

防风多糖的理化特性、形貌特征及结构分析

戴晶晶¹, 张 静^{1*}, 孙润广², 焦自明², 张 鹏¹, 张化朋¹, 刘阿娟¹

1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062

2. 陕西师范大学物理学与信息技术学院, 陕西 西安 710062

摘要: 目的 从防风 *Saposhnikovia divaricata* 中提取多糖并对其进行理化性质及结构特征的分析。方法 采用 DEAE-52 纤维素和 Sephadex G-200 凝胶柱色谱分离纯化, 获得防风多糖主要成分 SPS0 和 SPS1, 通过紫外光谱 (UV)、热稳定性实验、红外光谱 (IR)、刚果红实验、环境扫描电镜 (ESEM)、原子力显微镜 (AFM) 对防风多糖进行理化性质、形貌特征及结构特征分析。结果 SPS0 和 SPS1 糖醛酸的质量分数分别为 12.07%、0.95%; IR 光谱显示 SPS0 含有 -COOH 的特定吸收峰; 刚果红实验表明 SPS0 具有三股螺旋结构, SPS1 没有三股螺旋结构; ESEM、AFM 观察显示 SPS0 形貌工整, 为链状多分枝结构, SPS1 多糖形貌不规则, 有少量分枝结构。结论 SPS0 是一种具多分枝结构的酸性多糖; SPS1 是一种含 β -D-吡喃环的均一多糖, 热稳定性较高。

关键词: 防风多糖; 理化特性; 形貌; 环境扫描电镜; 原子力显微镜

中图分类号: R284.18 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)04-0391-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.04.004

Analyses on properties for physicochemistry, morphology, and structure of *Saposhnikovia divaricata* polysaccharides

DAI Jing-jing¹, ZHANG Jing¹, SUN Run-guang², JIAO Zi-ming², ZHANG Peng¹, ZHANG Hua-peng¹, LIU A-juan¹

1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

2. College of Physics and Information Technology, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

Abstract: Objective To extract *Saposhnikovia divaricata* polysaccharides (SPS) and to analyze the characteristics of their physicochemistry and structures. **Methods** Two main polysaccharides, SPS0 and SPS1, were obtained by DEAE-52 and Sephadex G-200 column chromatography; UV spectrophotometer, heat stability test, IR spectrometry, Congo-red test, environmental scanning electron microscope (ESEM), and atomic force microscope (AFM) were used to determine the physicochemical, morphological, and structural properties of polysaccharides. **Results** The uronic acid contents of SPS0 and SPS1 were 12.07% and 0.95%, respectively. IR spectrometry showed SPS0 had a specific absorption peak of -COOH. Congo-red test indicated that only SPS0 had a triple helix conformation. ESEM and AFM showed that SPS0 was neat and orderly, with a hyper branched structure, but irregular figure and fewer branches were observed in SPS1. **Conclusion** SPS0 is an acidic and hyper branched polysaccharide, while SPS1 is a homogeneous polysaccharide including β -D-pyranose sugar residues with better heat stability.

Key words: *Saposhnikovia divaricata* polysaccharides; physicochemical properties; morphology; environmental scanning electron microscope; atomic force microscope

防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk., 又名屏风、铜芸、茴草, 伞形科植物, 未抽花茎植株的干燥根。最早记载于《神农本草经》, 味辛甘, 性温, 能解表祛风、胜湿、止痉^[1], 为常用中药, 具有治疗感冒头痛、风湿痹痛、风疹瘙痒、破伤风

等^[2]功效。药理实验研究表明, 防风具有解热、镇痛、镇静、抗炎、抗过敏、抗惊厥、抑菌和增强机体非特异性免疫功能的作用^[3-5]。其化学成分有挥发油、色原酮、香豆素、有机酸、多糖等^[6]。早在 1989 年日本学者从防风根中提取出防风多糖, 并研究了

收稿日期: 2012-08-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (10874108); 陕西省自然科学基金研究计划资助项目 (SJ08A16)

作者简介: 戴晶晶 (1983—), 女, 蒙古族, 内蒙古人, 硕士研究生, 主要从事天然产物研究。E-mail: sunflowerjij@163.com

*通信作者 张 静, 女, 副教授, 硕士研究生导师。E-mail: zhangjin@snnu.edu.cn

防风多糖的单糖摩尔比^[7]。目前对防风多糖的研究主要集中在多糖单糖组成^[8-9]、热水浸提工艺、结构修饰^[10]以及抗氧化^[11-12]、抗肿瘤^[13]药理作用等方面,但有关防风多糖的理化特性、形貌及结构的研究较少,尚未见用原子力显微镜、环境扫描电镜观察防风多糖分子的表面形貌的报道。超声波作为一种提取中药有效成分的新方法,有提取效率高、时间短、所需温度低的优点^[14-15]。本实验使用超声波提取的方法提取防风粗多糖,纯化得到2种防风多糖SPS0和SPS1,并对其理化性质、结构特征以及多糖形貌进行了研究和比较,为防风多糖的提取、分离及纯化技术工艺研究提供了理论和实验依据。

1 仪器与材料

超声水浴提取器(上海宁商超声仪器有限公司);LXJ—IIIB型低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂);PHA1—4型真空冷冻干燥机(德国CHRIST公司);DHL—A电脑恒流泵(上海沪西分析仪器厂);DBS—100电脑全自动部分收集器(上海沪西分析仪器厂),配置DEAE-52纤维素色谱柱(2.5 cm×65 cm)和Sephadex G-200凝胶柱(1.5 cm×50 cm);WZZ—2B自动旋光仪(上海精密科学仪器有限公司);TU—1810紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);Avaatr360 E.S.P.型傅里叶红外光谱仪(美国尼高力公司);环境扫描电子显微镜(FEI公司);原子力显微镜(日本岛津公司)。

DEAE-52纤维素(Whatman公司);Sephadex G-200(Whatman公司);半乳糖醛酸(Fluka公司);咔唑(北京化学试剂公司);苯酚、硫酸、考马斯亮蓝、牛血清白蛋白、刚果红、氯化钠、氢氧化钠、乙醇等试剂均为国产分析纯。

防风购自西安同兴堂中药店,经陕西师范大学生命科学学院田先华教授鉴定为*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 未抽花茎植株的干燥根。

2 方法

2.1 防风多糖的提取

2.1.1 原料处理 将防风于50℃温度干燥12 h后粉碎,过60目筛,按照料液比1:6加入95%的乙醇在80℃下回流脱脂2次,每次2 h,离心弃去上清液,药渣自然晾干备用。

2.1.2 防风粗多糖的制备 称取脱脂后的防风100 g,在60℃下按1:30的比例加水超声,超声频率80 kHz、电功率220 W,工作时间5 s,间歇时间3 s,

循环240次,提取20 min,浸提液离心弃去残渣,滤液在50℃下旋转蒸发浓缩至原体积的1/5后,加入3倍体积的95%乙醇静置醇沉12 h,离心收集沉淀加适量蒸馏水溶解,流水透析48 h以除去小分子杂质,透析后离心取上清液真空冷冻干燥,得到防风粗多糖(SPS),经苯酚硫酸法检测,粗多糖的得率为4.68%。与本实验室之前的实验结果相比较^[16],虽然提取率降低,但提取功率从1 000 W降到220 W,节约了能耗,更有利于工业化生产。实验是多次重复的结果,具有可靠性和可重复性,有一定的实用价值。

2.1.3 防风多糖的分离纯化 称取0.3 g SPS溶于10 mL蒸馏水,离心后上清液用DEAE-52色谱柱(80 cm×2.5 cm)分离,依次用1 000 mL蒸馏水、0.05、0.1、0.2 mol/L的NaCl溶液洗脱,每管收集10 mL,用苯酚硫酸法测吸光度(A)值,绘制洗脱曲线。

称取经DEAE-52纤维素柱色谱得到的组分0.03 g,溶于5 mL蒸馏水中,离心后经Sephadex G-200柱色谱,蒸馏水洗脱每管收集3 mL,经苯酚-硫酸法测A值合并单一组分,透析,冷冻干燥得防风多糖纯品。

2.1.4 多糖纯度鉴定 不同相对分子质量的多糖在乙醇中的溶解度不同,而不同的多糖比旋光度也不同,如果多糖经不同浓度的乙醇沉淀后得到的沉淀物有相同的比旋度,则说明该多糖组分均一。

采用比旋度法^[17],将多糖样品溶解在水溶液中,达到半饱和溶液;在搅拌下滴加乙醇,使乙醇体积分数达到20%,继续搅拌至沉淀完全,离心分离沉淀;继续滴加乙醇,使乙醇体积分数达到40%,再分离沉淀;前后2次沉淀,冷冻干燥后,在相同条件下测定比旋光度。

2.2 防风多糖的理化性质

2.2.1 总糖定量测定 利用苯酚-硫酸法^[9]测定总糖质量分数,分别取0.20、0.40、0.80、1.20、1.60、2.00 mL葡萄糖标准溶液于25 mL试管中,加蒸馏水至2 mL,先后加1 mL 6%苯酚和5 mL浓硫酸,混匀,静置30 min后,以蒸馏水作空白,在490 nm处测A值,以葡萄糖质量浓度为横坐标,A值为纵坐标,绘制标准曲线。多糖样品测定按照上述方法操作,根据标准曲线计算总糖质量分数。

2.2.2 蛋白定量测定 考马斯亮蓝G-250法^[18]测定蛋白质量分数,分别取0、0.40、0.80、1.20、1.60、2.00 mL质量浓度为1.0 mg/mL牛血清白蛋白溶液

于 25 mL 试管中, 加蒸馏水至 2 mL, 再加入 5 mL 质量浓度为 0.1 mg/mL 的考马斯亮蓝 G-250 试剂, 充分混合, 放置 3 min, 在 595 nm 处测 A 值, 以牛血清白蛋白质量浓度为横坐标, A 值为纵坐标, 绘制标准曲线。多糖样品测定按照上述方法操作, 根据标准曲线计算蛋白质质量分数。

2.2.3 糖醛酸定量测定 利用硫酸-咔唑法^[19]测定糖醛酸质量分数, 分别取质量浓度为 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06 mg/mL 的糖醛酸溶液 1 mL 于 25 mL 的具塞试管中, 冰浴下加入硫酸硼砂溶液 5 mL, 0.1% 咔唑溶液 0.2 mL, 充分混匀, 沸水浴条件下 30 min, 冷却至 26 °C, 在 530 nm 处测定吸光值。以糖醛酸质量浓度为横坐标, A 值为纵坐标, 绘制标准曲线, 取 0.04 mg/mL 多糖样品溶液 1 mL, 按照上述方法操作, 在 530 nm 处测定 A 值, 根据标准曲线计算糖醛酸质量分数。

2.2.4 防风多糖溶解性及定性分析 观察防风多糖的颜色、状态及在不同溶剂中的溶解情况, 并进行碘-碘化钾反应、三氯化铁、斐林试剂反应、Monish 反应。

2.2.5 紫外光谱分析 配制 1 mg/mL 的多糖样品溶液, 以蒸馏水为对照, 在 400~190 nm 内进行全波长扫描。

2.2.6 多糖的热稳定性 称取多糖样品 SPS0 和 SPS1 各 5 份, 每份 20 mg, 加蒸馏水 1 mL 溶解, 分别置于 40、60、80、100 °C 烘干, 定容至 10 mL, 用苯酚-硫酸法测定含糖量, 考察防风多糖的热稳定性。

2.3 防风多糖的结构特征

2.3.1 红外光谱 1 mg 干燥的样品加 100 mg 溴化钾在玛瑙钵中研磨均匀, 经压片机压成半透明薄片, 在 4 000~400 cm^{-1} 进行红外光谱扫描。

2.3.2 刚果红实验 刚果红可以与具有多股螺旋构象的多糖形成配合物, 配合物的最大吸收波长同刚果红比发生红移; NaOH 在一定浓度范围内, 配合物出现亚稳区^[20], 因此, 刚果红常被用来推断多糖是否具有螺旋结构。

配制浓度为 2 mg/mL 的多糖样品溶液 SPS0 和 SPS1, 80 $\mu\text{mol/L}$ 的刚果红溶液, 浓度分别为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mol/L 的 NaOH 溶液, 取 2 mL 的样品溶液加入 2 mL 刚果红溶液、1 mL NaOH 溶液, 混匀, 室温下静置 15 min, 于 600~400 nm 进行光谱扫描, 记录刚果红在不同浓度 NaOH 溶液中的最大吸收波长。以纯刚果红和 NaOH 溶液混合作为参照。

2.4 防风多糖的形貌特征

2.4.1 扫描电镜观察^[21] 用导电胶将少量多糖样品粘于样品台, 喷金后, 在高真空模式下观察样品表面形貌。

2.4.2 原子力显微镜 (AFM) 观察 AFM 是观测多糖微观结构最有效的方法之一, 可在纳米尺度范围内观察到防风多糖的分支结构, 为多糖的显微形貌特征观察和研究提供直观的信息。

将多糖样品配制成 100 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 磁力搅拌器搅拌 24 h, 取溶液体积的 1/2 稀释为 50 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 继续磁力搅拌 24 h, 用微量移液枪分别吸取 5 μL 滴在新解理的云母表面, 凉干后置于 AFM 上观察。图像均在 Tapping 模式下获得, 湿度为 50%~60%, 探针为 SiN_4 , 微悬臂长 200 μm , 力弹性常数 0.12 N/m^[22]。

3 结果与分析

3.1 防风多糖的分离纯化及纯度鉴定结果

SPS 经 DEAE-52 纤维素柱色谱蒸馏水, 0.05、0.1、0.2 mol/L 的 NaCl 洗脱后得到 4 个洗脱峰, 各部分所占比例分别为 49.1%、36.9%、7.7%、6.3%, 经蒸馏水和 0.05 mol/L NaCl 洗脱的 2 个组分较多, 因此选择这两部分进一步纯化。

经纤维素色谱得到的两种组分分别经过 Sephadex G-200 柱色谱分离, 蒸馏水洗脱, 收集单一的对峰, 将得到的两个防风多糖组分分别命名为 SPS0、SPS1。

SPS0 经两次乙醇沉淀后比旋度基本相同, $[\alpha]_D^{20}$ 105.3 $\pm$ 2; SPS1 经乙醇沉淀后的比旋度也基本相同, $[\alpha]_D^{20}$ 140.5 $\pm$ 3, 说明两多糖均为纯化的均一组分。

3.2 防风多糖的理化性质分析

3.2.1 总糖及蛋白、糖醛酸的定量测定结果 SPS0 和 SPS1 的总糖、蛋白及糖醛酸质量分数见表 1, 从表中可以看出 SPS1 的总糖质量分数高于 SPS0, 两者的蛋白质量分数均较低, SPS0 的糖醛酸质量分数较高, 属于酸性多糖。

3.2.2 防风多糖溶解性及定性分析 SPS0 和 SPS1 均为白色, SPS0 呈雪花状, SPS1 呈棉絮状, SPS0 较 SPS1 相比更易溶于水, 两者均难溶于乙醇、丙酮。

表 1 总糖及蛋白、糖醛酸的质量分数

Table 1 Content of total sugar, protein, and uronic acids

多糖样品	总糖 / %	蛋白质 / %	糖醛酸 / %
SPS0	86.61	0.214	12.07
SPS1	97.43	0.407	0.95

酮、乙醚、正丁醇等有机溶剂中。SPS0 和 SPS1 与斐林试剂反应为阳性, 与碘-碘化钾、三氯化铁、Monish 反应为阴性, 说明两者均含有还原糖, 为非淀粉多糖, 不含有酚类、单糖类物质。

3.2.3 紫外光谱分析 紫外光谱显示(图 1), SPS0 和 SPS1 在 200 nm 处有明显的多糖特征吸收峰存在, 在 260 nm 和 280 nm 处无吸收峰, 说明 SPS0 和 SPS1 不含核酸、色氨酸、酪氨酸以及苯丙氨酸。

3.2.4 多糖热稳定性分析 以室温样品糖质量分数为 100% 计, 经过不同温度烘干的样品糖质量分数见表 2。在 40 °C 条件下烘干, 对 SPS0 和 SPS1 的糖质量分数影响不大, 随着温度的增加, SPS0 的糖质量分数下降比较明显, 当温度达 100 °C 时是未处理样品糖质量分数的 64.28%; 而经过盐洗得到的多糖 SPS1 随着温度的升高, 糖质量分数有所降低, 但降低不及 SPS0 明显, 说明 SPS1 较 SPS0 有较强的耐热性。

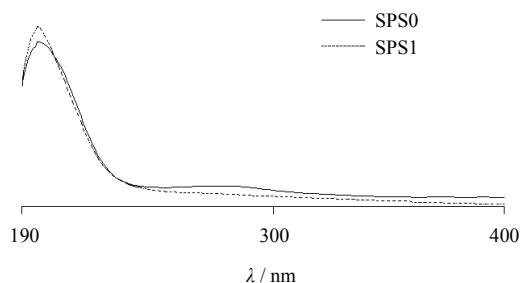


图 1 SPS 紫外光谱图

Fig. 1 UV spectrogram of SPS

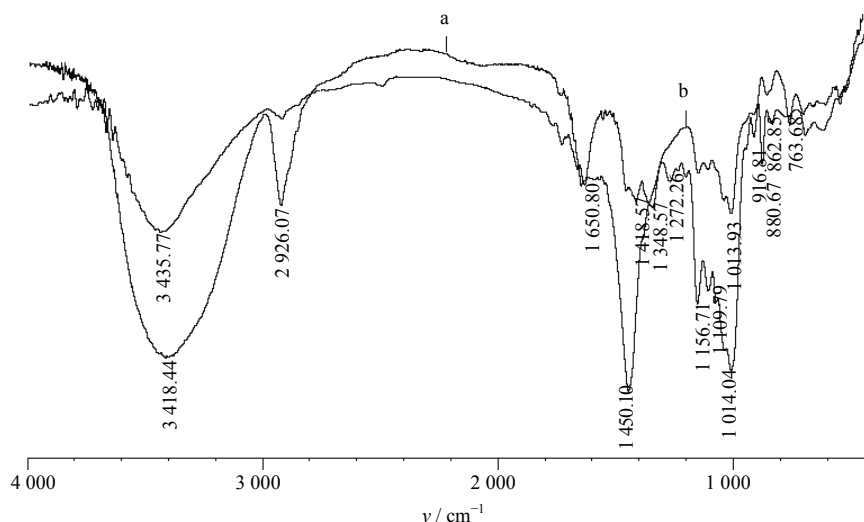


图 2 SPS 的红外光谱图

Fig. 2 FT-IR spectrogram of SPS

表 2 防风多糖热稳定性

Table 2 Thermal stability of SPS

多糖样品	质量分数 / %			
	40 °C	60 °C	80 °C	100 °C
SPS0	97.68	90.62	79.17	64.28
SPS1	96.52	89.83	85.75	84.41

3.3 防风多糖的结构特征分析

3.3.1 红外光谱分析 从红外光谱(图 2)中可以看出, SPS0 (a) 在 3 418.44 cm^{-1} 处强且宽的吸收峰是 O-H 伸缩振动引起的, 表明 SPS0 存在分子内氢键和分子间氢键。2 926.07 cm^{-1} 处的吸收峰是 $-\text{CH}_2$ -次甲基的 C-H 伸缩振动引起的; 1 650.80 cm^{-1} 处的吸收峰是 O-H 的弯曲振动所引起; 1 418.57 cm^{-1} 处的吸收峰是羧基 ($-\text{COOH}$) C-O 伸缩振动引起的; 1 348.57 cm^{-1} 处的吸收峰是 $-\text{COO}$ 的 C=O 对称伸缩振动引起的; 1 272.26 cm^{-1} 处的吸收峰是羧基 ($-\text{COOH}$) 的 O-H 变角振动引起的, 说明 SPS0 中含有 $-\text{COOH}$, 是一种酸性多糖。1 109.79 和 1 014.04 cm^{-1} 处的吸收峰是羟基 ($-\text{OH}$) 的变角振动引起的, 916.81 cm^{-1} 处吸收峰为 D-吡喃葡萄糖非对称伸缩振动所造成的 C-O-C 振动, 862.35 cm^{-1} 处的吸收峰是吡喃环的非对称环伸缩振动, 763.68 cm^{-1} 处的吸收峰为 D-吡喃葡萄糖对称伸缩振动。SPS1 (b) 在 3 435.77 cm^{-1} 处存在的宽吸收峰是多糖分子间或分子内氢键的 O-H 伸缩振动, 1 450.10 cm^{-1} 处的吸收峰是 C-H 变角振动, 1 013.93 cm^{-1} 处的吸收峰是羟

基(-OH)的变角振动引起的, 880.67 cm^{-1} 处的特征吸收峰是 β -D-半乳糖或者 β -D-甘露吡喃糖的 C-H 的变角振动所引起的, 表明该多糖组分含有 β -D-吡喃糖环, 分子以 β -糖苷键连接。

3.3.2 防风多糖的构象分析 从图 3 可以看出, SPS0 与刚果红发生络合作用, 在 NaOH 浓度 0~0.6 mol/L 内表现为最大吸收波长的特征变化, 当 NaOH 浓度为 0.7 mol/L 后, 最大吸收波长下降, 这表明在一定碱的浓度范围内, SPS0 是有序的三股螺旋, 但在强碱条件下, 三股螺旋解体, 不能与刚果红形成络合物^[23]。随着 NaOH 浓度的增加, SPS1 的最大吸收波长相应减小, 但与刚果红相比, 减小趋势缓慢, 没有表现出三股螺旋结构与刚果红络合后所表现出的变化趋势, 可以推断出 SPS1 不具有三股螺旋结构。

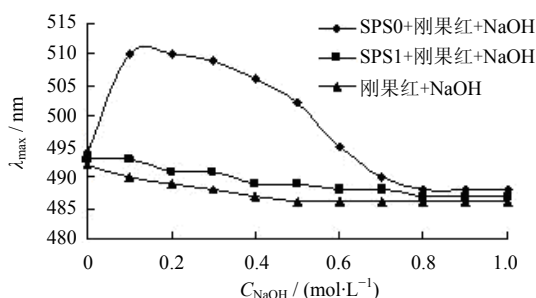


图3 多糖刚果红复合物的最大吸收波长变化

Fig. 3 Maximum absorption wavelength of Congo-red compound

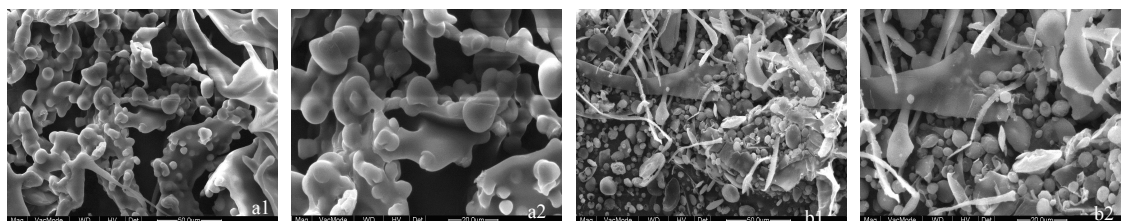


图4 SPS 扫描电镜照片

Fig. 4 ESEM images of SPS

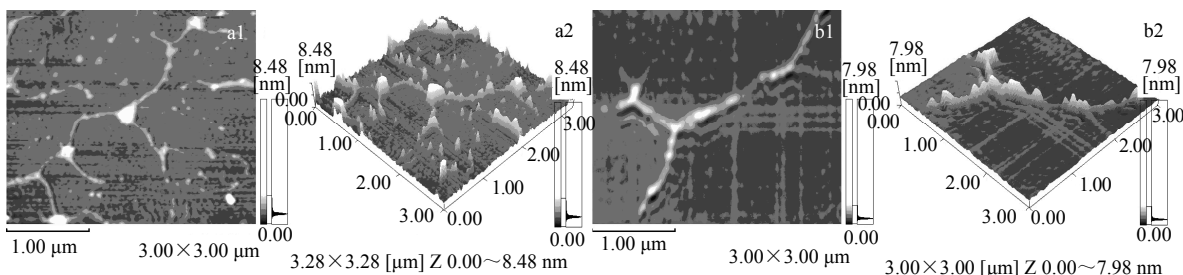


图5 SPS AFM 图像

Fig. 5 AFM images of SPS

3.4 防风多糖的形貌特征分析

3.4.1 防风多糖的环境扫描电镜(ESEM)观察结果 SPS0 (图 4-a1) 的表面形貌圆滑工整, 结构较为规则, 放大到 2 500 倍后 (图 4-a2) 的多糖具有球状边缘相连接的链状结构。图 4-b1 中可见, SPS1 的表面较 SPS0 粗糙, 呈现出不规则的纤维丝状与颗粒状的堆积, 放大到 2 500 倍后 (图 4-b2) 的多糖呈片状, 仍然为无规则形态。扫描电镜为防风多糖在微米尺度的显微形貌特征提供了直观的信息, 但未能揭示其纳米尺度的特征, 需进一步研究。

3.4.2 防风多糖的 AFM 观察结果 用质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的多糖溶液制得的云母片观察到糖链呈杂乱无规则状, 不能清晰地观察到多糖的微观形貌, 这可能是由于多糖样品浓度过大或搅拌不够均匀彻底, 过多羟基使分子间的缔合作用增加, 链状结构分布过于密集, 将多糖溶液稀释为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后, 可以观察到链状细节。

图 5 中 a 和 b 分别为 SPS0、SPS1 在质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 AFM 观测图, 扫描范围在 $3.00 \mu\text{m} \times 3.00 \mu\text{m}$, 其中 a1、b1 是平面图像, a2、b2 是三维图像。从图 5-a1 可以看出 SPS0 呈长链状形态, 有分支结构。经软件测量, 其单链高度在 0.45~1.78 nm, 宽度在 37~94 nm, 宽度可能是由于探针的加宽效应或是云母作用导致。从图 5-b1 可以看出 SPS1 同样呈链状形态, 但分支较小。经软件测量, 其单链高度在 0.57~1.67 nm, 宽度在 47~112 nm 内。

4 讨论

采用超声法提取防风多糖,经 DEAE-52 分离纯化得到水洗和 0.05 mol/L NaOH 洗组分,通过 SephadexG-200 凝胶柱纯化后,得到 SPS0 和 SPS1。

研究表明 SPS0 和 SPS1 为均一多糖,SPS0 较 SPS1 更易溶于水,两者的蛋白量较低;SPS0,糖醛酸量为 12.07%,为酸性多糖;在高温条件下,SPS1 比 SPS0 稳定。

红外光谱分析表明 SPS0 含有-COOH,是一种含有吡喃环的酸性多糖,SPS1 中含有 β -D-吡喃葡萄糖环。刚果红实验表明 SPS0 在水溶液中具有三股螺旋结构,而 SPS1 不具有三股螺旋结构。

在微米尺度范围内,ESEM 观测结果表明 SPS0 的表面形貌圆滑工整,在纳米尺度范围内,AFM 观测结果表明 SPS0 为长链状多分支结构;同理,在微米尺度范围内,ESEM 观测结果表明 SPS1 的表面较 SPS0 粗糙,在纳米尺度范围内,AFM 观测结果表明 SPS1 呈长链状形态,具有少量分支结构。通过对防风多糖的显微形貌特征观察和研究,为防风多糖结构的研究提供了直观的信息,具有重要的生物学意义。

参考文献

- [1] 王成章,张崇禧. 防风国内外研究进展 [J]. 人参研究, 2008(1): 35-41.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [3] 张贵君,张艳波,李 影. 我国生药防风近 10 年的研究概况 [J]. 时珍国医国药, 1997, 8(1): 73-75.
- [4] 马 红. 防风近年研究概述 [J]. 中草药, 1994, 25(8): 438-440.
- [5] 王建华. 防风挥发油的化学成分研究 [J]. 药学通报, 1987, 22(6): 335-338.
- [6] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [7] Shimizu N, Tomoda M, Gonda R, *et al.* The major pectic arabinogalactan having activity on the reticuloendothelial system from the roots and rhizomes of *Saposhnikovia divaricata* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(5): 1329-1332.
- [8] 李 江. 防风的化学成分和药理研究概况 [J]. 北京中医, 1998(5): 47-48.
- [9] 王松柏. 防风多糖的分离纯化及结构分析 [D]. 太原: 山西大学, 2006.
- [10] 张泽庆, 张 静, 张宏艳, 等. 硫酸酯化防风多糖的制备及其抗氧化作用研究 [J]. 中草药, 2009, 40(8): 1208-1211.
- [11] 张泽庆, 张 静. 防风多糖提取工艺的研究 [J]. 陕西农业科学, 2007(3): 10-13.
- [12] 张泽庆, 田应娟, 张 静. 防风多糖的抗氧化活性研究 [J]. 中药材, 2008, 31(2): 268-272.
- [13] 杨 淳, 田维毅. 防风多糖对巨噬细胞分泌细胞因子的影响 [J]. 贵阳中医学院学报, 2011, 33(4): 31-33.
- [14] 李 俊, 黄锡山, 张艳军, 等. 超声波法提取罗汉果多糖的工艺研究 [J]. 中药材, 2007, 30(4): 475-477.
- [15] Toma M, Vinatoru M, Paniwnyk L, *et al.* Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction [J]. *Ultrason Sonochem*, 2001, 8(2): 137-142.
- [16] 张泽庆, 张 静, 白海群. 提取防风多糖的工艺优化 [J]. 生物加工过程, 2008, 6(3): 34-38.
- [17] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 第 2 版. 杭州: 浙江大学出版社, 1999.
- [18] 杨建雄. 生物化学与分子生物学实验技术教程 [M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 2009.
- [19] 张泽庆. 防风多糖的提纯、结构分析及生物活性研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2008.
- [20] 滕利荣, 洪水声, 孟庆繁, 等. 普鲁兰多糖的粘度性质研究 [J]. 食品科学, 2003, 24(10): 32-35.
- [21] 林梦感, 杨义芳, 许海燕. 黄芪多糖 MAPS-5 的化学结构及其体外淋巴细胞增殖活性 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1865-1868.
- [22] 孙润广, 张 静. 甘草多糖螺旋结构的原子力显微镜研究 [J]. 化学学报, 2006, 64(24): 2467-2472.
- [23] 白日霞. 红海藻多糖的提取和结构研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(4): 45-48.