

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241121003

引用格式: 陈衍真, 满文娟, 程雷娜, 等. 响应面法优化肉苁蓉多糖提取液的脱色工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 94–103.

CHEN YZ, MAN WJ, CHENG LN, *et al.* Optimization of decolorization process and antioxidant activity of *Cistanche deserticola* polysaccharide extract by response surface methodology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 94–103. (in Chinese with English abstract).

响应面法优化肉苁蓉多糖提取液的脱色工艺及其抗氧化活性研究

陈衍真¹, 满文娟¹, 程雷娜¹, 王淑娴^{2*}, 魏鉴腾^{1,3*}, 曾祥俊⁴

(1. 青岛农业大学特种食品研究院, 青岛 266109; 2. 山东省海洋科学研究院, 青岛 266104; 3. 青岛特种食品研究院, 青岛 266109; 4. 内蒙古大漠魂生物科技有限公司, 阿拉善 750300)

摘要: **目的** 优化肉苁蓉多糖的脱色工艺并探究其抗氧化活性。**方法** 以活性炭为脱色剂, 分别考察了活性炭用量、脱色温度、脱色时间和 pH 4 个因素对脱色率和多糖回收率的影响, 在单因素实验的基础上, 利用响应面法优化肉苁蓉多糖提取液的脱色工艺。利用体外抗氧化活性评价法, 测定肉苁蓉多糖的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine, DPPH)自由基清除能力、总还原能力、羟自由基清除能力和 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, ABTS]阳离子自由基清除能力。**结果** 肉苁蓉多糖提取液最优脱色工艺条件为: 活性炭用量 20%, 脱色温度 37 °C, 脱色时间 49 min, pH 5.03, 在此条件下, 肉苁蓉多糖的脱色率为 62.66%, 多糖回收率为 96.16%。脱色后, 肉苁蓉多糖的 DPPH 自由基和羟自由基清除能力显著提高, 而 ABTS 阳离子自由基清除能力明显下降。**结论** 该脱色工艺操作简单, 脱色率和多糖回收率高, 得到的肉苁蓉多糖具有重要的应用价值, 为产品开发提供依据。

关键词: 肉苁蓉多糖; 脱色; 响应面法; 抗氧化活性

Optimization of decolorization process and antioxidant activity of *Cistanche deserticola* polysaccharide extract by response surface methodology

CHEN Yan-Zhen¹, MAN Wen-Juan¹, CHENG Lei-Na¹, WANG Shu-Xian^{2*}, WEI Jian-Teng^{1,3*}, ZENG Xiang-Jun⁴

(1. Special Food Research Institute, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. Marine Science Research Institute of Shandong Province, Qingdao 266104, China; 3. Qingdao Special Food Research Institute, Qingdao 266109, China; 4. Inner Mongolia Damohun Biotech Co., Ltd., Alashan 750300, China)

收稿日期: 2024-11-21

基金项目: 中央引导地方科技发展资金(黄河流域协同科技创新)项目(YDZX2024028); 阿拉善盟科技计划项目(AMKJ2023-01, AMKJ2024-03); 山东省重点研发计划项目(2023TZX054)

第一作者: 陈衍真(2000—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品加工。E-mail: 1091773001@qq.com

*通信作者: 王淑娴(1982—), 女, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为水产动物病害防治与绿色渔药研发。E-mail: wangsx_2008@yeah.net
魏鉴腾(1980—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品功能因子研究。E-mail: weijt@163.com

ABSTRACT: Objective To optimize the decolorization process of *Cistanche deserticola* polysaccharides and explore their antioxidant activity. **Methods** Using activated carbon as a decolorizing agent, the effects of 4 factors including activated carbon dosage, decolorization temperature, decolorization time, and pH on decolorization rate and polysaccharide recovery rate were investigated. Based on single factor experiments, the decolorization process of *Cistanche deserticola* polysaccharide extract was optimized using response surface methodology. Using an *in vitro* antioxidant activity evaluation method, the free radical scavenging ability of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine (DPPH), total reducing ability, hydroxyl radical scavenging ability, and 2,2'-azino bis(3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) cation free radical scavenging ability of the polysaccharides from *Cistanche deserticola* were determined. **Results** The optimal decolorization process conditions for the extract of polysaccharides from *Cistanche deserticola* were as follows: Active carbon dosage 20%, decolorization temperature 37 °C, decolorization time 49 min, pH 5.03. Under these optimal conditions, the decolorization rate and polysaccharide recovery rate were 62.66% and 96.16%, respectively. After decolorization, the capabilities of scavenging DPPH radical and hydroxyl free radical was significantly increased, while the capabilities of scavenging ABTS anion radical was significantly decreased. **Conclusion** The decolorization process is easy to operate, with good decolorization effects and polysaccharide recovery rate. It has important application value and provides basis for the later research and development of *Cistanche deserticola* polysaccharide.

KEY WORDS: *Cistanche deserticola* polysaccharide; decolorization; response surface methodology; antioxidant activity

0 引言

肉苁蓉是列当科、肉苁蓉属高大草本植物,又名苁蓉、地精、金笋等,俗称为大芸,具有“沙漠人参”的美誉,主要分布在中国内蒙古、宁夏、甘肃及新疆地区。肉苁蓉始载于《神农本草经》,在《本草纲目》《日华子本草》亦有记载,是常用的补肾壮阳中药,具有较高的营养价值和药用价值^[1-2]。据《中华人民共和国药典》记载,肉苁蓉具有补肾阳、益精血、润肠通便等功效。现代药理学研究表明,肉苁蓉具有抗氧化^[3]、抗疲劳^[4]、补肾^[5]、润肠通便^[6]、保护神经^[7]、抗肿瘤^[8]、抗衰老^[9]等诸多药理作用。肉苁蓉含有多种化学成分,主要包括多糖、苯乙醇苷、黄酮、氨基酸、无机微量元素等^[10-13]。2023年11月9日,肉苁蓉被列入“既是食品又是中药材的物质”(卫计委2023年第9号公告),标志着肉苁蓉不仅可以作为药材使用,还可以作为食品使用,从而增加了肉苁蓉的应用范围,对于肉苁蓉产业的发展具有非常重要的意义。

多糖是肉苁蓉中的重要活性成分,研究发现肉苁蓉多糖主要由岩藻糖、阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、果糖、核糖、葡萄糖醛酸等组成,其中葡萄糖、果糖含量相对较高^[14]。文献报道肉苁蓉多糖通常采用水提醇沉法制备^[15],其具有抗氧化^[11]、抗衰老^[9]和抗肿瘤^[8]等活性。前期研究发现,植物源多糖通常颜色较深,呈棕黄色或褐色^[16],直接用于后续研发易引起产品感官不适,降低了植物源多糖的商品价值和市场需求,也不利于产品

的深度开发利用,因此优化脱色工艺,改善植物源多糖色泽,是必要的工艺研究。脱色是工业生产中产品精制的主要工艺之一,目前常用的脱色剂有活性炭、大孔树脂、强碱性阴离子树脂、复合吸附剂等^[17-19]。其中活性炭是无序微孔结构,比表面积大,因其具有化学性质稳定,耐高温、耐酸碱,良好的吸附性能,价格低廉等优点在脱色工艺中广泛使用^[20],脱色工艺能够解决植物多糖的色泽问题,但是对于其活性也会产生一定的影响^[16]。

本研究以肉苁蓉多糖提取液为研究对象,以活性炭为脱色剂,考察了脱色温度、脱色时间、活性炭用量、pH对脱色率和多糖回收率的影响,在单因素实验结果基础上,利用响应面法优化脱色工艺,结合实际生产的可行性,确立最佳的工艺参数,并对肉苁蓉抗氧化活性进行了评价,为肉苁蓉多糖脱色工艺的优化、产品的后续开发和高值化利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

肉苁蓉(内蒙古大漠魂生物科技有限公司);肉苁蓉多糖提取液由本实验室利用水提醇沉的方法制备;活性炭(分析纯,邵武鑫森碳业有限公司);浓硫酸、苯酚、葡萄糖、盐酸、氢氧化钠、95%乙醇、无水乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

WD-2102A型自动酶标仪(北京市六一仪器厂);Sartorius BSA224S电子分析天平(精度0.0001 mg)、

Sartorius PB-10 pH 计(北京赛多利斯科学仪器有限公司); L550 台式低速离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司); HWS26 型电热恒温水浴锅、DZF-6020 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程

肉苁蓉粉碎后,按 1:20 (g/mL)的料液比加入纯水回流提取 1.0 h,离心得到提取液,体积浓缩至 1/10,加入 3 倍体积的无水乙醇,混匀后,过夜沉淀,6000 r/min 离心 10 min 收集沉淀,肉苁蓉多糖得率为 7.34%,多糖纯度为 38.11%。肉苁蓉多糖溶于水后,与活性炭充分混匀后,静置,12000 r/min 离心 15 min,取上清液滤膜过滤,过滤液测定脱色率和多糖回收率。

1.2.2 脱色率的测定

根据文献中脱色率的测定方法^[19],选择 450 nm 作为检测波长,在此波长下用紫外分光光度法测定肉苁蓉多糖溶液脱色前后的吸光度值,按公式(1)计算溶液脱色率:

$$\text{脱色率}/\% = [(A_{\text{脱色前}} - A_{\text{脱色后}}) / A_{\text{脱色前}}] \times 100\% \quad (1)$$

式中: $A_{\text{脱色前}}$ 和 $A_{\text{脱色后}}$ 分别为脱色前后肉苁蓉多糖提取液的吸光度。

1.2.3 多糖回收率的测定

标准曲线的绘制:采用苯酚-硫酸法测定,精密称取 105 °C 下干燥至恒重的葡萄糖标准品约 0.0500 g,定容至 50 mL 容量瓶中,即得标准品储备液。再精密量取标准品储备液 1.0 mL,定容至 10 mL 容量瓶中,即得 0.1 mg/mL 标准品溶液。分别精密量取 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 μL 葡萄糖标准溶液,加入 1.5 mL 离心管中,依次加入蒸馏水至体积为 100 μL ;另用 1.5 mL 离心管取 100 μL 蒸馏水作空白对照溶液。然后每管分别加入 100 μL 5% 苯酚溶液,吹打混匀,再迅速加入 500 μL 的浓硫酸,振荡 3 min,静置 35 min 后,分别移取 200 μL 反应溶液加入 96 孔板中,用自动酶标仪在 490 nm 处检测吸光度值,以吸光度值为纵坐标(Y)、葡萄糖质量浓度(X , $\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标绘制标准曲线,得到的标准曲线方程为 $Y=5.507X-0.01$, $r^2=0.992$ 。

多糖含量测定:精密量取 100 μL 稀释后的肉苁蓉多糖提取液于 1.5 mL 离心管中,按上述方法测定溶液吸光度值,通过标准曲线计算多糖的浓度。

多糖回收率的测定:采用上述方法测定脱色前后肉苁蓉多糖的质量,按公式(2)计算多糖回收率:

$$\text{多糖回收率}/\% = (m_{\text{脱色后}} / m_{\text{脱色前}}) \times 100\% \quad (2)$$

式中: $m_{\text{脱色前}}$ 和 $m_{\text{脱色后}}$ 分别为脱色前后肉苁蓉多糖的质量, g。

1.2.4 单因素实验设计

分别考察活性炭用量、脱色温度、脱色时间、pH 4 个因素对肉苁蓉多糖提取液的脱色率、多糖回收率的影响。

固定脱色时间 30 min、脱色温度 50 °C、pH 5.03(样品测定值),考察活性炭用量对脱色率和多糖回收率的影响;固定活性炭用量 20% ($m:m$)、脱色时间 30 min、pH 5.03,考察脱色温度对脱色率和多糖回收率的影响;固定活性炭用量 20%、脱色温度 50 °C、pH 5.03,考察脱色时间对脱色率和多糖回收率的影响;固定活性炭用量 20% ($m:m$)、脱色温度 50 °C、脱色时间 30 min,考察 pH 对脱色率和多糖回收率的影响。

1.2.5 响应面优化实验设计

根据单因素实验确定的最优条件范围,以脱色率、多糖回收率为评价指标,采用 Box-Behnken 实验设计方法对肉苁蓉多糖提取液脱色条件进行 4 因素 3 水平设计,见表 1。

表 1 响应面实验
Table 1 Response surface methodology experiment

水平	因素			
	A 活性炭用量 /%	B 脱色时间 /min	C 脱色温度 /°C	D pH
-1	10	40	30	4
0	20	50	40	5
1	30	60	50	6

1.2.6 肉苁蓉多糖的抗氧化活性的测定

(1)肉苁蓉多糖 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除能力的测定

根据阚金涛等^[21]的方法稍加改进,0.5 mL 1.0 mg/mL 的多糖水溶液与 2.4 mL 的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine, DPPH)乙醇溶液(0.1 mmol/L)混匀后,加入 1.1 mL 蒸馏水于 37 °C 避光反应 30 min,取反应液在 517 nm 处测吸光度,测定 1.0 mg/mL 脱色前后的肉苁蓉多糖的 DPPH 自由基清除率。DPPH 自由基清除率计算如公式(3)所示:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_1 为样品测定管的吸光值; A_2 为无水乙醇代替 DPPH 溶液的吸光值; A_0 为将样品换为蒸馏水测得的吸光度。

(2)肉苁蓉多糖总还原能力的测定

参考陆雪等^[22]的方法,配制 1.0 mg/mL 脱色前后的肉苁蓉多糖,将 5 μL 的样品和 180 μL 的铁离子还原/抗氧化能力法(ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)工作液加入到 96 孔酶标板中,振荡均匀,于 37 °C 下反应 5 min,测定 593 nm 下的吸光度值,以 FeSO_4 标准溶液的浓度表示肉苁蓉多糖的总还原能力。

(3)肉苁蓉多糖羟自由基清除能力的测定

根据文献^[23]中的方法,参照羟自由基清除率测定试剂盒说明书步骤进行,配制 1.0 mg/mL 脱色前后的肉苁蓉

多糖,蒸馏水代替过氧化氢得到对照组吸光度 $A_{\text{对照}}$,蒸馏水代替样品得到空白组吸光度 $A_{\text{空白}}$,在 550 nm 处测定吸光值并计算羟自由基清除率。羟自由基清除率计算如公式(4)所示:

$$\text{羟自由基清除率}/\% = [(A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})] \times 100\% \quad (4)$$

式中: $A_{\text{测定}}$ 为样品组吸光值; $A_{\text{对照}}$ 为对照组吸光值; $A_{\text{空白}}$ 为空白组吸光值。

(4)肉苁蓉多糖 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐阳离子自由基清除能力的测定

根据文献[24]中的方法,参照 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, ABTS]阳离子自由基清除能力检测试剂盒说明书步骤进行,配制 1.0 mg/mL 脱色前后的肉苁蓉多糖,取 10 μL 样品与 20 μL 试剂四工作液和 170 μL ABTS 工作液混合均匀,于室温下避光反应 6 min,去离子水做空白对照。测定 405 nm 下的吸光度值,ABTS 阳离子自由基清除率计算如公式(5)所示:

$$\text{ABTS 阳离子自由基清除率}/\% = [(B_{\text{空白}} - B_{\text{测定}}) / B_{\text{空白}}] \times 100\% \quad (5)$$

式中: $B_{\text{空白}}$ 表示蒸馏水与 ABTS 溶液反应后的吸光度值; $B_{\text{测定}}$ 表示样品与 ABTS 溶液反应后的吸光度值。

1.3 数据处理

采用 SigmaPlot 12.5 软件作图,采用 Design Expert 8.0.6 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 活性炭用量对肉苁蓉多糖提取液脱色效果的影响

活性炭脱色属于吸附脱色,其颗粒表面有着大量空隙和孔道,可强烈吸附色素分子,同时也会吸附溶液中多糖分子,造成多糖的损失^[25]。由图 1A 可得,随着活性炭用量的增加,脱色率逐渐增加,但当活性炭用量高于 10% 时,脱色率增长趋势变缓;活性炭用量低于 20%,多糖回收率逐渐增大,高于 20% 多糖回收率呈降低的趋势。活性炭用量在 20% 时,脱色效果较好,考虑到实际生产中的操作和成本因素,故选择 10%、20% 和 30% 作为响应面实验的活性炭用量水平。

2.1.2 脱色时间对肉苁蓉多糖提取液脱色效果的影响

活性炭吸附色素分子需要一定的时间,由图 1B 可得,10~50 min 内,脱色率整体上呈缓慢升高的趋势,脱色时间多于 50 min 时,脱色率反而下降。活性炭的脱色是一个吸附与解析的动态过程,色素分子解析加快,作用时间过长,色素分子解析量增大,因此造成了脱色率下降的现象。多糖回收率整体呈缓慢下降的趋势,可能原因是溶液中多糖的含量远大于活性炭表面吸附量,减小了多糖吸附速率与解析速率的差值^[26]。在本研究中,虽然前 30 min,脱色率效果能够接受,回收率也比较高,但是实际生产操作过程中,很难在 30 min 内处理大量样品,因此此处考虑到实际生产情况,选择 40、50 和 60 min 作为响应面实验的脱色时间水平。

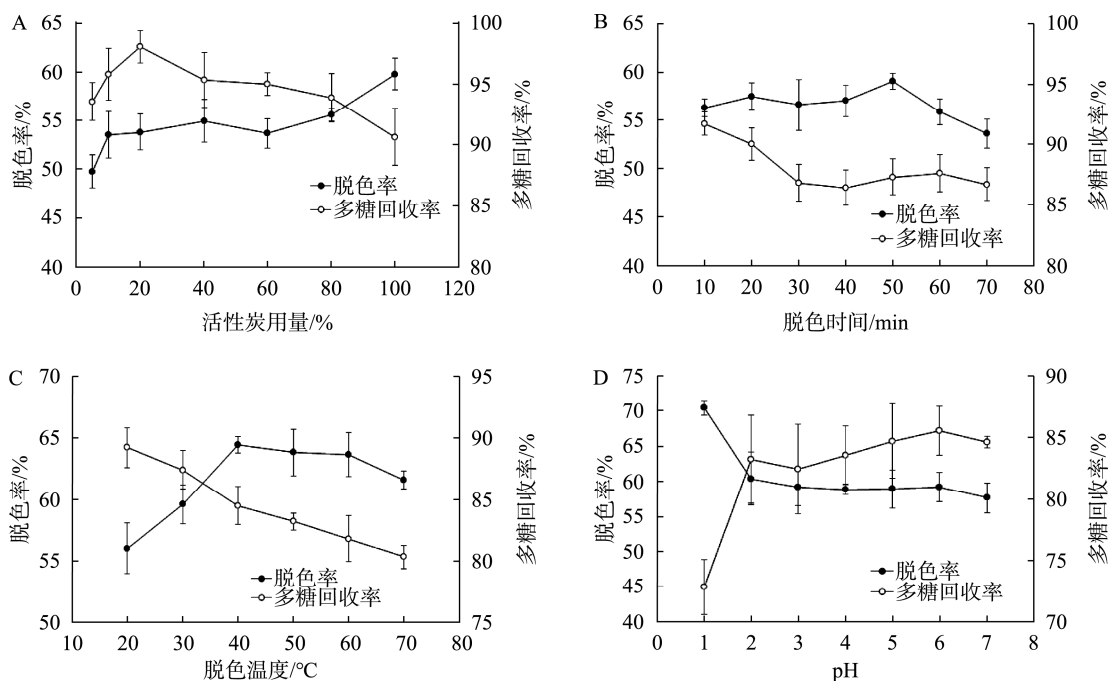


图 1 活性炭用量、脱色时间、脱色温度和 pH 对肉苁蓉多糖提取液脱色效果的影响

Fig.1 Influence of activated carbon concentration, decolorization time, decolorization temperature and pH on decolorization effects of *Cistanche deserticola* polysaccharide

2.1.3 脱色温度对肉苕蓉多糖提取液脱色效果的影响

由图 1C 可知, 20~40 °C 范围内, 随着脱色温度升高, 肉苕蓉脱色率逐渐增大; 脱色温度 40 °C 时, 脱色率和多糖回收率分别为 64.39% 和 84.49%; 脱色温度高于 40 °C 时脱色率呈下降趋势, 可能原因是脱色温度过高, 影响活性炭对色素的吸附, 从而导致脱色效果减弱。随着脱色温度的升高, 肉苕蓉多糖回收率缓慢下降, 脱色温度的小幅变化对活性炭吸附多糖的影响不大^[11]。在 30~50 °C 范围内, 质量回收率也处于相对高的水平, 考虑到实际生产过程中的耗能, 因此选择 30、40 和 50 °C 作为响应面实验的脱色温度水平。

2.1.4 pH 对肉苕蓉多糖提取液脱色效果的影响

活性炭吸附脱色过程需要 H⁺ 的参与, 适当提高溶液中 H⁺ 的浓度, 可以提高脱色率^[27]。由图 1D 可知, 随着 pH 的增加, 肉苕蓉脱色率整体呈下降趋势, 而多糖回收率随着 pH 增大逐渐增加, 可能 pH 较低影响多糖的结构, 从而降低了多糖回收率; 当 pH 在 4~7 范围内, 脱色率下降不明显, 多糖回收率较高, 结合样品液 pH 的测定值为 5.03, 在工业生产中, 若选择 pH 为 5.03 作为最佳 pH, 可以避免酸碱的使用, 降低成本, 且有利于环境的保护。因此, 选择 pH 4、5 和 6 作为响应面实验的 pH 水平。

2.2 响应面法优化肉苕蓉多糖提取液脱色工艺

2.2.1 响应面优化实验结果

实验结果见表 2, 方差分析结果见表 3。由表 3 可知, 以脱色率、多糖回收率为响应值的响应面拟合模型中, 脱色率(Y_1)、多糖回收率(Y_2)模型的 P 均小于 0.01, 差异极显著, 则模型有意义; 失拟项的 P 均大于 0.05, 差异不显著, 说明该模型的拟合值与实际值的拟合度较好, 可以用来预测实验结果并确定最佳工艺条件; Y_1 、 Y_2 的相关系数 R^2 分别为 0.8633、0.9308, 说明响应值的拟合值至少可以预测 86.33%、93.08% 的实验结果, 误差小, 具有良好的预测作用。

经多元回归拟合, 结合方差分析结果可得肉苕蓉多糖提取液的脱色率(Y_1), 多糖回收率(Y_2)关于活性炭用量、时间、温度、pH 的二次多项式回归模型分别为:

$$Y_1 = 61.21 + 0.10A - 0.22B - 0.44C - 0.29D - 0.03AB + 0.10AC - 0.24AD + 0.07BC - 0.07BD - 3.08A^2 - 1.27B^2 - 1.09C^2 - 1.82D^2;$$

$$Y_2 = 97.93 + 0.12A - 0.41B - 0.54C - 0.30D - 0.04AB - 0.08AC - 0.13AD + 0.08BC + 0.04BD + 0.04CD - 3.78A^2 - 1.15B^2 - 1.51C^2 - 2.10D^2。$$

此外响应值的二次模型差异极显著, 因素 C 、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对肉苕蓉多糖提取液的脱色率影响显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 因素 B 、 C 、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对肉苕蓉多糖提取液的多糖回收率影响显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明考察因素与响应值之间并不是简单的线性关系。

表 2 响应面优化实验结果

Table 2 Results of response surface experiments

实验号	A 活性炭用量/%	B 脱色时间/min	C 脱色温度/°C	D pH	Y_1 /%	Y_2 /%
1	0	0	1	1	57.66	94.60
2	0	1	0	-1	57.35	93.46
3	1	1	0	0	57.27	92.64
4	-1	-1	0	0	57.28	93.13
5	0	0	1	-1	58.78	94.89
6	-1	0	0	1	55.45	91.21
7	1	0	1	0	56.57	92.37
8	0	0	0	0	61.68	98.17
9	0	-1	-1	0	59.09	96.03
10	-1	1	0	0	56.96	92.38
11	0	1	-1	0	58.69	94.91
12	0	0	-1	1	58.58	94.95
13	0	-1	0	-1	57.93	94.47
14	-1	0	0	-1	56.12	91.94
15	0	1	0	1	57.92	94.21
16	-1	0	1	0	56.61	92.62
17	0	0	0	0	60.78	97.85
18	0	0	-1	-1	59.89	96.43
19	1	0	-1	0	57.16	93.60
20	0	0	0	0	60.91	97.54
21	0	0	0	0	61.17	98.19
22	1	0	0	1	55.41	91.35
23	-1	0	-1	0	57.46	93.42
24	0	-1	0	1	58.77	94.92
25	0	0	0	0	61.34	97.96
26	0	1	1	0	57.91	94.23
27	1	0	0	-1	56.95	92.63
28	1	-1	0	0	57.61	93.57
29	0	-1	1	0	58.13	94.79

2.2.2 双因素间交互作用对脱色率的影响

使用 Design Expert 8.0.6 软件对影响因素进行双因素间交互效应分析, 绘制响应面 3D 图, 能直观分析各影响因素中双因素的交互作用及对响应值的影响。由图 2a~f 可知, 随着各交互因素添加量的增加, 肉苕蓉多糖脱色率呈现先增大后减小的趋势, 活性炭用量与其他几个因素之间的变化程度较大, 表明两两因素的交互作用较强; 而脱色温度与脱色时间、pH 与脱色温度、pH 与脱色时间之间的变化程度较小, 表明两两因素间的交互作用相对较弱。

2.2.3 双因素间交互作用对多糖回收率的影响

由图 3a~f 可知, 随着各交互因素添加量的增加, 肉苕蓉多糖的回收率呈现先增大后减小的趋势, 活性炭用量与其他几个因素之间的变化程度较大, 表明两两因素的交互作用较强; 而脱色温度与脱色时间、pH 与脱色温度、pH 与脱色时间之间的变化程度较小, 表明两两因素之间的交互作用相对较弱。

表 3 回归模型的方差分析
Table 3 Variance analysis of regression model

来源	系数		F		平方和		P	
	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂
模型			13.64	27.93	78.29	114.35	<0.0001**	<0.0001**
截距	61.21	97.93						
A	0.10	0.12	0.28	0.73	0.11	0.21	0.61	0.41
B	-0.22	-0.41	1.24	6.44	0.51	1.89	0.29	0.00**
C	-0.44	-0.54	5.71	12.05	2.34	3.52	0.03*	0.02*
D	-0.29	-0.30	2.49	3.79	1.04	1.11	0.14	0.07
AB	-0.03	-0.04	0.01	0.02	0.00	0.00	0.92	0.77
AC	0.10	-0.08	0.09	0.09	0.04	0.03	0.77	0.89
AD	-0.24	-0.13	0.50	0.19	0.21	0.06	0.49	0.67
BC	0.07	0.08	0.04	0.09	0.02	0.03	0.84	0.77
BD	-0.07	0.04	0.04	0.02	0.02	0.00	0.84	0.89
CD	0.00	0.04	0.00	0.02	0.00	0.00	1.00	0.89
A ²	-3.08	-3.78	150.30	315.67	61.65	92.37	<0.0001**	<0.0001**
B ²	-1.27	-1.15	25.59	50.83	10.50	14.87	0.0002**	0.0001**
C ²	-1.09	-1.51	18.38	28.69	7.53	8.39	0.0008**	<0.0001**
D ²	-1.82	-2.10	52.51	96.75	21.55	28.30	<0.0001**	<0.0001**
残差					5.75	4.10		
失拟项			4.18	5.42	5.24	3.82	0.09	0.09
误差					0.50	0.29		
总和					84.04	118.48		

注: *代表差异显著(P<0.05); **代表差异极显著(P<0.01)。

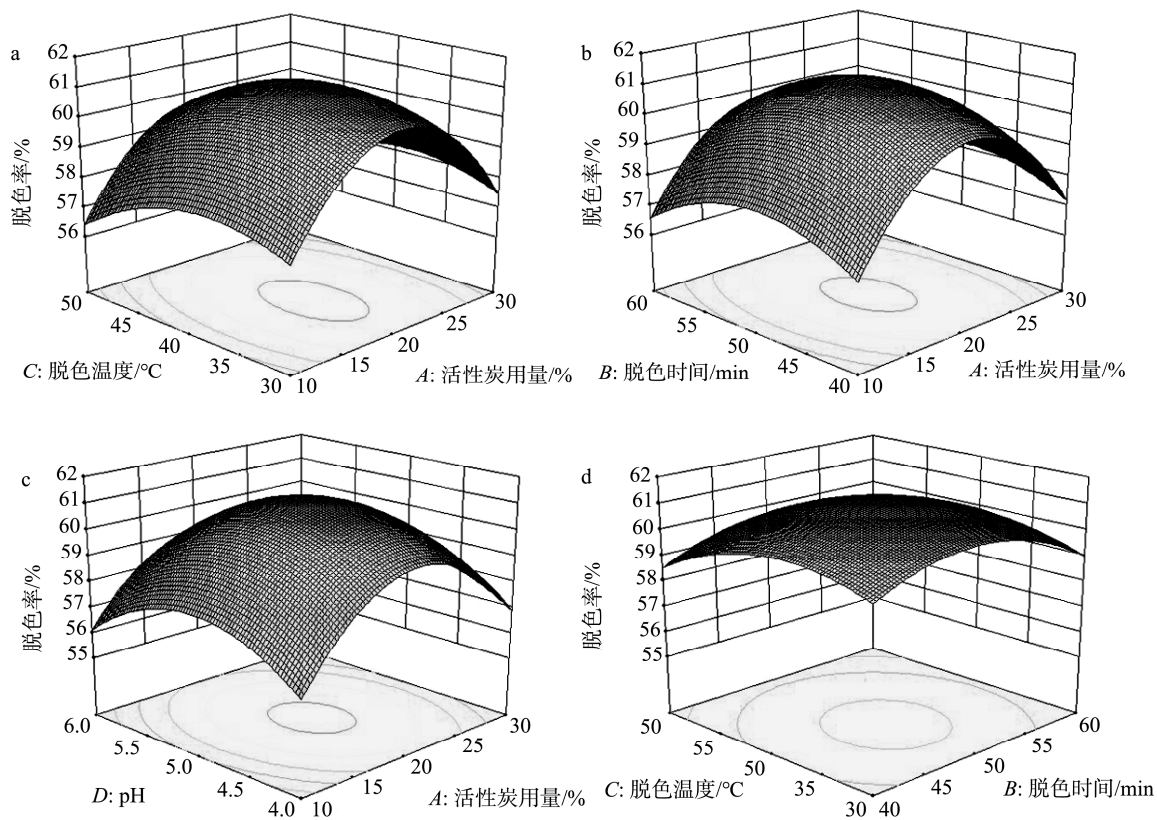


图 2 双因素交互影响脱色率的响应面图

Fig.2 Response surface plots of the interactive effects of two factors on decolorization rate

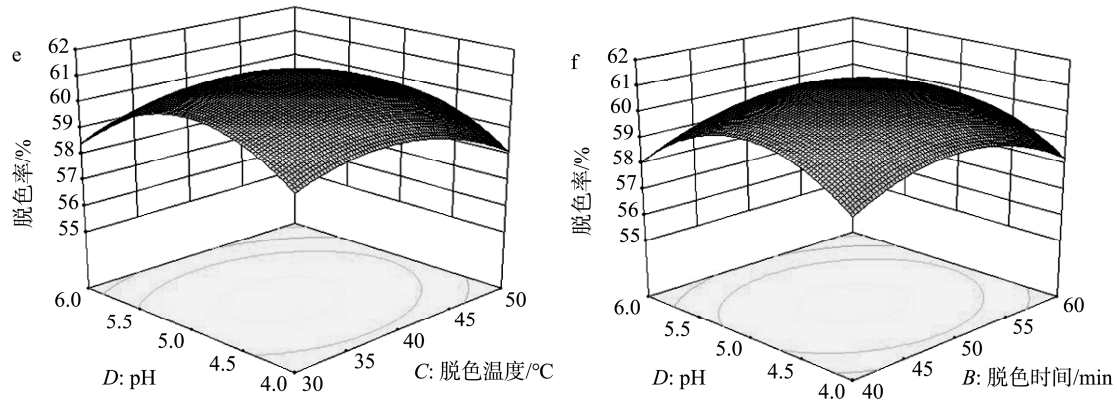


图 2(续) 双因素交互影响脱色率的响应面图

Fig.2 Response surface plots of the interactive effects of two factors on decolorization rate

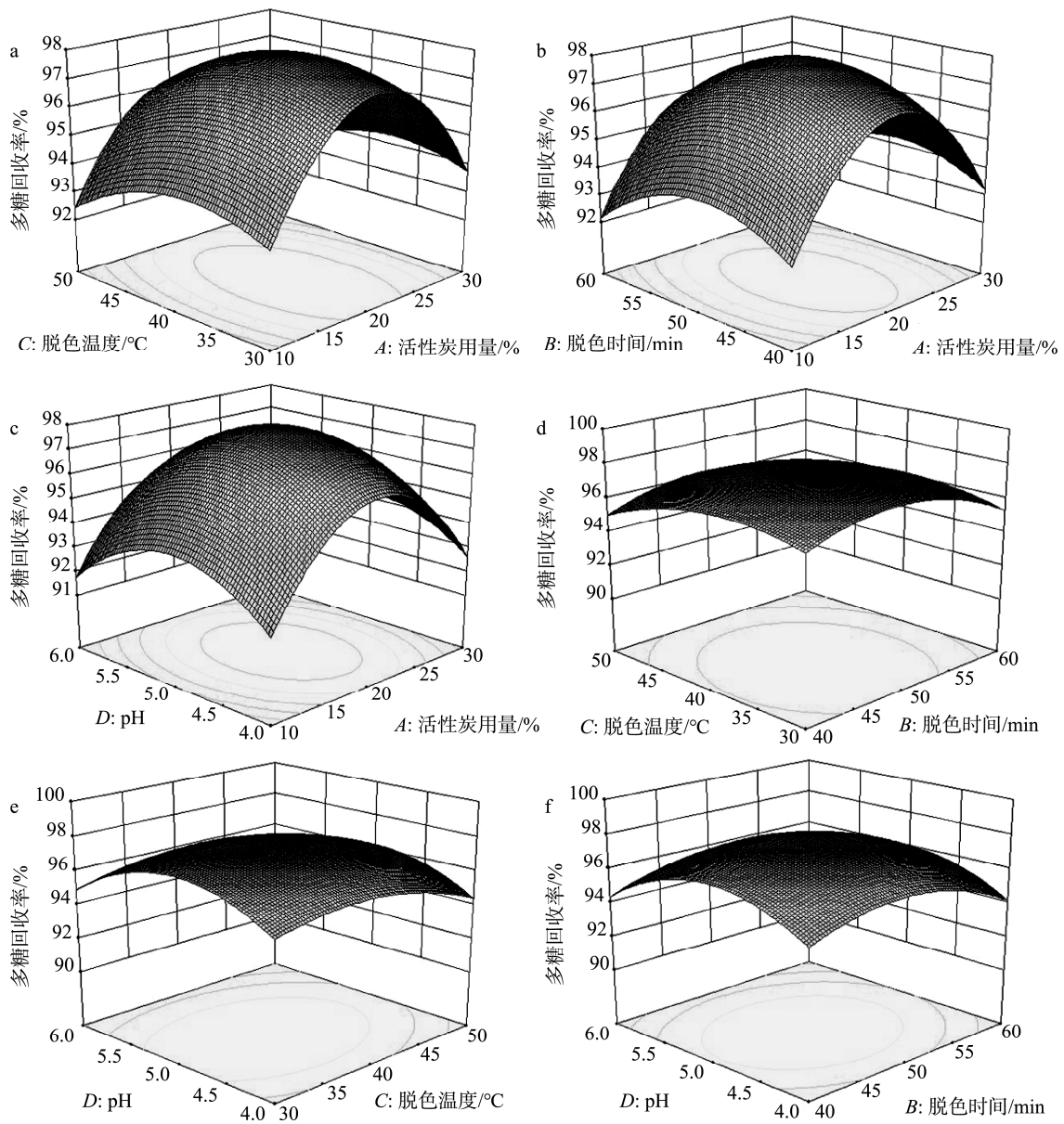


图 3 双因素交互影响多糖回收率的响应面图

Fig.3 Response surface plots of the interactive effects of two factors on polysaccharide recovery rate

2.2.4 最优工艺条件的确定及验证实验

经 Box-Behnken 方法设计实验方案, Design Expert 8.0.6 软件对实验数据进行分析处理后, 得到肉苁蓉多糖提取液活性炭脱色的最优工艺条件为: 活性炭用量 20.18%, 温度 37.74 °C, 时间 48.88 min, pH 4.92, 肉苁蓉多糖提取液的脱色率为 61.25%, 多糖回收率为 98.02%, 考虑到实际生产的可行性, 可微调最优工艺条件为: 活性炭用量 20%, 温度 37 °C, 时间 49 min, pH 5.03, 在此最优工艺条件下, 进行 3 次平行验证实验, 肉苁蓉多糖提取液的脱色率为 62.66%, 多糖回收率为 96.16%, 实测值与回归模型理论值的偏差在合理范围内, 证明该模型有效^[28]。

2.3 肉苁蓉多糖的抗氧化活性

2.3.1 肉苁蓉多糖的 DPPH 自由基清除能力

植物类多糖具有显著的抗氧化活性, 一般情况下, 1.0~10.0 mg/mL 植物类多糖活性较为显著, 脱色工艺能够影响多糖的抗氧化活性^[16,29]。由图 4 可见, 脱色后的肉苁蓉多糖的 DPPH 自由基清除能力明显提高, 1.0 mg/mL 肉苁蓉多糖从脱色前的 14.78% 提高到了 38.38%, 由此可见, 脱色处理能够提高肉苁蓉多糖的 DPPH 自由基清除能力, 可能脱色处理能够去除样品中的杂质, 提高肉苁蓉多糖的纯度, 导致活性提高。

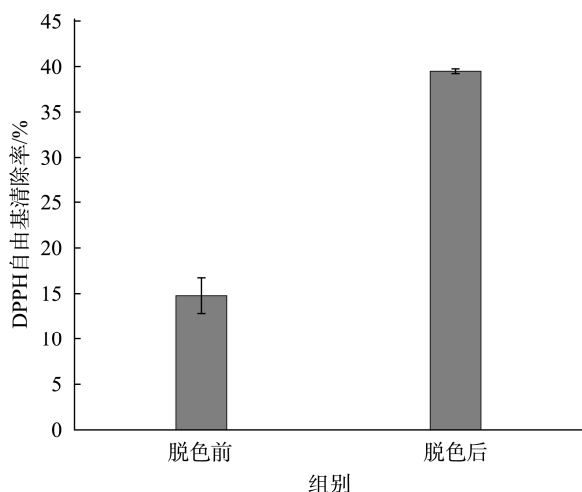


图 4 肉苁蓉多糖的 DPPH 自由基清除能力

Fig.4 DPPH radical scavenging capacity of *Cistanche deserticola* polysaccharide

2.3.2 肉苁蓉多糖的总还原能力

在酸性条件下抗氧化物质可以还原 Fe^{3+} -三吡啶三嗪产生蓝色的 Fe^{2+} -三吡啶三嗪, 在 593 nm 处读取吸光度可以计算出样品中的总还原能力, FRAP 值越高, 代表总还原能力越强^[30]。由图 5 可见, 1.0 mg/mL 肉苁蓉多糖脱色前后均无明显的总还原能力, 可能是肉苁蓉多糖提取液中缺乏与 Fe^{3+} -三吡啶三嗪发生反应的物质, 或者存在能够抑制 Fe^{3+} -三吡啶三嗪升程 Fe^{2+} -三吡啶三嗪的物质。

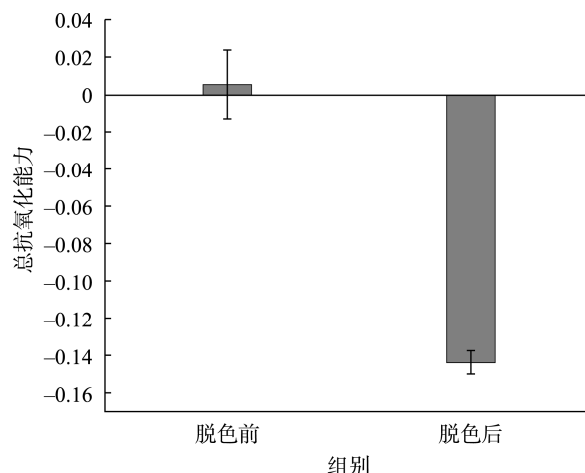


图 5 肉苁蓉多糖的总还原能力

Fig.5 Total reducing power of *Cistanche deserticola* polysaccharide

2.3.3 肉苁蓉多糖的羟自由基清除能力

如图 6 所示, 脱色前 1.0 mg/mL 肉苁蓉多糖的羟自由基的清除率为 84.37%, 脱色后 1.0 mg/mL 肉苁蓉多糖的羟自由基的清除率为 96.18%。由此可见, 肉苁蓉多糖具有显著的羟自由基清除能力, 脱色后, 其清除能力明显提高, 可能脱色处理提高了肉苁蓉多糖的纯度, 提高了羟自由基清除能力。孙明礼等^[31]对半枝莲多糖进行脱色处理后, 其羟自由基清除能力明显增强, 与本研究中得到的结果一致。

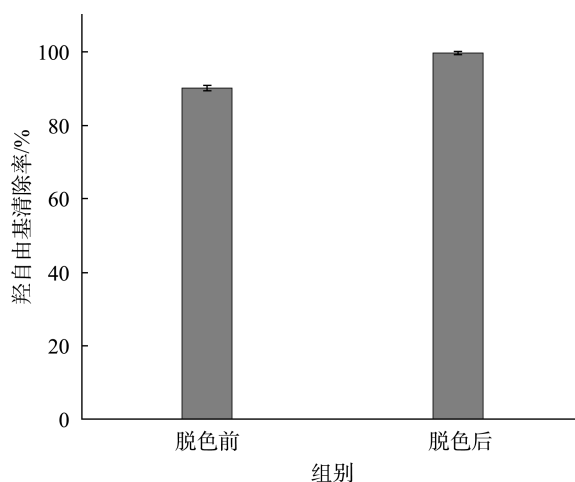


图 6 肉苁蓉多糖的羟自由基清除能力

Fig.6 Hydroxyl radical scavenging capacity of *Cistanche deserticola* polysaccharide

2.3.4 肉苁蓉多糖的 ABTS 阳离子自由基清除能力

研究发现, 多糖脱色处理能够降低其 ABTS 阳离子自由基清除能力^[32]。如图 7 所示, 1.0 mg/mL 肉苁蓉多糖具有明显的 ABTS 阳离子自由基清除能力, 脱色后, 其活性明显降低, 由原来的 7.85% 降低至 0.89%。由此可见, 脱色工艺会削弱肉苁蓉多糖的 ABTS 阳离子自由基清除能力, 可

能脱色处理能够去除肉苁蓉多糖中与 ABTS 阳离子自由基发生反应的成分, 从而导致 ABTS 阳离子自由基清除能力下降。

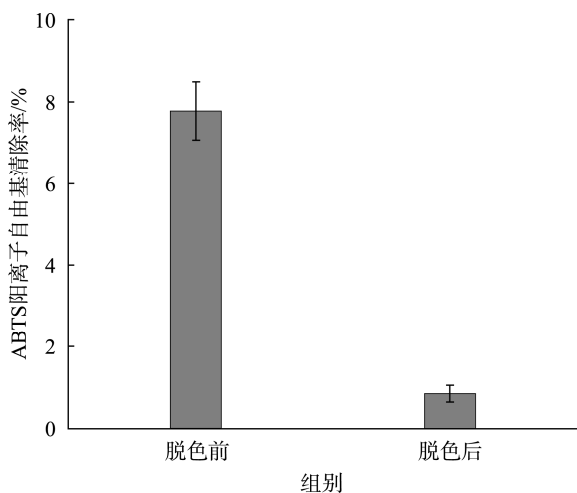


图 7 肉苁蓉多糖的 ABTS 阳离子自由基清除能力
Fig.7 ABTS anion radical scavenging capacity of *Cistanche deserticola* polysaccharide

3 结论

本研究以活性炭为脱色剂, 以脱色率、多糖回收率为评价指标, 结合单因素实验结果和响应面实验结果, 结合实际生产的可行性, 确定了最优工艺条件为: 活性炭用量 20%, 温度 37 °C, 时间 49 min, pH 5.03。此条件下得到的肉苁蓉多糖提取液的脱色率为 62.66%, 多糖回收率为 96.16%, 得到的多糖 DPPH 自由基清除能力和羟自由基清除能力明显提高。该脱色工艺脱色效果好, 多糖回收率高可为制备纯度高、色泽好的肉苁蓉多糖产品提供一定的参考。

参考文献

- 胡杨, 朱教胜, 杨强, 等. 基于热图和聚类分析新疆 7 个产地荒漠肉苁蓉中氨基酸含量及其营养价值评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(11): 310–318.
HU Y, ZHU JS, YANG Q, et al. Determination of amino acids content in *Cistanche deserticola* from 7 habitats of Xinjiang based on heatmap and cluster analysis and their nutrition value evaluation [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(11): 310–318.
- 侯蕾, 王波, 厉广辉, 等. 肉苁蓉研究进展与产业化现状[J]. 山东农业科学, 2020, 52(12): 133–140.
HOU L, WANG B, LI GH, et al. Research progress and industrialization status of *Cistanche deserticola* [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2020, 52(12): 133–140.
- 艾拉旦·麦麦提艾力, 杨婷, 袁洁, 等. 管花肉苁蓉药渣中多糖提取工艺及体外抗氧化活性研究[J]. 化学与生物工程, 2020, 37(2): 36–41.
MAILADAN MMTAIL, YANG T, YUAN J, et al. Extraction process of polysaccharides from *cistanche tubulosa* residue and their antioxidant activity *in vitro* [J]. Chemistry & Bioengineering, 2020, 37(2): 36–41.
- CAI R, YANG M, SHI Y, et al. Antifatigue activity of phenylethanoid-rich extract from *Cistanche deserticola* [J]. Phytotherapy Research, 2010, 24: 313–315.
- 罗欣杰, 杨建华, 胡君萍. 肉苁蓉多糖通过影响肠道菌群抑制 Toll 样受体 4/核因子- κ B 途径改善小鼠糖尿病肾病[J]. 食品科学, 2024, 45(21): 185–193.
LUO XJ, YANG JH, HU JP. *Cistanche deserticola* polysaccharides attenuates diabetic nephropathy in mice by affecting the intestinal flora and inhibiting the Toll-like receptor 4/Nuclear factor- κ B signaling pathway [J]. Food Science, 2024, 45(21): 185–193.
- 周刚, 高家敏, 曹进. 肉苁蓉在保健食品中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(3): 898–903.
ZHOU G, GAO JM, CAO J. Application of *Cistanche* in health food [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(3): 898–903.
- ZHANG X, LIU Z, LI Z, et al. Ferroptosis pathways: Unveiling the neuroprotective power of *Cistanche deserticola* phenylethanoid glycosides [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 333: 118465.
- 樊黎丽, 孟泳, 赵润杨, 等. 肉苁蓉多糖对肺癌细胞 A549 生物学行为的影响[J]. 中成药, 2022, 44(9): 3022–3027.
FAN LL, MENG Y, ZHAO RY, et al. Effects of *Cistanche* polysaccharide on biological behavior of lung cancer cell A549 [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(9): 3022–3027.
- 张春生, 李冰, 王鲁豫, 等. 肉苁蓉多糖通过改善肠道菌群稳态产生抗衰老作用的研究[J/OL]. 中华中医药学刊, 1-17. [2024-06-14]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20240613.1426.004>
ZHANG CS, LI B, WANG LY, et al. Study on the anti-aging effect of *Cistanche deserticola* polysaccharide by improving the homeostasis of intestinal flora [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese, 1-17. [2024-06-14]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20240613.1426.004>
- ZHOU S, FENG D, ZHOU Y, et al. Analysis of the active ingredients and health applications of *Cistanche* [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1101182.
- 郭俏俪, 武志博, 周玉碧, 等. 兰州肉苁蓉多糖的组成分析及抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2021, 42(15): 96–103.
GUO QL, WU ZB, ZHOU YB, et al. Composition identification and antioxidant activity of *Cistanche lanzhouensis* polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(15): 96–103.
- 肖星辉, 张向前, 李桂芳, 等. 双水相萃取荒漠肉苁蓉总黄酮及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(16): 5–9.
XIAO XH, ZHANG XQ, LI GF, et al. Aqueous two-phase extraction of total flavonoids from *Cistanche deserticola* Y.C.Ma and the antioxidant activity of the extracts [J]. Food Research and Development, 2017, 38(16): 5–9.
- 徐从华, 尼加提·图尔迪麦提, 王莹雪, 等. 肉苁蓉中苯乙醇苷类成分生物活性研究进展[J]. 食品与药品, 2023, 25(3): 261–266.
XU CH, NIJIATI TERDMMT, WANG YX, et al. Progress in bioactivity of phenylethanoid glycosides in *Cistanches* [J]. Food and Drug, 2023, 25(3): 261–266.
- 许玮仪, 姜振邦, 范晶, 等. 离子色谱-积分脉冲安培法测定肉苁蓉多糖的单糖组成及游离单糖含量[J]. 药学报, 2023, 58(8): 2476–2482.
XU WY, JIANG ZB, FAN J, et al. Determination of monosaccharide composition of polysaccharide and free monosaccharides in *Cistanches herba* by ion chromatography-integral pulsed amperometry [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2023, 58(8): 2476–2482.
- 霍达, 张竞男, 马微, 等. 响应面法优化内蒙古肉苁蓉多糖提取工艺[J]. 世界中医药, 2023, 18(12): 1667–1671.
HUO D, ZHANG JN, MA W, et al. Optimization of polysaccharide

- extraction process of *Cistanches herba* produced in Inner Mongolia by response surface method [J]. *World Chinese Medicine*, 2023, 18(12): 1667–1671.
- [16] 邱晓月, 景永帅, 李明月, 等. 祁白芷多糖脱色工艺优化及抗氧化活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(18): 6074–6081.
QIU XY, JING YS, LI PY, *et al.* Study on optimization of decolorization process and antioxidant activity of polysaccharide from *Angelicae dahurica* [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(18): 6074–6081.
- [17] 邵丽君, 琚飞龙, 钟杨, 等. 过氧化氢和活性炭脱色对百蕊草多糖结构及应用特性影响的比较分析[J]. *食品科学*, 2023, 44(4): 146–151.
SHAO LJ, JU FL, ZHONG Y, *et al.* Effect of activated carbon or hydrogen peroxide decolorization on the structure and application properties of polysaccharides from *Thesium chinense* Turcz. [J]. *Food Science*, 2023, 44(4): 146–151.
- [18] 胡政宇, 王佳鸣, 于瑞莹, 等. 蛹虫草多糖脱色工艺优化及其抗补体活性研究[J]. *中成药*, 2023, 45(6): 1973–1978.
HU ZY, WANG JM, YU RY, *et al.* Optimization of decolorization process and study on anti-complement activity of polysaccharide from *Cordyceps militaris* [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2023, 45(6): 1973–1978.
- [19] 严鹏, 李红玉, 刘宇欣. 优化蚕蛹多糖的提取方法及脱色工艺的研究[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(4): 274–278, 284.
YAN P, LI HY, LIU YX. Study on the process optimization of extraction of polysaccharide of silkworm pupa and decolorization [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(4): 274–278, 284.
- [20] 张文龙, 黄成义, 赵晨伟, 等. 植物油中的色素及吸附脱色研究进展[J]. *中国油脂*, 2022, 47(6): 21–28.
ZHANG WL, HUANG CY, ZHAO CW, *et al.* Progress on pigment and adsorption bleaching of vegetable oil [J]. *China Oils and Fats*, 2022, 47(6): 21–28.
- [21] 阚金涛, 皮正林, 杨锴莉, 等. 硫酸化修饰对椰子吸器多糖结构和抗氧化活性的影响[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(20): 114–123.
KAN JT, PI ZL, YANG KL, *et al.* Effect of sulfated modification on the structural characterization and antioxidant activities of coconut (*Cocos nucifera* L.) haustorium polysaccharide [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45: 114–123.
- [22] 陆雪, 乔炳乾, 杨思, 等. 酸性条件下小麦低聚肽增强紫薯花色苷抗氧化性的研究[J]. *粮油食品科技*, 2024, 32(4): 84–90.
LU X, QIAO BQ, YANG S, *et al.* Enhancement of antioxidant capacity of purple sweet potato anthocyanins by wheat oligopeptides under acidic conditions [J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2024, 32: 84–90.
- [23] 张涛, 马麦迈, 卢顺, 等. 枸杞叶多糖的制备、结构表征及体外抗氧化与酶活抑制活性评价[J]. *中国食品学报*, 2024, 24(11): 59–70.
ZHANG T, MA MM, LU S, *et al.* Preparation, structural characterization and evaluation of antioxidant and enzyme activity of *Lycium barbarum* leaves polysaccharide *in vitro* [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2024, 24(11): 59–70.
- [24] 逢梦玉, 隋昕怡, 刘丹, 等. 桑黄多糖提取工艺优化、结构表征及抗氧化活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(12): 48–57.
PANG MY, SUI XY, LIU D, *et al.* Optimization of extraction process, structural characterization and antioxidant activity of *Sanghuangporus sanghuang* polysaccharides [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(12): 48–57.
- [25] 单晓菊, 邸明磊, 张岩, 等. 响应面法优选苦豆子多糖活性炭脱色工艺[J]. *中国药房*, 2011, 22(47): 4443–4446.
SHAN XJ, DI ML, ZHANG Y, *et al.* Optimization of decolorization technology of *Sophora alopecuroides* polysaccharide with activated carbon by response surface analysis [J]. *China Pharmacy*, 2011, 22(47): 4443–4446.
- [26] 李双明, 代福玲, 杨雪皎, 等. 响应面法优化东北红豆杉多糖脱色工艺[J]. *食品工业*, 2014, 35(10): 31–35.
LI SM, DAI FL, YANG XJ, *et al.* Optimization of decolorization of *Taxus cuspidate* polysaccharide by response surface methodology [J]. *The Food Industry*, 2014, 35(10): 31–35.
- [27] 魏连会, 阮长青. 响应面法优化酱油中多肽的脱色工艺[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(10): 235–238, 242.
WEI LH, RUAN CQ. Optimization of decoloring of soy sauce peptide solution by response surface methodology [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(10): 235–238, 242.
- [28] 石继连, 杨岩涛, 刘文龙, 等. 星点设计-效应面法优化碎米糖化液的脱色工艺研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(41): 3899–3901.
SHI JL, YANG YT, LIU WL, *et al.* Optimization of decolorization technology of saccharification liquid from broken rice by central composite design-response surface methodology [J]. *China Pharmacy*, 2012, 23(41): 3899–3901.
- [29] 朱勇, 丁锐, 王庆, 等. 响应面法优化亳白芷粗多糖大孔树脂脱色工艺及抗氧化活性研究[J]. *皖西学院学报*, 2024, 40(5): 85–92.
ZHU Y, DING R, WANG Q, *et al.* Optimization of decolorization process and antioxidant activity of crude polysaccharides from Bo Baizhi using response surface macroporous resin method [J]. *Journal of West Anhui University*, 2024, 40(5): 85–92.
- [30] 张景, 刘养山, 任洪飞, 等. 羊肚菌多糖的提取优化及抗氧化活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(5): 317–324.
ZHANG J, LIU YS, REN HF, *et al.* Study on the extraction optimization and antioxidant activity of *Morchella esculenta* polysaccharides [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(5): 317–324.
- [31] 孙明礼, 付会鹏, 张静. 半枝莲多糖脱色及清除羟基自由基作用的研究[J]. *离子交换与吸附*, 2008(4): 305–312.
SUN ML, FU HP, ZHANG J. Study on decolorization and scavenging effect on hydroxide free radicals of *Scutellaria barbata* D. Don polysaccharides [J]. *Ion Exchange and Adsorption*, 2008(4): 305–312.
- [32] 夏课, 李铭, 丁俞珍, 等. 不同脱色方法对三七多糖物理性质及体外抗氧化活性的影响[J]. *化学研究与应用*, 2024, 36(3): 509–521.
XIE D, LI M, DING YZ, *et al.* Effects of different decolorization methods on physical characterization and antioxidant activity of *Panax notoginseng* polysaccharide *in vitro* [J]. *Chemical Research and Application*, 2024, 36(3): 509–521.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)