

苦参配方的醇提工艺优化及抑菌活性研究

赵腾飞, 庞汐伦, 蒋建兰*

天津市生物与制药工程重点实验室 天津大学化工学院制药工程系, 天津 300072

摘要:利用响应面法设计实验优化苦参抑菌配方的回流提取工艺,以配方对金黄色葡萄球菌抑菌率作为响应值,通过考察提取工艺的单因素:浸泡时间、回流时间、水浴温度、液料比、乙醇体积分数等,选取具有显著影响的参数作为响应面实验设计变量。经过数学模型预测与验证实验确定最优提取工艺为:乙醇体积分数 80.5%、回流时间 1.6 h、水浴温度 95 °C。在 0.003 g/mL 生药给药条件下,最优工艺的醇提物的抑菌率达到 94.29%。验证结果稳定且与预测值偏差低于 2%,该工艺合理可行。优化后的工艺下,所提浸膏对枯草芽孢杆菌有良好的抑制作用,对大肠杆菌抑制作用较弱。

关键词: 抑菌配方; 响应面法; 提取工艺; 乙醇回流提取

中图分类号: R282.6; TQ461

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)1-0163-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.1.025

Optimization of *Sophorae flavescens radix* formula ethanol extraction and its bacteriostasis activity

ZHAO Teng-fei, PANG Xi-lun, JIANG Jian-lan*

Tianjin Key Laboratory of Biological and Pharmaceutical Engineering; Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract: The Response Surface was used to optimize the extraction process of *Sophorae flavescens radix* antibacterial formula. The inhibition rate of *Staphylococcus aureus* was set up as response value. When single factors such as soaking-time, extraction duration, reflux temperature, ratio of liquid to solid, ethanol concentration had been tested, the key factor was chosen as the variable of the Response Surface Methodology. The process of optimal extraction was determined by prediction of mathematical model and verification of experiment, which is as followed: 80.5% of ethanol concentration, 1.6 h of extraction duration, 95 °C of reflux temperature. The inhibition rate of the best process is 94.29% while the concentration of raw herbal is 0.003 g/mL. The verification result is stable and the deviation from the prediction is less than 2%, which makes the extraction reasonable and feasible. Under the optimized process, the extract has a good inhibitory effect on *Bacillus subtilis*, and has less inhibitory effect on *Escherichia coli*.

Key words: bacteriostat; response surface methodology; extraction process; ethanol reflux extraction

苦参含有多种生物碱与黄酮类物质,在中医配方中用作抗炎和抑菌的药物^[1];黄柏具有清热燥湿、解毒疗疮的功效,在常见的中药外用洗剂中作为辅助抑菌剂^[2];蛇床子中含有的香豆素类化合物如蛇床子素具有抗菌、抗病毒的作用^[3];白鲜皮具有清热燥湿、祛风解毒功能,其含有的白鲜碱具有良好的抗炎作用^[4]。该四味药组成的抑菌配方源自于临床验方,经过本课题组的体外抑菌优化,在四味药

的协同作用下对金黄色葡萄球菌的抑制率显著强于配方中的单味药,理论上具有广谱抗菌性。该配方以天然植物为原料,具有资源丰富、易工业化的优势,为天然广谱抑菌剂的开发提供了一个新思路。作为中草药的经典提取方法,回流提取法包含有诸多的影响因素,这些因素会直接影响提取率与提取物的组成,因此需要选取合适的方法对配方的提取工艺进行优化。所优化后的溶剂回流提取法具有设备成本低、提取效率高、易于工业化应用等特点^[6,7]。

目前天然产物提取工艺的优化多采用正交设计、均匀设计与响应面设计。正交设计的实验设计

与数据处理繁多复杂,适合于因素少水平低的研究;均匀设计在配方设计与工艺优化上应用广泛,其数学模型均基于一次线性模型;响应面设计在工艺优化与混料设计上应用广泛,具有实验操作简洁、模型选择性广、预测精度较高的特点^[8-10]。综合文献报道,选取响应面设计中的中心复合设计法(Central Composite Design, CCD)进行实验设计以优化提取工艺。以配方对金黄色葡萄球菌的抑菌率作为响应值并用其它具有代表性的细菌作为验证。

1 材料与方法

1.1 材料

苦参、黄柏、蛇床子、白鲜皮,购置于安国药源商贸有限公司,生产日期为2017年8月;无水乙醇,分析纯,天津江天化工技术有限公司;营养肉汤培养基,杭州微生物试剂有限责任公司;TSB,杭州微生物试剂有限责任公司;DMSO,分析纯,凯玛特(天津)化工科技有限公司;金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、枯草芽孢杆菌(ATCC 6633)、大肠杆菌(ATCC 8739),上海复祥生物科技有限公司。

1.2 仪器

电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司,中国;ME802型、ME204型);恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司,中国;ZWY-211B);超净工作台(江苏苏净集团有限公司,中国;SW-CJ-2FD);紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司,中国;TU1810型);旋转蒸发器(东京理化器械株式会社,日本;N-1100);高速离心机(Sigma公司,德国;3K15)。

1.3 抑菌配方浸膏制备

按照配方比例,准确称取总重为20.0 g的药物置于圆底烧瓶中,按照一定的液料比量取一定体积分数的乙醇溶液加入圆底烧瓶中,浸泡一段时间后,水浴回流提取一段时间。回流结束冷却后进行减压抽滤和高速离心。离心后所得上清液转移至茄型瓶中,于70℃水浴旋蒸浓缩制取浸膏,并记录浸膏质量。按照公式(1)求浸膏得率。

$$\text{浸膏得率} = \frac{m_2 - m_1}{20g} \quad (1)$$

式中: m_1 为茄型瓶空瓶重量(g); m_2 为旋蒸结束后茄型瓶与浸膏总重(g)。

1.4 抑菌率测定

称取1.3中获得的浸膏,按照生药材浓度1.2 g/mL用DMSO对浸膏进行超声溶解制成药液,DMSO添加量按照公式(2)计算。

$$\text{DMSO添加量(mL)} = \frac{\text{浸膏称取量 g}}{1.2\text{g/mL} \times \text{浸膏得率}} \quad (2)$$

金黄色葡萄球菌种子液制备:将斜面保藏菌种接种于TSB平板上,活化后挑单菌落接种于营养肉汤培养基,在37℃下过夜培养,用前将菌悬液混匀并稀释至 10^6 CFU/mL。

实验组设置:取1.2 g/mL药液用营养肉汤培养基稀释至生药含药量0.003 g/mL,并分装于A、B、C、D四支试管中,每支试管10 mL其中A为空白对照,B、C、D为平行实验分别加入制备的金黄色葡萄球菌种子液10 μ L。

空白组设置:取营养肉汤培养基10 mL,设置A、B、C、D四支,A为对照,B、C、D为平行实验分别加入制备的金黄色葡萄球菌种子液10 μ L。

DMSO阴性对照设置:取0.5 mL DMSO,用营养肉汤培养基稀释至最终DMSO含量为0.0025 mL/mL,分装于A、B、C、D四支试管中,其中A为空白对照,B、C、D为平行实验,分别加入制备的金黄色葡萄球菌种子液10 μ L。

以上三组设置同时放置于37℃环境中振摇10 h后,采用OD测量法^[11],以A为空白对照测定B、C、D平行组,在650 nm波长下的吸光度值,取B、C、D吸光度值的平均值作为计算抑菌率的参数。抑菌率按照公式3计算。

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{DMOS 阴性对照吸光度} - \text{实验组吸光度}}{\text{空白组吸光度}} \quad (3)$$

1.5 提取工艺的单因素考察

浸泡时间考察:准确称取20.0 g药物,置于1 L圆底烧瓶中,加入70%乙醇溶液200 mL,浸泡时间设置0、0.5、1 h三个参数。90℃水浴回流提取2 h,剩余操作同1.3,获取浸膏后按照1.4的方法进行抑菌测试。结果如图1A所示。

回流时间考察:准确称取20.0 g药物,置于1 L圆底烧瓶中,加入70%乙醇溶液200 mL。90℃水浴回流提取,提取时间设置0.5、1、1.5、2、2.5、3 h六个参数,剩余操作同1.3,获取浸膏后按照1.4的方法进行抑菌测试。结果如图1B所示。

液料比的考察:准确称取20.0 g药物,置于1 L圆底烧瓶中,70%乙醇溶液与药物的液料比设置5、10、15、20、25、30六个参数。90℃水浴回流提取2 h,剩余操作同1.3,获取浸膏后按照1.4的方法进行抑菌测试。结果如图1C所示。

水浴温度的考察:准确称取20.0 g药物,置于1 L圆底烧瓶中,加入70%乙醇溶液200 mL。水浴回

流提取 2 h, 水浴温度设置 80、85、90、95、100 °C 五个参数。剩余操作同 1.3, 获取浸膏后按照 1.4 的方法进行抑菌测试。结果如图 1D 所示。

乙醇体积分数的考察: 准确称取 20.0 g 药物, 置于 1 L 圆底烧瓶中, 加入乙醇溶液 200mL, 乙醇体积分数设置 40%、50%、60%、70%、80%、90% 六个参数。水浴回流提取 2 h, 水浴温度 90 °C。剩余操作同 1.3, 获取浸膏后按照 1.4 的方法进行抑菌测试。结果如图 1E 所示。

1.6 响应面法设计提取工艺

由单因素实验分析结果, 结合实际生产要求, 在 Design-Expert8.0.6 中利用 CCD 对实验方案进行设计, 浸泡时间设置为 0.5 h, 液料比设置为 10, 将乙醇体积分数 $x_1/\%$ 、回流时间 x_2/h 和提取温度 $x_3/^\circ\text{C}$ 作为设计因素, 以对金黄色葡萄球菌的抑菌率 y 作为响应值。所得 3 因素 5 水平的因素水平如表 1 所示。设计所得 20 组实验均按照 1.3 和 1.4 进行操作, 抑菌结果如表 2 所示。

表 1 响应面实验设计的因素水平

Table 1 The factor levels of response surface methodology

因素 Factors	水平 Levels				
	-1.68	-1	0	1	1.68
x_1	59.89	65	72.5	80	85.11
x_2	0.32	1	2	3	3.68
x_3	81.59	85	90	95	98.41

1.7 优化后的提取物对枯草芽孢杆菌与大肠杆菌的抑制实验

按最优提取工艺提取浸膏, 按 1.4 的操作对枯草芽孢杆菌与大肠杆菌进行抑菌测试。

2.1 单因素考察结果

每个因素按照设置的参数平行进行三次实验, 抑菌结果取平均值, 以单因素为横坐标, 抑菌率为纵坐标, 在 Origin9.0 中绘制图像。抑菌结果如图 1 中 A-E 所示。

2 结果与分析

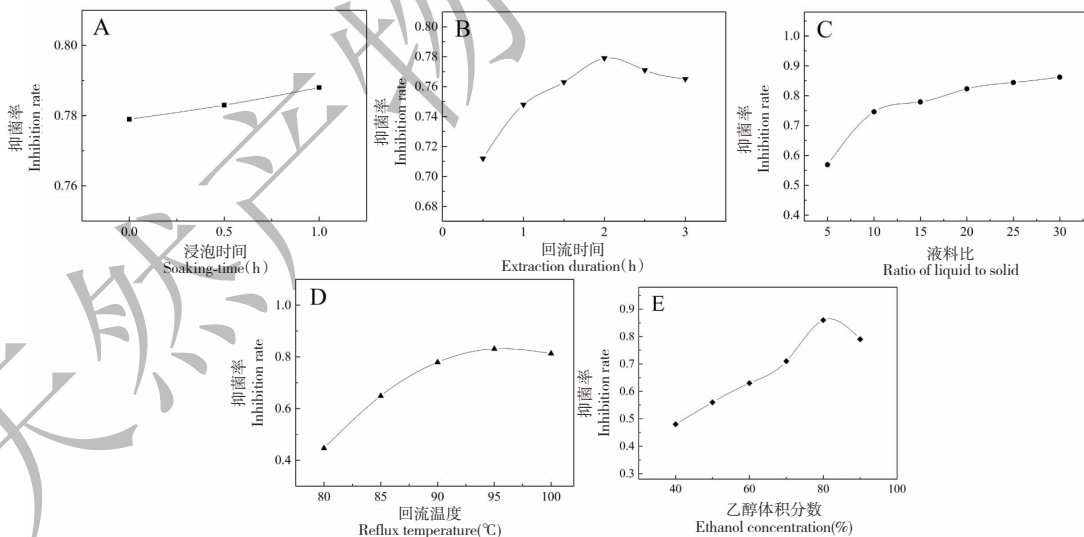


图 1 浸泡时间 (A)、回流时间 (B)、液料比 (C)、回流温度 (D)、乙醇体积分数 (E) 对抑菌率的影响

Fig. 1 The effects of soaking-time (A), extraction duration (B), ratio of liquid to solid (C), reflux temperature (D), ethanol concentration (E) on inhibition rate

从图 1A 可知, 药材的浸泡时间越长抑菌结果越好, 但是从增长幅度来看对提取的影响较小, 因此浸泡时间属于不显著因素。从图 1B 可知, 抑菌率

在 2 h 前呈正相关, 2 h 以后逐渐降低, 以此推断过长的加热时间可能会导致有效成分损失, 因此加热时间属于显著因素。从图 1C 可知, 随液料比的增

加抑菌率呈上升趋势,液料比到 20 后增长趋于缓和。因此液料比属于显著因素,但是从图线变化情况看不具有优化的意义。从图 1D 可知,抑菌率与回流温度呈现类似抛物线的关系,图线在温度 95 °C 前逐渐上升,然后逐渐下降,推断在过高的温度下加热会导致有效成分损失。因此回流温度属于显著因素,与回流时间可能存在交互作用。从图 1E 可知,在乙醇体积分数 80% 前曲线逐渐上升,而后略有下降,从图像的变化幅度推断有效成分的提取受到乙醇体积分数影响较大,在接近 80% 的范围能够达到最好的效果。因此乙醇体积分数属于显著因素。

综合上述分析,结合实际操作与条件考察,将液

料比设置为固定值 10,浸泡时间为 0.5 h,优化的因素范围选择如下:乙醇体积分数 65% ~ 80%、回流时间 1 ~ 3 h,水浴温度 85 ~ 95 °C。

2.2 响应面工艺优化结果

2.2.1 响应面设计实验结果

每组参数平行进行三次实验,抑菌结果取三次的平均值,计算标准差后按照平均值 \pm 标准差 ($Mean \pm SD$) 表示,结果见表 2。从表 2 中 SD 数据可知,抑菌实验的稳定性良好,数据 ($Mean$) 导入 Design-Expert8.0.6 中,采用数学模型法对工艺因子与抑菌率之间的关系进行数学模型拟合,采用最小二乘法拟合数学模型方程。

表 2 响应面设计实验与结果

Table 2 Experimental design and results of response surface methodology

No.	x_1 (%)	x_2 (h)	x_3 (°C)	y ($Mean \pm SD$)
1	65.00	3.00	95.00	0.575 \pm 0.012
2	65.00	1.00	95.00	0.752 \pm 0.009
3	72.50	2.00	90.00	0.810 \pm 0.023
4	72.50	2.00	90.00	0.807 \pm 0.018
5	65.00	3.00	85.00	0.752 \pm 0.007
6	80.00	3.00	95.00	0.847 \pm 0.019
7	72.50	2.00	98.41	0.815 \pm 0.011
8	80.00	1.00	95.00	0.888 \pm 0.005
9	72.50	2.00	90.00	0.812 \pm 0.020
10	72.50	3.68	90.00	0.740 \pm 0.006
11	72.50	2.00	90.00	0.808 \pm 0.013
12	72.50	2.00	81.59	0.711 \pm 0.011
13	59.89	2.00	90.00	0.663 \pm 0.018
14	72.50	2.00	90.00	0.801 \pm 0.008
15	72.50	2.00	90.00	0.805 \pm 0.003
16	80.00	1.00	85.00	0.617 \pm 0.017
17	80.00	3.00	85.00	0.830 \pm 0.021
18	85.11	2.00	90.00	0.860 \pm 0.016
19	65.00	1.00	85.00	0.636 \pm 0.013
20	72.50	0.32	90.00	0.694 \pm 0.007

2.2.2 数学模型分析结果

将二次多项式模型设为:

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i x_i + \sum_{m=1}^3 \sum_{n=1}^3 b_{mn} x_m x_n \quad (4)$$

数据在软件中以编码值进行最小二乘法拟合后换算为真实值方程为:

$$y = -1.8876 - 0.05957x_1 + 1.09592x_2 + 0.07105x_3$$

$$+ 0.003883x_1x_2 + 0.001163x_1x_3 - 0.01368x_2x_3 - 0.0003111x_1^2 - 0.03323x_2^2 - 0.0006787x_3^2 (R^2 = 0.9513) \quad (5)$$

对拟合的方程进行方差分析 (ANOVA) 以检验显著性^[12],结果见表 3。从表 3 数据可知,回归模型 (Model) 的 P 值为 0.0034 (< 0.05),表明回归模型显著;失拟项 (Lack of Fit) 的 P 值为 0.0602 ($>$

0.05),表明失拟项不显著,即未知因素对实验结果影响较小;回归方程的相关系数 $R^2 = 0.9513$,说明拟合度良好。因此,该拟合方程受未知因素影响较小,模型可信度高,该模型可以较好地描述自变量与

响应值之间的关系。根据模型因素分析可知,该模型中的 $x_1, x_3, x_1x_2, x_1x_3, x_2x_2$ 对模型的影响显著,表明选取的三个因素对抑菌率均有显著的影响。

表3 拟合模型方差分析
Table 3 The ANOVA of model

来源 Source	平方和 Sum of Squares	自由度 df	均方差 Mean square	F value	P value	显著 Significant
模型 Model	0.14000	9	0.01600	376.79	0.0034	+
x_1	0.04700	1	0.04700	1117.56	0.0015	+
x_2	0.00260	1	0.00260	62.22	0.0623	
x_3	0.01200	1	0.01200	283.25	0.0006	+
x_1x_2	0.00679	1	0.00679	162.52	0.0011	+
x_1x_3	0.01500	1	0.01500	364.62	0.0089	+
x_2x_3	0.03700	1	0.03700	895.69	0.0862	
x_1x_1	0.00441	1	0.00441	105.65	0.0537	
x_2x_2	0.01600	1	0.01600	381.09	0.0019	+
x_3x_3	0.00415	1	0.00415	99.35	0.0503	
残差 Residual	0.00042	10	0.00004			
失拟项 Lack of fit	0.00034	5	0.00007	4.58	0.0602	-
纯误差 Pure error	0.00007	5	0.00001			
总误差 Cor total	0.14000	19				

利用内部学生化残差法^[13] (Internally Studentized Residuals)对数据分布进行可靠性分析,结果见图2中A、B。从2A图中可知所有实验数据点遵从标准正态分布,即有95%的点在范围[-2, 2]

中,彼此独立且接近;从2B图中观察发现正态概率分布图近似为一条直线,遵从标准分布。因此,所有数据点均可靠,没有出现明显异常点。

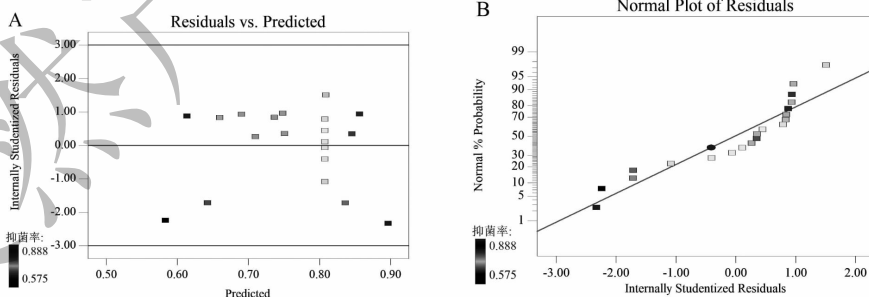


图2 残差(A)与残差正态分布(B)

Fig. 2 Residual(A) and normal distribution of residual(B)

2.2.3 模型预测与验证结果

根据所得的回归方程,抑菌率(y)为纵坐标在软件中绘制三因素交互作用响应面图,结果如图3中A、B、C所示。图3中A表示回流温度与回流时间对抑菌率的影响,B表示回流温度与乙醇体积分

数对抑菌率的影响,C表示回流时间与乙醇体积分对抑菌率的影响。由图3可知抑菌率受到乙醇体积分数的影响最显著,回流时间与回流温度对抑菌率影响基本一致。根据模型方程及响应面结果,在软件预测中结合实际条件得到最优工艺条件为:乙

醇体积分数 80.5%, 水浴温度为 95 °C, 回流时间为 1.6 h。在最优工艺条件下进行验证实验, 平行进行

三次, 然后计算预测值与真实值的偏差, 结果如表 4 所示。

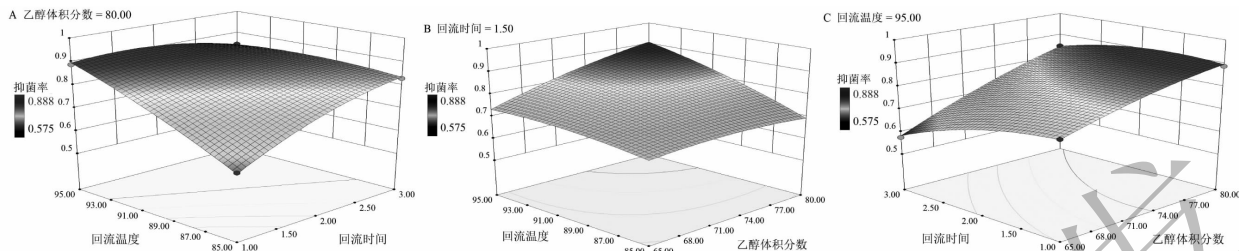


图 3 三因素交互作用响应面曲面图

Fig. 3 The interaction of the factors showed by response surface plots

表 4 验证实验结果

Table 4 The result of verify experiment

Item	数据 Experimental data			平均值 Mean	RSD (%)	预期值 Prediction	偏差值 Deviation (%)
	1	2	3				
y	0.9316	0.9513	0.9458	0.9429	1.08	0.9554	1.31

由表 4 可知, 三次验证实验的 RSD 值为 1.08% ($< 2\%$), 说明此优化工艺的重复性良好; 平均抑菌率达到 0.9429, 与预测值 0.9554 相比, 偏差水平为 1.31%, 表明拟合的二次多项式模型能够良好的反映各因素对抑菌率的影响, 对该配方的提取工艺优化有良好的指导性。

2.3 对枯草芽孢杆菌与大肠杆菌抑菌测试结果

每个抑菌实验平行进行三次, 结果取平均值。在 0.003 g/mL 生药浓度下, 最佳提取工艺所提浸膏对枯草芽孢杆菌的抑制率为 92.39%, 对大肠杆菌的抑制率为 22.36%。优化后的提取物对枯草芽孢杆菌的抑制率很好, 但是对作为革兰氏阴性菌的大肠杆菌则抑制效果较弱。

配方中的活性成分在本文的工艺优化下形成了协同抑菌作用的物质群, 该物质群可能含有以下成分: 苦参中的生物碱类, 黄酮醇苷化合物, 蛇床子素, 白鲜皮中的生物碱类。配方的醇提取物对金黄色葡萄球菌为代表的革兰氏阳性菌有良好的抑制作用, 对大肠杆菌为代表的革兰氏阴性菌抑制效果不明显。结合实验结果与相关文献报道, 该工艺下的配方醇提取物与推测成分的抑菌测试结果基本一致^[14-17]。

3 结论

本文通过对回流提取的关键因素进行考察, 选取影响较为显著的三个因素, 利用 CCD 设计实验优

化配方的回流提取工艺, 最终得到的最优提取工艺为: 乙醇体积分数为 80.5%、回流时间为 1.6 h、水浴温度为 95 °C。对该提取工艺进行验证, 实验结果与 CCD 数学模型预测结果基本相符; 在 0.003 g/mL 的生药给药条件下, 采用优化后的提取工艺提取配方有效成分, 抑菌率可达到 94.29%。枯草芽孢杆菌与金黄色葡萄球菌均为革兰氏阳性菌的代表性菌种, 因此可以推断本文所用配方对革兰氏阳性菌有很好的抑制作用。

参考文献

- Zhang C, Ma Y, Gao HM, et al. Advance on chemical constituents in *Sophora flavescens* [J]. Chin J Exp Trad Med Form (中国实验方剂学杂志), 2014, 20: 205-214.
- Sun SF, Zhang YY, Chu WC. Progress in research on pharmacological activities of *Phellodendronamu-rense* Rupr [J]. Shandong Chem Ind (山东化工), 2017, 46: 99-100.
- Mei YF, Zhang L. Effects of osthole on the nervous system and its pharmacokinetics [J]. Acta Neur (神经药理学报), 2014, 4: 57-64.
- Liu L, Guo LN, Yu CL, et al. Progress in research on pharmacological activities of *Dictamnus dasycarpus* Turcz [J]. Chin Trad Pat Med (中成药), 2016, 38: 2657-2665.
- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the people's republic of China; Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical

- Science Press, 2010; 11.
- 6 Jiang JL, Jin XL, Zhang H, et al. Identification of antitumor constituents in curcuminoids from *Curcuma longa* L. based on the composition-activity relationship [J]. *J Pharm Bio-Med Anal*, 2012, 70:664-670.
 - 7 Hong L, Zheng YF, et al. Discovery of anti-inflammatory ingredients in chinese herbal formula kouyangqing granule based on relevance analysis between chemical characters and biological effects [J]. *Sci Rep*, 2015, 12:10800.
 - 8 Wang JH, Li Y, Sun YZ, et al. Study on the extraction technology of total alkaloids from Radix Aconitilateralis Preparata by the uniform design method [J]. *J Anhui Agri Sci (安徽农业科学)*, 2011, 39:15920-15921.
 - 9 Qiu Y, Zhu L, Sun XY. Application in pharmacy and comparison of central composite design / response surface methodology and uniform design [J]. *Strait Pharm J (海峡药学)*, 2011, 23(2):18-19.
 - 10 Song J, Huang FL, Duan SQ, et al. Optimization of extraction process for xinshenning tablets by Plackett-Burnman, Box-Behnken, and response surface methodology [J]. *Chin Tradit Herb Dru (中草药)*, 2016, 47:430-435.
 - 11 Dong ZY, Dai H, Ma SH, et al. Bacterial counts by UV-Vis spectrophotometry [J]. *Drug STD Chin (中国药品标准)*, 2014, 15:120-121.
 - 12 Liu Y, Yang HY, Chen YC, et al. Optimization of ethanol reflux of phenylethanoid glycosides from the leaves of *Callicarpa nudiflora* by response surface methodology [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2018, 30:495-500.
 - 13 Liu NZ, Du XY, Song YF, et al. Study on extraction technology of effective ingredient in aconiti lateralis radix praeparata and *Glycyrrhizauralensis* fisch [J]. *Mod Chem Ind (现代化工)*, 2017, 37:100-105.
 - 14 Hao J, Liu Z, Zhang Y, et al. Study on antibacterial activity of combined application of *Sophora flavescens*, green tea and *Folium perillae* on MRSA in vitro [J]. *J Tianjin Univ Tradit Chin Med (天津中医药大学学报)*, 2014, 33:296-298.
 - 15 Guo ZJ, Guo SH, He KM, et al. Determination of contents of flavonol glycosides in the leaves of *Phellodendron chinense* Schneid and investigation of their fungistasis [J]. *J Univ Jinnan (暨南大学学报)*, 2002, 23(5):64-66.
 - 16 Shi ZQ, Shen SG, Xu LL, et al. Inhibition mechanism of osthol to plant fungus pathogens [J]. *Chin J Pesti Sci (农药学报)*, 2004, 6:28-32.
 - 17 Zhang JH. Study on extraction and activity of the chemical constituents from *Dictamnus dasycarpus* Turcz [D]. Changchun: Jilin Agricultural University (吉林农业大学), 2011.
-
- (上接第 121 页)
- 8 Ma J, Hou P, Chen Yan, et al. Study on antioxidant activity and anti-lipid peroxidation effect of several algal polysaccharides [J]. *South Chin Fish Sci (南方水产科学)*, 2017, 13:97-104.
 - 9 Wang JL, Guo HY, Zhang J, et al. Sulfated modification, characterization and structure-antioxidant relationships of *Artemisia sphaerocephala* polysaccharides [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 81:897-905.
 - 10 Ni LJ, Wang YY, He WY, et al. Monosaccharide composition, activity and their correlation analysis in eight polysaccharides [J]. *J Tianjin Univ Sci and Tech (天津大学学报: 自科与技术版)*, 2014, 47:326-330.
 - 11 Feng XZ, Wu SG, Kong J, et al. Optimization of phenol-sulfuric acid determination conditions of polysaccharide in *Ulva lactuca* L. by orthogonal test [J]. *Strait Pharm J (海峡药学)*, 2013, 25(12):94-96.
 - 12 Han W, Jiang RZ, Chen YH, et al. Comparison of three chromatographic methods for monosaccharide composition analysis of *Tremella polysaccharide* [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2012, 24:359-361.
 - 13 Feng XZ, Chen Y, Wu SG. Analysis of monosaccharide compositions in *Ulva lactuca* L. polysaccharides [J]. *Sci Tech of Food Ind (食品工业科技)*, 2014, 35(7):91-94.
 - 14 Feng XZ, Wu SG, Kong J. Study on ultrasonic assisted extraction of *Ulva lactuca* L. and its scavenging activity of DPPH free radical [J]. *J Chin Med Mater (中药材)*, 2013, 36:1870-1872.
 - 15 Zhang JH, Yao Z, Sun Y, et al. Optimization of polysaccharide extraction from Mulberry fungus and evaluation of its probiotic and antioxidant activities [J]. *Mod Food Sci and Tech (现代食品科技)*, 2018, 34:143-149.
 - 16 Chen M, Zhang HD, Chen M. Studies on the anti-oxidative activities of different solvents extracts from Chinese Herbal Medicine [J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyaseni (中山大学学报: 自科版)*, 2006, 45:131-133.
 - 17 Han SH, Zhu JB, Wang YY. Measurement of the antioxidant activity by pyrogallol autoxidation [J]. *China Brewing (中国酿造)*, 2009, 28:155-157.
 - 18 Yao LY, Zhao QS, Xiao J, et al. Composition and antioxidant activity of the polysaccharides from cultivated *Saussurea involucre* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 50:849-853.