

铁皮石斛多糖的凝胶特性表征

侯芙蓉, 井玉林, 吴颖, 陈思伊, 刘晴, 唐文*
(上海应用技术大学香料香精技术与工程学院 上海 201418)

摘要 为探究不同因素对铁皮石斛多糖凝胶特性的影响,研究多糖浓度、成胶温度、碱和离子对铁皮石斛多糖凝胶特性、持水性、乙酰基含量等的影响,通过差示扫描量热仪(DSC)、傅里叶红外光谱仪(FTIR)、X射线衍射仪(XRD)对多糖的性质进行表征。结果表明,多糖质量浓度从 5 mg/mL 增加到 25 mg/mL 时,其凝胶强度从 70.87 g 增加到 206.39 g,持水性从 78.52% 增加到 94.25%;在温度达到 40 ℃时,凝胶强度达到最大为 129.29 g,对应的持水性也最大为 90.58%;随着不同碱(NaOH、Na₂CO₃、KOH、K₂CO₃)质量浓度的升高,凝胶强度均先持续增加后降低,凝胶的持水性均逐渐降低,在同等碱添加量条件下,形成的凝胶强度大小顺序为 Na₂CO₃>K₂CO₃>NaOH>KOH;电解质方面,钠离子可以提高凝胶的强度和持水性,而尿素会显著降低凝胶的强度和持水性。FTIR 图谱表明:乙酰基的吸收峰强度随 Na₂CO₃ 添加量的升高而降低。多糖的脱乙酰程度与碱含量有关。XRD 结果表明:其衍射峰强度与碱的添加量有关,表现为碱添加量越高,衍射峰越强。DSC 结果表明:随着碱量的增多,水吸收峰的峰值温度升高,峰的热焓值增大。凝胶形成机理可能与乙酰基的水解促进多糖分子间的相互作用有关。

关键词 铁皮石斛多糖; 凝胶性; 凝胶机理

文章编号 1009-7848(2023)07-0129-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.07.014

近年来,天然多糖因多种生物活性而备受关注,此外,一些植物多糖由于理想的功能特性,如胶凝、增稠和乳化特性,作为胶凝剂、增稠剂和乳化剂应用于食品和制药行业^[1-4]。多糖凝胶的形成有利于改善产品的口感、稳定性、质构特性等。研究铁皮石斛多糖的凝胶性,对铁皮石斛多糖的应用具有重要意义。

铁皮石斛多糖是从铁皮石斛中提取的植物多糖,具有很高的生物活性和药用价值。其主要由甘露糖、葡萄糖、半乳糖及阿拉伯糖组成^[5],含有 β -1,4-D-葡甘露聚糖的主链结构,在 β -1,4-D-甘露糖残基的 C2 位的 O 上连有乙酰基,是一种天然的乙酰化多糖^[6-8]。魔芋胶也是一种富含乙酰基的多糖,其凝胶化与乙酰基有很大的相关性,凝胶性质受多糖浓度、离子、碱浓度等因素的影响^[9]。本课题组早期研究观察到一定质量浓度的铁皮石斛多糖水溶液,当体系的 pH 值大于 10 时出现胶凝现象,然而,铁皮石斛多糖的凝胶性还未见文献报道。研究铁皮石斛多糖的凝胶性质,可让多糖的凝

胶性在食品等领域应用更广泛。

影响铁皮石斛多糖凝胶性的因素很多,例如:质量浓度,碱的种类及浓度,金属离子,处理方式等;不同条件形成的凝胶性质有很大差异。本研究旨在探究铁皮石斛多糖凝胶的可能形成机理,以期为铁皮石斛多糖在食品胶中的应用提供一定的理论依据。研究不同因素对铁皮石斛多糖凝胶质构特性和持水性能的影响,以及凝胶前、后乙酰基变化、热稳定性和结晶性的差异。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

铁皮石斛(3年生),安徽省霍山黑石渡生物科技有限公司;所用化学试剂均为分析纯级,上海泰坦科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

AL204 电子分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海有限公司);DF-101S 恒温加热磁力搅拌器,上海豫康科教仪器设备有限公司;80-2B 离心机,江苏新康医疗器械有限公司;TA-XT plus 物性测定仪,英国 Stable Micro System 有限公司;SYS-TEM 200 X-射线衍射仪,德国 Bruker AXS 公司;DSC-25 差式扫描量热分析仪,美国 TA 公司;

收稿日期: 2022-07-12

基金项目: 上海市教育委员会重点课程建设项目(20170355)

第一作者: 侯芙蓉,女,硕士生

通信作者: 唐文 E-mail: bj552@163.com

Nicolet iS10 傅里叶变换红外光谱仪,美国 Thermo 公司;FD-1A-50 真空冷冻干燥机,上海比朗仪器制造有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 铁皮石斛多糖的制备 根据参考文献[10],采用水提醇沉法自制。铁皮石斛(DOP)干茎粉碎,加入 10 倍体积无水乙醇溶液,静置 72 h。收集铁皮石斛残渣,挥干溶剂,按料液比 1:25 的比例加入去离子水,于 90 °C 水提 2 h,重复 5 次,提取液浓缩后加入 4 倍体积的无水乙醇,于 4 °C 冰箱中静置 24 h,5 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀用无水乙醇清洗 3 次后,加入去离子水溶解,过滤冻干得铁皮石斛粗多糖。去离子水溶解粗多糖,采用 Sevag 法脱蛋白,所得多糖溶液层浓缩后醇沉静置过夜,离心收集沉淀,冻干后得到 DOP。

1.3.2 多糖的化学成分测定 以葡萄糖为标准品,采用硫酸-苯酚法测定多糖中的总糖含量^[11]。以半乳糖醛酸为标准品,采用硫酸-咔唑法测定多糖中的糠醛酸含量^[12]。以牛血清蛋白为标准品,采用考马斯亮蓝法测定多糖中的蛋白质含量^[13]。

1.3.3 DOP 的乙酰基含量测定 准确称取 1.000 g 铁皮石斛多糖于锥形瓶中,加入 50 mL 蒸馏水以 150 r/min 搅拌,使铁皮石斛多糖充分溶胀。加入 5 mL 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液,继续搅拌 24 h,以 1% 的酚酞作为指示剂,用 0.1 mol/L 的 HCl 中和滴定过量的碱。每个样品重复测定 3 次。乙酰基含量计算公式如下^[14]:

$$A(\%) = \frac{(V_2 - V_1) \times C_{\text{HCl}} \times M_{\text{acetyl}}}{m_s} \times 100 \quad (1)$$

式中, V_1 ——样品组消耗的盐酸体积,mL; V_2 ——空白对照组消耗的盐酸体积,mL; C_{HCl} ——盐酸浓度,mol/L; $M_{\text{acetyl}} = 0.043$ g/mol; m_s ——样品的质量,g。

1.3.4 DOP 凝胶的制备 配制质量浓度为 15 mg/mL 的 DOP 溶液 20 mL,在室温下搅拌 DOP 至彻底溶解。向烧杯中添加碳酸钠,使碳酸钠的质量浓度为 15 mg/mL。以 40 °C 加热搅拌 20 min,立即灌入 20 mL 的注射器内,密封,室温条件下静置 24 h。待成胶后,切成直径为 19 mm,高为 15 mm 的柱形小块,待测。

1.3.5 凝胶质构特性测定 使用 TA-XT plus 物

性测试仪,在 TPA 质构模式下测定样品的质构特性,分别为硬度、弹性。参数如下:探头:P/0.5,测试前速度:4.0 mm/s,测试速度:1.0 mm/s,测试后速度:4.0 mm/s,测试距离:10.00 mm,感应力:5.0 g。

1.3.6 凝胶持水性(WHC)测定 参考 Zhang 等^[15]的测定方法,结合铁皮石斛多糖凝胶的性质做适当修改。将各方法制备的 DOP 凝胶切成高度为 3 cm 的小块,置于离心管中称重,4 000 r/min 离心 30 min,弃去析出液体后再称重。按照以下公式计算,每个样品平行测定 3 次。

$$\text{WHC}(\%) = \frac{M_3 - M_1}{M_2 - M_1} \times 100 \quad (2)$$

式中,WHC——持水力,%; M_1 ——离心管质量,g; M_2 ——离心前凝胶样品与离心管总质量,g; M_3 ——离心后凝胶样品与离心管总质量,g。

1.3.7 傅里叶变换红外光谱 准确称取 1 mg 冻干样品粉末于玛瑙研钵中充分研磨,再加入 100 mg 干燥至恒重的溴化钾粉末混合均匀,称取 30 mg 混合物压片,采用傅里叶变换红外光谱仪进行谱图测定。测定范围为 4 000~400 cm^{-1} ,分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.3.8 动态监测脱乙酰度 准确称取 7 g 干燥至恒重的样品,置于烧杯中,加 700 mL 蒸馏水于室温下用搅拌器搅拌,使多糖样品充分溶胀形成均一的胶液,配制质量浓度 10 mg/mL 的 DOP 溶液。取 2 份 200 mL 配制好的 DOP 溶液分别置于烧杯中,添加 Na_2CO_3 使其质量浓度分别为 5 mg/mL 和 15 mg/mL,于 40 °C 持续搅拌。每隔 15 min 从各烧杯中吸取 10 mL 的胶液,以 1% 的酚酞作为指示剂,混匀后,用 0.1 mol/L 的 HCl 中和滴定过量的碱,计算脱乙酰过程中乙酰基的含量变化。脱乙酰度按公式(3)计算:

$$\text{脱乙酰度}(\%) = \frac{A}{A_1} \times 100 \quad (3)$$

式中, A ——脱除的乙酰基含量,%; A_1 ——DOP 样品的总乙酰基含量,%。

1.3.9 X-射线衍射(XRD)分析 将样品研磨至细粉末状,干燥至恒重,取一定量进行 X-射线衍射测定。测试条件为:辐射源为 $\text{CuK}\alpha$,管压 40 kV,管流 35 mA,准直器 1 mm,Cu 靶陶瓷 X 光管,二维探测器,扫描速度 10°/min,步长 0.02°, 2θ 为

5°~50°。

1.3.10 差式扫描量热 (DSC) 分析 准确称取 2 mg 样品置于纯铝坩埚中,压盖密封,用针头在盖中心扎孔,以相同空坩埚做参比,采用 DSC 设备在氮气环境下对样品热特性进行测定。测试范围 30~200 °C,速率为 10 °C/min,每个样品重复测定 3 次,结果用“平均值±标准差”表示。

1.4 数据分析

采用 SPSS 20.0 对试验数据进行分析,数据表示为“平均值±标准偏差”($\bar{x} \pm s$),采用 Origin 9.0 绘图。

表 1 DOP 的总多糖、糖醛酸、蛋白质和乙酰基含量

Table 1 The total polysaccharide, uronic acid, protein and ethanoyl content of DOP

样品	总糖含量/%	糖醛酸含量/%	蛋白质含量/%	乙酰基含量/%
DOP	89.38 ± 1.07	2.19 ± 0.13	0.37 ± 0.02	3.43 ± 0.07

由表 1 可知经 Sevag 法脱蛋白后所得的 DOP,蛋白质含量为 0.68%,总糖含量为 89.38%,糖醛酸含量为 2.19%,试验结果与 He 等^[6]的结果相似。采用化学滴定法测得的铁皮石斛多糖乙酰基的含量较高,为 3.43%。结果表明铁皮石斛多糖

2 结果与分析

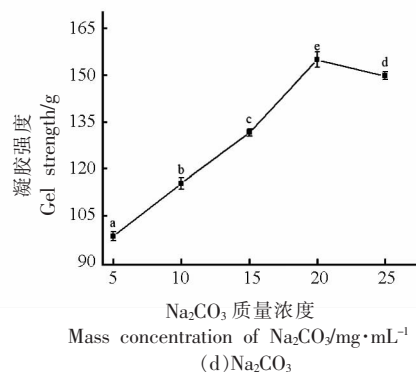
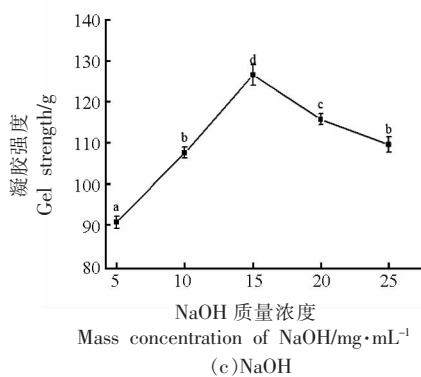
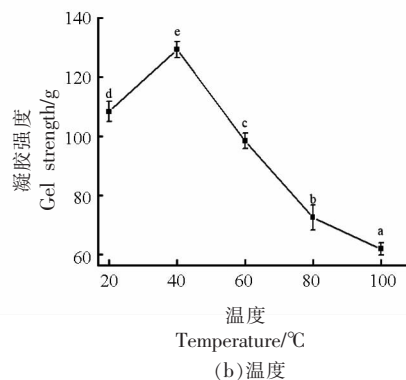
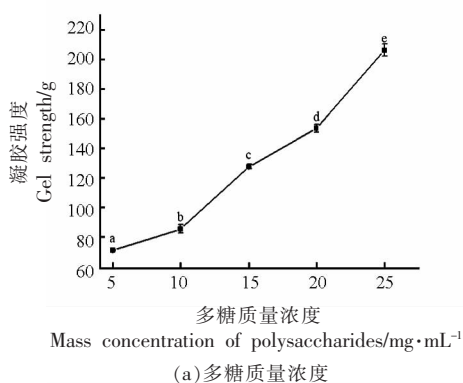
2.1 DOP 的化学成分分析

用紫外分光光度计测定葡萄糖、糖醛酸、牛血清蛋白的标准曲线,苯酚-硫酸法所得的回归方程为: $y=0.01117+9.779x$, $R^2=0.9996$;硫酸-咔唑法所得的回归方程为: $y=0.0133+7.798x$, $R^2=0.9956$;考马斯亮蓝法所得的回归方程为: $y=0.07743+4.669x$, $R^2=0.9973$ 。将铁皮石斛多糖在几种条件下所测吸光度带入回归方程,计算铁皮石斛多糖的总糖、糖醛酸和蛋白质含量,结果见表 1。

是一种富含乙酰基的杂多糖。

2.2 不同因素对 DOP 凝胶质构特性的影响

由图 1a 可知,铁皮石斛多糖的质量浓度对其凝胶强度产生了重要影响。随着多糖质量浓度的增加,铁皮石斛多糖凝胶的强度也逐渐增大,各组



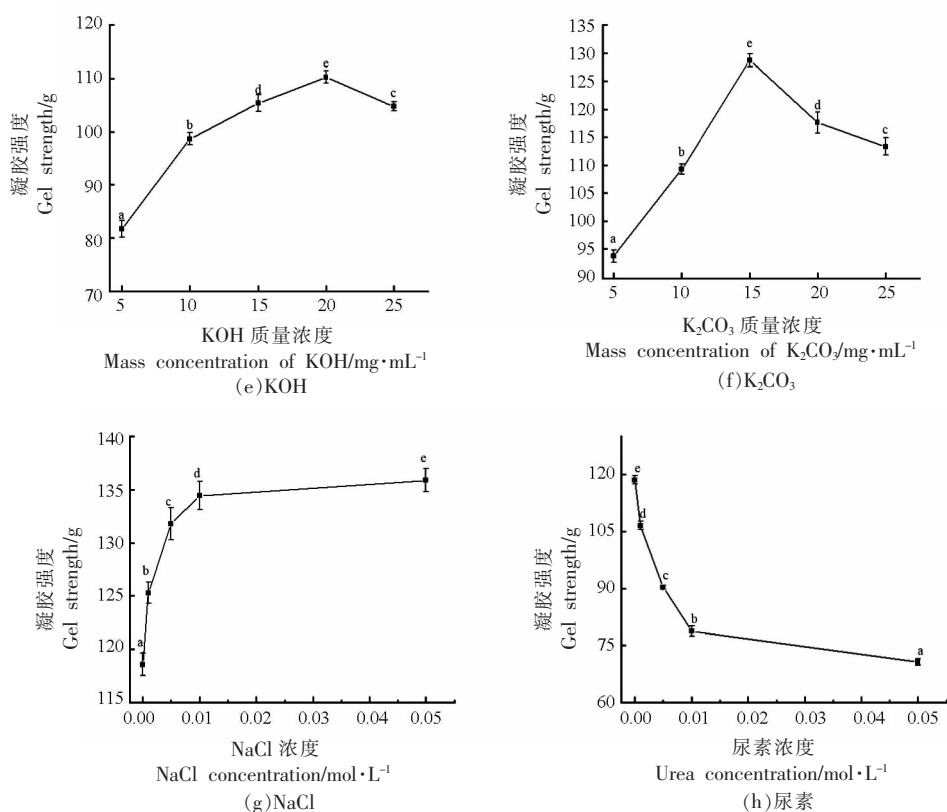


图 1 不同因素对铁皮石斛多糖凝胶强度的影响

Fig.1 Effects of different factors on the DOP gel strength

样品之间表现出显著性差异($P < 0.05$)。当多糖的质量浓度从 5 mg/mL 增加到 10, 15, 20, 25 mg/mL 时,其凝胶强度从 70.87 g 分别增加到 85.25, 127.54, 153.42, 206.39 g。这可能是由于随着铁皮石斛多糖质量浓度的增加,溶液中单位体积内多糖分子链之间的相互作用增强,使得形成的凝胶三维网状结构更加致密,进而导致多糖凝胶强度增大^[17]。

图 1b 为温度影响铁皮石斛多糖的胶凝过程,当温度从 20 °C 升高到 40, 60, 80, 100 °C 时,凝胶的强度从 108.34 g 分别变化为 129.29, 98.53, 72.48, 61.88 g,表现出随着温度的升高,凝胶强度先增加后降低的现象。有研究表明,凝胶形成过程中的作用力主要包括氢键、疏水作用力、共价键、静电作用等,而不同的凝胶维持其网络结构的作用力不同,例如冷致凝胶主要是由于氢键的作用(结冷胶、卡拉胶、明胶),即低温有利于氢键的作用;热致凝胶主要是疏水作用力的作用(魔芋胶、

甲基纤维素),即温度升高可以增强疏水作用力^[18-19]。

铁皮石斛多糖在低温条件和高温条件均可以形成凝胶,在高温条件下凝胶强度减弱,这是因为高温破坏了分子间的氢键作用,导致多糖凝胶强度降低,也间接说明了铁皮石斛多糖凝胶形成的主要作用力可能是氢键的作用,疏水作用力在铁皮石斛多糖凝胶的形成过程中不占主导地位,氢键的作用在 Na⁺对铁皮石斛多糖凝胶强度的影响中被证实。

碱的添加可导致铁皮石斛多糖中乙酰基的水解^[20],本研究观察到碱的添加是铁皮石斛多糖凝胶制备中的关键性条件。虽然铁皮石斛多糖分子主链上含有较多可以形成氢键的羟基,但是乙酰基的空间位阻阻碍了铁皮石斛多糖分子间的聚集,从而阻碍了分子间氢键的形成,不能发生胶凝现象。当乙酰基被水解时,空间位阻的消失有利于铁皮石斛多糖分子间氢键的形成,多糖分子间相

互缠绕,形成稳定的网络结构。由图 1c~1f 可知,碱的种类和浓度对铁皮石斛多糖的凝胶强度有重要影响,当 15 mg/mL 的 DOP 水溶液中碱的添加量从 5 mg/mL 变为 10,15,20,25 mg/mL 时,胶凝后,添加 NaOH 的 DOP 凝胶的强度从 90.65 g 变为 107.55,126.56,115.69,109.56 g;添加 Na₂CO₃ 的 DOP 凝胶的强度从 98.48 g 变为 115.37,131.52,154.83,149.62 g;添加 KOH 的 DOP 凝胶的强度从 81.75 g 变为 98.64,105.37,110.54,104.79 g;添加 K₂CO₃ 的 DOP 凝胶的强度从 93.75 g 变为 109.26,129.78,117.36,113.28 g。结果表明,随着碱添加量的增加,凝胶强度先持续增加后分别降低 ($P < 0.05$),DOP 凝胶在高质量浓度碱液中凝胶强度降低,可能由于当碱的质量浓度过高时,会加速乙酰基的水解,从而加快分子间的相互作用,致使形成的网络结构不均一,较为疏散。

添加不同碱液形成的 DOP 凝胶的强度明显不同,最大峰值受碱的性质影响。15 mg/mL 的 DOP 溶液在同等碱添加量条件下,形成的凝胶强度大小顺序为 Na₂CO₃ > K₂CO₃ > NaOH > KOH,表现为中强碱 (Na₂CO₃、K₂CO₃) 形成凝胶比强碱 (NaOH、KOH) 形成的凝胶的强度更高,这一现象与强碱对魔芋胶的作用相似,这可能是因为,多糖凝胶在强碱的作用下,会随着时间的延长出现部分降解^[21]。同等条件下,添加 Na₂CO₃ 比 K₂CO₃ 形成的 DOP 凝胶强度大,NaOH 比 KOH 形成的 DOP 凝胶强度大,这可能是由于 Na⁺比 K⁺使多糖具有更坚硬的内部结构,在 Na⁺的存在下,有利于多糖分子间的相互作用,然而在 K⁺存在下,这些现象则会减少。

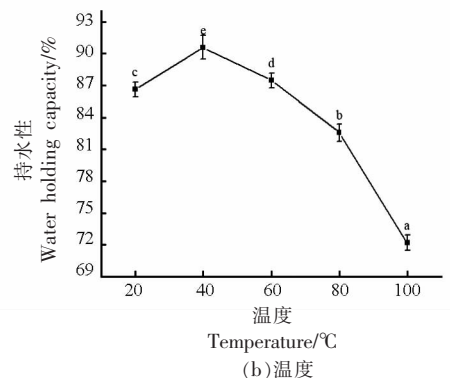
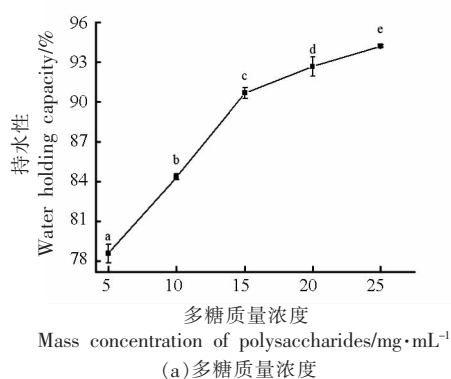
多糖在碱性条件下会发生乙酰基的水解,从

而改变多糖的分子结构,影响氢键作用和静电作用^[22-23]。为了证明氢键作用力和静电作用力在铁皮石斛多糖胶凝过程中的作用,考察了 Na⁺和氢键断裂剂-尿素对铁皮石斛多糖凝胶强度的影响。如图 1g 所示,随着 NaCl 的加入,铁皮石斛多糖的凝胶强度逐渐增加,这是因为在铁皮石斛多糖交联的网状结构中,多糖内部电荷密度过大,多糖分子间静电斥力不利于凝胶网络结构的形成,而 Na⁺的添加可以屏蔽多糖分子内部的部分静电斥力,因此,NaCl 的加入可以提高铁皮石斛多糖的凝胶强度^[24-26]。如图 1h 结果显示,随着尿素的加入,多糖的凝胶强度显著降低 ($P < 0.05$)。当尿素浓度从 0 mol/L 增加到 0.001,0.005,0.01,0.05 mol/L 时,铁皮石斛多糖的凝胶强度分别从 118.58 g 变为 106.56,90.27,78.78,70.6 g,即随着尿素添加量增加凝胶强度下降,提示尿素的存在影响了氢键的形成,进而降低了多糖凝胶的刚性网络结构,同时,高浓度尿素对凝胶强度的影响曲线较平缓,推测氢键只是影响石斛多糖凝胶强度的因素之一,还存在其它的主要影响因素。以上结果说明,铁皮石斛多糖凝胶网络的形成过程中,可能有氢键和静电作用的影响,而具体的供氢基团及凝胶形成的主要作用力还有待进一步研究。

2.3 持水性分析

持水性是多糖水凝胶的重要功能之一,持水性可以反映多糖凝胶网络结构的致密程度^[27]。多糖的质量浓度、碱的种类与添加量、温度及电解质对铁皮石斛多糖凝胶持水性的影响见图 2。

图 2a 结果表明,随着铁皮石斛多糖质量浓度的增加,凝胶持水性逐渐增强。当铁皮石斛多糖质量浓度从 5 mg/mL 增加到 25 mg/mL 时,凝胶的持



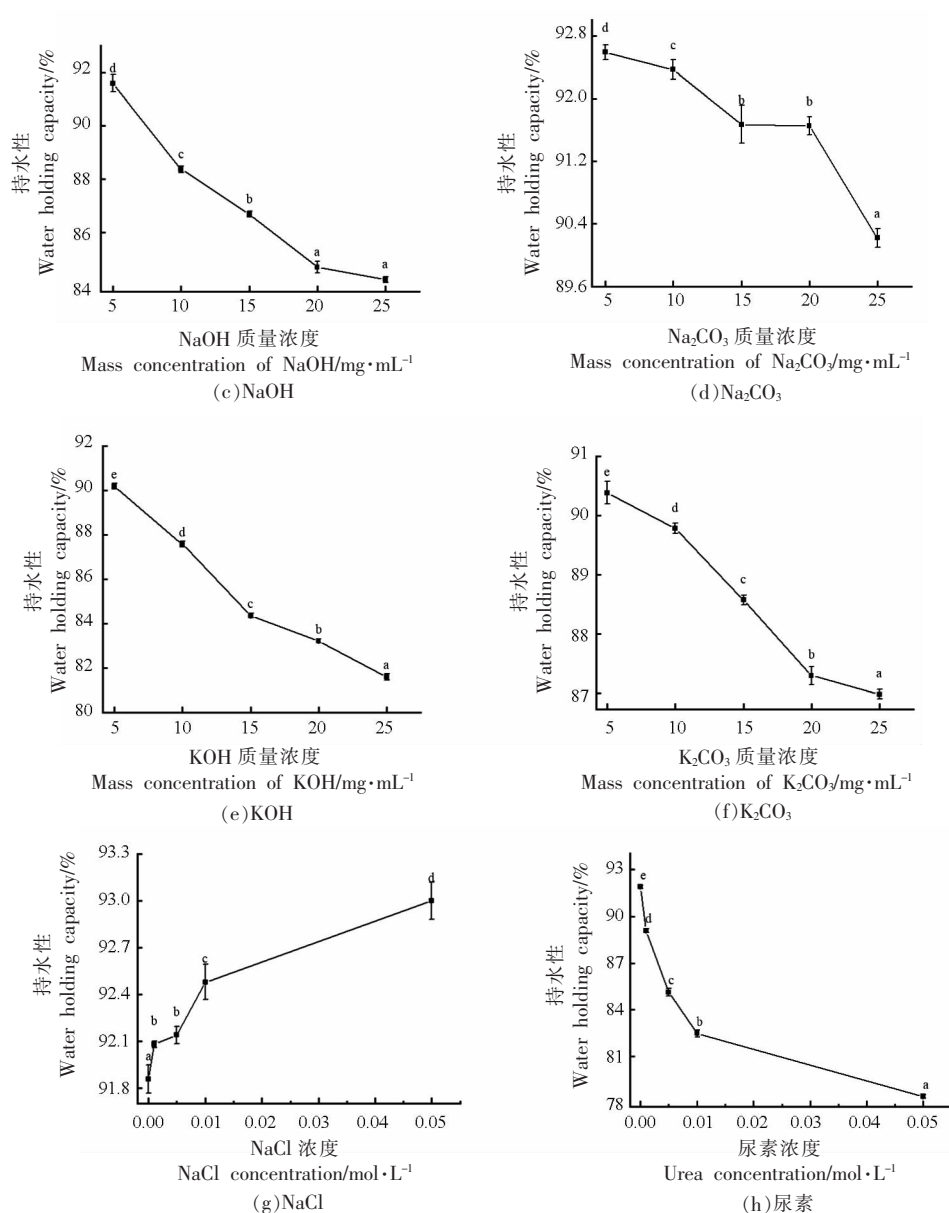


图2 不同因素对铁皮石斛多糖凝胶持水性的影响

Fig.2 Effects of different factors on water holding capacity of DOP gel

水性从 78.52% 增加到 94.25%，这是因为随着多糖质量浓度的升高，溶液中单位体积内的多糖分子数量增加，分子间的相互作用增强，形成更加致密的网络结构，对水的束缚能力增强^[28]。如图 2b，随着温度升高，多糖的持水性逐渐降低，表现为当温度从 40℃ 变为 60, 80, 100℃ 时，铁皮石斛多糖的持水性从 90.58% 分别变为 87.47%, 82.56%, 72.18%，这是由于升高温度破坏了铁皮石斛多糖分子与水分子间的氢键。

由图 2c~2f 可知，随着溶液中碱的质量浓度

升高，凝胶的持水性逐渐降低，这是因为碱的浓度越高，铁皮石斛多糖的脱乙酰度越高，导致多糖分子间的作用增强，因此持水性降低。由图 2c~2f 可知，同等质量浓度下，Na₂CO₃ 制备的多糖凝胶的持水性比 NaOH 强，K₂CO₃ 制备的多糖凝胶的持水性比 KOH 强，可能因为 Na₂CO₃ 与 K₂CO₃ 的碱性相对较弱，多糖的脱乙酰速度较慢，形成的凝胶网络更为有序。同等条件下，添加 Na₂CO₃ 比 K₂CO₃ 形成的 DOP 凝胶持水性强，NaOH 比 KOH 形成的 DOP 凝胶持水性强，这可能是由于 Na⁺ 的存在形

成了更加致密的凝胶网络结构。

不同浓度的 Na^+ 和尿素对铁皮石斛多糖凝胶的持水性的影响如图 2g 所示, 当 Na^+ 浓度从 0 mol/L 增加到 0.001, 0.005, 0.01, 0.05 mol/L 时, DOP 凝胶的持水性分别从 91.85% 变为 92.08%, 92.14%, 92.48%, 92.64%, 即凝胶的持水性随 Na^+ 浓度的升高逐渐增强, 这可能是因为 Na^+ 的存在下, 有利于多糖分子间的相互作用, 有助于改善多糖螺旋线圈的尺寸, 从而形成更加致密的凝胶网络结构^[29], 离心条件下水分不容易脱离。如图 2h 所示, 当尿素浓度从 0 mol/L 增加到 0.001, 0.005, 0.01, 0.05 mol/L 时, DOP 凝胶的持水性分别从 91.85% 变为 88.98%, 85.14%, 82.39%, 78.45%, 即凝胶的持水性随尿素浓度的升高逐渐下降, 这是因为尿素的存在影响了多糖分子间氢键的形成, 从而破坏了多糖凝胶的网络结构, 对水的束缚能力降低, 其次, 尿素的添加也会破坏多糖分子与水分子间的氢键, 导致与分子间的相互作用减弱, 持水性降低。

2.4 FT-IR 分析

经 2 种质量浓度 Na_2CO_3 (5 mg/mL 和 15 mg/mL) 处理前、后的 DOP 的红外光谱扫描结果见图 3, 波数在 3417.1 cm^{-1} 左右的宽峰是羟基的伸缩

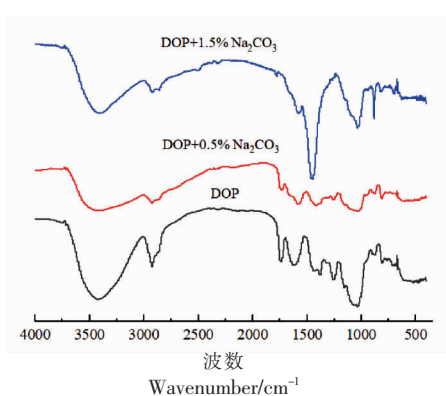


图 3 不同 Na_2CO_3 添加量条件下的 DOP 红外图谱

Fig.3 FT-IR spectrum of DOP with addition of Na_2CO_3 at different levels

2.6 结晶度分析

X-射线衍射图可以确定分子的无定形或结晶特性。由 XRD 图谱(图 5)可知, 未经 Na_2CO_3 处理的 DOP 呈现出一种无定形状态, 只在 $2\theta = 20^\circ$ 处有一个较宽的衍射峰, 这是因为铁皮石斛多糖中

振动吸收峰^[30], 波数在 2935 cm^{-1} 和 2881 cm^{-1} 处的吸收峰是甲基和亚甲基 C-H 键的伸缩振动引起的^[14], 1735.1 cm^{-1} 的吸收峰是乙酰基中 C=O 非对称伸缩振动峰^[31], 波数在 $1000\sim 1300\text{ cm}^{-1}$ 区域以及 810.4 cm^{-1} 和 897.6 cm^{-1} 处存在的吸收峰是铁皮石斛多糖中甘露吡喃糖苷的特征吸收峰, 这些结果与前人研究^[32]结果一致。由图 3 可知, 不同质量浓度 Na_2CO_3 处理的 DOP 样品, 在波数 1735.1 cm^{-1} 处乙酰基的吸收峰强度有很大差别, 表现为随着 Na_2CO_3 添加量的升高而降低。研究表明, 乙酰基吸收峰强度的减弱是由于在碱性条件下, 铁皮石斛多糖中的乙酰基发生水解引起的, 乙酰基水解程度越高, 其红外吸收峰强度越弱。

2.5 脱乙酰进程

为进一步了解铁皮石斛多糖胶凝过程中乙酰基含量的变化, 对铁皮石斛多糖胶凝过程中的乙酰基脱除情况做动态监测。由图 4 可知, 两种质量浓度 Na_2CO_3 处理的铁皮石斛多糖的脱乙酰速率均表现为先迅速增加, 然后逐渐趋于平缓。同时, 脱乙酰的程度与碱的添加量有关, Na_2CO_3 的添加量越高, 脱乙酰程度越高, 这一现象与 2.4 节的红外结果相符合。

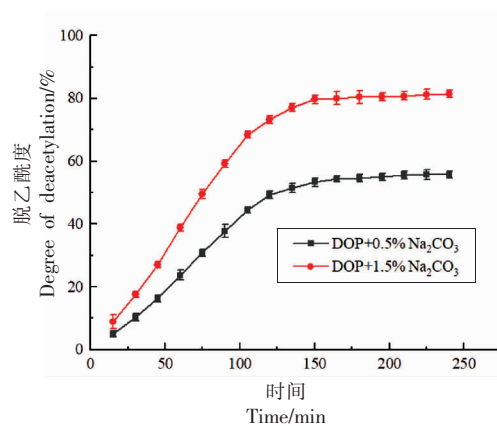


图 4 Na_2CO_3 条件下 DOP 的脱乙酰度动态图

Fig.4 Profile of deacetylation of DOP with addition of Na_2CO_3

含有大量的无定形区域, 少量的结晶区隐藏在无定形区域内, 整体上呈现出一种相对无定形的状态。当碱的添加量为 5 mg/mL 和 15 mg/mL 时, DOP 凝胶样品在 $2\theta = 26.05^\circ$ 和 27.55° 时有明显的衍射峰, 产生了明显的结晶区, 其衍射峰强度与碱

的添加量有关,表现为碱添加量越高,衍射峰越强。

2.7 热稳定性分析

由DSC曲线图(图6)可知,铁皮石斛多糖在40~160℃之间有1个宽的吸热峰,推测是水丢失的吸热峰,该峰的峰值和热焓值可以间接反映出水分子和铁皮石斛多糖分子间相互作用强度。图6显示随着碱量的增多,峰值温度升高,具体表现

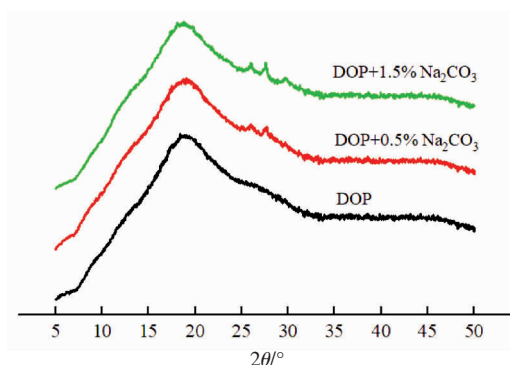


图5 不同 Na_2CO_3 添加量条件下的铁皮石斛多糖XRD图谱

Fig.5 XRD patterns of DOP with addition of Na_2CO_3 at different levels

2.8 凝胶机理

综合上述研究结果,推测铁皮石斛多糖的凝胶机理(图7):(1)铁皮石斛多糖乙酰基水解是铁皮石斛多糖发生胶凝现象的决定性因素,这一点已经由红外图谱和动态监测乙酰基的数据所证实。(2)温度、电解质对凝胶性能的影响结果表明,

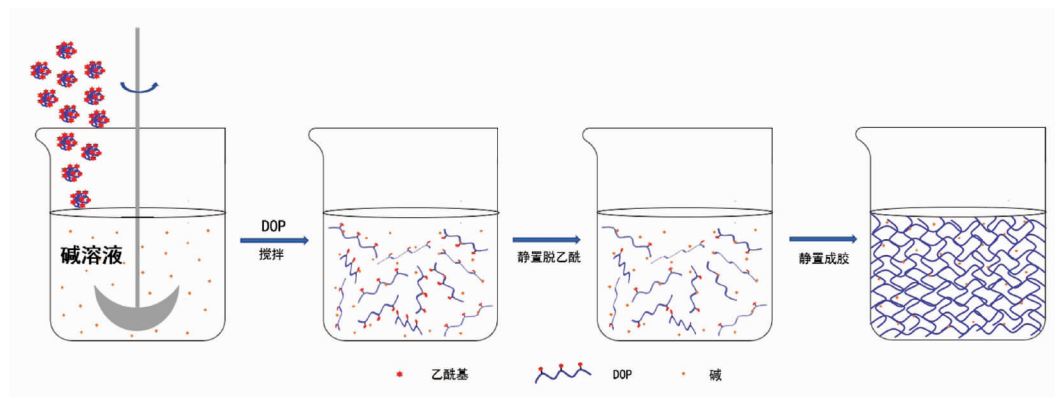


图7 铁皮石斛多糖的凝胶机理

Fig.7 The proposed gelling mechanism of DOP gels

为,当添加的碱量从0 mg/mL增加到15 mg/mL时,水的吸收峰值从111.37℃增加到125.25℃。经碱处理的吸热峰的热焓值从198.4 J/g增加到270.1 J/g,这可能是因为随着碱的添加量增大,铁皮石斛多糖分子的脱乙酰程度增加,多糖分子间的相互作用强度增大,导致自由水流失,此时多糖与水分子之间主要以结合水形式存在,较难失去,因此水分吸热峰值温度提高,热焓值增大。

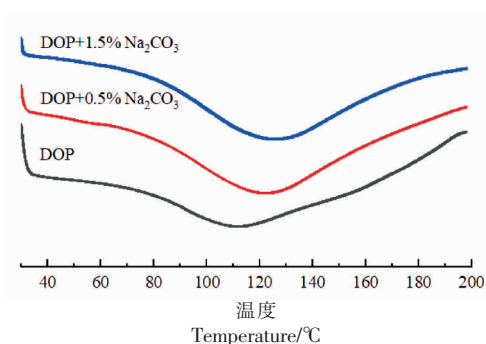


图6 不同 Na_2CO_3 添加量条件下的铁皮石斛多糖DSC图谱

Fig.6 DSC curves of DOP with addition of Na_2CO_3 at different levels

氢键作用力可能是铁皮石斛多糖形成凝胶网络的主要作用力之一,还有其它作用力。综合来说,乙酰基的水解可能是铁皮石斛多糖胶凝的引发阶段,乙酰基水解后,多糖分子链之间的空间位阻消失,有利于富含羟基的铁皮石斛多糖分子间的相互作用,最终形成铁皮石斛多糖凝胶。

3 结论

本文研究了影响DOP凝胶特性的因素,结果

表明,多糖的质量浓度越高,凝胶特性和持水性越好;在40~100℃之间,随着温度的升高,凝胶特性

和持水性逐渐降低;随着溶液中碱质量浓度的升高,凝胶的强度先持续增加后降低,而凝胶的持水性逐渐降低;在同等碱添加量条件下,形成的凝胶强度大小顺序为 $\text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{K}_2\text{CO}_3 > \text{NaOH} > \text{KOH}$;钠离子可以提高凝胶的强度和持水性,而尿素会降低凝胶的强度和持水性。DOP 在胶凝的过程中会发生乙酰基水解,脱乙酰的程度与碱浓度有关,铁皮石斛多糖脱乙酰后,分子链之间相互作用加强,最终形成稳定的网络结构。在强碱条件下,凝胶形成的速度较快,这一性质使得铁皮石斛多糖作为胶凝剂,在食品工业应用中,有利于满足产品对胶凝时间的要求。

参 考 文 献

- [1] DU Y Q, LIU Y, WANG J H. Polysaccharides from *Umbilicaria esculenta* cultivated in Huangshan Mountain and immunomodulatory activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72: 1272-1276.
- [2] GAO J, ZHANG T, JIN Z Y, et al. Structural characterisation, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb [J]. Food Chemistry, 2015, 169: 430-438.
- [3] XIE J H, JIN M L, MORRIS G A, et al. Advances on bioactive polysaccharides from medicinal plants[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2015, 56: S60-S84.
- [4] WANG L, ZHANG B, XIAO J, et al. Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit[J]. Food Chemistry, 2018, 249: 127-135.
- [5] 杨虹, 王顺春, 王峥涛, 等. 铁皮石斛多糖的研究[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(4): 254-256.
YANG H, WANG S C, WANG Z T, et al. Structural analysis of polysaccharides from *Dendrobium candidum*[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2004, 39(4): 254-256.
- [6] XIE S Z, LIU B, ZHANG D D, et al. Intestinal immunomodulating activity and structural characterization of a new polysaccharide from stems of *Dendrobium officinale* [J]. Food & Function, 2016, 7(6): 2789-2799.
- [7] ZHANG G, NIE S, HUANG X, et al. Study on *Dendrobium officinale* O-acetyl-glucomannan (dendronan): Part VII. Improving effects on colonic health of mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 64(12): 2485-2491.
- [8] HUA Y F, ZHANG M, FU C X, et al. Structural characterization of a 2-O-acetylglucomannan from *Dendrobium officinale* stem[J]. Carbohydrate Research, 2004, 339(13): 2219-2224.
- [9] GAO S, NISHINARI K. Effect of degree of acetylation on gelation of konjac glucomannan[J]. Biomacromolecules, 2004, 5(1): 175-185.
- [10] FAN H, MENG Q, XIAO T, et al. Partial characterization and antioxidant activities of polysaccharides sequentially extracted from *Dendrobium officinale* [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2018, 12(5): 1-11.
- [11] 王文洁, 唐炜, 俞玲娜, 等. 蒽酮-硫酸法与苯酚-硫酸法测定凉粉草多糖的比较[J]. 食品科技, 2017(9): 274-279.
WANG W J, TANG W, YU L N, et al. Comparison of anthrone-sulfuric acid methods for determination of polysaccharide in *Mesona blume* [J]. Food Science and Technology, 2017(9): 274-279.
- [12] XIE J H, WANG Z J, SHEN M Y, et al. Sulfated modification, characterization and antioxidant activities of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 53: 7-15.
- [13] ZHANG D, LI S, XIONG Q, et al. Extraction, characterization and biological activities of polysaccharides from *Amomum villosum* [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 95(1): 114-122.
- [14] ZHANG T, XUE Y, LI Z, et al. Effects of deacetylation of konjac glucomannan on Alaska Pollock surimi gels subjected to high-temperature (120 °C) treatment [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 125-131.
- [15] ZHANG S, HSIEH F H, VARDHANABHUTI B. Acid-induced gelation properties of heated whey protein-pectin soluble complex (Part I): Effect of initial pH[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 36: 76-84.
- [16] HE L, YAN X, LIANG J, et al. Comparison of different extraction methods for polysaccharides from *Dendrobium officinale* stem [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 198: 101-108.
- [17] HUANG L, TAKAHASHI R, KOBAYASHI S, et al.

- Gelation behavior of native and acetylated konjac glucomannan[J]. *Biomacromolecules*, 2002, 3(6): 1296–1303.
- [18] NISHINARI K, TAKAHASHI R. Interaction in polysaccharide solutions and gels[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2003, 8(4/5): 396–400.
- [19] NISHINARI K, ZHANG H. Recent advances in the understanding of heat set gelling polysaccharides[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2004, 15(6): 305–312.
- [20] 童微, 余强, 李虎, 等. 铁皮石斛多糖化学修饰及其对免疫活性的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(7): 155–160.
- TONG W, YU Q, LI H, et al. Chemical modification and immunoregulatory activity of polysaccharides from *dendrobium officinale*[J]. *Food Science*, 2017, 38(7): 155–160.
- [21] 宋倩, 王敏, 邓利玲, 等. 魔芋不可逆凝胶的流变学性质[J]. *食品科学*, 2015, 36(11): 86–90.
- SONG Q, WANG M, DENG L L, et al. Rheological properties of irreversible konjac gel[J]. *Food Science*, 2015, 36(11): 86–90.
- [22] YUAN Y, WAN Z L, YANG X Q, et al. Associative interactions between chitosan and soy protein fractions: Effects of pH, mixing ratio, heat treatment and ionic strength[J]. *Food Research International*, 2014, 55: 207–214.
- [23] LAKEMOND C, JONGH H, PAQUES M, et al. Gelation of soy glycinin; influence of pH and ionic strength on network structure in relation to protein conformation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2003, 17(3): 365–377.
- [24] GANZEVLES R A, STUART M, VLIET T V, et al. Use of polysaccharides to control protein adsorption to the air–water interface[J]. *Food Hydrocolloids*, 2006, 20(6): 872–878.
- [25] LE X T, RIOUX L E, TURGEON S L. Formation and functional properties of protein–polysaccharide electrostatic hydrogels in comparison to protein or polysaccharide hydrogels[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2017, 239: 127–135.
- [26] PAN T, GUO H, LI Y, et al. The effects of calcium chloride on the gel properties of porcine myosin– κ -carrageenan mixtures[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 467–477.
- [27] SUN C, CHEN S, DAI L, et al. Structural characterization and formation mechanism of zein–propylene glycol alginate binary complex induced by calcium ions[J]. *Food Research International*, 2017, 100(2): 57–68.
- [28] GAO S, NISHINARI K. Effect of degree of acetylation on gelation of konjac glucomannan[J]. *Biomacromolecules*, 2004, 5(1): 175–185.
- [29] HENTATI F, PIERRE G, URSU A V, et al. Rheological investigations of water–soluble polysaccharides from the Tunisian brown seaweed *Cystoseira compressa*[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 103: 105631.
- [30] ZHANG D, LI S, XIONG Q, et al. Extraction, characterization and biological activities of polysaccharides from *Amomum villosum*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 95(1): 114–122.
- [31] WANG B. Chemical characterization and ameliorating effect of polysaccharide from Chinese jujube on intestine oxidative injury by ischemia and reperfusion[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 48(3): 386–391.
- [32] 高云霄, 胡小龙, 王月荣, 等. 铁皮石斛多糖的初级结构分析[J]. *高等学校化学学报*, 2018, 39(5): 934–940.
- GAO Y X, HU X L, WANG Y R, et al. Primary structural analysis of *dendrobium officinale* polysaccharides[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2018, 39(5): 934–940.

Characterization of the Gel Properties of *Dendrobium officinale* Polysaccharides

Hou Furong, Jing Yulin, Wu Ying, Chen Siyi, Liu Qing, Tang Wen*

(School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418)

Abstract In order to explore the effects of different factors on the characteristics of *Dendrobium officinale* polysaccharide gel, the effects of polysaccharide concentration, gelation temperature, alkali and ion on the characteristics, water reten-

tion, acetyl group content of *Dendrobium officinale* polysaccharide gel were studied. The properties of polysaccharide were characterized by differential scanning calorimetry (DSC), Fourier infrared spectroscopy (FTIR) and diffractometer (XRD). The results showed that when the mass concentration of polysaccharide increased from 5 mg/mL to 25 mg/mL, its gel strength increased from 70.87 g to 206.39 g, and its water holding capacity increased from 78.52% to 94.25%. When the temperature reached 40 °C, the maximum strength of gel was 129.29 g, and the corresponding water holding capacity was 90.58%. With the increase of the mass concentration of different alkalis (NaOH, Na₂CO₃, KOH, K₂CO₃), the strength of gel continuously increased at first and then decreased, and the water holding capacity of gel gradually decreased. Under the condition of the same amount of alkali addition, the strength of gel formed was in the order of Na₂CO₃>K₂CO₃>NaOH>KOH. In terms of electrolyte, sodium ion could improve the strength and water retention of gel, while urea could significantly reduce the strength and water retention of gel. FTIR spectra showed that the absorption peak intensity of acetyl group decreased with the increase of Na₂CO₃ addition. The degree of deacetylation of polysaccharides was related to their alkali content. The XRD results indicated that the diffraction peak intensity was related to the amount of alkali added, and the higher the amount of alkali added, the stronger the diffraction peak. The DSC results indicated that as the amount of alkali increases, the peak temperature of the water absorption peak increases, and the enthalpy value of the peak increases. The mechanism of gel formation may be related to the hydrolysis of acetyl group promoting the interaction between polysaccharide molecules.

Keywords *Dendrobium officinale* polysaccharide; gel; mechanism of gel