

洗丽清, 李珊, 冯彬, 等. 凌云白毫茶多糖超声波提取工艺优化及其抗氧化效果 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 178-184. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080117

XIAN Liqing, LI Shan, FENG Bin, et al. Optimization of Ultrasonic Extraction of Polysaccharides in Lingyun Pekoe and Its Antioxidant Activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(9): 178-184. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080117

· 工艺技术 ·

凌云白毫茶多糖超声波提取工艺优化 及其抗氧化效果

洗丽清^{1,2}, 李珊^{1,3,*}, 冯彬^{1,3}, 梁俭^{1,3}, 刘晓凤^{1,3}

(1. 桂西区域生态环境分析和污染控制重点实验室, 广西百色 533000;

2. 百色学院材料科学与工程学院, 广西百色 533000;

3. 百色学院化学与环境工程学院, 广西百色 533000)

摘要:以凌云白毫为原料, 优化茶多糖提取工艺, 并探讨茶多糖的抗氧化效果。以茶多糖得率为响应值, 在单因素实验的基础上采用 Box-Bohnken 法优化茶多糖超声波辅助热水浸提工艺。考察茶多糖对羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基 (DPPH \cdot) 的清除率及对油脂自氧化反应的抑制情况, 评价其抗氧化效果。实验结果表明, 茶多糖的最佳提取工艺为: 液料比 69:1 mL/g、提取温度 52 °C、超声时间 21 min、超声功率 180 W, 实测茶多糖平均得率为 (4.84%±0.04%), 接近模型预测值 5.06% (<5%)。抗氧化效果测试结果表明, 茶多糖清除 $\cdot\text{OH}$ 、DPPH \cdot 的 IC_{50} 分别为 0.262、0.438 mg/mL, 且其抗氧化能力与浓度成正向关系。同时, 茶多糖可抑制油脂的自氧化反应, 延长油脂在常温常压环境中的保存时间。凌云白毫茶中茶多糖的含量较为丰富, 且具有良好的抗氧化效果, 可为凌云白毫在国内外的深度推广提供数据支撑。

关键词:凌云白毫, 茶多糖, 超声波辅助提取, Box-Bohnken 法, 抗氧化效果

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2022)09-0178-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080117



本文网刊:

Optimization of Ultrasonic Extraction of Polysaccharides in Lingyun Pekoe and Its Antioxidant Activity

XIAN Liqing^{1,2}, LI Shan^{1,3,*}, FENG Bin^{1,3}, LIANG Jian^{1,3}, LIU Xiaofeng^{1,3}

(1. Key Laboratory of Regional Ecological Environment Analysis and Pollution Control of West Guangxi, Baise 533000, China;

2. School of Materials Science and Engineering, Baise University, Baise 533000, China;

3. School of Chemistry and Environment Engineering, Baise University, Baise 533000, China)

Abstract: Lingyun pekoe as starting material, studies were carried out to optimize the extracting technology of polysaccharides, and investigate its antioxidant activity. Extracting yield of polysaccharides as the index, the extraction conditions were optimized by Box-Bohnken method based on the results of single-factor experiments. The antioxidant activities were evaluated by the determination of hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH \cdot), and inhibition effect on auto-oxidation of grease. Experimental results showed that, the optimal extraction conditions were obtained as follows: liquid-material ratio 69:1 mL/g, temperature 52 °C, ultrasonic time 21 min, ultrasonic power 180 W. Under the optimal conditions, an average extraction yield (4.84%±0.04%) was obtained, which was similar with the expected yield 5.06% (<5%) of regressive equation. The IC_{50} of polysaccharides for eliminating $\cdot\text{OH}$, DPPH \cdot were 0.262,

收稿日期: 2021-08-11

基金项目: 广西一流学科建设项目-农业资源与环境; 国家级大学生创新创业训练项目 (202110609005); 广西自然科学基金项目 (2017GXNSFBFA198225); 国家自然科学基金 (21901009); 广西高校重点学科—材料物理与化学 (080501)。

作者简介: 洗丽清 (1995-), 女, 本科, 助理实验师, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: 798402711@qq.com。

* 通信作者: 李珊 (1982-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 天然产物化学, 有机合成化学, E-mail: lishan0914@163.com。

0.438 mg/mL, and a better clearance result would be obtained with higher concentration. Moreover, polysaccharides could prolong the storage time of grease in normal circumstance for inhibiting the auto-oxidation. The studies mentioned above indicated that polysaccharides were plentiful in Lingyun peoke, and had a good antioxidant activity, providing data support for promoting in home and abroad.

Key words: Lingyun pekoe; polysaccharides; ultrasonic-assisted extraction; Box-Bohnken method; antioxidant activity

茶叶中含有丰富的生物活性物质,如黄酮^[1]、多酚^[2]、生物碱^[3]、茶多糖等。其中,茶多糖是一种包含单糖链、蛋白质及矿物质元素等物质的复合物^[4]。医学及生理学试验证实,茶多糖具有广泛的生理活性,如抗氧化、抗过敏、抗肿瘤、降血脂、降血压、抑菌消炎、调节机体免疫力等^[5],尤其在治疗糖尿病方面具有特殊的疗效^[6]。茶多糖已被认定为茶叶中茶多酚之外的另一极具开发价值的天然产物。凌云白毫为百色凌云、乐业地区特产的乔木类大叶茶种,因芽、叶被满白色绒毛而得名,为当地脱贫攻坚的关键经济作物^[7]。受限于当地不发达的地方经济,凌云白毫作为当地的名片产品,其生物活性物质如茶多糖的含量及性质研究尚未系统开展,导致评估凌云白毫的生理功能缺乏具体数据支撑,推广乏力。

热水浸提法是提取多糖类物质的常用方法,可最大程度地保留其物质结构及生物活性的完整性,但也存在耗时长、提取效率低等缺点。为提高提取效率,酶解提取、微波辅助提取、超临界萃取提取、亚临界水萃取提取、超声波辅助提取等提取方法相继被发展出来^[8]。各种提取方法中,酶解提取受限条件多,酶的活性难以完全发挥,微波辅助提取产生的瞬时高温对产物的生物活性有较大影响,超临界萃取提取、亚临界水萃取提取需要使用专门的设备,成本高昂。超声波辅助提取则主要通过超声波的机械效应、空化效应及热效应提高小分子物质在介质中的穿透能力,提高其得率的同时对分子结构的破坏性较小,并且操作简便^[9]。刘小辰等^[10]比较了热水浸提、酸辅助提取、碱辅助提取、酶解提取、高压热水浸提、超声波辅助热水浸提等 6 种方法对香蕉皮粗多糖提取率的影响,结果显示超声波辅助热水浸提法提取物中多糖含量最高。此外,超声波也经常联用其它技术用于植物活性成分的提取以期发挥更加优越的提取性能^[11]。

因此,本文采用超声波辅助热水浸提法提取凌云白毫中的茶多糖,优化提取工艺,并初步探讨多糖类物质的抗氧化效果,填补凌云白毫中茶多糖提取工艺及生物活性研究的空白,并依据所得数据评估茶多糖的含量及其对机体的保健效果,推动凌云白毫在国内的深入推广。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

凌云白毫 有机绿茶,广西浪伏茶业有限公司;玉米油 鲁花玉米胚芽油(物理压榨,单烯脂肪酸+多烯脂肪酸>85%),购于百色市盛辉超市;葡萄

糖、苯酚、30% 过氧化氢、抗坏血酸(V_C)、1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH 自由基) 均为分析纯,上海麦克林生化科技有限公司。

BSA123-CW 电子分析天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;820DP 高功率数控超声波清洗器 深圳市光点超声波设备有限公司;UV-27000 岛津紫外可见分光光度计 岛津企业管理(中国)有限公司;SHA-C 水浴恒温振荡器 常州市亿能实验仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 凌云白毫中茶多糖的提取 市售凌云白毫 50 g, 60 °C 干燥至恒重(前后质量差<0.01 g),粉碎,过筛($d=0.42$ mm),得茶粉原料。称取 1.000 g 茶粉原料,按比例混合纯水,在设定的提取温度、超声时间、超声功率等条件下进行提取,反复 2 次,合并提取液。Sevage 法除蛋白,体系浓缩至 50 mL,过滤。滤液转移至 100 mL 容量瓶中,纯水定容,即为多糖提取液^[12]。

1.2.2 单因素实验 称取 1.000 g 茶粉原料,固定基准提取条件:液料比 60:1 mL/g、提取温度 50 °C、超声时间 20 min、超声功率 150 W^[13]。在上述基准提取条件下开展单因素实验,依次考察液料比(50:1、60:1、70:1、80:1、90:1 mL/g)、提取温度(40、50、60、70、80 °C)、超声时间(10、15、20、25、30 min)及超声功率(100、150、200、250、300 W)等因素对茶多糖提取效果的影响。

1.2.3 Box-Bohnken 法优化茶多糖提取工艺 依据单因素实验所得结果,选取其中的显著因素为自变量,茶多糖得率为响应值,利用响应面法中的 Box-Bohnken 法优化各因素的水平组合^[14-15],因素水平表如表 1 所示。

表 1 响应面试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	因素			
	A 液料比(mL/g)	B 提取温度(°C)	C 超声时间(min)	D 超声功率(W)
-1	50:1	50	15	150
0	60:1	60	20	200
1	70:1	70	25	250

1.2.4 葡萄糖标准品回归方程的建立及茶多糖得率的计算 移取浓度为 0.1000 mg/mL 葡萄糖标准品溶液 0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL 至具塞试管中,加纯水稀释至 2.00 mL。振荡过程中,添加 5.0%

苯酚水溶液 1.00 mL、浓硫酸 5.00 mL(分批加入), 50 ℃ 恒温振荡 10 min, 在 489 nm 处测定体系吸光度 $A^{[16]}$ 。以吸光度 A 对葡萄糖标准品溶液浓度 c 进行线性回归, 得葡萄糖标准品回归方程: $A=17.61c+0.0899$, $R^2=0.9980$ 。按上述方法测定多糖提取液吸光度 A_a , 带入葡萄糖标准品回归方程求得多糖浓度 c_a , 按下式计算茶多糖得率:

$$\text{茶多糖得率(\%)} = \frac{c_a DV}{m} \times 100$$

式中: c_a 为经计算所得茶多糖浓度, mg/mL; D 为茶多糖稀释倍数; V 为茶多糖提取液体积, mL; m 为茶粉原料质量, mg。

1.2.5 茶多糖的纯化及体外抗氧化效果测定

1.2.5.1 茶多糖的纯化 混合多批次茶多糖提取液, 浓缩至 100 mL, 过滤。滤液混合 4 倍量无水乙醇并于 4 ℃ 冷藏 24 h, 可见容器底部有白色丝状沉淀。抽滤, 固体用丙酮-纯水反复冲洗至洗液无色。固体用少量水溶解, DEAE 纤维素-52 柱层析纯化(层析柱 1.5 cm×25 cm; 纯水为洗脱剂, 5 mL/min)。洗脱液浓缩, 快速冷冻, 减压抽干得灰白色固体, 即为茶多糖测试品^[17]。称取一定量测试品茶多糖, 配制浓度分别为 0.2、0.3、0.5、0.8、1.2 mg/mL 茶多糖待测液。

1.2.5.2 茶多糖对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)清除效果的测定

取 5 支洁净试管, 分别加入不同浓度多糖待测液 2.00 mL, 8.000 mmol/L 硫酸亚铁溶液 2.00 mL、1.0% 过氧化氢溶液 2.00 mL。振荡均匀后, 继续加入 7.000 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液 2.00 mL。上述 5 个反应体系 25 ℃ 继续振荡 60 min, 于 510 nm 处测定体系吸光度 A_{x1} ^[18-19], 按下式计算茶多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率:

$$\tau(\%) = \left(1 - \frac{A_{x1} - A_{p1}}{A_{01}}\right) \times 100$$

式中: A_{x1} 为标准测试组测定体系吸光度; A_{p1} 为对照组(以纯水取代过氧化氢溶液)测定体系吸光度; A_{01} 为空白组(以纯水取代多糖待测液)测定体系吸光度。

1.2.5.3 茶多糖对 DPPH·清除效果的测定 取 5 支洁净试管, 分别加入不同浓度多糖待测液 2.00 mL、0.2000 mmol/L DPPH-乙醇溶液 2.00 mL。上述 5 个反应体系置于黑暗环境中 25 ℃ 振荡 30 min, 于 517 nm 处测定体系吸光度 A_{x2} ^[20-21], 按下式计算茶多糖对 DPPH 自由基的清除率:

$$\tau(\%) = \left(1 - \frac{A_{x2} - A_{p2}}{A_{02}}\right) \times 100$$

式中: A_{x2} 为标准测试组测定体系吸光度; A_{p2} 为对照组(以无水乙醇取代 DPPH-乙醇溶液)测定体系吸光度; A_{02} 为空白组(以纯水取代多糖待测液)测定体系吸光度。

1.2.5.4 茶多糖对油脂(玉米油为例)的抗氧化效果

的测定 称取一定质量的纯品茶多糖, 混合至玉米油中, 使茶多糖在测试样品中的质量分数分别为 0、0.02%、0.05%。以 Schall 烘箱法^[22]考察茶多糖对玉米油的抗氧化效果, 每隔 2 d 取样一次并按照国标 GB 5009.227-2016^[23]中的滴定法测定油体样品中的过氧化值(POV)。V_C 作为对照, 根据 POV 值的波动幅度衡量茶多糖对油脂的抗氧化效果。

1.3 数据处理

本文利用 origin 9.0 软件对数据作图处理; 利用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析($P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著)及 IC₅₀ 的计算; 利用 Design-Expert 8.5 软件中的 Box-Bohnken 法优化试验方案并处理数据。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 液料比对茶多糖提取效果的影响 图 1 展示, 当液料比 $<60:1$ mL/g 时, 茶多糖得率随液料比的增加而迅速升高。当液料比 $>60:1$ mL/g 时, 茶多糖得率略微升高后处于平衡状态。提高溶剂用量可增大体系扩散压并促进茶多糖的溶出。当茶多糖完全溶出或浓度达到平衡时, 得率不再发生显著变化 ($P>0.05$), 而过高的溶剂用量将增加体系的杂质含量及提取成本^[24]。所得数据经单因素方差分析得 $P=0.032<0.05$, 差异性显著, 表明考察范围内液料比对茶多糖提取具有显著的影响效果, 并选用液料比 50:1、60:1、70:1 mL/g 进行后续优化试验。

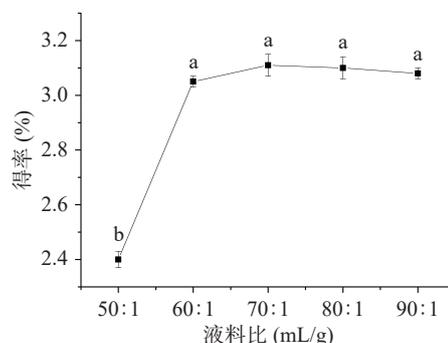


图 1 液料比对茶多糖提取效果的影响

Fig.1 The effect of liquid-material ratio on extraction of tea polysaccharides

注: 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); 图 2~图 4 同。

2.1.2 提取温度对茶多糖提取效果的影响 图 2 展示, 当提取温度 <60 ℃ 时, 茶多糖得率随体系温度的升高而升高, 当体系温度为 60 ℃ 时的峰值 3.72%。继续提高体系温度, 茶多糖得率显著下降 ($P<0.05$)。茶多糖分子的运动活性随体系温度的升高而增强, 但长时间在高温环境中多糖的分子结构易降解并失去生物活性, 得率下降^[25]。所得数据经单因素方差分析得 $P=0.007<0.01$, 差异性极显著, 表明考察范围内提取温度对茶多糖提取具有极显著的影响效果, 并选用提取温度 50、60、70 ℃ 进行后续优化试验。

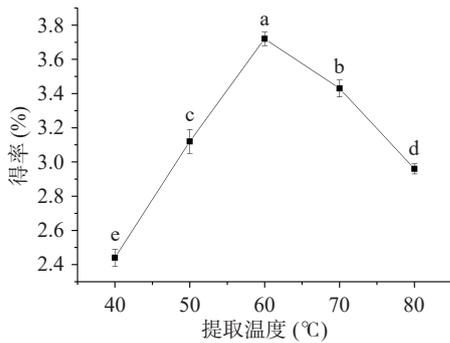


图 2 提取温度对茶多糖提取效果的影响

Fig.2 The effect of temperature on extraction of tea polysaccharides

2.1.3 超声时间对茶多糖提取效果的影响 如图 3 所示, 当超声时间 < 25 min 时, 茶多糖得率随超声时间的延长而升高, 但增速逐渐减慢, 当超声时间为 25 min 时的峰值 3.17%。继续延长超声时间, 茶多糖得率下降。延长超声时间可使植物细胞壁被超声波充分破碎, 但多糖的分子结构长时间在超声波机械震荡作用下易被破坏, 得率下降^[26]。所得数据经单因素方差分析得 $P=0.044 < 0.05$, 差异性显著, 表明考察范围内超声时间对茶多糖提取具有显著的影响效果, 并选用超声时间 15、20、25 min 进行后续优化试验。

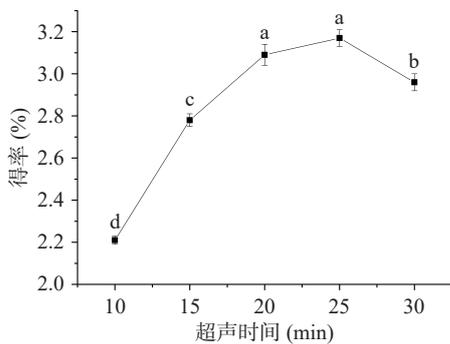


图 3 超声时间对茶多糖提取效果的影响

Fig.3 The effect of ultrasonic time on extraction of tea polysaccharides

2.1.4 超声功率对茶多糖提取效果的影响 如图 4 所示, 当超声功率 < 200 W 时, 茶多糖得率随超声功率的增加而升高, 当超声功率为 200 W 时的峰值

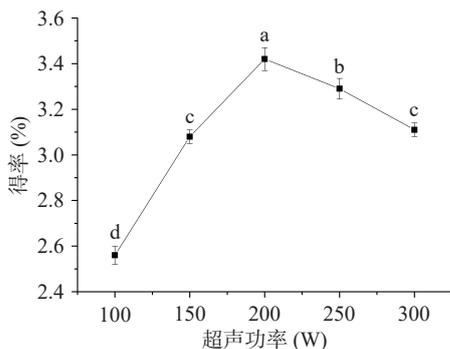


图 4 超声功率对茶多糖提取效果的影响

Fig.4 The effect of ultrasonic power on extraction of tea polysaccharides

3.42%。继续增加超声功率, 茶多糖得率下降。超声波通过机械作用破碎植物细胞壁, 加速多糖的溶出。过高的超声功率将引发体系较为剧烈的空化作用, 致使多糖分子失活降解, 得率下降^[27]。所得数据经单因素方差分析得 $P=0.027 < 0.05$, 差异性显著, 表明考察范围内超声功率对茶多糖提取具有显著的影响效果, 并选用超声功率 150、200、250 W 进行后续优化试验。

2.2 Box-Bohnken 法优化茶多糖提取工艺

2.2.1 Box-Bohnken 法优化提取试验方案 各考察因素 A 液料比(mL/g)、B 提取温度(°C)、C 超声时间(min)及 D 超声功率(W)为自变量, 茶多糖得率(%)为响应值, 利用 Box-Bohnken 法优化提取试验方案, 确定 29 个试验点。试验方案及结果如表 2 所示。

表 2 Box-Bohnken 法建立提取试验方案

Table 2 Extraction scheme designed by Box-Bohnken method

试验号	A	B	C	D	得率 (%)
1	-1	0	0	-1	3.77
2	-1	-1	0	0	3.31
3	1	0	-1	0	4.02
4	0	-1	0	-1	4.55
5	0	0	0	0	4.85
6	-1	0	1	0	3.54
7	0	-1	0	1	3.98
8	1	-1	0	0	4.78
9	0	-1	-1	0	4.14
10	0	0	-1	-1	4.21
11	0	0	0	0	4.62
12	0	1	1	0	3.68
13	1	0	1	0	4.69
14	0	-1	1	0	4.21
15	0	1	-1	0	3.31
16	0	0	-1	1	3.53
17	0	1	0	1	3.82
18	0	0	1	1	4.23
19	0	0	0	0	4.72
20	-1	0	-1	0	3.10
21	0	0	1	-1	4.32
22	0	1	0	-1	3.86
23	-1	0	0	1	3.40
24	1	0	0	1	4.44
25	0	0	0	0	4.76
26	0	0	0	0	4.76
27	1	1	0	0	3.38
28	-1	1	0	0	3.86
29	1	0	0	-1	4.60

2.2.2 回归方程的建立及显著性检验 以 Box-Bohnken 法对表 2 所得数据进行分析, 获得茶多糖得率(%)与各考察因素: 液料比(A)、提取温度(B)、超声时间(C)及超声功率(D)的回归方程:

$$\begin{aligned} \text{茶多糖得率}(\%) = & -47.64867 + 0.83778A + 0.73370 \\ & B + 0.47527C - 4.90000 \times 10^{-4}D - 4.87500 \times 10^{-3}AB + 1.15000 \times \\ & 10^{-3}AC + 1.05000 \times 10^{-4}AD + 1.50000 \times 10^{-3}BC + 2.65000 \times \\ & 10^{-4}BD + 5.90000 \times 10^{-4}CD - 4.56833 \times 10^{-3}A^2 - 4.58083 \times \\ & 10^{-3}B^2 - 0.017823C^2 - 9.17333 \times 10^{-5}D^2 \end{aligned}$$

采用方差分析法对所得回归方程进行显著性检验^[28-29], 结果见表 3。该方程 $P < 0.0001$, 极显著; 失

拟项 $P=0.0992>0.05$, 不显著, 说明所得方程可良好匹配试验操作。决定系数 $R^2=0.9622$, 调整决定系数 $R_{Adj}^2=0.9244$, 说明因素选取合理, 误差主要由随机误差产生并且可控, 所得回归方程可用于试验预测茶多糖得率随因素、水平变化的趋势及幅度。

表3 回归方程方差分析表
Table 3 Variance analysis of regression equation

来源	平方和	自由度	均方	F	P
方程	7.65	14	0.55	25.46	<0.0001**
A	2.03	1	2.03	94.44	<0.0001**
B	0.78	1	0.78	36.39	<0.0001**
C	0.46	1	0.46	21.64	0.0004**
D	0.30	1	0.30	14.18	0.0021**
AB	0.95	1	0.95	44.33	<0.0001**
AC	0.013	1	0.013	0.62	0.4454
AD	0.011	1	0.011	0.51	0.4852
BC	0.022	1	0.022	1.05	0.3231
BD	0.070	1	0.070	3.27	0.0919
CD	0.087	1	0.087	4.06	0.0636
A ²	1.35	1	1.35	63.12	<0.0001**
B ²	1.36	1	1.36	63.47	<0.0001**
C ²	1.29	1	1.29	60.05	<0.0001**
D ²	0.34	1	0.34	15.91	0.0013**
残差	0.30	14	0.021		
失拟项	0.27	10	0.027	3.94	0.0992
纯误差	0.028	4	6.920×10^{-3}		
总计	7.95	28			

注: $P<0.01$, 极显著“**”; $P<0.05$, 显著“*”。

回归方程一次项液料比(A)、提取温度(B)、超声时间(C)及超声功率(D)对茶多糖得率的影响均极显著($P<0.01$), 根据 F 值大小, 可知其显著性顺序为液料比>提取温度>超声时间>超声功率。交互项中交互作用 AB 的影响效果为极显著水平($P<0.0001$), 其它交互作用的影响不显著($P>0.05$)。二次项 A²、B²、C²、D² 的影响均极显著, 其显著性顺序为 B²≈A²>C²>>D²。

2.2.3 交互作用的响应面分析 如图5所示, 交互作用的显著程度与响应面的曲面曲率、等高线中心椭圆率成正比^[30]。交互作用 AB 可见一显著的下滑曲面, 且中心椭圆率最高。其它交互作用各方向曲面下滑平缓, 等高线中心椭圆率较低甚至偏圆形。以上结果说明交互作用 AB 的影响效果显著高于其它交互作用, 此结果与方差分析结果一致。

2.2.4 最佳提取工艺的获取及稳定性验证 对回归方程进行最优化处理, 获得茶多糖提取工艺的最佳条件: 液料比 68.51:1 mL/g、提取温度 52.19 °C、超声时间 20.70 min、超声功率 178.46 W, 茶多糖得率可达 5.06%。根据试验操作可达水平, 将上述条件调整为: 液料比 69:1 mL/g、提取温度 52 °C、超声时间 21 min、超声功率 180 W。在此条件下, 平行实验 5 次, 实测茶多糖平均得率为(4.84%±0.04%), 与模型预测值相近(<5%), 说明该条件具有良好的稳定

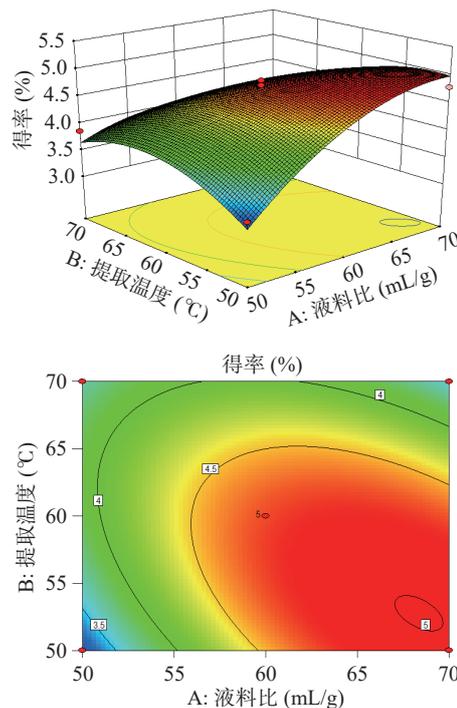


图5 交互作用 AB 对茶多糖提取效果的影响

Fig.5 The effect of interactive AB on extraction of tea polysaccharides

性, 可用于茶多糖的提取。此外, 根据茶多糖得率可知凌云白毫茶多糖含量较为丰富, 高于国内著名绿茶品牌西湖龙井(3.10%)及信阳毛尖(1.84%)^[31]。

2.3 茶多糖体外抗氧化效果

2.3.1 茶多糖对·OH 的清除效果 如图6所示, 凌云白毫茶多糖对·OH 具有良好的清除效果, 其清除能力随茶多糖浓度的升高而增强, 并且高浓度条件下有进一步增强的趋势。当茶多糖浓度为 1.2 mg/mL 时, 对·OH 的清除率为 82%。经 SPSS17.0 软件分析, 凌云白毫茶多糖清除·OH 的 IC₅₀ 为 0.262 mg/mL, 低于 V_C(IC₅₀=0.027 mg/mL)对·OH 的清除能力。

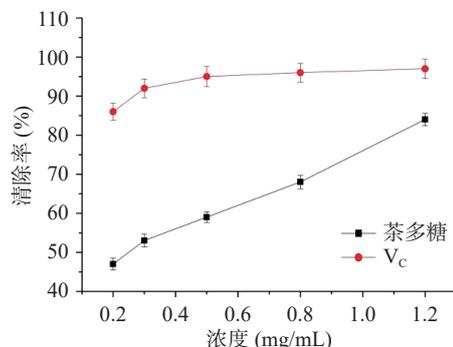


图6 茶多糖对·OH 的清除效果

Fig.6 The clearance effect of tea polysaccharides on ·OH

2.3.2 茶多糖对 DPPH·的清除效果 如图7所示, 茶多糖对 DPPH·具有较强的清除效果, 其清除能力随茶多糖浓度的增加而逐渐增强, 但增速减慢并趋近平衡。当茶多糖浓度为 1.2 mg/mL 时, 对 DPPH·的清除率为 69%。经 SPSS 17.0 软件分析, 凌云白毫

茶多糖清除 DPPH· 的 IC_{50} 为 0.438 mg/mL^[32], 明显低于 V_C ($IC_{50}=0.072$) 对 DPPH· 的清除能力。

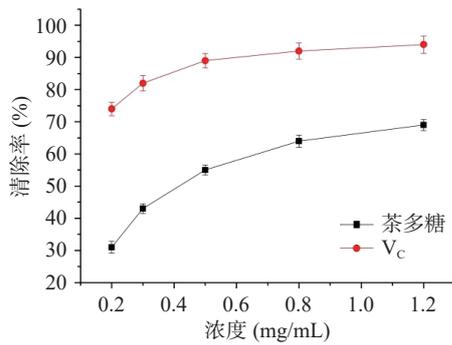


图 7 茶多糖对 DPPH 自由基的清除效果
Fig.7 The clearance effect of tea polysaccharides on DPPH radical

2.3.3 茶多糖对玉米油的抗氧化效果 玉米油富含不饱和脂肪酸, 长期暴露在空气中易发生自氧化反应, 导致油体酸败变质^[33]。图 8 展示, 茶多糖对油脂具有良好的抗氧化效果, 添加过茶多糖的油体样品的 POV 值较空白样品均有一定程度的下降, 并且下降幅度与茶多糖添加量表现出明显的量效关系。茶多糖添加量为 0.05% 时, 其抗氧化效果强于 0.02% V_C ; 添加量相同时, 其抗氧化效果低于 V_C 。

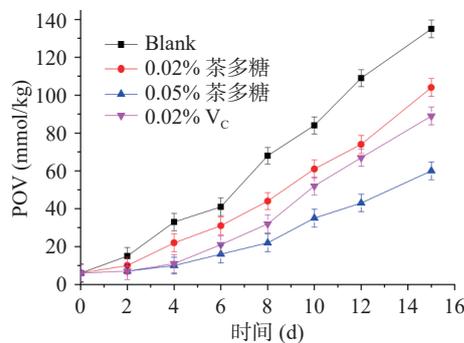


图 8 茶多糖对油脂的抗氧化效果

Fig.8 The antioxidant activity of tea polysaccharides on grease

3 结论

本文采用超声波辅助方式提取凌云白毫茶多糖, 并利用 Box-Bohnken 法优化试验方案, 获得该工艺的回归方程。方差分析表明, 回归方程极显著, 与试验操作拟合程度高。对回归方程进行最优化处理获得茶多糖提取工艺的最佳条件: 液料比 69:1 mL/g、提取温度 52 °C、超声时间 21 min、超声功率 180 W。最佳条件下, 实测茶多糖平均得率为 4.84%, 与回归方程预测值 5.06% 相当 (<5%), 说明所得工艺条件具有一定的实用价值, 可用于茶多糖的提取。凌云白毫茶多糖对常见自由基·OH、DPPH·均具有一定的清除效果, 其中, 对 DPPH· 的清除能力 ($IC_{50}=0.438$ mg/mL) 强于著名绿茶品牌西湖龙井 ($IC_{50}=0.489$ mg/mL) 和信阳毛尖 ($IC_{50}=0.443$ mg/mL)。此外, 茶多糖可抑制油脂的自氧化反应, 延长油脂在常

温常压环境中的存储时间。抗氧化性试验结果表明凌云白毫茶多糖具有良好的抗氧化效果, 并且抗氧化能力与茶多糖浓度成正向关系。凌云白毫茶多糖含量丰富, 经常饮用对于维护人体正常的生命活动具有积极效果。茶多糖也可作为一种天然抗氧化剂, 具有一定的开发价值。以上结果可为凌云白毫在国内外的深度推广及产品开发提供理论依据和数据参考。

参考文献

- [1] 王丽丽, 林清霞, 宋振硕, 等. 分光光度法测定茶叶中总黄酮含量[J]. 茶叶学报, 2021, 62(1): 1-6. [WANG L L, LIN Q X, SONG Z S, et al. Spectrophotometric determination of total flavonoids in tea[J]. Acta Tea Sinica, 2021, 62(1): 1-6.]
- [2] 刘姣姣. 茶多酚的提取和应用研究进展[J]. 福建茶叶, 2021, 43(6): 17-18. [LIU J J. Research progress on extraction and application of tea polyphenols[J]. Tea in Fujian, 2021, 43(6): 17-18.]
- [3] 陈然, 孟庆佳, 刘海新, 等. 不同种类茶叶多酚及生物碱含量特点分析[J]. 食品科技, 2018, 43(5): 72-76. [CHEN R, MENG Q J, LIU H X, et al. Characteristics of polyphenols and alkaloids components in different kinds of tea[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(5): 72-76.]
- [4] 艾于杰. 抗氧化活性茶多糖构效关系研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019. [AI Y J. Study on the structure-activity relationship of antioxidant tea polysaccharides[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019.]
- [5] ZHOU Y, YAO Q F, ZHANG T, et al. Antibacterial activity and mechanism of green tea polysaccharide conjugates against *Escherichia coli*[J]. Industrial Crops and Products, 2020, 152(C): 112464-112472.
- [6] 刘丹奇, 任发政, 李景明, 等. 几种茶多糖降血糖活性的研究[J]. 茶叶科学, 2019, 39(6): 652-660. [LIU D Q, REN F Z, LI J M, et al. Comparative study on the structure and hypoglycemic activity of several tea polysaccharides[J]. Journal of Tea Science, 2019, 39(6): 652-660.]
- [7] 南国有佳木——记国家地理标志产品凌云白毫茶[J]. 标准生活, 2017(7): 92-96. [A tree with great application value in south china — Lingyun pekoe[J]. Standard Life, 2017(7): 92-96.]
- [8] 马慧敏, 柯钦豪, 曹琴, 等. 茶多糖的提取方法研究进展[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2019, 33(6): 550-552. [MA H M, KE Q H, CAO Q, et al. Research progress on extraction methods of tea polysaccharides[J]. Journal of Hubei University of Science and Technology (Medical Edition), 2019, 33(6): 550-552.]
- [9] 王曼宇, 刘乃新, 张福顺. 植物源性多糖提取及生物活性研究进展[J]. 中国农学通报, 2021, 37(29): 34-41. [WANG M Y, LIU N X, ZHANG F S. Extraction and bioactivity of plant derived polysaccharides: A review[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(29): 34-41.]
- [10] 刘小辰, 林海龙. 提取方法对香蕉皮粗多糖的组成、性质及结构的影响[J]. 中国酿造, 2021, 40(7): 204-208. [LIU X C, LIN H L. Effects of extraction methods on the composition, properties and structure of banana peel crude polysaccharides[J]. China Brewing, 2021, 40(7): 204-208.]
- [11] 刘星宇, 廖艺超, 王壹, 等. 超声波联用技术在植物活性成分提取中的应用研究进展[J/OL]. 食品与发酵工业: 1-11 [2022-

- 02-10]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029505. [LIU X Y, LIAO Y C, WANG Y, et al. Research progress on application of ultrasound hyphenated technique in extraction of active phytochemicals[J/OL]. Food and Fermentation Industries: 1-11[2022-02-10]. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029505.]
- [12] 李刚刚, 孙静, 伏衡一, 等. 兰州百合鳞茎多糖超声波辅助提取工艺优化及稳定性研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(3): 190-193. [LI G G, SUN J, FU H Y, et al. Research on ultrasonic-assisted extraction process and stability of polysaccharides from *Lilium davidii* var bulb[J]. Food & Machinery, 2020, 36(3): 190-193.]
- [13] 杨燕敏, 郑振佳, 高琳, 等. 红枣多糖超声波提取、结构表征及抗氧化活性评价[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(5): 120-126. [YANG Y M, ZHENG Z J, GAO L, et al. Ultrasonic extraction of jujube polysaccharide and its structure and antioxidant activity characterization[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(5): 120-126.]
- [14] ZHANG H J, LI H Z, ZHANG Z J, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Perilla* seed meal by response surface methodology: Characterization and *in vitro* antioxidant activities[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(2): 306-318.
- [15] MIAO J N, SHI W, ZHANG J Q, et al. Response surface methodology for the fermentation of polysaccharides from *Auricularia auricula* using *Trichoderma viride* and their antioxidant activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020 (155): 393-402.
- [16] 李珊, 梁俭, 冯群, 等. 桂七青芒果皮多糖提取工艺的响应面优化及其体外抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(4): 220-225, 231. [LI S, LIANG J, FENG Q, et al. Optimization of polysaccharides from Guiqi-mango peels by response surface methodology and its antioxidant activity *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(4): 220-225, 231.]
- [17] WU Y T, HUO Y F, XU Y Y, et al. Purification, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Porphyra haitanensis*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165(B): 2116-2125.
- [18] XIA Y G, HUANG Y X, LIANG J, et al. Comparable studies of two polysaccharides from leaves of *Acanthopanax senticosus*: Structure and antioxidation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 147: 350-362.
- [19] WU, D T, LIU W, HAN Q H, et al. Extraction optimization, structural characterization, and antioxidant activities of polysaccharides from *Cassia* seed (*Cassia obtusifolia*)[J]. Molecules, 2019, 24(15): 2817-2832.
- [20] XU G Y, LIAO A M, HUANG J H, et al. Evaluation of structural, functional, and anti-oxidant potential of differentially extracted polysaccharides from potatoes peels[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 120: 778-785.
- [21] LI Y, ZHU C P, ZHAI X C, et al. Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from pomegranate peel by response surface methodology and their anti-oxidant potential[J]. Chinese Herbal Medicines, 2018, 10(4): 416-423.
- [22] 周丽明, 张勇. 茶籽多糖羧甲基化修饰及其对油脂抗氧化作用研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(7): 45-49, 72. [ZHOU L M, ZHANG Y. Carboxymethylation modification of *Camellia oleifera* seed polysaccharides and its antioxidant effect on oils and fats[J]. China Oils and Fats, 2020, 45(7): 45-49, 72.]
- [23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品中过氧化值的测定: GB 5009.227-2016[S]. 北京: 中国标准出版社: 2016-8-31. [National Health Commission of the People's Republic of China. Determination of peroxide value in food: GB 5009.227-2016[S]. Beijing: China Stanard Press, 2016-8-31.]
- [24] 吴玉柱, 崔维建, 李妍. 超声波辅助提取玉木耳多糖及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(23): 142-148. [WU Y Z, CUI W J, LI Y. Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from *Auricularia cornea* ehrenb and its antioxidant activity analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(23): 142-148.]
- [25] 毛月东, 金青. 响应面优化海风藤多糖提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(8): 171-176. [MAO Y D, JIN Q. Extraction optimization of polysaccharides from caulis piperis kadsurae by response surface method and evaluated antioxidant activity[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(8): 171-176.]
- [26] 付丽娜, 宋旭鸽, 曾静, 等. 海南柠檬皮多糖的提取工艺及体外抗氧化活性研究[J]. 食品与药品, 2021, 23(2): 120-124. [FU L N, SONG X G, ZENG J, et al. Extraction process and *in vitro* antioxidant activity of polysaccharide from Hainan Lemon peel[J]. Food and Drug, 2021, 23(2): 120-124.]
- [27] 王锋, 刘晓鹏, 王应玲, 等. 猴头菇菌丝体多糖的超声辅助提取工艺研究[J]. 化学研究与应用, 2020, 32(11): 1984-1990. [WANG F, LIU X P, WANG Y L. et al. Ultrasound-assisted extraction for polysaccharides from mycelium of *Hericium erinaceus*[J]. Chemical Research and Application, 2020, 32(11): 1984-1990.]
- [28] SHEN Q R, LIAN L, YU H Y, et al. Extraction optimization of polysaccharides from *Rhizoma polygonati* by response surface methodology and content determination[J]. Medicinal Plant, 2020, 11(6): 62-66.
- [29] BIAN C, WANG Z Y, SHI J. Extraction optimization, structural characterization, and anticoagulant activity of acidic polysaccharides from *Auricularia auricula-judae*[J]. Molecules, 2020, 25(3): 710-723.
- [30] LIU Z Q, ZHANG Y Y, LUAN H, et al. Optimization of extraction process and activity *in vitro* for polysaccharide from *Oenothera erythrosepala* root polysaccharide[J]. Botanical Research, 2020, 9(2): 83-95.
- [31] 练珊珊, 陈佳, 吕立堂. 15个茶树品种多糖、纤维素、木质素含量的分析[J]. 广东茶叶, 2021(1): 15-20. [LIAN S S, CHEN J, LYU L T. Analysis of the content of polysaccharides, cellulose, and lignin in 15 tea varieties[J]. Tea in Guangdong, 2021(1): 15-20.]
- [32] 金亮, 李小白, 丁华侨, 等. 不同种类茶叶抗氧化活性及茶汤颜色参数比较[J]. 中国食品学报, 2016, 16(2): 242-250. [JIN L, LI X B, DING H Q, et al. Comparison on antioxidant activity and color parameters for different types of tea[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(2): 242-250.]
- [33] 王丹. 天然抗氧化剂的作用机制及其在食用油脂储存中的研究进展[J]. 现代食品, 2020(9): 65-67. [WANG D. The mechanism of natural antioxidants and its research progress in edible oil storage[J]. Modern Food, 2020(9): 65-67.]