锦灯笼果实多糖的结构表征、硒化修饰及抗氧化活性比较

洪瑞[1]，刘伟[2]，迟金彪[1]，寇静怡[1]，李想[1]，王伟然[1]，滕杨[1*]

（1.佳木斯大学药学院，黑龙江佳木斯 154007）（2.多多药业有限公司，黑龙江佳木斯 154007）

摘要：为提高锦灯笼（*Physalis alkekengi* L.）果实多糖的生物活性，该研究以锦灯笼果实为原料，通过水提醇沉法获得粗多糖（PPS）。经 Sevage 法除蛋白、D101 大孔树脂脱色纯化后，利用 DEAE-52 纤维素柱和 Sephadex LH-20 凝胶柱进一步分离纯化得到均质多糖组分 PPS-2A。采用高效凝胶渗透色谱法测得 PPS-2A 为分子量 4.74 kDa 的均质多糖，其单糖组成及摩尔比为甘露糖：鼠李糖：半乳糖醛酸：半乳糖：木糖：阿拉伯糖 =0.343 3:0.832 3:1.850 5:0.778 4:0.744 2:0.601 5。将 PPS-2A 通过硝酸－亚硒酸钠法进行硒化修饰，成功制备硒化多糖 Se-PPS-2A（得率 60.13%，硒含量 8.0 mg·g^{-1}）。通过 DPPH·、ABTS^{+}·、·OH 自由基、O_2^{-}· 自由基清除实验及还原能力实验考察 PPS-2A 与 Se-PPS-2A 的体外抗氧化活性，结果显示：DPPH· 清除率从 80.22% 提升至 86.38%，ABTS^{+}· 清除率从 75.42% 提升至 81.22%；·OH 自由基最大清除率从 41.06% 提升至 52.40%；O_2^{-}· 清除率从35.27%提升至43.24%，铁离子还原能力（FRAP值）从0.78 mmol Fe^{2+}/mg提升至0.84 mmol Fe^{2+}/mg。综上，硒化修饰可显著提升 PPS-2A 的体外抗氧化活性，上述发现为锦灯笼果实资源的高效利用形成了理论支持。

关键词：锦灯笼果实多糖；结构表征；硒化修饰；抗氧化活性

文章编号：1673-9078(2026)10-199-207 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.10.1133

Structural Characterization, Selenylation Modification, and Antioxidant Activity of Polysaccharides from *Physalis alkekengi* L. Fruit

HONG Rui[1], LIU Wei[2], CHI Jinbiao[1], KOU Jingyi[1], LI Xiang[1], WANG Weiran[1], TENG Yang[1*]

(1. School of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China)

(2. Duoduo Pharmaceutical Co. Ltd., Jiamusi 154007, China)

Abstract: To improve the biological activity of polysaccharides from the fruit of *Physalis alkekengi* L., crude polysaccharides (PPSs) were isolated via water extraction and alcohol precipitation. The crude PPSs were deproteinized using the Sevage method, before being decolorized and purified with D101 macroporous resin. A homogeneous polysaccharide fraction, designated PPS-2A, was obtained through chromatographic purification using a DEAE-52 cellulose column and a Sephadex LH-20 gel column. High-performance gel permeation chromatography revealed that PPS-2A had a molecular weight of 4.74 kDa. Its monosaccharide composition consisted of mannose, rhamnose, galacturonic acid, galactose, xylose, and arabinose at a molar ratio of 0.343 3: 0.832 3: 1.8505: 0.778 4: 0.744 2: 0.601 5. Using the nitric acid–sodium selenite method, PPS-2A was successfully selenylated to yield the selenylated polysaccharide Se-PPS-2A (yield: 60.13%, selenium content: 8.0 mg·g^{-1}). The *in vitro* antioxidant activities of both PPS-2A and Se-PPS-2A were evaluated by assessing their reducing power and assays for DPPH, ABTS^{+}, hydroxyl (·OH), and superoxide anion (O_2^{-}) radical scavenging. The results demonstrated that selenylation modification significantly enhanced antioxidant activity. Specifically, the DPPH scavenging rate increased from 80.22% to 86.38%, the ABTS^{+} scavenging rate increased from 75.42% to 81.22%, the maximum ·OH scavenging rate increased from 41.06% to 52.40%, and the O_2^{-}· scavenging rate increased from 35.27%

收稿日期：2025-08-11；修回日期：2025-10-15；接受日期：2025-11-04

基金项目：黑龙江省属高校基本科研业务费项目（2024-KYYWF-0537）

作者简介：洪瑞（2001-），男，硕士研究生，研究方向：天然植物化学成分分析与生物活性研究，E-mail：2450502297@qq.com

通讯作者：滕杨（1982-），女，博士，教授，研究方向：天然植物化学成分分析与生物活性研究，E-mail：yangtjms@163.com

to 43.24%. The ferric reducing antioxidant power also increased from 0.78 to 0.84 mmol Fe^{2+}/mg. In conclusion, selenylation modification significantly enhances the *in vitro* antioxidant activity of PPS-2A. These findings provide a theoretical foundation for the efficient utilization of *Physalis alkekengi* L. fruit resources.

Key words: *Physalis alkekengi* L. fruit polysaccharides; structural characterization; selenylation modification; antioxidant activity

引文格式：

洪瑞,刘伟,迟金彪,等.锦灯笼果实多糖的结构表征、硒化修饰及抗氧化活性比较[J].现代食品科技,2026,42(10):199-207.

HONG Rui, LIU Wei, CHI Jinbiao, et al. Structural characterization, selenylation modification, and antioxidant activity of polysaccharides from *Physalis alkekengi* L. fruit [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(10): 199-207.

锦灯笼［*P alkekengi* L. var. *franchetii*（Mast.）Makino］如图 1 所示，别名灯笼果、红姑娘等，是广泛分布于我国东北地区的茄科多年生草本植物[1]。其果实作为重要的药食两用资源，富含多糖、甾体、生物碱、黄酮等活性成分，具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节及降血糖等药理活性[2-5]。尽管其植物化学组成与药理机制已有相关研究，但其果实多糖的应用还比较受限[6]，深加工和高值化利用水平较低，这极大限制了该特色资源的产业潜力。多糖的抗氧化活性受其精细结构如分子量、糖苷键类型、分支度等因素的影响[7,8]，适当的化学修饰可有效增强其自由基清除能力和稳定性，如黄凯等[9]对川明参多糖进行硫酸化修饰后显著提升其抗氧化活性。程爽等[10]对冬凌草多糖进行硒化修饰后显著提升其抗氧化活性。硒作为人体必需的微量元素，是谷胱甘肽过氧化物酶的核心组成成分，可增强机体抗氧化能力，其缺乏与多种氧化损伤相关疾病密切相关[11]，补充适量硒能提升机体总抗氧化能力，激活谷胱甘肽过氧化物酶（GPx）以清除自由基[12-14]。硒多糖作为硒与多糖通过化学键结合的有机复合物，巧妙融合了两者的抗氧化优势并产生协同增效，既显著降低了无机硒的潜在毒性风险，又充分保留并增强了多糖本身的自由基清除能力，相比原多糖活性更强且安全性更优[15]。因此，通过化学修饰在天然多糖上引入硒元素成为了多糖领域的研究热点。目前，对锦灯笼多糖的研究多集中于提取工艺和基础活性评价，而通过分子修饰手段对其进行结构改性以提升功能活性的研究尚少见报道。基于此，本研究首次报道了以锦灯笼果实中分离的均一多糖（PPS-2A）为原料，采用硝酸－亚硒酸钠法对其进行硒化修饰，旨在通过引入硒元素进一步提高其生物活性，并系统评价修饰前后多糖的结构特征和生理活性的变化。该研究不仅为开发高活性的硒化多糖提供实验依据，也为锦灯笼果实资源的高值化利用和其在功能性食品、药物研发中的应用奠定了科学基础。



图 1 锦灯笼果实图片

Fig.1 Fruits of *Physalis alkekengi* L. var. *Franchetii* (Mast.) Makino

1 材料与方法

1.1 原料

本研究所用的锦灯笼果实为单一批次，锦灯笼的果实采集于中国黑龙江省佳木斯市郊区，经佳木斯大学药学院周彤副教授鉴定，其为茄科酸浆属植物锦灯笼的果实。本研究所有实验均基于此批次的原料进行，只在探究该特定来源的锦灯笼果实多糖的特性。无水乙醇、葡萄糖、磷酸均为分析纯级别，购自天津科密欧化学试剂有限公司；牛血清白蛋白为分析纯，采购于北京诺特莱斯生物科技有限公司；考马斯亮蓝 G-250 为分析纯，由天津市致远化学试剂有限公司提供；苯酚为分析纯，来源于天津市大茂化学试剂厂；浓硫酸均为分析纯，购自天津市凯通化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

RE-52A 型旋转蒸发仪，上海亚荣生化仪器厂；SHJ-2A 电热恒温水浴锅，常州翔天实验仪器公司；LG10-2.4A 高速离心机，北京京立离心机有限公司；FD-1 冷冻干燥机，北京德天佑科技发展有限公司；FA2004N 型电子分析天平，上海恒平科学仪器有限公司；L3 型紫外可见分光光度计，上海仪电分析仪器有限公司；Waters Atlantis T3，美国 Waters 公司；IR RESTIGE-21 傅里叶红外光谱仪，天津恒创立达科技发展有限公司、ACQUITY 液相色谱仪，上海硅仪生化科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 粗多糖的制备

采用水提醇沉法[16]制备锦灯笼果实粗多糖。首先，原料经体积分数 95% 乙醇脱脂处理，以去除小分子杂质及色素；随后，基于实验室前期对提取工艺的优化研究，将脱脂后残留物以料液比 1:20（*m*/*V*）于 90 ℃热水提取 3 次，每次 3 h。该提取条件（料液比、温度、时间）基于课题组先前的研究工作。合并提取液，经浓缩至原体积的 1/20。于 4 ℃、8 000×*g* 离心 15 min，收集上清液，再加入乙醇至终体积分数为 80%（*V*/*V*），于 4 ℃静置醇沉 24 h，二次离心，复溶于超纯水中，浓缩，冷冻干燥，得锦灯笼果实粗多糖（粗 PPS）。

1.3.2 PPS的分离纯化

将粗多糖溶解于超纯水中，配制成 25 mg·mL^{-1} 溶液，用 Sevage 法（氯仿 : 正丁醇 =4:1，*V*/*V*）除去游离的蛋白质；通过 D101 大孔树脂静态吸附除色素[17]。将 PPS 配制成 5 mg·mL^{-1} 的多糖水溶液，离心过滤、依此经 DEAE-52 纤维素柱（2.5 cm×60 cm）与 Sephadex LH-20 凝胶柱（1 cm×100 cm）柱，分别以 NaCl 溶液（NaCl 浓度梯度：0、0.1、0.2、0.3、0.4 mol·L^{-1}）2 mL·min^{-1} 流速进行阶段梯度洗脱[18]和超纯水 1 mL·min^{-1} 进行洗脱。采用苯酚－硫酸法[19]在线监测糖含量合并、再透析，最冷冻干燥得到均质多糖（PPS-2A），备用。

1.3.3 相对分子量的测定

采用 HPGPC 测定 PPS-2A 的纯度和分子量[20]。将多糖样品用超纯水溶解并定容，配制为质量浓度 2 mg·mL^{-1} 的溶液。该溶液经 8 000 r·min^{-1} 离心处理 10 min 以去除不溶性杂质，随后上清液经 0.22 μm 微孔滤膜进行除菌过滤。纯化后的多糖溶液采用高效凝胶渗透色谱（HPGPC）串联柱进行分析。具体的色谱参数设定如下：以 0.05 mol·L^{-1} NaCl 溶液作为流动相；进样体积为 20 μL；流动相流速控制在 0.6 mL·min^{-1}；色谱柱柱温恒定于 40 ℃；检测方式选用示差折光检测器（RID）根据不同分子量的右旋糖酐（5 000、8 000、20 000、50 000、90 000、350 000 Da）为标准品绘制标准曲线（lg*Mw*=–0.790 2*x*+14.911，R^2=0.995 2），计算 PPS-2A 的分子量。

1.3.4 单糖组成测定

采用 PMP 衍生化 HPLC 分析法进行 PPS-2A 的单糖组成分析[21]。称取多糖组分 5 mg，加入 2 mL 浓度为 2 mol·L^{-1} 的三氟乙酸（TFA），110 ℃下水解 4 h，冷却后加入甲醇，减压蒸馏除去剩余的 TFA，加入双蒸水 500 μL，备用。准确移取 200 μL 经完全酸水解的多糖产物，依次加 200 μL PMP 试剂和 200 μL 0.3 mol·L^{-1} NaOH 溶液。将混合液置于 70 ℃水浴中衍生化反应 1 h。反应结束后取出，自然冷却至室温。加入 200 μL 0.3 mol·L^{-1} HCl 溶液进行中和。充分混匀中和后的溶液，加入与混合液等体积的氯仿。剧烈振荡混匀后离心分层。小心吸取上层水相，此萃取操作（加入等体积氯仿、振荡、离心、取上层水相）重复进行 4 次。合并最终获得的上层水相，经 0.22 μL 微孔滤膜过滤，所得滤液用于后续 HPLC 分析。

1.3.5 Se-PPS-2A的制备

称取 PPS-2A 500 mg，依此加入 50 mL 质量分数为 0.5%（*m*/*V*）的 HNO_3 溶液、500 mg 的 Na_2SeO_3 于 80 ℃恒温油浴反应 10 h。离心并取清液，调节 pH 值至 7.0，浓缩至约 10 mL，透析 24 h，冷冻干燥，制得硒化修饰产物[22]，Se-PPS-2A。

1.3.6 扫描电镜分析

采用扫描电子显微镜观察多糖样品的微观形貌[23]。具体制样与观察流程如下：精确称取适量冷冻干燥后的 PPS-2A 样品，将其均匀分散于洁净的单面导电胶上，并轻轻吹去未牢固粘附的颗粒。将固定好样品的样品台置于真空干燥箱中，于 40 ℃下继续干燥 12 h，以确保样品彻底干燥，消除水分对电镜真空环境的干扰。之后对样品进行喷金处理（溅射电流：15 mA，时间：60 s），使其表面形成一层厚度约为 10 nm 的导电膜。处理后的样品最终置于扫描电子显微镜样品室中，在 15 kV 的加速电压下，于不同放大倍数（200×、500×、1 000×、2 000×）下观察并采集其表面形貌图像。

1.3.7 红外光谱分析

分别称取 5.0 mg 干燥 PPS-2A 和 Se-PPS-2A 与 200 mg KBr 在红外灯下研磨均匀，压片后在 4 000~400 cm^{-1} 范围内进行红外光谱扫描[24]。

1.3.8 Se-PPS-2A中Se含量测定

参考李丽彩等[25]的方法，采用邻苯二胺法检测 Se-PPS-2A 中 Se 含量。精确称取 10 mg 亚硒酸钠溶于 25 mL 去离子水，配制成 182.6 μg·mL^{-1} 硒标准母液；分别精密吸取 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mL 母液至 20 mL 容量瓶，各加入质量分数为 2% 邻苯二胺溶液 2 mL，用去离子水稀释并调 pH 值 2 后定容，避光反应 1 h 后用 5 mL 甲苯萃取有机相，于 334 nm 测定吸光度，以硒含量（μg）为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。取 100 mg 样品（Se-PPS-2A）加 2 mL 浓硝酸，酒精灯加热至无黄烟，冷却后加 10 mL 6 mol·L^{-1} HCl，加热至无白烟，定容至 10 mL 得供试液；取 2 mL 供试液按标准曲线方法测定吸光度值代入标准曲线（*Y*=0.342 8*x*+0.017，R^2=0.999 4）计算硒含量。

1.3.9 DPPH自由基清除能力测定

DPPH 自由基清除率参照王萍等[26]的方法。取 PPS-2A、Se-PPS-2A 多糖样品溶液 1 mL（0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 mg·mL^{-1}），加入 1 mL 用无水乙醇溶液配制的 0.2 mmol·L^{-1} DPPH 溶液，摇匀，室温避光放置 30 min，于 517 nm 处测吸光度值，每个样品平行测定 3 次。以 Vc 作为阳性对照，DPPH 清除率计算公式如下：

$$R_1=(1-\frac{A_2-A_1}{A_0})\times100\% \quad (1)$$

式中：

R_1——DPPH 自由基清除率，%；

A_1——蒸馏水代替 DPPH 吸光度值；

A_2——样品组吸光度值；

A_0——蒸馏水代替样品吸光度值。

1.3.10 ABTS$^+$自由基清除能力测定

ABTS$^+$ 自由基清除率参照 Zhan 等[27]的方法。取 1.3.9 项下多糖样品溶液 1 mL，加入 1 mL ABTS$^+$ 自由基溶液，摇匀，室温避光放置 1 h 后，于 320 nm 处测吸光度，每个样品平行测定 3 次。以 Vc 作为阳性对照，ABTS$^+$ 自由基的清除率计算公式如下：

$$R_2=(1-\frac{A_2-A_1}{A_0})\times100\% \quad (2)$$

式中：

R_2——ABTS$^+$ 自由基清除率，%；

A_1——蒸馏水代替 ABTS$^+$ 吸光度值；

A_2——样品组吸光度值；

A_0——蒸馏水代替样品吸光度值。

1.3.11 ·OH清除能力测定

·OH 清除率参照 Chang 等[28]的方法。取 1.3.9 项下多糖样品溶液 1 mL，依次加入 1 mL $FeSO_4$ 溶液、1 mL H_2O_2 溶液和 1 mL 水杨酸溶液，迅速混匀。将混合液于 37 ℃恒温水浴中避光反应 30 min。反应结束后取出，冷却至室温。以蒸馏水为参比，于 510 nm 波长处测定其吸光度。每个样品平行测定 3 次。·OH 的清除率计算公式如下：

$$R_3=(1-\frac{A_2-A_1}{A_0})\times100\% \quad (3)$$

式中：

R_3——·OH 清除率，%；

A_1——蒸馏水不加 H_2O_2 吸光度值；

A_2——样品组吸光度值；

A_0——蒸馏水代替样品吸光度值。

1.3.12 O_2^-自由基清除能力测定

O_2^- 自由基清除率参照 Hazra 等[29]的方法。取 1.3.9 项下多糖样品溶液 200 μL，加入 3 mL 预热至 37 ℃的 Tris-HCl 缓冲液，充分混匀，于 37 ℃恒温水浴中保温 30 min。迅速加入 12 μL 邻苯三酚溶液启动反应，准确计时。反应 4 min 后，立即加入 0.5 mL 盐酸溶液终止反应。以 Tris-HCl 缓冲液为参比，于 320 nm 波长处测定其吸光度。每个样品平行测定 3 次。O_2^- 自由基的清除率计算公式如下：

$$R_4=(1-\frac{A_2-A_1}{A_0})\times100\% \quad (4)$$

式中：

R_4——O_2^- 自由基清除率，%；

A_1——蒸馏水代替 O_2^- 吸光度值；

A_2——样品组吸光度值；

A_0——蒸馏水代替样品吸光度值。

1.3.13 还原能力测定

还原能力测定参照 Lin 等[30]的方法。取 1.3.9 项下多糖样品溶液 1 mL，依次加入 0.2 mL PBS 和 0.5 mL 铁氰化钾溶液，混匀、50 ℃水浴中反应 30 min、再加入 1 mL 三氟乙酸溶液终止反应、离心、取清液，加入 0.2 mL 三氯化铁溶液和 3 mL 蒸馏水，静置。以等体积蒸馏水代替样品溶液制备的混合液作为空白对照，于 700 nm 波长处测定其吸光度。每个样品平行测定 3 次。以抗坏血酸为阳性对照。

1.4 数据处理

所有实验设置 3 组平行，结果以平均值 ± 标准差（Mean±SD）表示。采用 Origin 2023 绘图，SPSS 26.0 进行统计分析，单因素方差分析（ANOVA）结合 Tukey HSD 多重比较，$P<0.05$ 为差异显著。DPPH、ABTS$^+$ 清除实验采用 Probit 法计算 IC_{50}；多糖得率、硒含量、分子量及单糖组成根据标准曲线计算。原始数据经 Excel 初步整理、剔除异常值后用于后续分析。

2 结果与分析

2.1 锦灯笼果实多糖的分离纯化结果分析

采用水提醇沉法提取锦灯笼果实多糖，得到粗多糖（PPS）102.8 g，得率为 7.92%（n=3），较之周向辉[31]采用的酶－化学法（得率 22.3%），水提醇沉法得率虽有所下降，但该方法具有操作简便、成本低廉、安全性高、通用性强及易于放大生产等优势，更适合于工业化应用的初步探索。粗品 PPS 的 DEAE-52 纤维素柱层析分离谱图如图 2a 所示。结果显示，共获得 5 个分离良好的洗脱峰，其中水洗脱组分（PPS-0）因多糖含量过低而舍弃，各峰形对称且基线分离。分别收集各峰顶附近的洗脱液组分，得到四种纯化多糖组

分（PPS-1~PPS-4）。

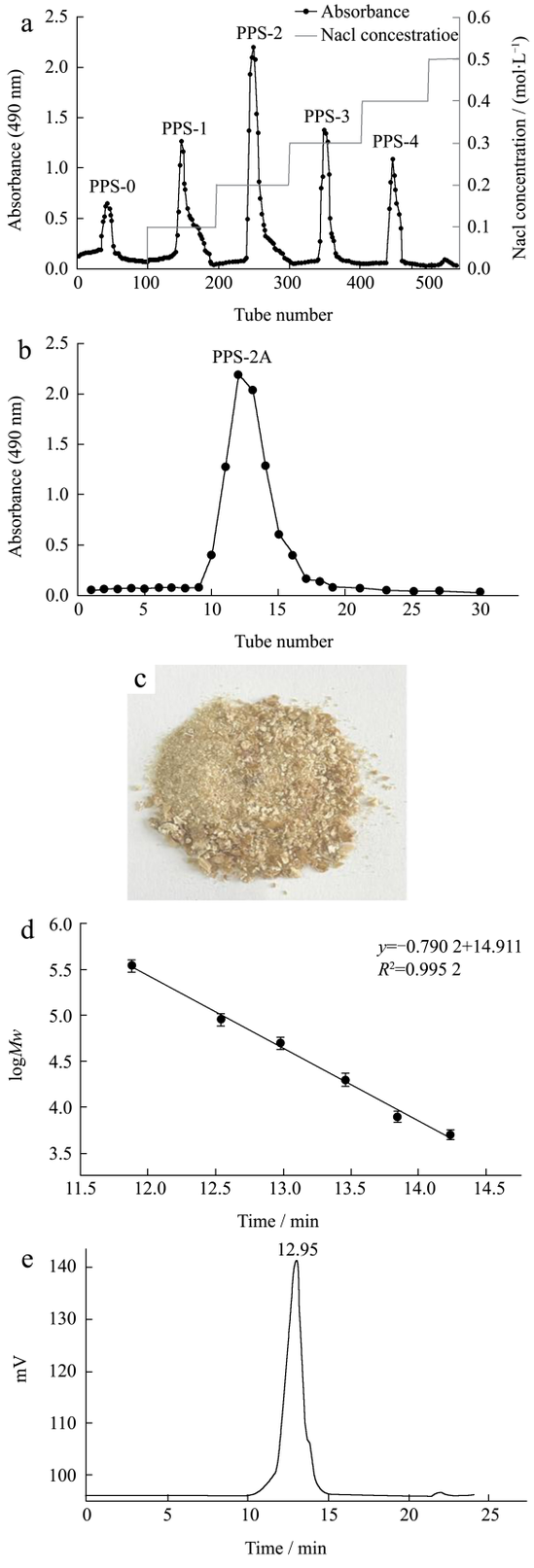
收率最高的 PPS-2 采用 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱进一步纯化得到 PPS-2A，洗脱曲线如图 2b，洗脱曲线峰型尖锐且单一，说明纯化效果良好，经透析、冻干后的样品如图 2c 所示，上述分离结果与周正辉等[32]对锦灯笼根茎多糖的研究相比，后者通过 Sephadex G-200 凝胶色谱获得 2 个均质多糖组分（P Ⅰ、P Ⅱ），组分的差异不仅源于植物器官的本身化学成分的复杂性不同，更可能与两种凝胶的分离机制和范围有关，LH-20 凝胶同时具备亲水性和亲脂性，除按分子量大小分离外，还能有效去除多糖中的色素、酚类等脂溶性小分子杂质，其纯化效果往往优于传统的 Sephadex G-200。

2.2 相对分子量的测量结果分析

基于高效凝胶渗透色谱法（HPGPC），使用葡聚糖标准品系列建立了分子量标准曲线（图 2d）。该标准曲线的拟合方程为：lgMw=−0.790 2x+14.911（R^2=0.995 2），线性关系良好，适用于锦灯笼果实多糖分子量的测定。图 1e 为经纯化的 PPS-2A 组分的高效凝胶渗透色谱图。将 PPS-2A 的色谱峰保留时间（12.95 min）代入上述葡聚糖标准曲线的拟合方程，计算得出 PPS-2A 的分子量为 4.74 kDa。PPS-2A 的分子量（4.74 kDa）显著低于尚东杰[33]自锦灯笼茎中分离的主要多糖组分 WSP（约 7 kDa）。鉴于二者分离方法相同，该差异清晰地表明，即使是同一来源植物的不同器官，其多糖的分子量分布也存在显著特异性。值得注意的是，较小的分子量往往与更好的溶解性和更高的生物活性利用率相关，这为 PPS-2A 表现出优异的抗氧化活性提供了潜在的结构基础。

2.3 单糖组成测量结果分析

PPS-2A 的单糖组成分析结果如图 2f 和表 1 所示。结果表明，PPS-2A 由甘露糖（Man）、鼠李糖（Rha）、半乳糖醛酸（GalA）、半乳糖（Gal）、木糖（Xyl）和阿拉伯糖（Ara）组成，其摩尔比为 0.343 3:0.832 3:1.850 5:0.778 4:0.744 2:0.601 5。与张如佳[34]提取的锦灯笼果实多糖 PPSB-3Ab2 相比，两者主要由 GalA 组成，不同的分离原理会特异性富集具有特定性质的多糖组分，导致最终获得的均质多糖在单糖组成上存在差异。PPS-2A 中 GalA 含量最高，是主要的构成单元；Rha 含量次之，显著高于其他中性糖；Gal、Xyl 和 Ara 含量相近；Man 作为微量组分存在。这一组成特征表明 PPS-2A 属于果胶类多糖，且其结构可能以鼠李半乳糖醛酸聚糖 -I（RG-I）结构域为主。此外，其 Rha:GalA=0.45 落在常见 RG-I 域比值范围内。这一特征比值强烈提示 PPS-2A 可能是一种以鼠李半乳糖醛酸聚糖-I（RG-I）型结构为主的果胶类多糖。RG-I 结构域通常具有中性的阿拉伯半乳聚糖侧链，其复杂的支链结构被认为与多种生物活性密切相关。



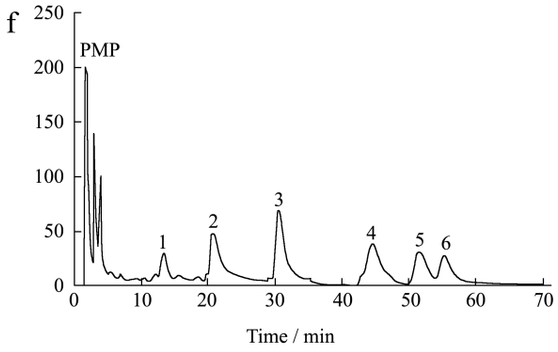


图 2 PPS-2A 分离纯化、分子量及单糖组成相关图谱

Fig.2 Maps related to separation purification, molecular weight and monosaccharide composition of PPS 2A

注：a 为 DEAE-52 纤维素柱 PPS 洗脱曲线；b 为 SephadexLH-20 凝胶柱 PPS 2A 洗脱曲线；c 为 PPS 2A 冻干样品实物图；d 为葡聚糖分子量标准曲线；e 为 PPS-2A 的 HPGPC 色谱图；f 为 PMP 衍生后 PPS 2A 单糖组成 HPLC 色谱图。

表 1 PPS-2A的摩尔比和峰面积

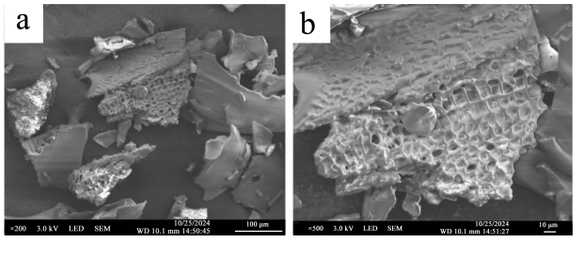
Table 1 The molar ratio and peak area of PPS-2A

峰名称	峰面积	相对峰面积	摩尔比
甘露糖	125.02	2.988	0.343 3
鼠李糖	585.98	14.004	0.832 3
半乳糖醛酸	1 350.56	32.276	1.850 5
半乳糖	890.11	21.272	0.778 4
木糖	717.68	17.151	0.744 2
阿拉伯糖	515.07	12.309	0.601 5

注：相对峰面积 =（单个单糖的峰面积 / 所有单糖峰面积之和）× 100%。摩尔比由各单糖的相对峰面积除以其相应的 PMP 衍生物摩尔校正因子后归一化计算得出。

2.4 PPS-2A扫描电子显微镜结果分析

如图 3 中 a、b、c、d 分别为 PPS-2A 放大 200、500、1 000、2 000 倍的扫描电镜图，可以看出不同 PPS-2A 的形貌表现为光滑的“网”状有均匀地孔状，并紧密排列在一起，这可能是由于多糖的纯度提高，使蛋白含量减少，没有蛋白及其他杂质的斥力存在，使得大量多糖聚集的紧密性增加。



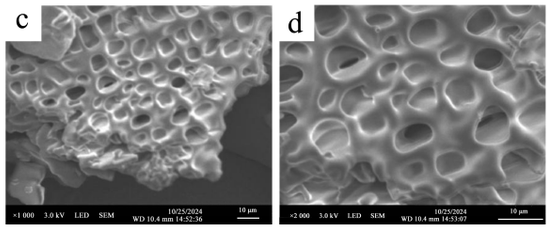


图 3 不同放大倍数下 PPS 2A 的扫描电镜图像

Fig.3 SEM images of PPS 2A under different magnifications

注：a、b、c、d 分别对应放大倍数 200 ×、500 ×、1 000 ×、2 000 ×。

2.5 PPS-2A与Se-PPS-2A红外光谱结果分析

采用 FT-IR 对 PPS-2A 进行结构解析（图 4a）。3 400 cm^{-1} 处的宽峰为 O-H 伸缩振动，2 930 cm^{-1} 弱峰归属 C-H 伸缩振动，1 433/1 261 cm^{-1} 吸收带对应 -CH_2- 弯曲振动。1 741 cm^{-1} 与 1 630 cm^{-1} 特征双峰指示糖醛酸羧基（C=O）存在。1 000~1 200 cm^{-1} 区复杂吸收源于吡喃糖环 C-O-C、C-O-H 振动，889 cm^{-1} 处特征峰确证 β-糖苷键主导骨架构型。上述光谱模式与果胶类多糖 RG-I 结构域特征高度吻合，为 β-型糖苷键连接的酸性杂多糖结构提供实验证据。

如图 4b 所示，Se-PPS-2A 在保留 PPS-2A 主要特征吸收峰的基础上，于 920 cm^{-1} 和 837 cm^{-1} 处出现两个新增特征峰，分别归属于 C-O-Se 伸缩振动及 Se=O 伸缩振动[35]。该结果证实硒元素成功引入多糖分子结构，即发生硒化修饰反应。同时表明硒化反应是选择性地发生在羟基位点上，而非破坏糖苷键或糖环结构。

2.6 Se含量测定结果分析

经邻苯二胺络合法分析，Se-PPS-2A 在 334 nm 处特征吸收值代入亚硒酸钠标准曲线 Y=0.342 8x+0.017（R^2＞0.99）图 4c，测得硒元素含量为 8.0 mg·g^{-1}，再次证实硒化修饰成功引入。该值高于 Yu 等[36]报道的硒化龙眼多糖（硒含量约为 4.79 mg·g^{-1}），本研究结果表明，锦灯笼果实多糖 PPS-2A 可能具有较高的硒结合潜力，这主要归因于其独特的结构特征。PPS-2A 富含鼠李半乳糖醛酸聚糖 -I（RG-I）结构域，该结构域最显著的特点是含有高度分支的中性阿拉伯半乳聚糖（AG）侧链。这些侧链上密集分布的阿拉伯糖和半乳糖单元提供了大量裸露的伯羟基（-CH_2OH）。在酸性催化条件下，伯羟基相较于仲羟基表现出更高的亲核反应活性，使其成为与亚硒酸钠发生酯化反应、形成 C-O-Se 键的理想位点，从而显著增强了其硒结合能力[37]。

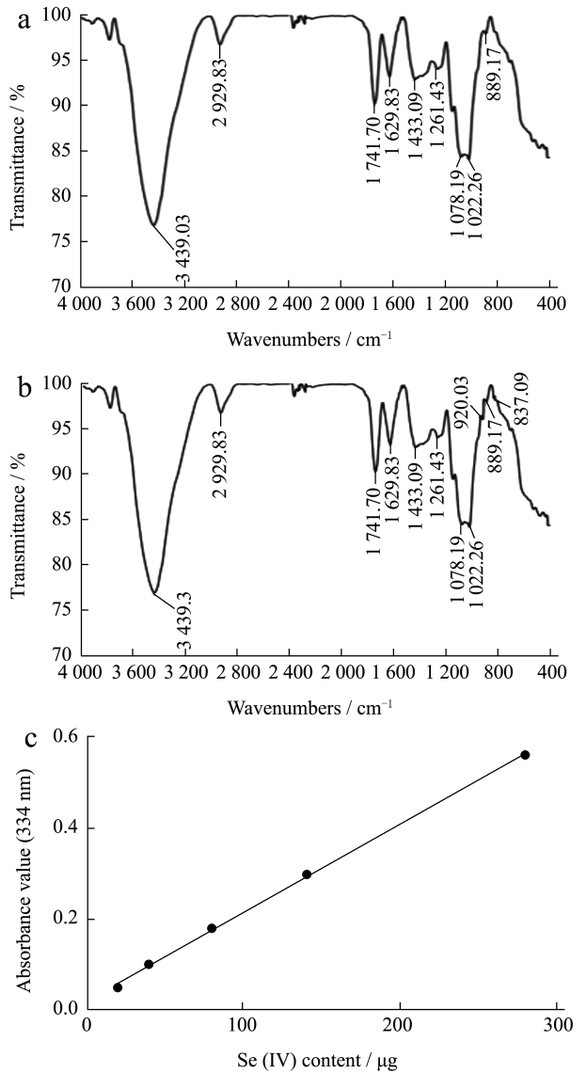
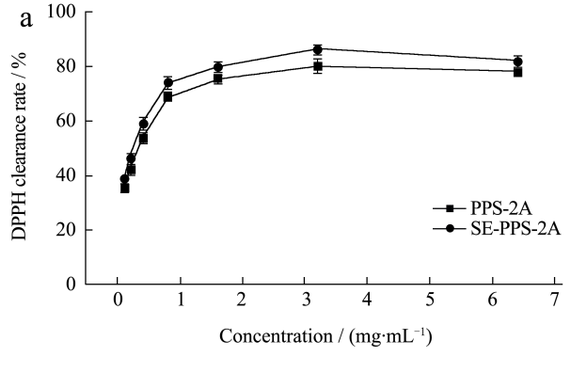


图 4 多糖红外光谱及硒含量测定标准曲线

Fig.4 FT-IR spectra of polysaccharides and standard curve for selenium content determination

注：a 为 PPS 2A 的傅里叶变换红外光谱图；b 为 Se PPS 2A 的傅里叶变换红外光谱图；c 为硒含量测定标准曲线。

2.7 抗氧化活性对比结果分析



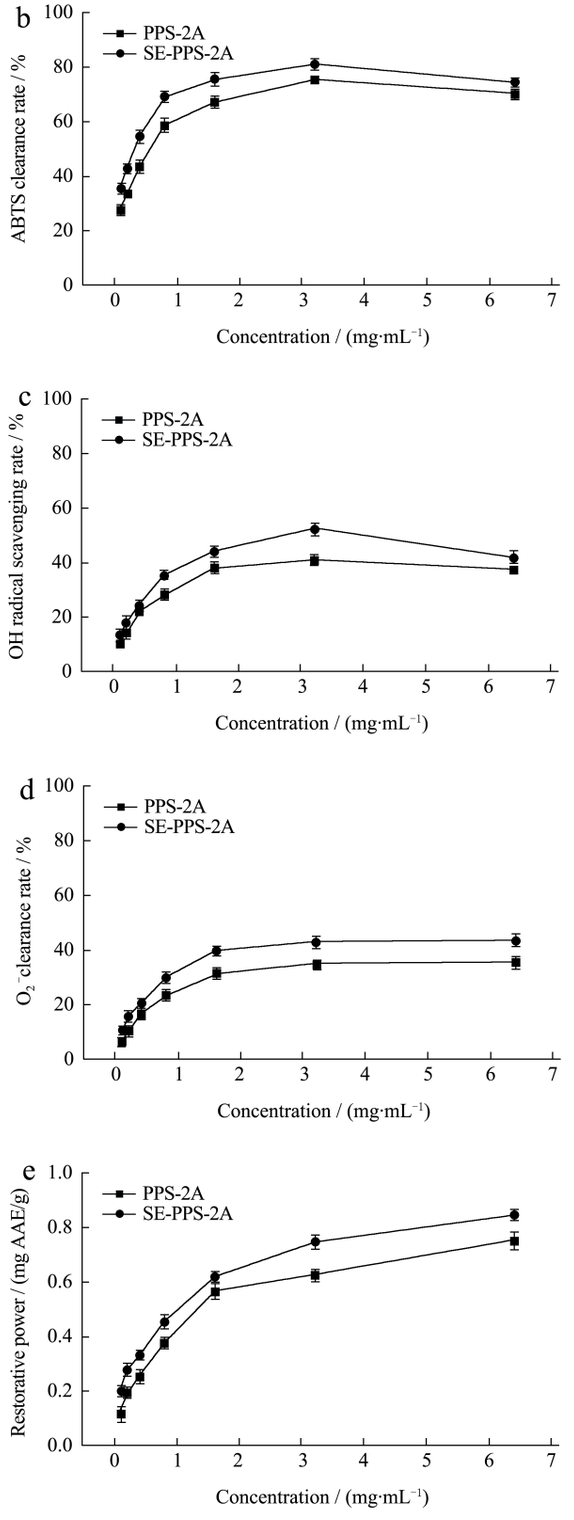


图 5 PPS-2A 与 Se-PPS-2A 体外抗氧化活性测定结果

Fig.5 *In vitro* antioxidant activities of PPS 2A and Se PPS 2A

注：a 为 DPPH 自由基清除能力；b 为 $ABTS^{+}$ 自由基清除能力；c 为羟基（·OH）自由基清除能力；d 为超氧阴离子（O_2^-）清除能力；e 为铁离子还原能力（FRAP）。

表 2 硒化锦灯笼多糖（Se-PPS-2A）与其他硒化植物多糖抗氧化活性对比

Table 2 Comparison of antioxidant activity between selenized *Physalis alkekengi* L. polysaccharide (Se-PPS-2A) and other selenized plant polysaccharides

硒化多糖名称	硒含量/(mg·g^{-1})	测试质量浓度/(mg·mL^{-1})	DPPH·清除率/%	ABTS^{+}·清除率/%	参考文献
锦灯笼果实多糖（Se-PPS-2A）	8.0	3.2	86.38	81.22	
硒化冬凌草多糖（SPDP）	4.2	1.6	~74	—	[10]
硒化川明参多糖（sCSPS-2）	3.8	3.2	~65	—	[9]
硒化龙眼多糖（LPs-Se）	4.79	1.6	—	~70	[36]
硒化白及多糖（BSP-Se）	4.5	3.2	~80	~75	[37]

注：“—”表示原文献未提供该项数据；表中数据为根据文献图表估算的近似值，仅供参考对比。

如图 5 所示，以未硒化的同批锦灯笼多糖（PPS-2A）为空白对照，采用单因素方差分析（ANOVA）与 Tukey 事后检验法对所有浓度梯度下硒化多糖（Se-PPS-2A）与空白组的抗氧化活性指标进行了统计学比较。结果显示，在所有测试浓度下，Se-PPS-2A 的活性均显著高于空白组（P＜0.05）。具体表现为：DPPH· 清除率从 80.22% 提升至 86.38%（IC_{50}=0.254 mg·mL^{-1}），ABTS^{+} 清除率从 75.42% 提升至 81.22%（IC_{50}=0.275 mg·mL^{-1}）；羟基自由基（·OH）最大清除率从 41.06% 提升至 52.40%（P＜0.05），超氧阴离子（O_2^{-}·）清除率从 35.27% 至 43.24%（P＜0.05），铁离子还原能力（FRAP 值）从 0.78 mmol Fe^{2+}/mg 至 0.84 mmol Fe^{2+}/mg（P＜0.05）。实验证实硒化修饰通过改善多糖空间构象或增加活性位点暴露，有效提升了其抗氧化活性。这一现象并非孤例，硒化修饰已被广泛证实是提升多糖生物活性的有效策略；例如，涂玲飞等[38]在硒化白及多糖的研究中也报道了类似的活性增强趋势。这共同印证了硒化修饰在不同多糖体系中的普适性。本研究将其与文献中报道的其他硒化植物多糖在相近测试浓度下的活性进行了横向对比（表 2）。结果表明，Se-PPS-2A 展现出卓越的综合抗氧化性能。活性的增强主要归因于以下两点：首先，引入的硒原子本身具有优异的供电子能力，能更有效地淬灭自由基；其次，如 FT-IR 所示，硒酸酯基的引入增加了多糖分子的负电性和空间位阻，可能改变了其构象，使活性基团更易暴露并与自由基发生反应[39]。值得注意的是，Se-PPS-2A 的硒含量（8.0 mg·g^{-1}）显著高于 Yu 等道的硒化龙眼多糖（约 4.79 mg·g^{-1}），这可能是由于其前体 PPS-2A 富含羟基和羧基，提供了更多的硒化位点。较高的硒含量与其更强的抗氧化活性表现相互印证。

2.8 关于硒含量安全性与应用潜力的讨论

本研究成功制备的 Se-PPS-2A 具有较高的硒含量（8.0 mg·g^{-1}）。根据膳食营养素参考摄入量，成人的硒每日可耐受最高摄入量（UL）为 400 μg[40]。这意味着本研究中的 Se-PPS-2A 作为纯品直接使用时，需严格控制剂量（≤50 mg·d^{-1}）。然而，这并不否定其应用潜力。首先，本研究旨在提供一种高效活性的硒多糖制备与功能验证方案，为锦灯笼的高值化利用提供理论依据。其次，较高的硒含量恰恰意味着其可作为高效的活性成分，在极低的添加量下实现功能学目的（如作为食品或饲料的富硒添加剂）。更重要的是，与无机硒相比，硒多糖已被证实具有更高的安全性和生物利用度[41,42]。当然，未来要将 Se-PPS-2A 推向应用，必须系统评估其体内急性毒性和亚慢性毒性，并以此确定其安全剂量范围。本研究的体外活性结果为其进一步的体内实验提供了强有力的支持。

3 结论

本研究成功从锦灯笼果实中分离纯化出具有显著抗氧化活性的果胶多糖 PPS-2A（分子量约 4.74 kDa），并富含 RG-I 结构域。通过硝酸－亚硒酸钠法对 PPS-2A 进行硒化修饰，制得硒含量 8 mg·g^{-1} 的 Se-PPS-2A（得率 60.13%）。体外抗氧化实验证实，硒化修饰使多糖对 DPPH、ABTS^{+}、·OH、O_2^{-} 自由基的清除能力及还原能力提升至 86.38%、81.22%、52.40%、43.24%、0.79 mmol Fe²/mg，显著优于未修饰组。结果表明，硒化修饰可有效增强 Se-PPS-2A 的抗氧化活性。

尽管本研究初步确定了硒化修饰有助于提高 PPS-2A 的生物活性，但具体的增强机制仍需进一步探索。未来的研究可以集中在深入探讨硒化程度与抗氧化能力之间的关系和研究不同组分的相互作用对整体生物活性的影响两个方面。综上所述，本研究的结果为阐明硒修饰锦灯笼果实多糖增强抗氧化机制提供了理论基础，同时也为开发锦灯笼功能性食品提供了技术支持。这将进一步推动锦灯笼的开发利用，促进其在保健食品和药物领域的应用。

参考文献

[1] TENG Y, YUAN Q ,WU Y, et al. Research on the chemical constituents against Alzheimer's disease of the fruits of *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino [J]. Chemistry & Biodiversity, 2023, 20(9): e202301075.

[2] 高品一,金梅,杜长亮,等.中药锦灯笼的研究进展[J].沈阳药科大学学报,2014,31(9):732-737.

[3] LIU Y R, WANG X, LI C X, et al. Research progress on the chemical components and pharmacological effects of *Physalis alkekengi* L. var. *Franchetii* (Mast.) Makino [J]. Heliyon, 2023, 9(12): e20030.

[4] ZHANG Y, WANG M H, LI P, et al. Hypoglycemic effect of polysaccharides from *Physalis alkekengi L.* in type 2 diabetes mellitus mice [J]. Biology (Basel), 2024, 13(7): 496.

[5] YANG M R, ZHAO M T, XIA T Y, et al. *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* combined with hormone therapy for atopic dermatitis [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 162: 114622.

[6] YANG J, YANG F, YANG H, et al. Water-soluble polysaccharide isolated with alkali from the stem of *Physalis alkekengi* L.: Structural characterization and immunologic enhancement in DNA vaccine [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 121: 248-253.

[7] XU M Y, ZENG C L, WANG H B. Advances in extraction method, structural analysis and bioactivity of polysaccharides from medicinal and edible homologous plants [J]. Food Research and Development, 2023, 44(19): 216-224.

[8] ZHAO N, HAN Z, JIAN Y L, et al. Research progress on structural characterization and quality evaluation of traditional Chinese medicine polysaccharides [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(21): 7491-7506.

[9] 黄凯,张舒婷,轩华龙,等.硫酸化川明参多糖的制备及其抗氧化活性[J].现代食品科技,2025,41(10):303-311.

[10] 程爽,贺斐,付龙洋,等.冬凌草硒多糖的制备及其抗氧化活性分析[J].精细化工,2021,38(10):2064-2071.

[11] 何倩倩,刘雨,满长森,等.硒多糖研究进展[J].食品与发酵工业,2025,51(11):416-425.

[12] 杨亚萍,吕亚辉,刘飞祥,等.灵芝菌丝体硒多糖结构表征、抗氧化活性及对小鼠运动疲劳的影响[J].中国食品添加剂,2023,34(6):109-118.

[13] QIAN L J, DU M X, YANG X Y, et al. Microanalysis characterization and immunomodulatory effect for selenium-enriched polysaccharide from *Morchella esculenta* (L.) Pers [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2023, 28: 2885.

[14] GU H F, LIANG L, ZHU X P, et al. Optimization of enzymatic extraction, characterization and bioactivities of Se-polysaccharides from Se-enriched Lentinus edodes [J]. Food Bioscience, 2023, 51: 11.

[15] 姜冬洋,苏林贺,陈亚东,等.富硒黑木耳菌丝体硒多糖的提取与抗氧化活性[J].菌物学报,2024,43(2):115-128.

[16] WANG Y G, LI Y L, MA X Q, et al. Extraction, purification, and bioactivities analyses of polysaccharides from *Glycyrrhiza uralensis* [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 122: 596-608.

[17] ZHANG Y B, LIU P, JI H Y, et al. Extraction process optimization and antioxidant activity of Green Tea polysaccharides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(20): 220-227.

[18] LIN L, CHENG K, XIE Z, et al. Purification and characterization a polysaccharide from *Hedyotis diffusa* and its apoptosis inducing activity toward human lung cancer cell line A549 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 122: 64-71.

[19] 余永英,刘建欣,张伟,等.枸杞多糖含量测定的方法比较[J].广东化工,2023,50(6):170-173.

[20] 李松昂.红薯叶多糖的提取纯化、结构表征及其应用的研究[D].长春:吉林农业大学,2021.

[21] YU M Q, XU G, QIN M, et al. Multiple fingerprints and spectrum-effect relationship of polysaccharides from *Saposhnikoviae Radix* [J]. Molecules, 2022, 27(16): 5278.

[22] LI X, HUANG X J, NIE S P. Purification, structural characterization, and *in vitro* fermentation properties of okra polysaccharides [J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2025, 34: 100481.

[23] 王峙力,王鑫,韩烨,等.甜玉米芯硒多糖的制备及其对淀粉酶抑制作用[J].包装工程,2021,42(21):33-41.

[24] CAO J P, TANG D D, WANG Y, et al. Characteristics and immune-enhancing activity of pectic polysaccharides from sweet cherry (*Prunus avium*) [J]. Food Chemistry, 2018, 254: 47-54.

[25] 李丽彩,王留成,程相林,等.紫外分光光度法测定富硒麦芽中微量元素硒的含量[J].应用化工,2016,45(4):771-774.

[26] 王萍,郭金英,王立博,等.香菜多糖的抗氧化及降血糖活性研究[J].中国食品添加剂,2024,35(1):171-176.

[27] ZHAN Q P ,CHEN Y ,GUO Y F, et al.Effects of selenylation modification on the antioxidative and immunoregulatory activities of polysaccharides from the pulp of *Rose laevigata* Michx fruit [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 206: 242-254.

[28] CHANG S S, LEI X, XIE Q, et al. *In vitro* study on antioxidant and lipid-lowering activities of tobacco polysaccharides [J]. Bioresources and Bioprocessing, 2024, 11(1): 15.

[29] HAZRA P, GHOSH S, ROY P, et al. Antioxidant activity of exopolysaccharides from marine cyanobacteria [J]. The Microbe, 2025, 8: 100430.

[30] LIN B B, HUANG G L. The antioxidant activity of shaddock peel polysaccharides [J]. Scientific Reports, 2025, 15(1): 9855.

[31] 周向辉.锦灯笼果实多糖提取工艺研究[J].化学工程师,2023,37(6):96-100.

[32] 周正辉,焦连庆,于敏,等.锦灯笼根茎均一多糖PⅠ、PⅡ的制备及其结构研究[J].吉林农业大学学报,2012,34(3):289-293.

[33] 尚东杰.锦灯笼茎水溶性多糖的结构研究及活性初探[D].长春:东北师范大学,2011.

[34] 张如佳.锦灯笼果实多糖的分离纯化及结构分析[D].长春:东北师范大学,2020.

[35] LIN S, AL-WRAIKAT M, NIU L, et al. Degradation enhances the anticoagulant and antiplatelet activities of polysaccharides from *Lycium barbarum* L. leaves [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 133: 674-682.

[36] YU H Y, ZHAO H X. Longan Polysaccharides with covalent selenylation combat the fumonisin B1-induced cell toxicity and barrier disruption in intestinal epithelial (IEC-6) Cells [J]. Nutrients, 2023, 15(21): 4679.

[37] 虞诚满,陈健乐,叶兴乾,等.鼠李半乳糖醛酸聚糖Ⅰ的结构特性及分离检测研究进展[J].陕西师范大学学报:自然科学版,2022,50(5):13.

[38] 涂玲飞,李焱,张振.响应面优化硒化白及多糖的制备工艺及其体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2024,45(7):244-253.

[39] 赵亚娜,郭江涛,周田田,等.紫苏多糖硒酸改性及理化结构特性分析[J].食品科学,2023,44(20):94-99.

[40] 中国营养学会.中国居民膳食营养素参考摄入量(2023版)[M].北京:科学出版社,2023.

[41] 何倩倩,刘雨,满长森,等.硒多糖研究进展[J].食品与发酵工业,2025,51(11):416-425.

[42] ZENG X, ZHANG T, LAN S, et al.Synthesis of *Ophiopogon japonicus* selenium polysaccharides and their inhibitory effects on colorectal cancer cells (Caco-2) [J]. Food Bioscience, 2025, 71: 107183.