

黑牛肝菌多糖超声提取工艺优化及抗氧化研究

景年华, 史俊友*, 田照秀, 成琴 (曲靖师范学院, 云南曲靖 655011)

摘要 以云南大理黑牛肝菌为材料, 使用超声辅助萃取及水提醇沉法提取多糖, 采用单因素试验及正交试验对黑牛肝菌多糖提取工艺进行优化, 并对黑牛肝菌多糖进行了提取; 对所得多糖进行 DPPH 自由基、ABTS 自由基清除能力及铁氰化钾还原能力试验, 对其抗氧化活性进行比较研究。结果表明, 黑牛肝菌多糖最佳提取工艺为料液比 1:25 (g:mL)、醇沉浓度 80%、超声时间 70 min、超声功率 90%, 在此条件下多糖含量为 79.41 mg/g。醇沉浓度为 80% 时, 多糖提取物抗氧化活性最强, 多糖对 DPPH、ABTS 自由基清除率及总还原力吸光度分别为 97.92%、99.80% 和 0.789; 醇沉浓度为 50% 时, 所得多糖对 DPPH、ABTS 自由基清除率及总还原力吸光度分别为 85.79%、88.23% 和 0.713, 抗氧化活性最低; 表明黑牛肝菌多糖对自由基有较好的清除效果及还原作用。

关键词 黑牛肝菌; 多糖; 超声波辅助萃取; 工艺优化; 抗氧化活性

中图分类号 R 284.2 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2021)08-0170-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.08.045



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Optimization of Ultrasonic Extraction Process and Antioxidant of Polysaccharides from *Boletus aereus*

JING Nian-hua, SHI Jun-you, TIAN Zhao-xiu et al (Qujing Normal University, Qujing, Yunnan 655011)

Abstract With Dali *Boletus aereus* as the material, the polysaccharide was extracted by ultrasonic-assisted extraction and water extraction and alcohol precipitation. Single factor test and orthogonal test were used to optimize the extraction process of *Boletus aereus* polysaccharides, and the polysaccharides of *Boletus aereus* were extracted. Additionally, a comparative study on scavenging abilities of DPPH, ABTS and reducing power of potassium ferricyanide for the obtained polysaccharides was carried out. The results showed that the best extraction technology of polysaccharides from *Boletus aereus* was the solid-liquid ratio 1:25 (g:mL), ethanol concentration of 80%, ultrasonic time of 70 min and ultrasonic power of 90%. Content of polysaccharide obtained from *Boletus aereus* was 79.41 mg/g under the best extraction conditions. Antioxidant activity of polysaccharide precipitated by 80% ethanol was the strongest, scavenging rates of DPPH, ABTS and absorbance of total reducing power were 97.92%, 99.80% and 0.789 respectively. Antioxidant activity of polysaccharide precipitated by 50% ethanol was the lowest, scavenging rates of DPPH, ABTS and absorbance of total reducing power were 85.79%, 88.23% and 0.713, respectively. These results showed that polysaccharides from *Boletus aereus* had good scavenging ability and reducing power.

Key words *Boletus aereus*; Polysaccharides; Ultrasonic assisted extraction; Process optimization; Antioxidant activity

牛肝菌是菌物界中比较大型的担子菌重要代表^[1], 属担子菌亚门担子菌纲牛肝菌目牛肝菌科牛肝菌属, 下有 11~20 属。中国牛肝菌科有 400 多种, 其中有有毒不可食用的牛肝菌约 30 多种, 大多数无毒无苦辣无刺激味的种类均可食用^[2]。牛肝菌是一种山区特有的野生菌类, 主要生长于混交林中^[3], 一般单生或群生, 云南省是牛肝菌的主要分布地区, 目前已知牛肝菌 244 种, 其中可食用牛肝菌 144 种^[4], 医学上认为牛肝菌食药同源, 食药兼有, 是一种能同时药用和食用的野生菌资源, 含有丰富的营养价值, 因此具有较好的开发和利用价值^[5]。黑牛肝菌又名铜色牛肝菌, 是一种低脂肪、低热量、高蛋白的食药两用野生真菌, 相关报道较少^[6]。

多糖是天然大分子物质, 在动物细胞膜、微生物细胞壁及高等植物中均有分布^[7]。大量研究数据表明, 多糖在生物体中具有抗氧化、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤、致突变以及免疫调节等功能^[8]。真菌多糖具有多种药理活性, 对人体有显著的保健功效。自由基具有强氧化活性, 长期存在于机体中会对免疫能力有所损坏, 而多糖在自由基清除中扮演着较为重要的角色, 对自由基有良好的清除效果。牛肝菌多糖作为牛肝菌多种药理活性的主要物质基础, 主要含有木糖、甘露糖、半乳糖和葡萄糖等, 对自由基清除效果明显, 具有很强的抗

氧化活性。现代药理学研究表明, 牛肝菌多糖具有多种生物活性及功能, 如调节免疫活性、降血脂、抗突变、抗感染、抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗氧化等^[9-10]。因此, 研究牛肝菌多糖无论在食品领域还是医药领域均具有一定的现实意义, 目前对于牛肝菌多糖的提取多集中于传统热水法^[5, 11-13], 但该方法存在能耗大、耗时长、提取率低等缺点。基于此, 该试验以云南大理黑牛肝菌为主要原料, 使用超声波辅助萃取和水提醇沉法提取多糖, 采用单因素试验和正交试验对黑牛肝菌多糖提取工艺进行优化, 并对黑牛肝菌多糖进行提取; 同时对所得多糖进行 DPPH 自由基、ABTS 自由基清除能力及铁氰化钾还原能力试验, 对其抗氧化活性进行比较研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 黑牛肝菌产自云南大理州, 试验备用。DPPH(分析纯, 上海如吉生物科技发展有限公司)、ABTS(分析纯, 合肥博美生物科技有限责任公司)及其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备 小型高速粉碎机(WK-600A), 青州市精诚医药装备制造有限公司; 紫外-可见分光光度计(TU1810PC), 北京普析通用仪器有限责任公司; 旋转蒸发器(RE-52AA), 上海亚荣生化仪器厂; 电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9101-3), 金坛市杰瑞尔电器有限公司; 循环水式真空泵(SHZ-(III)), 上海标和仪器有限公司; 超声波清洗器(SK3200LHC), 上海科导超声仪器有限公司; 电子分析天平(CP214), 上海奥豪斯仪器有限公司; 数显恒温水浴锅

基金项目 云南省科技计划项目(2017FD146)。

作者简介 景年华(1986—), 女, 山东济南人, 助教, 硕士, 从事食品及天然产物分析与检验工作。* 通信作者, 副教授, 博士, 从事食品及天然产物分析与检验工作。

收稿日期 2020-07-07; **修回日期** 2020-07-22

(XMTD-204),上海双捷实验设备有限公司;台式低速离心机(80-2),上海医疗器械(集团)有限公司;优普系列超纯水仪(UPH-IV-20T),成都超纯科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 超声辅助提取黑牛肝菌多糖。黑牛肝菌子实体烘干粉碎,精确称取 5.000 0 g 已粉碎牛肝菌,加入一定量蒸馏水,超声波辅助提取一定时间,提取结束后,4 000 r/min 离心 15 min,取上清液抽滤,得样品提取液。

1.3.2 黑牛肝菌多糖含量测定。

1.3.2.1 葡萄糖标准曲线的绘制。精密移取 0.1 mg/mL 葡萄糖标准溶液 0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.20、1.40、1.60 mL 于具塞比色管里,移取适量蒸馏水补足体积至 2 mL,摇匀,继续加入 1 mL 6% 苯酚溶液后,向具塞比色管中迅速加入 5 mL 浓硫酸,充分振荡摇匀后,室温下放置显色 20 min,以零号管作为空白对照,于 490 nm 波长处测定其吸光度。以葡萄糖含量(mg)为横坐标、对应的吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.2.2 多糖含量测定。黑牛肝菌多糖含量测定采用苯酚-硫酸法^[14-15],试验步骤与“1.3.2.1”葡萄糖标准曲线的绘制一致,测定样品吸光度,将此数值带入标准曲线,计算黑牛肝菌多糖含量(mg/g)。

1.3.3 单因素试验。准确称取牛肝菌粉末 5.000 0 g,以水为提取溶液进行单因素试验。选取料液比、超声提取时间、超声功率及醇沉浓度 4 个影响牛肝菌多糖提取的因素,以牛肝菌多糖含量为指标,进行单因素试验。料液比为 1:5、1:15、1:25、1:35、1:45(g:mL);超声时间为 30、40、50、60、70 min;超声功率为 60%、70%、80%、90%、100%;醇(乙醇)沉浓度为 50%、60%、70%、80%、90%。

1.3.4 正交试验。根据单因素试验结果选择合适的料液比(A)、超声时间(B)、超声功率(C)和醇沉浓度(D)为参考因素,以多糖含量为考察指标,采用 $L_9(4^3)$ 正交表(表 1),进行正交试验,对超声提取牛肝菌多糖工艺进行优化,以确定最佳提取工艺条件。

表 1 正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiments

水平 Level	因素 Factor			
	A(料液比) Solid-liquid ratio	B(超声 时间) Ultrasound time// min	C(超声 功率//%) Ultrasonic power	D(醇沉浓 度//%) Ethanol precipitation ratio//%
1	1:25	50	70	70
2	1:35	60	80	80
3	1:45	70	90	90

1.3.5 黑牛肝菌多糖抗氧化活性试验。

1.3.5.1 黑牛肝菌多糖提取。依据正交试验所得最佳提取工艺条件提取黑牛肝菌多糖,烘干至恒重。

1.3.5.2 DPPH 自由基清除能力测定。参照许效群等^[16-17]试验方法,并稍作修改。准确移取 2.00 mL 不同浓度多糖溶液于具塞比色管中,向比色管中依次加入 2.00 mL 0.06 mg/L DPPH 溶液,置于暗处反应 30 min,于 517 nm 处测定其吸光

度,平行测定 3 次,计算清除率。

1.3.5.3 ABTS 自由基清除能力测定。取 7 mmol/L ABTS 溶液 5.00 mL,加入 88 μ L 140 mmol/L 过硫酸钾,室温下置于暗处反应 12~16 h。用甲醇稀释该溶液,于 734 nm 处测定其吸光度,约为 0.7,得 ABTS 自由基溶液。参照李帆等^[18-19]试验方法进行试验,对试验步骤稍作修改,准确移取 0.50 mL 不同浓度多糖溶液于具塞比色管中,向比色管中依次加入 4.50 mL ABTS 自由基溶液,于 37 $^{\circ}$ C 水浴 10 min 后,于 734 nm 处测定其吸光度,平行测定 3 次,计算其清除率。

1.3.5.4 还原力测定。参照吴海涛等^[20]的铁氰化钾还原法并稍作修改,准确吸取 1.00 mL 不同浓度多糖溶液于具塞比色管中,依次加入 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH=7.4)及质量分数为 1% 铁氰化钾溶液各 2.00 mL,充分混匀,于 50 $^{\circ}$ C 水浴 20 min 后,向比色管中加入 2.00 mL 10% 三氯乙酸溶液,振荡混合后,静置 15 min。取上清液 2.00 mL,依次加入 2.00 mL 水和 1.00 mL 0.1% 三氯化铁溶液,混匀,静置 10 min 后反应溶液由黄色变为蓝色,于 700 nm 处测定吸光度,空白对照以蒸馏水代替样品,平行测定 3 次。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖标准曲线的绘制 以吸光度为纵坐标、葡萄糖含量(mg)为横坐标绘制标准曲线(图 1),得出线性回归方程为 $y=8.007x-0.006(R^2=0.999 0)$,试验结果表明葡萄糖含量为 0.02~0.14 mg 时,标准曲线呈现良好的线性关系。

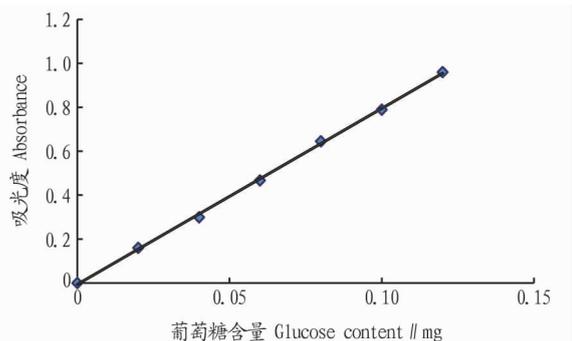


图 1 葡萄糖标准曲线

Fig.1 Glucose standard curve

2.2 单因素试验

2.2.1 料液比对黑牛肝菌多糖提取的影响。从图 2 可以看出,料液比为 1:5~1:25 时,随着提取溶剂体积的增加,多糖含量逐渐升高,这是因为蒸馏水用量增加,使得多糖充分溶解,提取含量升高,而料液比为 1:25~1:45 时,随着提取溶剂的增加,多糖含量稍微下降,这可能是因为随着蒸馏水的增加,黑牛肝菌中其他的亲水性物质也大量溶解,使得多糖溶解量降低^[21]。由此可知,黑牛肝菌多糖提取时,试验最佳料液比为 1:25,此时黑牛肝菌多糖提取效果较好。

2.2.2 超声时间对黑牛肝菌多糖提取的影响。从图 3 可以看出,超声时间为 30~60 min 时,随着超声时间逐渐延长,多糖含量逐渐升高,这是因为超声时间越长,黑牛肝菌细胞破碎越为彻底,多糖溶出量增加,提取含量升高;而超声时间为 70 min 时,随着超声时间的延长,多糖含量稍微下降,这可能

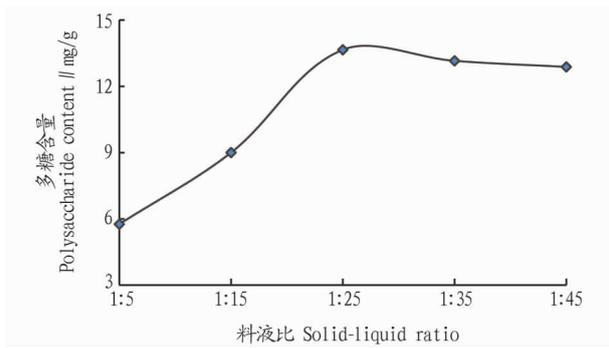


图2 料液比对黑牛肝菌多糖提取的影响

Fig.2 Effect of solid-liquid ratio on the extraction of polysaccharide from *Boletus aereus*

是因为时间过长,细胞进一步破碎导致杂质的溶出相应增多,使得多糖的溶出量降低,另外超声有较强的机械振动剪切作用,长时间会使大分子多糖断裂,降低黑牛肝菌多糖的提取率^[21]。由此可知,黑牛肝菌多糖提取时,试验最佳超声时间为 60 min,此时黑牛肝菌多糖提取效果较好。

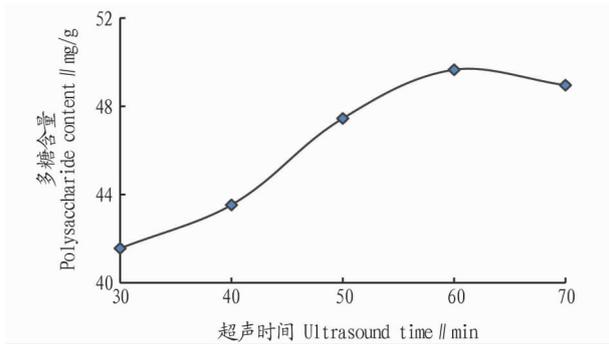


图3 超声时间对黑牛肝菌多糖提取的影响

Fig.3 Effect of ultrasound time on the extraction of polysaccharide from *Boletus aereus*

2.2.3 超声功率对黑牛肝菌多糖提取的影响。从图 4 可以看出,超声功率为 60%~100%时,随着超声功率的增大,多糖含量逐渐升高,这可能是因为超声时间固定,超声波的破碎作用主要取决于超声功率,超声功率越大,对细胞的破碎作用越强,多糖溶出量增加,提取含量升高。而超声功率为 80%~100%时,随着超声功率逐渐增大,多糖含量增幅不大,这可能是因为超声功率过大时,提取液的流动加速,减少了黑牛肝菌在超声场中的停留时间而导致细胞破碎减弱,从而导致多糖含量增幅不大。因此,黑牛肝菌多糖提取时,试验最佳超声功率为 80%,此时黑牛肝菌多糖提取效果较好。

2.2.4 醇沉浓度对黑牛肝菌多糖提取的影响。从图 5 可以看出,醇沉浓度为 50%~90%时,随着醇沉浓度的增大,多糖含量逐渐升高,这是因为 80%、90%乙醇的极性更接近于多糖的极性,增加了牛肝菌多糖的溶解从而提高多糖提取量;而醇沉浓度为 90%时,相比较醇沉浓度为 80%时,多糖含量无显著上升趋势,这可能是因为随着醇沉浓度的增加,含水量相对减少所导致的结果。因此,黑牛肝菌多糖提取时,试验最佳醇沉浓度为 80%,此时黑牛肝菌多糖提取效果较好。

2.3 正交试验 根据单因素试验结果选择合适的料液比

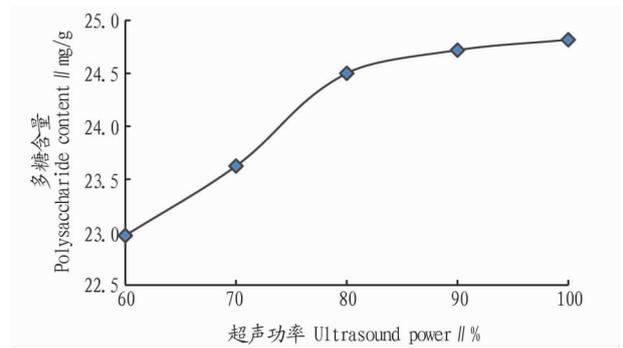


图4 超声功率对黑牛肝菌多糖提取的影响

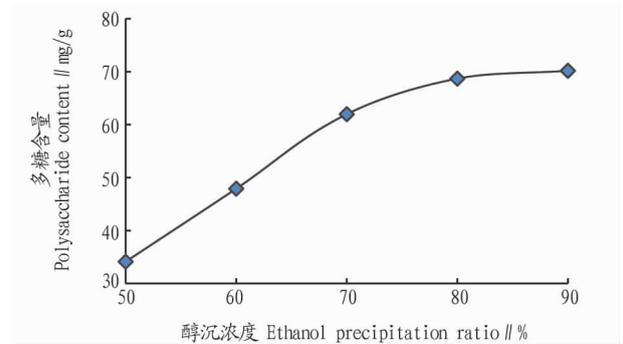
Fig.4 Effect of ultrasonic power on the extraction of polysaccharide from *Boletus aereus*

图5 醇沉浓度对黑牛肝菌多糖提取的影响

Fig.5 Effect of ethanol precipitation ratio on the extraction of polysaccharide from *Boletus aereus*

(A)、超声时间(B)、超声功率(C)、醇沉浓度(D)为参考因素,以多糖含量为考察指标,采用 $L_9(4^3)$ 进行正交试验,对超声提取牛肝菌多糖工艺进行优化,其试验结果见表 2。由表 2 可知,各因素对黑牛肝菌多糖提取含量的影响程度从大到小依次为 A、D、C、B,即料液比的影响程度最大,其次是醇沉浓度和超声功率,超声时间的影响程度最小;以黑牛肝菌多糖含量为考察指标的最佳提取条件为 $A_1B_3C_3D_2$,即料液比 1:25、超声时间 70 min、超声功率 90%、醇沉浓度 80%;在此条件下,提取黑牛肝菌多糖以进行验证性试验,所得多糖含量为 79.41 mg/g ($n=3$),此数值均大于正交试验各试验结果,结果表明该提取工艺稳定可行。

2.4 黑牛肝菌多糖抗氧化活性研究

2.4.1 不同醇沉浓度黑牛肝菌多糖对 DPPH 自由基清除能力比较。从图 6 可以看出,多糖浓度为 0.5~3.5 g/L 时,不同醇沉浓度所得多糖溶液对 DPPH 自由基清除效果随浓度增大,清除率明显上升。当多糖浓度为 3.5~5.5 g/L 时,多糖溶液对 DPPH 自由基清除效果逐渐趋于平缓,此时醇沉浓度为 80%时,所得多糖对 DPPH 自由基清除效果最好,清除率可达 97.92%;醇沉浓度为 50%时,DPPH 自由基清除效果较弱,清除率为 85.79%。多糖浓度为 0.5~2.0 g/L 时,醇沉浓度为 90%时,多糖对 DPPH 自由基清除效果较其他醇沉浓度多糖效果明显。不同醇沉浓度所得多糖对 DPPH 自由基清除效果随浓度的增加而增强,后续趋于平缓。醇沉浓度为 50%时,所得多糖清除率为 21.24%~85.79%;醇沉浓度为 60%时,

所得多糖清除率为 27.71%~96.49%;醇沉浓度为 70%时,所得多糖清除率为 27.48%~96.77%;醇沉浓度为 80%时,所得多糖清除率为 34.99%~97.92%;醇沉浓度为 90%时,所得多糖清除率为 38.56%~90.64%。当多糖质量浓度均为 5.5 g/L 时,醇沉浓度为 60%、70%和 80%时,黑牛肝菌多糖对 DPPH 自由基清除效果接近,清除率分别是 96.47%、96.77%、97.92%。试验结果显示黑牛肝菌多糖对 DPPH 自由基有较强的清除能力。

表 2 黑牛肝菌多糖超声提取工艺优化正交试验

Table 2 Orthogonal test of ultrasonic extraction process optimization of polysaccharides from *Boletus aereus*

编号 No.	A	B	C	D	多糖含量 Contents of polysaccharide mg/g
1	1	1	1	1	52.94
2	1	2	2	2	56.00
3	1	3	3	3	54.97
4	2	1	2	3	45.88
5	2	2	3	1	58.38
6	2	3	1	2	56.91
7	3	1	3	2	49.59
8	3	2	1	3	42.66
9	3	3	2	1	48.56
k_1	54.635 0	49.469 0	50.833 0	53.292 0	
k_2	53.719 0	52.344 0	50.146 0	54.167 0	
k_3	46.938 0	53.479 0	54.313 0	47.833 0	
R	7.697 0	4.010 0	4.167 0	6.334 0	

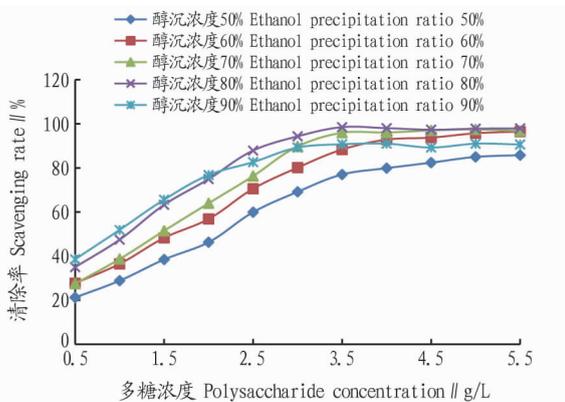


图 6 不同醇沉浓度黑牛肝菌多糖对 DPPH 自由基的清除效果

Fig.6 DPPH radical scavenging effects of polysaccharides from *Boletus aereus* precipitated with different concentrations of ethanol

2.4.2 不同醇沉浓度黑牛肝菌多糖对 ABTS 自由基清除能力比较。从图 7 可以看出,多糖浓度为 0.5~4.0 g/L 时,不同醇沉浓度所得多糖溶液对 ABTS 自由基的清除效果明显上升;多糖浓度为 4.0~5.5 g/L 时,多糖溶液对 ABTS 自由基清除效果逐渐趋于平缓。醇沉浓度为 50%时,黑牛肝菌多糖溶液清除率为 29.87%~88.23%;醇沉浓度为 60%时,多糖溶液清除率为 29.42%~96.99%;醇沉浓度为 70%时,多糖溶液清除率为 31.77%~95.54%;醇沉浓度为 80%时,多糖溶液清除

率为 37.91%~99.80%;醇沉浓度为 90%时,多糖溶液清除率为 35.80%~98.34%。不同醇沉浓度所得黑牛肝菌多糖溶液对 ABTS 自由基清除效果为 80%>90%>60%>70%>50%。试验结果显示牛肝菌多糖对 ABTS 自由基有较强的清除能力。

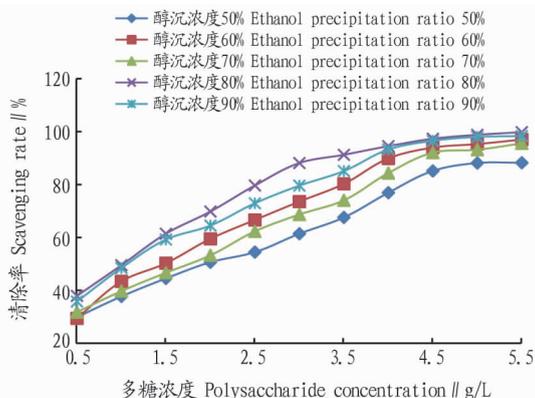


图 7 不同醇沉浓度黑牛肝菌多糖对 ABTS 自由基的清除效果

Fig.7 ABTS radical scavenging effects of polysaccharides from *Boletus aereus* precipitated with different concentrations of ethanol

2.4.3 不同醇沉浓度黑牛肝菌多糖还原力比较。从图 8 可以看出,多糖浓度为 2~10 g/L 时,不同醇沉浓度所得多糖溶液对铁氰化钾的还原能力明显增强,多糖浓度为 10~12 g/L 时,不同醇沉浓度所得多糖溶液对铁氰化钾的还原能力趋于平缓。多糖浓度为 12 g/L 时,80%醇沉浓度所得多糖对铁氰化钾的还原能力最强,吸光度为 0.789,醇沉浓度 50%所得多糖对铁氰化钾的还原能力较弱,吸光度为 0.713。不同醇沉浓度所得多糖溶液对铁氰化钾的还原能力均随质量浓度的增大而增强,然后趋于平缓。由图 8 可知不同醇沉浓度所得多糖对铁氰化钾的还原能力不同,80%醇沉浓度所得多糖最强,其次为 60%醇沉浓度所得多糖。试验结果显示牛肝菌多糖对铁氰化钾具有较强的还原能力。

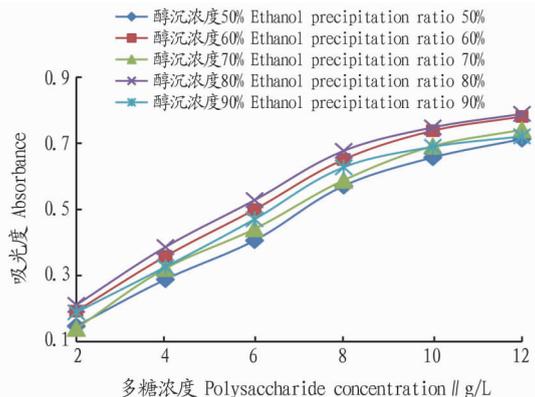


图 8 不同醇沉浓度黑牛肝菌多糖还原力测定

Fig.8 Reducing forces of polysaccharides from *Boletus aereus* precipitated with different concentrations of ethanol

3 结论

该试验以黑牛肝菌为原料,采用超声波辅助提取,通过单因素及正交试验得黑牛肝菌多糖提取工艺条件,其最佳提取工艺条件为料液比 1:25、超声时间 70 min、超声功率 90%、

醇沉浓度为80%,在该提取工艺条件下,对黑牛肝菌多糖进行提取,得多糖含量为79.41 mg/g。以料液比1:25、超声时间70 min、超声功率90%对黑牛肝菌多糖进行提取,选用不同醇沉浓度对糖提取液进行沉淀,对所得多糖的抗氧化活性进行了比较研究。根据结果综合来看,当醇沉浓度为80%时,多糖提取物抗氧化活性最强,多糖对DPPH、ABTS自由基清除率及总还原力吸光度分别可达97.92%、99.80%和0.789;醇沉浓度为50%时,所得多糖对DPPH、ABTS自由基清除率及总还原力吸光度分别为85.79%、88.23%和0.713,抗氧化活性最低。结果表明黑牛肝菌多糖对自由基有较好的清除能力及还原作用。

参考文献

- [1] 张明,李泰辉,闫文娟,等.广东省牛肝菌科分类研究[C]//中国菌物学会第六届会员代表大会(2014年学术年会)暨贵州省食用菌产业发展高峰论坛会议摘要.北京:中国菌物学会,2014:190.
- [2] 周云波,徐怀春,刘芳,等.文山野生牛肝菌多糖的提取测定及抗氧化性研究[J].文山学院学报,2017,30(3):24-27.
- [3] 李诚.野生牛肝菌的采摘与加工[J].致富天地,2011(7):51-52.
- [4] 杨天伟,李涛,张霁,等.不同产地、种类牛肝菌的紫外光谱鉴别分析[J].食品工业,2015,36(9):208-212.
- [5] 孙丽平,李笑,苏雪娇.中华牛肝菌多糖的性质及抗氧化活性[J].食品工业科技,2016,37(24):173-175,185.
- [6] 王心诗,邵丽梅,吴素蕊,等.响应面法优化水提铜色牛肝菌多糖工艺[J].中国食用菌,2015,34(1):60-64.
- [7] 陈海霞.活性多糖的结构与效应关系[J].科学观察,2013,8(6):53-55.

(上接第160页)

株养分速测推荐施肥技术,积极引导农民科学、合理调控化肥和农药的施用,有效促进农业节能减排,是促进农业可持续发展的重要举措。

参考文献

- [1] CARRIJO D R, LUNDY M E, LINQUIST B A. Rice yields and water use under alternate wetting and drying irrigation: A meta-analysis [J]. Field crop research, 2017, 203: 173-180.
- [2] 巨晓棠,谷保静.我国农田氮肥施用现状、问题及趋势[J].植物营养与肥料学报,2014,20(4):783-795.
- [3] 赵宏伟,沙汉景.我国稻田氮肥利用率的研究进展[J].东北农业大学学报,2014,45(2):116-122.
- [4] 吴建富,潘晓华,石庆华,等.江西双季水稻施肥中存在的问题及对策[J].中国稻米,2012,18(5):33-35.
- [5] 黄衣荣,钟旭华,程飞虎,等.水稻“三控”施肥技术示范应用进展(摘要)[J].中国稻米,2013,19(4):146-147.
- [6] 李瑞民,傅友强,潘俊峰,等.节水高产栽培对直播稻产量、病虫害发生和抗倒性的影响[J].中国稻米,2017,23(4):160-164.
- [7] 晏军,李亚芳,马萌萌,等.南方稻区水肥调控研究现状及其发展趋势[J].安徽农业科学,2019,47(9):14-18.
- [8] 魏海燕,李宏亮,程金秋,等.缓释肥类型与运筹对不同穗型水稻产量的

- [8] 张新妍,林传燕,朱静.美味牛肝菌多糖的药理活性研究进展[J].安徽农业科学,2015,43(16):4-5.
- [9] 王珊,尹涛,朱梅.长白山药用植物多糖抗氧化活性研究进展[J].吉林农业,2018(23):68-69.
- [10] 谢娟平,杨娥.正交设计优化野生牛肝菌多糖提取及含量测定[J].食品工业,2011,32(4):68-69.
- [11] 谢美华,罗中泽,李霖,等.云南野生紫红牛肝菌粗多糖提取方法及活性测定[J].食品科技,2014,39(6):199-203.
- [12] 杨立红,刘林德,钟旭生,等.野生牛肝菌多糖的分离鉴定及其抗氧化性研究[J].食品科学,2008,29(8):335-338.
- [13] 朱静,张甜.牛肝菌多糖提取工艺及抗肿瘤作用研究进展[J].安徽农业科学,2016,44(31):120-121.
- [14] 张居作,许巧玲,徐君飞.苦瓜多糖含量的苯酚硫酸法检测研究[J].食品研究与开发,2015,36(5):82-85.
- [15] 解修超,刘军生,罗阳兰,等.4株姬菇茸胞外多糖含量和生物活性的对比分析[J].食品研究与开发,2019,40(12):68-75.
- [16] 许效群,刘志芳,霍乃蕊,等.山药多糖的体外抗氧化活性及对正常小鼠的免疫增强作用[J].中国粮油学报,2012,27(7):42-46,51.
- [17] THAI PONG K, BOONPRAKOB U, CROSBY K, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts [J]. Journal of Food composition and analysis, 2006, 19(6/7):669-675.
- [18] 李帆,邢珂慧,邵佩兰,等.红枣色素与枣多糖的协同抗氧化作用[J].食品工业科技,2019,40(9):13-17,23.
- [19] 罗冬兰,黎晓燕,曹森,等.贵州不同种类茶叶的几种抗氧化成分及其抗氧化能力分析[J].食品研究与开发,2019,49(17):35-41.
- [20] 吴海涛,张或,缪琪,等.牡蛎水提液的抗氧化特性[J].食品与发酵工业,2005,31(4):42-45.
- [21] 董红敏,李素清,牛小勇,等.正交实验优化川明参多糖超声提取工艺[J].食品工业科技,2014,35(8):306-309,322.

影响[J].作物学报,2017,43(5):730-740.

- [9] 张卫红,李玉娥,秦晓波,等.应用生命周期法评价我国测土配方施肥项目减排效果[J].农业环境科学学报,2015,34(7):1422-1428.
- [10] 财政部:中央财政支持测土配方施肥成效显著[EB/OL].(2014-04-16)[2020-04-20].http://www.gov.cn/xinwen/2014-04/16/content_2660833.htm.
- [11] 汪炳元.浅谈我国测土配方施肥存在问题建议[J].农民致富之友,2018(19):72.
- [12] 金继运,白由路,杨俐苹,等.高效土壤养分测试技术与设备[M].北京:中国农业出版社,2006:148-152.
- [13] DOBERMANN A, WITT C, DAWE D, et al. Site-specific nutrient management for intensive rice cropping systems in Asia [J]. Field crops research, 2002, 74(1):37-66.
- [14] 钟旭华,黄衣荣,郑海波,等.水稻“三控”施肥技术规程[J].广东农业科学,2007,34(5):13-15,43.
- [15] PENG S B, BURESH R J, HUANG J L, et al. Strategies for overcoming low agronomic nitrogen use efficiency in irrigated rice systems in China [J]. Field crops research, 2006, 96(1):37-47.
- [16] 张良宇.适用于石灰性土壤的养分速测技术研究[D].保定:河北农业大学,2018.
- [17] 官利兰,杨依彬,胡义熬,等.养分速测技术及其推广应用[J].中国农技推广,2018,34(1):57-59.