DOI:10.12441/spyswjs.20250324001 [文章编号] 1673-1689(2026)02-0129-12

复合酶解法提取的咖啡果皮多糖的结构表征及其生物有效性研究

李学玲[1] 陈丽萍[2] 郭 洁[2] 许苑南[2] 殷莺倩[1] 侯云洪[2] 杨 莉[2*]

(1. 普洱学院茶叶咖啡学院,云南 普洱 665099; 2. 普洱学院生物与化学学院,云南 普洱 665099)

摘要:【目的】优化咖啡果皮多糖的提取工艺并探究其结构和生物有效性。**【方法】**采用复合酶解法提取咖啡果皮多糖,通过红外分析、单糖组成测定、相对分子质量测定和糖苷键连接方式分析等对其结构进行表征,并分析其生物有效性。**【结果】**咖啡果皮多糖最佳提取工艺条件为:纤维素酶质量分数2.6%、碱性蛋白酶质量分数2.6%、木瓜蛋白酶质量分数2.6%、果胶酶质量分数3.8%、提取温度60 ℃、提取时间1.5 h、料液比1 g∶100 mL、pH 4。复合酶解法可有效维持咖啡果皮多糖的生物有效性。结构表征结果显示,咖啡果皮多糖重均分子量为1 626 765,含鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、半乳糖醛酸,摩尔比为4.39∶23.75∶28.03∶7.58∶36.25,该多糖以α-构型吡喃糖为骨架,含有→3)-Gal*p*-(1→、→4)-Gal*p*-(1→等糖苷键,其中的主要组成(半乳糖醛酸)以→4)-Gal*p*-UA-(1→形式存在,为该酸性多糖的特征性结构。**【结论】**该研究可为咖啡副产物咖啡果皮的开发利用提供理论参考。

关键词:咖啡果皮多糖;复合酶解法;结构表征;生物有效性

Structural Characterization and Bioavailability Evaluation of Polysaccharides Extracted from Coffee Peels by Composite Enzymatic Hydrolysis

LI Xueling[1] *CHEN Liping*[2] *GUO Jie*[2] *XU Yuannan*[2] *YIN Yingqian*[1]
HOU Yunhong[2] *YANG Li*[2*]

(1. School of Tea and Coffee, Pu'er University, Pu'er 665099, China; 2. School of Biological and Chemical Science, Pu'er University, Pu'er 665099, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to optimize the extraction process of polysaccharides from coffee peels and explore their structure and bioavailability. [**Method**] The composite enzymatic hydrolysis method was employed to extract polysaccharides from coffee peels. The polysaccharide structure was characterized from aspects such as infrared analysis, monosaccharide composition, molecular weight determination, and glycosidic linkage analysis. The bioavailability of the extracted polysaccharides was analyzed. [**Result**] The extraction process conditions were optimized as follows: a cellulase mass fraction of 2.6%, an alkaline protease mass fraction of 2.6%, a papain mass fraction of 2.6%, a pectinase mass fraction of 3.8%, an extraction temperature of 60 ℃, extraction time of 1.5 h, a solid-to-liquid ratio of 1 g∶100 mL, and pH 4. The composite enzymatic hydrolysis method effectively maintained the bioavailability of the polysaccharides. Structural characterization revealed that the coffee peel polysaccharides had a weight-average molecular weight of 1 626 765 and were composed of rhamnose, arabinose, galactose, glucose and galacturonic acid at a molar ratio of 4.39∶23.75∶28.03∶7.58∶36.25. It adopted an α-pyranose backbone and contained typical glycosidic linkages including →3)-Gal*p*-(1→ and →4)-

基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(2024J1097);普洱学院校级项目(PEXYXJYB202301)。
通信作者:杨莉(1995—),女,硕士,助理研究员,主要从事食品营养与卫生研究。E-mail:1251001803@qq.com
收稿日期:2025-03-24 **修回日期:**2025-05-22

Gal*p*-(1→. Galacturonic acid, as the major constituent, existed in the form of →4)-Gal*p*-UA-(1→, which constituted the characteristic structural motif of the acidic polysaccharide. [**Conclusion**] This study provides a scientific reference for the in-depth research and development of coffee peels, a coffee by-product.

Keywords: coffee peel polysaccharide; composite enzymatic hydrolysis; structural characterization; bioavailability

咖啡是茜草科(Rubiaceae)咖啡属(*Coffea*)的多年生常绿灌木或小乔木[1],在我国主要分布于云南和海南,基于云南独特的地理优势和气候特征,咖啡是当地的增值农产品之一[2]。日常饮用的咖啡是用咖啡豆通过不同的烹煮器具制作出来的,内含生物碱、酚酸、黄酮、萜类、甾醇脂和挥发性成分等,具有增强胰岛素敏感性、改善糖代谢、抗糖尿病和保护肝脏等多种药理作用,具有很高的开发价值[3]。而咖啡果皮是咖啡加工过程中的副产物,占咖啡鲜果质量的43%~50%,含有大量纤维素、蛋白质和多糖[4],随着咖啡消费量持续增长,咖啡豆产量逐年攀升,由此产生的咖啡果皮废弃物也随之增加[5]。大部分农产品副产物可作为肥料或饲料使用,但咖啡果皮因含有高浓度的咖啡因、单宁、茶多酚等物质,不可直接用作生物基质和饲料,目前只有少数咖啡果皮被用于制作果皮茶、果皮酒、生物燃料以及发酵酸奶等方面[6-11],大多被直接丢弃,造成了资源浪费,还破坏了生态系统[12-14]。因此,咖啡果皮的深入研究和开发迫在眉睫。

多糖是一类通过糖苷键将10个以上单糖连接而成的复杂大分子化合物[15],具有抗氧化、调节免疫、抗衰老、抗肿瘤、降血糖等多种活性,对神经退行性疾病具有预防和治疗作用[16-18],分析多糖的结构组成能更好地探索其生物活性。复合酶解法是运用多种酶的协同作用,将多糖分子更多地溶解出来[19],具有专一性高、条件温和及工艺简便等优点,大量研究表明,复合酶解法提取多糖效果显著优于其他方法。生物有效性[20]是用于评估食物在人体内的消化、吸收、运输和利用状况,而生物利用度则是衡量生物有效性的关键指标之一,主要反映了营养成分在人体内如何被吸收和利用。不同来源或加工方法产生的功能性物质,其生物学效应存在差异。

对于咖啡产业,目前人们大多注重于咖啡豆的研究,对于咖啡果皮的研究相对较少。目前已有研究发现,咖啡果皮在果皮茶、果皮酒和发酵酸奶等方面具有潜在的开发价值[6-9]。因此,本研究采用复合酶解法提取咖啡果皮中的多糖活性成分,并表征其结构、评价其生物有效性,旨在为咖啡果皮的后续研究和开发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

新鲜成熟的云南小粒种咖啡:采自云南省普洱市思茅区木乃河工业园,手动剥取鲜果果皮,自然晒干,粉碎后过60目筛,避光密封防潮保存。

1.1.2 试剂

葡萄糖、氢氧化钠、乙醇:分析纯,天津市大茂化学试剂厂;硫酸、三氯甲烷:分析纯,四川西陇科学有限公司;苯酚:分析纯,云南杨林工业开发区汕滇药业有限公司;柠檬酸、柠檬酸钠:分析纯,云南景锐科技有限公司;正丁醇、碳酸氢钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钙、氯化钾、醋酸钠、硼氘化钠、乙酸酐:分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司;二甲基亚砜:色谱纯,德国Sigma公司;纤维素酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶、果胶酶(≥100 000 U/g):食品级,南宁东恒华道生物科技有限责任公司;胃蛋白酶、胰蛋白酶、唾液淀粉酶:上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

紫外-可见分光光度计:UV2600型,日本岛津国际贸易有限公司;电子天平:GL1204C型,上海佑科仪器仪表有限公司;多功能粉碎机:BJ-800A型,德清拜杰电器有限公司;低速离心机:SC-3616型,安徽中科中佳科学仪器有限公司;气质联用仪:7890A-5977B型,美国安捷伦公司;X射线衍射仪:Riga Smart Lab SE型,日本理学公司;傅里叶红外光谱仪:Thermo Scientific Nicolet iS20型,美国Thermo Fisher Scientific公司;扫描电子显微镜:Zeiss Sigma 300型,深圳蓝星宇电子科技有限公司;热重分析仪:Netzsch STA449F3型,广东晨泽科技有限公司;高效液相色谱仪:Aglient 1200型,美国安捷伦公司;离子色谱仪:ICS-5000+型,美国瓦里安技术中国有限公司。

1.3　方法

1.3.1　咖啡果皮多糖的提取与质量浓度测定

准确配制0.10 mg/mL的葡萄糖标准溶液，参照温文娟等[21]的苯酚硫酸法，分别量取葡萄糖标准溶液0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.20 mL，蒸馏水补足至2.00 mL，加入1.00 mL体积分数5%的苯酚溶液，摇匀，快速加入5.00 mL硫酸，振荡摇匀，水浴15 min，冷却至室温，于490 nm处测定吸光度。以吸光度为纵坐标、葡萄糖质量浓度为横坐标绘制标准曲线，得线性回归方程为：y=0.065x−0.005 9，R^2=0.998 6，线性关系良好，后续用该线性回归方程计算多糖质量浓度。

准确称取0.25 g样品，加入25.00 mL蒸馏水，60 ℃水浴1.5 h，高温灭活10 min，抽滤后得到咖啡果皮多糖提取液。准确量取1.00 mL咖啡果皮多糖提取液，按照上述葡萄糖标准曲线绘制的方法，以蒸馏水为对照，测量样品吸光度，按式（1）计算咖啡果皮多糖提取率。

$$w=\frac{c\times v\times n}{1\,000m}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

w——咖啡果皮多糖提取率，%；

c——提取液中多糖质量浓度，mg/mL；

v——提取液体积，mL；

n——稀释倍数；

m——咖啡果皮质量，g。

1.3.2　复合酶解法提取咖啡果皮多糖的工艺研究

以咖啡果皮多糖提取率为评价指标，固定提取温度50 ℃、pH 5、提取时间1.0 h、料液比1 g∶40 mL，首先考察纤维素酶、碱性蛋白酶、果胶酶和木瓜蛋白酶4种酶在不同质量分数（0.8%、1.4%、2.0%、2.6%、3.2%、3.8%）下对咖啡果皮多糖提取率的影响，再结合单因素试验结果设计$L_9(3^4)$正交试验优化最佳复合酶质量分数。

在最佳复合酶条件下，分别考察提取温度（40、50、60、70、80、90 ℃，固定提取时间0.5 h、料液比1 g∶80 mL、pH 5）、提取时间（0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h，固定提取温度50 ℃、料液比1 g∶80 mL、pH 5）、料液比（1 g∶20 mL、1 g∶40 mL、1 g∶60 mL、1 g∶80 mL、1 g∶100 mL、1 g∶120 mL，固定提取温度50 ℃、提取时间2.0 h、pH 5）和pH（3、4、5、6、7、8，固定提取温度50 ℃、提取时间2.0 h、料液比1 g∶80 mL）4个单因素对咖啡果皮多糖提取率的影响，再设计$L_9(3^4)$正交试验优化复合酶解法提取咖啡果皮多糖的工艺。

1.3.3　咖啡果皮多糖的分离纯化

参照曹文丹等[22]和杜亚飞等[23]的研究，称取咖啡果皮样品20 g，按料液比1 g∶20 mL加入复合酶溶液，60 ℃超声浸提60 min，提取3次，离心，收集上清液蒸发浓缩至适量。加入4倍样品溶液体积的无水乙醇，4 ℃冷藏过夜，离心收集沉淀物，得到棉花状粗多糖。加少量纯水复溶，加1/4样品溶液体积的Sevage试剂，振荡，分离除去蛋白质，重复操作至下层呈无色透明状，取上层样品溶液，放入透析袋（相对分子质量8 000~14 000，孔径0.20~0.25 nm）中，用去离子水透析48.0 h，每6.0 h换一次透析袋，每12.0 h换一次水，取出再次加4倍样品溶液体积的乙醇进行醇沉，4 ℃冷藏过夜，离心分离得到浅咖色沉淀，冷冻干燥得到咖啡果皮多糖。

1.3.4　咖啡果皮多糖的结构表征

1）咖啡果皮多糖的红外光谱分析：干燥环境下称取2 mg咖啡果皮多糖和200 mg溴化钾粉末，研磨混匀，压片制成透明均匀薄片。在分辨率4 cm^{-1}、波数4 000~400 cm^{-1}条件下扫描咖啡果皮多糖样品的红外光谱图[24]。

2）咖啡果皮多糖的热重分析：称取咖啡果皮多糖样品10 mg，在N_2环境下以20 ℃/min升温至800 ℃，热重分析仪记录咖啡果皮多糖的失重数据[25]，以温度为横坐标、质量残留率为纵坐标，绘制热重（thermogravimetry，TG）曲线；以温度为横坐标、质量变化速率为纵坐标，绘制微商热重分析（derivative thermogravimetry，DTG）曲线。

3）咖啡果皮多糖的单糖组成分析：参照文献[26]，准确称取咖啡果皮多糖样品5 mg，加入TFA溶液，混匀，121 ℃加热2 h，通N_2吹干，用甲醇重复清洗2~3次，加无菌水溶解，转入色谱瓶待测，以标准品作为对比，采用Dionex™ CarboPac™ PA10液相色谱柱（250 mm×4.0 mm×10 μm）和Thermo ICS5000+离子色谱系统，进样量为5 μL，流动相A为H_2O，流动相B为100 mmol/L NaOH，流动相C为100 mmol/L NaOH和200 mmol/L NaAc，流量0.50 mL/min，柱温30 ℃，检测样品与标准品的单糖图谱，对比分析咖啡果皮多糖的单糖组成与摩尔占比。

4）咖啡果皮多糖相对分子质量的测定：参照文献[27]，配制 1.00 mg/mL 的咖啡果皮多糖溶液，采用 Ohpak SB-805 HQ 凝胶排阻色谱柱（300 mm×8 mm×13 μm），柱温 60 ℃，进样量 100 uL；流动相 A 为质量分数 0.02% NaN_3 和 0.1 mol/L $NaNO_3$，流量 0.6 mL/min，等度洗脱 75 min；流动相 B 为质量分数 0.5% LiBr 和 DMSO，流量 0.3 mL/min，等度洗脱 120 min。采用凝胶色谱-示差-多角度激光光散射系统，利用示差检测器检测多糖样品的质量摩尔浓度，利用多角度激光光散射仪检测大分子物质的光散射，根据马克-豪温克方程（Mark-Houwink equation）计算重均分子量，通过 RI 和 RS 拟合得出咖啡果皮多糖的绝对分子质量，计算结果直接由三联检测器中的黏度检测器和光散射检测器输出。

5）咖啡果皮多糖的扫描电子显微镜分析：取 1 mg 咖啡果皮多糖样品，研磨后利用 Quorum SC7620 溅射镀膜仪在 45 s 内喷 10 mA 金，对多糖样品进行喷金处理，然后使用扫描电子显微镜对样品进行形貌和能谱拍摄测试，在加速电压 15 kV 和探测器 SE2 二次电子探测器下进行能谱拍摄扫描，在不同的放大倍数下观察并记录样品的微观形态[28]。

6）咖啡果皮多糖的 X 射线衍射（X-ray diffraction，XRD）分析：将块体样品粘于铝制样品台上，使用 Cu-K α 射线，管电压 40 kV，电流 40 mA，测试范围为 2°~135°，扫描速度 1~10 (°)/min，使用 X 射线衍射仪探究咖啡果皮多糖的晶体结构特征[29]。

7）咖啡果皮多糖的甲基化分析：咖啡果皮多糖的甲基化分析参照刘莎[30]的方法并稍加修改，称取 10 mg 咖啡果皮多糖样品，加入 1.00 mL 一级水溶解，加入 1.00 mL 的 100 mg/mL EDC 反应 2 h，再加 1.00 mL 的 2 mol/L 咪唑。将样品平均分成 2 份，分别加入 1.00 mL 的 30 mg/mL $NaBH_4$ 和 1.00 mL 的 30 mg/mL $NaBD_4$ 反应 3 h，加入 100 μL 冰醋酸终止反应，透析 48 h，冷冻干燥，加入 500 μL DMSO 溶解，加入 1 mg NaOH 孵育 30 min，加入 50 μL 碘甲烷溶液反应 1 h，加入 1.00 mL H_2O 和 2.00 mL CH_2Cl_2，混匀离心，弃去水相，重复水洗 3 次，吸取下层 CH_2Cl_2 并蒸干，加入 100 μL 的 2 mol/L TFA 溶液，121 ℃反应 90 min，降温至 30 ℃，蒸干，加入 50 μL 的 2 mol/L 氨水和 50 μL 的 1 mol/L $NaBD_4$，加入 20 μL 乙酸终止反应，N_2 吹干，250 μL 甲醇洗 2 次，N_2 吹干，加入 250 μL 乙酸酐，混匀后于 100 ℃反应 2.5 h，加入 1.00 mL H_2O，静置 10 min，加入 500 μL CH_2Cl_2，混匀离心，弃水相，重复水洗 3 次，取下层 CH_2Cl_2 相，用气相色谱质谱联用仪（gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS）进行检测。检测时的进样量为 1 μL，分流比 10∶1，以高纯 N_2 作为载气，柱温箱初始温度 140 ℃，保持 2.0 min，升温至 230 ℃，保持 3 min，对分析物进行全扫描检测，质量扫描范围（m/z）为 30~600。

1.3.5 咖啡果皮多糖的生物有效性研究

参照文献[31-33]，取 3.00 mL 咖啡果皮多糖提取液，加入 3.00 mL 口腔模拟液，37 ℃振荡 6 min，用盐酸将 pH 调至 1.5，加入 5.00 mL 胃模拟液，37 ℃振荡 1.5 h；用 NaOH 将 pH 调至 7.0，加入 10.00 mL 肠模拟液，37 ℃振荡 1.5 h。离心，取 3.00 mL 上清液，测定多糖质量，按照式（2）计算咖啡果皮多糖的生物利用度，并对比热水浸提法、单一酶（碱性蛋白酶）解法和复合酶解法提取的咖啡果皮多糖的生物有效性。

$$X=\frac{m_1-m_2}{m_1}\times 100\% \quad (2)$$

式中：

X——生物利用度，%；

m_1——消化前咖啡果皮多糖质量，mg；

m_2——消化后咖啡果皮多糖质量，mg。

1.3.6 数据处理与分析

采用 Origin 2021、IBM SPSS Statistics 29.0.2.0（20）软件和 Excel 2019 进行绘图及分析。

2 结果与讨论

2.1 单一酶质量分数的单因素试验结果

单一酶质量分数对咖啡果皮多糖提取率的影响见图 1。咖啡果皮多糖提取率随纤维素酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶和果胶酶的质量分数的增加呈先增大后减小的趋势。单一酶处理时，咖啡果皮多糖提取率最大时纤维素酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶和果胶酶的质量分数分别为 2.0%、2.6%、3.2%、3.2%。酶质量分数过高可能会相互黏附，减少对咖啡果皮样品的作用，从而降低反应速率。

2.2 复合酶配比正交试验与验证

根据单一酶添加的单因素试验结果，确定各

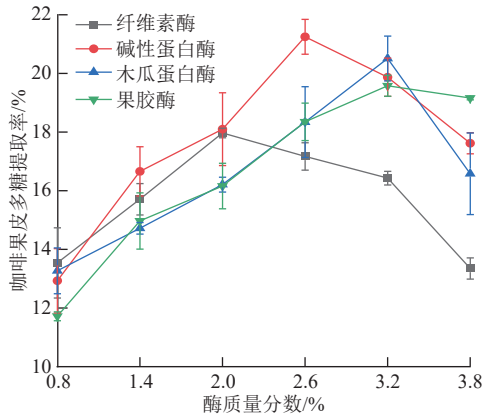


图 1　酶质量分数对咖啡果皮多糖提取率的影响

Fig. 1　Effects of enzyme mass fractions on polysaccharide extraction rate from coffee peels

因素水平值，在提取温度 50 ℃、提取时间 1.0 h、pH 5、料液比 1 g∶40 mL 条件下设计 $L_9(3^4)$ 正交试验优化复合酶质量分数，正交试验的因素水平表见表 1，结果见表 2。

由表 2 极差分析结果可知，4 种酶对咖啡果皮多糖提取率的影响由大到小的顺序为果胶酶质量分数>纤维素酶质量分数>木瓜蛋白酶质量分数>碱性蛋白酶质量分数，最佳复合酶组合为 $A_3B_2C_1D_3$，即纤维素酶质量分数 2.6%、碱性蛋白酶质量分数 2.6%、木瓜蛋白酶质量分数 2.6%、果胶酶质量分数 3.8%，在该条件下重复 3 次验证试验，测得咖啡果皮多糖提取率为 25.85%，与第 8 组正交试验结果基本一致，说明正交试验结果准确。

2.3　复合酶解法提取工艺的单因素试验结果

2.3.1　提取温度对咖啡果皮多糖提取率的影响

由图 2 可知，咖啡果皮多糖提取率随提取温度的上升先增加后减少，当提取温度为 50 ℃时，咖啡果皮多糖提取率最大。这可能是因为提取温度较低时，酶活性不足，而提取温度过高会导致酶活性下降，因此选择 50 ℃为最佳酶解温度并进行后续正交试验。

表 1　复合酶配比正交试验因素水平表

Table 1　Factors and levels of orthogonal design for composite enzyme ratio　　单位：%

水平	因素			
	纤维素酶质量分数（*A*）	碱性蛋白酶质量分数（*B*）	木瓜蛋白酶质量分数（*C*）	果胶酶质量分数（*D*）
1	1.4	2.0	2.6	2.6
2	2.0	2.6	3.2	3.2
3	2.6	3.2	3.8	3.8

表 2　复合酶正交试验结果

Table 2　Results of orthogonal experiment of composite enzymes

序号	因素水平				提取率/%
	A	*B*	*C*	*D*	
1	1	1	1	1	20.78
2	1	2	2	2	21.80
3	1	3	3	3	22.29
4	2	1	2	3	21.46
5	2	2	3	1	18.25
6	2	3	1	2	20.26
7	3	1	3	2	21.31
8	3	2	1	3	25.73
9	3	3	2	1	19.79
K_1	64.869	63.549	66.771	58.821	
K_2	59.970	65.781	63.051	63.369	
K_3	66.831	62.340	61.851	69.480	
k_1	21.623	21.183	22.257	19.607	
k_2	19.990	21.927	21.017	21.123	
k_3	22.277	20.780	20.617	23.160	
R	2.287	1.147	1.640	3.553	

注：K_i 代表每个因素在各个水平下的指标总和（i=1,2,3）；k_i 代表每个因素在各个水平下的指标平均值（i=1,2,3）；*R* 代表某一因素在各个水平下试验指标的极差。

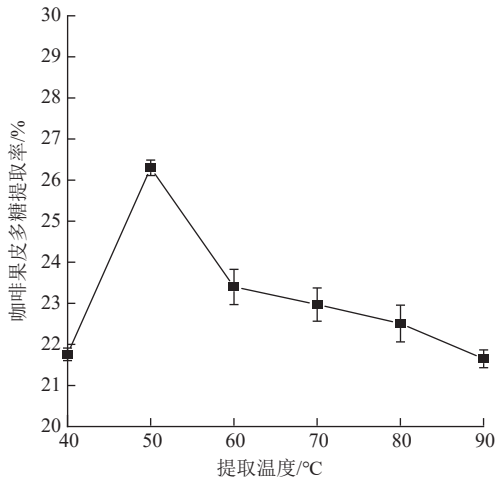


图 2　提取温度对咖啡果皮多糖提取率的影响

Fig. 2　Effect of extraction temperature on polysaccharide extraction rate from coffee peels

2.3.2　提取时间对咖啡果皮多糖提取率的影响

由图 3 可知，咖啡果皮多糖提取率随提取时间的延长呈先增加后减少的趋势，当提取时间为 2.0 h 时，咖啡果皮多糖提取率最大。这可能是因为提取时间过长会破坏多糖的结构，甚至可能出现杂质溶出的情况，使得多糖提取率下降。因此选择 2.0 h 为最佳提取时间并进行后续正交试验。

2.3.3　料液比对咖啡果皮多糖提取率的影响

由图 4 可知，咖啡果皮多糖提取率随着料液

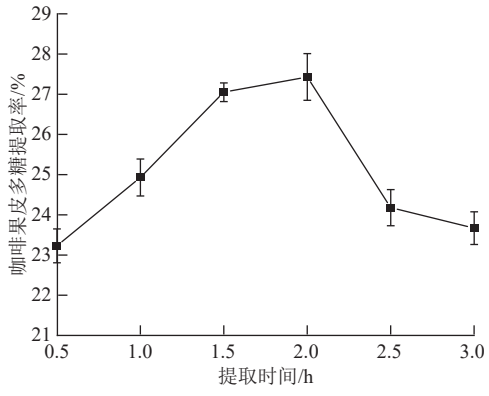


图 3　提取时间对咖啡果皮多糖提取率的影响

Fig. 3　Effect of extraction time on polysaccharide extraction rate from coffee peels

比的降低呈现先增加后减少的趋势，当料液比为 1 g∶80 mL 时，咖啡果皮多糖提取率最大。这可能是因为料液比较高（溶剂较少）时，能溶出的咖啡果皮多糖较少，而料液比较低（溶剂较多）时，底物水平较低，与酶的结合能力减弱，料液比较高或较低都会降低咖啡果皮多糖提取率。因此，选择 1 g∶80 mL 为最佳料液比并进行后续正交试验。

2.3.4　pH 对咖啡果皮多糖提取率的影响

由图 5 可知，咖啡果皮多糖的提取率随 pH 的增大先增加后减少，当 pH 为 5 时达到最大值。pH 对酶的影响是不可逆的，pH 较大或较小都会破坏酶的结构，从而使酶失活，影响咖啡果皮多糖提取率。因此，选择 5 为最佳 pH 并进行后续正交试验。

2.4　复合酶解法提取工艺的正交试验与验证

在最佳复合酶条件和上述单因素试验结果的基础上，以咖啡果皮多糖提取率为评价指标，设计

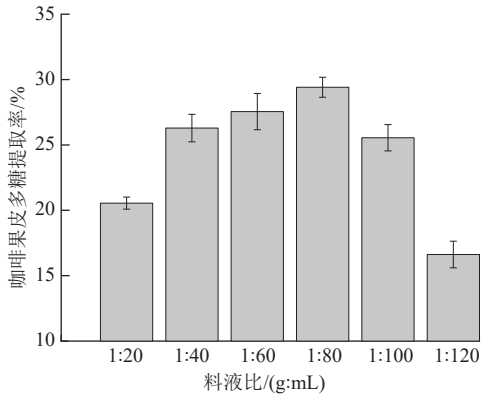


图 4　料液比对咖啡果皮多糖提取率的影响

Fig. 4　Effect of solid-to-liquid ratio on polysaccharide extraction rate from coffee peels

$L_9(3^4)$正交试验，正交试验因素水平表见表 3，结果见表 4。

由表 4 极差结果分析可知，各因素对咖啡果皮多糖提取率的影响由大到小的顺序为：料液比>pH>提取时间>提取温度，最佳提取工艺组合为 $A'_3B'_1C'_3D'_1$，即提取温度为 60 ℃、提取时间 1.5 h、料液比 1 g∶100 mL、pH 4。在最佳复合酶解提取工艺条件下进行 3 次验证试验，得到咖啡果皮多糖提取率为 37.67%，大于 9 组正交试验中的最大值。且与热水浸提法（提取率 11.11%）和单一酶解法（提取率 21.25%）相比，复合酶解法的提取效果最好。

2.5　咖啡果皮多糖的结构表征

2.5.1　咖啡果皮多糖的红外光谱结构鉴定

咖啡果皮多糖的红外光谱见图 6。3 284 cm^{-1}和 2 923 cm^{-1}处的峰分别是 O—H 和 C—H 的伸缩振动吸收峰；1 738 cm^{-1}处的峰是羧酸酯中 C=O 的吸收峰，初步证明糖醛酸的存在，多糖属酸性多糖；1 595 cm^{-1}和 1 408 cm^{-1}处的峰为 O—H 的弯曲振动吸收峰；1 327 cm^{-1}处的峰为 C—H 的弯曲振动吸收峰；1 004、1 074、1 141 cm^{-1}处的吸收峰是

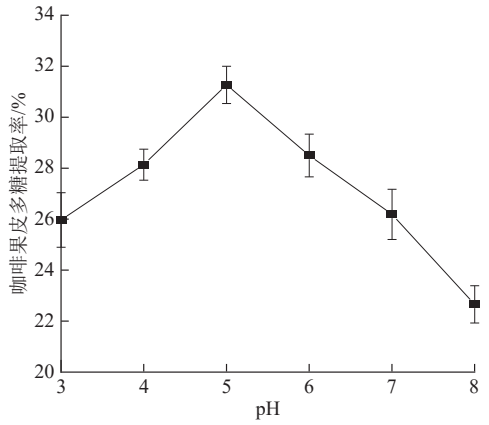


图 5　pH 对咖啡果皮多糖提取率的影响

Fig. 5　Effect of pH on polysaccharide extraction rate from coffee peels

表 3　正交试验因素水平表

Table 3　Factors and levels of orthogonal design

水平	因素			
	提取温度（A'）/℃	提取时间（B'）/h	料液比（C'）/（g∶mL）	pH（D'）
1	40	1.5	1∶60	4
2	50	2.0	1∶80	5
3	60	2.5	1∶100	6

表4　复合酶解法提取工艺的正交试验结果

Table 4　Results of orthogonal experiment for composite enzymatic hydrolysis

序号	因素水平				提取率/%
	A'	*B'*	*C'*	*D'*	
1	1	1	1	1	32.00
2	1	2	2	2	31.22
3	1	3	3	3	33.08
4	2	1	2	3	33.72
5	2	2	3	1	36.82
6	2	3	1	2	28.41
7	3	1	3	2	35.34
8	3	2	1	3	30.22
9	3	3	2	1	35.11
K_1	96.300	101.061	90.630	103.929	
K_2	98.949	98.259	100.050	94.971	
K_3	100.671	96.600	105.240	97.020	
k_1	32.100	33.687	30.210	34.643	
k_2	32.983	32.753	33.350	31.657	
k_3	33.557	32.200	35.080	32.340	
R	1.457	1.487	4.870	2.986	

注：K_i代表每个因素在各个水平下的指标总和（i=1,2,3）；k_i代表每个因素在各个水平下的指标平均值（i=1,2,3）；R代表某一因素在各个水平下试验指标的极差。

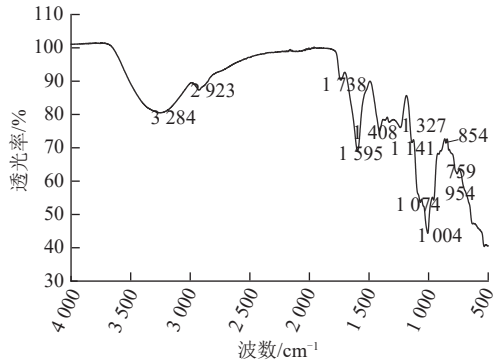


图6　咖啡果皮多糖的红外光谱图

Fig. 6　Infrared spectrum of coffee peel polysaccharides

C—O—C和C—O—H糖苷键的振动结果，结合954 cm^{-1}和759 cm^{-1}处的吸收峰，表明咖啡果皮多糖中有吡喃环；854 cm^{-1}处的吸收峰意味着多糖中可能含有α型糖苷键[34-36]。

2.5.2　咖啡果皮多糖的热重分析

咖啡果皮多糖的热失重过程见图7。200 ℃以下的失重率为9.40%，这主要是由多糖结合水的流失造成的；200~440 ℃的失重率为51.60%，此温度范围内多糖经历了剧烈的分解；440~700 ℃温度范围内，多糖的质量变化趋于稳定，进入了缓慢的碳化过程，其中大部分转化为灰分和无机物[37-38]。

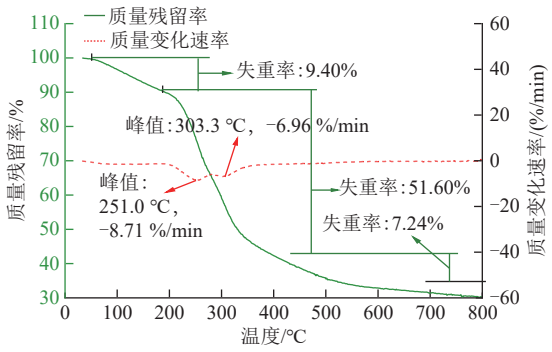


图7　咖啡果皮多糖的热重曲线与微商热重曲线

Fig. 7　Thermogravimetry and derivative thermogravimetry curves of coffee peel polysaccharides

2.5.3　咖啡果皮多糖的单糖组成测定结果

咖啡果皮多糖的单糖组成测定结果见图8。咖啡果皮多糖由鼠李糖（Rha）、阿拉伯糖（Ara）、半乳糖（Gal）、葡萄糖（Glc）和半乳糖醛酸（Gal-UA）组成，各单糖摩尔比为6.96∶28.62∶20.02∶13.20∶31.20，以半乳糖醛酸为主，进一步证明咖啡果皮多糖是酸性多糖。

2.5.4　咖啡果皮多糖的相对分子质量测定结果

咖啡果皮多糖的重均分子量测定结果见图9。咖啡果皮多糖重均分子量（M_w）和数均分子量（M_n）分别为1 626 765和759 245，M_w/M_n为2.143，咖啡果皮多糖的重均分子量分布系数较大，分子量分布较宽，可能是由于纯度不够导致结构混乱，长短链混杂。

2.5.5　咖啡果皮多糖的扫描电子显微镜分析结果

咖啡果皮多糖的扫描电子显微镜结果见图10。1 000倍扫描电子显微镜图显示，咖啡果皮多糖表面平整、分布较均匀；5 000倍扫描电子显微镜图显示，咖啡果皮多糖表面粗糙，中间有较大

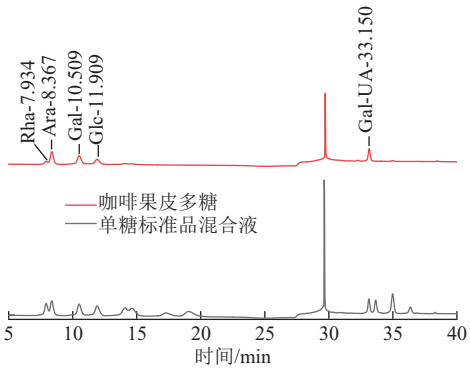


图8　咖啡果皮多糖的单糖组成测定结果

Fig. 8　Monosaccharide composition of coffee peel polysaccharides

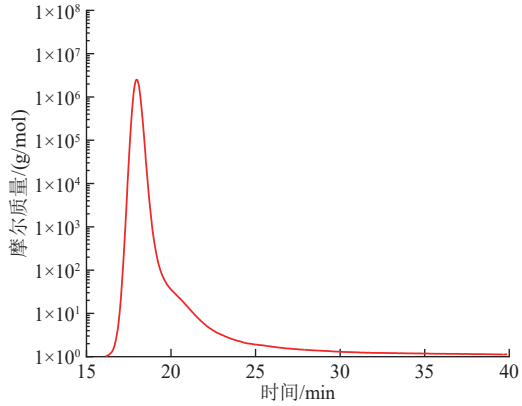


图 9 咖啡果皮多糖的绝对分子量分析图

Fig. 9 Absolute molecular weight analysis chart of coffee peel polysaccharides

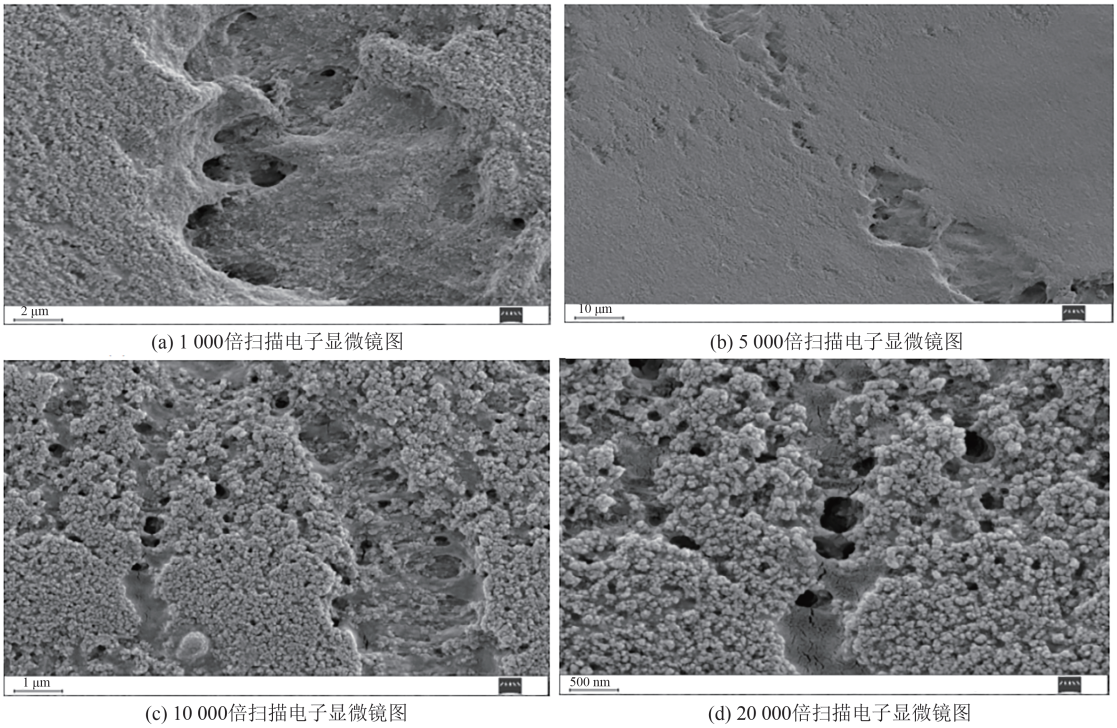
的沟壑；10 000 倍和 20 000 倍扫描电子显微镜图显示，咖啡果皮多糖是由细小、不均匀的颗粒紧凑排列、相互堆积成的表面较为疏松的结构组成的，中心有贯穿的孔洞。多糖粗糙的表面结构使其更易与水结合，从而提高了其溶解性。

2.5.6 咖啡果皮多糖的 XRD 结果

咖啡果皮多糖的 XRD 分析结果见图 11。咖啡果皮多糖在 36°和 62°处有微弱的特征衍射峰。一般晶体出现尖且窄的特征峰，非晶体表现为宽且分散的峰型，XRD 衍射分析结果表明，咖啡果皮多糖的结晶度较低，是典型的无定型非结晶结构[39]。

2.5.7 咖啡果皮多糖的甲基化分析

将甲基化处理的咖啡果皮多糖进行 GC-MS 检测，得到咖啡果皮多糖衍生物的总离子流图，见图 12。将 GC-MS 谱中不同糖组分的碎片离子峰与数据库（美国 CCRC 数据 https://ccrc.uga.edu/）进行比对，并参照文献[40-42]进行鉴定，得到咖啡果皮多糖的甲基化分析结果，见表 5。结合单糖组成与 GC-MS 结果，分析其糖苷键连接方式及结构特征，结果表明，半乳糖醛酸（Gal-UA）为咖啡果皮多糖的特征酸性单糖，→4）-Gal*p*-UA-（1→糖苷键摩尔占比高达 36.25%，是构成该酸性多糖骨架的核心连接方式；阿拉伯糖（Ara）为主要中性单糖，以末端 Ara*f*-（1→（15.63%）与→4）-Ara*f*-（1→（5.44%）、→3）-Ara*f*-（1→（2.68%）为主，合计占比 23.75%，是糖链重要支链与末端组成；半乳糖（Gal）以→4）-Gal*p*-（1→（10.40%）、→6）-Gal*p*-（1→（1.77%）、→3）-Gal*p*-（1→（2.09%）及分支→3,4）-Gal*p*-（1→（2.24%）、→3,6）-Gal*p*-（1→（4.03%）形式存在，末端Gal*p*-（1→摩尔占比为7.50%；葡萄糖（Glc）以→4）-Glc*p*-



(a) 1 000倍扫描电子显微镜图 (b) 5 000倍扫描电子显微镜图

(c) 10 000倍扫描电子显微镜图 (d) 20 000倍扫描电子显微镜图

图 10 咖啡果皮多糖的扫描电子显微镜图

Fig. 10 Scanning electron microscope images of coffee peel polysaccharides

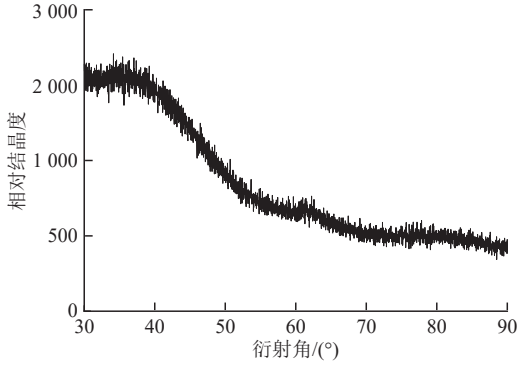


图 11　咖啡果皮多糖的 XRD 结果

Fig. 11　XRD results of coffee peel polysaccharides

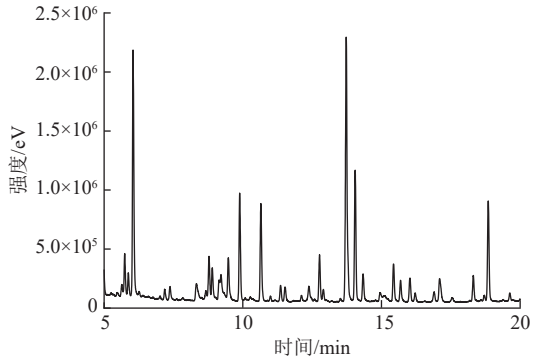


图 12　咖啡果皮多糖样品总离子流图

Fig. 12　Total ion chromatogram of coffee peel polysaccharide sample

(1→(6.38%)及分支→2,4)-Glc*p*-(1→(1.20%)存在；鼠李糖(Rha)以末端 Rha*p*-(1→(2.22%)与→2)-Rha*p*-(1→(2.17%)线性连接。综上，咖啡果皮多糖为含吡喃型与呋喃型的酸性杂多糖，以→4)-*α*-Gal*p*-UA-(1→为主链核心结构，以Ara*f*-(1→、→4)-Gal*p*-(1→、→4)-Glc*p*-(1→为重要中性糖链组成，同时含少量→3,4)-Gal*p*-(1→、→2,4)-Glc*p*-(1→等分支位点，整体以线性结构为主、局部轻度分支，是咖啡果皮中具有代表性的酸性多糖结构，为后续生物有效性与构效关系研究提供了关键结构依据。

2.6　不同提取方法对咖啡果皮多糖生物有效性的影响

不同提取方法对咖啡果皮多糖生物有效性的评价结果见图 13。复合酶解法、单一酶解法、热水浸提法提取的咖啡果皮多糖的生物利用度分别为 41.07%、33.36%、24.34%，表明复合酶解法能有效维持咖啡果皮多糖的生物有效性，使其更易于被人体吸收和利用。

表 5　咖啡果皮多糖甲基化分析结果

Table 5　Methylation analysis results of coffee peel polysaccharides

单糖种类	糖苷键类型	甲基化糖产物	摩尔占比/%
Rha	Rha*p*-(1→	2,3,4-Me₃-Rha*p*	2.22
	→2)-Rha*p*-(1→	3,4-Me₂-Rha*p*	2.17
Ara	Ara*f*-(1→	2,3,5-Me₃-Ara*f*	15.63
	→3)-Ara*f*-(1→	2,5-Me₂-Ara*f*	2.68
	→4)-Ara*f*-(1→	2,3-Me₂-Ara*f*	5.44
Gal	Gal*p*-(1→	2,3,4,6-Me₄-Gal*p*	7.50
	→3)-Gal*p*-(1→	2,4,6-Me₃-Gal*p*	2.09
	→4)-Gal*p*-(1→	2,3,6-Me₃-Gal*p*	10.40
	→6)-Gal*p*-(1→	2,3,4-Me₃-Gal*p*	1.77
	→3,4)-Gal*p*-(1→	2,6-Me₂-Gal*p*	2.24
	→3,6)-Gal*p*-(1→	2,4-Me₂-Gal*p*	4.03
Gal-UA	→4)-Gal*p*-UA-(1→	2,3,6-Me₃-Gal*p*-UA	36.25
Glc	→4)-Glc*p*-(1→	2,3,6-Me₃-Glc*p*	6.38
	→2,4)-Glc*p*-(1→	3,6-Me₂-Glc*p*	1.20

注：*p* 表示吡喃构型；*f* 表示呋喃构型。

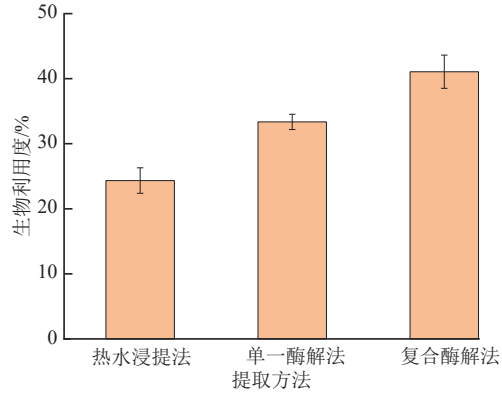


图 13　咖啡果皮多糖的生物有效性

Fig. 13　Bioavailability of coffee peel polysaccharides

3　结论

本研究系统探究了咖啡果皮多糖的复合酶解法提取工艺，确定其最佳工艺条件为：纤维素酶质量分数 2.6%、碱性蛋白酶质量分数 2.6%、木瓜蛋白酶质量分数 2.6%、果胶酶质量分数 3.8%、提取温度 60 ℃、提取时间 1.5 h、料液比 1 g∶100 mL、pH 4。不同提取方法对咖啡果皮多糖生物有效性的影响结果表明，复合酶解法提取的咖啡果皮多糖的生物利用度高于单一酶解法和热水浸提法。结构表征结果表明，咖啡果皮多糖重均分子量为 1 626 765，含鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、半乳糖醛酸，以 *α*-构型吡喃糖为骨架，以→4)-*α*-Gal*p*-UA-(1→为主链核心结构的酸性杂多糖，具有较好的热稳定性。

研究结果表明，酶辅助提取可以提高咖啡果皮多糖的提取效率和生物有效性，复合酶解法的咖啡果皮多糖提取效果高于单一酶解法，复合酶解法提取植物多糖可能是今后产业化应用的主流技术。且不同酸性/碱性的多糖在生物活性和应用领域存在明显差异，而本研究的咖啡果皮多糖为酸性多糖，其体现出的生物有效性可能与其结构组成上含有较大比例的半乳糖醛酸有关。本研究结果对咖啡副产物咖啡果皮的研究和开发具有重要参考价值，有助于进一步揭示多糖结构与其生物活性之间的关系。然而，咖啡果皮多糖的其余活性以及其与结构之间的关系目前尚不清楚，这是今后研究的重点。

参考文献

[1] 杨莉，刘祥江，李孙洋，等. 不同初加工方式云南咖啡精油特征香气成分分析[J]. 中国食品添加剂，2025，36（3）：198-206.
YANG L，LIU X J，LI S Y，et al. Analysis of characteristic aroma components in Yunnan coffee essential oil with different primary processing methods[J]. China Food Additives，2025，36(3)：198-206.(in Chinese)

[2] 李晓娇，侯洪波，李悦. 咖啡果渣应用现状及展望[J]. 云南农业科技，2019(4)：60-62.
LI X J，HOU H B，LI Y. Application status and prospect of coffee pomace[J]. Yunnan Agricultural Science and Technology，2019(4)：60-62.(in Chinese)

[3] 沈晓静，字成庭，辉绍良，等. 咖啡化学成分及其生物活性研究进展[J]. 热带亚热带植物学报，2021，29(1)：112-122.
SHEN X J，ZI C T，HUI S L，et al. Advances on chemical components and biological activities of coffee[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany，2021，29(1)：112-122.(in Chinese)

[4] PLEISSNER D，NEU A K，MEHLMANN K，et al. Fermentative lactic acid production from coffee pulp hydrolysate using *Bacillus coagulans* at laboratory and pilot scales[J]. Bioresource Technology，2016，218：167-173.

[5] 李学玲，龙婷，杨莉，等. 超声辅助酶法提取咖啡果皮白藜芦醇工艺优化及其体外抗氧化活性[J]. 食品研究与开发，2023，44(24)：71-77.
LI X L，LONG T，YANG L，et al. Optimization of ultrasound-assisted enzymatic method extraction and antioxidant activity of resveratrol from coffee bean peels[J]. Food Research and Development，2023，44(24)：71-77.(in Chinese)

[6] 孙岳，周地娇，何飞飞，等. 咖啡果皮茶冲泡条件研究[J]. 食品研究与开发，2021，42(12)：97-101.
SUN Y，ZHOU D J，HE F F，et al. The brewing methods of coffee pericarp tea[J]. Food Research and Development，2021，42(12)：97-101.(in Chinese)

[7] 尹雄，李泽林，付晓萍，等. 云南小粒咖啡果皮粉发酵酸奶的研制[J]. 保鲜与加工，2019，19(3)：104-110.
YIN X，LI Z L，FU X P，et al. Development of yoghurt with Yunnan *Arabica coffee* husk powder[J]. Storage and Process，2019，19(3)：104-110.(in Chinese)

[8] 胡荣锁，甘小红，董文江，等. 外源添加糖及氨基酸对咖啡果皮酒风味和感官品质的影响[J]. 热带作物学报，2020，41(6)：1208-1218.
HU R S，GAN X H，DONG W J，et al. Influence of different exogenous fermentable sugars and amino acids on flavor and sensory quality of coffee pulp wine[J]. Chinese Journal of Tropical Crops，2020，41(6)：1208-1218.(in Chinese)

[9] MASINO F，MONTEVECCHI G，CALVINI R，et al. Sensory evaluation and mixture design assessment of coffee-flavored liquor obtained from spent coffee grounds[J]. Food Quality and Preference，2022，96：104427.

[10] DOS SANTOS É M，DE MACEDO L M，TUNDISI L L，et al. Coffee by-products in topical formulations：a review[J]. Trends in Food Science & Technology，2021，111：280-291.

[11] PATIL S，PIMPLEY V，WARUDKAR K，et al. Valorisation of coffee pulp for development of innovative probiotic beverage using kefir：physicochemical，antioxidant，sensory analysis and shelf life studies[J]. Waste and Biomass Valorization，2022，13(2)：905-916.

[12] 匡钰，肖兵，张洪波，等. 云南咖啡初加工废弃物利用及排放情况调查[J]. 中国热带农业，2018(5)：31-36.
KUANG Y，XIAO B，ZHANG H B，et al. Investigation on utilization and discharge of coffee primary processing wastes in Yunnan Province[J]. China Tropical Agriculture，2018(5)：31-36.(in Chinese)

[13] GEMECHU F G. Embracing nutritional qualities，biological activities and technological properties of coffee byproducts in functional food formulation[J]. Trends in Food Science & Technology，2020，104：235-261.

[14] 罗白玲. 超微粉碎对咖啡果皮不溶性膳食纤维加工和功能特性的影响研究[D]. 银川：宁夏大学，2020.

[15] 沈晓静，叶仁凤，龚姝淳，等. 烘焙小粒咖啡豆多糖的提取、纯化及结构特征研究[J]. 食品与机械，2025，41(4)：63-71.
SHEN X J，YE R F，GONG S C，et al. Extraction，purification，and structural characteristics of polysaccharide from roasted beans of *Coffea arabica*[J]. Food & Machinery，2025，41(4)：63-71.(in Chinese)

[16] LIU C Y，HU D J，ZHU H，et al. Preparation，characterization and immunoregulatory activity of derivatives of polysaccharide from *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2022，216：225-234.

[17] 沈晓静，解富娟，周绍琴，等. 咖啡生豆多糖提取及抗氧化活性[J]. 食品与机械，2023，39(5)：144-149，181.
SHEN X J，XIE F J，ZHOU S Q，et al. Extraction of polysaccharide from green coffee beans and its antioxidant activity[J]. Food & Machinery，2023，39(5)：144-149，181.(in Chinese)

[18] LIU J，WILLFÖR S，XU C L. A review of bioactive plant polysaccharides：biological activities，functionalization，and biomedical applications[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre，2015，5(1)：31-61.

[19] 沈晓静，解富娟，黄璐璐，等. 咖啡生豆多糖的纯化及抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂，2023，34(12)：85-90.
SHEN X J，XIE F J，HUANG L L，et al. Purification and antioxidant activity of polysaccharide from green coffee beans[J]. China Food Additives，2023，34(12)：85-90.(in Chinese)

[20] 郝梅梅. 铁皮石斛口服液的研制及其生物有效性研究[D]. 天津：天津科技大学，2015.

[21] 温文娟，刘珊，黄远丽. 苯酚硫酸法与蒽酮硫酸法测定香菇多糖含量比较[J]. 现代食品，2020(21)：177-179.
WEN W J，LIU S，HUANG Y L. Comparison of phenol sulfuric and anthrone sulfuric method for determination of lentinan[J]. Modern Food，2020(21)：177-179.(in Chinese)

[22] 曹文丹，韦佳汝，李圣淇，等. 竹叶多糖的提取纯化、结构解析及生物活性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报，2024，15(3)：240-247.
CAO W D，WEI J R，LI S Q，et al. Research progress on the extraction and purification，structure analysis and biological activity of bamboo leaf polysaccharides[J]. Journal of Food Safety & Quality，2024，15(3)：240-247.(in Chinese)

[23] 杜亚飞，李维，但玉兰，等. 超声波辅助提取黄绿蜜环菌多糖的工艺研究[J]. 高原农业，2023，7(3)：298-304.
DU Y F，LI W，DAN Y L，et al. Study on the ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Armillaria luteo-virens*[J]. Journal of Plateau Agriculture，2023，7(3)：298-304.(in Chinese)

[24] 李学玲，白芩凡，孙体杰，等. 铁皮石斛多糖的结构表征与抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技，2024，45(19)：32-39.
LI X L，BAI Q F，SUN T J，et al. Structural characterization and antioxidant activity of *Dendrobium officinale* polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry，2024，45(19)：32-39.(in Chinese)

[25] 袁永旭，闫馨慈，吕炀，等. 磨盘草多糖的提取工艺优化、结构表征及其抗氧化活性[J]. 饲料研究，2025，48(2)：109-115.
YUAN Y X，YAN X C，LÜ Y，et al. Optimization of extraction process，structural characterization，and antioxidant activity of polysaccharide from *Abutilon indicum* (L.) Sweet[J]. Feed Research，2025，48(2)：109-115.(in Chinese)

[26] 袁高阳，秦心睿，聂晓兵，等. 基于熵权TOPSIS模型对白芨多糖脱蛋白体系的评价研究[J]. 食品工业科技，2024，45(7)：76-85.
YUAN G Y，QIN X R，NIE X B，et al. Evaluation of *Bletilla striata* polysaccharide deproteinized system based on entropy weighted TOPSIS model[J]. Science and Technology of Food Industry，2024，45(7)：76-85.(in Chinese)

[27] 钟思彦，邹波，吴继军，等. 黄皮多糖结构表征及抗氧化与益生活性研究[J]. 食品与发酵工业，2025，51(3)：234-242.
ZHONG S Y，ZOU B，WU J J，et al. Structural characterization，antioxidant，and prebiotic activity of wampee polysaccharides[J]. Food and Fermentation Industries，2025，51(3)：234-242.(in Chinese)

[28] 刘丹，任洪飞，逄梦玉，等. 灵芝多糖的分离纯化、结构表征和抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂，2025，38(3)：81-86，101.
LIU D，REN H F，PANG M Y，et al. Isolation，purification，structural characterization and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides[J].

Cereals & Oils，2025，38(3)：81-86，101.(in Chinese)

[29] 苏钰明. 滑子菇多糖的分离纯化及细胞水平抗氧化活性研究[D]. 秦皇岛：燕山大学，2024.

[30] 刘莎. 复合酶辅助提取臭黄荆叶果胶的工艺优化、结构解析及其介导慢性前列腺炎[D]. 重庆：西南大学，2023.

[31] 高轶楠. 灵武长枣佐餐保健小菜工艺及生物有效性研究[D]. 天津：天津科技大学，2019.

[32] 韩丹. 白芨多糖的提取分离、分子量测定及结构研究[D]. 延吉：延边大学，2013.

[33] 聂杨根，刘艾芬，董霞，等. 铁皮石斛花多糖的复合酶解法提取及生物有效性研究[J]. 食品研究与开发，2022，43(10)：102-110.
NIE Y G，LIU A F，DONG X，et al. Extraction of polysaccharides from *Dendrobium officinale* flower by compound enzymatic hydrolysis and the bioavailability [J]. Food Research and Development，2022，43(10)：102-110.(in Chinese)

[34] 乔赛凤，宋璐杉，刘会平，等. 积雪草多糖制备、结构表征及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发，2023，44(21)：1-9，32.
QIAO S F，SONG L S，LIU H P，et al. Preparation，structural characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Centella asiatica* (L.) Urban[J]. Food Research and Development，2023，44(21)：1-9，32.(in Chinese)

[35] 张慧慧，李灿，刘会平，等. 肉桂多糖的提取纯化及体外抗氧化和降血糖活性分析[J]. 食品工业科技，2024，45(7)：15-24.
ZHANG H H，LI C，LIU H P，et al. Extraction and purification of *Cinnamomum cassia* polysaccharides and its antioxidant and hypoglycemic activities *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry，2024，45(7)：15-24.(in Chinese)

[36] 冯莹莹. 白术低分子多糖的结构分析及抗肿瘤活性研究[D]. 天津：天津科技大学，2021.

[37] 贾清超. 马铃薯渣功能衍生物的合成、表征及其在废纸脱墨浆中的应用研究[D]. 广州：华南理工大学，2016.

[38] 邢慧珍，张玉梅，刘会平，等. 淡竹叶多糖的制备、热稳定性及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发，2023，44(19)：86-96.
XING H Z，ZHANG Y M，LIU H P，et al. Preparation，thermal stability and antioxidant activity of polysaccharide from *Lophatherum gracile* Brongn.[J]. Food Research and Development，2023，44(19)：86-96.(in Chinese)

[39] 丁素芸. 紫苏叶多糖提取、结构表征及抗肿瘤活性研究[D]. 天津：天津科技大学，2022.

[40] 刘超. 白芨多糖结构特性及其对肝癌细胞的抑制机理研究[D]. 天津：天津科技大学，2021.

[41] 曹楠楠. 苦豆子多糖的制备及基本结构特征[D]. 上海：上海交通大学，2015.

[42] 王伊朋. 多花黄精多糖的分离纯化、结构解析及其对肠道菌群调节作用的研究[D]. 上海：上海应用技术大学，2023.