



李雅欣,罗敏,刘元福,等.低共熔溶剂提取川明参多糖工艺优化与结构表征[J].轻工学报,2026,41(1):47-58.
LI Y X, LUO M, LIU Y F, et al. Process optimization and structural characterization of *Chuanminshen violaceum* polysaccharides extracted by deep eutectic solvents[J]. Journal of Light Industry, 2026, 41(1): 47-58.
DOI: 10.12187/2026.01.005

低共熔溶剂提取川明参多糖工艺优化与结构表征

李雅欣¹,罗敏²,刘元福²,孙全娇¹,黄俊铭¹,文建霞¹,杜文雅¹,张良¹

1. 西华大学 食品与生物工程学院,四川 成都 610039;

2. 四川友联味业食品有限公司,四川 成都 610039

摘要:【目的】探索优化川明参多糖(*Chuanminshen violaceum* Polysaccharide,CVP)绿色高效提取技术,并推动其在功能性食品领域的开发利用。【方法】通过单因素试验和响应面试验,建立并优化利用低共熔溶剂(Deep Eutectic Solvent,DES)提取CVP的方法,再分别采用离子交换柱与凝胶柱分离纯化CVP,并结合离子色谱、高效凝胶渗透色谱、红外光谱及扫描电子显微镜对CVP结构进行表征。【结果】最佳提取条件为氯化胆碱-柠檬酸的DES体系(二者物质的量比为1:1,含水量30%)、液料比20:1、提取温度70℃、提取时间120 min,在此条件下,CVP提取率为(44.17±0.19)%,较传统方法提升了26%以上;纯化后获得相对分子质量单一、结构均一的CVP组分CVP-1-1和CVP-2-1,其中CVP-1-1由葡萄糖和半乳糖组成,总糖含量为(94.87±0.80)%,相对分子质量为9471 Da,CVP-2-1由葡萄糖、半乳糖和鼠李糖组成,总糖含量为(92.01±1.77)%,相对分子质量为18 159 Da;上述5种多糖均为含 α -糖苷键和 β -糖苷键的吡喃环多糖,其微观形态与相对分子质量及纯化工艺相关,纯化后多糖表面更加多孔、疏松,碎片化程度更高,且相对分子质量及破碎、聚集程度不同。【结论】将DES应用于CVP提取,提取率较传统提取法显著提升,且所得CVP相对分子质量较低,可能具有较高的抗氧化活性,可为CVP功能性食品开发提供参考。

关键词:川明参多糖;低共熔溶剂;提取工艺;结构表征

中图分类号:TS201.2 **文献标识码:** **文章编号:**2096-1553(2026)01-0047-12

0 引言

川明参(*Chuanminshen violaceum* M. L. Sheh & R. H. Shan)又名沙参、明沙参、土明参,为伞形科多年生草本植物,主产于四川金堂、阆中、苍溪、恩阳

等地^[1],其根入药,能润肺化痰、健脾养胃^[2]。川明参多糖(*Chuanminshen violaceum* Polysaccharide,CVP)是川明参的主要活性物质,具有抗氧化^[3]、降血糖^[4]、调节肠道菌群^[1]、调节免疫^[5]、抗突变^[6]等多重功效,是开发功能性食品的潜在原料^[7]。

收稿日期:2025-11-17; **修回日期:**2025-06-20; **出版日期:**2026-02-15

基金项目:四川省科技厅科技项目(2024YFHZ0130,25NYTX0011,25ZXY0012);成都市科技局项目(2025-YF05-00074-SN);四川省经信厅2025年第三批揭榜挂帅项目

作者简介:李雅欣(2000—),女,四川省广元市人,西华大学硕士研究生,主要研究方向为食品营养与安全。E-mail:915638998@qq.com

通信作者:张良(1982—),男,四川省成都市人,西华大学教授,博士,主要研究方向为食品生物技术。E-mail:zhang-liang@foxmail.com

目前,多糖的提取方法主要有水提法、酸提法、碱提法、酶提法、物理辅助提取法等^[8]。其中,水提法条件温和,可确保在操作过程中不会破坏多糖结构,且成本低、操作安全,但存在效率低、能耗高、耗时长等缺陷^[9-10]。酸提法耗时较短、工艺简单,但溶剂用量大,后续浓缩纯化较困难,并伴随环境污染风险^[11]。碱提法虽提取率较高,但易破坏多糖结构^[12]。酶提法效率较高,但成本也较高,且对反应条件要求苛刻。超声、微波等物理辅助提取法效率高、操作简便,但对设备要求高,工业化生产仍需完善。针对 CVP 的提取,已有研究多聚焦于热水或物理辅助提取。例如,赵兴洪^[13]采用正交试验优化热水浸提 CVP 工艺,提取率为 30.92%;董红敏^[14]研究发现,水提法、超声辅助提取法和微波辅助提取法对 CVP 的提取率分别为 30.45%、31.03% 和 34.59%;魏瑞霖^[1]通过超声波-微波协同法提取 CVP,提取率为 26.12%;林上^[15]以乙醇回流结合酶法提取 CVP,提取率仅为 5.41%。可见,不同提取方法对 CVP 提取率的影响显著,开发绿色、高效、结构友好的新型溶剂体系已成为 CVP 提取领域的重要研究方向。

低共熔溶剂 (Deep Eutectic Solvent, DES) 是一种新型绿色环保的提取介质,由氢键受体 (Hydrogen Bond Acceptors, HBA) 和氢键供体 (Hydrogen Bond Donor, HBD) 构成^[16]。相较于传统溶剂和离子液体,DES 具备无毒、廉价、易合成、高效率等优势^[17],在生物活性成分提取方面备受关注,已作为绿色经济溶剂广泛应用于食品、生物医药、化学等多个领域^[18]。DES 能形成稳定的氢键网络,可有效溶解蛋白质、氨基酸、多糖等多种极性物质^[19]。采用 DES 提取多糖的提取率和纯度都较高。刘旭等^[20]采用 DES 提取黄精多糖,提取率为 18.00%,显著高于碱提法 (11.89%)^[21];S. L. Feng 等^[22]通过 DES 提取油茶果壳多糖,提取率为 (15.03±0.35)%,较水提法提高了 0.5 倍;冯康琳^[23]通过 DES 提取荷叶多糖,提取率为 (82.10±1.29)%,高于水提法 (77.94±0.48)%,且多糖纯度也优于水提法;J. G. Nie 等^[24]研究发现,超声辅助 DES 提取可同步去除马尾藻多糖中的蛋白质和 CaCO_3 ,提取效果远优于热水浸提

法。DES 在植物多糖提取方面具有较好的应用前景,但目前鲜见有关 DES 用于提取 CVP 的研究报道。

鉴于此,本研究拟采用 DES,通过单因素试验结合响应面试验优化 CVP 提取工艺,利用离子交换柱和凝胶柱层析获得纯化多糖,并对 CVP 和纯化多糖进行结构表征,以期为川明参资源的高值化利用提供一条环保、高效、可工业化的技术路线。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

实验原料:新鲜川明参,购自四川省巴中市恩阳区农贸市场,经西华大学专家鉴定为伞形科植物川明参的根部。

主要试剂:无水乙醇、 H_2SO_4 、苯酚、正丁醇、三氯甲烷、HCl、四硼酸钠、间羟基联苯、NaOH、柠檬酸 (CA)、乳酸 (LA)、苹果酸 (MA),成都科隆试剂化工厂;氯化胆碱 (ChCl)、尿素 (U),上海麦克林生化科技股份有限公司;1,4-丁二醇 (BDO)、乙二醇 (EG)、丙二醇 (PG)、考马斯亮蓝 G-250、牛血清白蛋白、Sephadex G-100,上海源叶生物科技有限公司;DEAE-52 纤维素,北京瑞达恒辉科技发展有限公司;三氟乙酸 (TFA),ACROS 化学品供应商;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)、果糖 (Fru)、核糖 (Rib)、半乳糖醛酸 (GalA)、葡萄糖醛酸 (GlcA)、氨基半乳糖盐酸盐 (GalN)、盐酸氨基葡萄糖 (GlcN)、N-乙酰-D 氨基葡萄糖 (GlcNAc)、古罗糖醛酸 (GluA) 和甘露糖醛酸 (ManA) 单糖标准品,博睿糖生物技术有限公司;普鲁兰 (P5、P10、P20、P50、P100、P200、P400 和 P800) 葡聚糖标准品,日本 SHOWADENKO 公司。以上试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

TGL-1650 型台式高速冷冻离心机,四川蜀科仪器有限公司;R-210 型旋转蒸发仪,瑞士 BUCH 公司;G3 型四氟活塞砂芯层析柱,济宁市裕泽工业科技有限公司;105-103-101 型高效凝胶渗透色谱 (High Performance Gel Permeation Chromatography,

HPGPC)串联柱,加拿大 BRT 公司;Spectrum Two 型傅里叶变换红外光谱(FTIR)仪,美国珀金埃尔默公司;ICS5000 型离子色谱仪,美国 ThermoFisher 公司;LC-10A 型高效液相色谱仪,日本岛津公司;RI-10A 型示差检测器,日本岛津 Shimadzu 公司;S3400 N 型扫描电子显微镜(SEM),日本 Hitachi(日立)公司。

1.3 实验方法

1.3.1 DES 制备与筛选 参考文献[25]的方法,配制以 ChCl 为 HBA,以 U、PG、BDO、EG、LA、CA 及 MA 为 HBD 的 7 种 DES,其含水量都为 30%。其中 ChCl 与 U、ChCl 与 PG 及 ChCl 与 EG 的物质的量比为 1:2;ChCl 与 LA、ChCl 与 CA 及 ChCl 与 MA 的物质的量比为 1:1;ChCl 与 BDO 的物质的量比为 1:4。将 HBD 与 HBA 按相应物质的量比进行混合,加入超纯水后在 80 ℃水浴条件下搅拌至完全溶解,获得均一透明的液体,备用。

1.3.2 CVP 提取 将一定量的新鲜川明参置于 60 ℃恒温干燥箱中干燥至恒重,粉碎后过 80 目筛,得到川明参粉;精确称取适量川明参粉,按相应液料比(mL/g)、物质的量比加入 DES,提取温度为 80 ℃,提取时间为 30 min;将上述混悬液于 4000 r/min 条件下离心 10 min 后,收集上清液;加入其 4 倍体积的无水乙醇进行沉淀,在 4 ℃条件下低温静置沉淀过夜;将沉淀物经去离子水复溶后,采用 Sevag 法对水溶液进行脱蛋白处理^[26];处理液经旋转蒸发浓缩后,转移至截留相对分子质量为 3500 Da 的透析袋中透析 48 h,经冷冻干燥后,即得 CVP 样品。

1.3.3 单因素试验 从 7 种 DES 中筛选出 1 种提取 CVP,HBA 与 HBD 的物质的量比为 1:1,含水量为 30%。在液料比 20:1、提取温度 80 ℃、提取时间 120 min 的基础上,系统考查 DES 的液料比、提取温度、提取时间对 CVP 提取率的影响^[27]。液料比设置为 5:1、10:1、15:1、20:1、25:1,提取时间设置为 60 min、90 min、120 min、150 min、180 min,提取温度设置为 50 ℃、60 ℃、70 ℃、80 ℃、90 ℃,每组实验重复 3 次。

1.3.4 响应面试验 在单因素试验结果基础上,利用 Design-Expert 软件进行 Box-Behnken 设计,优

化 DES 提取 CVP 工艺。以液料比(A)、提取温度(B/℃)和提取时间(C/min)为自变量,CVP 提取率为响应值,设计三因素三水平响应面试验方案。响应面试验因素与水平见表 1。

1.3.5 CVP 分离纯化 参考文献[28-29]的方法,利用 DEAE-52 纤维素离子交换层析柱对 CVP 进行初步分离纯化。将一定量质量浓度为 30 mg/mL 的 CVP 过 0.45 μm 滤膜后,使用超纯水和 0.1 mol/L NaCl 溶液进行梯度洗脱,具体参数设置为上样量 3 mL,流速 2 mL/min,每管收集 10 mL,在 490 nm 波长处测定洗脱液的吸光度,收集洗脱峰出现时对应管中的洗脱液,以洗脱管号为横坐标、吸光度为纵坐标绘制洗脱曲线。将收集的洗脱液经透析、浓缩、冷冻干燥后用于后续纯化。超纯水洗脱组分命名为 CVP-1,0.1 mol/L NaCl 溶液洗脱组分命名为 CVP-2。分别对 CVP-1 和 CVP-2 进行 Sephadex G-100 凝胶柱层析纯化,用超纯水以 1 mL/min 流速进行洗脱,收集洗脱液,经浓缩、冷冻干燥后,分别命名为 CVP-1-1 和 CVP-2-1。

1.3.6 CVP 提取率测定 参考文献[30]的方法计算 CVP 提取率,计算公式为:

$$\text{CVP 提取率} = \frac{C \times V \times f}{m \times 1000} \times 100\%$$

式中,C 为由标准曲线计算出的 CVP 质量浓度/(mg · mL⁻¹),V 为样品体积/mL,f 为稀释倍数,m 为川明参粉质量/g。

1.3.7 CVP 组成与相对分子质量测定 1)总糖含量测定。采用苯酚硫酸法进行测定。

2)糖醛酸含量测定。参照冯康琳^[23]的方法,采用间羟基联苯法进行测定。

3)蛋白质含量测定。采用 M. M. Bradford 等^[31]提出的考马斯亮蓝法进行测定。

表 1 响应面试验因素与水平
Table 1 Test factors and levels of response surface experiment

水平	因素		
	A	B /℃	C /min
-1	15	60	90
0	20	70	120
1	25	80	150

4) 单糖组成测定。称取 5 mg 各单糖标准品, 分别加入 2 mL 3 mol/L 的 TFA 溶液, 于 120 ℃ 条件下水解 3 h, 氮吹干燥, 吸取 50 μL 水解液并加入 950 μL 超纯水, 配成质量浓度为 5 mg/mL 的单糖标准液。将各单糖标准液按一定比例混合, 配制混合标准溶液。供试样品根据上述方法进行操作后, 再于 12 000 r/min 条件下离心 5 min, 取上清液进行离子色谱检测。

离子色谱检测条件: 色谱柱为 Dionex CarboPacTM PA20 (3 mm×150 mm); 流动相 A 为超纯水, B 为 250 mmol/L NaOH 溶液, C 为 500 mmol/L NaOH 溶液或 50 mmol/L NaAc 溶液; 流速为 0.3 mL/min; 进样量为 25 μL; 柱温为 30 ℃; 洗脱梯度为 0 min A 相、B 相与 C 相体积比 98:2:0, 23 min A 相、B 相与 C 相体积比 98:2:0, 23.1 min A 相、B 相与 C 相体积比 80:20:0, 33 min A 相、B 相与 C 相体积比 80:20:0, 33.1 min A 相、B 相与 C 相体积比 80:0:20, 46 min A 相、B 相与 C 相体积比 80:0:20, 46.1 min A 相、B 相与 C 相体积比 20:0:80, 66 min A 相、B 相与 C 相体积比 20:0:80, 66.1 min A 相、B 相与 C 相体积比 98:2:0, 80 min A 相、B 相与 C 相体积比 98:2:0; 检测仪器为电化学检测器。

5) CVP 相对分子质量测定。利用 HPGPC 法测定 CVP、CVP-1、CVP-2、CVP-1-1 和 CVP-2-1 的均一性和相对分子质量。其中, M_w 为重均分子质量 (Weight-Average Molecular Weight), M_n 为数均分子质量 (Number-Average Molecular Weight), PDI 为多分散系数 (M_w/M_n)。称取不同相对分子质量的葡聚糖标准品, 配制质量浓度为 5 mg/mL 的标准溶液。使用 HPGPC 串联柱进行检测, 具体参数设置为: 柱温 40 ℃, 流速 0.7 mL/min, 进样量 25 μL, 流动相 0.05 mol/L NaCl 溶液。准确称取 5 mg 多糖样品, 与标准品经相同处理后, 通过标准品校准曲线计算各多糖相对分子质量。拟合得到的葡聚糖标准曲线为 $Y = -0.1942X + 11.6650, R^2 = 0.9982$ 。

1.3.8 CVP 结构表征 1) FTIR 测定。分别称取干燥的 5 种多糖 1~2 mg, 与 KBr 粉末充分研磨, 混合均匀后压制成透明或半透明的薄片, 以 KBr 为空白背景, 使用 FTIR 仪于 4000~400 cm⁻¹ 波数范围内进

行扫描分析。

2) SEM 分析。使用 SEM 观察 5 种多糖的微观结构, 由于 CVP 在放大 500 倍下微观状态非常模糊, 故选择其放大倍数为 200, 其他 4 种 CVP 组分放大倍率 500, 电压为 10 kV。

1.4 数据处理与分析

每组实验均重复 3 次, 结果以(平均值±标准差)表示。使用 SPSS 2.0 软件进行统计分析, 采用 Design Expert 12.0 进行响应面试验设计与结果分析, 利用 Origin 2021 和 GraphPad Prism 9.0 软件绘图。

2 结果与讨论

2.1 不同类型 DES 对 CVP 提取率的影响

图 1 为不同类型 DES 对 CVP 提取率的影响, 其中不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。由图 1 可知, ChCl-CA 对 CVP 的提取率为 (37.47±0.47)%, 显著高于其他 DES ($P < 0.05$)。此结果与陈炯朝等^[32]关于洋菊花苞多糖提取的报道较一致。这可能是由于酸类物质作为 HBD 能更有效地形成致密氢键网络, 增强与多糖分子的相互作用^[33]。此外, ChCl-CA 体系通常黏度较低、流动性良好, 加之 H^+ 的存在可协同促进多糖溶出^[34], 二者共同提升了 CVP 的提取率。因此, 本研究选择 ChCl-CA 作为 CVP 提取溶剂进行后续工艺优化。

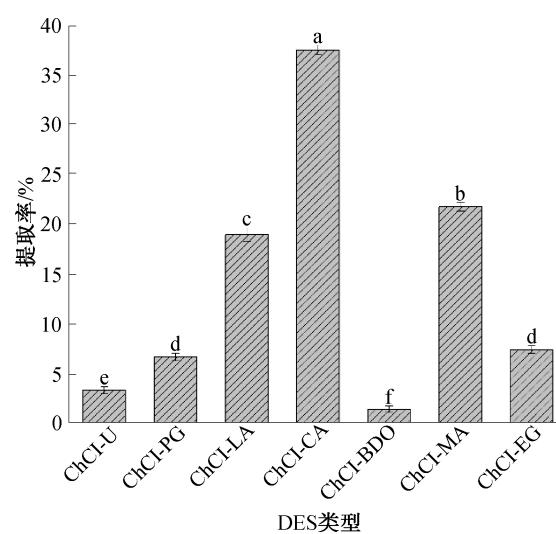
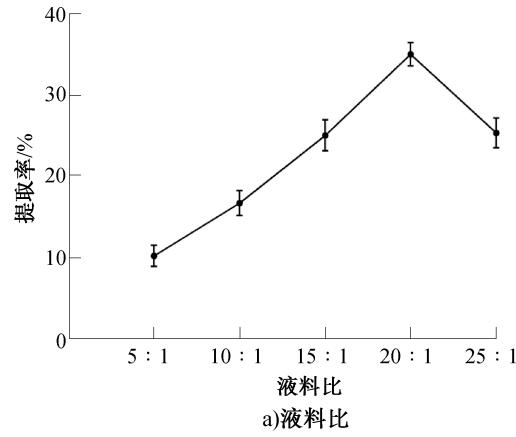


图 1 不同类型 DES 对 CVP 提取率的影响

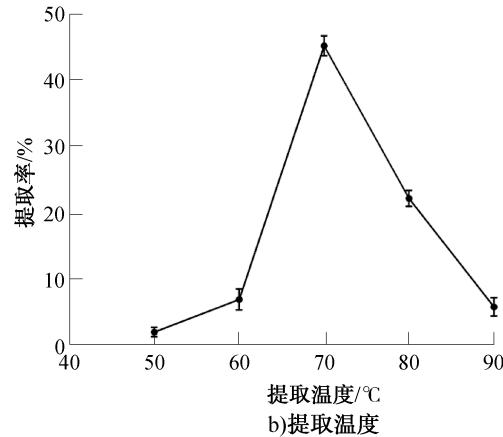
Fig. 1 Effects of different types of DES on the extraction rate of CVP

2.2 单因素试验结果分析

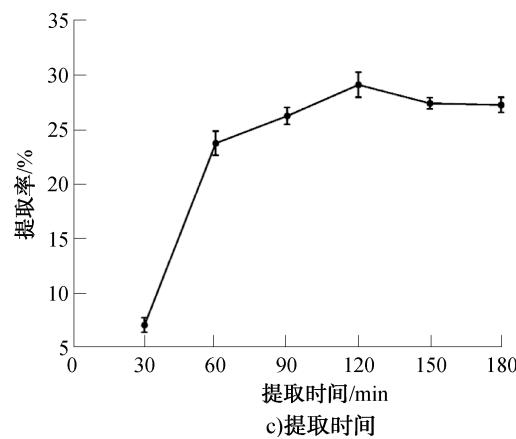
图 2 为不同单因素对 CVP 提取率的影响,由图 2a)可知,随着液料比的增加,CVP 提取率呈先升高后降低的趋势。当液料比低于 20:1 时,DES 体积不足,未能充分溶解 CVP;当液料比为 20:1 时,基本完全溶解 CVP,其提取率最高,为(35.03 ± 1.46)%;继续提高液料比,CVP 提取率开始下降,可能是



a) 液料比



b) 提取温度



c) 提取时间

图 2 不同样素对 CVP 提取率的影响

Fig. 2 Effects of different single factors on the extraction rate of CVP

由蛋白质、无机盐等可溶性杂质同步增多所致^[35]。综合考虑提取率与 DES 利用率,选择液料比为 20:1 较适宜。

由图 2b)可知,随着提取温度的升高,CVP 提取率呈先升高后降低的趋势,当提取温度为 70 °C 时,CVP 提取率最高,为(45.24 ± 1.53)%。这主要归因于适度升高提取温度能加速 CVP 分子的热运动,促进溶解扩散过程;当提取温度超过临界值时,糖苷键断裂引起 CVP 降解,同时伴随溶剂组分挥发加剧^[36],共同导致提取率降低。因此,选择提取温度为 70 °C 较适宜。

由图 2c)可知,随着提取时间的延长,CVP 提取率先升高后降低并趋于稳定。当提取时间为 120 min 时,CVP 提取率最高,为(29.12 ± 1.16)%。相关研究^[37-38]表明,适当延长提取时间可促进多糖充分溶出,但继续延长后,DES 与提取物之间的质量浓度差减小,体系趋于溶解平衡,多糖溶出趋于饱和,即提取率不再升高。因此,选择提取时间为 120 min 较适宜。

2.3 响应面试验结果分析

2.3.1 响应面试验方差分析和显著性检验结果

经统计分析拟合得到的二次项回归方程为 $Y = 45.15 - 1.82A + 5.31B - 0.15C + 1.30AB + 0.93AC - 2.11BC - 8.64A^2 - 11.86B^2 - 4.17C^2$ 。表 2 为响应

表 2 响应面试验方差分析和显著性检验结果

Table 2 Analysis of variance and significance test results of response surface experiment

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1 354.87	9	150.54	63.07	< 0.000 1	**
A	26.54	1	26.54	11.12	0.012 5	*
B	225.46	1	225.46	94.46	< 0.000 1	**
C	0.17	1	0.17	0.07	0.798 3	
AB	6.81	1	6.81	2.85	0.135 0	
AC	3.44	1	3.44	1.44	0.268 9	
BC	17.77	1	17.77	7.44	0.029 4	*
A^2	314.50	1	314.50	131.76	< 0.000 1	**
B^2	592.50	1	592.50	248.22	< 0.000 1	**
C^2	73.39	1	73.39	30.75	0.000 9	**
残差	16.71	7	2.39			
失拟项	6.11	3	2.04	0.77	0.568 4	
绝对误差	10.60	4	2.65			
总和	1 371.58	16				$R^2 = 0.972 2$

注: * 表示差异显著($P < 0.05$), ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

面试验方差分析和显著性检验结果。由表2可知,该模型的 $F=63.07$, $P<0.0001$, $R^2=0.9722$,且失拟项 $P>0.05$,不显著,表明实验误差可控,模型可靠。一次项A、B及交互项BC对Y影响显著($P<0.05$),表明提取时间与提取温度存在交互作用;二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对Y影响均极显著($P<0.001$),各因素对CVP提取率的影响具有明显的非线性特征,模型中存在显著极值点,适合采用响应面法进行工艺优化。根据F值,各因素对CVP提取率的影响大小

依次为提取温度>液料比>提取时间。

2.3.2 响应面试验各因素之间的交互作用 图3为各因素交互作用的响应面和等高线图。由图3可知,提取温度对CVP提取率的影响显著且明显高于提取时间和液料比的影响。结合表2可知,提取温度与提取时间的交互作用对CVP提取率影响显著,且图中提取温度与提取时间交互的等高线呈椭圆形,表明两因素之间交互作用对响应值影响显著。

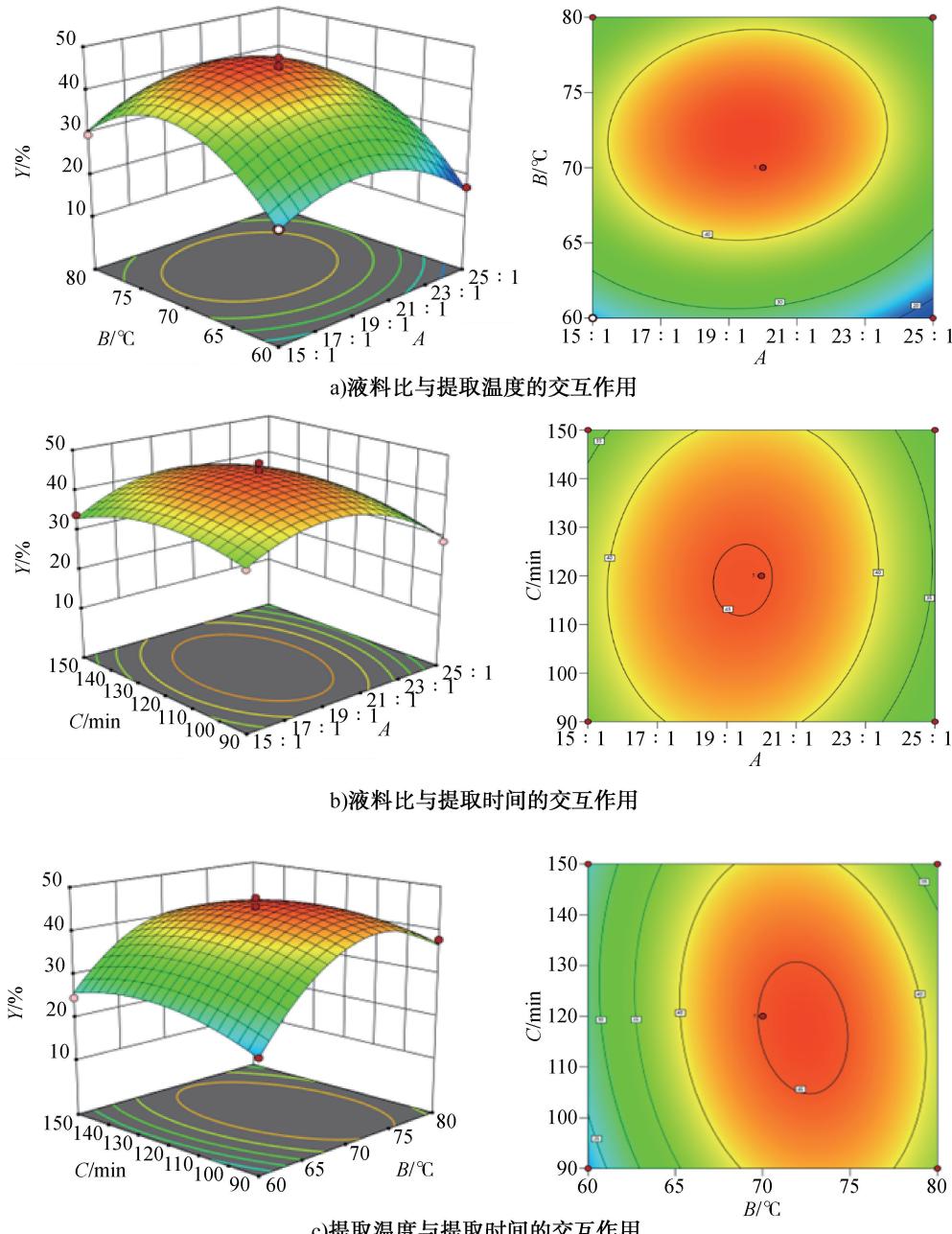


图3 各因素交互作用的响应面和等高线图

Fig. 3 Response surface and contour diagram of interaction effects of various factors

2.3.3 优化工艺参数验证 根据 2.3.1 检验结果,得到 CVP 最优提取条件为:液料比 19.53:1、提取温度 72.26 °C、提取时间 117.47 min,在此条件下,CVP 提取率为 45.84%。为了验证模型的可靠性,并考虑实际操作情况,将验证实验条件调整为:液料比 20:1、提取温度 70 °C 和提取时间 120 min。在该条件下进行 3 次验证实验,得到 CVP 平均提取率为 44.17%,RSD 为 0.19%,与理论值接近,表明模型合理可靠。此外,由 DES 法得到的 CVP 提取率较传统提取法^[1,14-15,18]提升了 26%以上。

2.4 CVP 的分离纯化结果分析

图 4 为 CVP 纯化后的洗脱曲线。由图 4a)可知,以超纯水和 0.1 mol/L NaCl 溶液进行阶梯洗脱,得到 2 个明显独立的洗脱峰,表明 CVP 中含有化学性质存在差异的 2 种主要多糖组分,且有效实现了初步分离。由图 4b)和 c)可知,洗脱曲线均呈现 1 个对称且尖锐的单峰,表明获得的 2 种多糖组分(CVP-1-1 和 CVP-2-1)的相对分子质量分布均一。

2.5 CVP 组成分析

分别采用苯酚硫酸法、间羟基联苯法和考马斯亮蓝法对 5 种多糖中的总糖、糖醛酸及蛋白质含量进行了测定。其中,葡萄糖的标准曲线为 $Y = 7.6581X + 0.1077, R^2 = 0.9994$;蛋白质标准曲线为 $Y = 0.2555X + 0.0371, R^2 = 0.9966$;糖醛酸标准曲线为 $Y = 1.3436X + 0.0555, R^2 = 0.9977$ 。表 3 为 5 种多糖中的总糖含量及化学组成。由表 3 可知,CVP-1-1 和 CVP-2-1 的总糖含量分别达 $(94.87 \pm 0.80)\%$ 和 $(92.01 \pm 1.77)\%$,蛋白质含量分别为 $(0.89 \pm 0.97)\%$ 和 $(1.54 \pm 1.77)\%$,表明纯化后 CVP 的纯度显著提高($P < 0.05$),蛋白质含量有所降低,但差异不显著($P > 0.05$)。此外,5 种多糖中只检测到微量糖醛酸,表明这 5 种多糖可能为中性多糖。

2.6 CVP 单糖组成分析

图 5 为 5 种多糖的离子色谱图。由图 5 可知,CVP、CVP-1、CVP-2、CVP-1-1 主要由葡萄糖和半乳糖组成,物质的量比分别为 97.0:3.0、95.8:4.2、97.9:2.1 和 96.7:0.3;CVP-2-1 主要由葡萄糖、半乳糖和鼠李糖组成,物质的量比为 93.2:1.9:

4.9。这与高涛^[4]和董红敏^[14]报道的 CVP 单糖组成结果相似,但比例存在差异,可能是由提取方法不同所致。

2.7 CVP 相对分子质量分析

表 4 为 5 种多糖的相对分子质量。由表 4 可知,CVP、CVP-1、CVP-2、CVP-1-1 和 CVP-2-1 的相对分子质量分别为 3820 Da、4335 Da、18 657 Da、9471 Da 和 18 159 Da,远小于高涛^[4]采用水提法及经 DEAE-52 纤维素柱和 Sephadex G-100 凝胶柱纯化后的 CVP 相对分子质量(分别为 8.1 kDa 和 187.5 kDa)。5 种多

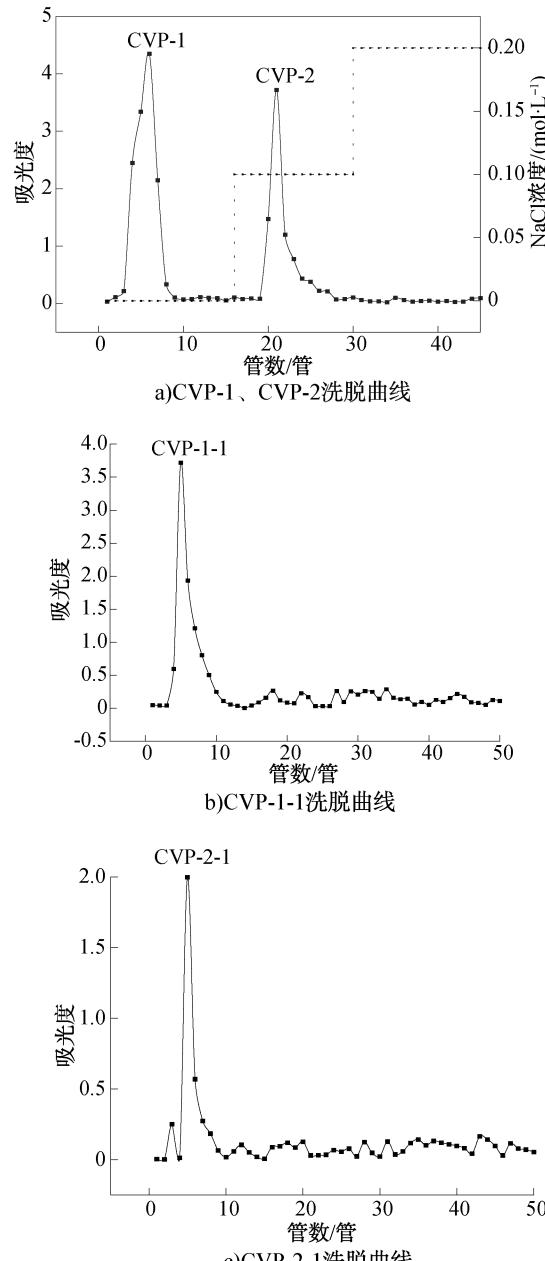


图 4 CVP 纯化后的洗脱曲线
Fig. 4 Elution curves of purified CVP

表3 5种多糖中的总糖、糖醛酸及蛋白质含量

Table 3 Contents of total sugar, uronic acid and protein in five polysaccharides

名称	CVP	CVP-1	CVP-2	CVP-1-1	CVP-2-1
总糖含量	80.10 ± 0.85^d	84.66 ± 0.92^c	83.39 ± 0.98^c	94.87 ± 0.80^a	92.01 ± 1.77^b
蛋白质含量	5.31 ± 3.26^a	4.52 ± 3.28^a	3.48 ± 3.59^a	0.89 ± 0.97^a	1.54 ± 1.77^a
糖醛酸含量	1.90 ± 0.46^b	1.38 ± 0.20^c	1.65 ± 0.04^{bc}	1.28 ± 0.24^c	2.52 ± 0.08^a

注:同行不同小写字母表示组间具有显著性差异($P < 0.05$)。

糖的 PDI 值均接近 1, 表明其相对分子质量分布较为集中。相对分子质量是影响多糖生物活性的重要因素, 低相对分子质量多糖通常含有大量还原性末端羟基, 能更好地清除自由基而发挥抗氧化活性作用^[39]。据此, 由 DES 提取的 CVP 可能在抗氧化性能方面具有较大潜力。

2.8 CVP 的 FTIR 分析

FTIR 能在特定吸收频率范围内表征多糖的构型和官能团信息,常被用于鉴定与解析多糖的结构特征^[40]。图 6 为 5 种多糖的 FTIR 图。由图 6 可知,5 种多糖在 3397 cm^{-1} 处的吸收峰由多糖分子的—OH 伸缩振动引起,表明样品中含有较多的游离羟基; 2932 cm^{-1} 处的吸收峰主要由—CH、—CH₂ 和—CH₃ 的伸缩振动引起^[41]; 1052~

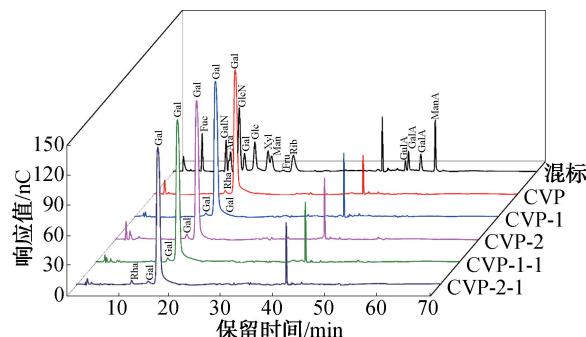


图 5 5 种多糖的离子色谱图

Fig. 5 Ion chromatogram of five polysaccharides

表4 5种多糖的相对分子质量

Table 4 Relative molecular weights of five polysaccharides

polyacrylates			
样品	M_w/Da	M_n/Da	$PDI(M_w/M_n)$
CVP	3820	3815	1.00
CVP-1	4335	4327	1.00
CVP-2	18 657	18 497	1.01
CVP-1-1	9471	7640	1.24
CVP-2-1	18 159	17 745	1.02

1028 cm^{-1} 处的吸收峰为典型的吡喃糖特征吸收峰, 通常被认为由吡喃糖环中 C—O—C 和 C—O—H 糖苷键的伸缩振动引起, 表明样品均为吡喃环多糖^[42]; 953 cm^{-1} 处的特征吸收峰通常归属于 β -糖苷键的伸缩振动; 862 cm^{-1} 处的特征吸收峰通常归属于 α -糖苷键的振动。同时, FTIR 仪所检测到的官能团与葡萄糖和半乳糖所含有的官能团相同, 印证了 CVP 由葡萄糖和半乳糖组成的结论。此外, 经 DES 提取获得的 CVP 是一种同时含有 α -糖苷键和 β -糖苷键的吡喃环多糖。

2.9 CVP 的 SEM 分析

图 7 为 5 种多糖的 SEM 图。由图 7 可知, CVP 表面较粗糙, 呈不规则小球状, 倾向于分散结构; CVP-1 形似珊瑚状聚集, 呈簇状, 形状不规则且表面粗糙多孔; CVP-2 呈表面较光滑的碎片形态, 并出现带状裂痕; CVP-1-1 呈不规则的、存在许多空隙的丝状结构, 这些空隙由多糖链间空间排列形成; CVP-2-1 聚集呈簇状, 呈不规则形状, 表面疏松多孔。各组分因相对分子质量不同, 破碎与聚集程度各异, 表明样品的微观形态差异可能受相对分子质量、分子间距、连接方式等影响^[43]。

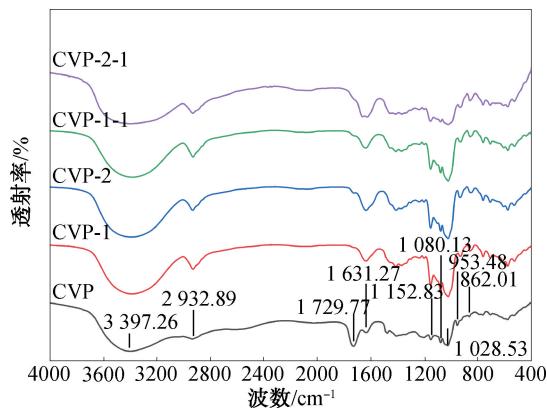


图 6 5 种多糖的 FTIR 图
Fig. 6 FTIR spectra of five polysaccharides

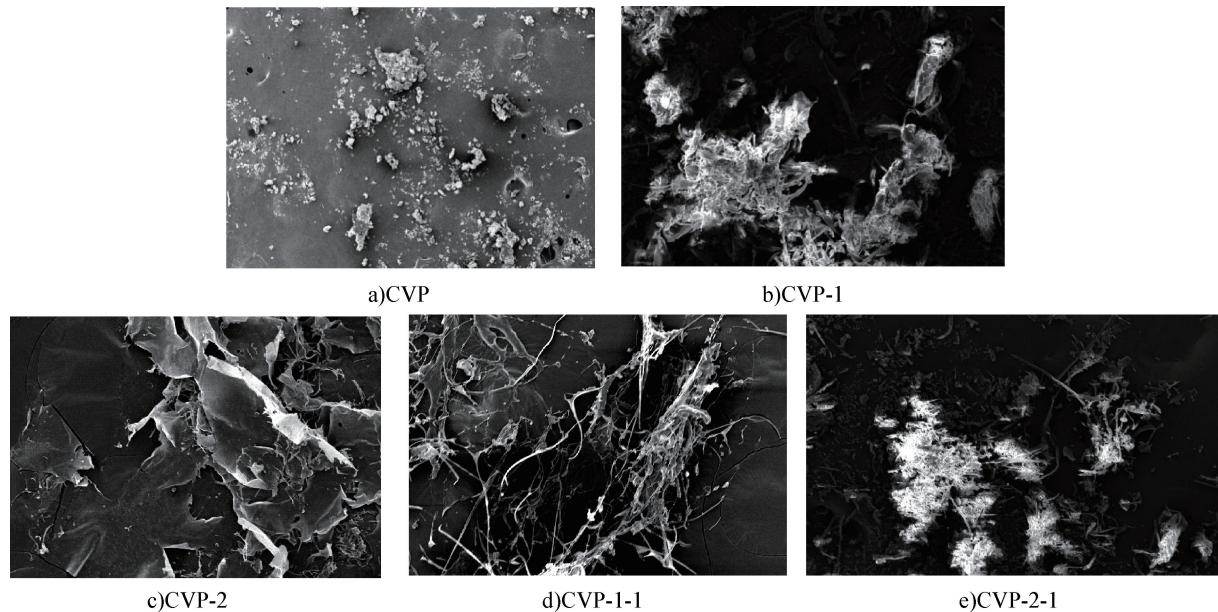


图 7 5 种多糖的 SEM 图

Fig. 7 SEM micrographs of five polysaccharides

3 结论

本研究建立了基于 DES 法的 CVP 绿色高效提取技术。与传统提取方法相比,该技术使 CVP 的提取率显著提升了 26% 以上,且所得多糖相对分子质量较低、分布集中且结构较为均一。通过系统分离纯化,得到 CVP-1-1 和 CVP-2-1 这 2 个高纯度组分,总糖含量分别达 $(94.87 \pm 0.80)\%$ 和 $(92.01 \pm 1.77)\%$,且单糖组成明确,均为含有 α -糖苷键和 β -糖苷键的吡喃环多糖。此外,经柱层析纯化后,CVP 的微观形态发生了改变,表面更为疏松多孔,这种结构特征理论上有利于提高多糖与其他物质的相互作用力,但其生物可利用性仍有待进一步验证。综上,本研究建立的 DES 提取-柱层析纯化一体化流程,不仅为绿色制备低相对分子质量、结构均一的 CVP 提供了新策略,亦可为同类植物多糖的高值化开发提供技术参考。

参考文献:

[1] 魏瑞霖. 川明参多糖调节高脂饮食小鼠脂代谢及肠道菌群的作用研究[D]. 成都: 西华大学, 2023.

WEI R L. Study on the effects of *Chuanmingshen violaceum* polysaccharides on regulating lipid metabolism

and intestinal flora in mice fed a high-fat diet [D]. Chengdu: Xihua University, 2023.

- [2] 吉责小平. 川明参茎叶多糖的分离鉴定及其通过肠-肝轴改善衰老小鼠氧化应激及炎症的作用研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2024.
- JIZE X P. Isolation, identification of polysaccharides from *Chuanmingshen* stems and leaves, and their role in ameliorating oxidative stress and inflammation in aging mice via the gut-liver axis [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2024.
- [3] 魏瑞霖, 朱晨, 张晋森, 等. 超声波-微波协同提取川明参多糖及其体外抗氧化活性[J]. 食品科技, 2022, 47(10): 204-210.
- WEI R L, ZHU C, ZHANG J S, et al. Ultrasonic-microwave synergistic extraction of *Chuanmingshen violaceum* polysaccharide and its antioxidant activity *in vitro* [J]. Food Science and Technology, 2022, 47(10): 204-210.
- [4] 高涛. 川明参多糖的结构解析及对消化酶活性的影响[D]. 重庆: 重庆三峡学院, 2021.
- GAO T. Structural elucidation of *Chuanmingshen violaceum* polysaccharides and their effects on digestive enzyme activities [D]. Chongqing: Chongqing Three Gorges University, 2021.
- [5] 赵兴洪, 殷中琼, 贾仁勇, 等. 川明参多糖及其硫酸化物对免疫低下小鼠的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(1): 52-55, 60.
- ZHAO X H, YIN Z Q, JIA R Y, et al. Effect of *Chuanmingshen violaceum* polysaccharides and its

- sulfated derivatives on immunosuppression induced by cyclophosphamide in mice [J]. Chinese Journal of Immunology, 2015, 31(1): 52-55, 60.
- [6] 李宏, 邵承斌. 川明参多糖的抗突变性研究: 对环磷酰胺诱发蚕豆根尖细胞微核的影响 [J]. 渝州大学学报(自然科学版), 1996, 13(4): 24-28.
- LI H, SHAO C B. Study on the antimutation effect of *Radix chuanminshen* violenceum sheh et Shan polysaccharide the effect on the micronuclei of root cells of *Vicia faba* induced by cyclophosphamide [J]. Journal of Chongqing Technology and Business University (Natural Science Edition), 1996, 13(4): 24-28.
- [7] 董红敏, 李路, 沈丽雯, 等. 川明参多糖及蛋白组成分析 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(17): 366-370.
- DONG H M, LI L, SHEN L W, et al. Components analysis of proteins and polysaccharides from *Chuanminshen violaceum* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(17): 366-370.
- [8] MENG J K, GUAN C B, CHEN Q F, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* prepared with deep eutectic solvents [J]. Journal of Food Quality, 2023, 2023(1): 3147644.
- [9] 韩益, 侯秋月, 余建军, 等. 超声辅助低共熔溶剂提取海带多糖工艺优化及其抗氧化活性 [J]. 食品研究与开发, 2024, 45(22): 94-101.
- HAN Y, HOU Q Y, YU J J, et al. Optimization of ultrasonic-assisted eutectic solvent extraction of kelp polysaccharides and its antioxidant activity [J]. Food Research and Development, 2024, 45(22): 94-101.
- [10] 刘垠泽. 大三叶升麻多糖提取工艺优化及体外抗氧化、抑菌研究 [D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2023.
- LIU Y Z. Optimization of extraction process and study on in vitro antioxidant and antibacterial activities of polysaccharides from *Cimicifuga heracleifolia* [D]. Jiamusi: Jiamusi University, 2023.
- [11] 李燕妮, 蔡怡瑾, 王梓腾, 等. 岩藻多糖的提取、降解及生物活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(13): 383-394.
- LI Y N, CAI Y J, WANG Z T, et al. A review on fucoidan extraction, degradation, and bioactivity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(13): 383-394.
- [12] 朱翠玲, 陈亮, 周瑾怡, 等. 不同提取方法对小麦麸皮多糖化学组分及免疫调节活性的影响 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(7): 17-23.
- ZHU C L, CHEN L, ZHOU J Y, et al. Effect of different extraction methods on chemical composition and immuno-regulatory activity of polysaccharides from wheat bran [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(7): 17-23.
- [13] 赵兴洪. 川明参多糖的提取工艺及其免疫活性研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2015. ZHAO X H. Study on the extraction process and immune activity of polysaccharides from *Chuanmingshen violaceum* [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2015.
- [14] 董红敏. 川明参醇提物与多糖的提取、分析及抗氧化活性研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2016.
- DONG H M. Study on the extraction, analysis and antioxidant activity of ethanol extract and polysaccharides from *Chuanmingshen violaceum* [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2016.
- [15] 林上. 不同产地川明参根、叶酚类物质及多糖分析及其生物活性评价 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2019.
- LIN S. Analysis and evaluation of phenolic compounds and polysaccharides in roots and leaves of *Chuanmingshen violaceum* from different habitats and their biological activities [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2019.
- [16] 罗兰萍, 李新和, 李翔. 肉桂精油的低共熔溶剂提取及组成分析 [J]. 粮食与油脂, 2024, 37(10): 31-35.
- LUO L P, LI X H, LI X. Extraction and composition analysis of cinnamon essential oil by deep eutectic solvent [J]. Cereals & Oils, 2024, 37(10): 31-35.
- [17] OMAR K A, SADEGHI R. Physicochemical properties of deep eutectic solvents: A review [J]. Journal of Molecular Liquids, 2022, 360: 119524.
- [18] ZUO J L, GENG S Q, KONG Y Z, et al. Current progress in natural deep eutectic solvents for the extraction of active components from plants [J]. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2023, 53(1): 177-198.
- [19] PRABHUNE A, DEY R. Green and sustainable solvents of the future: Deep eutectic solvents [J]. Journal of Molecular Liquids, 2023, 379: 121676.
- [20] 刘旭, 孟继坤, 葛鑫会, 等. 低共熔溶剂提取的黄精多糖性质分析 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 52-57.
- LIU X, MENG J K, GE X H, et al. Properties of polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* extracted with deep eutectic solvents [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(11): 52-57.
- [21] 赵瑞萌, 孙庭阁, 张玲. 碱法提取黄精多糖及提取工艺流程的优化 [J]. 泰山医学院学报, 2010, 31(1): 45-47.
- ZHAO R M, SUN T G, ZHANG L. Extracting polysaccharides from *Polygonatum* with alkaline and optimizing of the extracting flow-sheet [J]. Journal of Taishan Medical College, 2010, 31(1): 45-47.
- [22] FENG S L, ZHANG J, LUO X, et al. Green extraction of polysaccharides from *Camellia oleifera* fruit shell using tailor-made deep eutectic solvents [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 253: 127286.
- [23] 冯康琳. 荷叶多糖的提取条件优化、结构表征、体外活性评价及其消化酶解特性的研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2022.

- FENG K L. Optimization of extraction conditions, structural characterization, in vitro activity evaluation, and study on digestive fermentation characteristics of lotus leaf polysaccharide [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2022.
- [24] NIE J G, CHEN D T, LU Y B, et al. Deep eutectic solvents based ultrasonic extraction of polysaccharides from edible brown seaweed *Sargassum horneri* [J]. Journal of Marine Science and Engineering, 2020, 8(6):440.
- [25] 祝晓慧,宋健强,董伟,等.超声辅助低共熔溶剂法优化提取珊瑚菌多糖及其抗氧化活性研究 [J]. 中国野生植物资源, 2024, 43(8):21-28.
- ZHU X H, SONG J Q, DONG W, et al. Optimization of ultrasound-assisted deep eutectic solvents extraction process of polysaccharide from *Ramaria botryoides* and its antioxidant activity [J]. Chinese Wild Plant Resources, 2024, 43(8):21-28.
- [26] 古丽米拉·卡德尔,阿吉然姆·阿布拉,任国瑞,等. 芫菁多糖除蛋白及抑制 RAW264.7 巨噬细胞焦亡作用研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(2):183-190.
- GULIMILA K, AJIRANM A, REN G R, et al. Study on the deproteinization and inhibitory effects on the pyroptosis of RAW_{264.7} macrophages of *Brassica rapa* L. polysaccharide [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(2):183-190.
- [27] 唐兰芳,王峰,苏小军,等. 低共熔溶剂提取对黄精多糖性质及抗氧化活性的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(11):151-157.
- TANG L F, WANG F, SU X J, et al. Effects of deep eutectic solvents on the properties and antioxidant activity of polysaccharides from *Polygonatum cyrtonema* Hua [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47 (11): 151-157.
- [28] ZHANG H, ZOU P, ZHAO H T, et al. Isolation, purification, structure and antioxidant activity of polysaccharide from pinecones of *Pinus koraiensis* [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 251:117078.
- [29] ZHOU S Y, HUANG G L. Extraction, purification and antioxidant activity of *Juglans regia* shell polysaccharide [J]. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2023, 10(1):75.
- [30] ROVER M R, JOHNSTON P A, LAMSAL B P, et al. Total water-soluble sugars quantification in bio-oil using the phenol-sulfuric acid assay [J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2013, 104:194-201.
- [31] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2):248-254.
- [32] 陈炳朝,马雪,张研,等.响应面法优化超声辅助低共熔溶剂提取洋菊花多糖工艺 [J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(4):57-64.
- CHEN J C, MA X, ZHANG Y, et al. Optimization of ultrasonic-assisted low eutectic reagents extraction of polysaccharides from artichoke buds by response surface methodology [J]. China Food Additives, 2024, 35 (4): 57-64.
- [33] KHEZELI T, DANESHFAR A, SAHRAEI R. A green ultrasonic-assisted liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for the HPLC-UV determination of ferulic, caffeic and cinnamic acid from olive, almond, sesame and cinnamon oil [J]. Talanta, 2016, 150: 577-585.
- [34] DE LOS ÁNGELES FERNÁNDEZ M, BOITEUX J, ESPINO M, et al. Natural deep eutectic solvents-mediated extractions: The way forward for sustainable analytical developments [J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 1038: 1-10.
- [35] 王福玲. Box-Behnken 优化红花多糖提取工艺研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2024, 40 (5): 523-528.
- WANG F L. Study on Box-Behnken for optimization of extraction of polysaccharides from *Carthamus tinctorius* L [J]. Journal of Harbin University of Commerce (Natural Sciences Edition), 2024, 40(5):523-528.
- [36] LUO L R, FAN W, QIN J P, et al. Study on process optimization and antioxidant activity of polysaccharide from *Bletilla striata* extracted via deep eutectic solvents [J]. Molecules, 2023, 28(14):5538.
- [37] 陈梦星,王涛,赵金,等. 天然低共熔溶剂高效提取金耳多糖的研究 [J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(9):52-57.
- CHEN M X, WANG T, ZHAO J, et al. Optimization of extraction of *Tremella aurantialba* polysaccharides using natural deep eutectic solvents [J]. China Food Additives, 2024, 35(9):52-57.
- [38] 管继辉. 昆布多糖的提取工艺优化及其对小鼠抗疲劳能力的研究 [J]. 美食研究, 2024, 41(4):73-78.
- GUAN J H. Optimization of laminarin extraction and its effects of anti-fatigue on mice [J]. Journal of Researches on Dietetic Science and Culture, 2024, 41(4):73-78.
- [39] 李俊生,管丽,李嘉慧,等. 香菇多糖提取、结构特征及生物活性研究进展 [J]. 中国调味品, 2024, 49(9):208-214.
- LI J S, GUAN L, LI J H, et al. Research progress on extraction, structural characteristics and bioactivity of *Lentinula edodes* polysaccharides [J]. China Condiment, 2024, 49 (9): 208-214.
- [40] HONG T, YIN J Y, NIE S P, et al. Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective [J]. Food Chemistry (X), 2021, 12:100168.
- [41] LI S, HU N N, ZHU J Y, et al. Influence of modification methods on physicochemical and structural properties of

- soluble dietary fiber from corn bran [J]. Food Chemistry (X), 2022, 14:100298.
- [42] FAN J, FENG H B, YU Y, et al. Antioxidant activities of the polysaccharides of *Chuanminshen violaceum* [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157:629–636.
- [43] 谢桂勉, 杨培新, 黄莹星, 等. 香菇菜中多糖提取工艺优

化及抗氧化研究 [J]. 食品工业, 2023, 44(10):50–56.

XIE G M, YANG P X, HUANG Y X, et al. Extraction process optimization and study on antioxidation of polysaccharide from *Lentinus edodes* stipe sauce [J]. The Food Industry, 2023, 44(10):50–56.

Process optimization and structural characterization of *Chuanminshen violaceum* polysaccharides extracted by deep eutectic solvents

LI Yixin¹, LUO Min², LIU Yuanfu², SUN Quanjiao¹, HUANG Junming¹, WEN Jianxia¹, DU Wenya¹, ZHANG Liang¹

1. School of Food and Biological Engineering, Xihua University, Chengdu 610039, China;

2. Sichuan Union (You Lian) Food Co., Ltd., Chengdu 610039, China

Abstract: [Objective] This study aims to explore and optimize a green and efficient extraction technology for *Chuanminshen violaceum* polysaccharide (CVP) and promote its development and utilization in the field of functional foods. **[Methods]** A deep eutectic solvents (DES)-based extraction method for CVP was established and optimized via single-factor experiments and response surface methodology. Subsequently, the extracted CVP was purified by ion-exchange chromatography column and gel filtration chromatography column, respectively. The structure of CVP was characterized by combining ion chromatography, high-performance gel permeation chromatography, infrared spectroscopy, and scanning electron microscopy. **[Results]** The optimal extraction conditions were determined as follows: choline chloride-citric acid DES system (with a molar ratio of 1:1 and a water content of 30%), liquid-to-solid ratio of 20:1, extraction temperature of 70 °C, and extraction time of 120 min. Under these conditions, the extraction rate of CVP was (44.17 ± 0.19)%, an increase of more than 26% over the traditional extraction method; After purification, two CVP fractions (CVP-1-1 and CVP-2-1) with single relative molecular weight and homogeneous structure were obtained. Among them, CVP-1-1 was composed of glucose and galactose, with a total sugar content of (94.87 ± 0.80)% and a relative molecular weight of 9471 Da; CVP-2-1 was composed of glucose, galactose and rhamnose, with a total sugar content of (92.01 ± 1.77)% and a relative molecular weight of 18 159 Da; Both fractions were pyranose ring polysaccharides containing α-glycosidic bonds and β-glycosidic bonds. Their micro-morphologies were related to relative molecular weight and purification process; the purified polysaccharides exhibited a more porous and loose surface, a higher degree of fragmentation, and differed in relative molecular weight, as well as the degree of fragmentation and aggregation. **[Conclusion]** Applying DES to CVP extraction, the extraction rate is significantly increased compared with the traditional extraction method. Moreover, the obtained CVP has a lower relative molecular weight, which may have high antioxidant activity, providing a reference for the development of CVP-based functional foods.

Key words: *Chuanminshen violaceum* polysaccharide; deep eutectic solvent (DES); extraction process; structural characterization

[责任编辑:王晓波]