

# 超声辅助复配酶法制备黄姜中薯蓣皂素

肖婉娜, 李欣\*, 赖家良, 赖航通, 李子文, 韩褒 (广东科贸职业学院, 广东广州 510430)

**摘要** [目的]探讨超声辅助酶法水解黄姜生产薯蓣皂素工艺。[方法]通过正交试验优化纤维素酶和蜗牛酶组成的复配酶水解黄姜,建立高效液相色谱法定量薯蓣皂素,计算得率。[结果]酶解温度对薯蓣皂素得率的影响最大;最佳酶水解条件是酶解时间为48 h,酶添加量为物料的8%,酶解pH为6.0,酶解温度为50℃,薯蓣皂素的得率为0.5249%。采用超声破碎辅助复配酶解法,薯蓣皂素的得率为0.6309%。[结论]利用超声辅助纤维素酶和蜗牛酶提取黄姜中薯蓣皂素比直接酶解法得率提高了25%,接近酸解法的得率,应用潜力大。

**关键词** 黄姜;薯蓣皂素;超声波辅助提取;蜗牛酶;纤维素酶

中图分类号 S284.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)16-0121-05

## Preparation Technology of Diosgenin of *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright by Ultrasonic-assisted Co-enzyme Hydrolysis

XIAO Wan-na, LI Xin\*, LAI Jia-liang et al (Guangdong Polytechnic of Science And Trade, Guangzhou, Guangdong 510430)

**Abstract** [Objective] The research aimed to explore the preparation technology of diosgenin of *Dioscorea zingiberensis* by ultrasonic-assisted co-enzyme hydrolysis. [Method] The orthogonal experiment was carried out to optimize the cellulase and snail enzyme composition of the enzyme to hydrolyze the turmeric, and established HPLC method to determine the yield of diosgenin. [Result] The key factor affected extraction of diosgenin was enzymolysis temperature. The optimal condition for enzymatic hydrolysis were as follows: enzymolysis time of 48 h, enzyme dosage of 8%, enzymatic hydrolysis of pH 6.0, and enzymolysis temperature of 50℃. Thus, the yield of diosgenin prepared under those condition was up to 0.5249%. Interestingly, the yield of diosgenin obtained by ultrasonic assisted co-enzymatic hydrolysis was 0.6309%. [Conclusion] The yield of diosgenin obtained by ultrasonic assisted co-enzymatic hydrolysis increased by 25% compared with that obtained by the direct enzymatic hydrolysis, which was close to that obtained by the acidic hydrolysis. Thus, it plays a potential role in preparing diosgenin of *Dioscorea zingiberensis*.

**Key words** *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; Digestion; Ultrasonic-assisted extraction; Snailase; Cellulase

黄姜,学名盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright),是我国传统中药材,常以根茎入药。薯蓣皂素,又称薯蓣皂苷元,是薯蓣属植物薯蓣皂苷的水解产物,是合成肾上腺皮质激素、性激素和蛋白质同化激素等甾体激素药物的原料<sup>[1]</sup>。薯蓣皂素在植物体内是以薯蓣皂苷配基形式存在、通过皂苷键与不同的糖基侧链相连,进而与植物细胞壁紧密连接。黄姜的根茎中薯蓣皂素通过糖苷键与糖类结合形成薯蓣皂苷存在于植物细胞壁中,甾体皂苷常被淀粉和纤维素包裹。工业上普遍采用无机酸水解工艺提取黄姜中薯蓣皂素,该法工艺简单、操作简便,但废水量极大,酸性强、环境污染严重,废渣中的淀粉和纤维素类物质因混有酸而难以利用,造成资源浪费,严重制约了薯蓣皂素产业的可持续发展<sup>[2-6]</sup>。

目前,国内对薯蓣皂素的酶和微生物转化法研究较多。微生物发酵法具有污染小、成本低的特点,缺点是薯蓣皂素转化率低。而酶水解断裂糖苷键专一性强,缺点是多数酶的成本较高,限制了其广泛应用<sup>[7-9]</sup>。鉴于此,笔者探讨采用廉价的纤维素酶和蜗牛酶复配水解黄姜超声波辅助提取薯蓣皂素的新工艺,以期薯蓣皂素的工业化生产应用提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

1.1.1 原料。新鲜盾叶薯蓣,野生,产地四川广元。

1.1.2 药品与试剂。薯蓣皂素标准品、中温淀粉酶、糖化酶

购自上海阿拉丁生化科技公司;甲醇、乙腈购自德国默克公司;石油醚(90~120℃)、磷酸氢二钠、冰乙酸购自天津富宇精细化工公司;纤维素酶购自上海金穗生物科技有限公司;β-葡萄糖苷酶购自国药集团;蜗牛酶购自合肥志宏生物技术有限公司,其他试剂均为分析纯试剂。

1.1.3 主要仪器设备。高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)、水浴恒温振荡器(巩义市予华仪器公司)、电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器公司)、小型台式离心机(德国Sigma公司)、超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技有限公司)、旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)、电子天平(梅特勒-托利多公司)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 原料的处理。将新鲜黄姜清洗去除泥沙切片,50℃烘干后打粉,过100目筛,备用。

1.2.2 酸解法制备薯蓣皂素。称取黄姜粉末1g置于100mL烧杯中,加入50mL 2mol/L硫酸溶液,90℃水浴酸解6h,水解液于9000r/min离心10min,离心2次,弃上清液,渣用100mL石油醚90℃回流6h,减压浓缩,将粗皂素80℃烘干,用甲醇定容至10mL,0.45μm滤膜过滤后作为供试品溶液备用。

1.2.3 薯蓣皂素的定量方法——高效液相色谱法。

1.2.3.1 对照品溶液的配制。准确称取9.4mg薯蓣皂素标准品,用甲醇溶解并定容至10mL。

1.2.3.2 流动相的选择。根据预试验结果,选取以下流动相进行采集:甲醇-水(80:20)、甲醇-水(90:10)、乙腈-水(80:20)。

1.2.3.3 波长的选择。色谱柱WondaSil C18(5μm, 4.6mm×150mm),紫外检测波长分别选用200、203、206、208

**作者简介** 肖婉娜(1986—),女,广东汕头人,实验师,从事天然产物的提取研究。\*通讯作者,副教授,博士,从事天然产物活性、药品生物技术研究。

**收稿日期** 2017-03-25

和 210 nm,流动相为乙腈-水(80:20),流速 1 mL/min。

**1.2.3.4 色谱柱的选择。**选择 WondaSil C18 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  150 mm) 柱、WondaSil C18 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  250 mm) 柱和 NuAnalybacal Uranus C18 (5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  150 mm) 柱 3 种色谱柱,紫外波长为 203 nm,流动相为乙腈-水(80:20),流速 1 mL/min。

**1.2.3.5 方法学考察。**将薯蓣皂素对照品溶液稀释成 4.7、47.0、94.0、235.0、470.0、705.0、940.0  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液,进样测定。以浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线,考察线性关系;吸取薯蓣皂素对照品溶液 6 份,分别测量峰面积,考察精密度;样品溶液于 1、2、4、8、12、24 h 分别测定 1 次,测量峰面积,考察稳定性;取对照品溶液 6 份,用已知薯蓣皂素含量的样品溶液定容,测量峰面积,计算回收率。

**1.2.4 酶解法制备薯蓣皂素。**

**1.2.4.1 酶的筛选。**称取黄姜粉,加水 90  $^{\circ}\text{C}$  糊化 1 h,冷却,或不糊化处理,分别添加淀粉酶、糖化酶、纤维素酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶、 $\beta$ -葡聚糖酶、蜗牛酶的 1 种或多种复配水解,水解结束后离心,弃上清液,渣用石油醚 90  $^{\circ}\text{C}$  回流提取 6 h,减压浓缩、残渣用甲醇定容,进行液相色谱法检测,比较薯蓣皂素的得率,确定最优酶组合。

**1.2.4.2 酶解法单因素试验。**根据“1.2.4.1”确定最优酶组合,进行蜗牛酶单因素试验,纤维素酶统一添加量为物料的 4%,pH 5.0,温度 50  $^{\circ}\text{C}$ ,反应 48 h 后灭活得预处理液。预处理液 6 份分别添加蜗牛酶量占物料的质量分数为 4%,50  $^{\circ}\text{C}$  振荡水解 1、6、12、24、48、72 h,测薯蓣皂素得率,考察水

解时间对薯蓣皂素的影响;预处理液 5 份,添加蜗牛酶量占物料的质量分数分别为 1%、2%、4%、8%、10%,50  $^{\circ}\text{C}$  振荡水浴 48 h,测薯蓣皂素得率,考察酶添加量对薯蓣皂素得率的影响;预处理液 5 份,pH 分别调为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0,添加蜗牛酶量占物料的质量分数为 4%,50  $^{\circ}\text{C}$  振荡水解 48 h,测薯蓣皂素得率,考察酶反应 pH 对薯蓣皂素得率的影响;预处理液 6 份,添加蜗牛酶量占物料的质量分数为 4%,分别于 35、40、45、50、55、60  $^{\circ}\text{C}$  的恒温振荡水浴锅中水解 48 h,测薯蓣皂素得率,考察酶水解温度对薯蓣皂素得率的影响。

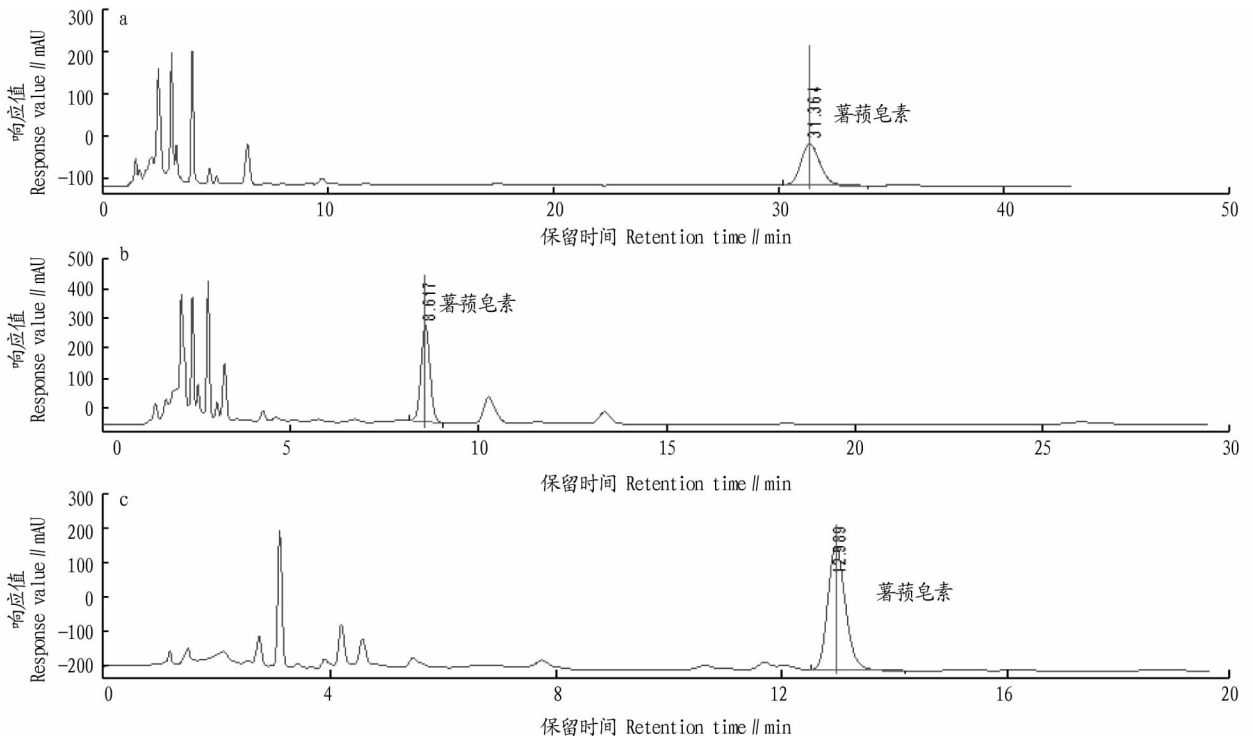
**1.2.4.3 酶解法正交试验。**根据“1.2.4.2”的单因素试验结果,选择 4 因素 3 水平  $L_9(3^4)$  进行正交试验。

**1.2.4.4 超声辅助酶解制备薯蓣皂素。**将黄姜粉加水进行超声破碎后再加酶水解,超声条件为 570 W,45 min,70  $^{\circ}\text{C}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 薯蓣皂素的定量方法——高效液相色谱法

**2.1.1 流动相的选择。**考察不同比例甲醇-水等度洗脱对分离效果的影响,结果表明,甲醇比例越高,极性强的皂苷重叠得越严重,分离度越低;甲醇比例调低,分离度改善,但皂素峰出峰时间超过 30 min,试剂消耗太多(图 1a、b)。采用乙腈-水(80:20)溶液作为流动相,皂苷分离良好,皂素出峰也快,峰型较尖锐(图 1c)。同时,由于薯蓣皂苷为末端吸收,而乙腈的截止波长为 190 nm<sup>[10]</sup>,在试验波长 203 nm 下有吸收,但低于甲醇的截止波长(205 nm),检测灵敏度更高,因此,选用乙腈-水(80:20)为流动相。



注:a. 甲醇-水(80:20); b. 甲醇-水(90:10); c. 乙腈-水(80:20)

Note: a. Methanol - water(80:20); b. Methanol - water(90:10); c. Acetonitrile - water(80:20)

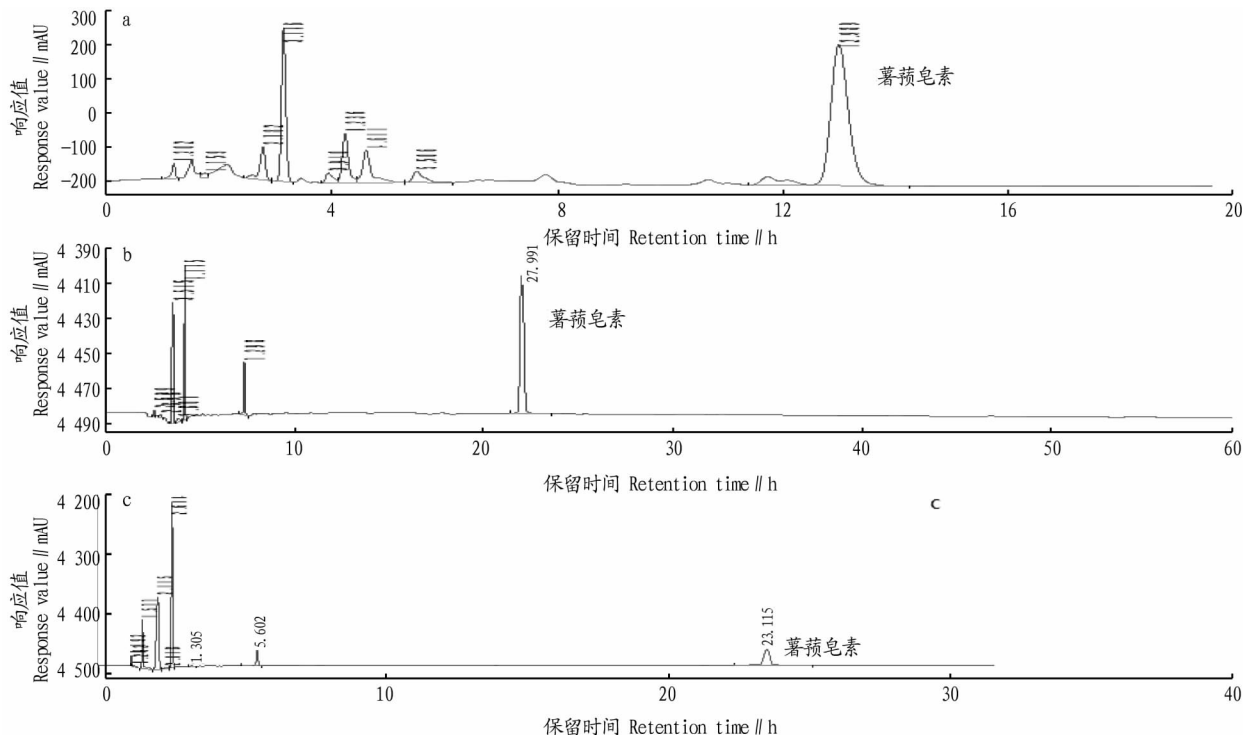
图 1 不同流动相洗脱供试品溶液的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of the test solution eluted with different mobile phases

**2.1.2 波长的选择。**考察检测波长对峰面积和分离度的影响,结果显示,薯蓣皂素在 200、203、206、208、210 nm 处均有吸收,而在 203 nm 处响应值最高,故选取 203 nm 作为检测波长。

**2.1.3 色谱柱的选择。**考察不同柱填料和柱长色谱柱的分离效果,在乙腈-水(80:20)等度洗脱下,薯蓣皂素从 WondaSil C18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  150 mm)柱、WondaSil C18(5  $\mu\text{m}$ ,

4.6 mm  $\times$  250 mm)柱和 NuAnalybacal Uranus C18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  150 mm)柱中的出峰时间分别为 12.989、21.991 和 23.415 min(图 2)。弱极性的薯蓣皂素在 NuAnalybacal Uranus C18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  150 mm)柱中响应值最低,可能是柱子的填料对薯蓣皂素保留能力较强,用乙腈-水作为流动相无法将薯蓣皂素完全洗脱出。综合考量,选择 WondaSil C18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  150 mm)柱为分离定量色谱柱。



注:a. WondaSilC18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  150 mm);b. WondaSil C18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  250 mm);c. NuAnalybacal Uranus C18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  150 mm)  
Note:a. WondaSilC18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  150 mm);b. WondaSil C18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  250 mm);c. NuAnalybacal Uranus C18(5  $\mu\text{m}$ ,4.6 mm  $\times$  150 mm)

图 2 不同色谱柱分离情况色谱图

Fig. 2 Chromatogram of different chromatographic column separation

**2.1.4 方法学考察。**从图 3 可看出,薯蓣皂素标准曲线的线性方程为  $y = 7.530 9x - 51.292$  ( $R^2 = 0.998 7$ ),表明该方法在 4.7 ~ 940.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  线性良好。

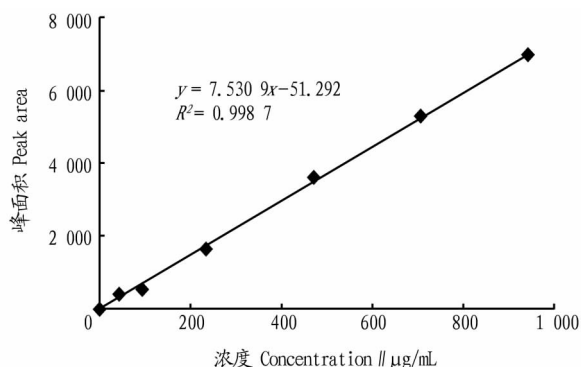


图 3 薯蓣皂素标准曲线

Fig. 3 Standard curve of diosgenin

由于样品溶液中含有多种组分,采用反相高效液相色谱法测定薯蓣皂素比分光光度计法干扰少<sup>[10-11]</sup>。方法精密性试验 RSD 值为 1.29%,稳定性试验 RSD 值为 0.95%,平均回

收率为 97.81%,该方法精密度良好,测定样品溶液稳定,回收率高。

## 2.2 酶解法转化制备薯蓣皂素

**2.2.1 酶的筛选。**试验表明,不糊化的薯蓣皂素的得率比糊化的高(表 1)。可能的原因是物料经过糊化后体积膨大、黏度上升,后期水解又产生了大量的糖,这些糖和添加的酶互相粘连,对酶反应起了抑制作用。淀粉酶组合糖化酶或纤维素酶水解糊化后的黄姜粉末,未检测到薯蓣皂素。蜗牛酶和纤维素酶组合对不糊化黄姜粉的水解效果最佳(表 1)。目前仅少数几种酶如淀粉酶、糖苷酶、纤维素酶等用于水解薯蓣皂苷<sup>[12-15]</sup>,蜗牛酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶均有切割皂苷中游离端的葡萄糖、鼠李糖等糖基作用,并且蜗牛酶属于价格适中的酶种之一,已广泛应用于轻工纺织、食品工业等领域<sup>[16]</sup>,蜗牛酶具备水解生产薯蓣皂苷的应用潜力。因此确定复合酶组合为纤维素酶和蜗牛酶。

**2.2.2 酶解法单因素试验。**薯蓣皂素的得率随反应时间的增加而增加,48 h 达到最大值,之后,呈平稳下降趋势(图 4)。

表1 不同酶组合对薯蓣皂素得率的影响

Table 1 Effect of the different enzyme combinations on the yield of diosgenin

序号 No.	酶组合 Enzyme combination	反应时间 Reaction time//h	糊化得率 Gelatinization rate//%	不糊化得率 No-gelatinization rate//%
1	淀粉酶+糖化酶	0.5+48	—	—
2	淀粉酶+纤维素酶	0.5+48	—	0.084 7
3	淀粉酶+纤维素酶+β-葡萄糖苷酶	0.5+48+48	0.043 1	0.209 6
4	淀粉酶+纤维素酶+β-葡聚糖酶	0.5+48+48	0.044 7	0.188 1
5	淀粉酶+纤维素酶+蜗牛酶	0.5+48+48	0.089 6	0.141 6
6	纤维素酶+蜗牛酶	48+48	0.088 1	0.258 0
7	蜗牛酶	48	0.114 6	0.128 2

注：“—”表示水解未获得薯蓣皂素

Note: “—” indicates that hydrolysis did not receive diosgenin

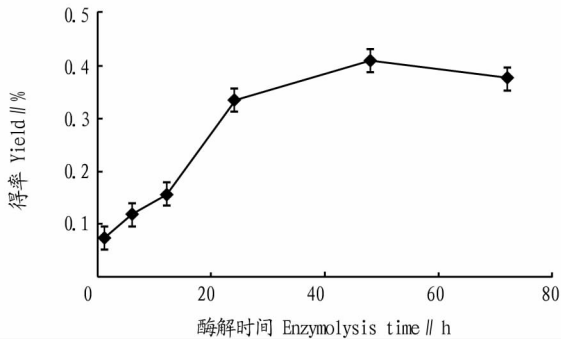


图4 酶解时间对薯蓣皂素得率的影响

Fig. 4 Effect of the enzymolysis time on the yield of diosgenin

薯蓣皂素的得率随着酶用量的增加而增加,当添加量占物料的质量分数为8%时,薯蓣皂素的得率达到最大值,随后稳定下降(图5)。黄姜中皂苷与蜗牛酶的结合位点有限,当这些结合位点全部被酶占领后,过量的酶环绕在周围导致酶和底物的无效吸附,阻碍水解反应,从而引起得率下降。

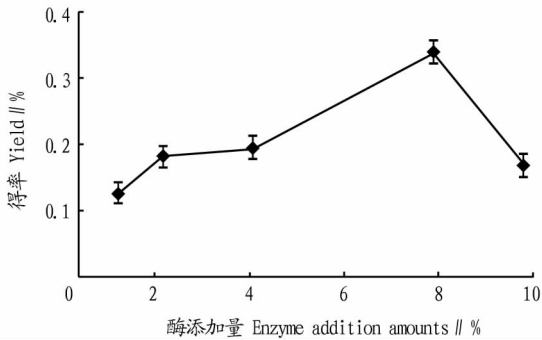


图5 酶添加量对薯蓣皂素得率的影响

Fig. 5 Effect of enzyme addition amounts on the yield of diosgenin

水解液 pH 为 4.0 ~ 6.0 时,薯蓣皂素的得率呈上升趋势;pH 为 6.0 时达最大,并稳定在 6.0 ~ 7.0;pH 为 4.0 和 8.0 时,薯蓣皂素的得率均低于 0.2% (图 6),可见蜗牛酶适合在中性偏酸的 pH 体系。

水解温度为 35 ~ 50 °C 时,薯蓣皂素的得率随温度上升而增加,50 °C 时达到最大值;超过 50 °C,蜗牛酶开始部分失活,产率急剧下降;到 60 °C 几乎完全失活,薯蓣皂素的得率仅 0.03% (图 7)。因此蜗牛酶的作用温度为 35 ~ 50 °C,最适为 50 °C。

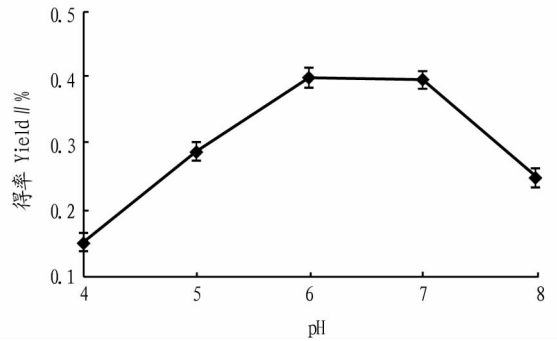


图6 酶解 pH 对薯蓣皂素得率的影响

Fig. 6 Effect of pH on the yield of diosgenin during enzymolysis

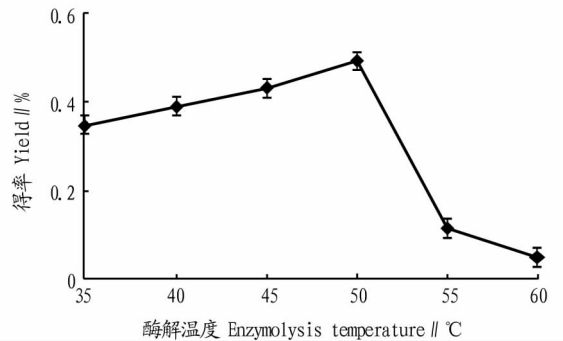


图7 酶解温度对薯蓣皂素得率的影响

Fig. 7 Effect of enzymolysis temperature on the yield of diosgenin

2.2.3 酶解法正交试验。选择酶解时间、酶添加量、酶解 pH、酶解温度 4 个因素进行正交试验。从表 2 可看出,各因素对薯蓣皂素得率的影响从大到小依次为酶解温度、酶添加量、酶解时间、酶解 pH,最佳组合是  $A_2B_2C_2D_2$ ,即酶解 48 h,酶添加量为物料的 8%,酶解 pH 为 6.0,水解温度为 50 °C。

按正交试验确定的最佳条件验证水解薯蓣皂素的得率为 0.524 9%,是传统直接酸水解法(得率 0.677 0%)的 77.53%。薯蓣皂苷在强酸的作用下,可以水解出薯蓣皂素、葡萄糖、鼠李糖、半乳糖等,但酶的转化有专一性,蜗牛酶是一种复合酶,其所含酶种类未必对皂苷上所有的糖苷键均有酶切作用,因此较难实现对薯蓣皂苷的完全转化<sup>[17]</sup>。另外,该试验采用的黄姜原料的薯蓣皂素含量低于闫美屹<sup>[14]</sup>研究的结论,可能与品种以及采收时间有关<sup>[18]</sup>,需进一步研究筛选出薯蓣皂素含量高的黄姜原料。

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal experimental results

试验号 No.	A(酶解时间 Enzymolysis time//h)	B(酶添加量 Enzyme addition amounts //%)	C(酶解 pH Enzymolysis pH)	D(酶解温度 Enzymolysis temperature//℃)	薯蓣皂素得率 Yield of diosgenin %
1	1(24)	1(4)	1(5.0)	1(45)	0.412 8
2	1	2(8)	2(6.0)	2(50)	0.439 2
3	1	3(10)	3(7.0)	3(55)	0.353 2
4	2(48)	1	2	3	0.401 6
5	2	2	3	1	0.446 6
6	2	3	1	2	0.428 4
7	3(72)	1	3	2	0.420 2
8	3	2	1	3	0.386 0
9	3	3	2	1	0.397 6
$k_1$	0.401 7	0.411 5	0.409 1	0.419 0	
$k_2$	0.425 5	0.423 9	0.412 8	0.429 3	
$k_3$	0.401 3	0.393 1	0.407 0	0.380 3	
R	0.024 2	0.030 8	0.006 1	0.049 0	

**2.3 各种薯蓣皂素提取方法的比较** 超声波辅助酶法提取薯蓣皂素的得率(0.630 9%)高于直接复合酶水解法(0.524 9%)约 25%。超声波的辐射压强产生的强烈击碎效应,使黄姜中部分皂苷的结合状态发生改变,断裂了纤维素和淀粉与皂苷的连接,使部分被包裹的糖苷键裸露出来,酶解反应更容易进行,水解更充分<sup>[18]</sup>,另外,超声破碎技术将黄姜的细胞壁击碎,提高了水解效率,从而该方法的得率与直接酸水解的得率接近。但超声波辅助酶解技术比全料酸水解的得率(0.677 0%)略低,可能是前者有部分疏水皂苷没有提取到,或由于酶的专一性,部分糖苷键尚未完全水解,需要应用质谱或核磁技术进行确定,进一步筛选和开发特异性酶品种或其他转化技术,是今后的研究方向。

### 3 结论

该研究利用纤维素酶和蜗牛酶组成的复配酶制备薯蓣皂素,建立了薯蓣皂素的液相色谱检测方法,分离柱为 WondaSil C18(5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  150 mm)柱,流动相为乙腈-水(80:20),紫外检测波长为 203 nm。该方法精密度良好,样品测定稳定性好,回收率高。提出了超声辅助复配酶解法的清洁生产技术,在复配酶解工艺中,酶解温度对皂素得率的影响最大,最佳酶水解条件是酶解时间为 48 h,酶添加量为物料的 8%,酶解 pH 为 6.0,水解温度为 50  $^{\circ}\text{C}$ ,薯蓣皂素的得率为 0.524 9%。采用超声破碎辅助复配酶解法提取薯蓣皂素,比直接酶解法得率提高了 25%,接近酸解法的得率,应用潜力大。

### 参考文献

[1] 中科院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:人民卫生出版

社,1985:51-119.

- [2] 张佳佳,李会,李恒,等. 高效转化黄姜皂苷为薯蓣皂苷元菌株的筛选及转化条件优化[J]. 生物工程学报,2013,29(6):848-852.
- [3] 张裕卿,王东青. 利用生物技术协同提取薯蓣皂素[J]. 精细与专用化学品,2005,13(1):7-10.
- [4] DONG Y S, TENG H, QI S S, et al. Pathways and kinetics analysis of bio-transformation of *Dioscorea zingiberensis* by *Aspergillus oryzae* [J]. Bioc-chemical engineering journal, 2010, 52(2/3):123-130.
- [5] ZHU Y L, HUANG W, NI J R. A promising clean process for production of diosgenin from *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright [J]. Journal of cleaner production, 2010, 18(3):242-247.
- [6] 陈合,李庆娟,舒国伟,等. 黄姜皂素提取工艺研究[J]. 天然产物研究与开发,2007,19(5):866-868.
- [7] 董悦生,齐珊珊,刘琳,等. 米曲霉直接转化盾叶薯蓣生产薯蓣皂苷元[J]. 过程工程学报,2009,9(5):993-998.
- [8] 谢彩侠,高山林,朱丹妮,等. 盾叶薯蓣中薯蓣皂元不同提取方法的比较[J]. 植物资源与环境学报,2005,14(1):23-25.
- [9] 王亚南,邓惠芳,富瑶瑶,等. 3 种黄姜薯蓣皂苷定向转化为皂素方法的比较[J]. 大连工业大学学报,2009,28(2):94-97.
- [10] 周新勇,宋曙辉,罗晖,等. 反相高效液相色谱法测定紫山药中薯蓣皂苷的含量[J]. 食品工业科技,2011,32(7):420-422.
- [11] 韩秋敏,李登超,黄亚东,等. 淮山药薯蓣皂苷的测定方法研究[J]. 食品工业科技,2011,32(12):494-496.
- [12] 李文君,王成章,张水晶,等. 多元复合酶降解黄姜薯蓣皂苷元的工艺研究[J]. 生物质化学工程,2014(4):23-27.
- [13] 唐俊,葛海涛,张云霞,等. 纤维素酶辅助提取盾叶薯蓣中薯蓣皂苷的工艺优化研究[J]. 中国医药科学,2012,2(1):27-29.
- [14] 闫美屹. 生物法制备薯蓣皂素的清洁生产工艺[D]. 北京:北京化工大学,2015.
- [15] 杨转萍. 黄姜中薯蓣皂苷的提取纯化及酶解工艺研究[D]. 西安:陕西科技大学,2011.
- [16] 袁久刚,王平,郭雨宁,等. 蜗牛酶在棉织物生物精练中的应用[J]. 食品与生物技术学报,2014,33(6):657-661.
- [17] 郭秀洁. 盾叶薯蓣中皂苷、薯蓣皂苷元的制备及其副产物综合利用研究[D]. 大连:大连工业大学,2010.
- [18] 胡娅梅. 黄姜中总皂苷的提取方法研究[D]. 湘潭:湖南科技大学,2012.

(上接第 80 页)

### 参考文献

- [1] 胡鸿钧,李尧英,魏印心,等. 中国淡水藻类[M]. 上海:上海科学技术出版社,1980:61-68.
- [2] 胡鸿钧. 水华蓝藻生物学[M]. 北京:科学出版社,2011:10-15.
- [3] 任颖. 南水北调东线调蓄湖泊浮游藻类群落特征与环境驱动因子[D]. 济南:山东大学,2016.

- [4] 田昌. 洪泽湖浮游植物种群结构变化的水环境驱动因子分析[D]. 济南:山东大学,2015.
- [5] 郝达平,鞠伟,刘伟,等. 湖泊浮游藻类监测技术研究及应用[J]. 江苏水利,2013(12):40-42.
- [6] 秦伯强,王小冬,汤祥明,等. 太湖富营养化与蓝藻水华引起的饮用水危机——原因与对策[J]. 地球科学进展,2007,22(9):896-906.