

地木耳多糖的抗氧化活性与抗菌活性研究

刘丹丹, 朱志学, 马 健, 邵 波, 徐希柱, 刘兆玺*, 李艳玲*

(泰山医学院生命科学学院, 泰安 271016)

摘 要: **目的** 研究地木耳多糖的抗氧化性与抑菌活性。**方法** 利用超声波提取法从地木耳中提取多糖, 经初步纯化后, 对多糖的抗氧化性和抑菌作用进行分析。**结果** 地木耳多糖具有一定的抗氧化能力, 且其抗氧化能力在一定的浓度范围内呈现良好的量效关系。地木耳多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率最高, 最高可达70.53%, 对DPPH的清除率次之, 最高可达67.72%, 对 O_2^- 的清除能力最低, 最高可达32.31%。地木耳多糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、啤酒酵母均有一定的抑制作用, 其中对大肠杆菌的抑菌效果最好, 最小抑菌质量浓度为31.25 $\mu\text{g/mL}$; 对丹参枯萎病菌无抑制作用。**结论** 地木耳多糖具有一定的抗氧化能力和抗菌能力。

关键词: 地木耳; 多糖; 抗氧化性; 抑菌作用

Research on the antioxidant and antibacterial activity of polysaccharides from *Nostoc commune*

LIU Dan-Dan, ZHU Zhi-Xue, MA Jian, SHAO Bo, XU Xi-Zhu, LIU Zhao-Xi*, LI Yan-Ling*

(College of Life Sciences, Taishan Medical University, Taian 271016, China)

ABSTRACT: Objective To research the antioxidant and antibacterial activity of polysaccharides from *Nostoc commune*. **Methods** Polysaccharide was extracted from *Nostoc commune* by ultrasonic extraction. After initial purification, the antioxidant and antibacterial effects of polysaccharides were analyzed. **Results** The polysaccharide from *Nostoc commune* had certain antioxidant capacity, and its antioxidant capacity showed a good dose-effect relationship within a certain concentration range. The polysaccharide had the highest clearance rate of $\cdot\text{OH}$, up to 70.53%, followed by DPPH, up to 67.72%, and the lowest removal rate of O_2^- , up to 32.31%. The *Nostoc commune* polysaccharide had a certain inhibitory effect on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae*, among which the antibacterial effect on *E. coli* was the best, the minimum inhibitory mass concentration was 31.25 $\mu\text{g/mL}$, and it had no inhibitory effect on *Salvia miltiorrhiza* wilt. **Conclusion** Polysaccharides from *Nostoc Commune* has certain anti-oxidation ability and antibacterial ability.

KEY WORDS: *Nostoc commune*; polysaccharide; antioxidation; bacteriostasis

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2016GSF202002)、国家大学生创新创业训练计划项目(201610439261)、国家自然科学基金项目(31500148)

Fund: Supported by Shandong Key Research and Development Plan (2016GSF202002), National College Students Innovation and Entrepreneurship Training Program (20160439261) and National Natural Science Foundation of China (31500148)

***通讯作者:** 刘兆玺, 硕士, 主要研究方向为发酵食品检测技术。E-mail: zxliu@tsmc.edu.cn

李艳玲, 副教授, 主要研究方向为药用植物内生菌次级代谢。E-mail: lingl816@163.com

***Corresponding author:** LIU Zhao-Xi, Master, Taishan Medical University, NO.619, Changcheng Road, Daiyue District, Taian 271000, China. E-mail: zxliu@tsmc.edu.cn

LI Yan-Ling, Associate Professor, Taishan Medical University, NO.619, Changcheng Road, Daiyue District, Taian 271000, China. E-mail: zxliu@tsmc.edu.cn

1 引言

地木耳(*Nostoc commune*), 学名普通念珠藻, 又称地皮菜、地衣、地耳等^[1], 是真菌和藻类的结合体, 属蓝藻门念珠科, 被誉为自然界中最典型最成功的共生现象的范例, 是植物界最原始类群之一^[2]。地木耳富含蛋白质、糖、脂类, 还含有丰富的微量元素和维生素等物质^[3,4]。《本草纲目》记载: 地木耳味甘、平、性寒, 具有“补心清胃, 久食美色, 益精锐神, 至老不毁”等功效。研究发现, 地木耳所含的某种成分可以抑制人大脑中的乙酰胆碱酯酶活性, 从而对老年痴呆症产生疗效^[5]。

目前关于地木耳的研究主要集中在营养成分分析、多糖提取工艺研究^[5-7]等方面, 而对地木耳多糖的生物活性研究较少。因此, 本研究采用超声波提取法^[8-10], 从地木耳中提取多糖, 进行多糖的抗氧化性试验和抑菌试验, 以期地为地木耳的功能性产品开发和综合应用研究提供技术支持和理论参考。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

地木耳: 地木耳材料购于山东省青州市批发市场, 地木耳磨粉后置于保鲜袋中, 4℃下在冰箱种保存备用。

供试菌种: 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、丹参枯萎病菌(*Fusarium sp.*)均为泰山医学院生命科学学院实验室保藏菌种。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine, DPPH)、水杨酸、三羟甲基氨基甲烷(Tris)(分析纯, 北京索莱宝科技有限公司); 葡萄糖、硫酸亚铁(分析纯, 天津市巴斯夫化工有限公司); 苯酚(分析纯, 德州润昕实验仪器有限公司); 浓硫酸(分析纯, 淄博建龙化工有限公司); 氯仿、正丁醇、无水乙醇、丙酮、邻苯三酚、H₂O₂(分析纯, 天津市凯通化学试剂有限公司); 盐酸(分析纯, 泰安市嘉叶生物科技有限公司)。

JY96-IIN 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司); TGL-16G 台式离心机(上海安亭科学仪器厂制造); 85-2A 磁力搅拌器(厦门优新科仪机电设备厂); SHB-IV双循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); DHG-9203A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海右一仪器有限公司); DK-8D 型电热恒温水槽(上海一恒科技有限公司); UV-754 型紫外分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司); SX-700 高压灭菌锅(上海莱睿科学仪器有限公司); VS-1300L-U 洁净工作台(苏州市华宇净化设备有限公司); DNP-9162BS-III电热恒温培养箱(苏州江东精密仪器有限

公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 地木耳多糖的提取

准确称取 2 g 地木耳干粉, 置于锥形瓶中, 按料液比 1:20、1:40、1:60、1:80、1:100 加入蒸馏水, 摇匀; 将其至于超声波萃取仪中进行细胞破碎处理(提取温度 70℃, 超声功率 300 W, 提取时间 40 min); 将浸提样品在 4000 r/min 转速下离心 10 min; 取上清液, 用 servage 法^[11]除蛋白; 加入 3 倍体积的 95%乙醇浸泡, 静置到沉淀完全置于底部; 4000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 得到沉淀; 分别用无水乙醇、丙酮洗涤沉淀, 得到地木耳多糖粗品; 将不同料液比所提取出的多糖分别配制成多糖溶液, 备用, 测其含量。

2.2.2 地木耳多糖含量的测定

1)标准曲线的确定

配制 50 μg/mL 葡萄糖标准溶液。分别吸取葡萄糖标准溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL, 用蒸馏水补充至 2.0 mL, 加入 5%的苯酚溶液 1.0 mL, 混匀, 立即滴加浓硫酸 5 mL, 摇匀, 60℃水浴 15 min, 然后至冷水中冷却 15 min, 在 490 nm 波长处比色。

2)地木耳多糖含量测定

取地木耳多糖溶液 0.2 mL 用蒸馏水补充至 2.0 mL, 加入 5%的苯酚溶液 1.0 mL, 混匀, 立即滴加浓硫酸 5 mL, 摇匀, 60℃水浴 15 min, 然后至冷水中冷却 15 min, 在 490 nm 波长处比色。

2.2.3 地木耳多糖抗氧化活性的测定

准确称取实验提取的 1 g 地木耳多糖, 100 mL 容量瓶分别加蒸馏水定容, 配成 10 mg/mL 的多糖母液, 密封, 避光保存, 备用^[12,13]。

1)测定地木耳多糖对 DPPH 自由基的清除率

采用 DPPH 测定地木耳多糖对自由基的清除率^[14]。精确配制 5 mmol/L 的 DPPH·乙醇溶液, 将地木耳多糖母液用蒸馏水稀释, 配制成 50、100、200、400、600、800、1000 μg/mL 等一系列溶液, 精确吸取样品溶液 2 mL, 加入 2 mL 5 mmol/L 的 DPPH·乙醇溶液, 混匀后在室温下静置 30 min, 以 2 mL 无水乙醇和 2 mL 蒸馏水的混合液为参比, 测定 517 nm 处的吸光值 A_i^[15]。以 2 mL 样品溶液和 2 mL 无水乙醇的混合液为对照, 测定 517 nm 处的吸光值 A_j。以 2 mL 蒸馏水和 2 mL 5 mmol/L 的 DPPH·乙醇溶液的混合液为模型对照组, 测定 517 nm 处的吸光值 A₀。以同样的方法测定 VC 的吸光度。平行测 3 次, 取其平均值。然后按下式计算 DPPH 自由基清除率:

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$$

2)测定地木耳多糖对羟基自由基(·OH)的清除率

双氧水 H₂O₂ 和 Fe²⁺发生氧化还原反应, 该体系可以

通过 Fenton 反应生成羟基自由基,羟基自由基具有很高的反应活性,但是存在的时间较短,若在体系中加入水杨酸,利用水杨酸能够有效地捕捉羟基自由基并生成有色络合物,该络合物在波长 510 nm 下具有一定的强吸收,而 $\cdot\text{OH}$ 遇到其他还原性更强的物质时会与水杨酸竞争羟基自由基,降低吸光度^[16,17],可以作为检测抗氧化的作用底物。

取若干支 10 mL 的比色管,加入 9.0 mmol/L FeSO_4 1 mL, 9.0 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液 1 mL,不同质量浓度的地木耳多糖溶液 1 mL,最后加入 8.8 mmol/L H_2O_2 1 mL 启动反应,于室温下反应 1 h,在 510 nm 处测定样品的吸光度 A_1 。以水为参比代替多糖,测定对照组吸光度 A_0 。以 9.0 mmol/L FeSO_4 , 9.0 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液,不同浓度多糖溶液,蒸馏水各 1 mL 混合测定吸光度 A_2 。用同样的方法测定 VC 的吸光度。平行测 3 次,取其平均值,计算公式计算 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除率。

3)测定地木耳多糖对超氧自由基(O_2^-)清除率

利用邻苯三酚氧化法^[18],邻苯三酚在碱性条件下自氧化产生较为稳定的超氧自由基和具有黄颜色的中间产物,当有还原性物质如 VC 时,会抑制邻苯三酚自氧化的进程阻止反应体系产生超氧自由基,从而使其溶液颜色发生变化,影响反应体系的吸光度,其关系符合朗伯-比尔定律。具有颜色的中间产物在 320 nm 有一强烈的吸收峰,故可用该体系测定地木耳多糖对超氧自由基(O_2^-)清除率。

在 10 mL 中加入 3 mL Tris-HCl 缓冲液(pH 8.2), 1 mL 不同质量浓度的地木耳多糖溶液, 25 °C 下保温 20 min,加入 25 °C 下预热的 7 mmol/L 的邻苯三酚 0.3 mL 准确反应 4 min,加入 1 mL 10 mmol/L HCl 终止反应,在 420 nm 处测定其吸光度 A_1 。以水为参比代替多糖,测定对照组吸光度 A_0 。以蒸馏水代替邻苯三酚混合测定吸光度 A_2 。用同样的方法测定 VC 的吸光度。平行测 3 次,取其平均值,计算 O_2^- 自由基清除率。

2.2.4 地木耳多糖抑菌试验

1)培养基的制备

牛肉膏蛋白胨培养液:牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 定容至 1000 mL;

牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 琼脂 15 g, 定容至 1000 mL;

马铃薯固体培养基(potato solid medium, PDA):马铃薯 200 g(去皮),葡萄糖 20 g,琼脂 15 g,蒸馏水 1 000 mL,自然 pH 值。

马铃薯液体培养基(potato-dextrose broth, PDB):马铃薯 200 g(去皮),葡萄糖 20 g,蒸馏水 1 000 mL,自然 pH 值。

2)供试菌种的活化及菌悬液的制备

将供试细菌接入牛肉膏蛋白胨斜面培养基上进行活化,挑取 1 环已活化好的菌体接种于液体培养基中,放入

恒温振荡培养箱培养至对数生长期,使用平板计数法调整浓度为 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL,备用;

将供试酵母菌和丹参枯萎病菌活化后,接种于 PDB 培养基中,放入恒温振荡培养箱培养至对数生长期,使用平板计数法调整细胞或孢子浓度 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL,备用。

3)抑菌活性的测定

采用滤纸片法^[19,20]。精制的多糖和青霉素用蒸馏水配制成 500 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,过滤(0.22 μm)除菌,采用二倍稀释,用无菌水配制成不同质量浓度的溶液,依次为 500、250、125、62.5、31.25 $\mu\text{g/mL}$ 。滤纸用打孔器制备直径为 6 mm 的小滤纸片。灭菌后滤纸片浸泡于上述溶液中 30 min,备用。同法以无菌水作阴性对照。

倒入各种菌种的培养基,待其完全冷却凝固后,再分别移取各菌悬液 500 μL 。用涂布棒涂布均匀。每个平板放 3 个实验样片,1 片阳性对照样片,1 片阴性对照样片,用无菌镊子取样片贴放于平板表面。贴放好后,用镊子轻压样片,使其紧贴于平板表面。盖好平皿,置 37 °C 恒温箱,培养过夜。

3 结果与分析

3.1 地木耳多糖的提取

3.1.1 标准曲线回归方程的建立

用紫外分光光度计,在 490 nm 的波长处比色,以试剂空白作参比,实验结果如图 1。测得葡萄糖线性回归方程 $Y=0.0127X+0.0035$,相关系数 $r^2=0.9998$,线性关系良好,说明该方法适合测定样品中的多糖含量。

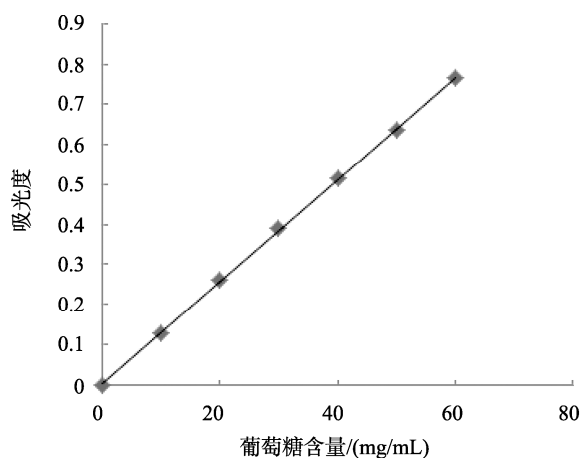


图1 葡萄糖标准曲线

Fig.1 Glucose standard curve

3.1.2 不同料液比对地木耳多糖得率的影响

由于料液比是多糖得率最主要的影响因素,提取温度、超声功率、提取时间对多糖得率的影响较不明显。^[8,13]因此,在提取温度 70 °C,超声功率 300 W,提取时

间 40 min 条件下, 研究不同料液比对多糖得率的影响。由图 2 可知, 多糖得率随料液比的增加而增加, 当料液比为 1:80 g/mL 时, 多糖得率达到最大值 23.8%, 当料液比达到 1:100 时, 多糖得率明显下降, 由于料液比过高会使后续工序耗能增加, 且不利于提取液的浓缩, 不利于多糖的析出, 故多糖得率降低。因此, 选取最佳的料液比为 1:80 g/mL。

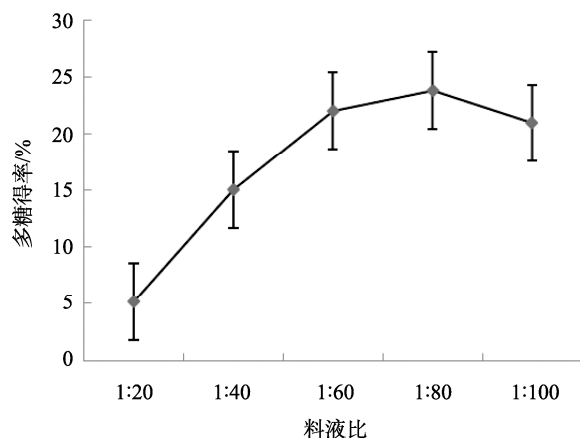


图 2 不同料液比对多糖得率的影响($n=3$)

Fig.2 Effect of different ratio of solid to liquid on the yield of polysaccharides ($n=3$)

3.2 地木耳多糖抗氧化活性的测定

3.2.1 清除 DPPH 自由基能力的结果分析

图 3 结果表明, VC 对 DPPH 自由基有很强的清除作用, 50 $\mu\text{g/mL}$ 的 VC 清除率即可达到 90% 以上。在 0~1000 mg/mL 内, 地木耳多糖对 DPPH 自由基的清除率随其质量浓度的增加而提高, 在 0.6~1 mg/mL 范围内清除率呈现平稳提升的趋势, 最高可达 67.72%。虽然地木耳多糖对 DPPH 的清除率虽低于 VC 的清除率, 但也具有一定的抗氧化性。

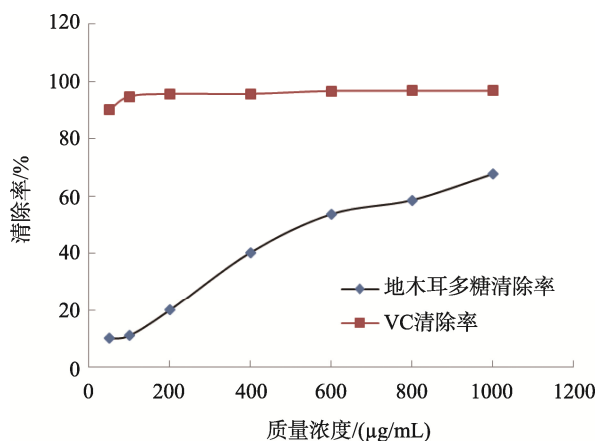


图 3 地木耳多糖和 VC 对 DPPH 自由基清除作用的比较
Fig.3 Comparison of DPPH free radical scavenging rate of polysaccharides and VC

3.2.2 清除 $\cdot\text{OH}$ 自由基能力的结果分析

图 4 结果表明, 地木耳多糖与 VC 对 $\cdot\text{OH}$ 都有很强的清除作用, 清除率随着二者的质量浓度的增加而提高, 研究结果还表明, 质量浓度 0~0.2 mg/mL 范围内, 地木耳多糖的对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用急剧上升; 质量浓度 0.2~1 mg/mL 范围内地木耳多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用随质量浓度的增加缓慢提高, 最高达到 70.53%。因此地木耳多糖对 $\cdot\text{OH}$ 也具有一定的抗氧化性。

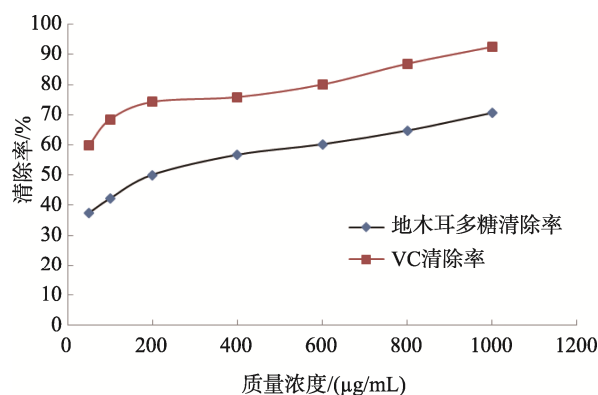


图 4 地木耳多糖和 VC 对 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除作用的比较

Fig.4 Comparison of $\cdot\text{OH}$ free radical scavenging rate of polysaccharides and VC

3.2.3 清除超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)能力的结果分析

由图 5 可知, 质量浓度 0~0.05 mg/mL 范围内, 地木耳多糖的对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除作用急剧上升; 质量浓度 0.05~1 mg/mL 范围内地木耳多糖对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除作用随质量浓度的增加缓慢提高。在实验浓度范围内, 对照品 VC 对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 有较强的清除作用, 而地木耳多糖对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除作用较差, 最高达到 32.31%。

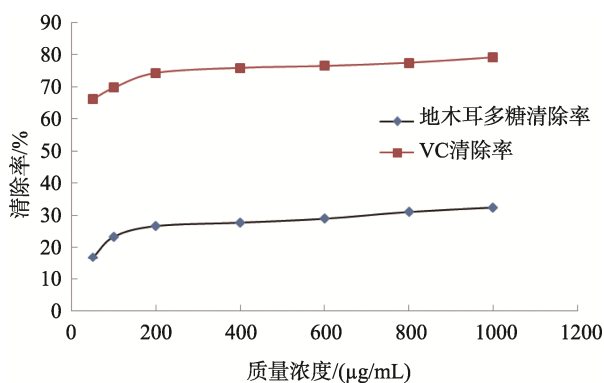


图 5 地木耳多糖和 VC 对超氧自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)清除作用的比较

Fig.5 Comparison of $\text{O}_2^{\cdot-}$ free radical scavenging rate of polysaccharides and VC

3.3 地木耳多糖的抑菌结果分析

由表 1 可知, 地木耳多糖在 500 $\mu\text{g/mL}$ 时对大肠杆菌、

金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、啤酒酵母等 4 种常见的微生物均产生较好的抑菌效果, 这与 Kajiyama 等^[21]的研究结果一致, 但都不如阳性对照品青霉素的抑菌效果强, 对丹参枯萎病菌无抑制作用。其中对大肠杆菌的抑菌效果最好, 抑菌圈平均直径为 10.24 mm; 对枯草芽孢杆菌和金

黄色葡萄球菌次之, 抑菌圈直径分别为 9.36 mm 和 8.68 mm; 对啤酒酵母的抑菌效果相对较差, 抑圈直径为 7.72 mm。在 31.25、62.5、125、250、500 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 随着多糖质量浓度的增大, 抑制作用增强; 最小抑制浓度 MIC 在 31.25 ~ 125 $\mu\text{g/mL}$ 之间(表 1)。

表 1 地木耳多糖对 4 种常见微生物的抑菌圈平均直径/mm (n=3)
Table 1 Average diameter of the inhibition zone of the polysaccharides of *Nostoc Commune* on 4 common microorganisms/mm (n=3)

供试菌种	地木耳多糖质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)					青霉素	蒸馏水
	500	250	125	62.5	31.25		
大肠杆菌	10.2 $\pm$ 0.24	9.62 $\pm$ 0.84	8.55 $\pm$ 0.41	7.24 $\pm$ 0.73	6.82 $\pm$ 0.39	12.73 $\pm$ 0.63	
枯草芽孢杆菌	9.36 $\pm$ 0.57	9.02 $\pm$ 0.48	-	-	-	12.64 $\pm$ 0.34	6.35 $\pm$ 0.32
金黄色葡萄球菌	8.68 $\pm$ 0.63	8.08 $\pm$ 0.57	7.15 $\pm$ 0.75	-	-	12.68 $\pm$ 0.44	6.16 $\pm$ 0.53
啤酒酵母丹	7.72 $\pm$ 0.84	-	-	-	-		6.29 $\pm$ 0.35
参枯萎病菌	-	-	-	-	-		

注:-为无抑菌现象。

4 结 论

地木耳多糖具有一定的抗氧化能力, 且其抗氧化能力在一定的样品浓度范围内呈现良好的量效关系, 特别是对·OH 的清除率达到 70.53%, 但对 O₂·-的清除能力有限, 最高只达到 32.31%。实验结果表明地木耳具有一定的体外抗氧化作用, 因此地木耳多糖在体内抗氧化作用还需进一步的研究。

地木耳多糖对供试的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、啤酒酵母均有一定的抑制作用, 其中对大肠杆菌的抑菌效果最好, 最小抑菌质量浓度为 31.25 $\mu\text{g/mL}$; 对丹参枯萎病菌无抑制作用。由于菌种所限, 实验仅对常见的 5 种菌进行了抑菌实验, 因此地木耳多糖对其他微生物生长的抑制作用还有待研究。

参考文献

[1] 李敦海, 刘永定. 近十年中国地木耳研究概况[J]. 水生生物学报, 2003, 27(4): 408–412.
Li DH, Liu YD. General situation of Chinese fungus research in recent ten years [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2003, 27(4): 408–412.
[2] 贺宝珍, 李义先. 地木耳营养价值及利用潜能研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 1991, 14(1): 93–96.
He BZ, Li YX. Study on nutritional value and utilization potential of *Nostoc commune* [J]. J Shanxi Univ (Nat Sci Ed), 1991, 14(1): 93–96.
[3] Yoshimura H, Kotake T, Aohara T, et al. The role of extracellular polysaccharides produced by the terrestrial cyanobacterium *Nostoc* sp. strain HK-01 in NaCl tolerance [J]. J Appl Phycol, 2012, 24(2): 237–243.
[4] Soule T, Shipe D, Lothamer J, et al. Extracellular polysaccharide production in a scytonemin-deficient mutant of *Nostoc punctiforme* under UVA and oxidative stress [J]. Curr Microbiol, 2016, 73(4): 455–456.

[5] 张唐伟, 柳青海, 李天才. 地木耳多糖的提取与纯化研究[J]. 中国野生植物资源, 2011, 30(3): 34–37.
Zhang TW, Liu QH, Li TC. Study on isolation and purification of polysaccharides extracted from *Nostoc commune* Vauch [J]. Chin Wild Plant Res, 2011, 30(3): 34–37.
[6] 刘继超, 刘晓风, 张璇. 地木耳多糖热水提取工艺优化[J]. 分子植物育种, 2018, 16(13): 4425–4430.
Liu JC, Liu XF, Zhang X. Optimization of the hot water extraction technology of polysaccharide from *Nostoc commune* [J]. Mol Plant Breed, 2018, 16(13): 4425–4430.
[7] 范群艳, 吴向阳, 仰榴青. 响应面分析法优化地木耳多糖提取工艺的研究[J]. 江苏大学学报(医学版), 2007, 17(3): 236–240.
Fan QY, Wu XY, Yang LQ. Study on extraction of *Nostoc commune* Vauch polysaccharides by response surface methodology [J]. J Jiangsu Univ (Med Ed), 2007, 17(3): 236–240.
[8] 谷绒. 超声波和微波法对地木耳多糖提取量的比较[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(3): 23–25.
Gu R. compare extraction capacity of auricularia polysaccharides by ultrasonic and microwave [J]. Food Res Dev, 2010, 31(3): 23–25.
[9] 王迪, 王伟, 牟洪举, 等. 响应面法优化松茸菌丝体多糖超声波提取工艺及其抗氧化研究[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(5): 109–114.
Wang D, Wang W, Mou HJ, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of tricholomamatsu take mycelium polysaccharide using response surface methology and its antioxidative effect [J]. Chem Ind Forest Prod, 2009, 29(5): 109–144.
[10] Chen YY, Gu XH, Huang SQ, et al. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of its anti-tumoractivities [J]. Int J Biol Macromol, 2010, 46(4): 429–435.
[11] 吴东儒. 糖类的生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993.
Wu DR. Biochemistry of carbohydrates [M]. Beijing: Higher Education Press, 1993.
[12] 刘继攀, 李佳欢, 张紫华, 等. 真姬菇水溶性多酚的提取及抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2018, (1): 110–118.

- Liu JP, Li JH, Zhang ZH, *et al.* Study on extraction and antioxidant activity of water solvable polyphenols from *Hypsizygus marmoreus* [J]. China Food Add, 2018(1): 110–118.
- [13] 刘晓艳, 陈艺焯, 吴林秀, 等. 响应面法优化灵芝总三萜酶辅助提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2017, 42(8): 225–230.
- Liu XY, Chen YX, Wu LX, *et al.* Response surface optimization of enzyme-assisted extraction triterpene from *Juncao Ganoderma lucidum* and its antioxidant activity [J]. Food Sci Technol, 2017, 42(8): 225–230.
- [14] Hua SZ, Yina JY, Niea SP, *et al.* *In vitro* evaluation of the antioxidant activities of carbohydrates [J]. Bioactive Carbohydr Diet Fibre, 2016, 7(2): 19–27.
- [15] 梁云. 几种天然抗氧化剂抗氧化性能比较研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- Liang Y. Comparative study on antioxidant properties of several natural antioxidants [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008.
- [16] Huang XQ, Tu ZC, Jiang Y, *et al.* Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of lentinan [J]. Int J Biol Macromolec, 2012, 51(5): 926–932.
- [17] 王永宁, 石玉平, 郭珍. 沙枣花中黄酮类化合物对羟自由基的清除研究[J]. 青海医学院学报, 2003, 24(4): 281–283.
- Wang YN, Shi YP, Guo Z. Scavenging effect of brass compounds on hydroxyl radicals in *Elaeagnus angustifolia* [J]. J Qinghai Med Colleg, 2003, 24(4): 281–283.
- [18] 吴雪辉, 张喜梅, 李延群, 等. 板栗花粗提物的抗氧化活性研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(1): 14–19.
- Wu XH, Zhang XM, Li YQ, *et al.* Study on antioxidant activity of crude extract from chestnut flower [J]. Mod Food Sci Technol, 2008, 24(1): 14–19.
- [19] 范羽仪, 胡征宇, 梅洪. 不同念珠藻的提取物对酪氨酸酶活性的抑制作用[J]. 武汉植物学研究, 2008, 26(2): 179–182.
- Fan YY, Hu ZY, Mei H. Tyrosinase inhibitory activities of methanolic extracts from different nostoc species [J]. J Wuhan Botan Res, 2008, 26(2): 179–182.
- [20] 卫生部卫生执法与监督司. 消毒技术规范[M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2002.
- Department of Health Law Enforcement and Supervision of the Ministry of Health. Disinfection specification [M]. Beijing: Ministry of Health, People's Republic of China, 2002.
- [21] Kajiyama SI, Kanzaki H, Kawazu K. Nostofungicidine, an anti-fungal Lipopeptide from the field-grown terrestrial blue-green alga *Nostoc commune* [J]. Tetrahedron Lett, 1998, 39(22): 3737–3740.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介



刘丹丹, 主要研究方向为医药生物技术。

E-mail: 648667628@qq.com



刘兆玺, 硕士, 主要研究方向为发酵食品检测技术。

E-mail: zxliu@tsmc.edu.cn

李艳玲, 副教授, 主要研究方向为药用植物内生菌次级代谢。

E-mail: ling1816@163.com