

DOI:10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90045

# 硫酸化修饰对红枣多糖结构及抗氧化活性的影响

## Effect of sulfate modify on the structure and antioxidant activity of jujube polysaccharide

巩晓佩<sup>1</sup> 张 建<sup>1</sup> 郭筱兵<sup>1</sup> 毛晓英<sup>1</sup> 张连富<sup>1,2</sup>GONG Xiao-pei<sup>1</sup> ZHANG Jian<sup>1</sup> GUO Xiao-bin<sup>1</sup> MAO Xiao-ying<sup>1</sup> ZHANG Lian-fu<sup>1,2</sup>

(1. 石河子大学食品学院, 新疆 石河子 832000; 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

(1. College of Food, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China;

2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

**摘要:**目的:探究纯化红枣多糖 ZJP-1 和硫酸化红枣多糖 S-ZJP-1 的结构和抗氧化活性之间的关系。方法:以残次红枣为原料,经热水浸提、DEAE-52 离子交换色谱及 Sephadex-200 葡聚糖凝胶柱层析纯化得到纯化红枣多糖(ZJP-1),通过氯磺酸-吡啶法硫酸化修饰获得红枣多糖硫酸化衍生物(S-ZJP-1)。结果:ZJP-1 和 S-ZJP-1 均由葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖 3 种单糖组成,但是比例有所不同。两种多糖具有多糖特征吸收峰,S-ZJP-1 具有硫酸基的特征吸收峰,表示硫酸化修饰成功。ZJP-1 和 S-ZJP-1 不具有三股螺旋结构,表现呈片状结构。活性试验结果证实多糖 ZJP-1 和 S-ZJP-1 对 DPPH 自由基具有显著的清除活性,并具有一定的还原力,当多糖质量浓度达到 0.5 mg/mL 时,DPPH 自由基清除活性分别为 40.4% 和 47.6%,还原力分别为 0.419 和 0.531。结论:硫酸化修饰的红枣多糖抗氧化活性更高,是一种良好的天然抗氧化剂。

**关键词:**红枣;多糖;硫酸化;结构表征;抗氧化活性

**Abstract: Objective:** This study aimed to explore the relationship between the structure and antioxidant activity of purified red date polysaccharide ZJP-1 and sulfated red date polysaccharide S-ZJP-1. **Methods:** Using remnant jujube as raw material, jujube polysaccharide (ZJP-1) was purified by hot water extraction, and then separated by DEAE-52 ion exchange chromatography and Sephadex-200 dextran gel column chromatography. Thereafter, red jujube polysaccharide sulfated derivative (S-ZJP-1) was

obtain through chlorosulfonic acid-pyridine sulfated modification. **Results:** Both ZJP-1 and S-ZJP-1 are composed of three monosaccharides: glucose, arabinose, and galactose, but the ratios are different. The two polysaccharides had characteristic absorption peaks of polysaccharides, and S-ZJP-1 had characteristic absorption peaks of sulfate groups, indicating that the sulfation modification was successful. No triple helical structure was found in ZJP-1 or S-ZJP-1, while a sheet-like structure was detected. The results of the activity test confirmed that the polysaccharides ZJP-1 and S-ZJP-1 had significant scavenging activity on DPPH free radicals with reducing ability. When the mass concentration of the two kinds of polysaccharide was 0.5 mg/mL, the DPPH free radical scavenging activities were 40.4% and 47.6%, and the reducing ability is 0.419 and 0.531, respectively. **Conclusion:** The sulfate-modification jujube polysaccharide has higher antioxidant activity and is a good natural antioxidant.

**Keywords:** jujube; polysaccharide; sulfation modification; structural characterization; antioxidant activity

红枣(*Ziziphus jujuba* Mill.)又称大枣、枣子、刺枣,为鼠李科枣属植物<sup>[1]</sup>,具有多糖、维生素、黄酮、环核苷酸、多酚、生物碱等活性物质<sup>[2-3]</sup>。这些生物活性物质具有抗氧化、抗肿瘤、保护肝脏、抗菌等生物活性<sup>[4]</sup>。中国作为世界上枣主产国,干枣产量占世界产量的 98%<sup>[5]</sup>。新疆南疆地区由于早晚温差大及光照时间长等优势成为中国红枣生产最佳地区。因南疆地区红枣加工产业单一,红枣产量逐年升高的同时也产生了大量残次红枣,造成红枣资源的大量浪费,残次红枣资源的再利用成为人们日益关注的问题。对红枣生物活性物质进行深入研究,可进一步开发利用南疆残次枣资源。

植物多糖是一种天然自由基清除剂,可以作为抗氧化剂的替代品来防止氧化损伤<sup>[6]</sup>。由于天然多糖存在溶解性差、活性较弱等问题,为增强其生物活性,一般通过化

**基金项目:**兵团南疆重点产业创新发展支撑计划项目(编号:2018DB002);农产品加工工程重点实验室项目(编号:KYPT201904);新疆特色农产品加工过程控制与安全创新团队项目(编号:2019CB007)

**作者简介:**巩晓佩,女,石河子大学在读硕士研究生。

**通信作者:**张建(1979—),男,石河子大学教授,博士。

E-mail: zhangjian0411@163.com

**收稿日期:**2021-03-19

学修饰改变其理化结构进而改善多糖活性,常用的多糖化学改性方法有硫酸化、磷酸化、羧甲基化、乙酰化和硒化修饰等<sup>[7]</sup>,因硫酸化修饰可以使多糖出现更强的生物活性以及新的生物活性而引起众多研究者关注<sup>[8]</sup>。Cao 等<sup>[9]</sup>采用不同的方法对多糖进行了化学修饰,结果表明与天然 *Amana edulis* 多糖相比,经化学修饰的 *Amana edulis* 多糖的总糖和蛋白质含量降低,而糖醛酸含量增加。同时相较于磷酸化和羧基化修饰,硫酸化修饰后的 *Amana edulis* 多糖具有更高的还原力,展示出更好的抗氧化活性,也证明了多糖的修饰与其所产生的生物活性之间的正相关关系,可使这些修饰后的多糖衍生物作为天然抗氧化剂而被广泛应用。Li 等<sup>[10]</sup>研究发现不同的化学修饰可导致牡丹渣多糖产生不同的化学组成,特征吸收峰和抗氧化活性,其中经硫酸化修饰的多糖表现出更高的抗菌及抗氧化活性,及更强的 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除能力。孟欣等<sup>[11]</sup>研究表明羊肚菌多糖在硫酸化修饰后多糖结构增加了 S=O 的吸收峰,硫酸化修饰后羊肚菌多糖可以抑制 Hela 细胞增殖,并促进 Hela 细胞凋亡。因此采用适当方法对红枣多糖进行硫酸化修饰是改善其生物活性或产生新的功能活性的重要方法。目前,有关残次红枣多糖提取及硫酸化修饰鲜有报道;关于硫酸化红枣多糖的构效关系及其他生物活性目前尚不清楚。

研究拟以残次红枣为研究对象,纯化红枣多糖(ZJP-1)后进行硫酸化修饰后得到红枣多糖硫酸化衍生物 S-ZJP-1,通过光谱技术对其组成和结构进行鉴定,并通过体外活性试验探究红枣多糖的体外抗氧化活性,以期为进一步开发利用新疆残次红枣资源提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

残次红枣:新疆石河子农贸市场;

正丁醇、吡啶、三氯甲烷、氯磺酸、刚果红、DPPH、硫酸亚铁、甲酰胺、苯酚:分析纯,天津市富宇精细化工有限公司;

单糖标准品(阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖、鼠李糖、果糖、甘露糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸共 8 种):色谱纯,上海源叶生物科技有限公司;

抗坏血酸、EDTA-2Na:分析纯,上海启仁化工有限公司。

#### 1.1.2 仪器设备

真空冷冻干燥机:HX-10-50B 型,上海圣科仪器设备有限公司;

多功能酶标仪:ENK-PRO 型,美国 Biotek 公司;

400 兆超导核磁共振波谱仪:AVANCE III HD 型,德国 Bruker 公司;

傅里叶变换红外光谱仪:Nicolet IS 10 型,美国 Thermo 公司;

紫外可见分光光度计:TU-1901 型,北京普析通用仪器有限公司;

扫描电子显微镜:S-3400N 型,日本 Hitachi 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 红枣多糖的提取纯化

(1) 多糖提取:参考 Yang 等<sup>[12]</sup>的方法稍作修改。将干燥的红枣粉末用体积分数为 95% 的乙醇在 70 °C 下回流,持续 4 h,收集残余物冷冻干燥。将干燥后残余物用沸水萃取,合并上清液,60 °C 减压浓缩至原来的 1/4~1/5,脱蛋白(Sevag 法),脱色(AB-8 大孔树脂),加无水乙醇( $V_{\text{无水乙醇}} : V_{\text{滤液}} = 4 : 1$ )置于冰箱冷藏静置过夜,4 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀物,经冷冻干燥 24 h 后得到红枣粗多糖(ZJP)。

(2) 分离纯化:参考杨燕敏等<sup>[13]</sup>的方法略作修改。将 ZJP 在蒸馏水中溶解,离心除沉淀,放入 DEAE-52 离子交换柱中,用蒸馏水和 0.2 mol/L NaCl 溶液先后进行洗脱。使用自动部分收集器进行收集,用硫酸苯酚法显色,并在 490 nm 检测吸光度。将红枣多糖溶液通过 Sephadex-200 葡聚糖凝胶柱进行进一步分离和纯化。冷冻干燥,以获得纯的红枣多糖(ZJP-1)。

#### 1.2.2 硫酸化红枣多糖衍生物的制备 参考 Zhang

等<sup>[14]</sup>的方法,分别称取 50 mg 的 ZJP-1、S-ZJP-1,用甲酰胺进行溶解,超声 30 min 后加入酯化试剂,反应结束后冰水浴冷却,用 4 mol/L 的 NaOH 中和至 pH 为 7。4 °C 下透析 3 d。透析结束后加 3 倍体积的无水乙醇,4 °C 静置 12 h,收集沉淀,冷冻干燥 24 h 后得到硫酸化红枣多糖(S-ZJP-1)。

#### 1.2.3 多糖理化性质的测定

(1) 硫酸基含量:采用 BaCl<sub>2</sub>-明胶法<sup>[15]</sup>,标准曲线方程为  $y = 0.3988x + 0.0458$ ,  $R^2 = 0.9976$ 。

(2) 总糖含量:采用苯酚-硫酸法<sup>[16]</sup>,标准曲线方程为  $y = 0.4615x + 0.0603$ ,  $R^2 = 0.9994$ 。

(3) 蛋白质含量:采用考马斯亮蓝法<sup>[17]</sup>,标准曲线方程为  $y = 1.0694x + 0.0359$ ,  $R^2 = 0.9991$ 。

(4) 单糖组成:采用离子色谱法<sup>[18]</sup>。精密称量 10.00 mg 样品置于安瓿瓶中,加入 3 mol/L 三氟乙酸(TFA)10 mL,120 °C 水解 3 h。准确吸取 5 mL 酸水解溶液转移至试管中氮吹吹干,加入 5 mL 水涡旋混匀。吸取 100 μL 溶液,加入 900 μL 去离子水,经 12 000 r/min 离心 5 min 取上清液分析。色谱柱:DionexCarbopac TM-PA20 (3 mm × 150 mm);流动相:A 为 H<sub>2</sub>O;B 为 250 mmol/L NaOH;C 为 50 mmol/L NaOH + 500 mmol/L NaOAc;流速 0.3 mL/min;进样量 5 μL;柱温 30 °C;检测器为电化学检测器。

1.2.4 红外光谱分析 称取 ZJP-1、S-ZJP-1 各 1 mg,取 20 mg 溴化钾(KBr)混合并研磨均匀后进行压片,扫描波长范围为 4 000~400 cm<sup>-1</sup>。

1.2.5 高碘酸氧化分析 参考 Xue 等<sup>[19]</sup>的方法略作修改, 分别称取 25 mg ZJP-1、S-ZJP-1 与 15 mL 的 50 nmol/L NaIO<sub>4</sub> 溶液混合, 测定 223 nm 处的吸光度值, 至终吸光度值不变为止, 蒸馏水作为对照组, 根据标准曲线  $y=0.075 1x+0.087 5$ ,  $R^2=0.997 3$ , 按式(1)计算高碘酸的消耗量。取 2 mL 混合溶液, 用 0.01 mol/L NaOH 溶液滴定, 以酚酞为指示剂, 根据式(2)计算甲酸生成量。

$$A = (50 - A_1) \times 15, \quad (1)$$

$$A_0 = (0.01 \times A_i) \times A_j, \quad (2)$$

式中:

A——高碘酸消耗量, mmol;

A<sub>1</sub>——反应后高碘酸浓度, mol/L;

A<sub>0</sub>——甲酸生成量, mmol;

A<sub>i</sub>——NaOH 溶液滴定体积, mL;

A<sub>j</sub>——反应体积, mL。

1.2.6 刚果红试验 参考徐雅琴等<sup>[20]</sup>的方法测定 ZJP-1、S-ZJP-1 多糖组分是否有三螺旋结构。称少量的 ZJP-1、S-ZJP-1 组分配制质量浓度为 2 mg/mL 的溶液, 取 1 mL 浓度为 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mol/L NaOH 溶液分别与 1 mL 的待测样品混合, 然后加入 2 mL 的 80 μmol/mL 刚果红溶液, 室温放置 10 min, 于 200~600 nm 范围内扫描最大吸收波长并记录。

1.2.7 扫描电镜分析 ZJP-1、S-ZJP-1 的表面形态用 SEM 观察, 放大倍数为 100 倍和 400 倍。

1.2.8 多糖的抗氧化性分析

(1) DPPH 自由基清除能力: 参考 Li 等<sup>[21]</sup>的方法稍作修改, 准备 0.1 mmol/L DPPH 溶液并在黑暗中贮存。分别准备 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL ZJP-1 和 S-ZJP-1 溶液。取 2 mL 多糖溶液与 2 mL 0.1 mmol/L DPPH 溶液, 混合静置 30 min, 测量 510 nm 处吸光度。以 V<sub>c</sub> 为阳性对照, 根据式(3)计算 ZJP-1 和 S-ZJP-1 的 DPPH 自由基清除率。

$$A = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

A——DPPH 自由基清除率, %;

A<sub>0</sub>——不加多糖的吸光度;

A<sub>1</sub>——加入多糖后的吸光度;

A<sub>2</sub>——不加 DPPH 溶液的吸光度。

(2) 还原力: 参考 Ji 等<sup>[22]</sup>的方法, 准备 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 6.6), 1% 铁氰化钾溶液, 10% 的三氯乙酸溶液和 0.1% 的三氯化铁溶液, 分别准备 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL ZJP-1 和 S-ZJP-1 溶液, 50 °C 水浴 30 min 后加入 2 mL 10% 三氯乙酸溶液, 以 5 000 r/min 离心 20 min, 加入 2.5 mL 蒸馏水和 1.5 mL 0.1% 氯化铁溶液, 静置 10 min 后测量 700 nm 处吸光度值。以 EDTA-2Na 为阳性对照, 按式(4)计算 ZJP-1 和 S-ZJP-1 的还原能力。

$$A = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

A——还原力;

A<sub>0</sub>——不加样品的吸光度;

A<sub>1</sub>——加入样品后的吸光度;

A<sub>2</sub>——不加 FeCl<sub>3</sub> 溶液的吸光度。

### 1.3 数据处理

所有试验重复 3 次, 用 SPSS 软件进行数据统计处理, 采用 Origin 8.5 软件制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 纯化红枣多糖及硫酸化红枣多糖的理化指标

由表 1 可知, 硫酸化修饰后的红枣多糖取代度为 0.45。与 ZJP-1 相比, S-ZJP-1 的总糖和蛋白质含量均下降, 其中多糖含量降低了 13%, 可能是因为硫酸化修饰过程中的酸性条件引起了多糖的降解。两种红枣多糖均由 3 种单糖构成, 分别是葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖, 不同单糖所占摩尔分数不同。说明不同的硫酸化修饰并未改变红枣多糖的单糖组成, 硫酸化会导致硫酸化衍生物的单糖组成的微小变化, 不会改变硫酸化多糖主链。伯继芳等<sup>[23]</sup>也发现硫酸化结构修饰不会破坏杏鲍菇多糖主链。

### 2.2 红枣多糖及其硫酸化多糖的结构表征

2.2.1 红外光谱分析 图 1 为多糖 ZJP-1 和 S-ZJP-1 经过 KBr 压片所测得的红外谱图, 从图 1 可看出在 4 000~500 cm<sup>-1</sup> 内, 多糖 ZJP-1 和 S-ZJP-1 有共同的吸收峰: 3 417.67 cm<sup>-1</sup> 处有较宽且强的吸收峰, 由 O—H 拉伸振动引起, 表明多糖存在分子内的氢键, 而非游离态。2 927.78 cm<sup>-1</sup> 处的伸缩振动归因于多糖分子 C—H 的伸缩振动。1 662.54 cm<sup>-1</sup> 处出现了 C=O 的振动吸收峰, 说明该化合物具有糖醛酸, 与单糖组成分析一致; 1 419.55 cm<sup>-1</sup> 附近的吸收峰是由 C—H 的变角振动引起

表 1 ZJP-1 和 S-ZJP-1 的单糖物质的量组成

Table 1 The quantitative composition of the monosaccharides of ZJP-1 and S-ZJP-1 %

样品	半乳糖醛酸	阿拉伯糖	半乳糖	葡萄糖
ZJP-1	1.42	22.64	3.56	68.78
S-ZJP-1	0.98	18.44	2.45	46.35

表 2 ZJP-1 和 S-ZJP-1 的理化指标<sup>†</sup>

Table 2 Physical and chemical indexes of ZJP-1 and S-ZJP-1

样品	取代度	总糖含量/%	蛋白质含量/%
ZJP-1	—	78.50±0.56 <sup>a</sup>	55.50±0.64 <sup>b</sup>
S-ZJP-1	0.45	3.17±0.06 <sup>a</sup>	2.50±0.04 <sup>b</sup>

† 同行字母不同表示差异显著( $P<0.05$ )。

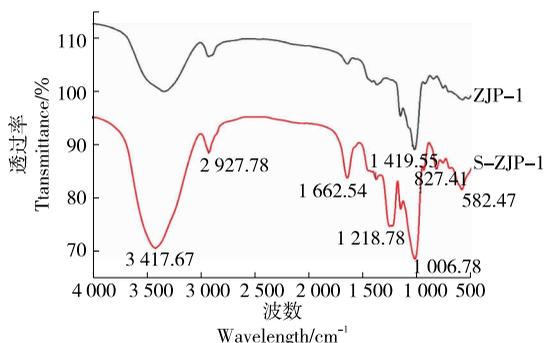


图 1 ZJP-1 和 S-ZJP-1 的红外光谱  
Figure 1 IR spectrum of ZJP-1 and S-ZJP-1

的, 1 006.78  $\text{cm}^{-1}$  处是由吡喃环的醚键 C—O—C 官能团受 C—O 伸缩振动引起的强吸收峰<sup>[24]</sup>。在 827.41  $\text{cm}^{-1}$  附近处的吸收峰表明存在  $\alpha$ -型糖苷键和  $\beta$ -型糖苷键。582.47  $\text{cm}^{-1}$  为 C—O—H 键引起的吸收峰, 证明红枣多糖是吡喃型多糖。综上, 多糖 ZJP-1 和 S-ZJP-1 为酸性多糖, 含有吡喃型糖苷键。观察到硫酸化红枣多糖 S-ZJP-1 在 1 218.78  $\text{cm}^{-1}$  和 827  $\text{cm}^{-1}$  附近增加 2 个吸收峰, 分别为非对称 S=O 的拉伸和对称的 C—O—S 的振动峰<sup>[25]</sup>, 二者均为硫酸化的特征吸收峰。在 3 417.67  $\text{cm}^{-1}$  附近由 O—H 拉伸振动引起的吸收峰降低, 表明氯磺酸中的硫酸基已成功取代纯化红枣多糖的羟基, 硫酸化红枣多糖成功合成。梁英等<sup>[26]</sup> 研究也发现硫酸基与平菇多糖成功合成, 形成了平菇多糖硫酸酯。

2.2.2 高碘酸氧化分析 高碘酸氧化是一种选择性的氧化反应, 一般作用于多糖分子中二羟基和三羟基连接处。可通过高碘酸消耗量和甲酸生成量判断出糖苷键的位置<sup>[27]</sup>。由图 2 中  $\text{NaIO}_4$  的标准曲线计算结果得, ZJP-1 消耗 2.31 mmol 的高碘酸并生成 0.92 mmol 的甲酸, S-ZJP-1 消耗 2.14 mmol 的高碘酸并生成 0.81 mmol 的甲酸。高碘酸的消耗量大于甲酸生成量的 2 倍, 推测存在只消耗高碘酸而不产生甲酸的类型, 即存在 (1→2) 和 (1→4) 连接的糖苷键。既消耗高碘酸又生成甲酸说明 ZJP-1 和 S-ZJP-1 均存在 (1→6) 连接的糖苷键。其中也可能存在不消耗高碘酸且生成甲酸的类型, 存在少量 (1→3) 连接的糖苷键。综上, 通过高碘酸氧化的反应原理初步推断多糖 ZJP-1 和 S-ZJP-1 中均存在 (1→2) (1→4) (1→6) 和少量 (1→3) 连接的糖苷键。

2.2.3 刚果红试验 在碱性溶液中, 含有三股螺旋结构的多糖会与刚果红形成复合物, 其最大吸收波长会产生红移; 由此判断多糖是否具有三股螺旋结构<sup>[24]</sup>。由图 3 可以看出,  $\text{NaOH}$  溶液浓度从 0.0~0.5 mol/L, 两种红枣多糖 ZJP-1 和 S-ZJP-1 与刚果红反应, 其最大吸收波长均随  $\text{NaOH}$  溶液浓度的增加而逐渐减小, 可以判断这两种红枣多糖不具备三螺旋结构。这与 Barbara 等<sup>[28]</sup> 研究结果一致, 一般多种单糖组成的多糖不易形成三股螺旋结构。

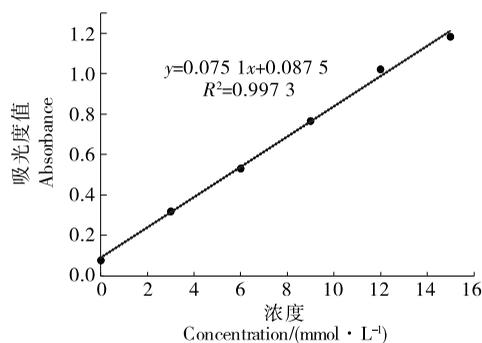


图 2 ZJP-1 和 S-ZJP-1 的高碘酸钠标准曲线  
Figure 2  $\text{NaIO}_4$  standard curve of ZJP-1 and S-ZJP-1

2.2.4 扫描电镜 从图 4 可以看出, ZJP-1 和 S-ZJP-1 多糖微观结构有明显差异。ZJP-1 多为不规则的大块片状结构, 而 S-ZJP-1 为不规则小块片状结构, 说明硫酸化处理改变了红枣多糖的结构。Qian 等<sup>[29]</sup> 也指出不同种类、提取纯化方法和结构改性方法处理后多糖的微观结构有差异。

### 2.3 多糖抗氧化活性

2.3.1 DPPH 自由基清除能力 由图 5 可知, 两种红枣

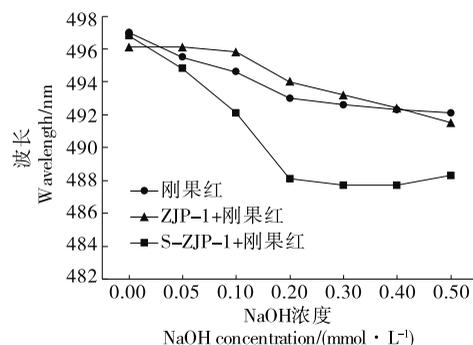


图 3 ZJP-1 和 S-ZJP-1 的刚果红试验结果  
Figure 3 Experimental results of Congo red of ZJP-1 and S-ZJP-1

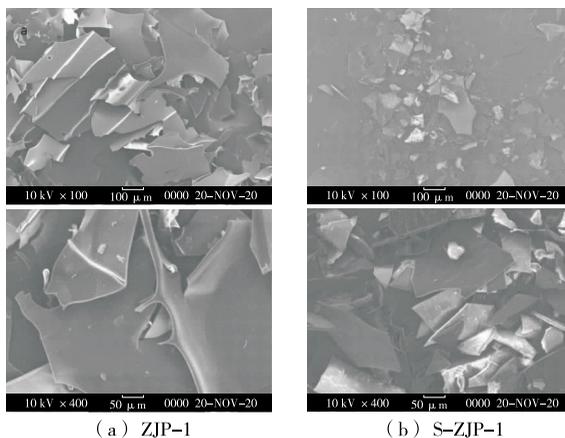


图 4 ZJP-1 和 S-ZJP-1 的扫描电镜图像

Figure 4 Scanning electron microscope images of ZJP-1 and S-ZJP-1

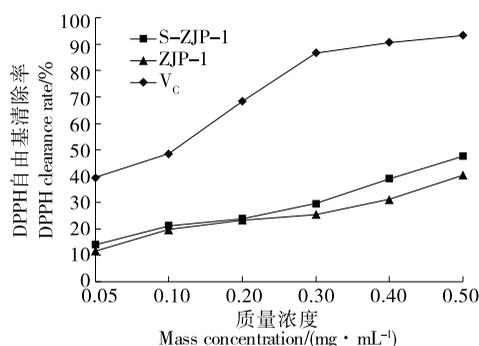


图5 ZJP-1和S-ZJP-1的DPPH自由基清除作用

Figure 5 DPPH clearance of ZJP-1 and S-ZJP-1

多糖均显示较强的DPPH自由基清除活性,且两种红枣多糖的DPPH自由基清除活性随红枣多糖质量浓度的增加而升高。当质量浓度 $<0.2$  mg/mL时,ZJP-1的DPPH自由基清除活性高于S-ZJP-1。但当质量浓度 $>0.2$  mg/mL时,S-ZJP-1较ZJP-1显示出更强的DPPH自由基清除活性,当质量浓度达到 $0.5$  mg/mL时,其DPPH自由基清除活性为 $47.6\%$ ,而ZJP-1为 $40.4\%$ ,说明经硫酸化修饰改变多糖的理化性质和空间构象使多糖DPPH自由基清除能力明显增强,同时,较高质量浓度的硫酸化修饰的红枣多糖相比纯化红枣多糖有更高的DPPH自由基清除能力,与宋见喜等<sup>[30]</sup>结果一致。

2.3.2 总还原力 由图6可知,ZJP-1和S-ZJP-1均有一定程度的还原力,并随着质量浓度的增加,两种红枣多糖的还原力上升,为浓度依赖型。其中S-ZJP-1较ZJP-1显示出更强的还原力,当S-ZJP-1质量浓度达到 $0.5$  mg/mL时,其还原力最强,为 $0.531$ ,而此时ZJP-1的还原力为 $0.419$ 。经过硫酸化修饰的红枣多糖相比纯化红枣多糖还原力增高,可能与两种红枣多糖的分子量与糖苷键有关。申进文等<sup>[31]</sup>研究也发现多糖提取物具有较强的体外抗氧化性能,其还原力随多糖浓度的增大逐渐增强。

综上,S-ZJP-1对DPPH自由基的清除能力以及还原

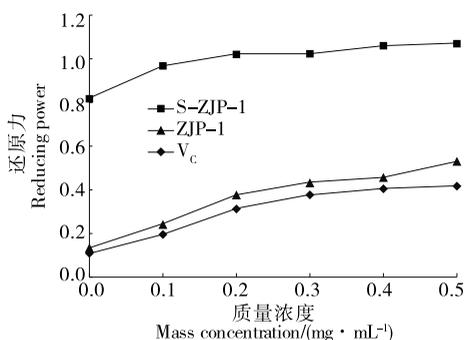


图6 ZJP-1和S-ZJP-1的还原力作用

Figure 6 The reducing power effect of ZJP-1 and S-ZJP-1

能力均优于ZJP-1。这是因为多糖引入硫酸基后,改变了多糖的空间构象,从而引起了生物活性的改变。

### 3 结论

结果表明,纯化红枣多糖和硫酸化红枣多糖均为吡喃型多糖,由半乳糖、葡萄糖和阿拉伯糖3种单糖组成,不含三螺旋结构,均为无规则片状形态。纯化红枣多糖和硫酸化红枣多糖均具有较好的抗氧化性,且硫酸化红枣多糖的抗氧化性强于纯化红枣多糖。综上所述,硫酸化修饰并未破坏红枣多糖的主链结构,只取代多糖残基上的某一些羟基,从而改变多糖的分子结构,提高其生物活性,在抗氧化方面具有很好的应用前景,尤其在功能性食品、医药领域以及化妆品行业的广泛应用。关于硫酸化多糖体外活性与其取代度、分子量等的构效关系以及作用机制有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 雷昌贵, 陈锦屏, 卢大新. 红枣的营养成分及其保健功能[J]. 现代生物医学进展, 2006(3): 56-57, 62.  
LEI Chang-gui, CHEN Jin-ping, LU Da-xin. The nutritional components and health functions of red dates[J]. Advances in Modern Biomedicine, 2006(3): 56-57, 62.
- [2] 刘澜. 红枣的营养保健作用及贮藏加工技术探析[J]. 种子科技, 2020, 38(6): 31-32.  
LIU Lan. The nutrition and health function of red dates and analysis of storage and processing technology [J]. Seed Science & Technology, 2020, 38(6): 31-32.
- [3] 刘润平. 红枣的营养价值及其保健作用[J]. 中国食物与营养, 2009(12): 50-52.  
LIU Run-ping. The nutritional value and health effects of red dates[J]. Chinese Food and Nutrition, 2009(12): 50-52.
- [4] 冀晓龙, 尹明松, 侯春彦, 等. 红枣多糖提取、分离纯化及生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(23): 346-353, 358.  
JI Xiao-long, YIN Ming-song, HOU Chun-yan, et al. Research progress on extraction, separation and purification and biological activity of jujube polysaccharides[J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(23): 346-353, 358.
- [5] 王雨, 李占林, 斯琴, 等. 新疆枣产业现状及发展建议[J]. 落叶果树, 2020, 52(3): 28-30.  
WANG Yu, LI Zhan-lin, SI Qin, et al. The current status and development suggestions of the jujube industry in Xinjiang[J]. Deciduous Fruit Tree, 2020, 52(3): 28-30.
- [6] TSIAPALI E, WHALEY S, KALBFLEISCH J, et al. Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2001, 30(4): 393-402.
- [7] 苏晓文, 胥丽霞, 王威威. 多糖的化学修饰方法研究进展[J]. 农业技术与装备, 2020(3): 18-20.  
SU Xiao-wen, ZAN Li-xia, WANG Wei-wei. Research progress on chemical modification methods of polysaccharides[J]. Agricultural Technology and Equipment, 2020(3): 18-20.

- [8] 滕浩, 李雪影, 孙卉, 等. 天然多糖的硫酸化修饰对其生物活性影响研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(6): 298-302.  
TENG Hao, LI Xue-ying, SUN Hui, et al. Research progress in the effects of sulfation modification of natural polysaccharides on their biological activities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(6): 298-302.
- [9] CAO Yu-yao, JI Yu-hang, LIAO Ai-mei, et al. Effects of sulfated, phosphorylated and carboxymethylated modifications on the antioxidant activities in-vitro of polysaccharides sequentially extracted from *Amana edulis* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 146: 887-896.
- [10] LI Jin-hua, ZHENG Si-hao, REN Wei-guang, et al. Isolation, purification and structural characterization of a polysaccharide from *Rheum Palmatum L.*[J]. Journal of Food and Nutrition Sciences, 2017, 5(3): 13.
- [11] 孟欣, 刘金锋. 羊肚菌多糖硫酸化衍生物的制备、结构分析及体外抗肿瘤活性[J]. 曲阜师范大学学报(自然科学版), 2020, 46(2): 85-90.  
MENG Xin, LIU Jin-feng. Preparation, structure analysis and in vitro anti-tumor activity of morel polysaccharide sulfated derivatives[J]. Journal of Qufu Normal University (Natural Science Edition), 2020, 46(2): 85-90.
- [12] YANG Wei-fang, WANG Ying, LI Xiu-ping, et al. Purification and structural characterization of Chinese yam polysaccharide and its activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117: 1 021-1 027.
- [13] 杨燕敏, 郑振佳, 高琳, 等. 红枣多糖超声波提取工艺、结构表征及抗氧化活性评价[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(5): 120-126.  
YANG Yan-min, ZHENG Zhen-jia, GAO Lin, et al. Ultrasonic extraction process, structure characterization and antioxidant activity evaluation of jujube polysaccharides[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(5): 120-126.
- [14] ZHANG Hui, WANG Jun-qiao, NIE Shao-ping, et al. Sulfated modification, characterization and property of a water-insoluble polysaccharide from *Ganoderma atrum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 79: 248-255.
- [15] 燕航, 钟耀广, 王淑琴, 等. 硫酸酯化香菇多糖衍生物制备的研究[J]. 化学与生物工程, 2006(3): 44-45, 62.  
YAN Hang, ZHONG Yao-guang, WANG Shu-qin, et al. Preparation of sulfated lentinan derivatives[J]. Chemistry and Bio-engineering, 2006(3): 44-45, 62.
- [16] 王彦平, 姜芳慧, 陈月英, 等. 苯酚—硫酸法测定紫山药多糖含量的条件优化[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(4): 170-174.  
WANG Yan-ping, LOU Fang-hui, CHEN Yue-ying, et al. Optimizing conditions for the determination of purple yam polysaccharide content by phenol-sulfuric acid method[J]. Food Research and Development, 2021, 42(4): 170-174.
- [17] 沈育伊, 覃香香, 滕秋梅, 等. 荸荠多糖中蛋白含量的测定[J]. 微量元素与健康研究, 2019, 36(6): 50-52.  
SHEN Yu-yi, QIN Xiang-xiang, TENG Qiu-mei, et al. Determination of protein content in water chestnut polysaccharides[J]. Research of Trace Elements and Health, 2019, 36(6): 50-52.
- [18] 尹大芳, 孙晓杰, 郭莹莹, 等. 高效阴离子交换色谱—脉冲积分安培法检测海带中的单糖、双糖和糖醛酸[J]. 食品科学, 2021, 42(16): 162-168.  
YIN Da-fang, SUN Xiao-jie, GUO Ying-ying, et al. Detection of monosaccharides, disaccharides and uronic acid in kelp by high performance anion exchange chromatography-pulse integral amperometric method[J]. Food Science, 2021, 42(16): 162-168.
- [19] XUE Zi-han, CHEN Yue, JIA Yan-yan, et al. Structure, thermal and rheological properties of different soluble dietary fiber fractions from mushroom *Lentinula edodes* ( Berk.) Pegler residues [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 248-255.
- [20] 徐雅琴, 杜明阳, 杨露, 等. 超声波处理对黑加仑果实多糖性质与生物活性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(15): 148-153.  
XU Ya-qin, DU Ming-yang, YANG Lu, et al. Effects of ultrasonic treatment on the properties and biological activities of blackcurrant fruit polysaccharides[J]. Food Science, 2019, 40(15): 148-153.
- [21] LI Xiao-li, KIRAN Thakur, ZHANG Yuan-yuan, et al. Effects of different chemical modifications on the antibacterial activities of polysaccharides sequentially extracted from peony seed dreg [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 116: 10-18.
- [22] JI Xiao-long, HOU Chun-yan, YAN Yi-zhe, et al. Comparison of structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides from jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 149: 664-675.
- [23] 伯继芳, 马琦, 刘东茹, 等. 硫酸化杏鲍菇多糖的理化特性及体外生物活性研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(6): 102-109.  
BO Ji-fang, MA Qi, LIU Dong-ru, et al. Study on the physico-chemical properties and in vitro biological activity of sulfated *Pleurotus eryngii* polysaccharides [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(6): 102-109.
- [24] 谢苗, 亓小妮, 吴杨洋, 等. 多糖的化学修饰及其结构鉴定研究进展[J]. 湖北农业科学, 2021, 60(3): 11-17, 30.  
XIE Miao, QI Xiao-ni, WU Yang-yang, et al. Research progress on chemical modification and structural identification of polysaccharides[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2021, 60(3): 11-17, 30.
- [25] 徐雅琴, 杨海红, 李大龙, 等. 黑加仑果实降解多糖理化特性、结构及体外降血糖活性[J]. 食品科学, 2021, 42(15): 37-43.  
XU Ya-qin, YANG Hai-hong, LI Da-long, et al. Physical and chemical properties, structure and in vitro hypoglycemic activity of degraded polysaccharides from blackcurrant fruits[J]. Food Science, 2021, 42(15): 37-43.
- [26] 梁英, 毕红梅, 郑文凤, 等. 平菇多糖硫酸酯制备工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 175-179.  
LIANG Ying, BI Hong-mei, ZHENG Wen-feng, et al. Preparation process optimization and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus sulfate*[J]. Food & Machinery, 2021, 37(1): 175-179.

(下转第 120 页)