

北沙参多糖复合酶提取工艺及理化性质研究

Study on the compound enzyme extraction process of *Glehniae Radix* and its physicochemical properties

景永帅¹张丹参¹张瑞娟¹韩 钰¹JING Yong-shuai¹ ZHANG Dan-shen¹ ZHANG Rui-juan¹ HAN Yu¹刘东波¹郑玉光²吴兰芳²LIU Dong-bo¹ ZHENG Yu-guang² WU Lan-fang²

(1. 河北科技大学化学与制药工程学院, 河北 石家庄 050018;

2. 河北中医学院药学院, 河北 石家庄 050200)

(1. College of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018, China; 2. College of Pharmacology, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei 050200, China)

摘要:采用响应面分析法优化复合酶提取北沙参多糖 (GLP-E) 提取工艺, 利用 DEAE-52 离子交换剂对北沙参多糖进行分离纯化, 并考察其单糖组成、相对分子质量及对 DPPH 自由基的清除作用。结果表明, 北沙参多糖的最优提取工艺为酶解温度 70 ℃, 酶解时间 3 h, 液料比 30 : 1 (mL/g), 酶添加量 3.0%, 纤维素酶和木瓜蛋白酶质量比 3 : 1, 北沙参多糖提取率为 $(22.04 \pm 0.23)\%$ 。GLP-E 水洗脱得到 GLP-E1, NaCl 洗脱得到 GLP-E2。GLP-E、GLP-E1 和 GLP-E2 在单糖组成、相对分子质量上有所差异, 但均具有一定的清除 DPPH 自由基能力。

关键词: 北沙参; 多糖; 纤维素酶; 木瓜蛋白酶

Abstract: Response surface analysis were carried out to optimize the extraction process of polysaccharide from *Glehniae Radix* (GLP-E), and GLP-E was separated and purified with DEAE-52 ion exchanger. The monosaccharide composition, molecular weight, and the scavenging effect on DPPH free radicals were investigated. The results showed that the optimal extraction conditions of polysaccharides from *G. Radix* were as follows: the liq-

uid-to-solid ratio was 30 : 1 (mL/g), with the addition of 3% enzyme and the ratio of cellulase to papain at 3 : 1, hydrolyzed at 70 ℃ for 3 h. Under the control of these conditions, the extraction rate of polysaccharides from *G. Radix* was $(22.04 \pm 0.23)\%$. GLP-E was eluted sequentially with water and NaCl to obtain GLP-E1 and GLP-E2. GLP-E, GLP-E1 and GLP-E2 differed in monosaccharide composition and molecular weight, and both showed the scavenge ability of DPPH free radicals.

Keywords: *Glehniae Radix*; polysaccharide; cellulase; papain

北沙参为伞形科植物珊瑚菜 (*Glehnia Littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.) 的干燥根, 是传统的名贵药材和药食同源物品, 具有滋阴润肺、益胃生津等功效^[1-2]。其有效成分主要为香豆素类、聚炔类及多糖类物质, 其中多糖类含量最高, 具有抗氧化和调节免疫等功能^[3-4]。

北沙参多糖提取方法主要有热水回流提取法^[5]、微波辅助提取法^[3]、超声波辅助提取法^[6]、酸碱提取法^[7]、酶提取法^[7]等。酶提取法因其提取条件温和, 可加速有效成分释放、纯化提取液中的提取物等特点, 已被广泛应用于植物中有效成分的提取^[8-10]。常用的酶有纤维素酶、果胶酶、蛋白酶或复合酶。纤维素是细胞壁的主要成分, 也是多糖溶出的主要屏障, 利用纤维素酶水解细胞壁, 可加速多糖的溶出, 且对细胞内的物质结构无影响; 木瓜蛋白酶是含巯基肽链的内切酶, 具有蛋白酶和酯酶的活性, 可水解蛋白质, 帮助多糖溶出^[11]。使用单一酶提取北沙参多糖已有研究^[7], 而研究采用复合酶提取北沙

基金项目: 中央财政公共卫生专项“中药资源普查项目”(编号: Z135080000022); 河北省自然科学基金项目(编号: H2017423023); 河北省二期现代农业产业技术体系创新团队项目(编号: HBCT2018060205); 国家级大学生创新创业训练计划项目(编号: 201710082022); 河北科技大学“五大平台开放基金课题”(编号: 2018PT21)

作者简介: 景永帅, 男, 河北科技大学副教授, 博士。

通信作者: 吴兰芳 (1985—), 女, 河北中医学院副教授, 博士。

E-mail: wulanfang757@163.com

收稿日期: 2019-04-09

参多糖较少^[12]。

试验拟选用纤维素酶和木瓜蛋白酶按一定比例进行北沙参多糖提取,应用响应面法确定最佳提取工艺,并对其结构特征进行分析,考察其对 DPPH 自由基的清除作用,为提高北沙参多糖的提取率及开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

北沙参:产自河北保定,亳州市问善堂药业科技有限公司;

1,1-二苯基-2-苦味基肼(DPPH)、1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)、甘露糖(Man)、鼠李糖(Rha)、葡萄糖醛酸(GlcA)、半乳糖醛酸(GalA)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)、阿拉伯糖(Ara)、岩藻糖(Fuc)、DEAE-52 纤维素:色谱纯,上海阿拉丁试剂有限公司;

纤维素酶: 1×10^5 U/g,宁夏夏盛实业集团有限公司;

木瓜蛋白酶: 1×10^5 U/g,南宁庞博生物工程有限公司。

1.2 仪器与设备

恒温水浴锅:HH-2 型,江苏金坛宏华仪器厂;

磁力加热搅拌器:DF-2 型,江苏金坛宏华仪器厂;

旋转蒸发仪:EYELAN-1100 型,日本东京理化株式会社;

超声波清洗器:KS-300DE 型,昆山洁力美超声仪器有限公司;

傅里叶变换红外光谱仪:S-100 型,德国珀金埃尔默公司;

TSK-GEL 凝胶柱:G4000 PWXL、G2500 PWXL 型,日本东京株式会社;

液相色谱仪:LC1220 型,安捷伦科技(中国)有限公司;

液相色谱仪:e2695 型,美国 Alliance 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 北沙参预处理 取北沙参粉碎,过 40 目筛,用 3 倍体积的 95%乙醇回流提取 2 次,除去脂溶性成分,药渣干燥后,备用。

1.3.2 北沙参多糖提取工艺优化

(1) 酶解时间:取 5 g 经预处理的北沙参粉末,酶解温度 70 ℃,液料比 20:1 (mL/g),纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比 1:1,酶添加量 1%(质量分数),考察酶解时间(1,2,3,4 h)对多糖提取率的影响。

(2) 酶解温度:取 5 g 经预处理的北沙参粉末,液料比 20:1 (mL/g),纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比 1:1,酶添加量 1%(质量分数),酶解 2 h,考察酶解温度(40,

50,60,70,80 ℃)对多糖提取率的影响。

(3) 液料比:取 5 g 经预处理的北沙参粉末,酶解温度 70 ℃,纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比 1:1,酶添加量 1%(质量分数),酶解 3 h,考察液料比[20:1,30:1,40:1,50:1 (mL/g)]对多糖提取率的影响。

(4) 酶添加量:取 5 g 经预处理的北沙参粉末,酶解温度 70 ℃,液料比 30:1 (mL/g),纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比 3:1,酶解 3 h,考察酶添加量(1%,2%,3%,4%,质量分数)对多糖提取率的影响。

(5) 纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比:取 5 g 经预处理的北沙参粉末,酶解温度 70 ℃,液料比 30:1 (mL/g),酶添加量 1%(质量分数),酶解 3 h,考察纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比(1:1,1:2,2:1,1:3,3:1)对多糖提取率的影响。

(6) 响应面试验优化:根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理,选取酶解时间、液料比和酶添加量为响应面因素,利用 Design-Expert 8.0 软件设计优化提取工艺,并对结果进行分析。

1.3.3 多糖提取率的测定 按式(1)计算多糖提取率。

$$E = \frac{C_1}{C_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

E ——多糖提取率,%;

C_1 ——粗多糖质量,g;

C_2 ——样品质量,g。

1.3.4 分离纯化 采用 DEAE-52 纤维素柱层析法对北沙参粗多糖进行分离纯化。取北沙参多糖(GLP-E)约 200 mg,加入 10 mL 蒸馏水溶解,离心,上样,分别以蒸馏水和 0~1 mol/L NaCl 洗脱,并用自动收集器收集,每 10 min 收集一管,苯酚—硫酸法显色。

1.3.5 理化性质分析

(1) 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)分析:检测北沙参多糖在 4 000~450 cm^{-1} 处的 FT-IR^[13]。

(2) 北沙参多糖相对分子质量:采用 HPGPC-ELSD 法^[14]。以保留时间为横坐标,相对分子质量为纵坐标,绘制标准葡聚糖标准曲线($y = -0.3108x + 11.749$, $R^2 = 0.9911$),根据标准曲线计算北沙参多糖相对分子质量。色谱柱为 TSK-GEL G4000 PWXL、TSK-GEL G2500 PWXL;流动相为超纯水;柱温 30 ℃;进样量 20 μL ;漂移管温度 60 ℃;雾化温度 30 ℃;载气为 N_2 ;载气流量 2.0 mL/min。

(3) HPLC 分析:根据文献[15]略作修改。Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);检测波长 245 nm;柱温 30 ℃;上样量 20 μL ;流速 1 mL/min;流动相为磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L,pH 6.85)—乙腈(83:17,体积比);洗脱方式为等度洗脱。

1.3.6 清除 DPPH 自由基能力 参照文献[16—17]。

1.4 数据处理

采用 Design-Expert 8.0、Origin 8、SPSS 16.0 和 Excel 等分析软件对试验数据进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 酶解时间对北沙参多糖提取率的影响 由图 1 可知,随着酶解时间的增加,提取率总体呈先增后减趋势,酶解 3 h 时提取率达峰值,可能是随着酶解时间的增长,酶解作用充分发挥,使得提取率增大,但时间过长,部分多糖被酶解导致提取率降低。因此,选择酶解 3 h。

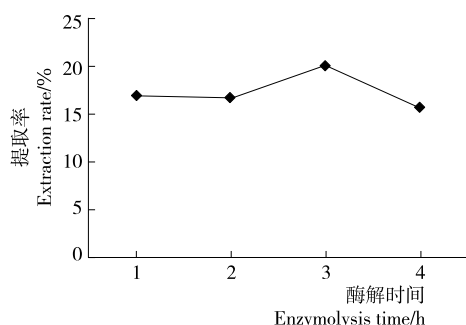


图 1 酶解时间对北沙参多糖提取率的影响

Figure 1 Effect of enzymolysis time on the extraction rate of polysaccharide from *Glehniae Radix*

2.1.2 酶解温度对北沙参多糖提取率的影响 由图 2 可知,30~70 °C 时提取率随酶解温度的升高而上升;温度继续升高,提取率下降。随着温度的升高,多糖在溶剂中的溶解度、扩散系数增大,提取率增加;温度过高,多糖结构受到破坏,且酶逐渐失活,提取率降低。因此,选择酶解温度为 70 °C。

2.1.3 液料比对北沙参多糖提取率的影响 由图 3 可知,当液料比为 30 : 1 (mL/g) 时,提取率最高,继续增大液料比,提取率反而降低,其原因可能与液料比过高不利于多糖溶出有关。因此,选择液料比为 30 : 1 (mL/g)。

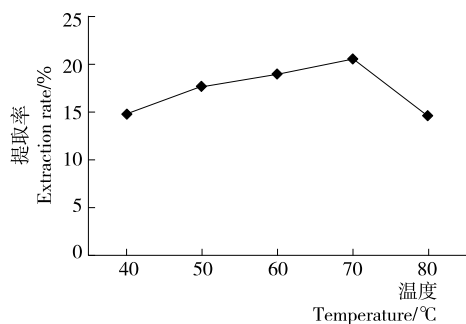


图 2 酶解温度对北沙参多糖提取率的影响

Figure 2 Effect of enzymolysis temperature on the extraction rate of polysaccharide from *Glehniae Radix*

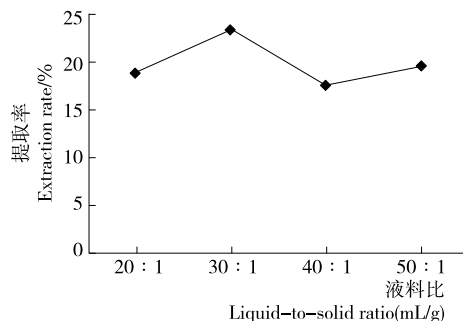


图 3 液料比对北沙参多糖提取率的影响

Figure 3 Effect of liquid-to-solid ratio on extraction rate of polysaccharide from *Glehniae Radix*

2.1.4 酶添加量对北沙参多糖提取率的影响 由图 4 可知,北沙参多糖提取率随着酶添加量的增加先上升后下降,当酶添加量为 3% 时,提取率最高,可能是在一定范围内,增加酶的用量有利于水解植物细胞组织,从而利于多糖的溶出;当酶添加量继续增加时,北沙参多糖被过量的纤维素酶和木瓜蛋白酶降解,导致提取率降低。因此,选择酶添加量为 3%。

2.1.5 纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比对多糖提取率的影响 由图 5 可知,当纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比为 3 : 1 时,多糖提取率最高达 21.9% ;当纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比为 1 : 3 时,多糖提取率最低为 12.7% ,二者之

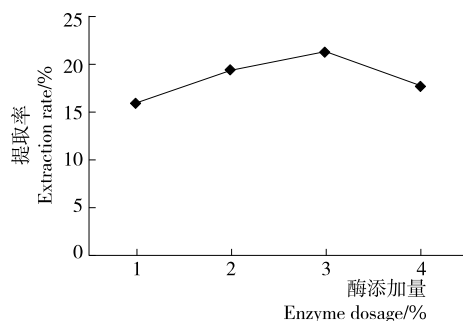


图 4 酶添加量对多糖提取率的影响

Figure 4 The effect of enzyme addition on the extraction rate of polysaccharide from *Glehniae Radix*

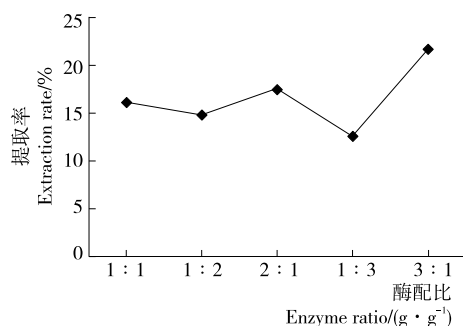


图 5 酶比对多糖提取率的影响

Figure 5 The effect of enzyme ratio on the extraction rate of polysaccharide from *Glehniae Radix*

间存在显著差异。可能是酶种类不同,作用位点不同,纤维素酶可水解细胞壁,木瓜蛋白酶可水解蛋白质,有助于多糖溶出,当二者以适当比例复合时,才能显著提高多糖提取率。因此,选择纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比为 3:1。

2.2 Box-Behnken 试验结果

采用 Box-Behnken Design 试验设计方法,通过响应面分析寻求最优工艺参数^[18]。根据单因素试验结果,确定多糖酶解时间、液料比、酶添加量的各项参数水平(见表 1)。采用 Box-Behnken 设计对北沙参多糖提取进行工艺优化,结果见表 2。

由软件分析所得各因素和响应值关系的二次多元回归方程为:

$$Y = 22.23 + 0.069A + 0.17B - 0.71C - 0.34AB + 0.93AC + 0.40BC - 1.36A^2 - 2.26B^2 - 2.12C^2。$$
 (2)

由表 3 可知,模型 $P=0.017\ 6<0.05$,说明模型具有显著性;模型失拟项 $P>0.05$,表明试验和模型拟合较好; $R^2_{\text{Adj}}=0.868\ 9$,说明模型误差较小,能较好地反映各因素

表 1 Box-Behnken 试验设计因素水平表

Table 1 Box-Behnken experimental design factor level table

水平	A 酶解时间/h	B 液料比(mL/g)	C 酶添加量/%
-1	2.5	25:1	2.5
0	3.0	30:1	3.0
1	3.5	35:1	3.5

表 2 试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results

试验号	A	B	C	多糖提取率/%
1	1	-1	0	19.40
2	-1	0	-1	20.70
3	0	-1	1	16.40
4	0	-1	-1	19.60
5	0	1	-1	18.50
6	1	1	0	19.70
7	0	0	0	22.30
8	0	0	0	22.30
9	0	0	0	22.30
10	1	0	1	18.67
11	0	0	0	22.23
12	-1	-1	0	16.85
13	1	0	-1	17.23
14	0	0	0	22.23
15	0	1	1	16.88
16	-1	0	1	18.41
17	-1	1	0	18.49

表 3 回归模型方差分析[†]

Table 3 Variance analysis of regression models

方差来源	平方和	自由度	标准误差	F 值	P 值	显著性
模型	62.46	9	6.94	5.49	0.017 6	*
A	0.04	1	0.04	0.03	0.866 4	
B	0.22	1	0.22	0.17	0.690 5	
C	4.03	1	4.03	3.18	0.117 5	
AB	0.45	1	0.45	0.36	0.570 0	
AC	3.49	1	3.49	2.76	0.140 7	
BC	0.62	1	0.62	0.49	0.505 0	
A ²	7.75	1	7.75	6.13	0.042 4	*
B ²	21.57	1	21.57	17.06	0.004 4	**
C ²	18.96	1	18.96	15.00	0.006 1	**
残差	8.85	7	1.26			
失拟项	8.85	3	2.95	2.70	0.181 0	
误差	2.07	4	0.52			
总和	71.31	16				

[†] $R^2_{\text{Adj}}=0.868\ 9$; $R^2=0.942\ 6$; * 表示显著; ** 表示极显著。

与多糖提取率之间的关系; $R^2=0.942\ 6$,表明回归方程能较好地描述单因素与响应值之间的关系,可以用此模型来分析和精确预测北沙参多糖提取工艺条件^[19]。各因素对多糖提取率影响大小关系为酶添加量>液料比>酶解时间。

2.3 等高线图和响应曲面图

由图 6~8 可知,各等高线图均呈椭圆形,说明酶解时间与液料比、酶解时间与酶添加量、液料比与酶添加量之间存在交互作用。

2.4 模型的验证

通过 Design-Expert 8.0 软件分析,北沙参多糖提取的最佳工艺条件为酶解时间 2.98 h,液料比 30.12:1 (mL/g),酶添加量 2.91%,为检测该法的可靠性,考虑到实际操作的便利,最优工艺修正为酶解时间 3 h,液料比 30:1 (mL/g),酶添加量 3%,进行 3 次验证实验,北沙参多糖提取率为 $(22.04 \pm 0.23)\%$,与预测值 22.30% 相差 0.25%,说明用该模型对北沙参多糖的提取进行工艺优化具有一定的实际可操作性。该条件下的北沙参多糖提取率(22.04%)高于课题组前期研究^[6]的(12.13%),说明复合酶法提取多糖,有更好的协同作用,效率更高。

2.5 北沙参粗多糖分离纯化

由图 9 可知,蒸馏水和 NaCl 作为洗脱相,均有一个洗脱峰,分别命名为 GLP-E1、GLP-E2。

2.6 GLP-E、GLP-E1、GLP-E2 理化性质分析

2.6.1 红外光谱 由图 10 可知,GLP-E、GLP-E1、GLP-E2 均具有多糖的特征吸收峰。 $3\ 400\ \text{cm}^{-1}$ 处为多糖分子

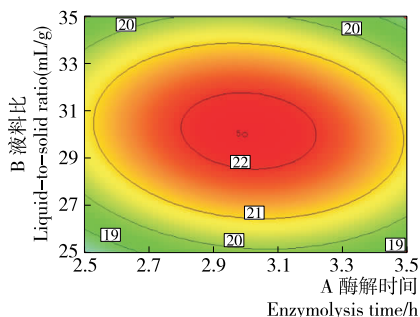


图6 酶解时间与液料比对多糖提取率的交互作用

Figure 6 Contour plots and response surface plots of enzymatic hydrolysis time and liquid-to-solid ratio on extraction rate of polysaccharides

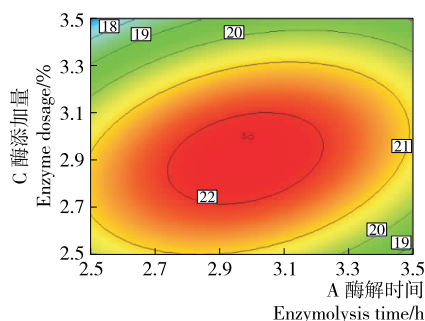
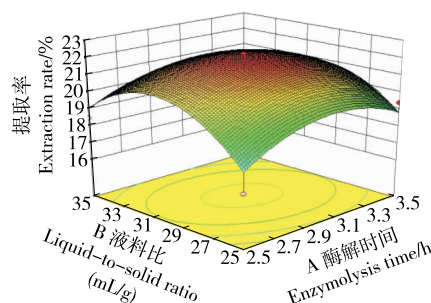


图7 酶解时间与酶添加量对多糖提取率的交互作用

Figure 7 Contour plots and response surface plots of enzymolysis time and enzyme additions on extraction rate of polysaccharides

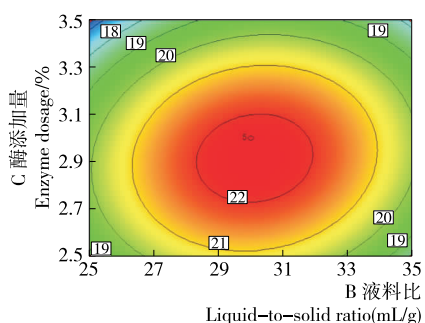
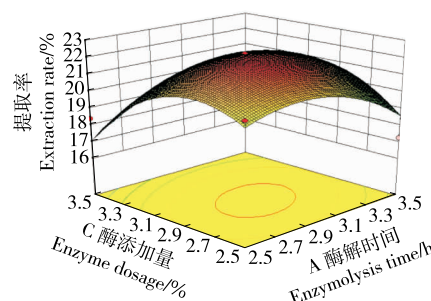
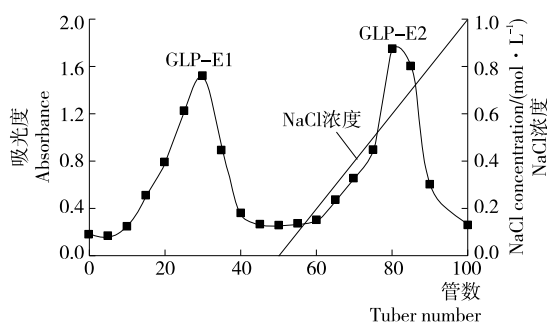
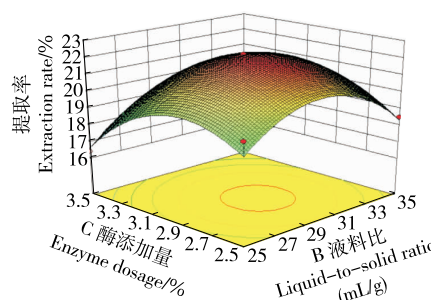


图8 液料比与酶添加量对多糖提取率的交互作用

Figure 8 Contour plot and response surface plot of the effect of the liquid-to-solid ratio and the amount of enzyme added on the polysaccharide extraction rate

图9 北沙参粗多糖 DEAE-52 纤维素洗脱曲线图
Figure 9 Elution curve of crude polysaccharide DEAE-52 from *Glehniae Radix*

中—OH 伸缩振动; $2\,900\text{ cm}^{-1}$ 处为多糖分子中 C—H 键的伸缩振动引起的; $1\,600\text{ cm}^{-1}$ 处为 C=O 的伸缩振动吸收峰; $1\,400\text{ cm}^{-1}$ 处为 C—H 的弯曲振动; $1\,250\sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 处是 C—O 的伸缩振动吸收; 850 cm^{-1} 处吸收峰^[20] 及 $1\,010, 1\,080, 1\,160\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰表明为 α -吡喃糖; 由此可见, GLP-E 经 DEAE-52 纯化后, 多糖的特征吸收峰未发生明显变化。

2.6.2 单糖组成 由图 11 可知, GLP-E 由 GlcA、Glc、Gal 和 Ara 组成; GLP-E1 由 GlcA、Glc、Gal 和 Ara 组成; GLP-E2 由 Glc 组成。

2.6.3 相对分子质量 由图 12 可知, GLP-E 具有 3 个吸

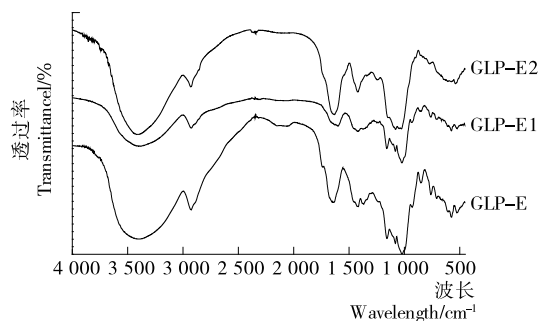


图 10 GLP-E、GLP-E1、GLP-E2 红外图谱

Figure 10 Infrared spectrum of GLP-E, GLP-E1, GLP-E2

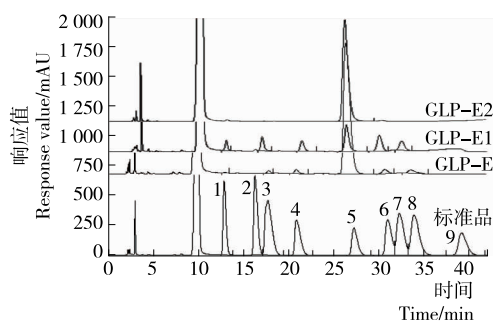
1. Man 2. Rha 3. GlcA 4. GalA 5. Glc 6. Gal 7. Xyl
8. Ara 9. Fuc

图 11 标准品及 GLP-E、GLP-E1、GLP-E2 高效液相色谱图

Figure 11 HPLC of Standard and GLP-E, GLP-E1, GLP-E2

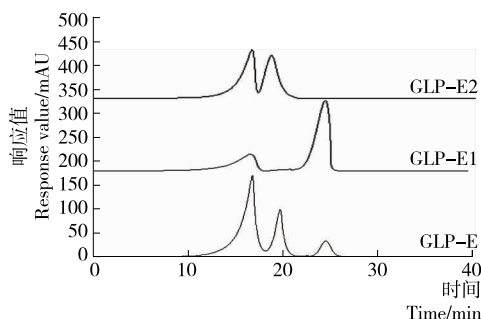


图 12 GLP-E、GLP-E1、GLP-E2 相对分子质量分布图

Figure 12 Molecular weight distribution of GLP-E, GLP-E1, GLP-E2

收峰,相对分子质量分别为 4 662.98, 376.89, 10.40 kDa; GLP-E1 具有 2 个吸收峰,相对分子质量分别为 4 221.45, 377.96 kDa; GLP-E2 具有 2 个吸收峰,相对分子质量分别为 4 626.41, 10.24 kDa。由此可见, GLP-E、GLP-E1 和 GLP-E2 为非均一多糖。

2.7 体外抗氧化活性

由图 13 可知,在 0~8 mg/mL 浓度范围内, GLP-E、GLP-E1、GLP-E2 对 DPPH 自由基有一定的清除作用,且

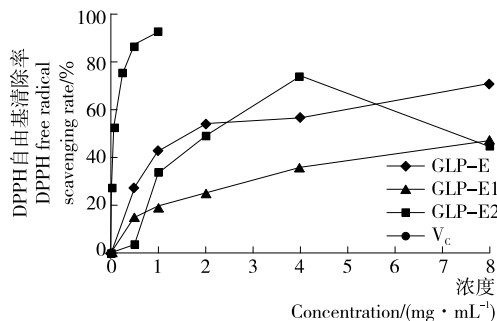


图 13 GLP-E、GLP-E1 和 GLP-E2 对

DPPH 自由基的清除作用

Figure 13 Scavenging effect of GLP-E, GLP-E1 and GLP-E2 on DPPH

呈浓度依赖性。三者清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值分别为 1.918, 7.422, 3.392 mg/mL, 清除能力大小为 GLP-E > GLP-E2 > GLP-E1, 优于超声波辅助提取法的 (1.99 mg/mL)^[7] 和纤维素酶法的 (6.317 mg/mL)^[8], 但均低于阳性对照 V_c (IC_{50} 为 0.005 mg/mL) 的清除能力。

李亚辉等^[21] 研究表明复合酶提取的多糖对 DPPH 自由基和羟基自由基的清除作用均略大于同质量浓度的 V_c 。故复合酶法提取的多糖具有较好的抗氧化作用, 可能由于: ① 双重酶解作用, 有利于多糖的溶出; ② 提取时间短、条件温和, 对多糖的结构破坏较小; ③ 木瓜蛋白酶水解蛋白质, 多糖溶出的同时, 提高了多糖的纯度^[22]。

3 结论

通过单因素试验及响应面综合分析, 得到复合酶法提取北沙参多糖的最优提取工艺为酶解温度 70 °C, 酶解时间 3 h, 液料比 30 : 1 (mL/g), 酶添加量 3%, 纤维素酶与木瓜蛋白酶质量比 3 : 1, 此条件下的提取率为 (22.04 ± 0.23) %。经 DEAE-52 纤维素纯化后得到两个组分, GLP-E1 与 GLP-E2。GLP-E 由 GlcA、Glc、Gal 和 Ara 组成, 相对分子质量分别为 4 662.98, 376.88, 10.40 kDa; GLP-E1 由 GlcA、Glc、Gal 和 Ara 组成, 相对分子质量分别为 4 221.45, 377.96 kDa; GLP-E2 由 Glc 组成, 相对分子质量分别为 4 626.41, 10.24 kDa; 且 3 种组分均表现出一定的清除 DPPH 自由基的能力, 其 IC_{50} 值分别为 1.918, 7.422, 3.392 mg/mL。后期将对北沙参多糖的结构特征及体内抗氧化活性进行研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 100.
- [2] 任浩娜. 中药北沙参多糖与单糖组成和含量测定方法研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008: 8-9.
- [3] 周红英, 吕莎. 微波辅助提取北沙参多糖工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(12): 62-65.

- [4] 相美容, 王朋展, 蒋海强, 等. 星点设计: 响应面法优化热水浸提北沙参多糖的工艺研究[J]. 山东中医杂志, 2017, 36(1): 66-71.
- [5] 申玉香, 刘红霞, 李洪山, 等. 北沙参粗多糖水提工艺优化研究[J]. 食品安全导刊, 2016(3): 123-125.
- [6] 景永帅, 苏蕾, 韩钰, 等. 北沙参多糖的提取工艺、理化性质及生物活性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(6): 152-157.
- [7] 景永帅, 张丹参, 张瑞娟, 等. 提取方法对北沙参多糖性质及生物活性的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(10): 149-153.
- [8] ZHANG Jiao, JIA Shao-yi, LIU Yong, et al. Optimization of enzyme-assisted extraction of the *Lycium barbarum* polysaccharides using response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(2): 1 089-1 092.
- [9] YOU Qing-hong, YIN Xiu-lian, ZHAO Yu-ping, et al. Enzyme assisted extraction of polysaccharides from the fruit of *Cornus officinalis*[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(1): 607-610.
- [10] 董丽辉, 范三辉, 凌庆枝, 等. 酶法提取亮菌多糖的研究[J]. 中国酿造, 2012, 31(4): 51-54.
- [11] 熊欣, 李楠, 姜晓野, 等. 木瓜蛋白酶辅助提取裙带菜孢子叶多糖的工艺[J]. 食品工业, 2017, 38(11): 108-113.
- [12] 苑璐, 冷凯良, 周余航, 等. 复合酶解法优化黄精多糖提取工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(9): 996-1 001.
- [13] JING Yong-shuai, CUI Xin-lu, CHEN Zhi-yan, et al. Elucidation and biological activities of a new polysaccharide from cultured *Cordyceps militaris*[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 102: 288-296.
- [14] 王少杰, 巴娟, 张勇军, 等. 白术多糖的分子量及其单糖组成分析[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(5): 26-32.
- [15] 周彦强, 吴光斌, 陈发河. PMP 柱前衍生化 HPLC 法测定黄秋葵多糖的单糖组成[J]. 食品科学, 2019, 40(4): 266-271.
- [16] JING Yong-shuai, ZHU Jian-hua, LIU Ting, et al. Structural characterization and biological activities of a novel polysaccharide from cultured *Cordyceps militaris* and its sulfated derivative[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(13): 3 464-3 471.
- [17] 潘莹, 许经纬. 冬枣多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2016, 37(13): 89-94.
- [18] 李莉, 张赛, 何强, 等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(8): 41-45.
- [19] 景永帅, 吴兰芳, 王乾, 等. 远志多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(5): 152-156, 193.
- [20] JING Yong-shuai, HUANG Li-jiao, LV Wen-jie, et al. Structure characterization of a novel polysaccharide from pulp tissues of *Litchi chinensis* and its immunomodulatory activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(4): 902-911.
- [21] 陈义勇, 黄友如, 刘晶晶, 等. 桦褐孔菌多糖 IOP3a 的性质及其构象研究[J]. 食品工业, 2013, 34(6): 134-137.
- [22] 张水花, 李本鸿. 微波辅助提取油黄口蘑多糖工艺及其体外抗氧化性研究[J]. 北方园艺, 2018, 42(20): 120-124.
- (上接第 69 页)
- [21] HU Xi-wei, LONG Yu, FAN Meng-ying, et al. Two-dimensional covalent organic frameworks as self-template derived nitrogen-doped carbon nanosheets for eco-friendly metal-free catalysis[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2019, 244: 25-35.
- [22] MU Zhen-jie, DING Xue-song, CHEN Zhi-yan, et al. Zwitterionic covalent organic frameworks as catalysts for hierarchical reduction of CO₂ with amine and hydrosilane[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(48): 41 350-41 358.
- [23] PACHFULE P, ACHARIYA A, ROESER J, et al. Diacetylene functionalized covalent organic framework (COF) for photocatalytic hydrogen generation[J]. Journal of the American Chemical Society, 2018, 140(4): 1 423-1 427.
- [24] GAO Qiang, LI Xing, NING Guo-hong, et al. Highly photoluminescent two-dimensional imine-based covalent organic frameworks for chemical sensing[J]. Chemical Communications, 2018, 54(19): 2 349-2 352.
- [25] SINGH H, TOMER V K, JENA N, et al. A porous, crystalline truxene-based covalent organic framework and its application in humidity sensing[J]. Journal of Materials Chemistry A, 2017, 5(41): 21 820-21 827.
- [26] GUO Xing-hua, TIAN Yin, ZHANG Mei-cheng, et al. Mechanistic insight into hydrogen-bond-controlled crystallinity and adsorption property of covalent organic frameworks from flexible building blocks[J]. Chemistry of Materials, 2018, 30(7): 2 299-2 308.
- [27] LI Yang, YANG Cheng-xiong, YAN Xiu-ping. Controllable preparation of core-shell magnetic covalent-organic framework nanospheres for efficient adsorption and removal of bisphenols in aqueous solution[J]. Chemical Communications, 2017, 53(16): 2 511-2 514.
- [28] TAN Wang, GUO Xing-hua, ZHANG Shun, et al. Synthesis of nitrogen-rich covalent organic framework and its adsorption property for volatile iodine[J]. Scientia Sinica Chimica, 2018, 49(1): 207-214.
- [29] LI Na, DU Jun-jie, WU Di, et al. Recent advances in facile synthesis and applications of covalent organic framework materials as superior adsorbents in sample pretreatment[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2018, 108: 154-166.
- [30] 明美廷, 王轩, 叶能胜. 共价有机骨架材料在样品前处理中的应用[J]. 分析仪器, 2018(3): 1-10.
- [31] DENG Yong-hui, CAI Yue, SUN Zhen-kun, et al. Multifunctional mesoporous composite microspheres with well-designed nanostructure: A highly integrated catalyst system[J]. Journal of the American Chemical Society, 2010, 132(24): 8 466-8 473.