

蓝斑背肛海兔卵多糖的理化界面性质比较

尹昕^{1,2}, 彭飞², 刘雪菲丹¹, 高炳淼¹, 杨涛^{1*}

(1. 海南医学院药学院, 海南海口 571199) (2. 南昌大学食品学院, 江西南昌 330047)

摘要: 该研究探索了蓝斑背肛海兔卵多糖 (*Notarchus leachii freeri* Eggs, NLFE) 的结构特征、理化性质及界面性质。依次通过冷水浸提和热水浸提法制备蓝斑背肛海兔卵多糖; 采用化学组成分析和苯酚-硫酸法分别测定其多糖的化学组成和含量; 利用 X-射线衍射技术 (XRD) 和傅里叶红外光谱技术 (FT-IR) 对多糖结构进行表征; 进一步, 采用传统的均质法研究该多糖的界面性质 (包括起泡性质和乳化性质)。实验结果显示, 热水浸提法处理蓝斑背肛海兔卵的多糖提取率高于冷水浸提法, 得率分别为 16.31% 和 12.52%, 且这两种提取物均是由多糖和少量蛋白质组成的具有半结晶结构的无定型物, 其多糖含量分别高达 84.73 和 85.46%。随着 pH 值的升高, 冷水提多糖的起泡指数逐渐降低 (从 270% 降低到 180%), 但显著高于热水提多糖, 泡沫稳定性平均为 55.85% 均低于热水提多糖 (平均值为 92.47%); 与冷水提多糖稳定的乳液相比, 热水提多糖制备的乳液在不同条件下粒径更小, 更有利于形成稳定的乳液。综上所述, 蓝斑背肛海兔卵多糖具有一定的起泡能力和乳液稳定能力。该研究旨在为蓝斑背肛海兔卵多糖的开发利用提供理论参考。

关键词: 蓝斑背肛海兔卵; 多糖; 结构分析; 起泡性质; 乳化性质

文章编号: 1673-9078(2024)09-169-177

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.9.0963

Comparison of the Physicochemical and Interfacial Properties of the Polysaccharides from *Notarchus leachii freeri* Eggs

YIN Xin^{1,2}, PENG Fei², LIU Xuefeidan¹, GAO Bingmiao¹, YANG Tao^{1*}

(1. School of Pharmacy, Hainan Medical University, Haikou 571199, China)

(2. School of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: The structural characteristics, physicochemical properties, and interfacial properties of the polysaccharide from *Notarchus leachii freeri* eggs (NLFE) were studied in this work. Polysaccharides from NLFE were prepared by cold water extraction and hot water extraction, respectively. The chemical composition analysis and phenol-sulfuric acid method were used to determine the chemical composition and content of the polysaccharide; the structure of polysaccharide was characterized by X-ray diffraction (XRD) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). Furthermore, the interfacial properties (including foaming properties and emulsifying properties) of the polysaccharides were studied by the traditional homogenization method. The results experimental showed that the extraction rate of the polysaccharide from NLFE treated by the hot water extraction was higher than that by the cold water extraction, with their extraction rates being 16.31% and 12.52%, and both extracts were amorphous substances composed of polysaccharides and a small amount of protein with a semi-crystalline structure. With the increase of pH value, the foaming index of cold water extracted polysaccharides gradually decreased (from 270% to 180%), but significantly higher than hot water extracted polysaccharides, the foam stability average was 55.85% which was lower than hot water extracted polysaccharides (average value was 92.47%); compared with the emulsion stabilized by cold water extracted polysaccharides, the emulsion prepared by hot water extracted polysaccharides had smaller particle size under different conditions, which was more conducive to forming a stable emulsion. In conclusion, polysaccharides from *Notarchus leachii freeri* eggs have certain foaming and emulsion stability capabilities. This study aims to provide theoretical reference for the development and utilization of polysaccharides from *Notarchus leachii freeri* eggs.

尹昕, 彭飞, 刘雪菲丹, 等. 蓝斑背肛海兔卵多糖的理化界面性质比较[J]. 现代食品科技, 2024, 40(9): 169-177.

YIN Xin, PENG Fei, LIU Xuefeidan, et al. Comparison of the physicochemical and interfacial properties of the polysaccharides from *Notarchus leachii freeri* eggs [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 169-177.

收稿日期: 2023-08-14

基金项目: 海南省科技专项 (ZDYF2022SHFZ289); 海南省自然科学基金项目 (821QN253)

作者简介: 尹昕 (2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 1534466502@qq.com

通讯作者: 杨涛 (1986-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品胶体, E-mail: taoyang@hainmc.edu.cn

12.52%, respectively. Both extracts were semi-crystalline amorphous substances composed of polysaccharides and a small amount of protein with their polysaccharide contents up to 84.73 and 85.46%, respectively. With the increase of pH level, the foaming index of the polysaccharide extracted by the cold water gradually decreased (from 270% to 180%, which were still significantly higher than those for the hot water method), and their foam stability was 55.85% on average (which was lower than that for the hot water extraction method i.e. 92.47% on average). Compared with the emulsion stabilized by the polysaccharides extracted via cold water extraction, the emulsion stabilized by the polysaccharides obtained via hot water extraction had a smaller particle size under various conditions, thereby being more conducive to the formation of a stable emulsion. In summary, the polysaccharide obtained from NLFE demonstrates certain foaming ability and emulsion stabilizing ability. This study aims to offer a theoretical reference for the development and utilization of polysaccharides derived from NLFE.

Key words: *Notarchus leachii freeri* eggs; polysaccharide; structural analysis; foaming properties; emulsifying properties

蓝斑背肛海兔 (*Notarchus leachii freeri*), 属软体动物门 (Mollusca)、腹足纲 (Gastropoda)、中后鳃亚纲 (Opisthobranchia)、无楯目 (Anaspiidea)、海兔科 (Aplysiidae), 分布于世界的暖海区域, 在我国主要存在于东海和南海海域^[1], 生活环境为水流清澈通畅、海藻茂密的海湾。蓝斑背肛海兔为杂食动物, 主要以各种海藻为食, 也捕食一些小型甲壳类生物^[2], 它的卵群带, 营养丰富味道鲜美, 具有清热解毒、润肺止咳、软坚散结等功效^[3,4], 是上等的海味珍品, 深受人们喜爱, 并被称之为“海粉”。海粉在亚洲国家被用作中药, 也是传统的营养食物来源^[5,6]。

广泛存在于生物体中的多糖是中药的关键活性成分之一, 是一类以醛糖或者酮糖为单元, 通过糖苷键连接而成的大分子物质。因其具有包括抗氧化、免疫调节、抗肿瘤、抗凝血剂、抗糖尿病和抗菌等多种功效而被广泛研究^[7]。由于海洋生物与陆生生物的生活环境存在差异, 使得海洋生物中多糖的合成与积累不同, 因而赋予了其独特的生物活性。截止目前, 已从海兔中分离到了多肽、蛋白质、多糖和小分子次生代谢物等活性成分^[8-13]。孙玉林等^[1]对蓝斑背肛海兔卵的营养成分进行了分析评价, 揭示其干物质中含有大量的多糖, 但目前对于蓝斑背肛海兔卵多糖的研究还是知之甚少, 仅 Pan 等^[14]通过盐提取法, 从蓝斑背肛海兔卵中分离出了一种纯多糖组分, 并分析了其结构、免疫调节和抗氧化活性。

因此, 本文以蓝斑背肛海兔卵 (*Notarchus leachii freeri* Eggs) 为原料, 依次采用冷水和热水浸提法获得了两种多糖, 并对其化学组成、结构特征和界面性质 (包括起泡性和乳化性) 等进行了研

究, 旨在为蓝斑背肛海兔卵多糖的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蓝斑背肛海兔卵于 2021 年 4 月采集于海南省临高县新盈镇领昌礁滩涂, 清洗干净后, 冷冻干燥, 备用。

正丁醇、三氯乙酸、氯仿、无水乙醇、正己烷、氢氧化钠等 (均为分析纯), 广东西陇科学股份有限公司; 盐酸 (分析纯), 广东西陇化工股份有限公司; 十二烷基磺酸钠 (分析纯), 北京索莱宝科技有限公司; 溴化钾 (光谱纯), 上海麦克林生化科技公司。

1.2 仪器与设备

DS-101S 恒温加热磁力搅拌器, 上海力辰邦西仪器科技有限公司; pH 计, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; GR22G111 型低温高速离心机, 日本日立公司; SCIENTZ-18N 冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技有限公司; TP-1200C 电子天平, 湘仪天平仪器设备有限公司; ACS-10 kg 电子计重秤, 永康市五鑫横器公司; R0DI-160B1 纯水仪, 厦门锐思捷水纯化技术有限公司; CX41+DP21 型生物显微镜, 奥林巴斯工业有限公司; 800A 中药粉碎机, 永康市红太阳机电有限公司; XHF-DY 型高速分散器, 宁波新芝生物科技有限公司; Ultima IV 多晶 X 射线衍射仪, 日本理学公司; Vector 70 傅里叶变换红外光谱仪, 德国 Bruker 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 蓝斑背肛海兔卵原料预处理

将冷冻干燥后的蓝斑背肛海兔卵, 置于中药粉

碎机中粉碎并过 60 目筛后, 按料液比 1:10 (m/V) 与有机溶剂 (正己烷与乙醇体积比为 4:1) 混合均匀, 置于 4 °C 环境中搅拌 8 h 进行脱脂处理, 重复该步骤 2~3 次, 回收有机溶剂, 在室温下通风干燥, 得到脱脂蓝斑背肛海兔卵粉末, 保存备用。

1.3.2 不同方法提取蓝斑背肛海兔卵多糖

1.3.2.1 冷水提取法

准确称取 100 g 脱脂蓝斑背肛海兔卵粉末, 按料液比 1:50 (m/V) 加入蒸馏水, 于常温搅拌 4 h 后离心 (8 000 r/min, 20 min), 取上清液 (滤渣备用) 冷冻干燥 (-54 °C, 1 Pa), 然后蒸馏水复溶, 再搅拌加入 4 倍体积无水乙醇进行醇沉, 静置过夜后离心 (8 000 r/min, 10 min), 收集沉淀冷冻干燥得冷水提蓝斑背肛海兔卵粗多糖^[15]。

1.3.2.2 热水提取法

在冷水提取法的基础上, 略有修改。取冷水提取多糖后的滤渣, 按料液比 1:50 (m/V) 加入蒸馏水于 100 °C 恒温搅拌浸提 4 h, 重复后续方法得热水提蓝斑背肛海兔卵粗多糖^[15]。

1.3.3 脱蛋白处理

1.3.3.1 Sevage法

配制 Sevage 试剂 (氯仿: 正丁醇 = 4:1) 和浓度为 20 mg/mL 的粗多糖溶液, 按 1:4 (V/V) 混合震荡 15 min 后, 离心 (9 000 r/min, 10 min) 取上清液至分液漏斗, 收集水层, 重复操作四次。对收集的水层离心 (9 000 r/min, 10 min), 取上清液冷冻干燥 (-54 °C, 1 Pa) 至恒重^[16]。

1.3.3.2 TCA法

为了更彻底的脱除 Sevage 法处理后粗多糖中残留的蛋白质。参考 Ding 等^[17]的方法, 再使用 TCA 法进行脱蛋白处理。首先, 配制为 20 mg/mL 的粗多糖溶液, 按 1:1 (V/V) 混合 5% 三氯乙酸溶液和粗多糖溶液, 于 4 °C 静置 6 h 以上。用高速离心机以 8 000 r/min, 20 min 离心, 收集上清液。调节 pH 至 7.0, 再搅拌加入四倍体积无水乙醇, 静置 4 h 以上, 进行醇沉, 减压抽滤醇沉产物用无水乙醇洗涤 3 次后, 冷冻干燥 (-54 °C, 1 Pa) 至恒重, 制得两种蓝斑背肛海兔卵多糖。

1.3.4 蓝斑背肛海兔卵多糖的化学组成

1.3.4.1 蓝斑背肛海兔卵多糖得率的测定

多糖得率按照公式 (1) 计算。

$$B = \frac{G}{G_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

B ——多糖得率 (PY), %;

G ——蓝斑背肛海兔卵多糖冻干粉质量, g;

G_0 ——蓝斑背肛海兔卵质量, g。

1.3.4.2 蓝斑背肛海兔卵多糖基本组分的测定

蓝斑背肛海兔卵多糖基本组分水分含量采用 GB 5009.3-2016《食品中水分的测定》烘干比重法; 蛋白质含量测定采用 GB 5009.5-2016《食品中蛋白质的测定》凯氏定氮法测定; 脂质含量测定采用 GB/T5009.6-2016《食品中脂肪的测定》索氏提取法; 灰分含量测定采用 AOAC 公定法; 碳水化合物含量测定采用差减法; 总糖含量测定采用苯酚-硫酸法。

1.3.5 蓝斑背肛海兔卵多糖的结构特征

1.3.5.1 XRD分析

取蓝斑背肛海兔卵原料和蓝斑背肛海兔卵多糖进行晶体结构表征, 参数设置: 电压 40 kV, 电流 30 mA, 扫描速度 4 °/min (2θ), 扫描范围 5°~60°^[7]。

1.3.5.2 傅里叶变换红外光谱分析

称取样品 2 mg 与溴化钾粉末 (98 mg) 混合后, 用压片机压至 (直径为 10 mm) 的样品薄片, 用 Vector 80 红外光谱仪在 400~4 000 cm^{-1} 范围内扫描^[7]。

1.3.6 蓝斑背肛海兔卵多糖的泡沫性质

参考 Malomo 等^[18]的方法, 稍作修改。配制质量分数为 1.0 wt.% 的两种多糖溶液, 置于 4 °C 的冰箱中水化过夜。通过滴加 1.0 mol/L HCl 或 NaOH 将溶液 pH 值调节为 3.0、5.0、7.0 和 9.0。分别取 10 mL 多糖溶液用高速分散器在 25 °C、10 000 r/min 分散 2 min, 记录 0 min 和 30 min 时的泡沫体积。起泡能力指数和泡沫稳定性指数按公式 (2) 和 (3) 计算。

$$F_A = \frac{V_0}{V} \times 100\% \quad (2)$$

$$F_S = \frac{V_1}{V_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

F_A ——起泡能力指数, %;

F_S ——泡沫稳定性指数, %;

V_0 ——0 min 多糖泡沫体积, mL;

V_1 ——30 min 多糖泡沫体积, mL;

V ——多糖溶液的初始体积, 10 mL。

表 1 蓝斑背肛海兔卵及其多糖的化学组成

Table 1 Chemical composition of *Notarchus leachii freeri* eggs and its polysaccharides

样品	水分/%	脂肪/%	灰分/%	蛋白质/%	多糖/%	得率/%
蓝斑背肛海兔卵	16.44 ± 1.42 ^a	5.67 ± 0.53 ^a	16.78 ± 3.71 ^a	31.2 ± 2.47 ^a	24.40 ± 1.47 ^b	—
冷水提多糖	5.09 ± 0.91 ^b	0.62 ± 0.21 ^b	1.83 ± 0.31 ^b	2.82 ± 0.57 ^b	85.46 ± 2.97 ^a	12.52 ± 1.12 ^b
热水提多糖	5.61 ± 1.21 ^b	0.53 ± 0.12 ^b	1.95 ± 0.53 ^b	3.50 ± 0.61 ^b	84.73 ± 1.08 ^a	16.31 ± 0.91 ^a

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

1.3.7 蓝斑背肛海兔卵多糖稳定的乳液制备及乳液性质表征

1.3.7.1 乳液的制备

在不同多糖质量分数 (0.25 wt%、0.5 wt%、1.0 wt% 和 2.0 wt%)、不同比例纯化大豆油 ($\phi=0.1\sim 0.4$) 和不同 pH 值 (3.0、5.0、7.0 和 9.0) 条件下制备乳液。混合多糖溶液和纯化大豆油用高速均质机在 20 000 r/min 下剪切 120 s, 即制成乳液, 并保存在 4 °C 的冰箱中^[19]。

1.3.7.2 乳液的性质表征

用生物显微镜观察乳液的微观结构, 取上述乳液, 分别用去离子水和 1.0 wt% SDS 溶液稀释五倍后, 滴至双凹载玻片中观察记录^[19]。

用粒径分布计算软件 (Nano Measurer 1.2) 测量 1.0 wt% SDS 溶液稀释五倍后约 300 个油滴的粒径, 并计算体积平均粒径 ($d_{4,3}$) 和表面积平均粒径 ($d_{3,2}$)^[19]。

1.3.8 数据处理

使用 Origin 2021 绘制图形, 数据以平均值 ± 标准差表示。

2 结果与讨论

2.1 蓝斑背肛海兔卵多糖的化学组成和提取得率

多糖的得率及其化学组成是评价多糖提取方法最直接的考察指标。如表 1 可知蓝斑背肛海兔卵及其两种多糖的主要化学组成和提取得率。由表 1 可知, 蓝斑背肛海兔卵富含蛋白质和多糖, 其分别约占 32.27% 和 24.41%; 所提取的两种多糖的化学组成并无显著差异, 通过冷水提多糖和热水提多糖提取的多糖得率分别为 12.52% 和 16.31%, 且多糖纯度分别高达 85.46 wt% 和 84.73 wt%。其中热水提多糖的得率显著地高于冷水提多糖, 这可能是热水促使蓝斑背肛海兔卵组织膨胀破裂、细胞壁软化, 便于多糖分子释放, 说明进一步热水浸提有

利于提取更多的多糖。水提法是提取多糖的传统方法^[20], 虽然操作方便但提取效率低于其他复合方法如酶辅助提取法或者超声辅助提取法^[21]。

2.2 蓝斑背肛海兔卵多糖的结构特征

2.2.1 XRD 分析

XRD- 射线衍射技术通常用于分析多糖的晶体结构, 通过不同组织结构对 X 射线的吸收或散射而产生的衍射图来获取信息。如图 1 所示, 蓝斑背肛海兔卵的 XRD 衍射图存在较宽衍射峰和尖锐的窄衍射峰, 说明蓝斑背肛海兔卵可能是一种混合物, 在 2θ 约为 20.7° 和 26.6° 处显示出明显的衍射峰, 这可能是蓝斑背肛海兔卵中有海水无机质如碳酸钙等残留导致的。而两种多糖在 2θ 为 $20^\circ\sim 30^\circ$ 之间均有一个峰宽较宽衍射峰, 在 2θ 为 7° 左右有微弱的肩峰, 所以两种多糖都为低结晶物质。与 Ji 等^[22]从枣木藻中分离纯化得到的多糖 XRD- 射线结果一致, 大多呈现为结晶和半结晶结构的无定型物质。因此, 证实了蓝斑背肛海兔多糖的结构中既有结晶部分又有无定形部分^[23]。

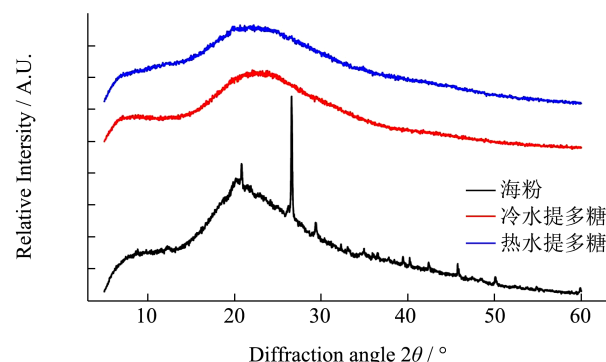


图 1 蓝斑背肛海兔卵和蓝斑背肛海兔卵多糖的 XRD 衍射图谱

Fig.1 XRD pattern of *Notarchus leachii freeri* eggs and its polysaccharides

2.2.2 傅里叶红外光谱分析

通常红外光谱技术可以分析多糖的糖苷键类型和官能团的构成。通过比对两种提取方法获得多糖

的红外光谱图, 可以判断提取方法对多糖结构的影响。图 2 所示, 在 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 的范围内, 蓝斑背肛海兔卵和两种多糖显示出相似的特征吸收峰, $1\,664\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,540\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰, 说明其中存在蛋白质的酰胺 I 和酰胺 II, 所以光谱图显示为蛋白质-多糖混合物的特征峰^[24]。三个样品在 $3\,450\text{ cm}^{-1}$ 为中心处均有较宽的吸收峰, 归属为多糖链上羟基 (-OH) 或者羟基之间氢键的拉伸和变性振动产生^[25]; 在 $2\,920\text{ cm}^{-1}$ 和 $2\,848\text{ cm}^{-1}$ 附近出现的吸收峰, 是多糖亚甲基 (-CH) 的不对称和对称伸缩振动^[26]。在 $1\,300\sim 1\,500\text{ cm}^{-1}$ 范围内观察到的吸收峰归因于 C-H 键的伸缩振动; $1\,000\sim 1\,200\text{ cm}^{-1}$ 处的广泛吸收峰, 说明样品中存在 -C-O-、C-C 的伸缩振动和 C-OH 弯曲振动, 其中 $1\,030\text{ cm}^{-1}$ 附近的一个弱吸收峰为蓝斑背肛海兔卵中糖苷键 (C-O-C) 伸缩振动的特征峰。此外, 在 $800\sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 的吸收带表示蓝斑背肛海兔卵多糖中含有吡喃糖环^[27]。而 897 cm^{-1} 处的特征峰, 说明蓝斑背肛海兔卵的糖单元之间具有 β -糖苷键^[18]。基于以上分析, 两种不同提取方法得到的多糖为含有 β -糖苷键的吡喃糖结构。样品的基本组成分析与上述信息描述一致, 虽经过脱蛋白处理, 但仍然具有少量无法完全脱干净的蛋白质。初步推断, 本研究提取的多糖为天然存在的多糖-蛋白复合物。因此, 这种含有少量蛋白质的多糖复合物理论上应该具有良好的起泡性质和乳化性质, 多糖的天然相互作用能提高蛋白质的乳化性能而形成稳定的乳液, 具有成为天然乳化剂的潜力。

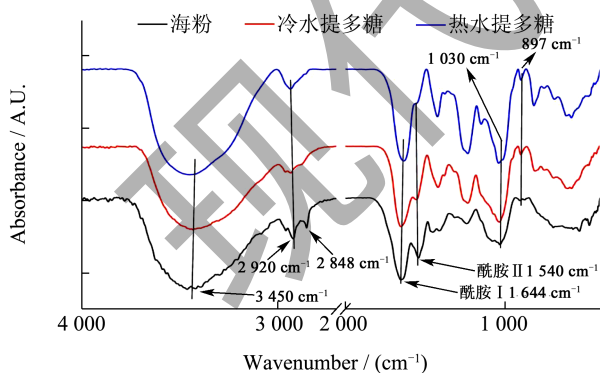


图 2 蓝斑背肛海兔卵和蓝斑背肛海兔卵多糖的傅里叶红外光谱图

Fig.2 Fourier transform infrared spectra of *Notarchus leachii freeri* eggs and its polysaccharides

2.3 蓝斑背肛海兔卵多糖的起泡性质

蛋白质是一种良好的起泡剂, 这是因其可以吸附在气水界面上形成具有一定机械强度和良好黏弹

性的界面膜^[28]。本研究提取的蓝斑背肛海兔卵多糖为多糖-蛋白复合物, 可以通过对起泡能力指数和泡沫稳定性指数的大小, 来评估两种蓝斑背肛海兔卵多糖的起泡性质。如图 3 所示, 随着 pH 值从 3.0 增加到 9.0, 冷水提多糖的起泡能力指数从 270% 降低到 180%, 但明显高于热水提多糖的起泡能力指数; 两种多糖在不同 pH 值下泡沫稳定性变化不大, 平均值为 55.85% 和 92.47%; 在 pH 值为 3.0 和 5.0 时, 冷水提多糖和热水提多糖泡沫稳定性分别达到最大值 66.72% 和 95.81%, 但热水提多糖的泡沫稳定性均高于冷水提多糖。从以上结果可以看出, 高温提取过程会造成其中蛋白质的变性而降低起泡能力, 但使得液膜表面粘弹性提高, 让多糖溶液的泡沫稳定性更好^[29]。

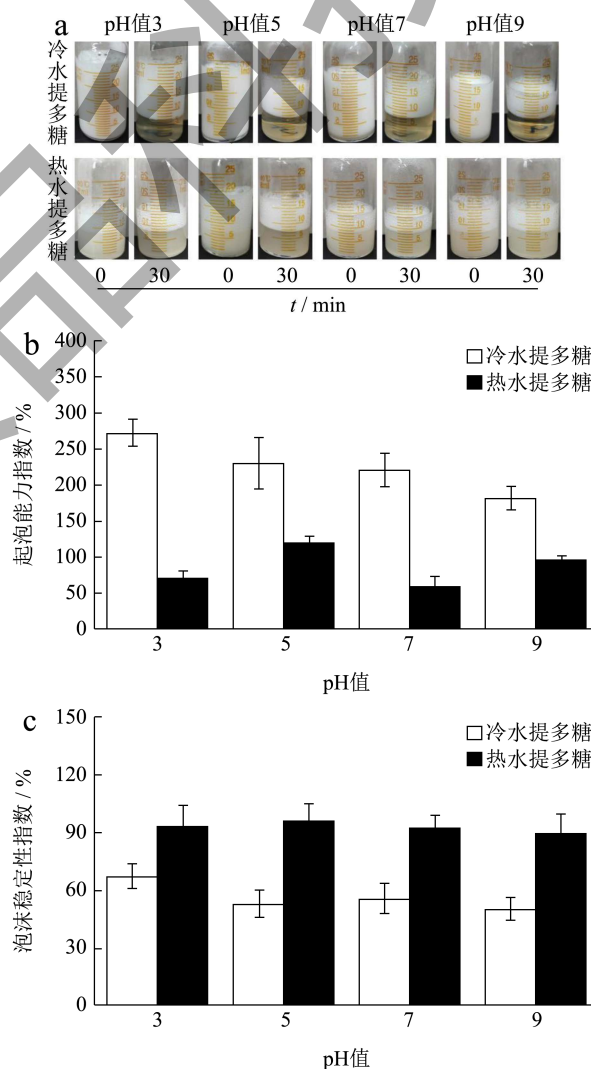


图 3 蓝斑背肛海兔卵多糖的起泡性质

Fig.3 The foaming properties of polysaccharides from *Notarchus leachii freeri* eggs

注: (a) 泡沫的外观图片; (b) 起泡能力指数; (c) 泡沫稳定性指数。

2.4 蓝斑背肛海兔卵多糖稳定的乳液及其性质

乳液粒径大小可以反映乳化剂的乳化能力或效率。乳液中液滴粒径影响乳液稳定性，液滴粒径越小，乳液越趋于稳定，乳化剂的乳化能力越强。多糖结构部分的研究结果表明蓝斑背肛海兔卵多糖是一种蛋白质-多糖复合物，兼具多糖和蛋白质的优越性。因此，可以合理推测其具有良好的乳化性质。这是因为其结构中的蛋白质部分使复合物更容易吸附在油水界面，多糖部分有助于形成更厚的稳定层，这可以保护乳液滴免受絮凝和聚结，而形成稳定的乳液^[30]。对于乳液粒径大小的表征，不仅有对仪器设备要求较高的激光粒度法；也有低成本的显微图片分析法。为了最真实的反映出乳液油滴的粒径，在获取乳液显微图片时往往需要使用抗絮凝剂（1.0 wt.% SDS 溶液）来破坏乳液的絮凝结构^[31]。因此，本研究分别采用去离子水和 1.0 wt.% SDS 溶液稀释乳液来进行粒径大小的计数分析，进而对比讨论两种多糖的乳化能力或乳化效率。

2.4.1 多糖浓度对乳液稳定性的影响

将油相比例 (ϕ) 固定为 0.5 时，加入不同浓度多糖后所形成乳液的油滴显微形貌和平均粒径，如图 4 所示。结果可知，随着多糖含量的增加，乳液的粒径都表现出相似的下落趋势，由 45.45 μm 下降到 8.69 μm (图 4a)。此外，热水提多糖稳定的乳液油滴平均粒径 (图 4c) 均小于冷水提多糖稳定的乳液油滴平均粒径 (图 4b)。对于皮克林水包油乳液和非皮克林水包油乳液，结果也与上述相似，均发现随着乳化剂浓度的增加，乳液的油滴粒径减小的现象^[32,33]。观察微观结构，液滴颗粒分明，分散均匀，这与乳液平均粒径结果一致，再次证实了粒径减小时，乳液稳定性越高这一事实^[34]。

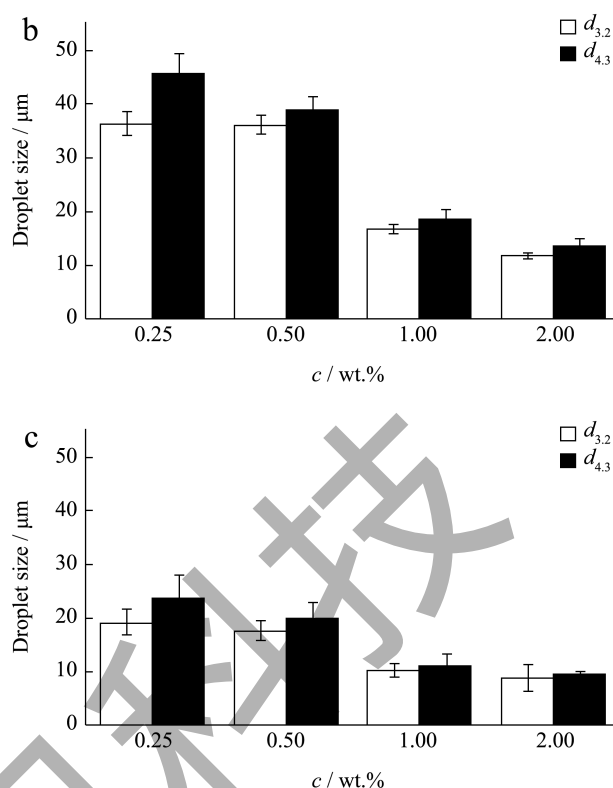
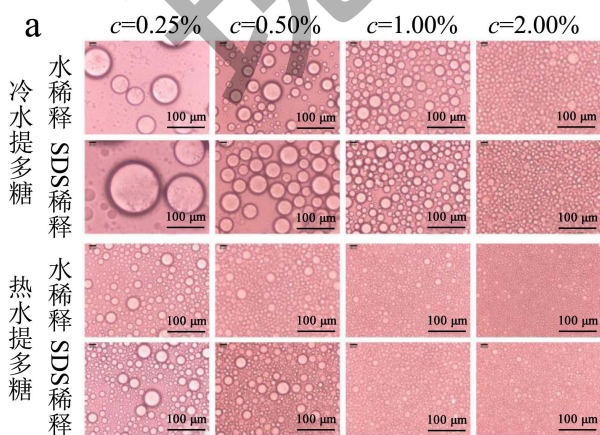


图 4 不同浓度下蓝斑背肛海兔卵多糖乳液表征图

Fig.4 Characterization of emulsion stabilized by polysaccharide from *Notarchus leachii* freeri eggs at varying polysaccharide concentration

注: (a) 光学显微镜图; (b), (c) 平均粒径图。下同。

2.4.2 油相比例对乳液粒径的影响

如图 5 所知，在特定的多糖浓度下 (1.0 wt.%), 增加油相比例 (ϕ) 对乳液油滴粒径大小的影响。如图 5b 所示, 对于冷水提多糖稳定的乳液, 随着 ϕ 从 0.1 增加到 0.4, $d_{3,2}$ 和 $d_{4,3}$ 均出现了逐渐增大的趋势, 比如, $d_{4,3}$ 从约 10.81 μm 逐渐增加到 34.85 μm ; 热水提多糖也出现相同的趋势 (图 5c), $d_{4,3}$ 从约 8.55 μm 逐渐增加到 14.71 μm 。但在相同条件下, 热水提多糖形成的乳乳液体系优于冷水提多糖形成的乳液体系。结果表明, 在特定的低乳化剂浓度下, 随着油相比例的增加, 乳化剂的数量不足以完全稳定油滴界面, 结果会形成较大粒径的油滴^[26]。Huang 等^[35]研究牛大力多糖的乳化性质时也观察到了相似现象, 即在特定的多糖浓度 (4.0%) 条件下, 当 ϕ 从 0.1 增加到 0.4, 牛大力多糖稳定的乳液, $d_{4,3}$ 从 12.72 μm 逐渐增加到 55.99 μm 。另一方面, 说明本研究中提取的多糖的乳化能力优于牛大力多糖。

2.4.3 不同pH值对乳液粒径的影响

不同 pH 值对蓝斑背肛海兔卵多糖乳液粒径的影响, 如图 6 所示。由图 6b 可以看出, 冷水提多糖稳定的乳液, 随着 pH 值的增大呈现先减小后增大再减小的趋势。在 pH 值为 7.0、9.0 时, $d_{4,3}$ 分别为大于 $36.44 \mu\text{m}$ 和 $28.38 \mu\text{m}$, 这可能是多糖形成聚集体而乳化性能下降。在 pH 值为 3.0 和 5.0 时, 油滴的粒径较小, $d_{4,3}$ 分别为 $18.84 \mu\text{m}$ 和 $13.71 \mu\text{m}$, 这可能是由于多糖分子之间的静电排斥力和醛糖醛酸电离促进多糖乳化性能的增加^[36]。而对于热水提多糖(图 6c), 发现 pH 值的改变对于其乳化性能的影响不是很大, 其稳定的乳液油滴平均粒径均小于 $22 \mu\text{m}$ 。此外, 在同一 pH 值条件下, 均可以发现热水提多糖的乳液粒径均小于冷水提多糖的乳液粒径。再次表明, 热水提多糖的乳化能力优于冷水提多糖, 且 pH 值不会显著地影响由热水提多糖稳定的乳液的稳定性, 这与从乳酸菌中提取的天然多糖-蛋白质复合物制备的乳液结果相似^[37]。在不同条件下热水提多糖的乳化效率明显优于冷水提多糖。因此, 热水提多糖稳定的乳液具有应用于热加工的乳液食品潜力。

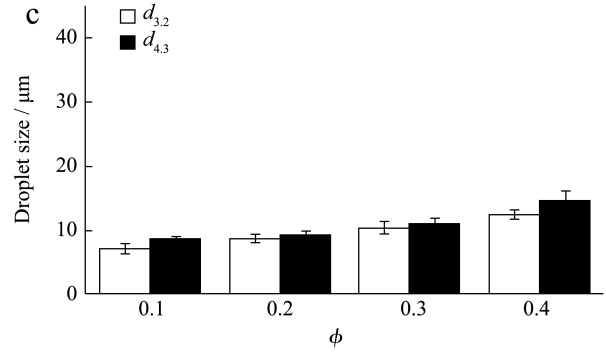
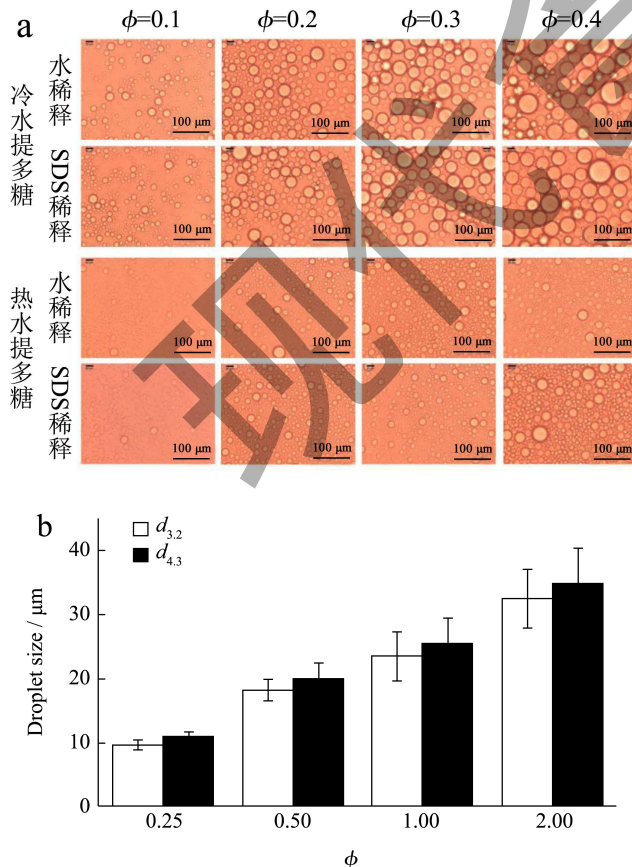


图 5 不同油相比下蓝斑背肛海兔卵多糖乳液表征图

Fig.5 Characterization of emulsion stabilized by polysaccharide from *Notarchus leachii freeri* eggs at varying oil fractions

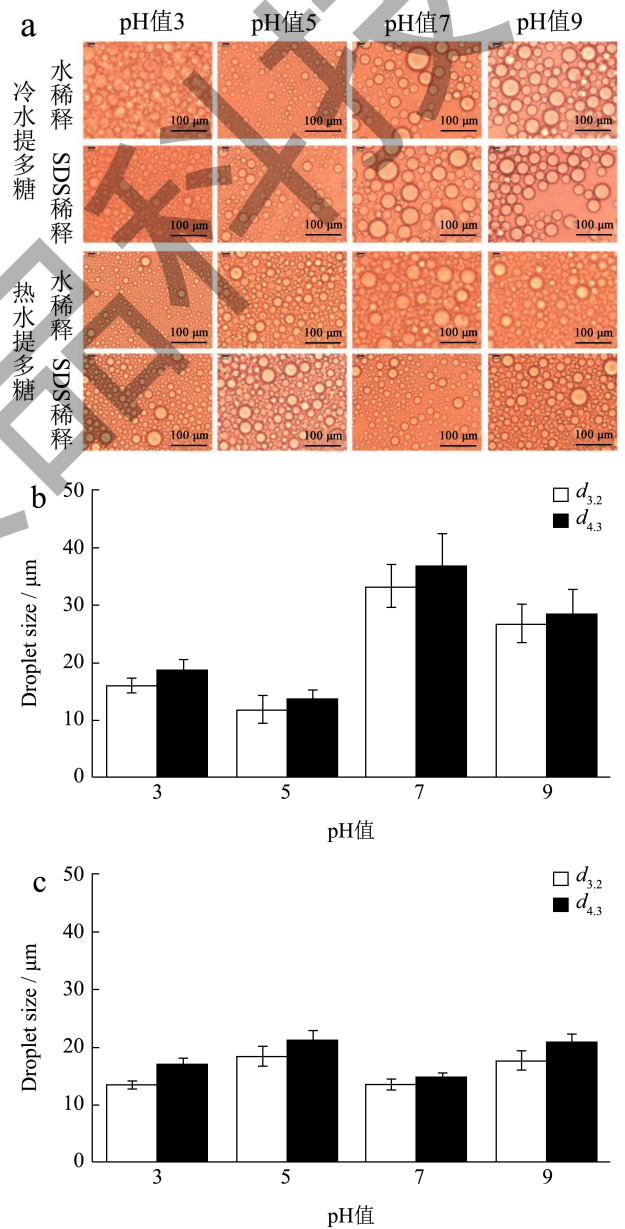


图 6 不同 pH 值下蓝斑背肛海兔卵多糖乳液表征图

Fig.6 Characterization of emulsion stabilized by polysaccharide from *Notarchus leachii freeri* eggs at different pH values

3 结论

本研究以蓝斑背肛海兔卵为原料,依次采用冷水提取法和热水提取法对多糖进行提取分离,研究了多糖的化学组成并表征了部分理化性质和界面性质。结果表明,两种多糖的得率分别为12.52%和16.31%,且多糖含量分别高达85.46%和84.73%;提取的多糖均为半结晶结构的多糖-蛋白质复合物。热水提取导致多糖中的部分蛋白质变性,增加多糖溶液的黏度;因此,冷水提多糖的起泡能力优于热水提多糖,但泡沫稳定性(平均值为55.85%)低于热水提多糖(平均值为92.47%)。通过研究蓝斑背肛海兔卵多糖的乳化性,发现多糖浓度、油相比例和水相pH值对两种多糖所稳定乳液性质具有可调控的影响;热水提多糖所体现的乳化效率和乳液稳定性优于冷水提多糖。本研究为蓝斑背肛海兔卵多糖的开发利用提供了一个新的方向(作为泡沫稳定剂或乳化剂),对食品级天然乳化剂和南海海洋生物资源的开发具有重要意义。

参考文献

- [1] 孙玉林,赵娟,罗琴琴,等.蓝斑背肛海兔卵营养成分分析与评价[J].食品与发酵工业,2020,46(23):220-227.
- [2] 钰琪.御敌有术的“小白兔”[J].海洋世界,2016(12):18-21.
- [3] 林厚文,张纯,易杨华,等.中国产海兔抗肿瘤活性成分研究(I)[J].中国海洋药物,2001,20(3):3-6.
- [4] 林厚文,汤海峰,刘皋林,等.海洋软体动物蓝斑背肛海兔抗肿瘤活性成分研究(II)[J].第二军医大学学报,2002,23(3):243-245.
- [5] BRAGA T, RODRIGUES M J, PEREIRA H T, et al. *Bursatella leachii* from Mar Menor as a source of bioactive molecules: Preliminary evaluation of the nutritional profile, *in vitro* biological activities, and fatty acids contents [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2017, 26(10): 243-245.
- [6] PEREIRA R B, ALMEIDA A A, PEREIRA D M, et al. Trace elements in wild edible *Aplysia* species: Relationship with the desaturation-elongation indexes of fatty acids [J]. Chemosphere, 2018, 208: 682-690.
- [7] WUC Z, ZHAOM M, BUXY, et al. Preparation, characterization, antioxidant and antiglycation activities of selenized polysaccharides from blackcurrant [J]. RSC Advances, 2020, 54(10): 32616-32627.
- [8] KISUGI J, KAMIYA H, YAMAZAKI M. Purification and characterization of aplysianin E, an antitumor factor from Sea hare eggs [J]. Cancer Research, 1987, 47(21): 5649-5653.
- [9] RAJAGANAPATHI J, KATHIRESAN K, SINGH T P. Purification of anti-HIV protein from purple fluid of the Sea hare *Bursatella leachii* de Blainville [J]. Marine Biotechnology, 2002, 4(5): 447-453.
- [10] SARKAR M A K, RYO M, YUKI F, et al. Cytotoxicity and glycan-binding profile of a D-galactose-binding lectin from the eggs of a Japanese Sea hare (*Aplysia kurodai*) [J]. The Protein Journal, 2011, 30(7): 509-519.
- [11] RENATO B P, PAULA B A, PATRÍCIA V, et al. Chemical diversity and biological properties of secondary metabolites from Sea hares of *Aplysia* genus [J]. Marine Drugs, 2016, 14(2): 39.
- [12] MANEL D, SALIM S, RIHAB D, et al. Extraction, characterization, and anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide from *Bursatella leachii* viscera [J]. ACS Omega, 2020, 5(24): 14786-14795.
- [13] JI H R, JINA S, XIE C L, et al. *Aplysia kurodai*-derived glycosaminoglycans increase the phagocytic ability of macrophages via the activation of AMP-activated protein kinase and cytoskeletal reorganization in Raw264.7 cells [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 27: 122-130.
- [14] PAN Q T, SUN Y L, LI X Y, et al. Extraction, structural characterization, and antioxidant and immunomodulatory activities of a polysaccharide from *Nararchus leachii* freeri eggs [J]. Bioorganic Chemistry, 2021, 116: 105275.
- [15] YUAN Q, LIN S, FU Y, et al. Effects of extraction methods on the physicochemical characteristics and biological activities of polysaccharides from okra (*Abelmoschus esculentus*) [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 127: 178-186.
- [16] 王小爱,梁建东,高小娇,等.细脚虫草多糖液体发酵及分离纯化工艺研究[J].食品与机械,2020,36(11):158-164, 216.
- [17] DING J, DU H, TAN H, et al. Optimization of protein removal process of *Lonicera japonica* polysaccharide and its immunomodulatory mechanism in cyclophosphamide-induced mice by metabolomics and network pharmacology [J]. Food Science & Nutrition, 2023, 11(1): 364-378.
- [18] MALOMO S A, ROTIMI E A. Conversion of a low protein hemp seed meal into a functional protein concentrate through enzymatic digestion of fiber coupled with membrane ultrafiltration [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2015, 31: 151-159.
- [19] 杨涛.豆渣转化为食品级高效皮克林稳定剂的途径及机理[D].广州:华南理工大学,2020.
- [20] 李莹,黄德春,陈贵堂,等.昆布多糖不同提取工艺优化及其理化性质和抗肿瘤活性比较[J].食品科学,2019,40(6): 288-294.
- [21] 景永帅,苏蕾,韩钰,等.北沙参多糖的提取工艺、理化性

- 质及生物活性研究[J].食品与机械,2018,34(6):152-157.
- [22] JI X L, YAN Y Z, HOU C Y, et al. Structural characterization of a galacturonic acid-rich polysaccharide from *Ziziphus jujubacv.* Muzao [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 147: 844-852.
- [23] WANG N, DAI L M, CHEN Z S, et al. Extraction optimization, physicochemical characterization, and antioxidant activity of polysaccharides from *Rhodospira* sp. SCSIO-45730 [J]. Journal of Applied Phycology, 2022, 34: 285-299.
- [24] XU Y Q, LIU G J, YU Z Y, et al. Purification, characterization and antiglycation activity of a novel polysaccharide from black currant [J]. Food Chemistry, 2016, 199: 694-701.
- [25] JI X L, LIU F, PENG Q, et al. Purification, structural characterization, and hypolipidemic effects of a neutral polysaccharide from *Ziziphus jujuba* cv. Muzao [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 1124-1130.
- [26] 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.
- [27] YUAN J, CHEN S X, WANG L P, et al. Preparation of purified fractions for polysaccharides from *Monetaria moneta* Linnaeus and comparison their characteristics and antioxidant activities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 108: 342-349.
- [28] BRENT S M. Stabilization of bubbles and foams [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2007, 12(4-5): 232-241.
- [29] 张权,陈洁,曾茂茂,等.制造过程对可溶性大豆多糖结构和产物起泡性的影响[J].食品与机械,2020,36(7):33-38.
- [30] CUI F Z, ZHAO S L, GUAN X, et al. Polysaccharide-based Pickering emulsions: Formation, stabilization and applications [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 106812.
- [31] 李超,樊成,刘宁,等.紫苏球蛋白乳化性及其O/W乳液的稳定性研究[J].食品与发酵工业,2022,48(2):176-181.
- [32] RAYNER M, TIMGREN A, MALIN S, et al. Quinoa starch granules: a candidate for stabilizing food-grade Pickering emulsions [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2012, 92(9): 1841-1847.
- [33] CATHERINE P W, MRAJENDRAN P. Influence of particle concentration on multiple droplet formation in Pickering emulsions [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2019, 554(15): 315-323.
- [34] LIU F, TANG C H. Soy protein nanoparticle aggregates as Pickering stabilizers for oil-in-water emulsions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(37): 8888-8898.
- [35] HUANG Z, ZENG Y J, WU X L, et al. Development of *Millettia speciosa* champ polysaccharide conjugate stabilized oil-in-water emulsion for oral delivery of β -carotene: Protection effect and *in vitro* digestion fate [J]. Food Chemistry, 2022, 397, 133764.
- [36] YANG X, TANZEELA N, HUO Y J, et al. Pomegranate peel pectin can be used as an effective emulsifier [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 85: 30-38.
- [37] 顾睿涵.乳酸菌天然蛋白质-多糖复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液的制备及应用[D].南京:南京林业大学, 2023.