杨琼杰, 郝怡宁, 金晓丽, 等. 动态高压微射流辅助提取对竹荪多糖结构和活性的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(5): 101−109. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020110

YANG Qiongjie, HAO Yining, JIN Xiaoli, et al. Effect of Dynamic High-pressure Microfluidization-assisted Extraction on the Structure and Bioactivity of Polysaccharides from *Dictyophora indusiata*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(5): 101−109. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020110

· 研究与探讨 ·

动态高压微射流辅助提取对竹荪多糖结构和活性的影响

杨琼杰[1,2,3], 郝怡宁[1,3], 金晓丽[4], 杨秀霞[4], 曲丽萍[1,3,4,*]

（1.云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司, 云南 昆明 650106;
2.上海贝泰妮生物科技有限公司, 上海 201702;
3.上海际研生物医药开发有限公司, 上海 201702;
4.云南特色植物提取实验室有限公司, 云南 昆明 650106）

摘　要: 为探究动态高压微射流（dynamic high-pressure microfluidization，DHPM）辅助技术对竹荪多糖结构和活性的影响，本研究系统地分析了 DHPM 处理后竹荪多糖的理化性质、分子量、单糖组成和红外光谱特征。通过 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基（1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl，DPPH·）、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸自由基（2,2'-azino-bis（3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid），$ABTS^{+}$·）、羟基自由基（·OH）清除能力、铁离子还原力（ferric ion reducing antioxidant power，FRAP）以及脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型，评价了竹荪多糖的抗氧化和抗炎特性。结果表明，DHPM 处理显著提高了竹荪多糖得率和总多糖含量，分别是未经过 DHPM 处理的 4.87 倍和 1.23 倍（$P<0.01$）；DHPM 还降低了竹荪多糖的重均分子量，同时极显著提高了单糖组成中葡萄糖的含量（$P<0.001$），但对多糖的主要结构无显著影响，均为含吡喃环结构多糖。此外，DHPM 处理增强了竹荪多糖对 DPPH·、$ABTS^{+}$·、·OH 的清除能力及铁离子还原力，并显著抑制了 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中白介素-6（interleukin-6，IL-6）和肿瘤坏死因子-α（tumour necrosis factor-alpha，TNF-α）的表达（$P<0.05$），展现出更强的抗氧化和抗炎活性。综上，DHPM 技术可显著提高竹荪多糖的得率、降低其分子量并增强其抗氧化和抗炎活性，为竹荪多糖的高效提取及功能化应用提供了重要的技术参考。

关键词: 动态高压微射流, 多糖, 竹荪, 结构, 抗氧化, 抗炎

中图分类号: TS201.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)05−0101−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020110

本文网刊:

Effect of Dynamic High-pressure Microfluidization-assisted Extraction on the Structure and Bioactivity of Polysaccharides from *Dictyophora indusiata*

YANG Qiongjie[1,2,3], HAO Yining[1,3], JIN Xiaoli[4], YANG Xiuxia[4], QU Liping[1,3,4,*]

（1.Yunnan Botanee Bio-technology Group Co., Ltd., Kunming 650106, China;
2.Shanghai Botanee Bio-technology Group Co., Ltd., Shanghai 201702, China;
3.Shanghai Jiyan Biomedical Development Co., Ltd., Shanghai 201702, China;
4.Yunnan Characteristic Plant Extraction Laboratory Co., Ltd., Kunming 650106, China）

Abstract: This study investigated the effects of dynamic high-pressure microfluidization (DHPM) on the structural characteristics and bioactivity of polysaccharides extracted from *Dictyophora indusiata* (DIP). The physicochemical

收稿日期: 2025−02−17

基金项目: 云南特色植物筛选与研发服务 CXO 平台建设（2022YKZY001）; 云南特色植物新原料自主研发及产业化（2023YKZY004）。

作者简介: 杨琼杰（1998−）, 女, 硕士, 研发工程师, 研究方向: 天然产物研究及应用开发, E-mail: yangqiongjie@botanee.com。

*** 通信作者:** 曲丽萍（1976−）, 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 天然产物研究与应用开发, E-mail: quliping@botanee.com。

properties, molecular weight, monosaccharide composition, and Fourier transform infrared (FTIR) spectral features of DIP were systematically analyzed following DHPM treatment. Antioxidant and anti-inflammatory activities were evaluated using DPPH·, $ABTS^{+}$·, and ·OH scavenging assays, ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), and an lipopolysaccharide-induced RAW264.7 macrophage inflammation model. Compared with the group that did not undergo DHPM treatment, DHPM treatment significantly increased the polysaccharide yield and total polysaccharide content, by 4.87-fold and 1.23-fold, respectively (P<0.01). It also markedly reduced the weight-average molecular weight and extremely significantly increased the glucose content in the monosaccharide composition (P<0.001), without altering the primary structure, which remained pyranose ring-based. Additionally, DHPM-treated DIP demonstrated enhanced antioxidant activity, including improved scavenging ability of DPPH·, $ABTS^{+}$·, and ·OH and greater ferric ion reducing power. The DHPM treatment also significantly downregulated IL-6 and TNF-α expression in LPS-stimulated RAW264.7 cells (P<0.05), indicating stronger anti-inflammatory activity. In conclusion, DHPM-assisted extraction effectively improves the yield and functional properties of DIP by reducing molecular weight and modifying monosaccharide composition. These findings provide valuable insights for optimizing the extraction and functional utilization of DIP.

Key words: dynamic high-pressure microfluidization; polysaccharide; *Dictyophora indusiata*; structure; antioxidant; anti-inflammatory

竹荪(*Dictyophora indusiata*),又称竹笙或网纱菌,属于鬼笔科真菌,广泛生长于竹林下,尤其是腐竹根部。因其美丽的菌裙,竹荪被誉为“雪裙仙子”和“山珍之花”[1]。其中,多糖是竹荪的主要活性成分之一,已被证明具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤和增强免疫等多种生物活性[2−3]。目前,竹荪多糖的常见提取方法包括热水浸提、超声辅助法和酸碱提取法等。然而,热水浸提法效率较低,超声辅助法可能会导致多糖降解,且酸碱提取法涉及有机试剂,不符合绿色循环经济的发展理念[4−5]。因此,寻找安全高效的竹荪多糖提取方法,对于竹荪在功能性食品和保健品开发中的应用具有重要意义。

动态高压微射流技术(dynamic high-pressure microfluidization, DHPM)是一种新兴的物理提取方法,通过瞬时高压下的强剪切力、撞击力和高频振动作用,破坏细胞壁,释放活性成分,同时高剪切力可剪断大分子链,改变分子的结构和质量,从而影响物料的理化性质和生物活性[6−7]。目前这一技术已被用于多糖的提取和改性,何雪梅等[8]利用动态超高压微射流辅助提取技术提高了滇黄精多糖的得率,同时增强了滇黄精多糖的抗氧化、降血糖活性。Huang 等[9]采用响应面法优化动态高压微射流辅助提取香菇多糖,显著提高了其抗氧化能力。综上,DHPM 在多糖提取方面极具应用潜力,但目前鲜见利用 DHPM 提取竹荪多糖的研究报道。

本研究采用 DHPM 技术作为辅助提取方法,通过对比 DHPM 与加热回流法提取的竹荪多糖在理化性质、结构特征及生物活性方面的差异,探讨 DHPM 技术对竹荪多糖提取效果的影响,为竹荪的高效开发与应用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

竹荪干品 品种为长裙竹荪,产地为云南省,存于中国昆明云南特色植物提取实验室有限公司标本室;DPPH·、L-抗坏血酸(维生素 C, vitamin C, V_C)、氢氧化钠、四硼酸钠、间羟基联苯 上海罗恩化学技术有限公司;D-半乳糖醛酸(galacturonic acid, GalA) 上海源叶生物科技有限公司;LPS、甲酸 美国 Sigma-Aldrich 公司;三氟乙酸 重庆川东化工有限公司;1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS, 0.01 mol/L, pH7.2~7.4)、乙腈(色谱纯)、地塞米松磷酸钠(dexamethasone sodium phosphate, DEX) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;溴化钾 广东光华科技股份有限公司;总抗氧化(T-AOC)能力($ABTS^{+}$·、·OH、FRAP 法)检测试剂盒 南京建成生物工程研究所;小鼠巨噬细胞 RAW264.7 株 中国科学院上海细胞库;Dulbecco's modification of eagle's medium(DMEM)培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS) 美国 Gibco 公司;细胞增殖与毒性检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8) 日本同仁化学研究所;一氧化氮(nitric oxide, NO)检测试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 碧云天生物科技有限公司;大鼠 TNF-α 酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒、大鼠 IL-6 ELISA 检测试剂盒 杭州联科生物技术股份有限公司;胰蛋白酶-EDTA(0.25%),含酚红 赛默飞世尔科技(中国)有限公司;实验用水为经 Milli-Q 纯化的超纯水,试剂均为分析纯。

MF110BP-EH 试验型微射流均质机 上海迈克孚生物科技有限公司;Multiskan FC 全波长酶标仪、Series 2 Water Jacketed CO_2 培养箱、Fresco 21 微量离心机 赛默飞世尔科技(中国)有限公司;IKA ETS-D5 加热数显磁力搅拌器 艾卡(广州)仪器设备有限公司(IKA 中国);XPR204S/AC 电子天平 梅特勒托利多科技(中国)有限公司;LyovaporL-200 冷冻干燥仪、R-300 旋转蒸发仪 步琦实验室设备贸易(上海)有限公司;Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪 美国安捷伦公司;lRTRACER-100

（CN220V）傅里叶变换红外光谱仪　岛津实验器材有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　竹荪粗多糖的提取

1.2.1.1　加热回流法提取竹荪多糖　称取 50 g 竹荪干样品进行粉碎至 100 目，按照 1∶30（g/mL）的料液比加入 1500 mL 超纯水，加热回流提取 2 h。过滤浓缩后，加入 4 倍体积的 95% 乙醇，在 4 ℃ 下醇沉 16 h。醇沉完成后，以 5000 r/min 转速离心 10 min，取沉淀溶解得到粗多糖溶液。接着，加入 2.0% 活性炭并搅拌，置于 50 ℃ 恒温水浴中吸附 50 min 以去除蛋白[10]。最后，溶液经离心、过滤并真空干燥，得到加热回流提取的竹荪多糖，记为 WDIP。

1.2.1.2　DHPM 辅助提取竹荪多糖　称取 50 g 竹荪干样品进行粉碎至 100 目，按照 1∶30（g/mL）的料液比加入超纯水，混合均匀。使用动态高压微射流均质机在 200 MPa、80 ℃ 条件下均质处理 20 min。处理后的料液继续进行加热回流提取 2 h，过滤后收集上清液，置于 60 ℃ 下减压浓缩至 300 mL。加入 4 倍体积的 95% 乙醇溶液，在 4 ℃ 下醇沉 16 h。醇沉结束后，使用 5000 r/min 离心 10 min，取沉淀并溶解得到粗多糖溶液。接着，加入 2.0% 活性炭，搅拌后在 50 ℃ 恒温水浴中吸附 50 min 以去除蛋白。最后，溶液经离心、过滤并真空干燥，得到 DHPM 辅助提取的竹荪多糖，记为 DDIP。

1.2.2　竹荪多糖的理化性质

1.2.2.1　竹荪多糖得率　参考许梦粤等[11] 的方法，计算多糖得率。得率按照公式（1）计算：

$$得率(\%)=\frac{M_1}{M}\times 100 \qquad 式（1）$$

式中：M_1 为冷冻干燥后的竹荪多糖的质量，g；M 为称取的竹荪原料的质量，g。

1.2.2.2　竹荪多糖中总多糖含量测定　采用苯酚-硫酸法对竹荪多糖中的总多糖含量进行测定[12−13]。

1.2.2.3　竹荪多糖中糖醛酸含量测定　间羟基联苯比色法用于测定糖醛酸含量，D-GalA 用于制作标准曲线[14]。精确量取标准品 D-GalA、1 mL 0.5 mg/mL 的样品溶液分别置于试管中，同时取纯水作空白对照，缓慢加入 6 mL 0.5 mg/mL 的硼酸盐硫酸溶液，混合均匀后，将试管置于沸水浴中孵育 4 min 后冷却至室温。随后，缓慢加入 80 μL 0.15 mg/mL 的间羟基联苯溶液，充分摇匀后，于室温下静置 5 min，并在 525 nm 波长处测定吸光度。以 D-GalA 浓度为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线，并求得线性回归方程 Y=3.585X+0.0187，R^2=0.9986，并根据该曲线计算样品中的糖醛酸含量。

1.2.2.4　竹荪多糖中蛋白质含量测定　采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白质含量。

1.2.3　竹荪多糖分子量的测定　参考王雅楠等[15] 的方法测定竹荪多糖的分子量。配制 2.0 mg/mL 的多糖溶液，过 0.22 μm 膜备用。高效凝胶色谱测定条件：色谱柱为 PL aquagel-OH 20、40、60（300 mm×7.5 mm，8 μm）串联，检测器为 G7162A 示差折光检测器，流动相为超纯水，流速为 1 mL/min，柱温为 35 ℃，进样量为 20 μL。通过标准曲线方程计算多糖的重均分子量（weight average molecular weight，Mw）和数均分子量（numerical mean molecular weight，Mn）。

1.2.4　竹荪多糖的红外光谱分析　称取 1 mg 竹荪多糖样品，分别与 200 mg 溴化钾充分混合，压制成光谱样品片。作为空白对照，使用溴化钾粉末压制成片，以去除溴化钾在红外光谱中的吸收影响[16]。将样品片分别置于傅里叶变换红外光谱仪下进行扫描，扫描范围为 4000~400 cm^{-1}，并收集红外光谱信号。

1.2.5　竹荪多糖的单糖组成测定　采用 PMP 柱前衍生化-高效液相色谱（high performance liquid chromatography，HPLC）法测定竹荪多糖的单糖组成[17]。向 1 mL 的 WDIP 和 DDIP 溶液（质量浓度为 10 mg/mL）中分别加入 2 mL 浓度为 2 mol/L 的三氟乙酸溶液，并在 110 ℃ 下水解 6 h，得到竹荪多糖的水解液。随后，取 1 mL 水解液、单糖标准溶液和混合标准溶液，分别加入到 5 mL 的离心管中。接下来，依次加入 0.5 mL 的 0.5 mol/L PMP 溶液和 0.5 mL 的 0.3 mol/L 氢氧化钠溶液，混合均匀后，将试管置于 70 ℃ 水浴中加热 30 min。水浴后冷却至室温，再加入 0.5 mL 的 0.3 mol/L 盐酸溶液，充分混合。然后，加入三氯甲烷进行三次重复萃取，萃取液经过 PMP 衍生反应后，使用 0.22 μm 膜过滤，准备进行色谱分析。高效液相色谱分析的条件：色谱柱为 ZORBAX SB-C18（4.6 mm×250 mm，5 μm）；检测器为紫外检测器，波长设置为 245 nm；流动相由 A（磷酸盐缓冲液，pH6.9，10 mmol/L）和 B（乙腈）组成，采用梯度洗脱：0 min，83% A；17 min，83% A；30 min，80% A；进样量为 3 μL，流速设定为 0.8 mL/min。

1.2.6　竹荪多糖的体外抗氧化活性测定

1.2.6.1　DPPH·清除能力测定　参考 Jang 等[18] 的检测方法并稍作修改。选用 V_C 作为阳性对照，同时设置样品组、样品对照组和空白组，将不同质量浓度的样品、V_C 溶液和 0.1 mg/mL 的 DPPH 溶液以 1∶1 的体积等比例混合，振荡摇匀后，在室温下避光反应 30 min，于波长 517 nm 处测定吸光度。DPPH·清除率计算公式如下：

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

式中：A_1 为测得样品组 OD 值；A_2 为测得样品对照组 OD 值；A_0 为测得空白组 OD 值。

1.2.6.2　$ABTS^+$·清除能力测定　根据 $ABTS^+$·清除能力测定试剂盒说明书进行操作。计算公式同（2）。

1.2.6.3　·OH 清除能力测定　根据·OH 清除能力测定试剂盒的说明书进行操作。计算公式同（2）。

1.2.6.4 FRAP 抗氧化检测 根据 FRAP 测定试剂盒的说明书进行操作。以阳性对照 V_C 浓度和吸光度值绘制标准曲线，并计算出样品的 FRAP 值。FRAP 值越高，表示多糖的抗氧化能力越强。

1.2.7 竹荪多糖的体外抗炎活性测定

1.2.7.1 竹荪多糖对 RAW264.7 细胞活力的影响 参考彭勃等[19] 的方法，采用 CCK-8 法测定两种竹荪多糖对 RAW264.7 细胞活力的影响。取对数生长期的细胞，胰酶消化后接种至 96 孔板，在培养箱中预培养 24 h。然后用质量浓度为 7.5、15、30、60、120 μg/mL 的多糖样品分别处理后，再次孵育 24 h。弃去原上清液，加入 100 μL DMEM 培养基和 10 μL CCK-8 混合溶液，置于 37 ℃ 孵育 2 h，在 450 nm 波长下测定吸光度。根据公式(3)计算 RAW264.7 细胞的活力：

$$\text{相对细胞活力}(\%) = \frac{A_s}{A_0} \times 100 \qquad \text{式（3）}$$

式中：A_s 为样品组 OD 值，A_0 为对照组 OD 值。

1.2.7.2 竹荪多糖对细胞中炎症因子的影响 将对数生长期的 RAW264.7 细胞接种于 24 孔板中，并在 37 ℃，5% CO_2 培养箱中孵育 24 h。以地塞米松磷酸钠（5 μmol/L）为阳性对照，设置空白对照组（negative control, NC）、LPS 模型组（model control, MC）、阳性对照组(DEX)及竹荪多糖 WDIP 和 DDIP 组。所有组别在 37 ℃，5% CO_2 培养箱中孵育 2 h。除 NC 组外，每孔加入 1 μg/mL LPS，在 37 ℃，5% CO_2 培养箱中再孵育 24 h。孵育结束后，2000 r/min 离心 5 min 收集细胞上清液。按照 NO 试剂盒和 ELISA 试剂盒的说明书检测 NO、IL-6、TNF-α 的表达水平。

1.3 数据处理

数据使用 Excel 和 GraphPad 8.0.2 进行绘图和分析。实验结果以三次重复实验的均值±标准差（mean±SD）表示。采用单因素方差分析和 T 检验法对样品间差异进行显著性分析，P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 DHPM 对竹荪多糖理化性质的影响

DHPM 辅助提取对竹荪多糖理化性质的影响结果如表 1 所示。与 WDIP 相比，DDIP 的得率显著提高（P<0.01），达到 18.07%±1.17%，是 WDIP 得率（3.71%±0.09%）的 4.87 倍，优于低温复合酶解竹荪多糖得率（9.77%）和超声辅助提取竹荪多糖得率（8.10%）[13,20]。此外，DDIP 的总多糖含量为 60.74%±1.04%，是 WDIP 多糖含量（49.56%±1.90%）的 1.23 倍，DDIP 的多糖含量显著高于 WDIP（P<0.01）。这可能是由于 DHPM 技术通过高剪切力、高撞击力和瞬时高压作用，加速了竹荪细胞壁的破裂，增加了细胞通透性，从而促使溶剂快速渗透，进而提高了多糖的溶出率[21−22]。DDIP 的糖醛酸含量略低于 WDIP，分别为 2.84%±0.13% 和 3.09%±0.15%，但二者之间的差异无统计学意义（P>0.05），表明 DHPM 辅助提取技术对多糖中糖醛酸的提取无显著影响。此外，DDIP 和 WDIP 中蛋白质含量差异极显著（P<0.001），经 DHPM 处理后，蛋白质含量从 18.34%±0.92% 降至 9.68%±0.90%。这一变化表明，DHPM 辅助提取技术能够有效降低竹荪多糖中的蛋白质含量，可能是由于高压引起蛋白质的变性或降解，或高速剪切力导致大分子蛋白裂解成小分子蛋白或多肽，在后续的纯化过程中，这些小分子物质更易被活性炭吸附[23]。

表 1 WDIP 和 DDIP 的理化指标测定

Table 1 Determination of physical and chemical indexes of WDIP and DDIP

多糖样品	得率（%）	总多糖含量（%）	糖醛酸含量（%）	蛋白质含量（%）
WDIP	3.71±0.09	49.56±1.90	3.09±0.15	18.34±0.92
DDIP	18.07±1.17**	60.74±1.04**	2.84±0.13ns	9.68±0.90***

注：*代表DDIP与WDIP比较，**P<0.01差异显著；***P<0.001差异极显著；ns表示无显著性差异，表3同。

2.2 DHPM 对竹荪多糖分子量的影响

多糖的分子量是决定其生物活性的关键因素，分子量分布均匀的多糖通常具有更好的溶解性、稳定性和生物活性[22]。通过 HPGPC 法测定两种多糖分子量分布，如表 2 所示，WDIP 的 Mw 为 46.88×10^6 Da，DDIP 的 Mw 为 2.42×10^5 Da，WDIP 的 Mw 是 DDIP 的 193 倍，表明 DHPM 处理显著降低了多糖的分子量。

表 2 WDIP 和 DDIP 的分子量分布

Table 2 Molecular weight distribution of WDIP and DDIP

多糖样品	重均分子量Mw（Da）	数均分子量Mn（Da）	PDI（Mw/Mn）
WDIP	46.88×10^6	11.72×10^5	40.0
DDIP	2.42×10^5	1.45×10^5	1.67

聚合物分散性指数（polymer dispersity index, PDI, Mw/Mn）反映了多糖分子量的分布宽度。PDI 越大，表示分子量分布越宽；PDI 越小，则分子量分布越集中[8]。如表 2 所示，WDIP 的 PDI 是 DDIP 的 23.95 倍，表明 DDIP 的分子量分布更均匀、更集中。以上结果表明，DHPM 技术通过其独特的高压机械剪切作用，有效地切断了竹荪多糖的长分子链和糖苷键，从而实现了多糖分子量的显著降低并使其分布更加均匀[24]。

2.3 DHPM 对竹荪多糖傅里叶变换红外光谱的影响

红外光谱分析是鉴定多糖分子结构和化学键的有效方法[25]。如图 1 所示，DHPM 处理对竹荪多糖的光谱峰形、特征峰吸收位置和数量均没有太大影响。3419.03 cm^{-1}（WDIP）和 3402.15 cm^{-1}（DDIP）处的宽吸收峰是糖分子-OH 的伸缩振动吸收峰，DHPM 处理前后的竹荪多糖都具有此糖类化合物的特征吸

收峰。2925.77 cm^{-1}（WDIP）和 2929.63 cm^{-1}（DDIP）处的吸收峰是受-CH_2 的 C-H 不对称伸缩振动的影响[26−27]。1635.50 cm^{-1}（WDIP）和 1636.95 cm^{-1}（DDIP）处的较强吸收峰归因于糖醛酸的 C=O 的拉伸振动。1131.16、1070.89、1039.06 cm^{-1}（WDIP）和 1147.55、1078.12、1035.21 cm^{-1}（DDIP）处的吸收峰归因于吡喃环的非对称环伸缩振动，表明两种多糖均含有吡喃环结构。综上可知，WDIP 和 DDIP 的红外光谱相似，说明 DHPM 辅助提取未破坏竹荪多糖的基本结构，这与 Wu 等[28] 的研究结果一致。

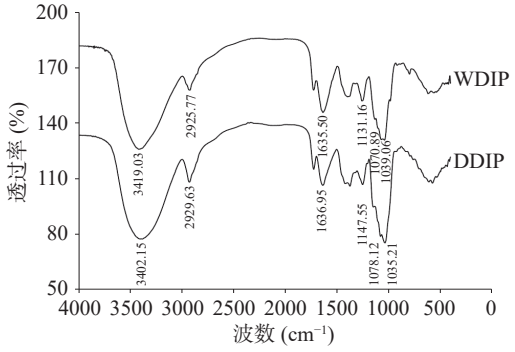


图 1　WDIP 和 DDIP 的傅里叶变换红外光谱图

Fig.1　Fourier transform infrared spectra of WDIP and DDIP

2.4　DHPM 对竹荪多糖单糖组成的影响

图 2 展示了 WDIP 和 DDIP 的单糖组成高效液相色谱图。DHPM 处理前后的两种竹荪多糖中，单糖的出峰顺序和种类相同，均由甘露糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、岩藻糖 5 种单糖构成，这与 Liao 等[29] 分离纯化得到竹荪多糖的单糖组成基本一致。然而，如表 3 所示，WDIP 和 DDIP 中各单糖的含量具有极显著差异（P<0.001）。WDIP 以甘露糖和葡萄糖为主，质量分数占比分别为 53.11%±0.02% 和 34.66%±0.09%；而 DDIP 中的葡萄糖含量最高，占比达到 74.75%±0.31%，甘露糖占比为 21.71%±0.02%。DHPM 辅助提取提高了竹荪多糖单糖组成中葡萄糖的含量，是加热回流提取的 2.16 倍，且降低了甘露糖的含量。此外，葡萄糖醛酸、半乳糖和岩藻

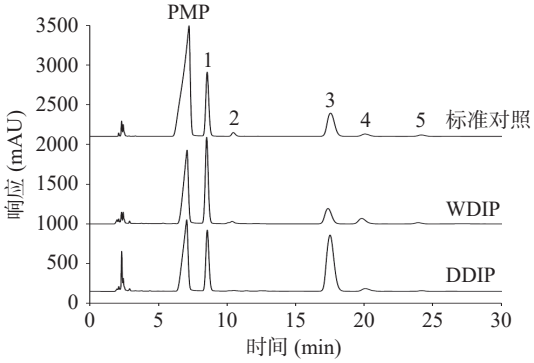


图 2　WDIP 和 DDIP 单糖组成的 HPLC 色谱图

Fig.2　HPLC chromatogram of WDIP and DDIP monosaccharides

注：峰 1~5 分别是：甘露糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、岩藻糖。

糖在两种多糖中的含量均较低。Wu 等[28] 比较了热水浸提、微波辅助、加压辅助、超声辅助等四种提取方法对竹荪多糖中单糖组成的影响，发现不同提取方法对竹荪多糖的单糖组成没有影响，但对其摩尔比有显著影响。综上，DHPM 处理改变了竹荪多糖中的单糖含量占比，但未影响其单糖种类。

表 3　WDIP 和 DDIP 的单糖组成

Table 3　Monosaccharide composition of WDIP and DDIP

多糖样品	甘露糖（%）	葡萄糖醛酸（%）	葡萄糖（%）	半乳糖（%）	岩藻糖（%）
WDIP	53.11±0.02	2.56±0.01	34.66±0.09	7.85±0.04	1.82±0.10
DDIP	21.71±0.02***	0.49±0.01***	74.75±0.31***	2.44±0.03***	0.61±0.07***

2.5　DHPM 对竹荪多糖体外抗氧化活性的影响

如图 3 所示，WDIP 和 DDIP 在 0.25~5 mg/mL 的质量浓度范围内，浓度越高，WDIP 和 DDIP 对 DPPH·清除能力越强，但其清除率低于相同浓度的 V_C。如表 4 所示，WDIP 清除 DPPH·的半抑制质量浓度（half maximal inhibitory concentration，IC_{50}）值为 4.30±0.33 mg/mL，DDIP 清除 DPPH·的 IC_{50} 值为 1.59±0.25 mg/mL，其中 DDIP 的清除效果显著优于 WDIP（P<0.05）。结果表明，DHPM 处理显著提高了竹荪多糖对 DPPH·的清除能力。

如图 3（B）所示，在 0.5~5 mg/mL 的质量浓度范围内，2 种竹荪多糖对 $ABTS^{+}$·均具有一定的清除效果，但清除能力远低于 V_C。质量浓度为 5 mg/mL 的 DDIP 对 $ABTS^{+}$·清除率为 13.41%±0.95%，WDIP 的清除率为 5.85%±0.01%。结果表明，DDIP 对 $ABTS^{+}$·的清除能力略高于 WDIP。

如图 3（C）所示，在 0.125~5 mg/mL 的质量浓度范围内，随着质量浓度的增大，DDIP 和 WDIP 对·OH 抑制率均呈现上升趋势，随后趋于平缓，与 V_C 接近。如表 4 所示，WDIP 清除·OH 的 IC_{50} 值为 1.70±0.03 mg/mL，DDIP 清除·OH 的 IC_{50} 值为 0.48±0.01 mg/mL，DDIP 对·OH 的抑制能力极显著优于 WDIP（P<0.001）。结果表明，DHPM 处理能够提高竹荪多糖对·OH 的抑制能力。

如图 3（D）所示，在 0.5~5 mg/mL 的质量浓度范围内，两种竹荪多糖均具有一定的铁离子还原力，但 FRAP 值远低于 V_C。DDIP 和 WDIP 对铁离子还原力的 FRAP 值分别为 0.85±0.01 mmol Fe^{2+}/g 和 0.32±0.02 mmol Fe^{2+}/g，FRAP 值越高，抗氧化能力越强，表明 DDIP 的铁离子还原力极显著高于 WDIP（P<0.001），具有更强的抗氧化能力。

多糖的抗氧化活性受到其结构特征、分子质量及化学组成等多种因素的共同影响。通常，分子量较小的多糖由于其较大的单糖比表面积，可提供更多潜在的活性位点，从而增强与自由基的反应能力，表现出更强的抗氧化性能[30−31]。Wang 等[32] 的研究表明，微波辅助提取获得的茯苓多糖 PCP-M（分子量为

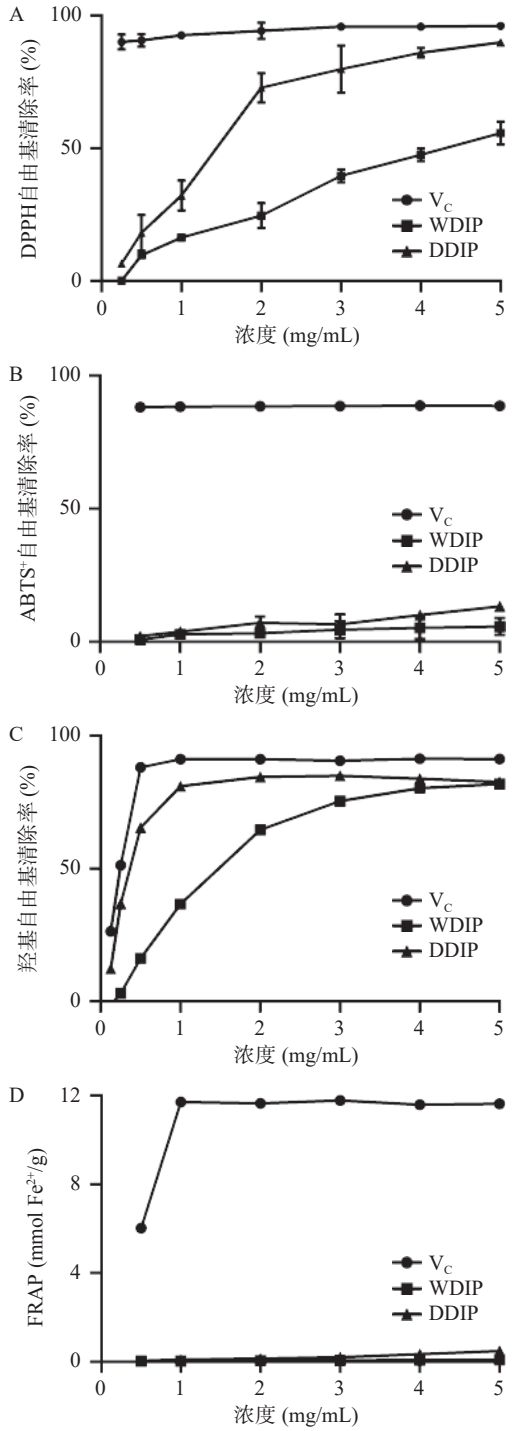


图 3 WDIP 和 DDIP 的体外抗氧化活性

Fig.3 Antioxidant activities of WDIP and DDIP *in vitro*

注：(A) WDIP 和 DDIP 对 DPPH 自由基清除能力；(B) WDIP 和 DDIP 对 $ABTS^{+}$自由基清除能力；(C) WDIP 和 DDIP 对羟基自由基清除能力；(D) WDIP 和 DDIP 对 FRAP 铁离子还原能力。

15.1 kDa)相较于加热提取的 PCP-H(分子量为 21.5 kDa)分子量降低约 29.8%，其自由基清除能力明显增强，进一步验证了低分子量多糖在抗氧化方面的优势。本研究结果显示，经 DHPM 处理后，竹荪多糖的分子量由 46.88×10^{6} Da 显著降低至 2.42×10^{5} Da，且其对 DPPH·、·OH 的清除能力以及铁离子还原力均显著增强($P<0.05$)，表明分子量的降低与抗氧化活性的增强具有密切关系，这与上述研究结论相一致。此外，单糖组成也是影响多糖抗氧化性能的重要因素之一。已有研究指出，葡萄糖作为常见的构成单糖，具有一定的清除自由基能力[33]。本研究中，DHPM 处理后竹荪多糖中葡萄糖的含量极显著升高($P<0.001$)，这可能是其抗氧化能力增强的又一重要原因。因此，DHPM 辅助提取可能通过降低竹荪多糖的分子质量、调节其单糖组成，协同提升其体外抗氧化活性。

表 4 WDIP 和 DDIP 的抗氧化效果

Table 4 Antioxidant activities of WDIP and DDIP

指标	WDIP	DDIP	V_C
DPPH· IC_{50} (mg/mL)	4.30±0.33	1.59±0.25*	0.00885
·OH IC_{50} (mg/mL)	1.70±0.03	0.48±0.01***	0.27±0.02
FRAP (mmol Fe^{2+}/g)	0.32±0.02	0.85±0.01***	11.87±0.24

注：*代表DDIP与WDIP比较，*$P<0.05$差异显著，***$P<0.001$差异极显著。

2.6 DHPM 处理的竹荪多糖对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型的影响

2.6.1 竹荪多糖对 RAW264.7 细胞活力的影响 使用 CCK-8 法测定竹荪多糖对 RAW264.7 细胞生长活力的影响。如图 4(A)所示，在质量浓度为 7.5~120 μg/mL 范围内，WDIP 和 DDIP 对 RAW264.7 细胞的存活率均高于正常对照组，表明两者在该浓度范围内对细胞无明显毒性，甚至表现出一定的促增殖作用。其中，在 30、60 和 120 μg/mL 时，竹荪多糖对细胞增殖表现为促进作用。类似结果亦见于陈慧珊[34]的研究，其发现长白山灵芝多糖在 25、50 和 100 μg/mL 浓度下能显著促进 RAW264.7 细胞增殖($P<0.001$)，且不影响细胞形态。结合本研究结果及相关文献参考，最终选取 120、60 和 30 μg/mL 作为竹荪多糖的高、中、低剂量组，开展后续抗炎实验。

2.6.2 竹荪多糖对 RAW264.7 细胞炎症因子的影响 NO、IL-6 和 TNF-α 是炎症反应的关键调节因子，是反映炎症程度的重要指标。在 RAW264.7 巨噬细胞受到 LPS 刺激后，诱导型一氧化氮合酶(iNOS)被激活，导致大量 NO 的产生，同时促进 IL-6 和 TNF-α 的转录和释放，进一步加剧炎症反应[35]。如图 4(B)、(C)、(D)所示，LPS 刺激后，NO、IL-6、TNF-α 的分泌量极显著增加($P<0.001$)，表示炎症模型构建成功。与模型组相比，WDIP 和 DDIP(120、60、30 μg/mL)对 NO 的抑制作用无显著性差异。然而，WDIP 和 DDIP(120、60、30 μg/mL)对 IL-6 的表达具有极显著抑制作用($P<0.001$)。在 120 μg/mL 质量浓度下，DDIP 和 WDIP 对 IL-6 的抑制率分别为 45.04%±0.02% 和 35.98%±0.05%，DDIP 的抑制效果优于 WDIP。此外，DDIP(120、60、30 μg/mL)显著下调 TNF-α 的表达($P<0.05$)，且 TNF-α 的表达随样品浓度的增加而呈剂量依赖性降低，而 WDIP(120、60、30 μg/mL)对 TNF-α 的表达无显著抑制作用。上述

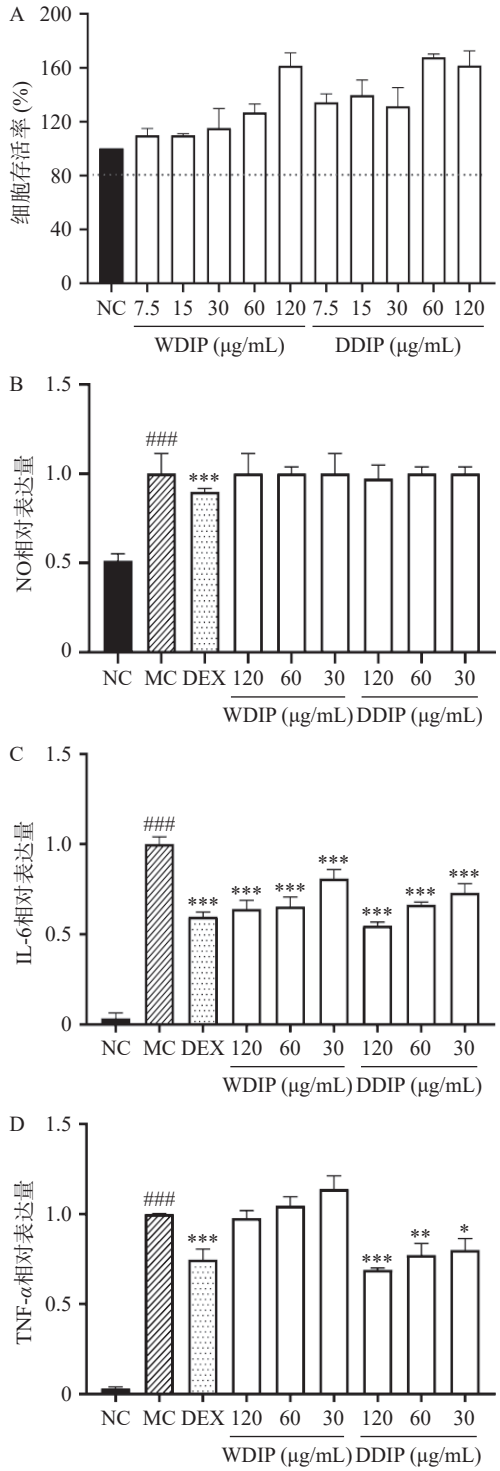


图 4　WDIP 和 DDIP 的体外抗炎活性

Fig.4　Anti-inflammatory activities of WDIP and DDIP *in vitro*

注：（A）WDIP 和 DDIP 对 RAW264.7 细胞活力的影响；（B）WDIP 和 DDIP 对 NO 分泌量的影响；（C）WDIP 和 DDIP 对 IL-6 表达量的影响；（D）WDIP 和 DDIP 对 TNF-α 表达量的影响。###P<0.001 表示与 NC 组对比，差异极显著；***P<0.001 表示与 MC 组对比，差异极显著，**P<0.01、*P<0.05 表示与 MC 组相比，差异显著。

结果表明，WDIP 和 DDIP 均表现出抗炎活性，其中 DDIP 具有更强的抗炎作用。

DHPM 辅助提取得到的竹荪多糖展现出较强的抗炎特性，这可能与其分子量降低所带来的结构变化密切相关。研究表明，较小分子量的多糖更易暴露原本掩藏的活性位点，或在剪切过程中生成具有新功能的小分子片段，从而增强其与免疫相关受体的结合能力，激活或调节炎症信号通路，提升其抗炎潜能[36]。Liu 等[37] 的研究发现经超声处理后灵芝 β-葡聚糖分子量显著下降，抑制促炎因子（TNF-α、IL-1β、IL-6）的能力显著增强，表明低分子量有助于提升多糖的抗炎活性。此外，DHPM 处理显著改变了竹荪多糖的单糖组成，特别是 DDIP 中葡萄糖含量显著提高（74.75%±0.31%），为 WDIP（34.66%±0.09%）的 2.16 倍。已有研究表明，葡萄糖是多糖中重要的结构单元之一，其比例的提高可能增强多糖与巨噬细胞表面受体（如 TLR4、Dectin-1）的相互作用，从而抑制下游 NF-κB 信号通路的激活，减少 TNF-α 和 IL-6 的释放[38]。Hao 等[39] 从霍山石斛中分离出高葡萄糖含量（95.46%）的中性均一多糖 NDHP-2-1，证实其可显著抑制 IL-6 和 TNF-α 的表达，具有良好的抗炎活性，进一步支持了高比例葡萄糖在多糖抗炎机制中的关键作用。

3　结论

本研究旨在探讨 DHPM 辅助提取对竹荪多糖的理化性质、结构特征及生物活性的影响。结果显示，与加热回流提取相比，DHPM 处理显著提高了竹荪多糖的得率和总多糖含量，同时降低了多糖的重均分子量，并改变了其单糖组成，但对多糖的主要结构无显著影响。此外，DHPM 辅助提取显著提高了竹荪多糖对 DPPH·、$ABTS^{+}$·、·OH 的清除能力及铁离子还原力，抑制了炎症因子 IL-6 和 TNF-α 的表达，增强其抗氧化和抗炎活性。综上，DHPM 技术为竹荪多糖的深入开发与利用提供了重要理论依据。未来研究应设计更系统的多因素实验，以深入解析 DHPM 各参数对多糖提取效率的影响，并进一步探讨竹荪多糖结构与生物活性之间的内在机制，为其优化提取和功能应用提供更坚实的科学依据。

© 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] HABTEMARIAM S. The Chemistry, pharmacology and therapeutic potential of the edible mushroom *Dictyophora indusiata* (Vent ex. Pers.) fischer (Synn. *Phallus indusiatus*)[J]. Biomedicines, 2019, 7(4): 98.

[2] ZHANG Z H, WANG L, ZHENG B D, et al. *In vitro* digestive properties of *Dictyophora indusiata* polysaccharide by steam explosion pretreatment methods[J]. International Journal of Biological Macromolecules: Structure, Function and Interactions, 2024, 265 (Pt.2): 131116.

[3] ZHANG Y F, XUN H, GAO Q, et al. Chemical constituents of the mushroom *Dictyophora indusiata* and their anti-inflammatory activities[J]. Molecules, 2023, 28(6): 2760.

[4] SUN Y J, HE H Q, WANG Q, et al. A review of development and utilization for edible fungal polysaccharides: Extraction, chemical characteristics, and bioactivities[J]. Polymers (Basel), 2022, 14(20): 4454.
[5] ZHANG Y L, LEI Y, QI S R, et al. Ultrasonic-microwave-assisted extraction for enhancing antioxidant activity of *Dictyophora indusiata* polysaccharides: The difference mechanisms between single and combined assisted extraction[J]. Ultrason Sonochem, 2023, 95: 106356.
[6] MARTÍNEZ-MONTEAGUDO S I, YAN B, BALASUBRAMANIAM V M. Engineering process characterization of high-pressure homog-enization-From laboratory to industrial scale[J]. Food Engineering Reviews, 2017, 9(3): 143−169.
[7] 张辰辰, 宋江峰, 刘元法, 等. 牛蒡根多糖动态高压微射流提取工艺优化及体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(12): 260−267. [ZHANG C C, SONG J F, LIU Y F, et al. Optimization of dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction of burdock root polysaccharide and its *in vitro* antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(12): 260−267.]
[8] 何雪梅, 岳健, 邱福荣, 等. 动态超高压微射流辅助提取对滇黄精多糖结构和活性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(19): 95−101. [HE X M, YUE J, QIU F R, et al. Effect of dynamic high-pressure microfluidization auxiliary extraction on the structure and activity of polysaccharides from *Polygonatum kingianum* Coll. Et Hemsl[J]. Food Science, 2022, 43(19): 95−101.]
[9] HUANG X, TU Z, JIANG Y, et al. Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of lentinan[J]. Int J Biol Macromol, 2012, 51(5): 926−932.
[10] 翁霞. 蓝莓多糖水提物脱蛋白工艺研究[J]. 中国农业科技导报, 2025, 27(4): 157−168. [WENG X. Study on deproteinization process of blueberry polysaccharides water extract[J]. Journal of Agricultural Science and Technology2025, 27(4): 157−168.]
[11] 许梦粤, 田鑫, 王君可, 等. 菜豆多糖与香菇多糖结构特征以及体外重要生物活性综合对比评价[J]. 食品科学, 2024, 45(23): 2318−2327. [XU M Y, TIAN X, WANG J K, et al. Comparative evaluation of structural characteristics and in vitro biological activities of polysaccharides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and those from shiitake mushroom (*Lentinus edodes*)[J]. Food Science, 2024, 45(23): 2318−2327.]
[12] CHEN F, HUANG G L. Antioxidant activity of polysaccharides from different sources of ginseng[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 125: 906−908.
[13] WU S H, GONG G L, WANG Y Y, et al. Response surface optimization of enzyme-assisted extraction polysaccharides from *Dictyophora indusiata*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 61: 63−8.
[14] 赵鹤鹏, 许秋达, 周鸿立. 玉米须多糖中糖醛酸含量的测定及抗氧化作用的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2017, 38(4): 81−85. [ZHAO H P, XU Q D, ZHOU H L. Determination of uronic acid in corn silk polysaccharides and its antioxidation activity[J]. Journal of Henan University of Technology(Natural Science Edition), 2017, 38(4): 81−85.]
[15] 王雅楠, 钱心燚, 雍一丹, 等. 蛹虫草子实体抗氧化多糖的分离纯化及结构表征[J]. 食品工业科技, 2025, 46(9): 31−40. [WANG Y N, QIAN X Y, YONG Y D, et al. Isolation, purification, and structural characterization of antioxidant polysaccharides isolated from the fruiting bodies of *Cordyceps militaris*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(9): 31−40.]
[16] CHEN H Y, ZENG J S, WANG B, et al. Structural characterization and antioxidant activities of *Bletilla striata* polysaccharide extracted by different methods[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 266: 118149.
[17] 黄子镕. 蒸汽爆破对海鲜菇多糖结构及其抗氧化活性影响的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2024. [HUANG Z R. Effect of steam explosion on the structure and antioxidant activity of polysaccharides from *Hypsizygus marmoreus*[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2024.]
[18] JANG H L, LICEAGA A M, YOON K Y. Purification, characterisation and stability of an antioxidant peptide derived from sandfish (*Arctoscopus japonicus*) protein hydrolysates[J]. Journal of Functional Foods, 2016, 20: 433−442.
[19] 彭勃, 虞世帅, 曲丽萍, 等. 云南酸木瓜提取物化学成分及抗氧化和抗炎活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 304−312. [PENG B, YU S S, QU L P, et al. Chemical constituents and antioxidant and anti-inflammatory activities of *Chaenomeles speciosa* (sweet) Nakai (from Yunnan) extract[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 304−312.]
[20] SUN L P, BAO C J, CHANG W D, et al. Preparation, characterisation, antioxidant and antiglycation activities of the novel polysaccharides from the pileus of *Dictyophora rubrovolvata*[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 52(1): 161−167.
[21] TU Z C, CHEN L L, WANG H, et al. Effect of fermentation and dynamic high pressure microfluidization on dietary fibre of soybean residue[J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(11): 3285−3292.
[22] ZHOU C C, HUANG Y Z, CHEN J L, et al. Effects of high-pressure homogenization extraction on the physicochemical properties and antioxidant activity of large-leaf yellow tea polysaccharide conjugates[J]. Process Biochemistry, 2022, 122: 87−94.
[23] 李安琪, 黄晓君, 聂少平, 等. 动态高压微射流处理对红芸豆多糖基本结构特征、流变性质和固体形貌的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(11): 97−103. [LI A Q, HUANG X J, NIE S P, et al. Effects of dynamic high pressure microfluidization treatment on basic structural characteristics, rheological properties and solid morphology of red kidney bean polysaccharide[J]. Food Science, 2020, 41(11): 97−103.]
[24] GUO Z W, HUANG Z X, GUO Y N, et al. Effects of high-pressure homogenization on structural and emulsifying properties of thermally soluble aggregated kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 119: 106835.
[25] 寇玉. 动态高压微射流技术对荷叶多糖提取、结构及抗氧化活性影响的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2013. [KOU Y. Influence of dynamic high-pressure microfluidization on extraction, structure and antioxidant activities of polysaccharides from *Lotus* leaf[D]. Nanchang: Nanchang University, 2013.]
[26] WANG W S, SONG X L, et al. Anti-hyperlipidemic, antioxidant and organic protection effects of acidic-extractable polysaccharides from *Dictyophora indusiata*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129: 281−292.
[27] GUO H, YUAN Q, FU Y, et al. Extraction optimization and effects of extraction methods on the chemical structures and antioxidant activities of polysaccharides from Snow Chrysanthemum (*Coreopsis tinctoria*)[J]. Polymers, 2019, 11(2): 215.
[28] WU D T, ZHAO Y X, GUO H, et al. Physicochemical and biological properties of polysaccharides from *Dictyophora indusiata* prepared by different extraction techniques[J]. Polymers (Basel),

2021, 13(14): 2357.
[29] LIAO W Z, LUO Z, LIU D, et al. Structure characterization of a novel polysaccharide from *Dictyophora indusiata* and its macrophage immunomodulatory activities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(2): 535−544.
[30] LIANG J, GUO S, ZHOU A, et al. Effect of high-pressure processing on the polysaccharides content and antioxidant activity of fresh *Dendrobium officinale* juice[J]. Journal of Food Biochemistry, 2018, 42(2): 12609.
[31] CHEN Y, ZHANG N, CHEN X P. Structurally modified polysaccharides: Physicochemical properties, biological activities, structure-activity relationship, and applications[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(7): 3259−3276.
[32] WANG N, ZHANG Y, WANG X, et al. Antioxidant property of water-soluble polysaccharides from *Poria cocos* wolf using different extraction methods[J]. International Journal Of Biological Macromolecules, 2016, 83: 103−110.
[33] ZHANG H, ZHAO H, ZHOU X, et al. Isolation and characterization of antioxidant polysaccharides (PKCP-D70-2-a and PKCP-D70-2-b) from the *Pinus koraiensis* pinecone[J]. RSC Advances, 2016, 6(112): 110706−110721.
[34] 陈慧珊. 长白山灵芝多糖对 Pg-LPS 刺激的巨噬细胞炎症介质表达的影响[D]. 长春: 吉林大学, 2022. [CHEN H S. Effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides from Changbai Mountain on the expression of inflammatory mediators in macrophages stimulated by Pg-LPS[D]. Changchun: Jilin University, 2022.]
[35] COLASANTI M, PERSICHINI T, MENEGAZZI M, et al. Induction of nitric oxide synthase mRNA expression. Suppression by exogenous nitric oxide[J]. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(45): 26731−26733.
[36] YAN J K, WANG Y Y, MA H L, et al. Ultrasonic effects on the degradation kinetics, preliminary characterization antioxidant activities of polysaccharides from *Phellinus linteus* mycelia[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016, 29: 251−257.
[37] LIU Y F, TANG Q J, FENG J, et al. Effects of molecular weight on intestinal anti-inflammatory activities of *β*-D-glucan from *Ganoderma lucidum*[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 29(90): 1028727.
[38] 吴宇. 红托竹荪多糖通过激活树突状细胞缓解环磷酰胺诱导的免疫抑制机制初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2023. [WU Y. Preliminary study on the mechanism of polysaccharide from *Dictyophora rubrovolvata* alleviating cyclophosphamide-induced immunosuppression by activating dendritic cells[D]. Nanchang: Nanchang University, 2023.]
[39] HAO K K, WANG Q J, WEI S X, et al. Structural characterization and anti-inflammatory activity of a neutral polysaccharide from *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng[J]. International Journal Of Biological Macromolecules, 2025, 302: 140339.