

# 莼菜嫩叶胞内多糖体外抗氧化作用研究

周毅峰<sup>1,2</sup>, 唐巧玉<sup>1</sup>, 罗兴武<sup>2</sup>, 吴永尧<sup>3</sup>

(1.生物资源保护与利用湖北省重点实验室, 湖北 恩施 445000; 2.湖北民族学院生物科学与技术学院, 湖北 恩施 445000; 3.湖南农业大学生化与发酵工程实验室, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 采用水和碱两种溶剂提取脱胶莼菜嫩叶胞内多糖, 并研究莼菜胞内多糖的体外抗氧化活性。结果表明: 两种多糖具有较强的体外还原能力和清除羟自由基能力, 与多糖浓度呈正相关, 但水溶性多糖还原能力和清除羟自由基能力均强于碱溶性多糖; 两种多糖清除体外超氧阴离子自由基的最适浓度分别为 2.0mg/ml 和 5.0mg/ml。

**关键词:** 莼菜; 多糖; 抗氧化

*Study on Antioxidation Function in vitro of Endopolysaccharide from Young Leaves of *Brasenia schreberi**

ZHOU Yi-feng<sup>1,2</sup>, TAMG Qiao-yu<sup>1</sup>, LUO Xing-wu<sup>2</sup>, WU Yong-yao<sup>3</sup>

(1. Key Laboratory for Protection and Utilization of Biological Resources of Hubei Province, Enshi 445000, China;  
2. Department of Bioscience and Technology, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China;  
3. Laboratory of Biochemical and Fermentation, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** Water and lye were used for extracting the endopolysaccharide from young leaves of *Brasenia schreberi* respectively in this study, and the antioxidation functions *in vitro* of the two types of polysaccharides, namely water-soluble polysaccharide and alkali-soluble polysaccharide. The results indicated that both the two type of polysaccharides have strong reducing power and  $\cdot\text{OH}$  scavenging abilities, which are passively correlated with their concentrations. But both the two capabilities of water-soluble polysaccharide are stronger compared with alkali-soluble polysaccharide. The optimum concentration of water-soluble polysaccharide for scavenging super-oxygenic anion is 2.0 mg/ml, but that of alkali-soluble polysaccharide is 5.0mg/ml.

**Key words:** *Brasenia schreberi*; polysaccharide; antioxidation

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)08-0078-02

莼菜(water shield, *Brasenia schreberi*), 原始花被亚纲睡莲科莼菜属多年生淡水水生草本植物, 又名马蹄草、湖菜、水葵、或露葵, 生长于池塘、湖泊和沼泽中。莼菜是一种珍稀濒危的水生野菜, 也是国家一级保护植物, 对其生物学特性和一般营养成分研究已有报道<sup>[1]</sup>。据本草纲目记载, 莼菜还具有消渴热痹、治热疸、厚肠胃、安下焦、逐水、解百药毒等功效。现代医学认为有调节免疫功能、抗肿瘤、抗感染降血糖血脂、延年益寿的功效。但是, 这些研究主要针对莼菜体外胶质多糖<sup>[2-5]</sup>, 而未见专门关于莼菜胞内多糖的提取、分离及生理功能的报道。本实验主要针对莼菜胞内水溶性多糖和碱溶性多糖的提取、分离进行研究, 并初步鉴别这些物质的活性, 以期为进一步开发奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

莼菜采自湖北省利川市福宝山水库莼菜基地。鲜莼菜用一定浓度的氢氧化钠溶液脱去体外胶质后<sup>[6]</sup>, 烘干粉碎备用。

氯仿、正丁醇、苯酚、硫酸、氢氧化钠、盐酸、三氯乙酸、邻菲罗啉、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、双氧水、铁氰化钾、三氯化铁、硫酸亚铁等, 以上试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

FA2104 电子天平; S53/54 紫外可见分光光度计; R201 旋转蒸发器; 800B 低速大容量冷冻离心机; ZL-1 真空冷冻干燥机。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 多糖的分离与纯化

称取 1.1 处理的样品干粉 10.0000g, 置于 250ml 平底离

收稿日期: 2008-04-29

基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2003ADA127)

作者简介: 周毅峰(1978-), 男, 讲师, 硕士, 主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail: zyftqy@163.com

心管中,加入100ml分析纯丙酮搅拌脱脂2h后,3000r/min离心10min,弃去上清液,沉淀中再加入100ml分析纯丙酮,重复以上操作两次。最后所得残渣在常温下挥干丙酮后,50℃温水和0.1mol/L NaOH提取水溶性多糖和碱溶性多糖。将提取液用Sevag法脱蛋白后,加入4倍体积的乙醇,醇析过夜,5000r/min离心10min得沉淀,加入20ml水充分溶解后,等体积36% $\text{H}_2\text{O}_2$  60℃脱色,浓缩后加入4倍体积的乙醇,醇析过夜,5000r/min离心10min得沉淀,挥干乙醇后加10ml水溶解,采用苯酚-硫酸法<sup>[7]</sup>测定多糖含量。

### 1.3.2 多糖抗氧化作用研究

还原能力测定参照郭春梅等<sup>[8]</sup>的方法;清除超氧阴离子和羟自由基测定参照程超等<sup>[9]</sup>的方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 莼菜嫩叶胞内多糖含量与还原能力

利用1.2.1中所述方法分离和初步纯化莼菜嫩叶胞内的水溶性多糖和碱溶性多糖,并采用苯酚-硫酸法测定了其多糖含量,得到水溶性多糖和碱溶性多糖的含量分别为19.14%和72.23%,碱溶性多糖含量是水溶性多糖含量的3.77倍。

实验采用Oyaizu法,通过观察在多糖存在时, $\text{Fe}^{3+}$ - $\text{Fe}^{2+}$ 的转移来检测其还原能力。因为一种物质的还原能力与它潜在的抗氧化活性有十分密切的关系。从图1中可以看到,水溶性多糖和碱溶性多糖都具有比较强的还原能力,且随着多糖浓度的增加,还原能力显著增强(碱溶性多糖 $R=0.997$ , $p<0.01$ ;水溶性多糖 $R=0.999$ , $p<0.01$ )。同时,还可以看出,水溶性多糖的还原能力大大高于碱溶性多糖。

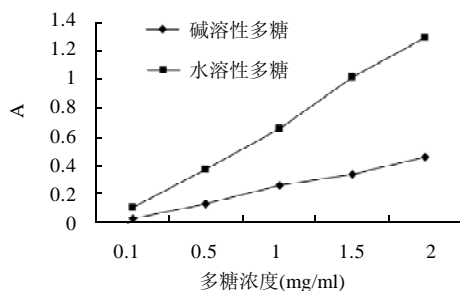


图1 莼菜多糖的还原能力

Fig.1 Reducing ability of *Brasia schreberi* polysaccharide

### 2.2 多糖对超氧阴离子自由基的清除

在一定的浓度范围内,水溶性多糖和碱溶性多糖浓度越高,对超氧阴离子自由基的清除率也越高(表1),但两者对超氧阴离子自由基的清除能力有所差异。水溶性多糖在浓度为2.0mg/ml时能达到最大清除率,而碱溶性多糖需到5.0mg/ml时才能达到最大清除率,且此时的清除率(48.39%)还远低于水溶性多糖的最大清除率(79.84%)。因此,水溶性多糖的对超氧阴离子自由基的清除效果优于碱溶性多糖。

表1 莼菜嫩叶胞内多糖对超氧阴离子自由基的清除

Table 1  $\text{O}_2^{\cdot-}$  scavenging ability of *Brasia schreberi* polysaccharide

水溶性多糖浓度 (mg/ml)	清除率 (%)	碱溶性多糖浓度 (mg/ml)	清除率 (%)
0.2	14.85	0.5	4.01
0.5	34.12	1	12.89
1	52.87	2	27.56
2	79.84	5	48.39
5	57.82	10	46.53

### 2.3 多糖对羟自由基的清除

本研究所得两种莼菜嫩叶胞内多糖对羟自由基也有一定的清除能力,结果见表2,且清除率随着浓度的增加而增加。水溶性多糖浓度(x, mg/ml)与清除率(y, %)之间的回归方程为 $y=8.937513x+4.912727$ , $r=0.974$ , $F=55.25$ ,在0.005水平显著, $\text{EC}_{50}$ 为5.04mg/ml。碱溶性多糖浓度(x, mg/ml)与清除率(y, %)之间的回归方程为 $y=-2.323803x+3.81593$ , $r=0.982$ , $F=83.35931$ ,在0.0028水平显著, $\text{EC}_{50}$ 为19.87mg/ml。

表2 莼菜嫩叶胞内多糖对羟自由基的清除

Table 2  $\cdot\text{OH}$  scavenging ability of *Brasia schreberi* polysaccharide

水溶性多糖浓度 (mg/ml)	清除率 (%)	碱溶性多糖浓度 (mg/ml)	清除率 (%)
0.2	2.89	0.5	2.54
0.5	7.32	1	6.36
1	16.33	2	10.77
2	28.67	5	15.98
5	47.11	10	26.42

## 3 讨论

本实验主要采用水提和碱提两种方法充分提取出莼菜嫩叶胞内多糖,两种莼菜嫩叶胞内多糖的抗氧化能力有差异。水溶性多糖的抗氧化能力明显的高于碱溶性多糖。因此,水溶性多糖较碱溶性多糖具有更好的生理活性,这可以为莼菜嫩叶胞内多糖产品的加工和选择利用提供一定的理论依据。

### 参考文献:

- [1] 刘永琼,余世鑫,桂昭明,等. 莼菜的研究进展[J]. 武汉化工学院学报, 1997, 19 (2): 15-18.
- [2] 王淑如,夏尔宁,周岚. 莼菜多糖的提取分离及某些生物活性的研究[J]. 中国药科大学学报, 1987, 18 (3): 187.
- [3] 于秋英,刘翠俐,陈桃香. 莼菜多糖蛋白体降低小鼠血脂作用的研究[J]. 中国公共卫生学报, 1997, 16(2): 85-86.
- [4] 刘翠俐,于秋英. 莼菜多糖粘胶降血糖作用的研究[J]. 职业与健康, 2004, 20 (6): 142-143.
- [5] 刘志伟,李言郡. 莼菜多糖保健饮料工艺研究[J]. 武汉工业学院学报, 2000(3): 1-3.
- [6] 周毅峰,吴永尧,唐巧玉,等. 莼菜体外胶质分离及组成成分的初步分析[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31 (4): 150-153.
- [7] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 2版. 杭州: 浙江大学出版社, 1999: 12.
- [8] 郭春梅,武荣兰,封顺,等. 香青兰多糖的提取、测定及其对活性氧自由基的清除作用[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31 (3): 129-132.
- [9] 程超,李伟,汪兴平. 平菇水溶性多糖结构表征与体外抗氧化作用[J]. 食品科学, 2005, 26 (8): 55-57.