



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

## 《天津科技大学学报》网络首发论文

题目： 柑橘果胶与红曲色素复合物的体外酵解特性与降脂活性  
作者： 刘海靖, 闫雪婷, 刘欢欢, 王昌禄, 王昵霏, 郭庆彬  
DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20240043  
收稿日期: 2024-03-08  
网络首发日期: 2024-10-08  
引用格式: 刘海靖, 闫雪婷, 刘欢欢, 王昌禄, 王昵霏, 郭庆彬. 柑橘果胶与红曲色素复合物的体外酵解特性与降脂活性[J/OL]. 天津科技大学学报. <https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20240043>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



## 柑橘果胶与红曲色素复合物的体外酵解特性与降脂活性

刘海靖<sup>1</sup>, 闫雪婷<sup>1</sup>, 刘欢欢<sup>1,3</sup>, 王昌禄<sup>1</sup>, 王昵霏<sup>2</sup>, 郭庆彬<sup>1</sup>

(1. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457; 2. 山西大学生物技术研究所, 山西太原 030000;  
3. 天津益膳康生物科技有限公司, 天津 300457)

**摘要:** 以柑橘果胶和红曲色素为原料, 采用物理混合 (PM) 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Vc 自由基诱导 (FR) 两种复合方式获得果胶-红曲色素复合物, 并通过体外模拟消化、酵解及体外降脂实验研究复合物的促进肠道健康活性和降脂活性。结果表明: PM 组和 FR 组在体外模拟口腔、胃和小肠消化过程中几乎不被消化, 通过物理混合方式处理的柑橘果胶与红曲色素复合物发酵特性较好, 且红曲色素的添加可以显著提高柑橘果胶的降脂活性 ( $P < 0.05$ )。

**关键词:** 柑橘果胶; 红曲色素; 体外酵解; 降脂活性

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00

## The *in vitro* Fermentation Characteristic and Lipid-lowering Activity of the Complex of Citrus Pectin and *Monascus* Pigment

LIU Haijing<sup>1</sup>, YAN Xueting<sup>1</sup>, LIU Huanhuan<sup>1,3</sup>, WANG Changlu<sup>1</sup>, WANG Nifei<sup>2</sup>, GUO Qingbin<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;  
2. Institute of Biotechnology, Shanxi University, Taiyuan 030000, China;  
3. Tianjin Yishankang Biotechnology Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

**Abstract:** The complex was prepared by physical mixing (PM) and free radical induction (FR) with citrus pectin and *Monascus* pigment as raw materials, and the intestinal health-promoting and lipid-lowering activities of the complex were investigated by simulated digestion, fermentation and lipid-lowering experiments *in vitro*. The results showed that the PM and FR groups were almost not digested during *in vitro* simulated oral, gastric and small intestinal digestion, the physical mixing of citrus pectin and *Monascus* pigment complex had better fermentation characteristics, and the addition of *Monascus* pigment could significantly improve the lipid-lowering activity of citrus pectin ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** citrus pectin; *Monascus* pigment; *in vitro* fermentation; lipid-lowering activity

柑橘果胶主要是从橘、柑、柠檬、甜橙、柚等栽培类型的果皮中提取 (含量约 25%) 的酸性多糖, 作为凝胶剂、稳定剂、乳化剂及增稠剂等广泛应用于食品生产中<sup>[1]</sup>。根据结构的不同, 果胶可分为同型半乳糖醛酸聚糖 (HG)、鼠李半乳糖醛酸聚糖 I (RG-I)、鼠李半乳糖醛酸聚糖 II (RG-II) 和木糖半乳糖醛酸聚糖<sup>[2]</sup>。

天然果胶的相对分子质量较大, 难以被人体吸

收, 因此对果胶进行降解可以提高其生物活性<sup>[3]</sup>。Lu 等<sup>[4]</sup>发现酶解柑橘果胶增加肠道短链脂肪酸的浓度, 还促进了有益菌的丰度, 增强肠道健康。张若培等<sup>[5]</sup>发现, 低分子柑橘果胶具有降低大鼠高血脂水平和改善肥胖的作用。

红曲色素是一种由红曲霉发酵而成的优质天然食用色素, 被广泛应用于食品加工中。由于红曲色素具有良好的着色能力和防腐性能, 可替代亚硝酸

盐应用于腊肉制品；红曲色素的添加还可以提升面包的香味与色泽等<sup>[6]</sup>。红曲色素主要包括化学结构类似的红/紫色、橙色、黄色的色素<sup>[7]</sup>，具有降血脂、降血糖以及调节免疫活性等功效<sup>[8]</sup>。王小璐<sup>[9]</sup>通过建立体外脂肪蓄积模型，证明红曲色素可以有效预防非酒精性脂肪肝，具备应用于降血脂功能食品的潜力。

然而，由于红曲色素的稳定性差，在食品加工、包装或储存过程中容易受到光和氧气的影响而损失和降解，易发生化学反应，极大降低了着色性能，影响食品货架期，限制了其在食品中的应用<sup>[10]</sup>。研究<sup>[11]</sup>表明，多糖的加入可在一定程度上提高红曲色素的光稳定性，相比其他多糖，果胶与红曲色素混合后其稳定性更好，且色素能够在果胶的凝胶网络中进行扩散。近年来，大分子间的相互作用及协同增效研究逐渐增多，例如果胶能够与花青素结合，显著改善花青素的色泽、化学稳定性和体外胃肠消化稳定性<sup>[12]</sup>；红曲橙色素与羟丙基-β-环糊精制备的复合物可以显著提高色素的稳定性<sup>[10]</sup>。

本研究对降解后的果胶与红曲色素进行复合，通过体外酵解和体外降脂模型探究柑橘果胶与红曲色素复合物的促进肠道健康和降脂活性，从而充分利用果胶与红曲色素的各自功能优势，扩大其在食品工业上的应用范围，为开发新型食品配料及产品开发提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

新鲜的橘子购买于当地超市（天津，中国）；红曲色素由广东天益生物有限公司提供；脂肪酸标准品（乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸、异己酸、己酸、庚酸），美国 Sigma 公司；猪结肠消化物取自天津广华肉类有限公司健康长白猪（5 月龄，100~120 kg）的结肠。

GC2010 Plus 型热脱附气相色谱仪，日本岛津公司；LDZH-200KBS 型高压灭菌锅，上海申安医疗器械厂；YOX-II 型厌氧培养箱，上海新苗医疗器械制造有限公司；LD-10 型高速大容量冷冻离心机，长沙湘仪离心机仪器有限公司；IS50 型傅里叶变换红外光谱，广州尼高力科学仪器有限公司；SU1510 型扫描电子显微镜，日本 Hitachi 公司；PB-10 型 pH 计，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；LP Vortex Mixer 型加热磁力搅拌器，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；ZWY-103B 型摇床，上海智能分析仪器制造有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 柑橘果胶的提取降解

橘皮 50 °C 烘干打粉，过 40 目筛。加入无水乙醇常温搅拌 3 h，除去色素以及脂类物质，离心取沉淀，挥发剩余乙醇。按 1 : 20 的料液比例加入蒸馏水，并用柠檬酸调节 pH=2，100 °C 搅拌 2 h，采用 Sevage 法除蛋白<sup>[13]</sup>，加入 60% 无水乙醇，4 °C 过夜，离心取沉淀，用相对分子质量 3500 透析袋透析 48 h，-80 °C 冷冻后真空浓缩干燥。

采用三氟乙酸水解法降低柑橘果胶相对分子质量<sup>[14]</sup>。在 2 mg/mL 果胶溶液中加入 0.1 mol/mL 三氟乙酸，在 90 °C 反应 3.5 h，加入 3 倍体积无水乙醇，4 °C 过夜，离心取沉淀，冻干得到柑橘果胶。

#### 1.2.2 柑橘果胶的理化指标测定

通过苯酚-硫酸法测定总糖含量<sup>[13]</sup>。

以半乳糖醛酸为标准品，采用间羟基联苯法<sup>[13]</sup>测定样品糖的醛酸含量。

以牛血清蛋白为标准品，采用考马斯亮蓝法<sup>[13]</sup>测定样品的蛋白质含量。

#### 1.2.3 柑橘果胶与红曲色素复合物的制备

采用物理混合法、自由基诱导法<sup>[14]</sup>两种方式获得柑橘果胶与红曲色素的物理混合组（PM）、自由基诱导复合组（FR），并为两组复合物分别设置对照组，即柑橘果胶组（CP）、柑橘果胶自由基诱导组（CPFR），制备方法见表 1。将原料在常温下混匀，分别将得到的溶液用相对分子质量 3500 透析袋透析，除去未反应的色素，冻干得到的样品为后续实验所用。

表 1 柑橘果胶与红曲色素复合物的制备方法

Tab. 1 Preparation method of citrus pectin and *Monascus* pigment complex

样品名称	柑橘果胶 (mg/mL)	红曲色素 (mg/mL)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mL)	维生素 C (mg)
FR	10	10	0.2	10.8
CPFR	10	-	0.2	10.8
PM	10	10	-	-
CP	10	-	-	-

#### 1.2.4 化学结构研究

采用溴化钾（KBr）压片法对样品进行红外光谱测定<sup>[15]</sup>。分别快速称取 1 mg 样品和干燥的 KBr 150 mg，用研钵快速研磨均匀，然后放到压片机上压片，停留 40 s 使样品成型，用傅里叶变换红外光谱仪扫描，扫描频率范围为 400~4000 cm<sup>-1</sup>。

取少量干燥的样品用双面导电胶将样品粘到样品台，用溅射镀膜法镀金处理，使用扫描电子显微

镜对样品进行微观形态分析<sup>[16]</sup>。

### 1.2.5 体外模拟消化特性研究

体外模拟消化液配制: 参考张冠亚等<sup>[17]</sup>报道的方法, 并适当修改。模拟唾液(SSF)、模拟胃液(SGF)以及模拟肠液(SIF)的配制方法见表 2。上述溶液均现配现用。

表 2 体外模拟消化液的配制

Tab. 2 Preparation of simulated digests *in vitro*

	SSF	SGF	SIF
KCl (mg)	112	-	50
NaHCO <sub>3</sub> (mg)	114	120	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (mg)	50	12	11
CaCl <sub>2</sub> (mg)	22	12	8
NaCl (mg)	12	310	220
MgCl <sub>2</sub> (mg)	3	3	-
猪胆盐(mg)	-	-	200
pH	7.0±0.5	2.0±0.5	7.0±0.5
α-淀粉酶 (U/mL)	75	-	-
胃蛋白酶 (U/mL)	-	2000	-
胰酶 (U/mL)	-	-	250
胰蛋白酶 (U/mL)	-	-	100
蒸馏水 (mL)	100	100	100

体外模拟口腔消化: 参照 Chen 等<sup>[18]</sup>的方法并略作修改。8.0 mg/mL 样品溶液与等体积模拟唾液混合, 37 °C 振荡培养 15、30 min 后, 沸水浴 10 min 灭活 α-淀粉酶, 冷却后离心备用, 各组设置 3 个重复。

体外模拟胃消化: 参照 Hu 等<sup>[19]</sup>方法并略作修改。8.0 mg/mL 样品溶液与等体积模拟胃液混合, 调节 pH=2.0, 37 °C 振荡培养 1、2、3 h 后, 沸水浴 10 min 灭活胃蛋白酶, 冷却后离心备用, 各组设置 3 个重复。

体外模拟小肠消化: 参照 Ding 等<sup>[20]</sup>的方法并略作修改。将模拟胃液消化 3 h 后的样品溶液与模拟小肠液按 10 : 3 体积比混合, 调节 pH=7.0±0.5, 37 °C 振荡培养 1、2、3 h 后, 沸水浴 10 min 灭活胰酶, 冷却后离心备用, 各组设置 3 个重复。

消化液相对分子质量的测定: 采用高效液相色谱(HPLC)法<sup>[21]</sup>测定相对分子质量。准确称取 2 mg 样品溶于 1 mL 0.1 mol/L NaNO<sub>3</sub> 溶液中, 60 °C 搅拌 6 h 至样品完全溶解, 过 0.22 μm 水系滤膜, 采用配备有超水凝胶线性柱(10 μm, 7.8 mm×300 mm)、具有示差检测器(RID)和紫外检测器( SPD)的高效液相色谱仪测定样品的相对分子质量。色谱条件:

流动相为 0.1 mol/L NaNO<sub>3</sub> 溶液, 检测温度为 40 °C, 流量为 0.6 mL/min, 进样量为 20 μL。

消化液游离还原糖的测定: 采用 DNS 法<sup>[22]</sup>测定还原糖含量。

### 1.2.6 体外模拟酵解特性研究

猪结肠消化物样品制备: 宰杀过程中取出整段结肠部分, 在无氧环境下去取出结肠中的消化物。

厌氧培养基<sup>[23]</sup>(mg/L): Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4000, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 900, NaCl 900, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 900, CaCl<sub>2</sub> 50, MgSO<sub>4</sub> 50, MnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O 20, FeSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O 20, ZnSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O 20, CoCl 6H<sub>2</sub>O 2, 刃天青 1, 泛酸钙 2, 烟酰胺 2, 维生素 B<sub>1</sub> 2, 维生素 B<sub>2</sub> 2, 维生素 B<sub>6</sub> 2, 维生素 B<sub>12</sub> 0.05, 维生素 H 0.5, 对氨基苯甲酸 0.1, 生物素 0.1, 叶酸 0.05, 盐酸半胱氨酸 1000。

体外模拟酵解: 体外酵解方法参照 Ding 等<sup>[23]</sup>的方法略有修改。PM、FR、CP、CPFR 分别作为唯一的碳源, 其添加量为 1%, 猪结肠消化物添加量为 10%, 只添加猪结肠消化物和厌氧培养基的组作为空白对照组, 以菊粉为阳性对照组。在离心管中分别称取样品 0.06 g, 加入 6 mL 培养基加热溶解。在厌氧培养箱中, 称取 0.6 g 猪结肠消化物于离心管中, 分别将样品溶液加入其中, 并充分混匀。将离心管用封口膜封口, 装入厌氧袋中, 37 °C、250 r/min 酵解 0、6、12、24、48 h, 依次取样, 离心终止发酵, 将上清液过无菌滤膜即为肠道菌群酵解发酵液。

肠道菌群酵解发酵液的总糖通过苯酚-硫酸法<sup>[13]</sup>测定。短链脂肪酸(SCFAs)采用热脱附气相色谱仪测定<sup>[24]</sup>。

根据杨曼红等<sup>[25]</sup>的方法并稍做修改进行肠道菌群酵解发酵液色价的测定。在 2 mL 发酵液加入蒸馏水, 稀释至吸光度为 0.2~0.8, 并以蒸馏水为空白对照, 设定 385 nm (代表黄色素)、470 nm (代表橙色素)、505 nm (代表红色素) 作为色价检测波长, 按照式 (1) 计算色价。

$$S = A \cdot V \cdot n / m \quad (1)$$

式中:  $S$  为色价, U/g;  $A$  为稀释后的吸光度;  $V$  为样品提取液的体积, mL;  $m$  为样品质量, g;  $n$  为稀释倍数。

### 1.2.7 体外降脂活性研究

根据李志坤<sup>[26]</sup>的方法测定胆酸钠吸附能力。

胰脂肪酶抑制能力的测定: 以奥利司他为阳性对照, 评价样品的胰脂肪酶抑制能力<sup>[27]</sup>。根据测定脂肪酶活性, 将样品、脂肪酶和 4-甲基伞形酮油酸酯(4-MUO)溶解在三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)缓冲液中(13 mmol/L Tris-HCl, 150 mmol/L

NaCl, 1.3 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, pH 8)。黑色 96 孔板中分别加入 50 μL 0.1 mmol/L 4-MUO 和 25 μL 不同浓度的样品, 25 °C 孵育 5 min, 然后加入 25 μL 脂肪酶(1 mg/mL), 25 °C 孵育 30 min, 用等量的 Tris-HCl 缓冲液代替脂肪酶制备空白, 以 340 nm 为激发波长, 460 nm 为发射波长记录荧光强度。胰脂肪酶抑制率按照式 (2) 计算。

$$\text{胰脂肪酶抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{1 - B_{\text{blank}}}{1 - A_{\text{blank}}}\right) \times 100\% \quad (2)$$

其中: A 和 B 是无脂肪酶和有胰脂肪酶反应下测定的 FI, A<sub>blank</sub> 和 B<sub>blank</sub> 是用 Tris-HCl 缓冲液替代样品的空白组。

### 1.3 数据处理

实验测定得到的数据使用 SPSS 25.0 分析软件通过单因素方差分析 ANOVA 和多重比较法 Duncan 进行统计分析, 分析得到的结果使用平均值±标准差进行表示, 当 P<0.05 时说明差异显著, 结果具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 柑橘果胶的理化指标分析

提取到的柑橘果胶其中总糖含量(46.27±3.03)%; 糖醛酸含量 (75.60±3.62) %; 蛋白质含量 (3.63±0.16) %。根据测定结果可以得出, CP 具有较高的糖含量, 且蛋白质含量较低, 表明提取出的柑橘果胶具有较高的纯度。果胶中总糖、糖醛酸、蛋白质含量之和在 100% 以上, 这可能是通过苯酚-硫酸法测定总糖时这种比色法的结果可能被高估, 因为糖醛酸也可能参与比色反应。

### 2.2 柑橘果胶与红曲色素复合物的化学结构分析

#### 2.2.1 傅里叶变换红外光谱分析

结果如图 1 所示, 在红外光谱中, 红曲色素样本中出现了 1540 cm<sup>-1</sup> 左右的红曲色素特征峰<sup>[10]</sup>, 这对应着脂肪族侧链的羰基伸缩振动。在 1740 cm<sup>-1</sup> 左右出现了酯化的 C=O 基团的拉伸运动, 这是果胶的特征峰。PM 组和 FR 组的红外光谱图呈现红曲色素和柑橘果胶各自光谱图的叠加, 都具有典型的多糖和红曲色素的特征吸收峰, 但二者的相对峰强度不同, 表明它们之间部分多糖残基的摩尔比不同。

#### 2.2.2 样品微观形态分析

样品扫描电子显微镜图如图 2 所示, CP 组呈现不规则网格状, 含有大量致密而粗的纤维状结构, 分子缠绕聚集严重, PM 组有丝状物呈现桥状连接, 呈现良好的分子间交联, CPFR 组呈现大小均一排列

蜂窝状, 而添加色素的 FR 组呈现不规则絮状, 未见孔洞, 分子间聚集情况也相当严重, PM 组和 FR 组之间的差异可能是由于经自由基诱导后相对分子量下降, 故呈现絮状, 且红曲色素的加入改变了果胶大分子链间的聚合导致复合物与柑橘果胶形态的差异。

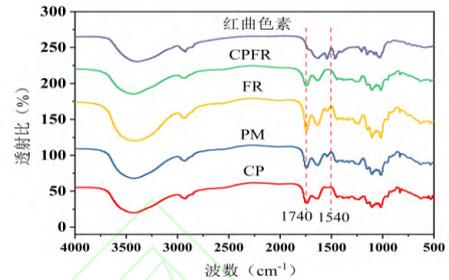


图 1 傅里叶变换红外光谱图

Fig. 1 Pictures of Fourier transform infrared spectroscopy

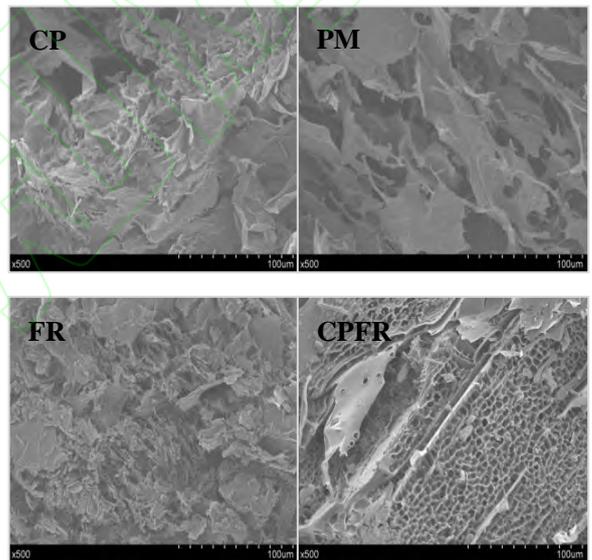


图 2 扫描电子显微镜图

Fig. 2 Results of scanning electron microscope

### 2.3 体外模拟消化特性分析

#### 2.3.1 消化液相对分子质量的测定

模拟口腔、胃、小肠消化过程中的多糖相对分子量 HPLC 图结果如图 3 所示, 在模拟口腔(SSF)、胃 (SGF)、小肠 (SIF) 消化过程中, CP 组、PM 组、FR 组和 CPFR 组的多糖保留时间和峰面积几乎没有发生变化, 4 组样品的相对分子量波动分别是:  $5.3762 \times 10^5 \sim 5.3211 \times 10^5$ 、 $5.2245 \times 10^5 \sim 5.1709 \times 10^5$ 、 $83.66 \times 10^4 \sim 6.926 \times 10^4$ 、 $8.366 \times 10^4 \sim 7.251 \times 10^4$  表明模拟消化对 4 组样品的相对分子量没有影响, 可以近乎完整的到达结肠, 也表明红曲色素并不影响柑橘果胶的膳食纤维特性。FR 组和 CPFR 组的相对分子量低于 PM 和 CP 组, 这可能是由于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/VC 体系对柑橘果胶进行了二次降解。

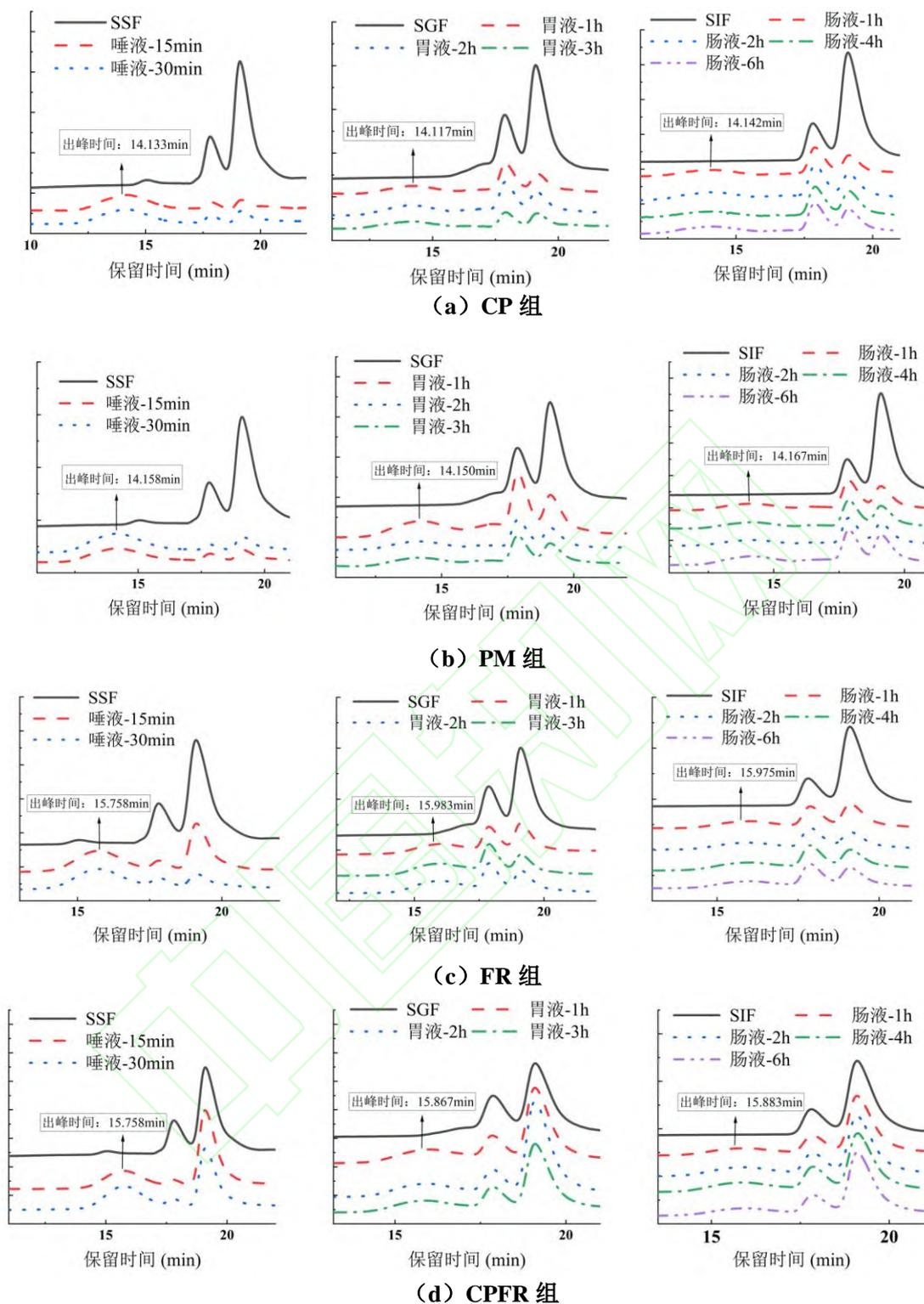


图 3 模拟口腔、胃、小肠消化过程中的多糖相对分子质量 HPLC 图

Fig. 3 HPLC plot of molecular weight of polysaccharides during oral, gastric and small intestine digestion

### 2.3.2 消化液中游离还原糖含量的测定

模拟口腔、胃、小肠消化过程中还原糖含量的变化, 见表 3。在口腔唾液消化过程中 (0.25 h 和 2.5 h), 还原糖含量未发生显著变化; 在胃肠消化过程中, 还原糖含量的变化较复杂, 但变化幅度均

不明显, 保持在 5% 以内。

### 2.4 肠道菌群模拟酵解特性分析

#### 2.4.1 肠道菌群酵解过程中发酵液的多糖相对分子质量变化

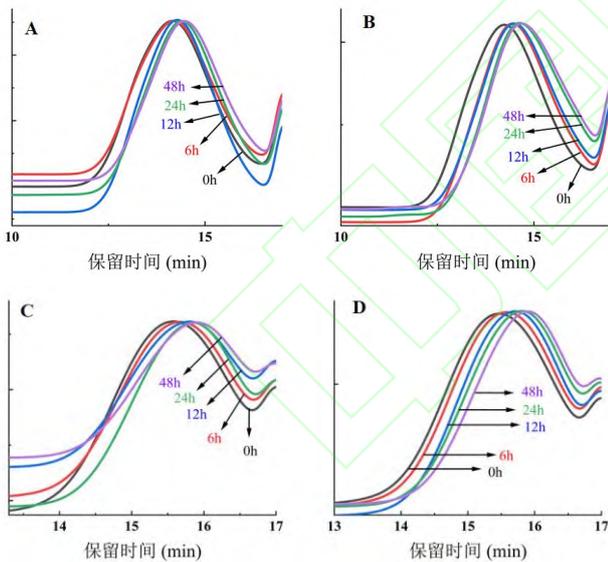
肠道菌群对多糖的发酵可以通过其相对分子质

量 ( $M_w$ ) 的变化来反映<sup>[28]</sup>。不同发酵时间肠道菌群酵解液的多糖相对分子质量变化如图 4 所示, 出峰时间越晚, 相对分子质量越小。结果发现, 随着发酵时间的延长, 样品的色谱峰明显出现后移, 表明发酵液多糖相对分子质量逐渐降低, 说明添加红曲色素前后的样品均能被肠道菌群利用而发生降解。

表 3 模拟口腔、胃、小肠消化过程中还原糖含量的变化

Tab. 3 Changes in reducing sugar content during oral, gastric, and small intestinal digestion

部位	时间/h	还原糖 (mg/mL)			
		CP	PM	FR	CPFR
口腔	0.25	0.022±0.005	0.038±0.001	0.105±0.006	0.058±0.000
	0.5	0.023±0.003	0.033±0.002	0.107±0.003	0.041±0.002
胃	1	1.192±0.008	1.288±0.026	1.255±0.043	1.248±0.028
	2	1.194±0.027	1.290±0.029	1.224±0.006	1.266±0.040
	3	1.249±0.022	1.273±0.035	1.235±0.018	1.256±0.028
小肠	1	1.188±0.031	1.241±0.046	1.189±0.006	1.236±0.046
	2	1.192±0.035	1.238±0.030	1.184±0.011	1.200±0.026
	4	1.180±0.028	1.222±0.029	1.179±0.009	1.194±0.023
	6	1.192±0.008	1.242±0.005	1.187±0.024	1.231±0.023



A:CP 组; B:PM 组; C:FR 组; D:CPFR 组

图 4 不同发酵时间肠道菌群酵解液的多糖相对分子质量变化

Fig. 4 Changes of the polysaccharide  $M_w$ s from the fermentation broth of intestinal flora at different time points

#### 2.4.2 肠道菌群酵解过程中发酵液的总糖含量变化

总糖含量的变化常被用来衡量碳水化合物的发酵程度<sup>[29]</sup>。不同发酵时间肠道菌群酵解液的总糖含量变化见表 4。

表 4 不同发酵时间肠道菌群酵解液的总糖含量变化

Tab. 4 Changes in total sugar content of the fermentation broth of intestinal flora at different fermentation times

样品名称	酵解时间 (h)	总糖 (%)
CP	0	37.03±0.02 <sup>a</sup>
	6	35.60±0.03 <sup>a</sup>
	12	31.73±0.06 <sup>b</sup>
	24	30.51±0.03 <sup>b</sup>
	48	28.52±0.15 <sup>c</sup>
PM	0	33.56±0.08 <sup>a</sup>
	6	31.87±0.06 <sup>b</sup>
	12	29.24±0.04 <sup>c</sup>
	24	28.53±0.19 <sup>d</sup>
	48	27.56±0.07 <sup>d</sup>
FR	0	33.73±0.04 <sup>a</sup>
	6	29.61±0.07 <sup>b</sup>
	12	28.95±0.19 <sup>b</sup>
	24	27.37±0.28 <sup>b</sup>
CPFR	0	32.05±0.31 <sup>a</sup>
	6	31.40±0.09 <sup>a</sup>
	12	30.96±0.05 <sup>a</sup>
	24	29.60±0.02 <sup>b</sup>
	48	27.87±0.03 <sup>c</sup>

注: 不同字母表示有显著性差异 ( $P<0.05$ )。

发酵液总糖含量均显著降低 ( $P<0.05$ ), CP 组从 37.03% 降至 28.52% ( $\Delta=8.51\%$ ), PM 组从 33.56% 降至 27.56% ( $\Delta=6.00\%$ ), FR 组从 33.73% 降至 25.64% ( $\Delta=8.09\%$ ), CPFR 组从 32.05% 降至 27.87% ( $\Delta=4.18\%$ )。总糖的显著下降可能是由于结肠微生物区系能分泌碳水化合物活性酶, 破坏多糖的糖苷键, 进而利用降解后的多糖片段<sup>[30]</sup>。总糖含量的降低可以反映出在肠道中被消耗的速率, 本研究中 FR 组在肠道消耗的速率最快, 其次是 CP 组和 PM 组, CPFR 组最慢。

#### 2.4.3 肠道菌群酵解过程中发酵液的 pH 和 SCFAs 产量的变化

体外发酵过程中发酵液 pH 值的动态变化可以间接反映结肠微生物群对天然多糖的降解和利用<sup>[29]</sup>。不同发酵时间肠道菌群酵解液的 pH 变化如图 5 所示, 其中不同字母表示有显著性差异 ( $P<0.05$ )。

所有底物都被肠道菌群利用, 从而导致 pH 下降, 而在无碳源的空白对照中, 观察到相对恒定的 pH 值, 这可能是有限的 SCFAs 产生或者可能与蛋白质产生的氨发生中和<sup>[31]</sup>。结果如图 5 所示, 添加红曲色素的 PM 组和自由基诱导的 FR 组在发酵过程中 pH 分别从 6.75 降至 4.67 ( $\Delta\text{pH}=2.08$ )和 6.34 降至 4.83 ( $\Delta\text{pH}=1.51$ ), 未添加红曲色素的 CP 组和 CPFR

组的 pH 分别从 5.29 降至 4.28 ( $\Delta\text{pH}=1.01$ )和 6.11 降至 4.74 ( $\Delta\text{pH}=1.37$ ), 菊粉组的 pH 从 8.52 降至 4.02 ( $\Delta\text{pH}=4.50$ ), 随后趋于稳定, pH 下降幅度越大说明发酵程度越高, 因此添加红曲色素的 PM 组的发酵程度优于 FR 组, 其次是 CPFR 组和 CP 组。添加红曲色素的两组在发酵 0~6 h 显著下降( $P<0.05$ ), 而未添加色素的两组下降速度缓慢, 因此, 红曲色素的加入大幅提升了柑橘果胶的可发酵性。

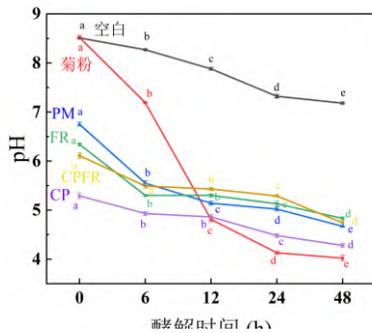


图 5 不同发酵时间肠道菌群酵解液的 pH 变化

Fig. 5 pH changes of the fermentation broth of intestinal flora at different time points

SCFAs 是肠道菌群代谢物, 它们在宿主的免疫和代谢系统中都起着重要作用。不同发酵时间肠道菌群酵解液的 SCFAs 含量变化如图 6 所示。CP 组、PM 组、FR 组、CPFR 组和菊粉组在发酵 48 h 产生的总酸含量均高于空白对照组。乙酸和丙酸是在体外发酵过程中产生的主要 SCFAs, 四组样品间相互比较, CP 组产生的乙酸、丙酸含量较高, 分别为  $(32.17 \pm 1.37)$  mmol/L 和  $(4.14 \pm 0.07)$  mmol/L, 其次是 FR 组和 PM 组, CPFR 组产生的乙酸和丙酸含量最低。此外, 除乙酸和丙酸外, 其他 7 种 SCFAs 的含量变化并不明显。

多糖被肠道菌群利用, 产生的 SCFAs 对宿主有诸多有益的健康结果。本研究中, CP 组在酵解 48 h 产生的总 SCFAs 含量最高, 其次是 PM 组和 FR 组。乙酸和丙酸是最主要的 SCFAs, 乙酸既是肠道外周细胞和肝脏的能量来源, 也是糖异生和脂肪生成代谢途径中的信号分子<sup>[32]</sup>。大约 90% 的丙酸通过门静脉输送到肝脏, 其中很大一部分用于糖异生和抑制胆固醇合成<sup>[33]</sup>。

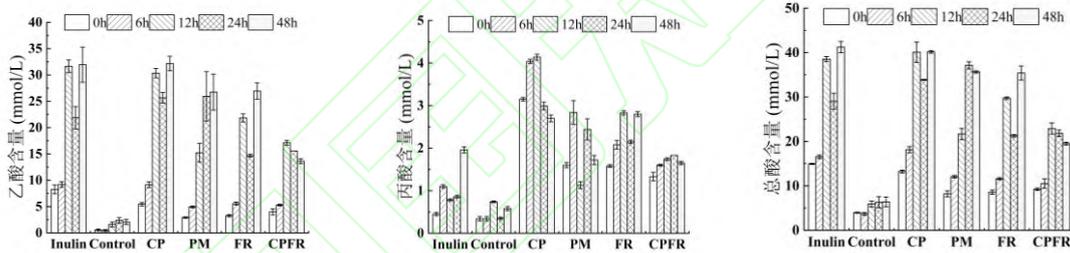


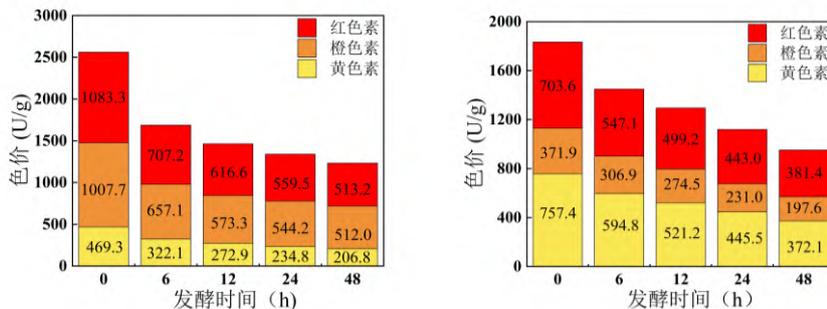
图 6 不同发酵时间肠道菌群酵解液的 SCFAs 含量变化

Fig. 6 Changes of SCFAs content in the fermentation broth of intestinal flora at different time points

2.4.4 肠道菌群酵解过程中发酵液色价的变化

利用紫外可见分光光度法研究 PM 组和 FR 组在发酵过程中红曲色价的变化。不同发酵时间肠道菌群酵解液的色价变化如图 7 所示, 两组样品的色价

随发酵时间延长而降低。PM 组的色价从 2560.3 U/g 降至 1232 U/g ( $\Delta=1328.3\text{U/g}$ ), FR 组从 1832.9 U/g 降至 951.1 U/g ( $\Delta=881.8\text{U/g}$ ), PM 组的红曲色素利用率高于 FR 组。



(a) PM 组

(b) FR 组

图 7 不同发酵时间肠道菌群酵解液的色价变化

Fig. 7 Changes in color value of the fermentation broth of intestinal flora at different time points

2.5 体外降脂活性分析

2.5.1 胆酸钠吸附能力分析

膳食纤维结合胆酸钠的能力可以减少其重吸收, 需要肝细胞中胆固醇的分解代谢来维持胆盐平衡, 从而降低血浆胆固醇水平, 起到降脂效果<sup>[34]</sup>。胆酸钠吸附量结果如图 8 所示, 其中不同字母表示有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。在相同的胆酸钠浓度下, 添加红曲色素的 FR 组, 胆酸钠吸附量最高, 为  $(7.64 \pm 0.002)$  mg/g, 显著高于未添加红曲色素的 CPFR 组 ( $P < 0.05$ ); 添加红曲色素的 PM 组胆酸钠吸附量为  $(6.95 \pm 0.002)$  mg/g, 显著高于未添加红曲色素的 CP 组 ( $P < 0.05$ ), 表明在两种复合方式下, 添加红曲色素后都可以显著提高柑橘果胶的胆酸钠吸附能力 ( $P < 0.05$ )。FR 组吸附量优于 PM 组 ( $P < 0.05$ ), 可能是因为 FR 组经自由基诱导后, 结构更加疏松, 具有更大的比表面积和电荷密度, 暴露出更多的胆酸钠结合位点, 增加了胆酸钠吸附量<sup>[35]</sup>。

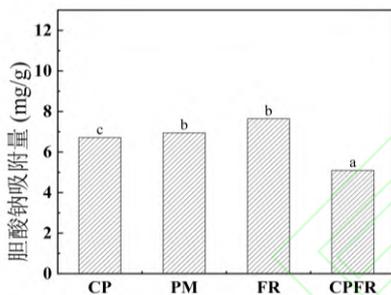


图 8 胆酸钠吸附量

Fig. 8 Sodium cholate adsorption capacity

2.5.2 胰脂肪酶抑制率分析

胰脂肪酶可以将肠道中的脂肪水解成游离脂肪酸和单酰甘油酯, 从而进一步被人体吸收, 因此, 可以通过抑制胰脂肪酶活性, 减少人体对脂肪的水解和吸收, 从而达到降脂的目的<sup>[27]</sup>。以脂肪酶抑制剂奥利司他为阳性对照<sup>[36]</sup>, 结果如图 9 所示。

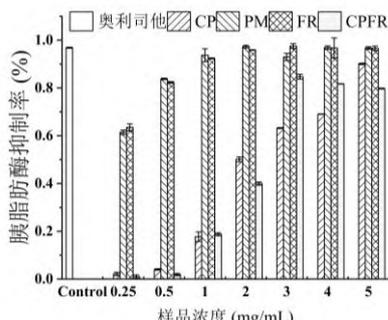


图 9 胰脂肪酶活性抑制率

Fig. 9 Inhibition rate of pancreatic lipase

CP 组和 CPFR 组随着浓度的升高对胰脂肪酶抑制活性呈剂量依赖性, 分别在样品浓度为 5 mg/mL

和 3 mg/mL 时对胰脂肪酶的抑制率达到最大值, 为 90.07% 和 84.70%。添加红曲色素的 PM 组和 FR 组随着样品浓度的增加, 对胰脂肪酶的抑制率先升高后趋于稳定, 分别在 2 mg/mL 和 3 mg/mL 达到最大值, 为 97.30% 和 97.53%, 表明红曲色素的添加提高了柑橘果胶的胰脂肪酶抑制率, 改善了柑橘果胶降脂活性。

3 结 语

本研究首先以物理混合法 (PM) 和自由基诱导复合法 (FR) 制备得到两种柑橘果胶和红曲色素的复合物, 并对复合物进行傅里叶变换红外光谱和扫描电子显微镜分析, 然后通过体外模拟消化实验测定复合物的消化特性, 并在厌氧条件下酵解 0、6、12、24、48 h, 测定发酵液的总糖、pH 和 SCFAs、色价进行体外酵解特性研究, 再通过测定胆酸钠吸附能力和胰脂肪酶活性抑制率研究复合物的降脂活性。结果表明: PM 组和 FR 组在消化过程中不会被降解, 可以完整的到达结肠, 并且结肠酵解过程中被肠道菌群利用而发生降解, 产生的 SCFAs 主要为乙酸和丙酸, PM 组的体外发酵特性较好。在体外降脂活性的研究中发现, 添加红曲色素后, 可以显著提高柑橘果胶的降脂活性 ( $P < 0.05$ )。本研究为多糖与色素的相互作用以及在保健品、药品、食品等方面的应用开发提供理论依据。

参考文献:

[1] KOH J, XU Z M, WICKER L. Binding kinetics of blueberry pectin-anthocyanins and stabilization by non-covalent interactions[J]. Food hydrocolloids, 2020, 99: 105354.

[2] HOSSEINI S S, KHODAIYAN F, YARMAND M S. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties[J]. Carbohydrate polymers, 2016, 140: 59-65.

[3] YANG Z, ZHANG Y, JIN G, et al. Insights into the impact of modification methods on the structural characteristics and health functions of pectin: a comprehensive review[J]. International journal of biological macromolecules, 2024, 261: 129851.

[4] LU X M, ZHAO C Y, LIU D, et al. A novel prebiotic enzymatic hydrolysate of citrus pectin during juice processing[J]. Food hydrocolloids, 2024, 146: 109198.

- [5] 张若培, 范晓青, 陈建国等. 低分子柑桔果胶粉对肥胖大鼠调节血脂及瘦素的研究[J]. 浙江预防医学, 2008, 20(01): 7-9.
- [6] PARMIGIANI MONTEIRO A B, MORAL GIL PRADOS C R, RODRIGUES SILVA M D L, et al. Production of *Monascus* pigments by solid-state cultivation of wheat grains and application in bread formulations[J]. International journal of gastronomy and food science, 2021, 24: 100313.
- [7] ARULDASS C A, DUFOSSE L, AHMAD W A. Current perspective of yellowish-orange pigments from microorganisms- a review[J]. Journal of cleaner production, 2018, 180: 168-182.
- [8] AGBOYIBOR C, KONG W B, CHEN D, et al. *Monascus* pigments production, composition, bioactivity and its application: a review[J]. Biocatalysis and agricultural biotechnology, 2018, 16: 433-447.
- [9] 王小璐. 红曲黄色素对油酸诱导 HepG2 细胞脂质蓄积的影响[D]. 天津: 天津科技大学, 2020.
- [10] WU S F, BAO Y X, WANG D Y, X, et al. Water-soluble complexes of orange pigments from *Monascus* sp. with HP- $\beta$ -CD: preparation, inclusion mechanism, and improved stability[J]. Journal of molecular liquids 2020, 300: 112212.
- [11] RAHAYUNINGSIH E, SETIAWAN F A, RAHMAN A B K, et al. Microencapsulation of betacyanin from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels using pectin by simple coacervation to enhance stability[J]. Food science and technology research, 2021, 58: 3379-3387.
- [12] KOH J, XU Z M, WICKER L. Blueberry pectin and increased anthocyanins stability under *in vitro* digestion[J]. Food chemistry, 2020, 302: 125343.
- [13] 邵平辉. 不同果胶结构、功能及对酸奶品质的影响研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2022.
- [14] 何媛. 秋葵果胶多糖的降解、结构特征、生物活性及其体外粪便发酵特性的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2022.
- [15] GUO Q B, DU J H, JIANG Y, et al. Pectic polysaccharides from hawthorn: physicochemical and partial structural characterization[J]. Food hydrocolloids, 2019, 90: 146-153.
- [16] 刘振飞, 闫雪崧, 单政欣, 等. 超声处理对  $\kappa$  卡拉胶的影响[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(10): 32-38.
- [17] 张冠亚, 黄晓君, 聂少平, 等. 体外模拟 3 种消化液对铁皮石斛多糖的消化作用[J]. 食品科学, 2014, 35(23): 279-283.
- [18] CHEN G J, XIE M H, 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.
- [19] 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: 1143-1150.
- [20] DING Y, YAN Y M, PENG Y J, et al. *In vitro* digestion under simulated saliva, gastric and small intestinal conditions and fermentation by human gut microbiota of polysaccharides from the fruits of *Lycium barbarum*[J]. International journal of biological macromolecules, 2019, 125: 751-760.
- [21] WANG N F, ZHANG X J, WANG S W, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from white asparagus skin[J]. Carbohydrate polymers, 2020, 227: 115314.
- [22] YE K, FU C J, MA S, et al. Comprehensive assessment of *Hypsizygus marmoreus* polysaccharides through simulated digestion and gut microbiota fermentation *in vitro*[J]. Food hydrocolloids, 2023, 144: 108989.
- [23] DING H H, CUI S W, GOFF H D, et al. Short-chain fatty acid profiles from flaxseed dietary fibres after *in vitro* fermentation of pig colonic digesta: structure-function relationship[J]. Bioactive carbohydrates and dietary fibre, 2015, 6: 62-68.
- [24] GUO X Y, ZHANG X M, YING X, et al. Fermentation properties and prebiotic potential of different pectins and their corresponding enzymatic hydrolysates[J]. Food hydrocolloids, 2023, 143: 108878.
- [25] 杨曼红, 郭佳, 杨露, 等. 红曲橙色素与红曲黄色素定量分析方法改进[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(24): 175-180.
- [26] 李志坤. 微拟球藻藻渣膳食纤维的制备及功能特性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2020.
- [27] HUANG R, ZHANG Y, SHEN S Y, et al. Antioxidant and pancreatic lipase inhibitory effects of flavonoids from different citrus peel extracts: an *in vitro* study[J]. Food chemistry, 2020, 326: 126785.
- [28] PAYLING L, FRASER K, LOVEDAY S M, et al. The effects of carbohydrate structure on the composition and functionality of the human gut microbiota[J]. Trends in food science & technology, 2020, 97: 233-248.
- [29] 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: 384-392.
- [30] HUANG F, HONG R Y, YI Y, et al. *In vitro* digestion and human gut microbiota fermentation of longan pulp polysaccharides as affected by *Lactobacillus fermentum* fermentation[J]. *International journal of biological macromolecules*, 2020, 147: 363-368.
- [31] ZHAO Y Y, BI J F, YI J Y, et al. Pectin and homogalacturonan with small molecular mass modulate microbial community and generate high SCFAs via *in vitro* gut fermentation[J]. *Carbohydrate polymers*, 2021, 269: 118326.
- [32] ZAMBELL K L, FITCH M D, FLEMING S E, et al. Acetate and butyrate are the major substrates for de novo lipogenesis in rat colonic epithelial cells[J]. *The journal of nutrition*, 2003, 133: 3509-3515.
- [33] PEREIRA D I A, GIBSON G R. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut[J]. *Applied and environmental microbiology*, 2002, 68: 4689-4693.
- [34] FENG Z Q, DOU W, ALAXI S, et al. Modified soluble dietary fiber from black bean coats with its rheological and bile acid binding properties[J]. *Food hydrocolloids*, 2017, 62: 94-101.
- [35] BENITEZ V, HERNANZ REBOLLO M, HERNANZ S, et al. Coffee parchment as a new dietary fiber ingredient: Functional and physiological characterization[J]. *Food research international* 2019, 122: 105-113.
- [36] ZHU Y T, JIA Y W, LIU Y M, et al. Lipase ligands in *Nelumbo nucifera* leaves and study of their binding mechanism[J]. *Journal of agriculture and food chemistry*, 2014, 62: 10679-10686.