

西葫芦杂聚果胶的制备及其降血糖活性初探

夏冰, 焦旭, 张捷, 齐悦, 王小斐, 李全宏, 赵婧

Isolation of Zucchini Heteropolymeric Pectin and Preliminary Study on Its Hypoglycemic Activity

XIA Bing, JIAO Xu, ZHANG Jie, QI Yue, WANG Xiaofei, LI Quanhong, and ZHAO Jing

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070197>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

重组聚半乳糖醛酸酶PGB的生化特征及其酶解产物活性分析

Biochemical characterization of the recombinant polygalacturonase PGB and the activity analysis of its enzymatic hydrolysis product
食品工业科技. 2017(23): 119-123 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.23.024>

蒙自蹄盖蕨醇提物的不同萃取物的抗氧化、降血糖及抗炎活性

Antioxidant, Hypoglycemic and Anti-inflammatory Activities of Different Parts Partitioned from the Ethanol Extracts of *Athyrium Mengtzeense* Hieron
食品工业科技. 2019, 40(14): 62-67 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.14.010>

云南小粒咖啡果皮中果胶的提取及其水解物抑菌活性研究

Study on Extraction of Pectin from *Coffea arabica* Pericarp and Antibacterial Activity of Its Hydrolysate
食品工业科技. 2020, 41(11): 79-84, 110 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.11.012>

牡蛎蛋白酶解多肽降糖及抗氧化活性评价

Evaluation of hypoglycemic and antioxidant activity for peptides from oyster protein
食品工业科技. 2018, 39(3): 28-31 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.03.006>

果胶与莲原花青素复合物理化性质及体外抑菌活性研究

Physical and Chemical Properties of Pectin-proanthocyanidin Complex and Its Antibacterial Activity *in Vitro*
食品工业科技. 2020, 41(16): 60-66, 80 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.011>

苦瓜多糖铁的制备及其对小鼠降血糖活性研究

Study on preparation of *Momordica charantia* polysaccharide-iron complex and its hypoglycemic activities in diabetic mice
食品工业科技. 2017(09): 353-356 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.09.060>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

夏冰, 焦旭, 张捷, 等. 西葫芦杂聚果胶的制备及其降血糖活性初探 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(10): 84–90. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070197

XIA Bing, JIAO Xu, ZHANG Jie, et al. Isolation of Zucchini Heteropolymeric Pectin and Preliminary Study on Its Hypoglycemic Activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(10): 84–90. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070197

· 研究与探讨 ·

西葫芦杂聚果胶的制备及其降血糖活性初探

夏 冰^{1,2}, 焦 旭^{1,2}, 张 捷^{1,2}, 齐 悅^{1,2}, 王小斐^{1,2}, 李全宏^{1,2}, 赵 婧^{1,2,3,*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083;

2. 国家果蔬加工工程技术研究中心, 农业农村部果蔬加工重点实验室,
北京市食品非热加工重点实验室, 北京 100083;

3. 四川成都中农大现代农业产业研究院, 四川成都 611400)

摘要:为了促进西葫芦的深度开发, 本研究对西葫芦杂聚果胶进行了分析和降血糖活性初探。采用酸碱联合处理提取分离西葫芦果胶, 分别得到酸提果胶(ZPA)和残渣碱提果胶(ZPB)两个组分, 分析了两个组分的得率、组成和结构性质。构建了熊蜂高脂饮食导致的糖尿病模型, 初步探究西葫芦杂聚果胶ZPA和ZPB的降血糖活性。结果表明, ZPB的得率是ZPA的2.45倍, ZPA的平均分子量为70297 Da, 多分散系数为1.149, ZPB的平均分子量为126170 Da, 多分散系数为1.677, 表明ZPB的分子分布范围较大, 组成更为复杂。ZPA和ZPB的单糖组成均含有阿拉伯糖、半乳糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、鼠李糖、甘露糖6种单糖, ZPB还含有葡萄糖、核糖2种单糖, 可推测ZPA和ZPB均属于含有RG-I结构的杂聚果胶。经计算ZPA的RG-I结构较少但侧链长度较长, ZPB的RG-I结构多但侧链长度较短。利用熊蜂糖尿病模型发现ZPA和ZPB均能显著降低熊蜂血液葡萄糖和海藻糖水平, 初步表明西葫芦杂聚果胶具有一定的降血糖活性。

关键词:西葫芦, 果胶, 鼠李半乳糖醛酸聚糖-I, 降血糖活性

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)10-0084-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070197

本文网刊:



Isolation of Zucchini Heteropolymeric Pectin and Preliminary Study on Its Hypoglycemic Activity

XIA Bing^{1,2}, JIAO Xu^{1,2}, ZHANG Jie^{1,2}, QI Yue^{1,2}, WANG Xiaofei^{1,2}, LI Quanhong^{1,2}, ZHAO Jing^{1,2,3,*}

(1. College of Food Science and Nutrition Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. National Engineering Research Center for Fruit and Vegetable Processing, Key Laboratory of Fruit and Vegetable Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing Key Laboratory for Food Non-thermal Processing, Beijing 100083, China;
3. CAU-SCCSD Advanced Agricultural and Industrial Institute, Chengdu 611400, China)

Abstract: To promote the deep processing of zucchini, heteropolymeric pectin fractions from zucchini was analyzed and their hypoglycemic activity was explored. Combining acid and base treatment, two pectin fractions were isolated, namely zucchini acid-extracted pectin (ZPA) and zucchini alkali-extracted pectin (ZPB). The yield, composition, and structural properties of two fractions were analyzed. Moreover, high-fat diet induced bumblebee diabetic model was established to explore the hypoglycemic activity of zucchini pectin. Results showed that the yield of ZPB was 2.45 times higher than that of ZPA. ZPA had an averaged molecular weight of 70297 Da and polydispersity index of 1.149, while ZPB had an averaged molecular weight of 126170 Da and polydispersity index of 1.677, indicating the more complex components of ZPB. Monosaccharides including arabinose, galactose, galacturonic acid, glucuronic acid, rhamnose, and mannose were found in

收稿日期: 2022-07-19

基金项目: 四川省自然科学基金青年基金项目 (2023NSFSC1201)。

作者简介: 夏冰 (2000-), 女, 本科, 研究方向: 天然产物活性和植物基食品加工, E-mail: xibingicy@outlook.com。

* 通信作者: 赵婧 (1990-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物活性和植物基食品加工, E-mail: zhaojing_cau@hotmail.com。

both ZPA and ZPB, while glucose and ribose were only present in ZPA. It indicated that ZPA and ZPB were heteropolymeric pectins containing RG-I structure. ZPA had less but longer RG-I side chain, whereas ZPB had more and shorter RG-I side chain. Based on bumblebee diabetic model, ZPA and ZPB were found to significantly lower the blood glucose and trehalose level, indicating that zucchini pectin had potential hypoglycemic activity.

Key words: zucchini; pectin; RG-I; hypoglycemic activity

果胶广泛存在于高等植物根、茎、叶、果的细胞壁中^[1], 是一种天然植物多糖, 因其具有多种生物活性而在食品领域广泛应用^[2]。目前市场上的商品果胶主要从柑橘皮渣中提取^[3], 其主要结构为同型半乳糖醛酸聚糖(Homogalacturonans, HG)^[4]。天然果胶来源丰富且结构多样, 除 HG 结构外, 还存在鼠李半乳糖醛酸聚糖-I(Rhamnogalacturonan I, RG-I)、鼠李半乳糖醛酸聚糖-II(Rhamnogalacturonan II, RG-II)、木糖半乳糖醛酸聚糖(Xylogalacturonans, XGA)等结构^[5]。

近期研究表明, RG-I 结构果胶相较于商业 HG 结构果胶具有更优异的生物活性, 如抗肿瘤、免疫调节、改善代谢性疾病、保护心脑血管等^[6]。近年来, 研究者从柑橘皮渣^[7]、甜菜^[8]、马铃薯^[9]等植物中均分离出了 RG-I 构型果胶。欧洲学者从胡萝卜中分离的富含 RG-I 组分已申请加入欧盟新型食品(novel food)审查目录, 新型果胶资源在国际上已逐步进入产业化应用阶段^[10]。课题组前期从中国南瓜中分离制备了 RG-I 结构果胶, 并检测了其与半乳凝集素-3(Galactin-3, Gal-3)的结合活性, 发现南瓜 RG-I 果胶是天然的 Gal-3 抑制剂, 拥有巨大的开发潜力^[11]。西葫芦又称为美洲南瓜, 南瓜属, 是我国现存的四大南瓜品种之一^[12], 但目前鲜有对西葫芦果胶的研究^[13]。有研究显示, 在果胶提取中进行碱处理可以溶出更多 RG-I 果胶成分^[14]。因此, 本研究采用酸碱联合处理制备西葫芦果胶, 分析其成分、分子量、均一度、单糖组成、红外图谱等, 试图揭示西葫芦果胶的基本组成和结构特点。进一步利用糖尿病熊蜂模型初步探索了西葫芦果胶的降血糖活性, 以期为西葫芦的精深加工和高值化利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

西葫芦 北京绿玉西葫芦, 购买时间 2022 年 3 月, 西葫芦长约 25~30 cm, 直径约 8~10 cm; 无水乙醇、盐酸、氢氧化钠、苯酚、间羟基联苯、四硼酸钠、硫酸 上海阿拉丁试剂公司; 植物总酚测定试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、葡萄糖微量检测试剂盒、海藻糖微量检测试剂盒 北京索莱宝公司; 溴化钾、右旋糖酐 Dextran 系列标品、氯化钠、岩藻糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、核糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮三氟乙酸 色谱纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 其余试剂 均为分析纯。

KQ5200DE 型数控超声波清洗器 昆山市超声

仪器有限公司; HJ-4A 数显恒温多头磁力搅拌器 常州迈科诺仪器有限公司; 高速多功能粉碎机 浙江省永康市敏业工贸有限公司; DHP-9082 型电热恒温培养箱 上海一恒科技有限公司; XMTD-204 数显恒温水浴锅 河北德科机械科技有限公司; Scout 型电子天平 奥豪斯仪器; AS-M 涡旋振荡器 索莱宝有限公司; RE.2000B 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; CR21G-III 高速冷冻离心机 日立 HITACHI 公司; 冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; SZPARK 10M 微孔板检测系统 瑞士帝肯仪器生物公司; pH211C-1 型酸度计 意大利哈纳公司; 1515 高效液相色谱仪 美国 Waters 公司; MV-2250 紫外分光光度计 岛津 SHIMADZU 有限公司; 傅里叶变换红外光谱仪 珀金埃尔默仪器公司; LC-DCY-12GK 氮吹仪 上海力辰帮西仪器科技。

1.2 实验方法

1.2.1 西葫芦果胶的提取分离 参照 Zhang 等^[15] 方法并修改, 将西葫芦切片、冻干、粉碎后进行果胶的分离提取。0.4% HCl 溶液以 1:30 的料液比溶解西葫芦粉末, 28 ℃ 恒温搅拌 40 min。10000 r/min 常温离心 20 min, 取上清液, 用 NaOH 调节 pH 至 3~4。沉淀冻干粉碎, 等待下一步处理。将调整 pH 后的上清液浓缩, 加入无水乙醇至浓度为 80%。4 ℃ 下沉淀 12 h 后以相同条件离心。取沉淀, 用少量纯水溶解后进行 72 h 透析, 冻干称重得到酸提果胶粗提物 ZPA。取冻干后的残渣粉末, 用 0.6% NaOH 以 1:30 的料液比重悬。32 ℃ 恒温搅拌 10 min, 相同条件离心后取上清液, 用 HCl 调节溶液 pH 至 6~7, 浓缩后进行相同条件醇沉。再次离心, 取沉淀进行相同条件透析, 冻干称重得到酸提后碱提果胶粗提物 ZPB(图 1)。计算西葫芦果胶粗提物得率^[16]。

1.2.2 成分测定 用硫酸-苯酚法^[17]、间羟基联苯比色法^[18], 植物总酚测定试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒分别测定 ZPA 和 ZPB 中的总糖含量、糖醛酸含量、总酚含量和蛋白质含量。

1.2.3 结构性质测定

1.2.3.1 傅里叶变换红外光谱 将果胶样品干燥, 取微量与 KBr 研磨压片。使用傅里叶变换红外光谱仪测定, 扫描范围为 4000~400 cm⁻¹, 分辨率 4 cm⁻¹, 扫描 32 次^[19]。

1.2.3.2 分子量 采用高效凝胶渗透色谱法^[20](High Performance Gel Permeation Chromatography, HPGPC) 测定 ZPA 和 ZPB 的分子量。以不同分子量的右旋

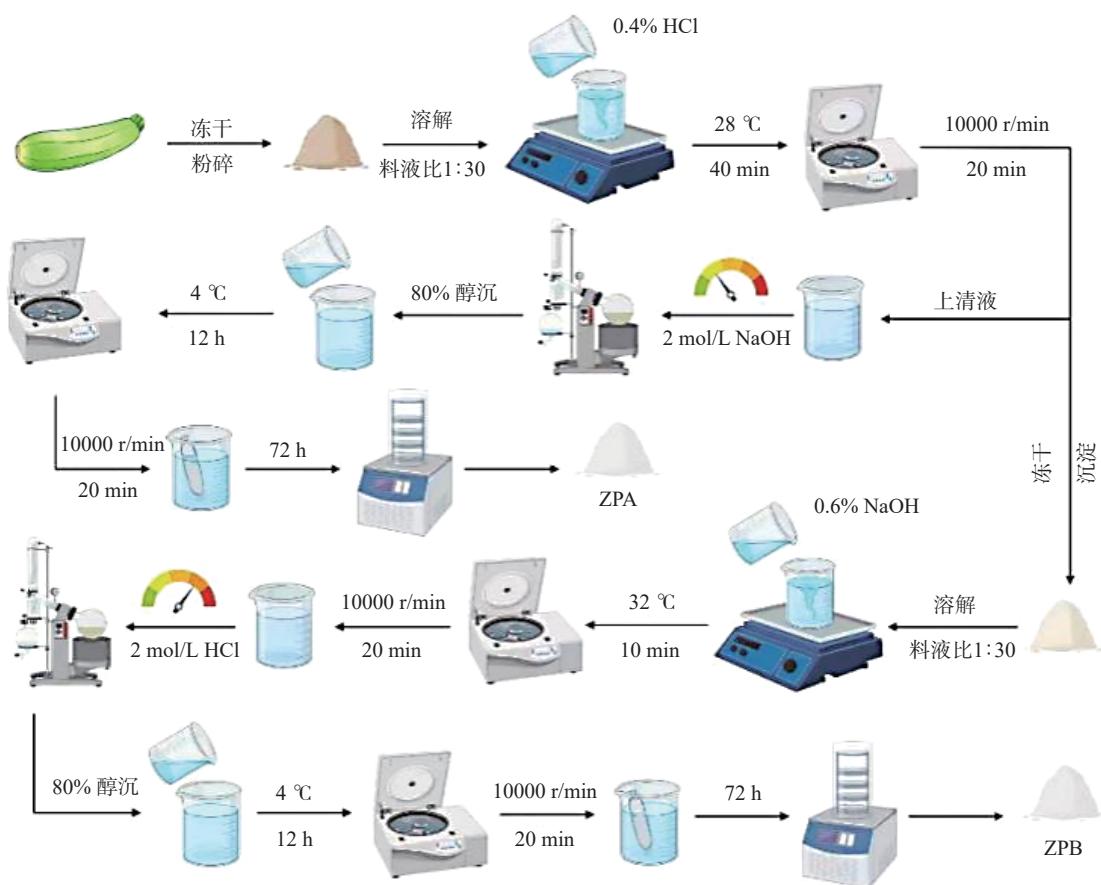


图 1 西葫芦果胶提取流程图
Fig.1 Flow chart of pectin extraction

糖酐(分子量 1000、5000、12000、25000、50000、80000、150000、270000、410000、670000 Da)作为标准品。色谱条件如下:使用高效液相色谱仪配示差检测器,聚合物基质水溶性 SEC(GFC)色谱柱 OHZPAk SB-803 HQ、OhZPAk SB-804 HQ、OhZP-Ak SB-805 HQ(8×300 mm)三柱串联检测。流动相为 0.05 mol/L NaCl 溶液,流速 0.6 mL/min,柱温 40 °C,进样量 30 μL。根据色谱峰的保留时间和对应标准品相对分子质量得到三阶线性回归方程。

$$\lg M_p = -0.00058T^3 + 0.06316T^2 - 2.43087T + 37.40914$$

式中: M_p 表示相对分子质量; T 表示保留时间(min)。

1.2.3.3 单糖组成 采用柱前 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP)衍生法,通过高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)分析 ZPA 和 ZPB 的单糖组成^[18]。取干净的色谱瓶,精确称量多糖样品 5 mg(±0.05 mg),加入 1 mL 2M 三氟乙酸(Trifluoroacetic acid, TFA)溶液,121 °C 加热 2 h。通氮气,吹干。加入 3 mL 甲醇清洗,再吹干,重复甲醇清洗 2~3 次,加入 5 mL 无菌水溶解。将其与等体积 0.6 mol/L 的氢氧化钠溶液充分混合后,加入 100 mL 0.5 mol/L 的 PMP-甲醇溶液混匀,70 °C 反应 100 min 进行衍生化。盐酸中和后,用氯仿多次萃取除去未反

应的 PMP,制备好的样品溶液经 0.22 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 分析。依次称取岩藻糖、鼠李糖、阿拉伯糖半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、核糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸单糖 10 mg 作为标准品,配置 10、20、40、60、80、100、200、500 μg/mL 的溶液,与样品溶液进行相同柱前衍生操作,完成后一并转入色谱瓶中待测。色谱条件如下:使用 Thermo U3000 液相色谱系统,色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈,流动相为乙腈:磷酸盐缓冲液(pH6.8)等度洗脱,流速为 0.8 mL/min,柱温 30 °C,检测波长 250 nm,进样量 10 μL。

单糖组成百分比参照文献 [21] 计算, RG-I 比例和 RG-I 侧链糖基比例参照文献 [22] 计算。

1.2.4 西葫芦果胶的降血糖活性

1.2.4.1 熊蜂糖尿病模型的建立及实验设计 参照郎浩宇等^[23]方法并修改,取健康、大小相近的 0 日龄熊蜂 48 只,分为四组,3 只熊蜂为一杯,每组四杯。分别标记为正常饮食(Normal diet, ND)组、高脂饮食(High fat diet, HFD)组、ZPA 组、ZPB 组。ND 组熊蜂喂食 50%(质量体积比)的蔗糖水和花粉;HFD 组熊蜂喂食掺有 5% 棕榈油的 50% 蔗糖水和掺油花粉;ZPA 组喂食加入 ZPA 样品 7.2 mg/mL 的掺油蔗糖水和掺油花粉;ZPB 组喂食加入 ZPB 样品 7.2 mg/mL 的掺油蔗糖水和掺油花粉。在熊蜂背部相连坚硬处进行颜色标记,将熊蜂放置于 29 °C 恒

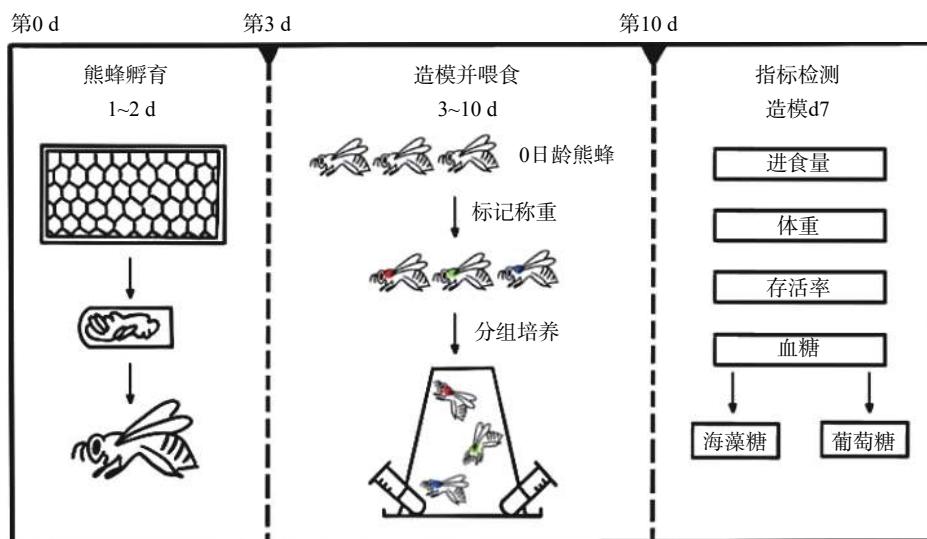


图 2 熊蜂实验示意图

Fig.2 Schematic diagram of the bumblebee experiment

温培养箱中,保持湿度 60% 饲喂 7 日。在第 0 d 和第 7 d 测定单只熊蜂体重,根据颜色标记计算得到单只熊蜂体重增量(mg)。熊蜂实验示意图如图 2 所示。

1.2.4.2 血糖含量测定 取第 7 d 熊蜂,用 20 μL 的枪头在熊蜂头部下方连接处扎孔,反复采血至全部取出。采血过程全程在冰上进行以防止血液氧化。采血完成后需快速放入液氮冷冻,全部样品采集完成后放入-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱进行冻存。血液样品解冻稀释后使用葡萄糖微量检测试剂盒、海藻糖微量检测试剂盒测定熊蜂血液中葡萄糖和海藻糖含量。

1.3 数据处理

每组实验设置三组平行,数据采用(平均值 \pm 标准差)表示。采用 SPSS 24.0 进行统计分析,多组之间比较采用单因素方差分析,不同小写字母表示处理间具有差异显著($P<0.05$)。示意图绘制采用 Bio-Render 平台和 PowerPoint 软件。

2 结果与分析

2.1 西葫芦果胶得率

通过上述酸碱联合提取方法,得到如图 3 所示 ZPA、ZPB 两种西葫芦果胶粗提物样品。ZPA 为柔

软的白色絮状物,ZPB 为略有韧性的白色片状物。ZPA 提取量为 3.46 g,得率为 1.73%;ZPB 提取量为 8.48 g,粗提物得率为 4.24%。酸碱联合提取果胶的得率是传统酸提法的 2.45 倍。这可能是因为碱液会破坏细胞壁,可促进果胶的释放^[24]。卢久富^[25]利用热水浸提法提取的西葫芦果胶得率为 1.22%,与 ZPA 得率相似,远低于本方法 ZPB 的得率。推测因为碱液处理可以破坏果胶、半纤维素和纤维素之间的交联,使得细胞壁结果破坏,从而使更多的果胶溶出。本研究所采取的酸碱联合提取法可有效制备西葫芦果胶。

2.2 提取物主要成分分析

ZPA 和 ZPB 的化学组成如表 1 所示。ZPB 的总糖含量为 $40.03\%\pm 0.51\%$,高于 ZPA($33.63\%\pm 0.59\%$)。ZPA 的糖醛酸含量为 $9.37\%\pm 0.21\%$,ZPB 的糖醛酸含量为 $9.19\%\pm 0.16\%$ 。由于没有进行进一步的纯化,ZPA 和 ZPB 中都含有少量的酚类组分和一定比例的蛋白质,总体而言 ZPB 比 ZPA 的糖纯度稍高。

表 1 提取物主要成分含量(%)

Table 1 Analysis of the basic ingredients (%)

样品	总糖含量	糖醛酸含量	总酚含量	蛋白质含量
ZPA	$33.63\%\pm 0.59$	$9.37\%\pm 0.21$	$1.16\%\pm 0.03$	$17.74\%\pm 0.50$
ZPB	$40.03\%\pm 0.51$	$9.19\%\pm 0.16$	$0.65\%\pm 0.11$	$21.89\%\pm 0.41$

2.3 西葫芦果胶结构性质

2.3.1 傅里叶变换红外光谱 ZPA 和 ZPB 的傅里叶变换红外光谱图如图 4 所示。两种果胶在 400~4000 cm^{-1} 范围具有糖类的特征吸收峰^[26]。3306 cm^{-1} 附近出现的宽峰是 O-H 和 N-H 伸缩振动的结果。2935 cm^{-1} 处的吸收峰由糖类 C-H 的伸缩振动吸收引起。在 1648 和 1624 cm^{-1} 附近的吸收峰主要归属于酰胺基 C=O 的伸缩振动,证明其存在糖醛酸^[27]。在 1532 cm^{-1} 处的吸收峰主要是 N-H 的弯曲振动。



图 3 西葫芦果胶 ZPA 和 ZPB

Fig.3 Zucchini pectin ZPA and ZPB

在 1420 cm^{-1} 附近出现的吸收峰主要是 C-H 的弯曲振动吸收所产生的。在 1237 cm^{-1} 处的吸收峰主要是 C-N 的伸缩振动和 N-H 的变形振动。 1048 cm^{-1} 左右的吸收峰主要是吡喃环中 C-O 伸缩振动。760 和 704 cm^{-1} 附近的吸收峰主要是由苯环 C-H 面外弯曲振动吸收产生的。ZPB 的红外光谱存在一些与 ZPA 不一致的峰型。 1324 cm^{-1} 处的吸收峰主要是 C-H 的弯曲振动。 952 和 896 cm^{-1} 附近的吸收峰是羧基 O-H 键的面外弯曲振动。 644 cm^{-1} 附近的吸收峰主要是 N-H 的面外弯曲振动^[28]。综上, ZPA 与 ZPB 的光谱峰形与峰位置相似, 吸收峰位置的区别主要存在于红外光谱指纹区。二者多糖类型相似, 结构存在不同。主要存在的官能团包括: O-H、C-H、N-H、C-O、C=O、苯环、C-N 等。

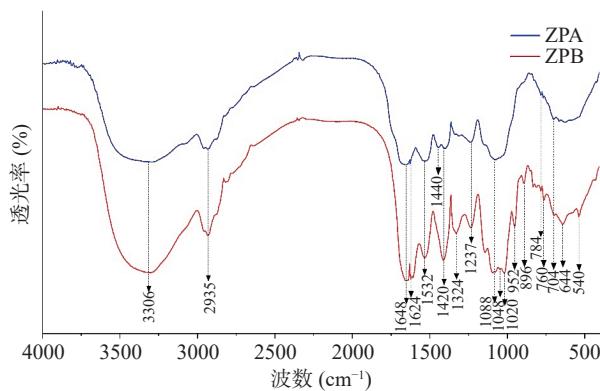


图 4 ZPA 和 ZPB 的傅里叶变换红外光谱图
Fig.4 Fourier transform infrared spectrogram of ZPA and ZPB

2.3.2 分子量 ZPA 和 ZPB 的 HPGPC 色谱图如图 5 所示。ZPA 在 33.745 min 处出现一较狭窄的

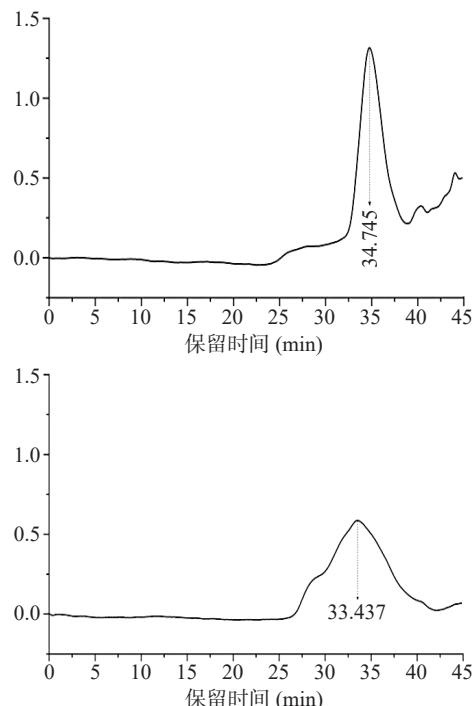


图 5 ZPA 和 ZPB 样品 HPGPC 色谱图
Fig.5 HPGPC chromatogram of ZPA and ZPB

对称峰, 峰值为 1.316 ; ZPB 在 33.437 min 处出现一较宽的峰, 峰值为 0.586 。ZPA 和 ZPB 的分子量计算结果如表 2 所示。ZPB 的分子量多分散性为 1.677 , 大于 ZPA (1.149), 可与 HPGPC 色谱图峰型共同说明 ZPA 的分子量分布较为集中; ZPB 的组分较为复杂, 分子量分布较广。ZPA 的平均分子量为 70297 Da , 数均分子量为 61157 Da , ZPB 的平均分子量为 126170 Da , 数均分子量为 75229 Da 。Zhang 等^[15] 利用类似的酸碱联合法提取柑橘皮渣中的果胶并测定其分子量, 碱提果胶的分子量同样高于酸提果胶。这可能是因为酸提取过程通常伴随着 RG-I 侧链中糖苷键以及半乳糖醛酸和鼠李糖残基之间酸不稳定键的水解, 导致酸提果胶的分子量较小^[29]。

表 2 分子量结果表
Table 2 Molecular weight of ZPA and ZPB

样品	保留时间(min)	Mw(Da)	Mn(Da)	多分散性
ZPA	34.745	70297	61157	1.149
ZPB	33.437	126170	75229	1.677

2.3.3 单糖组成 ZPA 和 ZPB 的 HPLC 色谱图如图 6 所示。两种样品的单糖组成、含量和比例均存在一定差异。如表 3 所示, ZPA 和 ZPB 中均含有鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸 6 种单糖。ZPB 另含有一定量的葡萄糖和核糖。ZPA 中甘露糖含量占比最高, 为 28.00% , 鼠李糖含量占比最低, 为 2.07% 。ZPB 中半乳糖含量占比最高, 为 22.58% , 核糖含量占比最低, 为 3.70% 。

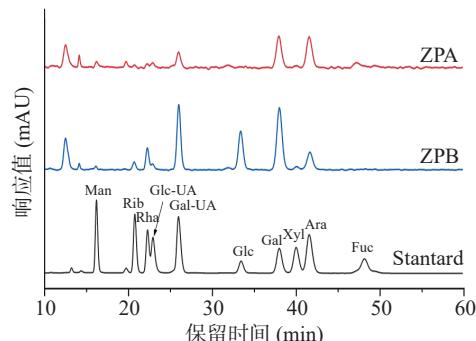


图 6 样品液相色谱图
Fig.6 Standard liquid chromatogram

表 3 样品单糖组成百分比
Table 3 Monosaccharide composition of samples

样品	Rha	Ara	Gal	Glc	Man	Rib	Gal-UA	Glc-UA
ZPA	2.07	22.19	18.11	0	28.00	0	16.39	11.50
ZPB	6.33	10.92	22.58	15.08	16.73	3.70	17.81	6.85

由单糖组成结果可见, ZPA 和 ZPB 均属于含有 RG-I 结构的杂聚果胶。鼠李糖和半乳糖醛酸是 RG-I 结构的主要组成部分^[30], ZPB 的 RG-I 比例 (Rha/Gal-UA) 为 0.355 , 高于 ZPA (0.126), 说明其含有更多 RG-I 结构。阿拉伯糖和半乳糖是 RG-I 结构侧链的主要组成部分^[31]。ZPA 和 ZPB 均含有较高比例

的阿拉伯糖和半乳糖, 证明 RG-I 结构侧链保留较为完好。ZPA 的 RG-I 侧链糖基比例((Gal+Ara)/Rha)为 19.47, 高于 ZPB(5.29), 这说明 ZPA 中 RG-I 侧链的长度要大于 ZPB。总而言之, ZPA 的 RG-I 结构较少但侧链长度较长, ZPB 的 RG-I 结构多但侧链长度较短。同时, 除了典型的 RG-I 结构特征外, ZPA 和 ZPB 中还含有较多的甘露糖、葡萄糖、葡萄糖醛酸组分, 表明 ZPA 和 ZPB 的组分或结构较为复杂, 各个单糖是否来自于单一果胶组分还有待进一步分析验证。ZPA 和 ZPB 的单糖组成存在差异的主要原因可能是碱溶液可以破坏果胶、半纤维素和纤维素之间的交联, 溶出了更多结构多样的西葫芦果胶^[10]。

2.4 西葫芦果胶降血糖活性

通过高脂饮食建立糖尿病熊蜂模型, 如图 7 所示, 高脂饮食(HFD)组的熊蜂体重增量显著高于未处理(ND)组($P<0.05$), 且雄蜂的主要血糖指标(葡萄糖和海藻糖浓度)也远远高于 ND 组, 说明通过高脂处理进行的熊蜂糖尿病模型造模是有效的。在饮食中进行 ZPA 和 ZPB 干预后, 样品处理组熊蜂的体重增量显著低于 HFD 组熊蜂($P<0.05$), 证明两种样品可以有效降低糖尿病模型熊蜂的体重, 且样品 ZPA 的体重增量与 ND 组无显著性差异($P>0.05$), 说明 ZPA 在控制熊蜂体重方面具有更好的效果。同时, ZPA 和 ZPB 样品处理组熊蜂的血糖指标均显著低于 HFD 组($P<0.05$), 证明两种样品可以有效降低糖尿病模型熊蜂的血糖, 且二者对海藻糖浓度的降低效果明显优于对葡萄糖的降低效果。ZPA 和 ZPB 在降低熊蜂血糖浓度的效果方面没有明显差异, 说明两种

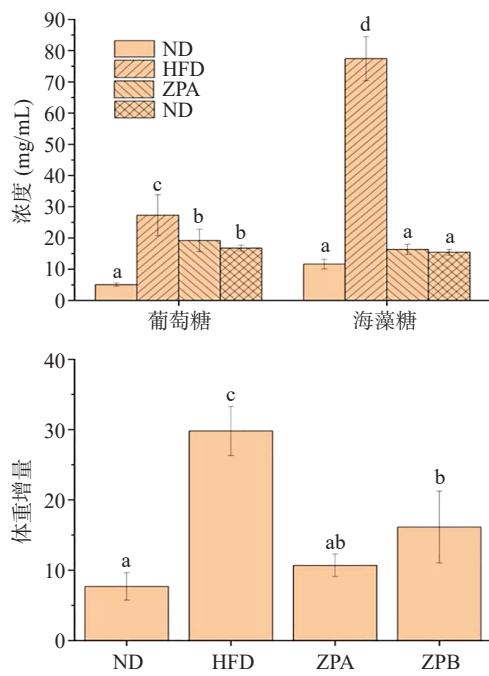


Fig.7 Average weight gain percentage and blood sugar level of a single bumblebee

结构和组成的果胶具有相似的降血糖活性。西葫芦果胶发挥降血糖活性可能与其调节机体代谢、改善肠道菌群紊乱有关, 但具体的机制仍有待进一步验证。

3 结论

RG-I 是天然果胶的主要结构域之一, 具有良好的生物活性。然而商品果胶主要由 HG 结构组成, 缺乏 RG-I 活性成分。本研究利用酸碱联合提取法从西葫芦中制备得到两种果胶组分 ZPA 和 ZPB, 经鉴定均属于含有 RG-I 结构的杂聚果胶, ZPA 的 RG-I 结构较少但侧链长度较长, ZPB 的 RG-I 结构多但侧链长度较短。利用熊蜂糖尿病模型, 发现 ZPA 和 ZPB 均能够显著降低糖尿病熊蜂的血糖水平, 具有潜在的降血糖活性。然而 ZPA 和 ZPB 的果胶精细结构仍待进一步的分离纯化和解析, 其降血糖的作用机制也有待进一步探讨。本研究对西葫芦果胶的基本组成、结构特征和活性进行了初步探讨, 为西葫芦的深度加工和果胶组分的高值化利用奠定了基础。

参考文献

- [1] 田三德. 果胶生产现状及发展前景[J]. 中小企业科技, 2003(6): 12–13. [TIAN S D. Present situation and development of pectin production [J]. SME Technology, 2003(6): 12–13.]
- [2] MISHRA R, DATT M, ZPAL K, et al. Preparation and characterization of amidated pectin based hydrogels for drug delivery system[J]. Journal of Materials Science Materials in Medicine, 2008, 19(6): 2275–2280.
- [3] 苏东林, 戴少庆, 李高阳, 等. 柑橘果胶磷酸化制备工艺优化及其改性品质分析[J]. 中国食品学报, 2015, 15(8): 127–135. [SU D L, DAI S Q, LI G Y, et al. Optimization of phosphorylation preparation process of citrus pectin and analysis of modified quality [J]. Journal of the Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(8): 127–135.]
- [4] KOUBALA B, KANSCI G, MBOME L, et al. Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from "Améliorée" and "Mango" mango peels[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(7): 1345–1351.
- [5] YULIARTI O, OTHMANO R. Temperature dependence of acid and calcium-induced low-methoxyl pectin gel extracted from *Cyclea barbata* Miers[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 81: 300–311.
- [6] CHENG H, ZHANG Z, LENG J, et al. The inhibitory effects and mechanisms of rhamnogalacturonan I pectin from potato on HT-29 colon cancer cell proliferation and cell cycle progression[J]. International Journal of Food Sciences & Nutrition, 2013, 64(1): 36–43.
- [7] ZHENG J, CHEN J, ZHANG H, et al. Gelling mechanism of RG-I enriched citrus pectin: Role of arabinose side-chains in cation- and acid-induced gelation[J]. Food Hydrocoll, 2020, 101: 105536.
- [8] CÁRDENAS-FERNÁNDEZ M, HAMLEY-BENNETT C, LEAK D J, et al. Continuous enzymatic hydrolysis of sugar beet pectin and L-arabinose recovery within an integrated biorefinery[J]. Bioresour Technol, 2018, 269: 195–202.
- [9] KHODAEI N, FERNANDEZ B, FLISS I, et al. Digestibility and prebiotic properties of potato rhamnogalacturonan polysaccharide and its galactose-rich oligosaccharides oligomers[J]. Carbohydr Polym, 2016, 136: 1074–1084.

- [10] MOSLEMI M. Reviewing the recent advances in application of pectin for technical and health promotion purposes: From laboratory to market[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 254(5): 117324.
- [11] 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. Structure elucidation of pumpkin acidic polysaccharides and the interaction with functional proteins[D]. Beijing: China Agricultural University, 2017.]
- [12] 曾雄生. 中国南瓜史[J]. 中国农史, 2016, 35(3): 3. [ZENG X S. History of Chinese pumpkin[J]. Chinese Agricultural History, 2016, 35(3): 3.]
- [13] 游新侠. 苹果渣中果胶提取、纯化及不同分子量果胶特性的研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2007. [YOU X X. Study on the extraction and purification of pectin from apple pomace and the properties of pectin with different molecular weights[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2007.]
- [14] 安徽金枫果胶有限公司. 一种从西葫芦中提取果胶的方法: 中国, 201310176900.7[P]. 2013-08-28. [Anhui Jinfeng Pectin Co., Ltd. A method of extracting pectin from zucchini: China, 2013 10176900.7[P]. 2013-08-28.]
- [15] ZHANG H, CHEN J, LI J, et al. Extraction and characterization of RG-I enriched pectic polysaccharides from mandarin citrus peel[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 79: 579–586.
- [16] GUO X, HAN D, XI H, et al. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: A comparison[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 88(2): 441–448.
- [17] ZHANG W, WU J, WENG L, et al. An improved phenol-sulfuric acid method for the determination of carbohydrates in the presence of persulfate[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 227: 115332.
- [18] 朱明月, 全文科, 杜红娜, 等. 天然植物人参中糖醛酸含量测定方法的建立[J]. 今日畜牧兽医, 2021, 37(1): 5–7. [ZHU M Y, TONG W K, DU H N, et al. Establishment of a method for determination of uronic acid content in natural plant ginseng[J]. *Livestock Veterinary Today*, 2021, 37(1): 5–7.]
- [19] 杨淑萍. 紫外分光光度法检测黄芪多糖含量[J]. 现代畜牧科技, 2019(8): 7–9. [YANG S P. Determination of astragalus polysaccharide content by ultraviolet spectrophotometry[J]. *Modern Animal Husbandry Technology*, 2019(8): 7–9.]
- [20] 纪鹏, 魏彦明, 华永丽, 等. 当归及不同炮制品多糖傅里叶变换红外光谱识别[J]. 光谱学与光谱分析, 2014(5): 1270–1274.
- [21] 马定远, 陈君, 李萍, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法分析多糖中的单糖组成[J]. 分析化学, 2002, 30(6): 702–705. [MA D Y, CHEN J, LI P, et al. Analysis of monosaccharide composition in polysaccharides by precolumn derivatization high performance liquid chromatography[J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 30(6): 702–705.]
- [22] YANG J, MU T, MA M. Extraction, structure, and emulsifying properties of pectin from potato pulp[J]. *Food Chemistry*, 2018, 244: 197–205.
- [23] 郎浩宇, 王小斐, 陈芳, 等. 新型模式平台——蜜蜂用于肠道菌群与营养健康研究[J]. 中国食品学报, 2020, 20(12): 311–319. [LANG H Y, WANG X F, CHEN F, et al. A novel model platform-honeybees for the study of gut microbiota and nutritional health[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(12): 311–319.]
- [24] 吴琼, 郑成, 宁正祥, 等. 碱溶性银耳粗多糖的提取及其清除自由基作用的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(6): 153–155. [WU Q, ZHENG C, NING Z X, et al. Extraction of alkali-soluble tremella polysaccharide and its scavenging effect on free radicals[J]. *Food Science*, 2007, 28(6): 153–155.]
- [25] 卢久富. 西葫芦水溶性多糖抗氧化性的研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(16): 9560–9561. [LU J F. Study on the antioxidant activity of water-soluble polysaccharides from zucchini[J]. *Anhui Agricultural Science*, 2011, 39(16): 9560–9561.]
- [26] 于叶霞, 李鹏, 王元忠. 基于光谱和色谱数据融合策略的青叶胆及近似种的鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2020, 40(8): 2440–2446. [YU Y X, LI P, WANG Y Z. Identification of *C. chinensis* and related species based on spectral and chromatographic data fusion strategy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2020, 40(8): 2440–2446.]
- [27] 景永帅, 马云凤, 李明松, 等. 植物多糖结构解析方法研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 411–421. [JING Y S, MA Y F, LI M S, et al. Research progress on structural analysis methods of plant polysaccharides[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(3): 411–421.]
- [28] WANG L, ZHAO Z, ZHAO H, et al. Pectin polysaccharide from *Flos Magnoliae* (Xin Yi, *Magnolia biondii* Pamp. flower buds): Hot-compressed water extraction, purification and partial structural characterization[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022(1): 122.
- [29] 梅家骏. 果胶的应用和生产简介[J]. 食品科学, 1983(10): 15–17. [MEI J J. Introduction to the application and production of pectin[J]. *Food Science*, 1983(10): 15–17.]
- [30] CHEN J, CHENG H, ZHI Z, et al. Extraction temperature is a decisive factor for the properties of pectin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020: 106160.
- [31] NGOUEMAZONG E, CHRISTIAENS S, SHPIGELMAN A, et al. The emulsifying and emulsion stabilizing properties of pectin: A review[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2015, 14(6): 705–718.