

不同品种苦瓜多糖含量及其抗氧化和 α -葡萄糖苷酶抑制活性比较

邓媛元^{1,2,3}, 张名位², 刘接卿¹, 张雁², 张瑞芬², 魏振承², 迺慧慧², 刘磊², 邱明华¹

(1. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南昆明 650201)

(2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东广州 510610) (3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为比较不同苦瓜品种果肉多糖的含量和组成差异, 以及抗氧化能力和 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 研究选用 13 个苦瓜品种为材料, 分析其多糖、糖醛酸、蛋白质含量及分子量分布, 并采用总抗氧化能力指数评价其抗氧化活性, 4-硝基酚-2-D 吡喃葡萄糖苷 (PNPG) 法测定其 α -葡萄糖苷酶抑制率, 同时分析组成和活性的关系。研究表明 13 个品种苦瓜果肉中多糖、糖醛酸、蛋白质含量分别介于 5.91~10.62% (干重), 25.21~42.37% 和 3.17~4.60%; 苦瓜果肉多糖均包含了 2 个主要组分, 重均分子量 (M_w) 分布分别为 1558.88~3048.56 kDa 和 33.19~58.74 kDa; ORAC 指数变幅为 19.39~57.73 $\mu\text{mol Trolox/g}$; α -葡萄糖苷酶最大抑制活性变幅为 4.80~92.67%; ORAC 指数与多糖、己糖醛酸和蛋白含量均呈显著正相关 ($P<0.05$)。不同苦瓜品种间多糖的含量组成、抗氧化能力和 α -葡萄糖苷酶抑制活性存在显著基因型差异, 多糖是抗氧化活性的主要贡献物质, 并且己糖醛酸与蛋白质可以增加其抗氧化能力。

关键词: 苦瓜; 多糖; 抗氧化; α -葡萄糖苷酶

文章编号: 1673-9078(2014)9-102-108

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.09.108

Comparison of the Content, Antioxidant Activity, and α -Glucosidase

Inhibitory Effect of Polysaccharides from *Momordicacharantia* L. Species

DENG Yuan-yuan^{1,2,3}, ZHANG Ming-wei², LIU Jie-qing¹, ZHANG Yan², ZHANG Rui-fen², WEI Zhen-cheng², NI Hui-hui², LIU Lei², QIU Ming-hua¹

(1.State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Science, Kunming 650201, China)(2.Sericultural and Agri-food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China) (3.University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

Abstract: In this study, the differences in the content and component of *Momordicacharantia* L. polysaccharides (MCPs) from 13 different *Momordicacharantia* L. species as well as their antioxidant activity and inhibitory effect of α -glucosidase were compared. The MCPs molecular weight distribution, polysaccharides, uronic acid, and protein contents were analyzed. In addition, their antioxidant activity was evaluated by oxygen radical absorbance capacity (ORAC). The 4-nitrophenyl-2- β -D-glucopyranoside method was used to measure the α -glucosidase inhibitory activity and to analyze the relationship between the components and the corresponding activity. The results showed that the polysaccharide, uronic acid, and protein content of 13 *Momordicacharantia* L. species ranged from 5.91% to 10.62% for dry weight, 25.21% to 42.37%, and 3.17% to 4.60%, respectively. Two major components were present in all MCPs, and their molecular weights ranged from 1558.88 to 3048.56 kDa, and 33.19 to 58.74 kDa, respectively. ORAC values of the 13 *Momordicacharantia* L. species varied from 19.39 to 57.73 $\mu\text{mol Trolox/g}$. The maximum inhibition ratio of different species on α -glucosidase ranged from 4.80% to 92.67%. Significant positive correlations were observed between ORAC values to polysaccharide, uronic acid, and protein content ($P<0.05$). Significant genetic differences were detected in their content, antioxidant activity, and inhibitory effect of α -glucosidase from different species. Polysaccharides are the main active component contributing to the antioxidant activity of the plant, and uronic acid and protein can strengthen their antioxidant activities.

Keywords: *Momordicacharantia* L.; polysaccharide; antioxidant activity; α -glucosidase

收稿日期: 2014-03-27

基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划课题 (2012BAD33B10); 国家重点基础研究发展计划 (2012CB722904); 国家级星火计划项目 (2013GA780062); 省基金重点项目 (10251064001000006)

作者简介: 邓媛元 (1982-), 女, 助理研究员, 博士在读, 研究方向: 天然产物化学; 通讯作者: 邱明华

苦瓜(*Momordica charantia* L.)是葫芦科苦瓜属植物,广泛分布于亚洲、非洲和南美洲,是热带-亚热带特色药用蔬菜,具有降血糖、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、减肥等多种活性。多糖是苦瓜中的重要活性物质,在苦瓜水提取对糖尿病大鼠的血糖控制和抗氧化等方面发挥了重要作用^[1]。大量研究显示多糖的组成结构与活性之间关系密切。Jiang 等比较了青蛤中分离得到的三个多糖组分,发现较高的糖醛酸、蛋白质和硫酸化多糖含量以及复杂的单糖组成有利于增强多糖组分的超氧阴离子清除能力、羟基自由基清除能力和抑制胃癌细胞增殖能力^[2]; Zeng 等人报道低分子量的黑木耳多糖具有更好的体外抗氧化活性^[3]; Pan 等人比较了四种不同品种的石斛多糖,发现其在特征粘度、单糖组成以及糖苷键连接方式上有显著差异,而该差异导致了四种多糖的降血糖效果显著不同^[4]。由此可见,不同种类来源或同一科属不同品种的植物多糖其组成结构有巨大差异,也因此决定了其活性强弱。黄婧等分析了 53 个苦瓜品种多糖的含量,发现品种间有显著性差异^[5]。但是该研究仅限于对多糖含量的比较,并未分析品种间的活性差异。我们前期研究发现“碧绿二号”苦瓜多糖对 α -葡萄糖苷酶有较好的抑制活性,但也未对其组成结构与活性之间的关系进行分析^[6]。为了探明不同品种苦瓜多糖组成差异与活性的关系,本研究以 13 个华南地区栽培的苦瓜品种为材料,比较分析不同苦瓜品种果肉多糖、己糖醛酸和蛋白的含量以及多糖分子量分布,并评价了各品种的抗氧化能力和 α -葡萄糖苷酶抑制活性,为开发苦瓜精深加工产品,筛选不同用途下的加工适用型苦瓜品种提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

以华南地区栽种的 13 个苦瓜品种作为供试材料,均由广东省农业科学院蔬菜研究所提供(表 1),于 2013 年 3 月播种,7 月收获。种植于广东省农业科学院蔬菜研究所广州市白云基地试验田,苦瓜初熟时收获,当天运回广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所农业部功能食品重点实验室,新鲜苦瓜果实清洗干净后纵向剖开,取出瓜籽和瓢,均匀切成 2~3 cm 厚度薄片,经 55 °C 热风干燥 12 h 后用粉碎机粉碎,过 60 目筛,得到苦瓜干粉,4 °C 冰箱中密封保存备用。样品分析于 2013 年 8~12 月在广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所农业部功能食品重点实验室内完成。

1.2 主要试剂

Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)、AAPH (2, 2'-azobis(2-methylpropionamide)-dihydrochloride)、荧光素钠盐、葡萄糖醛酸、 α -D-葡萄糖苷酶和 4-硝基酚-2-D 吡喃葡萄糖苷购自美国 Sigma 公司;人参皂苷 Rg1 对照品购自中国药品生物制品检定研究所;间羟基联苯,购自日本 TCI 公司;福林酚蛋白浓度测定试剂盒购自上海生工生物工程股份有限公司;葡萄糖、重蒸酚、浓硫酸、无水乙醇等试剂均为国产分析纯。

1.3 主要仪器设备

旋转蒸发仪,日本东京理化器械株式会社;UV-2450 紫外可见分光光度计,日本岛津有限公司;真空冷冻干燥仪,日本东京理化器械株式会社;TECAN infinite 200 酶标仪,瑞士 TECAN;Multifuge X1R 台式冷冻离心机,德国 Thermo Scientific。

1.4 试验方法

1.4.1 苦瓜多糖的提取制备

将 20 g 苦瓜干粉用 40 mL 80% 的乙醇 4 °C 浸泡过夜除去单糖及脂类等小分子物质,4000 r/min,离心 5 min 后去除上清,沉淀物自然晾干得预处理苦瓜粉。预处理苦瓜粉在水料比 1:20,提取温度 95 °C 条件下水浴浸提 4 h,趁热过滤,滤渣再次重复上述浸提操作一遍。合并两次滤液,减压浓缩至 400 mL 后采用 Sevag 法反复多次脱除蛋白。将脱尽蛋白的粗多糖提取液减压浓缩至 200 mL 体积,加入 4 倍体积的无水乙醇,4 °C 下放置过夜沉淀多糖。多糖沉淀经真空抽滤去除乙醇/水混合物,再经无水乙醇多次洗涤后真空冷冻干燥得苦瓜多糖。

1.4.2 多糖化学组成分析方法

多糖含量采用硫酸-苯酚法测定,以葡萄糖做标准曲线,测定 490 nm 处吸光值;糖醛酸含量采用 Blumenkrantz 等人方法,以葡萄糖糖醛酸做标准曲线,测定 525 nm 处吸光值;蛋白含量以牛血清白蛋白做标准曲线采用 Lowery 法测定。

1.4.3 多糖分子量分布检测方法

苦瓜多糖的分子量采用 HPGPC 方法测定。采用 TSK G-5000PXL column (7.8×300 mm) 和 TSK G-3000PXL column (7.8×300 mm) 串联,流动相为 0.02 mol/L 的 KH_2PO_4 缓冲溶液,流速为 0.6 mL/min,2414 示差检测器,柱温 35 °C 条件下检测。取分子量分别为 5.20×10^3 、

1.16×10^4 、 2.38×10^4 、 4.86×10^4 、 1.48×10^5 、 2.73×10^5 、 4.10×10^5 、 6.68×10^5 和 1.40×10^6 Da的九种葡聚糖标准品建立HPGPC标准曲线。标准品用0.02 mol/L的 KH_2PO_4 溶液配置成2.0 mg/mL的溶液,进样40 μL ,检测时间为45 min,记录相应的色谱图,用Breeze数据软件以葡聚糖标准品的相对分子质量的对数 $\log M_w$ 对洗脱体积进行回归处理,得到葡聚糖相对分子质量分布标准曲线及其回归方程。取一定量的苦瓜多糖溶解于0.02 mol/L的 KH_2PO_4 缓冲液溶解,经0.45 μm 滤膜滤过后,进样体积为40 μL ,进行HPGPC分析。根据样品的出峰时间在校正曲线上求得多糖峰的平均分子量及其分布。

1.4.4 ORAC 指数测定

ORAC 指数测定参照 Wolfe 等人的方法稍作改动^[9]。将多糖用 75 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 稀释至一定浓度。向 96 孔板各孔分别加入 20 μL 缓冲液 (空白) 或 20 μL 不同浓度的 Trolox 标准品溶液或 20 μL 多糖溶液,以及 200 μL 0.96 $\mu\text{mol/L}$ 荧光素工作液,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 20 min。之后用多道移液器迅速在各孔加入 20 μL 新鲜配置的 119 mmol/L AAPH 溶液。立即启动多功能酶标仪,在 37 $^\circ\text{C}$ 下以激发波长 485 nm,发射波长 538 nm 连续测定各孔的荧光强度监测荧光衰退情况,每 4.5 min 重复测定一次,测定 35 个循环。将多糖溶液的自由基作用下荧光衰退曲线的延缓部分面积 (Net AUC) 带入 6.25, 12.50, 25 和 50 $\mu\text{mol/L}$ 标准抗氧化物质 Trolox 的 Net AUC 与 Trolox 浓度所做标准曲线,得到多糖的总抗氧化能力指数值,以每 g

多糖粉末样品中所含 Trolox 当量 ($\mu\text{mol TE/g DW}$) 表示。重复 3 次。

1.4.5 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

α -葡萄糖苷酶抑制活性参考 Kumar 等人的方法略加修改^[10]。向 96 孔板中加入 50 μL 用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 6.8) 稀释的多糖样品和 25 μL 0.5 U/mL 的 α -葡萄糖苷酶,37 $^\circ\text{C}$ 预孵育 10 min。之后加入 25 μL 10 mM 的 PNPG,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 30 min。孵育结束后加入 100 μL , 0.2 mol/L Na_2CO_3 溶液终止反应,405 nm 下检测吸光值。同时设定相同体系下的样品背景对照组、空白对照组,酶活抑制率计算公式如下:

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶活性抑制率}/\% = \frac{A_k - (A_y - A_b)}{A_k} \times 100\%$$

注: A_k 为空白的吸光度; A_y 为样品的吸光度; A_b 为背景的吸光度。

1.5 数理统计

利用 Excel 和 SPSS 13.0 软件进行数据统计分析及作图,数据以均值 \pm 标准差 (Means \pm SD) 表示,多糖化学组成与活性关系分析采用双变量相关性分析,不同品种间比较采用 LSD 法。

2 结果与讨论

2.1 不同品种苦瓜多糖的含量

表 1 不同品种苦瓜果肉多糖的化学组成

Table 1 Composition of MCPs from different varieties

样品编号及名称	类型	多糖含量 /(% (干重))	己糖醛酸含量 /%	蛋白含量 /%
珍珠1301	浅绿刺瘤长身苦瓜	5.91 \pm 0.25 ^e	32.56 \pm 0.81 ^c	3.37 \pm 0.18 ^{ef}
油绿1302	绿色条瘤长身苦瓜	9.53 \pm 0.39 ^b	42.64 \pm 1.06 ^a	4.06 \pm 0.19 ^{bc}
油绿1303	绿色条瘤长身苦瓜	8.06 \pm 0.39 ^{cd}	33.16 \pm 1.20 ^e	3.17 \pm 0.17 ^f
绿宝石	绿色条瘤长身苦瓜	6.27 \pm 0.38 ^e	41.97 \pm 1.59 ^a	4.60 \pm 0.40 ^a
大顶5号	大顶苦瓜	8.19 \pm 0.33 ^c	37.10 \pm 0.85 ^{cd}	3.41 \pm 0.19 ^{ef}
大顶6号	大顶苦瓜	5.92 \pm 0.30 ^e	34.18 \pm 0.85 ^{de}	3.94 \pm 0.22 ^{bcd}
大顶7号	大顶苦瓜	7.16 \pm 0.34 ^c	38.54 \pm 2.82 ^{bc}	3.91 \pm 0.24 ^{bcd}
大顶8号	大顶苦瓜	7.90 \pm 0.31 ^{cd}	42.37 \pm 1.11 ^a	4.01 \pm 0.10 ^{bc}
马来西亚苦瓜	绿色条瘤长身苦瓜	9.18 \pm 0.37 ^b	34.05 \pm 1.65 ^{de}	4.15 \pm 0.19 ^b
印尼-1引	绿色条瘤长身苦瓜	10.62 \pm 0.36 ^a	42.36 \pm 3.39 ^a	3.73 \pm 0.37 ^{cd}
印尼-3引	条、粒瘤相间长身苦瓜	7.74 \pm 0.39 ^d	41.25 \pm 1.32 ^{ab}	3.38 \pm 0.18 ^{ef}
印尼-4引	深绿粒瘤长身苦瓜	7.89 \pm 0.33 ^{cd}	40.12 \pm 0.99 ^{abc}	3.43 \pm 0.29 ^{ef}
白珍珠	白色刺瘤长身瓜	6.73 \pm 0.39 ^f	25.21 \pm 2.76 ^f	3.58 \pm 0.24 ^{de}

注: 不同小写字母表示品种数值间有显著差异 ($P < 0.05$)。

多糖含量结果如表 1 所示, 13 个不同苦瓜品种果肉中多糖的含量变幅为 (5.91 \pm 0.25)~(10.62 \pm 0.36)%, 平

均值为 7.7%, 变异系数为 18.24%, 多糖含量最高的品种是印尼-1 引, 含量最低的品种是珍珠 1301, 不同

品种苦瓜果肉中的多糖含量达到显著性差异 (P<0.05)。

2.2 不同品种苦瓜多糖中己糖醛酸的含量

己糖醛酸含量测定结果如表 1 所示, 13 个不同品种苦瓜果肉多糖中己糖醛酸的含量变幅为 (25.21±2.76)~(42.37±1.11)%, 平均值为 37.35%, 变异系数为 14.10%, 己糖醛酸含量最高的品种是大顶 8 号, 含量最低品种是白珍珠。

2.3 不同品种苦瓜多糖中蛋白的含量

蛋白含量测定结果如表 1 所示, 13 个不同品种苦瓜果肉多糖中蛋白的含量变幅为 (3.17±0.17)~(4.60±0.40)%, 平均值为 3.75%, 变异系数为 10.82%, 蛋白含量最高的品种是绿宝石, 含量最低品种是油绿 1303。

2.4 不同品种苦瓜多糖的分子量分布

多糖分子量分布测定结果表明, 13 个不同品种苦瓜果肉多糖均包含了 2 个主要组分。第一个组分重均分子量 (M_w) 分布为 1558.88~3048.56 kDa, 平均分子量为 1832.80 kDa, M_w 最小的是大顶 6 号, 最大的是白珍珠。第二个组分重均分子量 M_w 分布为 33.19~58.74 kDa, 平均分子量为 41.52 kDa, M_w 最小的是大顶 6 号, 最大的是印尼-3 引。除白珍珠外 (多分散指数分别为 2.91 和 1.99), 其余品种第一个多糖组分的多分散指数 (1.1~1.25) 均低于第二个组分 (1.54~1.86), 说明第一个组分分子量分布更为集中。

2.5 不同品种苦瓜多糖的抗氧化能力

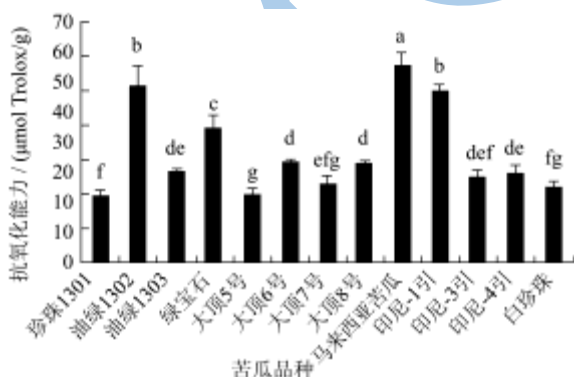


图 1 不同品种苦瓜多糖的总抗氧化能力

Fig.1 The ORAC value of MCP in different varieties

注: 不同小写字母表示品种间有显著差异, P<0.05。

苦瓜果肉多糖的抗氧化能力见图 1。13 个不同品种苦瓜多糖抗氧化能力指数变幅为 (19.39±1.79)~(57.73±3.13) μmol Trolox/g, 平均值为 32.13 μmol

Trolox/g, 变异系数为 40.80%, 表明品种间抗氧化能力差异较大。抗氧化活性最低品种是大顶 5 号, 最高的是马来西亚苦瓜。

2.6 不同品种苦瓜多糖的α-葡萄糖苷酶抑制活性

表 2 不同品种苦瓜多糖的 α-葡萄糖苷酶抑制率 (x̄±SD)

Table 2 The α-glucosidase inhibition ratio of MCP in different varieties

样品名称	浓度/(mg/mL)	抑制率/%	IC ₅₀
珍珠 1301	0.1	10.47±0.54 ^{ab}	5.32
	1	29.47±1.74 ^a	
	5	52.71±0.46 ^c	
	15	61.27±1.64 ^d	
	25	62.52±1.11 ^c	
油绿 1302	0.1	0.52±0.64 ^e	6.99
	1	15.65±1.02 ^b	
	5	46.96±1.90 ^d	
	15	69.93±1.58 ^c	
	25	64.13±0.73 ^c	
油绿 1303	0.1	8.97±2.02 ^e	-
	1	9.40±1.86 ^f	
	5	9.23±1.03 ^g	
	15	9.35±0.71 ⁱ	
	25	17.38±0.81 ^{fg}	
绿宝石	0.1	0.55±1.49 ^e	-
	1	1.71±1.13 ^f	
	5	8.15±0.22 ^g	
	15	21.84±1.02 ^{fg}	
	25	16.06±0.43 ^g	
大顶 5 号	0.1	2.48±1.22 ^e	17.76
	1	3.37±1.03 ^f	
	5	29.16±1.67 ^e	
	15	54.24±0.16 ^e	
	25	53.06±0.16 ^d	
大顶 6 号	0.1	0.83±1.04 ^e	5.11
	1	12.12±0.94 ^{cd}	
	5	63.21±1.78 ^b	
	15	74.46±0.14 ^b	
	25	74.33±1.12 ^b	
大顶 7 号	0.1	12.21±1.89 ^a	3.89
	1	12.90±1.56 ^{bc}	
	5	73.07±1.40 ^a	

转下页

接上页			
	15	92.67±0.28 ^a	
	25	87.47±0.83 ^a	

	0.1	6.13±1.27 ^d	
	1	10.78±1.40 ^{ab}	
大顶 8 号	5	14.12±1.89 ^b	-
	15	17.53±1.91 ^b	
	25	19.19±2.21 ^f	

	0.1	0.57±1.59 ^e	
	1	0.49±0.98 ^f	
马来西亚苦瓜	5	2.99±1.74 ^b	-
	15	10.56±1.44 ⁱ	
	25	17.18±0.28 ^{fg}	

	0.1	0.23±0.11 ^e	
	1	1.53±0.80 ^f	
印尼-1 引	5	3.25±1.11 ^b	-
	15	4.80±0.62 ^j	
	25	3.01±0.84 ^b	

	0.1	0.68±0.43 ^e	
	1	1.58±1.13 ^f	
印尼-3 引	5	6.95±1.72 ^g	-
	15	25.80±1.21 ^f	
	25	22.25±1.16 ^e	

	0.1	6.86±1.68 ^d	
	1	8.67±2.93 ^{gh}	
印尼-4 引	5	15.67±2.33 ^f	-
	15	19.19±0.81 ^e	
	25	24.86±1.93 ^{cd}	

	0.1	0.27±0.34 ^e	
	1	1.48±1.63 ^f	
白珍珠	5	17.19±1.53 ^f	18.17
	15	50.86±1.33 ^e	
	25	54.23±1.62 ^f	

注：不同小写字母表示品种数值间有显著差异 (P<0.05)。

苦瓜果肉多糖的 α-葡萄糖苷酶抑制活性见表 2，13 个品种苦瓜多糖的 α-葡萄糖苷酶最大抑制活性变幅为 4.80~92.67%。最大抑制率从大到小依次为大顶 7 号(92.67%)>大顶 6 号(74.46%)>油绿 1302(69.93%)>珍珠 1301 (62.52%)>大顶 5 号 (54.24%)>白珍珠 (54.23%)>印尼-3 引(25.80%)>印尼-4 引(24.86%)>绿宝石 (21.84%)>大顶 8 号 (19.19%)>油绿 1303 (17.38%)>马来西亚苦瓜 (17.18%)>印尼-1 引 (4.80%)。其中，抑制率超过 50%的品种共有 6 个，IC₅₀ 值如表 3 所示。

2.7 苦瓜多糖组成与抗氧化能力及 α-葡萄糖

苷酶抑制活性间关系

对不同品种苦瓜多糖含量、己糖醛酸含量、蛋白含量、ORAC 指数以及多糖浓度 5 mg/mL 时 α-葡萄糖苷酶抑制率这 5 个指标做相关性分析，结果见表 3。ORAC 指数与多糖含量、己糖醛酸含量、蛋白含量均呈显著正相关，相关系数分别为 0.67 (P<0.05)、0.63 (P<0.05) 和 0.59 (P<0.05)。α-葡萄糖苷酶抑制活性与多糖组成之间无明显相关性，与 ORAC 指数之间呈负相关，相关系数为 -0.32 (P>0.05)。此外多糖含量与己糖醛酸含量之间呈现极显著正相关，相关系数为 0.76 (P<0.01)，但与蛋白含量之间无任何相关性。

表 3 不同品种苦瓜多糖含量、己糖醛酸含量、蛋白质含量对 ORAC 指数和抑制 α-葡萄糖苷酶活性的相关性分析

Table 3 Results of bivariate correlation among total sugar, uronic acid, protein, ORAC value and the inhibition effects on

α-glucosidase activities				
	ORAC	多糖含量	己糖醛酸含量	蛋白含量
多糖含量	0.67*			
己糖醛酸含量	0.63*	0.76**		
蛋白含量	0.59*	-0.01	0.37	
α-葡萄糖苷酶抑制活性	-0.32	-0.34	-0.12	0.04

注：*表示显著差异 (P<0.05)；**表示极显著差异 (P<0.01)。

曹晶晶等分析了浙江省栽培的 41 个苦瓜品种的多糖含量，其变幅为 0.52~9.24% (干重)，其中约 87.80% 的苦瓜品种多糖含量分布在 1.40~4.88% (干重) 之间^[7]。本文研究结果表明 13 个不同品种苦瓜果肉中多糖的含量变幅为 5.91~10.62% (干重)，普遍高于曹晶晶等人报道的结果。此外黄婧等人对广东省栽培的 53 个不同品种苦瓜多糖的含量进行了分析，多糖含量范围在 6.85~13.48% 之间，与本研究结果较为一致^[5]。张德等人比较了湖北栽培的 5 个苦瓜品种糖醛酸含量，其值介于 36.25~54.23% 之间，平均值为 45.68%，高于本研究结果^[8]。苦瓜的不同品种、不同生长状况、不同加工处理方法等可能是造成上述差异的原因。Cui 等人分析了新疆南部 5 个不同产地的大枣多糖组成，发现年平均温度和无霜期与红枣多糖中糖醛酸含量呈显著正相关 (相关系数分别为 0.59 和 0.78)，而中性多糖含量与年降雨量呈显著负相关 (相

关系数为-0.57)^[9]。因此为尽量排除试验样品由于栽培环境或加工处理方法不同所产生的误差,本实验选取了栽种在同一块试验田中统一管理和采收的不同苦瓜品种,并采用相同的处理方式以保证各品种的客观条件基本平行,使测定结果更加客观真实地反映苦瓜品种间的差异。结果表明苦瓜品种间多糖含量差异为1.80倍,己糖醛酸含量差异为1.68倍,蛋白含量差异为1.45倍。并且已知具有亲缘关系的品种(大顶5号和大顶6号父本相同,大顶7号和大顶8号母本相同,油绿1302和油绿1303父本相同)之间在多糖的化学组成上面也有较大差异,提示即使在相同的地域和栽培条件下,不同品种仍然可能造成苦瓜质量的较大差异。本研究过程中采用sevage法对醇沉苦瓜多糖进行了反复多次的脱蛋白处理,研究结果中不同苦瓜品种提取得出的多糖中蛋白质含量差异显著预示不同品种苦瓜多糖对蛋白质的结合能力有一定的差异,可能是取决于其一级支链状态以及高级结构的影响。

不同品种苦瓜多糖的含量、己糖醛酸含量、蛋白含量对ORAC指数的相关性分析见表4。三者含量与ORAC之间呈显著正相关。多糖含量最高的3个品种其ORAC指数也是最高的3个,说明多糖是抗氧化活性的主要贡献物质。此外己糖醛酸含量最高的3个品种其ORAC指数分别排在第2~4位,蛋白含量最高的3个品种其ORAC指数也在前三位,说明己糖醛酸与蛋白可以增加抗氧化能力,这与前人的研究结果一致^[2]。值得注意的是,抗氧化能力最强的马来西亚苦瓜在多糖和己糖醛酸含量上均低于油绿1302和印尼-1引,并且三者间蛋白含量无显著差异,我们推测分子量大小是影响三者抗氧化能力差异的重要因素。在化学组成差异不大时,较大的分子量显示出较强的抗氧化能力,这与Huang等对白桦茸中的5种多糖结构和抗氧化活性的研究结果相似^[10]。但是wang等比较了从茶多糖中分离得到的3个多糖组分,指出即便是糖醛酸和蛋白含量较低,小分子量组分仍然具有较强的羟基自由基清除作用、铁离子还原能力和金属离子螯合作用,但在DPPH自由基清除能力和减轻Fe²⁺/抗坏血酸诱导的非酶脂质过氧化反应方面,较高的糖醛酸和蛋白含量,以及较大的分子量组分则显示出更强的活性^[11]。上述结果说明多糖抗氧化作用是多重因素影响下的复杂结果,多糖的组成和结构在不同的氧化反应中发挥着不同的作用。

α -葡萄糖苷酶是碳水化合物消化吸收的关键酶,它可以从低聚糖类物质的非还原末端切开 α -1,4糖苷键释放出葡萄糖,被认为是控制2型糖尿病患者餐后血糖升高的治疗靶点。Wang等评价了热水浸提、开水浸提和酶解提取三种方法获得的茶叶多糖和茶树

花多糖的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,指出随着茶叶中多糖含量的增加, α -葡萄糖苷酶抑制活性也随之增强,但该活性与茶叶中的酸性多糖含量之间没有相关性;而对于茶树花多糖而言,随着酸性多糖含量的增加, α -葡萄糖苷酶抑制活性显著降低;并且推测糖链的降解会对多糖的 α -葡萄糖苷酶抑制活性造成不利影响^[12]。同时Hsu等人研究表明从云芝菌丝体中分离到的部分多糖组分中蛋白含量越高其 α -葡萄糖苷酶抑制活性越强^[13]。但本研究并未发现多糖组成上的差异与其 α -葡萄糖苷酶抑制活性之间有任何相关性。此外,前人报道造成多糖 α -葡萄糖苷酶抑制活性差异的原因可能是多糖结构上的差异导致氨基糖苷类结构和酶的活性中心反应程度不同^[14],也有研究表明多糖的单糖组成和糖链连接方式对其 α -葡萄糖苷酶抑制活性具有较大的影响^[13]。因此我们相信,除了化学组成不同外,不同品种间多糖本身结构上的差异也是造成活性差异的重要因素之一。苦瓜多糖与活性的构效关系还有待进一步的研究。

3 结论

不同品种苦瓜果肉多糖含量、己糖醛酸含量和蛋白含量的变幅和变异系数较大,表明其存在显著的基因型差异。13个品种果肉多糖均包含了2个主要组分,第一个组分平均重均分子量为1832.80 kDa,第二个组分平均重均分子量为41.52 kDa。不同苦瓜品种的抗氧化能力与其多糖、己糖醛酸和蛋白含量呈显著正相关,多糖是抗氧化活性的主要贡献物质,并且己糖醛酸与蛋白可以增加其抗氧化能力。不同苦瓜品种间的 α -葡萄糖苷酶抑制活性差异较大,其中抑制率超过50%的品种共有6个。对不同品种苦瓜果肉多糖化学组成和活性的分析,可以为苦瓜精深加工产品的开发以及筛选不同加工用途的苦瓜品种提供科学指导和理论依据。

参考文献

- [1] Wu S J, Ng L T. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan [J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(2): 323-330
- [2] Jiang C X, Wang M C, Liu J, et al. Extraction, preliminary characterization, antioxidant and anticancer activities in vitro of polysaccharides from cyclina sinensis [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(3): 851-857
- [3] Zeng W C, Zhang Z, Gao H, et al. Characterization of antioxidant polysaccharides from *Auricularia auricular* using

- microwave-assisted extraction [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(2): 694-700
- [4] Pan L H, Li X F, Wang M N, et al. Comparison of hypoglycemic and antioxidative effects of polysaccharides from four different dendrobium species [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 64: 420-427
- [5] 黄婧,张名位,张瑞芬,等.苦瓜不同品种多糖含量的比较[J].园艺学报,2008,35(5):757-760
- HUANG Jin, ZHANG Ming-wei, ZHANG Rui-fen, et al. Comparison of polysaccharide content in different cultivars of *Momordica charantia* L. and in different tissues and development stages [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(5): 757-760
- [6] 王琪,邓媛元,张名位,等.苦瓜皂苷和多糖的连续提取工艺及其对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J].中国农业科学,2011, 44(19):4058-4065
- WANG Qi, DENG Yuan-yuan, ZHANG Ming-wei, et al. Continuous extraction of saponin and polysaccharide from *Momordica charantia* L. and their inhibitory effect on α -glucosidase [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 4(19): 4058-4065
- [7] 曹晶晶,徐丽珊,沈佳鑫,等.不同苦瓜品种多糖与皂苷的含量差异及最佳采摘期研究[J].湖南农业科学,2014,2:63-66
- CAO Jing-jing, XU Li-shan, SHEN Jia-xin, et al. Differences in contents of polysaccharide and saponin among different varieties of *Momordica charantia* L. and its optimal harvesting period [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2014, 2: 63-66
- [8] 张德.不同苦瓜品种(系)多糖的提取工艺优化和构效差异分析[D].武汉:华中农业大学,2010
- ZHANG De. Study on extraction techniques, structure and biological activity of bitter melon polysaccharides in different varieties (lines) [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010
- [9] Cui G T, Zhang W X, Zhang A M, et al. Variation in antioxidant activities of polysaccharides from *Fructus Jujubae* in South Xinjiang area [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 57: 278-284
- [10] Huang S Q, Ding S D, Fan L P, et al. Antioxidant activities of five polysaccharides from *Inonotus obliquus* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50(5): 1183-1187
- [11] Wang Y F, Yang Z W, Wei X L. Antioxidant activities potential of tea polysaccharide fractions obtained by ultra filtration [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50(3): 558-564
- [12] Wang Y F, Yang Z W, Wei X L, et al. Sugar compositions, α -glucosidase inhibitory and amylase inhibitory activities of polysaccharides from leaves and flowers of *Camellia sinensis* obtained by different extraction methods [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 47(4): 534-539
- [13] Hsu W k, Hsu T H, Lin F Y, et al. Separation, purification, and α -glucosidase inhibition of polysaccharides from *Coriolus versicolor* LH1 mycelia [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(1): 297-306
- [14] Chen H, Qu Z, Fu L, et al. Physicochemical properties and antioxidant capacity of 3 polysaccharides from green tea, oolong tea, and black tea [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(6): C469-C474