

败酱草多糖的脱色工艺和抗氧化活性研究

惠和平^{1,2*}, 李晓东³, 史彦斌⁴, 张艳^{5*}, 马江鹏¹, 曹泽钰¹, 唐东科¹, 常红霞¹, 王娟弟¹

(1. 甘肃农业职业技术学院, 甘肃兰州 730020; 2. 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室, 甘肃省天然药物重点实验室, 兰州化学物理研究所, 甘肃兰州 730000;
3. 甘肃省中医院中医药研究院中药研究所, 甘肃兰州 730050;
4. 兰州大学, 甘肃兰州 730000; 5. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730010)

摘要:以败酱草粗多糖为原料,在单因素实验的基础上,采用正交实验比较H₂O₂和活性炭对败酱草多糖的脱色效果,优选最佳脱色工艺。以Vc为对照,运用体外抗氧化评价体系评价败酱草多糖脱色前后的抗氧化活性。结果表明,活性炭的脱色效果较好,其最佳工艺为:活性炭用量5%,脱色温度65℃,脱色时间120 min;在此条件下,多糖的脱色率和得率分别为50.21%±1.32%和70.36%±1.25%。所得败酱草多糖对DPPH·和·OH均有一定的清除作用,且脱色后败酱草多糖的清除能力均强于未脱色多糖;尤其在低浓度时(<0.5 mg/mL),脱色后败酱草多糖清除DPPH·和·OH的能力强于Vc,且清除能力与多糖的浓度呈正相关。

关键词:败酱草;多糖;脱色工艺;抗氧化

中图分类号:O629.12

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2021)S-0231-06

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2021.S.047

Study on decolorization process for polysaccharide from Herba *Patriniae* and antioxidant activity

HUI He-ping^{1,2*}, LI Xiao-dong³, SHI Yan-bin⁴, ZHANG Yan^{5*}, MA Jiang-peng¹,
CAO Ze-yu¹, TANG Dong-ke¹, CHANG Hong-xia¹, WANG Juan-di¹

(1. Gansu Agriculture Technology College, Lanzhou 730020, China; 2. CAS Key Laboratory for Chemistry of Northwestern Plant Resources and Gansu Provincial Key Laboratory for Natural Medicine, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 3. Institute of Traditional Chinese Medicine, Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China; 4. Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 5. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730010, China)

Abstract: Based on single factor experiment, orthogonal test method is utilized to compare the decolorization effects of H₂O₂ and activated carbon on crude polysaccharide from Herba *Patriniae* as and raw material, and the best decolorizer and decolorization process is preferred. Taking Vc as a control, DPPH· and hydroxyl radical (·OH) scavenging experiments are performed to evaluate the antioxidation activity of Herba *Patriniae* polysaccharides before and after decolorization. Results verify that activated carbon presents better decolorization effect. The optimum process is obtained as follows: the dosage of activated carbon is 5%, decolorization temperature remains at 65℃, and the decolorization lasts for 120 min. Under these conditions, the decolorization rate and the yield of polysaccharide are 50.21%±1.32% and 70.36%±1.25%, respectively. The obtained polysaccharide presents a certain scavenging effect on DPPH· and ·OH radicals, and decolorized polysaccharide shows a stronger scavenging ability on two kinds of free radicals than undecolorized polysaccharide. At low concentrations (<0.5 mg·mL⁻¹), the ability of decolorized polysaccharide to scavenge DPPH and ·OH radicals is stronger than that of Vc, and there is a positive dose-depending relationship between the concentration of polysaccharide and its scavenging ability to DPPH· and ·OH radicals.

Key words: Herba *Patriniae*; polysaccharide; decolorization process; antioxidation

败酱草(Herba *Patriniae*)又称泽败、苦菜等,隶属于败酱科多年生草本植物,药用植物为白花败酱(*Patrinia villosa* Juss)、黄花败酱(*Patrinia scabiosae-folia* Fisch. Ex Trev)或其近缘植物的带根全草,全国大部分地区有分布^[1]。作为我国重要的中药材资

源,因其含有各种蛋白质、氨基酸、维生素和微量元素等活性成分而被人们广泛食用并应用于临床^[2-4]。中医临床认为败酱草具有清热利湿、解毒排脓、活血化瘀、宁心安神之功效,还具有促进肝细胞再生、保肝利胆、止血、增强抑菌和抗病毒等作

收稿日期:2021-04-04;修回日期:2021-06-03

基金项目:甘肃省大学生创新训练项目(2020DC-GNZY-20);甘肃省高等学校基本科研业务费专项(甘财教2014-63);陇原青年创新创业人才项目(2108-81);甘肃农业职业技术学院科研流动站(2017-GNZY-04)

作者简介:惠和平(1982-),男,博士,副教授,研究方向为天然有机化学,通讯联系人,lzdxhui@163.com;张艳(1972-),女,硕士,副教授,研究方向为中药与方剂药效物质基础及作用机制研究,通讯联系人,781281623@qq.com。

用^[1-5]。近年来,由于多糖具有广泛的药理活性(如抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤和提高机体免疫力等作用^[6-9])而备受关注。而败酱草多糖作为败酱草的主要有效成分之一,对其系统的研究也逐渐成为热点。现代药理学研究表明,败酱草多糖具有明显的抗疲劳、抗便秘、抗病毒、抗氧化、调节免疫、抑制肿瘤生长等作用^[10-16]。

目前,败酱草多糖的提取主要使用热水煎煮乙醇沉淀的方法,即水提醇沉法^[1-2,4,15]。但是,水提醇沉法获取的败酱草多糖常因大量色素同时被提取而导致多糖显很深的颜色。这些色素的存在不但严重影响败酱草多糖的纯度、品质和生物活性,而且还给后期的纯化、色谱分析和结构鉴定带来很大的困难。因此,脱除色素成为前期多糖纯化的关键环节,而有关败酱草多糖脱除色素工艺的深入研究在文献中未见报道。基于此,本实验选取败酱草多糖为研究对象,分别以 H₂O₂ 和活性炭为脱色剂,通过正交实验优选脱色工艺,并比较败酱草多糖脱色前后的抗氧化活性,为败酱草多糖脱色方法的研究提供基础数据,也为败酱草在医药、食品与化妆品等行业中的高值化利用提供重要的参考依据。

1 实验部分

1.1 材料、试剂及仪器

败酱草为新鲜采集的白花败酱草,由兰州大学药学院马志刚教授鉴定。

1,1-二苯基-2-苦肼(DPPH),批号 B25609,含量 ≥ 98%,上海源叶生物科技有限公司;葡萄糖,批号 101852372,含量 ≥ 99.9%,美国 Sigma 公司;H₂O₂、苯酚、活性炭、浓硫酸、无水乙醇等试剂均为分析纯。

FA2204C 型电子分析天平,上海佑科仪器仪表有限公司;Agilent 8453E 型紫外-可见分光光度计,安捷伦科技有限公司;SCIENTZ-10N 型冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;RE-2000A 型旋转蒸发仪、DF-101S 恒温水浴锅,上海耀特仪器设备有限公司;Anke GL-16G-II 高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器有限公司。

1.2 败酱草多糖的提取

参照文献^[15,17]方法略作改动。将败酱草全草用 95% 乙醇回流脱脂 3 次,通风柜中抽除乙醇后,合并药材于 50℃ 烘箱中烘干后粉碎。取干粉样品 10 g,加入 25 倍量的蒸馏水,在 90℃ 水浴中加热提取 3 h,重复 3 次,合并提取液浓缩至原体积的 1/3,

以 5 000 r/min 离心 10 min,取上清液加入乙醇使其终浓度为 80%,置于 4℃ 下沉淀过夜,收集沉淀,冷冻干燥后即得败酱草粗多糖。

1.3 测定方法

1.3.1 多糖含量测定

标准曲线的绘制^[18]:准确称取干燥至恒重的葡萄糖标准品 25 mg 置于 100 mL 容量瓶中,加蒸馏水定容至刻度,分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 于 10 mL 容量瓶中并加蒸馏水定容至刻度,再移取上述溶液各 2 mL,分别加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL,摇匀后再加入浓硫酸 5.0 mL,充分混匀后在室温放置 5 min,在 60℃ 水浴中反应 15 min,冷却至室温,于 490 nm 处测定吸光度。以糖浓度和吸光度为坐标绘制标准曲线。

样品测定:吸取被测样品溶液 0.2 mL,加水稀释至 1 mL,按上述步骤操作,于 490 nm 处测定吸光度,代入标准曲线计算多糖的含量。

1.3.2 多糖得率测定

多糖得率按照公式(1)计算:

$$\text{多糖得率 \%} = (C_1/C_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中: C₀ 为脱色前多糖的质量浓度,mg/mL; C₁ 为脱色后多糖的质量浓度,mg/mL。

1.3.3 色素脱除率测定

多糖脱色效果用脱色率表示,计算公式如式(2):

$$\text{脱色率 \%} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\% \quad (2)$$

式中: A₀ 为脱色前多糖溶液的吸光度值; A₁ 为脱色后多糖溶液的吸光度值。

1.4 败酱草多糖脱色工艺优选

1.4.1 单因素实验

(1) 活性炭脱色单因素实验

参考文献^[19-20]方法略作改动。考察活性炭用量、脱色时间、脱色温度对脱色率和多糖得率的影响:固定脱色温度为 55℃、脱色时间为 40 min,考察活性炭用量为 1.0%、2.5%、5.0%、7.5%、10.0% 的脱色结果;固定脱色时间为 40 min、活性炭用量为 2.5%,考察温度为 45、55、65、75、85℃ 的脱色结果;固定脱色温度为 55℃、活性炭用量为 2.5%,考察时间为 20、40、80、120、160 min 的脱色结果。

(2) H₂O₂ 脱色单因素实验

参考文献^[20-21]的方法略作改动。考察 H₂O₂ 用量、脱色时间、脱色温度对脱色率和多糖得率的影响:固定脱色温度为 45℃、H₂O₂ 浓度为 5%,考察脱色时间为 20、40、80、120、160 min 的脱色结

果;固定 H_2O_2 浓度为 5%、脱色时间为 40 min,考察脱色温度为 35、45、55、65、75、85℃ 的脱色结果;固定脱色时间为 40 min、脱色温度为 45℃,考察 H_2O_2 浓度为 2.5%、5.0%、7.5%、10.0%、12.5% 的脱色结果。

1.4.2 正交实验

在单因素实验基础上,参照文献[21-24]方法略作改动。取粗多糖溶液(1 mg/mL),对不同浓度活性炭和不同浓度 H_2O_2 、不同脱色时间、不同脱色温度进行 3 因素 3 水平 $L_9(3^3)$ 的正交实验,因素水平设计如表 1。在一定波长下分别测定脱色前后多糖溶液的吸光度值,计算脱色率和多糖得率,综合二者进一步考察活性炭、 H_2O_2 对多糖的脱色效果,优选最佳工艺。实验数据采用综合加权评分法^[6],权重系数均为 0.5,分别将脱色率(a)和多糖得率(b)两项中最大的指标设为 100 分,其他各项评分按式(3)计算:

$$\text{综合评分} = (a/a_{\max} + b/b_{\max}) \times 100 \times 0.5 \quad (3)$$

表 1 活性炭及 H_2O_2 脱色正交实验因素水平表

水平	活性炭或 H_2O_2 用量(A) /%	脱色温度(B)/ ℃	脱色时间(C)/ min
1	2.5	45	40
2	5.0	55	80
3	7.5	65	120

1.4.3 体外抗氧化活性实验

(1) 不同浓度供试液的制备

准确称取 40 mg 的败酱草多糖充分溶解于蒸馏水中,配制成浓度为 4.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125、0.062 5 mg/mL 的多糖溶液备用。

(2) DPPH·清除活性测定

参考文献[9,25]方法。称取 DPPH 粉末,用无水乙醇配制成浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH 储备液。依次往试管中加入 DPPH 储备液 2 mL、不同浓度的 Vc 或败酱草多糖溶液 2 mL,剧烈振荡,室温避光放置 30 min,反应液于 517 nm 处测定吸光度值,重复 3 次,取平均值。以 Vc 为对照,计算清除率和 IC_{50} (IC_{50} 是清除率为 50% 时对应的样品浓度)。DPPH·清除率用式(4)计算。

$$I\% = [1 - (A_i - A_j)/A_0] \times 100\% \quad (4)$$

其中: A_0 为空白对照; A_i 为反应液的吸光度值; A_j 为不加 DPPH 时多糖自身的吸光度值。

(3) ·OH 清除活性的测定

参照文献[25-26]方法。取 2 mL 败酱草多糖溶

液与 2 mL 硫酸亚铁溶液 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 9 mmol/L)、2 mL H_2O_2 溶液 (2.4 mmol/L) 混匀, 37℃ 孵育 10 min, 加入 2 mL 水杨酸溶液 (6 mmol/L), 摇匀后 37℃ 孵育 30 min, 离心 (3 000 r/min, 10 min), 取上清液于 500 nm 测吸光度。以 Vc 为对照, 计算清除率和 IC_{50} , ·OH 清除率用式(4)计算, 其中 A_j 为不加水杨酸时提取液自身的吸光度值。

1.5 数据处理

本实验采用 SPSS15.0 进行正交实验分析和方差分析, $p < 0.05$ 表示有显著性差异; 采用 Origin 8 对抗氧化活性数据进行分析做图。

2 结果与讨论

2.1 葡萄糖标准曲线

葡萄糖标准曲线见图 1。在实验浓度范围内 (0~0.03 mg/mL), 葡萄糖与吸光度呈良好的线性关系, 回归方程为 $A = 15.046C - 0.0066$, 其中 A 为吸光度, C 为葡萄糖浓度, 线性系数 $R^2 = 0.992$ 。

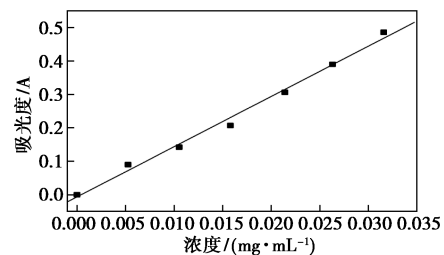


图 1 葡萄糖标准曲线图

2.2 单因素实验结果

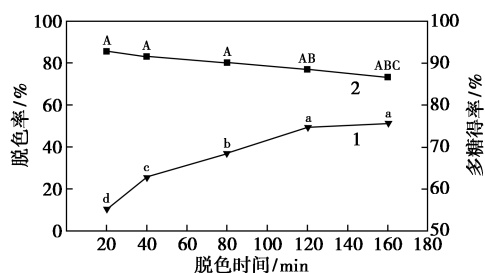
2.2.1 活性炭脱色单因素条件的确定

脱色时间对脱色率和多糖得率的影响如图 2(a) 所示。在 20~120 min 内, 随着脱色时间的增加, 脱色率明显增加, 在 120 min 以后, 脱色率增加缓慢。这可能是由于活性炭吸附已近饱和, 吸附与解析处于相对平衡的状态。而多糖得率随脱色时间延长缓慢降低。综合脱色率和多糖得率两方面因素, 选择脱色时间 40、80、120 min 进行正交实验。

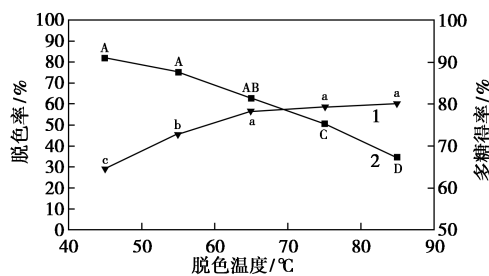
温度对脱色率和多糖得率的影响如图 2(b) 所示。在 45~65℃ 内, 随着脱色温度的升高, 脱色率显著增加, 而多糖得率缓慢下降; 当温度超过 65℃, 脱色率增加幅度减小, 多糖得率则陡然降低。这可能是由于多糖溶液的黏度随着温度的升高逐渐降低, 更容易被活性炭吸附, 同时温度升高到一定程度多糖发生降解。而色素随温度升高其分子运动加快, 加速了活性炭的吸附作用, 导致吸附接近饱和^[27]。综合脱色率和多糖得率两方面因素, 选择脱色温度

为 45、55、65℃ 进行正交实验。

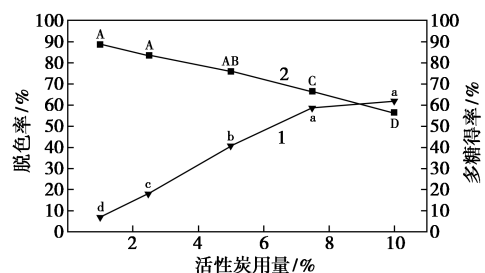
活性炭用量对脱色率和多糖得率的影响如图 2 (c) 所示。在 1%~7.5% 活性炭用量范围内,随着其用量的增加,脱色率显著增加,活性炭用量超过 7.5% 后脱色率的增加趋于缓慢;而多糖得率则持续下降,尤其是活性炭用量超过 5% 以后,多糖得率下降明显。这可能是由于活性炭加入量过多,对多糖的吸附超过了对色素的吸附。综合脱色率和多糖得率两方面因素,选择活性炭用量为 2.5%、5.0%、7.5% 进行正交实验。



(a) 脱色时间对败酱草多糖脱色率和多糖得率的影响



(b) 脱色温度对败酱草多糖脱色率和多糖得率的影响



(c) 活性炭用量对败酱草多糖脱色率和多糖得率的影响

注:同一曲线中标有不同字母表示组间差异显著($p < 0.05$),标有相同字母表示组间差异不显著($p > 0.05$),下同。

1—脱色率;2—多糖得率

图 2 活性炭脱色的单因素实验

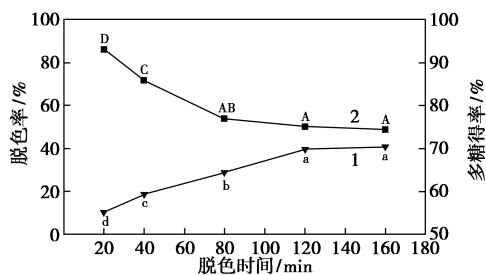
2.2.2 H_2O_2 脱色实验单因素条件的确定

时间对脱色率和多糖得率的影响如图 3 (a) 所示。在 20~120 min 内,随着脱色时间的增加,脱色率显著增加,120 min 后增加缓慢;而多糖得率在 80 min 内显著下降,随后基本趋于平稳。这是因为败酱草多糖中色素含量高,随着脱色时间的延长,参与直接氧化的 H_2O_2 量基本消耗殆尽,致使多糖脱色率和其得率基本保持不变。综合脱色率和多糖得

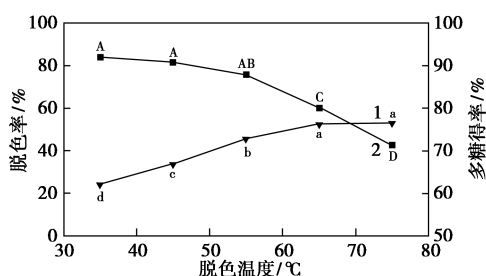
率两方面因素,选择脱色时间 40、80、120 min 进行正交实验。

温度对脱色率和多糖得率的影响如图 3 (b) 所示。随着温度的增加,脱色率逐渐增加,在 65℃ 以后趋于平缓;而多糖得率随着温度的增加则不断降低。这源于温度增加,分子运动增强, H_2O_2 的氧化性增强。综合脱色率和多糖得率两方面因素,选择脱色温度为 45、55、65℃ 进行正交实验。

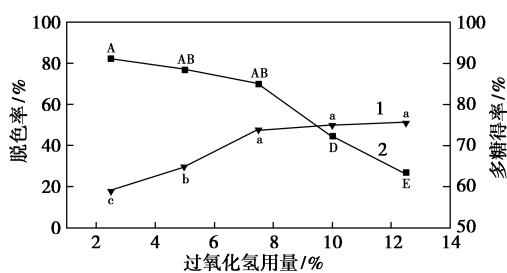
H_2O_2 用量对脱色率和多糖得率的影响如图 3 (c) 所示。在 2.5%~7.5% 的 H_2O_2 用量范围内,随着 H_2O_2 用量的增加,脱色率明显增加,在 H_2O_2 用量超过 7.5% 后趋于平缓,这可能与色素的性质及存在状态有关,随着 H_2O_2 用量的增加,可直接被氧化的色素已趋近于零,但以结合形式存在的色素不能被氧化。多糖得率在 H_2O_2 用量 7.5% 以内缓慢下降,随后陡然下降,这可能是过多的 H_2O_2 加速了多糖的分解。综合脱色率和多糖得率两方面因素,选择 H_2O_2 用量为 2.5%、5.0%、7.5% 进行正交实验。



(a) 脱色时间对败酱草多糖脱色率和多糖得率的影响



(b) 脱色温度对败酱草多糖脱色率和多糖得率的影响



(c) H_2O_2 用量对败酱草多糖脱色率和多糖得率的影响

1—脱色率;2—多糖得率

图 3 H_2O_2 脱色的单因素实验

2.3 正交实验结果

2.3.1 活性炭脱色正交实验结果

以脱色率和多糖得率为指标,考察活性炭脱色的效果,实验结果见表2。由表2可知,3个实验因素对结果的影响顺序为 $A>B>C$,即活性炭用量>脱色温度>脱色时间。由极差分析可知,最佳组合为 $A_2B_3C_3$,即活性炭含量为5%、脱色温度为65℃、脱色时间为120 min。由于最佳组合不在上述实验组合范围内,所以根据最佳组合进行实验验证,重复3次,当活性炭含量为5%、脱色温度为65℃、脱色时间为120 min时,活性炭对败酱草多糖的脱色率为50.21%±1.32%、多糖得率为70.36%±1.25%。

表2 活性炭脱色正交实验结果

实验序号	A	B	C	色素脱除率/%	多糖得率/%	综合评分
1	1	1	1	18.18	58.23	58.93
2	1	2	2	26.30	57.12	67.09
3	1	3	3	45.57	66.35	94.42
4	2	1	2	31.00	72.28	82.75
5	2	2	3	33.57	71.36	84.61
6	2	3	1	40.81	66.56	89.33
7	3	1	3	36.13	43.58	68.82
8	3	2	1	29.23	74.69	82.07
9	3	3	2	31.34	46.69	65.64
k_1	220.44	210.50	230.33			
k_2	256.69	233.77	215.48			
k_3	216.53	249.39	247.85			
R	13.39	12.96	10.79			
偏差平方和	326.91	255.32	175.03			
F/F临界	0.039	0.031	0.021			
优选方案	A_2	B_3	C_3			

2.3.2 H_2O_2 脱色正交实验结果

综合脱色率和多糖得率,由表3可知,3个实验因素对实验结果的影响顺序为 $B>A>C$,即脱色温度> H_2O_2 用量>脱色时间。由极差分析可知,最优组合为 $A_1B_3C_2$,即 H_2O_2 用量为2.5%、脱色温度为65℃、脱色时间80 min时脱色效果最好。由于最优组合不在上述实验组合范围内,所以按照最优方案进行3次重复验证,当 H_2O_2 用量为2.5%、温度为65℃、时间为80 min时, H_2O_2 对败酱草多糖的脱色率为45.09%±1.51%、多糖得率为68.63%±1.61%。

表3 H_2O_2 脱色正交实验结果

实验序号	A	B	C	色素脱除率/%	多糖得率/%	综合评分
1	1	1	1	19.61	64.40	64.97
2	1	2	2	39.64	75.30	94.89
3	1	3	3	44.15	60.30	90.04
4	2	1	2	25.39	51.60	62.62
5	2	2	3	26.64	74.30	79.51
6	2	3	1	40.54	52.00	80.44
7	3	1	3	31.19	47.00	66.76
8	3	2	1	26.42	55.00	66.44
9	3	3	2	40.05	53.30	80.75
k_1	249.90	194.35	211.85			
k_2	222.57	240.84	238.26			
k_3	213.95	251.23	236.31			
极差R	11.98	18.96	8.80			
偏差平方和	234.85	611.62	144.40			
F/F临界	0.131	0.341	0.081			
优选方案	A_1	B_3	C_2			

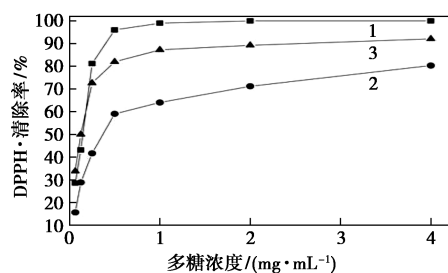
由以上正交实验结果可知,两种脱色剂对败酱草多糖均有一定的脱色效果,但脱色后仍存在少量色素。活性炭对色素的清除率和多糖的回收率均高于 H_2O_2 ,这可能是因为一方面活性炭表面具有未被化学键饱和的碳原子,而大多数色素又具有共轭双键结构,很容易被活性炭吸附^[28];另一方面活性炭因其多孔网状立体结构而具有丰富的比表面积,吸附能力极强,可迅速吸附败酱草多糖中的色素。而 H_2O_2 通过直接氧化色素脱色,败酱草多糖含有大量色素,需要高浓度 H_2O_2 脱色,过多的 H_2O_2 和较长的接触时间势必会加速多糖的氧化导致多糖得率降低。综合考虑脱色率和多糖得率,活性炭去除色素的工艺方便可行,适合于败酱草多糖的脱色。

2.4 体外抗氧化活性实验

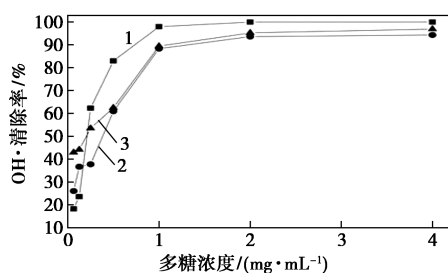
败酱草多糖清除DPPH·活性如图4(a)所示。以Vc为阳性对照,脱色后多糖清除DPPH·的能力明显强于脱色前,且随着多糖浓度的增加,清除能力也不断上升。当浓度为4 mg/mL时,脱色前多糖对DPPH·的清除率为80.3%,脱色后多糖对DPPH·的清除率为92.1%,较脱色前增加了11.8% ($p < 0.05$),且其清除率逐渐接近于Vc。经计算,脱色前多糖清除DPPH·的 IC_{50} 为0.444 mg/mL,脱色后多糖清除DPPH·的 IC_{50} 为0.258 mg/mL,约等于Vc清

除 DPPH· 的 IC_{50} (0.256 mg/mL)。可见败酱草多糖经过脱色处理后清除 DPPH· 的能力得到了大幅提高。

败酱草多糖清除·OH 活性如图 4(b) 所示。以 V_c 为阳性对照,脱色后多糖清除·OH 的能力总体上稍强于脱色前,且清除·OH 的能力与多糖的浓度呈正相关。当浓度低于 0.5 mg/mL 时,脱色后多糖对·OH 的清除能力明显强于脱色前,也强于 V_c ,在浓度为 0.062 5 mg/mL 时,脱色前多糖对·OH 的清除率为 26.1%,脱色后多糖对·OH 的清除率为 42.9%,较脱色前增加了 16.8% ($p < 0.05$),较 V_c 增加了 24.7% ($p < 0.01$)。当浓度大于 0.5 mg/mL 时,脱色前后多糖对·OH 的清除活性基本相当,但低于 V_c 。经计算,脱色前多糖清除·OH 的 IC_{50} 为 0.377 mg/mL,脱色后多糖清除·OH 的 IC_{50} 为 0.304 mg/mL,略小于 V_c 清除·OH 的 IC_{50} (0.332 mg/mL),可见败酱草多糖经脱色处理后,其清除·OH 的活性有明显提高。



(a) 清除 DPPH· 活性



(b) 清除·OH 活性

1— V_c ; 2—脱色前; 3—脱色后

图 4 败酱草多糖抗氧化活性

3 结论

本文运用正交实验比较了活性炭和 H_2O_2 对败酱草多糖的脱色效果,发现活性炭对败酱草多糖的脱色效果整体优于 H_2O_2 。相比 H_2O_2 ,活性炭既能有效去除败酱草多糖中的色素还能很好地保留多糖,同时它无臭、无味、无毒、原料易得、可反复使用、操作简单、成本低、环境友好。因此,活性炭更适合

用于败酱草多糖的脱色,亦适合工业化应用。

在活性炭脱除败酱草多糖色素的基础上,本研究运用体外抗氧化评价体系,初步比较了败酱草多糖脱色前后的抗氧化活性。结果表明,脱色后的败酱草多糖对 DPPH· 和·OH 的清除能力均强于脱色前,且与多糖浓度呈正相关。脱除色素相对提高了败酱草多糖的抗氧化活性,说明发挥抗氧化活性的主要成分是败酱草多糖而非色素。研究中还发现多糖浓度小于 0.5 mg/mL 时,脱色后的败酱草多糖对·OH 的清除能力明显强于阳性对照 V_c ,其 IC_{50} (0.304 mg/mL) 也略小于 V_c 的 IC_{50} (0.332 mg/mL),这说明在低浓度下,败酱草多糖对·OH 具有高选择性的清除能力,也提示败酱草多糖有望作为天然的抗氧化剂用于食品、药品和化妆品等领域。

参考文献

- [1] 李利娜.败酱草多糖的提取工艺研究[J].北方药学,2012,9(1):24-26.
- [2] 程俊文.白花败酱草(*Patrinica villosa* Juss)多糖的研究[D].重庆:西南大学,2007.
- [3] Hu S, Cai W, Ye J, et al. Influence of medicinal herbs on phagocytosis by bovine neutrophils[J]. Zentralbl Veterinarmed A, 2012, 398(5):84-89.
- [4] 谢三都,谢雷明,龚志鹏.苦菜粗多糖的制备及其抗氧化活性的研究[J].农产品加工,2015,385(6):15-22.
- [5] 张凤梅,李洪源,李霞,等.败酱草多糖体外抗呼吸道合胞病毒作用的研究[J].黑龙江医药科学,2006,29(1):48-50.
- [6] Chen L, Ge M D, Zhu Y J, et al. Structure, bioactivity and applications of natural hyperbranched polysaccharides [J]. Carbohydr Polym, 2019, 223. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115076.
- [7] Chakraborty I, Sen I K, Mondal S, et al. Bioactive polysaccharides from natural sources: A review on the antitumor and immunomodulating activities [J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019, 22:101-425.
- [8] Miao J N, Regenstein J M, Qiu J Q, et al. Isolation, structural characterization and bioactivities of polysaccharides and its derivatives from *Auricularia*—A review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 150:102-113.
- [9] Hui H P, Li X Z, Jin H, et al. Structural characterization, antioxidant and antibacterial activities of two heteropolysaccharides purified from the bulbs of *Lilium davidii* var. *unicolor* Cotton [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 133:306-315.
- [10] 李爱臣,房磊.败酱草多糖对运动疲劳大鼠的肝组织保护作用[J].食品研究与开发,2016,37(12):174-177.
- [11] 池爱平,康琛喆,郭欢欢,等.败酱草多糖的组成及抗疲劳与耐缺氧作用[J].食品科学,2014,35(21):212-215.
- [12] 吕品田,孙颖光,刘斌.败酱草多糖的免疫调节作用及对 S_{180} 荷瘤小鼠的影响研究[J].中药材,2017,40(1):212-215.

(下转第 240 页)

及株高(见表 4)。与空白对照组相比,施用脲醛液体缓释肥的西红柿产量增加了 10.44 kg,增幅为 40.70%,平均株高增加了 11.88 cm。空白对照组的植株茎比较细,叶片较小,较多叶子有叶霉病,叶子颜色为浅绿色;施用脲醛组的植株粗壮,叶片茂盛,坐果多,部分叶子有叶霉病,去除染病叶子后,新叶片长势较好,叶片颜色为深绿色。

表 4 不同处理下叶面喷施脲醛缓释肥对西红柿产量和株高的影响

处理方式	产量/kg	增产/kg	增幅/%	平均株高/cm
处理 1	25.65	—	—	98.54
处理 2	33.54	7.89	30.76	100.05
处理 3	36.09	10.44	40.70	110.42

3 结论

新型脲醛液体缓释肥具有以下 4 方面显著优点:①叶面喷施肥料,追肥次数少,节省人力物力;②有效成分分期释放,满足作物各个阶段的生长需求,提高了肥料的利用率;③无有害物质残留、无污染,可完全生物降解,不会对环境产生危害;④生产原料价格低廉,生产工艺简单,无废水、废气、固废产生。新型脲醛液体缓释肥的全氮含量为 28%,检测游离甲醛质量分数小于 0.2%,符合国家规定的脲醛缓释肥料质量标准。脲醛液体缓释肥大田实验结果显示,对农作物喷施浓度为 0.02 kg/L 的脲醛液

体缓释肥,可以提高作物的产量和株高,增加经济效益,值得在农业领域推广使用,促进农业发展。

参考文献

- [1] 倪露.脲甲醛缓释肥的制备及其肥料效应研究[D].北京:中国农业科学院,2016.
- [2] 赵芸,燕子红,范东升,等.脲醛缓释化肥研究进展[J].化肥设计,2019,57(6):6-9.
- [3] 周华敏,陈宝成,王晓琪,等.脲醛缓释肥不同配比对小麦生长及土壤氮素养分的影响[J].水土保持学报,2017,31(1):179-185.
- [4] 周丽凤,刘亚青,毋登辉.新型多营养缓释化肥的制备及养分释放性能研究[J].现代化工,2015,35(2):117-120.
- [5] 黄丽娜,魏守兴.脲甲醛肥料合成及应用研究现状[J].农学学报,2015,5(7):76-80.
- [6] 高志博,王晓宇.缓释肥料脲甲醛的研究进展[J].高师理科学刊,2016,36(4):38-41,45.
- [7] 高苏茂,高进华,周丽,等.高塔脲醛缓释复合肥与种肥同播技术[J].磷肥与复肥,2013,28(2):31-34.
- [8] 周华敏,陈宝成,梁海,等.不同配比脲醛掺混肥对小麦生长及土壤养分的影响[J].化肥工业,2019,46(4):61-66.
- [9] 曲均峰,王国忠,傅送保.脲醛缓释肥对小麦产量及经济效益的影响[J].化肥工业,2016,43(4):93-94,96.
- [10] 曲均峰.脲醛缓释肥在橡胶树上的肥效研究[J].磷肥与复肥,2013,28(5):84-85.
- [11] 曲均峰,赵福军,陈杰,等.脲醛缓释肥质量测定及其在香蕉上的应用研究[J].现代化工,2012,32(4):113-116.
- [12] 曲均峰,赵福军,傅送保.香蕉应用不同氮肥的效果研究[J].广东农业科学,2010,37(9):116-117.
- [13] 曲均峰,傅送保,操斌,等.脲醛缓释肥在菠萝上的效应研究[J].化肥工业,2013,40(3):64-66.■
- [14] 曲均峰,傅送保,操斌,等.脲醛缓释肥在菠萝上的效应研究[J].食品工业科技,2018,39(1):183-188.
- [15] 张凤梅,刘璐,李鑫,等.败酱草多糖提取、纯化、鉴定及其体外抗 RSV 作用研究[J].中药材,2008,31(12):1879-1881.
- [16] 王雅丽,徐长隆,张春宇,等.败酱草中多糖提取和鉴定的研究[J].食品安全导报,2019,2(6):130.
- [17] 尉捷,王丹,王育林.败酱草多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J].世界中医药,2020,15(14):2026-2030.
- [18] 陆文总.异叶败酱草多糖抗宫颈癌作用及机理研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2009.
- [19] 杨辉.北败酱多糖的提取及其抑制亚硝化作用研究[J].湖北农业科学,2014,53(3):654-656.
- [20] 惠和平,封士兰,赵良功,等.红芪多糖的纯化及初步结构鉴定[J].时珍国医国药,2010,21(9):2302-2303.
- [21] 张达成,秦允荣.银耳多糖的活性炭脱色工艺研究[J].广东化工,2019,16(46):40-42.
- [22] 田淑雨,陈韵,鹿士峰,等.灵芝多糖脱色工艺研究[J].食品安全质量检测学报,2019,10(4):912-919.
- [23] 韩艺,王文君,李庆华,等.正交实验法优化平卧菊三七多糖 GPP-20 双氧水脱色工艺研究[J].食品研究与开发,2018,39(23):8-13.
- [24] 胡会刚,赵巧丽,庞振才,等.芒果皮渣多糖脱蛋白和脱色工艺研究[J].食品工业科技,2018,39(1):183-188.
- [25] Chang M, Che X, Jiang R. Research progress in decolorization methods for polysaccharide extracts of traditional Chinese medicines[J]. China Pharmacist, 2017, 20(5): 893-896.
- [26] Shao L, Sun Y, Liang J, et al. Decolorization affects the structural characteristics and antioxidant activity of polysaccharides from *Thelesium chinense Turcz*: Comparison of activated carbon and hydrogen peroxide decolorization[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1084-1091.
- [27] Hui H P, Jin H, Li X Z, et al. Purification, characterization and antioxidant activities of a polysaccharide from the roots of *Lilium davidii var. unicolor Cotton* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 135: 1208-1216.
- [28] Belghith-Fendri L, Chaari F, Jeddou K B, et al. Identification of polysaccharides extracted from pea pod by-products and evaluation of their biological and functional properties [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 116: 947-954.
- [29] 于森,谢春阳,姚成龙,等.黑果腺肋花楸果粗多糖提取及脱色工艺[J].粮食与油脂,2020,33(10):113-116.
- [30] 胡会刚,赵巧丽,庞振才.菠萝皮渣多糖脱蛋白脱色方法研究及其抗氧化活性[J].食品研究与开发,2018,39(24):12-20.■

(上接第 236 页)