

· 中文核心期刊
· EI 收录期刊

ISSN 1003-5214
CN 21-1203/TQ
CODEN JIHUFJ

精细化工®

FINE CHEMICALS

第 1 期
2026年 第43卷



西南化工研究设计院有限公司
Southwest Institute of Chemical Co., Ltd.



广告

“绿氢醇新纪元，智造零碳未来”
——中化西南院引领绿色氢醇一体化工程

ISSN 1003-5214



9 771003 521267



鬼臼多糖的提取、结构表征及其生物活性

冯薇¹, 李静洁², 李紫薇¹, 蔺永刚^{1*}, 王俊龙^{1*}, 时文盼¹

(1. 伊犁师范大学 新疆生物质资源清洁转化与高值化利用重点实验室, 新疆 伊宁 835000; 2. 伊犁州中医医院, 新疆 伊宁 835000)

摘要:为促进鬼臼多糖(*Podophyllum emodi* polysaccharides, PEP)的开发与应用,采用超声辅助离子液体法提取粗PEP,再经柱分离纯化获得两种均一组分的多糖PEP-I和PEP-II。通过单因素及响应面法优化了粗PEP的提取工艺,采用GPC、XRD、UV-Vis、FTIR、SEM、TGA对PEP-I和PEP-II进行了表征,通过体外抗氧化、降糖实验考察了其生物活性。结果表明,粗PEP提取的最优条件为:以1-丁基-3-甲基咪唑氯盐(BMIMCl)为离子液体、液料比(mL:g)40:1、超声温度53.0℃、超声时间91.0min、离子液体质量分数1.0%(以去离子水加入量计),在该条件下,粗PEP的提取率为37.796%±0.17%;PEP-I是重均相对分子质量为27.32kDa的 α 、 β -构型的吡喃型中性多糖,具有三螺旋构象,主要由鼠李糖(61.85%,相对摩尔分数,下同)、甘露糖(19.36%)和阿拉伯糖(5.85%)组成的杂多糖,形态分布不均匀且部分呈网状;PEP-II是重均相对分子质量为33.48kDa的 α 、 β -构型的吡喃型酸性多糖,主要由鼠李糖(52.89%)、木糖(12.63%)和葡萄糖(12.99%)组成,含有少量的蛋白质和糖醛酸,表面呈光滑片状薄膜,破碎程度较轻。PEP-I和PEP-II均为晶体与非晶体共存的晶体构象,且具有良好的热稳定性。PEP-I和PEP-II具有一定的抗氧化和降糖活性,对1,1-二苯基-2-三硝基苯胍自由基的最大半数抑制质量浓度(IC₅₀)分别为1.832和0.734g/L,对2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐阳离子自由基的IC₅₀分别为1.634和0.862g/L,对羟基自由基的IC₅₀分别为1.941和0.926g/L,对 α -葡萄糖苷酶的IC₅₀分别为3.021和2.432g/L,对 α -淀粉酶的IC₅₀分别为3.242和2.398g/L。

关键词:鬼臼多糖;离子液体;超声提取;结构表征;生物活性;中药现代化技术

中图分类号:R284.2 文献标识码:A 文章编号:1003-5214(2026)01-0132-12

Extraction, structural characterization and biological activities of *Podophyllum emodi* polysaccharides

FENG Wei¹, LI Jingjie², LI Ziwei¹, LIN Yonggang^{1*}, WANG Junlong^{1*}, SHI Wenpan¹

(1. Xinjiang Key Laboratory of Clean Conversion and High Value Utilization of Biomass Resources, Yili Normal University, Yining 835000, Xinjiang, China; 2. Yili Prefecture Traditional Chinese Medicine Hospital, Yining 835000, Xinjiang, China)

Abstract: To facilitate the development and application of *Podophyllum emodi* polysaccharides (PEP), the crude PEP was extracted by ultrasonic-assisted ionic liquid extraction which was optimized by single factor and response surface methods, and PEP-I and PEP-II polysaccharides were obtained by column separation and purification, characterized by GPC, XRD, UV-Vis, FTIR, SEM and TGA, and analyzed by anti-oxidation and hypoglycemic experiments *in vitro* for their biological activities. The results indicated that under the optimal crude PEP extraction conditions of 1-butyl-3-methylimidazole chloride (BMIMCl) as ionic liquid, liquid-solid ratio (mL:g) 40:1, ultrasonic temperature 53.0℃, extraction time 91.0min, and ionic liquid mass fraction 1.0% (based on the mass of deionized water, the same below), the extraction yield of crude PEP reached 37.796%±0.17%. PEP-I was a neutral pyranose polysaccharide with a weight-average relative molecular mass of 27.32kDa, characterized by α and β configurations, exhibited a triple helix

收稿日期:2024-12-27; 定用日期:2025-02-17; DOI:10.13550/j.jxhg.20240969

基金项目:伊犁科技计划项目(YXD2023A11);2022伊犁师范大学科研项目(2022YSY005)

作者简介:冯薇(2001—),女,硕士生,E-mail:2889811011@qq.com。联系人:蔺永刚(1984—),男,实验师,E-mail:869294906@qq.com;王俊龙(1992—),男,讲师,E-mail:974881461@qq.com。

conformation, and primarily composed of rhamnose (61.85%, relative mole fraction, the same below), mannose (19.36%), and arabinose (5.85%), with an uneven morphological distribution and some portions appearing mesh-like. PEP- II was a α and β -configured acidic pyranose polysaccharide with a weight-average relative molecular mass of 33.48 kDa, predominantly composed of rhamnose (52.89%), xylose (12.63%) and glucose (12.99%), contained trace amounts of protein and uronic acid, and presented as a smooth, plate-like film with minimal fragmentation. Both PEP- I and PEP- II displayed a crystalline structure coexisting with amorphous phases and exhibited good thermal stability. The maximum half-inhibitory concentration (IC_{50}) of PEP- I and PEP- II against 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine radical were 1.832 and 0.734 g/L, respectively. The IC_{50} against 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical cation were 1.634 g/L for PEP- I and 0.862 g/L for PEP- II. For hydroxyl radical, the IC_{50} were 1.941 g/L for PEP- I and 0.926 g/L for PEP- II. The IC_{50} against α -glucosidase were 3.021 g/L for PEP- I and 2.432 g/L for PEP- II, while for α -amylase, the IC_{50} were 3.242 g/L for PEP- I and 2.398 g/L for PEP- II.

Key words: *Podophyllum emodi* polysaccharides; ionic liquids; ultrasonic extraction; structural characterization; biological activities; modern technology of traditional Chinese medicine

多糖是由 10 个以上的单糖通过糖苷键形成的高分子碳水化合物, 广泛分布于植物、动物、真菌和细菌等生物体内^[1-3]。植物多糖具有来源丰富、毒性低、可控性强等优点, 在开发和利用方面具有很大潜力^[4]。目前, 越来越多的科学家将多糖视为生命过程中不可或缺的信息和功能分子, 这些分子发挥着支持细胞生长、分化和发育的重要作用^[5]。尽管自然界中有 32 种单糖, 但人体内的糖链仅由 9 种单糖构成^[2]。由于人体内的糖链与自然界中存在的糖链在结构上具有某种程度的相似性, 外源性糖化化合物的施用, 理论上会干扰体内细胞合成糖链的功能, 从而达到预防和治疗疾病的效果^[6]。

鬼白 (*Podophyllum emodi*) 属于龙胆科, 起源于亚洲, 以其独特的伞状叶片排列而被称为“八角莲”^[7]。现代药理研究表明, 鬼白中多糖具有重要的生物活性, 如抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、抗辐射、降血糖、降血脂、增强免疫力及保护肝肾等^[8-9]。多项研究表明, 不同工艺提取的多糖结构、理化性质及生物活性也大不相同。

目前, 多糖的提取方法主要包括热水浸提法^[10]、酸性水解法^[11]、超声辅助法^[12]、超声微波联用法^[13]、酶辅助法^[14]等。其中, 热水浸提简单便捷, 但提取时间较长且提取率较低; 酸性水解法虽然提高了多糖的提取率, 但对体系 pH 要求较为苛刻, 且反应不易控制; 酶辅助提取法借助底物与酶的特异性结合, 在最优条件下进行水解, 具有时间短、条件温和等优点, 但成本较高; 超声辅助提取利用超声波的机械作用和空化效应, 破坏细胞壁和细胞膜, 有效提高多糖的释放效率, 表现出高提取率、短时间和低能耗的优势。离子液体是一种新型萃取溶剂, 具备优越的稳定性、高萃取率及设计性强等特点, 能够有效提取植物中的多种活性成分, 进而获得更

高纯度的活性物质。为了在短时间内获得更高的提取率, 超声辅助离子液体法提取植物多糖逐渐被广泛应用。JIANG 等^[15]采用超声辅助离子液体法提取准噶尔山楂多糖, 表明离子液体可溶性山楂果实多糖对体外抗氧化能力优于热水提取的多糖。李文文等^[16]比较了酶解超声辅助和超声辅助离子液体提取藁本多糖的最优工艺条件, 发现超声辅助离子液体多糖得率较高, 提取物降糖活性较好。

本文拟采用超声辅助离子液体提取鬼白多糖 (PEP), 对提取的粗多糖进行分离、纯化及理化性质分析与结构表征, 并评估其抗氧化和降糖活性。以期对鬼白资源的深度开发及其药用价值提供理论基础, 也为其他药用植物多糖的提取提供思路。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

鬼白, 新鲜采摘于云南省沧源县芒卡镇, 经伊犁师范大学天然产物研究与开发重点实验室南光明教授鉴定为龙胆科鬼白属植物鬼白的果实; 透析袋 (截留相对分子质量为 3500 Da), 美国 BioSharp 公司; DEAE-650 M 型纤维素柱 (37 cm×260 mm)、Sephadex G-750 型凝胶柱 (16 mm×800 mm), 英国 Whatman 公司。

无水乙醇、石油醚、苯酚溶液 (质量分数 6%)、 H_2O_2 (质量分数 30%)、浓硫酸 (质量分数 98%)、氯化钠、氢氧化钠、正丁醇、三氯甲烷、三氯乙酸、甲醇、吡啶、二氯甲烷, 分析纯, 天津市大茂化学试剂厂; 蓝色葡聚糖、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 (ABTS)、抗坏血酸 (V_C), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 (BHT)、1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮 (PMP)、四丁

基铵 (TYHS)、四乙基铵 (TYLM)、1-丁基-3-甲基咪唑氯盐 (BMIMCl)、1-乙基-3-甲基咪唑溴盐 (EMDC)、乙二胺四乙酸 (EDTA)、1-烷基-3-甲基咪唑溴盐 (EADS)、1-乙基-3-甲基咪唑 (EMIMBr)、四乙基氯化铵溴盐 (TEAC)、四丁基氯化铵 (TBACl)、1-烷基-3-甲基咪唑四硼酸盐 (MSDS)、磷酸烯醇丙酮酸、三氟乙酸 (TFA), 分析纯, 伊犁万隆有限责任公司。实验用水均为去离子水, 自制。

XH-2020 D 型电脑智能温控低温超声波合成萃取仪, 北京翔鹤科技有限公司; Cheetah II 型多糖分离纯化系统, 天津博纳艾杰尔科技有限公司; UV-2550 型紫外-可见分光光度计 (UV-Vis), 日本 Shimadzu 公司; 7500 F 型扫描电子显微镜 (SEM), 日本 JOEL; D8 Advandace 型 X 射线衍射仪 (XRD)、AVANCE III HD 核磁共振波谱仪 (NMR), 德国 Bruker 公司; Cary 630 型傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR)、6300 型气相色谱仪 (GC)、PL-GPC50 型高效凝胶渗透色谱仪 (HAGPC), 美国 Agilent 公司; HS-TGA-102 型热重分析仪 (TGA), 上海和晟仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 鬼白预处理

将鬼白自然风干至恒重, 粉碎过 40 目筛, 经测定, 含水量 (质量分数) 为 0.72%。依次用石油醚、无水乙醇 [液料比 (g/L) 均为 2:1] 于索氏提取器各脱脂、脱色素 24 h 后, 过滤并收集滤渣, 经自然晾干后, 记为预处理鬼白, 于 -4 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 离子液体配制

分别称取一定量 EDTA、BMIMCl、TBACl、EMIMBr、TEAC 加入到去离子水中配成离子液体质量分数 1.0% (以去离子水加入量计) 的水溶液, 以未加离子液体为空白对照, 考察不同离子液体对鬼白多糖提取率的影响。

1.2.3 粗鬼白多糖提取

首先, 将 5 g 鬼白粉末加入超声波合成萃取仪中, 按照液料比 (mL:g, 下同) 40:1 加入去离子水, 在超声温度 53.0 °C, 超声时间 91.0 min, 离子液体 BMIMCl 质量分数 1.0% (以去离子水加入量计, 下同) 的条件下进行提取。随后, 将滤液沉浸过夜后除去下层滤渣, 得到鬼白粗多糖溶液。采用三氯乙酸法^[12]除蛋白质, 重复多次, 直至 UV-Vis 谱图于 280 nm 处无明显吸收峰, 经离心 (4000 r/min) 处理 8 min, 再减压浓缩至原体积的 1/3, 加入 3 倍体积的无水乙醇, 醇沉 24 h, 沉淀物装入透析袋在去离子水中透析 (3500 Da, 72 h), 经冷冻干燥 (-70 °C, 48 h) 得到淡紫色絮状粗 PEP。

1.2.4 鬼白多糖的分离纯化

精确配制质量浓度为 10 g/L 的 PEP 水溶液, 随

后上样至 DEAE-650 M 型纤维素柱, 采用超纯水和不同浓度的 NaCl 水溶液 (0.2、0.4、0.6 mol/L) 进行洗脱, 流速为 1 mL/min。采用自动收集器收集洗脱液, 每管 10 mL, 收集并合并同一组分, 透析 48 h 后, 经冷冻干燥 (-70 °C、24 h), 分别得到水洗组分、0.4 mol/L NaCl 溶液盐洗组分的鬼白多糖。

随后, 通过 Sephadex G-750 型凝胶柱进一步纯化, 以 3 倍柱体积的去离子水为洗脱剂, 流速 0.4 mL/min, 自动收集器收集洗脱液, 每管 10 mL, 收集并合并同一组分的多糖溶液。经减压浓缩、透析 (3500 Da, 72 h)、冷冻干燥 (-70 °C、24 h) 得到两种均一组分的多糖, 分别记为 PEP-I、PEP-II。

1.3 结构表征与性能测试

1.3.1 鬼白多糖提取率计算

采用苯酚硫酸法^[17]测定并计算鬼白多糖提取率。首先, 将 10 mL 不同质量浓度 (0~0.8 g/L) 的葡萄糖标准液加入容量瓶中, 随后分别加入 1 mL 质量分数为 6% 的苯酚溶液和 5 mL 浓硫酸, 混合均匀后静置 15 min。沸水浴中反应 20 min, 冷却至室温, 用去离子水定容至 25 mL。用 UV-Vis 测定各溶液在 490 nm 处的吸光度, 绘制吸光度 (y)-葡萄糖质量浓度 (x, g/L) 标准曲线, 得到拟合回归方程为 $y=0.4725x+0.1752$ ($R^2=0.9957$)。按照上述步骤处理待测样品, 将待测样品溶液的吸光度带入标准方程计算得到鬼白多糖的质量浓度。根据式 (1) 计算鬼白多糖提取率 (%)。

$$\text{提取率}/\% = \rho \times N \times V/m \quad (1)$$

式中: ρ 为鬼白多糖质量浓度, g/L; N 为稀释倍数; V 为待测液体积, L; m 为样品质量, g。

1.3.2 含水量测定

准确称取 5 mg 粗 PEP, 加入 1 mL 无水甲醇, 采用卡尔费休试剂进行滴定, 直至卡尔费休水分测定仪检测到终点并自动记录试剂消耗量。根据式 (2) 计算含水量:

$$\text{含水量}/\% = (V \times T)/W \times 100 \quad (2)$$

式中: V 为滴定消耗卡尔费休试剂的体积, L; T 为卡尔费休试剂滴定度, g/L; W 为粗 PEP 质量, g。

1.3.3 蛋白质含量、糖醛酸含量、相对分子质量测定

蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定^[18]。糖醛酸含量采用硫酸咔唑法测定^[19]。相对分子质量采用高效凝胶渗透色谱仪测定^[20]。

1.3.4 单糖组成测定

分别取 5 mg 的 PEP-I、PEP-II 于 10 mL 顶口瓶中, 加入 4 mL 浓度 2 mol/L 的 TFA, 于 110 °C 水解 4 h。冷却至室温, 加入 4 mL 甲醇, 混匀并减压浓缩去除 TFA (重复 5~6 次)。随后, 加入 8 mg 盐酸羟胺和 0.5 mL 吡啶, 于 90 °C 反应 40 min。反应

结束后,冷却至室温,再加入 0.5 mL 乙酸酐,于 90 °C 反应 1 h。冷却至室温后,加入 1 mL 二氯甲烷和 1 mL 去离子水进行萃取,弃去水相,加水离心(4000 r/min) 5 min(重复 5~6 次),过滤二氯甲烷相并收集于气相小瓶,进行 GC 分析。单糖标准品不需酸解,其他步骤与上述步骤相同。GC 色谱分析条件:色谱柱 Vondacap df(30 m×0.25 mm×0.25 μm),程序升温,150 °C 保持 2 min,以 5 °C/min 升至 250 °C,并保持 5 min。载气为氦气,流速 1 mL/min,压力 8.7 kPa,进样量 2 μL,分流比为 40:1。

1.3.5 UV-Vis 测试

精确配制质量浓度为 1.0 g/L 的 PEP-I、PEP-II 水溶液。扫描波长范围 200~400 nm。

1.3.6 XRD 测试

靶材 Cu,管电压 40 kV,管电流 40 mA, K_{α} 射线 $\lambda=0.1541$ nm,步长 0.02°,扫描速率 10 (°)/min,扫描范围 5°~80°^[21]。

1.3.7 SEM 测试

样品喷金,低位二次电子(LEI)模式,工作电流 20 μA,电子加速电压 10.0 kV。

1.3.8 TGA 测试

分别称取 5 mg 的 PEP-I、PEP-II 置于铂坩埚中, N_2 氛围,升温速率 10 °C/min,升温范围 25~600 °C。

1.3.9 FTIR 测试

采用 KBr 压片法,波数范围 4000~500 cm^{-1} ,分辨率 4 cm^{-1} ,扫描次数 32 次。

1.3.10 NMR 测试

分别称取 30 mg 的 PEP-I、PEP-II 溶于 0.5 mL 的 D_2O 中,超声溶解后转移至核磁共振管,NMR 室温下测定 PEP-I、PEP-II 的 1H NMR、 ^{13}C NMR 谱图。

1.3.11 三螺旋结构测试

采用刚果红法^[22]分析 PEP-I、PEP-II 三螺旋结构。分别移取 1 mL 质量浓度 4 g/L 的 PEP-I、PEP-II 水溶液,依次加入 1 mL 浓度 0.2 mmol/L 的刚果红溶液、3 mL 不同浓度的 NaOH 水溶液(0~0.5 mol/L)。混匀后避光反应 25 min,用 UV-Vis 测定溶液在 400~600 nm 范围内的谱图,并记录最大吸收波长(λ_{max})。

1.4 单因素实验

按照 1.2.3 节的提取方法和步骤,分别考察液料比(30:1、40:1、50:1、60:1、70:1),超声温度(30、40、50、60、70 °C),超声时间(30、60、90、120、150 min)和离子液体质量分数(0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%)对鬼臼多糖提取率的影响。改变单一条件时,其他条件按照 1.2.3 节进行,待第 1 个因素条件优化结束后,选择最佳条件开展第 2 个因素实验,依次直至单因素实验结束,每个实验重复 3 次。

1.5 响应面实验

根据单因素实验结果,以液料比(A)、超声温度(B)、超声时间(C)和离子液体质量分数(D)为自变量,以鬼臼多糖提取率为评价指标,对 4 个因素分别设置 3 个水平,用“-1、0、+1”表示,液料比、超声温度、超声时间和离子液体质量分数根据单因素实验结果中心点取值(表 1)。

表 1 响应面设计因素与水平
Table 1 Factors and levels of response surface design

因素	水平		
	-1	0	+1
A 液料比(mL:g)	30:1	40:1	50:1
B 超声温度/°C	40	50	60
C 超声时间/min	60	90	120
D 离子液体质量分数/%	0.5	1.0	1.5

1.6 体外抗氧化、降糖能力测定

分别配制质量浓度为 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、6.00、8.00 g/L 的 PEP-I、PEP-II 水溶液,以 V_C 、阿卡波糖为阳性对照,参照文献[23]方法,分别测定 PEP-I、PEP-II 对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基、羟基自由基的清除能力和铁离子还原能力,以及对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的活性抑制能力,分别计算其最大半抑制质量浓度(IC_{50})。

2 结果与讨论

2.1 离子液体类型对粗鬼臼多糖提取率的影响

图 1 为不同离子液体对粗鬼臼多糖提取率(简称鬼臼多糖提取率)的影响。

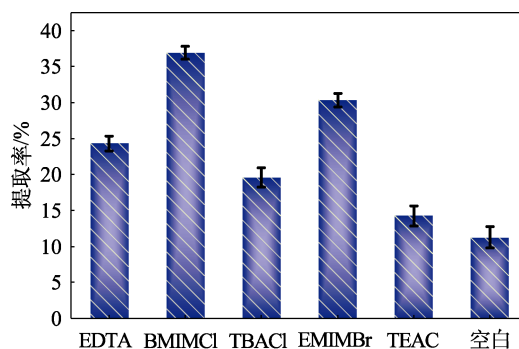


图 1 不同离子液体对 PEP 提取率的影响

Fig. 1 Effect of different ionic liquids on extraction rate of PEP

从图 1 可以看出,不同离子液体对鬼臼多糖提取率的高低排序为:BMIMCl(36.94%±1.17%)>EMIMBr(30.33%±1.21%)>EDTA(24.31%±1.11%)>TBACl(19.62%±1.13%)>TEAC(14.25%±1.12%),均高于对照组(空白,12.28%±0.26%)。这可能是

因为, BMIMCl 是一种二烷基咪唑类离子液体, 其咪唑环上 2 位氢的酸度系数较高 ($pK_a=18.6$), 相较于其他离子液体更易被电离, 导致体系酸度增强, 从而促进氢键形成^[24], 提高了鬼臼多糖的提取率。因此, 采用 BMIMCl 为离子液体进行后续优化实验。

2.2 单因素实验结果

图 2 为液料比 (a)、超声温度 (b)、超声时间 (c) 和离子液体质量分数 (d) 对鬼臼多糖提取率的影响。

从图 2a 可以看出, 随着液料比 (30 : 1~70 : 1) 的增加, 鬼臼多糖提取率呈现先增加后减小的变化趋势。当液料比为 40 : 1 时, 鬼臼多糖提取率达到最大, 为 $37.50\% \pm 0.32\%$ 。这可能是因为, 液料比增大会扩大鬼臼粉末与离子液体的接触面积, 使鬼臼多糖更容易被提取, 但液料比过大时, 溶液中杂质溶出增加, 从而不利于鬼臼多糖溶出。

从图 2b 可以看出, 随着超声温度 (30~70 °C) 的增加, 鬼臼多糖提取率呈现先增加后减小的变化趋势。当超声温度为 50 °C 时, 鬼臼多糖提取率达到最大, 为 $34.92\% \pm 0.17\%$ 。这可能是因为, 适当升高温度, 可以增强分子间的热运动, 促进鬼臼多糖的溶出。而温度的持续升高会破坏鬼臼多糖的结构并导致其水解, 从而降低溶出量和提取率。

从图 2c 可以看出, 随着超声时间 (30~150 min) 的增加, 鬼臼多糖提取率呈现先增加后减小的变化趋势。当超声时间为 90 min 时, 鬼臼多糖提取率达到最大, 为 $36.12\% \pm 0.21\%$ 。这可能是因为, 超声波空化作用可以破坏植物细胞壁, 但是随着时间延长, 超声波在高温高频率下会破坏鬼臼多糖结构。

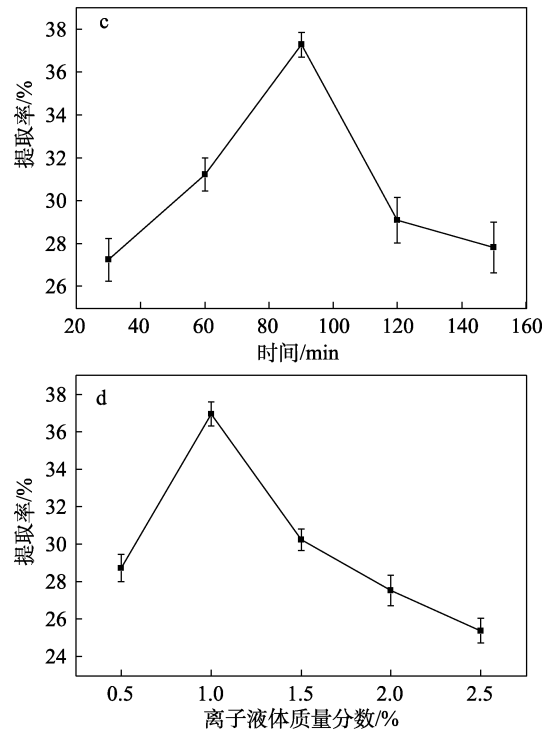
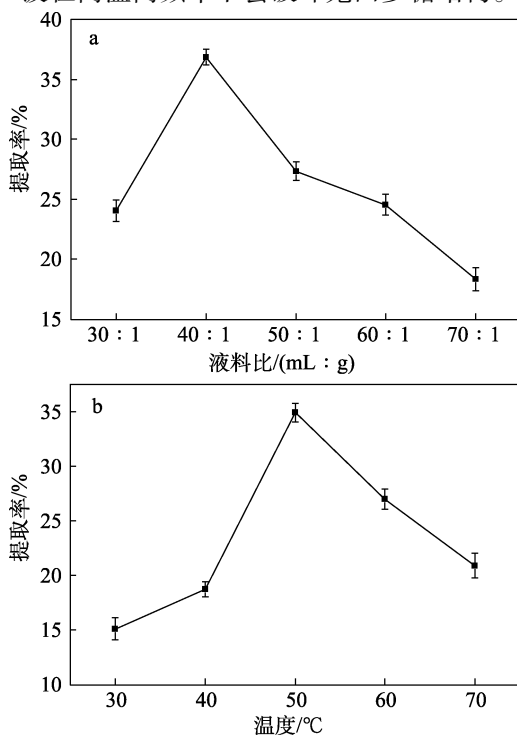


图 2 液料比 (a)、超声温度 (b)、超声时间 (c) 和离子液体质量分数 (d) 对 PEP 提取率的影响

Fig. 2 Effects of liquid ratio (a), ultrasonic temperature (b), ultrasonic time (c) and ionic liquid mass fraction (d) on extraction rate of PEP

从图 2d 可以看出, 随着离子液体质量分数 (0.5%~2.5%) 的增加, 鬼臼多糖提取率呈现先增加后减小的变化趋势。当离子液体质量分数为 1.0% 时, 鬼臼多糖提取率达到最大, 为 $37.23\% \pm 0.15\%$ 。这可能是因为, 适量增加离子液体质量分数能够有效破坏细胞壁, 促进细胞壁成分的溶解和裂解, 但过高的质量分数会增加提取液的黏度, 增加穿透细胞壁的阻力, 从而抑制鬼臼多糖的溶出。

2.3 响应面实验结果

2.3.1 实验结果

采用 Design Expert 8.06 软件对表 2 中的数据进行二项式拟合, 并对模型进行方差分析, 得到二项式拟合方程为:

$$Y=37.480+0.659A+3.390B+0.075C+0.300D-0.380AB-1.910AC+0.270AD+0.990BC+1.650BD-0.610CD-5.250A^2-7.530B^2-2.270C^2-3.290D^2$$

$$(P<0.0001, R^2=0.9414)$$

2.3.2 方差分析

方差分析结果如表 3 所示。从二次多项式拟合结果来看, 模型 $P<0.0001$, 表明该拟合模型具有极显著性, 失拟项 $P>0.05$, 模型相关系数 $R^2=0.9414$, 说明二次多项式方程模型对数据拟合度很高, 误差小, 模型可靠, 可作为鬼臼多糖提取的分析测试模型。一次项 B 、二次项 AC 、 BD 对鬼臼多糖提取率

有极显著影响 ($P < 0.01$)。由此可知, 各影响因素之 间的大小关系为 $B > A > D > C$ 。

表 2 响应面实验设计方案及响应值
Table 2 Response surface experimental design scheme and response values

序号	编码值				实际值				提取率/%
	A	B	C	D	液料比/ (mL : g)	超声温度/°C	超声时间/min	离子液体 质量分数/%	
1	0	0	0	0	40 : 1	50	90	1.0	37.43
2	0	1	0	-1	40 : 1	60	90	0.5	27.54
3	0	0	-1	1	40 : 1	50	60	1.5	33.24
4	0	-1	0	1	40 : 1	40	90	1.5	22.35
5	0	-1	-1	0	40 : 1	40	60	1.0	26.32
6	-1	1	0	0	30 : 1	60	90	1.0	29.78
7	0	0	0	0	40 : 1	50	90	1.0	37.52
8	-1	0	1	0	30 : 1	50	120	1.0	30.23
9	1	-1	0	0	50 : 1	40	90	1.0	20.32
10	0	0	1	-1	40 : 1	50	120	0.5	31.78
11	0	1	0	1	40 : 1	60	90	1.5	32.24
12	0	1	-1	0	40 : 1	60	60	1.0	29.31
13	0	-1	0	-1	40 : 1	40	90	0.5	24.23
14	-1	0	-1	0	30 : 1	50	60	1.0	26.32
15	-1	0	0	-1	30 : 1	50	90	0.5	29.38
16	1	0	0	-1	50 : 1	50	90	0.5	30.23
17	0	1	1	0	40 : 1	60	120	1.0	31.22
18	0	-1	1	0	40 : 1	40	120	1.0	24.28
19	0	0	0	0	40 : 1	50	90	1.0	37.60
20	1	1	0	0	50 : 1	60	90	1.0	28.37
21	0	0	-1	-1	40 : 1	50	60	0.5	30.12
22	1	0	1	0	50 : 1	50	120	1.0	29.62
23	1	0	-1	0	50 : 1	50	60	1.0	33.37
24	1	0	0	1	50 : 1	50	90	1.5	29.25
25	-1	-1	0	0	30 : 1	40	90	1.0	20.22
26	0	0	1	1	40 : 1	50	120	1.5	32.45
27	0	0	0	0	40 : 1	50	90	1.0	37.52
28	0	0	0	0	40 : 1	50	90	1.0	37.33
29	-1	0	0	1	30 : 1	50	90	1.5	27.32

表 3 方差分析结果
Table 3 Results of variance analysis

变异来源	平方和	自由度	均方值	F 值	P 值	显著性	变异来源	平方和	自由度	均方值	F 值	P 值	显著性
模型	653.51	14	46.68	29.60	<0.0001	**	CD	1.50	1	1.50	0.95	0.3459	○
A 液料比	5.21	1	5.21	3.31	0.0905	○	A ²	178.84	1	178.84	113.41	<0.0001	**
B 超声温度	138.31	1	138.31	7.71	<0.0001	**	B ²	367.75	1	367.75	233.20	<0.0001	**
C 超声时间	0.07	1	0.07	0.04	0.8391	○	C ²	33.41	1	33.41	21.19	0.0004	**
D 离子液体 质量分数	1.06	1	1.06	0.67	0.4256	○	D ²	70.03	1	70.03	44.41	<0.0001	**
AB	0.57	1	0.57	0.36	0.5573	○	残差	22.08	14	1.58	—	—	—
AC	14.67	1	14.67	9.30	0.0087	**	失拟项	22.04	10	2.20	206.90	0.437	○
AD	0.29	1	0.29	0.18	0.6737	○	纯误差	0.04	4	0.01	—	—	—
BC	3.90	1	3.9	2.47	0.1381	○	总误差	675.59	28	—	—	—	—
BD	10.82	1	10.82	6.86	0.0202	**							

注: “**” 表示差异极显著 ($P < 0.01$); “*” 表示差异显著 ($P < 0.05$); “○” 表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3.3 响应面分析结果

图 3 为各因素间交互作用对鬼臼多糖提取率的影响。

从图 3a~c 可以看出, 液料比 *A*、超声温度 *B* 和离子液体质量分数 *D* 对鬼臼多糖回归方程的线性和二次项均有影响, 但交互作用不显著; 液料比 *A* 和超声时间 *C* 对鬼臼多糖回归方程的线性和二次项均有显著影响; 从等高线图椭圆形状来看, 液料比 *A* 和超声时间 *C* 的交互作用对鬼臼多糖提取率影响大于液料比 *A* 和超声温度 *B* 的交互作用以及离子液体

质量分数 *D* 和料液比 *A* 的交互作用。从图 3d~f 可以看出, 超声温度 *B*、超声时间 *C*、离子液体质量分数 *D* 的交互作用对鬼臼多糖提取率影响为 $BD > BC > CD$, 这与表 3 数据相吻合。综上所述, 各因素交互作用对鬼臼多糖提取率影响大小排序为: $AC > BD > BC > CD > AB > AD$ 。根据响应面软件分析, 模型优化的最佳工艺条件为: 液料比 40.525 : 1、超声温度 52.458 °C、超声时间 91.065 min、离子液体质量分数 1.057%, 在此条件下鬼臼多糖提取率为 37.916%±0.87%, 变异系数 (RSD) 为 3.62%。

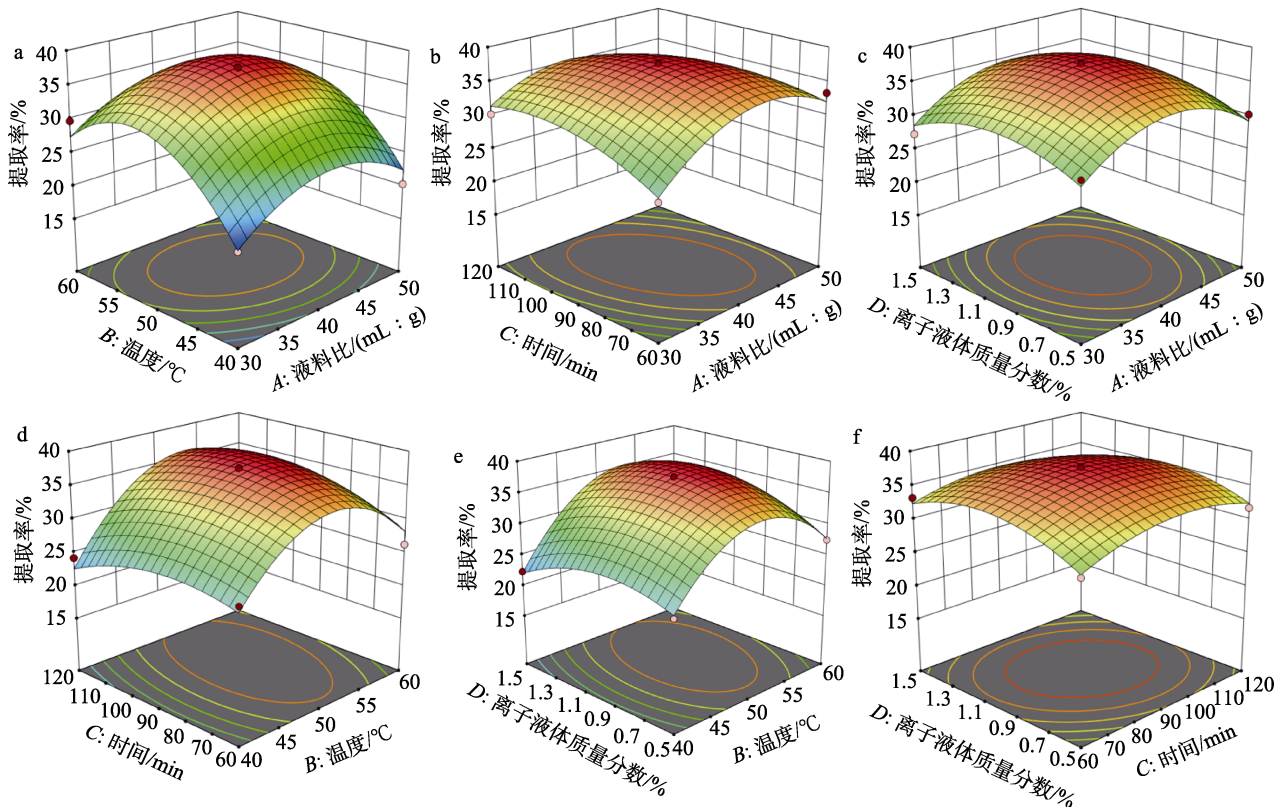


图 3 各因素交互作用对粗 PEP 提取率的影响
Fig. 3 Effect of interaction of factors on extraction rate of crude PEP

2.3.4 工艺验证结果

为了便于实验操作, 将最优工艺调整为液料比 40 : 1, 超声温度 53.0 °C, 超声时间 91.0 min, 离子液体质量分数 1.0%, 在此条件下进行 3 次提取实验, 得到鬼臼多糖提取率为 37.796%±0.17%, RSD 为 3.34%。表明该实验模型拟合性良好, 可用于鬼臼多糖的提取。

2.4 鬼臼多糖的分离纯化

图 4 为鬼臼粗多糖的 DEAE-650 M 柱和 Sephadex G-750 柱纯化洗脱曲线。

从图 4 可以看出, 鬼臼粗多糖经 DEAE-650 M 柱分离后得到两个组分, 分别为水洗组分和 NaCl (0.4 mol/L) 盐洗组分 (图 4a); 经 Sephadex G-750

凝胶柱进一步纯化, 分别得到两个纯化后鬼臼多糖 PEP- I 和 PEP- II, 得率 (即纯化后鬼臼多糖的质量与鬼臼粗多糖质量的百分比) 分别为 32.7%和 44.5%。

2.5 表征结果

2.5.1 化学成分测定

经测定, PEP- I、PEP- II 的化学成分及相对分子质量 (简称分子量) 如下: PEP- I 重均分子量为 27.32 kDa, 蛋白质质量分数为 0.13%±0.007%, 未检测到糖醛酸, 表明其为纯度较高的中性鬼臼多糖; PEP- II 重均分子量为 33.48 kDa, 蛋白质质量分数为 0.37%±0.024%, 糖醛酸质量分数为 1.93%±0.012%。

2.5.2 单糖组成测定结果

图 5 为 PEP- I、PEP- II 的单糖组成鉴定结果。

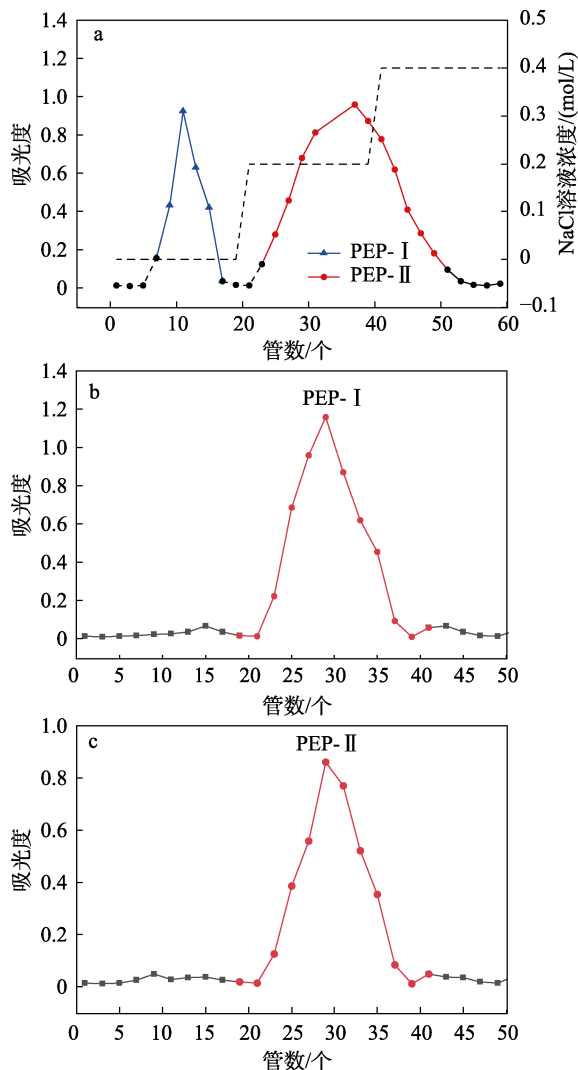


图 4 DEAE-650 M 柱纯化洗脱曲线(a)、Sephadex G-750 柱纯化洗脱曲线 (b、c)

Fig. 4 Purification elution curves of DEAE-650 M column (a), Sephadex G-750 column (b, c)

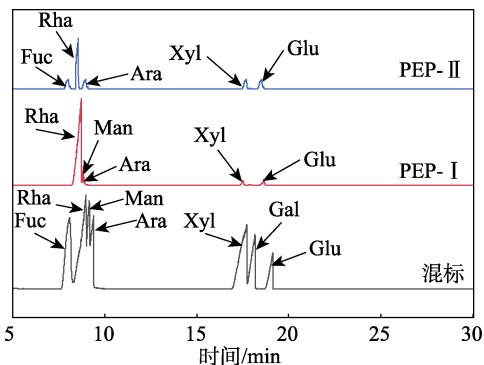


图 5 PEP-I、PEP-II 的单糖组成分析

Fig. 5 Analysis of monosaccharide composition of PEP- I and PEP- II

从图 5 可以看出, PEP- I 主要是由鼠李糖 (Rha)、甘露糖 (Man)、阿拉伯糖(Ara)、木糖 (Xyl)、葡萄糖 (Glu) 组成, 其单糖相对摩尔分数分别为 61.85%、19.36%、5.85%、4.77%和 8.17%; PEP- II

主要由岩藻糖 (Fuc)、Rha、Ara、Xyl、Glu 组成, 其单糖相对摩尔分数分别为 9.34%、52.89%、12.15%、12.63%和 12.99%。两者 Rha 相对摩尔分数最高。LIU 等^[25]研究表明, Rha 可显著提升小鼠血清抗氧化酶活性以减轻氧化应激, 且能降血糖、改善胰岛素敏感性, 并修复肝和胰腺组织损伤。

2.5.3 UV-Vis 吸收光谱分析

图 6 为 PEP- I、PEP- II 的 UV-Vis 吸收光谱图。可以看出, PEP- I 在 260 nm 处无强吸收峰存在, 表明其为纯度较高的中性鬼白多糖; PEP- II 在 260~280 nm 处有一定弱吸收峰, 表明其存在微量蛋白质与糖醛酸, 这与 2.5.1 节中的测定结果一致。

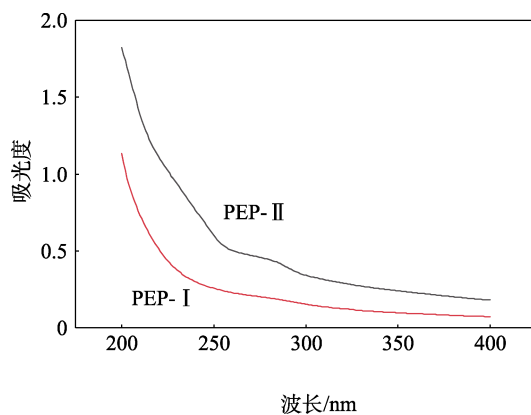


图 6 PEP- I、PEP- II 的 UV-Vis 吸收谱图

Fig. 6 UV-Vis absorption spectra of PEP- I and PEP- II

2.5.4 XRD 分析

图 7 为 PEP- I、PEP- II 的 XRD 谱图。

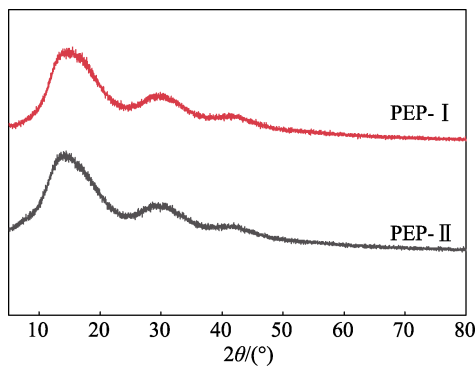


图 7 PEP- I、PEP- II 的 XRD 谱图

Fig. 7 XRD patterns of PEP- I and PEP- II

从图 7 可以看出, PEP- I、PEP- II 均在 2θ=12° 处出现一个较宽的弥散衍射峰, 为鬼白多糖的特征衍射峰; 在 2θ=30°、42°处出现较宽衍射峰, 峰形弥散, 表明 PEP- I、PEP- II 均存在部分结晶现象, 但结晶度较低, 是以一种无定形结构存在。此外, 谱图中还存在平缓的衍射区域, 进一步证实 PEP- I、PEP- II 均具有非晶体特征。表明 PEP- I、PEP- II 主

要以晶体与非晶体复合体系的形式存在。

2.5.5 SEM 分析

图 8 为 PEP-I、PEP-II 的 SEM 图。

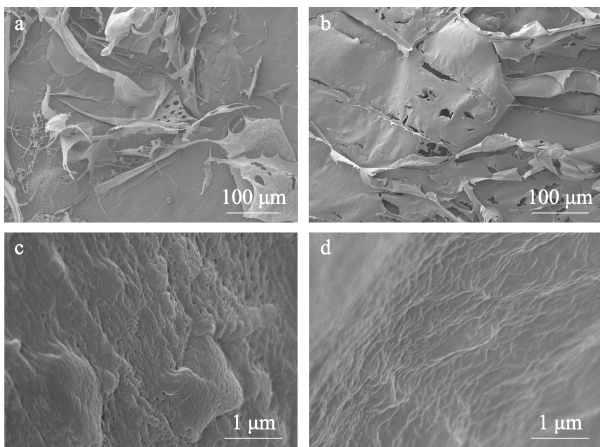


图 8 PEP-I (a、c)、PEP-II (b、d) 在不同放大倍数下的 SEM 图

Fig. 8 SEM images of PEP-I (a, c) and PEP-II (b, d) at different magnifications

从图 8 可以看出, PEP-I 表面呈不规则且破碎的形态, 部分区域呈网状结构(图 8a), 可能由于鬼臼多糖分子间的排斥力大于吸引力。PEP-II 表面呈光滑的片状薄膜, 破损程度较轻, 边缘有褶皱(图 8b), 这可能与 PEP-II 较高的鬼臼多糖含量及较强的分子交联程度有关。PEP-I、PEP-II 表面均具有粗糙且致密的特点, 其中, PEP-I 呈海绵状(图 8c), 这可能是分子链的交织与缠绕形成多孔结构有关; 而 PEP-II 呈起伏的山丘状(图 8d), 可能是由于分子链独特的排列与相互作用。

2.5.6 三螺旋结构分析

图 9 为 PEP-I、PEP-II 的三螺旋结构测定曲线。

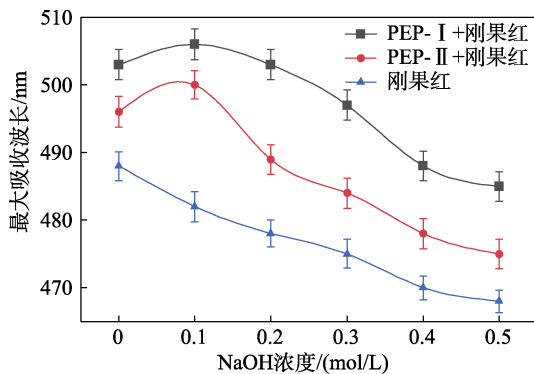


图 9 PEP-I、PEP-II 的三螺旋结构测定曲线

Fig. 9 Triple helix structure determination curves of PEP-I and PEP-II

多糖的活性与其三螺旋结构之间存在紧密的关

联。具有三股螺旋结构的多糖中存在 β -1,3-糖残基, 可显著提高多糖的抗氧化、降糖活性^[26]。从图 9 可以看出, PEP-I、PEP-II 的最大吸收波长随 NaOH 浓度增加先升高后降低, 表明两者均含有可被高浓度 NaOH 溶液破坏的三螺旋结构。

2.5.7 TGA 分析

图 10 为 PEP-I 和 PEP-II 的 TGA、DTG 曲线。

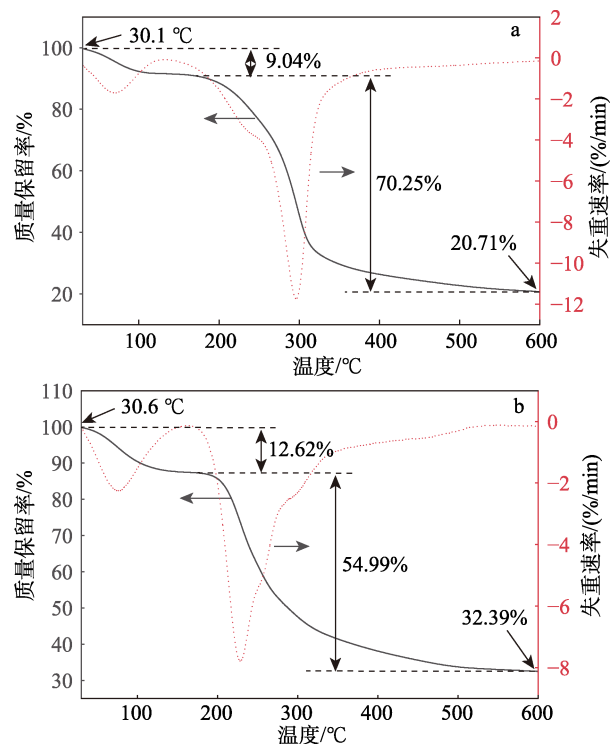


图 10 PEP-I (a) 和 PEP-II (b) 的 TGA、DTG 曲线

Fig. 10 TGA and DTG curves of PEP-I (a) and PEP-II (b)

从图 10 可以看出, PEP-I、PEP-II 的热失重过程可分为 3 个阶段。第 1 阶段 30.1~136.5 °C, 质量损失分别为 9.04% 和 12.62%, 这是由鬼臼多糖分子释放了自由水和结合水所致; 第 2 阶段 136.5~330.0 °C, 质量损失显著加快, 分别达到 70.25% 和 54.99%。此阶段的质量损失最大, 可能是由于高温破坏了鬼臼多糖分子中的碳链和氢键, 引发其分解; 第 3 阶段 330~600 °C, PEP-I、PEP-II 在 600 °C 时的残炭率分别为 20.71% 和 32.39%, 分解速率减缓, 表明进入缓慢炭化阶段。结果表明, PEP-I、PEP-II 具有良好的热稳定性, 且 PEP-II 的热稳定性优于 PEP-I。

2.5.8 FTIR 分析

图 11 为 PEP-I、PEP-II 的 FTIR 谱图。

从图 11 可以看出, PEP-I、PEP-II 显示出相似的特征吸收峰。其中, 3342 和 3338 cm^{-1} 处为 O—H 键的伸缩振动峰; 2925 和 2927 cm^{-1} 处为 C—H 键

的伸缩振动峰, 这是鬼臼多糖典型的吸收峰。PEP-I 的 FTIR 谱图中, 1728 cm^{-1} 处中强峰为 C=O 键的伸缩振动; 1417 cm^{-1} 处弱峰为 $-\text{CH}_3$ 的弯曲振动。PEP-II 在 1095 cm^{-1} 处弱峰为 C—O 键的伸缩振动, 表明含有糖醛酸结构, 与 2.5.1 节结果一致。此外, 1013 cm^{-1} 处弱峰为 C—O—H 和 C—O—C 键的伸缩振动, 表明 PEP-I、PEP-II 中均有吡喃环的存在^[27]。而 928 cm^{-1} 处吸收峰表明其可能含有 β -糖苷键, 833 cm^{-1} 处吸收峰则表明其可能含有 α -糖苷键。因此, PEP-I、PEP-II 是具有 α 、 β -构型糖苷键的吡喃环结构的鬼臼多糖。

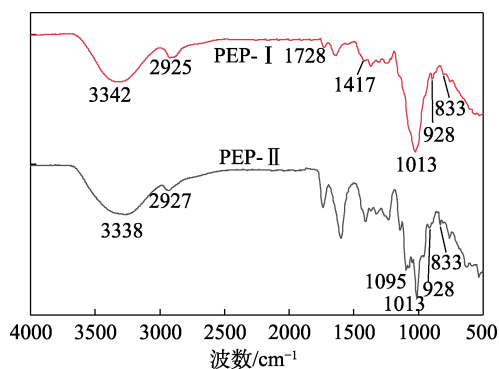
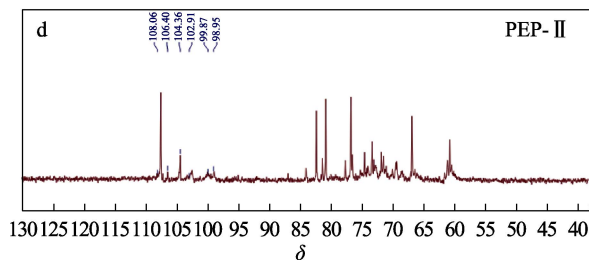
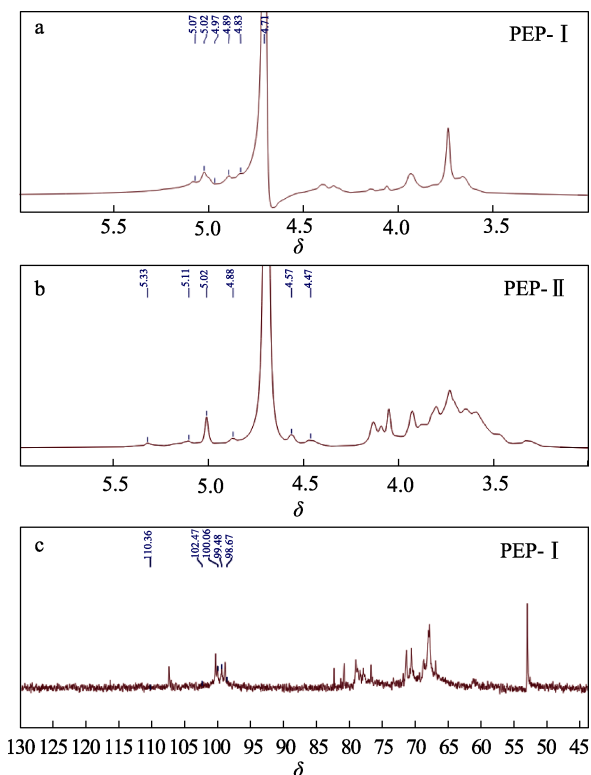


图 11 PEP-I、PEP-II 的 FTIR 谱图
Fig. 11 FTIR spectra of PEP-I and PEP-II

2.5.9 NMR 分析

图 12 为 PEP-I、PEP-II 的 ¹HNMR、¹³CNMR 谱图。



a、c—PEP-I；b、d—PEP-II
图 12 PEP-I 和 PEP-II 的 ¹HNMR (a、b) 和 ¹³CNMR (c、d) 谱图
Fig. 12 ¹HNMR (a, b) and ¹³CNMR (c, d) spectra of PEP-I and PEP-II

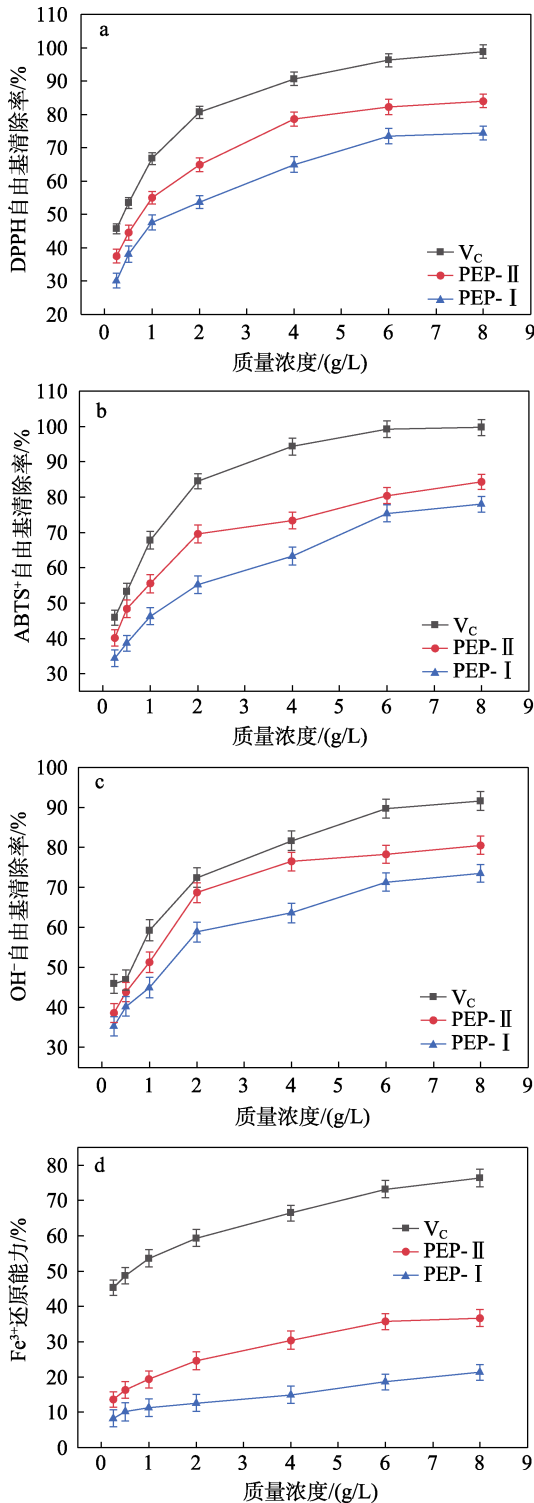
从图 12 可以看出, PEP-I、PEP-II 在 δ 3.0~5.5 (¹HNMR) 和 45~110 (¹³CNMR) 具有典型鬼臼多糖信号, 推测 PEP-I 和 PEP-II 均包含 α 、 β -构型糖苷键, 这与 FTIR 表征结果一致 (图 11)。在 PEP-I 的 ¹HNMR 谱图中, δ 4.83 的强信号为 D₂O 溶剂峰, δ 4.71、5.02 分别对应 β -1,4-葡萄糖苷键连接的吡喃型葡萄糖基 (β -1,4-Glcp) 和末端 α -呋喃阿拉伯糖基 (T- α -Araf) 的 H-1 信号 (图 12a)。在 PEP-II 的 ¹HNMR 谱图中, δ 4.57、5.33 分别为 β -1,3,4-木吡喃糖基 (β -1,3,4-Xylp) 和 α -1,3-呋喃阿拉伯糖基 (α -1,3-Araf) 的 H-1 信号 (图 12b)^[28]。在 PEP-I 的 ¹³CNMR 谱图中, 异头碳区有 5 个明显信号, 分别为 δ 110.36、102.47、100.06、99.48 和 98.67, 表明至少存在 5 种鬼臼多糖残基, 与单糖组成分析一致。同时, 在 δ 170~180 范围内未见信号, 表明 PEP-I 无糖醛酸, 是一种中性鬼臼多糖 (图 12c)^[29]。在 PEP-II 的 ¹³CNMR 谱图中, δ 108.06、106.40、104.36、102.91 和 99.87 处有 5 个异头碳信号峰, δ 90 处没有其他信号峰出现, 表明 PEP-II 鬼臼多糖为吡喃型糖环。

2.6 抗氧化活性分析

图 13 为 PEP-I、PEP-II 对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基、羟基自由基的清除率和 Fe³⁺ 还原能力。

活性氧自由基会攻击分子致新自由基产生, 损伤体内大分子, 引发多种疾病。而鬼臼多糖含酚羟基, 有供氢能力, 能清除氧自由基, 发挥抗氧化活性^[30]。从图 13 可以看出, 质量浓度 0.25~8.0 g/L 的 PEP-I、PEP-II 对 DPPH 自由基 (图 13a)、ABTS⁺ 自由基 (图 13b)、羟基自由基 (图 13c)、Fe³⁺ 还原能力 (图 13d) 均呈现一定剂量依赖性。PEP-II 的体外抗氧化能力高于 PEP-I, 但两者均弱于阳性对照 V_C。质量浓度 8.0 g/L 的 PEP-I 对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基、羟基自由基清除率分别可达 72.54%、75.21%、71.08%, PEP-II 可达到 82.62%、81.57%、

78.54%。PEP-I 对 DPPH 自由基、ABTS⁺自由基、羟基自由基的 IC₅₀ 分别为 1.832、1.634、1.941 g/L，PEP-II 的 IC₅₀ 分别为 0.734、0.862、0.926 g/L。PEP-I、PEP-II 存在一定的 Fe³⁺还原能力。综上所述，PEP-I、PEP-II 具有一定的抗氧化能力。



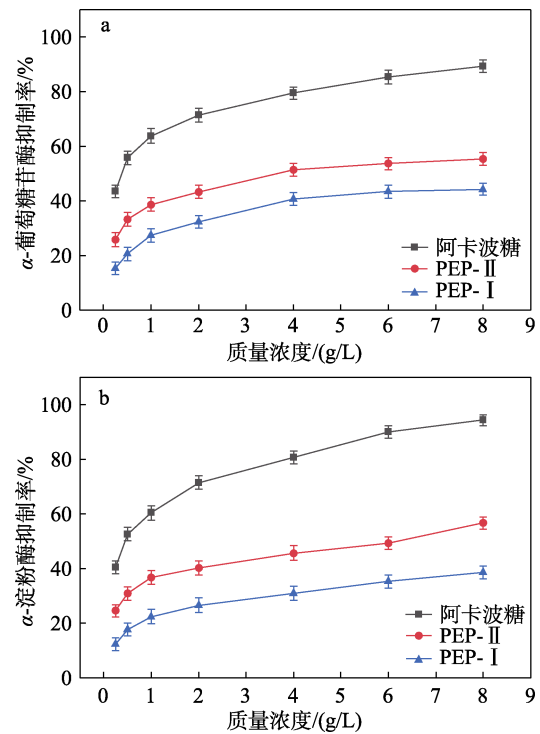
a—DPPH 自由基清除率；b—ABTS⁺自由基清除率；c—羟基自由基清除率；d—Fe³⁺还原能力

图 13 PEP-I、PEP-II 的体外抗氧化能力

Fig. 13 *In vitro* antioxidant capacity of PEP-I and PEP-II

2.7 降糖能力分析

图 14 为 PEP-I、PEP-II 对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性抑制能力。



a— α -葡萄糖苷酶抑制率；b— α -淀粉酶抑制率

图 14 PEP-I、PEP-II 的体外降糖能力

Fig. 14 *In vitro* hypoglycemic capacity of PEP-I and PEP-II

α -葡萄糖苷酶与 α -淀粉酶可催化淀粉水解为葡萄糖，促进肠道吸收致血糖上升。抑制这两种酶活性可以减缓碳水化合物向葡萄糖转化速率，进而控制餐后血糖水平^[31]。从图 14 可以看出，质量浓度 0.25~8.0 g/L 的 PEP-I、PEP-II 对 α -葡萄糖苷酶抑制率（图 14a）和 α -淀粉酶抑制率（图 14b）具有一定的剂量依赖性。比较而言，PEP-II 的降糖能力高于 PEP-I，但两者均低于阳性对照阿卡波糖。质量浓度 8.0 g/L 的 PEP-I 对 α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率分别为 44.21% 和 38.63%，IC₅₀ 分别为 3.021、3.242 g/L；质量浓度 8.0 g/L 的 PEP-II 对 α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率分别为 55.38% 和 56.67%，IC₅₀ 分别为 2.432、2.398 g/L。表明 PEP-I、PEP-II 均具有一定降糖能力。

3 结论

采用超声辅助离子液体提取鬼臼多糖，通过单因素、响应面法优化的最佳提取工艺，考察分离提纯后单一组分 PEP-I、PEP-II 的体外抗氧化活性和降糖能力。

(1) 鬼臼多糖的最佳提取工艺为：以 BMIMCl

为离子液体, 液料比 40 : 1, 超声温度 53.0 °C, 超声时间 91.0 min, 离子液体质量分数 1.0% (以去离子水加入量计)。在此条件下, 鬼臼多糖的提取率为 37.796% ± 0.17%。

(2) 粗鬼臼多糖经分离纯化, 获得的均一组分 PEP-I 和 PEP-II 的重均分子量分别为 27.32 和 33.48 kDa, 两者均含有 Rha、Xyl、Glu, 是 α 、 β -构型的吡喃型多糖, 具有三螺旋构象。PEP-I、PEP-II 在 600 °C 时残炭率分别为 20.71% 和 32.39%, 表明两者具有良好的热稳定性, 其中 PEP-II 的热稳定性优于 PEP-I。

(3) PEP-I、PEP-II 具有一定的抗氧化能力。质量浓度 8.0 g/L 的 PEP-I 对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基、羟基自由基清除率分别为 72.54%、75.21%、71.08%, IC₅₀ 分别为 1.832、1.634、1.941 g/L; 质量浓度 8.0 g/L 的 PEP-II 对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基、羟基自由基清除率可达到 82.62%、81.57%、78.54%, IC₅₀ 分别为 0.734、0.862、0.926 g/L。

(4) PEP-I、PEP-II 具有一定的降糖活性。质量浓度 8.0 g/L 的 PEP-I 对 α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率分别为 44.21% 和 38.63%, IC₅₀ 分别为 3.021、3.242 g/L; 质量浓度 8.0 g/L 的 PEP-II 对 α -葡萄糖苷酶抑制率和 α -淀粉酶抑制率分别为 55.38% 和 56.67%, IC₅₀ 分别为 2.432、2.398 g/L。

参考文献:

- [1] ZHANG Y, NIE R N, LIU W X, *et al.* Sulfation on polysaccharides from *Zizania latifolia* extracted using ultrasound: Characterization, antioxidant and anti-non-small cell lung cancer activities[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2024, 103: 106803.
- [2] FORSBERG Z, SÖRLIE M, PETROVIĆ D, *et al.* Polysaccharide degradation by lytic polysaccharide monoxygenases[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2019, 59: 54-64.
- [3] MONTEIRO R, SOUZA I D C, MOROZESK M, *et al.* Metalliferous atmospheric settleable particulate matter action on the fat snook fish (*Centropomus parallelus*): Metal bioaccumulation, antioxidant responses and histological changes in gills, hepatopancreas and kidneys[J]. *Chemosphere*, 2023, 330: 138715.
- [4] JING Y S, ZHANG Y W, LI P Y, *et al.* Optimization of technology, structural characterization, derivatization, antioxidant and immunomodulatory activities of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharides [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2022, 16(2): 1754-1767.
- [5] TANG Q L, HUANG G L. Improving method, properties and application of polysaccharide as emulsifier[J]. *Food Chemistry*, 2022, 376: 131937.
- [6] LEE Q C, HAN X J, ZHENG M F, *et al.* Preparation of low molecular weight polysaccharides from *Tremella fuciformis* by ultrasonic-assisted H₂O₂-Vc method: Structural characteristics, *in vivo* antioxidant activity and stress resistance[J]. *Ultrasonics Sonochemistry* 2023, 99: 106555.
- [7] XU Y F, SONG S, WEI Y X, *et al.* Sulfated modification of the polysaccharide from *Sphallerocarpus gracilis* and its antioxidant activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 87: 180-190.
- [8] LIU D, DONG M Y, LI M F, *et al.* Metabolite and transcriptomic changes reveal the ripening process in *Sinopodophyllum hexandrum* fruit[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 206: 117622.
- [9] LIU M, ZHANG Z X, WANG J H, *et al.* Immunomodulatory and anti-ovarian cancer effects of novel astragalus polysaccharide micelles loaded with podophyllotoxin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 290: 138960.
- [10] HE Z X, ZHU Y L, BAO X Y, *et al.* Optimization of alkali extraction and properties of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* cv. residue[J]. *Molecules*, 2019, 24(12): 125-127.
- [11] WANG Q C, ZHAO X, PU J H, *et al.* Influences of acidic reaction and hydrolytic conditions on monosaccharide composition analysis of acidic, neutral and basic polysaccharides[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 143: 296-300.
- [12] XIONG X, YANG W J, HUANG G L, *et al.* Ultrasonic-assisted extraction, characteristics and activity of ipomoea batatas polysaccharide[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2023, 96: 106420.
- [13] YANG C, LI J J, LUO T T, *et al.* Ultrasonic-microwave assisted extraction for oat bran polysaccharides: Characterization and *in vivo* anti-hyperlipidemia study[J]. *Industrial Crops and Products*, 2024, 220: 119229.
- [14] LYU T T, LIU X, TAO J, *et al.* Ultrasound-assisted enzymatic extraction of polysaccharides from *Paulownia flowers*: Process optimization, structural characterization, antioxidant and hypoglycemic activities[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 199: 109940.
- [15] JIANG S Q, CHAI Y Y, MA S F, *et al.* Ultrasonic-assisted ionic liquid extraction of polysaccharides from *Crataegus songarica* k. koch fruits: structural characterization and antioxidant activity[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2025, 22(5): e202402386.
- [16] LI W W (李文文), LIN Y G (蔺永刚), BIAN P (边鹏), *et al.* Extraction, physicochemical properties and bioactivities of polysaccharides from *Conioselinum vaginatum*[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2024, 41(9): 1966-1977, 2081.
- [17] AN Y Z, LIU H T, LI X X, *et al.* Carboxymethylation modification, characterization, antioxidant activity and anti-UVC ability of *Sargassum fusiforme* polysaccharide[J]. *Carbohydrate Research*, 2022, 515: 108555.
- [18] FENG Y Q, QIU Y J, DUAN Y Q, *et al.* Characterization, antioxidant, antineoplastic and immune activities of selenium modified *Sagittaria sagittifolia* L. polysaccharides[J]. *Food Research International*, 2022, 153: 110913.
- [19] JIN M Z, ZHANG W Q, ZHANG X M, *et al.* Characterization, chemical modification and bioactivities of a polysaccharide from *Stropharia rugosoannulata*[J]. *Process Biochemistry*, 2023, 128: 30-39.
- [20] LIN H S, CHENG Y A, LIANG L X, *et al.* Effects of the *Lactobacillus* fermentation on *Dendrobium officinale* polysaccharide: Structural, physicochemical properties and *in vitro* bioactivities[J]. *Food Bioscience*, 2024, 61: 105003.
- [21] CHEN S, QIN L, XIE L M, *et al.* Physicochemical characterization, rheological and antioxidant properties of three alkali-extracted polysaccharides from mung bean skin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 132: 107867.
- [22] ZHENG C C, LI T, TANG Y Y, *et al.* Structural and functional investigation on stem and peel polysaccharides from different varieties of pitaya[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 259: 129172.
- [23] CAO L (曹磊), LIU W (刘伟), WANG J L (王俊龙), *et al.* Preparation of low viscosity polysaccharide from *Plantago ovata* Forsk by sulfation method and its structural characterization and antioxidant activities[J]. *Natural Product Research and Development (天然产物研究与开发)*, 2024, 36(4): 26-36.
- [24] ZHAO H Y, WANG J P, HAN Y, *et al.* Optimization of process conditions for ionic liquid-based ultrasound-enzyme-assisted extraction of resveratrol from *Polygonum Cuspidatum*[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2024, 108: 106973.