

梁 潇,黄月琴,陈建平. 山药零余子多糖抗氧化活性及对糖尿病小鼠降血糖作用[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):273-275.

山药零余子多糖抗氧化活性及对糖尿病小鼠降血糖作用

梁 潇¹,黄月琴²,陈建平²

(1. 中国人民解放军总医院,北京 100853; 2. 淮南师范学院化学与化工系,安徽淮南 232001)

摘要:提取山药零余子中的多糖,探讨其体外抗氧化活性和对糖尿病小鼠的降血糖作用。结果表明,山药零余子多糖的还原力随着浓度的提高显著增强,对 DPPH· 和 ·OH 具有较强的清除能力,并呈一定的剂量关系,4.0 mg/mL 剂量时清除率分别可达到 91.15% 和 89.06%;山药零余子多糖能显著降低造模小鼠的血糖,且大剂量的山药零余子多糖降糖更明显。山药零余子多糖具有较好的抗氧化性和降血糖作用,这为安全天然食品抗氧化剂、降血糖药剂的开发提供了新来源。

关键词:山药零余子;多糖;抗氧化活性;降血糖作用

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0273-02

山药零余子为薯蓣科多年生草质藤本植物薯蓣 (*Dioscorea opposita* Thunb.) 叶腋间的珠芽^[1],俗称“山药蛋”,呈卵圆形或椭圆形,直径 0.4~2.0 cm;外表皮淡黄色,有细皱纹;顶端中间略有茎痕,质坚硬;断面灰白色至灰褐色,气味淡而不苦,口嚼黏腻;主要含淀粉、多糖(包括黏液质及糖蛋白)、蛋白质、多种游离氨基酸等有效成分^[2],是药用价值很高的药材,可食用,具医疗价值^[3]。山药零余子资源很丰富,产量可达 3 000~6 000 kg/hm²,除了少部分煮食和作为繁殖材料外,大部分作为废弃物被抛弃。为进一步提高零余子的开发利用价值,提高山药产业的附加值,对山药零余子多糖抗氧化活性及对糖尿病小鼠降血糖作用进行研究,以期对山药零余子的综合开发利用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试山药零余子,购于河南省焦作市;ICR 小鼠,SPF 级,体重 20~25 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 山药零余子多糖 山药零余子粉碎后于 60~80 ℃ 热水提取 5 h,收集提取液,减压浓缩至适当体积,按 Sevag 法去除蛋白,再用乙醇沉淀为粗品多糖。

1.2.2 试验动物造模及分组处理 ICR 雄性小鼠 80 只,在试验环境中适应 4 d 后禁食 12 h,经腹腔一次性注射四氧嘧啶,剂量为 150 rag/kg;再饲养 3 d 后禁食 6 h,测定空腹血糖,并选择空腹血糖在 10 mmol/L 以上的试验小鼠作为糖尿病小鼠。

将 ICR 雄性小鼠分为 5 组,即正常对照组、糖尿病模型组和山药多糖模型组 3 个剂量组,每组 10 只小鼠。山药多糖模型组小鼠分别以 10、20、30 rag/kg 山药多糖灌胃,正常对照组

和糖尿病模型组均灌胃等量的蒸馏水。每日 1 次,连续给药 30 d,分别测定小鼠不同时期的体重和空腹血糖。小鼠耐糖量检测在试验结束时进行,将空腹 6 h 后的小鼠,用葡萄糖以 25 g/kg 剂量灌胃处理,分别测定小鼠口服葡萄糖后 0、1、2 h 的血糖值^[4]。

1.2.3 山药零余子多糖还原力测定 取不同浓度样品溶液 2.5 mL 于试管中,依次加入 2.5 mL 磷酸缓冲液(0.2 mol/L, pH 值 6.6)和 2.5 mL 1% 六氰合铁酸钾溶液,于 50 ℃ 水浴保温 20 min 后,快速冷却,再加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸溶液,混匀,5 000 r/min 离心 10 min;移取上清液 2.5 mL 于试管中,依次加入 2.5 mL 蒸馏水、0.5 mL 0.1% 三氯化铁溶液,充分混匀,静置 10 min 后,以蒸馏水做参比液,在波长为 700 nm 处测定吸光度。吸光度越大表示还原能力越强^[5]。

1.2.4 山药零余子多糖对 DPPH· 清除能力的测定 取样品液 2 mL,加入 2 mL 0.000 1 mol/L DPPH 溶液(溶于 95% 乙醇),混匀后在室温下避光反应 20 min,1 000 r/min 离心 10 min,在波长为 517 nm 处测得吸光度为 D_i ;空白组为 2 mL 样品液加入 2 mL 95% 乙醇溶液,517 nm 处测得吸光度为 D_j ;对照组为 2 mL DPPH 溶液与 2 mL 蒸馏水混合,517 nm 处测得吸光度为 D_e ,以等体积蒸馏水和 95% 乙醇混合液作为空白进行调零。清除率计算公式为: $\text{DPPH} \cdot \text{清除率} = [1 - (D_i - D_j)/D_e] \times 100\%$ ^[6]。

1.2.5 山药零余子多糖对 ·OH 清除能力的测定 样品组试管中依次加入 pH 值为 7.4 的 0.4 mol/L 磷酸缓冲液、2.5 mmol/L 邻二氮菲溶液、样品液、2.5 mmol/L 硫酸亚铁溶液各 1 mL,0.02 mol/L H₂O₂ 0.5 mL;损伤组中用 1 mL 蒸馏水代替样品液;空白组中用 1.5 mL 蒸馏水代替样品液和 H₂O₂ 溶液。37 ℃ 恒温水浴反应 1 h,快速测定 536 nm 处的吸光度^[7]。样品对 ·OH 的清除率计算公式为: $\cdot\text{OH} \text{清除率} = (D_0 - D_2)/(D_1 - D_2) \times 100\%$ 。其中, D_0 为加入样品液和 H₂O₂ 的 ·OH 体系吸光度; D_1 为加样品液而不加 H₂O₂ 的 ·OH 体系吸光度; D_2 为加 H₂O₂ 不加样品液的 ·OH 体系吸光度。

1.2.6 血糖测定 采集试验小鼠眼眶内眦静脉血,空腹血糖采集禁食 6 h 后的小鼠静脉血。取血清用葡萄糖氧化酶-过

收稿日期:2013-07-28

基金项目:淮南师范学院重点基金(编号:2011LK76zd);淮南师范学院青年基金(编号:2010LK13)。

作者简介:梁 潇(1986—),女,安徽淮南人,硕士,药师,从事药物分析研究。E-mail:liangxia0520@sina.cn。

氧化酶法测定血糖。

1.2.7 数据分析 试验数据用“平均值 ± 标准差”表示,以 Minitab 16 统计软件进行单因子方差分析,采用邓肯氏新复极差法进行各组间比较。

2 结果与分析

2.1 山药零余子多糖的还原能力

还原力是物质抗氧化能力的一个重要指标,还原力强弱是多糖抗氧化性的重要参数。山药零余子多糖样品在 700 nm 处吸光度的高低,可以间接反映多糖抗氧化能力的大小。由图 1 可知,随着山药零余子多糖试验样品浓度升高,吸光度逐渐增加,多糖还原力也呈增加趋势;多糖浓度为 5 mg/mL 时,吸光度最高,还原力最强。

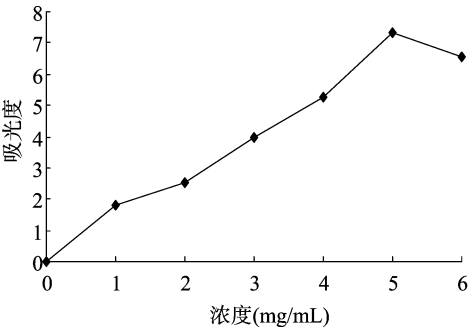


图1 山药零余子多糖的还原能力

2.2 山药零余子多糖对 DPPH· 的清除能力

由图 2 可知,不同浓度的山药零余子多糖对 DPPH· 均有一定程度的清除作用,且随着浓度升高清除率增加;山药零余子提取物浓度为 4.0 mg/mL 时,对 DPPH· 的清除率为 91.15%。回归分析表明,山药零余子多糖对 DPPH· 的清除效果与多糖浓度符合一元一次方程模型,其方程为 $y = 22.994x + 10.2429 (r^2 = 0.9946)$ 。

2.3 山药零余子多糖对 ·OH 的清除能力

羟基自由基是体内最活泼的氧,累积过剩时可以引起多

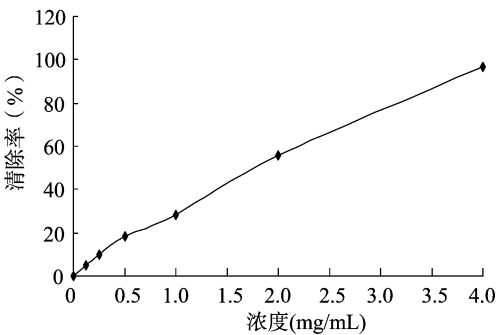


图2 山药零余子多糖对DPPH· 的清除能力

种病理变化,而多糖可以提供氢原子,与羟基自由基结合成水,达到清除自由基的效果。由图 3 可知,不同浓度山药零余子多糖对体系中产生的 ·OH 均有一定的清除作用,且随着山药零余子多糖浓度升高,清除效果逐渐增强;山药零余子多糖浓度为 4.0 mg/mL 时,对 ·OH 的清除率达到 89.06%。

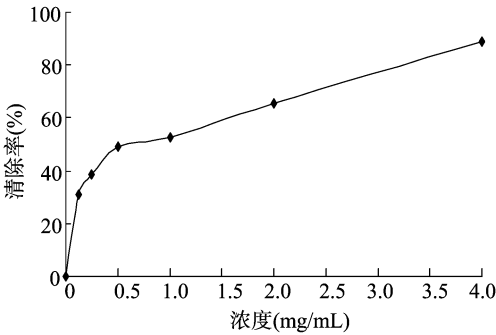


图3 山药零余子多糖对·OH 的清除能力

2.4 山药零余子多糖对各组试验小鼠空腹血糖的影响

由表 1 可知,造模前,对照组、山药多糖组小鼠空腹血糖含量无显著性差异;造模后,各小组血糖含量与正常对照组差异显著;治疗后,各多糖剂量组的糖尿病小鼠血糖含量均降低,高剂量(30 mg/kg)山药多糖降糖更加明显。这说明山药零余子多糖可有效降低糖尿病小鼠的高血糖水平。

表 1 山药零余子多糖对各组试验小鼠空腹血糖的影响

组别	鼠数 (只)	剂量 (mg/kg)	造模前血糖含量 (mmol/L)	造模后血糖含量 (mmol/L)	治疗后血糖含量 (mmol/L)
正常对照组	10	0	5.53 ± 0.64aA	6.15 ± 0.57aA	6.09 ± 0.72aA
模型对照组	10	0	6.12 ± 0.78aA	15.32 ± 0.64bB	15.08 ± 0.73dB
山药多糖组	10	10	5.92 ± 0.76aA	15.28 ± 0.52bB	14.23 ± 0.53cB
	10	20	5.76 ± 0.57aA	15.95 ± 0.64cB	13.89 ± 0.70cB
	10	30	5.95 ± 0.76aA	16.03 ± 0.61cB	12.71 ± 1.06bB

注:同列数据后不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

3 小结与讨论

自由基的氧化损伤与许多疾病的发病机理有关,人体通过适当摄入具有抗氧化活性的物质可以降低体内自由基水平,防止脂质过氧化。脂质过氧化与衰老密切相关,甚至诱发许多疾病^[8]。本试验结果表明,山药零余子多糖具有显著的抗氧化活性,还原力强,4.0 mg/mL 剂量对 DPPH· 和 ·OH 的清除能力分别为 91.15% 和 89.06%。

四氧嘧啶诱发糖尿病的机理已经清楚,它能选择性地破

坏胰岛 β 细胞,使胰岛内的分泌细胞减少、细胞肿胀、空泡增多等,在胰岛 β 细胞被破坏的机制中,自由基起着至关重要的作用^[9]。本研究结果表明,山药零余子多糖可明显降低四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖,这可能与增加胰岛素分泌、改善受损坏的胰岛 β 细胞功能及清除多余的自由基等有关。

本研究利用化学模型表明山药零余子多糖具有较强的抗氧化和降血糖作用,为以后安全有效、具营养作用的天然抗氧化剂和降血糖药剂的开发提供了新资源,这既提高了药农的收入,又将山药零余子变废为宝。

赵文, 刘国顺, 贾方方, 等. 烤烟烟碱含量的高光谱预测模型[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 275-279.

烤烟烟碱含量的高光谱预测模型

赵文¹, 刘国顺¹, 贾方方¹, 丁松爽¹, 高静静¹, 邢雪霞^{1,2}

(1. 河南农业大学烟草学院/国家烟草栽培生理生化研究基地, 河南郑州 450002;

2. 中国烟草总公司南阳市公司, 河南南阳 473000)

摘要:利用高光谱参数预测烤烟叶片中的烟碱含量, 选取大田试验条件下不同光照强度处理的烟株测定光谱反射率。选择 18 个高光谱参数与烟碱含量进行相关性分析并构建回归方程, 进而建立烤烟叶片烟碱含量的高光谱参数预测模型, 并对模型进行均方根误差和相对误差检验。结果表明: 烟碱含量与选取的高光谱参数之间的相关系数均达到极显著水平, 最高为 0.83。选取其中相关性最好的 8 个高光谱参数并建立多种函数的回归模型发现, 抛物线的拟合精度 r^2 在各方程中为最优, 达到 0.773。结合误差检验得出: 选取的 8 个参数中误差检验与预测模型的精度相符合, 说明预测模型稳定性良好, 能够进行烟碱含量的快速、简便、准确的预测, 尤其以 NDSI 导数、RSI 导数、SASI 导数的抛物线预测模型为最佳。

关键词:烤烟; 高光谱; 烟碱含量; 预测模型

中图分类号: TS41⁺1

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2014)03-0275-05

烟碱作为烟草特有的化学成分, 对烟叶的刺激性、生理强度以及香味吃都有很大的影响^[1-2]。有研究表明, 烟叶中的烟碱含量介于 1.5% ~ 3.5% 之间时, 烟叶为优质水平; 烟碱含量过低时, 则吸食平淡乏味; 烟碱含量过高时, 则烟气劲头过大^[3-4]。近年来, 随着高光谱遥感技术的发展, 基于高光谱原理的无损测试技术已经逐步在农业上得到应用, 目前国内外学者已经对多种作物进行了光谱反射率及化学组分的相关性研究。Johnson 等研究了 2 160 nm 波段处树叶反射率的一阶导数与叶片全氮含量间的相关性, 结果发现相关性在整个可见光至红外波段范围内最好, 用光谱分析方法估测鲜叶的含氮量时发现, 其精度大于 85%^[5]。牛铮等的研究表明, 小麦鲜叶片的精细光谱特征能够较好地反映出其 7 种化学组分含量, 尤其对粗蛋白、氮、钾含量的反映最好, r^2 均达到 0.8

以上^[6]。高光谱预测在烟草上的应用尚处于起步阶段, 李向阳等采用逐步回归方法建立了 K326 烤烟叶片烟碱含量的回归方程, 认为一阶导数光谱回归模型的模拟效果较好, 但要达到田间实时实地检测, 还要考虑外界环境的影响^[7]。吴玉萍等指出, 不同品种烤烟间的烟碱含量差异显著, 因此研究不同品种烤烟的大田环境光谱预测模型很有必要^[8]。刘良云等认为, 460 ~ 740 nm 波段光谱反射率与烟碱和全氮含量呈极显著负相关, 430 ~ 710 nm 波段光谱透过率与全氮含量呈极显著负相关、与烟碱含量呈显著负相关^[9]。有研究表明, 利用 PPR(550, 450) 和 NRI(近红外) 建立的烟叶氮素、烟碱、钾离子含量的光谱预测模型都有很好的稳定性。辛荣等指出, 利用多元分析中的逐步回归法、主成分分析法建立全氮预测模型的效果较好^[10]。此类研究虽然较多, 但尚未见涉及不同光照强度处理下高光谱对烟碱含量的预测模型。由于光照强度对烤烟烟碱含量的影响较大, 且光照强度过低会导致烟碱含量升高, 烟叶品质下降^[11], 因此本试验采用在大田中使用不同层数的纱布遮阴处理烟叶, 通过对不同生育期内光谱反射率的测定研究烤烟烟碱含量与光谱之间的关系, 旨在建立一个精确的烟碱高光谱参数预测模型, 为快速测定烤烟叶片中的烟碱含量提供新的研究方法和思路。

收稿日期: 2013-10-31

基金项目: 中国烟草总公司特色优质烟叶开发重大专项[编号: 110201101001(TS-01)]。

作者简介: 赵文(1987—), 男, 河南民权人, 硕士研究生, 主要从事烟草栽培高光谱研究。E-mail: paituoa@163.com。

通信作者: 刘国顺, 教授, 主要从事烟草栽培研究。E-mail: liugsh1851@163.com。

参考文献:

- [1] 赵冰. 山药栽培新技术[M]. 北京: 金盾出版社, 1998: 13.
- [2] 都恒青. 常用中药材品种整理和质量研究(北方篇): 第二册[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995: 1089.
- [3] 孙锋, 谷文英, 丁霄霖. 山药粗多糖的提取工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(3): 79-83.
- [4] Vogel H G. 药理学实验指南: 新药发现和药理学评价[M]. 杜冠华, 译. 北京: 科学出版社, 2001: 699-700.
- [5] 罗祖友, 严奉伟, 薛照辉, 等. 藤茶多糖的抗氧化作用研究[J].

食品科学, 2004, 25(11): 291-295.

- [6] Zha X Q, Wang J H, Yang X F. Antioxidant properties of polysaccharide fractions with different molecular mass extracted with hot-water from rice brain[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 78(3): 570-575.
- [7] 金鸣, 蔡亚欣, 李金荣, 等. 邻二氮菲- Fe^{2+} 氧化法检测 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 产生的羟自由基[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(6): 553-555.
- [8] 朱淑云, 董英, 张海晖, 等. 水飞蓟粕蛋白的酶解及其酶解物抗氧化活性研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(2): 68-72.
- [9] 杨锁成, 孟杰, 胥志才. 消渴康泰对大鼠实验性糖尿病防治作用的机理研究[J]. 中国中医药科技, 2000, 7(2): 77-78.