

老香黄多糖的提取纯化、结构表征与抗氧化活性评价

李芷晴¹, 陈慧芳¹, 王利平², 李国伟², 冉艳红¹, 王超^{1*}, 段翰英¹

(1. 暨南大学生命科学技术学院, 广东广州 510630) (2. 广东长兴生物科技股份有限公司, 广东潮州 521000)

摘要: 老香黄是潮汕地区药膳两用的特色制品, 其多糖成分具有潜在药理活性, 但其结构特征尚不清晰。为解析老香黄多糖的结构特征和抗氧化活性能力, 该研究通过水提醇沉法提取粗多糖 (LXHP), 经分离纯化得到两种组分 (LXHP-3 和 LXHP-4), 并采用高效凝胶渗透色谱、离子色谱、红外光谱、X-射线衍射、扫描电镜和热重分析等技术表征其组成、结构、形态及热稳定性, 同时以 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除能力评估体外抗氧化活性。结果表明, 两种组分均为以半乳糖醛酸为主的酸性多糖; LXHP-3 的分子量呈双峰分布 (75.3 kDa 和 20.8 kDa), 而 LXHP-4 为单峰均一结构 (75.6 kDa, PDI=1.011); FT-IR 分析表明分离纯化不改变多糖的官能团, 但 LXHP-3 的酯化度显著降低; SEM 显示纯化前后的多糖均由片状结构和纤维状结构组成; XRD 分析表明 LXHP-3 呈现半结晶结构, LXHP 和 LXHP-4 则为无定型态; TGA 显示 LXHP-3 的热稳定性更优, 在 600 ℃ 下的最终残留质量最高 (42.51%); LXHP 具有更好的 DPPH 和 ABTS 自由基的清除效果。该研究可提高对老香黄多糖结构的了解, 为其功能性开发利用及构效关系研究提供理论。

关键词: 老香黄; 多糖; 分离纯化; 结构表征; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2026)06-218-228

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.6.0424

Extraction, Purification, Structural Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharide from Laoxianghuang

LI Zhiqing¹, CHEN Huifang¹, WANG Liping², LI Guowei², RAN Yanhong¹, WANG Chao^{1*}, DUAN Hanying¹

(1. College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510630, China)

(2. Guangdong Changxing Biotechnology Co. Ltd., Chaozhou 521000, China)

Abstract: Laoxianghuang, a medicinal and edible specialty from the Chaoshan region, contains polysaccharides with potential pharmacological activities; yet their structural characteristics remain unclear. To investigate the structural features and antioxidant capacity of Laoxianghuang polysaccharides, crude polysaccharides (LXHP) were extracted via water extraction and alcohol precipitation, followed by purification to obtain two fractions (LXHP-3 and LXHP-4). The composition, structure, morphology, and thermal stability of these polysaccharides were systematically characterized by high-performance gel permeation chromatography, ion chromatography, Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and thermogravimetric analysis (TGA). The *in vitro* antioxidant activity was evaluated based on DPPH and ABTS radical scavenging

引文格式:

李芷晴, 陈慧芳, 王利平, 等. 老香黄多糖的提取纯化、结构表征与抗氧化活性评价[J]. 现代食品科技, 2026, 42(6): 218-228.

LI Zhiqing, CHEN Huifang, WANG Liping, et al. Extraction, purification, structural characterization and antioxidant activity of polysaccharide from Laoxianghuang [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(6): 218-228.

收稿日期: 2025-03-25; 修回日期: 2025-05-15; 接受日期: 2025-05-15

基金项目: 潮州市科技计划项目 (231210128233139)

作者简介: 李芷晴 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与营养, E-mail: li_zhiqing1616@163.com; 共同第一作者: 陈慧芳 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: 2916036917@qq.com

通讯作者: 王超 (1979-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品加工与营养, E-mail: chao_wang@jnu.edu.cn

capacities. The results demonstrated that both fractions were acidic polysaccharides primarily composed of galacturonic acid. LXHP-3 exhibited a bimodal molecular weight distribution (75.3 and 20.8 kDa), whereas LXHP-4 showed a monodisperse structure (75.6 kDa, polymer dispersity index=1.011). FT-IR analysis revealed no significant changes in functional groups after purification; however, the degree of esterification in LXHP-3 was notably reduced. SEM imaging indicated that both crude and purified polysaccharides consisted of sheet-like and fibrous structures. XRD analysis suggested that LXHP-3 displayed a semi-crystalline structure, whereas LXHP and LXHP-4 were amorphous. TGA revealed excellent thermal stability in LXHP-3, with the highest residual mass (42.51%) at 600 °C. Additionally, LXHP exhibited strong DPPH and ABTS radical scavenging effects. This study enhances the understanding of the structural properties of Laoxianghuang polysaccharides and provides a theoretical foundation for their functional exploitation and structure–activity relationship research.

Key words: Laoxianghuang; polysaccharides; extraction and purification; structural characterization; antioxidant activity

老香黄是以芸香科植物佛手 (*Citrus medica* var. *sarcodactylis*) 的果实为原料, 经盐腌、中药浸渍、九蒸九晒及多年陈化制成的岭南地区特色凉果, 成品色泽乌润如漆, 质地绵软甘醇^[1]。其历史可追溯至明代中期, 潮州地方志《海阳县志》记载了佛手果的盐渍与糖渍加工方法^[2]。其主要药用成分包括黄酮类、多酚类、香豆素、活性多糖和矿物质等^[3]。这些成分赋予了老香黄多种药理作用, 如促进消化、理气化痰、止咳化痰、舒肝理气、解酒等^[3]。

近年来老香黄发酵期间挥发性风味成分的变化^[5,6]、食品质量安全^[7]及微生物发酵机制^[8]等方面已有较多研究, 但针对其核心活性成分的系统解析仍存在明显不足。已有研究表明, 老香黄所含的多糖类成分作为关键生物活性物质, 展现出多方面的生理功能特性, 包括调节肠道菌群组成与代谢、抗氧化以及保护和修复胃黏膜等功能^[9,10]。这些发现为老香黄的药用功效提供了科学依据, 但目前对老香黄多糖的结构特性与抗氧化活性的研究尚未明晰, 制约了其功能机制阐释以及高值化应用的开发。

本研究以老香黄多糖为研究对象, 采用水提醇沉结合大孔树脂脱色和 Sevag 法脱蛋白提取粗多糖, 通过 DEAE-52 纤维素柱与 Sephadex G-100 凝胶柱联用技术进行分离纯化, 使用高效凝胶渗透色谱测定其分子量分布, 并结合离子色谱、粒径电位分析、傅里叶变换红外光谱、扫描电镜、X 射线衍射及热重分析等多种技术手段, 解析多糖的化学组成和结构、微观形貌、晶体特性及热稳定性, 还通过 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除实验对其体外抗氧化能力进行评价。这项研究系统揭示老香黄多糖的结构特性, 深化了对老香黄多糖结构和活性的认识与理解, 可为促进老香黄多糖在食品加工、保健品开发及医药制剂等方面的应用提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

老香黄, 广东长兴生物科技有限公司提供; 无水乙醇、正丁醇、四硼酸钠、唑啉 (分析纯), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 浓硫酸、苯酚 (分析纯), 广州市荣满生物科技有限公司; AB-8 树脂、碳酸氢钠、乙二胺四乙酸、Sephadex G-100、氯化钠、牛血清白蛋白、溴化钾、2,2'-联苯基-1-苦基肼基 (DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (ABTS) (分析纯), 上海麦克林生化科技股份有限公司; DEAE-52 纤维素, 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司; 三氯甲烷 (分析纯), 广州梓兴化玻仪器有限公司; BCA 法蛋白定量试剂盒, 北京普利莱基因技术有限公司; 单糖标准品, 博睿糖生物技术有限公司。

1.2 主要仪器与设备

HR2874 榨汁机, 荷兰飞利浦公司; Scienz-10N 冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; BSZ-160 自动部分收集器, 上海沪西分析仪器厂有限公司; LC-10A 高效液相色谱仪, RID-10A 示差折光检测器, Shimadzu; 105-103-101 色谱柱 (8×300 mm), BRT; MA110 电子分析天平, 上海第二天平仪器厂; UGC-24M 氮吹仪, 力辰科技; ICS5000 离子色谱仪, Thermo Fisher; UV-9600 紫外可见分光光度计, 北京瑞利分析仪器有限公司; INFINITE M200 PRO 光栅型多功能微孔板检测仪, 帝肯奥地利有限公司; Is50 FTIR 傅里叶红外分析仪, 美国 Thermo (赛默飞) 公司; EVO-MA15 扫描电子显微镜, 德国 ZEISS 公司; TGA 2 SF 热重分析仪, 美国 MTTler Toledo 公司; RE-52AAA 旋转蒸发仪, 上海嘉鹏科技有限公司; ZetaFinder ZF400 电位分析仪, 美国 Thermo (赛默飞) 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 老香黄粗多糖的提取

参考 Zheng 等^[9]的方法并稍作修改提取粗多糖。称取老香黄样品,按料液比 1:20 g·mL⁻¹ 加入去离子水,经榨汁机匀浆处理后,于 80 ℃ 下磁力搅拌浸提 2 h,真空抽滤,收集浸提液,将滤渣再次按相同料液比补加去离子水,在同等温度和时间条件下再次浸提,过滤收集第二次浸提液,合并两次浸提液,60 ℃ 下真空旋转蒸发浓缩至原体积 1/5。然后向浓缩液中加入 4 倍体积 95% 乙醇,于 4 ℃ 下静置 24 h 后离心 (10 000 r·min⁻¹, 10 min) 收集沉淀。沉淀物用去离子水复溶,加入预处理过的 AB-8 大孔树脂,37 ℃ 恒温振荡 (160 r·min⁻¹) 脱色 6 h,静置 12 h 后过滤,此过程重复 2~3 次,直至颜色变浅。脱色后的多糖溶液按 4:1 (V/V) 比例加入新配 Sevage 试剂 (正丁醇:三氯甲烷=1:4),涡旋振荡 20 min,10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,小心吸取上层多糖溶液,弃除下层有机相及蛋白沉淀层,此操作重复 3 次以上,直至两相界面无絮状沉淀产生。使用 8 000~14 000 Da 的透析袋透析 48 h,然后冻干以得到初步除杂的老香黄粗多糖并命名为 LXHP。按照公式 (1) 计算 LXHP 得率。

$$Y_1 = \frac{M_1}{M_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

Y_1 ——老香黄粗多糖 LXHP 的得率, %;

M_1 ——冻干后粗多糖的质量, mg;

M_2 ——样品初始样品的质量, mg。

1.3.2 老香黄多糖的分离纯化

1.3.2.1 DEAE-52纤维素阴离子交换柱层析纯化

参考 Zhang 等^[11]的方法并稍作修改。将 200 mg LXHP 粗多糖溶于 10 mL 去离子水,配制 20 mg·mL⁻¹ 样品溶液,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后上样至 DEAE-52 纤维素柱 (1.6 cm×40 cm)。采用梯度洗脱法,依次以去离子水和 0.1~0.4 mol·L⁻¹ NaCl 溶液 (梯度间隔 0.1 mol·L⁻¹) 进行洗脱,流量控制为 1.0 mL·min⁻¹。使用自动馏分收集器按每管 5 mL 收集洗脱液,共获取 150 管馏分。采用苯酚-硫酸法检测各馏分在 490 nm 处的吸光值,据此绘制多糖洗脱曲线。根据曲线特征峰分布,合并相同吸收峰对应的馏分,分别浓缩后装入截留分子量 8 000~14 000 Da 的透析袋,于去离子水中透析 48 h (间隔 6 h 换水),冷冻干燥后获得组分。按公式 (2) 计算各组分多糖的得率。

$$Y_2 = \frac{M_3}{M_4} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

Y_2 ——纯化组分多糖的得率, %;

M_3 ——冻干后组分多糖的质量, mg;

M_4 ——上样多糖的质量, mg。

1.3.2.2 Sephadex G-100葡聚糖凝胶柱层析纯化

参考 Zheng 等^[12]的方法并稍作修改。将组分多糖配制成 1 mg·mL⁻¹ 溶液,取 20 mL 上样至 Sephadex G-100 层析柱 (2.5 cm×40 cm)。以去离子水为流动相,0.2 mL·min⁻¹ 恒速洗脱,按 5 mL/管收集洗脱馏分。采用苯酚-硫酸法测定 490 nm 处吸光值,绘制层析洗脱曲线。根据特征峰分布收集目标馏分,经透析和冷冻干燥,获得纯化后的组分多糖。

1.3.3 基本成分和紫外光谱的测定

以葡萄糖为标准品,采用苯酚-硫酸法测定中性糖含量^[13];以半乳糖醛酸为标准品,采用硫酸咔唑法测定糖醛酸含量^[14];以牛血清蛋白为标准品,采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质含量^[15]。

参考 Jiang 等^[16]的方法,将多糖样品配制成 0.1 mg·mL⁻¹ 水溶液,以去离子水为空白对照,于 190~400 nm 波长范围进行紫外光谱扫描,检测样品在 260 nm (核酸) 和 280 nm (蛋白质) 处的特征吸收峰,以评估多糖纯度。

1.3.4 相对分子质量测定

参考 Wang 等^[17]的方法,采用高效凝胶渗透色谱 (High Performance Gel permeation Chromatography, HPGPC) 测定多糖的相对分子量,配备安捷伦 LC-10A 平台、105-103-101 色谱柱 (8×300 mm) 和示差折光检测器 RID-10A,测定多糖的均一性和分子量。检测条件为:柱温 40 ℃,流动相 0.05 mol·L⁻¹ NaCl,流速 1 mg·min⁻¹。将多糖溶液 (20 μL, 5 mg·mL⁻¹) 注入色谱柱,使用不同分子量的葡聚糖绘制线性曲线。

1.3.5 单糖组成分析

参考 Feng 等^[18]的方法,使用离子色谱仪测定单糖组成。配制 16 种单糖混合标准溶液 (包括岩藻糖、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、氨基半乳糖盐酸盐、盐酸氨基葡萄糖、N-乙酰-D 氨基葡萄糖、古罗糖醛酸和甘露糖醛酸),通过绝对定量法测定各单糖质量,结合摩尔质量计算其摩尔比例。

1.3.6 Zeta电位和粒径的测定

将多糖样品配制 0.1 mg·mL⁻¹,用马尔文纳米粒度电位仪进行测定,测试散射角 90°、折射率 1.330、分

散剂粘度为 0.887 2 cP。

1.3.7 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 检测与酯化度分析

取 2 mg 多糖样品与适量溴化钾粉末充分研磨混匀, 压制透明薄片后, 置于傅里叶红外光谱仪 (Fourier-transform Infrared Spectroscopy, FT-IR) 中, 在 4 000~500 cm^{-1} 波数范围内进行扫描, 获取红外光谱图。

多糖的酯化度 (Degree of Esterification, DE) 可通过红外光谱法计算, 其基于酯基 $\text{C}=\text{O}$ (1 700~1 750 cm^{-1} , 主峰约 1 730 cm^{-1}) 与羧酸基 $\text{C}=\text{O}$ (1 600~1 640 cm^{-1} , 主峰约 1 620 cm^{-1}) 的吸收峰面积比值^[19], 具体计算公式如公式 3 所示。

$$D = \frac{A_{1730}}{A_{1730} + A_{1635}} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

D ——多糖酯化度 (DE), %;

A_{1730} ——酯基 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动在 1 730 cm^{-1} 附近特征吸收峰的积分面积;

A_{1635} ——羧酸基 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动在 1 620 cm^{-1} 附近特征吸收峰的积分面积。

1.3.8 扫描电子显微镜 (SEM) 检测

将冻干样品用双面导电胶固定于样品台, 经喷金处理后, 采用扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscope, SEM) 观察微观形貌, 分别在 100 $\times$ 和 500 $\times$ 放大倍率下采集图像, 电压为 5 kV。

1.3.9 X-射线衍射 (XRD) 检测

采用 X-射线衍射 (X-ray Diffraction, XRD) 法测定多糖的晶体特征, 扫描范围 5°~60° (2 θ), 电压: 40 kV, 电流 30 mA, 以分次扫描模式采集衍射图谱。

1.3.10 热重分析

采用热重分析仪测定老香黄多糖的热稳定性。称取 5 mg 老香黄多糖, 在氮气环境 (流速 100 $\text{mg} \cdot \text{min}^{-1}$) 中对老香黄多糖进行热重分析 (Thermogravimetric Analysis, TGA), 以 10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的升温速率从 25 $^{\circ}\text{C}$ 扫描至 600 $^{\circ}\text{C}$, 记录热重曲线。

1.3.11 体外抗氧化测定

1.3.11.1 DPPH 自由基清除率的测定

参照 Tian 等^[20]的方法并稍作修改。用无水乙醇配制 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液, 依次配制浓度为 0.1、0.5、1、2、4、6 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的抗坏血酸和多糖溶液。将 100 μL 试样溶液与 100 μL DPPH 溶液混合, 室温避光反应 30 min 后, 用酶标仪于 517 nm 处测定吸光度 A_i , 同时设置对照组 A_1 (以无水乙醇代替样品)、试剂空

白组 A_0 (无水乙醇) 和样品空白组 A_0 (以无水乙醇代替 DPPH 溶液), 按公式 4 计算 DPPH 自由基清除率。以清除率对多糖浓度进行线性拟合, 从而计算半抑制浓度 (50% Inhibiting Concentration, IC_{50}), 进而定量比较多糖的抗氧化活性。

$$D_1 = \frac{(A_1 - A_0) - (A_i - A_j)}{A_1 - A_0} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

D_1 ——DPPH 自由基清除率, %;

A_1 ——对照组的吸光度 (以等体积无水乙醇代替样品);

A_0 ——试剂空白组的吸光度 (无水乙醇);

A_i ——样品组的吸光度;

A_j ——样品空白组的吸光度 (以等体积无水乙醇代替 DPPH 溶液)。

1.3.11.2 ABTS⁺自由基清除活性测定

参照钟思彦等^[21]的方法并稍作修改。用去离子水配制含 7 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABTS 与 2.45 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 过硫酸钾的混合溶液, 置于暗处过夜, 用水稀释混合溶液直至于 734 nm 处吸光度为 0.7 $\pm$ 0.05, 得到 ABTS 工作液。将 10 μL 试样溶液与 190 μL ABTS 工作液混合, 室温避光反应 5 min 后, 用酶标仪于 734 nm 处测定吸光度 A_i , 同时设置对照组 A_1 (以去离子水代替样品)、试剂空白组 A_0 (去离子水) 和样品空白组 A_0 (以去离子水代替 DPPH 溶液), 按公式 5 计算清除率。同 1.3.11.1 的方法计算 IC_{50} 。

$$D_2 = \frac{(A_1 - A_0) - (A_i - A_j)}{A_1 - A_0} \times 100\% \quad (5)$$

式中:

D_2 ——ABTS⁺ 自由基清除率, %;

A_1 ——对照组的吸光度 (以等体积去离子水代替样品);

A_0 ——试剂空白组的吸光度 (去离子水);

A_i ——样品组的吸光度;

A_j ——样品空白组的吸光度 (以等体积去离子水代替 ABTS 溶液)。

1.4 数据处理

本研究均进行 3 次重复实验, 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示, 采用 Origin 2021 和 Excel 软件作图分析。

2 结果与分析

2.1 老香黄多糖的提取与纯化

2.1.1 DEAE-52 纤维素柱层析

经水提醇沉结合大孔树脂脱色、Sevag 法脱蛋白获得老香黄粗多糖 LXHP, 得率为 2.38%。DEAE-

52 纤维素柱层析分离结果如图 1 所示, 通过不同浓度的 NaCl 溶液洗脱后, 共得到 4 个多糖组分, 分别命名为 LXHP-0.1 M、LXHP-0.2 M、LXHP-0.3 M 和 LXHP-0.4 M, 得率分别为 5.68%、16.78%、25.62% 和 31.18%。其中, 选取得率最大的组分 LXHP-0.3 M 和 LXHP-0.4 M 进行下一步纯化。

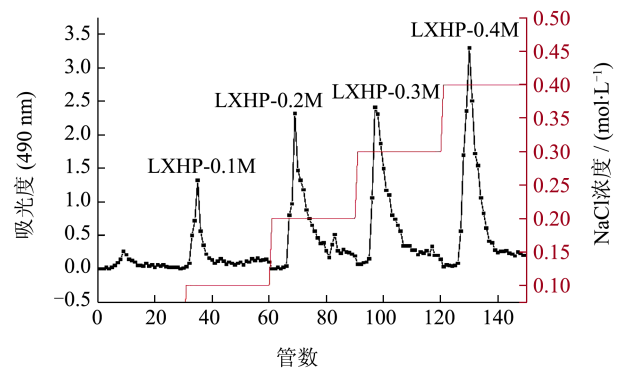


图 1 老香黄多糖的 DEAE-52 柱层析洗脱图
Fig.1 Chromatographic elution of the DEAE-52 column of Laoxianghuang polysaccharide

2.1.2 Sephadex G-100柱层析

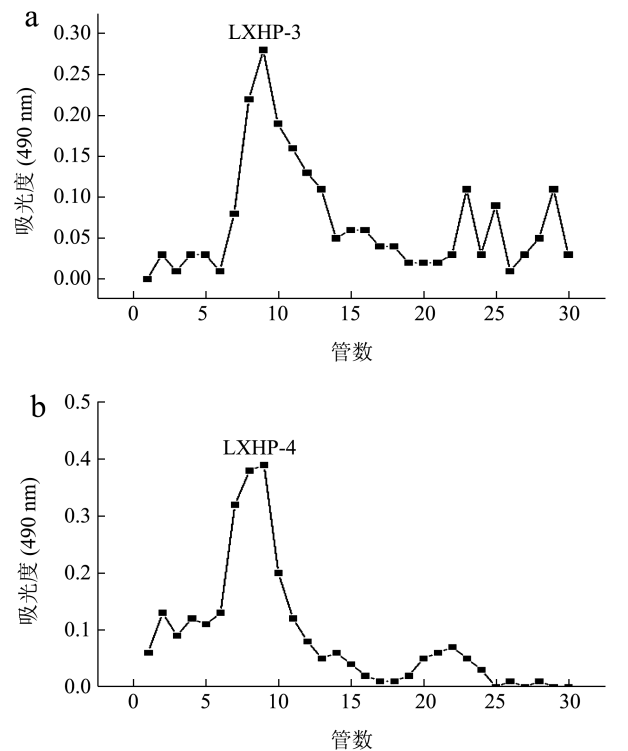


图 2 LXHP-3 和 LXHP-4 组分的 Sephadex G-100 柱层析洗脱图
Fig.2 Sephadex G-100 column chromatography elution curve of LXHP-3 and LXHP-4

采用 Sephadex G-100 对主要馏分 LXHP-0.3 M、LXHP-0.4 M 进一步纯化的结果如图 2 所示, 根据洗脱曲线收集峰信号较强的主要馏分, 然后透析冻干, 得

到老香黄 LXHP-3、LXHP-4。

2.2 化学成分分析

老香黄粗多糖 LXHP 和纯化组分多糖 LXHP-3、LXHP-4 的化学成分测定结果如表 1 所示。LXHP 的中性糖含量为 19.19%, 糖醛酸含量为 58.89%, 蛋白质含量为 0.79%, 表明老香黄多糖是一种酸性多糖^[22]。经过 DEAE-52 纤维素柱和 Sephadex G-100 葡聚糖凝胶柱纯化后, LXHP-3 和 LXHP-4 的糖醛酸含量显著提高 (分别达到 78.31% 和 73.74%, $P < 0.05$), 而中性糖含量显著降低 (分别降至 6.63% 和 11.92%, $P < 0.05$), 这一变化趋势表明, 纯化过程有效富集了酸性多糖组分, 同时选择性地去除了中性糖杂质。此外, 纯化后组分多糖的蛋白质含量也显著降低 (分别降至 0.05% 和 0.29%, $P < 0.05$), 表明纯化过程除蛋白效果较好, 蛋白去除率分别达到 93.67% 和 63.29%。

通过紫外全波段光谱扫描 (190~400 nm) 评估样品多糖的纯化效果, 结果如图 3 所示, 相较于未纯化的粗多糖 LXHP, 组分多糖 LXHP-3、LXHP-4 在 260 nm 和 280 nm 处的吸收显著降低, 表明纯化过程有效去除了蛋白质、核酸等杂质^[23], 纯化后多糖的纯度较高。

表 1 老香黄多糖的化学成分			
Table 1 Chemical components of Laoxianghuang polysaccharide			
组别	中性糖含量/%	糖醛酸含量/%	蛋白含量/%
LXHP	19.19 ± 0.9 ^c	58.89 ± 5.72 ^a	0.79 ± 0.33 ^c
LXHP-3	6.63 ± 0.49 ^a	78.31 ± 2.65 ^b	0.05 ± 0.01 ^a
LXHP-4	11.92 ± 0.47 ^b	73.74 ± 1.87 ^b	0.29 ± 0.18 ^b

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

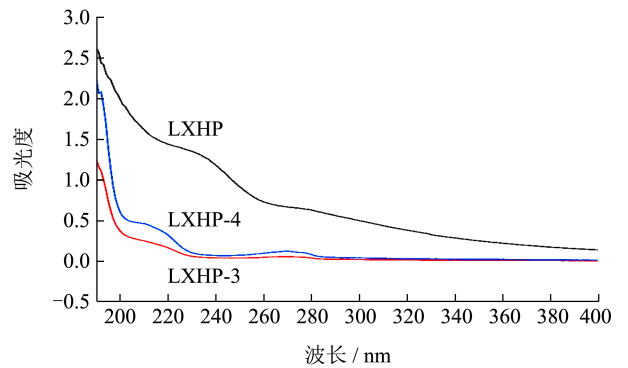


图 3 老香黄多糖的紫外吸收光谱图
Fig.3 UV absorption spectra of Laoxianghuang polysaccharide

2.3 分子量分布

采用高效凝胶渗透色谱 (HPGPC) 测定多糖分子量分布。得到标准品校正曲线 $\lg M_w = -0.273 \text{ 3RT} + 11.581$, $R^2 = 0.998 \text{ 9}$; $\lg M_n = -0.272 \text{ RT} + 11.544$, $R^2 = 0.998 \text{ 8}$ 。根据

校正曲线方程代入保留时间（见图 4）计算多糖的分子量，数据如表 2 所示。结果表明，LXHP-3 呈现双峰分布，主要由 75.3 kDa（占比 57.95%）和 20.8 kDa（占比 42.05%）两种分子量组分构成，推测可能存在未完全分离的亚组分。相比之下，LXHP-4 呈现单峰分布，主要组分为 75.6 kDa（占比 90.396%）。聚合物分散性指数（Polymer Dispersity Index, PDI）为重均分子量（Weight-Average Molecular Weight, M_w ）与数均分子量（Number-Average Molecular Weight, M_n ）的比值，用于衡量多糖分子量分布的不均一程度。LXHP-4 只有单峰且多分散性指数（PDI=1.011）接近 1，表明 LXHP-4 的平均分子质量分布较集中，较为均一^[24]。

表 2 老香黄多糖的相对分子质量

Table 2 Relative molecular weight of polysaccharide samples					
组别	RT/min	M_w /Da	M_n /Da	相对峰面积/%	PDI
LXHP-3	24.53	75 327	74 446	57.95	—
	26.608	20 372	20 259	42.05	—
LXHP-4	24.525	75 564	74 679	90.40	1.01

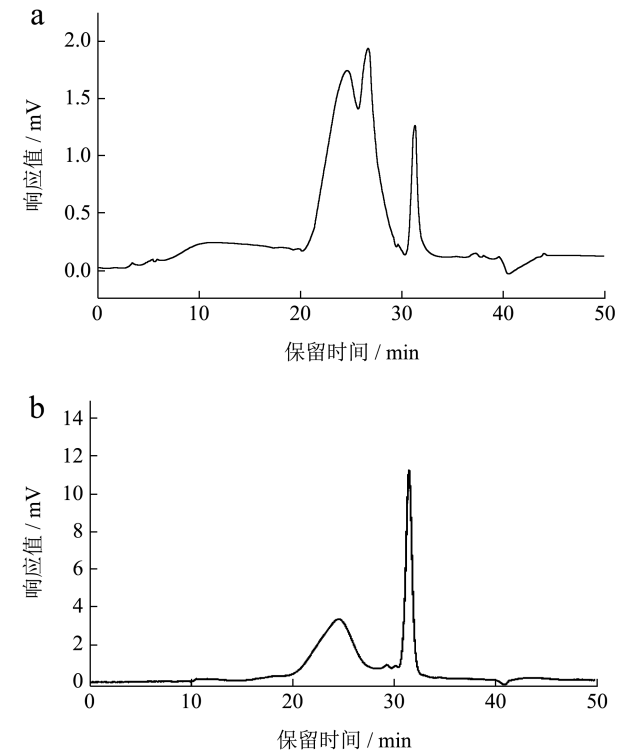


图 4 LXHP-3 和 LXHP-4 的 HPGPC 色谱图

Fig.4 HPGPC chromatograms of LXHP-3 and LXHP-4

注：(a) LXHP-3；(b) LXHP-4。

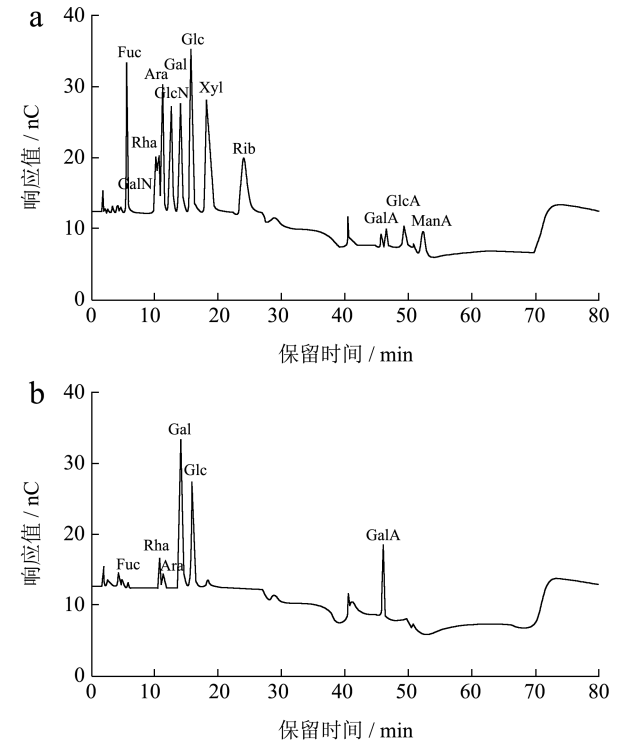
2.4 单糖组成分析

采用离子色谱仪测定 LXHP-3 和 LXHP-4 的单糖组成，单糖标准品和 LXHP-3、LXHP-4 的离子色谱图见图 5，与单糖标准品图谱对比，根据出峰时间确定

单糖种类，具体数据见表 3。结果表明，LXHP-3 和 LXHP-4 的单糖组成相似，均由岩藻糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖和半乳糖醛酸 8 种单糖组成，摩尔比分别为 0.2:5.5:0.7:13.2:0.59:0.6:0.3:73.5，0.2:5.6:0.6:7.6:14.7:0.3:0.2:70.8，其中最主要的成分均为半乳糖醛酸^[1]。

表 3 LXHP-3和LXHP-4的单糖组成成分

Table 3 Monosaccharide composition of LXHP-3 and LXHP-4				
单糖	LXHP-3		LXHP-4	
	保留时间 / min	摩尔比	保留时间 / min	摩尔比
岩藻糖	5.734	0.2	5.725	0.2
氨基半乳糖盐酸盐	10.3	0	10.3	0
鼠李糖	10.734	5.5	10.717	5.6
阿拉伯糖	11.334	0.7	11.325	0.6
盐酸氨基葡萄糖	12.675	0	12.675	0
半乳糖	14.109	13.2	14.109	7.6
葡萄糖	15.934	5.9	15.917	14.7
木糖	18.375	0.6	18.317	0.3
甘露糖	18.809	0.3	19.017	0.2
果糖	22.025	0	22.025	0
核糖	24.084	0	24.084	0
半乳糖醛酸	46.025	73.5	45.975	70.8
古罗糖醛酸	46.517	0	46.517	0
葡萄糖醛酸	49.359	0	49.359	0
甘露糖醛酸	52.292	0	52.292	0



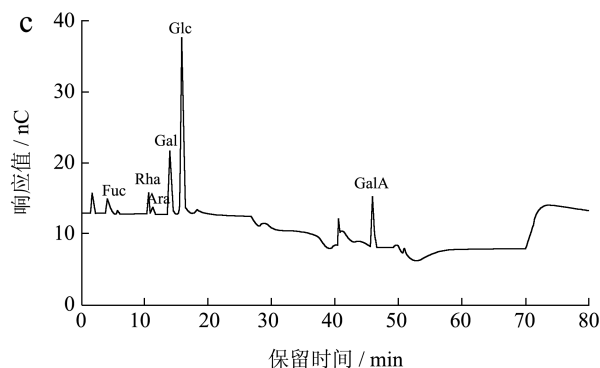


图5 LXHP-3和LXHP-4的单糖组成离子色谱图

Fig.5 Ion chromatograms of monosaccharide composition in LXHP-3 and LXHP-4

注: (a) 单糖标准品; (b) LXHP-3; (c) LXHP-4。

2.5 Zeta电位及粒径分布分析

Zeta 电位是表征多糖表面电荷的参数, Zeta 电位绝对值越大, 多糖的稳定性越好^[25]。老香黄多糖的电位分布见图 6a, LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 均带有负电荷, 电位绝对值由高到低分别为 LXHP-3 ($|-17.65|$ mV) > LXHP-4 ($|-15|$ mV) > LXHP ($|-14.2|$ mV), 这种变化趋势与糖醛酸含量呈正相关, Wan 等^[26]的研究表明多糖的负电荷一般由糖醛酸产生。

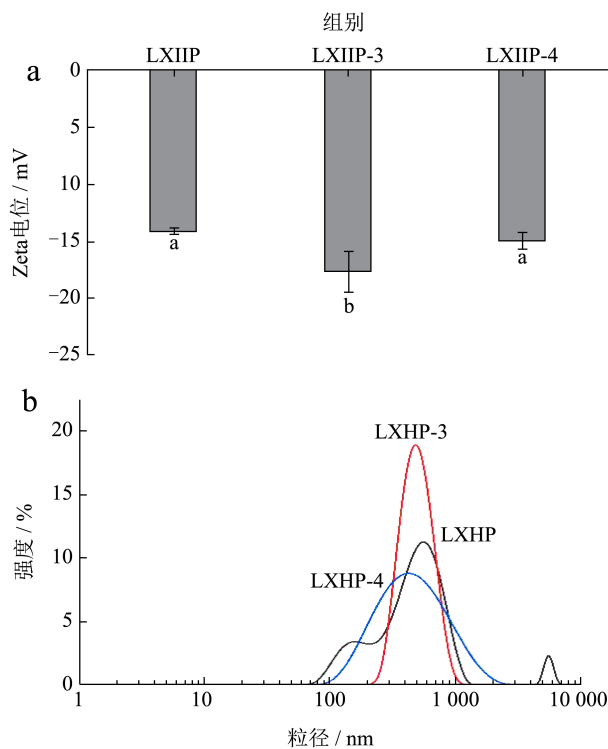


图6 老香黄的 Zeta 电位和粒径分布图

Fig.6 Zeta potential and particle size distribution of Laoxianghuang polysaccharide

注: a 电位; b 粒径。图中不同的小写字母表示显著差异 ($P < 0.05$)。

粒径分布如图 6b 所示, LXHP 的平均粒径为 611.15 nm, 而 LXHP-3 和 LXHP-4 的平均粒径分别降低至 340.75 nm 和 450.25 nm。结果表明, 纯化后的多糖粒径明显减小, 这是由于纯化过程去除了大分子杂质, 减少了分子链之间的非特异性相互作用, 进而降低了颗粒的聚集程度, 从而导致粒径变小^[27]。

2.6 红外光谱分析

红外光谱技术可推断出多糖结构中的特征官能团信息, 是解析物质结构的重要手段。如图 7 所示, LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 的红外光谱图具有一定的相似性, 表明分离纯化不改变多糖的官能团。在 3450 cm^{-1} 处呈现宽而强的峰是羟基伸缩振动的特征吸收峰, 2930 cm^{-1} 为 C-H 的伸缩振动吸收峰, 这两种特征吸收峰是多糖的标志性峰^[28]。有研究表明在 1629 cm^{-1} 处的吸收峰归属于糖醛酸中羧酸基团 ($-\text{COO}^-$) 的 C=O 伸缩振动^[29], 其峰强度与测得的糖醛酸含量呈正相关; 而 1740 cm^{-1} 处的吸收峰对应酯化羧基 ($-\text{COOR}$) 的 C=O 收缩振动, 由图 7 可以看出, LXHP-3 在此处的吸收峰几乎消失, 通过公式 3 计算得到 LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 的酯化度分别为 46.15%、7.62%、51.89%。这表明 LXHP-3 的酯化度显著降低, 而 LXHP-4 的酯化度反而升高, 这一差异可能与纯化工工艺相关, LXHP-3 的分子量呈双峰分布提示纯化过程可能发生了部分降解, 低分子量组分可能因链断裂暴露出更多酯键, 在后续处理中更易水解, 导致整体酯化度降低; 而 LXHP-4 的酯化度升高可能是由于纯化步骤去除了杂质, 富集了结构均一的高酯化修饰分子, 从而使得表观酯化度升高。另外, 在 1100 cm^{-1} 和 1020 cm^{-1} 处的吸收峰表明老香黄多糖存在吡喃糖结构^[29]。

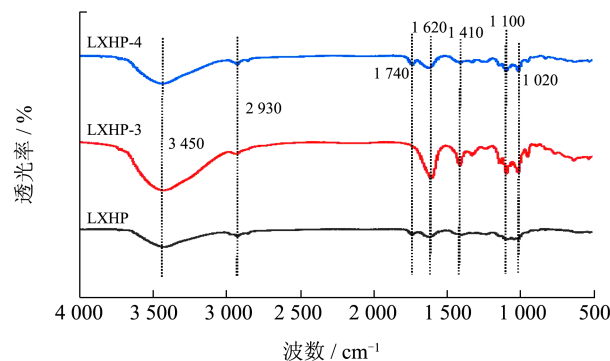


图7 老香黄多糖的傅里叶变换红外吸收光谱图

Fig.7 Fourier transform infrared spectrum of Laoxianghuang polysaccharide

2.7 微观结构

分别在 100 和 500 倍的放大倍数下对 LXHP、

LXHP-3 和 LXHP-4 进行了扫描电镜分析。如图 8 所示, 纯化前后的多糖均由片状结构和纤维状结构组成。LXHP 表面的片状结构出现较多孔洞, 表明其分子间的作用力较弱, 分子间结构比较松散, 导致片状结构断裂^[30]。而纯化后的多糖 LXHP-3 和 LXHP-4 表面的片状结构较致密, 孔洞数量显著减少, 一方面, 可能是由于纯化过程去除了蛋白质和中性糖杂质, 促进了分子链的有序排列^[31]。另一方面, LXHP-3 和 LXHP-4 的高糖醛酸含量可能通过氢键和离子相互作用进一步增强了分子链间的紧密堆积^[32]。

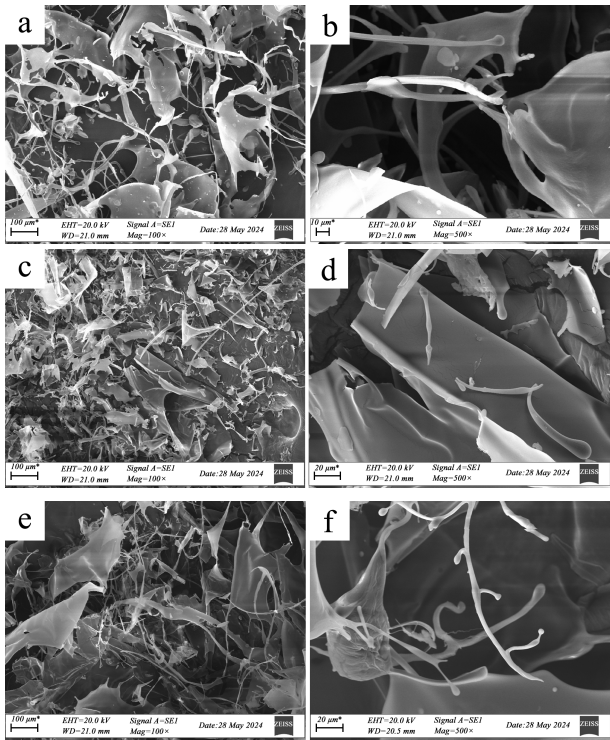


图 8 老香黄多糖的扫描电子显微镜图

Fig.8 Scanning electron microscope graph of Laoxianghuang polysaccharide

注: (a) LXHP 100×; (b) LXHP 500×; (c) LXHP-3 100×; (d) LXHP-3 500×; (e) LXHP-4 100×; (f) LXHP-4 500×。

2.8 热重分析

热稳定性是多糖工业应用的一个重要检测指标, 可监测样品脱水、分解、氧化有关的物料质量随时间和温度的变化^[33]。LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 的热重分析 (TGA) 和导数热重分析 (DTG) 曲线显示如图 9 所示。老香黄多糖的热降解过程可分为三个阶段。第一阶段 (25~150 °C) 的质量损失 (LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 的质量损失分别为 9.83%、13.61% 和 10.16%), 这可能与多糖样品中自由水和结合水的蒸发有关^[34]。第二阶段 (150~350 °C) 发生了剧烈的多糖主链降解, 质量损失显著 (LXHP、LXHP-3

和 LXHP-4 的质量损失分别为 46.71%、35.34% 和 47.04%), 这可能涉及糖苷键断裂和脱羧反应^[35]。第三阶段 (350~600 °C) 为缓慢炭化过程, 质量损失相对较小 (LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 的质量损失分别为 10.97%、8.54% 和 8.80%), 最终残留质量分别为 32.49%、42.51% 和 34.00%。LXHP-3 最终残留质量最高, 表明其形成了更稳定的炭化产物^[36]。

对热重进一步分析的结果如表 4 所示, 虽然 LXHP-3 的初始降解温度 ($T_{10\%}=92.67\text{ }^{\circ}\text{C}$) 显著低于 LXHP ($T_{10\%}=174.17\text{ }^{\circ}\text{C}$) 和 LXHP-4 ($T_{10\%}=146.33\text{ }^{\circ}\text{C}$), 但在主要降解阶段 ($T_{25\%}\sim T_{50\%}$), LXHP-3 表现出更高的热稳定性 ($T_{25\%}=244.33\text{ }^{\circ}\text{C}$; $T_{50\%}=369.50\text{ }^{\circ}\text{C}$), 其最大降解速率温度 (DTG 峰值 $=248.83\text{ }^{\circ}\text{C}$) 也高于 LXHP ($244.33\text{ }^{\circ}\text{C}$) 和 LXHP-4 ($236.00\text{ }^{\circ}\text{C}$), 这可能与低酯化度和高糖醛酸含量有关。有研究表明, 低酯化多糖在加热过程中化学结构变化较小, 热稳定性提高^[37]; 多糖中糖醛酸的羧基可以增强分子间相互作用, 也能提高热稳定性^[38]。

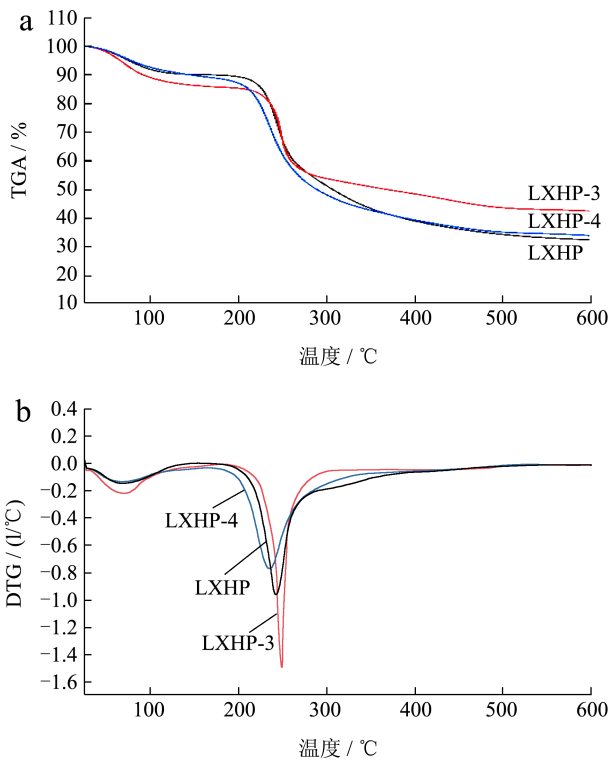


图 9 老香黄多糖的热重分析

Fig.9 Thermogravimetric analysis of Laoxianghuang polysaccharide

注: (a) TGA; (b) DTG。

2.9 晶体特性分析

通过 X-射线衍射仪 (XRD) 分析可以表征多糖的结晶特性, 包括结晶类型和结晶指数, 一般晶体的

峰形都呈现为尖而窄，而非晶体物质则呈现宽而散的衍射峰。如图 10 所示，LXHP 和 LXHP-4 在 2θ 为 $15^{\circ}\sim 25^{\circ}$ 范围内表现为宽而散的几乎无定形的衍射峰，这是典型非晶态材料的特征。而 LXHP-3 在 $2\theta=31.55^{\circ}$ 处出现一个尖锐的衍射峰，表明其中有结晶态聚合物。同时，在 $10^{\circ}\sim 20^{\circ}$ 范围内表现为较大的馒头峰，表明其中具有大量的无定形部分。结果表明，LXHP-3 同时存在结晶态和非晶态两种聚合物形式，呈现典型的半结晶特征^[39]。

表 4 老香黄多糖的热重分析结果

Table 4 Thermogravimetric analysis results of Laoxianghuang polysaccharide					
样品	降解温度/ $^{\circ}\text{C}$			导数热重分析峰值温度/ $^{\circ}\text{C}$	600 $^{\circ}\text{C}$ 时质量残留/%
	$T_{10\%}$	$T_{25\%}$	$T_{50\%}$		
LXHP	174.17	242.00	307.33	244.33	32.49
LXHP-3	92.67	244.33	369.50	248.83	42.51
LXHP-4	146.33	231.83	289.33	236.00	34.00

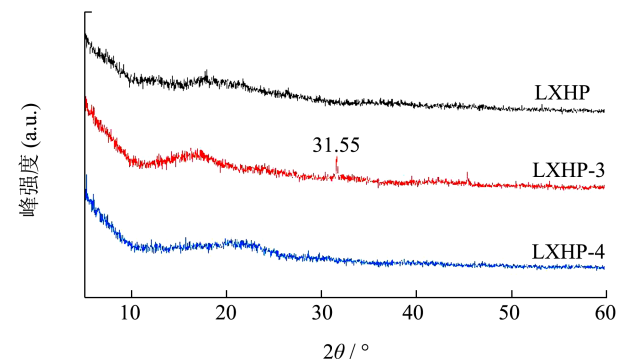


图 10 老香黄多糖的 X 射线衍射图

Fig.10 X-ray diffraction pattern of Laoxianghuang polysaccharide

2.10 抗氧化活性

通过 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基清除实验测定了 LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 的体外抗氧化活性 (图 11)。结果表明，在 $0.1\sim 6\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的质量浓度下，老香黄多糖的体外抗氧化能力呈现剂量依赖性，LXHP 在两种体系中均表现出最高活性。在 $6\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时，LXHP 的 DPPH 自由基清除率达到 97.72%，显著高于 LXHP-3 (53.32%) 和 LXHP-4 (71.54%)；经线性拟合计算得到，LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 对 DPPH 的 IC_{50} 值分别为 0.48、5.32 和 $3.38\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。ABTS 实验中亦呈现类似趋势，LXHP 在 $6\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的清除率为 97.98%，而 LXHP-3 和 LXHP-4 分别降至 88.47% 和 61.68%；LXHP、LXHP-3 和 LXHP-4 对 ABTS 的 IC_{50} 值分别为 2.14、2.82 和 $4.57\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。组分多糖的抗氧化能力较粗多糖降低可能归因于纯化过程中去

除了具有抗氧化活性的杂质（如多酚类物质），从而影响了其抗氧化功能。已有研究表明老香黄中含有大量的多酚类、黄酮类物质^[3]，这些物质通过共价键连接在多糖链上，能够增强了多糖的抗氧化活性^[40]。然而，纯化过程可能破坏了这种连接，从而导致 LXHP-3 和 LXHP-4 的 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除活性降低。

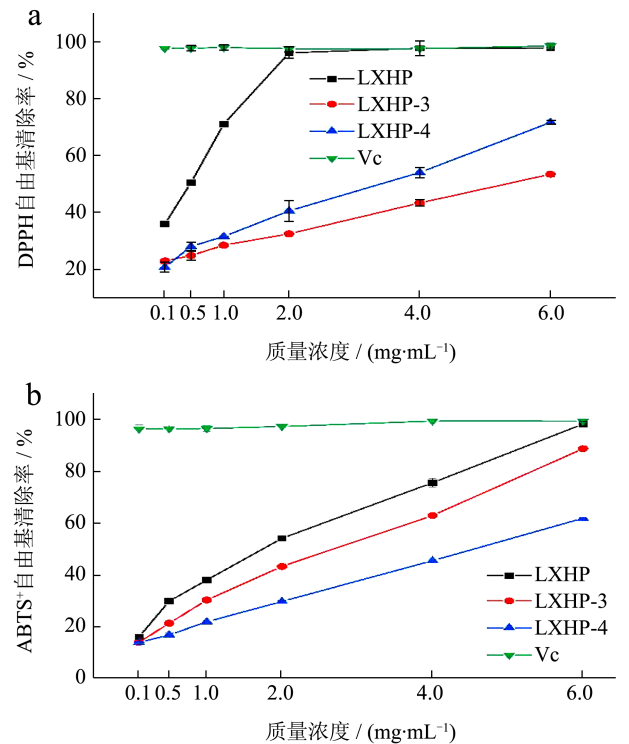


图 11 老香黄多糖的体外抗氧化活性

Fig.11 In vitro antioxidant activity of Laoxianghuang polysaccharide

值得注意的是，在 $6\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 下，虽然 LXHP-3 的 ABTS⁺ 自由基清除率显著高于 LXHP-4，但其 DPPH 抗氧化活性却低于 LXHP-4，这种差异可能与两种自由基的清除机制及多糖的理化特性密切相关。LXHP-3 可能因含有较低的分子量组成、较高的半乳糖比例、较低的酯化度和较高的糖醛酸含量，更有利于 ABTS⁺ 自由基的清除^[41]。而 LXHP-4 与 LXHP-3 相比，具有均一的分子量结构、较高的中性糖含量和较小的粒径，能够促进氢原子的供应，从而具有较高的 DPPH 自由基清除能力^[42]。综上所述，多糖的抗氧化活性受分子量分布、单糖组成和酯化度等多方面影响，不同的自由基清除体系对多糖的理化性质表现出不同的作用效果。

3 结论

本研究通过水提醇沉法结合大孔树脂脱色、Sevag 法脱蛋白提取老香黄粗多糖 LXHP，并采用 DEAE-52 纤维素柱和 Sephadex G-100 凝胶柱层析技术进行分离

纯化,得到两个主要组分 LXHP-3 和 LXHP-4。高效凝胶渗透色谱结果显示 LXHP-3 的分子量呈双峰分布(75.3 和 20.8 kDa),而 LXHP-4 为单峰均一结构(75.6 kDa, PDI=1.011)。单糖组成分析和化学成分分析表明, LXHP-3 和 LXHP-4 为以半乳糖醛酸为主(>70%)的酸性多糖,糖醛酸含量均超过 70%。粒径电位分析表明,纯化后的组分多糖粒径明显减小, Zeta 电位绝对值增加。X-射线衍射分析表明, LXHP 和 LXHP-4 为非晶结构,而 LXHP-3 具有半结晶结构。红外光谱显示,分离纯化不改变多糖的官能团, LXHP-3 的酯化度显著降低, LXHP-4 的酯化度反而升高,老香黄多糖具有吡喃糖结构。扫描电镜观察显示,多糖均由片状和纤维状结构组成, LXHP 表面孔洞结构相对更多。热重分析表明, LXHP-3 在主要降解阶段(150~350 ℃)表现出更高的热稳定性,在 600 ℃ 下的残留质量最高(42.51%)。体外抗氧化实验结果显示,纯化后的组分多糖 LXHP-3 和 LXHP-4 的 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基清除率较粗多糖 LXHP 降低,可能与纯化过程中多酚和黄酮类化合物的脱除有关,多糖的抗氧化活性可能受到分子量分布、单糖组成和酯化度等多方面的影响。以上研究结果系统揭示了老香黄多糖的结构特征及抗氧化活性,为其功能性开发提供了重要的理论依据。

参考文献

- [1] 郑玉忠,郭守军,杨永利,等.药食凉果老香黄制作工艺的研究[J].农产品加工,2014,1:44-45,48.
- [2] 罗思敏,吴孟华,周宇,等.佛手的品种源流及药用食用考[J].中国中药杂志,2020,45(16):3997-4003.
- [3] 王雅倩,安可婧,黄桂颖,等.不同年份老香黄活性成分、抗氧化活性及挥发性成分分析[J].食品与发酵工业,2023,49(21):221-232.
- [4] 陈桂滨,唐耿秋,洪程铭.基于网络药理学探究老香黄主要化学成分对肠炎的改善机制[J].广东化工,2024,51(23):60-62,65.
- [5] 阳丹,陈小爱,杨玉洁,等.基于电子鼻、HS-GC-IMS、HS-SPME-GC-MS技术联用分析不同发酵年份老香黄挥发性成分差异[J].现代食品科技,2022,38(11):313-323.
- [6] LIU Y Q, LIU H X, LIN W L, et al. SPME-GC-MS combined with chemometrics to assess the impact of fermentation time on the components, flavor, and function of Laoxianghuang [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 915776.
- [7] 赖宣,杨启财,张振霞.潮汕老香黄亚硝酸盐含量的调查分析[J].轻工科技,2016,32(5):4-5.
- [8] LIN L J, CHEN X, CAI H T, et al. Dynamic changes of microbial flora in the pickled bergamot (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*) -LaoXiangHuang (LXH) during aging [J]. Food Science and Technology, 2022, 42(2): e113521.
- [9] ZHENG Y, WANG Y, LUO D, et al. Effect of bergamot and Laoxianghuang polysaccharides on gut microbiota derived from patients with hyperlipidemia: an integrative analysis of microbiome and metabolome during *in vitro* fermentation [J]. Foods, 2022, 11(14): 2039.
- [10] 阳丹,蔡舒,彭成海,等.老香黄多糖的分离纯化及其体外胃黏膜保护活性研究[J].食品工业科技,2023,44(19):440-448.
- [11] ZHANG Y, YANG Y, SONG J, et al. Laoxianghuang polysaccharide promotes the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in colitis via gut microbial linoleic acid [J]. Phytomedicine, 2024, 135: 156136.
- [12] ZHENG Y F, ZHANG Q, LIU X M, et al. Extraction of polysaccharides and its antitumor activity on *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 142: 98-104.
- [13] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28: 350-356.
- [14] RADHAKRISHNAMURTHY B, BERENSON G S. Effect of temperature and time of heating on the carbazole reaction of uronic acids and acid mucopolysaccharides [J]. Analytical Chemistry, 1963, 35(9): 1316-1318.
- [15] SMITH P K, KROHN R I, HERMANSON G T, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid [J]. Analytical Biochemistry, 1985, 150(1): 76-85.
- [16] JIANG Y, ZI W, PEI Z, et al. Characterization of polysaccharides and their antioxidant properties from *Plumula nelumbinis* [J]. Saudi Pharmaceutical Journal : SPJ, 2018, 26(5): 656-664.
- [17] WANG J, YUAN P, ZHANG W, et al. Separation, purification, structural characterization, and anticancer activity of a novel exopolysaccharide from *Mucor* sp [J]. Molecules, 2022, 27(7): 2071.
- [18] FENG L, HAN N, HAN Y B, et al. Structural analysis of a soluble polysaccharide GSPA-0.3 from the root of *Panax ginseng* C. A. Meyer and its adjuvant activity with mechanism investigation [J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 326: 121591.
- [19] LI W, LI J, WANG J, et al. Effects of various degrees of esterification on antioxidant and immunostimulatory activities of okra pectic-polysaccharides[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 1025897.
- [20] TIAN R, CHAI H, QIU J Q, et al. Preparation, structural characterisation, and antioxidant activities of polysaccharides from eight boletes (Boletales) in tropical China [J]. Mycology, 2022, 13(3): 195-206.
- [21] 钟思彦,邹波,吴继军,等.黄皮多糖结构表征及抗氧化与益生活性研究[J].食品与发酵工业,2025,51(3):234-242.
- [22] 赵志强,朱叙丞,冯真颖,等.沙棘果多糖的理化特征及其体外抗氧化活性[J].食品工业科技,2023,44(13):30-38.
- [23] LUO L, SONG X, CHANG X, et al. Detailed structural analysis of the immunoregulatory polysaccharides from the mycobacterium bovis BCG [J]. Molecules, 2022, 27(17): 5691.
- [24] KHLUSOV I, AVDEEVA E, SHUPLETSOVA V, et al. Comparative *in vitro* evaluation of antibacterial and osteogenic activity of polysaccharide and flavonoid fractions isolated from the leaves of *Saussurea controversa* [J]. Molecules, 2019, 24(20): 3457.

- 3680.
- [25] LIU X X, YAN Y Y, LIU H M, et al. Emulsifying and structural properties of polysaccharides extracted from Chinese yam by an enzyme-assisted method [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019,111: 242-251.
- [26] WAN L, CHEN Q Q, HUANG M L, et al. Physiochemical, rheological and emulsifying properties of low methoxyl pectin prepared by high hydrostatic pressure-assisted enzymatic, conventional enzymatic, and alkaline de-esterification: A comparison study [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93: 146-155.
- [27] ZHANG Z, LV G, SONG T, et al. Effects of different extraction methods on the structural and biological properties of *Hericium coralloides* polysaccharides [J]. Food Chemistry, 2024, 445: 138752.
- [28] MA J S, LIU H, HAN C R, et al. Extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Pouteria campechiana* seed [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 229: 115409.
- [29] YE G, LI J, ZHANG J, et al. Structural characterization and antitumor activity of a polysaccharide from *Dendrobium wardianum* [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 269: 118253.
- [30] 张喜康,赵宇慧,刘军,等.枸杞不同生长期多糖的理化特性及结构分析[J].食品科学,2020,41(16):158-164.
- [31] HOU G H, CHEN X, LI J L, et al. Physicochemical properties, immunostimulatory activity of the *Lachnum* polysaccharide and polysaccharide-dipeptide conjugates [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 206(4): 446-454.
- [32] PETROVA A A, KOZLOVA L V, GALFULLINA I Z, et al. AFM analysis reveals polymorphism of purified flax rhamnogalacturonans I of distinct functional types [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 216(14): 238-246.
- [33] REN H W, SUN W L, WANG Z Y, et al. Enhancing the enzymatic saccharification of grain stillage by combining microwave-assisted hydrothermal irradiation and fungal pretreatment [J]. ACS Omega, 2020, 5(22): 12603-12614.
- [34] OSHRAT L O, CHANAN Y, YARON A, et al. Selective sorption of heavy metals by renewable polysaccharides [J]. Polymers, 2023, 15(22): 4457.
- [35] ELOISE B, JILE F, ZHENG Y. Challenges and opportunities of hydrothermal carbonisation in the UK; case study in Chirnside [J]. RSC Advances, 2020, 10(52): 31586-31610.
- [36] YU J W, SONG M D, LI Z P. Optimization of biochar preparation process and carbon sequestration effect of pruned wolfberry branches [J]. Green Processing and Synthesis, 2022, 11(1): 423-434.
- [37] AXELOS M A V, BRANGER M. The effect of the degree of esterification on the thermal stability and chain conformation of pectins [J]. Food Hydrocolloids, 1993, 7(2): 91-102.
- [38] TAKO M. The principle of polysaccharide gels [J]. Advances in Bioscience and Biotechnology, 2015, 6(1): 22.
- [39] 逢梦玉,隋昕怡,刘丹,等.桑黄多糖提取工艺优化、结构表征及抗氧化活性研究[J].食品安全质量检测学报,2024,15(12):48-57.
- [40] LI S K, HE Y H, ZHONG S Y, et al. Antioxidant and anti-aging properties of polyphenol-polysaccharide complex extract from *Hizikia fusiforme* [J]. Foods, 2023, 12(20): 3725.
- [41] TIAN J F, ZHANG Z, SHANG Y H, et al. Extraction, structure and antioxidant activity of the polysaccharides from morels (*Morchella* spp.): A review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 264: 130656.
- [42] LEI J, LI W, FU M X, et al. Pressurized hot water extraction, structural properties, biological effects, and *in vitro* microbial fermentation characteristics of sweet tea polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 222(PB): 3215-3228.