

文章编号:1001-1498(2014)01-0031-07

大孔吸附树脂对白蜡虫多糖脱色及 抗氧化活性的影响

何 钊, 李 娴, 陈智勇, 孙 龙, 冯 颖*

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所;国家林业局资源昆虫培育与利用实验室,云南昆明 650224)

摘要:试验研究了大孔吸附树脂对白蜡虫粗多糖脱色效果的影响和脱色前后多糖抗氧化活性的变化。通过静态吸附法确定大孔吸附树脂 NKA-9 较适合白蜡虫粗多糖脱色,动态吸附法确定白蜡虫多糖脱色条件为 30 ℃ 下 10 mg · mL⁻¹ 多糖溶液 (pH 值 8.0) 以 1 BV · h⁻¹ 流速上样 1 BV 后,以 5 BV 水洗脱,脱色率为 71.4%、脱蛋白率 51.9%、多糖收率为 60%。体外细胞抗氧化结果表明:脱色前多糖溶液仅在 1 000 μg · mL⁻¹ 浓度时能提升过氧化氢损伤人神经母细胞瘤细胞的存活率,而脱色后多糖溶液在 10 ~ 1 000 μg · mL⁻¹ 范围内均能提升模型细胞存活率,其中,1 000 μg · mL⁻¹ 的脱色白蜡虫多糖与模型组的差异显著 ($P < 0.01$),结果表明,脱色后多糖抗氧化能力增加。

关键词:白蜡虫;多糖;脱色;大孔吸附树脂;抗氧化;人神经母细胞瘤细胞

中图分类号:TQ936.1

文献标识码:A

Decolorization and Antioxidant Assay of Polysaccharide from White Wax Scale Using Macroporous Resin

HE Zhao, LI Xian, CHEN Zhi-yong, SUN Long, FENG Ying

(Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry; Laboratory of Cultivation and Utilization of Resources Insects, State Forestry Administration, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: The decoloring effect of 12 macroporous resins on crude polysaccharide extracted from white wax scale, *Ericerus pella pella* (Chavannes), was studied. The cellular antioxidant activity of crude and decolorant polysaccharide on proliferation effect of SH-SY5Y cells induced by hydrogen peroxide were evaluated. The resin NKA-9 was selected for kinetic study based on the results of adsorption properties comparing of macroporous adsorption resins and the static adsorption test. The dynamic adsorption and desorption experiments were conducted to establish the optimum parameters of NKA-9 as: one volume solution of crude polysaccharide was loaded in column at the flow rate 1 bed volume per hour under the condition of 30 ℃ and pH 8.0. The decolorant polysaccharide was collected by washing adsorbate-laden column using five bed volume of deionized water. The decoloration rate was 71.4%, the yield of polysaccharide was 60%, the deproteinization rate was 51.9%. The results of cellular antioxidant activity assay showed that the cell livability could be increased only at the concentration of 1 000 μg · mL⁻¹ crude polysaccharide. But the decolorant polysaccharide at the concentrations of 10 ~ 1 000 μg · mL⁻¹ could reduce the cell death rate of SH-SY5Y. Among them, the decolorant polysaccharide at the concentrations of 1 000 μg · mL⁻¹ could reduce the cell death rate notably. The cellular antioxidant activity of decolorant polysaccharide was enhanced after decoloring by NKA-9.

收稿日期:2013-09-20

基金项目:国家林业局科研项目[林规批字(2011)236];中央公益性科研院所基本科研业务费(ririca2011002M)

作者简介:何 钊(1976—),男,硕士,助理研究员,从事资源昆虫利用的研究。

* 通讯作者。

Key words: white wax scale; polysaccharide; decoloring; macroporous resin; antioxidant; human neuroblastoma cell line (SH-SY5Y)

白蜡虫 (*Ericerus pela* Chavanness) 属同翅目 (Homoptera) 蜡蚧科 (Coccidale), 是中国重要的资源昆虫, 其 2 龄雄虫分泌的白蜡是由长链脂肪酸、醇构成的酯类化合物, 广泛应用于机械、化工、医药、食品、农业等行业, 雌成虫主要作为种虫利用^[1]。研究发现, 怀卵的白蜡虫雌成虫具有一定的抗突变、免疫调节功能, 可作为保健食品开发利用, 其中, 多糖类物质可能是其功效成分之一^[2-3]。对黄粉虫多糖^[4]、蟑螂多糖^[5]、蚕蛹多糖^[6]等的研究表明, 昆虫多糖同植物多糖、微生物多糖等其他生物多糖一样具有提高免疫、抗氧化等功能。采用水提醇沉法获得的白蜡虫雌成虫粗多糖易溶于水, 含有较多蛋白, 为葡萄糖、甘露糖和半乳糖组成的杂多糖, 色泽较深, 色素较多^[7], 色素等杂质的存在影响其进一步分离纯化和结构鉴定, 从而不利于对多糖组成、结构与生物活性间关系的判断。因此有必要对其脱色和脱色对其生物活性的影响进行研究, 以便为白蜡虫多糖进一步研究和开发利用提供基础。

目前, 生物多糖脱色的方法主要有活性炭吸附法^[8]、过氧化氢 (H_2O_2) 氧化法^[9-11] 及大孔树脂法等^[12-15], 这些方法各有其优缺点。活性炭吸附法是利用范德华力将色素吸附到表面, 从而达到脱色效果, 该方法对多糖脱色效果较不明显^[12, 16]; H_2O_2 氧化脱色法是利用 H_2O_2 在水溶液中产生过氧氢根离子 (HO_2^-) 氧化色素达到脱色效果, 但由于多糖分子中含有羟基、醛基等基团, 易与 H_2O_2 发生氧化反应, 破坏多糖的长链, 导致多糖降解^[12, 17]; 大孔树脂法通过离子交换或物理吸附作用结合色素达到脱色目的, 不影响多糖结构^[18-19]。本文采用大孔吸附树脂对白蜡虫多糖进行脱色研究, 通过静态吸附结合动态吸附试验选择合适的树脂种类、优化脱色条件, 并以人神经母细胞瘤细胞为试验对象, 采用过氧化氢造成细胞氧化损伤模型, 观察脱色前后不同浓度的白蜡虫多糖对模型细胞存活率的影响, 评价其抗氧化效果。

1 材料与方法

1.1 材料

白蜡虫多糖由水提醇沉法制备^[7], 人神经母细胞瘤细胞株 (SH-SY5Y) 购于中国科学院昆明动物研

究所细胞库, 大孔吸附树脂 D101、DA201、DM301、AB-8、NKA-II、NKA-9、S-8、X-5、D4020、D3520、D4006、H103 (天津海光化工有限公司) 各项指标见表 1; 主要试剂 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 高糖培养基 (美国 Gibco), 胎牛血清 (美国 Hyclon), 胰蛋白酶 (美国 Amresco), 磷酸盐缓冲液 (PBS) (美国 Hyclon), 甲基噻唑基四唑溴盐 (MTT) (美国 Amresco), 二甲基亚砜 (DMSO) (美国 Amresco), 其余试剂均为国产分析纯。

表 1 大孔吸附树脂的物理结构参数

树脂型号	极性	比表面积/($m^2 \cdot g^{-1}$)	平均孔径/nm	外观
D101	非极性	≥ 400	9 ~ 11.0	乳白色
D3520	非极性	480 ~ 520	8.5 ~ 9.0	乳白色
D4006	非极性	400 ~ 440	6.4 ~ 7.5	乳白色
D4020	非极性	540 ~ 580	10 ~ 10.5	乳白色
X-5	非极性	500 ~ 600	29 ~ 30.0	乳白色
H103	非极性	1 000 ~ 1 100	8.5 ~ 9.5	深棕色
AB-8	弱极性	480 ~ 520	13 ~ 14.0	乳白色
DM301	极性	≥ 330	14 ~ 17.0	浅黄色
DA201	极性	≥ 200	10 ~ 13.0	浅黄色
S-8	极性	100 ~ 120	28 ~ 30.0	浅黄色
NKA-II	极性	160 ~ 200	14.5 ~ 15.5	红棕色
NKA-9	极性	250 ~ 290	15.5 ~ 16.5	微黄色

1.2 白蜡虫多糖性质分析

糖含量分析采用苯酚-硫酸法^[6], 以葡萄糖为标样; 蛋白含量分析采用福林-酚法^[5], 以牛血清白蛋白为标样。

1.3 大孔树脂对白蜡虫多糖脱色作用

预试验对白蜡虫多糖粗提液在 200 ~ 800 nm 波长范围内全波长扫描 (Variaskan Flash 美国 Thermo scientific), 未发现有最大吸收波长, 本文选择 420 nm 波长为检测波长, 测定溶液的吸光值, 按照以下公式计算脱色率^[20]:

$$\text{脱色率} = (OD_0 - OD_1) / OD_0 \times 100\%$$

式中: OD_0 为溶液脱色前吸光值; OD_1 为脱色后吸光值。

按以下公式计算蛋白脱除率:

$$\text{蛋白脱除率} = (C_0 - C_1) / C_0 \times 100\%$$

式中: C_0 为溶液脱色前蛋白浓度; C_1 为脱色后蛋白浓度。

按以下公式计算多糖保留率:

$$\text{多糖保留率} = C_1 / C_0 \times 100\%$$

式中: C_0 为溶液脱色前多糖浓度; C_1 为脱色后多糖浓度。

1.3.1 大孔吸附树脂筛选 250 mL 三角烧瓶加入 20 g 经乙醇、5% HCl 及 5% NaOH 预处理的供试树脂和 100 mL 1% (w/w) 多糖溶液, 25 °C 下摇床恒温震荡 (200 r · min⁻¹) 12 h, 过滤, 收集滤液。测定滤液 420 nm 的吸光值、多糖含量及蛋白含量, 比较不同树脂的脱色率、脱蛋白率及多糖保留率, 选择合适的树脂进行下一步研究。

1.3.2 静态吸附实验 500 mL 具塞锥形瓶中加入 10 g 树脂和 pH 值 5、6、7、8、9、10 等 6 种不同 pH 值的 100 mL 多糖溶液, 置于恒温摇床中震荡吸附 (200 r · min⁻¹), 一段时间后取样分析, 测定吸光值、多糖及蛋白含量, 计算脱色率、脱蛋白率及多糖保留率, 评价 pH 值对脱色的影响; 同法将 5、10、15、20、25、30 mg · mL⁻¹ 等 6 个不同浓度的白蜡虫多糖溶液分别在 30、40、50 °C 的摇床中震荡吸附脱色, 评价温度及白蜡虫多糖浓度对脱色的影响。

1.3.3 动态吸附实验 将大孔吸附树脂装入 50 cm × 2.5 cm 层析柱中, 30 °C 下 10 mg · mL⁻¹ 白蜡虫多糖以 1 BV · h⁻¹ 流速通过层析柱, 定量收集。测定收集液的吸光值、多糖及蛋白含量, 考察色素、蛋白及多糖吸附情况; 再用一定量的去离子水及乙醇梯度洗脱, 定量收集洗脱液, 考察色素、蛋白及多糖解吸状况。

1.4 白蜡虫多糖的细胞抗氧化活性

1.4.1 人神经母细胞瘤细胞培养 SH-SY5Y 细胞采用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 于 37 °C、5% CO₂、95% 空气、饱和湿度的 CO₂ 培养箱 (3111 美国 Thermo scientific) 中培养, 0.25% 胰酶消化传代, 选取对数生长期细胞进行实验。

1.4.2 白蜡虫多糖对 H₂O₂ 氧化损伤细胞模型的保护作用 采用 Cho 等^[21] 的方法进行, 略有改动。96 孔培养板中加入 6 × 10⁵ cells · mL⁻¹ 浓度的对数生长期 SH-SY5Y 细胞 (200 μL · 孔⁻¹), 培养 24 h 后吸弃上清液, 加入 200 μL 含 0.1、1、10、100 及 1 000 μg · mL⁻¹ 的不同浓度白蜡虫多糖样品培养基 (200 μL · 孔⁻¹), 每个浓度设 4 个平行孔, 同时设正常对照组 (未损伤细胞)、模型组 (细胞损伤、未给药加入等量培养基), 200 μg · mL⁻¹ 维生素 C 为阳性组。各组细胞培养 24 h 后取出, 吸弃上清液后用磷酸盐缓冲液清洗

1 遍细胞, 每孔加入 200 μL DMEM 培养液 (含 800 μmol · L⁻¹ H₂O₂), 1 h 后加入 20 μL MTT 溶液 (5 mg · mL⁻¹) 再培养 4 h, 吸弃上清液, 加入 150 μL · 孔⁻¹ DMSO, 振荡 15 min 后于 570 nm 波长测定各孔吸光度, 按照以下公式计算细胞相对存活率:

$$\text{细胞相对存活率} = (\text{样品孔吸光度} / \text{未损伤对照孔吸光度}) \times 100\%$$

根据细胞相对存活率的高低确定抗氧化能力的强弱, 细胞存活率高, 即多糖抗氧化能力较强。

1.5 数据处理

体外细胞抗氧化试验重复 4 次, 其余试验重复 3 次, 由 excel 2003 软件处理数据; 其中, 体外细胞抗氧化试验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异进行方差分析, 其余数据以均值表示。

2 结果与分析

2.1 大孔树脂对白蜡虫多糖脱色作用

2.1.1 大孔吸附树脂筛选 12 种树脂对白蜡虫多糖脱色效果见表 2, 由表 2 结果可见: 12 种树脂对白蜡虫多糖均有不同程度的脱色及脱蛋白作用, 在本实验条件下, 其中 8 种树脂的脱色率都达到了 50% 以上, 脱色率最高的为 D101 树脂, 最低的为 H103 树脂。

表 2 大孔吸附树脂对白蜡虫多糖的影响

树脂型号	脱色率/%	脱蛋白率/%	多糖保留率/%
D101	66.8	91.8	46.1
D3520	60.6	97.8	36.2
D4006	58.7	68.5	63.8
D4020	54.3	99.7	36.0
X-5	50.0	88.1	44.9
H103	13.5	54.6	93.9
AB-8	53.4	92.1	55.1
DM301	31.2	85.7	86.8
DA 201	58.2	94.1	64.8
S-8	43.7	89.1	57.7
NKA-II	56.7	68.4	50.5
NKA-9	63.0	96.6	74.2

选择脱色率较高的 D101、D3520、NKA-9 及 D4006 等 4 种树脂进行进一步实验, 以选择较合适的树脂。4 种树脂在多糖溶液中进行充分吸附, 每隔一段时间取样分析直至吸附饱和, 达到吸附平衡, 测定吸附动力学, 比较各树脂对色素等吸附速率的差异。结果 (图 1) 表明: 随着时间的增加, 树脂对色

素(图 1a)、蛋白(图 1b)及多糖(图 1c)的吸附效果均增加。4 种树脂中 D3520 对色素、多糖吸附速率最快,60 min 后达到吸附平衡;其次为 NKA-9,而 D101 和 D4006 达到吸附平衡的时间相对较长。比

较 4 种树脂对多糖的吸附动力学曲线(图 1c),达到吸附平衡时多糖在 NKA-9 树脂上的吸附较少,多糖保留率高,损失较少,故选择 NKA-9 树脂进行白蜡虫多糖脱色的进一步实验。

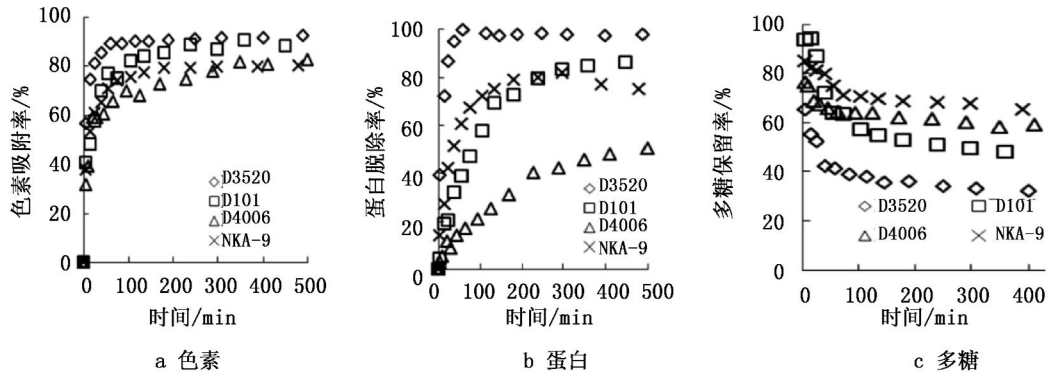


图 1 4 种树脂对色素、蛋白和多糖的静态吸附动力学曲线

2.1.2 静态吸附动力学 不同 pH 值多糖溶液在 NKA-9 树脂上的吸附行为结果见图 2,在实验 pH 值范围内,树脂对色素和蛋白质的吸附效果差异不明显,即实验范围内溶液 pH 值对脱色率和脱蛋白率的影响较少;但溶液 pH 值对多糖在树脂上的吸附有一定影响,在 pH 值 8.0 左右时,多糖在树脂上的吸附最弱,即多糖保留率最高,随着 pH 值升高或降低,多糖保留率均相应下降,故选择将白蜡虫粗多糖溶液 pH 值调至 8.0 以减低树脂脱色时多糖的损失。

浓度后,树脂吸附饱和、形成吸附和解吸的动态平衡,溶液浓度的增加已不能增加树脂吸附量,表观上形成脱色率、脱蛋白率下降。

温度及多糖浓度对树脂吸附的影响结果见图 3,由图 3 可知:相同温度下,随着多糖溶液浓度的升高色素脱除率(图 3a)和脱蛋白率(图 3b)均有所下降,而多糖保留率(图 3c)上升,尤其在多糖浓度大于 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时脱色率和脱蛋白率下降更明显,这主要是由于树脂的表面积有限,溶液达到一定

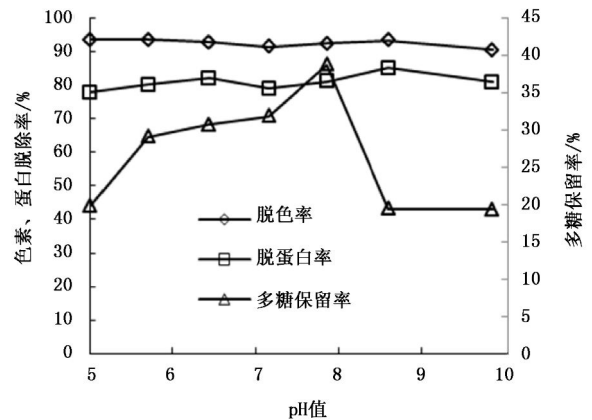


图 2 pH 值对 NKA-9 树脂脱色效果的影响

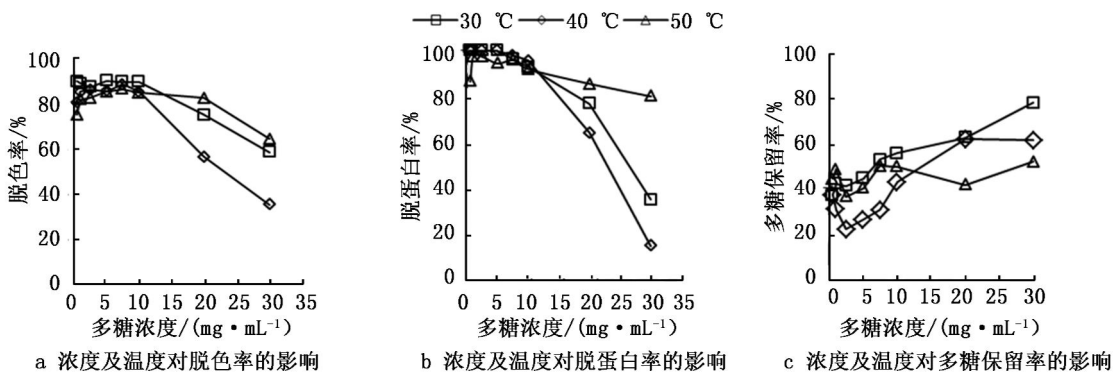


图 3 色素、蛋白及多糖在 NKA-9 树脂上的吸附等温线

多糖浓度小于 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,温度对脱色率和脱蛋白率影响不明显,但在多糖溶液浓度高于 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 后,同浓度下多糖的脱蛋白率和脱色率 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 时最好,其余依次为 30 、 $40 \text{ }^\circ\text{C}$,多糖的吸附行为也与此类似。其可能原因是在一定的吸附体系下,吸附是放热过程,温度升高不利于吸附行为,但另一方面,当温度升高时,分子扩散速度增加,多糖溶液粘度下降,有利于色素、蛋白的吸附,两种因素的相互作用形成以上结果^[19]。综合以上结果,确定采用 NKA-9 树脂脱色时,白蜡虫多糖浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,pH 值 8.0 ,吸附温度 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

2.1.3 动态吸附与解吸 白蜡虫多糖溶液在 NKA-9 树脂上的动态吸附和解吸行为实验结果见图 4、5。由图 4 可知:随着上样液体积的增加,流出液中蛋白和色素浓度逐渐上升,树脂吸附逐渐达到动态吸附平衡,当上样体积为床层体积 1 倍时,流出液色素及蛋白含量分别约为上样液的 10% 和 20%,故实验条件下上样液体积为 1 BV 即可。用水和不同浓度

乙醇洗脱吸附多糖溶液的树脂层析柱时,大部分的多糖组分及部分蛋白和色素组分在水洗脱时就解吸出来进入洗脱液中(图 5),只有较少的多糖及一部分色素和蛋白在 20%~80% 乙醇溶液的解吸液中流出。

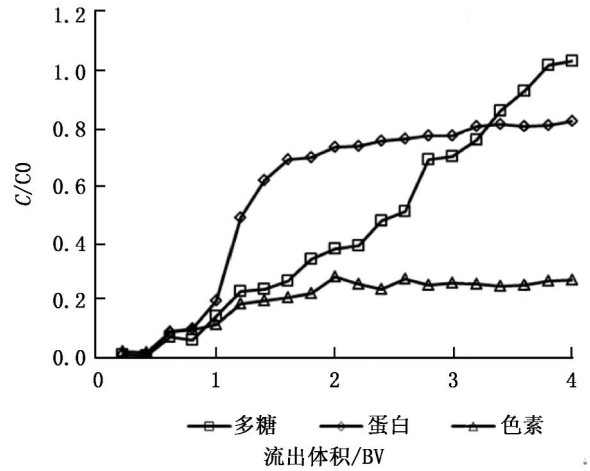


图4 白蜡虫多糖在 NKA-9 树脂上的动态吸附曲线

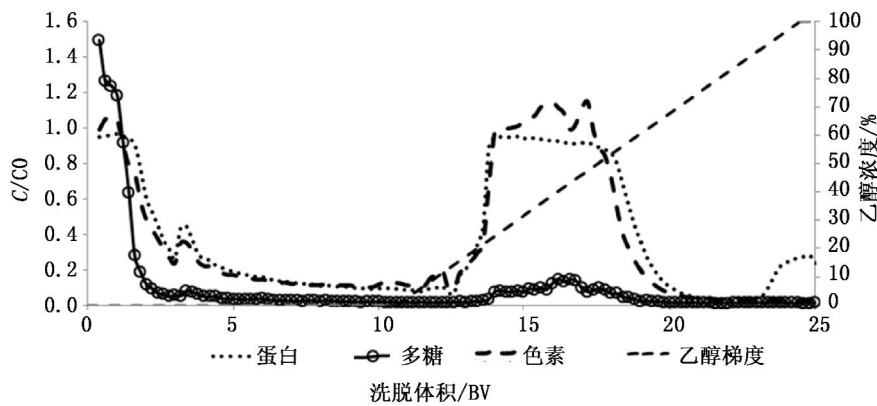


图5 白蜡虫多糖在 NKA-9 树脂上的动态解吸曲线

综上所述,白蜡虫多糖在 NKA-9 树脂上吸附及解吸条件为: $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 下将 1 BV $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ pH 值 8.0 的白蜡虫多糖溶液以 $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 流速上样,然后以 5 BV 体积的去离子洗脱,收集洗脱液浓缩干燥得到脱色后的白蜡虫粗多糖。采用上述条件脱色后的白蜡虫粗多糖脱色率为 71.4% ,脱蛋白率为 51.9% ,多

糖收率为 60% 。

2.2 脱色前后白蜡虫多糖性质

对脱色前后的白蜡虫多糖进行多糖、蛋白含量的测定,结果(表 3)表明:脱色后的白蜡虫多糖颜色变浅,蛋白含量显著降低,多糖含量有所增加。

表 3 白蜡虫多糖性质

项目	性状	蛋白含量/%	多糖含量/%
未脱色白蜡虫多糖	深灰色粉末,1%水溶液为深褐色	16.4	4.4
脱色后白蜡虫多糖	浅灰色粉末,1%水溶液为黄褐色	3.0	5.4

2.3 白蜡虫多糖体外细胞抗氧化活性

由表4可见: H_2O_2 损伤后的 SH-SY5Y 细胞存活率均明显低于正常对照组 ($P < 0.01$), 而阳性对照 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Vc 能显著增加 H_2O_2 氧化损伤的细胞相对存活率, 对模型细胞显示出较好的抗氧化活性, 表明本评价体系可信。未脱色白蜡虫多糖在浓度低于 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时对细胞存活率无影响, 对氧化损伤细胞无保护作用, 但在浓度 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时细胞存活率高于未添加多糖的空白对照组, 表明高浓度的粗多糖对氧化损伤细胞具有一定的保护作用, 但效果不显著。脱色后的白蜡虫多糖在浓度为 10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 即开始对提高细胞存活率产生影响, 随着浓度的增加细胞存活率随之增加, 在浓度为 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时能显著增加细胞存活率 ($P < 0.01$), 与未脱色白蜡虫多糖相比, 脱色后的白蜡虫多糖抗氧化能力增强。这可能是由于部分抗氧化活性较低的杂质被吸附, 使得具有抗氧化活性成分浓度增加, 细胞存活率相应增加。

表4 Vc、脱色前后白蜡虫多糖对 H_2O_2 损伤的 SH-SY5Y 细胞相对存活率的影响 ($\bar{x} \pm s; n = 4$) *

项目	浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	细胞相对存活率/%
Vc	0(对照)	61.8 \pm 8.8
	200	84.0 \pm 4.4 **
未脱色白蜡虫多糖	0(对照)	65.0 \pm 11.9
	0.1	56.1 \pm 4.7
	1.0	54.8 \pm 8.3
	10.0	50.2 \pm 8.3
	100.0	65.1 \pm 9.5
	1 000.0	76.8 \pm 8.3
脱色后白蜡虫多糖	0(对照)	74.0 \pm 11.1
	0.1	43.4 \pm 9.0
	1.0	62.6 \pm 4.0
	10.0	76.2 \pm 10.1
	100.0	89.4 \pm 7.0
	1 000.0	109.2 \pm 7.0 **

注: * 正常组的细胞相对存活率为 100% 计; 与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 结论与讨论

通过树脂筛选、吸附条件选择试验确定了 NKA-9 树脂为白蜡虫水溶性多糖合适的脱色树脂, 30 $^{\circ}\text{C}$ 下将 1 BV 10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ pH 值 8.0 的白蜡虫多糖溶液以 1 BV $\cdot \text{h}^{-1}$ 流速上样, 然后以 5 BV 体积的去离子水洗脱, 收集洗脱液浓缩干燥后得到脱色白蜡虫多糖, 在此条件下其脱色率为 71.4%、多糖收率 60.0%, 脱蛋白率 51.9%。脱色后多糖溶液在 10 ~

1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内均能提高氧化损伤 SH-SY5Y 细胞的存活率, 其中, 浓度为 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的脱色白蜡虫多糖能显著增加 ($P < 0.05$) 细胞存活率, 表明经过 NKA-9 树脂脱色除杂后, 白蜡虫多糖的抗氧化能力得到提高。

大孔树脂是一类具有大孔网状结构团的高分子材料, 按作用机理分为离子交换树脂和大孔吸附树脂, 其中, 大孔吸附树脂不含功能基团, 通过范德华力和氢键作用进行物理吸附作用^[22], 根据材料不同分为极性、弱极性和非极性 3 种类型, 不同树脂的表面吸附基团、比表面积及孔径有差异, 而吸附树脂的吸附能力与这些参数密切相关, 比表面积大吸附能力强, 还需要合适的孔径以便吸附物能进入树脂内部。此外, 如果树脂表面基团及吸附物作用较弱则吸附较低, 故需要从各种型号的树脂中进行筛选得到合适吸附树脂。白蜡虫多糖色素在极性和非极性树脂上均能吸附, 表明色素含有极性或非极性基团, H103 在几种树脂中比表面积最大、孔径适中, 但对树脂吸附最弱, 有可能是树脂表面基团对色素作用力较小, 吸附能力较低; S-8 树脂孔径较大, 但比表面积较小, 可能是其脱色率较低的原因。蛋白质是两性物质, 具有多种基团, 在极性和非极性树脂上均能吸附, 因此, 树脂在脱色素的同时还具有脱除蛋白作用。白蜡虫多糖在树脂上的吸附表明, 多糖可能含有硫酸基等极性基团, 也有可能和蛋白、色素结合, 使得在脱色过程中多糖有一定损失。

目前, 抗氧化活性的测定方法主要有化学方法和动物体内测定 2 类。化学方法较为快捷、重复性较好、易于标准化, 但由于体内抗氧化是多种途径协同作用, 体外研究结果不能代表体内具有相同作用; 体内抗氧化评价需要借助动物模型进行, 评价结果较为可靠、真实, 但费用较高, 耗时较长。细胞抗氧化分析是测定、筛选各物质抗氧化活性一种新的可供选择方法, 该方法利用离体培养细胞对抗氧化物质进行抗氧化能力测定, 涉及细胞吞吐、新陈代谢等生物行为, 能模拟体内细胞的一些生物行为, 因此, 比传统体外化学抗氧化测定更具生物代表性, 同时与动物体内抗氧化测定相比有相对简便快捷, 是一种接近生物体抗氧化行为的方法。过氧化氢损伤细胞引起线粒体膜损伤、抑制细胞凋亡抑制蛋白 Bcl-2 的表达及促进半胱氨酸蛋白酶 Caspase-3 的表达, 从而引起细胞凋亡; 而白蜡虫多糖能使过氧化氢损伤后的细胞存活率增加, 可能在这些途径中参与作用,

但具体抗氧化机理需要进一步研究。

参考文献:

- [1] 陈晓鸣,冯颖. 资源昆虫学概论[M]. 北京:科学出版社, 2009:29-30
- [2] 冯颖,陈晓鸣,马艳,等. 白蜡虫免疫调节作用试验研究[J]. 林业科学研究,2006,19(2):221-224
- [3] 冯颖,陈晓鸣,何钊,等. 白蜡虫抗突变实验与主要功效成分分析[J]. 林业科学研究,2006,19(3):284-288
- [4] 何钊,冯颖,孙龙,等. 黄粉虫多糖响应面法提取及抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报,2011,30(5):641-647
- [5] 孙龙,冯颖,何钊,等. 蟑螂水溶性多糖提取、分析及免疫活性研究[J]. 林业科学研究,2009,22(2):256-261
- [6] 孙龙,冯颖,何钊,等. 蚕蛹多糖的碱液提取及免疫活性初步研究[J]. 林业科学研究,2007,20(6):782-786
- [7] 何钊,孙龙,冯颖,等. 白蜡虫多糖的提取及单糖组分分析[J]. 林业科学研究,2008,21(6):792-796
- [8] 杨云,田润涛,苗明三,等. 大枣渣多糖活性炭脱色工艺研究[J]. 河南中医学院学报,2004,19(1):35-36
- [9] Jian-Hua Xie, Ming-Yue Shen, Shao-Ping Nie, *et al.* Decolorization of polysaccharides solution from cyclocarya paliurus (batal.) Iljin-skaja using ultrasound/h₂o₂ process [J]. Carbohydrate Polymers, 2011,84(1):255-261
- [10] 卢国勇,孟江,廖华卫. 鱼腥草多糖双氧水脱色工艺研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(3):671-673
- [11] 李文芳,向昌国,罗庆华,等. 南瓜藤蔓中多糖脱色工艺的研究及其含量变化[J]. 食品科学,2006,27(12):442-445
- [12] 宿玮,王彦超,张翠玉,等. 海地瓜多糖脱色工艺研究[J]. 离子交换与吸附,2011,27(6):521-529
- [13] 王丽波,赵玉,徐雅琴. 南瓜多糖大孔吸附树脂纯化工艺[J]. 农业机械学报,2010(9):138-142
- [14] Liu J, Luo J, Sun Y, *et al.* A simple method for the simultaneous decoloration and deproteinization of crude levan extract from paenibacillus polymyxa ejs-3 by macroporous resin[J]. Bioresour Technol,2010,101(15):6077-6083
- [15] 王松柏,秦雪梅,郭小青,等. 树脂对防风粗多糖脱色效果[J]. 应用化学,2005,22(12):1308-1311
- [16] 杨云,冯卫生,雷高明. 大枣渣多糖精制纯化工艺的研究[J]. 中药材,2006,29(1):78-80
- [17] 付学鹏,杨晓杰. 植物多糖脱色技术的研究[J]. 食品研究与开发,2007,28(11):166-169
- [18] 肖丽霞,于洪涛,胡晓松. 香菇多糖的树脂脱色工艺研究[J]. 食品与机械,2011,27(6):241-244
- [19] 谢红旗,周春山. 香菇多糖脱色工艺研究[J]. 离子交换与吸附,2007,23(2):158-165
- [20] 王元凤,金征宇. 茶多糖脱色的研究[J]. 食品与发酵工业,2004,30(12):60-65
- [21] Cho E S, Lee K W, Lee H J. Cocoa procyanidins protect pc12 cells from hydrogen-peroxide-induced apoptosis by inhibiting activation of p38 mapk and jnk[J]. Mutat Res,2008,640(1-2):123-130
- [22] Xiu-Lian Chang, Dong Wang, Bi-Yun Chen, *et al.* Adsorption and desorption properties of macroporous resins for anthocyanins from the calyx extract of roselle (Hibiscus sabdariffa L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2012,60(9):2368-2376