉴定。

无水乙醇、苯酚、硫酸、赤血盐、磷酸缓冲液、邻二氮菲、硫酸铁、邻苯三酚、抗坏血酸等,均为分析纯,购自天津市南大化学试剂厂。

1.2 主要仪器

TD5A-WS 离心机,长沙众宇机械有限公司; AB104-N 分析天平,上海浦春计量仪器有限公司; HH-4 数显恒温水浴锅,国华电器有限公司; UV-VIS Carry50 紫外分光光度计,上海元析仪器有限公司; RE-5286A 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 样品准备

将采集的百合按照 DB62/T 412 依次进行分级,选取百合芯(≤ 14.90 mm)进行多糖提取工艺的优化。

1.3.2 多糖的提取

准确称取 5.00 g 的新鲜百合芯,打浆后倒入 100 mL 的磨口三角瓶中,加一定比例的水,在水浴锅中回流浸提一定的时间,过滤残渣,经浓缩后用 4 倍量的 95%乙醇溶液沉淀 24 h, 3900 r/min 离心 10 min,然后用 seavage 法除去其中蛋白质,所得沉淀为粗多糖。

1.3.3 多糖的测定^[14,15]

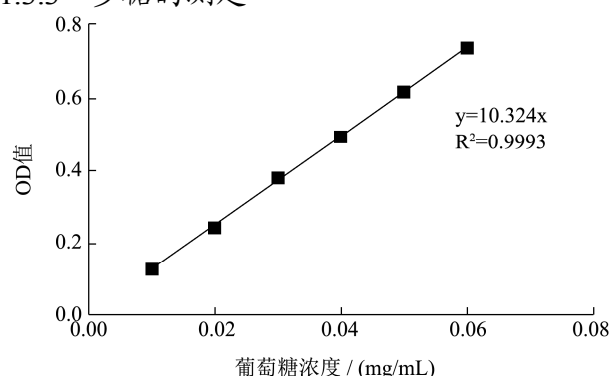


图1 葡萄糖的标准曲线

Fig.1 Standard curve of glucose

取干燥的葡萄糖标准品 50.0 mg,加水溶解得浓度为 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准液。精密量取标准液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 和 6.0 mL,置于 10 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀,分别量取 1.0 mL,置于刻度试管内,加 5%苯酚溶液 1.0 mL,浓硫酸 5.0 mL,室温放置 40 min,以 1.0 mL 蒸馏水做参比溶液,按上述步骤做空白对照。置于紫外可见分光光度计中,490 nm 处测定吸收度,以吸光度为纵坐标,浓度为横

坐标绘制标准曲线。标准曲线如图 1, $y=10.324x$, 线性范围为 0.10~0.80 mg/mL, 相关系数 $R^2=0.9993$, 表明该线性回归方程的线性良好, 拟合程度高, 可准确用于多糖浓度的计算。

采用苯酚硫酸法, 以葡萄糖为标准品来计算多糖的提取率。吸取 1 mL 稀释的粗多糖溶液, 根据标准曲线计算多糖浓度, 按照下式计算含量。

$$\text{多糖含量}/\% = \frac{C \times V \times D}{W}$$

其中, C 为样液中多糖浓度 (mg/mL); V 为样液体积 (mL); D 为稀释倍数; W 为样品重量 (g)。

多糖得率的公式按照下式计算。

$$\text{多糖得率}/\% = \frac{\text{多糖含量}}{\text{百合芯干重}} \times 100\%$$

1.3.4 多糖单因素试验

分别考察提取时间 40、50、70 和 80 °C, 料液比 1:4、1:8、1:10、1:12 和 1:14 和提取温度 50、60、70、80、90 min 对多糖得率的影响。

1.3.5 响应面优化设计

在单因素试验的基础上, 以料液比 (A)、提取温度 (B)、提取时间 (C) 为自变量, 百合芯多糖得率为响应值, 按照 Box-Behnken 设计试验, 筛选多糖的最佳工艺参数, 因素与水平设计见表 1。

表 1 响应面试验因素水平和编码

Table 1 Response surface test factor level and coding

编码	A/(m/V)	B/°C	C/min
-1	1:8	60	50
0	1:10	70	60
1	1:12	80	70

1.3.6 百合多糖的抗氧化活性研究

1.3.6.1 百合芯多糖的还原力

将百合多糖及 Vc 分别配成浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mg/mL 的溶液。分别取 2.0 mL 各浓度的多糖溶液, 加入 0.2 mol/L pH 6.6 的磷酸缓冲液和 1% $K_3Fe(CN)_6$ 各 2.0 mL, 混合均匀后于 50 °C 水浴中保温 20 min, 急速冷却, 再加入 10% 三氯乙酸 2.0 mL, 混匀, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2.0 mL, 加入 0.1% $FeCl_3$ 0.5 mL, 常温反应 10 min 后于 700 nm 处测定其吸光度。

1.3.6.2 百合芯多糖对羟基自由基 ($\cdot OH$) 的清除能力

根据 Smimoff 的水杨酸法^[16]: 将百合多糖及 Vc 配成浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mg/ml 的溶液。整个反应体系中含 9 mmol/L H_2O_2 1.0 mL、9 mmol/L $FeSO_4$ 1.0 mL、9 mmol/L 水杨酸-乙醇 1.0 mL, 各浓度百合多糖溶液 1.0 mL, 混匀后加入 9 mmol/L H_2O_2 1.0

mL 启动整个反应。37 °C 反应 30 min 后, 5000 r/min 离心 10 min, 然后以同体积的蒸馏水做参比溶液, 在 510 nm 下测定吸光度。同时以 9 mmol/L 水杨酸-乙醇 1.0 mL、待测溶液 1.0 mL、9 mmol/L $FeSO_4$ 1.0 mL 作为待测溶液的本底吸收值, 以同体积蒸馏水 1.0 mL 代替待测液为空白组测定吸光度。多糖对 $\cdot OH$ 自由基的清除能力按下列公式计算:

$$\cdot OH \text{ 自由基清除率}/\% = \frac{[A_0 - (A_i - A_j)]}{A_0} \times 100\%$$

其中 A_0 为空白对照的吸光值, A_i 为加样品的吸光值, A_j 为不加显色剂 H_2O_2 的吸光值。

1.3.6.3 百合芯多糖对 DPPH 自由基清除能力

将各百合多糖及 Vc 分别配成浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mg/mL 的溶液。整个反应体系中分别吸取多糖溶液、Vc 水溶液和 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 (BHT) 试剂各 1.0 mL, 分别与 1.0 mL 配制好的 DPPH 溶液混合, 放于暗处在室温下反应 30 min, 以溶剂为对照, 分别测定波长 517 nm 处的吸光值。用 1.0 mL 待测液加等体积的水作样品对照, 用 1.0 mL DPPH 溶液加等体积的蒸馏水作空白^[17]。按照下列公式计算多糖对 DPPH 的清除能力。以 BHT 和 Vc 作为标准对照。

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0} \right) \times 100\%$$

其中 A_i 样液与 DPPH 试剂混合液的吸光值, A_j 样液与空白溶剂混合液的吸光值, A_0 -DPPH 试剂与空白溶剂混合液的吸光值。

1.4 数据处理

采用 SPSS 22.0 版软件完成均值统计和显著性差异分析, 折线图均使用 Origin 8.0 版软件绘制, 响应面分析使用 Design-Expert 11.0 软件。

2 结果与讨论

2.1 百合多糖单因素分析

2.1.1 不同料液比对百合芯多糖得率的影响

由图 2 可知, 百合芯多糖得率随着料液比的增大而增大, 当料液比为 1:10 时, 多糖得率最高, 多糖得率为 9.06%, 此时的料液比为最佳料液比。一般来说, 只要能将活性物质溶出, 料液比越小越好, 当料液比过高时会增加提取液浓缩的难度, 当液料比继续增大时, 多糖提取率减小, 这可能是溶剂用量的增大, 会消耗更多的能量^[18], 料液比过低时又不容易过滤。研究表明^[19,20]当料液比相对较小, 多糖不能完全转移到溶剂中, 导致提取不完全, 并且多糖产率低, 随着液

料比的增加,内部植物细胞与外部溶剂之间会出现较大的浓度差,从使多糖能够快速扩散和溶解,提高了多糖的溶解度,增加了多糖产量。但是随着液料比的不断增加,过多的溶剂会增加细胞破裂的抵抗力,并降低细胞破裂的程度,会减少多糖的溶解。因此,百合芯多糖提取的料液比 1:10 时比较适宜。陈杰等^[1]提取多糖时最适料液比 1:50 多糖得率在 12.00%,但其料液比太大,不仅消耗较多的溶剂,而且后续能量消耗大,不易操作,不适合实际工业化生产,而本文最佳料液比 1:10,多糖得率 9.06%,料液比适宜,且多糖得率也高,非常适合工业化生产。

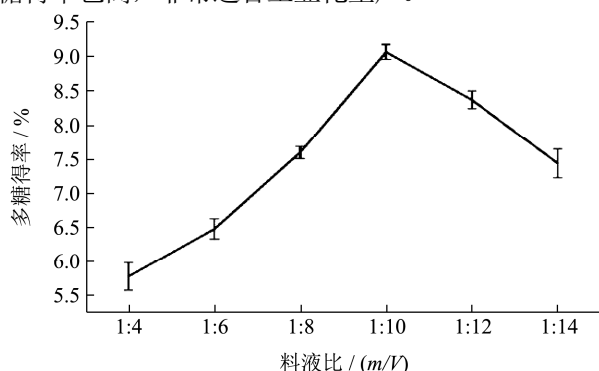


图2 不同料液比对百合芯多糖得率的影响

Fig.2 Effect of different material-liquid ratios on yield of lily core polysaccharide

2.1.2 不同提取温度对百合芯多糖得率的影响

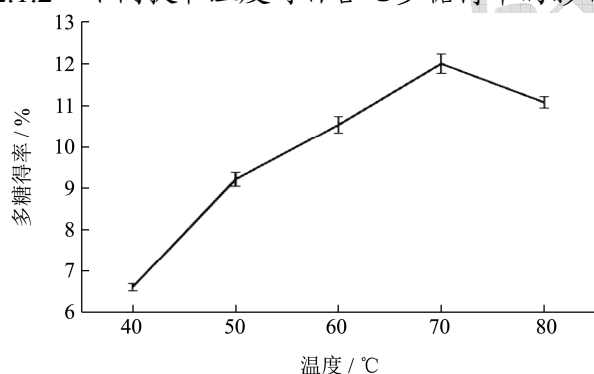


图3 不同温度对百合芯多糖得率的影响

Fig.3 Effect of different temperature on yield of lily core polysaccharide

由图3可知,在 40~80 °C 范围内,多糖得率先增大后减少。当温度为 70 °C 时,多糖得率为 10.55%,细胞壁的通透性提高,造成细胞壁及整个生物体破裂,从而使细胞中的有效成分得以快速释放,直接与溶剂接触并溶解在其中^[21]。当温度高于 70 °C 时,由于百合中蛋白质的净出量增加,不仅使得脱蛋白工作量加

大,而且也有可能因温度过高引起多糖的结构被破坏,多糖的某些活性成分被氧化分解^[22],还会消耗大量的原料与能源。由此可知,70 °C 时为最佳提取温度。张占军等人^[10]关于宜兴百合多糖的提取研究,提取温度最适为 50 °C,多糖得率 11.00%;高丹丹等人^[23]对兰州百合多糖提取时,最适提取温度为 60 °C,多糖得率 9.00%,说明不同的百合多糖最适提取温度有差异,但溶剂法提取百合多糖时最适温度基本上在 50~75 °C^[24-26]范围内,多糖得率最高,这与本文的最适提取温度相一致。

2.1.3 不同提取时间对百合芯多糖得率的影响

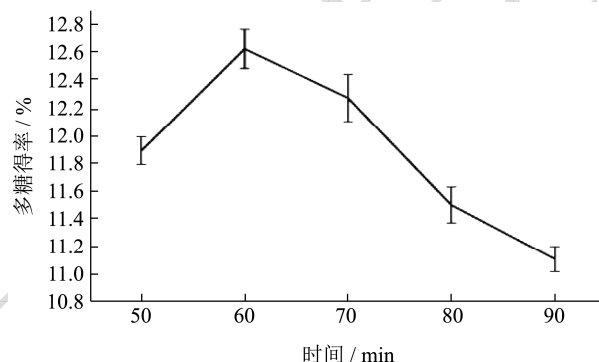


图4 不同时间对百合芯多糖得率的影响

Fig.4 Effect of different time on yield of lily core polysaccharide

图4可知,多糖得率随提取时间的增大而增大,当提取时间增大至 60 min 时,多糖得率达到最大值。继续增大提取时间到 90 min,多糖得率随时间的增大而减少。当提取时间低于 60 min 时,多糖得率最低,这是因为提取时间过短,细胞壁没有完全破坏,多糖不能完全溶出。当提取时间为 60 min 时,多糖得率达到最大值,多糖得率为 12.62%。此时,细胞壁已经完全溶胀,多糖成分完全溶出。但提取时间太长,细胞内非有效成分进入提取液,不但影响有效成分的溶出,也降低了有效成分的提取率,从而影响最终的多糖得率^[27],同时增加了其他杂质的进入^[23],多糖也有可能慢慢水解为单糖。因此,最佳提取时间为 60 min。多糖提取工艺中提取时间范围不一,如高丹丹等人对于兰州百合多糖提取的最佳时间 6 h,多糖得率 12.30%^[28],刘长命等通过分析商洛野百合多糖得率的影响因素时,提取时间 1.8 h,商洛野百合多糖得率为 30.40%^[24],而本次百合芯多糖提取时间考虑到消耗的能量资源,时间基本上在 2 h 范围内研究,当提取时间是 1 h 多糖得率高达 12.62%,说明多糖在提取过程中多糖的得率和百合的品种、种植区域也是有关的。

2.2 响应面优化试验结果分析

响应面试验因素结果见表2。

表2 响应面试验设计与结果

Table 2 Response surface test design and results

序号	A/(W/V)	B/°C	C/min	百合芯多糖得率/%
1	0	1	1	8.40±0.12
2	0	-1	-1	9.11±0.08
3	0	0	0	9.81±0.13
4	-1	0	1	8.65±0.09
5	-1	-1	0	7.98±0.05
6	0	0	0	9.92±0.12
7	0	0	0	9.95±0.10
8	0	0	0	10.09±0.12
9	0	-1	1	8.54±0.11
10	1	0	-1	10.28±0.11
11	1	-1	0	9.37±0.08
12	0	1	-1	8.91±0.09
13	1	0	1	8.75±0.11
14	0	0	0	10.02±0.09
15	1	1	0	8.97±0.08
16	-1	1	0	8.39±0.08
17	-1	0	-1	7.73±0.10

2.2.1 响应面试验结果及方差分析

表3 多糖得率响应面拟合回归方程的方差分析结果

Table 3 Analysis results of variance of polysaccharide yield response surface fitting regression equation

方差来源	平方和	自由度	方差	F值	p	显著性
回归模型	9.86	9	1.10	52.75	<0.0001	**
A	2.67	1	2.67	128.44	<0.0001	**
B	0.014	1	0.014	0.66	0.44	
C	0.36	1	0.36	17.19	0.0043	*
AB	0.16	1	0.16	7.90	0.03	*
AC	1.50	1	1.50	72.24	<0.0001	**
BC	9.000E-004	1	9.000E-004	0.043	0.84	
A ²	1.44	1	1.44	69.13	<0.0001	*
B ²	2.04	1	2.04	98.33	<0.0001	*
C ²	1.15	1	1.15	55.13	0.0001	*
残差	0.15	7	0.021			
失拟项	0.10	3	0.034	3.01	0.16	
纯误差	0.045	4	0.011			
合计	10.01	16				

注：*，差异显著， $p<0.05$ ；**，差异极显著， $p<0.01$ ； $R^2=0.9855$ ， $\text{Adj } R^2=0.9668$ ， $\text{Pre } R^2=0.83$

2.2.2 响应面结果及分析

响应面是响应值对各因素所构成的三维空间曲面图，响应面能直观反应各因素及因素交互作用对结果

利用 Design-Expert 软件对实验数据进行分析，得到二次多项回归方程：

$$Y=9.96+0.58A-0.041B-0.21C-0.20AB-0.61AC+0.015BC-0.58A^2-0.70B^2-0.52C^2$$

其中：Y 为多糖得率，A、B 和 C 为对应的编码。

对于上述回归模型进行方差分析，并对模型系数进行显著性检验，结果如表3。数学模型描述重要的自变量与 R 响应之间的关系。二阶多项式模型是优化研究中广泛接受的经验模型^[29,30]。发现 p 值小于 0.0001。在每个模型中，较大的 F 值和较小的 p 值表示对各自响应变异性更显著影响^[31]。由表3可知，模型的 $F=52.75$ ， $p<0.0001$ 差异极显著，并且失拟项 $p=0.16>0.05$ ，说明该模型是显著的。由 $R^2=0.99$ ，方差接近 1，说明拟合程度很好，且 $\text{Adj } R^2=0.97$ ， $\text{Pre } R^2=0.83$ 差异小，说明可信度高，故可以用此模型来分析和预测多糖得率最优提取工艺。

由表3可知，料液比和提取时间对多糖得率的影响显著 ($p<0.05$)，然而温度对多糖得率的影响不显著 ($p>0.05$)，这三种因素对多糖得率的影响程度为料液比>提取时间>提取温度。对交互作用来说，料液比和提取温度的交互作用以及料液比与提取时间交互作用对多糖得率的影响都显著 ($p<0.05$)，但提取温度和提取时间的交互作用对多糖得率的影响不显著 ($p>0.05$)。对于因素的平方项均显著。

的影响。因素对响应值影响越大，曲面越陡峭，说明因素对模型的影响越显著。

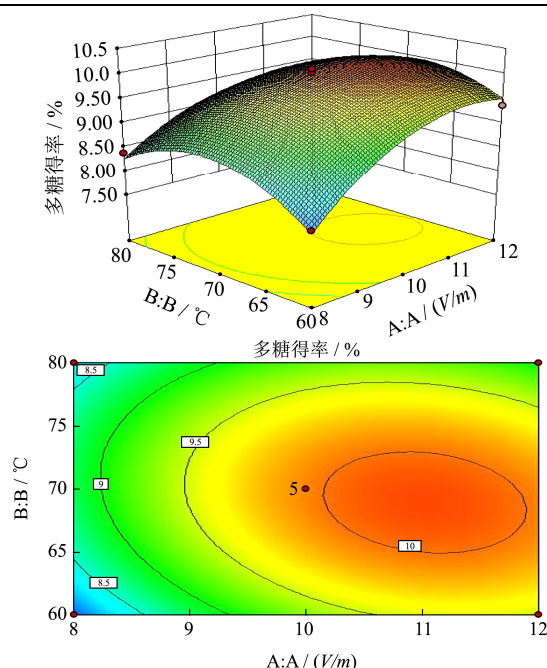


图5 料液比和提取温度的交互作用对多糖得率的影响的响应面和等高线图

Fig.5 Response surface and contour map of the effect of the interaction of material-liquid ratio and extraction temperature on polysaccharide yield

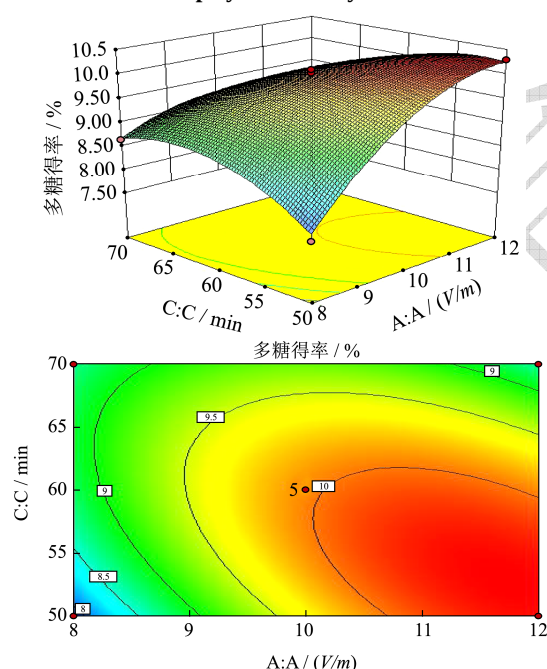


图6 料液比和提取时间交互作用对多糖得率的影响的响应面和等高线图

Fig.6 Response surface and contour plot of the effect of the interaction of material-liquid ratio and extraction time on polysaccharide yield

图5为料液比和提取温度的交互作用对多糖得率的影响,从图中可以看出,等高线图为椭圆形,说明料液比和提取温度的交互作用对多糖得率的影响显

著。当料液比固定时,随着提取温度的增加,多糖得率呈现先上升后下降的趋势;但是,当温度不变时,随着料液比的增加,多糖得率迅速上升然后少量下降,多糖得率随因素值的增加,变化较为明显。当料液比为1:11,提取温度为69℃左右时多糖得率达到最大值。

图6中可以看出料液比和提取时间的交互作用对多糖得率的影响,该等高线图为椭圆形,多糖得率随因素值的改变,变化非常明显,故料液比和提取时间的交互作用对多糖得率的影响较为显著。当料液比固定时,随着提取时间的增加,多糖得率呈现先迅速上升然后趋于平缓;当C不变时,随着料液比增加,多糖得率出现一直上升的趋势。在料液比为1:12,提取时间在52min附近时多糖获得率最高。

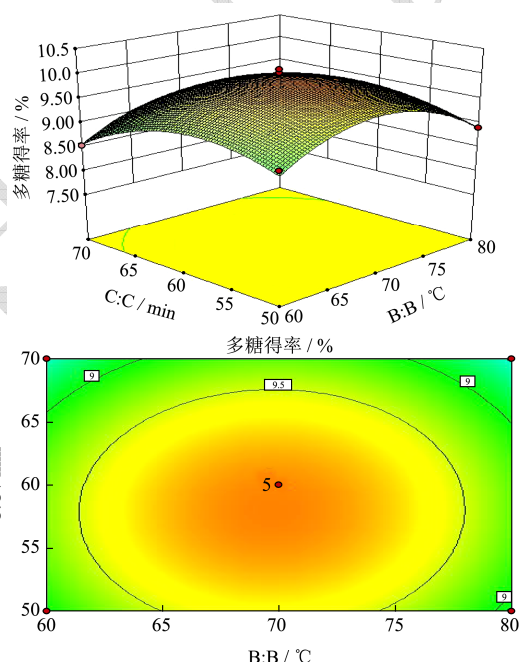


图7 提取温度和提取时间的交互作用对多糖得率的影响的响应面和等高线图

Fig.7 Response surface and contour plot of the effect of the interaction between extraction temperature and extraction time on polysaccharide yield

图7反映了提取温度和提取时间交互作用对多糖得率的影响,该等高线图接近圆形,说明对结果影响不显著,虽然提取温度和提取时间的交互作用对多糖得率的影响不显著,但当固定一个变量,多糖得率会随着另一个变量的增大先上升后下降,随因素值的改变,多糖得率变化并不明显,在提取温度为70℃,提取时间为56min附近达到最大值。

2.2.3 响应面优化验证试验

从上图6、7和8中可以看出3个响应面均为开口向下的凸面,故R存在极大值。进一步优化结果,该

模型最优条件为: A 为 1:11.50, B 为 69.18 °C, C 为 53.82 min, 在此条件下模型预测的多糖得率 10.29%。在此条件下对百合芯多糖提取, 最终实际多糖得率 10.30%, 相对误差 0.09%。因此, 该模型准确可靠, 适合百合芯多糖提取工艺的优化。

2.3 百合芯多糖抗氧化试验的结果与分析

2.3.1 百合多糖还原力的测定

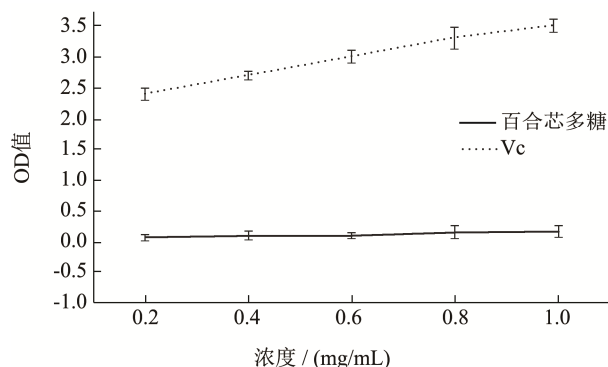


图8 百合芯多糖的还原力

Fig.8 Reducing power of lily core polysaccharide

图8表明, 吸光值越大还原能力越强且多糖的还原能力随着浓度的增加而增大, 呈现一种正相关关系。在百合芯多糖浓度为 0.2~1.0 mg/mL 时, 还原力的变化小, 吸光值最大可达到 0.16 左右, 此时还原力最强, 这与李霞等^[7]人对兰州百合多糖还原力的研究结果基本一致。当同一浓度下时, Vc 的还原能力大约是百合芯多糖还原力的 30 倍左右。百合芯多糖和 Vc 对还原力均有一定的清除作用, 且百合多糖的还原能力远远低于维生素 C^[32]。还原性质与还原酮有关, 其通过断裂自由基链显示抗氧化活性。此外, 还原酮与某些过氧化物前体反应并防止形成过氧化物^[33]。

2.3.2 百合多糖对羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除能力

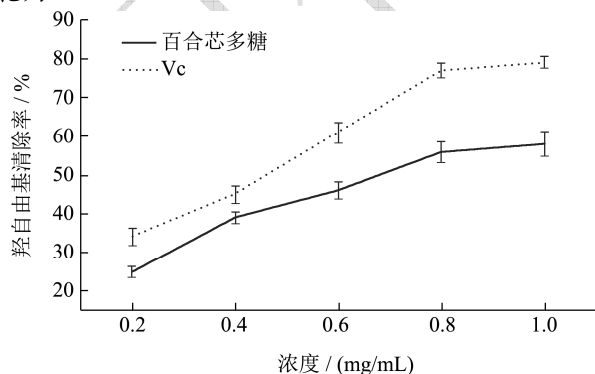


图9 百合芯多糖对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除能力

Fig.9 Lily core polysaccharide's scavenging ability of $\cdot\text{OH}$ radicals

羟自由基是一个氧化能力很强的自由基, 可使糖

类、核酸、氨基酸和脂类等发生氧化, 从而对机体造成不同程度的损坏^[34]。图9显示, 浓度在 0.2~1.0 mg/mL 范围时, 百合芯多糖清除能力最高可达到 65.00%左右。龙牙百合多糖在 1.0 mg/mL 时清除率最高, 其清除率为 52.00%左右^[35], 比百合芯的清除率略低。多糖的浓度增大, 增大到一定范围内趋于稳定。当同一浓度时, 多糖对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的能力率低于 Vc, 在 1.0 mg/mL 时百合芯多糖和 Vc 对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除率都基本趋于稳定。

2.3.3 百合多糖对 DPPH 自由基的清除能力

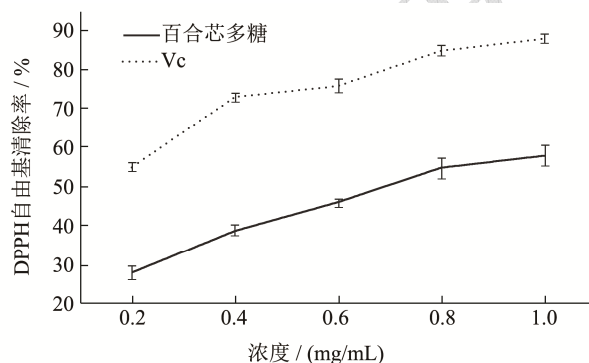


图10 百合芯多糖对 DPPH 自由基的清除能力

Fig.10 Lily core polysaccharide scavenging ability of DPPH radicals

DPPH $\cdot$ 可以通过接受电子或氢自由基而成为稳定的抗磁性分子, 抗氧化剂的抗氧化活性可以从其清除 DPPH 的能力推断出来。由图10可知, 百合芯多糖对 DPPH 有清除作用, 并随着多糖浓度的增加而增加, 最后达到一个稳定状态。当多糖浓度在 1.0 mg/mL 时清除能力最好, 其对 DPPH 的清除率为 58.00%, 而黄玉龙等^[36]人关于百合对 DPPH 的清除率的研究, LPS-M、LPS-C 和 LPS-CE 对 DPPH 自由基的清除率分别为 67.77%、61.70%和 57.06%, 可能是多糖纯度高相应的 DPPH $\cdot$ 的清除作用也高。

3 结论

3.1 通过单因素结合响应面法得出百合芯多糖提取工艺的最佳提取条件是料液比为 1:11.50, 提取温度为 69.18 °C, 提取时间为 53.82 min, 提取温度对多糖得率的影响最大, 其次为料液比与提取时间。在此条件下做验证试验百合芯多糖得率 10.29%, 实际为 10.30%, 相对误差为 0.09%, 误差很小, 说明该优化方法可行。

3.2 百合芯多糖的抗氧化活性试验表明抗氧化活性与多糖浓度有一定的量化关系, 抗氧化活性随着多糖浓度的增加而增大, 在一定浓度会趋于稳定。百合芯多糖在不同的抗氧化体系中有不同的抗氧化活性, 百

合芯多糖在浓度 1.0 mg/mL 时抗氧化活性最大, 还原能力的吸光度值为 0.16, 对·OH 自由基的清除作用为 65.00%, 对 DPPH 自由基清除作用为 58.00%, 同一浓度下, 百合芯多糖的还原力较弱且远低于 Vc 的还原能力, 而对·OH 自由基和 DPPH 自由基的清除作用较强, 但百合芯多糖抗氧化作用机理还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 陈杰, 周芳. 百合多糖超声提取工艺条件优化[J]. 现代食品, 2019, 22: 79-82
CHEN Jie, ZHOU Fang. Optimization of ultrasonic extraction process conditions for lily polysaccharide [J]. Modern Food, 2019, 22: 79-82
- [2] 彭程, 周晓琛, 敬黎, 等. 百合化学成分及其提取方法研究进展[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2011, 32(4): 11-16
PENG Cheng, ZHOU Xiao-chen, JING Li, et al. Advances in research on lily chemical components and extraction methods [J]. Journal of Northwest Minzu University (Natural Science Edition), 2011, 32(4): 11-16
- [3] 彭程, 张晓东. 兰州百合多糖的提取工艺及稳定性研究[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2006, 4: 19-21
PENG Cheng, ZHANG Xiao-dong. Study on extraction process and stability of polysaccharides from Lanzhou [J]. Journal of Northwest Minzu University (Natural Science Edition), 2006, 4: 19-21
- [4] 邓演, 赵得志, 冉金红, 等. 超声波辅助热水浸提法提取兰州百合多糖的工艺研究[J]. 化工管理, 2016, 11: 216
DENG Yan, ZHAO De-zhi, RAN Jin-hong, et al. Study on the extraction technology of polysaccharides from Lanzhou lily by ultrasonic-assisted hot water extraction [J]. Chemical Industry Management, 2016, 11: 216
- [5] ZHANG Yu-bao, WANG Ya-jun, XIE Zhong-kui, et al. The occurrence and distribution of viruses infecting Lanzhou lily in northwest, China [J]. Crop Protection, 2018, 110: 73-76
- [6] 常存, 段楠, 刘新杰. 百合的营养成分及保健功能[J]. 黑龙江科学, 2019, 10(20): 16-17
CHANG Cun, DUNA Nan, LIU Xin-jie. Nutrition and health function of lily [J]. Heilongjiang Science, 2019, 10(20): 16-17
- [7] 李霞, 张峰, 李永才, 吴庆华. 兰州百合不同部位多糖含量及抗氧化活性的比较[J]. 食品科技, 2012, 33(24): 88-91
LI Xia, ZHANG Feng, LI Yong-cai, WU Qing-hua. Comparison of polysaccharide content and antioxidant activity in different parts of lily in Lanzhou [J]. Food Science and Technology, 2012, 33(24): 88-91
- [8] 傅桂明, 刘成梅, 涂宗财. 百合的保健功能和产品开发进展[J]. 食品研究与开发, 2001, 22(2): 48-50
FU Gui-ming, LIU Cheng-mei, TU Zong-cai. Progress in health functions and product development of lily [J]. Food Research and Development, 2001, 22(2): 48-50
- [9] 潘桂芳. 卷丹百合多糖的提取纯化、结构分析及其免疫活性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2017
PAN Gui-fang. Study on extraction, purification, structure analysis and immunological activity of polysaccharides from *Lilium chinensis* lily [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2017
- [10] 张占军, 王富花, 葛洪, 等. 响应面法优化百合多糖超声辅助提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(18): 40-44
ZHANG Zhan-jun, WANG Fu-hua, GE Hong, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from lily by response surface methodology [J]. Food Research and Development, 2017, 38(18): 40-44
- [11] YOU Xue-jiao, XIE Chun-yan, LIU Kun-lun, et al. Isolation of non-starch polysaccharides from bulb of tiger lily (*Lilium lancifolium* Thunb.) with fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(1): 35-40
- [12] Sarfarazi M, Jafari S M, Rajabzadeh G. Extraction optimization of saffron nutraceuticals through response surface methodology [J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(9): 2273-2285
- [13] Yolmeh, Mahmoud, Jafari, Seid Mahdi. Applications of response surface methodology in the food industry processes [J]. Food & Bioprocess Technology, 2017, 10(3): 413-433
- [14] 杨林莎, 李玉贤, 李明丽. 苯酚-硫酸比色法测定百合多糖的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(8): 704-705
YANG Lin-sha, LI Yu-xian, LI Ming-li. Determination of polysaccharides in lily by phenol-sulfuric acid colorimetry [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2004, 11(8): 704-705
- [15] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356
- [16] Lin C L, Wang C C, Chang S C, et al. Antioxidative activity of polysaccharide fractions isolated from *Lycium barbarum* Linnaeus [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2009, 45(2): 146-151
- [17] ZHU Hong-ji, TIAN Li, ZHANG Lei, et al. Preparation, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from spent *Lentinus edodes*, substrate [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 976-984

- [18] 王振吉,杨申明,许云香,等.虫草花多糖提取工艺优化及其抗氧化特性[J].中国酿造,2019,38(9):185-189
WANG Zhen-ji, YANG Shen-ming, XU Yun-xiang, et al. Optimization of extraction process and antioxidant properties of polysaccharides from *Cordyceps militaris* [J]. China Brewing, 2019, 38(9): 185-189
- [19] LIU Yang, ZHOU Yi-fa, LIU Meng-di, et al. Extraction optimization, characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of a novel polysaccharide from the wild mushroom *Paxillus involutus* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 326-332
- [20] 李振,李萍.忍冬藤多糖的提取工艺优化及清除亚硝酸盐阻断亚硝胺合成的研究[J].现代食品科技,2019,35(4):130-139
LI Zhen, LI Ping. Optimization of extraction process of honeysuckle polysaccharides and removal of nitrite to block nitrosamine synthesis [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(4): 130-139
- [21] 邓加聪,曾锈华,陈婕,等.牛肝菌多糖的提取及抗氧化性研究[J].中国酿造,2019,38(10):158-161
DENG Jia-cong, ZENG Xiu-hua, CHEN Jie, et al. Study on extraction and antioxidant activity of polysaccharides from boletus [J]. China Brewing, 2019, 38(10): 158-161
- [22] 张伟唯,代春华,熊锋,等.菜籽蛋白加工废液中多酚和多糖同步提取工艺优化[J].农业工程学报,2017,33(7):302-309
ZHANG Wei-wei, DAI Chun-hua, XIONG Feng, et al. Extraction processing optimization of polyphenols and polysaccharides from rapeseed protein processing waste liquor [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2017, 33(7): 302-309
- [23] 高丹丹,安文强,陈红.响应面法优化兰州百合多糖的提取工艺[J].食品工业科技,2013,34(5):226-229
GAO Dan-dan, AN Wen-qiang, CHEN Hong. Optimization of extraction process of polysaccharides from lily of Lanzhou by response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(5): 226-229
- [24] 刘长命,崔蕊.响应面法与正交试验法优化商洛野百合多糖提取工艺[J].陕西农业科学,2018,64(5):1-5,15
LIU Chang-ming, CUI Rui. Response surface method and orthogonal test method for optimizing extraction process of polysaccharides from *lilium wilsonii* [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2018, 64(5): 1-5, 15
- [25] 段伟萍,李新蕊,司明东,等.山药多糖提取工艺的响应面法优化及其功能活性分析[J].食品研究与开发,2020,41(7): 118-123
DUAN Wei-ping, LI Xin-rui, SI Ming-dong, et al. Response surface method optimization and functional activity analysis of yam polysaccharide extraction process [J]. Food Research and Development, 2020, 41(7): 118-123
- [26] 王金丹.百合多糖的提取方法研究进展[J].农业科技与装备, 2019,2:67-68
WANG Jin-dan. Research progress on extraction methods of lily polysaccharides [J]. Agricultural Science and Technology and Equipment, 2019, 2: 67-68
- [27] 游庆红,尹秀莲.响应面法优化桑黄多糖提取工艺研究[J].中国酿造,2010,5:72-74
YOU Qing-hong, YIN Xiu-lian. Research on optimization of extraction process of mulberry polysaccharides by response surface [J]. China Brewing, 2010, 5: 72-74
- [28] 宫江宁,韦元净,杨子艺.响应面优化龙胆多糖的提取工艺及抗氧化性研究[J].中国酿造,2017,36(8):134-138
GONG Jiang-ning, WEI Yuan-jing, YANG Zi-yi. Response surface optimization of extraction process and antioxidant activity of gentiana polysaccharide [J]. China Brewing, 2017, 36(8): 134-138
- [29] Herrera M C, Castro L D. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1100(1): 1-7
- [30] Gunst R F. Response Surface Methodology: Process and product optimization using designed experiments [J]. Technometrics, 2008, 38(3): 284-286
- [31] LI Quan-hong, FU Cai-li. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein [J]. Food Chemistry, 2005, 92(4): 701-706
- [32] CHEN Shuang, SU Ting-ting, WANG Zhan-yong. Structural characterization, antioxidant activity, and immunological activity *in vitro* of polysaccharides from fruiting bodies of *Suillus granulatus* [J]. Journal of Food Biochemistry, 2018, 42(2): e12515
- [33] LI Xiao-li, Thakur K, ZHANG Yuan-yuan, et al. Effects of different chemical modifications on the antibacterial activities of polysaccharides sequentially extracted from peony seed dreg [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 116: 664-675