

蕨麻多糖的超高压提取、纯化及降血糖活性

郑 鑫, 张 炜*, 荆永康, 王晓辰, 邢凤杰, 张国栋

(青海师范大学 化学化工学院, 青海 西宁 810000)

摘要: 以蕨麻为原料, 通过超高压提取蕨麻多糖。采用 FTIR、TGA 和离子色谱系统对蕨麻多糖的结构组成、热稳定性和单糖组分进行了表征和测定。考察了 pH、料液比 (mg : mL)、保压压力及保压时间对蕨麻粗多糖得率的影响。采用单因素和响应面实验优化了提取工艺, 通过蕨麻多糖对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性抑制能力测试, 探究了蕨麻多糖的体外降糖活性。结果表明, 在 pH=8.0、料液比 1 : 6、保压时间 21 min、保压压力 360 MPa 的最优条件下, 蕨麻粗多糖得率为 29.31%±0.41%。经纤维素柱及葡聚糖凝胶柱纯化的蕨麻多糖 4 种主要成分为阿拉伯糖、葡萄糖、木糖以及甘露糖, 质量比为 1.4 : 82.9 : 10.4 : 5.4。在测试的质量浓度 (0.25~4.0 g/L) 范围内, 随着质量浓度的增加, 蕨麻多糖对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率均增加, 质量浓度 4.0 g/L 的蕨麻多糖对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率分别为 57.17% 和 65.26%。

关键词: 超高压; 蕨麻多糖; 工艺优化; 纯化; 降血糖活性; 中药现代化技术

中图分类号: TS201.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2026) 05-1079-08

Ultra-high pressure extraction, purification and hypoglycemic activity of *Potentilla anserina* L. polysaccharides

ZHENG Xin, ZHANG Wei*, JING Yongkang, WANG Xiaochen, XING Fengjie, ZHANG Guodong

(College of Chemistry and Environment, Qinghai Normal University, Xining 810000, Qinghai, China)

Abstract: *Potentilla anserina* L. polysaccharides were extracted under ultra-high pressure, and characterized by FTIR, TGA and ion chromatography for structural composition, thermal stability and monosaccharide components. The influence of pH, solid-liquid ratio (mg : mL), holding pressure and holding time on the yield of crude *Potentilla anserina* L. polysaccharides were analyzed, with the extraction process optimized via single factor and response surface experiments. The *in vitro* hypoglycemic activity of *Potentilla anserina* L. polysaccharides was investigated through their inhibition against α -glucosidase and α -amylase activities. The results showed that under the optimized conditions of pH=8.0, solid-liquid ratio (mg : mL) 1 : 6, holding time 21 min, and holding pressure 360 MPa, the yield of crude *Potentilla anserina* L. polysaccharides was 29.31%±0.41%. The four main components of *Potentilla anserina* L. polysaccharides purified by cellulose column and glucan gel column were arabinose, glucose, xylose and mannose, with a mass ratio of 1.4 : 82.9 : 10.4 : 5.4. Within the mass concentration range of 0.25~4.0 g/L, the polysaccharides exhibited an increased inhibition rate on α -glucosidase and α -amylase activity increased along with the increment in mass concentration, showing an inhibition rate of 57.17% and 65.26%, respectively, at a mass concentration of 4.0 g/L.

Key words: ultra-high pressure; *Potentilla anserina* L. polysaccharides; process optimization; purification; hypoglycemic activity; modernization technology of traditional Chinese medicines

蕨麻是一种高原常见的植物, 具有一定的营养及药用价值, 同时富含多糖^[1]。国外对蕨麻多糖的

研究相对国内要晚, 主要研究蕨麻多糖的药用价值; 国内对蕨麻多糖提取的研究比国外早, 各方面涉及

较广。

CHEN 等^[2]对蕨麻多糖的体内外免疫活性进行了研究,结果表明,蕨麻多糖具有免疫调节,可作为潜在的免疫刺激剂。GUO 等^[3]进行了超声辅助提取蕨麻多糖及抗血小板聚集活性的人工神经网络建模实验。WEI 等^[4]采用超声辅助提取法(UAE)提取了蕨麻多糖,结果发现,在优化的工艺条件下,超声辅助提取的多糖得率明显高于传统的热回流法。张泽生等^[5]对蕨麻多糖的提取工艺进行了考察,通过测定样品中蕨麻多糖的含量,比较热水浸提法和微波法提取两种不同的提取方法对蕨麻多糖含量的影响,并通过单因素和正交实验考察了蕨麻多糖的最佳提取条件。结果表明,微波法提取蕨麻多糖优于热水浸提法。郭杰等^[6]采用响应面实验优化了超声波辅助双水相提取蕨麻多糖,结果发现,超声波辅助双水相技术既可靠又高效,其提取的蕨麻多糖抗氧化活性优于传统水提得到的蕨麻多糖。高丹丹等^[7]采用水提醇沉法提取了蕨麻多糖,最佳提取条件为料液比(mg:mL)20.3:1、浸提时间4.37 h、温度为80℃,在该条件下,提取率为24.53%±0.24%。陈炼红等^[8]通过复合酶水解法提取蕨麻多糖,在纤维素酶2.0%(质量分数,下同)、木瓜蛋白酶1.0%、果胶酶2.0%、料液比(mg:mL)1:30、pH=4.5、酶解温度45℃、酶解时间1 h的最佳提取条件下,得率为8.12%。目前,国内对蕨麻多糖的提取方法操作繁琐、成本较高、蕨麻多糖得率较低。超高压提取法较传统提取法具有操作步骤少、工艺简单、实验温度低、绿色环保等优点^[9]。

本文拟采用超高压提取法提取蕨麻多糖,采用响应面法对其提取工艺进行优化,通过FTIR、TGA对其化学结构及热稳定性进行表征,并测定纯化后的蕨麻多糖的单糖组成,探究其降血糖活性。以期对蕨麻多糖的进一步开发利用提供理论基础。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

蕨麻干粉,青海省西宁市大十字百货商店有限公司;葡聚糖凝胶G-100(SephadexG-100凝胶),上海麦克林生化科技股份有限公司。

葡萄糖标品(相对分子质量180.16),北京博奥拓达科技有限公司;苯酚、浓硫酸(质量分数98%)、浓盐酸(质量分数37%)、氢氧化钠、双氧水(质量分数30%)、碳酸钠,国药集团化学试剂有限公司;无水乙醇,分析纯,天津利安隆得华有限公司;DEAE-52纤维素、阿卡波糖、 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶、对硝基苯基- α -D-葡萄糖吡喃苷(PNPG),上海源叶生物科技有限公司。

HPP 600 MPa/5 L型超高压设备,包头科发高压科技有限责任公司;Pb-10型pH计,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;H1850型高速离心机,湖南湘仪实验仪器有限公司;VFD-2000型冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;TU-1901型双光束紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;IRSpirit-X型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)、XRD-6000型X射线衍射仪(XRD),日本Shimadzu公司;SpectraMax iD5酶标仪,美谷分子仪器有限公司;TGA/DSC 3+型同步热分析仪,瑞士Mettler Toledo公司;Thermo ICS 5000+型离子色谱系统,美国Thermo Fisher Scientific公司。

1.2 方法

1.2.1 蕨麻粗多糖的提取

将100 mg蕨麻放入塑料瓶中,加入200.00 mL pH=8.0的蒸馏水,将容器进行密封,开启超高压设备,设置所需的参数,将容器放入超高压设备中,进行超高压处理。超高压处理结束后,对蕨麻混合溶液进行离心,转速60000 r/min,离心5 min后,收集淡黄色上清液,在-35℃下冷冻干燥24 h,得蕨麻粗多糖。

1.2.2 蕨麻粗多糖的脱色

参照文献[10]方法,将蕨麻粗多糖溶于蒸馏水中,配成质量分数2%的溶液,用浓度1 mol/L的氢氧化钠溶液调节pH=9.0,加入质量分数30%双氧水10 mL,在60℃水浴中加热60 min,得到白色浑浊液体。

1.2.3 蕨麻粗多糖的纯化

DEAE-52纤维素柱纯化:取25 g DEAE-52纤维素填料,加入去离子水,在室温下溶胀3 h。溶胀完成后,加入去离子水搅拌沉降,沉降完成后,倾除上清液,反复清洗3次;清洗完毕,超声脱气30 min,即可装柱;待填料自然沉降后用去离子水平衡12 h;将脱色后的蕨麻粗多糖加去离子水配成质量浓度10 g/L的溶液,取5 mL沿壁缓慢加入柱子中,待溶液完全浸没填料后,以提前脱气的浓度为0、0.1、0.2、0.3、0.4 mol/L的NaCl溶液为洗脱剂,对其进行梯度洗脱。每个梯度收集15管,每管8 mL。纯水洗脱记为组分A;浓度0.1 mol/L的NaCl溶液洗脱液记为组分B。将组分A得到的几管溶液合并、浓缩,在60℃下烘干,得到白色固体备用,组分B操作同上。

葡聚糖凝胶柱纯化:取SephadexG-100凝胶填料2.5 g,加50 mL去离子水,于室温下溶胀24 h;溶胀完成后,加入去离子水搅拌沉降,沉降完成后倒掉上清液,反复清洗3次;清洗完毕,超声脱气30 min,即可装入柱子;待填料自然沉降后用去离子水平衡12 h;将组分A和组分B分别配成质量浓

度 5 g/L 的多糖溶液, 全部沿壁缓慢加入柱子, 待溶液完全浸没填料后, 以提前脱气的去离子水为洗脱剂, 对其进行洗脱。两个组分分别收集 10 管, 每管 6 mL。

1.3 结构表征与性能测试

1.3.1 蕨麻粗多糖得率测定

苯酚硫酸法标准曲线绘制: 称取 50.00 g 的苯酚, 少量蒸馏水溶解, 转移至容量瓶定, 并用蒸馏水定容至 1 L, 摇匀, 得质量浓度 50 g/L 苯酚水溶液, 备用; 称取 1.0000 g 的葡萄糖, 蒸馏水溶解, 100 mL 容量瓶定容, 摇匀, 得质量浓度 10 g/L 的葡萄糖母液; 吸取 1.00 mL 葡萄糖母液, 100 mL 容量瓶定容, 摇匀, 得质量浓度 1 g/L 的葡萄糖标准溶液; 分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.8 mL 的葡萄糖标准溶液, 依次加入到不同试管中, 蒸馏水补总体积均至 2.00 mL, 再依次加入 1.00 mL 配制好的苯酚溶液, 最后缓慢滴加 5.00 mL 浓硫酸, 摇匀后静置 30 min 待溶液反应完全; 在波长 490 nm 波长下测定混合溶液的吸光度; 根据测定的葡萄糖质量浓度 (x) -吸光度 (y) 标准曲线, 得到拟合方程 $y=0.1525x+0.01739$ ($R^2=0.9992$)^[11]。

吸取 1.2.1 节中 125 μL 的离心好的上清液, 蒸馏水定容至 5.00 mL。再吸取 2.00 mL 已定容的上清液溶液, 加入 1.00 mL 苯酚溶液, 再加入 5.00 mL 浓硫酸, 放置反应 30 min。用 UV-Vis 测其在 490 nm 波长下的吸光度。结合上述标准曲线拟合方程, 根据式 (1) 计算蕨麻粗多糖得率 (%):

蕨麻粗多糖得率/%= $m/m_0\times100$ (1)

式中: m 为上清液中多糖质量, mg; m₀ 为蕨麻干粉质量, mg。

1.3.2 单糖组成测定

采用离子色谱系统, 利用电化学检测器对单糖组分进行分析检测。液相色谱柱为 Dionex™ CarboPac™ PA20 (150 mm×3 mm×10 μm)。进样量为 5 μL。流动相 A 为 H₂O, 流动相 B 为浓度 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液, 流动相 C 为浓度 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液+浓度 0.2 mol/L 的醋酸钠溶液。流速 0.5 mL/min。柱温为 30 ℃。洗脱梯度: 0 min, A 相/B 相/C 相 (95/5/0, 体积比, 下同); 26 min, A 相/B 相/C 相 (85/5/10); 42 min, A 相/B 相/C 相 (85/5/10); 42.1 min, A 相/B 相/C 相 (60/0/40); 52 min, A 相/B 相/C 相 (60/40/0); 52.1 min, A 相/B 相/C 相 (95/5/0); 60 min, A 相/B 相/C 相 (95/5/0)。

1.3.3 FTIR 测试

KBr 压片法, 波数范围 4000~400 cm⁻¹, 分辨率 4 cm⁻¹, 扫描次数 32 次。

1.3.4 TGA 测试

氮气氛围, 流速 20 mL/min, 程序升温范围

50~700 ℃, 升温速率 10 ℃/min。

1.4 单因素实验

按照 1.2.1 节的方法和步骤, 在保压压力 350 MPa、保压时间 18 min、pH=7.0 的条件下, 考察料液比 (mg : mL, 下同) 1 : 2、1 : 4、1 : 6、1 : 8、1 : 10 对蕨麻粗多糖得率的影响。

在料液比 1 : 6、保压时间 18 min、pH=7.0 的条件下, 考察保压压力 (50、150、250、350、450 MPa) 对蕨麻粗多糖得率的影响。

在料液比 1 : 6、保压压力 350 MPa、pH=7.0 的条件下, 考察保压时间 (9、12、15、18、21、24 min) 对蕨麻粗多糖得率的影响。

在料液比 1 : 6、保压压力 350 MPa、保压时间 21 min 的条件下, 考察 pH (6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0) 对蕨麻粗多糖得率的影响。

1.5 响应面实验

根据单因素实验结果, 以 pH (A)、料液比 (B)、保压时间 (C)、保压压力 (D) 为自变量, 蕨麻粗多糖得率为评价指标, 根据响应面实验设计原理, 对 4 个因素分别设置 3 个水平, 用 “-1、0、+1” 表示, pH、料液比、保压时间、保压压力根据单因素研究结果中心点取值。

表 1 响应面实验因素水平表
Table 1 Test factor level table of response surface

水平	因素			
	A pH	B 料液比/(mg : mL)	C 保压时间/min	D 保压压力/MPa
-1	7.5	1 : 4	18	250
0	8.0	1 : 6	21	350
1	8.5	1 : 8	24	450

1.6 蕨麻粗多糖体外降糖活性测试

1.6.1 α-葡萄糖苷酶抑制能力

测试分为样品组、对照组、空白组以及阿卡波糖阳性对照组。将纯化后的蕨麻多糖配成质量浓度分别为 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 g/L 的溶液, 配制 PBS 缓冲液 (pH=6.8, 浓度 0.1 mol/L)、质量浓度 0.5 mg/L 的 α-葡萄糖苷酶溶液、质量分数 1% 的 PNPG 及浓度 1 mol/L 的碳酸钠溶液。依次向试管中加入蕨麻多糖溶液 10 μL、PBS 缓冲液 80 μL、葡萄糖苷酶溶液 20 μL, 混匀后在 37 ℃水浴 15 min, 然后加入 25 μL PNPG 溶液, 混匀后在 37 ℃下水浴 30 min, 水浴完成后加入 100 μL 碳酸钠溶液, 即为样品组, 用酶标仪在 405 nm 波长下测光密度 (OD) 值。对照组不加 α-葡萄糖苷酶溶液, 空白组不加蕨麻多糖溶液^[12], 将蕨麻多糖溶液换成阿卡波糖溶液即为阳性对照组。根据式 (2) 计算 α-葡萄糖苷酶抑制率:

$$I/\%=[1-(OD_1-OD_2)/OD_0]\times 100 \quad (2)$$

式中: I 为 α -葡萄糖苷酶抑制率, %; OD_1 、 OD_2 、 OD_0 分别为样品组、对照组、空白组的光密度值。

1.6.2 α -淀粉酶抑制能力

测试分为样品组、对照组、空白组以及阿卡波糖阳性对照组。配制 DNS 显色剂于棕色瓶中放置 7 d 后使用, 配制质量浓度 15 mg/L 的 α -淀粉酶溶液以及质量分数 1% 的淀粉溶液。依次向试管中加入蕨麻多糖溶液 0.3 mL、PBS 缓冲液 1 mL、 α -淀粉酶溶液 1 mL, 混匀后在 37 °C 下水浴 10 min, 水浴完成后加入 1 mL 淀粉溶液, 再次在 37 °C 下水浴 10 min, 最后加入 1 mL DNS 显色剂沸水浴 5 min, 完成后静置冷却。向待测溶液中加入 2 倍体积的去离子水, 即为样品组, 用紫外-可见分光光度计在 540 nm 波长下测定溶液的吸光度 (A), 对照组不加 α -淀粉酶溶液, 空白组不加蕨麻多糖溶液, 将蕨麻多糖溶液换成阿卡波糖溶液即阳性对照组。根据式 (3) 计算 α -淀粉酶抑制率:

$$IR/\%=[1-(A_1-A_2)/A_0]\times 100 \quad (3)$$

式中: IR 为 α -淀粉酶抑制率, %; A_1 、 A_2 、 A_0 分别为样品组、对照组、空白组的吸光度。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验分析

2.1.1 料液比的影响

图 1 为料液比对蕨麻粗多糖得率的影响。

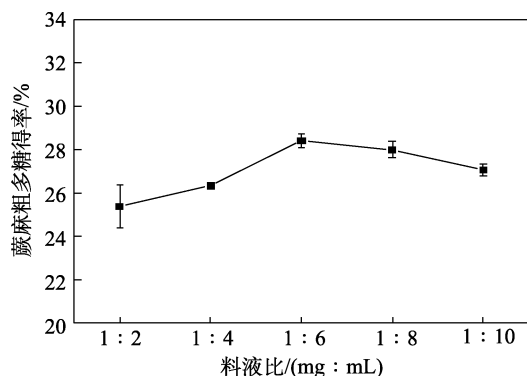


图 1 料液比对蕨麻粗多糖得率的影响

Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on crude polysaccharides yield of *Potentilla anserina* L.

从图 1 可以看出, 随着料液比的减小, 蕨麻粗多糖得率先增加后减小。当料液比为 1:6 时, 蕨麻粗多糖得率最高, 为 28.75%。这是因为, 溶剂相对体积的不断增大能够更充分浸提蕨麻粉末中的多糖, 一定程度上溶剂的增大能够促进多糖的溶解, 当溶剂相对体积过高, 蕨麻中的多糖浓度太低, 不

利于后续提取^[13]。

2.1.2 保压压力的影响

图 2 为保压压力对蕨麻粗多糖得率的影响。

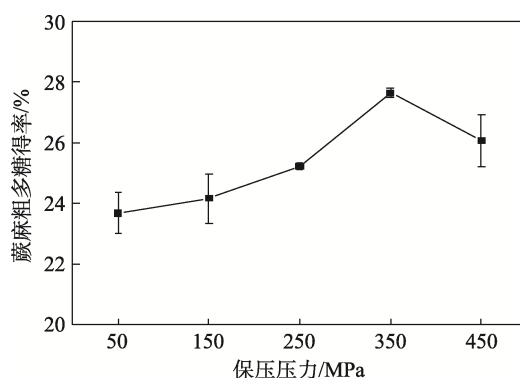


图 2 保压压力对蕨麻粗多糖得率的影响

Fig. 2 Effect of holding pressure on crude polysaccharides yield of *Potentilla anserina* L.

从图 2 可以看出, 随着保压压力的增加, 蕨麻粗多糖得率先增加后减小。当保压压力为 350 MPa 时, 蕨麻粗多糖得率最高, 为 27.78%。这是因为, 保压压力升高可以使细胞中的多糖能够有效溶出, 而当压力过大时, 对细胞破坏程度过高, 不仅多糖溶出, 同时也伴随着细胞中其他杂质的溶出^[14]。

2.1.3 保压时间的影响

图 3 为保压时间对蕨麻粗多糖得率的影响。

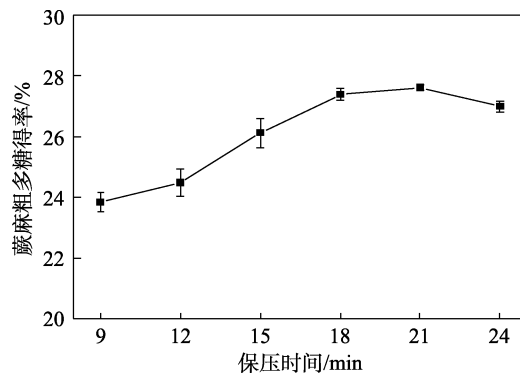


图 3 保压时间对蕨麻粗多糖得率的影响

Fig. 3 Effect of pressure holding time on crude polysaccharides yield of *Potentilla anserina* L.

从图 3 可以看出, 随着保压时间的增加, 蕨麻粗多糖得率先增加后减小。当保压时间为 21 min 时, 蕨麻粗多糖得率最高, 为 27.69%。这是因为, 在一定时间内, 蕨麻多糖能够从原料细胞内充分溶解到提取溶剂中。当浸提时间过长时, 杂质溶出增多, 可能会致使部分多糖黏附在杂质上, 同时也会出现部分多糖在过长时间的高压下作用下, 其化学结构发生变化, 出现了一部分蕨麻多糖降解, 造成其得率降低^[15]。

2.1.4 pH 的影响

图 4 为 pH 对蕨麻粗多糖得率的影响。

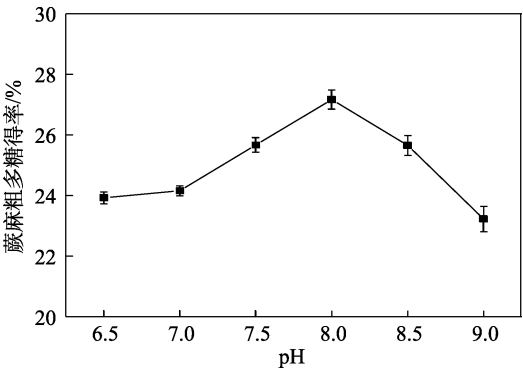


图 4 溶液 pH 对蕨麻粗多糖得率的影响

Fig. 4 Effect of pH of solution on crude polysaccharides yield of *Potentilla anserina* L.

从图 4 可以看出,随着 pH 的增加,蕨麻粗多糖得率先增加后减小。当 pH 为 8.0 时,蕨麻粗多糖得率最高,为 27.53%。这是因为,碱性过高时,强碱具有氧化性,会引起蕨麻多糖中糖苷键发生断裂,导致多糖得率降低。

2.2 响应面实验分析

2.2.1 实验结果分析

采用 Design-Expert 8.05 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 $Y=-353.91247+71.82142A+7.14138B+ 4.87186C+0.10746D-0.14500AB+0.15417AC- 0.00188AD-0.01333BC+0.00024BD-0.00059CD- 4.57933A^2-0.46558B^2-0.13561C^2-0.00011D^2$ ($P<0.0001$, $R^2=0.9583$)。

表 2 响应面实验结果

Table 2 Response surface test design and results

序 号	A	B	C	D	pH	料液比/ (mg : mL)	保压时 间/min	保压压 力/MPa	得率/ %	序 号	A	B	C	D	pH	料液比/ (mg : mL)	保压时间/ min	保压压 力/MPa	得率/ %
1	0	0	0	0	8.0	1 : 6	21	350	29.43	16	0	0	1	1	8.0	1 : 6	24	450	27.32
2	0	0	1	-1	8.0	1 : 6	24	250	27.42	17	0	1	-1	0	8.0	1 : 8	18	350	26.13
3	1	1	0	0	8.5	1 : 8	21	350	26.87	18	0	0	-1	1	8.0	1 : 6	18	450	27.08
4	0	0	0	0	8.0	1 : 6	21	350	28.96	19	0	0	-1	-1	8.0	1 : 6	18	250	26.47
5	1	0	-1	0	8.5	1 : 6	18	350	26.12	20	-1	1	0	0	7.5	1 : 8	21	350	26.95
6	0	0	0	0	8.0	1 : 6	21	350	29.68	21	0	-1	0	-1	8.0	1 : 4	21	250	25.67
7	-1	0	0	-1	7.5	1 : 6	21	250	25.92	22	-1	0	-1	0	7.5	1 : 6	18	350	26.77
8	0	0	0	0	8.0	1 : 6	21	350	29.02	23	0	0	0	0	8.0	1 : 6	21	350	29.10
9	-1	-1	0	0	7.5	1 : 4	21	350	25.65	24	-1	0	1	0	7.5	1 : 6	24	350	27.04
10	0	1	1	0	8.0	1 : 8	24	350	26.85	25	0	1	0	1	8.0	1 : 8	21	450	26.82
11	0	-1	0	1	8.0	1 : 4	21	450	26.26	26	1	0	0	1	8.5	1 : 6	21	450	27.61
12	0	-1	-1	0	8.0	1 : 4	18	350	25.07	27	1	-1	0	0	8.5	1 : 4	21	350	26.15
13	1	0	1	0	8.5	1 : 6	24	350	27.32	28	-1	0	0	1	7.5	1 : 6	21	450	27.04
14	1	0	0	-1	8.5	1 : 6	21	250	26.87	29	0	1	0	-1	8.0	1 : 8	21	250	26.04
15	0	-1	1	0	8.0	1 : 4	24	350	26.11										

2.2.2 模型拟合与方差分析

表 3 为方差分析结果。从表 3 可以看出,模型 的 P 值 <0.0001 ,表示模型极显著;失拟项 P 值= $0.4209>0.05$,不显著,表明模型的拟合程度较好;

$R^2=0.9583$, $R^2_{Adj}=0.9165$,两者之间的误差较小, 表示模型与实际情况有比较好的拟合度,能够准 确反映各因素和响应值的关系,可以用于优化工 艺参数。

表 3 响应面实验方差分析结果

Table 3 Variance results of response surface test

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性	项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	37.93	14	2.71	22.96	<0.0001	**	CD	0.13	1	0.13	1.07	0.3189	○
A	0.21	1	0.21	1.76	0.2055	○	A ²	8.50	1	8.50	72.04	<0.0001	**
B	1.87	1	1.87	15.87	0.0014	**	B ²	22.50	1	22.50	190.65	<0.0001	**
C	1.62	1	1.62	13.77	0.0023	**	C ²	9.66	1	9.66	81.88	<0.0001	**
D	1.17	1	1.17	9.90	0.0071	**	D ²	8.13	1	8.13	68.86	<0.0001	**
AB	0.01	1	0.08	0.71	0.4127	○	残差	1.65	14	0.12			
AC	0.21	1	0.21	1.81	0.1996	○	失拟项	1.27	10	0.13	1.33	0.4209	○
AD	0.04	1	0.04	0.30	0.5938	○	纯误差	0.38	4	0.01			
BC	0.02	1	0.02	0.22	0.6485	○	总和	39.59	28				
BD	0.01	1	0.01	0.08	0.7862	○							

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 ($P>0.05$)。

其中,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对多糖得率的影响极显著,一次项 B 、 C 、 D 对多糖得率影响显著。各因素对蕨麻多糖得率的影响顺序依次为 $B>C>D>A$, 即料液比>保压时间>保压压力>pH。

2.2.3 响应面分析

采用 Design-Expert 8.05 软件绘制蕨麻粗多糖得率、pH、料液比、保压时间、保压压力之间的三维曲面图,结果如图 5 所示。

从图 5 可以看出,各交互作用对蕨麻粗多糖得率的影响从大到小顺序为 $AC>CD>AB>AD>BC>BD$, AC 、 CD 、 AB 、 AD 、 BC 、 BD 的两因素交互作用不明显,但 AC 、 CD 相较于其他 4 组对蕨麻粗多糖的提取效果较好。由上述分析可得对蕨麻粗多糖得率的影响顺序为料液比>保压压力>保压时间>pH,这与表 3 结果吻合。

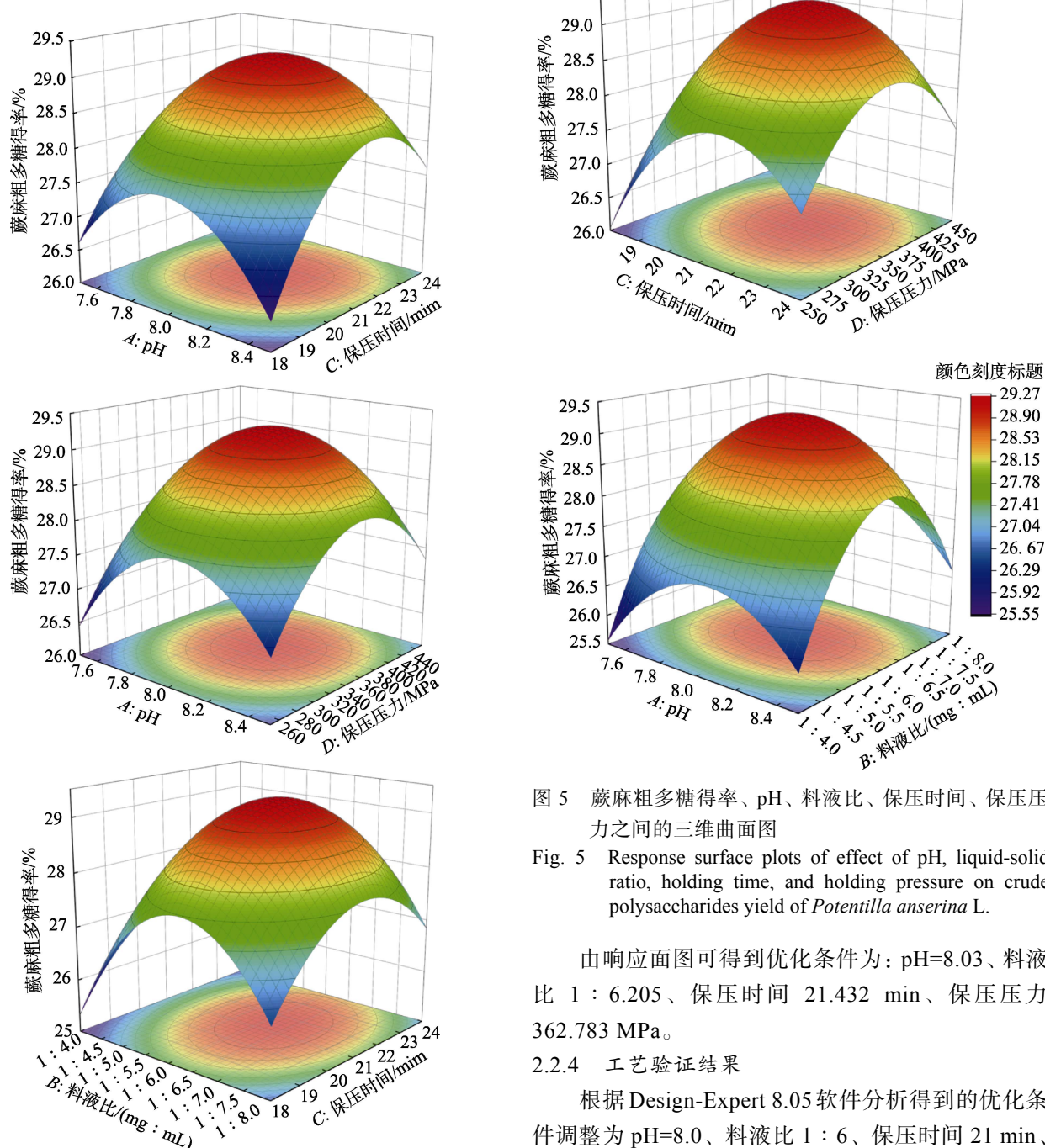


图 5 蕨麻粗多糖得率、pH、料液比、保压时间、保压压力之间的三维曲面图

Fig. 5 Response surface plots of effect of pH, liquid-solid ratio, holding time, and holding pressure on crude polysaccharides yield of *Potentilla anserina* L.

由响应面图可得到优化条件为: pH=8.03、料液比 1 : 6.205、保压时间 21.432 min、保压压力 362.783 MPa。

2.2.4 工艺验证结果

根据 Design-Expert 8.05 软件分析得到的优化条件调整为 pH=8.0、料液比 1 : 6、保压时间 21 min、

保压压力 360 MPa 进行验证实验,此时多糖得率预测值为 29.31%。在此条件下重复 3 次验证实验,多糖得率为 $29.31\% \pm 0.41\%$,与模型理论值相差较小,表明该模型优化工艺参数可行。

2.3 蕨麻粗多糖分离纯化分析

图 6 为蕨麻粗多糖的 DEAE-52 纤维素柱洗脱曲线。

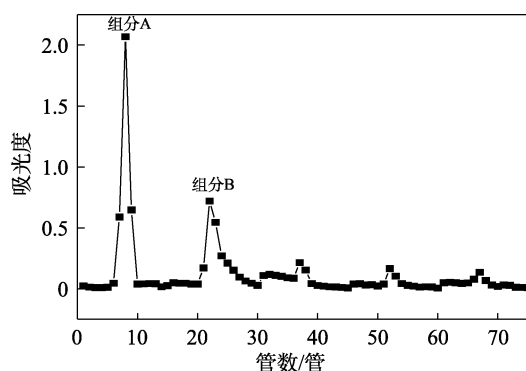


图 6 DEAE-52 纤维素柱洗脱曲线

Fig. 6 Elution curve of DEAE-52 cellulose column

从图 6 可以看出,蕨麻粗多糖经 DEAE-52 纤维素柱层析后,得到了 2 个组分,分别为组分 A (6~10 管)和组分 B (20~28 管)。组分 A 是纯水洗脱,组分 B 是浓度 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液洗脱。

图 7 为 SephadexG-100 凝胶柱洗脱曲线。

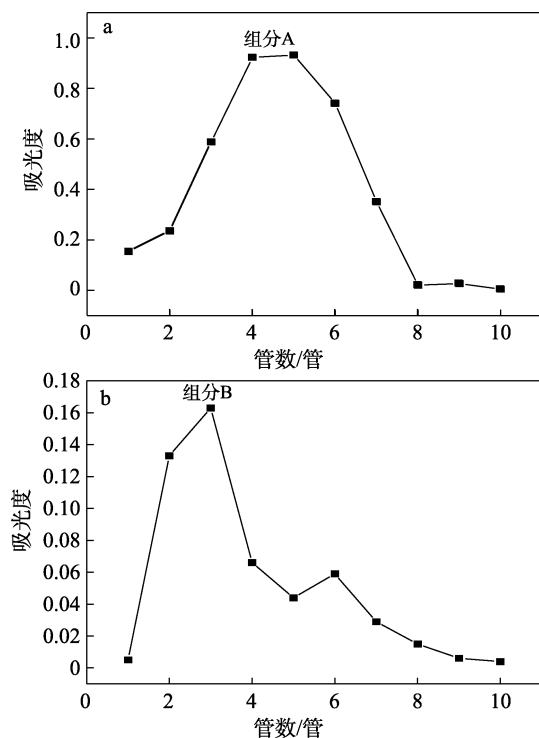


图 7 组分 A (a) 和组分 B (b) 的 SephadexG-100 凝胶柱洗脱曲线

Fig. 7 Elution curve of SephadexG-100 gel column for component A (a) and component B (b)

从图 7 可以看出,组分 A 的 1~8 管为单一洗脱峰,将 1~8 管合并烘干后得到样品。组分 B 有严重的拖尾峰且含量较低,后续不进行研究。

2.4 样品的表征

2.4.1 FTIR 分析

图 8 为蕨麻多糖的 FTIR 谱图。

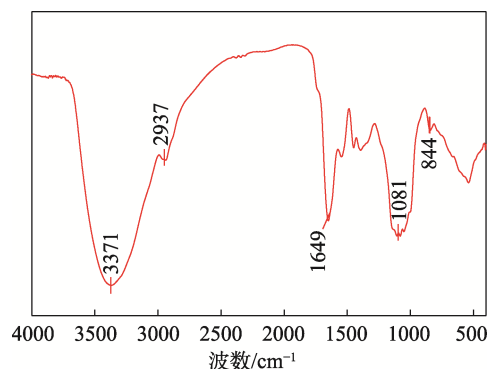


图 8 蕨麻多糖的 FTIR 谱图

Fig. 8 FTIR spectrum of *Potentilla anserina* L. polysaccharides

从图 8 可以看出, 3371 cm^{-1} 处的宽吸收峰为分子间或分子内的氢键、—OH 的伸缩振动^[16],对应蕨麻多糖的糖链中的羟基^[17]。由于蕨麻多糖上含有大量羟基,形成了分子内或分子间氢键,所以峰形较宽。—CH₃、—CH₂、—CH 中 C—H 的伸缩振动吸收峰出现在 2937 cm^{-1} 处^[18],峰型较小。 1649 cm^{-1} 处为不对称 C=O 键的伸缩振动。 1081 cm^{-1} 处吸收峰为糖苷键 C—O—C 键的非对称伸缩振动。此外, 844 cm^{-1} 处的吸收峰为甘露糖的特征峰,表明蕨麻多糖中含有甘露糖。

2.4.2 TGA 分析

图 9 为蕨麻多糖的 TG 曲线。

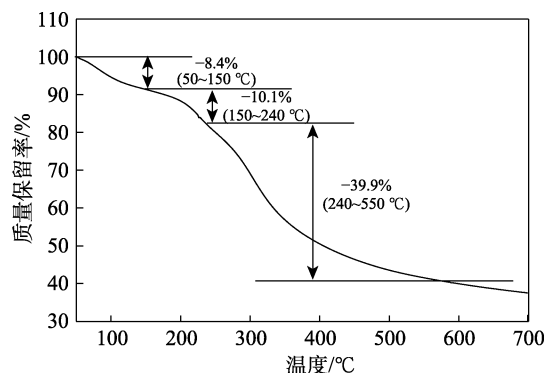


图 9 蕨麻多糖的 TG 曲线

Fig. 9 TG curve of *Potentilla anserina* L. polysaccharides

从图 9 可以看出,蕨麻多糖在 50~150 °C 的失重是由于水分的丢失,质量损失为 8.4%; 150~240 °C 为蕨麻多糖的急速热分解,质量损失为 10.1%,此时,多糖分子的化学键遭到破坏,多糖分解; 240~

550 °C 为蕨麻多糖的快速热分解, 这阶段的质量损失为 39.9%; 350 °C 后多糖质量缓慢下降, 这可能是由于大部分蕨麻多糖被炭化, 也有可能是剩余的少数多糖热稳定性较高导致的^[19]。

2.5 单糖组成分析

图 10 为蕨麻多糖的液相色谱图。

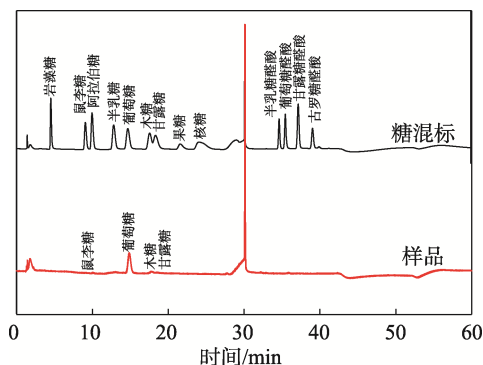


图 10 蕨麻多糖的液相色谱图

Fig. 10 Liquid chromatogram of *Potentilla anserina* L. polysaccharides

从图 10 可以看出, 与糖混标色谱图对比分析可得, 蕨麻多糖由质量浓度为 0.1359 mg/L 的阿拉伯糖、质量浓度为 8.3314 mg/L 的葡萄糖、质量浓度为 1.0464 mg/L 的木糖和质量浓度为 0.5329 mg/L 的甘露糖 4 种多糖组成, 其质量比为 1.4 : 82.9 : 10.4 : 5.4, 葡萄糖占比最高。单糖组分检测中未发现糖醛酸, 表明蕨麻多糖样品为中性多糖。

2.6 体外降血糖活性分析

2.6.1 α -葡萄糖苷酶的抑制能力

图 11 为蕨麻多糖质量浓度对 α -葡萄糖苷酶抑制率的影响。

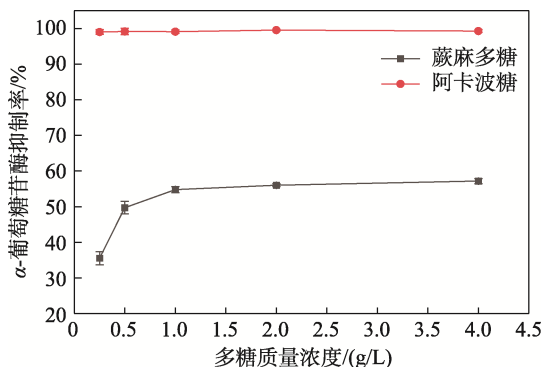


图 11 蕨麻多糖质量浓度对 α -葡萄糖苷酶抑制率的影响
Fig. 11 Effects of mass concentration of *Potentilla anserina* L. polysaccharides on inhibition rate of α -glucosidase

从图 11 可以看出, 随着质量浓度的增加, 蕨麻多糖对 α -葡萄糖苷酶抑制率呈上升趋势, 具有质量浓度依赖性, 此后趋于平缓。在测试蕨麻多糖最高质量浓度 4.0 g/L 时, 其 α -葡萄糖苷酶抑制率最大,

为 57.17%。在测试质量浓度 (0.25~4.0 g/L) 范围内, 阿卡波糖阳性对照组对 α -葡萄糖苷酶抑制率始终保持在 99% 以上。结果表明, 蕨麻多糖对 α -葡萄糖苷酶抑制率与阿卡波糖相比较低。

2.6.2 α -淀粉酶抑制能力

图 12 为蕨麻多糖质量浓度对 α -淀粉酶抑制率的影响。

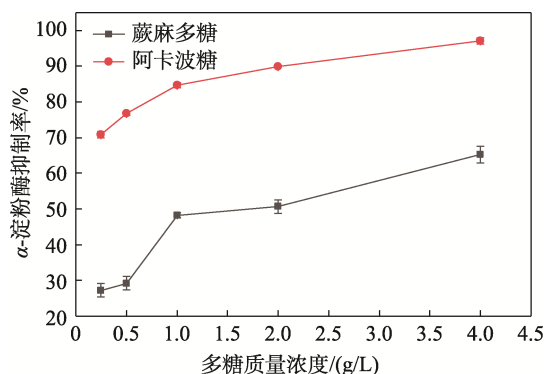


图 12 蕨麻多糖质量浓度对 α -淀粉酶抑制率的影响
Fig. 12 Effects of mass concentration of *Potentilla anserina* L. polysaccharides on inhibition rate of α -amylase

从图 12 可以看出, 随着测试质量浓度的增加, 蕨麻多糖和阿卡波糖对 α -淀粉酶的抑制率均先快速后缓慢增加, 但蕨麻多糖的 α -淀粉酶的抑制率明显低于阿卡波糖。质量浓度 4.0 g/L 的蕨麻多糖对 α -淀粉酶抑制率为 65.26%, 而相同质量浓度的阿卡波糖对 α -淀粉酶抑制率为 97.06%。

综上, 蕨麻多糖中的葡萄糖含量最高, 但因其本身是以 β -糖苷键连接形成的高分子聚合物, 且具有多靶点调控糖代谢的能力, 所以具有降血糖活性。

3 结论

通过超高压提取蕨麻多糖, 探究了 pH、料液比、保压压力及保压时间对蕨麻粗多糖得率的影响, 采用单因素和响应面实验优化了提取工艺, 探究了蕨麻多糖的体外降糖活性。

(1) 超高压提取蕨麻多糖的优化条件为 pH=8.0、料液比 1 : 6、保压时间 21 min、保压压力 360 MPa, 在此条件下, 蕨麻粗多糖得率为 29.31% $\pm$ 0.41%。

(2) 经纤维素柱及葡聚糖凝胶柱纯化的蕨麻多糖 4 种主要成分为阿拉伯糖、葡萄糖、木糖以及甘露糖。

(3) 在测试的质量浓度 (0.25~4.0 g/L) 范围内, 随着质量浓度的增加, 蕨麻多糖对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率均增加, 质量浓度 4.0 g/L 的蕨麻多糖对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率分别为 57.17% 和 65.26%。

(下转第 1095 页)

- [20] AMANULLAH S, GOTICO P, SIRCOGLOU M, *et al.* Second coordination sphere effect shifts CO₂ to CO reduction by iron porphyrin from Fe⁰ to Fe^I[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 63(4): e202314439.
- [21] CHEN J J, ZHU Y F, KASKEL S. Porphyrin-based metal-organic frameworks for biomedical applications[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 60(10): 5010-5035.
- [22] DAS R, KUMAR V P, NAGARAJA C M. Design of porphyrin-based frameworks for artificial photosynthesis and environmental remediation: Recent progress and future prospects[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2024, 514: 215944.
- [23] JIANG H L, FENG D W, WANG K C, *et al.* An exceptionally stable, porphyrinic Zr metal-organic framework exhibiting pH-dependent fluorescence[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(37): 13934-13938.
- [24] FENG D W, GU Z Y, LI J R, *et al.* Zirconium-metalloporphyrin PCN-222: Mesoporous metal-organic frameworks with ultrahigh stability as biomimetic catalysts[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(41): 10307-10310.
- [25] CHEN Q S, SUN J L, LI P, *et al.* A redox-active bistable molecular switch mounted inside a metal-organic framework[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2016, 138(43): 14242-14245.
- [26] QUINT V, MORLET-SAVARY F, LOHIER J F, *et al.* Metal-free, visible light-photocatalyzed synthesis of benzo [b] phosphole oxides: Synthetic and mechanistic investigations[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2016, 138(23): 7436-7441.
- [27] LAN G X, FAN Y J, SHI W J, *et al.* Biomimetic active sites on monolayered metal-organic frameworks for artificial photosynthesis [J]. *Nature Catalysis*, 2022, 5(11): 1006-1018.
- [28] FRUTON J S. Oxidation-reduction potentials of ascorbic acid[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1934, 105(1): 79-85.
- [29] RYAN M D, DESILVA C. The voltammetric study of the reduction of tetraalkylammonium perchlorate by Fe(TPP)²⁺[J]. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2012, 11(7): 519-523.
- [30] HENDRICKSON D N, KINNAIRD M G, SUSLICK K S. Photochemistry of(5,10,15,20-tetraphenylporphyrinato) iron(III) halide complexes, Fe(TPP)(X)[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 109(4): 1243-1244.
- [31] JIANG X, ZHANG Z M, MEI J F, *et al.* Carbon quantum dots based charge bridge between photoanode and electrocatalysts for efficiency water oxidation[J]. *Electrochimica Acta*, 2018, 273: 208-215.
- [32] HEPPE N, GALLENKAMP C, PAUL S, *et al.* Substituent effects in iron porphyrin catalysts for the hydrogen evolution reaction[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2023, 29(10): e202202465.
- [33] SILVESTER D S, WAIN A J, ALDOUS L, *et al.* Electrochemical reduction of nitrobenzene and 4-nitrophenol in the room temperature ionic liquid [C₄mim][N(Tf)₂][J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2006, 596(2): 131-140.
- [34] WANG S, LI S H, FENG H Y, *et al.* Visible-light-driven porphyrin-based bimetallic metal-organic frameworks for selective photoreduction of nitro compounds under mild conditions[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2023, 15(3): 4845-4856.

(上接第 1086 页)

参考文献:

- [1] CHEN X Y (陈兴叶), ZHANG X Y (张小燕), PENG T (彭涛), *et al.* Exploring the key process of low-calorie turbid juice beverage products rich in fern[J]. *Modern Food (现代食品)*, 2019(22): 63-66, 75.
- [2] CHEN J R, YANG Z Q, HU T J, *et al.* Immunomodulatory activity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharide from *Potentilla anserina*[J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(8): 1117-1124.
- [3] GUO T, WEI Q J, WANG Y, *et al.* Artificial neural network modeling of ultrasound-assisted polysaccharides extraction from potentilla anserina and anti-platelet aggregation activity[J]. *Applied Mechanics and Materials*, 2014, 618: 367-375.
- [4] WEI Q, ZHANG Y H. Ultrasound-assisted polysaccharide extraction from *Cercis chinensis* and properites, antioxidant activity of polysaccharide[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2023, 96: 106422.
- [5] ZHANG Z S (张泽生), ZHANG J (张婕), ZHANG J P (张建平), *et al.* Study on extract technology of *Potentilla anserina* polysaccharide[J]. *Food Research and Development (食品研究与开发)*, 2009, 30(1): 46-49.
- [6] GUO J (郭杰), TAO L (陶蕾), WANG J H (王吉鸿), *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction of polysaccharides from *Potentilla anserina* L. using response surface methodology[J]. *Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业)*, 2021, 47(14): 151-159.
- [7] GAO D D (高丹丹), YANG L L (杨璐璐), QI G Z (祁高展). Optimization of extraction conditions of polysaccharide from *Potentilla anserina* by response surface methodology[J]. *Natural Product Research and Development (天然产物研究与开发)*, 2015, 27(6): 1099-1104.
- [8] CHEN L H (陈炼红), ZHANG M Y (张梦苑), WU H (伍红), *et al.* Extraction and antioxidant activities of polysaccharides from *Potentilla anserina* with combined-enzyme method[J]. *Journal of Southwest Minzu University (Natural Science Edition) (西南民族大学学报: 自然科学版)*, 2015, 41(4): 407-411.
- [9] WEI W (魏伟), LI Y W (李彦伟), LIU F X (刘凤霞), *et al.* Optimization of ultra-high pressure extraction process of *Polygonatum* polysaccharide by response surface methodology[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2019, 36(5): 875-881.
- [10] HAO B H (郝博慧). The extraction and purification of polysaccharides from *Potentilla anserina* L. and the monosaccharide constitute of polysaccharides [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology (哈尔滨工业大学), 2010.
- [11] YUE F F, ZHANG J R, XU J X, *et al.* Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 963318.
- [12] ZHANG N (张娜), XIE J (谢静), GUO Y F (郭艳峰), *et al.* Study on antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides from *Pleurotus eryngii* *in vitro*[J]. *Edible Fungi (食用菌)*, 2024, 46(6): 77-81.
- [13] WANG Z J (王志娟), ZHANG W (张炜), TIAN G (田格), *et al.* Ultrahigh pressure extraction technology of saponins from quinoa husk[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils (中国粮油学报)*, 2020, 35(6): 45-50.
- [14] HUANG S (黄姗), SHI W L (时文六), BAI T (白天). Optimization of ultra-high pressure extraction and antioxidant activity of polysaccharides from *Rehmannia glutinosa* libosch leaves[J]. *Food and Fermentation Science & Technology (食品与发酵科技)*, 2023, 59(5): 28-32.
- [15] ZHAO R N (赵瑞娜), WEN J T (文晶桃), FAN G Z (范国忠), *et al.* Optimization of ultra-high pressure assisted extraction of pectin from grapefruit peel by response surface method and analysis of physicochemical properties[J]. *Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业)*, 2024, 50(20): 64-71.
- [16] HONG T, YIN J Y, NIE S P, *et al.* Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective[J]. *Food Chemistry: X*, 2021, 12: 100168.
- [17] JESUS V, ANTONIO J V, R U V, *et al.* Isolation and characterization of polysaccharides from the ascidian *Styela clava*[J]. *Polymers*, 2021, 14(1): 16.
- [18] MIHERENISHA A (米合热尼沙·阿木热江), AHEMAITIJIAN T (阿合买提江·吐尔逊), YANG F (杨飞), *et al.* Effects of alcohol precipitation with different ethanol concentration on polysaccharide content of *Pyrus sinkiangensis* Yü and its infrared characterization[J]. *Journal of Xinjiang Medical University (新疆医科大学学报)*, 2022, 45(8): 886-889, 895.
- [19] CHATAKE V S, SHINDE Y H, MARIWALA K V, *et al.* Pyrolysis of castor seed shells: Kinetic and thermodynamic study using thermogravimetric analysis (TGA)[J]. *Bioresource Technology Reports*, 2024, 26: 101837.