

霸王花不同部位粗多糖的结构组成及体外抗氧化活性

冯峰^{1,2}, 杨淑玲³, 张奇³, 吴岩斌^{3*} (1.福建省级机关医院, 福建卫生职业技术学院附属医院药剂科, 福州 350003; 2.福建卫生职业技术学院药学院, 福州 350101; 3.福建中医药大学药学院, 福州 350122)

摘要: 目的 研究霸王花不同部位粗多糖的结构组成和体外抗氧化活性。方法 利用水提醇沉法制备霸王花 4 个不同部位(花瓣、花萼、雌蕊、雄蕊)的粗多糖, 通过苯酚-硫酸法、考马斯亮蓝法、凝胶排阻色谱联用多角度激光光散射和示差折光仪法[size exclusion chromatography(SEC) coupled with multiangle laser light scattering(MALLS) and refractive index detector(RID), SEC-MALLS-RID]、高效液相色谱法、傅里叶红外光谱法(Fourier transform infrared spectrometer, FTIR)分析比较霸王花不同部位粗多糖结构特征; 以对 2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基的清除作用为指标, 评价霸王花不同部位粗多糖的体外抗氧化活性。结果 霸王花不同部位粗多糖中多糖含量为 52.20%~61.52%, 蛋白质含量为 1.17%~3.21%; 霸王花不同部位粗多糖均含有 D-甘露糖、L-鼠李糖、D-葡萄糖醛酸、D-半乳糖醛酸、葡萄糖、D-半乳糖、D-木糖、D-阿拉伯糖, 但单糖的比例有差异; 4 个不同部位粗多糖的 SEC 色谱图、重均分子质量及其分布、FTIR 色谱图具有相似性; 霸王花不同部位粗多糖具有体外抗氧化活性。结论 霸王花不同部位粗多糖结构组成具有较高的相似性, 均具有良好的抗氧化活性, 在保健食品和药品等领域具有良好的开发利用前景。

关键词: 霸王花; 多糖; 单糖组成; 凝胶排阻色谱联用多角度激光光散射和示差折光仪法; 红外光谱分析法

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)02-0189-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.02.011

引用本文: 冯峰, 杨淑玲, 张奇, 等. 霸王花不同部位粗多糖的结构组成及体外抗氧化活性[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(2): 189-195.

Structural Composition and *in Vitro* Antioxidant Activities of Crude Polysaccharide from Different Parts of Flower of *Hylocereus Undatus*

FENG Feng^{1,2}, YANG Shuling³, ZHANG Qi³, WU Yanbin^{3*} (1.Department of Pharmacy, Fujian Provincial Governmental Hospital, Affiliated Hospital of Fujian Health College, Fuzhou 350003, China; 2.Department of Pharmacy, Fujian Health College, Fuzhou 350101, China; 3.College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the structural composition and *in vitro* antioxidant activity of crude polysaccharide from different parts of flower of *Hylocereus undatus*. **METHODS** The crude polysaccharide from petals, calyx, pistil and stamens in 4 different parts of flower of *Hylocereus undatus* were extracted by method of water extraction and alcohol precipitation. Structural characteristics of crude polysaccharide from different parts of flower of *Hylocereus undatus* were investigated and compared using phenol-sulfuric acid method, coomassie brilliant blue method, size exclusion chromatography(SEC) coupled with multiangle laser light scattering and (MALLS) refractive index detector(RID) (SEC-MALLS-RID), HPLC and Fourier transform infrared spectrometer(FTIR), respectively. The 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate acid) radical, hydroxyl radical and superoxide anion radical scavenging activities was assayed to evaluate the antioxidant activity *in vitro* of crude polysaccharide from different parts of flower of *Hylocereus undatus*.

RESULTS The results demonstrated that the contents of polysaccharides were 52.20%~61.52%, the protein contents were 1.17%~3.21% in crude polysaccharide of different parts from *Hylocereus undatus*. All polysaccharides contained D-mannose, L-rhamnose, D-glucuronic acid, D-galactonic acid, glucose, D-galactose, D-xylose and D-arabinose, but the proportion of monosaccharides varied remarkably in the crude polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus*. The SEC chromatograms, the molecular weights and their distribution, and the FTIR chromatograms of crude polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus* were similar. The crude polysaccharide from different parts of flower of *Hylocereus undatus* had significant anti-oxidative activities *in vitro*. **CONCLUSION** The structural composition of crude polysaccharide from different parts of flower of *Hylocereus undatus* have high similarity and significant anti-oxidative activities *in vitro*, and can be a resource of health foods and medicine for further development.

KEYWORDS: flower of *Hylocereus undatus*; polysaccharide; monosaccharide compositions; SEC-MALLS-RID; FTIR

基金项目: 福建省中青年教育科研项目(JAT171042)

作者简介: 冯峰, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0591)88013055 E-mail: camelsoul@163.com *通信作者: 吴岩斌, 男, 硕士, 副研究员 Tel: (0591)22861607 E-mail: wxsq1@163.com

霸王花又称剑花、量天尺、霸王鞭,为仙人掌科量天尺属植物量天尺 *Hylocereus undatus* (Haw.) Britt.et. Rose 的花,原产于美洲墨西哥至巴西一带,我国广东、广西、贵州、台湾、海南、福建等省份均有栽培^[1-2]。霸王花在华南地区是一种药食两用的原料,可作清补汤料或蔬菜食用^[3]。霸王花药用始载于《岭南采药录》,具有清肺止咳、解毒消肿等功效^[4]。现代化学和药理研究表明,霸王花主要含有黄酮类、三萜类、木脂素类、皂苷、多糖类等成分,具有抗氧化、抗炎、降血糖、降血脂、降血压、抗菌等多种生物活性^[5-11]。

多糖是霸王花的主要成分之一,具有显著的抗氧化活性^[9-11]。大量研究表明,中药多糖的生物活性与其结构特征(如相对分子质量及其分布、糖苷键类型及连接顺序、单糖组成、粒径大小、构象等)密切相关^[12]。课题组前期对不同产地霸王花多糖的单糖组成及体外抗氧化活性进行比较,发现研究霸王花多糖的抗氧化活性与其多糖的单糖比例具有一定的相关性。目前,关于霸王花不同部位多糖的结构特征和抗氧化活性的比较研究尚未见报道^[13]。为此,本试验采用凝胶色谱联用多角度激光散射和示差折光仪法[size exclusion chromatography(SEC) coupled with multiangle laser light scattering(MALLS) and refractive index detector (RID), SEC-MALLS-RID]、HPLC、傅里叶红外光谱法(Fourier transform infrared spectrometer, FTIR)分析比较霸王花不同部位多糖重均分子质量及其分布、单糖组成、官能团特征,并对它们的体外抗氧化活性进行研究,以期为其质量控制奠定基础。

1 材料

LC-20A 高效液相色谱仪、UV-1800 紫外可见分光光度计均购自日本岛津公司;DAWN HELEOS II型18角度激光光散射仪(美国Wyatt公司);RI-101 型示差检测器(日本Shodex公司);INFINITE 200 PRO 连续波动多功能酶标仪(Tecan Austria GmbH)。

霸王花样品于2017年10月采自福建福清,经浙江中医药大学药学院张巧艳教授鉴定为仙人掌科量天尺属植物量天尺 *Hylocereus undatus* 的花。*D*-甘露糖(批号:C16J8H28561)、*L*-鼠李糖(批号:SA0411GA13)、*D*-葡萄糖醛酸(批号:K14J7S9017)、*D*-半乳糖醛酸(批号:S29J8I40844)、

D-半乳糖(批号:Z20O7H23186)、*D*-阿拉伯糖(批号:Z29O7H23894)、*D*-木糖(批号:B02M6W1)均购自上海源叶生物科技有限公司,HPLC $\geq$ 98%;*D*(+)-无水葡萄糖(大连美仑生物技术有限公司,批号:D0806AS;HPLC $\geq$ 98%);色谱级乙腈(德国默克公司);考马斯亮蓝 G-250(北京鼎国昌盛生物技术有限公司,批号:57U10197);牛血清白蛋白(Genview 公司,批号:5B100105100);水为超纯水;其他均为国产分析纯。

2 方法

2.1 霸王花不同部位粗多糖的制备

霸王花不同部位(花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊)60℃干燥后粉碎,分别称取10g,置于圆底烧瓶中,用80%乙醇100mL回流提取3次。药渣用200mL蒸馏水提取3次,合并水提取液,减压浓缩后加水至50mL,再加乙醇至醇浓度到80%,4℃放置12h,沉淀过滤后用无水乙醇洗涤数遍,干燥,即得霸王花不同部位粗多糖。

2.2 多糖和蛋白含量测定

采用苯酚-硫酸法^[14]测定粗多糖中多糖的含量。采用考马斯亮蓝法^[15]测定粗多糖中蛋白的含量。葡萄糖标准曲线方程为 $Y=0.0673X-0.0299$, $R^2=0.9984$, X 为吸光度值, Y 为葡萄糖质量浓度^[13];蛋白的标准曲线方程为 $Y=0.0327X-0.0028$, $R^2=0.9982$, X 为吸光度值, Y 为牛血清蛋白质量浓度^[13]。上述实验重复3次,多糖和蛋白含量计算公式:总多糖或总蛋白含量(%)= $\frac{C \times V}{M} \times 100\%$ 。

其中 C 为样液中总多糖或总蛋白的浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); V 为试样定容后的体积(mL); M 为试样的质量(μg)。

2.3 单糖组成的 HPLC 分析

2.3.1 混合单糖对照品溶液的制备 精密称取*D*-甘露糖5.00mg、*L*-鼠李糖4.60mg、*D*-葡萄糖醛酸5.01mg、*D*-半乳糖醛酸5.05mg、葡萄糖5.06mg、*D*-半乳糖4.67mg、*D*-木糖4.78mg、*D*-阿拉伯糖4.45mg,分别加水定容至2mL,混匀后分别精密吸取各单糖对照品溶液200 μL 混合,即得混合单糖对照品溶液。

2.3.2 多糖水解和衍生化产物的制备^[15] 分别准确称取霸王花不同部位粗多糖10mg于具塞试管中,加入2mol·L⁻¹三氟乙酸2mL,于110℃水解2h,冷却后用3mol·L⁻¹的NaOH中和至pH7.0,加水定容至5mL,制备得到霸王花不同部位多糖

水解液。精密吸取混合单糖对照品溶液和霸王花不同部位粗多糖水解液各 200 μL 、分别加入 0.3 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 200 μL ，0.5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP) 200 μL ，于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 100 min，冷却 10 min 后，加入 200 μL 0.3 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 HCl 和 200 μL 蒸馏水，混合均匀后，加入 1 mL 氯仿涡旋萃取 3 次，收集水层溶液，用 0.22 μm 滤头过滤，用于 HPLC 分析。精密吸取衍生化后的各单糖对照品溶液 50 μL ，混匀，制备成混合对照品溶液，进行 HPLC 分析，绘制各单糖的标准曲线方程，计算单糖含量。

2.3.3 色谱条件^[15] 参照前期文献的色谱条件，YMC-Pack ODS-AC₁₈ 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm)，流动相 A 为乙腈，流动相 B 为醋酸铵溶液，梯度洗脱(0~20 min, 17% $\rightarrow$ 19%A; 20~60 min, 19%A)，紫外检测器，检测波长 250 nm，柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ ，流速 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ，进样量 20 μL 。

2.3.4 方法学考察

2.3.4.1 仪器精密度试验 取衍生化后的混合单糖对照品溶液，按“2.3.3”项下色谱条件连续重复进样 6 次，记录峰面积，计算各单糖峰面积的 RSD 值。

2.3.4.2 重复性试验 称取霸王花花瓣粗多糖样品 6 份，每份 10 mg，按“2.3.2”项下 3 法经水解并衍生化后按“2.3.3”项下色谱条件进样，记录峰面积，计算各单糖峰面积的 RSD 值。

2.3.4.3 稳定性试验 取霸王花花瓣粗多糖样品 10 mg，按“2.3.2”项下 3 法经水解并衍生化后，分别于 0, 2, 4, 8, 10, 12, 24 h 按“2.3.3”项下色谱条件进样，记录峰面积，计算各单糖峰面积的 RSD 值。

2.3.4.4 加样回收率试验 取霸王花花瓣粗多糖 6 份，水解，向花瓣粗多糖水解液中分别加入单糖对照品溶液适量，PMP 衍生化，按照“2.3.3”项下的色谱条件进样，记录峰面积，计算各单糖的平均加样回收率及其峰面积的 RSD 值。

2.4 多糖 SEC 图谱构建和分子质量及其分布测定

参照文献[16]报道方法进行 SEC-MALLS-RID 分析，构建霸王花不同部位多糖 HPSEC 图谱及测定分子质量分布。分别取霸王花不同部位粗多糖 10 mg，配制成终质量浓度为 2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的水溶液，样品经 0.22 μm 滤膜过滤备用。采用 SEC-MALLS/RI 构建霸王花不同部位多糖 SEC 图谱及测定分子

质量分布。色谱条件：流动相为 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaCl 溶液；色谱柱柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ ；流速 0.35 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；色谱柱 TSK Gel G6000PW_{XL} 串联 TSK Gel G3000PW_{XL}；进样量 1 mL；采用 Astra 6 软件采集及处理数据。

2.5 FTIR 分析

分别称取霸王花不同部位粗多糖各 2 mg，加适量干燥的溴化钾进行压片，保持环境干燥，置于红外光谱仪上进行测定。利用红外光谱仪在 4 000~400 cm^{-1} 扫描，采用先扫描后采集背景的模式，分辨率为 4 cm^{-1} ，累计扫描 16 次。

2.6 抗氧化活性测定

2.6.1 2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate acid), ABTS] 自由基的清除活性^[17] ABTS 和 2.45 mmol 过硫酸钾等体积混合，室温下避光放置 12 h，得到 ABTS 储备液，测定前用蒸馏水稀释储备液，使稀释液在 734 nm 下的吸光度值为 0.70 $\pm$ 0.02，将霸王花不同部位粗多糖配置成质量浓度 4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的母液，将其稀释到不同的质量浓度样品溶液(3, 2, 1, 0.5, 0.25 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)，分别取不同浓度的样品溶液 1 mL，加入 3 mL ABTS⁺ 溶液，混合均匀，在室温下反应 6 min，在 734 nm 下测得溶液的吸光度值。

2.6.2 羟基自由基的清除活性^[18] 将霸王花不同部位粗多糖配制成浓度 4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的母液，将其稀释到不同质量浓度的样品溶液(3, 2, 1, 0.5, 0.25 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)，分别取不同质量浓度的样品溶液 1 mL，依次加入 1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸亚铁 1 mL，20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水杨酸钠 0.3 mL，6 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 过氧化氢 0.7 mL。混合均匀，置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 30 min，在 510 nm 下测定溶液的吸光度值。

2.6.3 超氧阴离子的清除活性^[19] 将霸王花不同部位粗多糖配制成浓度 2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的母液，将其稀释到不同浓度的样品溶液(1, 0.8, 0.5, 0.25, 0.125 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)，分别取不同浓度的样品溶液 1 mL，依次加入 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 四唑氮蓝溶液 1 mL，500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸溶液 1 mL，混合均匀，加入 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 吩噻嗪硫酸二甲酯溶液 1 mL，在室温下反应 5 min，在 560 nm 下测定溶液的吸光度值。

上述实验重复 3 次，以清除率表示霸王花不同部位粗多糖的体外抗氧化活性，计算公式为清

除率(%)=[1-(A_1-A_2)/ A_3]×100, A_1 为样品溶液的吸光度值, A_2 为本底吸光度值, A_3 为空白溶液的吸光度值。采用统计软件 SPSS 20.0 计算半数抑制浓度 IC_{50} 值。

3 结果与分析

3.1 粗多糖中多糖和蛋白质的含量

霸王花不同部位粗多糖中的多糖和蛋白质含量有一定的差异。多糖的得率为 13.09%~21.19%, 其中雌蕊的粗多糖得率最高, 花萼的粗多糖得率最低。霸王花不同部位粗多糖中的多糖和蛋白质的含量分别为 51.27%~61.52%, 1.17%~3.21%; 以雌蕊粗多糖中的多糖含量最高, 花萼粗多糖中的多糖含量最低, 以花萼粗多糖中的蛋白质含量最高, 雌蕊粗多糖中的蛋白质含量最低。结果见表 1。

表 1 霸王花不同部位粗多糖的得率及多糖和蛋白质含量 ($n=3$)

Tab. 1 Yield, polysaccharide and protein content in crude polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus* ($n=3$) %

样品	多糖得率	多糖含量	蛋白质含量
花瓣	16.22	52.20±1.64	3.12±0.33
花萼	13.09	51.27±0.42	3.21±0.36
雌蕊	21.19	61.52±2.43	1.17±0.42
雄蕊	14.33	53.66±4.14	2.26±0.53

3.2 霸王花不同部位粗多糖的单糖组成 HPLC 分析方法的建立

按“2.3.3”项下色谱条件, 霸王花不同部位粗多糖中 8 种单糖的 PMP 衍生物得到较好的分离, 霸王花不同部位粗多糖的单糖组成及混合单糖标准品的 HPLC 谱图见图 1。8 种单糖的线性回归方程见表 2。

方法学考察试验结果显示, 在仪器精密度试验结果中, *D*-甘露糖、*L*-鼠李糖、*D*-葡萄糖醛酸、*D*-半乳糖醛酸、葡萄糖、*D*-半乳糖、*D*-木糖、*D*-阿拉伯糖的峰面积的 RSD 值分别为 0.64%, 0.55%, 1.28%, 0.47%, 0.82%, 0.42%, 1.36%和 0.47%, 表明仪器精度良好。

重复性试验中上述各单糖峰面积的 RSD 值分别为 0.86%, 1.24%, 2.43%, 1.11%, 2.02%, 0.89%, 1.77%和 1.07%, 表明该方法重复性良好。

稳定性试验中各单糖峰面积的 RSD 值分别为 0.68%, 0.54%, 0.62%, 0.88%, 1.07%, 0.91%, 1.03%和 0.94%, 表明供试液在 24 h 内的稳定性良好。

8 种单糖的平均加样回收率分别为 96.22%, 97.36%, 95.17%, 104.29%, 105.32%, 104.14%,

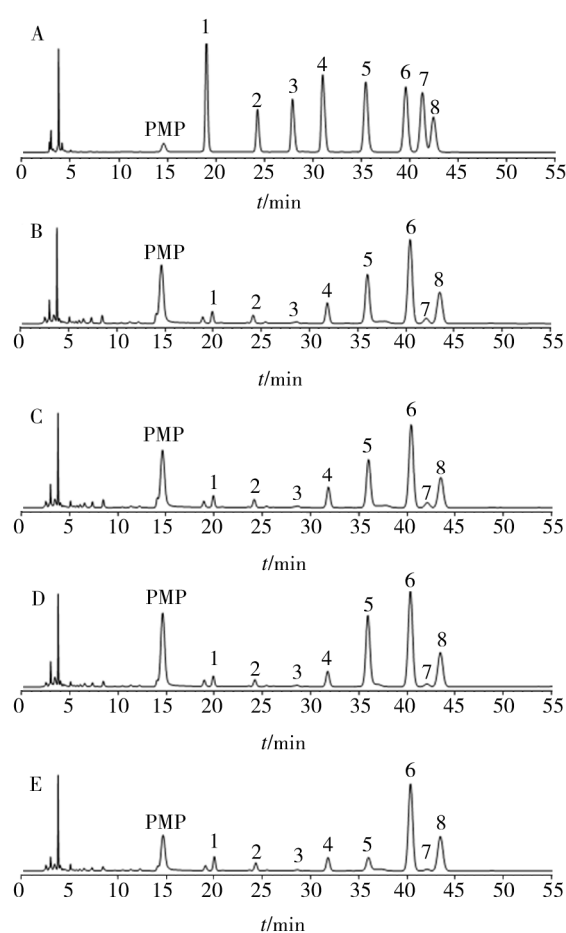


图 1 单糖对照品和霸王花不同部位粗多糖水解物 PMP 衍生物的 HPLC 色谱图

A-单糖对照品; B-雄蕊; C-花瓣; D-雌蕊; E-花萼; 1-*D*-甘露糖; 2-*L*-鼠李糖; 3-*D*-葡萄糖醛酸; 4-*D*-半乳糖醛酸; 5-葡萄糖; 6-*D*-半乳糖; 7-*D*-木糖; 8-*D*-阿拉伯糖。

Fig. 1 HPLC chromatogram of PMP derivatives of monosaccharide reference and hydrolysis products of crude polysaccharide from different parts of flower of *Hylocereus undatus*

A-monosaccharide reference; B-stamen; C-petal; D-pistil; E-sepal; 1-*D*-mannose; 2-*L*-rhamnose; 3-*D*-glucuronic acid; 4-*D*-galacturonic acid; 5-glucose; 6-*D*-galactose; 7-*D*-xylose; 8-*D*-arabinose.

表 2 8 种单糖 PMP 衍生物的回归方程和线性范围

Tab. 2 Regression equations and linear ranges of PMP derivatives of 8 monosaccharides

单糖	相关系数	回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
<i>D</i> -甘露糖	0.999 6	$y=92.337x-1.296$	0.50~62.50
<i>L</i> -鼠李糖	0.999 1	$y=41.708x-0.429$	0.45~57.50
<i>D</i> -葡萄糖醛酸	0.999 0	$y=54.77x-0.893 8$	0.50~62.25
<i>D</i> -半乳糖醛酸	0.999 5	$y=86.558x-1.380 4$	0.50~63.15
葡萄糖	0.999 1	$y=92.027x-1.622 9$	0.50~63.25
<i>D</i> -半乳糖	0.999 2	$y=91.009x-1.737 3$	0.45~63.40
<i>D</i> -阿拉伯糖	0.997 9	$y=57.104x-1.001 7$	0.45~55.65
<i>D</i> -木糖	0.999 3	$y=101.43x-1.640 3$	0.45~59.75

96.32%和95.35%,其相应的RSD值分别为3.12%,2.34%,2.66%,2.89%,3.11%,3.25%,2.68%和2.93%,表明8种单糖的加样回收率良好。

3.3 多糖的单糖组成特征

霸王花不同部位粗多糖主要由D-甘露糖、D-半乳糖醛酸、葡萄糖、D-半乳糖和D-阿拉伯糖,及少量的L-鼠李糖、D-葡萄糖醛酸和D-木糖组成。将D-甘露糖的摩尔数定为1,得到其他单糖与D-甘露糖的摩尔比。霸王花不同部位粗多糖中8种单糖的比例具有一定的差异,以D-半乳糖最高,其次是D-阿拉伯糖,最低的是D-葡萄糖醛酸。结果见表3。

表3 霸王花不同部位粗多糖的单糖组成特征

Tab. 3 Characteristics of monosaccharide composition of crude polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus*

样品	摩尔比							
	D-甘露糖	L-鼠李糖	D-葡萄糖醛酸	D-半乳糖醛酸	D-葡萄糖	D-半乳糖	D-木糖	D-阿拉伯糖
雌蕊	1.0	0.35	0.08	0.77	3.79	4.78	0.21	3.36
雄蕊	1.0	0.43	0.12	1.05	2.90	4.41	0.31	3.18
花萼	1.0	0.37	0.12	0.88	1.10	5.77	0.18	4.69
花瓣	1.0	0.41	0.10	0.92	1.65	4.71	0.21	3.61

3.4 多糖 SEC 图谱及分子质量分布

多糖的生物活性与多糖分子质量及其分布等密切相关,已被用于多种中药多糖的质量控制研究^[12]。霸王花不同部位多糖 SEC 图谱见图2,重均分子质量及其分布见表4。结果显示霸王花不同部位多糖 SEC 图谱中均有相似的色谱峰,色谱峰1、2和3的分子质量及其分布也类似。霸王花不同部位多糖中,花萼多糖的平均重均分子质量最大。

3.5 多糖的 FTIR 分析

霸王花不同部位粗多糖的红外光谱见图3,3418 cm⁻¹处有较强吸收,这是多糖中-OH的伸缩振动引起的;2924 cm⁻¹处的吸收是C-H吸收振动峰;1745和1643 cm⁻¹处的吸收峰C=O的伸缩振动峰,说明多糖中存在酰胺基;1449,1319,1219 cm⁻¹处的吸收峰是C-H的弯曲振动峰;1028,792 cm⁻¹为吡喃型糖环吸收峰,说明多糖含有β-吡喃糖苷键。以上官能团分析表明,提取的霸王花多糖符合蛋白多糖的各种官能团特征指标。

3.6 多糖的体外抗氧化活性

霸王花花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊4个部位的

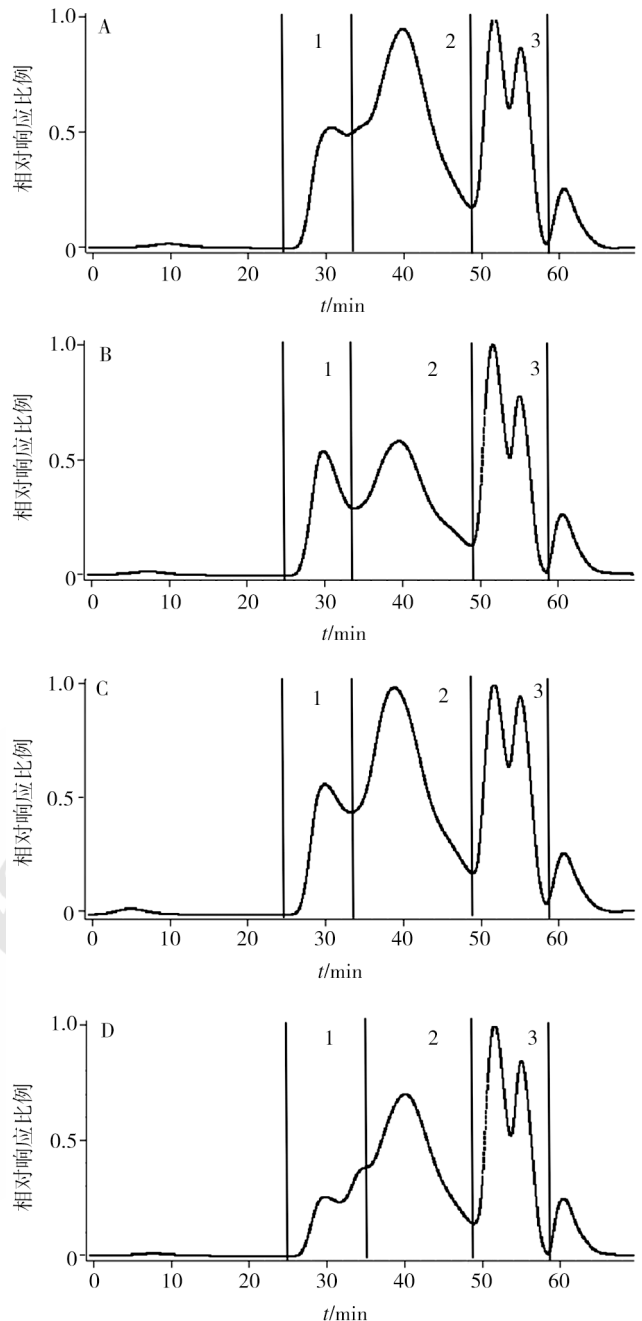


图2 霸王花不同部位多糖 SEC 色谱图(dRI 信号吸收)

A-花瓣; B-花萼; C-雌蕊; D-雄蕊; 1-色谱峰1; 2-色谱峰2; 3-色谱峰3。

Fig. 2 SEC chromatograms of polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus*(receiving dRI signal)

A-petal; B-sepal; C-pistil; D-stamen; 1-chromatographic peak 1; 2-chromatographic peak 2; 3-chromatographic peak 3.

粗多糖对 ABTS 自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基均有较好的清除作用,清除作用随着浓度的增加而增强,结果见图4~6,这表明霸王花不同部位粗多糖的抗氧化活性与质量浓度存在一定的量效关系。在不同的抗氧化模型试验中,霸王

表 4 霸王花不同部位多糖分子质量及其分布

Tab. 4 Molecular weights and their distribution of polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus*

样品	色谱峰 1		色谱峰 2		色谱峰 3		平均重均分子质量/ 10^6 D
	分子质量/ 10^6 D	相对含量/%	分子质量/ 10^6 D	相对含量/%	分子质量/ 10^6 D	相对含量/%	
花瓣	8.327 ± 0.152	17.3	8.740 ± 0.178	48.8	2.473 ± 0.145	33.9	1.996 ± 0.031
花萼	13.080 ± 0.540	19.4	9.374 ± 0.470	41.0	2.042 ± 0.129	39.6	2.807 ± 0.121
雌蕊	8.908 ± 0.153	17.2	8.480 ± 0.203	50.1	1.986 ± 0.128	32.7	2.022 ± 0.041
雄蕊	9.409 ± 0.133	10.2	6.697 ± 0.127	50.8	1.063 ± 0.075	39.0	1.358 ± 0.023

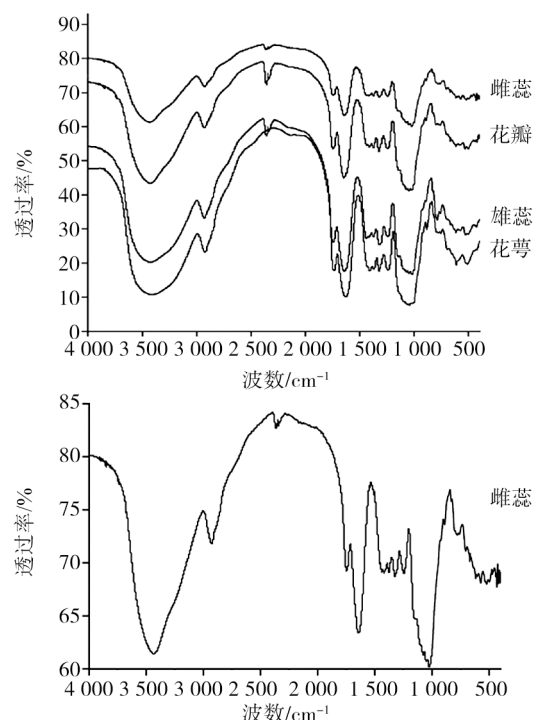


图 3 霸王花不同部位粗多糖的红外光谱图

Fig. 3 Infrared spectrum of polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus*

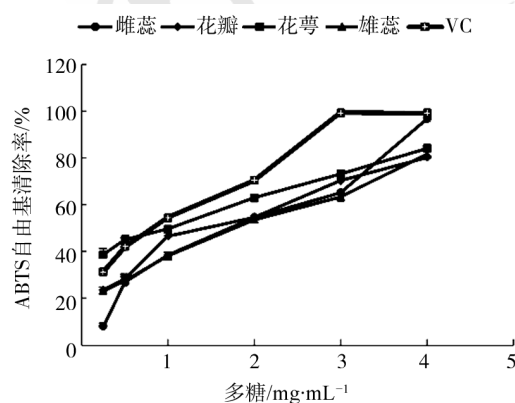


图 4 霸王花不同部位多糖对 ABTS 自由基的清除作用

Fig. 4 ABTS radical scavenging activity of polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus*

花不同部位粗多糖对不同自由基的清除能力大小顺序并不一致。花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊粗多糖对 ABTS^+ 清除作用的 IC_{50} 值分别为 (1.01 ± 0.03) ,

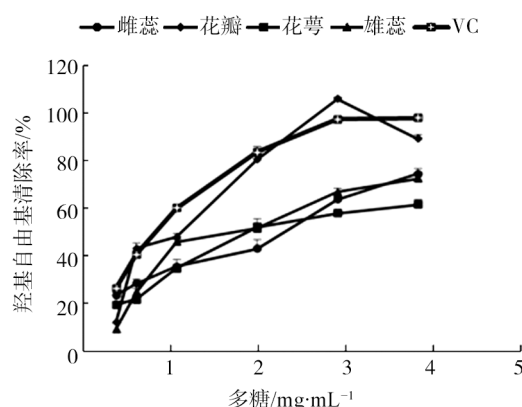


图 5 霸王花不同部位多糖对羟基自由基的清除作用

Fig. 5 Hydroxyl radical scavenging activity of polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus*

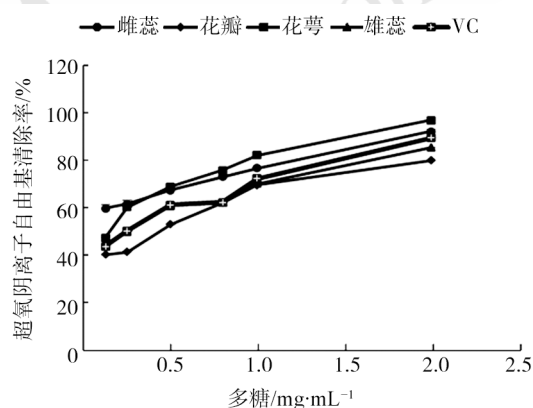


图 6 霸王花不同部位多糖对超氧阴离子自由基的清除作用

Fig. 6 Superoxide anion radical scavenging activity of polysaccharides from different parts of flower of *Hylocereus undatus*

(1.71 ± 0.03) , (1.91 ± 0.03) 和 $(1.81 \pm 0.12) \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对羟基自由基清除作用的 IC_{50} 值分别为 (2.56 ± 0.13) , (1.10 ± 0.03) , (2.12 ± 0.13) 和 $(2.18 \pm 0.10) \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对超氧阴离子自由基清除作用的 IC_{50} 值分别为 (0.08 ± 0.01) , (0.52 ± 0.02) , (0.33 ± 0.04) 和 $(0.03 \pm 0.01) \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。通过比较霸王花不同部位粗多糖的体外抗氧化活性,发现花萼多糖清除 ABTS 自由基的 IC_{50} 值最小,在质量浓度 $<3 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,雌蕊多糖清除 ABTS 自由基能力最低,而在质量浓

度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 雌蕊多糖清除 ABTS 自由基能力最高, 可能是因为雌蕊多糖中的活性物质需要达到一定的浓度才能表现出较强的活性。此外, 花瓣多糖清除羟基自由基的 IC_{50} 值最小, 雌蕊多糖清除超氧阴离子自由基的 IC_{50} 值最小。由结果可知, 霸王花多糖清除 ABTS 自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基的作用与其多糖含量、单糖组成、分子量及其分布没有明显的相关性。在上述不同的抗氧化模型试验中, 霸王花不同部位粗多糖对不同自由基的清除能力大小顺序并不一致。这可能与不同的抗氧化模型的反应原理不同有关, 此外, 这还可能与多糖的糖苷键类型、三螺旋结构等复杂的结构有关, 其确切原因尚待进一步研究。

4 讨论

霸王花不同部位多糖的结构组成具有较大的相似性, 均是由 D-甘露糖、L-鼠李糖、D-葡萄糖醛酸、D-半乳糖醛酸、葡萄糖、D-半乳糖、D-木糖、D-阿拉伯糖组成的杂多糖, 平均重均分子质量 $>10^6 \text{ D}$, 红外光谱显示具有相同的官能团。本研究结果有利于表征霸王花多糖的化学特征, 可为霸王花多糖的质量控制提供科学依据。

近年来, 随着国内外对中药多糖抗氧化研究的不断深入, 中药多糖在食品、药品和化妆品等领域的应用日益增多。霸王花是一种药食两用的原料, 其多糖可作为天然营养因子添加应用于各种食品中, 也可开发成为功能性食品。因此, 霸王花具有广阔的开发应用前景。本研究中, 霸王花不同部位粗多糖对 ABTS 自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基具有较好的清除能力, 后期可对霸王花粗多糖的体内抗氧化活性及其作用机制进行深入研究, 并探究其构效关系, 为霸王花多糖的进一步开发利用奠定基础。

REFERENCES

- [1] YI Y, WU X, WANG Y, et al. Studies on the flavonoids from the flowers of *Hylocereus undatus*[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2011, 34(5): 712-716.
- [2] LI G S, YAO Q G, ZHANG W M. Study on the antioxidative activity of flavonoids from pitaya flower[J]. Northern Horticulture(北方园艺), 2016(2): 121-125.
- [3] 赵日坚. 剑花生产和加工新技术[J]. 广东农业科学, 2009, 36(6): 212-214.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 精选本(上、下册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [5] YI Y, ZHANG Q W, LI S L, et al. Simultaneous quantification of major flavonoids in "Bawanghua", the edible flower of *Hylocereus undatus* using pressurised liquid extraction and

- high performance liquid chromatography[J]. Food Chem, 2012, 135(2): 528-533.
- [6] HUANG C P. The chemical constituents of the extracts of chloroform and ethyl acetate from the flower of pitaya and fragmentation pathways of some compounds of flavonoid, triterpenoid and lignan by electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry[D]. Guilin: Guangxi Normal University, 2010.
- [7] 刘玉娜, 李熙灿. 比色法测定剑花总皂苷含量的研究[J]. 科技创新导报, 2010, 7(11): 5-6.
- [8] HE M X, MENG F C, WANG C M, et al. Isolation, Purification and structural characterization of a water-soluble polysaccharide from the flower of *Hylocereus undatus*(Haw.) Britton & Rose[J]. Food Sci(食品科学), 2017, 38(18): 106-112.
- [9] HU W R, SUN R, LI S L, et al. Optimal extraction and hydroxyl radical scavenging activity of water-soluble polysaccharides from pitaya flowers (*Hylocereus undatus* (Haw.) Urtil. et. Rose)[J]. Food Sci(食品科学), 2013, 14(34): 104-107.
- [10] ZHANG Y J, LIAO R Q, ZHENG Y Y, et al. Optimization of extraction technology on antioxidants *in vitro* from pitaya flower and evaluation of anti-inflammatory activities[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2018, 39(18): 137-142.
- [11] IE G F, ZHANG J, WANG Y B, et al. Antibacterial and antioxidant activity of different extracts from flowers of *Hylocereus undatus*[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2014, 7(5): 80-82.
- [12] LI S P, WU D T, ZHAO J. Saccharide mapping and its application in quality control of polysaccharides from Chinese medicines[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40(17): 3505-3513.
- [13] ZHANG Q, FENG F, YANG S L, et al. Studies on monosaccharide composition and antioxidant activity of crude polysaccharide from *Hylocereus undatus* (Haw.) Urtil. et. Rose of different regions[J]. J Shanghai Jiaotong Univ(Agric Sci)(上海交通大学学报: 农业科学版), 2019, 37(2): 83-89.
- [14] WANG Y, XIAN J, XI X, et al. Multi-fingerprint and quality control analysis of tea polysaccharides[J]. Carbohydr Polym, 2013, 92(1): 583-590.
- [15] SONG X P, TANG J. Extraction optimization, preliminary characterization and bioactivities *in vitro* of *Ligularia hodgsonii* polysaccharides[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(5): 788. Doi: 10.3390/ijms17050788.
- [16] WU D T, JU Y J, LU J F, et al. Characterization and comparison of polysaccharides from *Dictyophora indusiata* using saccharide mapping[J]. Food Sci(食品科学), 2014, 35(13): 98-102.
- [17] CHEN L P, WANG X M, LI M X, et al. Antioxidant activity of the different extracts isolated from *Gardenia jasminoides*[J]. West China J Pharma Sci(华西药科学杂志), 2018(2): 179-182.
- [18] CHEN J, DONG Y, LU J K, et al. Study on *in vitro* antioxidant activities of crude polysaccharides of three *Ganoderma lucidum* from different origins[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2016(21): 100-104.
- [19] ZHENG L J, WU Y B, WU J G, et al. Antioxidant activity of lotus(*Nelumbo nucifera* Gaertn.) receptacles of eleven cultivars grown in China[J]. J Med Plants Res, 2012, 6(10): 1902-1911.

收稿日期: 2020-02-23
(本文责编: 李艳芳)