

蒸汽爆破对瓦尼桑黄子实体多糖提取及降血糖功效影响

范祺,张博华,王丽,王崇队,张明,马超*

(中华全国供销合作总社 济南果品研究所,山东 济南 250220)

摘要: 选取瓦尼桑黄(*Sanghuangporus vaninii*)子实体作为研究对象,研究蒸汽爆破技术对瓦尼桑黄多糖溶出率的影响。蒸汽爆破压力为0.8 MPa时,多糖溶出率为1.45%,蒸汽爆破维持时间为240 s时,多糖溶出率最大为1.68%。多糖中相对含量较多的单糖种类为岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖和葡糖醛酸且葡萄糖占比最高。蒸汽爆破处理后的瓦尼桑黄多糖与未蒸汽爆破处理的样品相比,对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用更强,对斑马鱼有更高的安全剂量,可明显提升荧光标记脱氧葡萄糖类似物(2-NBD-glucose,2-NBDG)在斑马鱼体内的转运效率,表明蒸汽爆破处理后的样品降血糖功效更加明显。

关键词: 蒸汽爆破;瓦尼桑黄;多糖;斑马鱼;降血糖

Effect of Steam Explosion on the Extraction of Polysaccharide from *Sanghuangporus vaninii* Fruiting Body and Its Hypoglycemic Efficacy

FAN Qi, ZHANG Bohua, WANG Li, WANG Chongdui, ZHANG Ming, MA Chao*

(Jinan Fruit Research Institute, China Supply and Marketing Cooperatives, Jinan 250220, Shandong, China)

Abstract: In this study, the fruit body of *Sanghuangporus vaninii* was selected as the research object to investigate the influence of steam explosion technology on the polysaccharide dissolution rate. At a steam explosion pressure of 0.8 MPa, the polysaccharide dissolution rate was 1.45%, and when the steam explosion time was 240 s, the maximum polysaccharide dissolution rate reached 1.68%. The polysaccharide contained various monosaccharides, with the relatively higher content of mannitol, galactose, glucose, xylose, mannose and glucuronic acid, of which glucose accounted for the highest proportion. Compared with the samples without steam explosion, the polysaccharide treated with steam explosion had stronger inhibition effect on the activity of α -glycosidase and higher safe dose for zebrafish. Additionally, it significantly improved the transport efficiency of 2-NBD-glucose in zebrafish, indicating a more pronounced hypoglycemic effect of the samples treated with steam explosion.

Key words: steam explosion; *Sanghuangporus vaninii*; polysaccharide; zebrafish; hypoglycemic

引文格式:

范祺,张博华,王丽,等. 蒸汽爆破对瓦尼桑黄子实体多糖提取及降血糖功效影响[J]. 食品研究与开发,2024,45(7):150-157.

FAN Qi, ZHANG Bohua, WANG Li, et al. Effect of Steam Explosion on the Extraction of Polysaccharide from *Sanghuangporus vaninii* Fruiting Body and Its Hypoglycemic Efficacy[J]. Food Research and Development,2024,45(7):150-157.

桑黄(*Sanghuangporus sanghuang*)又名桑耳,是一种珍贵的多年生大型药用真菌^[1]。桑黄始载于《药性论》,具有活血、止血、化饮、止泻的功效^[2]。据统计,桑黄在国外主要分布于东亚、东南亚、澳洲、美洲等地,国

内分布于东北、西北、西南等地^[3-4]。桑黄含有多糖类、黄酮类、三萜类、多酚类、甾类、吡喃酮类及生物碱等活性成分,其中多糖、黄酮类、三萜类为桑黄的主要功能活性成分^[5]。桑黄因具有显著的抗氧化、免疫调节、抗

基金项目:山东省重点研发计划项目(2022TZX0033)

作者简介:范祺(1990—),男(汉),助理研究员,硕士,研究方向:果蔬功能活性成分开发利用。

*通信作者:马超(1982—),男(汉),研究员,博士,研究方向:食用菌精深加工。

炎及降血糖等功能而引起了广泛关注。

蒸汽爆破技术是一种能在毫秒级实现蒸汽爆破的弹射式技术,其原理是原料在高温、高压的密闭环境下,物料被通入的水蒸气湿润后膨胀,当瞬间释放压力时,原料体积迅速膨胀,细胞“爆破”,瞬间打破原料微观结构,使细胞变成多孔结构,从而促进天然活性成分的溶出^[6-7]。蒸汽爆破可以使多糖内部结构发生变化,促进分子间的相互交联、解聚和新官能团的形成,从而达到改变食品组分加工特性和功能特性的目的^[8-9]。有关蒸汽爆破对多糖活性成分的研究已有很多,徐一凡等^[10]利用蒸汽爆破处理桑黄子实体多糖,多糖溶出率提高了2倍以上。张博华等^[11]利用蒸汽爆破提取灵芝子实体多糖,经过蒸汽爆破处理后的样品多糖溶出率是未处理样品的1.86倍,表明蒸汽爆破在促进多糖溶出方面具有较强优势。

瓦尼桑黄(*Sanghuangporus vaninii*)是一种广泛栽培的桑黄品种,也是中药饮片炮制常用的原料^[12]。目前,对桑黄子实体的功效研究主要集中在抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌和保肝作用方面的研究,而对于降血糖的研究相对较少^[13-15]。本研究以瓦尼桑黄子实体为研究对象,通过改变蒸汽爆破参数,提高瓦尼桑黄多糖溶出率,并比较蒸汽爆破处理前后桑黄单糖组成差异,通过 α -葡萄糖苷酶体外降血糖试验和斑马鱼体内降血糖试验,来验证蒸汽爆破处理对瓦尼桑黄多糖降血糖功效的提升作用,以期将来以桑黄多糖为原料开发相关降血糖药品提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

三年生瓦尼桑黄子实体:临清市黄河故道古桑黄研发中心;16种单糖标准品(岩藻糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、果糖、核糖、半乳糖醛酸、葡糖醛酸、氨基半乳糖盐酸盐、盐酸氨基葡萄糖、N-乙酰-D-氨基葡萄糖、古洛糖醛酸、甘露糖醛酸)(均为分析纯):江苏博睿糖生物有限公司;苯酚、浓硫酸、过氧乙酸钠、碳酸钠、亚硝酸钠、氢氧化钠、乙醇、磷酸盐、水杨酸、溴化钾(均为分析级):上海源叶生物科技有限公司;4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, pNPG)、大黄素、 α -葡萄糖苷酶(20 U/mg)、三卡因:美国Sigma公司;野生型斑马鱼AB品系:山东省科学院生物研究所;2-NBDG:美国赛默飞世尔科技公司。

1.2 仪器与设备

ME-104 电子天平:梅特勒-托利多仪器有限公司;SHA-B 多功能水浴恒温振荡器:江苏杰瑞尔电器有限公司;UV1000 紫外分光光度计:上海天美科学仪器有限公司;RE-501 旋转蒸发器:上海越众仪器设备有限公司;

TGL-10B 高速台式离心机:上海安亭科学仪器有限公司;QBS-80 型蒸汽爆破设备:鹤壁政道启宝实业有限公司;RH-600A 高速粉碎机:浙江荣浩工贸有限公司;ICS5000 离子色谱仪:美国赛默飞世尔科技公司;FT-IR650 傅里叶变换红外光谱仪:天津港东科技发展有限公司;Phenom Pro 型扫描电子显微镜:荷兰复纳科学仪器有限公司;SZX16 型荧光显微镜及DP2-BSW 图像采集系统:日本 Olympus 公司;Forma 3111 型水套式 CO₂ 培养箱:美国 Forma 公司;斑马鱼养殖饲养设备、恒温培养箱:北京爱生科技发展有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理

瓦尼桑黄子实体在 80 °C 条件下烘干至恒重,用高速粉碎机粉碎后过 80 目筛,即得瓦尼桑黄子实体粉末。

1.3.2 瓦尼桑黄多糖提取及含量测定

参照史玉宝等^[16]的方法并稍作修改,精密称取样品粉末 1.0 g,加 50 mL 蒸馏水回流提取 2 h,趁热抽滤,蒸馏水洗涤滤器和滤渣,将提取液水浴浓缩至 20 mL,加乙醇 100 mL,摇匀。在 4 °C 条件下静置 6 h 后,常温下 3 000 r/min 离心 30 min,用蒸馏水溶解沉淀并定容至 50 mL,采用苯酚浓硫酸法在 490 nm 处测定吸光度,并计算多糖含量。

1.3.3 单因素试验

取瓦尼桑黄子实体粉末 100 g,隔夜复水调整含水率至 30%,分别研究蒸汽爆破压力(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 MPa)和蒸汽爆破维压时间(60、120、180、240、300、360 s)对物料瓦尼桑黄多糖溶出率的影响,将蒸汽爆破后的样品收集,80 °C 烘干打粉,多糖提取及含量测定参照 1.3.2。

1.3.4 单糖组成测定

1.3.4.1 色谱方法

色谱柱为 Dionex Carbopac™ PA20(3 mm×150 mm);流动相 A: H₂O;流动相 B: 250 mmol/L NaOH;流动相 C: 50 mmol/L NaOH 和 500 mmol/L NaOAc;流速: 0.3 mL/min;进样量: 5 μ L;柱温: 30 °C;检测器: 电化学检测器。

1.3.4.2 单糖标准溶液配制

取 16 种单糖标准品(岩藻糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、果糖、核糖、半乳糖醛酸、葡糖醛酸、氨基半乳糖盐酸盐、盐酸氨基葡萄糖、N-乙酰-D-氨基葡萄糖、古洛糖醛酸、甘露糖醛酸)配制成 10 mg/mL 标准溶液。取各单糖标准溶液精密配制 0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 mg/L 梯度浓度标准品制作标准曲线。根据绝对定量方法,测定不同单糖质量,根据单糖摩尔质量计算出摩尔比。

1.3.5 扫描电镜分析

将处理后的瓦尼桑黄子实体粉末样品于 80 °C 烘

箱中干燥至恒重,采用溅射镀膜法进行表面镀金,在10 kV 加速电压下扫描,观察样品的微观结构,放大倍数为1 000倍和5 000倍。

1.3.6 傅里叶变换红外光谱仪分析

称取2 mg冻干后的瓦尼桑黄多糖和100 mg干燥KBr粉末于研钵中研磨均匀,放入压模器制成透明片后进行扫描,扫描波数4 000~500 cm^{-1} 、扫描32次、分辨率4 cm^{-1} ,重复测定3次。

1.3.7 瓦尼桑黄多糖体外降血糖试验

瓦尼桑黄多糖抑制 α -葡萄糖苷酶的测定参照胡莹莹等^[7]的方法并稍作修改,于试管中依次加入0.5 mL浓度为0.1 mmol/L磷酸盐缓冲溶液、0.5 mL样品溶液和0.1 mL α -葡萄糖苷酶酶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴15 min,加入0.5 mL浓度为2.5 mmol/L pNPG溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴15 min,最后加入1 mL 0.2 mol/L Na_2CO_3 终止反应,于405 nm处测定吸光度,并以阿卡波糖作为阳性参照。 α -葡萄糖苷酶活性抑制率($Y, \%$)的计算公式如下。

$$Y = \frac{A_1 - (A_2 - A_3)}{A_1} \times 100$$

式中: A_1 为不加待测样品反应后的吸光度; A_2 为加入待测样品反应后的吸光度; A_3 为只加待测样品反应后的吸光度。

1.3.8 斑马鱼试验

1.3.8.1 安全剂量试验

选用受精后3 d(3 days post fertilization, 3 dpf)的健康野生斑马鱼 AB 品系,加入到24孔板中培养,每孔10条鱼、2 mL培养液。设置空白组和样品组,空白组为正常鱼水饲养,样品组为含有不同浓度的瓦尼桑黄多糖。孔板置于28.5 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中培养,每天光照和黑暗时间分别为14 h和10 h,每天更换新鲜鱼水。在显微镜下观察,并对其死亡数目进行统计学分析。

1.3.8.2 促葡萄糖转运功能测定

选用3 dpf的AB品系斑马鱼,加入到24孔板中培养,每孔10条鱼、2 mL培养液。随机分配为空白组(Ctl)、2-NBDG组、样品组、阳性药组(大黄素)。空白组和2-NBDG组斑马鱼给予正常养鱼水饲养。样品组加入不同浓度多糖样品,处理1 h,更换新鲜鱼水。阳性药组加入浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素,处理1 h,更换新鲜鱼水。空白组继续在新鲜鱼水中正常饲养,2-NBDG、样品组和阳性药组加入浓度为0.6 mmol/L的2-NBDG,处理3 h,吸出原来的鱼水,用新鲜鱼水洗涤3次,用三卡因麻醉,将含有甲基纤维素的载玻片固定斑马鱼拍照,用Image-J软件计算斑马鱼体内和眼部的平均荧光强度。

1.4 数据处理

数据采用Origin 9.0作图,并用SPSS 20.0进行显著性分析。光谱数据使用OMNIC 8.2软件进行处理。

2 结果与分析

2.1 蒸汽爆破压力对瓦尼桑黄多糖溶出率的影响

蒸汽爆破压力对多糖溶出率的影响见图1。

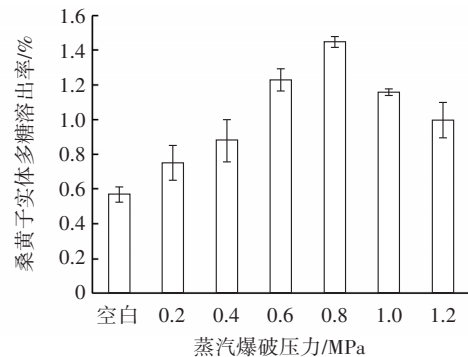


图1 蒸汽爆破压力对瓦尼桑黄多糖溶出率的影响

Fig.1 Effect of steam explosion pressure on the dissolution rate of polysaccharide from Sanghuangporus vaninii

由图1可知,当蒸汽爆破压力为0.2~1.2 MPa时,随着汽爆压力的增加,瓦尼桑黄多糖溶出率呈先升高后降低的趋势。当蒸汽爆破压力为0.8 MPa时,瓦尼桑黄多糖溶出率最高,为1.45%。因此,选择0.8 MPa为最适蒸汽爆破压力。蒸汽爆破的主要作用机理分为两方面,一方面是高温高压水蒸气渗入到植物组织内部,在瞬时降压时导致细胞壁表面产生裂缝和微孔,在提取时,提取溶剂更容易渗入,促进可溶性多糖溶出;另一方面是由于蒸汽爆破过程的高温高压条件会引发纤维素和木质素等大分子物质部分降解成糖类,一定程度提高了可溶性多糖含量^[6]。

2.2 蒸汽爆破维压时间对瓦尼桑黄多糖溶出率的影响

蒸汽爆破维压时间对瓦尼桑黄多糖溶出率的影响见图2。

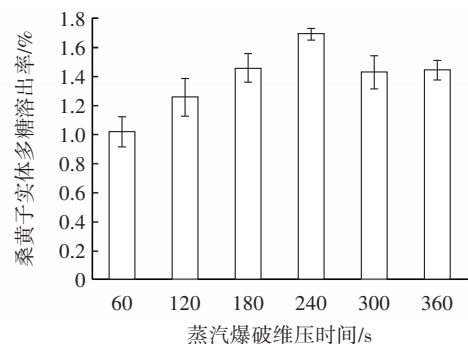


图2 蒸汽爆破维压时间对瓦尼桑黄多糖溶出率的影响

Fig.2 Effect of the time of steam explosion pressure on the dissolution rate of polysaccharide from Sanghuangporus vaninii

由图2可知,当蒸汽爆破压力为0.8 MPa、蒸汽爆破维压时间为60~360 s时,随着蒸汽爆破维压时间的延长,瓦尼桑黄多糖溶出率呈先升高后降低的趋势。蒸汽爆破维压时间为240 s时,多糖溶出率最高,为1.68%,继续延长维压时间,多糖溶出率下降,因此选择

240 s 为最适维压时间。

2.3 蒸汽爆破对子实体单糖组成的影响

表 1 为瓦尼桑黄多糖中单糖种类及相对含量的差异。

表 1 不同蒸汽爆破压力条件下瓦尼桑黄单糖组成差异

Table 1 The difference of monosaccharide composition of *Sanghuangporus vaninii* under different steam explosion pressures

单糖种类	蒸汽爆破压力/MPa			
	对照	0.4	0.8	1.2
岩藻糖	0.112	0.129	0.084	0.084
氨基半乳糖盐酸盐	0	0	0	0
鼠李糖	0	0	0	0
阿拉伯糖	0.016	0.040	0.020	0
盐酸氨基葡萄糖	0.037	0.029	0	0.012
半乳糖	0.152	0.043	0.033	0.047
葡萄糖	0.223	0.508	0.620	0.462
N-乙酰-D 氨基葡萄糖	0	0	0	0
木糖	0.104	0.026	0.002	0.021
甘露糖	0.185	0.149	0.121	0.176
果糖	0	0	0	0
核糖	0	0	0	0
半乳糖醛酸	0.015	0.001	0	0
古洛糖醛酸	0.028	0	0	0
葡糖醛酸	0.128	0.075	0.008	0.198
甘露糖醛酸	0	0	0	0

由表 1 可知,瓦尼桑黄中含量相对较高的单糖分别为岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖和葡糖醛酸,且葡萄糖占比最高。瓦尼桑黄中均未检测出氨基半乳糖盐酸盐、鼠李糖、N-乙酰-D 氨基葡萄糖、果糖、核糖和甘露糖醛酸。随着蒸汽爆破压力的增大,单糖的组成比例也在不断变化,葡萄糖占比逐渐上升,当蒸汽爆破压力为 0.8 MPa 时,葡萄糖占比达到 0.620,而其他单糖(木糖和半乳糖)占比下降,这可能是因为汽爆引发一部分纤维素和半纤维素水解,导致单糖比例产生差异,也可能是高温高压环境影响了单糖结构。葛青等^[18]发现桑黄子实体中主要的单糖为岩藻糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖和甘露糖。陈体强等^[19]研究发现桑黄子实体多糖主要由甘露糖、半乳糖、葡萄糖组成,摩尔比为 0.260:0.112:1.000。Kim 等^[20]测定的桑黄子实体多糖部分由甘露糖、半乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖和木糖组成,与本研究结果相似,同时本研究发现蒸汽爆破后的子实体单糖的组成组分中,葡萄糖的占比提高,而木糖和半乳糖占比下降。蒸汽爆破可以促进水溶性多糖和小分子多糖的溶出,改变功能性多糖的结构。蒸汽爆破通过破坏功能性多糖的结构和氢键,改变了多糖中葡萄糖、木糖与半乳糖的相对含量^[21]。

2.4 瓦尼桑黄多糖傅里叶变换红外试验

瓦尼桑黄多糖组分的红外光谱结果见图 3。

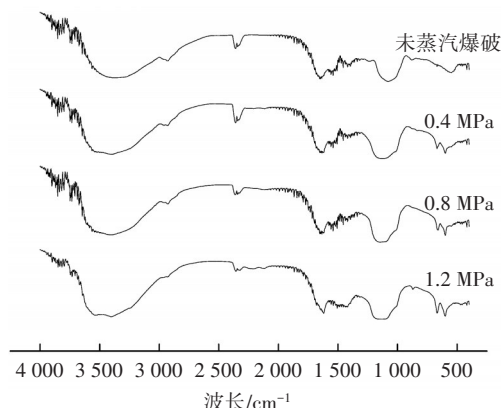


图 3 瓦尼桑黄多糖傅里叶变换红外光谱图

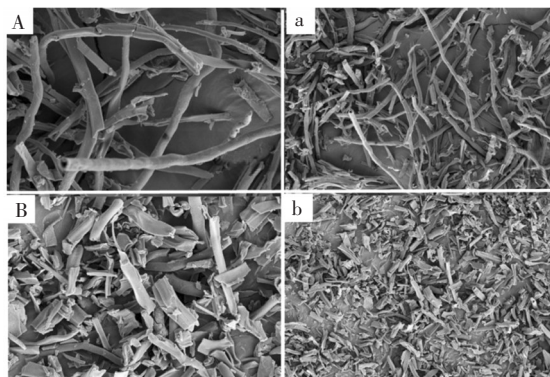
Fig. 3 Fourier transform infrared spectrum of polysaccharide from *Sanghuangporus vaninii*

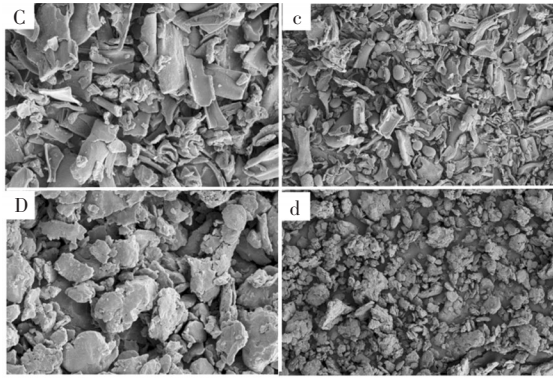
由图 3 可知,吸收带在 3 600~3 200 cm^{-1} 是一OH 的伸缩振动吸收峰,这个区域的吸收峰是糖类的特征峰。蒸汽爆破处理后瓦尼桑黄多糖吸收峰峰形变窄,吸收强度提高,说明蒸汽爆破处理可能破坏了纤维素之间的氢键,使更多的羟基基团暴露。3 399 cm^{-1} 处是 O—H 的伸缩振动吸收峰,是糖类的特征峰。在 2 962、2 927 cm^{-1} 处有吸收峰,可能归属于 C—H 伸缩振动。在 1 635 cm^{-1} 处有一个吸收峰,可能归属于结晶水。在 1 558 cm^{-1} 处有吸收峰,可能归属于 C=O 非对称伸缩振动。在 1 417、1 139、1 072 cm^{-1} 处有吸收峰,可能归属于 C—O 伸缩振动。在 1 016 cm^{-1} 处有吸收峰,可能归属于 O—H 变角振动。在 875 cm^{-1} 处有吸收峰,可能归属于吡喃环的端基差向异构 C—H 以外的赤道键的 C—H 变角振动。蒸汽爆破处理后的样品,吸收峰发生一定程度的红移,说明蒸汽爆破处理对瓦尼桑黄多糖的微观结构产生了影响。

2.5 蒸汽爆破对瓦尼桑黄微观结构的影响

蒸汽爆破处理前后的瓦尼桑黄原料电子扫描显微镜结果见图 4。

由图 4 可知,未蒸汽爆破时瓦尼桑黄微观结构完





A~D 分别为蒸汽爆破压力 0、0.4、0.8、1.2 MPa 的电镜图(放大 5 000 倍);a~d 分别为蒸汽爆破压力 0、0.4、0.8、1.2 MPa 的电镜图(放大 1 000 倍)。

图 4 瓦尼桑黄子实体电镜图

Fig.4 Electron microscopic images of *Sanghuangporus vaninii*

整,呈现树枝状,连接紧密。当蒸汽爆破压力为 0.4 MPa 时,子实体断裂,成为片状;当压力增加到 0.8 MPa,组织结构从内部开始破裂,进一步碎片化;当蒸汽爆破压力为 1.2 MPa 时,瓦尼桑黄呈现疏松的粉末状。表明蒸汽爆破改变了瓦尼桑黄的微观结构,蒸汽爆破后瓦尼桑黄内部比表面积和空隙率明显增大,因此能大大增加与提取试剂的接触体积,提高多糖的溶出率。

2.6 瓦尼桑黄多糖体外降血糖试验

以阿卡波糖为阳性对照,测定不同质量浓度瓦尼桑黄多糖及阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用,结果见图 5。

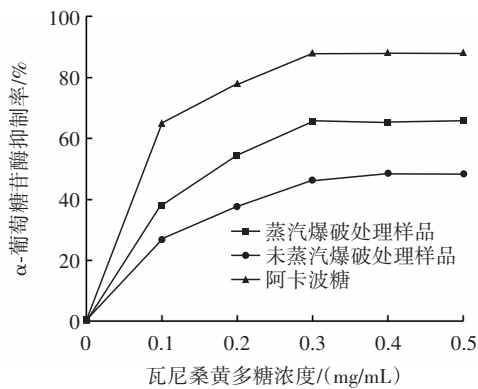


图 5 瓦尼桑黄多糖及阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用

Fig.5 Inhibition rate of *Sanghuangporus vaninii* polysaccharide and acarbose on α -glycosidase

由图 5 可知,瓦尼桑黄多糖对 α -葡萄糖苷酶活性产生了明显的抑制作用。样品质量浓度在 0.1~0.3 mg/mL 时,瓦尼桑黄多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用具有剂量浓度依赖性,经过蒸汽爆破处理的瓦尼桑黄多糖对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用更强,多糖浓度为 0.3 mg/mL,抑制率达到 65%,两者的抑制作用均低于阿卡波糖的抑制作用。

2.7 斑马鱼试验

2.7.1 安全剂量

以不同剂量的多糖处理不同时期的斑马鱼幼鱼,结果见表 2。

表 2 瓦尼桑黄多糖对斑马鱼幼鱼安全剂量测试

Table 2 Safe dose test of *Sanghuangporus vaninii* polysaccharide to zebrafish

组别	瓦尼桑黄多糖浓度/ μ g/mL	平均存活率/%		
		4 dpf	5 dpf	6 dpf
未蒸汽爆破样品	5	100.00	100.00	100.00
	25	100.00	100.00	100.00
	50	100.00	100.00	100.00
	100	100.00	100.00	100.00
	200	100.00	100.00	93.33
	400	93.33	86.67	73.33
	800	76.67	63.33	36.67
蒸汽爆破样品	1 600	47.00	53.33	20.20
	5	100.00	100.00	100.00
	25	100.00	100.00	100.00
	50	100.00	100.00	100.00
	100	100.00	100.00	100.00
	200	100.00	100.00	100.00
	400	100.00	100.00	96.67
	800	100.00	100.00	83.33
	1 600	100.00	86.67	66.67

注:4 dpf、5 dpf、6 dpf 分别表示受精后 4、5、6 d。

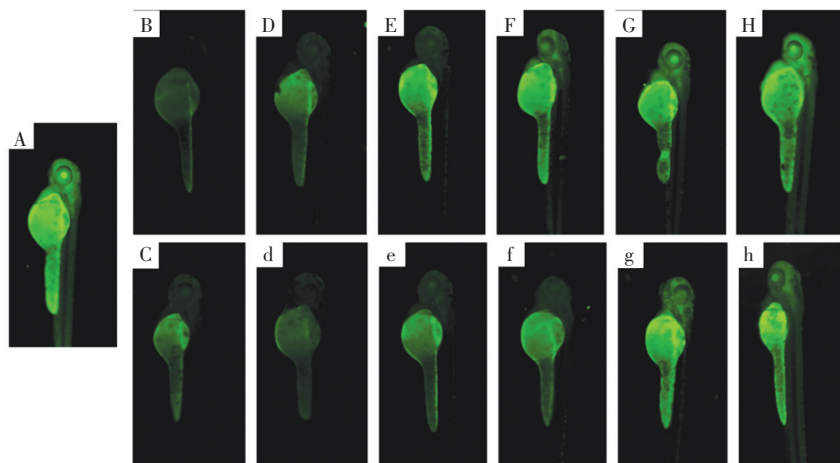
由表 2 可知,在 4 dpf 时,经过蒸汽爆破处理的多糖不会引起斑马鱼的死亡,在 6 dpf 时,在 400 μ g/mL 的浓度下引起斑马鱼死亡,当多糖浓度为 1 600 μ g/mL 时,死亡率升高明显。未经过蒸汽爆破处理提取的多糖表现出较强的急性毒性,在 400 μ g/mL 的浓度下即可引起较高的死亡率。蒸汽爆破影响多糖的组成比例及活性强弱,导致斑马鱼对其耐受度不同。根据以上结果,确定蒸汽爆破处理的多糖的安全剂量为 ≤ 800 μ g/mL,未蒸汽爆破处理的多糖安全剂量为 ≤ 400 μ g/mL。

2.7.2 降血糖功效评价

斑马鱼体内荧光效果图见图 6。

如图 6 所示,空白组斑马鱼体内可以观察到微弱的绿色荧光,腹腔内荧光强度相对较强,这是由斑马鱼组织内的维生素 C、去氢抗坏血酸等小分子化合物产生的荧光。以 0.6 mmol/L 2-NBDG 处理 3 h 后,斑马鱼体内和眼部的荧光强度均增强,这说明斑马鱼体内能够摄入一定量的 2-NBDG。以蒸汽爆破后的多糖样品处理斑马鱼 1 h,然后用 2-NBDG 处理 3 h 后,斑马鱼体内和眼部的绿色荧光明显增强,且荧光强度随着样品浓度的增加呈递增趋势,表明蒸汽爆破后的样品可明显促进 2-NBDG 在斑马鱼体内的转运效率。

瓦尼桑黄多糖、大黄素和 2-NBDG 作用下斑马鱼体内和斑马鱼眼部平均荧光强度见图 7 和图 8。



A 为大黄素(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)饲养后荧光效果图;B 为空白组;C 为 2-NBDG(0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$)饲养后荧光效果图;D~H 为蒸汽爆破处理后的桑黄多糖样品(8、16、32、64、128 $\mu\text{g}/\text{mL}$)饲养后荧光效果图;d-h 为未蒸汽爆破处理桑黄多糖样品(8、16、32、64、128 $\mu\text{g}/\text{mL}$)饲养后荧光效果图。

图 6 斑马鱼体内荧光效果图

Fig.6 Fluorescence images of zebrafish

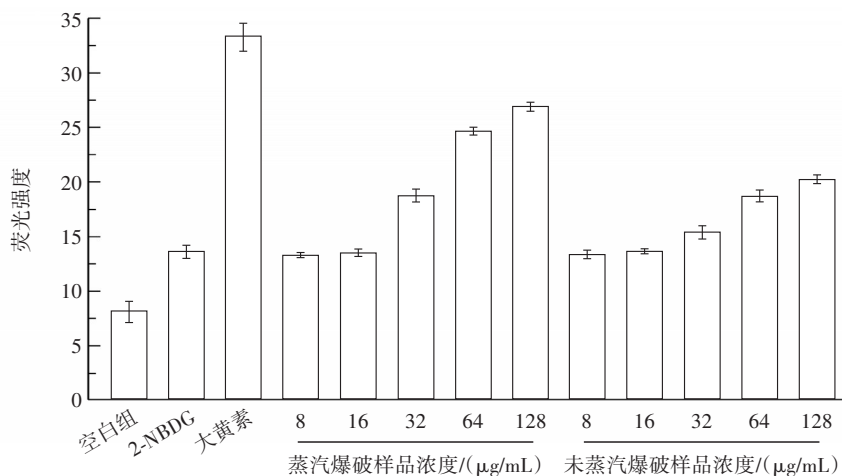


图 7 瓦尼桑黄多糖、大黄素和 2-NBDG 作用下斑马鱼体内平均荧光强度

Fig. 7 Mean fluorescence intensity in zebrafish under the effects of *Sanghuangporus vaninii* polysaccharide, emodin and 2-NBDG

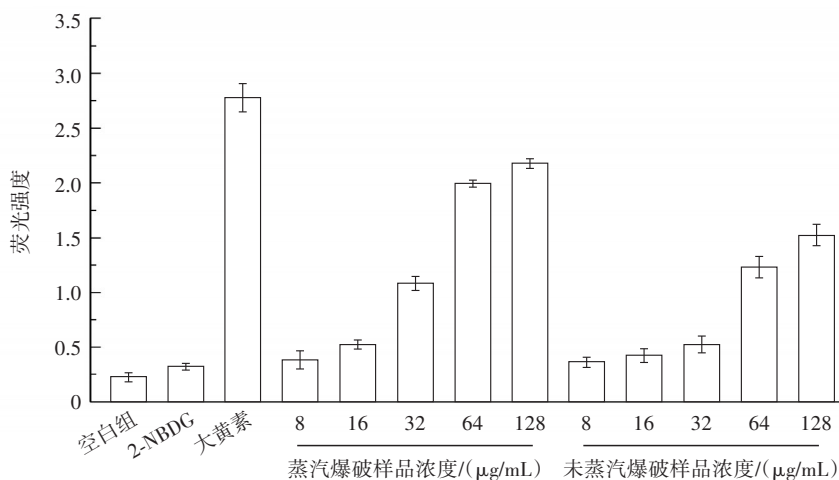


图 8 瓦尼桑黄多糖、大黄素和 2-NBDG 作用下斑马鱼眼部平均荧光强度

Fig.8 Mean fluorescence intensity in zebrafish eye under the effects of *Sanghuangporus vaninii* polysaccharide, emodin and 2-NBDG

由图 7 和图 8 可知,经过蒸汽爆破处理的多糖浓度为 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,斑马鱼体内和斑马鱼眼部的荧光强

度显著增强,当多糖浓度达到 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,荧光强度最强,与大黄素的促 2-NBDG 转运能力接近。未蒸汽爆破处理的样品也可以引起斑马鱼体内和眼部的荧光强度增强,但是与蒸汽爆破处理的样品相比,其强度相对较弱,表明蒸汽爆破后的样品具有良好的降血糖功效。有关蒸汽爆破促进多糖功能活性的研究已有很多,蒸汽爆破处理后的牛膝多糖抗氧化性显著增加,清除 DPPH 自由基能力由 77.9% 增至 90.1%^[22]。Liu 等^[23]利用蒸汽爆破提取葡萄中的多糖,发现蒸汽爆破处理后的多糖能明显提高 α -葡萄糖苷酶抑制率。Liang 等^[24]研究了蒸汽爆破预处理对茯苓多糖免疫刺激活性的影响,蒸汽爆破处理过的多糖对细胞的吞噬能力、肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素-6 的分泌均有促进作用,功能活性增强的原因可能归结于内部官能团的改变、生物利用度的提高等因素。

3 讨论与结论

本研究通过蒸汽爆破预处理瓦尼桑黄,验证了蒸汽爆破压力和维压时间对瓦尼桑黄多糖溶出率的影响。经过蒸汽爆破处理的瓦尼桑黄多糖溶出率明显提升,最高达到 1.68%。但当蒸汽爆破压力和维压时间超过一定限度后,多糖溶出率反而下降。过高的蒸汽爆破压力和过长的维压时间,容易引起样品焦化,多糖组织结构破坏严重,导致溶出率降低。未蒸汽爆破时瓦尼桑黄微观结构完整,呈现树枝状,连接紧密。经过蒸汽爆破处理后,从内部开始破裂,进一步碎片化,并最终呈现疏松的粉末状。蒸汽爆破处理后的多糖,吸收峰发生一定程度的红移,表明蒸汽爆破处理对瓦尼桑黄多糖的微观结构产生了影响,并且单糖组成比例也发生了变化。

本文探究瓦尼桑黄多糖的降血糖功效,经过蒸汽爆破处理的瓦尼桑黄多糖对 α -葡萄糖苷酶活性抑制作用更强,抑制率最高可达 65%。在斑马鱼试验中,蒸汽爆破处理的样品有更高的安全剂量,可明显促进 2-NBDG 在斑马鱼体内的转运效率,表明经过蒸汽爆破处理后,样品的降血糖功效增强。

综上所述,蒸汽爆破作为一种新颖的预处理方式,不仅可以提高瓦尼桑黄多糖的溶出率,还能显著提升其降血糖功效。将相关的瓦尼桑黄子实体蒸汽爆破处理,开发降血糖饮片茶,具有重要意义。

参考文献:

- [1] 吴声华,戴玉成. 药用真菌桑黄的种类解析[J]. 菌物学报, 2020, 39(5): 781-794.
WU Shenghua, DAI Yucheng. Species clarification of the medicinal fungus Sanghuang[J]. Mycosystema, 2020, 39(5): 781-794.
- [2] 万茜淋,吴新民,杨雪,等. 桑黄孔菌属的化学成分及药理作用研究进展[J]. 菌物研究, 2022, 20(1): 65-71.

- WAN Xilin, WU Xinmin, YANG Xue, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activity of *Sanghuangporus*[J]. Journal of Fungal Research, 2022, 20(1): 65-71.
- [3] 丁云云. 药用真菌桑黄化学成分的研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2017.
DING Yunyun. Chemical constituents of the medicinal fungus *Phellinus igniarius*[D]. Hefei: Anhui Medical University, 2017.
- [4] ZHANG H N, JIANG F C, LI L Q, et al. Recent advances in the bioactive polysaccharides and other key components from *Phellinus* spp. and their pharmacological effects: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 222(Pt B): 3108-3128.
- [5] LUO L J, WANG Y X, ZHANG S, et al. Preparation and characterization of selenium-rich polysaccharide from *Phellinus igniarius* and its effects on wound healing[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 264: 117982.
- [6] 田婧, 聂晶, 王树林, 等. 蒸汽爆破对膳食纤维改性作用的研究进展[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(5): 167-171.
TIAN Jing, NIE Jing, WANG Shulin, et al. Research progress of modifying effect of steam blasting on dietary fibre[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(5): 167-171.
- [7] 刘蕊琪, 宋莲军, 沈玥, 等. 蒸汽爆破技术在食品大分子物质改性中的研究概述[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(15): 292-297.
LIU Ruiqi, SONG Lianjun, SHEN Yue, et al. Research progress of steam explosion technology in modification of food macromolecules[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(15): 292-297.
- [8] MA C, NI L Y, GUO Z B, et al. Principle and application of steam explosion technology in modification of food fiber[J]. Foods, 2022, 11(21): 3370.
- [9] RAVINDRAN R, JAISWAL A K. A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: Challenges and opportunities[J]. Bioresource Technology, 2016, 199: 92-102.
- [10] 徐一凡, 部建雯, 吴茂玉, 等. 蒸汽爆破对桑黄功能成分含量及活性的影响[J]. 食品科技, 2022, 47(7): 52-59.
XU Yifan, BU Jianwen, WU Maoyu, et al. Effect of steam explosion on content and activity of functional ingredients in *Inonotus hispidus*[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(7): 52-59.
- [11] 张博华, 张明, 范祺, 等. 蒸汽爆破超声波复合提取灵芝多糖及抗氧化活性[J]. 食品工业, 2021, 42(8): 125-129.
ZHANG Bohua, ZHANG Ming, FAN Qi, et al. Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its antioxidant activity by steam explosion combined with ultrasonic[J]. The Food Industry, 2021, 42(8): 125-129.
- [12] 杨焱, 陈晓华, 戴玉成, 等. 我国桑黄产业发展现状、问题及展望: 桑黄产业发展千岛湖宣言[J]. 菌物学报, 2023, 42(4): 855-873.
YANG Yan, CHEN Xiaohua, DAI Yucheng, et al. Sanghuang industry in China: Current status, challenges and perspectives—The Qiandao Lake declaration for sanghuang industry development[J]. Mycosystema, 2023, 42(4): 855-873.
- [13] GUO S S, DUAN W W, WANG Y X, et al. Component analysis and anti-colorectal cancer mechanism via AKT/mTOR signalling pathway of *Sanghuangporus vaninii* extracts[J]. Molecules, 2022, 27(4): 1153.
- [14] LIN W C, DENG J S, HUANG S S, et al. Anti-inflammatory activity of *Sanghuangporus Sanghuang* Mycelium[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(2): 347.
- [15] CAI C S, MA J X, HAN C R, et al. Extraction and antioxidant activity of total triterpenoids in the mycelium of a medicinal fungus, *Sanghuangporus sanghuang*[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 7418.

- [16] 史玉宝, 白卫东, 赵文红, 等. 酶解辅助提取桑黄粗多糖的工艺优化[J]. 农产品加工, 2019(18): 29-32, 35.
SHI Yubao, BAI Weidong, ZHAO Wenhong, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis - assisted extraction of polysaccharides from *Phellinus igniarius*[J]. Farm Products Processing, 2019(18): 29-32, 35.
- [17] 胡莹莹, 郑丽丽, 艾斌凌, 等. 汽爆处理对香蕉花可溶性膳食纤维理化性质的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(2): 134-140.
HU Yingying, ZHENG Lili, AI Binling, et al. Effects of steam explosion on physicochemical properties of soluble dietary fiber from banana flowers[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(2): 134-140.
- [18] 葛青, 张安强, 孙培龙. 桑黄子实体多糖的分离纯化及单糖组成研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 291-294.
GE Qing, ZHANG Anqiang, SUN Peilong. Isolation, purification and monosaccharide composition analysis of polysaccharide from fruiting bodies of *Phellinus igniarius* (L. ex. Fr.) quel[J]. Food Science, 2008, 29(9): 291-294.
- [19] 陈体强, 吴锦忠, 纪建英, 等. 桑黄栽培子实体成分分析及其显微形态观察[J]. 菌物研究, 2005, 3(1): 30-34.
CHEN Tiqiang, WU Jinzhong, JI Jianying, et al. Composition analysis and micro-morphological observation of log-cultivated fruitbodies of *Phellinus igniarius*[J]. Journal of Fungal Research, 2005, 3(1): 30-34.
- [20] KIM G Y, LEE J Y, LEE J O, et al. Partial characterization and immunostimulatory effect of a novel polysaccharide-protein complex extracted from *Phellinus linteus*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2006, 70(5): 1218-1226.
- [21] 梁结桦, 杜冰. 蒸汽爆破茯苓多糖提取工艺优化[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(12): 73-77.
LIANG Jiehua, DU Bing. Optimization of extraction process of *Poria cocos* polysaccharide by steam explosion[J]. Cereals & Oils, 2021, 34(12): 73-77.
- [22] 易军鹏, 王赛, 李欣, 等. 蒸汽爆破提取牛膝多糖工艺优化及抗氧化性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(6): 145-151.
YI Junpeng, WANG Sai, LI Xin, et al. Optimization of steam explosion pretreatment for polysaccharides extraction from *Achyranthes bidentataradix* and of its antioxidant activity evaluation[J]. Food & Machinery, 2018, 34(6): 145-151.
- [23] LIU C Y, SUN Y Y, JIA Y Q, et al. Effect of steam explosion pretreatment on the structure and bioactivity of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 185: 194-205.
- [24] LIANG J H, ZHAO M H, XIE S W, et al. Effect of steam explosion pretreatment on polysaccharide isolated from *Poria cocos*: Structure and immunostimulatory activity[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(10): e14355.

加工编辑: 刘艳美
收稿日期: 2023-02-10