刘双,陈雅,董荣华,等. 超声辅助乙醇提取桑葚粗多糖及其抗氧化活性、酶活抑制能力分析 [J]. 食品工业科技,2026,47(6):1−9. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060097

LIU Shuang, CHEN Ya, DONG Ronghua, et al. Ultrasound-assisted Ethanol Extraction of Crude Polysaccharides from *Morus nigra* and Antioxidant Activity and Enzyme Inhibition Capacity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(6): 1−9. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060097

·特邀主编专栏—地方特色食品:加工技术、感官品质、风味特性和营养健康(客座主编:易俊洁、和劲松、郭超凡)·

超声辅助乙醇提取桑葚粗多糖及其抗氧化活性、酶活抑制能力分析

刘 双[1],陈 雅[2],董荣华[1],席雪雪[1],袁春龙[1,*],雷 静[2,*]

(1.西北农林科技大学葡萄酒学院,陕西杨凌 712100;
2.新疆维吾尔自治区农业科学院吐鲁番试验站,新疆吐鲁番 838000)

摘 要:为了优化超声辅助乙醇提取多糖工艺,评估所得粗多糖的生物活性,本研究以黑桑葚为原料,在单因素实验基础上,考查温度、超声功率、时间以及乙醇浓度对多糖得率的影响,采用 Box-Behnken 响应面试验优化粗多糖提取工艺。同时,通过测定自由基清除能力及其对 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶、脂肪酶活抑制能力,进一步评估桑葚多糖的生物活性。结果表明,桑葚粗多糖最佳提取参数为:超声温度 63 ℃、功率 180 W、时间 61 min、乙醇含量 39%,得率达 13.63%±0.33%。多糖对 $ABTS^{+}$、DPPH 和羟基自由基的半数清除率 IC_{50} 值分别为 0.12、0.21 和 2.78 mg/mL;对 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶和脂肪酶的 IC_{50} 分别为 0.16、0.24 和 1.64 mg/mL。采用最佳工艺所得桑葚粗多糖具有良好的抗氧化和酶活抑制能力。该结果为桑葚抗氧化、降糖、降脂等功能性食品的开发提供理论依据。

关键词:桑葚多糖,超声提取,响应面法,抗氧化活性,α-淀粉酶,α-葡萄糖苷酶,脂肪酶
中图分类号:TS255.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002−0306(2026)06−0001−09
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060097 本文网刊:

Ultrasound-assisted Ethanol Extraction of Crude Polysaccharides from *Morus nigra* and Antioxidant Activity and Enzyme Inhibition Capacity

LIU Shuang[1], CHEN Ya[2], DONG Ronghua[1], XI Xuexue[1], YUAN Chunlong[1,*], LEI Jing[2,*]

(1.College of Enology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;
2.Turpan Experimental Station, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Turpan 838000, China)

Abstract: Through a combined approach of single-factor experiments and response surface methodology, this research aims to optimize the ultrasound-ethanol synergistic extraction parameters for *Morus nigra* polysaccharides, and comprehensively characterize their bioactive potential. Employing *Morus nigra* as the raw material, this study systematically evaluates the individual effects of four critical parameters—temperature (40~80 ℃), ultrasonic power (120~240 W), extraction time (30~90 min), and ethanol concentration (0~50%) —on polysaccharide yield through single-factor experiments. The extraction process was optimized using Box-Behnken design response surface methodology (BBD-RSM) with 29 experimental runs (including 5 center points), establishing a predictive model for yield with ANOVA-verified parameter

收稿日期: 2025−06−11
基金项目: 吐鲁番市重点研发项目(2023002);新疆维吾尔自治区“天山英才”培养计划项目(2023TSYCJC0023)。
作者简介: 刘双(1999−),女,硕士研究生,研究方向:食品化学与营养,E-mail:1374392693@qq.com。
*** 通信作者:** 袁春龙(1969−),男,博士,教授,研究方向:葡萄酒化学,E-mail:727424873@qq.com。
雷静(1982−),女,硕士,研究员,研究方向:农产品加工,E-mail:839130762@qq.com。

interactions (P<0.05). Key extraction parameters including temperature (63 ℃), ultrasonic power (180 W), time (61 min), and ethanol concentration (39%) were determined to achieve a maximum polysaccharide yield of 13.63%±0.33%. The bioactive properties of the polysaccharides were systematically evaluated through *in vitro* assays. Results demonstrated remarkable free radical scavenging capacity with IC_{50} values of 0.12 mg/mL ($ABTS^{+}$), 0.21 mg/mL (DPPH), and 2.78 mg/mL (hydroxyl radicals). Furthermore, significant enzyme inhibitory effects were observed with IC_{50} values of 0.16 mg/mL (α-amylase), 0.24 mg/mL (α-glucosidase), and 1.64 mg/mL (lipase), suggesting potential applications in functional foods for glycemic and lipid control. Notably, the optimized polysaccharides demonstrated significant antioxidant properties coupled with potent inhibitory effects on carbohydrate-digesting and lipid-metabolizing enzymes. These findings not only establish an efficient extraction protocol, but also substantiate the potential of mulberry polysaccharides as multi-functional ingredients for developing nutraceuticals targeting oxidative stress, hyperglycemia, and hyperlipidemia.

Key words: mulberry polysaccharides; ultrasonic extraction; response surface method; antioxidant activity; α-amylase; α-glucosidase; lipase

桑葚是桑种(*Morus alba* L.)植物的果穗[1],俗称桑果、桑枣等,味甜多汁,营养丰富,是卫健委首批“药食同源”农产品[2],广泛分布在亚洲亚热带区域、北美和非洲地区。近年来,随着我国产业结构的调整,桑葚产业迅速发展,主产区包括四川、湖北、浙江、陕西、新疆、湖南、重庆、安徽、河南、山东、江苏、广东、广西等,种植面积超 2.33 万 hm^2[3]。我国新疆地区气候干燥、昼夜温差较大,孕育了独特的桑树种质资源,具有极大的经济潜力。目前,桑葚主要被用于鲜食以及果汁、果酒加工,仍然存在巨大的开发和利用空间。桑葚中含有丰富的营养成分如有机酸、蛋白质等,同时含有丰富的生物活性物质如多糖、类黄酮、花色苷、白藜芦醇等,具有较高的营养价值[4]。多糖是桑葚的主要活性成分之一,结构复杂,是由不同的单糖以直链或分支等各异的连接方式组成的复杂长链[5],具有极大的研究潜力与经济价值。

超声辅助提取是一种高效提取生物活性成分的现代高新技术手段,具有高效、节能、环保等优势,逐渐被应用于多糖提取[6]。传统溶剂提取法对于多糖结构和活性的损伤较小,但耗时较长,效率较低[7],与超声结合提取成为现阶段一种提取多糖的更高效手段。江岩等[8]利用正交试验探究了热水浸提法的最佳工艺,在其探究条件下,桑葚多糖得率最高为 3.24%。在此基础上,王振伟[9]针对超声辅助热水提取桑葚多糖工艺进行了优化,在其最佳条件下多糖得率为 10.54%。黄媛媛[10]对比了五种方式提取多糖的得率,包括冷水浸提、80 ℃ 热水浸提、沸水浸提、超声辅助水提、超声辅助 25% 和 50% 乙醇溶液提取,发现沸水提取总糖含量最低,超声辅助 50% 乙醇溶液提取多糖得率最高,同时该条件下耗时最短。因此,为了节约提取时间、提升提取效率,超声辅助乙醇溶液可能是桑葚多糖提取的一种新方法。

桑葚多糖可以通过抑制 α-糖苷酶和 α-淀粉酶的活性降低餐后血糖[11],同时还在抗炎[12]、抗氧化[13]等方面表现出良好活性。张秋红[14]利用超声细胞粉碎仪辅助热水浸提桑葚多糖,所得产物对 DPPH 和羟基自由基的清除率在 0.9 mg/mL 时均未达到 80%;袁心田等[15]采用膜技术对热水浸提后的桑葚多糖进行了测定,抗氧化活性最佳组多糖 DPPH 自由基和 $ABTS^{+}$自由基的 IC_{50} 值分别为 0.2235 和 0.2979 mg/mL,酶活抑制能力最佳组多糖抑制 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶能力的 IC_{50} 值分别为 0.7944 和 4.6419 mg/mL。由此来看,不同提取条件下多糖的抗氧化能力和酶活性抑制能力不同。但是当前对于超声辅助乙醇溶液提取桑葚多糖的研究较少,对该方法提取所得产物在抗氧化活性和酶活性抑制能力方面的研究不够全面。基于此,本研究以新疆吐鲁番黑桑葚为原料,采用超声辅助乙醇溶液提取多糖,考察影响桑葚多糖得率的因素,同时结合响应面法优化桑葚多糖的提取工艺,在最佳工艺条件下进一步研究桑葚多糖的体外抗氧化活性和酶活性抑制能力,以期为桑葚高值化产品的精深加工提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑桑葚(*Morus alba* L.)鲜果　2024 年五月采自新疆吐鲁番市;无水乙醇　分析纯,天津致远化学试剂有限公司;2,2-二苯基-1-苦基肼(DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)、α-淀粉酶(14 U/mg)、α-葡萄糖苷酶(50 U/mg)、猪胰脂肪酶(15~35 U/mg)、对羟基苯甲酰肼(PAHBAH)、4-硝基苯基-D-吡喃葡萄糖、pNP 月桂酸酯、抗坏血酸(纯度 99%)、奥利司他(纯度 98%)、阿卡波糖(纯度 95%)　上海源叶生物科技有限公司。

KQ-300DB 数控超声波清洗器　昆山市超声仪器有限公司;RE-2000A 旋转蒸发仪　上海兴创科学仪器设备有限公司;HC-3018R 离心机　安徽中科中佳科学仪器有限公司;LC-10N-50A 真空冷冻干燥机　上海力辰邦西仪器科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1　桑葚粗多糖提取工艺　取黑桑葚鲜果 1 kg 置于真空冷冻干燥机中冻干至恒重,粉碎后过 60 目筛,

置于 500 mL 圆底烧瓶，按照料液比 1∶2(w/v)加入石油醚，使用索氏提取器对其进行回流脱脂处理 3 h，抽滤后换取新的石油醚再次回流脱脂 3 h，再次抽滤。将滤渣置于 45 ℃ 烘箱内烘干 12 h，获得脱脂后的桑葚样品[16]。

采用超声辅助乙醇法提取黑桑葚粗多糖，提取结束后 4000 r/min 离心 10 min，重复提取两次，将上清液合并，利用旋转蒸发仪在 60 ℃ 条件下浓缩。向浓缩液中加入 4 倍体积的无水乙醇进行沉淀，于 4 ℃ 条件下静置 12 h，而后 4000 r/min 离心 20 min，收集沉淀，真空冻干后获得桑葚粗多糖。

1.2.2　单因素实验　采用超声辅助乙醇提取法，考察不同超声提取温度、超声功率、超声时间、乙醇含量对桑葚粗多糖得率的影响，固液比 1∶25[17]。实验采用单因素控制变量法，固定项参数为：超声温度 60 ℃、超声功率 180 W、超声时间 60 min、乙醇含量 40%；变动项参数为：超声温度(40、50、60、70、80 ℃)、超声功率(120、150、180、210、240 W)、超声时间(30、45、60、75、90 min)以及乙醇含量(0%、10%、20%、30%、40%、50%)，考查不同因素对桑葚多糖得率的影响。提取结束后 4000 r/min 离心 10 min，重复提取两次。

1.2.3　响应面试验设计　根据单因素实验确定的最优条件范围，以多糖得率为评价指标，采用 Design-Expert 13 软件中的 Box-Behnken 试验设计方法对桑葚粗多糖提取条件进行 4 因素 3 水平设计，实验重复三次，见表 1。

表 1　Box-Behnken 试验设计因素与水平

Table 1　Levels and factors of Box-Behnken experimental design

因素	水平		
	−1	0	1
A超声温度(℃)	50	60	70
B超声功率(W)	150	180	210
C超声时间(min)	45	60	75
D乙醇含量(%)	30	40	50

1.2.4　多糖得率测定　采用苯酚硫酸法测定多糖纯度[18]，分别取 0、0.1、0.2、0.3、0.4 mL 的 0.1 mg/mL 的 D-无水葡萄糖标准品于试管，加入超纯水补至 0.5 mL，摇匀后加入 0.5 mL 的 5% 苯酚溶液和 2.5 mL 浓硫酸，振荡混匀后置于沸水浴 30 min，于 490 nm 处测定吸光值。以葡萄糖标准品浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，建立标准曲线，回归方程为：$Y=0.0066X+0.1026$，$R^2=0.9993$。该标准曲线在 0~100 μg/mL 葡萄糖质量浓度范围内具有良好的线性关系。

取 10 mg 桑葚粗多糖样品，充分溶解后定容于 100 mL 容量瓶，配制 0.1 mg/mL 的待测溶液。取 0.5 mL 待测样品加入 0.5 mL 的 5% 苯酚溶液和 2.5 mL 浓硫酸，振荡混匀后置于沸水浴 30 min，冷却后测定其吸光值。利用标准曲线计算质量浓度，桑葚粗多糖得率按照公式(1)计算。

$$Y(\%)=C\times V/m/1000\times 100 \qquad 式（1）$$

式中：Y 为桑葚粗多糖得率(%)；C 为质量浓度(μg/mL)；V 为样品总体积(mL)；m 为桑葚粗多糖质量(mg)。

1.2.5　抗氧化能力测定　配制 0.1、0.5、1、2、5 mg/mL 的桑葚多糖溶液为待测样品，配制 0.1、0.5、1、2、5 mg/mL 抗坏血酸溶液为阳性参照。

参考黎楚楚等[19]的方法测定桑葚多糖对 $ABTS^+$ 自由基的清除能力，稍作修改。取 2.5 mL ABTS 工作液与 2.5 mL 桑葚粗多糖溶液混合，以等体积 80% 乙醇与 ABTS 工作液为空白对照组，以等体积 80% 乙醇与桑葚多糖溶液为样品对照组，以抗坏血酸溶液为阳性参照。将不同组试管避光反应 5 min，于 734 nm处测定吸光值。根据式(2)计算 $ABTS^+$ 自由基清除率。

$$自由基清除率(\%)=(1-(A_1-A_2)/A_0)\times 100 \qquad 式（2）$$

其中，A_1 为样品吸光值；A_2 为样品对照组吸光值；A_0 为空白对照组吸光值。

参考王斌等[20]的方法测定桑葚多糖对 DPPH 自由基的清除能力，稍作修改。取 0.004 g DPPH，用无水乙醇溶解后定容至 100 mL。将 2 mL 制备好的 DPPH-乙醇溶液与 2 mL 桑葚粗多糖溶液混合，空白对照为 2 mL DPPH-乙醇溶液与 2 mL 无水乙醇，样品对照组为无水乙醇与 2 mL 粗多糖溶液。将溶液置于避光条件下充分反应 2 h，于 517 nm 处测定吸光值，以抗坏血酸溶液为阳性参照。根据式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

参考高长久等[21]的方法测定桑葚多糖对羟基自由基的清除能力，稍作修改。将待测液与 2 mL 的 9 mmol/L 硫酸亚铁溶液以及 2 mL 的 8.8 mmol/L 过氧化氢溶液混匀，室温静置 10 min，加入 2 mL 的 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液，37 ℃ 下反应 30 min，期间间隔摇晃使反应均匀。在样品组的基础上，样品对照组以去离子水代替过氧化氢，空白对照组以去离子水代替样品，以抗坏血酸为阳性参照，其余实验条件不变。根据式(2)计算羟基自由基清除率。

1.2.6　酶活抑制能力测定　配制 0.1、0.5、1、2、5 mg/mL 的桑葚多糖溶液为待测样品，配制 0.1、0.5、1、2、5 mg/mL 阿卡波糖和奥利司他为阳性对照。

参考 Meng 等[22]的方法，测定桑葚多糖对 α-淀粉酶抑制能力，稍作修改。以 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液为溶剂，配制 20 mg/mL 的玉米淀粉，90 ℃ 下糊化 20 min 后，稀释到 10 mg/mL。取 50 μL 1 mg/mL 桑葚粗多糖溶液，向其中加入 50 μL α-淀粉酶(20 U/mL)溶液，37 ℃ 下孵育 15 min；加入 1.25 mL 糊化淀粉，在 37 ℃ 下反应 15 min；将样品放入水浴

锅 100 ℃灭活 5 min；将样品离心；吸取上清液 200 μL 进 10 mL 离心管中，并吸取 200 μL PAHBAH 加入；沸水浴 5 min 后加入 3.6 mL 蒸馏水，利用酶标仪在 410 nm 处测吸光度，以阿卡波糖为阳性对照。

参考 de Bellis 等[23] 的方法，测定桑葚多糖对 α-葡萄糖苷酶活性抑制能力，稍作修改。利用 0.1 mol/L、pH6.8 的磷酸盐缓冲溶液配制 0.05 mg/mL 的 α-葡萄糖苷酶和 5 mmol/L 的 4-硝基苯基-D-吡喃葡萄糖（pNPG）。0.05 mL 多糖溶液 0.1 mL 酶液于 37.5 ℃水浴 10 min 后，加入 0.1 mL pNPG 溶液，混匀后于 37.5 ℃水浴 10 min，加入 1 mL 的 1 mol/L 的碳酸钠溶液，测定 405 nm 处的吸光值，以阿卡波糖为阳性对照。

将 50 μL 的 1 mg/mL 多糖样品与 200 μL 胰脂肪酶混合，在 37 ℃孵育 15 min；加入 50 μL 0.4% 的 pNP 月桂酸酯，37 ℃条件下孵育 45 min；加入 300 μL 的 5 mmol/L（pH5.0）醋酸钠作为反应终止剂，10000 r/min 离心 5 min；在 405 nm 波长下测定吸光值，以奥利司他为阳性对照。

酶活性抑制实验样品对照组为去酶液组，空白组为去样品组，空白对照组为去样品和酶液组，以等体积缓冲溶液补齐体系。

$$抑制率(\%) = [1-(A_{样品组}-A_{样品对照组})/(A_{空白组}-A_{空白对照组})]\times 100 \quad 式（3）$$

1.3 数据处理

使用 SPSS 20 软件对数据结果进行分析处理，数据均以平均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，采用单因素方差分析（one-way ANOVA）比较各组间差异，并进行方差齐性检验，以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 超声温度对桑葚多糖得率的影响 单因素实验探究超声温度对桑葚多糖得率的影响结果如图 1A 所示，随着温度的增加，桑葚多糖得率逐渐上升。当温度上升至 60 ℃时，多糖得率逐渐上升至最大 13.52%。出现这一结果可能是因为温度升高的过程中分子运动加快，植物细胞加速破裂，加快多糖的溶出，从而提升了多糖的溶解度[24]。然而当温度大于 60 ℃时，粗多糖得率呈现下降趋势。这可能是由于温度过高会破坏多糖结构，导致其分解为单糖或者寡糖，使得多糖得率下降[25]。

2.1.2 超声功率对桑葚多糖得率的影响 如图 1B，在超声功率处于 120~180 W 之间时，多糖得率随功率增加而不断上升，功率超过 180 W 后得率逐渐下降。在一定范围内，超声功率越大，产生的空化效应越强，对植物细胞壁的破坏更强，有助于多糖的溶出。然而随着超声功率的增大，空化效应与机械振动显著增强，一定程度上破坏多糖分子结构，导致其部分降解，从而降低多糖得率[26]。

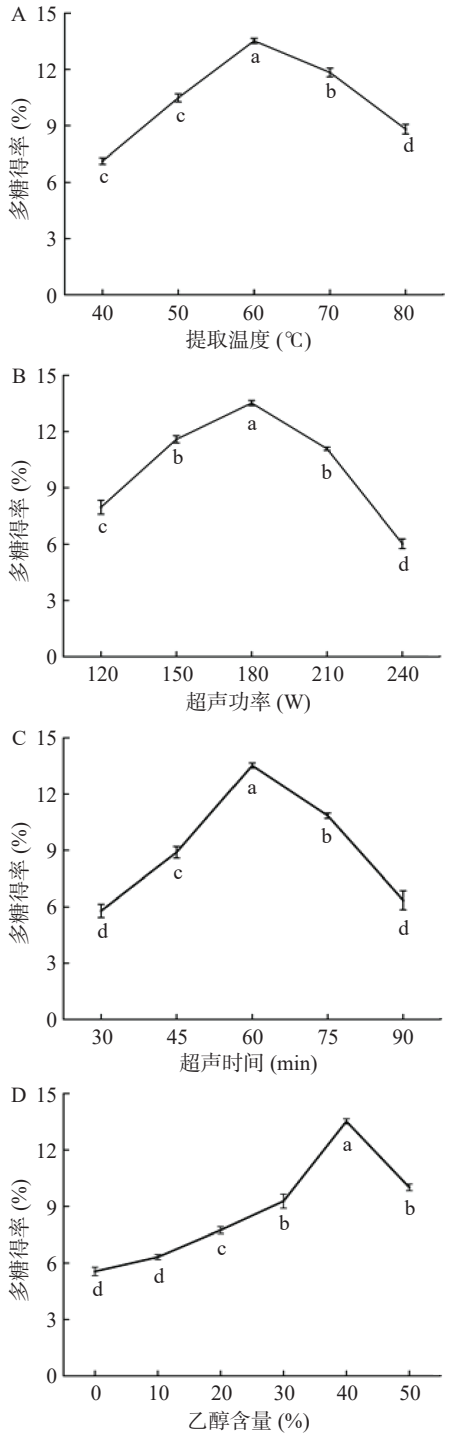


图 1 超声温度（A）、超声功率（B）、超声时间（C）、乙醇含量（D）对桑葚粗多糖得率的影响

Fig.1 Effects of ultrasonic temperature (A), ultrasonic power (B), ultrasonic time (C) and ethanol content (D) on the extraction rate of mulberry polysaccharides

注：不同小写字母代表组间显著性差异（$P<0.05$）。

2.1.3 超声时间对桑葚多糖得率的影响 如图 1C 所示，随着超声时间的延长，桑葚多糖得率呈现上升趋势，而时间超过 60 min，多糖得率逐渐下降。这一趋势与 Wang 等[27]、Zhang 等[28] 的研究结论相似，其可能的原因在于：当提取时间在 40~60 min 范围时，桑葚多糖可能并未完全溶解于溶剂，适当延长提取时间有助于多糖的释放，从而提升多糖得率；然而当提

取时间超过 60 min，植物细胞内容物溶出，竞争性杂质逐渐变多，同时部分多糖结构遭到破坏，导致得率逐渐下降[29]。

2.1.4　乙醇含量对桑葚多糖得率的影响　图 1D 结果表明，随着乙醇含量的提高，得率逐渐上升。这可能是由于在低浓度条件下，乙醇溶液结合超声波的空化作用可以破坏植物细胞壁，加快多糖分子的溶出，同时在氢键与范德华力的作用下，乙醇分子与多糖分子相结合，提升得率[30]。然而随着浓度的增加，乙醇的亲水性逐渐降低，水溶性多糖的溶解度随之降低，导致部分多糖失去良好的溶解性和稳定性[31]。这可能是导致乙醇含量大于 40% 时得率逐渐降低的原因之一。

2.2　超声辅助提取桑葚粗多糖响应面试验结果

2.2.1　响应面试验方差分析与显著性检验　根据单因素实验结果，以多糖得率为评价指标，采用 Box-Behnken 试验设计及结果如表 2 所示。运用 Design Experts 13 软件进行多元回归拟合分析，获得二次多项回归方程如下：

$$Y=13.56+0.611A-0.231B+0.323C-0.368D+0.075AB+0.208AC-0.035AD+0.013BC+0.47BD-0.073CD-0.97A^2-2.123B^2-1.62C^2-2.13D^2$$

表 2　Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2　Design and results of Box-Behnken trial

实验号	A超声温度（℃）	B超声功率（W）	C超声时间（min）	D乙醇含量（%）	多糖得率（%）
1	60	180	60	40	13.43±0.32
2	50	210	60	40	9.38±0.18
3	50	180	75	40	10.52±0.16
4	50	150	60	40	10.02±0.14
5	60	180	45	30	9.37±0.11
6	70	180	45	40	11.92±0.12
7	60	150	45	40	9.51±0.22
8	50	180	60	50	9.77±0.05
9	60	210	45	40	9.09±0.21
10	70	180	60	50	10.88±0.14
11	60	180	75	50	9.91±0.18
12	70	150	60	40	11.21±0.16
13	60	210	60	30	9.28±0.15
14	60	210	75	40	10.26±0.08
15	50	180	60	30	10.08±0.13
16	60	180	60	40	13.34±0.22
17	70	180	60	30	11.33±0.11
18	60	210	60	50	8.92±0.18
19	60	180	75	30	10.58±0.17
20	70	210	60	40	10.87±0.12
21	60	180	60	40	13.79±0.17
22	60	150	75	40	10.63±0.17
23	60	150	60	30	10.72±0.19
24	60	150	60	50	8.48±0.19
25	70	180	75	40	11.25±0.10
26	60	180	60	40	13.69±0.22
27	60	180	60	40	13.55±0.34
28	50	180	45	40	10.36±0.18
29	60	180	45	50	8.99±0.15

回归模型方差分析及显著性检验结果显示（表 3），F 值为 32.32>0.01，回归方程模型极其显著（P<0.0001）。本模型的 R^2=0.9700，表明该回归模型具有较好的拟合度，试验设计可靠，模型成立，可以应用于超声辅助乙醇溶液提取桑葚粗多糖理论预测。一次项 A、C、D 对响应值的影响极显著（P<0.01），交互项 BD 显著（P<0.05），其余不显著，二次项均为极显著（P<0.01）。因此，各因素对桑葚粗多糖得率的影响依次是 A（提取温度）>D（乙醇含量）>C（提取时间）>B（提取功率）。

表 3　回归模型方差分析及显著性检验

Table 3　Analysis of variance of regression model and significance test

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	64.77	14	4.63	32.32	<0.0001**
A-超声温度	4.48	1	4.48	31.28	<0.0001**
B-超声功率	0.6394	1	0.6394	4.47	0.053
C-超声时间	1.27	1	1.27	8.9	0.0099**
D-乙醇含量	1.62	1	1.62	11.32	0.0046**
AB	0.0225	1	0.0225	0.1572	0.6977
AC	0.1722	1	0.1722	1.2	0.2912
AD	0.0049	1	0.0049	0.0342	0.8559
BC	0.0006	1	0.0006	0.0044	0.9482
BD	0.8836	1	0.8836	6.17	0.0262*
CD	0.021	1	0.021	0.1469	0.7073
A^2	6.1	1	6.1	42.64	<0.0001**
B^2	29.22	1	29.22	204.16	<0.0001**
C^2	17.02	1	17.02	118.93	<0.0001**
D^2	29.43	1	29.43	205.6	<0.0001**
残差	2.00	14	0.1431		
失拟项	1.87	10	0.1869	5.53	0.0569
纯误差	0.1352	4	0.0338		
总和	66.77	28			
R^2	0.9700				
预测R^2	0.8356				
实际R^2	0.9400				
变异系数(%)	3.53				

注：*表示P<0.05，**表示P<0.01。

2.2.2　响应面因素交互作用分析　二维等高线图和响应面三维曲图可以直观反映响应面试验中各因素间的交互作用对响应值的影响，等高线越密集且形状越接近椭圆，三维曲图坡度越陡，说明各因素间的交互作用对响应值的影响越为明显。图 2I 结果显示超声功率与乙醇含量的交互作用曲线斜率比较陡峭，同时，从图 2J 结果来看，等高线更为密集、轮廓趋于椭圆形。因此，超声功率与乙醇含量的交互作用对桑葚多糖得率的影响更为显著（P<0.05），其余因素彼此交互作用不显著，与方差分析结果一致。

2.2.3　响应面模型优化与验证试验　按照桑葚多糖得率最大化原则对提取工艺进行优化，模型预测的最佳工艺参数为超声温度 63.06 ℃、超声功率 178.20 W、超声时间 61.24 min、乙醇含量 39.03%，在此工艺条件下预测桑葚多糖得率为 13.69%。结合实际条件，确定最佳提取工艺参数，即超声温度

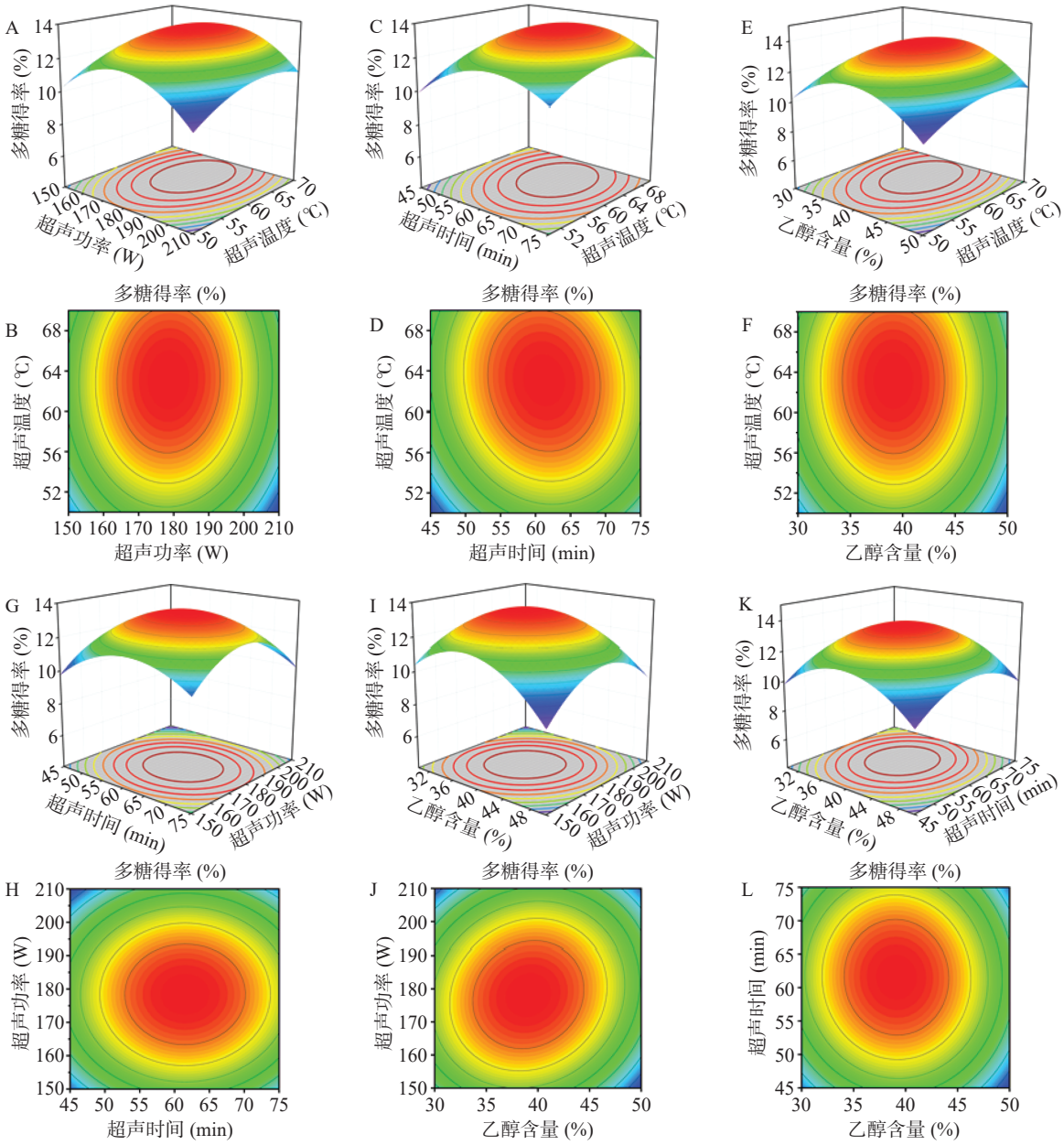


图 2　各因素对桑葚多糖得率影响的响应曲面图

Fig.2　Response surface plots of effects of extraction parameters on the yield of mulberry polysaccharide

63 ℃、超声功率 180 W、超声时间 61 min、乙醇含量 39%, 通过 3 次重复验证试验, 桑葚粗多糖得率为 13.63%±0.33%, 与预测值基本一致, 表明该数学模型对优化桑葚粗多糖提取工艺可行。

2.3　桑葚粗多糖抗氧化活性分析

2.3.1　桑葚粗多糖对 ABTS⁺自由基清除率的影响

ABTS⁺自由基清除实验测定结果如图 3A 所示, 在 0.1~5.0 mg/mL 范围内, 桑葚粗多糖对 ABTS⁺自由基的清除率先随浓度上升而上升, 而后趋于平缓。当桑葚粗多糖浓度低于 1 mg/mL 时, ABTS⁺自由基清除能力较弱, 这可能是因为低浓度条件下多糖与自由基反应受限。当浓度高于 1 mg/mL 时, 参与自由基链反应的多糖分子增多, 还原作用增强, 表现出更强的自由基清除能力。如图 3A, 当浓度上升至 1.0 mg/mL, ABTS⁺自由基清除率达到 89.9%, 接近同浓度下抗坏血酸的清除率 94.88%。WANG 等[32] 在温度 87 ℃、提取时间 3 h、水与原料比 39 mL/g 条件下, 提取出的桑葚粗多糖(得率为 11.86%±0.21%)在浓度为 4.0 mg/mL 时, 对于 ABTS⁺自由基的清除率为 56.58%。从二者结果对比来看, 超声辅助乙醇溶液提取的桑葚粗多糖, 对于 ABTS⁺自由基半数清除率 IC_{50} 值为 0.12 mg/mL 表现出更强的 ABTS⁺自由基清除能力。

2.3.2　桑葚粗多糖对 DPPH 自由基清除率的影响

如图 3B, 桑葚多糖浓度与其对 DPPH 自由基的清除率呈正相关, 当浓度从 0.1 mg/mL 上升至 1.0 mg/mL 时, 清除率快速上升至 93.78%。这可能是由于低浓度条件下桑葚多糖分子对 DPPH 结构中的单一电子捕获效果有限所致, 随着多糖浓度增加, 多糖分子逐渐增多, 对电子的捕获效果逐渐增强, 还原能力提

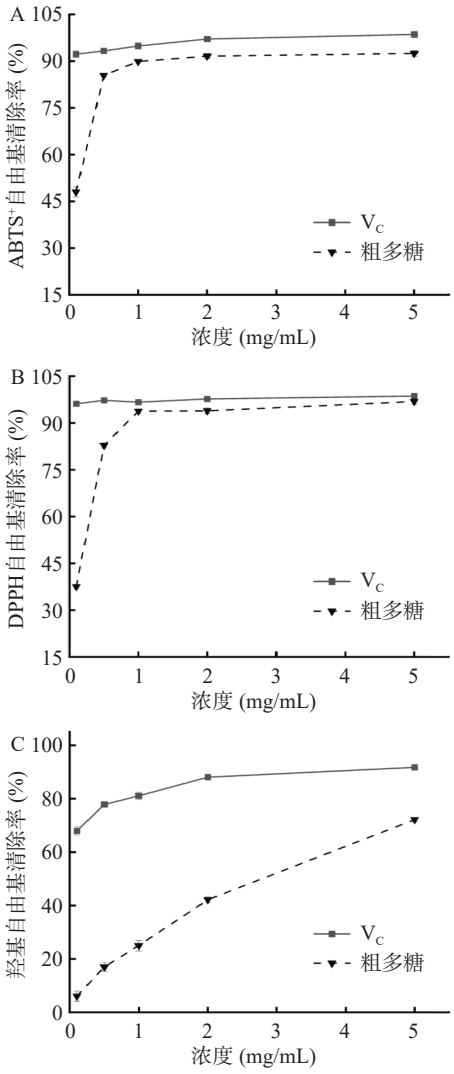


图 3　桑葚粗多糖的自由基清除能力

Fig.3　Free radical scavenging ability of mulberry polysaccharides

升。当浓度从 1.0 mg/mL 增加至 5.0 mg/mL 时，自由基清除效果变化较小。这可能是由于在高浓度条件下，参与自由基链反应的多糖分子对于浓度的依赖程度降低。桑葚粗多糖对 DPPH 自由基的半数清除率 IC_{50} 值为 0.21 mg/mL，钱燕芳等[33] 采用超声辅助水提法所得多糖对于 DPPH 自由基的清除率 IC_{50} 为 0.68 mg/mL，结果表明采用超声辅助乙醇溶液方法提取的桑葚粗多糖具有更好的抗氧化活性。

2.3.3　桑葚粗多糖对羟基自由基清除率的影响　如图 3C 所示，桑葚粗多糖对羟基自由基的清除率呈现浓度依赖趋势，在浓度为 5.0 mg/mL 时清除率达到最大值 72.18%，粗多糖对羟基自由基的半数清除率 IC_{50} 值为 2.78 mg/mL。在 0.1~2.0 mg/mL 的浓度范围内，粗多糖的清除率较低，这可能是因为在此范围内多糖分子较少，参与氢原子供给、电子转移、金属螯合等反应受限，清除效果随浓度增长而增强。当多糖浓度在 1.0~5.0 mg/mL 范围内时，自由基清除效果变化缓慢，这可能是由于随着浓度升高，浓度不再是影响多糖分子参与自由基链反应程度的主要因素，此时自由基清除效果可能还受多糖结构、糖醛酸含量的影响。该结果表明，超声辅助乙醇提取的桑葚粗多糖具有一定的羟基自由基清除能力，可能在抗氧化方面具有良好的潜在价值。

2.4　桑葚粗多糖对酶活性抑制能力分析

桑葚多糖对 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶以及脂肪酶活性有一定的抑制作用[34]。α-淀粉酶可以催化糖原、淀粉等水解成葡萄糖[35]，α-葡萄糖苷酶可以水解葡萄糖苷键而释放葡萄糖[36]，通过抑制二者的活性可以减少机体对葡萄糖的吸收，从而有效控制血糖水平。如图 4A 和图 4B 所示，桑葚粗多糖对于 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制呈现一定的剂量依赖趋势，半数抑制率 IC_{50} 值分别为 0.16 mg/mL、0.24 mg/mL。当浓度上升至 2 mg/mL 时，桑葚粗多糖对于 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制率分别为 81.44%、82.41%；当浓度达到 5 mg/mL 时，桑葚多糖对两种酶的抑制率分别达到所测范围内的最大值，分别为 82.15%、91.63%。HUANG 等[17] 在超声辅

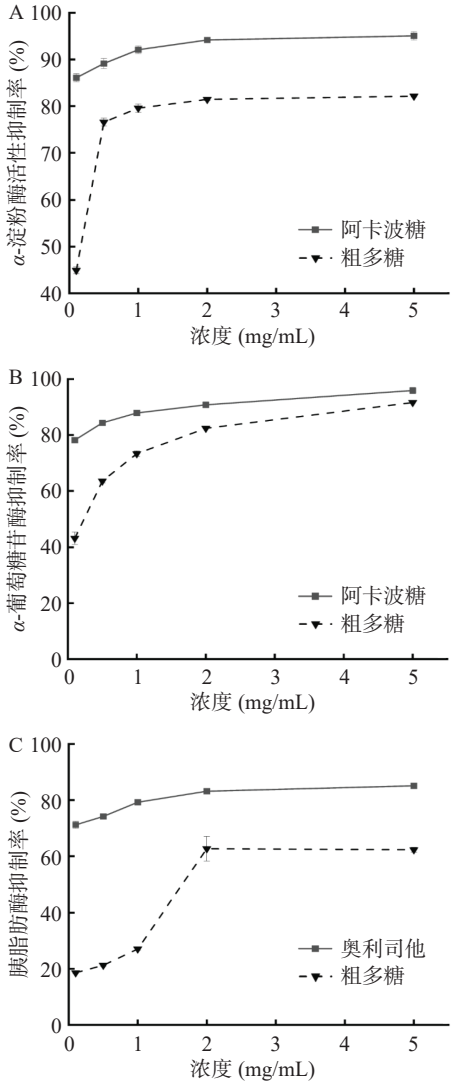


图 4　桑葚粗多糖酶活性抑制能力

Fig.4　Inhibition ability of mulberry crude polysaccharase enzyme activity

助 50% 乙醇溶液条件下提取的桑葚多糖对于 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶的半数抑制率 IC_{50} 值分别为 3.09、10.58 mg/mL。以上结果表明,超声辅助 40% 乙醇溶液提取的桑葚粗多糖在抑制 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶活性方面展现出更好潜力。

胰脂肪酶在人体脂质代谢中发挥着重要作用,通过抑制胰脂肪酶的活性可以减少对脂质的吸收,从而减少脂肪堆积[37],对于维持机体健康具有重要作用。如图 4C 所示,桑葚粗多糖对于胰脂肪酶的抑制率随其质量浓度的增加而上升。当浓度为 5 mg/mL 时,桑葚粗多糖对于胰脂肪酶抑制率达到最大值 62.27%,半数清除率 IC_{50} 值为 1.64 mg/mL,展现出较好的脂肪酶抑制潜力。

3 结论

为了优化桑葚粗多糖提取工艺,实验通过响应面设计,探究了不同因素对桑葚粗多糖得率的影响。响应面验证试验结果表明,在超声温度 63 ℃、超声功率 180 W、超声时间 61 min、乙醇含量 39% 时,桑葚粗多糖得率达到最大值 13.63%±0.33%,与预测值接近。通过多元回归模型分析发现,在此工艺条件下使用超声辅助乙醇溶液提取桑葚粗多糖具有最高的提取效率,其中提取温度、时间以及乙醇含量对结果的影响更为显著。超声辅助乙醇法提取所得桑葚粗多糖在抗氧化活性和酶活性抑制方面展现出良好潜力,具有一定的浓度依赖趋势。所得多糖对 $ABTS^{+}$、DPPH 以及羟基自由基的半数抑制率 IC_{50} 分别为 0.12、0.21 和 2.78 mg/mL,具有良好的抗氧化效果。在所测范围内,当质量浓度达到 5 mg/mL 时,桑葚粗多糖对 α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶和脂肪酶三种酶活性的抑制率达到最高值,分别为 82.15%、91.63%、62.27%,展现出良好的降血糖、减少脂肪堆积潜力。

综上所述,超声辅助乙醇提取桑葚多糖具有较高的提取效率,其产物具有良好的抗氧化活性和酶活性抑制能力,证明该方法可以作为桑葚粗多糖的提取方法,为桑葚多糖降糖、降脂产品开发提供理论依据。同时,实验结果表明,桑葚多糖对不同自由基的清除能力不同,对不同酶活性的抑制能力也呈现一定差异,这可能受其浓度、组成和结构的影响。未来实验可以进一步分析多糖的结构与组成,探讨桑葚多糖结构与生物活性的内在联系,为桑葚高值化产品加工与利用提供思路和依据。

© 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] 黄新球, 杨文, 杨娟, 等. 云南省主要果用桑葚的营养品质及理化特性[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(21): 181−187. [HUANG Xinqiu, YANG Wen, YANG Juan, et al. Study on nutritional quality and physicochemical characteristics of main fruit mulberry in Yunnan Province[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(21): 181−187.]

[2] 郑润博, 汪丹, 王梦圆, 等. 药食同源桑葚的营养保健作用与加工利用研究进展[J]. 农业与技术, 2023, 43(1): 9−12. [ZHENG Runbo, WANG Dan, WANG Mengyuan, et al. Research progress on nutritional and health care function, processing and utilization of medicinal and edible mulberry[J]. Agriculture and Technology, 2023, 43(1): 9−12.]

[3] 郭俊英. 果桑特性及发展前景[J]. 果农之友, 2025(5): 46−48. [GUO Junying. Characteristics and development prospect of fruit mulberry[J]. Fruit Growers' Friend, 2025(5): 46−48.]

[4] 闫子轩, 陈海洋, 胡云飞, 等. 桑葚化学成分、药理活性及产品开发研究进展[J]. 中南药学, 2025, 23(3): 690−699. [YAN Zixuan, CHEN Haiyang, HU Yunfei, et al. Research progress in the phytochemical compositions, pharmacological activities, and product development of *Mori fructus*[J]. Central South Pharmacy, 2025, 23(3): 690−699.]

[5] AI Jian, BAO Bin, BATTINO M, et al. Recent advances on bioactive polysaccharides from mulberry[J]. Food & Function, 2021, 12(12): 5219−5235.

[6] REN Yan, BAI Yueping, ZHANG Zhidan, et al. The preparation and structure analysis methods of natural polysaccharides of plants and fungi: A review of recent development[J]. Molecules, 2019, 24(17): 3122.

[7] LIU Fen, CHEN Huanjun, QIN Lei, et al. Effect and characterization of polysaccharides extracted from *Chlorella* sp. by hot-water and alkali extraction methods[J]. Algal Research, 2023, 70: 102970.

[8] 江岩, 李斌, 郭晓军. 新疆黑桑椹多糖的提取和测定[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 224−226. [JIANG Yan, LI Bin, GUO Xiaojun. Extraction and determination of polysaccharides from Xinjiang black mulberry[J]. Food Science, 2008, 29(8): 224−226.]

[9] 王振伟. 响应面法优化桑椹多糖提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 饲料研究, 2022, 45(21): 87−92. [WANG Zhenwei. Optimization of extraction technology and antioxidant activity of Fructus Mori polysaccharide by response surface method[J]. Feed Research, 2022, 45(21): 87−92.]

[10] 黄媛媛. 桑葚多糖的提取、分离纯化、结构表征及生物活性研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2023. [HUANG Yuanyuan. Study on extraction, purification, structural characterization, and biological activity of polysaccharides from *Mori fructus*[D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2023.]

[11] XIU Weiye, WANG Xin, NA Zhiguo, et al. Degradation of sweet corn cob polysaccharides by ultrasound-assisted H_2O_2/Vc treatment: Structural characterization and hypoglycemic effects *in vitro* and *in vivo*[J]. Food Research International, 2025, 211: 116354.

[12] ZHU Hua, ZHANG Huiwen, FAN Jiahao, et al. Study on differences in structure and anti-inflammatory activity of polysaccharides in five species of *Dendrobium*[J]. Polymers, 2025, 17(9): 1164.

[13] ZHAN Xiang, ZHAO Wenrui, WANG Xiang, et al. *Astragalus* polysaccharide exhibits immune-enhancing effects in gemcitabine chemotherapy by regulating tumor-associated macrophages polarization *via* the toll-like receptor-4/nuclear factor-κB/signal transducer and activator of transcription 3 pathway[J]. Food Bioscience, 2025, 68: 106504.

[14] 张秋红. 超声细胞破碎仪辅助提取桑葚多糖及其抗氧化性分析[J]. 食品与机械, 2022, 38(6): 168−172. [ZHANG Qiuhong. Extraction of mulberry polysaccharide by ultrasonic cell crusher-as-

sisting and its antioxidant activity analysis[J]. Food and Machinery, 2022, 38(6): 168−172.]
[15] 袁心田, 陈华国, 赵超, 等. 基于膜技术的桑葚多糖分级分离及生物活性组分筛选[J]. 食品工业科技, 2022, 43(24): 72−80. [YUAN Xintian, CHEN Huaguo, ZHAO Chao, et al. Separation of *Mori fructus* polysaccharides and screening of bioactive fractions based on membrane technology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(24): 72−80.]
[16] 陈春. 桑葚多糖的结构鉴定、活性评价及其体外消化酵解[D]. 广州: 华南理工大学, 2018. [CHEN Chun. Structural identification, biological activities evaluation, digestion and fermentation *in vitro* of polysaccharides from fructus Mori[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.]
[17] HUANG Yuanyuan, XIE Wen, TANG Ting, et al. Structural characteristics, antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides from *Mori fructus* based on different extraction methods [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1125831.
[18] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350−356.
[19] 黎楚楚, 徐霖, 林长松. 响应面优化黄姜花根多糖提取工艺及其抗氧化活性分析[J]. 饲料研究, 2024, 47(11): 109−113. [LI Chuchu, XU Lin, LIN Changsong. Response surface optimization of polysaccharide extraction process and antioxidant activity analysis of *Hedychium flavum* Roxb. root[J]. Feed Research, 2024, 47(11): 109−113.]
[20] 王斌, 王凤君, 梁颖琪, 等. 玫瑰纯露提取工艺优化及其抑菌和抗氧化活性研究[J]. 北方园艺, 2020(18): 106−113. [WANG Bin, WANG Fengjun, LIANG Yingqi, et al. Study on extraction process optimization of rose hydrosol and its antibacterial and antioxidant activities[J]. Northern Horticulture, 2020(18): 106−113.]
[21] 高长久, 李文超, 张朝立, 等. 红瑞木果多糖抗氧化活性的初步研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2024, 22(10): 139−141. [GAO Changjiu, LI Wenchao, ZHANG Chaoli, et al. Preliminary study on the antioxidant activity of polysaccharides from *Swida alba* opiz fruit[J]. Chinese Medicine Modern Distance Education of China, 2024, 22(10): 139−141.]
[22] MENG Yonghong, SU Anping, YUAN Shuang, et al. Evaluation of total flavonoids, myricetin, and quercetin from *Hovenia dulcis* thunb. as inhibitors of *α*-amylase and *α*-glucosidase[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2016, 71(4): 444−449.
[23] de BELLIS R, CHIARANTINI L, POTENZA L, et al. High production of secondary metabolites and biological activities of *Cydonia oblonga* Mill. pulp fruit callus[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 94: 105133.
[24] 王君, 陈新, 高文彬, 等. 响应面法优化超声辅助提取金丝皇菊多糖工艺及生理活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(2): 100−109. [WANG Jun, CHEN Xin, GAO Wenbin, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction process and physiological activity of polysaccharide from *Dendranthema morifolium* by response surface methodology[J]. China Food Additives, 2022, 33(2): 100−109.]
[25] 杨艳霞, 刘慧, 周铭懿, 等. 超声辅助提取酸枣仁多糖工艺和抗氧化活性研究[J]. 食品工业, 2025, 46(2): 10−15. [YANG Yanxia, LIU Hui, ZHOU Mingyi, et al. Research on the ultrasonic assisted extraction process and antioxidant activity of polysaccharides from jujube seed[J]. The Food Industry, 2025, 46(2): 10−15.]
[26] CUI Fengjie, QIAN Lisun, SUN Wenjing, et al. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Volvariella volvacea*: Process optimization and structural characterization[J]. Molecules, 2018, 23(7): 1706.
[27] WANG Teng, ZOU Xiaolin, ZHANG Hong, et al. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves using response surface methodology: Purification and component identification of extract[J]. Molecules, 2025, 30(8): 1747.
[28] ZHANG Shaojie, ZHANG Qian, WANG Tanggan, et al. Response surface optimization of polysaccharides from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* [mart.] O. Berg) fruits: Ultrasound-assisted extraction, structure properties, and antioxidant/hypoglycemic activities[J]. Chemistry & Biodiversity, 2024, 21(3): e202302070.
[29] HOU Furong, SONG Shasha, YANG Shuhui, et al. Study on the optimization, extraction kinetics and thermodynamics of the ultrasound-assisted enzymatic extraction of *Tremella fuciformis* polysaccharides[J]. Foods, 2024, 13(9): 15.
[30] CHEMAT F, ROMBAUT N, SICAIRE A G, et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 34: 540−560.
[31] ZHANG Yang, DONG Shuaiyi, NIE Rongnan, et al. Physicochemical properties and cosmetic benefits of polysaccharide fractions from *Zizania latifolia* precipitated by different ethanol concentrations[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 313: 144329.
[32] WANG Wei, LI Xuewen, BAO Xiaowei, et al. Extraction of polysaccharides from black mulberry fruit and their effect on enhancing antioxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 1420−1429.
[33] 钱燕芳, 石晨莹, 陈贵堂. 桑葚多糖超声提取、脱色工艺优化及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(16): 201−210. [QIAN Yanfang, SHI Chenying, CHEN Guitang. Optimization of ultrasound-assisted extraction and decolorization process of polysaccharides from *Mori fructus* and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(16): 201−210.]
[34] HOSSEINZADEH H, SADEGHI A. Antihyperglycemic effects of *Morus nigra* and *Morus alba* in mice[J]. Pharmaceutical and Pharmacological Letters, 1999, 9(2): 63−65.
[35] 张涛, 马麦迈, 卢顺, 等. 枸杞叶多糖结构表征及体外抗氧化与酶活抑制活性评价[J]. 中国食品学报, 2024, 24(11): 59−70. [ZHANG Tao, MA Maimai, LU Shun, et al. Structural characterization and evaluation of antioxidant and enzyme activity of *Lycium barbarum* leaves polysaccharide *in vitro*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(11): 59−70.]
[36] SHARIF F, ATAN A K, AZIZAN N H, et al. Evaluation on the potential of *Ganoderma lucidum* bioactive compounds as alpha glucosidase enzyme inhibitor: A computational study[J]. Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences, 2024, 20(2): 175−181.
[37] YASUDA M, YASUTAKE K, OIKAWA D, et al. Hydrolyzed polyphenols from water chestnut (*Trapa japonica*) suppress lipase activity *in vitro* and blood triacylglycerols in mice[J]. Journal of Oleo Science, 2025, 74(3): 297−307.