

山楂多糖的分离纯化及抗氧化和抗糖化活性研究

商飞飞¹, 祝儒刚^{1,2}, 张鑫雨², 王宇², 王超²

(1. 贺州学院食品科学与工程技术研究院, 广西贺州 542899) (2. 辽宁大学轻型产业学院, 辽宁沈阳 110036)

摘要: 本研究以山楂果为原料, 热水浸提法提取山楂多糖, 脱色和除蛋白后采用 DEAE-52 纤维素进行分离纯化, 在此基础上对各多糖组份的单糖组成以及体外抗氧化和抗糖化活性进行了检测, 并对其构效关系进行了简单分析。结果表明, 分离纯化分别得到水洗中性多糖 (water-washed polysaccharide, WPS) 以及盐洗酸性多糖 SPS-1 (salt-washed polysaccharide 1, SPS-1)、SPS-2 和 SPS-3, 其层析回收产量分别为 46.33%、7.86%、37.94% 和 7.12%。单糖组成分析发现, WPS 的主要单糖组成为半乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖和葡萄糖, 而 SPS-2、SPS-1 和 SPS-3 的单糖组成主要为半乳糖醛酸、半乳糖、鼠李糖和阿拉伯糖, 其中半乳糖醛酸含量依次为 25.65%、74.93% 和 85.77%。结合单糖组成和红外光谱结果, SPS-1、SPS-2 和 SPS-3 可能是果胶。体外活性研究结果表明, 盐洗多糖的体外抗氧化和抗糖化活性明显强于水洗多糖, 且盐洗多糖中 SPS-3 的活性最强, 其次是 SPS-2 和 SPS-1, 这可能与分子中较高的半乳糖醛酸含量和较低的分枝度有关。本研究结果在食源性天然抗氧化剂和抗糖化剂的开发方面具有重要意义。

关键词: 山楂多糖; 提取; 分离纯化; 抗氧化; 抗糖化

文章编号: 1673-9078(2019)09-96-101

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.9.011

Extraction, Isolation and Purification of Haw Polysaccharide and Its Antioxidant and Antiglycation Activities *in Vitro*

SHANG Fei-fei¹, ZHU Ru-gang^{1,2}, ZHANG Xin-yu², WANG Yu², WANG Chao²

(1. Institute of Food Science and Engineering, Hezhou University, Hezhou 542899, China)

(2. College of Light Industry, Liaoning University, Shenyang 110036, China)

Abstract: In this study, haw fruit was used as raw material to extract haw polysaccharide by hot water method. After decolorization and deproteinization, the polysaccharide was separated and purified using DEAE cellulose 52. On this basis, the monosaccharide composition and antioxidative and antiglycation activities of polysaccharide fractions were analyzed, and their structure-activity relationship was investigated. The results showed that the neutral polysaccharide WPS and the acidic polysaccharides SPS-1, SPS-2 and SPS-3 were obtained, and their yields were 46.33%, 7.86%, 37.94% and 7.12%, respectively. Monosaccharide composition analysis found that the main sugar composition of WPS was galactose, rhamnose, arabinose and glucose, while the sugar composition of SPS-2, SPS-1 and SPS-3 was mainly galacturonic acid, galactoserhamnose and arabinose, in which the content of galacturonic acid was 25.65%, 74.93% and 85.77%, respectively. Combined monosaccharide composition with infrared spectroscopy results, SPS-1, SPS-2 and SPS-3 could be pectin polysaccharides. The activity study showed that the antioxidant and antiglycation activities of salt-washed polysaccharides were stronger than that of water-washed polysaccharides, and the activity of SPS-3 was the strongest in salt-washed polysaccharides, followed by SPS-2 and SPS-1, which could be related to the higher galacturonic acid content and lower branching in the molecule. The results of this study are of great significance in the development of food-derived natural antioxidants and antiglycation agents.

Key words: hawthorn polysaccharide; extraction; isolation and purification; antioxidant; antiglycation

山楂 (*Crataegus*) 属于蔷薇科山楂属植物, 全世界约有 280 多个种^[1]。在我国, 山楂是药果兼用树种, 按地理位置、气候特点和栽培利用等情况, 大致可分

收稿日期: 2019-03-26

基金项目: 广西果蔬保鲜和深加工研究人才小高地开放课题项目 (2018GSXGD05); 国家自然科学基金青年项目 (31301424)

作者简介: 商飞飞 (1986-), 男, 讲师, 研究方向: 农产品保鲜与加工

通讯作者: 祝儒刚 (1980-), 男, 副教授, 研究方向: 天然产物与功能

为吉辽、京津冀、鲁苏、中原、云贵高原 5 个山楂产区。山楂果中含有丰富的植物多糖, 远高于其他栽培水果, 其中主要是果胶, 新鲜山楂果中含量高达 6.4%^[2]。作为膳食纤维, 包括果胶在内的多糖具有益生活性^[3]、抗氧化^[4]、抗肿瘤^[5]、抗腹泻^[6]以及减肥降脂^[7]等多种功效。随着研究的深入, 结果发现多糖还具有体外抗糖化活性, 并且其体外抗糖化活性与其组成和结构具有密切关系^[8]。

美拉德反应是食品加热和贮藏过程中,还原糖中的羰基与蛋白质的氨基经缩合和聚合反应生成类黑素的反应。晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)是美拉德反应的终产物之一,抑制美拉德反应从而减少AGEs的生成活性称之为抗糖化^[9]。食源性AGEs是人体内AGEs的重要来源,体内AGEs的长期积累与糖尿病、动脉粥样硬化、晚期肾病(尿毒症)和阿尔兹海默症等慢性病的发生密切相关^[10]。本研究以山楂果为原料,提取多糖并通过DEAE-52纤维素进行分离纯化,在对各纯化多糖组分进行化学组成、单糖组成以及结构分析的基础上,分别考察其体外抗氧化和抗糖化活性,并分析其组成与活性的关系。本研究结果无论对于山楂多糖的应用,还是对于天然食源性抗氧化剂和抗糖化剂的开发,均具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

市售山楂(产地:辽宁;品种:辽红),经去蒂、去核、切片和50℃烘箱干燥,粉碎(80目)后备用。牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、丙酮醛(methylglyoxal, MGO)、氨基胍(aminoguanidine)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、DEAE-52、大孔吸附树脂以及单糖标准均购自Sigma公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

F-4500 荧光分光光度计,美国Perin公司;FTS135型傅里叶红外光谱仪,美国BID-BAD公司;752型紫外可见分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;H/T12MM型台式高速离心机,湖南赫西仪器装备有限公司;PHSJ-4F实验室pH计,上海仪电科学仪器股份有限公司;RE-2000A旋转蒸发器,荣阳市科瑞仪器有限公司;SHB-III循环水式多用真空泵,巩义市科瑞仪器有限公司;DHG-9030A型电热恒温鼓风干燥箱,巩义市科瑞仪器有限公司;HH.S21-6-S型电热恒温水浴锅,上海龙跃仪器设备有限公司;自动馏分收集器和层析柱(1.6 cm×30 cm),东京理化;真空冷冻干燥器,宁波新芝;气相色谱仪,日本岛津。

1.3 实验方法

1.3.1 山楂多糖的提取

称取山楂粉10 g,按料液比1:15(g/mL)加入蒸

馏水,95℃水浴4 h,期间玻璃棒每隔10 min搅拌一次。提取混合液经纱布过滤除去残渣,离心(4000 r/min,10 min)回收上清液。残渣用10倍质量热水浸提3次,过滤后离心,合并上清液,浓缩至原体积的一半。浓缩液经大孔吸附树脂脱色和三氯乙酸-正丁醇结合法脱蛋白后^[11,12],真空冷冻干燥得粗多糖粉末,备用。

1.3.2 山楂多糖的分离纯化

将粗多糖溶于去离子水,配置成浓度为5 mg/mL多糖溶液,取10 mL上样经磷酸缓冲液(NaH₂PO₄/Na₂HPO₄,pH 6.8)预处理的DEAE-纤维素层析柱(1.6 cm×30 cm),去离子水洗脱过夜,再以0~1 mol/L的NaCl溶液进行线性洗脱,流速为1.25 mL/min,自动馏分收集器每5 mL收集1管,于490 nm波长苯酚硫酸法测吸光度,并绘制洗脱曲线,横坐标为收集管数,纵坐标为吸光度。合并各峰样品洗脱液,去离子水透析(截留分子量>10,000 u)3 d,真空冷冻干燥后称重并计算各多糖组分的产量/%。

1.3.3 红外光谱分析

取各干燥的多糖粉末样品1 mg,与KBr一起研磨后制成透明压片,使用FTS135型傅里叶红外光谱仪在400~4000 cm⁻¹区内进行红外光谱扫描分析。

1.3.4 化学组成和单糖组成分析

总糖含量采用苯酚硫酸法检测,以葡萄糖作为单糖标准^[13]。蛋白质含量采用Bradford报道的方法检测,以牛血清蛋白作为标准蛋白^[14]。半乳糖醛酸含量采用Bitter报道的方法检测,以半乳糖醛酸作为标准单糖^[15]。总酚含量采用福林酚比色法检测^[16]。酯化度测定参照Bocek报道的方法^[17]。

单糖组成测定按照课题组以前的方法^[18]。首先,2 mg多糖密封于玻璃试管中,加入2 mol/L的三氟乙酸0.5 mL,置110℃条件下降解4 h。添加乙醇溶解,氮吹仪在50℃减压条件下吹干,重复三次去除多余的三氟乙酸。同时添加盐酸羟胺、吡啶和乙酸酐对降解样品和标准单糖进行乙酰化。产物分析采用气相色谱,火焰离子检测器以及RTX-1701型二氧化硅毛细管柱(30.0 m×0.25 mm×0.25 μm)。检测条件:柱温以5℃/min从180℃增加到220℃并在此温度保持5 min,然后再以10℃/min升温到280℃并保持20 min。检测器和注射器温度设定为280℃。载气为高纯度氮气,上样体积为0.4 μL。

1.3.5 外抗氧化活性的测定

O₂⁻清除活性、·OH清除活性和DPPH·清除活性的测定依据以前报道的方法^[19-21]。

1.3.6 抗糖化活性测定

抗糖化活性测定按照课题组之前报道的方法^[22]。以氨基胍为阳性对照，磷酸缓冲液代替多糖样品为阴性对照。荧光分光光度计于激发波长 370 nm 和发射波长 440 nm 测定样品荧光强度计算对荧光性 AGEs 生成抑制率。

1.3.7 数据处理

所有实验均三次重复，实验数据采用 SPSS 20.0 软件进行分析，结果以平均值±标准误表示。

2 结果与分析

2.1 山楂多糖分离纯化结果

山楂多糖柱层析分离纯化结果如图 1 所示。分别经蒸馏水和不同浓度梯度的 NaCl 溶液洗脱，得到中性水洗多糖 WPS 以及酸性盐洗多糖 SPS-1、SPS-2 和 SPS-3。其中，中性糖 WPS 的含量最高，达到 46.33%；酸性糖中 SPS-2 含量最高，为 37.94%，其余 SPS-1 和 SPS-3 含量很少，分别为 7.86%和 7.12%（表 1）。

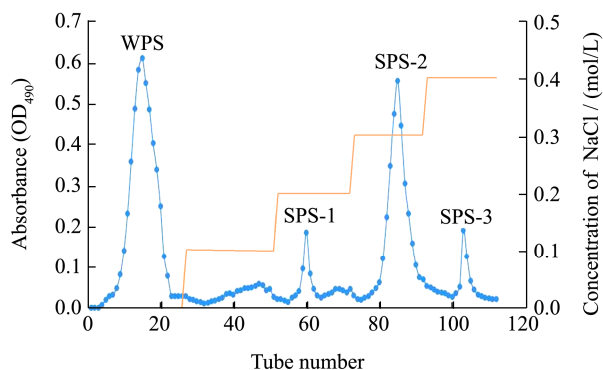


图 1 山楂多糖 DEAE-52 纤维素柱梯度洗脱曲线图

Fig.1 Stepwise elution curve of the haw polysaccharides using DEAE-52 chromatography.

注：WPS：水洗多糖；SPS-1：盐洗多糖 1；SPS-2：盐洗多糖 2；SPS-3：盐洗多糖 3。

2.2 红外光谱分析结果

山楂多糖分离纯化各组份的傅里叶红外光谱图如图 2 所示。在 3420 cm⁻¹ 附近的峰主要是多糖 O-H 的

伸缩振动峰；在 2930 cm⁻¹ 附近出现的吸收峰主要是甲基或者亚甲基 C-H 键的振动峰^[23]；在 1730~1760 cm⁻¹ 和 1600~1630 cm⁻¹ 出现的较强的振动峰是多糖甲酯化的 C=O 和解离的羧基中的 C=O 的特征振动峰^[24]；在 1016~1147 cm⁻¹ 范围内出现吸收峰，表明有吡喃糖的存在，吸收峰越强，说明糖醛酸含量越高，是果胶的特征性振动峰（SPS-1、SPS-2 和 SPS-3）^[25]。874 cm⁻¹ 附近的吸收峰表明可能有 α-糖苷键存在。红外光谱结果表明，SPS-1、SPS-2 和 SPS-3 可能是果胶^[25]。

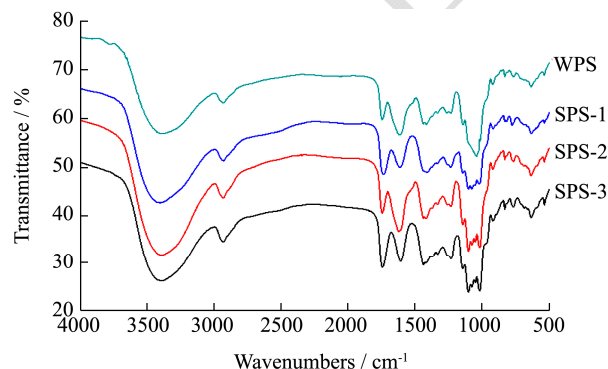


图 2 山楂多糖 WPS, SPS-1, SPS-2 和 SPS-3 傅里叶红外光谱图

Fig.2 Infrared spectra of haw polysaccharides WPS, SPS-1, SPS-2 and SPS-3

2.3 山楂多糖各组份物理化学特性及组成分析结果

山楂多糖分离纯化各组份的物理化学特性及组成如表 1 和表 2 所示。在分离纯化的四种多糖组分中，均未检测到蛋白和多酚的存在。四种多糖的总糖含量均大于 97%，且三种酸性多糖 SPS-1、SPS-2 和 SPS-3 中半乳糖醛酸含量依次为 25.65%、74.93%和 85.77%，其余单糖主要为半乳糖、鼠李糖和阿拉伯糖，酯化度分别为 84.37%、81.23%和 78.58%，可能为果胶。中性糖 WPS 的主要单糖为半乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖和葡萄糖，含量分别为 37.68%、13.23%、15.74%和 26.49%，几乎不含有半乳糖醛酸，仅为 0.51%。

表 1 山楂多糖各组份物理化学特性分析

Table 1 Physicochemical properties analysis of haw polysaccharide fractions

| 多糖组分 | WPS | SPS-1 | SPS-2 | SPS-3 |
|-------|------------|------------|------------|------------|
| 产量/% | 46.33±1.41 | 7.86±0.22 | 37.94±1.64 | 7.12±0.36 |
| 总糖/% | 97.91±2.43 | 97.12±1.62 | 98.62±2.91 | 98.51±2.26 |
| 蛋白/% | - | - | - | - |
| 总酚/% | - | - | - | - |
| 酯化度/% | - | 84.37±3.82 | 81.23±2.91 | 78.58±3.46 |

表2 山楂多糖各组份半乳糖醛酸含量及单糖组成分析

Table 1 Galacturonic acid content and monosaccharide composition analysis of haw polysaccharide fractions

| 多糖组分/(mol %) | WPS | SPS-1 | SPS-2 | SPS-3 |
|--------------|------------|------------|------------|------------|
| 半乳糖醛酸 | 0.51±0.11 | 25.65±2.42 | 74.93±1.42 | 85.77±2.15 |
| 半乳糖 | 37.68±0.82 | 23.53±0.14 | 0.82±0.01 | 2.22±0.01 |
| 鼠李糖 | 13.23±0.34 | 12.12±0.43 | 4.14±0.01 | 3.36±0.01 |
| 阿拉伯糖 | 15.74±0.28 | 34.92±0.31 | 17.46±0.62 | 5.64±0.14 |
| 木糖 | 3.33±0.11 | 1.92±0.01 | 1.13±0.01 | 1.33±0.01 |
| 其它单糖组成 | | | | |
| 葡萄糖 | 26.49±1.14 | 0.15±0.01 | 0.22±0.01 | 0.15±0.01 |
| 半乳糖醛酸/鼠李糖 | 0.12±0.01 | 2.17±0.01 | 18.31±0.05 | 26.13±0.94 |
| 阿拉伯糖/鼠李糖 | 1.21±0.01 | 2.92±0.01 | 4.52±0.02 | 1.74±0.01 |
| 半乳糖/鼠李糖 | 2.94±0.01 | 1.96±0.01 | 0.22±0.01 | 0.77±0.01 |

2.4 山楂多糖体外抗氧化活性结果

山楂多糖分离纯化各组分的体外抗氧化活性如图3所示。作为阳性对照的Vc，随着浓度的增加，DPPH、O₂^{·-}和·OH的清除率极速增加，浓度大于1.00 mg/mL时，三种自由基的清除率均接近甚至大于90%。在相同浓度下，阳性对照Vc的三种自由基清除率均大于多糖组分。而对于四种多糖，随着浓度的增加，其自由基清除率也缓慢增加，当WPS，SPS-1，SPS-2和SPS-3的浓度达到5.00 mg/mL时，其对DPPH的清除率分别达到70.95%、78.76%、85.53%和90.82%，对O₂^{·-}的清除率分别为51.88%、75.95%、92.84%和97.68%，对·OH的清除率分别为46.34%、68.53%、80.86%和84.59%。并且研究发现，在相同浓度下，三种酸性多糖SPS-1，SPS-2和SPS-3的自由基清除率明显强于中性多糖WPS，且三种酸性多糖中自由基清除率由强到弱依次为SPS-3>SPS-2>SPS-1。这一结果与Chen等^[26]报道的香菇多糖的体外抗氧化活性一致，其研究表明，盐洗酸性多糖的体外抗氧化活性强于水洗中性多糖，且体外抗氧化活性与多糖中糖醛酸含量成正相关。此外，Chaouch等^[27]研究也表明，多糖组分中高含量的半乳糖醛酸有助于提高其体外抗氧化活性。

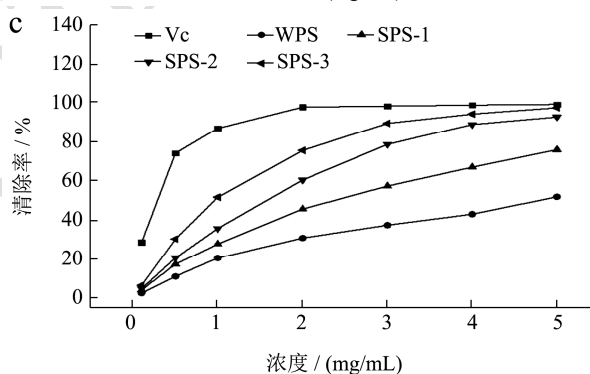
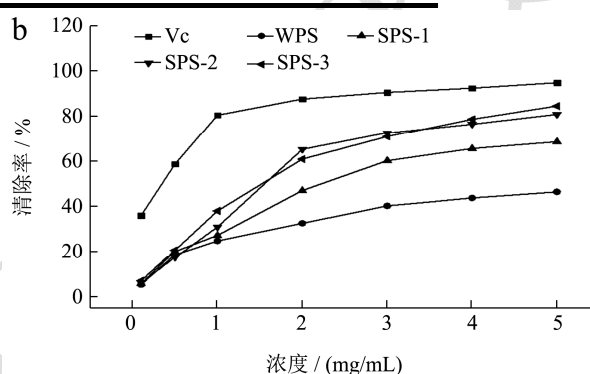
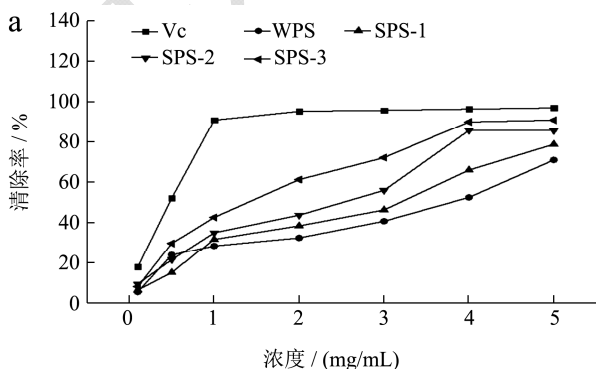


图3 山楂多糖和Vc对DPPH· (a)、O₂^{·-} (b)和·OH (c)的清除作用

Fig.3 Scavenging ability on DPPH· (a), O₂^{·-} (b) and ·OH (c) of haw polysaccharides and Vc

2.5 山楂多糖体外抗糖化活性结果

山楂多糖分离纯化各组分的体外抗糖化活性如图4所示。在BSA-果糖模拟美拉德反应体系中(图4a)，前7d，阳性对照氨基胍和四种多糖的糖基化抑制率均增加缓慢，从第7d开始，抑制率逐渐加快，到第28d时，氨基胍、WPS、SPS-1、SPS-2和SPS-3的糖基化抑制率分别达到69.79%、30.63%、48.46%、65.91%以及75.13%。相比较在BSA-MGO美拉德反应模拟体系中(图4b)，从反应的第1d开始，阳性对照以及四

种多糖的糖基化抑制率均快速增加,到第28 d时,氨基胍、WPS、SPS-1, SPS-2 和 SPS-3 的糖基化抑制率分别达到 70.64%, 35.87%, 57.93%, 72.92% 和 78.88%。总体而言, 酸性多糖 SPS-3 的糖基化抑制率略强于阳性对照氨基胍, 三种酸性多糖中, 糖基化抑制率由强到弱依次为 SPS-3>SPS-2>SPS-1, 且在相同浓度下均强于中性糖 WPS。体外抗糖化活性强弱顺序与图 3 中体外抗氧化活性顺序相同。Lyu 等^[28]的研究表明, 何首乌多糖具有很好的体外抗氧化和抗糖化活性, 且盐洗多糖的体外抗糖化活性明显强于水洗多糖, 这与本研究的结果一致。本课题组之前从软枣猕猴桃中分离纯化多糖, 也得出了与本研究相同的结论^[18]。

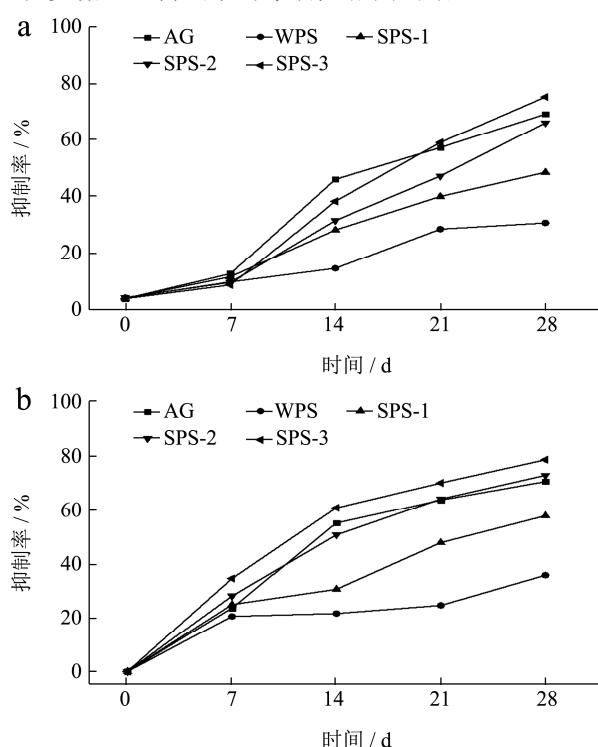


图4 山楂多糖和阳性对照氨基胍 (AG) 在 BSA-果糖 (a) 和 BSA-MGO (b) 模拟反应体系下的糖化抑制率

Fig.4 Glycation inhibition rates of amino guanidine and hawthorn polysaccharides in BSA-fructose model (a) and BSA-MGO model (b)

另外, 综合分析各多糖组分的分子组成和体外抗氧化以及抗糖化活性结果, 我们发现, 三种酸性多糖 SPS-1、SPS-2 和 SPS-3 的体外抗氧化活性和抗糖化活性与其分子中的分枝度有关。研究报道, 在果胶中, 分枝度越大, 其分子中半乳糖醛酸含量与鼠李糖含量的比值越小, 而半乳糖含量与鼠李糖含量的比值以及阿拉伯糖含量与鼠李糖含量的比值越大^[29]。在表2中, 三种酸性多糖的半乳糖醛酸含量与鼠李糖含量的比值从小到大依次为: SPS-1<SPS-2<SPS-3, 半乳糖含量与鼠李糖含量的比值以及阿拉伯糖含量与鼠李糖含量

的比值的和从大到小依次为: SPS-2>SPS-1>SPS-3。这表明, 三种酸性多糖中, SPS-2和SPS-1的分枝度要大于SPS-3。结合活性检测结果, 我们推测在本研究中, 酸性果胶多糖的分枝度与其体外抗氧化和抗糖化活性呈负相关。

3 结论

山楂多糖经分离纯化得到WPS、SPS-2、SPS-1和SPS-3四种多糖组分。组成分析表明, WPS的主要单糖组成为半乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖和葡萄糖, 含量分别为37.68%、13.23%、15.74%和26.49%, 仅含有0.5%的半乳糖醛酸。SPS-1、SPS-2和SPS-3的单糖组成主要为半乳糖醛酸、半乳糖、鼠李糖和阿拉伯糖, 其中半乳糖醛酸含量依次为25.65%、74.93%和85.77%。结合红外光谱结果, SPS-1、SPS-2和SPS-3可能是果胶。体外抗氧化和抗糖化活性表明, 四种多糖组分中, 水洗多糖WPS活性最弱; 三种盐洗酸性多糖中, SPS-3的活性强于SPS-1和SPS-2, 这可能与其分子中较高的半乳糖醛酸含量和较低的分枝度有关。该研究结果对于山楂多糖体外以及体内功能活性的深入研究打下了坚实基础, 并为天然食源性抗糖化剂的开发提供了新的素材。但对于各多糖组份的具体结构以及其体外抗糖化活性机理, 还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 张培成,徐绥绪.山楂叶化学成分研究[J].药学报,2001,36(10):754-757
ZHANG Pei-cheng, XU Sui-xu. Study on chemical constituents of hawthorn leaves [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2001, 36(10): 754-757
- [2] 王娜,张陈云,戚雨娟,等.山楂果胶的提取及其食品化学特性[J]食品工业科技,2007,28:87-90
WANG Na, ZHANG Chen-yun, QI Yu-da, et al. Extraction and food chemical properties of hawthorn pectin [J]. Food Industry Technology, 2007, 28: 87-90
- [3] Gómez B, GullónB, Yáñez R, et al. Prebiotic potential of pectins and pectic oligosaccharides derived from lemon peel wastes and sugar beet pulp: A comparative evaluation [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 20: 108-121
- [4] 田长城,许晖,孟海涛.不同提取方法对柑橘果皮胶组分和抗氧化性的影响[J].食品科学,2013,34: 83-86
TIAN Chang-cheng, XU Hui, MENG Hai-tao. Effect of extraction methods on determination of pectin composition and antioxidant activity of citrus peel [J]. Food Science, 2013, 34: 83-86

- [5] 黄志良,刘海鹰.改良柑橘果胶抑制小鼠结肠癌肝转移的作用研究[C].全国大肠癌治疗规范高峰论坛暨第九届广东省大肠癌学术研讨会论文汇编.广州:中山大学,2007,56-59
HUANG Zhi-liang, LIU Hai-ying. Study of modified citrus pectin in inhibiting colon cancer metastasis of mice [C]. National Colorectal Cancer Treatment Standards Summit Forum and the 9th Guangdong Provincial Colorectal Cancer Symposium. Guang Zhou, Zhongshan University, 2007, 56-59
- [6] Schultz A A, Ashby-Hughes B, Taylor R, et al. Effects of pectin on diarrhea in critically ill tube-fed patients receiving antibiotics [J]. American Journal of Critical Care, 2000, 9: 403-411
- [7] Zhu R G, Sun Y D, Li T P, et al. Comparative effects of hawthorn (*Crataegus pinnatifida bunge*) pectin and pectin hydrolyzates on the cholesterol homeostasis of hamsters fed high-cholesterol diets [J]. Chemico-Biology Interaction, 2015, 238: 42-47
- [8] Li X L, Xiao J J, Zha X Q, et al. Structural identification and sulfated modification of an antiglycation *Dendrobium huoshanense* polysaccharide [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 106: 247-254
- [9] Wu C H, Huang S M, Lin J A, et al. Inhibition of advanced glycation endproduct formation by food stuffs [J]. Food & Function, 2011, 2: 224-234
- [10] Poulsen M W, Hedegaard R V, Andersen J M, et al. Advanced glycation endproducts in food and their effects on health [J]. Food Chemistry Toxicology, 2013, 60: 10-37
- [11] 刘禹,方志强,刘宇馨,等.虾夷扇贝多糖提取及纯化方法的优化[J].食品科学,2017,38:208-213
LIU Yu, FANG Zhi-qiang, LIU Yu-xin, et al. Optimization of extraction and purification of polysaccharides from *Patinopecten yessoensis* [J]. Food Science, 2017, 38: 208-213
- [12] 孙希云,刘宁,孟宪军,等.蓝莓多糖超声波提取及脱蛋白方法[J].食品科学,2010,31:134-138
SUN Xi-yun, LIU Ning, MENG Xian-jun, et al. Ultrasonic extraction and protein removal of polysaccharides from blueberry [J]. Food Science, 2010, 31: 134-138
- [13] Dubois M, Gilles K, Hamilton J K, et al. A colorimetric method for the determination of sugars [J]. Nature, 1951, 168: 167
- [14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254
- [15] Bitter T, Muir H M. A modified uronic acid carbazole reaction [J]. Analytical Biochemistry, 1962, 4: 330-334
- [16] Wikiera A, Mika M, Starzynska-Janiszewska A, et al. Endo-xylanase and endo-cellulase-assisted extraction of pectin from apple pomace [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 142: 199-205
- [17] Bocek A M, Zabivalova N M, Petropavlovskii G A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid [J]. Russian Journal of Applied Chemistry, 2001, 74: 796-799
- [18] Zhu R G, Zhang X Y, Wang Y, et al. Characterization of polysaccharide fractions from fruit of *Actinidia arguta* and assessment of their antioxidant and antiglycated activities [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 210: 73-84
- [19] Mandal P, Misra T K, Ghosal M, et al. Free-radical scavenging activity and phytochemical analysis in the leaf and stem of *Drymaria diandra blume* [J]. International Journal of Integrative Biology, 2009, 7: 80-84
- [20] Halliwell B, Gutteridge J M C, Aruoma O I. The deoxyribose method: A simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals [J]. Analytical Biochemistry, 1987, 165: 215-219
- [21] Kuate D, Etoundi B C O, Soukontoua Y B, et al. Antioxidant characteristics of *Dichrostachys glomerata* sp. extracts características antioxidantes de los extractos de la especie *Dichrostachys glomerata*, CyTA [J]. Journal of Food, 2010, 8: 23-37
- [22] 侯玉婷,苏金芳,陈诗悦,等.不同提取方法对山楂果胶理化性质及体外抗糖化活性的影响[J].现代食品科技,2018, 34(4):1-8
HOU Yu-ting, SU Jin-fang, CHEN Si-yue, et al. Physicochemical properties and anti-glycation activity *in vitro* of pectin extracted from Hawthorn by different methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(4): 1-8
- [23] Chen X M, Jin J, Tang J, et al. Extraction, purification, characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the root of *Ophiopogon japonicus* [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(2): 749-754
- [24] Gnanasambandam R, & Proctor A. Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance FT-IR spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2000, 68: 327-332

(下转第 303 页)