

# 陈皮多糖片段的体外益生活性分析

田长城<sup>1</sup>, 陶志杰<sup>1</sup>, 李晶<sup>2</sup>, 满云<sup>1</sup>, 赵大庆<sup>1</sup>

(1.蚌埠学院食品与生物工程学院, 安徽 蚌埠 233030; 2.蚌埠医学院生命科学学院, 安徽 蚌埠 233030)

**摘要:** 以10年份陈皮水溶性多糖Cpp为研究对象, 采用酸解、离子交换吸附和凝胶排阻色谱分离得到3种多糖片段(f1-1、f2-2和f3-2), 比较它们的结构和益生活性。结果表明, 片段f2-2分子质量最小, 为 $1.15 \times 10^4$  Da, 主要由鼠李糖、阿拉伯糖和半乳糖组成, 物质的量比为0.21:1.00:0.25。体外益生活性实验显示多糖片段f2-2的添加促进了乳酸杆菌和双歧杆菌的增殖, 乳酸杆菌和双歧杆菌数量分别为对照组(添加1 mg/mL葡萄糖)的3.2倍和2.9倍( $P < 0.05$ ); 与对照组相比, Cpp的添加仅对乳酸杆菌增殖有显著促进作用( $P < 0.05$ )。与对照组相比, 片段f2-2的添加显著提高了粪便发酵上清液中丙酸的产量( $P < 0.05$ ); 此外, 片段f1-1或f2-2添加均促进了丁酸的产生。综上, 10年份陈皮多糖片段呈现出显著的益生元特征, 其活性与片段结构联系密切。

**关键词:** 陈皮多糖; 益生元; 短链脂肪酸; 单糖组成; 益生菌

## *In Vitro* Prebiotic Activity of Polysaccharide Fractions from Tangerine Peel

TIAN Changcheng<sup>1</sup>, TAO Zhijie<sup>1</sup>, LI Jing<sup>2</sup>, MAN Yun<sup>1</sup>, ZHAO Daqing<sup>1</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Bengbu University, Bengbu 233030, China;

2. School of Life Science, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China)

**Abstract:** Crude water-soluble polysaccharides (Cpp) from 10-year-old tangerine peel were hydrolyzed with sulphuric acid and fractionated by successive ion exchange adsorption and size exclusion chromatography into three major fractions (f1-1, f2-2 and f3-2). The structures and prebiotic activities of Cpp and the fractions were compared. The results showed that f2-2 had the smallest molecular mass of  $1.15 \times 10^4$  Da and was mainly composed of rhamnose, arabinose and galactose with a molar ratio of 0.21:1.00:0.25. f2-2 could promote the proliferation of *Lactobacilli* and *Bifidobacterium*, increasing their counts 3.2 and 2.9 times compared with the control group (with 1 mg/mL glucose), respectively. Cpp could only promote the proliferation of *Lactobacilli* significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the addition of f2-2 significantly increased the production of propionic acid in the culture supernatant of human fecal bacteria ( $P < 0.05$ ). Moreover, the addition of f1-1 or f2-2 promoted the production of butyric acid. To sum up, the polysaccharides from 10-year-old tangerine peel showed significant prebiotic characteristics, which had a close relationship the structures of the polysaccharides.

**Keywords:** polysaccharides from tangerine peel; prebiotics; short-chain fatty acid; monosaccharide composition; probiotics

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221011-104

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)20-0183-06

引文格式:

田长城, 陶志杰, 李晶, 等. 陈皮多糖片段的体外益生活性分析[J]. 食品科学, 2023, 44(20): 183-188. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221011-104. <http://www.spkx.net.cn>

TIAN Changcheng, TAO Zhijie, LI Jing, et al. *In vitro* prebiotic activity of polysaccharide fractions from tangerine peel[J]. Food Science, 2023, 44(20): 183-188. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221011-104. <http://www.spkx.net.cn>

益生元的概念最早由Gibson和Roberfroid提出, 即一类不被人体直接吸收, 但能有效刺激肠道内双歧杆菌增殖低聚糖, 特别是果寡糖<sup>[1]</sup>。随着研究的不断深入, 许多

新颖的具有益生功效的低聚糖陆续被发现, 如菊粉<sup>[2]</sup>、人乳低聚糖<sup>[3]</sup>、低聚半乳糖<sup>[4]</sup>等。近年来, 研究者发现一些植物多糖经肠道中碳水化合物酶协同水解, 形成的多糖

收稿日期: 2022-10-11

基金项目: 安徽省高校科学研究重点项目(KJ2019A0858)

第一作者简介: 田长城(1980—)(ORCID: 0000-0001-5570-4644), 男, 副教授, 博士, 研究方向为天然活性产物的应用。

E-mail: tianchangcheng2006@126.com

片段可以优先被肠道中的有益菌利用, 同样表现出显著的益生元特征<sup>[5]</sup>。

陈皮是芸香科橘 (*Citrus reticulata* Blanco) 的成熟果皮经传统贮藏和晾晒工艺后形成的一种中药材, 具有理气健脾、祛湿化痰的功效, 对脾胃气滞、脘腹胀满和消化不良具有一定的治疗效果<sup>[6]</sup>。陈皮中富含黄酮、挥发油、生物碱、多糖等多种活性组分<sup>[7]</sup>, 其中多糖是陈皮水提物中含量最多的一种生物大分子, 具有多种生物活性。廖素媚<sup>[8]</sup>研究发现陈皮中的多糖可以有效清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基和羟自由基, 是一种有效的抗氧化物质。Suh等<sup>[9]</sup>从蜜柑 (*Citrus unshiu*) 中分离得到的果胶多糖片段CUI-3IIb-3-2能够通过激活肠道派氏结促进造血生长因子的形成, 具有显著的肠道免疫活性。课题组之前对不同年份陈皮水溶性多糖的结构进行比较, 发现随着陈皮年份的增长, 陈皮中水溶性多糖的结构随之发生变化, 如阿拉伯糖含量增加, 半乳糖醛酸含量减少, 可溶性共轭酚酸含量增多等; 与1年份橘皮相比, 5 a以上的陈皮多糖具有较为显著的肠道免疫活性<sup>[10]</sup>。由此可见, 陈皮水溶性多糖的结构与其活性存在密切关联, 但具体的构效关系尚不清楚。

本研究以10年份陈皮为研究对象, 依次采用水提醇沉、酸法降解、离子交换吸附和葡聚糖凝胶层析的方法得到3种多糖片段; 运用化学和色谱法对不同片段结构进行初步表征, 并通过体外实验比较其益生活性; 旨在进一步解释陈皮健胃消食的作用机理, 同时也为陈皮的深度开发提供一定思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

10年份陈皮 (茶枝柑的果皮) 江门市新会区新宝堂茶叶有限公司。

不同分子质量的葡聚糖标准品 ( $3.05 \times 10^3$ 、 $1.26 \times 10^4$ 、 $6.33 \times 10^4$ 、 $1.26 \times 10^5$ 、 $3.02 \times 10^5$ 、 $5.56 \times 10^5$  Da), DEAE-纤维素阴离子交换树脂, 葡萄糖、甘露糖、半乳糖、木糖、鼠李糖和阿拉伯糖标准品北京索莱宝科技有限公司; 葡聚糖凝胶G-200 上海源叶生物科技有限公司; 粪便基因组DNA提取试剂盒、SuperReal荧光定量预混试剂盒 (增强版) 天根生化科技 (北京) 有限公司; 乙酸、丙酸和丁酸标准品 (色谱纯) 上海麦克林生化科技股份有限公司; 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

1525高效液相色谱仪 美国Waters科技有限公司; QP2020气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS) 仪 日本岛津株式会社;

Nicolet 67傅里叶变换红外光谱仪 美国赛默飞世尔科技有限公司; HDPF-55电热恒温培养箱 上海跃进医疗器械有限公司; StepOne Plus实时荧光定量聚合酶链式反应系统 美国ABI公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 陈皮多糖的提取和酸解

10年份陈皮在60 °C烘箱中干燥6 h以上, 粉碎后过80目筛, 用滤纸 (中速) 包裹后置入索氏抽提器, 依次用丙酮和甲醇浸提4 h, 除去其中的色素和酯类物质。干燥后, 按料液比1:30 (g/mL) 加入超纯水, 在90 °C搅拌提取2 h, 过滤得滤液, 滤渣按料液比1:15 (g/mL) 加入超纯水, 重新搅拌提取2 h, 过滤后合并滤液。用真空旋转蒸发仪对滤液进行浓缩, 浓缩液在10 000 r/min离心20 min, 倾出上清液。按体积比1:4向上清液中加入无水乙醇, 搅拌后醇沉过夜, 倾去上清液, 收集沉淀物。沉淀物在60 °C烘箱中适当加热, 除去乙醇, 用适量超纯水溶解沉淀物, 按体积比1:5加入Sevag试剂, 脱蛋白4~6次。真空旋转浓缩后进行冷冻干燥, 得到粗多糖, 记为Cpp。

称取2.0 g Cpp置于三角瓶中, 加入100 mL 2 mol/L硫酸溶液, 充分溶解后在80 °C水解12 h。用2 mol/L NaOH溶液调pH值至5.0左右, 60 °C真空旋转浓缩至适当体积, 装入透析袋 (截留分子量3 500 Da) 置入超纯水中, 透析24 h后冷冻干燥, 得到多糖酸解片段混合物。

#### 1.3.2 多糖片段的分离纯化

取一定量酸解多糖片段溶液 (5.0 mg/mL), 加入已预处理的DEAE纤维素阴离子交换树脂柱上, 依次用超纯水和0.05、0.1、0.2、0.5 mol/L NaCl溶液以2.5 mL/min流速进行洗脱, 每个浓度洗脱200 mL, 用部分收集器进行收集。采用苯酚-硫酸法测定每支试管的总糖含量<sup>[11]</sup>, 收集相应试管的洗脱液, 浓缩后透析脱盐, 冷冻干燥, 备用。

将上述多糖组分配制成5.0 mg/mL的溶液, 取2 mL过G-200葡聚糖凝胶色谱柱 (65 cm×1.2 cm), 以超纯水为流动相, 0.3 mL/min流速进行洗脱, 部分收集器收集, 每管收集3 mL。苯酚-硫酸法测定每支试管的总糖含量, 收集后冷冻干燥, 得到不同的多糖片段。各组分得率为其质量在粗多糖质量中的占比 (%)。

#### 1.3.3 糖片段的组分分析

采用苯酚-硫酸法测定不同片段的总糖含量; 采用考马斯亮蓝法和间羟基联苯法<sup>[12]</sup>测定样品中蛋白质和糖醛酸的含量。利用高效液相色谱法 (配有Ultrahydrogel™ 1000色谱柱 (7.8 mm×300 mm) 和示差检测器) 测定不同样品的分子质量。

#### 1.3.4 单糖组成分析

取5.0 mg样品放入安瓿管中, 加入2 mL 2.0 mol/L三

氟乙酸溶液, 火焰封口, 110 °C条件下反应6.0 h。真空旋转蒸干, 加入2 mL蒸馏水和30 mg NaBH<sub>4</sub>, 室温反应3 h, 向反应液中逐滴滴加2 mol/L冰醋酸直至无气泡产生; 真空旋转蒸干后向反应瓶中加入2 mL吡啶-醋酸酐混合溶液(1:1, V/V), 密封后100 °C反应1 h。真空蒸干后, 加入2 mL甲醇蒸干, 重复操作5~6次。加入2 mL二氯甲烷萃取, 过滤后备用。分别取6种单糖标准品, 乙酰化方法如上所述。

乙酰化后的样品进行GC-MS检测。色谱条件如下: SH-Rxi-5Sil MS色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 初始温度60 °C, 按照10 °C/min升至180 °C, 保持2.0 min; 以5 °C/min升至230 °C, 保持1.0 min。载气(He)流速2.0 mL/min, 分流比1:10, 进样口温度250 °C, 进样量1.0 μL。

### 1.3.5 红外波谱分析

取适量多糖样品与KBr充分混匀、压片, 在400~4 000 cm<sup>-1</sup>区间进行扫描, 绘制红外波谱图。

### 1.3.6 体外益生活性比较

#### 1.3.6.1 体外培养

不同多糖样品的体外益生活性评价参照刘丽娅等的方法<sup>[13]</sup>, 略作修改。取健康成人粪便悬浮于灭菌0 °C 0.1 mol/L磷酸盐缓冲液中(pH 7.3), 制成粪样质量浓度为50 mg/mL的悬浮液, 涡旋混匀, 静置10 min后取上清液, 备用。

发酵基础培养基: 酵母浸膏2 g/L、蛋白胨2 g/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.04 g/L、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.04 g/L、CaCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 0.01 g/L、NaCl 0.1 g/L、NaHCO<sub>3</sub> 2 g/L、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g/L、L-半胱氨酸盐酸盐0.5 g/L、胆汁酸盐0.5 g/L、氯化血红素0.005 g/L、吐温-80 2 mL/L、VK<sub>1</sub> 10 μL/L。

分别在基础培养基中添加1 mg/mL葡萄糖(对照组)、1 mg/mL低聚果糖(阳性组)、1 mg/mL 10年陈皮总多糖和1 mg/mL酸解后的陈皮多糖片段, 121 °C灭菌30 min后, 冷却备用。无菌条件下, 向培养基中加入0.5 mL粪悬液, 混匀后置入厌氧培养袋中, 37 °C培养24 h。

#### 1.3.6.2 益生菌数量的测定

培养结束后, 培养基在4 °C、12 000 r/min下离心30 min, 分别收集沉淀物和上清液。按照粪便基因组DNA提取试剂盒的操作流程提取沉淀物中的总DNA。参照文献<sup>[14-15]</sup>, 分别设定乳酸杆菌属(*Lactobacillus*) (F: 5'-GGGAATCTTCCACAATGGAC-3'; R: 5'-CATGGAGTTCCACTCTCCTCT-3')和双歧杆菌属(*Bifidobacterium*) (F: 5'-CTTACTTTCGCTTCTTTGCTCCRTAC-3'; R: 5'-GAAGTCCAAGACTTTGGCCCTGA-3')的引物序列, 由生工生物工程(上海)股份有限公司合

成。实时聚合酶链式反应体系(20 μL): 10.0 μL 2×SuperReal PreMix Plus溶液, 0.6 μL 10.0 μmol/L正/反向引物, 2.0 μL模板DNA, 2.0 μL 50×ROX染液和5.4 μL蒸馏水。反应条件: 95 °C加热15 min; 95 °C加热10 s, 55 °C维持30 s, 72 °C保持30 s, 循环40次; 95 °C维持1.0 min。*GAPDH*作为内参基因, 每个实验重复3次, 实验结果用2<sup>-ΔΔCt</sup>表示。

#### 1.3.6.3 短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA)的测定

参照Delouie等<sup>[16]</sup>的方法, 分析比较不同发酵上清液中SCFA含量。色谱柱: C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm); 流动相A为0.025 mol/L磷酸二氢钾溶液, 流动相B为乙腈(色谱纯); 梯度洗脱程序如下: 0~15 min, 80% A、20% B; 15~30 min, 60% A、40% B; 洗脱流速1.0 mL/min; 上样量20 μL。利用不同浓度的乙酸、丙酸和丁酸标准品溶液, 拟合峰面积与标准品浓度间的回归曲线, 根据曲线方程计算不同样品中SCFA含量。

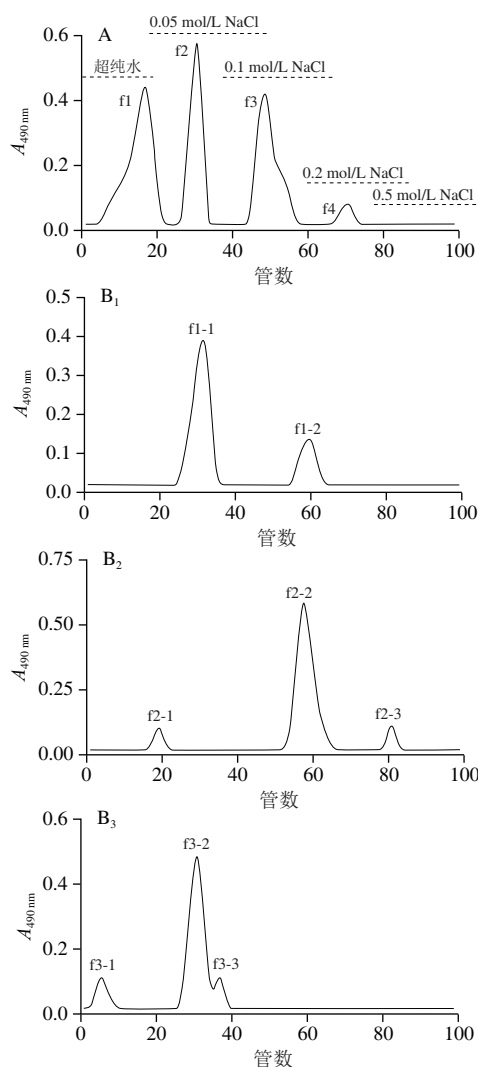
### 1.4 数据处理与分析

每个实验重复3次, 利用Origin 2018软件进行数据统计和分析, 所有结果表示为 $\bar{x} \pm s$ ,  $P < 0.05$ , 差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 陈皮多糖片段的制备

10年份陈皮经干燥、脱色和脱脂后采用水提醇沉法得到C<sub>pp</sub>, 得率约占陈皮质量的17.6%。陈皮多糖外观呈褐色, 易溶于水, 其水溶液(1 mg/mL) pH值为4.2±0.2。采用酸水解法对粗多糖进行降解获得聚合度较低的多糖片段。本研究结果表明, 2.0 mol/L硫酸溶液在80 °C处理12 h后, 可以得到分子质量和片段数量均较为适宜的水解物。DEAE纤维素是一种弱阴离子交换树脂, 可用于分离带不同阴离子基团的混合物, 被广泛用于多糖片段的分离纯化<sup>[17]</sup>。如图1A所示, 当用超纯水、0.05 mol/L和0.1 mol/L NaCl溶液洗脱时, 得到了3种含量较多的多糖组分, 分别记作f1、f2和f3。继续用高浓度的NaCl溶液洗脱时多糖片段产量显著减少(f4, 0.2 mol/L NaCl)或无洗脱组分(0.5 mol/L NaCl), 该现象表明酸解后得到的10年份陈皮多糖片段没有或带少量阴离子基团。由于f4得率极低, 不能满足后期研究的需要, 所以仅对组分f1、f2和f3作进一步纯化和研究。3种多糖组分分别用葡聚糖凝胶层析柱进一步分离纯化, 如图1B所示, f1、f2和f3组分中均含有2~3种不同分子质量的片段, 其中f1-1、f2-2和f3-2含量较多, 被用于后期的活性研究。



A. DEAE-阴离子交换色谱; B.葡聚糖凝胶色谱。

图1 陈皮多糖片段的分离和纯化

Fig. 1 Isolation and purification of polysaccharides from tangerine peel

## 2.2 陈皮多糖片段的性质

如表1所示, 片段f2-2的得率最高, 约为C<sub>pp</sub>质量的25.9%。3种多糖片段的总糖含量均高于粗多糖, 表明两种分离方法能有效去除多糖外组分, 得到纯度较高的多糖。10年份陈皮多糖及其片段均含有一定量糖醛酸, 表现出果胶类多糖的特征<sup>[18]</sup>。C<sub>pp</sub>中糖醛酸含量最高, 而3种酸解片段的糖醛酸含量均有所下降, 其中f2-2中糖醛酸含量最少。高效液相色谱法比较多糖片段的分子量, 其中f2-2分子量最小, 为 $1.15 \times 10^4$  Da。

表1 陈皮多糖片段的性质

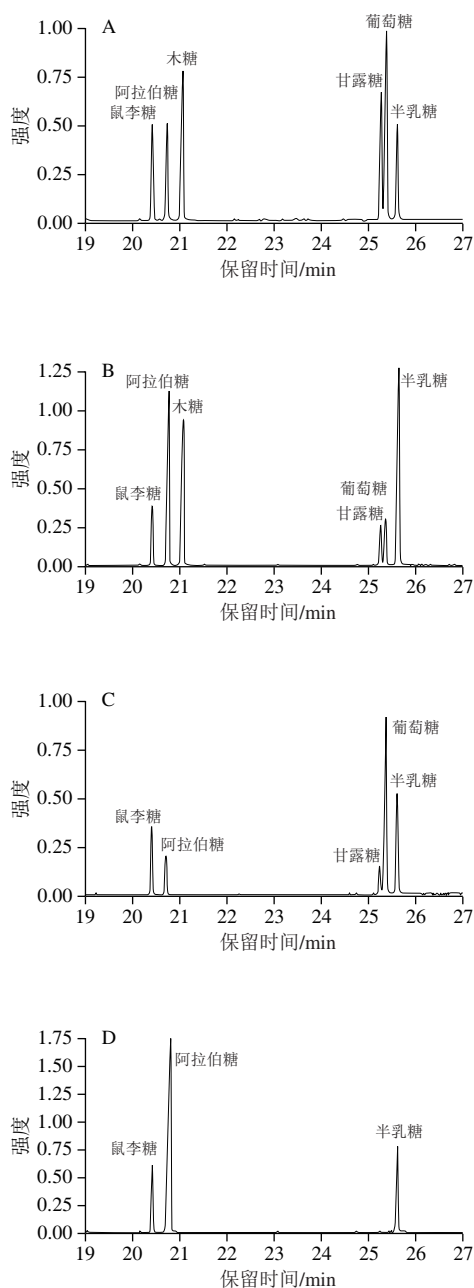
Table 1 Properties of polysaccharides from tangerine peel

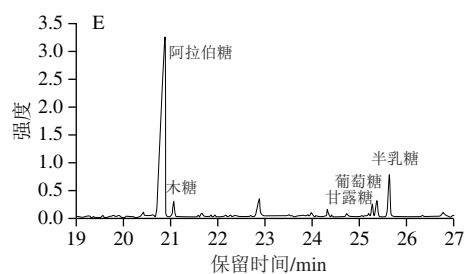
多糖	得率/%	总糖		糖醛酸		蛋白 质量分数/%	分子 质量/Da
		质量分数/%	质量分数/%	质量分数/%	质量分数/%		
C <sub>pp</sub>	100.0	64.2±3.0	30.6±2.5	1.4±0.2	—		
f1-1	9.6	86.4±2.7	28.3±1.8	0.9±0.2	$3.25 \times 10^5$		
f2-2	25.9	89.5±1.9	15.4±4.0	1.3±0.2	$1.15 \times 10^4$		
f3-2	12.7	79.6±3.1	8.3±2.5	0.8±0.1	$4.65 \times 10^5$		

注: —.未检测; 表2同。

## 2.3 陈皮多糖片段的单糖组成

以6种单糖标准品气相色谱的出峰时间和峰面积为依据, 分析不同样品的单糖类型和含量。如图2所示, C<sub>pp</sub>主要由鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖, 其物质的量比为0.26:1.00:0.44:0.11:0.08:0.98。f1-1中包含鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖, 其物质的量比为1.72:1.00:0.42:2.12:2.46。f2-2中仅含鼠李糖、阿拉伯糖和半乳糖, 其物质的量比为0.21:1.00:0.25, f3-2中含有较多的阿拉伯糖和半乳糖(物质的量比为1.00:0.08)以及微量的木糖、甘露糖和葡萄糖。





A. 单糖标准品; B. Cpp; C. f1-1; D. f2-2; E. f3-2。

图2 陈皮多糖片段的单糖组成

Fig. 2 Monosaccharide compositions of polysaccharides from tangerine peel

### 2.4 陈皮多糖片段的红外光谱分析结果

不同多糖的红外光谱具有特有的吸收峰，在多糖结构表征中具有重要作用。如图3所示， $3440\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰来源于O—H键的伸缩振动， $2940\text{ cm}^{-1}$ 处则是由于C—H的伸缩振动。此外， $1750\text{ cm}^{-1}$ 和 $1630\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰分别对应酯化羟基和游离羟基的伸缩振动，可以用于表征果胶多糖的酯化程度<sup>[19]</sup>。f1-1和f3-2的酸性糖基以游离状态形式存在，而f2-2片段中酸性糖基部分酯化。此外， $1420\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰进一步证明了游离羧基的存在，而 $1100\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰则表明吡喃型半乳糖的存在<sup>[20]</sup>。

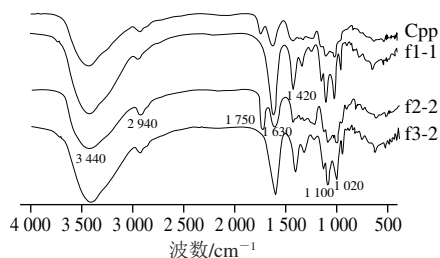
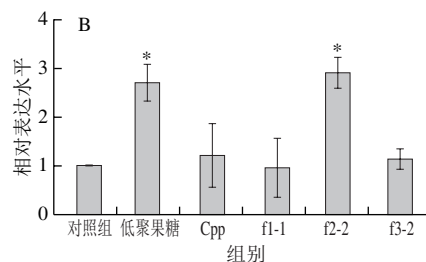
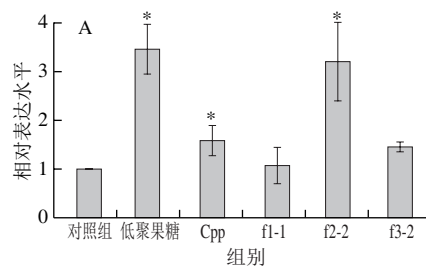


图3 陈皮多糖片段的红外光谱

Fig. 3 Infrared spectra of polysaccharides from tangerine peel

### 2.5 陈皮多糖片段的益生元活性评价

肠道微生物群落的组成与宿主的健康有着密切联系，而益生元的摄入可以通过调节肠道菌群结构削弱宿主的生理代谢紊乱，对一些疾病（肥胖、糖尿病等）有预防和治疗作用<sup>[21-22]</sup>。乳酸杆菌是一类兼性厌氧菌，广泛地分布在肠道和各种食物中，其具有提高食物营养价值、促进乳酸吸收以及降低人体血脂的作用；双歧杆菌则是新生儿肠道中的优势菌群，参与婴儿早期免疫系统的完善以及食物的吸收利用<sup>[23]</sup>。将对照组（ $1\text{ mg/mL}$ 葡萄糖）中乳酸杆菌和双歧杆菌表达水平平均定义为1，经24 h培养，含有Cpp或f2-2培养基中乳酸杆菌数量分别为对照组的1.58倍和3.20倍（图4A）（ $P < 0.05$ ），而含有f2-2培养基中双歧杆菌数量为对照组的2.9倍（图4B），表明f2-2可以优先被乳酸杆菌和双歧杆菌利用，促进这两种益生菌的生长。



\*.与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图4 陈皮多糖片段对乳酸杆菌(A)和双歧杆菌(B)生长的影响

Fig. 4 Effects of polysaccharides from tangerine peel on the growth of *Lactobacillus* (A) and *Bifidobacterium* (B)

### 2.6 陈皮多糖片段对肠道菌群产SCFA的影响

SCFA是由肠道微生物产生的一类重要代谢产物，在肠道环境构建、能量供应和宿主信号传导中发挥着重要作用。乙酸是结肠部位含量最多的一种SCFA，约占粪便总SCFA的一半以上，而丙酸和丁酸的代谢则与炎症反应有着密切联系，因而受到研究者的关注<sup>[24]</sup>。Lee等<sup>[25]</sup>发现SCFA的移植可以减轻高龄小鼠中风后的神经缺损和炎症，有利于中风后的恢复。如表2所示，相较于对照组（ $1\text{ mg/mL}$ 葡萄糖），f2-2的添加显著降低了发酵上清液中乙酸含量，但是提高了丙酸含量（ $P < 0.05$ ）。值得注意的是，f1-1和f2-2的添加均导致丁酸形成，进一步证明了酸解多糖片段可以优先被肠道中的某些菌种利用，从而对人体肠道健康产生有益影响。

表2 添加不同多糖发酵上清液中的SCFA浓度

Table 2 Effects of polysaccharides from tangerine peel on SCFA production in fermentation supernatant

SCFA	对照组	低聚果糖	陈皮多糖	f1-1	f2-2	f3-2
乙酸	7.60±0.10	8.50±0.10	8.25±0.30	7.90±0.30	6.55±0.30*	7.70±0.20
丙酸	1.69±0.20	1.52±0.50	1.64±0.20	1.35±0.20	2.32±0.20*	1.55±0.30
丁酸	—	—	—	0.49±0.05*	0.15±0.02*	—

注：\*.与对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

近年来，越来越多的研究表明果胶多糖不仅是一类结构多糖，同时具有多种生物活性<sup>[26-27]</sup>。果胶多糖分子量大、结构复杂，含有多个不同的结构域，如聚半乳糖醛酸、鼠李半乳糖醛酸聚糖（rhamnogalacturonan, RG）

I和RG II、木半乳糖醛酸聚糖等<sup>[28]</sup>。其中, RG-I片段的主链由半乳糖醛酸和鼠李糖交替连接而成, 在鼠李糖的O-4上连接有阿拉伯聚糖或半乳糖侧链<sup>[29]</sup>。当果胶多糖受外界环境(紫外线、酶、压力等)影响时, 会释放出具有特殊结构的多糖片段<sup>[30-31]</sup>, 活性也发生相应变化。

Van Den Abbeele等<sup>[32]</sup>利用SHIME模型评价胡萝卜果胶中RG-I片段对人肠道菌群的影响, 发现其具有显著的益生元功效。10年份陈皮水溶性多糖Cpp酸解后形成的片段f2-2富含鼠李糖、阿拉伯糖和半乳糖(醛酸), 具有RG-I片段的结构特征, 推测陈皮果胶多糖良好的益生元功效主要归因于其中的RG-I片段, 陈皮果胶多糖可能是一种潜在的益生元。

#### 参考文献:

- GIBSON G R, ROBERFROID M B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics[J]. *Journal of Nutrition*, 1995, 125(6): 1401-1412. DOI:10.1093/jn/125.6.1401.
- 赖鲸慧, 祝元婷, 陈媛, 等. 乳酸菌代谢低聚果糖/菊粉途径及机理的研究进展[J]. *食品科学*, 2022, 43(9): 364-372. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210302-017.
- BYCH K, MIKS M H, JOHANSON T, et al. Production of HMOs using microbial hosts-from cell engineering to large scale production[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 56: 130-137. DOI:10.1016/j.copbio.2018.11.003.
- SIERRA C, BERNAL M J, BLASCO J, et al. Prebiotic effect during the first year of life in healthy infants fed formula containing GOS as the only prebiotic: a multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial[J]. *European Journal of Nutrition*, 2015, 54(1): 89-99. DOI:10.1007/s00394-014-0689-9.
- 杨斯惠, 向月, 曹亚楠, 等. 植物多糖的益生作用及其影响因素研究进展[J]. *食品科学*, 2022, 43(11): 301-310. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210610-132.
- 李俊健, 林锦铭, 高杰贤, 等. 陈皮挥发油提取、成分分析及应用的研究进展[J]. *中国调味品*, 2021, 46(8): 169-173. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2021.08.036.
- 赵秀玲. 陈皮生理活性成分研究进展[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(12): 376-381. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2013.12.016.
- 廖素媚. 陈皮多糖的分离纯化、结构表征及其清除自由基活性研究[D]. 广州: 广东药学院, 2009: 48-50.
- SUH H J, YANG H S, RA K S, et al. Peyer's patch-mediated intestinal immune system modulating activity of pectic-type polysaccharide from peel of *Citrus unshiu*[J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(2/3): 1079-1086. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.11.091.
- TIAN C C, XU H, LI J, et al. Characteristics and intestinal immunomodulating activities of water-soluble pectic polysaccharides from Chenpi with different storage periods[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(10): 3752-3757. DOI:10.1002/jsfa.8888.
- 王迎春, 唐子惟, 彭腾, 等. 苯酚-硫酸法测定酒蒸多花黄精多糖含量的优化[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(18): 308-316. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021010069.
- 任珍芸, 刘爱萍, 陈晓航, 等. 改良间羟基苯基法用于测定肺炎球菌荚膜多糖中糖醛酸含量[J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(6): 644-649. DOI:CNKI:SUN:ZXYZ.0.2018-06-007.
- 刘丽娅, 赵梦丽, 钟葵, 等. 小麦麸皮阿拉伯木聚糖体外益生元活性研究[J]. *中国粮油学报*, 2016, 31(10): 1-5; 30. DOI:CNKI:SUN:ZLYX.0.2016-10-003.
- 白晓晔, 钟智, 孙志宏, 等. 肠道中乳酸杆菌属特异性定量引物的筛选及验证[J]. *微生物学报*, 2018, 58(11): 1997-2010. DOI:10.13343/j.cnki.wxsb.20180237.
- 高旭, 白晓晔, 郑慧娟, 等. 双歧杆菌属特异性定量引物的设计及验证[J]. *微生物学报*, 2020, 60(3): 545-555. DOI:10.13343/j.cnki.wxsb.20190228.
- DELOULE V, BOISSET C, HANNANI D, et al. Prebiotic role of softwood hemicellulose in healthy mice model[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 64: 103688. DOI:10.1016/j.jff.2019.103688.
- 葛智超, 郎蒙, 李燕. 裸藻多糖的分离纯化、单糖组成及其抗氧化活性[J]. *上海海洋大学学报*, 2021, 30(3): 564-571. DOI:10.12024/j.sou.20200302957.
- PRABASARI I, PETTOLINO F, LIAO M L, et al. Pectic polysaccharides from mature orange (*Citrus sinensis*) fruit albedo cell walls: sequential extraction and chemical characterization[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84(1): 484-494. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.12.012.
- KYOMUGASHO C, CHRISTIAENS S, SHPIGELMAN A, et al. FT-IR spectroscopy, a reliable method for routine analysis of the degree of methylesterification of pectin in different fruit- and vegetable-based matrices[J]. *Food Chemistry*, 2015, 176: 82-90. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.12.033.
- CHEN R Z, JIN C G, TONG Z G, et al. Optimization extraction, characterization and antioxidant activities of pectic polysaccharide from tangerine peels[J]. *Carbohydrate Polymer*, 2016, 136: 187-197. DOI:10.1016/j.carbpol.2015.09.036.
- AHMADI S, NAGPAL R, Wang S H, et al. Prebiotics from acorn and sago prevent high-fat-diet-induced insulin resistance via microbiome-gut-brain axis modulation[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2019, 67: 1-13. DOI:10.1016/j.jnutbio.2019.01.011.
- ZEPEDA-HERNANDEZ A, GARCIA-AMEZQUITA L E, REQUENA T, et al. Probiotics, prebiotics, and synbiotics added to dairy products: uses and applications to manage type 2 diabetes[J]. *Food Research International*, 2021, 142: 110208. DOI:10.1016/j.foodres.2021.110208.
- DAS T K, PRADHAN S, CHAKRABARTI S, et al. Current status of probiotic and related health benefits[J]. *Applied Food Research*, 2022, 2(2): 100185. DOI:10.1016/j.afres.2022.100185.
- RIOS-COVIAN D, RUAS-MADIEDO P, MARGOLLES A, et al. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health[J]. *Frontiers Microbiology*, 2016, 7: 185. DOI:10.3389/fmicb.2016.00185.
- LEE J, D'AIGLE J, ATADJA L, et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids promote poststroke recovery in aged mice[J]. *Circulation Research*, 2020, 127(4): 453-465. DOI:10.1161/circresaha.119.316448.
- FAN R Y, ZHU C Y, QIU D Y, et al. Activation of RAW264.7 macrophages by an acidic polysaccharide derived from *Citrus grandis* 'Tomentosa'[J]. *International Journal of Macromolecules*, 2020, 156: 1323-1329. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.11.172.
- PARK H R, SHIN K S. Structural elucidation of an anti-metastatic polysaccharide from the peels of Korean citrus Hallabong[J]. *Carbohydrate Polymer*, 2019, 225: 115222. DOI:10.1016/j.carbpol.2019.115222.
- WANG C, QIU W Y, CHEN T T, et al. Effects of structural and conformational characteristics of citrus pectin on its functional properties[J]. *Food Chemistry*, 2021, 339: 128064. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128064.
- CAFFALL K H, MOHNEN D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides[J]. *Carbohydrate Research*, 2009, 344(14): 1879-1900. DOI:10.1016/j.carres.2009.05.021.
- HOU Z Q, CHEN S G, YE X Q. High pressure processing accelerated the release of RG-I pectic polysaccharides from citrus peel[J]. *Carbohydrate Polymer*, 2021, 263: 118005. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118005.
- ZHOU T, JIANG Y M, WEN L R, et al. Characterization of polysaccharide structure in *Citrus reticulata* 'Chachi' peel during storage and their bioactivity[J]. *Carbohydrate Research*, 2021, 508: 108398. DOI:10.1016/j.carres.2021.108398.
- VAN DEN ABEELE P, DUYSBURGH C, CLEENWERCK I, et al. Consistent prebiotic effects of carrot RG-I on the gut microbiota of four human adult donors in the SHIME<sup>®</sup> model despite baseline individual variability[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(10): 9102142. DOI:10.3390/microorganisms9102142.