

ICS 11.120
CCS C27

T/GZDJK

团 体 标 准

T/GZDJK 001-2024

白及胶冻干粉制造通用技术

Manufacturing General Technology of
Bletilla striata Gum Freeze-dried Powder

2024 - 03 - 15 发布

2024 - 03 - 31 实施

贵州省大健康产业联合会 发布

目次

前 言	I
引 言	II
白及胶冻干粉制造通用技术	1
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 卫生健康要求	1
5 设备	2
6 原料要求	2
7 等级指标	2
8 生产工艺流程	2
附 录 A（资料性）白及胶冻干粉应用	6
附 录 B（资料性）白及胶冻干粉生产车间	7
附 录 C（资料性）白及胶冻干粉一体化生产系统	8
附 录 D（资料性）白及胶冻干粉总糖含量的测定方法	11
附 录 E（资料性）白及胶冻干粉 DPPH 自由基清除率	12
附 录 F（资料性）白及胶冻干粉 Fe ³⁺ 还原力测定	13
参考文献	14

前言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》起草。

本文件由贵州航天智慧农业有限公司（中国航天科工集团有限公司慧农科技总体部）、贵州省现代中药材研究所、遵义医科大学联合提出。

本文件由贵州省大健康产业联合会归口。

本文件起草单位：贵州航天智慧农业有限公司（中国航天科工集团有限公司慧农科技总体部）、贵州省现代中药材研究所、贵州江南航天信息网络通信有限公司、贵州航天乌江机电设备有限公司（超临界流体技术及装备国家地方联合工程研究中心）、贵州贵安精准医学股份有限公司、贵州养研仕科技有限公司、重庆大学、遵义医科大学、浙江大学、大连理工大学、巴斯大学（University of Bath）、正源堂（天津）生物科技有限公司、重庆市中医院、江苏汉凰科技有限公司、天津科技大学食品科学与工程学院、重庆市食品药品检验检测研究院、西南大学药学院、西部（重庆）科学城种质创制大科学中心、贵阳晨光生物科技有限公司、广州晖琳生物科技有限公司、浙江理工大学、天津大学浙江研究院（绍兴）、安龙县欣蔓生物科技有限责任公司、贵州科益创生物科技有限公司、重庆玛恩生物技术研究院有限公司、天津医科大学临床医学院、邯郸学院、贵州精萃生物科技有限公司、贵州鼎燊星资产管理有限公司、贵州惠稀生物科技有限公司、安徽白芨生物科技有限公司、贵州武陵山药用植物白芨开发有限公司、深圳市护家科技有限公司、肌源荟（广州）生物科技有限公司、天津达仁堂京万红药业有限公司、毕节中药研究所、贵州和道科技有限公司。

本文件主要起草人：陈玉皎、吴明开、王贵学、刘正波、李修松、吴忠本、吴世海、钟莉、雷明星、王梅、赵太均、林平、韩雪。

本文件参与起草人：冯毅雄、綦云华、徐伟、韩立业、詹华书、金新亮、周欢、李聪波、易茜、粟小妮、银建中、张义国、陆军、陈剑清、武亚明、向宁刚、许家倚、刘晓敏、张焱、沈关望、杜思邈、刘欢、侯媛芳、杨香瑜、余湘乾、谢瑶军、张荷轩、何扬洋、唐传照、杨卫平、龙嫫嫫、曾仁俊、陈超、王栋、谭靖龙、曾靖雯、舒鹏、王平、柳芳、杨珊珊、陈明龙、刘宇、陈敏、成忠均、陈艺丹、丁娅丹、刘梦琪、江生、杨茜、段纪维、刘华杰、刘敏、赵恩伟、简振华、王蓉、孟庆伟、李云婷、周泽润、查钦、王媛。

引 言

白及[*Bletilla striates*(Thuub) Reichb.f.]是多年生草本兰科白及属植物。2020版《中国药典》记载：苦、甘、涩，微寒。归肺、肝、胃经。收敛止血，消肿生肌。用于咯血，吐血，外伤出血，疮疡肿毒，皮肤皲裂。其用药历史悠久，药用价值高，现代研究证明具有抗氧化、止血、促进伤口愈合、抑菌、美白和抗肿瘤等功效，其含量较高的主要活性成分是白及胶质。

白及胶质的主要成分是大分子多糖，为一种中性杂多糖，由葡萄糖和甘露糖按照一定比例以 β -糖苷键聚合而成，现代药理研究表明白及胶质不仅可以防止肿瘤血管生成、抗感染、抗肿瘤，还能加速凝血。此外，白及胶是一种优良的天然食品增稠剂，同时是安全性较高的医药用原料、功能性生物材料。1) 在工业应用方面：白及胶可作为染布、高级卷烟、装裱字画等粘合剂，用于中药材野山参断须修复等。2) 在医疗药用方面：白及胶是一种天然无毒、无刺激的高分子材料，具有良好的水溶性、自身降解性、生物相容性和黏附性，且不具备致热原性和抗原性，可作为药用原辅料，具有“药辅合一”的特性，可作为生物医学材料。3) 在日化产品方面：白及胶具有良好的保湿性，可作为面膜添加剂；还具有激活皮肤细胞，增强皮肤免疫功能，促进胶原蛋白生成，加快皮肤修复等功能；可替代皮肤类产品的化学增稠剂使用，从而减少对皮肤的刺激性，发挥保护皮肤、延缓衰老等功能；广泛应用于基础保湿护理、敏感肌肤护理、皮肤修复、美白功能性护肤等产品研制。4) 在军工方面：白及胶可制成止血绷带，用于制备助悬剂、乳化剂、膜化材料，还能作为水果保鲜膜。白及胶的多用途使得白及的单品种产业化前景广阔，但我国现阶段还未建立白及胶制造通用技术。然而，随着白及胶的使用普及，生产端可能会面临无技术标准指导、上市后容易出现产品质量参差不齐等现象。

为了不断提高白及精深加工的工业化水平、形成标准化和质量稳定可控的白及胶冻干粉及系列产品，本文件初步建立了基于水提醇沉原理的白及胶冻干粉制造通用技术。然而，由于本文件是基于阶段性生产研究结果而总结提炼的通用技术，需根据后续的研究实践不断完善与更新。**关于实施过程问题的提出与技术咨询，后续编制的修改完善意见和建议等，可通过邮箱 chenyujiao623198@126.com 交流，欢迎审阅本标准的老师们积极参与其迭代升级。**

在此，特别致谢贵州省科技厅的贵州省道地中药材白及种质资源创新与利用项目（黔科合服企[2020]4008）、白及胶冻干粉抗皮肤光老化产品关键技术应用与研发项目（黔科技支撑[2023]一般428）；国家自然科学基金重点项目血管内皮细胞吞噬促动脉粥样硬化发生的细胞力学生物学机制研究（批准号12032007）；国家重点研发计划基于光电免疫调控效应的常见慢性皮肤病临床实验研究和应用（2023YFC2508200）；等项目对本标准研究与编制的资助和支持。

白及胶冻干粉制造通用技术

1 范围

本文件规定了白及胶冻干粉制造通用技术的卫生健康要求、设备、原料要求、等级指标、工艺流程。

本文件适用于以白及[*Bletilla striates*(Thuub) Reichb.f.]干品为原料,采用水提醇沉原理生产白及胶冻干粉,该冻干粉可作为日化产品原辅料、功能性医用生物材料、绿色生物粘合剂等,应用参见附录 A。

2 规范性引用文件

下列标准对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 1.1—2020 标准化工作导则 第1部分:标准化文件的结构和起草规则。

T/CAS 1.1—2017 团体标准的结构和编写指南。

《中华人民共和国药典》2020版。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 白及

兰科植物白及 *Bletilla striata*(Thunb.)Reichb.f.的干燥块茎。

3.2 白及胶

白及 *Bletilla striata*(Thunb.)Reichb.f.干燥块茎通过水提醇沉法制备的多糖提取物。

3.3 白及胶冻干粉

白及 *Bletilla striata*(Thunb.)Reichb.f.干燥块茎的多糖提取物通过低温冷冻干燥后进行超微粉碎获得的乳白色粉末状产品。

4 卫生健康要求

4.1 企业工作人员每年一次由相关部门进行健康检查,取得签发或续发健康证,可继续工作。新入职员工需取得健康证才能上岗。

4.2 感染或接触传染性疾病的人员不得进入车间区域参与相关工作。

4.3 生产车间内发生的一切工伤事故应立即向上级领导报告。有割伤、烫伤、擦伤或伤口感染的人员应及时进行伤口处理,处理完成后上岗操作。

- 4.4 生产车间工作人员应保持工作服干净整洁及个人卫生。
- 4.5 生产车间应定期进行室内卫生清洁及厂区内的废料清理。

5 设备

- 5.1 提取罐、单效浓缩器、离心机、真空冷冻干燥机、超微粉碎机和乙醇回收塔等，设备与型号参见附录 B、表 B.1。
- 5.2 机器设备均采用合格材质。
- 5.3 每种产品在完成一次制作后，所用设备及器皿应及时清洁。
- 5.4 车间设备应定期维护、检修。

6 原料要求

兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f. 的干燥块茎。夏、秋二季采挖，除去须根，洗净，置沸水中煮或蒸至无白心，晒干或烘干至水分小于 15%。置通风干燥处贮藏。无发霉等变质现象。应符合《中华人民共和国药典》2020 版的规定。

7 等级指标

- 7.1 根据白及胶冻干粉的具体用途，其卫生安全指标及检测方法应符合相应标准和管理规定，如用于保健食品时，微生物指标见保健食品相关国家标准；用于药品时，微生物指标见《中华人民共和国药典》等。
- 7.2 如白及胶冻干粉应用于非功能产品研制，则仅须检测总糖含量，总糖含量按照苯酚-硫酸法测定，总糖含量 $\geq 84\%$ ，参见附录 D。
- 7.3 如白及胶冻干粉应用于功能产品研制，须进一步选择 2 种以上的不同方法检验、且结果均表明其具有该生物功能，如抗氧化功能检验示范如下：白及胶冻干粉抗氧化活性可选择 DPPH（1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼）法和 FRAP（铁离子还原/抗氧化能力）法检测抗氧化活性，试验步骤分别见附录 E、附录 F。
- 7.4 白及胶冻干粉在 20-100 mg/mL 范围内，DPPH 清除率和 Fe^{3+} 还原力随浓度升高而增强，100 mg/mL 时，白及胶冻干粉的 DPPH 清除率 $\geq 73.8\%$ 、 Fe^{3+} 还原力 $\geq 0.79 \text{ L}/(\text{g} \cdot \text{cm})$ 。

8 生产工艺流程

8.1 技术流程

将白及原料粉碎，依次通过水提、醇提后获得白及胶，进一步通过低温冷冻干燥、粉碎后获得白及胶冻干粉，生产工艺流程如图 1。一体化生产系统见附录 C，生产过程展示见附图 C2。

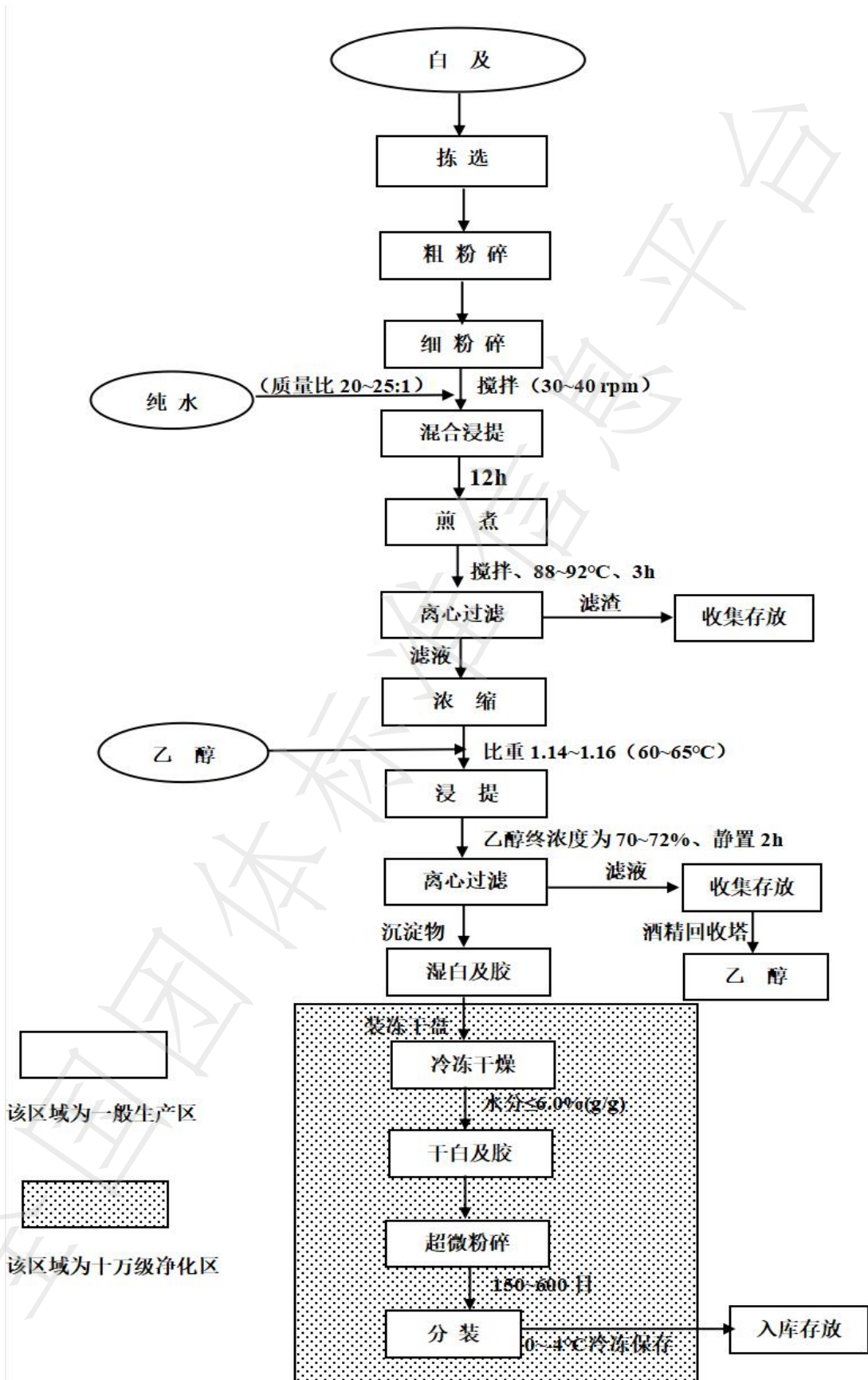


图1 白及胶冻干粉生产工艺流程

8.1.1 粉碎

将白及原料烘干至水分小于 15%，经过粗粉碎约 20 目后，再用超微粉碎机粉碎至 60~120 目，获得白及粉。

8.1.2 水提取

取白及粉（按照质量比白及：纯水=1：20~1：25）加入纯水常温搅拌（30~40 rpm）浸提 12h；后升温至 88~92℃、搅拌提取 3h 后，冷却至室温；将提取物转移至离心机，在 10℃、4000rpm 条件下离心 30min；收集离心后的上清液，转入单效浓缩器、浓缩至比重 1.14~1.16（60~65℃），获得白及提取物浓缩液，于 2~8℃短期冷库保存备用。

8.1.3 乙醇提取

在无水乙醇中不断加入白及水提上清浓缩液，搅拌均匀（60~80 rpm）至乙醇质量终浓度为 70~72%，静置约 2h，去清液后离心（1400rpm、15min），所得沉淀物即为湿白及胶，于 2~8℃冷库短期保存备用。

8.1.4 低温冷冻干燥

将湿白及胶放入冻干盘中（样品装盘前需进行预冻），铺平，厚度约 3~5cm，待冷冻干燥机温度降至-45℃以下时，迅速将冻干盘放入干燥箱中，关好仓门，进行冷冻干燥程序运行参数设定（SCIENTZ-200F 真空冷冻干燥机的参数设置见表 1），启动设备运行。程序运行完成后即得白及胶干品，水分≤6.0%（g/g）。取出样品放入 PE 袋，密封，避免受潮氧化；于 0~4℃短期保存。

表 1 湿白及胶冷冻干燥运行程序参数设置（SCIENTZ-200F 真空冷冻干燥机）

程序	温度（℃）	真空度（Pa）	时间（h）
第 1 阶段	-45	0	4
第 2 阶段	-45	10	8
第 3 阶段	-40	10	8
第 4 阶段	-30	10	6
第 5 阶段	-20	10	6
第 6 阶段	-10	10	6
第 7 阶段	-5	10	5
第 8 阶段	0	10	5
第 9 阶段	5	10	5
第 10 阶段	10	10	5
第 11 阶段	15	10	3
第 12 阶段	20	10	3
第 13 阶段	25	10	3
第 14 阶段	30	10	3
第 15 阶段	35	10	3
第 16 阶段	40	10	12

8.1.5 超微粉碎

用除湿机或中央空调将超微粉碎车间湿度控制在 50%以下，避免白及胶受潮；启动超微粉碎机待循环冷冻温度降至-15~-20℃范围，将样品放入超微粉碎机料斗中，然后锁紧料斗，隔绝空气。根据使用需求目数进行粉碎（粉碎 45min 可达约 100 目，超微粉碎机 WZJ-100B

粉碎粒度高达 1100 目），收集样品，将超微粉碎好的样品放入 PE 袋，于 0~-4℃ 冷冻干燥处保存。

表 2 干白及胶粉碎时间与粒度范围（振动式超微粉碎机 WZJ-100B）

编号	时间 (min)	粒度范围 (DN90 目)
1	20	70~80
2	30	90~100
3	45	100~120
4	60	140~150
5	90	160~180
6	120	190~210
7	150	240~280
8	180	310~350
9	210	380~420
10	240	450~480
11	270	500~530
12	300	560~600

8.1.6 灭菌

本法所得湿白及胶采用低温真空冷冻干燥法干燥技术具有灭菌功能。而白及胶干燥后出料、粉碎在净化区的操作间，获得的白及胶冻干粉微生物指标如：细菌总数、霉菌和酵母菌总数、大肠埃希菌及金黄色葡萄球菌等可达到食品级微生物控制要求，可不再进行灭菌处理。如白及胶冻干粉有特殊的应用要求，需再进行灭菌处理，可采用高钴 60 或 γ 射线辐照等灭菌方式。如应用于保健食品原辅料，则采用辐照灭菌的辐照剂量应符合食品安全标准规定，且灭菌后的微生物指标应符合相应的规定。

8.1.7 白及胶冻干粉储存与分装包装

白及胶冻干粉封装应平整严密，包装材料应根据用途，符合相应的国家标准要求，净含量应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。包装完成后可置常温阴凉干燥处临时保存、2~8℃ 冷藏短期保存、0~-4℃ 冷冻长期保存。此外，可按需求进行分装，瓶装参见一体化生产系统，见附录 C 中图 C3、图 C4。

白及胶冻干粉应存放于冷藏（冻）仓库内，不应与有害、有异味、有腐蚀性等物品混贮，堆放应隔墙离地。

8.1.8 质量管理

生产人员应每年进行健康体检；进入一般区与净化区车间的人员应按规定程序进行更衣、个人卫生管理；生产环境控制指标应符合生产工艺要求，一般区应有防虫、防鼠、防蚊蝇设施；净化区在开展生产加工前、对应的车间应紫外消毒 30min，生产加工完成后，清洁车间，并紫外消毒 30min。

白及原料采购、加工过程、贮存均应有相应的记录，记录保存期限不得少于 2 年；

附录 A
(资料性)
白及胶冻干粉应用

A.1 日化产品

白及胶冻干粉作为一种天然植物提取物，色白、无刺激，具有抗氧化活性、增强产品粘稠度，是理想的高端日化产品添加剂，可作为护肤、洗护发等产品原辅料。

在护肤品方面，用于面膜、精华液、眼霜、面霜等产品。通过形成保湿膜，防止肌肤水分流失；能抑制皮肤氧化损伤、促进真皮胶原蛋白合成，具有抗衰老功效；能抑制黑素细胞活性和功能，因而推荐应用于功能性美白护肤品研制。

在洗护发品方面，可用于洗发水、护发素、发膜等配料，具有滋养头发、抗脱发、促进头发生长的功效，此外，形成的保湿薄膜免受洗涤剂损伤头发，增强头发韧性，减缓脱发。

A.2 医用产品

白及胶冻干粉具有促进组织修复、创面愈合、止血等功效，可用于开发伤口敷料，如小面积皮肤伤口的创可贴、大面积伤口的敷料或敷料膜等产品；医用胶带等产品；口腔护理，如牙膏、漱口水等产品，可用于粘膜损伤、炎症等导致的龋齿、口腔溃疡等症状的辅助治疗。

A.3 保健品、药用产品

白及胶冻干粉具有调节细胞氧化还原平衡的功能。这为其开发成抗氧化型保健食品或保健品提供了理论依据。如研制清除机体内活性氧的作用，具有抗衰老、延缓机体老化等保健功效的胶囊、口服液等口服制剂。

A.4 其他应用

白及胶冻干粉作为一种植物胶，可取代部分合成胶作为各类胶粘剂、乳化剂、胶溶剂、乳液、悬浮剂的原料，增加产品的天然性；可制成生物可降解薄膜用于食品包装材料，降低白色污染。此外，可进一步考察其与其他天然高分子材料的配伍性、或进一步结构修饰等，进而研发新型功能材料。

附录 B
(资料性)
白及胶冻干粉生产车间

根据水提醇沉原理制造白及胶冻干粉的技术流程，生产车间可采用热风循环烘箱、震荡式分选机、破碎机、超微粉碎机、搅拌提取罐、高速离心式分离机、单效浓缩器、醇沉罐、乙醇回收塔、储液罐、离心机、冷冻干燥机等设备，并配套二级反渗透纯化水、真空泵、空压机等机组，包含蒸汽锅炉、冷藏库（2~8℃）、冷冻库（0~-4℃）等。此外，产品粉碎包装需 10 万级净化车间。生产车间布局参见图 B1。

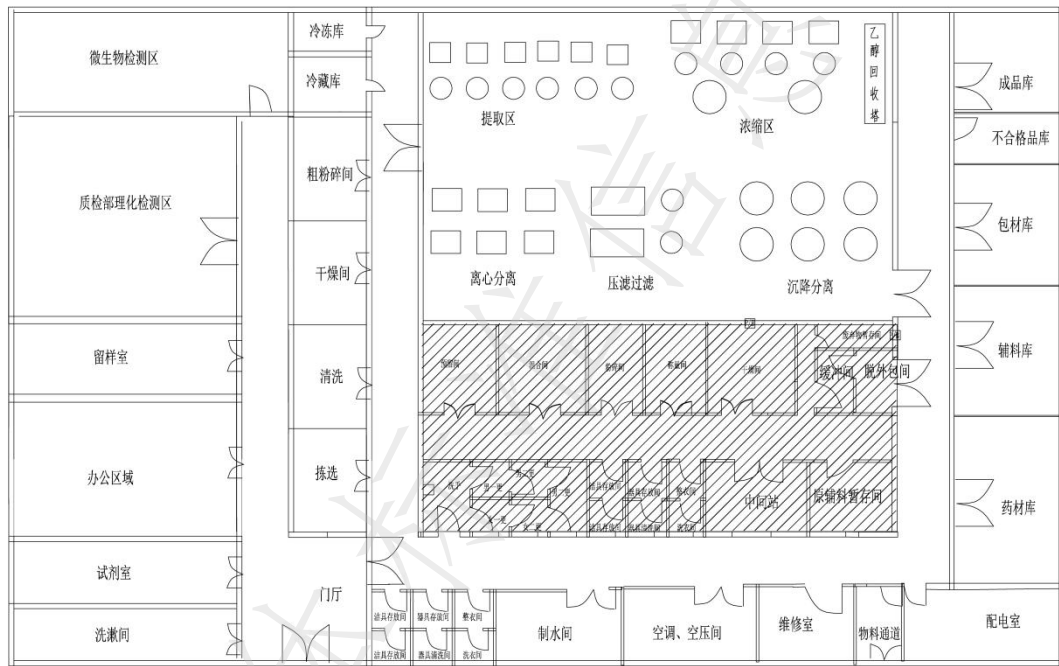


图 B1 白及胶冻干粉生产车间参考平面图

表 B1 白及胶冻干粉生产主要设备

编号	名称	建议参考型号/规格
1	超微粉碎机	WZJ-100B
2	提取罐	SB-N3.0T
3	单效浓缩器	BSQ-1000
4	离心机	S800
5	乙醇回收塔	JS-300
6	压滤机	XAMJ60/870-30U
7	真空冷冻干燥机	SCIENTZ-200F

附录 C
(资料性)
白及胶冻干粉一体化生产系统

C.1 基于水提醇沉原理的白及胶通用生产系统

根据白及水提取—离心—浓缩—乙醇提取—离心—白及胶获得等技术流程,设计可满足不同需求的、规模化、智能化白及胶生产系统,生产系统包括提取罐、真空上料机、离心机、浓缩器、醇沉分离一体罐、离心液储罐和浓缩液储罐等装置,过程重要参数为提取温度控制、乙醇浓度控制、水回收控制、乙醇回收控制、液固分离控制、装置清洁控制等,实现水提取、液固分离(水回收循环利用)、醇提取、液固分离(乙醇回收循环利用)一体化。生产过程绿色环保,全过程溶剂循环利用。技术路线如图 C1 所示。

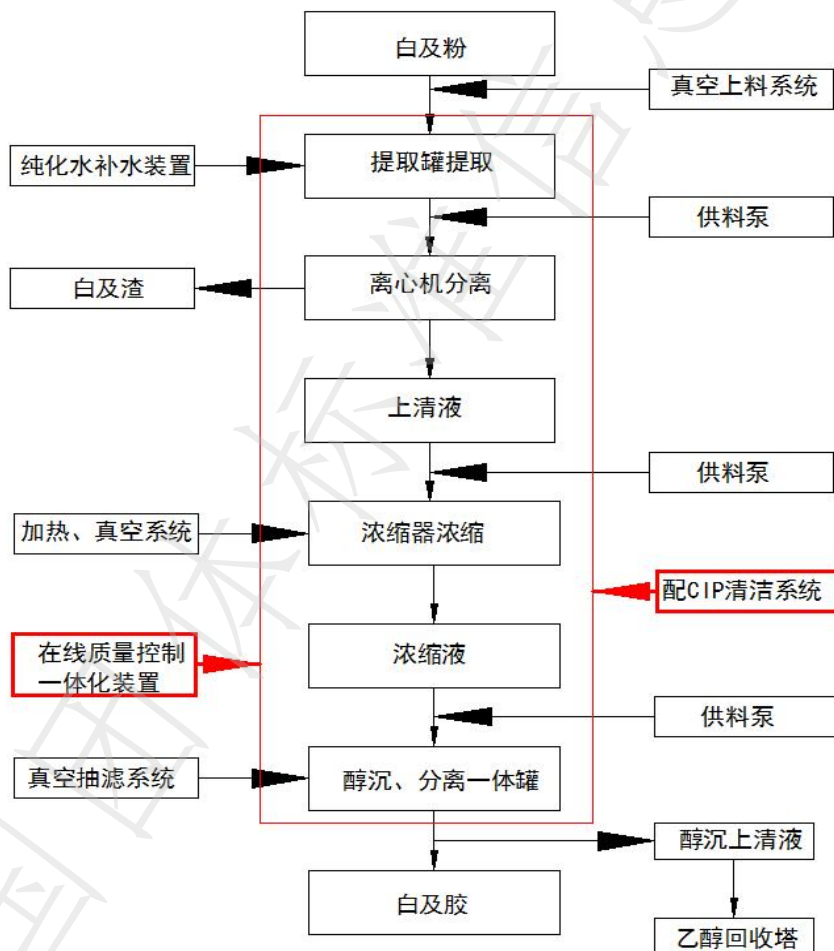


图 C1 白及胶生产技术路线

C.2 生产案例---以贵州白及为例

贵州有着“黔地无闲草，夜郎多灵药”的美誉，中药材白及为贵州十大中药材品种之一，贵州安龙县、兴义市良好的自然生态使得白及块茎药用品质独居优势，贵州省农科院中药材团队选育的新品种（从白及植物资源群体采用选择育种技术，人工选育优质高产新品种，已通过省级认定）“贵芩1号”的白及胶含量高达80%以上。

采用的国家地理标志品种“安龙白及”（品种为贵苕1号）为原料，根据水提醇沉原理提取白及胶。关于乙醇提取后湿白及胶的干燥方式，生产研究实验结果显示，相对常规热风循环干燥或带式微波而言，低温冷冻干燥具有很好保持白及胶的乳白色和生物活性等优势，此外，干燥的粉末便于白及胶冻干粉产品的运输、储存和使用，因此，采用冷冻干燥后通过超微粉碎获得白及胶冻干粉产品。通过开展了100余批（约30kg干品白及/批）的中试生产研究和30余批（150kg干品白及/批）的小规模生产验证，整理分析以上生产数据与质量管控经验，建立白及胶冻干粉稳定高产的阶段性制造通用技术，规模化生产研究成果已于2022年发表文章（基于水提醇沉原理的白及胶规模化生产研究[J].农产品加工,2022(08):19-23.），可为白及胶加工工业化生产线建设提供技术参考。生产过程展示如图C2。

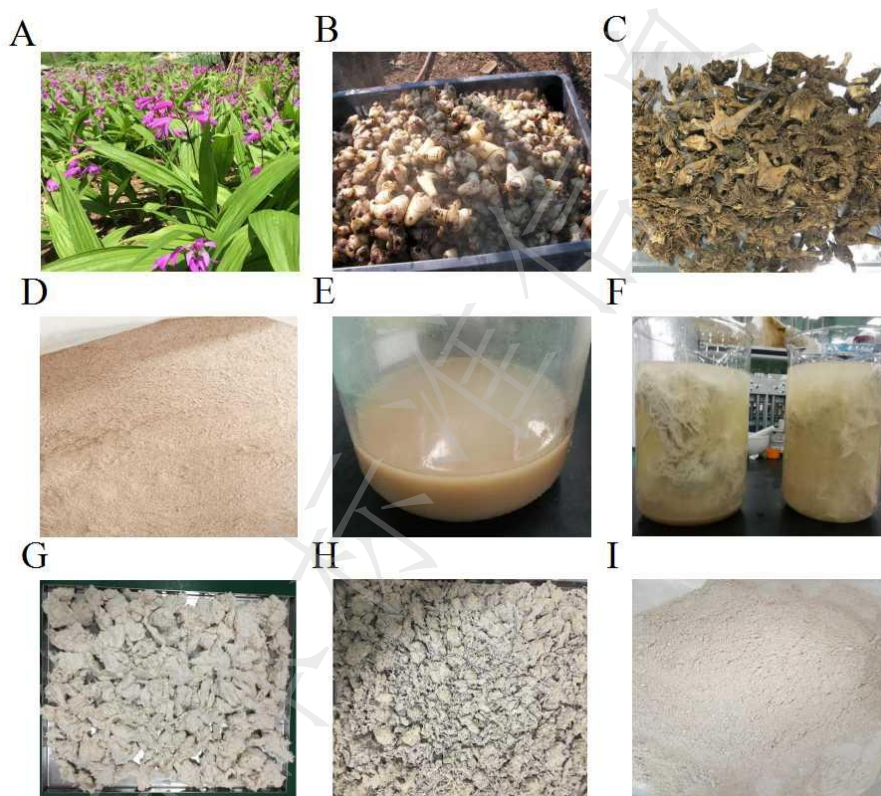


图 C2 白及胶冻干粉制造过程展示

A-贵州安龙白及基地；B-新鲜白及；C-白及干燥块茎（新鲜白及块茎清洗后，100℃水煮6min，60℃烘干至水分小于15%）；D-白及粉（120目）；E-白及水提浓缩物（水提物浓缩后、加乙醇提取前的状态。该浓缩物的状态为：浓缩至原液体积的1/4）；F-白及醇沉液（醇沉完毕、白及胶待取出时的状态。该醇沉液的状态为：乙醇浓度70%）；G-湿白及胶（絮状）；H-冻干白及胶；I-白及胶冻干粉（200目）。



图 C3 白及胶冻干粉瓶装（1 瓶）



图 C4 白及胶冻干粉瓶装（6 瓶）

附录 D

(资料性)

白及胶冻干粉总糖含量的测定方法

1 原理

糖在浓硫酸作用下脱水生成的糠醛或羟甲基糠醛能与苯酚缩合成一种橙红色化合物,在 10-100mg 范围内其颜色深浅与糖的含量成正比,且在 490nm 波长下有较大吸收峰,故可用比色法在此波长下测定总糖含量。

2 葡萄糖标准曲线的测定

分别吸取 0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 的葡萄糖标准溶液至 10 mL 具塞试管,用蒸馏水补至 1.0 mL,向试液中加入 1.0 mL 5%苯酚溶液,然后快速加入 5.0 mL 浓硫酸(与液面垂直加入,勿接触试管壁,以便与反应液充分混合),反应液静置 10 min。采用涡旋振荡器使反应液混匀,然后将试管置于 30℃ 水浴锅中反应 20 min。取适量反应液测定 490 nm 波长的吸光度。

3 测定白及胶冻干粉总多糖含量

将干燥至恒重的白及胶冻干粉 50 mg,用减量法称取后放置在 100 mL 容量瓶中,加蒸馏水定容至刻度,摇匀,获得样品测试液。准确吸取样品测试液 0.2 mL 于 10 mL 具塞试管,用蒸馏水补至 1.0 mL,按步骤 D.2 操作,以空白溶液调零,测得白及胶冻干粉溶液的吸光度,以标准曲线计算总糖含量。

4 结果计算

白及胶冻干粉中总糖含量以质量分数 w 计,数值以百分率(%)表示,计算公式如下:

$$w = [(m_1 \times V_1 \times 10^{-6}) \times 100] / [m_2 \times V_2 (1 - \omega)] \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- V_1 — 样品定容体积,单位为毫升(mL);
- V_2 — 比色测定时所移取样品测定液的体积,单位为毫升(mL);
- m_1 — 从标准曲线上查得样品测定液中的含糖量,单位为微克(μg);
- m_2 — 样品质量,单位为克(g);
- ω — 样品含水量,单位为百分率(%)。

5 检测案例(贵州安龙白及)

随机抽样附录 C.2 生产案例——贵州白及胶冻干粉检测总糖含量,以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,制定标准曲线,制得回归方程: $Y=0.0096X+0.0163$, $R^2=0.9915$,测得白及胶冻干粉的总糖含量为 84.13%。

附录 E

(资料性)

白及胶冻干粉 DPPH 自由基清除率

DPPH 是一种稳定的自由基, 在有机溶剂中呈紫色, 在 517 nm 波长处有较大吸收。当 DPPH 接受供试物的电子后, 形成稳定的抗磁分子, 颜色变浅, 吸光度减小, 其颜色变浅的程度与配对电子数成化学剂量关系, 可根据其吸光度值的变化评价样品的抗氧化能力。

将 150 μL 不同浓度的样品溶液置于试管中, 加入 150 μL 1.0×10^{-4} mol/L 的 DPPH 溶液混合均匀, 室温下避光静置反应 30 min, 随后在 517 nm 波长处测吸光值 A_1 , 将无水乙醇代替 DPPH 溶液得到吸光度 A_2 , 150 μL 的无水乙醇代替白及胶冻干粉得到吸光度 A_3 。以 0.1 mg/mL Ve 作为阳性对照。每个样品重复试验 3 次, 取平均值。

P_{DPPH} 为白及胶冻干粉的 DPPH 清除率, 数值以百分率 (%) 表示, 计算公式如下:

$$P_{\text{DPPH}} = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

P_{DPPH} — 样品的 DPPH 清除率, 单位为百分率 (%);

A_1 — 样品吸光值 (样品+DPPH), 单位为升每克·厘米, L/(g·cm);

A_2 — 样品吸光值 (样品+无水乙醇), 单位为升每克·厘米, L/(g·cm);

A_3 — 空白吸光值 (无水乙醇+DPPH), 单位为升每克·厘米, L/(g·cm)。

检测案例(贵州安龙白及): 随机抽样附录 C.2 生产案例——贵州白及胶冻干粉检测 DPPH 自由基清除率, 白及胶冻干粉在 20~100mg/mL 浓度范围时, DPPH 自由基清除率见表 E1, 测得白及胶冻干粉浓度为 100 mg/mL 时的 DPPH 清除率为 73.8%。

表 E1 白及胶冻干粉 DPPH 自由基清除率

白及胶冻干粉浓度 (mg/mL)	DPPH 自由基清除率 (%)
20	36.2%
40	50.6%
80	67.1%
100	73.8%

附录 F

(资料性)

白及胶冻干粉 Fe^{3+} 还原力测定

样品的还原力可作为检验其是否为良好的电子供应体以判断其抗氧化功能,具体表现为它所提供的电子可以使 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , 从而使体系溶剂颜色改变, 即反映出体系中氧化还原状态的改变, 吸光值越大, 还原力越强, 抗氧化效果越好。

取 150 μL 不同浓度的样品于离心管中, 加入 150 μL 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH6.6)、150 μL 1% (W/V) 铁氰化钾溶液混匀, 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 20 min 后, 取出迅速冷却后加入 150 μL 10% (W/V) 的三氯乙酸混匀, 4000 rpm 离心 10 min, 取 400 μL 上清液并加入 400 μL 蒸馏水于试管中, 加入 50 μL 0.1% 的 FeCl_3 摇匀, 常温反应 10 min 后于 700 nm 波长处测定吸光度, 用无水乙醇做空白对照, 并以 0.1 mg/mL Ve 做阳性对照, 每个样品重复试验 3 次, 取平均值。

P_{Fe} 为白及胶冻干粉的还原力, 计算公式如下:

$$P_{\text{Fe}} = A_1 - A_2 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

P_{Fe} — 样品的铁离子还原力, 单位为升每克·厘米, $\text{L}/(\text{g} \cdot \text{cm})$;

A_1 — 样品吸光值, 单位为升每克·厘米, $\text{L}/(\text{g} \cdot \text{cm})$;

A_2 — 空白吸光值, 单位为升每克·厘米, $\text{L}/(\text{g} \cdot \text{cm})$ 。

检测案例(贵州安龙白及): 随机抽样附录 C.2 生产案例——贵州白及胶冻干粉检测 Fe^{3+} 还原力。白及胶冻干粉在 20~100mg/mL 浓度范围时, Fe^{3+} 还原力见表 F1, 测得白及胶冻干粉浓度为 100 mg/mL 时的 Fe^{3+} 还原力为 0.79L/(g·cm)。

表 F1 白及胶冻干粉 Fe^{3+} 还原力

白及胶冻干粉浓度 (mg/mL)	Fe^{3+} 还原力 (L/(g·cm))
20	0.28
40	0.59
80	0.66
100	0.76

参考文献

- [1] 许家倚,蒲艳芬,刘正波等.基于水提醇沉原理的白及胶规模化生产研究[J].农产品加工,2022(08):19-23.
- [2] 陈玉皎,刘正波,张义国等,一种白及胶冻干粉及其制备方法与应用[P].CN2024102151118.
- [3] 全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)."多肽抗氧化性测定 DPPH 和 ABTS 法."GB/T 39100-2020.2020-09-29.
- [4] 国家林业和草原局."竹叶中多糖的检测方法."GB/T 40632-2021.2021-10-11.
- [5] Chen J, Zhou H, Xie D, *et al.* Bletilla striata polysaccharide cryogel scaffold for spatial control of foreign-body reaction. *Chin Med.* 2021;16(1):131.
- [6] Lin TC, Lin JN, Yang IH, *et al.* The combination of resveratrol and Bletilla striata polysaccharide decreases inflammatory markers of early osteoarthritis knee and the preliminary results on LPS-induced OA rats. *Bioeng Transl Med.* 2022;8(4):e10431.
- [7] Jakfar S, Lin TC, Chen ZY, *et al.* A Polysaccharide Isolated from the Herb Bletilla striata Combined with Methylcellulose to Form a Hydrogel via Self-Assembly as a Wound Dressing. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):12019.
- [8] Sun B, Zhang W, Liu Y, *et al.* A Biomass Based Photonic Crystal Hydrogel Made of Bletilla striata Polysaccharide. *Biosensors (Basel).* 2022;12(10):841.
- [9] Liang YJ, Hong JY, Yang IH, *et al.* To Synthesize Hydroxyapatite by Modified Low Temperature Method Loaded with Bletilla striata Polysaccharide as Antioxidant for the Prevention of Sarcopenia by Intramuscular Administration. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(3):488.
- [10] Zhao Y, Wang Q, Yan S, *et al.* Bletilla striata Polysaccharide Promotes Diabetic Wound Healing Through Inhibition of the NLRP3 Inflammasome. *Front Pharmacol.* 2021;12:659215.
- [11] 王自凡,张振.醇沉分级白芨多糖理化性质及抗氧化、吸湿保湿活性研究[J].日用化学品科学,2022,45(07):30-34+38.
- [12] Zhu J, Guo X, Guo T, *et al.* Novel pH-responsive and self-assembled nanoparticles based on Bletilla striata polysaccharide: preparation and characterization. *RSC Adv.* 2018;8(70):40308-40320.
- [13] Chen HY, Lin TC, Chiang CY, *et al.* Antifibrotic Effect of Bletilla striata Polysaccharide-Resveratrol-Impregnated Dual-Layer Carboxymethyl Cellulose-Based Sponge for the Prevention of Epidural Fibrosis after Laminectomy. *Polymers (Basel).* 2021;13(13):2129.
- [14] Chen ZY, Chen SH, Chen CH, *et al.* Polysaccharide Extracted from Bletilla striata Promotes Proliferation and Migration of Human Tenocytes. *Polymers (Basel).* 2020;12(11):2567.
- [15] Yang R, Wang D, Li H, *et al.* Preparation and Characterization of Bletilla striata Polysaccharide/Poly(lactic Acid) Composite. *Molecules.* 2019;24(11):2104.