

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90056

红萍多糖结构特征、流变特性及抗氧化活性

Characterization, rheological study and antioxidant activities of polysaccharide from *Azolla*

姚月华¹ 唐 宁¹ 应熙锐² 应朝阳³ 程永强¹YAO Yue-hua¹ TANG Ning¹ YING Xi-rui² YING Chao-yang³ CHENG Yong-qiang¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院植物源功能食品北京市重点实验室, 北京 100083;

2. 福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002; 3. 福建省农业科学院农业生态研究所, 福建 福州 350000)

(1. Beijing Key Laboratory of Functional Food from Plant Resources, College of Food

Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;

3. Agricultural Ecology Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350000, China)

摘要:目的:研究红萍多糖的结构特征、流变特性及抗氧化活性。方法:采用热水浸提法提取红萍多糖,通过凝胶渗透色谱法、傅里叶红外光谱法、扫描电镜等方法对其分子量、单糖组成、基团构成、微观结构、流变特性和抗氧化活性进行研究。结果:红萍多糖为酸性杂多糖,主要由甘露糖、葡萄糖醛酸、半乳糖、木糖、葡萄糖组成。样品具有典型的多糖特征吸收峰,异头碳连接方式为 β -构型。微观层面呈网状结构,分子主要以柔性链的形式存在。多糖溶液是剪切变稀的假塑性流体,且有弱凝胶特性。红萍多糖对DPPH自由基、ABTS自由基和羟基自由基的半数清除率浓度(IC₅₀)值分别为0.32, 1.00, 0.96 mg/mL。结论:红萍多糖具有良好的流变学特性及潜在的抗氧化活性。

关键词:红萍;多糖;结构特征;流变特性;抗氧化活性

Abstract: Objective: The study aimed to research the characterization, rheological properties and antioxidant activities of polysaccharide from *Azolla*. Methods: The polysaccharide was obtained through hot water extraction. The molecular weight, monosaccharide composition, microstructure, rheological properties and antioxidant activities were analyzed by gel-permeation chromatography (GPC), FT-IR spectrometric, scanning electron microscopy (SEM) and so on. Results: The polysaccharide from

Azolla containing two groups of molecular weight (2 338.00 and 1.60 kDa) was an acidic heteropolysaccharide, which was mainly composed of mannose, glucuronic acid, galactose, xylose and glucose. The sample had the typical absorption peaks of polysaccharide, which connection mode of heterocephalic carbon was β -configuration. The micro level presented the network structure, and the molecules mainly existed in the form of flexible chains. The polysaccharide solution was the pseudoplastic fluid with shear thinning and had weak gel properties. The IC₅₀ values of polysaccharide from *Azolla* for DPPH radical, ABTS radical and hydroxyl radical were 0.32, 1.00 and 0.96 mg/mL respectively.

Conclusion: Polysaccharide from *Azolla* had good rheological properties and potential antioxidant activities.

Keywords: *Azolla*; polysaccharide; structural characterization; rheological; antioxidant activities

红萍,又名满江红(*Azolla*),是一种与鱼腥藻共生的水生蕨类植物,叶片细小,漂浮于水面^[1]。其繁殖迅速,产量极高,广泛分布在中国华南及西南地区的池塘、水田等地,作为一种传统绿肥,被广泛应用于畜禽养殖^[2]、稻田增产^[3]、生态保护^[4]等领域。此外,红萍中含有丰富的生物活性物质,如多糖、氨基酸、酚类、萜酮类、微量元素等,其提取物具有抗氧化^[5]、抑菌^[6]、护肝^[7]等功能。

多糖是由单糖通过糖苷键连接而成的生物活性大分子,由同一种单糖组成的为均一多糖,由两个及以上单糖组成的为杂多糖^[8]。Ramzani等^[9]从小叶满江红中提取的阴离子多糖可以诱导巨噬细胞分泌促炎介质和细胞因子,发挥免疫调节作用。Zhao等^[10]从鳞毛蕨中提取出一

基金项目:国家现代农业产业技术体系(编号:CARS-22);福建省红壤山地农业生态过程重点实验室开放课题(编号:Aephrs-201901)

作者简介:姚月华,女,中国农业大学在读硕士研究生。

通信作者:程永强(1972—),男,中国农业大学教授,博士。

E-mail:chengyq@cau.edu.cn

收稿日期:2022-02-15

种水溶性多糖,该多糖能够清除 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子。此外,蕨类植物来源的多糖还具有理想的流变特性,如黑树蕨多糖提取物表现出剪切增稠及延伸黏度等特征,被应用于增稠剂、药物载体等加工领域^[11]。

目前,有关红萍功能成分的研究主要集中在蛋白质、微量元素等方面,而有关红萍多糖的研究尚未见报道。文章拟以墨西哥满江红为原料,通过热水浸提,醇沉后得到红萍多糖,对其结构特征、流变特性进行研究,同时探究其体外抗氧化活性,以期红萍多糖应用于功能性食品、生物医学和制药等行业提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

红萍:墨西哥满江红,福建省农业科学院农业生态研究所;

无水乙醇、丙酮、牛血清蛋白、考马斯亮蓝 G-250、单糖标准品(葡萄糖、半乳糖醛酸、半乳糖、甘露糖、鼠李糖、木糖、葡萄糖醛酸、核糖、阿拉伯糖、岩藻糖):分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

水溶性维生素 E(Trolox)、3-甲基-1-苯基-2-吡啶-5-酮(PMP)、1,1-二苯基-2-三硝基苯胍(DPPH)、葡聚糖标准品、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS):分析纯,北京索莱宝生物技术有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

真空干燥箱:DZF6020A 型,北京科伟永兴仪器有限公司;

医用离心机:TGL-185M 型,长沙平凡仪器仪表有限公司;

高效液相色谱仪:1260 infinity 型,德国 Agilent Technologies 公司;

凝胶渗透色谱仪:HLC 8420 型,日本 Hitachi 公司;

红外光谱仪:SPECTRUM 100 型,美国 PkinElmer 公司;

紫外可见分光光度计:T6 新世纪,北京普析通用仪器有限公司;

扫描电子显微镜:SU 8010 型,日本 Hitachi 公司;

流变仪:SPECTRUM 100 型,美国 PkinElmer 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 红萍多糖的提取 参照江和栋等^[12]的方法并修改:

红萍干粉→粉碎过 40 目筛→无水乙醇 85 °C 回流除杂→热水浸提[料液比 1:30 (g/mL), 时间 2.5 h, 温度 92 °C]→旋蒸浓缩→醇沉(4 倍体积无水乙醇)→4 °C 冰箱静置 24 h→离心取沉淀→丙酮除杂→烘干→红萍多糖

1.2.2 化学成分测定

(1) 总糖含量:采用硫酸苯酚法^[13]。

(2) 蛋白质含量:采用考马斯亮蓝法^[14]。

(3) 糖醛酸含量:采用硫酸—咔唑法^[15]。

(4) 脂质含量:利用脂肪测定仪进行测定。

1.2.3 单糖组成 参照王丽波等^[16]的方法并修改。称量 15 mg 样品,加入 8 mL 浓度为 2 mol/L 的三氟乙酸(TFA),以氮气封管,121 °C 水解 6 h。分别取单糖标准液和多糖水解液各 100 μL,加入 300 μL 浓度为 0.6 mol/L 的 NaOH 溶液,混匀,加入等体积 PMP-甲醇溶液,70 °C 水浴 2 h。冷却,加入 0.3 mol/L HCl 调 pH 至 6~7。经 0.22 μm 水系微孔膜过滤,进样。色谱条件:色谱柱为 Agilent Hi-Plex 柱(300 mm×7.7 mm,8 μm),示差检测器(IR),流动相为超纯水,流量 0.6 mL/min,温度 70 °C,进样量 25 μL。

1.2.4 分子量测定 参照郭南生等^[17]的方法并略修改。配置 3.0 mg/mL 的样品溶液,离心,过 0.22 μm 滤膜,进样后记录保留时间,根据标准曲线即可得到样品的相对分子质量。

1.2.5 结构特征

(1) 扫描电镜(SEM):取少量干燥后的红萍多糖,真空镀金,观察样品的表面形态。

(2) 原子力显微镜(AFM):配置 0.1 μg/mL 的红萍多糖溶液,取少量滴在云母片上,晾干,观察。

(3) 傅里叶红外光谱(FT-IR):称取 2 mg 红萍多糖,与 200 mg 干燥的 KBr 混合研磨,扫描波长 400~4 000 cm⁻¹。

(4) 刚果红试验:将 1 mg/mL 样品溶液与等体积刚果红溶液(100 μmol/L)混合,缓慢加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液。利用紫外全波长扫描仪对混合液的最大吸收波长进行测定。相同体积的蒸馏水作为空白对照。

1.2.6 流变特性测定 分别配置 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/mL 的红萍多糖溶液进行静态剪切测试。测定温度 25 °C;模具为锥形板(直径 40 mm,间隙 0.5 mm)。吸取 1.0 mL 多糖溶液,记录 1~100 s⁻¹ 范围内多糖溶液黏度随剪切速率的变化数值。吸取 20 mg/mL 红萍多糖溶液进行动态振荡试验。25 °C 下,记录 1~100 rad/s 范围内储能模量(G')和损耗模量(G'')的变化。

1.2.7 抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除力:吸取 2 mL 不同质量浓度的多糖溶液于试管,加入 2 mL 浓度为 2 mmol/L 的 DPPH 甲醇溶液,混匀,避光反应 30 min。测定 517 nm 处吸光度,同时测定 DPPH 甲醇溶液吸光度,利用 Trolox 作阳性对照。按式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$R_1 = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R_1 ——自由基清除率,%;

A_0 ——空白组吸光度;

A_1 ——样品反应液吸光度。

(2) ABTS 自由基清除力:配置 7 mmol/L ABTS 原液,取 5.0 mL 与等体积 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液混合,遮光保存 12 h,得 ABTS 溶液。反应前去离子水稀释,测定 732 nm 处吸光度值为 0.70 ± 0.02 。向红萍溶液中加入 2.0 mL ABTS⁺ 工作液,涡旋混匀,避光反应 30 min,测定 732 nm 处吸光度。以等体积去离子水作为空白对照,Trolox 为阳性对照。按式(1)计算 ABTS 自由基清除率。

(3) 羟自由基清除力:将 1.0 mL 磷酸缓冲溶液与 0.2 mL 番红($520 \mu\text{g/mL}$)、1.0 mL 乙二胺四乙酸钠铁(II)溶液混合,加入 1.0 mL 红萍多糖溶液,混匀,加入 0.8 mL 过氧化氢(6%)溶液,37 ℃ 水浴 30 min,测定 515 nm 处吸光度,以等体积去离子水替代样品为空白组,以等体积去离子水替代样品和过氧化氢为对照组。按式(2)计算羟自由基清除率。

$$R_2 = \frac{A_1 - A_0}{A_{\text{对照}} - A_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R_2 ——羟自由基清除率,%;

A_0 ——空白组吸光度;

A_1 ——样品反应液吸光度;

$A_{\text{对照}}$ ——对照组吸光度。

1.3 数据处理

每组试验重复 3 次,采用 Excel 2013 软件进行数据统计,SPSS 17.0 软件进行方差分析,结果以平均值±标准差表示,并采用 Origin 8.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 红萍多糖化学组成

试验表明,采用热水浸提法所得红萍多糖提取率为 11.12%,高于大多数水生藻类多糖(1.5%~7.0%)^[18]。由表 1 可知,红萍粗多糖中总糖含量为 67.80%,高于甘草粗多糖(37.10%)^[19],低于果实类粗多糖(88.20%)^[20],可能与植物叶子中含有较多的蛋白质、淀粉、木质素等杂质有关;糖醛酸含量为 21.14%,表明样品为酸性糖。此外,红萍粗多糖中灰分含量为 20.15%(K 10.40%,Ca 0.42%,Mg 0.46%),蛋白质含量为 5.65%,脂肪含量为 0.82%。

2.2 单糖组成

由图 1 可知,红萍多糖为酸性杂多糖,由甘露糖、葡萄糖醛酸、半乳糖、木糖、葡萄糖、半乳糖醛酸、阿拉伯糖、岩藻糖、核糖、鼠李糖 10 种单糖组成,其相对摩尔质量占比分别为 28.03%,24.30%,15.36%,13.65%,8.25%,

表 1 红萍多糖的化学组成

Table 1 Content of chemical components in polysaccharide from *Azolla* %

总糖	蛋白质	灰分	脂肪	糖醛酸
67.80 ± 0.35	5.65 ± 1.03	20.15 ± 0.84	0.82 ± 0.10	21.14 ± 2.25

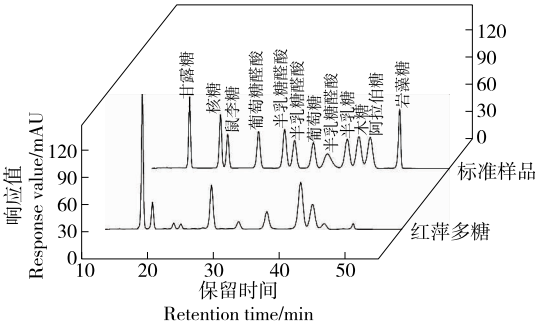


图 1 红萍多糖与标准样品的高效液相色谱图
Figure 1 High performance liquid chromatography of *Azolla* polysaccharide and standard

3.16%,3.01%,1.51%,1.50%,1.24%。其中,甘露糖、葡萄糖醛酸、半乳糖、木糖、葡萄糖、半乳糖醛酸、阿拉伯糖、岩藻糖、核糖、鼠李糖 10 种单糖组成,与 Ramzani 等^[9]的结论存在差异,说明样品品种及种植地区可能会对红萍多糖的理化组成产生影响。

2.3 分子量大小及分布

由图 2 可知,红萍多糖具有较宽的分子量,表明其分子量分布不均一,且以 10.28,15.11 min 出现的两个峰为主,其峰面积占比分别为 78.0%,19.3%,重均分子量(M_w)分别为 2 338.00,1.60 kDa,数均分子量(M_n)分别为 1 090.00,1.15 kDa,表明红萍多糖分子量较大。

2.4 结构表征

2.4.1 傅里叶红外光谱 由图 3 可知,红萍多糖具有典型的多糖特征吸收峰,3 412 cm^{-1} 处强峰代表糖分子中 O—H 的伸缩震动;2 932 cm^{-1} 处吸收峰是由多糖分子甲基或亚甲基中的 C—H 键震动形成的^[21];1 736 cm^{-1} 处

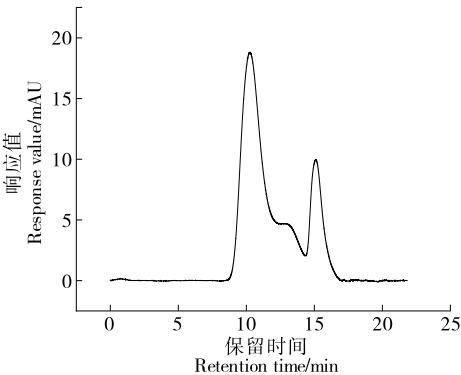


图 2 红萍多糖分子量分布图
Figure 2 Molecular weight distribution curves of *Azolla* polysaccharide and standard

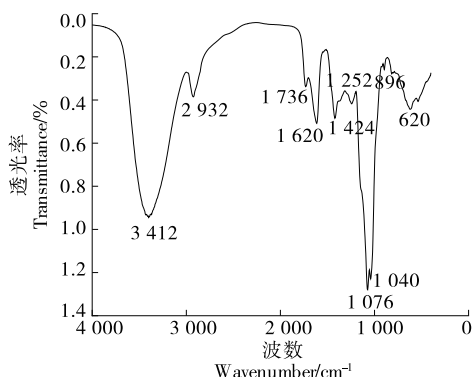


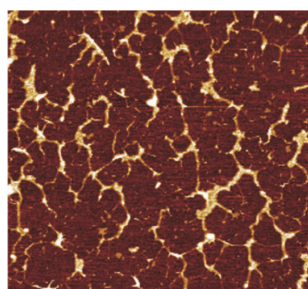
图3 红萍多糖红外光谱图

Figure 3 FT-IR spectra of *Azolla* polysaccharide

吸收峰代表醛基中 $C=O$ 的震动; 1620 cm^{-1} 处吸收峰代表羧基($COOH$)中 $C=O$ 的震动, 1424 cm^{-1} 处吸收峰代表 $C=C$ 的伸缩振动^[22], 表明红萍多糖中含有糖醛酸, 是酸性多糖, 与化学成分结果一致。 1076 , 1040 cm^{-1} 处有吸收峰, 表明样品中含有吡喃糖环。在吡喃糖构型中, 基端 $C-H$ 键的不同异构体存在不同的吸收峰, 样品在 896 cm^{-1} 处有特征峰, 表明基端 $C-H$ 为直立型, 即为 β -型吡喃糖; 620 cm^{-1} 处的吸收峰表明糖环中可能含有 α -糖苷键^[23]。

2.4.2 扫描电镜 由图4可知, 红萍多糖整体呈不规则的网状结构, 结构大小不一, 不规则粘连, 其表面质地均一旦较为粗糙, 表明多糖链连接较为紧密, 可能是样品分子量较大的原因之一。当提取方法不同时, 多糖会呈不同的表面形貌, 分别用热水提取法和超声提取法提取麦冬多糖, 后者所得多糖的片状更小, 出现颗粒状^[24]。

2.4.3 原子力 由图5可知, 红萍多糖分子主要以柔性链的形式存在, 且链分布密度较大, 表面存在较多的不规则颗粒, 可能与样品中存在一定的小分子矿物质有关。红萍多糖表面为尖锐峰状结构, 分布较为紧密, 其分子高度为 2.1 nm 左右, 高于单个多糖链的平均高度 ($0.1\sim 1.0\text{ nm}$)^[25], 表明红萍多糖分子链中存在分支结构且互相交织。



(a) AFM二维图

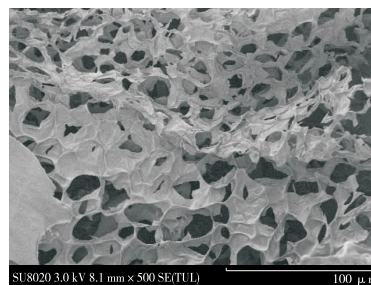


图4 红萍多糖扫描电镜图

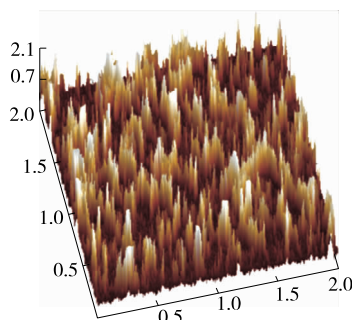
Figure 4 FT-IR spectra of *Azolla* polysaccharide($\times 500$)

2.4.4 三股螺旋结构 由图6可知, 当红萍多糖存在时, 随着氢氧化钠浓度的增加 ($0.00\sim 0.15\text{ mol/L}$), 刚果红的最大吸收波长 ($L_{\max}$) 发生移动, 当 $NaOH$ 浓度超过 1.5 mol/L 时, 络合物最大吸收波长急剧下降, 直至平稳, 表明红萍多糖可能具有三股螺旋构象, 且该构象被高浓度 $NaOH$ 溶液破坏。三螺旋结构的多糖通常比单螺旋和无规卷曲的多糖具有更强的生物活性^[26]。

2.5 流变学特性

由图7可知, 红萍多糖的表观黏度呈现出对样品浓度和剪切速率的依赖性。表观黏度随样品浓度的升高而增加, 可能是因为高浓度下多糖链之间交联区数量增加、多糖分子中羧基基团数量增加^[27], 分子间作用力以及缠结率增大, 增加了流体流动阻力, 限制了聚合物链的运动和拉伸, 从而使表观黏度增大。此外, 多糖溶液表观黏度随剪切速率的增加而降低, 具有典型的剪切稀化行为, 表明红萍多糖溶液为非牛顿流体中的假塑性流体, 这一现象可以归因于剪切这一行为破坏了分子链的缠绕, 减小了流动阻力^[28]。

由图8可知, 当角频率为 $0.01\sim 100.00\text{ rad/s}$ 时, 随着频率的增加, G' 和 G'' 均上升, 对频率有显著依赖性。当角频率较低时, $G' < G''$, 红萍多糖溶液主要表现为液体的黏性性质, 当角频率为 8.58 rad/s 时, G' 和 G'' 发生交叉, 此处的频率为弹性开始的交叉频率, 此时多糖溶液状态开始向类凝胶状态转变, 内部分子链耦合缠绕, 形成网络



(b) AFM三维图

图5 红萍多糖红外光谱图

Figure 5 Scanning electron microscope images of *Azolla* polysaccharide

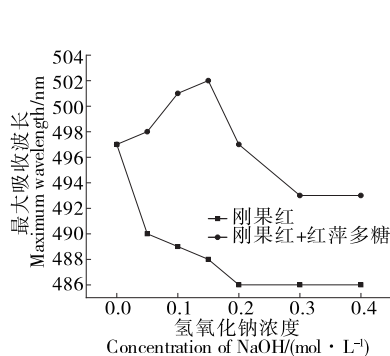


图 6 红萍多糖刚果红反应变化曲线

Figure 6 Congo red reaction curve of *Azolla* polysaccharide

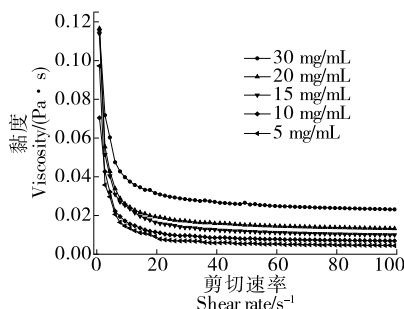


图 7 红萍多糖的静态剪切变化曲线

Figure 7 Static shear curves of *Azolla* polysaccharide solution with different concentration

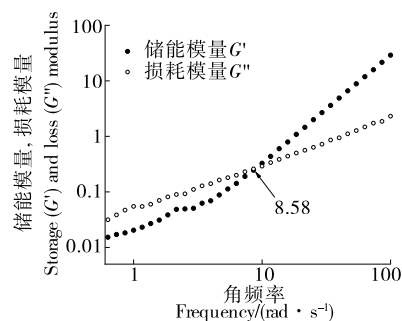


图 8 2%红萍多糖溶液储能模量与损耗模量变化曲线

Figure 8 Storage (G') and loss (G'') modulus of 2% *Azolla* polysaccharide solution

结构。当剪切振荡频率超过交叉频率时, $G' > G''$, 此时的样品溶液主要表现为固体弹性性质。综上, 红萍多糖存在一定的黏弹性, 具有成为增稠剂和凝胶的潜在性质。

2.6 抗氧化活性

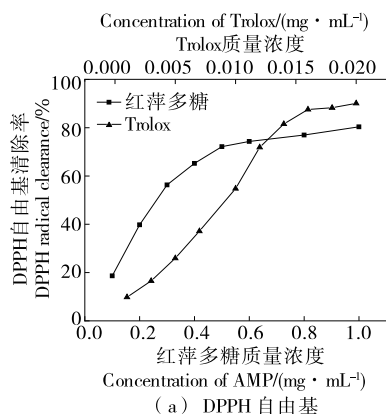
2.6.1 DPPH 自由基清除力 由图 9(a)可知, 当多糖质量浓度为 0.1~1.0 mg/mL 时, 红萍多糖对 DPPH 自由基的清除能力与多糖质量浓度呈正相关, 且清除率在 1 mg/mL 时达 80.15%。红萍多糖、Trolox 对 DPPH 自由基的半数抑制浓度 (IC_{50} 值) 分别为 0.32, 0.01 mg/mL。红萍多糖的 DPPH 自由基清除能力显著低于 Trolox, 但强于鳞毛蕨多糖 (IC_{50} 值为 2.04 mg/mL)^[10]、蕨菜多糖 (IC_{50} 值为 0.82 mg/mL)^[27] 等蕨类多糖。

2.6.2 ABTS 自由基清除力 由图 9(b)可知, 当多糖质量浓度为 0.2~2.0 mg/mL 时, 红萍多糖对 ABTS 自由基的清除能力呈剂量依赖性提高, 当样品质量浓度为 2.0 mg/mL 时, 清除率达 91.28%, 接近 0.1 mg/mL Trolox 的清除率。红萍多糖、Trolox 对 ABTS 自由基半数抑制浓度 (IC_{50} 值) 分别为 1.0, 0.04 mg/mL, 红萍多糖

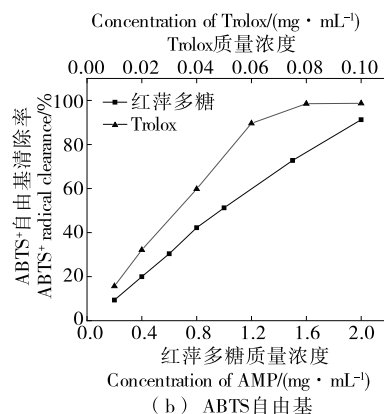
对 ABTS 自由基的清除力低于 Trolox, 高于槐叶萍多糖 (IC_{50} 值为 3.25 mg/mL)^[28]。

2.6.3 羟自由基清除率 由图 9(c)可知, 当多糖质量浓度为 0.2~2.0 mg/mL 时, 羟自由基清除率随多糖质量浓度的增加而提升, 但增长速率逐渐趋于平缓, 且清除率在 2.0 mg/mL 时达最大值 62.18%。与其他水生植物多糖相比, 2.0 mg/mL 的红萍多糖对羟自由基的清除率低于同浓度下蓝藻多糖 (82.33%)^[15], 但高于同浓度下裸藻多糖 (50.14%)^[29]。

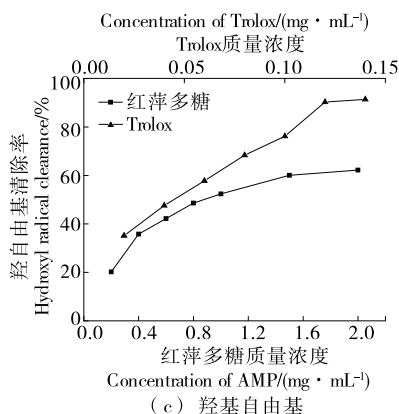
分子量、单糖组成、空间构象等因素均会影响多糖的抗氧化活性。王帅等^[30]发现, 多糖的抗氧化能力与其相对分子量呈正比, 分子质量较大的多糖空间结构更复杂, 易形成较多的分支和空腔, 有助于自由基的去除。Yang 等^[31]研究表明, 与中性糖相比, 酸性多糖具有更强的氧化清除能力, 且糖醛酸含量与抗氧化活性呈正相关。红萍多糖为分子量较大的酸性杂多糖, 空间结构较为复杂, 可能是其具有良好抗氧化活性的重要原因。此外, 葡萄糖醛酸作为良好的供氢体, 对增强样品的抗氧化能力具有关键作用。



(a) DPPH 自由基



(b) ABTS 自由基



(c) 羟基自由基

图 9 红萍多糖的抗氧化活性

Figure 9 Antioxidant activity of *Azolla* polysaccharide

3 结论

红萍多糖是一种酸性杂多糖,主要由甘露糖、葡萄糖醛酸、半乳糖、木糖、葡萄糖组成。扫描电子显微镜下,红萍多糖整体呈网状结构,分子呈链状分布且较为紧密。红萍多糖存在糖类特征基团,具有吡喃环与三股螺旋结构。样品溶液具有典型的剪切稀化行为,为非牛顿流体中的假塑性流体;且红萍多糖溶液存在弱凝胶特征,后续可应用至食品添加剂方面。红萍多糖对 DPPH 自由基、ABTS 自由基和羟基自由基的半数抑制浓度(IC_{50} 值)分别为 0.32, 1.00, 0.96 mg/mL,具有较好的抗氧化能力,可作为天然抗氧化剂。

参考文献

- [1] KUMAR U, NAYAK A K, SAHOO A, et al. Cyanobiont diversity in six *Azolla* spp. and relation to *Azolla*-nutrient profiling[J]. *Planta*, 2019, 94(7): 1 435-1 447.
- [2] LI F, BROUWER P, LORENZO C, et al. Fern genomes elucidate land plant evolution and cyanobacterial symbioses[J]. *Nature Plants*, 2018, 16(4): 460-472.
- [3] HOSEIN B M E, MAHDI M, ALIREZA R. *Azolla* derived hierarchical nanoporous carbons: From environmental concerns to industrial opportunities[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2018, 46(3): 281-290.
- [4] JYOTI K, SANJAY K, KAUSHALENDRA K, et al. Effect of different level of *Azolla* meal on nutrient utilization and growth performance in goat kids[J]. *Journal of Agri Search*, 2021, 8(3): 275-280.
- [5] NAYAK N, PADHY R N, SINGH P K, et al. Evaluation of antibacterial and antioxidant efficacy of the fern *Azolla caroliniana* symbiotic with the cyanobacterium *Anabaena azollae*[J]. *Biological Sciences*, 2015, 85(2): 555-569.
- [6] SELVARAJ K, CHOWDHURY R, BHATTACHARJEE C, et al. Optimization of the solvent extraction of bioactive polyphenolic compounds from aquatic fern *Azolla microphylla* using response surface methodology[J]. *International Food Research Journal*, 2014, 21(4): 1 559-1 567.
- [7] SATHAMMAIPRIYA N, THAMILMARASELVI B, STEFFI P, et al. Investigation of phytochemical constituents in *Azolla microphylla* for antibacterial activity[J]. *National Journal of Physiology*, 2018, 8(11): 1 500-1 504.
- [8] 魏晨业, 包晓玮, 王娟, 等. 沙棘多糖分离纯化及抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2021, 42(4): 227-232.
WEI Chen-ye, BAO Xiao-wei, WANG Juan, et al. Isolation, purification and antioxidant activity of seabuckthorn polysaccharide[J]. *Food Science*, 2021, 42(4): 227-232.
- [9] RAMZANI S M, MEHDI T, SANGGUAN Y. Isolation and chemical characterization of a novel immunostimulating galactofuran from freshwater *Azolla filiculoides*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118(3): 2 082-2 091.
- [10] ZHAO Y Q, HU W, ZHANG H F, et al. Antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from the rhizome of *Dryopteris crassirhizoma* Nakai[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 130(2): 238-244.
- [11] MAY S M, LARA M, SUSANM C, et al. Structure of a shear-thickening polysaccharide extracted from the New Zealand black tree fern[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 70(6): 86-91.
- [12] 江和栋, 牛仙, 万仁口, 等. 灵芝孢子多糖的提取工艺优化及单糖组成、抗氧化活性分析[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(4): 159-167.
JIANG He-dong, NIU Xian, WAN Ren-kou, et al. Optimization of extraction process and analysis of monosaccharide composition and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* spore polysaccharide[J]. *Chinese Journal of Food*, 2021, 21(4): 159-167.
- [13] 林冰洁, 毛肇洁, 余远, 等. 藜麦麸皮多糖的提取及理化性质和活性研究[J]. *食品科技*, 2021, 46(8): 171-178.
LIN Bing-jie, MAO Zhao-jie, YU Yuan, et al. Extraction, physico-chemical properties and activity of quinoa bran polysaccharide[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(8): 171-178.
- [14] 马广强, 李国群, 吴静, 等. 白莲蓬房多糖分离纯化、结构表征及抗氧化与免疫活性[J]. *食品与机械*, 2021, 37(5): 156-162.
MA Guang-qiang, LI Guo-qun, WU Jing, et al. Isolation, purification, structural characterization, antioxidant and immune activities of polysaccharide from lotus seed pod[J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(5): 156-162.
- [15] 黄依佳, 吴剑荣, 朱莉. 蓝藻多糖的分离、结构表征及抗氧化活性研究[J]. *食品与机械*, 2018, 34(2): 176-180.
HUANG Yi-jia, WU Jian-rong, JU-lie. Isolation, structural characterization and antioxidant activity of cyanobacteria polysaccharide[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(2): 176-180.
- [16] 王丽波, 高婧宇, 李腾飞, 等. 硒化蒲公英多糖的制备、结构表征及益生菌促增殖活性[J]. *食品科学*, 2021, 42(7): 169-175.
WANG Li-bo, GAO Jing-yu, LI Teng-fei, et al. Preparation, structural characterization and proliferation promoting activity of selenium dandelion polysaccharide[J]. *Food Science*, 2021, 42(7): 169-175.
- [17] 郭南生, 江和栋, 张兵, 等. 三叶青多糖提取工艺优化、分离纯化及结构表征[J]. *食品与机械*, 2018, 34(7): 143-147.
GUO Nan-shang, JIANG He-dong, ZHANG Bing, et al. Optimization of extraction process, separation, purification and structural characterization of trefoil polysaccharide[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(7): 143-147.
- [18] JIN W H, ZHANG W J, WANG J, et al. Characterization of laminaran and a highly sulfated polysaccharide from *Sargassum fusiforme*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 105(8): 76-83.
- [19] 柴美灵, 李娜, 乔宏萍, 等. Box-Behnken 法优化甘草多糖提取工艺及其体外抗氧化活性分析[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(23): 192-200.
CHAI Mei-ling, LI Na, QIAO Hong-ping, et al. Optimization of glycyrrhiza polysaccharide extraction process by box Behnken method and analysis of its antioxidant activity in vitro[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2021, 42(23): 192-200.

(下转第 172 页)