伸筋草多糖镇痛功效成分的分离鉴定

Isolation and identification of analgesic effects of the Lycopodium japonicum Thunb polysaccharide

田家宝 徐德平

TIAN Jia-bao XU De-ping (江南大学食品学院:江苏 无锡 214122)

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:采用乙醇提取、水提取乙醇沉淀得到伸筋草不同提取物,利用醋酸扭体和热板模型,以小鼠扭体反应时间和舔后足时间为指标,筛选镇痛组分,并通过核磁共振鉴定化学结构。结果表明:伸筋草水提取物具有镇痛作用,经进一步分析筛选得出伸筋草镇痛功效成分为多糖,从粗多糖中得到一个单一组分多糖,通过核磁对其进行结构分析,推测该多糖主链是由 $(1\rightarrow 4)$ - β -葡萄糖组成,2位上连有侧链,6位上连有乙酰基。

关键词:伸筋草;多糖;镇痛;分离;鉴定

Abstract: Explore the analgesic effects and active components of Lycopodium japonicum Thunb. Ethanol extraction, water extraction and ethanol precipitation were used to obtain different extracts of Lycopodium japonicum Thunb. Using acetic acid writhing and hot plate models, using mouse writhing reaction time and licking rear feet time as indicators, the analgesic components were screened and analyzed by nuclear magnetism. The water extract of Lycopodium japonicum Thunb has analgesic effect. After further analysis and screening, it is found that the analgesic components of Lycopodium japonicum Thunb are polysaccharides. A single component polysaccharide is obtained from the crude polysaccharides, and its structure is analyzed by nuclear magnetic field. The main chain of the polysaccharide is composed of $(1\rightarrow 4)$ - β -glucose, with side chains attached to position 2 and acetyl groups attached to position 6.

Keywords: *Lycopodium japonicum* Thunb; polysaccharide; analgesic effect; separate; identification

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(编号: JUSRP21127)

作者简介:田家宝,男,江南大学在读硕士研究生。

通信作者:徐德平(1965一),男,江南大学副教授,博士。

E-mail: xdp1219@sina.com

收稿日期:2020-10-11

伸筋草(Lycopodium japonicum Thunb)为石松科植物石松的干燥全草,民间用于祛风除湿,舒筋活络,关节酸痛,屈伸不利,中老年人常将伸筋草、益智仁、远志混合后泡茶,泡酒,东南沿海地区也常将伸筋草与肉类搭配作为佐料煲汤。现代药理研究[1-3]表明,伸筋草具有镇痛、消炎、调节免疫、清除自由基、参与生物活性的调节等作用。关于伸筋草镇痛作用的报道,国内外目前主要集中在伸筋草粗提物的镇痛作用和伸筋草的化学成分上,如:曾元儿等[4]对伸筋草不同提取部位的药效进行对比研究认为,伸筋草的镇痛功效主要存在于氯仿、正丁醇和水提取部位;李墨娇等[5]对伸筋草的化学成分研究主要集中在三萜类和生物碱上。但关于伸筋草提取物镇痛的具体功效成分未见报道。

试验拟通过小鼠醋酸扭体反应^[6] 和热板模型^[7],利用水提醇沉^[8]和多种层析分离法,筛选和分离伸筋草起镇痛效果的主要组分,以期为其综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

伸筋草:安徽亳州中药市场;

无水葡萄糖、无水乙醇、浓硫酸、苯酚、冰醋酸等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

Sephacry S-400 色谱柱:美国 GE Healthcare 公司; 硅胶板:GF254,山东烟台芝罘化工厂;

Sephadex G-100 色谱柱:瑞典 Pharmaeia 公司;

AB-8 型大孔吸附树脂:天津南开大学化学工厂;

HW-55F色谱柱:日本 TOSOH 公司;

DEAE-纤维素色谱柱:日本 TOSOH 公司;

Ultrahydrogel™ Linear 色谱柱:美国 Waters 公司;

雌雄 ICR 小鼠:体重 $18\sim22$ g,上海斯莱克动物实验有限公司;

试验用水选用去离子水。

1.1.2 主要仪器设备

磨粉机: GLF-205型, 浙江省温州市创立药材器械厂;

紫外分光光度计: UV-2450型, 日本岛津公司; 萃取罐: RAT-100型, 无锡申科仪器有限公司; 恒流泵: SYB106-100型, 天津市科器高新技术公司; 暗室紫外投射仪: ZF-90型, 上海顾顺电光仪器厂; 色谱仪: GPC型, 日本岛津公司;

核磁共振仪: Avance500MHz型,德国 Bruke 公司; 示差检测器: RID-10A型,日本岛津公司。

1.2 试验方法

1.2.1 伸筋草提取物制备与粗分离 将伸筋草粉碎,经 40 目分样筛筛分得 10 kg 伸筋草粉末,与体积分数为 70%的乙醇按料液比($m_{\ell m \bar{n} \bar{n} \bar{n}}$: $V_{Z\bar{m}}$)1:10 (g/mL)混合,置于 100 L 双层反应釜中提取,反应温度设为 65 ℃,匀速搅拌 4 h,静置过滤,依上述步骤重复提取 2 次,减压浓缩^[9]所得滤液,即为伸筋草乙醇提取物,将其于一20 ℃冷冻保存。依上述步骤,伸筋草醇提所得滤渣加入去离子水 100 L,于反应釜中匀速搅拌 4 h,在反应温度 65 ℃的条件下重复提取 2 次,静置 3 h 后抽滤,取滤液减压浓缩至 5 L,合并浓缩液即为伸筋草水提物,4 ℃下冷藏保存。

取适量伸筋草水提物加入 3 倍无水乙醇,边加边搅拌,静置过夜,重复 3 次,过滤得醇沉相(A)、醇溶相(B)。于 AB-8 型大孔树脂柱(10 cm×150 cm)中上适量醇提物,利用梯度洗脱法,以水、40%乙醇、80%乙醇和无水乙醇为洗脱剂顺序洗脱。洗脱过程采用薄层色谱法[10](TLC)检测成分并分为 4 部分,水洗脱(C)、40%乙醇洗脱(D)、80%乙醇洗脱(E)和无水乙醇洗脱(F)部分。将各组分分别减压浓缩后冷冻保存。

1.2.2 伸筋草粗分组分的镇痛作用

- (1) 醋酸扭体测反应发生时间:选取 70 只 4 周龄 SPF 级 ICR 小鼠,雌雄各半,体重(20±2) g。适应性饲养 1 周后,随机分为 7 组,每组 10 只,雌雄各半。试验组为 A、B、C、D、E、F,每日以 1.0 g/kg 剂量灌胃[11],空白对照 为 K,灌同体积的蒸馏水,连续灌胃 3 d,试验前 12 h 禁食不禁水。试验在 23~25 ℃下进行,试验组在灌胃给药1 h 后,腹腔注射体积分数 0.5%醋酸,注射剂量为 0.2 mL/只,试验在注射后开始,10 min 内小鼠第一次扭体出现时间记为反应时间,超过 10 min 以 10 min 记录。
- (2) 热板法测舔足时间: 于热板上测定 ICR 雌性小鼠(18±2) g 舔足阈值^[12],小鼠为 4 周龄 SPF 级,热板温度(55±5) ℃,舔足阈值应在 5~30 s,共选取 70 只分为 7 组,每组 10 只,试验组为 A、B、C、D、E、F,连续 3 d 以每

日 1.0 g/kg 剂量灌胃,去离子水连续 3 d以每日 1.0 g/kg 剂量灌胃,空白对照为 K,试验前 12 h 禁食不禁水。试验在各组小鼠灌胃给药后开始,测定各组小鼠 30,45,60 min 的舔足时间,若 60 s 仍无反应者,将其取出以免烫伤,该鼠以 60 s 计。

1.2.3 醇沉相活性组分的分离 将含有镇痛功效的醇沉相 A 组分减压浓缩后,加入适量的去离子水至适宜体积并上样至 DEAE 柱 (5 cm × 100 cm),流速恒定5 mL/min,洗脱液为去离子水和 0.05,0.10 mol/L 的 NaCl 溶液,自动收集器收集洗脱液每管 10 mL,并采用苯酚硫酸法^[13]检测洗脱液成分,将相同组分收集合并得水洗脱 G,盐洗脱 H。

1.2.4 DEAE 柱不同洗脱组分活性的检测 按 1.2.2 方 法对 DEAE 柱分离得到的 G、H 两个组分展开动物试验, 分析各组镇痛作用。

1.2.5 镇痛活性成分的分离 取 40 mL 具有镇痛活性的 水洗脱组分 G,质量浓度为 40 mg/mL,去离子水以 2 mL/min 洗脱通过 HW-55F(3 cm×100 cm)色谱柱,收集洗脱液每管 10 mL,采用苯酚硫酸法分析组分,将相同组分合并收集。取 40 mL 主要组分 G₁上 Sephacry S-400 (3 cm×100 cm)凝胶色谱柱,质量浓度为 40 mg/mL,去离子水洗脱,流速 2 mL/min,苯酚硫酸法跟踪监测组分。1.2.6 多糖纯度鉴定 多糖 P加水配制 5 mg/mL 溶液,分光光度计于 200~400 nm 测其吸光光度^[14]。于 Sephadex G-100 (3 cm×100 cm)色谱柱中通过多糖 P溶液,去离子水以 2 mL/min 速度洗脱,收集洗脱液采用苯酚硫酸法鉴别纯度。

1.2.7 高效凝胶过滤色谱测定分子量 准确称取 1 mg 多糖 P,加入去离子水配制质量浓度为 5 mg/mL 的多糖 P 溶 液,进 样 量 20 μ L,上 UltrahydrogelTM Linear (7.8 mm× 300 mm) 色谱 柱 测 定 分 子 量^[15],流 速 0.5 mL/min,柱温 40 $^{\circ}$ 。

1.2.8 多糖 P 的结构鉴定 取适量多糖 P,用重水溶解,进行 1 H-NMR、 13 CNMR、 13 DEPT-NRM 光谱数据分析,分析其结构。

1.2.9 统计学处理 整理各组试验数据,采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,试验数据用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,单因素 ANOVA 检验。

2 结果与分析

2.1 伸筋草粗分组分镇痛活性

2.1.1 扭体反应时间 由表 1 可知, 醇溶相 B 组比空白组扭体反应时间显著延长, 镇痛效果显著(P<0.05)。 醇沉相 A 组较空白组, 扭体反应时间显著延长, 镇痛效果极显著(P<0.01), 且 A 组较其他组均有显著性差异(P<0.05), A组中存在具有镇痛功效的成分且能在短时间内

表 1 伸筋草粗分组分对小鼠醋酸扭体反应时间 的影响[†]

Table 1 Effects of each group of Lycopodium

japonicum Thunb on the reaction time of
acetic acid writhing in mice

组别	剂量/(g•kg ⁻¹)	只数/只	醋酸扭体反应时间/s
空白	1	10	267.30 ± 65.28
A	1	10	560.28±70.79 * *
В	1	10	385.74 ± 239.21 *
C	1	10	360.60 ± 126.07
D	1	10	356.34 ± 158.55
E	1	10	238.98 ± 75.70
F	1	10	264.06 ± 70.77

^{† *.} 与空白组相比差异显著(P<0.05); * *. 与空白组相比差异极显著(P<0.01)。

迅速镇痛。其他组较空白组无显著差异,对醋酸扭体反应时间无明显延长,无显著镇痛作用。

2.1.2 热板法测小鼠舔足时间 由表 2 可知,各给药组中,给药 30 min 后,A组小鼠舔足时间明显提高,镇痛效果显著(P<0.01),并且该组在给药 45 min 后舔足时间提高明显,镇痛效果显著(P<0.05),而给药 60 min 后舔足时间略有提高,无显著镇痛效果,说明醇沉相 A 给药 30 min 后镇痛效果最好,随时间的延长镇痛效果减弱。

其他组无显著镇痛效果。结合表 1、表 2 可知, 醇沉相 A 较醇溶相 B 的镇痛效果更好。

2.2 DEAE 色谱柱各洗脱组镇痛效果的检测

由图 1 可知,醇沉相 A 过 DEAE 柱,洗脱曲线中出现 2 个洗脱峰,且只有 G 是水洗脱物,可确定多糖组分主要 存在水洗脱的 G 组,而 NaCl 溶液洗脱部分 H 组含量较少。两组分镇痛效果见表 3、表 4。由表 3 可知,在各给药组中发现 G 组较空白组醋酸扭体反应时间显著延长,有显著镇痛效果(P<0.05)。H 组较空白组,醋酸扭体反应时间有一定的延长作用但无显著性差异,无显著镇痛效果。

由表 4 可知,在各给药组中 G 组在给药 30 min 后,舔足时间提高明显,有极显著的镇痛效果(P < 0.01),在给药 45 min 后舔足时间明显提高,镇痛效果极显著(P < 0.01),在给药 60 min 后,舔足时间提高明显,镇痛效果显著(P < 0.05)。G组在给药 30 min 后镇痛效果最好,随着时间的延长镇痛效果减弱。其他组无显著镇痛效果。

2.3 伸筋草镇痛活性多糖类的分离

2.3.1 凝胶色谱柱分离结果 G组分经 HW-55F 凝胶色谱柱进一步分离得到 G_1 、 G_2 组分,所得洗脱曲线如图 2 所示,将含量极少无法支撑继续分离的 G_2 组分排除,选取含量较大的 G_1 组分进一步分离。 G_1 经 Sephacryl S-400 凝胶色谱柱多次分离纯化,得多糖 P,如图 3 所示,多糖 P有且仅有一对称峰,表明 P 为均一多糖[16]。

表 2 伸筋草粗分组分对小鼠舔足时间的影响†

Table 2 Effects of rough grouping components of Lycopodium japonicum Thunb on licking time (n=10)

组别	剂量/		舔足时间/s				
	$(g \cdot kg^{-1})$	给药前	30 min	45 min	60 min		
空白	1	25.10 ± 4.51	28.60±9.25	29.30±14.08	26.50 ± 10.41		
A	1	21.50 ± 6.13	36.30 ± 9.31 *	36.20 ± 10.50 *	28.00 ± 7.63		
В	1	18.90 ± 6.01	24.70 ± 7.25	25.80 ± 10.30	22.50 ± 8.92		
C	1	20.00 ± 5.94	25.10 ± 4.32	25.70 ± 6.88	27.70 ± 5.83		
D	1	20.00 ± 5.94	22.40 ± 4.84	23.60 ± 5.81	21.60 ± 2.91		
E	1	22.30 ± 6.11	25.50 ± 8.56	26.00 ± 7.86	22.70 ± 9.83		
F	1	21.20 ± 5.96	22.10 ± 6.74	22.00 ± 9.08	19.90 ± 5.26		

^{† *.} 与给药前相比差异显著(P<0.05)。

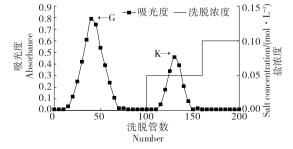


图 1 DEAE 纤维素柱洗脱曲线

Figure 1 Elution curve of DEAE cellulose column

表 3 DEAE 洗脱组分对小鼠醋酸扭体反应时间的影响[†]

Table 3 Effects of DEAE of Lycopodium japonicum

Thunb on the reaction time of acetic acid writhing in mice

组别	剂量/(g•kg ⁻¹)	只数/只	药后出现扭体时间/s
空白	1	10	298.55 ± 143.57
G	1	10	431.01 ± 161.55 *
Н	1	10	372.81 ± 122.98

^{† *.} 与空白组相比差异显著(P<0.05)。

表 4 DEAE 洗脱组分对小鼠舔足时间的影响

Table 4	The effect of	DFAF	elution	components	οn	licking	time	(n = 10)
rabie 4	The effect of	DEAL	erunon	components	OH	HCKIIIg	ume	n-101

组别	剂量/	舔足时间/s					
	$(g \cdot kg^{-1})$	给药前	30 min	45 min	60 min		
空白	1	21.10±5.28	21.30±5.34	20.10±4.04	23.10±7.82		
G	1	21.60 ± 5.38	34.20±4.23 * *	32.80±8.36 * *	$28.60 \pm 5.08^*$		
Н	1	19.30 ± 5.12	19.80 ± 5.31	20.80 ± 6.60	20.90±7.46		

† *. 与给药前相比差异显著(P<0.05); * *. 与给药前相比差异极显著(P<0.01)。

2.3.2 多糖纯度鉴定及其分子量的测定 于 260~280 nm 下,紫外吸光光度显示多糖 P 溶液无吸收峰,可得多糖 P 不含蛋白质和核酸或含量极低,是单一化合物。经高效凝胶渗透色谱测得多糖 P 相对分子量为 3.24×10⁵ Da。

2.3.3 NMR分析 由图 4 可知, δ 4.84,4.78 处为端基 H 信号,由于与重水的峰相互重迭,不能确定 H 信号的积分, δ 1.15 处有一个甲基 H 信号,说明含有甲基,但多糖 H 信号复杂相互重迭难以进一步确定甲基归属。伸筋草 多糖 13 CNMR 如图 5 所示,该多糖在 δ 176.3 处含有一个 羧基,表明为酸性多糖,而在 DEAE 柱用水洗脱下来应为中性多糖, δ 23.1 处有一甲基信号,从化学位移看应为乙酰基的甲基,得出该多糖含有乙酰基。 δ 104.0,101.9,101.4 处有 3 个碳信号,可以判定有 3 个糖残基存在且都为葡萄糖。从 δ 104.0,79.5,77.6,73.4,71.3,63.3 处的碳信号丰度得出,这些碳信号为主链,并以 $1 \rightarrow 4$ 键相连, δ 83.7 处碳信应为 C6 信号,由于化学位移向低场移,推断乙酰基连在该位点。异头碳在 β 构型的化学位移值一

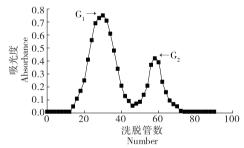


图 2 HW-5F 凝胶柱洗脱曲线

Figure 2 Elution curve of HW-55F gel colum

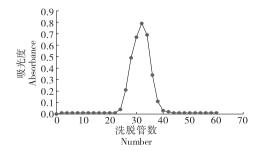


图 3 Sephacryl S-400 凝胶柱洗脱曲线

Figure 3 Elution curve of Sephacryl S-400 gel column

般大于 103, δ 104. 0 处是多糖 P 主链 C1 的化学键位移 值, 所以可推测为 β 构型, 故该多糖为主链为葡萄糖以 $1\rightarrow 4$ 键相连, β 构型, 侧链连在 2 位上。由图 6 可知, δ 69.7 处的碳为 CH_2 信号,表明 C6 位向低场移动,可以得出乙酰基连在 6 位上, 具体结构与数量还需进一步研究。

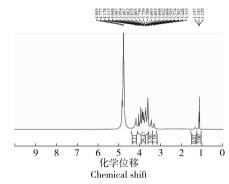


图 4 多糖 P 1 H-NMR 图谱

Figure 4 ¹ H-NMR spectrum of polysaccharide P

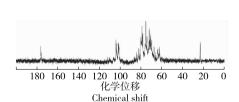


图 5 多糖 P ¹³ CNMR 图谱

Figure 5 13 CNMR spectrum of polysaccharide P

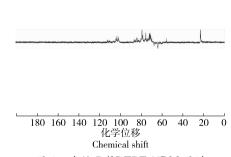


图 6 多糖 P 13 DEPT-NRM 图谱

Figure 6 13 DEPT-NRM spectrum of polysaccharide P

3 结论

伸筋草经水提醇沉后,其醇沉相具有显著的镇痛作用,该组分经 DEAE 柱分离后发现,镇痛功效主要存在于多糖中,对其进一步分离得到 1 个主要多糖 P,通过多糖 P的 13 C-NMR 谱分析可以推测多糖 P的框架是以(1→4)-β-葡萄糖为主链,存在侧链与酰基,且其侧链连在 2 号位,乙酰基连在 6 号位。

有研究^[17]认为伸筋草的氯仿与正丁醇提取部分是起镇痛作用的主要部位。试验结果表明,伸筋草多糖是起镇痛作用的主要成分,有着良好的外周镇痛作用和中枢镇痛作用,主要是因为通过热板法和扭体法观察外周镇痛作用和中枢镇痛作用^[18],发现在此次试验中小鼠热板舔足时间显著提高,醋酸扭体发生时间显著延长。免疫器官指数和免疫细胞因子^[19]的改善可能是伸筋草多糖具有镇痛功效的主要原因,具体机制还需深入研究。

参考文献

- [1] CHEN Ye-gao, YANG Qian, ZHANG Yan. Lycopodium japonicum: A comprehensive review on its phytochemicals and biological activities [J]. Arabian Journal of Chemistry, 2020, 13(5): 5 438-5 450.
- [2] HE Juan, CHEN Xuan-qin, LI Ming-ming, et al. Lycojapodine A, a novel alkaloid from *Lycopodium japonicum* [J]. Organic Letters, 2009, 11(6): 1 397-1 400.
- [3] 杨申明,范树国,王振吉,等. 乙醇回流法提取伸筋草总黄酮工艺及其体外抗氧化活性[J]. 北方园艺,2016(6):
- [4] 曾元儿,叶木荣,徐晖.伸筋草不同提取部位抗炎镇痛药理实验研究[J].时珍国医国药,1999(9):641-642.
- [5] 李墨娇, 刘杰, 张玉波, 等. 伸筋草的化学成分研究[J]. 中草药, 2015, 46(1): 33-37.

- [7] 周殿儒,周游,魏谭军,等. 理气散结颗粒理气调血,散结止痛的药效学作用[J]. 中成药, 2020, 42(2): 484-488.
- [8] 闫旭宇,李玲. 水提醇沉法提取薏米多糖及其对羟自由基的 清除作用[J]. 食品研究与开发,2019,40(18):1-5.
- [9] 侯云飞,徐德平. 仙灵牌改善小鼠睡眠功效成分的分离鉴定[J]. 食品与机械,2019,35(12):146-150.
- [10] 韦卓纯, 黄卫娟, 姚志红, 等. 肿节风高效薄层色谱鉴别[J]. 中成药, 2019, 41(7): 1728-1731.
- [11] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 427-428.
- [12] 陈小野,张宇鵬,蒋小丽,等. 热板法、醋酸扭体法疼痛模型寒、热属性的初步研究[J]. 浙江中医学院学报,2005,29 (4):46-51.
- [13] XI Xiong-gang, WEI Xin-lin, WANG Yuan-feng, et al. Determination of tea polysaccharides in *Camellia sinensis* by a modified phenol-sulfuric acid method[J]. Archives of Biological Sciences, 2010, 62(3): 671-678.
- [14] 刘晓飞,张宇,王薇,等. 发芽糙米中粗多糖的纯化及分子量测定[J]. 食品工业科技,2019,40(2):25-30.
- [15] 安超, 薛文娇, 马赛箭, 等. 高效凝胶色谱法同时测定普鲁 兰多糖生物合成过程中分子量和含量[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(7): 143-148.
- [16] 钱明辉, 达热卓玛, 徐德平. 荞麦蜂花粉多糖 A 的分离及其降血糖活性[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(6): 80-85
- [17] 叶盛英,杨本明,杜欣,等.中药伸筋草研究概况[J]. 药学实践杂志,2009,27(1):18-20.
- [18] 陆怡,朱元章,朱国福,等.中药镇痛机理研究概述[J].世界中医药,2015(4):629-632.
- [19] 潘景芝,金莎,刘雅婧,等. 刺五加多糖镇痛抗炎作用及其 免疫调节机制的研究[J]. 上海中医药杂志,2019,53(10): 74-82.

(上接第119页)

化会直接影响整机漏馅率,参数过高时,甚至会出现包馅破损的情况。同时,考虑到上述参数对整机生产效率的影响,确定推馅气缸气压 P=0.5 MPa 和第 4 驱动电机转速 $n_4=70$ r/min 为最佳参数。

参考文献

- [1] 孙继丰, 迟晓斌. 面向制造和装配的食品机械设计研究[J]. 黑龙江科学, 2019, 10(24): 150-151.
- [2] 刘深,夏培艳.食品机械技术与发展研究:评《食品加工机械与设备》[J].食品工业,2020(5):354.
- [3] 廖志伟. 食品机械设备选型原则及方法分析[J]. 企业技术开发,2018(7):81-82,101.
- [4] 许德群,肖衡. 我国包装与食品机械发展现状及趋势[J]. 食品与机械,2011,29(5):47-50.

- [5] 肖旭霖. 食品机械与设备[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 15-17.
- [6] 崔建云. 食品加工机械与设备[M]. 北京: 中国轻工业出版 社,2004; 32-35.
- [7] DONG Tian-fei. Automatic control of food packaging machinery[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020, 546(5): 1-5.
- [8] JEONG Myeongjin, LEE Myeonggu. Disaster analysis and prevention measures due to food processing machinery[J]. The International Promotion Agency of Culture Technology, 2018, 4(4): 407-412.
- [9] 侯长安, 郑飚, 陈建彬. 多功能一体包馅机: 201510541552.8[P]. 2015-12-16.
- [10] 杜金伟. 面向制造和装配的食品机械设计[J]. 南方农机, 2017(2): 34.