

烘焙小粒咖啡豆多糖的提取、纯化及结构特征研究

沈晓静 叶仁凤 龚姝淳 王洪圣 姜薇薇

(云南农业大学理学院, 云南 昆明 650201)

摘要: [目的] 研究烘焙小粒咖啡豆多糖的组成和结构特征。[方法] 以烘焙小粒咖啡豆为原料, 采用响应面法优化热水浸提醇沉提取烘焙小粒咖啡豆多糖工艺条件; 联合 Sevag 法、大孔树脂、纤维素及凝胶分离纯化多糖; 采用苯酚硫酸法、福林酚法、 $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$ 法及离子色谱法分析多糖中总糖、总酚、总黄酮及单糖组成; 采用红外光谱 (IR)、扫描电子显微镜 (SEM) 表征多糖的结构特征; 同时评价其体外抗氧化活性。[结果] 热水浸提醇沉提取烘焙小粒咖啡豆多糖的最佳工艺条件为提取温度 $80.4\text{ }^\circ\text{C}$ 、提取时间 48 min、液料比 15.3:1 (mL/g), 乙醇体积分数 75%, 此时多糖得率为 $(7.56\pm 0.26)\%$ 。烘焙小粒咖啡豆粗多糖 (RBP0) 经过纯化得到 5 个以半乳糖 (Gal)、鼠李糖 (Rha)、葡萄糖 (Glc)、阿拉伯糖 (Ara) 和甘露糖 (Man) 为主要单糖的多糖 (RBP1、RBP2、RBP3、RBP4 和 RBP5)。烘焙小粒咖啡豆多糖在 $3\ 300\sim 3\ 500, 2\ 900\sim 3\ 000, 1\ 600, 1\ 400\sim 1\ 300, 1\ 000\text{ cm}^{-1}$ 附近有明显的多糖红外特征吸收; SEM 显示烘焙小粒咖啡豆多糖是一系列具有紧致孔状结构的多糖, 其中, RBP4 呈密集且规则的多孔状结构。抗氧化活性测定结果显示, RBP0 的抗氧化活性最强, 其在 $0.1\sim 0.5\text{ mg/mL}$ 质量浓度范围内随样品质量浓度的升高而增强, 对 DPPH 自由基的清除率由 $(1.53\pm 0.32)\%$ 升高到 $(82.85\pm 0.61)\%$; FRAP 法测得铁离子还原能力由 $(0.39\pm 0.000\ 48)\text{ mmol/g Fe}^{2+}$ 升高到 $(3.03\pm 0.001\ 9)\text{ mmol/g Fe}^{2+}$ 。[结论] 烘焙小粒咖啡豆多糖是一类由半乳糖、鼠李糖、葡萄糖、阿拉伯糖和甘露糖组成的具有孔状结构的多糖。

关键词: 小粒咖啡; 烘焙豆; 多糖; 提取; 纯化; 结构; 抗氧化能力

Extraction, purification, and structural characteristics of polysaccharide from roasted beans of *Coffea arabica*

SHEN Xiaojing YE Renfeng GONG Shuchun WANG Hongsheng JIANG Weiwei

(College of Science, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

Abstract: [Objective] To study the composition and structural characteristics of polysaccharides from roasted beans of *Coffea arabica*. [Methods] Roasted beans of *C. arabica* were used as raw materials. The hot water extraction combined with alcohol precipitation method was optimized using the response surface methodology to extract polysaccharides. The crude polysaccharide was purified using the Sevag method, macroporous resin, cellulose column, and gel separation technology. Total sugar, total phenol, total flavonoid, and monosaccharide compositions were analyzed using the phenol-sulfuric acid method, Folin-Ciocalteu assay, $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$ method, and ion chromatography, respectively. The structural characteristics of the polysaccharides were characterized by infrared spectroscopy (IR) and scanning electron microscopy (SEM). Additionally, the *in vitro* antioxidant activity of the polysaccharides was evaluated. [Results] The optimal extraction conditions for polysaccharides from roasted coffee beans were as follows: extraction temperature of $80.4\text{ }^\circ\text{C}$, extraction time of 48 min, liquid-to-solid ratio of 15.3:1 (mL/g), and ethanol volume fraction of 75%. Under these conditions, the polysaccharide yield was $(7.56\pm 0.26)\%$. After purification, five polysaccharides (RBP1, RBP2, RBP3, RBP4, and RBP5) were obtained, which were primarily

基金项目: 云南省科技计划项目农业联合专项面上项目 (编号: 202101BD070001-046); 云南省科技人才与平台计划项目—中青年学术和技术带头人后备人才项目 (编号: 202405AC350064); 云南特色植物提取实验室自主研究项目 (编号: 2022YKZY001)

通信作者: 姜薇薇 (1981—), 女, 云南农业大学副教授, 博士。E-mail: 1435648569@qq.com

收稿日期: 2024-06-17 **改回日期:** 2025-02-06

引用格式: 沈晓静, 叶仁凤, 龚姝淳, 等. 烘焙小粒咖啡豆多糖的提取、纯化及结构特征研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(4): 63-71.

Citation: SHEN Xiaojing, YE Renfeng, GONG Shuchun, et al. Extraction, purification, and structural characteristics of polysaccharide from roasted beans of *Coffea arabica*[J]. Food & Machinery, 2025, 41(4): 63-71.

composed of galactose (Gal), rhamnose (Rha), glucose (Glc), arabinose (Ara), and mannose (Man). The infrared spectra of the polysaccharides showed characteristic absorption peaks near $3\ 300\sim 3\ 500\text{ cm}^{-1}$, $2\ 900\sim 3\ 000\text{ cm}^{-1}$, $1\ 600\text{ cm}^{-1}$, $1\ 400\sim 1\ 300\text{ cm}^{-1}$, and $1\ 000\text{ cm}^{-1}$. SEM images showed that the polysaccharides exhibited a series of compact, porous structures, with RBP4 displaying a dense and regular pore structure. The antioxidant activity results showed that RBP0 had the strongest antioxidant capacity, which increased with concentration in the range of $0.1\sim 0.5\text{ mg/mL}$. The DPPH radical scavenging ability increased from $(1.53\pm 0.32)\%$ to $(82.85\pm 0.61)\%$, and the iron reduction ability (FRAP method) increased from $(0.39\pm 0.000\ 48)\text{ mmol/g Fe}^{2+}$ to $(3.03\pm 0.001\ 9)\text{ mmol/g Fe}^{2+}$. **[Conclusion]** The polysaccharides from roasted beans of *C. arabica* are vesicular polysaccharides primarily composed of galactose, rhamnose, glucose, arabinose, and mannose.

Keywords: *Coffea arabica*; roasted beans; polysaccharide; extraction; purification; structure; antioxidant capacity

咖啡为茜草科咖啡属植物,在巴西、印度尼西亚、印度、埃塞俄比亚等 60 多个国家均有种植^[1-3]。根据 USDA (United States Department of Agriculture) 和 ICO (International Coffee Organization) 报告显示,全球咖啡产量仍将持续增长。咖啡作为全球流行的饮品,不仅具有独特的风味,还具有重要的健康价值,对肥胖^[4-6]、2 型糖尿病^[4-5]、代谢综合征^[4,7]、炎症^[4]、帕金森^[4,7]和氧化应激^[4,8]等均有一定的预防和保护作用。咖啡独特风味的形成与其含有的多糖、蛋白质、氨基酸、绿原酸、生物碱等物质及含量有关。烘焙过程中,咖啡风味前体物质会通过 Maillard、Strecker 降解、焦糖化等反应形成与咖啡风味相关的挥发性和非挥发性成分^[9]。

云南是中国咖啡的主要种植区域,其种植面积和产量约占全国的 98%^[1]。云南小粒咖啡口感浓而不苦、香而不烈,富含酚酸类、萜类等化学成分^[10]。近年来,Shu 等^[11-14]从云南小粒咖啡中分离鉴定了包括 mascarosides I~II、cofaryloside I、paniculose VI 等在内的多种结构新颖的萜类成分。此外,Shen 等^[15]通过 UHPLC-MS/MS 从烘焙云南小粒咖啡豆中检出 2 600 多个非挥发性成分。

多糖是一类通过糖苷键将 10 个以上单糖链接而成的复杂大分子化合物,具有抗氧化^[16]、抗衰老^[17]、免疫调节^[18]、抗炎^[19]、抗癌^[20]、降血糖^[21]等生物活性,广泛存在于动植物及微生物中。目前,多糖作为一类重要的天然活性大分子化合物可作为保健品、食品、化妆品活性成分应用至医药、食品等领域^[22-24]。多糖除因具有广泛的生物活性被利用外,其特殊结构和性质还使其被应用于环境中,可有效去除污染物^[25-27]。然而,构成多糖的单糖残基、连接位置和糖苷键不同均会使多糖呈现不同的构象、相对分子质量以及链内和链间氢键形成的复杂的二级结构。

多糖聚合物是咖啡豆中主要的非挥发性成分^[27],是一类具有不规则孔状结构的天然活性成分^[28-29]。研究拟以云南小粒咖啡烘焙豆为研究对象,在优化其多糖提取工艺的基础上,对多糖进行纯化和结构分析,为促进咖啡产业的发展提供依据。

1 材料与方法

1.1 原料、仪器设备

1.1.1 原料与试剂

烘焙小粒咖啡豆:市售;

无水乙醇:分析纯,天津化学试剂有限公司;

浓 H_2SO_4 、葡萄糖、 CHCl_3 、正丁醇:分析纯,重庆川东化工有限公司;

福林酚:1 mol/L,山东西亚化学试剂有限公司;

芦丁:分析纯,上海瑞永生物科技有限公司;

没食子酸:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

苯酚:分析纯,天津市大茂化学试剂厂;

AlCl_3 、 NaNO_2 :分析纯,广东汕头西陇化工厂;

Rha、Glc、Fru、Gal、Fuc、Man、Rha、Rib、Xyl、Glc-UA、Gal-UA、Gul-UA、Man-UA、NaOH:色谱纯,美国 Sigma 公司;

三氟乙酸:色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司;

甲醇:分析纯,上海安谱实验科技股份有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

分光光度计:722 型,上海菁华科技有限公司;

电热恒温水浴锅:KHW-D-1 型,北京市永光明医疗仪器有限公司;

漩涡混合器:XH-T 型,金坛市白塔新宝仪器厂;

氮气吹扫仪:Reacti-thermo 型,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

离子色谱:Thermo ICS 5000 型,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

红外光谱仪:Bruker Tensor 27 型,德国布鲁克公司;

扫描电子显微镜:ZEISS Sigma 300 型,德国蔡司公司。

1.2 试验方法

1.2.1 烘焙咖啡豆多糖提取工艺 用智能磨豆机将烘焙咖啡豆粉碎,取咖啡豆粉末,加入纯水,于特定温度下提取一定时间,冷却,离心,取上清液浓缩至原体积的 1/8,加入乙醇进行沉淀,静置 18 h,4 000 r/min 离心 10 min,取沉淀冻干,得烘焙咖啡豆粗多糖(RBP0)。

1.2.2 单因素试验 固定液料比 15:1 (mL/g), 提取温度 80 ℃、提取时间 90 min、浓缩体积 1/8、乙醇体积分数 75%。分别考察液料比[5:1, 10:1, 15:1, 20:1, 25:1 (mL/g)]、提取时间(30, 45, 60, 75, 90 min)、提取温度(50, 60, 70, 80, 90 ℃)、乙醇体积分数(70%, 75%, 80%, 85%, 90%)对多糖得率的影响, 并按式(1)计算多糖得率。

$$\omega = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

ω ——烘焙咖啡豆多糖得率, %;

m_1 ——烘焙咖啡豆粗多糖质量, g;

m_2 ——烘焙咖啡豆粉末质量, g。

1.2.3 响应面优化试验 根据单因素试验结果, 以烘焙咖啡豆多糖得率为响应变量, 液料比、提取温度和提取时间为因素, 进行三因素三水平响应面优化试验。

1.2.4 烘焙咖啡豆多糖的纯化 依次采用 Sevag 试剂脱蛋白、大孔树脂脱色、DEAE 纤维素分离、G-100 葡聚糖凝胶对 RBP0 进行纯化^[29], 得纯化后多糖组分 RBP1、RBP2、RBP3、RBP4 和 RBP5。

1.2.5 烘焙咖啡豆多糖组分测定 分别采用苯酚—硫酸法、福林酚法和 $\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$ 法^[30] 测定 RBP0、RBP1、RBP2、RBP3、RBP4 和 RBP5 中总糖、总酚和总黄酮含量。

1.2.6 烘焙咖啡豆多糖的单糖组成测定 采用离子色谱法。流动相 A 为 H_2O 、流动相 B 为 0.1 mol/L NaOH、流动相 C 为 0.1 mol/L NaOH—0.2 mol/L NaAc, 进样量 5 μL , 柱温 30 ℃, 流速 0.5 mL/min, 按表 1 进行梯度洗脱。在 Thermo ICS 5000+ 离子色谱, Dionex™ CarboPac™ PA20 液相色谱柱(150 mm×3.0 mm, 10 μm)条件下测定烘焙咖啡豆多糖的单糖组成。

表 1 流动相梯度洗脱方法

Table 1 Mobile phase gradient elution method

时间/min	梯度	流动相 A/%	流动相 B/%	流动相 C/%
0.0	线性洗脱	95	5	0
0.0~26.0		85	5	10
26.0~42.0	线性洗脱	85	5	10
42.0~42.1		60	0	40
2.1~52.0		60	40	0
52.0~52.1		95	5	0
52.1~60.0	线性洗脱	95	5	0

1.2.7 烘焙咖啡豆多糖结构表征 参考文献[31]的方法。

1.2.8 烘焙咖啡豆多糖的体外抗氧化活性分析

(1) DPPH 自由基清除率测定: 参考文献[28]的方

法。以抗坏血酸为阳性对照, 按式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$I = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

I ——DPPH 自由基清除率, %;

A_s ——多糖溶液的吸光度;

A_0 ——空白组吸光度。

(2) FRAP 法: 参考文献[28]的方法。以抗坏血酸为阳性对照, 硫酸亚铁为标准品建立标准曲线计算铁还原能力。

1.3 数据处理

所有试验重复 3 次。分别采用 Design Expert 8.0.6 和 Graph Pad Prism5 软件进行响应面试验设计和绘图。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

由图 1 可知, 液料比、提取时间和提取温度对烘焙咖啡豆多糖得率影响较大。当液料比为 5:1~25:1 (mL/g) 时, 烘焙咖啡豆多糖得率为 4.29%~6.49%; 当液料比为 15:1 (mL/g) 时, 多糖得率达最大值(6.49±0.41)%。当提取时间为 30~90 min 时, 烘焙咖啡豆多糖得率为 5.71%~7.25%; 当提取时间为 45 min 时, 多糖得率达最大值(7.25±0.15)%。当提取温度为 50~90 ℃时, 烘焙咖啡豆多糖得率为 4.42%~6.49%; 当提取温度为 80 ℃时, 多糖得率达最大值(6.49±0.41)%。当乙醇体积分数为 70%~90% 时, 烘焙咖啡豆多糖得率为 5.60%~6.49%; 当乙醇体积分数为 75% 时, 多糖得率达最大值(6.49±0.41)%。

在多糖提取过程中, 溶剂较少、提取时间不足、提取温度过低均会使多糖不能充分地溶出, 从而导致多糖得率较低。溶剂用量过大、提取时间过长又会促进多糖溶解。此外, 多糖结构易受高温影响而遭到破坏, 因此过高的温度也会造成多糖得率降低^[28, 32-34]。水提醇沉法是利用多糖不溶于醇而沉淀析出的原理提取多糖, 在此过程中随着乙醇体积分数的增加, 多糖得率增大; 但某些特定结构的多糖也会被除去从而降低其得率^[28]。因此, 烘焙咖啡豆多糖提取条件为液料比 15:1 (mL/g)、提取时间 45 min、提取温度 80 ℃、乙醇体积分数 75%。

2.2 响应面试验

2.2.1 响应面试验设计及结果 在单因素试验基础上, 以液料比、提取温度和提取时间为影响因素, 以烘焙咖啡豆多糖提取得率为响应值, 进行三因素三水平响应面优化试验, 试验因素与水平见表 2, 试验设计及结果见表 3。

通过对响应面试验结果进行拟合分析, 得优化后的回归方程为:

$$Y = 7.40 + 0.24A + 0.13B + 0.40C - 0.21AB - 0.23AC - 0.25BC - 1.44A^2 - 0.81B^2 - 0.88C^2. \quad (3)$$

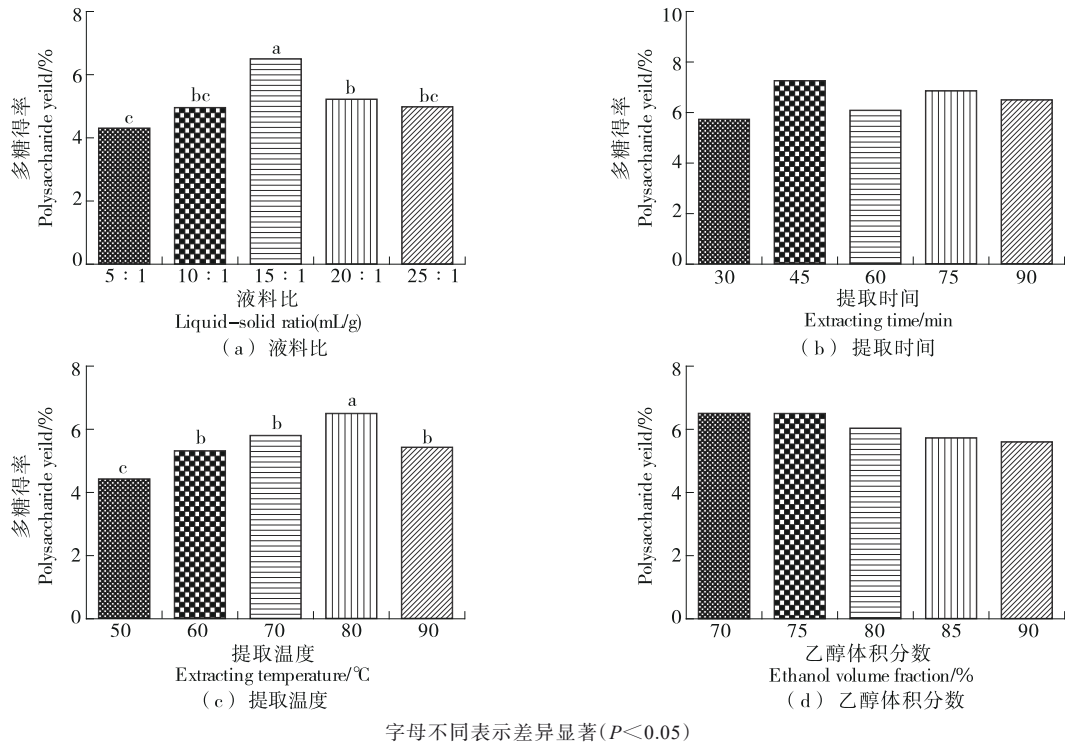


图 1 烘焙咖啡豆多糖提取单因素试验结果

Figure 1 Single factor experiment results of polysaccharide extraction from roasted coffee beans

表 2 响应面试验因素与水平

Table 2 Response surface analysis factors and levels

水平	A 液料比 (mL/g)	B 提取温度/°C	C 提取时间/min
-1	10:1	70	30
0	15:1	80	45
1	20:1	90	60

由表 4 可知,总模型显著 ($P < 0.05$),液料比、提取温度和提取时间 3 个因素对多糖得率影响显著,模型有意义;根据 F 值确定各因素对烘焙咖啡豆多糖得率的影响顺序为提取时间 $>$ 液料比 $>$ 提取温度。失拟项 $P = 0.5764 > 0.05$,不显著,说明试验结果受未知因素影响较小。调整系数 $R^2_{Adj} = 0.8647$,说明 86.47% 的响应值变化可通过模型解释;相关系数 $R^2 = 0.9408$,表明模型可信度高且与试验拟合良好,该模型可用于分析与预测提取工艺^[35-37]。

2.2.2 响应面分析 由图 2 可知,各等高线图近乎圆形,说明两因素间交互作用不显著^[38],与方差分析结果一致。根据预测模型,得烘焙咖啡豆多糖的最佳提取工艺条件为液料比 15.32:1 (mL/g)、提取温度 80.39 °C、提取时间 48.22 min,此时多糖得率预测值为 7.45%。根据实际条件,将最佳工艺条件修正为液料比 15.3:1 (mL/g),提取温度 80.4 °C、提取时间 48 min、浓缩体积 1/8、乙醇体积分数

表 3 响应面试验设计与结果

Table 3 Design and results of response surface experiment

试验号	A	B	C	多糖得率/%
1	-1	0	1	5.35
2	0	1	1	6.23
3	-1	1	0	5.14
4	0	0	0	7.29
5	1	0	-1	5.27
6	-1	0	-1	4.32
7	0	0	1	8.14
8	-1	-1	1	4.70
9	1	1	1	5.19
10	0	-1	-1	4.69
11	0	0	0	6.89
12	0	0	0	7.60
13	0	0	0	7.08
14	1	-1	0	5.58
15	1	0	1	5.39
16	0	-1	1	6.23
17	0	1	-1	5.70

75%,进行 3 次平行试验,测得多糖得率为 $(7.56 \pm 0.26)\%$,与预测值接近,说明试验模型可行。

表4 方差分析[†]

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	18.82	9	2.09	12.36	0.001 6	显著
A	0.46	1	0.46	2.73	0.142 8	
B	0.14	1	0.14	0.83	0.392 4	
C	1.30	1	1.30	7.66	0.027 8	显著
AB	0.17	1	0.17	1.02	0.346 5	
AC	0.21	1	0.21	1.22	0.305 1	
BC	0.26	1	0.26	1.51	0.259 1	
A ²	8.72	1	8.72	51.54	0.000 2	
B ²	2.75	1	2.75	16.29	0.005 0	
C ²	3.25	1	3.25	19.23	0.003 2	
残差	1.18	7	0.17			
失拟项	0.22	3	0.07	0.31	0.576 4	不显著
纯差	0.96	4	0.24			
总差	20.00	16				

[†] $R^2=0.940\ 8$; $R^2_{Adj}=0.864\ 7$ 。

2.3 烘焙咖啡豆多糖的纯化

由图3可知,RBP0经葡聚糖凝胶G-100纯化后,所得组分RBP1、RBP2、RBP3、RBP4、RBP5得率分别为6.89%、6.69%、7.34%、7.45%、4.12%。

由表5可知,RBP0中总糖、总酚、总黄酮含量分别为 $(30.76\pm 0.24)\%$ 、 $(7.77\pm 0.36)\%$ 、 $(16.81\pm 0.04)\%$ 。纯化

后,烘焙咖啡豆多糖中总糖含量显著上升($P<0.05$),其中RBP4的总糖含量最高。而与多糖一同被提取出来的多酚和黄酮含量明显降低,说明烘焙咖啡豆多糖经纯化后,小分子杂质成分得到了有效去除,多糖纯化效果明显。

2.4 烘焙咖啡豆多糖的单糖组成

由表6可知,烘焙咖啡豆多糖是一类不含Fru、Rib、Gal-UA、Man-UA和Gul-UA,以Gal、Glc、Rha、Ara和Man为主的多糖。Ballesteros等^[39]研究发现,咖啡渣中多糖以Gal、Ara、Glc和Man为主。烘焙咖啡豆中的多糖种类多样,其中,RBP1以Gal、Glc和Man为主,不含Xyl、Fuc、Ara; Rha: Gal: Glc: Man: Glc-UA物质的量比为2.71: 10.76: 5.75: 53.70: 13.21: 10.61: 3.26; RBP2以Gal、Rha和Aar为主, Fuc: Ara: Rha: Gal: Glc: Xyl: Man: Glc-UA物质的量比为1.58: 26.90: 20.17: 26.18: 8.05: 3.71: 7.91: 5.50; RBP3以Ara和Gal为主, Fuc: Ara: Rha: Gal: Glc: Xyl: Man: Glc-UA物质的量比为1.88: 22.86: 17.46: 26.73: 12.64: 3.97: 9.38: 5.09; RBP4以Gal和Glc为主, Fuc: Ara: Rha: Gal: Glc: Xyl: Man: Glc-UA物质的量比为2.95: 15.56: 14.92: 27.46: 17.89: 4.23: 12.20: 4.78; RBP5以Glc为主, Fuc: Ara: Rha: Gal: Glc: Xyl: Man: Glc-UA物质的量比为6.20: 4.72: 5.83: 12.92: 45.30: 8.43: 11.93: 4.67。这可能与多糖的组成与原料的选取、多糖的提取方法、纯化方法等有关^[40]。

2.5 烘焙咖啡豆多糖结构表征

由图4可知,在 $400\sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 范围内,烘焙咖啡豆多糖各组分呈相似的红外光谱特征, $3\ 400\ \text{cm}^{-1}$ 处有明显

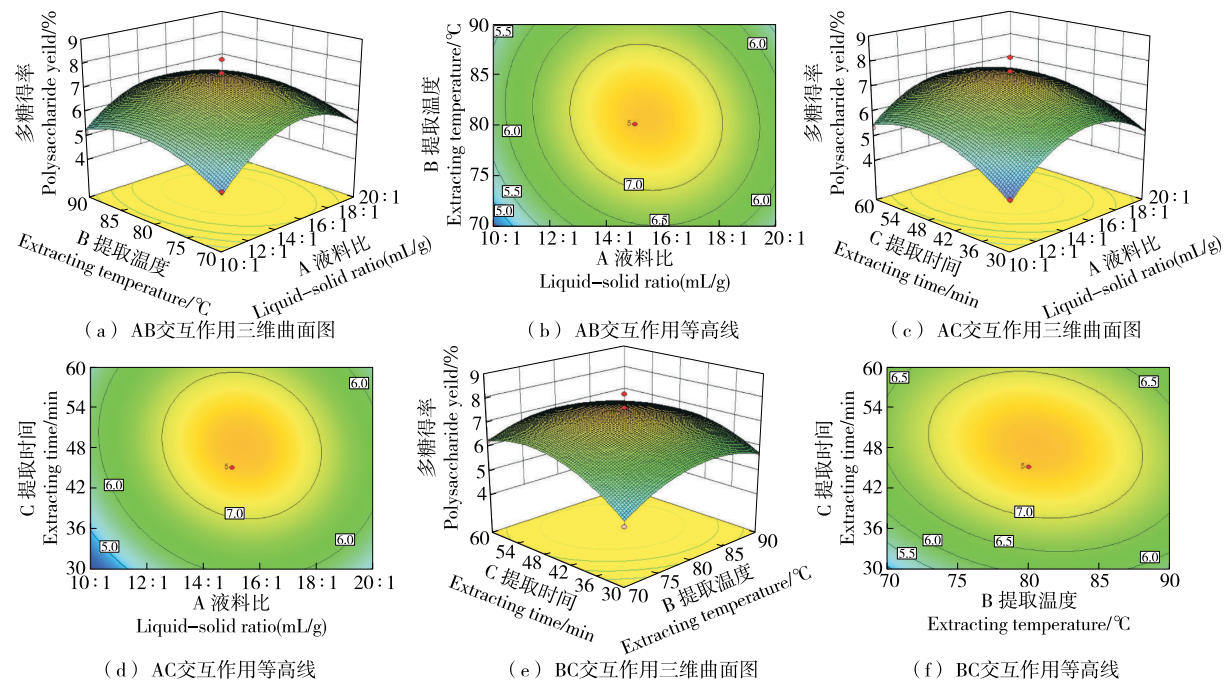


图2 各因素交互作用的三维曲面和等高线

Figure 2 Three-dimensional surface plot and contour map for the interactive effects

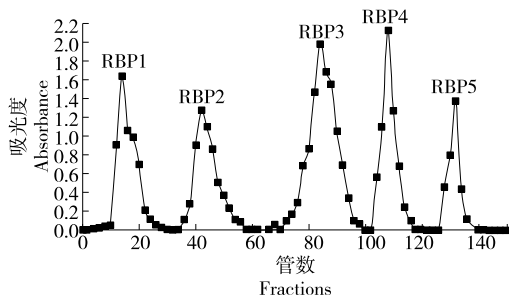


图3 烘焙咖啡豆多糖的洗脱曲线

Figure 3 Elution curve of polysaccharides from roasted coffee beans

表5 多糖组成含量[†]

Table 5 Content of polysaccharides from different segments

组分	总糖	总酚	总黄酮
RBP0	30.76±0.24 ^c	7.77±0.36 ^a	16.81±0.04 ^a
RBP5	49.78±3.36 ^b	0.84±0.19 ^e	1.03±0.05 ^e
RBP2	48.17±2.53 ^b	2.58±0.34 ^d	5.36±0.06 ^d
RBP3	47.30±2.01 ^b	4.84±0.14 ^b	11.84±0.03 ^b
RBP4	45.13±0.18 ^b	3.58±0.33 ^c	9.37±0.53 ^c
RBP5	71.79±0.39 ^a	3.21±0.32 ^{cd}	9.35±0.43 ^c

[†] 同列字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

的O—H伸缩振动吸收峰;2 900~3 000 cm^{-1} 处有C—H伸缩振动吸收峰;1 600 cm^{-1} 处有C=O伸缩振动吸收峰;1 400~1 300 cm^{-1} 附近有C—H基团的对称振动吸收峰,证明了糖醛酸的存在;1 000 cm^{-1} 处有明显的多糖的吡喃环C—O—H或C—O—C伸缩振动吸收^[41-42]。

红外光谱作为表征多糖结构的常用方法^[43],多糖通常在3 400, 2 900, 1 600, 1 400 cm^{-1} 附近产生明显的多糖典型的O—H、C—H、C=O特征伸缩振动吸收峰^[41-44]。1 400 cm^{-1} 附近产生C—H弯曲振动吸收峰;1 000~1 200 cm^{-1} 附近为多糖C—O—H或C—O—C特征吸收峰,1 000 cm^{-1} 以下的吸收表明多糖中单糖间存在

表6 烘焙咖啡豆多糖的单糖组成

Table 6 Composition of monosaccharides of polysaccharides from roasted coffee beans

单糖	RBP1	RBP2	RBP3	RBP4	RBP5
岩藻糖(Fuc)	24.58	15.14	9.88	11.69	34.61
鼠李糖(Ara)	89.19	235.79	109.97	56.49	24.10
阿拉伯糖(Rha)	52.08	193.29	91.84	59.22	32.55
半乳糖(Gal)	534.21	275.40	154.33	119.61	79.19
葡萄糖(Glc)	131.46	84.64	72.95	77.90	277.66
木糖(Xyl)	0.00	32.48	19.08	15.36	43.06
甘露糖(Man)	105.51	83.24	54.14	53.13	73.14
葡萄糖醛酸(Glc-UA)	34.93	62.39	31.69	22.45	30.82

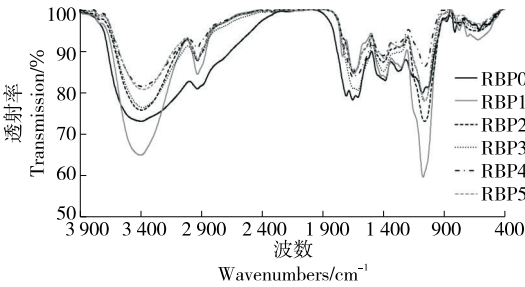
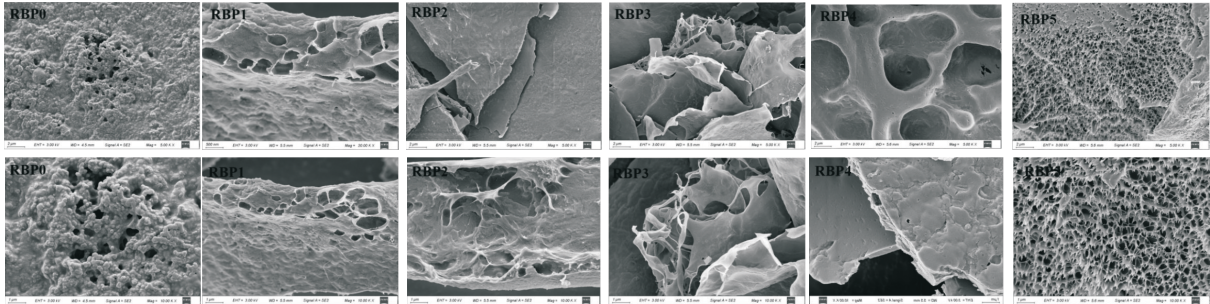


图4 烘焙咖啡豆多糖红外光谱图

Figure 4 FT-IR spectra of polysaccharides from roasted coffee beans

连接^[45-46]。

由图5可知,RBP0表面呈密集的凸起球状小泡状结构及明显的孔隙;RBP1有凸起的大孔;RBP2表面光滑、平整且紧致,呈现片状不规则的大孔状结构;RBP3表面呈凸起的光滑的片状结构;RBP4呈现光滑且有孔片状结构;RBP5呈现规整且密集的网孔状结构。多糖大多呈无规则片状结构,其结构会受到提取方法、纯化方法等因素的影响而使表面微观结构呈现多样性^[42]。何萍等^[44]研究证实,多糖的微观结构对其溶解性、乳液特性等有影响。



从左至右依次为RBP0、RBP1、RBP2、RBP3、RBP4、RBP5;上行放大5 000倍,下行放大10 000倍

图5 烘焙咖啡豆多糖电镜扫描图

Figure 5 Scanning electron microscope of polysaccharides of roasted coffee beans

2.6 烘焙咖啡豆多糖的抗氧化活性

由图6可知,RBP0的抗氧化活性最强,在0.1~0.5 mg/mL范围内随样品质量浓度的升高而增强。在0.1~0.5 mg/mL质量浓度范围内,RBP0对DPPH自由基的清除率由 $(1.53 \pm 0.32)\%$ 升高到 $(82.85 \pm 0.61)\%$;铁离子还原能力由 $(0.39 \pm 0.000\ 48)$ mmol/g Fe^{2+} 升高到 $(3.03 \pm 0.001\ 9)$ mmol/g Fe^{2+} ,当样品质量浓度为0.5 mg/mL时,

RBP0的铁还原能力高于相同浓度的抗坏血酸。其他烘焙咖啡豆多糖组分则表现了极弱的抗氧化活性,对DPPH自由基的清除率为 $(0.46 \pm 0.021)\% \sim (28.11 \pm 0.21)\%$,铁离子还原能力由 (0.017 ± 0.005) mmol/g Fe^{2+} 升高到 (0.61 ± 0.029) mmol/g Fe^{2+} 。烘焙咖啡豆多糖经纯化后,由于多酚、黄酮类具有抗氧化活性的物质被除去,其抗氧化活性降低^[29-30]。

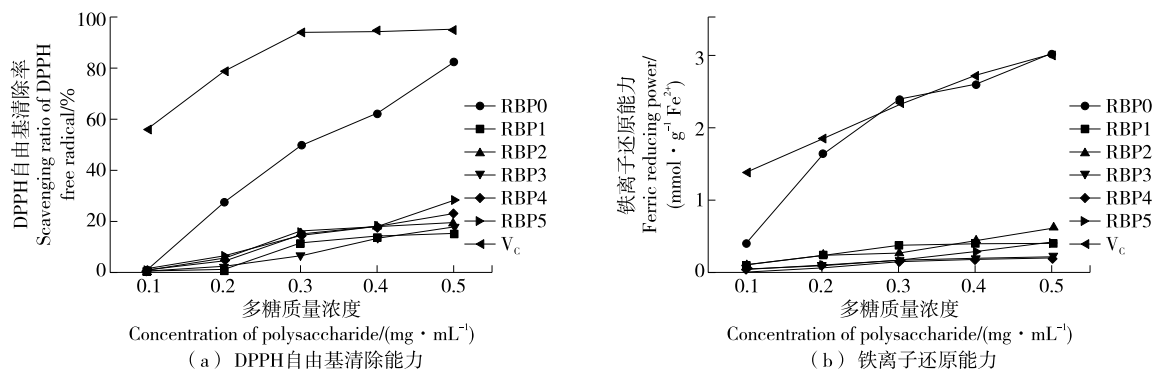


图6 咖啡豆多糖的抗氧化活性

Figure 6 Antioxidant capacity of polysaccharides from coffee beans

3 结论

以烘焙小粒咖啡豆为原料,明确了热水浸提醇沉提取咖啡豆多糖的最佳工艺条件为提取温度 80.4 ℃、提取时间 48 min、液料比 15.3:1 (mL/g)、乙醇体积分数 75%,此时多糖得率为 $(7.56 \pm 0.26)\%$ 。对其单糖组成及结构特征分析显示,烘焙云南小粒咖啡豆多糖是一类以半乳糖、葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖为主,具有明显孔状结构的多糖。进一步开展烘焙小粒咖啡多糖结构与抗氧化活性间构效关系的研究可促进咖啡健康功能的开发利用。

参考文献

- [1] SHEN X J, NIE F Q, FANG H X, et al. Comparison of chemical compositions, antioxidant activities, and acetylcholinesterase inhibitory activities between coffee flowers and leaves as potential novel foods[J]. Food Science & Nutrition, 2022, 11(2): 917-929.
- [2] SILVA C F, VILELA D M, DE SOUZA CORDEIRO C, et al. Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2013, 29(2): 235-247.
- [3] ELHALIS H, COX J, ZHAO J. Coffee fermentation: expedition from traditional to controlled process and perspectives for industrialization[J]. Applied Food Research, 2023, 3(1): 100253.
- [4] BARREA L, PUGLIESE G, FRIAS-TORAL E, et al. Coffee

consumption, health benefits and side effects: a narrative review and update for dietitians and nutritionists[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(9): 1 238-1 261.

- [5] BOSSO H, BARBALHO S M, DE ALVARES GOULART R, et al. Green coffee: economic relevance and a systematic review of the effects on human health[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(3): 394-410.
- [6] CORETA-GOMES F M, LOPES G R, PASSOS C P, et al. In vitro hypocholesterolemic effect of coffee compounds[J]. Nutrients, 2020, 12(2): 437.
- [7] SAFE S, KOTHARI J, HAILEMARIAM A, et al. Health benefits of coffee consumption for cancer and other diseases and mechanisms of action[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(3): 2 706.
- [8] MILEK M, MŁODECKI Ł, DŻUGAN M. Caffeine content and antioxidant activity of various brews of specialty grade coffee [J]. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 2021, 20(2): 179-188.
- [9] LEE L W, CHEONG M W, CURRAN P, et al. Coffee fermentation and flavor: an intricate and delicate relationship[J]. Food Chemistry, 2015, 185: 182-191.
- [10] 沈晓静, 字成庭, 辉绍良, 等. 咖啡化学成分及其生物活性研究进展[J]. 热带亚热带植物学报, 2021, 29(1): 112-122.
- [11] SHU Y, LIU J Q, PENG X R, et al. Characterization of

- diterpenoid glucosides in roasted Puer coffee beans[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(12): 2 631-2 637.
- [12] WANG X, MENG Q Q, PENG X R, et al. Identification of new diterpene esters from green Arabica coffee beans, and their platelet aggregation accelerating activities[J]. Food Chemistry, 2018, 263: 251-257.
- [13] WANG X, PENG X R, LU J, et al. New dammarane triterpenoids, caffruones A-D, from the cherries of *Coffea arabica*[J]. Natural Products and Bioprospecting, 2018, 8(6): 413-418.
- [14] WANG X, PENG X R, LU J, et al. Ent-kaurane diterpenoids from the cherries of *Coffea arabica*[J]. Fitoterapia, 2019, 132: 7-11.
- [15] SHEN X J, ZI C T, YANG Y J, et al. Effects of different primary processing methods on the flavor of *Coffea arabica* beans by metabolomics[J]. Fermentation, 2023, 9(8): 717.
- [16] ZHAO S J, HAN Z M, YANG L M, et al. Extraction, characterization and antioxidant activity evaluation of polysaccharides from *Smilacina japonica*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 151: 576-583.
- [17] YANG H, HUA J L, WANG C. Anti-oxidation and anti-aging activity of polysaccharide from *Malus micromalus* Makino fruit wine[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 121: 1 203-1 212.
- [18] LI J, GU F F, CAI C, et al. Purification, structural characterization, and immunomodulatory activity of the polysaccharides from *Ganoderma lucidum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 143: 806-813.
- [19] ZHAO L, LI M Y, SUN K C, et al. Hippophae rhamnoides polysaccharides protect IPEC-J2 cells from LPS-induced inflammation, apoptosis and barrier dysfunction in vitro via inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1 202-1 215.
- [20] LIU X Z, SUN K J, JIN X, et al. Review on active components and mechanism of natural product polysaccharides against gastric carcinoma[J]. Heliyon, 2024, 10(5): e27218.
- [21] ZHU Z P, LIN W D, MA J X, et al. The physiochemical characteristics of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides and in vitro anti-diabetic effects of their different fractions[J]. Industrial Crops and Products, 2024, 211: 118188.
- [22] WU Q Y, CHENG N, FANG D J, et al. Recent advances on application of polysaccharides in cosmetics[J]. Journal of Dermatologic Science and Cosmetic Technology, 2024, 1(1): 100004.
- [23] YAO Q B, HUANG F, LU Y H, et al. Polysaccharide-based food packaging and intelligent packaging applications: a comprehensive review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 147: 104390.
- [24] WANG Y, GUO X Y, HUANG C X, et al. Biomedical potency and mechanisms of marine polysaccharides and oligosaccharides: a review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 265: 131007.
- [25] THAMARAISELVI C, ATHIRA S T, SANTINA, et al. Effective reduction of carbon-containing pollutants in coffee cherry pulping wastewater using natural polysaccharide from *Tamarindus indica* L. seeds[J]. Environmental Research, 2024, 259: 119527.
- [26] YANG L Y, GAO N, LV J T, et al. Polysaccharide modified biochar for environmental remediation: types, mechanisms, applications, and engineering significance: a review[J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 493: 152783.
- [27] 李学俊, 崔文锐, 杜海波, 等. 小粒种咖啡的主要成分及功能分析[J]. 热带农业科学, 2016, 36(6): 71-75.
- LI X J, CUI W R, DU H B, et al. Analysis on major components and function of *Coffea arabica*[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2016, 36(6): 71-75.
- [28] 沈晓静, 解富娟, 周绍琴, 等. 咖啡生豆多糖提取及抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2023, 39(5): 144-149.
- SHEN X J, XIE F J, ZHOU S Q, et al. Extraction of polysaccharide from green coffee beans and its antioxidant activity[J]. Food & Machinery, 2023, 39(5): 144-149.
- [29] 沈晓静, 解富娟, 黄璐璐, 等. 咖啡生豆多糖的纯化及抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(12): 85-90.
- SHEN X J, XIE F J, HUANG L L, et al. Purification and antioxidant activity of polysaccharide from green coffee beans [J]. China Food Additives, 2023, 34(12): 85-90.
- [30] 沈晓静, 周绍琴, 王秋萍, 等. 梁王茶多糖的纯化及体外抗氧化作用研究[J]. 化学研究与应用, 2023, 35(6): 1 350-1 355.
- SHEN X J, ZHOU S Q, WANG Q P, et al. Study on purification and antioxidant activity of polysaccharide form *Nothopanax delavayi*[J]. Chemical Research and Application, 2023, 35(6): 1 350-1 355.
- [31] 沈晓静, 袁彪, 郭毅, 等. 普洱茶多糖结构及抗氧化活性的比较研究[J]. 粮食与油脂, 2024, 37(8): 117-121.
- SHEN X J, YUAN B, GUO Y, et al. Comparative study on structure and antioxidant activity of polysaccharides from Pu-erh tea[J]. Cereals & Oils, 2024, 37(8): 117-121.
- [32] 郑婷婷, 张文杰, 严亮, 等. 热水法提取黄皮疣柄牛肝菌多糖工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(4): 38-42.
- ZHENG T T, ZHANG W J, YAN L, et al. Study on extraction technology of polysaccharide of *Leccinum crocipidium* (Letellier.) watliag by hot water method[J]. Food Research and Development, 2019, 40(4): 38-42.
- [33] 陈钢, 陈红兰, 苏伟, 等. 响应面分析法优化黄精多糖提取工艺参数[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 198-201.
- CHEN G, CHEN H L, SU W, et al. Optimization of extraction

- technique of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides by response surface analysis[J]. Food Science, 2007, 28(7): 198-201.
- [34] 林志娟, 陈永, 尤丽彤, 等. 响应面法优化超声辅助提取太子参多糖工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(6): 846-850.
- LIN Z J, CHEN Y, YOU L T, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction conditions of polysaccharides from radix pseudostellariae by response surface methodology[J]. Natural Product Research and Development, 2013, 25(6): 846-850.
- [35] 沈晓静, 黄璐璐, 聂凡秋, 等. 云南小粒咖啡花多糖提取工艺优化及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 238-245.
- SHEN X J, HUANG L L, NIE F Q, et al. Study on optimization of extraction technology and antioxidant activity of polysaccharides from *Coffea arabica* flowers[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 238-245.
- [36] 沈晓静, 杨俊滔, 王青, 等. 梁王茶茎皮多糖提取工艺的优化及其抗氧化活性研究[J]. 化学研究与应用, 2021, 33(8): 1495-1501.
- SHEN X J, YANG J T, WANG Q, et al. Study on optimization of extraction technology and antioxidant activity of polysaccharide from barks of *Nothopanax delavayi*[J]. Chemical Research and Application, 2021, 33(8): 1495-1501.
- [37] 李泽林, 高艳, 邬文君, 等. 咖啡果皮果胶提取工艺优化及其功能特性研究[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(8): 128-132, 149.
- LI Z L, GAO Y, WU W J, et al. Optimization of extraction process and functional properties of coffee peel pectin[J]. Cereals & Oils, 2023, 36(8): 128-132, 149.
- [38] 李泽林, 邬文君, 高艳, 等. 超声辅助酶法提取咖啡果皮果胶工艺的优化及其理化特性分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(12): 204-211.
- LI Z L, WU W J, GAO Y, et al. Optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction of pectin from coffee peel and analysis of its physicochemical properties[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(12): 204-211.
- [39] BALLESTEROS L F, CERQUEIRA M A, TEIXEIRA J A, et al. Characterization of polysaccharides extracted from spent coffee grounds by alkali pretreatment[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 127: 347-354.
- [40] 邢中夫, 于慧, 万新焕. 淫羊藿多糖提取、分离纯化、结构特征和生物活性研究进展[J]. 药学研究, 2023, 42(10): 830-836.
- XING Z F, YU H, WAN X H. Research progress in extraction, purification, structural characteristics and biological activities of Epimedium polysaccharides[J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2023, 42(10): 830-836.
- [41] ZHENG T T, GU D H, WANG X F, et al. Purification, characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from *Leccinum crocipodium* (Letellier.) Watliag[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 148: 647-656.
- [42] 王青芬, 敖新宇, 宫树森, 等. 海巴戟果实多糖的结构特征及体外抗氧化活性研究[J]. 林产化学与工业, 2023, 43(6): 81-88.
- WANG Q F, AO X Y, GONG S S, et al. Structural characteristics and antioxidant activity of polysaccharide from *Morinda citrifolia* fruit in vitro[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2023, 43(6): 81-88.
- [43] WANG J, ZHANG A Y, HU Y L, et al. Polysaccharides from fructus corni: extraction, purification, structural features, and biological activities[J]. Carbohydrate Research, 2024, 538: 109072.
- [44] 何萍, 冯伟, 聂健, 等. 辣木叶多糖结构及其降血糖功效研究[J]. 粮食与油脂, 2024, 37(4): 129-134.
- HE P, FENG W, NIE J, et al. Study on the structure and hypoglycemic effects of *Moringa oleifera* leaf polysaccharides[J]. Cereals & Oils, 2024, 37(4): 129-134.
- [45] 崔艳艳, 贡永鹏, 袁永旭, 等. 响应面法优化叉分蓼多糖的提取及其结构分析[J]. 粮食与油脂, 2024, 37(4): 89-94, 114.
- CUI Y Y, GONG Y P, YUAN Y X, et al. Optimization of extraction of *Polygonum divaricatum* L. polysaccharides by response surface methodology and its structural analysis[J]. Cereals & Oils, 2024, 37(4): 89-94, 114.
- [46] 何俊叶, 刘成, 于宠洋, 等. 黄皮不同部位多糖的结构特性及体外降血糖活性[J]. 食品与机械, 2024, 40(3): 156-164.
- HE J Y, LIU C, YU C Y, et al. Structural characteristics and hypoglycemic activity of polysaccharides from different parts of wampee[J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 156-164.