

菠萝蜜多糖体外酵解特征研究

姚思雯^{1,2}, 何佳丽^{1,3}, 朱科学¹, 谭乐和¹, 张彦军¹, 吴刚¹

(1. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南万宁 571533)

(2. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉 430070) (3. 云南农业大学热带作物学院, 云南普洱 665099)

摘要: 本文旨在研究菠萝蜜多糖 (JFP-Ps) 的体外酵解行为, 通过收集新鲜的人体粪便建立体外酵解模型, 电位法测定多糖酵解产物中 pH 值、铁氰化钾法分析还原糖含量变化、苯酚-硫酸法分析总糖含量变化以及气相色谱法分析短链脂肪酸 (SCFA) 组分和含量变化。研究结果显示, 在体外酵解过程中, JFP-Ps 酵解产物的 pH 值从 5.78 (0 h) 降低至 4.48 (48 h), 还原糖含量从 16.63%±3.03% (0 h) 增加至 49.57%±1.65% (1 h), 后持续降低至 9.37%±2.22% (48 h), 总糖含量从 64.51%±0.86% (0 h) 下降至 16.98%±0.58% (48 h), 总 SCFA、乙酸、丙酸以及正丁酸的含量均显著提高。结果表明, JFP-Ps 可被人体粪便微生物利用, 酵解产物降低了反应体系的 pH 值和酵解产生乙酸、丙酸和正丁酸 3 种短链脂肪酸, 研究结果可为菠萝蜜多糖源“益生元”产品的开发提供理论依据。

关键词: 菠萝蜜; 多糖; 体外酵解; 人体粪便; 短链脂肪酸

文章编号: 1673-9078(2019)03-87-94

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.3.014

In Vitro Fermentation Characteristics of Polysaccharides from Artocarpus heterophyllus Lam. Pulp

YAO Si-wen^{1,2}, HE Jia-li^{1,3}, ZHU Ke-xue¹, TAN Le-he¹, ZHANG Yan-jun¹, WU Gang¹

(1. Spice and Beverage Research Institute, CATAS, Wanning 571533, China)

(2. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

(3. College of Tropical Crop Science of Yunnan Agricultural University, Pu'er 665099, China)

Abstract: The present study was to investigate the *in vitro* fermentation characteristics of polysaccharides from *Artocarpus heterophyllus* Lam. Pulp (JFP-Ps) by human fecal inoculums. The change in the pH value, reducing sugar, total sugar and short-chain fatty acids of polysaccharide fermentation products were determined by potentiometric method, potassium ferricyanide method, phenol-sulphuric acid assay and gas chromatography, respectively. The results showed that the pH value of fermentation products of JFP-Ps significantly decreased from 5.78 (0 h) to 4.48 (48 h). The content of reducing sugar increased from 16.63%±3.03% (0 h) to 49.57%±1.65% (1 h), and then subsequently decreased to 9.37%±2.22% (48 h). The content of total sugar decreased from 64.51%±0.86% (0 h) to 16.98%±0.58% (48 h) and the levels of total short-chain fatty acids (SCFA), acetic, propionic and n-butyric acids were all significantly increased. These results indicated that JFP-Ps could be fermented by human gut microbiota, suggesting that JFP-Ps might have beneficial effects on intestinal health and could be used as prebiotics.

Key words: *Artocarpus heterophyllus* Lam; polysaccharides; *in vitro* fermentation; human fecal inoculums; short-chain fatty acids

多糖是由十个以上的单糖通过直链或支链糖苷键连接而成的天然高分子多聚物, 广泛存在于植物、动物和微生物中的天然活性物质, 具有抗氧化性、抗肿瘤、抗病毒、抗糖尿病、防止肥胖、保肝、抗炎以及免疫调节等多种生物活性^[1-3]。作为一类生物活性大分

收稿日期: 2018-10-29

基金项目: 海南省自然科学基金项目 (317270); 海南省自然科学基金创新研究团队项目 (2017CXTD018)

作者简介: 姚思雯 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程

通讯作者: 朱科学 (1986-), 男, 副研究员, 研究方向: 食品营养学、糖化学生物学, 功能性食品

子, 多糖是如何被人体利用和如何在体内发挥其生物活性已逐渐成为研究热点。研究发现, 桑葚多糖和车前子多糖不能被唾液淀粉酶分解, 但在体外模拟胃肠消化过程中可被降解, 整个消化过程中没有游离单糖产生^[4,5]。研究还发现, 植物多糖可被肠道菌群酵解, 在改善结肠和宿主健康方面起着至关重要的作用, 例如通过产生的短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFA) 可降低结肠 pH、抑制一些有害病原菌的增殖、影响肠道微生物酶活性和调节肠道菌群, 还可通过维持上皮细胞屏障功能和调节上皮细胞增值、调节肠道免疫、抑制大肠癌变以及预防各种肠道疾病^[6,7]。因此,

由于多糖对人体肠道微生物菌群调节具有潜在的益处,与人体健康密切相关,已被作为“益生元”受到广泛的关注和研究。

菠萝蜜 (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) 为桑科木菠萝属热带树种,原产于印度,主要在孟加拉国,缅甸,斯里兰卡,马来西亚,印度尼西亚,菲律宾和泰国等热带和亚热带国家种植^[8]。在我国,菠萝蜜主要在海南、广东、广西、云南和福建等地种植。菠萝蜜含有丰富的植物营养素,如多糖类化合物、蛋白质、氨基酸、多酚、脂肪酸、维生素和矿物质等营养成分^[9]。本研究团队制备的菠萝蜜多糖 (polysaccharide from jackfruit pulp, JFP-Ps), 主要由鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖和半乳糖醛酸组成,平均分子量为 1668 ku,具有较强的体外抗氧化活性及免疫调节等活性^[9,10]。目前,有关 JFP-Ps 在体内代谢生成何种物质而发挥其功效作用等问题尚不清楚。因此,本实验通过体外模拟肠道微生物酵解系统,研究 JFP-Ps 酵解产物 pH 值,还原糖和总糖含量,测定酵解产物中 SCFA 的组成和含量,为菠萝蜜多糖源“益生元”产品的开发提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

菠萝蜜多糖 (polysaccharide from jackfruit pulp, JFP-Ps), 主要由鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖和半乳糖醛酸组成,平均分子量为 1668 ku^[9],由中国热带农业科学院香料饮料研究所产品加工课题组提供。

短链脂肪酸标准品 (乙酸、丙酸、正丁酸、异丁酸、戊酸和异戊酸,色谱级)、正己烷 (色谱级)、阿拉伯半乳糖和胆汁盐,美国 sigma 公司; Na_2HPO_4 、 KH_2PO_4 , 广州化学试剂厂; 蛋白胨、胰蛋白胨,北京奥博星生物技术有限责任公司; NaCl 、 KCl 、 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、Tween 80、葡萄糖、铁氰化钾、浓硫酸、无水乙醇和苯酚,西陇科学股份有限公司; 果胶、酪蛋白,北京索莱宝科技有限公司; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、L-半胱氨酸盐酸盐,上海源叶生物科技有限公司; 可溶性淀粉、酵母浸提物、瓜尔胶和刃天青,阿拉丁试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

FE20 pH 计,上海梅特勒-托利多仪器有限公司; TDL-5-A 离心机,上海飞鸽系列离心机厂; Milli-Q 超纯水仪,美国 Millipore 公司; 6890N 气相色谱仪,安

捷伦公司; G154DW 蒸汽灭菌锅,厦门致微仪器有限公司; MX-S 旋涡混合器,上海伟进生物科技有限公司; DK-98-IIA 电热恒温水浴锅,天津市泰斯特仪器有限公司; SHB-IIIS 循环水式多相真空泵,郑州长城科工贸有限公司; AL104 型电子天平,上海梅特勒-托利多仪器有限公司; TU-1900 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司; TC-2112B 恒温摇床,上海诺基有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 人体肠道菌群的制备

挑选健康的志愿者 2 人 (20 至 30 岁), 正常摄入饮食,无肠道疾病史,且至少 3 个月没有使用过抗生素。收集的粪便样品等量混合,加入 10% 的杜氏磷酸盐缓冲液 (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, D-PBS) 溶液,均质制成浓度为 20% (W/W) 的固液混合物,尼龙纱布过滤,取上清液备用。

1.3.2 JFP-Ps 体外酵解

发酵培养基的配制: 1.25 g 可溶性淀粉, 1.25 g 蛋白胨, 1.25 g 胰蛋白胨, 1.125 g 酵母浸提物, 1.125 g NaCl , 1.125 g KCl , 0.5 g 果胶, 0.75 g 酪蛋白, 0.5 g 阿拉伯半乳糖, 0.375 g NaHCO_3 , 0.307 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.25 g 瓜尔胶, 0.2 g L-半胱氨酸盐酸盐, 0.125 g KH_2PO_4 , 0.125 g K_2HPO_4 , 0.1 g 胆汁盐, 0.02 g CaCl_2 , 0.00125 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.25 mL Tween 80 和 1 mL 0.025% (W/V) 刃天青 (厌氧指示剂), 用蒸馏水定容至 250 mL, 121 °C 灭菌 30 min, 冷却备用。

根据文献^[11]的方法稍作改进: 1.0 mL JFP-Ps 溶液 (20 mg/mL) 与 3 mL 粪便匀浆、3 mL 发酵培养基混合, 涡旋混匀。所有样品和粪便培养物加入不同的厌氧密封管中, 封管于 37 °C, 250 r/min 恒温摇床中进行酵解培养, 并在酵解 0、1、2、4、6、12、24 和 48 h 后依次取出样品组厌氧管, 打开管口并迅速进行冰水浴 10 min, 终止多糖酵解反应, 然后将多糖组的酵解产物 8000 r/min 离心 10 min, 取上清用于 pH、还原糖、总糖和 SCFA 测定。

1.3.3 pH 测定

酵解 0、1、2、4、6、12、24 和 48 h 后, 酵解上清液用 FE20 pH 计进行 pH 测定, 每个样品重复测定 3 次。

1.3.4 酵解产物中还原糖含量测定

采用铁氰化钾法测定酵解产物中还原糖的含量, 根据 Zhang^[12]的方法稍作改进: 配制葡萄糖标准品溶液浓度分别为 0.005、0.01、0.02、0.04、0.08 mg/mL, 取 1.5 mL 溶液加入 2.0 mL 铁氰化钾试剂 (0.5 g 铁氰

化钾溶于 1 L 0.5 mol/L Na_2CO_3 溶液中, 储存于棕色瓶中), 混匀, 100 °C 沸水浴加热 15 min, 冷却至室温, 于 420 nm 波长处测吸光度, 以标准品浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。取 1.5 mL JFP-Ps 酵解上清液, 按上述同样方法测定吸光度值, 对照标准曲线, 得出酵解产物中还原糖的含量。

1.3.5 酵解产物中总糖含量测定

采用苯酚-硫酸法测定酵解产物中总糖的含量, 根据 Dubois^[13] 的方法稍作改进: 配制葡萄糖标准溶液, 浓度分别为 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 和 0.06 mg/mL, 取 1 mL 溶液加入 0.5 mL 5% 苯酚溶液, 混匀后加入 2.5 mL 浓硫酸, 室温放置 35 min, 于 490 nm 波长处测定吸光度, 以标准品浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。取 1.0 mL JFP-Ps 酵解上清液, 按上述同样方法测定吸光度值, 对照标准曲线, 得出酵解产物中总糖的含量。

1.3.6 酵解产物中 SCFA 含量测定

根据文献^[14] 方法进行分析: 分别取 1.2 mL 无水乙醇和 0.5 mL 酵解上清液 (或 SCFA 标准溶液) 加入到试管中, 混匀。吸取 1.7 mL 混合溶液于安瓿管中, 加 0.2 mL 浓硫酸和 2.0 mL 正己烷, 酒精灯封口, 60 °C 水浴 60 min, 并每隔 10 min 震荡一次, 使酵解产物中的 SCFA 能够被充分的酯化。酯化反应完成后, 取出安瓿管冷却至室温, 涡旋震荡 5 min, 静置分层; 吸取上层有机相, 用于测定酵解产物中的 SCFA 的种类和浓度。

表 1 气相色谱仪工作参数

Table 1 GC instrumental parameters

条件	工作参数
色谱柱	HP-5 (30 m×0.32 mm×0.25 μm , Agilent 19091J-413) 柱
进样口温度	200 °C
检测器	FID, 220 °C
载气及流速	氮气, 19.0 mL/min
进样量	1 μL
分流比	40:1
升温程序	30 °C, 3.5 min; 30 °C -40 °C, 5 °C/min; 40 °C -150 °C, 15 °C/min;
运行时间	22.8 min

SCFA 标准曲线的制作: 将乙酸、丙酸、正丁酸、异丁酸、正戊酸和异戊酸的混合标准溶液进行梯度稀释, 浓度梯度为 10~80 mmol/L, 采用样品处理方法酯化后进行 GC 分析, 建立以各标准酸浓度为横坐标和以峰面积为纵坐标的标准曲线方程。

气相色谱分析通过 Agilent 6890 N 气相色谱仪和

HP-5 色谱柱进行: GC 条件见表 1。

1.3.7 统计学分析

所有数据均用 Excel 2007、Origin 8.5、SPSS 20.0 等软件处理完成。所有实验结果均用平均值±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。采用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA), Duncan 检验, $p<0.05$ 时表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 酵解产物 pH 的变化

pH 值是 JFP-Ps 酵解过程中的主要考察指标之一。酵解产物 pH 值变化如图 1 所示, 多糖酵解产物初始 pH 值 (0 h) 为 5.78 ± 0.01 , 呈弱酸性, 这是由于在人体肠道微生物的新陈代谢产生了一些肠道初级代谢产物 (如 SCFA)^[15]。有研究表明人体盲肠环境的 pH 值约为 6^[16]。此外, 我们前期研究表明, JFP-Ps 是一种酸性多糖^[17], 这也是多糖酵解产物 pH 值呈弱酸性的原因。多糖酵解产物 pH 值显著性降低 ($p<0.05$), 由 5.78 ± 0.01 (0 h) 降低至 4.48 ± 0.02 (48 h)。在整个酵解过程中, pH 值的降低表明多糖酵解产物中产生了游离的 H^+ , 说明多糖可能是被肠道微生物菌群酵解利用, 使得 H^+ 浓度升高。JFP-Ps 有利于酵解液中 H^+ 的产生, 从而影响人体粪便中微生物的代谢。

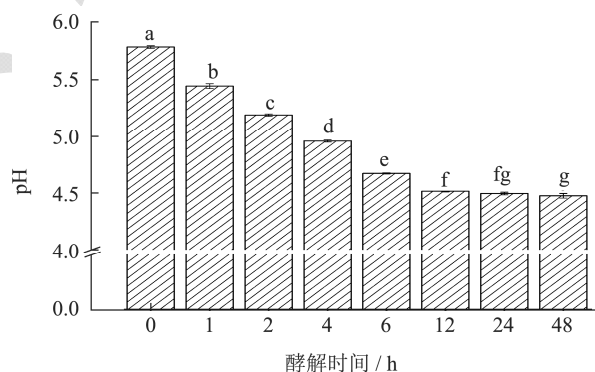


图 1 菠萝蜜多糖酵解培养物中不同时间点 pH 的变化

Fig.1 Changes of pH in fermented cultures added with polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. Pulp at different time during fermentation

注: 不同字母表示差异显著 ($p<0.05$)。

研究表明, 酵解产物中 pH 值的变化对 SCFA 的产生以及微生物菌群的种类和含量有一定的影响, 例如, 相比于中性 pH, 弱酸性的 pH 更有利于丁酸的产生和产丁酸菌群的生长^[18]。一些容易产生致癌物质的腐生菌在较高 pH 环境下生长活跃, pH 值的降低能有效抑制肠道中腐生菌的生长, 同时较低的 pH 值可以防止对 pH 敏感的病原菌过度生长, 如肠杆菌科

(*Enterobacteriaceae*) 和梭状芽孢杆菌 (*Clostridia*), 从而达到预防和治疗肠道疾病的作用^[19,20]。Hu 等^[21]发现在车前子多糖酵解过程中, 粪便培养物的 pH 值从 6.1 降低至 5.1。山茶花多糖的酵解产物酵解 0 h 的 pH 值为 6.48, 酵解 6 h 时的 pH 值为 5.00, pH 值随着酵解时间的延长降低^[22]。本文研究结果与报道一致。

2.2 酵解产物中还原糖含量的变化

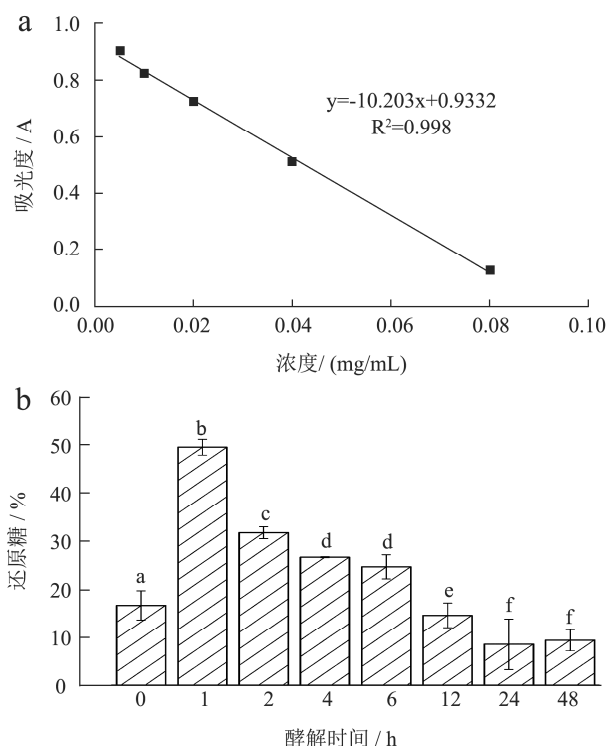


图2 还原糖含量标准曲线(a)和体外酵解产物中还原糖含量的变化(b)

Fig.2 The calibration curve of reducing sugar(a) and the changes of reducing sugar content in vitro fermentation(b)

注: 不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

图2a是还原糖含量标准曲线, 由图可以看出吸光度值随葡萄糖浓度的增加而稳定减小, 反应体系的吸光度值与葡萄糖浓度线性关系良好, 标准曲线方程式为 $y = -10.203x + 0.9332$, $R^2 = 0.998$ 。如图2b所示, 在整个酵解过程中, JFP-Ps 酵解产物中还原糖含量先增加后降低。在体外酵解 0 h 时, 酵解产物中还原糖含量为 $16.63\% \pm 3.03\%$ 。在体外酵解 1 h 时, 还原糖含量显著性升高, 达到了 $49.57\% \pm 1.65\%$, 此后的 48 h 内, 酵解产物的还原糖含量整体呈降低趋势, 在体外酵解 48 h 时, 还原糖含量为 $9.37\% \pm 2.22\%$ 。多糖在体外酵解过程中, 糖苷键遭到破坏而断裂, 暴露出一些还原端, 从而会产生大量的短链还原糖, 导致酵解初期酵解产物中还原糖含量显著增加^[4,23]。而在接下来的酵解过程中, 这些短链还原糖又直接被粪便中的菌群消

耗利用, 因此它的含量又呈降低趋势。任贝贝^[15]的研究表明, 鼠尾藻多糖酵解液中还原糖含量在体外酵解 6 h 后显著提高, 酵解 6~48 h 时, 还原糖含量逐渐减小。铁皮石斛多糖酵解液和青钱柳多糖酵解液的还原糖含量都是随着酵解时间的延长先增加后降低^[24,25]。因此, 从酵解产物中还原糖含量的变化结果来看, 可以推断 JFP-Ps 在体外酵解过程中, 可以被粪便菌群酵解利用, JFP-Ps 既能充当微生物繁殖的底物, 又能促进微生物的新陈代谢。

2.3 酵解产物中总糖含量的变化

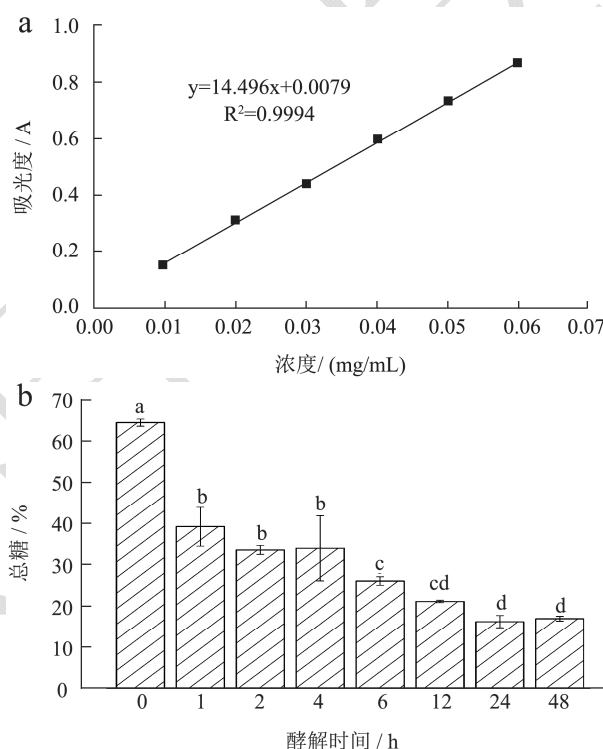


图3 总糖含量标准曲线(a)和体外酵解产物中总糖含量的变化(b)

Fig.3 The calibration curve of total sugar (a) and the changes of total sugar content in vitro fermentation(b)

注: 不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

图3a是总糖含量标准曲线, 从图中可以看出吸光度值随葡萄糖浓度的增加而稳定增加, 反应体系的吸光度值与葡萄糖浓度线性关系良好, 标准曲线方程式为 $y = 14.496x + 0.0079$, $R^2 = 0.9994$ 。如图3b所示, 从总体上来说, JFP-Ps 酵解产物在整个酵解过程中, 总糖含量呈下降的趋势, 从 $64.51\% \pm 0.86\%$ (0 h) 下降到 $16.98\% \pm 0.58\%$ (48 h)。多糖作为微生物繁殖的底物被消耗利用, 因此随着酵解时间的延长, 总糖的含量总体上呈现降低趋势。Hughes 等^[26]研究表明, 总糖含量变化可以表征膳食纤维含量的变化。Chen 等^[22]研究表明山茶花多糖酵解液中总糖含量随着酵解时间

的延长显著降低。铁皮石斛多糖酵解液和鼠尾藻多糖酵解液中总糖含量都是随着酵解时间的延长而降低，与本实验结果是一致的^[15,25]。因此，从酵解产物中总糖含量的变化结果来看，可以推断 JFP-Ps 在酵解过程中被用作肠道菌群的酵解底物，与还原糖结论一致。

2.4 酵解产物中 SCFA 组成的变化

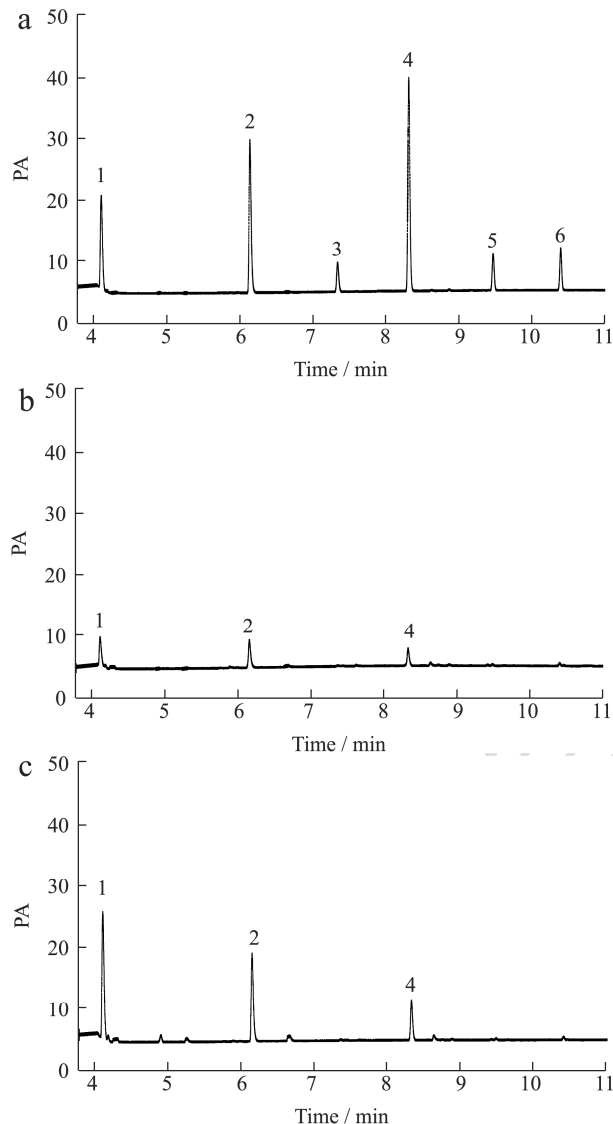


图 4 SCFA 气相色谱图：混标 (a)，多糖酵解产物 0 h (b) 和多糖酵解产物 48 h (c)

Fig.4 Gas chromatograms of SCFA in standard solution (a), polysaccharide fermentation cultures 0 h (b) and 48 h (c)

注：1，乙酸；2，丙酸；3，异丁酸；4，正丁酸；5，异戊酸；6，正戊酸。

图 4 是 SCFA 混合标准溶液和 JFP-Ps 酵解产物中 SCFA 的色谱分离图谱。图 4a 可看出，HP-5 色谱柱可在 15 min 内有效地分离乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸和正戊酸，保留时间分别约为 4.1 min, 6.1 min,

7.3 min, 8.3 min, 9.5 min 和 10.4 min。图 4b 和图 4c 分别为 JFP-Ps 酵解产物在酵解 0 h 时和 48 h 时的 SCFA 气相色谱图，从图中可以看出，SCFA 分别为乙酸、丙酸和正丁酸，且 JFP-Ps 酵解产物在酵解 48 h 时各 SCFA 的峰面积均大于酵解反应前的。

2.5 酵解产物中 SCFA 含量的变化

表 2 为各 SCFA 标准品（乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸和正戊酸）的响应时间、标准曲线以及相关系数。表中数据表明，所采用的气相色谱法（GC）可以较为准确地测定 JFP-Ps 酵解产物中这几种有机酸的含量。

表 2 标准溶液中 SCFA 的响应时间和标准曲线

Table 2 Retention time and calibration curves of different short-chain fatty acids in standard solution

分析物	响应时间/min	标准曲线	相关系数
乙酸	4.10±0.002	$y = 1.5271x - 0.7365$	0.9993
丙酸	6.14±0.006	$y = 3.3259x - 0.165$	0.9997
异丁酸	7.34±0.002	$y = 5.3543x - 0.1141$	0.9987
正丁酸	8.32±0.005	$y = 5.2534x + 0.2113$	1.0000
异戊酸	9.47±0.001	$y = 6.3301x - 0.0569$	0.9974
正戊酸	10.39±0.002	$y = 7.1717x + 0.0117$	0.9997

人体肠道是微生物栖息的良好环境，肠道中微生物数量远高于人体表皮，高达 $10^{12} \sim 10^{14}$ 个，健康人群胃肠道中微生物可分为细菌（*Bacteria*）、古菌（*Archaea*）和真核生物（*Eukarya*），在“门”的水平上，人体肠道菌群仅有 8 个门，其中最主要的优势菌群是拟杆菌门（*Bacteroides*）和厚壁菌门（*Firmicutes*）^[27]。膳食多糖对人体肠道微生物生态有重大影响，多糖可调节新陈代谢和肠道菌群的种类和含量^[28]。有研究发现茶花多糖酵解可以显著降低肠道微生物中厚壁菌门/拟杆菌门的比例，同时会使普雷沃氏菌科（*Prevotellaceae*）含量升高，而韦荣氏球菌科（*Veillonellaceae*）、葡萄球菌科（*Staphylococcaceae*）和肠球菌科（*Enterococcaceae*）含量降低，厚壁菌门水平的降低和拟杆菌门水平的增加可能导致能量吸收的减少，这与肥胖风险降低呈正相关，而肝病患者肠道菌群的改变包括普雷沃氏菌科减少，韦荣氏球菌科、葡萄球菌科和肠球菌科增加，表明茶花多糖可降低肥胖率，同时对肝脏有保护作用^[22]。肠道微生物群介导的宿主代谢可能与 SCFAs 信号通路有关，对人类健康有益^[29]。因此测定酵解前后 SCFA 的种类和含量，来评估 JFP-Ps 对肠道环境的影响，进一步探究肠道菌群降解 JFP-Ps 的证据。

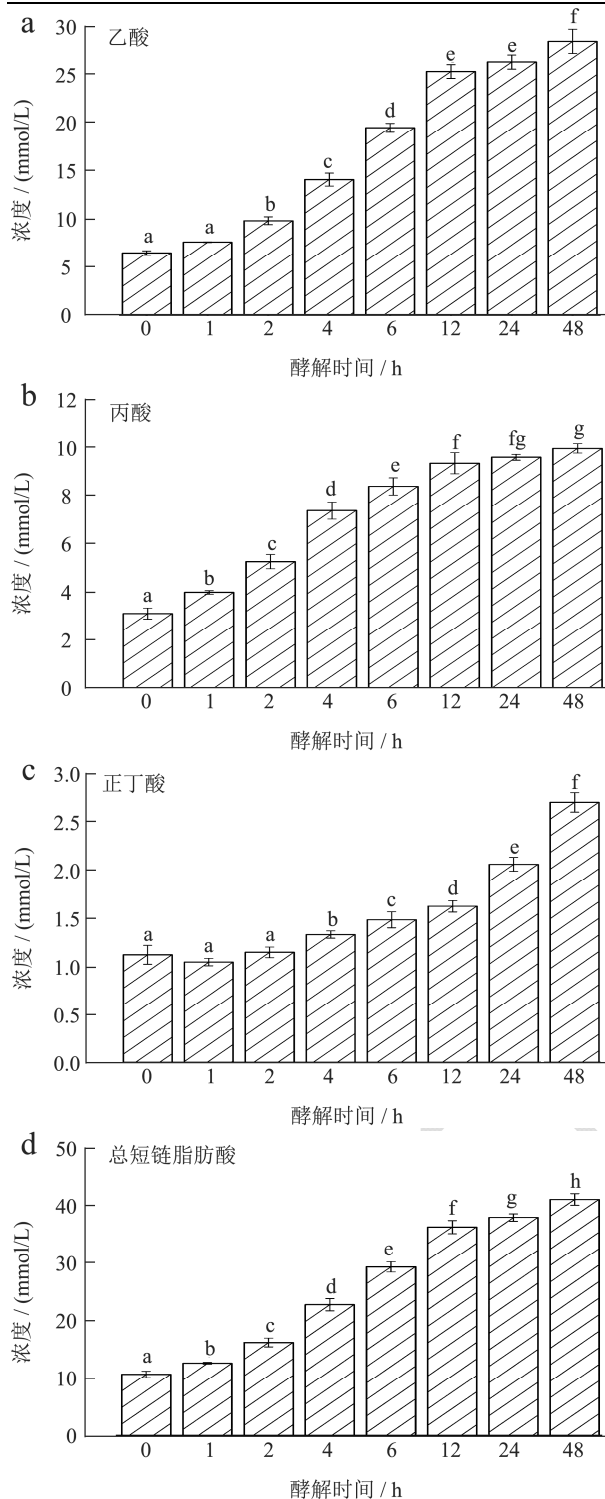


图5 菠萝蜜多糖在体外酵解0、1、2、4、6、12、24和48 h的短链脂肪酸和总脂肪酸的含量

Fig.5 Individual SCFA and total SCFA at 0, 1, 2, 4, 6, 12, 24 and 48 h in vitro fermentation of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. Pulp

注：值为平均值±标准偏差（n=3）。不同字母表示差异显著（ $p < 0.05$ ）。

如图5所示，随着体外酵解时间的增加，JFP-Ps酵解产生的乙酸、丙酸和正丁酸及总SCFA含量均显

著增加。其中，浓度最高的是乙酸，其次是丙酸和正丁酸。经过48 h的酵解，JFP-Ps酵解产物中乙酸浓度从 6.44 ± 0.24 mmol/L增加到 28.36 ± 1.26 mmol/L，丙酸浓度从 3.13 ± 0.23 mmol/L增加到 10.02 ± 0.19 mmol/L，正丁酸浓度从 1.12 ± 0.10 mmol/L增加到 2.7 ± 0.10 mmol/L，总短链脂肪酸从 10.69 ± 0.57 mmol/L增加到 41.08 ± 1.02 mmol/L。结果表明，JFP-Ps在体外模拟肠道酵解体系中可被酵解，产生丰富的SCFA。

用于体外酵解的人体肠道新鲜粪便，含有活跃的肠道微生物，在体外模拟的厌氧环境中，微生物可模拟人体肠道环境酵解多糖，产生SCFA等代谢产物。碳水化合物是微生物酵解产生SCFA的主要底物。前期实验表明，通过灌胃多糖溶液，可以提高小鼠肠道粪便中的SCFA含量^[6]。同时，SCFA的产生速率和总含量与结肠中厌氧微生物的种类和数量、碳水化合物底物的组成以及肠道作用的时间紧密相关^[30]。SCFA如乙酸、丙酸、正丁酸可直接影响机体健康，乙酸是结肠中主要的SCFA，很容易被吸收并运输到肝脏，可作为肝脏、肌肉和周围组织的一种能源^[31]。丙酸可以降低血清胆固醇水平，具有降血脂作用，预防饮食引起的肥胖^[32]。乙酸和丙酸对肝脏和胆固醇的代谢有一定的调节作用^[33]。丁酸是结肠细胞代谢中最重要的SCFA，是结肠细胞的能量来源，70%~90%的丁酸被结肠上皮细胞代谢消耗掉，丁酸可以促进细胞分化、阻滞细胞周期，调节上皮细胞和免疫细胞的生长和凋亡，在保护结肠黏膜和预防结肠癌、结肠炎等方面发挥了重要的作用^[31,34]。

Chen等^[7]研究表明桑葚多糖在体外发酵过程中，其总SCFA、乙酸、丙酸和丁酸均显著增加。体外酵解茯苓茶多糖可提高SCFA产物含量和促进肠道健康^[35]。人体肠道微生物菌群可酵解灵芝多糖，酵解产物总SCFA、乙酸、丙酸和丁酸的浓度在体外酵解过程中显著提高^[36]。枸杞蜂花粉多糖在体外酵解过程中，总SCFA和乙酸、丁酸的浓度也呈显著增加趋势^[37]，本研究结果与这些报道相一致。

3 结论

本实验研究了JFP-Ps在体外人体粪便中的酵解行为，结果表明：JFP-Ps可被人体粪便微生物利用，随着酵解时间的延长，JFP-Ps酵解产物的pH值持续降低，还原糖含量先增加后降低，总糖含量总体呈降低趋势，JFP-Ps酵解产物各SCFA浓度的大小依次为乙酸>丙酸>正丁酸。推断JFP-Ps在体外模拟肠道酵解体系中可被粪便微生物菌群酵解利用，产生丰富的SCFA等代谢产物，有益于人体肠道的健康，研究结

果为 JFP-PS 在动物体内的研究提供一定的理论基础。

参考文献

- [1] Wu T, Guo Y, Liu R, et al. Black tea polyphenols and polysaccharides improve body composition, increase fecal fatty acid, and regulate fat metabolism in high-fat diet-induced obese rats [J]. Food & Function, 2016, 7(5): 2469-2478
- [2] Di T, Chen G J, Sun Y, et al. Antioxidant and immunostimulating activities *in vitro* of sulfated polysaccharides isolated from *Gracilaria rubra* [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 28: 64-75
- [3] 周聪,孙月,李德海,等.柳蘑多糖对肿瘤细胞增殖抑制作用的研究[J].现代食品科技,2017,33(9):56-62
ZHOU Cong, SUN Yue, LI De-hai, et al. Inhibitory effect of polysaccharides from *Pholiota adiposa* on tumor cell proliferation [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(9): 56-62
- [4] Hu J L, Nie S P, Min F F, et al. Artificial simulated saliva, gastric and intestinal digestion of polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(2): 1143-1150
- [5] Chen C, Zhang B, Fu X, et al. The digestibility of mulberry fruit polysaccharides and its impact on lipolysis under simulated saliva, gastric and intestinal conditions [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 58: 171-178
- [6] Xu X F, Xu P P, Ma C M, et al. Gut microbiota, host health, and polysaccharides [J]. Biotechnology Advances, 2013, 31(2): 318-337
- [7] Chen C, Huang Q, Fu X, et al. *In vitro* fermentation of mulberry fruit polysaccharides by human fecal inocula and impact on microbiota [J]. Food & Function, 2016, 7(11): 4637-4643
- [8] Baliga M S, Shivashankara A R, Haniadka R, et al. Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (jackfruit): A review [J]. Food Research International, 2011, 44(7): 1800-1811
- [9] Zhu K X, Zhang Y J, Nie S P, et al. Physicochemical properties and *in vitro* antioxidant activities of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. Pulp [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 155: 354-361
- [10] 朱科学,王颖倩,张彦军,等.菠萝蜜多糖对脾淋巴细胞抗氧化作用及免疫功能的影响[J].食品科学,2017,38(23):207-212
ZHU Ke-xue, WANG Ying-qian, ZHANG Yan-jun, et al. Antioxidant activity and immune regulation of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. on spleen lymphocyte [J]. Food Science, 2017, 38(23): 207-212
- [11] Bianchi F, Dall'Asta M, Rio D D, et al. Development of a headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometric method for the determination of short-chain fatty acids from intestinal fermentation [J]. Food Chemistry, 2011, 129(1): 200-205
- [12] Zhang Y Q, Wang Z P, Song Y M, et al. Comparative study on the determination of reducing sugar [J]. Science & Technology of Food Industry, 2010, 31(6): 321-326
- [13] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356
- [14] Fenster K M, Rankin S A, Steele J L. Accumulation of short n-chain ethyl esters by esterases of lactic acid bacteria under conditions simulating ripening Parmesan cheese [J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(9): 2818-2825
- [15] 任贝贝.鼠尾藻多糖的提取分离、体外消化和酵解特征及其对肠道菌群的影响[D].广州:华南理工大学,2017
REN Bei-bei. Isolation and identification of polysaccharides from *Sargassum thumbergii*, *in vitro* gastrointestinal digestion and fermentation system and its effects on intestinal microflora [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017
- [16] Fondevila M, Pérez-Espés B. A new *in vitro* system to study the effect of liquid phase turnover and pH on microbial fermentation of concentrate diets for ruminants [J]. Animal Feed Science and Technology, 2008, 144(3): 196-211
- [17] Zhu K X, Yao S W, Zang Y J, et al. Effects of *in vitro* saliva, gastric and intestinal digestion on the chemical properties, antioxidant activity of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jackfruit) Pulp [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 952-959
- [18] Walker A W, Duncan S H, McWilliam Leitch E C, et al. pH and peptide supply can radically alter bacterial populations and short-chain fatty acid ratios within microbial communities from the human colon [J]. Applied Environmental Microbiology, 2005, 71(7): 3692-3700
- [19] 方建东.抗性淀粉对小鼠肠道菌群的影响以及作用机制的研究[D].杭州:浙江工商大学,2014
FANG Jian-dong. Effect of resistant starch on intestine florain rats and the mechanism of action [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2014
- [20] Den B G, Van E K, Groen A K, et al. The role of short-chain

- fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism [J]. *Journal of Lipid Research*, 2013, 54(9): 2325-2340
- [21] Hu J L, Nie S P, Li C, et al. *In vitro* fermentation of polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. by human fecal microbiota [J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 33(2): 384-392
- [22] Chen D, Chen G J, Wan P, et al. Digestion under saliva, simulated gastric and small intestinal conditions and fermentation *in vitro* of polysaccharides from the flowers of *Camellia sinensis* induced by human gut microbiota [J]. *Food & Function*, 2017, 8(12): 4619-4629
- [23] Fraeye I, Deroeck A, Duvetter T, et al. Influence of pectin properties and processing conditions on thermal pectin degradation [J]. *Food Chemistry*, 2007, 105(2): 555-563
- [24] 闵芳芳, 聂少平, 万宇俊, 等. 青钱柳多糖在体外消化模型中的消化与吸收[J]. *食品科学*, 2013, 34(21): 24-29
MIN Fang-fang, NIE Shao-ping, WAN Yu-jun, et al. *In vitro* digestion and absorption of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves [J]. *Food Science*, 2013, 34(21): 24-29
- [25] 张冠亚. 铁皮石斛多糖在模拟消化、酵解体系中的代谢特点及其改善肠道功能的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015
ZHANG Guan-ya. Research on metabolic characteristics of *Dendrobium officinale* polysaccharides in simulating digestion and fermentation system and its effect on the improvement of intestinal function [D]. Nanchang: Nanchang University, 2015
- [26] Hughes S A, Shewry P R, Li L, et al. *In vitro* fermentation by human fecal microflora of wheat arabinoxylans [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(11): 4589-4595
- [27] 刘开朗, 王加启, 卜登攀, 等. 人体肠道微生物多样性和功能研究进展[J]. *生态学报*, 2009, 29(5): 2589-2594
LIU Kai-lang, WANG Jia-qi, BU Deng-pan, et al. Advances in diversity and functionality of human gut microflora [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(5): 2589-2594
- [28] Flint H, Bayer E, Rincon M, et al. Polysaccharide utilization by gut bacteria: Potential for new insights from genomic analysis [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(2): 121-131
- [29] Li D T, Wang P, Wang P P, et al. The gut microbiota: A treasure for human health [J]. *Biotechnology Advances*, 2016, 34(7): 1210-1224
- [30] Yang J, Martinez I, Walter J, et al. *In vitro* characterization of the impact of selected dietary fibers on fecal microbiota composition and short chain fatty acid production [J]. *Anaerobe*, 2013, 23: 74-81
- [31] Cook S I, Sellin J H. Review article short chain fatty acids in health and disease [J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 1998, 12(6): 499-507
- [32] Hosseini E, Grootaert C, Verstraete W, et al. Propionate as a health-promoting microbial metabolite in the human gut [J]. *Nutrition Reviews*, 2011, 69(5): 245-258
- [33] Venter C S, Vorster H H, Cummings J H. Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in healthy volunteers [J]. *American Journal of Gastroenterology*, 1990, 85(5): 549-553
- [34] Peng X C, Li S T, Luo J M, et al. Effects of dietary fibers and their mixtures on short chain fatty acids and microbiota in mice guts [J]. *Food & Function*, 2013, 4(6): 932-938
- [35] Chen G J, Xie M, Wan P, et al. Digestion under saliva, simulated gastric and small intestinal conditions and fermentation *in vitro* by human intestinal microbiota of polysaccharides from Fuzhuan brick tea [J]. *Food Chemistry*, 2018, 244: 331-339
- [36] Ding Q, Nie S P, Hu J L, et al. *In vitro* and *in vivo* gastrointestinal digestion and fermentation of the polysaccharide from *Ganoderma atrum* [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 646-655
- [37] Zhou W T, Yan Y M, Mi J, et al. Simulated digestion and fermentation *in vitro* by human gut microbiota of polysaccharides from bee collected pollen of Chinese wolfberry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(4): 898-907

(上接第 110 页)

- [21] 房增科. 电磁场作用下液体粘度变化的机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010
FANG Zeng-ke. Study on mechanism of liquid viscosity change due to the effect of the electromagnetic field [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010