

不同类型灵武长枣果实多糖的单糖成分差异

章英才¹ 苏伟东² 曹金霞¹ 柴雅红¹

(1. 宁夏大学 生命科学学院, 银川 750021;

2. 宁夏红枣工程技术研究中心, 宁夏 灵武 750400)

摘要 为分析大果型、枣刺退化型、早熟型和普通型4种不同类型灵武长枣成熟期果实多糖中单糖成分的差异,经水提醇沉法提取、采用DEAE-cellulose52和HW-55S分离纯化,利用GC-MS等分别对果实进行多糖的单糖成分分析研究。结果表明:1)不同类型果实粗多糖得率分别为:普通型1.795%,大果型1.504%,早熟型0.999%,枣刺退化型0.956%,粗多糖含量从高到低依次为:普通型>早熟型>大果型>枣刺退化型。2)不同类型果实粗多糖经DEAE-52柱层析,均得到1个中性级分(Ju-0)和3个酸性级分(Ju-1、Ju-2、Ju-3),其中Ju-2含量均为最高,表明果实多糖的主要形式为酸性多糖,但4个多糖级分的质量和得率差异显著。3)不同类型果实精制多糖含量因级分不同而差异较大,Ju-0和Ju-3级分均为普通型中最高,Ju-1级分在大果型中最高,Ju-2级分在早熟型中最高。4)不同类型果实精制多糖均以阿拉伯糖、半乳糖和鼠李糖含量较高,葡萄糖含量次之,甘露糖和木糖含量较低,均不含有果糖;NIST谱库显示,果实精制多糖中还含有核糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸。因此,不同类型灵武长枣果实多糖中单糖成分相似,但其成分和含量因级分不同而差异较大。

关键词 枣; 不同类型; 多糖; 单糖成分

中图分类号 Q946.3;S665.1

文章编号 1007-4333(2019)12-0053-09

文献标志码 A

Analyse on monosaccharide composition difference of polysaccharides in different types of *Ziziphus jujuba* Mill cv. Lingwuchangzao

ZHANG Yingcai¹, SU Weidong², CAO Jinxia¹, CHAI Yahong¹

(1. College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;

2. Ningxia Jujube Engineering Technology Research Center, Lingwu 750400, China)

Abstract In order to analyse the differences of monosaccharide composition of polysaccharides in four different types mature period fruits of the big-fruit type, the inermous type, the early maturity type, the ordinary type of *Ziziphus jujuba* Mill cv. Lingwuchangzao, the water extraction and alcohol precipitation method was adopted to obtain the polysaccharides, which were subsequently purified by DEAE-52 cellulose column and HW-55S gel column, finally GC-MS was used to analyses the monosaccharide composition of purified polysaccharides in fruit. The main research results showed that: 1) The obtaining ratios of crude polysaccharides of the ordinary type, the big-fruit type, the early maturity type and the inermous type fruits were 1.795%, 1.504%, 0.999% and 0.956%, respectively, the order of crude polysaccharides contents in different types fruit from high to low was the ordinary type, early maturity type, big-fruit type and inermous type. 2) The crude polysaccharides in different types fruits were fractioned respectively to be one neutral fraction (Ju-0), and three acid fractions (Ju-1, Ju-2, Ju-3) by DEAE-52 cellulose ion-exchange columns, and Ju-2 had the highest contents, this indicated that the main components of polysaccharides in fruits were acid fractions, but the mass and yield of the four polysaccharide components had significant differences. 3) The contents of refined polysaccharide in

收稿日期: 2019-04-23

基金项目: 宁夏自然科学基金项目(2019AAC03060); 国家自然科学基金项目(31160057)

第一作者: 章英才, 教授, 主要从事果实有效成分等研究, E-mail: yingcaizh@163.com

different types fruits were significantly different between different components, the contents of Ju-0 and Ju-3 were the highest in the ordinary type fruit, the content of Ju-1 in the big-fruit type fruit was the highest and the content of Ju-2 in the early maturity type fruit was the highest. 4) The contents of arabinose, galactose and rhamnose were higher, followed by the glucose, and the contents of mannose and xylose were the lowest in the refined polysaccharides of different type fruit, and there was no fructose in polysaccharides, the refined polysaccharide in different type fruits also contained the ribose, fucose, glucuronic acid and galacturonic acid compared by NIST mass spectrometry library. In conclusion, the monosaccharide compositions of the polysaccharide were similar in four different types *Ziziphus jujuba* Mill cv. Lingwuchangzao fruits, but the compositions and contents were significantly different in different polysaccharides component.

Keywords *Ziziphus jujuba* Mill cv. Lingwuchangzao; different types; polysaccharides; monosaccharide composition

灵武长枣 (*Ziziphus jujuba* Mill cv. Lingwuchangzao), 又名马牙枣, 是宁夏回族自治区名优鲜果品种^[1], 具有极高的营养价值和经济价值^[2-3]。灵武长枣果实中含有多种矿物质元素以及维生素、萜类和糖类^[4], 其多糖具有抗氧化和抗肿瘤等生物活性。随着灵武长枣栽培种植面积的扩大和产量的提高, 存在品种退化、品种不纯和果个变小等生产实践问题。针对当前灵武长枣发展中存在的问题, 为实现灵武长枣产业健康发展和果品市场对高品质灵武长枣的要求, 其品种选优等相关问题的解决显得十分紧迫和重要, 对灵武长枣产业健康可持续发展将产生重大影响。近年来, 在灵武长枣品种选育和保鲜等方面有了一定的研究^[5-6], 研究表明, 灵武长枣有普通型、大果型、枣刺退化型和早熟型等不同类型的^[7], 其中普通型栽种普遍, 大果型具有良好的果实经济性状, 枣刺退化型灵武长枣针刺退化, 早熟型果实成熟较早和较丰产, 不同类型灵武长枣果实各具特点。多糖是枣果实中重要的有效成分^[8-9], 多糖在灵武长枣综合品质形成中占有十分重要的地位, 其积累程度对果实品质具有重要的影响^[10-13]。目前, 对于灵武长枣果实多糖的研究已有较多的报道, 在不同发育时期灵武长枣果实中多糖的含量变化规律及其多糖动态积累的相关性^[14], 以及不同发育时期灵武长枣果实多糖的积累分布特征、分离提取和理化性质^[15]等方面取得了一定的研究成果。但是有关灵武长枣果实多糖的单糖成分, 见诸文献报道的还很少, 有关不同类型灵武长枣果实多糖中单糖成分方面更缺乏系统研究, 而揭示多糖的单糖成分对提高其多糖质量标准, 调整优化种植结构, 对灵武长枣品种选育、科学调控果实品质等具有重要意义^[16]。因此, 本研究以有代表性的 4 个类型灵武长枣果实为材料, 通过水提醇沉法提取其中多糖, DEAE-cellulose52 和 HW-55S 分离纯化, 采用气相

色谱-质谱联用(GC-MS)等方法, 对其多糖含量及单糖成分进行分析, 探讨不同类型的灵武长枣果实中多糖含量的变化规律及其单糖成分及差异, 旨在为揭示不同类型灵武长枣果实多糖中单糖成分的差异、调控灵武长枣品质提供一定的理论参考。

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂及仪器

选择枣树树龄、植株密度、水肥条件和枝条修剪水平一致的宁夏回族自治区灵武市东塔镇枣园种植的“普通型”、“大果型”、“枣刺退化型”、“早熟型”4 种不同类型的灵武长枣新鲜完熟期果实为供试材料, 随机区组试验设计, 试验重复 3 次, 每种果实取自于 3 棵果树, 于 9:00—11:00 进行采样, 采集无病虫害的果实各 500 g, 45 °C 烘干至恒重, 粉碎后过 60 目筛备用。

六甲基二硅胺烷、三甲基氯硅烷为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。DEAE-52 纤维素填料(Whatman 公司)、TOYOPEARL HW-55S 凝胶树脂(日本 TOSOH 公司)。标准单糖: 葡萄糖(99.5%), 阿拉伯糖、果糖、半乳糖和甘露糖(均>99%)购自北京拜尔迪公司; 鼠李糖和木糖(均>98%), 购自北京化学试剂公司。

RE-52A 型旋转蒸发器、SBS-Z100 数控计滴自动部份收集器、YZ1515X 恒流泵、FD-4 中型冷冻干燥器、日本岛津公司 GCMS-QP2010 气相色谱-质谱联用仪等主要仪器。

1.2 方 法

1.2.1 不同类型果实多糖的提取和含量测定

果实多糖的提取方法参见文献^[17], 多糖含量的测定采用苯酚-硫酸比色法^[18]。

粗多糖得率及样品中多糖含量的计算方法:
粗多糖得率 = 粗多糖质量 / 枣粉质量 × 100%

样品中多糖含量 = $(DEf/W) \times 100\%$

式中: D : 样品溶液中葡萄糖的质量浓度, mg/mL; E : 稀释倍数; W : 多糖质量, mg; f : 换算因子, 普通型、大果型、无刺型和早熟型灵武长枣果实多糖的换算因子分别为 2.37、2.20、2.30 和 2.08 ($n=3$)。

换算因子 $f=A/BC$

式中: A : 精多糖质量; B : 稀释倍数; C : 葡萄糖的质量浓度

1.2.2 不同类型果实粗多糖的分级纯化

1) 果实粗多糖分级。将浓度为 6 mg/mL 的粗多糖溶液过滤后, 加样至 DEAE-52 纤维素柱床, 分别用超纯水及 0.1、0.2、0.3 mol/L NaCl 洗脱各级分, 流速 1.0 mL/min, 自动部份收集器收集洗脱液, 5 mL/管, 以洗脱管数为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 作 DEAE-52 纤维素色谱柱洗脱曲线, 其中用超纯水洗脱得到的级分为中性多糖, 不同浓度 NaCl 洗脱的级分为酸性多糖。根据洗脱曲线分别合并各主峰收集管液, 定容至 200 mL, 检测每一个级分的多糖含量, 旋转蒸发器 45 °C 真空浓缩, 浓缩液经超纯水流水透析 48 h, 再改用静置透析 24 h, 每 4 h 更换一次超纯水, 透析完成后收集透析袋内的多糖溶液, 真空浓缩, 冷冻干燥, 得到各多糖级分。

2) 果实多糖级分纯化。将上述冷冻干燥的多糖各级分分别溶于 2 mL 超纯水中, 加到 HW-55S 柱, 0.2 mol/L NaCl 溶液洗脱, 流速 0.5 mL/min, 收集洗脱液, 4 mL/管, 检测每管多糖中多糖含量, 以洗脱管数为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 作 HW-

55S 色谱柱洗脱曲线。根据洗脱曲线收集主峰管液, 定容至 50 mL, 检测多糖含量, 经浓缩、透析和冷冻干燥后得到精制多糖。

1.2.3 不同类型果实精制多糖中单糖成分分析

1) 精制多糖的 GC-MS 分析。

①多糖的水解 将精制多糖 4 mg 加于反应釜中, 加入 0.4 mL 2 mol/L 的三氟乙酸 (TFA), 110 °C 水解 3 h, 冷却至室温, 放入真空干燥箱中 70 °C 减压干燥。

②多糖的衍生 水解干燥后的精制多糖加入 0.4 mL 吡啶、0.08 mL 三甲基氯硅烷和 0.16 mL 六甲基二硅胺烷, 50 °C 恒温干燥箱中反应 40 min, 冷却至室温, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 滤液 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液稀释后进行 GC-MS 分析。

③GC-MS 方法和条件 气相色谱条件: 进样量为 0.1 μL, DB-5MS 色谱柱, 进样口温度 250 °C, 接口温度 250 °C, 载气为氦气, 柱压 73.0 kPa, 柱流量 1.00 mL/min, 分流比 50:1, 程序升温从 100 °C 保持 2 min, 以 10 °C/min 升至 260 °C, 保留 10 min。质谱条件: 离子源温度 200 °C, M/Z 为 35~800。

④标准单糖标准曲线的制作 配制不同质量浓度梯度的阿拉伯糖、鼠李糖、木糖、甘露糖、半乳糖和葡萄糖各标准单糖溶液, 甲基硅烷化衍生后分别进行 GC-MS 分析, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制各单糖标准曲线, 得回归方程如表 1 所示。由表 1 可以看出, 6 种标准单糖均呈现良好的线性关系。

表 1 标准单糖的回归方程

Table 1 Regression equations of standard monosaccharides

标准单糖 Monosaccharide	回归方程 Regression equation	相关系数 (R^2) Correlation coefficient
阿拉伯糖 (Ara)	$Y = -1.14 \times 10^7 + 1.54 \times 10^7 X$	0.999 9
鼠李糖 (Rha)	$Y = -3.96 \times 10^6 + 7.27 \times 10^6 X$	0.999 9
木糖 (Xyl)	$Y = -4.04 \times 10^5 + 8.63 \times 10^6 X$	0.999 6
甘露糖 (Man)	$Y = -4.25 \times 10^5 + 6.58 \times 10^6 X$	0.999 7
半乳糖 (Gal)	$Y = -7.81 \times 10^6 + 1.35 \times 10^7 X$	0.999 8
葡萄糖 (Glc)	$Y = -2.49 \times 10^6 + 1.20 \times 10^7 X$	0.999 6

注: X : 质量浓度, mg/mL; Y : 峰面积。

Note: X : Mass concentration, mg/mL; Y : Peak area.

2)精制多糖中单糖成分的定性与定量。将多糖各级分中单糖的出峰时间与各种标准单糖的出峰时间及 NIST 谱库对照,对多糖各级分单糖成分进行定性分析。本试验采用外标法对多糖各级分中的阿拉伯糖、鼠李糖、木糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖和果糖进行定量分析,根据各单糖的回归方程计算出多糖中单糖的含量。

外标法定量计算公式如下:

$$W=C \times V$$

式中: W 为单糖质量; C 为根据标准曲线求得单糖质量浓度; V 为稀释后体积。

1.2.4 数据处理

用 Microsoft Excel 2010 进行数据计算,利用 SPSS 18.0 对果实多糖主要成分试验数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同类型果实多糖的提取结果

不同类型灵武长枣果实粗多糖的含量和得率不同,粗多糖含量从高到低依次为普通型 59.77% > 早熟型 56.11% > 大果型 53.23% > 枣刺退化型 50.70%,普通型显著高于早熟型,

早熟型显著高于大果型,大果型显著高于枣刺退化型。果实粗多糖得率从高到低依次为普通型 1.795% > 大果型 1.504% > 早熟型 0.999% > 枣刺退化型 0.956%,果实粗多糖得率也呈现出显著的差异。

2.2 不同类型果实粗多糖的分级纯化

2.2.1 果实粗多糖分级的结果

由图 1 可知,不同类型灵武长枣果实粗多糖经 DEAE-52 层析,各得到 4 个洗脱峰,从左到右分别为超纯水洗脱峰、0.1、0.2、0.3 mol/L NaCl 洗脱峰,得到的多糖级分分别为 Ju-0、Ju-1、Ju-2 和 Ju-3,其中 Ju-0 为中性多糖, Ju-1、Ju-2 和 Ju-3 为酸性多糖。各洗脱峰峰形较对称,表明各多糖级分为均一级分,各多糖级分得到较好的分离。

果实粗多糖样品经 DEAE-52 纤维柱分级后,各多糖成分的质量和得率情况见表 2。由表 2 可知,不同类型灵武长枣果实多糖的 4 个多糖级分中 Ju-2 经 DEAE-52 色谱柱后的得率均最高, Ju-0、Ju-1、Ju-2 和 Ju-3 共 4 个级分在普通型果实中的得率均最高, Ju-0 在枣刺退化型和早熟型中得率最低, Ju-1 和 Ju-3 在枣刺退化型中得率最低, Ju-2 在早熟型中得率最低。

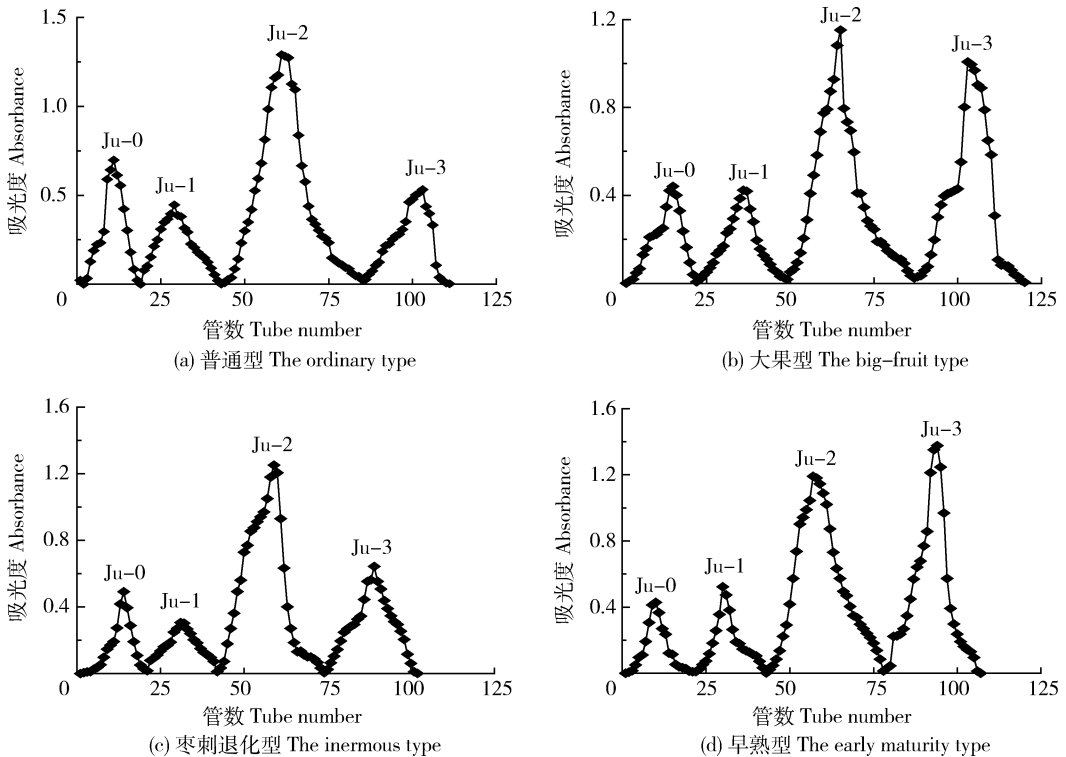


图 1 不同类型果实粗多糖经 DEAE-52 纤维素洗脱曲线

Fig. 1 Elution curve of crude polysaccharides in the different types fruits by DEAE-52 cellulose chromatography

表 2 不同类型果实粗多糖经 DEAE-52 纤维素色谱柱后 4 个多糖级分质量和得率

Table 2 The mass and yield of four parts of crude polysaccharides in different types fruits by DEAE-52 cellulose

测定项目 Measuring items	普通型 The ordinary type				大果型 The big-fruit type			
	Ju-0	Ju-1	Ju-2	Ju-3	Ju-0	Ju-1	Ju-2	Ju-3
质量/mg	5.1 d	6.1 c	12.3 a	9.4 b	3.7 d	5.6 c	11.6 a	8.8 b
得率/%	8.5 d	10.2 c	20.5 a	15.7 b	6.2 d	9.3 c	19.3 a	14.7 b

测定项目	枣刺退化型 The inermous type				早熟型 The early maturity type			
	Ju-0	Ju-1	Ju-2	Ju-3	Ju-0	Ju-1	Ju-2	Ju-3
质量/mg	3.5 d	4.4 c	10.9 a	8.4 b	3.5 d	5.8 c	10.4 a	9.2 b
得率/%	5.8 d	7.3 c	18.2 a	14.0 b	5.8 d	9.7 c	17.3 a	15.3 b

注: 同行数字后不同字母表示同一类型各多糖级分间差异达 0.05 显著水平。Ju: 多糖级分。下同。

Note: Different letters within the same row represent significant differences at 0.05 level between the four parts of polysaccharides in same type. Ju refers to polysaccharides fractions. The same as below.

2.2.2 果实粗多糖纯化的结果

将不同类型果实多糖样品经 DEAE-52 分级后的 4 个多糖级分, 分别经 HW-55S 凝胶色谱柱达到纯化的目的, 得到无色澄清液体, 浓缩、透析和冷冻干燥后得白色精制多糖样品。

2.3 不同类型果实精制多糖的单糖成分分析

将不同类型果实精制多糖的各多糖级分经水解、衍生后进行 GC-MS 分析, 得到不同类型灵武长枣果实精制多糖各级分的单糖成分及质量如表 3 所示。

1) 不同类型果实精制多糖各多糖级分中阿拉伯糖、半乳糖和鼠李糖含量较高, 葡萄糖含量次之, 甘露糖和木糖含量较低, 各多糖级分均没有果糖。普通型 Ju-1、大果型 Ju-0 共 6 种单糖的含量大小均为阿拉伯糖 > 半乳糖 > 鼠李糖 > 葡萄糖 > 甘露糖 > 木糖; 普通型 Ju-0、大果型 Ju-1、枣刺退化型 Ju-0、Ju-1 及早熟型 Ju-0、Ju-1 中没有木糖, 其他五种单糖含量大小均为阿拉伯糖 > 半乳糖 > 鼠李糖 > 葡萄糖 > 甘露糖; 普通型 Ju-2 单糖含量大小为阿拉伯糖 > 半乳糖 > 葡萄糖 > 甘露糖; 大果型 Ju-2、枣刺退化型 Ju-2 单糖含量大小均为鼠李糖 > 阿拉伯糖 > 半乳糖 > 葡萄糖 > 木糖 > 甘露糖, 其中大果型 Ju-2 没有甘露糖; 早熟型 Ju-2 单糖含量大小为阿拉伯糖 > 半乳糖 > 鼠李糖 > 葡萄糖 > 木糖; 普通型 Ju-3 含量大

小为阿拉伯糖 > 鼠李糖 > 葡萄糖; 大果型 Ju-3、枣刺退化型 Ju-3 和早熟型 Ju-3 单糖含量大小均为鼠李糖 > 阿拉伯糖 > 半乳糖 > 葡萄糖 > 甘露糖 > 木糖, 其中早熟型 Ju-3 没有木糖, 大果型 Ju-3 没有甘露糖和木糖。

2) 针对 Ju-0: 阿拉伯糖含量为枣刺退化型 > 大果型 > 早熟型 > 普通型; 鼠李糖和半乳糖含量均为枣刺退化型 > 普通型 > 早熟型 > 大果型; 葡萄糖含量为普通型 > 枣刺退化型 > 早熟型 > 大果型; 甘露糖含量为大果型 > 枣刺退化型 > 普通型 > 早熟型; 木糖只存在于大果型中, 且含量很低。针对 Ju-1: 阿拉伯糖和半乳糖含量均为普通型 > 枣刺退化型 > 大果型 > 早熟型; 鼠李糖含量为普通型 > 大果型 > 枣刺退化型 > 早熟型; 葡萄糖含量为普通型 > 大果型 > 早熟型 > 枣刺退化型; 甘露糖含量为枣刺退化型 > 大果型 > 普通型 > 早熟型; 木糖只存在于普通型中, 且含量很低。针对 Ju-2: 阿拉伯糖含量为早熟型 > 大果型 > 枣刺退化型 > 普通型; 鼠李糖含量为枣刺退化型 > 大果型 > 早熟型, 普通型中没有鼠李糖; 半乳糖含量为大果型 > 早熟型 > 枣刺退化型 > 普通型; 葡萄糖和木糖含量均为枣刺退化型 > 早熟型 > 大果型 > 普通型; 甘露糖只在普通型和枣刺退化型中存在, 含量为普通型 > 枣刺退化型。针对 Ju-3: 阿拉伯糖含量为普通型 > 枣刺退化型 > 大果

表3 不同类型果实精制多糖的单糖成分与含量

Table 3 Monosaccharide composition and content of refined polysaccharides in different types fruits mg

单糖 Monosaccharide	普通型 The ordinary type				大果型 The big-fruit type			
	Ju-0	Ju-1	Ju-2	Ju-3	Ju-0	Ju-1	Ju-2	Ju-3
阿拉伯糖 Ara	0.049 5 a	0.065 5 a	0.048 9 a	0.072 4 a	0.064 1 a	0.054 6 a	0.067 1 b	0.046 2 b
鼠李糖 Rha	0.032 3 b	0.042 2 b	0	0.068 1 b	0.027 6 c	0.036 6 b	0.071 2 a	0.066 4 a
木糖 Xyl	0	0.003 9 e	0	0	0.002 5 f	0	0.004 7 e	0
甘露糖 Man	0.005 0 d	0.007 0 d	0.006 5 d	0	0.006 0 e	0.007 1 d	0	0
半乳糖 Gal	0.035 2 b	0.063 6 a	0.037 5 b	0	0.032 5 b	0.051 7 a	0.054 9 c	0.039 2 c
葡萄糖 Glc	0.014 0 c	0.016 8 c	0.013 6 c	0.020 5 c	0.011 9 d	0.014 7 c	0.014 6 d	0.013 1 d
核糖 Rib	—	—	—	—	—	—	—	—
岩藻糖 Fuc	—	—	0	—	—	—	—	—
葡萄糖醛酸 GlcA	0	—	0	0	0	—	—	—
半乳糖醛酸 GalA	0	—	0	0	0	—	—	—

单糖 Monosaccharide	枣刺退化型 The inermous type				早熟型 The early maturity type			
	Ju-0	Ju-1	Ju-2	Ju-3	Ju-0	Ju-1	Ju-2	Ju-3
阿拉伯糖 Ara	0.077 6 a	0.060 4 a	0.066 0 b	0.049 7 b	0.062 0 a	0.052 8 a	0.078 3 a	0.045 9 a
鼠李糖 Rha	0.033 7 b	0.036 2 c	0.080 0 a	0.090 8 a	0.028 9 c	0.034 4 c	0.050 7 b	0.047 1 a
木糖 Xyl	0	0	0.005 6 e	0.004 4 d	0	0	0.004 9 d	0
甘露糖 Man	0.005 4 d	0.007 2 e	0.051 8 c	0.005 5 d	0.004 5 e	0.005 6 e	0	0.004 4 d
半乳糖 Gal	0.037 8 b	0.058 1 b	0.017 1 d	0.041 9 b	0.034 7 b	0.046 4 b	0.053 6 b	0.036 7 b
葡萄糖 Glc	0.013 3 c	0.013 2 d	—	0.017 7 c	0.012 4 d	0.013 7 d	0.015 2 c	0.013 6 c
核糖 Rib	—	—	—	—	—	—	—	—
岩藻糖 Fuc	—	—	—	—	—	—	—	—
葡萄糖醛酸 GlcA	0	—	—	—	0	0	—	—
半乳糖醛酸 GalA	0	—	—	—	0	0	—	—

注:同列数字后不同字母表示处理间差异达0.05显著水平。“—”表示单糖存在但未进行定量。

Note: After the same column number, the different letters between the treatments reached a significant difference at 0.05 level. “—” Indicates the existence of monosaccharide but not quantitative.

型>早熟型;鼠李糖含量为枣刺退化型>普通型>大果型>早熟型;半乳糖含量为枣刺退化型>大果型>早熟型,普通型中没有半乳糖;葡萄糖含量为普通型>枣刺退化型>早熟型>大果型;甘露糖只在枣刺退化型和早熟型中存在,含量大小为枣刺退化型>早熟型;木糖只存在于枣刺退化型中,且含量很低。

3)普通型的阿拉伯糖、鼠李糖、葡萄糖含量大小均为Ju-3>Ju-1>Ju-0>Ju-2,甘露糖、半乳糖含量大小均为Ju-1>Ju-2>Ju-0,木糖只在Ju-1中存在

且含量较低;大果型和早熟型的阿拉伯糖含量大小均为Ju-2>Ju-0>Ju-1>Ju-3;大果型和早熟型的鼠李糖含量大小均为Ju-2>Ju-3>Ju-1>Ju-0;大果型的半乳糖和早熟型的半乳糖、葡萄糖含量大小均为Ju-2>Ju-1>Ju-3>Ju-0;大果型的葡萄糖和枣刺退化型的甘露糖、半乳糖含量大小均为Ju-1>Ju-2>Ju-3>Ju-0;大果型的木糖、甘露糖和枣刺退化型的木糖仅在2个级分中存在,含量大小分别为Ju-2>Ju-0、Ju-1>Ju-0和Ju-2>Ju-3;枣刺退化型的阿拉伯糖含量大小为Ju-0>Ju-2>Ju-1>Ju-3,鼠李糖含

量大小为 $Ju-3 > Ju-2 > Ju-1 > Ju-0$, 葡萄糖含量大小为 $Ju-3 > Ju-2 > Ju-0 > Ju-1$; 早熟型的甘露糖含量大小为 $Ju-1 > Ju-0 > Ju-3$, 木糖只存在于 $Ju-2$ 中且含量很低。

另外, 根据 NIST 谱库对照, 对不同类型灵武长枣果实多糖中其他单糖进行初步定性, 由不同类型灵武长枣果实精制多糖各级分 GC-MS 分析可知, 不同类型果实精制多糖的 $Ju-0$ 级分可能均含有核糖和岩藻糖, 而不含葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸; 酸性多糖级分中, 普通型 $Ju-2$ 中可能只含有核糖, 普通型 $Ju-3$ 、早熟型 $Ju-1$ 中可能只含有核糖和岩藻糖, 而不含葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸; 普通型 $Ju-1$, 大果型 $Ju-1$ 、 $Ju-2$ 和 $Ju-3$, 枣刺退化型 $Ju-1$ 、 $Ju-2$ 和 $Ju-3$ 及早熟型 $Ju-2$ 和 $Ju-3$ 中可能均含有核糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸这 4 种其他种类的单糖 (表 3)。

3 讨论

功能性多糖的提取常采用热水浸提法, 以保证多糖结构的稳定性, 便于多糖的后期分离纯化和单糖成分研究。本试验采用水提醇沉法提取不同类型灵武长枣果实粗多糖, 操作简单和成本低, 适合枣和其他果实多糖的提取, 且在提取过程中加入了去除小分子糖及 Sevag 除蛋白的过程, 果实多糖中杂质变少, 方便了后续的纯化及其他操作过程^[19]。从植物中提取的粗多糖不仅含有蛋白质和还含有色素等杂质。预试验时采用活性炭脱色, 结果发现脱色效果差, 多糖损失率高, 且活性炭粉末不易从多糖溶液中去^[20]。而双氧水脱色易造成多糖降解, 进而影响多糖的分离纯化, 造成多糖中单糖成分研究结果不准确。本试验在用 DEAE-52 纤维素柱层析对不同类型果实多糖进行分离纯化的同时, 也对色素进行了吸附, 既减少了多糖的损失保持了活性, 也简化了操作程序, 节省了时间。HW-55S 作为分子尺寸排阻层析填料, 虽然价格昂贵, 但分离效果较好, 得到的洗脱峰为对称的单一峰, 多糖均为一级分, 且填料可以处理后重复使用^[17]。本试验分级纯化效果理想, 得到了均一多糖, 为进行多糖中单糖成分、多糖结构和生理活性等的研究奠定了基础。

本试验应用三氟乙酸水解分级后的精制多糖, 对多糖水解液甲基硅烷化衍生后, 使衍生物具有挥发性^[21], 便于 GC-MS 分析精制多糖各级分中单糖成分。该衍生化法操作简单、反应迅速, 所得衍生物

挥发性好, 但是较易产生异构峰, 给定性定量带来困难。本试验中以标准单糖衍生物的出峰时间和样品精制多糖各级分中单糖衍生物的出峰时间相对照, 并结合 NIST 谱库双重对照进行定性定量分析, 使定性定量结果更加准确, 同时根据 NIST 对照又可对未知单糖进行定性分析, 解决了单一使用 HPLC 和 GC 等分析方法无法完成未知成分定性, 只能根据标准品一一对照的局限, 为 GC-MS 分析植物多糖成分提供了快速、有效的检测条件与手段。

研究表明, 普通型果实粗多糖的含量和得率均高于其他类型果实, 枣刺退化型果实粗多糖的含量和得率均低于其他类型果实, 果实粗多糖含量和得率在不同类型果实中均呈现出显著的差异, 与 24 个枣品种多糖含量存在显著差异^[22]、25 个枣品种间多糖含量存在极显著差异^[23]的研究结果一致。4 种不同类型果实多糖的分级结果与油枣多糖的研究结果相同^[24], 但却与冬枣^[25]、临泽小枣^[26]、骏枣^[27]、金丝小枣^[28]果实多糖分离得到的酸性成分的数量上存在较大不同, 但与本试验结果相同的是不同类型果实多糖都得到了 1 个中性成分, 并且都是酸性多糖的质量大于中性多糖的质量, 主要形式为酸性多糖。产生多糖分级结果差异的原因可能与枣品种、洗脱液浓度或填料不同等因素有关。

总的来看, 不同类型灵武长枣果实精制多糖各多糖级分中阿拉伯糖、半乳糖和鼠李糖含量较高, 葡萄糖含量次之, 甘露糖和木糖含量较低, 果实多糖中可能含有核糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸这 4 种其他种类的单糖。但不同类型果实精制多糖各级分中不同单糖的种类和含量既存在共性也差异显著, 针对同一级分多糖中的同一单糖不同类型间差异不同, 同一类型同一单糖在各级分间既有相似规律也存在明显的差异。由此看来, 不同类型灵武长枣果实精制多糖的单糖成分与滩枣多糖相似^[29], 果实精制多糖也由 10 种单糖成分, 但与石浩等^[30]枣多糖的单糖组成有一定差异。研究结果显示, 不同类型果实多糖中均不含有果糖且单糖成分种类相同, 而金丝小枣和冬枣果实中果糖的含量在各发育时期均高于其他单糖, 以及果实多糖中单糖的种类随果实发育呈递增趋势^[31]。产生这些研究结果差异的原因不仅与枣种类不同有关, 还可能与产地不同、多糖提取纯化方法不同、多糖水解酸种类不同、单糖成分分析手段不同和试验条件不同等因素有关。因此, 合理选择试验条件及测定方法对研究多

糖结构及多糖中单糖成分尤为重要。

不同类型灵武长枣果实多糖中单糖成分及含量的差异较显著,可能是不同类型灵武长枣果实品质差异的重要因素。而普通型果实多糖含量较高且栽种普遍,早熟型果实成熟较早且较丰产,有利于提前进入市场,且与普通型果实经济性状相似,枣刺退化型灵武长枣无针刺,便于田间管理和采摘,大果型灵武长枣果实大、果色鲜艳和经济性状良好,不同类型灵武长枣各具优势。因此,以不同类型灵武长枣果实多糖的单糖成分差异为基础,结合各种不同类型灵武长枣的性状优势,可能是灵武长枣品种选优过程中需要综合考虑的方向,具有一定的参考价值。

参考文献 References

- [1] 章英才,苏伟东,景红霞,曹金霞. 灵武长枣果实韧皮部后糖分运输生理特征研究[J]. 核农学报,2016,30(1):171-177
Zhang Y C, Su W D, Jing H X, Cao J X. Physiological characteristic of postphloem sugar transport in fruit of *Zizyphus jujuba* Mill cv Lingwuchangzao [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, 30 (1): 171-177 (in Chinese)
- [2] 任玉锋,姜牧炎,马文平,辛月. 灵武长枣采后低温贮藏期间细胞壁组分的变化[J]. 北方园艺,2018(18):114-117
Ren Y F, Jiang M Y, Ma W P, Xin Y. Changes of cell wall components in fruit of *Zizyphus jujuba* Mill cv Lingwuchangzao at low temperature during the postharvest period[J]. *Northern Horticulture*, 2018(18):114-117 (in Chinese)
- [3] 韩昌焯,赵丽,曹兵,王文举,陈振. 喷施氮肥对灵武长枣营养生长和果实品质的影响[J]. 西北林学院学报,2018,33(6):106-112
Han C Y, Zhao L, Cao B, Wang W J, Chen Z. Effects of applying selenium-containing fertilizer on the vegetative growth and fruit quality of *Zizyphus jujuba* cv Lingwuchangzao [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2018, 33(6): 106-112 (in Chinese)
- [4] 杨淑娟,郑国琦,章英才,张颖殷. 灵武长枣正常果及裂果中 Ca^{2+} 的细胞化学定位研究[J]. 西北植物学报,2011,31(1):84-88
Yang S J, Zheng G Q, Zhang Y C, Zhang Y Y. Ultracytochemical localization of Ca^{2+} in the normal fruits and cracking ones of Lingwu Long-jujube [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2011, 31(1):84-88 (in Chinese)
- [5] 沈静,王敏,苟茜,冀晓龙,王猛,汪有科. 不同成熟期灵武长枣酚类组分及抗氧化活性差异分析[J]. 食品科学,2015,36(8):191-195
Shen J, Wang M, Gou Q, Ji X L, Wang M, Wang Y K. Changes in phenolic components and antioxidant activity of Jujube Fruits (*Zizyphus jujuba* Mill cv Lingwuchangzao) during different growth stages[J]. *Food Science*, 2015, 36(8):191-195 (in Chinese)
- [6] 魏天军,李白云,喻菊芳,陈伟军,朱连成. 灵武长枣新品系特性比较[J]. 宁夏农林科技,2013,54(1):19-20
Wei T J, Li B Y, Yu J F, Chen W J, Zhu L C. Brief introduction of new strain characteristic of 'Lingwu Jujube' [J]. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 2013, 54(1):19-20 (in Chinese)
- [7] 喻菊芳,魏天军,陈卫军,朱连成,魏卫东. 灵武长枣种质资源调查和品种选优研究[J]. 中国果树,2008(1):56-57,75
Yu J F, Wei T J, Chen W J, Zhu L C, Wei W D. Study on germplasm resources investigation and varieties selection of *Zizyphus jujuba* Mill cv Lingwuchangzao [J]. *China Fruits*, 2008(1):56-57,75 (in Chinese)
- [8] Zhang S S, Lu J, Zhang H R. Microwave assisted extraction pot bottles of jujube polysaccharide and its oxidation resistance [J]. *Journal of Spectroscopy Laboratory*, 2012, 29(1):364-366
- [9] Wang D Y, Zhao Y, Jiao Y D, Yu L H, Yang S, Yang X B. Antioxidative and hepatoprotective effects of the polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv Shaanbeitanzao [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 88(4):1453-1459
- [10] Qiu S, Chen J, Chen X, Fan Q, Zhang C, Wang D, Li X, Chen X, Chen X, Liu C, Gao Z, Li H, Hu Y. Optimization of selenylation conditions for *Lycium barbarum* polysaccharide based on antioxidant activity [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 103(1):148-153
- [11] Hao W L, Chen Z B, Zhao R, Bo L. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on immune function and anti-fatigue of sub-healthy mice [J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2015, 28(7):693-697
- [12] Zhang X R, Li Y J, Cheng J P, Liu G, Qi C H, Zhou W X, Zhang Y X. Immune activities comparison of polysaccharide and polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* L [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 65(5):441-445
- [13] Bao H, Zheng G Q, Qi G L, Su X L, Wang J. Cellular localization and levels of arabinogalactan proteins in *Lycium barbarum*'s fruits [J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2016, 48(5):1951-1963
- [14] 章英才,陈亚萍,景红霞,苏伟东. 灵武长枣果实糖积累与蔗糖代谢相关酶的关系[J]. 果树学报,2014,31(2):250-257
Zhang Y C, Chen Y P, Jing H X, Su W D. Relation between sugar accumulation and sucrose-metabolizing enzymes in fruit of 'Lingwuchangzao' (*Zizyphus jujuba* Mill) [J]. *Journal of Fruit Science*, 2014, 31(2):250-257 (in Chinese)
- [15] 刘晓连,李亚蕾,罗瑞明,卢君逸. 灵武长枣水提多糖结构特征及理化性质[J]. 食品科学,2013,34(15):120-125
Liu X L, Li Y L, Luo R M, Lu J Y. Structural characterization and physio-chemical properties of Lingwu long jujube

- polysaccharide[J]. *Food Science*, 2013, 34(15): 120-125 (in Chinese)
- [16] Miao Y, Yue C, Guo S X. Advances in study on structure of polysaccharide[J]. *Advance in Engineering Research*, 2016, 93(2), 227-233
- [17] 章英才, 柴雅红, 曹金霞. 灵武长枣果实多糖中单糖组成分析[J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(2): 144-152
Zhang Y C, Chai Y H, Cao J X. Monosaccharide composition of polysaccharides in *Ziziphus jujuba* Mill cv Lingwuchangzao fruit[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2018, 36(2): 144-152 (in Chinese)
- [18] 杨军, 章英才, 苏伟东, 汤淑娟. 灵武长枣多糖含量测定的研究[J]. 北方园艺, 2011(14): 35-37
Yang J, Zhang Y C, Su W D, Yang S J. Isolation and assaying of polysaccharide in *Ziziphus jujuba* Mill cv Lingwuchangzao [J]. *Northern Horticulture*, 2011(14): 35-37 (in Chinese)
- [19] 方元. 大枣多糖的提取与产品开发[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014
Fang Y. Extraction and product development of jujube polysaccharide[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [20] 李进伟, 丁霄霖. 金丝小枣多糖的提取及脱色研究[J]. 食品科学, 2006, 27(4): 150-154
Li J W, Ding X L. Study on supersonic extraction and decolorization of polysaccharides from Chinese Jujube[J]. *Food Science*, 2006, 27(4): 150-154 (in Chinese)
- [21] 叶林, 张虹. 质谱及色谱-质谱联用技术在多糖结构分析中的应用[J]. 理化检验: 化学分册, 2010, 46(11): 1355-1359
Ye L, Zhang H. Application of mass spectrometry and chromatography and mass spectrometry in hyphenation to structural analysis of polysaccharides[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis*, 2010, 46(11): 1355-1359 (in Chinese)
- [22] 赵爱玲, 李登科, 王永康, 隋申玲, 杜学梅, 任海燕, 梁芊. 枣树不同品种、发育时期和器官的水溶性多糖含量研究[J]. 山西农业科学, 2012, 40(10): 1040-1043
Zhao A L, Li D K, Wang Y K, Sui C L, Du X M, Ren H Y, Liang Q. Study on the content of polysaccharides in different cultivars, growing periods and organs in chinese Jujube[J]. *Jorunal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2012, 40(10): 1040-1043 (in Chinese)
- [23] 陈宗礼, 张向前, 刘世鹏, 齐向英, 晁晨阳, 郭园. 枣多糖提取工艺优化及陕北二十五个品种枣多糖含量分析[J]. 北方园艺, 2015(17): 110-114
Chen Z L, Zhang X Q, Liu S P, Qi X Y, Chao C Y, Guo Y. Optimization of the jujube polysaccharide extraction technology and analysis of polysaccharide content in twenty-five jujube varieties from Northern Shaanxi[J]. *Northern Horticulture*, 2015(17): 110-114 (in Chinese)
- [24] 李小平. 红枣多糖提取工艺研究及其生物功能初探[D]. 西安: 陕西师范大学, 2004
Li X P. Studies on extracting technology of polysaccharide from Jujuba Mill and preliminary exploration for its function evaluation[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2004 (in Chinese)
- [25] 潘莹, 许经纬. 冬枣多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2016, 37(13): 89-94
Pan Y, XU J W. Isolation, purification and antioxidant activity of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv Dongzao[J]. *Food Science*, 2016, 37(13): 89-94 (in Chinese)
- [26] 刘琳. 临泽小枣基本营养成分分析及其多糖的分离纯化[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2016
Liu L. Studies on the basic nutrition composition analysis of Linze Jujuba and its polysaccharide isolated and purified[D]. Lanzhou: Lanzhou University of Technology, 2016 (in Chinese)
- [27] 戴艳. 骏枣多糖的提取纯化、结构分析及抗氧化活性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013
Dai Y. Purification, structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Zizyphus jujube* Mill cv Xinjiangjunzao[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013 (in Chinese)
- [28] 赵智慧, 刘孟军, 屠鹏飞. 金丝小枣水溶性粗多糖性质研究[J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(5): 58-61
Zhao Z H, Liu M J, Tu P F. Study of properties of crude water soluble polysaccharides from *Ziziphus jujube* Mill. "Jinsixiaozao" [J]. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2010, 33(5): 58-61 (in Chinese)
- [29] 王东营. 陕北滩枣多糖的单糖组成分析及其药理功效研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2013
Wang D Y. Study on monosaccharide composition and pharmacological efficacy of *Zizyphus jujuba* polysaccharide [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2013 (in Chinese)
- [30] 石浩, 王仁才, 庞立, 仇振华, 刘吉凯. 糖枣多糖的单糖组成分析[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 169-172
Shi H, Wang R C, Pang L, Qiu Z H, Liu J K. Analysis of the monosaccharide composition of polysaccharides from "Tangzao" Jujuba fruits a local cultivar in Hunan China[J]. *Food Science*, 2015, 36(6): 169-172 (in Chinese)
- [31] 彭艳芳, 李洁, 赵仁邦, 刘晓光, 刘孟军. 金丝小枣和冬枣果实发育过程中低聚糖和多糖含量的动态研究[J]. 果树学报, 2008, 25(6): 846-850
Peng Y F, Li J, Zhao R B, Liu X G, Liu M J. Variations of oligosaccharide and polysaccharide content in the fruit of Dongzao and Jinsixiaozao jujube cultivars during fruit development[J]. *Journal of Fruit Science*, 2008, 25(6): 846-850 (in Chinese)