



焦丽丽,孙茜文,任婷,等.人参果果胶体外消化和酵解特性研究[J].轻工学报,2026,41(2):21-31.
JIAO L L,SUN X W,REN T,et al. *In vitro* digestion and fermentation characteristics of ginseng fruit pectin[J].
Journal of Light Industry,2026,41(2):21-31. DOI:10.12187/2026.02.002

人参果果胶体外消化和酵解特性研究

焦丽丽¹,孙茜文²,任婷³,姜子焯¹,李波²

1. 长春中医药大学 吉林省人参科学研究院,吉林 长春 130117;
2. 长春中医药大学 药学院,吉林 长春 130117;
3. 吉林医药学院 药学院,吉林 吉林 132013

摘要:【目的】探究人参果果胶(GBPA)与小鼠肠道菌群的互作机制。【方法】通过建立体外模拟消化-发酵(无菌小鼠粪便)模型,分析GBPA消化特性及其对肠道菌群结构和短链脂肪酸(SCFAs)水平的影响。【结果】在消化阶段,GBPA还原糖(C_R)含量由0.041 mg/mL显著升高至0.163 mg/mL,相对分子质量降低了11.55%,但单糖组成整体无明显变化;发酵48.00 h后,GBPA相对分子质量进一步下降,降幅为51.97%,单糖比例呈现动态变化。此外,GBPA可显著提高拟杆菌属(*Bacteroides*)、杜博西氏菌属(*Dubosiella*)和副拟杆菌属(*Parabacteroides*)相对丰度,分别为对照组的1.30倍、12.03倍和11.48倍;同时使啮齿杆菌属(*Rodentibacter*)相对丰度降低了82.44%。GBPA还能促进SCFAs生成,进而改善T2DM酯代谢紊乱。【结论】GBPA的结构在消化系统中较稳定,经肠道菌群发酵降解后,主要通过改善菌群结构及促进SCFAs生成来实现益生元效应。

关键词:人参果;果胶;消化特性;酵解特性;肠道菌群;短链脂肪酸

中图分类号:TS201.4 文献标识码:A 文章编号:2096-1553(2026)02-0021-11

0 引言

人类肠道菌群数量高达100万亿,构成一个多元且动态的微生物生态系统,具有多样性和可塑性^[1]。该生态系统可以通过肝-肠轴、肠-脑轴、肠道-肌肉轴等多种途径影响宿主健康状态^[2-3]。多糖作为植物的主要活性成分之一,具有含量高、生物活性广泛、安全性良好等独特优势^[4]。然而,多糖具有极性、相对分子质量大等特性,这限制了其生物学活性机制研究,导致其在活性物质筛选或

新药开发中被边缘化。肠道菌群作为新靶点,为中药多糖研究打开了一个新的窗口。研究^[5]表明,多糖结构复杂,难以被人类基因组编码的酶降解,需依赖肠道菌群将其分解为可利用的小分子,进而发挥其药理作用。值得注意的是,多糖与肠道菌群之间的影响是相互的:一方面,多糖可通过改善肠道完整性、修复肠道黏膜损伤、调节菌群结构及功能酶活性等方式,改善肠道微生态环境^[6];另一方面,肠道菌群可编码数千种碳水化合物活性酶(CAZymes),使其参与多糖的降解与利用^[7],尤其是

收稿日期:2025-06-26;修回日期:2025-09-12;出版日期:2026-04-15

基金项目:吉林省科技发展计划项目(YDZJ202501ZYTS513);吉林省教育厅项目(JJKH20250667KJ);大学生创新创业项目(202310193011)

作者简介:焦丽丽(1982—),女,吉林省敦化人,长春中医药大学研究员,博士,主要研究方向为中药多糖的结构解析及活性。E-mail:jianganji@hotmail.com

通信作者:李波(1987—),女,吉林省长春市人,长春中医药大学高级实验师,博士,主要研究方向为中药多糖的分离纯化及活性。E-mail:libo202204@163.com

拟杆菌富含多种多糖利用位点(PULs),可以降解多种植物多糖^[8-9]。因此,深入解析多糖与肠道菌群之间的相互作用,是阐明多糖生物活性及作用机制的关键环节。

人参果是五加科植物人参(*Panax Ginseng* C. A. Meyer)的成熟果实,其多糖成分与人参根多糖在化学结构和生物活性上均存在差异^[10],具有抗氧化、抗炎、增强免疫、抗糖尿病等多种生理功能^[11-13]。目前,关于人参多糖的研究多集中于根部,而对人参果多糖的关注相对较少。果胶是一种具有特殊结构的酸性多糖,可通过调节肠道微生态改善糖脂代谢^[14]。笔者课题组前期从人参果中分离获得一种以鼠李糖半乳糖醛酸-I(RG-I)结构域为主的人参果果胶(Ginseng Berry Acid Polysaccharide, GBPA),并证实其可通过调节肠道菌群改善脂代谢异常^[13]。然而,GBPA与肠道菌群之间的具体互作机制尚不明确。

鉴于此,本研究拟利用体外消化酵解模型,通过分析GBPA消化酵解前后相对分子量分布、还原糖释放等理化特性变化,结合肠道菌群结构、丰度及其代谢产物(如短链脂肪酸(SCFAs))的变化,探究GBPA在不同消化阶段的分子结构变化规律及其益生元特性,以期阐明GBPA与小鼠肠道菌群之间的互作机制,为其作为功能性膳食成分的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人参果(5年生人参的成熟果实),购于吉林省集安市;实验动物为6周龄的SPF级健康雄性SD大鼠,辽宁长生生物技术股份有限公司;二乙氨基乙基(DEAE)纤维素,英国Whatman公司;琼脂糖凝胶,瑞典Amersham Pharmacia公司;葡聚糖,美国Sigma-Aldrich公司;单糖标准品、D-甘露糖(Man)、L-鼠李糖(Rha)、D-葡萄糖(Glc)、D-葡萄糖醛酸(GalA)、D-半乳糖醛酸(GalA)、D-半乳糖(Gal)、D-木糖(Xyl)、L-阿拉伯糖(Ara)和L-岩藻糖(Fuc)标准品(色谱级)、酸性脂肪酶,上海源叶生物科技有限公司;菊糖,阿拉丁生化科技股份有限公司;酵母粉,英国Oxoid公司; α -淀粉酶(≥ 10 U/

mg)、胃蛋白酶(15 000 U/g)、胰蛋白酶(≥ 125 U/mg)、胃脂肪酶(100 000 U/g),美国Sigma-aldrich公司;右旋糖酐相对分子量标准品(色谱级),中国食品药品检定研究院;刃天青、蛋白胨、L-盐酸半胱氨酸无水物、氯化血红素,北京索莱宝科技有限公司;二硝基水杨酸,国药集团化学试剂有限公司。其他常用试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

Diane UniMate 3000型高效液相色谱仪,美国戴安公司;TSK-G3000 PWXL型凝胶过滤色谱柱(7.8 mm \times 300 mm \times 7 μ m),日本东曹公司;AW200SG型厌氧培养箱,英国Electrotek公司;SHZ-82A型回旋式恒温水浴振荡器,金坛市盛威实验仪器厂;F-45-12-11小型高速离心机,德国Eppendorf公司;Ultimate3000型高效液相色谱系统、Nicolet is5型傅里叶红外变换光谱(FTIR)仪、TSQ 8000三重四级杆GC-MS仪,美国Thermo Fisher Scientific公司;Infinite M200 PRO型酶标仪,瑞士Tecan公司;FDU-1100型冷冻干燥机,上海爱朗仪器有限公司;ES-315型自动高压锅,日本Tomy Kogyo公司;FE20型pH计,梅特勒-托利多仪器有限公司;FA2004A型电子分析天平,上海精天仪器有限公司;Waterpurifier型超纯水机,四川沃特尔科技发展有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 GBPA制备 人参果经洗净、干燥后粉碎,称取500 g粉末置于圆底烧瓶中,加入5 L蒸馏水沸水提取3次,每次2 h;将提取液趁热过滤,收集合并3次滤液,于3500 r/min条件下浓缩离心10 min,取上清液;加入4倍体积的无水乙醇进行醇沉,室温静置24 h,于3500 r/min条件下离心10 min,收集沉淀,依次用体积分数95%的乙醇、无水乙醇脱水,再用乙醚脱去乙醇,将所得样品置于真空干燥器中过夜,即可获得粉末状人参果粗多糖;将该粗多糖依次经DEAE-纤维素柱和琼脂糖凝胶柱层析纯化后,得到GBPA^[13]。

1.3.2 模拟唾液溶液制备与GBPA消化 模拟唾液溶液制备:将1.49 g KCl、0.765 g NaCl和0.133 g CaCl₂溶于1000 mL去离子水中,利用1 mol/L的HCl溶液调节溶液pH值为6.9,加入1.0 g α -淀粉酶,过滤,收集滤液,待用^[13]。

模拟唾液消化 GBPA 步骤:分别将 GBPA 和菊糖配制质量浓度为 10 mg/mL 的溶液。空白组为 500 mL 去离子水+250 mL 模拟唾液溶液;GBPA 组为 500 mL 质量浓度为 10 mg/mL 的 GBPA 溶液+250 mL 模拟唾液溶液;阳性组为 500 mL 质量浓度为 10 mg/mL 的菊糖溶液+250 mL 模拟唾液溶液。将上述 3 组消化液分别置于 1000 mL 容量瓶中,于 37 °C 恒温水浴振荡器中进行消化反应,分别于消化 0.17 h 和 0.33 h 时取各组消化液 2 mL,沸水浴 15 min 进行灭活,室温冷却,备用。

1.3.3 模拟胃液溶液制备与 GBPA 消化 模拟胃液溶液制备:将 3.1 g NaCl、1.1 g KCl、0.15 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 0.6 g NaHCO_3 溶于 1000 mL 去离子水中,再依次加入 0.35 g 胃脂肪酶、0.35 g 胃蛋白酶和 10 mL 浓度为 1 mol/L 的 CH_3COONa 溶液(pH 值为 5),用 0.1 mol/L 的 HCl 溶液调节溶液 pH 值至 2.0,待用。

模拟胃液消化 GBPA 步骤:取 1.3.2 中模拟唾液消化 0.33 h 后的 3 组消化液,用 0.1 mol/L 的 HCl 溶液调节溶液 pH 值至 2.0,分别加入 250 mL 模拟胃液后,GBPA 组和阳性组中再分别加入 25 mL 去离子水,将上述 3 组消化液分别置于 1000 mL 容量瓶中,于 37 °C 恒温水浴振荡器中进行消化反应。分别取消化 0.50 h、1.00 h、2.00 h 和 4.00 h 的各组消化液 2 mL,按照 1.3.2 中的方法灭活后,备用。

1.3.4 模拟小肠液溶液制备与 GBPA 消化 模拟小肠液溶液制备:将 0.163 g KCl、1.35 g NaCl 和 0.083 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶于 250 mL 去离子水中,用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节溶液 pH 值至 7.0,再依次加入 500 mL 4%(若无特指,百分数均指质量分数)的胆酸溶液和 250 mL 7%的胰酶溶液,混合均匀,用 0.2 mol/L 的 NaOH 溶液调节溶液 pH 值至 7.0,待用^[14]。

模拟小肠液消化 GBPA 步骤:将 1.3.3 中模拟胃液消化 4.00 h 后的消化液 pH 值调节至 7.0,将所得胃消化液与模拟小肠液按 10:3 的体积比进行混合,于 37 °C 恒温水浴振荡器中进行消化反应。分别取消化 0.50 h、1.00 h、2.00 h 和 4.00 h 的各组消化液 2 mL,按照 1.3.2 中方法灭活后,备用。取消化 4.00 h 后的模拟小肠消化液,加入 4 倍体积无水

乙醇,回收 GBPA(GBPA-2)及菊糖(Inulin-2),用于体外酵解实验^[15]。

1.3.5 模拟体外粪便酵解实验 粪便样本处理:厌氧条件下,将新鲜空白组大鼠粪便以 10% 加入 0.1 mol/L 的 PBS 缓冲溶液(pH 值为 6.8)中,在 5000 r/min 条件下离心 10 min,经 0.22 μm 膜过滤后,除菌备用。

基础培养基配制:酵母提取物 2.0 g、蛋白胨 2.0 g、 NaHCO_3 2.0 g、胆盐 0.5 g、半胱氨酸盐酸盐 0.5 g、NaCl 0.1 g、 K_2HPO_4 0.04 g、 KH_2PO_4 0.04 g、氯高铁血红素 0.02 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g、 $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g、刃天青(厌氧指示剂)0.01 g、维生素 K1 10 μL 和吐温-80 2.0 mL,定容至 1.0 L,调节 pH 值 6.8 ~ 7.0,经 0.22 μm 膜过滤,除菌后备用^[16]。

模拟体外粪便酵解:对照组为 5.0 mL 粪便上清+45.0 mL 基础培养基;GBPA 组为 5.0 mL 粪便上清+45.0 mL 基础培养基(含 10 mg/mL GBPA-2);菊糖组为 5.0 mL 粪便上清+45.0 mL 基础培养基(含 10 mg/mL Inulin-2)。将上述 3 组样品置于厌氧条件的 37 °C 恒温箱中进行培养,模拟粪便发酵。分别取发酵 0 h、12.00 h、24.00 h、36.00 h 和 48.00 h 的各组酵解液 5 mL。待粪便发酵 48.00 h 后,通过醇沉法回收多糖^[13],命名为 GBPA-F48。

1.3.6 还原糖含量测定 利用二硝基水杨酸(DNS)法测定消化液中还原糖(C_R)含量,以 GalA 为对照品^[17]。葡萄糖标准曲线绘制:分别准确量取 1 g/L 葡萄糖标准溶液 0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 于玻璃试管中,用蒸馏水补足至 1.0 mL;加入 2 mL DNS,混匀,沸水浴 2 min,室温冷却,用蒸馏水定容至 15.0 mL,于 540 nm 处测定各试管溶液的吸光度。以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。分别取 1 mL 消化及酵解过程中不同时间点的样品上清液于试管中,按上述相同步骤进行操作,将所得吸光度代入标准曲线,计算各样品中 C_R 含量。

1.3.7 相对分子质量、单糖组成及 FTIR 测定 相对分子质量测定:采用高效凝胶渗透色谱法,使用 Diane UniMate 3000 系统配备 TSK-G3000 PWXL 色

谱柱(7.8 mm×30.0 cm×7 μm)测定 GBPA 的相对分子质量。以 0.2 mol/L 的 NaCl 溶液为流动相,以 0.5 mL/min 的流速进行洗脱,进样量为 10 μL,柱温为 40 ℃。

单糖组成测定:采用高效液相色谱法测定单糖组成,使用 Inertsil ODS-3 色谱柱(4.6 mm×250 mm×5 μm);流动相为 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液与乙腈混合溶液(体积比为 83:17);流速为 1.0 mL/min;柱温为 25 ℃;进样量为 10 μL^[18]。

FTIR 测定:将干燥后的 KBr 与 GBPA 样品按质量比 100:1 混合均匀,压制成透明薄片后固定于样品架;采用 FTIR 仪在 4000~400 cm⁻¹ 波数范围内进行扫描^[19]。

1.3.8 酵解液 OD₆₀₀ 和 pH 值测定 收集不同酵解时间点(0 h、6.00 h、12.00 h、24.00 h、36.00 h 和 48.00 h)酵解液,利用酶标仪测其 OD₆₀₀;使用 pH 计测量上述酵解液的 pH 值。

1.3.9 酵解物 16S rRNA 测序 提取酵解液沉淀的 DNA,基于 Illumina NovaSeq 测序平台对细菌 16S rDNA 的 V3—V4 区进行 PCR 扩增(引物 F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3';R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。

1.3.10 酵解液 SCFAs 浓度测定 采用 GC-MS 法测定酵解液上清液中 SCFAs 浓度:色谱柱为 TR-FFAP 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);检测器为 FID;进样量为 1.0 μL;进样口温度为 230 ℃;离子源温度为 280 ℃;升温程序为 40 ℃保持 2 min,以 10 ℃/min 的速率升温至 200 ℃,保持 5 min;载气为高纯 He;流速为 1.0 mL/min;分流比为 10:1;扫描质量范围为 45~450 amu。

1.4 数据处理与分析

所有实验均设置 3 组平行,数据以(平均值±标准差)表示。使用 IBM SPSS 统计软件(26.0 版)进行单因素方差分析并比较组间差异, $P<0.05$ 表示组间具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 模拟消化酵解过程中 C_R 含量分析

现有研究^[20]表明,肠道菌群对植物源性多糖的

代谢转化过程可能是其介导宿主生物学效应的关键机制。本研究通过建立体外模拟消化-发酵模型,系统揭示 GBPA 在消化过程中的代谢特性及其对肠道菌群的调节作用。消化酵解过程中 C_R 含量变化见表 1。由表 1 可知,C_R 含量在模拟唾液消化过程中没有显著变化($P>0.05$),表明该过程中 GBPA 没有发生明显降解。在模拟胃液消化 4.00 h 时,消化液中的 C_R 含量显著升高至(0.057±0.003) mg/mL($P<0.05$)。在模拟小肠液消化过程中,随着消化时间的延长,GBPA 组消化液中 C_R 含量从(0.142±0.003) mg/mL 显著升高至(0.163±0.011) mg/mL($P<0.05$),表明 GBPA 受到胃液和小肠液消化的影响,会发生一定程度的解聚和糖苷键断裂,导致 C_R 含量升高。相较而言,菊糖在模拟唾液、胃液和小肠消化过程中,其消化液中 C_R 含量基本呈上升趋势,这表明,菊糖在该过程中更易被消化,从而释放出更多的 C_R。

在酵解过程中,随着酵解时间的延长,GBPA 组酵解液中 C_R 含量呈先上升后降低的趋势,当酵解时间为 24.00 h 时,C_R 含量达最高;当酵解时间达 48.00 h 时,酵解液中 C_R 含量较 12.00 h 酵解液下降了约 71.76%。

表 1 消化酵解过程中 C_R 含量变化
Table 1 Changes in C_R content during digestion and fermentation

过程	时间/h	GBPA 组	菊糖组
模拟唾液消化	0	0.041±0.003	0.027±0.002
	0.17	0.042±0.003	0.026±0.001
	0.33	0.040±0.002	0.027±0.001
模拟胃液消化	0.50	0.041±0.003	0.031±0.004
	1.00	0.043±0.002	0.030±0.004
	2.00	0.040±0.001	0.033±0.004
模拟小肠液消化	4.00	0.057±0.003*	0.034±0.002
	0.50	0.142±0.003**	0.040±0.001*
	1.00	0.152±0.002**	0.041±0.003
酵解	2.00	0.159±0.012**	0.049±0.001**
	4.00	0.163±0.011**	0.048±0.001**
	12.00	0.294±0.002**	0.111±0.002**
酵解	24.00	0.321±0.002**	0.276±0.002**
	36.00	0.211±0.005**	0.230±0.005**
	48.00	0.083±0.003**	0.203±0.003**

注:与唾液消化 0 h 相比,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,下同。

综上所述,GBPA 在模拟唾液消化过程中保持稳定,表现为该消化过程中 C_R 含量无明显变化;在胃液及小肠液中可被部分消化降解,主要被粪便来源的肠道菌群酵解释放大量 C_R 。随着酵解时间的延长,肠道菌群持续代谢 C_R ,将其转化为 SCFAs、 H_2 、 CO_2 等代谢产物,致使酵解液中 C_R 被消耗^[21];同时,可供释放 C_R 的底物减少,最终导致在酵解 48.00 h 时,酵解液中 C_R 含量较酵解 12.00 h 显著降低。

2.2 模拟消化酵解过程中 GBPA 相对分子质量及单糖组成分析

多糖相对分子质量的动态变化是判定多糖在消化酵解过程中是否发生降解的重要指标^[21]。本研究发现,消化酵解过程中 GBPA、GBPA-2 和 GBPA-F48 的相对分子质量分别为 3.29×10^4 Da、 2.91×10^4 Da 和 1.58×10^4 Da,表明经唾液、胃、小肠消化酵解后,GBPA 的相对分子质量呈下降趋势。其中,消化后产物的相对分子质量较 GBPA 降低了 11.55%,而酵解 48.00 h 时降幅达 51.97%。以上结果进一步提示,胰蛋白酶、胃脂肪酶、胃蛋白酶等消化酶对多糖骨架具有一定的降解作用,GBPA 在消化阶段发生部分降解,且肠道菌群在其后续酵解过程中发挥主要作用。值得注意的是,不同来源多糖在模拟消化体系中呈现不同的代谢特性。G. J. Chen 等^[22]研究发现,茯砖茶多糖经全消化道消化后,其相对分子质量未发生显著变化,而郭东东等^[23]研究发现,鳞杯伞多糖的相对分子质量在胃液消化阶段即出现显著下降趋势,从 (14.04 ± 0.21) kDa 降低至 (11.53 ± 0.35) kDa。这种代谢异质性可能与多糖的理化性质(如溶解度、相对分子质量分布)、分子结构(如糖苷键类型、分支度)及空间构象特征密切相关^[24],也进一步表明不同植物来源多糖在消化道内的代谢过程存在明显差异。

单糖组成变化是反应多糖与肠道菌群互作关系的关键指标,消化酵解过程会导致多糖组成的改

变^[18]。消化酵解过程中 GBPA 的单糖组成变化见表 2。由表 2 可知,GBPA 及其消化酵解产物中均以果胶特征性单糖为主,GBPA 中 GalA、Gal、Ara 和 Rha 的相对含量之和超过 90%,但是消化酵解产物中这 4 种单糖的相对含量均发生明显变化,尤其是经肠道菌群酵解后,与 GBPA 相比,GBPA-F48 中上述 4 种单糖的相对含量分别下降了 77.64%、40.24%、34.83%和 21.22%,而部分中性多糖相对含量有所升高,其中 Glc 相对含量从 1.55%升高至 27.79%,Man 相对含量从 5.58%升高至 15.45%。以上结果表明,GBPA 在与肠道菌群相互作用过程中,其果胶类多糖持续降解,果胶特征性单糖相对含量明显降低,部分中性单糖相对含量有所上升,进一步证实 GBPA 可作为特定碳源被肠道菌群逐步利用。

2.3 GBPA 对肠道菌群增殖及产酸代谢的影响

通过测定酵解液 OD_{600} 与 pH 值的变化,可以分别评估肠道菌群的增殖情况与产酸情况,从而进一步表征 GBPA 与肠道菌群的互作关系^[25]。酵解液中 OD_{600} 和 pH 值的变化如图 1 所示。由图 1a) 可知,对照组的 OD_{600} 在酵解过程中无显著变化;与对照组相比,GBPA 组、菊糖组的 OD_{600} 均随发酵时间的延长先呈剂量依赖性升高后趋于平缓,且二者均始终显著高于对照组,其中 GBPA 组的菌群增殖趋势更为显著。 OD_{600} 的显著升高表明 GBPA 能有效促进肠道菌群增殖,展现出益生元特性。由图 1b) 可知,在酵解过程中,对照组的 pH 值无明显变化,而 GBPA 组的 pH 值随着发酵时间的延长呈下降趋势,当酵解 36.00 h 后下降速率减缓。综上所述,在酵解过程中,GBPA 组的 OD_{600} 显著升高且 pH 值持续下降,表明 GBPA 能够促进肠道菌群增殖,并通过微生物代谢途径产酸,从而降低体系 pH 值。此外,GBPA 组与菊糖组的变化趋势相似,进一步证明 GBPA 具有益生元特性。

表 2 消化酵解过程中 GBPA 的单糖组成变化

Table 2 Changes in monosaccharide composition of GBPA during digestion and fermentation

多糖	Rha 相对含量	GalA 相对含量	Gal 相对含量	Ara 相对含量	Man 相对含量	GlcA 相对含量	Glc 相对含量	%
GBPA	25.54	34.21	14.09	16.25	5.58	2.81	1.55	
GBPA-2	21.69	28.86	11.13	12.65	9.11	3.66	12.86	
GBPA-F48	20.12	7.65	8.42	10.59	15.45	9.98	27.79	

2.4 GBPA 对大鼠肠道菌群的影响

稀疏曲线可用于评估肠道菌群研究的样本量

及测序深度是否充足^[26]。大鼠粪便酵解样品中肠道菌群变化情况如图 2 所示。由图 2a)可知,随着

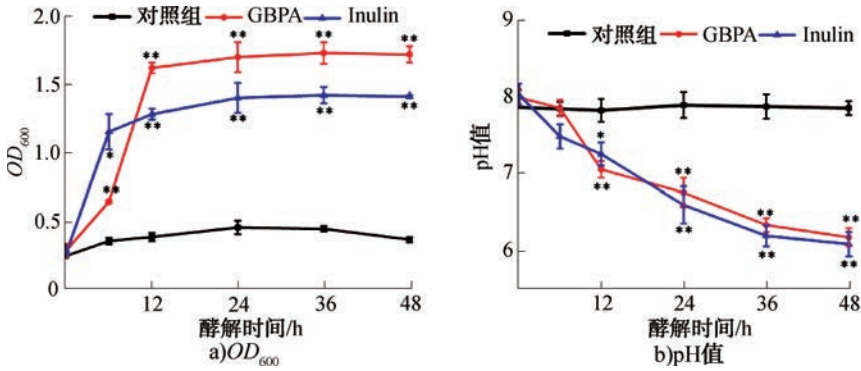


图 1 酵解液中 OD_{600} 和 pH 值的变化

Fig. 1 Changes in OD_{600} and pH value in fermentation broth

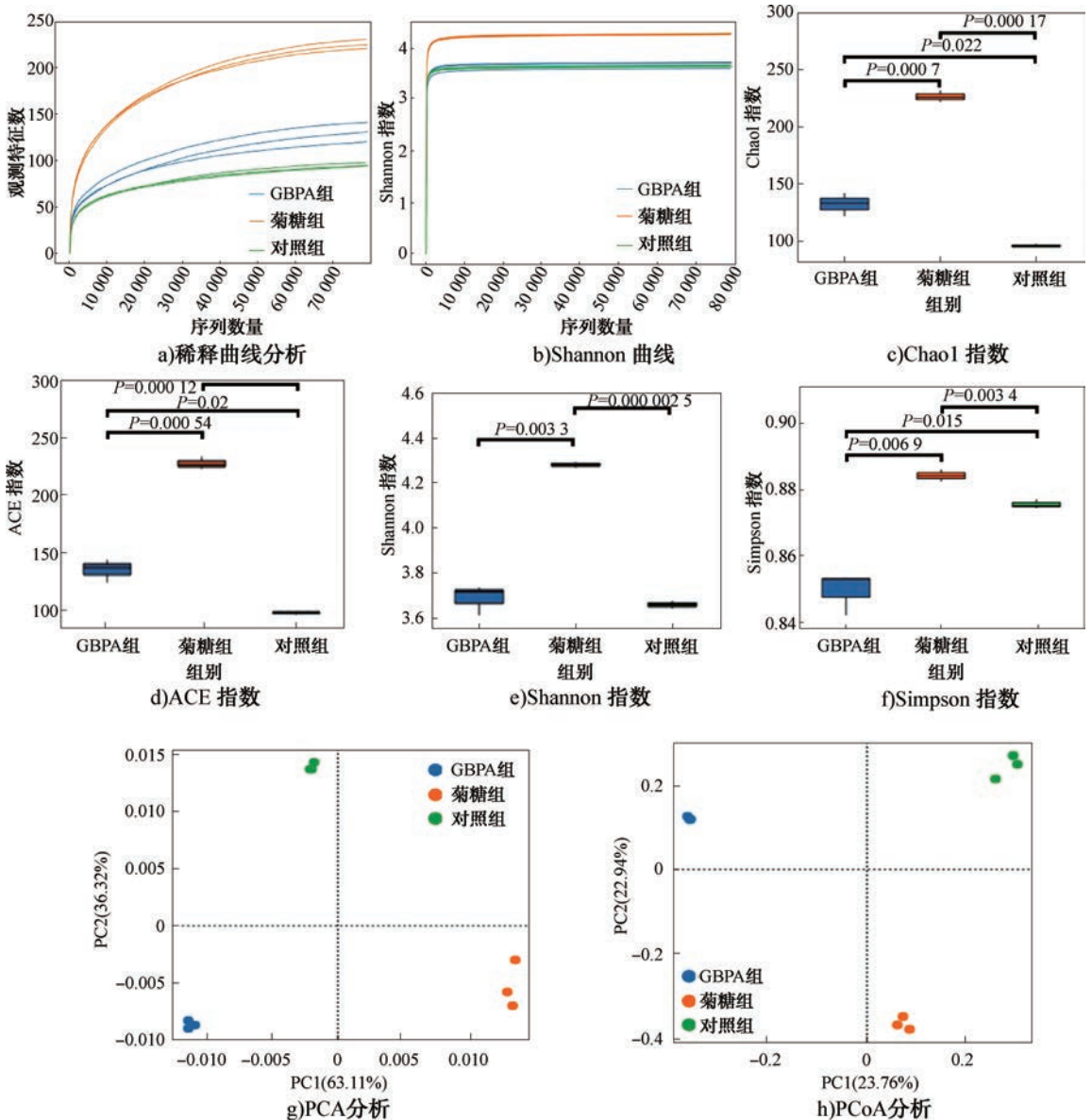


图 2 大鼠粪便酵解样品中肠道菌群变化情况

Fig. 2 Changes in gut microbiota in fermentation samples of rat feces

序列数量增加,各组稀释曲线趋于平缓,未检测到新的操作分类单元(Operational Taxonomic Unit, OTU),说明样本量可以覆盖样本多样性。由图2b)可知,随着序列数量增加,各组 Shannon 指数均逐渐上升并在相同序列区间内达到稳定,表明测序深度充足,结果可靠。由图2c)—f)可知,GBPA 组的 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均显著高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表明 GBPA 能明显增加大鼠肠道菌群多样性。主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)和主坐标分析(Principal Coordinates Analysis, PCoA)是重要的 β 多样性分析方法^[27]。由图2g)和 h)可知,GBPA 组样本点明显聚集,PCA 结果中 PC1 为 63.11%,PC2 为 36.32%,PCoA 结果中 PC1 为 23.76%,PC2 为 22.94%。综上可知,GBPA 改变了大鼠肠道菌群结构。

大鼠粪便酵解样品中肠道菌群的门水平和属水

平变化如图3和图4所示。由图3可知,对照组的优势菌为厚壁菌门(Firmicutes, 52.83%),变形菌门(Proteobacteria, 41.71%)和拟杆菌门(Bacteroidota, 5.18%)。与对照组相比,GBPA 可显著上调拟杆菌门相对丰度,达到对照组的 2.54 倍,同时使厚壁菌门相对丰度下降了 31.57%,进而使厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度比值(F/B)显著降低($P < 0.01$)。鉴于 F/B 升高与肥胖、糖尿病等疾病呈正相关^[28-29],该变化提示 GBPA 可能具有改善宿主代谢的潜力。此外,GBPA 可显著富集产生 SCFAs 的放线菌门(Actinobacteriota),其相对丰度是对照组的 2.33 倍。该门为革兰氏阳性菌,以双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)为代表,是典型的肠道益生菌^[30]。菊糖虽同样能够降低 F/B ($P < 0.01$),却未显著增加放线菌门和拟杆菌门的相对丰度,这进一步说明了不同多糖与肠道菌群可能存在不同的交互机制。

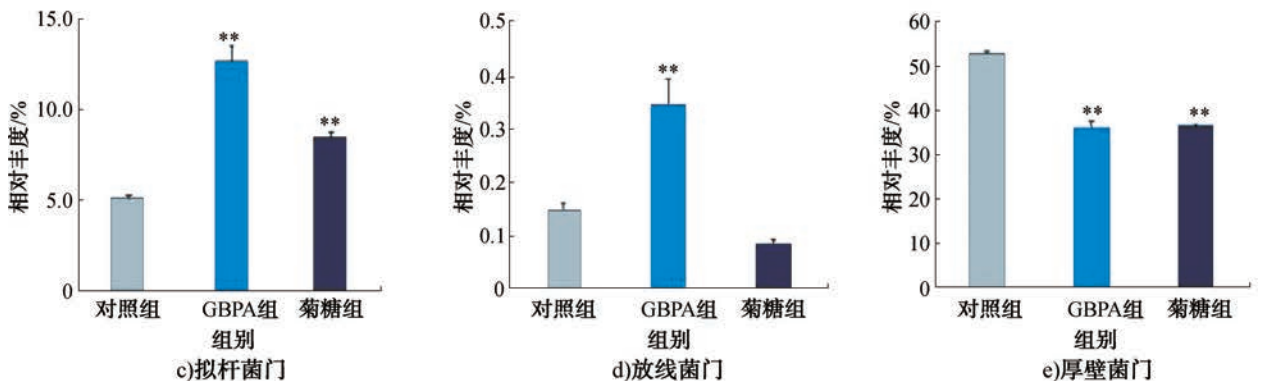
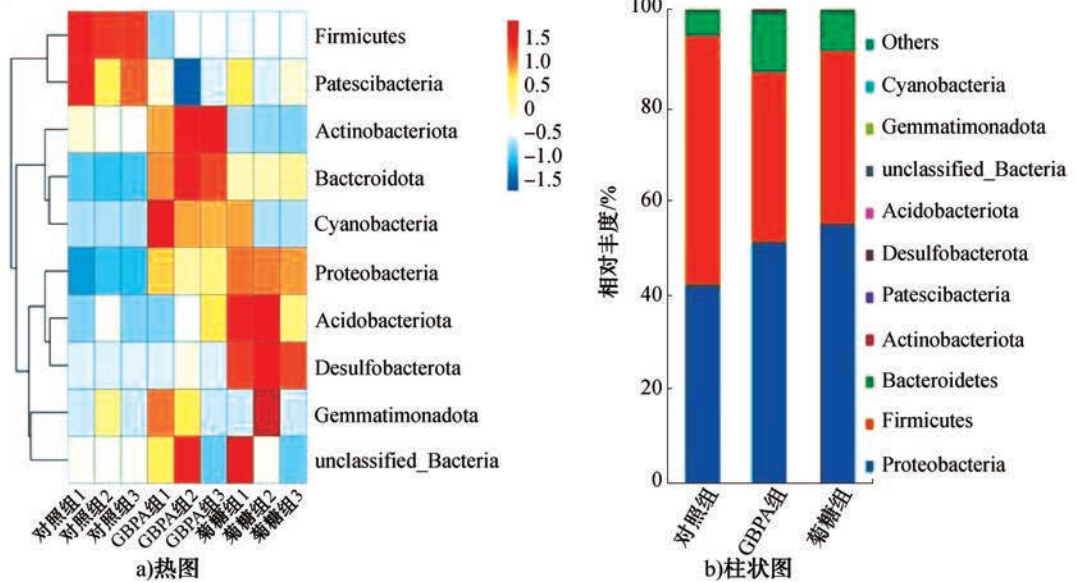


图3 大鼠粪便酵解样品中肠道菌群的门水平变化

Fig. 3 Phylum-level changes of gut microbiota in fermentation samples of rat feces

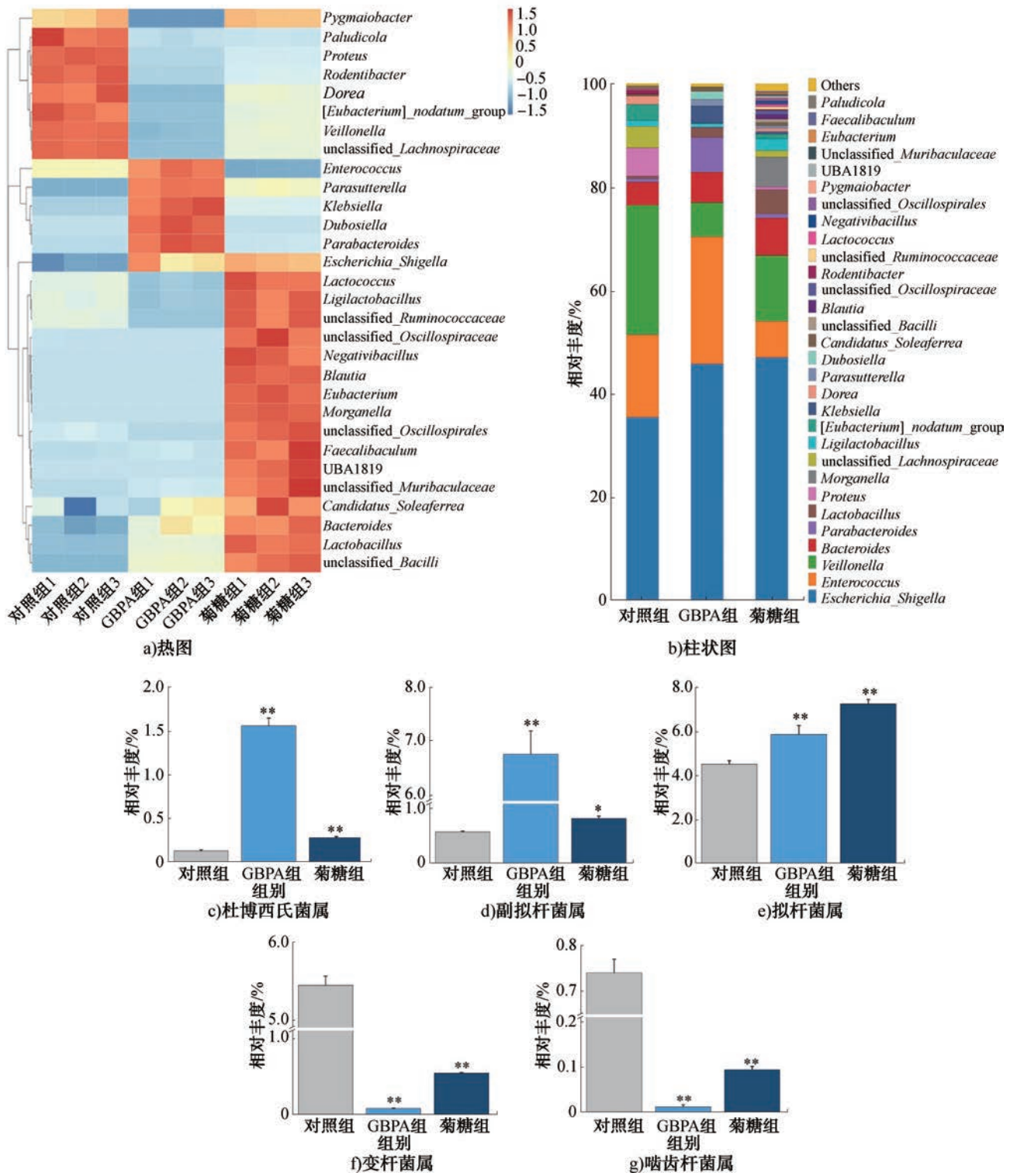


图4 大鼠粪便酵解样品中肠道菌群的属水平变化

Fig. 4 Genus-level changes of gut microbiota in fermentation samples of rat feces

由图4可知,GBPA显著升高了拟杆菌属(*Bacteroides*)、杜博西氏菌属(*Dubosiella*)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)等有益菌的相对丰度,分别为对照组的1.30倍、12.03倍和11.48倍。其中,拟杆菌

属可降解果胶并生成SCFAs,这进一步证实了GBPA的可酵解特性。杜博西氏菌属和副拟杆菌属是2种重要的产SCFAs有益菌属。研究证实,杜博西氏菌属属于产丁酸菌,在维持肠道稳态,如强化肠道屏

障、抑制炎症反应中发挥重要作用^[31];副拟杆菌属属于产丙酸菌,可调节胆汁酸代谢,进而改善脂代谢^[32]。同时,GBPA使变杆菌属(*Proteus*)、啮齿杆菌属(*Rodentibacter*)等有害菌属的相对丰度显著降低了98.83%和82.44%($P < 0.05$)。综上所述,GBPA可在属水平调控大鼠的肠道菌群的结构,增加有益菌属的相对丰度并抑制有害菌属,从而重塑肠道的微生态平衡。

2.5 GBPA对酵解产物SCFAs浓度的影响

SCFAs是肠道菌群代谢多糖的主要发酵产物,既是肠道调节多种代谢的重要活性因子,也是评价多糖发酵特性的重要指标^[33]。大鼠粪便酵解样品中SCFAs浓度变化如图5所示。由图5可知,粪便发酵48.00 h后,GBPA组的乙酸、丙酸、丁酸、戊酸和异戊酸浓度均显著高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。其中,乙酸、丙酸和丁酸的浓度分别提高至对照组的3.04倍、2.77倍和3.68倍,且增量与杜博西氏菌属、副拟杆菌属等产SCFAs菌群的相对丰度变化呈正相关。笔者前期体内研究已证实,GBPA能够通过改善T2DM大鼠的肠道菌群,促进丙酸生成,进而缓解其脂代谢紊乱^[12]。本研究通过体外消化发酵模型再次证实,GBPA可有效富集大鼠肠道中的副拟杆菌属菌群。综上所述,GBPA可通过富集副拟杆菌属等产酸菌,促进SCFAs生成,进而改善T2DM脂代谢紊乱。

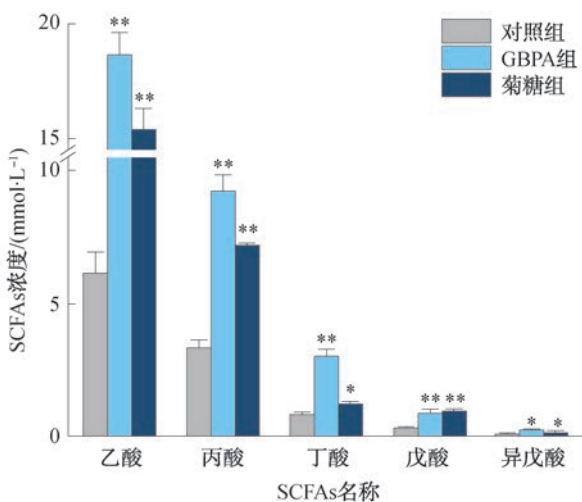


图5 大鼠粪便酵解样品中SCFAs浓度变化

Fig. 5 Changes in SCFAs concentrations in fermentation samples of rat feces

3 结论

本研究通过体外模拟消化-发酵模型,揭示了GBPA在消化酵解过程中的代谢特性及其对肠道菌群的调节作用。结果显示,GBPA在模拟唾液消化过程中较稳定,其 C_R 含量、相对分子质量和单糖组成均无明显变化;在模拟胃液和小肠液消化过程中, C_R 含量有所升高,相对分子质量略有下降;而在大鼠粪便酵解过程中,GBPA组 C_R 含量先升高后降低,酵解48.00 h时的酵解液中 C_R 含量较酵解12.00 h时下降了约71.76%,同时,经48.00 h消化后,酵解产物GBPA-F48的相对分子质量较GBPA下降了51.97%,果胶特征性单糖相对含量显著降低,而中性多糖相对含量有所上升,证实了肠道菌群对GBPA进行了高效降解与利用。16S rRNA测序与GC-MS结果同步证实,GBPA显著改变了大鼠粪便菌群结构,特别是促进杜博西氏菌属等产SCFAs菌群的增殖,酵解液中乙酸、丙酸、丁酸及戊酸浓度均显著升高。因此,GBPA能够部分抵抗消化道酶解,大部分未被降解的果胶可抵达结肠并作为肠道菌群代谢底物,经发酵产生SCFAs等活性代谢物;同时,GBPA可优化大鼠肠道菌群结构,发挥益生元作用。然而,本文虽证实了GBPA与肠道菌群的互作关系,但其与肠道菌群的互作分子机制,如关键降解菌株及代谢酶系尚不清楚,有待后续深入研究。

参考文献:

- [1] KOKIL G R, VEEDU R N, RAMM G A, et al. Type 2 diabetes mellitus: Limitations of conventional therapies and intervention with nucleic acid-based therapeutics[J]. Chemical Reviews, 2015, 115(11): 4719-4743.
- [2] BENDOR C D, BARDUGO A, PINHAS-HAMIEL O, et al. Cardiovascular morbidity, diabetes and cancer risk among children and adolescents with severe obesity[J]. Cardiovascular Diabetology, 2020, 19(1): 79.
- [3] FANTIN F, GIANI A, ZOICO E, et al. Weight loss and hypertension in obese subjects[J]. Nutrients, 2019, 11(7): 1667.
- [4] 冀晓龙,王治雯,潘飞兵,等. 檳榔多糖对Caco-2细胞氧化损伤的保护作用[J]. 轻工学报, 2022, 37(6): 18-24. JI X L, WANG Z W, PAN F B, et al. Protective effect of *Areca catechu* L. polysaccharide on Caco-2 cells oxidative

- injury [J]. Journal of Light Industry, 2022, 37 (6): 18-24.
- [5] COCKBURN D W, KOROPATKIN N M. Polysaccharide degradation by the intestinal microbiota and its influence on human health and disease [J]. Journal of Molecular Biology, 2016, 428(16): 3230-3252.
- [6] DI LORENZO C, WILLIAMS C M, HAJNAL F, et al. Pectin delays gastric emptying and increases satiety in obese subjects [J]. Gastroenterology, 1988, 95(5): 1211-1215.
- [7] YUE F F, XU J X, ZHANG S T, et al. Structural features and anticancer mechanisms of pectic polysaccharides: A review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 209: 825-839.
- [8] CUI J F, ZHAO C Y, FENG L P, et al. Pectins from fruits: Relationships between extraction methods, structural characteristics, and functional properties [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 39-54.
- [9] 冯潮. 体外模拟消化对龙眼多糖结构与激活 DC 细胞的作用研究 [D]. 海口: 海南大学, 2020.
- FENG C. Effect of simulated digestion on the structure of longan polysaccharide and activation of DC cells [D]. Haikou: Hainan University, 2020.
- [10] SUN Y X. Structure and biological activities of the polysaccharides from the leaves, roots and fruits of *Panax ginseng* C. A. Meyer: An overview [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(3): 490-499.
- [11] 李珊珊, 祝贺, 祁玉丽, 等. 人参果多糖的分离纯化及体外抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(4): 73-76, 99.
- LI S S, ZHU H, QI Y L, et al. Research on extraction, purification and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharide from ginseng berry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(4): 73-76, 99.
- [12] WANG C Z, HOU L F, WAN J Y, et al. Ginseng berry polysaccharides on inflammation-associated colon cancer: Inhibiting T-cell differentiation, promoting apoptosis, and enhancing the effects of 5-fluorouracil [J]. Journal of Ginseng Research, 2020, 44(2): 282-290.
- [13] REN T, XU M R, ZHOU S, et al. Structural characteristics of mixed pectin from ginseng berry and its anti-obesity effects by regulating the intestinal flora [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 242(Pt 1): 124687.
- [14] REN T, FAN X R, WU Q F, et al. Structural insights and therapeutic potential of plant-based pectin as novel therapeutic for type 2 diabetes mellitus: A review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 307: 141876.
- [15] BRODKORB A, EGGER L, ALMINGER M, et al. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion [J]. Nature Protocols, 2019, 14(4): 991-1014.
- [16] 朱伟林. 微生物发酵对龙眼多糖结构以及免疫活性的影响 [D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
- ZHU W L. The effect of microbial fermentation on structure and immunomodulatory activity of longan polysaccharide [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020.
- [17] WU D T, NIE X R, GAN R Y, et al. *In vitro* digestion and fecal fermentation behaviors of a pectic polysaccharide from okra (*Abelmoschus esculentus*) and its impacts on human gut microbiota [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 114: 106577.
- [18] JIANG P, JI X, XIA J, et al. Structure and potential anti-fatigue mechanism of polysaccharides from *Bupleurum chinense* DC [J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 306: 120608.
- [19] 冀晓龙, 郭建行, 田静源, 等. 植物多糖降解方法及降解产物特性研究进展 [J]. 轻工学报, 2023, 38(3): 55-62.
- JI X L, GUO J H, TIAN J Y, et al. Research progress on degradation methods and product properties of plant polysaccharides [J]. Journal of Light Industry, 2023, 38(3): 55-62.
- [20] ZHOU W, HAN L J, HAIDAR ABBAS RAZA S, et al. Polysaccharides in *Berberis dasystachya* improve intestinal flora depending on the molecular weight and ameliorate type 2 diabetes in rats [J]. Journal of Functional Foods, 2023, 100: 105381.
- [21] WU, D T, FENG, K L, LI F, et al. *In vitro* digestive characteristics and microbial degradation of polysaccharides from lotus leaves and related effects on the modulation of intestinal microbiota [J]. Current Research in Food Science, 2022, 5: 752-762.
- [22] 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.
- [23] 郭东东, 雷佳钰, 刘荣柱, 等. 体外模拟鳞杯伞子实体碱性多糖的消化与酵解特性 [J]. 菌物学报, 2022, 41(1): 78-87.
- GUO D D, LEI J Y, LIU R Z, et al. Digestion and fermentation characteristics of alkaloid polysaccharide from *Clitocybe squamulosa* fruiting body *in vitro* [J]. Mycosystema, 2022, 41(1): 78-87.
- [24] ZHU K X, YAO S W, ZHANG 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.
- [25] XU, M, JIANG, Z, REN, J, et al. De-starched *Panax ginseng* polysaccharide: Preparation, *in vitro* digestion, fermentation properties and the activating effect of the resultant

- products on RAW264.7 cells[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2025, 351:123103.
- [26] 黄超群. 连朴饮加味方联合四联疗法治疗 Hp 相关性胃炎的疗效评价及与肠道微生态相关性的机理研究[D]. 武汉:湖北中医药大学, 2022.
- HUANG C Q. Clinical efficacy evaluation of Lianpu Yin modified decoction combined with quadruple therapy in the treatment of Hp associated gastritis and mechanism study of its correlation with intestinal microecology[D]. Wuhan:Hubei University of Chinese Medicine, 2022.
- [27] 聂源. 基于肠道菌-肝胆胆汁酸轴探究熊果酸抑制肝纤维化的作用机制[D]. 南昌:南昌大学, 2022.
- NIE Y. Exploring the mechanism of ursolic acid inhibit liver fibrosis based on intestinal bacteria-liver bile acids axis[D]. Nanchang:Nanchang University, 2022.
- [28] 吴睿婷. 黑灵芝多糖对 2 型糖尿病大鼠的心肌保护作用研究[D]. 南昌:南昌大学, 2021.
- WU R T. Protective effect of Ganoderma atrum polysaccharide on myocardial injury in type 2 diabetic rats [D]. Nanchang:Nanchang University, 2021.
- [29] 桑雪, 李莹, 童瑶, 等. 海参硫酸多糖与肠道菌群的相互作用及其调节糖脂代谢的研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(17):321-331.
- SANG X, LI Y, TONG Y, et al. Research progress on interaction between sulfated polysaccharides from sea cucumber and gut microbiota and its regulatory effect on glycolipid metabolism[J]. *Food Science*, 2023, 44(17):321-331.
- [30] 张科. 妊娠期-泌乳期山羊母体微生物垂直影响子代胃肠道菌群与肠道功能的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2022.
- ZHANG K. Vertical effects of maternal microbiota on the GIT microbiome and gut function of offspring during pregnancy and lactation period in female goats [D]. Yangling:Northwest A&F University, 2022.
- [31] ZHAO Q Y, LIU Y B, LI M X, et al. Hawthorn pectin mitigates high-fat diet induced hyperlipidemia in mice through promoting *Dubosiella newyorkensis* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2025, 359:123570.
- [32] LIU Z Q, HU Y Y, TAO X Y, et al. Metabolites of sea cucumber sulfated polysaccharides fermented by *Parabacteroides distasonis* and their effects on cross-feeding [J]. *Food Research International*, 2023, 167:112633.
- [33] WU D T, NIE X R, GAN R Y, et al. *In vitro* digestion and fecal fermentation behaviors of a pectic polysaccharide from okra (*Abelmoschus esculentus*) and its impacts on human gut microbiota[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 114:106577.

In vitro digestion and fermentation characteristics of ginseng fruit pectin

JIAO Lili¹, SUN Xiwen², REN Ting³, JIANG Ziyi¹, LI Bo²

1. Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

3. School of Pharmaceutical Sciences, Jilin Medical University, Jilin 132013, China

Abstract: **[Objective]** To investigate the interaction mechanism of ginseng fruit pectin (GBPA) with rat gut microbiota. **[Methods]** An *in vitro* simulated digestion-fermentation model (using sterile rat feces) was established to analyze the digestive characteristics of GBPA and its effects on gut microbiota structure and short-chain fatty acids (SCFAs) production. **[Results]** During the digestion phase, the reducing sugar (C_R) content of GBPA significantly increased from 0.041 mg/mL to 0.163 mg/mL, and its relative molecular weight decreased by 11.55%, while its monosaccharide composition showed no significant change overall. After 48.00 hours of fermentation, the relative molecular weight of GBPA further decreased by 51.97% of its original value, and the monosaccharide ratio exhibited dynamic changes. Furthermore, GBPA significantly increased the relative abundances of *Bacteroides*, *Dubosiella*, and *Parabacteroides*, which were 1.30-fold, 12.03-fold, and 11.48-fold higher than those in the control group, respectively; meanwhile, it decreased the relative abundance of *Rodentibacter* by 82.44%. GBPA also promoted the production of SCFAs, thereby improving lipid metabolism disorders in type 2 diabetes mellitus (T2DM). **[Conclusion]** The structure of GBPA is relatively stable in the digestive system, and after being fermented and degraded by gut microbiota, it exerts prebiotic effects mainly by improving gut microbiota structure and promoting SCFAs production.

Key words: ginseng fruit; pectic; digestive characteristic; fermentation characteristic; gut microbiota; SCFAs