

何首乌多糖提取方法的比较研究

辜冬琳^{1,2},汪 祺¹,咎 珂¹,王 莹¹,金红宇¹,马双成¹

(1 中国食品药品检定研究院,北京 100050;2 中国药科大学,南京 210009)

[摘要] **目的:**比较不同提取方法对生何首乌多糖的影响,同时初步探索了热水提取生何首乌和制何首乌多糖的差异。**方法:**以何首乌为原料,分别通过热水提取法、超声提取法、微波提取法制得多糖,并对不同提取工艺下多糖的得率、总糖含量、蛋白含量、重均分子量(M_w)、单糖组成和 2,2-二苯基-1-苦基肼(DPPH)自由基清除能力进行比较和研究。**结果:**不同提取方法所得何首乌多糖得率依次为:微波提取法[微波提取何首乌粗多糖(M-PMP)]>热水提取法[热水浸提何首乌粗多糖(H-PMP)]>超声提取法[超声提取何首乌粗多糖(U-PMP)];U-PMP的蛋白含量最高, M_w 与其他多糖也有明显差别;单糖组成结果显示,不同提取方法的何首乌多糖中单糖组成相同,主要由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成,但单糖组成的摩尔比有所不同。**结论:**3种提取方法所得的多糖成分存在一定差异,且不同提取方法得率差异明显,其中M-PMP得率最高;同时发现生何首乌和制何首乌中多糖成分可能存在一定差异,有待进一步验证。

[关键词] 何首乌;多糖;提取方法;分子量;单糖组成**[中图分类号]** R932 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)01-0051-06

Comparison of different extraction methods for polysaccharides from *Polygoni Multiflori Radix*

GU Dong-lin^{1,2}, WANG Qi¹, ZAN Ke¹, WANG Ying¹, JIN Hong-yu¹, MA Shuang-cheng¹(1 *National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China*; 2 *China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China*)

[Abstract] **Objective:** To compare the effects of different extraction methods on polysaccharides from *Polygoni Multiflori Radix*, and to explore the differences of polysaccharides from *Polygoni Multiflori Radix* and *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* using hot water extraction. **Methods:** Polysaccharides from *Polygoni Multiflori Radix* were extracted by hot water extraction, ultrasonic extraction and microwave extraction, respectively. The yield, total sugar content, protein content, weight-average molecular weight (M_w), monosaccharide composition and DPPH free radical scavenging ability of polysaccharides were studied and compared. **Results:** The results showed that the yield of polysaccharides from *Polygoni Multiflori Radix* by different extraction methods was as follows: microwave extraction (M-PMP) > hot water extraction (H-PMP) > ultrasonic extraction (U-PMP). The protein content of U-PMP was the highest, and the M_w was obviously different from other polysaccharides. The results of monosaccharide composition showed that the monosaccharide composition of polysaccharide from *Polygoni Multiflori Radix* by different extraction methods was the same, which is mainly composed of mannose, rhamnose, glucuronic acid, galacturonic acid, glucose, galactose and arabinose, with different molar ratio of monosaccharides. **Conclusion:** There are some differences in the polysaccharide components extracted by three methods, and the yield obtained

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81973476)**[作者简介]** 辜冬琳,女,硕士研究生,研究方向:中药质量控制研究。E-mail:13348821019@163.com。**[通讯作者]** 王莹,女,副研究员,研究方向:中药质量控制及安全检测研究。联系电话:(010)53852484,E-mail:wayi_1986@163.com。马双成,男,研究员,研究方向:中药质量与安全研究。联系电话:(010)53852076,E-mail:masc@nifdc.org.cn。

from different extraction methods varied significantly, with the highest yield of M-PMP. Some differences were found in polysaccharides from raw and prepared *Polygoni Multiflori Radix* and *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*.

[Key words] *Polygoni Multiflori Radix*; polysaccharides; extraction methods; molecular weight; monosaccharide composition

何首乌为蓼科植物何首乌 (*Polygonum multiflorum* Thunb.) 的干燥块根, 生品具有解毒、消痈、截疟、润肠通便的功效, 炮制后功效发生改变, 可补肝肾、强筋骨、益精血、乌须发^[1]。近年来何首乌在药品、保健品、化妆品等领域应用广泛。多糖是何首乌中一类主要活性成分, 具有抗衰老^[2]、抗疲劳^[3]、抗氧化^[4]、降血脂^[5]、抗肿瘤^[6]、免疫调节^[7]等生物活性, 有着可观的药用价值和潜在的医药开发前景。

研究表明, 多糖的生物活性与其分子量、单糖组成、糖苷键有着密切联系^[8]。提取方法不同, 所得多糖的总糖含量、蛋白质含量、分子量分布、单糖组成也不同, 其生物活性也会有一定差异^[9-13]。据文献报道, 何首乌多糖的提取方法主要有热水提取法^[14]、超声提取法^[15]、碱提法^[16]、超声波-微波协同提取法^[17]、酶辅助超声波提取法^[18]等。目前, 何首乌多糖的提取研究多集中于单一提取方法的工艺研究, 对提取方法的比较研究尚未见报道。本文采用热水提取法、超声提取法、微波提取法 3 种方法对何首乌多糖进行了提取研究, 并测定了得率、总糖含量、重均分子量 (M_w)、单糖组成和 2,2-二苯基-1-苦基肼 (DPPH) 自由基清除能力, 比较其差异性, 为何首乌多糖的研究和开发利用奠定理论基础。

材料与方法

1 药材和试剂

何首乌样品购于河南南阳, 经中国食品药品检定研究院杨建波副研究员鉴定为正品; 制何首乌样品采用所购何首乌委托饮片生产企业按照药典工艺炮制获得。对照品鼠李糖 (Rha)、阿拉伯糖 (Ara) 购于 Dr Ehrenstofer 公司; 甘露糖 (Man)、葡萄糖醛酸 (GlcA)、半乳糖醛酸 (GalA)、葡萄糖 (Glc)、半乳糖 (Gal) 均购于中国食品药品检定研究院, 质量分数均 >97%; 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (PMP, Acros Organics 公司); DPPH (北京沃凯生物科技有限公司); 其余试剂均为国产分析纯。

2 仪器

UV-2700 紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司); 十万分之一电子天平 (赛多利斯科学仪器有限

公司); 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 高速冷冻离心机 (美国 Thermo 公司); 恒温水浴锅 (天津市泰斯特仪器有限公司); 微波快速溶剂萃取系统 (Explorer 公司); LC-20AD 高效液相色谱仪-示差检测器 (日本岛津公司); LC-30AD 超高效液相色谱仪-紫外检测器 (日本岛津公司); 十八角度激光光散射仪 (美国 Wyatt 公司); 冷冻干燥机 (北京博医康实验仪器有限公司)。

3 材料预处理

精密称定生何首乌和制何首乌粗粉各约 5 g, 加入 80% 乙醇 100 mL, 加热回流 1 h, 趁热滤过, 滤渣用 80% 乙醇洗涤, 以去除小分子物质和色素, 挥干乙醇, 得提取前材料。由于微波提取设备的限制, 采用 1 g 何首乌粗粉进行微波提取, 加入 80% 乙醇 20 mL 进行预处理。

4 何首乌粗多糖的提取

4.1 热水提取法 预处理的何首乌粉末加水 100 mL, 于 100 °C 提取 2 h, 5 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液在水浴锅上浓缩至近干, 后转移至量瓶并用水稀释至 10 mL, 加入 4 倍体积的无水乙醇, 4 °C 冰箱中静置 12 h 后取出, 5 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 5 min, 弃去上清液, 沉淀物挥干溶剂后用 10 mL 热水溶解, 冷冻干燥, 即得热水浸提何首乌粗多糖 (hot water extraction polysaccharide of *Polygoni Multiflori Radix*, H-PMP)。

4.2 超声提取法 预处理的何首乌粉末加水 100 mL, 于超声波清洗器中提取 80 min (150 W, 60 °C), 5 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min, 自“取上清液在水浴锅上浓缩”, 步骤同“4.1”项, 得超声提取何首乌粗多糖 (ultrasonic extraction polysaccharide of *Polygoni Multiflori Radix*, U-PMP)。

4.3 微波提取法 预处理的何首乌粉末加水 20 mL (由于供试品用量为 1 g, 加水量相应减少至 20 mL), 于微波萃取仪中提取 20 min (300 W, 70 °C), 5 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min, 自“取上清液在水浴锅上浓缩”, 步骤同“4.1”项, 得微波提取何首乌粗多糖 (microwave extraction polysaccharide of *Polygoni Multiflori Radix*, M-PMP)。

4.4 制何首乌多糖提取 预处理的制何首乌粉末

加水 100 mL,于 100 ℃ 提取 2 h,5 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,自“取上清液在水浴锅上浓缩”,步骤同“4.1”项,得热水浸提制何首乌粗多糖(hot water extraction polysaccharide of Polygoni Multiflori Radix Praeparata, H-PMPP)。

4.5 粗多糖得率计算 精密称定多糖的质量,并计算多糖的得率。

5 总糖和蛋白质含量的测定

总糖含量采用苯酚硫酸法^[19]测定,采用 BCA 法^[20]测定可溶性蛋白的含量。

6 M_w 测定

参照文献^[21],采用高效分子排阻色谱-多角度激光光散射仪-示差检测器串联法(HPSEC-MALLS-RID)测定相对分子量。

6.1 色谱条件 色谱柱为 Shodex SB-806 凝胶柱(300 mm×8.0 mm,13 μm)和 Shodex SB-804 凝胶柱(300 mm×8.0 mm,10 μm)串联;柱温 40 ℃;流动相为 0.1 mol·L⁻¹氯化钠水溶液;流速为 0.5 mL·min⁻¹,进样量为 100 μL。

6.2 供试品的制备 称取粗多糖样品约 10 mg,加流动相配制成 10 mg·mL⁻¹的供试品溶液。

6.3 MALLS 检测条件 石英玻璃样品池,激光波长为 658 nm。用甲苯对 MALLS 90°光电二极管检测器进行校正,用 M_w 为 44 000 的右旋糖酐对照品对其余角度检测器进行归一化,采用黏度仪测得比折光指数增量(dn/dc 值)为 0.138。采用 HPSEC-MALLS-RID 法测定获得 M_w 及数均分子量(M_n)值,采用以下公式计算分散系数(PDI)值。

$$PDI = \frac{M_w}{M_n} \quad \text{公式(1)}$$

7 单糖组成分析

参照文献^[21],采用 PMP 柱前衍生化超高效液相色谱法测定单糖组成。

7.1 色谱条件 色谱柱:Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 柱(50 mm×2.1 mm,1.8 μm);检测器:紫外检测器;流动相:乙腈-0.125 mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(16:84,加入 1.0 mol·L⁻¹氢氧化钾溶液调节 pH 值至 6.9);柱温:35 ℃;检测波长:250 nm;流速:0.15 mL·min⁻¹。

7.2 对照品溶液的制备 分别精密称取 Man, Rha, GlcA, GalA, Glc, Gal 和 Ara 对照品适量,加水制成 1.0 mg·mL⁻¹的单标溶液。精密吸取各单标溶液 1.0 mL 至 10 mL 量瓶中,加水制成含 7 种糖浓度约为 0.1 mg·mL⁻¹的混标溶液。精密量取混标溶液

1 mL,加 0.25 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液 150 μL,再加入 0.5 mol·L⁻¹ PMP 甲醇溶液 300 μL,混匀后于 70 ℃ 反应 90 min。冷却至室温后加入 0.25 mol·L⁻¹氯化氢溶液 150 μL。加 2 mL 三氯甲烷萃取,除去下层有机层,重复萃取 3 次,取上层溶液作为对照品溶液。

7.3 供试品溶液的制备 称取多糖样品约 10 mg,加水配制成 1 mg·mL⁻¹的多糖溶液,取 1 mL 多糖溶液置于安瓿瓶中,加入等体积的 4 mol·L⁻¹三氟乙酸,封口,于 120 ℃ 水解 4 h。氮气吹干后再加适量甲醇吹干,以除尽剩余三氟乙酸,吹干后加水 1 mL 溶解。按照“7.2”项下自“加 0.25 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液 150 μL”起,同法处理,即得供试品溶液。

7.4 测定 吸取对照品及供试品溶液各 2 μL 注入超高效液相色谱仪进行测定,以对照品外标法计算供试品溶液中各单糖组成摩尔比。

8 DPPH 测定方法

参考王雪等^[22]的方法,对配制浓度稍作修改。将 3 种提取方法的何首乌多糖溶于蒸馏水中配制成不同浓度的样品溶液(0.125, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 mg·mL⁻¹)。取 1 mL 样品溶液,加入 1 mL 0.2 mmol·L⁻¹ DPPH 溶液(用无水乙醇溶解),涡旋混匀后于室温避光条件下反应 30 min,517 nm 波长处测定样品吸光度值($A_{\text{样品}}$)。对照组以等体积无水乙醇代替 DPPH 溶液,空白组以等体积蒸馏水代替样品溶液,并以等体积蒸馏水和无水乙醇混合液空白调零。平行测定 3 次取平均值,按以下公式计算何首乌多糖对 DPPH 自由基的清除能力:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}) / A_{\text{空白}}] \times 100\% \quad \text{公式(2)}$$

结 果

1 不同提取方法粗多糖得率和总糖含量的比较

不同方法提取的何首乌多糖得率、总糖含量见表 1,结果显示,不同提取方法所得何首乌多糖的得率依次为:微波提取法>热水提取法>超声提取法。

表 1 不同提取方法何首乌粗多糖的得率、总糖含量和蛋白含量 % , $\bar{x} \pm s, n = 2$

| 提取方法 | 粗多糖得率 | 总糖含量 | 蛋白含量 |
|-------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 热水提取法 | 3.58 ± 0.12 | 58.58 ± 1.87 | 16.12 ± 0.52 |
| 超声提取法 | 1.81 ± 0.13 | 57.35 ± 1.42 | 24.15 ± 0.25 ^a |
| 微波提取法 | 3.78 ± 0.29 ^b | 68.58 ± 0.49 ^a | 17.97 ± 0.61 ^b |

与热水提取法组比较, a: $P < 0.05$; 与超声提取法组比较, b: $P < 0.05$

2 不同提取方法粗多糖蛋白含量的比较

不同方法提取的何首乌多糖蛋白含量见表 1, 结果显示, 在 3 种提取方法中, U-PMP 蛋白含量相对较高, H-PMP 蛋白含量最低。

3 不同提取方法粗多糖 M_w 的比较

本研究采用 HPSEC-MALLS-RID 法测定不同提取方法粗多糖的 M_w , 结果见表 2。结果显示, H-PMP 的 M_w 最高, 与其他方法所得多糖有显著差异。比较 3 种提取方法所得何首乌多糖的 PDI 值, U-PMP 最小, 与其余 2 种多糖有明显差异。

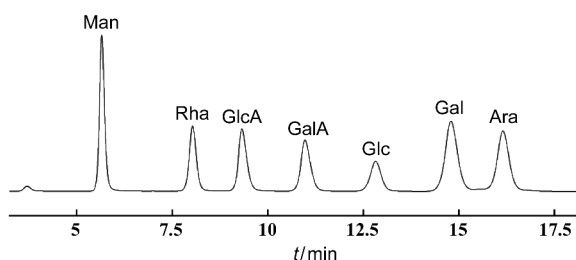
表 2 不同提取方法何首乌粗多糖的 M_w

| 提取方法 | M_n /kDa | M_w /kDa | PDI |
|-------|------------|------------|------|
| 热水提取法 | 617.9 | 1 265.0 | 2.05 |
| 超声提取法 | 349.1 | 568.1 | 1.63 |
| 微波提取法 | 201.3 | 406.8 | 2.02 |

4 单糖组成测定结果

对不同方法提取的何首乌粗多糖进行单糖组成测定, 色谱图见图 1。

A 7种单糖混合对照品测定图谱



B 样品测定图谱

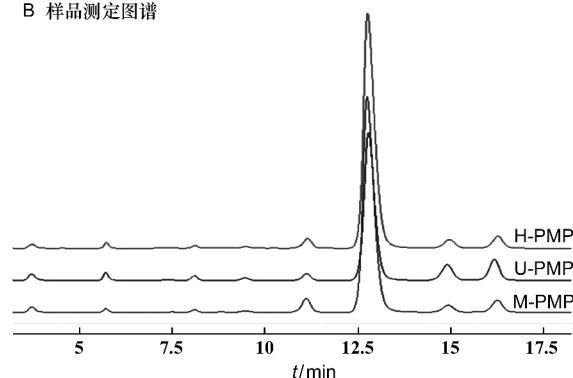


图 1 单糖组成测定图谱

从图 1B 可看出, 3 种方法提取的何首乌多糖均由 7 种单糖组成, 按各色谱峰保留时间依次为: Man, Rha, GlcA, GalA, Glc, Gal, Ara。以 7 种单糖混标所得峰面积为对照, 分别计算样品中各单糖组成

摩尔比, 结果见表 3。3 种何首乌多糖中, Glc 含量均占较大比重。此外, U-PMP 在单糖组成上与其他样品有明显差异 ($P < 0.05$), 主要体现在 GalA 和 Ara 的摩尔比上。

表 3 不同提取方法所得制何首乌多糖的单糖组成摩尔比

| 提取方法 | Man | Rha | GlcA | GalA | Glc | Gal | Ara |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 热水提取法 | 0.01 ^b | 0.07 ^b | 0.04 ^b | 1.00 | 3.95 ^b | 0.18 ^b | 0.51 ^b |
| 超声提取法 | 0.13 ^a | 0.25 ^a | 0.12 ^a | 1.00 | 6.66 ^a | 0.69 ^a | 1.30 ^a |
| 微波提取法 | 0.03 ^b | 0.07 ^b | 0.04 ^b | 1.00 | 4.40 ^{ab} | 0.21 ^{ab} | 0.46 ^{ab} |

与热水提取法组比较, a: $P < 0.05$; 与超声提取法组比较, b: $P < 0.05$

5 DPPH 自由基清除活性研究

多糖作为一种多羟基化合物, 具有较强的抗氧化能力, 如已有报道黄瓜多糖^[23]、兰州百合多糖^[24]等具有显著的抗氧化能力。近年来多糖提取方法的比较研究中也多通过 DPPH 自由基清除能力、还原力、羟自由基清除能力等多糖的抗氧化能力进行评价。本研究对何首乌多糖的 DPPH 自由基清除能力进行分析, 此方法稳定性好、灵敏度高、操作简单,

被广泛用于体外抗氧化活性评价。

不同方法提取的何首乌多糖 DPPH 自由基清除能力见图 2。结果表明: 何首乌多糖具有明显的 DPPH 自由基清除能力, 且与多糖浓度呈正相关。比较不同方法提取的何首乌多糖, 发现 M-PMP 的 DPPH 自由基清除能力相比其他 2 种提取方式略强, 但三者间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

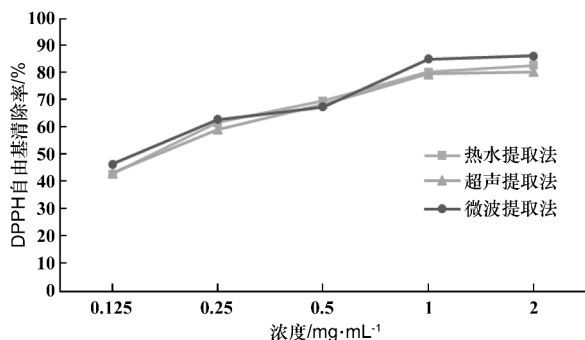


图2 不同提取方法所得何首乌多糖的 DPPH 自由基清除率

6 生何首乌和制何首乌多糖的比较

热水提取法操作简单、成本低,是传统的多糖提取方法,且与药材常用水煎煮模式相符,能最大程度反映何首乌水煎液以及相关成药制剂中多糖成分,故本文初步探索了 H-PMP 与 H-PMPP 的差异(结果见表 4),旨在研究炮制过程对多糖成分的影响,为多糖的深入研究提供参考。由表 4 可知,H-PMPP 得率约为 H-PMP 的 4 倍,同时发现 H-PMPP 的 M_w 远低于 H-PMP。从单糖组成角度来看,炮制前后单糖种类未发生变化,但含量发生明显变化,尤其表现在炮制后 GalA 含量降低,Glc 含量增加。

表 4 生何首乌和制何首乌粗多糖理化性质比较

| 项目 | 生何首乌多糖 | 制何首乌多糖 |
|------------|--------------|--------------|
| 粗多糖得率/% | 3.58 ± 0.12 | 13.10 ± 0.22 |
| 总糖含量/% | 55.58 ± 1.87 | 66.70 ± 0.16 |
| 蛋白含量/% | 16.12 ± 0.52 | 23.07 ± 0.79 |
| M_w /kDa | 1 265.0 | 354.5 |
| 单糖组成/% | | |
| Man | 0.18 | 0.20 |
| Rha | 1.21 | 0.71 |
| GlcA | 0.74 | 0.61 |
| GalA | 17.36 | 7.51 |
| Glc | 68.50 | 85.50 |
| Gal | 3.14 | 1.37 |
| Ara | 8.86 | 4.10 |

讨 论

热水提取法是传统的多糖提取方法,近年来超声波、微波辅助提取技术也常用于提取多糖,具备提取时间短、操作简便等特点。在本研究中,M-PMP

得率最高、总糖含量最高,相关研究表明微波能使原料内部的水分迅速吸收能量而大量产热,液态水汽化提高细胞内部压力,破坏细胞膜和细胞壁,形成微小孔洞,促使细胞破裂,有利于多糖成分的溶出,从而提高得率^[25];U-PMP 得率最低,可能是因为提取温度较低,对细胞壁的作用也相对温和,多糖不易溶出;而 H-PMP 得率和总糖含量稍低于 M-PMP,其提取温度最高、耗时最长。在本研究所采用的 3 种何首乌多糖提取方法中,微波提取法耗时短,所得多糖得率和总糖含量均为最高,提取效率最高,展现出了的工业化生产优势,从提取效率的角度来看是何首乌多糖的最佳提取方法。

研究表明天然多糖的生物活性与其分子量和单糖组成有关^[25-28], M_w 测定结果显示,H-PMP 的 M_w 最高,与其他多糖有显著差异,这可能是因为 H-PMP 糖苷键破坏较少且提取温度最高,大分子多糖更易溶出;且热水提取法温度高,提取时间长,这也可能是 H-PMP 含有较高分子量多糖的原因。而微波和超声波在破坏何首乌细胞壁时,也会使何首乌多糖的糖苷键断裂,促使多糖分解。PDI 值用来表示聚合物的分子量分散度,理论上呈单分散的聚合物 PDI 值为 1,而 PDI 值越高,表示分子量分布越宽广。U-PMP 的 PDI 值最小,说明分子量分布更为集中,与其余 2 种多糖有明显差异,推测是超声提取法温度较低、分子振动频率大,小分子多糖更易溶出,较大分子量的多糖可能未溶出。多糖中单糖组成的不同,会导致其连接方式和结构也不相同,进而影响其生物活性^[29]。单糖组成结果显示,U-PMP 单糖组成摩尔比与其余 2 种多糖有一定差异,这可能是因为大分子多糖未溶出,超声提取法提取多糖不够完全,导致 U-PMP 单糖组成的比例也与其他多糖不同。由此可见 U-PMP 与其余 2 种多糖的结构有着一定差异,而结构的差异也会导致活性的差异。随着何首乌多糖浓度的增加,3 种方法提取的多糖 DPPH 自由基清除能力也随之增强,虽然 M-PMP 的 DPPH 自由基清除能力稍强于其余 2 种多糖,但 3 种多糖的活性并无显著性差异。不同提取方法何首乌多糖活性的差异及活性与结构差异的联系还有待进一步研究。

此外,本研究初步发现 H-PMP 和 H-PMPP 在得率、 M_w 、单糖组成摩尔比均存在较大差异,推测可能是炮制过程中何首乌中的成分发生了变化,有利于多糖溶出,且炮制时黑豆汁的浸入使细胞壁通透性

增强,从而利于多糖溶出。此外,黑豆汁中的多糖也可能随之进入制何首乌中,从而增加制何首乌中的多糖含量。而何首乌炮制时间长、温度高,易破坏多糖的糖苷键,使得糖链断裂,多糖结构发生变化,小分子多糖的含量增加。

本研究采用热水提取法、超声提取法、微波提取法制备了生何首乌多糖,并对其基本理化性质(总糖含量、蛋白含量、 M_w 、单糖组成)和 DPPH 自由基清除能力进行比较分析。结果表明:M-PMP 多糖得率最高,U-PMP 得率最低; M_w 存在显著差异,H-PMP 的 M_w 远远高于其他 2 种;单糖组成类型一致,但摩尔比有一定差异;上述均说明不同提取方法所得何首乌多糖结构存在差异。以 DPPH 自由基清除能力来评价多糖活性,未发现显著差异。此外,本研究亦表明 H-PMP 和 H-PMPP 结构存在较大差异,是否会对其活性发挥有待进一步探索。

[参 考 文 献]

- [1] LIU Y, WANG Q, YANG JB, *et al.* *Polygonum multiflorum* Thunb.: a review on chemical analysis, processing mechanism, quality evaluation, and hepatotoxicity [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 364.
- [2] 纪庆丽,魏晓东,欧芹. 何首乌多糖对衰老模型大鼠肝 mtDNA 损伤及复合体 IVCO I、ATPase 6 mRNA 表达的影响[J]. 黑龙江医药科学, 2009, 32(6): 45-46.
- [3] 程凯,张慧俭,陈玉龙,等. 何首乌多糖抗小鼠疲劳的效应机制[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(24): 6054-6055.
- [4] LV LS, CHENG YH, ZHENG TS, *et al.* Purification, antioxidant activity and antiglycation of polysaccharides from *Polygonum multiflorum* thunb[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 99: 765-773.
- [5] 翟蓉,吕丽爽,金邦荃. 何首乌多糖降血脂作用的研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 87-90, 101.
- [6] ZHU WL, XUE XP, ZHANG ZJ. Ultrasonic-assisted extraction, structure and antitumor activity of polysaccharide from *Polygonum multiflorum* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 91: 132-142.
- [7] ZHANG Q, XU Y, LV JJ, *et al.* Structure characterization of two functional polysaccharides from *Polygonum multiflorum* and its immunomodulatory [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 113: 195-204.
- [8] 王莹,金红宇,丁侃,等. 中药多糖质量控制体系初探[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(10): 1670-1680.
- [9] DONG HM, LIN S, ZHANG Q, *et al.* Effect of extraction methods on the properties and antioxidant activities of *Chuanminshen violaceum* polysaccharides [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 93 (Pt A): 179-185.
- [10] CHEN HY, ZENG JS, WANG B, *et al.* Structural characterization and antioxidant activities of *Bletilla striata* polysaccharide extracted by different methods [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 266: 118149.
- [11] ZHAO CC, LI X, MIAO J, *et al.* The effect of different extraction techniques on property and bioactivity of polysaccharides from *Dioscorea hemslayi* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 102: 847-856.
- [12] HE L, YAN XT, LIANG J, *et al.* Comparison of different extraction methods for polysaccharides from *Dendrobium officinale* stem [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 198: 101-108.
- [13] HAO W, WANG SF, ZHAO J, *et al.* Effects of extraction methods on immunology activity and chemical profiles of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 185: 113219.
- [14] CHEN L, ZHANG YP, JIN LX, *et al.* Preparation, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Fallopia multiflora* (thunb.) harald [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 108: 259-262.
- [15] 陈占科,王淑美,陈静,等. 制何首乌多糖的超声提取工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 44-46.
- [16] 张庆. 何首乌多糖分离鉴定与免疫调节活性研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2017.
- [17] 李燕,刘军海,孙小凡,等. 超声波-微波协同提取何首乌多糖的工艺研究 [J]. 湖北农业科学, 2016, 55(11): 2867-2871, 2912.
- [18] 周连文,张存兰,刘新华. 酶辅助超声波提取何首乌多糖及其抗氧化性研究 [J]. 食品科技, 2008, 33(1): 170-173.
- [19] 许煜迪,周萍,刘颖,等. 制首乌 4 种炮制过程中物质基础共性变化规律分析 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(3): 614-619.
- [20] 熊斌,高新开,王冲,等. 决明子多糖定量分析方法研究 [J]. 粮食与油脂, 2014, 27(6): 27-30.
- [21] WANG Y, JIN HY, DONG X, *et al.* Quality evaluation of *Lycium barbarum* (wolfberry) from different regions in China based on polysaccharide structure, yield and bioactivities [J]. *Chin Med*, 2019, 14: 49.
- [22] 王雪,池玥兰,华春,等. 不同提取方法对蛹虫草基质多糖的特性研究 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(9): 49-52, 56.
- [23] 何念武,杨兴斌,田灵敏,等. 黄瓜多糖的体外抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2011, 32(19): 70-74.
- [24] LI WM, WANG YJ, WEI HL, *et al.* Structural characterization of Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. *unicolor*) polysaccharides and determination of their associated antioxidant activity [J]. *J Sci Food Agric*, 2020, 100(15): 5603-5616.
- [25] 赵芷芊,王敏,张志清. 植物多糖的提取及抗氧化功效的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(13): 337-342.
- [26] 陈舜让,李海春,廖思艺,等. 8 种石斛多糖特征及非细胞抗氧化活性比较 [J]. 今日药学, 2022, 32(5): 346-352.
- [27] 田瑞,梁晓晓,冯佳,等. 三百棒多糖的单糖组成分析及对巨噬细胞泡沫化的作用研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(20): 2542-2547.
- [28] 周骏,惠晓亮,毛滢,等. 玉竹多糖对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢的影响及机制研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(10): 1181-1187.
- [29] DOU ZM, CHEN C, HUANG Q, *et al.* Comparative study on the effect of extraction solvent on the physicochemical properties and bioactivity of blackberry fruit polysaccharides [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 183: 1548-1559.

编辑:刘卓越/接受日期:2022-07-26