

提取方法对天麻多糖提取率及其抗氧化活性的影响

Effect of different extraction methods on the extraction ratio and antioxidant activity of polysaccharides from *Gastrodia elata* Bl.

王 庆 李丹丹 潘芸芸 吴 卫

WANG Qing LI Dan-dan PAN Yun-yun WU Wei

(四川农业大学农学院, 四川 成都 611130)

(Agronomy College, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

摘要:分别采用热水浸提、超声辅助提取和酶法提取对四川平武乌天麻多糖进行提取,并对天麻多糖提取率及其抗氧化活性进行比较,为筛选适合天麻多糖提取的方法提供参考。结果表明:3种提取方法对天麻多糖提取率及其抗氧化活性影响较大,其中酶法提取天麻多糖提取率最高(为50.315%),与其他2种提取方法间差异达到极显著水平($P<0.01$);在DPPH和FRAP法抗氧化评价体系中,多糖抗氧化活性表现为超声辅助提取>酶法提取>热水浸提法,而在ABTS抗氧化评价体系中,其活性顺序是酶法提取>超声辅助提取>热水浸提。综合分析,超声辅助提取和酶法提取有利于天麻多糖提取,且能保持其高效的抗氧化活性。

关键词:天麻;多糖;热水浸提;超声辅助提取;酶法提取;抗氧化活性

Abstract: In order to screen a suitable extraction method for polysaccharides from *Gastrodia elata* Bl., the hot water extraction, ultrasound extraction and enzymatic hydrolysis were applied to extracting polysaccharides from *G. elata* Bl.f. *glauc*a S. Chow from Pingwu in Sichuan province, then the polysaccharides extraction ratios and their antioxidant activities were compared. The polysaccharides extraction ratios and antioxidant activities were obviously influenced by the extraction methods. Of them, the extraction ratio of enzymatic hydrolysis was the highest with the value of 50.315%, which was extremely different from the other extraction methods ($P<0.01$). The antioxidant activities were in the following order: ultrasound extraction, enzymatic hydrolysis and hot water extraction by using DPPH free radical scavenge capacity and FRAP values. However, the antioxidant activities were in the following order: enzymatic hydrolysis, ultrasound extraction and hot water extraction by using ABTS

free radical scavenge capacity. In conclusion, due to the higher extraction rate and antioxidant activity, ultrasound extraction and enzymatic hydrolysis were efficient to extract polysaccharides from *G. elata*.

Keywords: *Gastrodia elata* Bl.; polysaccharides; hot water extraction; ultrasound extraction; enzymatic hydrolysis; antioxidant activities

多糖作为生物大分子物质存在于植物、动物和微生物中,是自然界含量最丰富的生物大分子聚合物之一^[1],在医药、食品以及材料等方面有着重要应用。研究表明,多糖具有抗氧化^[2]、抗肿瘤^[3]和免疫调节^[4-5]等多种生理功能,此外,多糖来源广泛且毒副作用极低。目前关于多糖的研究逐渐成为了热点。

天麻为兰科真菌营养型多年生草本植物天麻(*Gastrodia elata* Bl.)的干燥块茎,是中国传统名贵中药材之一。具有息风止痉、平抑肝阳和祛风通络的功效,主要应用于小儿惊风、癫痫抽搐、破伤风、头痛眩晕、手足不遂、肢体麻木以及风湿痹痛等症状^[6]。经现代药理研究表明,天麻具有增智健脑^[7]、清除自由基、延缓衰老^[8]、保护心血管^[9-10]的作用,对神经系统性疾病^[11-12]、老年性痴呆症等有一定疗效^[13-14]。自20世纪50年代以来,在天麻中发现的化学成分主要包括酚类、有机酸类、多糖类以及甾体类等^[15]。

人体生活的环境必然要与外界接触,所以必定会因呼吸、环境污染、射线等因素不断在体内产生自由基。现代自由基医学研究证明,生物体的衰老、免疫性疾病,甚至癌变等都与自由基过量产生有关。抗氧化主要是指抗氧化自由基。已有研究表明枸杞多糖^[16]、赤灵芝多糖^[17]、牛蒡多糖^[18]、石斛多糖^[19]、银杏叶多糖^[20]等均具有清除自由基的作用。张梦娟^[21]对天麻多糖进行研究发现其具有一定抗氧化活性。有研究^[22]报道,提取方式对多糖活性具有一定的影响。传统针对植物多糖提取多采用热水提取法,此方法具有操作简

基金项目:四川省科技支撑计划子课题(编号:2014SZ0131)

作者简介:王庆,男,四川农业大学在读硕士研究生。

通信作者:吴卫(1970—),女,四川农业大学教授,博士生导师,博士。

E-mail: ewuwei@sicau.edu.cn

收稿日期:2017-05-04

便、使用仪器少等特点^[23],随着新的提取工艺不断出现,在天麻多糖研究中,已有关于超声辅助提取^[24]、酶解提取^[25]、微波提取^[26]等方面的报道,但关于其对抗氧化活性的影响尚未见报道。尽管这些方法均各具优缺点,但是否适宜于天麻多糖提取,需进一步研究,故本试验拟采用 3 种提取方法,对天麻多糖提取率及其抗氧化活性进行比较,以期筛选出适合天麻多糖提取的方法,并为进一步开发利用天麻多糖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

天麻:来自四川平武,经四川农业大学吴卫教授鉴定为乌天麻(*G. elata* Bl.f. *glauca* S. Chow)。将其蒸至透心,烘干至恒重,粉样,过 60 目筛,备用。

1.2 试验仪器和试剂

- 电子分析天平:CP224S 型,德国赛多利斯公司;
- 电子恒温水浴锅:DZKW-4 型,北京中兴伟业仪器有限公司;
- 粉样机:FW-100 型,北京市永光明医疗仪器有限公司;
- 电热鼓风干燥箱:101-3AB 型,天津市泰斯特仪器有限公司;
- 高速冷冻离心机:Allegra X-30R Centrifuge 型,美国 Beckman Conlter 公司;
- 超声波清洗机:SB25-12DTDN 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;
- 冷冻干燥机:SJIA-10N 型,宁波双嘉仪器有限公司;
- 紫外-可见光光度计:UV2450 型,日本 Shimadzu 公司;
- 酶标仪:Multiskan GO 型,美国 Thermo Scientific 公司;
- 纤维素酶、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2-联胺-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)、2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ):美国 Sigma 公司;
- 苯酚、硫酸、乙醇、石油醚(60~90 ℃)、无水葡萄糖、Vc 等:分析纯,成都市科龙化工试剂厂。

1.3 试验方法

1.3.1 样品预处理 称取天麻粉样,加入 3 倍量石油醚回流脱脂 4 h,重复 2 次,45 ℃烘干后,再加入 80%乙醇以 1:8 (g/mL)的比例,于 80 ℃回流提取 2 h,用真空抽滤机滤去液体,重复 2 次,得滤渣,45 ℃烘干,备用。

1.3.2 天麻多糖提取

(1) 热水浸提法:参考文献[24~25]提取方法,修改如下:取经过预处理的天麻样品约 10 g,按料液比 1:37 (g/mL),提取温度 70 ℃,提取时间 2.5 h,提取 3 次。待冷却至室温后,于 4 ℃、10 000 r/min 离心 10 min,将上清液过滤,合并滤液并浓缩,再向提取液中缓慢加入无水乙醇至混合液乙醇终浓度为 80%,置于 4 ℃沉淀过夜,离心得天麻多糖沉淀,经-50 ℃冷冻干燥后,-20 ℃低温保存。

(2) 超声辅助提取法:准确称取经过预处理的天麻样品约 10 g,在超声波功率 250 W 条件下,按料液比 1:25 (g/mL),超声温度 40 ℃,超声时间 35 min,重复提取 3

次^[26]。其余步骤与“1.3.2(1)”相同,得到天麻多糖沉淀。

(3) 酶法提取:参考文献[27],修改如下:称取预处理天麻样品约 10 g,加入 pH 5 的柠檬酸缓冲液,使总体积为 500 mL,加入纤维素酶 20 mg,50 ℃水浴提取 60 min,80 ℃水浴 10 min 使酶灭活。其余步骤与“1.3.2(1)”相同,得到天麻多糖沉淀。

1.3.3 天麻多糖含量测定

(1) 多糖标准曲线制作:参考文献[18]。以葡萄糖浓度(*x*)为横坐标、吸光度值(*y*)为纵坐标绘制葡萄糖标准曲线,计算出标准曲线的线性回归方程为: $y = 5.372x - 0.012$, $R^2 = 0.998$,葡萄糖对照品浓度的线性范围为 0.020 2~0.161 7 mg/mL。其标准曲线见图 1。

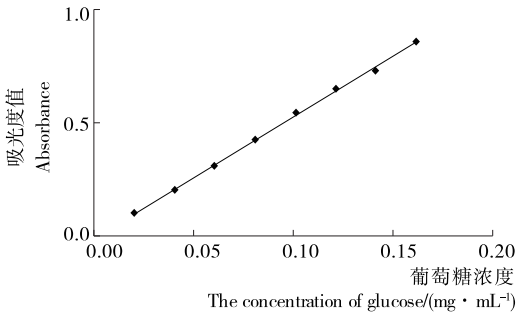


图 1 多糖标准曲线

Figure 1 Standard curve of Polysaccharides

(2) 天麻多糖提取液制备:称取经过预处理的天麻样品 1 g,按照“1.3.2”项提取得不同天麻多糖溶液,合并滤液,定容于 250 mL 的容量瓶中,每种提取方法重复 3 次。

(3) 天麻多糖含量测定:用移液管吸取 1.0 mL 粗多糖提取液置于试管中,依次加入蒸馏水 2 mL,5%苯酚 1 mL,摇匀,滴加浓硫酸 5 mL,摇匀,在室温下静置 10 min,沸水浴 15 min,冷却至室温,于 490 nm 处检测其吸光度。按式(1)计算天麻多糖含量。

$$W = \frac{C \times D \times V}{m \times 1\,000} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

- W*——多糖含量,%;
- C*——多糖的葡萄糖浓度,mg/mL;
- D*——多糖稀释倍数;
- V*——提取液体积,mL;
- m*——原料干重,g。

1.3.4 抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除:参照文献[28],修改如下:用无水乙醇配制成 0.04 mg/mL DPPH 溶液(现配现用)。分别吸取 70 μL 不同质量浓度的多糖溶液和 200 μL DPPH 溶液于 96 孔酶标板,27 ℃孵育 10 min,每份样品平行操作 3 次,在 517 nm 处用酶标仪测定吸光值(*A*);以去离子水 70 μL 和 200 μL DPPH 溶液的吸光度值作对照(*A*₀);空白为供试待测液 70 μL 和无水乙醇 200 μL 的吸光度值(*B*);以不同浓度的 Vc 溶液作阳性对照。按式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$D = (1 - \frac{A - B}{A_0}) \times 100\%, \tag{2}$$

式中:

D ——DPPH 自由基清除率,%;

A ——70 μL 多糖溶液和 200 μL DPPH 溶液的吸光度值;

B ——70 μL 多糖溶液和 200 μL 无水乙醇的吸光度值;

A_0 ——70 μL 去离子水和 200 μL DPPH 溶液的吸光度值。

(2) ABTS 自由基清除:参照文献[29]配制 ABTS 工作液。参考文献[30]并略作修改:将不同方法提取的天麻多糖配制成梯度浓度的样品溶液,分别吸取 30 μL 多糖溶液、180 μL ABTS 工作液于 96 孔酶标板,37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min。蒸馏水调零后,在 734 nm 处用酶标仪测定其吸光度。空白处理:30 μL 去离子水和 180 μL ABTS 工作液。每份供试样品操作 3 次。以不同浓度的 Vc 溶液作阳性对照。按式(3)计算 ABTS 自由基清除率。

$$R = (1 - \frac{A_1}{A_0}) \times 100\%, \tag{3}$$

式中:

R ——ABTS 自由基清除率,%;

A_1 ——30 μL 多糖溶液与 180 μL ABTS 液的吸光度值;

A_0 ——30 μL 去离子水与 180 μL ABTS 液的吸光度值。

(3) FRAP 铁离子还原能力:参照文献[31]配制 FRAP 工作液(现配现用)。参照文献[32]绘制 FeSO_4 标准曲线。总还原能力测定:吸取 70 μL 不同质量浓度的多糖溶液,加入 200 μL 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的 FRAP 工作液于 96 孔酶标板,摇匀后,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min,用酶标仪在 593 nm 测定其吸光度值。空白为供试液溶剂代替供试液加入 FRAP 工作液。根据 FeSO_4 标准曲线,在标准曲线上求得相应 FeSO_4 的浓度($\mu\text{mol/L}$)为 FRAP 值。每个稀释浓度做 3 次平行试验,求平均值。以不同浓度的 Vc 溶液作阳性对照。

1.4 数据分析

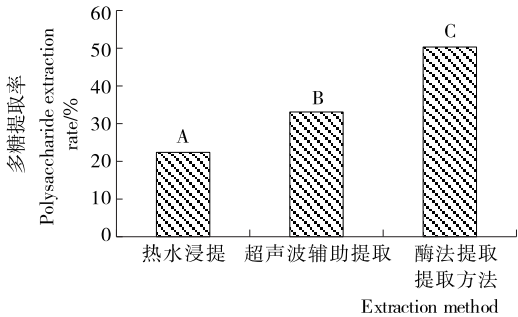
试验数据处理及作图均采用 Microsoft Excel 2007 进行,利用 SPSS 20.0 统计分析软件对清除自由基活性数据进行方差分析与显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同提取方法的天麻多糖提取率

由图 2 可知,3 种提取方法对天麻多糖提取率影响较大,彼此间差异均达到极显著水平($P < 0.01$),其中酶法的提取率最高。

本试验通过热水浸提法提取多糖得率为 22.380%,与宗露^[33]对平武乌天麻多糖测定含量 25.02%结果基本一致;超声辅助提取法天麻多糖得率为 33.089%,该结果与杨天友等^[26]以超声波辅助提取 60 目德江天麻粉末,多糖得率为 33.4%结果一致;酶法提取天麻多糖得率为 50.315%,远高于目前报道^[34]的 38.34%,可能与两者所选材料有关。



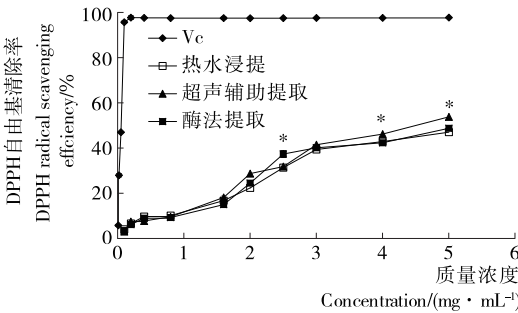
不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

图 2 不同提取方法天麻多糖提取率

Figure 2 The extraction rates of polysaccharides from different extraction methods

2.2 不同提取方法所得粗多糖抗氧化活性的差异

2.2.1 DPPH 自由基清除活性 由图 3 可知,3 种提取方法得到的天麻粗多糖与 Vc 的 DPPH 自由基清除活性存在较大差异。在 2.5 mg/mL 浓度下,酶法提取粗多糖的 DPPH 自由基清除率显著高于同浓度其他 2 种提取方法的,但在 4, 5 mg/mL 浓度下,超声辅助提取粗多糖的 DPPH 自由基清除活性显著高于其他提取方法的。在一定浓度范围内,3 种提取方法得到的粗多糖对 DPPH 自由基清除率随粗多糖浓度升高而升高,且存在一定的线性关系(见表 1),通过计算,热水浸提、超声辅助提取、酶法提取的多糖溶液和 Vc 溶液的 DPPH 自由基清除率的 IC_{50} 分别为 5.057, 4.437, 4.993, 0.051 mg/mL。由于 IC_{50} 值越小,多糖对 DPPH 自由基清除率越高,3 种方法提取的粗多糖中,以



* 表示在同浓度下与其他方法提取的多糖差异显著($P < 0.05$)

图 3 不同提取方法所得粗多糖对 DPPH 自由基清除能力
Figure 3 The DPPH free radical scavenge capacities of crude polysaccharides from different extraction methods

表 1 不同提取方法所得粗多糖及 Vc 对 DPPH 自由基清除率的 IC_{50}
Table 1 IC_{50} of crude polysaccharides from different extraction methods and Vc on DPPH free radical scavenge capacities

样品	回归方程	R^2	$IC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$
热水浸提多糖	$y = 7.566x + 11.740$	0.864	5.057
超声辅助提取多糖	$y = 8.357x + 12.920$	0.958	4.437
酶法提取多糖	$y = 6.668x + 16.710$	0.808	4.993
Vc	$y = 935.900x + 2.091$	0.980	0.051

超声辅助提取的粗多糖对 DPPH 自由基清除率最高,其活性最强。这可能与超声波强烈的机械剪切作用致多糖分子结构改变有关^[35]。

2.2.2 ABTS 自由基清除活性 由图 4 可知,不同提取方法提取的天麻粗多糖均表现出一定的 ABTS 自由基清除活性,在粗多糖浓度为 5 mg/mL 时,酶法提取的粗多糖 ABTS 自由基清除率最高(47.449%),与其他 2 种方法提取的粗多糖差异达到显著水平($P<0.05$)。此外,在一定浓度范围内具有明显的量效关系(见表 2),且所有回归方程的 R^2 均 >0.9 ,表明方程的拟合度很高。依据所得线性方程计算各多糖溶液的 ABTS 自由基清除率的 IC_{50} 分别为 6.130, 5.406, 4.917 mg/mL,阳性对照 Vc 对 ABTS 自由基清除率的 IC_{50} 为 0.040 mg/mL。可见,在 ABTS 抗氧化评价体系中,其活性顺序是酶法提取粗多糖 $>$ 超声辅助提取粗多糖 $>$ 热水浸提粗多糖。唐小琴^[36]研究发现酶提法提取的温和条件能更好保全多糖的生物活性,本试验同样显示酶法提取天麻多糖活性较高,可能与此有关。

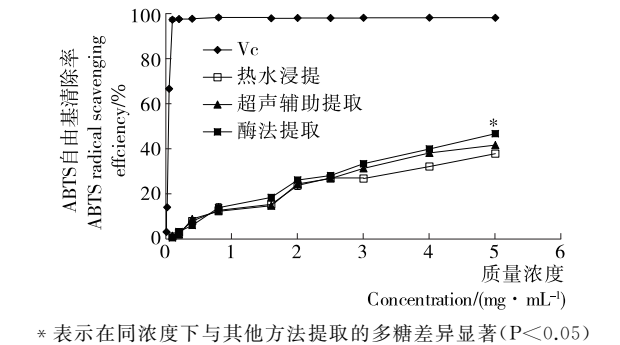


图 4 不同提取方法所得粗多糖对 ABTS 自由基清除能力
Figure 4 The ABTS free radical scavenge capacities of crude polysaccharides from different extraction methods

表 2 不同提取方法所得粗多糖及 Vc 对 ABTS 自由基清除率的 IC ₅₀				
Table 2 IC ₅₀ of crude polysaccharides from different extraction methods and Vc on ABTS free radical scavenge capacities				
样品	回归方程	R ²	IC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹)	
热水浸提多糖	y=7.417x+4.534	0.980	6.130	
超声辅助提取多糖	y=8.555x+3.755	0.959	5.406	
酶法提取多糖	y=9.467x+3.453	0.972	4.917	
Vc	y=1 069.000x-1.110	0.980	0.040	

2.2.3 FRAP 铁离子还原能力 由图 5 可知,在所测质量浓度范围内,各组粗多糖还原 Fe³⁺ 的能力随浓度的升高而增大,且呈现一定线性关系,所有线性回归方程 R^2 值均 >0.960 ,表明方程的拟合度很高(表 3)。在质量浓度 2.5 mg/mL 时,超声辅助提取的粗多糖还原 Fe³⁺ 的能力显著高于同浓度下其他提取法的;在质量浓度 3,4,5 mg/mL 时,超声辅助提取的粗多糖还原 Fe³⁺ 的能力极显著高于同浓度下其他提取法的。总体来看,超声辅助提取的粗多糖还原 Fe³⁺ 的能

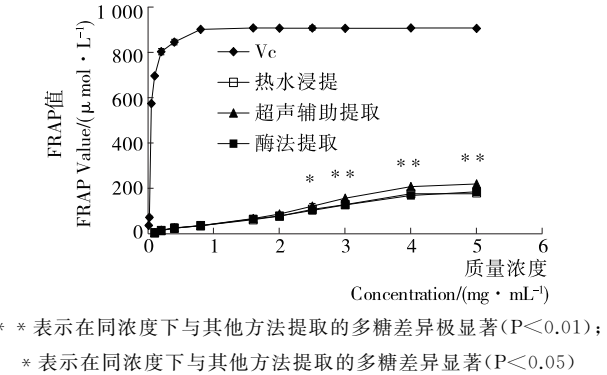


图 5 不同提取方法所得粗多糖的 FRAP 值
Figure 5 FRAP values of crude polysaccharides from different extraction methods

表 3 不同提取方法所得粗多糖及 Vc 对 Fe ³⁺ 还原能力的回归方程		
Table 3 The regression equations of crude polysaccharides from different extraction methods and Vc on Fe ³⁺ reducing capacity		
样品	回归方程	R ²
热水浸提多糖	y=38.410x+6.018	0.980
超声辅助提取多糖	y=46.760x+2.727	0.981
酶法提取多糖	y=38.020x+6.328	0.990
Vc	y=1 4179.000x-151.9	0.966

力最强,但各组粗多糖还原 Fe³⁺ 的能力都较弱,均低于同浓度的阳性对照。

3 结论

不同提取方法对天麻多糖提取率及其抗氧化活性影响不同,其中酶法提取率最高,其次为超声辅助提取;超声辅助提取法和酶法提取均可保持天麻多糖高效的抗氧化活性。3 种提取方法得到的天麻粗多糖与阳性对照 Vc 相比,抗氧化活性相对较低,但多糖作为生物大分子化合物,和 Vc 相同质量浓度时,多糖物质的量浓度显著低于 Vc。由此,天麻多糖也仍具有良好的抗氧化活性,可以作为一种抗氧化剂进一步深入研究。

参考文献

[1] FAN Tao, HU Jian-guo, FU Li-dan, et al. Optimization of enzymolysis-ultrasonic assisted extraction of polysaccharides from *Momordica charabtia* L. by response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 115: 701-706.

[2] ZENG Hong-liang, MIAO Song, ZHANG Yi, et al. Isolation, preliminary structural characterization and hypolipidemic effect of polysaccharide fraction from *Fortunella margarita* (Lour.) [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 126-136.

[3] ZHENG Yan-fei, ZHANG Qiang, LIU Xiong-ming, et al. Extraction of polysaccharides and its antitumor activity on *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 142: 98-104.

[4] 李钦, 胡继宏, 高博, 等. 黄芪多糖在免疫调节方面的最新研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 32(2): 199-206.

[5] CHEN Rui-zhan, LI Hai-ping, LI Shi-zhe, et al. Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activity of polysaccharides from figs[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72: 185-194.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 58-59.

[7] 刘智慧, 马浩, 王伟平, 等. 天麻素及派立辛改善东莨菪碱致学习记忆障碍的构效关系[J]. 药学报, 2016, 51(5): 743-748.

[8] 谢学渊, 晁衍明, 杜珍, 等. 天麻多糖的抗衰老作用[J]. 解放军药学报, 2010, 26(3): 206-210.

[9] 苗凯, 王美, 谢伟. 天麻素治疗冠心病心绞痛临床效果的观察[J]. 天津药学, 2009, 21(6): 26-27.

[10] TANG Chun-lan, WANG Li, LIU Xin-xin, et al. Pharmacokinetic study of *Gastrodia elata* in rats[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(29): 8 903-8 910.

[11] LIU Zhi-hui, WANG Wei-ping, FENG Nan, et al. Parishin Cs prevention of Abeta 1-42-induced inhibition of long-term potentiation is related to NMDA receptors[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2016, 6(3): 189-197.

[12] 王灿, 于滨, 孔维佳. 天麻和天麻素改善糖脂代谢紊乱的药理学研究进展[J]. 中国医药导报, 2016, 13(27): 51-54, 58.

[13] HUANG Guang-biao, ZHAO Tong, MUNA Sushama-shrestha, et al. Therapeutic potential of *Gastrodia elata* Bl. for the treatment of Alzheimer's disease[J]. Neural Regeneration Research, 2013, 8(12): 1 061-1 070.

[14] DOO Ah-reum, KIM Seung-nam, HAHM Dae-hyun, et al. *Gastrodia elata* Bl. alleviates L-DOPA-induced dyskinesia by normalizing FosB and ERK activation in a 6-OHDA-lesioned Parkinson's disease mouse model[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2014, 14: 107-115.

[15] 李云, 王志伟, 刘大会, 等. 天麻化学成分研究进展[J]. 山东科学, 2016, 29(4): 24-29.

[16] 郑玲利, 李燕, 黄玲, 等. 枸杞多糖的微波提取及抗氧化性分析[J]. 解放军药学报, 2016, 32(1): 1-5.

[17] 徐雪峰, 李桂娟, 闫浩, 等. 赤灵芝多糖分离纯化及体外抗氧化性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(1): 143-147.

[18] 喻俊, 张利, 李亚波, 等. 干燥方式对牛蒡多糖理化性质及抗氧化活性的影响[J]. 食品与机械, 2016, 32(6): 160-163.

[19] 严慕贤, 周雅亮, 蓝义琨, 等. 两种石斛的水溶性多糖和碱溶性多糖体外抗氧化活性的研究[J]. 广东药学院学报, 2016, 32(1): 88-91.

[20] ZHANG Chang-wei, WANG Cheng-zhang, TAO Ran. Characterization and antioxidant activities of polysaccharides extracted from enzymatic hydrolysate of *Ginkgo biloba* leaves[J]. Journal of Food Biochemistry, 2017, DOI: 10.1111/jfbc.12 352.

[21] 张梦娟. 天麻多糖的提取、纯化及活性研究[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2007: 51-60.

[22] ZHANG Qin, DONG Lan-fang, TONG Tong, et al. Polysaccharides in *Sipunculus nudus*: Extraction condition optimization and antioxidant activities[J]. Journal of Ocean University of China, 2017, 16(1): 74-80.

[23] WANG Chen-yu, ZHANG Jing, WANG Fei, et al. Extraction of crude polysaccharides from *Gomphidius rutilus* and their antioxidant activities *in vitro* [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 94: 479-486.

[24] 张梦娟, 徐怀德, 牛素哲, 等. 天麻多糖水提取工艺优化研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27(11): 119-121.

[25] 朱洁平, 李峰, 沈业寿. 天麻多糖的提取工艺及含量测定研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(18): 9 648-9 650.

[26] 杨天友, 刘金涛, 李刚凤. 超声波辅助提取德江天麻多糖工艺优化[J]. 中国酿造, 2015, 34(12): 117-121.

[27] 王勋, 罗珊珊, 蒋嘉烨, 等. 酶解法提取天麻多糖的研究[J]. 中药材, 2013, 36(1): 137-140.

[28] MA Qing, XIE Hai-hui, LI Sha, et al. Flavonoids from the pericarps of *Litchi chinensis* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62: 1 073-1 078.

[29] THAIPONG Kriengsak, BOONPRAKOB Unaroj, CROSBY Kevin, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts[J]. Journal of Food Composition Analysis, 2006, 19(6/7): 669-675.

[30] YANG Dan, XIE Hai-hui, JIANG Yue-ming, et al. Phenolics from strawberry cv. Falandi and their antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 857-863.

[31] WOOTTON-BEARD Peter-c, MORAN Aisling, RYAN Lisa. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-ciocalteu methods[J]. Food Research International, 2011, 44(1): 217-224.

[32] ZHANG Shan-shan, LIU Xiao-qian, YAN Li-hua, et al. Chemical compositions and antioxidant activities of polysaccharides from the sporophores and cultured products of *Armillaria mellea* [J]. Molecules, 2015, 20(4): 5 680-5 697.

[33] 宗露. 平武产栽培天麻的品质评价研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013: 41-43.

[34] 叶文斌. 响应面法与酶法联用提取天麻素和天麻多糖的优化工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(12): 25-30.

[35] 王小梅. 超声对麦冬多糖结构、溶液行为及生物活性影响的研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2013: 91-94.

[36] 唐小琴. 川白芷多糖提取、结构和活性研究[J]. 成都: 四川农业大学, 2016: 52-53.