

肖庆群. 石斛多糖山楂复合饮料制备及缓解运动性疲劳的作用 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(12): 191-197. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020080248

XIAO Qingqun. Study on Preparation of Mixed Beverage of *Dendrobium candidum* Polysaccharide and Hawthorn and Its Effect on Relieving Exercise Fatigue[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(12): 191-197. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020080248

· 工艺技术 ·

石斛多糖山楂复合饮料制备及缓解运动性疲劳的作用

肖庆群

(贵州师范学院, 贵州贵阳 550018)

摘要:以铁皮石斛多糖和山楂汁为原料, 研制石斛多糖山楂复合饮料, 并观察其对机体运动性疲劳的缓解效果。在单因素实验的基础上, 分别采用正交试验与响应面法, 确定复合饮料的组分最佳配比后, 测定不同组别小鼠的力竭游泳运动时间和相关生化指标。结果表明, 该复合饮料的最佳配方参数为: 石斛多糖溶液与山楂汁的体积比为 1:3、蔗糖用量 4%、柠檬酸用量 0.4%、羧甲基纤维素钠 0.20%、海藻酸钠 0.08%、黄原胶 0.04%, 制得的饮料呈浅黄绿色、色泽均一且透亮, 酸甜适中, 口感爽滑, 具有铁皮石斛与山楂混合香味, 静置后未有明显沉淀与分层, 感官评分达到 (91.7±0.4) 分, 离心沉淀率为 0.61%±0.02%。与空白对照组相较, 中、高剂量的石斛山楂复合饮料可分别延长小鼠力竭游泳时间 1.5 min ($P<0.05$) 和 4.4 min ($P<0.01$), 体内血乳酸浓度分别降低 1.2 mmol/L ($P<0.05$) 和 3.4 mmol/L ($P<0.01$), 血尿素氮浓度分别减小 2.6 mmol/L ($P<0.01$) 和 3.5 mmol/L ($P<0.01$), 因此该复合饮料有利于缓解机体运动性疲劳, 可推广应用于运动营养领域。

关键词:铁皮石斛, 多糖, 山楂, 复合饮料, 运动性疲劳

中图分类号: TS275.4

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2021)12-0191-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020080248

Study on Preparation of Mixed Beverage of *Dendrobium candidum* Polysaccharide and Hawthorn and Its Effect on Relieving Exercise Fatigue

XIAO Qingqun

(Guizhou Normal University, Guiyang 550018, China)

Abstract: A new formula of compound beverage was developed by polysaccharides of *Dendrobium candidum* and hawthorn juice as raw materials. On the basis of single factor tests, analyzing the optimum parameters of the mixed beverage by orthogonal test and response surface method, then measuring the exhaustive swimming time and related biochemical indexes in different groups of mice, respectively. Results showed that, the optimum parameters of mixed beverage were as follows: The volume ratio of polysaccharide extract of *Dendrobium candidum* and hawthorn juice was 1:3, the amount of sucrose was 4%, the amount of citric acid was 0.4%, the amount of sodium carboxymethyl cellulose was 0.20%, the amount of sodium alginate was 0.08%, and the amount of xanthan gum was 0.04%. The sensory evaluation score and centrifugal sedimentation rate of the beverage that optimum process preparation was (91.7±0.4) scores and 0.61%±0.02%. The beverage solution presented a light yellow-green color, transparent, and smooth taste with the proper acidity and sweet, without obvious precipitation or stratification after storage, and had strong mixed fragrance of *Dendrobium candidum* and hawthorn. Compared with the blank control group, the exhaustive swimming time of the groups of compound beverage at middle and high doses could separately prolong 1.5 min ($P<0.05$) and 4.4 min ($P<0.01$) in mice, the BLA concentration respectively decreased 1.2 mmol/L ($P<0.05$) and 3.4 mmol/L ($P<0.01$) *in vivo*, and BUN

收稿日期: 2020-08-26

基金项目: 贵州省体育产业研究课题 (GZTY2018202); 贵州省科技计划项目 (黔科合基础 [2017] 1035)。

作者简介: 肖庆群 (1984-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 运动营养, E-mail: xiaqingqun@163.com。

concentration separately decreased 2.6 mmol/L ($P<0.01$) and 3.5 mmol/L ($P<0.01$) *in vivo*. Therefore, the mixed beverage of *Dendrobium candidum* polysaccharide and hawthorn had better relieve exercise fatigue, and could be used in the field of sports nutrition.

Key words: *Dendrobium candidum*; polysaccharide; hawthorn; mixed beverage; exercise fatigue

运动性疲劳指机体在剧烈运动下,产生的大量活性氧自由基,促使氧化应激反应发生,使得体内代谢物质累积、造成组织损伤和肌肉收缩能力下降,同时体内能源物质被消耗殆尽,进一步导致工作能力与效率的降低。大量研究已证实,对机体补充外源性抗氧化剂是延缓疲劳的一种行之有效的方法^[1-2],特别是近年,部分多糖、皂苷、黄酮类化合物及小分子肽类等天然抗氧化活性成分已被发现具有显著的抗疲劳活性^[3-5]。

铁皮石斛(*Dendrobium candidum*)为兰科石斛属植物铁皮石斛的新鲜或干燥茎,是药食两用植物,主要成分为石斛碱和多糖类物质,具有抗衰老、增强机体免疫等作用,常被用于保健食品的添加^[6-7]。国、内外研究已表明铁皮石斛水提物能明显提高机体的抗疲劳及耐缺氧能力^[8-10]。有学者先后分别采用水浴和微波方法提取石斛多糖,通过体外抗氧化试验证实其对羟基自由基、超氧阴离子自由基等氧自由基清除作用较好^[11-12]。由于天然化合物的体、内外活性高度相关^[13],而在石斛食品研究方面,目前多集中探讨其与不同物质的复配^[14-16],却忽略对其功能性开展研究。因此,本研究以石斛多糖和山楂为原料,研制石斛山楂复合饮料,根据动物实验,观察其缓解运动性疲劳效果,从而为相关运动食品的研制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

铁皮石斛多糖 西安立环生物科技有限公司; 山楂 贵阳恒晖综合农贸市场; 柠檬酸 济南国丞化工有限公司; 羧甲基纤维素钠 河北利华生物科技有限公司; 黄原胶 安徽中弘生物工程有限公司; 海藻酸钠 苏州美亿辰生物科技有限公司; 西洋参口服液 山东鹤王生物工程有限公司; 葡萄糖标准品 中国食品药品检定研究院; 苯酚、硫酸 均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司; 血乳酸(BLA)与血尿素氮(BUN)检测试剂盒 上海仁捷生物科技有限公司; 试验用水 为蒸馏水; 雄性健康小鼠 150只,每只体重 20~25 g, 贵州实验动物中心(SYXK(黔)2018-0001)。

BSA 124S型电子天平 赛多利斯有限公司; Y99-IIDN型超声波细胞粉碎机 上海净信实业发展有限公司; pH S-25型 pH计 上海仪电科学仪器股份有限公司; 754型紫外可见分光光度计 上海析谱仪器有限公司; GYJZ型高压均质机 扬州均瑞机械设备有限公司; BKQ-B50II型立式压力蒸汽灭菌器 济南欧莱博科学仪器有限公司; KH19A型台式

离心机 湖南凯达科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程



1.2.2 操作要点

1.2.2.1 山楂汁制备 山楂晒干后,清洗干净,以水为溶剂,在料液比 1:10 条件下,于 80 °C 冷凝回流 2 h,采用 8 层纱布过滤,收集滤液,滤渣则继续进行上述操作,合并两次滤液,混合均匀,减压蒸发至 200 mL,即得山楂汁^[17]。

1.2.2.2 饮料配制 20% 石斛多糖水溶液和 20% 山楂汁以一定比例混合后加入蔗糖、柠檬酸制得原料液后,另加入羧甲基纤维素钠、海藻酸钠与黄原胶(相对原料液的百分比)调配,经均质搅拌(1500 r/min) 15 min 后灌装,于 121 °C 灭菌 10 min,冷却,即得石斛山楂复合饮料^[15]。

1.2.3 原料液组分配比

1.2.3.1 单因素实验 根据预实验结果,分别研究石斛多糖溶液与山楂汁的体积比、蔗糖和柠檬酸用量对饮料中原料液的感官得分影响,具体如下:固定蔗糖用量 4%,柠檬酸用量 0.3%,考察石斛多糖溶液与山楂汁的体积比(5:1、3:1、1:1、1:3、1:5)对感官得分影响;固定石斛多糖溶液与山楂汁的体积比 1:3,柠檬酸用量 0.3%,考察蔗糖的用量(2%、4%、6%、8%、10%)对感官得分影响;固定石斛多糖溶液与山楂汁的体积比 1:3,蔗糖用量 4%,考察柠檬酸的用量(0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%)对感官得分影响。

1.2.3.2 正交试验设计 在单因素实验基础上,以原料液的感官评分为评价指标,对石斛多糖溶液与山楂汁的体积比(X)、蔗糖用量(Y)、柠檬酸用量(Z)三个因素进行正交试验,以优化原料液中各组分配比,具体因素与水平见表 1 所示。

表 1 正交试验因素水平
Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

| 水平 | X 石斛多糖溶液与山楂汁的体积比 | Y 蔗糖(%) | Z 柠檬酸(%) |
|----|------------------|---------|----------|
| 1 | 3:1 | 2 | 0.2 |
| 2 | 1:1 | 4 | 0.3 |
| 3 | 1:3 | 6 | 0.4 |

表 2 原料液的感官评价标准

Table 2 Sensory evaluation criteria of the raw material solution

| 评价项目 | 评价标准 | 评价值(分) |
|------|-----------------------------|--------|
| 色泽 | 呈浅黄绿色, 色泽鲜明, 透亮 | 15~20 |
| | 呈黄绿色, 较透亮, 色泽不均一 | 5~15 |
| | 棕绿色, 不透亮, 溶液上下层存在明显色差 | 0~5 |
| 气味 | 山楂与石斛香味宜人, 气味均衡, 无异味或刺激性气味 | 20~30 |
| | 山楂与石斛香味较协调, 但不突出, 无异味或刺激性气味 | 10~20 |
| | 有异味或刺激性气味 | 0~10 |
| 口感 | 酸甜适中、口感柔和、爽滑, 山楂或石斛风味明显 | 40~50 |
| | 口感适宜, 具有山楂或石斛风味 | 25~40 |
| | 酸甜适度, 山楂或石斛风味较淡 | 10~25 |
| | 口感较差, 偏酸或偏甜, 没有山楂和石斛的味道 | 0~10 |

1.2.3.3 饮料感官品质评价 根据石斛山楂复合饮料的特性, 并参考相关饮料的评价标准^[18-19], 制定该复合饮料的原料液感官评价标准, 具体见表 2 所示, 另邀请 20 位食品专业人员, 分别按照该标准, 对不同配比制得的原料液进行感官评价, 最终评分取平均值。

1.2.4 复合稳定剂用量

1.2.4.1 单因素实验 固定原料液中各组分的最佳配比, 研究不同稳定剂的最佳用量具体如下: 固定黄原胶用量 0.06%, 海藻酸钠用量 0.10%, 考察羧甲基纤维素钠的用量(0.05%、0.10%、0.15%、0.20%、0.25%)对离心沉淀率的影响; 固定羧甲基纤维素钠用量 0.15%, 黄原胶用量 0.06%, 考察海藻酸钠的用量(0.06%、0.08%、0.10%、0.12%、0.14%)对离心沉淀率的影响; 固定羧甲基纤维素钠用量 0.15%, 海藻酸钠用量 0.10%, 考察黄原胶的用量(0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、0.10%)对离心沉淀率的影响。

1.2.4.2 响应面试验设计 以羧甲基纤维素钠(A)、海藻酸钠(B)和黄原胶(C)为响应因素, 离心沉淀率为响应值(Y), 设计三因素三水平的响应面试验, 利用 Design-Expert 软件的 Box-Behnken 试验设计原理, 优化复合稳定剂配比, 具体因素水平见表 3 所示。

表 3 响应面试验因素水平

Table 3 Factors and levels in response surface design

| 水平 | A羧甲基纤维素钠(%) | B海藻酸钠(%) | C黄原胶(%) |
|----|-------------|----------|---------|
| -1 | 0.10 | 0.08 | 0.04 |
| 0 | 0.15 | 0.10 | 0.06 |
| 1 | 0.20 | 0.12 | 0.08 |

1.2.4.3 饮料稳定性评价 以离心沉淀率衡量运动饮料的稳定性, 离心沉淀率越大, 则溶液稳定性越差。称取复合饮料 m_0 , 置于离心管中, 以 3000 r/min, 离心 10 min 后, 对管内上清液称重记为 m , 照公式 $W(\%)=(m_0-m)/m_0$ 计算饮料的离心沉淀率 $W(\%)$, 平行测定六次^[20]。

1.2.5 质量指标检测 利用 pH 计测定复合饮料的 pH, 另按照文献 [21] 步骤, 测定复合饮料的多糖含

量, 同时检测饮料的微生物菌落总数、大肠杆菌等致病菌^[22]。

1.2.6 动物实验

1.2.6.1 动物分组与试验设计 150 只健康雄性小鼠适应性喂养 7 d 后(生长环境温度 20~25 °C, 相对湿度 50%~70%), 按体质量随机分为五组, 即空白对照组、阳性对照组、低、中、高剂量组, 每组各 30 只, 阳性对照组给予西洋参口服液灌胃 0.1 mL/g·d, 低、中、高剂量组则分别灌胃复合饮料 0.05、0.10、0.20 mL/g·d, 而空白对照组则以 0.85% 生理盐水替代饮料灌胃, 全部动物每天灌胃 1 次, 连续灌胃 30 d, 灌胃期间可自由喂食与饮水^[23]。

1.2.6.2 动物游泳试验 末次灌胃后, 各组 10 只动物于鼠尾负重 5% 体重重物, 置于 25 °C 游泳池内开展负重游泳试验, 记录小鼠自入水开始游泳至沉没超过 10 s 的时间, 即为动物力竭游泳时间^[24]。

1.2.6.3 体内生化指标检测 末次灌胃结束后, 各组剩余动物游泳 30 min, 取出擦净, 休息 10 min 后, 于眼底取血, 离心, 制备血清, 照相关试剂盒说明书要求, 检测各组小鼠体内的血乳酸(BLA)与血尿素氮(BUN)浓度^[25]。

1.3 数据处理

相关评价指标均采用均数、标准差描述, 利用 SPSS 19.0 进行方差分析, 检验水准 $\alpha=0.05$, 当 $P<0.05$ 表示具有显著性差异, $P<0.01$ 表示具有极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 原料液配方单因素试验结果

2.1.1 石斛多糖溶液与山楂汁的体积比的影响 不同石斛多糖溶液与山楂汁的体积比对原料液感官品质的影响, 见图 1 所示。当石斛多糖溶液与山楂汁的体积比为 1:3 时, 原料液的感官得分最高, 此时溶液呈浅黄绿色、透亮, 酸甜适中, 具有铁皮石斛与山楂的混合香味。若山楂汁用量过多时, 溶液颜色较深, 影响饮料色泽观感, 感官得分偏低, 因此确定石斛多糖溶液与山楂汁的体积比 3:1、1:1、1:3 作为正交试验因素考察水平。

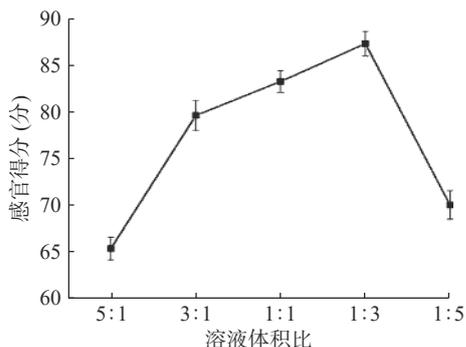


图1 体积比对饮料感官评分的影响

Fig.1 Effect of volume ratios on the sensory evaluation of beverage

2.1.2 蔗糖用量对饮料品质的影响 蔗糖的添加有利于丰富溶液口感,不同蔗糖用量对原料液感官品质的影响,见图2所示。随着蔗糖用量的增多,原料液的感官评分先增加后减小,当蔗糖用量为4%时,感官评分达到最大值,这可能归因于蔗糖用量过多时,溶液的甜度过高,因此选择蔗糖用量2%、4%、6%作为正交试验因素考察水平。

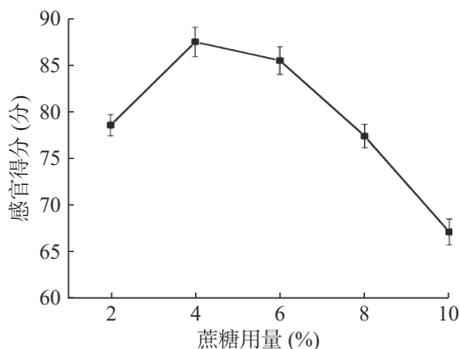


图2 蔗糖用量对饮料感官评分影响

Fig.2 Effect of amount of sucrose on the sensory evaluation of beverage

2.1.3 柠檬酸用量对饮料品质的影响 柠檬酸不仅可作为食品的矫味剂、还可作为抗氧化剂和pH调节剂,常被用于食品的添加,使其在长期存放时保持品质^[26]。不同柠檬酸用量对原料液感官品质的影响,见图3所示。当柠檬酸用量超过0.3%,感官评分开始

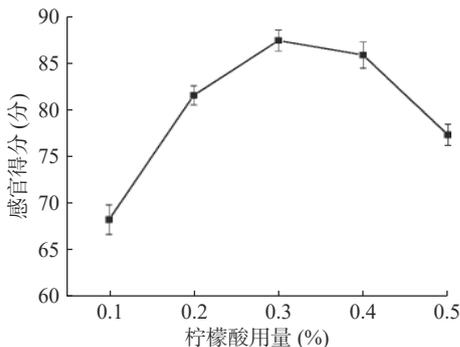


图3 柠檬酸用量对饮料感官评分的影响

Fig.3 Effect of amount of citric acid on the sensory evaluation of beverage

下降,这可能源于柠檬酸用量过多,会导致溶液涩味加重,口感变差,因此选择柠檬酸的用量0.2%、0.3%、0.4%作为正交试验因素考察水平。

2.2 原料液配方正交试验结果

根据上述单因素实验结果可知,石斛多糖溶液与山楂汁的体积比、蔗糖与柠檬酸用量对原料液的感官评价影响较大,但考虑单因素实验结果并非最优值,因此设计以三者为变量的三因素三水平正交试验,确定复合饮料的原料液最佳配比,试验结果见表4所示。

表4 正交试验结果
Table 4 Results of the orthogonal-test method

| 实验号 | X石斛多糖溶液与山楂汁的体积比 | Y蔗糖(%) | Z柠檬酸(%) | 感官得分(分) |
|----------------|--|--------|---------|---------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 79.2 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 85.6 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 82.4 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 84.9 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 88.4 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 84.5 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 89.8 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 87.5 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 86.1 |
| k ₁ | 82.4 | 84.6 | 83.7 | |
| k ₂ | 85.9 | 87.2 | 85.5 | |
| k ₃ | 87.8 | 84.3 | 86.9 | |
| R | 5.4 | 2.8 | 3.1 | |
| 主次因素 | X>Z>Y | | | |
| 试验最优方案 | X ₃ Y ₂ Z ₃ | | | |

从表4可知, R_X>R_Z>R_Y,即各因素对石斛山楂复合饮料的感官得分影响顺序为:石斛多糖溶液与山楂汁的体积比>柠檬酸用量>蔗糖用量。通过极差分析可知,饮料原料液最佳配比为 X₃Y₂Z₃,因此采用该最优配比方案,即石斛多糖溶液与山楂汁的体积比为1:3,蔗糖用量4%,柠檬酸用量0.4%,制得原料液的感官得分为(91.2±0.5)分,此时溶液呈浅黄绿色、色泽均匀、透亮,石斛与山楂的复合香味浓郁,且酸甜适中。

2.3 不同稳定剂用量对饮料稳定性的影响

由于石斛多糖与山楂汁内仍存在纤维组织和高分子物质,因此需利用稳定剂提高溶液的稳定性。羧甲基纤维素钠与海藻酸钠、黄原胶复配具有较好协同增效效果,联合应用时可显著增加饮料的稳定性^[27],因此以上述三种物质作为复合稳定剂成分,分别考察各自对饮料的离心沉淀率影响,结果见图4所示。随着不同组分用量的增多,饮料的离心沉淀率均表现为下降趋势,但用量过多可能导致溶液粘度过大,出现凝胶,从而影响口感,因此确定分别以0.10%、0.15%、0.20%作为羧甲基纤维素钠响应因素考察水平,0.08%、0.10%、0.12%作为海藻酸钠响应因素考察水平,0.04%、0.06%、0.08%作为黄原胶响应因素考察水平。

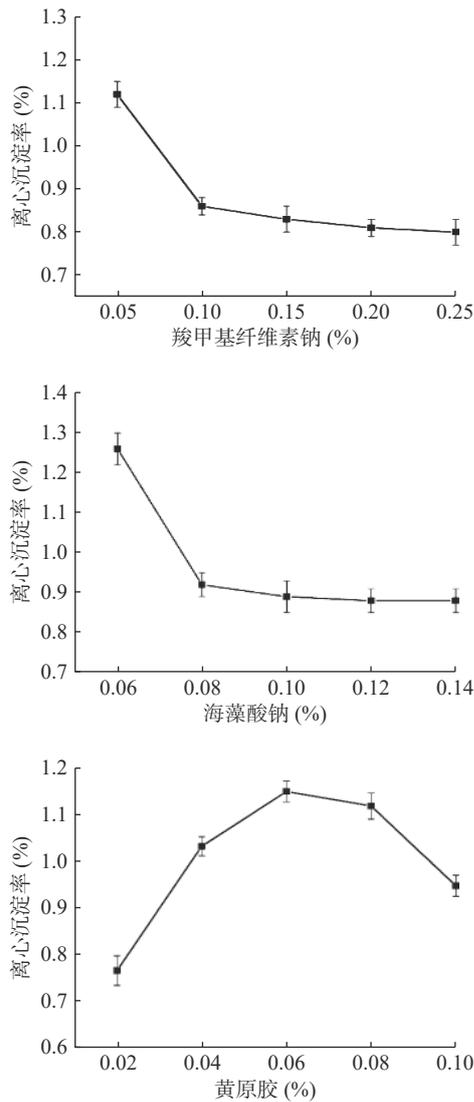


图 4 复合稳定剂用量对饮料离心沉淀率的影响

Fig.4 Effect of amount of compound stabilizer on centrifugal sedimentation rate of beverage

2.4 响应面优化结果

2.4.1 试验结果 按照 Box-Behnken 设计原理, 分别以羧甲基纤维素钠(A)、海藻酸钠(B)与黄原胶(C)的用量为响应面考察因素, 离心沉淀率(Y)为响应值, 进行三因素三水平响应面分析, 结果见表 5 所示。

上述试验结果进行多元回归拟合, 得到以感官得分为目标函数, 各参数编码值的二次多项回归模型: $Y=0.96-0.031A+0.074B+0.035C-0.015AB+0.053AC-0.067BC-0.038A^2-0.088B^2-0.055C^2$, 对该模型进行显著检验与回归分析, 结果见表 6 所示。

从表 6 可知, 该回归模型 $P<0.05$, 表明该模型回归效果显著, 较好反映实际结果, $R^2=0.8917$ 显示模型与试验结果拟合较好, 而失拟项 $P=0.2514$ 表明该模型方程不显著 ($P>0.05$) 可准确反映试验中各种因素与响应值之间的准确关系, 可利用回归方程拟合出最佳工艺条件。一次项 B、二次项 B^2 极显著性影响饮料的离心沉淀率 ($P<0.01$), 而交互项 AC 和 BC 对

表 5 响应面试验结果

Table 5 Results of the response surface analysis

| 实验号 | A羧甲基纤维素钠 | B海藻酸钠 | C黄原胶 | Y离心沉淀率(%) |
|-----|----------|-------|------|-----------|
| 1 | 0 | -1 | 1 | 0.82 |
| 2 | -1 | 1 | 0 | 0.98 |
| 3 | -1 | -1 | 0 | 0.79 |
| 4 | 0 | 1 | 1 | 0.82 |
| 5 | 1 | 0 | 1 | 0.97 |
| 6 | -1 | 0 | 1 | 0.88 |
| 7 | 1 | 0 | -1 | 0.74 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0.93 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0.97 |
| 10 | 1 | 1 | 0 | 0.84 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 1.02 |
| 12 | 0 | 1 | -1 | 0.94 |
| 13 | 0 | -1 | -1 | 0.67 |
| 14 | 1 | -1 | 0 | 0.71 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0.95 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 0.91 |
| 17 | -1 | 0 | -1 | 0.86 |

表 6 回归分析结果

Table 6 Results of regression analysis

| 来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F值 | P值 |
|----------------|---------|-----|--------|-------|--------|
| A | 0.0078 | 1 | 0.0078 | 3.04 | 0.1248 |
| B | 0.044 | 1 | 0.044 | 16.93 | 0.0045 |
| C | 0.0098 | 1 | 0.0098 | 3.81 | 0.0918 |
| AB | 0.0009 | 1 | 0.0009 | 0.35 | 0.5727 |
| AC | 0.011 | 1 | 0.011 | 4.29 | 0.0771 |
| BC | 0.018 | 1 | 0.018 | 7.09 | 0.0323 |
| A ² | 0.0061 | 1 | 0.0061 | 2.37 | 0.1680 |
| B ² | 0.033 | 1 | 0.033 | 12.68 | 0.0092 |
| C ² | 0.013 | 1 | 0.013 | 5.05 | 0.0595 |
| 模型 | 0.15 | 9 | 0.016 | 6.40 | 0.0115 |
| 残差 | 0.018 | 7 | 0.0026 | | |
| 失拟项 | 0.011 | 3 | 0.0036 | 2.04 | 0.2514 |
| 误差项 | 0.00712 | 4 | 0.0018 | | |
| 总和 | 0.17 | 16 | | | |

其均有显著性影响 ($P<0.05$), 另从表中 F 值得到, 各因素对饮料的感官得分影响顺序为: 海藻酸钠用量 (B)>黄原胶用量(C)>羧甲基纤维素钠用量(A)。

2.4.2 响应曲面分析与验证试验 图 5 为不同考察因素的交互作用对饮料的离心沉淀率影响, 响应曲面越陡峭, 表明离心沉淀率(Y)受不同因素的交互作用影响越大^[28], 两两因素交互响应面坡面陡峭顺序为: $BC>AC>AB$, 即海藻酸钠和黄原胶用量的交互作用响应面最陡峭, 表明二者交互作用对饮料的离心沉淀率影响最大, 另对二次多项回归拟合方程进行极值分析, 确定饮料中复合稳定剂的最佳配方为: 羧甲基纤维素钠 0.20%、海藻酸钠 0.08%、黄原胶 0.04%, 离心沉淀率预测值为 0.53%, 实际测得为 $0.61\% \pm 0.02\%$ 。

2.5 饮料质量评价

根据正交与响应面试验确定石斛山楂复合饮料的最佳配方参数为石斛多糖溶液与山楂汁的体积比为 1:3、蔗糖用量 4%、柠檬酸用量 0.4%、羧甲基纤维素钠 0.20%、海藻酸钠 0.08%、黄原胶 0.04%。采

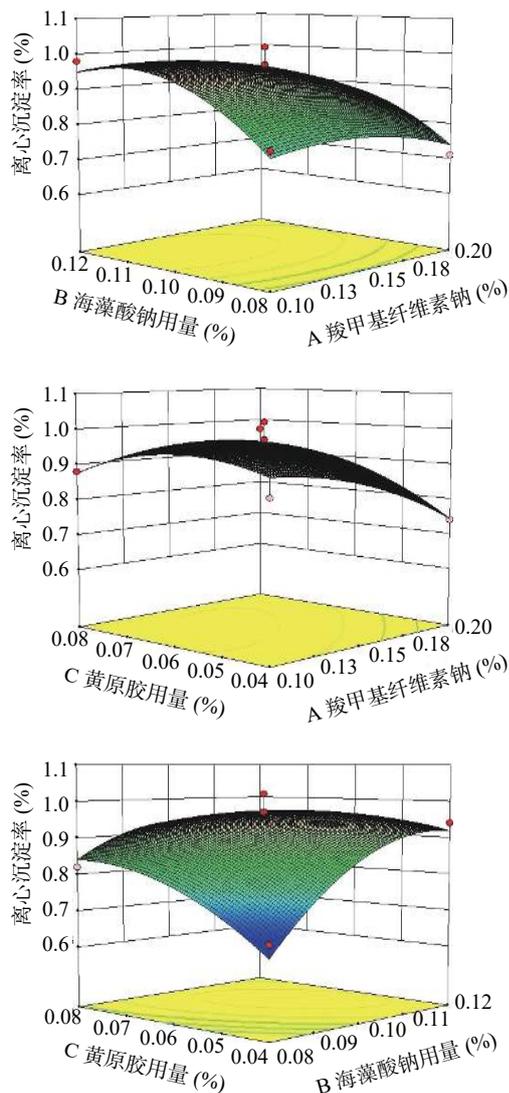


图5 响应曲面图

Fig.5 Figures of responsive surface

用上述配方制得的复合饮料呈浅黄绿色、色泽均一旦透亮,酸甜适中,口感爽滑,具有铁皮石斛与山楂混合香味,静置后未有明显沉淀与分层,感官评分为(91.7±0.4)分。

该复合饮料的pH为6.0;多糖含量为7.71%;微生物菌落总数≤100 CFU/mL,未检出大肠杆菌、黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌等致病菌,符合国家卫生标准。

2.6 饮料对动物负重游泳时间影响

负重游泳试验常被用于考察动物的力竭运动时间,以衡量动物的运动耐力,采用该试验分别考察各组小鼠的运动耐力,结果见表7所示。三个剂量组与阳性对照组的动物力竭游泳时间均长于空白对照组,但中、高剂量组与其有显著性差异($P<0.05$, $P<0.01$),而低剂量组力竭运动时间虽有一定延长,但无显著性差异($P>0.05$),另外高剂量组仍显著低于阳性对照组($P<0.05$),表明石斛山楂复合饮料可缓解其运动疲劳,提高小鼠的运动耐力。

2.7 饮料对体内生化指标影响

高强度运动时,耗氧量增加,体内供氧不充足,机

表7 复合饮料对小鼠力竭游泳时间的影响

Table 7 Effect of mixed beverage on exhaustive swimming time in mice

| 组别 | 游泳时间(min) |
|-------|--------------------------|
| 空白对照组 | 15.3±1.2 |
| 阳性对照组 | 20.6±1.6** |
| 低剂量组 | 16.0±1.5 [#] |
| 中剂量组 | 16.8±1.7* ^{##} |
| 高剂量组 | 19.7±1.5*** [#] |

注:与空白对照相较,*差异显著 $P<0.05$,**差异极显著 $P<0.01$;与阳性对照组相较,[#]差异显著 $P<0.05$,^{##}差异极显著 $P<0.01$;表8同。

体由有氧运动转变成无氧运动,血糖通过糖酵解生成乳酸,使得肌肉收缩强度降低,从而导致疲劳,当运动强度加剧,体内的碳水化合物与脂肪不能提供足够的能量时,蛋白质与氨基酸即会分解,以满足能量需求,使得肝脏中代谢产物尿素氮浓度增大^[29],因此采用运动后体内的BLA与BUN浓度表示机体的疲劳程度,结果见表8所示。

表8 复合饮料对小鼠BLA和BUN的影响

Table 8 The effect of mixed beverage on BLA and BUN in mice

| 组别 | BLA(mmol/L) | BUN(mmol/L) |
|-------|-------------------------|-------------------------|
| 空白对照组 | 11.4±1.3 | 10.5±1.4 |
| 阳性对照组 | 7.3±1.2** | 6.2±0.7** |
| 低剂量组 | 10.7±1.2 ^{##} | 9.6±0.5 ^{##} |
| 中剂量组 | 10.2±1.3* ^{##} | 7.9±0.8*** [#] |
| 高剂量组 | 8.0±0.9*** | 7.0±0.9*** |

三个剂量组与阳性对照组动物的BLA与BUN浓度均明显低于空白对照组,其中低剂量组的BLA浓度与空白对照组相比无显著性差异($P>0.05$),而中、高剂量组与其具有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。另外,低剂量组的BUN浓度与空白对照组相较也无显著性差异($P>0.05$),而中、高剂量组与其具有极显著性差异($P<0.01$),同时高剂量组的BLA与BUN浓度与阳性对照组相较,有显著性差异($P<0.05$),表明石斛山楂复合饮料有利于减少运动时乳酸生成和体内蛋白质的分解。

3 结论

本研究以铁皮石斛多糖和山楂汁为原料,研制出石斛山楂复合饮料,缓解运动性疲劳作用较好。在单因素实验的基础上,通过正交与响应面试验分析确定石斛山楂复合饮料的最佳配方为:石斛多糖溶液与山楂汁的体积比为1:3、蔗糖用量4%、柠檬酸用量0.4%、羧甲基纤维素钠0.20%、海藻酸钠0.08%、黄原胶0.04%,所得饮料呈浅黄绿色、色泽均一旦透亮,酸甜适中,口感爽滑,具有铁皮石斛与山楂混合香味,静置后未有明显沉淀与分层,感官评分达到(91.7±0.4)分,离心沉淀率为0.61%±0.02%。动物实验结果表明,石斛山楂复合饮料可明显延长动物的力竭运动时间,通过降低运动时体内BLA与BUN的

浓度,减少有害代谢产物的积累,从而提高运动耐力,缓解运动性疲劳的产生,因此有利于相关运动食品领域的推广,但对该饮料在体内的具体抗疲劳机制,仍需进一步深入研究。

参考文献

- [1] Teng Y S, Wu D. Anti-fatigue effect of green teapolyphenols (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)[J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(50): 326-331.
- [2] You L, Zhao M, Regenstein J M, et al. *In vitro* antioxidant activity and *in vivo* anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion[J]. *Food Chem*, 2011, 124(1): 188-194.
- [3] 陈慧, 马璇, 曹丽行, 等. 运动疲劳机制及食源性抗疲劳活性成分研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(11): 247-258.
- [4] Tang Y, Zhu Z Y, Pan L C, et al. Structure analysis and anti-fatigue activity of a polysaccharide from *Lepidium meyenii* Walp[J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(17): 2480-2489.
- [5] 李珊, 王宁, 乔杨波, 等. 罗布麻茶黄酮的分离富集及其抗氧化、抗疲劳活性[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(23): 54-59.
- [6] Jang J W, Kim C K, Ai T N, et al. Effect of plant growth regulators and carbon sources on proliferation and shoot formation of PLBs in *Dendrobium candidum*[J]. *Journal of Plant Biotechnology*, 2019, 46(1): 9-16.
- [7] 任刚, 陈优婷, 叶金宝, 等. 铁皮石斛叶的化学成分研究[J]. *中草药*, 2020, 51(14): 3637-3644.
- [8] Wei W, Li Z P, Zhu T, et al. Anti-fatigue effects of the unique polysaccharide marker of *Dendrobium officinale* on BALB/c mice[J]. *Molecules*, 2017, 22(1): 155.
- [9] Kim S, Jo K, Byun B S, et al. Chemical and biological properties of puffed *Dendrobium officinale* extracts: Evaluation of antioxidant and anti-fatigue activities[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 73: 104-114.
- [10] 谢唐贵, 陈敬民, 李燕婧. 不同产地铁皮石斛水提物的抗疲劳作用研究[J]. *云南中医中药杂志*, 2018, 39(8): 66-67.
- [11] 王丽霞, 刘孟宗, 王芳, 等. 铁皮石斛多糖提取及抗氧化活性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2019, 30(2): 85-90.
- [12] 邓维泽, 古霞, 闫天龙, 等. 微波辅助提取金钗石斛多糖及体外抗氧化研究[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(9): 55-59.
- [13] 张卓睿, 毛迪锐, 高晗等. 蓝莓花青素对小鼠抗疲劳及体内抗氧化作用[J]. *食品科学*, 2017, 38(21): 207-211.
- [14] 刘志勇, 赖华清, 熊耀坤, 等. 鲜铁皮石斛功能性饮品及其制备方法[J]. *食品工程*, 2019(4): 11-15.
- [15] 何超红, 魏丕伟, 胡告, 等. 铁皮石斛复合饮料的研制[J]. *保鲜与加工*, 2018, 18(1): 52-58.
- [16] 潘斌, 刘顺春, 黄松辉. 铁皮石斛红枣复合乳酸菌饮料的加工工艺研究[J]. *农产品加工*, 2019(8): 34-37.
- [17] 卫茹, 高文涛, 吕睿, 等. 马齿苋山楂汁复合饮料的研究[J]. *农产品加工*, 2018(4): 7-9.
- [18] 郑佳. 牛磺酸薄荷复合运动饮料研制及其体外抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(23): 157-162.
- [19] 缪园欣, 廖明星, 陈清婵, 等. 澄清型石斛红枣复合果汁饮料加工工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(23): 120-124.
- [20] 蔡秋萍, 王佳佳, 林辉, 等. 铁皮石斛原球茎清凉饮料的制备及其稳定性研究[J]. *食品工业*, 2015, 36(4): 16-19.
- [21] 肖玉娟, 傅奇, 何少贵, 等. 猴头菇多糖果醋饮料的研制[J]. *食品工业*, 2018, 39(12): 104-108.
- [22] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 4789.1-2016 食品安全国家标准食品微生物学检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [23] 朱晓亚. 天门冬皂苷提取物的纯化及体内抗疲劳作用研究[J]. *食品科技*, 2019, 44(9): 263-269.
- [24] Zhao X N, Liang J L, Chen H B, et al. Anti-Fatigue and antioxidant activity of the polysaccharides isolated from *Millettia speciosa* Champ. Leguminosae[J]. *Nutrients*, 2015, 7(10): 8657-8669.
- [25] Hu L S, Fang X Z, Du M H, et al. Anti-fatigue effect of blended *Camellia oleifera* Abel tea oil and Ge-132 in mice[J]. *Food & Nutrition Sciences*, 2015, 6(15): 1479-1487.
- [26] 卓长清, 赵欣, 栾朝霞. 枸杞刺五加运动饮料研制及抗疲劳作用研究[J]. *中国食品添加剂*, 2019, 30(12): 131-136.
- [27] 于洋, 余世锋, 王存堂, 等. 小米黑芝麻和黑木耳复合饮料的研制[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(18): 119-124.
- [28] 熊亚, 李敏杰. 响应面法优化辣木花绿茶饮料的制作工艺[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(22): 117-123.
- [29] Ye J, Shen C, Huang Y, et al. Anti-fatigue activity of sea cucumber peptides prepared from *Stichopus japonicus* in an endurance swimming rat model[J]. *J Sci Food Agr*, 2017, 97(13): 4548-4556.