

# 荸荠皮多糖的理化性质及抗氧化活性

曾凡珂, 潘蕾蔓, 张祎, 赖富饶, 吴晖\*, 张猛猛\*

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 为探究荠皮多糖在食品领域的应用潜力, 利用 X 射线衍射光谱分析、热重分析、Zeta 电位分析、乌氏粘度测定法、红外光谱法等方法研究纯化的荸荠皮多糖 WVP-1 和 WVP-2 的结晶性、稳定性、粘度等理化特性, 并结合细胞抗氧化实验和 AAPH 诱导的红细胞溶血实验评估两种多糖的抗氧化活性。结果表明, WVP-1 和 WVP-2 的结晶区域较少, 主要以无定型态存在, 玻璃化温度分别为 61.30 和 69.50 °C, 热分解温度分别为 290.50 和 308.50 °C, Zeta 电位分别为 9.60 和 -18.50 mV, 特性粘度分别为  $5.33 \times 10^{-3}$  和  $3.80 \times 10^{-2}$  mL/mg, 果胶类多糖 WVP-2 的酯化度为 15.00%。此外, 在 62.5~1000  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内, WVP-1 和 WVP-2 能有效抑制 AAPH 诱发 HepG2 细胞内活性氧水平升高, 也能有效保护红细胞免受 AAPH 攻击发生氧化溶血。综上所述, WVP-2 比 WVP-1 具有更好的稳定性、粘度和抗氧化活性, 并且 WVP-2 属于低酯果胶, 可作为食品添加剂和功能活性成分应用于食品领域。

**关键词:** 荸荠皮; 纯化多糖; 理化性质; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2022)03-82-88

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.3.0581

## Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of the Polysaccharides from Chinese Water Chestnut Peels

ZENG Fanke, PAN Leiman, ZHANG Yi, LAI Furao, WU Hui\*, ZHANG Mengmeng\*

(School of Food Science and Technology, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** To explore the application potential of polysaccharides from the peels of Chinese water chestnut (*Eleocharis dulcis*) in the food field, X-ray diffraction spectroscopy, thermogravimetric analysis, Zeta potential analysis, ubbelohde viscosity measurement method, infrared spectroscopy were used to investigate the physical and chemical properties of purified polysaccharides, WVP-1 and WVP-2, including crystallizability, stability and viscosity; the cell antioxidant assay and AAPH-induced erythrocyte hemolysis assay were used to evaluate the antioxidant activity of WVP-1 and WVP-2. The results showed that WVP-1 and WVP-2 had few crystalline regions and existed mainly in amorphous form; the glass transition temperatures of WVP-1 and WVP-2 were 61.30 and 69.50 °C; their thermal decomposition temperatures were 290.50 and 308.50 °C; the zeta potential values were 9.60 and -18.50 mV; the intrinsic viscosities were  $5.33 \times 10^{-3}$  and  $3.80 \times 10^{-2}$  mL/mg; the degree of esterification of the pectin polysaccharide, WVP-2 was 15.00%. In addition, in the concentration range of 62.5~1000  $\mu\text{g/mL}$ , WVP-1 and WVP-2 could effectively inhibit the increase in the level of ROS induced by AAPH in HepG2 cells, and also protected effectively erythrocytes against AAPH attack and oxidative hemolysis. In summary, WVP-2 has better stability, viscosity and antioxidant activity than WVP-1, and WVP-2 is a pectin with low esterification degree, which can be used in the food field as a food additive and functional active ingredient.

**Key words:** Chinese water chestnut peels; purified polysaccharides; physicochemical properties; antioxidant

引文格式:

曾凡珂,潘蕾蔓,张祎,等.荸荠皮多糖的理化性质及抗氧化活性[J].现代食品科技,2022,38(3):82-88,+81

ZENG Fanke, PAN Leiman, ZHANG Yi, et al. Physicochemical Properties and antioxidant activities of the polysaccharides from Chinese water chestnut peels [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(3): 82-88, +81

收稿日期: 2021-06-01

基金项目: 中国博士后科学基金资助项目 (2019M662931)

作者简介: 曾凡珂 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: 380182248@qq.com

通讯作者: 吴晖 (1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: fehwu@scut.edu.cn; 共同通讯作者: 张猛猛 (1989-), 男, 博士, 研究方向: 天然产物的结构与功能活性, E-mail: zhangmm123@scut.edu.cn

荸荠 (*Eleocharis dulcis*) 也称作马蹄、凫茈和水栗等, 属于莎草科 (*Cyperaceae*) 水生植物<sup>[1]</sup>, 生长于热带和亚热带地区, 是中国南方地区的重要作物, 在广东和广西一带广泛分布, 通常指该植物的可食用部位, 也就是它的地下球茎。据统计, 在中国荸荠的年均产量超过  $1.0 \times 10^6$  t, 荸荠可用来生食、做菜肴或是生产淀粉。荸荠加工的副产物荸荠皮占到整个荸荠球茎质量的 20% 左右, 但在食品加工后通常被废弃或者充当饲料, 经济附加值低。

多糖可发挥抗氧化、抑菌、抗炎和提高免疫力等多种生物活性, 并且具有亲水性强、热稳定和粘度较大等特性, 因此在化妆品、食品和医药等领域有较好的应用前景<sup>[2]</sup>。水溶性多糖也是荸荠皮的重要组成部分, 但目前对荸荠皮多糖的研究较少, 尤其是对其结构和理化性质的研究还很缺乏, 活性方面也有关于荸荠皮粗多糖的抗氧化活性研究。本实验室前期已从荸荠皮中分离纯化出两种纯化的多糖组分 WVP-1 和 WVP-2, 并对二者的结构和直接清除自由基的能力进行了初步分析。结果表明, WVP-1 中可能同时含有线型和分支型多糖分子, 且具有类似支链淀粉的葡聚糖分子, WVP-2 为一种含有同型半乳糖醛酸聚糖 (HG) 结构的低糖醛酸、果胶类似物。二者均具有氧自由基吸收能力 (ORAC)<sup>[3]</sup>。在此基础上, 本研究继续探究 WVP-1 和 WVP-2 的晶体特性、热稳定性、Zeta 电位和粘度这些理化性质, 测定出 WVP-2 的酯化度, 并基于细胞抗氧化和红细胞溶血模型进一步探究荸荠皮纯化多糖的抗氧化能力。该研究结果可为充分开发利用荸荠皮资源, 开发新型多糖类产品提供一定的理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

荸荠皮收集自五山市场, 荸荠的产地为广东省韶关市乐昌市北乡镇; 荸荠皮纯化多糖组分 WVP-1 (中性多糖, 纯度 95.03%,  $M_w=3.16$  ku) 和 WVP-2 (酸性多糖, 纯度 91.61%, 糖醛酸含量 6.25%,  $M_w=56.97$  ku), 实验室自制; 肝癌细胞 HepG2, 实验室保存; 2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐 (AAPH), 上海源叶生物科技有限公司; 2',7'-二氯荧光二乙酸 (DCFH-DA), 美国 Sigma-Aldrich 公司; 抗凝羊血, 广州蕊特生物科技有限公司。其余试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

X'pert Power X 射线衍射仪, 荷兰帕纳科公司;

STA449F3 同步热分析仪, 德国耐驰公司; Horibasz-100Z 纳米颗粒分析仪, 日本 HORIBA 公司; Vertex 傅里叶变换红外光谱仪, 德国 Bruker 公司; SuPerMax3100 多功能酶标仪, 上海闪谱生物科技有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 X 射线衍射光谱 (XRD) 分析

参考易晓敏<sup>[4]</sup>的测定方法, WVP-1 和 WVP-2 的晶体结构由 X 射线衍射仪测得, 测定条件为: BB 聚焦光路, 扫描速度为  $12^\circ/\text{min}$ , 步长为  $0.013^\circ$ , 扫描范围  $2\theta$  为  $5^\circ \sim 70^\circ$ 。

#### 1.3.2 热特性分析

同步热分析仪对 WVP-1 和 WVP-2 进行热重和差式扫描量热分析。精确称取一定量的 WVP-1 和 WVP-2 样品, 置于坩埚中, 充入  $N_2$ , 从  $30^\circ\text{C}$  以  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  的速率升到  $500^\circ\text{C}$ 。

#### 1.3.3 Zeta 电位测定

配制浓度为  $0.5\text{ mg/mL}$  的 WVP-1 和 WVP-2 溶液, 目测可通过光, 用纳米颗粒分析仪测定  $25^\circ\text{C}$  下 WVP-1 和 WVP-2 的 Zeta 电位。

#### 1.3.4 特性粘度测定

将杨蕙<sup>[5]</sup>的方法稍作修改, 选择毛细管内径为  $0.3 \sim 0.4\text{ mm}$  的乌氏粘度计测定 WVP-1 和 WVP-2 的特性粘度。WVP-1 的测试浓度分别为  $4.00$ 、 $7.69$ 、 $11.11$  和  $14.29\text{ mg/mL}$ , WVP-2 的测试浓度分别为  $0.60$ 、 $1.15$ 、 $1.67$ 、 $2.14\text{ mg/mL}$ , 按照下列公式计算相关粘度:

$$\text{比浓粘度}/(\text{mL}/\text{mg}) = \frac{\text{增比粘度}}{\text{样品浓度}} = \frac{\text{相对粘度}-1}{\text{样品浓度}} = \frac{\frac{T_2}{T_1}-1}{\text{样品浓度}}$$

式中:

$T_1$ —蒸馏水流经两刻度线时间的平均值;

$T_2$ —各浓度多糖溶液流经两刻度线时间的平均值。

求出四个浓度下多糖溶液的各类粘度, 并以纵坐标和横坐标分别为比浓粘度和多糖溶液浓度作图, 拟合出回归直线与纵坐标的截距即为 WVP-1 和 WVP-2 的特性粘度。

#### 1.3.5 酯化度测定

WVP-2 酯化度的确定借助红外光谱法, 红外光谱仪中进行波数  $400 \sim 4000\text{ cm}^{-1}$  范围内的扫描。采用 Origin 2017 对波数  $1730$  和  $1640\text{ cm}^{-1}$  附近的特征吸收峰进行分峰拟合, 得到对应的峰面积, 就可计算出酯化度  $DE$ <sup>[6]</sup>:

$$DE/\% = \frac{A_{1730}}{A_{1640} + A_{1730}} \times 100\%$$

式中:

$A_{1640}$ ——1640  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰面积;

$A_{1730}$ ——1730  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰面积。

### 1.3.6 细胞抗氧化实验 (CAA, Cellular Antioxidant Activity)

参考张猛猛<sup>[7]</sup>的方法。测定终浓度为 62.5~1000  $\mu\text{g/mL}$  的 WVP-1 和 WVP-2 抑制 AAPH 诱发 HepG2 细胞内 ROS 水平升高的能力。

96 孔板每孔加入 100  $\mu\text{L}$   $6 \times 10^5$  cells/mL HepG2 悬液,并在 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  环境中孵育 1 d。1 d 过后,去除上清液,用磷酸盐缓冲溶液 PBS 清洗细胞数次。WVP-1 或 WVP-2 培养液和 DCFH-DA (50  $\mu\text{mol/L}$ ) 混合,加入 96 孔板,孵育 2 h。使用普通培养基作为阴性对照组。时间到后,取出细胞培养板,PBS 清洗,随后每孔加入 100  $\mu\text{L}$  AAPH 工作液 (600  $\mu\text{mol/L}$ ),

发射和激发波长分别为 485 nm 和 535 nm, 4 min 记录一次荧光强度,连续记录 1 h。每种样品设置 3 个重复孔。

### 1.3.7 抑制 AAPH 诱发的红细胞氧化溶血

参考孙崇臻<sup>[8]</sup>的方法。测定 WVP-1 和 WVP-2 对 AAPH 诱导红细胞氧化溶血的抑制能力, WVP-1 和 WVP-2 的作用浓度均为 62.5~1000  $\mu\text{g/mL}$ 。

测定 AAPH 诱导的氧化溶血率的过程中,分为阴性对照组、AAPH 组、样品保护组、毒性对照组和全溶血组,各组均取 200  $\mu\text{L}$  的红细胞悬液,分别与 200  $\mu\text{L}$  的 PBS、不同浓度的多糖溶液和蒸馏水混合,37  $^{\circ}\text{C}$ , 180 r/min 振荡 30 min 后,分别加入 400  $\mu\text{L}$  的 PBS、AAPH 溶液和蒸馏水,37  $^{\circ}\text{C}$ , 180 r/min 振荡 2 h,每管加入 5 mL PBS, 1200 r/min 离心 10 min。各组的试剂配方如表 1 所示。

表 1 测定氧化溶血率的试剂配方

Table 1 Reagent formula of the determination of hemolysis rate of oxidation

试剂/mL	阴性对照组	AAPH 组	样品保护组	毒性对照组	全溶血组
红细胞悬液	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
PBS	0.2	0.2	-	-	-
待测样品	-	-	0.2	0.2	-
蒸馏水	-	-	-	-	0.2
AAPH	-	0.4	0.4	-	-
PBS	0.4	-	-	0.4	-
蒸馏水	-	-	-	-	0.4

取上述各组的的上清液 200  $\mu\text{L}$  于 96 孔板中,测定波长 540 nm 下的吸光值,各组溶血率的计算公式如下:

$$\text{阴性对照组溶血率}/\% = \frac{A_a}{A_e} \times 100\%$$

$$\text{AAPH 组溶血率}/\% = \frac{A_b}{A_e} \times 100\%$$

$$\text{样品保护组溶血率}/\% = \frac{A_c}{A_e} \times 100\%$$

$$\text{毒性对照组溶血率}/\% = \frac{A_d}{A_e} \times 100\%$$

式中:

$A_a$ ——阴性对照组的吸光值;

$A_b$ ——AAPH 组的吸光值;

$A_c$ ——样品保护组的吸光值;

$A_d$ ——毒性对照组的吸光值;

$A_e$ ——全溶血组的吸光值。

### 1.3.8 数据处理

采用 SPSS 14.0 进行显著性差异分析,若  $p < 0.05$ ,则视为差异显著。采用 Origin 2017 和 Excel 进行数据制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 荸荠皮纯化多糖的理化性质

#### 2.1.1 X 射线衍射光谱 (XRD) 分析

多糖分子可以通过其上丰富的羟基形成氢键,在分子内和分子间产生连接,导致其呈现出不同程度的结晶排列以及无定型态和晶态之间的转变<sup>[9]</sup>。不同的结晶程度会导致多糖分子的拉伸强度、溶解性、形变程度和溶胀特性有差异,多糖多以非结晶的无定型或半结晶形态存在<sup>[10]</sup>。结晶程度较高的多糖拉伸强度较大,易于成膜,因此可用于制备可食性薄膜,而无定型态多糖作为药品或食品使用时,通常具有较好的溶解性和生物利用度,因此可用于开发食品微胶囊<sup>[11]</sup>。本研究采用 XRD 分析了 WVP-1 和 WVP-2 的结晶形态,结果如图 1 所示,在衍射角  $2\theta$  范围为  $5^{\circ} \sim 70^{\circ}$  时, WVP-1 和 WVP-2 衍射强度最高峰均出现在  $20.63^{\circ}$  左右,其峰形圆钝,峰强度较低,因此 WVP-1 和 WVP-2 中结晶区域的比例较少,主要以无定型态存在<sup>[4]</sup>。窦勇博<sup>[12]</sup>报道白芦笋下脚料多糖的 XRD 图谱衍射峰主

要集中在  $2\theta$  为  $20^\circ \sim 30^\circ$  范围内, 峰形与荸荠皮多糖接近, 结晶程度低, 溶解性较好, 因此用其开发的速溶固体饮料品质较好, 这暗示着荸荠皮多糖可能也具有这方面的应用价值。

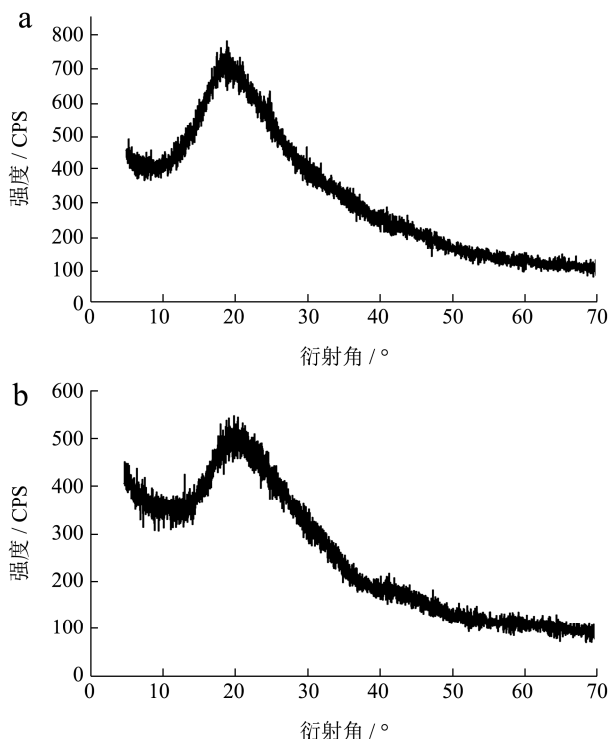


图1 WVP-1 (a) 和 WVP-2 (b) 的 X 射线衍射图

Fig.1 XRD patterns of WVP-1 (a) and WVP-2 (b)

### 2.1.2 热特性分析

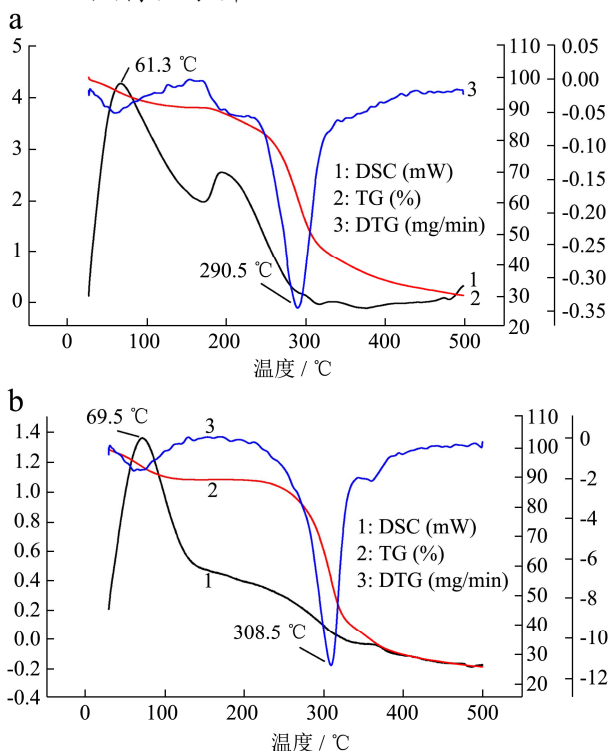


图2 WVP-1 (a) 和 WVP-2 (b) 的 TG、DTG、DSC 曲线

Fig.2 TG, DTH, DSC curves of WVP-1 (a) and WVP-2 (b)

温度的变化会对多糖的形态和结构产生影响, 进而影响多糖在贮藏过程中的稳定性以及加工性能。因此, 本研究利用 TG-DSC 分析 WVP-1 和 WVP-2 的热稳定性。玻璃化温度  $T_g$  为玻璃态和高弹态相互转变时的温度, 是物质发生软化前的最高温度, 而热分解温度对应分子中氢键、C-O 键和 C-C 键断裂速度最快时的温度<sup>[13]</sup>。如图 2 所示, 在  $30 \sim 500^\circ\text{C}$  的温度范围内, 荸荠皮多糖 WVP-1 和 WVP-2 的质量和热量变化主要经历两个阶段。WVP-1 的第一阶段为  $28.08 \sim 160.38^\circ\text{C}$ , 温度拐点即  $T_g$  为  $61.30^\circ\text{C}$ , WVP-2 的第一阶段为  $28.38 \sim 121.08^\circ\text{C}$ ,  $T_g$  为  $69.50^\circ\text{C}$ , 对应 DSC 曲线中的一个吸热峰。WVP-1 和 WVP-2 的  $T_g$  高于常温, 可见 WVP-1 和 WVP-2 在常温下均能维持在玻璃态, 在贮藏过程中可保持稳定。由 TG 曲线可知, WVP-1 在第一阶段的质量损失为 9.67%, 而 WVP-2 在第一阶段的质量损失为 10.61%, 这一部分的质量损失主要来自于结合水的散失<sup>[14]</sup>, 这说明冻干后的 WVP-2 可能比 WVP-1 具有更好的吸水和保水性。WVP-1 和 WVP-2 的第二阶段温度范围分别为  $160.38 \sim 346.78^\circ\text{C}$  和  $121.08 \sim 342.88^\circ\text{C}$ , 其中 WVP-1 的热分解温度为  $290.50^\circ\text{C}$ , WVP-2 的热分解温度为  $308.50^\circ\text{C}$ , 对应 DTG 曲线中的最小值且高于一般的热杀菌温度  $121^\circ\text{C}$ , 可见 WVP-2 在高温下比 WVP-1 具有更好的热加工稳定性。以上结果说明 WVP-1 和 WVP-2 具有良好的热稳定性。

### 2.1.3 Zeta 电位

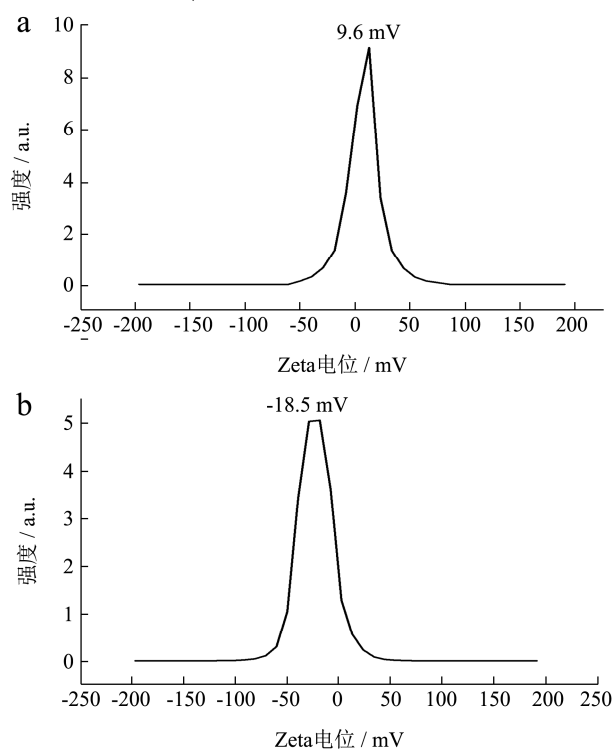


图3 WVP-1 (a) 和 WVP-2 (b) 的 Zeta 电位

Fig.3 Zeta potential of WVP-1 (a) and WVP-2 (b)

用于开发保健饮料的活性多糖通常需要其在水溶液中具有一定的稳定性,避免分子絮凝而降低产品的品质。Zeta 电位是反映溶液体系稳定性的重要指标,一般而言,Zeta 电位的绝对值增加,分子间的静电斥力增大,分子在体系中保持稳定分散。如图 3 所示,WVP-1 的 Zeta 电位为 9.60 mV,而 WVP-2 的 Zeta 电位为-18.50 mV,含有糖醛酸的酸性多糖的 Zeta 电位通常为负值<sup>[15]</sup>,这与 WVP-2 糖醛酸含量 6.25%的结构特征相一致。WVP-2 的 Zeta 电位的绝对值高于 WVP-1,说明 WVP-2 在水溶液中发生絮凝的趋势弱于 WVP-1,更加稳定。此外,溶液中多糖分子的带电情况会影响其形成多层纳米薄膜的性能,带电荷的多糖分子如皂荚种子中的半乳甘露聚糖易通过静电过程形成薄膜,其 Zeta 电位范围为-13.70~-2.10 mV,WVP-2 的 Zeta 电位绝对值更大,所带电荷量更多,暗示其在一定程度上也可用于制备纳米薄膜,进而用于食品、医药和化妆品等领域。

### 2.1.4 特性粘度

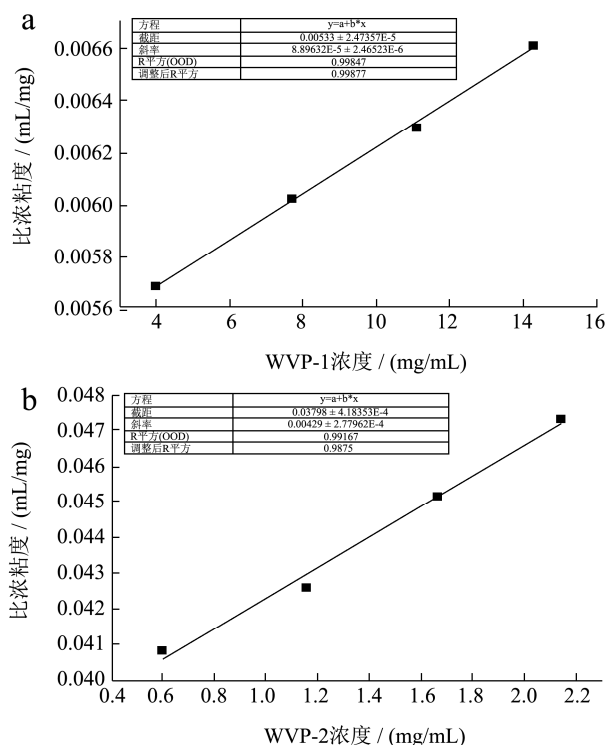


图4 WVP-1 (a) 和 WVP-2 (b) 浓度与比浓粘度的拟合曲线

Fig.4 Fitting curves between concentrations and specific viscosity of WVP-1 (a) and WVP-2 (b)

高粘度的多糖可作为增稠剂或胶凝剂,用于调整食品的流动性、可塑性和口感。图 4 为多糖溶液浓度与比浓粘度的拟合曲线,由其与纵坐标的截距可计算出 WVP-1 和 WVP-2 的特性粘度分别为  $5.33 \times 10^{-3}$  和  $3.80 \times 10^{-2}$  mL/mg。当聚合物的溶剂、温度一定时,特性粘度主要与聚合物的相对分子量有关<sup>[16]</sup>。WVP-2

的特性粘度要远大于 WVP-1,这可能与 WVP-2 的相对分子量 Mw (56.97 ku) 远大于 WVP-1 (3.16 ku) 有关<sup>[3]</sup>。蓝高爽<sup>[17]</sup>报道蒸玉竹和晒玉竹多糖的特性粘度分别为  $1.66 \times 10^{-2}$  和  $5.70 \times 10^{-3}$  mL/mg,并研制了玉竹山楂苹果复合饮料和复合多糖类保湿护肤剂,玉竹多糖与 WVP-1 和 WVP-2 的特性粘度较为接近,这说明荸荠皮多糖可能也具有作为饮料和化妆品添加剂的前景。

### 2.1.5 酯化度

根据本实验室前期对 WVP-2 的结构鉴定,发现其为一种类似果胶的多糖<sup>[3]</sup>。酯化度是果胶最基本的性质,高酯果胶形成凝胶需要添加大量的蔗糖,而低酯果胶形成凝胶主要依赖于游离羧基和  $Ca^{2+}$  形成“蛋盒”模型。因此,低酯果胶的使用利于制作低糖分、低能量和低甜味的食品,更加符合现代人对健康的追求。由 WVP-2 红外光谱(图 5)中  $1737.81 \text{ cm}^{-1}$  和  $1643.30 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰面积,计算出 WVP-2 的 DE 值为 15.00%。DE<50%的果胶属于低酯果胶。因此,WVP-2 可能具有类似低酯果胶的性质。目前我国具有丰富的高酯果胶资源,而低酯果胶的来源和含量较少。市面上低酯果胶的生产主要依赖于脱酯技术来自于柑橘皮和苹果皮中的高酯果胶转化为低酯果胶<sup>[18]</sup>。已报道的低酯果胶的天然来源有薜荔籽 (DE 14.20%,糖醛酸含量 85.47%)、豆腐柴叶 (DE 14.90%,糖醛酸含量 65.48%),其果胶均有较强的胶凝度<sup>[19]</sup>。因此,荸荠皮有可能作为一种新型的低酯果胶类似物来源。

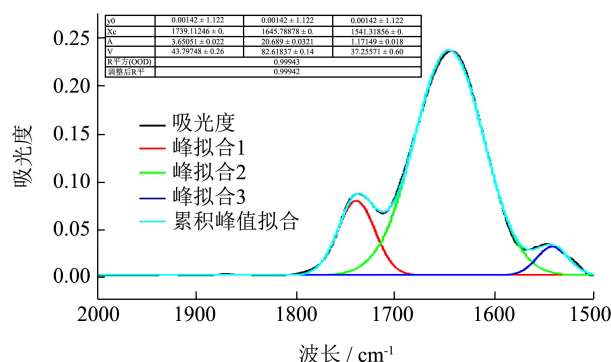


图5 WVP-2 红外光谱中酯基和羧基峰分峰拟合

Fig.5 Peak fitting of ester and carboxyl group bands in FT-IR spectrum of WVP-2

## 2.2 荸荠皮多糖抗氧化能力

### 2.2.1 细胞抗氧化能力

CAA 法比直接清除化学类自由基的模型更接近生物机体水平。荧光探针 DCFH-DA 进入细胞后被细胞酯酶分解为 DCFH, AAPH 诱发的过氧自由基攻击细胞,使细胞质内的 ROS 水平升高,DCFH 被氧化为



荧光物 DCH。因此,细胞的荧光强度越大,其中的 ROS 水平越高。从图 6 可知,添加 WVP-1 和 WVP-2 后,AAPH 诱发 ROS 水平随时间推移而增加的速度有所减缓。浓度在 500~1000  $\mu\text{g/mL}$  时,WVP-1 抑制细胞内产生 ROS 的效果较好。在较低浓度条件下 (125~250  $\mu\text{g/mL}$ ),WVP-2 抑制细胞内产生 ROS 的能力要强于 WVP-1,说明 WVP-2 可能比 WVP-1 具有更好的抗氧化活性。低分子量,高半乳糖、糖醛酸和  $\beta$ -构型比例的多糖通常具有较好的抗氧化活性<sup>[20]</sup>,WVP-1 的分子量较低但糖醛酸、半乳糖和  $\beta$ -构型的比例低于 WVP-2,这可能是导致二者抗氧化能力不同的原因。针对 CAA 模型中多糖的抗氧化机理,实验过程中 WVP-1 或 WVP-2 并未与 AAPH 直接发生相互作用,此外多糖样品作为生物大分子,进入细胞内的效率低,因此抗氧化机理不太可能是多糖直接清除细胞内外的自由基。多糖可能是通过与细胞膜上的特定受体结合后形成保护膜或是诱发细胞内一系列的抗氧化通路从而发挥抗氧化功能的。

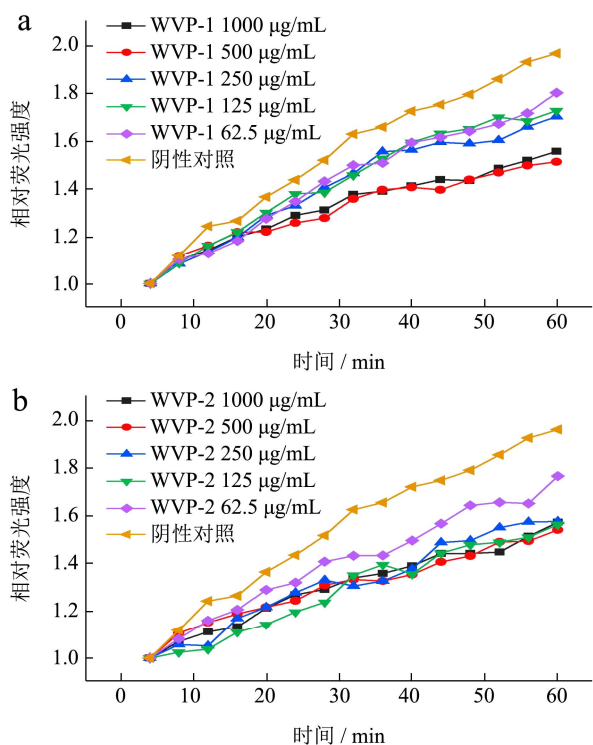


图 6 WVP-1 (a) 和 WVP-2 (b) 对 CAA 模型内 ROS 水平的影响  
Fig.6 Effect of WVP-1 (a) and WVP-2 (b) on ROS level in the CAA model

### 2.2.2 抑制 AAPH 诱发的红细胞氧化溶血

红细胞细胞膜受到自由基的攻击后发生脂质氧化破裂,造成溶血现象。如图 7 所示,在没有抗氧化剂保护时,红细胞遭受 AAPH 攻击而破裂溶血的比率达到 49.02%。无 AAPH 存在时,62.5~1000  $\mu\text{g/mL}$  各浓度下 WVP-1 和 WVP-2 导致的溶血率与阴性对照组之

间均无显著差异 ( $p>0.05$ ),说明该浓度范围内的 WVP-1 和 WVP-2 不会导致红细胞膜破裂。与 AAPH 组相比,除 1000  $\mu\text{g/mL}$  的 WVP-1 外,62.5~1000  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内的 WVP-1 和 WVP-2 均能显著抑制 AAPH 诱发红细胞氧化溶血,红细胞破裂溶血的比率显著降低 ( $p<0.05$ ),并且二者均在 500  $\mu\text{g/mL}$  时抑制氧化溶血的效果最好,溶血率分别下降了 4.39%和 6.51%,WVP-2 在 62.5、250、500 和 1000  $\mu\text{g/mL}$  时抑制氧化溶血的能力显著强于 WVP-1 ( $p<0.05$ )。与 CAA 模型不同的是,红细胞内没有 DNA,不涉及抗氧化通路,在一定程度上说明多糖在细胞水平中发挥抗氧化能力可能并不需要通过细胞内的相关信号表达,而可能通过形成保护膜从而阻止存在于细胞外部的自由基通过氧化分解细胞膜导致的氧化损伤。

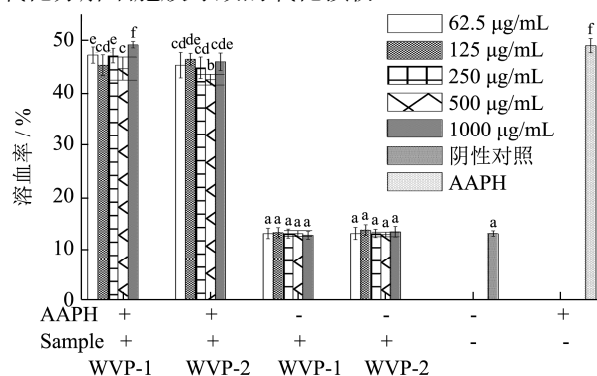


图 7 WVP-1 和 WVP-2 对 AAPH 诱发红细胞氧化溶血的影响  
Fig.7 Effect of WVP-1 and WVP-2 on the AAPH-induced erythrocytes hemolysis

注:每个柱形之间无相同字母时差异显著 ( $p<0.05$ )。

### 3 结论

荸荠皮纯化多糖组分 WVP-1 和 WVP-2 具有较好的热稳定性和粘度特性等理化性质,在食品、医药和化妆品等领域可能具有一定的应用潜力。此外,WVP-1 和 WVP-2 在细胞水平上表现出一定的抗氧化能力,并且 WVP-2 的抗氧化能力强于 WVP-1,在营养与健康领域有一定的应用前景。

### 参考文献

[1] 高志明,罗杨合,陈振林.荸荠皮的加工利用研究进展[J].食品安全导刊,2015,27:143  
GAO Zhiming, LUO Yanghe, CHEN Zhenlin. Research progress on procession and utilization of Chinese water chestnut peels [J]. China Food Safety, 2015, 27: 143  
[2] YU Yue, SHEN Mingyue, SONG Qianqian, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: a review [J]. Carbohydrate Polymers,

- 2018, 183: 91-101
- [3] ZENG Fanke, CHEN Wenbo, HE Ping, et al. Structural characterization of polysaccharides with potential antioxidant and immunomodulatory activities from Chinese water chestnut peels [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 246: 116551
- [4] 易晓敏.猴头菇多糖的分离纯化、表征及其功能活性研究[D].广州:华南理工大学,2017
- YI Xiaomin. Isolation, purification, structural characterization and functional activity of *Hericium erinaceus* polysaccharide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017
- [5] 杨蕙.不同脱酯方法制备低酯果胶及其对大豆蛋白溶液的稳定化作用[D].无锡:江南大学,2017
- YANG Hui. Preparation of low methoxyl pectin de-esterified by different methods and its stabilization effect on soybean protein solution [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017
- [6] Mzoughi Z, Abdelhamid A, Rihouey C, et al. Optimized extraction of pectin-like polysaccharide from *Suaeda frutescens* leaves: characterization, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic activities [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 185: 127-137
- [7] 张猛猛.玛咖根部多糖的结构鉴定及免疫调节活性的研究[D].广州:华南理工大学,2019
- ZHANG Mengmeng. Structural identification and the immunological activity of polysaccharides from maca root (*Lepidium meyenii* Walp) [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019
- [8] 孙崇臻.桑叶抗氧化肽的酶法制备、结构鉴定及免疫活性分析[D].广州:华南理工大学,2017
- SUN Chongzhen. Enzymatic preparation, structural identification and the immunological activity of antioxidant peptides isolated from mulberry leaf protein [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017
- [9] Sivakumar N, Karuppaiyan K. Extraction and characterization of water-soluble polysaccharides from *Tamarindus indica* and *Pithecellobium dulce* seeds [J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2020, 43: 1-17
- [10] WU Changzong, ZHAO Meimei, BU Xueying, et al. Preparation, characterization, antioxidant and antiglycation activities of selenized polysaccharides from blackcurrant [J]. *RSC Advances*, 2020, 10: 32616-32627
- [11] 施秦,蔡挺.无定形态药物结晶行为的研究进展[J].中国药科大学学报,2017,48(6):654-662
- SHI Qin, CAI Ting. Recent progress on crystallizations of amorphous pharmaceutical solids [J]. *Journal of China Pharmaceutical University*, 2017, 48(6): 654-662
- [12] 杨莉,陈文宁,郑娟霞,等.海藻多糖的提取、分离纯化及其在食品工业的应用 [J].食品工业科技,2021,9:365-372
- YANG Li, CHEN Wenning, ZHENG Juanxia, et al. Extraction, isolation and purification of seaweed polysaccharide and its application in food industry [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020: 1-27
- [13] 窦勇博.白芦笋下脚料多糖提取、结构表征及其应用研究[D].济南:齐鲁工业大学,2020
- DOU Yongbo. Study on extraction, structural characterization and application of polysaccharides from white asparagus processing waste [D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2020
- [14] 伍芳芳.猴头菇多糖的结构表征、免疫调节活性及其机理研究[D].广州:华南理工大学,2018
- WU Fangfang. Structural characterization, immunomodulatory activities and underlying mechanism of *Hericium erinaceus* polysaccharide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018
- [15] 王丽.木瓜籽油的提取及其籽粕多糖结构和应用特性研究[D].郑州:郑州大学,2017
- WANG Li. Study on extraction of Chinese quince seed oil and structure and application characteristics of seed polysaccharide [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2017
- [16] HUANG Fei, LIU Yang, ZHANG Ruifen, et al. Chemical and rheological properties of polysaccharides from litchi pulp [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 112: 968-975
- [17] 韩铨.茶树花多糖的提取、纯化、结构鉴定及生物活性的研究[D].杭州:浙江大学,2011
- HAN Quan. Isolation, purification, structure characterization and bioactivity of tea flower polysaccharide [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011
- [18] 蓝高爽.玉竹多糖的理化性质及其活性研究[D].天津:天津大学,2012
- LAN Gaoshuang. Studies on the physicochemical properties and bioactivities polysaccharides from *Polygonatum odoratum* [D]. Tianjin: Tianjin University, 2012
- [19] 李瑞华.低酯果胶制取及其特性研究[D].郑州:河南工业大学,2019
- LI Ruihua. Research on the preparation and characteristics of low-ester pectin [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2019