

板栗多糖的分离纯化、结构分析及抗疲劳作用的研究

李清宇, 杨颖, 贾琳斐, 彭晶, 戴成国, 段玉峰*

(陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062)

摘要: 作者对板栗多糖进行了分离纯化和结构分析, 并对其抗疲劳作用进行了研究。气相色谱分析结果显示板栗多糖 CPS-a 的单糖组分及其摩尔比为葡萄糖:甘露糖:木糖:阿拉伯糖=7.1:6.2:5.1:4.1, CPS-b 的单糖组分及摩尔比为葡萄糖:果糖:甘露糖:木糖:阿拉伯糖=7.1:6.4:6.2:5.0:4.1。红外光谱分析结果显示 CPS-a、CPS-b 都含有吡喃环, CPS-a 可能是呋喃糖衍生物, CPS-b 的糖链中同时存在 α -、 β -糖苷键, 可能是硫酸化多糖。板栗多糖抗疲劳测定结果显示: 3 个剂量的板栗多糖均能显著提高运动耐力, 降低运动后血乳酸和血尿素氮的含量, 提高肌糖原和肝糖原的含量。说明板栗多糖具有良好的抗疲劳作用, 其最佳用量为 200 mg/(kg·d), 高剂量并无明显优势。

关键词: 板栗; 多糖; 结构; 抗疲劳

中图分类号: TS 201.2; R 284 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)07—0767—06

Purification, Structural Analysis and Antifatigue Assay of Polysaccharide from *Castanea mollissima* Blume

LI Qing-yu, YANG Ying, JIA Lin-fei, PENG Jing, DAI Cheng-guo, DUAN Yu-feng*

(Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: In this study, the isolation, purification and structural analysis of Chestnut Polysaccharides (CPS) were performed, and then the anti-fatigue effects were investigated. Gas chromatography of CPS-X indicates that the molar ratio of monosaccharide constituents of CPS-a is glucose:mannose:xylose:arabinose=7.1:6.2:5.1:4.1, and for CPS-b which is glucose:fructose:mannose:xylose:arabinose=7.1:6.4:6.2:5.0:4.1. Infrared spectroscopy analysis shows that both CPS-a and CPS-b have the pyranoid ring, and CPS-a may be a furanose derivative, furthermore, the sugar chain of CPS-b, which may be a sulfated polysaccharide, contains both α - and β -glycosidic bond. The anti-fatigue effects of CPS show that CPS in three different doses all significantly increase exercise tolerance, decrease the content of serum BUN and LAC and increase the content of muscle glycogen and hepatic glycogen after swimming. Thus, we conclude that CPS have an excellent effect of anti-fatigue and the optimum does is 200mg/kg.d, and the high doses shows no superiority.

Keywords: *Castanea mollissima* blume, polysaccharide, structure, antifatigue

收稿日期: 2012-12-25

基金项目: 陕西省自然科学基金项目(2006B18)。

* 通信作者: 段玉峰(1955—), 男, 陕西西安人, 理学博士, 教授, 主要从事食品功能成分开发及利用和天然产物化学的研究。

E-mail: yfduan@snnu.edu.cn

板栗为壳斗科栗属落叶乔木栗树 (*Castanea mollissima* Blume) 果实的种仁^[1]。唐代孙思邈《备急千金要方》记载:“栗子,味咸温无毒,益气厚肠胃,补肾气,令人耐饥,生食之,甚治腰脚不遂”。明代李时珍《本草纲目》记载:“栗治肾虚、腰腿无力,能通肾益气,厚肠胃也,肾主大便,栗能主肾”^[2]。板栗不仅含有淀粉、可溶性糖、粗纤维、蛋白质、氨基酸、脂肪酸和维生素以及矿物质等多种营养成分^[3-5],而且还含有糖苷类、三萜类和酚酸类等多种天然产物^[6-11]。研究发现板栗多糖可以消除体外 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 、 $NO_2^{\cdot-}$ 等多种自由基^[12-13],显著升高小鼠白细胞水平和延长其凝血时间^[14-15]。但板栗多糖研究仅限于分离和单糖组成分析等方面,因此,本实验对板栗多糖进行分离纯化、结构分析及抗疲劳作用研究,将有利于板栗活性成分及营养保健机理的深入研究,对板栗制品研发具有重要的经济价值和社会意义。

1 材料、试剂与仪器

1.1 材料与试剂

板栗:购于陕西省镇安县,由陕西师范大学生命科学学院系统与进化植物学实验室鉴定。化学试剂:均为国产分析纯试剂;血乳酸试剂盒、血尿素氮试剂盒;南京建成生物工程研究所产品。

1.2 仪器

U-3010 Spectrophotometer 紫外分光光度计:日本 HITACHI 公司产品;AL204 型电子天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产品;DL-4C 低速大容量离心机:上海安亭科学仪器厂产品;RE-52A 型旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂产品;LGJ-18C 冷冻干燥机:北京四环科学仪器厂产品;透析袋:相对分子质量截留 8 000~14 000,美国 Sigma 公司产品。

2 实验方法

2.1 板栗多糖的提取及分离纯化

2.1.1 提取流程 参照李润丰等^[16]的方法有所改动:样品粉末→热水提取→离心过滤→上清液→浓缩→醇析→离心过滤→沉淀→透析→离心过滤→上清液→冷冻干燥→板栗多糖。

2.1.2 分离纯化 多糖分离纯化工艺。参照段玉峰等^[17]的方法:板栗多糖粗品→DEAE-52 纤维素柱层析→洗脱→收集洗脱液→浓缩→真空冷冻干燥→板栗多糖各级分半纯品→Sephadex G-100 柱层析→

洗脱→收集洗脱液→浓缩→真空冷冻干燥→板栗多糖纯品。

2.1.3 多糖纯度鉴定 利用葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 柱层析法^[18]进行分离纯化及纯度鉴定。在板栗多糖中加入蒸馏水充分溶解,上柱,用蒸馏水洗脱,洗脱速度 0.05 mL/min,每管收集 6 mL。隔管利用苯酚-硫酸^[19]法检测 490 nm 处吸收峰,以洗脱管数为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制洗脱曲线,收集对称峰各管。

2.1.4 多糖相对分子质量测定 测定板栗多糖相对分子质量选用液相渗透色谱法^[19],选用蓝色葡聚糖和标准葡聚糖作为标准品做标品相对分子质量对数与保留时间的标准曲线,利用标准曲线求出板栗多糖的相对分子质量。

2.2 多糖的组成及结构分析

气相色谱分析称取干燥样品 10 mg,加入 2 mL 的 1 mol/L 的 H_2SO_4 ,抽真空封管,100 °C 水解 12 h,水解液用 $BaCO_3$ 中和过滤后,真空干燥,然后加入 10 mg 盐酸羟胺和 1 mL 吡啶混匀,90 °C 水浴反应 30 min 后取出冷却至室温,再加入 1 mL 醋酸酐 90 °C 水浴乙酰化反应 30 min,反应物减压蒸干,用 2 mL 三氯甲烷充分溶解,按此法分别制备各种标准单糖进行气象色谱分析,结构分析采用红外光谱法^[15]。

2.3 多糖抗疲劳实验的研究

2.3.1 动物分组及给药 小鼠随机分为对照组、多糖低剂量组 (100 mg/(kg·d))、以及中剂量组 (200 mg/(kg·d)) 和高剂量组 (300 mg/(kg·d)),自由摄食和饮水,连续灌喂 21 d。

2.3.2 负重游泳实验及力竭游泳时间的测定^[20] 连续灌胃给药 21 d 后开始进行力竭性游泳实验。测定当天正常喂食、喂水,小鼠的负重量约为体质量 3.0~4.0 g,测定力竭时间时人工驱赶小鼠不停游泳至完全没入水中 8~10 s 不出水面即可定为力竭,记录游泳时间。比较 4 组的力竭时间,说明补充板栗多糖对小鼠抗疲劳作用的影响。

2.3.3 相关指标测定 小鼠连续灌喂 21 d,末次灌喂 30 min 后,将小鼠置于游泳箱中不负重游泳 90 min,水温 (30±1) °C。游泳前及游泳后 25 min 眼球取血,测定小鼠血乳酸 (BLA) 和游泳后 90 min 后取眼球血,测定小鼠血尿素氮 (BUN) 的含量,小鼠经脱颈椎处死后立即取后肌肉和肝脏,生理盐水冲洗后,用滤纸吸干,按照试剂盒的说明,进行肌糖原和

肝糖原含量的测定。

3 组成与结构

3.1 板栗多糖粗品的纤维素 DEAE-52 柱层析

依次使用 0.1, 0.2 mol/L 的 NaCl 进行梯度洗脱, 绘制洗脱曲线见图 1。

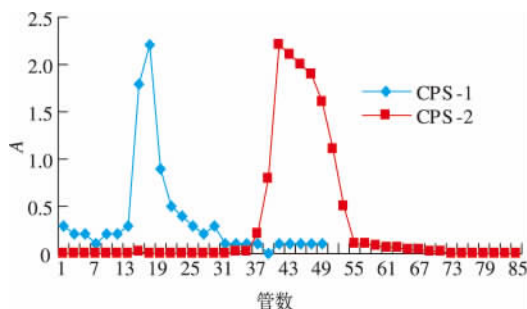


图 1 0.1, 0.2 mol/L 的 NaCl 进行梯度洗脱曲线

Fig. 1 Elution curve by 0.1, 0.2 mol/L NaCl on DEAE-52 Column

由图 1 可知, 板栗多糖粗品在 DEAE-52 纤维素柱上用 0.1 mol/L NaCl 洗脱可达到有效分离, 收集 13~25 管洗脱液, 浓缩、真空冷冻干燥为白色絮状物, 得到 0.809 6 g 板栗多糖 CPS-1。板栗多糖粗品在 DEAE-52 纤维素柱上用 0.2 mol/L NaCl 洗脱可达到有效分离, 收集 37~55 管洗脱液, 浓缩、真空冷冻干燥为白色絮状物, 得到 1.071 4 g 板栗多糖 CPS-2。

3.2 板栗多糖的纯度鉴定

3.2.1 板栗多糖葡聚糖凝胶 SephadexG-100 柱层析 为了得到单一的多糖组分, 采用葡聚糖凝胶 SephadexG-100 柱层析法对经纤维素 DEAE-52 柱层析法分离得到 CPS-1、CPS-2 进一步分离纯化和纯度鉴定, 选用蒸馏水作为洗脱剂, CPS-1、CPS-2 在 SephadexG-100 层析柱上的洗脱曲线如图 2 所示。

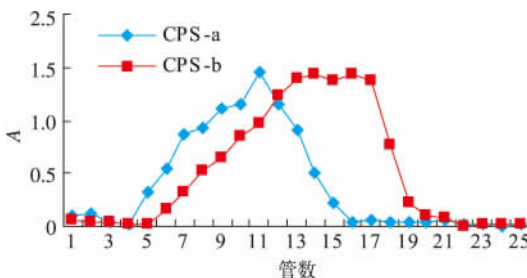


图 2 CPS-a、CPS-b 在 SephadexG-100 层析柱上的洗脱曲线

Fig. 2 Elution curve of CPS-a, CPS-b on SephadexG-100 column

由图 2 可知, 纤维素 DEAE-52 柱层析法分离得到 CPS-1 在 SephadexG-100 柱层析时得到单一对称的洗脱峰, 收集对称峰位置, 经浓缩、真空冷冻干燥得板栗多糖纯品 CPS-a。经纤维素 DEAE-52 柱层析法分离得到 CPS-2 在 SephadexG-100 柱层析时得到单一对称的洗脱峰, 收集对称峰位置, 经浓缩、真空冷冻干燥得板栗多糖纯品 CPS-b。

3.2.2 板栗多糖的相对分子质量测定 根据实验方法中的色谱条件, 取标准品进样并记录洗脱峰保留时间。绘制标准曲线时纵坐标为标准品相对分子质量的对数值, 横坐标为相应峰的保留时间, 经过线性回归, 得标准曲线线性回归方程为: $\lg M_w = -0.554 5RT + 8.969 9$, 式中 M_w 为平均相对分子质量, RT 为保留时间 (单位: min), 相关系数 $R^2 = 0.999 3$ 。根据线性回归方程计算得 CPS-a 和 CPS-b 的平均相对分子质量分别为 34 500 和 52 100。

3.3 板栗多糖的组成及结构分析

气相色谱分析结果: 混合标准品单糖的气相色谱图如图 3 所示, CPS-a 和 CPS-b 中的单糖气相色谱图如图 4 和 5 所示。

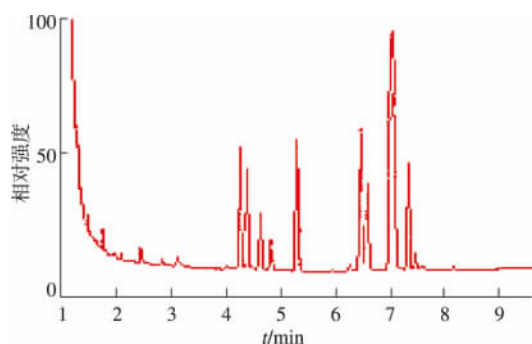


图 3 混合标准品单糖的气相色谱图

Fig. 3 GC of the mixed standard monosaccharides

混合标准品单糖的气相色谱图中单糖与主要色谱峰的对应关系: 阿拉伯糖为 4.187, 鼠李糖为 4.205, 核糖为 4.55、4.718, 木糖为 5.182, 甘露糖为 6.282, 果糖为 6.403, 半乳糖为 6.812, 山梨糖为 6.855, 葡萄糖为 7.115。

由图 4 可知, CPS-a 主要由葡萄糖:甘露糖:木糖:阿拉伯糖=7.123:6.281:5.036:4.19。由图 5 可知, CPS-b 主要由葡萄糖:果糖:甘露糖:木糖:阿拉伯糖=7.123:6.423:6.289:5.053:4.19。

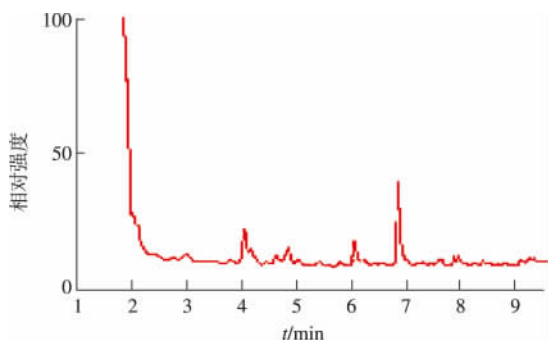


图 4 CPS-a 水解物气相色谱图

Fig. 4 GC of Hydrolysates of CPS-a

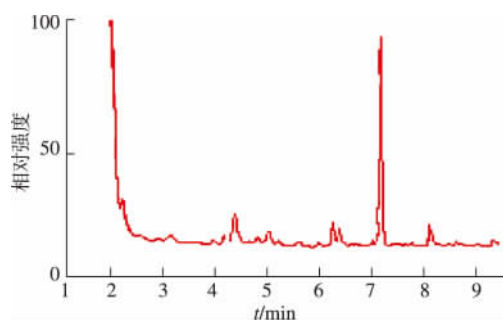


图 5 CPS-b 水解物气相色谱图

Fig. 5 GC of Hydrolysates of CPS-b

3.4 板栗多糖的红外光谱分析结果

CPS-a 和 CPS-b 的红外光谱分析结果如图 6 和图 7 所示。

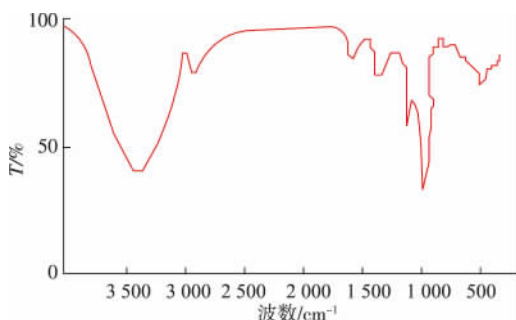


图 6 CPS-a 红外光谱图

Fig. 6 Infrared spectrogram of CPS-a

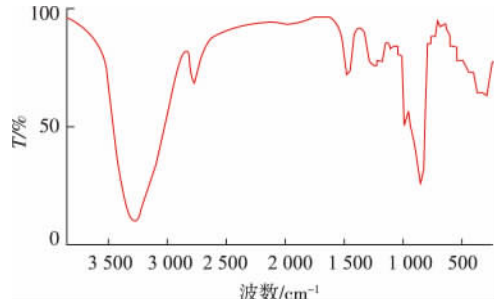


图 7 CPS-b 红外光谱图

Fig. 7 Infrared spectrogram of CPS-b

由图可知, CPS-a 和 CPS-b 在 3 400、2 900、1 640、1 400、1 075~1 000 cm^{-1} 附近区域都有吸收峰, 这些区域的吸收峰都是多糖的特征吸收峰。3 600~3 200 cm^{-1} 出现的宽峰是分子内和分子间的 O-H 的伸缩振动, 吸收峰宽是由于分子内羟基之间形成氢键; 2 900 cm^{-1} 附近吸收峰是由于 C-H 伸缩振动引起; 1 640 cm^{-1} 附近吸收峰是 C=O 伸缩振动和 N-H 变角振动; C-H 变角振动引起 1 400 cm^{-1} 附近吸收峰; 1 075~1 000 cm^{-1} 附近的吸收峰说明 CPS-a、CPS-b 都含有吡喃环; 1 250~980 cm^{-1} 间较大的吸收峰是由 C-O 的伸缩振动引起, 其中一种是 C-O-H, 另一种为 C-O-C。CPS-a 在 931 cm^{-1} 附近吸收峰是呋喃糖衍生物 A 型吸收, 853 cm^{-1} 附近吸收峰是呋喃糖衍生物 C 型吸收。CPS-b 在 1 354 cm^{-1} 、1 273 cm^{-1} 附近的吸收峰都是 S=O 伸缩振动引起, 分别是磺酰基和硫酸基, 表明此糖链可能是硫酸化多糖, 915、857、764 cm^{-1} 附近的吸收峰表明糖链中同时存在 α -、 β -糖苷键。

4 抗疲劳实验结果分析

4.1 小鼠负重游泳力实验结果

由表 1 可以看出, 各剂量组的游泳时间均高于对照组, 除低剂量组以外, 中剂量组和高剂量组与对照组相比均达到统计学上的显著水平 ($p < 0.05$, $p < 0.01$), 分别比对照组游泳时间增加了 27% 和 44%, 说明板栗多糖可以提高小鼠的耐力, 具有抗疲劳的效果。

表 1 板栗多糖对小鼠游泳时间的影响

Table 1 Effect on the swimming time

组别	给药剂量/(mg/(kg·d))	游泳力竭时间/min
对照组	0	190.56±29.58
低剂量组	100	198.37±42.04 ^a
中剂量组	200	243.53±45.88 ^b
高剂量组	400	275.91±38.06 ^c

与对照组相比 a: $p > 0.05$, b: $p < 0.05$, c: $p < 0.01$

4.2 小鼠血乳酸(BLA)和血尿素氮(BUN)实验结果

由表 2 可知, 游泳前各剂量组与对照组的血乳酸含量无明显差异, 游泳 25 min 后 3 个给药剂量组的血乳酸含量明显低于对照组 ($p < 0.05$, $p < 0.01$), 中剂量组和高剂量组中血乳酸的浓度与对照组相比降低更加明显。静息期各剂量组与对照组的血尿素氮含量无太大差别, 游泳 90min 后, 对照组小鼠血

尿素氮含量增加了 43%, 显著高于各计量组 ($p < 0.05, p < 0.01$)。

表 2 板栗多糖对血乳酸和血尿素氮浓度的影响

Table 2 Effect on BLA and BUN content in swimming

组别	游泳前血 尿素氮浓 度/(mmol/L)	游泳 90 min 后血尿素氮 浓度/(mmol/ L)	游泳前血 乳酸浓度/ (mmol/L)	游泳 25 min 后血乳酸浓 度/(mmol/L)
对照组	14.88±1.32	21.37±1.59	23.66±1.48	51.26±2.07
低剂 量组	14.54±1.78	20.66±1.61 ^b	22.98±1.55	47.01±2.05 ^b
中剂 量组	14.45±1.82	19.57±1.17 ^c	22.64±1.79	40.14±1.94 ^c
高剂 量组	14.67±2.16	19.21±1.72 ^c	22.79±1.69	37.82±1.92 ^c

与对照组相比 b: $p < 0.05$, c: $p < 0.01$ 。

由表 3 可知,低剂量组在游泳前后,肌糖原和肝糖原都无显著的变化,中剂量组和高剂量组对小鼠游泳前后的肌糖原和肝糖原影响都很显著 ($p < 0.05, p < 0.01$)。

表 3 板栗多糖对肌糖原和肝糖原质量分数的影响

Table 3 Effect on glycogen in mice

组别	游泳前		游泳 90 min 后	
	肌糖原/ (g/hg)	肝糖原/ (g/hg)	肌糖原/ (g/hg)	肝糖原/ (g/hg)
对照组	0.459±0.105	1.99±0.17	0.43±0.08	1.63±0.16
低剂 量组	0.514±0.09	2.51±0.29	0.44±0.08 ^a	1.91±0.23 ^a
中剂 量组	0.624±0.105	3.04±0.11	0.51±0.11 ^b	2.34±0.28 ^b
高剂 量组	0.644±0.08	3.01±0.19	0.55±0.10 ^c	2.37±0.18 ^c

与对照组相比 a: $p > 0.05$, b: $p < 0.05$, c: $p < 0.01$

5 结 语

1) 实验分离得到的板栗多糖 CPS-a 与杨利剑等^[15]的实验结果相吻合,即板栗多糖的单糖组分为阿拉伯糖,甘露糖,木糖和葡萄糖。何玲玲等^[12]研究表明是在红外谱图 4 000~400 cm^{-1} 区间出现的吸收峰为多糖类物质的一般特征吸收峰。而本实验分离得到的板栗多糖 CPS-a 与何玲玲等实验所得 CPS1 为同一物质。

2) 糖原是运动中最重要能源物质,机体剧烈运动后大量产生糖原被消耗,因此糖原储备可作为评价机体抗疲劳的重要指标。通过实验可以看出,板栗多糖对小鼠力肝糖原和肌糖原均有着显著而积极的影响,从而延缓疲劳的出现。

通过测试小鼠的剧烈运动后血乳酸和血尿素氮的含量可以看出,运动后,低、中、高剂量给药组明显低于对照组说明板栗多糖可以加速过多乳酸的清除代谢,减少乳酸的产生并加速运动后乳酸的清除,从而延缓疲劳的发生。

研究表明机体血尿素含量变化可说明体内含氮物质分解状态,也是评价机体在特殊条件下体力劳动负荷承受能力的一个较灵敏的指标。机体血尿素氮含量随劳动及运动负荷的增加而增加,机体对负荷的适应能力越差,血尿素氮的增加就越明显。本实验结果显示,游泳后低、中、高剂量组血尿素氮的含量明显低于对照组,提示板栗多糖能够是小鼠的运动负荷能力提高,不易发生疲劳。

总体实验结果表明板栗多糖能够延缓疲劳的产生和加速疲劳的消除,并且中剂量组 200 $\text{kg}/(\text{mg} \cdot \text{d})$ 的效果最明显,高剂量组并无明显效果。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1998.
- [2] 高荣海,阮树安,李冬生. 栗子的营养药用价值及加工制品的研究进展[J]. 北方园艺,2008(12):184-186.
GAO Rong-hai, YUAN Shu-an, LI Dong-sheng. Research progress of chestnuts nutritional and medicinal value and processed products[J]. Northern Horticulture, 2008(12):184-186. (in Chinese)
- [3] Gounga M E, Xu Shi-ying, Wang Zhang. Nutritional and microbiological evaluations of chocolate-coated Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) fruit for commercial use[J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2008, 9(9):675-683.
- [4] 王力川. 邢台板栗营养成分分析[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(12):5716-5717.
WANG Li-chuan. Xingtai Chestnut nutrition component analysis [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37 (12):5716-5717. (in Chinese)
- [5] 覃海兵,莫开菊,汪兴平. 板栗中碳水化合物的种类和抗消化性[J]. 食品科学, 2010, 31(21):191-194.

- TAN Hai-bing, MO Kai-ju, WANG Xing-ping. Chestnut types of carbohydrates and anti-peptic [J]. **Food Science**, 2010, 31(21): 191-194. (in Chinese)
- [6] ZHANG Dong-song, GAO Hui-yuan, SONG Xiao-mei, et al. A new alkaloid from *Castanea mollissima* Blume [J]. **Chinese Chemical Letters**, 2008, 19(7): 832-834.
- [7] 刘敏, 张冬松, 黄顺旺, 等. 板栗种仁的化学成分[J]. **沈阳药科大学学报**, 2008, 25(3): 191-193.
LIU Min, ZHANG Dong-song, HUANG Shun-wang, et al. Chestnut seed kernels chemical ingredients [J]. **Journal of Shenyang Pharmaceutical University**, 2008, 25(3): 191-193. (in Chinese)
- [8] 张冬松, 黄顺旺, 高慧媛, 等. 板栗种仁化学成分的分离与鉴定[J]. **沈阳药科大学学报**, 2008, 25(6): 454-455.
ZHANG Dong-song, HUANG Shun-wang, HUANG Hui-yuan, et al. Isolation and identification of the chemical composition of chestnut seeds[J]. **Journal of Shenyang Pharmaceutical University**, 2008, 25(6): 454-455. (in Chinese)
- [9] 龙志敏, 吴立军, 孙博航, 等. 板栗种仁的化学成分 III[J]. **沈阳药科大学学报**, 2008, 25(11): 884-885.
LONG Zhi-min, WU Li-jun, SUN Bo-hang, et al. Chestnut seed kernels chemical ingredients III [J]. **Journal of Shenyang Pharmaceutical University**, 2008, 25(11): 884-885. (in Chinese)
- [10] 江冰娅, 吴兆华, 黄健, 等. 板栗种仁酸水解物化学成分的分离与鉴定[J]. **沈阳药科大学学报**, 2009, 26(5): 344-347.
JIANG Bin-ya, WU Zhao-hua, HUANG Jian, et al. Isolation and identification of the chemical composition of the chestnut seeds acid hydrolyzate[J]. **Journal of Shenyang Pharmaceutical University**, 2009, 26(5): 344-347. (in Chinese)
- [11] 龙志敏, 吴立军, 孙博航, 等. 板栗种仁的化学成分 IV[J]. **沈阳药科大学学报**, 2009, 26(8): 614-616.
LONG Zhi-min, WU Li-jun, SUN Bo-hang, et al. The chestnut species of the kernel chemical composition IV [J]. **Journal of Shenyang Pharmaceutical University**, 2009, 26(8): 614-616. (in Chinese)
- [12] 何玲玲, 王新, 刘彬, 等. 板栗多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[J]. **食品与机械**, 2010, 26(2): 72-75.
HE Ling-ling, WANG Xin, LIU Bin, et al. Chestnut Isolation, purification and antioxidant activity [J]. **Food and Machinery**, 2010, 26(2): 72-75. (in Chinese)
- [13] 李润丰, 刁华娟, 彭友舜, 等. 板栗多糖的提取及抗氧化活性研究[J]. **食品研究与开发**, 2011, 32(8): 21-25.
LI Run-guang, DIAO Hua-juan, PENG You-shun, et al. Chestnut Extraction and antioxidant activity [J]. **Food Research and Development**, 2011, 32(8): 21-25. (in Chinese)
- [14] 陈和生, 孙振亚, 李汉东, 等. 罗田板栗多糖的分离纯化及成分分析[J]. **中国药学杂志**, 2002, 37(1): 63-64.
CHEN He-sheng, SHUN Zhen-ya, LI Han-dong, et al. Purification and composition analysis of the Luotian chestnut polysaccharide[J]. **Chinese Pharmaceutical Journal**, 2002, 37(1): 63-64. (in Chinese)
- [15] 杨利剑. 板栗多糖的提取、成分分析及活性测定[J]. **武汉理工大学学报**, 2010, 32(11): 14-16.
YANG Li-jian. Chestnut polysaccharide extracted component analysis and activity assay[J]. **Journal of WuHan University of Technology**, 2010, 32(11): 14-16. (in Chinese)
- [16] 李润丰, 常学东, 陈雪娜. 板栗多糖提取工艺的研究[J]. **林产化学与工业**, 2011(31): 97-98.
LI Run-guang, CHAN Xue-dong, CHEN Xue-na. Chestnut extraction process of polysaccharides[J]. **Chemistry and Industry of Forest Products**, 2011(31): 97-98. (in Chinese)
- [17] 杨锋, 段玉峰, 周芳. 火棘多糖的分离纯化及抗氧化活性的研究[J]. **西北植物学报**, 2004, 24(11): 2126-2130.
YANG Feng, DUAN Yu-feng, ZHOU Fang. Pyracantha Isolation, purification and antioxidant activity [J]. **Botanica Boreali-Occidentalia Sinica**, 2004, 24(11): 2126-2130. (in Chinese)
- [18] 王洪新, 王远辉. 山药多糖研究进展[J]. **食品与生物技术学报**, 2011, 30(3): 323.
WANG Hong-xin, WANG Yuan-hun. Research progress of yam polysaccharide [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 30(3): 323. (in Chinese)
- [19] 丛娟, 官莉, 闫小娟. 五味子多糖的提取及分离[J]. **食品与生物技术学报**, 2011, 30(1): 91
CONG Juan, GONG Li, YAN Xiao-juan. The Schisandra Extraction and separation [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 30(1): 91. (in Chinese)
- [20] 金宗濂, 文镜, 唐粉芳. 功能性食品的评价原则和方法[M]. 北京大学出版社, 1995: 113-142.
JIN Zong-lian, WEN Jing, TANG Fen-fang. Principles and methods of evaluation of functional foods [M]. **Beijing University Press**, 1995: 113-142. (in Chinese)