

裸藻多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究

Optimization of the extraction process of polysaccharides from euglena and its antioxidant activity

葛智超¹ 李燕^{1,2} 施文正¹ 郎蒙¹

GE Zhi-chao¹ LI Yan^{1,2} SHI Wen-zheng¹ LANG Meng¹

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306)

(1. College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China)

摘要:以裸藻为原料,考察超声功率、超声时间、酶解时间、酶添加量4个因素对超声波辅助酶法提取裸藻多糖得率的影响。结果表明,最佳提取工艺为超声功率360 W,超声时间19 min,中性蛋白酶添加量3.7%,酶解时间3.5 h,该条件下的多糖得率为3.68%。采用超滤法对裸藻多糖进行分级,得到3~5, 5~10, >10 kDa 3个不同分子量段的裸藻多糖。抗氧化活性分析表明,3~5 kDa的羟基自由基清除能力、超氧阴离子清除能力、Fe²⁺螯合能力、还原力最强,>10 kDa的脂质过氧化抑制能力最强,各分子量段裸藻多糖均无DPPH自由基清除能力。

关键词:裸藻多糖;超声波;酶解;响应面;抗氧化

Abstract: Taking the euglena as the raw material, the extraction of euglena polysaccharide by ultrasonic-assisted enzymatic method and the optimal extraction conditions were studied, from the ultrasonic power, ultrasonic time, enzymolysis time, and enzyme concentration by response surface analysis(RSA) based on single factor tests. The results showed that the optimal process parameters were: ultrasonic power 360 W, ultrasonic time 19 min, neutral protease addition 3.7%, enzymatic hydrolysis time 3.5 h. Under the conditions, the yield of euglena polysaccharide reached 3.68%. The euglena polysaccharide (EGPS) was separated to three different ranges of molecular weight by ultra-filtration membrane, which were 35, 510 and >10 kDa, and the antioxidant activity of three EGPSs were analyzed. The results showed that, 35 kDa has better hydroxyl radical scavenging ability, superoxide anion scavenging ability, Fe²⁺ chelation ability,

reducing power, and more than 10 kDa has better lipid peroxidation inhibition ability, none of the EGPSs has DPPH freedom.

Keywords: euglena polysaccharide; ultrasonic; enzymolysis; response surface analysis; antioxidant

裸藻是古代原生动物眼虫的植物学名称,其细胞含有叶绿体,可进行光合作用,同时具有动物与植物两种特性。因无细胞壁,裸藻有高达93.1%的高效吸收率,可有效吸收营营养。裸藻中含有丰富的营养成分,如维生素、矿物营养物、不饱和脂肪酸、多糖等。还具有清除有害胆固醇、重金属,解决便秘、宿便的功能^[1]。多糖具有抗癌、抗病毒、抗衰老、降血糖、降血脂、抑菌等功能,而有关裸藻多糖(Euglena Gracilis Polyccharides, EGPS)的研究报道较少。

目前,多糖的提取方法主要有传统热水提取法、碱提法、酸提法、超声波提取法和酶工程提取法。传统热水提取法耗时、耗能且得率较低^[2],碱提法和酸提法容易断裂多糖的糖苷键,导致结构和活性改变^[3]。利用超声波的空化作用使细胞易于破碎,有助于多糖溶出,而酶工程技术可在较温和的条件下分解组织,加速多糖的释放和提取^[4]。这两种方法具有高效、节能等特点,已被广泛用于动植物有效成分的提取。试验拟以裸藻为原料,采用超声波辅助酶解对裸藻多糖提取工艺进行优化,并分析其抗氧化活性,为裸藻多糖的进一步开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

裸藻粉:德味生物科技(上海)有限公司;

枯草杆菌中性蛋白酶:酶活 2.8×10^5 U/g,上海源叶生物科技有限公司;

无水乙醇、三氯乙酸、重蒸酚、铁氰化钾、浓硫酸、三氯化铁、菲罗嗪、L-抗坏血酸、过氧化氢、水杨酸等:分析

基金项目:蓝色粮仓科技创新项目(编号:2019YFD0902000)

作者简介:葛智超,女,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:李燕(1965—),女,上海海洋大学教授,硕士。

E-mail: liyan@shou.edu.cn

收稿日期:2019-11-26

纯,国药集团化学试剂有限公司;

抗超氧阴离子自由基试剂盒:南京建成生物科技有限责任公司;

超滤杯、超滤膜:MSC300,上海摩速科学器材有限公司;
2,2-联苯基-1-苦基肼基:纯度>98%,美国 Sigma 公司。

1.1.2 仪器与设备

真空冷冻干燥箱:CHRIST ALPHA1-2 型,北京博励行仪器有限公司;

冷冻离心机:GL-20G-11 型,上海安亭科学仪器厂;

紫外分光光度计:UV-2000 型,北京普析通用仪器有限责任公司;

超声波处理器:FS-1200N 型,上海生析超声仪器有限公司;

旋转蒸发仪:RE-52AA 型,上海亚荣生化仪器厂。

1.2 试验方法

1.2.1 超声波辅助酶解提取工艺 取一定量的裸藻粉末,按料液比 1:40 (g/mL)加入 pH 7 的磷酸盐缓冲溶液,在一定的超声功率下处理相应时间后加入中性蛋白酶,50 °C 下酶解一定时间,离心,取上清液,旋转蒸发后的浓缩液加入 8 倍体积的无水乙醇,静置 24 h,TCA 法除蛋白,冷冻干燥得裸藻粗多糖。

1.2.2 裸藻多糖含量测定 采用苯酚—硫酸法^[5]测定多糖含量,葡萄糖标准曲线方程为 $A = 0.0156c$, $R^2 = 0.9972$ 。按式(1)计算裸藻多糖得率。

$$W = \frac{c \times 10^{-3} \times n \times V}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——多糖质量浓度, $\mu\text{g/mL}$;

V ——总体积, mL;

n ——稀释倍数;

M ——原料质量, mg。

1.2.3 单因素试验设计

(1) 超声功率:超声时间 25 min、中性蛋白酶添加量 5%、酶解时间 5 h,考察超声功率(120, 240, 360, 480, 600 W)对裸藻多糖得率的影响。

(2) 超声时间:超声功率 360 W、中性蛋白酶添加量 5%、酶解时间 5 h,考察超声时间(5, 15, 25, 35, 45 min)对裸藻多糖得率的影响。

(3) 中性蛋白酶:超声功率 360 W、超声时间 25 min、酶解时间 5 h,考察中性蛋白酶添加量(0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%)对裸藻多糖得率的影响。

(4) 酶解时间:超声功率 360 W、超声时间 25 min、中性蛋白酶添加量 5%,考察酶解时间(2, 3, 4, 5, 6 h)对裸藻多糖得率的影响。

1.2.4 响应面试验设计 在单因素试验基础上根据 SPSS 显著性差异分析($P < 0.05$),以超声时间、中性蛋白

酶添加量、酶解时间为试验因素,以多糖得率为响应值,设计三因素三水平响应面试验优化裸藻多糖提取工艺条件。

1.2.5 不同分子量段的裸藻多糖的制备 将裸藻粗多糖溶解,经超滤分离得>10(EGPS-1), 5~10(EGPS-2), 3~5(EGPS-3) kDa 3 个分子量段裸藻多糖溶液,冷冻干燥备用。

1.2.6 不同分子量段裸藻多糖的抗氧化分析

(1) 超氧阴离子自由基清除率的测定:参照抗超氧阴离子试剂盒说明书进行测定^[6]。

(2) DPPH 自由基清除率的测定:参照 Xie 等^[7]的方法。

(3) 羟基自由基清除率的测定:参照邵佳等^[8]的方法。

(4) Fe^{2+} 整合率的测定:参照万茜淋等^[9]的方法。

(5) 还原力的测定:参照 Sun 等^[10]的方法。

(6) 脂质过氧化抑制率的测定:参照 Khan 等^[11]的方法。

1.3 数据处理

采用 SPASS 20 对试验所得数据进行显著性差异分析(用不同字母表示),单因素试验、抗氧化试验采用 Origin 8.0 作图,响应面优化采用 Design-Expert 8.0.6。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 超声功率 由图 1 可知,多糖得率随超声功率的增强缓慢提高,当超声功率为 360 W 时,多糖得率达到 3.08%,继续增大超声功率,多糖得率趋于平稳。功率过大会使多糖的糖苷键断裂,转变为可溶于乙醇的单糖、寡糖或低聚糖,导致醇沉过程中的多糖得率下降^[12]。因此,最佳超声功率为 360 W。

2.1.2 超声时间 由图 2 可知,多糖得率在超声 5~15 min 内显著提升,随后趋于平缓。超声波作用时间太长,空化效应的作用力进一步破坏提取物中部分多糖的

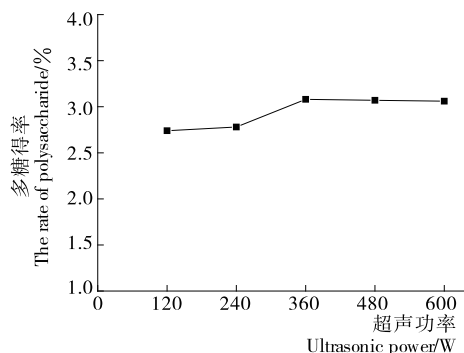


图 1 超声功率对多糖得率的影响

Figure 1 The effect of ultrasonic power on the yield of polysaccharide

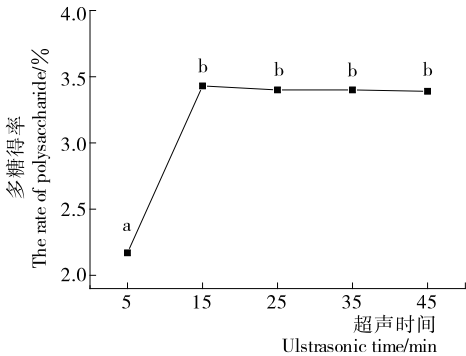


图 2 超声时间对多糖得率的影响

Figure 2 The effect of ultrasonic time on the yield of polysaccharide

糖链,导致醇沉过程中多糖得率下降^[13]。故最佳超声时间为 15 min。

2.1.3 酶解时间 由图 3 可知,多糖得率随酶解时间的延长(前 3 h 内)呈上升趋势,表明与糖结合的蛋白质逐步被水解,有利于多糖的释放溶出^[14]。而随着酶解时间(3 h 后)的继续延长,中性蛋白酶活性逐步减弱,裸藻多糖得率提升不明显,与叶洵璐等^[14]的结论相似。故最佳酶解时间为 3 h。

2.1.4 中性蛋白酶添加量 由图 4 可知,多糖得率随中

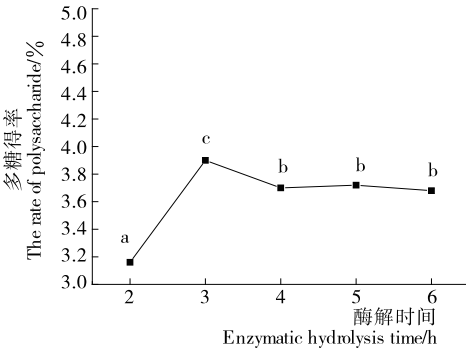


图 3 酶解时间对多糖得率的影响

Figure 3 The effect of enzymatic hydrolysis time on the yield of polysaccharide

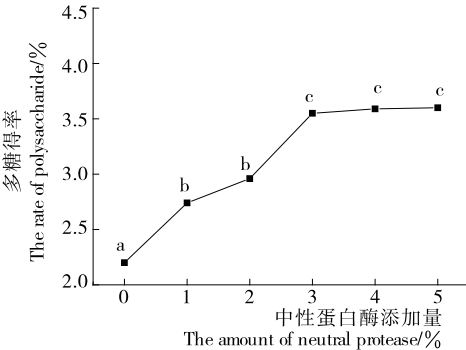


图 4 中性蛋白酶添加量对多糖得率的影响

Figure 4 The effect of the amount of neutral protease on the yield of polysaccharide

性蛋白酶添加量的增加逐渐增大,当中性蛋白酶添加量达 3%后,多糖得率趋于平稳,确定中性蛋白酶的最佳添加量为 3%。

2.2 响应面优化设计

2.2.1 试验设计与结果分析 根据单因素试验结果,以多糖得率为响应值。根据 Box-Behnken 中心组合原理进行响应面设计,试验因素水平表见表 1,试验设计与结果见表 2。

利用 Design-Expert 8.0.6 软件对响应面试验结果进行多元回归拟合,得到以裸藻粗多糖得率(Y)为响应值的二次多项回归方程:

$$Y = 3.66 + 0.16A + 0.18B + 0.24C + 0.14AB - 0.022AC + 0.085BC - 0.37A^2 - 0.24B^2 - 0.39C^2. \quad (2)$$

为检验回归方程中各因素对裸藻多糖得率的影响程度及有效性,对式(2)中的回归方程进行方差分析,结果见表 3。由表 3 可知,回归模型 $P < 0.0001$ 表示该模型线性关系极显著,失拟项 $P = 0.1569 > 0.05$,不显著,说明该

表 1 试验因素、水平及编码

Table 1 Experiment factors, levels and code

水平	A 中性蛋白酶添加量/%	B 酶解时间/h	C 超声时间/min
-1	1	2	5
0	3	3	15
1	5	4	25

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 RSM design matrix and the responses

序号	A	B	C	多糖得率/%
1	0	-1	-1	2.73
2	0	0	0	3.69
3	0	1	1	3.50
4	0	-1	1	2.99
5	1	-1	0	2.88
6	0	1	-1	1.90
7	1	0	1	3.31
8	-1	0	1	3.02
9	-1	-1	0	2.83
10	0	0	0	3.64
11	1	0	-1	2.82
12	0	0	0	3.62
13	0	0	0	3.66
14	0	0	0	3.68
15	-1	1	0	2.96
16	1	1	0	3.53
17	-1	0	-1	2.44

表 3 多糖得率回归模型系数的显著性检验[†]

Table 3 Regression coefficient and ANOVA test of the yield of polysaccharide

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P
模型	2.67	9	0.30	194.02	<0.000 1
A	0.21	1	0.21	140.27	<0.000 1
B	0.27	1	0.27	179.04	<0.000 1
C	0.47	1	0.47	304.46	<0.000 1
AB	0.07	1	0.07	47.67	0.000 2
AC	2.03×10^{-3}	1	2.03×10^{-3}	1.32	0.287 6
BC	0.03	1	0.03	18.90	0.003 4
A ²	0.57	1	0.57	372.35	<0.000 1
B ²	0.23	1	0.23	152.37	<0.000 1
C ²	0.65	1	0.65	424.70	<0.000 1
残差	0.01	7	1.53×10^{-4}		
失拟项	7.43×10^{-3}	3	2.48×10^{-3}	3.02	0.156 9
净误差	3.28×10^{-3}	4	8.20×10^{-4}		
总离差	2.68	16			

[†] $R^2=0.996\ 0, R_{\text{adj}}^2=0.990\ 9, CV\%=1.23$ 。

模型拟合性好;变异系数 $CV\%=1.23<10.00$, 相关系数 $R^2=0.996\ 0$, 校正决定系数 $R_{\text{adj}}^2=0.990\ 9$, 说明该模型可靠, 可用于优化超声波辅助酶法提取裸藻多糖工艺。各因素对裸藻多糖得率的影响程度为超声时间>酶解时间>中性蛋白酶添加量。

2.2.2 试验因素间的交互作用 由图 5~7 可知, 酶解时间与中性蛋白酶添加量之间的相互作用显著, 其次为超声时间与酶解时间的相互作用, 最后是中性蛋白酶添加量与超声时间。通过响应面的陡峭程度^[15]可以看出, 超声时间影响最大, 酶解时间的影响大于中性蛋白酶添加量, 与方差分析结果一致。

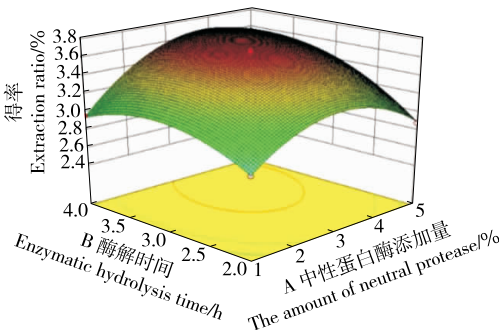


图 5 酶解时间与中性蛋白酶的交互作用对多糖得率的影响

Figure 5 The effects of enzymatic hydrolysis time, neutral protease and its interaction on the yield of polysaccharide

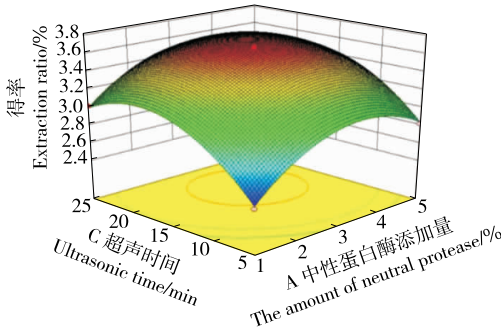


图 6 超声时间与中性蛋白酶添加量的交互作用对多糖得率的影响

Figure 6 The effects of ultrasound time, addition of neutral protease and its interaction on the yield of polysaccharide

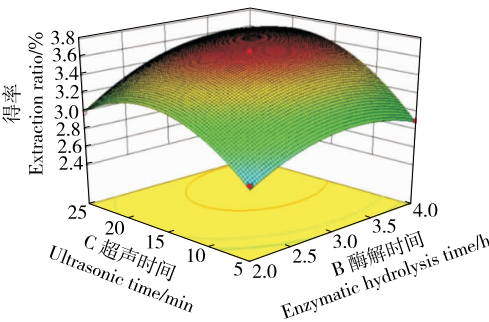


图 7 超声时间与酶解时间的交互作用对多糖得率的影响

Figure 7 The effects of ultrasound time, enzymatic hydrolysis time and its interaction on the yield of polysaccharide

2.2.3 验证实验 经响应面优化法分析得到裸藻多糖的理论工艺条件为超声时间 18.57 min、中性蛋白酶添加量 3.66%、酶解时间 3.55 h, 此条件下多糖得率的预测值为 3.77%。为检验响应面结果的可靠性, 对最优工艺参数进行验证实验 ($n=5$), 根据实际操作情况, 将验证条件修正为超声时间 19 min、中性蛋白酶添加量 3.7%、酶解时间 3.5 h, 此时实测多糖得率为 3.68%, 与预测值相差 0.09%, 证明用所建模型预测裸藻多糖得率是准确可行的。

2.3 不同分子量段裸藻多糖含量分析

超声波辅助酶法制得的裸藻多糖粗提液经超滤膜分离后, 各组分中 EGPS-1、EGPS-2、EGPS-3 含量分别为 42.07%, 21.75%, 26.67%。

2.4 裸藻多糖抗氧化分析

2.4.1 羟基自由基清除率 由图 8 可知, 裸藻多糖对羟基自由基的清除能力随样品浓度增大逐渐增长^[16]。EGPS-1、EGPS-2、EGPS-3 分子量段的裸藻多糖达到 IC_{50} 时的浓度分别为 0.25、0.29、0.23 mg/mL, 其中 EGPS-2 对羟基自由基的清除效果相对较弱。高于陈艺焯等^[17-18]

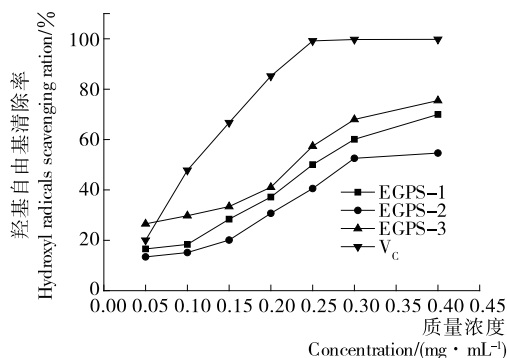


图 8 不同分子量段裸藻多糖对羟基自由基的清除效果
Figure 8 The effect of different molecular weight euglena polysaccharides on hydroxyl radical scavenging

提取的小球藻多糖与羊栖菜多糖。

2.4.2 DPPH 自由基清除率 由图 9 可知,DPPH 自由基清除率随着 V_c 的浓度增加逐渐上升,但试验 3 个组分均无 DPPH 自由基清除效果(清除率均为 0),对比桑叶多糖的 DPPH 自由基清除率较弱^[19],可能是由于两者多糖的结构不同所致。

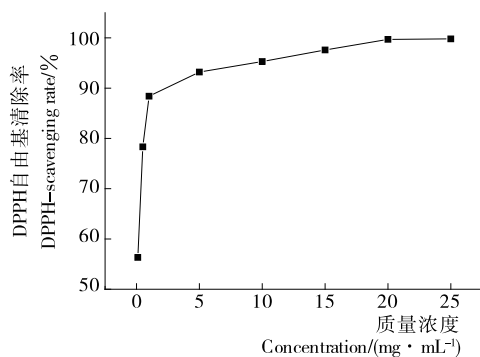


图 9 不同分子量段裸藻多糖对 DPPH 自由基的清除效果
Figure 9 The effect of different molecular weight euglena polysaccharides on DPPH-scavenging scavenging

2.4.3 超氧阴离子自由基清除率 由图 10 可知,超氧阴离子清除率随样品浓度增加逐渐上升^[22],不同分子量段裸藻多糖在 20 mg/mL 后的清除率增长缓慢。EGPS-3 组分的超氧阴离子清除能力较强,且高于其余两段,当浓度为 20 mg/mL 时,EGPS-3 的清除率达 62.12%。高于刘洪超等^[24]制备的羊栖菜多糖的,与殷玲等^[22]制备的巢脾多糖的较为接近。

2.4.4 Fe^{2+} 螯合率 由图 11 可知,裸藻多糖对 Fe^{2+} 螯合能力随样品浓度的升高逐渐增强,当浓度为 0.1 mg/mL 后其螯合能力上升趋势。各个分子量段裸藻多糖对 Fe^{2+} 螯合能力较接近, IC_{50} 为 0.06~0.08 mg/mL,均高于相同浓度下的阳性对照组及李正鹏等^[20]研究的蓝空地花菌多糖,说明各分子量段对 Fe^{2+} 的螯合能力较强。

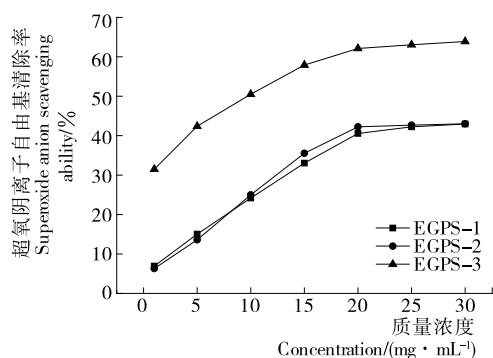


图 10 不同分子量段裸藻多糖对超氧阴离子自由基的清除效果
Figure 10 The effect of different molecular weight of euglena polysaccharides on superoxide anion removal

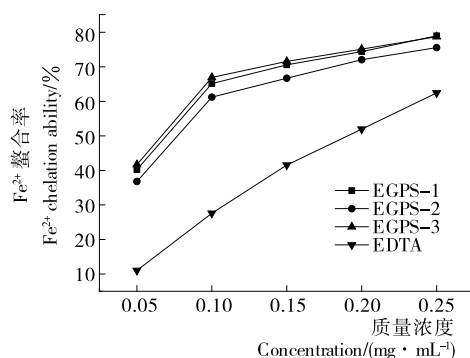


图 11 不同分子量段裸藻多糖对 Fe^{2+} 的螯合能力
Figure 11 The chelating ability of euglena polysaccharides with different molecular weights for Fe^{2+}

2.4.5 还原力 由图 12 可知,EGPS-1、EGPS-3 在 20 mg/mL 时的还原力分别达到 0.593、0.699,随着浓度的进一步增加,还原力缓慢上升;EGPS-2 在 10 mg/mL 时的还原力达 0.170,随后趋于平缓;还原力大小为 EGPS-3>EGPS-1>EGPS-2。张宁等^[21]研究的黑木耳分

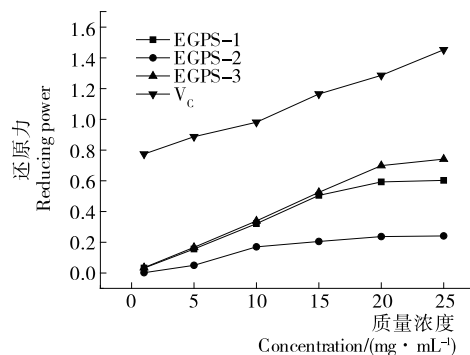


图 12 不同分子量段裸藻多糖的还原力
Figure 12 The reducing power of different molecular weight euglena polysaccharides

级多糖在 20 mg/mL 时的还原力达到最大值(1.023),高于试验结果。

2.4.6 脂质过氧化抑制率 由图 13 可知,脂质过氧化抑制率随样品浓度的增加逐渐上升,不同分子量段裸藻多糖在 30 mg/mL 时的抑制率达到较大值后趋于平稳。EGPS-1、EGPS-3 的 IC_{50} 分别为 28.27、29.90 mg/mL,而 EGPS-2 的脂质过氧化抑制率较弱,在所选范围内并未达到 50%。当浓度为 40 mg/mL 时,EGPS-1、EGPS-2、EGPS-3 的脂质过氧化抑制率分别为 59.08%、32.09%、58.01%,低于张宁等^[22]研究的黑木耳多糖。

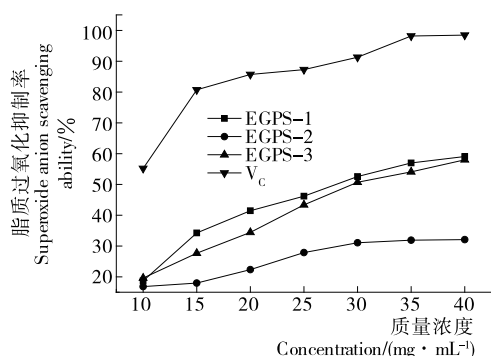


图 13 不同分子量段裸藻多糖对脂质过氧化的抑制效果
Figure 13 The effect of different molecular weight of euglena polysaccharides on lipid peroxidation

3 结论

裸藻多糖的最佳提取工艺为超声时间 19 min,中性蛋白酶添加量 3.7%,酶解时间 3.5 h,该条件下的多糖得率为 3.68%。通过超滤将裸藻多糖分离成 3 个不同分子量段裸藻多糖,并对其进行体外抗氧化试验,得出分子量为 3~5 kDa 的裸藻多糖的综合抗氧化效果较好,其对 Fe^{2+} 螯合率、羟基自由基清除能力、还原力、超氧阴离子自由基清除能力的效果最佳,各分子量段对 DPPH 自由基均无清除效果。后续可通过膜分离、色谱等方法对裸藻多糖进行进一步纯化及结构鉴定。

参考文献

[1] 张彦慧, 张文慧, 姜智飞, 等. 5 种抗生素对纤细裸藻蛋白含量的影响[J]. 河北渔业, 2017(8): 14-16.
[2] BALLESTEROA L F, TEIVERIRA J A, MUSSATTO S I. Extraction of polysaccharides by autohydrolysis of spent coffee grounds and evaluation of their antioxidant activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2017(157): 258-266.
[3] 孙玉军, 李正鹏, 马忠友, 等. 中性蛋白酶法提取富硒羊肚菌菌丝体多糖的研究[J]. 中药材, 2012, 35(9): 1 496-1 500.
[4] LI Xiao-yu, WANG Lu. Effect of extraction method on structure and antioxidant activity of Hohenbuehelia serotina Polysaccharides[J]. International Journal of Biological Mac-

romolecules, 2016(83): 270-276.
[5] 史瑞琴, 李大伟, 梁静静, 等. 响应面法优化小球藻多糖提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(3): 18-23.
[6] 李芙蓉, 施文正, 李燕. 高速逆流色谱法分离制备南极磷虾粉抗氧化肽[J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(2): 305-312.
[7] XIE Jian-hua, XIE Ming-yong, NIE Shou-ping, et al. Isolation, chemical composition and antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide from Cyclocaryapaliurua (Batal.) Iljinskaja[J]. Food Chemistry, 2010, 119(4): 1 626-1 632.
[8] 邵佳, 郁建平, 胡美忠. 草珊瑚水溶性粗多糖提取及抗氧化性能研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 283-286.
[9] 万茜淋, 焦丽丽, 马林, 等. 人参花多糖抗氧化活性研究[J]. 食品安全导刊, 2016(18): 146-149.
[10] SUN Ying-ying, WANG Hui, GUE Gan-lin, et al. The isolation and antioxidant activity of polysaccharides from the marine microalgae isochrysis galbana[J]. Carbohydrate Polymers, 2014(1): 22-31.
[11] KHAN A A, GANI A, MASOODU F A, et al. Structural, thermal, functional, antioxidant & antimicrobial properties of β -D-glucan extracted from baker's yeast (Saccharomyces cerevisiae): Effect of γ -irradiation[J]. Carbohydrate Polymers, 2016(140): 442-450.
[12] 宋坤, 赵保堂, 殷振雄, 等. 籽瓜多糖的提取分离及单糖组成的 GC-MS 分析[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(5): 238-245.
[13] 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.
[14] 清源, 陈甜甜. 块菌多糖复合酶法提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2018, 34(10): 180-184.
[15] 华淘璐, 张一平, 匡群, 等. 酶法结合超声破壁提取香菇水溶性糖和多糖的研究[J]. 食用菌, 2011, 33(2): 54-57.
[16] 孙十凡, 李红梅, 卢环环, 等. 基于全细胞催化合成 NADP 重组细胞复合通透剂的筛选[J]. 工业微生物, 2019, 49(1): 48-53.
[17] 殷玲, 吉挺, 战旭梅, 等. 不同分子量段巢脾多糖理化性质及其抗氧化活性分析[J]. 食品研究与开发, 2018(4): 11-17.
[18] 刘洪超, 应苗苗, 周雨晴, 等. 羊栖菜多糖提取条件优化及其抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(6): 203-207, 213.
[19] 陈艺煊, 刘晓艳, 吴林秀, 等. 蛋白核小球藻多糖的酶解辅助提取及抗氧化活性[J]. 福建农业学报, 2016, 31(5): 508-514.
[20] 王羚佳, 舒晓梦, 辛文, 等. 雅津蛋白桑多糖的分离纯化及生物活性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(3): 180-184, 215.
[21] 李正鹏, 尚耘, 向丽, 等. 蓝孔地花菌多糖的体外抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2014, 35(23): 111-114.
[22] 张宁. 黑木耳分级多糖制备及抗氧化研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011: 23-34.