

九蒸九制对黄精中AGEs含量、多糖结构及体外活性的影响

马永强, 张一鹏, 王鑫, 张丝瑶

Effects of Nine Steaming-Nine Processing on AGEs Content, Polysaccharide Structure and *in Vitro* Activity of *Polygonatum sibiricum*

MA Yongqiang, ZHANG Yipeng, WANG Xin, and ZHANG Siyao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022100318>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

九蒸九制对黄精多糖单糖组成及其抗氧化性的影响

Effects of Nine-steam-nine-bask on the Monosaccharide Composition and Antioxidant Activities of *Polygonatum sibiricum* Polysaccharide

食品工业科技. 2021, 42(2): 42-46 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020030160>

发酵对黄精主要活性成分及其抗氧化活性和刺激性的影响

Effects of Fermentation on Main Bioactive Components, Antioxidant Activities and Irritation of *Polygonatum sibiricum*

食品工业科技. 2020, 41(2): 52-58 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.02.009>

椰子吸器多糖的结构和体外生物学活性分析

Structure and Biological Activities *in Vitro* Analysis of Polysaccharide from Coconut (*Cocos nucifera* L.) Haustorium

食品工业科技. 2021, 42(17): 78-84 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010204>

蒸制时间对滇黄精色泽、可溶性成分及糖含量的影响

Influence of Steaming Time on Color, the Content of Soluble Substance and Sugar in *Polygonatum kingianum*

食品工业科技. 2019, 40(5): 37-41, 47 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.05.007>

苯酚-硫酸法测定酒蒸多花黄精多糖含量的优化

Optimization of Phenol Sulfuric Acid Method for the Polysaccharide Content of Wine-steamed *Polygonatum cyrtoneura* Hua

食品工业科技. 2021, 42(18): 308-316 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010069>

黄精多糖的提纯、硫酸化和羧甲基化修饰及其抗氧化活性研究

Purification, Sulfation Modification and Carboxymethylation Modification of Polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2019, 40(21): 45-51 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.21.008>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

马永强, 张一鹏, 王鑫, 等. 九蒸九制对黄精中 AGEs 含量、多糖结构及体外活性的影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(3): 226–234.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100318

MA Yongqiang, ZHANG Yipeng, WANG Xin, et al. Effects of Nine Steaming-Nine Processing on AGEs Content, Polysaccharide Structure and *in Vitro* Activity of *Polygonatum sibiricum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(3): 226–234. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100318

· 分析检测 ·

九蒸九制对黄精中 AGEs 含量、多糖结构及体外活性的影响

马永强¹, 张一鹏¹, 王鑫^{1,2,*}, 张丝瑶¹

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江省谷物食品与谷物资源重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150028;
2. 黑龙江省林业科学院, 黑龙江哈尔滨 150081)

摘要: 为初步判断九蒸九制黄精多糖含量下降的主要原因及九蒸九制对黄精多糖体外活性的影响, 本文测定了九蒸九制黄精中 5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 及晚期糖基化终产物 (AGEs) 的含量, 考察了九蒸九制前后黄精纯化多糖的结构变化, 并分析这些变化对黄精体外活性的影响。结果表明九蒸九制黄精发生了美拉德反应, 5-HMF 含量为 (631.3±21.5) μg/g, 羧甲基赖氨酸 (CML) 和羧乙基赖氨酸 (CEL) 含量分别为 (342.4±11.3) μg/g 和 (63.7±9.8) μg/g。并对黄精多糖的结构及组成产生了不同程度的影响, 葡萄糖 (Glc) 含量有所增长, 甘露糖 (Man) 及半乳糖醛酸 (GalUA) 的含量有明显降低, Man 从 34.53% 降至 17.06%, GalUA 从 9.59% 降至 1.77%。研究表明, 黄精在九蒸九制的加工过程中发生了美拉德反应, 并产生了一定量的 AGEs, 同时, 九蒸九制法在一定程度上提高了黄精多糖的体外降糖活性。

关键词: 黄精多糖, 九蒸九制, 美拉德反应, 结构表征, 体外生物活性

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)03-0226-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100318



本文网刊:

Effects of Nine Steaming-Nine Processing on AGEs Content, Polysaccharide Structure and *in Vitro* Activity of *Polygonatum sibiricum*

MA Yongqiang¹, ZHANG Yipeng¹, WANG Xin^{1,2,*}, ZHANG Siyao¹

(1. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Cereal and Comprehensive Process of Cereal Resources, College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China;
2. Heilongjiang Academy of Forestry, Harbin 150081, China)

Abstract: To preliminarily assess the primary reasons for the reduction in polysaccharide content in *Polygonatum sibiricum* processed through the "Nine Steaming-Nine Processing" method and its impact on the *in vitro* activity of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides, this study measured the levels of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and advanced glycation end-products (AGEs) in *Polygonatum sibiricum* processed through the "Nine Steaming-Nine Processing" method. The study also examined the structural changes of purified polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* before and after the "Nine Steaming-Nine Processing" process and analyzed the influence of these changes on the *in vitro* activity of *Polygonatum sibiricum*. The results indicated that the "Nine Steaming-Nine Processing" induced the Maillard reaction in *Polygonatum sibiricum*, resulting in a 5-HMF content of (631.3±21.5) μg/g, and the levels of carboxymethyl lysine (CML) and carboxyethyl lysine (CEL) were (342.4±11.3) μg/g and (63.7±9.8) μg/g, respectively. This processing also had varying

收稿日期: 2022-11-02

基金项目: 哈尔滨商业大学产业化项目 (22CZ12)。

作者简介: 马永强 (1963), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 食品化学, E-mail: qyma126@163.com。

* 通信作者: 王鑫 (1984), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物化学, E-mail: wangxinfood@163.com。

degrees of impact on the structure and composition of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides. The glucose (Glc) content increased, while mannose (Man) and galacturonic acid (GalUA) content significantly decreased, with Man decreasing from 34.53% to 17.06%, and GalUA decreasing from 9.59% to 1.77%. The research suggests that *Polygonatum sibiricum* undergoes the Maillard reaction during the "Nine Steaming-Nine Processing", leading to the formation of a certain amount of AGEs. Simultaneously, the "Nine Steaming-Nine Processing" method can enhance the *in vitro* hypoglycemic activity of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides to a certain extent.

Key words: *Polygonatum sibiricum* polysaccharide; nine steaming-nine processing; Maillard reaction; structure characterization; *in vitro* bioactivity revision

黄精(*Polygonatum sibiricum*)作为我国的药食两用植物,其主要的活性成分为黄精多糖^[1],具有降血糖、降血脂、防止动脉粥样硬化等多种药理作用^[2-3]。由于鲜黄精内部富含水分,在运输和贮藏时极易产生霉变、虫蛀等现象,影响黄精的产品品质。同时,鲜黄精具有较强刺激性,生品服用或接触时,易产生致敏反应^[4],脾胃虚寒者直接服用鲜黄精易发生便溏现象^[5]。因此,通常对黄精采用干制、炮制等不同的加工方式,以延长其货架期,便于大量贮藏和运输,同时消除其刺激性。

黄精的加工方式多种多样,在众多的加工方式中,尤以“九蒸九制”法最为著名,较多典籍中均认为九蒸九制的加工方法可以使黄精“糖性变浓”口感香甜,同时起到减毒增效的作用^[6-7]。但是,现代研究发现九蒸九制后的黄精多糖含量下降明显,黄精色泽发生了明显的褐变,并散发焦香,同时,有多位学者在九蒸九制黄精中检测到了美拉德反应的标志产物 5-羟甲基糠醛(5-HMF)以及黄精多糖单糖组成改变的现象,说明黄精在九蒸九制的加工过程中很可能发生了美拉德反应,并对黄精多糖产生了一定程度的影响^[8-10]。

对于九蒸九制黄精多糖含量下降的现象,有研究将其归咎于美拉德反应导致的糖异构化及糖降解^[11],但并未对其降解及单糖组成改变的机制进行详细的解答,且鲜有发现与黄精中 AGEs 测定及来源机制相关的研究。在众多 AGEs 中羧甲基赖氨酸(Nε-carboxymethyllysine, CML)和羧乙基赖氨酸(Nε-carboxyethyllysine, CEL)被公认是 AGEs 最重要的指标性成分,会加速人体衰老并与阿尔茨海默病等多种疾病相关^[12]。因此,实验尝试通过测定美拉德反应代表产物 5-羟甲基糠醛(5-HMF)及 AGEs 的含量,初步探究九蒸九制黄精中美拉德反应对黄精多糖的组成、结构及其黄精多糖对体外活性的影响,为黄精在不同加工方式下功效差异的理论研究提供支撑,同时还能够为黄精等药食同源物料的绿色加工提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄精 产自黑龙江省天问山; 5-HMF(≥99%) 美国 Sigma-aldrich 公司; CML、CEL(≥98%) 阿拉丁试剂有限公司; 葡萄糖(glucose, Glc)、甘露糖(mannose, Man)、古洛糖醛酸(guluronic acid, G)、甘

露糖醛酸(mannuronic acid, M)等 14 种单糖标准品 上海源叶生物科技有限公司; 硼氢化钠 西陇科学股份有限公司; α-淀粉酶(4000 U/g)、α-葡萄糖苷酶(60 U/mg) 上海和氏璧有限公司; 四硼酸钠盐酸 东曹化学科技有限公司; 正己烷、氯仿、乙腈、甲醇、氨水、氢氧化钠等试剂 均为国产分析纯。

ACQUITY UPLC H-Class/Xevo TQ-XS 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱、Oasis MCX 固相萃取柱(3 mL/60 mg)、ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 美国 Waters 公司; Infinity-II-126 型高效液相色谱仪、Agilent C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 安捷伦科技中国有限公司; Scimitar 2000 型红外光谱分析仪 美国安捷伦公司; STA6000 热重分析仪 PerkinElmer 仪器有限公司; Alpha 2-4 LDplus 真空冷冻干燥机 上海景莱科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 九蒸九制黄精制备 取鲜黄精除杂洗净,切片,隔水蒸制 3 h,取出稍晾,于 100 ℃ 烘箱中干燥 6 h,如此反复操作至 9 次,即得九蒸九制黄精^[13]。为方便后续实验,将其打磨成粉,过 40 目筛备用。

1.2.2 5-HMF 含量测定 称取 5-HMF 标准品加入甲醇,配制成 1.0、5.0、10.0、15.0 和 20.0 μg/mL 的标准品溶液,进行测定并绘制标准曲线。

称取鲜黄精及九蒸九制黄精样品粉末 0.4 g,加 80% 甲醇 25 mL,称重后超声提取 30 min,放冷后再次称重,以 80% 甲醇补足减少的质量,4000 r/min 离心 5 min 后取上清液用 0.22 μm 滤膜过滤后得到供试品溶液^[14]。

使用 Infinity-II-126 型高效液相色谱仪测定供试品溶液中 5-HMF 含量。HPLC 条件: Agilent C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温: 35 ℃,流动相为水-甲醇(9:1),流速: 0.8 mL/min,紫外检测波长: 275 nm,进样量: 50 μL^[14]。

1.2.3 AGEs 含量测定

1.2.3.1 对照品溶液制备 称取 CML 和 CEL 标准品各 5.0 mg 分别溶于 5 mL 超纯水中,分别配制成质量浓度为 1.0 mg/mL 的 CML 和 CEL 标准溶液,混匀后将标准溶液梯度稀释,配制成质量浓度分别为 1.0、10.0、50.0、100.0、200.0、500.0、1000 ng/mL 的 CML、CEL 混合标准溶液。

1.2.3.2 供试品溶液制备 参考宫瑞泽^[15]的方法对样品进行前处理,并稍加改动。称取鲜黄精及九蒸九制黄精样品粉末各 20 mg,加入正己烷离心完成脱脂。加入硼酸盐缓冲液(pH9.2)和硼氢化钠溶液,置于 4 ℃ 条件下放置 24 h。然后加入氯仿-甲醇(2:1, V/V)后离心,向沉淀物中加入盐酸并水解 24 h。吸取水解后的溶液在 80 ℃ 下干燥,再复溶于超纯水中。将 Waters Oasis MCX 固相萃取小柱进行活化,取 1 mL 样液加到固相萃取小柱中,用 3 mL 水及 3 mL 甲醇进行淋洗,最后用 5 mL 甲醇进行洗脱。将洗脱液在 60 ℃ 氮吹至干,再复溶于 1 mL 超纯水中,将其用于液质联用(LC-MS)测定黄精样品中 AGEs 的含量。

1.2.3.3 检测条件 色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T3 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)。流动相 A 为乙腈,流动相 B 为 0.1% 甲酸,梯度洗脱程序:0~1 min, 2% A, 98% B; 1~3 min, 2%~5% A, 98%~95% B; 3~4.5 min, 5%~10% A, 95%~90% B; 4.5~6 min, 10%~2% A, 90%~98% B。流速 0.1 mL/min,进样量 1.0 μL,柱温 30 ℃^[16]。

MS 条件:电喷雾离子源正离子模式;毛细管电压 3.5 kV;脱溶剂温度 400 ℃;脱溶剂气流量 600 L/h;锥孔气流量 150 L/h;离子源温度 110 ℃;碰撞气流量 0.16 mL/min;多反应监测模式。其他质谱参数见表 1。

表 1 CML 及 CEL 的多反应监测模式参数
Table 1 Multiple reaction monitoring mode parameters of CML and CEL

目标物	m/z		锥孔电压(V)	碰撞能量(eV)
	母离子	子离子		
CML	205	130	38	10
		84 [*]	38	16
CEL	219	130	24	12
		84 [*]	24	20

注: *表示定量离子。

1.2.4 黄精多糖提取、分离纯化及含量测定 将黄精粉末经正己烷脱脂后自然温度下晾干,在料液比 1:20 g/mL、浸提温度 80 ℃、浸提时间 2 h 的条件下采用水热浸提法提取九蒸九制前后的黄精多糖,采用 Sevage 法除去浸提液中多余的蛋白质,在多糖浸提液中加入 4 倍体积的 80% 乙醇,醇沉 24 h 后离心、真空冷冻干燥,得到鲜黄精粗多糖及九蒸九制黄精粗多糖。粗多糖经 DEAE-52 纤维素柱层析及 Sephadex G-100 柱层析后,旋蒸后再次真空冷冻干燥,即得到精制黄精多糖^[17]。

取浓度为 1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液 25 mL,将其定容至 250 mL 得到标准样品溶液。分别取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 的葡萄糖标准液,依次加入 0.9、0.8、0.7、0.6、0.5 mL 蒸馏水,采用苯酚硫酸法,以蒸馏水作空白样品,在 490 nm 处测定吸光值,

得到葡萄糖的标准曲线。称取黄精多糖粉末用去离子水定容后测定其吸光度,带入回归方程后计算多糖含量。

1.2.5 九蒸九制法对黄精多糖的结构影响

1.2.5.1 紫外光谱分析 称取 PSP(黄精多糖)、N-PSP(九蒸九制黄精多糖),配制质量浓度为 1 mg/mL 的样品溶液,在 200~400 nm 波长范围内进行紫外可见光扫描。

1.2.5.2 傅里叶红外光谱分析 称取 PSP 及 N-PSP 粉末 5 mg, KBr 压片,采用傅里叶变换红外光谱仪对 PSP、N-PSP 在 4000~500 cm⁻¹ 范围内进行扫描,并分析加工方式对黄精多糖官能团的影响。

1.2.5.3 刚果红试验 分别将 PSP 和 N-PSP 与刚果红试剂混合,配制成浓度为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L 的 NaOH 溶液,在 400~700 nm 范围内进行紫外分光光谱扫描^[14],测定溶液最大吸收波长,使用去离子水代替多糖溶液作为空白对照组。

1.2.5.4 热重分析 利用热重分析系统对 PSP、N-PSP 进行热重分析,取适量样品,置样品容器中,在 N₂ 气氛下测定样品在 0~700 ℃ 区间的质量变化,控制升温速率为 10 ℃/min。

1.2.5.5 单糖组成分析 a.单糖标准品的衍生化:准确称取 14 种单糖标准品分别配成 0.4 mg/mL 的溶液待用。将单糖标准品溶液按等体积进行混合,取 400 μL 的混合单糖标准液加入 400 μL 浓度为 0.6 mol/L 的 NaOH 进行混合,再加入 400 μL PMP 甲醇溶液后漩涡混匀,70 ℃ 水浴中反应 2 h,冷却后加入 HCl 中和至中性。加入 1200 μL 水及 1200 μL 的三氯甲烷,漩涡混匀,静置后弃去三氯甲烷,重复操作 2 次后,将水相用 0.45 μm 滤膜过滤后即得到衍生化后的单糖混合标准品供 HPLC 进样分析^[17]。

b.黄精多糖的衍生化:称取 PSP 及 N-PSP 各 15 mg 于 20 mL 的钳口瓶中,加入 5 mL 的 2 mol/L 三氟乙酸溶液,充氮气封管,于 100 ℃ 烘箱中水解 2 h。冷却后用氮吹仪吹干,加入 1 mL 甲醇后继续吹干,如此重复 2 次以去除三氟乙酸。加入 1 mL 0.3 mol/L 的 NaOH 溶液进行充分溶解,得到多糖水解液,吸取 400 μL 进行衍生化处理及 HPLC 分析^[15]。

c.色谱条件:色谱柱: C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: A 为 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH6.7),流动相 B 为乙腈;检测波长为 250 nm;柱温 30 ℃;流速 1 mL/min;进样量 5 μL;洗脱程序: 0~9 min 为 86%~83% A, 14%~17% B, 9~28 min 为 83%~78% A, 17%~22% B, 28~31 min 为 78%~50% A, 22%~50% B, 31~36 min 为 50%~86% A, 50%~14% B。

1.2.6 九蒸九制对黄精多糖体外降血糖活性的影响研究

1.2.6.1 黄精多糖对 α-淀粉酶的抑制作用研究 移

取 2、4、6、8、10 mg/mL 质量浓度的 PSP、N-PSP 溶液 100 μ L,加入 100 μ L 的 α -淀粉酶溶液(1.2 U/mL),37 $^{\circ}$ C 水浴 5 min,加入 PBS 配制的淀粉溶液(质量分数 1%),37 $^{\circ}$ C 水浴 15 min,再加入 2 mL DNS 溶液,沸水浴 5 min 后取出冷却,用蒸馏水稀释至 10 mL,使用阿卡波糖作为阳性对照,在 540 nm 处测定吸光度。

$$\text{抑制率}(\%) = (1 - (A_3 - A_4) / (A_1 - A_2)) \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中: A_1 为缓冲液代替多糖的吸光度值; A_2 为缓冲液代替酶液和多糖溶液的吸光度值; A_3 为黄精多糖的吸光度值; A_4 为缓冲液代替酶液的吸光度值。

1.2.6.2 黄精多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用研究

移取 2、4、6、8、10 mg/mL 质量浓度的 PSP、N-PSP 溶液 1 mL,加入 0.1 mL α -葡萄糖苷酶(1 U/mL)和 2 mL 的磷酸盐缓冲液,37 $^{\circ}$ C 下保持 10 min 后加入 1 mL 谷胱甘肽溶液和 0.25 mL 对硝基苯- β -D-半乳糖吡喃糖苷,于 37 $^{\circ}$ C 下反应 10 min,再加入 2 mL 碳酸钠溶液,使用阿卡波糖作为阳性对照,在 400 nm 处测定吸光度^[18],根据公式(1)计算抑制率及 IC_{50} 数值。

1.2.7 加工方式对黄精多糖体外抗氧化效果的影响研究

1.2.7.1 黄精多糖 DPPH 自由基清除率测定 向试管中加入 2 mL 的 DPPH-乙醇溶液(0.2 mmol/L),然后加入 1.0 mL 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L pH7.0),最后加入 2.0 mL PSP 及 N-PSP 样品溶液(2、4、6、8、10 mg/mL),室温避光 30 min,并以稀释 100 倍的 V_C 溶液作阳性对照,在 517 nm 处测得反应后吸光值 A_1 ,以无水乙醇代替 DPPH 得到吸光值 A_2 ,蒸馏水对照值为 A_0 ,按公式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = (1 - (A_1 - A_2) / A_0) \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中: A_1 为样品溶液的吸光值; A_2 为无水乙醇代替 DPPH 的参比对照吸光值; A_0 为蒸馏水代替样品的空白对照吸光值。

1.2.7.2 黄精多糖 ABTS⁺自由基清除率测定 将 7 mol/L 的 ABTS 溶液按 1:1 的比例与 2.45 mol/L 的过硫酸钾溶液混合,避光静置 16 h,采用紫外分光光度计,在 734 nm 波长下用 PBS 缓冲液(pH7.4)稀释 ABTS 溶液,调节吸光度至 0.7 备用。分别向试管中加入 2 mL ABTS⁺溶液,加入不同质量浓度的 PSP 及 N-PSP 溶液,避光反应 20 min,以稀释一百倍的 V_C 作为阳性对照,在 734 nm 处测定吸光度,按公式(3)计算 ABTS⁺自由基清除率。

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率}(\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

式中: A_1 为样品溶液的吸光值; A_0 为蒸馏水代替样品的空白组吸光值。

1.3 数据处理

所有样品进行 3 次测定,相关性与显著性差异采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析, $P < 0.05$ 时表示存在显著性差异,采用 Origin 2018 绘图。

2 结果与分析

2.1 5-HMF 含量测定结果

在 1.0~20 μ g/mL 范围内,以 5-HMF 质量浓度为横坐标(x),峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,得到线性方程 $y = 84.207x - 45.312$, $R^2 = 0.9974$,表明二者具有良好的线性关系。以信噪比为 3 和 10 确定方法的检出限和定量限,LOD 和 LOQ 分别为 1.86、6.13 ng/mL。

通过对鲜黄精样品进行检测,结果显示未检测到 5-HMF。九蒸九制黄精样品的高效液相色谱图见图 1,九蒸九制黄精中 5-HMF 含量为 $(631.3 \pm 21.5) \mu\text{g/g}$ 。

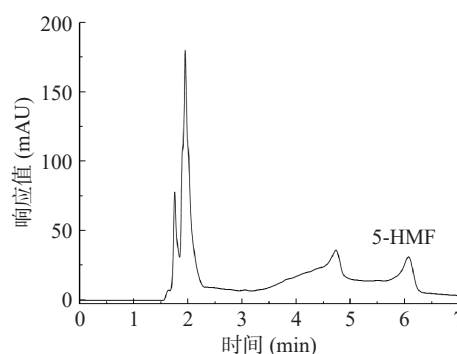


图 1 九蒸九制黄精 5-HMF 液相图

Fig.1 5-HMF liquid chromatogram of nine steaming-nine processing *Polygonatum sibiricum*

结果表明,经过九蒸九制后黄精中的 5-HMF 含量明显增加,这一变化与张帆^[19]的研究结果一致。由此说明,不同加工方式对于黄精中 5-HMF 含量的影响差异较大,黄精在九蒸九制过程中由于受到高温进而加剧了糖苷键断裂,使得多糖发生了一定程度的水解现象,经过脱水反应后从而生成了 5-HMF^[19],九蒸九制过程促使了黄精中 5-HMF 含量的显著上升。

2.2 AGEs 含量测定结果

2.2.1 线性范围、检出限和定量限 以 CML 和 CEL 的分子离子峰 $[M+H]^+$ 理论精确质量数提取色谱图,如图 2 所示。在 1.0~1000 ng/mL 质量浓度范围内,以质量浓度为横坐标,定量离子对的响应峰面积为纵坐标绘制标准曲线,以信噪比为 3 和 10 确定方法的检出限和定量限,结果如表 2 所示。在 1.0~1000 ng/mL 范围内,二者均呈良好的线性关系。

2.2.2 实际样品测定 九蒸九制后的黄精中 CML 和 CEL 含量见表 3。通过表可知,九蒸九制后黄精中 CML 和 CEL 含量增加至 $(342.4 \pm 11.3) \mu\text{g/g}$ 、 $(63.7 \pm 9.8) \mu\text{g/g}$ 。由此表明,九蒸九制对于黄精的 CML 和 CEL 含量变化有着较大影响,在蒸制加工过程中发生的美拉德反应使其生成了较多含量的 CML 和

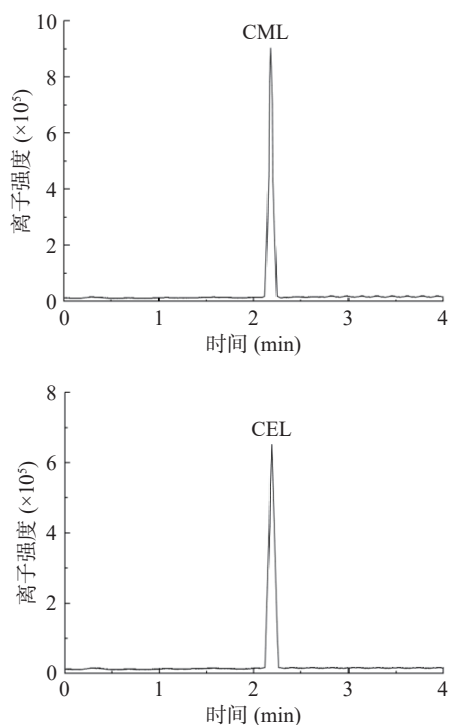


图2 混合标准溶液中CML和CEL的提取离子流色谱图

Fig.2 Extracted ion flow chromatogram of CML and CEL in mixed standard solution

表2 CML和CEL的线性范围、线性方程、决定系数 R^2 、检出限与定量限

Table 2 Linear range, linear equation, correlation coefficient R^2 , limit of detection and limit of quantitation for CML and CEL

化合物	线性范围 (ng/mL)	线性方程	决定系数 R^2	检出限 (ng/g)	定量限 (ng/g)
CML	1~1000	$y=115.25x-3834.6$	0.9913	6	27
CEL	1~1000	$y=170.42x-5972.1$	0.9931	7	32

表3 不同加工方式的黄精中CML及CEL含量

Table 3 Content of CML and CEL in different process methods of *Polygonatum sibiricum*

样品	CML ($\mu\text{g/g}$)	CEL ($\mu\text{g/g}$)
鲜黄精	—	—
九蒸九制	342.4 ± 11.3	63.7 ± 9.8

CEL,这与宫瑞泽^[15]的研究结果一致。在高温的蒸制环境中,黄精多糖中的一部分还原糖经糖基化反应形成了AGEs^[20],此外,黄精中的抗坏血酸可以氧化成L-阿苏糖,经氧化裂解也可以形成CML及CEL^[21]。因此,经过反复蒸制后的黄精中CML和CEL含量得以显著上升。

2.3 黄精多糖含量测定及结构表征

2.3.1 多糖含量的测定 以葡萄糖质量浓度和其吸光度值绘制葡萄糖标准曲线,回归方程为 $y=0.0145x-0.0034$, $R^2=0.999$ 。根据标准曲线,采用苯酚硫酸法测得鲜黄精多糖含量为 $15.32\% \pm 1.62\%$,九蒸九制黄精多糖含量为 $12.21\% \pm 1.43\%$,且多糖纯度在90%以上。结果表明九蒸九制后黄精多糖含量出现下降现象,这是因为在多次蒸制的过程中多糖发生

了降解,大量水解为单糖和低聚糖从而使得其含量有所降低^[22]。

2.3.2 紫外光谱分析结果 经UV检测,结果图3显示PSP及N-PSP中蛋白质或者其他杂质含量极低,说明提取到的两种多糖均为纯度较高的多糖。

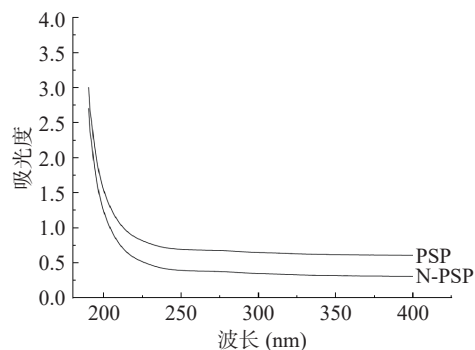


图3 黄精多糖的紫外光谱分析

Fig.3 Ultraviolet spectrum analysis of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide

2.3.3 红外光谱分析结果 采取傅里叶红外光谱对不同加工方式后提取的黄精多糖官能团分析(图4),PSP及N-PSP在 3325 、 2925 cm^{-1} 处的吸收峰是多糖的O-H、C-H伸缩振动引起的^[23]。在 1618 、 1603 、 1412 cm^{-1} 处出现的吸收峰是-COO-伸缩振动引起的,表明多糖中含有糖醛酸, 1022 、 1050 cm^{-1} 处出现的吸收峰是由吡喃糖环的C-O键引起的,N-PSP在 817 、 872 cm^{-1} 处的吸收峰是由 α -糖苷键及 β -糖苷键振动产生^[24],与PSP相比,N-PSP在 1740 cm^{-1} 处出现的特征吸收峰为羧基酯化的C=O伸缩振动引起的。以上结果表明鲜黄精和九蒸九制黄精多糖均属于含吡喃环的多糖,并且九蒸九制加工后得到的黄精多糖会发生较为明显的酯化反应^[25]。

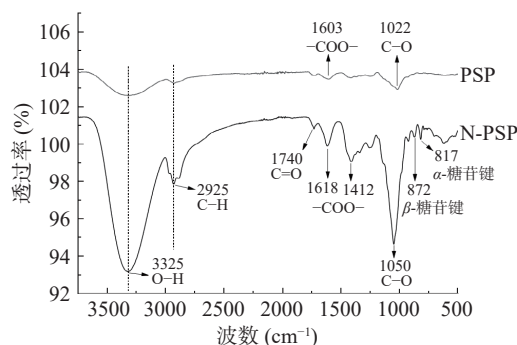


图4 九蒸九制对PSP官能团的影响

Fig.4 Effect of nine steaming-nine processing on PSP functional groups

2.3.4 九蒸九制对黄精多糖三螺旋结构的影响 完整的线性三螺旋结构是保持多糖较高免疫活性的前提条件,有研究发现三螺旋结构多糖表现出较强的抗S-180肿瘤的生物活性^[26],刚果红能够与具有三螺旋结构的多糖发生络合反应,络合物的最大吸收波长会发生红移,并在一定的NaOH浓度范围内呈现亚稳性^[27]。从图5中可看出,刚果红与PSP及N-

PSP 混合后,其最大吸收波长发生了明显的偏移并出现亚稳区,由此可推测黄精多糖是一种具有三螺旋结构的多糖组分,且九蒸九制的加工方法并未破坏黄精多糖的三螺旋结构。

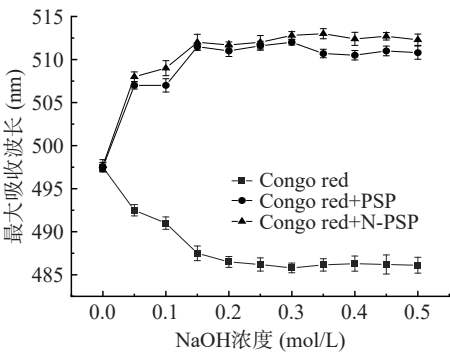


图 5 PSP 及 N-PSP 三螺旋结构鉴定

2.3.5 热重分析结果 由图 6 可见, PSP 及 N-PSP 的热降解有很明显的三个阶段,当温度从 40 ℃ 附近升至 200 ℃ 时, PSP 的质量损失高于 N-PSP,在后两个阶段质量趋于一致。这可能是由于温度升高导致多糖内部的部分亲水基团水分蒸发,鲜黄精中提取到的 PSP 吸附水与结合水含量更高。当温度在 200 ℃

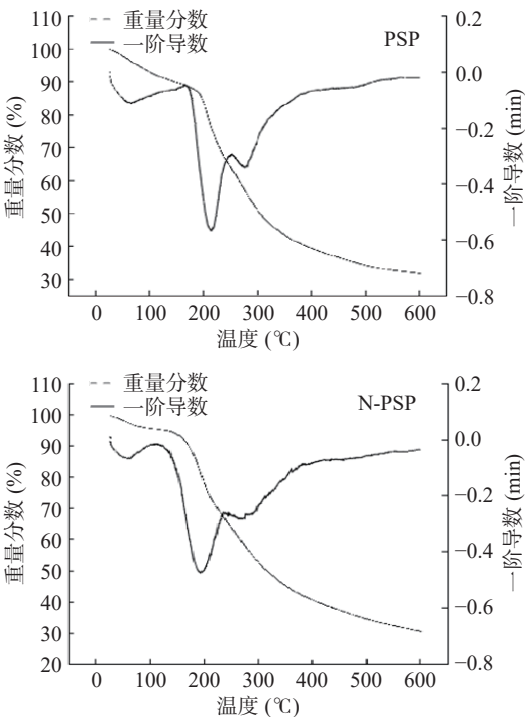


图 6 PSP 及 N-PSP 热分析

Fig.6 Thermal analysis of PSP and N-PSP

附近时,多糖样品的质量缩减幅度增大,这可能是因为高温使多糖分子发生了剧烈的解聚和分解作用,大量多糖分子被裂解,产生 CO₂、水蒸气等析出^[28],当温度从 400 ℃ 附近升至 600 ℃ 时,由于大多数多糖在此时已经过高温处理,成为了碳化结构,质量分数的下降趋势趋于平缓。

2.3.6 九蒸九制对黄精多糖单糖组成的影响分析 采用 PMP 衍生化-HPLC 法检测未蒸制及九蒸九制后的黄精所制得多糖的单糖组成,检测结果如图 7 和表 4 所示。通过与混合的单糖标准品色谱图对比,可以看出 PSP 的多糖组成中 Man、GalUA、Glc、Gal、Ara 五种单糖含量较多,其摩尔百分比分别为 34.53%、9.59%、21.17%、22.59%、9.55%。N-PSP 的单糖含量有所变化,Glc 比例有所增长,其摩尔百分比达到 49.72%,Gal 及 Ara 在蒸制后比例变化较小。单糖中 Man 及 GalUA 的摩尔比有明显降低,Man 从 34.53% 降至 17.06%,GalUA 从 9.59% 降至 1.77%,这与吴丰鹏等^[29]的研究趋势相同。研究结果表明,在九蒸九制的加工过程中,黄精中的部分糖类物质由于发生美拉德反应导致其发生异构化和降解现象^[30],使得黄精多糖中单糖的组成及其含量被改变。

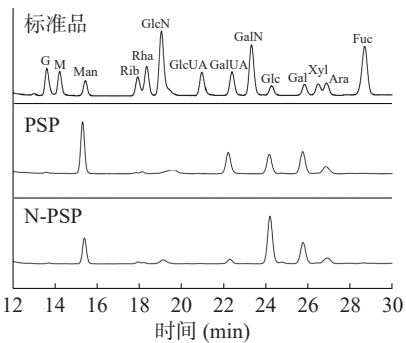


图 7 PSP 及 N-PSP 单糖组成分析

Fig.7 Monosaccharide composition analysis of PSP and N-PSP

2.4 加工方式对黄精多糖体外降糖功能的影响分析 在糖的催化反应中,α-淀粉酶及 α-葡萄糖苷酶起重要作用,可以通过抑制这两种酶,降低碳水化合物的水解和消化,以达到降低血糖的药理作用。由图 8A 可知,在质量浓度为 2~10 mg/mL 范围,样品对 α-葡萄糖苷酶的抑制率递增;当样品质量浓度达到 10 mg/mL 时, PSP、N-PSP 对 α-葡萄糖苷酶的抑制率分别为 39.13%、51.23%。虽然黄精多糖与成品药阿卡波糖相比,药效有较大的差距,但还是具有明显的抑制作用。由图 8B 可知, PSP、N-PSP 在质量

表 4 鲜黄精及九蒸九制黄精多糖的单糖组成分析

Table 4 Monosaccharide composition analysis of fresh *Polygonatum sibiricum* and nine steaming-nine processing *Polygonatum sibiricum* polysaccharide

样品	单糖组成及摩尔比例(%)													
	G	M	Man	Rib	Rha	GlcN	GlcUA	GalUA	GalN	Glc	Gal	Xyl	Ara	Fuc
PSP	0.37	—	34.53	0.64	0.68	—	0.10	9.59	—	21.17	22.59	0.65	9.55	0.13
N-PSP	0.26	—	17.06	1.13	0.42	—	0.18	1.77	—	49.72	21.00	0.02	7.53	0.21

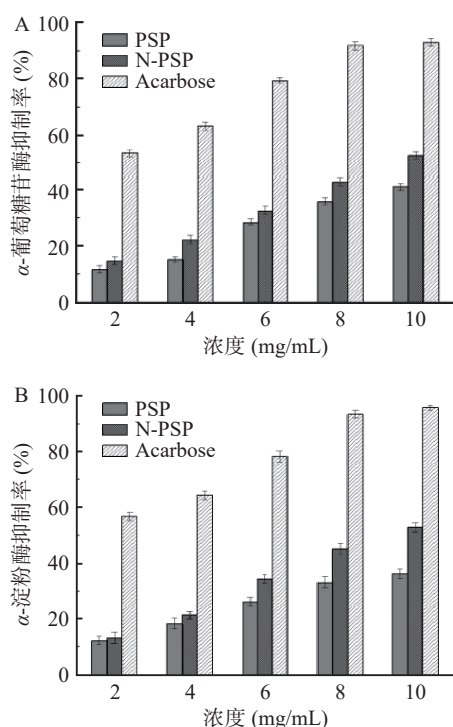


图8 黄精多糖降血糖活性研究

Fig.8 Study on hypoglycemic activity of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide

浓度为 10 mg/mL 时,对 α -淀粉酶的抑制率分别为 38.43%、50.13%。结果表明,相对于 PSP, N-PSP 对于 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶具有较强的抑制活性。有研究发现含有葡萄糖、半乳糖的多糖具有相对较强的酶抑制能力^[31],在上文对于 PSP 及 N-PSP 的单糖组成分析中表明, N-PSP 中的葡萄糖比例有所增长,因此其酶抑制能力也更强。由此说明经过九蒸九制加工后的黄精得到的多糖具有更好的体外降糖效果。

2.5 加工方式对黄精多糖体外抗氧化活性的影响分析

由图 9 可知,随着黄精多糖浓度的增大, DPPH 自由基清除率及 ABTS⁺自由基的清除能力均随之提升。PSP 和 N-PSP 对 DPPH 自由基清除率的 IC₅₀ 数值分别为 13.31、12.43 mg/mL。对 ABTS⁺自由基清除率的 IC₅₀ 分别为 13.42、12.24 mg/mL。阳性对照 V_C 的抗氧化效果明显高于黄精多糖。研究结果表明, N-PSP 的抗氧化能力虽弱于 V_C,但相较于

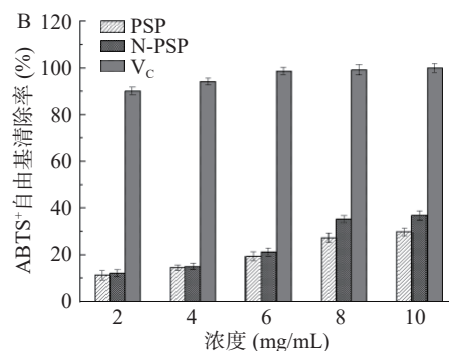


图9 黄精多糖抗氧化活性研究

Fig.9 Study on antioxidant activity of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide

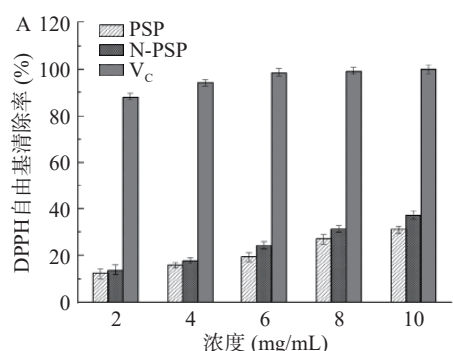
PSP 却具有一定的提升。这可能是因为黄精多糖通过美拉德反应生成吡咯等杂环化合物,其有利于自由基的亲电加成,使得自由基的清除效果增强^[32]。并且有研究表明九蒸九制过程会使得黄精中的黄酮、多酚类物质发生富集现象,其含量的增大也会提高 N-PSP 的抗氧化能力^[4]。因此,经过九蒸九制后得到的黄精多糖其体外抗氧化活性比 PSP 更佳。

3 结论

通过实验,在九蒸九制后的黄精中检测到了 5-HMF,含量为(631.3±21.5)μg/g,说明黄精在九蒸九制的过程中发生了较为明显的美拉德反应,同时产生了晚期糖基化终产物, CML 和 CEL 含量分别为(342.4±11.3)μg/g、(63.7±9.8)μg/g。通过傅里叶红外光谱分析发现 N-PSP 出现一定程度的酯化现象,单糖组成分析显示 N-PSP 的单糖组成显著改变,但九蒸九制并未破坏黄精多糖的三螺旋结构以及热稳定性。上述现象的主要原因可能是由于九蒸九制过程中黄精内部的蔗糖及多糖产生热降解,导致还原糖含量增加,参与美拉德反应,使其多糖含量下降,单糖组成发生改变,并生成了 AGEs。体外活性实验结果显示,九蒸九制的加工方式可以在一定程度上提升黄精多糖体外降血糖和抗氧化活性。其主要原因可能是由于加工过程中 N-PSP 糖醛酸含量增加、单糖组成改变带来的高级结构发生改变、多糖-蛋白共价复合物的出现,使其体外活性作用得到了一定程度的提升,但其潜在的构效机制尚有待于进一步研究。本研究对九蒸九制黄精多糖含量下降及其活性作用提升的原因,做出了初步解答,有助于为黄精及药食同源类产品的高品质加工提供新的思路。

参考文献

- [1] WANG D, ZHANG H, LIU J L, et al. Comparative analysis of bioactive components of *Polygonatum cyrtoneura* Hua from different rears[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2020, 21(4): 50-57.
- [2] 张国强, 郭晓东, 薛文华, 等. 西藏野生卷叶黄精多酚的提取及其抗氧化活性分析[J]. *食品科学*, 2017, 38(6): 236-241.
- [3] ZHANG G Q, GUO X D, XUE W H, et al. Extraction and antioxidant activities of polyphenols from Tibetan wild *Polygonatum cirrhifolium*[J]. *Food Science*, 2017, 38(6): 236-241.
- [3] ZHAO X, PATIL S, QIAN A, et al. Bioactive compounds of



- Polygonatum sibiricum*-therapeutic effect and biological activity[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2022, 22(1): 26–37.
- [4] 滕欢欢,王仁中,吴德玲,等.多花黄精炮制前后不同极性部位抗氧化与降血糖活性研究[J].*食品与发酵工业*, 2022, 48(8): 70–75. [TENG H H, WANG R Z, WU D L, et al. The study on the antioxidant and hypoglycemic activities of different polar extracts from crude and steam-process *Polygonatum cyrtoneuma* Hua[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(8): 70–75.]
- [5] 刘慧,许妍妍,谢利娟,等.基于证候理论中药用药禁忌研究概况[J].*辽宁中医药大学学报*, 2022, 24(3): 106–109. [LIU H, XU Y Y, XIE L J, et al. Research survey of contraindications in traditional chinese medicine based on syndrome theory[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 24(3): 106–109.]
- [6] 林雨,余亮,魏馨瑶,等.黄精炮制前后的化学成分变化及其减毒增效研究[J].*中药材*, 2021(6): 1353–1359. [LIN Y, SHE L, WEI X Y, et al. Study on chemical constituents, detoxification and synergism of *Polygonati rhizoma* before and after process[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2021(6): 1353–1359.]
- [7] 郑晓倩,徐超,金传山,等.基于颜色变化的“九蒸九晒”黄精炮制火候及内外在质量的相关性研究[J].*中草药*, 2022, 53(6): 1719–1729. [ZHENG X Q, XU C, JIN C S, et al. Research on relationship between processing degree and internal and external quality of *Polygonatum cyrtoneuma* processed by “Nine-steaming and Nine-suncuring” based on color change[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(6): 1719–1729.]
- [8] 曾林燕,宋志前,魏征,等.黄精炮制过程中新产生成分分离及含量变化[J].*中草药*, 2013, 44(12): 1584–1588. [ZENG L Y, SONG Z Q, WEI Z, et al. Isolation of chemical constituents produced in processing of *Polygonati rhizoma* and their content changes[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2013, 44(12): 1584–1588.]
- [9] 韩笑,匡宇,赵永艳,等.九蒸九晒黄精 5-HMF 含量的变化[J].*中药与临床*, 2018, 9(3): 4–5, 13. [HAN X, KUANG Y, ZHAO Y Y, et al. Study on the influence of the processing of “Jiu Zheng Jiu Shai” on the contents change of 5-HMF in Huangjing[J]. *Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica*, 2018, 9(3): 4–5, 13.]
- [10] 李蒙恩,马彦江,姚超,等.基于九蒸九制黄精中 5-HMF 和多糖含量分析的黄精炮制品质量评价模型的建立[J].*时珍国医国药*, 2021, 32(8): 1897–1900. [LI M E, MA Y J, YAO C, et al. Development of a quality evaluation model for the concoction products based on the analysis of 5-HMF and polysaccharide content in nine-steamed and nine-processed yellow extracts[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica*, 2021, 32(8): 1897–1900.]
- [11] 陈瑞瑞,祖艳红,石丁夫,等.多花黄精从生粉到九蒸九晒过程中多糖的变化[J].*安徽农业科学*, 2019, 47(18): 181–182. [CHEN R R, ZU Y H, SHI D F, et al. Changes of polysaccharides in the process of *Polygonatum cyrtoneuma* from raw flour to nine steaming and nine drying[J]. *Anhui Agricultural Sciences*, 2019, 47(18): 181–182.]
- [12] AN F M, ZHAO R Y, XUAN X R. Calycosin ameliorates advanced glycation end product-induced neurodegenerative changes in cellular and rat models of diabetes-related Alzheimer's disease[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2022, 368(1): 110206–110206.
- [13] 郭涛,王荣靖,宋艺君,等.黄精九蒸九晒炮制过程中药效化学成分动态变化[J].*药学研究*, 2022, 41(4): 220–224, 229. [GUO T, WANG R J, SONG Y J, et al. Chemical components dynamic variation of root of *Polygonati rhizoma* during a nine-time re-peat of the steaming and sun-drying process[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2022, 41(4): 220–224, 229.]
- [14] 马佳丽,蒋殷盈,蒋福升,等.九蒸九制多花黄精炮制过程变化研究[J].*浙江中医药大学学报*, 2020, 44(5): 480–485. [MA J L, JIANG Y Y, JIANG F S, et al. Study on the changes of “Nine-steam-nine-bask” of *Polygonatum cyrtoneuma*[J]. *Journal of Zhejiang University of Chinese Medicine*, 2020, 44(5): 480–485.]
- [15] 宫瑞泽.煮炸鹿茸中晚期糖基化终产物的生成规律及调控机制研究[D].北京:中国农业科学院, 2020. [GONG R Z. Study on the formation regularity and regulation mechanism of advanced glycosylation end products in boiled *Velvet antler*[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020.]
- [16] 程成威,王霞,张忠飞,等.基于 UPLC-QqQ-MS/MS 同步检测热加工食品中典型晚期糖基化终末产物[J].*食品科学*, 2021, 42(10): 316–321. [CHENG W W, WANG X, ZHANG Z F, et al. Simultaneous determination of typical advanced glycation end products in thermally processed foods by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2021, 42(10): 316–321.]
- [17] 孟磊,常军民,孙莲,等.柱前衍生-HPLC 分析天山花楸多糖中的单糖组成[J].*食品科学*, 2009, 30(24): 324–326. [MENG L, CHANG J M, SUN L, et al. Use of pre-column derivatization HPLC for determination of monosaccharide compositions and contents in *Sorbus tianschanica* Rupr. polysaccharide[J]. *Food Science*, 2009, 30(24): 324–326.]
- [18] 马永强,王鑫,高爽,等.甜玉米芯多糖提取及抗凝血活性初探[J].*食品工业科技*, 2016, 37(21): 114–118, 188. [MA Y Q, WANG X, GAO S, et al. Extraction and anticoagulant activities of polysaccharides from sweet corn cob[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(21): 114–118, 188.]
- [19] 张帆.九蒸九制过程中黄精感官品质形成规律及主要活性物质变化研究[D].南宁:广西大学, 2022. [ZHANG F. Study on the formation law of sensory quality and the change of main active substances of *Polygonatum sibiricum* in the process of nine steaming and nine processing[D]. Nanning: Guangxi University, 2022.]
- [20] 李普,刘贵梅,卢永翎,等.小麦醇溶蛋白糖基化改性过程中有害产物形成的影响因素分析[J].*食品科学*, 2018, 39(15): 10–16. [LI P, LIU G M, LU Y X, et al. Analysis of factors influencing on the formation of harmful products during glycosylation of wheat gliadin[J]. *Food Science*, 2018, 39(15): 10–16.]
- [21] 吴旋,李娜,徐怀德,等.晚期糖基化终末产物形成及抑制机理的研究进展[J].*食品科学*, 2023, 44(17): 204–214. [WU X, LI N, XU H D, LI M. Research progress on the formation and inhibition mechanism of advanced glycation end products[J]. *Food Science*, 2023, 44(17): 204–214.]
- [22] 吴伟菁,陈家凤,赵海军,等.加工方式对黄精多糖的结构和活性影响的研究进展[J].*食品工业科技*, 2022, 43(17): 482–493. [WU W J, CHEN J F, ZHAO H J, et al. Research progress on the effect of processing methods on the structure and activity of *Polygonatum* polysaccharide[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(17): 482–493.]
- [23] 房芯羽.绵枣儿捕获二羰基化合物作用物质基础研究[D].青岛:青岛大学, 2018. [FANG X Y. Investigation on the active substance of *Scilla scilloides* with the capture of dicarbonyl compounds[D]. Qingdao: Qingdao University, 2018.]
- [24] JI H, LIU C, DAI K, et al. The extraction, structure, and immunomodulation activities *in vivo* of polysaccharides from *Salvia miltiorrhiza*[J]. *Industrial Crops and Products*, 2021, 173(1): 114085.
- [25] CHAI Y, ZHAO M. Purification, characterization and anti-

proliferation activities of polysaccharides extracted from *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 149(1): 121–130.

[26] 刘青业, 许小娟. 三螺旋多糖的链结构与功能研究进展[J]. *功能高分子学报*, 2016, 29(2): 134–152. [LIU Q Y, XU X J. Recent progress in chain conformation and function of triple helical polysaccharides[J]. *Journal of Functional Polymers*, 2016, 29(2): 134–152.]

[27] 王家腾, 王贺聪, 刘蕾. 香菇多糖构效关系的研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(19): 363–369. [WANG J T, WANG H C, LIU L. Progress in research on structure-function relationship of lentinan[J]. *Food Science*, 2019, 40(19): 363–369.]

[28] HIROYUKI F, TOMOHIDE Y, KAZUNORI O. Long-term ingestion of Touchi-extract, an α -glucosidase inhibitor, by borderline and mild type-2 diabetic subjects is safe and significantly reduces blood glucose levels[J]. *Nutrition Research*, 2003, 23(6): 117–120.

[29] 吴丰鹏, 李芹英, 吴彦超, 等. 九蒸九制对黄精多糖单糖组成及其抗氧化性的影响[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(2): 42–46. [WU

F P, LI Q Y, WU Y C, et al. Effects of nine-steam-nine-bask on the monosaccharide composition and antioxidant activities of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(2): 42–46.]

[30] LIU Zhenli, CHAO Zhimao, LIU Yuanyan, et al. Maillard reaction involved in the steaming process of the root of *Polygonum multiflorum*[J]. *Planta Medica*, 2009, 75(1): 84–88.

[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. [TIAN Y P, CHEN J, WANG L, et al. Effect of extraction methods on physicochemical properties and *in vitro* biological activity of raspberry polysaccharide[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(8): 1–10.]

[32] 卜单, 涂宗财, 刘光宪, 等. 不同还原糖糖基化对超声波预处理 α -乳白蛋白结构和抗氧化活性的影响[J]. *食品科学*, 2022, 43(24): 1–6. [BU D, TU Z C, LIU G X, et al. Effects of glycation with different saccharides on the conformation and antioxidant activities of ultrasonic pretreated α -lactalbumin[J]. *Food Science*, 2022, 43(24): 1–6.]