



牛蒡叶多糖的提取及生物活性研究

胡喜兰, 许瑞波, 陈宇

(淮海工学院化学工程学院, 江苏 连云港 222005)

摘要: 采用水提醇沉法, 通过单因素和正交试验优化牛蒡叶多糖的提取工艺, 考察脱蛋白后牛蒡叶多糖的抗氧化活性和抑菌活性。结果表明, 从牛蒡叶中提取多糖的最适宜工艺为料液比1:30(g/mL)、提取温度75℃、提取时间2h、提取2次。用Sevag法对牛蒡叶多糖进行初步提纯, 并用UV-Vis光谱检测其脱蛋白情况, 结果表明脱蛋白后牛蒡叶多糖中基本不含有蛋白质与核酸。红外光谱法对脱蛋白后牛蒡叶多糖进行的表征说明其具备一般多糖类物质的光谱特征。此外, 脱蛋白后牛蒡叶多糖对DPPH自由基具有一定的清除能力, 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均有较明显的抑菌作用, 随着牛蒡叶多糖质量浓度的增加, 抑菌能力增强。

关键词: 牛蒡叶; 多糖; 提取; 抗氧化活性; 抑菌作用

Extraction and Biological Activity of Polysaccharides from of Burdock (*Arctium lappa* L.) Leaves

HU Xi-lan, XU Rui-bo, CHEN Yu

(School of Chemical Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

Abstract: Polysaccharides were extracted from the leaves of burdock (*Arctium lappa* L.) using water extraction and alcohol precipitation and deproteinized for the determination of antioxidant and antibacterial activities. The optimum extraction conditions were determined by one-factor-at-a-time and orthogonal array design methods to be two extraction cycles at 75 °C for 2 h. Extracted polysaccharides were deproteinized by Sevag method and detected by UV-Vis spectroscopy to nearly contain neither proteins nor nucleic acids. IR spectroscopic analysis showed deproteinized polysaccharide to have the common spectroscopic characteristics of polysaccharides. Moreover, purified polysaccharides from burdock leaves had scavenging activity against DPPH radical and potent inhibitory effects on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* in a concentration-dependent manner.

Key words: burdock leaves; polysaccharides; extraction; antioxidant activity; antibacterial effect

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)02-0078-05

牛蒡(*Arctium lappa* L.)又名白肌人参, 属菊科。历代本草记载, 牛蒡的果、叶、根均可入药。牛蒡叶具有抗菌和抗真菌作用, 并含有抗肿瘤物质, 其鲜叶水煎, 可用于治疗急性乳腺炎等^[1-2]。目前中国已成为世界上最大的牛蒡生产和出口国。江苏徐州占到中国牛蒡生产和出口量的1/2以上, 成为中国最大的牛蒡生产和商品牛蒡集散地, 徐州市沛县、丰县为最主要的种植地区^[3]。近年来, 有关牛蒡根的食用和药用方法的研究报道较多^[4-13], 牛蒡根已进入老百姓的餐桌, 但大量的牛蒡叶被废弃, 对牛蒡叶的研究^[14-16], 特别是对牛蒡叶多糖(polysaccharides of *Arctium lappa*, PLA)抑菌作用、抗氧化能力及含量测定的研究尚未见报道。本研究以牛蒡叶为原料, 通过单因素试验和正交试验对牛蒡叶多糖的提取工艺进行优化, 考察温度、固液比、提取时间以及提

取次数对牛蒡叶多糖提取率的影响, 同时利用琼脂扩散法、清除DPPH自由基等活性试验研究牛蒡叶多糖的抑菌作用和抗氧化能力, 旨在为牛蒡资源的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牛蒡叶 江苏徐州市沛县河口镇。采挖根部时, 取其茎叶, 洗净晾干, 用95%乙醇浸泡后, 浸提液浓缩冷冻干燥后, 另做他用, 残渣挥干乙醇后, 50℃烘干, 备用。

1,1-二苯基-2-苦苯肼(DPPH自由基) 美国Sigma公司; 抗坏血酸(VC)、葡萄糖、无水乙醇、石油醚、硫酸、苯酚、乙醚、正丁醇、氯仿、NaOH等均为分析纯。

收稿日期: 2012-09-07

基金项目: 连云港市自然科学基金项目(CG1132); 淮海工学院引进人才启动基金项目(KK01060)

作者简介: 胡喜兰(1961—), 女, 教授, 学士, 研究方向为配位化学和天然药物化学的提取及应用。E-mail: huxilan@hhit.edu.cn



1.2 仪器与设备

UV-2550紫外分光光度计 日本岛津仪器公司；
WQF-410傅里叶红外光谱仪 北京第二光学仪器厂；
PF-I集热式恒温磁力搅拌器 菏泽市祥龙电子科技有限公司；
HH-2数显恒温水浴锅 国华电器有限公司；
BS210S型电子天平 北京赛多利斯天平有限公司；
SHB-III型循环水式真空泵 河南省予华仪器有限公司；
DHG-101电热鼓风恒温干燥箱 鄄城华鲁电热仪器有限公司；
RE-5285A旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 牛蒡叶粗多糖的提取工艺流程

牛蒡叶→食用酒精浸泡→滤渣→粉碎→石油醚再次脱色脱脂→蒸馏水加热回流提取→抽滤→定容→测定含量

流程说明：准确称取一定量用食用酒精浸泡后，又经石油醚再次脱色脱脂后干燥的牛蒡叶，置圆底烧瓶中，加入一定体积的蒸馏水，预浸一定时间后，在一定温度下加热回流一定时间，抽滤后，滤液于旋转蒸发仪中浓缩，完全转移，定容至100mL，备用。

1.3.2 牛蒡叶多糖提取测定^[17-18]

参考文献[17-18]，配制葡萄糖标准溶液，利用苯酚-硫酸法测定吸收曲线并绘制工作曲线，求回归方程。以葡萄糖为标准品，采用苯酚-硫酸法测定多糖含量。参考文献制备标准曲线，得线性回归方程： $A=3.1179C+0.0333$ ， $r=0.9976$ 。式中： A 为吸光度； C 为糖质量浓度/(mg/mL)。

准确称取2.00g已脱色脱脂牛蒡叶粉末，放入圆底烧瓶中，按设定的条件进行分别提取，滤液冷却后，完全移入至100.0mL容量瓶，定容，测定吸光度，根据回归方程计算多糖质量浓度，得出牛蒡叶多糖PLA的提取率。

$$\text{PLA提取率}/\% = \frac{\text{多糖质量}}{\text{原料质量}} \times 100 = \frac{C \times n \times V}{10 \times m_1}$$

式中： C 为苯酚-硫酸法测吸光度 A 由线性回归方程求得的质量浓度/(mg/mL)； m_1 为实验原料质量/g； V 为提取液定容的体积/mL； n 为换算因子，即稀释倍数。

1.3.3 PLA的最佳提取工艺条件优化

以多糖提取率为考察指标，首先通过单因素试验考察料液比、提取温度、提取时间和提取次数对PLA提取率的影响，初步确定适宜于提取PLA的相应水平范围。然后在单因素试验的基础上，选用标准的 $L_9(3^3)$ 正交试验表进行正交试验设计，从而优选出牛蒡叶多糖提取的最佳工艺条件。

1.3.4 单因素试验

1.3.4.1 料液比对PLA提取率的影响

准确称取5份2.00g牛蒡叶粉末，分别加入20、40、60、80、100mL蒸馏水，在80℃条件下提取3h、每10min摇匀一下，提2次。提取完毕后抽滤，待滤液冷却后，将

滤液完全移入100mL容量瓶中，用蒸馏水定容。按照标准曲线方法，在波长490nm处测定吸光度，计算多糖质量浓度，得出牛蒡叶多糖的提取率。

1.3.4.2 提取温度对PLA提取率的影响

称取2.00g牛蒡叶，按照料液比1:30进行水提，分别在60、70、80、90℃条件下加热3h，过滤提取液并定容到100mL，按照标准曲线方法，在波长490nm处测定吸光度，计算多糖质量浓度，得出牛蒡叶多糖的提取率。

1.3.4.3 提取时间对PLA提取率的影响

称取2.00g牛蒡叶，按照料液比1:30进行水提、温度70℃，分别加热1、2、3、4、5h，过滤提取液并定容到100mL，按照标准曲线方法，在波长490nm处测定吸光度，计算多糖质量浓度，得出牛蒡叶多糖的提取率。

1.3.4.4 提取次数对PLA提取率的影响

称取2.00g牛蒡叶，按照料液比1:30进行水提、温度70℃、加热3h、每10min摇匀一次，分别提取2次和3次。水提2次完成后将提取液定容到250mL，水提3次后定容到500mL，按照标准曲线方法，在波长490nm处测吸光度，计算多糖质量浓度，得出牛蒡叶多糖的提取率。

1.3.5 正交试验

根据单因素试验的结果，利用Orthogonality Experiment Assistant II软件，采用正交试验设计，应用 $L_9(3^3)$ 正交表，对提取温度(A)、提取时间(B)、料液比(C)3个因素在3个水平上进行优选。

1.3.6 牛蒡叶多糖的纯化和光谱表征

将单因素及正交试验留存的多糖提取液混合在一起，在旋转蒸发仪上进行浓缩，浓缩液用Sevag法(氯仿与正丁醇的体积比4:1)去除蛋白质、核酸等杂质，重复几次，直至用紫外光谱检测在波长260~280nm处无明显吸收为止。最后，将去除杂质的多糖溶液中加入4倍体积的95%乙醇溶液，置于冰箱(4℃)中过夜，次日离心，用丙酮、乙酸乙酯洗涤滤渣3次，50℃烘干后，得初步纯化的牛蒡叶多糖，即脱蛋白后PLA。

用红外光谱法对脱蛋白后PLA进行初步鉴定。采用KBr压片法，将脱蛋白后PLA与KBr按照1:100比例混合研磨，以KBr为本底，测量其在4000~450 cm^{-1} 波数范围内的谱图。

1.3.7 脱蛋白后PLA的生物活性

1.3.7.1 对DPPH自由基的清除^[19-20]

利用DPPH自由基溶液的特征紫红色团的吸收，用紫外-可见分光光度计在波长200~800nm进行光谱扫描，确定最大吸收波长。在最大波长处测定加抗氧剂提取液后的吸光度，如果吸光度下降表示其对自由基具有消除能力。按表1添加反应液，用快速混匀器混匀，室温下静置30min后，测定各吸光度，清除率按下列公式计算：

$$S_A/\% = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

式中： A_0 为未加提取液的DPPH溶液的吸光度； A_i 为加入提取液后的DPPH溶液的吸光度； A_j 为提取液的吸光度。

同时配制不同浓度的VC，按照上述步骤测定吸光度并计算对DPPH自由基的清除率。

表 1 清除DPPH自由基的活性测定加样表

Table 1 Preparation of reaction systems for determination of DPPH radical scavenging activity

吸光度	反应液
A_0	2.0mL DPPH 自由基溶液+2.0mL 无水乙醇
A_i	2.0mL DPPH 自由基溶液+2.0mL 样品溶液
A_j	2.0mL 样品溶液+2.0mL 无水乙醇

1.3.7.2 脱蛋白后PLA的抑菌研究^[21]

利用琼脂扩散法分别测定脱蛋白后PLA对大肠杆菌(*Escherichiacoli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcusaureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillussubtilis*)3种致病细菌的抑菌作用。牛肉膏蛋白琼脂培养基、实验器皿和牛津杯均在129℃条件下灭菌30min。将融化并冷却至50℃左右的培养基，按无菌操作法到入培养皿中使冷凝成平板，冷却后分别接种大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌。将牛津杯放在含菌培养基上，分别注入一定浓度的测试液，在37℃恒温培养24h，取出，测量抑菌圈直径。

2 结果与分析

2.1 牛蒡叶多糖的提取工艺优化

2.1.1 单因素试验

2.1.1.1 料液比对PLA提取率的影响

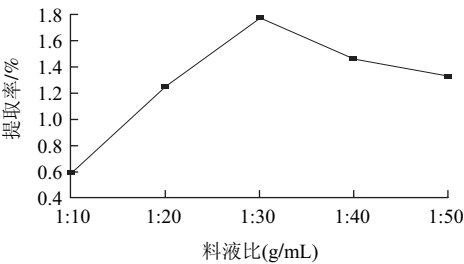


图 1 料液比对PLA提取率的影响
Fig.1 Effect of solid/liquid ratio on the extraction yield of polysaccharides

由图1可知，多糖提取率随料液比的增大而增加，当料液比超过1:30之后，提取率逐渐减小。为了更准确地考察料液比对牛蒡叶多糖提取的影响，在正交试验中对其进行进一步优化，考察水平选为1:20、1:25和1:30。

2.1.1.2 提取温度对PLA提取率的影响

由图2可知，随着温度的升高，多糖提取率明显增

加，但70℃后，提取率明显下降，表明提取温度在70℃左右的时候，提取效果比较好，因此在正交试验中继续考察提取温度为70、75℃和80℃时对PLA提取率的影响。

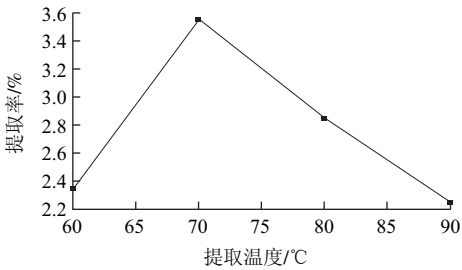


图 2 提取温度对PLA提取率的影响
Fig.2 Effect of extract temperature on the extraction yield of polysaccharides

2.1.1.3 提取时间对PLA提取率的影响

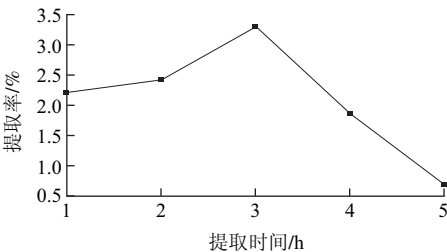


图 3 提取时间对PLA提取率的影响
Fig.3 Effect of extract time on the extraction yield of polysaccharides

由图3可知，随提取时间的延长，多糖的提取率先增加后减少，在3h左右时提取率达到最高值，所以拟定通过正交试验进一步优选提取时间的最适宜工艺参数，考察水平为2.0、2.5 h和3h。

2.1.1.4 提取次数对PLA提取率的影响

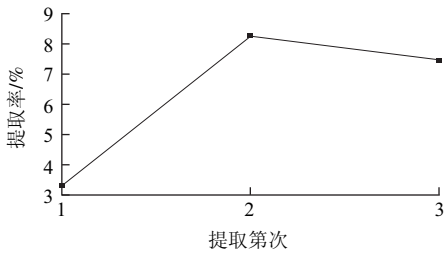


图 4 提取次数对PLA提取率的影响
Fig.4 Effect of number of extractions on the extraction yield of polysaccharides

由图4可知，随着提取第次的增加，牛蒡叶多糖的提取率先升后降。当进行第2次提取时，多糖的提取率最高，当进行第3次提取的时候，多糖提取率开始降低，考虑到提取成本及后期处理，因此，确定最适宜的提取次数为2次。

通过对PLA提取中料液比、提取温度、提取时间、

提取次数的考察,得出单因素最佳条件为料液比1:30、提取温度70℃、提取时间3h、提取2次。

2.1.2 正交试验结果分析

为了确定从牛蒡叶中提取多糖的最佳工艺参数,根据单因素试验的结果,采用 $L_9(3^3)$ 正交试验表对提取工艺条件进行进一步优化,其因素水平安排见表2,正交试验结果与分析见表3,方差分析结果见表4。

表2 牛蒡叶中多糖提取正交试验因素水平表
Table 2 Factors and levels for orthogonal array design

水平	A提取温度/℃	B提取时间/h	C料液比(g/mL)
1	70	2.0	1:30
2	75	2.5	1:35
3	80	3.0	1:40

表3 牛蒡叶中多糖提取正交试验结果及分析
Table 3 Orthogonal array design matrix and results

编号	A提取温度/℃	B提取时间/h	C料液比(g/mL)	吸光度	多糖提取率/%
1	70	2	1:30	0.572	10.80
2	70	2.5	1:35	0.345	6.25
3	70	3	1:40	0.406	7.45
4	75	2	1:35	0.491	9.15
5	75	2.5	1:40	0.384	7.05
6	75	3	1:30	0.579	10.95
7	80	2	1:40	0.479	8.95
8	80	2.5	1:30	0.364	6.65
9	80	3	1:35	0.489	9.15
K_1	24.50	28.9	28.40		
K_2	27.15	19.95	24.55		
K_3	24.75	27.55	23.45		
k_1	8.17	9.63	9.47		
k_2	9.05	6.65	8.18		
k_3	8.25	9.18	7.82		
R	0.88	2.98	1.65		

表4 方差分析表

Table 4 Analysis of variance for the experimental results of orthogonal array design

因素	偏差平方和	自由度	F比	$F_{\text{临界值}}$	显著性
温度	1.427	2	0.554	19.000	
时间	15.521	2	6.023	19.000	
料液比	4.504	2	1.748	19.000	
误差	2.58	2			

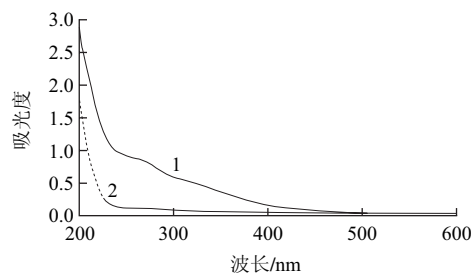
由方差分析结果(表4)可知,在试验研究范围内,提取温度、提取时间和料液比对牛蒡叶多糖的提取率都有不同程度的影响,但都不显著。各因素对提取率影响的主次顺序为 $B>C>A$,即提取时间>料液比>提取温度,故提取PLA的最适宜工艺参数为 $A_2B_1C_1$,即料液比1:30、提取温度75℃、提取时间2h,PLA提取率为12.87%。

2.2 PLA的纯化和光谱表征

2.2.1 脱蛋白前后牛蒡叶多糖的UV-Vis光谱

图5是没有经过脱蛋白处理的粗牛蒡叶多糖和经过多次脱蛋白质、核酸处理之后得到的纯化牛蒡叶多糖溶液

在200~400nm波长范围内的紫外吸收光谱图,从图5可以清晰地看出,粗牛蒡叶多糖在250~300nm波长范围内存在明显的吸收峰,说明从牛蒡叶多糖中提取的粗多糖中含有大量的蛋白质、核酸杂质。而经过Sevag法脱蛋白处理后的牛蒡叶多糖在250~300nm波长范围内已经没有明显的吸收峰,说明提纯后牛蒡叶多糖中基本不含有蛋白质和核酸杂质。



1.粗牛蒡叶多糖; 2.经过Sevag法脱蛋白处理后的牛蒡叶多糖。

图5 牛蒡叶多糖脱蛋白前后的紫外光谱图

Fig.5 UV spectra of crude and deproteinized polysaccharides from burdock leaves

2.2.2 脱蛋白后PLA的红外光谱

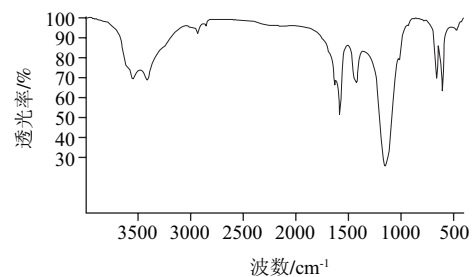


图6 纯化牛蒡叶多糖的红外光谱图

Fig.6 IR spectrum of purified polysaccharides from burdock leaves

图6是经过脱蛋白处理之后得到的脱蛋白后牛蒡叶多糖的红外光谱图。由图6可知,牛蒡叶多糖具有一般多糖的特征吸收峰(3550、3405、2924、2853、1622、1446、1167、654、600、471 cm^{-1} 和410 cm^{-1})。其中,3550、3442 cm^{-1} 附近强宽谱带由缔合羟基的伸缩振动引起;2924、2825 cm^{-1} 处较弱的峰是 $-\text{CH}_2$ 中C—H伸缩振动产生的;1622 cm^{-1} 附近较窄、中强吸收峰由C—O伸缩振动引起;1446 cm^{-1} 附近的峰由C—H弯曲振动产生;1167 cm^{-1} 附近的强峰是由吡喃型糖苷环骨架振动和羟基振动引起的,由于杂合了糖环上C—O—C醚键的C—O伸缩振动,使吸收峰变宽,该处吸收谱带是糖类的特征吸收峰,也是葡聚糖典型的红外光谱信号^[22-26];654 cm^{-1} 处是吡喃糖骨架对称伸缩振动的吸收峰^[23]。综上分析可知,本实验提取的牛蒡叶多糖结构中可能含有D-吡喃葡萄糖和亚甲基基本单元,其具体结构有待进一步的纯化和测定。

2.3 脱蛋白后PLA对DPPH自由基的清除作用

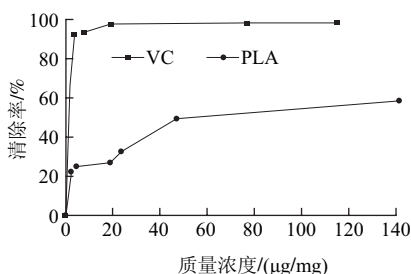


图7 PLA、VC对DPPH自由基的清除能力

Fig.7 DPPH radical scavenging capacities of purified polysaccharides from burdock leaves and vitamin C

由图7可知,脱蛋白后牛蒡叶多糖与VC的清除率相比,虽其清除力明显小于VC的能力,但其也具有一定的清除DPPH自由基的能力,且随着样品质量浓度的增加,牛蒡叶多糖对DPPH自由基的清除率上升,清除率最高可达到67.5%。

2.4 脱蛋白后PLA的抑菌活性

表5 牛蒡叶多糖的抑菌活性

Table 5 Antibacterial activity of purified polysaccharides from burdock leaves

物质	质量浓度/(mg/mL)	对大肠杆菌的抑菌圈/mm	对枯草芽孢杆菌的抑菌圈/mm	对金黄色葡萄球菌的抑菌圈/mm
牛蒡叶多糖	10	14	15	17
	5	13	13	15
	2.5	11	12	12
	1.25	10	10	10
	0.625	9	8	8

由表5可知,牛蒡叶多糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌均有较明显抑菌作用,随着牛蒡叶多糖质量浓度的增加,抑菌能力增强。由此推断牛蒡叶多糖有较为广谱的抑菌能力。

3 结论

3.1 通过单因素和正交试验设计优化了从牛蒡叶中提取多糖的工艺条件,结果表明各因素对牛蒡叶多糖提取率的影响大小次序为提取时间>料液比>提取温度,同时确定了提取牛蒡叶中多糖的最适宜工艺条件,即料液比1:30、提取温度75℃、提取时间2h、提取2次。

3.2 用Sevag法脱除牛蒡叶多糖中的蛋白质、核酸等杂质,通过比较脱蛋白前、后牛蒡叶多糖的UV-Vis光谱中波长260~300nm处是否有明显吸收峰来检测蛋白质、核酸的脱除情况。结果表明,用该法对粗牛蒡叶多糖进行5次脱蛋白操作之后,基本可以把蛋白质、核酸去除干净。采用红外光谱法对脱蛋白后的牛蒡叶多糖进行初步表征,谱图中显示其具有一般多糖的特征吸收峰,说明

该法提取的多糖是目标提取物,而且其主要结构单元是D-吡喃葡萄糖。

3.3 以VC为标准对照品,研究了脱蛋白后牛蒡叶多糖的体外抗氧化能力,结果表明,脱蛋白后牛蒡叶多糖具有一定的抗氧化活性,对DPPH自由基的清除效果,虽不如VC的效果好,但牛蒡叶多糖对DPPH自由基具有一定的清除效果,因此,作为废弃物,牛蒡叶多糖是一种值得开发的潜在天然抗氧化剂。

3.4 通过琼脂扩散法可知,牛蒡叶多糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌均有较明显的抑菌作用,随着牛蒡叶多糖质量浓度的增加抑菌能力增强。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中国药典:一部[S]. 2000年版. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [2] 刘勇民. 维吾尔药志:下册[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999: 132-140.
- [3] 魏垂敬. 徐州牛蒡产业的发展前景及对策分析[J]. 产业论坛, 2006(12): 1-3.
- [4] 金春英, 张小勇, 崔胜云. DPPH及邻苯三酚法对牛蒡和小根蒜提取液及其他抗氧化剂的清除自由基能力的比较研究[J]. 延边大学学报:自然科学版, 2008, 34(1): 43-46; 61.
- [5] 魏东. 牛蒡提取物抗疲劳作用的研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(13): 3171-3172.
- [6] 马利华, 宋慧, 秦杰. 牛蒡提取物体外抗氧化性的研究[J]. 科研开发, 2007, 23(1): 69-72.
- [7] 于宏. 牛蒡的化学成分与生物活性[J]. 国外医药:植物药分册, 2007, 22(6): 244-247.
- [8] 陈世雄, 陈靠山. 牛蒡根化学成分及活性研究进展[J]. 食品与药品, 2010, 12(7): 281-285.
- [9] 胡喜兰, 王国卫, 高英. 牛蒡根中活性成分的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 113-115.
- [10] 李瑾, 吴理娟. 牛蒡根总多糖的提取研究[J]. 首都医药, 2009, 7(14): 53.
- [11] 罗耀辉. 均匀设计法优化超声波提取牛蒡多糖工艺的研究[J]. 河南师范大学学报:自然科学版, 2008, 36(1): 115-117.
- [12] 时新刚, 张红侠, 李赛钰, 等. 牛蒡营养成分分析与评价[J]. 食品与药品, 2007, 9(12): 39-40.
- [13] 吕俊梅, 朱建飞, 李宏, 等. 微波法提取牛蒡多糖的工艺研究[J]. 湖南农业科学, 2010, 7(13): 117-118.
- [14] 刘丹赤, 杨建华, 李鹏. 牛蒡叶中绿原酸提取工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2009(4): 305-306.
- [15] 林学政, 柳春燕, 陈靠山. 不同地域牛蒡叶绿原酸的含量比较及其抑菌实验[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(4): 328-330.
- [16] 马利华. 大孔树脂纯化牛蒡叶中类胡萝卜素工艺的研究[J]. 农产品科技, 2008, 2(3): 10-13.
- [17] 马涛, 毛红燕, 石太洲, 等. 五味子多糖的微波辅助-半仿生法提取工艺优化[J]. 中国食品学报, 2011, 11(1): 98-105.
- [18] 许瑞波, 何静, 王新新, 等. 正交实验优选藕节多糖的提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(10): 2447-2449.
- [19] 黄海兰, 王国明, 李增新, 等. 鸭跖草抗氧化成分提取及其活性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 55-58.
- [20] 胡喜兰, 尹福军, 程青芳, 等. 不同花期芍药花中活性成分的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 511-514.
- [21] 沈萍, 范秀容, 李光武. 微生物学实验[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 1999: 49-97.
- [22] 何晋浙, 邵平, 孟祥河, 等. 灵芝多糖的结构特征分析[J]. 分析化学, 2010, 38(3): 372-376.
- [23] 陈历水, 马莺, 刘天一, 等. 一株抗氧化活性酵母菌产多糖的纯化与结构分析[J]. 分析化学, 2010, 38(3): 409-412.
- [24] 陈小强, 叶阳, 成浩, 等. 不同方法提制的茶叶粗多糖的光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(4): 1083-1087.
- [25] 吴立军. 有机化合物波谱解析[M]. 3版. 北京: 中国医药科技出版社, 2009: 60-71.
- [26] 柯以侃, 董慧茹. 分析化学手册: 光谱分析[M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 1998: 940-951.