外化学模拟体 及清除亚硝酸根离子活性的研究

孙红男 孙爱东 陈 健 高雪娟 (北京林业大学生物科学与技术学院,食品科学与工程系,北京 100083)

摘要:通过测定苹果多酚对羟自由基、超氧阴离子自由基、DPPH自由基、亚硝酸根离子的清除作用对脂质过氧化和 B-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制作用,以及还原能力等实验。研究了苹果多酚的体外抗氧化活性,并与 V_c 进行 了对比。实验结果表明 苹果多酚对羟自由基、超氧阴离子自由基、DPPH 自由基、亚硝酸根离子均有不同程度的清除 作用,对脂质过氧化和 β -胡萝卜素/亚油酸自氧化体系有一定的抑制作用,对 Fe^{3+} 具有良好的还原能力。因此,苹果 多酚是一种良好的天然抗氧化及清除亚硝酸根离子的活性物质。

关键词:苹果渣 苹果多酚 自由基 抗氧化活性 亚硝酸根

Study on antioxidant activity and nitrite scavenging activity of apple polyphenols in vitro simulated chemical system

SUN Hong-nan SUN Ai-dong* ,CHEN Jian ,GAO Xue-juan

(Department of Food Science College of Biological Sciences and Biotechnology , Beijing Forestry University Beijing 100083 China)

Abstract: The antioxidant effect of apple polyphenols from apple pomace was studied by evaluations of hydroxy radical scavenging activity, superoxide radical scavenging activity, DPPH radical scavenging activity, nitrite scavenging activity ,lipid oxidation inhibiting activity , β - carotin/ linolic acid oxidation inhibiting ,and reducing power. Results showed that apple polyphenols had significant hydroxy radical scavenging activity, superoxide radical scavenging activity DPPH radical scavenging activity and nitrite scavenging activity and also significant in reducing power ,lipid oxidation inhibiting activity and β-carotin/ linolic acid oxidation inhibiting activity. It was indicated that apple polyphenols from apple pomace had high capacity of antioxidation and nitrite scavenging

Key words: apple pomace; apple polyphenols; free radical; antioxidant activity; nitrite

中图分类号:TS255.1 文章编号:1002-0306(2011)11-0079-05 文献标识码:A

苹果多酚是苹果中天然存在的一类重要生物活 性物质 其中包括: 类黄酮类、单宁类、酚酸类及花色 苷等。本课题组近几年通过大量研究已发现,苹果 多酚具有多种生物活性,如抑菌、抑制酪氨酸酶活 性、抗癌等。 抗氧化能力与人类健康有着密切联系, 当人体抗氧化机能出现障碍时(如自由基产生、脂质 过氧化、抗氧化酶活力降低等),会出现细胞损伤,积 累到一定程度就会引起心脏病、癌症、衰老等。此 外 形成亚硝胺的前体物质 "亚硝酸根"大量存在于 食物及体内代谢过程中,亚硝胺是很强的致癌物质, 阻断亚硝胺合成或消除亚硝胺的前体 ,是防治癌症

产生的有效途径之一[1]。天然产物中的多酚类化合 物 如黄酮、原花青素、有机酸等 不仅具有抗氧化作 用,而且能够阻断亚硝胺合成或清除亚硝酸根[2-3]。 Karamać M^[4]从荞麦种子及皮渣中分离得到的单宁 酸具有很强的抗氧化活性 Kiritsakis K 等人[5] 研究表 明 橄榄叶中提取的多酚类物质也有很好的抗氧化 活性 Mariod A A 等人[6] 研究发现从一种蕨类植物 (Monechma ciliatum) 叶子中提取的多酚类物质能够 提高玉米油的稳定性。本文通过几个体外化学模拟 体系研究了苹果渣中多酚类物质的体外抗氧化活性 以及对亚硝酸根的清除作用,以期为苹果多酚作为 天然抗氧化剂和功能性食品的开发应用提供一定的 理论基础和实验依据。

收稿日期:2010-12-08 * 通讯联系人

及生物活性研究。

基金项目: 国家"十一五"支撑计划课题(2006BAD05A13)。

作者简介:孙红男(1983-),女,博士研究生,主要从事苹果多酚提取

材料与方法

1.1 材料与仪器

苹果多酚粉末 本实验室采用超声波辅助乙醇 Science and Technology of Food Industry

溶液从苹果渣中提取、NKA-9 大孔树脂提纯 旋转蒸发 冷冻干燥后备用; 二苯基苦味酰基苯肼基自由基(DPPH·) Sigma 公司; 无水乙醇、邻二氮菲、亚硝酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、盐酸、铁氰化钾、三氯乙酸、抗坏血酸、双氧水、Tris、邻苯三酚、硫酸亚铁、水杨酸等 均为分析纯。

Spectrum 紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; PHS-3D 型精密型 pH 计 上海三信仪表厂。

1.2 实验方法

1.2.1 苹果多酚对羟自由基的清除作用 采用水杨酸法 $^{[7]}$ 。在反应体系中先加入 $^{5mmol/L}$ 的水杨酸 – 乙醇 2mL 、 $^{10mmol/L}$ 的 FeSO_4 1mL ,混匀 ,分别加入一定体积 $^{1.0mg/mL}$ 的苹果多酚溶液 ,使终体系中苹果多酚具有不同的浓度 ,并用去离子水将反应体系补至 7mL ,最后加 2mL 12mL 12m

按照式(1) 计算 得到不同浓度下苹果多酚对羟自由基的清除率。

$$E(\%) = [A_0 - (A_n - A_n)]/A_0 \times 100\%$$
 $\pm (1)$

其中: A_0 为空白对照液的吸光值 A_1 为加入苹果多酚后的吸光值 A_1 为不加 H_2O_2 时苹果多酚的本底吸光值。

1.2.2 苹果多酚对超氧阴离子自由基的清除作用采用邻苯三酚法 $^{[7]}$ 。取 pH8.2 的 Tris-HCl 3mL ,分别加入一定体积 1.0mg/mL 的苹果多酚溶液 ,使终体系中苹果多酚具有不同的浓度 ,并用去离子水使反应体系补至 9mL ,混匀 ,25 $^{\circ}$ C 水浴平衡 20min。然后加入 0.6mL 7mmol/L 的邻苯三酚 ,混匀 ,立即放入分光光度计中 ,测定 325 nm 处的吸光值 ,记录反应 5min后的结果(测各样品时 ,以去离子水代替邻苯三酚调节 0 点)。

按照式(2) 计算 得到不同苹果多酚浓度下对超 氧阴离子自由基的清除率。

$$E(\%) = (A_0 - A_n) / A_0 \times 100\%$$
 $\sharp (2)$

其中: A_0 为空白对照液的吸光值 A_1 为加入苹果多酚后的吸光值。

1.2.3 苹果多酚对 DPPH 自由基的清除作用^[7] 取8 支试管 ,分别加入一定体积的 1.0mg/mL 苹果多酚溶液 ,使终体系中苹果多酚具有不同的浓度 ,用去离子水补至 3mL ,每管中加入 120μmol/L 的 DPPH 乙醇溶液 3mL 混匀 ,常温避光静置 30min ,517nm 下测定吸光值。

按照式(3) ,得到不同苹果多酚浓度下对 DPPH 自由基的清除率。

$$E(\%) = (A_0 - A_n) / A_0 \times 100\%$$
 $\pm (3)$

其中: A_0 为空白对照液的吸光值 A_1 为加入苹果多酚后的吸光值。

1.2.4 苹果多酚对脂质过氧化的抑制作用^[8] 脂质体的制备: 卵磷脂 1g 溶解于 50 mL 磷酸盐缓冲溶液中(0.2 mol/L pH = 7.4), 充入 CO_2 封口,置于超声波清洗机中混合均匀 4% 保存待用。

脂质过氧化活性的检测: 于反应体系中先后加

入 1mL 脂质体 0.1mL 苹果多酚溶液 0.5mL 0.05mol/L 的 FeSO₄ 溶液 1.2mL 磷酸盐缓冲溶液 (0.2mol/L pH = 7.4) ,混匀 37 ℃ 水浴 2h。 加入 1% 的硫代巴比妥酸溶液 1mL 10% 的盐酸溶液 1mL 100 ℃ 水浴 30min 后冷却 ,加入 5mL 氯仿 3000r/min 离心 20min ,在 532nm 下测吸光值。

按照式(4) 得到不同苹果多酚浓度对脂质过氧化的抑制率。

$$E(\%) = (A_0 - A_n) / A_0 \times 100\%$$
 $\pm (4)$

其中: A_0 为空白对照液的吸光值 A_1 为加入苹果多酚后的吸光值。

1.2.5 苹果多酚还原能力的测定^[9] 在 2.5 mL pH6.6 的磷酸盐缓冲液中加入不同浓度的苹果多酚溶液 2.5 mL ,l% 的铁氰化钾溶液 2.5 mL ,混合物在 50℃恒温 20 min 后 ,再加入 2.5 mL 10% 的三氯乙酸溶液 ,然后以 3000 r/min 离心分离 10 min ,取上层清液 5 mL 加蒸馏水 5 mL 和 0.1% FeCl₃ 溶液 1 mL 在 700 nm 处测定吸光值 吸光值越高 还原能力越强。

1.2.6 苹果多酚对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制作用^[10] 反应液的配制: 将 5mg 的 β-胡萝卜素溶于 10 mL 氯仿中 ,再加入 0.25 mL 的亚油酸和 2 mL 的 Tween -20 ,将此混合液移入圆底烧瓶中于 $50 ^{\circ}$ C 旋转蒸发 4 min ,之后加入 500 mL 蒸馏水。

向各试管中加入 1 mL 不同浓度的苹果多酚溶液和 4 mL 反应液 置于 $50 \text{ }^{\circ}\text{ }$ 水浴中每隔 25 min 测其在 470 nm 处的吸光值(分别在不同浓度苹果多酚溶液构成的体系中,以蒸馏水代替 β -胡萝卜素作为空白调零),共测量 150 min。

按照式(5),得到不同苹果多酚浓度下对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制率。

$$E(\%) = (A_0 - A_1) / (A_0 - A_1) \times 100\%$$
 $\pm (5)$

其中: A_0 和 A_1 分别为加入苹果多酚后 0 和 150min 时的吸光值 A_0 和 A_1 分别为不加苹果多酚时 0 和 150min 时的吸光度。

1.2.7 苹果多酚对亚硝酸根离子(NO_2)清除能力的测定[11] 取 1mL 不同浓度的苹果多酚溶液于 10mL 比色管中,加入 $5\mu g/mL$ 的 $NaNO_2$ 标准溶液 0.5mL,在 37% 恒温水浴中反应 30min。取出后立即加入 1mL 0.4% 对氨基苯磺酸溶液,混匀 静置 5min 后加入 0.5mL 0.2% 的盐酸萘乙二胺溶液,加水至 10mL 刻度,混匀 静置 15min ,于 538nm 处测定吸光值。为抵消样液自身的干扰,测定苹果多酚溶液的本底吸光值。

按照式(6),得到不同苹果多酚浓度下对亚硝酸 根离子(NO_{2}^{-})清除率。

E(%) =
$$[A_0 - (A_n - A_n)]/A_0 \times 100\%$$
 $\overrightarrow{\pi}(6)$

其中: A_0 为只加入 $NaNO_2$ 标准溶液的吸光值 , A_n 为加入苹果多酚后的吸光值 , A_n 为苹果多酚溶液本底吸光值。

2 结果与分析

2.1 苹果多酚对羟自由基的清除作用

以 V_c 作为对照 按照 1.2.1 的实验方法测定苹果多酚对羟自由基(\cdot OH) 的清除能力 ,实验结果见图 1。

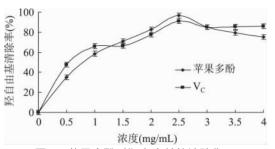


图 1 苹果多酚对羟自由基的清除作用

由图 1 可知 苹果多酚和 V。对羟自由基均有清除 效果。苹果多酚溶液在较低浓度时就能产生清除羟自 由基的效果 实验中发现当浓度低于 2.5 mg/mL 时 清 除率随浓度增加而增强;浓度高于 2.5mg/mL 时 清除 率呈下降趋势; 浓度为 2.5 mg/mL 时 ,清除率最高 ,达 到 96.5%。 Vc 清除率增幅较缓 浓度在 1.3~3.0 mg/mL 时 苹果多酚对羟自由基的清除率高于 V_c 。

根据文献[12]分析原因为: 苹果多酚结构中含 有供氢体 能够提供氢质子 使具有高度氧化性的自 由基被还原 从而终止自由基的连锁反应 起到清除 或抑制自由基的效果。但在高浓度时,它将反应 $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH + \cdot OH$ 中的 Fe^{3+} 还原成 ${
m Fe}^{2+}$ 反而促进了羟自由基的产生。苹果多酚及 ${
m V}_{
m c}$ 对羟自由基清除率的 IC₅₀分别为 0.8、0.6mg/mL。

2.2 苹果多酚对超氧阴离子自由基的清除作用

以 V_c 作为对照 ,按照 1.2.2 的实验方法测定苹 果多酚对超氧阴离子自由基的清除能力,实验结果 见图2。

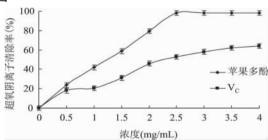


图 2 苹果多酚对超氧阴离子自由基的清除作用

由图 2 可知 苹果多酚和 V。对超氧阴离子均有 清除效果,且随浓度增大清除率提高。苹果多酚溶 液浓度小于 2.5 mg/mL 时 清除率随浓度增大而提高 趋势显著; 浓度大于 2.5 mg/mL 时 ,清除率趋于稳定; 浓度为 2.5mg/mL 时 ,清除率最高 ,达到 98.2% 。 V。 清除率增幅较缓 相同浓度下 苹果多酚的清除率明 显高于 V_c 。苹果多酚及 V_c 对超氧阴离子自由基清 除率的 IC₅₀分别为 1.2、2.3 mg/mL。

2.3 苹果多酚对 DPPH 自由基的清除作用

以 V_c 作为对照 按照 1.2.3 的实验方法测定苹果 多酚对 DPPH 自由基的清除能力 实验结果见图 3。

由图 3 可知 苹果多酚和 Vc 对 DPPH 自由基均 有清除效果,且随浓度增大,清除率提高。苹果多酚 溶液浓度小于 2.0 mg/mL 时 清除率随浓度增大而提 高; 浓度大于 2.0 mg/mL 时 ,清除率趋于稳定; 浓度为 2.0mg/mL 时 ,清除率最高 ,达到 95.9% 。 V 。 清除率 增幅趋势与苹果多酚相近 相同浓度下 $N_{\rm c}$ 清除率略 高于苹果多酚。苹果多酚及 Vc 对 DPPH 自由基清

Vol.32, No.11, 2011

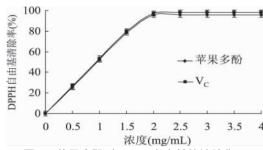


图 3 苹果多酚对 DPPH 自由基的清除作用

除率的 ICso分别为 0.9、0.8mg/mL。

2.4 苹果多酚对脂质过氧化的抑制作用

以 V。作为对照,按照 1.2.4 的实验方法测定苹 果多酚对脂质过氧化的抑制能力 实验结果见图 4。

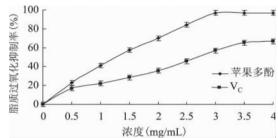


图 4 苹果多酚对脂质过氧化的抑制作用

由图 4 可知 苹果多酚和 V。对脂质过氧化均有 抑制效果,且随浓度增大,抑制率提高。苹果多酚溶 液浓度小于 3.0mg/mL 时 ,抑制率随浓度增大而提 高; 浓度大于 3.0 mg/mL 时 抑制率趋于稳定; 浓度为 3.0mg/mL 时 抑制率最高 ,达到 96.8% 。 V。 抑制率 增幅缓慢,相同浓度下,苹果多酚抑制率明显高于 V_c 。 苹果多酚及 V_c 对脂质过氧化抑制率的 IC_{50} 分别 为 1.4、2.9mg/mL。

2.5 苹果多酚还原能力的测定

以 V_c 作为对照 ,按照 1.2.5 的实验方法测定苹 果多酚的还原能力 实验结果见图 5。

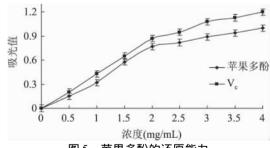


图 5 苹果多酚的还原能力

由图 5 可知 苹果多酚与 Vc 均有良好的还原能 力,是良好的电子供应者,其供应的电子除可以使 Fe³⁺还原成 Fe²⁺外,还可与自由基形成惰性物质,以 中断自氧化链锁反应。在实验浓度范围内,苹果多 酚与 V_c 的还原能力和浓度成正相关,相同浓度下, V_c 的还原能力高于苹果多酚。

2.6 苹果多酚对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系 的抑制作用

以 V_c 作为对照 ,按照 1.2.6 的实验方法测定苹 果多酚对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系的抑制能 力 实验结果见图 6。

Science and Technology of Food Industry

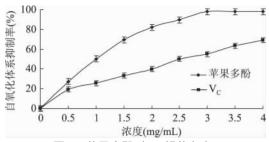


图 6 苹果多酚对 β-胡萝卜素/ 亚油酸自氧化体系的抑制作用

由图 6 可知 ,苹果多酚和 V_c 对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系均有抑制效果 ,且随浓度增大 ,抑制率提高。苹果多酚溶液浓度小于 3.0 mg/mL 时 ,抑制率随浓度增大而提高; 浓度大于 3.0 mg/mL 时 ,抑制率趋于稳定; 浓度为 3.0 mg/mL 时 ,抑制率最高 ,达到 97.9%。 V_c 抑制率增幅缓慢 相同浓度下 ,苹果多酚抑制率明显高于 V_c 。苹果多酚及 V_c 对 β-胡萝卜素/亚油酸自氧化体系抑制率的 IC_{50} 分别为 1.0、2.5 mg/mL。

2.7 苹果多酚对亚硝酸根离子 (NO_2^-) 清除能力的测定

以 V_c 作为对照 ,按照 1.2.7 的实验方法测定苹果多酚对亚硝酸根离子(NO_2^-) 的清除能力 ,实验结果见图 7 。

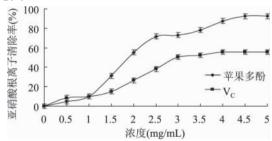


图 7 苹果多酚对亚硝酸根离子(NO,)的清除能力

由图 7 可知 、苹果多酚与 V_c 对 NO_2^- 均有清除作用 ,并呈一定的量效关系。苹果多酚溶液浓度低于 $1.0 \, \text{mg/mL}$ 时,对 NO_2^- 的清除效果较弱,随着苹果多酚溶液浓度增大,清除效果随之提高。当浓度为 $1.0 \, \sim \! 2.5 \, \text{mg/mL}$ 时,清除率增加很快;当浓度大于 $2.5 \, \text{mg/mL}$,清除率增势趋缓;浓度为 $4.5 \, \text{mg/mL}$ 时,苹果多酚对 NO_2^- 的清除率最高,达到 92.3% 。 V_c 清除率增幅不明显 相同浓度下,苹果多酚对亚硝酸根离子 (NO_2^-) 清除率明显高于 V_c 。苹果多酚及 V_c 对亚硝酸根离子 (NO_2^-) 清除率的 IC_{50} 分别为 $1.8 \, \sim \! 2.9 \, \text{mg/mL}$ 。

3 讨论

生物体内氧的单电子还原,生物分子的酶促氧化和自氧化都可产生各种氧自由基,其中以羟基自由基作用最强,毒性最大。这些自由基的强反应性是导致细胞氧化损伤和衰老的主要原因[13]。本实验结果显示苹果渣多酚类物质具有良好的抗氧化性能,在对羟自由基、超氧阴离子自由基的清除作用,以及对脂质过氧化、β-胡萝卜素/亚油酸自氧化的抑制作用方面,明显优于抗坏血酸;对 DPPH 自由基的清除作用与抗坏血酸相似;还原能力明显低于抗坏

血酸。这表明苹果渣多酚类物质与抗坏血酸具有不同的抗氧化作用机制。

亚硝胺是一种具有强烈致癌作用的化合物,它能引起人和动物的肝脏等器官恶性慢性肿瘤。正常情况下,人们直接从食物中摄入的亚硝胺量是微乎其微的,但形成 N-亚硝胺类的前体物质却大量存在于食物及其体内代谢过程中[14]。亚硝酸根离子是一种能形成 N-亚硝胺类的前体物质,而苹果渣多酚类物质防癌活性表现的一个重要方面就是能清除亚硝酸根离子从而抑制亚硝化反应。实验结果显示苹果渣多酚类物质具有良好的清除亚硝酸根离子能力,在浓度 4.5 mg/mL 时,清除率可达 92.3%,清除效果明显高于抗坏血酸。

4 结论

通过以上研究可知,苹果渣多酚类物质具有较 强的体外抗氧化活性,对羟基自由基、超氧阴离子自 由基、DPPH自由基、亚硝酸根离子均有明显的清除 作用 在实验浓度范围内 清除率随苹果多酚溶液浓 度的增大而提高,清除率 IC₅₀值分别为 0.8、1.2、0.9、 1.8mg/mL。当苹果多酚浓度为 2.5mg/mL 时 ,对羟自 由基的清除率可达 96.5%; 当苹果多酚浓度为 2.5mg/mL 时,对超氧阴离子自由基的清除率可达 98.2%; 当苹果多酚浓度为 2.0mg/mL 时 ,对 DPPH 自 由基的清除率可达 95.9%; 当苹果多酚浓度为 4.5mg/mL 时 对亚硝酸根离子的清除率可达 92.3%。 苹果多酚对脂质过氧化、β-胡萝卜素/亚油酸自氧化 有很强的抑制作用 实验浓度范围内 抑制率随苹果 多酚溶液浓度的增大而提高,抑制率 IC50值分别为 1.4、1.0mg/mL。当苹果多酚浓度为 3.0mg/mL 时,对 脂质过氧化的抑制率可达 96.8% ,对 β-胡萝卜素/亚 油酸自氧化的抑制率可达 97.9%。此外 苹果多酚具 有良好的还原能力。相同浓度下 苹果多酚对羟自由 基、超氧阴离子自由基、亚硝酸根离子的清除作用,以 及对脂质过氧化、β-胡萝卜素/亚油酸自氧化的抑制 作用明显优于抗坏血酸; 对 DPPH 自由基的清除作用 与抗坏血酸相似;还原能力明显低于抗坏血酸。

本实验结论为进一步研究苹果多酚的抗氧化及抗癌活性,并为苹果多酚在抗氧化食品、药品、化妆品方面的开发以及药理学的研究提供了理论依据。

参考文献

[1]许钢 张虹 庞洁 等.竹叶提取物对亚硝化反应抑制作用的研究[J].郑州工程学院学报 2001 22(1):69-72.

[2]刘树兴 赵芳.从天然植物中开发抗氧化剂研究进展[J]. 食品研究与开发 2007 28(7):179-182.

[3]余华 汤修琴,曹丽容.天然植物成分体外模拟胃液清除亚硝酸钠及阻断亚硝胺合成的研究[J].四川食品与发酵,2005(2):7-10.

[4] Karamać Magdalena. Antioxidant activity of tannin fractions isolated from buckwheat seeds and groats [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society 2010 87:559–566.

[5] Kiritsakis Kostas ,Kontominas M G ,Kontogiorgis C ,et al. (下转第 86 页) Science and Technology of Food Industry

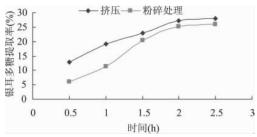


图 12 高温高压条件下挤压处理 对银耳多糖提取效果的影响

波与高温高压比较,高温高压提取率更高。高温提取 2h 较微波提取 2.5h,其挤压和粉碎处理的提取率分别提高 15.67%和 39.4%。经测定,本实验所用银耳原料水溶性多糖含量为 30.6%。高温提取 2h 一次时,银耳多糖提取率达 89.2%。

表 1 几种不同的提取方法银耳多糖提取率比较

提取方法 -	银耳多糖提取率(%)	
	挤压	粉碎
常压热提 6h 沸腾水浴	10.7	7.5
超声辅助 6h 沸腾水浴	10.9	7.7
微波回流提取 2.5h 250W	23.6	18
高压提取 2h ,121℃	27.3	25.1

3 讨论

3.1 应用子实体提取银耳多糖,通常都是将干银耳粉碎后进行热水提取,由于干银耳为质密角质结构,粉碎只能使子实体变成小的组织块,对其组织和细胞的结构没有影响。银耳多糖分子量较大,存在于组织和细胞内,一般的热水提取很难将多糖提取完全。银耳多糖的吸水特性使吸水后银耳组织和细胞膨胀。结构质地变地疏松和脆嫩,通过外力作用,易使结构变形、细胞破碎,从而有利于银耳子实体内多糖等物质的溶出和释放。本文采用对辊结构的挤压设备对吸涨后银耳材料进行处理,通过扫描电镜观察,银耳组织和细胞被挤压破坏,提取实验结果表明,吸涨挤压处理银耳可显著提高多糖提取率,吸涨挤压为物理方式,操作简便易行。

3.2 采用不同提取方法进行银耳多糖提取实验,每种提取方法均显示吸涨挤压处理比粉碎处理的银耳多糖提取率高,说明无论提取条件如何变化,挤压处理均能提高银耳多糖提取率,是提高银耳子实体多

糖提取效率的有效处理方式; 沸腾水浴提取和超声波辅助沸腾水浴提取 6h ,多糖提取率分别为 10.7%、10.9% ,而微波回流提取 2.5h 和高温提取 2h 的多糖提取率则达 23.6% 和 27.3% ,从这个结果看 ,银耳多糖提取率与温度效应成正相关 ,超出 100℃的高温有利于多糖的浸出 ,微波通过辐射导致银耳内的水分子吸收微波能 ,产生大量的热量 ,使提取的材料温度迅速上升 ,水汽化的瞬间产生局部高温和压力将多糖分子溶出 ,通过外加热提高提取温度更有利于多糖分子的溶出; 超声波的空化作用和机械振动可一定程度上加速多糖的溶出速率 ,但对提高银耳多糖提取率作用不明显。

3.3 综上分析,本研究确定以银耳多糖提取率为目标的提取工艺为: a.银耳子实体用 8 倍的水吸涨 2h后 经对辊挤压 $2\sim3$ 次; b.料(以银耳干重计):液 = 1:50; c.高温高压提取($0.105\,\mathrm{Mpa}$, $121\,\mathrm{C}$) 2.0h。应用高温提取银耳多糖较沸腾水浴提取极大提高了提取率 缩短了提取时间。

3.4 一般情况下,长时间高温提取可能对多糖的结构和性能产生影响,本研究高温提取 2h 是否对银耳多糖的结构和性能产生影响以及何种影响将通过进一步的研究来揭示。

参考文献

[1]崔蕊静 李凤英 李春华.银耳多糖的提取及其在饮料中的应用[J].中国食用菌 2003 23(2):39-41.

[2] 聂伟 ، 张永祥 ,周金黄 .银耳多糖的药理学研究概况 [J].中药药理与临床 2000 ,16(4):44-46.

[3]郑建仙.功能性食品[M].北京: 中国轻工出版社,1995: 124-130.

[4]林宇野 杨虹.酶法提取银耳多糖的研究[J].食品与发酵工业,1995(1):13-17.

[5]吴琼,郑成,宁正祥.微波辅助萃取银耳多糖的研究[J].食品科技 2006(9):109-111.

[6]张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].浙江:浙江大学出版社,1999.

[7]赵凯 许鹏举 谷广烨 .3~5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究 [J].食品科学 .2008~29(8):534-536.

[8]张昌军 原方圆 邵红兵.超声波法在提取多糖类化合物中的应用研究[J].化工时刊 2007 21(2):54-56.

(上接第82页)

Composition and antioxidant activity of olive leaf extracts from Greek olive cultivars [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society 2010 87: 369–376.

[6] Mariod A A Ibrahim R M Ismail M et al. Antioxidant activity of the phenolic leaf extracts from *Monechma ciliatum* in stabilization of corn oil [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society 2010 \$7:35–43.

[7] 贾长虹 常丽新 赵京 ,等 .月季果中黄酮的提取及其对自由基清除作用的研究 [J].食品工业科技 ,2010 ,31(1):168-170.

[8]董捷,尹策 涨红城,等.杏花粉中苦杏仁苷的抗氧化性研究[J].食品科学 2007 28(8):65-68.

[9] Moniea Seordino, Alfio Di Mauro, Amedeo Passerini, et al.

Adsorption flavernoids on resins, hesperidin [J]. Jouranal of Agriculture and food Chemist 2003 51(24):6998-7004.

[10] Siddhuraju P, Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea seed (Vigna unguiculata (L.) Walp.) extracts [J]. Food Chem 2007, 101 (1):10-19.

[11]潘廖明 姚开 贾冬英 等.大孔树脂吸附大豆异黄酮特性的研究[J].食品与发酵工业 2003 29:15-18.

[12]张燕平 戴志远 陈肖毅 .紫苏提取物体外清除自由基能力的研究[J].食品工业科技 2003 24(10):67-70.

[13]孙瑾 汪宗举 陈岗 等 橄榄中多酚类物质体外抗氧化活性研究[J].中国食品添加剂 2010(3):69-73.

[14]张英,丁霄霖.竹叶有效成分和抗活性氧自由基效能的研究[J].竹子研究汇刊,1996(7):17-24.