

乙酰化大果沙枣多糖的制备、结构表征 及体外降糖活性研究

薛 雪^{1,2} 唐 辉^{1,2} 廖兵武^{1,2} 陈 璐³ 赵文彬^{1,2} 王新兵^{1,2}
孙 妍^{1,2} 魏有鸿^{1,2}

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832003; 2. 新疆植物药资源利用教育部重点实验室, 新疆 石河子 832003;
3. 塔里木大学食品科学与工程学院, 新疆 阿拉尔 843300)

摘要: [目的] 探究乙酰化大果沙枣多糖(A-EMP-K)的制备条件并揭示其结构信息及体外降血糖活性。[方法] 采用水提醇沉法提取大果沙枣(*Elaeagnus moorcroftii* Wall.) 多糖, 选择乙酸酐法改性修饰。通过 Box-Behnken 试验优化 A-EMP-K 制备条件, 并完成 A-EMP-K 的结构表征及体外降糖活性测试。[结果] A-EMP-K 的最佳制备条件为反应时间 3 h、反应温度 61 °C、乙酸酐添加量 9.3 mL, 在此条件下 A-EMP-K 取代度为 0.326; A-EMP-K 是一种主要由半乳糖、阿拉伯糖、半乳糖醛酸等组成的杂多糖; 红外图谱在 1 731, 1 257 cm⁻¹ 处的吸收峰证实乙酰基团引入成功; 扫描电镜结果呈现明显多孔结构, 表面光滑; 粒径与 Zeta 电位结果显示溶剂体系较为稳定; 以阿卡波糖为阳性对照, 测得 A-EMP-K 对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制率分别为 (63.80 $\pm$ 4.58)%, (81.18 $\pm$ 2.48)%。[结论] 大果沙枣多糖及其乙酰化修饰物在降糖活性方面均具有较优的表现。

关键词: 大果沙枣多糖; 乙酰化修饰; 响应面法; 结构表征; 体外降糖活性

Preparation, structural characterization, and *in vitro* hypoglycemic activities of acetylated *Elaeagnus moorcroftii* Wall. polysaccharides

Xue Xue^{1,2} Tang Hui^{1,2} Liao Bingwu^{1,2} Chen Lu³ Zhao Wenbin^{1,2} Wang Xinbing^{1,2}
Sun Yan^{1,2} Wei Youhong^{1,2}

(1. Pharmacy School of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China; 2. Key Laboratory of Xinjiang Phytomedicine Resource and Utilization, Ministry of Education, Shihezi, Xinjiang 832003, China;
3. College of Food Science and Engineering, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China)

Abstract: [Objective] To explore the preparation conditions, structural information, and *in vitro* hypoglycemic activities of acetylated *Elaeagnus moorcroftii* Wall. polysaccharides of Kashgar (A-EMP-K). [Methods] EMP-K is extracted by the water extraction and alcohol precipitation method, and modified by the acetic anhydride method. Then, A-EMP-K preparation conditions are optimized using Box-Behnken response surface methodology. Furthermore, structural characterization and *in vitro* hypoglycemic activity assays of A-EMP-K are performed. [Results] The optimal preparation conditions are a reaction time of 3 h, a reaction temperature of 61 °C, and an acetic anhydride addition volume of 9.3 mL. Under these conditions, A-EMP-K exhibits a degree of substitution at 0.326. The A-EMP-K is a

基金项目: 新疆植物药资源利用教育部重点实验室主任基金(编号: 2021QDJF002); 石河子大学高层次人才科研启动专项(编号: 2022ZK019); 新疆维吾尔自治区天池英才青年博士项目(编号: CZ000919)

通信作者: 唐辉(1967—), 女, 石河子大学教授, 博士。E-mail: Tanghuishz@qq.com
廖兵武(1991—), 男, 石河子大学副教授, 博士。E-mail: Lbwcy2021@163.com

收稿日期: 2025-08-14 **改回日期:** 2026-02-11

引用格式: 薛雪, 唐辉, 廖兵武, 等. 乙酰化大果沙枣多糖的制备、结构表征及体外降糖活性研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(8): 149-158.

Citation: Xue Xue, Tang Hui, Liao Bingwu, et al. Preparation, structural characterization, and *in vitro* hypoglycemic activities of acetylated *Elaeagnus moorcroftii* Wall. polysaccharides[J]. Food & Machinery, 2026, 42(8): 149-158.

heteropolysaccharide consisting of galactose, arabinose, galacturonic acid, and other constituents. The absorption peaks of infrared spectra at $1\ 731\ \text{cm}^{-1}$ and $1\ 257\ \text{cm}^{-1}$ confirm the successful introduction of acetyl groups. Scanning electron microscope (SEM) results reveal a distinct porous structure and a relatively smooth surface. The particle size and zeta potential results indicate a relatively stable solvent system. With acarbose as the positive control, the inhibition rate of the A-EMP-K is $(63.80 \pm 4.58)\%$ against α -glucosidase, and is $(81.18 \pm 2.48)\%$ against α -amylase. [Conclusion] EMP-K and A-EMP-K exhibit potent performance in hypoglycemic activities.

Keywords: *Elaeagnus moorcroftii* Wall. polysaccharide; acetylation; response surface methodology; structural characterization; *in vitro* hypoglycemic activity

沙枣(*Elaeagnus angustifolia* L.)为胡颓子科胡颓子属植物,又名银柳、七里香、桂香柳。沙枣果实富含多酚、多糖、类黄酮等活性物质,其中多糖平均含量为 $9.76\%^{[1-2]}$ 。其变种之一大果沙枣(*Elaeagnus moorcroftii* Wall.)是新疆天山以南地区常见的防风固沙树种,具备生长快、抗风沙、耐贫瘠、耐盐碱等特点,因花香浓郁被称为“飘香沙漠的桂花”。与普通沙枣相比,大果沙枣果实更大,果肉更厚,因其特殊的生长环境,如新疆地区昼夜温差更大、干旱和盐碱胁迫更强,更利于其活性成分积累。大果沙枣味甘涩,性微凉,具有补虚、安神、健脾、止泻的作用,适用于治疗肠炎、腹泻、冠心病等疾病,有较高的经济和药用价值^[3]。

多糖是一种由多种单糖通过糖苷键结合形成的结构复杂的天然高分子化合物^[4],具有抗氧化、免疫调节、降血糖及调节肠道菌群等多种生物活性^[5-7]。多糖的生物活性可以通过改性修饰,引入不同的活性基团而得到显著提高,常见的修饰手段有羧甲基化、硒化、乙酰化、硫酸化等^[8]。其中,乙酰化改性修饰是通过乙酰基不同程度地取代多糖链上羟基,使得多糖的分子结构及构象状态发生不同程度的改变,极性基团的暴露使得溶解度得到显著提升,说明乙酰化的种类、数目及取代位置对多糖的生物活性有显著影响^[9-10]。

据国际糖尿病联盟调查显示,全球糖尿病患者持续增长,数据模型预测患者人数在2035年升至5.92亿人^[11]。糖尿病是一种长期维持高血糖水平特征的代谢性疾病,其中,缓解2型糖尿病的常见药物有双胍类、阿卡波糖类等,其可抑制 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶的活性。但这类药物具有一定副作用,可表现为肠胃气胀和腹泻等^[12]。Xiu等^[13]研究表明,天然多糖在糖尿病治疗中,不仅疗效稳定,无副作用,还能有效预防并发症。从天然产物中获取降糖活性成分,已成为糖尿病治疗的重要研究方向。

目前,有关沙枣多糖的研究比较宽泛且简略,特别是相对缺乏聚焦大果沙枣多糖的研究,且有关其改性修饰方法及修饰物体外降糖活性的研究未见报道。试验拟以大果沙枣为原料,开展多糖制备以及乙酰化修饰,并对修饰后的多糖进行结构表征和体外降糖活性评价,以期为沙枣植物资源的深层开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

大果沙枣:采自新疆维吾尔自治区喀什地区疏附县;
95%乙醇、乙酸酐、磷酸:分析纯,国药集团化学试剂北京有限公司;

浓硫酸、盐酸:分析纯,天津市福晨化学试剂厂;
咪唑、氢氧化钠、考马斯亮蓝:上海麦克林生化有限公司;

大孔树脂、对硝基苯 α -D-吡喃葡萄糖苷、 α -淀粉酶、DNS试剂、阿卡波糖、木瓜蛋白酶(800 U/mg)、 β -半乳糖、磷酸二氢钾、 α -葡萄糖苷酶溶液、MD系列透析袋等:北京索莱宝科技有限公司;

牛血清白蛋白、碳酸钠:上海源叶生物科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

超纯水机:WP-UPS型,四川沃特尔水处理设备有限公司;

粉碎机:FS-800A型,深圳艾尔莎科技有限公司;
旋转蒸发器:SN-RE-201D型,上海尚普仪器设备有限公司;

恒温水浴锅:JHH型,青岛精诚仪器仪表有限公司;
真空冷冻干燥机:LGI-12型,北京松源华兴科技发展有限公司;

分析天平:FA2204型,群安实验仪器有限公司;
台式高速离心机:5430R型,德国Eppendorf公司;
傅里叶红外光谱仪:Bruker Vertex 80型,德国Bruker光谱仪器公司;

纳米粒度电位仪:Zetasizer Nano ZS90型,英国Malvern公司;

扫描电镜:Gemini SEM 460型,德国Zeiss公司;
高效液相色谱仪:Waters 1515型,配备Waters示差检测器,美国Waters公司。

1.2 方法

1.2.1 大果沙枣多糖(EMP-K)的制备 将成熟的大果沙枣去核,保留果肉,50℃烘干,粉碎,过100目筛,得到颗粒大小较为均匀的沙枣粉末。取一定质量沙枣粉末,加入95%乙醇,于80℃回流提取1 h,除去脂溶性物质。抽滤,

弃去滤液,滤渣与超纯水按1:30(g/mL)的料液比混合均匀,80℃浸提3h;抽滤,收集滤液,重复3次,合并滤液,通过旋转蒸发仪浓缩后,加入一定量无水乙醇,冷藏静置24h,弃上清液,收集沉淀,冷冻干燥,得大果沙枣多糖粗品。用超纯水溶解多糖粗品,通过大孔树脂脱色,在脱色后的多糖溶液中加入一定量木瓜蛋白酶进行蛋白脱除,制得EMP-K^[14]。

1.2.2 EMP-K的理化指标测定

(1) 总糖含量:采用苯酚—硫酸法^[15]。以葡萄糖为标准品,测定493.5nm处吸光值,得到标准曲线 $y=1.631x+0.0336$, $R^2=0.9993$ 。

(2) 糖醛酸含量:采用硫酸—呋唑法^[16]。以 β -半乳糖醛酸为标准品,加入浓硫酸及呋唑溶液混匀,测定530nm处吸光值,得到标准曲线 $y=0.478x+0.0607$, $R^2=0.9924$ 。

(3) 蛋白含量:采用考马斯亮蓝法^[17]。测定系列蛋白标准溶液在595nm处吸光值,得到标准曲线 $y=0.7214x+0.5297$, $R^2=0.9925$ 。

(4) 多糖含杂情况:采用紫外可见分光光度计对2mg/mL多糖溶液进行全波长扫描(200~600nm),观察其在260nm(核酸特征吸收峰)和280nm(蛋白质特征吸收峰)处是否有吸收峰。

1.2.3 乙酰化大果沙枣多糖(A-EMP-K)的制备 采用乙酸酐法^[18]。准确称取3.0g干燥的EMP-K,用超纯水按料液比1:30(g/mL)溶解,超声振荡得到均匀溶液。滴加碱液调节反应液pH至9.0~10.0,在适宜温度下,边搅拌边向溶液滴加适宜体积的乙酸酐,控制反应溶液pH为7.0~9.0,确保乙酸酐反应完全,调节反应液pH为7.0左右。将反应液装入截留相对分子质量为5000的透析袋中透析48h,收集透析液,冷冻干燥,得A-EMP-K。

1.2.4 乙酰基取代度的测定 采用酸碱滴定法^[19]。将A-EMP-K样品与0.01mol/L氢氧化钠溶液混匀,50℃水浴1h。以酚酞溶液为酸碱指示剂,用0.01mol/L盐酸溶液中和滴定,溶液颜色由红色突变为无色即滴定终点,且以空白组为对照。按式(1)、式(2)计算乙酰基取代度(DS)。

$$A = \frac{(V_0C_0 - V_1C_1) \times 0.043}{m} \times 100\%, \quad (1)$$

$$DS = \frac{132A}{4300 - 42A}, \quad (2)$$

式中:

A——A-EMP-K中乙酰基含量,%;

V_0 ——加入氢氧化钠溶液的体积,mL;

C_0 ——氢氧化钠溶液的浓度,mol/L;

V_1 ——消耗盐酸溶液的体积,mL;

C_1 ——盐酸溶液的浓度,mol/L;

m——A-EMP-K取样量,g。

1.2.5 单因素试验 以乙酰基取代度为指标,固定反应时间3h、反应温度50℃、乙酸酐添加量9mL。分别考察反应时间(1,2,3,4,5h)、反应温度(50,60,70,80,90℃)、乙酸酐添加量(3,6,9,12,15mL)对EMP-K乙酰化的影响效果。

1.2.6 响应面试验 在单因素试验基础上,利用Box-Behnken中心组合试验设计,以A-EMP-K取代度为响应值,以反应时间、反应温度和乙酸酐添加量为响应变量,设计三因素三水平的响应面优化试验。

1.2.7 A-EMP-K的结构表征

(1) 傅里叶变换红外光谱(FI-IR)分析:精确称取1.0mg样品与干燥的100mg溴化钾研磨混匀,制成透明的溴化钾压片,以空白溴化钾片为对照,以 4cm^{-1} 分辨率扫描且记录样品在4000~400 cm^{-1} 区间的特征吸收峰。

(2) 相对分子质量测定:准确称取5.0mg样品,加入1mL NaCl溶剂(0.05mol/L),配成质量浓度为5mg/mL的待测品溶液,离心取上清液,并用0.22 μm 微孔滤膜过滤后注入色谱仪进行检测。采用聚合物基质水溶性SEC(GFC)色谱柱(8mm $\times$ 300mm);流动相为0.05mol/L NaCl溶液,流速0.65mL/min;柱温40℃,检测器温度40℃;进样量30 μL ^[20]。

(3) 单糖组成测定:取适量A-EMP-K水解液,加入0.2mL NaOH溶液(0.5mol/L),0.5mL PMP甲醇溶液(0.5mol/L),混匀,70℃水浴60min。加入0.2mL 0.5mol/L HCl中和反应,加入1mL氯仿涡旋萃取3次,弃去氯仿层后,取0.3mL加水定容。采用ZORBAX EclipseXDB-C₁₈色谱柱,流动相为磷酸盐缓冲液—乙腈(体积比83:17),流速0.8mL/min,柱温30℃,进样量10 μL ,检测波长250nm。

(4) 扫描电镜检测:准确称取适量干燥的A-EMP-K样品,利用导电胶将其平铺到载物台上,喷涂金属薄膜后放置于扫描电镜仪内,调整不同倍数进行观察。

(5) 粒径与Zeta电位测定:将A-EMP-K样品溶解于去离子水中,使多糖质量浓度为2.0mg/mL。用马尔文纳米粒度电位仪测定样品的粒径分布和电位。

1.2.8 体外降糖活性分析

(1) α -葡萄糖苷酶抑制活性测定:分别将EMP-K、A-EMP-K样品溶液加入96孔板,每孔加入40 μL α -葡萄糖苷酶,37℃水浴10min;再加入少量PNPG溶液,37℃水浴30min,用少量 Na_2CO_3 溶液终止反应,测定405nm处吸光度。以阿卡波糖为阳性对照组^[21],按式(3)计算 α -葡萄糖苷酶抑制率。

$$R_1 = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4} \right) \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

R_1 —— α -葡萄糖苷酶抑制率,%;

A_1 ——含样品的 α -葡萄糖苷酶混合溶液(样品组)的吸光度;

A_3 ——不含样品的 α -葡萄糖苷酶溶液(空白组)的吸光度;

A_2 ——不含 α -葡萄糖苷酶溶液的样品的(样品背景组)吸光度;

A_4 ——不含样品以及 α -葡萄糖苷酶溶液(空白背景组)的吸光度。

(2) α -淀粉酶抑制活性测定:分别将 EMP-K、A-EMP-K 样品溶液加入 96 孔板,每孔加入 30 μL α -淀粉酶,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min;再加入少量淀粉溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min,加入 DNS 试剂,沸水浴 5 min,冷却至室温,加入适量蒸馏水,测定 540 nm 处吸光度。以阿卡波糖为阳性对照组^[22],按式(4)计算 α -淀粉酶抑制率。

$$R_2 = \left(1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

R_2 —— α -淀粉酶抑制率,%;

A_0 ——不含样品的 α -淀粉酶溶液(空白组)的吸光度;

A_1 ——不含 α -淀粉酶溶液的样品(对照组)的吸光度;

A_2 ——含样品以及 α -淀粉酶溶液(样品组)的吸光度。

1.3 数据处理

所有试验平行重复 3 次,结果用均值 $\pm$ 标准差表示。使用 Office 2021、Origin Pro 2018 及 GraphPad Prism 等软件完成数据处理与统计学分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

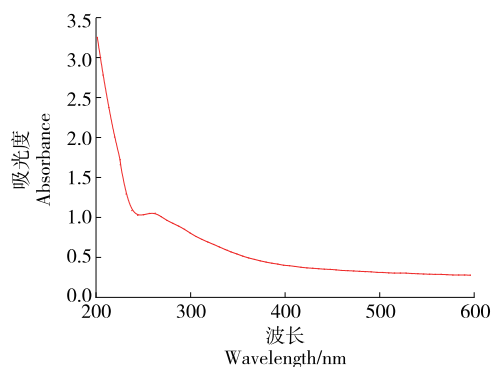
2.1 EMP-K 的理化指标

试验测得,EMP-K 中总糖含量为 $(89.95 \pm 1.03)\%$,糖醛酸含量为 $(18.12 \pm 1.17)\%$,多糖粗品蛋白质含量为 $(9.11 \pm 1.05)\%$,除蛋白后多糖的蛋白质含量为 $(1.83 \pm 0.92)\%$ ^[14]。

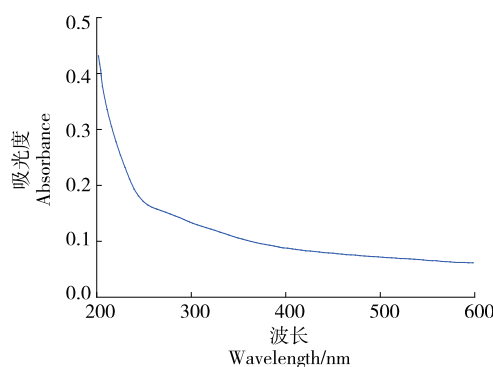
由图 1 可知,与未除蛋白的 EMP-K 相比,脱色脱蛋白后的 EMP-K 在 260~280 nm 范围内未检测到明显特征吸收峰,表明样品中核酸、蛋白质等杂质除去效果良好,与所测蛋白含量结果一致。

2.2 单因素试验

由图 2(a)可知,反应 1~3 h 内,体系的乙酰基取代度与时间呈正相关,且取代度快速上升;反应 3 h 时,乙酸酐与 EMP-K 接近完全反应,且取代度达到峰值 0.227;反应 3 h 后,乙酰基取代度随着反应时间的延长呈下降趋势,可



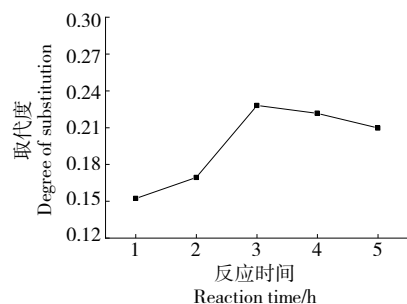
(a) 未除蛋白多糖



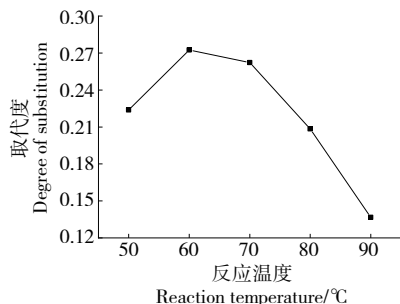
(b) 已除蛋白多糖

图 1 EMP-K 的紫外光谱分析图

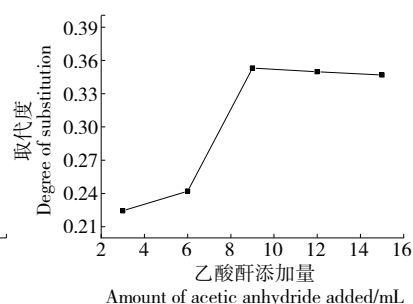
Figure 1 UV scanning spectra of EMP-K



(a) 反应时间



(b) 反应温度



(c) 乙酸酐添加量

图 2 各因素对 A-EMP-K 取代度的影响

Figure 2 Effect of single factor on substitution degree of A-EMP-K

能是过长的反应时间会导致部分乙酰基从不太稳定的乙酰化体系中游离出来并诱发多糖降解现象^[23]。由图2(b)可知,乙酰化取代度在反应温度为50~60℃时明显递增;在60℃时达到峰值0.272;在反应温度70~90℃时快速下降,可能是随着反应温度的升高,乙酸酐加速水解,降低了乙酰基与多糖的结合能力,故取代度发生显著下降^[24]。由图2(c)可知,随着乙酸酐添加量的增加,乙酰基取代度在添加量为3~9 mL时呈升高趋势;在添加量为9 mL时达到峰值0.353;在添加量>9 mL时呈平稳趋势,这可能归因于多糖与乙酸酐在一定浓度比例时便可达到完全反应。

2.3 响应面试验

2.3.1 响应模型的建立与分析 以单因素试验为基础,利用 Design-Expert 13 软件中 Box-Behnken 试验设计,对 A-EMP-K 制备工艺进行优化,试验因素水平见表1,试验设计及结果见表2。

对表2数据进行拟合回归模型分析,得到回归模型方程:

$$Y=0.338 \ 6-0.006 \ 6A+0.005 \ 6B+0.006 \ 8C+0.010 \ 7AB-0.009 \ 0AC+0.001 \ BC-0.050 \ 4A^2-0.043 \ 9B^2-0.037 \ 2C^2 \quad (5)$$

由表3可知,回归模型 $P<0.000 \ 1$,极显著;失拟项 $P>0.05$,无显著性,即模型选择合理; $R^2=0.989 \ 0$, $R^2_{Adj}=0.975 \ 0$,说明模型拟合较好。一次项A、C及交互项AB、AC影响显著;二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 影响极显著。由 F 值可见,各因素的影响程度从大到小为乙酸酐添加量>反应时间>反应温度。

表1 响应面试验因素及水平

水平	A 反应时间/h	B 反应温度/℃	C 乙酸酐添加量/mL
-1	2	50	6
0	3	60	9
1	4	70	12

2.3.2 多因素交互作用分析 通过响应面坡度和等高线图可以直观地反映出各因素之间的交互作用^[25]。由图3可知,随着反应时间、反应温度、乙酸酐添加量的增加,取代度呈先增大后减小的趋势。反应时间、反应温度、乙酸酐添加量对多糖乙酰化取代度的影响均呈抛物线趋势,表明在所选取的试验值范围内存在最优响应值。AB与AC的响应面相对陡峭,等高线呈椭圆,表明各因素交互作用显著;BC交互曲面平缓,等高线近圆形,提示交互作用不显著,与方差分析结果基本一致。

2.3.3 最佳工艺条件确定及验证实验 通过 Design-Expert 13 软件分析,EMP-K 乙酰化修饰的最佳条件为反

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Design and results of response surface experiment

试验号	A	B	C	取代度
1	0	1	1	0.275
2	0	-1	1	0.259
3	0	-1	-1	0.242
4	0	0	0	0.327
5	-1	1	0	0.246
6	0	0	0	0.339
7	0	0	0	0.347
8	0	0	0	0.337
9	0	1	-1	0.254
10	1	-1	0	0.221
11	0	0	0	0.343
12	-1	0	1	0.269
13	1	1	0	0.251
14	1	0	1	0.241
15	-1	0	-1	0.243
16	-1	-1	0	0.259
17	1	0	-1	0.251

表3 回归模型方差分析[†]

Table 3 ANOVA of regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.029 2	9	0.003 2	70.22	<0.000 1	**
A	0.000 4	1	0.000 4	7.59	0.028 3	*
B	0.000 3	1	0.000 3	5.47	0.051 9	
C	0.000 4	1	0.000 4	7.88	0.026 3	*
AB	0.000 5	1	0.000 5	9.99	0.015 9	*
AC	0.000 3	1	0.000 3	7.00	0.033 1	*
BC	4.000 0E-06	1	4.000 0E-06	0.09	0.777 3	
A^2	0.010 7	1	0.010 7	231.34	<0.000 1	**
B^2	0.008 1	1	0.008 1	175.54	<0.000 1	**
C^2	0.005 8	1	0.005 8	125.74	<0.000 1	**
残差	0.000 3	7	0.000 0			
失拟项	0.000 1	3	0.000 0	0.567 8	0.665 1	
纯误差	0.000 2	4	0.000 1			
总和	0.029 6	16				

[†] **表示差异极显著($P<0.01$), *表示差异显著($P<0.05$);
 $R^2=0.989 \ 0$, $R^2_{Adj}=0.975 \ 0$ 。

应时间 2.931 h, 反应温度 60.570℃, 乙酸酐添加量 9.300 mL, 此时取代度预测值为 0.339。为便于实际操作, 将参数修正为反应时间 3 h, 反应温度 61℃, 乙酸酐添加量 9.3 mL, 在此工艺条件下重复验证 3 次, 得到取代度平

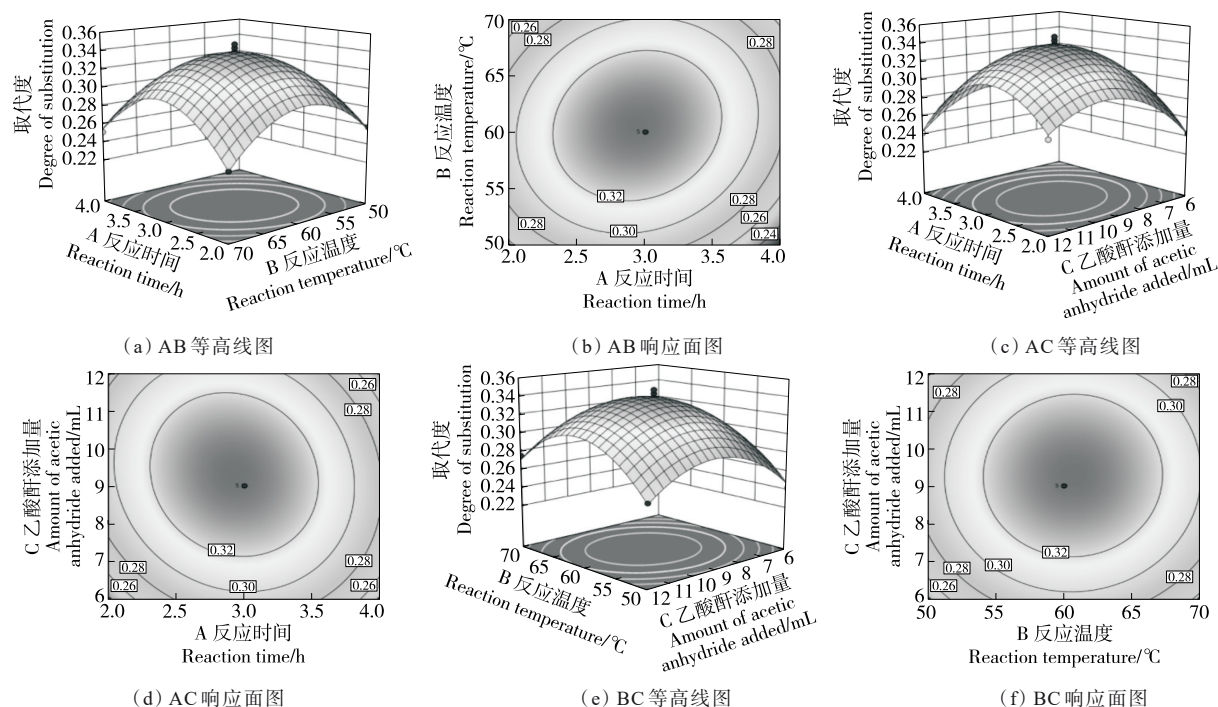


图3 各因素交互作用的响应面与等高线图

Figure 3 Response surfaces and contours of factor interactions

均值为0.326,与预测值接近,表明该模型可靠性较高,可应用此工艺条件进行后续试验。

2.4 A-EMP-K 的表征结果

2.4.1 FI-IR 分析 由图4可知,乙酰化改性修饰的EMP-K展现出其特征吸收峰,4 000~3 300 cm^{-1} 为多糖分子的一OH伸缩振动谱带;2 944~2 924 cm^{-1} 为糖类不饱和C—H伸缩振动特征谱带;1 620 cm^{-1} 处为羧基伸缩振动峰;C=O基团非对称伸缩振动峰在1 652~1 592 cm^{-1} 处较为明显^[26];1 300~1 500 cm^{-1} 处为C—O弯曲振动特征谱带,这3段谱带为糖类物质的特征吸收峰^[27];1 257 cm^{-1} 处为—COOH的变角振动峰,说明可能含有糖醛酸^[28];1 079 cm^{-1} 处为O—H变角振动峰;1 000~400 cm^{-1} 处含

有C—H面外弯曲振动区及部分羧基伸缩振动峰;与EMP-K的FTIR结果^[14]相比,A-EMP-K保留了相同的吸收峰,但在1 731 cm^{-1} 处出现了新的吸收峰,可能是酰卤基团(1 815~1 720 cm^{-1})的引入产生了伸缩振动^[29],表明EMP-K中成功引入乙酰基。

2.4.2 相对分子质量分布 由图5及表4可知,EMP-K经乙酰化后没有固定的相对分子质量,而是一种多个相对分子质量集合的同系混合物。48.0 min附近为流动相盐峰;A-EMP-K在保留时间为27.425,32.798,37.773 min处的重均相对分子质量分别为1 586.198,179.545,23.882,对应时间的分布系数即分别为1.780,1.616,1.463。一般地, α 比值愈大表明相对分子质量的分布愈宽泛, α 比值为

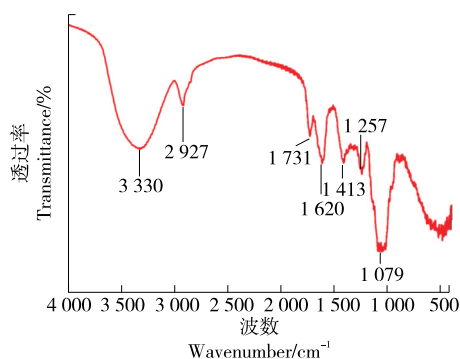


图4 A-EMP-K的傅里叶红外光谱

Figure 4 FT-IR spectrum of A-EMP-K

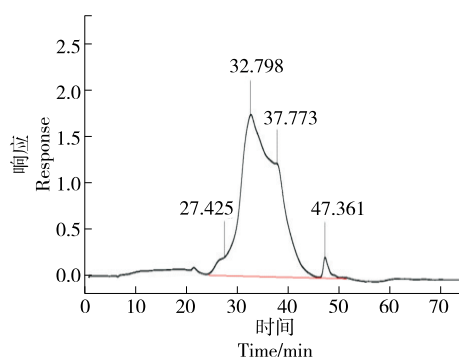


图5 A-EMP-K的HPGPC结果

Figure 5 HPGPC results of A-EMP-K

表4 A-EMP-K的相对分子质量分布

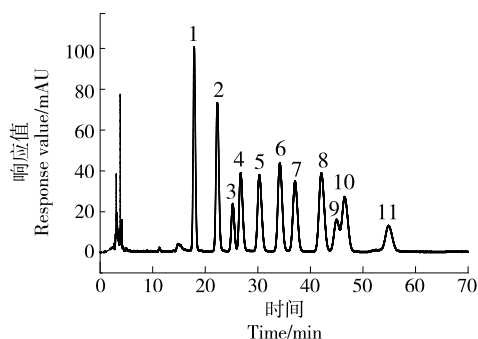
Table 4 Molecular weight distribution of A-EMP-K

保留时间/min	相对分子质量	重均相对分子质量	数均相对分子质量	峰面积占比/%	分布系数(重均相对分子质量/ 数均相对分子质量)
27.425	1 064 596	1 586 198	881 363	1.81	1.780
32.798	133 535	179 545	111 100	71.13	1.616
37.773	19 534	23 882	16 327	24.09	1.463

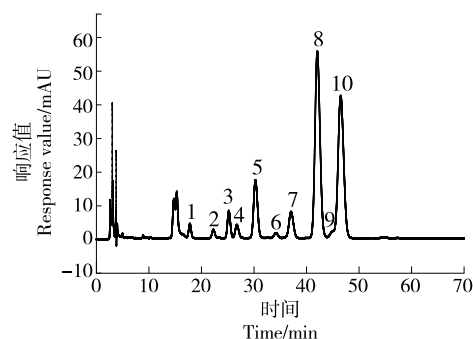
1则可判定相对分子质量为均一体系。因此,A-EMP-K为分散体系且其分子具有不均一性。

2.4.3 单糖组成 由图6可知,与标准品相比,A-EMP-K由甘露糖、盐酸氨基葡萄糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、氨基半乳糖盐酸盐、葡萄糖、半乳糖、木糖和阿拉伯糖等组成,各组分在A-EMP-K中占比分别为1.17%,0.84%,8.03%,2.67%,12.16%,0.80%,5.01%,36.05%,

0.51%,32.77%,其中半乳糖含量最高。EMP-K中葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖占比最多,分别为23.36%,20.76%,27.19%,与EMP-K^[14]相比,A-EMP-K中葡萄糖含量明显减少,而半乳糖和阿拉伯糖含量有所增加。相关研究表明,含有丰富半乳糖的多糖具有更显著的自由基清除能力^[30],同时含有阿拉伯糖、半乳糖的多糖显示出显著的降血糖活性^[31]。



(a) 标准品



(b) A-EMP-K

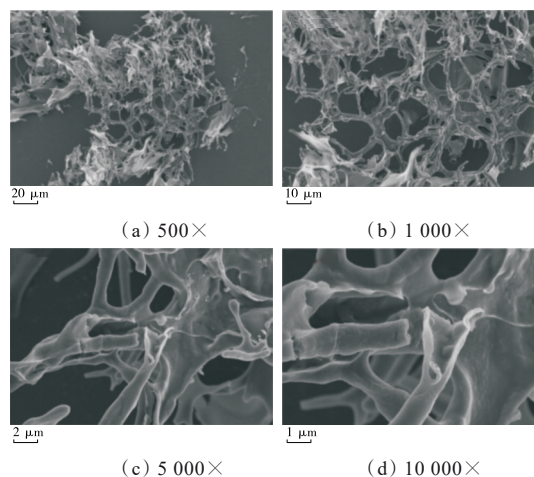
1~11分别为甘露糖、盐酸氨基葡萄糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、氨基半乳糖盐酸盐、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖和岩藻糖

图6 单糖组成结果

Figure 6 Monosaccharide composition results

2.4.4 扫描电镜检测 由图7可知,放大500,1 000倍后,EMP-K经乙酰化修饰后主要形态较为杂乱不规则,部分结构致密,部分大孔稀疏。放大5 000,10 000倍后,A-EMP-K虽无规则但表面光滑,稀疏较明显,说明其分子间作用力降低,氢键作用力减小,与红外推测相吻合。很多凸起的球体结构显示出乙酰化多糖的构象形态,可能与其生理活性密切相关。EMP-K是大分子碳水化合物,以氢键和糖苷键在架构上结合形成糖链^[32],通过乙酰化改性修饰,导致糖苷键上的氢键被酯基取代,乙酰化多糖的密度增大,继而增加乙酰化多糖的表面光滑度。

2.4.5 粒径分布与Zeta电位 由图8~图9和表5可知,A-EMP-K的平均粒径为 $(1\,559 \pm 24.27)$ nm,粒径响应值比较单一,强度趋于稳定。与EMP-K^[14]相比,A-EMP-K的粒径增加,可能是由于乙酰基相互作用导致多糖分子之间的相互作用增强。A-EMP-K的平均Zeta电位为 (-22.8 ± 2.67) mV,其绝对值相较于EMP-K的更高,结合仪器的数据报告可知,其电位测定结果良好,溶液体系



(c) 5 000× (d) 10 000×

图7 A-EMP-K的扫描电镜图

Figure 7 SEM images of A-EMP-K

比较稳定。此外,A-EMP-K的多分散系数(PDI)为1,而EMP-K的PDI值为 0.749 ± 0.201 ^[14],对比二者发现两种体

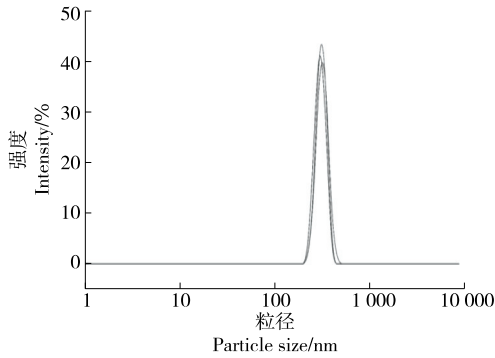


图 8 A-EMP-K 的粒径分布图
Figure 8 Particle size distribution of A-EMP-K

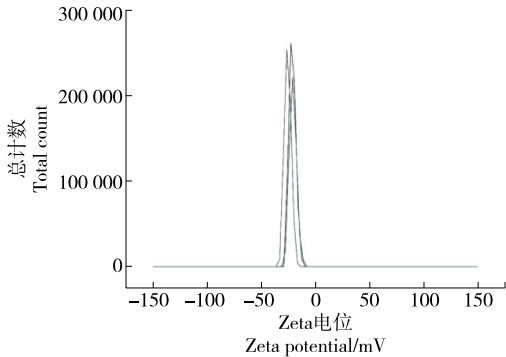


图 9 A-EMP-K 的 Zeta 电位
Figure 9 Zeta potentials of A-EMP-K

表 5 A-EMP-K 的粒径与 Zeta 电位

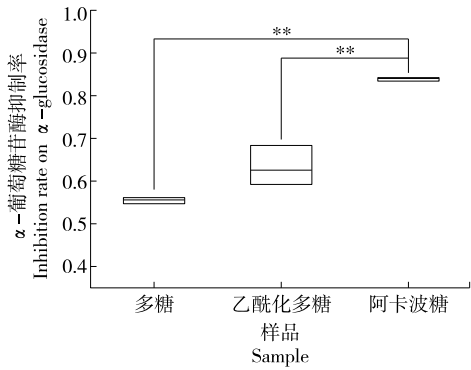
Table 5 Particle sizes and Zeta potentials of A-EMP-K

试验号	粒径/nm	Zeta 电位/mV
1	1 566	-21.6
2	1 532	-25.9
3	1 579	-21.0
平均值	1 559	-22.8

系中颗粒分布均比较宽($PDI>0.5$),且 A-EMP-K 存在一定程度的分子聚集。一般来讲,多糖分子之间存在不同规律的聚集行为,对于其相对分子质量分布、电位表征等方面的分析,需要考虑分子间的布朗运动、分子碰撞及官能团相互作用等因素^[33]

2.5 乙酰化修饰对 EMP-K 体外降糖活性的影响

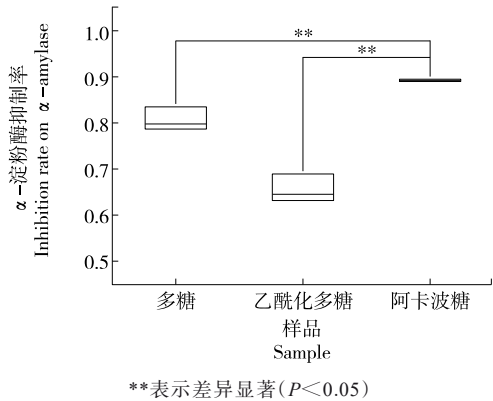
测定不同质量浓度(1~6 mg/mL)的多糖、乙酰化多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用,通过拟合函数得到二者的半抑制质量浓度(IC_{50})分别为(3.09 ± 0.23), (2.87 ± 0.15) mg/mL。基于此,测定适宜质量浓度(3.5 mg/mL)的不同样品和阿卡波糖(3.5 mg/mL)对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用如图 10 所示。由图 10 可知,EMP-K、A-EMP-K 和阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制率分别为($55.37\pm$



**表示差异显著($P<0.05$)
图 10 EMP-K 乙酰化前后对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用
Figure 10 Inhibition of EMP-K against α -glucosidase before and after acetylation

0.74)%, (63.80 ± 4.58)%, (83.78 ± 0.39)%,多糖组与阳性组比较具有显著性差异($P<0.01$),类似地,乙酰化多糖组与阳性组比较具有显著性差异($P<0.01$)。EMP-K 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用弱于 A-EMP-K,说明多糖对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用可以通过乙酰化修饰提高,这可能是乙酰化修饰改变了多糖性质,从而影响了其抑制作用,后期需要明晰 A-EMP-K 的精细结构及其对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制机理^[34]。

测定不同质量浓度(1~6 mg/mL)的多糖、乙酰化多糖对 α -淀粉酶的抑制作用,通过拟合函数得到二者的 IC_{50} 分别为(3.17 ± 0.31), (3.25 ± 0.19) mg/mL。基于此,测定适宜质量浓度(3.5 mg/mL)的不同样品和阿卡波糖(3.5 mg/mL)对 α -淀粉酶抑制作用,结果如图 11 所示,EMP-K、A-EMP-K 和阿卡波糖对 α -淀粉酶抑制率分别为(81.18 ± 2.48)%, (66.25 ± 2.87)%, (89.34 ± 0.18)%,多糖组与阳性组比较具有显著性差异($P<0.01$),类似地,乙酰化多糖组与阳性组比较具有显著性差异($P<0.01$)。



**表示差异显著($P<0.05$)
图 11 EMP-K 乙酰化前后对 α -淀粉酶的抑制作用
Figure 11 Inhibition of EMP-K against α -amylase before and after acetylation

EMP-K对 α -淀粉酶的抑制作用高于A-EMP-K的,可能是EMP-K的结构中发生乙酰化部位与 α -淀粉酶抑制活性密切相关,此外,结合大分子集合物的构效关系相关理论可推测,主链结构的改变导致多糖高级结构改变,进而影响其对 α -淀粉酶的抑制活性^[34]。

3 结论

以大果沙枣为原料,通过水提醇沉法提取沙枣多糖样品,其总糖含量为 $(89.95 \pm 1.03)\%$ 。采用乙酸酐为酰化试剂,对大果沙枣进行乙酰化改性修饰试验,通过响应面法得到优化条件为反应时间3 h、反应温度61℃、乙酸酐添加量9.3 mL,此时乙酰化大果沙枣多糖取代度为0.326。通过红外光谱、粒径与Zeta电位等表征证实乙酰化大果沙枣多糖修饰成功;乙酰化大果沙枣多糖的化学构象与分子密度发生变化,可归因于乙酰化改性修饰中乙酰基及其取代度的引入对多糖的相对分子质量、单糖组成、结构形态产生影响,进而可改善多糖的体外降血糖作用。以阿卡波糖为对照品测定体外降糖活性,乙酰化大果沙枣多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用为优于大果沙枣多糖;大果沙枣多糖对 α -淀粉酶的抑制作用为优于乙酰化多糖。综上,大果沙枣中提取分离得到的多糖组分及乙酰化改性修饰后的多糖在降糖活性方面均具有较优的表现。后续可进一步通过动物试验和构效关系研究,深入揭示其体内作用机制及结构活性关系。

参考文献

- [1] 努尔墩·麦提尼亚孜, 买尔旦·马合木提, 古丽仙·胡加. 新疆不同区域沙枣中总糖、多糖与鞣质的含量比较研究[J]. 新疆医科大学学报, 2009, 32(7): 971-973.
Nuerdun M, Maierdan M, Gulixian H. Comparison study on the contents of total sugar, polysaccharides and tannins in *Elaeagnus angustifolia* from different area of Xinjiang[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2009, 32(7): 971-973.
- [2] Abizov E A, Tolkachev O N, Mal'tsev S D. Composition of biologically active substances isolated from the fruits of Russian olive (*Elaeagnus angustifolia*) introduced in the European part of Russia[J]. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2008, 42(12): 696-698.
- [3] 于玮玮, 阎国荣. 沙枣的资源及研究现状[J]. 天津农学院学报, 2009, 16(2): 46-50.
Yu W W, Yan G R. Resources and research situation of *Elaeagnus spp*[J]. Journal of Tianjin Agricultural University, 2009, 16(2): 46-50.
- [4] Liwo A, Baranowski M, Czaplowski C, et al. A unified coarse-grained model of biological macromolecules based on mean-field multipole-multipole interactions[J]. Journal of Molecular Modeling, 2014, 20(8): 2 306.
- [5] Li G Q, Chen P F, Zhao Y T, et al. Isolation, structural characterization and anti-oxidant activity of a novel polysaccharide from garlic bolt[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 267: 118194.
- [6] 谢冰宗, 李密, 董彩文, 等. 黄精皂苷与多糖超声辅助提取工艺优化及降血糖活性研究[J]. 食品与机械, 2024, 40(1): 158-166, 196.
Xie B J, Li M, Dong C W, et al. Study on the technology of ultrasonic assisted combined extraction of saponins and polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* and its hypoglycemic activity[J]. Food & Machinery, 2024, 40(1): 158-166, 196.
- [7] 张馨心, 王福玲. 红花多糖纯化工艺及体外抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(3): 171-176.
Zhang X X, Wang F L. Purification process and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharides from safflower[J]. Food & Machinery, 2025, 41(3): 171-176.
- [8] 贾红倩, 刘崑, 颜军, 等. 杏鲍菇多糖的分离纯化、乙酰化修饰及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2018, 39(3): 39-44.
Jia H Q, Liu W, Yan J, et al. Isolation and purification, acetylation modification and antioxidant activity of polysaccharides of *Pleurotus eryngii* quel[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(3): 39-44.
- [9] Li H Y, Wang Y P, Zhao P, et al. Naturally and chemically acetylated polysaccharides: structural characteristics, synthesis, activities, and applications in the delivery system: a review[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 313: 120746.
- [10] 李爽, 赵宏, 王宇亮, 等. 蒲公英多糖乙酰化修饰、体外抗氧化及抑菌作用研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 18-25.
Li S, Zhao H, Wang Y L, et al. Antioxidant and anti-bacteria effects of acetylated *Taraxacum mongolicum* polysaccharide [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(3): 18-25.
- [11] Guariguata L, Whiting D R, Hambleton I, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2014, 103 (2): 137-149.
- [12] Zhong Q W, Zhou T S, Qiu W H, et al. Characterization and hypoglycemic effects of sulfated polysaccharides derived from brown seaweed *Undaria pinnatifida*[J]. Food Chemistry, 2021, 341(Pt 1): 128148.
- [13] Xiu W Y, Wang X, Na Z G, et al. Ultrasound-assisted hydrogen peroxide-ascorbic acid method to degrade sweet corn cob polysaccharides can help treat type 2 diabetes via multiple pathways *in vivo*[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 101: 106683.
- [14] 陈璐, 孙妍, 高尚, 等. 大果沙枣多糖的理化性质及复合乳液体系构建研究[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(2): 210-217.
Chen L, Sun Y, Gao S, et al. Physicochemical properties and constructing composite emulsion system of polysaccharide from *Elaeagnus moorcroftii* Wall. [J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(2): 210-217.
- [15] Yu J H, Cao Y, He F, et al. Polysaccharides from *Artemisia*

- argyi leaves: environmentally friendly ultrasound-assisted extraction and antifatigue activities[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2024, 107: 106932.
- [16] Yang Q, Chang S L, Tian Y M, et al. Glucan polysaccharides isolated from *Lactarius hatsudake* Tanaka mushroom: Structural characterization and *in vitro* bioactivities[J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 337: 122171.
- [17] Yap P G, Gan C Y. Optimized extraction and characterization of ramie leaf polysaccharides using deep eutectic solvent and microwave: antioxidant, metal chelation, and UV protection properties[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 282(Pt 3): 136927.
- [18] 于瑞莹. 兴安杜鹃多糖的纯化修饰、结构表征及其抗氧化活性研究报告[D]. 延吉: 延边大学, 2022: 49-50.
- Yu R Y. Purification, modification, structural characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Rhododendron dauricum*[D]. Yanji: Yanbian University, 2022: 49-50.
- [19] Das A B, Singh G, Singh S. Effect of acetylation and dual modification on physico-chemical, rheological and morphological characteristics of sweet potato (*Ipomoea batatas*) starch[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(3): 725-732.
- [20] 刘婷婷, 赵文婷, 刘鸿铖, 等. 奇亚籽皮多糖对乳液聚集稳定性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 29-37.
- Liu T T, Zhao W T, Liu H C, et al. Effect of chia seed peel polysaccharide on aggregate stability of emulsions[J]. Food Science, 2020, 41(10): 29-37.
- [21] 冉静凤, 陈小爱, 易翠平, 等. 5 种香蕉果肉多酚的抗氧化活性和抑制 α -葡萄糖苷酶活性[J]. 食品与机械, 2023, 39(12): 153-161.
- Ran J F, Chen X A, Yi C P, et al. Antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory activity of five banana pulp polyphenols[J]. Food & Machinery, 2023, 39(12): 153-161.
- [22] 李岩, 刘娟, 宋晓凡, 等. β -淀粉酶提高青稞慢消化淀粉含量工艺优化[J]. 食品与机械, 2023, 39(10): 217-222.
- Li Y, Liu J, Sun X F, et al. Optimization the process of increasing the content of slowly digestible starch in highland barley by β -amylase[J]. Food & Machinery, 2023, 39(10): 217-222.
- [23] 刘宁, 任歌, 贺人杰, 等. 枸杞渣多糖的乙酰化修饰及其表征[J]. 陕西科技大学学报, 2021, 39(5): 39-43.
- Liu N, Ren G, He R J, et al. Acetylated modification of *Lycium barbarum* residue polysaccharide and its characterization[J]. Journal of Shaanxi University of Science & Technology, 2021, 39(5): 39-43.
- [24] 蔡婉静, 刘少伟, 李苒, 等. 乙酰化降解海带多糖的抗氧化、吸湿/保湿性能探究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(10): 109-114.
- Cai W J, Liu S W, Li R, et al. Antioxidant and absorption/retention activities of the acetylated degraded *Laminaria japonica* polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(10): 109-114.
- [25] 吴均, 杨碧文, 赵珮, 等. 桑叶多糖提取工艺优化及体外抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2024, 40(12): 170-177.
- Wu J, Yang B W, Zhao P, et al. Optimization of extraction process of polysaccharides from mulberry leaves and determination of the antioxidant activity *in vitro*[J]. Food & Machinery, 2024, 40(12): 170-177.
- [26] Wang L, Zhang B, Xiao J, et al. Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit[J]. Food Chemistry, 2018, 249: 127-135.
- [27] Liu W, Liu Y M, Zhu R, et al. Structure characterization, chemical and enzymatic degradation, and chain conformation of an acidic polysaccharide from *Lycium barbarum* L. [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 147: 114-124.
- [28] Xu Y Q, Niu X J, Liu N Y, et al. Characterization, antioxidant and hypoglycemic activities of degraded polysaccharides from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) fruits[J]. Food Chemistry, 2018, 243: 26-35.
- [29] 徐雅琴, 付雪婷, 王丽波, 等. 乙酰化修饰对黑穗醋栗果实多糖结构特性及活性的影响[J]. 精细化工, 2019, 36(12): 2 467-2 475.
- Xu Y Q, Fu X T, Wang L B, et al. Effects of acetylation modification on structural characteristics and bioactivities of polysaccharides from black currant[J]. Fine Chemicals, 2019, 36(12): 2 467-2 475.
- [30] Xu Y, Wu Y J, Sun P L, et al. Chemically modified polysaccharides: synthesis, characterization, structure activity relationships of action[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 970-977.
- [31] Mi S C, Yan W, Wei L G, et al. Structural characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide from Imperatae Rhizoma[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 308(Pt 4): 142654.
- [32] 秦利鸿, 曹建波, 易伟松. 绿茶多糖的扫描电镜制样新方法及其原子力显微镜观察[J]. 电子显微学报, 2009, 28(2): 162-167.
- Qin L H, Cao J B, Yi W S. A new method for scanning electron microscope samples of polysaccharides distilled from green tea and the observation of ultrafine structure of them with atomic force microscope[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2009, 28(2): 162-167.
- [33] Shi Z Y, Chen Z J, Meng Z. Study on oil body emulsion gels stabilized by composited polysaccharides through microgel particles compaction and natural gelation[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 135: 108146.
- [34] Kou R B, Zuo G L, Liu J F, et al. Structural properties and hypoglycaemic activity of polysaccharides extracted from the fruits of *Lycium barbarum* L. using various extraction media [J]. Industrial Crops and Products, 2022, 188: 115725.