

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241111006

引用格式: 季文婷, 韩天祥, 徐友梅, 等. 滁菊多糖 CCPS-3-1 凝胶制备及其特性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(3): 130-138.

JI WT, HAN TX, XU YM, *et al.* Preparation and characterization of gel from Chuzhou chrysanthemum polysaccharide CCPS-3-1 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(3): 130-138. (in Chinese with English abstract).

滁菊多糖 CCPS-3-1 凝胶制备及其特性研究

季文婷¹, 韩天祥¹, 徐友梅², 刘明³, 陈春旭^{1,2*}

(1. 安徽科技学院食品工程学院, 凤阳 233100; 2. 安徽省功能农业与功能食品重点实验室, 滁州 233100;
3. 凤阳临淮油脂有限公司, 凤阳 233100; 4. 安徽欧奈生物科技有限公司, 滁州 239000)

摘要: **目的** 制备滁菊多糖 CCPS-3-1 凝胶, 并研究其相关特性。 **方法** 以滁菊为原料, 分离纯化得到酸性多糖 CCPS-3-1, 与 CaCl₂ 溶液混合, 通过离子交联作用形成凝胶。运用扫描电子显微镜、傅里叶红外光谱、X-射线衍射、差示扫描量热法等测定方法对其形成的凝胶特性进行全面分析, 并用尿素和乙二胺四乙酸处理进一步阐明其胶凝力和胶凝机制。 **结果** 在 pH 6.0~8.0 范围内, CCPS-3-1 溶液相对稳定。经 CaCl₂ 诱导后, CCPS-3-1 凝胶呈现出良好的透明度, 有一定的硬度和良好的稳定性, 凝胶网络结构致密, 表面光滑且均匀。同时, 热稳定性和晶体结构得到了增强。流变实验显示, 随着 CaCl₂ 浓度增加, CCPS-3-1 凝胶的表观黏度和存储模量也随之上升。Tan δ 随 CaCl₂ 浓度的增加而减小, 且所有浓度下 CCPS-3-1 与 CaCl₂ 均能形成弱凝胶。此外, 静电相互作用在 CCPS-3-1 凝胶网络结构形成中起到了关键作用。 **结论** 分离纯化得到的滁菊多糖 CCPS-3-1 经 CaCl₂ 诱导形成凝胶, 其凝胶机制可能为分子间氢键和 Ca²⁺ 交联共同作用形成, 对滁菊多糖凝胶在食品、药品等领域的应用提供了理论依据。

关键词: 滁菊多糖; 凝胶; 凝胶特性

Preparation and characterization of gel from Chuzhou chrysanthemum polysaccharide CCPS-3-1

JI Wen-Ting¹, HAN Tian-Xiang¹, XU You-Mei², LIU Ming³, CHEN Chun-Xu^{1,2*}

(1. College of Food Engineering, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China;
2. Anhui Provincial Key Laboratory of Functional Agriculture and Functional Foods, Chuzhou 233100, China;
3. Fengyang Linhuai Oils Co., Ltd., Fengyang 233100, China; 4. Anhui Ounai Biotechnology Co., Ltd.,
Chuzhou 239000, China)

ABSTRACT: Objective To prepare Chuzhou chrysanthemum polysaccharide CCPS-3-1 gel and investigate its relevant properties. **Methods** Acidic polysaccharide CCPS-3-1 was isolated and purified from Chuzhou

收稿日期: 2024-11-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31901617); 安徽省教育厅拔尖人才项目(gxyqZD2021125); 安徽科技学院优秀人才项目(XJYXRC202101); 安徽科技学院稳定人才项目(SPWD202101); 安徽省教育厅自然科学研究基金项目(2022AH040236); 安徽省大学生创新创业训练计划项目(S202310879232); 安徽省学科带头人培养计划项目(DTR2024034); 安徽省青年拔尖人才学者计划项目

第一作者: 季文婷(1997—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品加工与安全。E-mail: yjs2023252@ahstu.edu.cn

*通信作者: 陈春旭(1984—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品分子加工与精准营养。E-mail: ccx1205@126.com

chrysanthemum and mixed with CaCl_2 solution to form a gel via ionic crosslinking. The gel's characteristics were comprehensively analyzed using scanning electron microscopy, Fourier-transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction, and differential scanning calorimetry. Additionally, treatment with urea and ethylenediaminetetraacetic acid was employed to further elucidate its gel strength and gelling mechanism. **Results** CCPS-3-1 solution was relatively stable within a pH range of 6.0–8.0. Upon induction by CaCl_2 , the CCPS-3-1 gel exhibited good transparency, moderate hardness, and high stability. The gel network had a dense, smooth, and uniform structure. Moreover, the thermal stability and crystalline structure were enhanced. Rheological experiments revealed that as the CaCl_2 concentration increased, the apparent viscosity and storage modulus of the CCPS-3-1 gel also increased. In addition, the loss tangent ($\text{Tan}\delta$) decreased with increasing CaCl_2 concentration, indicating the formation of weak gels at all tested concentrations. Furthermore, electrostatic interactions played a crucial role in the formation of the gel network structure. **Conclusion** The Chuzhou chrysanthemum polysaccharide CCPS-3-1, isolated and purified in this study, forms a gel upon CaCl_2 induction. Its gelling mechanism likely involves the synergistic effects of intermolecular hydrogen bonding and Ca^{2+} crosslinking. These findings provide a theoretical foundation for the application of CCPS-3-1 gel in food, pharmaceutical, and other fields.

KEY WORDS: Chuzhou chrysanthemum polysaccharide; gel; gel properties

0 引言

近年来,天然多糖因其多样的生物活性受到关注,部分植物多糖以增稠、胶凝和乳化等功能特性成为重要天然食品添加剂,用于改善食品质地和稳定性^[1-2]。这些多糖的亲水特性和流变特性是它们在食品和制药行业中越来越多地用作胶凝剂、增稠剂和乳化剂的主要原因^[3]。多糖凝胶形成涉及氢键、静电和离子等相互作用^[4]。带电多糖在凝胶化中常通过静电作用聚集,而盐离子的加入能屏蔽这些静电,帮助评估静电作用。此外,盐离子对构建阴离子聚合物线性结构至关重要,如钙离子(Ca^{2+})与果胶形成钙桥,是凝胶化的关键^[5]。

滁菊(Chuzhou chrysanthemum),作为我国知名的药用菊花,蕴含丰富的黄酮类和挥发油等化学成分,已证实具备抗氧化、抗炎和降血脂等药理作用。尽管如此,对于滁菊多糖(Chuzhou chrysanthemum polysaccharides, CCPS)及其凝胶特性的研究尚不充分,尤其是在多糖凝胶领域的潜在应用价值尚未被完全开发。

本研究通过分离纯化 CCPS 组分 CCPS-3-1,利用不同浓度的 CaCl_2 诱导其形成凝胶。旨在深入探究滁菊多糖 CCPS-3-1 凝胶的特性,包括其形成机制、流变学、微观结构以及热稳定性等,这不仅有助于深化其结构与功能关系的认识,而且有望为开发以 CCPS 凝胶为基础的新型产品提供科学支撑,进一步推动滁菊资源的高值化利用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

滁菊购自滁州市宏福保健品有限公司。

苯酚、氯化钙(CaCl_2)、尿素、氢氧化钠(分析纯)、盐酸(HCl)、硫酸(纯度 98%)(国药集团化学试剂有限公司); 快速流速二乙氨基乙基—琼脂糖凝胶层析柱(DEAE-Sephacrose Fast Flow, 美国 GE 医疗生命科学部); 葡聚糖凝胶填料(Sephadex G-100, 美国 GE 公司); 溴化钾(分析纯, 上海阿拉丁试剂有限公司); 乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)(分析纯, 上海麦克林生化科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

FA2004A 电子天平(精度 0.1 mg, 上海精天电子仪器有限公司); Bettersize2600 激光粒度分析仪(丹东百特仪器有限公司); TGA4000 热重分析仪(美国 PE 公司); SU8020 扫描电镜(日本日立公司); D8 Advance X 射线衍射仪(德国布鲁克公司); Nicolet iS10 傅里叶红外光谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Q600 SDT 热重分析仪(美国 TA 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 滁菊多糖的分离纯化及成分分析

(1) 滁菊多糖 CCPS-3-1 的分离纯化

滁菊粗多糖的提取参考韩天祥等^[6]的研究方法。首先用 80% 的乙醇水溶液提取两次干燥滁菊粉末,以去除可溶性糖、色素和其他小分子。沉淀烘干后按料液比 1:25 (g/mL) 加入蒸馏水, 85 °C 条件下热水浸提 3 次,每次浸提 2 h, 过滤、离心并合并上清液。在 45 °C 下旋转蒸发浓缩提取液,浓缩至体积为原提取液体积的 1/3~1/5 且溶液出现较为明显的黏度增加的现象。接着向浓缩液加入 4 倍体积的无水乙醇,混合均匀,并在 4 °C 下保持 12 h 以沉淀多糖。通过氯仿-正丁醇法对沉淀多糖去除蛋白,之后透析,然后冻干

后得到滁菊粗多糖 CCPS。将 CCPS 溶液(20 mg/mL)加载到 DEAE-Sepharose Fast Flow 的凝胶柱上(2.6 cm×50 cm), 分别使用蒸馏水、NaCl (0.1、0.3 和 0.5 mol/L)溶液以 60 mL/h 洗脱 2 个柱体积。随后, 得到 CCPS-1、CCPS-2 和 CCPS-3 3 个组分。CCPS-3 在 Sephadex G-100 色谱柱上进一步以 12 mL/h 的流速以蒸馏水洗脱, 得到单一组分 CCPS-3-1。

(2) 滁菊多糖 CCPS-3-1 的成分分析

利用苯酚硫酸法^[7]、考马斯亮蓝法^[8]、间羟联苯法^[9]、和福林酚法^[10]分别测定 CCPS-3-1 总糖、蛋白质、糖醛酸和多酚含量。

总糖含量测定如下: 首先, 将烘干的葡萄糖标准品配制成 100 μg/mL 的葡萄糖标准溶液。接着, 分别取 0.0、0.2、0.4、0.6 和 0.8 mL 的标准溶液置于试管中, 再用蒸馏水分别补至 1.0 mL。然后依次向每个试管中加入 0.5 mL 的 6% 苯酚溶液和 2.5 mL 的浓硫酸, 摇匀后冷却, 在 490 nm 处测定吸光值, 依据吸光值与相应葡萄糖浓度绘制标准曲线。接着配制 50 μg/mL 的 CCPS-3-1 样品溶液, 取 0.5 mL 加入试管中, 然后依次加入 0.5 mL 的蒸馏水、0.5 mL 的 6% 苯酚溶液和 2.5 mL 的浓硫酸, 摇匀后冷却, 在 490 nm 处测定其吸光值, 最后根据标准曲线计算总糖含量, 实验重复 3 次。

蛋白质含量测定如下: 首先, 将 200 mL 的考马斯亮蓝 G-250 溶解于 100 mL 90%乙醇中, 然后向其中加入 200 mL 85%磷酸溶液, 最后用蒸馏水定容至 2000 mL。将混合溶液过滤后保存在棕色瓶中备用。接着, 配制 50 μg/mL 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)标准溶液, 取 0.0、0.2、0.4、0.6 和 0.8 mL 的 BSA 标准溶液至试管中, 加入蒸馏水至 1.0 mL, 涡旋均匀后, 加入 5.0 mL 的考马斯亮蓝溶液, 混匀后静置 5 min, 然后在 595 nm 处测定吸光值。根据吸光值与相应 BSA 浓度绘制标准曲线。接着, 配制 5 mg/mL 的 CCPS-3-1 样品溶液, 取 0.5 mL 于试管内, 加入蒸馏水至 1.0 mL, 按照上述标准曲线绘制过程中的操作步骤测定 595 nm 的吸光值, 最后根据标准曲线计算蛋白质含量。

糖醛酸含量测定如下: 首先, 配制 60 g/mL 的半乳糖醛酸标准溶液, 分别取 0.00、0.05、0.10、0.15、0.20 mL 置于 5 mL 的离心管中, 用蒸馏水补足至 0.25 mL。将离心管放入冰浴中预冷, 然后向每个管中加入 1.5 mL 四硼酸钠-硫酸溶液(浓度为 0.0125 mL/L), 混合均匀, 置于沸水浴中 5 min, 快速将离心管放入冰浴中冷却至室温, 加入 25 mL 间羟联苯溶液(以 0.5% NaOH 配制的 0.15%间羟联苯溶液), 混合均匀后, 在 520 nm 处测定各管吸光值, 并绘制标准曲线。接着, 配制 160 μg/mL 的 CCPS-3-1 样品溶液, 随后取 250 μL 按照上述半乳糖醛酸标准溶液的测定方法测定其吸光值, 并根据标准曲线计算糖醛酸含量。

多酚含量测定如下: 首先, 将福林酚溶液需稀释 10 倍作为工作液, 每 100 mL 蒸馏水中溶解 10 mg 的碳酸钠以

制备 10%的碳酸钠溶液; 称取 10 mg 没食子酸, 加入去离子水并定容至 100 mL 以配制没食子酸标准溶液。接着, 分别吸取没食子酸标准溶液 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mL 至试管中, 每管去离子水补至 0.50 mL 后加入 1 mL 福林酚工作液, 混匀后于 30 °C避光条件反应 5 min, 随后每管再加入 2 mL 10%碳酸钠溶液, 混匀后继续于 30 °C避光下反应 1 h, 反应结束后在 747 nm 处测定吸光值。以没食子酸标准溶液浓度为横坐标, 吸光值为纵坐标, 绘制标准曲线。取 1 mL 1 mg/mL 的 CCPS-3-1, 按照标准曲线的测定方法测定吸光值, 将测得的吸光值代入没食子酸标准曲线, 计算得到 CCPS-3-1 中总多酚的含量, 以没食子酸当量(gallic acid equivalent, GAE)表示。

1.3.2 CCPS-3-1 凝胶的制备

CCPS-3-1 凝胶的制作参考 LUO 等^[11]报道的方法, 并作适当的修改。在室温下, 首先称取 2 g 干燥粉碎的 CCPS-3-1 于 200 mL 去离子水中, 搅拌均匀后, 将混合溶液于 80 °C下加热 2 h, 边加热边搅拌, 即可得到 CCPS-3-1 储备溶液。同时, 在室温下分别将不同量的 CaCl₂ 溶解于 25 mL 去离子水中, 制备成不同浓度(0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%)的 CaCl₂ 储备溶液。接着, 在室温下将 0.5 mL CaCl₂ 溶液与 2 mL CCPS-3-1 溶液持续搅动混合, 最后将混合物溶液冷却至 4 °C促使 CaCl₂ 与 CCPS-3-1 混合液中的成分交联, 让液体混合液逐渐变成固体凝胶状态。

1.3.3 扫描电子显微镜观察

扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM)是一种利用高能电子束来观察和分析样品表面的微观结构和组成的技术, 可以通过 SEM 观察 CCPS-3-1 凝胶的微观结构。首先将制备好的 CCPS-3-1 凝胶立即浸入液氮中快速冷冻, 然后在真空冷冻干燥机中-50 °C脱水 48 h。接着将冻干凝胶断裂, 并在其表面涂上一层金粉, 最后在高真空模式下进行 SEM 观察, 加速电压为 5 kV^[12]。

1.3.4 Zeta 电位测量

CCPS-3-1 的 Zeta 电位和电导率采用动态光散射通过应用波长 633 nm 的激光源进行测量^[13]。将 0.01 g CCPS-3-1 在 25 °C的去离子水中分散 2 h, 以制备 CCPS-3-1 分散液(质量浓度为 0.01 g/100 mL)。使用 0.1 mol/L HCl 和 0.01 mol/L NaOH 将分散溶液的 pH 调节至 3.0~8.0, 测量温度为 25 °C, 平衡时间为 120 s, 折射率为 1.33。

1.3.5 傅里叶红外光谱测定

傅里叶红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)实验是将 3 mg CCPS-3-1 和 200 mg 溴化钾粉末混合, 用研钵和研杵将混合物捣成粉末状。用压片机将混合物压成 1 mm 的薄片, 并在红外光谱仪上扫描。波长范围为 4000~400 cm⁻¹。

1.3.6 X 射线衍射测定

X-射线衍射(X-ray diffraction, XRD)实验使用了配备

CuK α 灯和镍滤光片的 XRD 仪器。首先将冻干的 CCPS-3-1 凝胶研磨成粉末形式。然后记录 CCPS-3-1 在 5° 到 55° 之间的 XRD 谱图, 采用 0.02° 的步长, 并将扫描速度设定为 4°/min。

1.3.7 差式扫描量热法测定

差式扫描量热法(different scanning calorimetry, DSC) 使用热分析设备。以 10 °C/min 的线性加热速率将约 10 mg 冻干 CCPS-3-1 凝胶从室温加热至 500 °C。以纯氮气为吹扫气体, 空铝盘作为参比^[14]。

1.3.8 凝胶的流变性能测定

采用 MCR 302 流变仪和平板传感器(间隙 0.5 mm, 直径 40 mm)测定 CCPS-3-1 凝胶的流变学分析, 并作适当修改^[15]。在每次测量前所有样品均需平衡 2 min, 然后将不同浓度的 CaCl₂ (0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%) 的 CCPS-3-1 (1%) 溶解在蒸馏水中。

(1) 线性黏弹区

通过记录 25 °C 下, 频率为 1 Hz, 振荡应变范围从 0.1% 到 100.0% 的所有样品的存储模量(G'), 以确定线性黏弹区(linear viscoelastic region, LVR), 并选择合适形变量进行后续动态黏弹性测定。

(2) 表观黏度测定

在 25 °C 和剪切速率为 0.01~100.00 s⁻¹ 条件下测定凝胶的表观黏度随剪切速率的变化。每个样品将进行 3 次平行测定, 测定结果取平均值。

(3) 动态黏弹性测定

在 25 °C 条件下, 通过在 0.1~10.0 Hz 测定凝胶的存储模量(G')、损耗模量(G'')和损耗因子($\tan\delta=G''/G'$)随频率的变化情况, 其形变量由 LVR 测定结果决定。

1.3.9 凝胶力

尿素和 EDTA 实验广泛用于评估多糖凝胶中的胶凝力。首先, 将尿素(1.0 g 和 2.5 g)和 EDTA (0.05 g 和 0.10 g) 分别溶解在 10 mL 1.5% 的 CaCl₂ 溶液中。然后, 将 40 mL 1% 的 CCPS-3-1 溶液与 CaCl₂ 溶液充分搅拌混合。最终溶

液中, 尿素的浓度分别是 2.0% 和 5.0%, EDTA 的浓度分别是 0.1% 和 0.2%。最后将混合溶液冷却至 4 °C, 并在该温度下保存 12 h。同时, 以不添加尿素和 EDTA 的 CCPS-3-1 凝胶作为对照^[11]。

1.4 数据处理

所有实验结果重复 3 次, 均以平均值±标准偏差的形式呈现。为了评估结果的显著性, 通过单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)和 IBM SPSS Statistics 20 软件中邓肯检验来评估组间的差异。如果 $P < 0.05$, 则认为存在显著差异。

2 结果与分析

2.1 CCPS-3-1 的提取和纯化

滁菊经热水浸提后, 再经脱蛋白和乙醇沉淀等步骤得到粗多糖组分 CCPS, 提取率达 7.15%±0.26%。CCPS 经过 DEAE Sepharose Fast Flow 层析柱纯化, 得到 3 个多糖组分 CCPS-1、CCPS-2、CCPS-3(图 1A)。选择 CCPS-3 组分加载到 Sephadex G-100 层析柱, 并以蒸馏水作为洗脱试剂进一步纯化, 得到酸性多糖 CCPS-3-1(图 1B)。

2.2 CCPS-3-1 的化学成分分析

CCPS-3-1 含有 30.03%±0.87% 的总糖, 表明通过热水浸提的滁菊多糖组分 CCPS-3-1 具有很高的糖含量, 是其主要组成部分之一; 含有 56.97%±0.94% 的糖醛酸, 说明 CCPS-3-1 是一种酸性多糖, 而糖醛酸通常参与分子间的交联, CCPS-3-1 较高的糖醛酸比例可能与多糖的某些生物学特性(如凝胶形成能力)相关; 蛋白质含量为 0.26%±0.24%, 表明蛋白质不是 CCPS-3-1 的主要成分, 低蛋白质含量可能有助于减少非特异性反应和提高纯度; 多酚含量则为 (0.46±0.06) mg GAE/100 mg, 含量相对较低, 不是 CCPS-3-1 的主要成分, 这可能与多糖提取过程中加入乙醇有关, 乙醇具有吸附多酚类物质的性质。

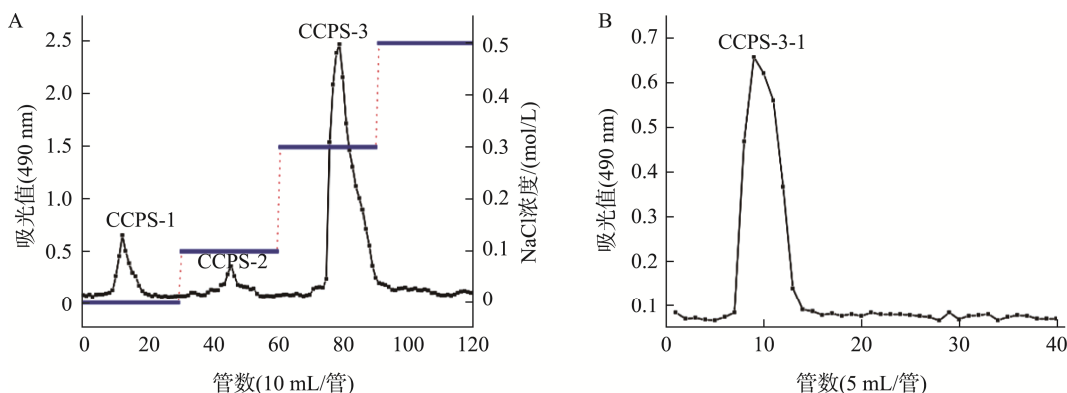


图 1 CCPS 经 DEAE Sepharose Fast Flow (A) 和 Sephadex G-100 (B) 层析柱的洗脱曲线
Fig.1 Elution profile of CCPS by DEAE Sepharose Fast Flow (A) and Sephadex G-100 (B) columns

2.3 CCPS-3-1 凝胶形态学分析

不同浓度的 CaCl_2 对 CCPS-3-1 的凝胶化诱导作用如图 2 所示, 在 Ca^{2+} 离子存在时, CCPS-3-1 溶液可以形成自支撑的稳定凝胶。以 1% CCPS-3-1 水溶液为基础, 加入不同量的 CaCl_2 制备凝胶。当 CaCl_2 的添加量为 0% 时, CCPS-3-1 水溶液无法形成凝胶, 说明 CaCl_2 是形成 CCPS-3-1 凝胶网络的先决条件, CaCl_2 通过提供 Ca^{2+} 离子来促进 CCPS-3-1 之间的交联。随着 CaCl_2 添加量的增加, 凝胶的交联密度和饱和度逐渐增加, 表现为凝胶的色泽变深。然而, 随着 CaCl_2 浓度进一步增加, 凝胶的硬度和稳定性反而降低, 凝胶变得脆弱且不均匀, 凝胶的透明度降低变得更加浑浊, 表现为凝胶的形状变得松散和不规则。这可能是由于 CaCl_2 过量导致 CCPS-3-1 分子链的缠绕和破坏, 从而影响凝胶的空隙结构和水分保持能力。

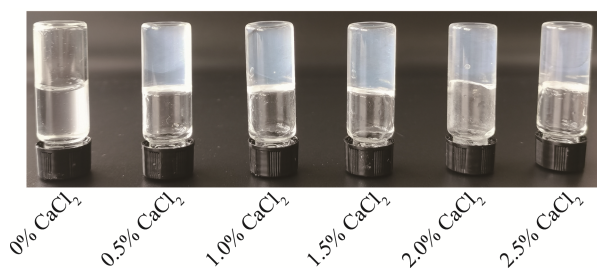
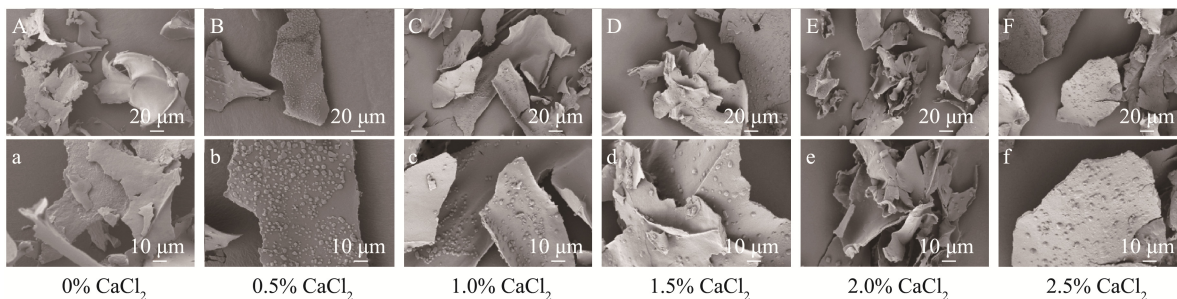


图 2 室温下添加不同 CaCl_2 的 CCPS-3-1 溶液的外观
Fig.2 Appearance of CCPS-3-1 solutions with different CaCl_2 additions at room temperature

SEM 技术在研究多糖凝胶的微观结构中发挥着重要作用, 可以提供高分辨率的表面形貌图像, 揭示多糖凝胶的表面特征, 如表面粗糙度、孔隙结构等, 有助于评估凝胶的表面性质和形貌^[16]。图 3 是不同浓度的 CaCl_2 影响 CCPS-3-1 的 SEM 图像。可以观察到, 当 CaCl_2 的添加量为 0% 时, 凝胶表现出更加均匀和光滑的表面和更小的孔隙, 并且随着 CaCl_2 浓度增加到 1.5%, 结构变得更加致密。当 CaCl_2 浓度达到 2.5% 时, 凝胶的网络结构表现出更加不均匀、疏松、粗糙的表面和更大的孔隙。这可能是由于钙离



注: A. 0% CaCl_2 、B. 0.5% CaCl_2 、C. 1.0% CaCl_2 、D. 1.5% CaCl_2 、E. 2.0% CaCl_2 、F. 2.5% CaCl_2 为放大倍数 400;
a. 0% CaCl_2 、b. 0.5% CaCl_2 、c. 1.0% CaCl_2 、d. 1.5% CaCl_2 、e. 2.0% CaCl_2 、f. 2.5% CaCl_2 ; 放大倍数为 1000。

图 3 室温下添加不同 CaCl_2 的 CCPS-3-1 溶液的 SEM 图像

Fig.3 SEM images of CCPS-3-1 solutions with different CaCl_2 additions at room temperature

子浓度过高导致凝胶过于坚硬, 影响其弹性和可塑性, 使光滑的表面变得粗糙, 并且由于正负离子的相互作用, 从而使凝胶结构产生更大的孔隙。SEM 图像结果与凝胶外观的分析结果相符。

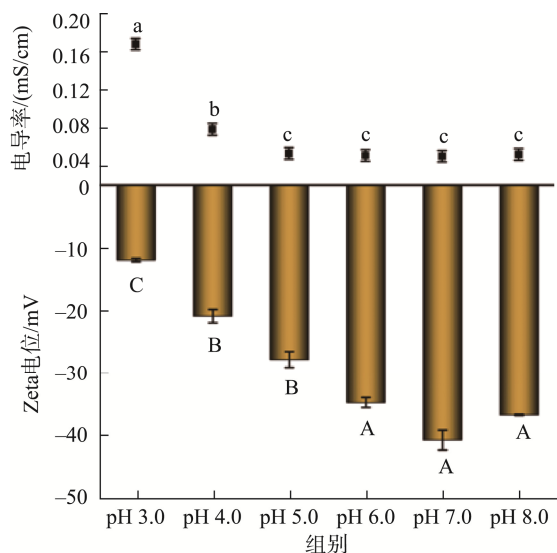
2.4 CCPS-3-1 的 Zeta 电位分析

Zeta 电位是表征凝胶分散系稳定性的重要指标, 它反映了分散离子表面与周围介质之间的电势差。由图 4 可知, CCPS-3-1 在 pH 3.0~8.0 时具有负的 Zeta 电位, 这与半乳糖醛酸单元-COOH 在酸性条件下解离有关。当 pH 从 3.0 增加到 6.0 时, Zeta 电位从 -12 mV 变化到 -35 mV。说明溶液中多糖分子之间的静电斥力较强, 能够有效阻止分子间的相互聚集, 使溶液处于相对稳定的状态。CCPS-3-1 的 Zeta 电位在 pH 6.0~8.0 范围内相对稳定。这一结果与有关报道中一种商品果胶相似^[17], 可能是由于滁菊多糖和果胶在单糖组成和结构上具有一定的相似性。CCPS-3-1 中高水平的负电荷使其能够与阳离子相互作用并迅速聚集, 这是 CCPS-3-1 有凝胶特性的重要原因之一^[18]。正如有关研究表明, 当多糖分子作为阴离子或阳离子存在时, 它们可以通过相互作用与带相反电荷的其他分子结合, 这种结合可以增加凝胶网络结构的稳定性, 提高凝胶的机械强度和弹性^[19-21]。

当多糖溶液通过交联固化成凝胶时, 其内部的微观结构发生变化, 影响离子的迁移路径和速度, 进而影响电导率。CCPS-3-1 溶液的电导率为 0.0495~0.0775 mS/cm (pH 4.0~8.0), 与芒果皮多糖的电导率相近^[13], 表明 CCPS-3-1 溶液具有良好的稳定性和网络结构。

2.5 CCPS-3-1 凝胶的 FTIR 分析

FTIR 分析可以为多糖凝胶的研究提供丰富的结构和成分信息, 有助于深入理解多糖凝胶的形成机制、性质和应用。红外光谱中峰的位置、强度及形状的变化可以反映分子间的相互作用。如图 5 所示, 单独 CCPS-3-1 (CaCl_2 添加量为 0%) 在 3409 cm^{-1} 处表现出明显的吸收峰, 这归因于糖类分子中的 O-H 伸缩振动; 在 1607 cm^{-1} 处的吸收峰



注: 大写字母和小写字母分别表示 Zeta 电位和电导率值存在显著差异($P < 0.05$)。

图 4 CCPS-3-1 溶液的 Zeta 电位和电导率

Fig.4 Zeta potential and conductivity of CCPS-3-1 solution

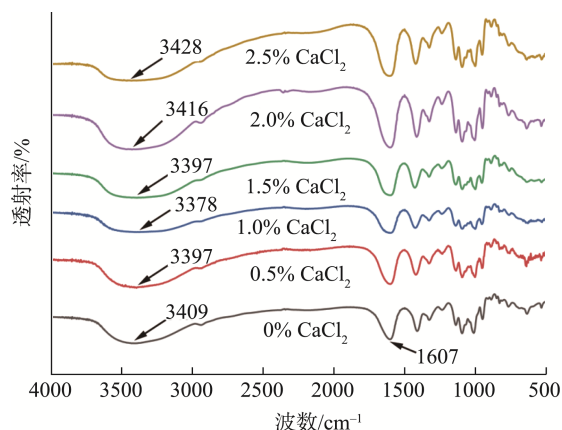


图 5 冻干 CCPS-3-1 凝胶的 FTIR 光谱

Fig.5 FTIR spectra of the lyophilized CCPS-3-1 gels

对应于糖醛酸中的羰基 C=O 振动, 这也同样表明滁菊多糖 CCPS-3-1 组分是酸性多糖。随着 CaCl₂ 浓度的增加, 吸收带向较低波数移动。在 CaCl₂ 浓度为 1.0% 时, 吸收峰达到 3378 cm⁻¹, 表明谱带发生显著红移。这可能是由于 Ca²⁺ 会和 CCPS 分子中的官能团发生相互作用, 这种相互作用使 CCPS 分子链间的氢键等作用力发生变化, 特别是通过改变多糖分子上的羟基之间的氢键强度, 导致多糖分子的振动状态改变。当 CaCl₂ 浓度增加到 2.5% 时, 谱带向更高波数移动, 吸收峰中心位于 3428 cm⁻¹。研究表明, 低浓度的 CaCl₂ 添加促进了分子间氢键的形成, 但过量的 CaCl₂ 会削弱分子间氢键^[14,22]。

2.6 CCPS-3-1 凝胶的 XRD 分析

不同 CaCl₂ 浓度制备得到的 CCPS-3-1 凝胶的 XRD 谱图如图 6 所示, 多糖的衍射峰强度与 CaCl₂ 的浓度有关。

结果表明, 单独的 CCPS-3-1 无尖锐峰, 在 20° 处有小的部分结晶带, 说明 CCPS-3-1 为非晶体无定形材料, 与白及多糖水凝胶的 XRD 分析结果相一致^[23]。随着 CaCl₂ 浓度的增加, 其结晶度也增加, 在约 32° 和 45° 处出现了新的衍射峰。这说明 Ca²⁺ 与 CCPS-3-1 之间存在相互作用, 形成了稳定的配合物, 增强了分子间的氢键和疏水相互作用。当 Ca²⁺ 浓度为 1.5% 时, CCPS-3-1 凝胶的结晶度达到最大, 而更高浓度的 CaCl₂ 则导致结晶颗粒的减少和分散。因此, 特征峰的强度减小反映了多糖凝胶结晶度的变化, 表明 CCPS-3-1 凝胶具备稳定的结构。

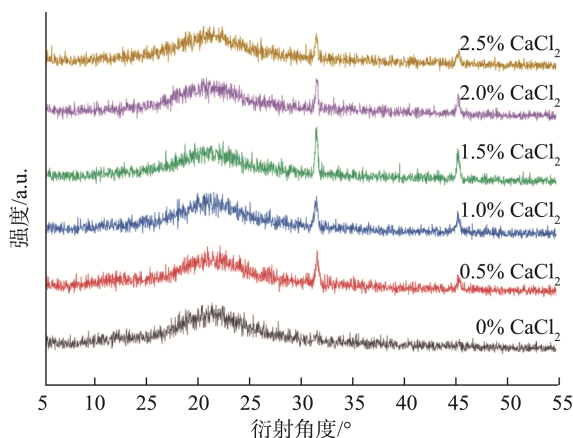


图 6 冻干 CCPS-3-1 凝胶的 XRD 的图谱

Fig.6 XRD patterns of the lyophilized CCPS-3-1 gels

2.7 CCPS-3-1 凝胶的 DSC 分析

DSC 是一种常用的热分析技术, 可以测量物质在升温、降温或恒温过程中吸收或释放的能量。对于多糖类物质, DSC 通过观察多糖在加热过程中的分解温度或吸热峰, 评估多糖的热稳定性^[24]。如图 7 DSC 结果表明, 单独 CCPS-3-1 (未添加 CaCl₂) 的吸热过程发生在 157 °C 附近, 放热过程发生在 248 °C 附近。随着 CaCl₂ 浓度的增加, CCPS-3-1

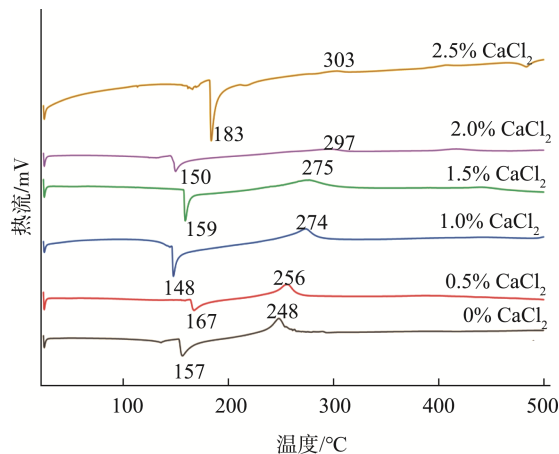


图 7 冻干 CCPS-3-1 凝胶的 DSC 的图谱

Fig.7 DSC patterns of the lyophilized CCPS-3-1 gels

凝胶的放热峰值逐步增加,这一现象与 CaCl_2 的浓度有关,随着 CaCl_2 浓度的增加,可能发生了更强烈的 CCPS-3-1 和 CaCl_2 之间的相互作用,更多的 Ca^{2+} 参与到交联过程中,使得 CCPS-3-1 凝胶结构更为致密和稳定,从而提高了 CCPS-3-1 凝胶的热稳定性。表明 CaCl_2 的加入可能会提高 CCPS-3-1 凝胶的熔融温度,表明需要更多的能量来破坏凝胶结构,从而抵抗热诱导的解体。

2.8 CCPS-3-1 凝胶的流变学分析

2.8.1 LVR 分析

对多糖凝胶进行 LVR 分析,能够深入了解多糖凝胶在不同应变条件下的黏弹性特征,进一步揭示其结构稳定性、交联程度等。不同浓度的 CaCl_2 诱导的 CCPS-3-1 凝胶 LVR 如图 8 所示,CCPS-3-1 凝胶在应力达到一定值后,存储模量开始下降,说明了 CCPS-3-1 分子链发生了解聚,交联密度下降,并且随着 CaCl_2 浓度的增加,CCPS-3-1 凝胶的形成能力可能发生变化。随着 CaCl_2 浓度的升高,CCPS-3-1 凝胶的存储模量也随着升高,LVR 有拓宽趋势,表明高浓度 CaCl_2 诱导的凝胶能承受更大的形变而不破坏其结构,表明 CaCl_2 在凝胶网络的形成中起到了关键作用, CaCl_2 浓度的增加可能会增强 CCPS-3-1 凝胶的稳定性和强度。

2.8.2 静态剪切测定结果分析

静态剪切测定可以用来评估多糖在外力作用下的流动特性。图 9A 是 CCPS-3-1 凝胶的剪切应力变化图,结果表明,在不同 CaCl_2 浓度下,CCPS-3-1 凝胶的剪切应力都随着剪切速率的增加而上升,并呈现出非线性特征。这表明 CCPS-3-1 凝胶在各种 CaCl_2 浓度条件下都表现出非牛顿流体的假塑性特性^[25]。这可能是由于多糖分子之间的相互作用,如氢键和疏水作用,在剪切力的作用下可能会减弱,使得分子间的束缚力降低,凝胶在受力时更容易流动,从而表现出假塑性特性^[25]。图 9B 是 CCPS-3-1 凝胶的表观黏度变化图,可以观察到,在所有不同 CaCl_2 浓度下,CCPS-3-1 凝胶的黏度随着剪切速率的增加而降低,这直接反映了 CCPS-3-1 凝胶剪切稀化现象^[26-27],与大豆种皮多糖添加量对乳液凝

胶表观黏度随剪切速率变化的结果相符^[28]。此外,相同剪切速率下,随着 CaCl_2 浓度的增加,CCPS-3-1 凝胶的黏度也随之增加,抗剪切性增强。

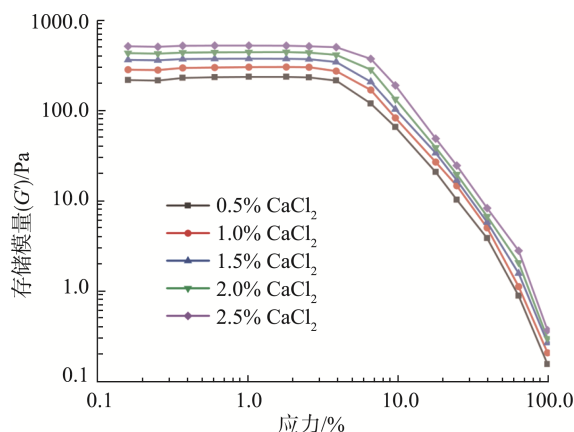


图 8 不同浓度 CaCl_2 诱导的 CCPS-3-1 凝胶 LVR
Fig.8 CCPS-3-1 gel LVR induced by different concentrations of CaCl_2

2.8.3 动态频率扫描结果

不同浓度 CaCl_2 对 CCPS-3-1 凝胶黏弹性行为的影响如图 10A~C 所示,在 0.1~10.0 Hz 的频率扫描范围内,CCPS-3-1 凝胶的 G' 和 G'' 值随 Ca^{2+} 浓度从 0.5% 增加到 2.5% 而增加。此外, G' 的值始终大于 G'' ,表明所有样品此时可以形成凝胶结构从而限制水分子的迁移。对于弹性行为, $G' > G''$ ($\text{Tan}\delta < 1$),而 $G' < G''$ ($\text{Tan}\delta > 1$) 是黏性行为的特征^[29-30]。

上述现象也可以 $\text{Tan}\delta$ 来解释。如图 10C 所示,所有样品的 $\text{Tan}\delta$ 值均随频率的增加而增加。 $\text{Tan}\delta$ 值小于 1,说明 CCPS-3-1 样品在不同 Ca^{2+} 浓度下表现出固体弹性,且表现出较弱的凝胶行为。这一现象表明,静电相互作用在 CCPS-3-1 凝胶网络结构的形成中起到了重要的作用。之前的研究也报告了类似的结果。例如,来自 *Mesona blumes* 的多糖也表明,当 Ca^{2+} 的加入超过一定点时, $\text{Tan}\delta$ 的值增加^[4]。适当浓度的 Ca^{2+} 离子增加了静电相互作用,从而增强了 CCPS-3-1 凝胶的流变行为。

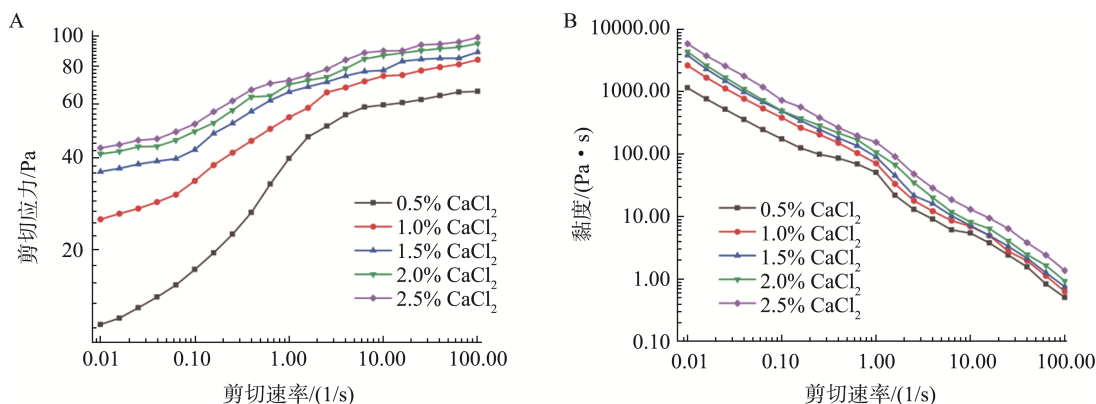


图 9 不同浓度 CaCl_2 下 CCPS-3-1 凝胶的静态剪切测定结果
图 9 Static shear determination of CCPS-3-1 gel at different concentrations of CaCl_2

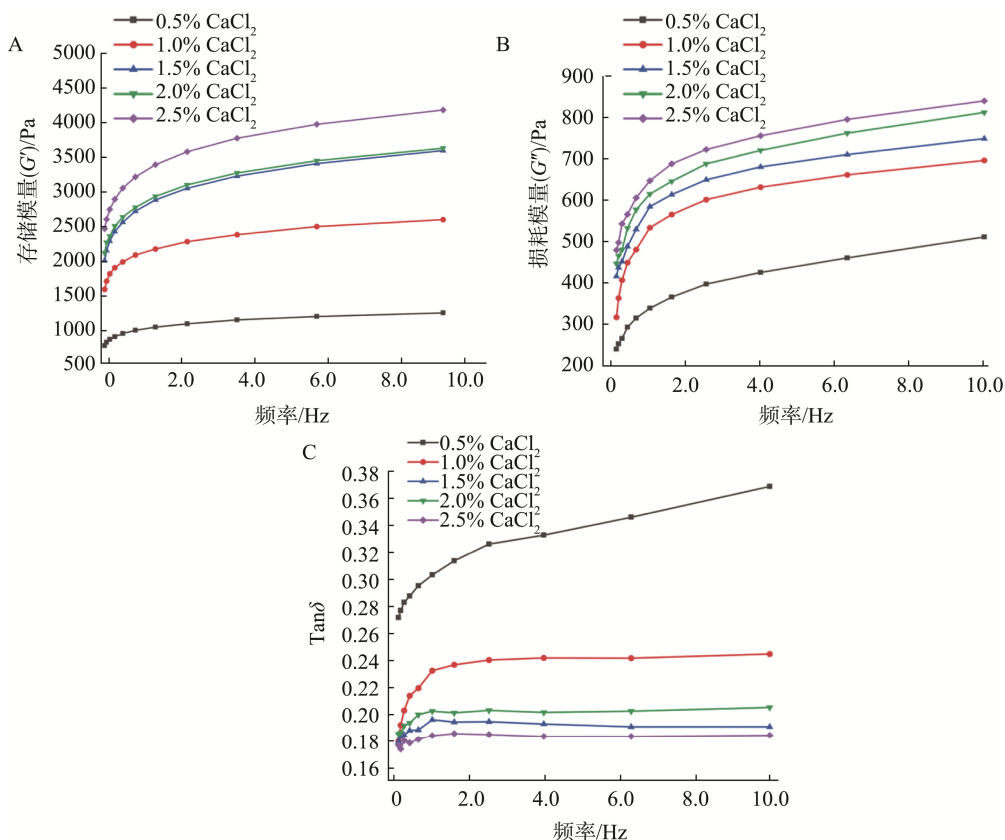


图 10 不同浓度 CaCl_2 下 CCPS-3-1 凝胶的动态频率扫描结果
 Fig.10 Dynamic frequency scanning results of CCPS-3-1 gel at different concentrations of CaCl_2

2.8.4 尿素和 EDTA 实验分析

尿素和 EDTA 被用于评估植物多糖的胶凝机制, 发现尿素和 EDTA 的加入会显著改变凝胶的功能特性^[27]。尿素作为一种变性剂, 可能会改变多糖的三维结构, 从而影响其凝胶特性。EDTA 作为一种螯合剂, 能够与金属离子形成稳定的复合物, 可能会影响依赖于金属离子(如 Ca^{2+})来维持结构的植物凝胶。如图 11 所示, 添加 2.0% 尿素后, CCPS-3-1 胶凝力明显减弱, 添加 5.0% 尿素则完全消除了胶凝作用, 这可能是由于尿素破坏了多糖分子间的氢键。当添加 0.1% 或 0.2% EDTA 时, 没有形成凝胶, 这可能是由于 EDTA 螯合了多糖分子中的金属离子, 切断了 CCPS-3-1 分子间通过 Ca^{2+} 形成的交联键, 从而影响了 CCPS-3-1 凝胶

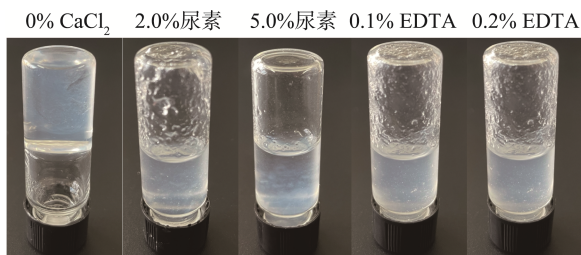


图 11 尿素和 EDTA 对室温下添加 1.5% CaCl_2 的 CCPS-3-1 凝胶的影响

Fig.11 Effects of urea and EDTA addition on CCPS-3-1 gels with 1.5% CaCl_2 addition at room temperature

的形成和维持。这一发现表明氢键和 Ca^{2+} 交联应同时促进 CCPS-3-1 凝胶化。

3 讨论与结论

以滁菊为原材料, 分离纯化得到 CCPS-3-1 组分, CCPS-3-1 的主要成分为酸性多糖。多糖的化学组成对其凝胶特性有着直接的影响, 其凝胶能力与其分子间的相互作用有关, 这些相互作用包括氢键、疏水作用、离子键和分子间的堆积作用力等。多糖分子中的羟基可以通过氢键形成稳定的分子间交联, 从而在冷却或遇水时形成凝胶, 或者官能团水解(如乙酰基团)可以通过与多糖分子相互作用, 增强凝胶网络的稳定性^[31-32]。

通过不同浓度 CaCl_2 诱导 CCPS-3-1 形成凝胶, 酸性糖的存在使 CCPS-3-1 对 Ca^{2+} 离子具有敏感性; 同时, 高含量的糖醛酸可能表明 CCPS-3-1 具有高支化结构, 从而有利于通过链缠结形成分子间氢键。当适量的 Ca^{2+} 离子存在下, CCPS-3-1 在 4 °C 低温下表现出显著的胶凝能力; 然而, 过量的 Ca^{2+} 会导致凝胶作用减弱或消失。经 CaCl_2 诱导后, CCPS-3-1 的热稳定性得到提升, 晶体结构更加稳定。流变实验结果表明, CCPS-3-1 凝胶的表现黏度和存储模量随着 CaCl_2 浓度的增加而增大, 而 $\text{Tan}\delta$ 随着 CaCl_2 浓度的增加而减小。此外, 静电相互作用在 CCPS-3-1 凝胶网络结构的

形成中起到了重要的作用。综合分析, CCPS-3-1 的凝胶机制涉及分子间氢键和 Ca^{2+} 交联的同时形成。研究结果可为滁菊多糖在凝胶领域的应用提供重要指导。

参考文献

- [1] YU Y, SHEN M, SONG Q, *et al.* Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 183: 91–101.
- [2] WANG L, ZHANG B, XIAO J, *et al.* Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit [J]. *Food Chemistry*, 2018, 249: 127–135.
- [3] TANG W, SHEN M, XIE J, *et al.* Physicochemical characterization, antioxidant activity of polysaccharides from *Mesona chinensis* Benth and their protective effect on injured NCTC-1469 cells induced by H_2O_2 [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 175: 538–546.
- [4] WANG W, JIANG L, REN Y, *et al.* Gelling mechanism and interactions of polysaccharides from *Mesona blumes*: Role of urea and calcium ions [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 212: 270–276.
- [5] SHAO P, MA H, ZHU J, *et al.* Impact of ionic strength on physicochemical stability of O/W emulsions stabilized by *Ulva fasciata* polysaccharide [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 69: 202–209.
- [6] 韩天祥, 刘文革, 徐佳铭, 等. 滁菊多糖结构特性及其免疫活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(3): 320–328.
- [7] HAN TX, LIU WZ, XU JM, *et al.* Structural characterization and immunological activity of Chuzhou chrysanthemum polysaccharides [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(3): 320–328.
- [8] DUBOIS M, GILLES K, HAMILTON JK, *et al.* A colorimetric method for the determination of sugars [J]. *Nature*, 1951, 168(4265): 167.
- [9] BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1): 248–254.
- [10] BLUMENKRANTZ N, ASBOE-HANSEN G. New method for quantitative determination of uronic acids [J]. *Analytical Biochemistry*, 1973, 54(2): 484–489.
- [11] LI J, NIE S, XIE M, *et al.* Isolation and partial characterization of a neutral polysaccharide from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru and its antioxidant and immunomodulatory activities [J]. *Journal of Function Foods*, 2014, 6: 410–418.
- [12] LUO S, WANG S, YANG X, *et al.* Gelation behaviors and mechanism of a new pectic polysaccharide from apple pomace as a potential gelatin substitute [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 241: 124558.
- [13] GUO C, LI X, GONG T, *et al.* Gelation of *Nicandra physalodes* (Linn.) Gaertn. polysaccharide induced by calcium hydroxide: A novel potential pectin source [J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 118: 106756.
- [14] CHEN S, XIAO L, LI S, *et al.* The effect of sonication-synergistic natural deep eutectic solvents on extraction yield, structural and physicochemical properties of pectins extracted from mango peels [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 86: 106045.
- [15] YANG X, NISAR T, LIANG D, *et al.* Low methoxyl pectin gelation under alkaline conditions and its rheological properties: Using NaOH as a pH regulator [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 79: 560–571.
- [16] WANG H, KE L, DING Y, *et al.* Effect of calcium ions on rheological properties and structure of *Lycium barbarum* L. polysaccharide and its gelation mechanism [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 122: 107079.
- [17] LIN L, SHEN M, LIU S, *et al.* An acidic heteropolysaccharide from *Mesona chinensis*: Rheological properties, gelling behavior and texture characteristics [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107: 1591–1598.
- [18] GUO C, LI X, GONG T, *et al.* Gelation of *Nicandra physalodes* (Linn.) Gaertn. polysaccharide induced by calcium hydroxide: A novel potential pectin source [J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 118: 106756.
- [19] YULIARTI O, CHONG SY, GOH KKT. Physicochemical properties of pectin from green jelly leaf (*Cyclea barbata* Miers) [J]. *International Journal Biological Macromolecules*, 2017, 103: 1146–1154.
- [20] LI S, LIN S, JIANG P, *et al.* The interaction mechanism of different ionic polysaccharides with myofibrillar protein and its contribution to the heat-induced gels [J]. *Food Frontiers*, 2024, 5(4): 1613–1628.
- [21] 薛山, 罗娟. 多糖添加对兔肌原纤维蛋白 Pickering 乳液稳定性及凝胶特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(13): 21–29.
- [22] XUE S, LUO J. Effect of polysaccharide addition on the stability and gel properties of rabbit myofibrillar Pickering emulsion [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(13): 21–29.
- [23] 曹立豪, 党乐平, 卫宏远. 明胶和海藻酸钠的协同作用对乳液稳定性的影响[J]. *化学工业与工程*, 2021, 38(2): 39–47.
- [24] CAO LH, DANG LP, WEI HY. Synergetic effect of gelatin and sodium alginate on stabilizing oil-in-water emulsions [J]. *Chemical Industry and Engineering*, 2021, 38(2): 39–47.
- [25] 高佳慧. 酸提甘草多糖的结构表征及其在酸奶中应用[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2023.
- [26] GAO JH. Structural characterization of *Glycyrrhiza* polysaccharides with acid-extracted and its application in yogurt [D]. Alar: Tarim University, 2023.
- [27] 王斯韬, 朱峻霄, 崔秀明, 等. 白及多糖外用凝胶的制备与评价[J]. *中草药*, 2017, 48(5): 888–893.
- [28] WANG ST, ZHU JX, CUI XM, *et al.* Preparation and evaluation of novel hydrogel of *Bletilla striata* polysaccharide [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, 48(5): 888–893.
- [29] 熊善强. 滑菇多糖的结构与理化特性研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021.
- [30] XIONG SQ. Study on the structure and physicochemical properties of polysaccharides from *Pholiota nameko* [D]. Heifei: Heifei University of Technology, 2021.
- [31] JIAO B, SHI A, LIU H, *et al.* Effect of electrostatically charged and neutral polysaccharides on the rheological characteristics of peanut protein isolate after high-pressure homogenization [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77: 329–335.
- [32] 张承宗, 汤国焜, 黄慧琳, 等. 蔗糖对浒苔多糖凝胶流变特性及结构的影响[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(21): 97–103.
- [33] ZHANG CZ, TANG GM, HUANG HL, *et al.* Effect of sucrose on rheological properties and structure of *Enteromorpha prolifera* polysaccharide gel [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(21): 97–103.
- [34] WANG W, JIANG L, REN Y, *et al.* Gelling mechanism and interactions of polysaccharides from *Mesona blumes*: Role of urea and calcium ions [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 212: 270–276.
- [35] 薛紫曦, 王胜男, 杨慧, 等. 大豆种皮多糖对蛋白乳液凝胶特性及微观结构的影响[J]. *食品科学技术学报*, 2024, 42(4): 164–172.
- [36] XUE ZX, WANG SN, YANG H, *et al.* Effect of soybean hull polysaccharide on properties and microstructure of protein emulsion gel [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2024, 42(4): 164–172.
- [37] NWOKOCHA LM, WILLIAMS PA. Solution characteristics and thermorheology of *Prosopis africana* seed polysaccharide [J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 56: 201–206.
- [38] XU G, LIAO A, HUANG J, *et al.* The rheological properties of differentially extracted polysaccharides from potatoes peels [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 137: 1–7.
- [39] 李秀秀, 尚静, 杨曦, 等. 多糖的增稠、胶凝及乳化特性研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(15): 300–308.
- [40] LI XX, SHANG J, YANG X, *et al.* A review on thickening, gelling and emulsifying properties of polysaccharides [J]. *Food Science*, 2021, 42(15): 300–308.
- [41] 侯芙蓉, 井玉林, 吴颖, 等. 铁皮石斛多糖的凝胶特性表征[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(7): 129–139.
- [42] HOU FR, JING YL, WU Y, *et al.* Characterization of the gel properties of *Dendrobium officinale* polysaccharides [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(7): 129–139.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)