玉米芯果胶多糖纯化及组分鉴定

陈晓楠[1],权晓琴[1],金邦荃[1],周 焙[1],胡 珏[1],
王娴静[1],何艳苏[1],刘春泉[2]

(1.南京师范大学食品科学与营养系,江苏 南京 210097)
(2.江苏省农科院农产品加工研究所,江苏 南京 210014)

[摘要] 为提高玉米芯经济利用价值,采用DEAE-Cellulose52柱层析法纯化粗制玉米芯果胶多糖,并解析其糖成分.研究表明,适宜的阴离子柱层析条件为6 mL-4%-1.5 mL/min-4∶2(V_{dH2O}∶V_{NaCl}),得率可提高一倍以上,且产品为高纯度玉米芯果胶多糖.其多糖成分由*D*-半乳糖醛酸(*D*-Galacturonic acid,*D*-GalA)、木糖(Xylose,Xyl)和鼠李糖(Rhamnose,Rha)构成,其中*D*-GalA达到49.23%,为主要成分;三糖含量合计为61.66%,为杂多糖.玉米芯果胶多糖可应用于食品工业,也可开发出新型功能食品.

[关键词] 半乳糖醛酸,木糖,鼠李糖,纯化,玉米芯果胶多糖
[中图分类号]TS2 [文献标志码]A [文章编号]1672-1292(2015)04-0075-07

Purification of Corncob Pectin and Identification of Its Composition

Chen Xiaonan[1],Quan Xiaoqin[1],Jin Bangquan[1],Zhou Bei[1],Hu Jue[1],
Wang Xianjing[1],He Yansu[1],Liu Chunquan[2]

(1.Department of Food Science and Nutrition,Nanjing Normal University,Nanjing 210097,China)
(2.Institute of Farm Product Processing,Jiangsu Academy of Agricultural Sciences,Nanjing 210014,China)

Abstract:In order to increase corncob's economic availability,crude corncob pectin is purified by DEAE-Cellulose52 and its sugar composition is analyzed. The results show that optimum column conditions are 6 mL-4%-1.5 mL/min-4∶2 (V_{dH2O}∶V_{NaCl})for purifying corncob pectin. At this conditions,purified pectin yield is increased twice or more with highly pure. Corncob pectin contains three sugar composition at least,such as *D*-galacturonic acid(*D*-GalA),xylose and rhamnose,so corncob pectin belongs to heteropolysaccharide. *D*-GalA is a major composition,about 49.23% in purified pectin;while the content of three is 61.66%. Summing up,this corncob pectin can be used in food industry,and also in developing new functional foods for human.

Key words:*D*-galacturonic acid,xylose,rhamnose,purification,corncob pectin

我国是玉米生产大国,每年玉米收获和加工后,大量玉米秸秆废弃.玉米芯是玉米果穗脱去子粒后的穗轴,部分用作牛羊饲料,也有人采用酶解法制备糠醛和木聚糖等,但依然被大量废弃并增加环境负担[1].人们运用木聚糖酶降解玉米秸秆的木质素,从中分离提取木聚糖和木糖醇等工业原料,为食品加工业和医药业所用[2].近年本实验室采用稀碱法,试图高效分解玉米芯中半纤维素等,制备出可溶性膳食纤维——玉米芯果胶多糖[3-4],其得率达到12%,主要成分为半乳糖醛酸(*D*-Galacturonic acid,*D*-GalA)[3].研究认为,不同的处理方法,如酸解法、碱解法或酶解法,所获得的产物不尽相同[5].

经稀碱处理后,可得到具有经济利用价值的玉米芯果胶多糖[3],为进一步认识其组成成分,需要纯化.本文利用柱层析法中离子交换技术[6],建立方法并通过阴离子交换吸附和纯化玉米芯果胶多糖;在此基础上,采用光化学手段鉴定玉米芯果胶多糖纯度和化学组分.

收稿日期:2015-07-13.
基金项目:2015公益性行业(农业)科研专项(201503142-5)、2014江苏省研究生创新项目(SJLX-0321)、2015江苏省研究生创新项目(KYLX15-0762).
通讯联系人:金邦荃,博士,教授,研究方向:食品科学.E-mail:jinbangquan@njnu.edu.cn

1　材料与方法

1.1　玉米芯粗果胶

玉米芯干燥后粉碎,水分<10%,制成100目细粉样品避光密封储藏待用. NaOH溶液浸泡玉米芯细粉,经脱碱、醇沉、离心和干燥,从中分离提取玉米芯粗果胶[3].

1.2　主要试剂

NaOH、NaCl、HCl、H_2SO_4、Na_2SO_3、无水乙醇(C_2H_6O)、酒石酸钾钠($C_4O_6H_4KNa$)、3,5-二硝基水杨酸($C_7H_4N_2O_7$)、咔唑($C_{12}H_9N$)和苯酚(C_6H_6O)等均为分析纯,*D*-GalA、木糖(Xylose,Xyl)、鼠李糖(Rhamnose,Rha)和木聚糖酶为生物纯,以及DEAE-Cellulose52分离胶.

1.3　仪器设备

CXG-1电脑恒温层析柜、Model DBS-100电脑全自动部分收集器、HL-2恒流泵和TH-1000A梯度混合器(上海青浦沪西仪器厂),LD5-10离心机(赛特湘离心机仪器有限公司),FreeZone2.5^{+}冷冻干燥机(美国LABCONCO公司),BioTek ELX808酶标仪(上海东风电讯仪器厂),Spectrumlab54紫外可见分光光度计(上海棱光技术有限公司),PHS-3C pH计(上海三信仪表厂),FA2014N电子天平和YP2001N电子天平(上海精密科学仪器有限公司),FM100高速万能粉碎机(天津太斯特仪器有限公司),HH-6数显恒温水浴锅(金坛市荣华仪器有限公司)等.

1.4　方法

1.4.1　DEAE-Cellulose52柱纯化条件

柱层析基本条件:1.6 cm *Φ*×40 cm *H*层析柱,25 ℃柱温,0~0.5 mol/L NaCl梯度洗脱,1 mL/min平衡速度和4 mL/管收集洗脱液;采用咔唑比色法跟踪检测玉米芯果胶多糖洗脱液,膜透析脱盐后冷冻干燥得到精制果胶[7].

如表1所示,选择4因素×5水平(样品量、样品浓度、洗脱流速和洗脱液比例),对该阴离子交换柱的纯化条件进行筛选,以期得到较理想的纯化条件,提高玉米芯果胶多糖的纯度.

表1　DEAE-Cellulose52柱纯化条件筛选

Table 1　Purified conditions of DEAE-Cellulose52

水平	样品量/mL	样品浓度/%	洗脱流速/(mL/min)	洗脱液比例(V_{dH2O}:V_{NaCl})
1	4	2	1.0	3:2
2	5	4	1.5	4:2
3	6	6	2.0	4:3
4	7	8	2.5	5:2
5	8	10	3.0	5:3

1.4.2　3种糖标准溶液及标准曲线

如表2所示,针对玉米芯果胶多糖,分别选用*D*-GalA、Xyl和Rha标准品,配制5浓度梯度标准溶液;在线性梯度范围内,根据公式和样品果胶多糖吸光度计算出3种糖含量.

D-GalA、Xyl和Rha均在紫外光区呈现特征峰,其最大吸收峰分别位于525 nm、490 nm和480 nm处.如图1~3所示,根据浓度(*X*轴)和吸光度(*Y*轴)建立标准曲线,其线性方程的R^2均达到0.99(p<0.01)以上,能够满足玉米芯果胶中样品*D*-GalA、Xyl和Rha含量检测条件.

表2　*D*-GalA、Xyl、Rha标准溶液

Table 2　Standard solution of *D*-GalA, xylose and rhamnose

	1	2	3	4	5	6
D-GalA/(mg/L)	0.0	20.0	40.0	60.0	80.0	100.0
Xyl/(mg/mL)	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
Rha/(mg/mL)	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5

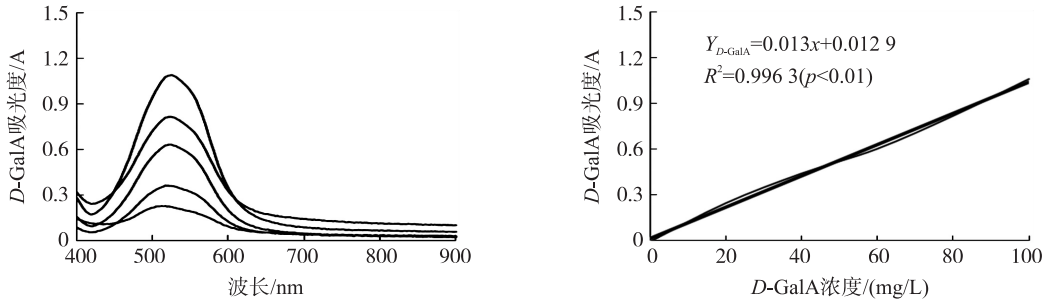


图1　*D*-GalA最大吸收光谱与标准曲线

Fig.1　Maximum absorption spectrum and standard curve of *D*-GalA

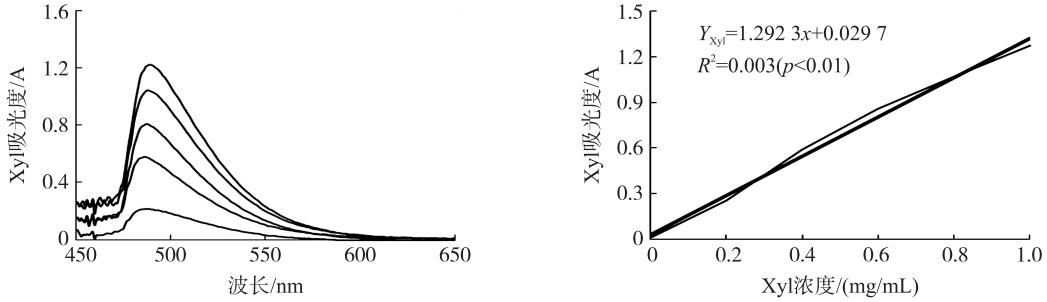


图2　Xyl最大吸收光谱与标准曲线

Fig.2　Maximum absorption spectrum and standard curve of Xyl

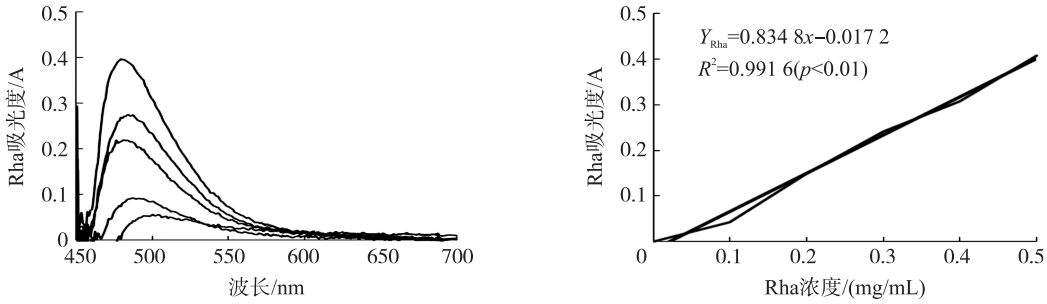


图3　Rha最大吸收光谱与标准曲线

Fig.3　Maximum absorption spectrum and standard curve of Rha

1.4.3　玉米芯果胶多糖3种糖含量测定

(1)*D*-GalA含量测定

精确称量玉米芯果胶多糖,加入0.25 mL咔唑和5.00 mL浓H_2SO_4,85 ℃水浴20 min后测定其吸光度,参照标准曲线,计算并得到样品*D*-GalA含量[8-9]. 计算公式为:

$$Y=\frac{\rho\times V\times K}{M\times 10^6}\times 100\%\ ,$$

式中,Y为玉米芯果胶中*D*-GalA含量(%);ρ为从标准曲线查得的*D*-GalA浓度(mg/L);V为*D*-GalA提取液体积(mL);K为提取液稀释倍数;M为样品干基重量(g).

(2)Xyl含量测定

精确称量玉米芯果胶多糖,加入10 mL磷酸缓冲液(pH 6.0)和5 mL 10%木聚糖酶,40 ℃水浴酶解6 h后,灭活离心15 min(6 500 r/min)得到上清液,参照标准曲线,计算并得到样品Xyl含量(DNS法)[10]. 计算公式为:

$$Y=\frac{C\times V\times K}{M\times 10^6}\times 100\%\ ,$$

式中,Y为玉米芯果胶中Xyl含量(%);C为从标准曲线查得Xyl浓度(mg/mL);V为Xyl提取液体积(mL);K为提取液稀释倍数;M为样品干基重量(g).

(3)Rha含量测定

精确称量玉米芯果胶多糖,加入3 mL 5% H_2SO_4,60 ℃水浴2 h后,用$CaCO_3$将溶液pH调至7.0左右,加

入0.5 g酵母,37 ℃发酵2 h后过滤得到上清液.参照标准曲线,计算并得到样品Rha含量(DNS法)[11].公式同Xyl含量计算公式,其中,Y为玉米芯果胶中Rha含量(%);C为从标准曲线查得Rha浓度(mg/mL);V为Rha提取液体积(mL);K为提取液稀释倍数;M为样品干基重量(g).

1.4.4　玉米芯果胶多糖紫外鉴定

以*D*-GalA标准品为参照,经200~600 nm全程紫外扫描,检测5 mg/mL玉米芯果胶多糖[12].

1.4.5　数据处理与统计学分析

本文数据均以 $\bar{X}\pm SD$ 表示;采用SPASS 13.0软件(ISBN7-980009-06-1)进行单因素方差分析(One-way Analysis of variance,ANOVA);如组间差异显著,进一步采用Duncan显著性检验;图表中肩标字母相同,表示组间无差异;肩标字母不相同,则表示组间差异显著或极显著,并以$p<0.05$或$p<0.01$[13].

2　结果与讨论

2.1　影响玉米芯果胶多糖纯化的因素

选择样品量、样品浓度、洗脱流速和洗脱液比例四因素(A、B、C和D),比较和分析DEAE-Cellulose52阴离子柱层析纯化玉米芯果胶多糖的效果.

2.1.1　样品量的影响

设2%-1.0 mL/min-3∶2(V_{dH2O}∶V_{NaCl})为基本条件,研究样品量对分离纯化的影响.结果显示,样品量对纯化率有一定影响,当上样量达到6~8 mL时,其纯化率接近11%,均较4~5 mL($p<0.05$)增加了约1个百分点,考虑6、7和8 mL的纯化效果接近,故选择6 mL为适宜上样量(见图4(a)).推测6 mL上样量已接近DEAE-Cellulose52吸附果胶的饱和度,选择该剂量有可能减少果胶多糖的洗脱损失.

2.1.2　样品浓度的影响

设玉米芯粗果胶浓度2%~10%等5浓度梯度,在4 mL-1.0 mL/min-3∶2(V_{dH2O}∶V_{NaCl})条件下筛选出适宜浓度.结果表明,2%~6%的粗果胶浓度其纯化率维持在较高水平,在8.5%~10%;当浓度进一步提高时,其纯化率明显下降至5.5%,反而不利于果胶的纯化($p<0.05$).究其原因,可能是果胶浓度太大导致DEAE-Cellulose52胶分子间孔径阻塞,无法有效分离纯化,从而导致纯化率下降.因此,本试验以4%粗果胶为最适上样浓度(见图4(b)).

2.1.3　洗脱流速的影响

以2%-4 mL-3∶2(V_{dH2O}∶V_{NaCl})为条件,观测洗脱流速对纯化率的影响.当洗脱流速在1.0~2.0 mL/min时果胶纯化率较高,流速为1.5 mL/min时,得率达9.15%;而当流速增至2.5 mL/min和3.0 mL/min时,其纯化率显著降至5%以下($p<0.05$).推测可能是流速过快,不能将DEAE-Cellulose52阴离子柱吸附的果胶多糖充分洗脱(见图4(c)).

2.1.4　洗脱液比例的影响

在2%-4 mL-1.0 mL/min条件下,研究洗脱液比例的纯化效果.发现洗脱液比例为4∶2(V_{dH2O}∶V_{NaCl})时,纯化率最高,为9.9%;其次为5∶2和3∶2;5∶3和4∶3(V_{dH2O}∶V_{NaCl})时最低($p<0.05$).表明洗脱比例越大,纯化效果相对较好;而洗脱比例过于接近,其纯化效果较差(见图4(d)).

研究结果表明,样品量(A)、样品浓度(B)、洗脱流速(C)和洗脱液比例(D)四因素对玉米芯果胶多糖纯化率有显著影响,影响度依次为A>B>D>C.因此,上样量是首要影响因素,其次为浓度.最适条件下,玉米芯果胶多糖的纯化率由原来的5%~6%上升至9%~10%,得率提高接近2倍,纯化效果明显改进($p<0.05$).

李永泉等人[14]用DEAE-Cellulose32柱纯化白阿魏菇菌丝体粗多糖,选择流速1 mL/min-上样体积5 mL-2∶1(V_{dH2O}∶V_{NaCl}),浓缩冻干得到多糖纯品;彭强等人[15]用DEAE-Cellulose阴离子柱纯化黑果枸杞多糖选择的洗脱流速为1 mL/min;而许晶晶等人[16]采用DEAE-Cellulose52阴离子层析柱以2 mL/min流速纯化浒苔粗多糖;曹向宇等人[17]采用DEAE-32纯化鸡腿菇菌丝体粗多糖,选择上样体积为6 mL;其柱层析条件与本试验果胶纯化因素相近.因此,6 mL-4%-1.5 mL/min-4∶2(V_{dH2O}∶V_{NaCl})是玉米芯果胶适宜的柱层析条件.

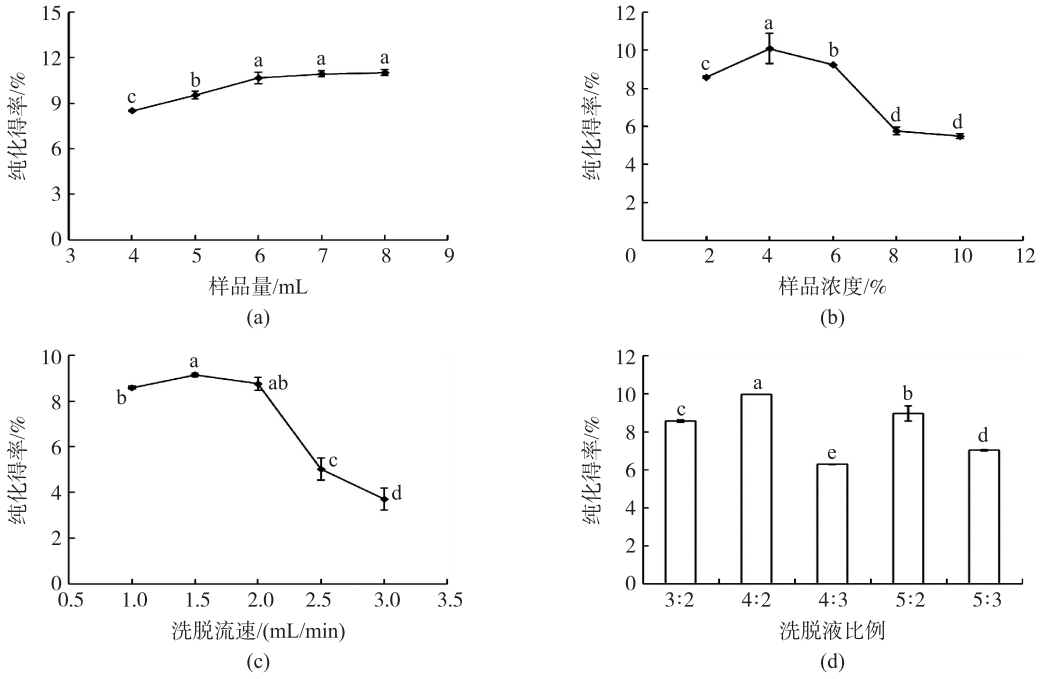


图4　四因素对纯化效果的影响

Fig.4　Four effects on pectin purification

2.2　玉米芯果胶多糖纯化与鉴定

如图5所示,在6 mL-4%-1.5 mL/min-4∶2(V_{dH2O}∶V_{NaCl})的最适洗脱条件下,采用DEAE-Cellulose52阴离子柱层析分离纯化玉米芯果胶多糖,得到两个分离清晰且尖锐的洗脱峰. 10~20管为dH_2O洗脱产物,推测为中性果胶(Neutral pectin,NP);进入NaCl洗脱阶段,在48~58管间得到另一组洗脱产物,推测为酸性果胶(Acid pectin,AP).

由于dH_2O只能洗脱DEAE-Cellulose52柱上不含负电荷的物质,这些不与DEAE-Cellulose52结合的果胶组分首先被dH_2O洗脱出来,因此构成了第一洗脱峰,即NP. 而进入到dH_2O∶NaCl梯度洗脱阶段,随着NaCl浓度的升高,其与阴离子交换柱结合的某些酸性果胶被逐渐洗脱出来,形成第二洗脱峰,即AP[6]. 经对AP的dH_2O∶NaCl洗脱比例计算,玉米芯AP组分的最佳NaCl浓度是0.2 mol/L.

经200~600 nm UV扫描,无论是*D*-GalA标准品,还是精制NP和AP,其紫外光谱基本一致,仅见NP和AP在初始阶段略高于*D*-GalA标准品紫外基线. 结果显示,NP和AP分别在260 nm处无核酸特征吸收峰,说明其不含核酸,但在280 nm处略有起伏,出现微凸吸收峰,峰值较低,说明精制NP和AP中可能存在微量糖-蛋白质结合物. 试验结果初步表明,NP和AP是高纯度的精制果胶(见图6)[18-19].

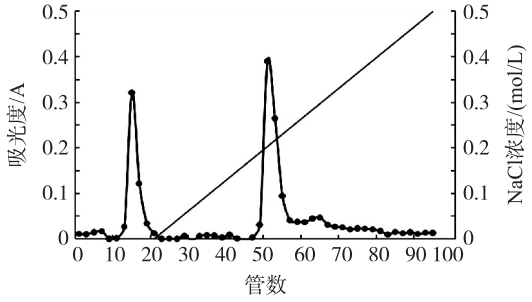


图5　玉米芯果胶DEAE-Cellulose52洗脱曲线

Fig.5　The elution curve of pectin by DEAE-Cellulose52

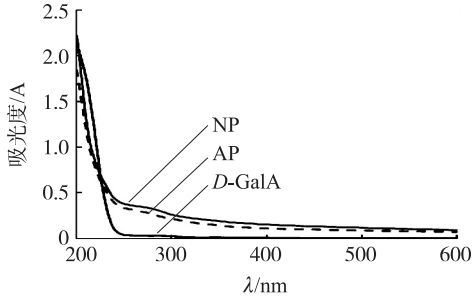


图6　*D*-GalA与NP和AP紫外扫描

Fig.6　UV scanning of *D*-GalA,NP and AP

2.3　精制玉米芯果胶多糖组分鉴定

将玉米芯果胶用浓硫酸水解,10%木糖酶水解或酵母菌分解后,分别采用咔唑硫酸法、DNS法检测水解后果胶中糖组分的吸光度,并经公式计算得到果胶中这3种糖的相对含量.

2.3.1　玉米芯果胶*D*-GalA含量

果胶主要由*D*-GalA的聚合物构成碳骨架的主链,不同来源植物果胶其*D*-GalA含量各不相同,草本植

物黄秋葵花果胶类多糖中总*D*-GalA含量为41.43%[20],而木本植物果实类多糖如橙皮果胶中*D*-GalA含量高达70.66%[21]. 同种植物来源不同处理条件下的果胶含量也不尽相同,如植物块根类甘薯,采用酸提醇沉法提取果胶,其*D*-GalA含量为57.1%,而磷酸氢二钠提醇沉法提取果胶中的*D*-GalA含量为45.0%[22].

本试验中玉米芯果胶多糖的主要成分为*D*-GalA,其粗果胶中*D*-GalA含量为21.47%;DEAE-Cellulose52柱纯化后得到精制NP和AP二组分,分别含有24.59%和24.64% *D*-GalA,二者*D*-GalA含量接近,合计达49.23%,是果胶的主要成分(见表3).

2.3.2　玉米芯果胶Xyl含量

玉米芯果胶中尚含有少量Xyl,其粗果胶中含量仅为1.99%;经DEAE-Cellulose52柱纯化后,Xyl在NP和AP中的含量明显升高,分别为粗果胶中Xyl的1.69倍和2.40倍(见表3). DEAE-Cellulose是弱阴离子交换剂,具有分子筛的作用,可以脱去色素和小分子杂质等[23],层析后玉米芯果胶多糖的纯度提高,精制玉米芯果胶多糖中Xyl含量相应增加.

植物果胶结构中,支链性质如支链的聚合度、类型及支链在主链上的分布和取代度等决定了果胶多糖活性. Xyl往往与*D*-GalA的O3位缩合,形成不同聚合度的侧链基团[24],由于Xyl比例的增加,其支链Xyl聚合物数量也对应增加,可能会导致玉米芯果胶多糖在结构和功能上产生对应的变化.

2.3.3　玉米芯果胶Rha含量

Rha是玉米芯果胶中的稀少糖,精制玉米芯AP中也仅含2.44%(见表3),但Rha在果胶结构中依然起到不可替代性的作用,它可与*D*-GalA分别形成α-1,4或β-1,4糖苷键,还可与其形成α或β-1,3糖苷键,形成典型的毛发区,导致其高级结构形态更加多样和不可预测,且伴随着生物学功能的表达[25-26].

表3　玉米芯果胶多糖组分

Table 3　Sugar components of corncob pectin

	D-GalA	Xylose	Rhamnose	合计
粗果胶(%)	21.47±0.05	1.99±0.55	0.98±0.20	24.43±0.44
NP(%)	24.59±0.13	3.36±0.10	1.86±0.05	29.21±0.22
AP(%)	24.64±0.09	4.77±0.06	2.44±0.18	31.86±0.33
合计/NP+AP(%)	49.23	8.13	4.30	61.66

综上所述,化学分析法测定玉米芯果胶多糖是由*D*-GalA、Xyl和Rha组成,*D*-GalA为主要成分,占精制玉米芯果胶多糖的49.23%;Xyl、Rha含量较低,以支链的形式与*D*-GalA聚合成侧链基团,具有不可替代的生物学功能.

3　结论

影响玉米芯果胶多糖纯化的四因素为样品量、样品浓度、洗脱流速和洗脱液比例,6 mL-4%-1.5 mL/min-4:2(V_{dH2O}:V_{NaCl})为适宜工艺条件. 经UV扫描,精制玉米芯果胶为高纯度多糖.

玉米芯果胶多糖结构中至少含有3种糖成分,即*D*-GalA、Xyl、Rha. 若以三糖总量为100%,分别为79.84% *D*-GalA、13.19% Xyl和6.97% Rha,其中*D*-GalA是玉米芯果胶多糖的主要化学成分. 因此,其可作为食品工业中乳化剂和胶凝剂的新资源,也可作为膳食纤维的补充剂.

[参考文献](References)

[1]　董英. 玉米芯营养价值及其综合利用[J]. 粮食与油脂,2003(5):27-28.
DONG Y. Nutritional value of corncob and its comprehensive utilization[J]. Cereals and oils,2003(5):27-28.(in Chinese)

[2]　冯璇,金邦荃,梁光鑫,等. 玉米芯纤维降解及果胶制备的前处理方法比较与优化[J]. 南京师范大学学报(工程技术版)2014,14(2):79-85.
FENG X,JIN B Q,LIANG G X,et al. The comparison and optimization of corncob fibre pretreatments[J]. Journal of Nanjing normal university(engineering and technology edition),2014,14(2):79-85.(in Chinese)

[3]　王海洪,孙晓锋,张广成,等. 玉米秸秆半纤维素制备木糖醇的研究[J]. 应用化工,2010(2):161-166.
WANG H H,SUN X F,ZHANG G C,et al. Preparation of xylitol from corn stalk hemicelluloses[J]. Applied chemical industry,2010(2):161-166.(in Chinese)

[4] 权晓琴,金邦荃,胡珏,等.乳熟期甜玉米芯纤维管微结构与成分的比较性研究[J].南京师范大学学报(工程技术版),2015,15(1):86-92.
QUAN X Q,JIN B Q,HU J,et al. Study on fiber tubes structure and chemicals in sweet corncob[J]. Journal of Nanjing normal university(engineering and technology edition),2015,15(1):86-92.(in Chinese)

[5] 张静文,张凤清,张培刚,等.玉米芯多糖的提取及其单糖组成研究[J].食品工业科技,2010(3):242-244.
ZHANG J W,ZHANG F Q,ZHANG P G,et al. Study on extraction technology and composition of polysaccharide from corncob[J]. Science and technology of food industry,2010(3):242-244.(in Chinese)

[6] 朱晓霞,罗学刚.多糖提取与纯化技术应用进展[J].食品研究与开发,2007,28(3):186.
ZHU X X,LUO X G. Progress in extraction and purification of polysaccharides[J]. Food research and development,2007,28(3):186.(in Chinese)

[7] 中华人民共和国农业部.水果及其制品中果胶含量的测定分光光度法:NY/T 2016—2011[S].北京:中国农业出版社,2011.
INDUSTRY of AGRICULTURE of the PEOPLE'S REPUBLIC of CHINA. Determination of pectin content in fruits and their products by spectrophotometry:NY/T2016-2011[S]. Beijing:China Agriculture Press,2011.(in Chinese)

[8] CANTERI-SCHEMIN M H,FERTONANI H C R,WASZCZYNSKYJ N,et al. Extraction of pectin from apple pomace[J]. Braz Arch Biol Technol,2005,48(2):259-266.

[9] THIRUGNANASAMBANDHAM K,SIVAKUMAR V,MARAN J P. Process optimization and analysis of microwave assisted extraction of pectin from dragon fruit peel[J].Carbohydrate polymers,2014,112:622-626.

[10] 蔡芸梅,蒋俊树,刘斌,等.3,5-二硝基水杨酸比色法测定木糖含量的研究[J].食品科技,2008(5):218-220.
CAI H M,JIANG J S,LIU B,et al. Study on measuring xylose content by DNS reagent[J]. Food technology,2008(5):218-220.(in Chinese)

[11] 高旭东,郝宝成,梁剑平,等.*L*-鼠李糖的制备及检测方法研究进展[J].安徽农业科学,2014,42(18):5 966-5 968.
GAO X D,HAO B C,LIANG J P,et al. Research advance on preparation and determination method of *L*-rhamnose[J]. Journal of Anhui agriculture sciences,2014,42(18):5 966-5 968.(in Chinese)

[12] 潘松,刘长江,梁爽.软枣猕猴桃多糖的分离与纯化及其分子质量的测定[J].食品科学,2012,33(15):66-70.
PAN S,LIU C J,LIANG S. Isolation,purification and molecular weight determination of polysaccharides from actinidia arguta sieb. et Zucc. fruits[J]. Food science,2012,33(15):66-70.(in Chinese)

[13] 胡运泉.试验设计讲座[J].质量与可靠性,1993(1):43-46.
HU Y Q. Experimental design lecture[J]. Quality and reliability,1993(1):43-46.(in Chinese)

[14] 李永泉,吴炬,花立明,等.白阿魏菇菌丝体多糖分离纯化工艺的优化和结构分析[J].兰州大学学报(自然科学版),2003,39(4):50-54.
LI Y Q,WU J,HUA L M,et al. Separation and purification of polysaccharides from pleurotus and its structure analysis[J]. Journal of Lanzhou normal university(natural science edition),2003,39(4):50-54.(in Chinese)

[15] 彭强,吕晓鹏,黄琳娟,等.黑果枸杞多糖的纯化工艺研究[J].西北农业学报,2012,21(2):121-126.
PENG Q,LÜ X P,HUANG L J,et al. Study on the purification technology of lycium ruthenicum polysaccharides[J]. Acta agriculturae boreali-occidentalis sinica,2012,21(2):121-126.(in Chinese)

[16] 许晶晶,唐志红,王景玉,等.浒苔多糖的纯化及抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2009,30(10):134-136.
XU J J,TANG Z H,WANG J Y,et al. Study on purification and antioxidative activity of polysaccharides from enteromorpha[J]. Science and technology of food industry,2009,30(10):134-136.(in Chinese)

[17] 曹向宇,刘剑利,齐峰,等.超声波联合酶法提取鸡腿菇菌丝体多糖及纯化[J].食品科学,2013,34(16):6-10.
CAO X Y,LIU J L,QI F,et al. Ultrasonic-assisted enzymatic extraction and purification of polysaccharides from coprinus comatus mycelia[J]. Food science,2013,34(16):6-10.(in Chinese)

[18] 赵晓坤.紫外吸收光谱在有机化合物结构解析中的应用[J].内蒙古石油化工,2007(11):171-173.
ZHAO X K. Application of UV absorption spectroscopy in structure of organic compounds[J]. Inner Mongolia petrochemical industry,2007(11):171-173.(in Chinese)

[19] PELLOUX J,RUSTERUCCI C,MELLEROWICZ E J. New insights into pectin methylesterase structure and function[J]. Trends in plant science,2007,12(6):267-277.

[20] 刘晓霞.黄秋葵花果胶类多糖的提取工艺及其性质的研究[D].杭州:浙江大学,2014.

(下转第89页)

[7] ARSHINDER, KANDA A, DESHMUKH S G. Supply chain coordination: perspectives, empirical studies and research directions[J]. International journal of production economics, 2008(2): 22-40.
[8] CHOI T M, LI D, YAN H M, et al. Channel coordination in supply chains with agents having mean-variance objectives[J]. Omega, 2007(4): 56-71.
[9] BABICH V, RITCHKEN P H, BURNETAS A. Competition and diversification effects in supply chains with supplier default risk[J]. Manufacturing & service operations management, 2010(5): 26-47.
[10] 徐兵,孙刚. 随机需求下两条供应链的货架展示量竞争与链内协调研究[J]. 运筹与管理,2012(3):87-94.
XU B, SUN G. Study on SC competition in shelf-display-quantity between two SCs and SC coordinative within SC with stochastic demand[J]. Operations research and management science, 2012(3): 87-94.(in Chinese)
[11] 彭红军,周梅华,刘满芝. 两级生产与需求不确定下供应链风险共担模型研究[J]. 管理工程学报,2013(3):156-163.
PENG H J, ZHOU M H, LIU M Z. Research on risk sharing model in supply chain with uncertainties in two-level yields and demand[J]. Journal of industrial engineering and engineering management, 2013(3): 156-163.(in Chinese)
[12] 周雄伟,马费成. 需求不确定环境下的供应链信息共享激励模型[J]. 管理工程学报,2010(4):122-126.
ZHOU X W, MA F C. An incentive model of information sharing in supply chain with demand uncertainty[J]. Journal of industrial engineering and engineering management, 2010(4): 122-126.(in Chinese)
[13] YANG S A, BIRGE J R. How inventory is(should be) financed: trade credit in supply chains with demand uncertainty and costs of financial distress[J]. Social science electronic publishing, 2011(7): 12-49.
[14] 刘洋,马永开. 考虑损失厌恶的跨国供应链汇率风险分担契约[J]. 系统工程,2015(1):94-102.
LIU Y, MA Y K. Global supply chain exchange rate risk sharing contract with a loss-averse retailer[J]. Systems engineering, 2015(1): 94-102.(in Chinese)
[15] 徐兵,杨金梅. 闭环供应链竞争的博弈分析与链内协调合同设计[J]. 运筹与管理,2013(2):64-71.
XU B, YANG J M. Game analysis of closed-loop supply chain competition and coordinative contract design within supply chain[J]. Operations research and management science, 2013(2): 64-71.(in Chinese)

[责任编辑:严海琳]

(上接第81页)

LIU X X. Extraction and characterization of pectic polysaccharides from okra flower[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.(in Chinese)
[21] 夏天添. 橙皮果胶提取工艺及其理化性质研究[D]. 南昌:南昌大学,2012.
XIA T T. Studies on extraction technique and physichemical properties of pectin from the peel of orange[D]. Nanchang: Nanchang University, 2012.(in Chinese)
[22] 张春蓬. 磷酸氢二钠法制备甘薯果胶工艺及其凝胶特性研究[D]. 北京:中国农业科学院,2011.
ZHANG C P. Study on sweet potato pectins preparation by extracts of disodium hydrogen phosphate solution and its gelling characteristics[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011.(in Chinese)
[23] 戴玉杰,秦韶燕,贾士儒,等. 不同DEAE离子交换树脂纯化发菜多糖的比较研究[J]. 中国酿造,2009,28(11):83-85.
DAI Y J, QIN S Y, JIA S R, et al. Purification of polysaccharide from noscoc flagelliforme with four different ion-exchange resins[J]. China brewing, 2009, 28(11): 83-85.(in Chinese)
[24] MOHNEN D. Pectin structure and biosynthesis[J]. Current opinion in plant biology, 2008, 11(3): 266-277.
[25] RIDLEY B L, O'NEILL M A, MOHNEN D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling[J]. Phytochemistry, 2001, 57(6): 929-967.
[26] SHII T, MATSUNAGA T. Pectic polysaccharide rhamno galacturonan II is covalently linked to homogalacturonan[J]. Phytochemistry, 2001, 57: 969-974.

[责任编辑:严海琳]