

张百刚, 杨善德, 李燕, 等. 文成糯山药多糖纯化与体外生物活性研究 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(19): 113–121. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024100153

ZHANG Baigang, YANG Shande, LI Yan, et al. Purification and *in Vitro* Bioactivity of Polysaccharide from Wencheng Waxy Yam[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(19): 113–121. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024100153

· 研究与探讨 ·

文成糯山药多糖纯化与体外生物活性研究

张百刚¹, 杨善德¹, 李燕², 许方程², 苏凤贤^{2,*}

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730050;

2. 温州科技职业学院农业与生物技术学院, 温州市特色食品资源工程技术研究中心, 全省食用农产品资源挖掘与高值利用重点实验室, 浙南作物育种重点实验室, 浙江温州 325006)

摘要: 目的: 探究糯山药多糖调节糖脂代谢的潜力。方法: 利用 DEAE-52 纤维素色谱纯化得到糯山药多糖 (WCYP1), 并评价其抗氧化、降血糖、降血脂活性及改善胰岛素抵抗 (IR) 能力。结果: WCYP1 总糖含量为 96.90%, 蛋白质含量为 2.78%; 红外扫描具有多糖典型特征吸收峰; 重均分子量为 145.693 kDa、数均分子量为 45.628 kDa; WCYP1 由岩藻糖 1.41%、鼠李糖 5.89%、阿拉伯糖 1.90%、半乳糖 5.47%、葡萄糖 13.49%、木糖 2.79%、甘露糖 67.89%、葡萄糖醛酸 1.17% 组成; WCYP1 浓度为 3 mg/mL 时, 对 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除率分别为 79.41%±0.47% 和 81.14%±1.97%; 对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制率分别为 84.21%±5.26% 和 36.67%±1.15%。当 WCYP1 浓度达到 4 mg/mL 时, 对牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠的结合率分别为 98.07%±0.02% 和 98.03%±0.06%。200、500、800 μ g/mL WCYP1 均能显著提高 IR-HepG2 的葡萄糖消耗量 ($P<0.05$), 且与浓度呈正相关, 200、500 μ g/mL WCYP1 给药 24 h 不影响 IR-HepG2 细胞活性。结论: WCYP1 具有一定的体外抗氧化、降血糖、降血脂作用, 能够有效改善 IR 状态, 可为 WCYP1 的开发利用提供理论支持。

关键词: 糯山药, 多糖, 纯化, 胰岛素抵抗

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)19-0113-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024100153

本文网刊:



Purification and *in Vitro* Bioactivity of Polysaccharide from Wencheng Waxy Yam

ZHANG Baigang¹, YANG Shande¹, LI Yan², XU Fangcheng², SU Fengxian^{2,*}

(1. College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China;

2. College of Agriculture and Biotechnology, Wenzhou Vocational College of Science and Technology, Wenzhou Characteristic Food Resources Engineering and Technology Research Center, Zhejiang Key Laboratory of Agri-food Resources and High-value Utilization, Key Laboratory of Crop Breeding in Southern Zhejiang, Wenzhou 325006, China)

Abstract: Objective: To explore the potential of waxy yam polysaccharide in regulating glycolipid metabolism. Methods: Waxy yam polysaccharide (WCYP1) was purified using DEAE-52 cellulose chromatography, and its antioxidant, hypoglycemic, hypolipidemic activities and ability to improve insulin resistance (IR) were evaluated. Results: The total sugar content of WCYP1 was determined to be 96.90%, while the protein content was 2.78%. Infrared scanning revealed typical characteristic absorption peaks of polysaccharides. The weight-average molecular weight of WCYP1 was determined to be 145.693 kDa, while the number-average molecular weight was 45.628 kDa. WCYP1 consisted of 1.41% fucose, 5.89% rhamnose, 1.90% arabinose, 5.47% galactose, 13.49% glucose, 2.79% xylose, 67.89% mannose, and 1.17% glucuronic acid. At a concentration of 3 mg/mL, the DPPH and ABTS⁺ free radicals scavenging rates were 79.41%±0.47% and 81.14%±1.97%; the inhibition rates on α -amylase and α -glucosidase were 84.21%±5.26% and 36.67%±1.15%. When

收稿日期: 2024-10-17

基金项目: 温州市重大科技创新攻关农业项目 (ZN2019001); 温州市山区五县揭榜帅项目 (ZN2024007); 温州市科技特派员专项项目 (X2023071)。

作者简介: 张百刚 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: zhangbaigang@163.com。

* 通信作者: 苏凤贤 (1974-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: sufengxian@wzvcst.edu.cn。

the WCYP1 concentration reached 4 mg/mL, the binding rates to sodium taurocholate and sodium glycocholate were $98.07\% \pm 0.02\%$ and $98.03\% \pm 0.06\%$. And 200, 500, 800 $\mu\text{g/mL}$ WCYP1 could significantly increase the glucose consumption of IR-HepG2 ($P < 0.05$), and there was a positive correlation with the concentration. Meanwhile, 200 and 500 $\mu\text{g/mL}$ WCYP1 administration for 24 h didn't affect the viability of IR-HepG2 cells. Conclusion: WCYP1 had certain *in vitro* antioxidant, hypoglycemic and hypolipidemic effects, and could effectively improve the state of IR. This provided theoretical support for the development and utilization of WCYP1.

Key words: waxy yam; polysaccharide; purification; insulin resistance

山药, 别名薯蓣, 为薯蓣科薯蓣属植物。我国山药种质资源丰富, 栽培历史悠久^[1-2]。浙南地区自南宋时期以来就多以参薯中的糯性品系进行栽培^[3], 因其同时具备山药的清香爽口和糯米的绵密口感^[4], 俗称该栽培品系为糯山药, 又名糯米苕。糯山药富含淀粉、氨基酸、皂苷、类黄酮化合物、多糖等多种功能性药理活性成分, 其中山药多糖具备保护肠胃功能、抗衰老、抗肿瘤等一系列保健作用和药理活性^[5-7]。

胰岛素抵抗(IR)是糖、脂代谢异常的关键环节, 会间接导致高血糖和高血脂^[8-9]。研究表明, 噻唑烷二酮类药物、二甲双胍(Met)及有氧运动, 都可以增强胰岛素敏感性, 显著降低 2 型糖尿病患者空腹血糖、糖化血红蛋白水平及甘油三酯、低密度脂蛋白含量^[10-13]。缓解 IR 可从根源纠正糖脂代谢紊乱, 为高血糖高血脂联合治疗提供关键切入点。

已有研究发现山药多糖具有抗氧化能力^[14], 可以降低血糖、脂质水平^[15-16], 提高胰岛素敏感性^[15], 用于糖尿病治疗^[17]; 目前对于山药多糖活性研究集中在免疫调节、降血糖、抗肿瘤及抗氧化作用与机制, 对于糯山药多糖纯化、降血糖、降血脂作用以及缓解 IR 药效评价却未见报道。本研究从文成糯山药中分离得到多糖组分(WCYP1), 开展体外抗氧化、降血糖、降血脂、改善 IR 能力评价等实验, 以期为开发功能性食品或天然药物提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

糯山药 产自浙江文成, 削皮、切片于 50 $^{\circ}\text{C}$ 烘干, 粉碎过 80 目筛备用; HepG2 细胞 武汉普诺赛有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 南京奥多福尼有限公司; 2,2-联氮-二-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic-acid), ABTS) 99%、盐酸二甲双胍(Metformin hydrochloride, Met) 97%、 α -淀粉酶(α -AMY) 100 U/mg、 α -葡萄糖苷酶(α -GLS) 50 U/mg、甘氨酸钠(SGC) 98%、牛磺胆酸钠(STC) 97%、胃蛋白酶(1:15000)、胰蛋白酶(1:250) 上海麦克林有限公司; 溴化钾、硝酸钠、单糖标准品 Sigma 公司; DEAE-52 纤维素 大连美仑有限公司; 对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)、地塞米松(Dex) 上海源叶有限公司; 以上试剂均为分析纯级别; 二甲基亚砜(DMSO) 色谱纯, CNW 公司; 葡萄糖(GLU) 含量氧化酶法测定试

剂盒 北京普利莱有限公司; 0.25% EDTA 胰酶 北京索莱宝有限公司; DMEM 高糖基础培养基、特级胎牛血清(FBS)、青霉素-链霉素溶液(P/S)、CCK-8 试剂盒 武汉普诺赛有限公司。

UV-1800PC-DS2 紫外可见分光光度计 上海美谱达仪器有限公司; 3-18KS 离心机 Sigma 公司; R-215 旋转蒸发仪 瑞士 BUCHI 公司; SCIENTZ-100FG 冷冻干燥机 宁波新芝设备有限公司; Nicolet iZ-10 傅里叶变换红外光谱仪、Reacti-thermo 氮气吹扫仪、UltiMate-3000 高效液相色谱仪、ICS 5000⁺离子色谱 Thermo 公司; OPTILAB T-rex 示差检测器、DAWN HELEOS-II 激光光散射检测器 Wyatt 公司; 3503-2 无菌培养箱 Shel-lab 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 粗多糖提取 采用焦瑞泽^[18]研究所得的最优提取条件, 并稍加修改。取 500 g 山药粉, 按料液比 1:18 加入去离子水。超声波粉碎(400 kHz, 60 $^{\circ}\text{C}$) 1 h, 80 $^{\circ}\text{C}$ 提取 1 h, 离心(3000 r/min, 10 min)取上清, 浓缩至 1 L。加入 3 倍体积无水乙醇于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下醇沉 24 h。离心(3000 r/min, 10 min), 取沉淀, 冻干。

1.2.2 多糖纯化

1.2.2.1 初步纯化 将粗多糖加去离子水完全溶解, 于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻, 待冷冻完全, 置于室温下融化。利用反复冻融四次破坏蛋白的结构完整性, 使部分蛋白失活析出^[19], 离心(3000 r/min, 10 min)除去蛋白杂质, 取上清。上清与 Sevage 试剂 1:3 混匀 20 min, 离心(3000 r/min, 10 min), 取最上层溶液。重复以上操作, 直至最上层溶液中加入 Sevage 试剂后无沉淀产生。浓缩并转移至截留分子量 7000 Da 的透析袋内, 置于纯水中透析 48 h。

1.2.2.2 DEAE-52 脱色与分级分离 利用 DEAE-52 纤维素色谱对粗多糖进行分级分离, 取初步纯化的山药多糖(500 mg)溶于 20 mL 去离子水, 0.45 μm 滤膜过滤, 1 mL/min 上样结束后, 静置 1 h。依次用去离子水、0.1、0.3、0.5、1 mol/L NaCl 溶液洗脱。每轮洗脱按每管 10 mL 收集, 弃去前 5 管后共收集 40 管^[20]。取奇数管, 利用苯酚-硫酸法跟踪监测多糖含量^[21], 绘制流出曲线。去离子水洗脱组分直接冻干, 氯化钠溶液洗脱组分用截留分子量为 7000 Da 的透析袋透析除去 NaCl 后冻干, 得到 WCYP1。色谱条件: 柱内径: 2.6 cm; 柱高: 17 cm; 流速: 1 mL/min。

1.2.3 纯度鉴定 参考黄秋凌等^[22]研究方法,以葡萄糖为标品,采用苯酚-硫酸法得到线性回归方程 $y=0.0004x-0.001$, $R^2=0.9997$, 测定 WCYP1 的总糖含量;参考文献^[23],以牛血清蛋白为标品,采用考马斯亮蓝法得到线性回归方程 $y=0.0029x+0.0235$, $R^2=0.9998$, 测定蛋白质含量。

配制 0.1 mg/mL WCYP1, 去离子水为空白, 利用紫外分光光度计在 200~800 nm 波长范围扫描分析。

1.2.4 傅里叶变换红外(FT-IR)光谱分析 将干燥后的 WCYP1 与溴化钾晶体 1:100 混合充分研磨, 压片, 利用红外光谱仪在 4000~400 cm^{-1} 波数范围扫描分析^[24]。

1.2.5 分子量分布测定 将样品溶解在 0.1 mol/L NaNO_3 水溶液(含 0.02% NaN_3 , w/w)中, 终浓度为 1 mg/mL, 0.45 μm 滤膜过滤, 利用凝胶色谱-示差-多角度激光光散射色谱系统(GPC-RI-MALS)得到分子量。色谱条件: 采用凝胶排阻色谱柱 Ohpak SB-805 HQ(300 mm×8 mm)和 Ohpak SB-803 HQ(300 mm×8 mm)串联, 柱温 45 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 100 μL , 流动相 A(0.02% NaN_3 , 0.1 mol/L NaNO_3), 流速 0.6 mL/min, 洗脱梯度: 等度, 75 min。

1.2.6 单糖组成测定

1.2.6.1 标准品配制 将岩藻糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、果糖、核糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、古罗糖醛酸和甘露糖醛酸等 13 种单糖标准品加去离子水配成 10 mg/mL 的标准母液溶液单标。取各单糖标准溶液单标精密配制浓度为 60、50、40 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品混标。

1.2.6.2 样品前处理 取干净的色谱瓶, 称取适量 WCYP1 样品, 加入 1 mL 2 mol/L 三氟乙酸溶液, 121 $^{\circ}\text{C}$ 加热 2 h。通氮气, 吹干。加入 99.99% 甲醇清洗, 再吹干, 重复甲醇清洗 2~3 次。加入去离子水溶解, 转入色谱瓶中待测。

1.2.6.3 检测器及色谱条件 利用电化学检测器对单糖组分进行分析检测, 采用 Dionex™ CarboPac™ PA 20(150 mm×3 mm, 10 μm)液相色谱柱; 进样量为 5 μL 。流动相 A(H_2O), 流动相 B(0.1 mol/L NaOH), 流动相 C(0.1 mol/L NaOH , 0.2 mol/L NaAc), 流速 0.5 mL/min; 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。色谱条件的洗脱梯度见表 1。

表 1 色谱条件的洗脱梯度

Table 1 Elution gradient under chromatographic circumstances

时间(min)	流动相	体积比(V/V)
0	A相/B相/C相	95:5:0
26	A相/B相/C相	85:5:10
42	A相/B相/C相	85:5:10
42.1	A相/B相/C相	60:0:40
52	A相/B相/C相	60:40:0
52.1	A相/B相/C相	95:5:0
60	A相/B相/C相	95:5:0

1.2.7 体外抗氧化活性

1.2.7.1 总还原力测定 配制浓度梯度分别为 3、1.5、0.75、0.375、0.1875、0.093 mg/mL 的 WCYP1 样品溶液备用。吸取 1 mL WCYP1 溶液, 加入 0.2 mL 磷酸钠溶液(pH6.6, 0.2 mol/L)和 0.2 mL 铁氰化钾(1%, m/v)溶液混合后于 50 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 20 min, 迅速冷却至室温, 继续加入 0.2 mL 三氯乙酸(10%, m/v)溶液以结束反应, 离心(3000 r/min, 10 min)后取上清液 0.5 mL 于试管中, 加入 0.7 mL 去离子水和 0.1 mL 氯化铁(0.1%, m/v)溶液并混匀, 在 700 nm 处测定反应液吸光值^[25-26], 以 V_C 为对照。

1.2.7.2 DPPH 自由基清除能力测定 配制浓度梯度分别为 3、1.5、0.75、0.375、0.1875、0.093 mg/mL 的 WCYP1 样品溶液备用。用乙醇配制浓度为 2×10^{-4} mol/L 的 DPPH 溶液, 取 0.5 mL DPPH 溶液与 0.5 mL WCYP1 溶液混合, 在室温下避光反应 30 min, 在 517 nm 处测定反应液吸光值^[18], 以 V_C 为对照。根据公式计算 DPPH 自由基的清除率^[27]。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100$$

式中: A_1 为 0.5 mL 样品溶液与 0.5 mL DPPH 溶液混合的试样的吸光值; A_2 为 0.5 mL 样品溶液与 0.5 mL 无水乙醇混合后的吸光值; A_3 为 0.5 mL DPPH 溶液与 0.5 mL 无水乙醇混合后的吸光值。

1.2.7.3 ABTS⁺自由基清除能力测定 配制浓度梯度分别为 3、1.5、0.75、0.375、0.1875、0.093 mg/mL 的 WCYP1 样品溶液备用。取 2 mL ABTS 溶液与 0.5 mL WCYP1 溶液混合, 在室温避光反应 6 min, 在 734 nm 处测定反应液吸光值^[28], 以 V_C 为对照。ABTS⁺自由基清除率计算如下式。

$$\text{ABTS}^+\text{自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_3}{A_2}\right) \times 100$$

式中: A_1 为 0.5 mL 样品溶液与 2 mL ABTS 工作液混合的吸光值; A_2 为 0.5 mL 去离子水与 2 mL ABTS 工作液混合后的吸光值; A_3 为 0.5 mL 样品溶液与 2 mL 去离子水混合后的吸光值。

1.2.8 体外降血糖活性

1.2.8.1 α -AMY 抑制率测定 配制浓度梯度分别为 3、1.5、0.75、0.375、0.1875、0.093 mg/mL 的 WCYP1 样品溶液备用。以阿卡波糖为阳性对照, 吸取 0.3 mL WCYP1 溶液, 加入 1 mL 磷酸钠缓冲液(pH6.9, 1 mol/L)和 1 mL α -AMY 溶液(15 U/mL), 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 10 min 后, 加入 1 mL 淀粉(1%, m/v)溶液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 20 min, 加入 5 mL DNS 溶液结束反应, 冷却至室温, 在 540 nm 处测吸光值^[29-30]。对 α -AMY 的抑制率计算如下式。

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4}\right) \times 100$$

式中: A_1 为加入样品溶液的吸光值; A_2 为水替

换酶液的吸光值; A_3 为水替换样品溶液的吸光值; A_4 为水替换样品溶液与酶液的吸光值。

1.2.8.2 α -GLS 抑制率测定 配制浓度梯度分别为 3、1.5、0.75、0.375、0.1875、0.093 mg/mL 的 WCYP1 样品溶液备用。以阿卡波糖作为阳性对照, 吸取 0.3 mL WCYP1 溶液, 加入 1.2 mL 磷酸钠缓冲液 (pH6.9, 1 mol/L) 和 0.25 mL α -GLS 溶液 (2 U/mL), 37 °C 水浴加热 15 min 后, 加入 0.25 mL PNP 溶液 (3 mmol/L), 在 37 °C 水浴加热 25 min 后加入 1 mL Na_2CO_3 溶液 (1 mol/L) 以终止反应。待反应液冷却至室温后, 测定在 405 nm 处的吸光值^[31-32]。对 α -GLS 的抑制率计算如下式。

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100$$

式中: A_1 为加入样品溶液的吸光值; A_2 为用水替换酶液的吸光值; A_3 为用水替换样品溶液的吸光值。

1.2.9 体外降血脂活性

1.2.9.1 制作胆酸盐标准曲线 参照文献 [33], 得到 SGC 线性回归方程 $y_{\text{SGC}} = 5.2425x + 0.0017$, $R^2 = 0.9997$; STC 线性回归方程 $y_{\text{STC}} = 5.4058x + 0.0013$, $R^2 = 0.9997$ 。

1.2.9.2 胆酸盐结合率测定 配制 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 mg/mL 的 WCYP1 样品溶液备用。取 3 mL WCYP1 溶液于锥形瓶中, 制备两份。加入 3 mL 胃蛋白酶溶液 (10 mg/mL) 与 1 mL 盐酸溶液 (0.01 mol/L), 37 °C 下振荡 1 h, 加入氢氧化钠溶液 (0.1 mol/L) 调节混合溶液的 pH 为 6.3, 再加入 4 mL 的胰蛋白酶溶液 (10 mg/mL), 再次在 37 °C 下振荡 1 h^[34]。两份锥形瓶分别加入 4 mL 的 SGC 溶液 (0.4 mmol/L) 和 4 mL 的 STC 溶液 (0.4 mmol/L), 在 37 °C 下振荡 1 h, 离心 20 min (4000 r/min, 20 °C), 取上清液, 在波长 387 nm 处进行测定, 记录其吸光值^[35]。根据下列公式计算 WCYP1 与胆酸盐的结合率。

$$\text{WCYP1 样品与 SGC 结合率}(\%) = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100$$

$$\text{WCYP1 样品与 STC 结合率}(\%) = \frac{A_3 - A_4}{A_3} \times 100$$

式中: A_1 为 SGC 加入量 (μg); A_2 为 SGC 剩余量 (μg); A_3 为 STC 加入量 (μg); A_4 为 STC 剩余量 (μg)。

1.2.10 改善细胞 IR 能力测定

1.2.10.1 IR 模型建立及稳定时间测定 HepG2 细胞用完全培养基 (含有 10% FBS、1% P/S、90% DMEM 高糖基础培养基), 于细胞培养箱 (37 °C、5% CO_2) 中培养, 待细胞密度达到 80%~90% 时, 用胰酶进行消化传代。将传代后的 HepG2 细胞以 2×10^5 个/孔接种于含有完全培养基的 96 孔细胞培养板, 贴壁培养 24 h 后, 弃掉原有培养基, 更换为含终浓度为 0、1、

1.5、2 $\mu\text{mol/L}$ Dex 的完全培养基。诱导培养 48 h, 建立 IR-HepG2 模型后, 弃掉原有培养基, PBS 清洗 2~3 次, 更换为完全培养基, 继续培养 72 h。通过葡萄糖氧化酶法在 550 nm 处测定 72 h 内培养基上清中的葡萄糖含量, 并计算葡萄糖消耗量。

1.2.10.2 WCYP1 改善 IR 能力评价 利用 2 $\mu\text{mol/L}$ Dex 诱导培养 HepG2 细胞 48 h 建立 IR-HepG2 模型后, 分为空白 (Con) 组、阳性组 (Met) 组、实验 (WCYP1) 组。弃掉原有培养基, Con 组更换为完全培养基, Met 组更换为含终浓度为 0.5 mmol/L Met 的完全培养基, WCYP1 组分为低、中、高剂量, 分别更换为含终浓度为 200、500、800 $\mu\text{g/mL}$ WCYP1 的完全培养基。继续培养 48 h, 用葡萄糖氧化酶法在 550 nm 处测定培养基上清中的葡萄糖含量, 并计算葡萄糖消耗量。

1.2.10.3 WCYP1 对 IR-HepG2 细胞活力的影响 按照 1.2.10.2 进行分组及处理, 继续培养 48 h, 通过 CCK-8 法在 450 nm 处测定吸光值并计算细胞存活率。

1.3 数据处理

使用软件 SPSS Statistics 22 对数据进行单因素方差分析 (ANOVA) 和 Duncan 多重比较, 确定显著性差异 ($P < 0.05$), Origin Pro 2021 软件作图, 所有试验均重复 3 次, 用平均值 $\pm$ 标准偏差表示, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 山药多糖纯化

结果见图 1, 初步纯化的山药多糖经 DEAE-52 色谱分离, 0.3 mol/L 与 0.5 mol/L NaCl 洗脱得到 WCYP1 与 WCYP2, 因 WCYP2 产率较低故不收集。WCYP1 冻干呈白色絮状。

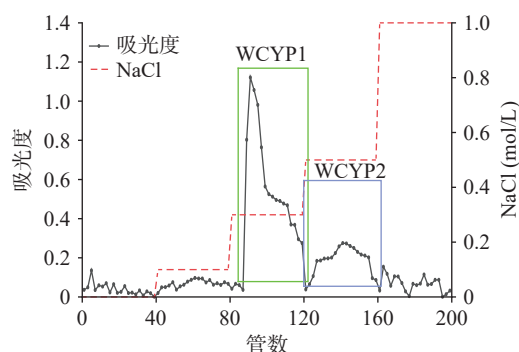


图 1 山药多糖 DEAE-52 纤维素色谱洗脱曲线
Fig.1 Elution curve of yam polysaccharide on DEAE-52 cellulose chromatography

2.2 山药多糖的纯度

测定结果显示, WCYP1 的总糖含量为 96.90%, 蛋白质含量为 2.78%, 表明 WCYP1 基本不含蛋白质杂质。紫外光谱扫描结果见图 2, 显示 WCYP1 在 280 nm 处有微弱的吸收峰, 与蛋白质含量 2.78% 对应。260 nm 无吸收峰, 故 WCYP1 中不含核酸。

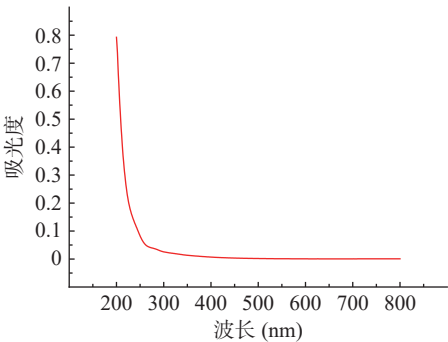


图 2 WCYP1 的紫外可见光谱图
Fig.2 Ultraviolet-visible spectrum of WCYP1

2.3 傅里叶变换红外 (FT-IR) 光谱分析结果

结果见图 3, 其中 WCYP1 在 3356.87 cm^{-1} 处强而宽的峰为 O-H 伸缩振动峰, 2928.47 cm^{-1} 为 C-H 的伸缩振动峰, 1033.41 cm^{-1} 处吸收峰归属于 C-O 的伸缩振动, 以上特征峰为多糖的典型吸收峰。 $1200\sim1000\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰是 C-O 伸缩的吡喃环振动^[36-37]; 1727.50 cm^{-1} 处的吸收峰是糖醛酸的 C=O 伸缩振动^[38], 1238.25 cm^{-1} 处的吸收峰是糖醛酸的 C-O 伸缩振动。 综上可知, WCYP1 是一种含吡喃糖和糖醛酸的多糖。

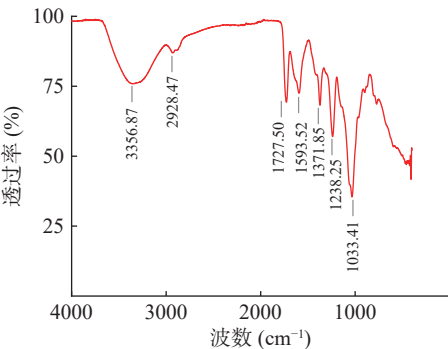


图 3 WCYP1 的红外光谱
Fig.3 Infrared spectral of WCYP1

2.4 分子量分布测定结果

结果见图 4, WCYP1 的重均分子量为 145.693 kDa 、数均分子量为 45.628 kDa 、z 均分子

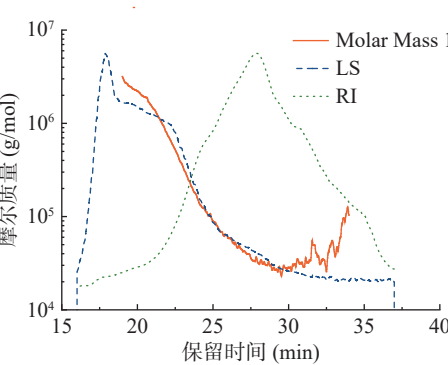


图 4 WCYP1 的分子量分布
Fig.4 Molecular mass distribution of WCYP1
注: LS 为多角度激光光散射信号, RI 为示差信号, Molar Mass 1 是由 RI 与 LS 两种信号拟合出的分子量。

量为 1027.163 kDa 、峰值分子量为 33.177 kDa , 多分散性指数为 3.193, 分子量分布较宽。示差信号为单峰, 且峰形宽, 与多分散性指数 3.193 相对应。表明 WCYP1 为分子量分布较宽且不均一的纯多糖, 满足后续实验的要求。

2.5 单糖组成分析

结果如图 5、表 2 所示, WCYP1 的单糖组成及摩尔质量百分比为岩藻糖 1.41%、鼠李糖 5.89%、阿拉伯糖 1.90%、半乳糖 5.47%、葡萄糖 13.49%、木糖 2.79%、甘露糖 67.89%、葡萄糖醛酸 1.17%。结果表明鼠李糖、半乳糖、葡萄糖和甘露糖是 WCYP1 的主要单糖, 且以甘露糖为主。 Liu 等^[39] 从山药中分离得到多糖 CYP1, 采用高效液相色谱-PMP 柱前衍生法测定 CYP1 中含有阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖和甘露糖 4 种单糖, 摩尔比为 $0.01:0.08:0.32:0.59$, 甘

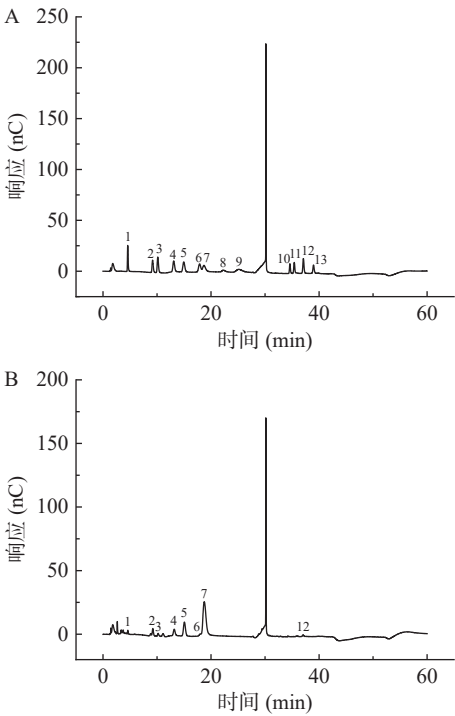


图 5 单糖标准品(A)和 WCYP1(B)的离子色谱图
Fig.5 Ion chromatographic of monosaccharide standards (A) and WCYP1 (B)

注: 1-岩藻糖; 2-鼠李糖; 3-阿拉伯糖; 4-半乳糖; 5-葡萄糖; 6-木糖; 7-甘露糖; 8-果糖; 9-核糖; 10-半乳糖醛酸; 11-古罗糖醛酸; 12-葡萄糖醛酸; 13-甘露糖醛酸。

表 2 WCYP1 单糖组成分析		
Table 2 Analysis of monosaccharide composition of WCYP1		
单糖	含量(μg/mg)	摩尔比(%)
岩藻糖	6.14	1.41
鼠李糖	25.58	5.89
阿拉伯糖	7.55	1.90
半乳糖	26.10	5.47
葡萄糖	64.33	13.49
木糖	11.10	2.79
甘露糖	323.87	67.89
葡萄糖醛酸	5.99	1.17

露糖为主要多糖,该研究结果与本研究结果相似。

2.6 抗氧化活性

结果显示,当 WCYP1 浓度为 3 mg/mL 时,总还原力吸光值达到 0.15 ± 0.01 (图 6A)、对 DPPH 自由基的清除率达到 $79.41\% \pm 0.47\%$ (图 6B)、对 ABTS⁺ 自由基的清除率达到 $81.14\% \pm 1.97\%$ (图 6C); WCYP1 抗氧化能力均显著低于同浓度 V_C ($P < 0.05$)。有研究分离得到山药多糖并进行了化学修饰,在浓度为 3.2 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率不到 60%,但羟自由基清除率达到 V_C 水平^[40]。结果表明 WCYP1 具有一定抗氧化活性,且与浓度呈正相关。

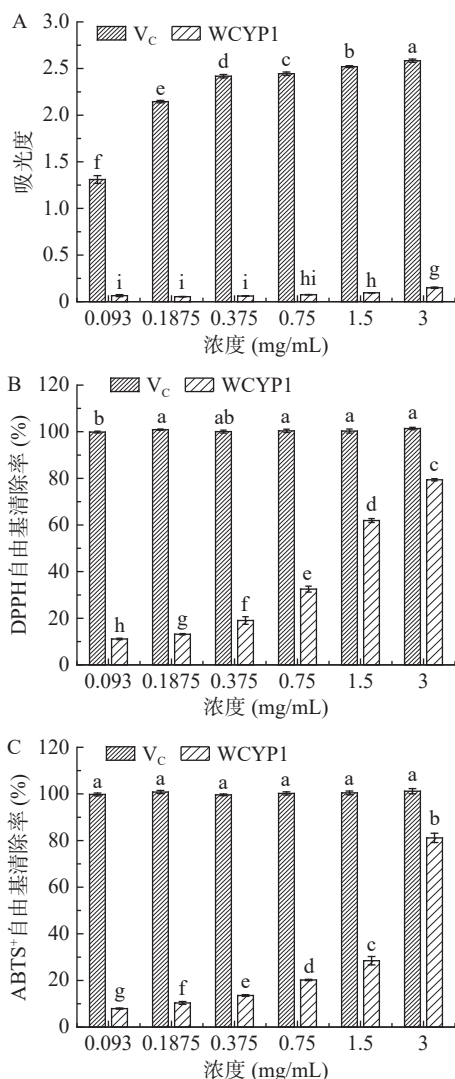


图6 WCYP1 抗氧化活性

Fig.6 Antioxidant activity of WCYP1

注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$, $n=3$);图7~图10同。

2.7 降血糖活性

结果显示,当 WCYP1 浓度为 3 mg/mL 时,对 α -AMY 的抑制率达到 $84.21\% \pm 5.26\%$ (图 7A),与阿卡波糖无显著差异 ($P > 0.05$);对 α -GLS 的抑制率为 $36.67\% \pm 1.15\%$ (图 7B),抑制能力显著低于阿卡波糖 ($P < 0.05$)。结果表明,WCYP1 可以与 α -AMY 发生作用,阻止淀粉水解,可与 α -GLS 结合,抑制葡萄糖

苷键水解,从而降低葡萄糖生成速度,有效控制血糖水平^[41-42]。WCYP1 降血糖活性随浓度的增加而增强,可以应用于糖尿病治疗。

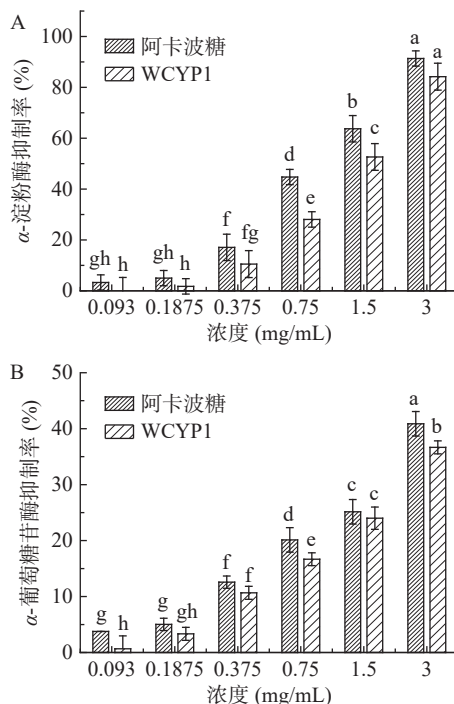


图7 WCYP1 降血糖活性

Fig.7 Hypoglycemic activity of WCYP1

2.8 降血脂活性

结果如图 8 所示,WCYP1 与两种胆酸盐的结合量都随着 WCYP1 浓度的增加而增大,WCYP1 与 SGC 的结合量要少于和 STC 的结合量。当 WCYP1 的浓度达到 4 mg/mL 之后,WCYP1 对 STC、SGC 两种胆酸盐的结合率分别达到 $98.07\% \pm 0.02\%$ 和 $98.03\% \pm 0.06\%$ 。结果表明,WCYP1 具有吸附 SGC 和 STC 的能力,WCYP1 通过促进胆汁酸的代谢,加速胆固醇向胆汁酸转化,减少胆固醇含量,以达到降脂的效果^[43-44]。

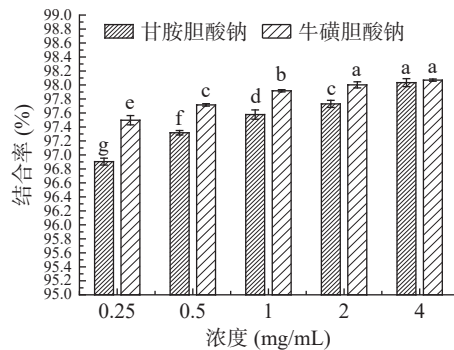


图8 WCYP1 与两种胆酸盐结合率

Fig.8 Binding rates of WCYP1 to two types of bile salts

2.9 抗 IR 活性

2.9.1 IR 模型建立及稳定时间 结果如图 9 所示,1.5、2 μ mol/L Dex 诱导 HepG2 细胞 48 h 后,葡萄糖消耗量分别为 0.73 ± 0.03 、 0.48 ± 0.05 mmol/L,显著低

于 Con 组(2.37 ± 0.003 mmol/L)($P < 0.05$),表明 IR 模型建立成功。利用 1.5、2 $\mu\text{mol/L}$ Dex 诱导建立 IR-HepG2 模型后,在 72 h 内,葡萄糖消耗量均显著低于 Con 组($P < 0.05$),表明 IR-HepG2 模型在 72 h 稳定。在稳定 72 h 时,相较于 1.5 $\mu\text{mol/L}$ Dex 诱导建立的 IR-HepG2 模型葡萄糖消耗量 11.16 ± 0.08 mmol/L, 2 $\mu\text{mol/L}$ Dex 诱导建立的 IR-HepG2 模型葡萄糖消耗量降低至 7.25 ± 0.14 mmol/L,存在显著性差异($P < 0.05$)。表明利用 2 $\mu\text{mol/L}$ Dex 诱导的 HepG2 细胞 IR 程度更强。

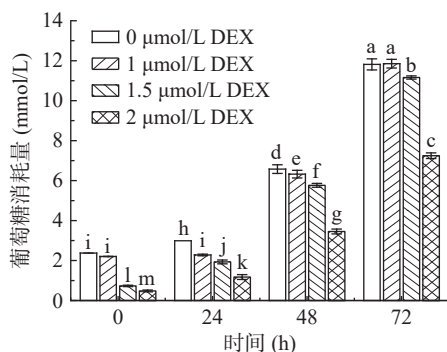


图 9 不同浓度 Dex 诱导建立 IR-HepG2 模型及稳定时间
Fig.9 Establishment of the IR-HepG2 model induced by Dex at different concentrations and its stabilization time

2.9.2 对 IR-HepG2 葡萄糖消耗量的影响 结果如图 10A 所示,利用低、中、高剂量的 WCYP1 分别给药培养 IR-HepG2 细胞 24 h, WCYP1 组的葡萄糖消耗量均显著低于 Met 组,均显著高于 Con 组,并且低、中、高剂量 WCYP1 给药后细胞葡萄糖消耗量之间均存在显著差异($P < 0.05$)。

利用低、中、高剂量的 WCYP1 分别给药培养 IR-HepG2 细胞 48 h, WCYP1 组低、中剂量给药后细胞葡萄糖消耗均显著低于 Met 组,高剂量给药后细胞葡萄糖消耗(10.89 ± 0.07 mmol/L)与 Met 组细胞葡萄糖消耗(11.22 ± 0.17 mmol/L)无显著差异($P > 0.05$)。WCYP1 组细胞葡萄糖消耗量均显著高于 Con 组,并且低、中、高剂量 WCYP1 给药后细胞葡萄糖消耗量之间均存在显著差异($P < 0.05$)。表明低、中、高剂量的 WCYP1,均可缓解 HepG2 细胞 IR 状态,可以有效改善 IR-HepG2 细胞对外源葡萄糖的利用,且与 WCYP1 浓度呈正相关性。

2.9.3 对 IR-HepG2 细胞活性的影响 结果如图 10B 所示,WCYP1 给药培养 24 h 后,相比于 Con 组细胞存活率,WCYP1 组低剂量给药后显著提高至 $105.92\% \pm 0.08\%$,中剂量给药后无显著性变化,高剂量给药后显著降低至 $73.61\% \pm 4.06\%$ ($P < 0.05$); WCYP1 给药培养 48 h 后,相比于 Con 组细胞存活率,WCYP1 组低、中、高剂量给药后细胞存活率均显著降低($P < 0.05$)。结果表明低、中剂量 WCYP1 给药 24 h,不影响细胞活性,高剂量影响细胞活性;低、中、高剂量 WCYP1 给药 48 h,均影响细胞活性。

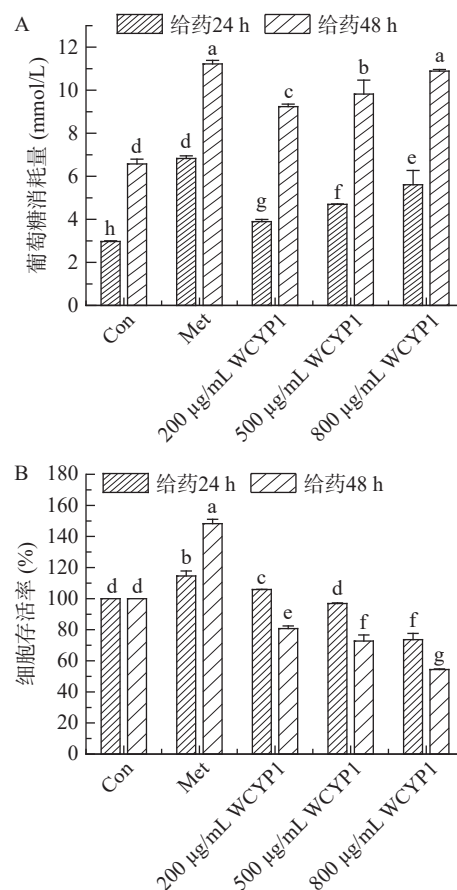


图 10 WCYP1 对 IR-HepG2 的影响
Fig.10 Effects of WCYP1 on IR-HepG2

3 结论

研究发现 WCYP1 的总糖含量高、蛋白质含量低,具有多糖的典型特征吸收峰,分子量分布范围大且不均一,主要由鼠李糖、半乳糖、葡萄糖和甘露糖组成。WCYP1 含有有效的抗氧化基团,能够保护细胞免受氧化应激损伤;WCYP1 对 α -AMY 和 α -GLS 的抑制作用会影响碳水化合物消化和葡萄糖吸收过程,有助于控制血糖波动;WCYP1 对 STC 和 SGC 的高结合率能够干扰胆固醇吸收途径,有益于降低血脂水平;WCYP1 中剂量即 500 $\mu\text{g/mL}$ 给药 24 h,能够有效改善 IR-HepG2 细胞对葡萄糖的利用,缓解 IR 状态,且不影响 IR-HepG2 细胞活性。

综上所述,本研究以文成糯山药为原料,利用纤维素色谱分离得到 WCYP1。WCYP1 具有显著的体外抗氧化、降血糖、降血脂以及抗 IR 活性,具有潜在的药用价值。未来可进一步探讨 WCYP1 的结构特征及分子水平上的靶点识别和信号通路调控,以期为糯山药多糖在应用中的安全性和有效性提供理论基础。WCYP1 在调节糖脂代谢等方面具有潜在的应用价值,这为其作为治疗或控制高血糖、高血脂及相关并发症的功能性食品、保健食品、潜在药物开发提供了理论依据。

参考文献

- [1] HAN C H, LIN Y F, LIN Y S, et al. Effects of yam tuber protein, dioscorin, on attenuating oxidative status and learning dysfunction in d-galactose-induced BALB/c mice[J]. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2014, 65: 356–363.
- [2] HUANG H, JIANG Q, CHEN Y, et al. Preparation, physicochemical characterization and biological activities of two modified starches from yam (*Dioscorea opposita* Thunb.)[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 55: 244–253.
- [3] 陈知龙, 郑佳豪, 吴坤龙, 等. 4种薯蓣属植物GBSS基因的电子克隆与生物信息学分析[J]. *浙江农业科学*, 2022, 63(8): 1850–1854. [CHEN Z L, ZHENG J H, WU K L, et al. Electronic clone and bioinformatic analysis of GBSS in four *Dioscorea* plants[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2022, 63(8): 1850–1854.]
- [4] 邵烨林. 文成山药淀粉品质及生化特性的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2022. [SHAO Y L. Study on the quality and biochemical characteristics of Wencheng yam starch[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2022.]
- [5] WANG X, HUO X Z, LIU Z, et al. Investigations on the anti-aging activity of polysaccharides from Chinese yam and their regulation on klotho gene expression in mice[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2020, 1208: 127895.
- [6] LI Z D, XIAO W H, XIE J H, et al. Isolation, characterization and antioxidant activity of yam polysaccharides[J]. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2022, 11(6): 800.
- [7] LI Y, JI S, XU T, et al. Chinese yam (*Dioscorea*): Nutritional value, beneficial effects, and food and pharmaceutical applications [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2023, 134: 29–40.
- [8] GALICIA-GARCIA U, BENITO-VICENTE A, JEBARI S, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17): 6275.
- [9] 罗庆. 疏肝健脾化痰方治疗2型糖尿病合并高脂血症(肝郁脾虚证)临床观察[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2023. [LUO Q. Clinical observation on the treatment of type 2 diabetes mellitus with hyperlipidemia (liver-depression and spleen-deficiency syndrome) by Shugan Jianpi Huazhuo decoction[D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2023.]
- [10] KAHN S E, HULL R L, UTZSCHNEIDER K M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2006, 444(7121): 840–846.
- [11] COHEN P, KAJIMURA S. The cellular and functional complexity of thermogenic fat[J]. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 2021, 22(6): 393–409.
- [12] DU Y, ZHU Y J, ZHOU Y X, et al. Metformin in therapeutic applications in human diseases: Its mechanism of action and clinical study[J]. *Molecular Biomedicine*, 2022, 3(1): 41.
- [13] UUSITUPA M, KHAN T A, VIGUILIOUK E, et al. Prevention of type 2 diabetes by lifestyle changes: A systematic review and meta-analysis[J]. *Nutrients*, 2019, 11(11): 2611.
- [14] FENG X, BIE N, LI J, et al. Effect of *in vitro* simulated gastrointestinal digestion on the antioxidant activity, molecular weight, and microstructure of polysaccharides from Chinese yam[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 207: 873–882.
- [15] CHENG Z Y, HU M, TAO J, et al. The protective effects of chinese yam polysaccharide against obesity-induced insulin resistance[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 55: 238–247.
- [16] FENG X J, GUO M Z, LI J Y, et al. The structural characterization of a novel chinese yam polysaccharide and its hypolipidemic activity in HFD-induced obese C57BL/6J mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 265(Pt 2): 130521.
- [17] VALDES M, CALZADA F, MENDIETA-WEJEBE J. Structure–activity relationship study of acyclic terpenes in blood glucose levels: Potential α -glucosidase and sodium glucose cotransporter (SGLT-1) inhibitors[J]. *Molecules*, 2019, 24(22): 4020.
- [18] 焦瑞泽. 文成山药多糖和黏液质的理化性质及生物活性[D]. 杭州: 浙江大学, 2022. [JIAO R Z. Physicochemical property and bioactivity of polysaccharide and mucilage from Wencheng Chinese yam[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2022.]
- [19] ZHANG G P, ZHU C Y, WALAYAT N, et al. Effect of cryoprotectants on physicochemical and structural changes in repeated freeze-thawed egg white protein[J]. *Food Bioscience*, 2023, 55: 102913.
- [20] 潘祥林. 菝葜多糖的提取纯化与结构鉴定及其抗溃疡性结肠炎活性机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2022. [PAN X L. Extraction, purification, structural elucidation and anti-colitis mechanisms of *Smilax china* L. polysaccharide[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2022.]
- [21] 杨圆慧, 陈若飞, 资璐熙, 等. 滇橄榄核多糖的酶法提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. *粮食与油脂*, 2023, 36(11): 120–124. [YANG Y H, CHEN R F, ZI L X, et al. Enzymatic extraction technology and antioxidant activity of polysaccharides from *Phyllanthus emblica* Linn. kernel[J]. *Cereals & Oils*, 2023, 36(11): 120–124.]
- [22] 黄秋凌, 雷婷, 何子昕, 等. 苯酚-硫酸法测定消渴丸中多糖含量[J]. *中西医结合研究*, 2023, 15(5): 308–327. [HUANG Q L, LEI T, HE Z X, et al. Determination of polysaccharides in Xiaoke Pill by phenol-sulfuric acid method[J]. *Research of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2023, 15(5): 308–327.]
- [23] WARAKAULLE S, MOHAMED H, RANASINGHE M, et al. Advancement of milk protein analysis: From determination of total proteins to their identification and quantification by proteomic approaches[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2024, 126: ARTN 105854.
- [24] ZHANG C W, ZOU Y F, ZOU Y, et al. Ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide from paeoniae radix alba: Extraction optimization, structural characterization and antioxidant mechanism *in vitro*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 268(Pt 2): 131816.
- [25] 邹月. 蔬菜酶解多糖的制备及其在酸奶中的应用研究[D]. 成都: 西华大学, 2021. [ZOU Y. Preparation of enzymatic hydrolysates polysaccharide from *Brasenia schreberi* and its application in yoghurt[D]. Chengdu: Xihua University, 2021.]
- [26] 张蓓. 桑椹花青素的酰基化和甲基化修饰及其生物学特性研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2020. [ZHANG B. Studies on the acylation and methylation modification and biological characters of anthocyanin from mulberry[D]. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology, 2020.]
- [27] 田欢, 杨丽萍, 单春会, 等. 红提葡萄不同发酵阶段功能性及抗氧化性研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(5): 50–54. [TIAN H, YANG L P, SHAN C H, et al. Study on functionality and antioxidant activity of red grape in different fermentation stages[J]. *China Condiment*, 2020, 45(5): 50–54.]
- [28] 李帅鹏, 姜振浩, 王一婷, 等. 结球红菊苣多糖的分离纯化和结构分析及抗氧化活性测定[J]. *食品科技*, 2021(12): 46. [LI S G, JIANG Z H, WANG Y T, et al. Isolation, purification, structure and antioxidant activity of *Cichorium intybus* var. *foliosum* Hegi.

- polysaccharide[J]. *Food Science and Technology*, 2021(12): 46.]
- [29] 王婷婷. 无花果叶多糖提取纯化及降血糖活性研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2021. [WANG T T. Extraction, purification and hypoglycemic activity of polysaccharides from *Ficus carica* L. leaves[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2021.]
- [30] 刘玉婷. 羊肚菌胞外多糖结构、模拟消化及免疫活性探究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021. [LIU Y T. Structure, simulated digestion and immune activity of exopolysaccharide of *Morchella esculenta*[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2021.]
- [31] 李思维, 卫倩倩, 宋宵, 等. 党参多糖的抗氧化及降糖活性研究[J]. 临床医学研究与实践, 2020, 5(32): 8–11. [LI S W, WEI Q Q, SONG X, et al. Study on antioxidant and hypoglycemic activities of *Codonopsis pilosula* polysaccharide[J]. *Clinical Medicine Research and Practice*, 2020, 5(32): 8–11.]
- [32] 端木传宇, 孙洋, 张瑜, 等. 黑莓多糖酶法提取工艺优化及体外降血糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 200–207. [DUANMU C Y, SUN Y, ZHANG Y, et al. Optimization of enzymatic extraction process and *in vitro* hypoglycemic activity of blackberry polysaccharides[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(22): 200–207.]
- [33] 杜令娟. 粗毛纤孔菌三萜类化合物提取、分离纯化及降血脂功能研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2017. [DU L J. Extraction, separation and purification of triterpenoids from *Inonotus hispidus* and study on its hypolipidemic function[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2017.]
- [34] 张洪航. 榆荚仁多糖的提取及活性的研究[D]. 长春: 长春工业大学, 2024. [ZHANG H H. Study on extraction and activity of polysaccharides from seeds of *Ulmus pumila*[D]. Changchun: Changchun University of Technology, 2024.]
- [35] 杨丰榕, 高建萍, 李春燕. 生菜子多糖提取方法及其降血脂活性研究[J]. 农学学报, 2021, 11(11): 7. [YANG F R, GAO J P, LI C Y. Polysaccharide extraction in *Lactuca sativa* L. and its antihyperlipidemic activity[J]. *Journal of Agriculture*, 2021, 11(11): 7.]
- [36] CAO W, WU J, ZHAO X, et al. Structural elucidation of an active polysaccharide from radix puerariae lobatae and its protection against acute alcoholic liver disease[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2024, 325: 121565.]
- [37] HONG T, YIN J Y, NIE S P, et al. Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective[J]. *Food Chemistry*, 2021, 12: 100168.]
- [38] GE X Y, HUANG W W, XU X Q, et al. Production, structure, and bioactivity of polysaccharide isolated from *Tremella fuciformis* XY[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 148: 173–181.]
- [39] LIU X X, GU L B, ZHANG G J, et al. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides extracted from chinese yam by a cellulase-assisted method[J]. *Process Biochemistry*, 2022, 121(Oct.): 178–187.]
- [40] ZHOU S Y, HUANG G L, CHEN G Y. Extraction, structural analysis, derivatization and antioxidant activity of polysaccharide from Chinese yam[J]. *Food Chemistry*, 2021, 361: 130089.]
- [41] 常相娜, 陈雪峰, 龚频, 等. 融水香菇多糖结构表征及体外抗氧化、降糖活性[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(4): 1–9. [CHANG X N, CHEN X F, GONG P, et al. Structural characterization, *in vitro* anti-oxidative effect and hypoglycemic activity of lentinan from Rongshui county[J]. *China Food Additives*, 2022, 33(4): 1–9.]
- [42] 李晓萌, 李佳惠, 王雨行, 等. 响应面优化莲藕多酚提取工艺及其生物活性研究[J]. 食品科技, 2022, 47(1): 203–211. [LI X M, LI J H, WANG Y X, et al. Optimization of extraction process and bioactivities of polyphenols from lotus root by response surface method[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(1): 203–211.]
- [43] 焦翔, 郭丽阳, 董莹莹, 等. 中老年人群血清炎症因子和血脂水平与抑郁症状的相关性研究[J]. 临床精神医学杂志, 2022, 32: 394–397. [JIAO X, GUO L Y, DONG Y Y, et al. Correlation between serum inflammatory factors and lipid levels and depressive symptoms in middle-aged and elderly people[J]. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2022, 32: 394–397.]
- [44] 纪慧杰, 朱彩平. 石榴皮多糖的提取及组成、体外降脂活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(4): 161–168. [JI H J, ZHU C P. Study on the extraction and composition of pomegranate peel polysaccharide and hypolipidemic activity *in vitro*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2023, 49(4): 161–168.]