

大豆多糖与纳豆多糖结构特征和主要生物活性比较

许梦粤¹, 丁泽宇¹, 李锦鹏¹, 王 灿¹, 王铭阳¹, 刘 琴¹, 曾长立², 王红波^{1,3,*}

(1. 江汉大学生命科学学院, 食品营养与安全研究中心, 湖北 武汉 430056; 2. 湖北省汉江流域特色生物资源保护开发与利用工程技术研究中心, 湖北 武汉 430056; 3. 湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心, 湖北 武汉 430056)

摘要: 采用水提醇沉方法制备大豆和纳豆粗多糖样品, 解析大豆多糖和纳豆多糖的化学组成及结构特征, 研究大豆多糖和纳豆多糖的溶于水能力、持水能力和脂肪结合能力, 比较分析大豆多糖和纳豆多糖的体外抗氧化、降血糖和降血脂生物活性。结果表明: 纳豆多糖中糖醛酸含量显著高于大豆多糖 ($P < 0.05$); 大豆多糖和纳豆多糖的分子质量分别为5.256、33.532 ku, 说明大豆多糖和纳豆多糖的单糖组成种类相似但比例不同; 大豆多糖的表面粗糙, 纳豆多糖表面光滑致密; 纳豆多糖的溶于水能力是大豆多糖的2.04倍, 而大豆多糖的脂肪结合能力是纳豆多糖的2.99倍; 纳豆多糖对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基的清除能力和2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)阳离子自由基清除能力的半抑制质量浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 分别为 (0.049 ± 0.015) 、 (2.640 ± 0.072) mg/mL, 表现出更佳的抗氧化活性; 纳豆多糖抑制 α -淀粉酶活性的 IC_{50} 为 (3.297 ± 0.395) mg/mL, 体外降血糖活性显著高于大豆多糖 ($P < 0.05$); 纳豆多糖比大豆多糖具有更强的胆酸盐结合能力, 表现出更优的体外降血脂活性。本研究为纳豆多糖的结构分析和生物活性研究提供了重要的理论依据。

关键词: 大豆; 纳豆; 多糖; 结构特征; 生物活性

Comparison of Structural Characteristics and Major Biological Activities of Polysaccharides from Soybean and Natto

XU Mengyue¹, DING Zeyu¹, LI Jinpeng¹, WANG Can¹, WANG Mingyang¹, LIU Qin¹, ZENG Changli², WANG Hongbo^{1,3,*}

(1. Research Center of Food Nutrition and Safety, School of Life Sciences, Jiangnan University, Wuhan 430056, China; 2. Hubei Engineering Research Center for Protection and Utilization of Special Biological Resources in the Hanjiang River Basin, Wuhan 430056, China; 3. Hubei Province Engineering Research Center for Legume Plants, Wuhan 430056, China)

Abstract: In this study, crude polysaccharides from soybean and natto were prepared by water extraction followed by ethanol precipitation. The chemical compositions, structural characteristics, water solubility, water-holding capacity (WHC) and fat-binding capacity (FBC) of soybean and natto polysaccharides were analyzed. Their *in vitro* antioxidant, hypoglycemic, and lipid-lowering activities were compared and analyzed. The results showed that the content of uronic acid was significantly higher in natto polysaccharide than in soybean polysaccharide ($P < 0.05$). The molecular masses of soybean and natto polysaccharides were 5.256 and 33.532 ku, respectively, and the monosaccharide compositions of soybean and natto polysaccharides were similar in the types but different in the proportions of monosaccharide. The surface of soybean polysaccharide was rough, whereas the surface of natto polysaccharide was smooth and dense. The water solubility of natto polysaccharide was 2.04 times as high as that of soybean polysaccharide, and the FBC was 2.99 times as high as that of natto polysaccharide. Natto polysaccharide exhibited better antioxidant activity, with half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of (0.049 ± 0.015) and (2.640 ± 0.072) mg/mL for scavenging of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) cation radical, respectively. The IC_{50} for the inhibition of α -amylase activity by natto polysaccharide was (3.297 ± 0.395) mg/mL. Natto polysaccharide had significantly higher *in vitro* hypoglycemic activity ($P < 0.05$), stronger

收稿日期: 2023-08-08

基金项目: 市属高校产学研项目(CXY202202); 湖北省重点研发计划项目(2022BBA0064);

江汉大学一流学科建设重大专项资助计划项目(2023XKZ023)

第一作者简介: 许梦粤(1994—)(ORCID: 0009-0007-8640-790X), 女, 硕士研究生, 研究方向为微生物学。

E-mail: benmao10110403@163.com

*通信作者简介: 王红波(1982—)(ORCID: 0000-0002-6300-7002), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品加工与安全。

E-mail: bobo110110165@sina.com

cholate binding capacity and *in vitro* hypolipidemic activity than soybean polysaccharide. This study has provided an important theoretical basis for the structural analysis and biological activity evaluation of natto polysaccharide.

Keywords: soybean; natto; polysaccharide; structural characteristics; biological activity

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230808-050

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 07-0078-09

引文格式:

许梦粤, 丁泽宇, 李锦鹏, 等. 大豆多糖与纳豆多糖结构特征和主要生物活性比较[J]. 食品科学, 2024, 45(7): 78-86.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230808-050. <http://www.spkx.net.cn>

XU Mengyue, DING Zeyu, LI Jinpeng, et al. Comparison of structural characteristics and major biological activities of polysaccharides from soybean and natto[J]. Food Science, 2024, 45(7): 78-86. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230808-050. <http://www.spkx.net.cn>

大豆是一种优质的食品原料, 含有多糖、异黄酮、多肽、磷脂和皂苷等生物活性成分^[1]。纳豆是由大豆经浸泡、蒸煮和接种纳豆芽孢杆菌发酵等工序制备的发酵食品^[1]。大豆和纳豆的主要营养成分和生物活性物质差异显著。纳豆芽孢杆菌分泌的多种酶能水解大豆中的蛋白质和脂质等物质, 产生氨基酸、有机酸、脂肪酸和酵素等小分子物质, 更易被人体吸收^[2]。微生物发酵不仅可以改变大豆食品的风味, 还可以提高大豆食品的营养价值^[3-4]。纳豆中含有纳豆激酶、多糖和亚油酸等活性物质, 具有溶血栓、抗氧化、保护肝脏和预防心脑血管疾病等功能^[5]。

豆类多糖是从豆类中提取的一类由10个及以上单糖或单糖衍生物通过糖苷键缩合形成的天然高分子化合物, 具有抗氧化、降血糖、降血脂、免疫调节和保护肠胃等生物活性^[6]。多糖化学组成、分子质量和糖苷键的连接方式等结构特征是决定其生物活性的主要因素^[7]。多糖的提取纯化、结构表征、结构改性和生物活性是豆类多糖研究关注的焦点。Liu Duo等^[8]研究发现, 黑豆皮多糖由甘露糖、半乳糖和葡萄糖3种单糖组成, 具有一定的抗疲劳活性。辛玥等^[9]发现, 豇豆种皮多糖是一种果胶类的酸性多糖, 具有较强的抗氧化活性。Bai Zhouya等^[10]发现, 红芸豆和小黑豆粗多糖对II型糖尿病小鼠均有缓解作用, 且对其肝功能有保护作用。

纳豆多糖是纳豆中重要的生物活性成分。但现有的研究主要聚焦于纳豆中的纳豆激酶和多肽, 对于纳豆多糖的研究报道较少。杨文丽等^[11]研究发现, 纳豆多糖是由岩藻糖、木糖醇、甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成的具有三螺旋结构的杂多糖。Matsumoto等^[12]发现, 纳豆多糖能通过抑制肠道细胞摄取葡萄糖抑制餐后高血糖。本研究采用水提醇沉法分别从大豆和纳豆中提取制备粗多糖, 比较分析2种粗多糖的结构特征、溶解性质以及体外抗氧化、降血糖和降血脂生物活性差异, 初步阐明纳豆芽孢杆菌发酵对大豆多糖的影响规律。本研究旨在为纳豆多糖的结构分析和生物活性研究提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

‘东农252’大豆产于黑龙江省哈尔滨市。

2,4,6-三(2-吡啶基)-1,3,5-三嗪 (2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine, TPTZ)、3,5-二硝基水杨酸 (3,5-dinitrosalicylic acid, DNS) 北京索来宝科技有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine, DPPH)、2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS) 上海麦克林生化试剂有限公司; 右旋糖酐-1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (5-methyl-2-phenyl-1,2-dihydropyrazol-3-one, PMP)、三氟乙酸 (trifluoroacetic acid, TFA)、单糖标准品 美国Sigma公司; α -淀粉酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶 广州硕谱生物科技有限公司; 阿卡波糖、甘氨酸氧胆酸钠、牛磺胆酸钠 上海易恩化学技术有限公司; 三氯乙酸 (trichloroacetic acid, TCA)、牛血清蛋白、可溶性淀粉等试剂 国药控股化学试剂有限公司; 纳豆芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis natto*) CICC 10263 中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.2 仪器与设备

iS50R傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 仪 美国Nicolet公司; U3000高效液相色谱仪、1510全波长酶标仪 美国赛默飞世尔科技公司; 1515高效液相色谱仪 美国Waters公司; Nova NanoSEM450场发射扫描电子显微镜 美国FEI公司; Freezone 6 Plus冷冻干燥机 美国Labconco公司。

1.3 方法

1.3.1 大豆多糖和纳豆多糖的制备

1.3.1.1 种子液的制备

将纳豆芽孢杆菌接种至LB培养基37℃培养18h, 即为种子液。

1.3.1.2 大豆固态发酵

参考刘彦敏等^[2]的方法,将大豆粉碎过筛,于121℃灭菌20 min,冷却后按1:1 (m/V)加入无菌水和5%种子液,搅拌均匀,置于37℃发酵培养3 d。发酵结束后将样品置于真空冷冻干燥机,冷冻干燥18 h,置于-20℃冰箱贮藏备用。

1.3.1.3 粗多糖提取

参考Zhu Yingying等^[13]的方法。将大豆和纳豆粉碎,过60目筛,称质量,按1:10 (m/V)加入体积分数95%乙醇溶液,室温下振荡6 h以除去脂肪和色素等杂质,以4 300×g离心10 min,收集沉淀,70℃烘箱烘干。加入蒸馏水(1:20, m/V),95℃水浴提取6 h,冷却后以4 300×g离心10 min,收集清液。加入等体积3 g/100 mL TCA溶液以除去蛋白质,4℃静置过夜,以7 700×g离心10 min,收集上清液。然后加入2倍体积无水乙醇,4℃静置过夜,以7 700×g离心10 min,收集沉淀,冷冻干燥获得粗多糖,称其质量。按式(1)计算粗多糖得率。

$$\text{粗多糖得率}/\% = \frac{\text{冻干后粗多糖质量}/\text{g}}{\text{原料质量}/\text{g}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.2 大豆多糖和纳豆多糖的结构表征

1.3.2.1 化学组成测定

以葡萄糖为标准品,采用苯酚-硫酸法^[14]测定样品中总糖含量,得线性回归方程: $y=3.2771x+0.0768$ ($R^2=0.9966$)。以半乳糖醛酸为标准品,采用间羟基联苯比色法^[15]测定样品中糖醛酸含量,得线性回归方程: $y=3.5143x+0.0477$ ($R^2=0.9941$)。以牛血清蛋白为标准品,采用Bradford法^[16]测定样品中蛋白质含量,得线性回归方程: $y=1.3157x+0.1867$ ($R^2=0.9930$)。

1.3.2.2 FTIR光谱表征

称取1~2 mg粗多糖样品于研钵中,加入200 mg溴化钾粉末研磨均匀、压片,使用FTIR仪进行扫描,扫描范围4 000~400 cm^{-1} ^[17]。

1.3.2.3 单糖组成测定

参考胡彦波等^[18]的方法,利用高效液相色谱仪测定多糖样品的单糖组成。色谱条件:流动相为乙腈-磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS, pH 6.8) (17:83, V/V),等度洗脱,流速0.8 mL/min;柱温30℃;检测波长250 nm;进样量10 μL 。

1.3.2.4 分子量分布测定

参考赵佳莹等^[19]的方法,采用高效凝胶渗透色谱(high performance gel permeation chromatography, HPGPC)测定多糖样品分子量分布。以不同右旋糖酐标准品相对分子质量(M_p 为峰位分子质量, M_w 为重均分子质量, M_n 为数均分子质量)的对数值为

纵坐标,以相应色谱峰的保留时间 t 为横坐标,得 $\lg M_p-t$ 、 $\lg M_w-t$ 、 $\lg M_n-t$ 校正曲线: $\lg M_w = -0.1772t + 11.0909$ ($R^2=0.9936$); $\lg M_p = -0.1688t + 10.6871$ ($R^2=0.9926$); $\lg M_n = -0.1685t + 10.5937$ ($R^2=0.9945$)。色谱条件:流动相0.05 mol/L NaCl溶液,检测器为示差检测器,柱温40℃,流速0.65 mL/min,进样量30 μL 。

1.3.2.5 多糖表面结构观察

取适量多糖样品于导电碳胶带上,喷金处理后,置于扫描电子显微镜中观察拍照。设定工作电压10.0 kV,观察多糖表面结构,于200、1 000、2 000倍放大拍照^[20]。

1.3.3 多糖溶水能力、持水能力和脂肪结合能力测定

参考Jeddou^[21]、Chu Jiayi^[22]的方法。称取50 mg多糖样品,加入1 mL蒸馏水,旋涡混合,25℃振荡20 h。12 000×g离心10 min,收集清液,加入3倍体积无水乙醇,4℃静置过夜,以12 000×g离心10 min,收集沉淀,冻干后称质量,即为上清液中总碳水化合物质量,按式(2)计算溶水能力。收集第1次离心后的沉淀,70℃干燥6 h,称质量,按式(3)计算持水能力。称取50 mg多糖样品于空离心管中,称空离心管质量,加入1 mL植物油,每5 min混合30 s,重复6次,1 600×g离心20 min,弃上清液,离心管在滤纸上排液30 min,称离心管质量,按式(4)计算脂肪结合能力。

$$\text{溶水能力}/\% = \frac{\text{上清液中总碳水化合物质量}/\text{g}}{\text{样品质量}/\text{g}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{持水能力}/\% = \frac{\text{沉淀烘干后质量}/\text{g}}{\text{样品质量}/\text{g}} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{脂肪结合能力}/\% = \frac{\text{排液后离心管质量}/\text{g} - \text{空离心管质量}/\text{g}}{\text{样品质量}/\text{g}} \times 100 \quad (4)$$

1.3.4 大豆多糖和纳豆多糖体外抗氧化活性测定

1.3.4.1 DPPH自由基清除活性

参考辛玥等^[9]的方法。取0.2 mL多糖样品溶液(0.125、0.25、0.5、1 mg/mL),加入0.2 mL 0.1 mmol/L DPPH溶液(溶于50%乙醇溶液),混合均匀,避光反应30 min,于517 nm波长处测定吸光度。按式(5)计算DPPH自由基清除率,以VC为阳性对照。

$$\text{DPPH自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}\right) \times 100 \quad (5)$$

式中: A_0 为0.2 mL H_2O +0.2 mL DPPH溶液的吸光度; A_1 为0.2 mL样品溶液+0.2 mL 50%乙醇溶液的吸光度; A_2 为0.2 mL样品溶液+0.2 mL DPPH溶液的吸光度。

1.3.4.2 ABTS阳离子自由基清除活性

参考Teng Cong等^[23]的方法。将7.4 mol/L ABTS阳离子溶液和3.8 mmol/L硫酸钾溶液等体积混合,避光反应12 h,即为母液。在734 nm波长下,用pH 7.4 PBS将

母液吸光度调整到 0.70 ± 0.02 , 得到工作液。取 $25 \mu\text{L}$ 多糖样品溶液 (0.5 、 1.0 、 2.0 、 4.0 mg/mL) , 加入 $250 \mu\text{L}$ ABTS阳离子工作液混匀, 避光静置 15 min , 734 nm 波长处测定吸光度, 按式(6)计算ABTS阳离子自由基清除率, 以VC为阳性对照。

$$\text{ABTS阳离子自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_5 - A_4}{A_3}\right) \times 100 \quad (6)$$

式中: A_3 为 $25 \mu\text{L}$ H_2O + $250 \mu\text{L}$ ABTS阳离子工作液的吸光度; A_4 为 $25 \mu\text{L}$ 样品溶液 + $250 \mu\text{L}$ PBS的吸光度; A_5 为 $25 \mu\text{L}$ 样品溶液 + $250 \mu\text{L}$ ABTS阳离子工作液的吸光度。

1.3.4.3 铁离子还原能力 (ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)

参考Liu Xuexia等^[24]的方法。以 FeSO_4 溶液浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 得线性回归方程: $y = 0.6898x + 0.0600$ ($R^2 = 0.9921$)。将 300 mmol/L 醋酸盐缓冲液、 10 mmol/L TPTZ溶液和 20 mmol/L 氯化铁溶液混合 (体积比 $10:1:1$) , 即为FRAP工作液。取 0.1 mL 多糖样品溶液 (0.5 、 1.0 、 2.0 、 4.0 mg/mL) , 加入 0.9 mL FRAP工作液, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 5 min , 595 nm 波长处测定吸光度, 根据标准曲线计算FRAP。

1.3.5 α -淀粉酶抑制活性测定

参考Gu Shuangshuang等^[25]的方法。取 0.4 mL 多糖样品溶液 (0.5 、 1.0 、 2.0 、 4.0 mg/mL) , 加入 0.2 mL 质量分数 1% 淀粉溶液, 置于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中温育 5 min 。加入 0.2 mL α -淀粉酶溶液 (0.5 mg/mL) , $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 下反应 10 min , 加入 0.4 mL DNS试剂终止反应, 沸水浴加热 5 min , 冰水冷却。 540 nm 波长处测定吸光度, 按式(7)计算 α -淀粉酶抑制率, 以阿卡波糖为阳性对照。

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}/\% = \left(1 - \frac{A_8 - A_7}{A_6}\right) \times 100 \quad (7)$$

式中: A_6 为 0.4 mL PBS + 0.2 mL 1% 淀粉溶液 + 0.2 mL α -淀粉酶溶液 + 0.4 mL DNS的吸光度; A_7 为 0.4 mL 样品溶液 + 0.2 mL 1% 淀粉溶液 + 0.2 mL PBS + 0.4 mL DNS的吸光度; A_8 为 0.4 mL 样品溶液 + 0.2 mL 1% 淀粉溶液 + 0.2 mL α -淀粉酶溶液 + 0.4 mL DNS的吸光度。

1.3.6 大豆多糖和纳豆多糖体外降脂实验

参考Qin Hana等^[26]的方法。取 2 mL 胆酸盐系列标准溶液 (含甘氨酸胆酸钠 0.03 、 0.06 、 0.12 、 0.18 、 0.24 、 0.30 mmol/L , 牛磺胆酸钠 0.05 、 0.10 、 0.15 、 0.20 、 0.25 、 0.30 mmol/L) , 加入 6 mL 60% H_2SO_4 溶液, $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴 40 min , 冰水浴 5 min , 387 nm 波长处测定吸光度, 得牛磺胆酸钠线性回归方程为 $y = 0.1269x + 0.0615$ ($R^2 = 0.9954$) , 甘氨酸胆酸钠线性回归方程为 $y = 0.1611x + 0.0500$ ($R^2 = 0.9992$)。取 0.2 mL 多糖样品溶液 (0.5 、 1.0 、 2.0 、 4.0 mg/mL) , 加入 0.2 mL 胃蛋白酶 (10 mg/mL) 和 0.6 mL HCl 溶液 (0.01 mol/L) , $37 \text{ }^\circ\text{C}$

恒温振荡, 模拟胃环境消化 1 h 。用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节pH值至 6.3 , 加入 0.8 mL 胰蛋白酶 (10 mg/mL) , 模拟肠道环境消化 1 h 。加入 0.8 mL 胆酸盐 (含甘氨酸胆酸钠 0.4 mmol/L 、牛磺胆酸钠 0.5 mmol/L) 消化 1 h , 以 $6500 \times g$ 离心 10 min , 收集清液, 测定胆酸盐含量。分别按式(8)、(9)计算甘氨酸胆酸钠和牛磺胆酸钠的结合率。

$$\text{甘氨酸胆酸钠结合率}/\% = \frac{c_1 - c_2}{c_1} \times 100 \quad (8)$$

$$\text{牛磺胆酸钠结合率}/\% = \frac{c_3 - c_4}{c_3} \times 100 \quad (9)$$

式中: c_1 为甘氨酸胆酸钠加入量/ μmol ; c_2 为甘氨酸胆酸钠剩余量/ μmol ; c_3 为牛磺胆酸钠加入量/ μmol ; c_4 为牛磺胆酸钠剩余量/ μmol 。

1.4 数据处理

所有实验均重复 3 次, 结果以平均值 \pm 标准差表示。采用SPSS (version 25.0) 软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表明具有显著差异。使用Origin 2021软件绘图。

2 结果与分析

2.1 粗多糖得率与化学组分分析

由表1可知, 大豆多糖和纳豆多糖的得率分别为 (1.83 ± 0.57)%、(2.49 ± 0.54)%。发酵过程中纳豆芽孢杆菌产生的系列酶分解植物细胞壁, 加速多糖释放^[22], 纳豆多糖的得率高于大豆多糖, 更有利于功能多糖的人体吸收。纳豆多糖的总糖含量是大豆多糖的 1.42 倍, 二者之间差异显著 ($P < 0.05$)。纳豆多糖中糖醛酸含量显著高于大豆多糖 ($P < 0.05$)。Zhang Lili等^[27]研究发现, 纳豆芽孢杆菌能分泌蛋白酶水解蛋白质, 使蛋白质含量降低。因此, 纳豆多糖中蛋白质含量显著降低 ($P < 0.05$) , 多糖纯度提高。胡彦波等^[18]研究发现, 含少量蛋白质的粗多糖样品对后续抗氧化活性的研究无明显影响。因此, 大豆和纳豆的粗多糖样品无需进行后续脱蛋白处理。

表1 大豆多糖和纳豆多糖得率与化学成分

多糖种类	得率	总糖质量分数	糖醛酸质量分数	蛋白质质量分数
大豆多糖	1.83 ± 0.57^a	16.24 ± 1.21^b	4.35 ± 0.15^b	19.08 ± 1.21^a
纳豆多糖	2.49 ± 0.54^a	23.09 ± 1.07^a	5.12 ± 0.18^a	2.77 ± 1.06^b

注: 同列小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。表4同。

2.2 大豆多糖和纳豆多糖的结构表征

2.2.1 FTIR光谱结果

由图1可知, 大豆多糖和纳豆多糖具有相似的多糖特征吸收峰, 但吸收带强度不同, 表明纳豆芽孢杆菌发

酵过程中未破坏大豆多糖结构。但发酵过程涉及酯化、水解、氧化和还原等多种反应,均可能影响大豆多糖的结构,从而导致大豆多糖和纳豆多糖的结构特征存在差异^[28]。其中,3 500~3 200 cm^{-1} 附近的吸收峰为—OH的伸缩振动,3 000~2 800 cm^{-1} 附近的吸收峰为C—H基团的不对称伸缩振动^[29]。1 160~1 000 cm^{-1} 的吸收峰对应C—O—C和C—O—H键的拉伸振动,表明多糖中存在吡喃糖环^[30]。830 cm^{-1} 附近出现吸收峰,表明大豆多糖和纳豆多糖的内部结构中均存在 α -型糖苷键^[23]。1 665、1 450 cm^{-1} 附近的吸收峰分别对应对称和非对称C=O拉伸振动,表明多糖中可能含有较多糖醛酸^[31]。1 740 cm^{-1} 附近的吸收峰是糖醛酸的特征吸收,用于表征多糖的酯化程度^[18,24]。大豆多糖在1 740 cm^{-1} 附近无吸收峰,而纳豆多糖在1 746 cm^{-1} 处有特征峰,说明纳豆多糖的糖醛酸可能部分被酯化修饰。Li Xiaoli等^[32]研究发现,经硫酸酯化后的牡丹种子多糖的糖醛酸含量为(25.62±0.64)%,是牡丹种子多糖的5.04倍,硫酸酯化后多糖的水溶性和生物活性等均显著增强。采用浓硫酸法和氯磺酸-吡啶法修饰的天然多糖易降解^[33],且氯磺酸等试剂有剧毒,可能产生毒副作用^[34-35]。微生物发酵酯化修饰的多糖食品安全性较高。

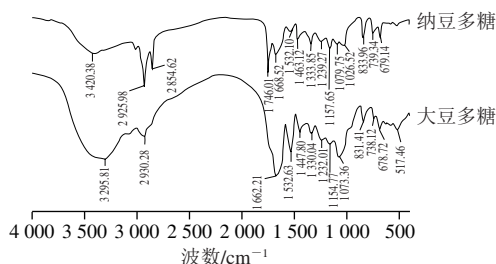


图1 大豆多糖和纳豆多糖的FTIR图谱

Fig. 1 FTIR spectra of soybean and natto polysaccharides

2.2.2 单糖组成

由图2和表2可知,大豆多糖和纳豆多糖的单糖组成相似,且均为酸性杂多糖。大豆多糖主要单糖组成为甘露糖(mannose, Man)(22.72%)、葡萄糖(glucose, Glc)(17.26%)、半乳糖(galactose, Gal)(22.68%),纳豆多糖主要单糖组成为Glc(35.52%)和Gal(27.49%)。纳豆多糖中Man、半乳糖醛酸(galacturonic acid, GalA)、岩藻糖(Fucose, Fuc)物质的量分数下降,而盐酸氨基葡萄糖(D-glucosamine hydrochloride, GlcN)、Glc、Gal、木糖(xylose, Xyl)物质的量分数增加。纳豆芽孢杆菌的生物合成代谢会改变多糖中单糖的浓度和比例^[36]。杨文丽等^[11]研究发现,纳豆多糖的单糖组成及物质的量比为Fuc:木糖醇:Man:Glc:GalA=1.04:1.53:1.57:1.19:4.68。单糖组成可以反映活性多糖部分结构信息^[19]。大豆多糖和纳豆多糖的 R_1 值较小,表明其线性区域含量较低,即侧链的分支程度较高。大豆多糖和纳豆多糖的 R_2 值较高,

表明RG-I含量较高。纳豆多糖的 R_3 值(4.36)高于大豆多糖(2.65),表明纳豆多糖的RG-I中侧链占比高于大豆多糖。Mao Guizhu等^[37]研究发现,高RG-I含量和小分子质量的柑橘多糖更有利于肠道微生物生态平衡。Zhang Shikai等^[38]研究发现,富含RG-I的欧李多糖具有良好的乳化性能和抗氧化能力。

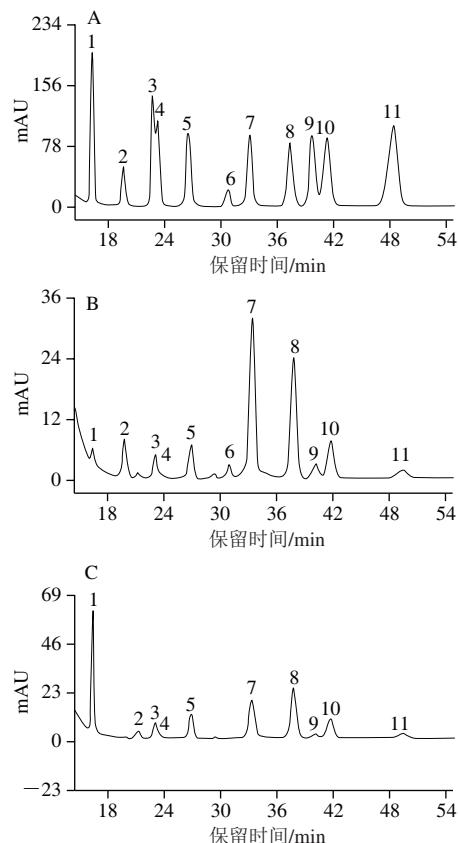


图2 大豆多糖和纳豆多糖的单糖组成高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of monosaccharide compositions of soybean and natto polysaccharides

表2 大豆多糖和纳豆多糖的单糖组成及物质的量分数

Table 2 Monosaccharide compositions of soybean and natto polysaccharides

多糖种类	Man	GlcN	Rha	GlcA	GalA	GalN	Glc	Gal	Xyl	Ara	Fuc	HG	RG-I	R_1	R_2	R_3
大豆多糖	22.72	1.40	12.52	0.57	10.64	0.00	17.26	22.68	0.17	10.56	1.47	-1.88	58.30	0.22	1.18	2.65
纳豆多糖	0.77	4.99	8.46	0.37	7.86	2.02	35.52	27.49	2.26	9.43	0.84	-0.60	53.84	0.16	1.08	4.36

注:同聚半乳糖醛酸(homogalacturonan, HG)物质的量分数1%=GalA-Rha;RG-I物质的量分数1%=(GalA-HG)+Rha+Ara+Gal; R_1 =GalA/(Gal+Rha+Xyl+Fuc+Ara+GlcA),反映HG在多糖中含量高低; R_2 =Rha/GalA,反映RG-I结构域含量高低; R_3 =(Ara+Gal)/Rha,反映RG-I结构域中侧链含量高低。

2.2.3 分子量分布

由图3可知,纳豆多糖 m_w 为33.532 ku,高于大豆多糖(5.256 ku),表明微生物发酵增加了大豆多糖的 m_w 。

发酵过程中纳豆芽孢杆菌分泌的酶可以对多糖小分子基团修饰和重组,从而改变多糖分子质量^[39]。多糖分子中含有大量羟基,羟基的伸缩振动以及分子间作用力相互聚集,特别是酸性多糖容易形成不同程度的聚集体,使得多糖分子质量增加^[40]。Liang Jingjing等^[41]研究发现,发酵乳杆菌21828发酵过程中香菇多糖分子质量由11.6 ku增加到18.7 ku,且发酵香菇多糖的免疫调节活性提高。Gu Jinyan等^[20]研究发现,相同来源的茨菇多糖,分子质量大的表现出较强的抗氧化和免疫调节活性。由表3可知,大豆多糖和纳豆多糖的分散系数(m_w/m_n)为1.2~1.5,均接近1,表明二者均一性较好。

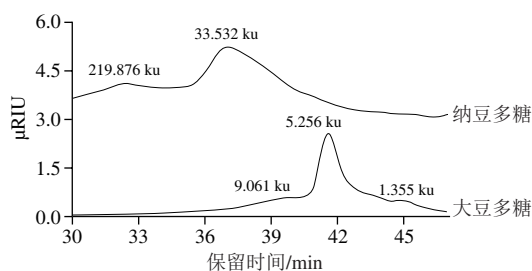


图3 大豆多糖和纳豆多糖的HPGPC图

Fig. 3 HPGPC chromatograms of soybean and natto polysaccharides

表3 大豆多糖和纳豆多糖的分子质量

Table 3 Molecular masses of soybean and natto polysaccharides

多糖种类	m_n /ku	m_w /ku	m_p /ku	m_w/m_n
大豆多糖	3.848	5.256	4.637	1.37
纳豆多糖	22.418	33.532	27.095	1.50

2.2.4 大豆多糖和纳豆多糖的微观结构

由图4可知,大豆多糖表面粗糙,有少许分支和孔洞。纳豆多糖表面呈网状和纤维状,光滑致密。大豆多糖与纳豆多糖的显微形态差异明显。多糖是具有复杂网络结构的大分子聚集体,其微观形态与聚集状态有关^[28]。Wang Lei等^[42]发现,刺梨果多糖的分子排列不紧密,表明多糖聚集体之间的相互作用力较弱。Pei Fangyi等^[43]研究发现,发酵过程改变了蓝金银花多糖原有的互连或聚集,导致大分子结构的降解和重构,呈现出光滑和致密表面。

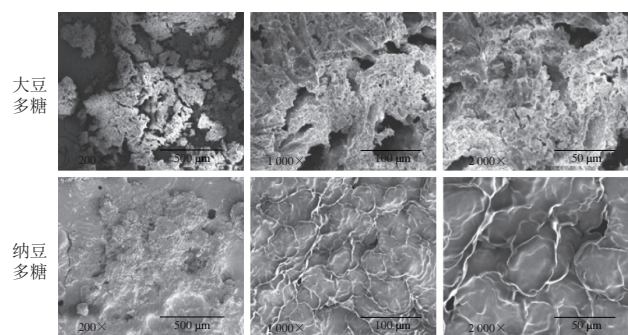


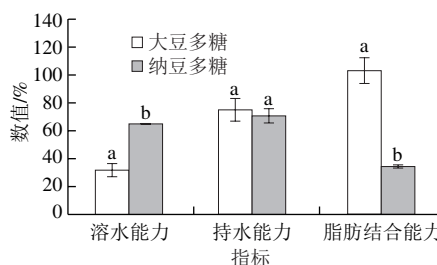
图4 大豆多糖和纳豆多糖的扫描电子显微镜图

Fig. 4 Scanning electron micrographs of soybean and natto polysaccharides

2.3 大豆多糖和纳豆多糖溶于水能力、持水能力和脂肪结合能力

由图5可知,大豆多糖的溶于水能力为(31.81±4.48)%,显著低于纳豆多糖的(64.77±0.41)% ($P<0.05$)。纳豆多糖糖醛酸含量的增加以及糖醛酸部分酯化能使溶于水能力增强^[32]。纳豆芽孢杆菌发酵多糖的连接被破坏,暴露出更多的氢键和偶极形式,这有助于溶于水能力的提高^[22]。多糖的水溶性越好,其应用范围越广。

大豆多糖的脂肪结合能力为(102.82±9.08)%,显著高于纳豆多糖的(34.40±1.01)% ($P<0.05$)。大豆多糖的持水能力为(75.04±7.89)%,和纳豆多糖(70.67±5.03)%之间没有显著差异。脂肪结合能力与多糖的化学成分、纤维分子对油的亲和力、与纤维结构的孔隙度密切相关^[21,44]。纳豆多糖的显微结构紧实光滑,不利于与油结合,使得脂肪结合能力下降。与纳豆多糖相比,大豆多糖具有良好的脂肪结合能力,其在食品增味剂和保味剂中具有良好的应用价值。



小写字母不同表示组间差异显著 ($P<0.05$)。

图5 大豆多糖和纳豆多糖的溶于水能力、持水能力和脂肪结合能力

Fig. 5 Water solubility, water-holding capacity and fat-binding capacity of soybean and natto polysaccharides

2.4 大豆多糖和纳豆多糖体外抗氧化活性

如图6所示,大豆多糖和纳豆多糖的DPPH自由基清除率、ABTS阳离子自由基清除率和FRAP在一定的浓度范围内都表现出质量浓度依赖性。当多糖质量浓度增加到1 mg/mL时,大豆多糖和纳豆多糖的DPPH自由基清除率分别为(84.14±0.20)%和(92.27±0.43)%。当多糖质量浓度增加到4 mg/mL时,大豆多糖和纳豆多糖的ABTS阳离子自由基清除率分别为(55.91±1.88)%和(60.23±1.00)%。纳豆多糖对DPPH和ABTS阳离子自由基清除能力的半抑制质量浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})分别为(0.049±0.015)、(2.640±0.072) mg/mL,表现出最佳的抗氧化活性。如图6C所示,当多糖质量浓度为0.5 mg/mL时,纳豆多糖的FRAP(165.14±0.91) μ mol/L高于大豆多糖(157.94±0.67) μ mol/L。当多糖质量浓度增加到4 mg/mL时,大豆多糖和纳豆多糖的FRAP分别达到(172.48±1.81)、(202.6±2.03) μ mol/L,纳豆多糖对铁离子的还原能力高于大豆多糖。

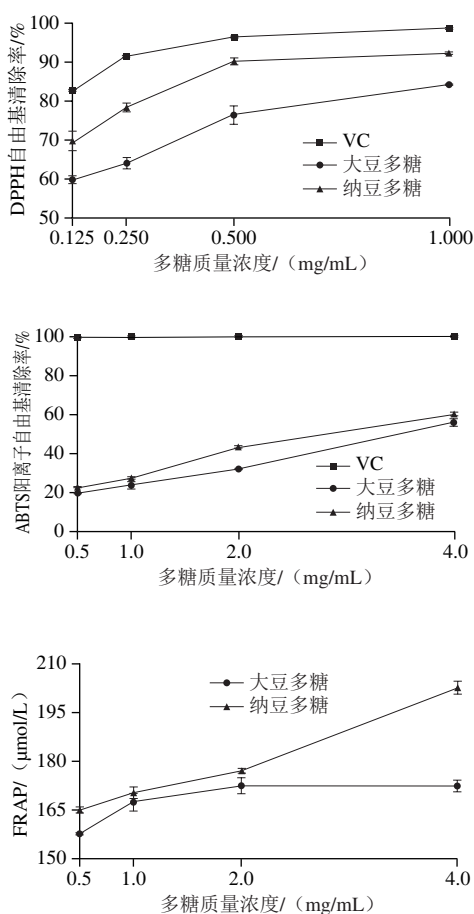


图6 大豆多糖和纳豆多糖的抗氧化活性

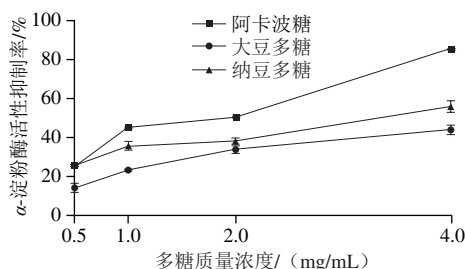
Fig. 6 Antioxidant activity of soybean and natto polysaccharides

与大豆多糖相比, 纳豆多糖的DPPH自由基清除能力、ABTS阳离子自由基清除能力和FRAP更强。多糖的抗氧化活性与糖醛酸含量、单糖组成和分子质量等结构特征密切相关^[6]。糖醛酸含量越高, 多糖的供电子或供氢能力越强, 抗氧化活性越高^[28]。Gu Jinyan等^[20]发现采用热水浸提法提取的茨菇多糖, 其糖醛酸含量(8.62%)高于亚临界水提法提取的多糖(2.75%), 且热水浸提制备的茨菇多糖抗氧化活性更强。本研究中纳豆多糖的糖醛酸含量显著高于大豆多糖, 这可能是其抗氧化活性较高的重要原因。微生物发酵是一种温和的生物修饰法, 可以改变天然多糖的结构, 提高多糖的抗氧化活性^[45]。Chen Qiuyan等^[46]研究发现, 采用酿酒酵母和枯草芽孢杆菌混合发酵麦麸改变了麦麸的单糖组成和分子质量, 增强了麦麸多糖的DPPH自由基清除能力和对2,2'-偶氮双盐酸(2-甲基丙酰胺)诱导的氧化应激的保护作用。

2.5 大豆多糖和纳豆多糖体外降血糖活性

α -淀粉酶是参与糖代谢的关键消化酶之一, 能将二糖转化为单糖, 导致餐后血糖水平急剧升高^[10]。控制肠道内葡萄糖的释放是治疗II型糖尿病的有效途径^[25]。多糖抑制 α -淀粉酶活性的能力可以表征其体外

降血糖活性。由图7可知, 当多糖质量浓度为4 mg/mL时, 大豆多糖和纳豆多糖的 α -淀粉酶抑制率分别为(43.77±2.44)%和(55.66±2.98)%。纳豆多糖抑制 α -淀粉酶活性的 IC_{50} 为(3.297±0.395) mg/mL, 体外降血糖活性显著高于大豆多糖($P<0.05$), 但二者对 α -淀粉酶的抑制能力均低于阿卡波糖。单糖组成、糖醛酸含量和空间构象等因素会影响多糖的降血糖活性^[47]。Zhang Zhenbiao等^[48]研究发现, 鼠李糖比例高且分子质量大的茶叶多糖对 α -淀粉酶的结合亲和力更强、降血糖活性更高。刘丹奇等^[49]研究红茶多糖、枸杞多糖和桑叶多糖时发现, 阿拉伯糖和木糖的物质的量占比与降血糖活性呈正相关。Wu Mengqi等^[50]研究发现, 从蔷薇多糖中分离的WSRP-2b的糖醛酸含量((74.73±3.43)%)高于WSRP-2a((61.46±2.29)%), WSRP-2b对 α -淀粉酶具有更强的抑制能力。纳豆多糖的木糖比例高、糖醛酸含量高且分子质量大, 可能是其具有良好降血糖活性的主要原因。

图7 大豆多糖和纳豆多糖的 α -淀粉酶活性抑制率Fig. 7 Inhibition rates of soybean and natto polysaccharides on α -amylase activity

2.6 大豆多糖和纳豆多糖体外降血脂活性

胆固醇降解会产生胆酸盐, 多糖能在肠道内与胆酸盐结合, 减少胆酸盐重吸收, 并且多糖能介入胆酸盐的肠肝循环, 使胆酸盐排出体外^[51]。多糖通过降低胆固醇和胆酸盐含量达到降血脂的目的。如图8所示, 当多糖质量浓度为4 mg/mL时, 大豆多糖和纳豆多糖对甘氨酸胆酸钠的结合率分别为(56.06±2.41)%和(63.77±2.43)%, 对牛磺胆酸钠的结合率分别为(53.38±0.93)%和(59.29±0.93)%。纳豆多糖对甘氨酸胆酸钠结合能力和牛磺胆酸钠结合能力的 IC_{50} 分别为(2.292±0.175)、(1.249±0.062) mg/mL, 显著高于大豆多糖($P<0.05$)。Pei Fangyi等^[43]研究发现, 分子质量大的多糖, 胆汁酸结合能力高, 降血脂能力强。Li Qiaoyun等^[52]研究发现, 高糖醛酸含量和大分子质量的沙棘多糖具有更强的胆汁酸结合能力。纳豆多糖的分子质量和糖醛酸含量均高于大豆多糖, 可能是纳豆多糖胆酸盐结合能力增强的重要原因。

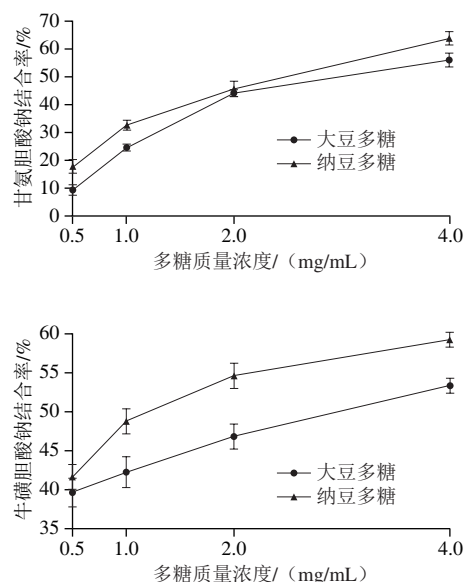


图8 大豆多糖和纳豆多糖的胆酸盐结合能力

Fig. 8 Cholate-binding capacity of soybean and natto polysaccharides

3 结论

大豆多糖和纳豆多糖均为含有 α -吡喃糖环的酸性杂多糖，其得率分别为 $(1.83 \pm 0.57)\%$ 和 $(2.49 \pm 0.54)\%$ 。纳豆多糖的糖醛酸含量为大豆多糖的1.18倍。大豆多糖和纳豆多糖的单糖组成种类相似但比例不同，其分子质量分别为5.256、33.532 ku。大豆多糖的表面较为粗糙，纳豆多糖表面光滑致密。纳豆多糖的溶于水能力是大豆多糖的2.04倍，而大豆多糖的脂肪结合能力为纳豆多糖的2.99倍。纳豆多糖对DPPH和ABTS阳离子自由基的清除能力、FRAP、 α -淀粉酶的抑制能力和胆酸盐的结合能力优于大豆多糖。纳豆多糖表现出更优的抗氧化、体外降血糖和体外降血脂生物活性。但纳豆芽孢杆菌发酵改变大豆多糖结构的机制尚不明确，多糖结构的官能团变化尚不清楚。在后续研究中需要进一步分离纯化纳豆多糖，对其结构进行表征，探索结构与生物活性的关系。

参考文献:

[1] REDDY N R, PIERSON M D, SATHE S K, et al. Legume-based fermented foods: their preparation and nutritional quality[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1983, 17(4): 335-370. DOI:10.1080/10408398209527353.

[2] 刘彦敏, 沈璐, 王康, 等. 传统大豆发酵食品中纳豆芽孢杆菌的分离及纳豆发酵[J]. *食品科学*, 2020, 41(2): 208-214. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181116-186.

[3] QIAO Y L, ZHANG K N, ZHANG Z C, et al. Fermented soybean foods: a review of their functional components, mechanism of action and factors influencing their health benefits[J]. *Food Research International*, 2022, 158: 111575. DOI:10.1016/j.foodres.2022.111575.

[4] CAO Z H, GREEN-JOHNSON J M, BUCKLEY N D, et al. Bioactivity of soy-based fermented foods: a review[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(1): 223-238. DOI:10.1016/j.biotechadv.2018.12.001.

[5] 杨艳莉, 吴雪玲, 余知和. 纳豆及纳豆芽孢杆菌研究进展[J]. *中国调味品*, 2022, 47(5): 201-205. DOI:10.3969/j.issn1000-9973.2022.05.039.

[6] ZHU Y Y, FENG X W, GUO J H, et al. A review of extraction, purification, structural properties and biological activities of legumes polysaccharides[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 1021448. DOI:10.3389/fnut.2022.1021448.

[7] 景永帅, 马云凤, 李明松, 等. 植物多糖结构解析方法研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(3): 411-421. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021010181.

[8] LIU D, SHI Z H, WANG S Q, et al. Anti-oxidant and anti-fatigue properties of polysaccharides from black soybean hull[J]. *International Journal of Food Properties*, 2022, 25(1): 1683-1696. DOI:10.1080/10942912.2022.2098971.

[9] 辛玥, 宋萧萧, 王玉箫, 等. 豇豆不同部位多糖结构特征及抗氧化性能比较[J]. *食品科学*, 2022, 43(16): 61-67. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20211001-002.

[10] BAI Z Y, HUANG X J, WU G J, et al. Hepatic metabolism-related effects of polysaccharides from red kidney bean and small black soybean on type 2 diabetes[J]. *Food Chemistry*, 2023, 403: 134334. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.134334.

[11] 杨文丽, 杨波, 杨光. 纳豆多糖的理化性质及结构分析[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(20): 132-137. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.020681.

[12] MATSUMOTO Y, TAKAHASHI M, SEKIMIZU K. Polysaccharides of a fermented food, natto, suppress sucrose-induced hyperglycemia in an *in vivo* evaluation system and inhibit glucose uptake by human intestinal cells[J]. *Drug Discoveries and Therapeutics*, 2020, 14(1): 8-13. DOI:10.5582/ddt.2020.01002.

[13] ZHU Y Y, DUN B Q, SHI Z X, et al. Structural characterization and bioactivity evaluation of water-extractable polysaccharides from chickpeas (*Cicer arietinum* L.) seeds[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 946736. DOI:10.3389/fnut.2022.946736.

[14] DUBIOS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28: 250-256. DOI:10.1021/ac60111a017.

[15] BLUMENKRANTZ N, ASBOE-HANSEN G. New method for quantitative determination of uronic acids[J]. *Analytical Biochemistry*, 1973, 54(2): 484-489. DOI:10.1016/0003-2697(73)90377-1.

[16] 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): 248-254. DOI:10.1006/abio.1976.9999.

[17] WANG Y, WEI X L, WANG F Z, et al. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharide from ginger[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 111: 862-869. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.01.087.

[18] 胡彦波, 翟丽媛, 刘扬, 等. 薇菜多糖的分离纯化及体外抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2022, 43(1): 59-66. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210426-373.

[19] 赵佳莹, 辛玥, 宋萧萧, 等. 鹰嘴豆多糖分离纯化和结构表征[J]. *食品科学*, 2023, 44(8): 40-45. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220816-190.

[20] GU J Y, ZHANG H H, YAO H, et al. Comparison of characterization, antioxidant and immunological activities of three polysaccharides from *Sagittaria sagittifolia* L.[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 235: 115939. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.115939.

- [21] JEDDOU K B. Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels[J]. Food Chemistry, 2016, 205: 97-105. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.02.108.
- [22] CHU J X, ZHAO H Z, LU Z X, et al. Improved physicochemical and functional properties of dietary fiber from millet bran fermented by *Bacillus natto*[J]. Food Chemistry, 2019, 294: 79-86. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.05.035.
- [23] TENG C, QIN P Y, SHI Z X, et al. Structural characterization and antioxidant activity of alkali-extracted polysaccharides from quinoa[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106392. DOI:10.1016/j.foodhyd.2020.106392.
- [24] LIU X X, LIU H M, YAN Y Y, et al. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides extracted from jujube using subcritical water[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 117: 108645. DOI:10.1016/j.lwt.2019.108645.
- [25] GU S S, SUN H Q, ZHANG X L, et al. Structural characterization and inhibitions on α -glucosidase and α -amylase of alkali-extracted water-soluble polysaccharide from *Annona squamosa* residue[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 166: 730-740. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.230.
- [26] QIN H N, HUANG L, TENG J W, et al. Purification, characterization, and bioactivity of Liupao tea polysaccharides before and after fermentation[J]. Food Chemistry, 2021, 353: 129419. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129419.
- [27] ZHANG L L, WU J L, XU P, et al. Soy protein degradation drives diversity of amino-containing compounds via *Bacillus subtilis natto* fermentation[J]. Food Chemistry, 2022, 388: 133034. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.133034.
- [28] YANG J J, ZHANG X, DAI J F, et al. Effect of fermentation modification on the physicochemical characteristics and anti-aging related activities of *Polygonatum kingianum* polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 235: 123661. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2023.123661.
- [29] 韦志, 阮心眉, 戴涛涛, 等. 碱提砂仁多糖的结构表征及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(24): 87-93. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021040255.
- [30] 马高兴, 王晗, 杨文建, 等. 不同提取工艺对杏鲍菇多糖结构特征及免疫活性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(17): 42-49. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220316-196.
- [31] XU Y, LIU N, FU X, et al. Structural characteristics, biological, rheological and thermal properties of the polysaccharide and the degraded polysaccharide from raspberry fruits[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 109-118. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.03.180.
- [32] LI X L, TU X F, THAKUR K, et al. Effects of different chemical modifications on the antioxidant activities of polysaccharides sequentially extracted from peony seed dreg[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 675-685. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.01.216.
- [33] 刘波, 袁利鹏, 熊波, 等. 多糖的硫酸酯化及其对结构和功能活性的影响研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(22): 372-375. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.22.068.
- [34] 李文婧, 张晨, 李大鹏. 化学修饰对多糖结构与生物活性影响的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(2): 205-213. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2021.02.033.
- [35] 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. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.03.213.
- [36] CHEN X F, LU Y L, ZHAO A Q, et al. Quantitative analyses for several nutrients and volatile components during fermentation of soybean by *Bacillus subtilis natto*[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131725. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131725.
- [37] MAO G Z, LI S, ORFILA C, et al. Depolymerized RG-I-enriched pectin from citrus segment membranes modulates gut microbiota, increases SCFA production, and promotes the growth of *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. and *Faecalibaculum* spp.[J]. Food and Function, 2019, 10(12): 7828-7843. DOI:10.1039/C9FO01534E.
- [38] ZHANG S K, HE Z Y, CHENG Y, et al. Physicochemical characterization and emulsifying properties evaluation of RG-I enriched pectic polysaccharides from *Cerasus humilis*[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 260: 117824. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.117824.
- [39] XU L, LU Y, CONG Y Z, et al. Polysaccharide produced by *Bacillus subtilis* using burdock oligofructose as carbon source[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 206: 811-819. DOI:10.1016/j.carbpol.2018.11.062.
- [40] 吴伟菁, 陈家凤, 赵海军, 等. 加工方式对黄精多糖的结构和活性影响的研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(17): 482-493. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021090112.
- [41] LIANG J J, ZHANG M N, LI X H, et al. Structure and immunomodulatory activity of *Lentinus edodes* polysaccharides modified by probiotic fermentation[J]. Food Science and Human Wellness, 2024, 13(1): 421-433. DOI:10.26599/FSHW.2022.9250036.
- [42] 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. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.01.011.
- [43] PEI F Y, CAO X B, WANG X M, et al. Structural characteristics and bioactivities of polysaccharides from blue honeysuckle after probiotic fermentation[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 165: 113764. DOI:10.1016/j.lwt.2022.113764.
- [44] 杨多, 王安, 陆兆新, 等. 纳豆芽胞杆菌发酵对小米膳食纤维结构和理化特性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2023, 46(1): 179-188. DOI:10.7685/jnau.202112050.
- [45] MUSTAFA G, ARSHAD M U, SAEED F, et al. Comparative study of raw and fermented oat bran: nutritional composition with special reference to their structural and antioxidant profile[J]. Fermentation, 2022, 8(10): 509. DOI:10.3390/fermentation8100509.
- [46] CHEN Q Y, WANG R F, WANG Y, et al. Characterization and antioxidant activity of wheat bran polysaccharides modified by *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus subtilis* fermentation[J]. Journal of Cereal Science, 2021, 97: 103157. DOI:10.1016/j.jcs.2020.103157.
- [47] JI X L, GUO J H, CAO T Z, et al. Review on mechanisms and structure-activity relationship of hypoglycemic effects of polysaccharides from natural resources[J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(6): 1969-1980. DOI:10.1016/j.fshw.2023.03.017.
- [48] ZHANG Z B, SUN L B, CHEN R H, et al. Recent insights into the physicochemical properties, bioactivities and their relationship of tea polysaccharides[J]. Food Chemistry, 2024, 432: 137223. DOI:10.1016/j.foodchem.2023.137223.
- [49] 刘丹奇, 任发政, 侯彩云. 几种植物多糖降血糖活性的对比研究[J]. 中国食品学报, 2021, 21(1): 81-89. DOI:10.16429/j.1009-7848.2021.01.010.
- [50] WU M Q, LI W, ZHANG Y L, et al. Structure characteristics, hypoglycemic and immunomodulatory activities of pectic polysaccharides from *Rosa setata* \times *Rosa rugosa* waste[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 253: 117190. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.117190.
- [51] 于美汇, 赵鑫, 尹红力, 等. 碱提醇沉黑木耳多糖体外和体内降血脂功能[J]. 食品科学, 2017, 38(1): 232-237. DOI:10.7506/spkx1002-6630201701039.
- [52] LI Q Y, DOU Z M, DUAN Q F, et al. A comparison study on structure-function relationship of polysaccharides obtained from sea buckthorn berries using different methods: antioxidant and bile acid-binding capacity[J]. Food Science and Human Wellness, 2024, 13(1): 494-505. DOI:10.26599/FSHW.2022.9250043.