

复合酶法提取九资河茯苓多糖及其抗氧化活性

项飞兵^{1,2}, 熊天涵¹, 胡书午¹, 陈晓龙¹, 向福^{1,3*}

(1. 经济林木种质改良与资源综合利用湖北省重点实验室, 湖北 黄冈 438000; 2. 黄冈市公共检验检测中心, 湖北 黄冈 438000; 3. 湖北省中科产业技术研究院, 湖北 黄冈 438000)

摘要: 以九资河茯苓为原料, 多糖提取率为指标, 利用纤维素酶、半纤维素酶、 β -葡聚糖酶协同作用提取茯苓多糖。基于单因素和正交试验优化复合酶提取工艺条件, 并评价茯苓多糖的体外抗氧化活性。结果表明, 最佳工艺条件为纤维素酶、半纤维素酶、 β -葡聚糖酶添加量分别为 2.5%、2.5%、5.0%, 酶解时间 90 min、酶解温度 50 °C、pH 5.0。在此条件下, 茯苓多糖提取率为 6.13%, 是水提法的 4.17 倍, 其总抗氧化能力是水提法的 2.9 倍。该方法操作简单, 条件温和, 多糖提取率和抗氧化活性优势明显。

关键词: 茯苓; 多糖; 复合酶; β -葡聚糖酶; 抗氧化活性

Optimization of Polysaccharide Extraction from Jiuzihe *Poria cocos* with Multiple Enzymes and Its Antioxidant Activity

XIANG Fei-bing^{1,2}, XIONG Tian-han¹, HU Shu-wu¹, CHEN Xiao-long¹, XIANG Fu^{1,3*}

(1. Hubei Key Laboratory of Economic Forest Germplasm Improvement and Resources Comprehensive Utilization, Huanggang 438000, Hubei, China; 2. Huanggang Public Inspection and Testing Center, Huanggang 438000, Hubei, China; 3. Hubei Zhongke Research Institute of Industrial Technology, Huanggang 438000, Hubei, China)

Abstract: Using *Poria cocos* from Jiuzihe as raw material and the extraction rate as index, the polysaccharide was extracted by complex enzyme method. The extraction conditions were optimized using single factor and orthogonal tests, and the antioxidant activities *in vitro* of pachymaran were evaluated. The results showed that the optimal conditions were 2.5% cellulase, 2.5% hemicellulase, 5.0% β -glucanase, enzymolysis time of 90 min, enzymolysis temperature of 50 °C and pH of 5.0. Under these conditions, the extraction rate of the *P. cocos* polysaccharide reached 6.13%, which was 4.17 times that of water extraction. In addition, the total antioxidant activity of the polysaccharide extract was 2.9 times that of water extraction. Therefore, the compound enzyme extraction method is easily carried out under mild conditions with a high extraction rate and antioxidant activity of polysaccharide.

Key words: *Poria cocos*; polysaccharide; complex enzyme; β -glucanase; antioxidant activity

引文格式:

项飞兵, 熊天涵, 胡书午, 等. 复合酶法提取九资河茯苓多糖及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(9): 118-123.

XIANG Feibing, XIONG Tianhan, HU Shuwu, et al. Optimization of Polysaccharide Extraction from Jiuzihe *Poria cocos* with Multiple Enzymes and Its Antioxidant Activity[J]. Food Research and Development, 2022, 43(9): 118-123.

基金项目: 湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队项目(T201820)

作者简介: 项飞兵(1977—), 男(汉), 高级工程师, 本科, 研究方向: 产品分析与质量检验。

* 通信作者: 向福(1977—), 男, 教授, 博士, 研究方向: 生物资源利用。

茯苓(*Poria cocos*)为多孔菌科真菌茯苓的干燥菌核,具有利水渗湿、健脾宁心等功效^[1-2]。研究表明,茯苓多糖是茯苓的主要活性成分,具有免疫调节^[3]、抑制肿瘤^[4-6]、降血糖^[7-8]和抗氧化^[9-10]等生理活性。地处大别山的罗田县是著名的“茯苓之乡”,其“九资河茯苓”于1914年获万国博览会金奖,2007年批准实施地理标志产品保护。

茯苓多糖存在于细胞壁,其提取方法主要有溶剂提取法^[11]、酸碱提取法^[12]、超滤法^[13]、微波和超声辅助法^[14]等。溶剂提取法效率低且费时;酸碱提取法程序复杂且易破坏多糖立体结构,使其生物活性受到限制;超滤法所得多糖含量较低;微波和超声辅助提取需要较高成本,且组分更复杂难以分离。相较而言,酶法提取可催化多糖分子内糖苷键断裂,降低多糖分子质量和分子黏度,提高多糖提取率和多糖活性利用率,同时缩短提取时间,降低提取成本^[15]。

本试验拟采用纤维素酶、半纤维素酶和 β -葡聚糖酶进行协同作用,通过单因素和正交试验探讨复合酶法提取茯苓多糖的优化工艺,并评价其体外抗氧化活性,从而为大别山优质茯苓资源的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

九资河茯苓:湖北省罗田县,烘干,粉碎备用;纤维素酶(>20 U/mg)、半纤维素酶(>50 U/mg)、 β -葡聚糖酶(>100 U/mg):浙江一诺生物科技有限公司;浓硫酸(分析纯):信阳市化学试剂厂;苯酚(分析纯):广东恒健制药有限公司;葡萄糖标准品、维生素C标准品(纯度 $\geq 99\%$):上海金穗生物科技有限公司;柠檬酸、柠檬酸钠(均为食品级):潍坊英轩实业有限公司;总抗氧化试剂盒(批号:20190322):南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

CP413 电子天平:奥豪斯仪器(常州)有限公司;DEKW-D-2 型电热恒温水浴锅:北京西城区医疗器械厂;UV1901PCS 型双光束紫外可见分光光度计:上海佑科仪器仪表有限公司;DHG-9147A 电热恒温干燥箱:上海精宏实验设备有限公司;KQ-500DB 型台式数控超声波清洗器:东莞市科桥超声波设备有限公司;精密 pH 试纸:上海三爱思试剂有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 葡萄糖标准曲线绘制及样品中多糖含量计算

参考文献[16]的方法,准确称取葡萄糖标准品 0.100 g,置于 500 mL 容量瓶中,加水溶解,稀释至刻度,摇匀。分别准确量取葡萄糖标准品溶液 0.2、0.4、

0.6、0.8、1.0 mL,置于 25.0 mL 容量瓶中,加水至 4.0 mL,再分别加入 5%苯酚溶液 2.0 mL 和浓硫酸 6.0 mL,充分混合摇匀,室温下(25℃)放置 30 min 后在 488 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标(A),葡萄糖质量浓度(mg/mL)为横坐标(C)绘制标准曲线,回归方程为 $A = 0.0007C - 0.0007$, $R^2 = 0.9998$,表示葡萄糖浓度在 40 $\mu\text{g/mL}$ ~200 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与吸光度线性关系良好。

酶提取液按相同方法处理,在 488 nm 波长下测定吸光度,按公式(1)计算多糖提取率。

$$K/\% = \frac{CVD}{W \times 10^6} \times 100 \quad (1)$$

式中: K 为茯苓样品的多糖提取率,%; C 为样品溶液中的多糖浓度, $\mu\text{g/mL}$; D 为样品溶液的稀释倍数; V 为测定液体积,mL; W 为样品的质量,g。

1.3.2 复合酶添加量正交试验

根据前期试验结果,以纤维素酶添加量(A)、半纤维素酶添加量(B)、 β -葡聚糖酶添加量(C)为变量因子,设计 $L_9(3^3)$ 正交优化试验确定复合酶法最佳添加量。正交试验因素水平见表 1。

表 1 复合酶添加量正交试验的因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test of compound enzyme dosage

水平	A 纤维素酶 添加量/%	B 半纤维素酶 添加量/%	C β -葡聚糖酶 添加量/%
1	0	0	0
2	2.5	2.5	2.5
3	5.0	5.0	5.0

称取茯苓粉末 2.00 g 于锥形瓶中,分别按设计配比添加复合酶,加入 pH 值为 5.0 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 100 mL,搅拌均匀。置于 50℃ 的恒温水浴锅中酶解 90 min,置于沸水中水浴 15 min 灭活酶。将酶解液趁热抽滤,用容量瓶定容到 100 mL,取 0.25 mL 按 1.3.1 的方法测吸光度,计算多糖提取率。

1.3.3 酶解工艺单因素试验

称取 3 份茯苓粉末 2.00 g 于锥形瓶中,加入纤维素酶、半纤维素酶和 β -葡聚糖酶各 0.05 g,后续操作同 1.3.2,分别考察酶解时间(60、90、120、150、180 min)、酶解温度(45、50、55、60、65℃)和 pH 值(4.5、5.0、5.5、6.0、6.5)对茯苓多糖提取率的影响。

1.3.4 酶解工艺正交试验

根据复合酶添加量正交试验和酶解工艺单因素试验结果,选取对多糖提取率影响较显著的酶解时间(D)、酶解温度(E)和 pH 值(F)等因素进行正交试验设

计,如表2所示。

表2 酶解工艺正交试验的因素与水平

Table 2 Factors and level of orthogonal test on enzymatic hydrolysis

水平	D 酶解时间/min	E 酶解温度/℃	F pH 值
1	60	45	4.5
2	90	50	5.0
3	120	55	5.5

1.3.5 传统水提法制备茯苓多糖提取液

按照复合酶法的最佳酶解温度和时间制得茯苓多糖提取液。称取3份茯苓粉末2.00 g于锥形瓶中,加水100 mL,按照复合酶法的最佳酶解温度和时间,在50℃条件下水提90 min,趁热抽滤后定容到100 mL,取0.25 mL按1.3.1的方法测吸光度,计算多糖提取率。

1.3.6 总抗氧化能力评价

稀释配制系列质量浓度的茯苓多糖提取液,并以 V_c 溶液为阳性对照,同时将复合酶法以及水提法得到的茯苓多糖提取液浓度调整至0.3 g/L,根据总抗氧化试剂盒说明书操作,将测试管和对照管中样液在520 nm波长处测定吸光度,并按公式(2)计算其抗氧化能力。

$$T = \frac{A_s - A_c}{0.01 \times 30} \times \frac{V_1}{V_s} \times n \quad (2)$$

式中: T 为总抗氧化能力,U/mL; A_s 为测定管吸光度值; A_c 为对照管吸光度值; V_1 为反应液总体积,mL; V_s 为取样量,mL; n 为样品测试前稀释倍数。

1.4 数据分析

利用正交设计助手II 3.1和Microsoft Excel 2007等软件完成试验设计和数据分析。

2 结果与分析

2.1 复合酶比正交试验

复合酶添加量正交优化试验结果见表3和表4。

表3 复合酶添加量正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal test for complex enzyme dosage

试验号	A 纤维素酶 添加量/%	B 半纤维素酶 添加量/%	C β -葡聚糖 酶添加量/%	多糖提取 率/%
1	0	0	0	1.31
2	0	2.5	2.5	2.22
3	0	5.0	5.0	2.62
4	2.5	0	2.5	3.82
5	2.5	2.5	5.0	6.05
6	2.5	5.0	0	1.65
7	5.0	0	5.0	3.99
8	5.0	2.5	0	1.85

续表3 复合酶添加量正交试验结果

Continue table 3 Results of orthogonal test for complex enzyme dosage

试验号	A 纤维素酶 添加量/%	B 半纤维素酶 添加量/%	C β -葡聚糖 酶添加量/%	多糖提取 率/%
9	5.0	5.0	2.5	5.62
k_1	2.050	3.040	1.603	
k_2	3.840	3.373	3.887	
k_3	3.820	3.297	4.220	
R	1.790	0.333	2.617	

表4 复合酶添加量正交试验方差分析

Table 4 Variance analysis of the orthogonal test for complex enzyme dosage

因素	偏差平方和	自由度	F 比	$F_{0.05}$ 临界值	显著性
A	6.337	2	1.179	19.000	-
B	0.183	2	0.034	19.000	-
C	12.172	2	2.264	19.000	-
误差	5.38	2			

注:-表示对结果影响不显著($P>0.05$)。

由表3、表4可知, β -葡聚糖酶对多糖提取率的影响最大,其次是纤维素酶,半纤维素酶的影响最小,原因可能是 β -葡聚糖酶不仅能破坏细胞壁结构,更能将茯苓多糖中的葡聚糖聚合体降解,提高多糖提取率^[17];优化条件为 $A_2B_2C_3$,即纤维素酶、半纤维素酶、 β -葡聚糖酶的添加量分别2.5%、2.5%和5.0%,此时茯苓多糖提取率为6.05%。

2.2 酶解工艺单因素试验

2.2.1 酶解时间对多糖提取率的影响

酶解时间对多糖提取率的影响如图1所示。

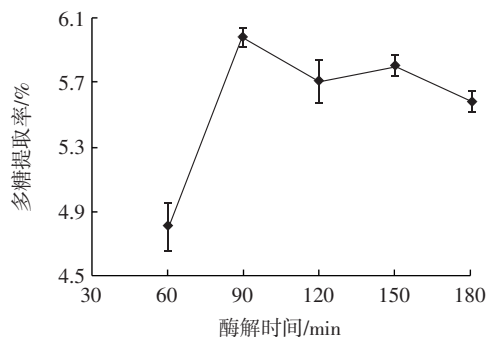


图1 酶解时间对多糖提取率的影响

Fig.1 The effect of enzymatic reaction time on polysaccharide extraction rate

由图1可知,多糖提取率随着酶解时间的增加整体呈先上升后下降的趋势,当酶解时间为90 min时,茯苓多糖提取率最高,为5.98%;继续延长酶解时间,

则茯苓多糖提取率下降。这可能是酶解时间过长引起多糖的结构发生变化^[18],导致茯苓多糖的含量不仅没有增加反而减少,且时间过长也会使杂质溶出。因此,酶解时间以 90 min 为宜。

2.2.2 酶解温度对多糖提取率的影响

酶解温度对多糖提取率的影响如图 2 所示。

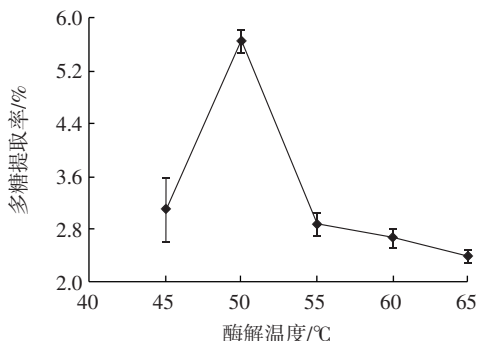


图 2 酶解温度对多糖提取率的影响

Fig.2 The effect of enzymatic reaction temperature on polysaccharide extraction rate

由图 2 可知,在酶解温度 45℃~50℃内,随着温度的增加,多糖提取率急剧上升,达到 5.68%;当酶解温度超过 50℃后,多糖提取率则急剧下降。这可能是因为在 50℃时,酶活性随温度升高而增加,多糖的溶解和扩散速率增加,从而提高多糖提取率;而当温度过高,酶活性降低,同时高温可能使多糖的结构发生变化^[19],导致多糖提取率急剧降低。因此酶解温度以 50℃为宜。

2.2.3 pH 值对多糖提取率的影响

pH 值对多糖提取率的影响如图 3 所示。

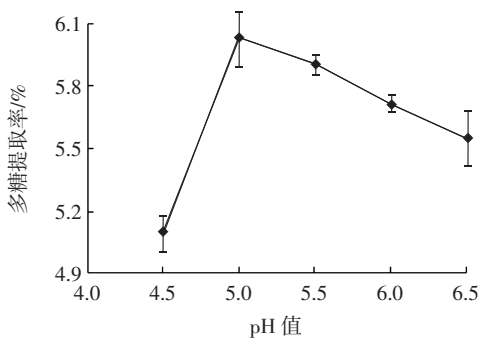


图 3 pH 值对多糖提取率的影响

Fig.3 The effect of pH on polysaccharide extraction rate

由图 3 可知,随着 pH 值从 4.5 增加到 5.0,多糖提取率达到峰值,为 6.03%;继续提高 pH 值,多糖提取率呈下降趋势。适当的 pH 值有利于酶的活性增加,当 pH 值高于 5.0 时,复合酶活性被破坏^[20],从而使得多糖提取率降低。故 pH 值以 5.0 为宜。

2.3 酶解工艺正交试验

酶解工艺正交试验结果如表 5、表 6 所示。

表 5 酶解工艺正交试验结果

Table 5 Results of orthogonal test on enzymatic hydrolysis

试验号	D 酶解时间/min	E 酶解温度/℃	F pH 值	多糖提取率/%
1	60	45	4.5	4.71
2	60	50	5.0	5.02
3	60	55	5.5	4.88
4	90	45	5.0	5.85
5	90	50	5.5	5.93
6	90	55	4.5	5.73
7	120	45	5.5	5.48
8	120	50	4.5	5.68
9	120	55	5.0	5.59
k ₁	4.870	5.347	5.373	
k ₂	5.837	5.543	5.487	
k ₃	5.583	5.400	5.430	
R	0.967	0.196	0.114	

表 6 酶解工艺正交试验方差分析

Table 6 Variance analysis of orthogonal test on enzymatic hydrolysis

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F _{0.05} 临界值	显著性
D	1.507	2	215.286	19.000	*
E	0.062	2	8.857	19.000	-
F	0.019	2	2.714	19.000	-
误差	0.01	2			

注:*表示对结果影响显著($P<0.05$);-表示对结果影响不显著($P>0.05$)。

由表 5、表 6 可知,酶解时间(D)对多糖提取率的影响最大,且具有显著性;其次为酶解温度(E),pH 值(F)影响最小;最优工艺条件为 $D_2E_2F_2$,即酶解时间 90 min、酶解温度 50℃、pH 值 5.0。

2.4 酶解工艺验证试验

在纤维素酶、半纤维素酶、 β -葡聚糖酶的添加量分别 2.5%、2.5%和 5.0%,酶解时间 90 min、酶解温度 50℃、pH 5.0 条件下,重复提取 6 次,茯苓多糖的平均提取率为 $(6.13\pm 0.45)\%$,高于表 5 中的最高多糖提取率 5.93%。

根据优化的酶解温度和时间,采用水提法在 50℃条件下水提 90 min,测得茯苓多糖提取率为 $(1.47\pm 0.20)\%$,只有复合酶法提取率的 23.98%。此外,陈莉等^[21]采用热水浸提法所得茯苓多糖的提取率为 2.29%,采用纤维素酶、蛋白酶、果胶酶的复合酶酶解法的提取率为 3.56%,采用酶解+热水浸提法把提取率提高到 5.31%,均低于本试验优化得到的茯苓多糖提取率。一方面可能是由于茯苓原料的区别,另一方面也可能是

纤维素酶、半纤维素酶和 β -葡聚糖酶对茯苓多糖提取的协同作用较纤维素酶、蛋白酶、果胶酶3种酶更具优势。

2.5 总抗氧化能力评价

以 V_c 为对照,测定复合酶法所得茯苓多糖提取液不同浓度下的总抗氧化能力如图4所示。

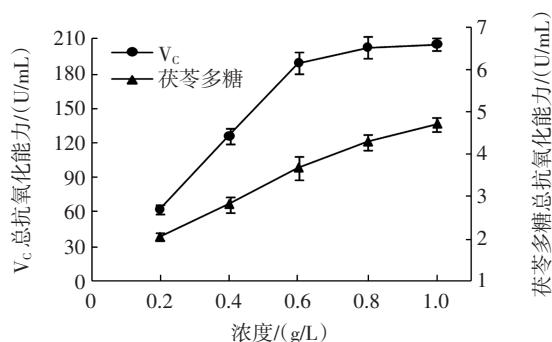


图4 茯苓多糖和 V_c 的总抗氧化能力

Fig.4 The total antioxidant activities of poria polysaccharide and V_c

由图4可知, V_c 溶液的总抗氧化能力在0.2 g/L~0.6 g/L浓度时呈明显的线性增长关系,增加至0.8 g/L时则趋于稳定;茯苓多糖溶液的总抗氧化能力则在浓度增加到0.8 g/L后继续增加。表明此总抗氧化能力测试方法可行,纤维素酶、半纤维素酶和 β -葡聚糖酶3种酶协同提取的茯苓多糖溶液具有抗氧化活性,且随着多糖浓度增加,总抗氧化能力越强;但从受试浓度范围看,茯苓多糖溶液的总抗氧化能力弱于相同质量浓度的 V_c 溶液。

为进一步评价茯苓多糖提取液的抗氧化活性,将复合酶法和水提法得到的茯苓多糖提取液浓度调整至0.3 g/L,测定总抗氧化能力分别为 (2.63 ± 0.41) U/mL和 (0.90 ± 0.21) U/mL,即复合酶法所得茯苓多糖提取液的总抗氧化能力是水提法的2.9倍。推测是由于 β -葡聚糖酶将茯苓多糖中的葡聚糖聚合体降解为低分子片段,且保持其立体结构而生物活性高^[17],从而提高了茯苓多糖的抗氧化能力。

3 结论

以大别山“九资河茯苓”为对象,建立了纤维素酶、半纤维素酶和 β -葡聚糖酶3种酶协同提取茯苓多糖的优化工艺,即纤维素酶、半纤维素酶和 β -葡聚糖酶的用量分别为2.5%、2.5%和5.0%、酶解时间90 min、酶解温度50℃、pH 5.0。此条件下,茯苓多糖提取率为6.13%,为相同条件下水提法的4.17倍,其总抗氧化能力是水提法的2.9倍。该方法条件温和,操作简单,且

多糖提取率和抗氧化活性优势明显,可用于大别山地区九资河茯苓多糖的工业化制备。

参考文献:

- [1] 程玥,丁泽贤,张越,等.茯苓多糖及其衍生物的化学结构与药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(18):4332-4340.
CHENG Yue, DING Zexian, ZHANG Yue, et al. Research progress on chemical structures and pharmacological activities of *Poria cocos* polysaccharide and its derivatives[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(18): 4332-4340.
- [2] 张年,李兆星,李娟,等.茯苓的化学成分与生物活性研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2019,21(2):220-233.
ZHANG Nian, LI Zhaoxing, LI Juan, et al. Advances in the research of constituents and pharmacological effects of *Poria cocos* (schw.) wolf[J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2019, 21(2): 220-233.
- [3] 魏科,陈勇超,周家豪,等.茯苓多糖辅助抗肺癌及免疫调节作用研究[J].中华中医药杂志,2020,35(10):4937-4940.
WEI Ke, CHEN Yongchao, ZHOU Jiahao, et al. Study on the effect of auxiliary anti-lung cancer and immune regulation of pachyman[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2020, 35(10): 4937-4940.
- [4] 侯玮婷,罗佳波.复方茯苓多糖口服液抗肿瘤作用和免疫调节功能的初步研究[J].中药药理与临床,2017,33(2):78-81.
HOU Weiting, LUO Jiabo. The study of the compound *Poria* polysaccharide oral liquid on the antitumor activity and immune regulation function[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2017, 33(2): 78-81.
- [5] SHI C Y, MA Q H, REN M Y, et al. Antitumor pharmacological mechanism of the oral liquid of *Poria cocos* polysaccharide[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 209: 24-31.
- [6] LI X L, HE Y L, ZENG P J, et al. Molecular basis for *Poria cocos* mushroom polysaccharide used as an antitumor drug in China[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2019, 23(1): 4-20.
- [7] 黄聪亮,郑佳俐,李凤林,等.茯苓多糖对II型糖尿病小鼠降糖作用研究[J].食品研究与开发,2016,37(4):21-25.
HUANG Congliang, ZHENG Jiali, LI Fenglin, et al. Hypoglycemic effects of polysaccharides from *Wolfiporia cocos* (schw.) ryv. & cilbn in type II diabetic mice[J]. Food Research and Development, 2016, 37(4): 21-25.
- [8] SUN S S, WANG K, MA K, et al. An insoluble polysaccharide from the sclerotium of *Poria cocos* improves hyperglycemia, hyperlipidemia and hepatic steatosis in ob/ob mice via modulation of gut microbiota[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2019, 17(1): 3-14.
- [9] 李燕凌,张志旭,胡令.茯苓多糖抗氧化性研究[J].天然产物研究与开发,2012,24(8):1126-1128.
LI Yanling, ZHANG Zhixu, HU Ling. Antioxidation of polysaccharides from *Poria cocos*[J]. Natural Product Research and Development, 2012, 24(8): 1126-1128.
- [10] 卢华杰,卢燕,刘焱文.茯苓多糖抗氧化作用研究[J].食品研究

- 与开发, 2014, 35(23): 1-3.
- LU Huajie, LU Yan, LIU Yanwen. Study on antioxidant properties of polysaccharides from *Poria cocos* [J]. Food Research and Development, 2014, 35(23): 1-3.
- [11] WANG N N, ZHANG Y, WANG X P, et al. Antioxidant property of water-soluble polysaccharides from *Poria cocos* Wolf using different extraction methods[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 83: 103-110.
- [12] 张璐, 刘强. 茯苓多糖制备工艺及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(4): 61-64.
- ZHANG Lu, LIU Qiang. Advance progress on the preparation process and pharmacology of carboxymethylpachyman[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2006, 12(4): 61-64.
- [13] 颜继忠, 廖倩, 李行诺. 超滤法纯化茯苓多糖的工艺优化 [J]. 浙江工业大学学报, 2013, 41(2): 122-125.
- YAN Jizhong, LIAO Qian, LI Xingnuo. Purification of polysaccharide from *Poria cocos* by ultrafiltration membrane technology[J]. Journal of Zhejiang University of Technology, 2013, 41(2): 122-125.
- [14] 郭毓菲, 张诗泉, 王汉迪, 等. 超声波法提取水溶性茯苓多糖工艺优化及其抗氧化活性探究[J]. 中国酿造, 2018, 37(12): 160-164.
- GUO Yufei, ZHANG Shiquan, WANG Handi, et al. Extraction technology optimization of water soluble pachyman by ultrasonic method and its antioxidant activity[J]. China Brewing, 2018, 37(12): 160-164.
- [15] 龚志华, 邓燕莉, 陈芳, 等. 植物复合酶 SPE-002 提取茯苓多糖工艺研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2010, 36(5): 565-568.
- GONG Zhihua, DENG Yanli, CHEN Fang, et al. Extraction technique in *Poria cocos* polysaccharides by plant multienzyme SPE-002[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2010, 36(5): 565-568.
- [16] 丁霄霄, 李凤伟, 商曰玲, 等. 灵芝多糖的复合酶法提取工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(5): 34-39, 53.
- DING Xiaoxiao, LI Fengwei, SHANG Yueling, et al. Optimization of extraction technology of *Ganoderma lucidum* polysaccharide by enzyme complex[J]. Food Research and Development, 2020, 41(5): 34-39, 53.
- [17] 郭雨桐, 肖文军. β -葡聚糖酶降解茯苓多糖的效应[J]. 北方园艺, 2011(24): 18-22.
- GUO Yutong, XIAO Wenjun. The effect of β -glucanase in degradation pachyman[J]. Northern Horticulture, 2011(24): 18-22.
- [18] 黎英, 陈雪梅, 张灵, 等. 复合酶法提取漳平水仙饼茶多糖的工艺优化[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(4): 443-447.
- LI Ying, CHEN Xuemei, ZHANG Ling, et al. Optimization of enzymatic extraction of polysaccharides from Zhangping Shuixian tea cake using complex enzymes[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(4): 443-447.
- [19] 王超雪, 陈瑞战, 朱思楠, 等. 五味子多糖均质酶解提取工艺优化[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(10): 59-65.
- WANG Chaoxue, CHEN Ruizhan, ZHU Sinan, et al. Optimization of homogenate-enzymolysis extraction of polysaccharides from *Schisandra chinensis* baill[J]. China Food Additives, 2019, 30(10): 59-65.
- [20] 阿吾提·艾买尔, 古力齐曼·阿布力孜, 迪丽努尔·马里克. 野蔷薇根多糖超声微波酶解协同提取及抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(11): 1180-1188.
- AWUTI Aimaier, GULQIMAN Abliz, DILINUER Malike. Ultrasonic-microwave-enzyme synergistic extraction of polysaccharides from *Rosa multiflora* thunb and antioxidant activity[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(11): 1180-1188.
- [21] 陈莉, 郁建平. 茯苓多糖提取工艺的优化[J]. 食品科学, 2007, 28(5): 136-139.
- CHEN Li, YU Jianping. Optimization of Fuling (*Poria cocos*) polysaccharides extraction technology[J]. Food Science, 2007, 28(5): 136-139.

加工编辑: 张璐

收稿日期: 2021-05-07