

文章编号:1673-1689(2011)06-0857-06

不同干燥方式对甲壳低聚糖品质的影响

白云鹏, 夏文水*

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 研究冷冻干燥、喷雾干燥、真空干燥、热风干燥对甲壳低聚糖品质的影响。以不同的干燥方式制备甲壳低聚糖粉, 测定产品的物性、还原糖、总糖及游离氨基含量和抗氧化活性等质量指标。冷冻干燥产品的还原糖、总糖、游离氨基的含量以及清除 $\text{OH}\cdot$ 的能力最高, 产品的色泽和溶解性较好; 喷雾干燥产品各项指标均较接近冷冻干燥; 真空干燥产品除了清除 $\text{O}_2^-\cdot$ 能力外, 其他指标不及冷冻干燥和喷雾干燥, 但优于热风干燥; 热风干燥产品色泽较深, 还原糖、总糖、游离氨基含量以及清除 $\text{OH}\cdot$ 的能力、溶解性都不及其他 3 种干燥方式。相对于其他 3 种干燥方式, 喷雾干燥较适合甲壳低聚糖的工业化生产。

关键词: 甲壳低聚糖; 干燥方式; 品质

中图分类号: Q 53

文献标识码: A

Effects of Drying Methods on the Quality of Chitooligosaccharides

BAI Yun-peng, XIA Wen-shui*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The target of this manuscript was to investigate the effect of vacuum freeze drying, spray drying, vacuum drying and hot air drying on the quality of chitooligosaccharides. For this, Chitooligosaccharides powder was made by different drying methods. Physical properties, contents of reducing sugar, total sugar and free amino groups, antioxidative activity were determined. It was found that vacuum freeze-dried product possessed the highest contents of reducing sugar, total sugar and free amino groups, and exhibited the best hydroxyl free radical scavenging capacity, color, and solubility. The quality of spray-dried product was almost the same as that of vacuum freeze-dried product. The tested indices of vacuum dried product were better than that of hot air dried but less than vacuum freeze dried and spray dried product except its superoxide anion radical scavenging activity. Hot air drying produced the poorest chitooligosaccharides powder which possessed dark color, poor solubility, low content of free amino groups, reducing and total sugar. Among of them, spray drying is more suitable for the actual industrial production.

Key words: chitooligosaccharides, drying methods, quality

收稿日期: 2010-11-05

基金项目: 江苏省科技成果转化专项资金项目(BA2009082)。

* 通信作者: 夏文水(1958—), 男, 江苏南京人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品加工技术研究。

Email: xiaws@jiangnan.edu.cn

甲壳低聚糖(Chitooligosaccharides)是甲壳素或壳聚糖经水解后产生的一种聚合度在2~20的氨基糖类化合物^[1]。由于甲壳低聚糖具有提高巨噬细胞吞噬能力、抑制肿瘤细胞生长、促进双歧杆菌繁殖、降低胆固醇、抗氧化等多种生理功效^[2-4],因此在食品、医药、农业、日化等领域有着广泛的应用前景。

目前,在甲壳低聚糖的制备方法中,酶水解法因条件温和、相对分子质量分布相对容易控制且不会导致还原端基的氧化和降解,是一种比较理想的制备方法^[5]。已有许多涉及壳聚糖酶和非专一性酶水解制备甲壳低聚糖的报道^[6],但酶法制备由于受壳聚糖溶解度的限制,酶解反应的底物浓度普遍较低,一般不超过5%,而且由于大多数酶降解效率不高,产物的含量就要更低,这导致了产物在分离纯化和干燥过程中会消耗较大的能量,很大程度上限制了酶法制备甲壳低聚糖的工业化生产。

甲壳低聚糖因是一种氨基多糖类化合物,在干燥过程中容易发生美拉德反应等副反应,不仅使产品的色泽加深,还可能影响甲壳低聚糖的生理活性^[7-8]。目前,还未见关于干燥方式对甲壳低聚糖品质影响的报道,本研究旨在通过考察不同干燥方式对甲壳低聚糖品质如还原糖、总糖、游离氨基含量以及溶解性和抗氧化能力的影响,为甲壳低聚糖的工业化生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

壳聚糖:脱乙酰度81.0%,相对分子质量 5.8×10^5 ,江苏双林海洋生物药业有限公司产品;复合纤维素酶:诺维信酶制剂有限公司产品;氨基葡萄糖盐酸盐标样:美国Sigma试剂公司产品;壳六糖标样:日本Seikagaku生化试剂公司产品;铁氰化钾,蒽酮,硫酸亚铁,邻菲罗啉,邻苯三酚,过氧化氢等试剂均为分析纯。

QZ-5型离心式喷雾干燥机:锡山市林洲干燥机厂生产;ALPHA 1-2 LD plus型冷冻干燥机:德国Martin Christ公司产品;DZG-6020型真空干燥箱:上海森信实验仪器有限公司生产;HH-B11型电热恒温鼓风干燥箱:上海跃进医疗器械有限公司生产;UltraScan Pro型高精度分光测色仪:美国HunterLab公司产品;Waters 600高效液相色谱仪:配备2410示差折光检测器和Empower工作站,美国Waters公司产品;UV 2100型紫外-可见分光光度计:美国尤尼柯仪器公司产品;320-S pH计:瑞士

梅特勒-托利多(上海)有限公司产品。

1.2 甲壳低聚糖的酶法制备

将壳聚糖分散于水中,参照文献^[9]的方法,加入复合纤维素酶和冰醋酸并调节pH 4.5~5.0,控制体系温度45℃左右,制备出质量浓度为10 g/dL的壳聚糖溶液并进行酶反应直至壳聚糖全部变成水溶性壳聚糖,调节pH值>9.0,酶解液经抽滤、微滤后经超滤除去酶和大分子壳聚糖,超滤透过液经阴阳离子交换树脂脱盐,在温度<50℃,真空度0.09 MPa条件下,减压浓缩至固形物40%~50%,以备干燥用。

1.3 甲壳低聚糖的干燥

冷冻干燥:将固形物质量分数为40%的甲壳低聚糖浓缩液在物料盘中铺开为1 cm左右的薄层,置于-50℃超低温冰箱内预冻10 h,取出后放入冷冻干燥机中,控制干燥室压强50~60 Pa,冷阱温度-55~-60℃,干燥时间24 h,粉碎后封装。

真空干燥:将固形物质量分数50%的浓缩液倒入物料盘中,均匀铺开为<0.5 cm薄层,控制干燥室温度60℃,真空度0.09 MPa,干燥时间4 h,在干燥器内冷却至室温,粉碎后封装。

喷雾干燥:料液固形物质量分数40%,进风温度175~180℃,进料速度50 mL/min,雾化盘驱动压力0.35 MPa。

热风干燥:将固形物质量分数50%的浓缩液倒入物料盘中均匀铺开为<0.5 cm薄层,干燥室的温度65℃,风速1 m/s,干燥时间8 h,在干燥器内冷却至室温,粉碎后封装。

1.4 分析测定方法

1.4.1 相对分子质量及其分布的测定 采用高效凝胶过滤色谱法,色谱条件:Waters 600高效液相色谱仪;Ultrasorb 2000和Ultrasorb 250凝胶色谱柱串联;流动相:0.1 mol/L NaNO₃;柱温:45℃;体积流量0.9 mL/min;标准品为葡聚糖(41 100、21 400、4 600、2 500)及壳六糖(相对分子质量为985)。

1.4.2 色泽的测定 采用UltraScan Pro高精度分光测色仪测定甲壳低聚糖粉的 L^* 、 a^* 、 b^* 值。其中, L^* 越大表示产品的透明度($L^*=0$ 为黑色, $L^*=100$ 为白色); a^* (正值)表示红色程度; b^* (正值)表示黄色程度。 L^* 越大表示颜色越白, a^* 、 b^* 越大表示褐变和黄色程度越大。

1.4.3 溶解性的测定 产品溶解性按照GB/T 20884-2007测定。

1.4.4 分散性的测定 参照文献^[10]的方法测定

产品的分散性,在 250 mL 的烧杯中加入 100 mL 去离子水,放入 25 ℃ 的恒温水浴中,加入 10 g 甲壳低聚糖粉,记录从搅拌开始到粉块全部溶解所需要的时间(s)。

1.4.5 堆积密度的测定 参照文献[11]的方法测定产品的堆积密度,将甲壳低聚糖散落至 10 mL 的量筒中,测定 10 mL 甲壳低聚糖的质量,换算出堆积密度 g/mL。

1.4.6 还原糖和总糖的测定 还原糖含量的测定采用 Imoto 法^[12];总糖含量的测定采用蒽酮比色法^[13]。

1.4.7 游离氨基含量的测定 游离氨基含量的测定采用电位滴定法^[14]。

1.4.8 抗氧化活性的测定 清除羟基自由基(OH·)能力测定采用邻二氮菲-Fe²⁺氧化法^[15];清除超氧阴离子自由基(O₂⁻·)能力测定采用邻苯三酚自氧化法^[16]。

1.5 数据处理

Statistical Analysis System 8.0。

2 结果与讨论

2.1 产品的相对分子质量及分布

酶法制备甲壳低聚糖工艺的壳聚糖转化率达 65% 以上,酶解液经分离纯化后,通过高效凝胶过滤色谱法测定甲壳低聚糖的相对分子质量及分布,结果如图 1 所示,产品重均分子量 M_w 为 2 938,数均分子量 M_n 为 2 540,分布系数 $M_w/M_n=1.16$,分子量分布较窄。

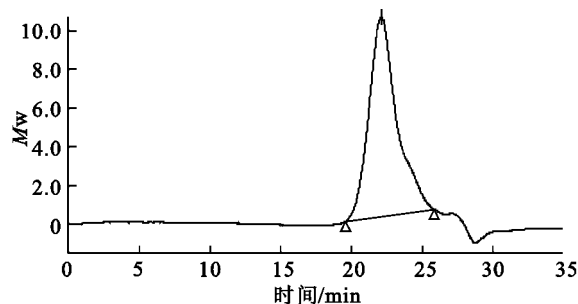


图 1 甲壳低聚糖的相对分子质量及分布

Fig. 1 The distribution of chitooligosaccharides molecular weight

2.2 干燥方式对产品物性的影响

2.2.1 干燥方式对产品色泽的影响 色泽是甲壳低聚糖产品的重要质量指标之一,不同干燥方式制备的产品色泽差异很大,不同干燥方式对甲壳低聚糖产品色泽的影响如表 1 所示:

由表 1 可知,喷雾干燥的产品为淡黄色, L^* 值最大,主要是因为喷雾干燥时虽然物料受热温度较高,但加热时间极短,产品的褐变反应很小;冷冻干燥制备的产品 L^* 值次之,表明干燥过程产生的褐变反应很小;喷雾干燥产品和冷冻干燥产品色泽较为接近,两者 L^* 值间差异不显著($p>0.05$),说明较低的热处理强度和较短的热处理时间有利于保持产品的色泽。真空干燥和热风干燥的产品颜色较深,分别为深黄色和褐色,褐变反应严重,这显然与真空干燥和热风干燥操作时间长、干燥温度高有关。

2.2.2 干燥方式对产品溶解性、分散性及堆积密度的影响 不同干燥方式制备的产品的溶解性、分散性和堆积密度见表 2。

表 1 干燥方式对甲壳低聚糖色泽的影响

Tab. 1 Effect of drying methods on the chitooligosaccharides color

干燥方式	L^*	a^*	b^*	色泽
冷冻干燥	83.56±0.99	3.00±0.07	21.00±0.10	淡黄色
喷雾干燥	84.33±0.20	3.60±0.08	25.84±0.17	淡黄色
真空干燥	64.09±0.89	11.77±0.28	22.15±0.14	深黄色
热风干燥	47.21±0.02	5.41±0.03	8.31±0.05	褐色

注:以上结果为 5 批次样品测定的平均值±标准差。

表 2 干燥方式对甲壳低聚糖溶解性、分散性和堆积密度的影响

Tab. 2 Effect of drying methods on Chitooligosaccharides solubility, dispersibility and packing density

干燥方式	溶解性/%	分散性/s	堆积密度/(g/cm ³)
冷冻干燥	全溶	20.61±1.96	0.23±0.01
喷雾干燥	全溶	48.28±1.82	0.48±0.01
真空干燥	全溶	85.55±3.16	0.70±0.04
热风干燥	98.48±1.46	—	0.72±0.02

注:a、“—”表示产品始终有部分无法完全溶解;b、以上结果为 5 批次样品测定的平均值±标准差。

由表2可知,不同干燥方式制备的产品间堆积密度差异极显著($p < 0.01$),冷冻干燥的产品堆积密度最低,主要原因是冷冻干燥制备的粉体中有大量的孔隙,喷雾干燥制备的产品次之,真空干燥和热风干燥产品最高。不同干燥方式制备的产品间分散性差异极显著($p < 0.01$),粉体颗粒间的孔隙度大有助于改善产品的分散性,所以冷冻干燥的产品分散性最佳,能快速地溶解到水中;喷雾干燥的产品在冲调中有少量的结块存在,影响了其分散性;真空干燥和热风干燥产品分散性较差,热风干燥产品出现了部分不溶解物质,其他3种干燥方式制备的产品均能完全溶于水中。

2.3 干燥方式对产品总糖和还原糖质量分数的影响

不同干燥方式制备的甲壳低聚糖总糖和还原糖含量的比较见图2。

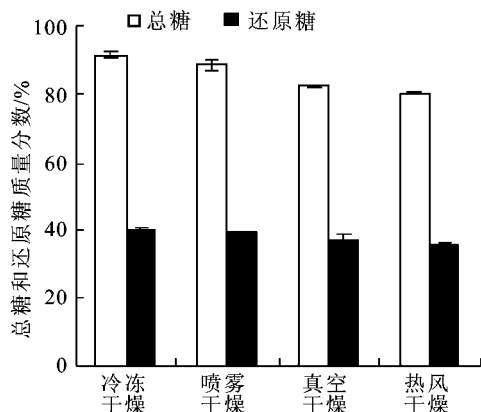


图2 干燥方式对甲壳低聚糖还原糖和总糖含量的影响

Fig. 2 Effect of drying methods on the content of reduced sugar and total sugar in Chitooligosaccharides

由图2可知,在各种干燥方式中,冷冻干燥产品还原糖和总糖质量分数(以干基计)最高,喷雾干燥产品次之,真空干燥和热风干燥产品还原糖和总糖质量分数较低,原因可能是较高的温度和长时间的热处理使产品发生美拉德反应所致,这与其严重褐变的外观是一致的。对不同的干燥方式制备产品总糖质量分数进行方差分析,处理间 $F = 144.23 > F_{0.01}(3, 8) = 7.59$,表明不同干燥方式对产品的总糖质量分数影响极显著;不同干燥方式制备的产品还原糖质量分数方差分析,处理间 $F = 42 > F_{0.01}(3, 21) = 4.87$,表明干燥方式对产品还原糖含量具有极显著的影响。

2.4 干燥方式对产品游离氨基含量的影响

干燥方式对产品游离氨基含量(以干基计)的

影响如图3所示:

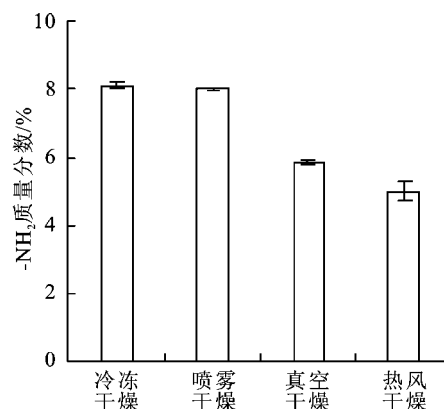


图3 干燥方式对甲壳低聚糖游离氨基含量的影响

Fig. 3 Effect of drying methods on the content of free amino acids in Chitooligosaccharides

从图3中可知,干燥方式对甲壳低聚糖产品的游离氨基含量有一定的影响,游离氨基含量由大到小依次为冷冻干燥>喷雾干燥>真空干燥>热风干燥。其中,冷冻干燥和喷雾干燥的产品游离氨基含量最高,分别为8.14%和7.97%,接近原料壳聚糖8.15%的游离氨基含量,表明两种干燥方式没有对游离氨基含量造成明显的影响;真空干燥和热风干燥制备的产品游离氨基质量分数分别只有5.86%和5.01%,这说明热处理使甲壳低聚糖的一部分游离氨基与还原性醛基发生了美拉德反应等副反应。研究表明,甲壳低聚糖的抑菌性、抗氧化活性、抑制肿瘤细胞等诸多特异的生理活性均与氨基密切相关^[17-18],氨基的损失可能会对产品的理化性质及生理活性产生不利的影响,进而影响产品的经济价值。

2.5 干燥方式对产品抗氧化活性的影响

干燥方式对甲壳低聚糖抗氧化活性的影响见图4。

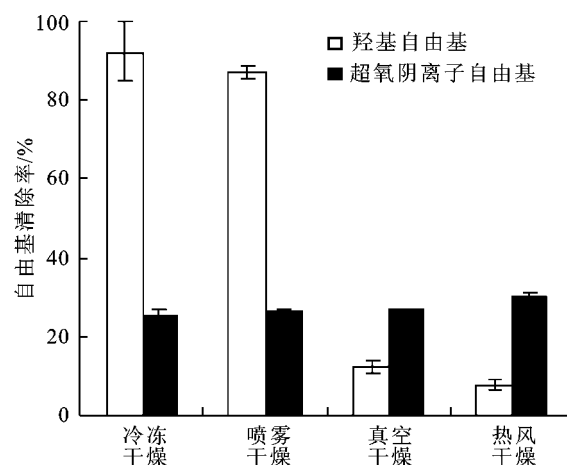


图4 不同干燥方式对甲壳低聚糖抗氧化活性的影响

Fig. 4 Effect of drying methods on the antioxidant activity of Chitooligosaccharides

由图4可知,几种干燥方式制备的甲壳低聚糖清除 $\text{OH}\cdot$ 能力从大到小依次为冷冻干燥>喷雾干燥>真空干燥>热风干燥,5 mg/mL的冷冻干燥和喷雾干燥产品 $\text{OH}\cdot$ 清除率达到了92.46%和87.25%。统计分析表明,两者清除 $\text{OH}\cdot$ 能力不具显著性差异($p>0.05$)。几种干燥方式制备的甲壳低聚糖清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 能力从大到小依次为热风干燥>真空干燥>喷雾干燥>冷冻干燥,5 mg/mL热风干燥制备的产品 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除率为30.04%,冷冻干燥最低,清除率为25.2%。甲壳低聚糖美拉德反应产物有较强的清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和DPPH自由基的能力,随着褐变程度的增加,甲壳低聚糖清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力有增强的趋势,这与文献报道是一致的^[19]。

3 结 语

本文主要探讨了冷冻干燥、喷雾干燥、真空干

燥及热风干燥等对酶法制备的甲壳低聚糖品质的影响,主要结论如下:

1) 冷冻干燥产品的褐变程度很小,溶解性最好,还原糖、总糖以及游离氨基含量在几种干燥方式中最高,清除 $\text{OH}\cdot$ 的能力最强,但因其冷冻干燥操作时间长、干燥成本高而限制了其应用范围。

2) 真空干燥和热风干燥产品色泽较深,还原糖、总糖和游离氨基含量、抗氧化活性都不及冷冻干燥和喷雾干燥,热风干燥产品出现了部分不溶物质,但其清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 能力要略强于其他几种干燥方式制备的产品。

3) 喷雾干燥产品的还原糖、总糖及游离氨基含量、抗氧化活性等产品指标均接近冷冻干燥,产品的色泽和溶解性较好。综合考虑干燥方式对产品质量的影响以及能耗、设备成本等方面的因素,喷雾干燥更适合甲壳低聚糖的工业化生产实际。

参考文献(References):

- [1] 魏新林,夏文水. 甲壳低聚糖的特性研究[J]. 水产科学, 2004, 23(2): 15—19.
WEI Xin-lin, XIA Wen-shui. Study on characteristics of chitooligosaccharides[J]. *Fisheries Science*, 2004, 23(2): 15—19. (in Chinese)
- [2] XIA Wen-shui, LIU Ping, ZHANG Jia-li. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011(25): 170—179.
- [3] Costas G, Biliaderis, Marta S. Izydorczyk. Functional food carbohydrates[M]. Boca Raton: CRC Press, 2006. 219—237.
- [4] 姚倩,孙涛,徐轶霞. 壳聚糖/壳寡糖衍生物的制备及其抗氧化性能研究[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(2): 188—191.
YAO Qian, SUN Tao, XU Zhi-xia. Preparation of chitosan/chitosan oligosaccharide derivatives and their antioxidant activities[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2009, 28(2): 188—191. (in Chinese)
- [5] 夏文水,魏新林. 甲壳低聚糖制备研究进展[J]. 应用化学, 2004, 21(4): 332—337.
XIA Wen-shui, WEI Xin-lin. Research progress in preparation of chitooligosaccharides[J]. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 2004, 21(4): 332—337. (in Chinese)
- [6] 韩永萍,林强. 壳聚糖降解制备低聚壳聚糖和壳寡糖的研究进展[J]. 2006(7): 35—38.
HAN Yong-ping, LIN Qiang. Progress of study on preparation of oligochitosan and chitooligosaccharides by degrading chitosan[J]. *Food Science and Technology*, 2006(7): 35—38. (in Chinese)
- [7] Hsueh-ling Cheng, You-jia, Chen, Fa-jui Tan. Antioxidative properties of a chitosan glucose Maillard reaction product and its effect on pork qualities during refrigerated storage[J]. *Food Chemistry*, 2011(124): 589—595.
- [8] Kenji Umemura, Shuichi Kawai. Modification of chitosan by the maillard reaction using cellulose model compounds[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2007(68): 242—248.
- [9] 夏文水,白云鹏,姜启兴. 快速溶解壳聚糖、以高底物浓度酶法制备壳寡糖的方法[P]. 中国: CN101845471A, 2010-09-9.
- [10] 钟芳,王璋,许时婴. 喷雾干燥条件对豆粉速溶性的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24(12): 7—20.
ZHONG Fang, WANG Zhang, XU Shi-ying. Effects of spray-drying condition on the instant solubility of soy powder[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2003, 24(12): 17—20. (in Chinese)
- [11] 宋宏新,李宏,刘晓阳. 番茄喷雾干燥及真空冷冻干燥制粉工艺研究[J]. 食品科学, 2007, 28(5): 100—103.

- SONG Hong-xin, LI Hong, LIU Xiao-yang. Technics study on tomato powder preparation by spray drying or vacuum freeze drying[J]. **Food Science**, 2007, 28(5): 100—103. (in Chinese)
- [12] Imoto T, Yagishita K. A simple activity measurement of lysozyme[J]. **Agricultural and Biological Chemistry**, 1971(35): 1154—1156.
- [13] 高浩其, 徐良峰, 杨建平. 壳聚糖在近临界水中降解及其工艺研究[J]. **西北大学学报: 自然科学版**, 2004, 34(4): 436—438.
- GAO Hao-qi, XU Liang-feng, YANG Jian-ping. A study on degradation of chitosan in near-critical water distributing orderliness of products[J]. **Journal of Northwest University: Natural Science Edition**, 2004, 34(4): 436—438. (in Chinese)
- [14] 林瑞洵, 蒋苏洪, 张慕珊. 脱乙酰度测定方法[J]. **化学通报**, 1992(3): 39—42.
- LIN Rui-xun, JIANG Su-hong, ZHANG Mu-shan. Methods for determination of degree of deacetylation of chitosan[J]. **Chemistry Bulletin**, 1992(3): 9—42. (in Chinese)
- [15] 张敬晗, 金黎明, 张盼, 等. 壳聚糖及其衍生物清除羟自由基的能力[J]. **食品与药品**. 2008, 10(7): 23—24.
- ZHANG Jing-han, JIN Li-ming, ZHANG Pan, et al. Scavenging hydroxyl free radical activity of chitosan and its derivatives[J]. **Food and Drug**, 2008, 10(7): 23—24. (in Chinese)
- [16] 王立, 姚惠源, 陶冠军. 乌饭树树叶中黄酮类色素的抗氧化活性. **食品与生物技术学报**. 2006, 25(4): 81—84.
- WANG Li, YAO Hui-yuan, TAO Guan-jun. Scavenging superoxide anion radical and hydroxyl free radical of extracts from the leaves of *Vaccinium bracteatum* thumb[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(4): 81—84. (in Chinese)
- [17] Ming Kong, Xi Guang Chen, Cheng Sheng Liu, et al. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli*[J]. **Colloids and Surfaces**, 2008(65): 197—202.
- [18] Jae-Young, Se-Kwon Kim. Antioxidant activity of novel chitin derivative[J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2006(16): 1884—1887.
- [19] Sweetie R Kanatt, Ramesh Chander, Arun Sharma. Chitosan glucose complex A novel food preservative[J]. **Food Chemistry**, 2008(106): 521—528.