

DOI:10.14188/j.ajsh.2021.02.010

龙血树叶降血糖活性多糖的纯化及结构解析

孙赵龙^{1,2}, 尹燕锋¹, 刘宝³, 周正凤³, 王兴红^{1*}, 刘接卿^{4*}

- (1. 云南大学 生命科学学院, 云南 昆明 650000;
2. 贵州省草地技术试验推广站, 贵州 贵阳 550000;
3. 普洱淞茂滇草六味制药股份有限公司, 云南 普洱 665000;
4. 华侨大学 生物医学学院, 福建 泉州 362021)

摘要: 龙血树(*Dracaena Vandelli* ex Linnaeus)是一种热带特有的珍稀药用植物。傣族贝叶经记载龙血树叶具有和血竭相似的医疗功效,且市场反馈显示对糖尿病有一定治疗效果,但其降血糖机制尚未揭示。将柬埔寨龙血树叶在L6大鼠成肌细胞降糖活性模型指导下,经热水浸提、醇沉制备粗多糖,再经Sevag法除蛋白、A-722MP阴离子交换树脂脱色后,上DEAE-52纤维素柱层析和Sephacryl S-100HR凝胶柱分离纯化,得到单一活性组分LZS,利用紫外、红外、核磁共振波谱以及HPAEC-PAD色谱法对LZS的结构进行鉴定。活性组分LZS为7种单糖和柠檬酸组成的一种多糖衍生物,单糖组成为:果糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、甘露糖、木糖,摩尔比为54.3:29.5:6.9:6.2:2.1:0.7:0.4,主要由果糖和葡萄糖聚合而成,龙血树叶多糖结构新颖,具有明显的细胞活性。实验结果初步阐明了龙血树叶降糖活性的化学本质,为龙血树叶的利用提供了科学依据。

关键词: 龙血树叶;分离纯化;多糖柠檬酸衍生物;降血糖活性;结构表征

中图分类号: R282.4

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2021)02-0172-06

Purification and structural elucidation of hypoglycemic active polysaccharides from leaves of *Dracaena cambodiana*

SUN Zhaolong^{1,2}, YIN Yanfeng¹, LIU Bao³, ZHOU Zhengfeng³, WANG Xinghong^{1*}, LIU Jieqing^{4*}

- (1. School of Life Science, Yunnan University, Kunming 650000, Yunnan, China;
2. Guizhou Extension Station of Grassland Technology, Guiyang 550000, Guizhou, China;
3. Pu'er Song Mao Dian Cao Liu Wei Pharmaceutical Co, Ltd, Pu'er 665000, Yunnan, China;
4. School of Biomedical Science, Huaqiao University, Quanzhou 362021, Fujian, China)

Abstract: *Dracaena* tree is a rare medicinal plant unique to the tropics. The Dai *Palm leaf manuscript* recorded that *Dracaena* leaves have similar medical effects to blood resin, and market feedback showed that they have certain therapeutic effects on diabetes, but their hypoglycemic mechanism has not been revealed. Under the guidance of hypoglycemic activity model of myoblast of L6 rat cell strain, a pure active component LZS was prepared by extraction with hot water, alcohol precipitation, decolorization with A-722MP anion exchange resin, deproteinization with Sevag method, and final purification with DEAE-52 cellulose column chromatography and Sephacryl S-100HR gel column chromatography. The structure of LZS was solved by UV, IR, NMR and HPAEC-PAD methods, indicating that LZS is a polysaccharide derivative consisting of seven monosaccharides and citric acid. The monosaccharide components of LZS include fructose,

收稿日期: 2020-11-04 修回日期: 2021-02-06 接受日期: 2021-03-23

作者简介: 孙赵龙(1990-),男,硕士,农艺师,研究方向为中草药. E-mail:190811033@cupl.edu.cn

* 通讯联系人: 王兴红(1966-),男,博士,副研究员,主要从事天然药物与微生物转化研究, E-mail:wangxh@ynu.edu.cn; 刘接卿(1981-),男,博士,教授,研究方向为天然药物研究, E-mail:liujieqing@hqu.edu.cn

基金项目: 云南省科技创新强省计划项目(2011BAD30B00)

引用格式: 孙赵龙, 尹燕锋, 刘宝, 等. 龙血树叶降血糖活性多糖的纯化及结构解析[J]. 生物资源, 2021, 43(2): 172-177.

Sun Z L, Yin Y F, Liu B, et al. Purification and structural elucidation of hypoglycemic active polysaccharides from leaves of *Dracaena cambodiana* [J]. Biotic Resources, 2021, 43(2): 172-177.

glucose, galactose, arabinose, rhamnose, mannose and xylose, which connect with each other via β -glucoside bonds with molar ratio of 54.3:29.5:6.9:6.2:2.1:0.7:0.4. The polysaccharides in the leaves of *Dracaena cambodiana* have novel structure and obvious hypoglycemic activity. Our results clarify the chemical nature of hypoglycemic function of *Dracaena* leaves, and provide scientific basis for their utilization.

Key words: *Dracaena cambodiana* leaf; separation and purification; polysaccharide citrate derivative; hypoglycemic activity; structural characterization

0 引言

糖尿病是一种代谢紊乱性疾病,发病机制复杂,目前尚无较好的治疗药物。植物多糖因其具有多方面的调节人体机能的作用,是一类有开发前景的降血糖活性成分。

柬埔寨龙血树(*Dracaena cambodiana* Pierre ex Gagnep.)属百合科(Liliaceae)龙血树属(*Dracaena* Vand. ex L.)植物,微幅分布在亚洲南部的热带与亚热带地区^[1,2]。龙血树能够分泌血竭。为了生产血竭,龙血树已经在普洱、西双版纳地区进行了规模化种植,但龙血树叶尚没有很好的利用方式。傣族《贝叶经》记载龙血树叶对消渴症有显著疗效^[1]。云南省食品药品监督管理局制定了龙血树叶(傣药傣语名称:摆埋嘎筛)标准(云YNZYC-0114-2007),功能与主治为:清热解毒、除风消疮、活血化瘀、消肿止痛、续筋接骨。目前,龙血树叶已经被加工成龙血树叶纯粉,有一定规模的市场销售,市场反馈显示其对糖尿病具有显著的治疗效果。但对龙血树叶的降血糖活性成分及药理机制的研究却鲜见报道。

1 材料与仪器

柬埔寨龙血树叶,采自普洱市思茅区;L6大鼠骨骼肌成肌细胞,由昆明市第一人民医院实验中心提供;AR苯酚、DEAE-Cellulose DE-52、Sephacryl S-100HR、8种标准单糖、纤维素透析袋(均为美国Sigma公司),胎牛血清、青链霉素混合液(PS)(以色列BI公司),葡萄糖测定试剂盒、高糖DMEM培养基(上海荣盛生物药业有限公司)。

主要仪器有精密电子天平(美国OHAUS Corporation公司)、恒温水浴锅(IKA)、旋转蒸发仪(巩义市予华仪器有限公司、IKA)、真空冷冻干燥机、UV754N紫外可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司)、超纯水机(ULUP公司)、CO₂培养箱(美国Thermo scientific公司)、酶标仪(美国Bio-Rad公司)、细胞培养瓶(Corning公司)、U-4100分光光度计、核磁共振波谱仪、傅里叶变换红外光谱仪、96孔板、Thermo 离子色谱系统、DionexTM CarboPacTM PA20色谱柱。

2 方法

2.1 L6大鼠成肌细胞降血糖活性测定

复苏L6大鼠骨骼肌成肌细胞,接种在含10%胎牛血清、1%青-链双抗PS和高糖DMEM培养液中,于5%CO₂、37℃饱和湿度条件下培养,待细胞生长至密度达70%~80%时进行诱导分化,培养为长树枝状肌管细胞后加入各测试样品。用葡萄糖测定试剂盒测培养液内葡萄糖含量,在酶标仪490 nm波长处测吸光度值,以培养液葡萄糖残存浓度计算、比较各组葡萄糖消耗量^[3]。

2.2 龙血树叶粉各组分的分离及多糖的分离、纯化

柬埔寨龙血树叶粉300 g,装柱后依次用石油醚、乙酸乙酯、甲醇、水浸泡淋洗,浓缩、干燥各提取物,经细胞模型评价,发现只有水溶性成分有降糖活性,故用水溶性成分进行后续研究,对水溶性成分进一步分离,发现只有醇沉部分有降糖活性,后续实验对醇沉部分进行分离。

将龙血树叶粉用5倍量甲醇洗去部分杂质后,再加去离子水以1:25(*m*:*V*)的料液比加热到85℃提取3 h,过滤,收集滤液,重复提取3次,合并滤液,75℃旋蒸浓缩至有一定粘稠度时,加入5倍体积的乙醇混匀后低温静置,沉淀,冷冻干燥后得粗多糖。氯仿和正丁醇以体积比5:1配制成Sevag试剂,进行粗糖游离蛋白的脱除,而后选用A-722MP大孔强碱性阴离子交换树脂进行脱色素处理,获得精制糖。

称取预溶DEAE-Cellulose DE-52纤维素180 g,预处理完层析柱,柱床沉降稳定后高38 cm,直径4 cm。称取0.5 g精制糖,溶于25 mL去离子水中一次性上样。0 mol/L、0.1 mol/L、0.3 mol/L、0.6 mol/L、1 mol/L的NaCl溶液分段洗脱,控制流速在0.6 mL/min,用西林瓶收集洗脱液,每15 min收集一瓶,用苯酚硫酸法跟踪检测糖含量,旋蒸干燥各个组分。

量取390 mL适合多糖分离的溶胀Sephacryl S-100HR凝胶漂洗,加入200 mL去离子水轻微搅匀经真空脱气后装柱,柱床高150 cm,直径1.8 cm。称取30 mg多糖组分QLZI,充分溶于5 mL去离子水

中,吸取4 mL透亮上层液,沿管壁缓慢上样,调控流速为0.3 mL/min。去离子水作洗脱剂,每20 min收集一瓶。旋蒸干燥各个组分。

标准曲线的制作:利用OriginPro软件对所获数据进行处理,通过建立的散点图拟合曲线,获得线性回归方程。糖含量曲线以葡萄糖为标准品,参考张杰等^[4]方法建立。葡萄糖标准曲线的回归方程为: $Y=12.579\,39X-0.001\,87$, $R^2=0.998\,09$ 。

蛋白含量以牛血清白蛋白为标准品,参考贾维宝等^[5]方法建立。标准曲线的回归方程为: $Y=7.109\,79X+0.018\,56$, $R^2=0.997\,98$ 。

2.3 LZS的结构表征

2.3.1 紫外扫描分析

精确称取1 g柬埔寨龙血树叶的单一组分多糖LZS,加10 mL去离子水配制成0.1 g/mL的样品溶液,在190~400 nm区域内进行紫外光谱扫描。

2.3.2 红外光谱测定

准确称量2 mg干燥LZS,在远红外灯下与KBr固体粉末按1:100($m:m$)比例压片,在傅里叶变换红外光谱仪400~4 000 cm^{-1} 波长范围内扫描,获其红外光谱图。

2.3.3 核磁共振波谱分析

称量75 mg储备好的待测样品LZS,充分溶解于3 mL D_2O ,热风机微热振摇使充分溶解成饱和溶液。吸取样品液加于核磁管中,上机测定其核磁共振一维、二维图谱。

2.3.4 样品单糖组成测定

将LZS样品复溶后冻干,准确称取干燥样品2 mg,同1 mL 2 mol/L TFA于小瓶中酸水解,120 $^{\circ}\text{C}$ 水解1 h。加入适量的无水乙醇,室温下置于氮吹仪上除去TFA。加入 ddH_2O 配制成浓度为200 mg/L的溶液,0.22 μm 微孔膜过滤待测。

根据需要稀释含有0.025 mmol/L的葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、甘露糖(Man)、鼠李糖(Rha)、岩藻糖(Fuc)、阿拉伯糖(Ara)、木糖(Xyl)和0.25 mmol/L的果糖(Fru)标准溶液,并将此系列标准溶液分别稀释2、4、8、20、50、100倍,0.22 μm 微孔滤膜过滤作为标准液待测。

色谱系统:Thermo ICS 5000 plus离子色谱系统;检测器:PAD;色谱柱型号:CarboPac PA20 (150×3 mm);流动相:A, H_2O ;B, 10 mmol/L NaOH;C, 1 mol/L NaOH;进样方式及上样量:自动进样,上样量为25 μL ;流速:0.4 mL/min;洗脱程序:0~25 min, 2 mmol/L NaOH恒浓度洗脱。

3 结果与分析

3.1 龙血树叶总水提物降糖活性

图1显示,含格列本脲的阳性对照组、各浓度总水提物组、各浓度水提物加胰岛素组的葡萄糖摄取量均高于纯培养基对照组,阳性对照组葡萄糖摄取量低于10%总水提物药物组38.39% ($P<0.01$, SPSS软件 t 检验),且各浓度总水提物组表现明显的浓度依赖型。该结果提示,柬埔寨龙血树叶总水提物可提高L6大鼠骨骼肌成肌细胞胰岛素敏感,促进葡萄糖摄取,具有很好的降血糖生物活性。

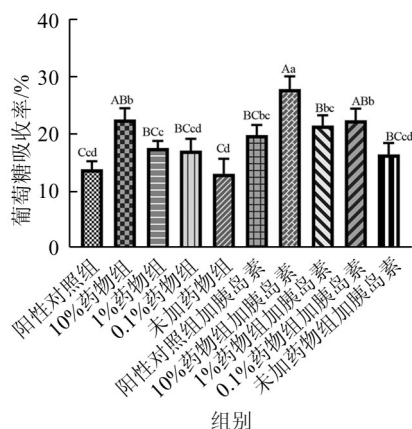


图1 龙血树叶总水提物降血糖活性检测

Fig. 1 Hypoglycemic activity of total aqueous extract of *Dracaena* leaves

注:大、小写字母分别表示差异为0.01和0.05显著水平

Note: bars superscripted by different letters are significantly different at the 0.01 (capital) and 0.05 (lowercase) probability levels, respectively

3.2 活性成分分离纯化

经细胞模型测试,水提取物中醇不溶部分为活性部位。对水提醇沉部分粗糖经脱色去蛋白处理制备成精制糖,仍然具有活性。将龙血树叶经去蛋白、脱色后上DEAE-52纤维素离子交换柱进行洗脱。

图2显示,龙血树叶精制糖经DEAE-52纤维素离子交换柱洗脱,共分离到4个组分。其中QLZI为去离子水阶段洗脱下来的主体组分,其余为不同浓度氯化钠溶液洗脱组分,均为酸性糖,出峰相对较小,且峰形都有拖尾现象。三组分QLZ II、QLZ III、QLZ IV经纤维素透析袋透析去除盐分子。

从图3可见,QLZI样品的葡萄糖吸收率最高,经SPSS软件分析其与对照组相比具有极显著性差异 ($P=0.001<0.01$),具有明显的降糖活性,能够促进L6骨骼肌成肌细胞对葡萄糖的摄取。QLZ II、QLZ III样品组同对照组相比也具有降糖活性,但活

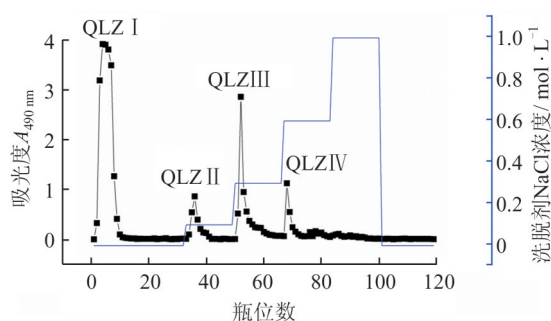


图2 DEAE-Cellulose 52柱层析洗脱曲线

Fig. 2 Elution curve of DEAE-Cellulose 52 column chromatography

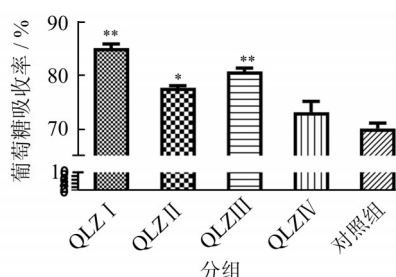


图3 粗分四组分降糖活性检测

Fig. 3 Detection of hypoglycemic activity of four separation components

注:与对照组相比,**差异极显著($P < 0.01$),*差异显著($P < 0.05$)

Note: compared with the control group, **extremely significant difference ($P < 0.01$), *significant difference ($P < 0.05$)

性稍低。QLZIV样品组和对照组葡萄糖吸收率相比较无显著性差异。因QLZI峰形高大对称,生物活性最好,故对其进一步纯化。QLZI经 Sephacryl S-100HR 凝胶层析的洗脱曲线显示(图4),有两个糖吸收峰。第一个峰极小量甚微,峰形不规则;LZS的峰形单一、对称性好,即可确定为纯物质,表明LZS为均一组分。LZS浓缩后冻干,该样品水溶性好,易吸潮。

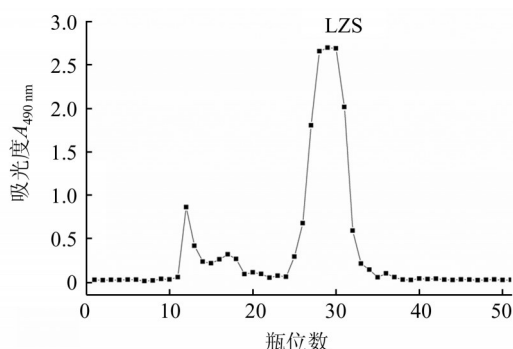


图4 QLZI的Sephacryl S-100HR凝胶洗脱曲线

Fig. 4 Elution curve of QLZI on Sephacryl S-100HR column chromatography

3.3 LZS紫外光谱分析

LZS的紫外光谱扫描结果表明,在260 nm和280 nm处无吸收峰,190 nm附近出现强的糖化合物特征吸收峰,见图5,说明LZS中不含核酸、蛋白质等杂质。

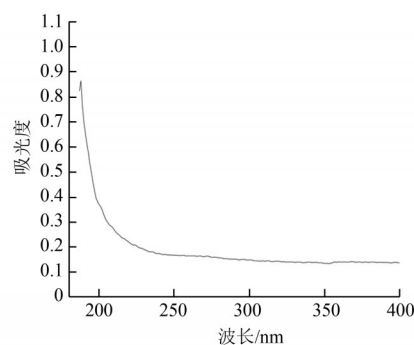


图5 LZS的紫外光谱图

Fig. 5 UV-scanning spectra of the LZS

3.4 LZS红外光谱分析

用红外光谱扫描仪在4 000~400 cm^{-1} 波长范围内对LZS进行扫描,得其红外光谱图(图6)。在3 407 cm^{-1} 处的强而宽吸收峰是O—H的伸缩振动。2 932 cm^{-1} 处的强吸收峰为C—H的伸缩振动,为糖的特征基团吸收峰。1 602 cm^{-1} 左右的吸收峰为糖分子中的羰基CO的伸缩振动引起。1 419 cm^{-1} 左右为C—H键的变角振动吸收^[6]。1 277 cm^{-1} 附近的吸收峰是CH₂扭曲振动或面外摇摆所引起。1 130 cm^{-1} 左右是C—O—H或C—O—C伸缩振动的吸收峰。1 026 cm^{-1} 处的强吸收峰收为糖分子中的C—O键的变角振动。931 cm^{-1} 处吸收峰是呋喃环的对称伸缩振动。819 cm^{-1} 处是果呋喃亚甲基C—H的剪切振动吸收峰^[7]。600 cm^{-1} 左右处宽带为氢键OH面外变形振动。其中1 130 cm^{-1} 和1 026 cm^{-1} 两处峰为缩酮特征基团的特征吸收^[7]; 931 cm^{-1} 和819 cm^{-1} 是呋喃果聚糖所具有的吸收峰^[8-10]。由红外光谱图分析,可认为LZS是以果糖为主要组成的寡糖衍生物。

3.5 核磁共振波谱分析

参考相关文献对LZS的一维、二维核磁共振波谱分析^[11-16], ¹H NMR显示在 $\delta = 5.3$ 处有一个端基质子信号,与HSQC里 $\delta = 92.22$ 处的一个异头碳信号有关,且¹³C NMR谱中相对矮的碳谱峰显示 $\delta = 92.22$ 是葡萄糖的C-1信号, δ 在63.33~73.85范围是葡萄糖的2~6位碳信号,从端基质子的耦合信息为宽单峰和碳谱的化学位移值表明为 α -葡萄糖; δ 在103.13~104.03, δ 在80.27~81.25, δ 在75.51~

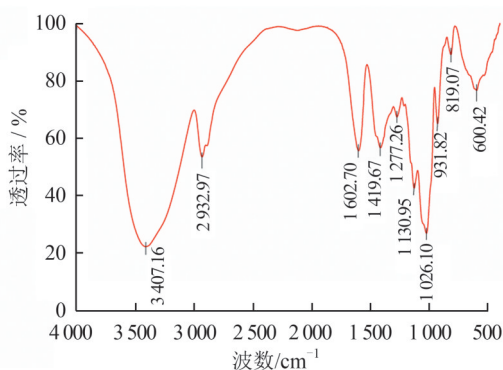


图6 LZS的红外光谱图
Fig. 6 IR spectrogram of LZS

77.00, δ 在 74.48~75.24, δ 在 62.34~63.33, δ 在 60.13~62.23 范围内,分别是果糖的 C-2、C-5、C-3、C-4、C-6、C-1; $\delta=92.22$ 和 $\delta=103.13\sim10.403$ 处的两组异头碳信号表明,LZS的单糖组成包含果糖和葡萄糖,因为果糖残基是酮糖无端基质子,只显示出一个端基质子信号来,与 ^1H NMR 谱一致。异头碳信号和果糖 C-5 在 $\delta=80\sim82$ 处的典型峰表明,果糖残基全属于呋喃果糖,这同前面红外光谱 931 cm^{-1} 和 819 cm^{-1} 处结果一致。综合所有波谱信息,确定其主要是由呋喃果糖和 α -葡萄糖连接而成的聚合糖化合物,这与红外扫描光谱推出的果糖为主的聚合物结论一致。在 ^1H NMR 中 $\delta=2.5$ 处有两个柠檬酸典型吸收峰, ^{13}C NMR 的 $\delta=178.6$ 和 $\delta=181.3$ 处呈 2:1 的柠檬酸羧基团吸收峰,即该糖链接有柠檬酸分子。

3.6 单糖组成分析

单糖组成色谱图结果如图 7 所示,根据标准单糖出峰时间结合样品出峰保留时间确定单糖组成,并将单糖的峰面积带入回归方程计算,得到 LZS 的单糖组成含 Fru、Glc、Gal、Ara、Rha、Man、Xyl,摩尔比为 54.3:29.5:6.9:6.2:2.1:0.7:0.4。

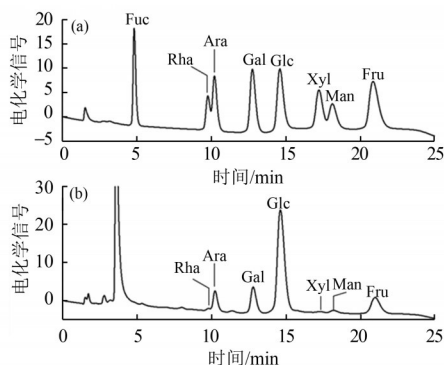


图7 标准单糖(a)和 LZS(b)的离子色谱图
Fig. 7 Ion chromatogram of standard monosaccharide (a) and LZS(b)

3.7 活性成分的对比分析

对制取的柬埔寨龙血树叶精制糖,试验采用报道具有降血糖功效的低聚木糖、水苏糖、魔芋多糖作对比,配制含等浓度细胞培养液,考察其降糖活性能力。如图 8,四样品组 L6 成肌细胞葡萄糖吸收率均极显著高于对照组 ($P<0.01$, SPSS 软件 t 检验分析),显示龙血树叶多糖降糖活性最好。

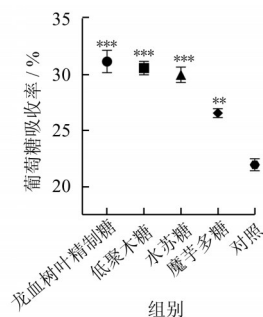


图8 四样品的降糖活性比较

Fig. 8 Comparison of hypoglycemic activity of four samples

注:与对照组相比差异极显著,*** $P<0.001$,** $P<0.01$
Note: compared with the control group, *** $P<0.001$ and ** $P<0.01$ indicate extremely significant difference

4 讨论

植物多糖是一类由相同或不同的醛糖(酮糖)组成,由糖苷键连接缩合而成的结构复杂的高分子化合物,高度稳定、安全且无毒。多种植物多糖被报道具有降血糖活性,如:人参多糖、桃胶多糖、杜仲多糖、黄芪多糖、石斛多糖、地黄多糖等,这些多糖多为此类植物药的主要活性因子。不同植物多糖存在不同的降血糖机制,主要具有促进胰岛素分泌、抑制胰岛细胞凋亡;增强胰岛素敏感性,降低胰岛素抵抗;调节相关酶活性;改善肠道菌群等机制^[17]。

本研究首次对柬埔寨龙血树叶的降血糖活性成分进行分离,获得了单一活性组分 LZS,并借助 IR、核磁共振波谱仪及离子色谱仪对 LZS 测定分析,确定了 LZS 主要是由果糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、甘露糖、木糖组成,物质的量比为 54.3:29.5:6.9:6.2:2.1:0.7:0.4,该组分还含少量柠檬酸。龙血树多糖的最大的特点是分子含有柠檬酸基团,经查文献资料,尚未见有该种结构的糖衍生物,属新型结构化合物。以呋喃果糖基构成主体链,通过 α -或 β -糖苷键链接其他残基分子。研究结果显示:龙血树叶多糖类化合物具有一定的降血糖活性,为龙血树叶抗糖尿病药物的开发提供了理论依据,对龙血树的产业开发起到促进作用。

参考文献

- [1] 黄超, 王兴红, 刘接卿, 等. 龙血竭的研究与开发 [M]. 北京: 科学出版社, 2018.
Huang C, Wang X H, Liu J Q, *et al.* Research and development on dragon blood resin [M]. Beijing: Science Press, 2018.
- [2] 王芳芳. 剑叶龙血树的化学成分及其生物活性研究 [D]. 昆明: 云南民族大学, 2015.
Wang F F. Studies on chemical constituents of *Dracaena cochinchinensis* and their bioactivities [D]. Kunming: Yunnan University of Nationalities, 2015.
- [3] 孙英冬, 周勇, 王勇, 等. Ghrelin提高L6大鼠成肌细胞胰岛素敏感性及其机理[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2014, 21(7): 816-821.
Sun Y D, Zhou Y, Wang Y, *et al.* Ghrelin enhances the sensitivity of insulin in L6 rat skeletal muscle via PI3K/Akt/GSK- β signaling pathway [J]. Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery, 2014, 21(7): 816-821.
- [4] 张杰, 李春艳, 李劲平, 等. 蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定竹节参多糖含量的比较研究[J]. 中南药学, 2012, 10(6): 421-424.
Zhang J, Li C Y, Li J P, *et al.* Determination of polysaccharide in rhizoma of *Panax japonicus* by anthrone sulfuric acid method and phenol sulfuric method [J]. Central South Pharmacy, 2012, 10(6): 421-424.
- [5] 贾维宝, 刘良忠, 黄婷, 等. 几种用于肽粉中蛋白质含量测定方法的比较[J]. 武汉轻工大学学报, 2016, 35(1): 17-20.
Jia W B, Liu L Z, Huang T, *et al.* Comparison of several methods for determining the content of protein in peptides [J]. Journal of Wuhan Polytechnic University, 2016, 35(1): 17-20.
- [6] 曲晓萌. 新型饲料添加剂雪莲果低聚果糖的制备及其生物活性评价[D]. 曲阜: 曲阜师范大学, 2009.
Qu X M. The research of yacon fructo-oligosaccharides, as new feed additive, its purification and biological activities [D]. Qufu: Qufu Normal University, 2009.
- [7] 段文娟, 魏远安, 陈子健, 等. 蔗果三糖标准样品的研制[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(2): 180-185.
Duan W J, Wei Y A, Chen Z J, *et al.* Preparation of kestose certified reference materials [J]. Food Research and Development, 2017, 38(2): 180-185.
- [8] 蒋世琼, 覃玉莹. 菊芋中低聚果糖的提取、分离和测定[C]//第十届全国有机分析研讨会论文集(下册). 济南: 中国化学会, 1998: 41-42.
Jiang S Q, Qin Y Y. Extraction, separation and determination of fructo-oligosaccharide in inulin [C]//Proceedings of the 10th National Organic Analysis Symposium (next volume). Jinan: Chinese Chemical Society, 1998: 41-42.
- [9] 黄冬兰, 徐永群, 陈小康. 党参及其水提取物的红外光谱研究[J]. 分析科学学报, 2014, 30(3): 417-420.
Huang D L, Xu Y Q, Chen X K. Analysis of *Codonopsis pilosula* and its water extract by infrared spectroscopy [J]. Journal of Analytical Science, 2014, 30(3): 417-420.
- [10] 吕伟. 利用大蒜制备低聚果糖研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2010.
Lü W. Study on preparation of FOS by garlic [D]. Nanchang: Nanchang University, 2010.
- [11] Wang L B, Liu F C, Wang A X, *et al.* Purification, characterization and bioactivity determination of a novel polysaccharide from pumpkin (*Cucurbita moschata*) seeds [J]. Food Hydrocoll, 2017, 66: 357-364.
- [12] Jeff I B, Li S S, Peng X X, *et al.* Purification, structural elucidation and antitumor activity of a novel mannogalactoglucan from the fruiting bodies of *Lentinus edodes* [J]. Fitoterapia, 2013, 84: 338-346.
- [13] Li J Y, Yuan P F, Wang X H, *et al.* Purification, characterization and bioactivities of polysaccharides from *Pleurotus ferulae* [J]. Food Funct, 2017, 8(5): 1905-1914.
- [14] Yamanoi T, Oda Y, Katsuraya K, *et al.* Complete NMR assignment of a bisecting hybrid-type oligosaccharide transferred by *Mucor hiemalis* endo- β -N-acetylglucosaminidase [J]. Carbohydrate Res, 2016, 427: 60-65.
- [15] Lemaire L, Franconi F, Siegler B, *et al.* *In vitro* expansion of U87-MG human glioblastoma cells under hypoxic conditions affects glucose metabolism and subsequent *in vivo* growth [J]. Tumor Biol, 2015, 36(10): 7699-7710.
- [16] Zhao D, Feng F, Yuan F, *et al.* Simultaneous determination of 13 carbohydrates using high-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection and mass spectrometry [J]. J Sep Sci, 2017, 40(8): 1843-1854.
- [17] 周雯, 庄蕾, 吴森. 植物多糖在II型糖尿病降血糖作用方面的研究进展[J/OL]. 食品与发酵工业. (2020-10-27) [2020-11-02]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.025641>.
Zhou W, Zhuang L, Wu S, *et al.* Research progress of plant polysaccharides in hypoglycemic effect of type 2 diabetes mellitus [J/OL]. Food and Fermentation Industries. (2020-10-27) [2020-10-29]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.025641>.

□

(编辑: 杨晓翠)