

狭果茶藨子果实多糖提取及其抗氧化和流变特性

乔杨波¹, 蔡庭秀¹, 刘哲¹, 赵永珍², 哈生云², 叶英^{1,3*}

¹青海大学农牧学院, 西宁 810016; ²青海圣航农牧科技开发有限公司, 尖扎 811200;

³青海省青藏高原农产品加工重点实验室, 西宁 810016

摘要:以狭果茶藨子果实为原料, 多糖提取量为考察指标, 通过单因素试验及响应面法对多糖提取工艺进行优化, 结果表明最佳多糖制备工艺条件为: 提取温度 40 °C, 时间 30 min, 料液比 1:30 g/mL, 此时狭果茶藨子中多糖提取量达 115.32 mg/g; 流变学特性研究表明狭果茶藨子果实多糖溶液属于非牛顿流体, 多糖溶液表现出剪切稀化的现象, 当多糖质量浓度为 1.0% 时, 其流变学特性与 0.1% 的羧甲基纤维素钠溶液相似, 且过酸、过碱的环境均不会改变狭果茶藨子果实多糖溶液的流变学特性; 抗氧化试验结果表明狭果茶藨子果实多糖具有潜在的抗氧化能力, 对 DPPH 自由基的清除能力低于抗坏血酸, 而对羟自由基的清除能力显著高于抗坏血酸。本研究结果可为狭果茶藨子果实多糖在食品领域的开发利用提供理论依据。

关键词:多糖; 响应面法; 抗氧化; 流变

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)2-0198-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.2.003

Extraction of polysaccharides from fruits of *Ribes stenocarpum* Maxim and its antioxidant and rheological characteristics

QIAO Yang-bo¹, CAI Ting-xiu¹, LIU Zhe¹, ZHAO Yong-zhen², HA Sheng-yun², YE Ying^{1,3*}

¹College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China;

²Qinghai Shenghang Agriculture and Animal Husbandry Technology Development Co. Ltd., Jianzha 811200, China;

³Qinghai Tibet Plateau Key Laboratory of Agric-Product Processing, Xining 810016, China

Abstract: Taking the yield of polysaccharides as the index, the extraction process of polysaccharides from fruits of *Ribes stenocarpum* Maxim (RPs) were optimized by single factor test and response surface test. The results showed that the maximum yield of polysaccharides was obtained under optimal extraction conditions of 40 °C extraction temperature, 30 min extraction time, with solid-liquid ratio of 1:30 g/mL, under these conditions, the content of polysaccharides were 115.32 mg/g; Rheological properties research showed that the RPs belonged to a non-Newtonian fluid, exhibited shear thinning, when the mass concentration of polysaccharides was 1.0%, RPs showed the same rheological properties as 0.1% sodium carboxymethyl cellulose solution, and the over-acid and over-alkali environment would not change its rheology characteristics; Antioxidant test results showed that the RPs had potential antioxidant capacity. The scavenging capacity of DPPH free radicals was lower than that of ascorbic acid, and the scavenging capacity of hydroxyl free radicals was significantly higher than that of ascorbic acid. The results of this study are expected to provide a theoretical basis for the development and utilization of RPs in the food field.

Key words: polysaccharides; response surface test; antioxidant; rheology

狭果茶藨子 (*Ribes stenocarpum* Maxim, RSM) 属虎耳草科茶藨子属植物, 生于海拔 2 800 m 以下的

山坡灌丛、杂木林下或山沟中, 是原产于起北欧的一种木本灌木。在中国主要分布于四川、甘肃、陕西、青海等地。全世界约有 160 种, 中国有 59 种 30 变种, 仅青海就有 11 种 1 个变种^[1-3]。《晶珠本草》中记载茶藨子属植物具有滋补止泻、敛毒、除黄水之效, 并能收敛各种脉管病, 与树莓、蓝莓、山葡萄、沙

收稿日期: 2020-10-26 接受日期: 2020-12-24

基金项目: 青海省自然科学基金(2016-ZJ-938Q); 省部共建三江源生态与高原农牧业国家重点实验室自主课题(2017-ZZ-07)

* 通信作者 Tel: 86-018997154219; E-mail: yeying08211983@163.com

棘等尚未被完全开发的野生山果一起并称为第三代水果^[4]。茶藨子属植物中富含维生素 C,总酚、黄酮、多糖、多酚等多种生物活性物质,具有多种生物活性,如调节肠道菌群平衡^[5],提高机体抗氧化能力,抑菌^[6]等。同时还可降低患心血管疾病^[3]、癌症、神经退化性疾病、免疫系统疾病^[5]、糖尿病、慢性风湿病、关节炎和炎症性等疾病的风险^[7]。

研究表明,植物源多糖具有较强的亲水性^[8]、较高的热稳定性^[9]以及优良的流变学性质^[10],致使其具有良好的加工性能,因而广泛的应用于食品加工当中。同时因植物源多糖具有多种重要的生物活性,如抗氧化、抗炎、抗病毒、抗癌、降血糖,提高机体免疫力^[11-14]等,因而在保健品和医药工业中也具有潜在的应用前景。青海地区狭果茶藨子资源丰富,但是均为野生状态^[4]。多糖作为狭果茶藨子果实中一类重要的生物活性物质,尚未见有关其研究的相关报道。本研究采用青海当地狭果茶藨子果实为原料,采用超声辅助提取法,设计单因素试验和响应面试验对狭果茶藨子果实多糖提取工艺条件进行优化,具有提取时间短、操作简单、原料利用率高、成本低廉等优点^[15]。同时就提取后的狭果茶藨子果实多糖的体外抗氧化活性及流变特性予以探讨,旨在从狭果茶藨子果实中开发新型的天然抗氧化剂和增稠剂,进一步扩大狭果茶藨子在食品领域当中的应用,发挥其潜在的生物价值。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

狭果茶藨子(采摘自青海互助珠固乡);抗坏血酸、DPPH 试剂(南京奥多福尼生物科技有限公司);ABTS 试剂(北京酷尔化学科技有限公司);D101 大孔吸附树脂(东鸿化工有限公司);无水乙醇、氯仿、正丁醇、氢氧化钠、浓盐酸、浓硫酸、苯酚等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

HH-4S 数显恒温水浴锅(江苏省金坛市友联仪器研究所);SB-3200DT 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);HJ-4A 数显恒温多头磁力搅拌器(崢嵘仪器);KC-130 小型粉碎机(北京开创同和科技发展有限公司);UV-2600 紫外可见分光光度计(岛津企业管理有限公司);电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);GS55-9 冷冻干燥机(基因有限公司);来美 ETT CP 5000 流变仪(广州来美科技有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 狭果茶藨子果实多糖的提取

狭果茶藨子果实干燥粉碎后过 60 目筛,去除籽粒。准确称取一定量的果粉,按料液比 1:10 加入 95% 的乙醇溶液静置过夜。收集沉淀后在 55 ℃ 烘箱中干燥。准确称取干燥后的狭果茶藨子果实粉末,按料液比 1:30 g/mL,温度 40 ℃,时间 30 min,对狭果茶藨子果实多糖进行超声辅助提取。将提取后的多糖滤液浓缩至原体积的三分之一,按体积比 3:1 加入 Sevege 试剂进行除蛋白处理,重复上述过程,直到无蛋白析出。使用 D101 大孔吸附树脂对脱蛋白后的多糖溶液进行脱色,将脱色后溶液浓缩至原体积的三分之一,加入 4 倍体积的无水乙醇使多糖沉淀。在 4 ℃ 冰箱中静置过夜,对沉淀进行真空冷冻干燥即得狭果茶藨子果实粗多糖提取物(*R. stenocarpum polysaccharides*, RPs)。

1.3.2 狭果茶藨子果实多糖提取量的计算

参考文献^[16],采用苯酚-硫酸法绘制葡萄糖标准曲线。以吸光值 y 与葡萄糖标准品浓度 x ($\mu\text{g/mL}$) 进行线性回归,得回归方程: $y = 0.0572x - 0.112$, $R^2 = 0.999$,并根据标准曲线计算样品中多糖浓度,按公式计算多糖提取量。

$$\text{多糖提取量}(\text{mg/g}) = \frac{C \times V \times n}{m \times 1000}$$

式中: C 为标准曲线查得得样品多糖浓度 ($\mu\text{g/mL}$); V 为多糖液体积 (mL); n 为稀释倍数; m 为狭果茶藨子果实粉末质量 (g)。

1.3.3 狭果茶藨子果实多糖提取工艺优化

1.3.3.1 狭果茶藨子果实多糖提取单因素试验

准确称取 1.0 g 狭果茶藨子果实粉末,以超声辅助热水浸提法对狭果茶藨子果实多糖进行提取,超声功率为 300 W。固定其他因素及相应水平,以狭果茶藨子果实多糖提取量为考察指标,研究提取温度、时间、料液比对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响。设计各因素水平为:提取时间:20、30、40、50、60 min;料液比:1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 g/mL。提取温度:30、40、50、60、70 ℃。

1.3.3.2 狭果茶藨子果实多糖提取响应面试验

在单因素试验结果的基础上,以狭果茶藨子果实多糖提取量为响应值 (Y),以提取温度 (A)、提取时间 (B)、提取料液比 (C) 为试验因素,利用 Design-Expert 7.0.0 软件设计三因素三水平 Box-Behnken 响应面试验,并对结果进行分析。因素水平表见表 1。

表 1 因素水平表
Table 1 Factors and levels

水平 Level	A 提取温度 Extraction temperature(°C)	B 提取时间 Extraction time(min)	C 料液比 Solid-liquid ratio(g/mL)
-1	30	20	1:20
0	40	30	1:30
1	50	40	1:40

1.3.4 狭果茶藨子果实多糖的流变特性研究

1.3.4.1 多糖浓度对狭果茶藨子果实多糖表观粘度的影响

参考文献^[10],将 RPs 配制成 0.1%、0.5%、1.0% (W/V) 的溶液,以 0.1% (W/V) 的羧甲基纤维素钠溶液作为对照。设置剪切温度为 30 °C,剪切速率扫描范围为 150 ~ 1 000 s⁻¹,研究不同多糖浓度对表观粘度的影响。

1.3.4.2 剪切温度对狭果茶藨子果实多糖表观粘度的影响

参考文献^[17],将 RPs 配制成 0.1%、0.5%、1.0% (W/V) 的溶液,以 0.1% (W/V) 的羧甲基纤维素钠溶液作为对照。设置剪切温度范围为 30 ~ 80 °C,剪切速率为 500 s⁻¹,研究剪切温度对多糖表观粘度的影响。

1.3.4.3 pH 对狭果茶藨子果实多糖表观粘度的影响

参考文献^[18],以 1.0% (W/V) RPs 溶液为研究对象,用 0.1 M HCl 与 0.1 M NaOH 调节 pH 至 3、7、11,设置剪切温度为 40 °C,剪切速率扫描范围为 150 ~ 1 000 s⁻¹,研究 pH 对狭果茶藨子果实多糖表观粘度的影响。

1.3.5 狭果茶藨子果实多糖的抗氧化活性研究

1.3.5.1 DPPH 自由基清除率的测定

参考文献^[19],精确称取 DPPH,用无水乙醇将其配置为 0.2 mM。精确称取 RPs,用蒸馏水将其稀释到不同的质量浓度 (1.00 ~ 0.03 mg/mL),与上述 DPPH 溶液按体积比 1:1 混合,室温下避光静置 30 min 后,在 517 nm 处测定吸光度值,以抗坏血酸为阳性对照,并按公式计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}}\right) \times 100\%$$

式中 A_{sample} 为 DPPH 溶液的吸光值; A_{control} 为样品加 DPPH 溶液的吸光值。

1.3.5.2 羟自由基清除率测定

参考文献^[19],精确称取 RPs,用蒸馏水将其稀

释到不同的质量浓度 (1.00 ~ 0.03 mg/mL),精确吸取 0.1 mL 待测样液,依次加入 2 mL FeSO₄ (6 mM) 与 2 mL H₂O₂ (6 mM),混匀后在室温下静置 10 min,加入 2 mL 水杨酸-乙醇溶液 (6 mM),于 50 °C 水浴 30 min 后,在 510 nm 处测定吸光值,以抗坏血酸为阳性对照,按公式计算羟自由基清除率。

$$\text{羟自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%$$

式中: A_1 为样品吸光值; A_2 为不含 H₂O₂ 时样品的吸光值; A_0 为空白对照的吸光值。

1.3.5.3 总还原能力测定

参考文献^[19],精确称取 RPs,用蒸馏水将其稀释到不同的质量浓度 (1.00 ~ 0.03 mg/mL),精确吸取 0.5 mL 待测样液,依次加入 2 mL 0.2 M pH 6.6 的 PBS 缓冲液与 2.5 mL 1% (W/V) 的 K₃Fe(CN)₆,50 °C 水浴 20 min,后加入 2.5 mL 10% (W/V) 三氯乙酸,3 000 rpm 离心 10 min 后取上清液 2.5 mL,依次加入 2.5 mL 蒸馏水与 0.5 mL 0.1% (W/V) 的 FeCl₃,室温静置 10 min 后于 700 nm 处测定吸光值。

1.4 数据处理

试验中图表均采用 Origin 2018 绘制。采用 SPSS21.0 软件进行试验数据分析,试验统计数据以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s, n = 3$) 表示,以 $P < 0.05$ 表示显著性差异, $P < 0.01$ 表示极显著性差异。

2 试验结果

2.1 狭果茶藨子果实多糖提取单因素试验结果

2.1.1 料液比对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响

固定提取时间 40 min,提取温度为 40 °C,研究料液比对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响,试验结果见图 1。由图 1 可知,当料液比为 1:30 g/mL 时,狭果茶藨子果实多糖提取量达到最大值。此后随着料液比的不断增大,狭果茶藨子果实多糖提取量呈现下降趋势。推测这可能是由于料液比的不断增大,水分与狭果茶藨子果实粉末的浓度差越大,传质驱动力越强,多糖可以有效的从原料中溶解出来。然而随着料液比的进一步增大,此时由于多糖不断从果实中溶出,溶剂的粘度也随之加强,导致超声波的空化效应减弱,也会降低多糖提取量。因此选取料液比 1:30 g/mL 作为狭果茶藨子果实多糖最佳提取条件。

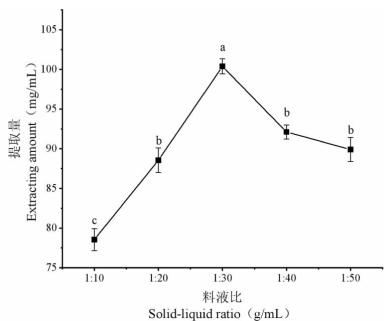


图1 料液比对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响

Fig. 1 Effect of material-liquid ratio on the content of polysaccharides in *R. stenocarpum*

2.1.2 提取时间对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响

固定提取温度 40 ℃,料液比 1:30 g/mL,研究提取时间对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响,试验结果见图2。由图2可知,在提取时间为30 min时,狭果茶藨子果实多糖提取量达到最大值。此后随着温度的不断上升,多糖提取量逐渐下降,推测这可能是由于提取时间过长导致多糖降解以及多糖分子结构的变化,致使多糖提取量降低。因此选取30 min作为狭果茶藨子果实多糖最佳提取时间以进行后续试验。

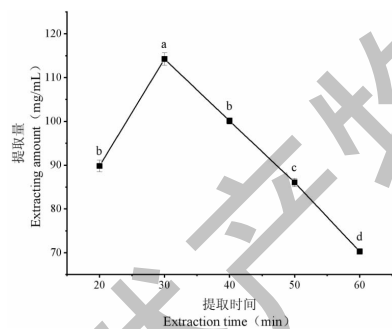


图2 提取时间对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响

Fig. 2 Effect of extraction time on the content of polysaccharides in *R. stenocarpum*

2.1.3 提取温度对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响

固定提取时间30 min,料液比1:30 g/mL,研究提取温度对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响,试验结果见图3。由图3可知,当提取温度为40 ℃时,狭果茶藨子果实多糖提取量达到最大。此后随着温度的不断上升,多糖提取量逐渐下降。推测这可能是由于提取温度的不断增大,水的电离常数变大,水当中H⁺与OH⁻离子的浓度上升,导致水的极性下降,进而会致使多糖提取量下降^[14],故选取40 ℃作为狭果茶藨子果实多糖的最佳提取温度。

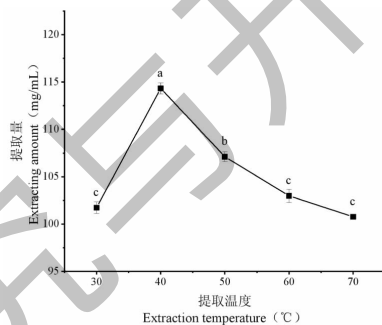


图3 提取温度对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on the content of polysaccharides in *R. stenocarpum*

2.2 超声法提取狭果茶藨子果实多糖提取响应面试验结果

2.2.1 响应面试验设计

以狭果茶藨子果实多糖提取量为响应值,经软件 Design-Expert 7.0.0 分析,试验结果见表。狭果茶藨子果实多糖提取量与提取温度(A)、时间(B)、提取温度(C)的二元多项式模型为: $Y = 114.63 + 4.05A + 0.30B - 0.15C - 2.77AB - 0.65AC + 1.95BC - 16.94A^2 - 17.16B^2 - 7.90C^2$, $R^2 = 0.9962$, $R^2_{adj} = 0.9914$ 。

表2 响应面试验结果表

Table 2 The table of response surface test result

序号 No.	A	B	C	提取量 Extracting amount(mg/g)
1	40	20	20	90.16
2	30	30	20	86.25
3	30	40	30	79.46
4	50	30	40	92.02
5	30	30	40	85.10

续表 2(Continued Tab. 2)

序号 No.	A	B	C	提取量 Extracting amount(mg/g)
6	40	30	30	113.42
7	40	40	20	87.12
8	40	30	30	114.96
9	40	30	30	114.32
10	40	20	40	88.12
11	40	30	30	115.01
12	40	30	30	115.45
13	50	40	30	81.92
14	30	20	30	73.60
15	40	40	40	92.88
16	50	20	30	87.12
17	50	30	20	95.77

由表 3 可知,以狭果茶藨子果实多糖提取量为响应值建立的模型 P 值小于 0.000 1,故说明该试验设计合理,相关系数 $R^2 = 0.996 2$ 与修正系数 $R^2_{adj} = 0.991 4$ 相近,说明该模型的实际值与预测值相吻合。且失拟项不显著,表明模型与试验数据拟合性较好,回归方程能较好的反应各因素与多糖提取量

的关系。由表 4 可知, A 、 AB 、 BC 、 A^2 、 B^2 、 C^2 的显著性较高,表明各因素对多糖提取量的影响并不是简单的线性关系。同时由表可得超声时间、料液比、超声温度对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响依次为提取温度(A) > 提取时间(B) > 料液比(C)。

表 3 方差分析结果

Table 3 ANOVA results

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型 Model	3 171.40	9	352.38	206.15	< 0.000 1	**
A	131.38	1	131.38	76.86	< 0.000 1	**
B	0.71	1	0.71	0.42	0.538 7	
C	0.17	1	0.17	0.10	0.760 9	
AB	30.58	1	30.58	17.89	0.003 9	**
AC	1.69	1	1.69	0.99	0.353 2	
BC	15.17	1	15.17	8.88	0.020 5	*
A^2	1 208.95	1	1 208.95	707.28	< 0.000 1	**
B^2	1 240.18	1	1 240.18	725.55	< 0.000 1	**
C^2	262.93	1	262.93	153.82	< 0.000 1	**
残差 Residual	11.97	7	1.71			
失拟性 Lack of fit	9.48	3	3.16	5.08	0.075 1	
纯误差 Pure error	2.49	4	0.62			
总差 Cor total	3 183.37	16				

注: ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$ 。

经 Design-Expert 7.0.0 软件进行响应面试验,得到图 4。由图 4a 可知,响应曲面随着提取温度和

时间的不断增大,狭果茶藨子果实多糖提取量先快速上升而后快速降低,由此可知,适当控制提取时间

与料液比可提高狭果茶藨子果实多糖的提取量。此外,等高线图呈椭圆形,说明两者交互作用明显,说明两因素的交互作用对狭果茶藨子果实多糖提取量具有显著性影响,这与表3方差分析结果一致。由图4b可知,改变提取温度和料液比,多糖提取量缓缓升高后缓慢下降,响应曲面较为平缓,且颜色变化

不明显,等高线图近似圆形,说明两者交互作用不显著,与表3结果一致。由图4c可知,随着提取时间和料液比的不断增加,多糖提取量升高后缓慢下降,响应曲面较为平缓,且等高线图呈椭圆形,故两者对于狭果茶藨子果实多糖提取量影响显著。

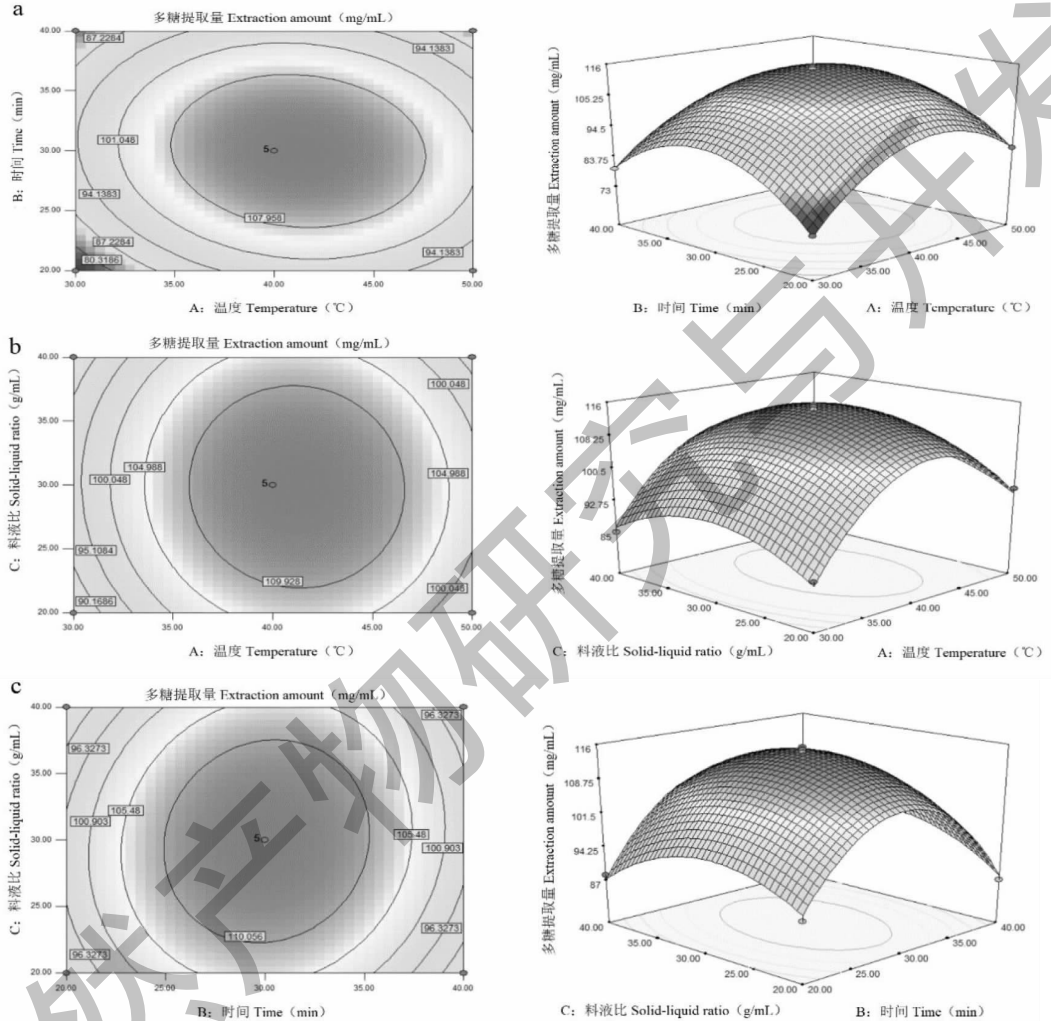


图4 各因素交互作用对狭果茶藨子果实多糖提取量的影响

Fig. 4 Effect of the interaction of various factors on the polysaccharides content of *R. stenocarpum*

2.2.2 最优条件确定

根据响应面优化得到狭果茶藨子果实多糖提取最佳工艺条件为:提取温度 41.20 °C、料液比 1:29.86、提取时间 29.98 min,为方便试验操作修正为提取温度 40 °C、料液比 1:30 g/mL、提取时间 30 min,对其进行验证试验得到狭果茶藨子果实多糖提取量为 115.32 ± 1.01 mg/g,与预测值 114.88 mg/g 无显著差异。

2.3 狭果茶藨子果实多糖流变特性研究

2.3.1 多糖浓度对表观粘度的影响

设置剪切温度为 30 °C,剪切速率扫描范围为 $150 \sim 1\,000$ s⁻¹,多糖浓度对狭果茶藨子果实多糖表观粘度的影响见图5。由图5a可知,在试验浓度范围内,随着多糖浓度的不断上升,狭果茶藨子果实多糖的表观粘度不断加大。同时随着剪切速率的不断增大,多糖溶液的表观粘度不断下降,溶液呈现剪切

变稀的特性,表现出假塑性流体的特征。当多糖浓度为 1.0% (W/V) 时,其表观粘度与 0.1% (W/V) 羧甲基纤维素钠表观粘度接近,两曲线趋势也近乎一致,说明多糖溶液在水相中形成了相互交织的网络结构,改变了水溶液原有的性质,使溶液表现出非牛顿流体行为的特征^[20]。此外随着剪切速率的增加,剪切应力变化曲线(5b)显示出与粘度曲线相反的趋势,在试验浓度范围内,狭果茶藨子果实多糖的浓度随着剪切

速率的增加而增加,同样也表明了剪切稀化的特性。

将上述曲线拟合为幂律方程 $\eta = k\gamma^{n-1}$, 其中, η 为剪切黏度, k 为一致性指数, γ 为剪切速率, n 为流动行为指数。 n 为 0 ~ 1 的流体被归类为假塑性流体; 如果 $n = 1$, 则流体为牛顿流体。如表 3 所示, 系统的 n 值范围在 0.472 ~ 0.543 之间, 且 n 值随着多糖浓度的增大而不断升高, 显示出更大的剪切稀化的能力, 表明狭果茶藨子果实多糖为假塑性流体。

表 4 幂律模型拟合参数

Table 4 Fitting parameters for the power law model

多糖浓度 Polysaccharide concentration (W/V)	k	n	R^2
0.1%	2.969 2	0.472	0.950 8
0.5%	2.896	0.505 5	0.970 5
1.0%	2.850 1	0.543	0.949 1
0.1% CMC-Na	2.949 3	0.505 9	0.963 3

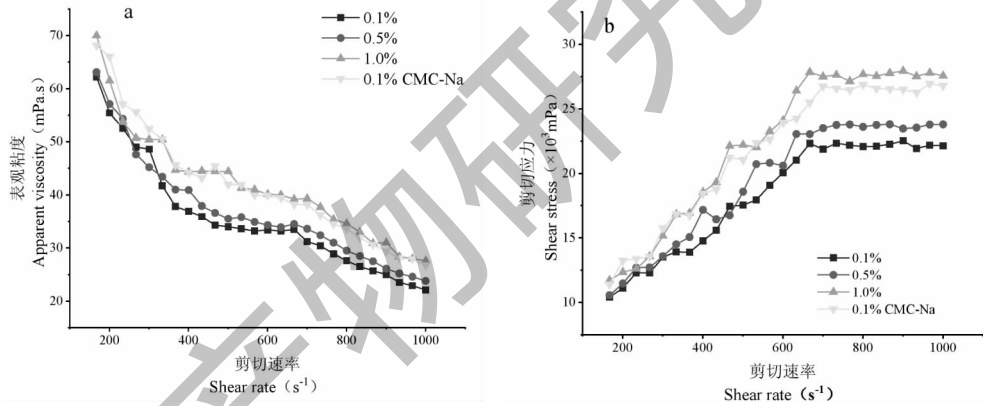


图 5 狭果茶藨子果实多糖溶液的表现粘度 η (a) 和应力 σ (b) 对剪切速率的依赖性

Fig. 5 Shear rate dependence of apparent viscosity (a) and stress (b) of RPs

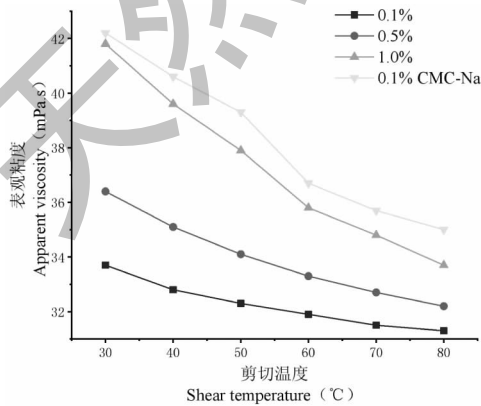


图 6 剪切温度对狭果茶藨子果实多糖表现粘度的影响

Fig. 6 Effect of shear temperature on the apparent viscosity of RPs

2.3.2 剪切温度对狭果茶藨子果实多糖表现粘度的影响

设置剪切速率为 500 s^{-1} , 设置剪切温度范围为 $30 \sim 80 \text{ }^\circ\text{C}$, 研究剪切温度对狭果茶藨子果实多糖表现粘度的影响, 试验结果见图 6。由图可知, 随着剪切温度的不断增加, 多糖溶液的表现粘度不断降低, 表现出假塑性流体的特征。推测这可能是由于高温使得多糖分子结构发生热膨胀, 分子间距离增大, 弱化了多糖分子间的相互缠结, 进而致使多糖的表现粘度呈现下降的趋势^[20]。

2.3.3 pH 对狭果茶藨子果实多糖表现粘度的影响

设置剪切温度 $40 \text{ }^\circ\text{C}$, 研究不同剪切速率下 pH 对狭果茶藨子果实多糖表现粘度的影响, 试验结果

见图 7。狭果茶藨子果实多糖原有 pH 为 4.8,推测这可能是由于样品中单糖所含的官能团所致,使溶液呈现弱酸性。同时由图 7 可知,随着 pH 的不断降低,狭果茶藨子多糖表观粘度呈现逐渐上升的趋势,酸性环境提高了狭果茶藨子果实多糖的表观粘度,碱性环境弱化了样品原有的表观粘度。推测这可能是由于 H⁺ 与溶液当中的负电荷结合,从而引起了絮凝反应,进而导致溶液的粘度上升。综合图

5 与图 7,发现过酸过碱的环境均能解离狭果茶藨子果实多糖的结构,对溶液的表观粘度造成一定影响。但由表 5 可知,过酸过碱的环境均不会改变狭果茶藨子果实多糖的假塑性流体的特征,其溶液具有较好的稳定性,因而据此优良的特性,可将 RPs 应用于果蔬汁及乳制品饮料的加工过程当中,在提高产品品质稳定性的同时亦可提高产品的营养价值。

表 5 幂律模型拟合参数

Table 5 Fitting parameters for the power law model

多糖溶液 pH pH of polysaccharide solution	<i>k</i>	<i>n</i>	<i>R</i> ²
3	2.875 4	0.518 9	0.977 8
7	2.876 1	0.514 5	0.952 8
11	2.887	0.500 8	0.974 3

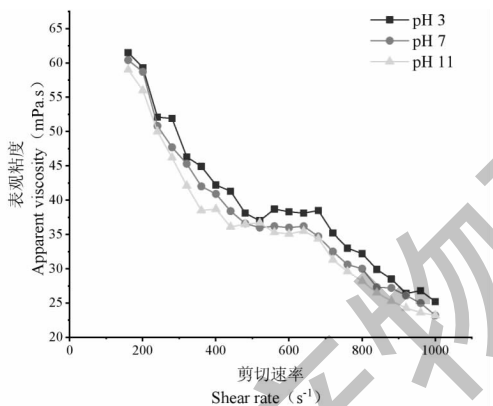


图 7 pH 对狭果茶藨子果实多糖表观粘度的影响
Fig. 7 Effect of pH on the apparent viscosity of RPs

大,为 61.32% ± 0.91%。

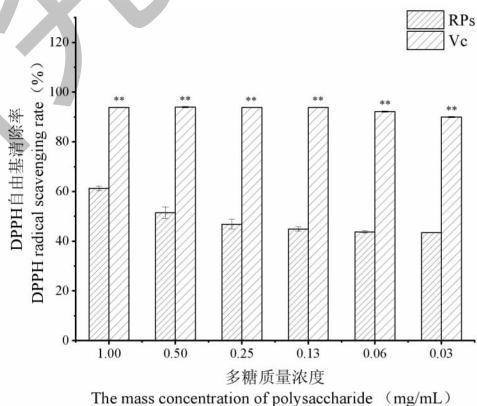


图 8 DPPH 自由基清除率
Fig. 8 DPPH radical scavenging rate

2.4 狭果茶藨子果实多糖的体外抗氧化活性研究

2.4.1 DPPH 自由基清除率

DPPH 作为一种稳定且定性良好的固体自由基,广泛的应用于抗氧化能力的定量测定当中。多糖中含有许多羟基,它们大多能提供氢来还原 DPPH 自由基,进而达到清除自由基的作用。RPs 与抗坏血酸对 DPPH 自由基的清除率如图 8 所示。RPs 清除 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值为 0.245 mg/mL。此外,在试验浓度范围内,RPs 对于 DPPH 自由基的清除率(*y*)与 RPs 的质量浓度(*x*)呈三次依赖关系,表达式为: $y = -19.397X^3 + 3.9000X^2 - 0.267X^2 + 77.013$ (*R*² = 0.951 0)。当多糖质量浓度为 1.00 mg/mL 时,样品对于 DPPH 自由基的清除率达到最

2.4.2 羟自由基清除能力测定

羟自由基是一种反应性极强的化学分子,作为损伤作用最强的自由基,能够很容易的穿过生物的细胞膜,与多种生物分子发生反应,导致组织损伤或细胞死亡,因此清除羟自由基对于维持生命系统的正常工作起着十分重要的作用。RPs 对羟自由基的清除率如图 9 所示,在试验多糖质量浓度范围内,随着多糖质量浓度的不断降低,RPs 对于羟自由基的清除能力呈现逐渐下降的趋势,且 RPs 对于羟自由基的清除率大于阳性对照抗坏血酸。当多糖质量浓度为 1.00 mg/mL 时,RPs 对于羟自由基的清除能力均达到最大值,为 40.27% ± 0.42%。RPs 对羟自由

基具有较强的清除能力,推测这可能是由于 RPs 改善了自由基的供氢能力,从而终止了自由基的链式反应。但 RPs 对于羟自由基的清除作用机理尚不明确,还需进一步的研究来阐明其可能的抗氧化机制。

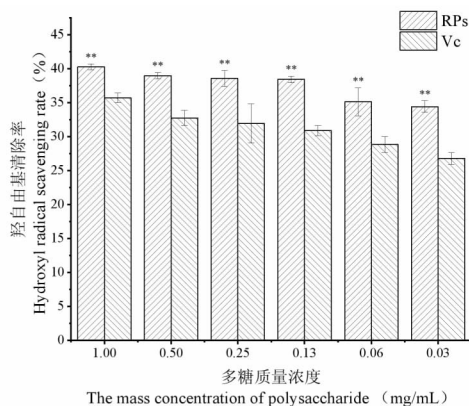


图9 羟自由基清除能力测定

Fig. 9 Determination of hydroxyl radical scavenging ability

2.4.3 总还原能力测定

抗氧化物质具有还原能力,还原能力通常用于评估多糖潜在的抗氧化活性。通过测量 700 nm 下普鲁士蓝的形成来测定还原力,700 nm 处的吸光度值越高,还原力越强。RPs 的还原能力测定结果如图 10 所示。由图可知,RPs 还原能力具有一定的剂量依赖性,即随着多糖质量浓度的不断降低,样品的还原能力呈现下降趋势,同时其还原能力明显低于阳性对照抗坏血酸。RPs 还原能力的测定结果在某种程度上也代表了其潜在的抗氧化活性。

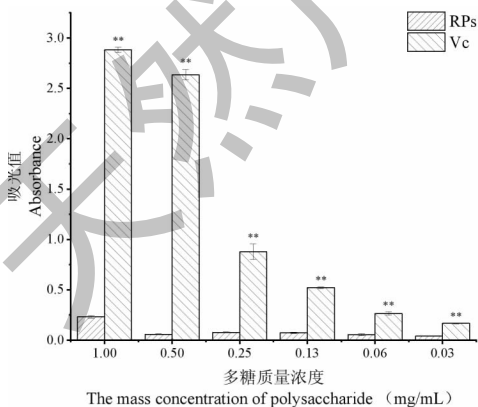


图10 还原能力测定试验结果

Fig. 10 Test result of reducing ability

3 结论

青藏高原野生茶藨子种类繁多,资源丰富,但缺

少对其系统的研究与开发利用,此次试验对青藏高原地区狭果茶藨子果实多糖的提取工艺进行优化,并对其流变特性及体外抗氧化活性予以探讨。通过响应面法建立狭果茶藨子果实多糖提取工艺的回归方程,得到最佳提取条件为:提取温度 40 ℃,料液比 1:30 g/mL,超声浸提 30 min。在此条件下可极大地提高多糖的得率,其提取量最高可达 115.32 mg/g;通过流变学研究发现狭果茶藨子果实多糖溶液属非牛顿流体,具有剪切稀化的特性,溶液的粘度随着多糖浓度的升高而不断增大,且过酸过碱的环境均不会对多糖溶液的流变特性造成巨大影响,溶液具有良好的稳定性。说明狭果茶藨子果实多糖具有良好的流变特性,有望从中开发新型的食品天然增稠剂或稳定剂,拓宽狭果茶藨子果实多糖的应用范围;此外,体外抗氧化试验表明,狭果茶藨子果实多糖具有潜在的抗氧化活性,对 DPPH 自由基与羟自由基均具有一定的清除作用。此次试验可为青藏高原地区狭果茶藨子果实功能性食品的开发提供一定的理论依据,从而促进茶藨子属植物资源的开发利用。

参考文献

- Ye Y, Li ZR, Cao XH, et al. Components and antibacterial activities of extracts from the fruits of *Ribes stenocarpum* Maxim in Qinghai-Tibet Plateau and their anti-fatigue activity [J]. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2019, 40(13): 7-13.
- Yuwei W, Delin Q, Shulin W, et al. Comparison of phenols content and antioxidant activity of fruits from different maturity stages of *Ribes stenocarpum* Maxim [J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3148.
- Rantala S, Kaseva J, Nukari A, et al. Droplet vitrification technique for cryopreservation of a large diversity of black-currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars [J]. *Plant Cell Tiss Org*, 2020, DOI:10.1007/s11240-020-01841-2.
- Yang XL. Studies on distribution, development and utilization of *Ribes* resources in Qinghai Province [J]. *Sci Technol Qinghai Agr Forest*(青海农林科技), 2011(4): 68-70.
- Burgos-Edwards A, Fernández-Romero A, Carmona M, et al. Effects of gastrointestinal digested polyphenolic enriched extracts of Chilean currants (*Ribes magellanicum* and *Ribes punctatum*) on *in vitro* fecal microbiota [J]. *Food Res Int*, 2020, 129: 108848.
- Yu R, Chen L, Xin X. Comparative assessment of chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activity in ten berries grown in China [J]. *Flavour Frag J*, 2020, 35: 197-

- 208.
- 7 Paunović SM, Mašković P. Phenolic compounds, antioxidant and cytotoxic activity in berry and leaf extracts of black currant (*Ribes nigrum* L.) as affected by soil management systems[J]. *Erwerbs-Obstbau*, 2020, 62:293-300.
 - 8 Yang Y, Lei Z, Zhao M, et al. Microwave-assisted extraction of an acidic polysaccharide from *Ribes nigrum* L.: structural characteristics and biological activities[J]. *Ind Crops Prod*, 2020, 147:112249.
 - 9 Hui H, Jin H, Li X, et al. Purification, characterization and antioxidant activities of a polysaccharide from the roots of *Lilium davidii* var. *unicolor* Cotton[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 135:1208-1216.
 - 10 Addoun N, Boual Z, Delattre C, et al. Structural features and rheological behavior of a water-soluble polysaccharide extracted from the seeds of *Plantago ciliata* Desf[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 155:1333-1341.
 - 11 Cheng ZF, Lan LS, Xuan Z, et al. Enzyme-assisted extraction of polysaccharides of Ta-pieh Mountains *Bletilla striata* and its activities study[J]. *Nat prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2020, 32:1389-1395.
 - 12 Meng YW, Hong CS, Ming MS, et al. Study on the immunoprotective effects of Radix *Pseudostellariae* fibrous root extraction in immunosuppressed mice[J]. *Nat prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2020, 32:837-844.
 - 13 Miao LM, Hua CQ, Lu FL, et al. Preparation of *Houttuynia cordata* polysaccharide and its antiviral activity *in vitro*[J]. *Nat prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2020, 32:110-117.
 - 14 Chen X, Ji H, Zhang C, et al. Optimization of extraction process from *Taraxacum officinale* polysaccharide and its purification, structural characterization, antioxidant and antitumor activity[J]. *J Food Meas Charact*, 2020, 14(1):194-206.
 - 15 Patist A, Bates D. Ultrasonic innovations in the food industry: from the laboratory to commercial production[J]. *Innov Food Sci Emerg*, 2007, 9:147-154.
 - 16 Mei MY, Qi SJ, Hua XY, et al. Optimization of the extraction process of polysaccharide from *Bublophyllum kwangtungense* and its antioxidant activity[J]. *Nat prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31:779-785.
 - 17 Ma F, Zhang Y, Liu N, et al. Rheological properties of polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb[J]. *Food Chem*, 2017, 227:64-72.
 - 18 Li Y, Wang X, Lv X, et al. Extractions and rheological properties of polysaccharide from okra pulp under mild conditions[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 148:510-517.
 - 19 Qian HX, Xiang WY, Jiang LC, et al. Detection of main components and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides in cherry nuts[J]. *Nat prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2020, 32:600-606.
 - 20 Hentati F, Pierre G, Ursu AV, et al. Rheological investigations of water-soluble polysaccharides from the Tunisian brown seaweed *Cystoseira compressa*[J]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 103:105631.
-
- (上接第 235 页)
- 17 Chen W, Vermaak I, Viljoen A. Camphor-a fumigant during the Black Death and a coveted fragrant wood in ancient Egypt and Babylon-a review[J]. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2013, 18:5434-5454.
 - 18 Yang SK, Yusoff K, Ajat M, et al. Disruption of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* membrane via induction of oxidative stress by cinnamon bark (*Cinnamomum verum* J. Presl) essential oil[J]. *PLoS One*, 2019, 14:e0214326.
 - 19 Zengin H, Baysal AH. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy[J]. *Molecules*, 2014, 19:17773-17798.
 - 20 Zacchino SA, Butassi E, Cordisco E, et al. Hybrid combinations containing natural products and antimicrobial drugs that interfere with bacterial and fungal biofilms[J]. *Phytomedicine*, 2017, 37:14-26.