

林春林, 李莹莹, 刘朋虎, 等. 姬松茸多糖-铬(Ⅲ)络合物的制备及降血糖活性体外评价[J]. 福建农业学报, 2025, 40 (6): 628–636.

LIN C L, LI Y Y, LIU P H, et al. Preparation and *In Vitro* Hypoglycemic Activity of Chelate *Agaricus blazei* Polysaccharide-chromium (III) Compound[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2025, 40 (6): 628–636.



姬松茸多糖-铬(Ⅲ)络合物的制备及降血糖活性体外评价

林春林^{1,2}, 李莹莹^{1,2}, 刘朋虎^{2,3*}, 林冬梅^{2,3}, 李晶^{2,3}, 王义祥⁴, 陈华^{4,5}

(1. 福建农林大学园艺学院, 福建 福州 350002; 2. 福建农林大学国家菌草工程技术研究中心, 福建 福州 350002; 3. 福建农林大学菌草与生态学院, 福建 福州 350002; 4. 福建省红壤农业生态过程重点实验室, 福建 福州 350003; 5. 福建省农业科学院, 福建 福州 350003)

摘要:【目的】探究姬松茸多糖-铬(Ⅲ)络合物 [*Agaricus blazei* polysaccharide-chromium(Ⅲ) complex, ABMP-Cr(Ⅲ)] 的制备工艺、结构特性与生物活性。【方法】采用水提醇沉法从姬松茸 (*Agaricus blazei*) 中提取多糖, 通过反应温度、底物浓度、反应时间和 pH 值的单因素及响应面法, 研究 ABMP-Cr(Ⅲ) 的最佳制备条件; 采用扫描电镜、红外光谱对其进行结构分析, 通过测量 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制率分析其降血糖活性。【结果】ABMP-Cr(Ⅲ) 制备的最佳条件是反应温度 22.0 °C, 反应时间 40 min, pH 值 6.0, 底物浓度 24.00 mg·mL⁻¹; 在该条件下 ABMP-Cr(Ⅲ) 的螯合率为 90.13%。姬松茸多糖 (*Agaricus blazei* Murill polysaccharides, ABMP) 呈长块状结构, ABMP-Cr(Ⅲ) 表面较光滑呈片层结构; Cr³⁺ 与多糖的结合位点是 O-H、C-H 和 C-O-H。ABMP-Cr(Ⅲ) 的降血糖活性随着样品浓度升高而升高, 且其效果优于 ABMP, 当 ABMP-Cr(Ⅲ) 为 0.6 mg·mL⁻¹ 时 α -淀粉酶抑制率可达 55.11%; 当 ABMP-Cr(Ⅲ) 浓度为 5 mg·mL⁻¹ 时, α -葡萄糖苷酶抑制率可达 40.48%。【结论】ABMP-Cr(Ⅲ) 在本研究最佳制备条件下制备效率高, 其结构与 ABMP 差异明显, ABMP-Cr(Ⅲ) 具有良好的降血糖活性, 具有很好的开发前景。

关键词: 姬松茸; 多糖-铬(Ⅲ)络合物; 结构表征; 降血糖活性

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2025) 06-0628-09

Preparation and *In Vitro* Hypoglycemic Activity of Chelate *Agaricus blazei* Polysaccharide-chromium (III) Compound

LIN Chunlin^{1,2}, LI Yingying^{1,2}, LIU Penghu^{2,3*}, LIN Dongmei^{2,3}, LI Jing^{2,3}, WANG Yixiang⁴, CHEN Hua^{4,5}

(1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. National Engineering Research Center of JUNCAO Technology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 3. College of JUNCAO Science and Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 4. Fujian Key Laboratory of Agricultural Ecological Process of Red Soil Mountain, Fuzhou, Fujian 350002, China; 5. Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: 【Objective】Explore the preparation process, structural characteristics, and biological activity of *Agaricus blazei* polysaccharide-chromium(III) complex [ABMP-Cr(III)]. 【Methods】Polysaccharides were extracted from *Agaricus blazei* by water extraction and alcohol precipitation. The optimum preparation conditions of ABMP-Cr(III) were studied by single factor and response surface method of reaction temperature, substrate concentration, reaction time and pH. Its structure was analyzed by scanning electron microscopy and infrared spectroscopy, and its hypoglycemic activity was analyzed by measuring the inhibition rate of α -amylase and α -glucosidase. 【Results】The optimum conditions for the preparation of ABMP-Cr (III) were as follows: reaction temperature 22.0°C, reaction time 40 min, pH 6.0, substrate concentration 24.00 mg·mL⁻¹. Under these

收稿日期: 2024-07-05 修回日期: 2025-03-12

作者简介: 林春林 (1998—), 男, 硕士, 研究方向为食用菌, E-mail: 251467077@qq.com

* 通信作者: 刘朋虎 (1982—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为食用菌栽培及高值化产品开发, E-mail: phliu1982@163.com

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFD1600501); 福建农林大学科技创新专项基金项目 (KFB23191A); 福建省红壤山地农业生态过程重点实验室开放课题 (Aephrs-202201)

conditions, the chelating rate of ABMP-Cr (III) was 90.13%. *Agaricus blazei* Murill polysaccharides (ABMP) had a long block structure, and the surface of ABMP-Cr (III) was smooth and lamellar structure. The binding sites of Cr^{3+} to polysaccharides were O-H, C-H and C-O-H. The hypoglycemic activity of ABMP-Cr (III) increased with the increase of sample concentration, and its effect was better than that of ABMP. When ABMP-Cr (III) was $0.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the inhibition rate of α -amylase could reach 55.11%. When the concentration of ABMP-Cr (III) was $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the inhibition rate of α -glucosidase was 40.48%.

【Conclusion】ABMP-Cr (III) has high preparation efficiency under the optimal preparation conditions in this study, and its structure is significantly different from ABMP. ABMP-Cr (III) has good hypoglycemic activity and has good development prospects.

Key words: *Agaricus blazei*; polysaccharide - chromium (III) complex; chemical structure; hypoglycemic activity

0 引言

【研究意义】糖尿病是常见的以血糖慢性增高为特征的终身疾病，是因胰岛素分泌不足或胰岛利用障碍导致血糖慢性增高的代谢疾病^[1]。近年来随着经济发展、城市化进程的加快，饮食结构改变，以及人口老龄化趋势加剧和肥胖问题日益普遍，糖尿病患者数量急剧增加，其中2型糖尿病患者占90%。据估计，我国成年糖尿病患者数量已达1.41亿，约为我国成年人总人数的11.6%^[2]。糖尿病若长期未得到有效控制，将会引发多器官的病变，如糖尿病肾病^[2]、视网膜病变^[3]、心血管病变^[4]等，严重危害患者的身心健康。在糖尿病的临床治疗中，胰岛素常被用来控制血糖水平，但使用胰岛素可能会引发一些不良反应^[5]，因此亟需开发安全、有效的新型药物，用于糖尿病患者的血糖控制。 Cr^{3+} 可通过提升胰岛素敏感性和葡萄糖耐受性，进而调控血糖^[6]。多糖具有良好的降血糖的活性，且其结构中含有带孤电子对的-OH、-COOH、-NH₂等不同的基团，这些基团能与金属元素以配位键相结合形成螯合物^[7]。多糖铬络合物具有较强的生物活性，并提高其控制糖尿病的能力^[8]。因此，目前国内关于多糖-铬(Ⅲ)络合物的研究已成为许多研究人员关注的热点领域。

【前人研究进展】张聪^[9]研究表明苦瓜多糖铬(Ⅲ)络合物在低剂量下具有显著的降血糖活性，对小鼠糖尿病具有治疗作用；Zhang等^[10]研究发现南瓜皮多糖铬可促进葡萄糖代谢，具有降血糖的功效，且优于南瓜皮多糖；Li等^[11]研究发现灵芝多糖-铬(Ⅲ)络合物组的小鼠血糖显著低于模型组，可用于预防和治疗高血糖。这表明 Cr^{3+} 与多种多糖络合后可以显著提高多糖的降血糖活性。姬松茸(*Agaricus blazei*)是一种具有极高食用价值的大型真菌，香味呈独特的杏仁味，口感脆嫩，味道鲜美，并富含多种营养物质和生物活性成分^[12, 13]。姬松茸含有的活性成分种类繁多，具有降血脂、降血糖、抗炎症、

抗病毒、提高免疫力等效果^[14-17]，其中多糖是姬松茸的主要活性成分^[18]，具有极高的药用价值。Li等^[14]通过大鼠试验发现姬松茸多糖(*Agaricus blazei* Murill polysaccharides, ABMP)能显著降低大鼠的总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇水平，表明ABMP对大鼠的血脂水平具有显著的调节作用。Wang等^[19]研究结果表明，ABMP可提高多器官功能障碍综合征小鼠的10天存活率，缓解异常生理行为，减轻组织氧化应激。陈翠翠等^[20]利用ABMP对糖尿病大鼠进行干预，发现大鼠的血糖血脂水平降低，转录因子固醇调节元件结合蛋白(Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c, SREBP-1c)和硬脂酰辅酶A去饱和酶1(Stearoyl-CoA Desaturase-1, SCD-1)蛋白表达降低，肝脏细胞脂肪变性和肝细胞坏死减少，具有保护肝脏的作用。【本研究切入点】当前暂未见有姬松茸多糖-铬(Ⅲ)络合物[*Agaricus blazei* polysaccharide-chromium(Ⅲ) complex, ABMP-Cr(Ⅲ)]体外降低血糖活性的研究。【拟解决的关键问题】通过探究ABMP-Cr(Ⅲ)的最佳制备条件，采用扫描电镜、红外光谱对其进行结构分析，分析其对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制作用评价其降血糖活性，用铁氰化钾法、Fenton法和DPPH法评价其抗氧化活性。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

ABMP(经检测纯度为80.46%)实验室自制，提取自姬松茸J1，菌株保藏于国家菌草工程技术研究中心。

1.2 试剂与仪器

DPPH购自美国Sigma公司； α -淀粉酶($40.0 \sim 60.0 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$)、 α -葡萄糖苷酶($\geq 50 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$)购自上海源叶生物科技有限公司；其他试剂均为分析纯，购自国药集团化学试剂有限公司。

Nicolet iS5 红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技有

限公司)；SU3500 扫描电子显微镜(日本株式会社日立制作所)；SpectraMax M2 多功能酶标仪(美国赛默飞世尔科技有限公司)；5415R 高速台式冷冻离心机(德国 Sigma 公司)；PB-10 台式 pH 计[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]；HH-S21-6-S 恒温水浴锅(上海新苗医疗器械制造有限公司)；R206D 旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 姬松茸粗多糖的提取、纯化

将干姬松茸子实体粉碎后过 70 目筛，以 1:30 的固液比与蒸馏水混合，煮沸 2 h，过滤去掉滤渣，利用旋转蒸发仪浓缩上清液至原体积的 1/5。用 sevag 法除蛋白，加入三分之一多糖体积的氯仿：正丁醇（4:1）混合溶液，磁力搅拌器充分混匀，静置除去蛋白层，重复上述操作至无明显蛋白层。利用旋转蒸发仪除去有机溶剂，4 倍体积乙醇醇沉，静置过夜。4 000 r·min⁻¹，离心 10 min，沉淀进行复溶，用大孔树脂法去除色素，过滤，浓缩，4℃ 醇沉过夜，离心，沉淀冷冻干燥后得到粗多糖，经检测多糖纯度为 80.46%。

1.3.2 ABMP-Cr(III) 制备的单因素试验设计

参考 Wang^[21] 的方法，采用水浴法合成 ABMP-Cr(III)。

固定 ABMP 浓度为 10 mg·mL⁻¹，探究不同因素对 ABMP-Cr(III) 螯合率的影响，即不同反应温度（20~40℃）、CrCl₃ 底物浓度（10~30 mg·mL⁻¹）、pH（5~9）、反应时间（15~75 min）在 5 mL 10 mg·mL⁻¹ 的 ABMP 溶液条件下测定 Cr³⁺ 的螯合率。

1.3.3 ABMP-Cr(III) 制备的响应面试验设计

在单因素实验的基础上，探究各考察对象对响应值的影响。采用 Box-Behnken 法对姬松茸中铬多糖复合物的制备工艺进行优化。根据单因素检验的实验结果，选择反应温度（A）、底物浓度（B）、pH 值（C）和反应时间（D）为因素，以 ABMP-Cr(III) 的螯合率（Y）为响应值，采用 Design expert 12 软件设计四因素三水平的试验方案（表 1）。

1.4 ABMP 与 ABMP-Cr(III) 的结构表征

1.4.1 扫描电子显微镜观察

将 ABMP 和 ABMP-Cr(III) 磨成粉末，采用电子显微镜（SEM）对样品在 100 倍、1 000 倍和 5 000 倍条件下的微观形貌进行表征。

1.4.2 傅里叶红外光谱扫描

4 mg 的 ABMP 及 ABMP-Cr(III) 分别与 200.0 mg 溴化钾（KBr）干粉混合，将其转移至模具中并压成片剂。使用傅里叶红外光谱（FT-IR）在 4 000~400 cm⁻¹

表 1 试验变量的因素和水平

Table 1 Factors and levels of variables for optimization

水平 Level	反应温度 A Reaction temperature/℃	底物浓度 B Substrate concentration/ (mg·mL ⁻¹)	pH 值 C pH	反应时间 D Reaction time/ min
-1	20	15	6	20
0	25	20	7	30
1	30	25	8	40

的范围内测定 ABMP 及 ABMP-Cr(III) 的透过率并得到两个样品的红外光谱图。

1.5 ABMP-Cr(III) 螯合率测定

采用标准铬溶液配置不同浓度的铬溶液并测定吸光度，绘制铬溶液标准曲线，得到回归方程，测定样品中 Cr³⁺ 的吸光值得到铬离子浓度^[22-23]。

计算 ABMP-Cr(III) 的螯合率，螯合率的计算公式^[8,24]：

螯合率（%）=（初始溶液中铬的含量-反应后溶液中剩余的铬含量）/初始溶液中铬的含量×100

1.6 ABMP 与 ABMP-Cr(III) 体外降血糖活性测定

1.6.1 α-淀粉酶抑制率测定

参考修伟业^[25] 的方法，采用 DNS 比色法测定 ABMP 及 ABMP-Cr(III) 的 α-淀粉酶抑制率。

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}/\% = \frac{Ab - (As - Ao)}{Ab} \times 100$$

式中：Ab 表示以等量的磷酸盐缓冲液代替样品作为空白组的吸光度；As 表示试验组吸光度；Ao 表示以等量的磷酸盐缓冲液代替 α-淀粉酶液作为样品对照组吸光度。

1.6.2 α-葡萄糖苷酶抑制率测定

参考张梦晴^[26] 的方法，采用 PNP 法测定 ABMP 及 ABMP-Cr(III) 的 α-葡萄糖苷酶抑制率。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}/\% = \frac{Ab - (As - Ao)}{Ab} \times 100$$

式中：Ab 表示以等量的 PBS 缓冲液代替样品作为空白组的吸光度；As 表示试验组吸光度；Ao 表示以等量的 PBS 缓冲液代替 α-葡萄糖苷酶液作为样品对照组吸光度。

1.7 数据处理

采用 Excel 和 SPSS 23 软件处理数据，采用 Prism 9 软件作图，用平均值±标准差描述结果。

2 结果与分析

2.1 ABMP-Cr(III) 制备工艺优化

2.1.1 ABMP-Cr(III) 制备工艺单因素优化

由图 1 可知，随着反应温度的升高，ABMP-

Cr(Ⅲ)的螯合率呈先上升后下降的趋势, 温度为 25 ℃ 时, 螯合率达最大值, 为 20.53% (图 1a); 随着 CrCl₃ 底物浓度的增加, ABMP-Cr(Ⅲ)的螯合率呈现先升高后降低的趋势, 当 CrCl₃ 为 20 mg·mL⁻¹ 时, 螯合率达最大值, 为 11.83% (图 1b); 随着溶液 pH 值的升高, ABMP-Cr(Ⅲ)的螯合率呈现先迅速

升高后缓慢降低的趋势, 当溶液 pH 值为 7 时, ABMP-Cr(Ⅲ)的螯合率达最大值, 为 89.36% (图 1c); 当反应时间为 15~75 min 时, ABMP-Cr(Ⅲ)的螯合率随时间增加呈现先升高后降低的趋势, ABMP-Cr(Ⅲ)的螯合率在反应时间为 30 min 时达最大值 39.66% (图 1d)。

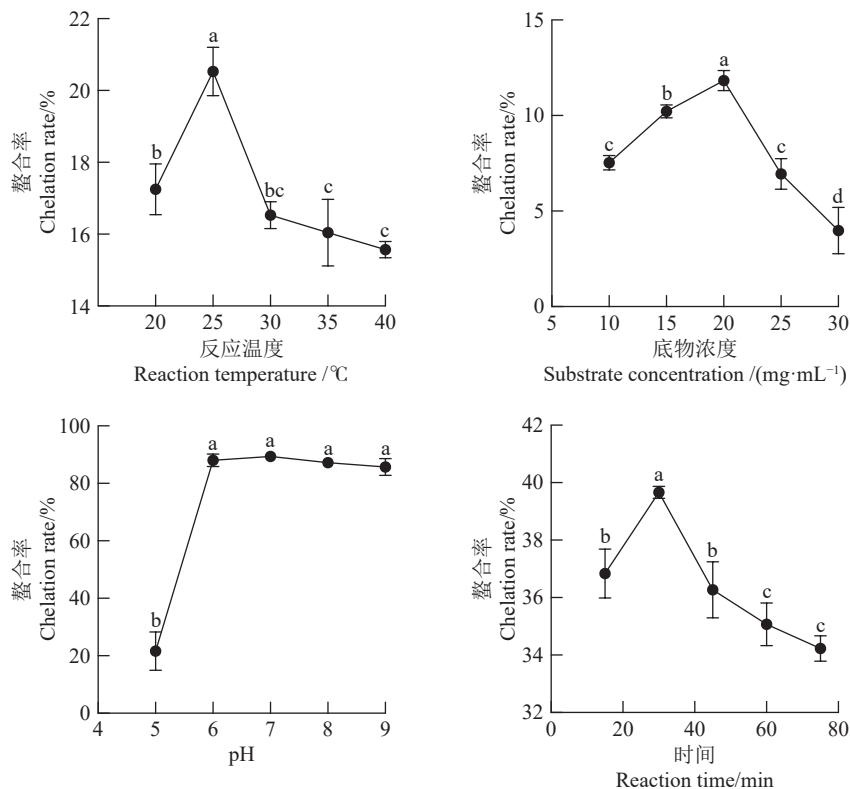


图 1 不同反应条件对 ABMP-Cr(Ⅲ) 螯合率的影响

Fig. 1 Effects of reaction conditions on chelation rate of ABMP-Cr(Ⅲ)

2.1.2 响应面优化 ABMP-Cr(Ⅲ) 制备工艺

根据单因素试验结果, 通过选择 A、B、C、D, 进行多因素组合条件下的响应面优化实验, 结果见表 2。

由表 3 可知, $F=20.94$, $P<0.0001$, 模型显著; 失拟项 $F=1.34$, $P>0.05$, 模型拟合良好, 设计可靠。基于此模型, 可预测 ABMP-Cr(Ⅲ) 制备的最佳条件。 F 值揭示因素重要性: B (底物浓度) > C (pH) > D (反应时间) > A (反应温度)。采用 Design expert 12 拟合得回归方程, 以螯合率 Y 为响应值得到: $Y=-87.2+0.0975A+3.89B+0.7058C+0.5167D-1.09AB+0.5075AC-1.04AD-0.69BC-0.5275BD-1.08CD+0.7144A^2-2.91B^2-0.4481C^2+0.5132D^2$, 其中 $R^2=0.9544$, $R^2_{adj}=0.9088$, 说明该回归模型可以解释 95.44% 的结果数值。

由回归方程和方差分析可知, 其中对 ABMP-Cr(Ⅲ) 螯合率影响极显著有一次项 B、二次项 B^2 , 影

响显著的有一次项 C、交互项 AB、CD。

2.1.3 各因素交互作用三维响应曲面

响应面图直观地展示了两个因素之间的相互作用, 曲面的陡峭程度反映了因素对螯合率影响的显著性^[27]。由图 2a 可知, 反应温度 (A) 和底物浓度 (B) 对螯合率影响较大, 随着反应温度的升高, 螯合率总体上呈现先增加后减少的趋势; 随着底物浓度的增加, 螯合率也呈现先增加后减少的趋势; 图中的曲面带有一定的弯曲, 这表明反应温度和底物浓度之间存在交互作用。在较低温度下, 增加底物浓度可能对螯合率的提升作用更为显著; 而在较高温度下, 这种提升作用可能减弱。由图 2b 可知, 随着 pH 值的增加, 螯合率总体上呈现出先增加后减少的趋势; 反应时间对螯合率的影响也呈现出类似的趋势, 即随着反应时间的延长, 螯合率先增加后减少; 图中的曲面带有一定的弯曲, 这表明 pH 和反应时间之间存在交互作用。在较低的 pH 值下, 增加反应

表 2 响应面分析试验结果
Table 2 Response surface experiment design and results

编号 No.	因素 Factor				螯合率Y Chelation rate/%	编号 No.	因素 Factor				螯合率Y Chelation rate/%
	A	B	C	D			A	B	C	D	
1	-1	-1	0	0	79.99	16	0	1	1	0	88.50
2	1	-1	0	0	82.34	17	-1	0	-1	0	88.38
3	-1	1	0	0	89.99	18	1	0	-1	0	86.75
4	1	1	0	0	87.99	19	-1	0	1	0	87.88
5	0	0	-1	-1	85.48	20	1	0	1	0	88.28
6	0	0	1	-1	88.89	21	0	-1	0	-1	80.87
7	0	0	-1	-1	87.95	22	0	1	0	-1	88.35
8	0	0	1	-1	87.04	23	0	-1	0	-1	83.02
9	-1	0	0	-1	85.60	24	0	1	0	-1	88.39
10	1	0	0	-1	88.71	25	0	0	0	0	87.02
11	-1	0	0	-1	89.38	26	0	0	0	0	88.66
12	1	0	0	-1	88.32	27	0	0	0	0	87.18
13	0	-1	-1	0	76.95	28	0	0	0	0	86.82
14	0	1	-1	0	87.41	29	0	0	0	0	86.33
15	0	-1	1	0	80.80						

表 3 回归方程方差分析
Table 3 Analysis of variance on regression equation

方差来源 Source of variance	平方和 Quadratic sum	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F值 F value	P值 P value	显著性 Significance
模型 Model	279.75	14	19.98	20.94	< 0.000 1	**
A	0.114 1	1	0.114 1	0.119 5	0.734 7	
B	181.43	1	181.43	190.13	< 0.000 1	**
C	5.98	1	5.98	6.27	0.025 3	*
D	3.20	1	3.20	3.36	0.088 3	
AB	4.73	1	4.73	4.96	0.042 9	*
AC	1.03	1	1.03	1.08	0.316 4	
AD	4.35	1	4.35	4.56	0.051 0	
BC	1.90	1	1.90	2.00	0.179 6	
BD	1.11	1	1.11	1.17	0.298 4	
CD	4.67	1	4.67	4.89	0.044 2	*
A ²	3.31	1	3.31	3.47	0.083 6	
B ²	55.00	1	55.00	57.63	< 0.000 1	**
C ²	1.30	1	1.30	1.36	0.262 2	
D ²	1.71	1	1.71	1.79	0.202 2	
残差 Residual	13.36	14	0.954 2	—	—	
失拟项 Misfit term	10.29	10	1.03	1.34	0.416 8	不显著
纯误差 Pure error	3.07	4	0.766 4	—	—	
总和 Summation	293.11	28	—	—	—	

时间可能对螯合率的提升作用更为显著；而在较高的 pH 值下，这种提升作用可能减弱。在较短的反应

时间内，提高 pH 值可能对螯合率的提升作用更为显著；而在较长的反应时间下，这种提升作用可能减弱。

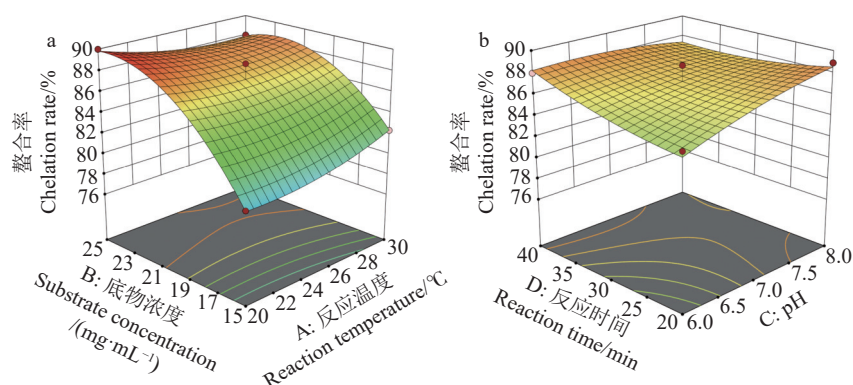


图 2 交互作用显著的因素对螯合率影响的响应面图

Fig. 2 Response surface diagram on effects of factors on chelation

通过模型预测 ABMP-Cr(Ⅲ) 的最佳反应条件是：反应温度 21.87℃，底物浓度 24.09 mg·mL⁻¹，pH 6.00，反应时间 40 min，螯合率最大理论值为 91.15%。根据实际的实验条件，将上述条件调整为反应温度 22℃，反应时间 40 min，pH 值 6.0，底物浓度 24 mg·mL⁻¹。3 次重复试验，最终计算得出螯合率为 90.13%，与预测值 91.15% 差异不显著，说明模型可用。

2.2 ABMP 与 ABMP-Cr(Ⅲ) 的结构表征

2.2.1 扫描电子显微镜分析

扫描电子显微镜结果表明 ABMP 主要以长块状存在，各长块结构之间重叠交叉连接，紧密堆积，形成复杂的网络结构，长块部分表面覆盖丝状物质（图 3 a、b、c）。相比之下，ABMP-Cr(Ⅲ) 碎片化，呈致密片层结构，表面较光滑平坦，没有孔结构（图 3 d、e、f）。显然，ABMP 和 ABMP-Cr(Ⅲ) 表面的微观结构明显不同。ABMP-Cr(Ⅲ) 表面形状变化的主要原因可能是 ABMP 和三价铬相互作用的结果。

2.2.2 红外光谱分析

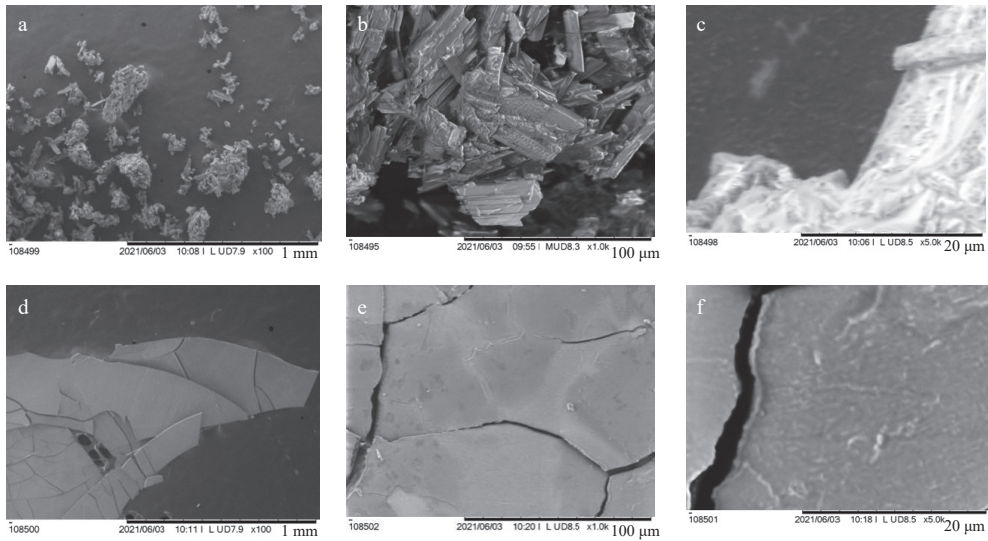
为进一步表征 ABMP 和 ABMP-Cr(Ⅲ) 的结构，对其进行傅里叶红外光谱的分析。ABMP-Cr(Ⅲ) 的吸收峰与配体 ABMP 的大部分相似，表明 ABMP-Cr(Ⅲ) 的基本碳骨架保持不变（图 4）。ABMP 的红外光谱中在 3 237 cm⁻¹ 处的吸收峰宽又强，是由于多糖的 O-H（羟基）分子间内氢键^[28]；在 2 907 cm⁻¹ 的中等峰是由于不饱和碳上的 C-H 伸缩振动，是判断糖类化合物的重要依据；2 370 cm⁻¹ 中强吸收峰可能是由于脂肪族的 C-H 伸缩振动^[29]，1 615 cm⁻¹ 吸收峰是酰胺羰基 C=O 的伸缩振动峰^[30]；在 1 400 cm⁻¹ 的吸收峰是由于 C-H 的变角振动引起^[31]；在 1 066 cm⁻¹ 的强

吸收峰是 C-O-H 弯曲振动峰^[8]。而 ABMP-Cr(Ⅲ) 中，波长从 3 237 cm⁻¹ 移到 3 593 cm⁻¹，发生较大波数蓝移，这是由于铬离子与羟基氧原子发生配位反应，导致羟基形成分子间和分子内氢键能力增强，表明 O-H 基团参加了螯合反应；波长从 2 907 cm⁻¹ 移到 3 118 cm⁻¹，波数向高频移动，表明铬(Ⅲ)的螯合作用对 ABMP 的不饱和碳上 C-H 基团有影响，C-H 基团可能参加了螯合反应；在波长 2 370 cm⁻¹，1 400 cm⁻¹ 的吸收峰与 ABMP 相比未发生明显变化，1 615 cm⁻¹ 处波峰变窄，表明铬(Ⅲ)和 ABMP 螯合后有 C-H 伸缩与变角振动，有 C=O 存在；C-O-H 弯曲振动峰波长从 1 066 cm⁻¹ 处红移到 1 043 cm⁻¹ 处，表明存在糖与铬(Ⅲ)的螯合作用。总之，红外光谱的结果表明 O-H、不饱和碳上的 C-H 及 C-O-H 可能是铬(Ⅲ)和 ABMP 螯合的部位。

2.3 ABMP 与 ABMP-Cr(Ⅲ) 体外降血糖活性

2.3.1 α-淀粉酶的抑制率分析

α-淀粉酶能够加速食物中糖类物质水解，促进葡萄糖的吸收，并加快多向单糖的转化，使血糖水平升高。由此，能够抑制 α-淀粉酶的活性是筛选治疗糖尿病药物或功能食品和血糖控制的有效指标。由图 5 结果可知，ABMP 和 ABMP-Cr(Ⅲ) 对 α-淀粉酶均有一定的抑制作用。ABMP 和 ABMP-Cr(Ⅲ) 对 α-淀粉酶的抑制作用随着样品浓度升高而加强。当样品浓度达到 0.6 mg·mL⁻¹ 时，ABMP-Cr(Ⅲ) 对 α-淀粉酶的抑制率达到最大，在该浓度下 ABMP 和 ABMP-Cr(Ⅲ) 的抑制率分别为 50.05% 和 55.11%。通过 SPSS 23 软件分析数据可得，ABMP 和 ABMP-Cr(Ⅲ) 对 α-淀粉酶的 IC₅₀ 分别为 0.81 mg·mL⁻¹ 和 0.26 mg·mL⁻¹，ABMP-Cr(Ⅲ) 抑制 α-淀粉酶水平比 ABMP 的更高。



a、b 和 c 为 ABMP 扫描电镜图，d、e 和 f 为 ABMP-Cr(III) 络合物扫描电镜图。
a, b, and c: SEM images of ABMP; d, e, and f: SEM images of ABMP-Cr(III) compound.

图 3 ABMP 和 ABMP-Cr(III) 络合物的扫描电镜图
Fig. 3 SEM images of ABMP and ABMP-Cr(III)

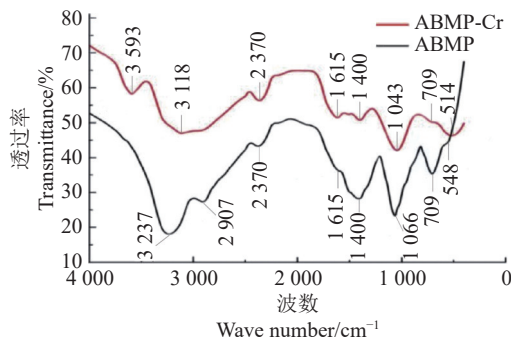
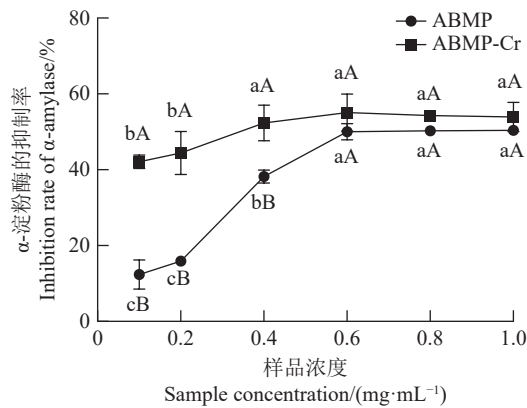


图 4 ABMP 和 ABMP-Cr(III) 络合物的红外光谱图
Fig. 4 FT-IR spectra of ABMP and ABMP-Cr(III)



不同小写字母表示同一样品不同浓度条件抑制率差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示同一浓度条件不同样品之间差异显著 ($P < 0.05$).
Different lowercase letters indicated that there was a significant difference in the inhibitory active of the same sample at different concentrations ($P < 0.05$), and different uppercase letters indicated that there was a significant difference between different samples at the same concentration ($P < 0.05$).

图 5 ABMP 和 ABMP-Cr 对 α -淀粉酶的抑制率

Fig. 5 Inhibitory activities of ABMP and ABMP-Cr on α -amylase

2.3.2 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率分析

α -葡萄糖苷酶能催化水解或转移 α 型糖苷键生成葡萄糖, 使血糖水平升高, 目前使 α -葡萄糖苷酶活性降低或丧失被认为是治疗糖尿病的关键途径。多糖类对 α -葡萄糖苷酶的抑制被广泛应用于评估其体外降血糖效果的一个重要指标。由图 6 可知, ABMP 和 ABMP-Cr(III) 皆能抑制 α -葡萄糖苷酶活性, 抑制水平与样品浓度呈正相关。当样品质量浓度达到 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 两种物质对该酶抑制率达最大, 此时 ABMP 和 ABMP-Cr(III) 对该酶的抑制率分别为 30.27% 和 40.48% 。ABMP 和 ABMP-Cr(III) 对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 分别为 $10.28 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $6.99 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。相比于 ABMP, ABMP-Cr(III) 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性更强。

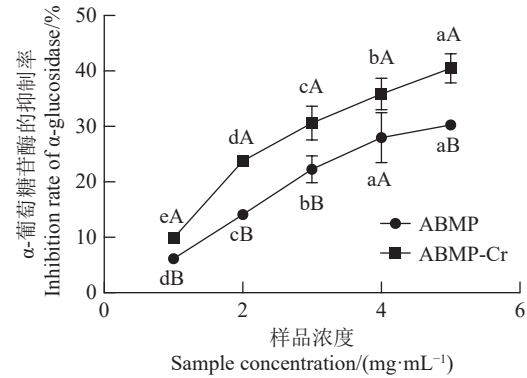


图 6 ABMP 和 ABMP-Cr 对 α -葡萄糖苷酶抑制率
Fig. 6 Inhibitory activities of ABMP and ABMP-Cr on α -glucosidase

3 讨论

通过单因素试验与响应面试验优化 ABMP-

Cr(Ⅲ)的最佳制备条件,通过优化其螯合率可达90.13%,与Qiu等^[32]制备生姜多糖-Cr(Ⅲ)络合物的螯合率91.1%相近。

通过扫描电镜观察与红外光谱分析探究ABMP与ABMP-Cr(Ⅲ)的结构表征,发现ABMP-Cr(Ⅲ)表面比ABMP更为光滑平整,表明ABMP-Cr(Ⅲ)之间结合紧密、相互作用较强^[33],这与修伟业等^[25]通过扫描电镜观察发现的甜玉米芯多糖铬(sweet corn cob polysaccharide-chromium complex)的颗粒连接比玉米芯多糖更紧密的结果一致,这可能是因为多糖与Cr³⁺结合后,使其内部结构发生变化,导致多糖铬形态发生改变^[34]。红外光谱分析表明O-H、不饱和碳上的C-H及C-O-H可能是铬(Ⅲ)和ABMP螯合的部位,这与张雯^[8]的研究结果较为一致。

本研究通过α-淀粉酶的抑制率与α-葡萄糖苷酶的抑制率的测定与分析探究ABMP和ABMP-Cr(Ⅲ)的体外降血糖活性。其中ABMP-Cr(Ⅲ)抑制α-淀粉酶水平比ABMP的更高,ABMP和ABMP-Cr(Ⅲ)对α-淀粉酶的IC₅₀分别为0.81 mg·mL⁻¹, 0.26 mg·mL⁻¹,修伟业等^[25]所研究的甜玉米芯多糖铬配合物对α-淀粉酶的IC₅₀为4.70 mg·mL⁻¹,所以ABMP-Cr(Ⅲ)具有较好的α-淀粉酶抑制效果,其具有良好的降血糖作用。张雯^[8]研究发现南瓜多糖铬降血糖活性强于南瓜皮多糖的研究,其原因可能是多糖与铬在螯合后,分子量发生改变,有利于提高降血糖活性,这也阐释了ABMP-Cr(Ⅲ)降血糖活性比ABMP强的原因。

4 结论

(1) ABMP-Cr(Ⅲ)制备的最佳反应条件为底物质量浓度为24 mg·mL⁻¹, pH值为6.0,反应温度为22℃,反应时间为40 min,该条件下螯合率为(90.13±0.26)%。

(2) 通过对ABMP和ABMP-Cr(Ⅲ)表征结构的探究发现, Cr³⁺的结合能够使ABMP形态发生改变,导致ABMP的微观结构由长块网络结构变为光滑片层结构, O-H、C-H及C-O-H的特征吸收峰发生明显波数移动,为Cr³⁺与ABMP结合的位点,并且是导致ABMP初级结构发生改变的原因之一。ABMP-Cr(Ⅲ)是形态结构上有别于ABMP的新型有机络物。

(3) ABMP和ABMP-Cr对α-淀粉酶的IC₅₀分别为0.81、0.26 mg·mL⁻¹,而对α-葡萄糖苷酶的IC₅₀分别为10.28、6.99 mg·mL⁻¹;所以与ABMP相比,ABMP-Cr(Ⅲ)具有较好的降血糖活性。

参考文献:

[1] 刘士勇. 国内外糖尿病防控现状[J]. 中国社区医师, 2020, 36(26):

13-14.

LIU S Y. The current situation of diabetes prevention and control in domestic and foreign[J]. *Chinese Community Doctors*, 2020, 36(26): 13-14. (in Chinese)

[2] 程虹, 王长江, 邹新蓉, 等. 王小琴分期论治糖尿病肾病经验管窥[J]. 中国医药导报, 2024, 21(4): 143-147.

CHENG H, WANG C J, ZOU X R, et al. Introduction to Wang Xiaoqin's experience in treating diabetic nephropathy by stages[J]. *China Medical Herald*, 2024, 21(4): 143-147. (in Chinese)

[3] DIAS P B, MESSIAS-REASON I, HOKAZONO K, et al. The role of mannose-binding lectin (MBL) in diabetic retinopathy: A scoping review[J]. *Immunology Letters*, 2024, 267: 106863.

[4] 贺一凡, 周子焱, 崖壮举, 等. 中药单体成分防治糖尿病心血管并发症研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(19): 6213-6226.

HE Y F, ZHOU Z Y, YA Z J, et al. Research progress on prevention and treatment of diabetic cardiovascular complications by traditional Chinese medicine monomer[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(19): 6213-6226. (in Chinese)

[5] 潘章超, 张人谕, 黎欢昶, 等. 暗褐脉柄牛肝菌子实体多糖的分离纯化、结构表征及体外降血糖活性[J]. 食品科学, 2024, 45(8): 55-62.

PAN Z C, ZHANG R Y, LI H C, et al. Extraction, purification, characterization and *in vitro* hypoglycemic activity of polysaccharides from fruiting body of *Phlebopus portentosus*[J]. *Food Science*, 2024, 45(8): 55-62. (in Chinese)

[6] 张芳毓, 闫晓刚. 三价铬的生物学功能及其对动物机体代谢的影响[J]. 饲料工业, 2015, 36(S2): 25-30.

ZHANG F Y, YAN X G. Biological function of trivalent chromium and its effects on animal organism metabolism[J]. *Feed Industry*, 2015, 36(S2): 25-30. (in Chinese)

[7] 罗付禹, 王宣, 刘佳维. 多糖金属配合物的制备及其生物活性研究进展[J]. 食品工业, 2023, 44(12): 190-195.

LUO F Y, WANG X, LIU J W. Advances in the synthesis and bioactivities of polysaccharide metal complexes[J]. *The Food Industry*, 2023, 44(12): 190-195. (in Chinese)

[8] 张雯. 南瓜皮多糖铬的制备与降糖活性评价[D]. 泰安: 山东农业大学, 2022

ZHANG W. Study on the preparation and hypoglycemic activity of pumpkin peel Polysaccharide-Chromium(III) complex [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2022. (in Chinese)

[9] 张聪. 苦瓜多糖铬络合物制备及其降血糖活性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019

ZHANG C. Preparation of *Momordica charantia* polysaccharide chromium complex and its hypoglycemic activity[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2019. (in Chinese)

[10] ZHANG W, LI L Y, MA Y, et al. Structural characterization and hypoglycemic activity of a novel pumpkin peel polysaccharide-chromium(III) complex[J]. *Foods*, 2022, 11(13): 1821.

[11] LI L, XU J X, CAO Y J, et al. Preparation of *Ganoderma lucidum* polysaccharide-chromium (III) complex and its hypoglycemic and hypolipidemic activities in high-fat and high-fructose diet-induced pre-diabetic mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 140: 782-793.

[12] WANG J H, WU J, OGURA R, et al. Anti-phytopathogenic-bacterial fatty acids from the mycelia of the edible mushroom *Agaricus*

- blazei[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2022, 86(10): 1327–1332.
- [13] YU R R, LI X J, YI P, et al. Isolation and identification of chemical compounds from *Agaricus blazei* murrill and their *in vitro* antifungal activities[J]. *Molecules*, 2023, 28(21): 7321.
- [14] LI Y X, LU X C, LI X, et al. Effects of *Agaricus blazei* Murrill polysaccharides on hyperlipidemic rats by regulation of intestinal microflora[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8(6): 2758–2772.
- [15] DA SILVA CAMPELO M, CÂMARA NETO J F, MAGALHÃES H C R, et al. GC/MS and 2D NMR-based approach to evaluate the chemical profile of hydroalcoholic extract from *Agaricus blazei* Murrill and its anti-inflammatory effect on human neutrophils[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2024, 322: 117676.
- [16] YUAN W X, HUANG M T, WU Y G, et al. *Agaricus blazei* murrill polysaccharide attenuates periodontitis via H₂ S/NRF2 axis-boosted appropriate level of autophagy in PDLs[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2023, 67(22): e2300112.
- [17] 李雨鑫, 盛瑜, 杜培革, 等. 姬松茸多糖的提取及其对 D-半乳糖诱导衰老小鼠的免疫调节作用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 295–299, 308.
- LI Y X, SHENG Y, DU P G, et al. Extraction of *Agaricus blazei* polysaccharides and its immunomodulatory effect on D-galactose-induced aging mice[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(12): 295–299, 308. (in Chinese)
- [18] 赵小青, 洪梦杰, 刘洋洋, 等. 姬松茸活性成分及其功能价值的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2024(3): 149–151.
- ZHAO X Q, HONG M J, LIU Y Y, et al. Progress of research on the active ingredients of *Agaricus blazei* and their functional value[J]. *China Food Safety Magazine*, 2024(3): 149–151. (in Chinese)
- [19] WANG W S, LIU M, ZHANG M Y, et al. *Agaricus blazei* Murrill polysaccharides alleviate oxidative stress and inflammatory responses against liver and lung injury[J]. *Food Bioscience*, 2022, 47: 101645.
- [20] 陈翠翠, 白丽娟, 梁焕坤, 等. 姬松茸多糖对 2 型糖尿病大鼠 SREBP-1c 和 SCD-1 蛋白表达的影响[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 2020, 38(3): 53–58.
- CHEN C C, BAI L J, LIANG H K, et al. Effects of *Agaricus blazei* polysaccharides decoction on expression of SREBP-1c and SCD-1 in type 2 diabetes rats[J]. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences)*, 2020, 38(3): 53–58. (in Chinese)
- [21] WANG X, XIU W Y, HAN Y, et al. Structural characterization of a novel polysaccharide from sweet corn cob that inhibits glycosylase in STZ-induced diabetic rats: Structural characterization of a novel polysaccharide[J]. *Glycoconjugate Journal*, 2022, 39(3): 413–427.
- [22] 钟普鹏, 胡嘉宁, 胡德宝, 等. 姬松茸多糖铁(Ⅲ)合成方法的研究[J]. 食品科技, 2021, 46(3): 232–237.
- ZHONG P P, HU J N, HU D B, et al. Study on the synthetic method of *Agaricus blazei* polysaccharide iron (Ⅲ) complex[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(3): 232–237. (in Chinese)
- [23] 周兵玉, 郭崇武, 李小团. 氯化物型三价铬镀铬液中铁的分光光度法测定[J]. 电镀与涂饰, 2017, 36(3): 171–172.
- ZHOU B Y, GUO C W, LI X J. Spectrophotometric determination of iron in a chloridic trivalent chromium electroplating bath[J]. *Electroplating & Finishing*, 2017, 36(3): 171–172. (in Chinese)
- [24] 刘阳, 孙晓晶, 陈锋, 等. 牛蒡多糖锌的制备工艺优化及其抗氧化活性评价[J]. 食品工业科技, 2023, 44(11): 179–186.
- LIU Y, SUN X J, CHEN Q, et al. Preparation process optimization and evaluation of antioxidant activity of burdock polysaccharide zinc complex[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(11): 179–186. (in Chinese)
- [25] 修伟业, 王鑫, 李雨蒙, 等. 甜玉米芯多糖铬配合物的制备、结构表征及体外活性的研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 186–196.
- XIU W Y, WANG X, LI Y M, et al. Preparation, structural characterization and *in vitro* activity of chromium complexes of sweet corn cob polysaccharide[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(13): 186–196. (in Chinese)
- [26] 张梦晴. 羊栖菜 α -葡萄糖苷酶抑制剂的分离纯化及特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020
- ZHANG M Q. *Isolation, purification and characterization of α -glucosidase inhibitor from Sargassum fusiforme*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020. (in Chinese)
- [27] 孙宏莱, 时得友, 李丽丽, 等. 响应面法优化软枣猕猴桃枝条总三萜提取工艺及其体外抗炎活性分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(15): 189–197.
- SUN H L, SHI D Y, LI L L, et al. Optimization of extraction technology of total triterpenes from the branches of *Actinidia arguta* by response surface methodology and its *in vitro* anti-inflammatory activity[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(15): 189–197. (in Chinese)
- [28] LI Q, WANG W, ZHU Y, et al. Structural elucidation and antioxidant activity a novel Se-polysaccharide from Se-enriched *Grifola frondosa*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 161: 42–52.
- [29] ZHENG J, ZHANG T, FAN J, et al. Protective effects of a polysaccharide from *Boletus aereus* on S180 tumor-bearing mice and its structural characteristics[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 188: 1–10.
- [30] WU D, HE Y, FU M, et al. Structural characteristics and biological activities of a pectic-polysaccharide from okra affected by ultrasound assisted metal-free Fenton reaction[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 122: 107085.
- [31] 王运强. 南瓜水溶性多糖的结构表征及生物活性的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- Wang Y Q. *Studies on structure characterization and bioactivities of water soluble polysaccharide of pumpkin*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009. (in Chinese)
- [32] QIU Z C, LI W W, XIAO H, et al. Developing ginger polysaccharide-Cr (III) complexes using ginger peel to provide enhanced *in vivo* anti-inflammatory activity: Fabrication, structural characterization and activity evaluation[J]. *Food Chemistry Advances*, 2024, 4: 100572.
- [33] CHI Y Z, LI Y P, ZHANG G L, et al. Effect of extraction techniques on properties of polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* and their applicability in iron chelation[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 181: 616–623.
- [34] DONG F, ZHENG H Z, JEONG W S, et al. Synthesis, characterization, and antioxidant activity *in vitro* of selenium-Euryale ferox Salisb. polysaccharide[J]. *Applied Biological Chemistry*, 2021, 64(1): 59.

(责任编辑: 梁子钧)