

不同干燥方式对刺梨多糖多糖含量及 抗氧化活性的影响

关晓艳^{1,2}, 胡国鹏^{1,2}, 王媛^{1,2*}

(1. 甘肃省商业科技研究所有限公司, 兰州 730010; 2. 甘肃中商食品质量检验检测有限公司, 兰州 730010)

摘要: 目的 比较 3 种不同的干燥方式对刺梨多糖的多糖含量及抗氧化活性的影响。**方法** 采用 3 种不同干燥方包括热风干燥、冷冻干燥和喷雾干燥法干燥刺梨多糖, 通过多糖含量、蛋白质含量、红外光谱分析对刺梨多糖的理化性质进行评价, 并研究了其清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基、羟基自由基和 2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 [2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS] 自由基的能力。**结果** 热风干燥多糖, 冷冻干燥多糖和喷雾干燥多糖具有不同多糖含量和抗氧化活性。与热风干燥和冷冻干燥相比, 喷雾干燥多糖具有更强的抗氧化能力。**结论** 考虑到多糖的理化性质和抗氧化活性, 喷雾干燥法是制备刺梨多糖的一种较好的方法, 建议在食品工业中应用。

关键词: 刺梨; 多糖; 干燥方式; 理化性质; 抗氧化活性

Effects of different drying methods on polysaccharide content and antioxidant activity of polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt

GUAN Xiao-Yan^{1,2}, HU Guo-Peng^{1,2}, WANG Yuan^{1,2*}

(1. Gansu Institute of Business and Technology Co., Ltd., Lanzhou 730010, China; 2. Gansu Zhongshang Food Quality Test and Detection Co., Ltd., Lanzhou 730010, China)

ABSTRACT: Objective To compare the effects of 3 different drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of *Rosa roxburghii* Tratt polysaccharides. **Methods** Three different drying methods including hot air drying, freeze-drying and spray drying were used to dry polysaccharide. The physical and chemical properties of polysaccharide were evaluated by means of polysaccharide content, protein content and infrared spectrum, and its ability of scavenging 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) free radical, hydroxyl free radical and 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) free radical was studied. **Results** Hot air drying, freeze-drying and spray drying polysaccharides had different polysaccharide content and antioxidant activities. Contrasted with hot air drying and freeze-drying, spray drying polysaccharides exhibited stronger antioxidant abilities.

基金项目: 甘肃省科技厅项目“兰白试验区食品安全检验检测技术服务平台”、兰州市科技局重大专项“兰州国家自主创新示范区检验检测共性关键技术研究”(2018-4-27)

Fund: Supported by Science and Technology Department of Gansu Province “Lanbai Test Area Food Safety Inspection and Testing Technology Service Platform Program”, and Major Project of Lanzhou Science and Technology Bureau “Research on Key Technologies of Inspection and Testing Common Characteristics of Lanzhou National Independent Innovation Demonstration Zone” (2018-4-27)

***通讯作者:** 王媛, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 791490369@qq.com

***Corresponding author:** WANG Yuan, Master, Gansu Institute of Business and Technology Co., Ltd., Lanzhou 730010, China. E-mail: 791490369@qq.com

Conclusion Considering the physical and chemical properties and antioxidant activity of polysaccharides, spray drying is a better method for preparing polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt, and it could be applied in the food industry.

KEY WORDS: *Rosa roxburghii* Tratt; polysaccharides; drying method; physicochemical properties; antioxidant activity

1 引言

刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt.)属于蔷薇科, 主要分布在我国西南省份, 包括贵州、四川和云南。刺梨是一种球形的刺果, 由于其在果酒、果汁和果酱生产中的用途, 长期以来一直受到公众的认可^[1]。并且根据《本草纲目》的记载, 其在历史上一直被用作治疗多种疾病的古老中药^[2]。刺梨果实富含各种生物活性成分, 例如黄酮类、抗坏血酸、多糖和精油等。以前的研究主要集中在刺梨果实中的黄酮类和有机酸, 发现它们具有良好的防辐射和抗凋亡活性^[3]。多糖也是刺梨的主要生物活性成分, 但是大多数研究仅关注其提取方法^[4,5], 关于不同干燥方式对刺梨多糖的影响信息很少。

目前对于多糖的干燥通常采用热风干燥、冷冻干燥和喷雾干燥等方法。热风干燥通常通过蒸发去除水分, 导致样品质量和热量转移, 然而在干燥之后, 样品的外观会发生变化。冷冻干燥通常与真空技术相结合, 用于多糖冷冻脱水, 其在多糖物理化学性质和抗氧化活性方面发挥了重要作用^[6]。然而在真空冷冻干燥机中干燥的产品容易蓬松和不规则^[7]。喷雾干燥具有温度高、接触时间短的特点, 是干燥多糖的理想方法^[8]。因此, 评价不同干燥方法对多糖理化性质及抗氧化活性的影响是非常必要的。本研究以刺梨为原料, 采用不同的干燥方式处理从刺梨中提取的活性多糖, 采用多种方法分析多糖的理化性质和抗氧化活性, 以期对刺梨多糖的开发利用提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

2.1.1 材料与试剂

刺梨购自贵州当地市场。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS](美国 Sigma 公司); 浓硫酸、苯酚(分析纯, 天津大茂化学试剂厂); 溴化钾(光谱纯)、水杨酸、双氧水、FeSO₄(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

2.1.2 实验仪器

101-3A 型电热鼓风干燥箱(上海虔钧科学仪器有限公司); FD-1 型冷冻干燥机(天津比朗实验仪器制造有限公司);

QFN-8000T 型喷雾干燥机(上海乔枫实业有限公司); UV-754 型紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司); Vector 33 型红外光谱仪(德国 Bruker 公司); SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂); BS110 S 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); GL-21M 型高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 刺梨的前处理及其多糖提取

将刺梨果用去离子水冲洗干净, 去除果籽后备用。将经过剪碎的刺梨果肉(100 g)以 1:35(m/V)的料液比溶于水中, 用沸水浸提 30 min, 煮沸过程中不断搅拌, 之后去除滤渣, 收集滤液。在滤液中添加无水乙醇至最终浓度为 80%(V/V), 以 7800 r/min 离心 8 min, 收集沉淀。采用 Sevag 法^[9]除蛋白质后, 多糖溶液备用。

2.2.2 刺梨多糖的干燥处理

采用 3 种不同的方法对刺梨多糖(200 mL)进行干燥。

①热风干燥

在 100 °C 下热风 24 h, 完全干燥, 装入自封袋中, 避光, 备用。

②冷冻干燥

在温度为-65 °C, 真空度 100 Pa 下, 干燥 60 h, 完全干燥, 装入自封袋中, 避光, 备用。

③喷雾干燥

进口温度 200 °C, 出口温度 95 °C, 蠕动泵转速 720 mL/h, 完全干燥, 装入自封袋中, 避光, 备用。

2.2.3 多糖含量及蛋白质含量测定

分别采用苯酚-硫酸法^[10]测定多糖含量, Follin-酚法^[11]测定蛋白质含量。

2.2.4 红外光谱分析

通过红外光谱仪分析多糖样品的结构特征^[12]。将样品与溴化钾以 1:100(m/m)混匀后压片, 在 4000~400 cm⁻¹波数处测定。

2.2.5 体外抗氧化能力的测定

①清除 DPPH 自由基能力测定

参考 Hu 等^[13]的方法, 取 2 mL 不同质量浓度的样品溶液, 加入 2 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 溶液, 充分反应, 避光静置 30 min, 在波长 517 nm 处测定吸光度(A), 以无水乙醇溶液作空白, DPPH 自由基清除率的计算公式如下:

$$\text{DPPH 清除率} = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\%$$

式中, A_c 为未加入样品时 DPPH 的吸光度; A_j 为未加入

DPPH 时样品的吸光度; A_i 为样品和 DPPH 混合反应后的吸光度。

②清除羟基自由基能力测定

参考 Zhao 等^[14]的方法, 取 2 mL 不同质量浓度的样品溶液, 加入 1 mL 9 mmol/L 的 FeSO_4 溶液和 1 mL 9 mmol/L 的水杨酸-乙醇溶液, 再加入 1 mL 8.8 mmol/L 的双氧水, 37 °C 下反应 30 min, 以蒸馏水为空白, 在波长 510 nm 处测定吸光度(A), 考虑到样品本身的吸光度, 取未加双氧水的溶液作为本底吸收。 $\cdot\text{OH}$ 清除率的计算公式如下:

$$\cdot\text{OH} \text{ 清除率} = \frac{A_0 - (A_x - A_{x_0})}{A_0} \times 100\%$$

式中, A_0 为空白对照的吸光度; A_x 为加入样品溶液的吸光度; A_{x_0} 为未加双氧水的样品溶液的吸光度。

③清除 ABTS 自由基能力测定

参考赵冠华^[15]的方法, 加入 7.4 mmol/L 的 ABTS 储备液, 与 2.6 mmol/L 的 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 于黑暗室温反应 12 h, 再用 pH 7.4 的 PBS 稀释, 使其在波长 734 nm 处的吸光度为 0.70 ± 0.02 , 在反应体系中, 于试管中分别加入 0.2 mL 不同质量浓度的样品和参比溶液(pH 7.4 的 PBS), 再加入 0.8 mL 的 ABTS 反应溶液, 振荡摇匀, 室温下静置 6 min, 在波长 734 nm 处测定吸光度(A)。ABTS 自由基清除率的计算公式如下:

$$\text{ABTS 自由基清除率} = (1 - A_s/A_0) \times 100\%$$

式中, A_s 为加入样品溶液吸光值; A_0 为对照溶液吸光值。

2.2.6 数据处理

实验数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异显著。

3 结果与分析

3.1 不同干燥方式刺梨多糖的多糖含量

热风干燥、冷冻干燥和喷雾干燥中的多糖含量分别为 $(33.8 \pm 0.7)\%$ 、 $(46.4 \pm 1.2)\%$ 和 $(41.1 \pm 0.8)\%$, 不同干燥方法可能是导致多糖损失不同的原因。因此, 多糖的含量受到各种干燥方法的影响。另外, 3 种样品的蛋白质含量约在 2.7%~2.9% 之间, 无明显差距。

3.2 红外光谱分析

图 1 是 3 种不同的干燥方法得到的多糖的红外光谱图。3382 cm^{-1} 处的波峰归因于羟基的拉伸^[16], 在 1399 cm^{-1} 处的波峰归于 CH 弯曲振动, 在 1634 cm^{-1} 处的峰归于结合水^[17], 在 1024 cm^{-1} 处的吸收峰表明样品具有吡喃糖环骨架^[18], 在 893 cm^{-1} 处有吸收峰表示 β -构型糖苷键^[19]。结果表明 3 种干燥方式的多糖之间没有明显的差异, 均具有典型的多糖峰。

3.3 体外抗氧化能力测定

3.3.1 DPPH 自由基清除能力测定

3 种不同干燥方式刺梨多糖的 DPPH 自由基清除能力,

结果如图 2 所示。随着多糖浓度的增加, 对 DPPH 自由基清除能力增强, 呈浓度依赖性, 当浓度为 6 mg/mL 时, 冷冻干燥、喷雾干燥和热风干燥的清除率分别为 52.7%、84.9% 和 63.8%。这表明喷雾干燥的多糖具有良好的 DPPH 自由基清除能力。

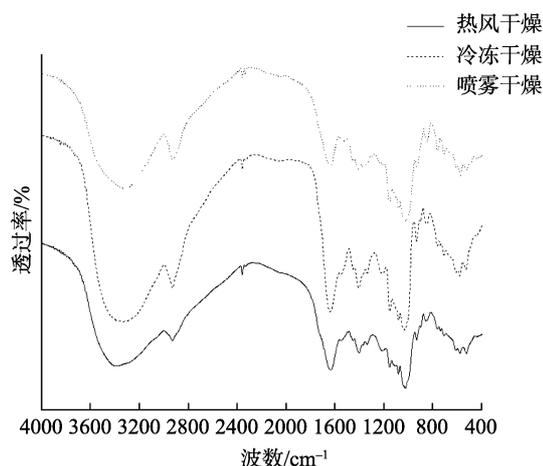


图 1 3 种不同干燥方式多糖的红外光谱图

Fig. 1 FT-IR spectra of polysaccharides by 3 different methods

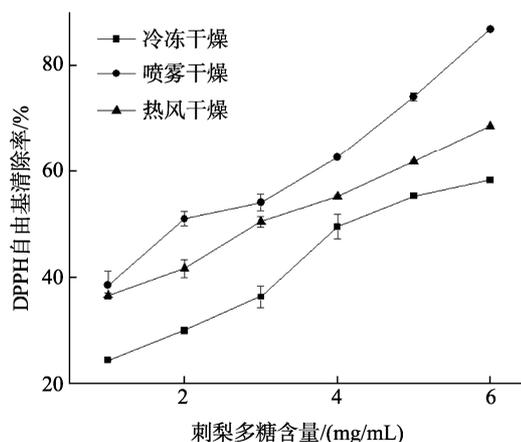


图 2 3 种不同干燥方式多糖的 DPPH 自由基清除能力($n=3$)

Fig. 2 DPPH radical scavenging abilities of polysaccharides by 3 different methods ($n=3$)

3.3.2 羟基自由基清除能力测定

3 种不同干燥方式刺梨多糖的羟基自由基清除能力, 结果如图 3 所示。随着多糖浓度的增加, 对羟基自由基清除能力增强, 呈浓度依赖性, 当浓度为 6 mg/mL 时, 冷冻干燥、喷雾干燥和热风干燥的清除率分别为 23.1%、58.4% 和 33.9%。这表明喷雾干燥的多糖与另外两种干燥方式多糖相比, 具有更好的羟基自由基清除能力。

3.3.3 ABTS 自由基清除能力测定

3 种不同干燥方式刺梨多糖的 ABTS 自由基清除能力, 结果如图 4 所示。随着多糖浓度的增加, 对羟基自由基清除能力增强, 呈浓度依赖性, 当浓度为 1.0 mg/mL 时, 冷冻

干燥、喷雾干燥和热风干燥的清除率分别为 25.6%、55.7% 和 37.2%。在低浓度范围内, 热风干燥多糖对 ABTS 自由基清除率略优于喷雾干燥多糖。随着多糖浓度增加, 热风干燥和冷冻干燥对 ABTS 自由基清除率趋于一致, 但均弱于喷雾干燥。这表明喷雾干燥的多糖与另外 2 种干燥方式多糖相比, 具有更好的 ABTS 自由基清除能力。

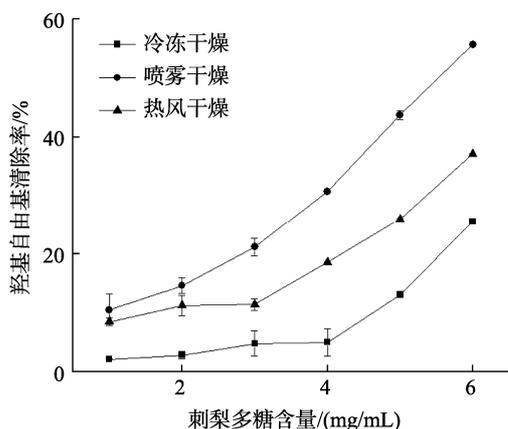


图 3 3 种不同干燥方式多糖的羟基自由基清除能力($n=3$)

Fig.3 Hydroxyl radical scavenging abilities of polysaccharides by 3 different methods ($n=3$)

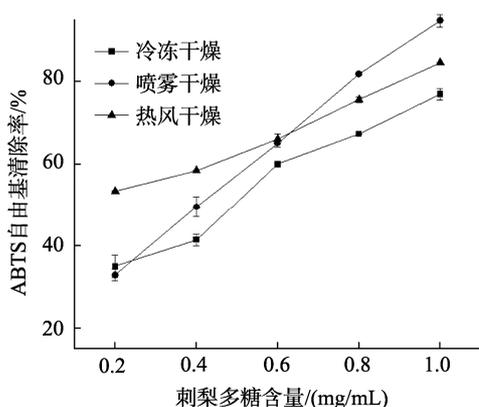


图 4 3 种不同干燥方式多糖的 ABTS 自由基清除能力($n=3$)

Fig.4 ABTS radical scavenging abilities of polysaccharides by 3 different methods ($n=3$)

体外抗氧化实验结果表明, 在 3 种多糖中, 喷雾干燥多糖具有最强的清除效果, 是生产多糖的良好选择。喷雾干燥具传热快、水分蒸发迅速、干燥时间短的特点, 且制品质量好, 质地酥脆, 溶解性能也好。郑亚旭^[20]的研究发现, 喷雾干燥过程中造成了牡蛎多糖的糖苷键的断裂, 多糖分子量变小, 抗氧化活性得到增加。时文芳等^[21]的研究指出, 喷雾干燥莲子蛋白白度大, 色泽较好, 持水性和起泡性能优于冷冻干燥。因此推测喷雾干燥快速脱去了刺梨多糖水分, 可能改变了刺梨多糖的溶解性能等性质, 使抗氧化能力得到了提升。

4 结论与讨论

本研究以刺梨为原料, 用热风干燥、冷冻干燥和喷雾干燥 3 种不同干燥方法得到多糖, 发现不同的干燥方式会显著影响刺梨多糖的理化性质和抗氧化活性。多糖含量分别为 33.8%、46.4% 和 41.1%, 蛋白质含量均在 2.8% 左右。体外抗氧化能力测定, 经喷雾干燥得到的刺梨多糖对 3 种自由基都具有较好的清除能力, 喷雾干燥是生产高质量刺梨多糖的方法, 建议在食品工业中应用。

参考文献

- [1] Wang HZ, Li Y, Ren ZH, *et al.* Optimization of the microwave-assisted enzymatic extraction of *Rosa roxburghii* Tratt. polysaccharides using response surface methodology and its antioxidant and α -d-glucosidase inhibitory activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, (112): 473–482.
- [2] Wang L, Li C, Huang Q, *et al.* Polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt fruit attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia and regulates colon microbiota in diabetic *db/db* mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(1): 147–159.
- [3] Wang L, Chen C, Zhang B, *et al.* Structural characterization of a novel acidic polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt fruit and its α -glucosidase inhibitory activity [J]. *Food Funct*, 2018, (9): 3974–3985.
- [4] 杨江涛. 刺梨多糖分离纯化、理化性质及生物活性研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2008.
Yang JT. Study on the separation, purification, physicochemical properties and biological activity of polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt [D]. Guiyang: Guizhou University, 2008.
- [5] 唐健波, 刘嘉, 刘辉, 等. 不同提取方法刺梨多糖抗氧化活性研究[J]. *农业科技与信息*, 2016, (28): 51–52.
Tang JB, Liu J, Liu H, *et al.* Study on antioxidant activity of polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt with different extraction methods [J]. *Agric Sci Technol Inform*, 2016, (28): 51–52.
- [6] Rafael MF, Víctor MRG, Rubén FGL, *et al.* Effect of different drying procedures on the bioactive polysaccharide acemannan from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 168(15): 327–336.
- [7] Zhao Q, Dong B, Chen J, *et al.* Effect of drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of wolfberry (*Lycium barbarum*) polysaccharide [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 127(20): 176–181.
- [8] Marques GR, Borges SV, Botrel DA, *et al.* Spray drying of green corn pulp [J]. *Dry Technol*, 2014, (32): 861–868.
- [9] Staub AM. Removal of proteins: Sevag method [Z].
- [10] Dubois M, Gilles K, Hamilton J, *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Anal Chem*, 1956, 28(3): 350–356.
- [11] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术(第 2 版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997.
Zhang LX, Zhang TF, Li LY. *Biochemical experimental methods and techniques* (2nd Edition) [M]. Beijing: Higher Education Press, 1997.
- [12] 赵冠华, 佟长青, 李伟, 等. 硫酸酯化牡蛎多糖对 3 种肿瘤细胞抑制及凋亡的影响[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(13): 302–306.
Zhao GH, Tong CQ, Li W, *et al.* Effect of sulfated polysaccharide from *Crassostrea gigas* on inhibition and induction of three kinds of carcinoma

- cell [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2017, 38(13): 302–306.
- [13] Hu SJ, Zhao GH, Zheng YX, *et al.* Effect of drying procedures on the physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Crassostrea gigas* [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0188536.
- [14] Zhao GH, Zhai XY, Qu M, *et al.* Sulfated modification of the polysaccharides from *Crassostrea gigas* and their antioxidant and hepatoprotective activities through metabolomics analysis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, (129): 386–395.
- [15] 赵冠华. 硫酸酯化牡蛎多糖的制备及其生物活性研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2018.
Zhao GH. Study on the preparation and biological activities of sulfated *Crassostrea gigas* polysaccharides [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2018.
- [16] Li C, Huang Q, Fu X, *et al.* Characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Prunella vulgaris* Linn [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, (75): 298–305.
- [17] 陈庆, 李超, 黄婷, 等. 刺梨多糖的理化性质、体外抗氧化和 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(11): 114–119, 253.
Chen Q, Li C, Huang T, *et al.* Physicochemical characterization, *in vitro* antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of polysaccharides from *Rosa sterilis* fruit [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2019, 35(11): 114–119, 253.
- [18] Cao C, Huang Q, Zhang B, *et al.* Physicochemical characterization and *in vitro* hypoglycemic activities of polysaccharides from *Sargassum pallidum* by microwave assisted aqueous two-phase extraction [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, (109): 357–368.
- [19] Ye H, Zhou C, Li W, *et al.* Structural elucidation of polysaccharide fractions from brown seaweed *Sargassum Pallidum* [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 97(2): 659–664.
- [20] 郑亚旭. 牡蛎多糖制备工艺及安全性毒理学评价研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2017.
Zheng YX. Preparation procedure of oyster polysaccharide and its toxicology [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2018.
- [21] 时文芳, 白榕, 吕丽爽, 等. 喷雾干燥和冷冻干燥莲子蛋白结构及其功能特性的比较[J]. *食品科学*, 2018, 39(9): 95–101.
Shi MY, Bai R, Lv LS, *et al.* Effects of spray drying and freeze drying on the structures and functional properties of lotus protein [J]. *Food Sci*, 2018, 39(9): 95–101.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



关晓艳, 助理工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 915477704@qq.com



王媛, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 791490369@qq.com