

天津科技大学学报 Journal of Tianjin University of Science & Technology ISSN 1672-6510,CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目 :	酸模茎叶多糖提取纯化及体外抗氧化活性
作者:	高珈琦,张慧颖,韩嘉欣,张焱
DOI:	10.13364/j.issn.1672-6510.20250020
收稿日期:	2025-02-07
网络首发日期:	2025-06-19
引用格式:	高珈琦,张慧颖,韩嘉欣,张焱. 酸模茎叶多糖提取纯化及体外抗氧化活性
	[J/OL]. 天津科技大学学报.https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20250020



www.cnki.net

网络首发:在编辑部工作流程中,稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶 段。录用定稿指内容已经确定,且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期 刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件,可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出 版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出 版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定;学术研究成果具有创新性、科学性和先进性,符合编 辑部对刊文的录用要求,不存在学术不端行为及其他侵权行为;稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、 出版的技术标准,正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。 为确保录用定稿网络首发的严肃性,录用定稿一经发布,不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认:纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约,在《中国 学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版,以单篇或整期出版形式,在印刷 出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出 版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z),所以签约期刊的网络版上网络首 发论文视为正式出版。



天津科技大学学报 Journal of Tianjin University of Science and Technology

2025

DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20250020

酸模茎叶多糖提取纯化及体外抗氧化活性

高珈琦,张慧颖,韩嘉欣,张 淼 (天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457)

摘 要:对酸模茎叶多糖(Rumex acetosa L. polysaccharides, RAP)活性提取物进行理化性质及抗氧化活性探究。通过 对其化学组成含量、相对分子质量、单糖组成、紫外全波长扫描、扫描电子显微镜分析、傅里叶变换红外光谱分析、 核磁光谱分析、X射线衍射分析、刚果红实验、碘-碘化钾实验和高碘酸氧化实验,对酸模茎叶部分的多糖提取物的 理化性质、结构特性进行初步分析。结果表明: RAP的总糖含量为(89.66±0.26)%,蛋白质含量为(1.74±0.20)%, 糖醛酸含量为(30.54±0.06)%; RAP 呈不规则纤维状结构, 相对分子质量为 7.50×10⁶, 主要由半乳糖和半乳糖醛 酸构成,其中多以吡喃糖环形式存在; RAP 具有 DPPH 自由基、ABTS+自由基清除能力。本研究为云南植物酸模茎 叶多糖活性提取物的研究及其应用提供参考。

关键词: 酸模; 茎叶多糖; 理化性质; 结构特性; 体外抗氧化 文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00 中图分类号: TS255.2 文献标志码: A

Extraction, Purification, and in vitro Antioxidant Activity of

Polysaccharides from *Rumex acetosa* L. Vegetable Stems and Leaves

GAO Jiaqi, ZHANG Huiying, HAN Jiaxin, ZHANG Yan

(College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China) Abstract: The physical and chemical properties and antioxidant activity of the active extract of polysaccharide (Rumex acetosa L. polysaccharides, RAP) from the stem and leaves of sorcini were investigated. The chemical composition, relative molecular mass, monosaccharide composition, ultraviolet full-wavelength scanning, scanning electron microscopy analysis, infrared spectral analysis, nuclear magnetic spectroscopy, X-ray diffraction, Congo red assay, potassium iodide assay, and periodate oxidation assay were used to preliminarily identify the physicochemical properties and structural characteristics of the RAP extract. The results showed that the total sugar content of RAP was $(89.66 \pm 0.26)\%$, the protein content was (1.74) \pm 0.20)%, and the glucuronic acid content was (30.54 \pm 0.06)%. RAP exhibits an irregular fibrous structure with a relative molecular mass of 7.50×10^6 , primarily composed of galactose and galacturonic acid, with most of it existing in the pyranose ring form. With effective radical scavenging capabilities, RAP also demonstrates the ability to scavenge free radicals, such as DPPH and ABTS⁺. This study provides a reference for exploring active polysaccharide extracts from the the stem and leaves of Rumex acetosa L. from Yunnan plant and their potential applications.

Key words: Rumex acetosa L.; stem and leaf polysaccharides; physicochemical properties; structural properties; in vitro antioxidants

作者简介: 高珈琦(1999—), 男, 河北衡水人, 硕士研究生; 通信作者: 张焱, 副教授, cpzyyan@tust.edu.cn

天然植物多糖具有较低的毒性和生物可降解性, 且大多数植物多糖对人体安全,不易引发副作用,因 此在食品、医药、化妆品等领域有广泛应用^[1]。天然 植物多糖能够调节体内的氧化还原平衡,延缓机体老 化过程,降低慢性病风险。它们的抗氧化活性使其在 预防疾病和保健方面具有重要价值^[2]。

云南酸模(*Rumex acetosa* L.)作为一种本地植物, 又名酸汤菜,近年来受到了植物学和药学研究者的关 注^[1-2]。尽管目前对云南酸模的研究主要集中在其根 部和果实的药用价值上,对其茎叶部分的研究相对较 少^[3]。实际上,植物的茎叶部分不仅是其进行光合作 用的主要器官,还富含多种活性成分,尤其是多糖成 分。植物茎叶中的多糖通常具有较强的抗氧化能力, 可以平衡自由基水平,降低细胞内的氧化损伤^[4]。这 种抗氧化作用有助于延缓机体老化过程,预防与氧化 应激相关的慢性疾病,如动脉粥样硬化、心力衰竭、 肠道炎症、神经退行性疾病等。

云 南 酸 模 多 糖 (*Rumex acetosa* L. polysaccharides, RAP)是一种天然的抗氧化剂,具有很好的应用前景。由于云南酸模生长于海拔较高、气候湿润的环境,其茎叶中的多糖成分可能具有独特的结构和性质^[5]。因此,研究云南酸模茎叶中的多糖,不仅可以揭示其抗氧化的分子机制,还有助于发现其在医药、食品、化妆品等领域的潜在应用,在丰富资源的同时,有助于该地区的农产资源开发和经济价值提升。通过系统性研究其提取物的稳定性、结构构效关系和抗氧化能力,旨在为该植物的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

酸模在 2022 年在中国云南永宁采集,根据 GB/T 38551—2020《植物品种鉴定 MNP 标记法》进行判定,储存于干燥、阴凉实验室。酸模初始水分含量小于 13%,保存于天津科技大学食品科学与工程学院功能因子组植物标本室。

Sephedex G200 葡聚糖凝胶、3,5-二硝基水杨酸、 无水四硼酸钠、2,2-联氨-双二铵盐,上海源叶生物科 技有限公司,葡聚糖相对分子质量标准品、牛血清蛋 白 BSA-V、考马斯亮蓝 G250、单糖标准品、1,1-二 苯基-2-苦基肼(DPPH),北京索莱宝科技有限公司; 刚果红、抗坏血酸化学试剂,天津市江天化工技术有 限公司;所有有机试剂均购自上海麦克林试剂公司。

1260 infinity II 型高效液相色谱仪,安捷伦科技 有限公司; ICS 5000+型离子色谱仪、IS50 型傅里叶 变换红外光谱仪,赛默飞世尔科技公司;Synergy HTX 型酶标仪,美国 BIO-Rad 公司;SU-1510 型扫描电子 显微镜,日本 HITACHI 公司;AV III 400M 型核磁 共振波谱仪,布鲁克(北京)科技有限公司;3500/30 WkDa 型透析袋,上海源叶生物科技有限公司; TG16-WS 型高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发 有限公司。

1.2 酸模茎叶多糖的提取纯化

酸模茎叶样品用蒸馏水清洗,去除外表面杂质, 50 ℃烘箱烘干并研磨成粉末,通过 50 目筛网筛选细 质粉末并储存。

样品粉末(20g)与蒸馏水(400 mL)混合(料 液比1:20),90℃热水浸提2h,提取后所得上清 液真空浓缩,将提取物在4℃下使用4倍体积的95% 乙醇沉淀过夜^[3]。将混合物以4000 r/min 离心20 min, 收集沉淀并用蒸馏水重新溶解,得到酸模茎叶粗多 糖,冷冻干燥并储存在-18℃冰箱中。

以 Sevag 试剂(正丁醇与三氯甲烷体积比为1: 4)与粗多糖溶液按体积比1:5 配比,进行脱蛋白、 乙醇分级醇沉(乙醇体积分数为40%、60%、80%), 除去多余杂质后转移到预处理的透析袋中(1.2 wkDa),流水透析2d,在4℃冰箱用蒸馏水浸泡1d 去除盐和其他小分子物质。经洗脱曲线测定后采用 SephadexG200凝胶柱层析法对酸模粗多糖进一步纯 化^[6],经高效液相色谱法(HPLC)检测得到纯化后 的酸模多糖(RAP)。

1.3 酸模茎叶多糖相对分子质量的测定

将不同相对分子质量的葡聚糖标准品(T10、T50、 T70、T100、T500)分别用超纯水配制成 1 mg/mL 溶 液,经 HPLC 检测分析,以葡聚糖标准品的保留时间、 相对分子质量对数值(lg*M*)分别作为横纵坐标绘制 葡聚糖标准品的标准曲线。对照酸模多糖(1 mg/mL) 的 HPLC 结果对纯度进行初步判断。

1.4 化学组成的测定

1.4.1 苯酚硫酸法测定总糖含量

以苯酚硫酸法测定酸模多糖中的总糖含量^[7]。以 葡萄糖质量浓度、吸光度为横纵坐标,绘制还原糖标 准曲线。测定酸模多糖的吸光度。根据葡萄糖标准曲 线计算总糖含量。

1.4.2 DNS 法测定还原糖含量

酸模多糖中的还原糖含量以二硝基水杨酸法 (DNS)测定^[8]。以葡萄糖质量浓度、吸光度为横纵 坐标,绘制还原糖标准曲线。测定酸模多糖的吸光度, 计算还原糖含量。

1.4.3 间羟基联苯法测定糖醛酸含量

酸模多糖中的糖醛酸含量以间羟基联苯法测定 ^[9]。以糖醛酸质量浓度、吸光度为横纵坐标,绘制糖 醛酸标准曲线。测定酸模多糖的吸光度,根据糖醛酸 标准曲线计算糖醛酸含量。

1.4.4 考马斯亮蓝法测定蛋白质含量

用考马斯亮蓝法测定酸模多糖中的蛋白质含量 ^[10]。以蛋白质质量浓度、吸光度为横纵坐标,绘制蛋 白质含量标准曲线。测定酸模多糖的吸光度,根据标 准曲线计算蛋白质含量。

1.5 结构分析

1.5.1 单糖组成

使用离子色谱仪检测多糖中的单糖组成。

取 15 mg 冷冻干燥后的酸模多糖置于具塞试管 中,加入5 mL 2 mol/L 三氟乙酸溶解混匀,充氮气、 封口膜密封,120 ℃油浴5 h。取出具塞试管后,擦 拭干净,置于试管架上冷却。试管内容物经氮吹仪吹 干后,再加2 mL 甲醇重新溶解吹干,重复甲醇溶解 吹干操作 3~4 次,除去多余的三氟乙酸。

依次将 5 mL 甲醇、10 mL 超纯水过柱,放置 10 min,使萃取柱平衡。将已经前处理后的酸模多糖溶液稀释到 50 mg/L,用注射器吸取 1 mL 多糖溶液,按照注射器—0.22 μm 水系滤膜—活化萃取柱—0.22 μm 水系滤膜的顺序连接,过滤样品后进样。

准确称取多种单糖样品(岩藻糖 Fuc、鼠李糖 Rha、阿拉伯糖 Ara、半乳糖 Gal、葡萄糖 Glc、木糖 Xyl、甘露糖 Man、葡萄糖醛酸 GlcA 和半乳糖醛酸 GalA),用超纯水配制成 0.1 mg/mL 混合标准品母溶 液。上机检测前将混合标准品用超纯水稀释至 5 mg/L。酸模多糖经过上述步骤后,用三氟乙酸溶解, 120 ℃油浴酸解后,用超滤管离心取上清液稀释到 250 mg/L 后上机检测,与混标出峰时间进行比对,确 定单糖组成。 色谱条件:液相色谱柱为 DionexTM CarboPac TMPA20 (150 mm×3.0 mm, 10 μm);进样量 5 μL; 流动相 A 为超纯水,流动相 B 为 0.1 mol/L NaOH 溶 液,流动相 C 为 0.1 mol/L NaOH 与 0.2 mol/L CH₃COONa 混合溶液;流量 0.5 mL/min; 柱温 30 ℃。 1.5.2 紫外全波长扫描

配制 1 mg/mL 多糖溶液,在 190~400 nm 波长范 围内紫外全波长扫描检测。

1.5.3 碘-碘化钾实验

称取1 mg 酸模多糖溶于蒸馏水,配制成1 mg/mL 多糖溶液,逐滴加入适量碘试剂(含 0.02% I₂ 的 0.2% KI 溶液),观察颜色变化,随后取 200 μL 用酶标仪 在 300~800 nm 范围内测定。通过观察 500~600 nm 范 围内的吸收峰,分析多糖的侧链和分支情况。

1.5.4 高碘酸盐氧化实验

高碘酸(HIO₄)能够氧化糖分子的醛基(一CHO) 和某些特定的糖苷键,尤其是连接糖分子之间的还原 性位点。高碘酸会攻击糖分子中的 C₁位(还原性糖 基)和C₆位(如1,6糖苷键的分支点),将这些位置 氧化为醛基或羧酸基。通过高碘酸对糖分子中还原性 和非还原性糖基的氧化作用,结合糖苷键的断裂和结 构变化,分析糖链的结构、糖苷键的类型和糖分子的 组成。高碘酸盐氧化实验具体操作参考唐婷^[11]、王艳 艳^{12]}的方法并稍加修改。

精确称量 0.6417 g 高碘酸钠,将其溶解于蒸馏水 中,并转移至 100 mL 棕色容量瓶内,制备 30 mmol/L NaIO4 溶液。量取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、 4.0 mL NaIO4 溶液,分别注入 8 支洁净试管中,每管 用蒸馏水补充至 4.0 mL,涡旋混合均匀后,各取 0.1 mL 稀释后的 NaIO4 溶液置于 25 mL 容量瓶中,用蒸 馏水定容,室温避光静置 5 min,测定 223 nm 波长处 吸光度,绘制 NaIO4 溶液的标准曲线。

称量 10 mg 酸模纯多糖置于 25 mL 棕色容量瓶 中,加入 12.5 mL 30 mmol/L 的 NaIO₄溶液,用蒸馏 水定容,4 ℃避光保存。每隔 24 h 取出 0.1 mL 反应 液,用蒸馏水稀释 250 倍后,在 223 nm 波长下测定 吸光度,并以蒸馏水作为空白对照。待吸光度趋于稳 定后,加入 0.1 mL 乙二醇终止反应。依据标准曲线 计算 NaIO₄的消耗量,并通过碱滴定法测定甲酸的生 成量。

1.5.5 核磁共振 (NMR) 分析

• 3 •

• 4 •

称取 50 mg 酸模多糖,用 1 mL D₂O 溶解,冷冻 干燥后重复冻融 3 次,最后以 0.5 mL D₂O 溶解,测 定其 H 和 ℃ NMR 谱图。

1.5.6 傅里叶变换红外光谱分析

称取 1.0 mg 酸模多糖,与 150 mg KBr 固体颗粒 混合研磨后压片,用傅里叶变换红外光谱仪在 400~4000 cm⁻¹范围内扫描。

1.5.7 刚果红实验

采用刚果红实验^[9]检测酸模多糖的三股螺旋结构。取1 mL 1 mg/mL 多糖溶液与等体积 80 μmol/L 刚果红试剂混合分装,分别加入不同体积 1 mol/L NaOH 溶液,使 NaOH 溶液终浓度为 0~0.5 mol/L,避光静置 30 min,在 400~600 nm 范围内测定最大吸收 波长。以等量的蒸馏水取代多糖样品作为空白对照, 绘制最大波长随 NaOH 溶液浓度变化趋势曲线。

1.5.8 X 衍射分析

采用 X 衍射仪对酸模多糖组分的晶体特性进行 分析。样品研磨过筛后,采用衍射法测定,扫描范围 为5°~50°,步宽0.02°。

1.5.9 扫描电子显微镜(SEM)分析

取少量干燥多糖粉末,均匀分散于导电铝台上, 喷金处理后使用扫描电子显微镜观察其微观形貌。

1.6 体外抗氧化能力

1.6.1 对 DPPH 自由基的清除

参考文献 Lei 等^[13]的方法稍加修改,测定酸模多 糖对 DPPH 自由基的清除能力。酸模多糖清除 DPPH 自由基的反应体系见表 1。

表1 DPPH 实验试剂配比

Tab. 1	DPPH ex	perimental	reagent	ratios	mI
--------	---------	------------	---------	--------	----

试剂	A_1	A2	A_0
多糖/VC 溶液	1.0	1.0	0
DPPH 溶液	1.0	0	1.0
无水乙醇	0	1.0	1.0

将 1 mL 不同质量浓度的多糖溶液分别与等体积的 DPPH 溶液混合,室温避光反应 30 min,测定 517 nm 处吸光度;每组实验 3 个重复,酸模多糖对 DPPH 自由基清除率(*R*_{DPPH})按照式(1)计算。

$$R_{\rm DPPH} = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100\% \tag{1}$$

1.6.2 对 ABTS+自由基的清除

天津科技大学学报

参考孙永进方法^[14]并稍加修改后测定酸模多糖 对 ABTS⁺自由基的清除能力。酸模多糖清除 ABTS⁺ 自由基的反应体系如表 2 所示。

表 2 ABTS⁺实验试剂配比

Гаb. 2 ABTS	⁺ experimental reagent ratios	μL
-------------	--	----

试剂	A_1	A_2	A_0
多糖/VC 溶液	100	100	0
ABTS ⁺ 溶液	100	0	100
蒸馏水	0	100	100

取 100 μL 质量浓度的多糖溶液与等体积的 ABTS⁺工作液混合,避光静置 20 min,测定 734 nm 处吸光度;每组实验 3 个重复,酸模多糖对 ABTS⁺ 自由基清除率 (*R*_{ABTS}⁺)按照式 (2)计算。

$$R_{\rm ABTS^{+}} = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100\%$$
(2)

1.7 数据处理

采用 Excel 软件进行数据处理,结果以"平均值 ±标准差"表示。

2 结果与分析

2.1 酸模多糖的分离纯化

RAP 多糖 HPLC 图如图 1 所示。酸模粗多糖主 要有 2 个色谱峰,第 1 个峰(左)属于大分子多糖但 尾部稍拖尾,采用 SephadexG200 凝胶柱进一步纯化, 得到纯化后酸模多糖 RAP。







图 1 RAP 多糖 HPLC 图



2.2 理化性质测定

以葡萄糖为标准品经苯酚硫酸法的线性回归方 程为 y=7.285x+0.1465, R^2 =0.9995; 以葡萄糖为标准 品经 DNS 法的线性回归方程为 y=0.9329x+0.0262, R^2 =0.9936; 以牛血清白蛋白为标准品,经考马斯亮 蓝法得 到线性回归方程为 y=0.2596x+0.6084, R^2 =0.9914; 以半乳糖醛酸为标准品的线性回归方程 为 y=4.7262x+0.1657, R^2 =0.9939,经计算得到酸模多 糖中总糖含量、还原糖含量、蛋白质含量、糖醛酸含 量分别为(89.66±0.26)%、(2.22±0.02)%、(1.74 ±0.20)%、(30.54±0.06)%。

酸模多糖的色谱图为峰形对称的单一色谱峰,说明经过葡聚糖凝胶柱分离得到的多糖纯度较高,酸模 多糖在 8.368 min 处出现单一的峰型,将其出峰时间 代入标准曲线方程的 x 值中 (y=-0.4390x+10.549, R ≥0.993),算得酸模多糖的相对分子质量约为 7.50×10⁶。

表 3 RAP 多糖相关理化指标

Tab. 3 Physical and chemical indexes of RAP

porysaccharides			
指标	测定结果		
总糖含量/%	89.66±0.26		
还原糖含量/%	2.22±0.02		
蛋白含量/%	1.74±0.20		
糖醛酸含量/%	30.54±0.06		
相对分子质量	7.50×10^{6}		

2.3 结构分析结果

2.3.1 单糖组成

单糖标准品和 RAP 的离子色谱图如图 2 所示。 酸模多糖主要由 Ara、Rha、Gal 和 GalA 组成。此外, 它还含有少量的 Man 和 GlcA。单糖中 GluA、Glu、 Ara、Rha、Gal、GalA的物质的量比为1:1.47:3.28:3.69:5.41:25.78,说明RAP是一种杂多糖。



Fig. 2 Ion chromatography of monosaccharide standards and RAP

2.3.2 碘-碘化钾实验

酸模多糖与碘-碘化钾试剂反应结果如图3所示。 在530~600 nm 处没有出现明显吸收峰,没有明显的 颜色反应,没有形成蓝色复合物,由此判断多糖中没 有或仅有微量淀粉。



图 3 碘-碘化钾全波长扫描

Fig. 3 Iodine-Potassium Iodide full wavelength scan

2.3.3 紫外波长扫描分析

RAP紫外全波长扫描结果如图4所示。在260 nm 和 280 nm 处无明显吸收峰,说明酸模多糖中不存在 或仅有微量的核酸和蛋白质。



• 5 •

• 6 •

2.3.4 高碘酸氧化结果

高碘酸钠标准曲线如图 5 所示,该标准曲线方程 用于计算酸模多糖中的键型。



Fig. 5 Standard curve for sodium periodate

在高碘酸氧化实验中,消耗的高碘酸量和生成的 甲酸量分别为 0.051 mmol 和 0.019 mmol, 且两者比 值远大于 2, 表明其中存在着 1→2、1→2,6、1→4、 1→4.6 等消耗高碘酸而无甲酸生成的糖苷键,这些类 型的糖苷键不参与甲酸生成,可能是某些特殊的二糖 或寡糖的连接方式,或者形成某种难以氧化的结构 [15]。有甲酸生成也表明酸模多糖中存在非还原性末端 残基1→或1,6→等糖苷键,这表明酸模多糖中存在 一定的非还原性末端残基,且这种结构可能与多糖的 生物学功能,如抗氧化、免疫调节等相关^[16]。剩余的 不能被高碘酸氧化的糖残基可能以 1→3、1→3.6 等 糖苷键形式存在,它们的存在提示酸模多糖具有复杂 的糖链结构,可能在生物学功能中起到重要作用 ^[17-18]。不同类型的糖苷键(如 α-1.4-糖苷键、α-1.6-糖苷键等)赋予多糖不同的链状或环状结构。糖苷键 的不同组合可以改变多糖的立体结构和分子刚性,从 而影响其与生物大分子的结合能力。

2.3.5 核磁共振结果

RAP 的核磁光谱图如图 6 所示。

异头氢信号在 δ 4.3~5.8 的狭窄区域内,其中 δ 3.50~4.00 范围内为糖环的质子信号,这是多糖的典型特征。 δ >4.9 的异位质子为 α 构型, δ <4.9 的异位质子为 β 构型^[9]。如图 6 (a)所示,该范围内可能对应吡喃糖环和 α 构型糖苷键。

如图 6 (b) 所示, δ 95~110 范围内多组信号为 残糖的异头碳信号。 α 型异头碳化学位移信号在 δ 95~102 的区域内, β 型异头碳化学位移信号在 δ 101~105 的区域。结合单糖结果,可能对应 α 型阿拉 伯糖、鼠李糖和半乳糖。另外,低场区 150~200 对应 糖醛酸的羰基碳信号,169.91、174.83 可能是半乳糖 醛酸、葡萄糖醛酸的 C₆ 原子上的羧基^[19]。核磁光谱



Fig. 6 NMR spectra of RAP

α/β 构型的不同会对多糖的溶解性、黏度、与细胞受体的相互作用等性质产生显著影响,因此研究这些构型有助于揭示多糖的生物学功能^[20]。α 构型则可能在酶的催化作用下具有更高的转化率,为该多糖在药物开发、功能性食品、免疫调节等方面的应用提供理论依据^[21]。糖醛酸(如半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸)通常对多糖的生物学活性有重要影响,特别是在与细胞受体的结合、调节免疫反应等方面^[22]。

2.3.6 傅里叶变换红外光谱分析

RAP 的傅里叶变换红外光谱分析结果如图 7 所示。酸模多糖包含有多糖典型特征,其中 3434 cm⁻¹ 的宽幅吸收峰为 O—H 键的伸缩振动,2947 cm⁻¹ 处的 峰为甲基和亚甲基中 C—H 键的伸缩振动,1421 cm⁻¹ 处的吸收峰对应 C—H 键的弯曲振动。另外,1616 cm⁻¹ 处的强峰表明存在羧酸根离子,1743 cm⁻¹ 处的峰可能 指示了酯基团的拉伸振动,这 2 个峰共同表明酸模多 糖中含有糖醛酸。在 1103 cm⁻¹ 和 1016 cm⁻¹ 处的强吸 收峰表示吡喃糖的 C—O—H 侧基团和 C—O—C 糖苷 环,且 1016 cm⁻¹ 处的峰可能代表多糖的糖苷结构。

天津科技大学学报

2025 年 高珈琦,等:酸模茎叶多糖提取纯化及体外抗氧化活性

897 cm⁻¹处的特征吸收峰进一步证实酸模中存在 α-糖 苷键。因此推断酸模是一种含有 α-糖苷构型的酸性多 糖。

糖醛酸和羧基的存在可能使酸模多糖具备抗炎 作用和免疫调节功能,其糖苷结构有助于控制药物释 放速度,提高生物利用度,同时其酸性特性可能有助 于提高药物在体内的稳定性^[23]。



Fig. 7 Infrared spectrogram of RAP

2.3.7 刚果红实验

RAP 的刚果红实验结果如图 8 所示。将多糖与刚 果红混合后,观察到的最大吸收波长与对照组相比并 未出现显著差异,这初步暗示了多糖可能不具备三螺 旋结构。然而,随着氢氧化钠(NaOH)的引入,最 大吸收波长从 498 nm 攀升至 506~508 nm,展现出明 显的红移现象,这一变化表明溶液中三螺旋结构的形 成。随着 NaOH 浓度的逐步增加,该络合物的最大吸 收波长出现了下降趋势(从 508 nm 降至 503 nm), 下降幅度比刚果红对照组(从 490 nm 降至 480 nm) 小。

这可能有两个原因^[24]:其一,在较为温和的碱性 环境中,三螺旋构象能够保持其稳定性;其二,三螺 旋结构在强碱环境下可能发生解聚,随后重新聚集形 成单螺旋或双螺旋等不同构象,这些单螺旋或双螺旋 分子链相互交织,最终构建出更为稳定和有序的三螺 旋结构,这种结构在碱性环境中表现出更高的稳定 性,不易被破坏。



图 8 RAP 的刚果红实验结果

Fig. 8 Diagram of Congo red experiment for RAP

2.3.8 X 衍射图谱实验

RAP的X衍射分析结果如图9所示。在2θ为5° ~50°范围内,酸模多糖没有较为明显的弥散宽峰, 峰强度较低,因此可以判定酸模多糖的结晶度较低, 果胶多糖(特别是含半乳糖和半乳糖醛酸的部分)通 常表现出较为无规则的非晶态结构。因此,它的X射 线衍射图谱中不会出现像纤维素那样清晰的结晶峰。





非晶态多糖通常具有较好的溶解性、吸水性和较高的生物活性,特别是在需要高溶解度或快速释放的应用场景中^[25]。果胶类多糖(特别是含半乳糖和半乳糖醛酸的部分)常表现为无规则的非晶态结构,其特殊的物理化学性质和生物学活性值得进一步研究^[26-27]。例如,它们可能在肠道健康、免疫调节或抗氧化等方面发挥作用。由于其无规则的非晶态结构,酸模多糖有可能在药物递送、免疫调节、抗肿瘤等方面具备独特的优势^[28]。

2.3.9 SEM 结果

RAP 的扫描电子显微镜图如图 10 所示。如图 10 (a)所示,酸模多糖整体呈不规则形态,体积分布 不均,呈相互连接状。从图 10(b)可以看到多糖呈 丝带状结构,且彼此相互交错形成环状,呈不规则纤 维丝状堆积。多糖呈现的纤维丝状堆积结构,可能赋 予其良好的溶解性、吸水性和生物降解性,这对于开 发新的生物降解材料或药物递送系统有重要意义。同 时这种结构可能对免疫调节或细胞黏附等生物活性 有积极影响,尤其在天然多糖类免疫调节剂的开发中 具有潜力^[29]。

• 7 •



(a)放大 100 倍(b)放大 500 倍图 10 RAP 的扫描电子显微镜图

- Fig. 10 Scanning electron micrographs of RAP
- 2.4 抗氧化能力

RAP 对 DPPH 自由基清除能力如图 11 所示。在 0.2~2.0 mg/mL 时,清除率由 46.99%上升到 86.86%, 当质量浓度增大到 1.6 mg/mL 时,抑制率减缓。这说 明酸模多糖对 DPPH 自由基具有良好的清除能力。



图 11 RAP 对 DPPH 自由基清除能力



RAP对 ABTS+自由基的清除能力如图 12 所示。 酸模多糖同时具有良好的清除 ABTS+自由基的能力, 且呈现良好的剂量依赖关系,0.2~0.8 mg/mL 浓度范 围内,随着多糖质量浓度的升高,清除率也显著升高, 但整体低于维生素 C 的清率。在 0.8~2.0 mg/mL 范围 内,随着质量浓度的升高,清除率上升趋势趋于稳定, 接近于维生素 C 的清除率。

酸模多糖的清除能力随着质量浓度的增加而增 强,但在高质量浓度时清除率的增长趋于平缓。这为 研究其作用的饱和点提供了线索,也表明其可以在一 定浓度范围内发挥最大效应^[4]。抗氧化活性可能与经 典的抗氧化剂如 Vc 相当,可以作为一种天然的抗氧 化剂替代品,具有开发成为功能性食品或药品的潜力 ^[30]。同时,酸模多糖能够有效抑制体内的自由基水平, 减少氧化应激对细胞和组织的损害,可进一步了解其 在抗衰老、抗肿瘤、抗炎等疾病中的潜在应用价值^[30]。



图 12 RAP 对 ABTS⁺自由基的清除能力

Fig. 12 Scavenging capacity of RAP for ABTS⁺ free radicals

3 结 语

本研究对酸模茎叶中的成分通过水提醇沉方法 得到多糖提取物。该酸模多糖主要含有两种相对分子 质量的糖,对其大分子多糖进一步纯化。酸模茎叶中 的总糖含量高达(89.66±0.26)%,其中含有较高比 例的糖醛酸,是主要由半乳糖、半乳糖醛酸组成的杂 多糖。该多糖结构稳定,呈不规则的纤维丝状堆积, 且具有较好的DPPH自由基、ABTS⁺自由基清除能力, 表明酸模多糖可能具备抗氧化作用。酸模多糖作为一 种具有潜力的天然产物,表现出较好的抗氧化活性, 这使其在抗衰老、抗癌、保肝等方面的潜力成为未来 研究的重要方向。同时,该多糖分子结构可能呈现吡 喃糖环形式,这一特点可以为研究天然多糖的结构-功能关系提供参考。

参考文献:

- HUANG G, MEI X, HU J. The antioxidant activities of natural polysaccharides[J]. Current drug targets, 2017, 18(11): 1296-1300.
- [2] KHVOSTOV M V, TOLSTIKOVA T G, BORISOV S A, et al. Application of natural polysaccharides in pharmaceutics[J]. Russian journal of bioorganic chemistry, 2019, 45: 438-450.
- [3] HAMMID A, HONKAKOSKI P. Ocular drug-metabolizing enzymes: focus on esterases[J]. Drug metabolism reviews, 2024, 56(3): 175-189.
- [4] 潘雄泽. 鱼腥草水溶性多糖抗氧化作用的研究[J]. 食品 工业, 2024, 45(12): 28-31.
- [5] 钟月姣. 洋铁酸模地上、地下部分多糖提取分离及活性的 对比研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.

2025 年 高珈琦,等:酸模茎叶多糖提取纯化及体外抗氧化活性

- [6] LI Y, ASSANI I, WANG J W, et al. Extraction, purification, characterization, and bioactive properties of polysaccharides from *Sphallerocarpus gracilis*[J]. Starch-st ärke, 2021, 73(7/8): 2100082.
- [7] 郭怡,夏陈,邓俊琳,等.金花藏茶多糖纯化前后的化学
 组成、结构与抗氧化性比较[J].食品科技,2024,49(9):
 201-209.
- [8] 张恺恺,谢允慧,孙晓梅.3,5-二硝基水杨酸法的优化及日本 落叶松木质部发育中阿拉伯半乳聚糖的含量变异[J].林业 科学,2025,61(2):113-121.
- [9] 魏磊, 李宁洁, 金饶, 等. 赤松茸酸性多糖的结构表征及 抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 1-12.
- [10] 曹田欣, 闫小娟, 张海悦. 乌梅多糖提取工艺、理化性质 及其体外功能活性[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(24): 101-110.
- [11] 唐婷. 地黄多糖提取纯化、结构表征及生物活性研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2023.
- [12] 王艳艳. 刺五加多糖的结构特征及其抗阿尔兹海默症机 制[D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2024.
- [13] LEI M, WANG M, MA W, et al. *In vitro* antioxidant activity of the polysaccharide from *Auricularia auricula* and its structural characterisation[J]. Natural Product Research, 2025, 39(4): 734-741.
- [14] 孙永进,曾惠梅,黄静,等.吴茱萸多糖的分离纯化、结构表征 及体外降脂活性[J].食品工业科技,2025,46(8):33-42.
- [15] 孙文临. 毛尖蘑多糖的分离纯化、结构表征及生物活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2023.
- [16] 李洙锐. 赤水金钗石斛活性多糖的分离纯化、结构鉴定及 其抗病毒活性的研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2020.
- [17] 余思雨.细叶韭花多糖纯化、结构表征及生物活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2023.
- [18] 柳颖. 唐古特大黄多糖的提取纯化、结构表征及生物活性 研究[D]. 天津: 天津科技大学,2023.
- [19] 冯仕红,李晓飞,李科,等. 体外模拟消化对黄芪多糖 APS-II结构和免疫活性的影响[J]. 中草药, 2024, 55(16): 5514-5524.
- [20] 李卫. 桔梗多糖的提取纯化及糖脂调节活性研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2023.

- [21] 杨珺. 裙带菜孢子叶多糖的提取分离及其生物活性研究 [D]. 南宁: 广西民族大学, 2022.
- [22] ZHANG R, LI Y, GUAN F, et al. A homogalacturonan-rich pectic polysaccharide isolated from *Lonicera japonica* Thunb. modulates galectin-4-mediated bioactivity and anti-hepatocellular carcinoma activity[J]. International Journal of biological macromolecules, 2025: 140618.
- [23] 万佳佳. 黑豆可溶性多糖的提取优化、结构表征及其免疫 调节作用研究[D]. 成都:成都大学,2024.
- [24] 张晓新,范春娟,王君巧,等. 吴茱萸多糖的提取纯化与结构解析[J]. 南昌大学学报(理科版), 2024, 48(3): 261-270.
- [25] SEKITOH T, OKAMOTO T, FUJIOKA A, et al. Sole-amorphous-sugar-based solid dispersion of curcumin and the influence of formulation composition and heat treatment on the dissolution of curcumin[J]. Drying technology, 2021, 39(14): 2065-2074.
- [26] CHEN L, PU Y, HE X, et al. Physicochemical properties and in vitro hypolipidemic activities of three different bonding state pectic polysaccharide fractions extracted sequentially from pear pulp[J]. International journal of biological macromolecules, 2025, 2025: 140284.
- [27] 雷静. 苦荞叶果胶类多糖的提取优化、结构表征及其改善 DSS 诱导肠黏膜屏障损伤的作用研究[D]. 成都: 成都大 学, 2024.
- [28] 王欣. 亚临界水法提取苹果渣果胶多糖分离纯化及其结构解析研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2018.
- [29] 叶凡,李思宇,张运,等. 基于动态共价键的多糖水凝胶 在药物递送及组织修复中的应用研究进展[J]. 中国现代 应用药学, 2023, 40(21): 3047-3052.
- [30] 刘朋肖,梁瑞娜,李聪,等.三种培养方式的蛹虫草多糖提取 工艺优化及体外抗氧化活性 [J/OL]. 菌物研 究,1-18[2025-03-26].https://doi.org/10.13341/j.jfr.2024.1760
- [31] TIAN Y, YANG X, CAO C, et al. Improved antioxidant activities of edible films by curcumin-containing with zein/polysaccharide[J]. Food bioscience, 2024, 57: 103538.

• 9 •