

桑蚕蛹多糖超声提取优化及水溶性多糖组分分析

谭丽鹤, 李红玉*
(锦州医科大学, 辽宁 锦州 121000)

摘要: **目的** 优化桑蚕蛹多糖的超声提取工艺, 并采用气质联用 (GC-MS) 及红外光谱 (IR) 法对水溶性多糖 (PSP1) 进行组分分析。**方法** 以多糖得率为指标, 采用 Box-Behnken 设计和响应面法优化超声提取工艺。多糖透析后, 树脂柱层析得到水溶性多糖 (PSP1), GC-MS 和 IR 法分析其组分。**结果** 最佳条件为超声功率 760 W, 液料比 11 : 1, 提取时间 10 min, 得率 15.28%。PSP1 的主要组分为葡萄糖、山梨糖、半乳糖、甘露糖, 摩尔比为 95.94 : 1.59 : 1.59 : 0.88, 而且具有典型的多糖特征吸收峰, 并含有吡喃糖。**结论** 该方法简便快速, 多糖得率较高。
关键词: 桑蚕蛹; 多糖; 超声提取; 水溶性多糖 (PSP1); 组分分析; Box-Behnken 设计; 响应面法; GC-MS
中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)06-1254-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.06.011

Optimizing the ultrasonic extraction of polysaccharides from mulberry silkworm pupa and analyzing the water-soluble polysaccharide

TAN Li-he, LI Hong-yu*
(Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the ultrasonic extraction of polysaccharides from mulberry silkworm pupa and to analyze the components of water-soluble polysaccharide (PSP1) by gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) and infrared spectroscopy (IR). **METHODS** With the polysaccharide yield as a model for evaluation, the ultrasonic extraction was optimized by Box-Behnken design and response surface method. After dialysis, PSP1 stratified by the resin column was qualified and quantified by GC-MS and IR. **RESULTS** At the highest polysaccharide yield of 15.28%, the best conditions were 760 W for ultrasonic power, 11 : 1 for liquid-solid ratio, and 10 min for extraction time. The main components of PSP1, presenting the typical characteristic absorption peaks of polysaccharides, were determined to be glucose, sorbitol, galactose and mannose at the molar ratio of 95.94 : 1.59 : 1.59 : 0.88, and with a concomitant pyranose. **CONCLUSION** This simple and rapid method can produce a high yield of polysaccharides.
KEY WORDS: mulberry silkworm pupa; polysaccharides; ultrasonic extraction; water-soluble polysaccharide (PSP1); component analysis; Box-Behnken design; response surface method; GC-MS

桑蚕蛹 (mulberry silk-worm)^[1-2] 别名小蜂儿, 为蚕蛾科动物家蚕蛾的蛹, 在我国食用历史悠久, 因其含有多糖和丰富的蛋白质, 具有提高免疫力、延缓衰老、降血脂、降胆固醇等多重功效, 多用于体弱者、老人和孕妇产后恢复。近年来研究显示, 多糖具有抗病毒、抗衰老、降血糖、刺激造血、免

疫调节等生物学功效^[3-4]。有文献显示, 从桑蚕蛹中提取出的一种水溶性多糖具有抑制 HeLa 细胞增殖的作用^[5], 但是未对其组分进行分析和确定。因此, 本实验采用超声波法对桑蚕蛹多糖的提取工艺进行优化, 并且对其中具有抗癌活性的多糖进行分离、纯化和鉴定, 分析了其单糖组成, 以求为寻

收稿日期: 2015-12-01

作者简介: 谭丽鹤 (1991—), 女, 硕士, 研究方向为药剂学。Tel: 18841622145, E-mail: 1402334040@qq.com

* 通信作者: 李红玉 (1956—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为载体栓剂及新药开发。E-mail: lihongyu@163.com

找天然产物作为肿瘤治疗替代药物的进一步研发提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂、仪器

1.1.1 材料 桑蚕蛹子实体采自山东省临沂市。G-150 葡聚糖凝胶树脂、二乙氨基乙基纤维 52 树脂、SP131198 纤维素透析袋（上海源叶生物科技有限公司）；葡萄糖为分析纯（锦州市鑫源化玻有限公司）。

1.1.2 试剂 石油醚、三氯甲烷、正丁醇、95%乙醇、重蒸酚、浓硫酸、吡啶、甲醇等均为分析纯（锦州市鑫源化玻有限公司）。

1.1.3 仪器 500 g 摇摆式中药粉碎机（温岭市奥力中药机械有限公司）；DHG-9075A 鼓风干燥箱（上海一恒科学仪器有限公司）；UV2550 紫外可见分光光度仪（日本岛津公司）；Sigma 高速冷冻离心机（北京兴达恒信科技有限公司）；GC7890B / MS G3440B 气相色谱-质谱联用仪（美国安捷伦公司）；Alpha 傅里叶变换红外光谱仪（韦斯特仪器中国有限公司）。

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线的制备 采用苯酚-硫酸法绘制葡萄糖标准曲线，测定多糖含有量^[6-8]。精确量取 0.1 mg/mL 葡萄糖标准溶液（制备方法为精密称取于 105 ℃烘干至恒重的葡萄糖 0.100 0 g，蒸馏水溶解，定容于 100 mL 量瓶中。吸取 10 mL，置于另一 100 mL 量瓶中，蒸馏水定容，即得。）0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mL，分别置于比色管中，加蒸馏水至 1.0 mL。分别加入 1 mL 5% 重蒸酚和 5 mL 浓硫酸，沸水浴加热 10 min，待反应完全后冷却至室温，于 490 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标（Y），葡萄糖含有量为横坐标（X）绘制标准曲线，得回归方程 $Y = 1.293\ 7X + 0.015\ 6$ （ $R^2 = 0.998\ 6$ ），表明葡萄糖在 0.02 ~ 0.08 mg/mL 范围内线性关系良好。

1.2.2 样品的预处理 桑蚕蛹子实体于 60 ℃烘箱中烘干后，粉碎机粉碎，过 60 目筛。取过筛后的桑蚕蛹粉末适量，索氏提取器按 1 : 9 的比例加入石油醚回流 5 h 进行脱脂，再经 95% 乙醇回流提取 5 h 除去小分子醇溶物，将处理后的蚕蛹粉末于室温下晾干。

1.2.3 超声波法提取桑蚕蛹多糖工艺优化^[9] 称取一定量的预处理后的桑蚕蛹粉末，按一定比例加

入 0.02 mol/L NaOH 溶液^[10]，超声提取 2 次，合并滤液，HCl 溶液调节 pH 值至中性，旋转蒸发仪浓缩至一定体积后，加入 4 倍量 95% 乙醇，置 4 ℃冰箱中过夜。醇沉液于 4 ℃、3 000 r/min 条件下离心 20 min，干燥得桑蚕蛹粗多糖，计算得率。

1.2.3.1 响应曲面法试验设计 根据中心组合试验设计原理，采用 3 因素 3 水平的响应面分析法。在单因素试验基础上，以功率（A）、时间（B）、液料比（C）为自变量，确定提取工艺的最佳参数，因素水平见表 1。

表 1 因素水平
Tab. 1 Factors and levels

水平	因素		
	A 功率/W	B 时间/min	C 液料比
-1	600	6	10 : 1
0	700	8	15 : 1
1	800	10	20 : 1

1.2.4 桑蚕蛹多糖的脱色及除蛋白 将蚕蛹粗多糖用 Sevag 法除蛋白，4 ℃下 5 000 r/min 离心 20 min，取上清液反复离心，直至无蛋白层出现为止^[11-12]，活性炭脱色，经 3 层滤纸抽滤以除去活性炭粉末^[13-14]。滤液经浓缩、醇沉、干燥，得到除蛋白及脱色后的桑蚕蛹多糖。取 0.5 mg/mL 样品液于比色管中，加蒸馏水至 1.0 mL，按“1.2.1”项下方法于 490 nm 波长处测定吸光度，利用回归方程计算脱色、脱蛋白后多糖的含有量，并计算 490 nm 波长处的保留率及 450 nm 波长处的脱色率。

计算公式为多糖含有量 = 纯多糖质量 / 粗多糖质量 × 100%，多糖脱色率 = $(A_1 - A_2) / A_1 \times 100\%$ ，多糖保留率 = $(B_1 - B_2) / B_1 \times 100\%$ 。其中， A_1 、 A_2 分别为经脱色、脱蛋白处理前后桑蚕蛹多糖溶液在 450 nm 波长处的吸光度， B_1 、 B_2 分别为经脱色、脱蛋白处理前后的桑蚕蛹多糖溶液在 490 nm 波长处的吸光度。

1.2.5 桑蚕蛹多糖的纯化 将脱色、脱蛋白后的多糖用蒸馏水溶解，装入截留相对分子质量 5 000 Da 的透析袋中，在流动自来水中透析 48 h，再置于蒸馏水中透析 24 h。将透析后的多糖进行树脂柱层析（40 mm × 400 mm），分别以超纯水和 0.2、0.4 mol/L NaCl 溶液为洗脱液，体积流量为 0.5 mL/min，每管收集 5 mL，苯酚-硫酸法在 490 nm 波长处测定吸光度^[15]，并绘制吸光度-试管数曲线。收集多糖 PSP1 洗脱液，浓缩、醇沉后于

60 ℃烘箱中干燥。

查阅文献可知，桑蚕蛹水溶性多糖（PSP1）具有抑制 HeLa 细胞增殖的作用^[5]，并能明显增强 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞的增殖，促进小鼠巨噬细胞的吞噬活力和溶血素生成^[16]，但尚无化学方面的研究。因此，本实验将在优化提取工艺的基础上，对其组分进行分析。

1.2.6 桑蚕蛹多糖 PSP1 的纯化 将 Sephadex G-150 树脂于沸水中溶胀 2 h 后装柱，平衡液平衡层析柱 5 个柱体积。多糖 PSP1 经蒸馏水溶解后，上凝胶柱层析（30 mm × 300 mm），以超纯水为洗脱液，体积流量为 0.5 mL/min，每管收集 5 mL，苯酚-硫酸法在 490 nm 波长处测定吸光度，并绘制吸光度-试管数曲线，收集洗脱液，浓缩、醇沉后于 60 ℃烘箱中干燥^[17]。

1.2.7 多糖 PSP1 的纯度鉴定

1.2.7.1 纸层析法 取 0.2% PSP1 多糖溶液 20 μL，点样于滤纸（3 cm × 20 cm）距端点 1 cm 处的中部，以正丁醇-乙酸乙酯-吡啶-水（6：1：5：4）为展开剂，饱和后于室温下展开 6 h，通风橱中挥干溶剂。以苯胺-二苯胺为显色剂，于 60 ℃烘箱中放置 20 min 显色^[18]。

1.2.7.2 紫外分光光度法 称取少量多糖 PSP1，溶解于适量蒸馏水中，紫外可见分光光度计在 200 ~ 400 nm 范围内进行扫描。

1.2.8 桑蚕蛹多糖 PSP1 的组分分析

1.2.8.1 多糖的完全酸水解及硅烷化衍生 精密称取桑蚕蛹多糖 PSP1 10.0 mg，置于安瓿瓶中，加入 3 mL 0.5 mol/L 硫酸溶液，酒精喷灯真空封管，置于 110 ℃烘箱中水解 6 h，冷却至室温后加入过量碳酸钡粉末，静置过夜，待其中和至中性后离心，上清液冷冻干燥，即得多糖水解产物，备用^[19-21]。将水解产物于 60 ℃下干燥至恒重，加入 2 mL 无水吡啶，置于 80 ℃烘箱中反应 30 min 后，加入 0.6 mL 硅烷化试剂（六甲基二硅胺烷-三甲基氯硅烷为 2：1），摇匀，80 ℃烘箱中反应 10 min^[22-23]，过 0.22 μm 有机滤膜，即得衍生化产物，备用。

1.2.8.2 气相色谱-质谱分析条件 气相色谱 EI 源，电子能量 70 eV；分子量扫描范围 30 ~ 600 u；进样口温度 210 ℃；接口温度 210 ℃；载气为氦气；体积流量为 1 mL/min；分流比 60：1；程序升温（100 ℃保持 5 min，以 25 ℃/min 速率升至 210 ℃，保持 14 min，以 5 ℃/min 速率升至

290 ℃）；进样量为 0.5 μL。质谱 EI 源，电子能量 70 eV；溶剂延迟 4 min。

1.2.9 红外分析 称取干燥至恒重的桑蚕蛹多糖 PSP1 1 mg，置于洁净的玛瑙研钵中，红外灯下研磨成粉，加入 200 mg 干燥的 KBr 粉末，研磨至两者完全混合均匀。将混合物置于洁净的压片模具中，组装好后进行压片，制成透明薄片。以空气为空白，将薄片装在样品架上，置于样品室中，在 400 ~ 4 000 cm⁻¹ 区间内进行红外光谱扫描，先测定空白背景，再测定样品的红外光谱，进行修正后观察谱峰情况^[24-25]。

2 结果与分析

2.1 Box-Behnken 试验设计与结果 见表 2。

表 2 试验设计及结果

Tab. 2 Design and results of tests

试验号	A 功率/W	B 时间/min	C 液料比	多糖得率/%
1	0	1	1	12.16
2	1	1	0	13.94
3	0	0	0	12.95
4	-1	0	-1	7.29
5	1	0	-1	13.74
6	0	-1	-1	9.69
7	1	-1	0	10.63
8	0	0	0	13.98
9	-1	0	1	7.46
10	1	0	1	9.16
11	0	-1	1	9.15
12	-1	1	0	7.84
13	0	0	0	13.93
14	-1	-1	0	6.68
15	0	0	0	13.69
16	0	0	0	13.58
17	0	1	-1	14.23

根据表 2 结果，利用 Design Expert 8.0 软件对数据进行二次回归分析，得到回归方程 $Y = 13.63 + 2.28A + 1.50B - 0.88C + 0.54AB - 1.19AC - 0.38BC - 2.87A^2 - 0.98B^2 - 1.34C^2$ ，方差分析见表 3。由表可知，回归方程模型的 $P < 0.0001$ ，高度显著； R^2 为 0.9784，与实验拟合较好，符合度达 97.84%，可靠性高，线性关系显著； R^2_{adj} 值为 0.9507，能够解释 95.07% 响应值的变化，进一步证明其可靠性。另外，功率和时间对多糖得率影响较大，尤其以功率最为显著，影响程度依次为功率 > 时间 > 液料比。

2.2 响应面曲线图 由图 1 可知，功率较低时，得率随时间和液料比的增加而提高，但功率较大时反而降低，即与功率和液料比有关，而且稳定点都落在范围内，表明两者的交互作用对得率也有影

响。液料比较低时，得率随时间的增加而提高。时间较长时，得率随液料比的增加而呈降低趋势。经软件分析预测，该模型得率为 15.53%，最优提取条件为超声功率 764.60 W，时间10.00 min，液料比 11.22：1。结合实际操作，将其修正为超声功率 760 W，时间 10 min，液料比11：1。为验证结果的可靠性，按上述条件设计 3 次平行验证实验，测得桑蚕蛹多糖平均得率为 15.28%，与预测值接近，说明该模型准确可靠。

表 3 方差分析
Tab. 3 Analysis of variance

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	123.41	9	13.71	35.25	<0.000 1	**
A	41.41	1	41.41	106.44	<0.000 1	**
B	18.06	1	18.06	46.43	0.000 3	**
C	6.16	1	6.16	15.84	0.005 3	**
AB	1.16	1	1.16	2.97	0.128 4	—
AC	5.64	1	5.64	14.50	0.006 6	**
BC	0.59	1	0.59	1.50	0.259 6	—
A ²	34.78	1	34.78	89.42	<0.000 1	**
B ²	4.04	1	4.04	10.38	0.014 6	*
C ²	7.55	1	7.55	19.41	0.003 1	**
残差	2.72	7	0.39	—	—	—
失拟项	2.04	3	0.68	4.00	0.107 0	—
纯误差	0.68	4	0.17	—	—	—
总和	126.13	16	—	—	—	—

$R^2 = 97.84\%$, $R^2_{adj} = 95.07\%$

注：* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.3 桑蚕蛹多糖的纯化 经过石油醚脱脂、水提醇沉、Sevag 法除蛋白、活性炭脱色后，得到浅黄色的桑蚕蛹粗多糖，其含有量为 82.34%，脱色率为 60.90%，保留率为 49.68%。粗多糖经截留分子量 5 000 μ 的透析袋透析，经 DEAE-52 树脂纯化。由图 2 可知，多糖 PSP1 的峰值最高，而且峰形对称。

2.4 桑蚕蛹多糖 PSP1 的纯化及鉴定 Sephadex G-150 树脂柱层析的紫外图谱（图 3）显示为单一的洗脱峰，洗脱曲线峰形对称，表明多糖纯度较高，分子量分布较均一。该多糖在纸层析上显示为单一斑点，说明为单一组分。在 260 nm 和 280 nm 波长处没有吸收峰，表明不含核酸和蛋白质。

2.5 桑蚕蛹多糖 PSP1 的组分分析 桑蚕蛹多糖 PSP1 经硫酸酸解及硅烷化衍生后，再经气相色谱-质谱（GC-MS）检测，供试品各峰保留时间与 NIST 谱库对照结果见表 4、图 4。由表可知，PSP1 中有 4 种单糖，匹配度均在 85% 以上，以葡萄糖为主，其比例为 95.94：1.59：1.59：0.88。

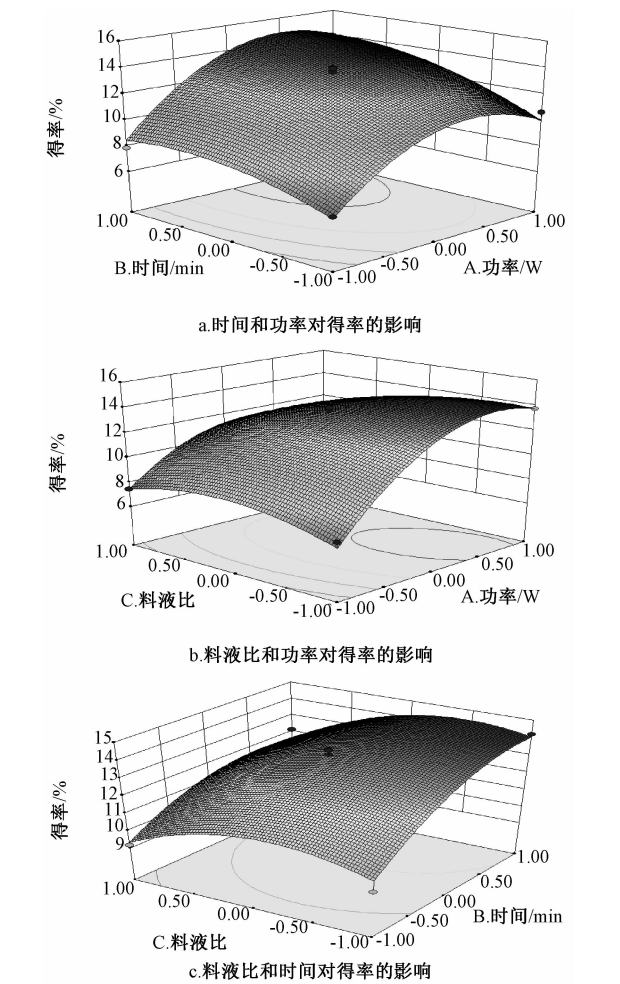


图 1 响应面曲线图

Fig. 1 Response surface curves

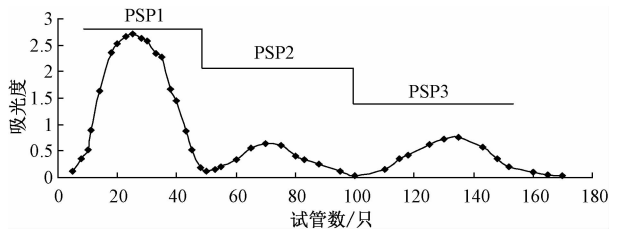


图 2 DEAE-52 树脂柱纯化多糖

Fig. 2 Purification of polysaccharides by DEAE-52 resin column

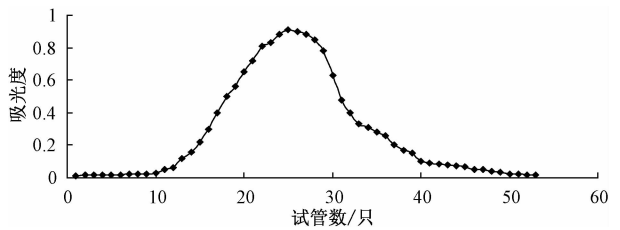


图 3 G-150 葡聚糖凝胶柱纯化多糖 PSP1

Fig. 3 Purification of polysaccharide PSP1 by Sephadex G-150 column

表4 组分分析结果
Tab. 4 Results of component analysis

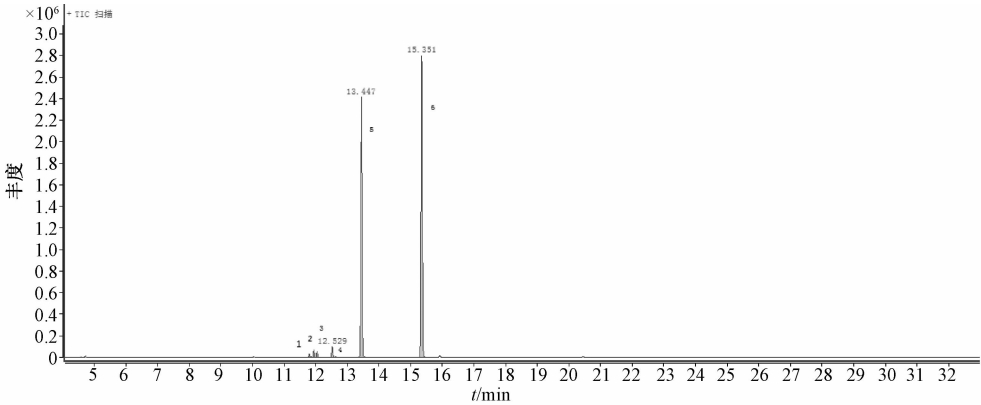
序号	保留时间/min	相对含量/%	单糖名称
1	11.808	0.54	L-山梨糖
2	11.943	1.05	D-山梨糖
3	12.052	0.88	D-甘露糖
4	12.529	1.59	半乳糖
5	13.447	43.14	D-葡萄糖
6	15.351	52.80	L-葡萄糖

2.6 红外光谱解析 由图5可知, 3 600 ~ 3 200 cm^{-1} 处有一个较宽的吸收峰, 为氢键中 O-H 键的伸缩振动峰; 2 926.01 cm^{-1} 为 C-H 键的伸缩振动峰; 1 419.61 cm^{-1} 为 C-H 键的变角振动吸收峰, 由此可判断 PSP1 为多糖^[26-27]。1 653.00 cm^{-1} 为 O-H 键的弯曲振动峰; 1 384.89 ~ 1 419.61 cm^{-1} 为

C-H 键的弯曲振动峰; 1 026.13、1 080.14、1 151.50 cm^{-1} 为 C-O 键的伸缩振动峰; 1 026.13、1 080.14 cm^{-1} 为吡喃糖环的特征吸收峰; 869.90 cm^{-1} 为 β -D-甘露吡喃糖苷 $\delta_{\text{C-H}}$ 键的振动峰^[28-29]。

3 讨论

本实验通过响应面法优化桑蚕蛹多糖的超声提取工艺, 发现最优条件为超声功率 760 W, 时间 10 min, 液料比 11 : 1, 平均收率为 15.28%。采用硫酸酸解、硅烷化法对 PSP1 进行衍生, GC-MS 显示其单糖组分为葡萄糖、山梨糖、半乳糖和甘露糖, 比例 95.94 : 1.59 : 1.59 : 0.88。今后, 还将采用高碘酸氧化、Smith 降解、甲基化反应、质谱、核磁共振等方法对其结构进行深入研究。



1. L-山梨糖 2. D-山梨糖 3. D-甘露糖 4. 半乳糖 5. D-葡萄糖 6. L-葡萄糖
1. L-sorbose 2. D-sorbose 3. D-mannose 4. galactose 5. D-glucose 6. L-glucose

图4 GC-MS 总离子流图
Fig. 4 GC-MS total ion current chromatogram

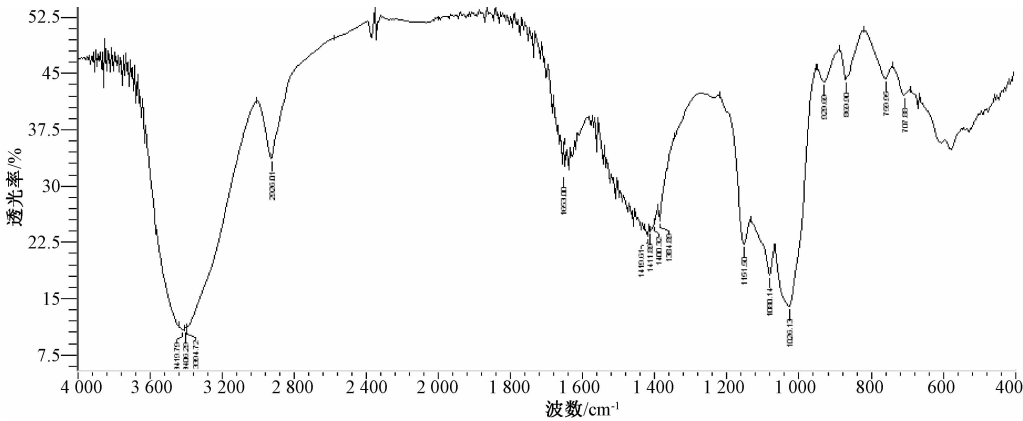


图5 红外光谱图
Fig. 5 Infrared spectrum

参考文献:

- [1] 方定坚, 郑祥明, 廖森泰, 等. 家蚕蛹人工培养巴西虫草研究[J]. 华南农业大学学报, 1995, 16(1): 103-108.
- [2] 赖泰君, 刘旭辉, 孙建华, 等. 蚕蛹多糖提取工艺的研究[J]. 中药材, 2009, 32(7): 1137-1139.
- [3] 钱 珍, 江国荣. 多糖抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国药物警戒, 2015, 12(2): 96-98.
- [4] Caliceti P, Salmaso S, Bersani S. Cancer drug discovery and development[M]. New York: Springer-Verlag New York Inc., 2010: 163-219.
- [5] 严 鹏. 蚕蛹多糖的提取分离及对 HeLa 细胞增殖影响的研究[D]. 锦州: 辽宁医学院, 2014.
- [6] 吴海燕, 袁秋梅. 导数光谱法快速测定蚕蛹中的多糖含量[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 309-311.
- [7] 阴婉婷, 李 彤, 马 辰. 改良的苯酚-硫酸法测定蛹虫草多糖含量[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(4): 117-118, 173.
- [8] Rover M R, Johnston P A, Buddhi P, et al. Total water-soluble sugars quantificaton in bio-oil using the phenol-sulfuric acid assay[J]. J Anal Appl Pyrol, 2013, 104(2): 194-201.
- [9] 迟海霞, 涂宗财, 陈 钢, 等. 米糠多糖的超声波辅助纤维素酶-柠檬酸联合提取及结构分析[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 168-171.
- [10] 孙 龙, 冯 颖, 何 钊, 等. 蚕蛹多糖的碱液提取及免疫活性初步研究[J]. 林业科学研究, 2007, 20(6): 782-786.
- [11] 蔡 铭, 罗印龙, 孙培龙. 黑木耳多糖的抑菌活性与单糖组分分析[J]. 浙江工业大学学报, 2014, 42(5): 534-535.
- [12] 伍善广, 赖泰君, 孙建华, 等. 蚕蛹多糖脱蛋白方法研究[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 21-24.
- [13] 杨 云, 田润涛, 苗明三, 等. 大枣渣多糖活性炭脱色工艺研究[J]. 河南中医学院学报, 2004, 19(1): 35-36.
- [14] 孙 颀, 何 慧, 谢笔钧. 活性炭脱色对灵芝水提液活性成分的影响[J]. 化学工业与工程技术, 2001, 22(1): 5-8.
- [15] Miao Y, Xiao B X, Jiang Z, et al. Growth inhibition and cell-cycle arrest of human gastric cancer cells by *Lycium barbarum* polysaccharide[J]. Med Oncol, 2010, 27(3): 785-790.
- [16] 王国基, 殷伟芬, 王 俊, 等. 蚕蛹多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 江苏大学学报, 2007, 17(5): 373-375.
- [17] Cai W R, Xie L L, Chen Y, et al. Purification characterization and anticoagulant activity of the polysaccharides from green tea[J]. Carbohydr Polym, 2013, 92(2): 1086-1090.
- [18] 刘 葳, 于源华, 毛亚杰, 等. 黄绿蜜环菌多糖的分离纯化与组成结构分析[J]. 长春理工大学学报, 2007, 30(2): 102-105.
- [19] 姚 丹, 王宏军. 黄芪多糖单糖组分的气相色谱分析[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(9): 5128-5129.
- [20] 许 辉, 白国涛, 潘国卿, 等. 硅烷化衍生化-气相色谱法测定不同品种苜蓿的非淀粉多糖[J]. 内蒙古农业大学学报, 2013, 34(1): 146-151.
- [21] Li R, Chen W C, Wang W P, et al. Extraction, characterization of *Astragalus* polysaccharides and its immune modulating activities in rats with gastric cancer[J]. Carbohydr Polym, 2009, 78(4): 738-742.
- [22] 张明月, 邹一可, 王彩云, 等. 女贞子多糖的提取工艺及单糖组成[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 88-89.
- [23] 刘 刚, 王 辉, 周 建, 等. 柱前衍生化毛细管气相色谱法分析松茸多糖的单糖组成[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 63-64.
- [24] 刘 冰, 许程剑, 王月香, 等. 阿魏菇多糖的分离纯化与结构分析[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(8): 69-72, 85.
- [25] 田仁君. 桑葚多糖的分离纯化及组成分析[J]. 华西药学杂志, 2014, 29(4): 401-404.
- [26] 安晓娟, 冯 琳, 宋红平, 等. 淫羊藿多糖的分离纯化及结构初步分析[J]. 生物学杂志, 2012, 29(3): 39-41.
- [27] 魏宝东, 陈留勇, 孟宪军, 等. 黄桃水溶性多糖的化学结构分析[J]. 食品工业科技, 2005, 26(6): 88-89.
- [28] 颜 军, 侯贤灯, 徐开来. 柱前衍生 HPLC 分析银耳多糖的单糖组成[J]. 中国测试, 2011, 37(1): 44-46.
- [29] 李志华. 铁皮石斛多糖的提取、分离、纯化及结构分析[D]. 南宁: 广西师范学院, 2012: 33-34.