

吴茱萸多糖的分离纯化、结构表征及体外降脂活性

孙永进, 曾惠梅, 黄 静, 赵云龙, 蔡锦源, 孙 松

Isolation, Purification, Structural Characterization, and *in Vitro* Lipid-lowering Activity of *Evodia rutaecarpa* Polysaccharides

SUN Yongjin, ZENG Huimei, HUANG Jing, ZHAO Yunlong, CAI Jinyuan, and SUN Song

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024070437>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

青天葵多糖的分离纯化、结构表征及其抗氧化活性分析

Separation, Purification, Structural Characterization and Antioxidation Effects of a Polysaccharide from *Nervilia fordii*

食品工业科技. 2022, 43(22): 61-67 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022010223>

骏枣多糖的分离纯化、结构表征及抗氧化活性研究

Study on Isolation, Purification, Structure Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Zizyphus jujuba* cv. Junzao

食品工业科技. 2022, 43(23): 71-78 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022020076>

黍稷麸皮多糖分离纯化、结构表征及抑菌活性分析

Isolation, Purification, Structure Characterization and Antibacterial Activity of Polysaccharides from Proso Millet Bran

食品工业科技. 2024, 45(10): 1-7 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023090118>

蕨菜多糖的提取、纯化、结构表征与抗氧化活性研究

Extraction, Purification, Structural Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharides from Bracken

食品工业科技. 2023, 44(17): 51-58 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022090327>

山药皮多糖的分离纯化、结构特征及体外抗氧化活性研究

Study on Separation, Purification, Structural Characteristics and *in Vitro* Antioxidant Activity of Polysaccharides from Chinese Yam Peel

食品工业科技. 2023, 44(19): 78-85 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022120074>

鲍鱼脏器碱提多糖的分离纯化、结构表征及抗氧化活性研究

Isolation, Purification, Structure Characterization and Antioxidant Activity of Alkali-extracted Polysaccharide from Abalone Viscera

食品工业科技. 2024, 45(4): 53-60 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023030266>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

孙永进, 曾惠梅, 黄静, 等. 吴茱萸多糖的分离纯化、结构表征及体外降脂活性 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(8): 33–42. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070437

SUN Yongjin, ZENG Huimei, HUANG Jing, et al. Isolation, Purification, Structural Characterization, and *in Vitro* Lipid-lowering Activity of *Evodia rutaecarpa* Polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(8): 33–42. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070437

·特邀主编专栏—生物大分子: 性质、结构、特性和功效机制 (客座主编: 于寒松、方亚鹏、刘回民)·

吴茱萸多糖的分离纯化、结构表征及 体外降脂活性

孙永进^{1,2,3}, 曾惠梅¹, 黄静^{1,2,3}, 赵云龙^{1,2,3}, 蔡锦源^{1,2,3,*}, 孙松^{1,2,3,*}

(1.柳州工学院食品与化学工程学院, 广西柳州 545616;

2.柳州市螺蛳粉植物源性配料研究重点实验室, 广西柳州 545616;

3.柳州市特色食品风味与品质控制工程技术研究中心, 广西柳州 545616)

摘要:为探究吴茱萸多糖的结构特征及其体外降脂的潜力, 通过微波辅助提取技术, 在吴茱萸中提取得到吴茱萸粗多糖(WPER), 利用 DEAE-52 纤维素离子柱和 Sepharose G-100 凝胶柱对 WPER 进行分离纯化, 获得了三种多糖组分: WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a, 最后对三种多糖组分开展了理化特性测定、结构表征以及体外降脂活性研究。理化性质表明三个组分多糖主要由甘露糖(Man)、半乳糖(Gal)和阿拉伯糖(Ara)组成, WPER-2a 的总糖含量和糖醛酸含量最高, 分别为 66.44%±0.64%、32.41%±0.99%。红外表征表明分离纯化不会改变多糖官能团, 刚果红实验表明 WPER-2a 和 WPER-3a 具有三螺旋结构, 三种多糖均以非定型的结晶态存在, 热重实验和 Zeta 电位表明 WPER-2a 稳定性高于其他两个组分。扫描电镜(SEM)结果表明 WPER-1b 和 WPER-3a 为块状和片状, 而 WPER-2a 表现为粗糙、碎末状。体外降脂活性的研究结果表明, WPER-3a 浓度 10 mg/mL 时, 对油脂的吸附量最高为 22.96 mg/g。WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 浓度为 10 mg/mL 时对胰脂肪酶的抑制率分别为 65%、62.33% 和 64.31%, WPER-2a (10 mg/mL) 对胆酸和牛磺胆酸具有较好的吸附作用, 分别为 75.89%、72.29%, 分离纯化后的吴茱萸多糖均具有一定的体外降脂活性, WPER-2a 组分活性较好。研究结果为提高吴茱萸多糖的开发利用水平提供参考依据, 为吴茱萸多糖在降脂方面的应用提供理论基础和思路借鉴。

关键词: 吴茱萸, 多糖, 分离纯化, 结构表征, 体外降脂活性

中图分类号: Q71

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)08-0033-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070437



本文网刊:

Isolation, Purification, Structural Characterization, and *in Vitro* Lipid-lowering Activity of *Evodia rutaecarpa* Polysaccharides

SUN Yongjin^{1,2,3}, ZENG Huimei¹, HUANG Jing^{1,2,3}, ZHAO Yunlong^{1,2,3}, CAI Jinyuan^{1,2,3,*}, SUN Song^{1,2,3,*}

(1.School of Food and Chemical Engineering, Liuzhou University of Technology, Liuzhou 545616, China;

2.Liuzhou Luosifen Plant Source Ingredients Research Key Laboratory, Liuzhou 545616, China;

3.Liuzhou Special Food Flavor and Quality Control Engineering Technology Research Center, Liuzhou 545616, China)

Abstract: To explore the structural characteristics of *Evodia rutaecarpa* polysaccharide and its lipid-lowering potential *in vitro*, *Evodia rutaecarpa* crude polysaccharide (WPER) was extracted by microwave-assisted extraction technique. Three fractions of WPER, including WPER-1b, WPER-2a and WPER-3a, were isolated and purified by DEAE-52 cellulose ion column and Sepharose G-100 gel column. The physicochemical properties, structure and lipid-lowering activity of the three

收稿日期: 2024-08-01

基金项目: 广西自然科学基金项目(2016GXNSFBA380025); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2021KY0273, 2024KY1808); 广西教育科学规划课题(2021B097, 2022MBZX74); 柳州工学院科学基金项目(2021KXJJ04); 柳州工学院科研创新团队项目(2018LSTD02)。

作者简介: 孙永进(1997-), 男, 硕士, 研究方向: 生物大分子结构和活性研究, E-mail: yongjinsun@163.com。

* 通信作者: 蔡锦源(1987-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 植物有效成分提取及其生物活性研究, E-mail: jingyuan025163@163.com。

孙松(1985-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 植物有效成分提取及利用, E-mail: 6371073428@163.com。

fractions were characterized. Physicochemical properties showed that the three fractions were mainly composed of Man, Gal and Ara. The total sugar content and uronic acid content of WPER-2a were the highest, which were $66.44\% \pm 0.64\%$ and $32.41\% \pm 0.99\%$, respectively. Congo red assay showed that WPER-2a and WPER-3a had a triple helix structure. XRD analysis showed that all the three polysaccharides existed in an amorphous crystalline state. TGA and Zeta potential showed that WPER-2a was more stable than the other two polysaccharides. SEM showed that WPER-1b and WPER-3a were bulk and lamellar, while WPER-2a showed a rough, porous, fragmented shape. The results of the lipid-lowering activity *in vitro* study showed that the highest lipid adsorption capacity of WPER-3a was 22.96 mg/g at a concentration of 10 mg/mL. When the concentration of WPER-1b, WPER-2a and WPER-3a was 10 mg/mL, the inhibition rates of pancreatic lipase were 65%, 62.33% and 64.31%, respectively. WPER-2a (10 mg/mL) had the better adsorption effect on cholic acid and taurocholate, which were 75.89% and 72.29%, respectively. All the isolated and purified polysaccharides of *Evodia officinalis* had certain lipid-lowering activity *in vitro*, and the WPER-2a fraction had the better activity. The results provide reference for improving the development and utilization level of *Evodia officinalis* polysaccharide, and provide theoretical basis and reference for the application of *Evodia officinalis* polysaccharide in lipid lowering.

Key words: *Evodia rutaecarpa*; polysaccharides; separation and purification; structural characterization; lipid-lowering activity *in vitro*

吴茱萸(*Evodia rutaecarpa*)为芸香科吴茱萸属植物的干燥未成熟果实,主要生长在中国广西、江西等地区,常作为中医药使用,具有补气养血、强身健体、提高免疫力等功效。吴茱萸中含有生物碱类、萜类化合物、苦味素类、多糖类等化学成分^[1]。多糖是由十个及以上的单糖通过糖苷键连接而成,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎和降脂等多种活性,但是目前对于吴茱萸的研究只停留在吴茱萸碱、吴茱萸次碱^[2],关于吴茱萸多糖结构和活性方面的报道较少,不利于吴茱萸的开发和利用^[3]。

多糖的提取多用微波辅助提取法,但制得的粗多糖含有较多色素、蛋白质及不溶性物质,需要对其进行分离纯化^[4],纯化后的多糖纯度较高,更易进行结构解析和活性研究。分离纯化常用的方法有 DEAE-52 纤维素阴离子交换柱层析法,具有选择性好、使用方便、经济等优点,已在生物分离和纯化领域得到广泛应用。但只通过 DEAE-52 纤维素并不能得到纯度较高且均一的多糖, Sephadex-G100 凝胶柱层析法能够对多糖进一步分级,可达到制备均一化多糖的目的^[5]。Zhu 等^[6]从黄瓜果皮中获得粗多糖(CMPP),通过 DEAE-52 纤维素离子柱得到两个组分 CMPP-1 和 CMPP-2,经过 Sephadex-G100 凝胶柱进行纯化,CMPP-1 和 CMPP-2 均为酸性多糖,且具有一定的免疫活性。迄今为止临床上使用的降脂药物主要是他汀类药物,这些药物具有导致并发症的风险,甚至器官衰竭或死亡。很多天然多糖已经被证实具有良好的降血脂作用,且副作用小,没有药物不良反应^[7]。因此,研究吴茱萸多糖的分离纯化及体外降脂效果对于开发降脂药物具有重要意义。

本文从吴茱萸中提取吴茱萸粗多糖,经过 DEAE-52 纤维素和 Sephadex-G100 凝胶对其进行分离纯化;对吴茱萸多糖组分的理化性质进行检测,采用高效液相色谱法测定单糖组成;采用红外扫描、紫外扫描、刚果红实验、热重实验、扫描电镜等对其进行结构表征;并以油脂、胆酸和牛磺胆酸的吸附率

及胰脂肪酶的抑制率为指标,探究其体外降脂的潜力。为提高吴茱萸多糖的开发利用水平提供参考依据,为吴茱萸多糖在降脂方面的应用提供理论基础和思路借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

中花吴茱萸 江西宜春;无水乙醇、氯化钠、硫酸、考马斯亮蓝、磷酸、氢氧化钠、苯酚、刚果红、石油醚 购自四川西陇科学有限公司;DEAE-52 纤维素、Sephadex G-100、葡萄糖、牛血清白蛋白、胆酸钠、牛磺胆酸钠、胰脂肪酶(20000 U/g)、奥利司他 上海麦克林生化科技有限公司;单糖标品 色谱级,上海源叶生物科技有限公司。

UWave-2000 多功能微波合成萃取仪 上海新仪微波化学科技有限公司;V-1100D 型可见光光度计 上海美谱达仪器有限公司;UV-2600 紫外-可见光光度计、IRAFLINITY-1S 傅里叶红外光谱仪 岛津仪器(苏州)有限公司;LC-20A 高效液相色谱仪 株式会社岛津制作所;K6600 全波长酶标仪 北京凯奥科技发展有限公司;S-5000 电镜扫描仪器(SEM) 日立有限公司;CM200 型透射电子显微镜 美国飞利浦公司;Xper3 Power X-射线衍射仪 荷兰帕纳科有限公司;SDT Q600 热重分析仪 美国 TA 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 吴茱萸粗多糖的提取 吴茱萸粗多糖的制备采用微波辅助提取法^[8],具体操作如下:首先对吴茱萸进行预处理,将吴茱萸粉碎,过 40 目筛,再将吴茱萸粉末与蒸馏水以 1:30(W:V)的比例进行混合,置于锥形瓶内,使用多功能微波合成萃取仪提取吴茱萸多糖,微波功率 480 W,微波温度 70 ℃,微波时间 5 min,反复提取两次,合并提取液,提取液中加入 3 倍无水乙醇,4 ℃ 醇沉 48 h,醇沉溶液 4000 r/min 离心 20 min,收集多糖沉淀,用少量的水复溶,冷干

干燥得到吴茱萸粗多糖粉末,命名为吴茱萸粗多糖(Water extracted polysaccharide from *Evodia rutaecarpa*, WPER)。

1.2.2 吴茱萸多糖 DEAE-52 纤维素柱层析的制备

对吴茱萸粗多糖进行分离操作,将 DEAE-52 纤维素色谱柱($\phi 8 \times 60$ cm)以 30 mL/min 的流速平衡两个柱体积,然后将吴茱萸粗多糖上样,上样量为 3 g,洗脱流速为 15 mL/min,分别以 0、0.2、0.4 和 0.7 mol/L NaCl 溶液作为洗脱液进行洗脱,每管 80 mL,每个浓度洗脱 70 管,使用苯酚硫酸法检测每管在 490 nm 处的吸光度值,绘制洗脱曲线,收集主要峰值的多糖溶液^[9]。冷冻干燥得到四个吴茱萸多糖组分,0 mol/L NaCl 洗脱的多糖命名为 WPER-1,0.2 mol/L NaCl 洗脱的多糖命名 WPER-2,0.4 mol/L NaCl 洗脱的多糖命名 WPER-3,0.7 mol/L NaCl 洗脱的多糖命名 WPER-4。

1.2.3 吴茱萸多糖的 Sepharose G-100 凝胶柱层析的制备 为了得到纯度较高的吴茱萸多糖组分,采用 Sepharose G-100 凝胶柱层析对上述四个多糖组分进行纯化^[10]。首先将 Sepharose G-100 凝胶柱($\phi 2.6 \times 60$ cm)进行平衡,平衡流速为 1.0 mL/min,然后将 WPER-1、WPER-2 和 WPER-3 分别称取 300 mg,溶于 20 mL 蒸馏水,采用 Sepharose G-100 凝胶柱进行洗脱,蒸馏水作为洗脱液,洗脱流速为 0.5 mL/min,每 10 mL 为 1 管,每个样品洗脱 60 管,使用苯酚硫酸法检测每管在 490 nm 处的吸光度值,绘制洗脱曲线,并收集主要峰值的多糖溶液,得到纯化后的吴茱萸多糖组分 WPER-1a、WPER-1b、WPER-1c、WPER-2a、WPER-2b 和 WPER-3a。

1.2.4 吴茱萸多糖组分理化性质及单糖组成的测定

采用苯酚-硫酸法对吴茱萸多糖各组分进行总糖含量测定^[11]。参考先前的研究,采用间羟基联苯法检测糖醛酸含量^[12]。考马斯亮蓝法是检测多糖蛋白质含量的常用方法,本文采用此方法进行蛋白质含量的检测^[13]。采用 HPLC 测定 WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 的单糖组成,对三种多糖组分进行酸水解和衍生化^[14],称取 5 mg 多糖样品加入 0.5 mL PMP 和 0.5 mL 0.3 mol/L NaOH 的混合物液中,搅拌均匀,70 °C 水浴 30 min,使其充分反应。向反应瓶中加入 0.5 mL HCl 溶液(0.3 mol/L)和 0.5 mL 超纯水,然后加入 1 mL 氯仿去除 PMP。获得水层,并通过 0.22 μ m 滤膜进行过滤,色谱条件:采用 UltimateXB-C₁₈ 色谱柱;流动相: A 为 0.05 mol/L 的 KH₂PO₄(pH6.7); B 为乙腈; A:B=82:18;流速:1.0 mL/min;柱温:35 °C;进样量:10 μ L;波长:250 nm。

1.2.5 吴茱萸多糖组分结构表征

1.2.5.1 紫外-可见光谱扫描分析 准确称取 4 mg 吴茱萸多糖组分,溶于 2 mL 蒸馏水,在 200~400 nm 波长处使用紫外-可见光光度计扫描,绘制扫描曲线。

1.2.5.2 傅里叶红外光谱扫描 将 1 mg 样品与 100 mg KBr 进行研磨压片,于 4000~500 cm⁻¹ 波数下进行傅里叶红外光谱分析^[15]。

1.2.5.3 刚果红实验 具体步骤如下,配制 1 mg/mL 的多糖溶液,将多糖溶液和刚果红溶液(80 μ mol/L)按照 1:1 的比例各 1 mL 进行混匀,加入 2 mL 不同浓度的 NaOH(0~1 mol/L),使得最后反应液中的 NaOH 浓度为 0~0.5 mol/L,避光环境下反应 10 min 后,在 400~600 nm 波长下测定最大吸收波长($\lambda_{\max}$)。

1.2.5.4 X 射线衍射(XRD)检测 用载玻片将样品压平,采用 X'Pert3 Powerd 型多功能 X-射线衍射仪(荷兰帕纳科公司,Cu 靶, $\lambda=1.54056$ Å)分析样品的晶体结构,测试扫描的步长为 0.02626°,扫描速度为 0.6565°/s,扫描范围为 5°~90°。

1.2.5.5 热重实验 在坩埚中称取 10 mg 样品,放入热重分析仪的炉腔内,从 25 °C 升温至 400 °C,升温速率为 20 °C/min。高纯氩气(99%)作为保护气(20 mL/min),反应气(50 mL/min)。通过多糖的质量损失率来研究温度对多糖的影响。

1.2.5.6 Zeta 电位 配制浓度为 1 mg/mL 的多糖水溶液,并用 0.22 μ m 膜过滤上机检测。

1.2.5.7 扫描电镜(SEM)测试 取适量样品放置于导电胶上,使用洗耳球吹去多余样品,喷金 30 s,采用 SU 5000 扫描电子显微镜进行检测,加速电压为 5 kV,放大倍率为 100 倍和 1000 倍,观察多糖样品的外貌形态。

1.2.6 吴茱萸多糖体外降脂研究活性研究

1.2.6.1 多糖对油脂的吸附作用 吴茱萸多糖对油脂的吸附作用参考文献 [16~17] 方法。操作如下:在离心管中称取多糖样品 20 mg,溶于 2.0 mL 去蒸馏水中,加入 1 g 花生油,于 37 °C,孵育 2 h,4000 r/min 离心 20 min,去除上清液。以石油醚为萃取剂,重复萃取三次(2:1 混合萃取),振荡 5 min,合并萃取液,将萃取液在 70 °C 干燥,直至石油醚完全挥发,称取剩余脂肪,得到多糖的吸附油的质量。以蒸馏水作为空白对照,奥利司他为阳性对照,吴茱萸多糖对油脂吸附能力以每克多糖的吸附脂肪毫克数(mg/g)表示。

1.2.6.2 多糖对胆汁酸的吸附作用 多糖胆汁酸实验方法:模拟胃液消化液:称取 1.24 g NaCl、0.45 g KCl、0.06 g CaCl₂ 及 0.24 g NaHCO₃ 溶于 400 mL 蒸馏水中,2 mol 盐酸调节 pH2 $\pm$ 0.5。后加入 47.2 mg,3 mL 酶活为 10 U/mL 的胃蛋白酶和 1 mL CH₃C-OONa(1 mol, pH5),调节 pH2 $\pm$ 0.5,得到模拟胃液消化液。每个样品不同质量(2、4、6、8、10 mg)用 1 mL 0.01 mol/L HCl 模拟正常人体温度胃液消化 1 h,然后,每个样品加入 0.1 mmol/L 胆酸盐 4 mL 和猪胰酶(10 mg/mL)5 mL,37 °C 连续振荡孵育 1 h,

离心 4000 r/min, 40 min 后收集上清液用于测定未吸胆胆汁酸^[18]。

测定方法如下: 取 2.5 mL 上清于试管中, 加入 7.5 mL 60% H₂SO₄, 70 ℃ 水浴 25 min, 使其充分反应, 冷却至室温后, 在 387 nm 处测量吸光度, 以缓冲溶液为空白对照, 奥利司他作为阳性对照。根据公式计算各胆汁酸的吸附率。

$$\text{胆汁酸吸附率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_0}{A_{\text{盐}}}\right) \times 100$$

式中: A₀ 为对照组(磷酸缓冲液代替胆酸盐溶液); A₁ 为样品组; A_盐 为空白组(磷酸缓冲溶液代替样品溶液)。

1.2.6.3 多糖对胰脂肪酶的抑制作用 多糖的质量浓度为 2、4、6、8、10 mg/mL, 分别取 50 μL 的 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH8.0)和 10 mg/mL 胰脂肪酶溶液 50 μL 依次加入到 5 mL 不同质量浓度的多糖溶液中, 加入底物 0.5 mmol/L 月桂酸 4-硝基苯酯 50 μL, 混匀后 37 ℃ 孵育 20 min^[19]。测量 405 nm 的 OD 值。以奥利司他作为阳性对照, 按照下面公式计算抑制率。

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_3 - A_4}{A_1 - A_2}\right) \times 100$$

式中: A₁ 为空白组(缓冲溶液代替样品); A₂ 空白背景组(缓冲溶液代替样品、PBS 代替胰脂肪酶); A₃ 为样品组; A₄ 样品背景组(PBS 代替胰脂肪酶)。

1.3 数据处理

数据用 Excel 2019 进行整理, 结果以平均值±标准偏差(X±SD)的形式表示。采用 Origin8.0 等软件进行数据处理并绘制图像, 采用 SPSS Statistics 27.0 软件单因素 ANOVA 检验中邓肯检验(Duncan's text)对数据间的差异显著性进行分析(P<0.05)。

2 结果与分析

2.1 吴茱萸多糖 DEAE 离子柱层析洗脱

WPER 的初步分离洗脱曲线如图 1 所示。以 0、0.2、0.4 和 0.7 mol/L NaCl 溶液作为洗脱液对吴茱萸粗多糖 WPER 进行洗脱, 得到四个主要洗脱峰, 0 mol/L NaCl 溶液洗脱组分为 WPER-1, 0.2 mol/L

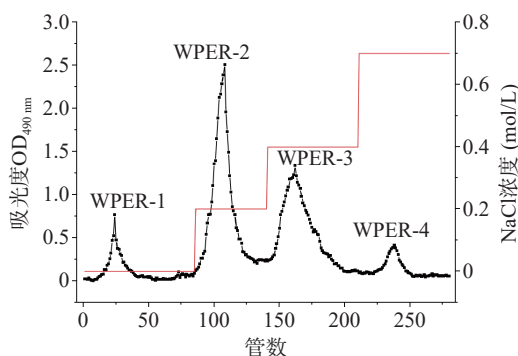


图 1 WPER 的 DEAE 纤维素洗脱图

Fig.1 DEAE cellulose elution diagram of WPER

NaCl 溶液洗脱组分为 WPER-2, 0.4 mol/L NaCl 溶液洗脱组分为 WPER-3 和 0.7 mol/L NaCl 洗脱组分为 WPER-4, 由图 1 可知, WPER-2 为主要组分, WPER-4 的组分含量最少。吴茱萸多糖经 DEAE-52 纤维素分离组分的得率如表 1 所示, WPER-1、WPER-2、WPER-3 和 WPER-4 的得率分别 9.07%±2.57%、68.50%±6.32%、8.26%±2.40%、5.44%±0.16%。其中 WPER-2 的得率最高, WPER-4 的得率最低, 不同洗脱组分的得率之间具有显著性差异(P<0.05)。带正电荷的纤维素离子吸附并结合到样品中的负电荷基团上, 而多糖的中性基团不能被吸附, 用蒸馏水可以洗脱下来, 当用 NaCl 溶液洗脱多糖时, 带负电荷的氯离子把多糖交换下来, 使多糖被洗脱。

表 1 多糖的 DEAE-52 纤维素柱层析得率
Table 1 Yield of polysaccharide on DEAE-52 cellulose column chromatography

样品	WPER-1	WPER-2	WPER-3	WPER-4
得率(%)	9.07±2.57 ^c	68.50±6.32 ^a	8.26±2.40 ^b	5.44±0.16 ^d

注: 在同一行中, 不同字母表示组分之间具有显著性差异(P<0.05), 表2~表3同。

2.2 吴茱萸多糖 Sepharose G-100 凝胶柱洗脱

Sepharose G-100 凝胶柱洗脱曲线如图 2 所示, 图 2(A) 为 WPER-1 的洗脱曲线, 共有 3 个峰值, 分别收集 3 个峰值作为 WPER-1a、WPER-1b、WPER-1c。图 2(B) 为 WPER-2 的洗脱曲线, 共出现 2 个峰值, 分别收集两个峰的峰值, 命名 WPER-2a、WPER-2b。图 2(C) 为 WPER-3 的洗脱曲线, 只有一个峰值, 说明主要由 1 个组分组成, 收集后命名为 WPER-3a。WPER-1b 和 WPER-2a 的峰型具有对称性, 表示这两种多糖具有均一性^[20]。由表 1 可知, WPER-4 多糖组分分离得率过低, 则不再进行 Sepharose G-100 凝胶柱洗脱研究。对 WPER-1、WPER-2、WPER-3 三个多糖组分进行纯化, 根据洗脱曲线收集其主要峰值作为研究对象, 有助于获得更高纯度的多糖样品, 也有益于结构鉴定及生物学活性测定的准确性。富集的三个多糖样品 WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 得率如表 2 所示, 分别为 39.34%±6.62%、57.10%±10.84%、52.51%±12.95%, 不同得率之间具有显著性差异(P<0.05), WPER-2a 具有最高的得率, 在多糖的凝胶柱制备过程中, 部分样品形成沉淀, 导致多糖损失。在洗脱过程中, 多糖、色素和蛋白质等非糖类物质附着在凝胶柱上, 没有被洗脱下来, 多糖的纯度提高^[21]。

表 2 多糖的 Sepharose G-100 凝胶柱层析的得率
Table 2 Yield of polysaccharides on Sepharose G-100 gel column chromatography

样品	WPER-1b	WPER-2a	WPER-3a
得率(%)	39.34±6.62 ^c	57.10±10.84 ^a	52.51±12.95 ^b

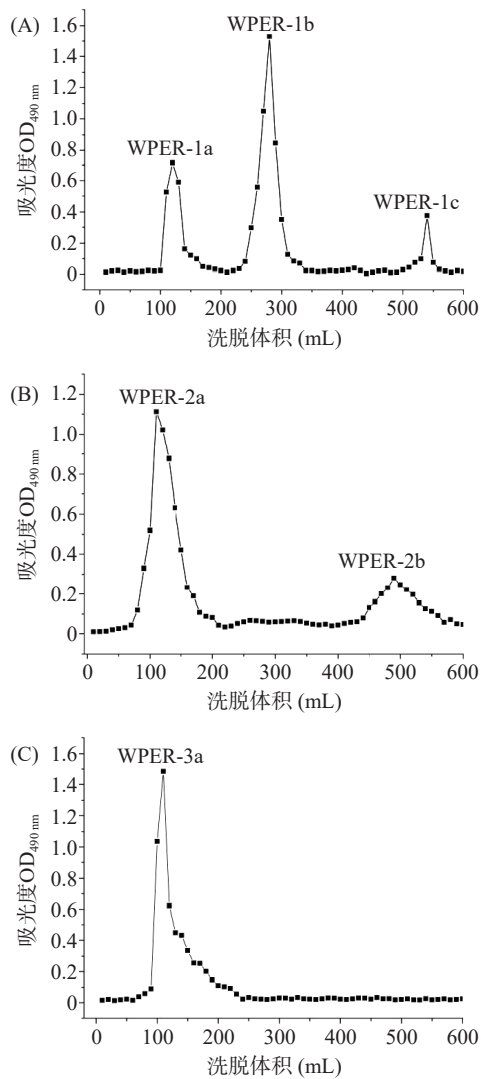


图2 WPER-1、WPER-2 和 PER-3 的 Sepharose G-100 凝胶柱洗脱曲线

Fig.2 Sepharose G-100 gel column elution curves of WPER-1, WPER-2 and WPER-3

注: (A): WPER-1; (B): WPER-2; (C): WPER-3。

2.3 吴茱萸多糖组分理化性质的测定

三种多糖组分总糖含量、蛋白质含量、糖醛酸含量如表 3 所示。总糖含量分别为 59.32%±0.73%、66.44%±0.64%、57.69%±0.88%，其中 WPER-2a 的总糖含量最高，WPER-1b 和 WPER-3a 的总糖含量略低于 WPER-2a，三种多糖的总糖含量具有显著性差异 ($P<0.05$)。糖醛酸含量分别为 7.48%±0.89%、32.41%±0.99%、31.78%±0.96%。WPER-2a 和 WPER-3a 的糖醛酸含量不具有显著性差异，其中 WPER-1b 的糖醛酸含量明显低于高极性洗脱液洗脱的多

表 3 多糖各组分的理化性质

多糖组分	WPER-1b	WPER-2a	WPER-3a
总糖含量(%)	59.32±0.73 ^b	66.44±0.64 ^a	57.69±0.88 ^c
糖醛酸含量(%)	7.48±0.89 ^b	32.41±0.99 ^a	31.78±0.96 ^a
蛋白质含量(%)	2.61±0.29 ^a	2.33±0.23 ^a	2.12±0.24 ^a

糖，说明纤维素柱水洗可以洗脱出糖醛酸含量较低的多糖。蛋白质的含量分别为 2.61%±0.29%、2.33%±0.23%、2.12%±0.24%，蛋白质含量都较低，不具有显著性差异，其中 WPER-3a 的蛋白质含量最低。

2.4 吴茱萸多糖组分的单糖组成分析

通过高效液相(HPLC)检测多糖组分的单糖组成，如表 4 所示。WPER-1b 主要是中性糖，WPER-1b 的单糖组成 Man、Rha、GlcA、GalA、Glc、Gal、Ara 的摩尔比为 2.25:1.29:1.11:2.81:4.29:29.56:16.81，Gal 是 WPER-1b 的主要组成单糖。WPER-2a 的单糖组成 Man、Rha、GlcA、GalA、Glc、Gal、Ara 的摩尔比为 9.20:3.54:3.46:8.72:0.38:10.20:23.24。WPER-2a 主要由 Man、Gal 和 Ara 单糖组成。WPER-3a 的单糖组成 Man、Rha、GlcA、GalA、Glc、Gal、Ara 的摩尔比为 10.79:4.75:2.63:5.44:2.75:9.19:23.71。WPER-3a 主要由 Man、Ara 组成，并且所占比例最高。不同洗脱液分离的多糖，虽然其单糖组成的类型有一致性，但其单糖组成的摩尔比有一定差异^[22]，这可能与洗脱液的离子强度不同有关，离子强度会直接影响到多糖的洗脱效率和分离效果，造成单糖组成摩尔比的变化。

表 4 多糖组分的单糖组成的摩尔比

Table 4 Molar ratio of monosaccharide composition of polysaccharide component

样品	WPER-1b	WPER-2a	WPER-3a
甘露糖(Man)	2.25	9.20	10.79
鼠李糖(Rha)	1.29	3.54	4.75
葡萄糖醛酸(GlcA)	1.11	3.46	2.63
半乳糖醛酸(GalA)	2.81	8.72	5.44
葡萄糖(Glc)	4.29	0.38	2.75
半乳糖(Gal)	29.56	10.20	9.19
阿拉伯糖(Ara)	16.81	23.24	23.71

2.5 吴茱萸多糖组分的结构表征

2.5.1 吴茱萸多糖组分的紫外和红外扫描分析 多糖的紫外扫描谱图如图 3(A) 所示。260 nm 和 280 nm 分别是核酸和蛋白质的吸收峰，WPER-2a 和 WPER-3a 两种多糖组分在 260 nm 和 280 nm 处不具有吸收峰，说明纯度较高。WPER-1b 在 260 nm 和 280 nm 处有较小的吸收峰，说明高浓度洗脱液对多糖有一定的脱蛋白和核酸的作用。吴茱萸多糖组分的红外光谱图如图 3(B) 所示。WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 在 3425、2935 cm^{-1} 附近处的吸收峰为 O-H 和 C-H 的拉伸振动^[23]。三种多糖组分在 1620、1470 和 1327 cm^{-1} 附近的振动分别表现出 C=O、CH₂ 和 C-O 的特征吸收峰，在 1078、1077 cm^{-1} 附近的吸收峰属于 C-O-C 和 C-O-H 的伸缩振动^[24]。结果表明，三个多糖组分均有相似的吸收峰，说明分离纯化并不改变多糖的官能团。

2.5.2 吴茱萸多糖组分的三螺旋结构分析 刚果红

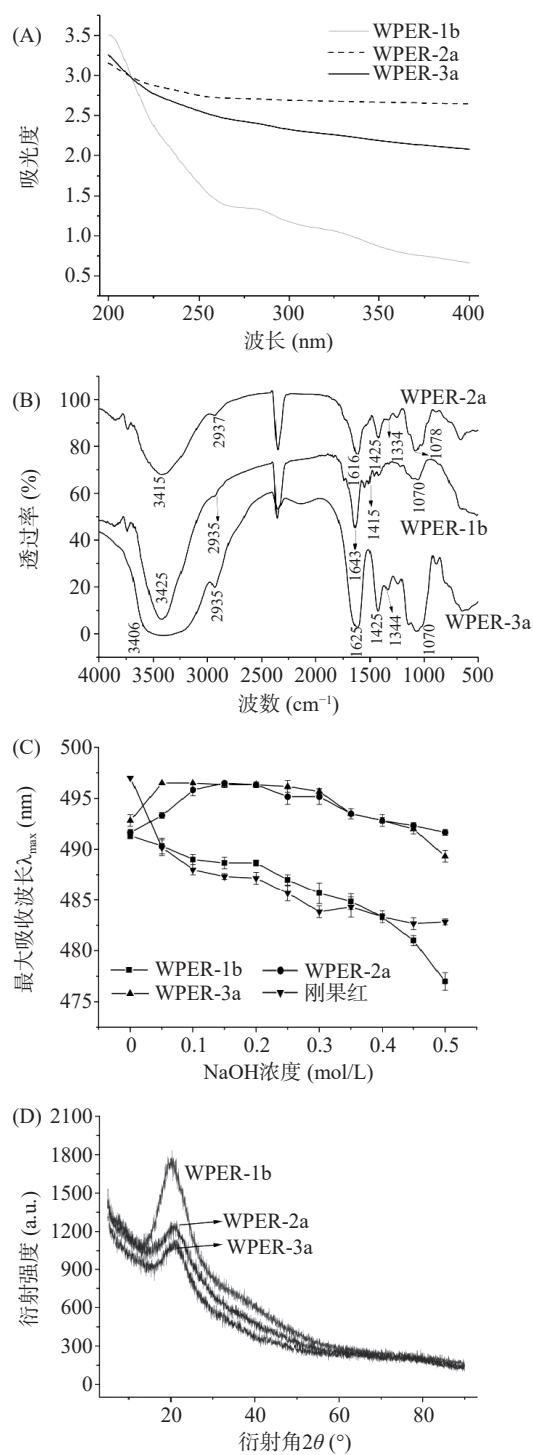


图3 结构表征图

Fig.3 Structure characterization maps

注: (A): 紫外扫描图; (B): 红外扫描图; (C): 刚果红实验图; (D): XRD-衍射图。

与多糖的结合导致了 $\lambda_{\max}$ 的红移, 因此可以确定多糖样品是否具有三螺旋结构^[25]。实验结果如图 3(C) 所示, NaOH 浓度为 0~0.1 mol/L 时, WPER-2a 和 WPER-3a 可与刚果红形成配合物, $\lambda_{\max}$ 升高, 表明 WPER-2a 和 WPER-3a 具有三螺旋结构, NaOH 浓度在 0.4~0.5 mol/L 范围内, WPER-2a 和 WPER-3a 的 $\lambda_{\max}$ 值急剧下降, 说明在高碱性环境下, 多糖的三螺旋结构发生裂解, 变成单螺旋结构或者无规则螺

旋。WPER-1b 与刚果红结合后, $\lambda_{\max}$ 一直下降, 与刚果红相比呈现同样的下降趋势, 表明 WPER-1b 不具有三螺旋结构。由此说明 WPER-2a 和 WPER-3a 具有三螺旋结构, WPER-1b 不具有三螺旋结构。

2.5.3 吴茱萸多糖组分的 XRD 分析 利用 X-射线衍射分析多糖的晶体构型, WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 的 XRD 扫描结果如图 3(D) 所示。所有吴茱萸多糖样品均在 20° 左右有宽峰, WPER-1b 的峰值强度最高, WPER-2a 次之, 而 WPER-3a 的峰值强度最低。结果表明, 三种多糖均以非定型的结晶态存在^[26]。

2.6 多糖稳定性分析

2.6.1 吴茱萸多糖组分的热稳定性分析 吴茱萸多糖组分的热分解实验如图 4(A)~图 4(C) 所示, 当温度达到 100 °C 时, WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 的质量损失比分别为 10.71%、8.31% 和 10.97%。质量损失可能是由于自由水和束缚水的蒸发引起的^[27]。当实验温度从 100 °C 上升到 200 °C 时, 温度

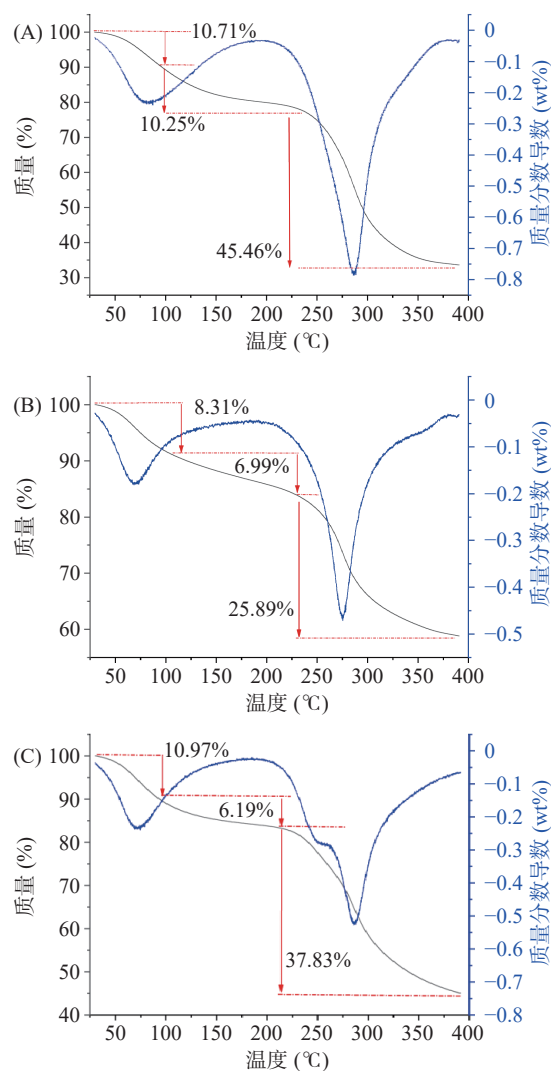


图4 WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 的热重分析图

Fig.4 Thermogravimetric analysis of WPER-1b, WPER-2a and WPER-3a

注: (A): WPER-1b; (B): WPER-2a; (C): WPER-3a, 图 5 同。

对多糖样品质量的损失率仍无明显影响, 当温度超过 200 ℃ 时, 多糖的质量迅速降低, 可能是因为多糖官能团键的断裂, 使多糖质量减少^[20]。当实验温度达到 400 ℃ 时, WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 的质量剩余分别为 33.58%、58.81% 和 45.01%。结果表明, WPER-2a 具有最佳的热稳定性。WPER-2a 的热稳定性明显高于其他两个组分, 这种热稳定性的差异可能与吴茱萸多糖经过不同极性洗脱液洗脱后多糖的单糖组成、理化性质和结构发生改变有关。

2.6.2 吴茱萸多糖组分的 Zeta 电位分析 Zeta 电位是一种可用于得出溶液和粒子静电稳定性结论的测量方法, 多糖溶液具有不同的电荷, 即正电荷、负电荷或中性电荷。当 Zeta 电位值较低时, 多糖颗粒较易聚集, 从而使其稳定性降低。相反, Zeta 电位值较高时, 多糖颗粒较难聚集, 具有较高稳定性^[28]。

图 5(A)~图 5(C) 为 WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 的 Zeta 电位分析图。结果表明, WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 所带均为负电荷, WPER-2a 的 Zeta 电位绝对值为 29.0 mV, WPER-3a 的电位绝对值次之, 为 21.5 mV, WPER-1b 的 Zeta 电位绝对值为 19.3 mV, 由此可以看出 WPER-2a 稳定性最好, WPER-1b 稳定性最差。稳定性可能和其活性有一定关系, 一般稳定性较好的多糖更易发挥出多糖的活性作用^[29]。

2.7 扫描电镜 (SEM) 分析

图 6 为 WPER-1b、WPER-2a、WPER-3a 的 SEM 扫描电镜图, 多糖的表观形貌各异, 不同的多糖的表观形貌会有一些差异, 如不规则平滑致密的薄膜状、多孔片状结构、不规则小球状、棒状。在 100 倍镜下观察吴茱萸多糖各组分, WPER-1b 总体呈现片状, 表面较粗糙, 有较小的碎片附着在较大的多糖碎片上。WPER-2a 总体的形态是碎片状和小的颗粒,

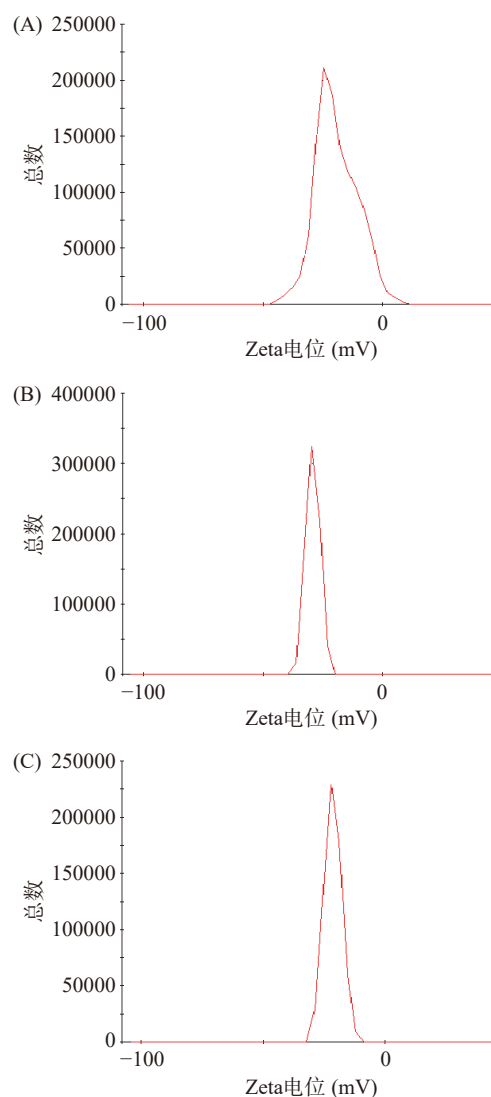


图 5 WPER-1b、WPER-2a 和 WPER-3a 的 Zeta 电位图

Fig.5 Zeta potentials of WPER-1b, WPER-2a and WPER-3a

WPER-3a 大多为片状。在 1000 倍镜下观察吴茱萸多糖各组分, 其微观形貌不均匀, WPER-1b 和

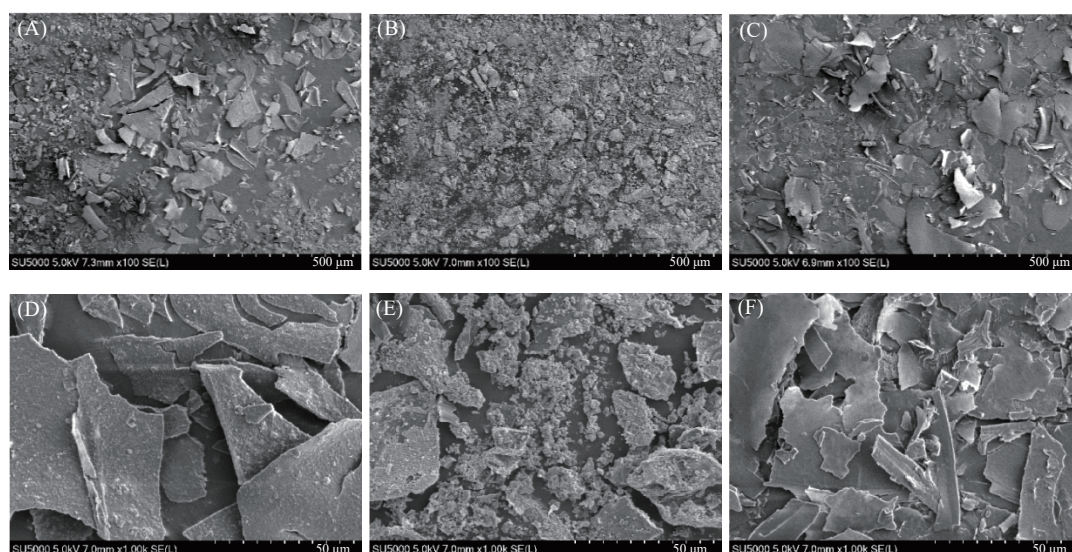


图 6 多糖的扫描电镜图

Fig.6 Scanning electron microscope image of polysaccharide

注: (A): WPER-1b, (B): WPER-2a, (C): WPER-3a 为 100 倍; (D): WPER-1b, (E): WPER-2a, (F): WPER-3a 为 1000 倍。

WPER-3a 表面较光滑, 呈现明显的片状, WPER-2a 呈现和低倍镜下类似的表观形貌, 主要是片状和少许的块状。

2.8 吴茱萸多糖体外降脂研究活性研究

2.8.1 多糖对油脂的吸附作用 多糖对油脂的吸附作用在抑制胆固醇、脂肪吸附以及增加粪便中胆汁酸排泄方面发挥重要作用, 最终达到降脂的作用^[30]。多糖样品的油脂吸附能力如图 7 所示。吴茱萸多糖各组分之间对油脂的吸附作用具有显著性差异 ($P<0.05$)。WPER-1b, WPER-2a 和 WPER-3a 的油脂吸附结果分别为 5.5 ± 0.35 、 7.58 ± 0.69 、 14.31 ± 0.44 mg/g, 阳性对照组对油脂的吸附结果为 15.02 ± 0.76 mg/g。WPER-3a 的油脂吸附量最高, 可能是由于其具有较高的糖醛酸含量及其呈主要片状的外观形貌有关, 片状外观形貌增大了多糖对油脂的吸附。

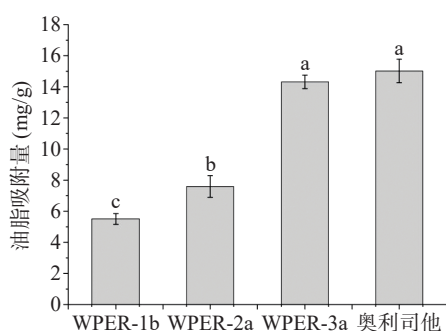


图 7 多糖组分对油脂的吸附作用

Fig.7 Adsorption of polysaccharide components to oil

注: 不同字母之间表示具有显著性差异 ($P<0.05$)。

2.8.2 多糖对胆汁酸的吸附作用 吴茱萸多糖组分对胆酸的吸附作用, 如图 8(A) 所示, 所有多糖组分对胆酸均具有一定的吸附作用浓度为 10 mg/mL 时, WPER-1b、WPER-2a、WPER-3a 和阳性对照对胆酸的吸附率分别为: 71.40%、75.89%、57.13%、88.25%, 在同一浓度时, 不同样品对胆酸的吸附率呈现显著性差异 ($P<0.05$)。WPER-1b、WPER-2a、WPER-3a 对胆酸均具有一定的吸附作用, 但是和阳性对照之间有一定差异。吴茱萸多糖对牛磺胆酸的吸附作用如图 8(B) 所示, 多糖样品对牛磺胆酸的吸附率和其浓度之间呈现正相关, 在 10 mg/mL 时, WPER-1b、WPER-2a、WPER-3a 和阳性对照对牛磺胆酸的吸附率为 59.53%、72.29%、67.57%、75.69%, 不同样品对牛磺胆酸的吸附率呈现显著性差异 ($P<0.05$)。在三种多糖样品中, WPER-2a 对胆汁酸的吸附能力最好, 和 WPER-2a 较高的总糖含量和糖醛酸含量有一定的关系, WPER-2a 同时具有较高的稳定性, 使其更易发挥活性。WPER-2a 和 WPER-3a 均具有三螺旋结构, 一般具有三螺旋结构的多糖的活性更好, 这可能是 WPER-2a 和 WPER-3a 对牛磺胆酸有较好吸附作用的原因。

2.8.3 多糖对胰脂肪酶的抑制作用 许多植物提取

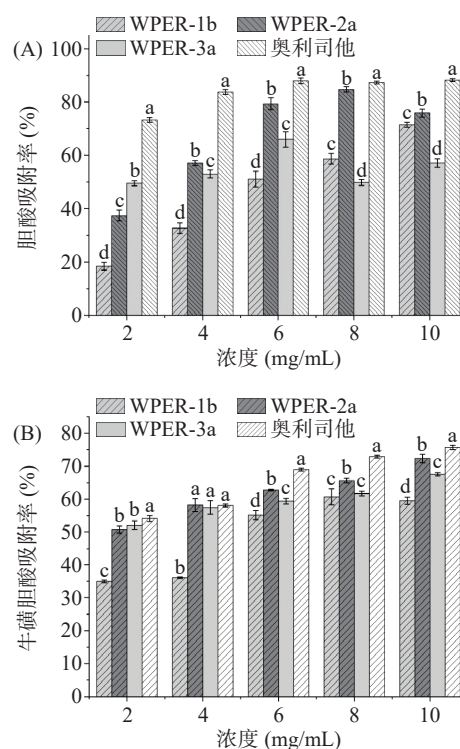


图 8 多糖对胆酸(A)和牛磺胆酸(B)的吸附作用

Fig.8 Adsorption of polysaccharides to cholic acid (A) and taurocholic acid (B)

注: 在同一浓度下, 不同字母之间表示具有显著性差异 ($P<0.05$), 图 9 同。

物可以作为胰脂肪酶的抑制剂, 从而达到降脂的目的。吴茱萸多糖组分对胰脂肪酶的抑制作用如图 9 所示, 随着多糖浓度的升高, 胰脂肪酶抑制率随之升高, 多糖浓度 10 mg/mL 时, WPER-1b、WPER-2a、WPER-3a 和阳性对照对胰脂肪酶的抑制率分别为 65%、62.33%、64.31% 和 89.85%, 阳性对照和样品之间对胰脂肪酶的抑制率呈现显著性差异 ($P<0.05$), 三种多糖的胰脂肪酶抑制作用均较好, 说明吴茱萸多糖有体外降脂的潜力。

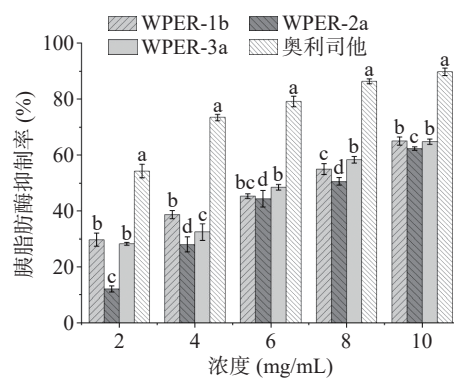


图 9 多糖对胰脂肪酶的抑制作用

Fig.9 Inhibitory effects of polysaccharide on pancreatic lipase

3 结论

以吴茱萸多糖为研究对象, 对其进行分离纯化、结构表征以及体外降脂活性研究, 主要结论如下: 通过微波辅助提取法提取制备 WPER, 进行纯化可得

到三个多糖组分 WPER-1b、WPER-2a、WPER-3a, 所得得率分别为 39.34%±6.62%、57.10%±10.84%、52.51%±12.95%, WPER-2a 的多糖得率较高, 多糖纯化得率低可能和其具有一定非糖类物质和溶解性有关。吴茱萸多糖分离纯化后得到的三个组分的核酸和蛋白质含量极低, 进一步验证了多糖纯度的提高。单糖组成分析结果表明三个组分多糖主要由 Man、Gal 和 Ara 组成, WPER-2a 的总糖含量和糖醛酸含量最高, 分别为 66.44%±0.64%、32.41%±0.99%。结构表征表明, 分离纯化不会改变多糖官能团结构, WPER-3a 具有三螺旋结构, 并且三种多糖均以非定型的结晶态存在, 其中热重实验和 Zeta 电位表明, WPER-2a 稳定性明显高于其他两个组分。SEM 表明 WPER-1b 和 WPER-3a 表现为块状和片状, 而 WPER-2a 表现为粗糙、多孔的碎末状。体外降脂活性的研究结果表明, WPER-3a 对油脂的吸附量最高为 22.96 mg/g, WPER-2a 对胆酸和牛磺胆酸具有较好的吸附作用分别为 75.89%、72.29%, WPER-1b、WPER-2a、WPER-3a 和对胰脂肪酶的抑制率分别为 65%、62.33% 和 64.31%, 以上结果表明吴茱萸纯化多糖具有一定的体外降脂活性。本研究不仅为吴茱萸资源的综合利用提供了新思路, 还为其开发成天然无毒副作用的降血脂药物或保健品提供理论依据。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] TIAN K M, LI J J, XU S W. Rutaecarpine: A promising cardiovascular protective alkaloid from *Evodia rutaecarpa* (Wu Zhu Yu) [J]. *Pharmacological Research*, 2019, 141: 541–550.
- [2] LI M, WANG C H. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of the fruit of *Tetradium ruticarpum*: A review [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 263: 113231.
- [3] SU X L, XU S, SHAN Y, et al. Three new quinazolines from *Evodia rutaecarpa* and their biological activity [J]. *Fitoterapia*, 2018, 127: 186–192.
- [4] HU W C, ZHAO Y Q, YANG Y, et al. Microwave-assisted extraction, physicochemical characterization and bioactivity of polysaccharides from *Camptotheca acuminata* fruits [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 133: 127–136.
- [5] ZHENG Y, YAN J Y, CAO C Y, et al. Application of chromatography in purification and structural analysis of natural polysaccharides: A review [J]. *Journal of Separation Science*, 2023, 46(18): 2300368.
- [6] ZHU M Q, HUANG R M, WEN P, et al. Structural characterization and immunological activity of pectin polysaccharide from kiwano (*Cucumis metuliferus*) peels [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 254(56): 35–37.
- [7] JING Y S, MA Y F, PAN F B et al. An insight into antihyperlipidemic effects of polysaccharides from natural resources [J]. *Molecules*, 2022, 27(6): 1903.
- [8] 田艳花, 杨兆艳, 罗爱国, 等. 微波辅助双水相提取百合多糖的工艺优化及其结构表征 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(21): 227–233. [TIAN Y H, YANG Z Y, LUO A G, et al. Optimization of microwave assisted aqueous two phase extraction of lily polysaccharides and its structure characterization [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(21): 227–233.]
- [9] 赵建成, 刘慧燕, 方海田. 骏枣多糖的分离纯化、结构表征及抗氧化活性研究 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43(23): 71–78. [ZHAO J C, LIU H Y, FANG H T. Study on isolation, purification, structure characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Zizyphus jujuba* cv. Junzao [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(23): 71–78.]
- [10] 李哲明, 谢集照, 罗迪, 等. 青天葵多糖的分离纯化、结构表征及其抗氧化活性分析 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43(22): 61–67. [LI Z M, XIE J Z, LUO D, et al. Separation, purification, structural characterization and antioxidation effects of a polysaccharide from *Nervilia fordii* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(22): 61–67.]
- [11] DUBIOS K A, GILES J K, HAMILTON P A, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 100(89): 350–356.
- [12] BLUMENKRANTZ N, ASBOE H G. New method for quantitative determination of uronic acids [J]. *Analytical Biochemistry*, 1973, 54(2): 484–489.
- [13] 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(1): 248–254.
- [14] 陈燕云, 平华, 高媛, 等. 黍稷麸皮多糖分离纯化、结构表征及抑菌活性分析 [J]. *食品工业科技*, 2024, 45(10): 1–7. [CHEN Y Y, PING H, GAO Y, et al. Isolation, purification, structure characterization and antibacterial activity of polysaccharides from proso millet bran [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(10): 1–7.]
- [15] SUN Y J, YANG K, ZHANG X, et al. *In vitro* binding capacities, physicochemical properties and structural characteristics of polysaccharides fractionated from *Passiflora edulis* peel [J]. *Food Bioscience*, 2022, 50: 102016.
- [16] LIN S, GUO H, LU M, et al. Correlations of molecular weights of β -glucans from Qingke (Tibetan Hulless Barley) to their multiple bioactivities [J]. *Molecules*, 2018, 23(7): 1710–1715.
- [17] 师英春, 廖森泰, 杨琼, 等. 桑叶多酚、多糖及其复合物的体外模拟消化特性降糖降脂和促益生菌增殖活性研究 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(8): 128–137. [SHI Y J, LIAO S T, YANG Q, et al. Study on simulated digestive characteristics *in vitro*, hypoglycemic/hypolipidemic and probiotic proliferation activities of polyphenols, polysaccharides from mulberry leaves and their compounds [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2023, 14(8): 128–137.]
- [18] GAO J, LIN L, SUN B G, et al. A comparison study on polysaccharides extracted from *Laminaria japonica* using different methods: Structural characterization and bile acid-binding capacity [J]. *Food & Function*, 2017, 8(9): 3043–3052.
- [19] 龚受基, 蒙彦妃, 曹惠怡, 等. 凡纳滨对虾蛋白体外降脂作用分析 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(11): 316–321. [GONG S J, MENG Y F, CAO H Y, et al. Hypolipidemic effects of protein from *Penaeus vannamei* *in vitro* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(11): 316–321.]

- [20] SU Y, LIANG L. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharide from four auriculariales[J]. [Carbohydrate Polymers](#), 2020, 229: 115407.
- [21] GUO X Y, GUO H B, WU S Y, et al. Extraction, bioactive composition, and antioxidant activity of polysaccharides from the mushroom *Rugiboletus extremiorientalis*[J]. *Starch-Starke*, 2022, 74(5-6): 87-91.
- [22] WANG F L, JI Y B, YANG B. Sulfated modification, characterization and monosaccharide composition analysis of *Undaria pinnatifida* polysaccharides and anti-tumor activity[J]. [Experimental and Therapeutic Medicine](#), 2020, 20(1): 630-636.
- [23] NEP E I, CARNACHAN S M, NGWULUKA, N C. Structural characterisation and rheological properties of a polysaccharide from sesame leaves (*Sesamum radiatum* Schumach. & Thonn.)[J]. [Carbohydrate Polymers](#), 2016, 152: 541-547.
- [24] 林志超, 潘晓明, 吴启赐, 等. 鲍鱼脏器碱提多糖的分离纯化、结构表征及抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(4): 53-60. [LIN Z C, PAN X M, WU Q C, et al. Isolation, purification, structure characterization and antioxidant activity of alkali extracted polysaccharide from abalone viscera[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(4): 53-60.]
- [25] GUO X Y, KANG J, XU Z Y, et al. Triple-helix polysaccharides: Formation mechanisms and analytical methods[J]. [Carbohydrate Polymers](#), 2021, 262: 117962.
- [26] 张玉梅, 邢慧珍, 刘会平, 等. 槐花多糖的提取、纯化和抗氧化活性分析[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(24): 207-215. [ZHANG Y M, XIN H Z, LIU H P, et al. Extraction, purification and antioxidant activity of polysaccharides from *Sophora japonica* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(24): 207-215.]
- [27] MOHAMMED J K, MAHDI A A, AHMED M I, et al. Preparation, deproteinization, characterization, and antioxidant activity of polysaccharide from *Medemia argun* fruit[J]. [International Journal of Biological Macromolecules](#), 2020, 155: 919-926.
- [28] SIVA S, JIN J O, CHOI I, et al. Nanoliposome based biosensors for probing mycotoxins and their applications for food: A review[J]. [Biosensors and Bioelectronics](#), 2023, 219: 114845.
- [29] HUANG F, LIU Y, ZHANG R F, et al. Chemical and rheological properties of polysaccharides from litchi pulp[J]. [International Journal of Biological Macromolecules](#), 2018, 112: 968-975.
- [30] HUANG K H, DU B, XU B J. Alterations in physicochemical properties and bile acid binding capacities of dietary fibers upon ultrafine grinding[J]. [Powder Technology](#), 2018, 326: 146-150.