

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.07.12

# 沼泽红假单胞菌发酵提高黄芪多糖含量的条件优化

李保珍<sup>1</sup>, 刘琪<sup>1</sup>, 樊金华<sup>2</sup>, 赵夏婷<sup>1</sup>, 贾璐<sup>1</sup>, 杨琬芳<sup>1</sup>

(1. 山西中医药大学基础医学院, 山西 晋中 030619; 2. 山西农业大学林学院, 山西 太谷 030801)

[收稿日期] 2021-10-30 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2022) 07-0068-07 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 利用沼泽红假单胞菌发酵黄芪, 研究发酵对黄芪多糖含量的影响。在单因素试验的基础上, 以发酵时间(A)、菌种接种量(B)、发酵温度(C)和初始培养基 pH 值(D)为 4 个因素, 每个因素设 3 水平, 采用  $L_9(3^4)$  正交表, 以黄芪多糖含量为指标进行正交试验优化发酵条件。依据  $F$  值水平将各因子对黄芪多糖含量的影响按主次顺序排列为: 发酵时间 > 发酵温度 > 菌种接种量 > 初始培养基 pH 值; 最佳发酵条件为 A3B3C3D1, 即在初始培养基 pH 为 6.2, 菌种接种量 10% 和发酵温度 40 °C 的条件下发酵时间 6 d, 黄芪多糖的含量可高达 111.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 与对照组相比含量提高了 51.56%。研究结果表明, 利用沼泽红假单胞菌发酵黄芪提高了黄芪多糖的含量, 这为提高黄芪资源的利用率提供参考。

**[关键词]** 黄芪; 黄芪多糖; 沼泽红假单胞菌; 发酵; 正交试验

## Optimization of Conditions for Increasing the Contents of *Astragalus* Polysaccharide by Microbial Fermentation

LI Bao-zhen<sup>1</sup>, LIU Qi<sup>1</sup>, FAN Jin-hua<sup>2</sup>, ZHAO Xia-ting<sup>1</sup>, JIA Lu<sup>1</sup>, YANG Wan-fang<sup>1</sup>

(1. College of Basic Medical Sciences, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China;

2. College of Forestry, Shanxi Agricultural University, Shanxi Taigu 030801, China)

**Abstract:** To investigate the effect on the content of *Astragalus* polysaccharide from *Astragalus* fermented by *Rhodopseudomonas palustris* (*R. palustris*). The orthogonal experiments were designed on the basis of single factor experiments. The optimized fermentation conditions were investigated by orthogonal experiments with the content of *Astragalus* polysaccharide as the index which was determined by fermentation temperature, time, initial pH and inoculated quantity. The results showed that the optimal technology of *R. palustris* fermented *Astragalus* was as follows: fermentation time of 6 d, fermentation temperature of 40 °C, inoculated quantity of 10%, initial pH of 6.2; Under this condition, the content of *Astragalus* polysaccharide in the fermentation medium is 111.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The content of *Astragalus* polysaccharide in the fermentation group was increased by 51.56% than that in the control group. This study provides a reference to optimize the process condition of the *R. palustris*

基金项目: 山西省重点研发计划项目(201903D221016); 山西中医药大学科技创新能力培育计划项目 2020PY-JC(Y)-04

作者简介: 李保珍, 博士, 讲师, 从事益生菌与中药资源开发利用方向研究。E-mail: libaozhen@sxtcm.edu.cn

fermented *Astragalus*, which is of great significance for the efficient use of *Astragalus*.

**Key words:** *Astragalus*; *Astragalus* polysaccharide; *Rhodopseudomonas palustris*; fermentation; orthogonal experiments

黄芪是临床上最常用的补中益气药之一,其主要的有效成分为黄芪皂苷、黄芪多糖、黄酮类物质和蛋白质等,其中黄芪多糖是黄芪的水溶性主要成分之一,具有免疫调节<sup>[1]</sup>、抗肿瘤、抗动脉硬化<sup>[2]</sup>、抗氧化<sup>[3]</sup>、降血糖<sup>[4]</sup>、抗病毒<sup>[5]</sup>和治疗代谢性紊乱等作用<sup>[6]</sup>。近年来,随着人民对中医药认知度的逐年提高,黄芪用量也随之增加,传统利用方式已不能满足需求。为了提高黄芪的利用率,许多新技术应运而生。其中,微生物发酵技术能够使黄芪等中药活性成分充分释放,起到增强药效、节省药材资源和维护生态环境等效应,成为研究热点<sup>[7]</sup>。然而,微生物发酵黄芪还存在作用机理不明确、优良菌种少和发酵工艺难以控制等问题。因此,筛选能够高效提高黄芪有效成分的优良菌种并对其发酵工艺进行优化,大幅减少成本的同时还增加药效,仍是急需解决的难题。

沼泽红假单胞菌(*Rhodopseudomonas palustris*, *R. palustris*)属于紫色非硫菌群,是地球上已发现的最古老的微生物之一,在黑暗好氧或光照厌氧条件下都可正常生长,现已广泛应用于农业、畜禽、渔业、环保和医药保健等领域<sup>[8-10]</sup>。本文以实验室保藏的一株沼泽红假单胞菌 N 菌株为发酵黄芪菌株进行液体发酵来提高黄芪多糖的含量,为黄芪的高效利用提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 菌株 沼泽红假单胞菌(*R. palustris*) N 菌株<sup>[11]</sup>由山西大学生命科学学院光合细菌研究室赠予并保藏。

1.1.2 试剂与仪器 黄芪购自榆林市广济堂中药开发有限责任公司(产地内蒙古);苯酚、浓硫酸、葡萄糖、无水乙醇等试剂均为分析纯;BioTek 酶标仪(BioTek Instruments, Inc);HPX-9052MBE 电热恒温培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设

备厂);湘立 TGL16M 离心机(湖南湘立科学仪器有限公司);雷磁 PHS-25 型数显 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司);BSD-TX345 台式恒温振荡器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);电热恒温水箱 600 型(北京中兴伟业世纪仪器有限公司);LFP-800T 高速多功能粉碎机(莱芙)等。

### 1.2 方 法

1.2.1 沼泽红假单胞菌发酵黄芪 采用 RCVBN 培养基<sup>[12]</sup>进行黄芪发酵。将黄芪粉碎过 40 目后按照 1:15 的料液比制备培养基,121 ℃ 灭菌 20 min,在菌种接种量为 10%、发酵温度为 30 ℃、初始培养基 pH 值为 7.0 和光照强度为 1500 Lux 条件下发酵培养。

1.2.2 黄芪多糖的提取与测定 标准曲线的制作:标准曲线的绘制参照杨叔萍<sup>[13]</sup>所述方法,在 490 nm 处测定吸光度值。以黄芪多糖溶液浓度  $C$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标,吸光度值  $A$  为纵坐标进行线性回归,得回归方程式为  $y = 0.0312x + 0.00066$ ,相关系数为  $R^2 = 0.9977$ 。

黄芪多糖的提取:取黄芪发酵液 20 mL 置于振荡器上,300 rpm/min 振荡 1 h,4000 rpm 离心 10 min,弃沉淀,向上清中加入 3 倍体积的无水乙醇,置于 4 ℃ 中过夜,离心收集沉淀,沉淀加水后于 70 ℃ 进行水浴,溶解并定容至 50 mL 容量瓶中,用于多糖含量的测定<sup>[13,14]</sup>。

黄芪多糖含量的测定:参照上述标准曲线绘制所述方法进行吸光度值测定,代入回归方程计算其含量。

### 1.2.3 单因素试验

1.2.3.1 发酵时间对黄芪多糖含量的影响 在菌种接种量 10%、初始培养基 pH 值 7.0 和发酵温度 30 ℃ 的条件下,将发酵时间分别设计为 3、4、5、6 d,考察发酵时间对黄芪多糖含量的影响。

1.2.3.2 初始培养基 pH 值对黄芪多糖含量的影响 在菌种接种量 10% ,发酵时间 6 d 和发酵温度 30 ℃ 的条件下,将初始培养基 pH 值分别设计为 6.2,6.6,7.0,7.4,考察初始培养基 pH 对黄芪多糖含量的影响。

1.2.3.3 菌种接种量对黄芪多糖含量的影响 在初始培养基 pH 值为 7.0,发酵温度 30 ℃ ,发酵时间 6 d 的条件下,将菌种接种量分别设计为 6% ,8% ,10% ,12% ,考察菌种接种量对黄芪多糖含量的影响。

1.2.3.4 发酵温度对黄芪多糖含量的影响 在菌

种接种量为 10% ,初始培养基 pH 值为 7.0 和发酵时间 6 d 的条件下,将发酵温度分别设计为 25 ℃ ,30 ℃ ,35 ℃ ,40 ℃ ,然后进行发酵温度对黄芪多糖含量的影响。

1.2.4 正交试验设计 根据单因素试验结果,选择发酵时间、菌种接种量、发酵温度和初始培养基 pH 值 4 个因子,每个因子在三水平下,以黄芪多糖的含量为指标考察沼泽红假单胞菌发酵对黄芪多糖含量的影响,进行正交试验并进行方差分析。因素水平设计见表 1。

表 1 正交设计因素水平表

Tab 1 Factors and levels in the orthogonal design

水平 Levels	因素 Factors			
	A 时间/d Time	B 菌种接种量/% Inoculation amount	C 温度/℃ Temperature	D 初始培养基 pH 值 pH
1	4	6%	30	6.2
2	5	8%	35	6.6
3	6	10%	40	7.0

1.2.5 数据统计分析 试验数据以 Excel 2019 软件整理数据和 Origin 8.5 作图,同时采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,采用 one - way ANOVA 进行差异显著性分析,每组试验重复三次。

2 结果与分析

2.1 发酵时间对黄芪多糖含量的影响 发酵时间对黄芪多糖含量的影响见图 1。由图 1 可知,发酵时间对黄芪多糖含量的影响较大,当发酵时间为 3 - 5 d 时,黄芪多糖含量随着发酵时间的延长而显著增加( $P < 0.05$ ),在 5 d 时达到最大。发酵时间是影响微生物发酵结果的重要因素,发酵时间短,产生相应酶量相对较少,影响黄芪多糖释放;然而发酵时间过长,培养基所能提供的养分不足,有可能会使产酶的性能下降,影响黄芪多糖产量。同时,随着发酵时间延长,培养基中适宜于沼泽红假单胞菌利用的碳源基本耗尽,此时沼泽红假单胞菌具有将难降解的多糖作为碳源加以利用以维持其正常的生长代谢,这也可能是发酵后期黄芪多糖含

量降低的原因之一。因此,发酵时间应控制在 5 d 左右。

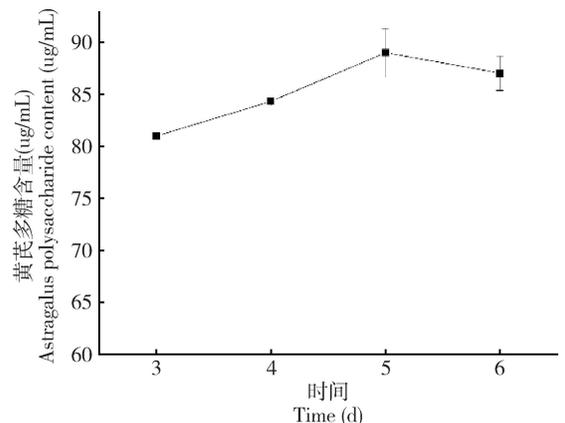


图 1 不同发酵时间对黄芪多糖含量的影响

Fig 1 Effect of fermentation time on the content of astragalus polysaccharide

2.2 菌种接种量对黄芪多糖含量的影响 菌种接种量对黄芪多糖含量的影响见图 2。如图 2 所示,当菌种接种量为 6% 时,黄芪多糖含量最大,

之后随着菌种接种量的增加,黄芪多糖含量有一个缓慢下降的趋势。沼泽红假单胞菌的生长受到接种量的影响较大,接种量过低会使发酵周期延长,不利于实际生产。因此,在利用沼泽红假单胞菌发酵黄芪,选择菌种接种量时应控制在 6% 左右。

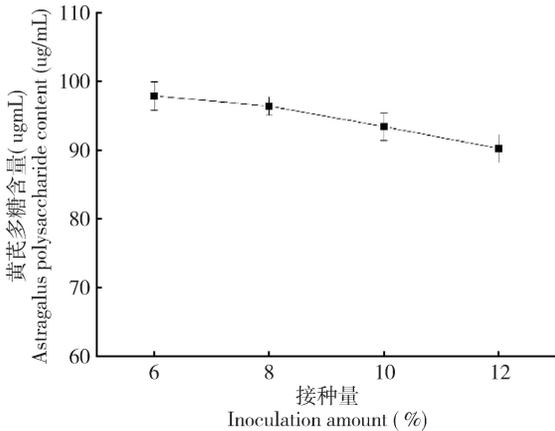


图 2 不同接种量对黄芪多糖含量的影响

Fig 2 Effect of inoculation amount on the content of astragalus polysaccharide

2.3 发酵温度对黄芪多糖含量的影响 发酵温度对黄芪多糖含量的影响如图 3 所示。由图 3 可知,发酵温度对黄芪多糖含量的影响较大,随着温度的升高黄芪多糖含量也显著升高 ( $P < 0.05$ ),当温度为 40 °C 时黄芪多糖含量达到最大。这种趋势产生的原因可能是高温有利于黄芪多糖的释放,但沼泽红假单胞菌的最适生长温度为 30 - 35 °C,温度过高的会严重抑制其正常生长代谢。因此,沼泽红假单胞菌发酵黄芪发酵温度不易过高,应该控制在 40 °C 以内。

2.4 初始培养基 pH 值对黄芪多糖含量的影响

初始培养基 pH 值对黄芪多糖含量的影响见图 4。由图 4 可知,初始培养基 pH 值对黄芪多糖含量有一定的影响,起初黄芪多糖随着培养基初始 pH 值的升高而增加,在培养基初始 pH 值为 6.6 时黄芪多糖含量达到最大。当培养基初始 pH 值继续升高,黄芪多糖含量小幅下降,这一趋势与沼泽红假单胞菌的最适生长 pH 相似。因此,在培养基初始

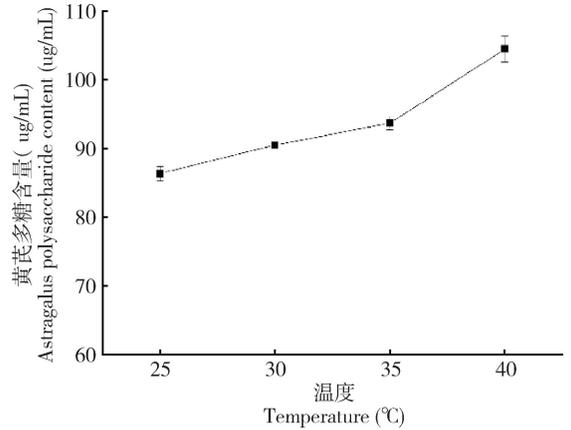


图 3 不同发酵温度对黄芪多糖含量的影响

Fig 3 Effect of fermentation temperature on the content of astragalus polysaccharide

pH 值应控制在 6.6 左右。

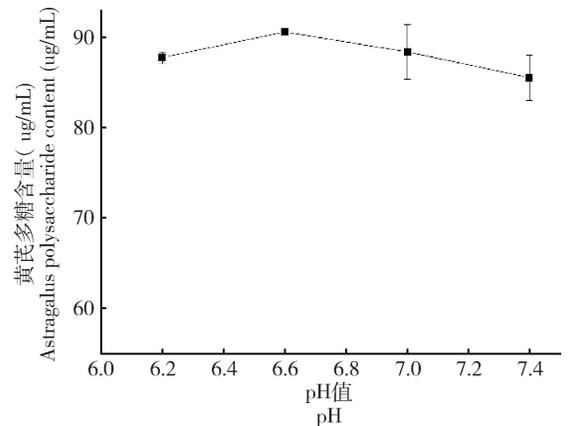


图 4 不同初始培养基 pH 值对黄芪多糖含量的影响

Fig 4 Effect of fermentation pH on the content of astragalus polysaccharide

2.5 正交试验结果 由表 2 和表 3 可知,4 个因子中,发酵时间和发酵温度对黄芪发酵液中的黄芪多糖含量产生了极显著性的影响 ( $P < 0.01$ )。根据  $F$  值水平将各因子对黄芪多糖含量的影响强弱排序为:发酵时间 > 发酵温度 > 菌种接种量 > 培养基初始 pH 值。最佳发酵条件为  $A_3B_3C_3D_1$ ,即发酵时间 6 d、接种量 10%、发酵温度 40 °C 和初始培养基 pH 为 6.2,在此条件下,黄芪多糖含量达到了 111.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,与对照组相比提高了 51.56%。

表 2 沼泽红假单胞菌发酵对黄芪多糖含量影响的正交试验结果

Tab 2 Results of the orthogonal test for the influence of *R. palustris* fermentation on the content of astragalus polysaccharide

试验号 Number	A	B	C	D	黄芪多糖含量/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
					Content of astragalus ploysaccharide/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
					1	2	3	合计( $y_i$ ) Total( $y_i$ )
1	1	1	1	1	100.40	96.08	97.01	293.49
2	1	2	2	2	94.62	92.89	96.48	283.99
3	1	3	3	3	101.13	102.93	100.87	304.93
4	2	1	2	3	101.10	97.68	95.85	294.63
5	2	2	3	1	101.67	103.26	105.22	310.15
6	2	3	1	2	101.56	94.65	100.30	296.51
7	3	1	3	2	108.54	111.40	112.00	331.94
8	3	2	1	3	101.90	102.23	105.88	310.01
9	3	3	2	1	106.42	106.18	106.91	319.51
I <sub>j</sub>	882.41	920.06	900.01	923.15	$G = \sum y_i = 2745.16, G^2 = 7535903$			
II <sub>j</sub>	901.29	904.15	898.13	912.44	$CT = G^2/9 m = 279107.5 (m = 3)$			
III <sub>j</sub>	961.46	920.95	947.02	909.57	$S_{\text{总}1} = \sum y_i^2/m - CT = 279688.0 - 279107.5 = 580.5, f_{\text{总}1} = 8$			
$R_j^2 = I_{j+}^2 - II_{j+}^2 - III_j^2$	2515376	2512147	2513502	2512070	$S_{\text{总}} = (9 m \text{ 个结果各自先平方后相加}) - CT =$			
$R_j^2/3 m$	279486.3	279127.4	279278	279118.9	$279771.8 - 279107.5 = 664.3, f_{\text{总}} = 9 m - 1 = 26$			
$S_j = R_j^2/3 m - CT$	378.73	19.89	170.54	11.42	$S_{e2} = S_{\text{总}} - S_{\text{总}1} = 664.3 - 580.5 = 83.8, f_{e2} = 9(m - 1) = 18$			

表 3 沼泽红假单胞菌发酵对黄芪多糖含量影响的方差分析

Tab 3 Variance analysis of the influence of *R. palustris* fermentation on the content of astragalus polysaccharide

方差来源 Sources of variation	偏差平方和 SS	自由度 DF	平均偏差平方和 MS	F	显著性 Significance
A	378.73	2	189.37	40.64	**
B	19.89	2	9.95	2.13	-
C	170.54	2	85.27	18.30	**
D	11.42	2	5.71	1.23	-
e	83.8	18	4.66		

注: \*  $F_{0.05}(2, 18) = 3.55$ , \*\*  $F_{0.01}(2, 18) = 6.01$ ; \* 表示在  $P < 0.05$  水平差异显著; \*\* 表示在  $P < 0.01$  水平差异显著;

Note: \* Indicate significant difference among treatments at 0.05 level; \*\* Indicate significant difference among treatments at 0.01 level.

### 3 讨论与结论

植物源性中药材的有效成分主要存在于细胞间质包裹的胞浆和植物细胞壁中,而细胞壁是由不

同纤维和胶质类物质组成的细胞外结构。因此,在中药提取过程中需要克服多重阻力,才能将胞浆中的有效活性成分释放出来<sup>[7]</sup>。中药发酵是传统中

药加工炮制的重要方法,即以传统中药材为发酵原料,药材中多糖类、苷类、黄酮类等物质可为微生物的生长提供营养,同时微生物在生长代谢过程中分泌大量的蛋白酶、纤维素酶、半纤维素酶、淀粉酶、果胶酶等胞外酶,可使植物细胞破裂,细胞间隙增大,可促进中药中有效成分的溶出,达到提高中药有效成分提取率的目的<sup>[15]</sup>。陈丽艳等<sup>[16]</sup>研究结果显示,黄芪经侧耳菌(*Pleurotus ostreatus*)发酵后黄芪多糖的提取率及含量大幅提高,含量增加了 71.70%,充分体现了中药发酵可以使黄芪多糖较大限度的释放;郭羽等<sup>[17]</sup>利用酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)发酵黄芪,结果表明发酵对黄芪中多糖含量有一定影响,其产率与传统法相比提高了 14.28%;郭云霞等<sup>[10]</sup>通过甲基营养型芽胞杆菌(*Bacillus methylotrophic*)N-14 发酵黄芪后总多糖的含量提高了 57.31%。本文利用沼泽红假单胞菌为发酵菌种,以中药黄芪作为培养基的主要成分进行液体发酵取得了相似的结果,在最佳发酵工艺条件下黄芪多糖含量比对照组提高了 51.56%。微生物发酵黄芪是经过一系列的酶促反应,会受到发酵菌种、发酵成分及发酵条件等因素的影响。李美洁等<sup>[10]</sup>报道沼泽红假单胞菌能够分解利用木质素为碳源进行生长,这可能是沼泽红假单胞菌发酵黄芪导致黄芪多糖含量增加的原因之一。

目前报道的中药发酵菌种主要是一些真菌和细菌,对于种类和数量众多的微生物而言,仅为极少部分,因此具有极大的研究开发空间。本文利用实验保藏的一株沼泽红假单胞菌对黄芪进行发酵,能显著提高黄芪多糖的得率,丰富了中药发酵技术的发酵菌种资源。此外,该沼泽红假单胞菌新陈代谢方式多样,可以通过自然界存在的 4 种代谢模式进行生长,包括光合自养、光合异养、化学自养和化学异养<sup>[10]</sup>。因此,研究将为发酵黄芪的工业化生产提供新的思路。

研究通过沼泽红假单胞菌发酵黄芪,发酵后黄芪多糖较对照组显著提高( $P < 0.01$ )。利用正交试验优化了沼泽红假单胞菌发酵黄芪的条件,在最佳发酵条件下即发酵天数 6 d,接种量 10%,发酵温

度 40 °C 和初始培养基 pH 为 6.2 时,黄芪多糖含量可高达 111.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,与对照组相比提高了 51.56%。研究结果将为微生物发酵黄芪提供菌种资源以及黄芪的高效利用提供理论支持。

## 参考文献:

- [1] Zhou X, Liu Z, Long T, et al. Immunomodulatory effects of herbal formula of *Astragalus polysaccharide* (APS) and polysaccharopeptide (PSP) in mice with lung cancer [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 106: 596-601.
- [2] Wang Y F, Yang X F, Cheng B, et al. Protective effect of *Astragalus polysaccharides* on ATP binding cassette transporter A1 in THP-1 derived foam cells exposed to tumor necrosis factor- $\alpha$  [J]. Phytotherapy Research, 2010, 24(3): 393-398.
- [3] Zhang H R, Pan N, Xiong S Q, et al. Inhibition of polyglutamine-mediated proteotoxicity by *Astragalus membranaceus* polysaccharide through the DAF-16/FOXO transcription factor in *Caenorhabditis elegans* [J]. Biochemical Journal, 2012, 441(1): 417-424.
- [4] Mao X Q, Yu F, Wang N, et al. Hypoglycemic effect of polysaccharide enriched extract of *Astragalus membranaceus* in diet-induced insulin resistant C57BL/6 J mice and its potential mechanism [J]. Phytomedicine, 2009, 16(5): 416-425.
- [5] Huang X Y, Wang D Y, Hu Y L, et al. Effect of sulfated *Astragalus polysaccharide* on cellular infectivity of infectious bursal disease virus [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2008, 42(2): 166-171.
- [6] Li S G, Zhang Y Q. Preparation and suppressive effect of *Astragalus polysaccharide* in glomerulonephritis rats [J]. International Immunopharmacology, 2007, 7(1): 23-28.
- [7] 宋子震, 史洪涛, 范明夏, 等. 微生物发酵中药研究进展 [J]. 动物医学进展, 2021, 42(1): 105-109.  
Song Y Z, Shi H T, Fan M X, et al. Progress on microbial fermented traditional Chinese medicine [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2021, 42(1): 105-109.
- [8] Larimer F W, Chain P, Hauser L, et al. Complete genome sequence of the metabolically versatile photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris* [J]. Nature Biotechnology, 2004, 22(1): 55-61.
- [9] Wang Y B. Use of probiotics *Bacillus coagulans*, *Rhodospseudomonas palustris* and *Lactobacillus acidophilus* as growth promoters in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fingerlings [J]. Aquaculture Nutrition, 2011, 17(2): e372-e378.

- [10] 李美洁, 夏青青, 杨建明, 等. 沼泽红假单胞菌作为微生物细胞工厂的应用[J]. 生物加工过程, 2020, 18(01): 27-34.
- Li M J, Xia Q Q, Yang J M, *et al.* Application of *Rhodopseudomonas palustris* as microbial cell factories[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2020, 18(01): 27-34.
- [11] 张肇铭, 杨素萍, 赵春贵. 沼泽红假单胞菌的分离鉴定研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 1992, 15(4): 379-385.
- Zhang Z M, Yang S P, Zhao C G. Study on isolation and identification of *Rhodopseudomonas palustris*[J]. Journal of Shanxi University (Natural Science Edition), 1992, 15(4): 379-385.
- [12] Weaver P F, Wall J D, Gest H. Characterization of *Rhodopseudomonas capsulate* [J]. Archives of Microbiology, 1975, 105(1): 207-216.
- [13] 杨淑萍. 紫外分光光度法检测黄芪多糖含量[J]. 现代畜牧科技, 2019, 8(56): 7-9.
- Yang S P. Determination of astragalus polysaccharides by ultraviolet spectrophotometry[J]. Technical Advisor for Animal Husbandry, 2019, 8(56): 7-9.
- [14] 陈婕, 王旭荣, 张景艳, 等. 紫外线和亚硝基胍对益生菌 FGM 发酵提取黄芪多糖的影响[J]. 西北农业学报, 2015, 24(4): 25-30.
- Chen J, Wang X R, Zhang J Y, *et al.* Effects of ultraviolet and nitrosoguanidine on the polysaccharide extraction of *Astragalus membranaceus* fermented with probiotic strain FGM[J]. Acta Agric-  
riculture Boreali-occidentalis Sinica, 2015, 24(4): 25-30.
- [15] 马玉俊, 梁子敬, 李杰, 等. 基于响应面分析对坚强芽胞杆菌-CX10 发酵黄芪多糖的条件筛选与优化[J]. 西北农业学报, 2019, 28(9): 1469-1478.
- Ma Y J, Liang Z J, Li J, *et al.* Screening and optimization of astragalus polysaccharides fermentation by *Bacillus Firmis*-CX10 Based on Response Surface Analysis[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2019, 28(09): 1469-1478.
- [16] 陈丽艳, 李月, 张迎, 等. 黄芪经侧耳菌发酵后多糖成分及含量的变化[J]. 食品工业科技, 2011, 32(10): 253-255, 258.
- Chen L Y, Li Y, Zhang Y, *et al.* The analysis of components and content of polysaccharide in *Radix Astragali* fermented by *Pleurotus ostreatus*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(10): 253-255, 258.
- [17] 郭羽, 刘必旺, 徐荣芳, 等. 酵母发酵技术对黄芪中多糖含量影响[J]. 山西中医学院学报, 2012, 13(3): 62-63.
- Guo Y, Liu B W, Xu R F, *et al.* Influence of yeast fermentation technology on content of astragalus polysaccharide in *Radix Asteagali*[J]. Journal of Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, 2012, 13(3): 62-63.

(编辑:陈希)