

超声-酶辅助碱法提取黑木耳膳食纤维及 对糖尿病小鼠的降血糖作用

杨 帆¹, 孙孝帆¹, 李德海^{1,2*}, 王 璐¹, 王楠楠¹, 王 鹏³

(1. 东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省森林食品资源利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 华迪计算机集团有限公司, 北京 100195)

摘要: 以提取多糖后的黑木耳残渣粉末为原料, 采用超声-酶辅助碱法提取黑木耳膳食纤维 (AADF), 通过单因素实验和 Box-Behnken 设计确定了 AADF 的最佳提取工艺, 进一步通过小鼠体内实验探究了 AADF 的降血糖功效。结果表明, 在料液比 (g : mL) 1 : 15、超声功率 350 W、超声时间 50 min、耐高温 α -淀粉酶用量 5.0% (以黑木耳残渣粉末的质量为基准, 下同) 的最佳工艺下, AADF 提取率为 69.18%。28 d 经 AADF 干预糖尿病小鼠饮食期间, 模型高剂量组 [每天 AADF 灌胃量为 200 mg/(kg·bw)] 与模型对照组 (每天灌胃生理盐水) 的糖尿病小鼠相比, 空腹血糖值下降 13.72%、口服糖耐量降低 16.95%, 血脂总胆固醇和甘油三酯含量显著降低, 高密度脂蛋白胆固醇和血清中谷胱甘肽过氧化物酶的水平升高, 肝脏中的过氧化氢酶以及琥珀酸脱氢酶活力得到提高, 与模型阳性组 [每天二甲双胍灌胃量为 100 mg/(kg·bw)] 各项生理指标相近; 肝脏组织病理学分析也表明, AADF 对糖尿病小鼠肝损伤具有一定的修复作用。

关键词: 黑木耳; 膳食纤维; 工艺优化; 小鼠; 降血糖活性; 中药现代化技术

中图分类号: TS219 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 08-1754-11

Ultrasound-enzyme-assisted alkali method for extracting dietary fiber from *Auricularia auricula* and its hypoglycemic effect on diabetic mice

YANG Fan¹, SUN Xiaofan¹, LI Dehai^{1,2*}, WANG Lu¹, WANG Nannan¹, WANG Peng³

(1. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Haerbin 150040, Heilongjiang, China; 2. Heilongjiang Key Laboratory of Forest Food Resources Utilization, Haerbin 150040, Heilongjiang, China; 3. Huadi Computer Group Co., Ltd., Beijing 100195, China)

Abstract: Taking *Auricularia auricula* residue powder after polysaccharides extracted as raw materials, *Auricularia auricula* dietary fiber (AADF) was extracted by ultrasound-enzyme-assisted alkali method, and the optimal extraction process was determined by single-factor experiments and Box-Behnken design. The hypoglycemic effect of AADF was further explored by *in vivo* experiments in mice. The results showed that the extraction rate of AADF reached 69.18% under the optimal process of material liquid ratio (g : mL) 1 : 15, ultrasonic power 350 W, ultrasonic time 50 min, and 5.0% α -amylase with high temperature resistance (based on the mass of *Auricularia auricula* residue powder, the same below). Data from *in vivo* experiments of diabetic mice with AADF intervention for 28 d indicated that, in comparison with those of the control group treated with normal saline per day, the fasting blood glucose value of the group treated with high dosage AADF [200 mg/(kg·bw) per day] decreased by 13.72%, oral glucose tolerance decreased by 16.95%, the contents of total cholesterol and triglycerides in blood lipids were significantly reduced, and the levels of high-density lipoprotein cholesterol and glutathione peroxidase in serum were increased. The activity of catalase and succinate dehydrogenase in the liver was improved, which was similar to the physiological

收稿日期: 2023-08-11; 定用日期: 2023-10-19; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230654

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (LH2022C007、C2015062); 黑龙江省高等教育教学改革项目 (SJGY20210021); 哈尔滨市科技局创新研究基金项目 (2017RAQXJ091)

作者简介: 杨 帆 (1997—), 女, 硕士生, E-mail: 15331838287@163.com。联系人: 李德海 (1976—), 男, 副教授, E-mail: lidelhaineau@163.com。

indexes of the model-positive group [metformin gavage amount of 100 mg/(kg·bw) per day]. Histopathological analysis of the liver also demonstrated that AADF showed a certain repair effect on liver injury in diabetic mice.

Key words: *Auricularia auricula*; dietary fiber; process optimization; mice; hypoglycemic activity; modern technology of Chinese medicine

全球 I 型糖尿病 (T1DM) 和 II 型糖尿病 (T2DM) 的患病率正在上升,其中 T2DM 的患病率上升速度高于任何其他类型的糖尿病^[1]。据糖尿病联合会报告:截至 2021 年,世界范围内 20~79 岁群体中患有糖尿病的人数高达 5.37 亿,预计到 2030 年,这一数字将增至 6.43 亿,到 2045 年将增至 7.83 亿^[2]。糖尿病的发病率和患病率在全球范围内迅速增长已成为现代社会严重的健康问题。T2DM 是一种较为复杂的代谢性疾病,其特征为胰岛素分泌不足或胰岛素抵抗所引发的高血糖和高血脂症状^[3]。中国是成人糖尿病患者最多的国家,成人糖尿病患病率已增至 11.2%,其中,患 T2DM 的病例占比 90%以上^[4]。目前,已批准用于治疗 T2DM 的传统降糖药物有双胍类、磺脲类以及噻唑烷二酮类等 12 类^[5]。但传统降糖药物在临床应用中存在使患者出现低血糖、胃肠道不良反应等弊端,且当患者出现糖尿病并发症时,选择降糖药物存在局限性。因此,寻找可以预防及治疗糖尿病症状同时又无副作用的天然营养物质,对于糖尿病的预防及治疗具有重要意义^[6]。

流行病学数据证实,膳食纤维 (DF) 摄入不足与患 T2DM 的风险增加密切相关。膳食纤维是一种可食用的非淀粉多糖,不能被人体小肠消化吸收^[7]。相关研究表明,膳食纤维对人体健康具有重要作用,其生理功能主要有:控制体重、改善便秘、调节血糖、降低胆固醇以及预防心脏病和癌症等^[8]。膳食纤维因其独特的生理保健功能被广泛研究和应用,是功能食品研究领域的热点^[9]。研究表明^[10-12],食药真菌中含有丰富的膳食纤维,是膳食纤维的良好来源。黑木耳 (*Auricularia auricula*) 是一种常见的药食同源且肉质鲜美的真菌,其富含生物活性物质,且表现出多种生物学和药理学特性^[13]。中国的黑木耳资源十分丰富,占全世界总产量的 90%以上^[14],从黑木耳中提取多糖等有效活性成分后产生的大量残渣,目前并没有被充分开发利用。膳食纤维是黑木耳的主要成分之一,其质量分数约为干重的 30%,通常残留在提取多糖后黑木耳残渣中,经提取后可作为理想的膳食纤维原料^[15],但关于其膳食纤维的高效制备技术和功能的研究报道较少。目前,提取膳食纤维的方法主要有水提法、酶法、化学法、酶-

化学法以及超声波辅助等^[16]。化学法中的碱提取法可在热水提取法的基础上,加速细胞在碱性溶液中的吸水、膨胀和破裂,从而提高膳食纤维的提取率。该法成本低廉、操作简便,但提取率相对较低且强碱排放有污染环境的风险^[17-18]。酶法制备膳食纤维专一性强、纯度高、节能环保,是近年来制备膳食纤维的较有潜力的方法。超声辅助提取技术可增强溶剂向原料细胞的渗透量并破坏细胞壁,提高提取率^[19-20]。

本文拟以提取多糖后黑木耳残渣为原料,采用超声-协同酶法于碱性条件下提取黑木耳膳食纤维 (AADF);在单因素实验基础上,采用 Box-Behnken 设计结合响应面分析的方法,优化获得最佳提取 AADF 的工艺条件;建立糖尿病小鼠模型,通过饲喂 AADF 饲料,探究 AADF 对糖尿病小鼠的降血糖作用机制。旨在为更好开发、利用黑木耳资源及为降脂功能保健食品的开发提供理论支撑。

1 实验部分

1.1 原料、试剂与仪器

干黑木耳,家乐福超市(品牌:樟子松,生产日期:2023 年 1 月 7 日,生产许可证编号:SC11623270300968,生产商:北奇神集团大兴安岭新林绿色产业有限责任公司);清洁级昆明小鼠(雄性),辽宁长生生物技术股份有限公司,生产和使用许可证号:No. SCXK(辽)2020-0001,平均体质量(20±2) g;耐高温 α -淀粉酶(简称 α -淀粉酶)(40000 U/g),北京索莱宝科技有限公司;链脲佐菌素(STZ)、胰岛素酶联免疫检测试剂盒、总胆固醇(TC)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒、琥珀酸脱氢酶(SDH)试剂盒、丙二醛(MDA)测定试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)测定试剂盒、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒、小鼠肝糖原测试盒,南京建成生物工程研究所。

7600P 拜耳血糖仪,上海健臻医疗科技有限责任公司;Eclipse Ci-E 光学显微镜及成像系统,尼康映像仪器销售(中国)有限公司;JR-E2001 超声波分散仪,广州吉普超声波电子设备有限公司;FD-1A-80 冷冻干燥机,上海比朗仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 超声-酶辅助碱法制备 AADF 的工艺考察

以干黑木耳为原料, 对李德海等^[21]方法稍作修改, 得到去多糖的黑木耳残渣, 烘干粉碎, 过 60 目筛后为黑木耳残渣粉末, 贮藏备用。

参照文献[22-23]方法, 并稍作修改。首先, 称取一定量黑木耳残渣粉末, 按照料液比(g:mL)1:15 加入蒸馏水混合; 再以 350 W 功率超声处理 50 min; 接着, 加入 5.0%添加量(以黑木耳残渣粉末的质量为基准, 下同)的耐高温 α -淀粉酶, 于 95 °C 下酶解 35 min, 沸水浴灭酶处理 10 min 后冷却至 60 °C; 然后, 使用 0.5 mol/L NaOH 水溶液调节 pH 为 10, 提取 1 h; 再用 1 mol/L 盐酸调节 pH 至 6.5, 向所得溶液中加入 4 倍体积的体积分数 95%乙醇, 醇沉 2 h 后, 4000 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 在 -80 °C 下预冻 24 h 后进行真空冷冻干燥, 其中冷阱温度为 -50 °C, 真空度为 60 Pa, 冷冻干燥 24 h, 得到 AADF, 装入袋中 -18 °C 避光储存, 并按式(1)计算 AADF 提取率:

$$Y/\% = m_1/m_2 \times 100 \quad (1)$$

式中: Y 为 AADF 提取率, %; m_1 为提取的 AADF 质量, g; m_2 为使用的黑木耳残渣粉末质量, g。

1.2.2 AADF 对糖尿病小鼠降血糖作用测试

1.2.2.1 II 型糖尿病小鼠建模

动物实验依照《实验动物护理和使用指南》第八版中的规定执行, 并经东北林业大学动物实验道德伦理委员会批准。清洁级昆明小白鼠自由进食和饮水, 适应性饲养 1 周, 保持温度在 (20 ± 2) °C, 相对湿度在 $55\% \pm 5\%$, 1 周后将小鼠随机分成两组, 空白组(15 只), 模型组(≥ 50 只)。空白组给予普通饲料喂养, 模型组给予高糖高脂饲料喂养。自由饮水、饮食 4 周后, 两组都禁食不禁水 24 h 后, 空白组注射生理盐水, 模型组腹腔注射 STZ [200 mg/(kg·bw)], 两组连续注射 3 d 后再次禁食不禁水 12 h。此后, 对模型组空腹尾部静脉取血测定其血糖值, 小鼠空腹血糖 > 11.1 mmol/L 为建模成功小鼠(≥ 50 只)^[24]。

1.2.2.2 建模小鼠分组及灌胃剂量设计

除空白组 15 只小鼠外, 将建模成功的 50 只小鼠随机分为 5 组(称为模型 5 组, 下同), 即模型对照组(灌胃生理盐水)、模型高剂量组[AADF 灌胃量为 200 mg/(kg·bw)]、模型中剂量组[AADF 灌胃量为 100 mg/(kg·bw)]、模型低剂量组[AADF 灌胃量为 50 mg/(kg·bw)]和模型阳性组[二甲双胍灌胃量为 100 mg/(kg·bw)], 每组小鼠 10 只。小鼠灌胃相应的生理盐水或药物(AADF、二甲双胍), 体积为 0.25 mL/kg, 每天灌胃 1 次, 并观察饮水量、进

食量及体质量变化, 持续 28 d。

在模型 5 组灌胃第 0、7、14、21、28 d 时, 对所有 6 组小鼠(65 只)称体质量、测空腹血糖。28 d 实验结束后, 所有小鼠禁食过夜, 乙醚麻醉下颈椎脱位处死, 立即收集血液样本、肝脏组织, 并置于 -80 °C 贮藏, 进行进一步分析。

1.2.3 小鼠相关指标测定

1.2.3.1 小鼠生存状态观察及体质量的测定

实验期间, 观察小鼠的生活状况, 如小鼠饮水量、饮水量变化、大小便的情况、精神状态、运动状态、睡眠情况及毛发光泽度的状态等。

每 7 d 将各组小鼠夜间禁食不禁水 12 h 称其体质量, 记录实验期间小鼠的体质量变化, 并以每组所有小鼠体质量的算术平均值为每组的体质量数据。

1.2.3.2 小鼠脏器指数的测定

28 d 后, 分别计算每组小鼠的总质量 m_t (g)。然后, 在乙醚麻醉下颈椎脱位处死小鼠, 并进行解剖, 分别取出肝脏和肾脏。剔除脏器周围脂肪, 用生理盐水清洗后, 滤纸吸干, 分别称量各组肝脏总质量 m_l (g)、各组肾脏总质量 m_k (g), 按照式(2)和(3)计算肾脏指数和肾脏指数:

$$\text{肝脏指数} = m_l/m_t \quad (2)$$

$$\text{肾脏指数} = m_k/m_t \quad (3)$$

1.2.3.3 空腹血糖值测定

28 d 实验期间, 测定各组小鼠空腹血糖水平。在模型 5 组灌胃 0、7、14、21、28 d 后, 将各组小鼠夜间禁食不禁水 12 h, 于第 2 d 上午 9 点用血糖仪测定尾静脉血糖值, 记录各组小鼠血糖值(算数平均值, mmol/L)的变化。

1.2.3.4 口服糖耐量测定

动物模型建立成功后, 测定各组小鼠的糖耐量^[25]。在实验期的最后一天进行, 小鼠在测定前夜间禁食 12 h, 然后灌胃无菌葡萄糖溶液, 剂量为 2.00 g/(kg·bw)。用血糖仪分别检测各组小鼠在灌胃前(0 min)及灌胃后 30、60、90、120 min 的血糖水平(算数平均值, mmol/L)。计算血糖浓度-时间曲线下面积(AUC)。

1.2.3.5 血生化、胰岛素及血清胰岛素的测定

眼眶采血法收集血液, 12000 r/min 离心 10 min 得到血清样品, 于 -20 °C 下保存。按照相应试剂盒说明书操作步骤对小鼠的血清胰岛素(FINS)、TC、TG、HDL-C、MDA 和 GSH-PX 进行测定^[26-27]。

1.2.3.6 肝脏生化指标的测定

按照相应试剂盒说明书操作步骤对不同组别小鼠的肝组织匀浆中肝糖原、CAT 和 SDH 含量进行测定。

1.2.3.7 肝脏组织病理学分析

取小鼠肝脏组织, 经体积分数为 4%的多聚甲醛

溶液固定,脱水处理后,制备石蜡切片,使用苏木精-伊红(HE)染色,于光学显微镜下观察小鼠肝组织病理变化^[28]。

1.3 单因素实验研究

固定料液比(1:15)、超声功率(350 W)、超声处理时间(50 min)和 α -淀粉酶添加量(5.0%)这4个因素中的3个,考察不同单因素,即料液比(g:mL)(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30)、超声功率(200、250、300、350、400 W)、超声处理时间(10、30、50、70、90 min)和 α -淀粉酶添加量(3.0%、4.0%、5.0%、6.0%、7.0%)对AADF提取率的影响。实验重复3次,确定最佳条件。

1.4 响应面设计实验研究

根据单因素实验结果,以料液比(A)、 α -淀粉酶添加量(B)、超声功率(C)作为自变量,以AADF的提取率(Y)为评价指标,采用Box-Behnken中心组合设计,对3个因素分别设置3个水平,用-1、0、+1表示,料液比、 α -淀粉酶添加量、超声功率根据单因素研究结果中心点取值。

1.5 数据处理

采用Excel 2019进行数据预处理,利用Design-Expert 8.00软件绘制三维曲面图,Origin 2023b软件绘制相关图表,SPSS 2.0统计软件进行数据处理,使用单因素方差分析(One-way ANOVA)确定组间数据的显著性, $P<0.05$ 表示差异显著。每个样品平行测定3次,结果取平均值。

2 结果与讨论

2.1 超声-酶辅助碱法提取AADF工艺优化

2.1.1 料液比对AADF提取率的影响

按照1.3节实验方法,固定超声功率350 W、超声处理时间50 min和 α -淀粉酶添加量5.0%,考察料液比(g:mL)对AADF提取率的影响,结果见图1。

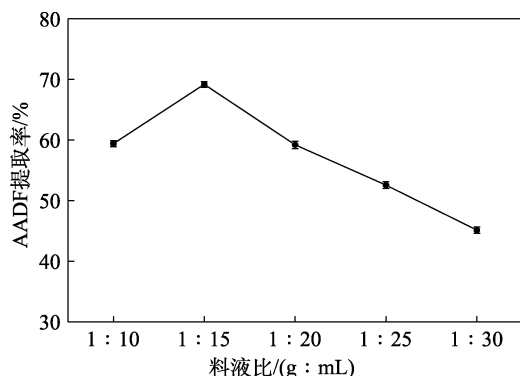


图1 料液比对AADF提取率的影响

Fig. 1 Effect of material liquid ratio on AADF extraction rate

从图1可以看出,随着料液比的逐渐增大,AADF提取率呈先增后减的趋势。当料液比为1:15时,AADF提取率达到最大,为68.46%。当料液比过大时,用于调节pH时所用的碱液会增加,碱溶液过多,会导致纤维素等大分子降解成小分子糖类物质,而过小的小分子糖类物质不能醇沉出来,所以导致AADF提取率会逐渐降低。因此,后续实验选取料液比为1:15。

2.1.2 超声处理时间对AADF提取率的影响

按照1.3节实验方法,固定料液比(g:mL)1:15、超声功率350 W和 α -淀粉酶添加量5.0%,考察超声处理时间对AADF提取率的影响,结果见图2。

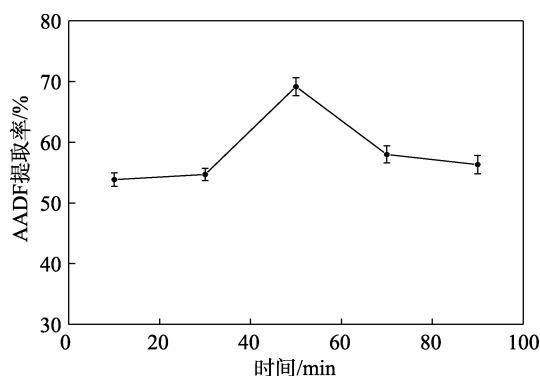


图2 超声处理时间对AADF提取率的影响

Fig. 2 Effect of sonication time on AADF extraction rate

从图2可以看出,在超声处理时间为30~50 min时,AADF提取率呈显著上升趋势,50 min时AADF提取率最高,为68.06%。此后,随着超声处理时间的增加,AADF提取率呈下降趋势。其原因可能为随着超声处理时间的延长,AADF结构被破坏和降解,释放出小相对分子质量的单糖物质不能醇沉出来,造成提取率下降^[29]。因此,50 min为最优超声处理时间。

2.1.3 超声功率对AADF提取率的影响

按照1.3节实验方法,固定料液比(g:mL)1:15、超声处理时间50 min和 α -淀粉酶添加量5.0%,考察超声功率对AADF提取率的影响,结果见图3。

从图3可以看出,在超声功率200~350 W,AADF提取率随着超声功率的增加而逐渐增加,主要是由于超声波产生的空化效应和机械作用使黑木耳细胞壁的通透性增强,随着超声功率的增加,超声作用对黑木耳外壳的物理作用逐渐加大,外壳破碎程度加剧,膳食纤维更易溶出。而当超声功率>350 W后,黑木耳内部进一步破碎,导致其内部纤维断裂程度加大,甚至导致体系的糊化,对原有提取出的膳食纤维造成一定影响,从而降低AADF提取率。

当超声功率为 350 W 时, AADF 的提取率达到最高, 为 68.21%。

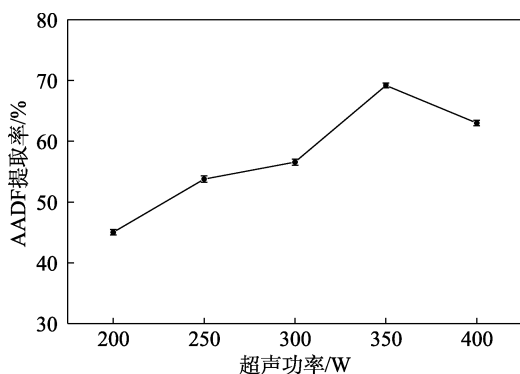


图 3 超声功率对 AADF 提取率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic power on AADF extraction rate

2.1.4 α -淀粉酶添加量对 AADF 提取率的影响

按照 1.3 节实验方法, 固定料液比 (g : mL) 1 : 15、超声功率 350 W 和超声处理时间 50 min, 考察 α -淀粉酶添加量对 AADF 提取率的影响, 结果见图 4。

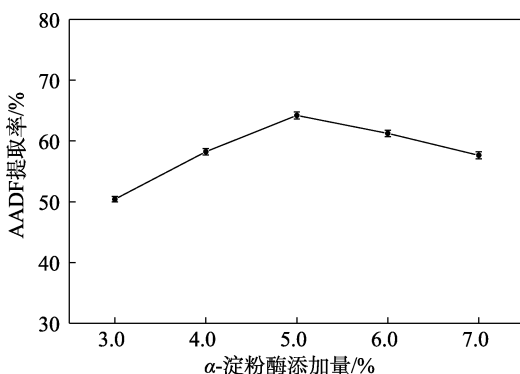


图 4 α -淀粉酶添加量对 AADF 提取率的影响

Fig. 4 Effect of α -amylase addition on AADF extraction rate

从图 4 可以看出, AADF 提取率随着 α -淀粉酶添加量的增加逐渐上升, 在酶添加量为 5.0% 时达到最大。当继续增加酶添加量时, 提取率反而开始下降, 其原因可能是: 酶添加量过高增加了黑木耳残渣中的淀粉水解程度, 较多的小分子单糖物质释放出来, 但不能被乙醇沉淀出来, 导致 AADF 提取率下降。当 α -淀粉酶添加量为 5.0% 时, AADF 提取率最高, 为 66.37%。

2.2 响应面优化实验分析

2.2.1 Box-Behnken 中心组合设计实验结果

通过 Design-Expert 8.0.0 软件对表 1 中的数据进行响应面回归分析, 得到回归方程为: $Y=68.95-0.4662A+0.2513B+0.2325C-0.2050AB-0.2925AC-0.0825BC-2.2800A^2-3.4000B^2-2.4600C^2$ ($R^2=0.9694$)。

表 1 响应面实验分析及结果

Table 1 Response surface experimental analysis and results

序号	编码值			实际值			Y/%
	A	B	C	料液比/ (g : mL)	α -淀粉酶添 加量/%	超声 功率/W	
1	-1	-1	0	1 : 10	4.0	350	63.32
2	1	-1	0	1 : 20	4.0	350	62.79
3	-1	1	0	1 : 10	6.0	350	64.16
4	1	1	0	1 : 20	6.0	350	62.81
5	-1	0	-1	1 : 10	5.0	300	64.23
6	1	0	-1	1 : 20	5.0	300	63.89
7	-1	0	1	1 : 10	5.0	400	65.12
8	1	0	1	1 : 20	5.0	400	63.61
9	0	-1	-1	1 : 15	4.0	300	63.54
10	0	1	-1	1 : 15	6.0	300	62.98
11	0	-1	1	1 : 15	4.0	400	63.03
12	0	1	1	1 : 15	6.0	400	63.77
13	0	0	0	1 : 15	5.0	350	68.69
14	0	0	0	1 : 15	5.0	350	68.24
15	0	0	0	1 : 15	5.0	350	68.72
16	0	0	0	1 : 15	5.0	350	68.76
17	0	0	0	1 : 15	5.0	350	68.83

2.2.2 回归方程拟合及方差分析

方差分析结果如表 2 所示。

表 2 方差分析表

Table 2 Analysis of variance table

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Model	109.9100	9	12.2100	449.60	<0.0001	**
A	1.7400	1	1.7400	64.02	<0.0001	**
B	0.5050	1	0.5050	18.59	0.0035	**
C	0.4325	1	0.4325	15.92	0.0053	**
AB	0.1681	1	0.1681	6.19	0.0417	*
AC	0.3422	1	0.3422	12.60	0.0094	**
BC	0.0272	1	0.0272	1.00	0.3501	
A ²	21.8000	1	21.8000	802.6100	<0.0001	**
B ²	48.6900	1	48.6900	1792.400	<0.0001	**
C ²	25.4400	1	25.4400	936.5100	<0.0001	**
残差	0.1901	7	0.0272			
失拟项	0.0618	3	0.0206	0.6424	0.6269	
纯误差	0.1283	4	0.0321			
总和	110.1000	16				

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

由表 2 可知, 模型 P 值极显著 ($P<0.0001$), 且失拟项 $P=0.6269>0.05$ 不显著, 相关系数 (R^2) 为 0.9694, 表明模型拟合程度较好。变异系数 (CV) 为 3.69%, 较低值表明, 实验可信程度和精准度较高。模型一次项 A 、 B 、 C , 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 及交互项 AC 对 AADF 提取率影响差异极显著 ($P<0.01$); 交互项 AB 对 AADF 提取率影响差异显著 ($P<0.05$); 该模型对于 AADF 提取率的预测值和实际拟合度较

好,可用其确定最佳提取条件。由表2中 F 值观察可得出,各因素对AADF提取率的影响大小顺序为: A (料液比) $>B$ (α -淀粉酶添加量) $>C$ (超声功率)。

2.2.3 响应面分析

采用 Design-Expert 8.00 软件绘制 AADF 提取率、料液比、 α -淀粉酶添加量、超声功率之间的三维曲面图,结果如图5~7所示。

从图5可以看出,在料液比1:14~1:16、 α -淀粉酶添加量5.0%~5.5%范围内,料液比1:14附近、 α -淀粉酶添加量5.0%附近对AADF提取率有重要影响,两因素之间交互作用较显著,且料液比更为显著。

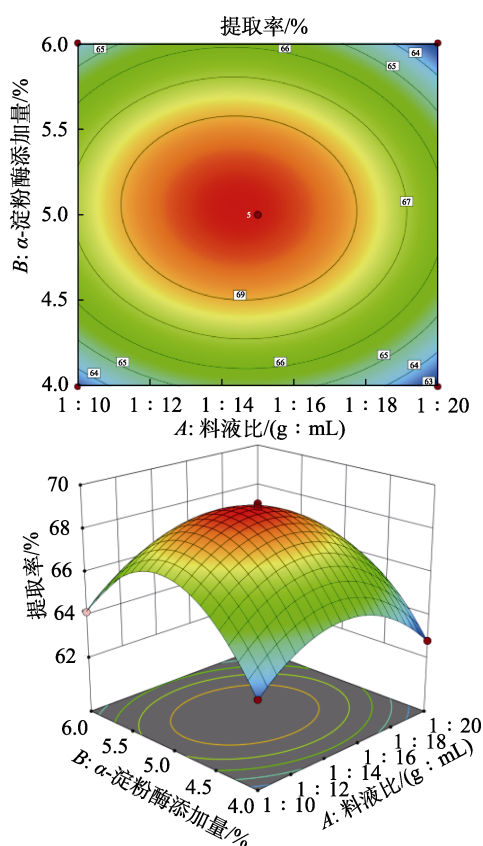


图5 料液比与添加量的交互作用对AADF提取率影响的响应面曲线

Fig. 5 Response surface curves of the interaction between material liquid ratio and α -amylase addition on AADF extraction rate

从图6可以看出,当料液比在1:14~1:16、超声功率340~360 W范围内,料液比1:14、超声功率350 W对AADF提取率有重要影响,两因素交互作用极显著,且料液比更为显著。

从图7可以看出,在 α -淀粉酶添加量5.0%~5.5%、超声功率340~360 W范围内, α -淀粉酶添加量5.0%、超声功率350 W对AADF提取率有重要影响,两因素之间交互作用不显著。

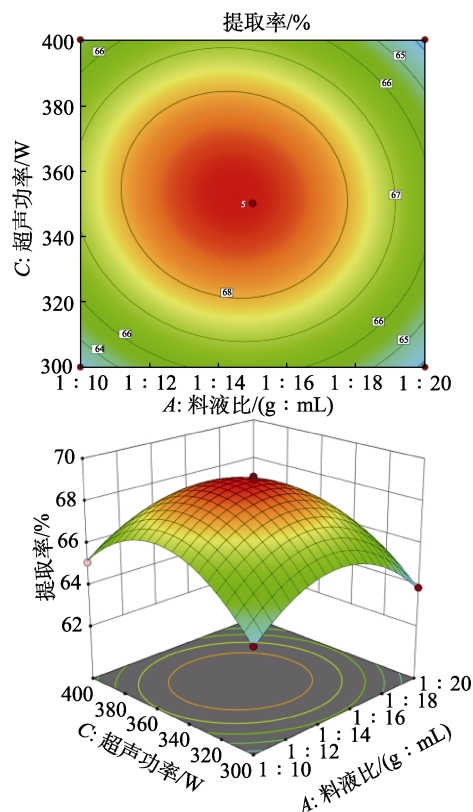


图6 料液比与超声功率的交互作用对AADF提取率影响的响应面曲线

Fig. 6 Response surface curves of the interaction between material liquid ratio and ultrasonic power on AADF extraction rate

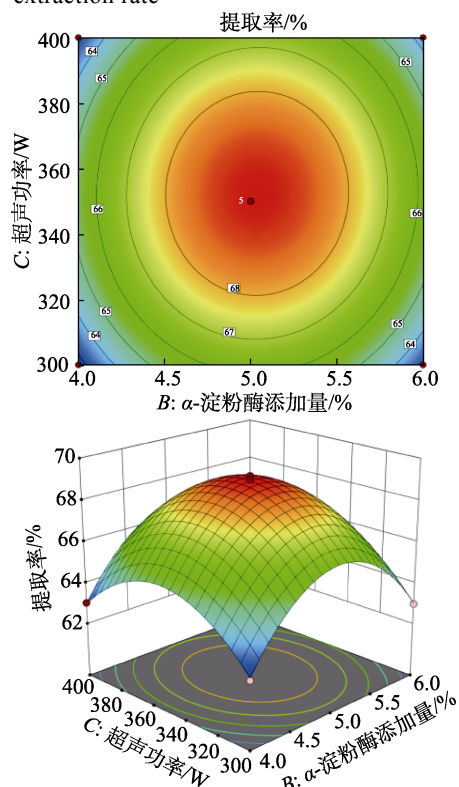


图7 α -淀粉酶添加量与超声功率的交互作用对AADF提取率影响的响应面图

Fig. 7 Response plots of the interaction between α -amylase addition and ultrasonic power on AADF extraction rate

2.2.4 模型的最优预测值

由回归模型得出响应面实验的最优条件为：料液比为 1 : 14.459、 α -淀粉酶添加量为 5.041%、超声功率为 352.747 W、超声时间 50 min。此条件下计算得到的 AADF 提取率为 68.983%。考虑实际操作，在验证实验条件时将最佳工艺参数修正为：料液比为 1 : 15、超声功率为 350 W、超声时间为 50 min、 α -淀粉酶添加量为 5.0%。在此条件下，经 3 次平行实验，测得 AADF 提取率分别为 69.27%、69.24%、69.03%，3 次平行实验的平均值为 69.18%，与模型理论预测值（68.983%）接近，可以较好地用

于 AADF 的提取。与 1.2.1 节中只使用碱法提取 AADF 的提取率结果（39.25%）相比，此法显著提高。

2.3 AADF 对糖尿病小鼠的影响

2.3.1 AADF 对小鼠生长发育状态及体质量的影响

实验期间，观察各组小鼠的生理生活状态，空白组小鼠体型正常、体质量增长平稳，没有饮食量、饮水量激增的情况，每日排泄正常，反应较为敏捷，精神状态较好，皮毛光泽度正常。模型对照组小鼠体质量呈下降趋势，精神萎靡，动作反应较空白组略有迟缓，与糖尿病患者的“三多一少”典型症状一致^[30]。具体各组小鼠体质量情况如表 3 所示。

表 3 各组小鼠体质量指标
Table 3 Body mass indexes of mice in each group

组别	数量/只	各测量时间点的体质量/g				
		灌胃第 0 d	灌胃第 7 d	灌胃第 14 d	灌胃第 21 d	灌胃第 28 d
模型高剂量组	10	27.55±1.25 ^{dB}	28.76±2.21 ^{cB}	29.03±1.96 ^{cB}	31.39±2.79 ^{bB}	33.59±2.56 ^{aB}
模型中剂量组	10	25.27±2.70 ^{cC}	26.62±3.12 ^{bC}	27.57±2.09 ^{bC}	29.03±2.87 ^{aC}	29.52±1.92 ^{aD}
模型低剂量组	10	25.25±2.51 ^{cC}	26.73±2.81 ^{bC}	27.54±2.50 ^{bC}	28.16±1.21 ^{aC}	29.17±2.52 ^{aD}
模型阳性组	10	24.73±2.16 ^{dC}	26.45±2.86 ^{cC}	28.76±2.76 ^{bB}	30.64±2.33 ^{aB}	31.28±2.46 ^{aC}
模型对照组	10	28.07±2.48 ^{aA}	27.45±2.34 ^{bB}	24.96±2.13 ^{cD}	25.68±2.59 ^{cD}	24.97±2.47 ^{cE}
空白组	15	26.18±1.42 ^{eB}	32.97±2.56 ^{dA}	40.46±2.78 ^{cA}	42.01±2.67 ^{bA}	44.65±2.06 ^{aA}

注：不同大写字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ）；不同小写字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ），下同。

由表 3 可知，在持续灌胃的 28 d 中，各组糖尿病小鼠（模型 5 组）体质量均显著低于没有糖尿病小鼠的空白组（ $P < 0.05$ ）。模型 5 组经灌胃二甲双胍（模型阳性组）和 AADF（模型高、中、低剂量组）后，各组小鼠体质量增长均较为平缓，表明二甲双胍和 AADF 均可以减缓小鼠体质量负增长，且促进其正增长；而灌胃生理盐水的模型对照组小鼠体质量持续下降，表明糖尿病模型小鼠体质量出现负增长。在灌胃第 28 d 时，模型高剂量组体质量显著高于模型对照组（ $P < 0.05$ ），且优于模型阳性组。以上结果表明，AADF 可以有效改善糖尿病小鼠的体质量，其中高剂量 AADF 对小鼠体质量的恢复作用更为明显。

2.3.2 AADF 对小鼠空腹血糖值的影响

空腹血糖值是糖尿病最常用的检测指标，反映胰岛 β 细胞功能，一般表示基础胰岛素的分泌功能^[31]。图 8 为各组小鼠空腹血糖值的变化。

从图 8 可以看出，空白组小鼠血糖基本保持稳定，证明所建的模型具有一定的可靠性。

模型 5 组中，模型高剂量组小鼠血糖下降效果最明显，第 28 d 时与模型对照组相比空腹血糖值下降 13.72%，说明模型高剂量组降糖效果好于模型中、低剂量组。模型对照组小鼠血糖不断增长，始终处于较高的水平，说明模型建立成功且 STZ 药效

始终存在。此外，由图 8 还可以看出，在模型 5 组中，除模型对照组外，其他 4 组小鼠的血糖均呈现先升高后降低的走势，可能因为，灌胃初期，由于灌胃剂量偏低，实验开始时无法与 STZ 药效抗衡，所以在 0~7 d 血糖依旧处于上升趋势。随后，随着灌胃天数的逐渐增加，血糖开始下降，说明模型中剂量组和模型低剂量组也有降血糖效果^[32]。

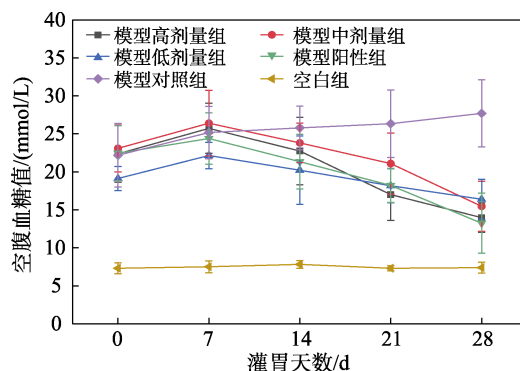


图 8 AADF 对小鼠血糖的影响
Fig. 8 Effect of AADF on blood glucose in mice

2.3.3 AADF 对小鼠糖耐量的影响

糖耐量实验是用于检查机体血糖调节机能的一种方法。正常机体进糖后血糖会暂时升高，很快会恢复正常，此为耐糖现象^[33]。而当糖代谢紊乱时血

糖升高后就不能恢复正常, 称其为耐糖异常。图 9 和图 10 为各组小鼠进行耐糖量测试结果。

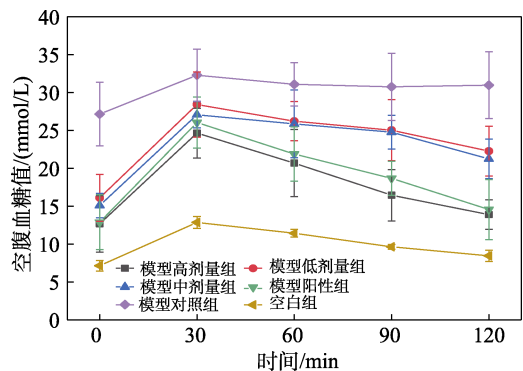
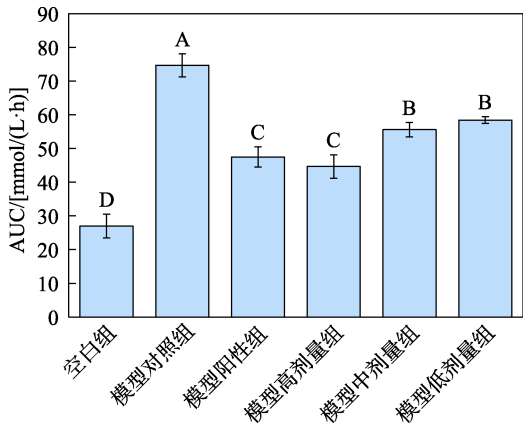


图 9 灌胃葡萄糖后小鼠血糖变化

Fig. 9 Changes in blood glucose in mice after gavage glucose



图中不同大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 10 AADF 对小鼠口服糖耐量的影响

Fig. 10 Effect of AADF on oral glucose tolerance in mice

AUC 是用来衡量药物对糖尿病小鼠餐后血糖升高抑制效果的重要指标。其值越低, 表明药物在相同时间内的抑制作用越强, 而越高则意味着药物的抑制效果越差。

从图 9 和图 10 可以看出, 各组小鼠在灌胃葡萄糖后的 30 min 后, 空腹血糖值达到峰值, 随后均有不同程度的下降。空白组在 60 min 时血糖就恢复至正常范围内, 在 120 min 时恢复到灌胃葡萄糖前的空腹血糖值; 模型对照组小鼠在糖负荷 60 min 后血糖仍较高; 模型阳性组及模型高剂量组在糖负荷 30 min 后能较大幅度地降低血糖水平, 到 120 min 时基本恢复至初始的血糖水平, 第 120 min 时高剂量组与模型对照组相比血糖值降低 16.95%, 且二者的 AUC 均显著高于空白组 ($P < 0.05$), 低于模型对照组, 说明高剂量 AADF 和二甲双胍可有效改善 II 型糖尿病小鼠的糖耐量; 模型中剂量组和低剂量组均有下降趋势, 二者 AUC 高于模型高剂量组和阳性对照组, 低于模型对照组 ($P < 0.05$), 说明中、低剂量

的 AADF 对抑制小鼠餐后血糖升高也有效果, 在一定程度上也能够改善小鼠糖耐量异常^[34]。

2.3.4 AADF 对小鼠脏器指数的影响

表 4 为各组小鼠肝脏指数、肾脏指数的结果。

表 4 AADF 对小鼠脏器指数的影响
Table 4 Effect of AADF on organ index in mice

组别	肝脏指数	肾脏指数
模型高剂量组	0.061±0.005 ^B	0.018±0.002 ^C
模型中剂量组	0.063±0.004 ^B	0.020±0.001 ^B
模型低剂量组	0.064±0.005 ^B	0.021±0.002 ^B
模型阳性组	0.060±0.010 ^C	0.017±0.002 ^C
模型对照组	0.068±0.011 ^A	0.025±0.002 ^A
空白组	0.052±0.003 ^D	0.015±0.001 ^D

从表 4 可以看出, 模型 5 组小鼠的肝脏指数和肾脏指数均高于空白组, 说明模型组小鼠出现了肝肿大、脂肪肝以及肾损伤等情况^[35]。模型高、中、低剂量组和模型阳性组小鼠的肝脏指数和肾脏指数均低于模型对照组, 说明 AADF 和二甲双胍对脏器损伤具有一定的修复作用, 其中模型高、中剂量组和模型阳性组小鼠的肾脏指数与模型对照组均具有显著性差异 ($P < 0.05$), 且模型高剂量组和模型阳性组小鼠的肝脏指数 (0.061±0.005 和 0.060±0.010)、肾脏指数 (0.018±0.002 和 0.017±0.002) 较为接近, 说明高剂量 AADF 对肝脏、肾脏损伤的修复作用与二甲双胍效果相当, 对糖尿病小鼠的肝脏和肾脏均具有一定的保护作用。

2.3.5 AADF 对小鼠血清胰岛素的监测结果

血清胰岛素是一种蛋白质激素, 是机体内唯一降低血糖的激素。胰岛素是胰岛 β 细胞分泌的多肽类激素, 血糖升高可反馈性地使胰岛素分泌, II 型糖尿病常有胰岛素耐受, 故胰岛素分泌量增加^[36]。图 11 为各组小鼠血清胰岛素的监测结果。

从图 11 可以看出, 模型高、中、低剂量组小鼠的血清胰岛素分泌量均低于模型对照组, 而高于空白组。模型对照组与其他组相比均具有显著性差异 ($P < 0.05$), 模型高、中、低剂量组与模型阳性组也具有显著性差异 ($P < 0.05$), 模型高、中、低剂量组间无显著性差异 ($P > 0.05$)。以上结果表明, 灌胃 AADF 可在一定程度上调节糖尿病小鼠体内的血清胰岛素水平, 其中, 模型高剂量组调节效果较好, 但并未达到正常水平。灌胃 AADF 可调节糖尿病小鼠血清胰岛素水平的原因可能为, 实验小鼠经一段时间的 AADF 灌胃后, 增加了胰岛素受体数目, 提高了受体与胰岛素的亲和力, 增强了葡萄糖转运对胰岛素的敏感性, 导致胰岛素抵抗降低^[37]。

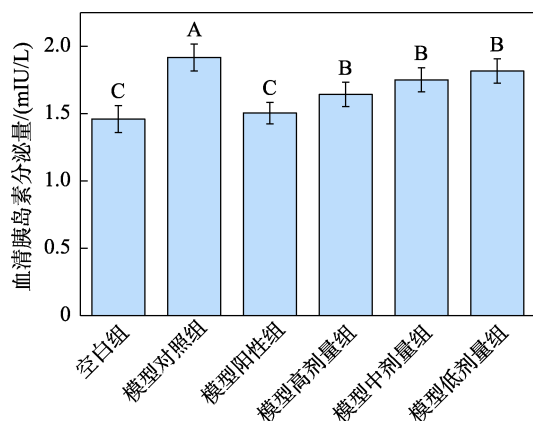


图 11 AADF 对小鼠血清胰岛素的影响

Fig. 11 Effect of AADF on serum insulin in mice

2.3.6 AADF 对小鼠血脂水平的影响

表 5 为各组小鼠血脂的监测结果。

表 5 AADF 对小鼠血脂的影响

Table 5 Effects of AADF on blood lipids in mice

组别	TC 浓度/ (mmol/L)	TG 浓度/ (mmol/L)	HDL-C 浓度/ (mmol/L)
模型高剂量组	2.68±0.59 ^C	1.49±0.42 ^C	1.31±0.33 ^A
模型中剂量组	2.87±0.94 ^C	1.63±0.36 ^B	1.22±0.34 ^B
模型低剂量组	3.22±0.77 ^B	1.69±0.25 ^B	1.22±0.30 ^B
模型阳性组	2.60±0.76 ^D	1.48±0.25 ^C	1.37±0.26 ^A
模型对照组	4.68±0.98 ^A	2.84±0.48 ^A	0.82±0.77 ^C
空白组	2.21±0.47 ^E	1.44±0.41 ^C	1.37±0.29 ^A

从表 5 可以看出, 模型对照组的 TG、TC 浓度显著高于空白组 ($P<0.05$), 而 HDL-C 浓度显著低于空白组 ($P<0.05$), 表明建模时, 高脂饲料喂养导致了小鼠血脂水平异常^[38]; 模型高、中、低剂量组和模型阳性组小鼠的 TC、TG 浓度均显著低于模型对照组; 模型高、中、低剂量组和模型阳性组与模型对照组相比, HDL-C 浓度均存在显著差异 ($P<0.05$); 模型高剂量组、模型阳性组、空白组间 HDL-C 浓度无显著性差异 ($P>0.05$), 说明模型高剂量组和模型阳性组能够显著提高血液中 HDL-C 水平 ($P<0.05$), AADF 和二甲双胍有助于改善糖尿病小鼠血脂状态维持在正常小鼠水平。

2.3.7 AADF 对小鼠血清抗氧化指标的影响

GSH-PX 是体内重要的自由基捕获酶, 也是机体抗过氧化能力指标之一。各组小鼠血清抗氧化指标的监测结果见图 12。

从图 12 可以看出, 模型高、中、低剂量组小鼠的血清 GSH-PX 均高于模型对照组, 而均低于空白组。模型高、中、低剂量组、模型阳性组、模型对照组间均具有显著性差异 ($P<0.05$)。结果表明,

灌胃 AADF 可以显著提高糖尿病小鼠血清 GSH-PX 活力, 其中模型高、中剂量组调节效果较好, 说明一定剂量的 AADF 可以起到体内抗氧化的作用。

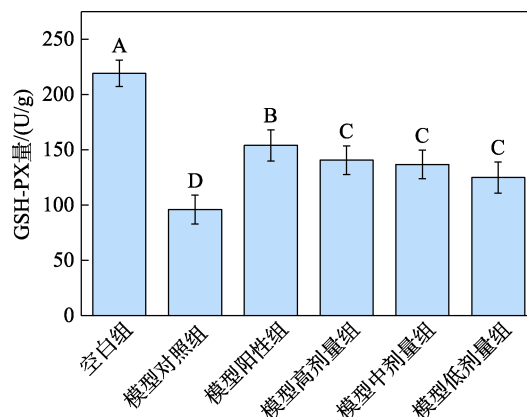


图 12 AADF 对小鼠 GSH-PX 的影响

Fig. 12 Effect of AADF on GSH-PX in mice

2.3.8 AADF 对小鼠肝糖原指标的影响

根据肝糖原的合成和分解可以观察到机体对葡萄糖的吸收和利用情况^[39]。图 13 为各组小鼠肝糖原指标的监测结果。

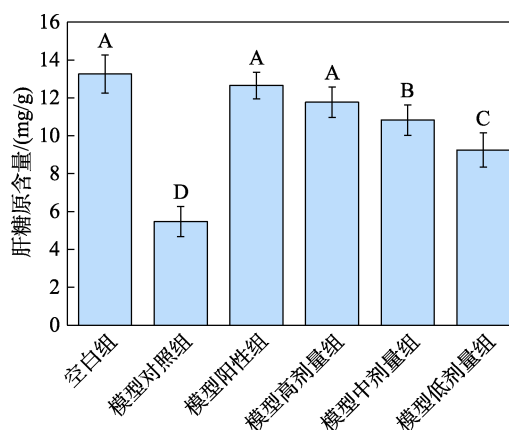


图 13 AADF 对小鼠肝糖原含量的影响

Fig. 13 Effect of the subject on liver glycogen content in mice

从图 13 可以看出, 与空白组相比, 模型对照组肝糖原含量显著低于空白组 ($P<0.05$); 与模型对照组相比, 模型高、中、低剂量组和模型阳性组肝糖原含量显著增加 ($P<0.05$), 其中, 模型高剂量组和模型阳性组小鼠的肝糖原含量比较接近, 说明高剂量 AADF 有较好的恢复机体合成肝糖的能力, 且可以延缓和控制糖尿病小鼠肝糖原含量的降低。

2.3.9 AADF 对小鼠肝脏中 CAT、SDH 指标的影响

图 14 为各组小鼠 CAT、SDH 指标的监测结果。

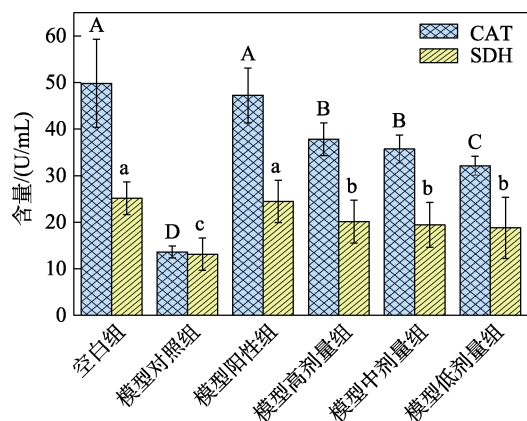


图 14 AADF 对小鼠 CAT 和 SDH 含量的影响

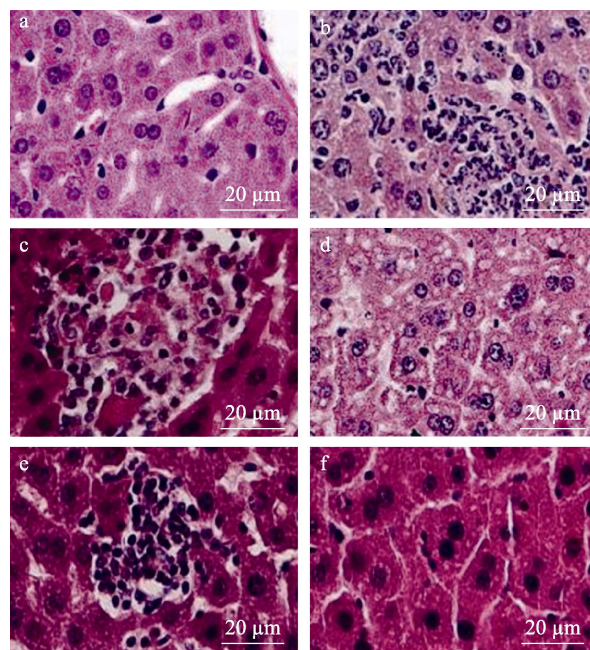
Fig. 14 Effects of AADF on CAT and SDH content in mice

从图 14 可以看出,模型 5 组的糖尿病小鼠肝脏中的 CAT 和 SDH 含量均低于空白组,说明糖尿病小鼠的肝脏抗氧化能力均有所减弱。模型对照组小鼠肝脏 CAT 含量相对于空白组显著降低 ($P<0.05$),而模型高、中、低剂量组和模型阳性组小鼠的 CAT 含量均高于模型对照组 ($P<0.05$),由此证明,AADF 对提高糖尿病小鼠肝脏 CAT 含量,清除过氧化氢等活性氧化物带给机体的损伤起到重要作用。模型高、中、低剂量组和模型阳性组小鼠的 SDH 含量高于模型对照组,由此推断,AADF 通过提高三羧酸循环中 SDH 的含量,增加糖的利用,从而改善糖代谢^[40]。总之,AADF 和二甲双胍对 CAT 和 SDH 含量的下降有缓解作用,对机体抗氧化能力均有不同程度的提高。

2.3.10 肝脏组织病理学分析

图 15 为各组小鼠肝脏组织 HE 染色后在放大 400 倍的光学显微镜下观察结果。

从图 15 可以看出,空白组小鼠肝脏组织的形态正常,肝细胞大小均匀,细胞核清晰;模型 5 组胞浆内存在许多大小不等的脂滴,肝细胞紊乱,肝血窦变窄。与模型对照组相比,模型阳性组、模型高剂量组和模型中剂量组肝细胞脂肪变性程度减轻,肝细胞轻微紊乱。模型阳性组和模型高剂量组间质出现不同程度的炎性细胞浸润,模型中剂量组肝细胞核浓缩,但未发现炎性细胞浸润。说明适宜剂量(高剂量)的 AADF 可减轻肝脏损害程度^[41]。而模型低剂量组的肝细胞病变程度轻于模型阳性组模型,但是还有一定面积的变性坏死,说明低剂量的 AADF 对改善小鼠肝损伤不明显,而必须达到一定剂量才能对肝细胞损伤有显著的保护作用。



a—空白组; b—模型对照组; c—模型阳性组; d—模型低剂量组; e—模型中剂量组; f—模型高剂量组

图 15 各组小鼠肝脏组织病理学分析

Fig. 15 Histopathological analysis of livers of mice in each group

3 结论

以提取黑木耳多糖后的残渣为原料,采用超声-酶辅助碱法提取 AADF 的最佳工艺为:料液比(g:mL) 1:15、耐高温 α -淀粉酶添加量 5.0%、超声功率 350 W,超声处理时间 50 min,在此工艺条件下 AADF 提取率为 69.18%。

糖尿病小鼠降糖研究结果表明,AADF 能够改善糖尿病小鼠各项血糖水平,提高小鼠机体抗氧化能力,并具有保护和修复糖尿病小鼠肝脏组织的作用。

本文确定了超声-酶辅助碱法制备 AADF 的最佳工艺,为黑木耳资源的综合利用提供了新的途径,将有助于提高黑木耳附加值产品开发及利用。对 AADF 降血糖作用进行了初步探究,后续可对其具体分子机制和改善糖尿病的其他机制开展进一步深入研究。

参考文献:

- [1] SHI Z Y, HUO Y T, HOU J N, *et al.* Proteomic analysis of skeletal muscle in Chinese hamsters with type 2 diabetes mellitus reveals that OPLAH downregulation affects insulin resistance and impaired glucose uptake[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2022, 193: 23-33.
- [2] LI J, LIN S X, SALIBA B, *et al.* Prevalence and risk factors contributing to the occurrence of diabetes mellitus in Chinese international migrants: A narrative review[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2023, 197: 110-560.
- [3] ZHAO Y N, FENG Y, YANG X, *et al.* Cohort study evaluation of

- New Chinese Diabetes Risk Score: A new non-invasive indicator for predicting type 2 diabetes mellitus[J]. Public Health, 2022, 208: 25-31.
- [4] HUANG H R, CHEN J J, AO T X, *et al.* Exploration of the role of bound polyphenols on tea residues dietary fiber improving diabetic hepatorenal injury and metabolic disorders[J]. Food Research International, 2022, 162: 112062.
 - [5] ZHOU Z T, YU Y, PENG F X, *et al.* Trajectories of metabolic risk factors during the development of type 2 diabetes in Chinese adults[J]. Diabetes & Metabolism, 2022, 48(5): 101348.
 - [6] YANG Y (杨燕), ZHUO J (卓见), SHEN H X (申红霞), *et al.* Research progress of new hypoglycemic drugs in the treatment of type 2 diabetes[J]. The Journal of Practical Medicine (实用医学杂志), 2023, 39(2): 153-157.
 - [7] SHEN M (沈蒙), WANG W H (王维浩), KANG L J (康丽君), *et al.* Effect of soluble dietary fiber from black soybean hull on the regulation of anti-inflammatory factors in diabetic mice[J]. Food Science (食品科学), 2020, 41(9): 81-85.
 - [8] BROCKMAN D A, CHEN X L, GALLAHER D D, *et al.* Hydroxypropyl methylcellulose, a viscous soluble fiber, reduces insulin resistance and decreases fatty liver in Zucker Diabetic Fatty rats[J]. Nutrition & Metabolism, 2012, 9(1): 1-12.
 - [9] ZUO Z H (佐兆杭), WANG Y (王颖), LIU S T (刘淑婷), *et al.* Hypoglycemic effect of dietary fiber from a mixture of common beans (*Phaseolus vulgaris*), black soybeans [*Glycine max* (L.) merr] and mungbeans (*Vigna radiata* L. Wilczek) on diabetic rats[J]. Food Science (食品科学), 2018, 39(17): 177-181.
 - [10] LIU W H (刘文贺), SU L (苏玲), WANG Q (王琦), *et al.* Comparative analysis of nutritional ingredients of *Auriculariaheimmer* in different main planting areas[J]. Northern Horticulture (北方园艺), 2020(5): 121-128.
 - [11] GUO J G (郭嘉贵), SHI S L (石树磊), XIE T (谢涛), *et al.* Evaluation of *Auricularia auricula-judae* nutrient quality of different origins in Heilongjiang province based on principal component analysis[J]. Journal of Agricultural Science and Technology (中国农业科技导报), 2019, 21(6): 94-100.
 - [12] WANG S J (王松军), CAO L (曹林), HOU T P (侯天平), *et al.* Determination of nutrient fungus dietary fiber and structural characterization[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2010, 30(4): 1109-1112.
 - [13] ZHANG T T (张廷婷), ZHAO W Y (赵文颖), XIE B Z (谢倍珍), *et al.* Effects of auricularia auricula and its polysaccharides on hypolipidemic and regulating intestinal flora in high-fat diet rats[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology (中国食品学报), 2021, 21(9): 89-101.
 - [14] LIU P P (刘培培), WU S L (武少兰), WU M W (吴敏文), *et al.* Regulatory effect of ethanol extracts from auriculariaheimmer on liver and intestinal flora in high fat diet-induced obese mice[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology (中国食品学报), 2022, 22(10): 161-170.
 - [15] ZHANG S S, XU X L, CAO X, *et al.* The structural characteristics of dietary fibers from *Tremella fuciformis* and their hypolipidemic effects in mice[J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(2): 503-511.
 - [16] WANG S Q (王司琪), WANG J J (王佳佳), LI B Z (李泊铮), *et al.* Effects of extraction methods on the structural and functional characteristics of dietary fiber from *Auricularia cornea* var. Li.[J]. Food Science (食品科学), 2022, 43(24): 93-101.
 - [17] MAO H L (毛慧玲), SHU Y H (束盈慧), YANG W (杨文), *et al.* Study on the extraction process of polysaccharide from *Agrocybecylindracea*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials (中草药材), 2007, 2: 217-220.
 - [18] ZHANG W M, ZENG G L, PAN Y G, *et al.* Properties of soluble dietary fiber-polysaccharide from papaya peel obtained through alkaline or ultrasound-assisted alkaline extraction[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 172: 102-112.
 - [19] PAN L H (潘利华), XU X L (徐学玲), LUO J P (罗建平), *et al.* Ultrasound-assisted extraction of insoluble dietary fiber from soybean and its physical properties[J]. Transactions of the CSAE (农业工程学报), 2011, 27(9): 387-392.
 - [20] RUAN Z Y (阮之阳). Preparation of dietary fiber from plant wastes by combined enzyme-ultrasound treatment and their bioactivities[D]. Guangzhou: South China University of Technology (华南理工大学), 2018.
 - [21] LI D H (李德海), GU J L (顾佳林), SUN C Y (孙常雁), *et al.* Effects of extraction techniques on anticoagulant activity of acid-Auricularia auricular polysaccharides[J]. Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition) (华南理工大学学报: 自然科学版), 2018, 46(6): 93-102.
 - [22] FAN H (樊华), LIU F G (刘夫国), WANG Y T (王玉堂), *et al.* Ball milling combined with alkaline-assisted enzymatic extraction improved the physicochemical and functional properties of soluble dietary fiber from *HerbaLophatheri*[J]. Food Science (食品科学), 2022, 43(24): 74-82.
 - [23] WANG R (汪睿), JIANG C X (姜彩霞), LIU X L (刘晓兰), *et al.* Process optimization and functional study of enzymatic preparation of corn husk dietary fiber[J]. Science and Technology of Food Industry (食品工业科技), 2022, 43(21): 203-210.
 - [24] HOU D Z (侯殿志), CHEN B R (陈博睿), WANG H (王晗), *et al.* Improvement of mung bean seed-coat on glucose lipid metabolism in diabetic mice induced by high-fat diet combined with streptozotocin[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology (中国食品学报), 2021, 21(7): 123-129.
 - [25] DONG J, LIANG Q X, NIU Y, *et al.* Effects of *Nigella sativa* seed polysaccharides on type 2 dia-betic mice and gut microbiota[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 159(9): 725-738.
 - [26] HE J (何静), GAO W T (高婉婷), HAI L (海勒), *et al.* Protective effect of camel milk on liver injury in type 2 diabetic mice[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology (中国食品学报), 2019, 19(7): 36-41.
 - [27] CAO M (曹萌). Ginsenoside Rb1 ameliorates abnormal glucolipid metabolism of liver throughinhibition of JNK signal pathway in diabetic rats[J]. Chinese Journal of Immunology (中国免疫学杂志), 2018, 34(4): 531-536, 548.
 - [28] ZHANG Y L (张艳莉), WANG Y (王颖), WANG D (王迪), *et al.* Optimization of ultrasonic assisted enzymatic extraction of dietary fiber from light speckled kidney bean[J]. Food & Machinery (食品与机械), 2019, 35(10): 201-205.
 - [29] SONG Q Y (宋巧英), ZHANG K P (张坤朋), WENG S T (翁少亭), *et al.* Extraction process, primary structure and hypoglycemic activity of polysaccharide from *Trichosantheskirilowii Maxim.* Seed [J]. Fine Chemicals (精细化工), 2024, 41(1): 137-146.
 - [30] LIU M, ZHANG Y, ZHANG H, *et al.* The anti-diabetic activity of oat β -D-glucan in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 91(10): 1170-1176.
 - [31] DONG J L, CAI F L, SHEN R L, *et al.* Hypoglycaemic effects and inhibitory effect on intestinal disaccharidases of oat beta-glucan in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 1066-1071.
 - [32] LI J Y (厉佳怡), WANG H L (王红磊), YANG Q Q (杨倩倩), *et al.* Effects of ultrafine ground pea dietary fiber on intestinal flora and metabolites in diabetic mice[J]. Food Science (食品科学), 2022, 43(17): 174-181.
 - [33] XING X H, ZHANG Z M, HU X Z, *et al.* Antidiabetic effects of artemisia sphaerocephalakrasch gum, a novel food additive in China, on streptozotocin-induced type 2 diabetic rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 125(3): 410-416.
 - [34] CHENG M M (程明明), HUANG W (黄苇). Hypolipidemic, hepatoprotective and laxative effects of dietary fiber from passifloraedulis fruit peel[J]. Food Science (食品科学), 2017, 38(11): 202-207.
 - [35] BECK E J, TOSH S M, BATTERHAM M J, *et al.* Oat β -glucan increases postprandial cholecystokinin levels, decreases insulin response and extends subjective satiety in overweight subjects[J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2009, 53(10): 1343-1351.