

海洋低温 α -淀粉酶水解玉米淀粉及其产物生物活性

吕明生^{1,2}, 王淑军^{2,3}, 房耀维^{1,2}, 焦豫良^{1,2}, 刘 姝^{1,2}, 刘 媛¹, 徐 艳¹

(1. 淮海工学院海洋学院, 江苏连云港 222005;

2. 江苏省海洋资源开发研究院, 江苏连云港 222005;

3. 江苏省海洋生物产业技术协同创新中心, 江苏连云港 222005)

摘要:本研究旨在开发适用于工业生产新型酶制剂, 采用研制的新型海洋低温 α -淀粉酶, 研究该酶水解玉米淀粉最佳工艺条件及其产物特性。低温 α -淀粉酶最佳的工艺条件为温度 30 °C、时间 90 min、淀粉浓度 4.5%、加酶量 8 U/g、pH6.5。酶解产物通过 TLC 和 HPLC 分析, 酶解产物中主要为麦芽糖、麦芽三糖、异麦芽三糖、麦芽四糖和麦芽五糖, 其中麦芽四糖和麦芽五糖的和达到 69.62%。酶解产物对羟自由基和 DPPH 自由基均有清除作用, 对羟自由基的清除效果要好于对 DPPH 自由基的清除。

关键词: 低温 α -淀粉酶, 玉米淀粉, 酶解, 羟自由基, DPPH 自由基

Hydrolyzate of corn starch by marine cold-adapted α -Amylase and its biological activity

LV Ming-sheng^{1,2}, WANG Shu-jun^{2,3}, FANG Yao-wei^{1,2}, JIAO Yu-liang^{1,2}, LIU Shu^{1,2}, LIU Yuan¹, XU Yan¹

(1. School of Marine Science and Technology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China;

2. Jiangsu Marine Resources Development Research Institute, Lianyungang 222005, China;

3. Co-Innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

Abstract: The purpose of this study was to develop a new enzyme for industrial production. A kind of marine cold-adapted α -amylase was adopted to hydrolyze corn starch. Some factors which could influence enzymatic hydrolysis were studied. The optimal conditions of corn starch hydrolysis with the α -amylase: temperature 30 °C, hydrolysis time 90 min, substrate concentration 4.5%, enzyme amount 8 U/g and pH6.5. The amylase could hydrolyze raw starch into maltose, maltotriose, isomaltotriose, maltotetraose and maltopentaose by TLC and HPLC of analysis. The quantity of maltotetraose and maltopentaose was 69.62%. The hydrolyzate had the scavenging effect on the hydroxyl radical and DPPH radical. The scavenging effect of the hydroxyl radical was better than the DPPH radical.

Key words: cold-adapted α -amylase; corn starch; enzymatic hydrolysis; hydroxyl radical; DPPH radical

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)23-0152-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.23.023

低温酶也称适冷酶(cold-adapted-enzyme), 是指在低温条件下能有效催化生化反应的一类酶, 最适反应温度比普通酶要低 20~30 °C, 而且在 0 °C 有一定的活性^[1]。低温 α -淀粉酶在面团发酵、污水处理、酿造、洗涤剂、食品、纺织和生物燃料生产方面具有广泛的工业应用^[2], 不仅可用于焙烤工业的保鲜剂、医药工业中的糖浆制造、纺织工业中用作脱油炉、造纸和纸浆工业淀粉浆料的粘度控制, 而且可在低温下的废水处理和生物修复^[3-4]。

海洋具有高盐、低温、高压等极端环境, 使得海洋来源的低温 α -淀粉酶具有陆地微生物酶不具有的独特催化性质和应用潜力^[5-6]。人们已从海洋微生物如细菌^[7-9]、放线菌^[10]和真菌^[11]中筛选低温淀粉酶。低温淀粉酶能节约能量, 降低生产成本, 在全世界的需求量逐年剧增, 国外研究生产的低温 α -淀粉酶已创造了 10 亿美元的价值^[3], 而国内低温淀粉酶的生产还缺乏, 有关低温淀粉酶的报道尚处于实验室研究阶段。

收稿日期: 2015-02-09

作者简介: 吕明生(1963-), 男, 学士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: mingshenglu@hotmail.com。

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项(201205020-8); 国家自然科学基金(31271929)。

目前应用的 α -淀粉酶主要是中高温淀粉酶(最适作用温度约为50℃以上),这些酶只有在较高温度下才具有较好的催化活性。 α -淀粉酶水解淀粉研究报道很多对麦麸淀粉^[12-13]、番薯淀粉^[14]、芭蕉芋淀粉^[15]、玉米淀粉^[16-18]、木薯淀粉^[19]、大米淀粉^[20]、马铃薯淀粉^[21]和板栗淀粉^[22]的水解研究,但大部分采用中温和高温 α -淀粉酶,水解板栗淀粉采用的低温 α -淀粉酶来自Sigma公司的酶作用温度为40℃的低温 α -淀粉酶^[23]。

本实验采用自主研制的低温 α -淀粉酶^[9]水解玉米淀粉,研究水解条件以及水解产物的生物特性,以期为今后低温 α -淀粉酶的工业应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

玉米淀粉 淀粉纯度100%,菱花集团有限公司;硅胶板 上海信谊仪器厂生产的GF254硅胶板,厚度为0.20~0.25 mm;Tris、浓盐酸、3,5-二硝基水杨酸、无水亚硫酸钠、苯酚、氯仿、冰醋酸、浓硫酸、正丁醇、维生素C 国药集团化学试剂有限公司;DPPH Sigma公司;iMarK680型酶标仪 美国BioRAD公司;DK-S24型电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司;SevenEasy(S20)pH仪 上海梅特勒-托利多仪器有限公司;BS323S型电子天平 北京赛多利斯科学仪器有限公司;BR4i multifunction centrifuge型冷冻离心机 法国Thermo公司;超声波清洗器 上海科导超声仪器有限公司;格兰仕微波炉 广东佛山市格兰仕集团有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 海洋低温 α -淀粉酶 将海洋交替假单胞菌GS230(*Pseudoalteromonas arctica*)^[9]以2.5%的接种量,接种于产酶发酵培养基中,180 r/min,20℃培养24 h,10000 r/min离心10 min,上清液用一万超滤膜进行超滤,再将超滤液进行冷冻干燥即为海洋低温 α -淀粉酶。

1.2.2 酶解工艺流程 精确称取一定质量的玉米淀粉,加水调成所需浓度的粉浆→加酸或碱调节至所需pH→移入恒温水浴锅中按要求加入一定量的低温 α -淀粉酶→反应一段时间后取出灭酶并冷却液化液→测定DE值。

1.2.3 DE值测定方法 用3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定还原糖,水解液中还原糖以葡萄糖计占干物质的百分比为DE值。

1.2.4 水解玉米淀粉工艺的优化

1.2.4.1 单因素实验 分别研究时间、加酶量、淀粉浓度、温度和pH对玉米淀粉水解的影响,实验均设三个平行。具体条件如下。

时间对水解玉米淀粉的影响:5%淀粉浓度,加酶量按淀粉的重量每克加入低温淀粉酶4 U,即4 U/g,在30℃分别水解30、60、90、120、150 min,测还原糖含量。

加酶量对水解玉米淀粉的影响:淀粉浓度5%,加酶量分别为2、4、6、8、10 U/g,在30℃分别水解90 min,测还原糖含量。

淀粉浓度对水解玉米淀粉的影响:淀粉浓度分

别1%、2%、3%、4%、5%、6%,加酶量为4 U/g,在30℃分别水解90 min测还原糖含量。

温度对水解玉米淀粉的影响:淀粉浓度4%,加酶量为4 U/g,分别在20、25、30、35、40℃水解90 min,测还原糖含量。

pH对水解玉米淀粉的影响:将糊化好的4%的玉米淀粉分别调节pH为5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0,加酶量为4 U/g,在30℃分别水解酶解90 min,测还原糖含量。

1.2.4.2 正交实验 在单因素实验的基础上,设计正交实验 $L_9(3^4)$,实验因素水平见表1。

表1 低温 α -淀粉酶正交实验因素水平表

Table 1 Factor and level of orthogonal test of the cold-adapted α -amylase

水平	因素			
	A 加酶量 (U/g)	B 淀粉浓 (%)	C 温度 (℃)	D pH
1	4	3.5	25	5.5
2	6	4.0	30	6.0
3	8	4.5	35	6.5

1.2.5 水解产物分析

1.2.5.1 薄层层析法(TLC) 用正交实验得到的最佳条件水解淀粉,同时检测时间对产物的影响,水解时间分别为1、3、5 h。产生的反应产物为样品进行鉴定。将反应得到的样品煮沸5 min,用75%乙醇溶液进行溶解,10000 r/min离心15 min,获得上清液。用硅胶板GF254,流动相为氯仿:冰醋酸:水=5:7:1。检测时喷洒含20%浓硫酸的乙醇试剂,再放入100℃烘箱烘干3 min,得到结果。

1.2.5.2 高效液相色谱法(HPLC) 标品处理:配等质量分数的葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、异麦芽三糖、四糖、五糖和六糖,超纯水溶解。测高效液相图谱。样品处理:加酶量8 U/g、淀粉浓度4.5%、温度30℃、pH6.5,水解90 min后,取5 mL,测高效液相图谱。色谱条件:色谱柱为Waters Sugar-Pak1(300 mm×7.8 mm),流动相为水,流速为0.4 mL/min,柱温为85℃。

1.2.6 酶解产物抗氧化性

1.2.6.1 水解液粗多糖的测定 优化最佳水解条件水解玉米淀粉,蒽酮硫酸法测定水解液中的总糖^[24],DNS法测定还原糖^[19],粗多糖等于总糖减去还原糖。维生素C作为阳性对照,测定水解液的抗氧化性。

1.2.6.2 对羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除率的测定 取10 mL具塞试管,按顺序加入5 mmol/L邻二氮菲1.5 mL,0.5 mol/L、pH7.4的磷酸缓冲液3 mL,7.5 mmol/L的 FeSO_4 ,1 mL,不同多糖浓度酶解液3 mL,1 mL体积分数0.1%的 H_2O_2 ,用重蒸水稀释到10 mL,37℃保温60 min,测 A_{510} (为 A_s),空白管(A_b)不加 H_2O_2 及酶解液,对照管(A_p)只加 H_2O_2 不加酶解液^[23]。

$$\text{羟自由基清除率}(\%) = \frac{A_p - A_s}{A_p - A_b} \times 100$$

1.2.6.3 DPPH自由基清除率的测定 在比色管中依次加入3.5 mL 6.5×10^{-5} mol/L DPPH溶液和0.5 mL

不同多糖浓度酶解液,混匀 20 min 后,于 517 nm 处测定吸光值。用 3.5 mL 无水乙醇和 0.5 mL 蒸馏水作为参照,以上各实验均做 3 组平行。 A_s 为加入样品的吸光度, A_r 为本底吸收的吸光度, A_0 为空白溶液的吸光度^[24]。

$$\text{DPPH 自由基的清除率}(\%) = \left[1 - \frac{A_s - A_r}{A_0} \right] \times 100$$

2 结果与分析

2.1 水解玉米淀粉的单因素实验

2.1.1 时间对水解玉米淀粉的影响 由图 1 可知,在 90 min 之前,DE 值随时间的延长变化较大,90 min 之后,DE 值变化趋于平缓,最后 DE 值基本稳定在 23%~25% 之间。分析原因,可能是因为反应体系中的酶液被完全利用,导致 90 min 后图线趋于平缓。从节约时间和效益最大化的角度考虑,后续实验反应时间选择为 90 min。

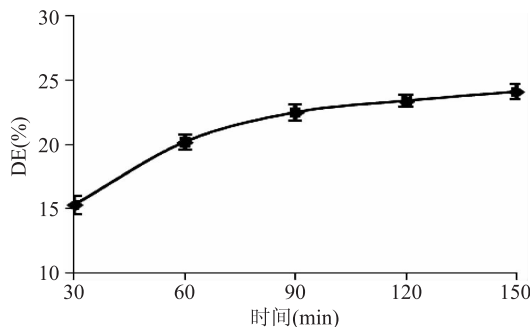


图 1 时间对水解玉米淀粉的影响

Fig.1 Effect of time on the degree of hydrolysis corn starch

2.1.2 加酶量对水解玉米淀粉的影响 由图 2 可知,当加酶量从 2 U/g 增加到 4 U/g 时,DE 值增加近 20%;而当加酶量从 4 U/g 增加到 8 U/g 时,DE 值仅增加 5% 左右,变化渐渐趋于平缓,最后基本稳定在 27%~31% 之间。可能是因为反应体系中能够被利用的底物渐渐耗尽,导致加酶量大于 4 U/g 时的图线趋于平缓。从节约成本的角度考虑,后续玉米淀粉实验的加酶量选择 4 U/g。

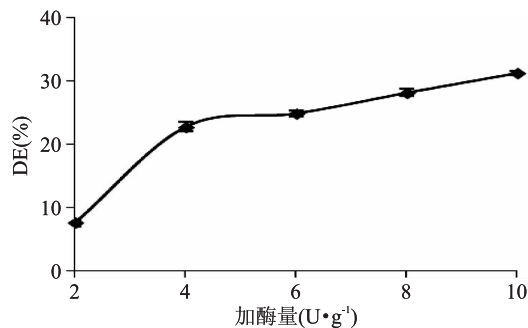


图 2 加酶量对水解玉米淀粉的影响

Fig.2 Effect of enzyme dosage on the degree of hydrolysis corn starch

2.1.3 淀粉浓度对水解玉米淀粉的影响 由图 3 知,淀粉浓度从 1% 增加到 4% 时,DE 值增加幅度较大;当淀粉浓度上升到 5% 时,DE 值突然下降,可能是因为随着淀粉浓度的增加,其本身流动性变差,加入酶

液以后,底物不能与酶液充分接触,从而使水解效果变差。从节约成本,提高效率的角度考虑,后续玉米淀粉实验的淀粉浓度选择 4%。

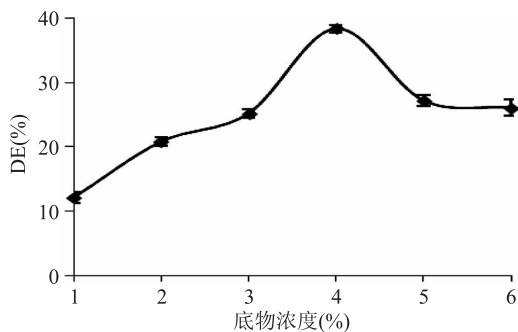


图 3 淀粉浓度对水解玉米淀粉的影响

Fig.3 Effect of substrate concentration on the degree of hydrolysis corn starch

2.1.4 温度对水解玉米淀粉的影响 由图 4 可知,在 30 °C 之前,随着温度的升高,DE 值逐渐增大,说明 30 °C 之前,温度越高,酶促反应速率越大。本实验室制备的低温 α -淀粉酶最适作用温度为 30 °C^[9],后续玉米淀粉的相关实验温度选择 30 °C。

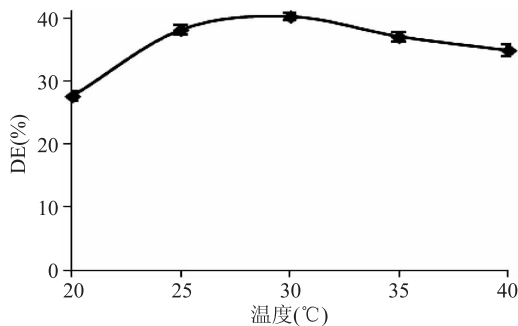


图 4 温度对水解玉米淀粉的影响

Fig.4 Effects of temperature on the degree of hydrolysis corn starch

2.1.5 pH 对水解玉米淀粉的影响 由图 5 可知,在 pH5.5 时 DE 值达到最高,在 pH5.5~6.5 之间水解效果比较稳定,过酸或碱性环境都会对酶促反应产生抑制作用,玉米淀粉水解时的最适 pH 为 5.5。

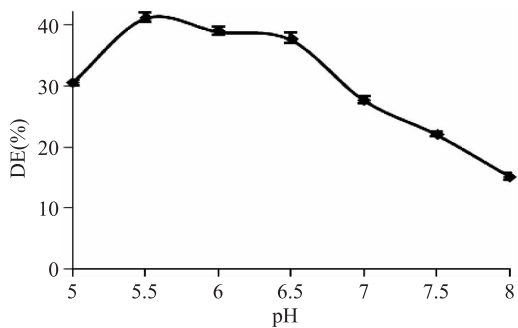


图 5 pH 对水解玉米淀粉的影响

Fig.5 Effect of pH on the degree of hydrolysis corn starch

2.2 低温 α -淀粉酶水解玉米淀粉的正交实验

根据以上研究结果,分别选择加酶量、淀粉浓度、温度、pH 四个影响较大的因素,并以各因素的最

佳实验条件为依据确定其最佳使用范围,进行正交实验。实验结果见表2。

表2 玉米淀粉正交实验 $L_9(3^4)$

Table 2 Orthogonal experiment of corn starch $L_9(3^4)$

实验号	因素				DE 值 (%)
	A 加酶量 (U/g)	B 淀粉浓度 (%)	C 温度 (°C)	D pH	
1	3	2	3	1	39.10
2	3	3	1	2	52.07
3	2	1	3	2	46.66
4	2	3	2	1	45.89
5	2	2	1	3	50.75
6	1	3	3	3	42.07
7	1	1	1	1	28.14
8	3	1	2	3	57.40
9	1	2	2	2	28.23
k_1	33.15	44.07	45.32	37.71	
k_2	47.77	39.36	43.84	42.31	
k_3	49.52	46.68	42.61	50.07	
R	16.37	7.32	2.71	12.36	

将获得数据用 SPSS 17 Statistics 软件进行方差分析得表3:

表3 正交实验方差分析

Table 3 Orthogonal experiment analysis of variance

	Ⅲ型平方和	df	均方	F	Sig.
截距	17161.000	1	17161.000	5058.611	0.000
加酶量 A	540.637	2	270.319	79.683	0.012
pH D	271.902	2	135.951	40.075	0.024
料液比 B	87.866	2	43.933	12.950	0.072
温度 C	6.785	2	3.392		

从表3中可看出,各因素对实验结果的重要次序为 $A > D > B > C$,由方差分析可知,加酶量(A)和pH(D)对玉米淀粉的水解显著性影响($p < 0.05$)。根据K值和极差分析,选定玉米淀粉水解最佳条件为 $A_3B_3C_1D_3$,即优化是最佳条件为:加酶量 8 U/g、淀粉浓度 4.5%、温度 25 °C、pH6.5。在此条件下,进行验证实验,得到 DE 值为 57.98。优化后的条件更有利于对玉米淀粉的水解。

2.3 玉米淀粉水解产物分析

2.3.1 薄层层析(TLC) 由图6可知,玉米淀粉水解产物大致有四种,分别为麦芽糖、麦芽三糖、异麦芽三糖、五糖。3 h 时开始有少量葡萄糖生成,主要产物为麦芽糖和异麦芽三糖。5 h 的结果表明异麦芽三糖和麦芽五糖的量在增加,但从各种糖的比例上来看,没有大的变化,因此,水解时间的适当延长有利于寡糖的产生。

2.3.2 高效液相色谱法(HPLC) 通过 HPLC 对优化条件下的酶解产物的定量分析,水解产物有葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、异麦芽三糖、麦芽四糖、麦芽五糖,其中水解产物中麦芽五糖含量很高。根据峰面积计算,麦芽四糖和麦芽五糖的总和达到

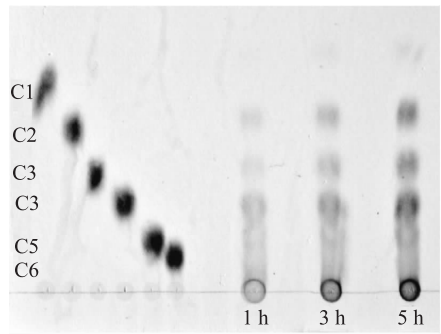


图6 玉米淀粉水解产物薄层层析

Fig.6 Corn starch hydrolyzate TLC

69.62%。低聚麦芽糖可以促进肠道有益微生物的生长,改善肠道内环境^[25],有利于健康,这为利用低温淀粉酶对玉米淀粉进行深入加工提供了一定的依据。

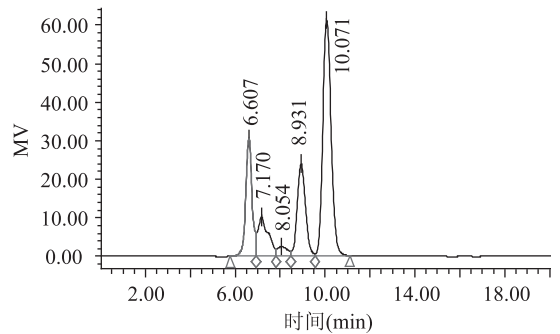


图7 水解产物的 HPLC 图谱

Fig.7 HPLC of hydrolyzate

2.4 玉米淀粉水解产物的抗氧化作用

2.4.1 羟自由基清除率 由图8可知,水解液对羟自由基清除作用较好,最佳条件下水解的水解液可以清除反应体系中的羟自由基;然而与维生素C相比,其清除作用还是较弱。玉米淀粉水解液的清除作用比甘薯多糖的清除作用弱^[23],与山药多糖的清除作用相似^[25]。玉米是我国的主要粮食作物之一,玉米淀粉在我国消费量较大,其水解产物具有较好的抗氧化作用是值得关注的。

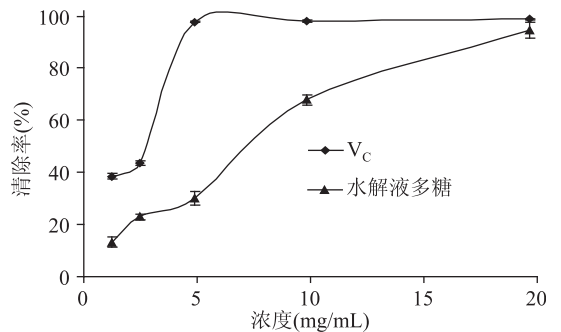


图8 玉米淀粉水解产物的羟自由基清除率

Fig.8 Scavenging rate of hydroxyl radical from hydrolyzed corn starch

2.4.2 DPPH 自由基清除率 由图9可知,和维生素C相比,玉米淀粉水解液对 DPPH 自由基的清除能力不强,最佳条件下水解的水解液可以清除 30% 的

DPPH 自由基。这可能是因为水解液中多糖分子上的还原性的半缩醛羟基与 DPPH 自由基单电子的反应作用弱。

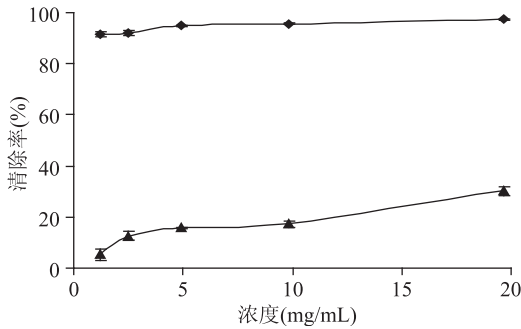


图9 玉米淀粉水解产物的 DPPH 自由基清除率

Fig.9 Scavenging rate of DPPH radical from hydrolyzed corn starch

3 结论

本实验采用研制的新型海洋低温 α -淀粉酶, 结合单因素实验和正交实验优化了 α -淀粉酶水解玉米淀粉的工艺参数, 并对水解产物的生物活性进行研究。结果表明: 低温 α -淀粉酶水解玉米淀粉的最佳工艺条件为温度 30 $^{\circ}\text{C}$ 、时间 90 min、玉米淀粉浓度 4.5%、加酶量 8 U/g、pH6.5。TLC 分析水解产物主要为麦芽糖、麦芽三糖、异麦芽三糖、麦芽五糖, 3 h 开始有少量葡萄糖生成, 主要产物为麦芽糖和异麦芽三糖。HPLC 分析水解产物有葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、异麦芽三糖、麦芽四糖和麦芽五糖, 其中水解产物中麦芽五糖含量很高, 根据峰面积计算, 麦芽四糖和麦芽五糖的总和达到 69.62%。水解产物对羟自由基和 DPPH 自由基均有清除作用, 对羟自由基的清除效果好于对 DPPH 自由基的清除效果。

参考文献

- [1] Cavicchioli R, Siddiqui K S, Andrews D, et al. Low temperature extremophiles and their applications [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2002, (13), 253-261.
- [2] Emampour M, Akbari K, Hossein N, et al. Molecular cloning and biochemical characterization of a novel cold-adapted alpha-amylase with multiple extremozyme characteristics [J]. *J Mol Catal B: Enzym*, 2015, (111): 79-86.
- [3] Roohi M K. Bio-statistical approach for optimization of cold-active α -amylase production by novel psychrotolerant *M. foliorum* GA2 in solid state fermentation [J]. *Biocatal Agr Biot*, 2014, 3 (2): 175-181.
- [4] Kuddus M, Roohi, Saima, et al. Cold-active extracellular α -amylase production from novel bacteria *Microbacterium foliorum* GA2 and *Bacillus cereus* GA6 isolated from Gangotri glacier, Western Himalaya [J]. *J Genet Eng Biot*, 2012, 10 (1): 151-159.
- [5] Claverie P, Viganò C, Ruyschaert J M, et al. The precursor of

a psychrophilic α -amylase: structural characterization and insights into cold adaptation [J]. *Biochim et Biophys Acta*, 2003, (1649): 119-122.

- [6] 孙溢, 洪义国, 李勃生, 等. 海洋微生物低温酶特性及其在工业中的潜在用途海洋水产研究, 2002, 23 (3): 44-49.
- [7] 齐兴娥, 顾燕玲, 韩亮, 等. 天山 1 号冰川底部沉积层产低温淀粉酶菌株的系统发育及其酶学性质初步研究 [J]. *食品工业科技*, 2013, 34 (23): 172-176.
- [8] 郭艾英, 秦玲, 凌云, 等. 产低温淀粉酶海洋细菌 HYM-7 发酵条件研究 [J]. *食品工业科技*, 2010, 31 (11): 235-248.
- [9] Lu M S, Fang Y W, Li H Z, et al. Isolation of a novel cold-adapted amylase-producing bacterium and study of its enzyme production conditions [J]. *Annu Microbiol*, 2010, 60 (3): 557-563.
- [10] 李鹏, 王健鑫, 罗红宇, 等. 一株产淀粉酶海洋放线菌菌株的选育及发酵条件的研究, 水产学报 [J]. 2014, 38 (12): 2059-2067.
- [11] 张刚, 汪天虹, 张臻峰, 等. 产低温淀粉酶的海洋真菌筛选及研究 [J]. *海洋科学*, 2002, 26 (2): 3-5.
- [12] 陈凤莲, 方桂珍. 淀粉酶对小麦麸皮中淀粉的酶解作用 [J]. *食品工业科技*, 2006, 27 (3): 71-73.
- [13] 朱芸, 信汝林, 侯伟伟, 等. 淀粉酶水解麦麸中淀粉工艺的研究 [J]. *中国食物与营养*, 2014, 20 (4): 59-62.
- [14] 陈玉, 李生潘. α -淀粉酶水解番薯淀粉的研究 [J]. *广州化工*, 2013, 41 (15): 79-81.
- [15] 王成, 荣玉芝, 李虎, 等. α -淀粉酶水解对芭蕉芋淀粉理化性质的影响 [J]. *食品与药品*, 2014, 16 (4): 229-332.
- [16] 毕静. 中温型 α -淀粉酶水解玉米淀粉生产麦芽糊精工艺研究 [J]. *食品与发酵科技*, 2010, 46 (3): 72-74.
- [17] 薛茂云. 高温型 α -淀粉酶水解玉米淀粉生产麦芽糊精工艺研究 [J]. *中国调味品*, 2010, 35 (8): 53-55.
- [18] 郝晓敏, 王遂, 崔凌飞. α -淀粉酶水解玉米淀粉的研究 [J]. *食品科学*, 2006, 27 (2): 141-143.
- [19] 魏爱丽, 张学武. 木薯淀粉酶解工艺的优化, 现代食品科技 [J]. 2008, 24 (12): 1250-1253.
- [20] 孙沛然, 易翠平. 淀粉酶酶解大米淀粉制备低 DE 值脂肪替代物 [J]. *食品与机械*, 2011, 27 (2): 133-136.
- [21] 赵瑛, 赵萍, 李红玉. 淀粉酶分解马铃薯淀粉的因素研究 [J]. *食品科学*, 2007, 28 (10): 296-300.
- [22] 解华东, 刘邻渭, 陈德经, 等. 低温 α -淀粉酶液化板栗淀粉的工艺研究 [J]. *食品科技*, 2007, (3): 80-83.
- [23] 全桂静, 宋文婷. 甘薯多糖提取条件及抗氧化性的研究 [J]. *沈阳化工大学学报*, 2014, 28 (4): 325-328.
- [24] 梁丽军, 曾哲灵, 熊淘, 等. 蒽酮-硫酸法测定大蒜多糖的含量 [J]. *食品科学*, 2008, 29 (9): 499-502.
- [25] 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, 39 (12): 212-216.
- [26] Crittenden R G, Playne M J. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides [J]. *Trends food Sci Tech*, 1996, 7 (11): 353-361.