

## 钙果复合果浆的功能成分及其减肥降脂作用

宫红伟<sup>1,2</sup>, 张惠玲<sup>1,2</sup>, 江冠宇<sup>1,2</sup>, 孟芳<sup>1,2</sup>, 潘思戈<sup>1,2</sup>, 田晓菊<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>宁夏大学食品科学与工程学院 银川 750021

<sup>2</sup>宁夏食品微生物应用技术与安全控制重点实验室 银川 750021)

**摘要** 目的:枸杞、沙棘和钙果是我国北方特有的食药同源食物,为了深层次开发 3 种果实的营养成分,以钙果原浆(纯度 100%)、沙棘原浆(纯度 100%)、枸杞原浆(纯度 100%)3 种原料,按照体积比 2:1.5:1 调配混合,制成一款酸甜可口的钙果复合果浆,探究其功能成分及减肥作用。方法:采用电感耦合等离子体质谱法测定复合果浆的微量元素,采用高相液相色谱法测定维生素和类胡萝卜素,液相色谱-质谱联用法测定多酚类化合物和有机酸类化合物。建立肥胖小鼠模型,探究复合果浆对肥胖小鼠的减肥作用。结果表明,复合果浆富含多种功能成分,其中,钙含量为(73.671±4.918) μg/L,维生素 B<sub>2</sub> 含量为(503.333±2.054) ng/mg,芦丁含量为(8.345±0.091) μg/mL。与模型组相比,剂量组经复合果浆干预后,小鼠体质量明显下降,甘油三酯含量显著降低( $P<0.05$ )。结论:复合果浆对肥胖小鼠具有显著改善作用,本研究为钙果复合果浆的营养保健作用提供了数据支撑,并为预防肥胖提供了一种新的营养干预方法。

**关键词** 钙果;复合果浆;功能成分;肥胖;减肥作用

**文章编号** 1009-7848(2024)04-0032-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.04.004

枸杞(*Lycium barbarum*)是中国传统名贵中药材之一,也是深受广大消费者喜爱的功能性食品<sup>[1]</sup>。宁夏枸杞因含有包括类胡萝卜素、多糖、氨基酸在内的各种活性成分而闻名于世<sup>[2]</sup>。它具有多种保健作用,如延缓衰老,抑制肿瘤,保护眼睛,提高免疫能力<sup>[3-4]</sup>。沙棘是知名的食药同源食物,它的果实不仅包含多种营养成分,而且有助于促进血液流动,减少血脂和降低血压,还有抵御衰老及减少疲劳的作用<sup>[5-7]</sup>。钙果即欧李,是我国典型的食药兼用型水果和特殊的沙生药用植物<sup>[8]</sup>。钙果也被称为“补钙之王”,其果肉富含钙元素,以及其它矿物质元素、维生素和氨基酸<sup>[9-10]</sup>。目前,枸杞、沙棘和钙果的利用仅局限于单一水果制品,没有得到综合开发利用。随着国内“大健康”产业的发展,食药同源食品在营养领域应用更加广泛<sup>[11]</sup>。

功能性食品在营养保健以及预防疾病方面起重要作用,肥胖疾病的研究与预防是功能性食品应用较多的领域。由于人们现在的生活压力大和不良的饮食习惯,肥胖症变得越来越普遍,它不仅可能引起各种全身疾病,例如糖尿病、脂肪肝、心

血管疾病,而且可能对人们的生活质量造成恶劣影响,并给社会带来沉重的经济压力<sup>[12]</sup>。研究发现<sup>[13]</sup>复合沙棘原液不仅可以显著改善高脂血症患者的血脂水平,还可以起到保护肝脏的功效。另一项研究表明<sup>[14]</sup>,宁夏枸杞的水提取物可以有效阻止氧化损伤,从而达到降低血糖的目的。另外,钙果提取物富含槲皮素,可以作为新的预防餐后高血糖症的食品<sup>[15]</sup>。因此,将钙果、沙棘、枸杞制成复合果浆,有望降脂、减肥。

对自制钙果复合果浆进行功能成分分析,检测无机元素、维生素、氨基酸、类胡萝卜素和多酚类化合物等的含量,建立肥胖小鼠模型,探究钙果复合果浆对 ICR 小鼠的减肥、减脂作用,为钙果复合的开发与利用提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

**材料:**枸杞原浆(纯度 100%),宁夏百瑞源枸杞股份有限公司;沙棘原浆(纯度 100%),宁夏华信达生物科技有限公司;钙果,农大 4 号。

**试剂:**钙(Ca)、铜(Cu)和硒(Se)等,采用经国家认证并授予标准物质证书的单元素或多元素标准贮备液。甲醇(色谱级),上海安谱公司;乙腈(色谱级),美国 Merck 公司;甲酸(色谱级),美国 Sig-

收稿日期:2023-08-21

基金项目:宁夏重点研发项目(2020BFH02006)

第一作者:宫红伟,男,硕士生

通信作者:田晓菊 E-mail: Tianxj@nxu.edu.cn

ma-Aldrich 公司。维生素 B 内标包括烟酰胺- $^{13}C_6$ , 烟碱- $d_3$ , 维生素  $B_5$ - $^{13}C_6N_2$ , 维生素  $B_1$ - $^{13}C_4$ , 烟酸- $^{13}C_4$ , 维生素  $B_7$ - $d_4$ , 维生素  $B_2$ - $^{13}C_4$ , 叶酸- $^{13}C_5$ 。类胡萝卜素、多酚类物质和有机酸类物质的标品由美国 Sigma 公司提供。

## 1.2 仪器与设备

CEM Mars 微波消解仪, 美国 CEM 公司; Agilent 7800 电感耦合等离子体质谱仪、1290 Infinity UPLC 超高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; YMC Carotenoid S- $3\ \mu m$  (150 mm $\times$ 4.6 mm) 液相色谱柱、ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C18 色谱柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7  $\mu m$ ), 美国 Waters 公司; 6500 QTRAP 质谱仪, 美国 SCIEX 公司; L8900 氨基酸分析仪、008AS 全自动生化分析仪, 日本日立公司; E-CLIPSE TS100 生物显微镜, 日本尼康公司。

## 1.3 试验方法

1.3.1 钙果复合果浆的制备 挑选钙果, 清洗后, 去核, 打浆, 过滤粗渣 (筛网孔径 100 目), 获得钙果原浆。将纯度 100% 的钙果原浆与枸杞原浆 (纯度 100%) 和沙棘原浆 (纯度 100%) 按照体积比 2:1.5:1 混合, 高压均质, 巴氏灭菌 (温度为 95  $^{\circ}C$ , 时间为 20 min), 灌装后待测。

1.3.2 钙果复合果浆中无机元素含量的测定 参考国标 GB 5009.268-2016<sup>[16]</sup>, 利用电感耦合等离子体质谱仪, 测定钙果复合果浆的钾、钙、铬、镍、铜、硒和镉的含量, 采用电感耦合等离子体发射光谱法测定磷元素的含量。

1.3.3 钙果复合果浆中维生素 B 含量的测定 参照 Sallabi 等<sup>[17]</sup>的研究方法, 采用液相色谱-质谱联用技术, 对维生素  $B_{12}$ 、维生素  $B_6$ 、叶酸、维生素  $B_1$ 、烟酸、维生素  $B_5$ 、维生素 H 以及核黄素进行测定。

样品前处理: 精密量取钙果复合果浆 100  $\mu L$ , 加入内标, 涡旋混匀, 室温静置 5 min, 加入 500  $\mu L$  预冷甲醇, 涡旋混合, -20  $^{\circ}C$  孵育 20 min 沉淀蛋白; 4  $^{\circ}C$ , 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清 400  $\mu L$  真空干燥; 质谱检测时加入 100  $\mu L$  水复溶, 4  $^{\circ}C$ , 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清进样分析。

色谱条件: 样品置于 4  $^{\circ}C$  自动进样器中, 柱温 45  $^{\circ}C$ , 流动相 A: 5 mmol/L 的甲酸铵+0.3% 甲酸水溶液, 流动相 B: 纯甲醇, 流速为 300  $\mu L/min$ , 进样

量 5  $\mu L$ 。洗脱梯度: 0~2 min, 100% A; 2~3 min, 40% A; 3~4.5 min, 0% A; 4.5~11 min, 95% A。

质谱条件: 在正离子模式下, 采用多反应监测 (MRM) 模式, 质谱电压: 5 000 V; 离子源温度: 500  $^{\circ}C$ , 气帘气 40 psi。

## 1.3.4 钙果复合果浆中氨基酸和总氮含量的测定

根据国标 GB 5009.124-2016<sup>[18]</sup>, 使用氨基酸自动分析仪检测氨基酸的浓度。进样量为 20  $\mu L$ , 分析时间为 55 min。分析柱的尺寸为 4.6 mm $\times$ 60 mm, 填充物为 3  $\mu m$  磺酸型阳离子树脂溶液分散柱。分析方法仪的泵 1 的流量为 0.40 mL/min, 分析方法仪的泵 2 的流量为 0.35 mL/min。分析方法仪的探测器的工作温度为 135  $^{\circ}C$ , 柱的工作温度为 57  $^{\circ}C$ , 第 1 个管道为 570 nm, 第 2 个管道为 440 nm。

根据国家标准 GB/T 6432-2018<sup>[19]</sup>, 采用凯氏定氮法, 测定总氮含量。

1.3.5 钙果复合果浆中类胡萝卜素含量测定 通过使用 YMC Carotenoid S- $3\ \mu m$  (150 mm $\times$ 4.6 mm) 液相色谱柱, 测定出类胡萝卜素含量。

样品前处理: 取 1 mL 钙果复合果浆, 加入等量的正己烷, 涡旋混合, 在 3 000 r/min, 4  $^{\circ}C$  条件下离心 5 min, 把正己烷层迁移到一个新的试管里。采用 1 mL 正己烷再一次执行这一步骤, 并在温度 30  $^{\circ}C$  和氮气环境下进行流动经过, 蒸发直至完全干燥。使用 0.2 mL 的甲醇溶液再次溶解后, 待测。

色谱条件: 进样量: 2  $\mu L$ , 柱温: 40  $^{\circ}C$ , 检测波长为 450 nm。流动相 A (MeOH), 流动相 B (MeOH: MTBE:H<sub>2</sub>O = 20:75:5)。流速: 1.0 mL/min; 洗脱梯度: 0 min, 100% A; 0~15 min, 39% A; 15~25 min, 0% A; 25~25.1 min, 100% A; 25~30 min, 100% A。

1.3.6 钙果复合果浆中多酚类物质的测定 样品前处理: 取 0.5 g 钙果复合果浆放于 2 mL 离心管中, 准确加入 600  $\mu L$  甲醇, 漩涡振荡 60 s, 加入 100 mg 玻璃珠。放入组织研磨器中, 60 Hz 研磨 1 min, 重复上述操作至少 2 次。室温超声 15 min, 12 000 r/min, 4  $^{\circ}C$  条件下离心 5 min。上清液过 0.22  $\mu m$  滤膜, 过滤液加入检测瓶中, 待测。利用液相色谱-质谱联用技术, 测定多酚类物质含量。色谱条件: 采用 ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C18 色谱柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7  $\mu m$ ), 进样量 5  $\mu L$ , 柱

温 40 ℃,流动相 A:0.1%甲酸水,流动相 B:甲醇,流速 0.25 mL/min。梯度洗脱条件为 0~1 min,10% B;1~3 min,10%~33% B;3~10 min,33% B;10~15 min,33%~50% B;15~20 min,50%~90% B;20~21 min,90% B;21~22 min,90%~10% B;22~25 min,10%B。

质谱条件:电喷雾电离(ESI)源,负离子电离模式。离子源温度 500 ℃,离子源电压-4 500 V,碰撞气 6 psi,气帘气 30 psi,雾化气和辅助气均为 50 psi。

1.3.7 钙果复合果浆中有机酸含量的测定 样品前处理:50 μL 钙果复合果浆转移至离心管中,与 250 μL 20%乙腈/甲醇混合,涡旋 3 min,在 4 ℃下以 12 000 r/min 的转速离心 10 min。取 250 μL 上清液放入新的离心管中,并将上清液置于-20 ℃冰箱中冷藏 30 min。然后在 4 ℃下以 12 000 r/min 的转速离心 10 min。离心后,取 180 μL 上清液待测。

利用液相色谱-质谱联用技术测定有机酸类物质含量。色谱条件:采用色谱柱:ACQUITY HSS T3 柱(1.8 μm, 100 mm×2.1 mm id.);设置流动相:A相,超纯水(0.05%甲酸);B相,乙腈(0.05%甲酸);色谱梯度洗脱程序:0~8 min 95% A;8~9.5 min 5%A;9.6~12 min,95%A。流速 0.35 mL/min;柱温 40 ℃;进样量 2 μL。

质谱条件包括:电喷雾离子源温度 550 ℃,正离子模式下质谱电压 5 500 V,负离子模式下质谱电压-4 500 V,气帘气 35 psi。

1.3.8 动物实验设计 宁夏医科大学实验动物中心精心挑选的 18 只雄性 ICR 小鼠(7~8 周),体质量在 20~25 g 之间,作为本次实验的对象。所有动物均在宁夏医科大学实验动物中心饲养。

实验环境:所有小鼠均可自由获得水和饲料。受控条件包括 20~22 ℃恒温、40%~60%湿度并维持 12 h 光暗循环周期。

小鼠建模与分组:18 只 ICR 小鼠被随机分为 3 组,分别是空白对照组(NG)(水)、模型组(MG)和剂量组(DG),模型组与剂量组将饲料替换成高脂饲料,8 周建模成功,并开始灌胃。灌胃前,让小鼠适应性生长 1 周。剂量组在建模成功后灌胃钙果复合果浆。

1.3.9 小鼠体质量、饮水量和血脂 4 项指标的测

定 每周监测所有实验动物的体质量和实验期间的饮水量变化情况。实验结束后,处死动物,采用心脏取血法,从小鼠体内取出 5 mL 血液,常规离心并即刻检测总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),采用全自动生化反应仪检测。

1.3.10 组织学观察 将部分肝组织固定在 4%多聚甲醛中 24 h,包埋在石蜡中,然后连续切片(5 μm)。根据常规方法对这些切片进行标准苏木精和伊红染色。尼康 ECLIPSE TS100 生物显微镜用于拍摄图像。

## 1.4 统计分析

钙果复合果浆采用完全随机原则,功能成分测定 3 次重复。维生素 B 的结果采用同位素内标法检测,无机元素、多酚类物质、类胡萝卜素和有机酸类的所测结果利用外标法进行定量分析。含量数据使用 SPSS 2022 处理,所有数据均表示为“平均值±标准差”。使用 Graphpad Prism 9.0 软件作图, $P<0.05$  表示差异显著。利用微科盟生物云平台,采用 Spearman 相关性分析手段,分析有机酸类物质之间的关联性。

## 2 结果与分析

### 2.1 钙果复合果浆中无机元素分析

对钙果复合果浆的无机元素进行测定,发现其含有 8 种无机元素。其中,钾、钙和磷元素的含量偏高,钙元素含量为 73.671 μg/L,磷元素含量为 87.360 μg/L,钾元素含量为 103.985 μg/L。由此可见,钙果复合果浆能够补充人体对钙、磷和钾等元素的需求。而检测出的镉和铬重金属含量很低,低于食品中镉和铬的限量指标,符合国家标准(GB 2762-2012)。

### 2.2 钙果复合果浆中维生素测定

通过测定发现,钙果复合果浆中含有丰富的 B 族维生素,可提供 8 种 B 族维生素。其中,烟酸和维生素 B<sub>5</sub> 的含量相当高,含量分别达到 2 400 ng/mg 和 912.333 ng/mg。另外,维生素 B<sub>2</sub> 和维生素 B<sub>1</sub> 的含量也很高,含量分别为 503.333 ng/mg 和 276.666 ng/mg。维生素 B<sub>12</sub> 的含量也高于其它水果。由此可见,钙果复合果浆能够满足人体对维生素 B 的摄入量。

表 1 无机元素含量

Table 1 Inorganic element content

无机元素	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	无机元素	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
钾	103.985 ± 10.702	硒	0.474 ± 0.067
钙	73.671 ± 4.918	镍	5.453 ± 0.628
磷	87.360 ± 19.478	镉	0.120 ± 0.028
铜	28.705 ± 3.826	铬	3.972 ± 0.628

表 2 维生素含量

Table 2 Vitamin content

维生素	含量/ $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$	维生素	含量/ $\text{ng}\cdot\text{mg}^{-1}$
维生素 B <sub>12</sub>	54.033 ± 0.249	烟酸	2 400.000 ± 78.740
维生素 B <sub>6</sub>	12.830 ± 0.262	维生素 B <sub>5</sub>	912.333 ± 30.641
叶酸	1.090 ± 0.043	维生素 H	6.536 ± 0.411
维生素 B <sub>1</sub>	276.666 ± 10.530	维生素 B <sub>2</sub>	503.333 ± 2.054

### 2.3 钙果复合果浆中氨基酸含量分析

研究发现,钙果复合果浆富含 17 种氨基酸,包括 6 种必需氨基酸,总氨基酸含量为 828.424 mg/100 g,总氮含量为 162.500 mg/100 g。另外,钙

果复合果浆中天冬氨酸、谷氨酸和脯氨酸的含量较高,分别达到 154.898, 147.629 mg/100 g 和 121.472 mg/100 g。由此可见,钙果复合果浆能够提供人体所需的氨基酸。

表 3 氨基酸含量

Table 3 Amino acid content

种类	含量/ $\text{mg}\cdot(100\text{g})^{-1}$	种类	含量/ $\text{mg}\cdot(100\text{g})^{-1}$
天冬氨酸	154.898 ± 1.766	异亮氨酸	20.342 ± 1.146
苏氨酸	36.157 ± 0.663	亮氨酸	46.769 ± 0.822
丝氨酸	49.589 ± 0.0707	酪氨酸	10.567 ± 2.026
谷氨酸	147.629 ± 1.437	苯丙氨酸	21.676 ± 1.435
甘氨酸	22.686 ± 0.683	赖氨酸	25.578 ± 0.701
丙氨酸	72.505 ± 1.769	组氨酸	14.807 ± 0.219
胱氨酸	1.023 ± 0.003	精氨酸	52.183 ± 0.101
缬氨酸	25.001 ± 0.275	脯氨酸	121.472 ± 0.582
蛋氨酸	5.537 ± 0.181	总氮	162.500 ± 25.000
总氨基酸	828.424 ± 13.886		

### 2.4 钙果复合果浆中类胡萝卜素含量测定

从钙果复合果浆中检测到 6 种类胡萝卜素,其中  $\beta$ -胡萝卜素和  $\beta$ -隐黄质的含量相对较高,分别是 90.488  $\mu\text{g}/100\text{g}$  和 37.401  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。其次,玉米黄质含量也较高,含量为 21.656  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。由此可见,钙果复合果浆能够补充人体对类胡萝卜素的需求。

### 2.5 钙果复合果浆中多酚类化合物的分析

从钙果复合果浆中鉴定出 14 种多酚类物质,

其中芦丁含量最高,含量为 8.345  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。其次为山柰酚-3-葡萄糖苷和槲皮苷,儿茶素和隐绿原酸的含量也较高。由此可见,钙果复合果浆能够增加人体对多酚类物质的摄入量。

### 2.6 钙果复合果浆中有机酸类化合物的分析

从钙果复合果浆中鉴定出 46 种有机酸类物质,其中  $\alpha$ -酮戊二酸含量最高,为 31 389.42 ng/mL。其次为顺式-乌头酸和富马酸,含量分别为 15 154.68 ng/mL 和 13 285.02 ng/mL,乳酸和丙酮



表4 类胡萝卜素含量

Table 4 Carotenoid content

类胡萝卜素	含量/ $\mu\text{g}\cdot(100\text{g})^{-1}$	类胡萝卜素	含量/ $\mu\text{g}\cdot(100\text{g})^{-1}$
叶黄素	$1.437 \pm 0.007$	$\alpha$ -胡萝卜素	$6.568 \pm 0.096$
玉米黄质	$21.656 \pm 0.304$	$\beta$ -胡萝卜素	$90.488 \pm 0.747$
$\beta$ -隐黄质	$37.401 \pm 0.414$	番茄红素	$1.303 \pm 0.039$

表5 多酚类物质含量

Table 5 Polyphenols content

多酚	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	多酚	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
山柰酚	$0.034 \pm 0.001$	槲皮苷	$2.732 \pm 0.028$
木犀草素	$0.002 \pm 0.001$	木犀草苷	$0.0101 \pm 0.001$
儿茶素	$1.739 \pm 0.001$	山柰酚-3-葡萄糖苷	$4.321 \pm 0.089$
没食子酸	$0.139 \pm 0.001$	芦丁	$8.345 \pm 0.091$
槲皮素	$0.509 \pm 0.002$	隐绿原酸	$1.73 \pm 0.032$
二氢槲皮素	$0.053 \pm 0.001$	新绿原酸	$0.388 \pm 0.019$
异牡荆素	$0.001 \pm 0.001$	咖啡酸	$0.127 \pm 0.001$

酸的含量也较高,含量分别为  $4\ 815.842\ \text{ng/mL}$  和  $7\ 880.84\ \text{ng/mL}$ 。由此可见,钙果复合果浆能够增

加人体对有机酸类物质的摄入量。

表6 有机酸类物质含量

Table 6 Organic acid content

序号	物质	分子量	电离模式	分子式	含量表/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
1	2-羟基-2-甲基丁酸	118.131	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_3$	$9.495 \pm 0.313$
2	琥珀酸	118.088	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$	$4\ 157.262 \pm 34.336$
3	牛磺酸	125.147	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$	$52.17484 \pm 1.399$
4	甲基丁二酸	132.115	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$	$637.490 \pm 22.509$
5	3-羟基-3-甲基谷氨酸	162.141	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$	$84.019 \pm 4.753$
6	4-氨基丁酸	103.12	[M+H] <sup>+</sup>	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2$	$1\ 792.714 \pm 63.055$
7	4-香豆酸	164.158	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	$4\ 940.058 \pm 86.311$
8	5-羟甲基-2-咪唑甲酸	142.109	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$	$122.882 \pm 2.107$
9	氢化肉桂酸	150.174	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$	$93.876 \pm 7.318$
10	肉桂酸	148.159	[M+H] <sup>+</sup>	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$	$46.130 \pm 3.535$
11	齐墩果酸	456.3603454	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	$1\ 345.188 \pm 221.895$
12	苯乙酰甘氨酸	193.199	[M+H] <sup>+</sup>	$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_3$	$0.791 \pm 0.023$
13	莽草酸	174.151	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$	$1\ 610.692 \pm 27.675$
14	酒石酸	150.087	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$	$3\ 987.198 \pm 14.670$
15	辛二酸	174.194	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_4$	$7.203 \pm 0.155$
16	水杨酸	138.121	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	$1\ 435.398 \pm 36.028$
17	L-焦谷氨酸	129.114	[M+H] <sup>+</sup>	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$	$9\ 185.621 \pm 116.344$
18	2-羟基-3-甲基丁酸	118.131	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_3$	$68.089 \pm 1.059$
19	邻羟基苯乙酸	152.147	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	$0.442 \pm 0.055$
20	(R)-3-羟基丁酸	104.105	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_3$	$13.368 \pm 0.876$
21	3-(3-羟基苯基)-3-羟基丙酸	182.173	[M-H] <sup>-</sup>	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$	$3.367 \pm 0.262$
22	3-羟基马尿酸	195.172	[M+H] <sup>+</sup>	$\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_4$	$0.551 \pm 0.027$

(续表 6)

序号	物质	分子质量	电离模式	分子式	含量表/ng·mL <sup>-1</sup>
23	3-羟基异戊酸	118.131	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	164.826 ± 3.468
24	3-甲基己二酸	160.168	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	9.388 ± 1.097
25	DL-3-苯基乳酸	166.174	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	173.535 ± 4.965
26	对羟基苯甲酸	138.121	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	638.240 ± 9.986
27	4-羟基马尿酸	195.172	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	0.489 ± 0.036
28	对羟基苯乙酸	152.147	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	10.112 ± 0.892
29	5-羟基吡啶-3-乙酸	191.183	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	6.257 ± 0.313
30	己二酸	146.141	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	21.992 ± 1.411
31	邻氨基苯甲酸	137.136	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	2.260 ± 0.016
32	壬二酸	188.221	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	170.789 ± 4.727
33	苯甲酸	122.121	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	3 193.744 ± 88.309
34	顺式-乌头酸	174.108	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	15 154.680 ± 200.222
35	阿魏酸	194.184	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	4 162.052 ± 49.206
36	富马酸	116.072	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	13 285.020 ± 404.072
37	戊二酸	132.115	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	556.600 ± 22.959
38	马尿酸	179.173	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	22.130 ± 0.829
39	3-(4-羟基苯基)乳酸	182.173	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	107.543 ± 3.824
40	吡啶-3-乙酸	175.184	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	2.249 ± 0.053
41	3-吡啶乙酸	205.21	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	24.356 ± 0.272
42	氯氨酮	189.167	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	9.808 ± 0.104
43	乳酸	90.0779	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	4 815.842 ± 219.852
44	α-酮戊二酸	146.098	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	31 389.420 ± 1 477.655
45	泛酸	219.235	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>3</sub>	2 679.062 ± 61.225
46	丙酮酸	88.0621	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	7 880.840 ± 308.522

如图 1 所示,对 46 种有机酸类物质进行热图分析,红色代表正相关,蓝色代表负相关。结果表明,有机酸物质存在相关性,其中牛磺酸与 4-香豆酸显著正相关( $P < 0.001$ ),丙酮酸与肉桂酸显著负相关( $P < 0.001$ )。

## 2.7 钙果复合果浆对肥胖小鼠体质量和饮水量的影响

如图 2a 所示,实验在第 8 周时,正常对照组小鼠体质量平均为 61.0 g,而模型组与剂量组体质量平均值为 73.6 g。在 4 周灌胃实验后,模型组的体质量增长了 1.2 倍,这证实了肥胖模型建立成功。与模型组相比,灌胃钙果复合果浆的效果十分明显,有效降低了剂量组中小鼠体质量。如图 2b 所示,在整个实验过程中,各组小鼠的饮水量

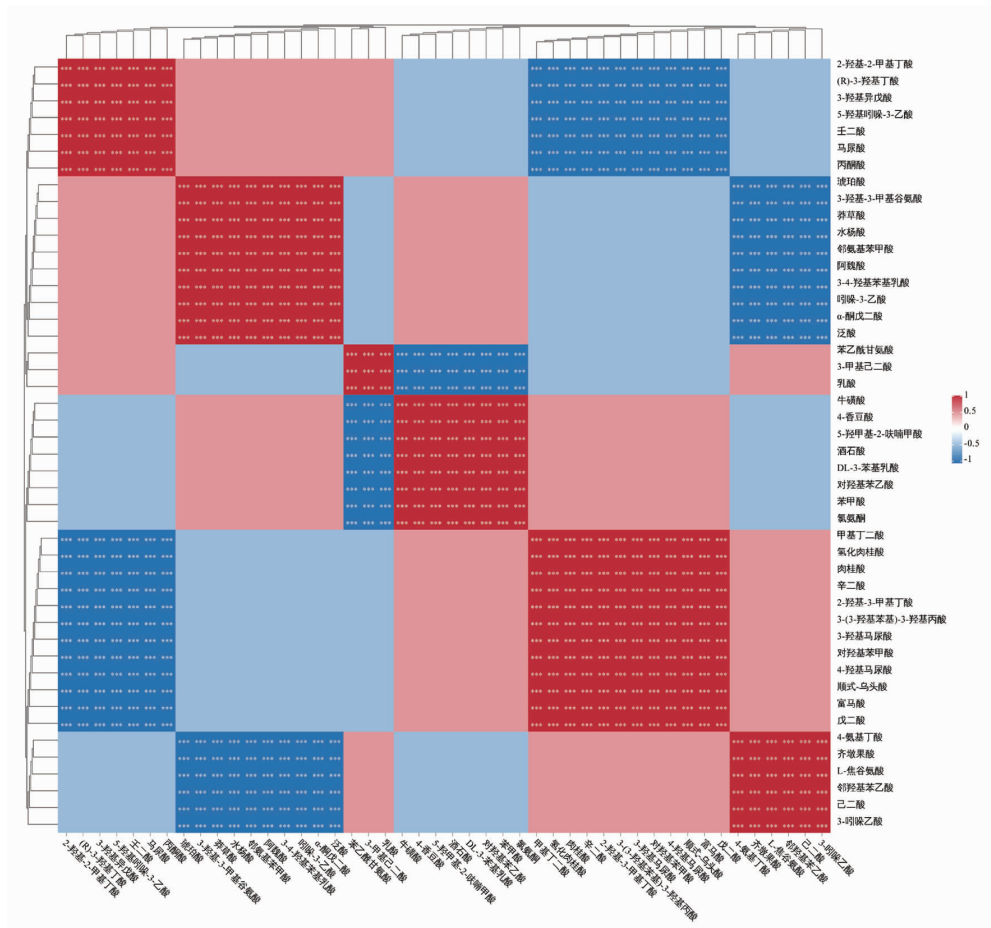
并没有明显变化。

## 2.8 钙果复合果浆对肥胖小鼠血脂的影响

由图 3 可知,与正常组相比,模型组中的甘油三酯、胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇以及低密度脂蛋白胆固醇的含量都显著提高。尤其在甘油三酯水平变化中,发现两者之间在统计学上呈显著差异( $P < 0.01$ )。经钙果复合果浆的干预,对照与模型组相比,剂量组小鼠肝脏的甘油三酯水平有显著改善( $P < 0.05$ ),而且,胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇以及低密度脂蛋白胆固醇的水平也有较大改善。

## 2.9 组织学观察

通过肝脏切片观察可知,正常对照组小鼠肝脏组织结构正常,肝细胞完整,胞浆均匀,核仁清



注:\*.  $P < 0.05$ , \*\*.  $P < 0.01$ , \*\*\*.  $P < 0.001$ 。

图1 有机酸热图分析

Fig.1 Thermographic analysis of organic acids

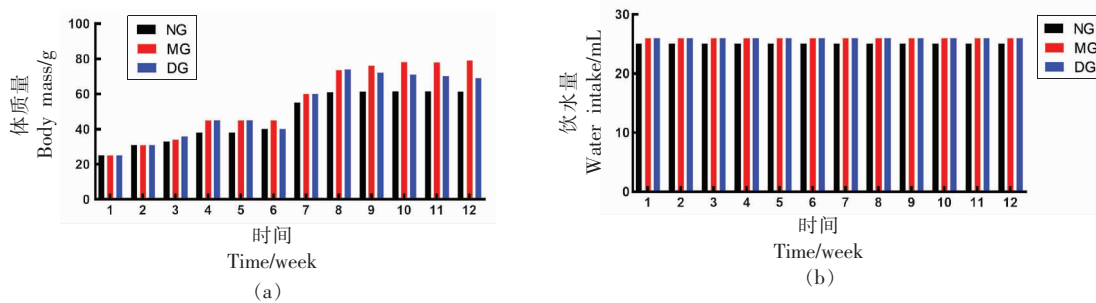


图2 小鼠体质量(a)和饮水量(b)的变化

Fig.2 Changes in body mass (a) and water intake (b) of mice

晰(图 4a);造模成功后,模型组的小鼠肝细胞与正常对照组(图 4b)相比有明显差异,表现为普遍浊肿、胞浆疏松样变性、气球样变、点灶状坏死、多量病理性核分裂。钙果复合果浆干预后,剂量组小鼠

肝组织结构正常,存在肝细胞变性,肝细胞有散在嗜酸性变和水样变性,有少量炎细胞浸润(图 4c)。以上结果显示,钙果复合果浆对肥胖引起的肝损伤有改善效果。

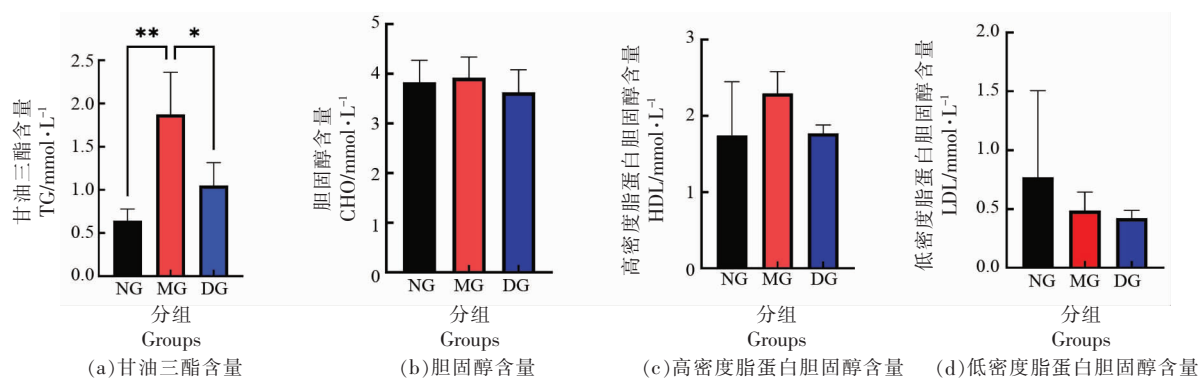


图 3 小鼠血脂指标

Fig.3 Lipid indices in mice

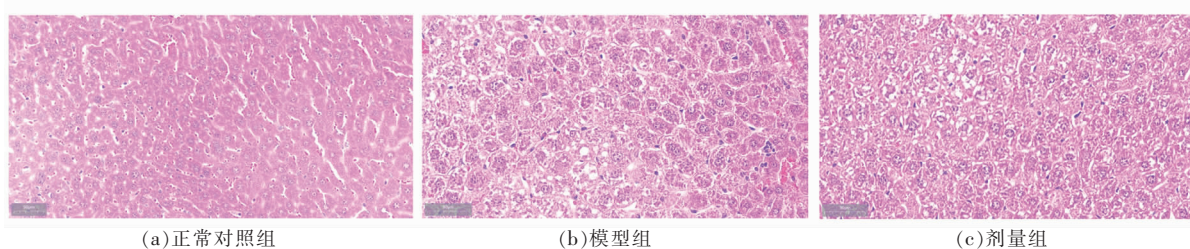


图 4 组织学观察

Fig.4 Histological observations

### 3 讨论

本研究发现,钙果复合果浆富含 6 种类胡萝卜素,其中,β-胡萝卜素含量最高,还包含 14 种多酚类物质,不仅富含儿茶素、槲皮苷和山奈酚-3-葡萄糖苷,而且芦丁的含量达到 8.345 μg/mL。钙果是中国北方特有的珍贵野生植物,由杜俊杰博士研究并精心培养,成为世界著名的“补钙水果”<sup>[20]</sup>。100 g 钙果不仅能够提供 60~79 mg 的钙,还富含 17 种氨基酸,能够适应各种饮食需求<sup>[21]</sup>。钙和磷是骨骼生长过程中的关键矿物元素,从理论角度看,合适的钙、磷比例可以增强钙、磷在骨骼中的吸收和沉淀,而食物中的钙、磷比例最好维持在 1~1.5 的范围内<sup>[22]</sup>。本研究发现,制得的钙果复合果浆中钙、磷比值为 0.843,接近 1,可基本满足人体骨骼的钙元素和磷元素的需求。另一项研究表明<sup>[23]</sup>,维生素 B<sub>2</sub> 也是儿童膳食中重要的维生素之一,2~5 岁儿童膳食中维生素 B<sub>2</sub> 摄入量为 0.6 mg。制得的钙果复合果浆中维生素 B<sub>2</sub> 含量为 0.5 mg,基本满足儿童的维生素 B<sub>2</sub> 的摄入量。综上所述,钙果复合果浆含有丰富的营养成分。

研究表明<sup>[24-25]</sup>沙棘是一种具有多种营养特性的浆果,对腹部肥胖、高血糖和血脂异常有潜在在治疗作用,沙棘浆果的活性成分可以减轻胆管结扎后大鼠纤维化的发展,减少肝损伤和炎症,并有助于恢复肝功能。枸杞也有抗氧化、抗衰老和预防糖尿病等作用,还有保肝作用<sup>[26-27]</sup>。研究还发现<sup>[28]</sup>,低强度激光与枸杞通过降低营养性肥胖大鼠的体质量、体质量指数和甘油三酯含量起到减肥效果。另一项研究表明<sup>[29]</sup>,钙果多酚的干预有助于减轻 C57BL/6 小鼠的脂肪积累,进而起到预防小鼠肥胖的作用。本实验发现,经过钙果复合果浆的干预,小鼠的体质量明显减少,同样也有效降低了血清中的甘油三酯、胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的水平,并对肝脏有一定的保护作用。

### 4 结论

以钙果复合果浆为研究对象,采用多种分析方法测定其功能成分含量,并对其抗肥胖能力进行研究。结果表明,钙果复合果浆富含多种功能成



分,包括8种无机元素、8种B族维生素、6种类胡萝卜素和17种氨基酸等。体内实验结果表明,钙果复合果浆不仅能够降低小鼠体质量,还能够显著减少肥胖小鼠体内甘油三酯、胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇以及低密度脂蛋白胆固醇的水平。本研究为钙果复合果浆的开发利用提供了理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] VIDOVIĆ B B, MILINČIĆ D D, MARČE TIĆ M D, et al. Health benefits and applications of goji berries in functional food products development: A review [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(2): 248.
- [2] 邹新, 产柳佳, 易冰, 等. 枸杞化学成分及其药理作用研究[J]. *湖北农业科学*, 2022, 61(18): 120-130.
- ZOU X, CHAN L J, YI B, et al. Studies on chemical constituents and pharmacological effects of *Lycium barbarum* [J]. *Hubei Agricultural Science*, 2022, 61(18): 120-130.
- [3] HU Z Q, NING M L, QIN S J, et al. Exploring the molecular mechanism of *Lycium barbarum* L. against breast cancer based on network pharmacology [J]. *Journal of Functional Foods*, 2023, 105: 105545.
- [4] DONG X B, QI J, XU K, et al. Effect of lactic acid fermentation and *in vitro* digestion on the bioactive compounds in Chinese wolfberry (*Lycium barbarum*) pulp [J]. *Food Bioscience*, 2023, 53: 102558.
- [5] 管松滨, 邓斌, 王超, 等. 沙棘固体饮料的研制及其抗氧化活性评价[J]. *中医药导报*, 2023, 29(7): 63-69, 73.
- GUAN S B, DENG B, WANG C, et al. Preparation of seabuckthorn solid beverage and evaluation of its antioxidant activity [J]. *Chinese Medicine Herald*, 2023, 29(7): 63-69, 73.
- [6] 王萌, 王子纯, 黄京美, 等. 沙棘黄酮类物质提取纯化及功能活性研究进展[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(2): 487-496.
- WANG M, WANG Z C, HUANG J M, et al. Research progress on extraction, purification and functional activity of flavonoids from *Hippophae rhamnoides* [J]. *Food Industry Science and Technology*, 2023, 44(2): 487-496.
- [7] MAFTEI N, IANCU A, ELISEI A M, et al. Functional characterization of fermented beverages based on soy milk and sea buckthorn powder [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(6): 1493.
- [8] LI H, YUE J H, XIA W X, et al. Exploring the beneficial effects and mechanisms of *Cerasus humilis* (Bge.) Sok fruit for calcium supplementation and promotion [J]. *Food Bioscience*, 2023, 54: 102846.
- [9] 胡小柯, 李亚, 严子柱, 等. 中华钙果研究现状概述 [J]. *中国农学通报*, 2021, 37(4): 56-61.
- HU X K, LI Y, YAN Z Z, et al. Overview of the current status of research on the Chinese calypso [J]. *Chinese Agronomy Bulletin*, 2021, 37(4): 56-61.
- [10] 程兆宇, 房磊. 蓝靛果钙果抗疲劳饮料的研制 [J]. *食品研究与开发*, 2015(20): 63-66.
- CHENG Z Y, FANG L. Development of anti-fatigue beverage of *Lonicera edulis* and *Calycarpus edulis* [J]. *Food Research and Development*, 2015(20): 63-66.
- [11] 胡思, 王超, 孙贵香, 等. 大健康产业背景下药食同源资源开发的现状与对策研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(5): 815-820.
- HU S, WANG C, SUN G X, et al. Research on the present situation and countermeasures of the development of medicine and food homologous resources under the background of big health industry [J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan*, 2021, 41(5): 815-820.
- [12] BULIK C M, HARDAWAY J A. Turning the tide on obesity? [J]. *Science*, 2023, 381(6657): 463.
- [13] 秦楠, 王辉敏, 杨金梅, 等. 复合沙棘原液对高脂血症大鼠的降脂作用 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(7): 352-358.
- QIN N, WANG H M, YANG J M, et al. Hypolipidemic effect of compound seabuckthorn stock solution on hyperlipidemia rats [J]. *Food Industry Science and Technology*, 2023, 44(7): 352-358.
- [14] 胡馨予, 卢文倩, 孙晓琪, 等. 宁夏枸杞水提物对四氧嘧啶诱导糖尿病小鼠的降糖作用 [J]. *食品与生物技术学报*, 2019, 38(3): 91-96.
- HU X Y, LU W Q, SUN X Q, et al. Hypoglycemic effect of aqueous extract of *Lycium barbarum* in Ningxia on alloxan-induced diabetic mice [J]. *Journal of Food and Biotechnology*, 2019, 38(3): 91-96.
- [15] LI S J, WANG R M, HU X P, et al. Bio-affinity

- ultra-filtration combined with HPLC-ESI-qTOF-MS/MS for screening potential  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Cerasus humilis* (Bge.) Sok. leaf-tea and in silico analysis [J]. Food Chemistry, 2022, 373 (Pt B): 131528.
- [16] 国家食品药品监督管理总局. 食品中多元素的测定: GB 5009.268-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 12-23.  
China Food and Drug Administration. Determination of multiple elements in food: GB 5009.268-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 12-23.
- [17] SALLABI S M, ALHMOUDI A, ALSHEKAILI M, et al. Determination of vitamin B<sub>3</sub> vitamers (nicotinamide) and vitamin B<sub>6</sub> vitamers in human hair using LC-MS/MS[J]. Molecules, 2021, 26(15): 4487.
- [18] 国家食品药品监督管理总局. 食品中氨基酸的测定: GB 5009.124-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 12-23.  
China Food and Drug Administration. Determination of amino acids in food: GB 5009.124-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 12-23.
- [19] 国家市场监督管理总局. 饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法: GB/T 6432-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 9-17.  
China Food and Drug Administration. Determination of crude protein in feed Kjeldahl method: GB/T 6432-2018[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018: 9-17.
- [20] 王有信, 何卫军, 李向东, 等. 欧李种质资源分布及种群分类特性研究[J]. 山西果树, 2005(6): 36-38.  
WANG Y X, HE W J, LI X D, et al. Study on the distribution and population classification characteristics of *Prunus humilis* germplasm resources [J]. Shanxi Fruit Tree, 2005(6): 36-38.
- [21] 刘娟娟, 李英, 田密, 等. 一种高钙含量的钙果无花果酸枣复合果汁饮料的研制[J]. 食品工业, 2021, 42(11): 161-166.  
LIU J J, LI Y, TIAN M, et al. Development of a compound juice beverage with high calcium content [J]. Food Industry, 2021, 42(11): 161-166.
- [22] 蔡潼玲, 陈树娣, 董超先. 深圳居民膳食中钙磷比值的测定及评估[J]. 广东化工, 2021, 48(17): 178-179.  
CAI T L, CHEN S D, DONG C X. Determination and evaluation of calcium-phosphorus ratio in Shenzhen residents' diet [J]. Guangdong Chemical Industry, 2021, 48(17): 178-179.
- [23] 郭林啸, 庞学红, 段一凡, 等. 2019-2021年中国2-5岁儿童膳食微量营养素摄入状况[J]. 卫生研究, 2023, 52(1): 60-66.  
GUO L X, PANG X H, DUAN Y F, et al. Dietary micronutrient intake of children aged 2-5 in China from 2019 to 2021 [J]. Health Research, 2023, 52(1): 60-66.
- [24] CHEN Y, CAI Y F, WANG K, et al. Bioactive compounds in sea buckthorn and their efficacy in preventing and treating metabolic syndrome [J]. Foods, 2023, 12(10): 1985.
- [25] ZHANG G K, LIU Y F, LIU P. Active components from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) regulate hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(46): 12257-12264.
- [26] 宋晶晶, 赵昊, 王伟雄, 等. 枸杞甘草配制酒对小鼠的免疫调节和体内抗氧化作用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(7): 97-104.  
SONG J J, ZHAO H, WANG W X, et al. Immune regulation and antioxidant effect of *Lycium barbarum* and *Glycyrrhiza uralensis* fisch on mice [J]. Journal of China Food, 2022, 22(7): 97-104.
- [27] 李雍, 秦勇, 刘伟, 等. 玫瑰枸杞发酵饮品对大鼠耳廓微循环的改善作用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(6): 138-143.  
LI Y, QIN Y, LIU W, et al. Effect of rose *Lycium barbarum* fermented drink on microcirculation of rat auricle [J]. Journal of China Food, 2021, 21(6): 138-143.
- [28] 罗利霞, 于敬达, 刘燕茹, 等. 低强度激光结合中药枸杞对营养性肥胖大鼠减肥效果的研究[J]. 信息记录材料, 2017, 18(3): 29-31.  
LUO L X, YU J D, LIU Y R, et al. Study on the effect of low-intensity laser combined with traditional Chinese medicine *Lycium barbarum* on weight loss in nutritional obese rats [J]. Information Recording Materials, 2017, 18(3): 29-31.
- [29] LIU S W, CHANG X D, YU J C, et al. *Cerasus humilis* cherry polyphenol reduces high-fat diet-induced obesity in C57BL/6 mice by mitigating fat deposition, inflammation, and oxidation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(15): 4424-4436.

## Functional Composition of Calcium Fruit Composite Pulp Product and the Effects of Losing Weight and Lowering Lipid

Gong Hongwei<sup>1,2</sup>, Zhang Huiling<sup>1,2</sup>, Jiang Guanyu<sup>1,2</sup>, Meng Fang<sup>1,2</sup>, Pan Siyi<sup>1,2</sup>, Tian Xiaojun<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Food Science and Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021

<sup>2</sup>Ningxia Key Laboratory of Food Microbiology Application Technology and Safety Control, Yinchuan 750021)

**Abstract** Objective: *Lycium barbarum*, *Hippophae rhamnoides* L. and calcium fruit are unique food and medicine food in the north of China, in order to develop the nutrients of three kinds of fruits at a deep level, calcium fruit pulp (purity 100%), sea buckthorn pulp (purity 100%), wolfberry pulp (purity 100%) three kinds of raw materials in accordance with the volume ratio of 2:1.5:1 mixing and blending to make a sweet and sour calcium fruit composite fruit syrup, to explore its functional composition and weight loss. Methods: Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was used to determine the trace elements of the composite fruit pulp, high-phase liquid chromatography (HPLC) was used to determine the vitamins and carotenoids, and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) was used to determine the polyphenolic compounds and organic acid compounds. An obese mouse model was established to investigate the weight loss effect of the composite fruit pulp on obese mice. The results showed that the composite fruit pulp was rich in a variety of functional components, including  $(73.671 \pm 4.918) \mu\text{g/L}$  of calcium,  $(503.333 \pm 2.054) \text{ng/mg}$  of vitamin B<sub>2</sub>, and  $(8.345 \pm 0.091) \mu\text{g/mL}$  of rutin. Compared with the model group, the dose group showed a significant decrease in the body mass of the mice and a significant decrease in the triglyceride content after the intervention of the composite fruit pulp. content was significantly reduced ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Compound fruit pulp has a significant improvement effect on obese mice, and this study provides data support for the nutritional and health care effects of calcium fruit compound fruit pulp, and provides a new nutritional intervention method for obesity prevention.

**Keywords** calcium fruit; composite fruit pulp product; functional composition; obesity; antiobesity action