

正红菇子实体多糖 HAP-I 的结构和抗氧化活性评价

贺婷¹, 颜盛繁², 陈健¹

(1 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

(2. 广东时代食品与生命健康研究有限公司, 广东广州 510670)

摘要: 以正红菇子实体分离纯化后得到的单一多糖 HAP-I 为研究对象, 用高效凝胶渗透色谱 (GPC) 结合葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 的分离结果鉴定其分子量分布及纯度, 利用 FT-IR、GC、高碘酸氧化和 Smith 降解、NMR 研究 HAP-I 分子内部结构; 通过体外抗氧化法清除自由基 DPPH、O₂⁻、OH 以及还原力测定, 评价 HAP-I 抗氧化能力。结果表明, HAP-I 重均相对分子量 M_w 16860 u; FT-IR 显示 HAP-I 具有多糖的特征吸收峰且为含氨基的 β 型 D-葡萄糖环构型; GC 结果显示 HAP-I 含鼠李糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖 4 种单糖, 摩尔比为 1:8.29:7.45:18.13; 高碘酸氧化和 Smith 降解结果表明, HAP-I 是含有甘露糖苷的 D-吡喃葡萄糖环, 包括 α 构型和 β 构型, 不含有 1→4 糖苷键, 由 66.7% 1→3 糖苷键, 22.24% 的 1→6、1→糖残基和 11.06% 1→2 糖残基组成; NMR 表明 HAP-I 是含有半乳糖基的吡喃糖, 既有 α 构型, 也有 β 构型; 体外抗氧化结果表明, HAP-I 有较强的清除自由基 DPPH、O₂⁻、OH 作用和还原能力。

关键词: 正红菇; 多糖; 结构; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2015)10-63-68

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.10.011

Structure and Antioxidant Activity of HAP-I in *Russula vinosa*

HE Ting¹, YAN Sheng-fan², CHEN Jian¹

(1.School of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2.Guangdong Institute of Food and Life Science, Guangzhou 510670, China)

Abstract: A purified single polysaccharide (HAP-I) that was isolated from the fruit bodies of *Russula vinosa* was used as the study object, and its molecular weight distribution and purity were determined based on the separation results from gel permeation chromatography (GPC) with dextran-based Sephadex G-100. The chemical structure of the HAP-I molecule was studied by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), gas chromatography (GC), periodate oxidation, Smith degradation, and nuclear magnetic resonance (NMR). The antioxidant activity of HAP-I was evaluated by measuring its reducing power and *in vitro* scavenging activities on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), superoxide anion (O₂⁻), and hydroxyl (OH) free radicals. The results revealed that the weight-average relative molecular mass (M_w) of HAP-I was 16,861; FT-IR spectra indicated the presence of characteristic absorption peaks of polysaccharides and an amino-group-containing β-D-glucose ring structure in HAP-I. GC results showed that HAP-I contained four monosaccharides, rhamnose (Rha), mannose (Man), glucose (Glu), and galactose (Gal), with a molar ratio of 1:8.29:7.45:18.13. The results from periodate oxidation and Smith degradation revealed that HAP-I had a D-glucopyranose ring containing mannosidase, including α- and β-configurations; the branches of HAP-I were composed of 66.7% (1→3) glycosidic linkages, 22.24% (1→6) and (1→) sugar residues, and 11.06% (1→2) sugar residues (without (1→4) glycosidic linkage). NMR results showed that HAP-I contained galactosyl pyranose with both α- and β-configurations. The *in vitro* antioxidant activity test suggested that HAP-I had strong scavenging activities on DPPH, O₂⁻, and OH radicals, as well as strong reducing power.

Key words: *Russula vinosa*; polysaccharides; structure; antioxidant

红菇属真菌植物门、担子菌纲、伞菌目、红菇科。是一种和栎、栲等树木的根系共生的菌根真菌。别名正红菇、真红菇、大红菇、红椎菌、大红菌、大朱菇。

收稿日期: 2014-12-23

作者简介: 贺婷(1990-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 天然产物分离纯化

通讯作者: 陈健(1967-), 男, 博士, 副教授, 主要从事食品化学, 天然产物化学, 多糖生物技术等方面的研究

菇种类中正红菇品味最佳, 正红菇在福建三明分布最菌盖初扁半球形后平展中部下凹, 中部色深红至暗(黑)红, 边缘较淡呈深红色, 盖缘常见细横纹。红广, 产量最多, 也最有营养和价值的。红菇味甘性温, 并含有人体必需的多种氨基酸等成分, 营养价值丰富, 还具有增加机体免疫力、降低胆固醇、抗癌等作用。Sun 等人^[1]从红菇中分离纯化得到两种单一多糖 RVP-1 和 RVP-2, 分子量分别为 3.1×10⁵ u 和 4.2×10⁵ u。

Sun 等人^[2]分离得到的红菇纯化多糖 RVP 分子量为 3.9×10^4 u, 糖链主要由 (1→6)- α -D-半乳糖基和 (1→2,6)- α -D-半乳糖基构成, 体外抗氧化活性试验表明, RVP 能剂量依赖性的增强清除羟基自由基的效果。

多糖具有广泛的生物活性, 如抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、免疫增强等^[3-5], 因而受到更多的关注目前, 对红菇多糖主要是提取工艺及其粗多糖生物活性的研究, 而对其单一纯品生物活性机制和生物活性与分子结构的间关系研究甚少。可能是由于红菇多糖分离困难和分子结构不太清楚。甘耀坤等人^[6]研究粗红菇多糖的抗氧化活性, 说明红菇具有一定的抗氧化作用, 但是否纯化后的红菇多糖比粗多糖更具抗氧化能力, 有必要进行研究探讨。HAP-I 是以正红菇子实体分离纯化后得到的单一多糖, 因此, 本文采用红外光谱法、气相色谱分析法、高碘酸氧化法、Smith 降解法、¹³C NMR 和 ¹H NMR 分析研究了 HAP-I 的结构, 通过体外抗氧化实验研究了 HAP-I 对自由基的清除作用, 为研究红菇多糖生物活性作用机制与分子结构间的关系和红菇多糖的活性应用提供了有用的信息。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

野生正红菇, 产地福建, 购于广州清平路干货市场; 葡聚糖标准品 (5200、11600、23800、48600、148000、273000、410000、668000 和 1400000 Da, Sigma 公司); 单糖标准品, Sigma 公司; 葡萄糖醛酸, Sigma 公司; 1,1-二苯-2-苦基肼, 美国 sigma 公司生产; Whatmen DEAE-52, 广州展晨生物科技有限公司进口分装; D354FD 树脂, 广州市广联津化工有限公司生产; Sephadex G-100, Pharmacia 公司。

RE-2000A 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; DHG-9076A 电热恒温鼓风干燥箱, 广东环凯微生物科技有限公司; 100 kD 超滤离心管, Millipore; UV-5000 分光光度计, 上海元析仪器有限公司; BT-200 恒流泵、DBS-100 自动部分收集器, 上海沪西仪器厂; Waters2410 示差检测器、717plus 自动进样器、1525HPLC 泵, 美国 Waters 公司; Agilent6890T 气相色谱系统, 美国 Agilent 公司; Vector33 傅立叶变换红外光谱仪, 德国 Bruck 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 粗多糖制备分离纯化工艺

红菇子实体→粉碎过 60 目筛→热水浸提→离心 (4000 r/min, 10 min, 下同)→减压浓缩→D354FD 树脂脱色→85%

乙醇醇沉→离心→Sevage 法脱蛋白→醇沉→离心→沉淀溶解→DEAE-52 离子交换柱层析 (规格为 2.6×30 cm 的 Z 型层析柱, 平衡后 6 s/滴)→蒸馏水洗脱→收集组分→减压浓缩→透析→超滤膜过滤→冷冻干燥 (-65 °C, 24 h)→得到 HAP-I 纯品

多糖得率=冻干多糖质量/多糖上样量×100%

1.2.2 红菇子实体多糖 HAP-I 的相对分子质量测定及纯度鉴定

采用 GPC 法进行实验, 色谱条件为 TSK GEL G-5000PWXL 柱 (7.8 mm×300 mm) 与 TSK GEL G-3000PWXL 柱 (7.8 mm×300 mm) 串联; 流动相为 0.02 mol/L KH₂PO₄ 溶液, pH 6.0; 流速为 0.6 mL/min; 柱温为 35 °C; 检测器: 示差检测器。

1.2.3 红外光谱扫描

取红菇精制多糖 HAP-I 约 2 mg 与 KBr 混合研细后, 在 4000~500 cm⁻¹ 范围内进行红外扫描。

1.2.4 单糖组成分析

多糖 HAP-I 的水解及标准品的衍生化参照文献^[7], 最后生成具有挥发性的糖腈乙酸酯衍生物。

气相色谱分析: 上述产物进行气相色谱分析, 根据单糖标准品的保留时间匹配分析结果, 并根据气相色谱各峰的面积比计算出单糖质量比。色谱条件: 采用 Agilent 6890N 气相色谱仪、DB-1701 毛细管柱 (30m×0.25 mm, 0.25 μm) 及氢火焰离子化检测器; 高纯氮作载气, 流速为 1 mL/min。程序升温: 柱初始温度为 180 °C, 以 2 °C/min 升至 220 °C, 保持 1 min, 以 5 °C/min 升至 250 °C, 保持 2 min; 进样口温度为 250 °C, 汽化室温度为 250 °C, 检测器温度为 300 °C, 吹扫流速为 4.0 mL/min。

1.2.5 高碘酸氧化和 Smith 降解

高碘酸氧化和 Smith 降解方法参考文献^[8], 将降解后溶液水解、衍生化后进行 GC 分析。

1.2.6 核磁共振分析

称取约 40 mg HAP-I, 用 0.5 mL 重水溶解, -20 °C 过夜真空冷冻干燥后再次用 0.5 mL 重水复溶, 重复上述操作三次, 最后用 0.5 mL 重水溶解后置于核磁管中, 测定红菇纯化多糖 HAP-I 的氢谱和碳谱。

1.2.7 抗氧化活性

1.2.7.1 HAP-I 对有机自由基 DPPH 的清除作用

取不同浓度的 HAP-I 多糖溶液 0.6 mL, 分别加入 0.1 mol/L 的 DPPH 溶液 2 mL, 混匀后 25 °C 水浴中放置 25 min, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液在 517 nm 处测定吸光度。DPPH 自由基的清除率根据以下公式计算。

$$\text{DPPH 清除率 (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

式中, A₀-用蒸馏水代替样品溶液的 DPPH 溶液的吸光度;

A_1 -加样品溶液的 DPPH 溶液的吸光度。

1.2.7.2 HAP-I 对 O_2^- 的清除作用

取 6 支带塞试管, 分别加入 1.84 mL Tris-HCl 缓冲液 (50 mmol/L)、0.4 mL 的样液和 0.16 mL 的邻苯三酚溶液 (10 mmol/L, HCl 配制), 混匀, 4 min 后加入 8 mmol/L 的 HCl 溶液 0.4 mL。摇匀后立即在 325 nm 下测定吸光度。 O_2^- 的抑制率根据以下公式计算。

$$O_2^- \text{ 抑制率 } (\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

式中, A_0 -用蒸馏水代替样品溶液的 DPPH 溶液的吸光度;
 A_1 -加样品溶液的 DPPH 溶液的吸光度。

1.2.7.3 HAP-I 对 OH 的清除作用

分别依次加入 9 mmol/L $FeSO_4$ 1 mL、不同浓度样品溶液 1 mL 和 9 mmol/L 水杨酸, 混匀后, 静置于 37 °C 水浴中, 10 min 后, 加入 6 mmol/L H_2O_2 1 mL, 在 37 °C 水浴中静置 30 min。在 510 nm 处测定吸光度。

$$OH \text{ 清除率 } (\%) = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

式中, A_0 -用蒸馏水代替样品溶液的 DPPH 溶液的吸光度;
 A_1 -加样品溶液的 DPPH 溶液的吸光度。

1.2.7.4 还原能力测定

在试管中依次加入 0.6 mmol/L 200 mmol/L 的磷酸缓冲液 (pH 6.6)、0.6 mL 多糖溶液以及 1% 铁氰化钾 2.5 mL, 振荡后在 50 °C 水浴中放置 20 min, 取出让其急速降温, 加 10% TCA 0.6 mL, 离心 10 min 后, 取 1 mL 上清液, 加入 1 mL 蒸馏水和 0.2 mL 0.1% 氯化铁, 混匀, 静置 10 min, 在 700 nm 处测吸光度。吸光度的大小直接反映还原性的强弱。

1.2.8 数据分析

用 Microsoft Excel 和 Oringe 软件进行数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 HAP-I 的纯度和分子量测定

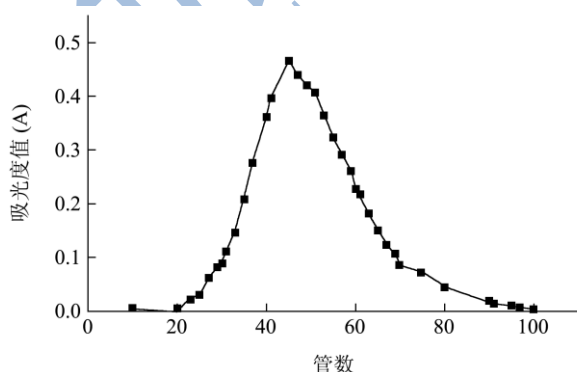


图 1 HAP-I 的 Sephadex G-100 洗脱曲线

Fig.1 Elution curve of HAP-I with Sephadex G-100 chromatography

2.2 HAP-I 的单糖组成

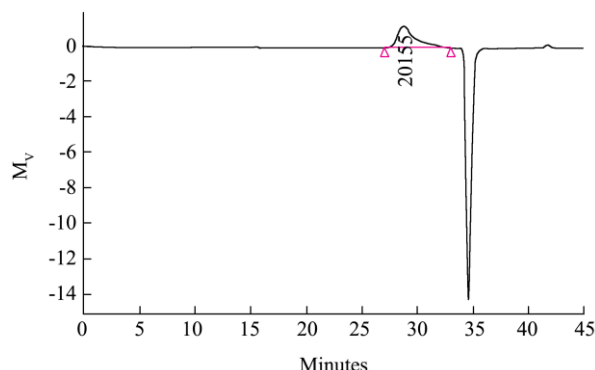


图 2 HAP-I 的 GPC 图谱

Fig.2 GPC spectrum of HAP-I

红菇子实体粗多糖经 DEAE-52 分离、超滤离心得到 HAP-I, 其得率为 15.5%。经葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 检验 (图 1), 得到单一对称洗脱曲线; 经 GPC 检测 (图 2), 得到单一对称峰, 表明 HAP-I 为纯度较好的均一多糖样品, 峰位分子量 M_p 为 20155, 重均分子量 M_w 为 16860, 数均分子量 M_n 为 13500。

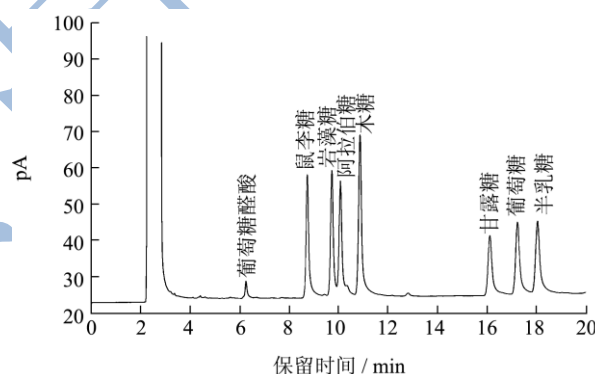


图 3 单糖标准品的 GC 色谱图

Fig.3 GC chromatogram of monosaccharide standards

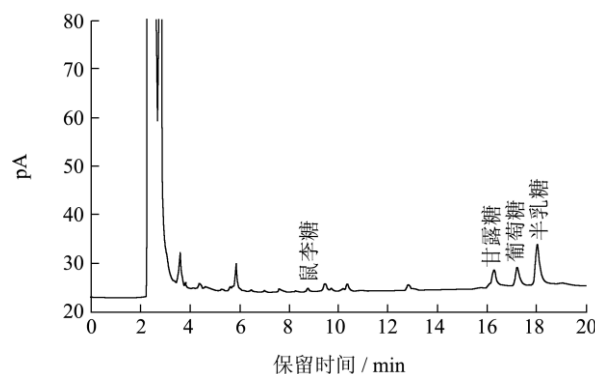


图 4 HAP-I 的 GC 色谱图

Fig.4 GC chromatogram of HAP-I

单糖标准品经衍生化后生成糖腓乙酸酯衍生物, 用 GC 进行分析得到的图谱。由图 3 和图 4 可知, HAP-I 经水解、衍生化后得到 4 个峰, 保留时间 8.749、

16.284、17.217、18.032 min 与标准品鼠李糖 (8.740)、甘露糖 (16.124)、葡萄糖 (17.243)、半乳糖 (18.054) 的保留时间一致, 4 种单糖摩尔比为 1:8.29:7.45:18.13。

2.3 红外光谱分析

HAP- I 的红外光谱图(KBr 压片法)如图 5 所示, HAP- I 在 3401 cm^{-1} 处是多糖中 O-H 伸缩振动; 在 2930 cm^{-1} 处的吸收, 是 C-H 吸收峰, 也是糖类的特征峰; $1400\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰是 C-H 的变角振动; 1641 cm^{-1} 处的吸收峰是多糖中乙酰胺基 (-NHCOCH₃) 的 C=O 伸缩振动, 说明 HAP- I 是一种含氨基的糖缀合物; 918 cm^{-1} 和 873 cm^{-1} 处出现的吸收峰, 是四氢吡喃环的非对称伸缩振动所造成的 C-O-C 骨架振动和 β -D-葡萄糖吡喃糖 C-H 的变角振动, 769 cm^{-1} 处为 D-葡萄糖吡喃糖环的振动, 表明该组分含有 β -D-吡喃葡萄糖环; 802 cm^{-1} 是甘露糖的特征吸收峰, 这与 GC 结果一致^[6]。

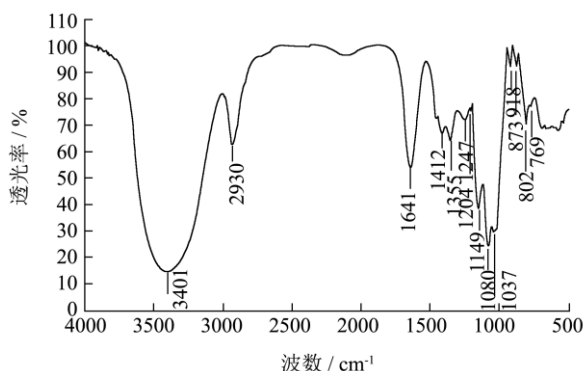


图 5 HAP-I 的红外光谱图
Fig.5 FT-IR spectrum of HAP-I

2.4 HAP- I 的高碘酸氧化和 Smith 降解

HAP- I 经高碘酸氧化, 136 h 后达到稳定, 吸光度值为 0.268, 通过标准曲线 ($y=9.9783x+0.016$, $R^2=0.9994$) 计算, 平均每摩尔己糖基消耗高碘酸的量为 1.410 mol; 用 0.00945 mol/L 的 NaOH 滴定, 得到平均每摩尔己糖基生成甲酸的量为 0.627 mol, 说明 1→6、1→糖苷键占连接残基的 22.24%。高碘酸的消耗量高于甲酸生成量的 2 倍, 说明既含有只消耗高碘酸不生成甲酸的 1→2、1→4 糖苷键, 又含有不消耗高碘酸也不产生甲酸的 1→3 糖苷键。1→2、1→4 糖苷键占连接残基的 11.06%, 那么可氧化残基占 33.30%, 1→3 糖苷键是不可氧化残基, 占 66.7%。

1→2、1→4 糖苷键型只消耗高碘酸, 不生成甲酸, 但 1→4 糖苷键产生赤藓醇和乙二醇, 而 1→2 糖苷键同时还会产生甘油; 1→3 糖苷键不会被高碘酸氧化, Smith 降解后仍为原来的糖。图 6 为混合标准

品的糖精乙酸酯衍生物的 GC 图谱, 标准品保留时间依次为乙二醇、丙三醇 (甘油)、赤藓醇、鼠李糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖。

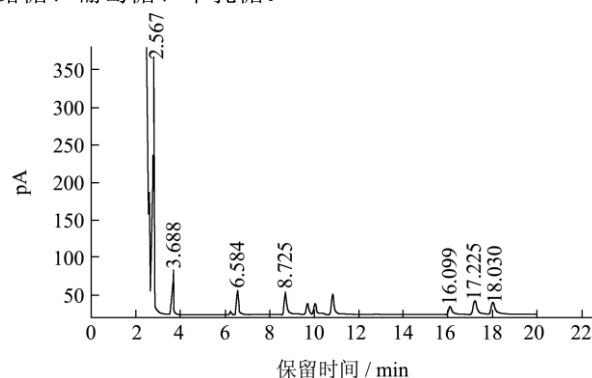


图 6 混合标准品的糖精乙酸酯衍生物的 GC 图谱

Fig.6 GC chromatogram of acetyl derivatives of mixed standards

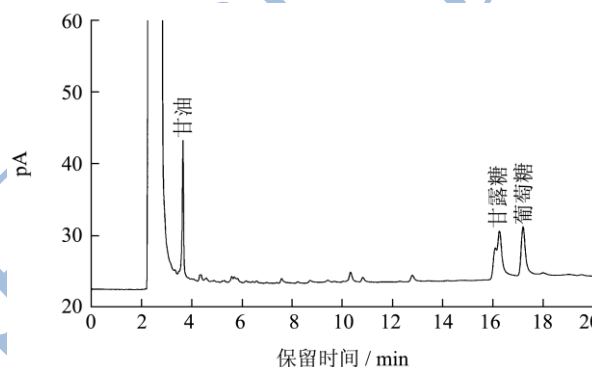


图 7 Smith 降解后 HAP-I 的 GC 色谱图

Fig.7 GC chromatogram of HAP-I after Smith degradation

图 7 所示, Smith 降解产物中不含有赤藓醇、乙二醇, 表明糖链中不含有 1→4 糖苷键, 不含有鼠李糖、半乳糖, 表明鼠李糖和半乳糖中不含有 1→3 糖苷键; 降解产物中含有大量的甘油, 表明糖链中含有 1→2 糖苷键; 甘露糖和葡萄糖的存在, 说明甘露糖和葡萄糖都含有 1→3 糖苷键。降解产物甘露糖、葡萄糖、甘油的摩尔比为 1:2.65:4.29。

2.5 ¹³C NMR 和 ¹H NMR 分析

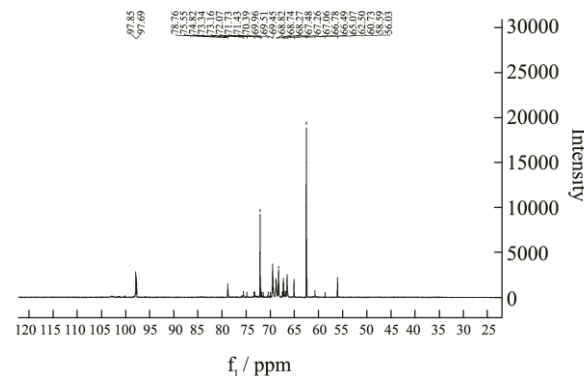


图 8 HAP-I 核磁共振碳谱

Fig.8 ¹³C-NMR spectrum of HAP-I

¹³C NMR 谱 (图 8) 显示, 异头 C1 区 (δ90~120 ppm) 的 δ97.85 ppm、δ97.69 ppm 表明 HEP-I 主要含有两种糖残基; 异头碳化学位移小于 δ103, 说明是 α 型糖苷键构型^[9]; 小于 δ80 ppm 是吡喃糖的 C3 和 C5 的信号峰; δ 在 70.0 ppm~75.0 ppm 处的化学位移表明有未发生取代的 C-2、C-3、C-4; 在 75.5 ppm 和 78.7 ppm 处的化学位移表明该多糖中有碳发生取代; δ 在 67.4、67.2、67.0、66.7、66.4 处的一系列化学位移, 表明有 C-6 位被取代; 在高场 17.45 ppm 处为鼠李糖单元的 6 位甲基碳信号, 表明有鼠李糖基存在, 在低场 56.0 ppm 处为甲酯化的半乳糖的甲基碳信号^[10], 表明有半乳糖基存在, 与 GC 单糖组成结果一致。

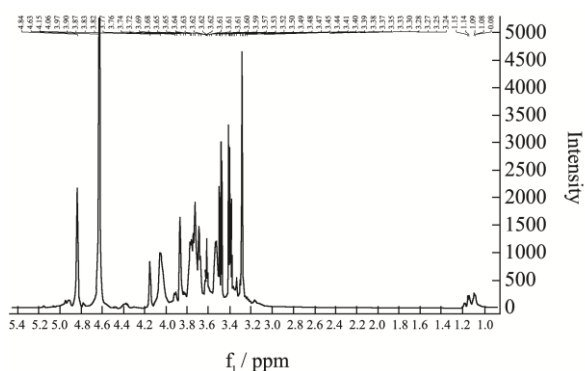


图 9 HAP-I 核磁共振氢谱

Fig.9 ¹H-NMR spectrum of HAP-I

在 ¹H NMR 谱 (图 9) 中, 异头氢质子区 δ4.3~5.9 ppm 有 2 个信号, 表示 HAP-I 主要由 2 种单糖组成, δ4.63 ppm、δ4.84 ppm 处的位移表明 HAP-I 中含有 β 型吡喃糖, 这与红外光谱分析一致。

2.6 抗氧化活性

DPPH 是稳定的自由基化合物, 其溶液在 517nm 处有强的吸收, 它被广泛地应用于评估抗氧化剂清除自由基的能力, DPPH 清除率高说明抗氧化活性好。在此基础上, 纯化多糖 HAP-I 对 DPPH 清除能力进行测定, 图 10a, 在 2 mg/mL~10 mg/mL 浓度范围内, HAP-I 对 DPPH 清除能力随着浓度的增大而增大, 呈线性关系, 表明 HAP-I 可以提供清除自由基 DPPH 的氢供体。与低浓度的 Vc 比较, 清除能力显然不如 Vc。

超氧阴离子活性较低, 比许多生物和光化学反应产生的自由基具有更长的寿命。虽然超氧阴离子自由基是在大多数生物体一个相对较弱的氧化剂, 但它可以通过歧化和其他类型的反应形成二次基团 (如过氧化物和羟基氢) 激进而引起的组织的损害和各种疾病^[11]。清除超氧阴离子自由基能力是说明抗氧化活性机制一个重要途径^[12]。图 10b 中, 在 2 mg/mL~10 mg/mL 浓度范围内, 多糖 HAP-I 清除 O₂⁻ 的能力随着浓度的

增大而增大, 当浓度为 6 mg/mL 时, 清除率为 29.9%, 之后曲线趋于平缓。说明 HAP-I 有一定的清除 O₂⁻ 的作用。

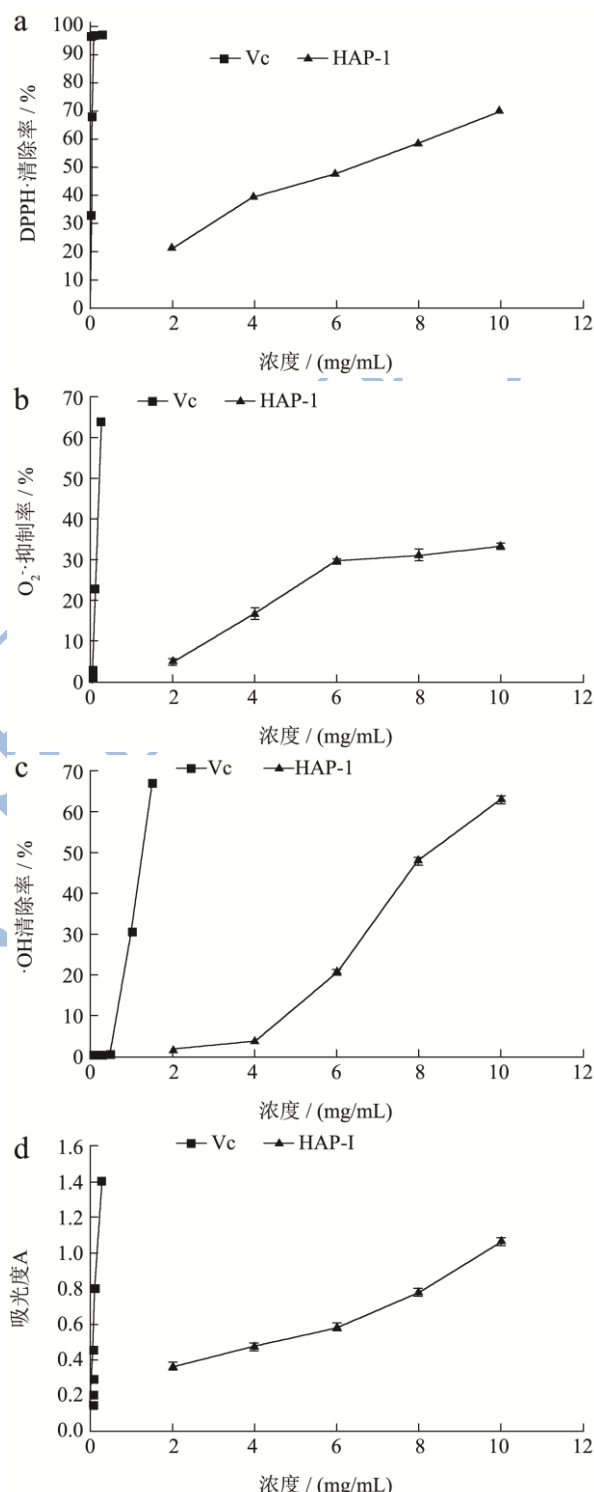


图 10 HAP-I 和 Vc 的抗氧化能力

Fig.10 Antioxidant activities of HAP-I and Vc

羟基自由基是危险的有机体氧化损伤生物分子, 多糖可以作为电子或供氢体, 以清除羟自由基^[13]。图 10c 显示 HAP-I 对羟基自由基的清除能力与浓度呈一定的依赖性。浓度为 10 mg/mL 时, 清除率达到

62.19%，与 1.5 mg/mL 的 Vc 溶液（清除率 66.76%）相当。

还原能力是抗氧化物质提供电子能力的重要指标，提供可阻断 Fe^{2+} 向 Fe^{3+} 转变的电子；多糖的分子链中活性的羟基提供电子或氢原子的能力强，与自由基充分作用，表现出抗氧化活性^[14]。还原力作用测定中，吸光度越大表示还原力越强。如图 10d 所示，在浓度为 2 mg/mL~10 mg/mL 的范围内，HAP-I 的还原能力随着浓度的增大而增强，8 mg/mL 浓度的 HAP-I 的还原能力与 0.125 mg/mL 的 Vc 还原能力相当。

整体上，浓度为 10 mg/mL 时，HAP-I 对自由基清除作用大小依次是 $DPPH > OH \cdot > O_2 \cdot^-$ ，具有一定的还原能力；由于 Vc 是高纯度阳性对照物，所以 HAP-I 的抗氧化活性虽不及 Vc，但其高浓度下仍然可以作为免费自由基抑制剂或清除剂，有可能作为抗氧化剂。

3 结论

红菇子实体多糖经提取分离纯化后得到 HAP-I，得率为 15.5%。均一多糖 HAP-I 重均分子量 Mw 为 16861 Da，由鼠李糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖 4 种单糖组成，摩尔比为 1:8.29:7.45:18.13；结构表征 HAP-I 是含有甘露糖苷的 D-吡喃葡萄糖环，包括 α 构型和 β 构型，不含有 1 \rightarrow 4 糖苷键，由 22.24% 的 66.7% 1 \rightarrow 3 糖苷键，1 \rightarrow 6、1 \rightarrow 糖残基和 11.06% 1 \rightarrow 2 糖残基组成。HAP-I 具有一定的清除自由基能力和还原能力，10 mg/mL 的高浓度下能与微克级别 Vc 媲美，可以作为抗氧化剂应用与食药工业。综上，本文对正红菇子实体多糖 HAP-I 的研究，为红菇多糖生物活性作用机制与分子结构间的关系和红菇多糖的活性研究奠定了基础。

参考文献

- [1] SUN Zhong-wei, ZHANG Li-xiang, ZHANG Bin, et al. Structural characterisation and antioxidant properties of polysaccharides from the fruiting bodies of *Russula virescens* [J]. Food Chemistry, 2010, 118: 675-680
- [2] SUN Yong-xu, LIU Ji-cheng, YANG Xiu-dong, et al. Purification, structural analysis and hydroxyl radical-scavenging capacity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Russula virescens* [J]. Process Biochemistry, 2010, 45: 874-879
- [3] CUI Y, K I MA D S, PARK K C. Antioxidant effect of *Inonotus obliquus* [J]. J. Ethnopharmacol., 2005, 96(1-2): 79-85
- [4] ZHANG G L, WANG Y H, N IW, et al. Hepatoprotective role of *Ganoderma lucidum* polysaccharide against BCG-induced immune liver injury in mice [J]. World J. Gastroenterol, 2002, 8(4): 728-733
- [5] CHEN Y Y, CHANG H M. Anti-proliferative and differentiating effects of polysaccharide fraction from fuling (*Poriacocos*) on human leukemic U-937 and HL-60 cells [J]. Food Chemistry, 2004, 42(5): 759-769
- [6] 甘耀坤, 姜小华, 等. 红菇子实体抗氧化性能的初步研究 [J]. 食用菌, 2007, 1: 57-59
- [7] 周跃斌, 周向荣, 王伟. 毛竹叶水溶性多糖 BPS1-1 的色谱研究 [J]. 食品科学, 2008, 29(8): 184-187
- [8] ZHOU Yue-bin, ZHOU Xiang-rong, WANG Wei. Chromatography of water-soluble polysaccharide BPS1-1 of mao bamboo [J]. Food Science, 2008, 29(8): 184-187
- [9] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999
- [10] ZHANG Wei-jie. Glycoconjugates biochemical research techniques [M]. Hang Zhou: Zhejiang University Press, 1999
- [11] AGRAWA P K. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and gyoicosides [J]. Phytochemistry, 1992, 32(10): 3307-3330
- [12] 孙元琳. 当归多糖 ASP3 及其水解产物的 NMR 光谱分析 [J]. 高等学校化学学报, 2009, 30: 1739-1743
- [13] SUN Yuan-lin. NMR spectroscopy of asp3 and hydrolysates of angelica polysaccharide [J]. Chemical Journal of Chinese University, 2009, 30: 1739-1743
- [14] T Zhang, Y Tian, B Jiang, et al. Purification, preliminary structural characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from *Acanthus ilicifolius* [J]. LWT - Food Sci. Technol., 2014, 56: 9-14
- [15] J W Sheng, Y L Sun. Antioxidant properties of different molecular weight polysaccharides from *Athyrium multidentatum* (Doll.) Ching [J]. Carbohydr. Polym., 2014, 108: 41-45
- [16] XIE J H, SHEN M Y, XIE M Y, et al. Ultrasonic assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(1): 177-184
- [17] 姚倩, 孙涛, 徐轶霞, 等. 壳寡糖衍生物的制备及其抗氧化性能研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(2): 188-189
- [18] YAO Qian, SUN Tao, XU Yi-xia, et al. Preparation and antioxidant properties of chitosan oligosaccharide derivatives [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2009, 28(2): 188-189

现代食品科技