

微波辅助提取刺梨多糖工艺优化及抗肿瘤活性研究

Optimization on microwave-assisted extraction of *Rosa Roxburghii* Tratt polysaccharide and its antitumor activity

唐健波^{1,2} 吕 都¹ 潘 牧¹ 彭 梅^{2,3} 杨 娟^{2,3}

TANG Jian-bo^{1,2} LU Du¹ PAN Mu¹ PENG Mei^{2,3} YANG Juan^{2,3}

(1. 贵州省农科院食品加工研究所, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550014; 3. 贵州医科大学药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014)

(1. Food Processing Institute of Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang, Guizhou 550014, China; 3. State Key Laboratory for Efficacy and Utilization of Medicinal Plants, Guiyang, Guizhou 550014, China)

摘要:目的:优化微波辅助提取刺梨多糖工艺,并对最优条件下提取的刺梨多糖进行抗肿瘤活性评价。方法:以刺梨多糖得率为考察指标,在单因素试验的基础上,采用响应面法优化提取工艺参数,并通过建立 S_{180} 实体瘤模型来进行抗肿瘤活性评价。结果:微波辅助提取刺梨多糖的最优工艺条件为微波功率 240 W,液料比 37 : 1 (mL/g),微波时间 24 min,微波提取次数 3 次,此条件下的刺梨多糖得率为 $(3.19 \pm 0.05)\%$ 。当灌胃剂量为 100 mg/kg 时,微波辅助提取刺梨多糖对 S_{180} 肿瘤小鼠的抑瘤率为 $(52.13 \pm 1.84)\%$,比起声辅助提取刺梨多糖的抗肿瘤活性更强,并能显著提高肿瘤小鼠的白细胞数量、胸腺指数和脾脏指数。结论:在最优工艺条件下,微波辅助提取的刺梨多糖具有一定的提升肿瘤小鼠免疫能力和抗肿瘤作用,并具有成为功能性食品添加剂的潜力。

关键词:刺梨;多糖;微波辅助提取;抗肿瘤;免疫能力

Abstract: Objective: To optimize the microwave-assisted extraction process of *Rosa roxbunghii* Tratt polysaccharide (RRTP) from the *Rosa roxbunghii* Tratt (RRT) dried fruit and evaluate the antitumor activities of RRTP extracted by the optimum processing conditions. Methods: Taking the yield of poly-

saccharides as the index, and based on the single factor test, the extraction process parameters were optimized by the response surface experiment to establish the model of S_{180} solid tumor to study the antitumor activities of RRTP. Results: The optimum extraction conditions for RRTP were as follows: microwave power 240 W, liquid to solid 37 : 1 (mL/g), microwave time 24 min, 3 times of microwave extraction. The yield of RRTP was $(3.19 \pm 0.05)\%$ on average under the optimum processing conditions. Besides, antitumor activity analysis showed that RRTP had obvious antitumor activity and could significantly increase leukocyte count, thymus index and spleen index in S_{180} solid tumor mice. It was indicated that RRTP had a tumor inhibitory rate of $(52.13 \pm 1.84)\%$ in S_{180} solid tumor mice, which was stronger than ultrasound-assisted extraction of RRTP at the same gastric irrigation dose at 100 mg/kg. Conclusion: The RRTP extracted by optimum microwave-assisted processing conditions can improve the immune ability and antitumor activity of S_{180} solid tumor mice and could be used as a potential functional food supplements.

Keywords: *Rosa roxbunghii* Tratt; polysaccharide; microwave-assisted extraction; process optimization; antitumor

基金项目:贵州省优质特色粮食产业发展专项(编号:黔农财[2019]21号);贵州省工信厅刺梨专项(编号:黔农财[2019]261号)

作者简介:唐健波,男,贵州省食品加工研究所助理研究员,硕士。
通信作者:杨娟(1971—),女,贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室研究员,博士。

E-mail: yangxz2002@126.com

收稿日期:2021-03-12

多糖是大量单糖通过糖苷键连接而成的生物大分子聚合物,普遍存在于动植物的器官或组织中^[1]。近年来,多糖因其独特的化学结构、高生物活性和功能特性而受到消费者的广泛关注。许多从果蔬中提取的天然多糖被作为功能性成分添加于各种食品或药物中^[2-4]。除了具有改善工业产品保水和保油、起泡和乳化性能等功能特

性外^[5],还具有抗氧化^[6-7]、抗炎^[8]、抗肿瘤^[9]、抗溃疡^[10]、抗病毒^[11]和免疫活性^[12]等生物功能。

刺梨(*Rosa roxbunghii* Tratt, RRT),属蔷薇科蔷薇属落叶灌木植物,主要分布于中国西南省份海拔1 000~1 600 m 的山区^[13]。截至2020年底,贵州省刺梨种植面积突破13.3万hm²,全省刺梨鲜果产量超10万t,同比增长51%,其中35家刺梨重点加工企业年鲜果加工能力近14万t。研究表明,刺梨果实中富含多种营养元素和功能成分,包括多糖^[14]、多酚^[15]、维生素C^[16]、超氧化物歧化酶^[16]、黄酮^[17]、维生素B以及多种矿物质元素^[18]等,具有多种保健或药用功效,在功能性食品及药品的开发上具有广阔的应用前景。

刺梨多糖(*Rosa roxbunghii* Tratt polysaccharide, R RTP)是刺梨果实中的主要功能性成分,合适的提取方法不仅是提高多糖提取率的关键,也是维持多糖的理化、流变性、功能、结构和生物学特性的关键^[19]。传统的多糖提取方法需在热回流装置中进行长时间高温状态下的提取,不仅提取效率低,而且还会对多糖的生物活性造成破坏^[20]。随着工艺技术的进步,超声波辅助提取、微波辅助提取、加压水提取和酶辅助提取等新技术新方法在有效提高多糖提取效率和生物活性方面取得了很大进展。其中,微波辅助提取技术可以在较短的时间内提取多糖,降低溶剂和能源消耗,且对多糖活性破坏较小。研究拟采用响应面法对微波辅助提取刺梨多糖工艺进行优化,并以超声辅助提取刺梨多糖为对照,评价两种不同工艺条件下提取刺梨多糖的抗肿瘤活性,以期对刺梨多糖在食品中的应用提供理论依据,为刺梨产业的纵深发展提供助力。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

刺梨干果:市售;

昆明种小鼠:雌雄各半,体重(20±2)g,贵州医科大学试验动物中心;

S₁₈₀瘤株:由贵州大学杨再昌教授惠赠并由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室妥善传代并保存;

无水乙醇、浓硫酸:分析纯,重庆川东化工有限公司;

葡萄糖:分析纯,天津市致远化学试剂有限公司;

环磷酸胺:分析纯,江苏恒瑞医药股份有限公司;

苯酚、冰醋酸、亚甲蓝、羧甲基纤维素钠、生理盐水:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

微波化学反应器:MCR-3型,上海丞明仪器设备有限公司;

连续波长酶标仪:MD spectra MAX-190型,美国MD公司;

电子分析天平:AL204型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

真空干燥箱:DZF-6021型,上海精宏实验设备有限公司;

高速万能粉碎机:FW100型,天津泰斯特仪器有限公司;

生物显微镜:PH100型,凤凰光学集团有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 刺梨干果预处理 将刺梨干果于60℃干燥至恒重,于高速万能粉碎机粉碎1min,过40目筛,用80%乙醇加热回流提取8次去杂,每次2h,用布氏漏斗抽滤,60℃真空干燥至恒重,制得预处理样品。

1.2.2 刺梨多糖微波辅助提取工艺 取预处理样品10g,置于两口圆底烧瓶中,按照一定液料比加入蒸馏水,置于微波化学反应器反应釜中,在设定微波功率和反应时间条件下进行提取,提取3次并合并滤液,减压浓缩至一定体积,添加无水乙醇使样品中乙醇体积分数为80%,搅拌均匀,4℃冰箱静置12h,抽滤并用无水乙醇洗涤析出的絮凝物2~3次,絮凝物于60℃真空干燥至恒重,得刺梨粗多糖,将粗多糖粉碎后过160目筛,密封保存备用。

1.2.3 刺梨多糖含量测定 采用苯酚—硫酸法^[21]。以蒸馏水为空白对照,以葡萄糖为标准品,吸光度为横坐标,葡萄糖质量为纵坐标,于490nm处用连续波长酶标仪测定吸光值,绘制标准曲线($Y=0.0061X+0.06$, $R^2=0.9959$),并按式(1)计算刺梨多糖得率。

$$Y = \frac{m_1 \times \omega}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Y——刺梨多糖得率,%;

m_1 ——刺梨粗多糖质量,g;

ω ——粗多糖中多糖含量,%;

m_2 ——预处理样品的质量,g。

1.2.4 刺梨多糖微波辅助提取单因素试验

(1) 微波功率:取样品10g,固定液料比30:1(mL/g),微波时间10min,微波次数3次,考察微波功率(80,160,240,320,400W)对刺梨多糖得率的影响。

(2) 液料比:取样品10g,固定微波时间10min,微波功率240W,微波次数3次,考察液料比[10:1,20:1,30:1,40:1,50:1(mL/g)]对刺梨多糖得率的影响。

(3) 微波时间:取样品10g,固定液料比40:1(mL/g),微波功率240W,微波次数3次,考察微波时间(6,10,14,18,22,26min)对刺梨多糖得率的影响。

(4) 微波次数:取样品10g,固定液料比40:1(mL/g),微波功率240W,微波时间22min,考察微波次数(1,2,3,4,5次)对刺梨多糖得率的影响。

1.2.5 响应面优化 在单因素试验的基础上,固定微波

次数 3 次,以微波功率、液料比和微波时间 3 个因素为自变量,按照 Box-Behnken 中心组合试验(BBD)原理,以刺梨多糖得率为响应值,利用 Design-Expert.V8.0.6 软件进行响应面试验设计及结果分析。

1.2.6 S_{180} 实体瘤模型的建立 参照 Zong 等^[22]的方法并适当修改。将保存于液氮罐中的 S_{180} 瘤株进行复苏,用医用酒精对小鼠腹部进行消毒,取 0.2 mL 复苏的肿瘤液接种于小鼠腹腔中,于标准动物试验室[温度(23±2)℃,湿度(55±5)%,白天黑夜各 12 h]中进行自由饮水和进食。接种 7 d 后,用无菌注射器从小鼠腹腔抽取肿瘤液,并进行第二次传代,经台盼蓝染色计数,活细胞数>95%方可进行后续肿瘤接种。采用无菌注射器抽取第二次传代小鼠腹腔中的肿瘤液,用生理盐水稀释 3 倍制成细胞悬液,将细胞悬液按每只小鼠 0.2 mL 的剂量皮下接种于小鼠右腋下。试验过程中,如果出现空白组小鼠肿瘤平均瘤重<1 g、20%小鼠瘤重<0.49 g 或小鼠死亡数>20%中的任一情况,则判定试验失败。

1.2.7 动物分组及试验 参照 Cai 等^[23]的方法并修改。挑选健康昆明种小鼠 96 只,雌雄各半,按 1.2.6 的方法进行腋下肿瘤接种,建立 S_{180} 实体瘤模型。小鼠接种 24 h 后,将小鼠随机分为 8 组($n=12$):空白对照组(CT),环磷酸胺组(CTX),微波提取多糖高、中、低剂量组(H-MPS、M-MPS、L-MPS)、超声提取多糖高、中、低剂量组(H-UPS、M-UPS、L-UPS),每组小鼠 12 只,雌雄各半。用生理盐水配制 3.5 mg/mL 的环磷酸胺溶液(现配现用)作为 CTX 组药剂,用 0.5%的羧甲基纤维素钠溶液配制不同剂量的多糖药剂,以 0.5%的羧甲基纤维素钠溶液作为空白组药剂。其中:CT 组每天灌胃 0.5%羧甲基纤维素钠 0.1 mL/10 g;CTX 组腹腔注射环磷酸胺溶液 0.1 mL/kg,第一次注射后,间隔 3 d 注射一次,共注射 3 次;刺梨多糖高、中、低剂量组的灌胃剂量分别为 400, 200, 100 mg/(kg·d)。试验持续 10 d。

1.2.8 抑瘤率的计算 参照贾福怀等^[24]的方法并修改。小鼠最后一次灌胃后,禁食 12 h,以脊椎脱臼法处死,剥离出小鼠右腋下肿瘤,称重,按式(2)计算抑瘤率。

$$R = \left(1 - \frac{m_1}{m_2}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R ——抑瘤率,%;

m_1 ——给药组平均肿瘤质量,g;

m_2 ——空白组平均肿瘤质量,g。

1.2.9 外周血白细胞计数 参照姚佳等^[25]的方法并修改。小鼠最后一次灌胃后,禁食 12 h,用毛细管(0.9 mm×100 mm)进行眼眶取血,并进行外周血白细胞计数。具体方法为:向试管中加入白细胞稀释液(冰醋酸 2 mL、蒸馏水 98 mL、10 g/mL 的亚甲蓝溶液 3~5 滴)0.38 mL,再加入小鼠眼眶新鲜血液 20 μ L,轻微震荡

2 min 混匀后立即吸取 10 μ L 悬液充入血球计数板计数池内,静置 2~3 min 后于显微镜低倍镜下对四角的 4 个大方格内白细胞总数进行计数,并按式(3)计算白细胞总数。

$$W = \frac{c}{4} \times 10 \times 20 \times 10^6, \quad (3)$$

式中:

W ——白细胞数, L^{-1} ;

c ——大方格内白细胞总数。

1.2.10 胸腺指数和脾脏指数的测定 参照姚佳等^[25]的方法并修改。小鼠最后一次灌胃后,禁食 12 h,称重后以脊椎脱臼法处死,分别去除小鼠的胸腺和脾脏,擦干周边血迹后进行称重,并按式(4)和式(5)分别计算胸腺指数和脾脏指数。

$$T = \frac{m_1}{M}, \quad (4)$$

$$S = \frac{m_2}{M}, \quad (5)$$

式中:

T ——胸腺指数;

S ——脾脏指数;

m_1 ——胸腺质量,mg;

m_2 ——脾脏质量,mg;

M ——小鼠质量,g。

1.3 数据处理

采用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析(Duncan 模式)和多重比较($P<0.05$ 为显著差异),结果以平均值±标准偏差表示;采用 OriginPro 2018 软件对试验数据进行绘图,小写字母不同表示差异显著($P<0.05$);所有工艺优化试验均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 微波功率对刺梨多糖得率的影响 由图 1 可知,随着微波功率的增加,刺梨多糖得率先上升后下降,当微波功率为 240 W 时,刺梨多糖得率最大。刺梨多糖得率下降可能是由于随着微波功率的增加,微波产生的热效应也相应地增加,微波加热使样品吸收微波能而产生热效应,样品细胞表面或细胞壁产生裂纹或细孔,从而促使刺梨多糖加速溶出^[26]。而随着微波功率的进一步增大,一方面样品细胞的表面效应增加阻碍了介质渗入和刺梨多糖的溶出,另一方面微波的过热效用也会导致刺梨多糖分解,这都可能导致刺梨多糖得率下降^[27]。因此,选择微波功率为 160,240,360 W 3 个水平进行响应面试验。

2.1.2 液料比对刺梨多糖得率的影响 由图 2 可知,随着液料比的增加,刺梨多糖得率先上升后下降,当液料比为 40:1 (mL/g)时多糖得率最大,与张彦慧等^[28]的变化趋势基本一致。随着液料比的增加,样品细胞内外的多

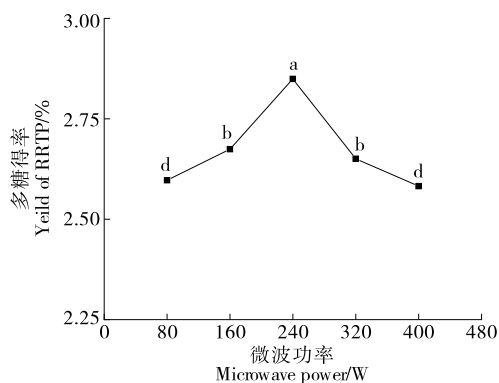


图1 微波功率对刺梨多糖提取率的影响

Figure 1 The effects of microwave power on the extraction yield of RRTP

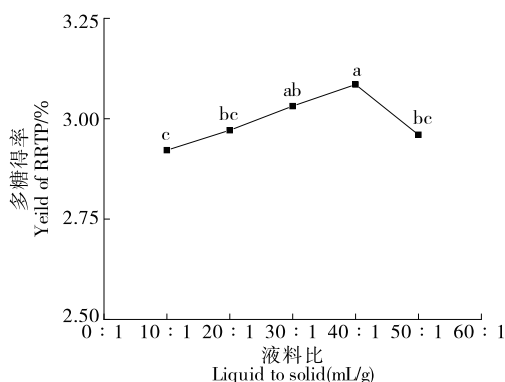


图2 液料比对刺梨多糖得率的影响

Figure 2 The effects of liquid to solid on the extraction yield of RRTP

糖浓度差增大,促进了多糖向水中扩散,从而提高了刺梨多糖的得率,当液料比过大时,单位体积的水溶液吸收的微波能降低,产率也随之降低^[29]。此外,提取工艺中液料比越大,多糖后期的处理工作量相对也会增加,提取成本升高。因此,选择液料比为 30 : 1, 40 : 1, 50 : 1 (mL/g) 3 个水平进行响应面试验。

2.1.3 微波时间对刺梨多糖得率的影响 由图 3 可知,随着微波时间的延长,多糖得率先显著性增加后趋于平稳,与杨嘉丹等^[30]的结论基本一致。随着微波时间的延长,微波的穿透、反射及吸收效果提升,多糖的提取效果也相应提高^[30]。当微波时间 > 18 min 时,刺梨多糖提取基本完成,得率基本不再升高,此外长时间的微波加热可能会使多糖分解。因此,选择微波时间为 18, 22, 26 min 3 个水平进行响应面试验。

2.1.4 微波次数对刺梨多糖得率的影响 由图 4 可知,随着微波次数的增加,刺梨多糖得率先显著性提高 ($P < 0.05$) 后趋于平稳。因此,固定微波次数为 3 次进行刺梨多糖提取优化试验。

2.2 响应面优化试验

2.2.1 预测模型及方差分析 在单因素试验的基础上,

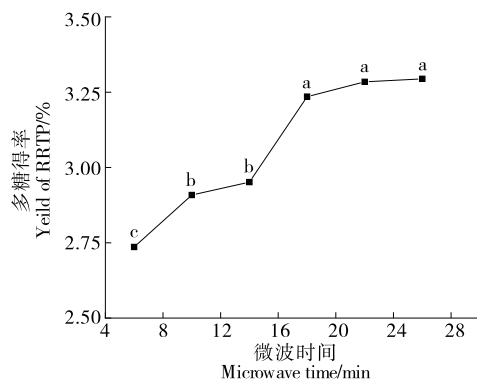


图3 微波时间对刺梨多糖得率的影响

Figure 3 The effects of microwave time on the extraction yield of RRTP

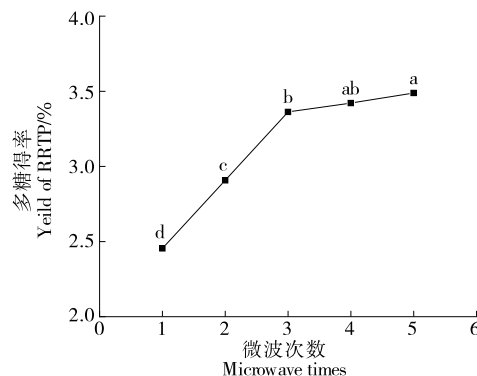


图4 微波次数对刺梨多糖得率的影响

Figure 4 The effects of microwave times on the extraction yield of RRTP

固定微波次数为 3 次,以微波功率、液料比和微波时间 3 个因素为自变量,以刺梨多糖得率为响应值,根据 Box-Behnken 中心组合试验(BBD)原理进行三因素三水平响应面试验设计。试验因素及水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

经软件回归拟合,3 个提取变量与刺梨多糖得率的关系的二次多项式方程为:

$$Y = 3.22 + 0.10A - 0.037B + 0.17C + 7.50E-003AB - 0.077AC - 0.052BC - 0.14A^2 - 0.12B^2 - 0.17C^2. \quad (6)$$

由表 3 可知,模型具有较大的 F 值,同时具有非常低的 P 值 ($P < 0.0001$),说明该预测模型差异极显著,能够较好地预测刺梨多糖得率。失拟项 $P = 0.9301 > 0.05$,差

表1 响应面试验因素及水平表

Table 1 Factors and levels of response surface methodology

水平	A 微波功率/W	B 液料比(mL/g)	C 微波时间/min
-1	160	30 : 1	18
0	240	40 : 1	22
1	320	50 : 1	26

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Box-Behnken experiment design and results

试验号	A	B	C	多糖得率/%
1	0	0	0	3.19
2	0	0	0	3.25
3	0	0	0	3.21
4	0	1	-1	2.78
5	1	0	-1	2.92
6	0	0	0	3.20
7	-1	0	1	3.07
8	0	0	0	3.27
9	0	1	1	3.02
10	0	-1	-1	2.75
11	1	1	0	3.04
12	-1	-1	0	2.90
13	-1	0	-1	2.58
14	-1	1	0	2.81
15	0	-1	1	3.20
16	1	0	1	3.10
17	1	-1	0	3.10

异不显著,说明模型与所选试验因素之间具有很好的拟合度。同时,模型决定系数 $R^2=0.992$,变异系数 $CV=0.9\%$,表明此模型能够预测 99.2% 的刺梨多糖得率的变化,说明试验结果较可靠。模型方差分析结果显示,一次项 A、B、C,交互项 AC、BC 及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对刺梨多糖得率影响显著 ($P<0.01$),表明各影响因素之间存在明

显的协同作用。由 F 值可知,影响微波辅助提取刺梨多糖得率的因素大小顺序为微波时间>微波功率>液料比。

2.2.2 响应面及影响因素交互作用分析 由图 5 可知,AC 和 BC 的响应面图相对于 AB 的更为陡峭,表明图形对应的两组影响因子交互作用更为明显,其对刺梨多糖得率的影响更显著^[31]。AB 的等高线图呈圆形,说明微波功率和液料比两者之间的相互作用不明显;AC 和 BC 的等高线为斜椭圆形,说明微波功率和微波时间、液料比和微波时间之间存在显著的相互作用,与方差分析结果基本一致。

2.2.3 回归模型优化 通过 Design-Expert V 8.0.6 软件分析对回归方程进行优化拟合可知,微波辅助提取刺梨多糖的最佳条件为:微波功率 256.78 W,液料比 37.41:1.00 (mL/g),微波时间 24.02 min,提取次数 3 次,此时刺梨多糖理论得率为 3.28%。为验证预测结果的可信度,将提取工艺参数调整为:微波功率 240 W,液料比 37:1 (mL/g),微波时间 24 min,提取次数 3 次,该工艺条件下的刺梨多糖得率为 $(3.19\pm 0.05)\%$ ($n=3$),与预测值的契合度为 97.26%,主要原因是受限于设备,但契合度基本达到预期,可以证实该回归模型能较好地用于预测刺梨多糖的提取。与超声提取的刺梨多糖^[21]进行对比,微波辅助提取方法具有提取时间短、提取效率高等优点,提取得率相较于超声提取提高了 46.33%,具有较好的应用价值。

2.3 刺梨多糖抗肿瘤试验结果

由表 4 可知,两种方法提取的刺梨多糖均具有一定

表 3 响应面模型方差分析[†]

Table 3 ANOVA for response surface quadratic model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.65	9	0.07	96.57	<0.000 1	* * *
A	0.08	1	0.08	107.28	<0.000 1	* * *
B	0.01	1	0.01	15.09	0.006 0	* *
C	0.23	1	0.23	310.04	<0.000 1	* * *
AB	2.25E-004	1	2.25E-004	0.30	0.599 9	
AC	0.02	1	0.02	32.22	0.006 3	* *
BC	0.01	1	0.01	14.78	0.000 3	* *
A^2	0.08	1	0.08	111.86	<0.000 1	* * *
B^2	0.06	1	0.06	82.33	<0.000 1	* * *
C^2	0.12	1	0.12	155.12	<0.000 1	* * *
残差	5.22E-003	7	7.46E-004			
失拟项	5.00E-004	3	1.67E-004	0.14	0.930 1	
纯误差	4.72E-003	4	1.18E-003			
总离差	0.65	16				

[†] * 表示差异显著 ($P<0.05$); * * 表示差异高度显著 ($P<0.01$); * * * 表示差异极其显著 ($P<0.001$)。

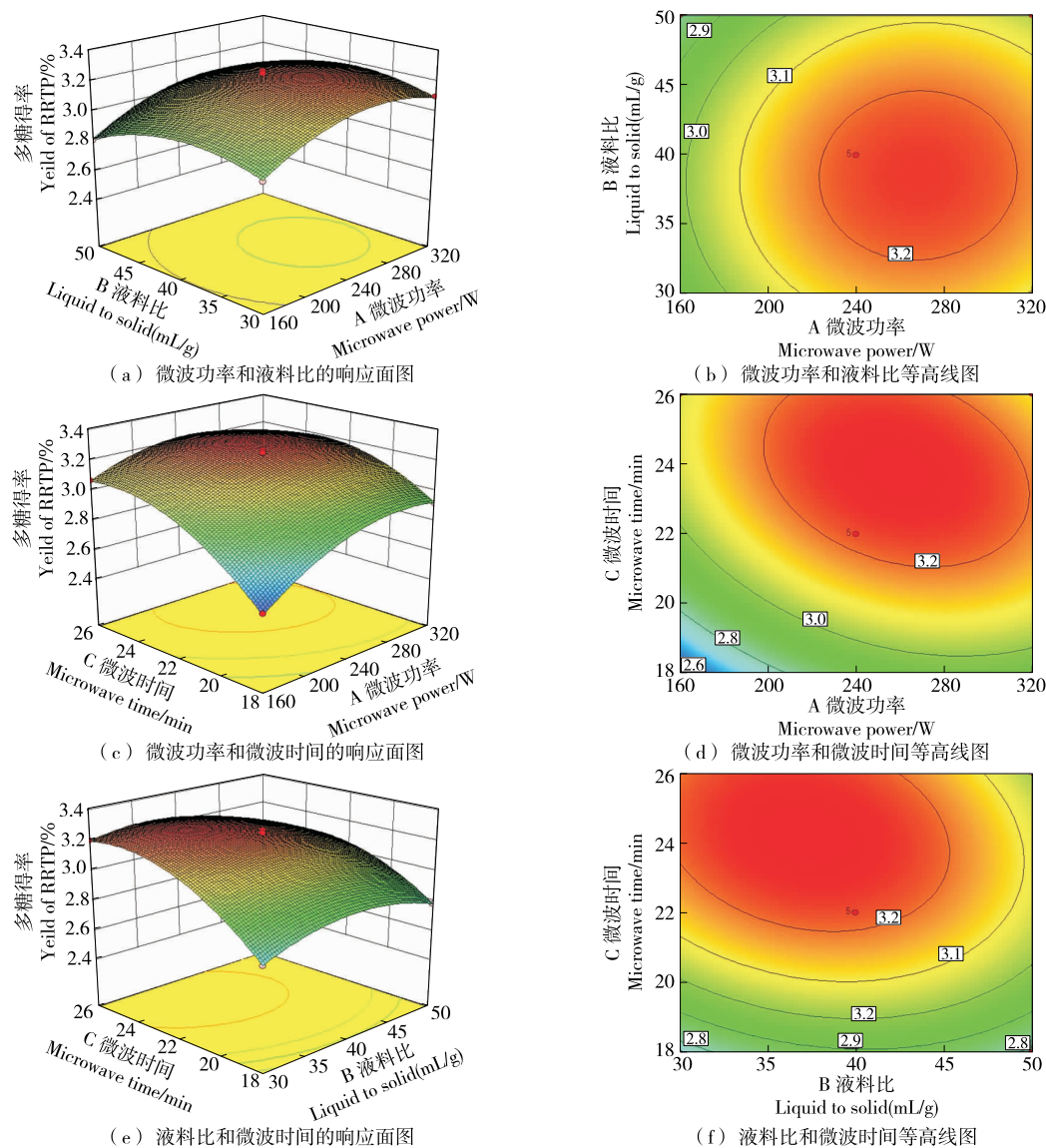


图 5 各因素及其交互作用对刺梨多糖得率的影响

Figure 5 Effects of different variables and interaction on the extraction rate of RRTP

表 4 刺梨多糖对荷 S_{180} 小鼠抑瘤作用、外周血白细胞及其脏器的影响[†]

Table 4 Effects of PPRT on tumor inhibition, peripheral blood leucocyte and viscera index on S_{180} tumor-bearing mice

模型组	剂量/(mg · kg ⁻¹)	抑瘤率/%	白细胞数(×10 ⁹ L ⁻¹)	胸腺指数	脾脏指数
CT 组	0	—	16.89±1.70	2.30±0.35	7.11±0.42
CTX 组	35	62.32±1.09 ^a	10.40±1.34 ^{AA}	1.97±0.30 ^A	5.54±0.32 ^{AA}
H-MPS 组	400	43.75±1.43 ^d	21.07±0.76 ^{AABB}	2.41±0.21 ^{BB}	6.59±0.42 ^{ABB}
M-MPS 组	200	22.29±1.01 ^e	16.62±1.12 ^{BB}	3.17±0.37 ^{AABB}	7.45±0.27 ^{BB}
L-MPS 组	100	52.52±0.96 ^b	15.47±0.47 ^{BB}	2.45±0.18 ^{BB}	6.72±0.40 ^{BB}
H-UPS 组	400	42.63±0.91 ^d	17.12±1.69 ^{BB}	3.23±0.23 ^{AABB}	7.12±0.39 ^{BB}
M-UPS 组	200	46.31±1.22 ^c	21.84±1.44 ^{AABB}	2.77±0.35 ^{AABB}	6.80±0.49 ^{BB}
L-UPS 组	100	47.71±0.51 ^c	15.90±1.28 ^{BB}	2.94±0.19 ^{AABB}	6.26±0.60 ^{AABB}

[†] A 表示与 CT 组比较, $P<0.05$; AA 表示与 CT 组比较, $P<0.01$; B 表示与 CTX 组比较, $P<0.05$; BB 表示与 CTX 组比较, $P<0.01$ 。

的抗肿瘤效果,但在最佳灌胃剂量和肿瘤抑制效果上均存在一定的差异。其中,微波提取刺梨多糖在 100 mg/kg 剂量时,对肿瘤小鼠的抑瘤率最好,达到 $(52.52 \pm 0.96)\%$,明显高于超声提取刺梨多糖的。与 CTX 组相比,两种方法中不同刺梨多糖试验组的白细胞、胸腺指数和脾脏指数明显升高,均表现出更优的肿瘤小鼠免疫能力提升作用。与 CT 组相比,CTX 组的白细胞数量明显减少,胸腺指数和脾脏指数也明显下降,但抑瘤率达到 $(62.32 \pm 1.09)\%$,为所有试验组中最高。从灌胃剂量产生的抑制肿瘤的效果来看,两种方法提取的刺梨多糖均在低剂量时产生最优的抑瘤效果,且 L-MPS 组和 L-UPS 组的白细胞、胸腺指数和脾脏指数相对于同组其他剂量来说更接近 CT 组,可能是低剂量的刺梨多糖在提升肿瘤小鼠免疫能力的同时还可能具有减轻肿瘤小鼠炎症状态的作用。

3 结论

以刺梨干果为原料,采用响应面法优化了微波辅助提取刺梨多糖工艺。结果表明,微波辅助提取刺梨多糖的最优工艺条件为微波功率 240 W,液料比 37 : 1 (mL/g),微波时间 24 min,提取次数 3 次,此时刺梨多糖得率为 $(3.19 \pm 0.05)\%$ ($n=3$)。抗肿瘤活性研究表明,在灌胃剂量为 100 mg/kg 时,微波和超声辅助提取的刺梨多糖对 S₁₈₀ 肿瘤小鼠均具有最大的抑瘤率。其中,微波辅助提取刺梨多糖的抑瘤率为 $(52.52 \pm 0.96)\%$,抗肿瘤活性更优,并显著提高了肿瘤小鼠的白细胞数量、胸腺指数和脾脏指数。说明在此工艺条件下提取的刺梨多糖,具有一定的提升肿瘤小鼠免疫能力和抗肿瘤作用,可作为潜在的功能性食品添加剂来源。后续应开展多种提取方法协同提取工艺及其活性评价研究,以及刺梨多糖的提纯分析和特性研究。

参考文献

[1] HASHEMIFESHARAKI R, XANTHAKIS E, ALTINTAS Z, et al. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from the marsh-mallow roots: optimization, purification, structure, and bioactivity[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 240: 116301.

[2] 张琪琳, 舒亚民, 潘祥林, 等. 药食同源植物多糖治疗溃疡性结肠炎的药理作用及机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2021, 44(3): 644-651.

ZHANG Qi-lin, SHU Ya-min, PAN Xiang-lin, et al. Research progress on pharmacological effects and mechanisms of plant polysaccharides with medicine and food homology in treatment of ulcerative colitis [J]. Drug Evaluation Research, 2021, 44(3): 644-651.

[3] 薛山, 肖夏, 陈舒怡, 等. 基于降维分析优化南瓜籽多糖拉面面团制作工艺[J]. 保鲜与加工, 2021, 21(2): 38-46.

XUE Shan, XIAO Xia, CHEN Shu-yi, et al. Optimization of processing technology of ramen dough added pumpkin seed polysac-

charide based on dimensional reduction analysis[J]. Storage and Process, 2021, 21(2): 38-46.

[4] 郝静, 杨晨芝, 丁霄, 等. 杏鲍菇多糖对乳酸菌发酵及酸奶品质的影响[J]. 食品工业, 2020, 41(11): 177-180.

HAO Jing, YANG Chen-zhi, DING Xiao, et al. Effect of polysaccharides from pleurotus eryngii on fermentation of lactic acid bacteria and quality of yogurt[J]. The Food Industry, 2020, 41(11): 177-180.

[5] LADJEVARDI Z S, GHARIBZAHEDI S M T, MOUSAVI M. Development of a stable low-fat yogurt gel using functionality of psyllium (*Plantago ovata* Forsk) husk gum[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 125: 272-280.

[6] 张存艳, 魏蔼玲, 岳茂林, 等. 不同干燥方式对松露多糖含量及其抗氧化活性的影响[J]. 食品工业, 2020, 41(12): 214-218.

ZHANG Cun-yan, WEI Ai-ling, YUE Mao-lin, et al. Effects of different drying methods on polysaccharide content and its antioxidant activity from truffle[J]. The Food Industry, 2020, 41(12): 214-218.

[7] 梁英, 毕红梅, 郑文凤, 等. 平菇多糖硫酸酯制备工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 175-179.

LIANG Ying, BI Hong-mei, ZHENG Wen-feng, et al. Optimization of preparation technology and antioxidant activity of polysaccharide sulfate from *pleurotus ostreatus*[J]. Food & Machinery, 2021, 37(1): 175-179.

[8] 罗志锋, 陆思名, 黎攀, 等. 遗传算法优化超高压辅助复合酶提取枸杞多糖工艺及其抗炎活性研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(1): 114-122.

LUO Zhi-feng, LU Si-ming, LI Pan, et al. Study on optimization of extraction process of lycium barbarum polysaccharides by ultrahigh-pressure assisted complex enzyme and anti-inflammatory activity[J]. Cereals & Oils, 2021, 34(1): 114-122.

[9] CHEN Yang, LIU Zhong-jing, LIU Jia, et al. Inhibition of metastasis and invasion of ovarian cancer cells by crude polysaccharides from *rosa roxburghii* trutt in vitro[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2014, 15(23): 10 351-10 354.

[10] 范美玲. 吴茱萸多糖含量测定及抗胃溃疡作用研究[J]. 实用中医药杂志, 2020, 36(8): 970-971.

FANG Mei-ling. Study on determination of evodia fructus polysaccharides and the effect of anti-gastric ulcer[J]. Journal of Practical Traditional Chinese Medicine, 2020, 36(8): 970-971.

[11] 杨佳, 付业佩, 杜宝香, 等. 细辛多糖对流感病毒 H1N1 型感染的保护作用及对炎症因子表达水平的影响[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(2): 412-419.

YANG Jia, FU Ye-pei, DU Bao-xiang, et al. Protective effect of asarum polysaccharide on H1N1 influenza virus infection and expression of inflammatory factors[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(2): 412-419.

[12] 魏科, 陈勇超, 周家豪, 等. 茯苓多糖辅助抗肿瘤及免疫调节作用研究[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(10): 4 937-4 940.

WEI Ke, CHEN Yong-chao, ZHOU Jia-hao, et al. Study on the effect of auxiliary anti-lung cancer and immune regulation of pachyman[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2020, 35(10): 4 937-4 940.

[13] XU Jing-wen, VIDYARTHI S K, BAI Wei-bai, et al. Nutritional

- constituents, health benefits and processing of *rosa roxburghii*: A review[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 60: 103456.
- [14] CHEN Guang-jing, KAN Jian-quan. Characterization of a novel polysaccharide isolated from *rosa roxburghii* trutt fruit and assessment of its antioxidant in vitro and in vivo [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107: 166-174.
- [15] 周宏炫, 黄颖, 谭书明, 等. 刺梨多酚对急性酒精中毒大鼠的解酒护肝作用[J/OL]. *食品科学*. [2021-07-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20201211.1736.058.html>.
ZHOU Hong-xuan, HUANG Ying, TAN Shu-ming, et al. Anti-alcoholic and hepatoprotective effects of polyphenols from *rosa roxburghii* trutt in acute alcoholism rats[J/OL]. *Food Science*. [2021-07-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20201211.1736.058.html>.
- [16] 夏仕青, 张爱华. 刺梨的营养保健功能及其开发利用研究进展[J]. *贵州医科大学学报*, 2018, 43(10): 1 129-1 132, 1 153.
XIA Shi-qing, ZHANG Ai-hua. Research progress on the nutrition-health function and development of *rosa roxburghii* trutt[J]. *Journal of Guizhou Medical University*, 2018, 43(10): 1 129-1 132, 1 153.
- [17] 杨宗玲, 李晗, 范方宇, 等. 超声辅助酶法提取无籽刺梨果渣中黄酮的工艺优化及其抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2020, 2021, 42(13): 184-192.
YANG Zong-ling, LI Han, FAN Fang-yu, et al. Ultrasound-assisted enzymatic extraction of flavonoids from *rosa sterilis*' pomace and its antioxidant activity [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 2021, 42(13): 184-192.
- [18] 李跃红, 冉茂乾, 徐孟怀, 等. 不同产地刺梨果实品质分析与模糊综合评判[J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(17): 202-205.
LI Yue-hong, RAN Mao-qian, XU Meng-huai, et al. Analysis of fruit quality and fuzzy comprehensive evaluation of *rosa roxburghii* trutt from different habitats[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2020, 48(17): 202-205.
- [19] GOLBARGI F, GHARIBZAHEDI S M T, ZOGHI A, et al. Microwave-assisted extraction of arabinan-rich pectic polysaccharides from melon peels: Optimization, purification, bioactivity, and techno-functionality[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 256: 117522.
- [20] HU Wei-chao, ZHAO Yu-qing, YANG Yong, et al. Microwave-assisted extraction, physicochemical characterization and bioactivity of polysaccharides from *camptotheca acuminata* fruits[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 133: 127-136.
- [21] 唐健波, 肖雄, 杨娟, 等. 响应面优化超声辅助提取刺梨多糖工艺研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2015, 27(2): 314-320.
TANG Jian-bo, XIAO Xiong, YANG Juan, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *rosa roxburghii* trutt using response surface methodology [J]. *Natural Product Research and Development*, 2015, 27(2): 314-320.
- [22] ZONG Shuai, LI Jing-lei, YE Zi-yang, et al. Lachnum polysaccharide suppresses S₁₈₀ sarcoma by boosting anti-tumor immune responses and skewing tumor-associated macrophages toward M1 phenotype[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 144: 1 022-1 033.
- [23] CAI Bing-na, PAN Jian-yu, CHEN Hua, et al. Oyster polysaccharides ameliorate intestinal mucositis and improve metabolism in 5-fluorouracil-treated S₁₈₀ tumour-bearing mice[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 256: 117545.
- [24] 贾福怀, 涂宏建, 王俊, 等. 超声-闪式协同提取白及须根多糖工艺优化及其抗肿瘤活性[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(20): 188-195, 208.
JIA Fu-huai, TU Hong-jian, WANG Jun, et al. Optimization of ultrasonic-flash synergistic extraction and antitumor activity of polysaccharide from fibrous root of *bletilla striata* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(20): 188-195, 208.
- [25] 姚佳, 彭梅, 肖雄, 等. 仙茅多糖对小鼠 S₁₈₀ 实体瘤的顺铂增敏作用及其机制[J]. *华西药理学杂志*, 2014, 29(2): 132-134.
YAO Jia, PENG Mei, XIAO Xiong, et al. Efficacy enhancing effect and mechanisms of *curculigo orchoides* polysaccharide on S₁₈₀ tumor-bearing mice treated by cisplatin[J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014, 29(2): 132-134.
- [26] 张华, 郑建东, 马田林, 等. 响应面法优化微波提取夏枯草多糖及其抗氧化活性[J]. *化学研究与应用*, 2020, 32(2): 264-272.
ZHANG Hua, ZHEN Jian-dong, MA Tian-lin, et al. Response surface methodology for optimization of microwave extraction of polysaccharide from *prunella vulgaris* linn and their antioxidant activity[J]. *Chemical Research and Application*, 2020, 32(2): 264-272.
- [27] 陈红, 张艳荣, 王大为, 等. 微波协同酶法提取玉米须多糖工艺的优化研究[J]. *食品科学*, 2010, 31(10): 42-46.
CHEN Hong, ZHANG Yan-rong, WANG Da-wei, et al. Microwave-assisted enzymatic hydrolysis of corn silk for extraction of polysaccharides[J]. *Food Science*, 2010, 31(10): 42-46.
- [28] 张彦慧, 李彦霏, 胡仲秋. 木瓜滤渣微波辅助提取木瓜多糖的响应面法工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. *农产品加工*, 2018(21): 30-35.
ZHANG Yan-hui, LI Yan-fei, HU Zhong-qiu. Microwave-assisted extraction of polysaccharide from papaya fruit by response surface methodology and antioxidant activity [J]. *Farm Products Processing*, 2018(21): 30-35.
- [29] 谭莉, 陈瑞战, 金辰光, 等. 橘皮多糖微波提取工艺优化及分离纯化研究[J]. *食品科技*, 2017, 42(3): 214-218, 222.
TAN Li, CHEN Rui-zhan, JIN Chen-guang, et al. Optimization of microwave-assisted extraction, isolation and purification of polysaccharides from tangerines peel[J]. *Food Science and Technology*, 2017, 42(3): 214-218, 222.
- [30] 杨嘉丹, 刘婷婷, 张闪闪, 等. 微波辅助提取银耳多糖工艺优化及其流变、凝胶特性[J]. *食品科学*, 2019, 40(14): 289-295.
YANG Jia-dan, LIU Ting-ting, ZHANG Shan-shan, et al. Optimization of microwave-assisted extraction and rheological and gelling properties of polysaccharide from *tremella fuciformis* [J]. *Food Science*, 2019, 40(14): 289-295.
- [31] GUO Yang, SHANG Hong-mei, ZHAO Jiang-chao, et al. Enzyme-assisted extraction of a cup plant (*Silphium perfoliatum* L.) polysaccharide and its antioxidant and hypoglycemic activities [J]. *Process Biochemistry*, 2020, 92: 17-28.