

◆特邀栏目◆

山黄皮多糖提取及其风味饮品制备^{*}

韦馨平¹, 黄振勇², 王冬梅¹, 梁晓君², 任惠³, 徐兵强⁴, 淡明², 张娥珍^{2**}

(1. 南宁市农业科学研究所, 广西南宁 530001; 2. 广西农业科学院农产品加工研究所, 广西南宁 530007; 3. 广西农业科学院园艺研究所, 广西南宁 530007; 4. 中国热带农业科学院海口实验站, 海南海口 570000)

摘要:为探索超声波细胞破碎法快速提取山黄皮 *Clausena indica* (Datz) 多糖的工艺技术,本研究通过单因素和正交实验,考察料液比、超声功率、超声总时间对山黄皮多糖提取率的影响。同时以多糖浓缩液、柠檬酸、低聚果糖为原料制备山黄皮风味植物多糖饮品,并通过感官评价产品风味确定各原料的添加比例。实验结果表明:山黄皮多糖的最佳提取工艺为料液比 1:70 g/mL,超声功率 180 W,超声总时间 25 min,在此工艺下其多糖提取率为 28.52%。山黄皮风味植物多糖饮品的最佳配比:多糖浓缩液添加量为 12%、柠檬酸添加量为 0.05%、低聚果糖添加量为 8%。本研究优化了山黄皮多糖的超声波细胞破碎法快速提取工艺,所制备的山黄皮植物多糖饮品风味独特、酸甜可口,可为广西山黄皮功能产品的开发提供参考。

关键词:山黄皮 超声波细胞破碎法 工艺优化 多糖饮品 功能产品

中图分类号:TS255.36 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2021)04-0401-06

DOI:10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20211216.002

0 引言

山黄皮 *Clausena indica* (Datz), 又称鸡皮果, 是热带和亚热带常绿多年生小乔木, 为芸香科黄皮属, 主要分布于我国广西、广东、云南、海南, 以及越南、菲律宾等地^[1,2]。山黄皮挥发油含量丰富, 主要为萜烯类、醚类、醛类等化合物^[3,4], 香气独特, 可用作调味品。山黄皮果实富含蛋白质、总糖、可溶性固形物、维

生素、多种氨基酸、矿物质^[5-7], 具有健脾消脂、化滞祛湿、疏风清热等功效^[8]。山黄皮中植物多糖含量丰富。植物多糖是由淀粉、多聚糖、果胶等物质组成的聚合糖, 具有抗氧化^[9,10]、提高免疫力^[11]、抗肿瘤^[12]、降血脂^[13]、降血糖^[14,15]等保健作用。研究发现, 植物多糖对肠道菌群具有一定的调节作用, 可改善肠道生态环境^[16-18]。目前对山黄皮的研究主要集中在品种选育、挥发油成分分析等方面^[19-22], 加工方面以果酱、

收稿日期:2021-05-13

* 广西科技重大专项(桂科 AA17204045-4), 广西农业科学院科研团队项目(2021YT109)和广西农业科学院基本科研业务专项(桂农科 2021YT046)资助。

【作者简介】

韦馨平(1989-), 女, 学士, 主要从事农产品加工与综合利用研究。

【通信作者】**

张娥珍(1978-), 女, 研究员, 主要从事农产品加工与综合利用研究, E-mail:zhang281@126.com。

【引用本文】

韦馨平, 黄振勇, 王冬梅, 等. 山黄皮多糖提取及其风味饮品制备[J]. 广西科学院学报, 2021, 37(4): 401-406.

WEI X P, HUANG Z Y, WANG D M, et al. Extraction of Polysaccharides from *Clausena indica* (Datz) and Preparation of Its Flavor Beverage [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2021, 37(4): 401-406.

果干、盐渍等产品较为常见^[23],其他深加工方面的研究极少^[24,25]。山黄皮在桂西南,尤其是崇左、龙州、扶绥、大新等地已有长久的食用历史,游向荣等^[26]在火麻中添加山黄皮,开发了火麻蛋白饮料、火麻含片等产品;周马林等^[27]利用乳酸菌发酵山黄皮,开发了一款风味独特、香味纯正、口感良好的山黄皮全果乳酸菌发酵功能饮料,可见山黄皮在功能食品的开发上具有较好的应用前景。

为探索山黄皮多糖的快速提取工艺技术,本研究采用超声波细胞破碎法对山黄皮多糖进行提取,通过单因素和正交实验优化得到山黄皮多糖的最佳提取工艺,并利用其多糖提取液调制一款具有山黄皮风味的植物多糖饮品,以期为广西山黄皮的深加工产品研发提供技术参考,为其产业发展提供思路。

1 材料与方法

1.1 主要材料与设备

山黄皮,桂研15号,采自广西龙州县。实验所用的主要试剂:葡萄糖(天津市科密欧化学试剂有限公司);苯酚(成都金山化学试剂有限公司);浓硫酸(成都市科隆化学品有限公司);无水乙醇(成都市科隆化学品有限公司);低聚果糖、柠檬酸,均为市售食品级。

实验用到的主要设备:SCIENTZ-II D超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司),HH-S4恒温水浴锅(郑州生元仪器有限公司),UV-8000A紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司),GL-21M高速冷冻离心机(长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司),SRH40-100高压均质机(上海申鹿高压均质机有限公司),FW80高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),RE-52AA旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 山黄皮多糖提取工艺优化

山黄皮清洗干净后沥干水分,用刀切成两半,置于真空冷冻干燥机中冷冻干燥,干燥后粉碎,过80目筛备用。

1.2.2 多糖含量测定

采用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[28]。先绘制葡萄糖标准曲线:精确称取于105℃条件下烘干至恒重的葡萄糖标准品0.1 g(精确至0.001 g),加蒸馏水溶解定容至100 mL,配置成1 mg/mL葡萄糖标准溶液;分别移取葡萄糖标准液0.0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL于试管,用蒸馏水补充至1 mL,分别加入1 mL

50 g/L苯酚溶液,混合均匀后加入5 mL浓硫酸,混合均匀后沸水浴10 min,取出后冷水浸泡静置20 min,以蒸馏水为空白对照,于490 nm处测量吸光度。以吸光度为纵坐标,葡萄糖浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $y = 8.6483x - 0.00042, R^2 = 0.9991$ 。样品多糖含量测定步骤:吸取1 mL的样品溶液(可适当稀释)替代葡萄糖标准液,其他步骤保持一致,并参照标准曲线计算出多糖含量。

1.2.3 山黄皮多糖提取工艺

称取1.0 g的山黄皮,按1:50 g/mL料液比加入水,搅拌均匀,在超声功率为180 W的超声波细胞破碎仪中提取15 min,提取完成后,浆水在高速离心机中8 000 r/min离心10 min,留取上清液,即得山黄皮多糖粗提取液,取样测定多糖含量。

1.2.4 单因素实验

根据单因素变量原则,分别考察料液比1:30,1:40,1:50,1:60,1:70,1:80 g/mL,超声波功率150,180,210,240,270,300 W和超声总时间10,15,20,25,30 min对山黄皮多糖提取效果的影响。

1.2.5 正交实验优化

在单因素实验基础上,以多糖提取率为指标,以料液比(A)、超声功率(B)、超声总时间(C)为考察因素,进行L₉(3³)正交优化,正交因素和水平见表1。

表1 多糖提取 L₉(3³)正交表

Table 1 L₉(3³) orthogonal table of polysaccharide extraction

水平 Level	因素 Factor		
	A-料液比 Solid-liquid ratio (g/mL)	B-超声功率 Ultrasonic power (W)	C-超声总时间 Ultrasonic total time (min)
1	1:50	180	15
2	1:60	210	20
3	1:70	240	25

1.2.6 风味饮品的制备工艺

山黄皮风味饮品的制备工艺流程为山黄皮粗提取液→浓缩→调配→均质→灭菌→无菌罐装→成品。具体如下:将山黄皮超声波破碎提取液减压浓缩50倍,选取多糖浓缩液(X₁)、柠檬酸(X₂)和低聚果糖(X₃)作为变量因素,在饮品总体积相同的基准上,从各因素中选取3个不同添加量水平做L₉(3³)正交优化实验,具体正交因素水平表如表2所示。各调配方案使用23 MPa高压均质2次,随后95℃水浴灭菌15 min,灭菌后进行无菌罐装。

表 2 风味饮品 L₉(3³) 正交表Table 2 L₉(3³) orthogonal table of flavor beverage

水平 Level	因素 Factor (%)		
	X ₁	X ₂	X ₃
1	10	0.05	7
2	12	0.10	8
3	14	0.15	9

为评估各调配方案的风味,找 20 名食品专业人士对饮品进行感官评价,指标包括香气(25 分)、色泽(25 分)、组织形态(20 分)和口感(30 分),评分细节如表 3 所示,评价结果以各项指标得分之和表示。

表 3 感官评分标准

Table 3 Sensory evaluation standard

评分项目 Scoring project	评分规则 Scoring rules	得分(分) Score
香气 Aroma	香气浓郁,协调 Rich aroma, coordinated	21~25
	香气淡,不协调 Scented, uncoordinated	16~20
	有异味 Tainted	≤15
色泽 Color and lustre	均匀,色泽深、透亮 Uniform, dark and bright color	21~25
	不均匀,色泽深 Unevenly, dark color	16~20
	不均匀,色泽淡 Unevenly, light color	≤15
组织形态 Texture	澄清透亮,稠度适中 Clarification, medium stickiness	16~20
	澄清,偏稠或偏稀 Clarification, too viscous or thin	11~15
	浑浊,偏稠或偏稀 Cloudiness, too viscous or thin	≤10
口感 Taste	酸甜可口,爽口 Sweet and sour delicious	26~30
	口感一般,微酸或微甜 General tested, weak acid or sweet	21~25
	口感差,偏酸或偏甜 Bad tasted, too acid or too sweet	≤20

1.3 数据处理与分析

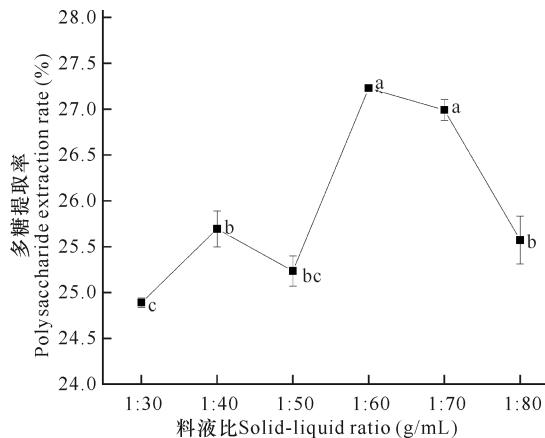
实验数据用 Excel 表格整理,采用正交设计助手Ⅱ v3.1 进行正交设计和分析,用 Origin Pro 2017 进行显著性分析并绘图。

2 结果与分析

2.1 料液比对山黄皮多糖提取效果的影响

如图 1 所示,料液比由 1:30 g/mL 增加到 1:40 g/mL 时,多糖提取率显著提高($P<0.05$);在料液比增加至 1:50 g/mL 时,多糖提取率有所降低,但变化不显著($P>0.05$);料液比提高到 1:60

g/mL 时,多糖提取率可达到 27.22%,提高效果显著($P<0.05$);继续增加料液比,其多糖提取率变化不显著($P>0.05$)。山黄皮多糖为水溶性物质,一定条件下,适当增加溶剂量有助于提高多糖溶出率。从实验结果和后期浓缩工艺考虑,最佳料液比以 1:60 g/mL 较为合适。



不同字母表示不同处理之间有显著差异, $P<0.05$

Different letters represent significant difference between different treatments ($P<0.05$)

图 1 料液比对山黄皮多糖提取效果的影响

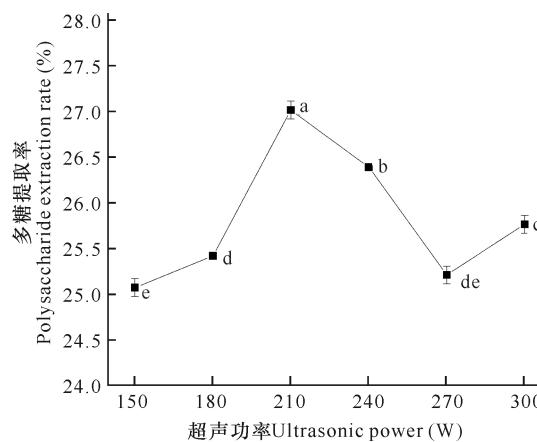
Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on extraction of polysaccharide from *C. indica* (Datz)

2.2 超声功率对山黄皮多糖提取效果的影响

在一定范围内,提高超声功率对山黄皮多糖提取有明显促进作用($P<0.05$),在超声功率为 210 W 时,多糖提取率达 27.02%,显著高于其他处理($P<0.05$)。随着超声功率的继续增加,多糖提取率明显降低($P<0.05$),这可能是超声功率的提高加剧空化作用,引起多糖结构发生破坏^[29],导致提取率降低(图 2)。从提取效果和能耗方面考虑,超声功率选择 210 W 较为合适。

2.3 超声总时间对山黄皮多糖提取效果的影响

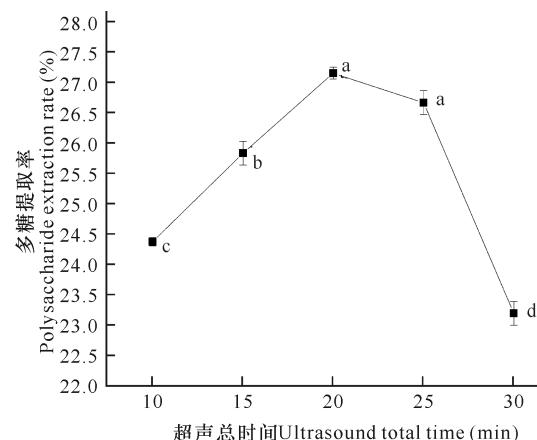
超声总时间对山黄皮多糖提取效果影响如图 3 所示。在提取前段(10~20 min),超声波产生的空化作用使山黄皮多糖快速溶出并积累,提取率显著提高($P<0.05$),在超声总时间为 20 min 时,山黄皮多糖提取率达到 27.15%。在超声总时间为 30 min 时,山黄皮多糖提取率明显降低($P<0.05$)。一定条件下,延长超声时间可促进山黄皮多糖的溶出积累,但是时间过长会使反应体系温度过热,从而导致多糖失活析出^[30],使提取率下降。因此,超声总时间选择 20 min 较为合适。

不同字母表示不同处理之间有显著差异, $P < 0.05$

Different letters represent significant difference between different treatments ($P < 0.05$)

图 2 超声功率对山黄皮多糖提取效果的影响

Fig. 2 Effect of ultrasonic power on extraction of polysaccharide from *C. indica* (Datz)

不同字母表示不同处理之间有显著差异, $P < 0.05$

Different letters represent significant difference between different treatments ($P < 0.05$)

图 3 超声总时间对山黄皮多糖提取效果的影响

Fig. 3 Effect of total ultrasonic time on extraction of polysaccharide from *C. indica* (Datz)

2.4 正交优化结果

在单因素实验结果基础上选择料液比(A)、超声功率(B)、超声总时间(C) 3个因素进行优化,以多糖提取率(Y)为指标进行正交设计,实验结果如表 4 所示。

表 4 山黄皮多糖提取 $L_9(3^3)$ 正交实验结果Table 4 Results of $L_9(3^3)$ orthogonal experiment on *C. indica* (Datz) polysaccharide extraction

试验号 Test number	料液比 Solid-liquid ratio (A)	超声功率 Ultrasonic power (B)	超声总时间 Ultrasonic total time (C)	Y (%)
1	1 : 50	180	15	26.79
2	1 : 50	210	20	26.96
3	1 : 50	240	25	27.89
4	1 : 60	180	20	26.30
5	1 : 60	210	25	27.22
6	1 : 60	240	15	26.67
7	1 : 70	180	25	28.28
8	1 : 70	210	15	26.42
9	1 : 70	240	20	26.18
K_1	27.213	27.123	26.627	
K_2	26.730	26.867	26.480	
K_3	26.960	26.913	27.797	
R	0.483	0.256	1.317	

由正交实验结果的极差分析可知,影响山黄皮多糖提取率的因素次序为 $C > A > B$,即超声总时间>料液比>超声功率。由方差分析可知(表 5),超声总时间对山黄皮多糖提取影响显著,料液比与超声功率对山黄皮多糖提取效果影响不显著。由直观分析结果可知,其最佳组合为 $A_1B_1C_3$,但是实验组中以组合

表 5 山黄皮多糖提取方差分析

Table 5 Analysis of variance table of *Clausena indica* (Datz) polysaccharide extraction

因素 Factor	偏差平方和 Sum of squares of deviations	自由度 Degree of freedom	F 比 F ratio	F 临界值 F critical value	显著性 Significance
料液比 Solid-liquid ratio (A)	0.351	2	3.134	19	
超声功率 Ultrasonic power (B)	0.112	2	1.000	19	
超声总时间 Ultrasonic total time (C)	3.124	2	27.893	19	$P < 0.05$
误差 Error	0.11	2			

$A_3B_1C_3$ 提取率较高,因此对这两个组合进行对比实验。结果得知,组合 $A_1B_1C_3$ 提取率为 28.24%,而组合 $A_3B_1C_3$ 提取率达 28.52%,以 $A_3B_1C_3$ 组合的山黄皮多糖提取率较高,因此选择最佳提取工艺为 $A_3B_1C_3$,即料液比为 1:70 g/mL,超声功率为 180 W,超声总时间为 25 min。

2.5 风味饮品的调配优化结果

由正交实验感官结果可知(表 6),山黄皮风味植物多糖饮品品质的感官影响顺序为多糖浓缩液>柠檬酸>低聚果糖,感官得分较高的工艺组合:多糖浓缩液添加量 12%、柠檬酸添加量 0.05%、低聚果糖添加量 8%,其感官得分为 88 分。由此工艺制备的山黄皮风味植物多糖饮品具有山黄皮的特有香气,其色泽透亮,黏稠度适中,酸甜可口。

表 6 风味饮品 $L_9(3^3)$ 正交试验结果

Table 6 $L_9(3^3)$ orthogonal test results of flavor beverage

实验组 Test group	X_1 (%)	X_2 (%)	X_3 (%)	得分 Score
1	10	0.05	7	77
2	10	0.10	8	78
3	10	0.15	9	75
4	12	0.05	8	88
5	12	0.10	9	83
6	12	0.15	7	77
7	14	0.05	9	77
8	14	0.10	7	74
9	14	0.15	8	70
J_1	77.7	80.7	76.0	
J_2	82.7	78.3	78.7	
J_3	73.7	74.0	78.3	
R	9.0	6.7	2.7	

3 结论

通过单因素和正交实验优化山黄皮多糖的超声波细胞破碎提取工艺,得到最佳提取工艺为料液比 1:70 g/mL,超声功率 180 W,超声总时间 25 min,在此工艺下其多糖提取率为 28.52%。通过感官评价,山黄皮风味植物多糖饮品最佳配比为多糖浓缩液添加量 12%、柠檬酸添加量 0.05%、低聚果糖添加量 8%。

参考文献

[1] 黄峰,何锐扬,雷艳梅. 极具发展前景的山黄皮果[J]. 中

国热带农业,2005(4):30-31.

- [2] 聂相珍,刘荣汉,张素梅,等. 黄皮和山黄皮总黄酮的提取方法及其生物活性的研究进展[J]. 农产品加工,2019(3):70-73.
- [3] 覃振师,贺鹏,王文林,等. 山黄皮果实和叶片挥发油成分分析[J]. 南方农业学报,2017,48(9):1665-1670.
- [4] THAI T H, BAZZALI O, HOI T M, et al. Chemical composition of the essential oils from vietnamese *Clausena indica* and *C. anisum-olens* [J]. Natural Product Communications, 2014, 9(10):1531-1534.
- [5] 覃振师,韦持章,何锐扬,等. 广西崇左市野生山黄皮种质资源调查与开发利用[J]. 广东农业科学,2012,39(5):138-139.
- [6] 杨益林,黄艳. 三种功能氨基酸在野生山黄皮果核中的测定[J]. 食品研究与开发,2012,33(3):133-135.
- [7] 杨益林,黄艳. 野生山黄皮果中氨基酸的测定研究[J]. 中国酿造,2011(12):163-165.
- [8] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:43 卷 2 册[M]. 北京:科学出版社,2004:138.
- [9] HUANG H, HUANG G. Extraction, separation, modification, structural characterization, and antioxidant activity of plant polysaccharides [J]. Chemical Biology & Drug Design, 2020, 96(5):1209-1222.
- [10] 赵芷萍,王敏,张志清. 植物多糖的提取及抗氧化功效的研究进展[J]. 食品工业科技,2018,39(13):337-342.
- [11] ZHAO T, MAO G, MAO R, et al. Antitumor and immunomodulatory activity of a water-soluble low molecular weight polysaccharide from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill [J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 55(5):609-616.
- [12] 边亮,陈华国,周欣. 植物多糖的抗肿瘤活性研究进展[J]. 食品科学,2020,41(7):275-282.
- [13] 田晓雨,高超,沈明浩. 款冬叶总多糖提取优化及其降脂抗氧化作用研究[J]. 食品科技,2017,42(10):205-211.
- [14] 肖瑞希,陈华国,周欣. 植物多糖降血糖作用及机制研究进展[J]. 食品科学,2019,40(11):254-260.
- [15] 刘丹奇,任发政,侯彩云. 几种植物多糖降血糖活性的对比研究[J]. 中国食品学报,2021,21(1):81-89.
- [16] 邱霞,张健,李可昌,等. 肠道菌群与植物多糖相关性研究进展[J]. 中国食物与营养,2021,27(1):54-57,20.
- [17] 李茜,吴涛,刘锐,等. 植物多糖与肠道菌群互作及其对代谢综合征的影响[J]. 食品安全质量检测学报,2020,11(21):7649-7655.
- [18] 祁玉丽,高坤,孙印石,等. 植物多糖对肠道微生态的作用研究进展[J]. 中国微生态学杂志,2018,30(4):489-494.

- [19] JI X, HOU C, GAO Y, et al. Metagenomic analysis of gut microbiota modulatory effects of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) polysaccharides in a colorectal cancer mouse model [J]. Food and Function, 2020, 11(1): 163-173.
- [20] 蓝庆江,覃振师,赵大宣,等.山黄皮桂研15号的主要性状及其栽培技术[J].中国南方果树,2008(5):38-39.
- [21] 黄峰,何锐扬,莫典义.山黄皮优良品种——桂研6号的选育[J].果树学报,2005(5):595-596,438.
- [22] 梁立娟,农耀京,韦璐阳,等.山黄皮果挥发油成分研究[J].农业研究与应用,2011(4):16-19.
- [23] 黄峰,何锐扬.广西山黄皮生产发展面临的问题及对策[J].广西热带农业,2006(4):15-16.
- [24] 李昌宝,游向荣,孙健,等.超声强化提取山黄皮果总黄酮及其抗氧化活性的研究[J].食品工业科技,2012,
- 33(5):265-268.
- [25] 陆清亮.山黄皮复合果丹皮的研制[J].广西热带农业,2010(3):20-22.
- [26] 游向荣,张雅媛,卫萍,等.一种火麻蛋白肽饮料及其制备方法:104489837A [P]. 2016-04-20.
- [27] 周马林,吴美材,饶东,等.山黄皮全果乳酸菌发酵功能饮料的研制[J].中国食品,2021(8):106-109.
- [28] 马超,刘杰凤,周天,等.黄皮果多糖提取工艺优化及抗氧化性研究[J].江苏农业科学,2013,41(8):290-292.
- [29] 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.
- [30] 李珊,梁俭,冯彬,等.响应面法优化超声波辅助提取山竹果皮多糖的工艺及其体外抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2020,41(10):103-110.

Extraction of Polysaccharides from *Clausena indica* (Datz) and Preparation of Its Flavor Beverage

WEI Xinping¹, HUANG Zhenyong², WANG Dongmei¹, LIANG Xiaojun², REN Hui³, XU Bingqiang⁴, DAN Ming², ZHANG Ezhen²

(1. Nanning Institute of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi, 530001, China; 2. Institute of Agro-products Processing Science and Technology, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China; 3. Horticulture Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China; 4. Haikou Experimental Station Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan, 570000, China)

Abstract: In order to explore the rapid extraction technology of polysaccharide from *Clausena indica* (Datz) by ultrasonic cell disruption method, the effects of solid-liquid ratio, ultrasonic power and total ultrasonic time on the extraction rate of polysaccharide from *C. indica* (Datz) were investigated by single factor and orthogonal experiments. At the same time, polysaccharide concentrate, citric acid, and fructooligosaccharides were used as raw materials to prepare the plant polysaccharide drink with the flavor of *C. indica* (Datz), and the addition ratio of each raw material was determined by sensory evaluation on the product flavor. The results showed that the optimum extraction conditions were solid-liquid ratio 1 : 70 g/mL, ultrasonic power 180 W, total ultrasonic time 25 min. Under these conditions, the extraction rate of polysaccharide was 28.52%. The optimum proportion of polysaccharide drinks from *C. indica* (Datz) flavor plant was 12% polysaccharide concentrate, 0.05% citric acid and 8% fructooligosaccharides. In this study, the ultrasonic cell disruption method was optimized for the rapid extraction of polysaccharides from *C. indica* (Datz). The prepared polysaccharides beverage had unique flavor, sweet and sour taste, which could provide reference for the development of functional products of *C. indica* (Datz) in Guangxi.

Key words: *Clausena indica* (Datz), ultrasonic cell-break method, process optimization, polysaccharide drinks, functional product

责任编辑:米慧芝