

不同提取方法对兰州百合多糖结构及抗氧化活性的影响

黄玉龙^{1,2}, 高清雅², 全婷³, 孙若诗³, 张芳¹, 李伟琦¹, 张继^{2,3}

(1. 甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 甘肃兰州 730070)(2. 甘肃省特色植物有效成分制品工程技术研究中心, 甘肃兰州 730070)(3. 西北师范大学生命科学院, 甘肃兰州 730070)

摘要: 以兰州百合为原料, 研究微波辅助、超声波辅助及超声波复合酶法三种不同提取工艺对百合多糖结构组成的影响, 并对其抗氧化活性进行了比较分析。通过微波辅助、超声波辅助及超声波复合酶法分别从兰州百合鳞茎中提取多糖(LPS), 经醇沉、脱蛋白、冷冻干燥后得到3种百合多糖为LPS-M、LPS-C和LPS-CE。红外光谱分析结果表明, LPS-M、LPS-C、LPS-CE在 3378 cm^{-1} 、 2931 cm^{-1} 、 1640 cm^{-1} 、 1060 cm^{-1} 都有吸收峰, 此为多糖的典型红外光谱特征吸收峰; 通过GC-MS测定单糖组成分析表明3种多糖的单糖组成类型成分相同, 主要由甘露糖、葡萄糖组成, 但单糖的摩尔比有所不同, 分别为5.2:4.9、5.1:4.7和4.8:5.3。通过清除羟自由基、超氧自由基、DPPH自由基及还原力测定试验表明, 3种多糖具有不同程度的抗氧化活性, LPS-CE的体外抗氧化活性要显著高于LPS-C、LPS-M。因此, 可将超声波复合酶法作为提取功能性兰州百合多糖的首选方法。

关键词: 兰州百合; 多糖; 提取; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2018)11-126-131

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.020

Effects of Different Extraction Methods on the Composition and Antioxidant Activity of the Polysaccharides in *Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb.

HUANG Yu-long^{1,2}, GAO Qing-ya², QUAN Ting³, SUN Ruo-shi³, ZHANG Fang¹, LI Wei-qi¹, ZHANG Ji^{2,3}

(1. Agricultural Product Storage and Processing Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China) (2. Bioactive Products Engineering Research Center for Gansu Distinctive Plants, Lanzhou 730070, China) (3. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: *Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb. was used as the raw material for the investigation on the effects of three extraction methods, microwave-assisted extraction, ultrasonic-assisted extraction, and ultrasonic treatment coupled with enzymatic hydrolysis, on the structure and composition of the obtained polysaccharides (named LPS-M, LPS-C, and LPS-CE, respectively). After precipitation with ethanol, deproteinization and freeze-drying, the three types of polysaccharide samples were characterized by FT-IR, and the result indicated that LPS-M, LPS-C and LPS-CE all had the characteristic absorption peaks of polysaccharides (at 3378 , 2931 , 1640 and 1060 cm^{-1}). The monosaccharide compositions of LPS-M, LPS-C and LPS-CE were analysed by GC-MS, and the results showed that these polysaccharides had the same types of monosaccharides but at different molar ratios i.e. the molar ratios of the two major components, mannose and glucose, were at 5.2:4.9, 5.1:4.7, and 4.8:5.3, respectively. The analyses of the antioxidant activities by hydroxyl radicals, superoxide radicals, DPPH free radicals and reducing power assays revealed that antioxidant activity of LPS-CE was significantly higher than those of LPS-C and LPS-M. The method of ultrasonic treatment coupled with enzymatic hydrolysis could be used as the preferred extraction method for extracting functional polysaccharides from *Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb..

收稿日期: 2018-06-08

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金(GARS-27); 国家自然科学基金项目(51873175); 甘肃省农牧厅科技项目(GNKJ-2018-11); 兰州市人才创新创业项目(2016-RC-66); 甘肃省农业科学院青年基金(2016GAAS50)

作者简介: 黄玉龙(1980-), 男, 副研究员, 研究方向: 农产品贮藏加工

通讯作者: 张继(1963-), 女, 研究员, 博导, 研究方向: 天然产物化学

Key words: *Lilium davidii* var. *unicolor* salisb.; polysaccharides; extract; anti-oxidant activity

兰州百合(*Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb.)为百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)多年生草本球根植物,也是唯一的药食两用的甜百合,从种子到商品兰州百合在土壤中生长 6~9 年^[1]。兰州百合始载于《神农本草经》,可入药对阴虚久咳、失眠烦躁等症有宁心安神、滋阴润燥、健胃消积等功效^[2]。兰州百合鳞茎营养丰富,含糖量高,鲜百合总糖含量 13.39%,还含有皂苷、类黄酮、生物碱、多种维生素、总类胡萝卜素、8 种人体必需氨基酸和 12 种人体必需微量元素等成分。兰州百合多糖(LPS)是兰州百合的主要功能成分之一,不同产地的兰州百合其多糖含量可达干重的 21.9%~31.2%。兰州百合多糖具有提高免疫力、耐疲劳、降血糖、润肺止咳等功效。刘成梅等研究发现,LPS 有降血糖功能,可调节小鼠 β -胰岛细胞功能紊乱,促进胰岛素分泌^[2]。杨颖等对 LPS 的抑瘤作用研究发现,LPS 可通过提高机体免疫功能增强化疗药物的抑瘤效果,并降低化疗的毒性损伤^[3]。苗明三等发现 LPS 具有免疫调节作用,可提高免疫低下小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬指数和吞噬百分率,促进淋巴细胞转化^[4]。滕利荣等利用酶解提取 LPS 的研究发现,酶促反应时间、温度、pH 和加酶量等参数的选择会影响 LPS 的提取^[5]。LPS 的相关研究主要集中在降血糖、抗肿瘤、调节免疫及提取工艺等方面。多糖的活性功能与其自由基清除能力密切相关,而不同的提取方法会显著影响多糖的提取率、结构特征以及自由基清除能力等生物活性^[6]。目前,不同提取方法与兰州百合多糖的结构组成及抗氧化活性之间的关系未见报道。因此,本试验比较了微波辅助、超声辅助及超声复合酶提取法对所得兰州百合多糖的结构组成的影响,并对所提取多糖的体外抗氧化活性进行了研究,从而确定制备较高抗氧化活性兰州百合多糖的方法,以期为进一步综合开发利用提供一定的技术和理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验原料

兰州百合,产自兰州市七里河区西果园镇。百合鳞茎剥片清洗后于 60 °C 下热风烘干,粉碎后过 60 目筛备用。

硫酸亚铁、三氟乙酸(TFA)、乙醇、3,5-二硝基水杨酸(DNS)、还原型辅酶I(NADH)、吩嗪硫酸甲酯(PMS)、氯化氮蓝四唑(NBT)、过氧化氢(H₂O₂)、氯化亚铁(FeCl₂)、三氯化铁(FeCl₃)及铁氰化钾均为

国产分析纯;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)美国 Sigma 公司;凝乳酶(20000 U/g)、纤维素酶(40000 U/g),天津利华酶制剂技术有限公司。

1.2 主要仪器设备

UV1000 紫外可见分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司);DF-101B 集热式恒温磁力搅拌器(金坛友联仪器研究所);RE-52A 旋转蒸发器(上海市亚荣生化仪器厂);恒温水浴锅(上海智城分析仪器公司);LGJ-18S 冷冻干燥机(河南兄弟仪器公司);BL320H 电子天平(赛多利斯公司);SHB-III 循环水式多用真空泵(西安太康生物科技有限公司);TDL5M 台式大容量冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.3 试验方法

1.3.1 LPS 的提取

依据前期试验^[7],以兰州百合鳞茎粉为原料,采用微波辅助、超声波辅助和超声复合酶法对其多糖进行提取,蒸馏水作为浸提液,利用不同提取条件提取兰州百合多糖(详见图 1)。提取液离心后,上清液减压浓缩至原体积的 1/3,再加入 3 倍体积的无水乙醇,4 °C 下静置 12 h,离心后收集沉淀,用 Sevag 法脱蛋白后醇沉过夜并离心,用无水乙醇将沉淀洗涤 3 次,真空冷冻干燥之后,得到 3 种兰州百合多糖粉样品备用。

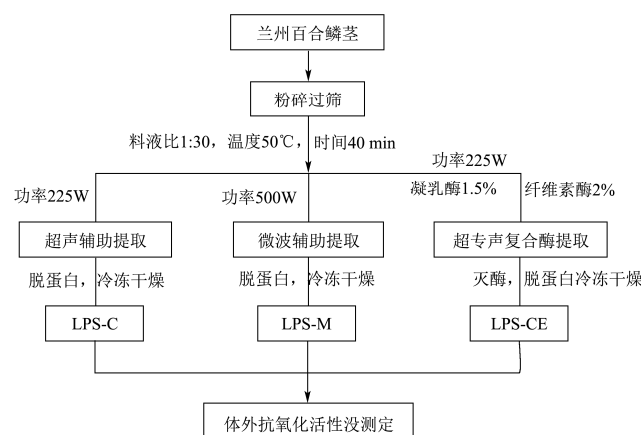


图 1 兰州百合多糖的提取工艺流程

Fig.1 The extraction processes of LPS

1.3.2 红外光谱表征 (FT-IR)

采用 Thermo Nicolet iS10 红外光谱仪对多糖的分子结构进行分析。取充分干燥的百合多糖样品 2 mg 于玛瑙碾钵中,与 KBr 压片,在 400~4000 cm⁻¹ 范围内扫描,扫描次数 16 次,分辨率 4 cm⁻¹。

1.3.3 GC-MS 单糖组成分析

称取LPS 10 mg加入4 mol/L TFA溶液4 mL, 在氮气保护下120 °C水解10 h, 减压蒸馏除去TFA。在90 °C下加入盐酸羟胺10 mg和吡啶0.5 mL反应30 min, 冷却后加入乙酸酐0.5 mL, 90 °C下乙酰化反应30 min, 减压蒸干。经氯仿萃取, 0.22 μm微孔滤膜过滤, GC-MS (Thermo Focus GC-Polaris Q MS) 进样0.2 μL分析。GC柱TR-5 ms SQC column, 30×0.25 μm, 120 °C保持3 min后, 以5 °C/min升温至250 °C并保持5 min。载气为高纯氮气, 1.0 mL/min柱流量, 分流比1:50, 进样口的温度为250 °C^[8]。

标准单糖为鼠李糖、木糖、来苏糖、甘露糖、阿拉伯糖、葡萄糖和半乳糖, 标品处理方法同上。

1.3.4 对 DPPH 自由基的清除作用^[9,10]

精确称取LPS样品和2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT), 分别配制浓度为0.02、0.06、0.1、0.2、0.6、1、2 mg/mL的LPS样品溶液和BHT溶液。准确量取2 mL LPS或BHT溶液, 加入0.5 mL现配的0.2 mmol/L的DPPH无水乙醇溶液混合摇匀, 置于暗箱30 min后以对应的溶剂调零, 在517 nm处测定吸光值 A_i 。同时测定2 mL多糖样品或BHT溶液与0.5 mL对应溶剂混合均匀的517 nm处吸光值 A_j 。再测定0.5 mL的0.2 mmol/L的DPPH溶液与0.5 mL对应溶剂混合均匀的517 nm处吸光值 A_0 。重复3次求平均值。计算公式为:

$$\text{清除率}\% = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.5 对羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除作用^[9,10]

精确称取抗坏血酸(Vc)与LPS样品, 配制7个不同浓度0.02、0.06、0.1、0.2、0.6、1、2 mg/mL的样品溶液待用。分别量取2 mL的各浓度多糖和Vc溶液, 依次加入2 mL的6 mmol/L的 FeSO_4 、6 mmol/L H_2O_2 溶液, 混匀后静置10 min, 再加入2 mL的6 mmol/L水杨酸混匀静置30 min于510 nm下测定吸光值 A_i , 用蒸馏水代替水杨酸测定 A_j , 空白对照用双蒸水代替样品测定 A_0 , 重复3次, 求平均值。计算 $\cdot\text{OH}$ 清除率公式为:

$$\text{清除率}\% = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.6 对超氧阴离子 ($\cdot\text{O}_2^-$) 的清除作用^[9,10]

精确称取Vc与LPS样品, 配制成7个浓度分别为0.02、0.06、0.1、0.2、0.6、1、2 mg/mL的溶液。采用PMS-NADH-NBT体系产生超氧阴离子自由基。分别量取1 mL各浓度多糖和Vc溶液, 依次加入浓度为557 μmol/L的NADH- Na_2 、45 μmol/L的PMS、108 μmol/L的NBT各1 mL, 混匀后于25 °C下温浴5 min, 以蒸馏水调零, 在510 nm处测吸光值 A_i , 蒸馏水代替多糖溶

液, 测定 A_0 , 重复3次, 取平均值。计算超氧阴离子($\cdot\text{O}_2^-$)清除率公式为:

$$\text{清除率}\% = \left(1 - \frac{A_i}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

1.3.7 还原力

精确称取Vc与LPS样品, 配制成7个浓度为0.02、0.06、0.1、0.2、0.6、1、2 mg/mL的样品溶液。分别量取1 mL各浓度多糖和Vc溶液, 依次加入2.5 mL磷酸缓冲液(pH 6.6)、2.5 mL铁氰化钾($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$)溶液(1 wt%), 混匀后50 °C水浴20 min, 再加入2.5 mL三氯乙酸溶液(10 wt%), 混匀1000 r/min离心10 min, 上清液取2.5 mL, 再加入2.5 mL蒸馏水和2.5 mL氯化铁(FeCl_3 , 0.1 wt%), 混匀静置10 min, 蒸馏水调零, 在700 nm处测定吸光值, 重复3次, 求平均数表示还原力大小。

1.3.8 数据统计分析

所有试验数据取3次平行重复的平均值, 应用SPSS13.0软件进行统计学分析处理, 组比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 各组间比较采用双尾t-检验, 试验结果以平均数±标准差($\bar{x} \pm \text{sd}$)表示, 以 $p < 0.05$ 为显著性检验标准, 采用Origin 9.0软件作图。

2 结果与讨论

2.1 LPS的红外光谱

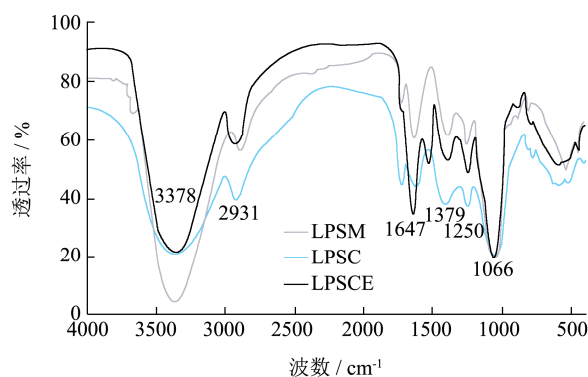


图2 兰州百合多糖的红外图谱

Fig.2 FT-IR spectroscopy of LPS

通过红外光谱可以鉴定是否具有多糖的结构特征, 图2为不同方法提取的兰州百合多糖的红外光谱图。从图2可以看出, 三种方法得到的兰州百合多糖在3378 cm^{-1} 附近有较强且宽的吸收峰, 为O-H伸缩振动, 说明该多糖的分子间和分子内都存在氢键; 2931 cm^{-1} 附近是由C-H伸缩振动引起的吸收峰; 1647 cm^{-1} 附近的吸收峰是由COO-基团的C=O非对称伸缩振动引起的, 该多糖可能是羧酸或羧酸盐; 在1066 cm^{-1}

出现的强吸收峰是由糖环中 C-O-C 的非对称伸缩振动引起的, 表明百合多糖具有吡喃环的构象。

2.2 LPS 的单糖组成

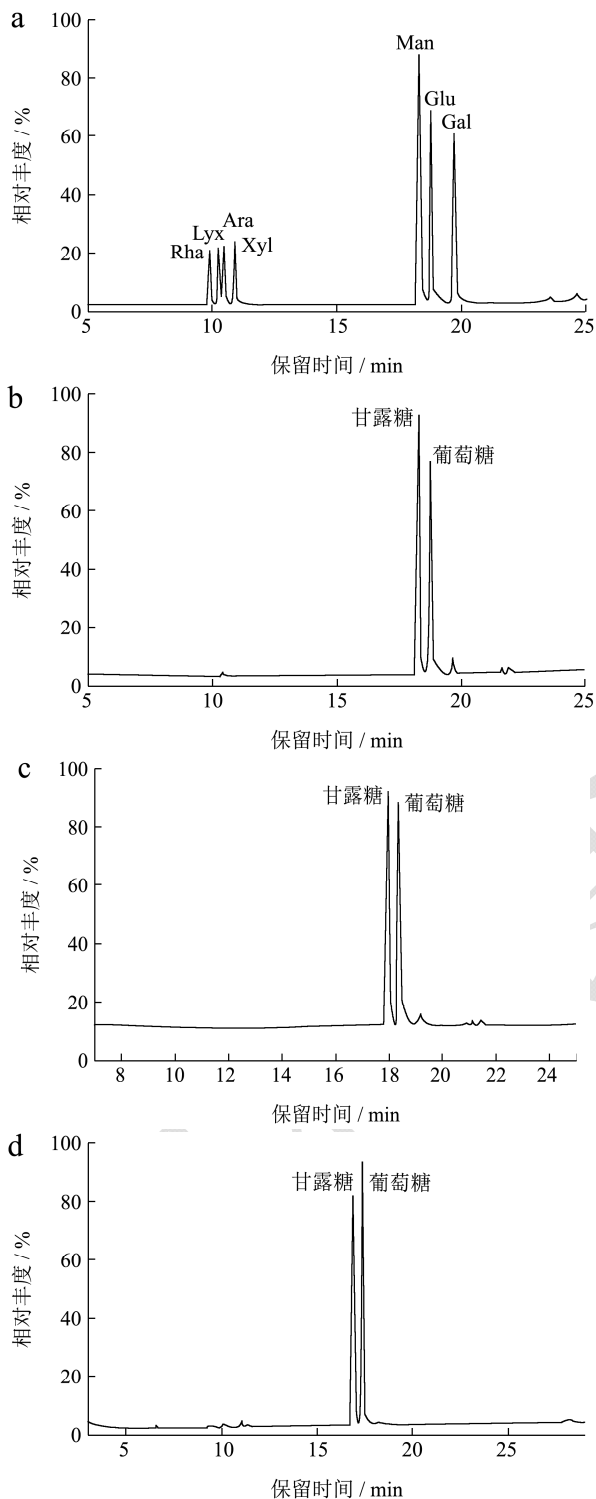


图 3 单糖水解释生物的 GC-MS 图

Fig.3 The GC-MS chromatogram of monosaccharides hydrolyzed derivatives

图 3 (a、b、c、d) 为单糖标品和 LPS 的水解衍生物的 GC-MS 色谱图。由图可知, 不同提取方式得

到的 LPS, 其单糖组成均为甘露糖与葡萄糖, 但其摩尔比却发生了变化, LPS-M、LPS-C、LPS-CE 中甘露糖与葡萄糖的摩尔比分别为 5.2:4.9、5.1:4.7、4.8:5.3。这可能与微波辐射导致多糖分子的交联, 以及超声振动导致糖链分子断裂有关。

2.3 LPS 的体外抗氧化活性

2.3.1 对羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除作用

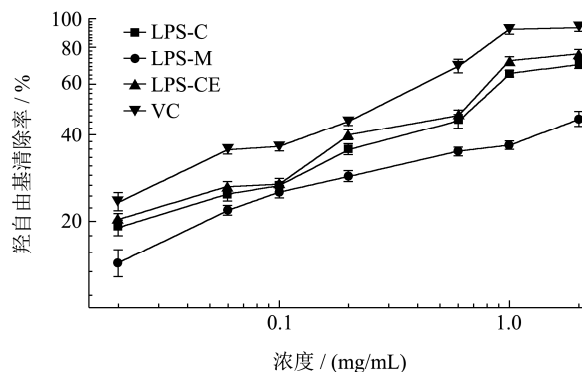


图 4 提取方法对 LPS 清除 $\cdot\text{OH}$ 能力的影响

Fig.4 Effect of extraction methods on LPS scavenging activity of $\cdot\text{OH}$ radicals

羟自由基是一个氧化能力很强的自由基, 可使糖类、核酸、氨基酸和脂类等发生氧化, 从而对机体造成不同程度的损坏^[11]。抗坏血酸是常用抗氧化剂, 通过把电子和质子传递给自由基, 从而达到清除自由基的抗氧化作用。由图 4 可知, 微波、超声、超声复合酶 3 种提取方法对兰州百合多糖 LPS 清除羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的影响随浓度的增大而增强, 呈剂量依赖关系。LPS-CE、LPS-C、LPS-M 浓度从 0.02 mg/mL 增长到 2 mg/mL 时, 清除率分别为 85.80%、79.81%、46.03%, 而 Vc 浓度变化时清除率从 23.60% 到 95.07%, 清除能力迅速增长。微波辅助提取的 LPS 对羟自由基的清除能力多糖显著低于超声复合酶与超声辅助提取 ($p < 0.05$)。这可能与微波处理改变了多糖构象影响了对羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除能力有关。

2.3.2 对超氧阴离子 ($\cdot\text{O}_2^-$) 的清除作用

在自氧化体系中释放的高毒性超氧阴离子自由基可经过反应生成其它氧自由基, 损伤重要的生物大分子, 从而导致许多疾病。因此及早清除肌体内聚集的超氧阴离子意义重大^[12,13]。图 5 所示, 在本试验浓度范围内, 3 种提取方式得到的多糖对 $\cdot\text{O}_2^-$ 均有一定的清除作用, 并随着浓度增加清除作用增强。在浓度为 0.1 mg/mL 时, LPS-CE、LPS-C、LPS-M 对 $\cdot\text{O}_2^-$ 的清除作用相近, 但都低于 Vc。浓度超过 1 mg/mL 后, LPS-CE、LPS-C、LPS-M 清除超氧自由基的作用达到平衡, 最大清除率分别为 70.80%、56.22%、43.01%。随着浓

度增加, Vc 对·O₂⁻清除力上升较快, 质量浓度超过 0.2 mg/mL 时, Vc 对·O₂⁻的清除作用趋于平缓, 清除率达到 81.58%, 在相同浓度下, LPS-CE 的抗氧化活性优于 LPS-C、LPS-M, 其原因可能有: 超声复合酶法大大缩短了提取时间, 在短时间内多糖生物活性没有损失; 不同提取方式造成多糖分子的单糖组成及糖苷键型不同从而使多糖的抗氧化活性存在差异^[14]。

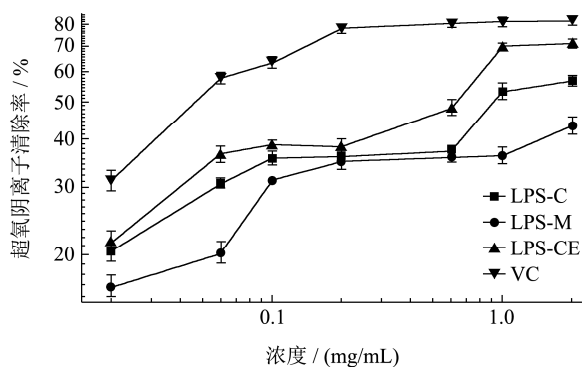


图5 提取方法对 LPS 清除 O₂⁻ 能力的影响

Fig.5 The effect of extraction methods on LPS scavenging activity of ·O₂⁻ radicals

2.3.3 对DPPH自由基的清除作用

DPPH 是以氮为中心的稳定自由基, 呈典型的紫色, 其 517 nm 处的特征吸收峰会随着被还原而逐渐消失^[15]。

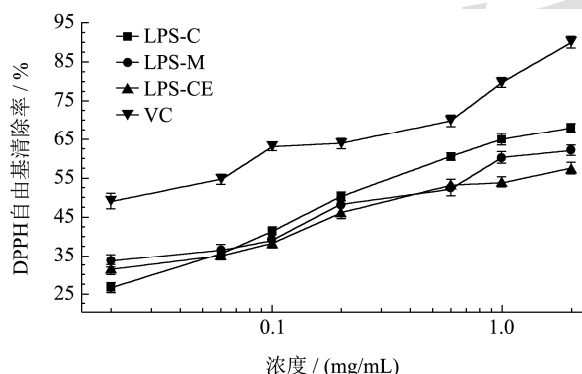


图6 提取方法对 LPS 清除 DPPH 能力的影响

Fig.6 The effect of extraction methods on LPS scavenging activity of ·DPPH radicals

由图 6 可知, 在试验浓度范围内, 3 种 LPS 对 DPPH 自由基的清除率都随各自浓度的升高而增大, 并呈剂量依赖, 而其相互大小顺序为 LPS-CE>LPS-M>LPS-C。当 LPS 的浓度高于 1 mg/mL 时, 这种趋势趋于平缓。LPS-M、LPS-C 和 LPS-CE 对 DPPH 自由基的清除率分别为 67.77%、61.70%和 57.06%。LPS-CE 与 LPS-M、LPS-C 之间差异显著 ($p<0.05$)。LPS 浓度达到 2 mg/mL 时对 DPPH 自由基的清除率没有显著增强, 这主要是由于多糖的溶解度的限制以及氢键的增加所造成的。

2.3.4 还原力

抗氧化剂的抗氧化活性与其还原力有直接的联系, 通过测定体系中 Fe³⁺-Fe²⁺的转化, 多糖的还原能力越强, 抗氧化性就越强^[16]。

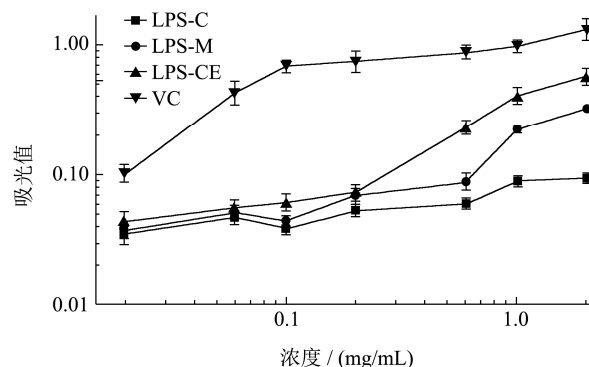


图7 提取方法对 LPS 还原能力的影响

Fig.7 The effect of extraction methods on reducing activity of LPS

由图 7 可知, LPS-M、LPS-C、LPS-CE 均具有还原能力, 且随浓度的增加而增强。在浓度为 0.2 mg/mL 之前, LPS-M、LPS-C、LPS-CE 的还原力增强趋势不明显, 在 0.2 mg/mL 之后, 随着 LPS 浓度的增大还原力明显增强, 由此可知, LPS 的还原力与浓度呈正相关, 与 Vc 还原力相差较大。在浓度为 0.02~0.2 mg/mL 时, LPS-M、LPS-C、LPS-CE 的差异不显著, 0.6 mg/mL 时, LPS-M 与 LPS-CE 的差异显著 ($p<0.05$)。

3 结论

3.1 红外光谱分析结果表明 3 种方法提取的兰州百合多糖在 3378 cm⁻¹、2931 cm⁻¹、1640 cm⁻¹、1060 cm⁻¹ 都有吸收峰, 此为多糖特征吸收峰, 表明 LPS-M、LPS-C、LPS-CE 均为多糖成分; GC-MS 测定结果显示, 3 种多糖的单糖组成均为甘露糖与葡萄糖, 但摩尔比发生了变化, LPS-M、LPS-C、LPS-CE 中甘露糖与葡萄糖的摩尔比为分别为 5.2:4.9、5.1:4.7、4.8:5.3。可能与微波辐射导致多糖分子的交联, 以及超声振动导致糖链分子断裂有关。

3.2 体外抗氧化活性试验表明, LPS-CE、LPS-C、LPS-M 在清除羟自由基、超氧自由基的能力依次减弱, 且 LPS-CE 的体外抗氧化活性要远高于 LPS-M、LPS-C, 这可能是由于超声复合酶协同作用时, 更快速的将多糖链释放出来, 从而使多糖链上暴露出的羟基提供更多的质子, 为自由基提供电子, 终止自由基的链式反应。同时, 三者的 DPPH 自由基和还原力测定也表明, LPS-CE>LPS-M>LPS-C。多糖清除羟自由基、DPPH 自由基、超氧自由基以及其还原力会影响到兰州百合多糖在调节血糖、抗肿瘤等方面的生物学

活性,因此,可以选择超声复合酶法作为功能性兰州百合多糖的提取方法。

参考文献

- [1] 卫莹芳.中药鉴定学上海:上海科学技术出版社,2010
WEI Ying-fang. Authentication of traditional Chinese medicine [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2010
- [2] 刘成梅,付桂明,涂宗财,等.百合多糖降血糖功能研究[J].食品科学,2002,23(6):113-114
LIU Cheng-mei, FU Gui-ming, TU Zong-cai, et al. Study on the function lily-polysaccharides to lower the blood glucose [J]. Food Science, 2002, 23(6): 113-114
- [3] 杨颖,李汾.百合中性多糖对 5-FU 增效减毒作用及其对体外对肿瘤细胞的抑制作用[J].延安大学学报(医学科学版),2013,11(2):8-11
YANG Ying, LI Fen. Effects of neutral polysaccharide from lily on enhancing efficacy and reducing toxicity of 5-FU and proliferation of gastric carcinoma cell line SGC-7901 in vitro [J]. Journal of Yanan University (Medical Sciences), 2013, 11(2): 8-11
- [4] 苗明三,杨林莎.百合多糖免疫兴奋作用[J].中药药理与临床,2003,19(1):15-16
MIAO Ming-san, YANG Lin-sha. Immune excitatory effect of lily polysaccharide [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2003, 19(1): 15-16
- [5] 滕利荣,孟庆繁,刘培源,等.酶法提取百合多糖及其体外抗氧化活性[J].吉林大学学报(理学版),2003,41(4):538-542
Teng Li-rong, Meng Qing-fan, Liu Pei-yuan, et al. Extracting *Lilium brownii* polysaccharide by combined-enzymes and its antioxidative activity in vitro [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Jilinensis, 2003, 41(4): 538-542
- [6] Alba K, Ritzoulis C, Georgiadis N, et al. Okra extracts as emulsifiers for acidic emulsions [J]. Food Research International, 2013, 54(2): 1730-1737
- [7] 高清雅,赵保堂,尚永强,等.超声波协同复合酶提取兰州百合多糖[J].食品与发酵工业,2014,8(40):263-265
GAO Qing-ya, ZHAO Bao-tang, SHANG Yong-qiang, et al. Extraction of Polysaccharides from Lanzhou Lily by ultrasonic co enzyme complex enzyme [J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 8(40): 263-265
- [8] SHAO P, CHEN X X, SUN P L. In vitro antioxidant and antitumor activities of different sulfated polysaccharides isolated from three algae [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 62(11): 155-161
- [9] ZHAO B T, ZHANG J, GUO X, et al. Microwave-assisted extraction, chemical characterization of polysaccharides from *Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb. and its antioxidant activities evaluation [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 31: 346-356
- [10] 苏平,孙昕,宋思圆,等.不同提取方法对黄秋葵花多糖的结构组成及抗氧化活性的影响[J].食品科学,2017
SU Ping, SUN Xin, SONG Si-yuan, et al. Effects of different extraction methods on the structure and antioxidant activity of polysaccharides from yellow autumn sunflower [J]. Food Science, 2017
- [11] CHEN S H, CHEN H X, TIAN J G, et al. Enzymolysis-ultrasonic assisted extraction, chemical characteristics and bioactivities of polysaccharides from corn silk [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 101: 332-341
- [12] 张宏,谭竹钧.四种邻苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶活性方法的比较[J].内蒙古大学学报,2002,33(6):677-678
ZHANG Hong, TAN Zhu-jun. A comparison of four pyrogallol autoxidation methods on determining superoxide dismutase activity [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis NeiMongol, 2002, 33(6): 677-678
- [13] 杨建雄.生物化学与分子生物学实验技术教程[M].北京,科学出版社,2003:223-224
YANG Jian-xiong. Biochemistry and molecular biology Techniques [M]. Beijing, Science Press, 2003:223-224
- [14] 涂宗财,寇玉,王辉,等.荷叶多糖的超声波辅助提取和抗氧化活性[J].食品科学,2013,34(16):108-112
TU Zong-cai, KOU Yu, WANG Hui, et al. Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharides from lotus leaves [J]. Food Science, 2013, 34(16): 108-112
- [15] 王琳,赵荷娟,魏启舜,等.双孢蘑菇子实体多糖的响应面法优化提取及其纯化[J].江苏农业学报,2014,30(5):1139-1146
WANG Lin, ZHAO He-juan, WEI Qi-shun, et al. Optimized extraction of polysaccharides from white button mushroom (*Agaricus bisporus*) by response surface methodology and its purification [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2014, 30(5): 1139-1146
- [16] FERREIRA I C, QUEIROZ M J, VILAS-BOAS M, et al. Evaluation of the antioxidant properties of diarylamines in the benzo [b] thiophene series by free radical scavenging activity and reducing power [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2006, 16(5): 1384-1387