

地木耳粗多糖超声波辅助提取工艺优化及其动力学和热力学分析

刘继超,刘晓风*,Lormoua Kiatoukosin,王永刚,徐也,张璇,杨明俊

兰州理工大学生命科学与工程学院,兰州 730050

摘要:本文探讨了超声波辅助提取地木耳粗多糖的工艺条件,以多糖得率为考察指标,料液比、超声温度、超声功率和超声时间为试验因素,通过单因素试验和 Box-Behnken 试验设计对工艺条件进行了优化。在此基础上,建立了以 Fick 第二定律为基础的粗多糖提取动力学模型,并求解出速率常数、相对萃取率及活化能等关键模型参数,并研究了提取过程的热力学特性。结果表明,地木耳粗多糖的最佳超声波提取工艺条件为:料液比为 1/50 g/mL,温度为 350.15 K,功率为 540 W,时间为 25 min,在此条件下粗多糖得率达到 13.07%。该提取过程符合一级动力学模型,且试验数据与动力学模型计算值吻合良好。热力学分析显示该提取过程是一个自发进行的吸热过程。

关键词:地木耳;超声波辅助多糖提取;响应面分析法;动力学与热力学

中图分类号:TS201

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.2.024

Optimization of Ultrasonic-assisted Exaction of Crude Polysaccharide from *Nostoc commune vauch* and Its Kinetic and Thermodynamic Analysis

LIU Ji-chao, LIU Xiao-feng*, KIATOUKOSIN Lormoua,

WANG Yong-gang, XU Ye, ZHANG Xuan, YANG Ming-jun

School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China

Abstract: Response surface methodology was applied to optimize the ultrasonic-assisted extraction of crude polysaccharide from *Nostoc commune vauch* based on the results of single factor including the effect of solid-liquid ratio, ultrasonic temperature, ultrasonic power and ultrasonic time on the yield of crude polysaccharides. A kinetic model of crude polysaccharide extraction was established according to Fick's second law, and the dynamics parameters such as rate constant, relative extraction rate and activation energy were obtained. Meanwhile, thermodynamic properties were studied. The results showed that optimal extraction condition of crude polysaccharide was solid-liquid ratio of 1/50 (g/mL), ultrasonic temperature of 350.15 K, ultrasonic power of 540 W and ultrasonic time of 25 min, the yield of crude polysaccharide was up to 13.07% under above condition. The extraction process conforms to the first-order kinetic model, and the experimental data agreed well with the calculated values of the kinetic model. Thermodynamic analysis showed that the extraction process of polysaccharides from *N. commune* was endothermic, irreversible and spontaneous.

Key words: *Nostoc commune vauch*; ultrasonic assisted polysaccharides extraction; response surface analysis; kinetics and thermodynamics

地木耳(*Nostoc commune vauch*)俗称地皮菜、地耳、地衣等,属蓝藻门(*Cyanophyta*)、念珠藻科(*Nostocaceae*)、念珠藻属(*Nostoc Vanch*)^[1,2]的一种低等植物。与发菜(*N. flagelliforme*)和葛仙米(*N. sphaeroides kutz.*)为同属植物^[3]。在荒漠、草原以及半戈壁

等不同环境下分布广泛,适应性极强,能在 3000 m 海拔处生长,西至伊犁,东至奇台、北至阿尔泰,南到巴音布鲁克等均有分布^[4]。

有研究表明,不同生境下的念珠藻属等低等植物在荒漠、极地等特殊环境下可分泌大量的多糖至胞外,与水分子结合形成胶鞘,用以抵御并适应恶劣环境^[5-7]。所分泌的天然多糖在维持细胞完整性^[8]、预防心脑血管疾病、癌症和抗氧化^[9,10]和正常生理功能方面起着关键的作用^[11]。目前地木耳在

多糖提取、动力学和热力学以及药理活性方面的研究甚少。为了进一步研究地木耳多糖的特性,本文选择来自渭源县海拔约为 2600 m 高寒阴湿区采摘的地木耳为研究对象,通过响应面法对声波提取多糖的工艺进行研究,探究了提取过程中的动力学和热力学特性,基于 Fick 第二定律建立地木耳超声波辅助提取多糖动力学模型。为地木耳多糖放大提取和深加工提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

地木耳,由甘肃康鑫源生态农业科技发展有限公司提供。葡萄糖、乙醇、氯仿、正丁醇等试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

Cary 50 紫外可见分光光度计,美国 Varian 公司;RE-52AA 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;FW80 型高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;KQ-500DE 超声波清洗机,昆山市超声仪器有限公司;FDU-1200 EYELA 冷冻干燥机,上海爱朗仪器有限公司。Nexus 670 FT-IR 傅里叶变换红外光谱仪,美国 Nicolet 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 地木耳粗多糖的提取

在干燥三角瓶中加入 5.0 g 地木耳颗粒(颗粒过 80 目筛,约 0.178 mm),在不同料液比、提取温

度、超声功率和提取时间条件下提取多糖,每隔 5 min 取样 0.1 mL 进行多糖质量浓度的测定^[12]。提取 3 次,合并上清液并浓缩,再加入 4 倍体积的 95% 乙醇进行醇沉,4 ℃ 静置 12 h,离心(4500 rpm, 20 min),收集沉淀物,除蛋白^[13],冷冻干燥得粗多糖,根据式(1)计算多糖得率,计算公式:

$$\text{多糖得率}(\%) = \frac{\text{粗多糖中多糖含量}(g)}{\text{地木耳干重}(g)} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.2 多糖浓度的测定方法^[14]

以葡萄糖作为标准品,采用苯酚-浓硫酸法^[15,16]绘制葡萄糖的标准曲线,利用葡萄糖线性回归方程 $y = 0.8187x + 0.0515$ 计算样品中的多糖含量。葡萄糖质量浓度线性范围为 0~25 $\mu\text{g/mL}$, R^2 为 0.9916。

1.3.3 单因素试验

分别以不同的料液比(1/40、1/50、1/60、1/70、1/80 g/mL)、提取温度(313.15、323.15、333.15、343.15、353.15 K)、超声功率(240、300、420、540、600 W)和提取时间(5、10、15、20、25、30 min)。为单因素组合进行地木耳粗多糖的提取试验,固定其中 3 个因素,改变另一个因素进行提取,提取次数均为 3 次,取平均值为多糖得率。

1.3.4 Box-Behnken 试验

根据单因素试验结果,以多糖得率为响应值,采用响应面优化设计法^[17,18]进行四因素三水平试验,对地木耳粗多糖提取条件进行优化,因素及水平见表 1。

表 1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and levels for response surface analysis

因素 Factors	水平编码 Level codes		
	-1	0	1
(A) 料液比 Solid-liquid ratio (g/mL)	1/40	1/50	1/60
(B) 提取温度 Extraction temperature (K)	333.15	343.15	353.15
(C) 提取功率 Extraction power (W)	300	420	540
(D) 提取时间 Extraction time (min)	20	25	30

1.3.5 地木耳粗多糖超声波提取过程动力学模型的建立

利用 Fick 第二定律对地木耳中粗多糖进行固液提取动力学过程的拟合。假设地木耳颗粒在提取过程中为球形,颗粒浸润过程中溶剂向颗粒的内部渗透,完成多糖的溶解,进而多糖从颗粒内部向其表面扩散直至向溶剂主体的扩散。超声波提取动力学

过程表达式如公式(2)所示。

$$\ln\left[\frac{(C_{\infty})}{(C_{\infty} - C)}\right] = kt + \ln\left[\frac{\pi^2 C_{\infty}}{6(C_{\infty} - C)}\right] \quad (2)$$

式中:扩散系数是 D_s ;颗粒内溶质任意时刻的质量浓度是 C (mg/mL);提取平衡时颗粒内溶质的质量浓度是 C_{∞} (mg/mL);速率常数是 k (min^{-1});提取时间是 t (min)。

1.3.6 热力学分析

热力学参数间的关系式如下^[19]:

$$\Delta G_m = RT \ln K \quad (3)$$

$$\ln K = \frac{\Delta S_m}{R} - \frac{\Delta H_m}{RT} \quad (4)$$

式中, R 为气体常数 ($8.314 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$); T 为提取温度 (K); K 为分配系数。根据热力学参数关系式计算出地木耳粗多糖提取过程中的平衡常数 ($K\theta$)、吉布斯自由能变 (ΔG_m)、焓变 (ΔH_m) 和熵变 (ΔS_m)。

1.3.7 红外光谱分析^[20]

称取 1 mg 干燥的地木耳粗多糖于研钵中, KBr 压片, 在波数 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$ 范围内进行光谱扫描。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 料液比的影响

料液比对粗多糖得率的影响如图 1 所示。在相同提取时间下, 随着料液比的增加, 粗多糖得率亦呈现增长趋势, 当液料比达到 $1/50 \text{ g/mL}$ 后, 再增大料液比粗多糖得率上升趋势变缓基本稳定, 且在任意料液比下, 提取时间 25 min 之后得率增长不再显著。增大料液比, 可以使溶剂与地木耳粉末充分接触, 使粗多糖容易溶出直至最大。因此, 确定最佳的料液比为 $1/50 \text{ g/mL}$, 提取时间为 25 min 。

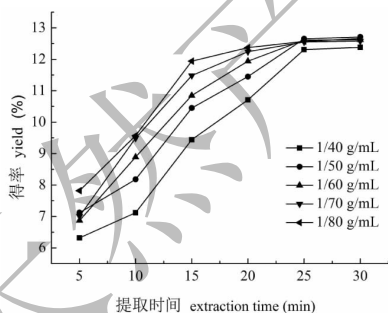


图 1 料液比对地木耳粗多糖得率的影响

Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on the yields of crude polysaccharides

2.1.2 提取温度的影响

提取温度对粗多糖得率的影响如图 2 所示。在相同提取时间内, 粗多糖得率随着温度的升高而升高。因为温度直接影响粗多糖在水中的溶解度及扩散系数, 粗多糖从地木耳中被提取的速度会因温度

升高而变快。但温度高于 343.15 K 时, 得率并无显著增大, 因为高温会破坏多糖的结构。而在相同提取温度下, 粗多糖的得率均随提取时间的延长而增加, 在提取时间为 25 min 和 30 min 得率差异不大。为降低能耗和缩短提取时间, 选择最佳提取温度为 343.15 K , 提取时间为 25 min 。

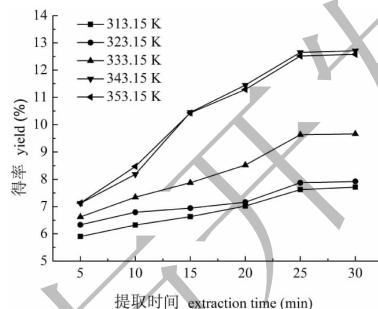


图 2 提取温度对地木耳粗多糖得率的影响

Fig. 2 Effect of temperature on the yields of crude polysaccharides

2.1.3 超声功率的影响

超声功率对粗多糖得率的影响如图 3 所示。任意提取时间内, 随着超声功率的增大, 粗多糖得率随之增大。随着超声功率增大, 超声波产生的空化效应和机械振动作用越强烈, 物质的扩散速率越大, 同时使细胞的破碎程度增加, 从而有利于地木耳粗多糖在溶液中的浸出。但当超声波功率超过 540 W 时, 继续增大超声波功率, 粗多糖得率不再显著增大, 因此确定最佳超声功率为 540 W 。

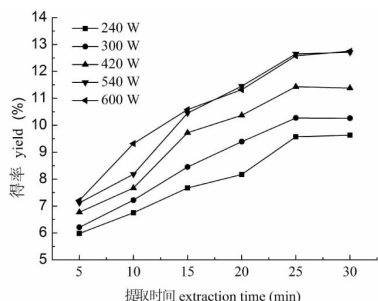


图 3 超声功率对地木耳粗多糖得率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic power on the yields of crude polysaccharides

2.2 Box-Behnken 试验结果分析

在上述单因素实验基础上, 利用 Box-Behnken 中心组合实验, 以料液比 (A)、超声温度 (B)、超声功率 (C) 和超声时间 (D) 为主要因素, 以地木耳粗

多糖得率为响应值,采用 Design-Expert. 8. 06 进行 表 3,各因素交互响应曲面见图 4。

四因素三水平优化分析。结果见表 2,方差分析见

表 2 提取工艺优化响应面实验方案及结果

Table 2 Optimization of response surface experiment program and result of extraction

序号 No.	A	B	C	D	得率 Yield (%)
1	-1	-1	0	0	8.24
2	1	-1	0	0	8.69
3	-1	1	0	0	10.73
4	1	1	0	0	11.08
5	0	0	-1	-1	10.37
6	0	0	1	-1	11.45
7	0	0	-1	1	11.05
8	0	0	1	1	12.53
9	-1	0	0	-1	10.62
10	1	0	0	-1	11.65
11	-1	0	0	1	12.03
12	1	0	0	1	12.31
13	0	-1	-1	0	9.04
14	0	1	-1	0	9.51
15	0	-1	1	0	10.23
16	0	1	1	0	12.25
17	-1	0	-1	0	11.11
18	1	0	-1	0	11.42
19	-1	0	1	0	11.96
20	1	0	1	0	12.02
21	0	-1	0	-1	9.29
22	0	1	0	-1	10.21
23	0	-1	0	1	10.16
24	0	1	0	1	11.37
25	0	0	0	0	12.69
26	0	0	0	0	12.78
27	0	0	0	0	12.41
28	0	0	0	0	12.22
29	0	0	0	0	12.42

表 3 以粗多糖得率为响应值的方差分析表

Table 3 Analysis of variance for the response values of crude polysaccharides yield

误差源 Source	总方差 Sum of Squares	自由度 df	均方差 Mean Square	F 值 F Value	P 值 P Value
Model	42.10	14	3.01	13.10	< 0.0001
A	0.51	1	0.51	2.23	0.1573
B	7.52	1	7.52	32.77	< 0.0001
C	5.25	1	5.25	22.89	0.0003
D	2.86	1	2.86	12.47	0.0033

续表 3 (Continued Tab. 3)

误差源 Source	总方差 Sum of Squares	自由度 df	均方差 Mean Square	F 值 F Value	P 值 P Value
AB	0.00	1	0.00	0.01	0.9184
AC	0.02	1	0.02	0.07	0.7980
AD	0.14	1	0.14	0.61	0.4468
BC	0.60	1	0.60	2.62	0.1280
BD	0.02	1	0.02	0.09	0.7666
CD	0.04	1	0.04	0.17	0.6827
A ²	2.14	1	2.14	9.33	0.0086
B ²	24.84	1	24.84	108.23	< 0.0001
C ²	1.25	1	1.25	5.46	0.0349
D ²	1.18	1	1.18	5.15	0.0395
残差 Residual	3.21	14	0.23		
失拟误差 Lack of Fit	3.01	10	0.30	5.80	0.0524
纯误差 Pure Error	0.21	4	0.05		
总离差 Cor Total	45.32	28			

注: $P < 0.01$, 差异极显著; $P < 0.05$, 差异显著。
 Note: $P < 0.01$, extremely significant difference; $P < 0.05$, significant difference.

对表中试验数据进行拟合, 获得地木耳多糖得率的回归方程为式(5):

$$Y = -2304.6211 + 0.7966A + 13.3507B - 0.0812C + 0.5716D - 0.0003AB - 0.0001AC - 0.0038AD + 0.0003BC + 0.0014BD + 0.0002CD - 0.0057A^2 - 0.0196B^2 - 0.0171D^2 \quad (5)$$

由表 3 可知, 模型的 P 值小于 0.01, 说明该模型极显著。失拟项的 P 值大于 0.05 说明非试验因素对试验结果的影响不大^[21]。模型的决定系数 R^2

为 0.9291, 这表明该模型与实际试验数据拟合较好。校正后的决定系数 R^2_{Adj} 为 0.8582, 说明该模型能解释 85.82% 响应值的变化^[22]。因此该模型可适用于超声波法提取地木耳粗多糖得率的预测分析。从表 3 还可以看出, 一次项 B、C、D 和二次项 A^2 、 B^2 粗多糖得率的影响极显著; 二次项 C^2 、 D^2 对粗多糖得率的影响显著; 各交互项对粗多糖得率影响不显著。

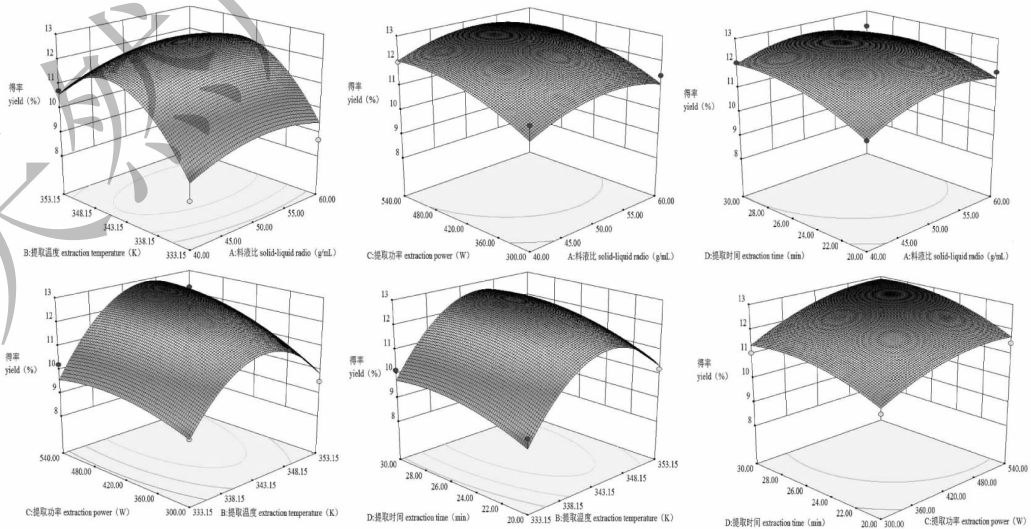


图 4 以粗多糖得率为指标的响应曲面图

Fig. 4 Response surface plots of crude polysaccharides yield

从图4可以看出,在两个因素固定在零水平时,试验范围内另外两个因素的交互作用。当超声功率和提取时间保持在零水平时,料液比和提取温度分别对粗多糖得率的影响有显著的二次关系。当超声功率和提取时间固定在零水平,料液比一定时,得率随提取温度的升高先增大后降低;当料液比和提取功率固定在零水平,提取时间一定时,得率随提取温度的升高先增大后降低。最佳提取工艺条件为:料液比为1/50 g/mL,温度为346.26 K,功率为536.32 W,提取时间为28.56 min,预测粗多糖得率为13.12%。修正提取条件为料液比为1/50 g/mL,提取温度为350.15 K,超声功率为540 W,提取时间为25 min,平行提取3次,此条件下的地木耳粗多糖得率均值为13.07%。

2.3 地木耳粗多糖提取过程的动力学分析

表4 不同超声波功率下提取液中粗多糖浓度

Table 4 Concentration of crude polysaccharides at different temperatures

功率 Power (W)	质量浓度 Mass concentration (mg/mL)					
	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
240	1.176	1.264	1.392	1.526	1.608	1.650
300	1.248	1.366	1.510	1.704	1.878	1.902
420	1.316	1.506	1.734	2.042	2.252	2.274
560	1.426	1.694	2.006	2.258	2.486	2.504
600	1.484	1.930	2.292	2.554	2.658	2.762

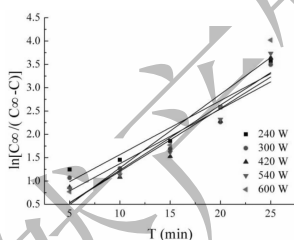


图5 不同超声波功率下 $\ln[C_{\infty}/C_{\infty} - C]$ 与 t 的关系图
Fig. 5 Relationship between $\ln[C_{\infty}/C_{\infty} - C]$ and t at different ultrasonic power

2.3.1 速率常数的求解

固定料液比为1/50 g/mL,提取温度为350.15 K,研究了不同超声功率和提取时间下地木耳粗多糖提取过程中粗多糖的质量浓度,结果如表4。从表4可知粗多糖质量浓度随功率升高而增加,随着时间的延长而增加,30 min时质量浓度已达平衡,故取30 min时粗多糖质量浓度为平衡浓度。利用表4数据,以 $\ln[C_{\infty}/C_{\infty} - C]$ 对提取时间 t 作图,结果见图5,由图5得到的直线回归方程和相应的速率常数见表5。随着超声功率的增大,速率常数逐渐增大。这是由于超声波的空化效应、热效应和机械效应增强了地木耳粗多糖提取的传质过程^[23],其中空化效应是主因,强大剪切力使地木耳细胞壁破裂,更易释放粗多糖而增大传质速率。

2.3.2 相对萃取率的求解

利用表4数据,以 $(C_{\infty} - C)/C_{\infty}$ 为纵坐标,提取时间 t 为横坐标作图,结果如图6;按图6拟合的回归方程和对应的速率常数分别见表6。从图6和表6可以看出,在不同超声功率下,拟合方程相关系数 R^2 均在0.90以上,曲线有较好的拟合精度。超声波空化效应强化了微孔扩散,促使水分子和地木耳颗粒之间发生分子的相互渗透,从而促进了地木耳粗多糖的溶解^[24]。

表5 不同超声波功率下 $\ln[C_{\infty}/C_{\infty} - C]$ 与 t 的回归结果

Table 5 Regression results between $\ln[C_{\infty}/C_{\infty} - C]$ and t at different ultrasonic power

功率 Power (W)	回归方程 Regression equation	R^2	C_{∞} (mg/mL)	$K/10^{-4}/s^{-1}$
240	$y = 0.1157x + 0.4081$	0.9294	1.65	19.283
300	$y = 0.1169x + 0.2023$	0.9013	1.902	19.483
420	$y = 0.1349x - 0.1442$	0.9027	2.274	22.483
540	$y = 0.1395x - 0.1641$	0.9123	2.504	23.25
600	$y = 0.1576x - 0.2952$	0.9415	2.762	26.267

表 6 不同超声波功率下多糖相对萃余率对时间回归结果

Table 6 Linear regression of the relative extraction rate of polysaccharides at different ultrasonic power

功率 Power (W)	指数方程 Exponential equation	R ²
240	y = 0.6964exp(-0.1204x)	0.9182
300	y = 0.7212exp(-0.1022x)	0.9263
420	y = 0.8392exp(-0.1012x)	0.9538
560	y = 0.8478exp(-0.1043x)	0.9874
600	y = 0.8594exp(-0.113x)	0.9838

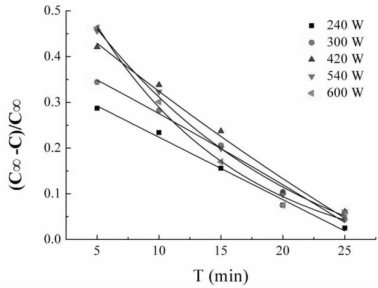


图 6 不同超声波功率下相对萃余率与时间的关系

Fig. 6 Relationship between the relative raffinated rate and time at different ultrasonic power

2.3.3 半衰期求解

由 $t_{1/2} = \ln 2/k$ 对超声波功率 P 作图,得到图 7。从图 7 可以看出,半衰期随着超声波功率的升高而不断减小。由于超声波的热效应^[25],其能量在质点传播过程中被吸收而变成热能,从而使质点温度升高,加速粗多糖的溶解性,使半衰期不断减小。

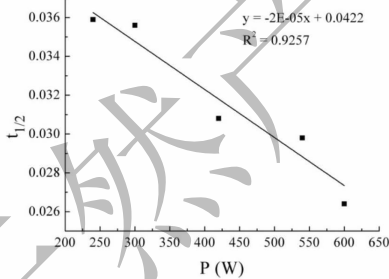


图 7 超声波法下 $t_{1/2}$ 和 P 的关系图

Fig. 7 The relationship between $t_{1/2}$ and ultrasonic power

2.3.4 有效扩散系数的求解

由 $k = \pi^2 D_s/R^2$ 可知,速率常数是扩散系数 D_s 和颗粒半径的函数。用 D_s 对超声功率 P 作图得图 8。从图 8 可以看出,随超声波功率的增大,扩散系数也逐渐增大,且呈指数模型增大。与速率常数相同,由于超声波在液体中传播时产生空化效应,使地木耳细胞壁破裂,使粗多糖快速被释放出来。

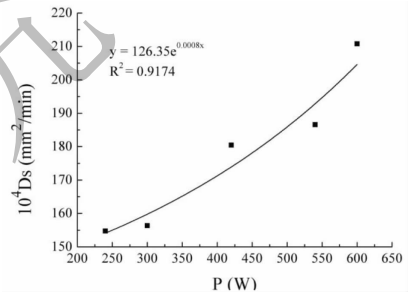


图 8 超声波法提取下有效扩散系数

Fig. 8 Effective diffusion coefficient under ultrasonic extraction

2.4 相关热力学性质

根据热力学公式,求出 ΔG_m 为 0.2367 ~ 2.7087 kJ/mol, ΔS_m 为 0.971 J/mol/K 和 ΔH_m 为 0.325 kJ/mol。其中吉布斯自由能变 $\Delta G_m > 0$,表明提取过程是一个逆反应自发进行过程,且 ΔG_m 随提取温度的升高而减少,说明温度升高有利于提取过程的自发进行。熵变 $\Delta S_m > 0$,说明地木耳粗多糖提取过程混乱程度增加。焓变 $\Delta H_m > 0$,表示此粗多糖提取过程是吸热的。研究表明,固液提取类似于吸附过程^[26]。

表 7 粗多糖提取过程中的热力学参数

Table 7 The thermodynamics parameter in the extraction process of crude polysaccharides

T	K θ	ΔG_m (kJ/mol)	ΔH_m (kJ/mol)	ΔS_m (J/mol/K)
313.15	0.3533	2.7087	0.325	0.971
323.15	0.3968	2.4833		
333.15	0.4532	2.1920		
343.15	0.865	0.4137		
353.15	0.9227	0.2364		

2.5 红外光谱分析

如图9显示,地木耳提取物具有一般多糖产物的一些典型红外吸收峰:3442 cm^{-1} 为分子中-OH的伸缩振动峰^[27]、2924 cm^{-1} 处为 CH_2 的伸缩振动特征峰、1385 cm^{-1} 为C-H的弯曲振动吸收峰^[28]、1036 cm^{-1} 处为醚键(C-O-C)的伸缩振动峰^[27]。图9表明,所得提取物可能为某种粗多糖,进一步的结构表征工作将另文报道。

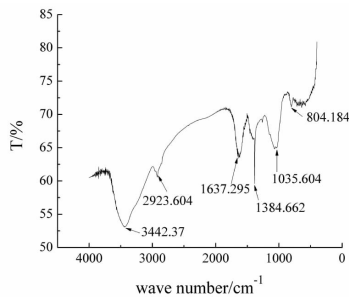


图9 地木耳粗多糖的红外光谱图

Fig. 9 FT-IR characteristic map of crude polysaccharides

3 结论

Box-Behnken 试验设计优化超声提取地木耳粗多糖工艺为:料液比为 1/50 g/mL,温度为 350.15 K,功率为 540 W,时间为 25 min,地木耳粗多糖得率为 13.07%。以 Fick 第二定律为基础,建立的超声波法提取地木耳粗多糖的动力学模型。并对其动力学参数进行了分析。该提取过程中吉布斯自由能变 $\Delta G_m > 0$, 熵变 $\Delta S_m > 0$, 表明是一个逆反应自发进行过程。焓变 $\Delta H_m > 0$, 表明地木耳粗多糖提取过程是个吸热过程。

参考文献

- Li TC(李天才), Chen GC(陈桂琛), Suo YR(索有瑞). Characteristic analysis of amino acids of *Nostoc commune* in Qinghai plateau [J]. *Amino Acids Biotic Res* (氨基酸与生物资源), 2004, 26(2): 6-8.
- Zhou SP(周世萍), Li TC(李天才). Characteristic of the trace elements of *Nostoc commune* in Qinghai plateau [J]. *Guangdong Trace Elements Sci* (广东微量元素科学), 2001, 8(8): 46-48.
- Zhu HR(朱浩然). *Freshwater Algae in China* (volume ninth) [M]. Beijing: Science Press, 2007: 253.
- Li DH(李敦海), Liu YD(刘永定). The past decade's researches on *Nostoc commune* voucher in China-A review [J]. *Acta Hydrobiol Sin* (水生生物学报), 2003, 27: 408-

- 412.
- Brüll LP, Huang Z, Thomas-Oates JE, et al. Studies of polysaccharides from three edible species of *Nostoc* (cyanobacteria) with different colonymorphologies; structural characterization and effect on the complement system of polysaccharides from *Nostoc commune* [J]. *J Phycol*, 2000, 36: 871-881.
- Huang Z, Liu Y, Paulsen BS, et al. Studies on polysaccharides from three edible species of *Nostoc* (cyanobacteria) with different colonymorphologies; comparison of monosaccharide compositions and viscosities of polysaccharides from field colonies and suspension cultures [J]. *J Phycol*, 1998, 34: 962-968.
- Hill DR, Keenan TW, Helm RF, et al. Extracellular polysaccharide of *Nostoc commune* (cyanobacteria) inhibits fusion of membrane vesicles during desiccation [J]. *Appl Phycol*, 1997, 9: 237-248.
- Tamaru Y, Takani Y, Yoshida T, et al. Crucial role of extracellular polysaccharides in desiccation and freezing to tolerance in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71: 7327-7333.
- Andrea DH, Svenja K, Roland U, et al. Fucoidans and fucoidanases focus on techniques for molecular structure elucidation and modification of marine polysaccharides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 82(1): 1-11.
- Chen BL, You WL, Huang J, et al. Isolation and antioxidant property of the extracellular polysaccharide from *Rhodella reticulata* [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2010, 26: 833-840.
- Shaw E, Hill DR, Brittain N, et al. Unusual water flux in the extracellular polysaccharide of the cyanobacterium *Nostoc commune* [J]. *Appl Environmental Microbiol*, 2003, 69: 5679-5684.
- Fan QY(范群艳), Wu XY(吴向阳), Yang LQ(仰榴青). Study on extraction of *Nostoc commune* vauch polysaccharides by response surface methodology [J]. *J Jiangsu Univ, Med Ed* (江苏大学学报, 医学版), 2007, 3: 236-240.
- Hao BH(郝博慧), Yang X(杨鑫), Ma Y(马莺). Study on deproteinization in extraction of polysaccharides from *Patentilla lauserina* by Sevage [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2011, 32: 254-255.
- Cui YL(崔玉兰). Extraction of polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* purification and structure characterization [D]. Fuzhou: Fujian Agricultural and Forestry University (福建农林大学), 2011.
- Yang N(杨娜), Wang HF(王鸿飞), Xu F(许凤), et al. Study on extraction of polysaccharides and antioxidant activi-

- ty of *Potentilla ancerina* L. polysaccharide[J]. *J Chin Instit Food Sci Technol* (中国食品学报), 2014, 14(2): 60-66.
- 16 Wu DT, Cheong KL, Wang LY, *et al.* Characterization and discrimination of polysaccharides from different species of *Cordyceps* using saccharide mapping based on PACE and HPTLC[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 103: 100-109.
- 17 Wang JB(王吉标), Ouyang Z(欧阳臻), Zhao M(赵明), *et al.* Optimization of extraction process of polysaccharides from *Cordyceps cicadae* by response surface methodology[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26: 438-443.
- 18 Chen XN(陈湘宁), Li YH(李宇华), Ding K(丁轲). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide from persimmon by response surface methodology[J]. *J Chin Instit Food Sci Technol* (中国食品学报), 2012, 12: 105-111.
- 19 Huang YC(黄永春), Yang F(杨锋), Ma YF(马月飞). Study on adsorption thermodynamics of D941 resin to tea polysaccharide[J]. *Food Sci* (食品科学), 2008, 29: 274-277.
- 20 Wang XY(王雪艳). Study on extraction, purification and anti-oxidative activity of polysaccharides from Longan Fruit [D]. Xiamen: Jimei University(集美大学), 2009.
- 21 Song SY(宋思圆), Su P(苏平), Wang LJ(王丽娟), *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction by response surface methodology and antioxidant activities of Pectic polysaccharide from Okra flowers[J]. *Food Sci* (食品科学), 2017, 38: 283-289.
- 22 Wan Y(万阅), Qi JY(齐计英), Zeng H(曾红), *et al.* Optimization of ultrasonic assisted extraction of lentinan by response surface methodology[J]. *Biotechnol Bull* (生物技术通报), 2015, 31: 79-85.
- 23 Wang W(王未), Jia QD(贾清东), Mao RW(毛日文), *et al.* Kinetic and thermodynamic analysis for the ultrasonic-circulating extraction of alkaloids from *Lepidium meyenii* Walp. (Maca)[J]. *J Food Sci Biotechnol* (食品与生物技术学报), 2017, 36: 512-518.
- 24 Zhan HH(湛含辉), Cao J(曹江), Gong XY(龚兴艳), *et al.* Research on process intensification of adsorption mass transfer under the effect of ultrasonic cavitations[J]. *J Hunan Univ Sci Technol, Nat Sci* (湖南科技大学学报, 自科版), 2008, 23(4): 85-88.
- 25 Li Z(李哲). Ultrasonic-assisted extraction of total polyphenols from banana peels and the research of its oxidation resistance [D]. Yangling: Northwest A&F University(西北农林科技大学), MSc. 2012.
- 26 Goula AM. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil-Kinetic modeling[J]. *J Food Eng*, 2013, 117: 492-498.
- 27 Ly F(吕峰). Studies on main qualities of coix lachrymal-jobi kernel resources of China and Activative Coixan [D]. Fuzhou: Fujian Agricultural and Forestry University(福建农林大学), 2008.
- 28 Huang H(黄卉), Wang H(王弘), Liu X(刘欣). Study's advances in the structure activity relationship of polysaccharide[J]. *Guangzhou Food Sci Technol* (广州食品工业科技), 2004, 20: 159-161.

(上接第 175 页)

- 16 Yang L, Zhou Y, Li Y, *et al.* Mutations of p53 and KRAS activate NF- κ B to promote chemoresistance and tumorigenesis via dysregulation of cell cycle and suppression of apoptosis in lung cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2015, 357: 520-526.
- 17 Vanderlaan PA, Rangachari D, Mockus SM, *et al.* Mutations in TP53, PIK3CA, PTEN and other genes in EGFR mutated lung cancers: Correlation with clinical outcomes[J]. *Lung Cancer*, 2017, 106: 17-21.
- 18 Wang P, Yang D, Zhang H, *et al.* Early Detection of lung cancer in serum by a panel of microRNA biomarkers[J]. *Clin Lung Cancer*, 2014, 16: 313-319.
- 19 Rathod SS, Rani SB, Khan M, *et al.* Tumor suppressive miRNA-34a suppresses cell proliferation and tumor growth of glioma stem cells by targeting Akt and Wnt signaling pathways[J]. *FEBS Open Biol*, 2014, 4: 485-495.
- 20 Lv H, Pei J, Liu H, *et al.* A polymorphism site in the premiR-34a coding region reduces miR-34a expression and promotes osteosarcoma cell proliferation and migration[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10: 2912-2916.
- 21 Cui X, Wu Y, Wang Z, *et al.* MicroRNA-34a expression is predictive of recurrence after radiofrequency ablation in early hepatocellular carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36: 3887-3893.
- 22 Li X, Zhao H, Zhou X, *et al.* Inhibition of lactate dehydrogenase A by microRNA-34a resensitizes colon cancer cells to 5-fluorouracil[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11: 577-582.
- 23 Zeng T(曾婷), Hao L(郝丽), Xie YX(谢逸欣), *et al.* The relationship between microRNA -34a and non small-cell lung cancer and its possible regulation mechanism[J]. *Chin Med Her* (中国医药导报), 2012, 23: 5-7.
- 24 Sukhotnik I, Voskoboinik K, Lurie M, *et al.* Involvement of the bax and bcl-2 system in the induction of germ cell apoptosis is correlated with the time of reperfusion after testicular ischemia in a rat model[J]. *Fertil Steril*, 2009, 92: 1466-1469.