刘翌超, 杨晓华, 张华峰, 等. 滇黄精多糖组分 PKP84 的制备、表征及其对果蝇酒精依赖的干预效应 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(4): 107−114. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030099

LIU Yichao, YANG Xiaohua, ZHANG Huafeng, et al. Preparation, Characterization, and Effects of Fraction PKP84 of *Polygonatum kingianum* Polysaccharides on *Drosophila melanogaster* with Alcohol Dependence[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(4): 107−114. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030099

· 研究与探讨 ·

滇黄精多糖组分 PKP84 的制备、表征及其对果蝇酒精依赖的干预效应

刘翌超[1,2], 杨晓华[2], 张华峰[1,*], 杨嘉琪[1], 刘紫祺[1]

（1.陕西师范大学中俄食品与健康科学国际联合研究中心, 西北濒危药材资源开发国家工程实验室, 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119;
2.西安交通大学医学部, 陕西省富硒茶科技创新试验示范站, 陕西 西安 710061）

摘　要: 目的：分离纯化滇黄精多糖新组分 PKP84，分析其结构及对模式生物果蝇酒精依赖的干预效应。方法：采用水提醇沉法提取滇黄精多糖，经乙醇分级分离和 Sephadex G-100 凝胶柱层析等分离纯化得到多糖组分 PKP84，采用热重分析等研究其理化性质，采用圆二色谱、扫描电子显微镜、刚果红实验等进行结构表征，采用果蝇模型探究其对酒精依赖的干预效果。结果：PKP84 干预后，果蝇体内酒精含量显著降低（P<0.05），酒精偏好指数（alcohol preference index，PI）减小，干预 3 d 时 PI<0，过氧化氢酶等活力升高，丙二醛水平明显下降（P<0.01）。PKP84 由葡萄糖、半乳糖、木糖、鼠李糖 4 种单糖组成，分子量为 1.7×10^5 Da，在 212 nm 处有较强的正 Cotton 效应，在 198 nm 处有较弱的负 Cotton 效应，具有三螺旋体结构，微观形貌表现为多分支复杂立体结构，热失重主要集中在 214~390 ℃ 温度区间内，平均失重率约为 49%。结论：PKP84 能够逆转酒精依赖果蝇的酒精偏好性，改善氧化应激状态。本研究为滇黄精在酒精依赖干预中的应用提供了参考。

关键词: 滇黄精, 多糖组分 PKP84, 结构, 黑腹果蝇, 酒精依赖

中图分类号: TS202.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)04−0107−08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030099　　本文网刊:

Preparation, Characterization, and Effects of Fraction PKP84 of *Polygonatum kingianum* Polysaccharides on *Drosophila melanogaster* with Alcohol Dependence

LIU Yichao[1,2], YANG Xiaohua[2], ZHANG Huafeng[1,*], YANG Jiaqi[1], LIU Ziqi[1]

（1.College of Food Engineering and Nutritional Science, National Engineering Laboratory of Endangered Medicinal Materials Resources Development in Northwest China, International Joint Research Center of Shaanxi Province for Food and Health Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China;
2.Research Station of Selenium-Enriched Tea of Shaanxi Province, Health Science Center, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China）

Abstract: Objective: To separate and purify novel fraction PKP84 of *Polygonatum kingianum* polysaccharides, and to analyze its structure and effects on *Drosophila melanogaster* with alcohol dependence. Methods: Polysaccharides were extracted from *P. kingianum* using water decoction and ethanol precipitation. Fraction PKP84 was isolated using various methods, such as grading-alcoholic precipitation and Sephadex G-100 column chromatography. The physicochemical

收稿日期: 2025−03−10

基金项目: 国家“一带一路”创新人才项目（H20240725）; 陕西省重点研发计划项目（2022ZDYFJH-47, AK2022-NY-25, L2025-ZDKJ-ZDGG-ZYRGZN-010, 2024CY-JJQ-07, 2024SF-ZDCYL-03-12）; 云南省院士专家工作站项目（202305AF150118）。

作者简介: 刘翌超（1997−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 药食同源植物资源开发与利用, E-mail: 1253977415@qq.com。

*** 通信作者:** 张华峰（1975−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: isaacsau@sohu.com。

properties of PKP84 were analyzed using thermogravimetric analysis. The structural characteristics of PKP84 were identified using circular dichroism, scanning electron microscopy, and Congo red experiment. Results: Intervention with PKP84 significantly decreased alcohol levels (P<0.05) in *D. melanogaster* and reduced the alcohol preference index value to less than zero after 3 d. Moreover, PKP84 increased the activities of certain antioxidant enzymes, such as catalase, and notably decreased malondialdehyde levels (P<0.01). PKP84 had a triple helical structure composed of glucose, galactose, xylose, and rhamnose, and its molecular weight was 1.7×10^5 Da. There was a strong positive Cotton effect near 212 nm and a weak negative Cotton effect near 198 nm. The micromorphology of PKP84 was complex and multibranched. PKP84 thermally lost weight at the range of 214~390 ℃, and the average weight loss rate was approximately 49%. Conclusion: PKP84 reverses alcohol preference and alleviates oxidative stress in *D. melanogaster* with alcohol dependence. These findings support the potential application of *P. kingianum* in the prevention and treatment of alcohol dependence.

Key words: *Polygonatum kingianum*; fraction PKP84 of polysaccharides; structure; *Drosophila melanogaster*; alcohol dependence

我国的酒文化源远流长,但是长期过量饮酒可能对人体产生较大危害[1−3]。世界卫生组织《酒精与健康全球状况报告(Global Status Report on Alcohol and Health)》指出,全球每年因过量饮酒死亡的人数高达 330 万,致死率远高于结核病、糖尿病等慢性疾病[1−4]。酒精的过度摄入是人体肝脏、消化道、心血管与神经系统等多系统、多脏器发病的重要诱因,其中神经、精神类疾病的发病率和危害性居于前列[1]。据统计,我国人群酒精依赖的年发生率约为 0.7%,其中男性发生率远高于女性[5]。酒精依赖是一种连续或周期性发作的慢性、易复发性、酒精性神经损伤,其发生机制可能是长期反复饮酒造成大脑动机环路系统失衡,进而造成学习、记忆衰退以及躯体功能障碍[6−7]。传统的药食同源植物在酒精依赖、中毒防治中具有重要用途[3]。研究药食同源植物活性物质对酒精依赖的干预效应,开发新型保健食品或特殊医学用途配方食品,对于消除过度饮酒危害具有一定的现实意义。

百合科(Liliaceae)黄精属(*Polygonatum*)植物滇黄精(大黄精,*Polygonatum kingianum*)、黄精(鸡头黄精,*Polygonatum sibiricum*)、多花黄精(姜形黄精,*Polygonatum cyrtonema*)是我国重要的药食同源植物,被国家卫生部(现国家卫生健康委员会)许可为“既是食品又是药品的物品”,在食品特别是保健食品和特殊医学用途配方食品领域中具有重要用途[8−9]。多糖是黄精等药食同源植物的重要活性成分[8,10]。Chen 等[11] 采用乙醇分级分离技术从化橘红中制备得到了 3 个多糖组分,发现其 α-葡萄糖苷酶抑制活性和自由基清除能力存在较大差异。Zheng[12] 研究发现,鸡头黄精多糖(*Polygonatum sibiricum* polysaccharides)能够明显提升大鼠的学习记忆能力。本实验室发现,滇黄精多糖(*Polygonatum kingianum* polysaccharides, PKP)具有显著的降血糖活性,在此基础上研制出了新型辅助降血糖功能性食品[8,13]。总体上看,目前对鸡头黄精多糖的研究较多,而对滇黄精多糖的研究相对较少,鲜见关于滇黄精多糖干预酒精中毒或酒精依赖的研究报道。黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)是生物医药研究的重要动物模型,其遗传背景清晰,具有大量与人类疾病基因相对应的核酸序列,并且常在富含酒精的发酵基质(培养基)中活动,是天然的酒精暴露生物,比啮齿类动物更适于作为酒精依赖动物模型[14−16]。鉴于此,本研究采用水提醇沉法提取得到滇黄精总多糖,经乙醇分级分离和 Sephadex G-100 凝胶柱层析等分离纯化到多糖新组分 PKP84,采用果蝇模型探究 PKP84 对酒精依赖的干预效果,应用热重分析(TGA)等方法分析 PKP84 的理化性质,并应用圆二色谱(CD)、扫描电子显微镜(SEM)、刚果红实验等技术进行结构表征,旨在为滇黄精保健食品或特殊医学用途配方食品的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜滇黄精　由云南省澜沧澎勃生物药业公司提供,经鉴定为百合科黄精属植物滇黄精的根茎;黑腹果蝇　由陕西师范大学生命科学学院提供,培养于温度(24±1)℃、相对湿度 70% 的恒温恒湿培养箱;薄层层析硅胶板 G　青岛海洋化工公司;酵母提取物　美国 Sigma 公司;蔗糖　天力公司;盐酸纳洛酮(纯度≥99%)　上海麦克林公司;乙醇含量检测试剂盒　北京索莱宝公司;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醇(MDA)检测试剂盒　南京建成生工研究所;环标毛细管(内径 1.35 mm)　德国 Hirschmann 公司;葡萄糖(纯度≥98%)、鼠李糖(纯度≥98%)、木糖(纯度≥98%)、半乳糖(纯度≥98%)标准品、氯仿、无水乙醇等　西安市欣维瑞化学仪器站。

FDU-1200 真空冷冻干燥机　日本 Tokyo Rikakikai 公司;Q1000DSC+LNCS+FACS Q600SDT 热分析系统　美国 TA 公司;T9CS 双光束紫外分光光度计　北京普析通用公司;S-3400N 扫描电子显微镜　日本 Hitachi 公司;Chirascan 圆二色光谱仪　英国 Applied Photophysics 公司;5804R 高速冷冻离心机　德国 Eppendorf 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 滇黄精多糖的提取、纯化与分级分离　将新

鲜滇黄精根茎清洗、切片、干燥后粉碎成 80(目)粉末，以蒸馏水为提取剂，在固液比为 1∶20(m/V)条件下沸水浴提取 60 min，过滤后收集滤液，滤渣再重复提取 2 次，合并滤液，浓缩至原体积的 1/4，再按 1∶5(V/V)体积比加入无水乙醇，在 4 ℃ 沉淀 24 h，离心后收集沉淀，用 Sevage 法除去其中的蛋白质杂质，冷冻干燥后制得 PKP 样品[17−19]。将 PKP 样品复溶于蒸馏水中，用体积分数为 42%、63%、84%(终浓度)的梯度乙醇溶液进行分级分离[19]，得到 3 种粗分级样品。用 Sephadex G-100 凝胶柱层析方法对粗分级样品进行纯化(上样浓度为 5.0 mg·mL^{-1})，收集单一洗脱峰流出液[19]，冻干后得到分子量不同的 3 种多糖新组分：PKP42、PKP63、PKP84。

1.2.2　动物实验

1.2.2.1　酒精依赖模型的建立与分组处理　采用毛细管饲喂双选法建立果蝇酒精依赖模型[20−21]。取 1~3 日龄的成熟雄性果蝇，随机放入毛细管饲喂舱(每舱 10 只)，采用液体培养基(培养液)饲喂(表 1)，果蝇可通过毛细管自行选择含酒精培养液或无酒精培养液进食，24 h 后更换毛细管并记录培养液消耗量，持续 7 d 后建立果蝇酒精依赖模型[20−21]。自第 8 d 起，将果蝇随机分为 6 组：正常组、酒精暴露组(AcE 组)、阳性对照组(盐酸纳洛酮组，NaX 组)、滇黄精多糖 PKP42 组分干预组(PKP42 组)、滇黄精多糖 PKP63 组分干预组(PKP63 组)、滇黄精多糖 PKP84 组分干预组(PKP84 组)，持续饲喂 7 d。按照下列公式计算酒精偏好值(酒精偏好指数)：

$$PI = (V_e - V_{ne})/V_t$$

式中，PI 为酒精偏好指数；V_e 为含酒精培养液消耗量；V_{ne} 为无酒精培养液消耗量；V_t 为含酒精培养液和无酒精培养液消耗总量。

1.2.2.2　样本收集与酒精含量测定　酒精依赖干预实验结束后，参照 Yang 等[16] 的方法收集果蝇样本，测定其体内酒精含量。

1.2.2.3　抗氧化酶与丙二醛分析　依照试剂盒说明书方法测定果蝇样本的 SOD、CAT 活力以及 MDA 含量。

1.2.3　多糖定性分析

1.2.3.1　Molish 实验　参照 Yang 等[22] 的方法进行 Molish 实验，分别以葡萄糖溶液(0.01 g·mL^{-1})和蒸馏水作为阳性和阴性对照，观察 PKP84 样品溶液的颜色变化。

1.2.3.2　碘-碘化钾实验　参照文献 [19,23] 报道的方法进行 I_2-KI 实验，以淀粉溶液和蒸馏水分别作为阳性和阴性对照，观察 PKP84 样品溶液的颜色变化。

1.2.3.3　Fehling 实验　参照 Liang 等[24] 的方法进行 Fehling 实验，分别以葡萄糖溶液(0.05 g·mL^{-1})和蒸馏水作为阳性和阴性对照，观察 PKP84 样品溶液的颜色变化。

1.2.3.4　单糖组成分析　参照 Qi 等[25] 的方法分析 PKP84 的单糖组成。称取 PKP84 样品，用 2 mol·L^{-1} 三氟乙酸在 100 ℃ 水浴中酸解，再用 NaOH 溶液中和，制备样品待测液。用薄层硅胶板对样品待测液与单糖标准品溶液进行色谱分离，展开剂为乙酸乙酯-吡啶-无水乙醇-水体系，显色剂为苯胺-二苯胺-磷酸体系，显色温度为 110 ℃，显色时间为 3 min。

1.2.3.5　分子量测定　使用内径 0.55 mm 的乌氏黏度计测定黏均分子量(温度为 25 ℃)，将 PKP84 的比浓黏度对应梯度浓度进行绘图[19,26]，根据 Mark-Houwink-Sakurada 方程算出分子量[19]。

1.2.3.6　热重分析　在 N_2 为保护气、升温速率为 10 ℃·min^{-1}、温度由 30 ℃ 升至 700 ℃ 的条件下，测定 PKP84 的重量变化[8]。

1.2.4　光谱分析与结构表征

1.2.4.1　紫外光谱(UV)　使用蒸馏水溶解适量多糖组分 PKP84，于 190~400 nm 波长区间内进行光谱扫描[22]。

1.2.4.2　圆二色谱　将 PKP84 溶于蒸馏水中，于 190~300 nm 波长区间内进行圆二色谱分析[27]。

1.2.4.3　刚果红实验　取 1.0 mL 的 PKP84 溶液(1.0 mg·mL^{-1})与 2.0 mL 的刚果红溶液(2.0 mmol·L^{-1})混匀，按比例加入 NaOH 溶液(1.0 mol·L^{-1})使其终浓度分别为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol·L^{-1}，静置 30 min 后在 300~800 nm 波长区间内扫描，以蒸馏水为空白对照(对照水)[18]。

1.2.4.4　扫描电子显微镜观察　取适量 PKP84 样品均匀粘附于导电胶上，将导电胶放置在样品台上，喷金 3 min 后取出，用电子显微镜观察其微观形貌[28]。

1.3　数据处理

使用 Microsoft Excel 软件录入并计算实验数据，使用 GraphPad Prism 等软件绘图，使用 SPSS 软件进行数据分析，使用 TA Instruments Universal Analysis 软件进行 TGA 数据处理，使用 Chirascan 软件进行

表 1　果蝇液体培养基成分

Table 1　Composition of liquid medium for *Drosophila melanogaster*

培养液	建模期	样品干预期
无酒精培养液	0.05 g·mL^{-1}蔗糖，0.05 g·mL^{-1}酵母提取物，蒸馏水	0.05 g·mL^{-1}蔗糖，0.05 g·mL^{-1}酵母提取物，蒸馏水，样品溶液(0.25 mg·mL^{-1}的盐酸纳洛酮或者1.0 mg·mL^{-1}的PKP42、PKP63或PKP84)
含酒精培养液	0.05 g·mL^{-1}蔗糖，0.05 g·mL^{-1}酵母提取物，15.0%(V/V)酒精、蒸馏水	0.05 g·mL^{-1}蔗糖，0.05 g·mL^{-1}酵母提取物，15.0%(V/V)酒精，蒸馏水，样品溶液(0.25 mg·mL^{-1}的盐酸纳洛酮或者1.0 mg·mL^{-1}的PKP42、PKP63或PKP84)

CD 数据处理。在显著性分析中，$P<0.05$、$P<0.01$ 和 $P>0.05$ 分别表示显著、极显著和不显著。

2 结果与分析

2.1 滇黄精多糖组分 PKP84 对酒精依赖果蝇的效应

2.1.1 PKP84 对果蝇酒精偏好性的影响 由表 2 可知，果蝇在酒精暴露期间，无酒精培养液的消耗量自第 4 d 起不断减少（$P<0.05$），而含酒精培养液的消耗量呈现出逐渐增加的趋势。第 1~3 d 的含酒精培养液消耗量显著增加（$P<0.05$），第 4 d 后增速减缓。第 1~7 d 的酒精偏好指数也呈现出不断增加的趋势，除第 1 d 接近 0 外，其余 6 d 均大于 0.1，第 7 d 时接近 0.3，说明果蝇的酒精偏好性随着时间的延长不断加强，所建酒精依赖模型符合要求[20−21]。由图 1 可见，3 种滇黄精多糖组分（PKP42、PKP63、PKP84）干预后，PI 均有所下降。其中，PKP42 干预后，果蝇的 PI 虽然略有下降，但是第 1 d 到第 7 d 的 PI>0（图 1A），提示 PKP42 不能完全逆转果蝇酒精依赖；PKP63 干预 6 d 后，PI<0（图 1B），提示 PKP63 能在一定程度上逆转果蝇酒精依赖；PKP84 干预 3 d 后，PI<0（图 1C），提示 PKP84 能够较好地逆转果蝇酒精依赖。由图 1 还可看出，在 3 种多糖组分中，PKP84 对酒精偏好性的逆转效果与盐酸纳洛酮最为接近。综上，PKP84 对果蝇酒精偏好性的逆转效果优于 PKP63 和 PKP42。

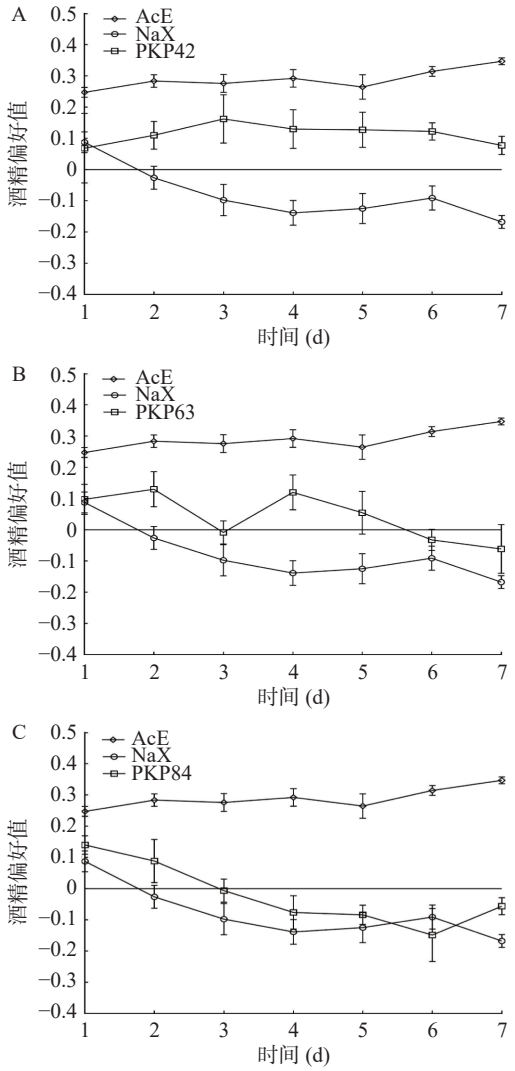


图 1 滇黄精多糖 PKP42、PKP63 和 PKP84 组分对酒精依赖果蝇酒精偏好性的影响

Fig.1 Effects of fractions PKP42, PKP63 and PKP84 on alcohol preference of *Drosophila melanogaster* suffering from alcohol dependence

2.1.2 PKP84 对酒精依赖果蝇体内酒精含量的影响

PKP42、PKP63、PKP84 持续干预 7 d 后，果蝇体内酒精含量均产生变化（图 2）。与酒精暴露组相比，PKP84 组果蝇体内酒精含量极显著减少（$P<0.01$），而 PKP63、PKP42 组的酒精含量虽有减少，但并不明显（$P>0.05$）。与盐酸纳洛酮组相比，PKP84 组果蝇体内酒精含量较高（$P<0.05$），即盐酸纳洛酮对酒精依赖果蝇体内酒精含量的降低效果优于 PKP84。可以看出，3 种多糖组分对酒精依赖果蝇体内酒精含量的影响效果与其对酒精偏好性的影响趋势一致（图 1），PKP84 对果蝇酒精依赖具有较好的缓解效应。

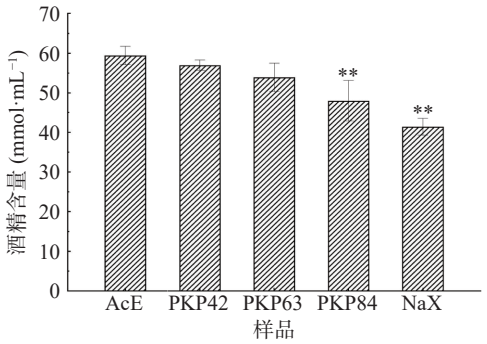


图 2 果蝇体内酒精含量

Fig.2 Alcohol level in *Drosophila melanogaster*

注：AcE：酒精暴露组；NaX：盐酸纳洛酮组（阳性对照组）；PKP42：滇黄精多糖 PKP42 组分干预组；PKP63：滇黄精多糖 PKP63 组分干预组；PKP84：滇黄精多糖 PKP84 组分干预组；**表示与 AcE 组比较，$P<0.01$。

表 2 果蝇酒精偏好指数变化趋势

Table 2 Changes in alcohol preference index of *Drosophila melanogaster*

项目	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
含酒精培养液消耗量（μL）	3.27±0.30^{d}	3.66±0.42^{c}	4.37±0.44^{b}	4.39±0.35^{ab}	4.38±0.20^{ab}	4.39±0.35^{ab}	4.40±0.27^{a}
无酒精培养液消耗量（μL）	2.89±0.35^{a}	2.82±0.57^{b}	2.93±0.44^{a}	2.92±0.24^{a}	2.65±0.25^{c}	2.58±0.41^{d}	2.41±0.35^{e}
酒精偏好指数（PI）	0.06±0.05^{f}	0.13±0.10^{e}	0.20±0.05^{d}	0.20±0.05^{d}	0.24±0.04^{c}	0.26±0.07^{b}	0.29±0.06^{a}

注：同行中不同字母上标表示差异显著（$P<0.05$）。

2.1.3　PKP84 对酒精依赖果蝇抗氧化应激能力的影响　长期饮酒可能导致机体抗氧化系统失衡[29]。如图 3 所示，与正常组相比，持续酒精暴露导致果蝇 CAT、SOD 活力极显著降低（P<0.01），MDA 水平极显著升高（P<0.01）。饲喂滇黄精多糖 PKP42、PKP63、PKP84 组分后，抗氧化酶活性均有不同程度的提升。与酒精暴露组相比，3 种多糖组分干预组果蝇 CAT 活力均显著升高（P<0.05），SOD 活力也有一定程度的升高（P>0.05），同时体内 MDA 水平明显降低（P<0.01）。PKP84 对 2 种酶活力的提升效果略强于 PKP42、PKP63（P>0.05）。

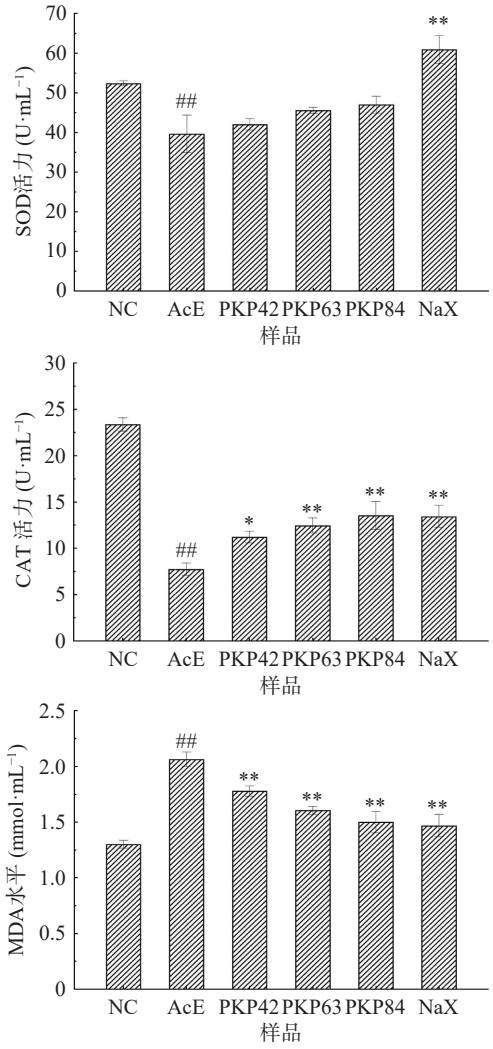


图 3　滇黄精多糖组分对果蝇 SOD、CAT 活力和 MDA 水平的影响

Fig.3　Effects of PKP fractions on SOD and CAT activities and MDA level of *Drosophila melanogaster*

注：NC：正常组；AcE：酒精暴露组；NaX：盐酸纳洛酮组（阳性对照组）；PKP42：滇黄精多糖 PKP42 组分干预组；PKP63：滇黄精多糖 PKP63 组分干预组；PKP84：滇黄精多糖 PKP84 组分干预组；##表示与 NC 组相比，P<0.01；*表示与 AcE 组相比，P<0.05，**为 P<0.01。

综上可知，3 种滇黄精多糖新组分中，PKP84 能够有效逆转酒精依赖果蝇的酒精偏好性，显著降低果蝇体内酒精含量，提升 CAT、SOD 活力，降低 MDA 水平，对酒精依赖的干预效果优于 PKP42、PKP63，因此对其理化性质与结构进行了进一步探究。

2.2　滇黄精多糖组分 PKP84 的理化性质与结构特征

2.2.1　PKP84 的定性鉴别　PKP84 样品为苍白色固体。UV 分析发现，PKP84 样品仅在 200 nm 附近有吸收峰，而在 260~280 nm 处没有吸收峰（图 4），暗示样品中不存在蛋白质、核酸或黄酮类化合物，或者这类杂质含量极低[22]。Sephadex G-100 凝胶柱层析得到单一对称峰（图 5），说明 PKP84 样品为均一组分。Molish 实验发现，PKP84 显色反应后出现紫色环，说明其属于糖类化合物。碘-碘化钾实验发现，PKP84 处理后未出现蓝色，说明其不含淀粉。Fehling 实验发现，PKP84 处理后未产生砖红色沉淀，说明其不是还原糖。

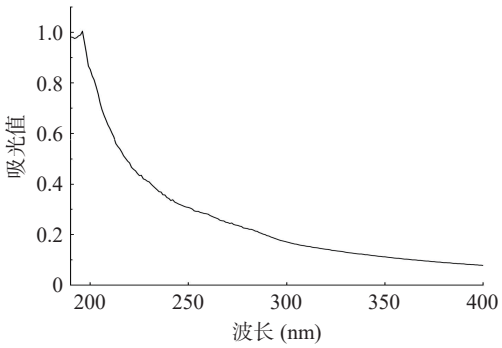


图 4　PKP84 的紫外光谱

Fig.4　Ultraviolet spectrum of PKP84

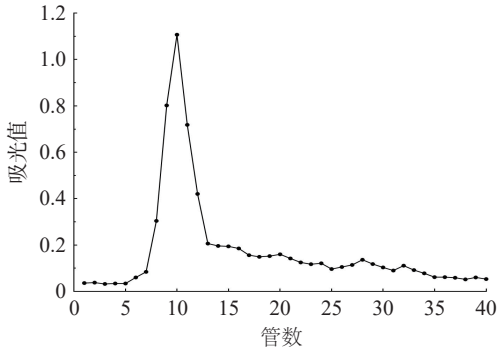


图 5　凝胶层析洗脱曲线

Fig.5　Elution curve of gel chromatography

2.2.2　PKP84 的单糖组成与分子量　单糖组成和分子量是多糖的重要属性[11]。PKP84 的比黏浓度与浓度关系如图 6 所示，其分子量为 1.7×10^5 Da，由葡萄糖、半乳糖、木糖、鼠李糖 4 种单糖构成。Chen 等[11] 采用乙醇分级分离技术制得的抗氧化活性最高的化橘红多糖组分（EP90）的分子量为 2.7×10^4 Da，由阿拉伯糖、半乳糖、木糖、葡萄糖等单糖构成。

2.2.3　热重分析　由图 7 可以看出，在 30~700 ℃ 温度区间内，PKP84 样品共经历了 3 次失重（重量减少）过程。其中，当温度由 30 ℃ 升至 214 ℃ 时，损失量约为 14%，该阶段主要是多糖内部结晶水以及吸附水分的蒸发损失；当温度继续升至 390 ℃ 时，样品

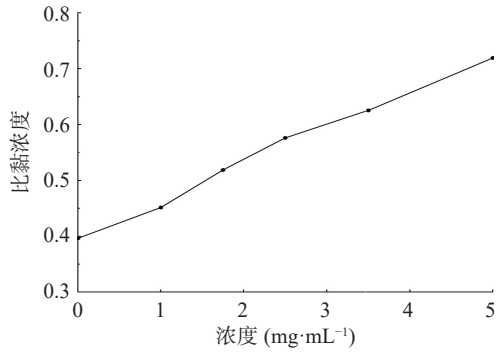


图 6 PKP84 的黏均分子量分析

Fig.6 Analysis of viscosity-average molecular weight of PKP84

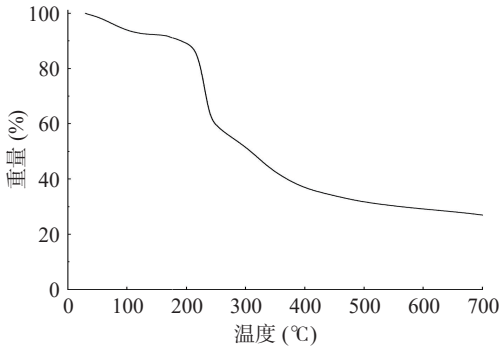


图 7 PKP84 的热重分析

Fig.7 TGA of PKP84

重量极显著降低(P<0.01),损失量约为 62%;当温度升至 700 ℃ 时,样品重量下降速率减小,此时样品已成为碳化结构,热稳定性较好。本实验室前期研究发现,滇黄精总多糖样品在温度从 248 ℃ 升至 350 ℃ 时,重量降低幅度最大,失重率约为 59%[8]。与之相比,滇黄精多糖新组分 PKP84 的热失重主要集中在 214~390 ℃ 温度区间内,平均失重率约为 49%,热失重温度区间明显变宽。

2.2.4 CD 分析 由图 8 可知,PKP84 在 198 nm 附近产生较弱的负吸收峰,说明其在此波长下具有负 Cotton 效应;在 212 nm 附近产生较强的正吸收峰,说明在此波长下具有正 Cotton 效应。滇黄精总多糖的正 Cotton 效应处于 210 nm 波长处[8],与新组分 PKP84 不同。CD 分析结果提示 PKP84 存在空间不对称结构,糖链中可能存在螺旋结构[27]。

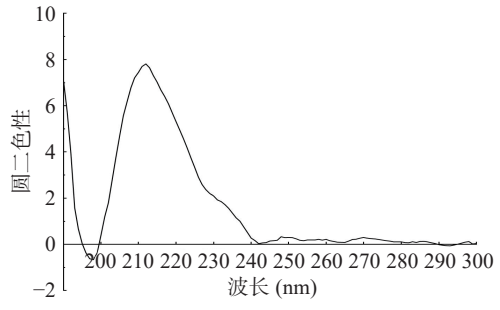


图 8 PKP84 的圆二色光谱

Fig.8 Circular dichroism spectrum of PKP84

2.2.5 刚果红实验分析 刚果红可与具有三螺旋体结构(triple helical structure)的糖类化合物发生络合反应,络合物的最大吸收波长会向长波长处移动即出现红移现象[18]。由图 9 可见,PKP84 与刚果红形成的络合物产生明显的红移,随着 NaOH 溶液浓度的增大,最大吸收波长呈现下降趋势,提示糖链螺旋结构解体,变为自由卷曲形态。刚果红实验表明 PKP84 糖链中存在三螺旋体结构,该结果与 CD 分析结果基本一致。淫羊藿多糖组分 EP80 与刚果红作用后,其最大吸收波长也发生红移,提示其糖链中也存在三螺旋体结构[19]。

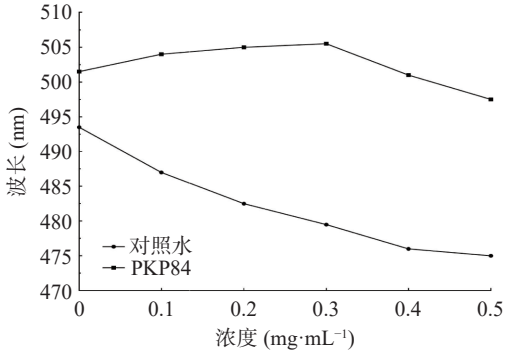


图 9 PKP84 的刚果红实验

Fig.9 Congo red test of PKP84

2.2.6 SEM 分析 PKP84 的微观形貌如图 10 所示。可以看出,PKP84 样品呈多分支黏连结构,多数类似于血管发散式分布,少数表现为碎片式堆叠,样品表面较为光滑,无明显的褶皱凸起,分支较多,互相交叉联结,说明 PKP84 为多分支复杂立体结构。滇黄精总多糖主要为多网孔片状结构和多分支链聚集结构[8],与新组分 PKP84 存在明显差异。

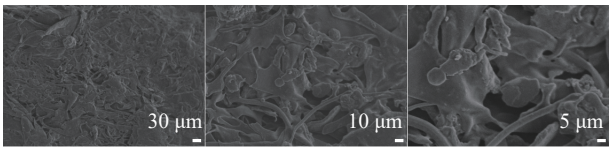


图 10 PKP84 的扫描电镜图谱(150×, 500×, 1000×)

Fig.10 Scanning electron micrographs of PKP84 (150×, 500×, 1000×)

3 讨论

天然多糖是一类结构复杂且生物活性丰富的大分子物质,其结构和生物活性往往受到分离纯化技术的影响[30−31]。乙醇分级分离技术通过梯度浓度乙醇溶液对多糖进行分级纯化,可能制得纯度更高、活性更强、结构更稳定的新组分[19,32]。本研究运用乙醇分级分离技术制备了 3 种不同分子量的滇黄精多糖新组分,其中多糖组分 PKP84、PKP63、PKP42 分别采用体积分数为 84%、63%、42% 的乙醇溶液制备。研究发现,PKP84 对果蝇酒精依赖偏好性、抗氧化应激能力的效应强于 PKP42 和 PKP63。在乙醇分级分离过程中,高浓度乙醇溶液通常分离析出低分子量

多糖(组分)，而低浓度乙醇溶液通常分离析出高分子量多糖[32]。这可能是因为高分子量多糖往往极性较低，容易被低浓度乙醇溶液沉淀，而低分子量多糖往往溶解度较高，需要高浓度乙醇溶液才能充分沉淀[11]。一些学者认为，多糖的抗氧化活性与其分子量关系密切，低分子量多糖通常具有更多的还原性羟基末端(reductive hydroxyl group terminal)和更好的水溶性，使得其更容易在体外水相系统和体内环境中发挥自由基清除作用，显示出更高的抗氧化应激能力[11,28]。这可能是 PKP84 抗氧化活性高于 PKP63 和 PKP42 的主要原因。圆二色谱、刚果红实验结果表明，PKP84 中含有三螺旋体结构。Lü等[31] 认为三螺旋体结构多糖的抗肿瘤活性往往高于单螺旋型(single helical conformation)多糖；本实验室也发现三螺旋体结构硒多糖(selenium polysaccharides)通常具有较高的降血糖活性[33]。据此推测，PKP84 逆转酒精依赖果蝇偏好性的功效与其化学结构特别是三螺旋体结构密切相关。

本研究发现，滇黄精多糖新组分 PKP84 能够显著提升果蝇抗氧化酶活力，降低 MDA 水平，改善果蝇氧化应激状态，减少酒精消耗量，缓解酒精偏好性。这为传统医学使用滇黄精防治“五劳七伤”提供了部分现代依据。一些学者研究发现，黄精多糖可以改善抑郁小鼠的氧化应激状态，减少炎症反应[34]；黄精水提物能够保护小鼠肝脏免受酒精诱导的氧化应激损伤[35]，显著提升实验动物氨基丁酸 A 亚型受体 2(GABA type A receptor 2)、5-羟色胺 1A 受体(5-hydroxytryptamine type A receptor 1)的 mRNA 和蛋白质表达水平，进而发挥助眠功能[36]。5-羟色胺和 γ-氨基丁酸均为中枢神经系统的重要神经递质，与酒精依赖关系密切[3,6]。PKP84 减少果蝇酒精摄入量、逆转酒精偏好性的作用可能是通过调节 5-羟色胺、γ-氨基丁酸等受体相关中枢神经系统通路而实现的。果蝇作为探讨学习记忆、行为认知、毒性毒理的重要模式生物，被广泛应用于酒精依赖研究[15,37]。今后可利用果蝇等动物模型以及蛋白质组学等研究方法进一步探究滇黄精多糖新组分 PKP84 的抗氧化应激和缓解酒精依赖机制。

4　结论

本研究分离纯化得到了滇黄精多糖新组分 PKP84，应用热重分析等分析了其理化性质，应用圆二色谱、扫描电子显微镜、刚果红实验等进行了结构表征，采用果蝇模型探究了其对酒精依赖的干预效果。结果表明，PKP84 由葡萄糖、半乳糖、木糖、鼠李糖 4 种单糖组成，分子量为 1.7×10^5 Da，在 212 nm 处有较强的正 Cotton 效应，在 198 nm 处有较弱的负 Cotton 效应，具有三螺旋体结构，微观形貌表现为多分支复杂立体结构，热失重主要集中在 214~390 ℃ 温度区间内，平均失重率约为 49%。PKP84 干预后，果蝇酒精偏好指数减小，体内酒精含量降低，抗氧化酶活力升高，丙二醛水平下降，说明 PKP84 能够逆转酒精依赖果蝇的酒精偏好性，改善氧化应激状态。滇黄精多糖组分 PKP84 显示出较好的酒精依赖干预效果，值得进一步探究。

© 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] MURRAY C J L, ARAVKIN A Y, ZHENG P, et al. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: A systematic analysis for the global burden of disease study 2019[J]. Lancet, 2020, 396(10258): 1223−1249.

[2] JIN S Y, CAO Q, YANG F H, et al. Brain ethanol metabolism by astrocytic ALDH2 drives the behavioural effects of ethanol intoxication[J]. Nature Metabolism, 2021, 3(3): 337−351.

[3] 杨晓华, 张华峰, 赖江华. 中枢单胺类神经递质在酒精依赖中的分子作用机制[J]. 遗传, 2014, 36(1): 11−20. [YANG X H, ZHANG H F, LAI J H. Alcohol dependence mediated by monoamine neurotransmitters in the central nervous system[J]. Hereditas, 2014, 36(1): 11−20.]

[4] World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2018[R]. (2018-09-27)[2022-11-25]. https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639.

[5] HUANG Y Q, WANG Y, WANG H, et al. Prevalence of mental disorders in China: A cross-sectional epidemiological study[J]. Lancet Psychiatry, 2019, 6(3): 211−224.

[6] UUSI-QUKARI M, KORPI E R. GABAergic mechanisms in alcohol dependence[J]. International Review of Neurobiology, 2024, 175(3): 75−123.

[7] 杨晓华, 赖江华. 乙酰胆碱的功能及其在酒精依赖中的作用机制[J]. 生命的化学, 2015, 35(4): 531−536. [YANG X H, LAI J H. Function of acetylecholine and its mechanism in alcohol dependence[J]. Chemistry of Life, 2015, 35(4): 531−536.]

[8] 王艺, 杨晓华, 张华峰, 等. 滇黄精多糖的结构及对葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 精细化工, 2019, 36(4): 715−720. [WANG Y, YANG X H, ZHANG H F, et al. Structure of *Polygonatum kingjanttm* polysaccharides and its inhibitory activity against α-glucosidase[J]. Fine Chemicals, 2019, 36(4): 715−720.]

[9] LI H R, WU Y, ZHOU Q, et al. Polysaccharide from steamed *Polygonatum sibiricum* ameliorates ulcerative colitis by protecting the intestinal mucosal barrier and regulating gut microbiota[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 301(4): 140343−140343.

[10] SU Z W, YAN T Y, FENG J, et al. Protective effects and mechanism of polysaccharides from edible medicinal plants in alcoholic liver injury: A review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(22): 16530−16530.

[11] CHEN M Z, WANG J. Polysaccharides from *Exocarpium citri grandis*: graded ethanol precipitation, structural characterization, inhibition of α-glucosidase activity, anti-oxidation, and anti-glycation potentials[J]. Foods, 2025, 14(5): 791−791.

[12] ZHENG S Y. Protective effect of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide on D-galactose-induced aging rats model[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 2246−2246.

[13] 张华峰, 李卓寰, 王艺, 等. 一种滇黄精辅助降血糖固体饮料及其制备方法: 中国, 201910665682.0[P]. 2022-09-23. [ZHANG

H F, LI Z H, WANG Y, et al. Hypoglycemic solid beverage containing *Polygonatum kingjanttm* and its preparation method: China, 201910665682.0[P]. 2022-09-23.]

[14] ROBINSON B G, ATKINSON N S. Is alcoholism learned? Insights from the fruit fly[J]. Current Opinion in Neurobiology, 2013, 23(4): 529−534.

[15] FENG J, LI X, XIAO Y, et al. Effects of Se-enriched *Chrysanthemum morifolium* on lifespan and antioxidant defense-related gene expression of *Drosophila melanogaster* model[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(12): e14503.

[16] YANG X H, LI L, XUE Y B. Flavonoids from *Epimedium* pubescens: Extraction and mechanism, antioxidant capacity and effects on CAT and GSH-Px of *Drosophila melanogaster*[J]. PeerJ, 2020, 8(1): e8361.

[17] ZHANG H F, NIU L L, YANG X H, et al. Analysis of water-soluble polysaccharides in an edible medicinal plant *Epimedium*: Method development, validation, and application[J]. Journal of AOAC International, 2014, 97(3): 784−790.

[18] LI R S, TAO A, YANG R M, et al. Structural characterization, hypoglycemic effects and antidiabetic mechanism of a novel polysaccharides from *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl[J]. Biomedicine and Pharmacotherapy, 2020, 131(11): 110687−110687.

[19] 张梦园, 杨晓华, 段梦月, 等. 箭叶淫羊藿多糖新组分EP80的结构表征及其对酒精代谢相关酶活力的影响研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(9): 1539−1547. [ZHANG M Y, YANG X H, DUAN M Y, et al. Structural characterization of novel fraction EP80 of *Epimedium sagittatum* polysaccharides and its effects on enzymes related to alcohol metabolism[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(9): 1539−1547.]

[20] CHVILICEK M M, TITOS I, MERRILL C B, et al. Alcohol induces long-lasting sleep deficits in *Drosophila* via subsets of cholinergic neurons[J]. Current Biology, 2025, 35(5): 1033−1046.

[21] DEVINENI A V, HEBERLEIN U. Preferential ethanol consumption in *Drosophila* models features of addiction[J]. Current Biology, 2009, 19(24): 2126−2132.

[22] YANG J, ZHANG H F, CAO X Y, et al. Enzymatic water extraction of polysaccharides from *Epimedium brevicornu* and their antioxidant activity and protective effect against DNA damage[J]. Journal of Food Biochemistry, 2017, 41(1): e12298.

[23] GOVINDARAJU I, DAS A R, CHAKRABORTY I, et al. Investigation of the physicochemical factors affecting the *in vitro* digestion and glycemic indices of indigenous indica rice cultivars[J]. Scientific Reports, 2025, 15(1): 2336.

[24] LIANG X J, AN W, LI Y K, et al. Effects of different nitrogen application rates and picking batches on the nutritional components of *Lycium barbarum* L. fruits[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15(4): 1−14.

[25] QI Y H, WANG L L, YOU Y, et al. Preparation of low-molecular-weight fucoidan with anticoagulant activity by photocatalytic degradation method[J]. Foods, 2022, 11(6): 822.

[26] SUN L, YANG L, DING X L, et al. Effects of fermentation conditions on molecular weight, production, and physicochemical properties of gellan gum[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 279(3): 135304.

[27] PHILLIPS-JONES M K, HARDING S E. Tapping into synchrotron and benchtop circular dichroism spectroscopy for expanding studies of complex polysaccharides and their interactions in anoxic archaeological wood[J]. Heritage, 2019, 2(1): 121−134.

[28] WANG K J, GUO J T, CHENG J X, et al. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from spent *Lentinus edodes* substrate: Process optimization, precipitation, structural characterization and antioxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 191(11): 1038−1045.

[29] MITOMA H, MANTO M, SHAIKH A G. Mechanisms of ethanol-induced cerebellar ataxia: Underpinnings of neuronal death in the cerebellum[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(16): 8678.

[30] ZHOU H J, FAN Z X, LI Y, et al. Structure-antioxidant activity relationship of polysaccharides isolated by microwave/ultrasonic-assisted extraction from *Pleurotus ferulae*[J]. Antioxidants, 2025, 14(1): 1−18.

[31] LÜ F Z, XU X J, ZHANG L N. Natural polysaccharides with different conformations: Extraction, structure and anti-tumor activity[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2020, 8(42): 9652−9667.

[32] XING S P, ZHANG X F, KE H N, et al. Physicochemical properties of polysaccharides from *Dendrobium officinale* by fractional precipitation and their preliminary antioxidant and anti-HepG2 cells activities *in vitro*[J]. Chemistry Central Journal, 2018, 12(1): 100.

[33] DUAN W X, YANG X H, ZHANG H F, et al. Chemical structure, hypoglycemic activity, and mechanism of action of Selenium polysaccharides[J]. Biological Trace Element Research, 2022, 200(10): 4404−4418.

[34] SHEN F M, SONG Z J, XIE P, et al. *Polygonatum sibiricum* polysaccharide prevents depression-like behaviors by reducing oxidative stress, inflammation, and cellular and synaptic damage[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 275(14): 114164.

[35] WANG G J, FU Y W, LI J J, et al. Aqueous extract of *Polygonatum sibiricum* ameliorates ethanol-induced mice liver injury via regulation of the Nrf2/ARE pathway[J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45(1): e13537.

[36] JO K, SUH H J, CHOI H S. *Polygonatum sibiricum* rhizome promotes sleep by regulating non-rapid eye movement and GABAergic/serotonergic receptors in rodent models[J]. Biomedicine and Pharmacotherapy, 2018, 105(9): 167−175.

[37] HAN R, ZHANG J, HUANG G X, et al. The effects of blue light on locomotion and cognition in early adult *Drosophila melanogaster*[J]. Journal of Experimental Zoology, 2025, 343(4): 511−520.