

山茱萸多糖提取工艺优化及结构表征

Optimization of extraction process and structural characterization of polysaccharides from *Cornus officinalis*

肖付才 李颖奎 黄 斐 谷俊华

XIAO Fucui LI Yingkui HUANG Fei GU Junhua

(许昌职业技术学院园林与食品工程学院, 河南 许昌 461000)

(College of Landscape and Food Engineering, Xuchang Vocational Technical College,
Xuchang, Henan 461000, China)

摘要: **目的:** 优化微波辅助双水相提取 (microwave assisted aqueous two-phase extraction, MATPE) 山茱萸多糖工艺并获得均一的山茱萸多糖馏分。**方法:** 通过正交试验获得最佳的 MATPE 山茱萸多糖的工艺; 利用 DEAE-52 纤维素和 Sephadex G-100 柱层析法纯化山茱萸多糖粗提物, 最终获得单一多糖馏分 (COP-2-S)。利用高效凝胶渗透色谱法测定 COP-2-S 分子量; 利用气相色谱测定 COP-2-S 的单糖组成; 采用紫外、红外和扫描电镜表征 COP-2-S 结构。**结果:** MATPE 山茱萸多糖的工艺为微波功率 300 W、乙醇体积分数 35%、硫酸铵质量分数 22% 和料液比 1 : 20 (g/mL), 此时山茱萸多糖得率为 $(12.04 \pm 0.17)\%$ 。COP-2-S 分子量为 17 450 Da, 单糖组成为阿拉伯糖、葡萄糖和半乳糖, 其摩尔比为 12.85 : 30.71 : 18.09。**结论:** COP-2-S 在 260, 280 nm 处无特征吸收, 且呈无规则的片状结构。

关键词: 微波辅助双水相提取; 山茱萸; 多糖; 纯化; 结构

Abstract: **Objective:** This study aimed to optimize the microwave assisted aqueous two-phase extraction (MATPE) process of polysaccharides from *Cornus officinalis* and obtain a uniform polysaccharide fraction. **Methods:** The best extraction technology was determined through an orthogonal experiment. To obtain a uniform polysaccharides fraction (COP-2-S), the crude extract of *C. officinalis* polysaccharides was purified using DEAE-52 cellulose and Sephadex G-100 column chromatography. The molecular weight of COP-2-S was determined by high performance gel permeation chromatography. The

monosaccharide composition of COP-2-S was determined by gas chromatography. The structure of COP-2-S was characterized by UV, and IR spectra, and a scanning electron microscope.

Results: The optimal MATPE process of polysaccharides from *C. officinalis* was as follows: microwave power of 300 W, ethanol volume fraction of 35%, ammonium sulfate mass fraction of 22%, a solid-to-liquid ratio of 1 : 20 (g/mL), and the yield of polysaccharides from *C. officinalis* was $(12.04 \pm 0.17)\%$. The molecular weight of COP-2-S was 17 450 Da. The molar ratio of arabinose, glucose, and galactose that made up the monosaccharide was 12.85 : 30.71 : 18.09. **Conclusion:** COP-2-S had no characteristic absorption at 260 nm and 280 nm. Besides, COP-2-S had typical infrared absorption characteristics of polysaccharides.

Keywords: microwave assisted aqueous two-phase; *Cornus officinalis*; polysaccharides; purification; structure

山茱萸 (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.) 被广泛种植于河南、浙江、山西、安徽、湖南和湖北等地^[1]。先前的报道发现山茱萸果实中富含多酚、多糖、类黄酮、皂苷、各种维生素和矿物质等活性成分^[2]。大量研究^[3]表明, 山茱萸多糖可抑制炎症因子的表达和肿瘤细胞的生长、清除过量自由基和调节免疫相关的因子等功效。因此, 山茱萸多糖具有较好的应用和开发前景。高效获得山茱萸多糖是至关重要的。

目前, 热水提取法 (hot water extraction, HWE) 是天然多糖提取的主要方式。HWE 具有提取成本低和便于工业化生产等优点, 但该方式存在提取效率低和耗时长等缺点, 这限制其在天然多糖提取中的应用^[4]。微波辅助提取 (microwave assisted extraction, MAE) 是依据微波特殊的加热方式使得提取液温度快速升高, 微波辐射破裂植物细胞壁, 提高目标成分得率^[5-6]。孔媛芳等^[7]采

基金项目: 河南省精品在线开放课程项目 (编号: 豫教办职成 [2022]6); 河南省职业院校省级骨干教师培育项目 (编号: 豫教职成 [2022]115)

作者简介: 肖付才 (1979—), 男, 许昌职业技术学院副教授, 硕士。
E-mail: xiaofucui@xcitc.edu.cn

收稿日期: 2023-06-03 **改回日期:** 2023-11-15

用 MAE 法提取地黄多糖。结果发现,与 HWE 法的多糖得率相比,MAE 法获得多糖得率提高了 5 倍。Thirugnanasambandham 等^[8]通过 MAE 法提取桑叶中的多糖,并利用响应面优化提取工艺。结果表明,当样品重量、微波功率和提取时间分别为 20 g、170 W 和 10 min 时,多糖得率获得最大值(9.41%)。相较于 HWE 法,MAE 法提取效率显著提升和提取时间显著缩短。汤慧民等^[9]利用 MAE 法提取核桃壳多糖并评价其抗氧化活性。结果表明,MAE 法获得的多糖得率(2.24%)显著高于 HWE 法(1.06%),且 MAE 法获得的多糖对自由基的清除能力也显著优于 HWE 法的。超声辅助提取(ultrasonic-assisted extraction, UAE)作为一种新颖的非热加工技术,是利用“空化效应”加速植物细胞壁的破裂,提高目标成分得率,但在提取过程中,超声的“空化效应”可能会破坏多糖中的糖苷键,进而降低多糖得率,这限制了 UAE 法在天然多糖提取领域中的应用^[10]。酶法辅助提取(enzymatic assisted extraction, EAE)是利用酶的高效性和专一性水解植物细胞壁,加速植物细胞壁的降解和提高目标成分的得率^[10-11]。目前,越来越多的学者利用 EAE 技术从天然资源中提取天然多糖。赵惠茹等^[12]利用 EAE 法从刺玫果中提取多糖,优化多糖提取工艺并评价其抗氧化活性。结果表明,当酶添加量、酶处理时间和料液比分别为 1.37%、71 min 和 1:30 (g/mL) 时,多糖得率最大(16.38%),其多糖对自由基清除有较好的效果。孔璐等^[13]采用果胶酶辅助提取法从蓝莓中提取多糖并评价其抗氧化活性。结果表明,果胶酶辅助提取法所得的多糖得率(2.72%)显著高于 HWE 法的(1.35%),且 MAE 法获得的多糖的抗氧化活性显著优于 HWE 法的。刘军波等^[14]采用 EAE 法从荷叶中提取多糖。结果表明,EAE 法提取获得的多糖的得率(9.66 g/100 g)显著高于传统的 HWE 法(4.12 g/100 g)。但以上多糖的提取方式均采用单一的提取溶剂,所得粗多糖包含大量杂质,后续纯化过程繁琐和成本高。

近年来,双水相提取(aqueous two-phase extraction, ATPE)技术作为一种绿色高效的提取技术被广泛应用于多糖的提取。ATPE 技术具有提取成本低、纯度高、便于连续化提取目标成分等优点^[15]。目前,利用 ATPE 法从天然资源中提取活性成分的研究备受关注。Niphadkar 等^[16]通过 ATPE 法从马铃薯皮中提取多酚氧化酶,并采用响应面法优化其提取工艺。结果表明,最优的 ATPE 工艺为:聚乙二醇 17.62%、磷酸钾缓冲液 15.11%、NaCl 浓度 2.08 mmol/L 和 pH 7,在此条件下,多酚氧化酶最大分配系数、纯化因子和得率分别为 3.7、4.5 和 77.8%。Gao 等^[17]利用 ATPE 法提取油茶多糖,并利用柱色谱技术进一步纯化多糖。结果表明,经 ATPE 法提取得到的油茶多糖纯度显著高于传统的 HWE 和 UAE 法,进一步

证实 ATPE 法可一步完成提取和样品的初步纯化。Ji 等^[18]采用 ATPE 法从银耳中提取总黄酮,并通过响应面法优化其提取工艺。结果表明,ATPE 银耳总黄酮的最优工艺参数为乙醇质量分数 23%、 NaH_2PO_4 质量分数 27.18%、萃取时间 8.25 min。该条件下,总黄酮的最大提取率为 0.158 mg/g。微波提取与双水相提取相结合形成一种新的提取方式,即微波辅助双水相提取法(microwave assisted aqueous two-phase extraction, MATPE),既能充分发挥微波快速、高效提取的优势,又可以获得高纯度的多糖,这可有效避免后续多糖除蛋白和色素的操作^[19-20]。目前,关于利用 MATPE 技术从山茱萸中提取多糖的研究尚未见报道。此外,针对 MATPE 技术所得的山茱萸多糖粗提物的纯化也鲜见报道。

研究拟采用 MATPE 法提取山茱萸多糖,探究 4 个试验因素对山茱萸多糖得率的影响;通过柱层析法纯化山茱萸多糖粗提物,并鉴定纯化后的多糖馏分结构,以期如山茱萸的深度开发和利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

山茱萸:市售;

DEAE-52 纤维素和 Sephadex G-100:上海浦予工业科技有限公司;

半乳糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖和葡萄糖:纯度 $\geq 99\%$,天津佰玛科技有限公司;

氯化钠、氢氧化钠、硫酸铵、苯酚和浓硫酸:分析纯,天津金东天正精细化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

台式扫描电镜:SNE-3200M 型,深圳市武训科技有限公司;

微波辅助提取仪:AL-IMC1 型,北京一叶蓝天科技有限公司;

气相色谱:GC7600 型,深圳埃科瑞仪器设备有限公司;

高效液相色谱仪:ROHS2.0 型,苏州博讯仪器有限公司;

紫外分光光度计:HT-5873 型,青岛海特环保科技发展有限公司;

真空冷冻干燥机:FXH-3100 型,山东泰武机械设备有限公司;

高速离心机:AXTG16G 型,无锡华卫德朗仪器有限公司;

傅里叶变换红外光谱仪:Hoffen-20 型,天津市嘉鑫海机械设备有限公司;

植物粉碎机:DF-45A 型,温岭市林大机械有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理 将山茱萸果肉于 50 ℃ 烘干至含水率<5%,粉碎,过 40 目筛子备用。

1.3.2 山茱萸多糖提取物制备 参照 Li 等^[21]的方法。

1.3.3 山茱萸多糖得率测定 参照 Ji 等^[22]的方法,按式(1)计算多糖得率。

$$Y = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Y ——多糖得率,%;

m_1 ——提取物质量,g;

m_2 ——山茱萸粉末质量,g。

1.3.4 单因素试验 设定微波功率为 100~500 W,间隔 100 W;乙醇体积分数为 35%~55%,间隔 5%;硫酸铵质量分数为 18%~26%,间隔 2%;料液比为 1:10~1:30 (g/mL),间隔 1:5 (g/mL)。

1.3.5 正交试验 通过单因素的结果,选取微波功率、乙醇体积分数和硫酸铵质量分数作为正交试验因素,以山茱萸多糖得率为指标,设计 $L_9(3^3)$ 设计正交试验。

1.3.6 山茱萸多糖的纯化 利用体积分数为 80% 的乙醇沉淀山茱萸粗多糖,收集沉淀,透析 48 h,于 -18 ℃ 预冻 12 h,冻干回收样品,用去离子水复溶,8 000 r/min 离心 10 min,收集上清液。上清液以 1.5 mL/min 的流速加入 DEAE-52 纤维素柱(2.6 cm×70 cm)中,采用去离子水和不同浓度的 NaCl(0.1,0.2,0.4,0.6,0.8 mol/L)溶液依次

进行洗脱。分离后获得 3 个多糖馏分(COP-1、COP-2 和 COP-3),其中 COP-2 的多糖含量最高。通过 Sephadex G-100 层析柱(1.6 cm×50 cm)进一步纯化主要馏分 COP-2。洗脱参数:加载质量浓度 10 mg/mL,加载体积 4 mL,流速 0.4 mL/min。每管收集 2 mL,冷冻干燥,获得均一的多糖馏分(COP-2-S)。

1.3.7 结构鉴定

(1) 紫外光谱:参照 Li 等^[21]的方法。

(2) 单糖组成:参照 Liang 等^[23]的方法。

(3) 分子量:将 COP-2-S 以 1 mg/mL 溶解至去离子水中,过 0.45 μm 滤膜,注入高效凝胶渗透色谱中,利用去离子水进行洗脱,随后测定其平均分子量(M_w)。

(4) 红外光谱:将 COP-2-S 与 KBr 按质量比 1:30 混匀并压缩成切片进行红外光谱扫描,分析其红外吸收特性。

(5) 扫描电镜:参照 Xue 等^[24]的方式。

1.3.8 数据处理 采用 Origin 9.0 软件作图;采用 Statistics 8.0 软件进行数据显著性分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

由图 1(a)可知,当微波功率为 100~400 W 时,微波功率与多糖得率呈正相关,主要是由于微波功率越大,温度升高越快,多糖溶解度越大。此外,高微波功率辐射易加速山茱萸细胞壁的破裂,降低多糖的扩散阻力,促进多

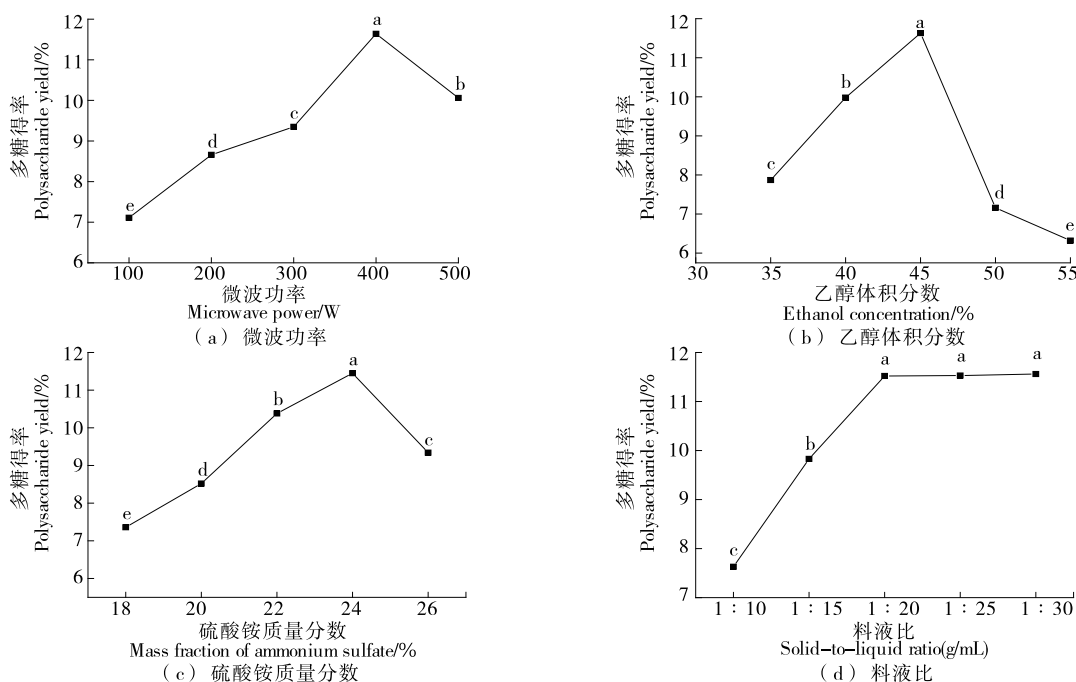


图1 各因素对山茱萸多糖得率的影响

Figure 1 Effects of extraction factors on the yield of polysaccharides from *C. officinalis*

糖扩散,进而提高多糖得率^[25]。当微波功率>400 W 时,过高的微波功率会破坏多糖中的糖苷键,降低多糖得率。这与 Le 等^[26]采用 MAE 技术从海藻中提取多糖的结果一致。因此,选择微波功率范围为 300~500 W。

由图 1(b)可知,当乙醇体积分数<45%时,多糖得率随乙醇体积分数的增加而增加($P<0.05$)。其原因是较高乙醇体积分数下,山茱萸细胞内多糖的扩散系数与溶解度较高,有助于多糖从细胞内扩散到溶剂中,进而使多糖得率升高^[27]。当乙醇体积分数>45%时,多糖得率随乙醇体积分数的增加而降低,与 Lin 等^[28]的结果一致。因此,选择乙醇体积分数范围为 35%~45%。

由图 1(c)可知,当硫酸铵质量分数<24%时,山茱萸多糖得率随硫酸铵质量分数增加而增加($P<0.05$),当硫酸铵质量分数为 24%时,山茱萸多糖得率达最大值(11.45 ± 0.16)%。这是由于下相中硫酸铵质量分数越高,多糖溶解度越大,进而有助于提高多糖得率^[21]。此外,在较高质量分数的硫酸铵溶液中,多糖具有较高的扩散系数,从而有利于多糖的提取。当硫酸铵质量分数为 24%~26%时,多糖得率与硫酸铵质量分数呈负相关。其原因是下相中硫酸铵质量分数过高,会造成过多的杂质被溶解,降低多糖的溶解度^[15]。这与 Xue 等^[24]的结果一致。因此,选择硫酸铵质量分数范围为 22%~26%。

由图 1(d)可知,当料液比为 1:10~1:20 (g/mL)时,山茱萸多糖得率随料液比的增加而增加($P<0.05$);当料液比>1:20 (g/mL)时,山茱萸多糖得率随料液比的增加无显著变化,与杨占群等^[29]的结果一致。因此,选择料液比为 1:20 (g/mL)。

2.2 正交试验结果

山茱萸多糖经 MATPE 法提取的正交试验因素水平见表 1,正交试验设计及结果见表 2。由表 2 可知,各因素对山茱萸多糖得率影响的主次顺序为 $A>B>C$,最优水平组合为 $A_1B_1C_1$,即微波功率 300 W、乙醇体积分数 35%和硫酸铵质量分数 22%,在此条件下,测得山茱萸多糖得率为(12.04 ± 0.17)%,进一步说明利用正交试验优化 MATPE 法提取山茱萸多糖工艺具有可行性,与任俊鹏等^[30]的结果存在一定差异。其主要原因是由于试验利用 MATPE 法提取多糖,一些杂质(色素、寡糖和酯类)被提取到上相,而下相中得到纯度较高的多糖。因此,造成 MATPE 法提取所得多糖得率与超声辅助提取的存在一定差异,与 Tan 等^[31]的结论相似。

2.3 山茱萸多糖纯化

由图 2(a)可知,经硫酸—苯酚法测定 COP-1、COP-2 和 COP-3 得率分别为 9.35%,13.68%,10.21%。由图 2(b)可知,COP-2 经 Sephadex G-100 柱层析法纯化

表 1 山茱萸多糖的 $L_9(3^3)$ 正交试验因素水平表

Table 1 $L_9(3^3)$ orthogonal experimental factors and levels of polysaccharides from *C. officinalis*

水平	A 微波功率/W	B 乙醇体积分数/%	C 硫酸铵质量分数/%
1	300	35	22
2	400	40	24
3	500	45	26

表 2 山茱萸多糖的 $L_9(3^3)$ 正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal experimental design $L_9(3^3)$ and results of polysaccharides from *C. officinalis*

试验号	A	B	C	多糖得率/%
1	1	1	1	10.86 ± 0.17
2	1	2	2	11.35 ± 0.13
3	1	3	3	10.70 ± 0.15
4	2	2	3	9.88 ± 0.14
5	2	3	1	11.31 ± 0.13
6	2	1	2	10.69 ± 0.15
7	3	3	2	9.84 ± 0.14
8	3	1	3	11.27 ± 0.15
9	3	2	1	10.12 ± 0.12
k_1	10.97	10.94	10.76	
k_2	10.63	10.45	10.63	
k_3	10.41	10.62	10.62	
R	0.56	0.49	0.14	

后,获得单一的对称峰,命名为 COP-2-S。

2.4 单糖组成和分子量分析

由图 3(a)可知,COP-2-S 为单一对称峰,说明 COP-2-S 属于均一的多糖馏分。以平均分子量的对数为纵坐标,保留时间为横坐标,绘制回归方程为 $\log M_w = 10.05 - 0.257T_R, R^2 = 0.9996$ 。

COP-2-S 的保留时间为 8.6 min,依据回归方程计算 COP-2-S 的平均分子量为 17 450 Da,低于 Ji 等^[22]的结果。这种现象可能与山茱萸产地、品种、提取和纯化方式有关。由图 3(b)可知,COP-2-S 由阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖和未知单糖组成。由于试验条件限制,试验未对未知的单糖进行分析说明。阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖的物质的量比为 12.85:30.71:18.09,表明 COP-2-S 属于一种具有不同化学成分的杂多糖,其中葡萄糖为主要单糖。

2.5 紫外光谱和红外光谱分析

由图 4(a)可知,COP-2-S 在 260,280 nm 处无吸收峰,说明 COP-2-S 不含蛋白质和核酸。由图 4(b)可知,COP-2-S 在 $3\,342\text{ cm}^{-1}$ 处出现吸收峰,是由 COP-2-S 结

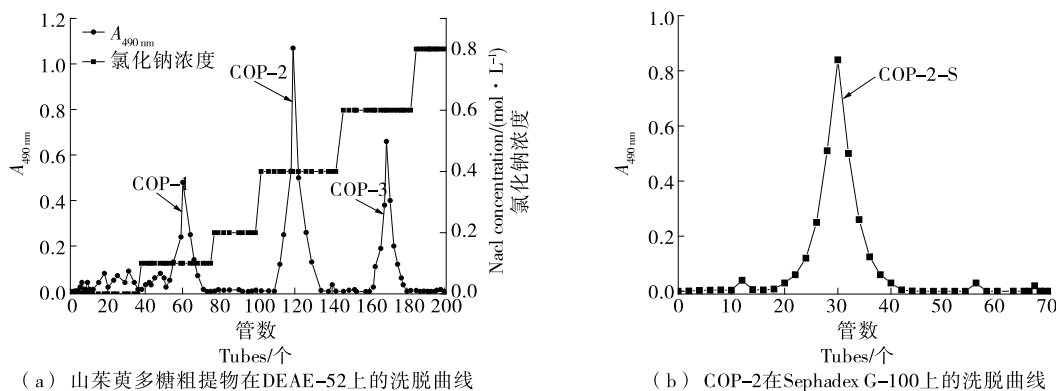


图 2 DEAE-52 纤维素柱层析纯化山茱萸多糖粗提物的洗脱曲线和 Sephadex G-100 柱层析纯化 COP-2 的洗脱曲线
Figure 2 Elution curve of crude extracts of polysaccharides from *C. officinalis* purified by DEAE-52 cellulose column chromatography and elution curve of COP-2 purified by Sephadex G-100 column chromatography

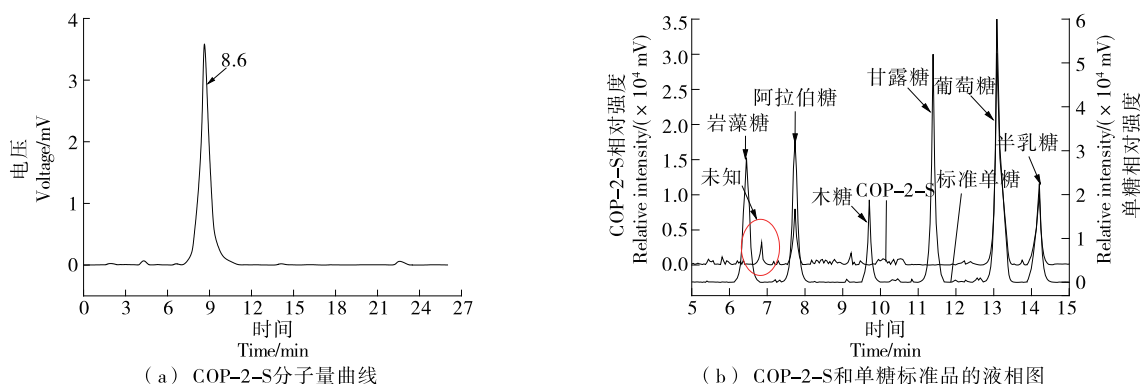


图 3 COP-2-S 分子量分布和单糖组成
Figure 3 Molecular weight distribution and monosaccharide composition of COP-2-S

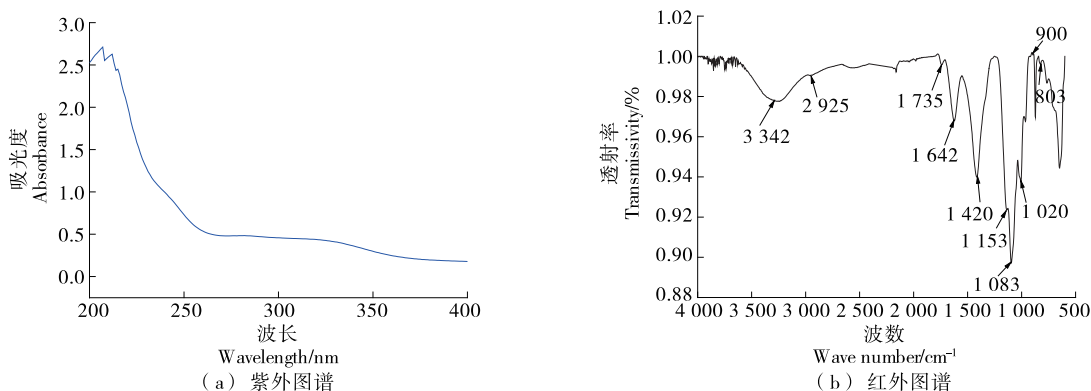
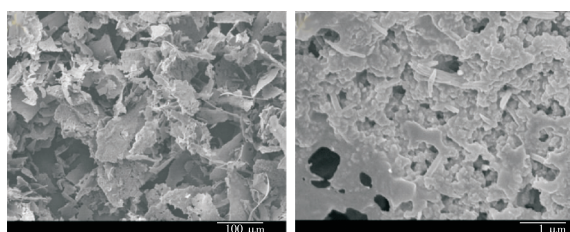


图 4 COP-2-S 紫外图谱和红外图谱
Figure 4 UV and IR spectra of COP-2-S

构中的 O—H 伸缩振动引起的^[16]; 2 925 cm⁻¹处出现吸收峰,是由 COP-2-S 中的 C—H 伸缩振动引起的^[21]; 1 735 cm⁻¹处出现弱峰,说明 COP-2-S 结构中存在 C=O^[22]; 1 020, 1 083, 1 153 cm⁻¹处出现 3 个拉伸峰,表明 COP-2-S 中存在 C—O 键和糖的吡喃糖形式^[23]。此外, COP-2-S 在 800~900 cm⁻¹范围内有一些小峰,表明 COP-2-S 中存在 α -和 β -构型。

2.6 COP-2-S 微观结构分析

由图 5(a)可知, COP-2-S 在 200 $\times$ 下呈无规则的片状结构, 1 000 $\times$ 下出现大小不均的孔和棒状结构, 表面相对致密, 说明 COP-2-S 经提取纯化后, 多糖分子发生了相互聚集, 使得结构更加致密。其主要原因是由于多糖作为极性分子, 微波体加热使得多糖分子快速吸收微波能, 加速分子聚集, 进而使得多糖结构更致密^[24]。



(a) 200× (b) 1000×

图 5 COP-2-S 的微观结构

Figure 5 Microstructure of COP-2-S

3 结论

试验表明,微波辅助双水相提取山茱萸多糖的工艺为:微波功率 300 W、乙醇体积分数 35%、硫酸铵质量分数 22%和料液比 1:20 (g/mL),此时山茱萸多糖得率为 $(12.04 \pm 0.17)\%$ 。此外,通过柱色谱技术纯化山茱萸粗多糖最终获得均一的多糖馏分(COP-2-S),分子量为 17 450 Da。COP-2-S 具有无规则的片状结构。后续需进一步深入研究 COP-2-S 结构及其生物活性,并阐明其构效关系。

参考文献

- [1] 杨晓琳, 孙好强, 何昌芬, 等. 不同产地山茱萸氨基酸含量分析及其营养价值评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(22): 7 200-7 209.
YANG X L, SUN H Q, HE C F, et al. Analysis of amino acid composition and nutritional evaluation of Corni Fructus from different habitats[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(22): 7 200-7 209.
- [2] 李美霖, 王平, 尹灿, 等. 山茱萸多糖延缓秀丽隐杆线虫衰老的药效评价及机制研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(21): 6 996-7 003.
LI M L, WANG P, YI C, et al. Pharmacodynamic evaluation and mechanism study of Corni Fructus polysaccharide on anti-aging of *Caenorhabditis elegans* [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(21): 6 996-7 003.
- [3] 胡园园, 方淑玲, 杨虎清, 等. 微波辅助提取山茱萸多糖工艺优化[J]. 食品与机械, 2011, 27(5): 93-95.
HU Y Y, FANG S L, YANG H Q, et al. Optimization of microwave-assisted extraction process for polysaccharides from *Cornus officinalis* [J]. Food & Machinery, 2011, 27(5): 93-95.
- [4] 崔国梅, 刘丽娜, 田广瑞, 等. 姬松茸多糖组成结构及提取技术研究进展[J]. 食品与机械, 2023, 39(9): 234-240.
CUI G M, LIU L N, TIAN G R, et al. Research progress on constituent structure and extraction technique of the polysaccharide from *Agaricus blazei* [J]. Food & Machinery, 2023, 39(9): 234-240.
- [5] 唐健波, 吕都, 潘牧, 等. 微波辅助提取刺梨多糖工艺优化及抗肿瘤活性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(9): 160-167.
TANG J B, LU D, FAN M, et al. Optimization of microwave-

- assisted extraction of *Rosar oxburghii* polysaccharide and its antitumor activity[J]. Food & Machinery, 2021, 37(9): 160-167.
- [6] DOBRINCIC A, PEDISIC S, ZORIC Z, et al. Microwave assisted extraction and pressurized liquid extraction of sulfated polysaccharides from *Fucus virsoides* and *Cystoseira barbata* [J]. Foods, 2021, 10(7): 1 481.
- [7] 孔媛芳, 杨彬, 李敏, 等. 正交试验与响应面法优化微波提取地黄多糖工艺研究[J]. 化学研究, 2021, 32(2): 137-144.
KONG Y F, YANG B, LI M, et al. Optimization of microwave extraction of *Rehmannia glutinosa* polysaccharide by orthogonal test and response surface methodology[J]. Chemical Research, 2021, 32(2): 137-144.
- [8] THIRUGNANASAMBANDHAM K, SIVAKUMAR V, MARAN J P. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72: 1-5.
- [9] 汤慧民, 李茂兴. 微波辅助提取核桃壳多糖及其抗氧化活性研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(5): 123-126.
TANG H M, LI M X. Microwave-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharide from walnut shell[J]. China Oils and Fats, 2018, 43(5): 123-126.
- [10] 张秋红. 超声细胞破碎仪辅助提取桑葚多糖及其抗氧化性分析[J]. 食品与机械, 2022, 38(6): 168-172.
ZHANG Q H. Extraction of mulberry polysaccharides by ultrasonic cell crusher-assisting and its antioxidant activity [J]. Food & Machinery, 2022, 38(6): 168-172.
- [11] CHAI Y, KAN L, ZHAO M. Enzymatic extraction optimization, anti-HBV and antioxidant activities of polysaccharides from *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 134: 588-594.
- [12] 赵惠茹, 韦欣婷, 王靓怡, 等. 遗传算法优化酶辅助提取刺玫果多糖工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(11): 43-50.
ZHAO H R, WEI X T, WANG J Y, et al. Optimization of enzyme-assisted extraction process of polysaccharide from *Rosa davurica* Pall with genetic algorithm and its antioxidant activity[J]. China Food Additives, 2022, 33(11): 43-50.
- [13] 孔璐, 刘晓颖, 王鹏, 等. 果胶酶辅助提取蓝莓多糖的工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 保鲜与加工, 2017, 17(6): 61-65.
KONG L, LIU X Y, WANG P, et al. Optimization of pectinase assisted extraction of blueberry polysaccharides and its antioxidant activities[J]. Storage and Process, 2017, 17(6): 61-65.
- [14] 刘军波, 邹礼根, 赵芸. 酶辅助提取荷叶多糖的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(24): 74-76.
LIU J B, ZHOU L G, ZHAO Y. Polysaccharides extraction technology from lotus leaves by enzyme-assisted technique [J]. Food Research and Development, 2013, 34(24): 74-76.
- [15] XING J M, LI F F. Purification of aloe polysaccharides by using aqueous two-phase extraction with desalination[J]. Natural Product

- Research, 2009, 23(15): 1 424-1 430.
- [16] NIPHADKAR S S, VETAL M D, RATHOD V K. Purification and characterization of polyphenol oxidase from waste potato peel by aqueous two-phase extraction [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2015, 45(7): 632-649.
- [17] GAO C, CAI C, LIU J, et al. Extraction and preliminary purification of polysaccharides from *Camellia oleifera* Abel. seed cake using a thermoseparating aqueous two-phase system based on EOPO copolymer and deep eutectic solvents[J]. Food Chemistry, 2020, 313: 126164.
- [18] JI Y W, RAO G W, XIE G F. Ultrasound-assisted aqueous two-phase extraction of total flavonoids from *Tremella fuciformis* and antioxidant activity of extracted flavonoids [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2022, 52(9): 1 060-1 068.
- [19] CHEN Z, ZHANG W, TANG X, et al. Extraction and characterization of polysaccharides from Semen Cassiae by microwave-assisted aqueous two-phase extraction coupled with spectroscopy and HPLC [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 144: 263-270.
- [20] WANG H, DONG Y, XIU Z. Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of piceid, resveratrol and emodin from *Polygonum cuspidatum* by ethanol/ammonium sulphate systems[J]. Biotechnology Letters, 2008, 30(12): 2 079-2 084.
- [21] LI P, XUE H, XIAO M, et al. Ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction and properties of water-soluble polysaccharides from *Malus hupehensis*[J]. Molecules, 2021, 26(8): 2 213.
- [22] JI X, PENG Q, YUAN Y, et al. Extraction and physicochemical properties of polysaccharides from *Ziziphus Jujuba* cv. Muzao by ultrasound-assisted aqueous two-phase extraction[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 108: 541-549.
- [23] LIANG J, ZENG Y, WANG H, et al. Extraction, purification and antioxidant activity of novel polysaccharides from *Dendrobium officinale* by deep eutectic solvents[J]. Natural Product Research, 2019, 33(22): 3 248-3 253.
- [24] XUE H, XU J, ZHANG J, et al. Modeling, optimization, purification, and characterization of polysaccharides from *Lilium Lancifolium* Thunb[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 162: 113491.
- [25] HASHEMIFESHARAKI R, XANTHAKIS E, ALTINTAS Z, et al. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from the marshmallow roots: Optimization, purification, structure, and bioactivity[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 240: 116301.
- [26] LE B, GOLOKHVAST K S, YANG S H, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Ulva pertusa* and evaluation of their antioxidant activity [J]. Antioxidants, 2019, 8(5): 129.
- [27] CHENG Z, YANG Y, LIU Y, et al. Two-steps extraction of essential oil, polysaccharides and biphenyl cyclooctene lignans from *Schisandra chinensis* Baill fruits [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2014, 96: 162-169.
- [28] LIN Y, ZENG H, WANG K, et al. Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of diverse polysaccharides from *Lentinus edodes*: Process optimization, structure characterization and antioxidant activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 136: 305-315.
- [29] 杨占群, 宋小幸, 周倩瑜, 等. 响应面法优化微波辅助提取黑糯米多糖的工艺及其对疲劳小鼠氧化损伤的影响[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(6): 92-96.
- YANG Z Q, SONG X X, ZHOU Q Y, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of polysaccharide from black glutinous maize by response surface method and its protection effect of oxidative damage on fatigue mice[J]. Cereals & Oils, 2020, 33(6): 92-96.
- [30] 任俊鹏, 杨志萍, 陈贵堂, 等. 山茱萸多糖提取工艺优化及对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 食品工业, 2022, 43(4): 4-7.
- REN J P, YANG Z P, CHEN G T, et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides from *Cornus officinalis* and inhibition of α -glucosidase[J]. The Food Industry, 2022, 43(4): 4-7.
- [31] TAN J, CUI P, GE S, et al. Ultrasound assisted aqueous two-phase extraction of polysaccharides from *Cornus officinalis* fruit: Modeling, optimization, purification, and characterization [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 84: 105966.
-
- (上接第 160 页)
- [25] 黄欢, 赵展恒, 王玉娇, 等. 铁观音加工过程中咖啡碱、茶多酚、游离氨基酸含量变化研究[J]. 福建农业学报, 2014, 29(3): 282-285.
- HUANG H, ZHAO Z H, WANG Y J, et al. Study on the content change of caffeine, tea polyphenols and free amino acids in the Tieguanyin oolong tea machining process [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2014, 29(3): 282-285.
- [26] 杨云, 刘彬彬, 周子维, 等. 新品系‘606’乌龙茶加工过程中呈味物质的变化与品质分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(23): 311-318.
- YANG Y, LIU B B, ZHOU Z W, et al. Changes of taste compounds and quality analysis during the manufacturing process of a new tea line ‘606’ oolong tea[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 311-331.
- [27] WU L, HUANG X, LIU S, et al. Understanding the formation mechanism of oolong tea characteristic non-volatile chemical constituents during manufacturing processes by using integrated widely-targeted metabolome and DIA proteome analysis[J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125941.
- [28] 邓俊琳, 何扬帆, 陈建, 等. 渥堆发酵过程中藏茶化学成分的变化[J]. 食品与机械, 2023, 39(9): 26-31.
- DENG J L, HE Y Y, CHEN J, et al. Changes of chemical components of Tibetan tea during pile fermentation process[J]. Food & Machinery, 2023, 39(9): 26-31.