

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.60011

枸杞低聚糖体外抗氧化活性及增殖益生菌能力研究

Study on antioxidant activity and probiotic proliferation of *Lycium barbarum* oligosaccharides *in vitro*

刘 昊^{1,2} 崔 波^{1,2} 于 滨^{1,2}LIU Hao^{1,2} CUI Bo^{1,2} YU Bin^{1,2}

(1. 齐鲁工业大学[山东省科学院]生物基材料与绿色造纸国家重点实验室, 山东 济南 250353;

2. 齐鲁工业大学[山东省科学院]食品科学与工程学院, 山东 济南 250353)

(1. State Key Laboratory of Biobased Material and Green Papermaking, Qilu University of Technology, Shandong Academy of Sciences, Jinan, Shandong 250353, China; 2. School of Food Science and Engineering, Qilu University of Technology, Shandong Academy of Sciences, Jinan, Shandong 250353, China)

摘要:目的:提高黄河三角洲盐碱地枸杞的开发和利用效率。方法:采用紫外分光光度计分别测定了枸杞低聚糖对自由基的清除作用,以及对青春双歧杆菌的生长曲线和 pH 值的影响,评估其抗氧化性能和增殖益生菌的能力。结果:当枸杞低聚糖的质量浓度达到 2.0 mg/mL 时,对 DPPH 自由基、ABTS 自由基和羟基自由基的清除率分别达到 $(65.32 \pm 0.03)\%$, $(99.93 \pm 0.05)\%$, $(21.86 \pm 0.01)\%$;当质量浓度为 0.1~0.5 mg/mL 时,枸杞低聚糖表现出较好的总还原力;青春双歧杆菌的 OD 值随着枸杞低聚糖浓度的增加而增高,而 pH 值与菌体浓度呈负相关。结论:枸杞低聚糖有较强的抗氧化活性,且有增殖益生菌的能力。

关键词:枸杞低聚糖;体外;抗氧化;益生菌增殖

Abstract: Objective: To improve the development and utilization rate of *Lycium barbarum* in the saline-alkali land of the Yellow River Delta. **Methods:** Ultraviolet spectrophotometer was used to determine the scavenging effect of *Lycium barbarum* oligosaccharide on free radicals and its effect on the growth curve and pH value of *Bifidobacterium adolescentis*, so as to determine its antioxidant performance and the ability to proliferate probiotics. **Results:** The concentration of *Lycium barbarum* oligosaccharide reached 2.0 mg/mL, the maximum scavenging rates of DPPH ·, ABTS⁺ and hydroxyl radical reached $(65.32 \pm 0.03)\%$, $(99.93 \pm$

$0.05)\%$ and $(21.86 \pm 0.01)\%$, respectively, when the concentration was between 0.1~0.5 mg/mL, it showed good total reducing power. The OD value of *Bifidobacterium adolescentis* increased with the increase of *Lycium barbarum* oligosaccharide concentration, and the pH value was negatively correlated with the cell concentration. **Conclusion:** *Lycium barbarum* oligosaccharides show strong antioxidant activity and the ability to proliferate probiotics.

Keywords: *Lycium barbarum* oligosaccharides; *in vitro*; antioxidant; proliferation of probiotics

作为中国传统的“药食同源”植物,枸杞中含有丰富的活性物质^[1],其中枸杞多糖具有增强免疫力^[2]、抗氧化^[3]、平衡肠道菌群^[4-5]等生物功能,可有效预防糖尿病等慢性代谢疾病的发生^[6-7]。有学者^[8-10]指出,植物多糖所表现出的生理活性与其结构和空间构象密切相关。枸杞多糖分子结构复杂、水溶性差,从而导致其在食品、农业和医药等领域的应用受到限制。但枸杞多糖降解后得到的低聚糖不仅分子量小、水溶性强,还具有刺激肠道中某些有益菌生长的生理功能^[11]。Zhang 等^[12]研究了枸杞多糖—蛋白质复合物的聚糖部分的体外免疫性能,发现该部分对脾细胞、T 细胞、B 细胞和巨噬细胞有免疫刺激作用。Jiang 等^[13]使用 H₂O₂ 水解制备了枸杞低聚糖,在 100 mg/mL 的质量浓度下枸杞低聚糖对羟基自由基清除活性达 86.46%。

黄河三角洲区域内有大面积中低产盐碱地,生长在此区域盐碱地的枸杞整体表现出较强的抗盐性,如宁夏枸杞和黑果枸杞均为高抗品种^[14]。耐盐碱枸杞不仅在盐碱地治理方面表现良好^[15],还具有独特的药理活性^[16],因此具有很大的研究价值。目前,利用多糖降解的方法制备耐盐

基金项目:国家重点研究开发项目(编号:2019YFD1002704);山东省重点研发计划(重大科技创新工程)(编号:2019JZZY010722);泰山学者工程专项基金(编号:ts201712060)

作者简介:刘昊,女,齐鲁工业大学在读硕士研究生。

通信作者:崔波(1971—),男,齐鲁工业大学教授,博士。

E-mail: cuiabbr@163.com

收稿日期:2021-12-26

碱枸杞低聚糖,研究其生理活性尚未见于报道。

研究拟以黄河三角洲盐碱地的枸杞作为研究对象,通过酸和酶联合降解法制备枸杞低聚糖,分别测定其DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟基自由基的清除能力和对肠道益生菌的增殖能力,从而评估低聚糖的体外抗氧化活性和维持肠道菌群平衡的能力,旨在实现黄河三角洲盐碱地枸杞的高效利用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

枸杞:采摘于黄河三角洲盐碱地;

枸杞低聚糖(LBO)、枸杞多糖(LBP):齐鲁工业大学生物材料与绿色造纸国家重点实验室;

抗坏血酸(V_C):上海源叶生物科技有限公司;

2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)、2,2-二氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)铵盐($ABTS^+$)、三氟乙酸(TFA)、石油醚:上海麦克林生化科技有限公司;

氯仿、正丁醇、碳酸钠(Na_2CO_3)、水杨酸、过硫酸钾($K_2S_2O_8$)、硫酸亚铁($FeSO_4$)、过氧化氢(H_2O_2)、铁氰化钾($K_3[Fe(CN)_6]$)、无水乙醇、95%乙醇、磷酸盐缓冲液(PBS)、三氯乙酸(TCA)、三氯化铁($FeCl_3$)、生理盐水:国药集团化学试剂有限公司;

Tris-盐酸缓冲液:Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司;

硫酸(H_2SO_4):烟台远东精细化工有限公司;

链霉菌蛋白酶(Pronase E):北京索莱宝科技有限公司;

青春双歧杆菌(*Bifidobacterium adolescentis* CGMCC.1.2190)、培养基 CM0233:中国共同微生物收集与管理中心;

所有溶剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

分析天平:FA2004 型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

小型粉碎机:FSJ-A05N6 型,广东小熊电器有限公司;

离心机:TDL-40B 型,上海安亭科学仪器厂;

旋转蒸发器:RE2000A 型,上海贤德实验仪器有限公司;

集热式恒温加热磁力搅拌器:DF-101S 型,郑州科泰实验设备有限公司;

电热恒温水浴锅:HH-21-8 型,常州诺基仪器有限公司;

真空冷冻干燥机:JXDG-10 型,上海净信实业发展有限公司;

涡旋振荡器:MixTable 型,合肥艾本森科学仪器有限公司;

厌氧培养箱:LAI-3T 型,上海龙跃仪器设备有限公司;

pH 计:FE28 型,梅特勒—托力多仪器(上海)有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-6100 型,上海元析仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 枸杞多糖的制备 参照 Ding 等^[17]的方法并稍作修改。枸杞洗净后烘干,用粉碎机粉碎,过筛备用。定量称取枸杞粉,经石油醚加热回流重复脱脂 3 次,烘干,按料液比($m_{\text{枸杞粉}}:V_{\text{蒸馏水}}$)为 1:3 的比例混匀后置于 90 °C 水浴提取 2 h,过滤,取上清液,以 3 000 r/min 离心 2 次,合并上清液。采用旋转蒸发器真空浓缩至 1/4 体积,冷却至室温。加入 1/5 体积 Sevag 试剂($V_{\text{氯仿}}:V_{\text{正丁醇}}=4:1$),剧烈振摇,使其充分混匀,3 000 r/min 离心,倾出上清液,除去中间变性蛋白和下层氯仿,重复以上操作直至中间层无变性蛋白,收集上清液加入 4 倍体积的 95%乙醇沉淀,静置 24 h,滤布过滤,冷冻干燥后得到枸杞多糖(LBP)。

1.3.2 枸杞低聚糖的制备 参照 Zhang 等^[12]的方法并稍作修改。定量称取 LBP、Pronase E ($m_{\text{LBP}}:m_{\text{Pronase E}}=1:2$),加入 0.1 mol/L 的 Tris-盐酸缓冲液混合均匀,将混合液置于 60 °C 水浴体系中以灭活可能存在的酶。根据原始 LBO 样品的重量,依次向样品体系液中加入 1.0% 和 0.5% (质量分数)的 Pronase E,体系 pH 调至 8.0 左右,室温下消化 24~48 h。消化结束后对所得样品体系依次进行 Sephadex G-100 纯化和 Sephadex G-25 除盐,取部分样品加入 40 mmol/L H_2SO_4 ,80 °C 搅拌反应,10 h 后取样,滴加 0.25 mol/L Na_2CO_3 溶液对反应进行中和,然后用蒸馏水透析 72 h,收集袋内浓缩液,加入 0.5 mol/L TFA,80 °C 反应 4 h,蒸馏水浓缩数次,直至浓缩液 pH 为中性,冷冻干燥后得到枸杞低聚糖(LBO)。

1.3.3 DPPH 自由基清除能力测定 参考文献^[18]并稍作修改,定量称取 LBO,分别配制成质量浓度为 0.1,0.2,0.3,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 mg/mL 的待测溶液,每次测定均取 LBO 溶液 2 mL,加入同等体积的 0.08 mmol/L DPPH 溶液,充分振荡,避光于室温下反应 30 min,反应结束后测定 517 nm 处的吸光度。用无水乙醇设置空白对照。按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$P = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

P ——自由基清除率,%;

A_0 ——空白溶液的吸光度;

A_1 ——样品溶液的吸光度。

1.3.4 ABTS 自由基清除能力测定 参考文献^[19]并稍作修改。按照 1.3.2 中的方法配制 LBO 样品待测液。ABTS⁺ 工作液配制方法:等体积混合现配制的

7.4 mmol/L ABTS⁺ 溶液及 2.6 mmol/L K₂S₂O₈ 溶液,置于 2~6 °C 下避光 12 h 后备用。每次试验开始前,用 0.2 mol/L, pH=7.4 的 PBS 溶液对 ABTS⁺ 工作液进行稀释处理,将 734 nm 吸光度控制在 (0.70±0.02) 方可使用。取 LBO 溶液 1 mL,加入 2 倍体积的 ABTS⁺ 工作液,充分振荡,避光于室温下反应 6 min,反应结束后测定 734 nm 处的吸光度。用蒸馏水设置空白对照。按式(1)计算 ABTS 自由基清除率。

1.3.5 羟基自由基清除能力测定 参照文献[20]并稍作修改。按照 1.3.2 中的方法配制 LBO 样品待测液,分别取 LBO 待测溶液 1 mL,先后加入同等体积的 9 mmol/L FeSO₄ 溶液、9 mmol/L 的水杨酸—乙醇溶液和 8.8 mmol/L 的 H₂O₂ 溶液,充分振荡,避光于室温下水浴 30 min,反应结束后测定 510 nm 处的吸光度。用蒸馏水设置空白对照。按式(1)计算羟基自由基清除率。

1.3.6 总还原能力测定 参照文献[21]并稍作修改。按照 1.3.2 中的方法配制 LBO 样品待测液,分别取不同浓度的 LBO 溶液 1 mL,先后加入 1 mL 0.2 mol/L PBS 缓冲液 (pH 6.6) 和 0.125 mL 体积分数为 1% 的 K₃[Fe(CN)₆] 溶液,充分震荡,避光于 50 °C 下水浴 20 min 后,先后加入体积分数为 10% 的 TCA 和 0.1% 的 FeCl₃ 溶液以终止反应,充分振荡,测定 700 nm 处的吸光度。用蒸馏水设置空白对照。

1.3.7 对益生菌的增殖效应

(1) 菌种的活化:试验在无菌环境下进行,定量称取少量青春双歧杆菌制剂胶囊中的冻干菌粉,加入无菌生理盐水,重悬菌体。以 0.1% 的接菌量接种于 10 mL 活化培养基中,振荡均匀,37 °C 厌氧环境下培养,进行 2 次传代,重悬菌体并进行接种,18 h 后得菌种母液。

(2) 生长曲线的测定:参照文献[22]并稍作修改。以相同质量浓度的 LBO 代替基础培养基中的葡萄糖作为试验培养基,113 °C 湿热灭菌 20 min,取菌种母液以 0.1% 的接菌量接种于试验培养基中。37 °C 厌氧培养 48 h,分别在第 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 20, 24, 48 h 时取样,测定 600 nm 处的菌体浓度和 pH 值。同时以 LBP 代替相同体积的葡萄糖作为对照组以培养时间和对应的 OD_{600 nm} 吸光度绘得生长曲线。

1.4 数据统计分析

所有试验均重复 3 次,数据以平均值±标准误差表示。数据采用 Excel 2010 进行统计分析,SPSS 20.0 软件进行处理,并用 Origin Pro 8.5 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 DPPH 自由基清除能力

DPPH 自由基是一种含有单一电子的含氮有机自由基,它会使乙醇溶液呈现较深的暗紫色,在 517 nm 波长

处表现出明显的吸收峰^[23]。抗氧化剂的加入能够与 DPPH 自由基相结合,溶液的颜色则会由最初的紫色向黄色发生明显的变化,抗氧化剂的 DPPH 自由基清除能力可以通过紫外光吸收的弱化程度来判定,通常 DPPH 自由基清除率与氧化剂的抗氧化能力呈正比。由图 1 可知,LBO 有一定的 DPPH 自由基清除能力,LBO 的抗氧化能力随 LBO 浓度先升高后下降。就平均抗氧化能力而言,LBO 抗氧化水平不及 LBP 和 V_c。综上,过高浓度的 LBO 不易向 DPPH 自由基提供电子或者质子,与 DPPH 自由基的结合率降低。

2.2 ABTS 自由基清除能力

ABTS⁺ 溶剂本身呈现蓝绿色,在 734 nm 处有明显的吸收峰。抗氧化剂的加入会使 ABTS⁺ 在此波长处的吸光度降低,同时,溶剂的蓝绿色会明显褪去,褪色程度越高,则表示氧化剂的抗氧化性越强^[24]。由图 2 可知,在 0.1~1.0 mg/mL 质量浓度范围内,ABTS 自由基清除率随着 LBO 质量浓度增加而升高,当 LBO 的质量浓度为 2.0 mg/mL 时,ABTS 自由基清除率最高,达 (99.93±0.05)%,此后 ABTS 自由基清除率维持在最高值左右。LBP 的 ABTS 自由基清除率达到最高值后随着 LBP 质

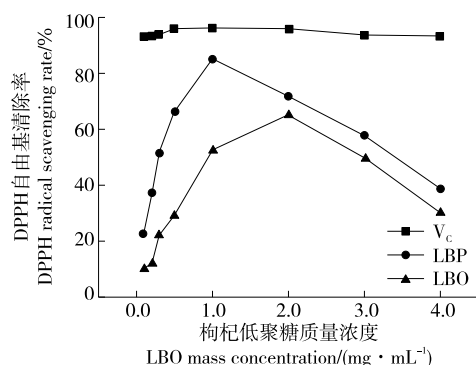


图 1 不同质量浓度 LBO 的 DPPH 自由基清除能力
Figure 1 DPPH radical scavenging ability of LBO with different mass concentrations

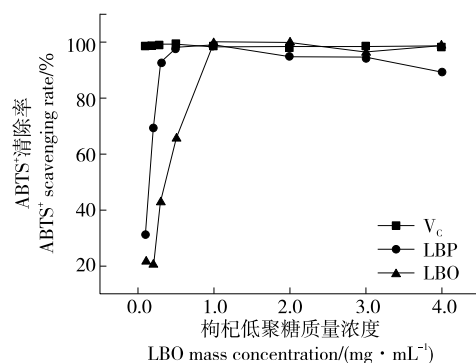


图 2 不同质量浓度 LBO 的 ABTS 自由基清除能力
Figure 2 ABTS⁺ scavenging capacity of LBO with different mass concentrations

量浓度的增加而略微下降,这一现象可能与多糖分子量大小和聚合度相关,LBO 表现出比 LBP 更稳定的抗氧化性。

2.3 清除羟基自由基的能力

羟基自由基是人体中自由基的主要来源,由多态性反应产生。过量的羟基自由基会对体内的生物大分子造成损害^[25]。清除羟基自由基是抗氧化防护过程中极其重要的一环。由图 3 可知,LBO 有显著的羟基自由基清除能力,随着 LBO 质量浓度的升高其清除羟基自由基的能力增强,当质量浓度为 2 mg/mL 时,LBO 和 LBP 的羟基自由基清除率均达到最高值,但低于 V_c 对羟基自由基的清除率。这 3 种物质抗氧化性的大小顺序为: $V_c > LBO > LBP$ 。

2.4 总还原能力

抗氧化剂的总还原能力是衡量机体抗氧化性能的一项重要指标。 $K_3Fe(CN)_6$ 能够被抗氧化剂还原成 $K_4Fe(CN)_6$,使之与 Fe^{3+} 发生反应得到普鲁士蓝,并在 700 nm 处出现了强吸收峰,通过吸光度可以测定出 Fe^{3+} 被还原成 Fe^{2+} 的程度,从而根据最终产物生成量来判断抗氧化剂的抗氧化能力^[26]。由图 4 可知, V_c 的总还原能力与其质量浓度呈正相关,与 V_c 还原力相比,LBO 与 LBP 整体的总还原力较低,最大总还原力基本达到 V_c 的

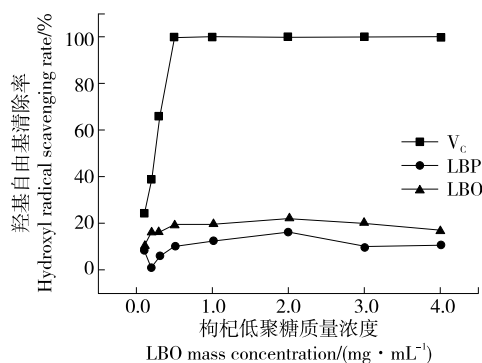


图 3 不同质量浓度 LBO 的羟基自由基清除能力

Figure 3 Hydroxyl radical scavenging ability of LBO with different mass concentrations

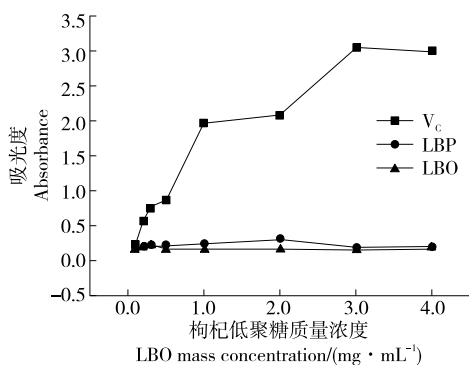


图 4 LBO 的总还原力评价

Figure 4 Evaluation of total reducing activity of LBO

25%。当 LBO 的质量浓度为 0.1~0.5 mg/mL 时,总还原力随其浓度的增加而上升,继续增加质量浓度还原力不再升高。当样品质量浓度为 3.0 mg/mL 时,LBO 与 LBP 的总还原力相当,吸光度为 (0.191 ± 0.010) 。

2.5 LBO 对益生菌的增殖效应

由图 5 可知,在相同的质量浓度下,LBO 比 LBP 更有利于青春双歧杆菌的增殖。双歧杆菌经 LBO 培养 6 h 后进入对数生长期,在此期间双歧杆菌迅速繁殖。而葡萄糖培养基中双歧杆菌停滞期较长,培养 10 h 后才进入对数生长期。培养 18 h 后,葡萄糖培养基的双歧杆菌生长达到稳定期,6 h 后 LBO 培养基的菌体也进入稳定期。此后菌体进入衰亡期,菌体浓度不再变化。结果表明,LBO 培养基的双歧杆菌进入对数期速率比 LBP 和葡萄糖培养基中的双歧杆菌快,并且最终 LBO 培养基的菌体浓度比 LBP 培养基的高。LBP 与空白的培养基相比,双歧杆菌的生长速率更高,传代时间更短。此外,由图 6 可知,除空白组外,其他 3 组菌液 pH 值均呈显著下降趋势,且随着双歧杆菌菌体浓度的提高,pH 值不断降低,在培养 16 h 后 pH 值趋于稳定。培养 2 h 后,LBO 与葡萄糖培养基菌液的 pH 值下降速度最快,可能是由于双歧杆菌在 LBO 培养基中进行增殖代谢,产生了短链脂肪酸,在

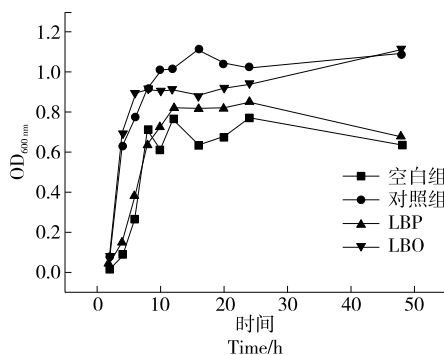


图 5 青春双歧杆菌生长曲线

Figure 5 Growth curve of *Bifidobacterium adolescentis*

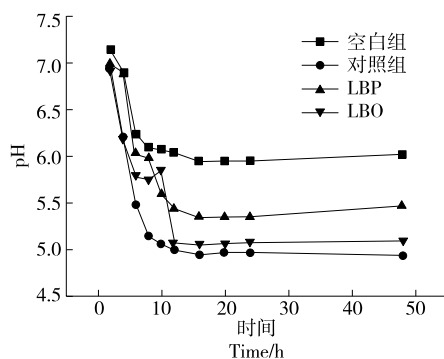


图 6 青春双歧杆菌生长过程中 pH 的变化

Figure 6 Changes of pH during the growth of *Bifidobacterium adolescentis*

这一时期内产酸量要高于以 LBP 和无碳源的基础培养基,这与 OD 值相对应,表明 LBO 可促进双歧杆菌较快进入对数生长期,表现出较好的增殖效应。

3 结论

研究表明枸杞低聚糖有较强的 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟基自由基清除能力和总还原力,由此可知枸杞低聚糖具有良好的体外抗氧化活性。同时,以青春双歧杆菌益生菌作为考察对象,发现枸杞低聚糖能促进青春双歧杆菌益生菌增殖。基于上述研究结果,从饮食营养干预的角度考虑,枸杞低聚糖有助于提高机体的抗氧化和抗炎能力,这为其发展成为功能性食品提供了重要的理论依据,有助于研究者更好地发掘黄河三角洲盐碱地枸杞的利用价值和经济效益。后续可进一步通过动物试验探究枸杞低聚糖对机体内部的作用机理及干预路径。

参考文献

- [1] JIN M, HUANG Q, ZHAO K, et al. Biological activities and potential health benefit effects of polysaccharides isolated from *Lycium barbarum* L.[J]. International Journal Biological Macromolecules, 2013, 54: 16-23.
- [2] GAN L, ZHANG S H. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on anti-tumor activity and immune function[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2003, 25: 200-202.
- [3] CHENG J, ZHOU Z W, SHENG H P, et al. An evidence-based update on the pharmacological activities and possible molecular targets of *Lycium barbarum* polysaccharides[J]. Drug Design Development and Therapy, 2015, 9: 33-78.
- [4] ZHOU F, JIANG X, WANG T, et al. *Lycium barbarum* Polysaccharide (LBP): A novel prebiotics candidate for *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1034.
- [5] YANG Y, CHANG Y, WU Y, et al. A homogeneous polysaccharide from *Lycium barbarum*: Structural characterizations, anti-obesity effects and impacts on gut microbiota[J]. International Journal Biological Macromolecules, 2021, 183: 2 074-2 087.
- [6] CAI H Z, LIU F K, ZUO P G, et al. Practical application of antidiabetic efficacy of *Lycium barbarum* polysaccharide in patients with type 2 diabetes[J]. Medicinal Chemistry, 2015, 11: 383-390.
- [7] YANG Y, LI W, LI Y, et al. Dietary *Lycium barbarum* polysaccharide induces Nrf2/ARE pathway and ameliorates insulin resistance induced by high-fat via activation of PI3K/AKT signaling[J]. Oxidative Medicine and Cell Longevity, 2014, 2 014: 145641.
- [8] ZHOU L S, LIAO W F, Chen X, et al. An arabinogalactan from fruits of *Lycium barbarum* L. inhibits production and aggregation of A β 42[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 195: 643-651.
- [9] CAO C, ZHU B W, LIU Z Q, et al. An arabinogalactan from *Lycium barbarum* attenuates DSS-induced chronic colitis in C57BL/6J mice associated with the modulation of intestinal barrier function and gut microbiota[J]. Food & Function, 2021, 12(20): 9 829-9 843.
- [10] MOURA F A D, MACAGNAN F T, SILVA L P D, et al. Oligosaccharide production by hydrolysis of polysaccharides: A review[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2015, 50(2): 275-281.
- [11] 王辉. 益生元应用研究进展[J]. 食品安全导刊, 2016(3): 87-88. WANG Hui. Research progress of prebiotic application[J]. Food Safety Guide, 2016(3): 87-88.
- [12] ZHANG X R, ZHOU W X, ZHANG Y X, et al. Macrophages, rather than T and B cells are principal immunostimulatory target cells of *Lycium barbarum* L. polysaccharide LBPF4-OL[J]. J Ethnopharmacology, 2011, 136(3): 465-472.
- [13] JIANG L F. Preparation and antioxidant activity of *Lycium barbarum* oligosaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 99: 646-648.
- [14] 许盼盼. 枸杞抗盐种质资源筛选与抗盐基因的克隆鉴定[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2018: 12-14. XU Pan-pan. Screening of *Lycium* salt-resistant germplasm resources and identification of salt-resistant genes[D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2018: 12-14.
- [15] WANG Y L, ZHAO C Y, MA Q L, et al. Carbon benefits of wolfberry plantation on secondary saline land in jingtai oasis, gansu - a case study on application of the CBP model[J]. Journal of Environmental Management, 2015, 157: 303-310.
- [16] 贾晓东, 任全进, 浦东, 等. 耐盐碱药赏两用植物的筛选和利用[J]. 江苏农业科学, 2010(6): 287-289. JIA Xiao-dong, REN Quan-jin, PU Dong, et al. Screening and utilization of salt and alkali tolerant plants[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2010(6): 287-289.
- [17] DING Y, CHEN D, YAN Y, et al. Effects of long-term consumption of polysaccharides from the fruit of *Lycium barbarum* on host's health[J]. Food Research International, 2021, 139: 109913.
- [18] 冯永侠. 枸杞多糖超声浸提浓缩与抗氧化活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2020: 22-28. FENG Yong-xia. Study on ultrasonic extraction and ultrasonic concentration and antioxidant activity of *Lycium barbarum* polysaccharide [D]. Tianjin: Tianjin University of science and technology, 2020: 22-28.
- [19] 曹叶霞, 王泽慧, 贺金凤, 等. 静乐黑枸杞多糖的提取及抗氧化性分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(14): 196-202. CAO Ye-xia, WANG Ze-hui, HE Jin-feng, et al. Extracting polysaccharide from *Lycium ruthenicum* of Jingle and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(14): 196-202.
- [20] SIDDHURAJU P, BECKER K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts[J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 10-19.

(下转第 148 页)

- (7 800): 586-591.
- [12] HURTADO R A, DEL T M, GARCIA L E, et al. Innovative technologies for the production of food ingredients with prebiotic potential: Modifications, applications, and validation methods [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 104: 117-131.
- [13] ZHANG A, LIU L, WANG M, et al. Bioactive ergosterol derivatives isolated from the fungus *Lactarius hatsudake* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2007, 43(5): 637-638.
- [14] ZHENG J, ZHANG T, FAN J, et al. Protective effects of a polysaccharide from *Boletus aereus* on S180 tumor-bearing mice and its structural characteristics [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 188: 1-10.
- [15] YANG X, LIN P, WANG J, et al. Purification, characterization and anti-atherosclerotic effects of the polysaccharides from the fruiting body of *Cordyceps militaris* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 181: 890-904.
- [16] EI K A, ARMOUGOM F, GORDON J I, et al. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota [J]. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11(7): 497-504.
- [17] GUO C, GUO D, FANG L, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide modulates gut microbiota and immune cell function to inhibit inflammation and tumorigenesis in colon [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 267: 118231.
- [18] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356.
- [19] 郭丰铭. 杏鲍菇蛋白质提取及其功能特性研究 [D]. 晋中: 山西农业大学, 2017: 6-7.
- GUO Feng-min. Research on extraction and the functional properties of *Pleurotus eryngii* protein [D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2017: 6-7.
- [20] SANG T, GUO C, GUO D, et al. Suppression of obesity and inflammation by polysaccharide from sporoderm-broken spore of *Ganoderma lucidum* via gut microbiota regulation [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 256: 117594.
- [21] 孟艳鸽, 李岩. 不同剂量长双歧杆菌对抗生素诱导大鼠肠道菌群失调的疗效观察 [J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(3): 280-283.
- MENG Yan-ge, LI Yan. The efficacy of different doses of *Bifidobacterium longum* on rat intestinal microbiota dysbiosis induced by antibiotic [J]. Chinese Journal of Microecology, 2015, 27(3): 280-283.
- [22] BAI J, REN Y, LI Y, et al. Physiological functionalities and mechanisms of β -glucans [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 88: 57-66.
- [23] WANG Y, ZHANG T, HUANG X, et al. Heteroglycans from the fruiting bodies of *Agrocybe cylindracea*: Fractionation, physicochemical properties and structural characterization [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 114: 106568.
- [24] WU J, XU Y, SU J, et al. Roles of gut microbiota and metabolites in a homogalacturonan-type pectic polysaccharide from *Ficus pumila* Linn. fruits mediated amelioration of obesity [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 248: 116780.
- [25] BELZER C, CHIA L W, AALVINK S, et al. Microbial metabolic networks at the mucus layer lead to diet-independent butyrate and vitamin B12 production by intestinal symbionts [J]. M Bio, 2017, 8(5): e00770-17.
- [26] YE M, YU J, SHI X, et al. Polysaccharides catabolism by the human gut bacterium *Bacteroides thetaiotaomicron*: Advances and Perspectives [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(21): 3 569-3 588.
- [27] WEN J, CAO P, YANG G, et al. Changes of the mice intestinal microbes by the oligosaccharides-enriched fermented milk in a gender-dependent pattern [J]. Food Research International, 2021, 140: 110047.
- (上接第 142 页)
- [21] 孙玉姣, 侯淑婷, 鱼喆喆, 等. 宁夏红果枸杞多糖提取及其体外抗氧化活性研究 [J]. 陕西科技大学学报, 2018, 36(5): 39-45.
- SUN Yu-jiao, HOU Shu-ting, YU Zhe-zhe, et al. Study on antioxidant activity of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. Journal of Shaanxi University of Science & Technology, 2018, 36(5): 39-45.
- [22] 卢旭. 莲子低聚糖对双歧杆菌增殖效应的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2012: 44-52.
- LU Qu. Study on the preparation and regulatory mechanisms of lotus seed oligosaccharides to probiotics and pathogens in the intestinal tract [D]. Fuzhou: Fujian agriculture and Forestry University, 2012: 44-52.
- [23] 陈林林, 吴春, 李伟. 菟丝子黄酮的抗氧化性能研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(11): 116-121.
- CHEN Lin-lin, WU Chun, LI Wei. Study on antioxidative activity of flavonoids from *semen cuscuteae* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(11): 116-121.
- [24] ZHANG W, ZHANG J, DING D, ZHANG L, et al. Synthesis and antioxidant properties of *Lycium barbarum* polysaccharides capped-selenium nanoparticles using tea extract [J]. Artificial Cells Nanomedicine & Biotechnology, 2017, 7: 1-8.
- [25] WANNES W A, MHAMDI B, SRITI J, et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower [J]. Food & Chemical Toxicology, 2010, 48(5): 1 362-1 370.
- [26] PENG Q, SONG J J, LU X P, et al. Structure characterization of an arabinogalactan-protein from the fruits of *Lycium ruthenicum* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(37): 9 424-9 429.