

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.08.015

白玉菇抗肿瘤活性多糖 WHB3 的结构表征

李孟欣^{1,2}, 张娅娣^{1,3}, 刘咏¹, 王军辉^{1,2}

(1. 合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601; 2. 合肥工业大学 农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥 230601; 3. 安徽省粮油产品质量监督检测站, 安徽 合肥 230031)

摘要:文章采用热水浸提及 DEAE-Cellulose 离子交换层析从白玉菇(*White Hypsizygos marmoreus*)子实体中分离纯化出均一多糖组分 WHB3。糖醛酸测定表明 WHB3 不含糖醛酸;单糖组成分析表明 WHB3 由葡萄糖组成;相对分子质量测定结果为 2.3×10^6 Da;结构分析结果表明,WHB3 主链由(1→6)- β -D-Glcp 组成,其中部分(1→6)- β -D-Glcp 的 O-3 位连有支链 1- α -D-Glcp。通过体外肝癌细胞 HepG2 抗肿瘤实验模型考察白玉菇多糖 WHB3 及其部分酸水解产物 WHB3-S 的抗肿瘤活性,结果表明 WHB3 和 WHB3-S 对肝癌细胞 HepG2 的增殖具有显著的抑制作用,且与多糖质量浓度呈正相关,多糖质量浓度达到 500 μ g/mL 时,抑制率分别达到 38.18%、35.88%。构效关系分析表明,与 WHB3 相比,WHB3-S 在各质量浓度下的抑制率明显较低,说明相对分子质量的减小及支链的缺失对 WHB3 的抗肿瘤活性有显著的影响,降低了 WHB3 的肿瘤抑制活性。研究结果为揭示白玉菇多糖化学结构与生物活性之间的潜在联系提供更多依据。

关键词:白玉菇;多糖;结构表征;抗肿瘤活性;构效关系

中图分类号:TS201.23

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2024)08-1106-07

Structural characterization of anti-tumor active polysaccharide WHB3 from white *Hypsizygos marmoreus*

LI Mengxin^{1,2}, ZHANG Yadi^{1,3}, LIU Yong¹, WANG Junhui^{1,2}

(1. School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China; 2. Engineering Research Center of Bio-process of Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China; 3. Anhui Grain and Oil Products Quality Supervision and Testing Station, Hefei 230031, China)

Abstract: In this paper, the crude polysaccharide was isolated from the fruiting bodies of white *Hypsizygos marmoreus* by water extraction at boiling temperature. After purification by DEAE-Cellulose ion exchange chromatography, the homogenous polysaccharide fraction WHB3 was obtained. The results of uronic acid determination showed that WHB3 contained no uronic acid. Monosaccharide composition analysis showed that WHB3 contained only glucose and its relative molecular mass was determined to be 2.3×10^6 Da. Structural characterization results indicated that the main chain of WHB3 was consisted of (1→6)- β -D-Glcp, part of which was connected with branched 1- α -D-Glcp at the O-3 position. The anti-tumor activity of WHB3 and its hydrolysate WHB3-S on HepG2 cells was investigated *in vitro* by establishing hepatocellular carcinoma cell model. The results showed that the inhibitory effects of WHB3 and WHB3-S on HepG2 cells were positively correlated with the polysaccharide mass concentration. The structure-activity relationship analysis showed that the inhibitory rates of WHB3 and WHB3-S on HepG2 cells were 38.18% and 35.88% when the polysaccharide mass con-

收稿日期:2022-03-15;修回日期:2022-04-06

基金项目:安徽省科技重大专项资助项目(201903a06020024)

作者简介:李孟欣(1997—),女,安徽亳州人,合肥工业大学硕士生;

刘咏(1968—),女,安徽凤阳人,合肥工业大学教授,硕士生导师;

王军辉(1976—),男,广西陆川人,博士,合肥工业大学教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:junhuiwang@hfut.edu.cn.

centration reached 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The inhibitory rates of WHB3-S were significantly lower than those of WHB3 at different concentrations. These results indicated that the loss of branched chain and the decrease of molecular weight had significant effects on the anti-tumor activity of WHB3, and reduced the tumor inhibition activity of WHB3. The results of this study provide insight for revealing the potential connection between the chemical structure and biological activity of the white *Hypsizygos marmoreus* polysaccharides.

Key words: white *Hypsizygos marmoreus*; polysaccharide; structural characterization; anti-tumor activity; structure-activity relationship

0 引言

食用菌是一类具有大型子实体并为人们食用的大型真菌^[1]。中国食用菌资源非常丰富,据统计,中国已知的食用菌超过 900 种,人工栽培的 100 余种。食用菌风味独特、营养丰富,具有保健作用,深受人们喜爱,成为人们饭桌上的佳肴。多糖是食用菌的主要活性成分^[2],一般来自于其菌丝体、子实体,菌糠或发酵液^[3]。研究发现,多糖具有抗衰老^[4]、抗肿瘤^[5]、抗病毒^[6]、抗氧化^[7]、降血糖^[8]、调节免疫力^[9-10]、保护胃粘膜^[11]等生物活性。

白玉菇(White *Hypsizygos marmoreus*)属于伞菌目白蘑科玉蕈属,口感脆嫩鲜滑、营养丰富,富含多种矿物质、维生素、氨基酸、多糖等,具有改善新陈代谢、降血压^[12]、提高人体免疫力等作用。本研究采用热水浸提及 DEAE-Cellulose 离子交换层析从白玉菇子实体中分离纯化出均一多糖组分 WHB3,通过甲基化、核磁共振图谱等对 WHB3 结构进行表征。本文通过建立肝癌细胞药理学模型,研究白玉菇多糖的体外抗肿瘤活性,为其深层次开发利用提供有价值的依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜白玉菇购于安徽省合肥市家乐福超市;三氟乙酸(TFA)(分析纯)、各单糖标准品均购于 Sigma-Aldrich 公司;DMEM 培养基、脂多糖(LPS)、胎牛血清均购于 Hyclone 公司。

1.2 仪器与设备

Nicolet 67 型傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)(Thermo 公司);Multiskan Go 1510 型酶标仪(Thermo Fisher Scientific 公司);VNMR600 型核磁共振波谱仪(nuclear magnetic resonance

spectroscopy, NMR)(Agilent 公司);7980 型气相色谱仪(gas phase chromatography, GPC)(Agilent 公司);ALLINE 系列 E2695 系统高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography, HPLC)(上海沃特世科技有限公司);MCO-17AIC 型 CO_2 培养箱(日本三洋电机株式会社)。

1.3 实验方法

1.3.1 多糖的提取

新鲜白玉菇子实体切片干燥后粉碎,取白玉菇粉末浸泡在 95%乙醇中脱色脱脂,干燥后用 0.9% NaCl 缓冲溶液(料液比为 1:20),在 100 $^{\circ}\text{C}$ 下提取 3 次,每次 2 h;合并滤液,减压浓缩(转速为 85 r/min,温度为 65 $^{\circ}\text{C}$)为总体积的 10%,离心(8 500 r/min)去除沉淀,加入 4 倍体积的 95%乙醇,4 $^{\circ}\text{C}$ 下醇沉 24 h。将沉淀重新溶于水,用 Sevag 试剂脱蛋白,多糖溶液用自来水透析 72 h,蒸馏水透析 48 h,其截留分子量(molecular weight cut off, MWCO)为 3 500 Da,透析液冻融、离心、冻干,得到白玉菇粗多糖 WHB。

1.3.2 多糖的纯化

称取 120 mg WHB,用 10 mL 水溶解,离心。在 DEAE-Cellulose 柱(2.6 \times 40 cm)上分离,用蒸馏水和不同浓度 NaCl 溶液以 1.2 mL/min(6 mL/管)的速率洗脱,收集 0.2 mol/L NaCl 溶液洗脱的主要组分,得到 WHB3。

1.3.3 多糖的化学成分分析

以葡萄糖标准品为参照,苯酚硫酸法^[13]测定总糖质量分数;以半乳糖醛酸标准品为参照,间羟基联苯比色法^[14]测定糖醛酸质量分数;以牛血清白蛋白为参照,考马斯亮蓝法^[15]测定蛋白质质量分数。

1.3.4 相对分子量检测

采用高效凝胶渗透色谱(high performance gel permeation chromatography, HPGPC)法进行相对分子量检测。配制 5 mg/mL 的 WHB3 溶液,离心(8 000 r/min, 10 min)。将上清液用

0.22 μm 无机水相滤膜过滤, 装入样品瓶。高效液相色谱配备 E2695 系统、2424 蒸发光散射检测器(evaporative light-scattering detector, ELSD)、UltrahydrogelTM 2000 (7.8 mm \times 300 mm) 和 UltrahydrogelTM 500 (7.8 mm \times 300 mm) 串联线性柱。

1.3.5 紫外吸收光谱分析

配制 0.5 mg/mL 的 WHB3 水溶液, 测定其在 200~400 nm 波长范围内的紫外吸收光谱。

1.3.6 FTIR 分析

称取 1 mg WHB3, 加入适量 KBr, 充分研磨。在红外线烘箱中干燥除去水分, 用压片机压成薄片。用 FTIR 光谱仪在波数为 4 000~400 cm^{-1} 范围内扫描。

1.3.7 WHB3 结构表征

参考文献[16]的方法稍作修改进行单糖组成分析。称取 5 mg WHB3 置于安瓿管中, 加入 TFA (2 mol/L, 4 mL), 110 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中水解 4 h, 减压蒸干, 在 NaBH_4 水溶液中还原 3 h; 25% 醋酸溶液中和后蒸干, 置于烘箱中干燥。加入吡啶和乙酸酐, 100 $^{\circ}\text{C}$ 下封闭反应 1 h; 减压蒸干, 加入适量的三氯甲烷和水, 多次萃取至水相澄清; 过 0.22 μm 有机滤膜后将样品溶液装入样品瓶进行气相色谱检测。

根据文献[17]的方法稍作改动, 对 WHB3 进行甲基化。按照 1.3.6 方法对甲基化的 WHB3 进行红外光谱扫描, 判断多糖是否完全甲基化; 称取 5 mg 甲基化后的 WHB3, 溶于甲酸 (4 mL, 88%) 中, 置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中反应 6 h, 蒸干; 再参照单糖组成实验方法, 对多糖的衍生化产物进行气相色谱-质谱 (gas chromatograph-mass spectrometer, GC-MS) 分析。

称取 40 mg WHB3 溶于 TFA (0.5 mol/mL, 8 mL) 中, 置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中水解 1 h, 减压蒸干后用水复溶, 于自来水中透析 72 h (MWCO 为 3 500 Da), 蒸馏水中透析 48 h。透析后的溶液经减压浓缩 (80 r/min, 65 $^{\circ}\text{C}$), 冻干后进行 GC 分析。

称取 60 mg 干燥的 WHB3 溶于 0.6 mL D_2O 或 DMSO-d_6 中, 再利用核磁共振仪对其进行 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、HSQC 和 HMBC 波谱分析。

1.3.8 抗肿瘤活性研究

将肝癌细胞 HepG2 置于 CO_2 培养箱中, 用含有 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和

100 U/mL 链霉素的 DMEM 培养基培养。

移取对数生长期细胞于 96 孔板中 (1.0×10^5 个/mL、150 μL /孔), 置于 CO_2 培养箱中贴壁培养 4 h。再分别加入 50 μL 具有质量浓度梯度的多糖溶液, 等体积 DMEM 作为空白对照, 孵育 24 h。加入 20 μL MTT 试剂 (5 mg/mL), 振荡摇匀, 孵育 4 h 后吸除孔板中上层液体, 加入 200 μL DMSO, 避光摇匀 10 min, 测定各孔在 570 nm 的吸光度。

抑制率 S 计算公式为:

$$S = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

其中: A_0 为空白对照组在 570 nm 处的吸光度; A_1 为实验样品组在 570 nm 处的吸光度。

1.4 数据处理

实验数据以 (平均值 \pm 标准差) 形式表示, 至少重复 3 次。采用 Origin 9.1 软件绘制图表, 利用 SPSS 21.0 软件进行数据统计学处理, 使用 t 检验法进行数据比较。* 表示 $P < 0.05$ 差异显著, ** 表示 $P < 0.01$ 差异极显著。

2 结果与分析

2.1 多糖的分离纯化及理化性质分析

用热水提取法从白玉菇子实体中提取粗多糖 WHB, 进一步通过 DEAE-Cellulose 柱纯化, 收集 0.2 mol/L NaCl 洗脱组分, 得到 WHB3, 分离纯化过程如图 1 所示。

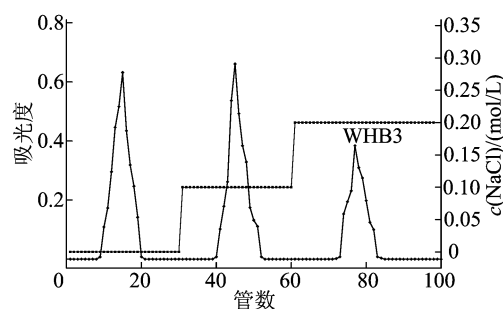


图 1 WHB3 的洗脱曲线

WHB3 的 HPGPC 谱图如图 2 所示。从图 2 可以看出: WHB3 有单一的对称峰, 表明 WHB3 为均一的多糖组分, 相对分子质量为 2.3×10^6 Da; WHB3 总糖的质量分数为 98.64%, 不含糖醛酸。

WHB3 的紫外光谱图如图 3 所示。图 3 中, 波长在 260、280 nm 处没有吸收, 说明 WHB3 不含蛋白质和核酸。

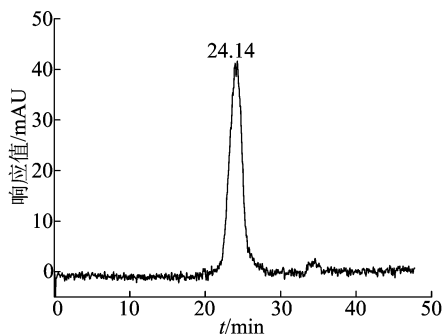


图 2 WHB3 的 HPGPC 谱图

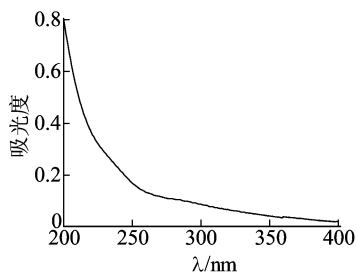


图 3 WHB3 的紫外光谱图

WHB3 的 FTIR 谱图如图 4 所示。

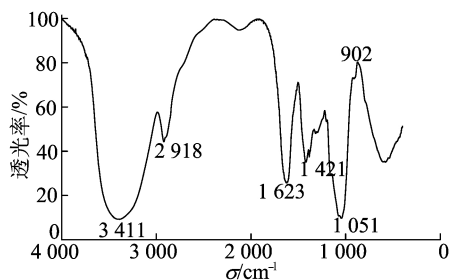


图 4 WHB3 的 FTIR 谱图

在已有文献资料的基础上对 WHB3 各吸收峰归属作出如下分析^[18-20],从图 4 可以看出,在 3 411 cm^{-1} 处的强而宽的吸收峰归属于 O—H 的伸缩振动,2 918 cm^{-1} 处的吸收峰归属于 C—H 的伸缩振动,1 051 cm^{-1} 处的吸收峰表明吡喃糖

环的存在,902 cm^{-1} 处的吸收峰表明 WHB3 中可能含有 β -D-葡萄糖。

2.2 WHB3 的结构表征

WHB3 的单糖组成通过 GC 分析确定,结果如图 5 所示,结果显示 WHB3 仅含有葡萄糖。WHB3 的连接方式经甲基化分析确定,甲基化后 WHB3 的 FTIR 谱图如图 6 所示。

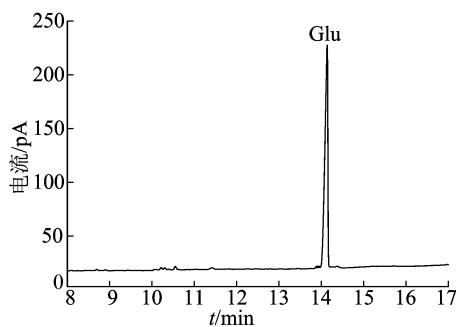


图 5 WHB3 的 GC 谱图

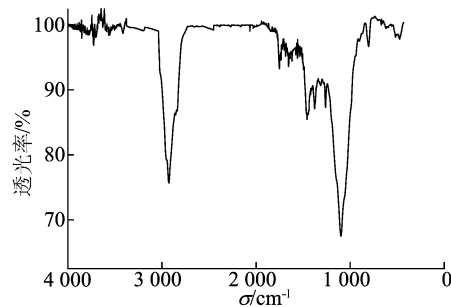


图 6 甲基化后 WHB3 的 FTIR 谱图

由图 6 可知,3 411 cm^{-1} 处 O—H 吸收峰消失,2 918 cm^{-1} 处 C—H 的吸收峰增强,表明多糖已完全甲基化。将甲基化的 WHB3 水解、还原、乙酰化,进行 GC-MS 分析,结果见表 1 所列,WHB3 的糖残基连接方式分别为 1-Linked-Glcp,1,6-Linked-Glcp 和 1,3,6-Linked-Glcp,三者摩尔比为 1.2 : 1.9 : 1.0。

表 1 WHB3 的甲基化分析结果

甲基化衍生物	连接方式	质子碎片质荷比
2,3,4,6-Me ₄ -Glcp	1-Linked-Glcp	45,71,87,101,117,129,145,161,205
2,3,4-Me ₃ -Glcp	1,6-Linked-Glcp	45,71,87,99,101,129,161,189,233
2,4-Me ₂ -Glcp	1,3,6-Linked-Glcp	45,58,87,99,101,117,129,159,173,189,233

核磁共振技术是研究多糖结构、了解多糖的糖残基类型及连接位点最有效的方法之一。WHB3 的核磁共振图谱¹³C NMR、¹H NMR、HSQC 和 HMBC 如图 7 所示。根据甲基化分析

结果及文献^[21-26]报道的数据,对 WHB3 各糖残基的异头氢的化学位移进行了归属,结果见表 2 所列。

多糖 WHB3 的¹³C NMR 谱图如图 7a 所示,

图 7a 中,异头碳区域位于 98.5×10^{-6} 、 105.4×10^{-6} 、 105.2×10^{-6} 处的信号归属于 1-Linked-Glcp、1,6-Linked-Glcp、1,3,6-Linked-Glcp 的 C1。WHB3 的 ^1H NMR 图谱如图 7b 所示,图 7b 中,位于 4.52×10^{-6} 、 4.39×10^{-6} 、 4.62×10^{-6} 处的信号分别归属于糖残基 A、糖残基 B、糖残基 C 的 H1,HSQC 图谱可确定与异头质子相连的碳信号及糖基上每个质子相连的碳信号。WHB3 的 HSQC 图谱如图 7c 所示,图 7c 中,异头氢和异头碳的交叉峰为 A ($4.52/98.5$)、B ($4.39/$

105.4)和 C ($4.62/105.2$),HMBC 图谱可以获得相连的两单糖残基间、异头质子与另一单糖残基间的连接顺序和连接位置^[27]。

WHB3 的 HMBC 图谱如图 7d 所示,图 7d 中的交叉峰 B H1/C C6、B H6/B C1 验证了 WHB3 的主要连接方式为 $(1 \rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}$ 和 $(1 \rightarrow 3,6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}$ 。结合甲基化分析及核磁共振的结果,说明 WHB3 的主链可能是由 $(1 \rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}$ 组成,其中部分 $(1 \rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}$ 的 O-3 位连有支链 $1\text{-}\alpha\text{-D-Glcp}$ 。

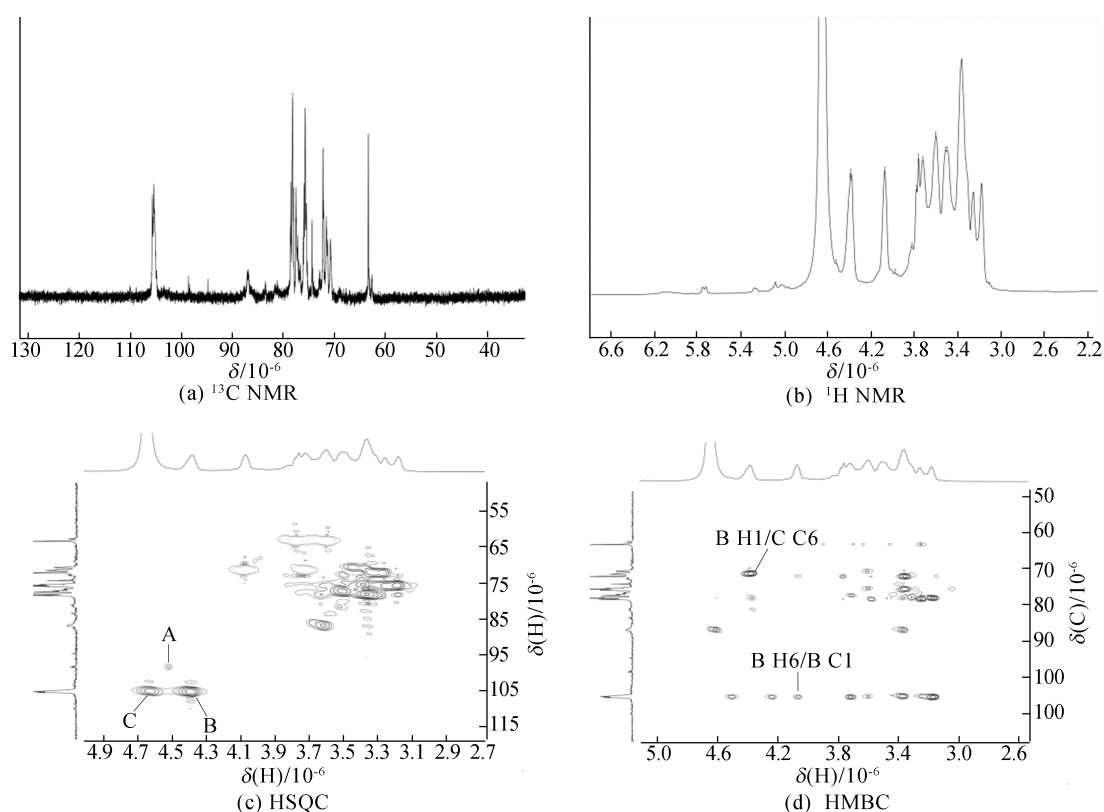


图 7 WHB3 的核磁共振谱图

表 2 WHB3 糖残基的碳、氢化学位移归属

交叉峰	连接方式	H1/C1	H2/C2	H3/C3	H4/C4	H5/C5	H6/C6
A	$\alpha\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$	4.52/98.5	3.60/72.2	4.07/74.3	3.51/71.3	3.81/72.8	4.38/62.6
B	$\rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$	4.39/105.4	3.50/76.0	3.78/78.2	3.72/72.2	3.82/74.2	4.07/71.5
C	$\rightarrow 3,6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$	4.62/105.2	3.51/76.0	3.82/86.8	3.76/72.9	3.78/74.3	4.07/71.6

2.3 WHB3 的抗肿瘤活性分析

多糖广泛存在于自然界中,具有多种生物活性。癌症是当今威胁人类健康的主要难题之一,随着现代医学的进步,多糖突出的抗肿瘤作用使其逐渐成为肿瘤治疗的焦点之一,越来越多的天然多糖被用于癌症的临床治疗^[28]。WHB3 及其部分酸水解产物 WHB3-S 对肝癌细胞 HepG2 的

体外抑制活性如图 8 所示。由图 8 可知:多糖 WHB3 呈现出良好的抗肿瘤活性,WHB3 与 WHB3-S 对肝癌细胞 HepG2 的抑制作用呈现质量浓度依赖性;在多糖质量浓度达到 $500 \mu\text{g/mL}$ 时,WHB3 和 WHB3-S 对 HepG2 的抑制率分别为 38.18%、35.88%;与 WHB3 相比,WHB3-S 各质量浓度下的抑制率明显减小,说明支链的缺

失及相对分子质量的减小会影响多糖 WHB3 的抗肿瘤活性,降低了其肿瘤抑制活性。多糖的相对分子质量、单糖组成、糖苷键的类型和位置等都与多糖的生物活性有较大关系^[29-31]。本文结果丰富了多糖构效关系的研究,为其增加了有用的数据。

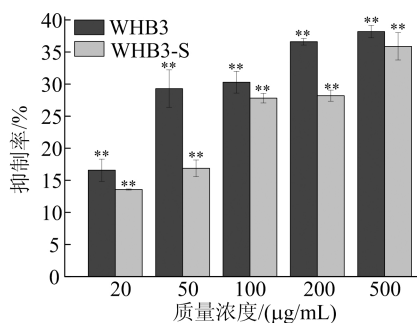


图 8 WHB3 和 WHB3-S 对肝癌细胞 HepG2 的体外抑制作用

3 结 论

白玉菇是一种营养价值丰富、深受人们喜爱的食用菌,具有广阔的开发空间。本文采用热水浸提和 DEAE-Cellulose 柱分离纯化得到葡聚糖 WHB3,相对分子质量为 2.3×10^6 Da,其主链由 $(1 \rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}$ 组成,其中部分 $(1 \rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}$ 的 O-3 位连有支链 $1\text{-}\alpha\text{-D-Glcp}$ 。体外抗肿瘤活性研究表明,WHB3 具有良好的抑制肝癌细胞 HepG2 增殖的能力,其部分酸水解组分 WHB3-S 的肿瘤细胞抑制率低于 WHB3,说明支链的缺失会导致其抗肿瘤活性降低。本研究结果将有助于发现白玉菇的深层次价值,为白玉菇在生物和医药方面的应用提供参考。

[参 考 文 献]

[1] 钟炼军,王强,张建斌.天然食用菌多糖物质及提取开发应用研究[J].中国食用菌,2019,38(4):5-7.
 [2] WASSER S. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2002, 60(3): 258-274.
 [3] WANG Y X, SHI X D, YIN J Y, et al. Bioactive polysaccharide from edible *Dictyophora* spp: extraction, purification, structural features and bioactivities[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2018, 14: 25-32.
 [4] REBECCA I C, DAVID W W. Role of gut microbiota in aging-related health decline: insights from invertebrate models[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2018 (1): 93-101.
 [5] SCOTT J B. Interplay between diet, gut microbiota, epige-

netic events, and colorectal cancer[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2017(1): 136-142.
 [6] 迟桂荣,徐琳,吴继卫,等.杏鲍菇多糖的抗病毒抗肿瘤研究[J].莱阳农学院学报,2006,23(3):174-176.
 [7] 吴杨洋,周妍汝,刘春燕,等.灵芝多糖提取工艺优化及抗氧化活性的研究[J].食品安全质量检测学报,2020(14):4636-4642.
 [8] 芦菲,李波,索晓敏,等.食用菌的降血糖作用研究进展[J].食品研究与开发,2010,31(2):189-192.
 [9] XU X F, YANG J G, NING Z X, et al. Lentinula edodes-derived polysaccharide rejuvenates mice in terms of immune responses and gut microbiota[J]. Food & Function, 2015 (8): 2653-2663.
 [10] LUO J M, ZHANG C, LIU R, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide alleviating colorectal cancer by alteration of special gut bacteria and regulation of gene expression of colonic epithelial cells[J]. Journal of Functional Foods, 2018(47):127-135.
 [11] 姚雪萍,马琪,何振新,等.黑木耳多糖提取物对大鼠应激性胃溃疡的保护作用研究[J].现代中药研究与实践,2016,30(3):28-30.
 [12] 暴增海,宋春波,吴怡,等.白玉菇的研究开发概况与展望[J].江苏农业科学,2013,41(3):210-211.
 [13] WANG M, LIU Y, QIANG M, et al. Structural elucidation of a pectin-type polysaccharide from *Hovenia dulcis* peduncles and its proliferative activity on RAW264.7 cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 104: 1246-1253.
 [14] 任珍云,刘爱萍,陈晓航,等.改良间羟基联苯法用于测定肺炎球菌荚膜多糖中糖醛酸含量[J].中国新药杂志,2018,27(6):644-649.
 [15] 沈育伊,覃香香,滕秋梅,等.荸荠多糖中蛋白含量的测定[J].微量元素与健康研究,2019,36(6):50-52.
 [16] 吴磊,吴静,胡居吾,等.白莲蓬子皮多糖的理化性质及免疫调节活性[J].现代食品科技,2021,37(5):100-108,129.
 [17] NEEDS P W, SELVENDRAN R R. Avoiding oxidative degradation during sodium hydroxide/methyl iodide-mediated carbohydrate methylation in dimethyl sulfoxide[J]. Carbohydrate Research, 1993, 245(1): 1-10.
 [18] LIU J, SHANG F, YANG Z, et al. Structural analysis of a homogeneous polysaccharide from *Achatina fulica*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 98: 786-792.
 [19] REN Y, ZHENG G, YOU L, et al. Structural characterization and macrophage immunomodulatory activity of a polysaccharide isolated from *Gracilaria lemaneiformis* [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 33: 286-296.
 [20] FU X, CAO C, REN B, et al. Structural characterization and in vitro fermentation of a novel polysaccharide from *Sargassum thunbergii* and its impact on gut microbiota[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 183: 230-239.

- [J]. The Journal of Physical Chemistry C, 2020, 124(43): 23844-23851.
- [8] SABARINATHAN D, SHARMA A S, AGYEKUM A A, et al. Thunnus albacares protein-mediated synthesis of water-soluble copper nanoclusters as sensitive fluorescent probe for ferric ion detection [J]. Journal of Molecular Structure, 2022, 1254: 132333.
- [9] WANG C, LING L, YAO Y, et al. One-step synthesis of fluorescent smart thermo-responsive copper clusters: a potential nanothermometer in living cells [J]. Nano Research, 2015, 8(6): 1975-1986.
- [10] XUE Y, CHENG Z, LUO M, et al. Synthesis of copper nanocluster and its application in pollutant analysis [J]. Biosensors, 2021, 11(11): 424.
- [11] LI X G, LIAO Y, HUANG M R, et al. Ultra-sensitive chemosensors for Fe(III) and explosives based on highly fluorescent oligofluoranthene [J]. Chemical Science, 2013, 4(5): 1970-1978.
- [12] WANG Z, CHEN B, ROGACH A L. Synthesis, optical properties and applications of light-emitting copper nanoclusters [J]. Nanoscale Horizons, 2017, 2(3): 135-146.
- [13] HAN A, HAO S, YANG Y, et al. Perspective on recent developments of nanomaterial based fluorescent sensors: applications in safety and quality control of food and beverages [J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2020, 28(4): 486-507.
- [14] HILDEBRANDT N, SPILLMANN C M, ALGAR W R, et al. Energy transfer with semiconductor quantum dot bioconjugates: a versatile platform for biosensing, energy harvesting, and other developing applications [J]. Chemical Reviews, 2017, 117(2): 536-711.
- [15] CAO H, CHEN Z, ZHENG H, et al. Copper nanoclusters as a highly sensitive and selective fluorescence sensor for ferric ions in serum and living cells by imaging [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2014, 62: 189-195.
- [16] LAN L Y, YAO Y, PING J F, et al. Recent progress in nanomaterial-based optical aptamer assay for the detection of food chemical contaminants [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(28): 23287-23301.

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 1111 页)

- [21] SIMS I M, CAMACHAN S M, BELL T J, et al. Methylation analysis of polysaccharides: technical advice [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 188: 1-7.
- [22] ROUT D, MONDAL S, CHAKRABORTY I, et al. Chemical analysis of a new (1→3)-(1→6)-branched glucan from an edible mushroom, *Pleurotus florida* [J]. Carbohydrate Research, 2005, 340(16): 2533-2539.
- [23] LIU Y, WANG F. Structural characterization of an active polysaccharide from *Phellinus ribis* [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 70(4): 386-392.
- [24] MAITY P, NANDI A K, MANNA D K, et al. Structural characterization and antioxidant activity of a glucan from *Meripilus giganteus* [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157: 1237-1245.
- [25] PATTANAYAK M, SAMANTA S, MAITY P, et al. Polysaccharide of an edible truffle tuber rufum: structural studies and effects on human lymphocytes [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 95: 1037-1048.
- [26] ISHINA I A, USOLTSEVA R V, SHEVCHENKO N M, et al. Structural characteristics of water-soluble polysaccharides from brown algae of the Asia-Pacific Region [J]. Achievements in the Life Sciences, 2017, 10: S15.
- [27] GUENTTAS L, PHEULPIN P, MICHAUD P, et al. Structure of polysaccharide from a Rhizobium species containing 2-deoxy-b-D-arabino-hexuronic acid [J]. Carbohydrate Research, 2001, 332(2): 167-173.
- [28] XIE X, ZHOU Y, WANG X, et al. Enhanced antitumor activity of gemcitabine by polysaccharide-induced NK cell activation and immune cytotoxicity reduction *in vitro/vivo* [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 173: 360-371.
- [29] 谢好贵, 陈美珍, 张玉强. 多糖抗肿瘤构效关系及其机制研究进展 [J]. 食品科学, 2011, 32(11): 329-333.
- [30] ZHANG Y, LI S, WANG X, et al. Advances in lentinan: isolation, structure, chain conformation and bioactivities [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(2): 196-206.
- [31] BAE I Y, KIM H W, YOO H J, et al. Correlation of branching structure of mushroom β-glucan with its physiological activities [J]. Food Research International, 2013, 51(1): 195-200.

(责任编辑 闫杏丽)