

金花茶多糖分离纯化、结构表征及其体外抗氧化性

Isolation, purification, structural characterization of polysaccharide from *Camellia Nitidissima* Chi and its antioxidant activities in vitro

龚雯¹ 唐婕¹ 韦雅渊¹ 宁恩创¹ 韦璐²

GONG Wen¹ TANG Jie¹ WEI Ya-yuan¹ NING En-chuang¹ WEI Lu²

(1. 广西大学轻工与食品工程学院, 广西 南宁 530004; 2. 广西农业职业技术学院, 广西 南宁 530007)

(1. College of Light Industry and Food Technology, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China;

2. Guangxi Agricultural Vocational College, Nanning, Guangxi 530007, China)

摘要:采用水提醇沉法提取金花茶叶多糖,并采用 DEAE-纤维素阴离子交换法对其进行分级纯化,获得 TPS1、TPS2、TPS3 3 个级分;通过凝胶色谱法、PMP 柱前衍生高效液相色谱法、傅里叶红外光谱法对 TPS1、TPS2、TPS3 的分子量、单糖构成及微观结构进行分析,并研究其体外抗氧化性。结果表明:TPS1 主要由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖构成,而且是由两种不同分子量(1.55×10^5 , 1.05×10^4 Da)多糖组成的杂多糖;TPS2 与 TPS3 主要由鼠李糖、半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖构成,而且二者为单一组分的均一多糖,平均分子量分别为 4.21×10^5 , 6.67×10^5 Da;傅立叶红外光谱分析表明,3 种金花茶多糖级分的异头碳连接方式均为 β -构型;各级分金花茶多糖均具有一定的自由基清除作用,且存在量效关系,其中糖醛酸含量最高的酸性多糖 TPS3 体外抗氧化活性最佳,说明金花茶多糖的抗氧化活性与其结构组成相关。综上,金花茶多糖具有潜在的抗氧化活性。

关键词:金花茶;多糖;分离纯化;结构表征;抗氧化活性

Abstract: The polysaccharide of *Camellia Nitidissima* Chi was extracted by water extraction and alcohol precipitation, and the polysaccharide was purified by DEAE cellulose anion exchange classification to obtain TPS1, TPS2 and TPS3; The molecular weight, monosaccharide composition and microstructure of TPS1, TPS2 and TPS3 were analyzed by gel permeation chromatography, pre-column PMP derivatization and HPLC and fourier transform infrared spectrometer (FTIR), and the antioxidant activity of TPS1, TPS2 and TPS3 were studied *in vitro*. The results were described as followed. TPS1 was mainly composed of

glucose, galactose and arabinose, and was a heteropolysaccharide composed of two polysaccharides with different molecular weights (1.55×10^5 , 1.05×10^4 Da). TPS2 and TPS3 were mainly composed of rhamnose, galacturonic acid, galactose and arabinose, and they were homogeneous polysaccharides with the average molecular weight of 4.21×10^5 Da and 6.67×10^5 Da, respectively. Fourier transform infrared spectrometer (FTIR) showed that the heterocarbon-connected modes of three polysaccharide fractions were β -configuration. In addition, the polysaccharides of different levels of *Camellia Nitidissima* Chi had certain free radical scavenging effects, and there was a dose-effect relationship. Among them, TPS3 with the highest content of uronic acid had the best antioxidant activity in vitro, indicating that the antioxidant activity of *Camellia Nitidissima* Chi polysaccharide was related to its structural and composition. In conclusion, the polysaccharide of *Camellia Nitidissima* Chi had potential antioxidant activity.

Keywords: *Camellia Nitidissima* Chi; polysaccharide; isolate and purification; structural characterization; antioxidant activity

金花茶(*Camellia Nitidissima* Chi)属山茶科山茶属,是国家一级保护植物,主要分布于中国广西壮族自治区^[1]。由于含有特殊的色泽基因 KNA,其花瓣呈金黄色半透明状,被人们誉为“茶族皇后”“植物界的大熊猫”^[2]。金花茶叶含有茶多糖、茶多酚、皂苷、黄酮等功能性成分,具有抗氧化^[3]、降血糖^[4]、降血脂^[5]、降血压^[6]、护肝^[7]等功能。

多糖(Polysaccharide)是一类对所有生物体都至关重要的生物大分子,在结构上由醛糖或酮糖通过糖苷键连接而成^[8]。金花茶多糖已被证实具有保肝^[7]、降血脂^[9]、抗氧化活性^[10]等功能,但有关金花茶多糖不同分级的抗氧化性比较与分析尚未见报道。研究拟采用水提醇沉的

基金项目:防城港市重点研发计划(编号:防科 AB18009005)

作者简介:龚雯,女,广西大学在读硕士研究生。

通信作者:宁恩创(1970—),男,广西大学副教授,硕士。

E-mail: 79586231@qq.com

收稿日期:2020-12-21

方法提取金花茶粗多糖,通过 DEAE-阴离子交换法对金花茶多糖进行分级纯化,采用凝胶渗透色谱法(GPC)分析分子量,PMP 柱前衍生高效液相色谱法分析单糖构成,傅里叶红外光谱法分析官能团,并对各多糖级分进行体外抗氧化活性分析,旨在为金花茶天然抗氧化剂的开发利用及金花茶高附加值产品的研发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金花茶叶干制品:广西桂人堂金花茶产业集团股份有限公司;

无水乙醇:分析纯,成都市科隆化学有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS):分析纯,上海麦克林生化试剂有限公司;

双氧水、过硫酸钾、抗坏血酸、邻苯三酚、Tris-HCl:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

DEAE-52 纤维素:上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

电热恒温鼓风干燥箱:DZF6021 型,上海精宏实验设备有限公司;

旋转蒸发仪:EYELA N-3000 型,上海亚荣生化仪器厂;

电子天平:TLE204E 型,梅特勒—托利多仪器上海有限公司;

数控超声波清洗机:JAC-300N 型,山东省济宁市奥波超声电气有限公司;

紫外可见分光光度计:HP-845 型,上海仪电分析仪器有限公司;

光栅型多功能微孔板检测仪(酶标仪):InfinitM200PRO 型,奥地利 TECAN 公司;

高效液相色谱仪:Waters2969 型,安捷伦科技有限公司;

示差折光检测器:2414 型,美国 Waters Corporation 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 金花茶粗多糖提取 参照刘茜等^[11]的方法并稍作修改。

金花茶叶干制品→剪切碾碎→热水浸提[料液比($m_{\text{金花茶叶}}:V_{\text{蒸馏水}}$)1:55(g/mL),时间 2.5 h,温度 92℃]→旋蒸浓缩(浓缩比 10:1)→醇沉(4 倍体积乙醇)→离心→复溶→Savage 法脱蛋白→聚酰胺树脂吸附脱色→离心过滤→透析→冷冻干燥→粗多糖

1.3.2 金花茶多糖分离、纯化 参照田晓春^[12]的方法并稍作修改。配制 15 mg/mL 的金花茶粗多糖溶液 10 mL,离心,取上清液缓慢加入 2.6 cm×60 cm 的 DEAE-52 纤

维素层析柱中,按流速 15 mL/h,20 min/管,以去离子水、0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 mol/L 的 NaCl 溶液依次进行梯度洗脱。以管数为横坐标,吸光度为纵坐标绘制洗脱曲线,收集浓缩同一峰洗脱液,透析并冻干,获得多糖组分,按式(1)计算多糖回收率。

$$C = \frac{m}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——回收率,%;

m ——回收样品质量,mg;

M ——上样量,mg。

1.3.3 多糖组分离化指标测定

(1) 总糖含量:采用苯酚硫酸法^[13]。

(2) 糖醛酸含量:采用咔唑硫酸法^[14]。

(3) 蛋白质含量:采用考马斯亮蓝法^[15]。

(4) 多酚含量:采用福林酚法^[16]。

(5) 还原糖含量:采用 DNS 法^[17]。

1.3.4 金花茶多糖分子量分析 参照邵淑宏^[18]的凝胶渗透色谱法(GPC)并稍作修改。超纯水配置 1 mg/mL 多糖溶液,过 0.22 μm 滤膜后待测。色谱条件:色谱柱为 TSKgel-G400PWXL,RID-10A 示差检测器,柱温为常温,流动相为超纯水,流速 0.5 mL/min。

1.3.5 金花茶多糖单糖组成测定 参照黄小兰等^[19]的 PMP 柱前衍生高效液相色谱法并稍作修改。

(1) 多糖水解:取金花茶多糖约 10 mg,加入 2 mol/L 的硫酸溶液 2 mL,105℃水浴 6 h,加入 4 mol/L 的氢氧化钠溶液 2 mL,备用。

(2) 衍生化:取单糖标准品溶液、金花茶多糖水解储备液、单糖混合物标准液各 400 μL,加入 0.5 mol/L 的 PMP 甲醇溶液 200 μL,0.3 mol/L 的 NaOH 溶液 200 μL,混匀。70℃水浴 100 min,冷却至室温,添加 0.3 mol/L 的盐酸 200 μL 中和溶液。添加氯仿 1 mL,涡旋混匀 30 s,静置,弃下层。反复萃取 3 次,取水层溶液过 0.22 μm 滤膜,待 HPLC 进样分析。

(3) 色谱条件:色谱柱为 VenusilMP-C₁₈,2.1 mm×30 mm,5 μm,采用 Agilent 1200 色谱系统,测定波长 250 nm,柱温 30℃,流量 1 mL/min,流动相为 0.05 mol/L 的磷酸盐缓冲液—乙腈($V_{\text{磷酸盐缓冲液}}:V_{\text{乙腈}}$ 为 83:17),样本数量 15 μL,持续时间 80 min。

1.3.6 傅里叶红外光谱 称取干燥样品 1 mg,加入约 100 mg KBr 研磨并封闭样品颗粒,制成透明压片,于 400~4 000 cm⁻¹内进行光谱扫描。

1.3.7 金花茶多糖的抗氧化性

(1) O₂⁻清除能力:参照文献^[20]。按式(2)计算 O₂⁻清除率。

$$C_1 = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

C_1 —— O_2^- ·清除率,%;

A_0 ——邻苯三酚自氧化速率;

A_x ——加入金花茶多糖后邻苯三酚自氧化速率。

(2) $ABTS^+$ ·清除能力:参照文献[21]。按式(3)计算 $ABTS^+$ ·清除率。

$$C_2 = \frac{A_s}{A_0} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

C_2 —— $ABTS^+$ ·清除率,%;

A_s ——样品组吸光值;

A_0 ——空白组吸光值。

(3) $DPPH$ ·清除能力:参照文献[21]。按式(4)计算 $DPPH$ ·清除率。

$$C_3 = \left(1 - \frac{A_s - A_b}{A_c}\right) \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

C_3 —— $DPPH$ ·清除率,%;

A_s ——样品液组吸光值;

A_b ——样品对照组吸光值;

A_c ——空白组吸光值。

(4)·OH清除能力:参照文献[21]。按式(5)计算·OH清除率。

$$C_4 = \left(1 - \frac{A_s - A_b}{A_c}\right) \times 100\%, \quad (5)$$

式中:

C_4 —— $DPPH$ ·的清除率,%;

A_s ——添加样品溶液和水杨酸钠溶液组的吸光值;

A_b ——不添加水杨酸钠溶液,而用 0.3 mL 去离子水取代组的吸光值;

A_c ——用去离子水代替样品溶液组的吸光值。

1.4 数据处理

各试验均重复 3 次,采用 SPSS 19.0 和 Origin 10.0 软件对试验数据进行分析 and 作图,并计算半数抑制浓度 IC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 金花茶多糖的分离纯化

以 DEAE-52 纤维素对金花茶粗多糖进行分离,得到

洗脱曲线如图 1 所示。将洗脱液中含量较多的多糖分别收集、浓缩、透析、冻干后得到 3 个多糖级分,分别为去离子水洗脱的 TPS1、0.2 mol/L NaCl 溶液洗脱的 TPS2、0.3 mol/L NaCl 溶液洗脱的 TPS3,测定其理化指标和回收率见表 1。由表 1 可知,各多糖级分的中性糖和酸性糖含量存在差异:TPS1 中中性糖成分较多,TPS2 和 TPS3 中糖醛酸含量较高,且糖醛酸含量 $TPS3 > TPS2$ 。这可能是因为洗脱液盐浓度越高,得到的多糖酸性强度越强,糖链上含有的酸性基团如硫酸基、羧基也越多^[22-23]。

2.2 金花茶多糖的平均分子量

采用凝胶渗透色谱(GPC)测定 TPS1、TPS2、TPS3 的纯度及分子量,用葡聚糖标准品建立的校正曲线方程为: $\lg M_w = -0.008 7t^3 + 0.366 3t^2 - 5.304 6t + 31.37, R^2 = 0.999 6$ 。由图 2 可知,TPS1 是由两个不同分子量($1.55 \times 10^5, 1.05 \times 10^4$ Da)的组分构成的混合多糖,TPS2 和 TPS3 为均一组分,分子量分别为 $4.21 \times 10^5, 6.67 \times 10^5$ Da。

2.3 金花茶多糖的单糖构成

采用 PMP 柱前衍生高效液相色谱法测得 TPS1、TPS2 和 TPS3 的单糖构成如表 2 所示,图 3 为 8 种单糖标准品混合的 PMP 衍生物及 3 种金花茶多糖的 HPLC 图谱。由表 2、图 3 可知,3 种金花茶多糖级分的单糖种类及比例存在差异:TPS1 主要由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖构成,且未检出葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸成分;TPS2 与 TPS3 主要由鼠李糖、半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖构成,TPS3 中半乳糖醛酸摩尔百分比高于 TPS2。

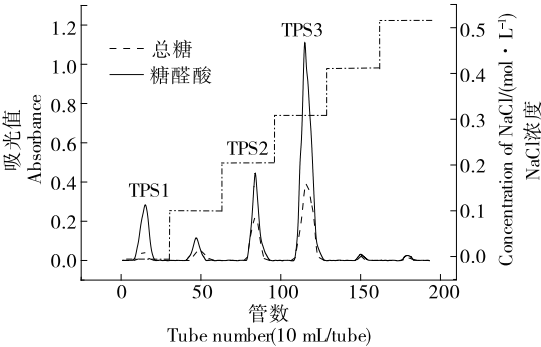


图 1 金花茶粗多糖的洗脱曲线

Figure 1 Elution curves of polysaccharides from *Camellia Nitidissima* Chi

表 1 TPS1、TPS2、TPS3 的化学组成及回收率[†]

Table 1 Primary components and recovery of TPS1, TPS2 and TPS3 %

级分	总糖	糖醛酸	蛋白质	多酚	还原糖	回收率
TPS1	83.26±1.87 ^a	3.36±0.02 ^a	1.46±0.13 ^a	1.47±0.22 ^a	1.91±0.03 ^a	5.85±0.16 ^a
TPS2	72.82±1.96 ^b	24.12±0.45 ^b	0.97±0.08 ^b	0.52±0.04 ^b	1.43±0.20 ^b	29.03±0.98 ^b
TPS3	65.29±1.42 ^c	33.17±0.63 ^c	1.82±0.48 ^b	0.96±0.15 ^c	0.63±0.08 ^c	34.67±1.05 ^c

[†] 同列字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

2.4 金花茶多糖的傅里叶红外光谱

由图 4 可知,3 500~3 100 cm⁻¹处宽峰是—OH 的伸缩振动,存在着分子间和分子内的氢键;3 000 ~ 2 800 cm⁻¹ 处是糖类 C—H 伸缩振动,1 400 ~ 1 200 cm⁻¹ 处是糖类的 C—H 变角振动,由这两组特征

峰可初步判断 3 种化合物皆为糖类化合物^[24]; 1 600 cm⁻¹ 处是—COOH 的 C=O 吸收峰;880 ~ 920 cm⁻¹ 处有吸收峰,表明含有 β-D-葡萄糖吡喃糖环,3 种金花茶多糖级分的异头碳均为 β 构型^[25]。TPS2 和 TPS3 在 1 740 cm⁻¹ 处有吸收峰,表明有糖醛酸结构存在,推测

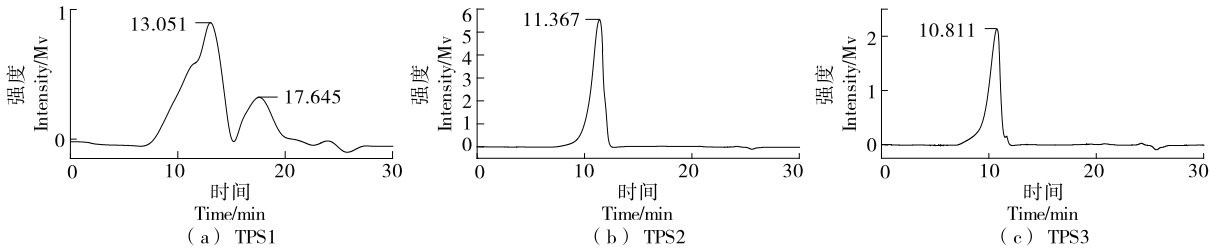


图 2 TPS1、TPS2 和 TPS3 的 GPC 分析图谱
Figure 2 GPC elution profile of TPS1, TPS2 and TPS3

表 2 TPS1、TPS2、TPS3 的单糖组成

Table 2 Monosaccharide composition of TPS1, TPS2 and TPS3 %

级分	甘露糖	核糖	鼠李糖	葡萄糖醛酸	半乳糖醛酸	葡萄糖	半乳糖	阿拉伯糖
TPS1	4.45	0.26	0.42	—	—	24.23	66.59	4.03
TPS2	0.61	—	19.07	0.91	19.18	3.57	25.21	31.30
TPS3	0.81	1.98	28.92	0.81	22.11	1.04	17.48	26.79

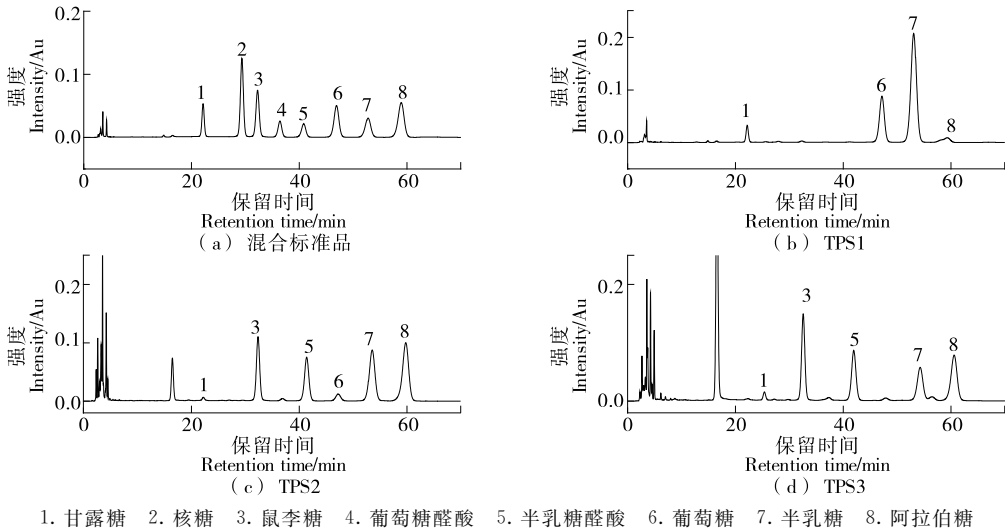


图 3 8 种单糖 PMP 衍生物及 TPS1、TPS2 和 TPS3 的 HPLC 图谱

Figure 3 Chromatograms of PMP derivatives of eight kinds of monosaccharides TPS1, TPS2 and TPS3 by HPLC

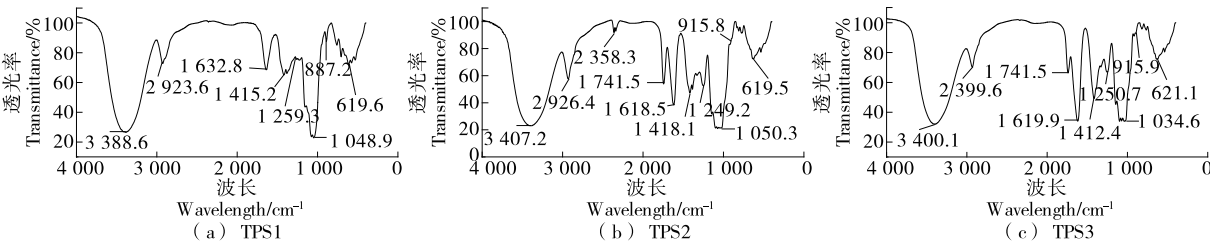


图 4 TPS1、TPS2 和 TPS3 的红外光谱图

Figure 4 FT-IR spectrum of TPS1, TPS2 and TPS3

TPS2 和 TPS3 为酸性多糖;TPS1 在 $1\ 740\ \text{cm}^{-1}$ 处无吸收峰,推测其为中性多糖^[26]。

2.5 金花茶多糖的抗氧化性

2.5.1 O_2^- 清除能力 由图 5 可知,金花茶多糖 TPS1、TPS2 和 TPS3 具有一定的 O_2^- 清除能力,且呈量效关系。当多糖质量浓度为 $1\ \text{mg/mL}$ 时,TPS1、TPS2、TPS3 和维生素 C 对 O_2^- 的清除率分别为 11.58%,40.10%,50.11%,99.91%,对 O_2^- 清除能力的 IC_{50} 值依次为 TPS1(39.274 mg/mL) > TPS2(1.819 mg/mL) > TPS3(1.347 mg/mL) > 维生素 C(0.048 mg/mL), IC_{50} 值越小,自由基清除能力越强。赵琪等^[27]研究发现,3 mg/mL 的河蚬多糖 CFP-1 对 O_2^- 的清除率仅为 16.19%;易军鹏等^[28]研究发现,1 mg/mL 的牛膝多糖对 O_2^- 清除率仅为 40.0%。综上,金花茶多糖级分 TPS3 较其他多糖级分具有较好的 O_2^- 清除能力。

2.5.2 ABTS^+ 清除能力 由图 6 可知,TPS1、TPS2 和 TPS3 对 ABTS^+ 具有一定的清除能力,且呈剂量依赖关系。当多糖质量浓度为 $1\ \text{mg/mL}$ 时,TPS1、TPS2、TPS3 和维生素 C 对 ABTS^+ 的清除率分别为 42.31%,62.27%,69.96%,94.79%,对 ABTS^+ 清除能力的 IC_{50} 值依次为 TPS1(1.742 mg/mL) > TPS2(0.749 mg/mL) > TPS3(0.534 mg/mL) > 维生素 C(0.018 mg/mL)。叶润

等^[29]研究发现,油菜叶多糖对 ABTS^+ 清除能力的 IC_{50} 值为 1.63 mg/mL;岳嵘等^[30]研究发现,铆钉菇多糖对 ABTS^+ 清除能力的 IC_{50} 值为 10.28 mg/mL。综上,金花茶多糖具有一定的 ABTS^+ 清除能力,其中 TPS3 的最佳。

2.5.3 DPPH 清除能力 由图 7 可知,TPS1、TPS2 和 TPS3 对 DPPH 具有较好的清除能力,且呈明显的剂量依赖关系。当多糖质量浓度为 $1\ \text{mg/mL}$ 时,TPS1、TPS2、TPS3 和维生素 C 对 DPPH 清除率分别为 44.30%,65.10%,71.95%,99.90%,对 DPPH 清除能力的 IC_{50} 值依次为 TPS1(1.748 mg/mL) > TPS2(0.725 mg/mL) > TPS3(0.557 mg/mL) > 维生素 C(0.006 mg/mL)。陈浩^[31]研究表明普洱茶多糖对 DPPH 清除能力的 IC_{50} 值为 1.45 mg/mL;张阳等^[32]研究发现,南酸枣多糖对 DPPH 清除能力的 IC_{50} 值为 3.08 mg/mL。综上,金花茶多糖具有较好的 DPPH 清除能力,其中 TPS3 的最佳。

2.5.4 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力 由图 8 可知,TPS1、TPS2 和 TPS3 具有较好的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力,且呈明显的量效关系。当多糖质量浓度为 $1\ \text{mg/mL}$ 时,TPS1、TPS2、TPS3 和维生素 C 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率分别为 56.15%,77.28%,84.56%,89.40%,对 $\cdot\text{OH}$ 清除能力的 IC_{50} 值依次为 TPS1

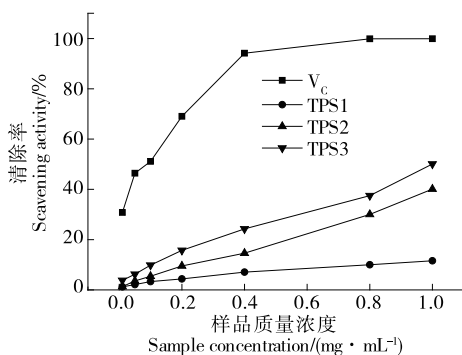


图 5 样品对 O_2^- 的清除率

Figure 5 Scavenging rate of O_2^- of sample

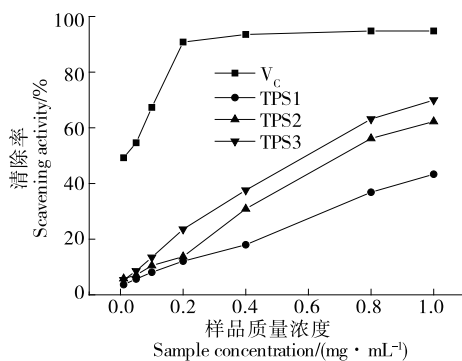


图 6 样品对 ABTS^+ 的清除率

Figure 6 Scavenging rate of ABTS^+ of sample

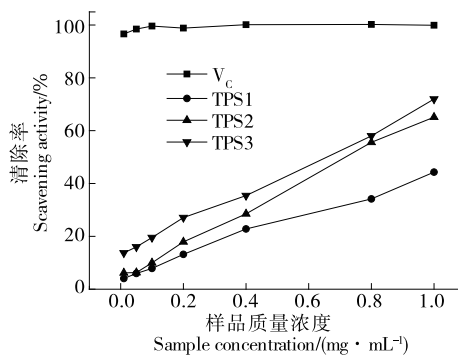


图 7 样品对 DPPH 的清除率

Figure 7 Scavenging rate of DPPH of sample

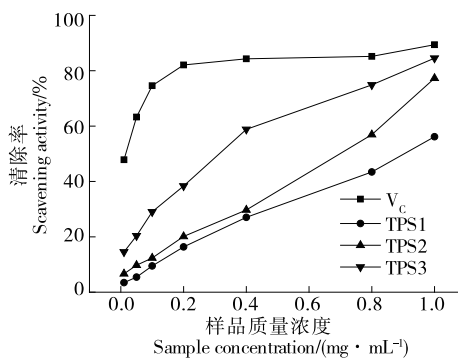


图 8 样品对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率

Figure 8 Scavenging rate of $\cdot\text{OH}$ of sample

(0.989 mg/mL) > TPS2 (0.583 mg/mL) > TPS3 (0.233 mg/mL) > 维生素 C (0.012 mg/mL)。石玉涛^[33]研究发现, $\cdot\text{OH}$ 清除率最高的茶多糖其 IC_{50} 值为 1.14 mg/mL;熊磊等^[34]研究发现黄金茶多糖对 $\cdot\text{OH}$ 清除能力的 IC_{50} 值为 1.713 mg/mL。综上,金花茶多糖具有较强的 $\cdot\text{OH}$ 清除作用,且 TPS3 较 TPS2 和 TPS1 具有更强的清除能力。

TPS1、TPS2 和 TPS3 均具有一定的抗氧化性,但较阳性对照维生素 C 组存在一定差距,而这种差距来源于维生素 C 和多糖提供氢质体及接收电子程度的难易程度^[35]。3 种金花茶多糖级分 TPS1、TPS2 和 TPS3 的抗氧化性各不相同,抗氧化性 $\text{TPS1} < \text{TPS2} < \text{TPS3}$,且一定质量浓度的 TPS3 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率与阳性对照组维生素 C 相近。从结构上看,3 种金花茶多糖级分皆属于 β -吡喃糖构型,而大多具有抗氧化性的多糖均具有 β -吡喃糖构型,且 β -构型比 α -构型具有更强的抗氧化活性^[36]。从组成上看,TPS1 属中性多糖,TPS2 和 TPS3 属酸性多糖,酸性多糖中存在酮或者醛等亲电基团,因此更有利于 O—H 键中氢质体的释放,从而消除自由基^[37]。此外,TPS3 的糖醛酸含量最高,分子结构中存在的吸电子基团如羧基、羟基的含量也越多,能够提供更多的氢质体来中和自由基^[38]。这可能是 TPS3 抗氧化性高于其他两种多糖级分的主要原因。

3 结论

通过阴离子交换柱层析对金花茶多糖进行分级纯化,得到 3 个主要级分 TPS1、TPS2 和 TPS3,通过凝胶渗透色谱、PMP 柱前衍生高效液相色谱、傅里叶红外光谱分析其分子量、单糖构成、微观结构,并研究其体外抗氧化性。结果表明,不同金花茶多糖级分的结构、分子量及单糖组成不同,且抗氧化活性也存在差异。3 种金花茶多糖级分中,TPS3 的平均分子量最高,为 6.67×10^5 Da,TPS2 次之,TPS1 最低;TPS3 主要由鼠李糖、半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖构成,其糖醛酸含量也最高,TPS2 次之,TPS1 最低。同时,金花茶多糖级分 TPS3 的抗氧化性最佳,其对 O_2^- 、 ABTS^+ 、 $\text{DPPH}^\cdot$ 和 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用皆优于其他金花茶多糖级分,且一定质量浓度的 TPS3 的 $\cdot\text{OH}$ 清除率与维生素 C 相近,表明金花茶多糖的抗氧化性与多糖结构和组成相关。关于金花茶不同多糖的结构与组成的差异及其对抗氧化活性的影响仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 苏宗明,莫新礼.我国金花茶组植物的地理分布[J].广西植物,1988(1): 75-81.
- [2] 陈莉萍,解兵斌,唐绍清.基于 SSR 标记的平果金花茶的遗传多样性和遗传结构分析[J].分子植物育种,2020,18(10): 3 288-3 293.
- [3] 温静,梁伟,王欣晨,等.金花茶化学成分及抗炎抗氧化活性研究[J].中国药物化学杂志,2020,30(8): 487-492.
- [4] 尹日凤,李宇清,王亚军,等.金花茶叶提取物对糖尿病小鼠肝脏糖代谢的调节作用[J].中药材,2017,40(12): 2 956-2 959.
- [5] 何进勇,邝新红,李征征,等.三种金花茶提取物降脂作用实验研究[J].现代生物医学进展,2018,18(4): 644-647.
- [6] 李航,李弘扬,李瑶,等.金花茶提取物对高血压模型大鼠血压和心率的影响[J].亚太传统医药,2017,13(20): 8-11.
- [7] 黄思茂,曹后康,高雅,等.金花茶多糖对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用及其机制的研究[J].中药药理与临床,2016,32(6): 117-120.
- [8] ULLAH S, KHALIL A A, SHAUKAT F, et al. Sources, extraction and biomedical properties of polysaccharides [J]. Foods, 2019, 8(8): 304.
- [9] 路焱.金花茶多糖降血脂机理初探及其亲和层析分离技术的研究[D].湛江:广东海洋大学,2014: 24.
- [10] 牛广俊,朱思,陈清英,等.金花茶不同部位多糖的测定及体外抗氧化活性[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(20): 168-172.
- [11] 刘茜,许子竞,胡旭飞.响应面微波辅助提取金花茶多糖工艺研究[J].湖南师范大学自然科学学报,2016,39(3): 40-45.
- [12] 田晓春.金花茶多糖的分离纯化及化学结构的研究[D].湛江:广东海洋大学,2011: 31.
- [13] 温文娟,刘珊,黄远丽.苯酚硫酸法与蒽酮硫酸法测定香菇多糖含量比较[J].现代食品,2020(21): 177-179.
- [14] 任珍芸,陈晓航,王玺,等.硫酸-吡啶微孔板法检测肺炎链球菌荚膜多糖中糖醛酸含量[J].微生物学免疫学进展,2017,45(2): 36-41.
- [15] 王艾平,周丽明.考马斯亮蓝法测定茶籽多糖中蛋白质含量条件的优化[J].河南农业科学,2014,43(3): 150-153.
- [16] 林倩,吴昊,刘芊辰,等.响应面法优化福林酚法测定冬枣中总酚含量[J].食品工业,2020,41(4): 86-90.
- [17] 宋迪荣,何海艳,周玉,等.2,4-二硝基酚分光光度法测定山楂片中还原糖的研究[J].食品工业,2015,36(9): 274-277.
- [18] 邵淑宏.乌龙茶多糖理化性质及抗氧化、降血糖活性研究[D].杭州:浙江大学,2015: 60.
- [19] 黄小兰,何旭峰,杨勤,等.PMP 柱前衍生化 HPLC 法测定地参多糖的单糖组成[J].食品与发酵工业,2020,46(7): 250-256.
- [20] 徐雪峰,李桂娟,闫浩,等.赤灵芝多糖分离纯化及体外抗氧化性研究[J].食品与机械,2017,33(1): 144-148.
- [21] 余腾飞,唐年初,刘诚毅.忧遁草多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].食品与机械,2020,36(2): 171-175.
- [22] GUO Mi-mi, TANG Hao-guo, YAO Hong-juan, et al. Study on the isolation of polysaccharide from purple sweet potato by deacetylulose 52[J]. Advanced Materials Research, 2013, 690/691/692/693: 1 286-1 291.
- [23] LEE J S, SYNYSYA A, KIM H B, et al. Purification, character-

- ization and immunomodulating activity of a pectic polysaccharide isolated from Korean mulberry fruit Oddi (*Morus alba* L.)[J]. *International Immunopharmacology*, 2013, 17(3): 858-866.
- [24] DU Hong-tao, CHEN Jun-cheng, TIAN Shan, et al. Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activities in vitro of polysaccharides from *Elaeagnus angustifolia* L. pulp[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 151(1): 348-357.
- [25] ZHU Jiang-xiong, CHEN Zi-yan, CHEN Liang, et al. Comparison and structural characterization of polysaccharides from natural and artificial Se-enriched green tea[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 130: 388-398.
- [26] WANG Li-jun, YU Xiao-na, YANG Xiu-shi, et al. Structural and anti-inflammatory characterization of a novel neutral polysaccharide from North American ginseng (*Panax quinquefolius*) [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 74: 12-17.
- [27] 赵琪, 赵利, 杨玉雯, 等. 河蚬多糖分离纯化及抗氧化、抗肿瘤活性研究[J]. *食品与机械*, 2017, 33(4): 127-132.
- [28] 易军鹏, 王赛, 李欣, 等. 蒸汽爆破提取牛膝多糖工艺优化及抗氧化性研究[J]. *食品与机械*, 2018, 34(6): 145-151.
- [29] 叶润, 蔡静, 赵丽平, 等. 大孔树脂纯化油菜叶多糖的工艺及其抗氧化活性研究[J]. *粮食与油脂*, 2020, 33(9): 102-106.
- [30] 岳峥嵘, 赵博, 张国财, 等. 血红铆钉菇多糖超声微波联合提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(22): 165-171.
- [31] 陈浩. 普洱茶多糖降血糖及抗氧化作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013: 46.
- [32] 张阳, 王文君, 谭妙英, 等. 不同提取方法对南酸枣果胶多糖理化性质及抗氧化作用的影响[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(23): 21-26.
- [33] 石玉涛. 茶多糖抗氧化和降血糖作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010: 31-32.
- [34] 熊磊, 陈慧, 胡文兵, 等. 黄金茶多糖超声提取工艺及体外抗氧化研究[J]. *江西农业大学学报*, 2017, 39(4): 801-809.
- [35] 郭守东. 微生物胞外多糖的结构及其抗氧化活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 201.
- [36] 宋丽丽, 闻格, 霍姍浩, 等. 小黄姜多糖的分离纯化及其结构特征及抗氧化活性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(12): 73-79.
- [37] WANG Jun-qiao, HU Shu-zhen, NIE Shao-ping, et al. Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant activity of polysaccharides[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016: 1-13.
- [38] 何钊. 白蜡虫多糖分离纯化与抗氧化、免疫活性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014: 78-80.

(上接第 119 页)

- [8] 廖丹, 高宏力, 邱德军, 等. 球形机器人非线性 PID 控制器研究与设计[J]. *机械设计与制造*, 2020(3): 250-253.
- [9] 卢惠林. 基于模糊控制算法的机器人路径纠偏研究[J]. *无锡商业职业技术学院学报*, 2020, 20(6): 102-107.
- [10] 汪鹏, 李国丽, 刘方, 等. 基于模糊控制算法的四轮独立转向机器人循迹控制研究[J]. *制造业自动化*, 2020, 42(9): 70-74.
- [11] 张俊杰, 周惠兴, 王衍学, 等. 3D 打印的两轮自平衡机器人的模糊自适应控制策略[J]. *科学技术与工程*, 2020, 20(21): 637-642.
- [12] 尹奇辉, 李捷, 梁志鹏, 等. 基于模糊神经网络 PID 的机器人路径跟踪控制[J]. *中国农机化学报*, 2020, 41(5): 182-187.
- [13] 陈军章. 改进人工鱼群算法的机器人路径规划及跟踪[J]. *机械设计与制造*, 2019(4): 251-255.
- [14] 周仁芳, 刘晓峰, 蔡国平. 非时间参考下的移动机器人路径跟踪控制[J]. *控制工程*, 2020, 27(9): 1531-1537.
- [15] 朱欣华, 王健, 郭民环, 等. 基于位置约束的两轮驱动机器人路径跟踪控制方法[J]. *中国惯性技术学报*, 2018, 26(5): 680-685.
- [16] 白国星, 刘丽, 孟宇, 等. 基于非线性模型预测控制的移动机器人实时路径跟踪[J]. *农业机械学报*, 2020, 51(9): 47-52, 60.
- [17] XUE Jian-kai, SHEN Bo. A novel swarm intelligence optimization approach: Sparrow search algorithm[J]. *Systems Science & Control Engineering an Open Access Journal*, 2020, 8(1): 22-34.

(上接第 183 页)

- [16] 牛迎凤, 李晓花, 李海涛, 等. 大叶千斤拔活性成分分布及积累动态[J]. *中国医药导报*, 2016, 13(28): 17-20.
- [17] CENGIZ S A, JACQUELINE C A B, MEHMETS O C, et al. LC-MS/MS profiles and interrelationships between the enzyme inhibition activity, total phenolic content and antioxidant potential of *Micromeria nervosa* extracts[J]. *Food Chemistry*, 2020, 328: 126930.
- [18] KIM D H, YANG W T, CHOK M, et al. Comparative analysis of isoflavone aglycones using microwave-assisted acid hydrolysis from soybean organs at different growth times and screening for their digestive enzyme inhibition and antioxidant properties[J]. *Food Chemistry*, 2019, 305: 125462.
- [19] AMIROUCHE D A, NADJAT R B, ROSALES C C, et al. Bioactive polyphenols from *Ranunculus macrophyllus* Desf. Roots: Quantification, identification and antioxidant activity[J]. *South African Journal of Botany*, 2020, 132: 1-11.
- [20] SYFUL I A B, MD B A C, ARIF A A, et al. Identification of secondary metabolites in *Averrhoa carambola* L. bark by high-resolution mass spectrometry and evaluation for α -glucosidase, tyrosinase, elastase, and antioxidant potential[J]. *Food Chemistry*, 2020, 332: 127377.
- [21] SHRUTI S, ALKA J, BINDVI A, et al. Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts[J]. *European Food Research and Technology*, 2020, 246(3): 591-598.