

攀枝花黑松露多糖的抗氧化和降血糖活性

魏鑫悦, 陈克保, 关统伟*

(西华大学食品与生物工程学院, 四川成都 610039)

摘要: 多糖作为松露的重要成分之一, 具有抗氧化, 抗肿瘤和降血糖等多种生物活性。然而, 多糖活性与其结构密切相关, 但关于攀枝花黑松露中多糖组分的相关结构及其生物活性的研究鲜有报道。该研究采用水提法和 Sephadex G-200 分离纯化黑松露多糖, 并对其结构及体外抗氧化、降血糖活性进行了初步分析。结果表明黑松露多糖的分子质量为 1.29×10^4 u, 主要由甘露糖、葡萄糖、鼠李糖和半乳糖组成, 其摩尔比为 2.89:1.81:0.34:0.50。红外光谱分析表明该组分是含有 α -糖苷键的吡喃型多糖。体外抗氧化实验表明, 该多糖对 DPPH 自由基和羟自由基均具有一定的清除作用, 但对 DPPH 自由基表现出更好的清除能力, 其 IC_{50} 值为 1.02 mg/mL, 同时随多糖质量浓度的增加其抗氧化活性也随之升高。另外, 在体外降血糖实验方面, 该多糖能显著抑制 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的活性, 其 IC_{50} 值分别为 1.99 mg/mL、3.30 mg/mL。该研究结果可为深度开发黑松露多糖提供理论依据。

关键词: 黑松露多糖; 结构分析; 抗氧化活性; 降血糖活性

文章编号: 1673-9078(2022)03-1-7

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.3.0785

Antioxidant and Hypoglycemic Activity of Polysaccharide from Panzhihua Black Truffle

WEI Xinyue, CHEN Kebao, GUAN Tongwei*

(College of Food and Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China)

Abstract: Polysaccharides, the main component present in truffle, exhibit diverse biological properties, including antioxidant, anti-tumor, and hypoglycemic activity. Polysaccharide activity is closely related to its structure; however, reports on related structures and biological activity of polysaccharide components in Panzhihua black truffle remain scarce. Herein, the polysaccharide from Panzhihua black truffle was isolated and purified using water extraction and Sephadex G-200. Additionally, its primary structure and *in vitro* antioxidant and hypoglycemic activity were analyzed. The molecular weight of the black truffle polysaccharide is 1.29×10^4 u, and it mainly consists of mannose, glucose, rhamnose, and galactose at a molar ratio of 2.89:1.81:0.34:0.50. Infrared spectrum analysis revealed that the polysaccharide was pyranoid with an α -glycosidic bond. *In vitro* experiments revealed that the polysaccharide exhibited specific DPPH and hydroxyl free radical scavenging effects, affording better scavenging ability against DPPH free radicals, with an IC_{50} value of 1.02 mg/mL. Meanwhile, the antioxidant activity increased with increasing polysaccharide concentration. In addition, *in vitro* hypoglycemia analysis indicated that the polysaccharide could significantly inhibit α -glucosidase and α -amylase activity, with IC_{50} values of 1.99 mg/mL and 3.30 mg/mL, respectively. This study provides a theoretical basis for the comprehensive development of black truffle polysaccharide.

Key words: black truffle polysaccharide; structural analysis; antioxidant activity; hypoglycemic activity

引文格式:

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

WEI Xinyue, CHEN Kebao, GUAN Tongwei. Antioxidant and hypoglycemic activity of polysaccharide from Panzhihua black truffle [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(3): 1-7

氧化是生物产生能量的重要过程, 然而, 人体在

收稿日期: 2021-07-24

基金项目: 四川省科技厅创新能力培育重点研发项目 (2018NZ0125)

作者简介: 魏鑫悦 (2000-), 女, 硕士, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 1837330367@qq.com

通讯作者: 关统伟 (1978-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 微生物资源开发与食品生物技术, E-mail: guantongweily@163.com

代谢过程中会不可避免地产生自由基, 自由基容易诱发各种病理效应, 如动脉粥样硬化和衰老^[1]。只有体内的自由基处于一定的动态平衡时, 才能维持机体运行, 因此有必要开发和利用有效的抗氧化剂来消除人体内的自由基^[2]。糖尿病是一种以高血糖为特征的代谢性疾病, 可以通过胰岛素和口服双胍类、磺脲类等降糖药物进行治疗^[3]。然而, 这些治疗方式会引起肠

道紊乱、低血糖等副作用^[4]。因此,寻找副作用更少的有效替代品迫在眉睫。

多糖是生物活性大分子,同时也是松露的重要成分之一,对生物细胞无毒副作用,具有多种生物活性,如抗氧化活性^[5]、降血糖活性^[6]、抗炎活性^[7]、免疫调节^[8]、降血脂^[9]等。有研究证实松露多糖的抗氧化能力取决于多糖的分子量、硫酸酯化含量、分支度和糖苷键类型^[10,11],其降血糖活性则与多糖的分子量、糖苷键、高级结构、基团、硫酸酯化、羧甲基化以及乙酰化密切相关^[12]。黑松露也称“黑钻石”,是一种药食两用的野生型真菌,具有浓烈而独特的香味,常作为食品和香料的原料^[13]。成熟的黑松露具有较高的营养价值,富含氨基酸、维生素、甾醇和微量元素等,也可以通过增强免疫力、益胃、抑制肿瘤等多种途径促进人体健康^[14,15]。然而不同品种和不同地理环境的松露,其多糖成分在结构和生物活性方面存在一定程度的差异,从而影响其营养和生物活性。本论文以攀枝花黑松露多糖为研究对象,探索其结构及其抗氧化、降血糖活性,为攀枝花黑松露及其多糖的深度开发提供理论及科学依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

本研究中黑松露采自四川省攀枝花市盐边县新九乡山区,40℃烘干处理,粉碎后过80目筛,得到黑松露粉。

实验中所用主要试剂有:无水乙醇、浓硫酸、苯酚、3,5-二硝基水杨酸、D-葡萄糖醛酸、 α -葡萄糖苷酶、对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷、 α -淀粉酶、维生素C、TPTZ、阿卡波糖等,均为常规国产分析纯试剂,购于成都迪维乐普科技有限公司。

1.2 仪器与设备

Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱仪-示差检测器, Waters; TSK-GEL G4000PWXL 凝胶色谱柱, TOSOH; COXEM EM30Plus 扫描电镜, 韩国库塞姆公司; IX 多功能酶标仪, 美谷(上海)分子仪器有限公司; Nicolet 380 傅里叶变换红外光谱仪, 美国赛默飞公司; 其余均为通用设备。

1.3 实验方法

1.3.1 黑松露粗多糖的提取

取20g研磨后的松露粉末,加20倍水混匀,80℃热水浴提取2h后用布氏漏斗抽滤,收集滤液;60℃

下进行减压浓缩后加入4倍体积的95%乙醇于4℃沉淀中过夜,在4000 r/min的转速下离心10 min,收集沉淀,得到粗多糖。

1.3.2 粗多糖的纯化

将粗多糖溶解后,按体积比5:1的比例加入Sevage试剂,充分摇匀后在4000 r/min下离心5 min,收集位于上层的糖液,去除蛋白。将多糖冻干后配制成浓度为10 mg/mL的溶液,用葡聚糖凝胶Sephadex G-200层析柱纯化,每次的上样体积为1 mL,用蒸馏水洗脱,流速6 s/滴,1 min/管。将收集的各管糖液按苯酚硫酸法测OD₄₉₀,根据试管标号和OD₄₉₀绘制洗脱曲线,并且得到冻干粉,备用。

1.3.3 多糖纯度鉴定

参考于晓凤^[16]的方法对多糖样品进行纯度鉴定。取3.0 mL浓度为1 mg/mL的多糖溶液,以蒸馏水作空白对照,在190~400 nm波长下对攀枝花黑松露纯多糖进行全波长扫描。观察260 nm和280 nm两处是否存在特征吸收峰,从而判断纯化后的多糖是否含有蛋白质和核酸。

1.3.4 黑松露多糖的结构分析

1.3.4.1 分子量测定

分子量测定参照王海燕等^[7]的研究,用凝胶色谱对黑松露的分子量分布进行测定。将葡聚糖标准品T-10、T-40、T-70、T-500、T-2000用KH₂PO₄配成1.0 mg/mL的标准液,同时上样量为20 μ L,测定出峰时间。以葡聚糖标准品的分子量对数值logMW为横坐标,以分子量的微分分布dwt/d(logM)为纵坐标,绘制分子量标准曲线。

1.3.4.2 傅立叶红外光谱分析

精确称取1 mg多糖样品,加适量的干燥KBr粉末,混合研磨均匀后,在压片机上进行压片,制成透明薄片。将制好的压片利用傅里叶变换红外光谱仪扫描,扫描范围为400~4000 cm⁻¹,采集样品的红外吸收光谱。

1.3.4.3 单糖组成分析

参考向莹等^[17]的方法,并做适当处理:在试管中加入400 μ L的混合单糖标准液或多糖水解液、400 μ L PMP 甲醇溶液,使用涡旋混合器混合均匀;放入70℃的水浴中反应2 h后取出并冷却至室温,加400 μ L 0.3 mol/L的HCl中和(pH 6~7),再加水1200 μ L和等体积的氯仿,使用涡旋混合器混合均匀;放置一段时间,弃掉氯仿相,重复萃取几次。将水相用微孔膜(0.45 μ m)进行过滤,打入高效液相色谱进行分析。

1.3.4.4 扫描电子显微镜分析

参考Fan等^[18]的方法对攀枝花黑松露多糖进行扫描电镜分析。将充分干燥的多糖样品固定在样品台上,

在溅射一层金后,对样品进行检查并放入扫描电镜内观察样品形态和结构(放大倍数为1000倍、4300倍)。

1.3.5 黑松露多糖的抗氧化活性

1.3.5.1 DPPH 自由基清除能力

分别取不同浓度的样品 100 μL 置于 96 孔板中,再分别加入 15 μL 的 0.4 mmol/L DPPH,混匀,避光放置 30 min,使其充分反应,在 517 nm 波长下测吸光度 A_1 ;用乙醇代替 DPPH 重复上述操作,在 517 nm 波长下测吸光度 A_2 ,用水做空白对照得吸光度 A_0 ,并以维生素 C 做阳性对照,实验设置 3 组重复。DPPH 自由基清除能力计算公式为:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%$$

1.3.5.2 羟自由基清除率

将多糖样品配置成不同浓度(0.01~0.30 mg/mL)的样品溶液,依次加入 2.5 mL 亚硫酸铁(9 mmol/L)、1 mL 水杨酸-乙醇溶液(9 mmol/L)、1 mL 过氧化氢(9 mmol/L),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 30 min 后,4000 \times g 离心 10 min,于 520 nm 处测吸光度值 B 。用乙醇代替水杨酸-乙醇溶液得吸光度值 B_0 ,用水做空白对照得吸光度值 A ,并以维生素 C 做阳性对照,实验设置 3 组重复。羟自由基的清除能力计算公式为:

$$\text{羟自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{B - B_0}{A}\right) \times 100\%$$

1.3.5.3 铁还原抗氧化能力测定

取不同浓度的样品(0.1~1.2 mg/mL) 100 μL ,依次加入 400 μL 浓度为 0.3 mol/L 醋酸缓冲液(pH=3.6)、40 μL 浓度为 10 mmol/L 的 TPTZ 溶液、40 μL 浓度为 20 mmol/L 的三氯化铁溶液,混合均匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min,于 590 nm 处测定吸光度值。以不同浓度的七水合硫酸亚铁为标准品重复上述操作,同时以七水合硫酸亚铁浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线, $y=0.6126x+0.4934$ ($R^2=0.9966$),计算样品抗氧化能力,实验设置 3 组重复,并以维生素 C 做阳性对照。

1.3.6 黑松露多糖的降血糖活性

黑松露多糖的降血糖活性实验参照等 Lv 等^[19]的研究,并做适当修改。

α -淀粉酶抑制活性测定:将多糖样品配置成不同浓度(0.5~3.0 mg/mL)的样品溶液;用 pH 6.5 的磷酸盐缓冲液配制 0.6 mg/mL 的 α -淀粉酶溶液和 2.0 mg/mL 的淀粉溶液。取 100 μL 样品溶液加入 100 μL α -淀粉酶溶液和淀粉溶液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 20 min 后加入 500 μL DNS 沸水浴 5 min,在 535 nm 处测得吸光度 A_1 。用磷酸缓冲液代替待测溶液,测得吸光度 A_2 ;以蒸馏水和磷酸盐缓冲液分别取代待测液和 α -淀粉酶溶液,测的

吸光度为 A_0 、 A_3 。实验设置 3 组重复, α -淀粉酶抑制能力的公式为:

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0 - A_3}\right) \times 100\%$$

α -葡萄糖苷酶抑制活性测定:配制不同浓度的(0.5~3.0 mg/mL)的样品溶液;用 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L)配制 0.01 mg/mL 的 α -葡萄糖苷酶溶液;配制 2.5 mmol/L 的 pNPG 溶液、0.1 mol/L 的碳酸钠溶液。取 100 μL 样品溶液加入等体积的 α -葡萄糖苷酶溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min,加 100 μL 的 pNPG 溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min,最后加入 5 mL 碳酸钠溶液使其停止反应,于 410 nm 处测得吸光度值 A_1 。用蒸馏水做空白对照得吸光度值 A_0 ;用磷酸盐缓冲液代替 α -葡萄糖苷酶溶液,得到吸光度值 B ,同时以阿卡波糖做阳性对照。实验设置 3 组重复, α -葡萄糖苷酶抑制能力的公式为:

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_0}{B}\right) \times 100\%$$

1.4 数据处理

使用 Excel 进行实验数据处理,Origin 2018 软件作图,IBM SPSS Statistics 26 软件计算抗氧化活性和降血糖活性的半抑制浓度(IC₅₀值)。方差分析采用 Dunnett 检验,以 $p<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 多糖的提取与纯化

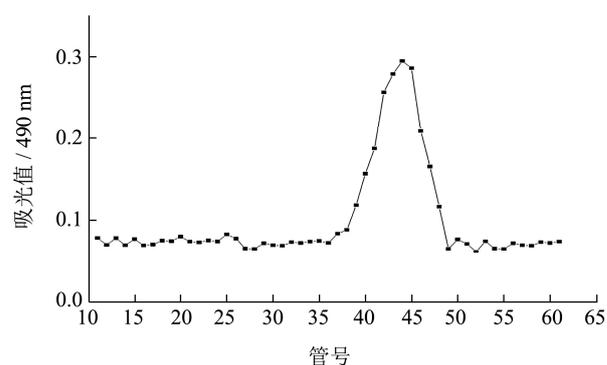


图1 Sephadex G-200 层析柱纯化洗脱曲线

Fig.1 Sephadex G-200 chromatography column purification elution curve

本试验表明攀枝花黑松露粗多糖得率为 4.52%,这比较于张存艳等^[20]采用干燥方式测多糖的得率(7.56%)有所降低,这可能是由于地理位置、干燥方法以及提取方法的差异导致。将所得粗多糖经葡聚糖凝胶 Sephadex G-200 层析柱纯化,绘制洗脱曲线(图

1), 收集主要出峰的 43~45 管糖液, 浓缩、干燥后得到纯化的黑松露多糖。

2.2 多糖纯度鉴定结果

由紫外吸收扫描图(图 2)可知, 该多糖在 260 nm 与 280 nm 处无吸收峰, 说明纯化后的多糖不含蛋白与核酸, 该多糖纯化彻底。

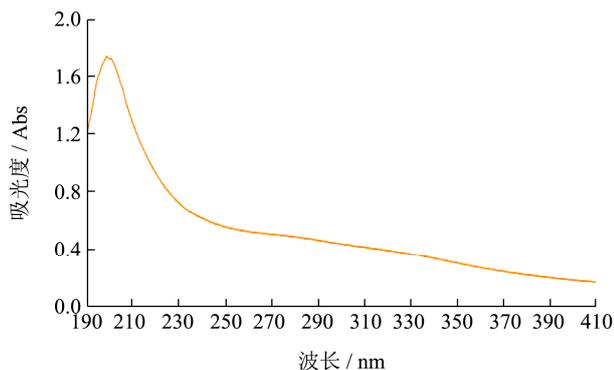


图 2 紫外吸收扫描图

Fig.2 Ultraviolet absorption scanning diagram

2.3 分子量

凝胶渗透色谱(Gel Permeation Chromatography, 简称 GPC)是根据相对分子量的大小将聚合物中不同的分子进行分离, 分子量越小保留时间就越长, 具有方便易检测等优点, 可用于多糖分子量的测定。本实验中测得的攀枝花黑松露的数均分子量 M_n 为 1.29×10^4 u, 该分子量的多糖还未有报道。

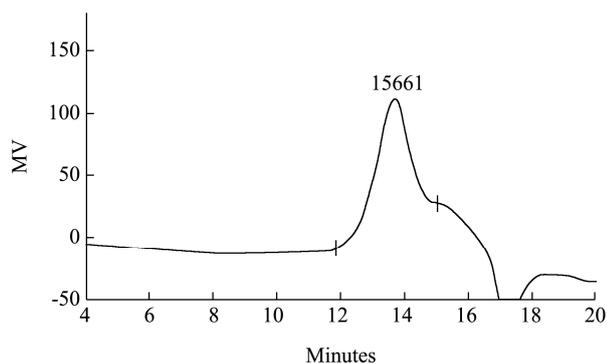


图 3 黑松露多糖分子量检测

Fig.3 Determination of molecular weight of black truffle polysaccharide

2.4 傅立叶红外分析

傅立叶红外变换光谱图是分子中基团振动能级跃迁而产生的。根据攀枝花黑松露多糖的红外光谱图(图 4)可知: 该多糖在 3404.81 cm^{-1} 处有吸收峰, 是由 O-H 伸缩振动所引起^[21]; 在 2927.41 cm^{-1} 处的吸收峰, 说明有 C-H 存在^[22]; 在 1641.63 cm^{-1} 的吸收峰, 可能是由

于 C=O 的不对称伸缩而引起的振动所导致; 在 1419.83 cm^{-1} 处的吸收峰, 这是由于 C-H 变角振动引起^[23]; $1200 \sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ 的吸收峰可能是吡喃环伸缩振动所引起的, 同时也是多糖的典型吸收区域^[24]。此外, 该多糖的红外扫描结果在 578.51 cm^{-1} 处还有吸收峰, 表明该黑松露多糖中糖苷键为 α -型, 且在糖醛酸对应的 1740 cm^{-1} 没有吸收峰, 说明该黑松露多糖不含糖醛酸, 即为中性糖^[25]。

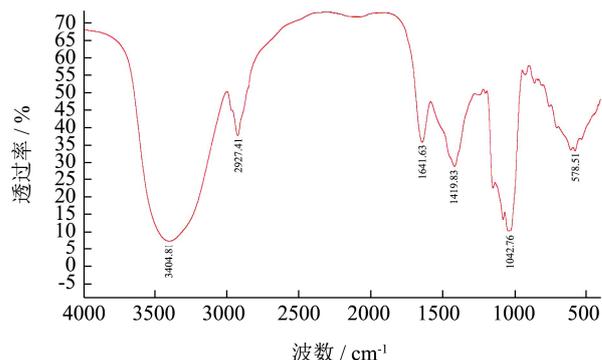


图 4 黑松露多糖红外光谱扫描图

Fig.4 Infrared spectrum of black truffle polysaccharides

2.5 单糖组成

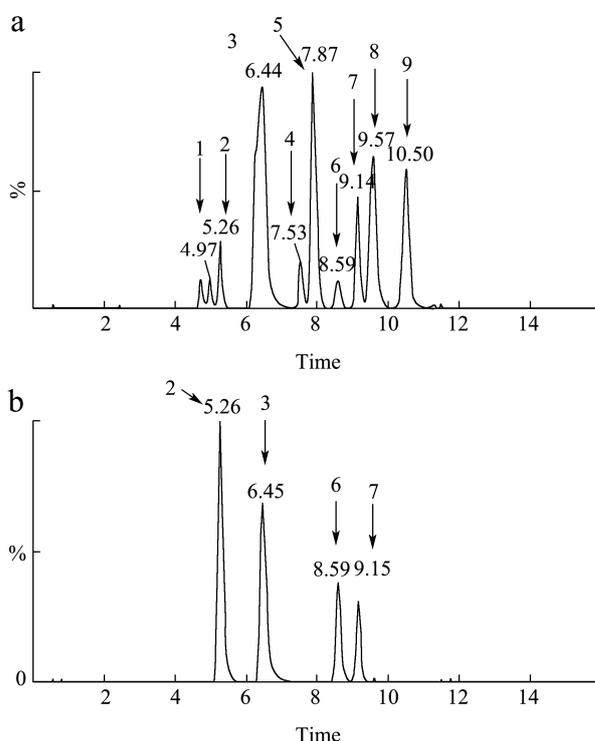


图 5 单糖标准品 (a) 和样品 (b) 色谱图

Fig.5 Chromatogram of monosaccharide standard (a) and sample (b)

注: 1.甘露糖醛酸; 2.甘露糖; 3.鼠李糖; 4.葡萄糖醛酸; 5.半乳糖胺; 6.葡萄糖; 7.半乳糖; 8.阿拉伯糖; 9.岩藻糖。

黑松露多糖经过水解以后, 采用衍生法对多糖进

行衍生化,黑松露多糖带上共轭基团后在紫外区有吸收峰,然后使用高效液相色谱分析^[26]。攀枝花黑松露主要是由甘露糖、葡萄糖、鼠李糖、半乳糖组成,这四种单糖的摩尔比为 2.89:1.81:0.34:0.50,其中甘露糖含量最大,其次是葡萄糖。有研究表明,多糖的单糖组成会影响其高级结构,大部分具有降血糖功能的多糖都含有葡萄糖、半乳糖^[15]。

2.6 扫描电子显微镜分析

该多糖组分的表面形态如图 6 所示。在放大 1000 倍电镜下(图 5a)观察到该多糖呈块状堆积结构,放大 4300 倍(图 5b)呈瘤状突起形态。

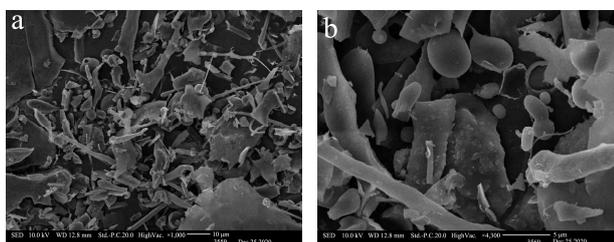


图 6 黑松露多糖扫描电镜结果

Fig.6 Results of scanning electron microscope on polysaccharide of black truffle

2.7 黑松露多糖的抗氧化活性

DPPH 自由基是一种稳定的氮中心的自由基,其有机溶液呈紫色,溶液的变色程度与其接受的电子数量(自由基清除活性)成定量关系,因而可以用于评价抗氧化活性^[27]。通过图 7a 可知,黑松露多糖具有清除 DPPH 自由基和羟自由基的能力,但清除作用低于对照维生素 C。在一定的浓度范围内,清除自由基的能力随着多糖溶液浓度的增大而增大,并且这一趋势与维生素 C 相同。在浓度为 3 mg/mL 时,该多糖对 DPPH 自由基和羟自由基的清除率是最大的,分别为 64.29%和 52.42%。

FRAP 是一种基于氧化还原反应的比色法。在酸性条件下,Fe³⁺-TPTZ 被抗氧化剂还原成 Fe²⁺-TPTZ,溶液变成深蓝色,并且在 593 nm 处有强吸收。由图 7b 可知该多糖的铁还原能力与浓度有依赖关系,在一定范围内随着多糖浓度的增大铁还原能力也会随之增强。

多糖的抗氧化活性与它的化学结构有着密切联系。例如, Liu 等^[28]从松露中提取出 TP1、STP1 和 STP2 三个组分中主要的单糖都是葡萄糖,这些组分都具有较强的抗氧化性能。本研究测定了攀枝花黑松露的单糖组成,发现其也主要由葡萄糖组成,也表现出较强的抗氧化性,这与上述研究一致。

通过计算,得到该多糖清除 DPPH 自由基和羟自由基的 IC₅₀ 值分别为 1.02 mg/mL、1.82 mg/mL, Vc 清除 DPPH 自由基和羟自由基的 IC₅₀ 值分别为 0.17 mg/mL、0.62 mg/mL。该多糖清除 DPPH 自由基的能力要强于清除羟自由基的能力。

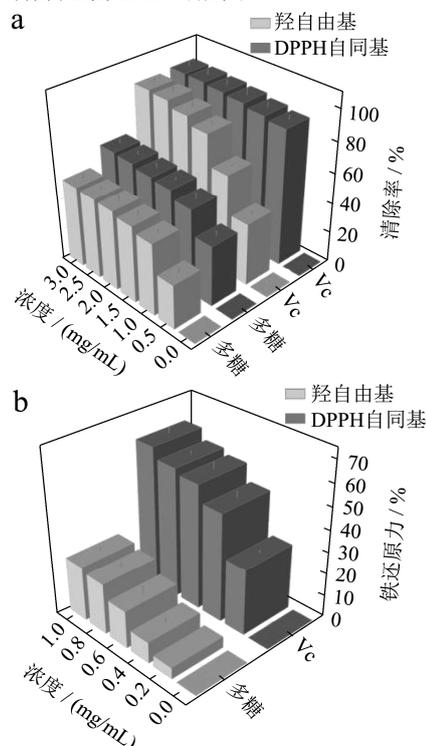


图 7 黑松露多糖抗氧化能力

Fig.7 Antioxidant capacity of black truffle polysaccharide

注: a.羟自由基与 DPPH 自由基清除率; b.铁还原抗氧化能力。

2.8 黑松露多糖的降血糖活性

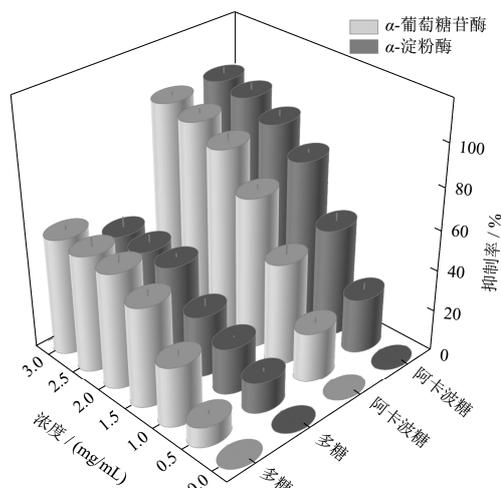


图 8 黑松露多糖降血糖能力

Fig.8 Hypoglycemic effect of black truffle polysaccharide

多糖类物质可以通过调控相关消化酶活性、调节肝脏糖代谢中关键酶表达等途径达到降血糖作用^[15]。

攀枝花黑松露多糖对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶均有一定的抑制作用,其抑制作用随浓度的变化趋势与阿卡波糖一致(图8)。且该黑松露多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用强于对 α -淀粉酶的抑制作用。在 2.5 mg/mL 时对 α -淀粉酶的抑制作用最大,达到 45.80%;在 2 mg/mL 时对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用趋于稳定,达到 57.22%。

曾有研究表明,多糖的降血糖活性与其分子质量、单糖组成相关,一般在合适的范围内,分子量越低的多糖组分对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制效果越高^[17]。有时,降血糖能力的强弱也与多糖的来源相关^[19],如邵淑宏等^[29]的研究中测定了三种乌龙茶多糖,其中分子量最大的多糖具有最强的 α -葡萄糖苷酶抑制效果。测定该多糖与阿卡波糖抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶 IC_{50} 值:多糖的 IC_{50} 值分别为 1.99 mg/mL、3.30 mg/mL,阿卡波糖的 IC_{50} 值分别为 0.90 mg/mL、0.76 mg/mL。故黑松露多糖具有一定的降血糖能力,但与阿卡波糖相比,抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶较弱。

3 结论

本研究在对黑松露多糖的结构分析中发现,该组分具有糖类化合物的特征峰,且推断出该多糖为 α -吡喃型杂多糖,其分子量为 1.29×10^4 u,主要由甘露糖、葡萄糖、鼠李糖和半乳糖组成,摩尔比为 2.89:1.81:0.34:0.50。抗氧化和降血糖结果表明,该多糖具有较好的抗氧化和降血糖活性,且随质量浓度的增加其清除率和抑制率逐渐升高,其中对 DPPH 自由基的清除能力最好。黑松露多糖作为天然的抗氧化剂,在健康食品的开发和生产中具有一定的研究意义。同时,随着对多糖研究的不断深入,黑松露多糖较好的降血糖活性也将为其深度开发及其在辅助治疗糖尿病方面提供更好的健康解决途径。

参考文献

[1] Chen F, Huang G L. Extraction, derivatization and antioxidant activity of bitter melon polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 141: 14-20

[2] Liu Y, Sun Y, Huang G. Preparation and antioxidant activities of important traditional plant polysaccharides [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 111: 780-786

[3] Chen X, Qian L, Wang B J, et al. Synergistic hypoglycemic effects of pumpkin polysaccharides and puerarin on type II diabetes mellitus mice [J]. 2019, Molecules, 2019, 24(5): 955

[4] Farzaei M H, Rahimi R, Farzaei F, et al. Traditional medicinal herbs for the management of diabetes and its complications: an

evidence-based review [J]. International Journal of Pharmacology, 2015, 11: 874-887

[5] Zeng C H, Chen X Y, Jiang W W, et al. Isolation, purification and antioxidant activity of the polysaccharides from Chinese truffle tuber sinense [J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2020, 19: 436-447

[6] 刘雪蕊,黄秋葵多糖的提取及其降血糖活性研究[D].天津:天津科技大学,2017

LIU Xuerui. Research on the extraction and hypoglycemic activity of polysaccharide from okra [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2017

[7] 王海燕,张隆龙,张凤兰,等.黑松露多糖分离纯化与抗炎活性研究[J].现代食品科技,2017,33(8):30-35

WANG Haiyan, ZHANG Longlong, ZHANG Fenglan, et al. Isolation, purification, and characterization of anti-inflammatory activity of truffle polysaccharides [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(8): 30-35

[8] Schillaci D, Cusimano M G, Cascioferro S M, et al. Antibacterial activity of desert truffles from Saudi Arabia against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2017, 19: 121-125

[9] Mudliyar Devshri S, Wallenius Janne H, Bedade Dattatray K, et al. Ultrasound assisted extraction of the polysaccharide from *Tuber aestivum* and its *in vitro* anti-hyperglycemic activity [J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2019, 20: 100198

[10] Lu Y, Wang D, Hu Y, et al. Sulfated modification of epi-medium polysaccharide and effects of the modifiers on cellular infectivity of *IBDV* [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 71: 180-186

[11] Zhang Z, Lv G, He W, et al. Effects of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Flammulina velutipes* [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(2): 1524-1531

[12] 杨玉洁,刘静宜,谭艳,等.多糖降血糖活性构效关系及作用机制研究进展[J].食品科学,2021,42(23):355-363

YANG Yujie, LIU Jingyi, TAN Yan, et al. research progress on the structure-activity relationship and hypoglycemic mechanism of polysaccharide [J]. Food Science, 2021, 42(23): 355-363

[13] Siskovic N, Strojnik L, Grebenc T, et al. Differentiation between species and regional origin of fresh and freeze-dried truffles according to their volatile profiles [J]. Food Control, 2020, 123(2): 107698

[14] Nakamura N, Abe J P, Shibata H, et al. Genotypic diversity of

- the Asiatic black truffle, *Tuber himalayense*, collected in spontaneous and highly productive truffle grounds [J]. *Mycological Progress*, 2020, 19(12): 1511-1523
- [15] Zhang B, Zhang X, Yan L, et al. Different maturities drive proteomic and metabolomic changes in Chinese black truffle [J]. *Food Chemistry*, 2020, 342: 128233
- [16] 于晓凤. 蛹虫草菌胞外多糖结构、合成相关酶及降血糖活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2019
YU Xiaofeng. Study on structure, synthesis related enzymes and hypoglycemic activity of exopolysaccharide from *Cordyceps militaries* mycelium [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2019
- [17] 向莹. 滑子菇多糖结构和生物活性的研究[D]. 广东: 华南理工大学, 2013
XIANG Ying. Study on structure and bioactivity of polysaccharide from *Pholiota nameko* [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013
- [18] Fan J, Yang J. Preparation and characterization of a chitosan/galactosylated hyaluronic acid/heparin scaffold for hepatic tissue engineering [J]. *Journal of Biomaterials Science-polymer Edition*, 2017, 28(6): 569-581
- [19] Lv Q Q, Cao J J, Liu R, et al. Structural characterization, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from wheat bran [J]. *Food Chemistry*, 2021, 341: 128218
- [20] 张存艳, 魏蔼玲, 岳茂林, 等. 不同干燥方式对松露多糖含量及其抗氧化活性的影响[J]. *食品工业*, 2020, 41(12): 214-218
ZHANG Cunyan, WEI Ailing, YUE Maolin, et al. Effects of different drying methods on polysaccharide content and its antioxidant activity from truffle [J]. *Food Industry*, 2020, 41(12): 214-218
- [21] Tian W N, Dai L W, Lu S M, et al. Effect of *Bacillus* sp. *U-106* fermentation on *Dendrobium officinale* chock for polysaccharide: structure and immunoregulatory activities [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135: 1034-1042
- [22] Wei E W, Yang R, Zhao H P, et al. Microwave-assisted extraction releases the antioxidant polysaccharides from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123: 280-290
- [23] Chen C, Zhang B, Huang Q, et al. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Moringa oleifera* Lam. leaves: characterization and hypoglycemic activity [J]. *Industrial Crops and Products*, 2017, 100: 1-11
- [24] Cobs-Rosas M, Concha-Olmos J, Weinstein-Opppenheimer C, et al. Assessment of antiproliferative activity of pectic substances obtained by different extraction methods from rapeseed cake on cancer cell lines [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 117: 923-932
- [25] Teng C, Qin P, Shi Z, et al. Structural characterization and antioxidant activity of alkali-extracted polysaccharides from quinoa [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 113: 106392
- [26] 殷微. 榛蘑多糖提取理化特征及抗氧化活性研究[D]. 吉林: 长春师范大学, 2020
YIN Wei. Research on physicochemical characteristics and antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Armillariella mellea* [D]. Jilin: Changchun Normal University, 2020
- [27] 刘芬, 朱顺妮, 徐忠斌, 等. 超声辅助热水浸提小球藻多糖及抗氧化活性测定[J]. *中国酿造*, 2020, 39(2): 177-181
LIU Fen, ZHU Shunni, XU Zhongbin, et al. Extraction of polysaccharides from *Chloroplast* sp. by ultrasound-assisted hot water extraction and determination of antioxidant activity [J]. *China Brewing*, 2020, 39(2): 177-181
- [28] Liu X, Zhang Z, Xu L, et al. *Dioscorea* saponin transforms the structure of truffle exo-polysaccharide and enhances its antioxidant activity [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 127: 109417
- [29] 邵淑宏. 乌龙茶多糖理化性质及抗氧化、降血糖活性研究[D]. 浙江: 浙江大学, 2015
SHAO Shuhong. Physicochemical properties, antioxidant and hypoglycemic activity of the polysaccharides from oolong tea [D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2015