

黑木耳多糖高剪切分散乳化法与酶法提取的比较研究

Comparison of extraction process of polysaccharide of *Auricularia auricular*

赵玉红^{1,2} 林洋¹ 张立钢³ 张智^{1,2} 王振宇⁴

ZHAO Yu-hong^{1,2} LIN Yang¹ ZHANG Li-gang³ ZHANG Zhi^{1,2} WANG Zhen-yu⁴

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 林下经济资源研发与利用协同创新中心, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 4. 哈尔滨工业大学化工学院, 黑龙江 哈尔滨 150090)

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040, China; 2. Forest Economy Resource Development and Utilization of Collaborative Innovation Center, Harbin, Heilongjiang 150040, China; 3. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China; 4. Institute of Chemical Technology, Harbin Institute of Technology, Harbin, Heilongjiang 150090, China)

摘要:以黑木耳多糖得率为指标,分别采用高剪切分散乳化法和酶法提取黑木耳多糖,并对提取效果进行比较。结果表明:高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖的工艺条件为转速 21 000 r/min,料液比 1:110 (m/V),时间 6 min,温度 80 °C;酶法提取黑木耳多糖的工艺条件为酶添加量 1.2%,酶解时间 60 min,pH 5.5,酶解温度 55 °C,二者得率分别为 24.43%,9.29%。与酶法相比,高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖得率高、提取时间短、操作简单。故高剪切分散乳化法是黑木耳多糖提取的一种适宜方法。

关键词:黑木耳;多糖;提取;高剪切分散乳化法;酶法

Abstract: Compared the High-speed Shear Dispersing Emulsifier (HSDE) and the Enzymic Method to extract polysaccharides from *Auricularia auricular* by treating the *Auricularia auricular* polysaccharides yield as the indicator. The results showed that the optimum conditions for HSDE were: shearing speed 21 000 r/min, solid-liquid ratio 1:110 (m/V), shearing time 6 minutes and temperature 80 °C; the optimum conditions for enzymic method were: concentration of enzyme 1.2%, enzymatic hydrolysis time 60 min, pH 5.5 and temperature 55 °C. The extraction yields were 24.43% for HSDE and 9.29% for the enzymic method. Compare to the enzymic method, HSDE is more effective, time-saving and easy-to-use, which is the more appropriate method for polysaccharides extraction from *Auricularia auricular*.

Keywords: *Auricularia auricular*; polysaccharide; extraction; high-speed shear dispersing emulsifier; enzymic method

基金项目:黑龙江省应用技术研究开发与计划项目(编号:GA13B202)

作者简介:赵玉红,女,东北林业大学副教授,博士。

通讯作者:王振宇(1957—),男,哈尔滨工业大学教授,博士。

E-mail: wzy219001@yahoo.com.cn

收稿日期:2016-01-30

黑木耳(*Auricularia auricular*),别名木耳、木菌、光木耳,真菌界担子菌门伞菌纲木耳科木耳属,是一种营养丰富的食用菌和保健食品,常食用可益气养神、滋阴润燥,增强抵抗力,延年益寿,具有很高的研究和利用价值^[1]。多糖是黑木耳的主要活性成分^[2],具有降血脂、降血糖、抗凝血、抗氧化、抗辐射等生物活性^[3-4]。

常见黑木耳多糖的提取方法有:热水提取法^[5]、超声波提取法^[6]、微波辅助提取法^[7]及复合法^[8]等。但这些方法在提取过程中,由于提取时间过长、作用力过大,使得黑木耳多糖结构可能被破坏,不利于黑木耳多糖的后续利用和研究。高剪切分散乳化法是近几年新兴的提取技术,样品在高剪切分散乳化机上接受转子高速旋转产生的高剪切线速度和高频机械效应带来的强劲动能,使物料在定转子狭窄的间隙中受到强烈的机械剪切效应和气蚀作用的协同作用。具有提取得率高、提取时间短、能耗小等优点^[9-11]。目前,采用高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖的研究尚未见报道。酶法提取多糖具有避免破坏多糖化学结构的特点^[12],可为多糖后续研究提供保障。现阶段国内外对酶法提取黑木耳多糖的研究报道相对较少,大部分是对提取工艺条件的研究^[13-14],尚未将其提取效果与高剪切分散乳化法进行对比。本研究采用高剪切分散乳化法和酶法提取黑木耳多糖,比较其提取工艺,寻找一种提取率较高的提取方法,为黑木耳多糖进一步研究提供试验基础,具有积极的现实意义。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

黑木耳:采摘自黑龙江省大兴安岭,自然风干后粉碎过 100 目筛,石油醚脱脂 24 h;

纤维素酶:2 万 U/g,江苏锐阳生物科技有限公司;

柠檬酸、柠檬酸钠、石油醚、浓硫酸、苯酚、葡萄糖等:分析纯,哈尔滨市盛达试剂化学有限公司。

1.2 仪器与设备

电热恒温水浴锅:DK-S12型,上海森信实验仪器有限公司;

台式低速离心机:TDL-5W型,湖南星科科学仪器有限公司;

pH计:PB-10型,Sartorius科学仪器北京有限公司;

722S可见分光光度计:722型,上海精密科学仪器有限公司;

高速万能粉碎机:FW100型,天津市泰斯特仪器有限公司;

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-9240型,上海一恒科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线的制备 精确移取0.1 mg/mL葡萄糖标准溶液0.0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2,1.4,1.6,1.8,2.0 mL分别置于试管中,加水至2.0 mL,然后各加入6%的苯酚1 mL,浓硫酸5 mL,震荡,充分混合,20 min后于490 nm波长处测定吸光度。以葡萄糖含量为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线,得线性回归方程 $y=0.0122x+0.0164$ ($R^2=0.9988$)。

1.3.2 黑木耳多糖得率的计算 取适量黑木耳粉进行提取,离心得上清液。以苯酚—硫酸法^[15]测定上清液中多糖含量,多糖得率按式(1)计算:

$$R = \frac{M_1}{M_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R ——多糖得率,%;

M_1 ——上清液中多糖含量,mg;

M_2 ——原料质量,mg。

1.3.3 高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖单因素试验设计

(1) 转速对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按料液比1:90(m/V)加入蒸馏水,温度80℃,在不同转速(12 000,15 000,18 000,21 000,24 000 r/min)条件下剪切乳化5 min,90℃水浴浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

(2) 时间对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按料液比1:90(m/V)加入蒸馏水,温度80℃,转速21 000 r/min,在不同时间(1,2,3,4,5,6 min)条件下剪切乳化,90℃水浴浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

(3) 料液比对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按不同料液比(1:30,1:50,1:70,1:90,1:110, m/V)加入蒸馏水,温度80℃,在转速21 000 r/min条件下剪切5 min,90℃水浴浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

(4) 温度对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按料液比1:90(m/V)加入蒸馏水,转速21 000 r/min,在不同

温度(20,40,60,80,100℃)条件下剪切乳化5 min,90℃水浴浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

1.3.4 酶法(纤维素酶)提取黑木耳多糖单因素试验设计

(1) 酶添加量对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按料液比1:40(m/V)加入pH 5.0的柠檬酸—柠檬酸钠缓冲液,在不同酶添加量(0.4%,0.6%,0.8%,1.0%,1.2%,1.4%)条件下50℃酶解90 min,用NaOH调pH至7.0,90℃水浴浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

(2) 酶解时间对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按料液比1:40(m/V)加入pH 5.0的柠檬酸—柠檬酸钠缓冲液,酶添加量1.2%,在不同酶解时间(30,60,90,120,150 min)条件下酶解,酶解温度50℃,用NaOH调pH至7.0,90℃灭酶浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

(3) pH对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按料液比1:40(m/V)加入不同pH(4.0,4.5,5.0,5.5,6.0)的柠檬酸—柠檬酸钠缓冲液,酶添加量1.2%,50℃酶解90 min,用NaOH调pH至7.0,90℃灭酶浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

(4) 料液比对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按不同料液比(1:30,1:40,1:50,1:60,1:70, m/V)加入pH 5.0的柠檬酸—柠檬酸钠缓冲液,酶添加量1.2%,50℃酶解90 min,用NaOH调pH至7.0,90℃灭酶浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

(5) 酶解温度对黑木耳多糖得率的影响:取黑木耳粉1 g,按料液比1:40(m/V)加入pH 5.0的柠檬酸—柠檬酸钠缓冲液,酶添加量1.2%,在不同温度(35,40,45,50,55,60℃)条件下酶解90 min,用NaOH调pH至7.0,90℃灭酶浸提2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清液,采用苯酚—硫酸法测定黑木耳中多糖含量。

1.3.5 正交优化试验

(1) 高剪切分散乳化法正交试验:为优化高剪切分散乳化法提取工艺,根据单因素试验结果,采用正交试验法,考察转速、时间、料液比、温度4个因素对黑木耳多糖得率的影响。

(2) 酶法(纤维素酶)正交试验:为优化酶法提取工艺,根据单因素试验结果,采用正交试验法,考察酶添加量、酶解时间、pH、酶解温度4个因素对黑木耳多糖得率的影响。

2 结果与分析

2.1 高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖单因素试验结果

2.1.1 转速对黑木耳多糖得率的影响 由图1可知,随着转速的增加,多糖得率也随之增加,在转速为21 000 r/min时多糖得率最高,为22.57%。当转速达到21 000 r/min并继续增加时,多糖得率缓慢下降。这是由于转速增加时,机

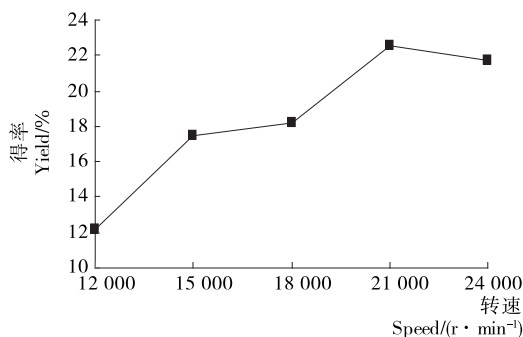


图 1 转速对黑木耳多糖得率的影响

Figure 1 The effect of HSDE speed on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

器功率逐渐变大,使原料细胞壁得到更大程度的破坏,多糖可以更好地溶解出来。当机器转速过大时,物料由于长时间受到气蚀作用和机械作用的影响,使得多糖的化学结构被破坏,增加了杂质的溶出,多糖得率也随之降低。综合考虑选取转速为 21 000 r/min。

2.1.2 时间对黑木耳多糖得率的影响 由图 2 可知,当时间 ≤ 5 min 时,随着剪切时间的增加,多糖得率也随之升高。5 min 时得率最大,为 21.54%。5 min 后,多糖得率开始下降,这可能是随着剪切时间的增加,物料中蛋白质、脂肪等物质析出,影响多糖的提取。也可能是随着物料受机器剪切作用时间增加,气蚀作用和负压作用也随之增大,使得多糖的结构被破坏,影响其得率。此外,由于长时间的高速剪切会产生大量热,这对高速剪切机会造成较大的磨损。综合考虑选取剪切时间为 5 min。

2.1.3 料液比对黑木耳多糖得率的影响 由图 3 可知,多糖得率在料液比大于 1:90(m/V)时呈上升趋势,在 1:90(m/V)时得率最大,为 21.03%,1:90(m/V)后缓慢下降。这是由于随着溶剂体积的增加,原料与溶剂之间接触面积增大,加速了黑木耳多糖的溶出。当继续增大溶剂体积时,多糖得率缓慢降低,这是由于当溶剂体积增大时,浓度降低,使得相同时间内对单位质量原料的处理次数减少,影响多糖的溶出,单位时间内多糖得率下降。综合考虑选取料液比为 1:90(m/V)。

2.1.4 温度对黑木耳多糖得率的影响 由图 4 可知,在温度 ≤ 80 °C 时,随着温度的升高,多糖得率呈上升趋势;80 °C

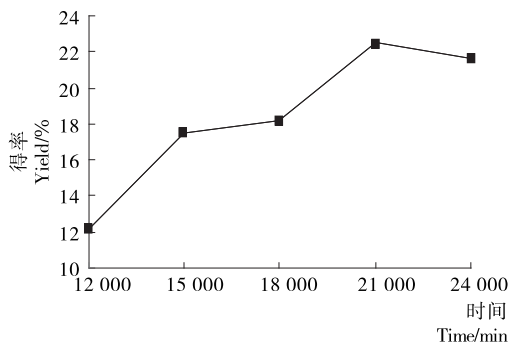


图 2 时间对黑木耳多糖得率的影响

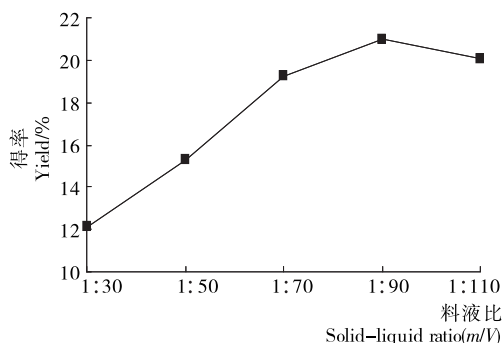
Figure 2 The effect of time on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

图 3 料液比对黑木耳多糖得率的影响

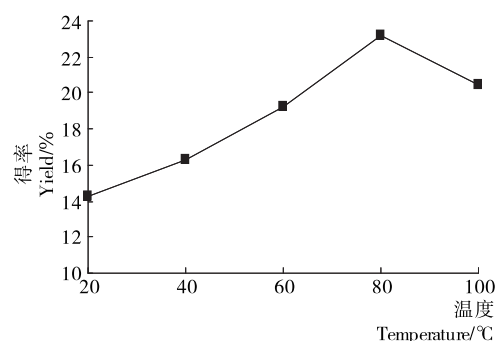
Figure 3 The effect of Solid-liquid ratio on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

图 4 温度对黑木耳多糖得率的影响

Figure 4 The effect of temperature on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

时得率最大,为 23.16%,而后开始下降。这是由于温度升高利于多糖的溶出,而随着温度的持续升高,在高温和剪切作用下,多糖结构遭到破坏,造成多糖得率下降。综合考虑选取温度为 80 °C。

2.2 高剪切分散乳化法提取多糖的正交试验结果

高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖的正交试验因素水平见表 1,结果见表 2。由表 2 可知,影响黑木耳多糖得率的因素顺序为转速 > 温度 > 时间 > 料液比,最佳提取条件 $A_2B_3C_3D_2$,即转速 21 000 r/min、时间 6 min、料液比 1:110(m/V)、温度 80 °C。经 3 次验证实验证实采用 $A_2B_3C_3D_2$ 条件提取黑木耳多糖得率最高,均值为 24.43%。刘美娜等^[5]采用高压热水浸提法提取黑木耳多糖,得率为 7.1%;王金凤等^[8]采用复合酶法提取黑木耳多糖,提取率为 4.38%;朱磊等^[7]采用微波辅助提取黑木耳多糖得率为 28.94%。由上述试验数据可知,与高压热水浸提法、复合酶法相比,高剪切分散乳化法显著提高了黑木耳多糖的得率,与朱磊等^[7]报道的微波辅助法相比,虽然黑木耳多糖得率稍低,但本试验采用的方法极大地缩短了提取时间,而微波辅助法由于需要微波处理 11 s,热水浸提 7.1 h,其提取时间过长,使得黑木耳多糖结构可能被破坏。由此可知,高剪切分散乳化法是提取黑木耳多糖较适宜的方法。

2.3 酶法提取黑木耳多糖的单因素试验结果

2.3.1 酶添加量对黑木耳多糖得率的影响 由图 5 可知,当酶添加量 $\leq 1.2\%$ 时,多糖得率近似直线增加。当酶添加

量为1.2%时得率达到最大,为9.21%。随着酶添加量继续增加,多糖得率呈下降趋势。这是由于随着酶添加量的增加,酶与底物接触机会增大,同一时间内水解的分子数不断增加,使得多糖更快地分离出来,多糖得率上升。而当酶浓度升高到一定程度时,酶分子饱和,原料细胞内多糖已全部

表1 高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖的正交试验因素水平表

Table 1 The orthogonal experiment factor level table of polysaccharide extraction by HSDE from *Auricularia auricular*

水平	A 转速/ ($r \cdot \text{min}^{-1}$)	B 时间/ min	C 料液比 (m/V)	D 温度/ $^{\circ}\text{C}$
1	18 000	4	1 : 70	60
2	21 000	5	1 : 90	80
3	24 000	6	1 : 110	100

表2 高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖正交试验设计及结果

Table 2 The orthogonal experiment design and result of polysaccharide extraction by HSDE from *Auricularia auricular*

试验号	A	B	C	D	得率/%
1	1	1	1	1	20.41
2	1	2	2	2	21.09
3	1	3	3	3	22.01
4	2	1	2	3	23.07
5	2	2	3	1	22.45
6	2	3	1	2	24.31
7	3	1	3	2	21.50
8	3	2	1	3	19.83
9	3	3	2	1	19.82
<hr/>					
k_1	21.17	21.66	21.52	20.89	
k_2	22.06	21.12	21.33	22.30	
k_3	20.38	22.05	21.99	21.64	
R	1.67	0.92	0.66	1.41	

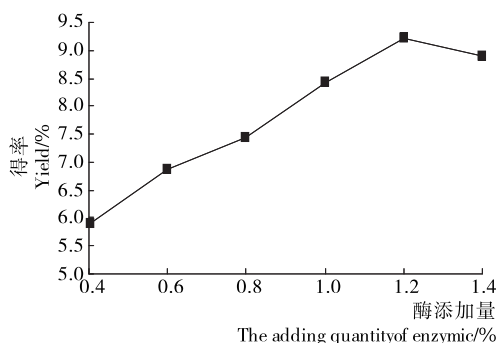


图5 酶添加量对黑木耳多糖得率的影响

Figure 5 The effects of the adding quantity of enzymic on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

溶出,而过量的酶会导致多糖的降解而降低其得率。综合考虑选取酶添加量为1.2%。

2.3.2 酶解时间对黑木耳多糖得率的影响 由图6可知,当酶解时间 ≤ 90 min时,多糖得率近似直线上升;当酶解时间在90 min时提取率最高,为8.7%。当酶解时间继续增加,多糖得率呈下降趋势,是由于酶解时间过长引起多糖结构变化甚至使碳环裂解,导致多糖得率降低。综合考虑选取酶解时间为90 min。

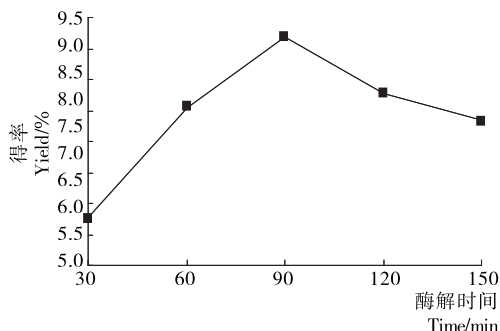


图6 酶解时间对黑木耳多糖得率的影响

Figure 6 The effects of time on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

2.3.3 pH对黑木耳多糖得率的影响 由图7可知,当 $\text{pH} \leq 4.5$ 时,多糖得率显著增加, pH 值在5.0时得率最大,为8.36%。随着 pH 值继续升高,得率呈下降趋势。这是由于过高或过低的 pH 值会影响酶的活性,酸浓度过高会使多糖中糖苷键断裂而引起多糖结构破坏,而在碱性过强的环境中,酶的空间结构会受到破坏,影响其与底物的结合,使得多糖的得率降低。当 pH 值在5.0时酶活较强,使得原料细胞壁的降解加速,细胞壁内的多糖更易溶出。综合考虑选取 pH 值为5.0。

2.3.4 料液比对黑木耳多糖得率的影响 由图8可知,当料液比大于1:40(m/V)时,多糖得率显著增加,当料液比为1:40(m/V)时得率最大,为8.27%。随着溶剂体积的继续增大,多糖得率呈下降趋势,这是由于随着溶剂体积的增大,降低了反应产物的浓度,减少了产物对酶促反应的反馈抑制作用,使得多糖得率增加。但随着反应体系中溶剂的继续增加,酶的浓度会相应下降,这时多糖的得率也随之降低。综

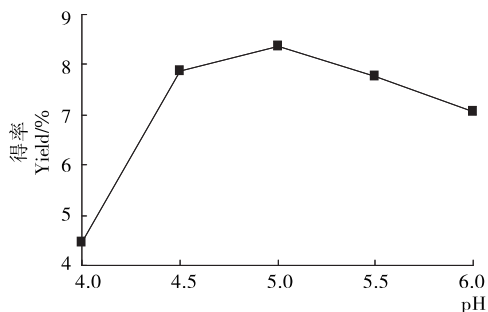


图7 pH对黑木耳多糖得率的影响

Figure 7 The effect of pH on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

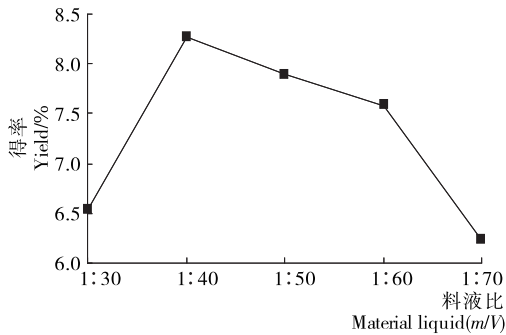


图 8 料液比对黑木耳多糖得率的影响

Figure 8 The effect of material liquid on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

合考虑选取料液比为 1 : 40(m/V)。

2.3.5 酶解温度对黑木耳多糖得率的影响 由图 9 可知,当酶解温度 $\leq 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,多糖得率明显增加,当温度在 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时得率最大,为 8.82%。随着温度的继续增大,多糖得率呈下降趋势,在温度为 $55\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时显著降低。这是因为当温度升高时,活化分子数增多,酶促反应速度加快,但当温度升高至超过最适温度时,导致酶活力的降低,使多糖得率随着酶解温度的升高迅速下降。综合考虑选取酶解温度为 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

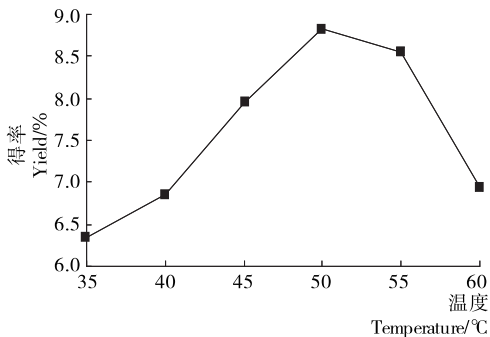


图 9 酶解温度对黑木耳多糖得率的影响

Figure 9 The effect of temperature on *Auricularia auricular* polysaccharide yield

2.4 酶法提取多糖的正交试验结果

酶法提取黑木耳多糖的正交试验因素水平表见表 3,结果见表 4。由表 4 可知,影响黑木耳多糖得率的因素顺序为酶解温度 $>$ pH $>$ 酶添加量 $>$ 酶解时间,最佳提取条件为 $A_2B_1C_3D_3$,即酶添加量 1.2%、酶解时间 60 min、pH 5.5、酶解温度 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。经 3 次验证实验证实采用 $A_2B_1C_3D_3$ 条件提取黑木耳多糖得率最高,均值为 9.29%。姜红等^[16]采用酶法提取黑木耳多糖,在浸提剂 50 倍、pH 5.0、温度 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、时间 80 min、酶加量 1.1%的条件下黑木耳多糖得率为 4.15%。鲜乔等^[17]采用胞壁溶解酶提取黑木耳多糖提取率可达 11.78%,与上述试验结果相比,黑木耳多糖的得率较高,但由于其酶解时 pH 值为 8.0(过高),使得黑木耳多糖结构易被破坏。

2.5 不同提取方法黑木耳多糖得率的比较

在两种提取方法最佳提取条件下进行 3 次试验,取平均值为黑木耳多糖得率。其中,高剪切分散乳化法、酶法提取黑木耳多糖的得率分别为 24.43%、9.29%。高剪切分散乳

表 3 酶法提取黑木耳多糖正交试验因素水平表

Table 3 The orthogonal experiment factor level table of polysaccharide extraction by cellulose enzyme method from *Auricularia auricular*

水平	A 酶添加量/%	B 酶解时间/min	C pH	D 酶解温度/ $^{\circ}\text{C}$
1	1.0	60	4.5	45
2	1.2	90	5.0	50
3	1.4	120	5.5	55

表 4 酶法提取黑木耳多糖正交试验设计及结果

Table 4 The orthogonal experiment design and result of polysaccharide extraction by enzymatic from *Auricularia auricular*

试验号	A	B	C	D	得率/%
1	1	1	1	1	8.32
2	1	2	2	2	7.23
3	1	3	3	3	8.52
4	2	1	2	3	9.17
5	2	2	3	1	8.47
6	2	3	1	2	7.67
7	3	1	3	2	8.09
8	3	2	1	3	8.43
9	3	3	2	1	7.35
k_1	8.24	8.31	8.14	8.05	
k_2	8.31	8.04	7.70	7.66	
k_3	7.96	8.06	8.58	8.71	
R	0.35	0.27	0.88	1.04	

法在得率上明显优于酶法($P < 0.05$),其得率提高了 15.14%。由试验结果可知,高剪切分散乳化法处理原料仅需 6 min,而酶法提取黑木耳多糖需酶解 60 min,在时间上高剪切分散乳化法缩短至 1/10,降低了能耗,利于黑木耳多糖的提取。且过长的酶解时间可能造成多糖结构的改变,不利于黑木耳多糖的后续研究。

3 结论

(1) 高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖的适宜工艺条件为转速 21 000 r/min、料液比 1 : 110(m/V)、时间 6 min、温度 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$,此时多糖得率为 24.43%。酶法提取黑木耳多糖的适宜工艺条件为酶添加量 1.2%、酶解时间 60 min、pH 5.5、酶解温度 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、料液比 1 : 40(m/V),此时多糖得率为 9.29%。

(2) 试验结果表明,与酶法相比,高剪切分散乳化法提取黑木耳多糖得率提高了 15.14%,且高剪切分散乳化法提取时间短,操作简单,能耗较小,多糖结构不易被破坏,利于后续研究。高剪切分散乳化法是一种提取黑木耳多糖的适宜方法。

(3) 本试验只对黑木耳多糖的提取进行研究,对其后续的结构变化及功能性质并未进行探索,今后有必要研究不同提取方式对黑木耳多糖结构及功能性质的影响。

参考文献

- [1] 张润光,刁小琴,关海宁. 黑木耳营养保健功能及其产品开发[J]. 保鲜与加工, 2010, 1(1): 54-56.
- [2] 刘雅静. 黑木耳化学成分及药理活性研究[D]. 山东: 山东轻工业学院, 2011: 1-10.
- [3] Zhang Hua, Wang Zhen-yu, Yang Lin, et al. In vitro antioxidant activities of sulfated derivatives of polysaccharides extracted from *Auricularia auricular*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(5): 3 288-3 340.
- [4] 王辰龙, 张子奇, 王曼, 等. 黑木耳多糖的提取分离及体外抗凝血作用研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(9): 238-241.
- [5] 刘美娜. 木耳多糖的提取[D]. 大连: 大连工业大学, 2009.
- [6] 唐娟, 马永强. 超声波技术在黑木耳多糖提取中的应用[J]. 食品与机械, 2005, 21(1): 28-29.
- [7] 朱磊, 王振宇, 周芳. 响应面法优化微波辅助提取黑木耳多糖工艺研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(2): 53-60.
- [8] 王金凤. 木耳多糖提取工艺研究[J]. 食品科学, 2004, 25(6): 143-146.
- [9] 樊梓鸾, 林秀芳, 王丽, 等. 响应面法优化高剪切分散乳化提取悬钩子多酚[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(4): 355-360.
- [10] 孙术国, 麻成金, 黄群, 等. 高速剪切与微波辅助偶联提取鲜葛中葛根素[J]. 食品科学, 2009, 30(22): 50-53.
- [11] 李丽, 卜令娜, 刘晔玮, 等. 高速剪切技术提取油菜花粉总黄酮工艺[J]. 食品工业科技, 2012, 33(13): 285-287, 372.
- [12] Xu Ya-qin, Zhang Ling, Yang Yu, et al. Optimization of ultrasound-assisted compound enzymatic extraction and characterization of polysaccharides from blackcurrant [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117(13): 895-902.
- [13] 张立娟, 于国萍, 周国华. 黑木耳多糖酶法提取条件的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(3): 89-91.
- [14] 姜在祥, 张有林, 王洪新. 超声波协同酶法提取黑木耳多糖[J]. 食品工业, 2007(1): 29-32.
- [15] 黄生权, 敖宏, 郭爱玲. 真菌保健食品中多糖含量测定方法的比较[J]. 现代食品科技, 2010, 26(7): 767-771.
- [16] 姜红, 孙宏鑫, 李晶, 等. 酶法提取黑木耳多糖[J]. 食品与发酵工业, 2005, 6(2): 131-133.
- [17] 鲜乔, 张拥军, 蒋家新, 等. 胞壁溶解酶用于黑木耳破壁提取工艺的研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(3): 96-103.

(上接第 150 页)

- [12] John Moore, Yasunori Maeda, B Millar, et al. Employment of 16S rDNA gene sequencing techniques for improved identification of difficult-to-identify bacterial veterinary pathogens [J]. World J. Microbiol. Biotechnol., 2008, 24(7): 1 227-1 232.
- [13] 何建军, 周明全, 胡中立, 等. 真空包装冷藏生鲜净菜莲藕的研制[J]. 湖北农业科学, 2002(6): 118-120.
- [14] Woo P C, Ng K H, Lau S K, et al. Usefulness of the MicroSeq 500 16S ribosomal DNA-based bacterial identification system for identification of clinically significant bacterial isolates with ambiguous biochemical profiles[J]. J. Clin. Microbiol., 2003, 41(5): 1 996-2 001.
- [15] 樊振江, 郝亚勤, 张素君, 等. 鲜切莲藕微生物模型的建立及货架寿命预测[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1): 326-329.

(上接第 175 页)

- [26] 董建瑞, 黄阿根, 梁文娟. 茶树花多酚提取工艺的研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(1): 83-86.
- [27] 刘红, 李元元, 龚晓武, 等. 不同提取方法对沙枣多酚清除自由基能力的比较研究[J]. 食品科技, 2010, 35(11): 227-230.
- [28] 邓义书, 包海蓉, 齐知耕. 桑葚果渣中总多酚的不同提取方法比较研究[J]. 湖南农业科技, 2010(15): 106-108.
- [29] Prior R L, Hoang H, Gu Li-wei, et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity(ORAC)) of plasma and other biological and food samples [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(11): 3 273-3 279.
- [30] 徐维盛, 李东, 刘静, 等. ORAC法对 12 种水果总抗氧化能力评价研究[J]. 食品工业, 2014, 35(1): 247-250.
- [31] 赵建, 宋亮楠, 刘薇, 等. ORAC法测定保健食品抗氧化能力的体内外实验对比分析[J]. 食品科学, 2011, 32(15): 103-108.
- [32] 徐维盛, 张桂雨, 刘静, 等. ORAC法评价 16 种茶叶的抗氧化能力[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(1): 241-246.

(上接第 180 页)

- [10] Rades, Thomas, Mcpowell, et al. Anti-ageing effects of *Sonchus oleraceus* L. (puha) leaf extracts on H₂O₂-induced cell senescence[J]. Molecular Plant, 2015, 20(4): 4 548-4 564.
- [11] 石同同. 苦菜多酚、总黄酮提取工艺研究及其降解尼古丁作用初探[D]. 保定: 河北农业大学, 2014: 20-30.
- [12] 蔡子龙, 潘颖, 聂政权, 等. 中心组合设计优化苦菜多酚类物质的提取工艺[J]. 湖北民族学院学报: 自然科学版, 2012, 30(1): 67-69.
- [13] 徐丹丹, 张文斌, 杨瑞金, 等. 大孔吸附树脂对葵仁多酚的分离富集[J]. 食品与机械, 2015, 31(5): 210-216.
- [14] 李琼, 陈凯, 陈燕勤, 等. 大孔吸附树脂分离纯化核桃青皮总多酚[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 175-180.
- [15] 马婷婷, 田呈瑞, 李龙柱, 等. 响应面优化黄参茎叶多酚的提取工艺及其抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(11): 1 218-1 236.
- [16] 熊建华, 汤凯洁, 罗秋水, 等. 大孔吸附树脂纯化金银花叶总多酚的工艺优化[J]. 食品与机械, 2011, 27(3): 52-55.
- [17] 袁英姿, 曹清明, 钟海雁, 等. 大孔吸附树脂纯化油茶籽多酚的研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 61-63.
- [18] 周平, 吕晓玲, 胡淳罡. 大孔吸附树脂分离纯化迷迭香酸的研究[J]. 离子交换与吸附, 2011, 27(4): 304-314.
- [19] Xi Li-sha, Mu Tai-hua, Sun Hong-nan. Preparative purification of polyphenols from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves by AB-8 macroporous resins[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 166-174.
- [20] 刁晶晶, 曹龙奎. 大孔吸附树脂吸附分离纯化软枣猕猴桃总黄酮[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 145-149.
- [21] 冯进, 李敏, 曾晓雄, 等. 大孔树脂纯化蓝莓叶多酚及其组成分析[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 86-91.