

## 皂角米多糖的提取、改性及其寡糖的抗氧化活性分析

刘学<sup>1</sup>, 卢海强<sup>1</sup>, 李保会<sup>2</sup>, 王玉印<sup>1</sup>, 田洪涛<sup>1</sup>, 谷新晰<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>河北农业大学食品科技学院 河北保定 071000

<sup>2</sup>河北农业大学林学院 河北保定 071000

**摘要** 皂角米多糖是一种新型功能多糖,在食品工业中应用潜力巨大。采用水提醇沉法提取皂角米多糖,探讨非均相湿热改性技术对皂角米多糖的理化性质、寡糖制备效率和抗氧化活性的影响。结果表明:从皂角米中获得多糖,提取率为 17.4%。经非均相湿热技术改性后,皂角米多糖溶液(10 g/L)表观黏度显著降低,由 834 mPa·s 降至 97 mPa·s;热稳定性显著提高,且多糖微观形貌变得更光滑、平整,粒径显著变小,比表面积增大为 0.245 m<sup>2</sup>/g。改性后多糖的水解率(40 g/L)提高了 17.4%,且低分子质量(<5 ku)的寡糖产物含量显著增加,总抗氧化活性明显增强。结论:非均相湿热技术可用于皂角米多糖的寡糖的制备,研究结果可为皂角米的开发应用提供一定的理论参考。

**关键词** 皂角米多糖; 非均相湿热改性; 嗜热甘露聚糖酶; 寡糖; 黏度

文章编号 1009-7848(2023)05-0069-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.05.008

皂荚(*Gleditsia sinensis* Lam.)为豆科苏木亚科的多年生木本植物,是我国特有、分布最广泛的树种之一,每年仅太行山地区就约有 5 万 t 皂荚可供开发利用<sup>[1-2]</sup>。皂荚树对生长环境的要求较低,在缺水的丘陵、盐碱地、山区等地区均可成活,有防风、固沙、保持水土、改善生态环境的作用,是农田防护林、水土保持林、工业原料林和城乡景观林等的理想生态树种<sup>[1,3]</sup>。综合开发皂荚资源,具有重要的现实意义。

皂荚胚乳被称为皂角米、雪莲子或白籽仁。Sun 等<sup>[4-5]</sup>研究发现皂角米的碳水化合物含量为 98.7%(干质量),鉴定其为半乳甘露聚糖,甘露糖与半乳糖比为 2.54~2.66。此外,皂角米具有补肾润肺、提神补气、祛痰开窍、养心通脉、清肝明目等功能<sup>[6]</sup>,作为保健食品食用已有百年历史。目前,有研究报道,在结构和功能上,皂角米多糖与瓜尔豆胶和刺槐豆胶相似,其可作增稠剂、稳定剂和絮凝剂,且可有效降低淀粉消化率和葡萄糖扩散速率,抑制餐后血糖的增加<sup>[7]</sup>,是一种新型半乳甘露聚糖资源,在食品工业中有巨大的应用潜力。然而,皂角米多糖的高分子质量、高黏度、低溶解度等特性

影响其生物活性,限制其在食品相关产业的应用。研究发现,多糖经改性处理后,理化性质往往会发生一定的改变,生物活性提高。如 Apostolidis 等<sup>[8]</sup>通过高压均质设备对淀粉进行改性,处理后淀粉平均粒径由 7.5 μm 降至 0.5 μm,且随着均质压力的提高,淀粉颗粒比表面积增大,溶解度提高。Li 等<sup>[9]</sup>采用三氧化硫-吡啶法(硫酸化修饰)对绿茵多糖进行处理,发现处理后的多糖具有较好的抗氧化、抗凝、抗菌和抗肿瘤活性。徐伟琴等<sup>[10]</sup>发现超声波处理后的果胶粒度呈梯度降低,果胶的乳化特性提高。然而,上述方法在实际生产中均有一定的局限性。2020 年,Chen 等<sup>[11]</sup>使用立式高压釜对魔芋葡甘聚糖进行非均相湿热处理,获得了部分降解的魔芋葡甘聚糖,其中处理时间为 60 min 时,其分子质量降低约三分之二,且其水溶胶的表观黏度值显著下降。此方法设备要求低,易操作,环境友好,为多糖的改性研究提供了有利策略。目前,采用非均相湿热工艺改性皂角米多糖鲜有研究报道。

有研究证实甘露寡糖对人类肠道有益微生物(主要是双歧杆菌和乳杆菌)具有益生元活性,还可以减少膳食脂肪吸收和抑制血压升高<sup>[7,12]</sup>。目前酶解法因特异性强、条件温和、无污染等优点,而成为制备寡糖的首选方法,该技术核心是酶。 $\beta$ -甘露聚糖酶(EC 3.2.1.78)是一类能水解甘露聚糖、半乳甘露聚糖、葡萄甘露聚糖以及半乳葡萄甘露

收稿日期: 2022-05-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(31901631);河北省重点研发计划项目(19226808D)

第一作者: 刘学,女,硕士

通信作者: 谷新晰 E-mail: helloguxinxi@163.com

聚糖中 $\beta$ -1,4-*D*-吡喃甘露糖苷键的内切酶<sup>[13]</sup>,其中嗜热甘露聚糖酶因具有较高的反应温度,可以提高反应的催化效率和水解速率,同时也可以减少反应过程中的微生物污染,因此较低温和常温酶应用范围更加广泛<sup>[14-15]</sup>。据报道,皂角米多糖溶液的黏度具有随温度升高而降低的特性<sup>[16]</sup>。采用嗜热甘露聚糖酶降解是进一步提高皂角米寡糖制备效率的重要策略。

本研究以皂角米为原料,通过水提醇沉法提取皂角米多糖,采用非均相湿热工艺改性多糖,分析其理化性质的改变,为进一步研究皂角米多糖性质与结构的关系提供理论依据。采用嗜热甘露聚糖酶 ManBK 协同制备皂角米寡糖<sup>[17]</sup>,分析其抗氧化活性,为高效开发利用皂荚资源提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

皂角米购买于东兴市万里香贸易有限公司;嗜热甘露聚糖酶 ManBK 由本课题组制备保存;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、2,2-联氮-2-(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS)、甘露糖,北京索莱宝科技有限公司;其它试剂为国产分析纯级。

### 1.2 仪器与设备

数显恒温水浴锅 HH-2,金坛市杰瑞尔仪器厂;TU-1810 紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;手提式湿热灭菌锅,上海东亚压力容器公司;NDJ-5S 数字式粘度计,上海佑科仪器仪表有限公司;Quanta 600 FEG 扫描电子显微镜 (SEM),荷兰 FEI 公司;Mastersizer 3000E 激光粒度仪,马尔文帕纳科;TGA-DSC 3+同步热分析仪,梅特勒-托利多集团;超滤管(3,5 ku),北京索莱宝科技有限公司。

### 1.3 方法

1.3.1 皂角米多糖的提取 参考胡祥等<sup>[18]</sup>的方法,略有改动。对购买的皂角米进行粉碎处理,取 1 g 粉末加入 50 mL 蒸馏水,于 85 °C 水浴浸提 3 h,5 000 r/min 离心 10 min。在上清液中加入 80% 乙醇,于 4 °C 冰箱冷藏 4 h 后离心,对沉淀进行真空冷冻干燥处理,冻干粉于 -20 °C 保存。

### 1.3.2 皂角米多糖提取率的测定

1.3.2.1 葡萄糖标准曲线的绘制 准确吸取 0.1 mg/mL 标准葡萄糖溶液 0.0,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7 mL 于试管中,之后补加蒸馏水至 1.0 mL,摇匀后在冰水浴中加入 1.0 mL 5% 苯酚和 5 mL 浓硫酸,混匀静置 5 min,于沸水浴中加热 10 min,冷却后,用紫外分光光度计在波长 490 nm 处测定吸光度值。以蒸馏水作空白,葡萄糖质量浓度和吸光度值为横纵坐标绘制标准曲线<sup>[19]</sup>。

1.3.2.2 皂角米多糖含量的测定 取冻干粉配制成 2.5 g/L 的多糖溶液,按 1.3.2.1 节方法测定皂角米多糖含量。根据标准曲线的回归方程,计算皂角米多糖的提取率<sup>[20]</sup>。

皂角米多糖的提取率(%)=

$$\frac{\text{皂角米多糖含量(g/L)}}{\text{冻干粉多糖溶液含量(g/L)}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.3 皂角米多糖的非均相湿热改性 称取适量的皂角米多糖冻干粉密封于锥形瓶中,在手提式湿热灭菌锅中(115 °C,0.1 MPa)进行非均相湿热改性处理,处理时间为 0.25,0.5,1,1.5 h 和 2 h。

1.3.4 改性处理前、后皂角米多糖的性质表征

1.3.4.1 黏度测定 使用 NDJ-5S 数字式粘度计,测定不同改性时间(0~2 h)下皂角米多糖(10 g/L)的溶液黏度。

1.3.4.2 形态观察 通过肉眼直观观察不同处理时间的多糖粉末的颜色和形态。采用 SEM 观察改性前和改性 2 h 的多糖粉末的微观形态。

1.3.4.3 粒度测定 用无水乙醇作分散剂,采用马尔文激光粒度仪检测改性前和改性 2 h 的多糖粉末粒径大小及分布情况。

1.3.4.4 热分析 采用热重分析(TG)和差示扫描量热法(DSC)对多糖粉末进行热分析。在空气气氛下,多糖以 10 °C/min 的加热速率从室温加热到 800 °C。

### 1.3.5 酶解制备皂角米寡糖

1.3.5.1 酶解工艺及效率分析 以改性前和改性 2 h 的多糖为底物,采用嗜热甘露聚糖酶 ManBK 酶解制备皂角米寡糖,经前期测定,该酶的最适温度和 pH 值为 80 °C 和 5.0,酶活单位 5.8 U/mL。皂角米多糖用 pH 5 的磷酸盐缓冲液溶解,酶解条件为:底物质量浓度 20~100 g/L, $V_{\text{酶}}:V_{\text{底物}}=1:2$ ,于

80 ℃水解 3 h。反应结束后,煮沸 10 min 灭活酶,离心取上清(10 000 r/min, 5 min),获得皂角米寡糖溶液。以甘露糖含量绘制标准曲线,采用 3,5-二硝基水杨酸法测定上清液的糖含量,计算水解率。

1.3.5.2 不同分子质量的酶解样品制备 配制 10 mL(20 g/L)的皂角米多糖溶液,按照 1.3.5.1 节的方法制备酶解产物。并参照董振香等<sup>[21]</sup>的研究,使用 3 ku 和 5 ku 的超滤管对多糖酶解液进行分离,分别收集处理前、后分子质量小于 3 ku, 3~5 ku 和大于 5 ku 的酶解样品,之后测定各组分的体积分数和多糖含量。

1.3.5.3 酶解样品的抗氧化活性测定 参考 Wang 等<sup>[22]</sup>的研究测定 DPPH 自由基清除率,取待测多糖溶液与 DPPH-乙醇溶液(0.1 mmol/L)各 2 mL,充分混匀,25 ℃避光反应 30 min 后,测定 OD<sub>517nm</sub> 值。空白对照组:无水乙醇代替多糖溶液。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100 \quad (2)$$

式中, $A_0$ ——无水乙醇与 DPPH 溶液 OD<sub>517nm</sub> 值; $A_1$ ——多糖溶液与 DPPH 溶液 OD<sub>517nm</sub> 值; $A_2$ ——多糖溶液与无水乙醇 OD<sub>517nm</sub> 值。

参考 Olszowy-Tomczyk 等<sup>[23]</sup>的方法,将 7.4 mmol/L 的 ABTS 与 2.6 mmol/L 的过硫酸钾溶液按体积比 1:1 混合,室温避光放置 12 h 后得到 ABTS 工作液。使用前用 pH 7 的磷酸盐缓冲溶液稀释 ABTS 工作液,使其在波长 734 nm 处的吸光值为 0.70±0.02。将待测多糖溶液与 ABTS 工作液按照 1:10 的体积比混合,之后室温避光反应 6 min,测定 OD<sub>734nm</sub> 值。空白对照组:磷酸盐缓冲液代替待测多糖溶液。

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100 \quad (3)$$

式中, $A_0$ ——空白对照组 OD<sub>734nm</sub> 值; $A_1$ ——多糖溶液 OD<sub>734nm</sub> 值。

1.3.6 数据处理 重复进行 3 次试验,使用 GraphPad Prism 8.0.1 和 Excel 2010 对数据进行处理分析,以平均值和标准偏差值对结果进行评估。

## 2 结果与分析

### 2.1 皂角米多糖的提取

皂角米经水浴浸提后,于上清液中加入乙醇,离心收集白色絮状物的多糖。以葡萄糖溶液为母液,采用苯酚硫酸法测定皂角米多糖含量,葡萄糖标准曲线的回归方程为  $y=4.176x+0.0065$ ,  $R^2=0.9912$ 。经测定,2.5 g/L 的皂角米多糖冻干粉溶液中多糖的平均含量为(0.44±0.02)g/L,计算提取率为(17.4±0.90)%。

### 2.2 皂角米多糖的非均相湿热改性

2.2.1 黏度测定 通常多糖具有高黏度特性,严重限制了多糖酶法工艺的应用。经粘度仪测定,随着改性处理时间的延长,多糖溶液(10 g/L)黏度呈下降趋势,黏度值依次为 834,484,449,309,172,97 mPa·s,表明非均相湿热改性工艺可显著降低多糖溶液黏度,其中改性 2 h 的溶液黏度值最低,经计算其黏度降低了 88.4%,因此选定改性 2 h 的皂角米多糖进行后续研究。

2.2.2 形态表征 高温条件下,由于非均相湿热处理时间的延长,多糖粉末的美拉德反应程度增加,粉末颜色由白色逐渐加深变为浅棕色<sup>[24]</sup>。

通过 SEM 观察多糖粉末的表面形态变化发现(图 1),改性前多糖粉末表面粗糙,为带棱角的块状,有明显沟壑,改性后粉末表面较光滑、平整。非均相湿热改性处理后多糖粉末的形状和表面形貌发生了显著变化。

2.2.3 粒度测定 如图 2 所示,改性处理前、后多糖粉末的粒径分布曲线在一定粒径范围内均较接近正态分布,说明粒度分布较均匀,然而改性后多糖的粒径范围变窄,从 15.9~1 588.7 μm 变化到 0.6~1 261.9 μm;结合表 1 可知,多糖的  $D[4,3]$  与  $D[3,2]$  的差值由 170.9 μm 变为 164.5 μm,进一步表明改性后多糖粒径分布变窄。 $D_v(10)$ 、 $D_v(50)$ 、 $D_v(90)$  值表明有 10%、50% 和 90% 的粉末粒径小于此值,由表 1 可知,处理后多糖的  $D_v(10)$ 、 $D_v(50)$ 、 $D_v(90)$  值均降低,说明改性后多糖的粉末粒径明显变小,且比表面积值也由 0.021 m<sup>2</sup>/g 增加为 0.245 m<sup>2</sup>/g。

2.2.4 TG-DSC 分析 以 TG 和 DSC 来评估多糖的热行为。由图 3 可知,多糖的 TG 曲线分为 3 个

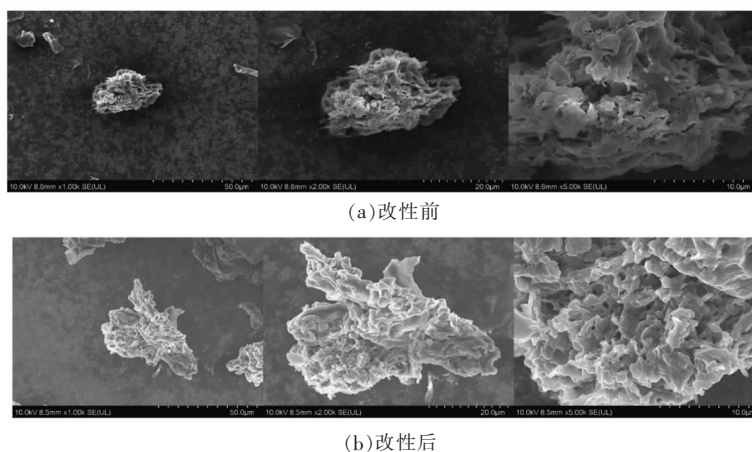


图1 多糖改性前、后的SEM分析

Fig.1 SEM analysis of polysaccharides before and after modification

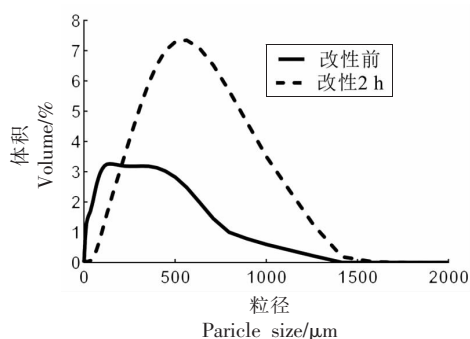


图2 改性前、后多糖的粒径分布曲线

Fig.2 The particle size distribution curve of polysaccharides before and after modification

表1 改性前、后多糖的粒度分布特征参数  
Table 1 The characteristic parameters of particle size distribution of polysaccharides before and after modification

特征参数	改性前	改性 2 h
$D[3,2]/\mu\text{m}$	289.380	24.505
$D[4,3]/\mu\text{m}$	460.318	189.028
$Dv(10)/\mu\text{m}$	149.681	11.038
$Dv(50)/\mu\text{m}$	419.284	112.829
$Dv(90)/\mu\text{m}$	833.695	480.911
比表面积/ $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	0.021	0.245

阶段:第1阶段,由于游离水和结合水的蒸发,改性前、后多糖粉末的质量在低温下( $<100\text{ }^\circ\text{C}$ )分别降低了7.8%和5.4%,改性前的5%失重温度( $68.8\text{ }^\circ\text{C}$ )低于改性后( $87.5\text{ }^\circ\text{C}$ );多糖样品在第2阶段

( $250\sim 500\text{ }^\circ\text{C}$ )发生热分解,出现最大的重量损失,改性前的热失重(85.2%)大于改性后(81.8%);第3阶段( $500\sim 800\text{ }^\circ\text{C}$ ),由于炭的热分解,改性前、后多糖样品的质量损失均缓慢下降;这些数据表明

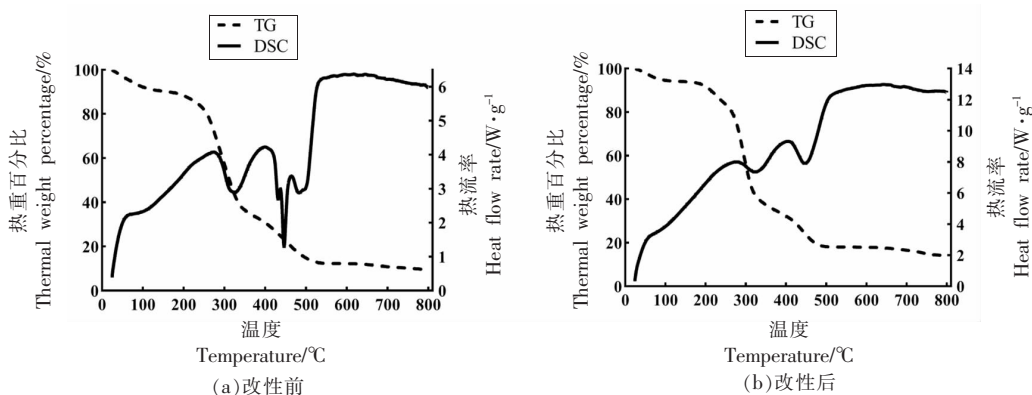


图3 多糖改性前、后的TG-DSC曲线图

Fig.3 TG-DSC curve before and after polysaccharide modification

改性后多糖样品的热稳定性优于改性前。结合 DSC 曲线,进一步分析改性前、后多糖粉末的热转变。观察图 4 可知,在第 2 阶段(250~500 °C),改性前多糖在 325.1 °C 和 446.3 °C 出现较明显的放热峰峰值,改性后多糖在 329.3 °C 和 453.7 °C 出现放热峰峰值,且改性后的 DSC 曲线比改性前平缓<sup>[25]</sup>。TG-DSC 结果表明,改性后多糖粉末的热稳定性提高。这是食品工业应用的一个重要特性,因为具有良好热稳定性的材料有助于在灭菌和烘烤等热处理操作过程中保持食品的营养质量<sup>[26]</sup>。然而,目前对于多糖的热分解机制仍不清楚,需进一步深入研究。

### 2.3 酶解制备皂角米寡糖

**2.3.1 皂角米多糖的酶解效率分析** 通过嗜热甘露聚糖酶 ManBK 酶解制备寡糖,于 80 °C、pH 5 的条件下水解 3 h 后,以水解率为指标,对比分析改性前、后皂角米多糖的酶解效率(图 4)。结果表明,当酶添加量一定时,随着多糖溶液质量浓度的增加,水解率不断下降,这一变化趋势与计艳艳<sup>[27]</sup>的研究结果相似。当多糖质量浓度达到 80 g/L 和 100 g/L 时,由于多糖颗粒无法充分溶胀,使得多糖溶液的黏度大大增加,与酶分子之间的结合达到最大限度,水解率下降不明显。多糖质量浓度为 20,40,60 g/L 时,改性后的皂角米多糖水解率比改性前分别提升了 12.1%,17.4%和 15.0%,这充分说明非均相湿热改性处理有利于甘露聚糖酶水解多糖,提高酶解效率,而这很可能是因为改性后多糖溶液黏度降低,增加了酶与聚糖分子的扩散速率,增大了二者之间结合几率,从而使得酶解效率得以提高。

### 2.3.2 不同分子质量酶解产物的抗氧化活性分析

表 2 皂角米多糖改性前、后酶解产物的抗氧化活性分析

Table 2 Analysis of antioxidant activity of oligosaccharides products of before and after *Gleditsia sinensis* Lam.

多糖样品	相对分子质量/ku	polysaccharide modification			
		酶解产物的糖含量/g·L <sup>-1</sup>	DPPH 自由基清除率/%	ABTS 自由基清除率/%	不同分子质量的酶解产物占总产物重/%
对照组	<3	4.4 ± 0.073	88.6 ± 1.600	98.6 ± 0.140	40.3 ± 4.600
	3~5	4.0 ± 0.052	87.8 ± 0.720	97.4 ± 0.220	43.3 ± 1.500
	>5	3.6 ± 0.074	74.4 ± 0.810	85.8 ± 0.510	16.3 ± 3.200
试验组	<3	4.8 ± 0.075	90.1 ± 1.400	98.2 ± 0.120	44.3 ± 3.000
	3~5	5.1 ± 0.081	92.5 ± 0.330	98.0 ± 0.330	55.7 ± 3.000
	>5	-	-	-	0 ± 1.200

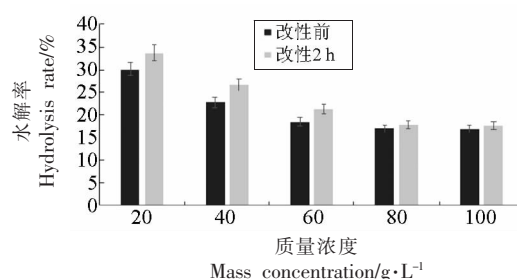


图 4 多糖改性前、后的酶解效率分析

Fig.4 Analysis chart of enzymolysis efficiency before and after polysaccharide modification

采用嗜热甘露聚糖酶酶解 10 mL (20 g/L)皂角米多糖溶液,酶解 3 h 后,使用 3 ku 和 5 ku 的超滤管分别收集改性前后分子质量小于 3 ku,3~5 ku 和大于 5 ku 的皂角米寡糖产物。由表 2 可知,改性后低分子质量的酶解产物含量大幅度增加,并未有 5 ku 以上产物出现,这进一步说明皂角米多糖性质在非均相湿热条件下发生巨大改变,并有利于酶解法制备皂角米寡糖。

通过 DPPH 自由基清除率和 ABTS 自由基清除率的测定发现,不同分子质量的皂角米寡糖表现出不同的抗氧化活性,且分子质量越小其抗氧化活性越高,如对照组中分子质量<3 ku 的酶解产物 DPPH 清除率为 88.6%,而分子质量>5 ku 的酶解产物 DPPH 清除率仅为 74.4%,这在一定程度上说明皂角米寡糖产品的开发是提高皂角米价值的有效途径之一。除此之外,改性后的皂角米寡糖的抗氧化活性都有不同程度的提高,其中 DPPH 自由基清除率更为明显。综上,非均相湿热技术有利于皂角米多糖的水解,有利于提高其生物活性。

### 3 讨论

近年来,由于我国重视和加强生态建设,皂荚这种根系发达且耐旱节水的生态型树种受到关注,种植面积逐年增加<sup>[28]</sup>,因此皂荚资源的高效开发利用意义重大。皂角米作为皂荚的胚乳,其多糖的主要成分为半乳甘露聚糖,相对分子质量 1 913 ku,具有良好的凝胶性、增稠性、成膜性等多种特性<sup>[4]</sup>,且在保健品领域应用前景巨大,然而由于皂荚具有高分子质量和高黏度特性,其生物活性的有效发挥受到较大影响。

本文通过非均相湿热工艺改性皂角米多糖,发现改性后多糖的表观黏度值显著降低,类似的现象 Chen 等<sup>[11]</sup>也有报道,他们在对魔芋葡甘聚糖粉末进行非均相湿热处理后发现魔芋溶液的表观黏度值随处理时间的延长而急剧下降,处理 20 min 的溶液黏度值从 40 000 mPa·s 减少到 3 437 mPa·s;此外,一些化学试剂如蔗糖、金属离子、柠檬酸、pH 值等因素也可影响多糖溶液的黏度,如 Akewan<sup>[29]</sup>发现,相比于未添加蔗糖的魔芋溶液,添加 25%蔗糖的溶液黏度值可降低 3 倍左右,添加 50%蔗糖的溶液黏度值降低 30 倍左右;焦宇知等<sup>[30]</sup>分析茶籽粕多糖溶液的流变学特性发现,随剪切速率的增加,加入 Na<sup>+</sup>和 Ca<sup>2+</sup>的茶籽粕多糖的溶液(100 mg/mL)黏度值下降,由 350 mPa·s 降低到 50 mPa·s,上述的试剂是否对皂角米多糖表现出相一致的效果仍需进一步研究。除此之外,改性后的皂角米多糖粒径变小、热稳定性增加,根据 Akewan<sup>[29]</sup>和 Chen 等<sup>[11]</sup>的研究,推测很可能是皂角米多糖在高温条件下多糖发生部分降解,分子质量降低,而具体的数据值仍需进一步研究。SEM 结果发现,皂角米多糖的微观形貌变得光滑,孔隙增多,这可能是由于空气压缩形成了小的高压区域,且高温下糖苷键会断裂<sup>[31]</sup>,因此多糖粉末形态改变。改性后的皂角米多糖在酶解法制备寡糖的研究中发现,改性后的皂角米多糖更利于嗜热甘露聚糖酶 ManBK 的水解,如分子质量<5 ku 的酶解产量由原来的 83.7%提高到了 100%,且抗氧化活性也有了一定提高。大量研究表明<sup>[32-33]</sup>,不同分子质量多糖的结构和功能存在较大差异,其中分子质量被广泛认为是影响抗氧化活性的主要因素,而低分子质量多糖因具有更多的还原性羟基、

更大的表面积和更多的机会与自由基接触,因此比高分子质量多糖的抗氧化活性高。

### 4 结论

本研究成功提取了皂角米多糖,提取率为 17.4%。采用非均相湿热技术对皂角米多糖进行改性研究,测定发现改性 2 h 的多糖溶液(10 g/L)表观黏度值大幅度降低(降低了 88.4%),粉末粒径变小,比表面积增加,热稳定提高,这为进一步研究皂角米多糖的理化性质和生物活性之间的关系奠定了一定的理论储备。通过嗜热甘露聚糖酶 ManBK 酶解多糖溶液,发现改性后 20,40,60 g/L 的多糖溶液的水解率相对提高了 12.1%,17.4%和 15.0%,且改性后小于 3 ku 和 3~5 ku 分子质量的酶解产物含量增加,抗氧化能力增强,表明非均相湿热改性处理有利于制备低分子质量多糖,提高多糖生物活性。本研究结果有利于皂荚资源综合利用效率的提升,有利于我国皂荚资源的持续健康发展。

### 参 考 文 献

- [1] 刘芳. 皂荚多糖的提取分离、结构的初步分析及部分生物活性研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2012.  
LIU F. Studies on the extraction, purification, structure and part of bioactivities of polysaccharides from *Gleditsia sinensis* Lam.[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2012.
- [2] 陈燕青, 张晓露, 李想. 硒化皂荚仁多糖胶的制备及抗氧化性研究[J]. 中国食品添加剂, 2012, 32(4): 118-121.  
CHEN Y Q, ZHANG X L, LI X. Studies on preparation and antioxidant activity of selenide gleditsia polysaccharide gum[J]. China Food Additives, 2012, 32(4): 118-121.
- [3] 顾万春, 李斌, 孙翠玲. 皂荚优良产地和优良种质推荐[J]. 林业实用技术, 2001, 64(4): 10-13.  
GU W C, LI B, SUN C L. Recommendations for good producing area and good germplasm of *Gleditsia sinensis*[J]. Forest Science and Technology, 2001, 64(4): 10-13.
- [4] SUN M Z, LI Y M, WANG T X, et al. Isolation, fine structure and morphology studies of galactoman-

- nan from endosperm of *Gleditsia japonica* var. *delawayi*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 184(6): 127-134.
- [5] SUN M Z, SUN Y W, LI Y M, et al. Physical properties and antidiabetic potential of a novel galactomannan from seeds of *Gleditsia japonica* var. *delawayi*[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 46(7): 546-555.
- [6] 张彤, 罗登琴. 皂角米中六种矿质元素含量的测定[J]. 绵阳师范学院学报, 2021, 40(8): 46-50.
- ZHANG T, LUO D Q. Determination of six mineral elements in *Gleditsia sinensis* rice[J]. Journal of Mi-nyang Teachers' College, 2021, 40(8): 46-50.
- [7] JIAN H L, ZHU L W, ZHANG W M, et al. Enzymatic production and characterization of manno-oligosaccharides from *Gleditsia sinensis* galactoman-nan gum[J]. International Journal of Biological Macro-molecules, 2013, 55(1): 282-288.
- [8] APOSTOLIDIS E, MANDALA I. Modification of res-istant starchnanoparticles using high-pressure ho-mogenization treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 103(3): 1-7.
- [9] LI H, WANG X, XIONG Q, et al. Sulfated modi-fication, characterization, and potential bioactivities of polysaccharide from the fruiting bodies of *Russula virescens*[J]. International Journal of Biological Macro-molecules, 2020, 154(7): 1438-1447.
- [10] 徐伟琴, 莫立丹, 刘生, 等. 鲜石斛果胶提取、结构改造及其物理特性研究[J]. 食品科技, 2020, 45(5): 261-268.
- XU W Q, MO L D, LIU S, et al. Extraction, structural modification and physical properties of fresh dendrobium pectin[J]. Food Science and Tech-nology, 2020, 45(5): 261-268.
- [11] CHEN Z J, WANG S H, SHANG L C, et al. An efficient and simple approach for the controlled preparation of partially degraded konjac glucomannan [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108(6): 1-5.
- [12] ASANO I, HAMAGUCHI K, FUJII S, et al. *In vitro* digestibility and fermentation of manno oligosac-charides from coffee mannan[J]. Food Science and Technology Research, 2003, 9(1): 62-66.
- [13] 陈晓飞, 李珊珊, 刁文涛, 等. 高产 $\beta$ -甘露聚糖酶菌株的分离鉴定及酶学性质研究[J]. 中国酿造, 2021, 40(9): 92-97.
- CHEN X F, LI S S, DIAO W T, et al. Isolation and identification of  $\beta$ -mannanase-producing strain and its enzymatic property[J]. China Brewing, 2021, 40(9): 92-97.
- [14] WANG C, LUO H, NIU C. Biochemical characteri-zation of a thermophilic  $\beta$ -mannanase from *Ta-laromyces leycettanus* JCM12802 with high specific activity [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2015, 99(3): 1217-1228.
- [15] ARISANATAC I, HODITS R, KRISTUFE D. Purifi-cation, and characterization of a  $\beta$ -mannanase of *Trichoderma reesei* C-30[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 1993, 39(1): 58-62.
- [16] 郭常西. 皂荚多糖胶的性质及微水固相法改性研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2020.
- GUO C Y. Study on properties of acacia polysac-charide gum and its micro-water solid phase modifi-cation[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2020.
- [17] 卢海强, 谷新晰, 袁巧敏, 等. 嗜热甘露聚糖酶 *manBK* 基因密码子优化表达及在魔芋聚糖降解中的应用[J]. 食品科学, 2020, 41(18): 113-119.
- LU H Q, GU X X, YUAN Q M, et al. Heterolo-gous expression of codon optimized thermophilic  $\beta$ -mannanase gene (*manBK*) and its application in degradation of konjac mannan [J]. Food Science, 2020, 41(18): 113-119.
- [18] 胡祥, 刘云, 杨晶晶, 等. 滇皂角米成分分析及饮品制作[J]. 食品工业, 2020, 41(10): 57-62.
- HU X, LIU Y, YANG J J, et al. Analysis compo-nent and drink production of perisperms from *Gled-itsia japonica* var. *delawayi*[J]. The Food Industry, 2020, 41(10): 57-62.
- [19] 吴家玲, 龚晓莹, 陈晓嘉, 等. 黑木耳中粗多糖检-测前处理条件的研究[J]. 现代食品, 2021, 27(12): 217-220.
- WU J L, GONG X Y, CHEN X J, et al. Study on the pretreatment conditions for crude polysaccharides in black fungus[J]. Modern Food, 2021, 27(12): 217-220.
- [20] 刘芳, 赵声兰, 李玲, 等. 皂荚多糖提取工艺及其-抗氧化活性的初步研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(8): 255-257, 260.
- LIU F, ZHAO S L, LI L, et al. Study on the ex-traction and anti-oxidant activity of *Gleditsia sinen-sis* Lam. polysaccharide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(8): 255-257, 260.
- [21] 董振香, 顾秋亚, 李丹晨, 等. 不同分子质量魔芋

- 甘露聚糖的制备及功效活性分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(8): 48–53.
- DONG Z X, GU Q Y, LI D C, et al. Preparation and active component analysis of konjac mannans with different molecular weights[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(8): 48–53.
- [22] WANG L, LI L, GAO J, et al. Characterization, antioxidant and immunomodulatory effects of selenized polysaccharides from dandelion roots[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 260(10): 1–10.
- [23] OLSZOWY –TOMCZYK M, TYPEK R. Monitoring the changes of 5–caffeoylquinic acid during its reaction with ABTS cation radicals by LC–MS[J]. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 2020, 43(15/16): 687–692.
- [24] LU X M, LI N Y, QIAO X G, et al. Effects of thermal treatment on polysaccharide degradation during black garlic processing[J]. LWT–Food Science and Technology, 2018, 95(9): 223–229.
- [25] XU Y Q, LIU N Y, FU X T, et al. Structural characteristics, biological, rheological and thermal properties of the polysaccharide and the degraded polysaccharide from raspberry fruits[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132(7): 109–118.
- [26] ZHANG W M, ZENG G L, PAN Y G, et al. Properties of soluble dietary fiber–polysaccharide from papaya peel obtained through alkaline or ultrasound–assisted alkaline extraction[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 172(18): 102–112.
- [27] 计艳艳. 魔芋甘露寡糖的制备与抗氧化性研究及应用[D]. 长春: 吉林大学, 2018.
- JI Y Y. Preparation and application of konjac manno–oligosaccharides and research on its antioxidation [D]. Changchun: Jilin University, 2018.
- [28] 蒋建新, 张卫明, 朱莉伟, 等. 半乳甘露聚糖型植物胶的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(4): 1–5, 10.
- JIANG J X, ZHANG W M, ZHU L W, et al. Development of studies on vegetable gums of galactomannan[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2001, 20(4): 1–5, 10.
- [29] AKESOWAN A. Viscosity and gel formation of a konjac flour from *Amorphophallus oncophyllus*[J]. AU Journal of Technology, 2002, 5: 52–59.
- [30] 焦宇知, 汪艳芝, 朱云, 等. 茶籽粕多糖流变学性质分析[J]. 食品工业科技, 2016, 37(17): 134–137, 141.
- JIAO Y Z, WANG Y Z, ZHU Y, et al. Analysis of rheological properties of polysaccharide from oil–tea–cake[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(17): 134–137, 141.
- [31] YAN S L, PAN C, YANG X Q, et al. Degradation of *Codium cylindricum* polysaccharides by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>–Vc–ultrasonic and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>–Fe<sup>2+</sup>–ultrasonic treatment: Structural characterization and antioxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 182(7): 129–135.
- [32] REN B, CHEN C, LI C, et al. Optimization of microwave–assisted extraction of *Sargassum thunbergii* polysaccharides and its antioxidant and hypoglycemic activities[J]. Carbohydrate polymers, 2017, 173(20): 192–201.
- [33] LIU W, WANG H, PANG X, et al. Characterization and antioxidant activity of two low–molecular–weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 46(6): 451–457.

### Extraction and Modification of *Gleditsia sinensis* Lam. Seed Polysaccharides and the Antioxidant Activity of Oligosaccharides

Liu Xue<sup>1</sup>, Lu Haiqiang<sup>1</sup>, Li Baohui<sup>2</sup>, Wang Yuyin<sup>1</sup>, Tian Hongtao<sup>1</sup>, Gu Xinxi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, Hebei

<sup>2</sup>College of Forestry, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, Hebei

**Abstract** The *Gleditsia sinensis* Lam. seed polysaccharides is a new type of functional polysaccharide with great potential for application in the food industry. In this study, the water extraction and alcohol precipitation method was used to



extract the *Gleditsia sinensis* Lam. seed polysaccharide, and the influence of heterogeneous hydrothermal modification technology on its properties, oligosaccharide preparation efficiency and antioxidant activity was discussed. In this work, polysaccharides was obtained from the seed of *Gleditsia Sinensis* Lam. with an extraction rate of 17.4%. It was found that the apparent viscosity of the polysaccharide solution (10 g/L) decreased significantly after being modified, from 834 mPa·s to 97 mPa·s; the thermal stability was significantly improved, and the microscopic morphology became smoother and flatter, the particle size was significantly smaller, and the specific surface area increased to 0.245 m<sup>2</sup>/g. Moreover, the hydrolysis rate of modified polysaccharides (40 g/L) increased by 17.4%, and the content of low molecular weight (<5 ku) oligosaccharides was significantly increased, and the total antioxidant activity was significantly enhanced. These results indicated that the heterogeneous hydrothermal modification technology was beneficial to the preparation of the *Gleditsia sinensis* Lam. polysaccharides, and could provide a certain theoretical support for the development and application of the *Gleditsia Sinensis* Lam.

**Keywords** *Gleditsia sinensis* Lam. seed polysaccharides; heterogeneous hydrothermal modification; thermophilic mannanase; oligosaccharides; viscosity