

# 不同品种红枣多糖结构及生物活性比较

易宇欣, 薛地, 宋年年, 阿衣吐逊·阿布都外力\*

(新疆农业大学化学化工学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

**摘要:** 该文以骏枣、灰枣、药枣和若羌枣为研究对象, 水提醇沉法制备得 JP、HP、YP、RP 四种红枣多糖, 并对其结构和功能的对比研究。结果表明多糖的得率为 5.71%~7.01%, 红枣多糖均为酸性多糖, 其糖醛酸含量为 34.80%~48.61%; 分子量为: 29.17~140.71 kDa; 由不同摩尔比的半乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖、鼠李糖、木糖及甘露糖构成, 主要以半乳糖及阿拉伯糖为主; 紫外和红外吸收光谱表现出具有多糖的特征吸收峰。红枣多糖具有较好的持水、持油、乳化性及生物活性。YP 对于清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼、2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)和羟自由基的清除能力较强, 半抑制浓度分别为 0.20、 $7.00 \times 10^{-2}$ 、0.59 mg/mL。红枣多糖对巨噬细胞 RAW264.7 显出不同的细胞增殖活性及分泌细胞因子的能力, 其中 JP 具有明显的促进细胞增殖作用 ( $P < 0.05$ ), 均显著促进细胞分泌 IL-1 $\beta$  ( $P < 0.01$ ), RP 和 HP 显著促进细胞分泌 TNF- $\alpha$  ( $P < 0.01$ )。综上, 不同的红枣多糖应用潜力各异, 该研究将为不同品种红枣多糖构效关系的研究及红枣资源的高值化开发利用提供参考。

**关键词:** 红枣多糖; 品种; 结构表征; 生物活性

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.11.1124

## Comparative Study on Structure and Biological Activities of Polysaccharides from Different Varieties of *Ziziphus Jujuba*

YI Yuxin, XUE Di, SONG Niannian, AYTURSUN Abuduwalli\*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

**Abstract:** In this research, four different kinds of *Ziziphus jujuba* including Junzao, Huizao, Yaozao, and Ruoqiangzao as research objects, and four types of jujube polysaccharides JP, HP, YP, and RP were prepared by water extraction and alcohol precipitation method, then their structures and functional properties were compared. The yield of polysaccharides was ranging in 5.71%~7.01%. All the polysaccharides were acidic polysaccharides with the uronic acid content of 34.80%~48.61%. Molecular weight was 29.17~140.71 kDa; *Ziziphus jujuba* polysaccharides consisted of galactose, glucose, arabinose, rhamnose, xylose, and mannose with a different molar ratio. *Ziziphus jujuba* polysaccharides have better water holding, oil holding, emulsifying properties, and biological activity, YP has stronger free radical scavenging abilities against 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine, 2,2'-diazobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid), and hydroxyl radicals with IC<sub>50</sub> values of 0.20,  $7.00 \times 10^{-2}$  and 0.59 mg/mL, respectively. *Ziziphus jujuba* polysaccharides showed different cell proliferation activities and cytokine secretion abilities on macrophages RAW264.7. Among them, JP had significant promoting effects on cell proliferation ( $P < 0.05$ ), all polysaccharides significantly promote the secretion of IL-1 $\beta$  ( $P < 0.01$ ), and RP and HP have significant effects on promoting the secretion of TNF- $\alpha$  ( $P < 0.01$ ). In conclusion, the results showed that *Ziziphus jujuba* polysaccharides have different application potential. This study will provide a reference for the study on the structure-activity relationship of *Ziziphus jujuba* polysaccharides and the further development and utilization of this resources.

**Key words:** *Ziziphus jujuba* polysaccharide; variety; structural characterization; biological activity

枣 (*Ziziphus jujuba* Mill.) 是鼠李科 Rhamnaceae 枣属 *Ziziphus* 植物。根据《中华人民共和国药典》的记载, 枣具有补中益气、养血安神之功效<sup>[1]</sup>, 不仅可以食用而且也被广泛应用于中医药领域。新疆红枣种植总面积超过 48.61 万公顷, 且种植面积和产量均处于较高水平。红枣果肉甘甜, 亦可制成口感各异的蜜饯和果脯, 枣泥、枣面、

收稿日期: 2024-08-02; 修回日期: 2024-09-23; 接受日期: 2024-09-26

基金项目: 新疆维吾尔自治区“三区人才”项目 (2224SQRC)

作者简介: 易宇欣 (2002-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 糖化学, E-mail: 2946469817@qq.com

通讯作者: 阿衣吐逊·阿布都外力 (1991-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 糖化学及生物学, E-mail: Aytursun11@126.com

枣酒、枣醋等,还能提供多种食品工业原料。红枣含有丰富的多糖、氨基酸、维生素、黄酮类、多酚类等多种活性成分,具有抗氧化、抑菌、调节免疫、保护神经等多种功效<sup>[2]</sup>。然而,新疆红枣的种类较多,其级别与产品的质量控制标准尚不健全。

多糖为红枣的主要生物活性成分之一,多糖在不同的生物体内有着重要的作用,近年来植物多糖由于其特殊的结构与活性,毒性较低、安全性高以及多种功效等特性已引起广泛关注和深入研究。研究表明,红枣多糖具有抗氧化、抗炎、保肝、增强免疫力及调节肠道菌群等生物学作用<sup>[3]</sup>。不同红枣具有不同的结构及生物活性,不同比例与种类的单糖、分子量大小和糖链的链接方式等影响因素均使红枣多糖的结构和功能产生变化。白冰瑶等<sup>[4]</sup>研究不同品种红枣多糖发现其在多糖产率、含量、抗氧化及降糖等活性差距较大。Wu等<sup>[5]</sup>用超声辅助加热提取新疆若羌枣多糖,产率最高可达1.97%,纯化后的组分ZJSPs-1显出抗肿瘤活性。Wang等<sup>[6]</sup>采用碱法提取及膜分离技术得到的两种金丝小枣多糖AJP1和AJP2能调节肠道菌群组成,抑制致病菌繁殖,促进有益菌生长。白建报道<sup>[7]</sup>骏枣多糖提高D-半乳糖诱导的衰老小鼠肝脏组织中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶与过氧化氢酶的含量。Li等<sup>[8]</sup>对大枣多糖进行了微胶囊化研究,发现大枣多糖微胶囊表现出优异的溶胀特性和一致且持久的释放模式。牛佳卉等<sup>[9]</sup>报道红枣多糖能够保护小鼠肠道免疫屏障,其调节作用与MyD88/NF- $\kappa$ B途径相关蛋白的表达有关。Liu等<sup>[10]</sup>发现乙酰化的红枣多糖促进免疫抑制小鼠血清中INF- $\gamma$ 、IL-4Ig-A、Ig-G、Ig-M等的分泌,并且能够改善肠道微生物菌群。鉴于当前红枣产业面临的难题,明确不同红枣品种与其多糖含量、结构及生物活性的关系,可为红枣及其产品的品质评价提供科学依据。

该文从红枣的传统应用出发,以活性为导向,针对其药效物质基础不明问题,对不同品种红枣多糖的结构及活性进行了对比研究;以灰枣、骏枣、药枣及若羌枣为主要研究对象,通过传统热水法提取粗多糖,得骏枣多糖(Junzao Polysaccharide, JP)、灰枣多糖(Huizao Polysaccharide, HP)、药枣多糖(Yaozao Polysaccharide, YP)、若羌枣多糖(Ruoqiangzao Polysaccharide, RP),经过含量测定、结构表征、功能特性、抗氧化及免疫调节活性对不同品种的红枣多糖进行研究,旨在为红枣质量标准的建立及红枣资源的综合利用提供一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

骏枣及灰枣收集于麦盖提县;药枣收集于喀什市;若羌枣收集于若羌县;甲醇、硫酸亚铁、氯化羟胺(盐酸羟胺)、氢氧化钠、三氟乙酸、乙酸酐等均为分析纯,购买于天津市鑫铂特化工有限公司;硫酸分析纯,购买于四川西陇科学有限公司;抗坏血酸、乙醇分析纯,购买于天津市致远化学试剂有限公司;吡啶分析纯,天津市福晨化学试剂厂;半乳糖醛酸、间羟基联苯、蒽酮均为分析纯,购买于上海源叶生物科技有限公司;葡萄糖、鼠李糖、甘露糖、木糖、半乳糖、阿拉伯糖均为分析纯,购买于上海阿达玛斯试剂有限公司;1,1-二苯基-2-苦基肼、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸均为分析纯,购买于梯希爱(上海)化工贸易有限公司;TNF- $\alpha$ 及IL-1 $\beta$ 试剂盒购买于碧云天生物技术有限公司。

### 1.2 仪器设备

DF-101 S型冷冻干燥机,上海力辰邦西仪器科技有限公司;723 N型可见分光光度计,上海佑科仪器仪表有限公司;GPIN-9080型恒温培养箱,上海新春兰科学仪器有限公司;GC-2014型气相色谱仪、IR Affinity1型红外光谱仪,日本岛津检测技术有限公司;Multiskan FC型酶标仪,赛默飞世尔(上海)仪器有限公司;STA449F3型热分析仪,德国耐驰仪器公司;SUPRA 55VP型扫描电子显微镜,德国蔡司公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 红枣多糖的提取

将四种红枣粉碎后干燥,过100目筛,用 $\phi=85\%$ 的乙醇按照料液比为1:5 g/mL将红枣脱色至颜色较浅。预处理完备的红枣粉末使用热水提取法提取多糖,条件为液料比30:1 mL/g、在90℃的热水中提取2 h,冷却后取上清液浓缩,将浓缩的液体离心后按照体积比1:5 mL/mL的条件,用乙醇进行醇沉12 h,取固体冷冻干燥后得四种

红枣的粗多糖为：骏枣多糖（JP）、灰枣多糖（HP）、药枣多糖（YP）和若羌枣多糖（RP）。

### 1.3.2 结构表征

#### 1.3.2.1 含量测定

采用蒽酮硫酸法测定糖含量，所得标曲为  $y=0.0041x+0.0745$ ， $R^2=0.9932$ 。

采用间羟基联苯法测定糖醛酸含量，所得标曲为  $y=0.0075x+0.0252$ ， $R^2=0.9747$ 。

按照 BCA 试剂盒操作说明书测定蛋白含量，所得标曲为  $y=0.0009x+0.1393$ ， $R^2=0.9947$ 。

#### 1.3.2.2 单糖组成

按照研究报道略加修改测定红枣多糖的单糖组成<sup>[11]</sup>，完全酸水解：取四种红枣多糖各 5 mg，加入 2 mol/L 的三氟乙酸，混匀后放置 120 °C 烘箱中加热 5 h，冷却至室温，加入甲醇蒸干即可。衍生化：将蒸干的多糖中加入 8 mg 的盐酸羟胺与 0.5 mL 的吡啶，在 90 °C 的水浴锅中持续加热半小时，冷却后同等条件下加入 0.5 mL 的乙酸酐继续反应，吹干后用氯仿溶解，用气相色谱仪测定单糖组成。色谱条件如下：进样口及检测器温度为 280 °C、程序升温条件为：180 °C→5 min→2 °C/min→220 °C→10 min→5 °C/min→280 °C→10 min。

#### 1.3.2.3 分子量测定

精密称取各多糖样品 5 mg，溶解在 0.05 mol/L NaCl 溶液中，配制成质量浓度为 5 mg/mL 供试溶液，离心（8 000 r/min，10 min）过 0.22 μm 滤头。色谱柱：OHpak SB-803 HQ、Ohpak SB-804 HQ、Ohpak SB-805 HQ，3 根（8×300 mm）串联；流动相为 0.05 mol/L NaCl 溶液；流速 0.65 mL/min；柱温 40 °C；进样量 30 μL。以不同分子量的 Dextran（5、12、25、50、80、150、270、410、670 kDa）作为标准曲线，进行测定。得到校正曲线如下： $\text{Log } Mw=-0.1761T+11.0299$ ， $R^2=0.9927$ 、 $\text{Log } Mn=-0.1674T+10.5361$ ， $R^2=0.9937$ 。

#### 1.3.2.4 紫外吸收光谱

配制质量浓度为 0.1 mg/mL 的不同品种红枣多糖溶液，在 200~400 nm 范围内进行全波长扫描。

#### 1.3.2.5 红外吸收光谱

试样台擦拭干净后取少量样品平铺检测，得到透光率随波数变化的红外吸收光谱图，检测多糖中含有的官能团。

#### 1.3.2.6 扫描电镜-X射线能谱

取出少量的多糖试样，将其均匀地铺展在专用的试样台上，通过离子溅射仪对每一种多糖进行喷铂金处理从而增强其导电性。采用扫描电子显微镜进行在 100 倍和 300 倍的放大倍数条件下进行拍照。进一步使用 EDX 分析仪对多糖试样表面元素含量进行半定量测试。

#### 1.3.2.7 热化学分析

通过热分析仪对不同品种红枣多糖进行热分析测定，主要包括 TG、DTG 及 DSC 分析。试验条件：氮气保护、25~600 °C、上升速度 10 °C/min。

### 1.3.3 功能特性

#### 1.3.3.1 持水持油性

取 100 mg ( $m$ ) 的红枣多糖分别装于离心管中，加 1 mL 蒸馏水/植物油，称重 ( $m_1$ )。漩涡震荡 (1 min)，离心 (2 000 r/min，30 min)，去掉上层，离心管再次称重 ( $m_2$ )。按式 (1) 计算红枣多糖的持水性 (WHC) 及持油性 (OHC)。

$$WHC/OHC (g/g) = \frac{m_2 - m_1}{m} \quad (1)$$

#### 1.3.3.2 乳化性及乳液稳定性

量取三份 15 mL 质量分数为 1% 的样品溶液，分别将 pH 调至 5 (0, 7.0, 9) 0，加入 5 mL 菜籽油混匀，在 12 000 r/min 下均质 1 min，取 50 μL 乳状液，加入 5 mL 0.1% 的 10% 十二烷基硫酸钠的预混合水溶液，测吸光度  $A_0$  (500 nm)。将乳液室温放置 10 min，读取其吸光度 ( $A_{10}$ )。按照式 2、3 计算乳化性 (EAI) 及乳液稳定性 (ESI)。

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times D}{C \times \phi (1 - \theta) \times 10000} \quad (2)$$

$$ESI = \frac{A_{10}}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

式中:

$D$ ——为样品稀释倍数, 为 100;

$C$ ——蛋白质质量, g/mL;  $\Phi$ , 光程, 设定为 0.01;

$\Theta$ ——乳状液的油体积分数, 0.25。

### 1.3.3.3 抗氧化活性

分别测定各红枣多糖对自由基(DPPH、ABTS 及羟自由基)的清除能力及总还原能力, 将质量浓度为 4 mg/mL 的样品母液稀释成不同的质量浓度梯度的溶液, 按式(4)计算多糖对不同自由基的清除能力(FRSA):

$$FRSA(\%) = \left( 1 - \frac{A_i - A_j}{A_0} \right) \times 100 \quad (4)$$

式中:

$A_i$ ——样品组吸光度;

$A_j$ ——对照组吸光度;

$A_0$ ——空白组吸光度。

### 1.3.2.4 对巨噬细胞 RAW 264.7 的免疫调节活性

将 RAW 264.7 细胞在含有 10 wt.%胎牛血清的培养基 FBS 和 2 wt.%双抗的 DMEM 完全培养基中进行培养, 置于细胞培养箱中。取对数生长期细胞, 将其密度调整为  $5 \times 10^5$  mL, 接种于 96 孔板中, 每孔分别加入 150  $\mu$ L 培养基; 24 h 后弃上清液, 加入含药完全培养基。将不同品种红枣多糖的质量浓度分别设为 1、0.5、0.25、0.125、0.062 5、0.031 25 mg/mL。同时设置对照组; 24 h 后弃上清液, 并加入含 10 wt.% CCK8 的完全培养基, 每孔 100  $\mu$ L, 1 h 后在 450 nm 处检测 OD 值。

在安全浓度下, 设质量浓度 0.5 mg/mL 对 RAW 264.7 细胞进行孵育, 24 h 后收集细胞上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测细胞上清液中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 红枣多糖组成分析

表 1 红枣多糖的提取率及含量 (%)

Table 1 Extraction rate and content of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* (%)

样品	提取率	中性糖含量	糖醛酸含量	蛋白含量
JP	6.64 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>	34.12 $\pm$ 2.86 <sup>a</sup>	48.61 $\pm$ 16.00 <sup>a</sup>	20.10 $\pm$ 1.56 <sup>a</sup>
HP	6.67 $\pm$ 0.84 <sup>a</sup>	36.63 $\pm$ 5.53 <sup>a</sup>	46.34 $\pm$ 5.80 <sup>a</sup>	7.49 $\pm$ 1.11 <sup>b</sup>
YP	5.71 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	28.91 $\pm$ 3.93 <sup>b</sup>	47.07 $\pm$ 16.32 <sup>a</sup>	24.91 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>
RP	7.01 $\pm$ 1.83 <sup>a</sup>	34.67 $\pm$ 2.53 <sup>a</sup>	34.80 $\pm$ 9.07 <sup>b</sup>	7.25 $\pm$ 0.93 <sup>b</sup>

注: 同一行内不同字母表明有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

不同种类红枣多糖的提取率及含量数据如表 1 所示。四种红枣多糖提取率为 5.71%~7.01%, 无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。然而, 不同品种红枣多糖含量差距较大, 其中, 中性糖含量大小顺序为 YP<JP<RP<HP, 糖醛酸含量大小为 RP<HP<YP<JP, 蛋白含量大小顺序为 HP<RP<JP<YP。HP 中性糖含量较高为 36.63%, JP 糖醛酸含量较高为 48.61%。四种红枣多糖中均含有不同比例的蛋白, YP 和 JP 的蛋白含量较高, 分别为 24.91%及 20.10%、HP 和 RP 的蛋白含量较低, 分别为 7.49%及 7.25%。研究表明, 含量高低对多糖的功能活性有较大影响, 糖醛酸含量较高的酸性糖具有的抗氧化活性更强, 能够中和自由基, 保护细胞免受氧化损伤<sup>[12]</sup>。阿里木江·穆提拉<sup>[13]</sup>等热水提取阿克苏骏枣多糖, 提取率为 8.19%。白冰瑶等<sup>[4]</sup>研究发现克州酸枣提取率最高 (6.81%), 阿克苏骏枣多糖总糖

含量最高 (72.62%)。段景峰等<sup>[14]</sup>报道阿拉尔地区五个不同品种红枣多糖的糖含量在 33.90%~53.87%。李培等<sup>[15]</sup>报道不同提取方式对若羌枣多糖的提取率造成显著影响, 提取方法的不同也对多糖影响较大。以上结果表明, 不同产地、不同品种、甚至同品种红枣多糖在含量方面差距较大, 导致此结构的原因可能是红枣的生长环境 (如土壤类型、气候条件、光照强度等) 会影响其营养成分的积累, 进而使得不同红枣之间多糖含量的差异。

四种不同品种红枣多糖的 HPGPC 图如图 1A 所示, 均得到一个对称吸收峰, 说明是均一多糖, 其 Mw 及 Mn 分布为 29.17~140.71 kDa 及 19.74~88.13 kDa (表 2)。分散系数代表多糖的多分散性<sup>[12]</sup>, 分散系数越低表明多糖均一性越好, 各红枣多糖的分散系数分布在 1.48~1.60, 分散系数越低表明多糖均一性越好, 其中 HP 的分散系数最低为 1.48。单糖组成结果如表 2 及图 1B 所示, Ara 和 Gal 为 JP 及 HP 的优势单糖, Gal、Rha 及 Ara 是 YP 的优势单糖; 然而, RP 与其余多糖差距较大, 其由较多的 Gal 组成, 未检测到 Xyl 及 Man。通过结合糖醛酸含量及单糖组成结果初步推测红枣多糖可能为果胶多糖。不同品种红枣虽然在单糖组成上不存在显著差异, 但各单糖摩尔比不同。Zou 等<sup>[16]</sup>报道经不同提取方法制备的灰枣多糖的 Mw 为 72.21~107.09 kDa, Li 等<sup>[17]</sup>报道 GalA、Glc 和 Ara 是红枣多糖中的主要单糖。结果表明不同产地的各红枣多糖结构差异较大。

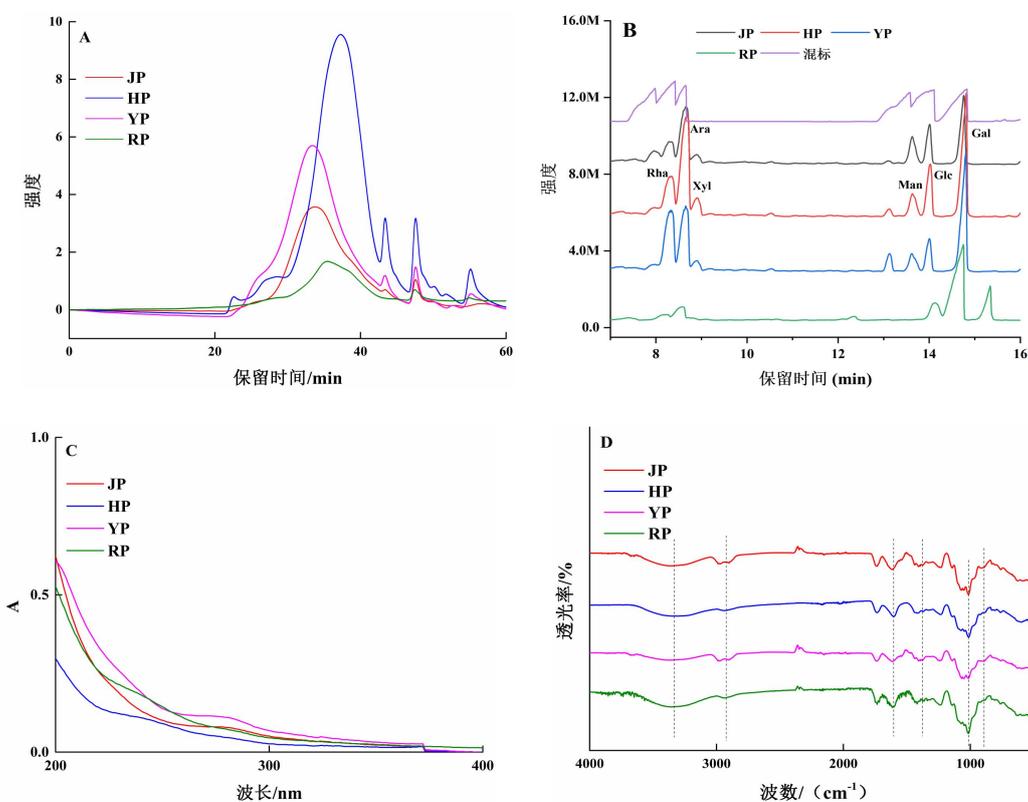


图 1 红枣多糖结构表征 (A) HPGPC 图; (B) GC 图; (C) UV 图; (D) FT-IR 图

Fig.1 Structural characterization of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* (A) HPGPC spectrum; (B) GC spectrum; (C) UV spectrum; (D) FT-IR spectrum

注: 图 A 中 46 min 附近的峰为溶剂峰。

表 2 红枣多糖的分子量及单糖组成

Table 2 Molecular weight of polysaccharides from *Ziziphus jujuba*

样品	Mw/kDa	Mn/kDa	分散系数	单糖组成 (摩尔比)					
				Rha	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal
JP	125.36	78.96	1.59	6.84	16.20	2.04	6.55	7.05	12.36
HP	29.17	19.74	1.48	10.70	22.91	3.40	4.32	7.75	18.79
YP	140.71	88.13	1.60	17.92	16.46	2.14	4.26	5.64	20.60
RP	51.84	34.17	1.52	3.91	8.73	-	-	10.98	45.99

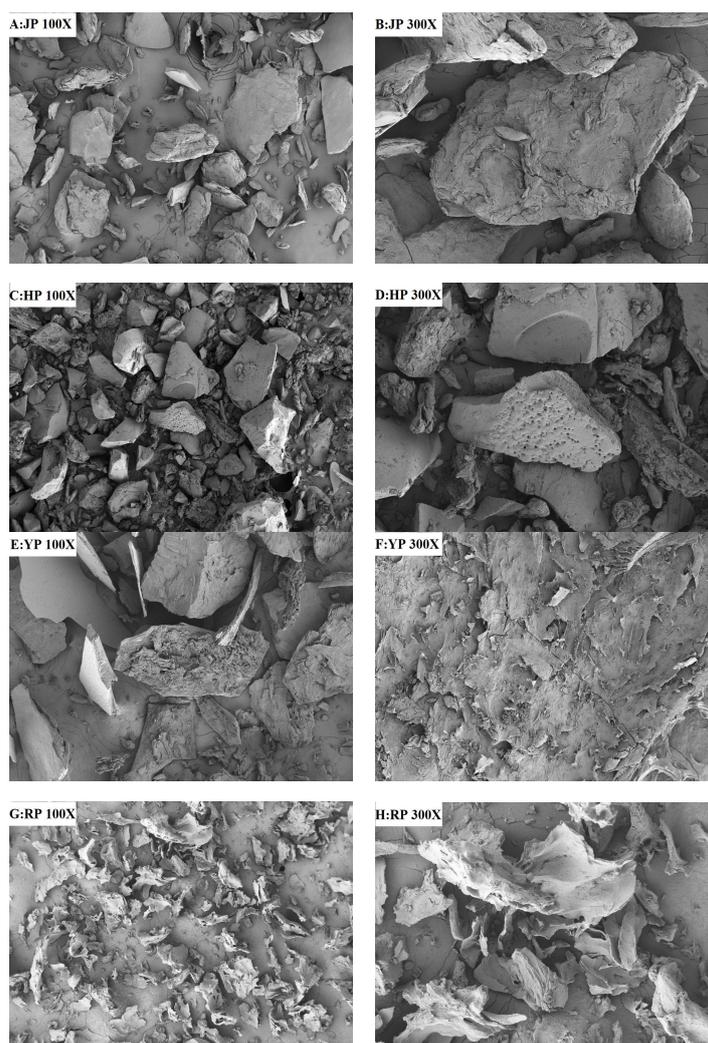
注: Rha 鼠李糖; Xyl 木糖; Ara 阿拉伯糖; Man 甘露糖; Glc 葡萄糖; Gal 半乳糖; “-”未检测到。

## 2.2 紫外及红外吸收光谱结果

红枣多糖的紫外吸收结果表明,除 YP 外,其余红枣粗多糖在 265~280 nm 处显出微弱吸收峰,所含蛋白含量较少;而 YP 吸收峰较为明显,蛋白含量较高(图 1C)。红枣多糖的红外吸收光谱图 1D 显示其在  $3\ 420\ \text{cm}^{-1}$  附近的吸收峰是 O-H 的拉伸振动引起的, $2\ 900\ \text{cm}^{-1}$  附近为 C-H 不对称伸缩振动, $1\ 600\ \text{cm}^{-1}$  附近羧基中 C-O 拉伸振动, $1\ 700\ \text{cm}^{-1}$  附近表明可能存在糖醛酸。 $1\ 400\ \text{cm}^{-1}$  左右的吸收峰为 C-H 弯曲振动, $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$  处吸收峰说明红枣多糖中可能含有吡喃糖单元, $890\ \text{cm}^{-1}$  与  $820\ \text{cm}^{-1}$  附近存在 $\alpha$ 构型和 $\beta$ 构型的糖苷键<sup>[18]</sup>。

## 2.3 扫描电镜-X-射线能谱

扫描电镜-X-射线能谱(SEM-EDX)结果显出不同品种的红枣多糖微观结构的差异,四种不同的红枣多糖通过 SEM 展现出各异的形态,其在 100 X 和 300 X 条件下的 SEM 图如图 2 所示。JP 和 HP 显出不均一的块状结构,其表面不光滑,HP 表面带少许微孔。YP 由片状和块状颗粒组成,当放大倍数较大时其片状结构更为明显,由多个片状颗粒叠加组成,分布较为密集,且表面较为光滑;RP 也由块状结构构成,排布相对无规则,表面粗糙,且略有空洞。由上述结果可推出,红枣多糖表面为无定型结构,表面结构形态的差异表明不同品种的红枣多糖其聚合能力有所差异,可能是由于糖分子之间的相互作用力、结合强度和连接紧密度各不相同<sup>[19]</sup>。EDX 半定量元素分析结果表明,各红枣多糖中除了 C、O、H 等基本元素以外,还含有少量的微量元素,如 Na、Mg、Zn、K、Ca 等,且其中 RP 的 Ca 元素的含量较高,生长环境的区别也使其含有的微量元素各不相同,后续研究中将通过定量测试对其进行研究,便于探讨微量元素对红枣多糖活性的影响。



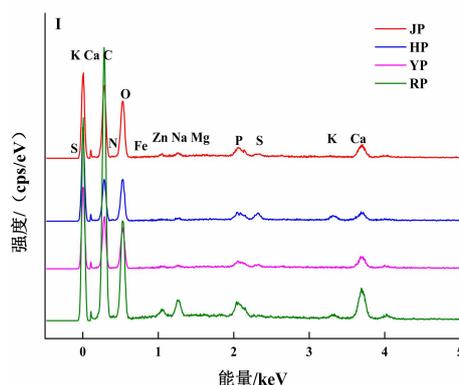


图2 多糖的SEM-EDX( $\times 100 X$ 、 $300 X$ )图

Fig.2 SEM-EDX ( $\times 100 X$ ,  $300 X$ ) images of polysaccharides from *Ziziphus jujuba*

注: A: JP 100X、B: JP 300X、C: HP 100X、D: HP 300X、E: YP 100X、F: YP 300X、G: RP 100X、H: RP 300X; I: EDX图。

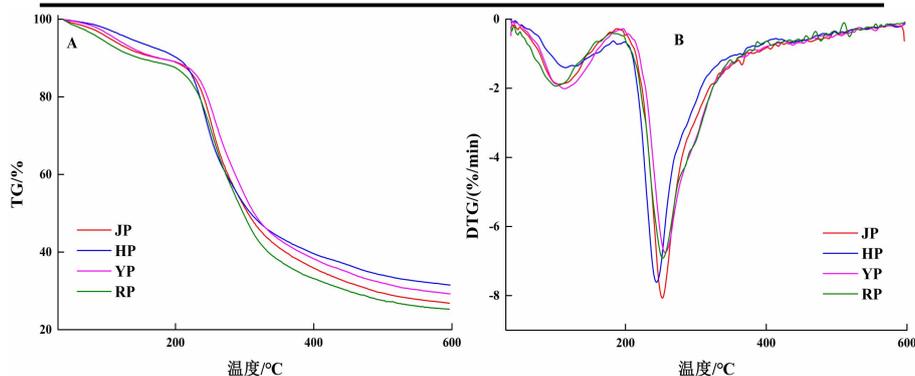
## 2.4 热化学分析结果

不同品种红枣多糖的热分析图如图3所示,四种红枣多糖热稳定性具有较小的差异。第一阶段,在70℃左右红枣多糖开始缓慢失重,质量损失率分别为:JP 11.13%、HP 10.59%、YP 11.03%、RP 12.26%,此阶段中失去的是红枣多糖中吸附的或自身结合的水份的含量<sup>[20]</sup>,该温度范围红枣多糖相对稳定。第二阶段,200~350℃范围内多糖大幅降解(图3),具有明显的失重现象,其中HP和JP的降解温度略高于其他枣,二者稳定性相对较好,多糖结构被破坏后出现了分解反应,可能由于高温导致多糖中的糖苷键断裂使得质量减少的较多<sup>[20]</sup>。第三阶段,样品的质量减少的程度呈现平缓趋势,是缓慢碳化阶段<sup>[21]</sup>,最终留有的灰分与无机成分差距较小,其中HP的最高,可能是粗多糖中的微量色素与杂质使得在第三阶段有少部分的质量损失。DTG分析结果显示,各多糖最大裂解速率及其对应温度差距较大,其结果如表3所示。HP最先开始裂解,242.63℃时裂解速率最大7.61%/min,JP的最大裂解速率最大。DSC结果显示,多糖热焓发生了变化<sup>[22]</sup>,均显出两个放热峰,红枣多糖的组成较复杂,分子内部无较强的作用力有关,第一个放热峰是由于失结合水阶段,第二个放热峰表示达到最大裂解,RP的第二裂解程度较大,与其他红枣的内能、分子热运动差异有关,放热有利于使红枣多糖更好的应用于食品中。

表3 枣多糖的热化学分析数据

Table 3 Data sheet for thermochemical analysis of polysaccharides from *Ziziphus jujuba*

样品	开始裂解温度/℃	最高分解率/(%/min)	最大裂解温度/℃	最终重量/%
JP	193.44	8.07	253.34	26.80
HP	199.63	7.61	242.63	31.50
YP	197.60	6.72	255.49	29.24
RP	196.18	6.92	252.96	25.28



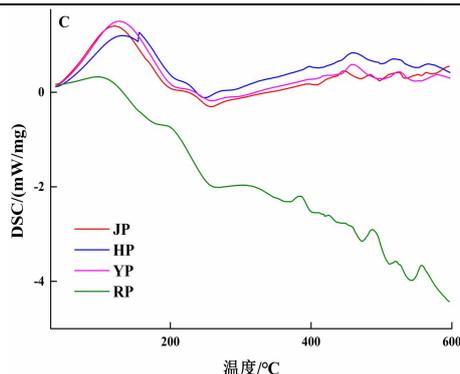


图3 红枣多糖的热化学分析图: A: TG; B: DTG; C: DSC

Fig.3 Thermochemical analysis of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* : A: TG; B: DTG C: DSC

### 2.5 持水持油、乳化性

多糖的持水、持油性能够反应其在水和油之间乳化作用是否良好。由图 4A 得，不同品种红枣多糖中 JP 与 HP 的持水性较好，分别为 7.47、7.29 g/g；较高的持油性有助于保持食品的风味，并增加口感，YP 与 JP 的持油性较好，分别为 7.36、6.01 g/g。除此，不同品种红枣多糖具备良好的乳化性及乳液稳定性。由图 4B 得，除了 JP，其余红枣多糖的乳化性随着 pH 的升高逐渐升高，且 pH 为 9 时，HP 与 RP 的乳化性达 5.08、5.16 g/g。不同品种的红枣多糖表现出来的乳化性可能与多糖结构相关。乳化性较高可以使产品形成更均匀的乳液并且提高其稳定性和质地。由图 4C 得乳液稳定性中 HP 和 YP 在 pH 为 9 时效果较好，为 190.28%、93.18%，良好的乳液稳定性可以在生产红枣多糖产品时，具有保持其稳定性与延长产品保质期等优点。不同环境下的乳化性与乳液稳定性具有明显的不同，在食品或者其他方面使用红枣多糖时，合适的生产环境能够较好反应红枣多糖的在产品中使用效果。

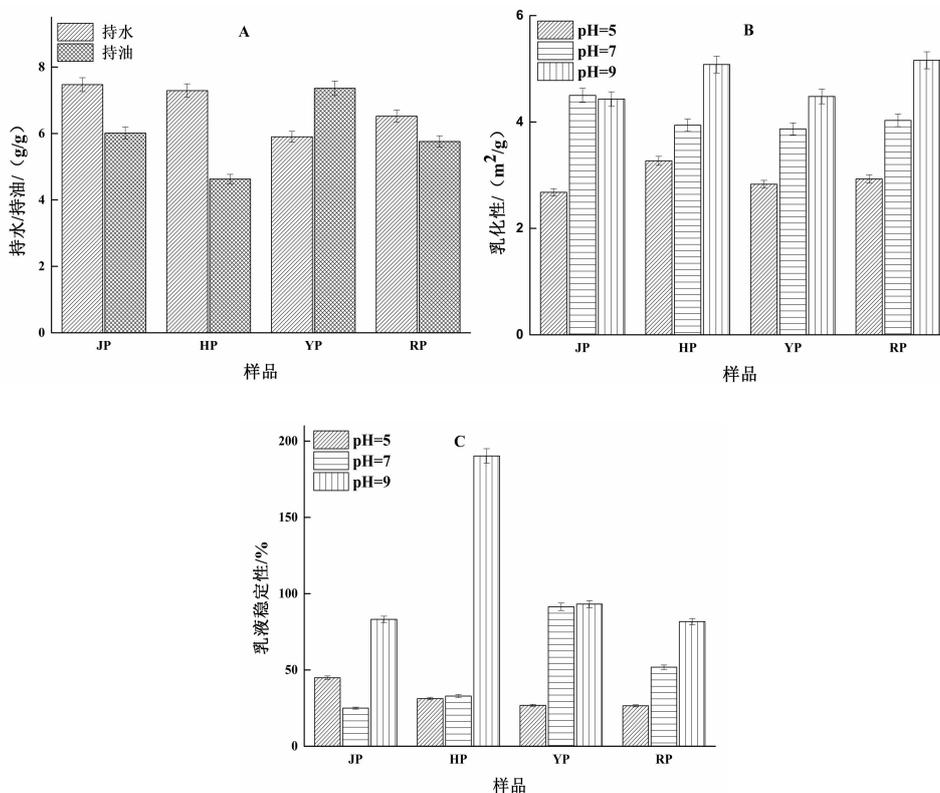


图4 红枣多糖的功能特性图

Fig.4 Functional characteristics of polysaccharides from *Ziziphus jujuba*

注: A: 持水、持油性; B: 乳化性; C: 乳液稳定性。

## 2.6 抗氧化活性结果

红枣多糖的体外抗氧化活性结果表明其均具有良好的自由基清除能力，各多糖的 IC<sub>50</sub> 值如表 4 所示。在所检测的质量浓度范围之内，各多糖自由基清除能力随着质量浓度的上升逐渐增强（图 5），其中 YP 的活性最强，其清除 DPPH、ABTS 及羟自由基的清除能力分别为 0.20、7.00×10<sup>-2</sup> 及 0.59 mg/mL；其次是 JP、HP 及 RP。研究表明多糖的生物活性跟其含量、分子量、单糖构成、糖苷键链接形式、空间构象以及特定功能基团等因素紧密相连。YP 的高活性可能跟其较高的糖醛酸及蛋白含量相关，前期研究报道显示果胶多糖由于其结构显出较强的抗氧化活性<sup>[23]</sup>。与其他多糖相比，RP 的糖醛酸含量较低，Gal、Glc 及 Man 的占比更高，导致其抗氧化活性较弱。白冰瑶等<sup>[4]</sup>报道喀什骏枣多糖的 DPPH 自由基清除能力最强，IC<sub>50</sub> 值为 1.433 mg/mL，在质量浓度为 1.00 mg/mL 时清除率达到 47.23%；哈密大枣多糖清除羟自由基的能力最为突出，IC<sub>50</sub> 为 0.278 mg/mL。廉伟伟等<sup>[24]</sup>报道当质量浓度为 1 mg/mL 时大枣多糖对 DPPH 自由基的清除率在 90% 以上。杨燕敏<sup>[25]</sup>测得哈密大枣多糖对于 ABTS 自由基的清除率呈现浓度剂量依赖性。Ji 等<sup>[26]</sup>报道浓度为 2.5 mg/mL 的木枣多糖清除 DPPH 及 ABTS 自由基的能力为 29.68% 及 21.45%。临泽小枣多糖对 DPPH 及羟自由基的清除能力也较弱<sup>[27]</sup>。多糖的抗氧化活性与多个因素有关，研究报道显示糖醛酸含量对多糖的抗氧化活性影响较大，果胶多糖的半乳糖醛酸骨架而不是中性侧链可能保护了抗坏血酸的活性，因此高糖醛酸或多聚半乳糖醛酸含量有利于系统抗氧化活性的稳定<sup>[28]</sup>。红枣多糖具有不同的抗氧化活性的原因可能是不同种类的单糖组成以及它们之间的连接方式会决定多糖的空间结构和化学性质，进而导致活性的差异。

表 4 红枣多糖抗氧化 IC<sub>50</sub> 值 (mg/mL)

Table 4 Antioxidant IC<sub>50</sub> value of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* (mg/mL)

	JP	HP	YP	RP
DPPH 自由基	0.33	1.05	0.20	6.47
ABTS 自由基	7.47×10 <sup>-2</sup>	0.48	7.00×10 <sup>-2</sup>	0.18
羟自由基	0.59	0.69	0.59	17.76

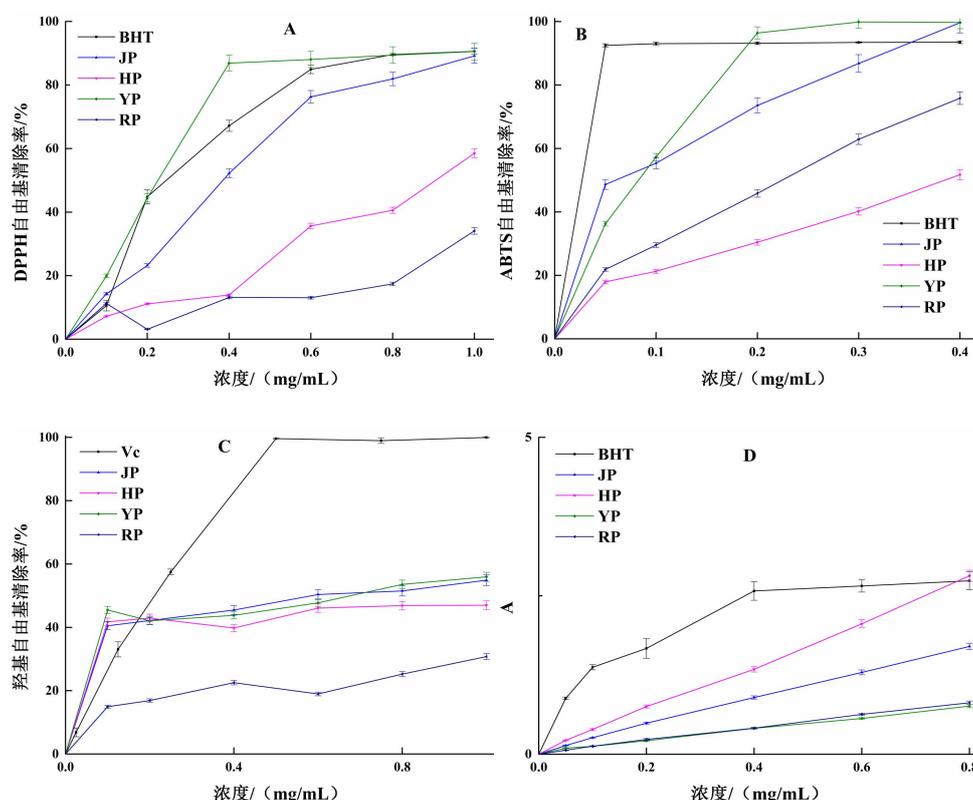


图 5 红枣多糖抗氧化活性

Fig.5 Antioxidant activity of polysaccharides from *Ziziphus jujuba*

注: A: DPPH 自由基清除; B: ABTS 自由基清除; C: 羟基自由基清除; D: 总还原能力。

## 2.7 免疫调节活性结果

不同品种红枣多糖对巨噬细胞 RAW 264.7 细胞的增殖作用的影响如图 6 所示, 如图所示, 四种红枣多糖显出不一样的细胞增殖活性。在用药 24 h 以后, 在质量浓度为 0.125~2 mg/mL 范围内随着样品质量浓度的增高, JP 及 YP 的细胞存活率显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 具有明显的促进细胞增殖作用。HP 在质量浓度为 0.125~0.5 mg/mL 时细胞存活率显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。质量浓度为 2 mg/mL 时细胞存活率小于对照组, 显出一定的细胞毒性。RP 在质量浓度为 0.5 mg/mL 时能够促进细胞增殖, 但无统计学差异 ( $P>0.05$ ), 其余浓度下均抑制细胞的增殖。不同品种红枣多糖对巨噬细胞 RAW 264.7 细胞的促进细胞因子分泌的影响如图 7 所示。与对照组相比, 在多糖质量浓度为 0.5 mg/mL 时, 四种红枣多糖均能显著促进 RAW 264.7 细胞上清液中 IL-1 $\beta$  的分泌 ( $P<0.01$ ), 含量均显著高于对照组 ( $P<0.01$ ), 其促进能力大小为 RP>JP>HP>YP; HP 及 RP 能够显著 RAW 264.7 细胞上清液中 TNF- $\alpha$  的分泌 ( $P<0.01$ ), JP 与 YP 的促进 TNF- $\alpha$  的分泌能力与对照组相比无显著性差别 ( $P>0.05$ )。

中药多糖可直接促进免疫器官和免疫细胞的生长, 并和免疫细胞表面的受体结合, 激活多种信号通路, 进而改善免疫系统。Cui 等<sup>[29]</sup>报道若羌枣多糖可刺激 RAW 264.7 巨噬细胞产生 NO, Zou 等报道<sup>[30]</sup>阿克苏灰枣多糖可明显增加脾脏和胸腺指数, 增强巨噬细胞的吞噬活性。Cai 等<sup>[31]</sup>研究报道显示金昌枣多糖及其硫酸化产物也对巨噬细胞 RAW 264.7 具有较强的细胞增殖活性, 其活性强弱跟多糖结构相关。研究报道显示, 分子量大小也对多糖免疫调节活性具有显著的影响, 较高分子量可能导致多糖更强的免疫调节活性<sup>[30]</sup>, 阿拉伯糖在巨噬细胞刺激中起着重要作用<sup>[32]</sup>。本文中得出, 若羌枣具有较低的阿拉伯糖含量和分子量, 其可能是若羌枣较弱免疫调节活性的原因之一。然而, 分子量最低的灰枣多糖反而显出较强的免疫调节活性。因此, 多糖的免疫调节活性不仅仅只跟单个因素有关, 其受到含量、单糖组成、分子量、糖苷键链接方式及高级结构多种因素的影响。

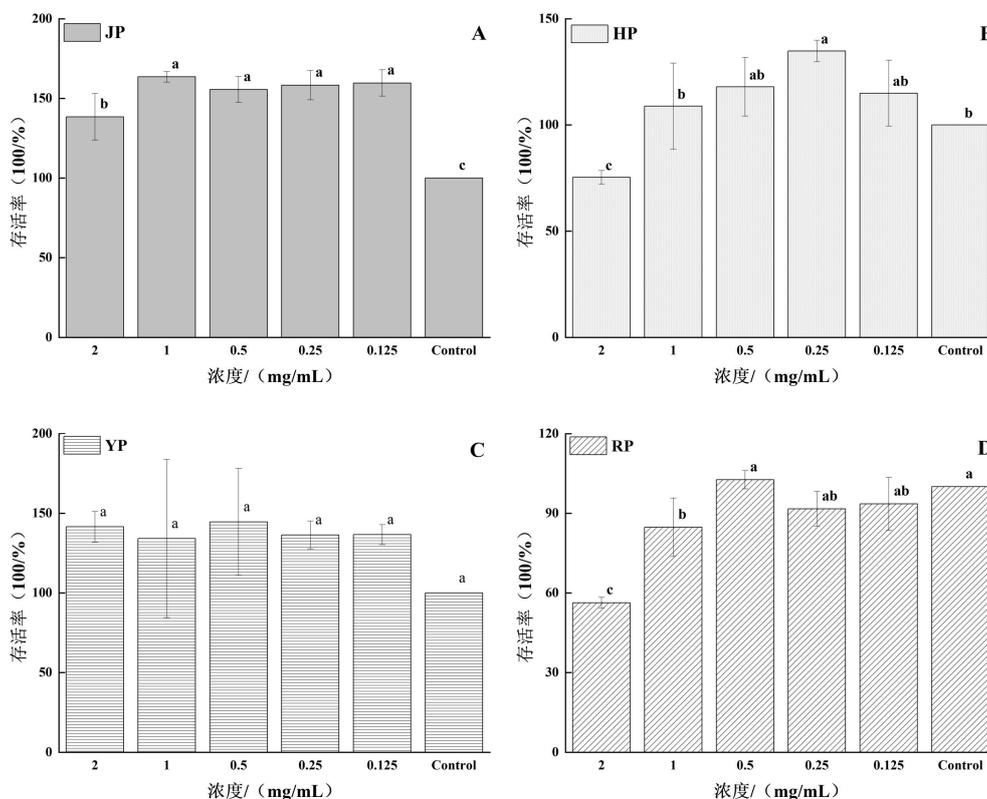


图 6 不同红枣多糖对 RAW 264.7 细胞活性的影响 (A: JP; B: HP; C: YP; D: RP)

Fig.6 Effects of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* on the activity of RAW 264.7 cells (A: JP; B: HP; C: YP; D: RP)

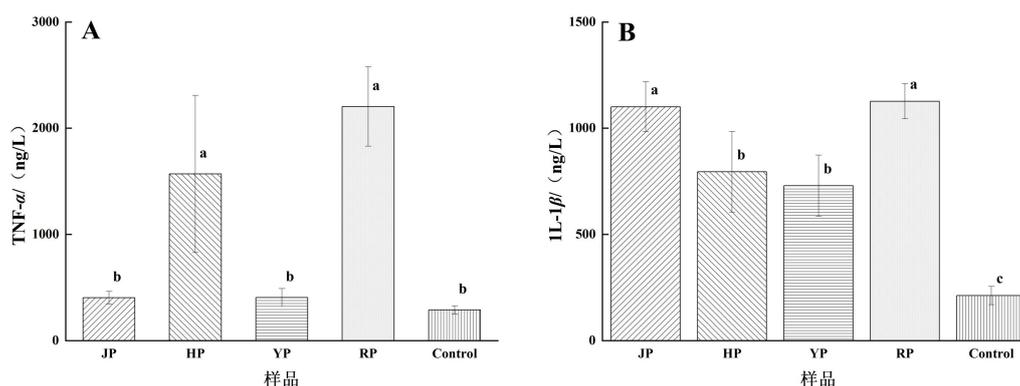


图7 红枣多糖对RAW 264.7细胞上清液炎症因子水平的影响(A: TNF- $\alpha$ ; B: IL-1 $\beta$ )

Fig.7 Effects of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* on the levels of inflammatory cytokines in RAW 264.7 cell supernatant (A: TNF- $\alpha$ ; B: IL-1 $\beta$ )

### 3 结论

该文章将不同品种的红枣(骏枣、灰枣、药枣及若羌枣)作为研究对象,针对其多糖成分展开了结构、抗氧化及免疫调节活性的对比研究。其中,提取率及糖含量无显著性差异( $P>0.05$ );糖醛酸含量均较高,说明红枣多糖为酸性多糖,其中JP的含量最高为48.61%;各红枣多糖的分子量差异较大,其中HP的Mw较低为29.17 kDa、YP的Mw较高为140.71 kDa。红枣多糖主要由不同摩尔比Ara、Gal、Glc、Rha、Man及Xyl组成,FT-IR结果表明多糖均显出了糖类化合物特征吸收峰,同时SEM-EDX结果显示不同品种多糖高级结构有所差异。此外,JP和YP具有较好的持水性及持油性,分别为7.47 g/g及7.36 g/g,在弱碱性条件下红枣多糖显出较强的乳化性及乳液稳定性。YP具有最强的抗氧化活性,其清除DPPH、ABTS及羟自由基的 $IC_{50}$ 值分别为0.20、 $7.00\times 10^{-2}$ 及0.59 mg/mL。红枣多糖对于巨噬细胞RAW 264.7显出不同的细胞增殖活性,在质量浓度为0.125~2 mg/mL范围内JP具有明显的促进细胞增殖作用( $P<0.05$ ),YP可促进细胞增殖,而无统计学差异( $P>0.05$ )。HP在质量浓度为0.125~0.5 mg/mL时细胞存活率显著高于对照组( $P<0.05$ )。RP在质量浓度为0.5 mg/mL时能够促进细胞增殖,但无统计学差异( $P>0.05$ )。浓度较高时,HP和RP显出一定的细胞毒性。当质量浓度为0.5 mg/mL时,四种多糖均显著促进细胞分泌IL-1 $\beta$ ( $P<0.01$ ),RP和HP效果显著显著促进细胞分泌TNF- $\alpha$ ( $P<0.01$ )。该研究将为新疆红枣资源的精深加工领域提供实验基础,同时为红枣多糖的构效关系研究提供一定的物质基础参考。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中国药典2020年版(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] ZHU JP, LU, YH, HE Q. Recent advances on bioactive compounds, health benefits, and potential applications of jujube (*Ziziphus Jujuba* Mill.): a perspective of by-products valorization [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 145: 104368.
- [3] RUAN JY, HAN Y, KENNEDY JF, et al. A review on polysaccharides from jujube and their pharmacological activities [J]. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications: 2022, 3: 100220.
- [4] 白冰瑶,付超,黄茂汐等.红枣多糖的抗氧化活性及体外模拟消化和酵解研究[J].塔里木大学学报,2022,34(2):24-34.
- [5] WU Z, LI H, WANG Y, et al. Optimization extraction, structural features and antitumor activity of polysaccharides from *Z. jujuba* cv. Ruoqiangzao seeds [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 135: 1151-1161.
- [6] WANG N, LI Q, LIU M, et al. Structural characterization of alkali-extracted jujube polysaccharides and their effects on the fecal microbiota *in vitro* [J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 184: 115087.
- [7] 白建.红枣多糖对D-半乳糖诱导衰老小鼠肝脏抗氧化活性的研究[J].中国食品添加剂,2023,34(11):119-125.
- [8] LI QY, LIU ML, LIU MJ, et al. Preparation, characterization and *in vitro* digestion of jujube polysaccharide microcapsules [J]. Food and Bioprocess Processing, 2024, 145: 97-104.
- [9] 牛佳卉,袁静,魏然,等.红枣多糖对小肠肠道免疫屏障的保护作用及机制研究[J].食品工业科技,2021,42(4):295-300.
- [10] LIU ML, LI QY, WANG N, et al. Primary acetylated polysaccharides from jujube regulated the immune response and intestinal

- microbiota in immunosuppressive mice [J]. *Journal of Functional Foods*, 2023, 109: 105790.
- [11] 刘梦培,王嵘,李格,等.杜仲叶多糖的提取、结构及抗氧化活性研究[J].*河南农业大学学报*,2024,58(1):132-140.
- [12] AYTURSUN ABUDUWAILI, PAIHEERDING MUTAILIFU, REHEBATI NUERXIATI, et al. Structure and biological activity of polysaccharides from *Nitraria sibirica* pall fruit [J]. *Food Bioscience*, 2021, 40: 100903.
- [13] 阿力木江·穆提拉.阿克苏骏枣多糖的分离与纯化[D].乌鲁木齐:新疆大学,2015.
- [14] 段景峰,王彦霞,李小媛,等.阿拉尔地区五个红枣品种多糖含量差异及其抗氧化活性的研究[J].*新疆农业科学*,2014,51(5):831-838.
- [15] 李培.若羌红枣多糖提取、精制工艺研究[D].乌鲁木齐:新疆大学,2009.
- [16] ZOU XQ, XIAO JX, CHI JW, et al. Physicochemical properties and prebiotic activities of polysaccharides from *Zizyphus jujube* based on different extraction techniques [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 223: 663-672.
- [17] LI Z, WU M, WEI W, et al. Fingerprinting evaluation and gut microbiota regulation of polysaccharides from jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) fruit [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(8): 7239.
- [18] 符玉霞,郭欣,魏亚博,等.红枣多糖的硫酸酯化修饰及其结构特性的研究[J].*食品工业*,2022,43(8):33-38.
- [19] WANG L, LIU H M, QIN G Y. Structure characterization and antioxidant activity of polysaccharides from Chinese quince seed meal [J]. *Food Chemistry*, 2017, 234: 314-322.
- [20] 岳庆明,韩丽娟,邓永蓉,等.黄刺多糖中单糖含量与体外降血糖活性相关性分析[J].*食品科学*:2024,45(8):122-133.
- [21] 刘盈,张欣,刘会平,等.西瓜皮中3种多糖的初步表征及抗氧化活性对比[J].*食品研究与开发*,2024,45(4):110-117.
- [22] 梅光明,薛彬,郝强,等.香菇多糖的化学修饰研究[J].*浙江海洋学院学报(自然科学版)*,2015,34(4):335-339+373.
- [23] JI XL, HOU CY, YAN YZ, et al. Comparison of structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides from jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) fruit [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 149: 1008-1018.
- [24] 廉伟伟,王春燕,郑梦寒,等.大枣多糖提取工艺及抗氧化活性研究[J].*现代食品*,2023,29(8):176-181.
- [25] 杨燕敏.哈密大枣多糖提取纯化、结构表征及抗氧化活性研究[D].泰安:山东农业大学,2022.
- [26] JI XL, PENG Q, YUAN YP, et al. Extraction and physicochemical properties of polysaccharides from *Zizyphus Jujuba* cv. Muzao by ultrasound-assisted aqueous two-phase extraction [J].*International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 108: 541-549.
- [27] WANG YG, XU Y, MA XQ, et al. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. Linzexiaozao [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118: 2138-2148.
- [28] SUN-WATERHOUSE D, MELTON LD, CONNOR CJ, et al. Effect of apple cell walls and their extracts on the activity of dietary antioxidants [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56: 289-295.
- [29] G CUI, W ZHANG, Q WANG, et al. Extraction optimization, characterization and immunity activity of polysaccharides from *Fructus Jujubae* [J]. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 111, 245-255.
- [30] ZOU, M, CHEN, et al. Immunomodulatory acidic polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. Huizao: Insights into their chemical characteristics and modes of action [J]. *Food Chemistry*, 2018, 258, 35-42.
- [31] CAI YQ, CHEN P, WU CY, et al. Sulfated modification and biological activities of polysaccharides derived from *Zizyphus jujuba* cv. Jinchangzao [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 120: 1149-1155.
- [32] HO GT, AHMED A, ZUO YF, et al. Structure-activity relationship of immunomodulating pectins from elderberries [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 125: 314-322.