

枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖的构成与酶活抑制差异

陈国儒, 张芮凡, 高楠, 赵硕, 任静, 覃绛雪, 范艳丽*

(宁夏大学食品科学与工程学院, 宁夏银川 750021)

摘要: 为探明枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖的组成与活性差异, 分别提取枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖, 采用紫外—可见分光光度法和傅里叶红外光谱法分析了果皮与果肉细胞壁果胶多糖的基本结构特征, 采用阴离子交换色谱和凝胶渗透色谱法检测果皮与果肉细胞壁果胶多糖的单糖组成与分子量分布, 并通过酶活抑制实验分析二者对胰脂肪酶和 α -淀粉酶的抑制作用。结果显示, 枸杞果皮的细胞壁果胶多糖含量均显著高于果肉 ($P<0.05$); 果皮与果肉细胞壁果胶多糖均主要由阿拉伯糖、半乳糖、半乳糖醛酸、鼠李糖、木糖和葡萄糖组成, 且果皮果胶的分子量更高; 果肉果胶多糖的胰脂肪酶半抑制浓度 (IC_{50}) 为 $4.334\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 抑制效果较果皮好; 而果皮果胶对 α -淀粉酶的抑制效果 (IC_{50} 为 $6.939\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 优于果肉细胞壁果胶, 且二者均为混合型抑制, 表明果皮和果肉果胶多糖均具有潜在的调节机体糖脂代谢的作用。研究结果为枸杞加工皮渣副产物的高值化利用提供了理论依据和开发思路。

关键词: 枸杞; 果皮; 果肉; 细胞壁果胶多糖; 酶活抑制活性

文章编号: 1673-9078(2026)02-133-141

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.2.1751

Differences in Composition and Enzymatic Activity Inhibition of Cell Wall Pectin Polysaccharides in Goji Berry Peel and Flesh

CHEN Guoru, ZHANG Ruifan, GAO Nan, ZHAO Shuo, REN Jing, QIN Jiangxue, FAN Yanli*

(School of Food Science and Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: The differences in composition and activity of pectin polysaccharides in the cell walls of Goji berry peel and flesh were investigated using the cell wall pectin polysaccharides extracted from them. The basic structural characteristics of the cell wall pectin polysaccharides were analyzed using ultraviolet–visible spectrophotometry and Fourier–transform infrared spectroscopy. Monosaccharide composition and molecular weight distribution of the cell wall pectin polysaccharides were determined using anion exchange chromatography and gel permeation chromatography. The inhibitory effects on pancreatic lipase and α -amylase were measured via enzymatic activity inhibition experiments. The results indicated that the cell wall pectin polysaccharide content in Goji berry peel was significantly higher than that in the flesh ($P<0.05$). Cell wall pectin polysaccharides of both the peel and flesh were primarily composed of arabinose, galactose, galacturonic acid, rhamnose, xylose, and glucose, with peel pectin polysaccharides having a higher molecular weight. The half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of flesh pectin polysaccharides against pancreatic lipase was $4.334\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, indicating a stronger inhibitory effect than the peel. However, peel pectin polysaccharides

引文格式:

陈国儒,张芮凡,高楠,等.枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖的构成与酶活抑制差异[J].现代食品科技,2026,42(2):133-141.

CHEN Guoru, ZHANG Ruifan, GAO Nan, et al. Differences in composition and enzymatic activity inhibition of cell wall pectin polysaccharides in goji berry peel and flesh [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(2): 133-141.

收稿日期: 2024-11-24; 修回日期: 2025-02-05; 接受日期: 2025-02-14

基金项目: 国家级大学生创新创业计划项目 (202310749038); 国家自然科学基金项目 (32160534)

作者简介: 陈国儒 (2003-), 男, 本科生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 2286385534@163.com

通讯作者: 范艳丽 (1980-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与健康, E-mail: fanyanli_fyl@163.com

demonstrated a superior inhibitory effect on α -amylase (IC_{50} : $6.939 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) to the flesh pectin polysaccharides. Both types of pectin polysaccharides exhibited mixed-type inhibition, suggesting that the peel and flesh pectin polysaccharides can potentially regulate glucose and lipid metabolism. The results of this study provide a theoretical basis and novel approach for the high-value utilization of peel residue by-products derived from Goji berry processing.

Key words: goji berry; peel; flesh; cell wall pectin polysaccharides; enzyme inhibitory activity

随着人们生活方式和饮食习惯的改变,糖尿病、脂肪肝、高脂血症等糖脂代谢类疾病的发生率在全球呈现快速增长趋势,这类疾病的预防和治疗已成为目前重要的公共卫生问题^[1],人体内脂质和糖类积累过多会导致肥胖、非酒精性脂肪性肝炎和糖尿病等代谢性疾病^[2]。研究表明,胰脂肪酶可以将甘油三酯和胆固醇水解成甘油单脂和脂肪酸,被小肠上皮细胞吸收。因此可以通过抑制胰脂肪酶活性,减少人体对于脂肪的水解和吸收,从而达到降脂目的^[3]。同时, α -淀粉酶的抑制剂可作为糖类的阻滞剂,抑制糖类在胃肠道中的消化,减少糖类的摄入和吸收^[4]。目前,奥利司他和阿卡波糖等药物已应用于临床以抑制胰脂肪酶及 α -淀粉酶的活性来达到降脂和降糖作用^[5]。然而,这类药物常给肠胃带来极大副作用,包括恶心、胀气、腹泻等^[6]。如今,天然的植物或其提取物已被发现对消化酶具有显著的抑制作用^[7]。

枸杞属多年生灌木,是我国传统的食药同源植物,主要分布于欧亚大陆、太平洋、南非以及南北美的温暖地带,因其突出的营养和经济价值而被广泛种植^[8]。研究发现,枸杞多糖在保护视力、免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、降血糖、保护神经系统等方面具有重要作用^[9]。目前关于枸杞多糖的研究大多集中在枸杞糖肽复合物,对枸杞酸性多糖(主要为果胶多糖)研究较少,且枸杞果皮和果肉不同部位果胶多糖的组成和活性差异更是鲜有研究。而在枸杞制浆等加工过程中产生大量的皮渣废弃物,目前除了用作饲料外还未有更好的开发利用途径。在这部分皮渣废弃物中富含着来源于枸杞果皮的细胞壁果胶多糖,具有较高生物学活性和利用价值。因此,本研究分别提取枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖,通过多种光谱和色谱方法以及体外酶活抑制实验等探究果皮和果肉不同部位枸杞细胞壁果胶多糖的组成与活性差异,以期对枸杞加工废弃物皮渣的高值化利用提供科学依据与参考思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

“杞鑫十号”成熟枸杞:宁夏银川杞里香种植基地,采收取样时间2023年7月中旬;丙酮、石油醚、

无水乙醇、硫酸、盐酸,分析纯(均为分析纯),天津市大茂化学试剂厂;葡萄糖、D-半乳糖醛酸羧甲基纤维素(分析纯),上海瑞永生物科技有限公司;咔唑(分析纯),天津市光复精细化工研究所;PBS缓冲液(分析纯),上海海利克思科技有限公司;蒽酮(分析纯),国药集团化学试剂公司;胰脂肪酶、 α -淀粉酶(均为分析纯),上海市麦克林生物科技有限公司;奥利司他、阿卡波糖(均为分析纯),大连美伦生物技术有限公司。

1.2 实验仪器与设备

ME203E型电子天平, Mettler(上海)有限公司;XMTD-82222真空低温干燥箱,上海精宏设备有限公司;RE-52旋转蒸发仪,上海亚荣仪器公司;TLD-5-A离心机,上海安亭科学仪器厂;Energy61九阳破壁机,九阳电器有限公司;PHB-4便携式pH值测定仪,上海仪电科学仪器股份有限公司;DF2数显磁力搅拌器,常州诺基仪器公司;SHB-III A循环水式多用真空泵,郑州长城科贸;752紫外分光光度计,上海棱光公司;HWS12恒温水浴锅,上海五相仪器仪表;FTIR S2傅里叶变换红外光谱,美国PerkinElme公司;RCO3000T-5-VBC恒温恒湿CO₂细胞培养箱,默飞世尔科技(中国)有限公司等。

1.3 实验方法

1.3.1 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖的分离纯化

1.3.1.1 枸杞果皮与果肉细胞壁的提取

采用镊子分离得到枸杞果肉与枸杞果皮。取5 g枸杞果皮或枸杞果肉组织放入研钵内,加入冰醋酸研磨均匀,再用100 mL 70%(φ)的热乙醇混合匀浆,匀速搅拌,在80~83℃下缓慢回流20 min,以12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速在4℃下离心20 min。沉淀用70%乙醇(φ)、96%乙醇(φ)和10 mL无水乙醇依次洗涤6次后。用丙酮洗涤,40℃干燥,得到醇不溶物质即枸杞果皮和果肉细胞壁^[10]。

1.3.1.2 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖的提取

将上述枸杞果皮与果肉细胞壁物质分别放置于圆底烧瓶中,按1:20加入蒸馏水,使其均匀分散于水中,82℃下缓慢回流2 h,过滤,滤液和滤渣沥干保

存。用水浴锅蒸发浓缩滤液,加入乙醇,直至(乙醇:水=4:1,体积比)。放置于4℃恒温冷藏柜中冷藏8h,离心5min(5000 r·min⁻¹),弃去上层清液。下层沉淀在45℃下真空干燥得到枸杞果皮与果肉细胞壁果胶。根据公式计算(1)枸杞果皮及果肉细胞壁果胶多糖得率^[11]:

$$Y = \frac{M_1}{M} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

Y ——果胶得率,%(质量分数);

M_1 ——枸杞果皮或果肉细胞壁果胶多糖质量,g;

M ——枸杞果皮或果肉细胞壁组织质量,g。

1.3.2 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖的总糖含量测定

精确量取1mL果胶溶液置于洁净的试管中,加入5mL浓硫酸,混合均匀。将混合液置于沸水浴中加热20min。反应完成后,立即将试管冷却至室温,并加入0.2mL 1.5 g·L⁻¹的咔唑乙醇溶液,充分混合均匀。将混合液置于暗室静置30min,以保证反应的稳定性。在530nm波长下检测混合物吸光度值。以D-半乳糖醛酸为基准,绘制标准曲线^[10],并计算样品总糖含量。

1.3.3 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖的结构基本表征

1.3.3.1 紫外-可见光谱测定

分别称取5mg的枸杞果皮细胞壁果胶与枸杞果肉细胞壁果胶,加入5mL蒸馏水,在190~400nm处用紫外可见记录光谱仪扫描。

1.3.3.2 傅里叶变换红外光谱测定

取0.005g烘干后的枸杞细胞壁果胶多糖置于研钵内,加入0.5gKBr粉末,搅拌均匀。持续研磨约10min,再以2μm筛分处理,压成片即可。仪器分辨率4.0cm⁻¹,测试范围400~4000cm⁻¹,扫描次数32次。

1.3.4 枸杞细胞壁果胶多糖的单糖组成测定

采用离子色谱法测定单糖组成。色谱条件:色谱柱:Dionex CarbopacTM PA20(3×150mm);A:H₂O;B:15mmol·L⁻¹NaOH;C:15mmol·L⁻¹NaOH & 100mmol·L⁻¹NaAc;流速:0.3mL·min⁻¹;进样量:25μL;柱温:30℃;检测器:电化学检测器。通过单糖摩尔质量计算其摩尔比^[12]。

1.3.5 凝胶渗透色谱测定枸杞细胞壁果胶多糖的相对分子量

标准品溶液配制:精确称量标准品(葡聚糖)各5mg,溶于1mL流动相溶液中,配制成5mg·mL⁻¹溶液,将样品转置于1.8mL进样小瓶中。

样品溶液配制:精密称取样品5mg,溶解于1mL

的流动相溶液中,配制成5mg·mL⁻¹溶液,涡旋溶解后,12000r·min⁻¹下离心10min。取上清液,经0.22μm水系微孔过滤膜过滤后,将样品转置于1.8mL进样小瓶中。

色谱条件:流动相:0.05mol·L⁻¹NaCl溶液;色谱柱:BRT105-103-101串联凝胶柱(8×300mm);流速:0.7mL·min⁻¹;柱温:40℃;进样量:25μL;检测器:示差检测器RID-20A;分析时间:70min。

样品测定:将标准品置于进样盘中,选择上述色谱方法进行分析,得出保留时间。绘制lg M_p -RT标准曲线(M_p 为峰位分子量),lg M_n -RT标准曲线(M_n 为数均分子量),lg M_w -RT标准曲线(M_w 为重均分子量),得出分子量计算公式。同样方法分析样品,将保留时间代入公式可计算得出 M_p 、 M_n 、 M_w ^[13]。

1.3.6 枸杞果皮细胞壁与果肉细胞壁中果胶多糖的酶活抑制差异

1.3.6.1 胰脂肪酶活性抑制试验

(1)测定枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶抑制作用

分别取50μL Tris-HCl缓冲液(50mmol·L⁻¹,pH值8.0),50μL枸杞果皮及果肉细胞壁果胶多糖溶液,50μL胰脂肪酶(10mg·mL⁻¹),混匀,在37℃水浴中反应10min,再加入50μL底物棕榈酸对硝基苯酯溶液(0.5mmol·L⁻¹),继续在37℃水浴中反应30min,在波长为405nm处测定吸光度值,以奥利司他(Orlistat)为阳性对照^[14]。根据公式(2)计算枸杞果皮及果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶抑制率:

$$B = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4}) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

B ——胰脂肪酶抑制率(IR),%;

A_1 ——抑制剂组吸光度;

A_2 ——背景对照组吸光度;

A_3 ——空白组吸光度;

A_4 ——空白对照组吸光度。

(2)枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶抑制类型分析

以不同质量浓度的枸杞果皮及果肉细胞壁果胶多糖作为变量,以胰脂肪酶抑制率的测量值为依赖变量,构建了抑制效果曲线。通过对曲线进行线性回归分析,计算得出半抑制浓度(IC₅₀)。底物浓度保持0.8mmol·L⁻¹,分别测定加入0.5mg·mL⁻¹抑制剂和未加入抑制剂时,每分钟吸光值的变化速率。通过酶的反应速率与酶的质量浓度的关系,判断枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶的可逆性。

分别测定棕榈酸对硝基苯酯溶液浓度为1、2、

4、8 mmol·L⁻¹时的酶促反应速率，酶液的质量浓度定为 10 mg·mL⁻¹，枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖溶液的质量浓度分别为 0、0.5 和 1 mg·mL⁻¹。绘制 Lineweaver-Burk 双倒数图，通过分析曲线中最大反应速率和米氏常数的变化。判断枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶的可逆抑制类型。

1.3.6.2 α -淀粉酶活性抑制试验

(1) 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶抑制作用的测定

分别量取 0.5 mL 的枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖溶液、0.5 mg·mL⁻¹ 的 α -淀粉酶溶液和 0.1 mol·L⁻¹ 缓冲溶液 (pH 值 7.0)。充分混合均匀，于 37 °C 恒温水浴中反应 10 min，再加入 0.5 mL 1% (质量分数) 的可溶性淀粉溶液，在水浴中继续反应 10 min 后。滴加 0.5 mL DNS 试剂，于沸水浴中加热 10 min，以完成显色反应。于 540 nm 波长下测定吸光度值，并以阿卡波糖 (Acarbose) 作为阳性对照^[15]。依据公式 (3) 计算枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶的抑制率：

$$C = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4}) \times 100\% \quad (3)$$

式中：

C—— α -淀粉酶抑制率，%；

A₁——试验组吸光度；

A₂——试验空白组吸光度；

A₃——对照组吸光度；

A₄——背景组吸光度。

(2) 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对抑制 α -淀粉酶类型分析

对枸杞果皮及果肉细胞壁果胶多糖进行浓度梯度的处理后，将系列样本浓度作为横坐标，以 α -淀粉酶活性抑制率作为纵坐标，采用线性回归拟合分析，绘制抑制曲线，计算出 α -淀粉酶的半抑制浓度 (IC₅₀)。

底物浓度保持 1% (质量分数)，分别测定在添加 0.5 mg·mL⁻¹ 酶抑制剂和未添加酶抑制剂时，每 min 吸光值的变化速率。通过酶的反应速率与酶的质量浓度的关系，判断枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶的可逆性。

当测定可溶性淀粉溶液浓度为 0.5%、0.75%、1%、1.25%、1.5% (质量分数) 时，酶液的质量浓度定为 0.5 mg·mL⁻¹，而枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖溶液的质量浓度则分别为 0、0.5 和 1 mg·mL⁻¹，测定酶促反应速率，反应同上述步骤。绘制 Lineweaver-Burk 双倒数图，分析曲线中最大反应速率和米氏常数的变化，判断枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶的可逆抑制类型。

1.4 数据分析

每组试验重复 3 次，结果用平均值 ± 标准差表示；采用 Origin 8.5 软件绘图，SPSS 7.0 软件进行单因素方差分析；当 $P < 0.05$ 时表明差异显著。

2 结果与讨论

2.1 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖含量测定

细胞壁主要由果胶、半纤维素、纤维素以及一些镶嵌在骨架网络中的蛋白及蛋白聚糖构成^[16]。实验结果表明，枸杞果皮与果肉的细胞壁果胶多糖的得率分别为 12.79% 和 0.98% (质量分数)，其总糖含量分别为 90.7% 和 68.9% (质量分数)。

2.2 枸杞细胞壁果胶紫外光谱扫描分析

枸杞果皮与果肉细胞壁果胶在 200~600 nm 波长范围内的吸收曲线如图 1 所示，枸杞果皮与果肉细胞壁果胶紫外吸收值在 260~290 nm 波长区域内均有较弱吸收峰，说明枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖中都存在少量蛋白质^[22]。此外，在 300~600 nm 波长内没有发现明显的特征吸收峰。

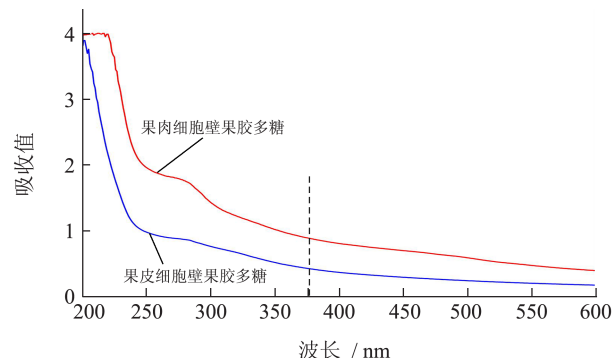


图 1 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖紫外光谱扫描图

Fig.1 Ultraviolet spectroscopy scan of cell wall pectin polysaccharide in Goji berry

2.3 枸杞细胞壁果胶多糖红外光谱扫描分析

图 2 为枸杞果肉和果皮细胞壁果胶多糖红外光谱图。三组中均有不同程度的特征吸收峰，此为多糖的特征吸收峰^[18]。多糖在 3 300~3 285 cm⁻¹ 的吸收峰是由分子间或分子内 O-H 或 N-H 的伸缩振动峰，2 925~2 850 cm⁻¹ 范围内的吸收峰是 -CH₃ 和 -CH₂- 的 C-H 伸缩振动峰，由此判断 6 种成分均为多糖。1 738~1 623 cm⁻¹ 的吸收峰可归因于蛋白质一级结构和二级结构中 N-H 的边角振动、羧基的 C=O 对称伸缩振动或者多糖中结晶水^[19,20]。1 439~1 396 cm⁻¹ 的吸收峰为多糖分子的 C-O 和 O-O 振动^[21]，由此可以判断多

糖中含有-CHO 和-COOH, 表明含有糖醛酸, 同时验证了多糖中可能含有少量与糖相结合的蛋白质^[15]。在 1 017~1 013 cm⁻¹ 的强吸收峰是因为吡喃糖环上 C-O-C 不对称振动, 是吡喃糖的特征吸收峰^[22]。

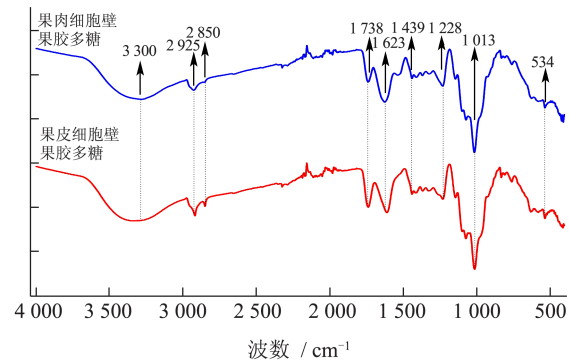


图 2 枸杞细胞壁果胶多糖红外光谱扫描图

Fig.2 Infrared spectroscopy scanning of pectin polysaccharides in the cell wall of Goji berry

2.4 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖的单糖组成

如图 3 所示, 枸杞果肉与果皮的细胞壁果胶多糖检测出鼠李糖、阿拉伯糖、盐酸氨基葡萄糖、半乳糖、葡萄糖、木糖和半乳糖醛酸, 其摩尔比分别为 0.056:0.302:0.003:0.300:0.070:0.043:0.226 和 0.051:0.334:0.000:0.300:0.058:0.041:0.216。

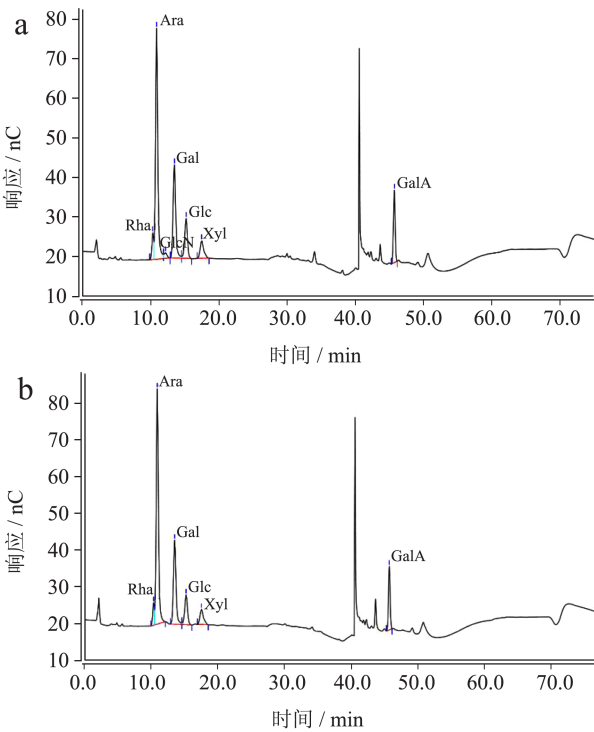


图 3 枸杞细胞壁果胶单糖组成

Fig.3 Composition of cell wall pectin monosaccharides of Goji berry

注: a. 果肉细胞壁; b. 果皮细胞壁。

计算果肉细胞壁果胶多糖的各单糖比值, 以含量最低的盐酸氨基葡萄糖(0.003)为基准, 得到鼠李糖:阿拉伯糖:盐酸氨基葡萄糖:半乳糖:葡萄糖:木糖:半乳糖醛酸=18.67:100.67:1:100:23.33:14.33:75.33; 果皮细胞壁果胶多糖的单糖组成以含量最低的木糖为基准, 得到鼠李糖:阿拉伯糖:半乳糖:葡萄糖:木糖:半乳糖醛酸=1.24:8.15:7.32:1.41:1:5.27。结果表明, 枸杞果皮细胞壁果胶多糖与果肉细胞壁果胶多糖皆是一种酸性多糖, 以 RG-I 型结构为主。与图 3b 相比, 图 3a 中枸杞果肉细胞壁果皮的单糖除阿拉伯糖外, 其他单糖含量皆高于果皮细胞壁果胶多糖, 且枸杞果肉细胞壁果胶多糖中含有盐酸氨基葡萄糖, 而果皮细胞壁果胶多糖中未检出。研究报道, 盐酸氨基葡萄糖被广泛用于缓解骨关节炎^[23]。

2.5 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖的分子量分布

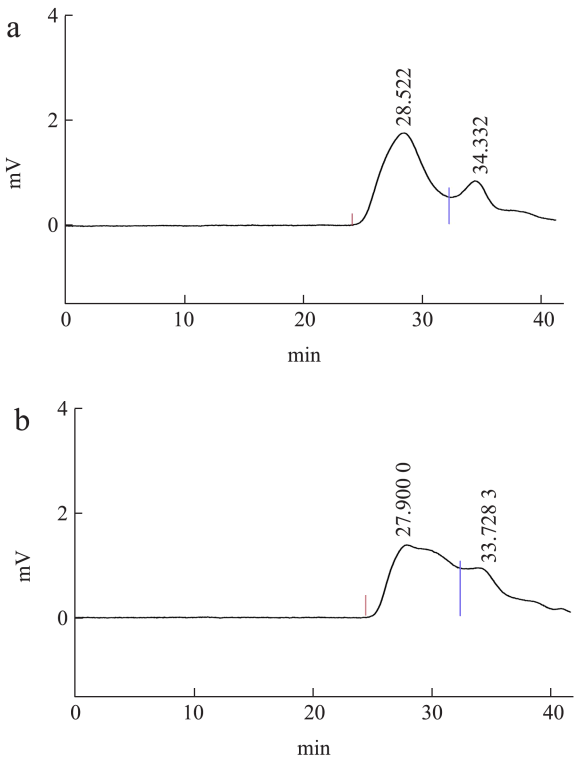


图 4 枸杞细胞壁果胶多糖样品凝胶渗透色谱图

Fig.4 Gel permeation chromatogram of cell wall pectin polysaccharide samples from Goji berry

注: a. 果皮; b. 果肉。

枸杞果肉和果皮细胞壁果胶多糖的分子量分布如图 4 及表 1 所示。根据枸杞果肉和果皮细胞壁果胶多糖的分子量分布的峰值 (M_p)、加权平均分子量 (M_w) 和数均分子量 (M_n) 可知, 二者的多分散性指数 (PDI) 均接近 1, 表明二者的分子量分布均相对集

中。分子量的分布对果胶多糖的功能特性如凝胶形成能力、水结合能力和乳化稳定性等，具有重要影响。较低的 PDI 值通常意味着更均一的分子大小，有助于提高果胶多糖在食品系统中的稳定性和功能性^[24]。与果皮细胞壁果胶多糖相比，果肉细胞壁果胶多糖的分子量整体相对较小。将根据标准品分子量曲线和洗脱时间，得到 $\lg M_w$ -RT 校正曲线方程为 $y=-0.205x+11.91$ ($R^2=0.993$)，可得枸杞果肉细胞壁果胶多糖重均分子量为 460.074 kDa；枸杞果皮细胞壁果胶多糖重均分子量为 926.628 kDa。有报道指出，果胶多糖的分子量和组成对其在食品加工中的表现有显著影响，此外也与其生物活性有关^[25-27]。

2.6 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖的活性差异

2.6.1 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶活性差异

2.6.1.1 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶的抑制作用

枸杞提取物是预防心血管疾病的良好膳食补充剂^[28]。胰脂肪酶是消化系统中的关键酶，负责将食物中的脂肪分解为可吸收的形式。抑制胰脂肪酶的活性可以减少脂肪的吸收，从而对抗肥胖和相关代谢疾病^[29]。在这一领域，Orlistat 作为一种已知的胰脂肪酶抑制剂，已被广泛研究并应用于临床^[30]。如图 5a 所示，随着质量浓度的不同，枸杞果皮细胞壁果胶多糖、果肉细胞壁果胶多糖以及 Orlistat 对胰脂肪酶抑制率会随之改变。枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶的抑制能力在 0~10 mg·mL⁻¹ 随着果胶质量浓度的增加而随之升高，但较弱于阳性对照 Orlistat。枸杞果肉细胞壁果胶多糖和枸杞果皮细胞壁果胶多糖的胰脂肪酶半抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 4.334、4.641 mg·mL⁻¹。在相同质量浓度下，枸杞果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶活性抑制能力更强。Liao 等^[31]发现莲子多糖能有效改善 1 型糖尿病小鼠体内的血脂水平，高航等^[32]发现莲子皮多糖能通过胰脂酶活性发挥其抗肥胖作用。与莲子不同部位多糖相似，枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶具有显著抑制作用，有助于改善血脂水平^[29]。结果表明，虽然 Orlistat 对胰脂肪酶的抑制能

力更强，但是枸杞细胞壁果胶多糖作为天然植物提取物，枸杞细胞壁枸杞果胶不仅有着广泛的应用，而且对人体的不良反应也较低^[33]。

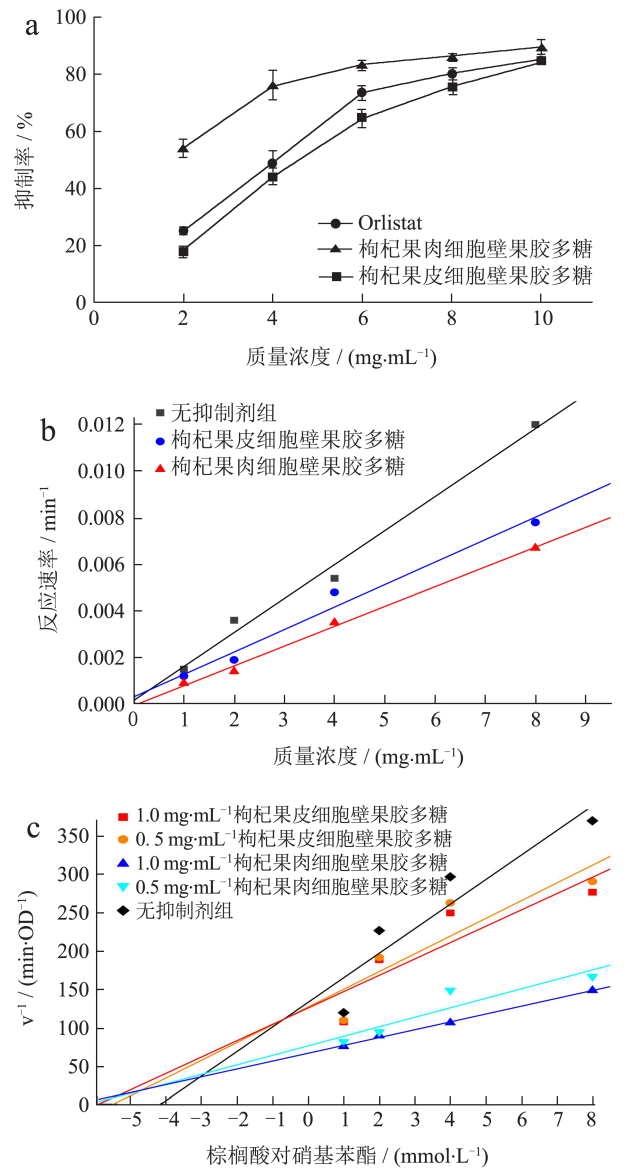


图 5 枸杞细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶的抑制活性差异
Fig.5 Differential inhibitory activity of pectin polysaccharides from Goji berry cell wall on pancreatic lipase

注: a. 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶的抑制率;
b. 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶的抑制作用类型;
c. 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶的可逆抑制类型。

表 1 枸杞细胞壁果胶多糖的分子量分布

Table 1 Molecular weight distribution of cell wall pectin polysaccharides from Goji berry

果胶存在部位	RT/min	$\lg M_p$	$\lg M_w$	$\lg M_n$	M_p	M_w	M_n	峰面积比/%
果皮	28.522	6.1	6.1	6.1	1 257 387	1 237 984	1 209 804	73.256
	34.332	4.9	4.9	4.9	78 978	75 668	73 945	26.744
果肉	27.900	5.8	5.8	5.8	624 274	610 415	596 520	70.703
	33.728	5.0	5.0	5.0	101 417	97 406	95 189	29.297

2.6.1.2 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶抑制类型分析

由图 5b 分析可知, 枸杞果肉细胞壁果胶多糖组、枸杞果皮细胞壁果胶多糖组和无抑制剂组拟合得到的三条直线, 加入抑制剂后直线斜率降低, 说明枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对胰脂肪酶为可逆抑制。枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖能与酶可逆结合, 从而影响酶催化效率, 使酶活力降低。等质量浓度时, 枸杞果肉细胞壁果胶多糖比枸杞果皮细胞壁果胶多糖直线斜率下降更多。

如图 5c 所示, 以反应速率对棕榈酸对硝基苯酯质量浓度进行 Lineweaver-Burk 双倒数作图, 所绘制直线基本交于位于第二象限一点, 直线的斜率随着枸杞细胞壁果胶多糖质量浓度的上升不断减小, $V_{\max}$ 减小, K_m 增大, 表明其对胰脂肪酶为混合型可逆抑制。在混合型可逆抑制中, 抑制剂不与底物竞争酶的活性中心, 而是与酶的其他位点结合。这种抑制剂可以在酶的活性中心之外的位点与酶相互作用, 从而同时影响底物的结合和酶的催化活性^[34]。

综上, 无论是枸杞果肉细胞壁果胶多糖还是枸杞果皮细胞壁果胶多糖对于胰脂肪酶的抑制作用皆为混合抑制。且枸杞果肉细胞壁果胶多糖最大反应速率 $V_{\max}$ 、 K_m 变化幅度大于果皮细胞壁果胶多糖, K_m 果肉 $> K_m$ 果皮, 果皮与果肉细胞壁果胶多糖所对应的抑制常数 K_i 值大小为 $K_{i \text{ 果皮}} > K_{i \text{ 果肉}}$, 根据酶反应动力学, 枸杞果皮细胞壁果胶多糖与底物棕榈酸对硝基苯酯接触形成复合物效率较高。赵绮等^[35]发现分子量的差异与降血脂活性的差异有关, 分子量越小其对胰脂肪酶抑制能力越强, 降血脂活性越好。

2.6.2 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶活性差异

2.6.2.1 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶抑制作用

枸杞多糖对糖尿病、非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 和高脂饮食 (HFD) 诱导的相关慢性代谢疾病具有显著改善作用^[36]。如图 6a 所示, 随着质量浓度的不同, 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖以及阿卡波糖 (Acarbose) 对 α -淀粉酶抑制能力随之变化。在 $0 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶的抑制率随着其果胶质量浓度的增加也随之升高, 但抑制效果明显低于阳性对照阿卡波糖, 二者的 α -淀粉酶半抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 6.939 、 $7.220 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。杨小倩等^[37]发现玉蜀黍秸秆皮与秸秆芯多糖对 α -淀粉酶有抑制活性作用, 对 α -淀粉酶抑制能力秸秆皮大于秸秆芯, 并且在一定的范围内随着质量浓度的升高抑制作用增

强。何俊叶等^[38]发现黄皮果肉多糖与果皮多糖对 α -淀粉酶有抑制能力, IC_{50} 值分别为 13.803 、 0.040 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 黄皮果皮多糖比果肉多糖的抑制能力更强。与玉蜀黍多糖、黄皮多糖相似, 枸杞果皮细胞壁果胶多糖的 α -淀粉酶抑制能力高于枸杞果肉细胞壁果胶多糖, 但枸杞作为传统的药食同源的食品, 拥有更广阔的开发利用空间。

2.6.2.2 枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶抑制类型分析

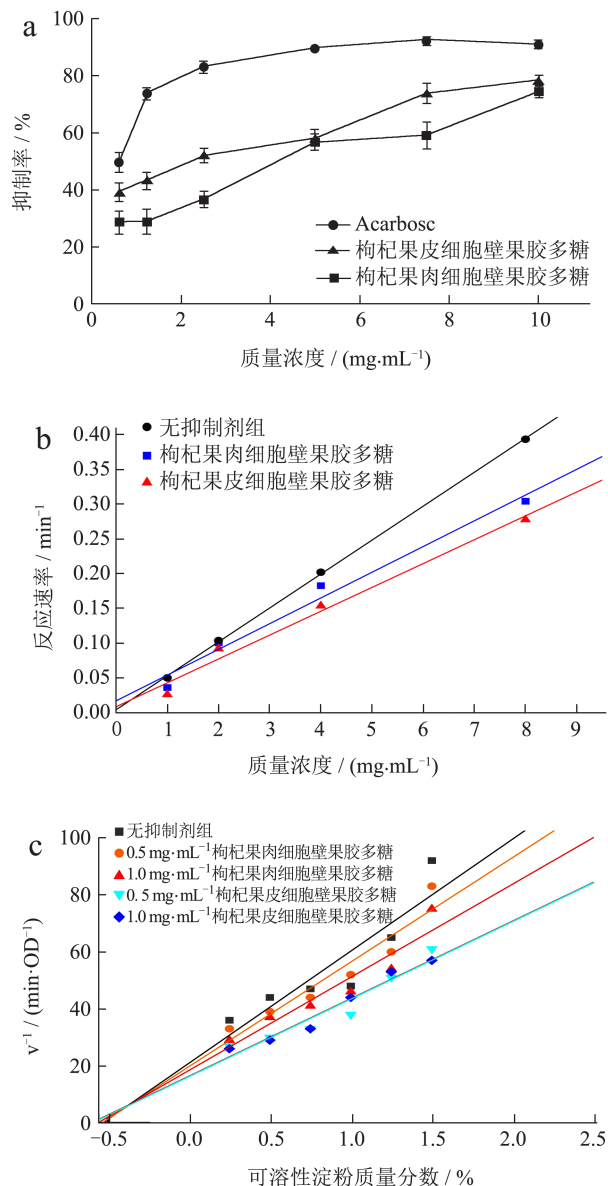


图 6 枸杞细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶活性差异分析

Fig.6 Differential analysis of α -Amylase activity by cell wall pectin polysaccharide in Goji berry

注: a. 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶的抑制率; b. 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶的抑制作用类型; c. 枸杞果皮与果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶的可逆抑制类型。

由图 6b 可知, 枸杞果皮细胞壁果胶多糖组、枸杞果肉细胞壁果胶多糖组和无抑制剂组拟合得到的三条直线, 同时加入添加抑制剂后直线斜率降低, 表明枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶为可逆抑制。枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖能与酶结合, 而使酶活力的降低, 影响酶催化效率。等质量浓度时, 枸杞果皮细胞壁果胶多糖比枸杞果肉细胞壁果胶多糖直线斜率下降更多。

如图 6c 所示, 以反应速率对可溶性淀粉浓度进行 Lineweaver-Burk 双倒数作图, 所绘制直线基本交于第二象限一点, 随着枸杞细胞壁果胶多糖浓度上升, 直线斜率减小, $V_{\max}$ 减小, K_m 增大, 枸杞细胞壁果胶多糖对酶促反应的 $V_{\max}$ 和 K_m 都会产生影响。可以发现 K_m 对枸杞细胞壁果胶多糖呈正相关关系, $V_{\max}$ 则相反, 表明枸杞细胞壁果胶多糖对 α -淀粉酶的抑制类型为混合型。混合抑制型既不和底物竞争酶的活性中心, 也不在活性中心与酶结合。相反, 在其他位点上与酶结合, 从而影响底物结合和酶反应效率^[39]。

无论是枸杞果肉细胞壁果胶多糖还是枸杞果皮细胞壁果胶多糖对于 α -淀粉酶的抑制作用皆为混合抑制。添加枸杞果皮细胞壁果胶多糖后最大反应速率 $V_{\max}$ 、 K_m 变化幅度大于果肉细胞壁果胶多糖, $K_{m \text{ 果皮}} > K_{m \text{ 果肉}}$, 同时果皮与果肉细胞壁果胶多糖所对应的抑制常数 K_i 值, $K_{i \text{ 果肉}} > K_{i \text{ 果皮}}$, 根据酶反应动力学, 酶抑制剂复合物 EI 与底物棕榈酸对硝基苯酯接触形成 EIS 复合物效率提高, 抑制 α -淀粉酶的能力也随之提高。多糖具有 α -淀粉酶抑制作用, 可能与其高醛酸含量、高酯化程度和分子量有关, 体外降血糖能力可能与是否有高半乳糖醛酸含量和分子量高低紧密相关^[40]。

3 结论

本研究分析了枸杞果皮和果肉细胞壁果胶多糖的组成和体外酶活抑制活性, 发现枸杞果皮的细胞壁果胶多糖含量高于果肉。对果胶组分进行分析, 发现果皮与果肉细胞壁果胶均由阿拉伯糖、半乳糖、鼠李糖、木糖葡萄糖等单糖组成, 主要为酸性聚糖, 且果肉细胞壁果胶的分子量高于果皮。此外, 果肉细胞壁果胶在抑制胰脂肪酶方面效果更好, 而果皮细胞壁果胶在抑制 α -淀粉酶方面表现更佳, 果皮和果肉细胞壁果胶均有望成为改善糖脂代谢的天然活性原料, 为枸杞加工废弃物皮渣的高值化利用提供了研究基础。

参考文献

[1] GILES L A. Hyperlipidemia prevention and management utilizing lifestyle changes [J]. Journal of Midwifery and Women's Health,

2024, 69(3): 361-369.

- [2] MURAKAMI S, HIRAZAWA C, MIZUTANI T, et al. Edible red seaweed *Hypnea asiatica* ameliorates high-fat diet induced metabolic diseases in mice [J]. Journal of Medicinal Food, 2023, 26(11): 799-808.
- [3] SUN H, FAN R, FANG R, et al. Dynamics changes in metabolites and pancreatic lipase inhibitory ability of instant dark tea during liquid-state fermentation by *Aspergillus niger* [J]. Food Chemistry, 2024, 448: 139136.
- [4] GONG L, FENG D, WANG T, et al. Inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: Potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(12): 6320-6337.
- [5] DISTEFANO E, TSOPMO A, OLIVIERO T, et al. Bioprocessing of common pulses changed seed microstructures, and improved dipeptidyl peptidase-IV and α -glucosidase inhibitory activities [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 15308.
- [6] 刘卫, 喻红兵, 沙格列汀联合阿卡波糖治疗新发2型糖尿病的效果研究[J]. 中外医学研究, 2021, 19(14): 39-41.
- [7] ZHAO M, BAI J, BU X, et al. Characterization of selenized polysaccharides from *Ribes nigrum* L. and its inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 259: 117729.
- [8] 梁小飞, 张芳, 姜胤秀, 等. 枸杞多糖构-效关系研究进展与展望[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(9): 2387-2395.
- [9] 卢有媛, 郭盛, 张芳, 等. 枸杞属药用植物资源系统利用与产业化开发[J]. 中国现代中药, 2019, 21(1): 29-36.
- [10] 徐昊. 枸杞不同生长期壁多糖变化的相关蛋白作用机制研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2019.
- [11] KOU R B, ZUO G L, LIU J F, et al. Structural properties and hypoglycaemic activity of polysaccharides extracted from the fruits of *Lycium barbarum* L. using various extraction media [J]. Industrial Crops & Products, 2022, 188(15): 115725.
- [12] ZHU J, LIU W, YU J, et al. Characterization and hypoglycemic effect of a polysaccharide extracted from the fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(1): 8-16.
- [13] LIANG B, JIN M, LIU H. Water-soluble polysaccharide from dried *Lycium barbarum* fruits: Isolation, structural features and antioxidant activity [J]. Carbohydrate Polymers: Scientific and Technological Aspects of Industrially Important Polysaccharides, 2011, 83(4): 1947-1951.
- [14] 廖家乐, 方甜, 范艳丽. 枸杞叶黄酮对胰脂肪酶活性的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(5): 43-53.
- [15] 宰清勇. 枸杞多糖提取、结构表征及生物活性研究[D]. 贵州: 贵州师范大学, 2023.
- [16] 王昌禄, 王妮霏, 李贞景. 枸杞多糖的研究与应用[J]. 食品科学技术学报, 2017, 35(3): 43-49.
- [17] SÁEZ F A, AGUAYO M G, MENDONÇA R T, et al. Changes of cell wall-associated polysaccharides and sugars during development and ripening of arrayan (*Luma apiculata*) and lleuque (*Prumnopitys andina*) fruits [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2022, 44(1): 1-10.
- [18] WANG L S, ZAI Y Q, CHEN G H, et al. Comparison on biological

- activities of *Lycium barbarum* polysaccharides extracted with five methods [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(1): 110-122.
- [19] WANG X Y, ZHANG D D, YIN J Y, et al. Recent developments in *Hericium erinaceus* polysaccharides: extraction, purification, structural characteristics and biological activities [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 59(1): S96-S115.
- [20] GAO J, LIN L, SUN B, et al. A comparison study on polysaccharides extracted from *Laminaria japonica* using different methods: structural characterization and bile acid-binding capacity [J]. Food and Function, 2017, 8(9): 3043-3052.
- [21] CHEN L, LIU J, ZHANG Y, et al. Structural, thermal and anti-inflammatory properties of a novel pectic polysaccharide from alfalfa (*Medicago sativa* L.) stem [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(12): 3219-3228.
- [22] CHENG H, FENG S, JIA X, et al. Structural characterization and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Epimedium acuminatum* [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(1): 63-68.
- [23] LI L, LIAO B, THAKUR K, et al. The rheological behavior of polysaccharides sequentially extracted from *Polygonatum cyrtoneura* Hua [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 109: 761-771.
- [24] KOMAL S, RAUSHAN K, IBRAHIM S R. Glucosamine modulates membrane and cellular ionic homeostasis: studies on accelerated senescent and naturally aged rats [J]. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 2022, 9(1): 441-451.
- [25] HUAN G, DU Y J, GAO H C, et al. Isolation, purification, degradation of citrus pectin and correlation between molecular weight and their biological properties [J]. LWT, 2024, 196: 115837.
- [26] SON A S, KIM Y, KIM E, et al. Physicochemical properties of low-molecular-weight Homogalacturonan pectin from enzyme-hydrolyzed red okra [J]. Foods, 2024, 13(21): 3353.
- [27] MA Y, BI J, FENG S. Higher molecular weight pectin inhibits ice crystal growth and its effect on the microstructural and physical properties of pectin cryogels [J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 340: 122312.
- [28] FRANCISCO G, SEBASTIÀ G, CATALINA P, et al. Supplementation with the prebiotic high-esterified pectin improves blood pressure and cardiovascular risk biomarker profile, counteracting Metabolic malprogramming [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(41): 13200-13211.
- [29] ELIANA-YISSEL A, MAURICIO E, CARLOS-EDUARDO N, et al. Pectic polysaccharides with different structural characteristics as inhibitors of pancreatic lipase [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 83: 229-238.
- [30] 黎秋萍,郝小庆,刘松.胃肠道脂肪酶抑制剂治疗肥胖的药理药效研究进展-以奥利司他为例[J].中国现代应用药学,2022,39(17): 2287-2292.
- [31] LIAO C, LIN J. Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) plumule polysaccharide ameliorates pancreatic islets loss and serum lipid profiles in non-obese diabetic mice [J]. Food and Chemical Toxicology, 2013 (58): 416-422.
- [32] 高航,高延芬,徐虹.莲子红衣多糖的分离纯化及结构表征[J].食品科学,2016,37(15):94-99.
- [33] 刘敦华,刘军,李佩佩,等.枸杞深加工产品开发现状及研究进展[J].食品科学技术学报,2020,38(4):10-20.
- [34] 朱娟娟,尹忠平,陈继光,等.微量 α -葡萄糖苷酶抑制剂筛选模型及抑制类型的判断方法[J].现代食品科技,2016,32(12):164-170,157.
- [35] 赵绮,赵则月,关颖,等.不同分子量玉米须多糖降血脂比较及机制研究[J].中国食品添加剂,2023,34(5):241-248.
- [36] YANG Y, CHANG Y, WU Y, et al. A homogeneous polysaccharide from *Lycium barbarum*: Structural characterizations, anti-obesity effects and impacts on gut microbiota [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 183: 2074-2087.
- [37] 杨小倩,孙佳明,吴楠,等.玉蜀黍不同部位提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制作用[J].食品工业科技,2021,42(1):15-21,27.
- [38] 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.
- [39] 李志鹏,周晨熠,潘书童,等.2种青稞多糖对胰 α -淀粉酶的抑制作用[J].食品科学,2023,44(22):192-199.
- [40] FU Y, FENG K L, WEI S Y, et al. Comparison of structural characteristics and bioactivities of polysaccharides from loquat leaves prepared by different drying techniques [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145: 611-619.