

网络出版日期:2018-05-09
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20180509.1603.018.html

施用氮磷肥料对小粒黑豆抗氧化活性的影响

宋艳丽¹,高小丽¹,张 鋈¹,赵 涛¹,黄贵斌¹,王睿豪¹,梁鸡保²

(1.西北农林科技大学 农学院/旱区作物逆境生物学国家重点实验室,陕西杨凌 712100;
2.神木县农业技术推广中心,陕西神木 719300)

摘 要 为了探究不同氮磷配比对小粒黑豆抗氧化活性的影响,试验以‘连枷条’黑豆品种为材料,分析 16 种不同氮磷配比施肥处理后,小粒黑豆总黄酮、总酚、总花色苷、2,2-联苯基-1-苦基肼基自由基(DPPH·)、羟自由基(·OH)和超氧阴离子自由基(O₂⁻)清除能力。结果表明,氮磷配比对小粒黑豆抗氧化活性有显著影响,N₃P₂(N 270 kg·hm⁻²,P₂O₅ 360 kg·hm⁻²)的总黄酮质量分数、N₀P₂(N 0 kg·hm⁻²,P₂O₅ 360 kg·hm⁻²)的总酚质量分数及 N₁P₂(N 90 kg·hm⁻²,P₂O₅ 360 kg·hm⁻²)的总花色苷质量分数最高,分别为 34.26 mg·g⁻¹、26.60 mg·g⁻¹、1.27 mg·g⁻¹,且均显著高于未施 N、P 的对照(P<0.05)。总黄酮、总酚与 DPPH·清除作用呈极显著正相关关系,总花色苷与 O₂⁻清除作用呈显著正相关关系;籽粒色差值 ΔE 与总黄酮、总酚、DPPH·清除作用呈显著或极显著的负相关关系,与总花色苷、O₂⁻清除作用呈显著或极显著正相关关系。综合分析表明,每公顷施 N 270 kg,P₂O₅ 360 kg;N 0 kg,P₂O₅ 360 kg;N 90 kg,P₂O₅ 360 kg 分别为小粒黑豆高总黄酮、高总酚、高总花色苷的最佳施肥配比。

关键词 小粒黑豆;氮磷配比;总黄酮;总酚;总花色苷

中图分类号 S529 **文献标志码** A **文章编号** 1004-1389(2018)05-0685-07

小粒黑豆是豆科植物大豆 [*Glycine max* (L.)merr] 的黑色种子,因其含有丰富的不饱和脂肪酸、氨基酸、黄酮、酚类物质、花色苷等^[1-3],具有护心保肝、抗癌抗衰、减肥益智等多种保健功效,是极具开发潜力的药食兼用植物资源^[4-10]。小粒黑豆是中国黄土高原地区的主栽品种,在当地农业生产发展中占据重要地位^[11]。近年来,黑色食品的保健功效受到广泛关注,而黑豆作为主要的黑色食品也备受关注。面对市场需求的多样性,生产满足需求的高品质黑豆成为发展黄土高原农业生产的关键,因此对小粒黑豆种质资源的鉴定利用和优质高效栽培技术的研究具有重要意义。

黄酮类化合物的合成主要通过苯丙烷途径,通过不同的前体物质在有关酶如苯丙氨酸解氨酶(PAL)或酪氨酸解氨酶(TAL)的作用下合成^[12]。N、P 矿质营养可以通过影响黄酮类物质合成途

径有关酶的活性从而促进或抑制其合成^[13]。黄酮、酚类物质及花色苷等是重要的抗氧化活性物质,能够与自由基反应清除自由基从而消除氧化作用,因此其含量的多少决定抗氧化能力的强弱^[14-18]。李娟等^[14]的研究表明,N 营养能够调控青花菜中酚类物质的合成。刘伟^[19]的研究表明,缺 N、缺 P 均可通过影响酶的活性从而影响菊花中某些黄酮和酚类化合物含量的变化。有机肥较无机肥更有利于提高白芍中总酚类、类黄酮等的质量分数^[20]。也有研究证实,重施氮肥能够降低薰衣草中酚类化合物的浓度^[21]。

目前,国内外关于施肥对黑豆抗氧化活性影响的研究鲜有报道。本研究以未施 N、P 的黑豆为对照,对其他 15 种不同氮磷配比施肥处理的黑豆抗氧化活性进行分析。以总黄酮、总酚、总花色苷及自由基清除作用等作为试验指标,研究不同氮磷配比下小粒黑豆籽粒色差值(ΔE)、抗氧化物

收稿日期:2017-05-14 修回日期:2017-07-20
基金项目:陕西省科学技术研究发展计划(2014K01-28);陕西省科技统筹创新工程计划(2015KTCQ02-21)。
第一作者:宋艳丽,女,硕士研究生,从事小杂粮高产栽培生理研究。E-mail:songyl11@nwsuaf.edu.cn
通信作者:高小丽,女,博士,副教授,主要从事小杂粮豆作物高产栽培生理及产业开发研究。E-mail:gao2123@nwsuaf.edu.cn

质、抗氧化能力及其三者之间的关系,为小粒黑豆种质资源的鉴选利用和优质高效栽培技术研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以神木‘连枷条’黑豆品种为供试材料,试验地设在陕西省神木县赵家沟旱作示范园内。供试土壤 0~20 cm 土层 pH 为 8.25,速效氮 6.59 mg·kg⁻¹,速效磷 15.52 mg·kg⁻¹,有机质 4.7 g·kg⁻¹,前茬作物为糜子。

1.2 试验设计

试验设氮、磷 2 个因素(分别用尿素和磷酸钙肥折算),4 个水平,纯 N 分别为 0、90、180、270 kg·hm⁻²,纯 P₂O₅ 分别为 0、180、360、540 kg·hm⁻²,共 16 个处理,64 个小区,所有小区均覆盖地膜。小区面积 30 m²(6 m×5 m),行距 0.50 m,株距 0.30 m,于 5 月上旬播种,每穴定苗 1 株,田间管理同大田生产,各处理施肥量见表 1。各处理在 10 月中旬成熟后分区采收,籽粒脱壳后备用。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 提取液的制备 参考 Prior 等^[22]和 Korus 等^[23]方法制备提取液,-20℃保存备用。

1.3.2 总黄酮质量分数测定 参考 Jia 等^[24]方法。用芦丁制作标准曲线。样品中的总黄酮质量分数以芦丁计。

1.3.3 总酚质量分数测定 采用福林酚(Folin-Ciocalteu)法测定。参考 Xu 等^[25]方法。用没食子酸制作标准曲线。样品中的总酚质量分数以没食子酸计。

1.3.4 总花色苷质量分数测定 采用 pH 示差法测定。参考 Jeng 等^[26]方法。样品中的总花色苷质量分数以矢车菊素-3-葡萄糖苷计。

1.3.5 ·OH 清除作用 参考 Li 等^[27]方法。

1.3.6 O₂⁻清除作用 参考 Beauchamp 等^[28]方法。

1.3.7 DPPH·清除作用 参考 Xu 等^[25]方法。并将方法中的无水甲醇换为无水乙醇。

1.4 数据统计与处理

采用 Excel 2007 进行数据及图表处理,利用 SPSS 19.0 和 SAS 8.1 进行分析。

表 1 各处理施肥量设计

Table 1 The fertilizer amount of each treatment

序号 Number	处理 Treatment	施肥量 Fertilizer amount			
		纯 N Pure N		纯 P ₂ O ₅ Pure P ₂ O ₅	
		kg·hm ⁻²	kg·m ⁻²	kg·hm ⁻²	kg·m ⁻²
1	N ₀ P ₀	0	0	0	0
2	N ₀ P ₁	0	0	180	0.018
3	N ₀ P ₂	0	0	360	0.036
4	N ₀ P ₃	0	0	540	0.054
5	N ₁ P ₀	90	0.009	0	0
6	N ₁ P ₁	90	0.009	180	0.018
7	N ₁ P ₂	90	0.009	360	0.036
8	N ₁ P ₃	90	0.009	540	0.054
9	N ₂ P ₀	180	0.018	0	0
10	N ₂ P ₁	180	0.018	180	0.018
11	N ₂ P ₂	180	0.018	360	0.036
12	N ₂ P ₃	180	0.018	540	0.054
13	N ₃ P ₀	270	0.027	0	0
14	N ₃ P ₁	270	0.027	180	0.018
15	N ₃ P ₂	270	0.027	360	0.036
16	N ₃ P ₃	270	0.027	540	0.054

2 结果与分析

2.1 不同 N、P 配比对小粒黑豆抗氧化物质的影响

2.1.1 对总黄酮和总酚质量分数的影响 由表 2 可以看出,未施 N、P 的小粒黑豆总黄酮质量分数为 $20.57\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。施肥处理后,小粒黑豆的总黄酮质量分数显著升高。施 N 与施 P 均对小粒黑豆总黄酮质量分数有显著影响。不同 N、P 配比下,总黄酮质量分数差异显著,其中 N_0P_2 、 N_3P_2 总黄酮质量分数较高,分别为 33.94 和 $34.26\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,较对照分别提高 65.00% 和 66.55% 。

不同 N、P 配比下的小粒黑豆总酚质量分数显示,施肥处理后的小粒黑豆总酚质量分数显著高于未施 N、P 的小粒黑豆,其中 N_0P_2 、 N_3P_2 总酚质量分数较高,分别为 26.60 和 $25.88\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

由表 2 也可以看出,在同一施 N 水平下,随着 P 肥的增多,小粒黑豆总黄酮与总酚质量分数均呈现先升高后降低的单峰变化趋势。而在 N_3 施肥水平下,则呈现先下降后升高的趋势。在同一施 P 水平下,小粒黑豆黄酮与总酚质量分数的变化趋势略有差异。随着 N 肥的增多小粒黑豆总黄酮质量分数基本上呈现先降低后升高的单峰变化趋势,而在 P_0 施肥水平下分别呈现持续上升趋势;总酚质量分数基本上呈现持续下降的趋势,而在 P_0 、 P_2 施肥水平下分别呈现持续上升、先降低后升高的趋势。

这可能是由于蛋白质竞争作用^[29]的结果,N、P 元素均影响蛋白质的合成,当蛋白质合成量不足以抑制苯丙氨酸代谢途径,酚类物质正常合成,呈现上升的趋势;当蛋白质合成量多时,酚类合成受到抑制,呈现下降趋势^[30]。

2.1.2 对总花色苷质量分数的影响 由表 2 可以看出,不同的 N、P 配比中 N_1P_2 总花色苷质量分数最高,为 $1.27\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,显著高于未施 N、P 小粒黑豆总花色苷质量分数。且除 N_2P_0 外,其他施肥处理下的小粒黑豆中总花色苷质量分数均显著低于 N_1P_2 。

2.2 不同 N、P 配比对抗氧化能力的影响

2.2.1 对 $\cdot\text{OH}$ 清除作用的影响 不同的 N、P 配比处理小粒黑豆全粉提取液对 $\cdot\text{OH}$ 清除能力如图 1 所示。小粒黑豆的 $\cdot\text{OH}$ 清除率均在 70%

以上,其中 N_3P_0 施肥处理小粒黑豆 $\cdot\text{OH}$ 清除能力最弱,为 71.76% ,甚至比未施 N、P 的小粒黑豆减少 2.23% 。而 N_3P_2 的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力最强,达 90.59% 。

表 2 不同 N、P 配比对小粒黑豆抗氧化物质的影响($\bar{x}\pm s,n=3$)

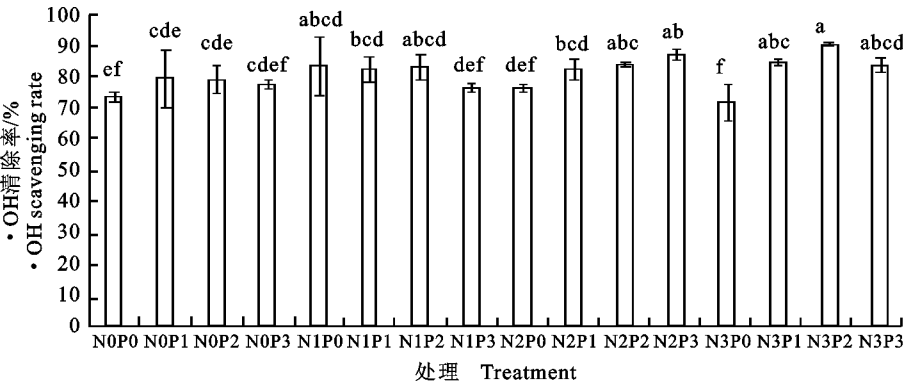
Table 2 Effects of different N and P ratios on antioxidant substances in black soybean $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$			
处理 Treatment	总黄酮质量分数 Total flavonoids	总酚质量分数 Total phenolics	总花色苷质量分数 Total anthocyanins
$\text{N}_0\text{P}_0(\text{CK})$	$20.57\pm0.88\text{ j}$	$16.74\pm0.34\text{ h}$	$0.99\pm0.02\text{ cdef}$
N_0P_1	$31.10\pm0.04\text{ bc}$	$25.34\pm0.47\text{ b}$	$1.12\pm0.09\text{ bc}$
N_0P_2	$33.94\pm0.08\text{ a}$	$26.60\pm1.13\text{ a}$	$0.98\pm0.01\text{ cdef}$
N_0P_3	$27.18\pm0.15\text{ f}$	$22.61\pm0.12\text{ d}$	$0.94\pm0.12\text{ def}$
N_1P_0	$24.78\pm0.10\text{ h}$	$18.83\pm0.26\text{ g}$	$0.71\pm0.06\text{ h}$
N_1P_1	$27.36\pm0.01\text{ ef}$	$22.72\pm0.79\text{ d}$	$1.01\pm0.21\text{ bcde}$
N_1P_2	$31.43\pm0.03\text{ b}$	$21.99\pm0.23\text{ de}$	$1.27\pm0.01\text{ a}$
N_1P_3	$27.63\pm0.12\text{ e}$	$21.34\pm0.42\text{ e}$	$0.99\pm0.18\text{ cdef}$
N_2P_0	$30.93\pm0.10\text{ c}$	$23.77\pm1.19\text{ c}$	$1.16\pm0.06\text{ ab}$
N_2P_1	$28.12\pm0.27\text{ d}$	$22.39\pm0.10\text{ d}$	$1.06\pm0.09\text{ bcd}$
N_2P_2	$25.22\pm0.12\text{ g}$	$22.47\pm0.25\text{ d}$	$0.99\pm0.18\text{ cdef}$
N_2P_3	$24.94\pm0.03\text{ gh}$	$21.77\pm0.14\text{ de}$	$0.87\pm0.11\text{ efg}$
N_3P_0	$31.07\pm0.07\text{ bc}$	$24.42\pm0.45\text{ c}$	$0.77\pm0.22\text{ gh}$
N_3P_1	$28.14\pm0.06\text{ d}$	$20.38\pm0.48\text{ f}$	$1.09\pm0.07\text{ bcd}$
N_3P_2	$34.26\pm0.10\text{ a}$	$25.88\pm0.74\text{ ab}$	$0.84\pm0.14\text{ fgh}$
N_3P_3	$22.43\pm0.09\text{ i}$	$20.40\pm0.32\text{ f}$	$0.89\pm0.12\text{ efg}$

注:1. 同一列中不同字母表示有显著性差异($P\leq 0.05$)。2. 按每克干豆粉计算。3. 总酚质量分数以没食子酸计,总黄酮质量分数以芦丁计,总花色苷质量分数以矢车菊素-3-葡萄糖苷计。
Note:1. Different letters in the same column indicated significant difference($P\leq 0.05$). 2. Calculated on the dry soybean meal per gram. 3. Total phenol mass fraction measured in gallic acid, total flavonoids mass fraction in rutin, the total anthocyanin mass fraction in cyanidin-3-glucoside.

2.2.2 对 O_2^- 清除作用的影响 由图 2 可以看出,不同的 N、P 配比中,各处理间差异显著。除 N_2P_1 、 N_3P_0 、 N_3P_2 的 O_2^- 清除率为 75.40% 、 74.77% 、 63.40% 外,其他 N、P 配比施肥处理的 O_2^- 清除率均在 80% 以上,其中, N_0P_1 、 N_1P_1 、 N_1P_2 的 O_2^- 清除能力相对较高,分别为 98.51% 、 99.50% 和 98.11% 。

2.2.3 对 DPPH $\cdot$ 清除作用的影响 不同的 N、P 配比处理小粒黑豆全粉提取液对 DPPH $\cdot$ 清除能力如图 3 所示。未施 N、P 处理的 DPPH $\cdot$ 清除率最低,为 84.62% ,且显著低于其

他施肥处理。而 N_2P_0 和 N_2P_3 的 DPPH · 清除率较高,分别为 95.88%和 94.86%。



图上不同字母表示有显著性差异($P\leq0.05$),下同 Different letters indicate significant difference($P\leq0.05$), the same below

图 1 不同 N、P 配比下 ·OH 清除能力

Fig. 1 Scavenging capacity of small black soybean on ·OH under different N and P ratios

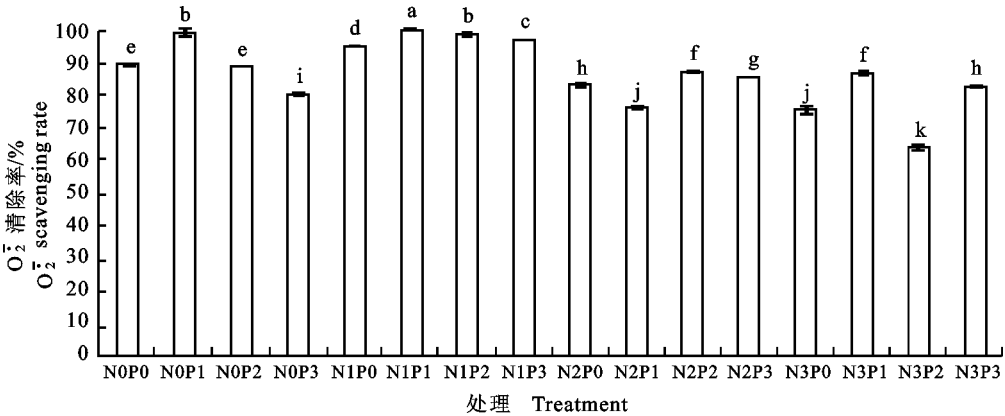


图 2 不同 N、P 配比下 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力

Fig. 2 Scavenging capacity of small black soybean on $O_2^{\cdot-}$ under different N and P ratios

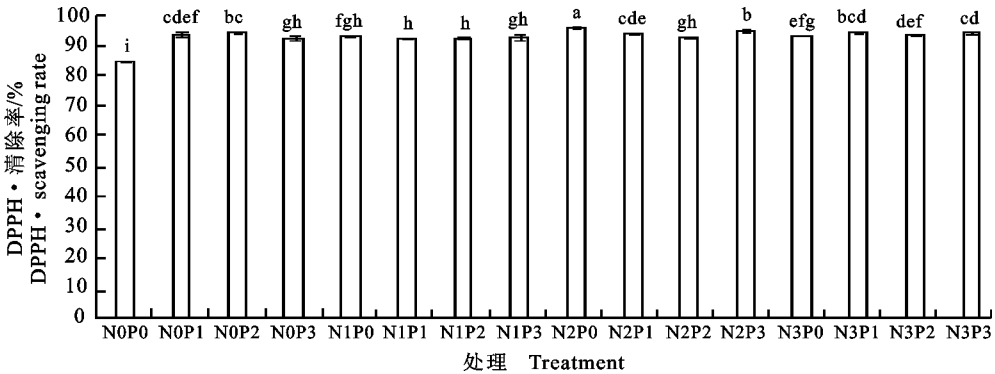


图 3 不同 N、P 配比下 DPPH · 清除能力

Fig. 3 Scavenging capacity of small black soybean on DPPH · under different N and P ratios

2.3 不同 N、P 配比种植条件下小粒黑豆籽粒色差值(ΔE)、抗氧化物质与抗氧化能力的相关关系

对小粒黑豆色差值、总黄酮、总酚、总花色苷、·OH 清除作用、 $O_2^{\cdot-}$ 清除作用、DPPH · 清除作用进行相关性分析,结果见表 3。总黄酮与 DPPH · 清除作用呈极显著正相关关系,总酚与

DPPH · 清除作用呈极显著正相关关系,总花色苷与 $O_2^{\cdot-}$ 清除作用呈显著正相关关系;籽粒色差值 ΔE 与总黄酮、总酚、DPPH · 清除作用呈显著或极显著的负相关关系,与总花色苷、 $O_2^{\cdot-}$ 清除作用呈显著或极显著正相关关系。

表 3 不同 N、P 配比小粒黑豆色差值(ΔE)、抗氧化物质、抗氧化能力相关性

Table 3 The correlation relationship between color difference(ΔE),antioxidative substance and antioxidant activities of small black soybean under different N and P ratios

项目 Item	总黄酮 Total flavonoids	总酚 Total phenolics	总花色苷 Total anthocyanins	•OH 清除作用 •OH radical scavenging effect	O ₂ ⁻ 清除作用 O ₂ ⁻ radical scavenging effect	DPPH • 清除作用 DPPH • radical scavenging effect
总黄酮 Total flavonoids	1					
总酚 Total phenolics	0.854 * *	1				
总花色苷 Total anthocyanins	0.194	0.105	1			
•OH 清除作用 •OH radical scavenging effect	0.050	0.065	0.018	1		
O ₂ ⁻ 清除作用 O ₂ ⁻ radical scavenging effect	-0.212	-0.282	0.324 *	-0.120	1	
DPPH • 清除作用 DPPH • radical scavenging effect	0.504 * *	0.576 * *	0.020	0.330 *	-0.185	1
ΔE 色差值 ΔE color difference	-0.592 * *	-0.609 * *	0.295 *	0.037	0.439 * *	-0.323 *

注: * 和 * * 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著相关。
Note: * and * * mean significant correlation at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

3 结论与讨论

不同氮磷配比对小粒黑豆抗氧化性有显著影响。N₀P₂、N₃P₂ 的总黄酮质量分数较高,分别较对照提高 65.00%和 66.55%。N₀P₂、N₃P₂ 的总酚质量分数较高,较对照高出 59.00%和 55.00%。N₁P₂ 的总花色苷质量分数最高,为 1.27 mg·g⁻¹,且显著高于对照。杨磊等^[31]的研究表明,缺氮、缺磷处理能够提高山楂根分泌液中的总黄酮质量分数。葛芳杰等^[32]的研究表明,过高、过低的 N、P 胁迫均会导致穗花狐尾藻中酚类物质质量分数的升高。而 Biesiada 等^[21]的研究表明,重氮施肥能够降低薰衣草酚类化合物的浓度。这与本研究结果基本一致。

刘大会等^[33]的研究表明,适量的施用磷肥能够显著提高菊花中总黄酮的质量分数,从而显著增强其清除 •OH、O₂⁻、DPPH • 的能力。朱伟峰等^[34]的研究表明,施氮使白菜类黄酮、总酚等抗氧化物质质量分数、抗氧化活性降低。本研究结果表明,N₃P₂ 的 •OH 清除能力最强,N₀P₁、N₁P₁、N₁P₂ 的 O₂⁻ 清除能力相对较强,N₂P₀、N₂P₃ 的 DPPH • 清除能力较强。可以看出,在施氮条件下小粒黑豆抗氧化较强。这与前人的研究结果不完全相似,可能与小粒黑豆自身遗传因素、环境因素等有关,具体影响原因有待进一步研究。

籽粒色差值 ΔE 与总黄酮、总酚、DPPH • 清除作用呈显著或极显著负相关关系,与总花色苷、O₂⁻ 清除作用呈显著或极显著正相关关系。因此,可通过籽粒色差值 ΔE 粗略推断小粒黑豆抗氧化

活性高低,为高抗氧化性小粒黑豆的鉴选利用提供快速有效的手段。

结合不同 N、P 配比施肥处理对试验所涉及的抗氧化物质、抗氧化能力指标,综合认定每公顷施 N 270 kg,P₂O₅ 360 kg;N 0 kg,P₂O₅ 360 kg;N 90 kg,P₂O₅ 360 kg 分别为小粒黑豆高总黄酮质量分数、高总酚质量分数、高总花色苷质量分数的最佳施肥配比。因此,可以根据不同 N、P 肥料配比获得不同种类高抗氧化性小粒黑豆。

参考文献 Reference:

[1] 聂刚,刘朝霞,杜双奎,等. 陕北小粒黑豆营养成分分析与评价[J]. 营养学报,2014,36(5):511-513.
NIE G,LIU ZH X,DU SH K,*et al.* Analysis and evaluation of nutritional components of small black soybeans(*Glycine max* L.) from north Shaanxi province [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2014,36(5):511-513.

[2] 郑聪聪,苏艳芳,黄雄,等. 黑豆乙醇萃取物中抗氧化成分的分离与鉴定[J]. 食品科学,2015,36(6):155-160.
ZHENG C C,SU Y F,HUANG X,*et al.* Chemical constituents of antioxidant species in black soybean [J]. *Food Science*, 2015,36(6):155-160.

[3] 江甜,何毅,祝振洲,等. 黑豆蛋白的分级提取及黑豆花色苷的成分鉴定[J]. 食品科学,2017,38(4):217-222.
JIANG T,HE Y,ZHU ZH ZH,*et al.* Fractional extraction of protein and characterization of anthocyanins from black soybean seeds [J]. *Food Science*, 2017,38(4):217-222.

[4] ZEVIK N. Black bean bonanza [J]. *Better Nutrition*, 2010.

[5] LÓPEZREYES A G,ARROYOCURRAS N,CANO B G,*et al.* Black bean extract ameliorates liver fibrosis in rats with CCl₄-induced injury [J]. *Annals of Hepatology*, 2008, 7(2):130-135.

[6] CHAVEZSANTOSCOY R A,GUTIERREZURIBE J A,GRANADOS O,*et al.* Flavonoids and saponins extracted from black bean(*Phaseolus vulgaris* L.) seed coats modulate lipid metabolism and biliary cholesterol secretion in

- C57BL/6 mice(1045,1) [J]. *British Journal of Nutrition*, 2014,112(6):886-899.
- [7] RONDINI E A,BENNINK M R. Microarray analyses of genes differentially expressed by diet (black beans and soy flour) during azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats [J]. *Journal of Nutrition & Metabolism*, 2012(4): 351796.
- [8] KWON S H,AHN I S,KIM S O,*et al.* Anti-obesity and hypolipidemic effects of black soybean anthocyanins [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2007,10(3):552-556.
- [9] DO M H,LEE S S,JUNG P J,*et al.* Intake of fruits,vegetables,and soy foods in relation to breast cancer risk in Korean women;a case-control study [J]. *Nutrition & Cancer*, 2007,57(1):20-27.
- [10] SHINOMIYA K,TOKUNAGA S,SHIGEMOTO Y,*et al.* Effect of seed coat extract from black soybeans on radial maze performance in rats [J]. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology*, 2005,32(9):757-760.
- [11] 孙建英,常汝镇. 中国黑大豆品种资源特征特性的分析 [J]. *中国种业*,1991(1):16-18.
SUN J Y,CHANG R ZH. Analysis on the characteristics of black soybean varieties in China [J]. *China Seed Industry*,1991(1):16-18.
- [12] 邹丽秋,王彩霞,匡雪君,等. 黄酮类化合物合成途径及合成生物学研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2016,41(22): 4124-4128.
ZOU L Q,WANG C X,KUANG X J,*et al.* Advance in flavonoids biosynthetic pathway and synthetic biology [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016,41(22): 4124-4128.
- [13] 刘大会,郭兰萍,黄璐琦,等. 矿质营养对药用植物黄酮类成分合成的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2010,35(18):2367-2371.
LIU D H,GUO L P,HUANG L Q,*et al.* Effects of mineral nutrition on metabolism of flavonoids in medicinal plants [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2010,35(18):2367-2371.
- [14] 李 娟,栗娜娜,郭世荣,等. 氮营养对青花菜花球酚类物质及抗氧化能力的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2008,14(6):1123-1128.
LI J,LI N N,GUO S H R,*et al.* Effects of different nitrogen supply level on the phenolic content and antioxidant activity in broccoli head [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2008,14(6):1123-1128.
- [15] 郑裕国,王远山,薛亚平,等. 抗氧化剂的生产及应用 [M]. 北京:化学工业出版社,2003.
ZHENG Y G,WANG Y S H,XUE Y P,*et al.* Production and Application of Antioxidants [M]. Beijing:Chemical Industry Press,2003.
- [16] 李颖畅,孟宪军. 蓝莓花色苷抗氧化活性的研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2007,33(9):61-64.
LI Y CH,MENG X J. Studies on the antioxidant activity of anthocyanins from blueberry [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2007,33(9):61-64.
- [17] 徐亚民,赵晓燕,马 越,等. 黑玉米花色苷抗氧化能力的研究 [J]. *农业科技与装备*, 2008(4):83-85.
XU Y M,ZHAO X Y,MA Y,*et al.* Study on antioxidant activity of anthocyanin pigment from black corn [J]. *Agricultural Science & Technology and Equipment*, 2008(4): 83-85.
- [18] 薛红玮,陈向民,牟德华. 花色苷类色素抗氧化活性研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2009,30(7):190-192.
XUE H W,CHEN X M,MU D H. A survey research on antioxidant activity of anthocyanin pigment [J]. *Food Research and Development*, 2009,30(7):190-192.
- [19] 刘 伟. 不同生育期氮磷钾胁迫对菊花黄酮类化合物的代谢调控研究 [D]. 武汉:华中农业大学,2010.
LIU W. Effect of nitrogen,phosphorus and potassium deficiency in different growth stages on the second synthesis pathway of flavonoid in *chrysanthemum morifolium ramat* [D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University,2010.
- [20] IBRAHIM M H,JAAFAR H Z,KARIMI E,*et al.* Impact of organic and inorganic fertilizers application on the phytochemical and antioxidant activity of Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth) [J]. *Molecules*, 2013,18(9):10973-10988.
- [21] BIESIADA A,SOKÓ A,KUCHARSKA A. The effect of nitrogen fertilization on yielding and antioxidant activity of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) [J]. *Actaentiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 2008,7(2):33-40.
- [22] PRIOR R L,HOANG H,GU L,*et al.* Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity(ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2003,51(11):3273-3279.
- [23] KORUS J,GUMUL D,CZECHOWSKA K. Effect of extrusion on the phenolic composition and antioxidant activity of dry beans of *Phaseolus vulgaris* L. [J]. *Food Technology & Biotechnology*, 2007,45(2):139-146.
- [24] JIA Z,TANG M,WU J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals [J]. *Food Chemistry*, 1999,64(4):555-559.
- [25] XU B J,CHANG S K C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents [J]. *Journal of Food Science*, 2007,72(2):159-166.
- [26] JENG T L,YI J S,WU M T,*et al.* Comparisons of flavonoids and anti-oxidative activities in seed coat,embryonic axis and cotyledon of black soybeans [J]. *Food Chemistry*, 2011,123(4):1112-1116.
- [27] LI H,WANG Q. Evaluation of free hydroxyl radical scavenging activities of some Chinese herbs by capillary zone electrophoresis with amperometric detection [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004,378(7):1801-1805.
- [28] BEAUCHAMP C,FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels [J]. *Analytical Biochemistry*, 1971,44(1):276-287.
- [29] JONES C G,HARTLEY S E. A Protein competition model of phenolic allocation [J]. *Oikos*, 1999,86(1):27-44.
- [30] ARTS M J,HAENEN G R,WILMS L C,*et al.* Interactions between flavonoids and proteins:effect on the total antioxidant capacity [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2002,50(5):1184-1187.
- [31] 杨 磊,吕德国,秦嗣军,等. 缺素处理对山楂根系黄酮代谢的影响 [J]. *果树学报*, 2010(3):363-367.
YANG L,LÜ D G,QIN S J,*et al.* Effects of nutritional elements on the metabolism of flavonoids in roots of hawthorn [J]. *Journal of Fruit Science*, 2010(3):363-367.
- [32] 葛芳杰,刘碧云,鲁志营,等. 不同氮、磷浓度对穗花狐尾藻生长及酚类物质含量的影响 [J]. *环境科学学报*, 2012,

32(2):472-479.

GE F J,LIU B Y,LU ZH Y,*et al.* Effects of different nitrogen and phosphorus levels on the growth and total phenolic contents of *Myriophyllum spicatum* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*,2012,32(2):472-479.

[33] 刘大会,刘伟,朱端卫,等.施用磷肥对菊花活性成分及清除自由基能力的影响[J].中国中药杂志,2010,35(17):2236-2241.

LIU D H,LIU W,ZHU D W,*et al.* Effects of phosphate fertilizer on active ingredients and antioxidant activities of

chrysanthemum morifolium [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*,2010,35(17):2236-2241.

[34] 朱伟峰,林咸永,金崇伟,等.氮肥对不同白菜品种抗氧化物质含量和抗氧化活性的影响[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2009,35(3):299-306.

ZHU W F,LIN X Y,JIN C W,*et al.* Effects of nitrogen application rates on antioxidant contents and antioxidative activities in Chinese cabbage(*Brassica chinensis* L.) [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences Edition)*,2009,35(3):299-306.

Effect of Nitrogen and Phosphorus Fertilizer on Antioxidant Activity of Small Black Bean

SONG Yanli¹,GAO Xiaoli¹,ZHANG Jun¹,ZHAO Tao¹,
HUANG Guibin¹,WANG Ruihao¹ and LIANG Jibao²

(1. Arid State Key Laboratory of Crop Stress Biology,College of Agronomy,Northwest A&F University,Yangling Shaanxi 712100,China; 2. Agricultural Extension Station of Shenmu County,Shenmu Shaanxi 719300,China)

Abstract In order to explore the effect of different ratio of nitrogen and phosphorus on the antioxidant activity of small black soybean,the total flavonoids,total phenolics,total anthocyanins,2,2-phenyl-1-Bitter base free radicals(DPPH·),hydroxyl radical(·OH) and superoxide anion radical(O₂⁻) scavenging ability in ‘Lianjiatiao’ black soybean were analyzed upon 16 different nitrogen and phosphorus treatments . The results showed that the ratio of nitrogen and phosphorus had a significant effect on the antioxidant activity of small black soybean,the total flavonoids,total phenolics and total anthocyanins mass fraction of N₀P₂,N₃P₂ and N₁P₂ were higher than the other treatments,and significantly higher than those without N,P(control)(*P*<0.05). There was a significant positive correlation between total flavonoids,total phenolics and DPPH· radical scavenging effect,and total anthocyanins were significantly positively correlated with O₂⁻ radical scavenging effect. The color difference value (ΔE) with total flavonoids,total phenolics and DPPH· radical scavenging effect showed a significant negative correlation(*P*<0.05 or 0.01). There was a significant positive correlation with total anthocyanin and O₂⁻ radical scavenging effect. The comprehensive analysis showed that the best fertilizers recommendation for high mass fraction of total flavonoids,high total phenol and high total anthocyanins were N 270 kg + P₂O₅ 360 kg,N 0 kg + P₂O₅ 360 kg,and N 90 kg + P₂O₅ 360 kg,respectively.

Key words Small black soybean; Nitrogen and phosphorus ratio; Total flavonoids; Total phenolics; Total anthocyanins

Received 2017-05-14 **Returned** 2017-07-20

Foundation item Science and Technology Research Development Project of Shaanxi(No. 2014K01-28); the Science and Technology Innovation Project of Shaanxi(No. 2015KTCQ02-21) .

First author SONG Yanli,female,master student. Research area:high-yield cultivation physiology of minor grain and legume crops. E-mail:songyl11@nwsuaf.edu.cn

Corresponding author GAO Xiaoli,female,Ph. D,associate professor. Research area:high-yield cultivation and physiology and industrial development of minor grain and legume crops. E-mail:gao2123@nwsuaf.edu.cn