

不同提取方法对黄精多糖理化特性和生物活性的影响

覃引^{1,2,3}, 徐文慧¹, 吴凯¹, 孟攀¹, 蔡菊¹, 林长松^{1*}

(1. 贵州理工学院食品药品制造工程学院, 贵州贵阳 550003) (2. 贵州大学生命科学学院, 贵州贵阳 550025) (3. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

摘要: 为比较不同提取方法对黄精多糖理化特性和生物活性的影响, 该文以黄精根茎为原料, 分别用水提法 (Water Extraction, WE)、酶解法 (Enzyme Extraction, EE)、超声辅助法 (Ultrasonic-assisted Extraction, UE) 提取黄精多糖 (*Polygonatum sibiricum* Polysaccharides, PP), 比较了不同提取方法对黄精多糖得率、化学组成、理化特性 (持油力、醇溶性、吸湿性)、生物活性 (抗氧化活性、 α -葡萄糖苷酶抑制活性、 α -淀粉酶抑制活性)、单糖组成及分子量大小的影响。结果表明: 酶解法较其他两种提取方法相比, 具有较高的得率 (8.11%)、总糖含量 (52.79%)、持油力 (5.67 g/g)、吸湿率 (25.28%) 和重均分子量 (5.343×10^5 g/mol)。三种提取方法得到的多糖对 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS⁺) 的半数抑制质量浓度 IC₅₀ (mg/mL) 分别为 0.41、0.23、0.25; 对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 的半数抑制质量浓度 IC₅₀ (mg/mL) 分别为 0.19、0.16、0.18; 对 α -葡萄糖苷酶的半数抑制质量浓度 IC₅₀ (mg/mL) 分别为 2.14、1.98、2.06; 对 α -淀粉酶的半数抑制质量浓度 IC₅₀ (mg/mL) 分别为 0.62、0.41、0.58。三种多糖均为酸性多糖, 单糖组成以葡萄糖为主。通过红外光谱检测到 3 种多糖均具有多糖特征官能团, 电镜扫描结果呈现不同的结构特征。综上, 不同提取方法对黄精多糖的理化特性、生物活性、单糖组成和微观结构的影响有差异, 酶解法是一种可以提高多糖理化性质和生物活性的有效方法, 黄精多糖具有一定生物活性和可开发利用价值。

关键词: 黄精; 多糖; 提取方法; 抗氧化活性; α -葡萄糖苷酶抑制活性; α -淀粉酶抑制活性; 理化性质

文章编号: 1673-9078(2024)03-142-152

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.3.0112

Effects of the Physicochemical Properties and Biological Activities of *Polygonatum sibiricum* Polysaccharides Extracted by Different Extraction Methods

QIN Yin^{1,2,3}, XU Wenhui¹, WU Kai¹, MENG Pan¹, CAI Ju¹, LIN Changsong^{1*}

(1. College of Food and Drug Manufacturing Engineering, Guizhou Institute of Technology, Guiyang 550003, China)

(2. College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

(3. College of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

引文格式:

覃引, 徐文慧, 吴凯, 等. 不同提取方法对黄精多糖理化特性和生物活性的影响[J]. 现代食品科技, 2024, 40(3): 142-152.

QIN Yin, XU Wenhui, WU Kai, et al. Effects of the physicochemical properties and biological activities of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides extracted by different extraction methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(3): 142-152.

收稿日期: 2023-02-06

基金项目: 贵阳市科技局人才项目 (筑科合同 (2024)2-1 号); 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑 [2019]2381); 贵州省科技计划项目 (黔科合基础-ZK[2023]一般 136); 贵州省本科教学质量工程项目 (201533706); 贵州理工学院学术新苗项目 (GZLGM-23); 贵州理工学院高层次人才科研启动经费项目 (XJGC20190922); 国家级大学生创新创业训练项目 (202014440055)

作者简介: 覃引 (1985-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 功能食品开发与应用, E-mail: 1131863416@qq.com

通讯作者: 林长松 (1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 药食两用植物开发与应用, E-mail: 627800499@qq.com

Abstract: To compare the effects of different extraction methods on the physicochemical properties and biological activities of polysaccharides extracted from *Polygonatum sibiricum*, the rhizomes and roots of *P. sibiricum* were used as raw materials and PP was extracted using water extraction (WE), enzyme extraction (EE), and ultrasonic-assisted extraction (UE) methods. This study compared the yields, chemical compositions, oil-holding capacities, alcohol solubility, hygroscopicity, antioxidant activities, the α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities, monosaccharide compositions, and molecular weights of PP extracted using different methods. The results showed that, compared with the other two extraction methods, EE gives a higher yield (8.11%), a higher total sugar content (52.79%), greater oil-holding capacity (5.67 g/g), higher hygroscopicity (25.28%), and a higher weight-average molecular weight (5.343×10^5 g/mol). The half-maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of the three polysaccharides obtained against 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{•+}) were 0.41, 0.23, and 0.25 mg/mL, respectively. Meanwhile, the IC_{50} values against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl were 0.19, 0.16, and 0.18 mg/mL, respectively. The IC_{50} values against α -glucosidase were 2.14, 1.98, and 2.06 mg/mL, respectively, whereas those against α -amylase were 0.62, 0.41, and 0.58 mg/mL, respectively. All three polysaccharides are acidic polysaccharides, while the monosaccharides are mainly composed of glucose. Infrared spectroscopy indicated that all three polysaccharides have characteristic polysaccharide functional groups, and electron microscopy reveals different structural features. In short, different extraction methods have different effects on the physicochemical properties, biological activities, monosaccharide composition, and microstructure of polysaccharides of *P. sibiricum*. EE is an effective method to improve the physicochemical properties and biological activities of polysaccharides, and polysaccharides extracted from *P. sibiricum* have certain biological activities and development value.

Key words: *Polygonatum sibiricum*; polysaccharides; extraction method; antioxidant activity; α -glucosidase inhibitory ability; α -amylase inhibitory ability; physicochemical properties

黄精 (*Polygonatum*) 属于百合科 (Liliaceae) 植物, 多分布在我国西南地区以及东北地区, 如云南、四川、贵州、河北、辽宁、黑龙江等地, 是一种药食同源品种^[1]。相关药理学研究表明, 黄精根茎中富含的黄精多糖具有抗氧化、降血糖、降血脂、消炎、提高免疫力、抗疲劳、抗肿瘤等功效^[2,3], 在食品、医疗等方面具有广阔的应用开发前景。

多糖广泛存在于植物体内, 是植物细胞代谢过程中产生的由 α - 或 β - 糖苷键连接、聚合度超过 10 个的化合物, 是植物体内重要的活性物质^[4]。多糖生物活性与化学结构紧密相关, 而多糖的化学结构很大程度上受提取方式影响。目前常用于黄精多糖的提取方法有水提法、复合酶解法、碱法、微波辅助提取法、超声辅助提取法等。近年来, 黄精多糖的研究主要涉及提取方法、含量测定和活性研究方面。如梁朋光等^[5]等利用动态超高压微射流法提取黄精多糖, 通过强烈的机械运动促使植物细胞壁发生破碎, 提高细胞通透性, 使得得率提升, 并证明具有 DPPH 自由基清除能力、 α - 葡萄糖苷酶抑制活性和酪氨酸酶抑制活性。王莹等^[6]采用超声辅助复合酶法提取黄精多糖, 其得率比水提法高 3.75 倍, 并证明酶量添加量是影响得率的关键因素, 可能原

因是酶与多糖的结合点越多, 细胞壁溶解越快, 越有利于多糖的溶出。Wang 等^[7]用水提法并经层析柱分离纯化后得到的黄精多糖 PSP1 具有较高的含量和抗氧化性, 电镜显示 PSP1 表面结构光滑但不规则, 并观察到一些珠状结构, 推测 PSP1 可用于药物输送系统设计的封装目的。现有研究中少有关于不同提取方法对黄精多糖理化特性、单糖组成、生物活性及结构特征影响的系统性报道。

本研究比较了水提法 (Water Extraction, WE)、酶解法 (Enzyme Extraction, EE) 和超声辅助提取法 (Ultrasonic-assisted Extraction, UE) 提取黄精多糖 (*Polygonatum sibiricum* Polysaccharides, PP) 的得率、化学组成、理化特性 (持油力、醇溶性、吸湿性)、抗氧化活性、 α - 葡萄糖苷酶和 α - 淀粉酶抑制活性、单糖组成和多糖分子量的影响, 并对提取方法、理化性质、生物活性和结构特征之间的关系进行了初步分析, 为黄精的综合开发利用提供一定的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄精, 购自重庆市綦江区翌雪农业有限公司; 9

种单糖标准品、没食子酸标准品, 中国药品生物制品检定所; 纤维素酶 (酶活力 $\geq 50\ 000\ \text{U/mg}$)、木瓜蛋白酶 (酶活力 $\geq 10\ 000\ \text{U/mg}$)、 α -淀粉酶 (酶活力 $\geq 50\ \text{U/mg}$)、 α -葡萄糖苷酶 (酶活力 $\geq 10\ \text{U/mg}$)、苯酚、浓硫酸、无水乙醇、福林酚、四硼酸钠、间羟基联苯、考马斯亮蓝、牛血清蛋白、3,5-二硝基水杨酸 (3,5-dinitrosalicylic Acid, DNS)、对硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷 (4-Nitrophenyl β -D-Glucopyranoside, pNPG) 等 (均为分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 三氟乙酸: ANPEL (色谱纯); 氢氧化钠: Sigma (色谱纯); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH), 梯希爱上海化成工业发展有限公司; 2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐 [2,2'-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid Ammonium Salt, ABTS)]: Sigma 分装; 实验用水为蒸馏水。

1.2 仪器与设备

FA224 电子天平, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; UV2400 紫外可见光光度计, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; DK-98-II A 电热恒温水浴锅, 天津市泰斯特仪器有限公司; PHSJ-4A 型 pH 计, 上海盛磁仪器有限公司; 智能型电热恒温鼓风干燥箱, 上海琅环实验设备有限公司; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; HR21M 立式高速冷冻离心机, 湖南赫西仪器装备有限公司; KQ3200E 型台式机械超声波清洗器, 东莞市科桥超声波设备有限公司; Nova Nano SEM 450 热场发射扫描电子显微镜, 美国 FEI 公司; VERTEX 80 傅里叶红外光谱仪, 德国 BRUKER 公司; Thermo ICS5000+ 离子色谱系统, 美国赛默飞公司; Thermo U3000 凝胶色谱系统, 美国赛默飞公司。

1.3 实验方法

1.3.1 黄精粗多糖的提取工艺流程及操作要点

将 $60\ ^\circ\text{C}$ 干燥至恒重的黄精块茎打成粉末、过 80 目筛, 取 300 g 黄精粉末, 加入到石油醚 (1:5, m/V) 中 $50\ ^\circ\text{C}$ 回流脱脂 1 h^[8]。水提 (WE) 样品^[9]用 50 g 脱脂后的黄精粉末溶于 1 000 mL 蒸馏水在 $80\ ^\circ\text{C}$ 下水浴提取 80 min; 酶解 (EE) 样品^[10]用 50 g 脱脂后的黄精粉末按 1:40 的料液比溶于 1 g 复合酶溶液中 (pH 值 5.0, 纤维素酶%: 木瓜蛋白酶%=1:1), 在 $50\ ^\circ\text{C}$ 条件下提取 50 min 后 $100\ ^\circ\text{C}$ 沸水浴灭酶 10 min; 超声辅助提取 (UE) 样

品^[11]用 50 g 脱脂后的黄精粉末溶于 1 000 mL 蒸馏水在 $800\ \text{W}$ ($40\ \text{kHz}$)、 $50\ ^\circ\text{C}$ 条件下提取 80 min 后冷却至室温。提取结束, 滤纸过滤, 滤液用 Seavage 法除蛋白, 除蛋白后用旋转蒸发器对滤液浓缩至小于 15 mL, 用蒸馏水定容至 20 mL, 然后向多糖溶液中加入 80 mL 无水乙醇, 震荡后立即转移至离心管, 静置 12 h 后以 $4\ 000\ \text{r/min}$ 的转速离心 10 min, 得到多糖沉淀后, 用无水乙醇清洗 3 次, 蒸馏水透析 (截留分子量为 $3\ 000\ \text{u}$) 48 h, 透析液浓缩, 经冷冻干燥得到黄精粗多糖 PP-WE、PP-EE、PP-UE, 保存, 备用。

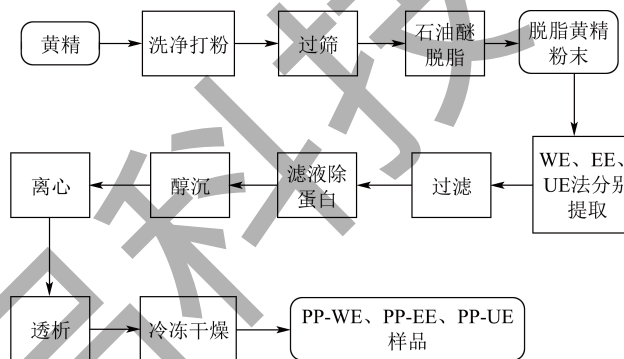


图1 黄精多糖提取工艺流程图

Fig.1 Processing of extraction of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide

1.3.2 多糖化学组成的测定

提取出的粗多糖中通常会含有其他化学组分, 糖醛酸和蛋白质的含量是首先需要确定的。通过测定糖醛酸的含量可判断提取的粗多糖是中性多糖还是酸性多糖, 测定蛋白质的含量可以判断提取过程中是否除尽蛋白, 蛋白含量越低, 代表多糖纯度就越高。本文采用苯酚-硫酸法、考马斯亮蓝法、羟基联苯比色法分别测定 PP-WE、PP-EE、PP-UE 多糖中的总糖含量、蛋白含量和糖醛酸含量。

参考王彦平等^[12]方法稍作修改, 将 6% 的苯酚溶液 1.0 mL、浓硫酸溶液 5.0 mL 先后分别加入到葡萄糖标准溶液和黄精多糖溶液中, 混匀, 在 490 nm 波长处测吸光度值, 按式 (1) 计算多糖得率、按式 (2) 计算多糖含量。

$$Y = \frac{c \times v \times n}{M_0} \times 100\% \quad (1)$$

$$H = \frac{c \times v \times n}{M_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

Y——多糖得率, %;

H —多糖含量, %;
 M_0 —样品的质量, g;
 M_1 —粗多糖的质量, g;
 c —粗多糖质量浓度, g/mL;
 v —粗多糖体积, mL;
 n —样液稀释倍数。

参考沈育伊等^[13]方法稍作修改, 将 5 mL 马斯亮蓝 G-250 溶液分别加入到牛血清蛋白标准溶液和黄精多糖溶液中, 混匀, 在 595 nm 处测吸光度值。

参考朱明月等^[14]的方法稍作修改, 将 0.0125 mol/L 四硼酸钠-硫酸溶液 5 mL、0.15% 间羟联苯溶液 100 μ L 先后分别加入到 D-葡萄糖醛酸标准溶液和黄精多糖溶液中, 混匀, 在 525 nm 波长处测吸光度值。

1.3.3 多糖理化性质的测定

持油力的测定参考 Chen 等^[15]方法稍作修改: 分别取干燥的 PP-WE、PP-EE、PP-UE 各 0.50 g, 与 10 mL 的菜籽油混匀离心, 将上清液和多糖分离后再次称重。持油力按式 (3) 计算:

$$O = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \quad (3)$$

式中:

O —持油力, g/g;
 W_1 —样品质量, g;
 W_2 —黄精多糖残渣质量, g。

醇溶性的测定参考王艺涵等^[16]方法稍作修改: 分别取干燥的 PP-WE、PP-EE、PP-UE 各 0.50 g, 放入 $\varphi=60\%$ 乙醇溶液中, 充分溶解后 3 000 r/min 离心 20 min, 吸取上清液并干燥至恒重, 多糖在乙醇中的溶解度按式 (4) 计算:

$$S = \frac{m}{M} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

S —溶解度, %;
 m —乙醇中溶解的多糖质量, g;
 M —粗多糖样品的质量, g。

吸湿性的测定参考戴宏杰等^[17]的方法稍作修改: 分别取干燥的 PP-WE、PP-EE、PP-UE 各 20.00 mg, 置于培养皿中, 在恒定条件 (温度为 20 $^{\circ}$ C、相对湿度为 85%) 下放置 12 h 后, 对样品称重。吸湿率按式 (5) 计算:

$$B = \frac{M_{后} - M_{前}}{M_{前}} \times 100\% \quad (5)$$

式中:

B —吸湿率, %;

$M_{前}$ —样品吸湿前的质量, g;

$M_{后}$ —样品吸湿后的质量, g。

1.3.4 抗氧化性测试

1.3.4.1 ABTS⁺自由基清除率测定

参考 Liu 等^[18]方法稍作修改测定 ABTS⁺ 自由基清除活性: 取 7.4 mmol/L 的 ABTS⁺ 溶液与 2.6 mmol/L 的 K₂S₂O₈ 溶液等体积混合, 避光室温放置 12 h 后得到 ABTS⁺ 溶液。加蒸馏水稀释使其在波长 734 nm 处吸光度为 0.70 时, 将 150 μ L 的 ABTS⁺ 溶液分别加入到 250 μ L 不同质量浓度 (0.2~1.0 mg/mL) 的三种粗多糖溶液 (PP-WE、PP-EE、PP-UE) 中暗室反应 6 min。按式 (6) 计算 ABTS⁺ 自由基清除率:

$$S_d = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (6)$$

式中:

S_d —ABTS⁺ 自由基清除率, %;
 A_1 、 A_2 、 A_0 —测试组、对照组、空白组吸光度值。

1.3.4.2 DPPH 自由基清除率测定

参考 Floegel 等^[19]方法稍作修改测定 DPPH 自由基清除活性: 将 0.2 mmol/L 的 DPPH·乙醇水溶液 250 μ L 分别加入到 500 μ L 不同质量浓度 (0.2~1.0 mg/mL) 的三种粗多糖溶液 (PP-WE、PP-EE、PP-UE) 中暗室反应 30 min, 在 517 nm 处测其吸光度, 按式 (7) 计算 DPPH 自由基清除率:

$$S_D = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (7)$$

式中:

S_D —DPPH 自由基清除率, %;
 A_1 、 A_2 、 A_0 —测试组、对照组、空白组吸光度值。

1.3.5 体外降 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性

1.3.5.1 α -葡萄糖苷酶抑制活性

参考 Purnomo 等^[20]描述的方法稍作修改测定 α -葡萄糖苷酶抑制活性: 将 100 μ L 的 α -葡萄糖苷酶 (0.1 U/mL) 分别加入到 300 μ L 不同质量浓度 (0.2~1.0 mg/mL) 的三种粗多糖溶液 (PP-WE、PP-EE、PP-UE) 中于 37 $^{\circ}$ C 下水浴 15 min。加入 25 mmol/L pNPG 溶液 0.25 μ L 混匀、保持 30 min。最后加入 0.1 mol/mL Na₂CO₃ 溶液 2 mL 终止反应, 于 400 nm 处测定吸光度。按式 (8) 计算 α -葡萄糖苷酶抑制率:

$$I_g = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (8)$$

式中:

I_g — α -葡萄糖苷酶抑制率, %;

A_1 、 A_2 、 A_0 —测试组、对照组、空白组吸光度值。

1.3.5.2 α -淀粉酶抑制活性

参考 Prasad 等^[21]的方法作修改测定 α -淀粉酶抑制活性: 将 100 μL 的 α -淀粉酶 (0.1 U/mL) 分别加入到 100 μL 不同质量浓度 (0.2~1.0 mg/mL) 的三种粗多糖溶液 (PP-WE、PP-EE、PP-UE) 中于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 10 min, 加入 100 μL 、1% 淀粉溶液 (m/V) 继续 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 20 min。最后加入 50 μL 、1% 的 DNS 溶液终止反应, 冷却至室温, 在 540 nm 处测得吸光值。按式 (9) 计算 α -淀粉酶抑制率:

$$I_a = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (9)$$

式中:

I_a — α -淀粉酶抑制率, %;

A_1 、 A_2 、 A_0 —测试组、对照组、空白组吸光度值。

1.3.6 单糖组分分析

分别称取一定量的 PP-WE、PP-EE、PP-UE 样品, 加入 1 mL、2 mol/L 三氟乙酸溶液 (TFA), 110 $^{\circ}\text{C}$ 油浴 2 h, 水解液冷却后, 通氮气, 吹干多余 TFA。加甲醇清洗, 再吹干, 重复 2~3 次。水解后的多糖样品分别溶于 500 μL 的 0.3 mol/L NaOH 溶液中, 加入 500 μL 的 0.5 mol/L PMP 溶液, 70 $^{\circ}\text{C}$ 反应 1 h, 冷却后加入 500 μL 的 0.3 mol/L HCl 进行中和反应, 用 CH_2Cl_2 反复萃取除去 PMP, 最后取上清过 0.22 μm 的有机膜, 待测^[22]。单糖标准品也按上述步骤进行处理, 通过标准曲线计算样品中单糖组成含量。各组分含量按式 (10) 计算, 各组分含量百分比按式 (11) 计算。

采用高效阴离子交换色谱 (HPAEC)、Dionex™ CarboPac™ PA20 (150 \times 3.0 mm, 10 μm) 液相色谱柱、脉冲安培检测器 (PAD; Dionex ICS 5000+ 系统) 进行单糖组分分析。色谱条件: 流速, 0.5 mL/min; 进样量, 5 μL ; 流动相 A (ddH₂O)、B (0.1 mol/L NaOH), C (0.1 mol/L NaOH, 0.2 mol/L NaAc); 梯度洗脱程序设置如下: A:B:C ($V/V/V$), 0~26 min 95:5:0; 26~42 min 85:5:10; 42~52 min 60:0:40; 52~60 min 95:5:0; 60 min 95:5:0。

$$m = \frac{c \times v \times f}{M} \quad (10)$$

$$X_i = \frac{m}{\sum m_i} \times 100\% \quad (11)$$

式中:

m —各组分含量, $\mu\text{g}/\text{mg}$;

c —仪器读取质量浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$;

v —样品取样体积, mL;

f —稀释倍数;

M —样品称取总量, mg;

X_i —各组分含量百分比, %。

1.3.7 GPC-RI-MALLS法测定多糖分子量

采用 GPC-RI-MALLS (凝胶色谱-激光光散射-示差检测器连用) 法测定多糖样品的绝对分子量。参考 Zhang^[23]将样品溶解在 0.1 mol/L NaNO₃ 水溶液 (含 0.02% NaN₃, m/m) 中, 终质量浓度为 1 mg/mL, 并通过孔径为 0.45 μm 的过滤器过滤后上机检测。色谱条件如下: 采用凝胶排阻色谱柱 (Ohpak SB-805 HQ (300 mm \times 8 mm), Ohpak SB-804 HQ (300 mm \times 8 mm) 和 Ohpak SB-803 HQ (300 mm \times 8 mm) 串联使用, 柱温 45 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 100 μL , 流动相: 0.1 mol/L NaNO₃ (含 0.02% NaN₃, m/m), 流速 0.5 mL/min, 洗脱梯度: 等度 100 min。利用 Astra 软件 (第 6.1.2.84 版) 进行色谱数据采集和分析。

1.3.8 傅立叶红外光谱测定

参考 Xu 等^[24]方法稍作修改, 分别取少量 PP-WE、PP-EE、PP-UE, 与溴化钾以 1:100 的比例混合, 研磨、均匀、压片, 然后将压片置于傅立叶红外光谱仪上进行扫描, 并记录在 500~4 000 cm^{-1} 之间的光谱。

1.3.9 电镜 (SEM) 扫描

参考 Huang 等^[25]方法稍作修改, 分别取少量 PP-WE、PP-EE、PP-UE 样品充分研磨 15 min 以上后压实成块状。块状样品经 30 s 喷金处理后, 使其导电。在 10 kV 电压下通过扫描电镜 (Nova Nano. SEM450, FEI 公司, 美国) 的背散射电子对样品表面进行形貌观察。

1.3.10 数据处理与分析

所有实验做 3 次平行, 数据采用“平均值 \pm 标准差”表示, 用 Origin 9.0、SPSS 19.0 软件对数据进作图与统计分析, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 不同提取方法对多糖得率和化学组成的影响

不同提取方法对多糖得率及其化学组成结果见表 1。由表 1 可知, PP-WE、PP-EE、PP-UE 在多糖

的得率、总糖含量、蛋白含量和糖醛酸含量存在显著差异。PP-WE、PP-EE、PP-UE 中均含有糖醛酸,说明三者均为酸性多糖。在剧烈的水解条件下,容易发生脱羧反应。三种方法所得多糖的得率分别为 4.41%、8.11% 和 5.41%;总糖含量分别为 40.22%、52.79%、33.25%;蛋白含量分别为 3.56、3.29、4.03 mg/g;糖醛酸含量分别 12.69%、9.85%、8.75%。Sevage 法一般无法除去多糖中的游离蛋白,因此,三种提取方法得到的粗多糖均中含有少量蛋白。整体来看,多糖的得率和与化学组成受提取方法影响显著,酶解法多糖的得率相对最高,其总糖含量也相对较高,这可能是由于酶降解了植物细胞壁中的纤维素和果胶,从而使多糖得以充分地释放^[26]。方嘉沁等^[27]在研究中的结果表明,酶辅助法提取多糖的得率比热水浸提法和超声辅助提取法高,对应其值分别为 4.08%、2.51%、3.91%,变化趋势与文本一致。

表 1 不同提取方法提取黄精多糖的得率及化学组成 (%)

Table 1 The yield and chemical composition of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides extracted by different methods

样品	得率	总糖含量	蛋白含量	糖醛酸含量
PP-WE	4.41±0.33 ^c	40.22±0.29 ^e	3.56±0.03 ^b	12.69±0.25 ^b
PP-EE	8.11±0.25 ^b	52.79±0.15 ^a	3.29±0.17 ^a	9.85±0.16 ^d
PP-UE	5.41±0.58 ^a	33.25±0.38 ^b	4.03±0.14 ^c	8.75±0.88 ^c

注:每列中数值后面的不同字母表示同列之间有显著差异 ($P < 0.05$)。表 2 同。

2.2 黄精多糖的理化特性分析

不同提取方法下多糖理化特性的结果见表 2。酶解法提取的多糖较其他两种提取方法具有更好的持油力 (5.67 g/g) 和吸湿率 (25.28%),而水提法具有较高的醇溶性 (86.50%)。持油力高,表明多糖分子量和粘度相对较大。醇溶性高,表明多糖中含有较多的 -OH 等极性基团,其分子极性大,更容易溶于乙醇溶液中。水提法得到的多糖中含有较多具备亲水基团的糖醛酸,能够极大地改变多糖的溶解性。吸湿性高,可能与多糖的极性、结构特征以及孔隙率等有关,多糖与水分子结合后会形成网状结构,能更好地保持水分。王艺涵等^[16]的研究表明,酶提法得到的银耳多糖醇溶性和吸湿性较酸提法、碱提法高。这可能与三种多糖的分子量有关,分子量越小的多糖含有更多亲水基团,其分子极性大、吸湿性高。

表 2 不同提取方法提取多糖的持油力、醇溶性和吸湿率

Table 2 Oil holding capacity, alcohol soluble capacity and hygroscopic capacity of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides extracted by different methods

样品	持油力/(g/g)	醇溶性/%	吸湿率/%
PP-WE	3.43±0.29 ^c	86.50±0.52 ^c	16.22±0.48 ^c
PP-EE	5.67±0.25 ^a	77.61±0.46 ^a	25.28±0.4 ^a
PP-UE	5.02±0.10 ^b	66.56±0.47 ^b	20.00±0.38 ^b

2.3 抗氧化活性分析

PP-WE、PP-EE 和 PP-UE 三种黄精多糖的抗氧化活性结果如图 2 所示。由图 2 可知,PP-WE、PP-EE 和 PP-UE 都呈现出一定的抗氧化活性,并且随着质量浓度的增加,抗氧化活性也呈现上升趋势,在一定的质量浓度范围内,多糖 ABTS⁺ 和 DPPH· 的清除率呈现出剂量依赖式增长。其中,PP-EE 的抗氧化活性总体高于 PP-WE 和 PP-UE,在多糖质量浓度为 1.0 mg/mL 时,PP-EE 对分别 ABTS⁺ 和 DPPH· 得清除率最高可达 24.36%、13.34%。经计算,PP-WE、PP-EE 和 PP-UE 清除 ABTS⁺ 自由基的 IC₅₀ 从大到小分别为 PP-WE (0.41 mg/mL) > PP-UE (0.25 mg/mL) > PP-EE (0.23 mg/mL);清除 DPPH 自由基的 IC₅₀ 从大到小依次为 PP-WE (0.19 mg/mL) > PP-UE (0.18 mg/mL) > PP-EE (0.16 mg/mL),由此可得其抗氧化能力由强到弱依次为:PP-EE > PP-UE > PP-WE。徐丛玥等^[28]的研究结果表明,用酶法、超声波法和水提法提取的米邦塔仙人掌粗多糖对 ABTS⁺ 和 DPPH· 都有一定的清除作用。三种提取方法得到的多糖对 DPPH· 的半数抑制质量浓度 IC₅₀ 分别为 11.04、85.80、>100 mg/mL;对 ABTS⁺ 的清除作用整体趋势是酶法 > 超声波法 > 水提法。以上结果与本文趋势一致。

影响多糖抗氧化的因素不是单一的,与其结构特点和化学组成有关。多糖起抗氧化的作用可能是多糖羟基上的电子或氢键,向 DPPH 中的自由基提供氢原子,与自由基相互反应,导致 DPPH 自由基减少,从而表现出较强抗氧化活性^[29]。抗氧化活性能力同样受多糖内部的取代基和糖苷键的影响。PP-WE 的抗氧化活性高于 PP-UE,这可能跟糖醛酸含量有关,在基团和结构特点上,糖醛酸能增强多糖的抗氧化能力^[30];糖醛酸含量高的多糖,其抗氧化活性也相对较高。

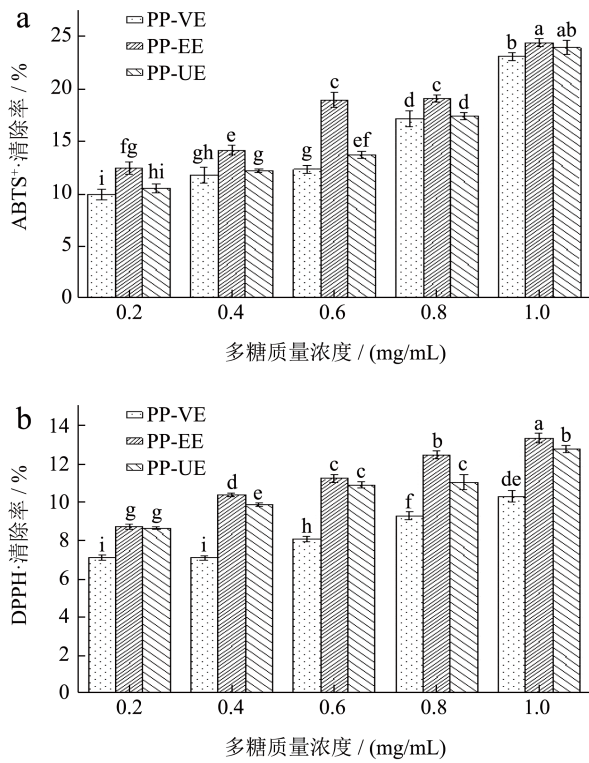


图2 PP-WE、PP-EE、PP-UE对ABTS⁺ (a)和DPPH· (b)清除率比较

Fig.2 Comparison of ABTS⁺ scavenging ability (a) and DPPH· scavenging ability (b) of PP-WE, PP-EE, PP-UE

注：图中小写字母不同表示差异性显著 (P < 0.05)。下同。

2.4 体外α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶的抑制作用

PP-WE、PP-EE和PP-UE三种黄精多糖对α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶的抑制作用见图3。由图3可知，PP-WE、PP-EE和PP-UE对α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶有一定的抑制作用，并且在一定质量浓度范围内，多糖抑制作用的增长依赖于剂量。PP-EE对α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶的抑制作用显著高于PP-WE和PP-UE。在多糖质量浓度为1.0 mg/mL时，PP-EE分别对α-葡萄糖苷酶和α-淀粉酶的最高抑制率分别为50.98%、73.60%。经计算，三种多糖抑制α-葡萄糖苷酶的IC₅₀从大到小依次为：PP-WE (2.14 mg/mL) > PP-UE (2.06 mg/mL) > PP-EE (1.98 mg/mL)；抑制α-淀粉酶的IC₅₀从大到小依次为：PP-WE (0.62 mg/mL) > PP-UE (0.58 mg/mL) > PP-EE (0.41 mg/mL)，由此可得其降血糖能力由强到弱依次为：PP-EE > PP-UE > PP-WE。田颖鹏等^[31]的研究结果表明，用酶提法和水提法得到的覆盆子多糖对α-葡萄糖苷酶的半

数抑制质量浓度IC₅₀分别为3.81、5.37 mg/mL；对α-淀粉酶的半数抑制质量浓度IC₅₀分别为2.50、2.80 mg/mL，这与本文趋势一致。

PP-EE具有较高抑制糖苷酶活性的原因可能是由于酶解法加入酶，促进黄精多糖的糖苷键断裂，使更多的基团得以充分暴露，使得多糖分支链中的羟基和羧基与糖苷酶中的氨基酸残基相互作用，与活性部位发生可逆性结合，产生竞争性抑制，从而抑制糖苷酶活性^[32]，最终实现降血糖的目的^[33]。

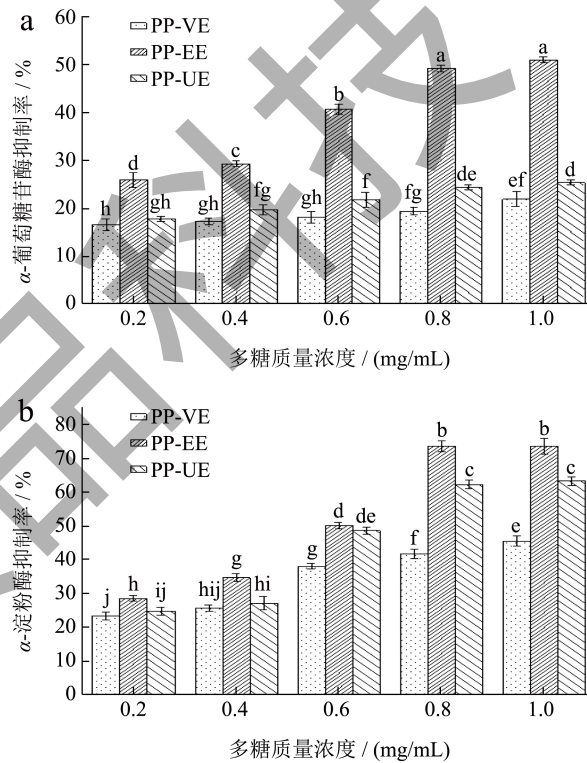
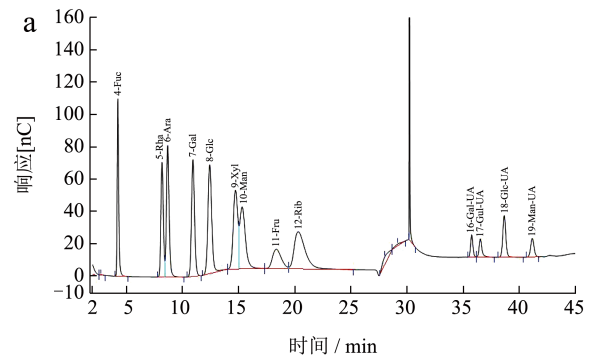


图3 PP-WE、PP-EE、PP-UE对α-葡萄糖苷酶 (a)和α-淀粉酶 (b)抑制率的比较

Fig.3 Comparison of α-glucosidase inhibitory ability (a) and α-amylase inhibitory ability (b) of PP-WE, PP-EE, PP-UE

2.5 单糖组分分析



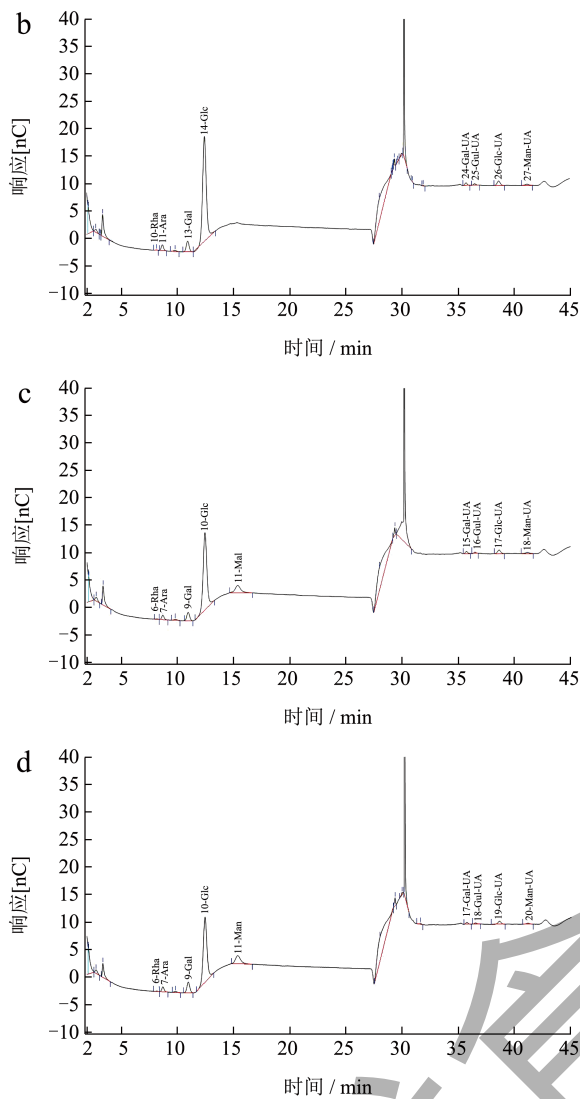


图4 单糖标准品(a)、PP-WE(b)、PP-EE(c)、PP-UE(d)的离子色谱图分析

Fig.4 Ion chromatography analysis of the monosaccharides standards(a), PP-WE(b), PP-EE(c), PP-UE(d)

通过比较单糖标准品和样品的保留时间，确定了三种多糖的单糖组成。单糖标准品、PP-WE、PP-EE 和 PP-UE 的离子色谱图如图4所示、单糖组成结果见表3。从表3可知，三种多糖均为酸性多糖，主要构成的单糖组分是Glc。PP-WE由8种单糖组成，PP-EE和PP-UE由9种单糖组成，PP-WE中未检测到Man，说明提取方法影响着多糖的单糖组分。PP-WE中Gal-UA(10.88%)、Gul-UA(6.49%)、Glc-UA(10.39%)三种糖醛酸含量均高于PP-EE和PP-UE，可能原因是水提法优先作用于糖醛酸附近的糖苷键^[34]，这与化学组成中糖醛酸含量最高、理化性质中醇溶性最高相吻合。PP-EE中Glc(57.45%)，这与化学组成中总糖含量最高相一致。PP-UE中Man(12.51%)含量仅次于Glc(46.04%)，

推测PP-UE中Glc、Man为主链单元。PP-WE、PP-EE、PP-UE中同时含有Rha、Ara、Gal、Glc，表明其糖链可能存在分支^[35]。

表3 PP-WE、PP-EE和PP-UE的单糖组成(%, 质量分数)

Table 3 The monosaccharide composition of PP-WE、PP-EE and PP-UE

单糖组成	样品		
	PP-WE	PP-EE	PP-UE
鼠李糖(Rha)	2.40	2.17	2.62
阿拉伯糖(Ara)	0.16	0.21	0.26
半乳糖(Gal)	5.41	4.74	6.91
葡萄糖(Glc)	49.04	57.45	46.04
甘露糖(Man)	0.00	10.68	12.51
半乳糖醛酸(Gal-UA)	10.88	10.80	9.89
葡萄糖醛酸(Gul-UA)	6.49	5.53	5.80
甘露糖醛酸(Glc-UA)	10.39	9.57	9.46
古罗糖醛酸(Man-UA)	6.82	7.27	6.53

2.6 多糖分子量测定分析

分子量是代表多糖理化特性的重要因素，甚至一些生物活性也取决于分子量大小。包括多糖在内的聚合物，没有一个固定的分子量，而是不同分子量同系物的混合体系。因此聚合物分子量是一个平均值，有一个分布的概念。这种分子量的不均一性，称作聚合物的多分散性。高聚物样品的多分散性通常采用多分散系数来表征(如重均分子量与数均分子量的比值)^[23]。

表4 PP-WE、PP-EE和PP-UE的分子量、分散指数

Table 4 The molecular weight, polydispersity of PP-WE、PP-EE、PP-UE

项目		样品		
		PP-WE	PP-EE	PP-UE
分子量 ($\times 10^5$ g/mol)	M_w	5.232	5.343	5.302
	M_n	4.612	4.858	4.834
	M_z	5.772	5.805	5.769
分散系数	M_w/M_n	1.134	1.1	1.097

经GPC-MALLS-RI法测定的PP-WE、PP-EE和PP-UE的分子量见表4。PP-EE的重均分子量(M_w)、数均分子量(M_n)及Z均分子量(M_z)较PP-WE、PP-UE高，分别为 5.343×10^5 、 4.858×10^5 、 5.805×10^5 g/mol，说明提取方法对多糖分子量有影响。三种多糖的多分散指数 M_w/M_n (指分子量分布宽度指数)分别为1.134、1.1和1.097，说明聚合

物链的长度相差不大^[36]。

2.7 傅立叶红外光谱分析

PP-WE、PP-EE 和 PP-UE 三种黄精多糖的红外光谱图如图 6 所示。由图 6 可知, 在 $3\ 394.29\ \text{cm}^{-1}$ 处有强宽带, 呈现典型的 -OH 的拉伸振动的特征峰^[37]; 在 $2\ 931.43\ \text{cm}^{-1}$ 处有弱带, 呈现 C-H 基团 (C-H、 CH_2 、 CH_3) 的伸缩和弯曲振动的特征峰, 这是糖的特征吸收峰^[7,38]; 在 $1\ 631.43\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 738.76\ \text{cm}^{-1}$ 处显现的吸收峰是由 C=O 和羧酸 (COO-) 不对称拉伸振动引起的^[39], 据此推测黄精多糖中有结合水的存在, 推测为糖醛酸。在 $931.43\ \text{cm}^{-1}$ 和 $817.59\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰是由吡喃环的不对称拉伸振动引起的^[40]。综上, 不同提取方法得到的多糖的具有相似的特征官能团。

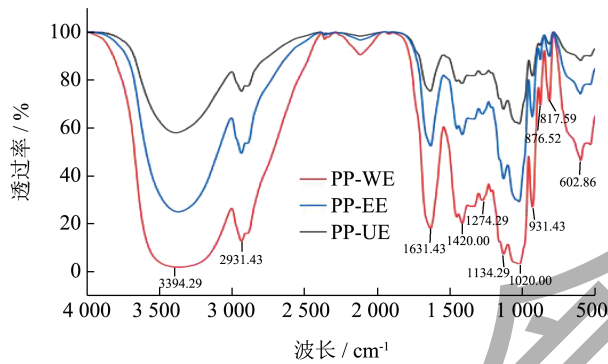


图 5 PP-WE、PP-EE、PP-UE 的 FT-IR 光谱
Fig.5 FT-IR spectra of PP-WE、PP-EE、PP-UE

2.8 扫描电镜分析

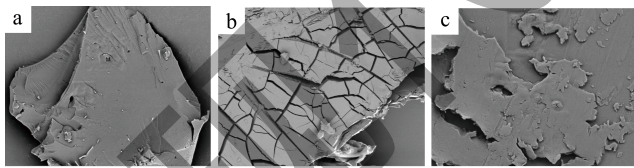


图 6 PP-WE(a)、PP-EE(b)、PP-UE(c) 的电镜扫描图
(5 000×)

Fig.6 The SEM images of extracted of PP-WE (a), PP-EE (b), PP-UE (c) (5 000×)

扫描电镜通常被认为是进行多糖表面形貌分析的有效技术。将 PP-WE、PP-EE 和 PP-UE 三种黄精多糖少量样品置于样品台上充分研磨, 经 5 000× 扫描电镜放大后如图 6 所示。由图 6a 可见, PP-WE 呈现薄片形状、表面较为光滑, 有少量沟壑和小型裂隙, 可能是由于长时间水浴的热处理降低了多糖的疏松程度; 由图 6b 可见, PP-EE 表面粗糙、多孔、

出现较多裂纹, 结构较为疏松, 可能是由于酶使多糖分子内部的糖苷键破坏程度较高, 多糖链与糖苷键断裂数量较多, 从而在一定程度上促进多糖中苷元的释放, 由此体现出较强的功能活性^[41]; 由图 6c 可见, PP-UE 表面粗糙, 有明显的层次感, 并且附有零散的碎屑, 少量孔隙, 在局部伴有波纹状的褶皱, 可能是超声环境下促进溶剂缓慢进入细胞壁, 改变细胞壁内外渗透压, 促使多糖溶出, 导致结构复杂^[42]。通过对比, 不同的提取方法对多糖表面的微观结构呈现不同的差异, 进而影响多糖的提取率与功能活性, 这与前述提取率与活性比较的变化趋势一致。

3 结论

本文比较了三种提取方法对黄精多糖的得率、化学组成、理化特性、生物活性、单糖组成、分子量及微观结果的影响。结果表明, 提取方法对黄精多糖的得率、化学组成、理化特性、抗氧化活性、 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性有显著影响。三种提取方式得到的黄精多糖均为酸性多糖, 以葡萄糖为主。红外光谱显示均具有多糖类物质的特征吸收峰, 峰强度有一定差异。酶解法得到的多糖, 结构疏松、表面粗糙、裂纹较多, 在得率、总糖含量、理化特性、生物活性上优于水提法和超声辅助提取法。综上, 酶解法是提取黄精多糖的适宜方法, 黄精多糖具有开发成为功能性食品、抗氧化剂和降血糖药物的潜力。本研究有助于了解不同提取方法对黄精多糖提取率、结构特征和功能活性之间的关系。但本研究仅对粗多糖进行研究, 后续需要对粗多糖的分离纯化、结构鉴定等进行深入研究, 进一步探讨“化学组成-理化特性-结构鉴定-功能活性”之间的相关性。

参考文献

- [1] 崔阔澍,肖特,李慧萍,等.我国黄精种质资源研究进展[J].江苏农业科学,2021,49(11):35-39.
- [2] XIE Y, JIANG Z W, YANG R, et al. Polysaccharide-rich extract from *Polygonatum sibiricum* protects hematopoiesis in bone marrow suppressed by triple negative breast cancer [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021,137: 111338.
- [3] 杨茂会,周欣,谯政文,等.黄精多糖提取、分离纯化及生物活性研究进展[J].食品工业科技,2022,43(12):407-416.
- [4] 刘淑贞,周文果,叶伟建,等.活性多糖的生物活性及构效关系研究进展[J].食品研究与开发,2017,38(18):211-218.
- [5] 梁朋光,孙健,岳健,等.响应面优化滇黄精多糖提取及其

- 结构与活性分析[J].南方农业学报,2021,52(12):3434-3445.
- [6] 王莹,李锋涛,黄美子,等.黄精多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J].畜牧与兽医,2021,53(12):53-59.
- [7] WANG S Q, LI G, ZHANG X F, et al. Structural characterization and antioxidant activity of *Bolygonatum sibiricum* polysaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 291: 119524.
- [8] 程亚楠,张金华,田胜兰,等.不同来源多花黄精多糖的结构特性及抗氧化活性比较[J].现代食品科技,2023,39(7):145-153.
- [9] ROMDHANE M B, HADDAR A, GHAZALA I, et al. Optimization of polysaccharides extraction from watermelon rinds: Structure, functional and biological activities [J]. Food Chemistry, 2017, 216: 353-364.
- [10] GAO J, LIN L Z, SUN B G, et al. A comparison study on polysaccharides extracted from *Laminaria japonica* using different methods: structural characterization and bile acid-binding capacity [J]. Food Function, 2017, 8(9): 3043-3052.
- [11] 张瑞麟,杜超,鞠雪莹,等.超声辅助提取3种油茶籽粕多糖及抗氧化活性研究[J].中国粮油学报,2022,37(7):122-127.
- [12] 王彦平,娄芳慧,陈月英,等.苯酚-硫酸法测定紫山药多糖含量的条件优化[J].食品研究与开发,2021,42(4):170-174.
- [13] 沈育伊,覃香香,滕秋梅,等.荸荠多糖中蛋白含量的测定[J].微量元素与健康研究,2019,36(6):50-52.
- [14] 朱明月,全文科,杜红娜,等.天然植物人参中糖醛酸含量测定方法的建立[J].今日畜牧兽医,2021,37(1):5-7.
- [15] CHEN G J, FANG C C, CHEN X H, et al. High-pressure ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Mentha haplocalyx*: structure, functional and biological activities [J]. Industrial Crops and Products, 2019, 130: 273-284.
- [16] 王艺涵,吴琴,迟原龙,等.酸碱法和酶法辅助提取银耳粗多糖的特性研究[J].食品科技,2019,44(4):200-204
- [17] 戴宏杰,孙玉林,杨梅语,等.拟目乌贼生殖腺碱提多糖的抗氧化及吸湿保湿特性[J].食品科学,2016,37(2):31-38.
- [18] LIU H, CAO J K, JIANG W B, et al. Evaluation and comparison of vitamin C, phenolic compounds, antioxidant properties and metal chelating activity of pulp and peel from selected peach cultivars [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 63(2): 1042-1048.
- [19] ANNA F, DAE O K, SANG J C, et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24, 1043-1048.
- [20] YUDI P, JULIAH M, FAIQOH I F, et al. Inhibitory activity of *Urena lobata* leaf extract on alpha-amylase and alpha-glucosidase: *in vitro* and *in silico* approach [J]. J Basic Clin Physiol Pharmacol, 2021, 32(4): 889-894.
- [21] BALASUBRAMANIAM J P, PAZHANIYANDI S S, RENGARAJ S. Efficiency of *Oryza punctata* extract on glucose regulation: inhibition of α -amylase and α -glucosidase activities [J]. Grain & Oil Science and Technology, 2019, 2: 44-48.
- [22] CHEN J C, ZHANG X, HUO D, et al. Preliminary characterization, antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from *Mallotus furetianus* [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 215: 307-315.
- [23] ZHANG C, LI Z M, ZHANG C Y, et al. Extract methods, molecular characteristics, and bioactivities of polysaccharide from Alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Nutrients, 2019, 11: 1181.
- [24] XU Y Q, GUO Y Y, GAO Y K, et al. Separation, characterization and inhibition on α -glucosidase, α -amylase and glycation of a polysaccharide from blackcurrant fruits [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 93: 16-23
- [25] HUANG F, LIU Y, ZHANG R F, et al. Structural characterization and *in vitro* gastrointestinal digestion and fermentation of *litchi* polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019(140): 965-972.
- [26] SUN T T, ZHANG H, LI Y, et al. Physicochemical properties and immunological activities of polysaccharides from both crude and wine-processed *Bolygonatum sibiricum* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 143: 255-264.
- [27] 方嘉沁,郑青松,文雨欣,等.不同提取方法的莲子心多糖结构与理化性质比较[J].现代食品科技,2023,39(1):92-103.
- [28] 徐丛玥,林款,梁征,等.不同提取方法对米邦塔仙人掌粗多糖体外抗氧化性的影响[J].食品工业科技,2018,39(3):56-60.
- [29] SUN L Q, WANG L, LI J, et al. Characterization and antioxidant activities of degraded polysaccharides from two marine Chrysophyta [J]. Food Chemistry, 2014, 160: 1-7.
- [30] LI X J, CHEN Q, LIU G K, et al. Chemical elucidation of an arabinogalactan from rhizome of *Bolygonatum sibiricum* with antioxidant activities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 190: 730-738.
- [31] 田颖鹏,陈洁,汪磊,等.提取方法对覆盆子多糖理化性质和体外生物活性的影响[J].食品工业科技,2022,43(8):1-10.
- [32] 陈成.五味子多糖提取工艺优化及其对 α -葡萄糖苷酶抑制活性分析[J].食品工业科技,2022,43(7):248-254.
- [33] 魏鑫悦,陈克保,关统伟.攀枝花黑松露多糖的抗氧化和降

- 血糖活性[J].现代食品科技,2022,38(3):1-7.
- [34] DOU Z M, CHEN C, HUANG Q, et al. Comparative study on the effect of extraction solvent on the physicochemical properties and bioactivity of blackberry fruit polysaccharides [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 183: 1548-1599.
- [35] YUAN Q, LIN S, FU Y, et al. Effects of extraction methods on the physicochemical characteristics and biological activities of polysaccharides from Okra (*Abelmoschus esculentus*) [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 127: 178-186.
- [36] SU Y, LI H X, HU Z Y, et al. Research on degradation of polysaccharides during *Hericium erinaceus* fermentation [J]. LWT-Food Science and Technology, 2023,(173): 114276.
- [37] LIU W, LIU Y M, ZHU R, et al. Structure characterization, chemical and enzymatic degradation, and chain conformation of an acidic polysaccharide from *Lycium barbarum* L [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 147: 114-124.
- [38] KHANITTHA C, PATSUDA S, PRAPHAKORN K, et al. Extraction and characterization of tamarind (*Tamarind indica* L.) seed polysaccharides (TSP) from three difference sources [J]. Molecules,2016, 21: 775.
- [39] GAO C J, WANG Y H, WANG C Y, et al. Antioxidant and immunological activity *in vitro* of polysaccharides from *Gomphidius rutilus* mycelium [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92: 2187-2192.
- [40] HU T, HUANG Q L, WONG K H, et al. Structure, molecular conformation, and immunomodulatory activity of four polysaccharide fractions from *Lignosus rhinocerotis* sclerotia [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94: 423-430.
- [41] ZHAO C Z, DIAO Y L, WANG C Z, et al. Structural characters and protecting β -cells of a polysaccharide from flowers of *Inula japonica* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 101: 16-23.
- [42] XU Y Q, NIU X J, LIU N Y, et al. Characterization, antioxidant and hypoglycemic activities of degraded polysaccharides from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) fruits [J]. Food Chemistry, 2018(243): 26-35.