

文章编号:1001-6880(2016)9-1427-07

羧甲基化黄芪多糖的制备及其保湿性能

孙志涛¹,陈芝飞¹,郝 辉¹,蔡莉莉¹,侯 佩²,杨 峰³,陈顺辉³,芦昶彤^{1*}¹河南中烟工业有限责任公司技术中心,郑州 450000;²郑州轻工业学院食品与生物工程学院,郑州 450002; ³河南卷烟工业烟草薄片有限公司,许昌 461100

摘要:采用浸提法,从膜荚黄芪(*Astragalus membranaceus*)中提取、纯化得到一种黄芪多糖(*Astragalus Polysaccharide*,简称APS),并制备其羧甲基化产物(carboxymethylated product, APS-C);以羧甲基化取代度(Degree of Substitution, DS)为指标,采用正交试验优化了黄芪多糖的羧甲基化工艺条件;以烟丝干基含水率为指标,对APS、APS-C、丙二醇和甘油的物理保湿性能进行了测试,并考察了其对卷烟感官舒适度的影响。结果表明:1)羧甲基化的最佳工艺条件:反应温度60℃,反应时间4 h,20% NaOH溶液用量350 mL,氯乙酸用量65 g,在此条件下取代度大于1.5;2)APS-C的保湿性能明显优于丙二醇和甘油,APS的保湿性能不如APS-C,但优于丙二醇和甘油;3)APS-C可使卷烟烟气圆润、柔和,减少刺激性和杂气,具有提升口感舒适性的作用。

关键词:黄芪;黄芪多糖;羧甲基化;卷烟;保湿性能

中图分类号:G804.7

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.9.015

Preparation of Carboxymethyl *Astragalus* Polysaccharide and its Moisture Retentivity

SUN Zhi-tao¹, CHEN Zhi-fei¹, HAO Hui¹, CAI Li-li¹, HOU Pei², YANG Feng³, CHEN Shun-hui³, LU Chang-tong^{1*}¹Technology Center, China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China;²School of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China;³Henan Cigarette Industry Tobacco Sheet Co., Ltd, Xuchang 461100, China

Abstract: Using water extraction method, an *Astragalus* polysaccharide (abbreviated APS) was extracted and purified from *Astragalus membranaceus*, and its carboxymethylated product was prepared. Using the carboxymethylated degree of substitution (DS) as an indicator, the carboxymethyl conditions of APS were optimized by orthogonal experiment. Using the moisture content (d. b.) of tobacco shred as an indicator, the physical moisture retention properties of APS, APS-C, propylene glycol (PG) and glycerol were measured. The effect of these compounds on sensory comfort of cigarette was investigated. The results showed that: 1) the optimal carboxymethylation condition was 60℃ of reaction temperature, 4 h of reaction time, 350 mL dosage of 20% NaOH solution and 65 g of chloroacetic acid, and the DS under these conditions was higher than 1.5; 2) the physical moisture retention property of APS-C and APS was significantly superior to PG and glycerol, but the physical moisture retention property of APS was inferior to APS-C, but superior to PG and glycerol; 3) APS-C can make mainstream cigarette smoke mellow and full, reduce irritation and miscellaneous odor, and have a role to enhance on cigarette sensory comfort.

Key words: *Astragalus membranaceus*; *Astragalus* polysaccharide; carboxymethylation; cigarettes; moisture retention property

目前,烟草行业使用的保湿剂主要是丙二醇和甘油等多元醇类化合物,使用此类保湿剂的主要目的是维持烟丝在加工过程的水分,以提高烟丝的耐加工性能,减少造碎,但此类保湿剂对于成品卷烟含水率的维持以及抽吸品质改善效果并不理想^[1,2]。研

究表明多糖因具有良好成膜特性^[3],其分子中含有大量亲水基团,因此,多糖具有较好的保湿作用^[4-6]。近年来,国内报道了柚子皮多糖^[7]、仙人掌多糖^[8]、铜藻多糖^[9]以及螺旋藻多糖^[10]等天然植物多糖作为保湿剂的应用研究,产品应用结果表明其物理保湿性能均优于传统保湿剂。为使进一步提升多糖的保湿性能,程艳等人通过化学手段对魔芋多糖进行接枝改性,合成出保湿效果更佳的丙烯酸化魔芋多糖^[11]。

黄芪(*Astragalus Radix*),又名黄耆,为豆科(Leguminosae)黄芪属(*Astragalus L.*)膜荚黄芪(*Astragalus membranaceus* Bge.)或蒙古黄芪(*Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* Hsiao)的干燥根^[12,13];目前,对黄芪多糖的研究主要集中在药用功能、主治和作用机理方面^[14-16],而国内外对APS及其衍生化(特别是羧甲基化)修饰多糖的保润特性则未见报道。为验证黄芪多糖和羧甲基化黄芪多糖(APS-C)作为保润剂在卷烟中的应用效果,本文通过提取纯化获得黄芪多糖并制备其羧甲基化产物,利用正交试验优化了黄芪多糖的羧甲基化工艺条件,并考察了黄芪多糖和羧甲基化黄芪多糖对卷烟的保润性能,旨在为黄芪多糖及其衍生物在卷烟中的应用奠定理论基础并提供数据参考。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

膜荚黄芪根切片(河南省中医药研究院提供);烟丝样品由河南中烟工业有限责任公司提供。

无水乙醇、正丁醇、氢氧化钠、异丙醇(AR,天津市凯通化学试剂有限公司);盐酸(AR,烟台市双双化工有限公司);氯化钠、浓硫酸(AR,中国宿州化学试剂有限公司);氯仿、苯酚、氯乙酸、甘油、丙二醇(AR,国药集团化学试剂有限公司);Sepharose CL-6B凝胶(上海索莱宝生物科技有限公司),透析袋(分子量8-14 k,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 主要仪器与设备

BS200SWEI型电子天平(感量:0.0001 g,北京赛多利斯天平有限公司);FC-95A馏分自动收集器(上海青浦沪西仪器厂);R-215型旋转蒸发仪、V-700真空泵(瑞士BUCHI公司);DLSB-20/60 °C低温冷却循环泵(上海美强仪器设备有限公司);KDM型调温电热套(山东华鲁电热仪器有限公司);Thermo Nicolet Avatar370红外光谱仪(美国Nicolet公司);Cijector香精注射机(德国Burghart公司);EZ550Q冷冻干燥机(美国FTS Systems公司);TGL-16C型离心机(上海安亭科学仪器厂);Bruker Avance AMX-400型核磁共振谱仪(美国Bruker公司)。

2 实验方法

2.1 黄芪多糖的提取^[17]

首先将黄芪在60 °C下烘干至恒重,粉碎并过

50目筛。称取50 g黄芪粗粉,加入1000 mL蒸馏水,90 °C浸提2 h,重复操作2次,冷却至室温后离心(3000 rpm,10 min)。合并上清液并减压浓缩至原体积的25%,加入Sevag试剂($V_{\text{氯仿}}:V_{\text{正丁醇}}=4:1$)脱蛋白(每次按水溶液与Sevag试剂体积比为4:1加入),重复操作多次至两相间无明显蛋白沉淀为止。收集上清液,然后流水透析48 h,2倍体积95%乙醇沉淀,沉淀过夜,离心(3000 rpm,10 min)收集沉淀,真空干燥后分别使用乙醇、丙酮和乙醚抽洗。蒸馏水溶解、冷冻干燥后,获得黄芪粗多糖。

2.2 黄芪多糖的纯化^[18]

用去离子水充分溶涨Sepharose CL-6B凝胶,然后水洗多次,用0.2 mol/L NaCl缓冲液冲洗后抽真空直至无气泡为止。然后装柱(3.5 cm×50 cm),再用4倍柱体积的0.2 mol/L NaCl缓冲液平衡后备用。

称取黄芪粗多糖100 mg,用10 mL 0.2 mol/L NaCl缓冲液溶解,离心,上清液过0.45 μm的水膜,沿管壁缓缓加入5 mL多糖溶液,用0.2 mol/L NaCl缓冲液洗脱,流速设定为0.6 mL/min,馏分自动收集器收集,150滴/管。每管取1 mL用硫酸-苯酚法检测多糖(490 nm),用紫外-可见分光光度计直接检测蛋白。收集主要馏分,经透析、冷冻干燥得白色蓬松状黄芪多糖(APS)。

2.3 羧甲基化黄芪多糖的制备

目前国内关于羧甲基化多糖合成方法报道较多,而对黄芪多糖羧甲基化修饰则未见报道,本文对文献中的方法进行调整^[5,19],制备了羧甲基化黄芪多糖(APS-C)。

称取5 g精制后的APS于三角瓶中,加入100 mL异丙醇搅拌,搅拌下缓慢加入20%氢氧化钠溶液350 mL,室温下碱化处理1 h。将60 g氯乙酸溶于400 mL异丙醇,边搅拌边缓慢滴加至反应液中,滴加完毕后升温至60 °C反应4 h。反应结束后,倒出上层醇液,水相中加入4倍体积的95%乙醇沉淀,再用少量水溶解,10%盐酸溶液将反应体系pH调节至中性后再次加入4倍体积的95%乙醇沉淀,随后再加少量水溶解,经流水透析、冷冻干燥后得羧甲基化黄芪多糖(APS-C)。以D₂O为溶液,采用核磁共振谱仪对目标产物进行结构表征,结果表明,化学位移98.138~102.920 ppm为构成多糖单糖异头碳,57.864~76.964 ppm为糖环上其他碳原子,177.829 ppm为多糖上羧基碳的特征峰,其他位置

无明显吸收峰,表明实现了黄芪多糖的羧甲基化修饰。

以羧甲基化黄芪多糖取代度(Degree of Substitution, DS)为指标,固定APS用量为5 g,采用四因

素四水平的L₁₆(4⁵)正交试验考察了20%NaOH溶液用量、氯乙酸用量、反应温度和反应时间的影响,优化工艺参数,各因素水平见表1。

表1 羧甲基化反应正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment for carboxymethylation

水平 Level	因素 Factor			
	(A) 氯乙酸用量 Dosage of chloroacetic acid (g)	(B) 反应温度 Reaction temperature (°C)	(C) 20% NaOH 用量 Dosage of 20% NaOH (mL)	(D) 反应时间 Reaction time (h)
1	40	40	200	4
2	50	50	250	5
3	60	60	300	6
4	70	70	350	7

2.4 取代度的测定

精密称取0.05 g APS-C并溶于20 mL 0.1 mol/L标准HCl溶液中,置搅拌器上完全溶解,用0.1 mol/L标准NaOH溶液滴定,分别记下pH 2.1和pH 4.3时所消耗的NaOH溶液体积V₁、V₂,取代度计算如式(1)。

$$DS = \frac{0.203A}{1 - 0.058A} \quad \text{其中, } A = \frac{V_2 - V_1}{m} \times C \quad (1)$$

式中:DS为取代度;m为羧甲基化多糖样品质量(g);C为NaOH标准溶液的浓度(mol/L)。

2.5 红外光谱分析

采用KBr压片法^[20]。取APS和APS-C各0.5~2 mg,研细后,加入100~200 mg干燥KBr粉末,研细,在7~10 T/cm²压力下,压成透明薄片在4000~400 cm⁻¹区间内用红外波谱仪扫描。

2.6 核磁共振碳谱分析

以D₂O为溶液,采用美国Bruker公司Bruker Avance AMX-400型核磁共振谱仪分别对黄芪多糖和羧甲基化黄芪多糖进行结构表征。

2.7 烟丝保湿性能测试

为考察APS和APS-C的物理保湿性能,采用差量法对其进行烟丝含水率测试^[21]。首先将空白烟丝放置在温度(22±1)℃,相对湿度(60±2)%条件下平衡48 h,然后按0.5%用量将APS、APS-C、丙二醇、甘油和蒸馏水添加到五份烟丝中,并将样品烟丝放置在温度(22±1)℃,相对湿度(60±2)%条件下平衡48 h,然后分别将样品烟丝放置在温度(22±1)℃和相对湿度(40±2)%,温度(22±1)℃和相对湿度(70±2)%两种环境下考察样品烟丝

水分在解湿和吸湿过程变化趋势,考察其物理保湿性能,每组样品平行测试3次取平均值。

2.8 感官作用评价

将APS-C分别配成质量分数为1%水溶液。分别取0.5 g、1.0 g、5.0 g、10.0 g和20.0 g的APS-C水溶液;然后,分别均匀喷加到五份未加香加料的100 g空白卷烟烟丝中,卷制,各挑选出100支同一重量卷烟,置于温度(22±1)℃、湿度(60±2)%的恒温恒湿箱中平衡48 h,由专业评吸小组进行感官对比评吸。对照样为空白卷烟,对照样同样在相同温湿度条件下平衡48 h。

3 结果与讨论

3.1 羧甲基化黄芪多糖正交试验结果

在单因素试验的基础上,以取代度为指标,采用四因素四水平正交试验对羧甲基化黄芪多糖合成工艺进行了优化,每次试验平行3次取平均值,正交试验结果和方差分析分别见表2和表3。

由表2可知,极差大小顺序为A>B>C>D,可知氯乙酸用量是影响羧甲基化取代度的主要因素,其次是反应温度和20%NaOH溶液用量,反应时间对取代度的影响相对较小,由正交试验结果得到最佳工艺组合为A₃B₃C₄D₂,即:氯乙酸用量为60 g,反应温度60℃,NaOH溶液用量350 mL,反应时间5 h。由表3方差分析可知,氯乙酸用量和反应温度极显著,NaOH溶液用量对取代度具有显著性,反应时间为不显著因素。

由于最优水平组合A₃B₃C₄D₂在表2正交试验结果中并未显示,因此对其进行验证性试验,以确定

表 2 黄芪多糖羧甲基化正交试验结果与分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal experiment for carboxymethylation of APS

试验号 No.	A	B	C	D	E/空列 E/vacant column	取代度 Degree of substitution (DS/%)
1	1	1	1	1	1	0.94
2	1	2	2	2	2	1.00
3	1	3	3	3	3	1.06
4	1	4	4	4	4	1.05
5	2	1	2	3	4	1.07
6	2	2	1	4	3	1.10
7	2	3	4	1	2	1.21
8	2	4	3	2	1	1.18
9	3	1	3	4	2	1.19
10	3	2	4	3	1	1.23
11	3	3	1	2	4	1.27
12	3	4	2	1	3	1.22
13	4	1	4	2	3	0.99
14	4	2	3	1	4	1.03
15	4	3	2	4	1	1.06
16	4	4	1	3	2	0.97
K1j	1.012	1.047	1.070	1.100		
K2j	1.140	1.090	1.087	1.110		
K3j	1.228	1.150	1.115	1.083		
K4j	1.012	1.105	1.120	1.100		
R	0.216	0.103	0.05	0.027		

表 3 黄芪多糖羧甲基化正交试验方差分析表

Table 3 Variance analysis of orthogonal experiment for carboxymethylation of APS

方差来源 Source of variation	偏差平方和 The sum of variances	自由度 Degree of freedom	方差 Variance	F 值 F value	F _α	统计显著性 Statistical significance
A	0.133	3	0.0443	133	F0.05(3,3) = 9.28	* *
B	0.021	3	0.007	21	F0.01(3,3) = 29.5	* *
C	0.007	3	0.0023	7		*
D	0.002	3	0.0007	2		
误差 e	0.001	3	0.0003			
总和	0.164	15				

其合理性。称取 APS 5 g, 在氯乙酸用量为 60 g, 反应温度 60 °C, NaOH 溶液用量 350 mL, 反应时间 5 h 的最优水平组合下进行试验, 并重复 4 次, 分别测定其取代度。按照上述的最佳工艺条件进行的重复性试验结果为: 1.59、1.67、1.63、1.62, 取代度均高于

其他组合, 表明此最优水平组合条件合理、可行。

3.2 红外光谱分析

黄芪多糖(APS)和羧甲基化黄芪多糖(APS-C)的红外光谱见图 1, 图中黄芪多糖具有多糖类的红外特征吸收峰: 3417.88 cm⁻¹ 为 O-H 的伸缩振动吸

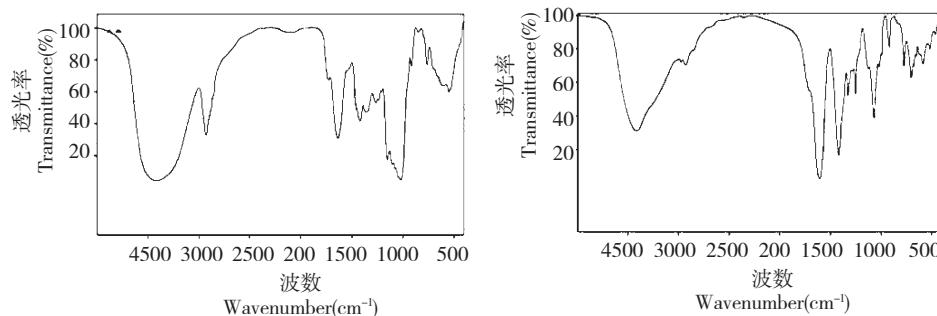


图1 黄芪多糖(A)和羧甲基化黄芪多糖(B)的红外光谱

Fig. 1 IR spectra of *Astragalus* polysaccharide (A) and carboxymethyl *Astragalus* polysaccharide (B)

收峰,2925.97 cm⁻¹为C-H的伸缩振动吸收峰,1638.01 cm⁻¹为C-O伸缩振动吸收峰,1153.11 cm⁻¹和1018.88 cm⁻¹处有吸收峰,说明存在糖环C-O-C的特征骨架振动。羧甲基化黄芪多糖(APS-C)的红外光谱图中,3417.71 cm⁻¹为O-H的伸缩振动吸收峰,2928.03 cm⁻¹为C-H的伸缩振动吸收峰,1066.85 cm⁻¹为糖环中C-O-C的伸缩振动吸收峰,说明APS-C具有多糖类物质的特征吸收峰;由于多糖分子间和分子内氢键的影响,羰基中C=O的非对称

振动吸收峰向波数略低的方向移动,即1604.43 cm⁻¹,1416.05 cm⁻¹和1326.60 cm⁻¹为-COOCH₃的C-H变角振动吸收峰、羰基的C=O的对称伸缩振动吸收峰,由此表明,该反应在不改变原多糖基本机构的前提下成功的引入了-CH₂COO-基团,实现了APS的羧甲基化修饰。

3.3 核磁共振碳谱分析

黄芪多糖和羧甲基化黄芪多糖的¹³C NMR图谱见图2。

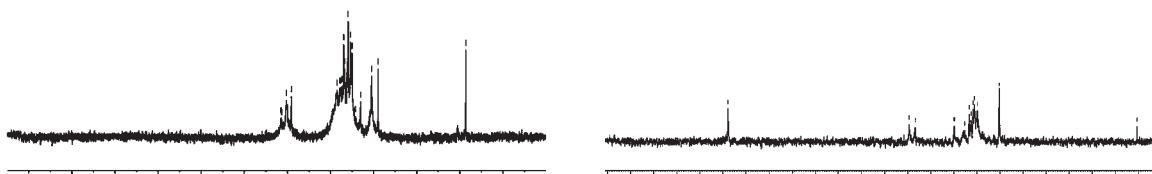


图2 黄芪多糖(A)和羧甲基化黄芪多糖(B)的¹³C NMR谱图

Fig. 2 ¹³C NMR spectra of *Astragalus* polysaccharide (A) and carboxymethyl *Astragalus* polysaccharide (B)

根据图2中黄芪多糖碳原子所处化学位移,可大致将其进行归属:98.138~102.920 ppm为构成黄芪多糖的单糖异头碳,57.864~76.964 ppm为糖环上其他碳原子,其他位置无明显吸收峰,表明该¹³C NMR与黄芪多糖的结构吻合。对照黄芪多糖的核磁共振碳谱,羧甲基化黄芪多糖化学位移为177.829 ppm为多糖上羧基碳的特征峰,其他吸收峰均向低场迁移,表明实现了黄芪多糖的羧甲基化修饰。

3.4 物理保润性能对比

按0.5%用量将黄芪多糖(APS)、羧甲基化黄芪多糖(APS-C)、丙二醇、甘油和蒸馏水分别添加到五份烟丝中,通过测试五份样品烟丝在温度(22±1)℃、相对湿度(40±2)%和温度(22±1)℃、相对湿度(70±2)%两种环境条件下的解湿和吸湿过程中含水率变化,对比其物理保润性能,解湿和吸湿过

程的含水率变化趋势分别见图3和图4。

化合物APS-C、甘油、APS和丙二醇的物理保润性能结果见图3。由图可知,解湿过程中,添加APS-C、APS、丙二醇和甘油的烟丝与添加蒸馏水空白烟丝相比,水分散失速率相对较慢;五份样品烟丝含水率由大到小为APS-C>APS>甘油>丙二醇>蒸馏水,其中APS-C的保湿性能最好,其次是APS,最后是甘油和丙二醇,APS-C的保湿性能优于甘油和丙二醇;另外,在时间点为72 h时,经双样本T检验,添加APS-C与空白差异极显著;添加APS-C与甘油极显著,说明APS-C的保湿性能最好。这是由于APS-C和APS含有大量羟基以及空间网状结构可束缚水分的散失,提高了烟丝的物理保润性能;APS-C分子结构中含有的羧甲基具有比羟基更强的氢键作用,拥有更好的持水效果,因此APS经羧甲

基化修饰后,物理保润性能得到进一步提升。

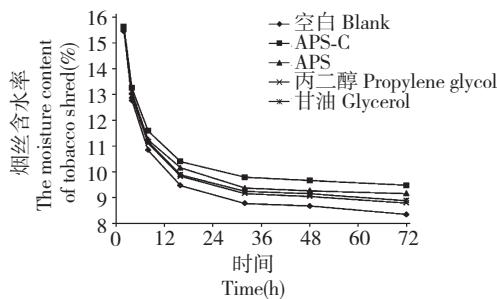


图 3 五组样品烟丝解湿过程含水率变化图

Fig. 3 The moisture content variation in the course of the desorption equilibrium

由图 4 可知,在吸湿过程中,五份样品烟丝含水率呈现上升趋势;其中 0~32 h,五份样品烟丝含水率上升速率较快;32~72 h,五份样品烟丝上升速率较缓慢。在五份烟丝吸湿过程中,添加 APS-C、APS、丙二醇和甘油的烟丝含水率均大于添加蒸馏水的烟丝含水率;另外,在时间点为 72 h 时,经双样本 T 检验,添加 APS-C、APS、丙二醇和甘油的样品烟丝含水率差别不显著。说明这四种保润剂均无防潮效果,且四者含水率差异较小,这是由于四种保润

化合物所含有的亲水基团羟基或羧基容易与水形成氢键而易于吸收环境中的水分。

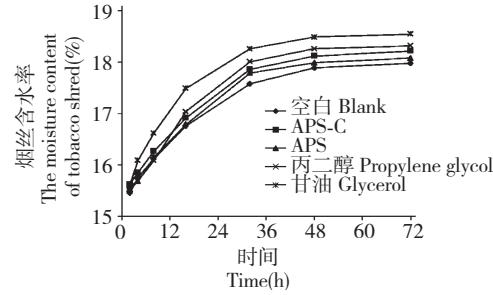


图 4 五组样品烟丝吸湿过程含水率变化图

Fig. 4 The moisture content variation in the course of the absorption equilibrium

3.5 感官作用评价

评吸结果(表 4)显示,APS-C 对卷烟感官的主要作用为使烟气变得圆润、柔和,改善口感舒适性,降低刺激性和杂气。当 APS-C 用量较小时,其对卷烟作用不太明显;当其用量超过 1‰ 时,则呈现尖刺感增加且浓度略微降低;当其用量为 1‰ 时,吸食品质最好。因此,在 100 g 烟丝中添加 0.1 g APS-C 时效果最佳,即最适宜用量为 1‰。

表 4 APS-C 的加香评吸结果

Table Flavored smoking results of APS-C

APS-C 添加量 Adding amount of APS-C (‰)	评吸结果 Smoking results
0.05	烟气略变柔和,口感舒适性略有提升 Smoke slightly softening, taste comfort slightly ascending
0.10	烟气略变圆润、柔和,口感舒适性略有提升,杂气略降低 Smoke slightly mellow and full, taste comfort slightly ascending, miscellaneous gas slightly lower
0.50	烟气明显变得圆润、柔和,口感舒适性略有提升,杂气和刺激性略降低 Smoke obviously mellow and full, taste comfort slightly ascending, miscellaneous gas and irritation slightly lower
1.00	烟气明显变得圆润、柔和,口感舒适性提升,杂气和刺激性明显减少 Smoke obviously mellow and full, taste comfort ascending, miscellaneous gas and irritation significantly decreased
2.00	烟气明显变得圆润、柔和,口感舒适性提升,杂气明显减少,但尖刺感略有增加,浓度略有降低 Smoke obviously mellow and full, taste comfort ascending, miscellaneous gas significantly decreased, but irritation slightly increased

4 结论

以黄芪为原料,提取了一种植物多糖,通过改性制备了一种羧甲基化多糖衍生物;通过添加 APS、APS-C 以及两种传统保润剂(丙二醇和甘油),对其烟丝含水率进行测定。研究结果表明:在低湿条件下(40%),添加 APS-C 的烟丝保湿能力明显强于甘油和丙二醇等传统保润剂,添加 APS 的烟丝保湿能

力略差于甘油,但优于丙二醇;在高湿条件下(70%),添加 APS-C、APS、丙二醇和甘油的样品烟丝水分增加差异并不明显,但四者烟丝含水率均高于添加蒸馏水样品烟丝;APS-C 的保湿性能具有明显优势,但防潮性能与甘油、丙二醇差别不大,有待进一步提升。另外,添加 APS-C 不仅可使烟气圆润、柔和,而且可减少杂气和降低刺激性以及提升口感舒适性,因此,APS-C 具有较好的感官保润效果。

参考文献

- 1 Zhang L(张丽),Zhang XH(张相辉),Xu LX(徐丽霞),et al. Effect of humectant on moisture retention of cigarette. *J Zhengzhou Univ Light Ind (Nat Sci)*(郑州轻工业学院学报,自科版),2012,27(5):38-58.
- 2 Yi JM(易锦满),Wen J(文俊),Yang Q(杨庆). Characteristic Comparison between several Humectants. *Tobacco Sci Tech*(烟草科技),2006,4:9-12.
- 3 Zhao YN(赵亚楠),He CC(何翠婵),Lv R(律冉),et al. Advances of study on film-forming performances of chemical modified Konjac Glucomannan. *Food Res Dev*(食品研究与开发),2011,32:187-190.
- 4 Shen LH(申利红),Wang JS(王建森),Li Y(李雅),et al. Research and application of plant polysaccharide. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报),2011,27:349-352.
- 5 Wu XQ(吴学谦),He L(贺亮),Cheng JW(程俊文),et al. Chemical modification and structure characterization of lentinan. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2009,21:934-938.
- 6 Huang XY(黄小燕),Kong XF(孔祥峰),Wang DY(王德云),et al. Research progress on sulfating modification of polysaccharides and sulfated polysaccharides. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2007,19:328-332.
- 7 Yang J(杨君),Huang FF(黄芳芳),Qin MP(秦敏朴),et al. Polysaccharide isolated from *Ulva fasciata* by ultrafiltration and its application in moisture retention. *J Yunnan Agric Univ*(云南农业大学学报),2015,30(1):58-63.
- 8 Liu Y(刘洋),Liu S(刘珊),Hu J(胡军),et al. Extraction of Cactus polysaccharide and its application in cigarette. *Tobacco Sci Tech*(烟草科技),2010,10:8-11.
- 9 Yang J(杨君),Huang FF(黄芳芳),Ye CF(叶超凡),et al. Optimization of conditions for Sargassum horned polysaccharides extraction and its moisture retentivity. *Tobacco Sci Tech*(烟草科技),2013,4:37-41.
- 10 Pang XP(庞秀枰),He ZD(何忠东),Chen ZG(陈智刚),et al. Application of spirulina polysaccharide in moisturizing lotion. *China Surfactant Deterg Cosmet*(日用化学工业),2013,43(1):59-63.
- 11 Cheng Y(程艳),Yan H(严恒),Cai B(蔡冰),et al. Application of KSAP in moisture retention of tobacco. *J Anhui Agric Univ*(安徽农业大学学报),2011,38:146-150.
- 12 He YQ(何业祺). *Prascursores Florae Astragalum Sinensis*(1). *Bull Bot Lab North-East Forest Inst*(东北林学院植物研究室汇刊),1980,8:47-84.
- 13 Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*(中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I,283-284.
- 14 He WJ(何文涓),Yuan ZJ(袁志坚),He XS(何晓升). Research progress on pharmacological effects of *Astragalus polysaccharide*. *Chin J Biochem Pharm*(中国生化药物杂志),2012,33:692-694.
- 15 Yu KZ,Liu J,Guo BL,et al. Microscopic research on a multi-source traditional Chinese medicine, *Astragali Radix*. *J Nat Med*,2014,68:340-350.
- 16 Li X,Dong X,Shuai M,et al. Simultaneous separation and purification of calycosin and formononetin from crude extract of *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongolicus* (Bge.) using high-speed counter-current chromatography. *J Anal Chem*,2015,70:92-97.
- 17 Xu QM(徐青梅). Study of *astragalus polysaccharides* extraction technology. *Appl Chem Ind*(应用化工),2012,41:311-313.
- 18 Wu L(吴丽),Liu TT(刘婷婷),Liang JF(梁剑锋),et al. Separation and purification of *Astragalus Polysaccharides*. *Food Drug*(食品与药品),2007,9(4):62-64.
- 19 Zhang LH(张丽华),Song X(宋逍),Zhao PK(赵鹏款),et al. Study on synthetic conditions of carboxymethylated derivatives of polysaccharides from *Tussilago farfara* L. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2013,25:892-896.
- 20 Li JR(李建蕊),Chen JB(陈建波),Zhou Q(周群),et al. Analysis of different parts and tissues of *Panax notoginseng* by fourier transform infrared spectroscopy. *Spectrosc Spectr Anal*(光谱学与光谱分析),2014,34:634-637.
- 21 He BJ(何保江),Liu Q(刘强),Zhao MY(赵明月),et al. Method of testing hydroscopicity of tobacco. *Tobacco Sci Tech*(烟草科技),2009,2:25-28.