

## 刺梨果多糖提取过程中脱蛋白和脱色方法研究

李倩倩<sup>1</sup>, 陈贵元<sup>1,2\*</sup>

(1. 大理大学基础医学院, 云南大理 671000; 2. 云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南大理 671000)

**摘要** [目的] 筛选出刺梨果粗多糖水提醇沉过程中最佳的蛋白质和色素的去除方法。[方法] 以蛋白质脱除率、多糖保留率以及数据加权平均法构成的综合评分为评价指标, 选用三氯乙酸法、三氯乙酸-Sevage 法、三氯乙酸-正丁醇法、Sevage 法、木瓜蛋白酶法、木瓜蛋白酶-Sevage 法、木瓜蛋白酶-三氯乙酸法、木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法和盐酸法 9 种脱蛋白方法对刺梨果粗多糖水提物的脱蛋白效果进行对比; 同时在单因素试验的基础上, 通过正交试验优化三氯乙酸-正丁醇法对刺梨果粗多糖水提物的脱蛋白工艺条件。并以脱色率和多糖保留率为评价指标, 比较过氧化氢溶液与活性炭粉末对刺梨果粗多糖水提物的脱色效果。[结果] 三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白效果最佳, 三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白的最佳工艺条件为样液与试剂体积比为 1:2、三氯乙酸与正丁醇体积比为 1:10、振荡时间为 60 min, 此时脱蛋白率为 78.64%, 多糖保留率为 86.59%。活性炭粉末对刺梨果粗多糖的脱色素和多糖保留率均优于过氧化氢溶液。[结论] 该试验优选出的方法具有实际可操作性, 可有效脱除刺梨果粗多糖中的蛋白质和色素, 最终确定三氯乙酸-正丁醇法和活性炭粉末作为刺梨果粗多糖初步纯化方法, 为进一步研究多糖的色谱分析、结构鉴定、构效关系和生物活性研发提供数据支持。

**关键词** 刺梨; 多糖; 提取; 脱蛋白; 脱色方法; 脱色素; 活性炭

中图分类号 TQ 281 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)11-0162-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.11.042



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**Study on the Method of Deproteinization and Decolorization in the Process of Extracting Polysaccharides from *Rosa roxburghii* Fruit**  
LI Qian-qian<sup>1</sup>, CHEN Gui-yuan<sup>1,2</sup> (1. School of Basic Medical Sciences, Dali University, Dali, Yunnan 671000; 2. Key Laboratory of Insect Biomedicine Research and Development of Yunnan Province, Dali, Yunnan 671000)

**Abstract** [Objective] To screen out the best method for removing protein pigment in the process of water extraction alcohol precipitation of *Rosa roxburghii* fruit crude polysaccharide. [Method] Taking protein removal rate, polysaccharide retention rate and data weighted average method as the evaluation index, 9 kinds of deproteinization methods (trichloroacetic acid method, trichloroacetic acid-Sevage method, trichloroacetic acid-n-butanol method, Sevage method, papain method, papain-Sevage method, papain-trichloroacetic acid method, papain-trichloroacetic acid-n-butanol method hydrochloric acid method) were selected to compare the deproteinization effects of crude polysaccharide water extracts from *Rosa roxburghii* fruit. At the same time, on the basis of single factor experiment, orthogonal experiment was used to optimize the deproteinization process conditions of the water extract of *Rosa roxburghii* fruit crude polysaccharide by trichloroacetic acid-n-butanol method. And the decolorization rate and polysaccharide retention rate were used as evaluation indicators to compare the decolorization effect of hydrogen peroxide solution and activated carbon powder on the water extract of prickly pear fruit polysaccharide. [Result] The deproteinization effect of the trichloroacetic acid-n-butanol method was the best, the best process conditions for the deproteinization of the trichloroacetic acid-n-butanol method were that the volume ratio of sample solution to reagent was 1:2, the volume ratio of trichloroacetic acid to n-butanol was 1:10, and the shaking time was 60 min. At this time, the deproteinization rate was 78.64%, the polysaccharide retention rate was 86.59%. The powdered activated carbon had better depigmentation polysaccharide retention rate of the crude polysaccharides from *Rosa roxburghii* fruit than the hydrogen peroxide solution. [Conclusion] The method selected in this test has practical operability, and can effectively remove the protein and pigment in the crude polysaccharide of *Rosa roxburghii* fruit. Finally, the trichloroacetic acid-n-butanol method and activated carbon powder are determined as the preliminary purification method of *Rosa roxburghii* fruit polysaccharide, which provides data support for further research on chromatographic analysis, structure identification, structure-activity relationship and biological activity research and development of polysaccharides.

**Key words** *Rosa roxburghii*; Polysaccharide; Extraction; Deproteinization; Decolorization method; Depigmentation; Activated carbon

刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt., RRT), 又名送春归, 为蔷薇科蔷薇属多年生落叶小灌木, 广泛分布于云贵高原及攀西高原, 是我国营养价值较高的野生资源之一。刺梨作为具有地域特色的药食同源植物, 最早文学记载于公元 1640 年的《黔书》, 随后《贵州通志》《黔滇记游》《本草便方二亨集》等也对刺梨的产地、种植栽培技术及植物形态等进行了详细描述<sup>[1]</sup>。刺梨的药用价值最早见于古代医学典籍《本草纲目拾遗》, 书中详细记录了刺梨的根、茎、花、叶、果实不同的治疗功效, 其独特的药理作用引起众多学者的广泛关注<sup>[2]</sup>。现代药理学研究发现, 刺梨含有丰富的多糖<sup>[3]</sup>、黄酮<sup>[4]</sup>、单宁<sup>[5]</sup>、有机酸<sup>[6]</sup>、抗坏血酸<sup>[7]</sup>、三萜类<sup>[8]</sup>、SOD<sup>[9]</sup>、 $\beta$ -谷甾醇<sup>[10]</sup>、氨基酸<sup>[11]</sup>及微量元素<sup>[12]</sup>等生物活性物质。

刺梨可溶性多糖含量为 8.62%~10.52% (以鲜果重计)<sup>[13]</sup>, 刺梨多糖(*Rosa roxburghii* Tratt. polysaccharide, R RTP) 不仅作为生物体的结构成分和体内主要的供能和储能物质, 而且广泛参加机体的各项生命活动, 具有免疫调节<sup>[14]</sup>、抗氧化<sup>[15]</sup>、调节肠道菌群结构<sup>[16]</sup>、降血糖<sup>[17]</sup>和降血脂<sup>[18]</sup>等功效, 至此多糖已成为现代医学和医药保健领域关注的焦点, 但是刺梨果多糖水提物中含有色素、蛋白质、单糖、寡糖、无机盐及有机杂质, 不仅影响多糖的初步分离鉴定、后续纯化、结构表征, 而且对具体功效的研发带来很大障碍。因此在保证多糖结构和生物学活性的前提下, 寻求一种脱色水平高、除蛋白效果好的脱色和脱蛋白工艺技术对食品研究与开发至关重要。

**基金项目** 国家自然科学基金项目(31860252, 31660015); 云南省自然科学基金项目(2017FB024)。

**作者简介** 李倩倩(1995—), 女, 河北廊坊人, 硕士研究生, 研究方向: 植物多糖分离提取及功能。\* 通信作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事植物多糖分离提取及功能研究。

**收稿日期** 2021-08-12

目前, 植物多糖传统的脱蛋白方法有 Sevage 法<sup>[19]</sup>、三氯乙酸法<sup>[20]</sup>、酶法<sup>[21]</sup>等, 新型的脱蛋白方法如 FTT 法<sup>[22]</sup>、DAC 法<sup>[23]</sup>、MCM 法<sup>[24]</sup>、CaCl<sub>2</sub> 法<sup>[25]</sup>和树脂吸附法<sup>[26]</sup>等, 也有将 2 种或者 2 种以上方法联用来进行脱蛋白, 称为联用法<sup>[27]</sup>。脱

色方法主要有活性炭法<sup>[28]</sup>、过氧化氢溶液法<sup>[29]</sup>、柱层析法<sup>[30]</sup>和反胶束法<sup>[31]</sup>等。其中活性炭(activated carbon, AC)内部孔隙结构发达,具有比表面积大、吸附强、过滤快、脱色纯度高的优势,并且价格合理、无毒无味,从而广泛应用于环保、食品、冶金、化工等各领域。当活性炭法脱色作用不明显时,需考虑用过氧化氢法脱色。过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)是一种强氧化剂,过氧化氢的漂白作用需要在介质水中电解成H<sup>+</sup>和HO<sub>2</sub><sup>-</sup>,产生氧气和氢氧化钠,过氧化钠同样具有氧化性。多糖液中,色素被游离的HO<sub>2</sub><sup>-</sup>氧化而达到脱色素的目的。基于此,该研究以刺梨果多糖水提物为原料,采用三氯乙酸法、三氯乙酸-Sevage法、三氯乙酸-正丁醇法、Sevage法、木瓜蛋白酶法、木瓜蛋白酶+Sevage法、木瓜蛋白酶+三氯乙酸法、木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法、盐酸法对其进行脱蛋白比较,选择粉末状的活性炭和30%过氧化氢溶液对多糖溶液进行脱色,寻求最佳的脱蛋白和脱色工艺参数,为进一步分离纯化刺梨果多糖提供理论支持。

## 1 材料与方 法

**1.1 试材与试剂** 刺梨果,购自贵州省遵义市产品,购于2020年11月。牛血清白蛋白,上海如吉生物科技有限公司;木瓜蛋白酶(活性≥60万单位/g,批号325A027),北京索莱宝科技有限公司;考马斯亮蓝G-250,碧云天生物技术有限公司;活性炭,上海琪特分析仪器有限公司;D-无水葡萄糖(含量≥99%,批号110833-201506),中国食品药品检定研究院;三氯乙酸、盐酸、正丁醇、30%过氧化氢溶液、氯仿、磷酸氢二钠、柠檬酸、氯化钠、无水乙醇、98%浓硫酸溶液、蒽酮、葡萄糖,天津福晨化学试剂厂,均为分析纯。

**1.2 仪器与设备** SHA-C恒温水浴锅,金坛区杰瑞尔电器有限公司;BT-224S型电子分析天平,北京赛多利斯仪器有限公司;RE-3000型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;754紫外可见分光光度计,上海菁华科学仪器有限公司;TGL-16B高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;SJ-3恒温磁力搅拌器,常州智博仪器制造有限公司;RXH-5-C远红外节能鼓风循环式不锈钢烘箱,上海市崇明实验仪器厂;FD-1型冷冻干燥箱,北京博医康技术有限公司。

## 1.3 试验方法

**1.3.1 刺梨果粗多糖的制备**<sup>[32]</sup>。刺梨干果→烘干→粉碎→脱脂→热水浸提→离心→真空浓缩→醇沉→冷冻干燥→刺梨果粗多糖(RTFP)。

**1.3.2 刺梨果多糖保留率的测定**。采用蒽酮-浓硫酸法<sup>[33]</sup>测定刺梨果多糖的含量。以葡萄糖标准溶液浓度(mg/mL)为横坐标,于620 nm处测得的吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,得到回归方程为 $Y=1.6579X+0.0141$ ( $R^2=0.9994$ ),表明葡萄糖溶液质量浓度在0~0.6 mg/mL与吸光度呈现良好的线性关系。

多糖保留率的计算公式如下:

$$C=\frac{c_2}{c_1}\times 100\% \quad (1)$$

式中,C为多糖保留率(%);c<sub>1</sub>为脱蛋白(脱色素)前刺梨果

多糖的质量浓度(mg/mL);c<sub>2</sub>为脱蛋白(脱色素)后刺梨果多糖的质量浓度(mg/mL)。

**1.3.3 刺梨果多糖脱蛋白率的测定**。采用考马斯亮蓝G-250法<sup>[34]</sup>测定蛋白质含量。以牛血清白蛋白标准品含量(μg/mL)为横坐标,于595 nm处测得的吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,得到回归方程为 $y=0.0555x+0.0101$ ( $R^2=0.9974$ ),表明葡萄糖溶液质量浓度在0~6 μg/mL与吸光度呈现良好的线性关系。

刺梨果多糖脱蛋白效果的评价用脱蛋白率表示,计算公式如下:

$$M=\frac{m_1-m_2}{m_1}\times 100\% \quad (2)$$

式中,M为刺梨果多糖脱蛋白率(%);m<sub>1</sub>为刺梨果多糖脱蛋白前样品中蛋白质的质量浓度(μg/mL);m<sub>2</sub>为刺梨果多糖脱蛋白后样品中蛋白质的质量浓度(μg/mL)。

**1.3.4 刺梨果多糖脱色率的测定**。采用三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白后的刺梨果粗多糖提取液于200~800 nm波长处进行紫外可见光谱扫描,无法直接测定其吸光度。可能是由于刺梨果多糖提取液脱色前后稀释均为橙黄色或者深褐色,根据互补色原理,刺梨果多糖提取液主要吸收蓝色波段(446~464 nm)可见光<sup>[35]</sup>,故选择中心波段作为检测波长,测定刺梨果多糖溶液在450 nm处的吸光度。

刺梨果多糖脱色效果的评价用脱色率表示,计算公式如下:

$$A=\frac{a_1-a_2}{a_1}\times 100\% \quad (3)$$

式中,A为脱色率(%);a<sub>1</sub>为刺梨果多糖溶液通过活性炭脱色前的吸光度;a<sub>2</sub>为刺梨果多糖溶液通过活性炭脱色后的吸光度。

**1.3.5 综合评分**。数据处理采用综合评分加权评分法,分别测定脱蛋白率、脱色率和多糖保留率,将各项指标除以该列最大值,两者的权重均设为50。按照以下公式计算综合评分:

$$B=\frac{A}{A_{\max}}\times 50+\frac{C}{C_{\max}}\times 50 \quad (4)$$

$$D=\frac{M}{M_{\max}}\times 50+\frac{C}{C_{\max}}\times 50 \quad (5)$$

式中,B为脱色率的综合评分(分);A为脱色率(%);A<sub>max</sub>为脱色率的最大值(%);D为脱蛋白率的综合评分(分);M为脱蛋白率(%);M<sub>max</sub>为脱蛋白率的最大值(%);C为多糖保留率(%);C<sub>max</sub>为多糖保留率的最大值(%)。

## 1.3.6 刺梨果多糖脱蛋白方法

**1.3.6.1 不同脱蛋白方法的比较**。配制成为1 mg/mL的刺梨果粗多糖样液,取50 mL于200 mL的锥形瓶中,分别采用9种不同的方法进行脱蛋白比较。

(1)三氯乙酸法。加入50 mL的20%三氯乙酸溶液,1 800 r/min搅拌20 min,静置过夜,6 000 r/min离心15 min,收集上清液测定刺梨果多糖提取液中蛋白质和多糖质量浓

度,计算刺梨果多糖提取液的脱蛋白率和多糖保留率。

(2)三氯乙酸-Sevage法。加入50 mL的10%三氯乙酸溶液和10 mL的Sevage试剂(氯仿:正丁醇体积比=4:1),2 000 r/min 搅拌20 min,6 000 r/min 离心15 min,收集上清液测定刺梨果多糖提取液中蛋白质和多糖质量浓度,计算刺梨果多糖提取液的脱蛋白率和多糖保留率。

(3)三氯乙酸-正丁醇法。加入100 mL三氯乙酸-正丁醇(1:10, V/V)混合液于锥形瓶中,1 800 r/min 搅拌20 min,6 000 r/min 离心15 min,收集上清液测定刺梨果多糖提取液中蛋白质和多糖质量浓度,计算刺梨果多糖提取液的脱蛋白率和多糖保留率。

(4)Sevage法。加入12.5 mL的Sevage试剂(氯仿:正丁醇体积比=4:1),1 600 r/min 搅拌20 min,6 000 r/min 离心15 min,弃去下层有机相和中间层状胶状变形蛋白质层,取上清液分别测定蛋白和多糖含量,计算脱蛋白率和多糖保留率。

(5)木瓜蛋白酶法。称取1%的木瓜蛋白酶加入50 mL的粗多糖溶液中,在20倍体积的pH为6的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液的前提下,酶解温度60℃水浴振荡水解1 h,100℃灭酶10 min后室温冷却,6 000 r/min 离心15 min,取上清液分别测定蛋白质含量和多糖含量,计算脱蛋白率和多糖保留率。

(6)木瓜蛋白酶+Sevage法。量取50 mL的刺梨果多糖水提物置于锥形瓶中,首先按照木瓜蛋白酶法脱蛋白的条件对粗多糖提取液进行脱蛋白处理一次,再用Sevage法对酶解后的粗多糖提取液再次脱蛋白处理,最终获得木瓜蛋白酶-Sevage法脱蛋白处理的上清液,分别测定蛋白质含量和多糖含量,计算脱蛋白率和多糖保留率。

(7)木瓜蛋白酶+三氯乙酸法。量取50 mL的刺梨果多糖水提物置于锥形瓶中,首先按照木瓜蛋白酶法脱蛋白的条件对粗多糖提取液进行脱蛋白处理一次,再用三氯乙酸法对酶解后的粗多糖提取液再次脱蛋白处理,最终获得木瓜蛋白酶-三氯乙酸法脱蛋白处理的上清液,收集上清液测定刺梨果多糖提取液中蛋白质和多糖质量浓度,计算刺梨果多糖提取液的脱蛋白率和多糖保留率。

(8)木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法。依次用木瓜蛋白酶法、三氯乙酸法、正丁醇法脱蛋白,收集上清液测定刺梨果多糖提取液中蛋白质和多糖质量浓度,计算刺梨果多糖提取液的脱蛋白率和多糖保留率。

(9)盐酸法。加入50 mL的1 mol/L盐酸溶液,1 800 r/min 振荡20 min,6 000 r/min 离心15 min,收集上清液测定刺梨果多糖提取液中蛋白质和多糖质量浓度,计算刺梨果多糖提取液的脱蛋白率和多糖保留率。

**1.3.6.2 三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白工艺优化。**选取对三氯乙酸-正丁醇法对刺梨果多糖提取液脱蛋白效果影响较大的3个因素:样液与试剂体积比(A)、三氯乙酸与正丁醇体积比(B)和振荡时间(C),按 $L_9(3^4)$ 正交表(表1)进行正交试验。

表1 三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白正交试验因素和水平

Table 1 Orthogonal test factors and levels for trichloroacetic acid-n-butanol deproteinization

水平 Level	因素 Factor		
	A( $V_{\text{样液}}:V_{\text{试剂}}$ ) $V_{\text{sample solution}}:$ $V_{\text{reagent}}$	B( $V_{\text{三氯乙酸}}:V_{\text{正丁醇}}$ ) $V_{\text{trichloroacetic acid}}:$ $V_{\text{n-butanol}}$	C(振荡时间 Oscillation time//min)
1	1:2	1:5	20
2	1:1	1:10	40
3	2:1	1:20	60

### 1.3.7 刺梨果多糖的脱色方法。

**1.3.7.1 过氧化氢脱色。**量取1 mg/mL刺梨果多糖提取液50 mL,分别加入0.5%、1.0%、1.5%的过氧化氢溶液,置于40℃恒温水浴锅中振荡脱色30 min,之后1 800 r/min 搅拌20 min,6 000 r/min 离心15 min,收集刺梨果多糖脱色后的上清液,测定吸光度和多糖含量,计算不同含量的过氧化氢溶液的脱色后的脱色率和多糖保留率。

**1.3.7.2 活性炭粉末脱色。**活性炭预处理:活性炭经去离子水多次洗涤后,110℃烘干24 h,研磨制备成活性炭粉末,储藏备用。

取50 mL的粗多糖溶液(1 mg/mL),加入干燥至恒重的活性炭粉末,使活性炭粉末在多糖溶液中的终浓度分别为0.5%、1.0%、1.5%,置于40℃恒温水浴锅中振荡脱色30 min,之后1 800 r/min 搅拌20 min,6 000 r/min 离心15 min,收集刺梨果多糖脱色后的上清液,测定吸光度和多糖含量,计算不同含量的活性炭粉末的脱色率和多糖保留率。

## 2 结果与分析

### 2.1 刺梨果粗多糖脱蛋白

**2.1.1 不同脱蛋白方法的比较。**从脱蛋白效果(图1)角度分析,脱蛋白率从大到小依次为木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法>三氯乙酸-正丁醇法>木瓜蛋白酶-三氯乙酸法>木瓜蛋白酶-Sevage法>三氯乙酸-Sevage法>木瓜蛋白酶法>三氯乙酸法>盐酸法>Sevage法,表明酶法和化学法联用脱除刺梨果多糖中蛋白质的效果明显优于单独采用酶法或者化学法脱蛋白效果;木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法和三氯乙酸-正丁醇法对粗多糖中蛋白质的脱除效果较好,脱蛋白率均高于70%,并且前者高于后者。

从多糖保留率(图1)方面分析,多糖保留率从大到小依次为三氯乙酸法-正丁醇法>三氯乙酸-Sevage法>木瓜蛋白酶法>木瓜蛋白酶-Sevage法>木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法>木瓜蛋白酶-三氯乙酸法>Sevage法>三氯乙酸法>盐酸法;三氯乙酸-正丁醇法明显高于木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法,这可能是由于酶法与化学法联用,即使可以使一部分游离蛋白质和结合蛋白质发生水解反应,但是复杂的工艺流程造成多糖过度损失,多糖保留率有所降低。

鉴于此,将脱蛋白率和多糖保留率进行数据加权法综合评分,结果发现,综合评分从高到低依次为三氯乙酸-正丁醇法>木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法>三氯乙酸-Sevage法>木瓜蛋白酶-Sevage法>木瓜蛋白酶-三氯乙酸法>木瓜蛋白酶

酶法>三氯乙酸法>Sevage 法>盐酸法。综上所述,为简化工艺流程,确定三氯乙酸-正丁醇法用于刺梨果多糖提取液的脱蛋白工艺。

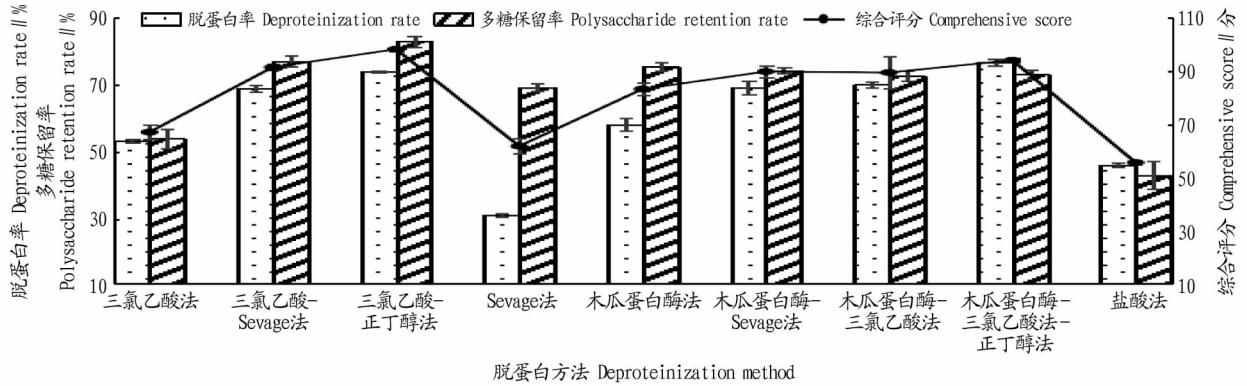


图1 不同脱蛋白方法对脱蛋白率和多糖保留率的影响

Fig. 1 Effects of different deproteinization methods on deproteinization rate and polysaccharide retention rate

**2.1.2 三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白工艺条件优化。**由表 2 可知,影响三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白效果的因素从大到小依次为样液与试剂体积比(A)>三氯乙酸与正丁醇体积比(B)>振荡时间(C),即样液与试剂的体积比对脱蛋白效果影响最大,其次为三氯乙酸与正丁醇的体积比,振荡时间对脱蛋白效果影响最小。对正交试验结果进行方差分析,结果发现,样液与试剂的体积比、三氯乙酸与正丁醇的体积比对刺梨果提取液蛋白质脱除率有极显著影响( $P<0.001$ ),振荡时

间对蛋白质脱除率有显著影响( $P<0.01$ )。

三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白的最佳工艺条件为  $A_1B_2C_3$ , 即样液与试剂的体积比为 1:2,三氯乙酸和正丁醇的体积比为 1:10,振荡时间 60 min。在最佳工艺条件下进行 3 次验证试验,得出脱蛋白率为 78.64%,多糖保留率为 86.59%,综合评分为 98.04 分,表明该试验所确定的最优脱色工艺的参数的真实性和准确性,具有实际意义。

表 2 三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白正交试验结果

Table 2 Orthogonal experiment results of trichloroacetic acid-n-butanol deproteinization

试验序号 Test No.	A	B	C	脱蛋白率 Deproteinization rate / %	多糖保留率 Polysaccharide retention rate / %	综合评分 Comprehensive score / 分
1	1	1	1	69.30	68.05	82.53
2	1	2	2	75.32	84.95	95.60
3	1	3	3	62.73	93.14	91.64
4	2	1	2	66.29	60.73	76.61
5	2	2	3	69.60	65.90	81.58
6	2	3	1	62.67	64.17	76.05
7	3	1	3	65.38	48.66	69.52
8	3	2	1	60.56	61.68	73.31
9	3	3	2	53.63	44.78	59.64
$k_1$	89.93	76.22	77.30			
$k_2$	78.08	83.50	77.28			
$k_3$	67.49	75.78	80.92			
R	22.44	7.72	3.64			

**2.1.3 脱蛋白前后紫外光谱分析。**从刺梨果粗多糖脱蛋白前后紫外吸收光谱(图 2)可以看出,未进行脱蛋白时,刺梨果粗多糖水提物中存在蛋白质和核酸,蛋白质溶液在 275~280 nm 具有一个紫外吸收高峰;核苷、核苷酸和核酸在 240~290 nm 的紫外波段有一个强烈的吸收峰;因此在 250~300 nm 汇合一个共同的吸收峰,说明存在蛋白质和核酸的存在。脱蛋白后的刺梨果粗多糖在 240~290 nm 出现吸收峰降低,表明只有极少的蛋白质和核酸的存在,进一步说明了通过三氯乙酸-正丁醇法对刺梨果粗多糖进行脱蛋白处理,可以达到良好的脱蛋白效果。

**2.2 刺梨果粗多糖脱色方法比较** 从图 3 可以看出,其中活性炭粉末对刺梨果多糖水提物具有良好的脱色效果,其脱色率和多糖保留率均略高于过氧化氢溶液,这可能是由于活性炭粉末的吸附能力强,吸附色素的同时也吸附一定量的多糖,并且活性炭粉末和粗多糖溶液容易形成黏稠状物质,不易分离,造成多糖含量损失;过氧化氢是将有色的物质氧化为无色,并非去除色素,并且过氧化氢属于强氧化剂,氧化色素的同时也将多糖氧化分解,造成多糖含量降低和结构破坏。鉴于此,脱色剂的不同和脱色剂用量的差异均对刺梨果多糖水提物脱色效果有显著差异,由脱色率、多糖保留率、综

合评分为评价指标可知,1.5%的活性炭粉末脱色率为70.87%,多糖保留率为84.06%,综合评分达到96.11分。鉴

于此,最终选择浓度为1.5%的活性炭粉末对刺梨果多糖水提物进行脱色。

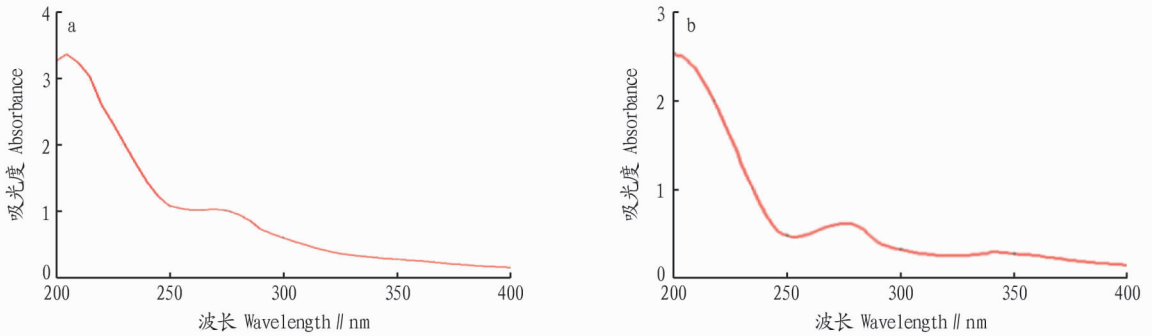


图2 刺梨果多糖脱蛋白前(a)和后(b)紫外吸收光谱

Fig. 2 UV absorption spectra of *Rosa roxburghii* fruit polysaccharide before (a) and after (b) deproteinization

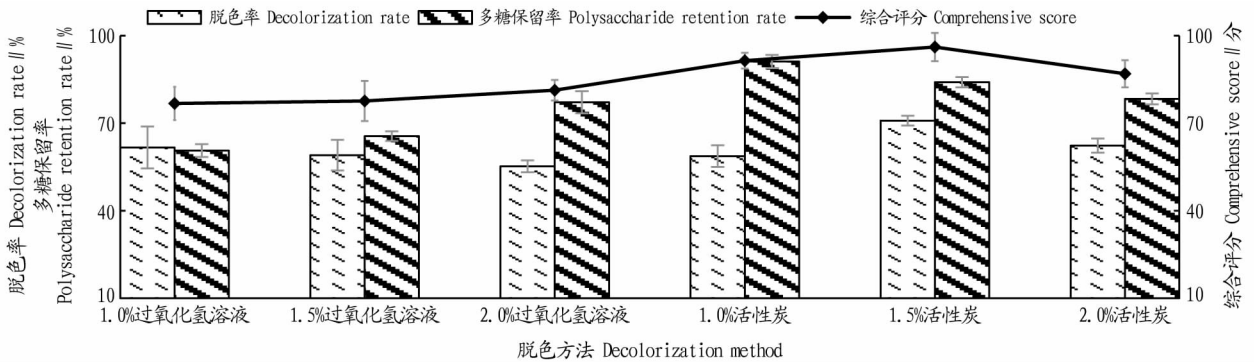


图3 不同脱色方法对脱色率和多糖保留率的影响

Fig. 3 Effects of different decolorization methods on decolorization rate and polysaccharide retention rate

### 3 结论

采用水提醇沉法所得到的植物多糖溶液中常含有一定量的蛋白质和植物色素,不仅影响美观而且影响其纯度。为得到纯度较高的刺梨果精制品,该研究以脱蛋白率、脱色率、多糖保留率以及综合加权平均法计算出的综合评分为指标,采用三氯乙酸法、三氯乙酸-Sevage法、三氯乙酸-正丁醇法、Sevage法、木瓜蛋白酶法、木瓜蛋白酶-Sevage法、木瓜蛋白酶-三氯乙酸法、木瓜蛋白酶-三氯乙酸-正丁醇法和盐酸法9种不同方法对刺梨果多糖提取液进行脱蛋白,结果表明,三氯乙酸-正丁醇法的脱蛋白效果较好。为探索三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白的最佳工艺条件,选取样液与试剂体积比、三氯乙酸与正丁醇体积比、振荡时间3个因素进行正交试验,结果发现3个因素对脱蛋白效果的影响主次顺序为样液与试剂体积比>三氯乙酸-正丁醇体积比>振荡时间,优化后最佳的工艺条件为样液与试剂的体积比为1:2,三氯乙酸与正丁醇的体积比为1:10,振荡时间60 min。在最佳工艺条件下进行3次验证试验,得出脱蛋白质为78.64%,多糖保留率为86.59%,此时综合评分为98.04分,表明正交试验所确定的脱色工艺条件的可靠性。

采用不同质量浓度的过氧化氢溶液和活性炭粉末对刺梨果多糖进行脱色处理,过氧化氢对刺梨果粗多糖脱色效果较差,造成多糖保留率较高,故在脱色剂选择上,应考虑脱色效果和

炭粉末对刺梨果多糖水提物进行脱色。该试验改善了刺梨果多糖提取液的颜色,提高了刺梨果多糖提取液的纯度,对后续刺梨果多糖的进一步研究具有参考价值。

### 参考文献

- [1] 吕佳敏,刘同亭,田瑛. 刺梨的主要医学功效及应用研究进展[J]. 实用医药杂志, 2018,35(4):370-372.
- [2] 代甜甜,杨小生. 刺梨化学成分及药理活性研究进展[J]. 贵阳中医学院学报, 2015,37(4):93-97.
- [3] 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.
- [4] 李志. 正交试验法优化刺梨黄酮提取工艺研究[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2018,38(6):40-45.
- [5] 李志,冉茂乾,焦彦朝. 响应面法优化刺梨中单宁提取工艺研究[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2019,39(2):53-59.
- [6] 安华明,刘明,杨曼,等. 刺梨有机酸组分及抗坏血酸含量分析[J]. 中国农业科学, 2011,44(10):2094-2100.
- [7] 钱志瑶,龚艳丽,梁芳瑜,等. 贵州省刺梨中抗坏血酸含量 HPLC 测定方法优化[J]. 中国果菜, 2021,41(6):120-125.
- [8] 黄姣娥,江晋渝,罗勇,等. 刺梨三萜对人肝癌 SMMC-7721 细胞增殖的影响[J]. 食品科学, 2013,34(13):275-279.
- [9] 付安妮,高明波,冯杰. 刺梨中 SOD 的提取和酶活测定[J]. 广州化工, 2016,44(16):144-146.
- [10] 王怡,李贵荣,朱毅. 刺梨食品研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019,40(18):213-218.
- [11] 芦星森,朱毅. 刺梨中氨基酸随成熟度变化及营养价值分析[J]. 食品研究与开发, 2020,41(22):12-16.
- [12] 周禹佳,樊卫国. 刺梨果渣的营养、保健成分及利用价值评价[J]. 食品与发酵工业, 2021,47(7):217-224.
- [13] 李婷婷,黄名正,唐维媛,等. 刺梨汁中挥发性成分测定及其呈香贡献分析[J]. 食品与发酵工业, 2021,47(4):237-246.

(下转第183页)

塔里木盆地东部干旱次数偏高,其余地区较低;特旱次数呈南多北少的分布趋势。

(2)近 55 年新疆干旱影响范围及干旱强度极差较大,且两者呈正相关。从 1990—2008 年灾情情况来看,2008 年农作物受旱面积最大,2002 年受旱面积最小。农作物平均受旱率与影响范围年际变化具有较高的一致性。

(3)通过 REOF 将新疆分成 3 个模态,第一模态呈北疆与南疆相反格局的特征,其时间系数表明,自 20 世纪 90 年代末期以来,北疆处于较干旱的变化趋势;第二模态高值区位于北疆北部,负值区位于新疆西南部,时间系数表明其经历了干旱缓解期到长期干旱的变化;第三模态表现为新疆东西部呈相反格局的状态,其时间系数表明 20 世纪 80 年代后期干旱趋势得到了明显的缓解。

### 参考文献

[1] 沈国强,郑海峰,雷振锋. 基于 SPEI 指数的 1961—2014 年东北地区气象干旱时空特征研究[J]. 生态学报, 2017, 37(17): 5882—5893.

[2] 张祺,许德合,丁严. 基于 SPEI 和对空立方体的中国近 40 年干旱时空模式挖掘[J]. 干旱地区农业研究, 2021, 39(3): 194—201.

[3] 滕怀颀,冯克鹏. 基于 SPEI 干旱指数的西北地区干旱时空分布[J]. 农业与技术, 2021, 41(8): 887—893.

[4] 杨金虎,张强,王劲松,等. 近 60a 来中国西南春季持续性干旱异常特征分析[J]. 干旱区地理, 2015, 38(2): 215—222.

[5] 李治国,朱玲玲,张延伟,等. 基于 SPI 指数的近 55 年河南省干旱时空变化特征[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(10): 237—242.

[6] 谢坤,丁明军,张华敏,等. 基于 SPEI 指数的鄱阳湖流域近 60 a 干旱时空变化特征[J]. 长江流域资源与环境, 2021, 30(8): 2015—2027.

[7] 成青燕,高晓清,林纾,等. 基于 MCI 指标的甘肃省近 50 年干旱特征分析[J]. 干旱地区农业研究, 2017, 35(1): 211—218.

[8] 宋琳琳,张强,任余龙,等. PDSI 及 sc\_PDSI 干旱指数在中国西南地区适用性分析[J]. 中国沙漠, 2021, 41(2): 242—251.

[9] 沈彦军,李红军,雷玉平. 干旱指数应用研究综述[J]. 南水北调与水利科技, 2013, 11(4): 128—133, 186.

[10] VICENTE-SERRANO S M, BEGUERÍA S, LÓPEZ-MORENO J I, et al. A multiscalar drought index sensitive to global warming: The standardized precipitation evapotranspiration index [J]. Journal of climate, 2010, 23(7): 1696—1718.

[11] 潘素敏,张明军,王圣杰. 新疆夏季云下二次蒸发对雨滴稳定同位素影响的定量研究[J]. 干旱区地理, 2018, 41(3): 488—498.

[12] 姚俊强,毛灼峰,胡文峰,等. 1961—2015 年新疆区域 SPEI 干旱指数数据集[J]. 中国国家冰川冻土沙漠科学数据, 2019, 4(3): 112—121.

[13] 张茵,张喜亮,李金建,等. 基于 SPEI 的四川省盆地季节性干旱时空变化特征分析[J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(5): 242—250, 256.

[14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 气象干旱等级: GB/T 20481—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 气象干旱等级: GB/T 20481—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[16] NORTH G R, BELL T L, CAHALAN R F, et al. Sampling errors in the estimation of empirical orthogonal functions [J]. Monthly weather review, 1982, 110(7): 699—706.

[17] 施能. 气象科研与预报中的多元分析方法[M]. 北京: 气象出版社, 1995.

[18] 魏凤英. 现代气候统计诊断与预测技术[M]. 北京: 气象出版社, 1999.

[19] 程麟钧,王帅,官正宇,等. 中国臭氧浓度的时空变化特征及分区[J]. 中国环境科学, 2017, 37(11): 4003—4012.

[20] 李家启,申双和,刘俊,等. 重庆地区地闪活动空间分布及其趋势分析[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2012, 34(5): 77—84.

[21] 赵海燕,张强,高歌,等. 中国 1951—2007 年农业干旱的特征分析[J]. 自然灾害学报, 2010, 19(4): 201—206.

[22] 新疆维吾尔自治区统计局, 国家统计局新疆调查总队. 新疆统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2018: 33—155.

[23] 姚旭阳,张明军,张宇,等. 中国西北地区气候转型的新认识[J/OL]. 干旱区地理, 2021—10—18 [2021—11—22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/65.1103.X.20211018.1255.004.html>.

[24] 李明,孙洪泉,苏志诚. 中国西北气候干湿变化研究进展[J]. 地理研究, 2021, 40(4): 1180—1194.

(上接第 166 页)

[14] 路茂涛,鲍淑娟. 刺梨多糖对小鼠抗应激功能和免疫功能的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2002, 19(2): 141—142.

[15] CHEN G J, KAN J Q. Characterization of a novel polysaccharide isolated from *Rosa roxburghii* Tratt fruit and assessment of its antioxidant *in vitro* and *in vivo* [J]. International journal of biological macromolecules, 2018, 107: 166—174.

[16] WANG L, LI C, HUANG Q, et al. *In vitro* digestibility and prebiotic potential of a novel polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt fruit [J]. Journal of functional foods, 2019, 52: 408—417.

[17] 王峙力,王鑫,韩烁,等. 甜玉米芯硒多糖的制备及对淀粉酶抑制作用[J]. 包装工程, 2021, 42(21): 33—41.

[18] WU P H, HAN S C, WU M H. Beneficial effects of hydroalcoholic extract from *Rosa roxburghii* Tratt fruit on hyperlipidemia in high-fat-fed rats [J]. Acta cardiologica sinica, 2020, 36(2): 148—159.

[19] XIONG Q P, HUANG S, CHEN J H, et al. A novel green method for deproteinization of polysaccharide from *Cipangopaludina chinensis* by freeze-thaw treatment [J]. Journal of cleaner production, 2017, 142: 3409—3418.

[20] HUANG G L, CHEN Y, WANG X Q. Extraction and deproteinization of pumpkin polysaccharide [J]. International journal of food sciences and nutrition, 2011, 62(6): 568—571.

[21] 宁奇,孙培冬,曹光群,等. 山药粘液质多糖的酶法脱蛋白工艺及其性能研究[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(9): 118—124.

[22] 王琚,董文宾,杨美莲,等. 富硒茶中硒蛋白冻融法辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 211—215.

[23] ZHANG L M, ZHANG Q, ZHENG Y Q, et al. Study of Schiff base formation between dialdehyde cellulose and proteins, and its application for the

deproteinization of crude polysaccharide extracts [J]. Industrial crops & products, 2018, 112: 532—540.

[24] SONG Z Y, HU Y D, QI L K, et al. An effective and recyclable deproteinization method for polysaccharide from oyster by magnetic chitosan microspheres [J]. Carbohydrate polymers, 2018, 195: 558—565.

[25] EGIRANI D, LATIF M T, WESSEY N, et al. Preparation and characterization of powdered and granular activated carbon from *Palmae* biomass for mercury removal [J]. Applied water science, 2021, 11(1): 1—11.

[26] 朱晟,朱家文,陈葵. 树脂吸附法从发酵液中提取红霉素的工艺研究[J]. 化学工程, 2017, 45(1): 22—26.

[27] HATANO K I, KIKUCHI S, NAKAMURA Y, et al. Novel strategy using an adsorbent-column chromatography for effective ethanol production from sugarcane or sugar beet molasses [J]. Bioresource technology, 2009, 100(20): 4697—4703.

[28] 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, 46(16): 40—42.

[29] 方晓晖,但德苗,钱时权,等. 红皮火龙果皮多糖过氧化氢脱色工艺及抑菌活性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(1): 149—153, 181.

[30] 张晓萌,张发宇,余金卫,等. 粉末活性炭联合柱层析法纯化藻蓝蛋白的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(4): 554—558.

[31] 李松丽. 反胶束技术萃取茶多糖[D]. 上海: 华东理工大学, 2012: 63.

[32] 周笑犁,王瑞,高逢明,等. 刺梨果渣膳食纤维的体外吸附性能[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(2): 187—191.

[33] 张妍,刘太林. 苯酚-硫酸法与萘酚-硫酸法测定麦冬中麦冬多糖含量的比较研究[J]. 现代食品, 2018(18): 95—102.

[34] 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.

[35] 陈穆彦,赵文阳,王云峰,等. 刺梨多糖脱色工艺研究[J]. 微量元素与健康研究, 2012, 29(5): 19—20.