

DEAE-52 纤维素静态法 分离纯化桦褐孔菌多糖的工艺优化

董文霞^{1,2}, 刘 萍², 张京声², 吴培培², 杨 革^{1,*}

(1. 曲阜师范大学生命科学学院, 山东济宁 273100;

2. 中国农业大学食品与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要:为了能高效快速的分离纯化桦褐孔菌子实体多糖,使用 DEAE-52 纤维素静态法,分别研究了静态吸附过程中多糖的样品浓度、吸附时间、吸附温度和吸附振荡转速等因素对多糖吸附量的影响及解吸过程中洗脱时间和洗脱液量对多糖解吸量的影响,确定了多糖分离纯化优化工艺条件。结果表明:多糖浓度为 40 mg/mL 时,在 30 ℃,120 r/min 转速下吸附处理 90 min,此时 DEAE-52 纤维素对多糖吸附效果最好。而分别以 12 倍体积的去离子水洗脱 90 min 后,采用 11 倍体积的 0.2 mol/L NaCl 溶液洗脱 60 min 时,能达到最好的解吸效果,其中去离子水洗脱多糖浓度为 0.56 mg/mL,0.2 mol/L NaCl 洗脱多糖浓度为 0.38 mg/mL。静态洗脱出的两种多糖组分均为分子量均一分布的多糖组分,与 DEAE-52 纤维素柱层析分离效果一致。因此采用 DEAE-52 纤维素静态法分离纯化桦褐孔菌子实体多糖是可行的。

关键词:桦褐孔菌子实体多糖,DEAE-52 纤维素,静态吸附,静态解吸

Optimization of purification of polysaccharides from the *Inonotus obliquus* using DEAE-52 cellulose static method

DONG Wen-xia^{1,2}, LIU Ping², ZHANG Jing-sheng², WU Pei-pei², YANG Ge^{1,*}

(1. College of Life Science, Qufu Normal University, Jining 273100, China;

2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: In order to purify the polysaccharides efficiently and rapidly from the fruiting body of *Inonotus obliquus*, the DEAE-52 cellulose static absorption and desorption method was used. The polysaccharide concentration, adsorption time, adsorption temperature, rotate speed, elution time and eluent volume that influence the static adsorption and desorption of polysaccharide were selected and optimized. The optimal experimental conditions for static adsorption were determined as 40 mg/mL, 90 min, 30 ℃, 120 r/min for sample concentration, adsorption time, adsorption temperature, and rotate speed, respectively. And the desorption effect was the best when eluted with 12 times volume of deionized water for 90 min and eluted with 11 times the volume of 0.2 mol/L NaCl solution for 60 min. Under the optimized conditions, the concentration of polysaccharide in deionized water and 0.2 mol/L NaCl elution polysaccharides were 0.56 mg/mL and 0.38 mg/mL, respectively. And, the two polysaccharides that were eluted were homogeneous distribution of polysaccharide components, which was consistent with the separation of DEAE-52 cellulose column chromatography in the previous experiment. Therefore, it is feasible to isolate and purify the polysaccharides of *Inonotus obliquus* by DEAE-52 cellulose static method.

Key words: the polysaccharides from the fruiting body of *Inonotus obliquus*; DEAE-52 cellulose; static adsorption; static desorption

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2018)04-0154-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.04.029

桦褐孔菌 (*Inonotus obliquus*), 又称白桦茸 (*Chaga*), 是一种大型药用真菌, 主要寄生在桦树上。桦褐孔菌中含有多糖、三萜类化合物、木质素、黑色素、叶酸衍生物等多种生物活性成分^[1]。从 16 世纪

开始, 俄罗斯、波兰、芬兰和其他东欧国家的居民就开始食用桦褐孔菌, 用于防治多种疑难杂症, 如肝癌、胃癌、各类消化器官的癌症、糖尿病、心脏病^[2]。目前国内外研究表明桦褐孔菌多糖具有抗肿瘤^[3-4]、

收稿日期: 2017-07-18

作者简介: 董文霞(1992-), 女, 硕士, 研究方向: 多糖结构与功能研究, E-mail: dongwenxia2018@163.com。

* 通讯作者: 杨革(1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 生物质转化与可再生资源利用, 微生物资源保护与利用技术, E-mail: yangge100@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(21576282); 山东省研究生教育创新计划项目(SDY14056)。

抗氧化^[5-6]、抗血脂^[7-8]、调节免疫力^[9-10]、降血糖^[11]等广泛的药理作用。但多糖不是一种纯粹的化学物质,而是聚合程度不同的物质混合物。多糖在单糖组成、相对分子质量分布、结构等方面具有不均一性,因此对多糖的分级纯化是探讨其化学结构和生物活性的基础^[12]。

目前常用超滤膜分离法^[13]、凝胶色谱法^[14]、分布沉淀分离法^[15]、阴离子交换色谱法^[16]和大孔树脂柱色谱法^[17]等方法分离纯化多糖。其中,超滤膜分离法具有能耗低、分离效率高、不损害活性等优点,但膜在分离过程中易被污染,造成膜渗透通量下降,从而给多糖的分离增加难度^[18]。凝胶色谱法是利用凝胶的分子筛作用,根据不同分子大小和形状的多糖在层析柱中移动速度不同而达到分离纯化的目的,凝胶色谱分离纯化效果好,但上样量小,不适合作为分离纯化的第一步骤进行大量分离,主要用来进行少量样品的纯化。分步沉淀法是利用“相似相溶”原理,用不同浓度的低级醇或酮将不同相对分子质量的多糖沉淀出来,适用于溶解度相差较大的多糖的分离,有一定的局限性^[19]。阴离子交换色谱以离子交换树脂作为固定相,通过其表面带电荷的基团与样品离子和流动相离子的可逆交换、离子-偶极作用或吸附来实现色谱分离,可用来分离各种酸性、中性多糖和黏多糖,应用广泛。其中最常用的阴离子交换柱层析填料是 DEAE-52 纤维素,它既可纯化多糖,还可分离各种多糖,已被广泛应用于食品、医药、环保等领域有效成分的分离与纯化^[20-21]。且本实验室前期用 DEAE-52 纤维素柱层析和 Sephadex G-100 柱层析分离纯化桦褐孔菌子实体常温水提粗多糖(Normal temperature water-extracted polysaccharides, NIOP),通过去离子水、0.2 mol/L NaCl 和 0.5 mol/L NaCl 洗脱,获得了 NIOP1(去离子水洗脱多糖)和 NIOP2(0.2 mol/L NaCl 洗脱多糖)两种生物活性较好的分子量分布均一的多糖组分,但是 DEAE-52 纤维素柱层析分离纯化多糖步骤繁琐,工作量大,不易于短时间内获得大量单一多糖组分^[22]。因此本实验通过研究 DEAE-52 纤维素对 NIOP 静态吸附和解吸的影响,进而实现 DEAE-52 纤维素对 NIOP 静态分离纯化的目的。此方法操作方便,耗时少,为后期研究多糖的结构及其活性研究提供了一定的基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

桦褐孔菌子实体 大兴安岭品味食品有限公司;DEAE-52 纤维素 Pharmacia 公司;Sephadex G-100 Waters 公司;苯酚、硫酸等其余试剂 均为国产分析纯。

TGL-16C 型离心机 上海安亭科学仪器厂;TU-1810 型紫外分光光度计 上海棱光科技有限公司;RE52CS 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;TF-FD 型冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司;BT-200B 型数显恒流泵、BS-100A 型自动部分收集器 中国上海沪西分析仪器厂;HCY-DA 型全温度摇床 太仓市豪诚实验仪器制造有限公司;1260

Infinity 凝胶渗透色谱仪(Waters 2410 示差折光检测器) 美国 Agilent 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 桦褐孔菌子实体多糖的制备 准确称取一定量的桦褐孔菌子实体粉末,放入圆底烧瓶中,按照料液比为 1:30 g/mL 加入蒸馏水,混合均匀,在室温下浸提 48 h,4000 r/min 离心 10 min,收集上清液。向上清液中加入 4 倍体积无水乙醇,在 4 ℃下醇沉过夜。醇沉后,8000 r/min 离心 10 min,收集沉淀,50 ℃干燥后得 NIOP。

1.2.2 多糖含量测定 以葡萄糖为标准,通过苯酚-硫酸法测定多糖含量^[23]。将葡萄糖标准液(2.0 mL, 100 μg/mL)与 1.0 mL 苯酚溶液(6%)和 5 mL 硫酸混合。冷却至室温后,用紫外分光光度计在 490 nm 下测定吸光度(Abs)。以葡萄糖浓度为横坐标,吸光度 Abs 为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为 $y = 10.56x + 0.01$, $R^2 = 0.9992$,式中 y 为吸光值, x 为葡萄糖浓度(mg/mL)。准确吸取 2.0 mL 样品溶液,按上述步骤在 490 nm 波长处测定吸光度,从标准曲线上查得,并计算相应含量。

1.2.3 DEAE-52 的预处理 将 DEAE-52 离子交换剂干粉浸泡于蒸馏水中约 5 h,抽滤,在 0.5 mol/L 的 HCl 溶液中浸泡 2 h 后用去离子水洗至 pH 中性,抽干,加 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液浸泡 2 h,用去离子水将其洗至中性,并将其在抽滤漏斗中抽干。即得到了处理好的 DEAE-52^[24]。

1.2.4 DEAE-52 静态吸附 准确称取 15 g 处理后的 DEAE-52 纤维素,放入锥形瓶中,向其中加入 20 mL 的 NIOP 溶液。固定反应条件为吸附转速 120 r/min、样品浓度为 40 mg/mL、吸附时间为 90 min,研究不同吸附温度(20、30、40、50 ℃)处理后的 DEAE-52 纤维素对多糖的吸附量影响;固定反应条件为吸附温度 30 ℃、样品浓度为 40 mg/mL、吸附时间为 90 min,考察不同吸附转速(50、100、120、150、200、250 r/min)处理后的 DEAE-52 纤维素对多糖的吸附量影响;固定反应条件为吸附转速 120 r/min、吸附温度 30 ℃、吸附时间为 90 min,考察不同 NIOP 溶液浓度(20、30、35、40、50、60、70 mg/mL)处理后的 DEAE-52 纤维素对多糖的吸附量影响;固定反应条件为吸附转速 120 r/min、样品浓度为 40 mg/mL、吸附温度 30 ℃,考察不同吸附时间(15、30、45、60、75、90、120、150 min)处理后的 DEAE-52 纤维素对多糖的吸附量影响。吸附量按下式公式计算。

$$Q = \frac{(C_1 - C_2) \times V}{W}$$

式中, Q - 为吸附量(mg/g); C_1 - 初始浓度(mg/mL); C_2 - 吸附后浓度(mg/mL); V - 溶液体积(mL); W - DEAE-52 纤维素质量(g)。

1.2.5 DEAE-52 静态解吸 准确称取预处理好的 DEAE-52 纤维素加入锥形瓶内,向其中加入浓度为 40 mg/mL NIOP 溶液(比例为:15 g 纤维素加入 20 mL NIOP 粗多糖液),在 30 ℃和 120 r/min 的转速下振荡 90 min。即得饱和吸附纤维,测定多糖吸附量,滤干备用。将吸附多糖后的饱和吸附纤维加入

去离子水在 30 ℃ 和 120 r/min 的转速下振荡 90 min, 研究不同体积倍数(8、9、10、11、12、13、14、15、16)的去离子水对洗脱多糖浓度的影响。向经去离子水处理后的饱和吸附纤维加入的 0.2 mol/L NaCl 溶液, 在上述温度和转速下振荡 60 min, 研究不同体积倍数(8、9、10、11、12、13、14、15、16)的 0.2 mol/L NaCl 溶液对洗脱多糖浓度的影响。向吸附多糖后的饱和吸附纤维加入 12 倍体积的去离子水后, 将三角瓶放在在 30 ℃ 和 120 r/min 后, 研究不同洗脱时间(10、20、30、40、50、60、70、80、90、120 min)对洗脱多糖浓度的影响。向经去离子水处理后的饱和吸附纤维, 加入 11 倍体积的 0.2 mol/L 的 NaCl, 按上述处理方法, 研究不同洗脱时间对洗脱多糖浓度的影响。洗脱率按下式公式计算。

$$R = \frac{(P_2 \times V_2)}{[(P_0 - P_1) \times V_1]} \times 100$$

式中, R - 为洗脱率(%); P_0 - 为上样液起始浓度(mg/mL); P_1 - 为吸附后上样液浓度(mg/mL); P_2 - 为洗脱后浓度(mg/mL); V_1 - 为吸附液体积(mL); V_2 - 为洗脱液用量。

1.2.6 Sephadex G-100 葡聚糖凝胶柱层析分离纯化多糖 将经预处理后的 Sephadex G-100 葡聚糖凝胶采用湿法装柱, 分别取 NIOP1、NIOP2 溶液上 Sephadex G-100 葡聚糖凝胶柱(2.6 cm × 70 cm), 以蒸馏水洗脱, 流速 20 mL/h, 每 6 min 收集一管, 每管约 2 mL。使用苯酚硫酸法测定每管多糖浓度。以管数为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制洗脱曲线。

1.2.7 凝胶渗透色谱测定多糖纯度^[25] 色谱条件: 色谱柱, Waters UltrahydrogelTM Linear (规格为 7.8 mm × 300 mm); 流动相, 0.1 mol/L NaNO₃ 溶液; 流速, 0.9 mL/min; 柱温, 45 ℃。

1.2.8 数据处理 实验中每个处理重复三次, 采用 Student's test 进行数据分析, 采用 origin 8.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 DEAE-52 静态吸附实验

2.1.1 吸附温度对 DEAE-52 纤维素静态多糖吸附量的影响 由图 1 可知, 温度影响 DEAE-52 纤维素对吸附 NIOP 量随温度的升高呈现增大后减小的趋势, 在 20~30 ℃ 时, DEAE-52 纤维素对 NIOP 的吸附量随着吸附温度的升高而增大, 但 30 ℃ 之后, 随着温度的升高, DEAE-52 纤维素对 NIOP 的吸附量变小。这是由于吸附和解析均需活化能, 且吸附的活化能小于解析的活化能, 因此在低温范围内, 吸附量随温度的升高而增大, 高温范围内, 吸附量随温度升高却减小, 这与文献报道一致^[26]。因此选择在 30 ℃ 下吸附。

2.1.2 吸附转速对 DEAE-52 纤维素静态多糖吸附量的影响 DEAE-52 纤维素对 NIOP 的吸附量随着吸附转速的增大呈现先增大后减小趋势。从图 2 可知, DEAE-52 在 120 r/min 时吸附量最大。当转速高于 120 r/min 时, 多糖的吸附量逐渐减小。这可能是由于转速增加了多糖液与 DEAE-52 纤维素接触

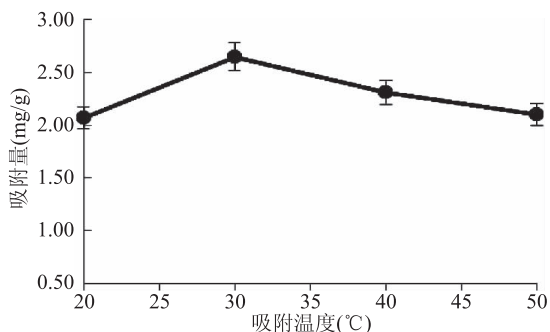


图 1 吸附温度对 DEAE 多糖吸附量的影响

Fig.1 Effect of adsorption temperature on the adsorbance of DEAE-52

面积, 吸附量增多, 但是当转速过高时吸附的多糖可能被解吸到溶液中, 导致吸附量减小^[27]。因此选择的吸附转速为 120 r/min 时, 此时吸附效果最好。

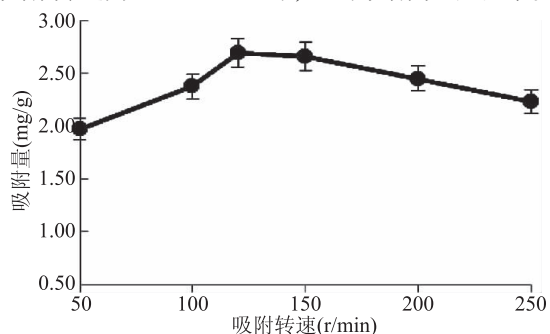


图 2 旋转转速对 DEAE-52 多糖吸附量的影响

Fig.2 Effect of rotate speed on the adsorbance of DEAE-52

2.1.3 NIOP 溶液浓度对 DEAE-52 纤维素静态多糖吸附量的影响 由图 3 可知, DEAE-52 纤维素对多糖的吸附量随着样品浓度的增大而提高。其中, 当 NIOP 溶液浓度达到 40 mg/mL (多糖含量为 6.3 mg/mL) 时, DEAE-52 纤维素对多糖的吸附量为 2.87 mg/g, 但当样品浓度再增大时, 多糖的吸附量增加不明显。这可能因为 DEAE-52 纤维素对多糖的吸附逐渐达到了饱和状态, 对多糖的吸附量随着 NIOP 溶液浓度的增大而增加不明显, 因此选择 40 mg/mL 为 NIOP 溶液最适浓度。

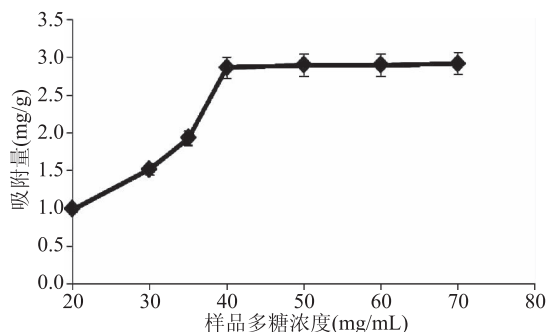


图 3 样品液多糖浓度对 DEAE-52 多糖吸附量的影响

Fig.3 Effect of sample concentration of polysaccharides on the adsorbance of DEAE-52

2.1.4 吸附时间对 DEAE-52 静态多糖吸附量的影响 由图 4 可知, DEAE-52 纤维素对多糖的吸附量随着吸附时间的增长而提高。当吸附时间为 90 min

时, DEAE-52 纤维素对多糖的吸收量为 2.51 mg/g, 但当吸附时间再增长时, 多糖的吸附量增加不明显。为了能高效的分离多糖, 选择吸附时间为 90 min 最为合适。

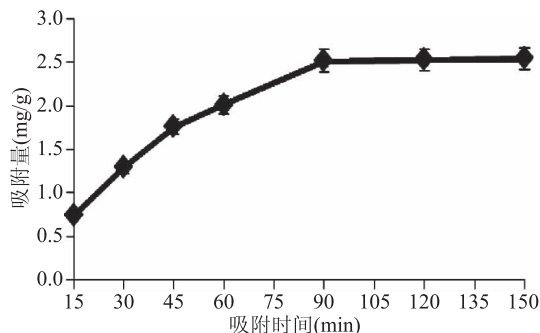


图4 吸附时间对 DEAE-52 多糖吸附量的影响

Fig.4 Effect of adsorption time on the adsorbance of DEAE-52

2.2 DEAE 静态解吸实验

2.2.1 洗脱体积倍数对饱和吸附纤维 NIOP 洗脱多糖浓度的影响 不同溶液洗脱体积倍数对饱和吸附纤维 NIOP 洗脱多糖浓度的影响结果见图 5 和图 6。如图所示, 随着洗脱体积倍数的增加, 洗出的多糖的浓度呈现先增加后减少的趋势。其中 NIOP1 的最适洗脱体积为 12 倍体积, 此时洗脱的多糖浓度为 0.56 mg/mL (多糖质量为 11.17 mg), 洗脱率为 28.20%。而 NIOP2 的最适洗脱体积为 11 倍体积, 此时洗脱的多糖的浓度为 0.38 mg/mL (多糖质量为 7.55 mg), 洗脱率为 19.06%。在采用 DEAE-52 纤维素柱层析分离纯化多糖时, NIOP1 的洗脱率约为 28%, NIOP2 的洗脱率约为 20%, 洗脱率相差不大^[22]。

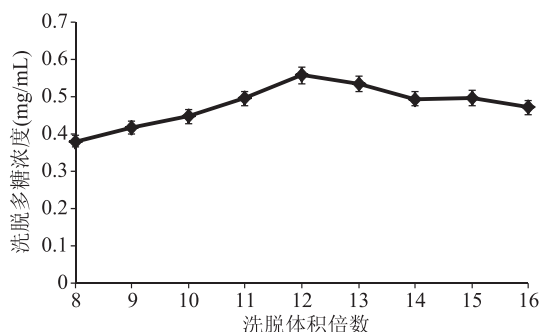


图5 去离子水洗脱体积对 DEAE-52 解吸附多糖浓度的影响

Fig.5 Effect of elution volume of deionized water on the release quantity of polysaccharide concentration of DEAE-52

2.2.2 洗脱时间对饱和吸附纤维 NIOP 洗脱多糖浓度的影响 洗脱时间对 DEAE-52 纤维素树脂洗脱多糖浓度的影响结果见图 7 和图 8。如图所示, 随着洗脱时间的不断增加, 洗出的多糖浓度不断增加, 但洗脱时间达到一定数值后, 随时间的增加, 洗脱的多糖浓度增加不明显。为节约成本和时间, 选择的 NIOP1 和 NIOP2 的最适洗脱时间分别为 90 min 和 60 min, 此时洗脱的多糖浓度分别为 0.55 mg/mL (多糖质量为 11.07 mg)、0.36 mg/mL (多糖质量为

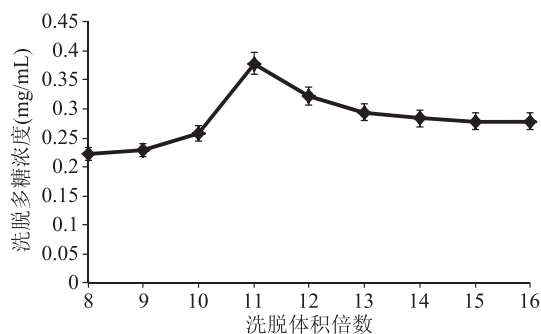


图6 0.2 mol/L NaCl 溶液洗脱体积对 DEAE-52 解吸附多糖浓度的影响

Fig.6 Effect of elution volume of 0.2 mol/L NaCl solution on the release quantity of polysaccharide concentration of DEAE-52

7.18 mg), 洗脱率分别为 24.6%、15.6%。与之前 DEAE-52 纤维素柱层析分离多糖相比^[22], 洗脱率稍微有所下降, 这是因为随着时间的不断增加, 仍能有少量多糖被洗出。

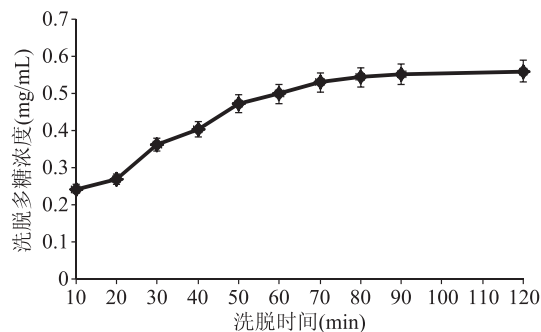


图7 去离子水的洗脱时间对 DEAE-52 解吸附多糖浓度的影响

Fig.7 Effect of elution time of deionized water on the release quantity of polysaccharide concentration of DEAE-52

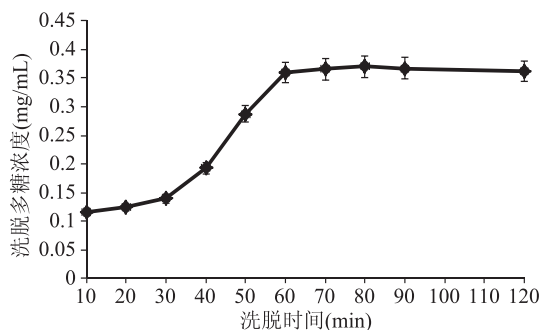


图8 0.2 mol/L NaCl 溶液洗脱时间对 DEAE-52 解吸附多糖浓度的影响

Fig.8 Effect of elution time of 0.2 mol/L NaCl solution on the release quantity of polysaccharide concentration of DEAE-52

2.3 Sephadex G-100 葡聚糖凝胶柱层析

如图 9 和图 10 中所示, NIOP1 和 NIOP2 经 Sephadex G-100 葡聚糖凝胶柱层析均为单一洗脱峰, 且各峰面积所示多糖分别占总多糖的 63.65%、71.24%, 其中多糖的回收率分别为: 79.98%、81.45%, 可以初步判断洗脱所得多糖 NIOP1 和 NIOP2 均为分子量分布均一的多糖组分, 但为进一步检验 NIOP1 和 NIOP2 的均一性, 采用 GPC 对其均

一性进行进一步鉴定。

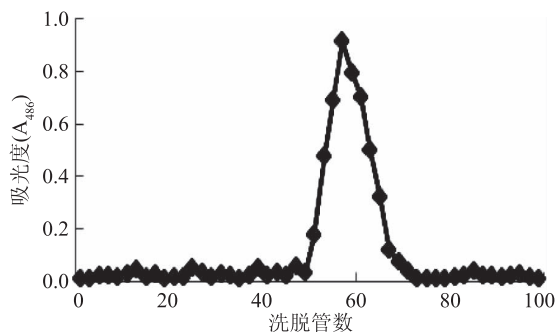


图9 NIOP1的Sephadex G-100葡聚糖凝胶柱层析峰图

Fig.9 Sephadex G-100 column chromatography for NIOP1

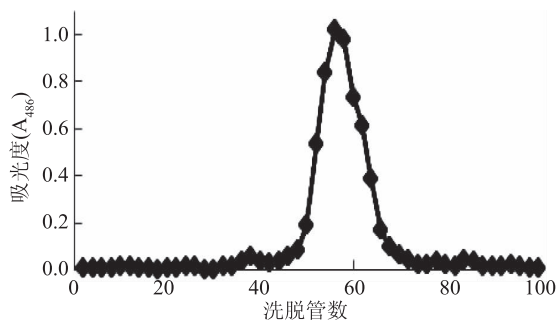


图10 NIOP2的Sephadex G-100葡聚糖凝胶柱层析峰图

Fig.10 Sephadex G-100 column chromatography for NIOP2

2.4 NIOP1和NIOP2纯度鉴定

由图11可以看出NIOP1、NIOP2组分在GPC上呈现一单峰,保留时间分别为8.47 min和8.41 min,平均分子量分别是24574、27901 Da。凝胶柱色谱图与其相应的SephadexG-100凝胶柱层析洗脱结果相一致,进一步说明NIOP1和NIOP2具有较强的均一性分布。

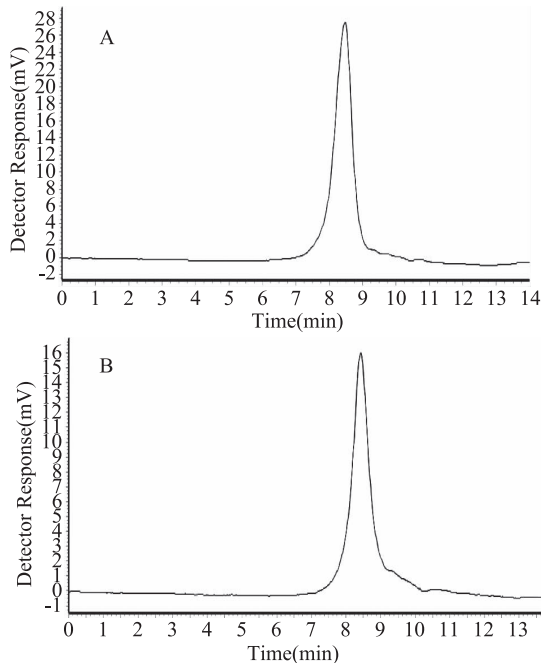


图11 葡聚糖凝胶色谱图

Fig.11 The GPC gel chromatography spectrum

注:A:NIOP1;B:NIOP2。

3 结论

本实验的静态研究得出了最佳静态吸附和解吸条件,实验表明,DEAE-52纤维素在NIOP浓度为40 mg/mL,温度30℃,120 r/min转速下处理90 min时对NIOP的吸附效果最佳。而饱和吸附纤维最佳解吸条件是:NIOP1洗脱剂用量为12倍体积,洗脱时间为90 min;NIOP2洗脱剂用量为11倍体积,洗脱时间为60 min。且DEAE-52纤维素静态洗脱出的多糖NIOP1和NIOP2均为分子量均一分布的多糖,与前期动态洗脱多糖结果一致。与动态洗脱相比,DEAE-52纤维素静态吸附耗时少,操作简单,而且对NIOP具有良好的分离纯化效果,为后期大量制备多糖提供了一定的理论基础。

参考文献

- [1] Shin YS, Tamai Y, Terazawa M. Chemical constituents of *Inonotus obliquus* I, A triterpene, 3 β -hydroxy-8,24-dime lanosta 21,23 lacton of romscetrium [J]. Eurasian Journal of Forest Research, 2000(1): 43-50.
- [2] 刘迎秋,包海鹰.桦褐孔菌 *Inonotus obliquus* 化学成分及药理作用[J].中国食用菌,2008,27(4): 34-39.
- [3] 陈义勇,黄友如,刘晶晶,等.桦褐孔菌多糖 IOP3a 体内抗肿瘤活性及其机制[J].食品与生物技术学报,2013,32(9): 983-988.
- [4] Zhao F, Mai Q, Ma J, et al. Triterpenoids from *Inonotus obliquus* and their antitumor activities [J]. Fitoterapia, 2015, 101: 34-40.
- [5] 张丽霞,张伟娜,李凌智,等.不同提取方法对桦褐孔菌多糖抗氧化活性的影响[J].安徽农业科学,2012,40(10): 5870-5872.
- [6] Hu Y, Sheng Y, Yu M, et al. Antioxidant activity of *Inonotus obliquus* polysaccharide and its amelioration for chronic pancreatitis in mice. [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 87: 348.
- [7] 崔鹤松,金光.桦褐孔菌多糖对实验性高脂血症模型大鼠血脂的影响[J].延边大学医学学报,2007,30(3): 173-174.
- [8] Chen G, Luo Y C, Li B P, et al. Effect of polysaccharide from *Auricularia auricula* on blood lipid metabolism and lipoprotein lipase activity of ICR mice fed a cholesterol-enriched diet [J]. Journal of Food Science, 2010, 73(6): H103-H108.
- [9] 张泽生,杨超慧,史砵,等.桦褐孔菌多糖对小鼠免疫调节作用的影响[J].食品研究与开发,2008,29(7): 35-37.
- [10] Fan L, Ding S, Ai L, et al. Antitumor and immunomodulatory activity of water-soluble polysaccharide from *Inonotus obliquus* [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(2): 870-4.
- [11] Hu T. Isolation, purification and effects of hypoglycemic functional polysaccharides from *Inonotus obliquus* [J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(30): 7738-7743.
- [12] 李翠丽,王炜,张英,等.中药多糖提取、分离纯化方法的研究进展[J].中国药房,2016,27(19): 2700-2703.
- [13] 王博,斯聪聪,程国才.响应面优化超滤膜分离灵芝多糖工艺[J].食品工业,2015(12): 1-4.
- [14] 江新凤,高其璋,杨普香,等.乙醇沉淀法提取茶花多糖

(下转第165页)

and Food Chemistry, 2013, 61(1):210-218.

[18] 张佰清, 李龙杰, 张艳艳. 响应面法优化微波辅助提取树莓籽油工艺[J]. 食品科学, 2011, 32(4):92-96.

[19] Iriasmata A, Stuetz W, Sus N, et al. Tocopherols, tocomononols and tocotrienols in oils of Costa Rican palm fruits: A comparison between six varieties and chemical vs. mechanical extraction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(34).

[20] 张鹰, 何兴值, 于新. 微波辅助法提取山毛豆种子油脂的工艺研究[J]. 粮油加工, 2010(11):10-12.

[21] 杜邵龙, 周春山. 微波辅助提取薏苡仁油的研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(2):79-81.

[22] 郝记明, 刘书成, 张静, 等. 利用罗非鱼下脚料提取鱼油的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(7):207-211.

[23] Abergel A1, Sapin V, Dif N, et al. Growth arrest and decrease of alpha-SMA and type I collagen expression by palmitic acid in the rat hepatic stellate cell line PAV-1[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2006, 51(5):986-995.

[24] 张伟敏, 钟耕, 王炜. 单不饱和脂肪酸营养及其生理功能

(上接第153页)

[14] 金剑. 木糖醇果冻流变学特性及其产品研究[D]. 福建: 福建农林大学, 2012:39-43.

[15] 周盛华, 黄龙, 张洪斌. 黄原胶结构、性能及其应用的研究[J]. 食品科技, 2008(7):156-160.

[16] Copetti G, Grassi M, Lapasin R, et al. Synergistic gelation of xanthan gum with locust bean gum: A rheological investigation[J]. Glycoconjugate Journal, 1997, 14(8):951-961.

[17] 侯团伟, 张虹, 毕艳兰, 等. 食品胶体的凝胶机理及协同作用研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(23):347-353.

[18] 杨新亭, 王林凤, 王香东. 黄原胶与魔芋胶的协效凝胶性研究[J]. 食品科学, 2001, 22(3):38-40.

[19] 王秀娟, 张坤生, 任云霞, 等. 海藻酸钠凝胶特性的研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(2):259-262.

[20] 胡庆兰. 带鱼制品的玻璃化转变及其品质变化研究[D].

(上接第158页)

的研究[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2013(5):31-33.

[15] 戚跃明, 陈涛. 紫芝胞外多糖分离纯化及抗氧化性的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(4):105-108.

[16] 任海伟, 陈海秀, 唐学慧, 等. 大孔树脂纯化薏苡多糖的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3):249-251.

[17] 景永帅, 张丹参, 吴兰芳, 等. 荔枝低分子量多糖的分离纯化及抗氧化吸湿保湿性能分析[J]. 农业工程学报, 2016, 32(9):277-283.

[18] 张岩, 马丽娜, 陶遵威. 中药多糖的分离纯化方法研究进展[J]. 天津药学, 2011, 23(3):72-74.

[19] 李翠丽, 王炜, 张英, 等. 中药多糖提取、分离纯化方法的研究进展[J]. 中国药房, 2016, 27(19):2700-2703.

[20] 姜绍通, 汪洪普, 潘丽军. 芋头多糖的分离纯化及对细胞免疫的调节作用[J]. 食品科学, 2013, 34(19):287-292.

[21] Meng M, Cheng D, Han L, et al. Isolation, purification,

研究概况[J]. 粮食与油脂, 2005(3):13-15.

[25] Neuringer M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: Methods, results, and implications[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 71(1):256-267.

[26] Das U N, Fams M D. Estrogen, statins, and polyunsaturated fatty acids: Similarities in their actions and benefits is there a common link[J]. Nutrition, 2002, 18:178-188.

[27] Bucher H C, Hengstler P, Schindler C, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: A meta analysis of randomized controlled trials[J]. The American Journal of Medicine, 2002, 112(4):298-304.

[28] 李梦凡, 陶宁萍, 刘承初, 等. 酶解法制备罗非鱼油工艺研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(7):6-11.

[29] 张立坚, 杨会邦, 蔡春. 3种淡水鱼油脂脂肪酸的含量分析[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(4):115-117.

[30] 孙丽霞, 杨红, 张丽芳, 等. 不同方法提取罗非鱼内脏油脂中脂肪酸的 GC-MS 比较分析[J]. 食品科技, 2015, 40(5):260-264.

杭州: 浙江大学, 2014:67.

[21] 陈海华. 亚麻籽胶的功能性质、结构及其应用[D]. 江苏: 江南大学, 2005:64-65.

[22] 伍胜. 对卡拉胶及其与魔芋复配凝胶强度的测量[J]. 食品科学, 1999, 20(8):38-41.

[23] 沈光林, 刘芳, 赵谋明, 等. 电解质对卡拉胶流变特性影响的研究[J]. 中南林学院学报, 2000, 20(4):30-35.

[24] Lai V, Pal W, Lii CY. Effects of cation properties on sol-gel transition and gel properties of kappa-carrageenan. [J]. Food Engineering and Physical Properties, 2000, 65(8):1332-1337.

[25] 汤少华. 低糖莲子酱加工工艺研究[D]. 湖北: 华中农业大学, 2013:23.

[26] 鲁军, 陈海华. 花生凝胶软糖工艺研究[J]. 粮油食品科技, 2010, 18(2):24-26.

structural analysis and immunostimulatory activity of water-soluble polysaccharides from *Grifola Frondosa* fruiting body[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 157:1134.

[22] 王丽. 桦褐孔菌降血糖多糖的分离纯化与 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2016.

[23] 刘璐, 乔宇, 汪兰, 等. 山药多糖的抗氧化作用研究[J]. 食品科技, 2014(12):212-216.

[24] 李敏晶, 毛婕昕, 付荣香. DEAE-纤维素分离提纯海带硫酸多糖的研究[J]. 广东化工, 2010, 37(9):30-31.

[25] 金鑫, 赖凤英. 仙人掌多糖的提取、分离纯化及 GPC 法测定其分子量[J]. 现代食品科技, 2006, 22(2):138-140.

[26] 许素新, 刘廷岳. 离子交换纤维对桑叶多糖静态吸附和解吸的研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(8):1943-1945.

[27] 任爱农. 野菊花多糖的提取分离、免疫活性研究及分子量测定[D]. 镇江: 江苏大学, 2012.