

文章编号 :1009-038X(2002)02-0173-03

# 南瓜活性多糖的降糖作用及其组成分析

张拥军, 姚惠源

(江南大学 食品学院 江苏 无锡 214036)

**摘 要 :**为研究南瓜多糖对正常及糖尿病模型小鼠血糖的影响,本实验采用新的分离工艺从南瓜粉中提取得到南瓜粗多糖(PP),用 DEAE 分级获得 3 个组分,收集的主导组分过 Sephadex G-100 柱,获得 2 个组分.收集有活性的组分(AP),经 Sephadex G-200 柱,证实为单一峰.以葡萄糖为标准,苯酚-硫酸法测得总糖质量分数为 80.6%;气相色谱分析其单糖组成为葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖及鼠李糖.

**关键词 :**南瓜多糖;血糖;单糖组成

中图分类号 O 629.12

文献标识码 :A

## Composition Analysis of Pumpkin Polysaccharide and Its Glucanonic Effect

ZHANG Yong-jun, YAO Hui-yuan

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract :** In order to investigate the effect of pumpkin polysaccharide(PP) on normal mice and alloxan induced diabetic mice, the experiment adopted a kind of new technology to extract PP from pumpkin powder. This crude polysaccharide was fractionated by ion-exchange chromatography on DEAE, and the main group-element purified by gel filtration on Sephadex G-100. Its active part(AP) was further purified on Sephadex G-200, and proved to be a homogeneous peak. The total sugar content was 80.6% determined by the method of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-phenol. By gas chromatography analysis, AP was composed of glucose, galactose, arabinose and rhamnose.

**Key words :** pumpkin polysaccharide; glucanonic; monosaccharide composition

南瓜为葫芦科植物 *Cucurbit moschata* Duch 的果实,其营养成分全面而独特,果肉富含瓜氨酸、天门氨酸、葫芦巴碱、腺嘌呤、多种维生素(尤其是 VA、VC、VE)、果胶、环丙基氨基酸 CTY、甘露醇及一些微量元素等<sup>[1]</sup>. 中医认为南瓜味甘、性温,具有补中益气、润肺益心的功能,能防治多种疾病.近年来的研究亦表明,南瓜具有多种食疗保健作

用<sup>[2~6]</sup>,尤其作为防治糖尿病的特效营养保健食品而倍受人们的重视.目前有关南瓜防治糖尿病的有效成分的研究报道较多,但说法不一.鉴于上述情况,为找寻南瓜中具有明显降血糖作用的有效成分,作者以血糖值作为活性测定方法,对分离所得的各个组分进行定量评估,追踪活性最强的部分,并对其分子组成进行了初步研究.

收稿日期 2001-09-13; 修订日期 2001-12-19.

作者简介:张拥军(1971-),女,浙江杭州人,粮食、油脂与植物蛋白工程博士研究生.

万方数据

## 1 试验材料

南瓜粉:自制;四氧嘧啶(Alloxan):美国 Sigma Chemical Co 产品;Sephadex G-100 及 Sephadex G-200 瑞典 Pharmacia 公司产品;其它试剂均为分析纯或色谱纯级。

仪器:美国强生 Touch II 血糖监测仪、755 型紫外分光光度仪、冷冻干燥机、气相色谱仪、自动分步收集器。

昆明小白鼠 雌雄兼用 雌者应无孕,体重 18~22 g,无锡原子医学研究所提供。

## 2 试验方法与结果

### 2.1 南瓜多糖的分离与纯化

**2.1.1 南瓜多糖的提取** 选取成熟的、形状较平滑、肉质硬且厚并呈桔红色的成熟期较长的南瓜作为加工南瓜粉的原料。清洗后去皮、蒂、籽,切片,常温减压干燥,然后用粉碎机将干燥的南瓜片粉碎成 20 目左右的南瓜粉。经以上过程制作的南瓜粉呈桔红色或黄红色,细腻、无杂质、无结块、无霉斑、有明显的南瓜清香味。南瓜粉用热水抽提后过滤,滤液回收,滤渣用 95% 的乙醇渗滤 48 h 后收集滤液,合并两滤液,依次用各种有机溶剂分步萃取,得组分 PP1、PP2、PP,分别验证其降血糖活性,其活性最高的组分 PP 为淡黄色的南瓜粗多糖,得率为 2.6%。

#### 2.1.2 南瓜粗多糖(PP)的纯化

1) 离子交换层析:按文献[7]将 DEAE 介质预处理并装柱(3.6 cm×80 cm)。用 3 倍体积的双蒸水平衡,体积流量 25 mL/h,将 0.8 g/dL 的粗多糖液离心 10 min,上清液上柱,双蒸水洗脱至不再有糖流出(苯酚-硫酸法检测),收集含糖部分并浓缩干燥得 PP3;接着用 NaHCO<sub>3</sub> 梯度洗脱,自动分步收集含糖部分,共得到 3 个洗脱峰。由图 1 可知,收集的 3 个组分中,PP3 为主导组分,经动物实验证明,其为活性多糖,故进一步分离纯化 PP3。

2) 分子筛柱层析:按常规方法装 Sephadex G-100 分子筛柱(2.6 cm×80 cm),将 PP3 溶解于双蒸水中配成 0.5 g/dL 的糖溶液上柱,用双蒸水洗脱,分步收集,得到两个洗脱峰,分别收集两个峰的高峰部分,减压浓缩至适当体积,冷冻干燥得到组分 AP 和 BP,分别检测其降血糖活性,结果组分 AP 的活性最高。

**2.1.3 组分 AP 的纯度鉴定** 将组分 AP 溶解在 0.05 mol/L 的 PBS 溶液中,质量浓度为 0.3 g/dL。用 0.05 mol/L PBS 溶液平衡好 Sephadex G-200

层析柱后开始洗脱,体积流量为 4.8 mL/h,每管收集洗脱液 2 mL,苯酚-硫酸法部分收集检测结果呈较宽峰形的对称峰,说明组分 AP 为非均一多糖。

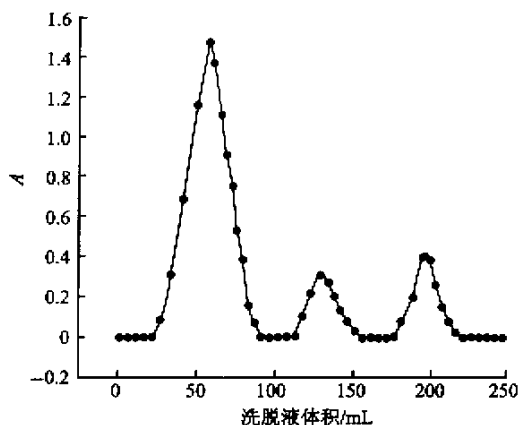


图 1 南瓜多糖的 DEAE 离子交换柱层析洗脱曲线

Fig.1 DEAE ion-chromatogram of pumpkin polysaccharide

### 2.2 AP 的总糖含量测定

以葡萄糖为标准,用苯酚-硫酸法测总糖含量,所得回归方程为:

$$Y = 0.0091 X, R^2 = 0.9992.$$

结果表明 AP 中的总糖质量分数为 82.6%。

### 2.3 AP 的单糖组成分析

称取 AP 15.0 mg,以 1.0 mol/L 的硫酸溶液 2.0 mL 封管,于 100 °C 水解 6 h,饱和 Ba(OH)<sub>2</sub> 水溶液中和,过滤,滤液置 40 °C 下减压蒸干,然后加入吡啶和盐酸羟胺于水浴中保持数分钟,取出后加入乙酸酐再于水浴中保温数分钟,待样品冷却后,清液进行 GC 分析,用标准品对照,测得 AP 中含有葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖和鼠李糖。

### 2.4 组分 PP1、PP2 及 PP 对正常小鼠及糖尿病小鼠血糖的影响

1) 3 种组分对正常小鼠血糖浓度的测定方法:小鼠不需禁食,随机分成 3 组,每组 8 只,分别腹腔注射 3 种组分 2 g/kg,使用血糖监测仪分别测量给药前给药后 7 h 及 11 h 时的血糖值。

2) 3 种组分对糖尿病小鼠血糖浓度的测定方法:小鼠禁食 24 h 后,腹腔注射四氧嘧啶 200 mg/kg,72 h 后测量小鼠血糖值,每组选用中等程度糖尿病小鼠 8 只,分别腹腔注射 3 种组分 2 g/kg,测量给药后 7、11 h 时的血糖值,结果见表 1。

实验结果表明,组分 PP1 对正常小鼠的血糖浓度降低效果显著,而对四氧嘧啶型糖尿病小鼠的血糖浓度无影响。因此,组分 PP1 对糖尿病没有治疗效果。组分 PP2 对正常小鼠及四氧嘧啶型糖尿病小

鼠的血糖浓度均无影响,说明组分 PP2 没有降血糖功能.组分 PP 对正常小鼠有轻度的降血糖效果,对四氧嘧啶型糖尿病小鼠的降血糖效果极显著,说明组分 PP 的药用价值较大,需进一步探讨其组成.

表 1 组分 PP1、PP2 及 PP 对正常小鼠及糖尿病小鼠血糖水平的影响

Tab.1 The effects of PP1、PP2 and PP on the blood glucose level in normol mice and alloxam-diabetic mice

|     |      | mmol/L    |       |                     |         |
|-----|------|-----------|-------|---------------------|---------|
| 组 别 | 统计值  | 时间 t/h    |       |                     |         |
|     |      | 0         | 7     | 11                  |         |
| PP1 | 正常组  | $\bar{x}$ | 5.77  | 4.30*               | 3.88*** |
|     |      | SD        | 1.00  | 0.771               | 0.484   |
|     | 糖尿病组 | $\bar{x}$ | 22.7  | 17.1                | 17.9    |
|     |      | SD        | 1.72  | 1.05                | 1.34    |
| PP2 | 正常组  | $\bar{x}$ | 5.76  | 5.70                | 4.90    |
|     |      | SD        | 0.955 | 1.12                | 1.14    |
|     | 糖尿病组 | $\bar{x}$ | 12.7  | 11.5                | 11.7    |
|     |      | SD        | 1.81  | 0.98                | 1.18    |
| PP  | 正常组  | $\bar{x}$ | 6.39  | 4.40 $\Delta\Delta$ | 4.71    |
|     |      | SD        | 0.749 | 1.84                | 1.94    |
|     | 糖尿病组 | $\bar{x}$ | 12.55 | 4.72***             | 5.06*** |
|     |      | SD        | 1.87  | 0.620               | 0.501   |

注:“ $\Delta\Delta$ ”表示  $P<0.05$ ,说明略有差异;“\*”表示  $P<0.02$ ,说明有差异;“\*\*”表示  $P<0.01$ ,说明差异显著;“\*\*\*”表示  $P<0.001$ ,说明差异极显著.

2.5 组分 PP3、AP、BP 对糖尿病小鼠血糖的影响

3 种组分对糖尿病小鼠血糖浓度的测定方法同上,血糖测定结果见表 2.实验结果表明,南瓜粗多糖经离子交换柱层析得到的中性多糖的降血糖效果极显著,对其进一步分离,得到的组分 BP 是柱层析后的小分子物质,由实验数据可知,南瓜中的小分子物质没有降血糖作用.组分 AP 是柱层析后的

大分子物质,它对四氧嘧啶型糖尿病小鼠的降血糖效果很好,说明南瓜中具有降血糖作用的物质是大分子的多糖类.

表 2 组分 PP3、AP 及 BP 对糖尿病小鼠血糖水平的影响

Tab.2 The effects of PP3、AP and BP on the blood glucose level in alloxam-diabetic mice

|     |        | mmol/L    |      |
|-----|--------|-----------|------|
| 组 别 | 时间 t/h | $\bar{x}$ | SD   |
| PP3 | 0      | 10.22     | 3.51 |
|     | 11     | 4.08***   | 1.10 |
| AP  | 0      | 11.90     | 1.61 |
|     | 11     | 5.33**    | 0.86 |
| BP  | 0      | 17.30     | 1.56 |
|     | 11     | 19.80     | 2.76 |

注:“\*\*\*”表示  $P<0.01$ ,说明差异显著;“\*\*\*”表示  $P<0.005$ ,说明差异极显著.

3 讨 论

1) 四氧嘧啶是一种特异性的  $\beta$  细胞毒剂,可选择性地损坏多种动物的胰岛  $\beta$  细胞<sup>[9]</sup>,引起实验性糖尿病.四氧嘧啶糖尿病模型是研究糖尿病治疗药物疗效的常用动物模型.本实验结果证明,南瓜多糖可以降低四氧嘧啶型糖尿病小鼠的血糖.

2) 作者所述方法提取南瓜多糖,收率和纯度高.在筛选未知组分时,以血糖值作为活性鉴定的指标,逐步分离纯化,避免了活性成分的中间丢失,方法准确可靠.

3) 由动物实验结果,南瓜多糖经柱层析得到两种物质,其中大分子组分的降糖效果明显优于小分子组分,这说明南瓜中确实存在降糖的有效成分,且主要是一些大分子的多糖类,其降血糖的作用机理尚待深入研究.

参考文献:

[1] 谢宇. 开发南瓜产品的情报研究[J]. 食品研究与开发, 1992 (2): 29-32.  
[2] 名和能治. 南瓜粉对轻度糖尿病患者有惊人的效果[J]. 大众医学, 1982 (9): 31-35.  
[3] 彭仲杰. 南瓜给我带来了生机[J]. 大众医学, 1980 (3): 27-31.  
[4] 周汉奎. 速溶南瓜晶生产技术[J]. 食品科学, 1993 (3): 57-59.  
[5] 桑万邦. 南瓜粉的药用与经济价值[J]. 中国食品信息, 1991 (7): 17-22.  
[6] 周汉奎. 南瓜综合加工技术[J]. 食品科学, 1991 (9): 59-62.  
[7] DONG Q, ZHENG LY, FANG JN. Modified phenol-sulfate method for determination of the content of oligo- and polysaccharide[J]. Chin Pharm J, 1996, 31(9): 550-552.  
[8] CHAPLIN MF, KENEDY JF. Carbohydrate Analysis, A Practical Approach[M]. Oxford: Oxford University Press, 1994.  
[9] 熊学敏, 石扬. 复方降糖宁颗粒剂的质量标准研究[J]. 中成药, 1999, 21(9): 485-487.