

## 南瓜皮多糖锌的制备及生物利用率研究

董淑君, 张禧庆, 刘旭龙, 马 越, 郑振佳, 姜高飞

### Preparation and Bioavailability of Pumpkin Skin Polysaccharide-zinc Complex

DONG Shujun, ZHANG Xiqing, LIU Xulong, MA Yue, ZHENG Zhenjia, and JIANG Gaofei

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021110326>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 真空微波干燥中微波强度对胡萝卜和南瓜中类胡萝卜素生物利用率的影响

Effects of Microwave Intensity on Carotenoid Bioavailability in Carrot and Pumpkin during Microwave Vacuum Drying

食品工业科技. 2021, 42(13): 74-79

#### 响应面法优化白玉菇多糖的提取工艺

Optimization of the extraction technology of polysaccharide in white hypsizygus marmoreus by response surface methodology

食品工业科技. 2017(22): 145-149

#### 大豆多肽-锌螯合物的制备工艺优化及其结构表征

Preparation Process Optimization of Soy Peptides-Zinc Chelate and Its Structural Characterization

食品工业科技. 2020, 41(14): 160-165

#### 响应面法优化超声波提取南瓜皮叶黄素的工艺研究

Optimization of ultrasonic extraction process for lutein from pumpkin peel by response surface methodology

食品工业科技. 2018, 39(1): 149-155

#### 适于南瓜汁原料益生酵母菌的分离鉴定及发酵工艺优化

Isolation, Identification and Fermentation Process Optimization of Probiotics for Pumpkin Juice

食品工业科技. 2020, 41(17): 91-97

#### 外源锌浸种处理对绿豆芽生长和营养品质的影响

Effect of exogenous zinc soaking on the growth and nutritional quality of mung bean sprouts

食品工业科技. 2017(04): 170-174



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

董淑君, 张禧庆, 刘旭龙, 等. 南瓜皮多糖锌的制备及生物利用率研究 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(18): 200–207. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110326

DONG Shujun, ZHANG Xiqing, LIU Xulong, et al. Preparation and Bioavailability of Pumpkin Skin Polysaccharide-zinc Complex[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(18): 200–207. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110326

· 工艺技术 ·

# 南瓜皮多糖锌的制备及生物利用率研究

董淑君<sup>1,2</sup>, 张禧庆<sup>3</sup>, 刘旭龙<sup>2</sup>, 马 越<sup>1,\*</sup>, 郑振佳<sup>2</sup>, 姜高飞<sup>4</sup>

(1.北京市农林科学院农产品加工与食品营养研究所, 果蔬农产品保鲜与加工北京市重点实验室, 农业农村部蔬菜采后处理重点实验室, 北京 100097;

2.山东农业大学食品科学与工程学院, 山东省高校食品加工技术与质量控制重点实验室, 山东泰安 271018;

3.山东杰诺检测服务有限公司, 山东烟台 265200;

4.莱阳孟宇食品有限公司, 山东烟台 265200)

**摘 要:**本研究以南瓜皮多糖和锌为原料制备南瓜皮多糖锌, 通过单因素和响应面法优化得到最佳制备工艺, 并采用体外模拟胃肠道消化法测定南瓜皮多糖锌中锌离子的生物利用率。结果表明: 南瓜皮多糖锌的最佳制备工艺为: 南瓜皮多糖与锌质量比 18:1, 反应时间 104 min, 反应 pH9, 此时螯合率达到最大值为 99.37%±0.12%。通过电感耦合等离子体质谱仪测定锌含量约为 23.17±0.05 mg/g。体外模拟胃肠道消化试验表明: 多糖锌受胃中的酸性环境影响小, 在肠道中多糖锌中锌离子的溶解率和透析率均高于无机锌。综上, 南瓜皮多糖锌生物利用率高、稳定性好, 为开发新型的多糖补锌剂以及提高南瓜资源的综合利用提供了依据。

**关键词:**南瓜皮, 多糖, 锌, 工艺优化, 生物利用率

中图分类号: TS201.4

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2022)18-0200-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021110326



本文网刊:

## Preparation and Bioavailability of Pumpkin Skin Polysaccharide-zinc Complex

DONG Shujun<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiqing<sup>3</sup>, LIU Xulong<sup>2</sup>, MA Yue<sup>1,\*</sup>, ZHENG Zhenjia<sup>2</sup>, JIANG Gaofei<sup>4</sup>

(1. Institute of Agri-food Processing and Nutrition, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing Key Laboratory of Agricultural Products of Fruits and Vegetables Preservation and Processing, Key Laboratory of Vegetable Postharvest Treatment, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100097, China;

2. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Shandong Key Laboratory of Food Processing Technology and Quality Control, Taian 271018, China;

3. Shandong Jienuo Testing Service Limited Company, Yantai 265200, China;

4. Laiyang Mengyu Food Limited Company, Yantai 265200, China)

**Abstract:** In this study, pumpkin skin polysaccharide zinc was prepared from pumpkin skin polysaccharide and zinc. The optimal preparation process of pumpkin skin polysaccharide zinc was optimized by single factor and response surface methodology, and the bioavailability of zinc ion in pumpkin skin polysaccharide zinc was determined by simulated gastrointestinal digestion *in vitro*. The results showed that the optimum preparation process of pumpkin skin polysaccharide zinc was as follows: The mass ratio of pumpkin skin polysaccharide to zinc was 18:1, the reaction time was 104 min and the reaction pH was 9. Under these conditions, the chelation rate reached the maximum value of 99.37%±0.12%. The

收稿日期: 2021-11-26

基金项目: 北京市农林科学院科技创新能力建设专项 (KJCX20200208); 农业农村部蔬菜采后处理重点实验室开放课题, 泰山产业领军人才工程高效生态农业创新类计划 (LJNY201705)。

作者简介: 董淑君 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工技术, E-mail: dsj17863852203@163.com。

\* 通信作者: 马越 (1971-), 女, 副研究员, 研究方向: 农产品贮藏加工, E-mail: mayue@nrcv.org。

content of zinc determined by inductively coupled plasma mass spectrometry was about  $23.17 \pm 0.05$  mg/g. *In vitro* simulated gastrointestinal digestion experiment showed that polysaccharide zinc was less affected by the acidic environment in the stomach, and the dissolution rate and dialysis rate of zinc ion in polysaccharide zinc were higher than that of inorganic zinc in the intestine. The results showed that pumpkin skin polysaccharide zinc had high bioavailability and good stability, which would provide a basis for developing new polysaccharide zinc supplement and improving the comprehensive utilization of pumpkin resources.

**Key words:** pumpkin skin; polysaccharide; zinc; process optimization; bioavailability

多糖是南瓜中的重要活性物质,含量约为 5.7%,具有抗氧化、降血糖、降血脂、抑菌、抗肿瘤等多种生物活性<sup>[1-5]</sup>。南瓜皮是南瓜加工过程中的副产品,加工过程中产生量约占南瓜总质量的 10%~40%,通常当作废弃物处理<sup>[6-7]</sup>。从南瓜皮中提取南瓜皮多糖可以提高南瓜资源的综合利用,增加南瓜的附加值。南瓜皮多糖属于酸性多糖,糖链中含有羧基、羟基等配位基团,具有表面螯合能力,能与金属离子以配位键结合生成螯合物<sup>[8]</sup>。目前对南瓜多糖的研究主要集中在提取、结构解析、改性修饰以及活性评价,其中改性修饰主要包括南瓜多糖的硫酸酯化、磷酸酯化和硒化修饰<sup>[9-11]</sup>。

锌是人体必需的微量元素之一,能够提高机体免疫力,具有促进生长发育、杀菌抗炎、抗氧化、提高大脑功能、参与酶调节和基因表达等多种生理功能<sup>[12-13]</sup>。人体对锌的储存能力不高,需要从外界获取以稳定体内环境<sup>[14]</sup>。无机锌在人体中的吸收利用率低且对肠胃具有刺激作用,因此开发高利用率、低刺激性的新型锌补充剂尤为重要<sup>[15-16]</sup>。将多糖与锌进行螯合得到多糖锌,可解决无机锌与食物中的植酸、草酸等化合物结合生成沉淀的问题,且利用率高、稳定性好,具有肠道益生作用,在摄入益生元的同时实现补锌目的<sup>[17-21]</sup>。现报道的多糖锌研究主要集中在工艺优化及其活性评价,涉及的多糖来源主要包括大米胚芽<sup>[22]</sup>、金针菇<sup>[23]</sup>、孔石莼<sup>[24]</sup>、灰树花<sup>[25]</sup>、光帽鳞伞菌丝体<sup>[26]</sup>、肉苁蓉<sup>[27]</sup>、猪苓<sup>[28]</sup>和蛹虫草基质<sup>[29]</sup>,对南瓜皮多糖与锌的螯合工艺及生物利用率研究尚未见报道。

本研究以南瓜皮为原料提取多糖,利用金属螯合法制备南瓜皮多糖锌,采用响应面法优化制备工艺,并研究产物的生物利用率,开发具有肠道益生作用的新型补锌剂,减少南瓜资源的浪费,提高南瓜皮的附加值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

南瓜皮 品种为爱碧斯,山东省莱阳市孟宇食品有限公司;七水合硫酸锌 分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司;锌标准储备液( $1000 \mu\text{g/mL}$ ) 国家检验认证有限公司;盐酸(优级纯)、氢氧化钠(分析纯) 天津市科密欧化学试剂有限公司;硝酸 优级纯,苏州晶瑞化学股份有限公司;人工胃液、人工肠液 福州飞净生物科技有限公司;透析袋 怡康

科贸生物试剂耗材实验有限公司。

7800 电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS) 美国安捷伦科技公司;SECURA224-ICN 电子天平 北京赛多利斯仪器有限公司;S210 pH 计 梅特勒-托利多仪器有限公司;Multiwave PRO 微波消解仪 奥地利安东帕公司;DKZ-2B 水浴恒温振荡器 上海一恒科技仪器有限公司;FD-304 冷冻干燥机 济南骏德仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 南瓜皮多糖的提取** 采用热水浸提法从南瓜皮中提取多糖<sup>[10]</sup>。取 1 kg 鲜南瓜皮切碎,以 1:12 的料液比加入去离子水,85 ℃ 的热水浸提两次,过滤,滤液浓缩后用 4 倍体积的无水乙醇醇沉,静置,5000 r/min 离心 10 min 得南瓜皮粗多糖。Sevag 溶液(氯仿:正丁醇=4:1)脱蛋白,重复操作 3~4 次至中间无变形蛋白层,浓缩后醇沉,5000 r/min 离心 10 min,冻干得到南瓜皮多糖。苯酚-硫酸法测定多糖含量为 74.78%。

**1.2.2 南瓜皮多糖锌的制备工艺** 采用硫酸锌法制备多糖锌<sup>[12]</sup>。称取一定质量的南瓜皮多糖溶于去离子水中,与一定浓度的锌溶液等体积混合,设计不同的反应质量比、反应时间、反应温度和反应 pH 后于恒温水浴振荡反应,反应结束用 4 倍体积的无水乙醇进行醇沉,5000 r/min 离心 10 min,上清液保存备用,将沉淀复溶后用 500 Da 的透析袋透析 48 h,冷冻干燥得到南瓜皮多糖锌。

#### 1.2.3 单因素实验

**1.2.3.1 南瓜皮多糖与锌质量比对螯合率的影响** 固定锌的浓度为 0.4 g/L,南瓜皮多糖与锌质量比分别为 1:1、5:1、10:1、20:1、30:1、40:1,反应时间为 100 min,反应温度为 50 ℃,反应 pH7,按“1.2.2”进行操作,考察多糖与锌的质量比对螯合率的影响。

**1.2.3.2 反应时间对螯合率的影响** 固定锌的浓度为 0.4 g/L,南瓜皮多糖与锌质量比为 5:1,反应 pH7,反应温度为 50 ℃,反应时间分别为 50、100、150、200、250 min,按“1.2.2”进行操作,考察反应时间对螯合率的影响。

**1.2.3.3 反应温度对螯合率的影响** 固定锌的浓度为 0.4 g/L,南瓜皮多糖与锌质量比为 5:1,反应时间为 100 min,反应 pH7,反应温度分别为 30、40、50、60、70 ℃,按“1.2.2”进行操作,考察反应温度对螯合率的影响。

1.2.3.4 反应 pH 对螯合率的影响 固定锌的浓度为 0.4 g/L, 南瓜皮多糖与锌质量比为 5:1, 反应温度为 50 ℃, 反应时间为 100 min, 反应 pH 分别为 5、6、7、8、9、10、11, 按“1.2.2”进行操作, 考察反应 pH 对螯合率的影响。

1.2.4 响应面试验 在单因素实验的基础上, 以南瓜皮多糖螯合锌的螯合率为响应值, 以南瓜皮多糖与锌质量比、反应时间、反应 pH 为自变量, 进行三因素三水平响应面试验。采用 Design-Expert 8.0.6 统计分析软件建立 Box-Behnken 模型, 对螯合反应进行响应面优化设计。响应面试验设计因素与水平见表 1。

表 1 响应面试验因素与水平  
Table 1 Factors and levels of response surface experiment

| 水平 | 因素       |            |       |
|----|----------|------------|-------|
|    | A多糖与锌质量比 | B反应时间(min) | C反应pH |
| -1 | 10:1     | 50         | 8     |
| 0  | 20:1     | 100        | 9     |
| 1  | 30:1     | 150        | 10    |

### 1.2.5 南瓜皮多糖锌中锌元素的测定

1.2.5.1 锌标曲的绘制 利用锌标准溶液配制成浓度分别为 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 μg/mL 的锌溶液。电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)测定, 以锌元素的浓度(X, μg/mL)为横坐标, 响应信号值(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线。测得标准曲线方程为  $Y=0.989X+0.0072$ ,  $R^2=0.9998$ 。

ICP-MS 相关参数如下<sup>[30]</sup>: 射频功率 1550 W, 等离子体气体流速 15 L/min, 辅助气体流速 0.9 L/min, 蠕动泵转速 0.1 rps, 雾化室温度 2 ℃, 采样深度 8 mm。

1.2.5.2 螯合率的计算 采用 2% 的硝酸稀释上清液, ICP-MS 测定锌离子的含量, 按照下式计算南瓜皮多糖锌的螯合率:

$$\text{螯合率}(\%) = \frac{C_i - 5C_f}{C_i} \times 100$$

式中:  $C_i$  表示混合液中锌离子的初始浓度, μg/mL;  $C_f$  表示反应后上清液中锌离子的浓度, μg/mL。

1.2.5.3 锌含量的测定 称取南瓜皮多糖锌 0.02 g, 按照表 2 设定的升温程序消解样品, 消解后冷却至室温将样品转移至 50 mL 容量瓶, 去离子水定容, 保存备用, ICP-MS 测定锌含量<sup>[31]</sup>。

表 2 微波消解升温程序  
Table 2 Temperature rise procedure of microwave digestion

| 步骤 | 控制温度(℃) | 升温时间(min) | 恒温时间(min) |
|----|---------|-----------|-----------|
| 1  | 120     | 5         | 3         |
| 2  | 165     | 5         | 0         |
| 3  | 190     | 10        | 15        |

1.2.6 南瓜皮多糖锌的生物利用率 参照文献[32-34]方法并稍作修改, 通过体外模拟胃肠道消化

法对螯合物南瓜皮多糖锌的生物利用率进行评价。

1.2.6.1 模拟胃液消化 分别配制 5 mg/mL 的南瓜皮多糖锌和 8.9 mg/mL 七水合硫酸锌溶液, 添加 1 mol/L 的 HCl 使 pH 达到 2.0 左右, 加入等体积的模拟人工胃液, 混合均匀, 37 ℃ 振荡, 分别反应 0、30、60、90、120、150、180、210、240 min 后, 在 95 ℃ 水浴中灭酶处理 10 min, 于 4 ℃ 条件下保存, 备用。

1.2.6.2 模拟肠液消化 分别将“1.2.6.1”中模拟胃消化 120 min 的样品混合物和无机锌混合物取出, 用 1 mol/L 的 NaOH 调节 pH 至 7.0, 加入等体积的模拟人工肠液, 混合均匀, 将混合物转移到透析袋中, 37 ℃ 振荡, 分别反应 1、2、4、6、8 h 后, 在 95 ℃ 水浴中灭酶处理 10 min, 于 4 ℃ 条件下保存, 备用。

1.2.6.3 溶解率的测定 分别取胃液、肠液的消化液来测定南瓜皮多糖锌的溶解率。在“1.2.6.1”和“1.2.6.2”的消化液中加入 4 倍体积的无水乙醇进行醇沉, 5000 r/min 离心 10 min 后取上清液, ICP-MS 测定锌含量, 按照下式计算溶解率:

$$\text{溶解率}(\%) = \frac{C_f}{F} \times 100$$

式中:  $C_f$  表示反应后上清液中锌离子的浓度, μg/mL; F 表示样品中锌的含量, μg/mL。

1.2.6.4 透析率的测定 在肠液消化的过程中, 按照 1、2、4、6、8 h 时间段依次取样, ICP-MS 测定, 按照下式计算锌离子的透析率:

$$\text{透析率}(\%) = \frac{E \times V}{F \times M} \times 100$$

式中: E 表示透析液中锌的浓度, μg/mL; V 表示透析液的体积, mL; F 表示样品中锌的含量, μg/g; M 表示样品的质量, g。

## 1.3 数据处理

每组试验均重复 3 次, 利用 Design Expert 8.0.6 进行数据统计分析; 采用 Origin 2017 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

2.1.1 南瓜皮多糖与锌质量比对螯合能力的影响 由图 1 可知, 随着多糖与锌质量比的增加, 螯合能力

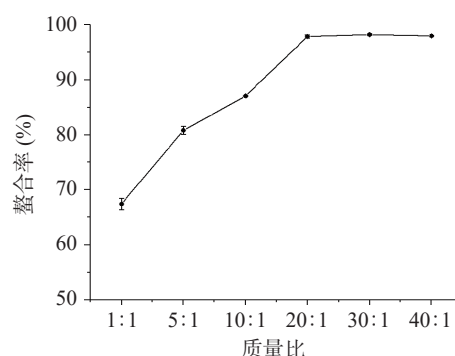


图 1 质量比对螯合率的影响(n=3)

Fig.1 Effect of the mass ratio on the chelation rate (n=3)

不断上升。当质量比超过 20:1 后, 螯合率的增势趋于平缓, 可达到 98% 左右, 原因可能是随多糖比例的增加, 为  $\text{Zn}^{2+}$  提供了足够的结合位点, 螯合率逐渐上升。随着多糖浓度的提高, 体系粘度增加, 不利于结合位点的暴露, 螯合率下降<sup>[35]</sup>。

2.1.2 反应时间对螯合能力的影响 由图 2 可知, 随着反应时间的增加, 螯合率逐渐增加, 当反应时间为 100 min 时达到最大值 79.28%, 之后螯合率迅速下降。这可能是因为随着反应时间的延长, 体系稳定性下降, 导致部分螯合物出现了解离的现象<sup>[36]</sup>。

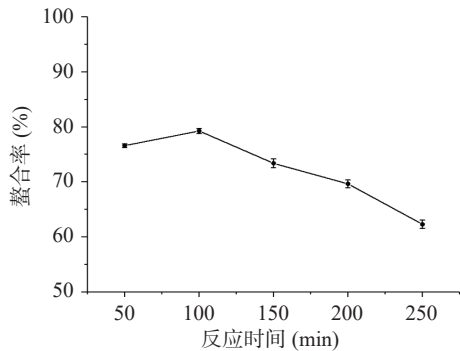


图 2 反应时间对螯合率的影响(n=3)  
Fig.2 Effect of the reaction time on the chelation rate (n=3)

2.1.3 反应温度对螯合能力的影响 由图 3 可知, 反应温度对螯合率的影响较小。随着温度的升高, 螯合率逐渐上升, 当反应温度为 60 ℃ 时, 螯合率达到最大值 79%。当反应温度超过 60 ℃ 以后螯合率开始下降。推测因为温度的升高会促进分子的运动, 虽然有利于结合位点的暴露, 但是温度过高时, 解离速度高于螯合速度, 不利于多糖与  $\text{Zn}^{2+}$  的螯合。结果显示, 温度对螯合率的影响较小, 因此可作为次要考虑因素, 不作为响应面优化参数。

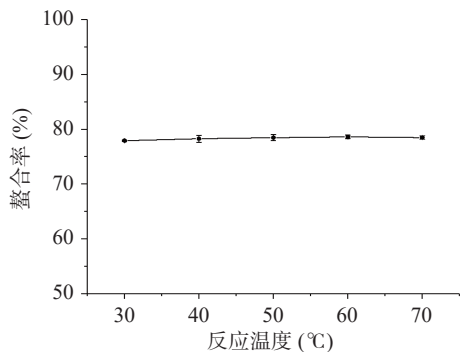


图 3 反应温度对螯合率的影响(n=3)  
Fig.3 Effect of the reaction temperature on the chelation rate (n=3)

2.1.4 反应 pH 对螯合能力的影响 由图 4 可知, 随着 pH 的增加, 螯合率不断上升。当 pH 为 9 时达到最大值 99.4%, 之后螯合率开始下降。推测因在偏酸性条件下,  $\text{Zn}^{2+}$  与多糖解析速度高于螯合速度; 随着 pH 的增加, 螯合率提高; pH 超过 11 后反应体系有略浑浊现象, 可能因为部分  $\text{Zn}^{2+}$  会和  $\text{OH}^-$  生成沉淀,

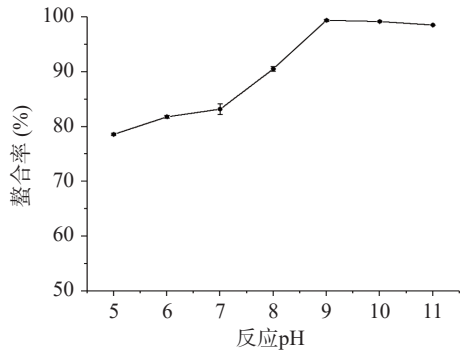


图 4 反应 pH 对螯合率的影响(n=3)  
Fig.4 Effect of the reaction pH on the chelation rate (n=3)

导致  $\text{Zn}^{2+}$  损失<sup>[22]</sup>。

2.2 响应面试验结果

2.2.1 响应模型的建立与分析 采用 Design Expert 8.0.6 软件对数据进行回归分析, 得到螯合率(Y)对南瓜皮多糖与锌质量比(A)、反应时间(B)和反应 pH(C)的三元二次回归方程为  $Y=99.49-0.46A+0.13B+0.18C+0.078AB-0.2AC+0.19BC-1.31A^2-0.77B^2-1.39C^2$ 。响应面试验结果见表 3, 方差分析结果见表 4。

表 3 响应面试验结果  
Table 3 Response surface test results

| 实验号 | A质量比 | B反应时间 | C反应pH | 螯合率(%) |
|-----|------|-------|-------|--------|
| 1   | 0    | 0     | 0     | 99.33  |
| 2   | 1    | 1     | 0     | 97.27  |
| 3   | -1   | 0     | 1     | 97.52  |
| 4   | -1   | 0     | -1    | 97.05  |
| 5   | 1    | 0     | -1    | 96.45  |
| 6   | 0    | 0     | 0     | 99.42  |
| 7   | 0    | 0     | 0     | 99.51  |
| 8   | 1    | 0     | 1     | 96.14  |
| 9   | 1    | -1    | 0     | 96.69  |
| 10  | 0    | -1    | 1     | 97.42  |
| 11  | -1   | 1     | 0     | 97.98  |
| 12  | 0    | 0     | 0     | 99.59  |
| 13  | 0    | 1     | 1     | 97.89  |
| 14  | 0    | 1     | -1    | 96.86  |
| 15  | 0    | -1    | -1    | 97.14  |
| 16  | 0    | 0     | 0     | 99.61  |
| 17  | -1   | -1    | 0     | 97.71  |

由表 4 可知, 该模型差异性显著( $P<0.0001$ ), 失拟项不显著( $P>0.05$ ), 说明此模型的拟合度较好; 决定系数  $R^2$  为 0.9875, 说明螯合率的试验值和模拟回归值具有很好的一致性; 校正后决定系数  $R^2_{Adj}$  为 0.9713, 说明该回归方程可信度较高, 能够反应 97.13% 的响应值变化。因此该模型的可信度和拟合度均较高, 可以利用该模型对南瓜皮多糖锌的螯合能力进行预测和分析。

回归模拟一次项 A, 二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  对螯合作用影响显著( $P<0.0001$ ), 一次项 C 对螯合作用影响显著( $P<0.05$ ), 一次项 B, 交互项 AB、AC 和 BC 对螯合率的影响不显著, 可将其从回归模型中删除。最

表 4 回归模型方差分析  
Table 4 Analysis of variance of regression model

| 来源             | 平方和   | 自由度 | 均方    | F值     | P值      | 差异性 |
|----------------|-------|-----|-------|--------|---------|-----|
| 模型             | 22.27 | 9   | 2.47  | 61.25  | <0.0001 | 显著  |
| A              | 1.72  | 1   | 1.72  | 42.58  | 0.0003  | **  |
| B              | 0.14  | 1   | 0.14  | 3.35   | 0.1101  |     |
| C              | 0.27  | 1   | 0.27  | 6.68   | 0.0362  | *   |
| AB             | 0.024 | 1   | 0.024 | 0.59   | 0.4659  |     |
| AC             | 0.15  | 1   | 0.15  | 3.76   | 0.0935  |     |
| BC             | 0.14  | 1   | 0.14  | 3.48   | 0.1044  |     |
| A <sup>2</sup> | 7.21  | 1   | 7.21  | 178.41 | <0.0001 | **  |
| B <sup>2</sup> | 2.50  | 1   | 2.50  | 61.94  | 0.0001  | **  |
| C <sup>2</sup> | 8.18  | 1   | 8.18  | 202.34 | <0.0001 | **  |
| 残差             | 0.28  | 7   | 0.040 |        |         |     |
| 失拟项            | 0.23  | 3   | 0.076 | 5.49   | 0.0668  | 不显著 |
| 绝对误差           | 0.055 | 4   | 0.014 |        |         |     |
| 总和             | 22.56 | 16  |       |        |         |     |

注: \*\* $P < 0.01$ , 差异极显著; \* $P < 0.05$ , 差异显著。

终确定回归模型为  $Y = 99.49 - 0.46A + 0.18C - 1.31A^2 - 0.77B^2 - 1.39C^2$ 。因此, 各因素对响应面的影响并不是简单的线性关系,  $F$  值可以反映出各个因素对螯合

率的影响程度<sup>[37]</sup>。本试验中螯合率的影响因素排序为多糖与锌质量比>反应 pH>反应时间。

**2.2.2 响应面图分析** 响应曲面图可以形象地描述各因素之间的交互作用, 各因素交互作用对螯合率的影响见图 5。图 5A 为固定反应 pH 的编码水平为零, 考察南瓜皮多糖与锌质量比和反应时间的交互作用对螯合率的影响。此条件下, 等高线形状呈圆形, 等高线稀疏, 说明反应质量比和反应时间的交互作用对螯合率的影响较弱。当反应质量比达到最优时, 随着反应时间的增加, 螯合率趋于稳定。当反应时间达到最优时, 螯合率随着反应质量比的增加呈现出先上升后下降的趋势, 说明反应质量比对螯合率的影响大于反应时间。图 5B 为固定反应时间的编码水平为零, 考察南瓜皮多糖与锌质量比和反应 pH 的交互作用对螯合率的影响。对应的等高线形状呈椭圆形, 三维图倾斜面大, 说明两者的交互作用对螯合率影响较大。随着反应质量比和反应 pH 的增加, 螯合率逐渐上升, 当反应质量比超过 20:1, 反应 pH 超过 9 后, 螯合率开始下降。图 5C 为固定南瓜皮多糖与锌质

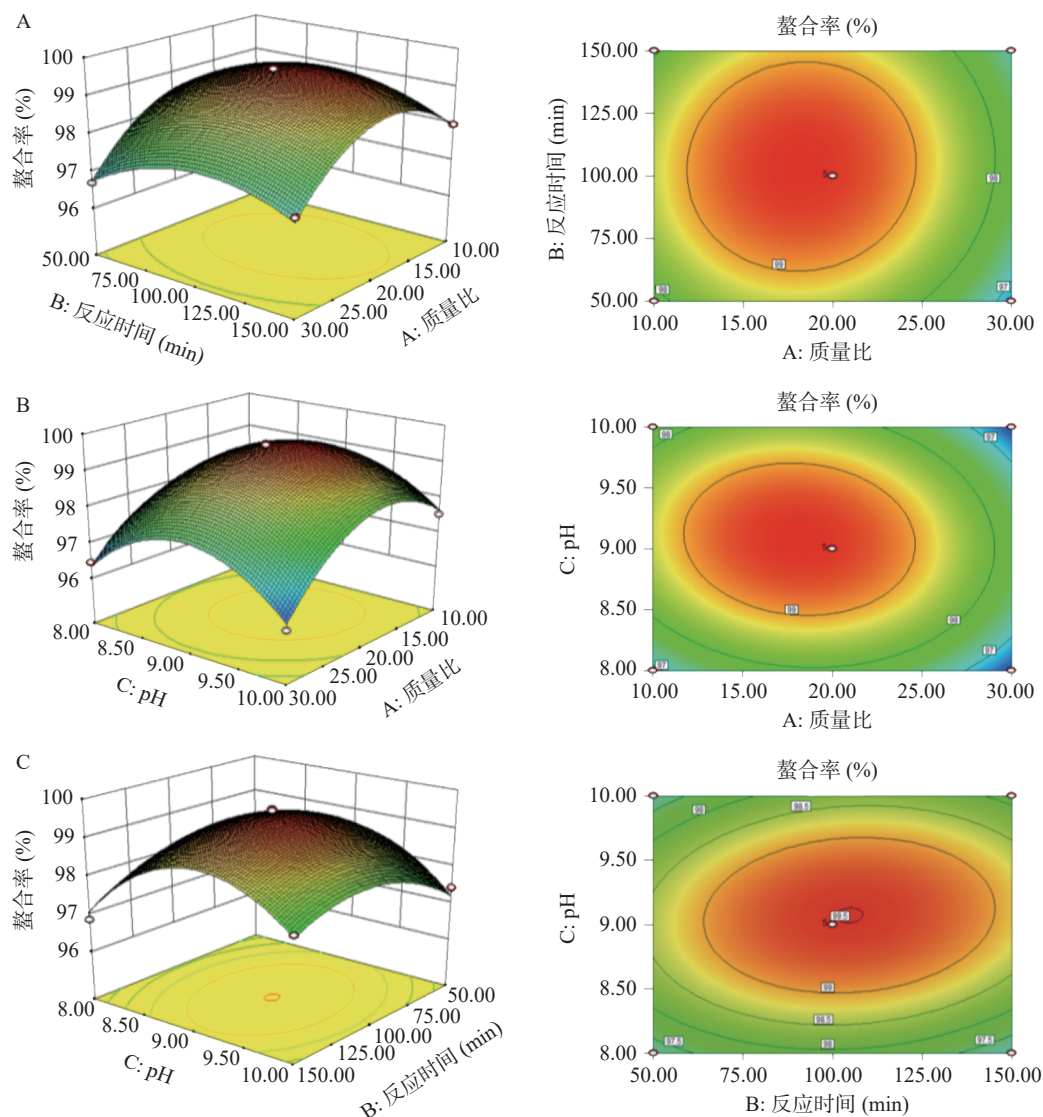


图 5 各因素交互作用对南瓜皮多糖锌螯合能力影响的响应面图

Fig.5 Response surface diagram of the effects of each factor interaction on polysaccharide zinc chelation ability in pumpkin skin

量比的编码水平为零,考察反应时间和反应 pH 交互作用对螯合率的影响。等高线形状呈椭圆形,说明两者的交互作用对螯合率影响较大。当反应 pH 达到最优时,随着反应时间的增加,螯合率趋于稳定。当反应时间达到最优时,螯合率随着反应 pH 的增加呈现出先上升后下降的趋势,说明反应 pH 对螯合率的影响大于反应时间。

**2.2.3 回归模型验证** 结合 Design Expert 8.0.6 软件分析可得最佳的螯合条件为:南瓜皮多糖与锌质量比为 18.19:1,反应时间为 104.29 min,反应 pH 为 9.09 时,螯合率达到最大值为 99.55%。为考虑实际生产需要,选择以下条件进行验证:南瓜皮多糖与锌质量比为 18:1,反应时间为 104 min,反应 pH 为 9,在此条件下实际得到的南瓜皮多糖锌螯合率为  $99.37\% \pm 0.12\%$ ,与预测值相差较小为 0.18%,说明该工艺稳定可靠,可用于生产,ICP-MS 测定南瓜皮多糖锌中锌含量约为  $23.17 \pm 0.05$  mg/g。

## 2.3 生物利用率分析

**2.3.1 南瓜皮多糖锌在胃中的释放情况** 多糖锌的溶解率随着时间的增加呈现出上升趋势,溶解率最高为 12.76%,无机锌在胃中的溶解率比较稳定,结果见图 6。在消化初期(0~60 min),无机锌中锌离子的溶解率为 48.4%,多糖锌中锌离子的溶解率为 9.22%,在消化中后期,无机锌的溶解率为 50.52% 远高于多糖锌的溶解率 12.76%,说明多糖锌对  $Zn^{2+}$  释放效果平缓,刺激性可能小于无机锌<sup>[38]</sup>。这与阚文翰<sup>[39]</sup>对螯合锌在胃中  $Zn^{2+}$  的溶解率结论相似,说明多糖锌受胃液的酸化环境影响不大。整个消化过程中,无机锌的溶解率维持在 50% 左右,推测可能是因为无机锌与胃中的蛋白类物质结合,部分锌以结合态存在,导致游离锌离子浓度下降。

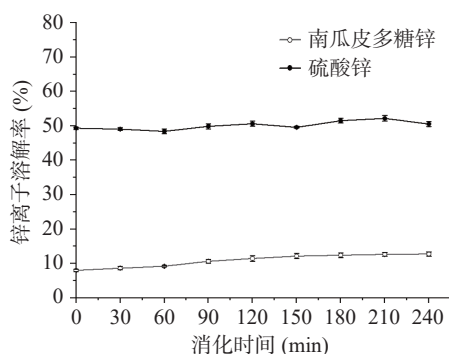


图 6 体外模拟胃肠道消化中锌离子溶解率的比较

Fig.6 Comparison of zinc release rate in simulated gastrointestinal digestion *in vitro*

**2.3.2 南瓜皮多糖锌在肠中的释放情况** 多糖锌在肠中溶解率比较稳定,维持在 2% 左右,无机锌在肠中的溶解率随着时间的延长呈现出降低的趋势,结果见图 7。在消化后期,南瓜皮多糖锌和无机锌的溶解率分别为 2.18% 和 0.13%。肠液环境中无机锌的溶解率明显降低,推测可能是肠道的弱碱性环境使释放

出的  $Zn^{2+}$  易生成沉淀,导致两者的溶解率下降,多糖锌中由于具有多糖的保护作用,使其在肠道中的溶解率高于无机锌<sup>[33]</sup>。这与柯泉等<sup>[40]</sup>研究的螯合锌在肠道中  $Zn^{2+}$  的溶解率结论相似。

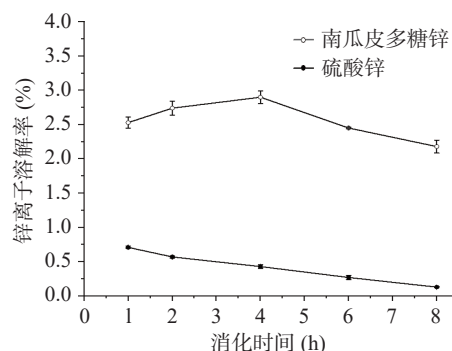


图 7 体外模拟肠道消化中锌离子溶解率的比较

Fig.7 Comparison of zinc release rate in simulated intestinal digestion *in vitro*

**2.3.3 南瓜皮多糖锌的透析率** 多糖锌和无机锌在胃中的透析率均随着时间的增加而增加,8 h 后南瓜皮多糖锌及无机锌的透析率分别为 16.59% 和 0.56%,无机锌的透析率趋于稳定,南瓜皮多糖锌的透析率增幅较大,结果见图 8。推测可能是因为锌的主要吸收部位在肠道,在弱碱性的环境下,释放出的  $Zn^{2+}$  容易生成  $Zn(OH)_2$  或者其它沉淀,无法透过透析袋;多糖环境对锌具有一定保护作用,不容易生成沉淀<sup>[38]</sup>,因此多糖锌的生物利用率高于无机锌。综上表明,与无机锌相比,南瓜皮多糖锌的生物利用率和稳定性更高。

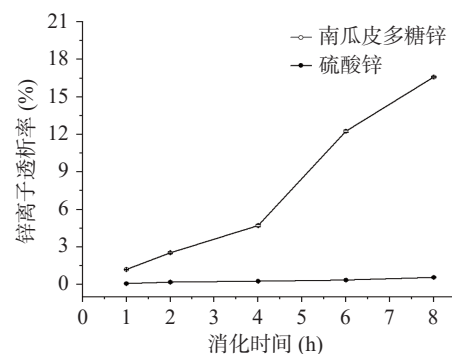


图 8 体外模拟肠道消化中锌离子透析率的比较

Fig.8 Comparison of zinc ion dialysis rate in simulated intestinal digestion *in vitro*

## 3 结论

在南瓜皮多糖锌的制备过程中,各因素对螯合率的影响大小为:反应质量比>反应 pH>反应时间。通过响应面法优化后得到最佳制备工艺为:南瓜皮多糖与锌质量比 18:1,反应时间 104 min,反应 pH9,此时螯合率能达到  $99.37\% \pm 0.12\%$ ,在此条件下制备的南瓜皮多糖锌的锌含量约为  $23.17 \pm 0.05$  mg/g。体外消化模拟试验表明:南瓜皮多糖锌受胃的酸化环境影响较小,在胃中的溶解率较低,但在肠道中的溶解率和透析率均明显高于无机锌,可以证明多糖锌具有

较好的生物利用率和稳定性。本研究为开发兼具补锌和肠道益生作用的新型补锌剂提供了理论依据。

### 参考文献

- [1] CHEN L, HUANG G L. Extraction, characterization and antioxidant activities of pumpkin polysaccharide[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118(A): 770–774.
- [2] 吴艳丽, 邵珠领, 张宇, 等. 南瓜均一多糖的分离纯化及其抗氧化活性的研究[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(23): 62–70.
- [3] WU Y L, SHAO Z L, ZHANG Y, et al. Isolation and purification of homogenized polysaccharide from pumpkin and its antioxidant activity[J]. *Food Research and Development*, 2019, 40(23): 62–70.
- [4] 赵婧. 南瓜酸性多糖的结构解析及其与功能蛋白的相互作用[D]. 北京: 中国农业大学, 2017. [ZHAO J. Structural analysis of pumpkin acidic glycans and its interaction with functional proteins[D]. Beijing: China Agricultural University, 2017.]
- [5] WANG S, LU A X, ZHANG L, et al. Extraction and purification of pumpkin polysaccharides and their hypoglycemic effect[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 98: 182–187.
- [6] LU A X, YU M G, FANG Z Y, et al. Preparation of the controlled acid hydrolysates from pumpkin polysaccharides and their antioxidant and antidiabetic evaluation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 121: 261–269.
- [7] 白小东, 程超, 牛黎莉, 等. 响应面法优化超声波辅助提取南瓜皮中果胶的工艺[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(4): 50–56.
- [8] BAI X D, CHENG C, NIU L L, et al. Response surface method to optimize the ultrasonic-assisted extraction process of pectin from pumpkin peel[J]. *China Food Additives*, 2021, 32(4): 50–56.
- [9] WU H, ZHU J X, DIAO W C, et al. Ultrasound-assisted enzymatic extraction and antioxidant activity of polysaccharides from pumpkin (*Cucurbita moschata*)[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 113: 314–324.
- [10] KATSURAYA K, OKUYAMA K, HATANAKA K, et al. Constitution of konjac glucomannan: Chemical analysis and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2003, 53(2): 183–189.
- [11] 商龙臣, 吴少魏, 张驰, 等. 南瓜多糖的制备表征及活性分析[J]. *食品科学*, 2016, 37(19): 48–53. [SHANG L C, WU S W, ZHANG C, et al. Preparation, characterization and activity analysis of selenium-containing pumpkin polysaccharide[J]. *Food Science*, 2016, 37(19): 48–53.]
- [12] 孔倩, 周婷, 武改兰, 等. 南瓜水溶性多糖的制备及硫酸酯化初步研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(16): 73–77. [KONG Q, ZHOU T, WU G L, et al. Preparation and sulfation of polysaccharides from pumpkin[J]. *Food Science*, 2009, 30(16): 73–77.]
- [13] 孙婕, 尹国友, 牛美艳, 等. 磷酸酯化南瓜多糖的制备及抗氧化活性研究[J]. *四川农业大学学报*, 2013, 31(3): 322–327. [SUN J, YIN G Y, NIU M Y, et al. Preparation and antioxidation of polysaccharides in phosphorylated pumpkin[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2013, 31(3): 322–327.]
- [14] 董金满, 李鸿梅, 李炳东. 罗耳阿太菌多糖锌的制备及其抗氧化活性研究[J]. *食品工业*, 2018, 39(6): 22–26. [DONG J M, LI H M, LI B D. Preparation and antioxidant activities of *Athelia rolfsii* polysaccharide-zinc[J]. *The Food Industry*, 2018, 39(6): 22–26.]
- [15] ASKARY V R, JAHAN N A, SABBAGH A, et al. A potential medicinal importance of zinc in human health and chronic diseases[J]. *Clinical Biochemistry*, 2011, 44(13): 323–324.
- [16] BONAVENTURA P, BENEDETTI G, ALBAREDE F, et al. Zinc and its role in immunity and inflammation[J]. *Autoimmunity Reviews*, 2015, 14(4): 277–285.
- [17] 王子怀, 胡晓, 李来好, 等. 肽-金属离子复合物的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(8): 359–362. [WANG Z H, HU X, LI L H, et al. Research progress in peptide-mineral ion complexes[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(8): 359–362.]
- [18] WANG C, LI B, AO J. Separation and identification of zinc-chelating peptides from sesame protein hydrolysate using IMAC-Zn<sup>2+</sup> and LC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 1231–1238.
- [19] 谢正军, 刘国花, 李云涛, 等. 壳聚糖锌对断奶仔猪小肠组织学形态与功能的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2012(1): 32–37. [XIE Z J, LIU G H, LI Y T, et al. Effects of chitosan zinc on histological morphology and function of small intestine of weaned piglets[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry*, 2012(1): 32–37.]
- [20] 韩新燕, 谢正军, 朱叶萌, 等. 壳聚糖锌对断奶仔猪生长性能、血清激素和生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2010(5): 1355–1360. [HAN X Y, XIE Z J, ZHU Y M, et al. Effects of chitosan zinc on growth performance, serum hormones and biochemical indices of weaned piglets[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010(5): 1355–1360.]
- [21] 先宏, 张莉, 宋曙辉, 等. 海藻多糖锌配合物的组成及其对 THP-1 细胞耗氧的影响[J]. *营养学报*, 2018, 40(3): 261–265, 271. [XIAN H, ZHANG L, SONG S H, et al. Composition of seaweed polysaccharides zinc complex and its effect on oxygen consumption of THP-1 cells[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2018, 40(3): 261–265, 271.]
- [22] YU J X, SUN N Y, WANG G R, et al. Advances in bioavailability of amino acid-microelement chelates[J]. *Food Science*, 2015, 36(23): 367–371.
- [23] DING Y Y, WANG L, ZHANG X X, et al. Optimized preparation and structural characterization of calcium-chelating polypeptides from wheat germ protein hydrolysate[J]. *Food Science*, 2017, 38(10): 215–221.
- [24] 罗敏, 陈德经, 苏文. 大米胚芽多糖锌制备及其抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(14): 238–243. [LUO M, CHEN D J, SU W. Preparation and antioxidant activity of rice germ Zn<sup>2+</sup>-polysaccharide[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(14): 238–243.]
- [25] 刘芳, 陈贵堂, 胡秋辉, 等. 金针菇多糖锌分离纯化及其结构特征[J]. *食品科学*, 2014, 35(5): 1–7. [LIU F, CHEN G T, HU Q H, et al. Separation, purification and structure characteristics of Zn-binding polysaccharides from *Flammulina velutipes*[J]. *Food Science*, 2014, 35(5): 1–7.]
- [26] 汤陈鹏, 吕峰, 王蓉琳. 孔石莼多糖锌结构表征与体外降血糖活性[J]. *食品科学*, 2020, 41(7): 52–58. [TANG C P, LU F,

- WANG R L. Structural characterization and *in vitro* hypoglycemic activity of *Ulva pertusa* polysaccharide zinc[J]. *Food Science*, 2020, 41(7): 52-58. ]
- [ 25 ] 孙欣怡. 灰树花胞外多糖和胞内多糖锌的提取优化及抗氧化研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2014. [ SUN X Y. Extraction optimization and antioxidant study of extracellular polysaccharide and intracellular Zinc polysaccharide from *Flos grifola*[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2014. ]
- [ 26 ] 郑岚. 光帽鳞伞菌丝体多糖锌的制备及其抗衰老、降血脂、保护肝脏功效的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015. [ ZHENG L. Study on preparation of zinc polysaccharide from mycelium of *Leucoderma glabra* and its anti-aging, lipid-lowering and liver protection effects[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015. ]
- [ 27 ] 黄靖, 邹烨, 王未, 等. 肉苁蓉多糖锌的制备、表征及抗氧化活性[J]. 化学研究, 2015, 26(6): 584-589. [ HUANG J, ZOU Y, WANG W, et al. Preparation, characterization and antioxidant activity of *Cistanche tubulosa* Zn-(2+)-polysaccharide complex[J]. *Chemical Research*, 2015, 26(6): 584-589. ]
- [ 28 ] 李志洲. 猪苓多糖的提取及其锌配合物抗氧化性研究[J]. *食品研究与开发*, 2011, 32(2): 45-50. [ LI Z Z. Study on extraction conditions of polysaccharide from *Polyporus umbellatus* and the anti-oxidation of polysaccharide zinc[J]. *Food Research and Development*, 2011, 32(2): 45-50. ]
- [ 29 ] 何盟, 汪振炯. 蛹虫草基质多糖锌配合物的制备及体外抗氧化性研究[J]. *食品科技*, 2015, 40(9): 238-242. [ HE M, WANG Z J. Preparation of *Cordyceps militaris* polysaccharides-Zn(II) complex and study on its antioxidant activity *in vitro*[J]. *Food Science and Technology*, 2015, 40(9): 238-242. ]
- [ 30 ] 张浩然, 徐汀, 田恺, 等. 快速消解-电感耦合等离子体质谱法测定水产配合饲料中的铬、铜、锌、砷、镉、汞和铅[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(11): 4365-4372. [ ZHANG H R, XU T, TIAN K, et al. Determination of chromium, copper, zinc, arsenic, cadmium, mercury and lead in aquatic formula feeds by rapid digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. *Food Safety and Quality Detection Technology*, 2021, 12(11): 4365-4372. ]
- [ 31 ] 郭雷, 宋宇, 邵天舒, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定整蛋白型肠内营养剂中铁、锌、铜、锰元素含量[J]. *中国药业*, 2020, 29(21): 72-74. [ GUO L, SONG Y, SHAO T S, et al. Content determination of Fe, Zn, Cu and Mn in intact protein enteral nutrition powder by MAE-ICP-MS[J]. *China Pharmaceuticals*, 2020, 29(21): 72-74. ]
- [ 32 ] WOILDOR R, DRAGO S R, RODRIGREZ V, et al. *In vitro* measurement of available iron in fortified foods[J]. *Food Research International*, 2002, 35: 85-90. ]
- [ 33 ] WANG C, LI B, WANG B, et al. Degradation and antioxidant activities of peptides and zinc-peptide complexes during *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. *Food Chemistry*, 2015, 173: 733-740. ]
- [ 34 ] 玄依凡. 乳清蛋白肽—锌离子螯合物的制备及特性研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2017. [ XUAN Y F. Preparation and characterization of whey protein peptide-zinc ion chelate[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2017. ]
- [ 35 ] 李兴艳, 张丙云, 尚永彪. 正交实验优化酵母多糖锌配合物的制备及其对尿素的吸附性能[J]. *食品科学*, 2013, 34(14): 57-62. [ LI X Y, ZHANG B Y, SHANG Y B. Preparation of yeast polysaccharide-Zn complex and its adsorption performance for urea[J]. *Food Science*, 2013, 34(14): 57-62. ]
- [ 36 ] 顾冰飞, 赵圆圆, 陈义勇. 杏鲍菇多糖锌螯合物的制备工艺及其抗氧化活性[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(4): 97-103. [ GU B F, ZHAO Y Y, CHEN Y Y. Preparation technology of *Pleurotus eryngii* polysaccharides-zinc(II) chelate and its antioxidant activities[J]. *Food Research and Development*, 2019, 40(4): 97-103. ]
- [ 37 ] 吕侠影, 姜绍通, 余振宇, 等. 苦丁-荔枝复合饮料的研制[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(13): 225-228, 233. [ LÜ X Y, JIANG S T, YU Z Y, et al. Preparation of kudin-litchi compound beverage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(13): 225-228, 233. ]
- [ 38 ] CHEN D, LIU Z Y, HUANG W Q, et al. Purification and characterisation of a zinc-binding peptide from oyster protein hydrolysate[J]. *Journal of Functional Food*, 2013, 5(2): 689-697. ]
- [ 39 ] 阙文翰. 高活性酪蛋白磷酸肽螯合锌的制备及表征[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2017. [ KAN W H. Preparation and characterization of zinc chelate with high activity casein phosphopeptide[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2017. ]
- [ 40 ] 柯泉, 胡晓, 杨贤庆, 等. 罗非鱼皮胶原蛋白肽-锌螯合物的制备及结构表征与体外消化分析[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(14): 38-44. [ KE X, HU X, YANG X Q, et al. Preparation and structural characterization of tilapia skin collagen peptide-zinc chelates and *in vitro* digestion analysis[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2021, 47(14): 38-44. ]