刘玉双, 刘伟, 高佳, 等. 锦灯笼宿萼多糖的提取纯化及对糖代谢酶的抑制活性 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(4): 271−281. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120406

LIU Yushuang, LIU Wei, GAO Jia, et al. Extraction and Purification of Polysaccharides from Calyx of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii (Mast.) Makino and Its Effect on the Inhibition of Glucose Metabolic Enzymes[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(4): 271−281. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120406

·工艺技术·

锦灯笼宿萼多糖的提取纯化及对糖代谢酶的抑制活性

刘玉双,刘　伟,高　佳,洪　瑞,袁　琪,滕少菲,孙晨晨,滕　杨*
（佳木斯大学药学院,黑龙江佳木斯 154007）

摘　要: 本研究提取纯化锦灯笼宿萼中的多糖（polysaccharides from calyx of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii (Mast.) Makino，PACP）成分，探究其理化性质及降糖活性。在单因素实验的基础上，通过响应面试验优化 PACP 的最佳提取工艺，经 DEAE-52 和 Sephadex G-100 柱层析进行纯化。采用体外抗氧化实验测定纯化多糖对 DPPH 自由基和 $ABTS^+$自由基的清除能力，并将清除能力最好的多糖进行定性和定量分析，利用紫外光谱（Ultraviolet Spectroscopy，UV）、高效凝胶渗透色谱（High Performance Gel Permeation Chromatography，HPGPC）、高效液相色谱（High Performance Liquid Chromatography，HPLC）、傅里叶红外光谱（Fourier Transform Infrared Spectroscopy，FT-IR）、三螺旋结构分析和扫描电镜（Scanning Electron Microscope，SEM）对多糖结构进行初步表征，并考察其体外降血糖活性。结果表明，PACP 的最佳提取工艺为提取温度 90 ℃，液料比 36∶1 mL/g，提取时间 2.2 h，在此条件下的得率为 4.47%±0.13%。体外抗氧化实验表明，纯化多糖 PACP-1a 对 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除能力较强，其半数抑制浓度（IC_{50}）分别为 0.26 和 0.31 mg/mL。PACP-1a 是一种分子量为 109443 Da 含有三螺旋结构的 β 型吡喃糖，其糖含量为 88.82%，蛋白质含量为 1.29%，糖醛酸含量为 28.77%。单糖组成及摩尔比为甘露糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和木糖组成=0.112∶0.025∶0.054∶0.122∶0.054∶0.102。PACP-1a 对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶 IC_{50} 值分别为 3.42 和 3.11 mg/mL，表现出良好的降血糖活性，为锦灯笼宿萼多糖的工业制备及其在功能性食品领域的开发与应用提供理论依据。

关键词: 锦灯笼宿萼,多糖,提取纯化,结构表征,降血糖
中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)04−0271−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024120406
本文网刊:

Extraction and Purification of Polysaccharides from Calyx of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii (Mast.) Makino and Its Effect on the Inhibition of Glucose Metabolic Enzymes

LIU Yushuang，LIU Wei，GAO Jia，HONG Rui，YUAN Qi，TENG Shaofei，SUN Chenchen，TENG Yang*
（College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China）

Abstract: In this study, exploring the physicochemical properties and hypoglycemic activities of polysaccharides from calyx of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii (Mast.) Makino. Based on the single factor experiment, the best extraction process of PACP was optimized by response surface. The polysaccharide was purified by DEAE-52 and Sephadex G-100 column chromatography. The free radical scavenging ability of the purified polysaccharides was determined *in vitro*. The polysaccharides with the best scavenging ability were qualitatively and quantitatively analyzed. The structure of the polysaccharide was preliminarily characterized by ultraviolet spectroscopy (UV), high-performance gel permeation chromatography (HPGPC), high performance liquid chromatography (HPLC), fourier transform infrared spectroscopy (FT-

收稿日期: 2025−01−02
基金项目: 黑龙江省高等学校基本科研业务费项目（2024-KYYWF-0573）。
作者简介: 刘玉双（2001−）,女,硕士研究生,研究方向:天然植物化学成分提取、分离及活性研究,E-mail:1336425017@qq.com。
*** 通信作者:** 滕杨（1982−）,女,博士,教授,研究方向:天然植物化学成分分析及活性研究,E-mail:yangtjms@163.com。

IR), triple helix structure analysis and scanning electron microscopy (SEM), and to evaluate its hypoglycemic activity *in vitro*. Results showed that the optimum extraction conditions of PACP were extraction temperature 90 ℃, liquid-solid ratio 36∶1 mL/g and extraction time 2.2 h. Under these conditions, the yield was 4.47%±0.13%. *In vitro* antioxidant experiments revealed that PACP-1a had a strong effect on DPPH and $ABTS^{+}$, with the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) were 0.26 mg/mL and 0.31 mg/mL, respectively. PACP-1a was a *β*-pyranose with a molecular weight of 109443 Da and a triple helix structure. The contents of sugar, protein and uronic acid in PACP-1a were 88.82%, 1.29% and 28.77%, respectively. PACP-1a consisted of mannose, rhamnose, galacturonic acid, glucose, galactose and xylose with the molar ratio of 0.112∶0.025∶0.054∶0.122∶0.054∶0.102. PACP-1a had a good hypoglycemic activity, with the IC_{50} values of PACP-1a on *α*-amylase and *α*-glucosidase were 3.42 mg/mL and 3.11 mg/mL, respectively. This study provides a theoretical basis for the industrial preparation of polysaccharides from calyx of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii (Mast.) Makino and its development and application in the field of functional food.

Key words: calyx of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii (Mast.) Makino; polysaccharide; extraction and purification; structure characterization; hypoglycemic

锦灯笼(*Physalis alkekengi* L. var. franchetii)又名酸浆、挂金灯,为茄科植物酸浆的干燥宿萼或带果实的宿萼,主要应用于食品和药品当中,其果实部位可作为水果进行食用,宿萼部位可当茶饮用,有着“草本水果”之称,并且广泛分布于中国的东北、朝鲜和日本等地区[1−2]。其主要含有黄酮类、甾体类、多糖、生物碱和苯丙素类等化学成分,并具有降血糖、抗炎、抗氧化、抗菌、抗肿瘤和免疫调节等生物活性[3−5]。

多糖作为锦灯笼宿萼的主要化学成分之一,不仅具有多种生物活性且对机体几乎无毒副作用[6],近年来已成为研究热门课题,而其不同的生物活性还与自身分子量、单糖组成及分子结构密切相关[7−8]。陶硕[9]通过水提醇沉法在锦灯笼宿萼中提取分离得到16、71、77 和 299 kDa 四种不同分子量的均一多糖,并且发现分子量为 77 kDa,含有较高糖醛酸和三螺旋结构的多糖具有很好的抗炎效果。Guo 等[10]在锦灯笼宿萼中分离出的多糖通过口服给药可以对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠起到治疗的作用。但是不同产地的锦灯笼宿萼所含多糖类化合物含量、结构及活性也有较大差异[11−12]。锦灯笼作为黑龙江省道地药材,民间药用历史悠久,蕴藏丰富、品质良好、性质稳定,引起了食品研究领域专家的广泛关注,尤其多糖类化合物的制备及活性已成为研究热点。

因此,本研究以黑龙江省佳木斯市(130°E,46°N)寒地产锦灯笼宿萼为原料,在单因素实验结果的基础上,通过响应面试验优化得到水提醇沉法制备锦灯笼宿萼多糖的最佳工艺条件;采用柱层析分离技术(DEAE-52 纤维素和 SephadexG-100)对宿萼多糖进行分离纯化;采用光谱、色谱手段结合化学方法对宿萼多糖的进行结构表征和含量测定;利用体外实验筛选抗氧化活性,考察抗氧化能力较强的均一多糖进行 *α*-淀粉酶和 *α*-葡萄糖苷酶的抑制活性,为其在食品工业及保健医疗领域的开发应用提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

锦灯笼 采集自黑龙江省佳木斯市,经佳木斯大学药学院杜鹃教授鉴定为酸浆属茄科植物锦灯笼(*Physalis alkekengi* L. var. *franchetii*);无水乙醇 辽宁泉瑞试剂有限公司;苯酚 天津盛通泰化工有限公司;葡萄糖、半乳糖醛酸 国药集团化学试剂有限公司;牛血清白蛋白 合肥市千盛生物科技有限公司;二乙氨基乙基纤维素-52 型层析柱(DEAE-52)、葡聚糖凝胶 G-100(Sephadex G-100) 北京索莱宝生物科技有限公司;木瓜蛋白酶(800 U/mg)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、*α*-淀粉酶(500 U/mg)、*α*-葡萄糖苷酶(50 U/mg) 上海源叶生物科技有限公司;2,2’-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS) 上海迈瑞尔生化科技有限公司;抗坏血酸(V_C) 天津市华盛化学试剂有限公司;过硫酸钾 上海易恩化学技术有限公司;以上试剂均为分析纯。

BSA224S-CW 电子天平 江苏迅迪仪器科技有限公司;RE-2000A 型旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂;JIDI-21D 台式高速离心机 广州吉迪仪器有限公司;752N 紫外可见分光光度计 上海仪电分析仪器有限公司;BS-160A 自动部分收集器 上海嘉鹏科技有限公司;FD-1C-50 冷冻干燥机 上海继谱电子科技有限公司;DZF-6020 真空干燥箱 上海博讯实业有限公司;ACQUITY 液相色谱仪 上海硅仪生化科技有限公司;IR RESTIGE-21 傅里叶红外光谱仪 天津恒创立达科技发展有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 锦灯笼宿萼多糖的提取 将干燥的锦灯笼宿萼粉碎,石油醚中回流提取 5 次除去脂溶性小分子化合物即脱脂。再热水回流提取重复 3 次,合并滤液,旋转蒸发仪中浓缩,加入无水乙醇至提取液终浓度达到 75%,4 ℃ 下醇沉 24 h。离心去上清液,冷冻干燥,得到锦灯笼宿萼粗多糖(PACP)。多糖的得率根据以下公式计算:

$$W(\%) = \frac{M_1}{M_0} \times 100 \qquad \text{式(1)}$$

式中:W 为粗多糖得率,%;M_1 为锦灯笼宿萼多糖质量,g;M_0 为锦灯笼宿萼质量,g。

1.2.2　单因素实验　准确称取脱脂处理后的锦灯笼宿萼 10 g，分别研究提取温度（60、70、80、90、100 ℃）、液料比（15∶1、25∶1、35∶1、45∶1、55∶1 mL/g）和提取时间（1、1.5、2、2.5、3 h）三个因素五个水平对多糖得率影响[13−15]。在考察某一因素时，其他基础条件为固定提取温度 90 ℃、液料比 35∶1 mL/g 和提取时间 2 h，重复 3 次，计算多糖得率。

1.2.3　响应面优化试验　在单因素实验结果的基础上，基于 Box-Behnken 试验设计原理，按照下列响应面试验设计因素与水平，见表 1，以 PACP 得率为响应值，使用 Design-Expert 8.0.6 软件分析处理相关数据，以此获得 PACP 的最佳提取工艺条件。

表 1　响应面试验设计因素和水平

Table 1　Response surface experimental design factors and levels

因素	水平		
	−1	0	1
A提取温度（℃）	80	90	100
B液料比（mL/g）	25∶1	35∶1	45∶1
C提取时间（h）	1.5	2.0	2.5

1.2.4　PACP 的分离纯化　通过酶-Sevage 法联用除去 PACP 中的蛋白，首先将 PACP 配制成浓度为 20 mg/mL 的多糖溶液，加入木瓜蛋白酶，加酶量为 2400 U/g 多糖，54 ℃ 下酶解 1.7 h，除去与多糖结合的蛋白质，继续用 Sevage 法（氯仿∶正丁醇=4∶1，v/v）除去游离的蛋白质；通过 D101 大孔树脂静态吸附 4 h 重复 3 次，过滤合并滤液，完成粗多糖除色素[16]。再通过 DEAE-52 柱层析进行分离纯化，精确称量 1.00 g PACP，配制成 5 mg/mL 的多糖水溶液，3000 r/min 离心 10 min。将多糖上清液加入 DEAE-52 层析柱中，依次用 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L 的 NaCl 溶液洗脱，控制洗脱流速为 5 mL/min，每管 2 min[17]，苯酚硫酸法隔管检测多糖含量，绘制洗脱曲线，收集合并多糖主峰部分洗脱液，透析除盐后减压浓缩，冷冻干燥；再将得到的组分配制成 5 mg/mL 的多糖水溶液，0.22 μm 滤膜过滤，加入到 Sephadex G-100 层析柱中，以蒸馏水为流动相进行洗脱，控制洗脱流速为 0.5 mL/min，每管 10 min[18]，同上苯酚硫酸法逐管检测多糖含量，得到纯化多糖组分。

1.2.5　抗氧化活性测定

1.2.5.1　DPPH 自由基清除能力测定　取 PACP-1a 多糖样品溶液 1 mL（0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 mg/mL），加入 1 mL 用无水乙醇溶液配制的 0.2 mmol/L DPPH 溶液，摇匀，室温避光放置 30 min，于 517 nm 处测吸光度，每个样品平行测定 3 次[19]。以 V_C 作为阳性对照，DPPH 自由基清除率计算公式如下：

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

式中：A_0 为无水乙醇溶液+DPPH 溶液的吸光度；A_1 为无水乙醇溶液+样品溶液的吸光度；A_2 为样品溶液+DPPH 溶液的吸光度。

1.2.5.2　$ABTS^+$自由基清除能力测定　$ABTS^+$自由基溶液配制：7 mmol/L ABTS 溶液与 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液等体积混合，避光反应 16 h，蒸馏水调至吸光度为 0.7±0.02 之间（734 nm）。取 1.2.5.1 项下多糖样品溶液 1 mL，加入 1 mL $ABTS^+$自由基溶液，摇匀，室温避光放置 1 h 后，于 734 nm 处测吸光度，每个样品平行测定 3 次[20]。以 V_C 作为阳性对照，$ABTS^+$自由基的清除率计算公式如下：

$$ABTS^+\text{自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_2-A_1}{A_0}\right)\times 100 \quad \text{式（3）}$$

式中：A_0 为蒸馏水+$ABTS^+$自由基溶液的吸光度；A_1 为样品溶液+过硫酸钾溶液的吸光度；A_2 为样品溶液+$ABTS^+$自由基溶液的吸光度。

1.2.6　化学成分测定　采用苯酚-硫酸法测定 PACP-1a 的多糖含量[21]。取葡萄糖标准品溶液（0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1 mg/mL）绘制标准曲线，得到的回归方程为 y=6.679x−0.021，R^2=0.9994。将 PACP 样品配制成 0.1 mg/mL 的溶液，移取 1 mL 待测溶液置于试管中，加入 0.5 mL 6% 苯酚和 2.5 mL 浓硫酸溶液，在 490 nm 波长处测定其吸光度，根据葡萄糖标准曲线计算糖含量。

采用考马斯亮蓝法测定 PACP-1a 的蛋白质含量[22]。取牛血清白蛋白标准品溶液（0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1 mg/mL）绘制标准曲线，得到的回归方程为 y=6.2105x+0.1325，R^2=0.9992。将 PACP 样品配制成 0.1 mg/mL 的溶液，移取 1 mL 待测溶液置于试管中，加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液反应 10 min，在 595 nm 波长处测定其吸光度，根据牛血清白蛋白标准曲线计算蛋白质含量。

采用硫酸-咔唑法测定 PACP-1a 中的糖醛酸含量[23]。取半乳糖醛酸标准品溶液（0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1 mg/mL）绘制标准曲线，得到的回归方程为 y=0.5483x+0.1064，R^2=0.9989。将 PACP 样品配制成 0.1 mg/mL 的溶液，移取 1 mL 待测溶液置于试管中，加入 1.2 mL 硫酸-硼砂溶液，置于沸水浴中煮沸 5 min，再分别加入 0.1% 的咔唑-无水乙醇溶液 0.04 mL，摇匀后在沸水浴中煮沸 10 min，在 523 nm 波长处测定其吸光度，根据半乳糖醛酸标准曲线计算糖醛酸含量。

1.2.7　PACP-1a 的紫外光谱分析　将 PACP-1a 配制成浓度为 1 mg/mL 的多糖溶液，在 200~800 nm 范围内进行紫外全波长扫描，检测 PACP-1a 中的核酸和蛋白质[24]。

1.2.8　PACP-1a 的分子量测定　采用 HPGPC 测定 PACP-1a 的纯度和分子量[25]。用超纯水配制成浓度

为 2 mg/mL 的多糖溶液，8000 r/min 离心 10 min，过 0.22 μm 微孔滤膜，使用 HPGPC 串联柱进行检测。色谱条件：流动相：0.05 mol/L NaCl 溶液，进样量：20 μL，流速：0.6 mL/min，柱温：40 ℃，检测器：示差折光检测器。根据不同分子量的右旋糖酐（5000、8000、20000、50000、90000、350000 Da）为标准品绘制标准曲线（lgMw=−0.7902x+14.911，R^2=0.9952），计算 PACP-1a 的分子量。

1.2.9 PACP-1a 的单糖组成分析 采用 PMP 衍生化 HPLC 分析法进行 PACP-1a 的单糖组成分析[26]。称取多糖组分 5 mg，加入 2 mL 浓度为 2 mol/L 的三氟乙酸（TFA），110 ℃ 下水解 4 h，冷却后加入甲醇，减压蒸馏除去剩余的 TFA，加入双蒸水 500 μL，备用。取 200 μL 经过完全酸水解后得到的多糖产物，加入 PMP 试剂和 0.3 mol/L NaOH 各 200 μL，置于 70 ℃ 水浴中反应 1 h，取出冷却至室温。加入 0.3 mol/L HCl 溶液 200 μL 中和，混匀后再加入等体积的氯仿，充分振荡混匀后，离心，取上层，重复操作 4 次，取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜，供 HPLC 进样分析。标准品采用甘露糖（Man）、鼠李糖（Rha）、葡萄糖醛酸（GlcA）、半乳糖醛酸（GalA）、葡萄糖（Glu）、半乳糖（Gal）、木糖（Xyl）、阿拉伯糖（Ara）和岩藻糖（Fuc）九种单糖配制成标准品溶液。

色谱条件：色谱柱：ACQUITY UPLCTM HSS T3（100 mm×2.1 mm i.d.，1.8 μm）；流动相 0.05 mol/L 磷酸盐溶液∶乙腈=83∶17；流速：1.0 mL/min；柱温 40 ℃；检测波长：250 nm；进样量：10 μL。

1.2.10 PACP-1a 的红外光谱分析 取干燥后的 PACP-1a 组分 2 mg，加入少量干燥的 KBr 粉末，在研钵中充分研磨，经压片机压成薄片，用红外光谱仪在 4000~500 cm^{-1} 波长范围内进行扫描。

1.2.11 多糖三螺旋结构测定 将 PACP-1a 样品配制成浓度为 1 mg/mL 的多糖溶液，加入等体积刚果红（80 μmol/L）混匀。然后加入 NaOH 溶液，得到终浓度为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L 的 NaOH 溶液，反应 30 min。通过紫外分光光度计测定样品溶液在 400~600 nm 范围内的最大吸收波长[27]。

1.2.12 扫描电镜观察微观结构 将 PACP-1a 样品粉末附着在含有双面胶的导电碳膜上进行喷金处理。在 2 kV 加速电压下，用扫描电镜观察 200、500 和 1000 倍下 PACP-1a 样品的微观形貌。

1.2.13 体外降糖活性测定

1.2.13.1 α-淀粉酶的抑制作用 将 PACP-1a 配制浓度梯度为 6.4、3.2、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1 mg/mL 的样品溶液，备用。设定三组实验分别为样品组、空白组和对照组，样品组加入 1 mL α-淀粉酶和 0.5 mL 样品溶液，空白组加入 0.5 mL PBS 和 1 mL α-淀粉酶，对照组加入 1 mL PBS 和 0.5 mL 样品溶液，在 25 ℃ 孵育 10 min，加入 0.5 mL 1% 淀粉溶液 25 ℃ 孵育 10 min，再加入 1 mL 水杨酸（DNS）沸水浴 10 min，在 540 nm 处测定吸光度[28]。以阿卡波糖为阳性对照，计算 α-淀粉酶的抑制率公式如下：

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}(\%)=\left(1-\frac{A_2-A_1}{A_0}\right)\times 100 \quad \text{式（4）}$$

式中：A_0 为空白组的吸光度；A_1 为对照组的吸光度；A_2 为样品组的吸光度。

1.2.13.2 α-葡萄糖苷酶的抑制作用 同 1.2.13.1 项下制备样品溶液，备用。设定三组实验分别为样品组、空白组和对照组，样品组加入 0.8 mL PBS、0.2 mL α-葡萄糖苷酶和 0.1 mL 样品溶液，空白组加入 0.9 mL PBS 和 0.2 mL α-葡萄糖苷酶，对照组加入 1 mL PBS 和 0.1 mL 样品溶液，在 37 ℃ 孵育 10 min，然后加入 0.5 mL 对硝基苯酚-α-D-葡萄糖苷（pNPG）溶液 37 ℃ 孵育 10 min，然后再加入 1 mL Na_2CO_3 沸水浴 10 min，在波长 405 nm 处测定吸光度[29]。以阿卡波糖为阳性对照，计算 α-葡萄糖苷酶的抑制率如下：

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶}(\%)=\left(1-\frac{A_2-A_1}{A_0}\right)\times 100 \quad \text{式（5）}$$

式中：A_0 为空白组的吸光度；A_1 为对照组的吸光度；A_2 样品组的吸光度。

1.3 数据处理

每组数据进行 3 次平行试验，实验结果以平均值±标准差表示。利用 Design-Expert 8.0.6 软件进行实验设计，采用方差分析（ANOVA）对数据进行显著性分析，P<0.05 表示组间差异显著，P<0.01 表示组间差异极显著，并采用 Origin 2021 软件进行数据处理和图片绘制。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 提取温度对 PACP 得率的影响 由图 1A 知，随着提取温度的升高，PACP 的得率也不断升高，在 90 ℃ 时得率最高，而继续升高温度其得率开始下降。说明适当升高温度有利于 PACP 的提取，但温度过高会使多糖发生降解，内部结构被破坏，降低多糖得率[30]。所以，继续提升温度会降低 PACP 的得率，选取温度 80、90、100 ℃ 进行响应面试验。

2.1.2 液料比对 PACP 得率的影响 由图 1B 可知，PACP 的得率在液料比为 15∶1~35∶1 mL/g 之间处于上升趋势，这是由于溶剂用量的增加从而增加固液接触面积和质量浓度差，有利于扩散速度的提高。而液料比超过 35∶1 mL/g 时多糖得率降低，可能是多糖成分已被充分提取，溶出达到平衡，继续增大液料比使非多糖类成分溶出，反而使多糖浓度下降，还增加后期浓缩工作量，多糖损失量也随之增加，导致多糖得率下降[31]。当液料比为 35∶1 mL/g 时，多糖得率最高。因此选择 25∶1、35∶1、45∶1 mL/g 作为响应面设计的 3 水平。

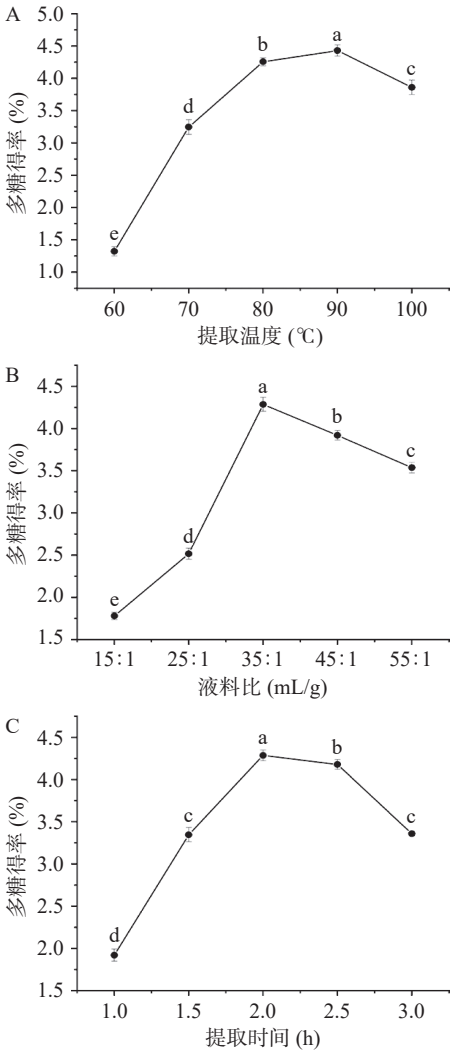


图 1　不同单因素条件下的 PACP 的提取效果

Fig.1　Extraction efficiency of PACP with different single factor conditions

注：图中不同小写字母(a~e)表示不同处理组之间差异显著(P<0.05)。

2.1.3　提取时间对 PACP 得率的影响　由图 1C 可知，随着提取时间的增加，PACP 的得率也处于上升趋势，在 2 h 达到最大值，这是由于提取时间的增加有利于多糖在溶剂中充分溶解；而提取时间超过 2 h 时，多糖得率下降，可能是多糖长时间处于高温中多糖降解，导致其得率下降[32]。因此选择 1.5、2、2.5 h 作为响应面试验的 3 个水平。

2.2　响应面试验

2.2.1　响应面设计的试验方案及结果　根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理，以提取温度(A)、液料比(B)、提取时间(C)为基础设计 3 因素 3 水平，共 17 组响应面试验分析。响应面设计的试验方案及结果见表 2。

对中心组合的实验结果进行回归分析，得到的二次多项回归方程：$Y=4.44+0.019A+0.27B+0.31C-0.0025AB-0.27AC-0.19BC-0.81A^2-0.81B^2-0.37C^2$。

由表 3 可知，模型的 P<0.0001，表明回归模型极其显著，失拟项 P 值为 0.0634 不显著。R^2=0.9885，R^2_{Adj}=0.9736，表明该模型可以解释 98.85% 的变化，可用于优化 PACP 的提取工艺。由显著性分析可知，除 A、AB、BC 外的其他因素 P 值均小于 0.01，说明这些条件极显著影响 PACP 的多糖得率。并且影响 PACP 得率大小次序为：提取时间(C)>液料比(B)>提取温度(A)。

表 2　响应面设计方案及结果

Table 2　Experimental design and results of response surface analysis

实验号	因素			多糖得率(%)
	A	B	C	
1	0	1	−1	3.34
2	1	1	0	3.01
3	1	−1	0	2.52
4	−1	−1	0	2.62
5	0	0	0	4.52
6	0	0	0	4.35
7	1	0	−1	3.37
8	−1	0	−1	2.65
9	0	1	1	3.73
10	1	0	1	3.32
11	0	0	0	4.48
12	−1	1	0	3.12
13	0	−1	−1	2.40
14	−1	0	1	3.68
15	0	0	0	4.39
16	0	−1	1	3.54
17	0	0	0	4.46

表 3　响应面试验结果方差分析

Table 3　Results of response surface experiment variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	8.55	9	0.95	66.59	<0.0001	**
A-提取温度	2.81×10^{-3}	1	2.81×10^{-3}	0.2	0.6705	
B-液料比	0.56	1	0.56	39.38	0.0004	**
C-提取时间	0.79	1	0.79	55.19	0.0001	**
AB	2.5×10^{-5}	1	2.5×10^{-5}	1.75×10^{-3}	0.9678	
AC	0.29	1	0.29	20.44	0.0027	**
BC	0.14	1	0.14	9.86	0.0164	*
A^2	2.76	1	2.76	193.62	<0.0001	**
B^2	2.78	1	2.78	194.82	<0.0001	**
C^2	0.59	1	0.59	41.5	0.0004	**
残差	0.1	7	0.014			
失拟项	0.081	3	0.027	5.68	0.0634	
纯误差	0.019	4	4.75×10^{-3}			
总变异	8.65	16				

注：*表示差异显著P<0.05；**表示差异极显著P<0.01。

2.2.2　各因素间交互作用　各因素的响应面见图 2。响应面的陡峭程度反映了各因素间的交互规律，图中料液比与提取温度等高线近似圆形，表明 AB 交互项不显著；其中提取温度和提取时间最近似椭圆，表明 AC 交互项极显著，与方差分析结果一致。

2.2.3　最佳提取工艺及验证试验结果　通过 Design-Expert8.0.6 软件得到优化后提取工艺条件：提取温

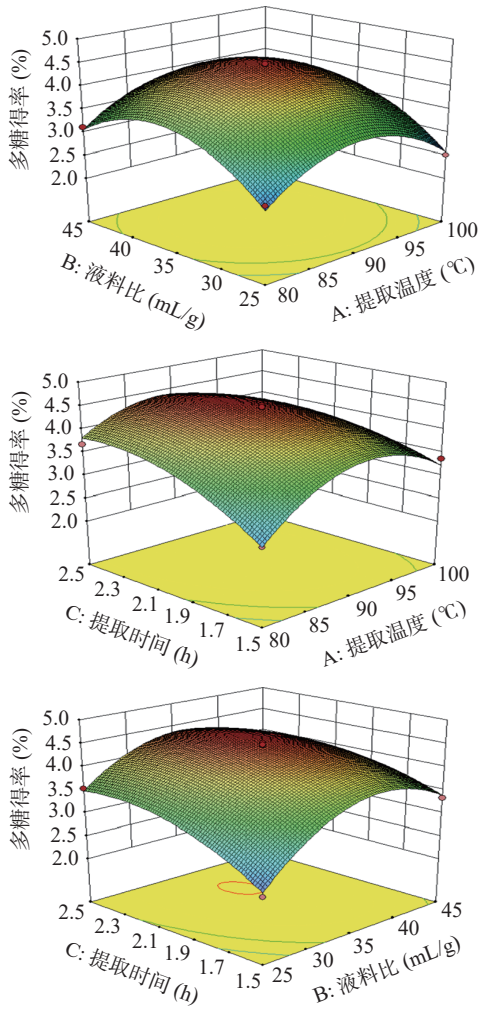


图 2　各因素交互作用对 PACP 得率影响的响应面图

Fig.2　Response surface of the interaction on extraction of PACP

度 89.44 ℃、液料比为 36.16∶1 mL/g、提取时间为 2.21 h，由此计算多糖得率为 4.52%。根据实际情况将条件调整为提取温度 90 ℃、液料比为 36∶1 mL/g、提取时间为 2.2 h。在该条件下重复三次试验，PACP 得率为 4.47%±0.13%，验证结果与预测值相近，说明该模型准确，优化 PACP 的工艺参数可靠。

2.3　PACP 分离纯化结果

PACP 经过除蛋白和脱色素后，在 DEAE-52 柱层析中通过蒸馏水，0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L 的 NaCl 溶液洗脱得到 PACP0（15.93%）、PACP1（17.12%）、PACP2（7.66%）、PACP3（11.99%）、PACP4（1.59%）五个洗脱峰，见图 3(a)。将五个组分通过 Sephadex G-100 柱层析进行洗脱，对 PACP0 组分分离得到两个洗脱峰，命名为 PACP-0a 和 PACP-0b，其余组分均得到一个洗脱峰，分别命名为 PACP-1a、PACP-2a、PACP-3a、PACP-4a，见图 3(b)~图 3(f)。

2.4　抗氧化活性测定结果

由于糖尿病会导致体内自由基过多，增强组织氧化应激，对机体造成氧化损伤[33]，而具有抗氧化活性的多糖可以通过减少氧化应激损伤降低糖尿病并发症，并提高胰岛素敏感性，其中 DPPH 和 ABTS$^+$是体外评价抗氧化能力较稳定的方法[34]，因此通过抗氧化活性测定结果，初步筛选锦灯笼宿萼多糖降糖活性组分。

2.4.1　DPPH 自由基清除能力测定结果　如图 4A 所示，6 个纯化多糖对 DPPH 自由基都有一定的清除能力，在浓度为 0.1~3.2 mg/mL 范围内，6 个纯化多糖对 DPPH 自由基的清除率不断增加，而

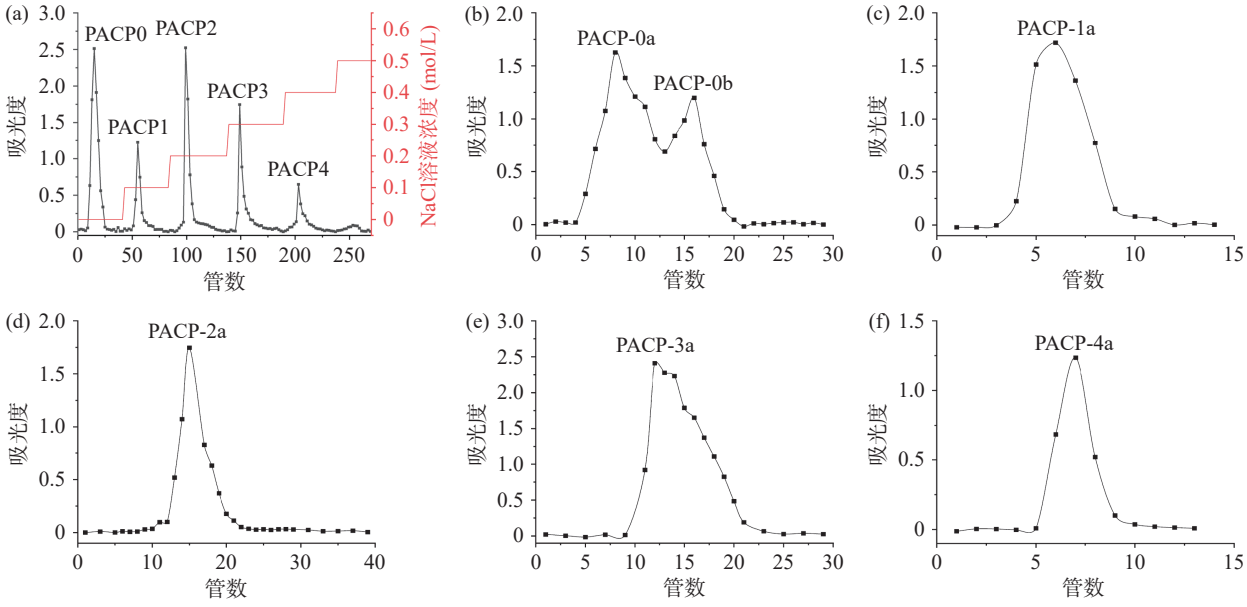


图 3　DEAE-52(a)和 SephadexG-100(b~f)柱层析洗脱曲线

Fig.3　Elution curves DEAE-52(a) and SephadexG-100 (b~f) column chromatography

注：(a) PACP0 为蒸馏水洗脱；PACP1 为 0.1 mol/L NaCl 洗脱；PACP2 为 0.2 mol/L NaCl 洗脱；PACP3 为 0.3 mol/L NaCl 洗脱；PACP4 为 0.4 mol/L NaCl 洗脱；(b)为 PACP-0a 和 PACP-0b 洗脱曲线；(c)为 PACP-1a 洗脱曲线；(d)为 PACP-2a 洗脱曲线；(e)为 PACP-3a 洗脱曲线；(f)为 PACP-4a 洗脱曲线。

PACP-1a 的清除能力明显高于其他组分，当浓度达到 3.2 mg/mL 时，清除率达到最大为 96.22%，其 IC_{50} 值为 0.26 mg/mL，表明 PACP-1a 有较强的清除 DPPH 自由基的能力。

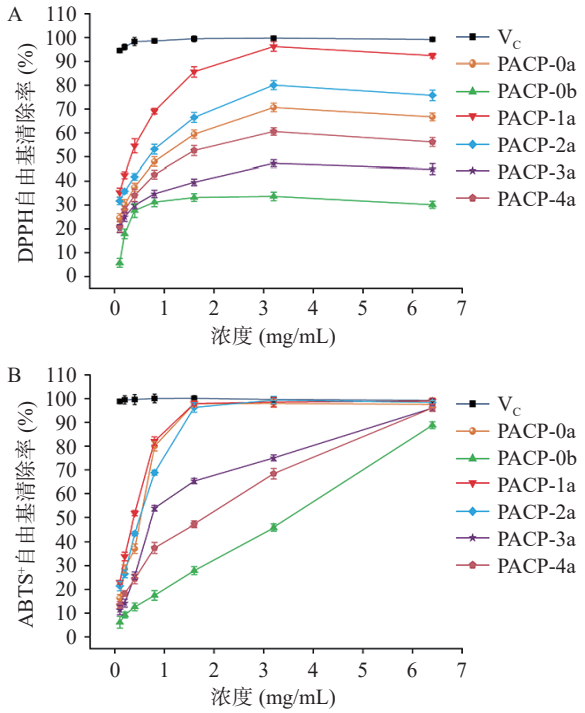


图 4　不同 PACP 组分的抗氧化能力

Fig.4　Antioxidant capacity of different PACP

2.4.2　$ABTS^+$自由基清除能力测定结果　如图 4B 所示，6 个纯化多糖都表现出了明显的 $ABTS^+$自由基清除能力，多糖在浓度为 0.1~6.4 mg/mL 范围内具有浓度依赖性，其 PACP-1a、PACP-0a 和 PACP-2a 的清除能力都明显强于其他三组分，而当浓度达到 6.4 mg/mL 时，PACP-1a 的清除率达到最大为 98.97%，其 IC_{50} 值为 0.31 mg/mL，表明 PACP-1a 多糖组分有较强的 $ABTS^+$自由基清除能力。根据以上抗氧化活性测定结果对抗氧化活性最好的 PACP-1a 组分进行结构表征及降糖活性评价。

2.5　PACP-1a 的化学成分分析

按照 1.2.6 项下方法测得 PACP-1a 的总糖含量、蛋白质含量和糖醛酸含量分别为 88.82%、1.29% 和 28.77%。

2.6　PACP-1a 紫外光谱分析结果

图 5 为 PACP-1a 的 UV 图，在 200 nm 左右出现最大吸收峰，为多糖的特征吸收峰。在 260 nm 处未出现吸收峰，表明 PACP-1a 不含有核酸；而在 280 nm 也未检测到吸收峰，可能与其蛋白质含量较低有关[35]。

2.7　PACP-1a 分子量测定结果

如图 6 所示，通过 HPGPC 测定 PACP-1a 组分为单一对称峰，表明 PACP-1a 为纯度较高的均一多糖，保留时间为 12.4928 min，代入葡聚糖标准曲线的

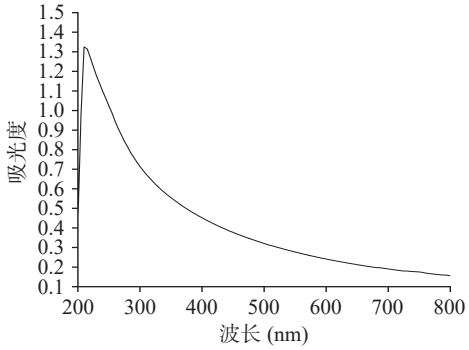


图 5　PACP-1a 的紫外全波长扫描结果

Fig.5　UV full wavelength scanning of PACP-1a

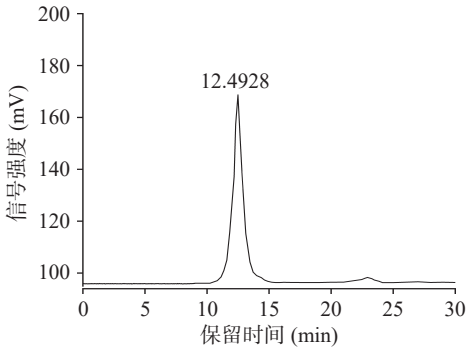


图 6　PACP-1a 的高效凝胶渗透色谱图

Fig.6　HPGPC diagram of PACP-1a

拟合方程，计算出的 PACP-1a 分子量（Mw）大小为 109443 Da。

2.8　PACP-1a 单糖组成分析结果

图 7A 为 9 种单糖标准品 HPLC 色谱图，PACP-

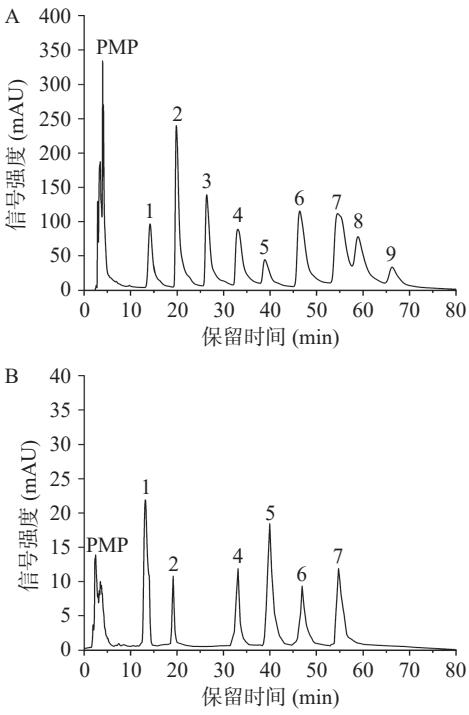


图 7　单糖标准品（A）和 PACP-1a（B）的高效液相色谱图

Fig.7　HPLC diagram of monosaccharide standards (A) and PACP-1a (B)

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

1a 的单糖组成色谱图如图 7B 所示，由甘露糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和木糖组成，根据峰面积得其摩尔比为 0.112∶0.025∶0.054∶0.122∶0.054∶0.102。其中甘露糖和葡萄糖为主要单糖。与陶硕[9]分离纯化得到四种多糖的单糖组成均不相同，其四种多糖均不含半乳糖，却都含有山梨糖成分，而形成该结果的原因可能是因为其锦灯笼宿萼的产地和提取条件不同。此外，葡萄糖和甘露糖作为 PACP-1a 的主要成分，可能在抗氧化活性中发挥了重要作用[36]。

2.9 PACP-1a 红外光谱分析结果

FT-IR 用于对多糖的糖苷键类型、官能团的类型以及糖环构型等进行分析[37]。如图 8 所示，PACP-1a 组分在 4000~400 cm^{-1} 范围内存在多糖类物质的典型特征吸收峰。其中，在 3435.17 cm^{-1} 处出现一个较宽的强吸收峰，这是多糖的 O-H 伸缩振动[38]。在 2929.83 cm^{-1} 处的吸收峰为 C-H 的伸缩振动峰[39]。在 1612.47 cm^{-1} 处的吸收峰是糖醛酸的 C=O 的伸缩振动峰[40]。在 1425.37 cm^{-1} 处附近的是 C-O 变角振动特征吸收峰[41]。在 1300~1000 cm^{-1} 之间出现的吸收峰是 C-O-C 的不对称伸缩振动，表明 PACP-1a 存在吡喃环结构[42]。在 896.89 cm^{-1} 处的吸收峰表明 β-糖苷键的存在[43]。由此推测 PACP-1a 为 β 型吡喃糖。

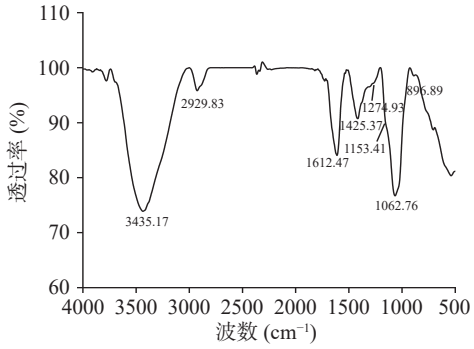


图 8 PACP-1a 的红外光谱图

Fig.8 Infrared spectra of PACP-1a

2.10 多糖三螺旋结构测定结果

多糖的三螺旋结构在弱碱条件下能与刚果红结合形成络合物，最大吸收波长发生红移[44]。如图 9 所示，PACP-1a 的最大吸收波长在 NaOH 浓度为 0~0.3 mol/L 时随着浓度的增加而发生红移，继续提高 NaOH 浓度，则最大吸收波长减小，三螺旋结构遭到破坏，表明 PACP-1a 存在三螺旋结构[45]。

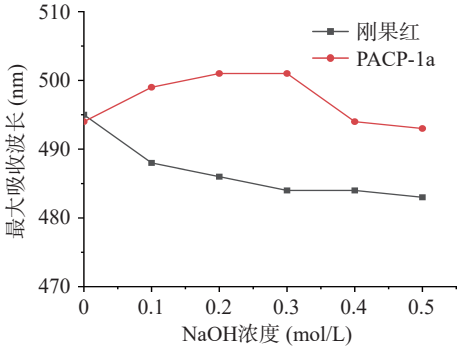


图 9 混合溶液最大吸收波长

Fig.9 Maximum absorption wavelength of mixed solution

2.11 扫描电镜结果

根据 SEM 的结果见图 10(a)，在 200 倍下 PACP-1a 多糖都为不规则片状，并且含有蜷缩状态；如图 10(b)所示，在 500 倍下，观察到表面褶皱，边缘存在毛刺样；如图 9(c)所示，在 1000 倍下观察到表面为有序条状脉络。其 PACP-1a 的不规则片状结构，可能是由于较高的糖醛酸含量增加了黏度，使三螺旋结构多糖聚合而成[46]。

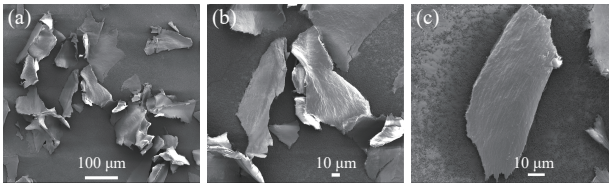


图 10 PACP-1a 的扫描电镜图

Fig.10 Scanning electron microscopy of PACP-1a

注：(a)200 倍；(b)500 倍；(c)1000 倍。

2.12 降糖活性结果

α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制剂被认为是治疗餐后高血糖的有效药物，且可以延缓糖尿病的发展进程及其并发症，包括糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变和神经病变等[47]。

2.12.1 PACP-1a 对 α-淀粉酶的抑制结果 PACP-1a 对 α-淀粉酶的抑制作用如图 11A 所示。结果表明，

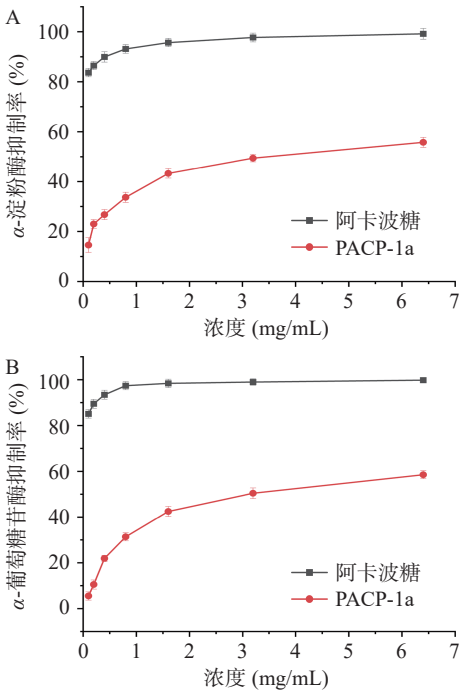


图 11 PACP-1a 对 α-淀粉酶(A)和 α-葡萄糖苷酶(B)的抑制作用

Fig.11 Inhibition of α-amylase (A) and α-glucosidase (B) by PACP-1a

在 0.1~6.4 mg/mL 试验浓度范围内，PACP-1a 多糖组分对 α-淀粉酶活性抑制随多糖浓度的升高而增大。当多糖浓度为 6.4 mg/mL 时，PACP-1a 组分对 α-淀粉酶的抑制率最高为 55.77%，其 IC_{50} 值为 3.42 mg/mL，低于李景恩等[48] 在南枣中分离的均一多糖组分（CAP-40）抑制 α-淀粉酶的 IC_{50} 值（8.351 mg/mL），从而表明 PACP-1a 对 α-淀粉酶具有良好的抑制作用。这可能与多糖的三螺旋结构有关，其含有三螺旋结构的多糖对 α-淀粉酶的抑制效果要强于不含有三螺旋结构的多糖[49]。

2.12.2　PACP-1a 对 α-葡萄糖苷酶的抑制结果　PACP-1a 对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用如图 11B 所示。结果表明，在 0.1~6.4 mg/mL 试验浓度范围内，PACP-1a 组分对 α-葡萄糖苷酶活性抑制呈现剂量依赖。当多糖浓度为 6.4 mg/mL 时，PACP-1a 组分对 α-淀粉酶的抑制能力最高为 58.51%，其 IC_{50} 值为 3.11 mg/mL。蔡舒等[50] 在南瓜籽中分离出了对 α-葡萄糖苷酶具有显著抑制作用的多糖成分 PSP-1-1，其 IC_{50} 值为 3.92 mg/mL，高于本研究 PACP-1a 的结果（3.11 mg/mL），从而表明锦灯笼宿萼多糖 PACP-1a 对 α-葡萄糖苷酶活性具有很好的抑制作用，表现了显著的降糖效果。

3　结论

本研究通过单因素实验和响应面试验优化得到锦灯笼宿萼多糖水提法的最佳工艺条件为：提取温度 90 ℃，液料比 36∶1 mL/g，提取时间 2.2 h，得率为 4.47%±0.13%，与理论值 4.52% 接近，表明该条件下溶液能与锦灯笼宿萼充分接触，破坏细胞壁提高多糖的溶出速度使多糖完全溶出，从而达到理想的提取效果，该提取条件相对可靠，对锦灯笼宿萼多糖的工业生产的工艺优化具有一定的参考价值。通过分离纯化得到一种含有三螺旋结构分子量（Mw）为 109443 Da 的均一多糖 PACP-1a，由甘露糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和木糖组成，其摩尔比为 0.112∶0.025∶0.054∶0.122∶0.054∶0.102，测定 PACP-1a 的糖含量、蛋白质含量和糖醛酸含量分别为 88.82%、1.29% 和 28.77%，对 DPPH 自由基和 $ABTS^+$ 自由基清除能力较强，其较强的抗氧化能力可能与其较高的糖醛酸含量有关，与 Qiao 等[51] 在黑莓中分离出的五种含有不同糖醛酸含量的多糖进行抗氧化活性对比得到的结果相同，其抗氧化能力最强的成分，糖醛酸含量也最高。红外光谱图中显示，PACP-1a 具有多糖特征吸收峰并含有 β 型吡喃糖。在体外降糖活性试验中，通过 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制试验显示 PACP-1a 具有良好的降糖活性，并且氧化应激也与糖尿病的发生发展有关，因此该多糖所表现出的良好的降糖活性可能与其较高的抗氧化活性有关[52]。

本研究对锦灯笼宿萼多糖的提取纯化、结构及降糖活性进行了研究，通过响应面优化得到了锦灯笼宿萼多糖的最佳提取工艺，为其进一步研究与开发提供了理论依据。并且通过抗氧化活性的初步筛选，考察其降糖活性，此研究为其在功能性食品和药品的开发和应用提供了科学依据和实验基础。虽然对锦灯笼宿萼多糖结构进行表征，但要确定其具体结构后续还需进行核磁解析，并采用动物或细胞实验进行活性研究。

© The Author(s) 2026. 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] TENG Y, GAO J, TAN T, et al. Chemical components and against alzheimer's disease effects of the calyxes of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii（Mast.）Makino[J]. Journal of Chemical Neuroanatomy, 2024, 136: 102390.

[2] 冯晓阳, 徐丹鸿, 杨迪, 等. 超声辅助热水浸提法制备锦灯笼果实多糖的研究[J]. 农产品加工, 2024(7): 17−19,23. [FENG X Y, XU D H, YANG D, et al. Study on the preparation of polysaccharides from the fruit of *Physalis alkekengi* L. var. Franchetii（Mast.）Makino by ultrasonic assisted hot water extraction[J]. Farm Products Processing, 2024(7): 17−19,23.]

[3] LIU Y R, WANG X, LI C X, et al. Research progress on the chemical components and pharmacological effects of *Physalis alkekengi* L. var. Franchetii（Mast.）Makino[J]. Heliyon, 2023, 9(12): e20030.

[4] ZHANG Y, WANG M H, LI P, et al. Hypoglycemic effect of polysaccharides from *Physalis alkekengi* L. in type 2 diabetes mellitus mice[J]. Biology（Basel）, 2024, 13(7): 496.

[5] YANG M R, ZHAO M T, XIA T Y, et al. *Physalis alkekengi* L. var. franchetii combined with hormone therapy for atopic dermatitis[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 162: 114622.

[6] ZHENG Y, BAI L, ZHOU Y P, et al. Polysaccharides from Chinese herbal medicine for anti-diabetes recent advances[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 121: 1240−1253.

[7] 许梦粤, 曾长立, 王红波. 药食同源植物多糖提取方法、结构解析和生物活性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(19): 216−224. [XU M Y, ZENG C L, WANG H B. Advances in extraction method, structural analysis and bioactivity of polysaccharides from medicinal and edible homologous plants[J]. Food Research and Development, 2023, 44(19): 216−224.]

[8] 赵宁, 韩著, 简颖琳, 等. 中药多糖结构表征及质量评价研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(21): 7491−7506. [ZHAO N, HAN Z, JIAN Y L, et al. Research progress on structural characterization and quality evaluation of traditional Chinese medicine polysaccharides[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(21): 7491−7506.]

[9] 陶硕. 锦灯笼宿萼多糖的分离纯化、结构分析及抗炎活性研究[D]. 吉林: 吉林化工学院, 2024. [TAO S. Study on the isolation, purification, structural characterization and anti-inflammatory effects of polysaccharides from calyx of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii（Mast.）Makino[D]. Jilin: Jilin Institute of Chemical Technology, 2024.]

[10] GUO Y, LI S J, LI J X, et al. Anti-hyperglycemic activity of polysaccharides from calyx of *Physalis alkekengi* var. franchetii

Makino on alloxan-induced mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 99: 249−257.
[11] 龙启福, 李向阳, 白芸. 锦灯笼高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中成药, 2010, 32(2): 179−181. [LONG Q F, LI X Y, BAI Y. Study on HPLC fingerprint of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii (Mast.) Makino[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2010, 32(2): 179−181.]
[12] 徐保利, 李先宽, 王冰. 不同产地对锦灯笼药材糖类成分的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(5): 988−991. [XU B L, LI X K, WANG B. Change for sugar composition in *Physalis* Calyx Seu Fructus from different areas[J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 41(5): 988−991.]
[13] CHEN P, SANG E, CHEN H, et al. Effects of different extraction temperatures on the structural characteristics and antioxidant activity of polysaccharides from dandelion leaves[J]. Int J Biol Macromol, 2024, 283(Pt 3): 137726.
[14] 储启明, 魏洪玲, 田叙晨, 等. 金花葵多糖提取工艺优化及结构表征和抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(8): 236−243. [CHU Q M, WEI H L, TIAN X C, et al. Optimization of extraction technology, structure characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Hibiseus manihot* L[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(8): 236−243.]
[15] 张轶斌, 刘鹏, 纪海玉, 等. 绿茶多糖提取工艺优化及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(20): 220−227. [ZHANG Y B, LIU P, JI H Y, et al. Extraction process optimization and antioxidant activity of green tea polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(20): 220−227.]
[16] CHEN G J, SUN M W, CHEN K W, et al. Ultrasonic-assisted decoloration of polysaccharides from seedless chestnut rose (*Rosa sterilis*) fruit: Insight into the impact of different macroporous resins on its structural characterization and *in vitro* hypoglycemic activity[J]. Foods, 2024, 13(9): 1349.
[17] LIN L, CHENG K, XIE Z, et al. Purification and characterization a polysaccharide from *Hedyotis diffusa* and its apoptosis inducing activity toward human lung cancer cell line A549[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 122: 64−71.
[18] 王远辉, 余晓宇. 铁棍山药多糖纯化及抗氧化活性[J]. 食品科技, 2018, 43(3): 165−172,180. [WANG Y H, YU X Y. Antioxidant activity and purification of polysaccharide from *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(3): 165−172,180.]
[19] 王萍, 郭金英, 王立博, 等. 香菜多糖的抗氧化及降血糖活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(1): 171−176. [WANG P, GUO J Y, WANG L B, et al. Antioxidant and hypoglycemic activity of polysaccharide extracted from cilantro[J]. China Food Additives, 2024, 35(1): 171−176.]
[20] 乔赛凤, 宋璐杉, 刘会平, 等. 积雪草多糖制备、结构表征及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(21): 1−9,32. [QIAO S F, SONG L S, LIU H P, et al. Preparation, structural characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Centella asiatica*(L.)Urban[J]. Food Research and Development, 2023, 44(21): 1−9,32.]
[21] 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 Nutrition, 2022, 9: 963318.
[22] SNYDER J C, DESBOROUGH S L. Rapid estimation of potato tuber total protein content with coomassie brilliant blue G-250[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1978, 52(3): 135−139.
[23] ZHAO M J, KUANG F Y, ZHANG Y Y, et al. Effects of hydrolysis condition and detection method on the monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources[J]. Separations, 2023, 11(1): 2.
[24] YANG X S, CHEN F, HUANG G L. Extraction and analysis of polysaccharide from *Momordica charantia*[J]. Industrial Crops and Products, 2020, 153: 112588.
[25] WANG X Y, SU Y Y, SU J Q, et al. Optimization of enzyme-assisted aqueous extraction of polysaccharide from *Acanthopanax senticosus* and comparison of physicochemical properties and bioactivities of polysaccharides with different molecular weights[J], Molecules. 2023, 28(18): 6585.
[26] YU M Q, XU G, QIN M, et al. Multiple fingerprints and spectrum-effect relationship of polysaccharides from *Saposhnikoviae Radix*[J]. Molecules, 2022, 27(16): 5278.
[27] 刘诗琪, 尧岚, 李荣春, 等. 金耳多糖的活性评价及其在化妆品中的应用[J]. 香料香精化妆品, 2024(4): 93−99. [LIU S Q, YAO L, LI R C, et al. Activity evaluation of polysaccharides from *Tremella Aurantialba* and its application in cosmetics[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2024(4): 93−99.]
[28] 李亚楠, 郭明珠, 邵娟娟, 等. 泥鳅黏液多糖的化学组成、理化性质及体外降糖活性[J]. 中国食品学报, 2023, 23(10): 51−62. [LI Y N, GUO M Z, SHAO J J, et al. Chemical composition, physicochemical properties and hypoglycemic activity *in vitro* of polysaccharide from Loach (*Paramisgurnus dabryanus*) Mucus[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(10): 51−62.]
[29] 刘晓飞, 马京求, 侯艳, 等. 发芽糙米多糖的结构解析及降糖活性分析[J]. 中国食品学报, 2021, 21(8): 265−274. [LIU X F, MA J Q, HOU Y, et al. Structure analysis and hypoglycemic activity of germinated brown rice polysaccharides[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(8): 265−274.]
[30] YANG D Y, YANG H S. The temperature dependent extraction of polysaccharides from eucheuma and the rheological synergistic effect in their mixtures with kappa carrageenan[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 129: 109515.
[31] CHEN Y X, CAI Y N, ZHAO Z M, et al. Optimization of extraction process, preliminary characterization and safety study of crude polysaccharides from *Morindae officinalis* Radix[J]. Foods, 2023, 12(8): 1590.
[32] ZHAO Y Y, CHEN X F, ZHAO Y N, et al. Optimization of extraction parameters of *Pleurotus eryngii* polysaccharides and evaluation of the hypolipidemic effect[J]. RSC Advances, 2020, 10(20): 11918−11928.
[33] JAYAPALA N, TORAGALL V, B. S. G K, et al. Preparation, characterization, radical scavenging property and antidiabetic potential of laminarioligosaccharides derived from laminarin[J]. Algal Research, 2022, 63: 102642.
[34] 高佳. 锦灯笼宿萼多糖的分离纯化及降糖活性研究[D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2024. [GAO J. Isolation, purification and hypoglycaemic activity of polysaccharides from the calyx of *Physalis alkekengi* L. var. franchetii (Mast.) Makino[D]. Jiamusi: Jiamusi University, 2024.]
[35] 胡鹏. 灵芝芽多糖和蛋白的分离纯化、结构表征及其生物活性研究[D]. 吉林: 吉林化工学院, 2024. [HU P. Isolation, purification, structural characterization and bioactivity of polysaccharides and proteins from *Ganoderma lucidum* bud[D]. Jilin: Jilin Institute of Chemical Technology, 2024.]
[36] WANG J, CHEN J L, YE S H, et al. Characterization of

structure and antioxidant activity of exopolysaccharides from endophytic *Lysinibacillus sphaericus* Ya6 under acid-base stress[J]. Journal of Molecular Structure, 2023, 1294: 136402.

[37] 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.

[38] WANG Y G, LI Y L, MA X Q, et al. Extraction, purification, and bioactivities analyses of polysaccharides from *Glycyrrhiza uralensis*[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 122: 596−608.

[39] WANG C F, HE Y X, TANG X Z, et al. Sulfation, structural analysis, and anticoagulant bioactivity of ginger polysaccharides[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(8): 2427−2434.

[40] MEI X Y, YANG W J, HUANG G L, et al. The antioxidant activities of balsam pear polysaccharide[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 142: 232−236.

[41] CHEN F, HUANG G L. Extraction, derivatization and antioxidant activity of bitter gourd polysaccharide[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 141: 14−20.

[42] ROZI P, ABUDUWAILI A, MA S J, et al. Isolations, characterizations and bioactivities of polysaccharides from the seeds of three species *Glycyrrhiza*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145: 364−371.

[43] 梁结桦, 杜冰. 蒸汽爆破茯苓多糖提取工艺优化[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(12): 73−77. [LIANG J H, DU B. Optimization of extraction process of *Poria cocos* polysaccharide bysteam explosion[J]. Cereals& Oils, 2021, 34(12): 73−77.]

[44] MA Y M, LIAO Z Y, KANG X Y, et al. Physicochemical properties, structural characterization, and *in vitro* binding capacity of polysaccharide fractions from the fruiting bodies of *Lentinula edodes*[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2024: 1-14.

[45] GENG X R, GUO D D, WU B, et al. Effects of different extraction methods on the physico-chemical characteristics and biological activities of polysaccharides from *Clitocybe squamulosa*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 259(Pt 2): 129234.

[46] WU J, MO J, XIANG W, et al. Immunoregulatory effects of *Tetrastigma hemsleyanum* polysaccharide via TLR4-mediated NF-κB and MAPK signaling pathways in RAW264.7 macrophages[J]. Biomed Pharmacothe, 2023, 161: 114471.

[47] KONG F S, QIN Y R, SU Z P, et al. Optimization of extraction of hypoglycemic ingredients from grape seeds and evaluation of α-glucosidase and α-amylase inhibitory effects *in vitro*[J]. Journal of Food Science, 2018, 83(5): 1422−1429.

[48] 李景恩, 董金娇, 谢美珍, 等. 南酸枣多糖的体外抗氧化、降血糖与降血脂作用[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(3): 59−66. [LI J E, DONG J J, XIE M Z, et al. The Antioxidant, hypoglycemic and hypolipidemic effects of polysaccharides from *Choerospondias axillaris in vitro*[J]. Food Research and Development, 2024, 45(3): 59−66.]

[49] 林烨欣, 阎光宇, 王雅茹, 等. 蛹虫草可溶性β-葡聚糖的分离纯化、结构表征及降血糖活性[J]. 食品工业科技, 2025, 46(2): 55−63. [LIN Y X, YAN G Y, WANG Y R, et al. Isolation and purification, structural characterization, hypoglycemic activity of soluble β-Glucan from Cordyceps chrysanthemi[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(2): 55−63.]

[50] 蔡舒, 钟诚, 黎敏姿, 等. 南瓜籽多糖的分离纯化及其体外降血糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2025, 46(9): 352−362. [CAI S, ZHONG C, LI M Z, et al. Isolation, purification, and *in vitro* hypoglycemic activity of Pumpkin Seed polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(9): 352−362.]

[51] QIAO Y B, YE Y, CAI T X, et al. Antioxidant activity and rheological properties of the polysaccharides isolated from *Ribes stenocarpum* maxim with different extraction methods[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 45(12): e16087.

[52] KHADRAWY S M, EL SAYED R A. Umbelliferone attenuates diabetic cardiomyopathy by suppression of JAK/STAT signaling pathway through amelioration of oxidative stress and inflammation in rats[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2023, 37(4): e23296.