

酶法提取诃子及茜草制诃子粗多糖的工艺研究

韦靖婧,何敏*,张雨凝,余楠琳,张晓杰

四川农业大学动物医学院,成都 611130

摘要:为优化诃子及茜草制诃子多糖的纤维素酶辅助提取工艺。本实验以诃子及茜草制诃子为研究对象,其粗多糖提取率为指标,通过单因素实验结合正交实验考察料液比、提取温度、提取时间和加酶量对诃子及茜草制诃子粗多糖提取率的影响,筛选最佳提取工艺条件。酶法提取诃子粗多糖最佳提取工艺为料液比 1:50,提取温度 50 ℃,提取时间 60 min,加酶量 1.8%,该条件下的最大提取率为 2.92%。而酶法提取茜草制诃子粗多糖最佳的提取工艺为料液比 1:40,提取温度 40 ℃,提取时间 90 min,加酶量 1.8%,该条件下的最大提取率为 3.29%。茜草制诃子多糖提取率优于生药诃子,该工艺耗能低、安全、有效、对多糖破坏较小,本研究结果可为诃子及茜草制诃子提取粗多糖工业化生产奠定理论基础。

关键词:茜草制诃子;诃子;多糖;酶提

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)Suppl-0029-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.S.004

Study on enzymatic extraction process of *Terminalia chebula* Retz and *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz polysaccharide

WEI Jing-jing, HE Min*, ZHANG Yu-ning, YU Nan-lin, ZHANG Xiao-jie

College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract: To optimize cellulase-assisted extraction process of *Terminalia chebula* Retz and *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz polysaccharide. This experiment taking the *Terminalia chebula* Retz and *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz as the research object, the extraction rate of polysaccharides is an index. The effects of ratio of material to liquid, extraction temperature, extraction times and enzyme concentration on the extraction rate of polysaccharides from *Terminalia chebula* Retz and *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz were studied by single factor experiment and orthogonal experiment, screening for optimal extraction conditions. The best extraction process for extracting water-soluble crude polysaccharides from *Terminalia chebula* Retz by the cellulase method was determined as follows: solid-liquid ratio is 1:50, extraction temperature is 50 ℃, extraction time is 60 min and the enzyme dosage is 1.8%. Under these conditions, the maximum extraction rate of polysaccharide was 2.92%. The best extraction process for extracting water-soluble crude polysaccharides from *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz by the cellulase method was determined as follows: solid-liquid ratio is 1:40, extraction temperature is 40 ℃, extraction time is 90 min and the enzyme dosage is 1.8%. Under these conditions, the maximum extraction rate of polysaccharide was 3.29%. The extraction rate of polysaccharides from *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz was better than from *Terminalia chebula* Retz. The process is low energy consumption, safe, effective and less damage to polysaccharides. It can lay a theoretical foundation for industrialized production of polysaccharides extracted from *Terminalia chebula* Retz and *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz.

Key words: *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz; *Terminalia chebula* Retz; polysaccharide; enzymatic extraction

诃子(*Terminalia chebula* Retz)为使君子科植物

诃子或绒毛诃子的干燥成熟果实,临床多将其用于治疗呼吸道及消化道疾病。茜草制诃子是以茜草烧成白灰加入麦酒煮沸后加诃子浸泡,一天后取出诃子用净水洗净干燥而得^[1]。相较于生药诃子,茜草

制诃子的没食子酸含量升高、番泻苷 A 与诃子酸含量下降,微量元素 Fe、Zn 和 Cu 含量均有所增加^[2]。本课题组前期实验发现,平息方剂茜草制诃子相对于生药诃子可更好的提高机体消化道分泌、抗氧化、抗衰老功能,其在临床上对胃溃疡及腹泻有更好的疗效^[3,4]。

近年来,植物多糖因其具有的生物活性而被广泛研究,然而关于诃子及其炮制品的多糖提取的研究还是很少。纤维素酶法是一种常见的植物多糖提取方法,主要通过纤维素酶不同程度的改变植物的细胞壁,从而增加细胞壁的通透性,减少成分扩散阻力,有利于多糖的溶出,起到缩短提取时间、保持药效成分原有性质和增加提取率等作用^[5]。相对于其他多糖提取方法而言,纤维素酶法提取条件更为温和,研究表明提取温度、提取时间、PH、料液比、加酶量、酶种类等均会对其多糖提取率有影响^[6]。

本实验以单因素实验结合正交实验研究和优化纤维素酶法提取诃子及茜草制诃子粗多糖的提取工艺,以期诃子及茜草制诃子多糖提取的生产实践奠定理论基础。

1 材料与方

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

诃子、茜草(成都荷花池中药材市场);D-无水葡萄糖对照品(HPLC \geq 98%,源叶生物有限公司);纤维素酶(3 units/mg)(北京索莱宝科技有限公司);苯酚、无水乙醇(分析纯)(成都市科隆化学有限公司);硫酸(分析纯)(四川西陇科学有限公司)。

1.1.2 主要仪器设备

uv-2000 紫外可见分光光度计(尤尼柯上海仪

器有限公司);DZKW-4 恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);JJ224BC 电子天平(美国双杰 G&G 电子天平有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 茜草制诃子炮制方法

茜草烧成白灰,按照 1:3 的比例注入麦酒搅拌,在锅中煮沸后放入茜草用量三分之一的诃子,继续煮 10 min 后冷却至室温,重复煮沸两次,在锅中浸泡 24 h;第二天捞出诃子,在木臼中揉破,将诃子肉用蒸馏水刷洗三次,30 h 烘干。

1.2.2 诃子及茜草制诃子粗多糖提取方法

精密称取 5 g 诃子或茜草制诃子粉末,放入烧杯中,加入适纤维素酶,按一定的温度、时间和料液比进行提取。提取结束后,在沸水浴中灭活 10 min 冷却,抽滤浓缩至 100 mL 左右。浓缩液加入三倍量 95% 乙醇,静置沉淀过夜,沉淀用乙醇、丙酮及乙醚依次洗涤,经过滤、干燥后得粗多糖。

1.2.3 单因素实验

根据诃子及茜草制诃子纤维素酶辅助提取多糖工艺,分别对提取过程中的料液比(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50)、提取温度(40、50、60、70、80 $^{\circ}$ C)、提取时间(30、60、90、120、150 min)、加酶量(1.2%、1.4%、1.6%、1.8%、2.0%)进行考察,通过其多糖提取率来评判提取效果。

1.2.4 正交实验

在单因素实验结果基础上,采用四因素三水平的正交试验设计,对多糖提取条件进一步优化,确定诃子及茜草制诃子多糖提取的最佳工艺。因素水平见表 1。

表 1 诃子及茜草制诃子正交实验因素水平表

Table 1 *Terminalia chebula* Retz and *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz factor level

水平 Level	因素 Factor			
	料液比 A Solid-liquid ratio	提取温度 B Extraction temperature ($^{\circ}$ C)	提取时间 C Extraction time (min)	加酶量 D Enzyme dosage (%)
1	1:30	40	60	1.4
2	1:40	50	90	1.6
3	1:50	60	120	1.8

1.2.5 多糖含量测定

采用苯酚-硫酸法^[13]测定多糖含量,利用葡萄糖线性回归方程 $y = 1.3155x + 0.0007$, $R^2 = 0.9978$ 计算样品中多糖含量。

多糖提取率 = (多糖质量浓度 \times 溶液体积 \times 稀释倍数) / 原料质量 \times 100%

2 结果

2.1 单因素实验

2.1.1 料液比的影响

茜草制诃子料液比在 1:10 ~ 1:20 范围内时,多糖提取率均随料液比增加而降低。在 1:20 ~ 1:40 范围内时,多糖提取率随料液比增加而增加,在 1:40 达到最佳,随后在 1:40 ~ 1:50 范围内,多糖提取率又随料液比增加而降低。而生药诃子在 1:10 ~ 1

:20 范围内时,多糖提取率随料液比增加而增加。在 1:20 ~ 1:30 范围内时,多糖提取率随料液比增加而降低,在 1:30 ~ 1:50 范围内,又随料液比增加而增加,在 1:50 达到最佳(图 1)。故生药诃子与茜草制诃子料液比均选取 1:30、1:40、1:50 三个水平进行考察。

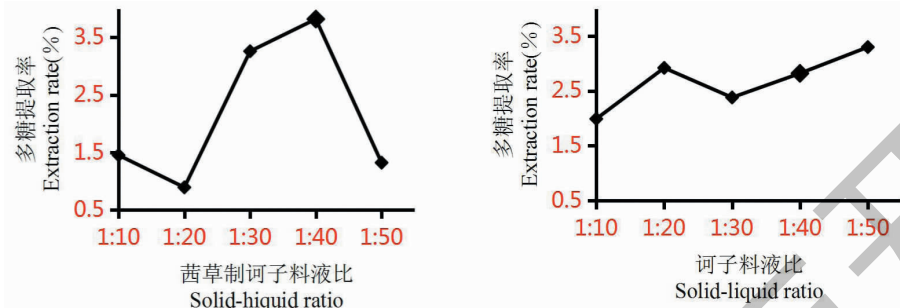


图 1 料液比对多糖提取率影响

Fig. 1 Effect of different ratios of water to raw material on extraction yield of polysaccharides.

2.1.2 提取温度的影响

茜草制诃子与生药诃子提取温度均在 40 ~ 50 °C 范围内时,多糖提取率均随提取温度升高而增加。在 50 °C 达到最佳,随后在 50 ~ 80 °C 范围内,多糖提

取率又随提取温度升高而降低(图 2)。故生药诃子与茜草制诃子提取温度均选取 40、50、60 °C 三个水平进行考察。

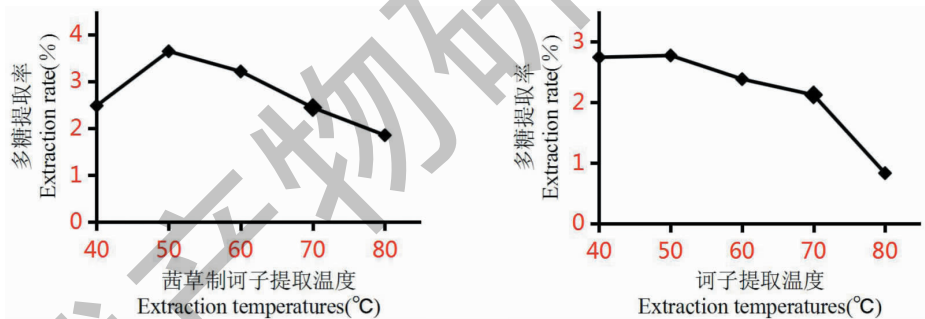


图 2 提取温度对多糖提取率影响

Fig. 2 Effect of different extraction temperatures on extraction yield of crude polysaccharides.

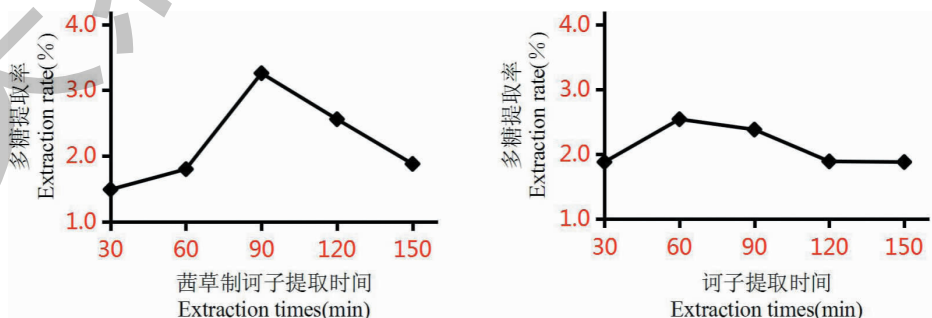
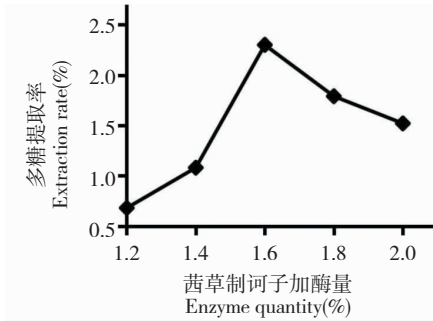


图 3 提取时间对多糖提取率影响

Fig. 3 Effect of different extraction times on extraction yield of crude polysaccharides.

2.1.3 提取时间的影响

茜草制诃子提取时间在 30 ~ 90 min 范围内时,多糖提取率随提取时间增加而升高。在 90 min 达到最佳,随后在 90 ~ 150 min 范围内,多糖提取率又随提取时间增加而降低。而生药诃子,在 30 ~ 60 min 范围内时,多糖提取率随提取时间增加而升高。在 60 min 达到最佳,随后在 60 ~ 150 min 范围内,多糖提取率又随提取时间增加而降低(图 3)。故生药诃子与茜草制诃子提取时间均选取 60、90、120 min



三个水平进行考察。

2.1.4 加酶量的影响

茜草制诃子与生药诃子加酶量在 1.2 ~ 1.6% 范围内时,多糖提取率均随加酶量增加而升高,在 1.6% 达到最佳,在 1.6% ~ 2.0% 范围内,多糖提取率又随加酶量增加而降低(图 4)。故生药诃子与茜草制诃子加酶量均选取 1.4、1.6、1.8% 三个水平进行考察。

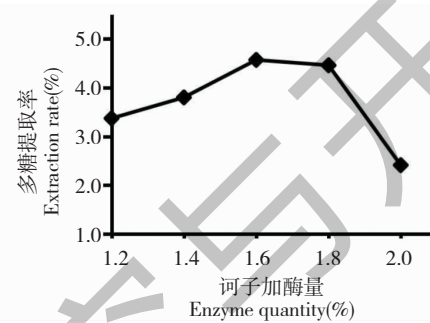


图 4 加酶量对多糖提取率影响

Fig. 4 Effect of different enzyme quantity concentration on yield of polysaccharide

2.2 正交实验

2.2.1 诃子

8 号样品诃子多糖提取率最高为 2.92%。对结果进行极差分析,可看出纤维素酶辅助提取诃子水溶性粗多糖四因素对多糖提取率的影响大小依次为

A(料液比) > C(提取时间) > D(加酶量) > B(提取温度),其中料液比对实验结果影响最大,其次才是提取时间、加酶量和提取温度。最终确定,最佳提取工艺为 $A_3B_2C_1D_3$,即在料液比为 1:50,提取温度为 50 °C,提取时间为 60 min,加酶量为 1.8%(表 2)。

表 2 诃子纤维素酶辅助提取法正交实验设计与结果

Table 2 *Terminalia chebulana* Retz orthogonal experimental design and results

编号 No.	料液比 A Solid-liquid ratio	提取温度 B Extraction temperature (°C)	提取时间 C Extraction time (min)	加酶量 D Enzyme dosage (%)	多糖提取率 Extraction rate (%)
1	1:30	40	60	1.4	2.00
2	1:30	50	90	1.6	1.75
3	1:30	60	120	1.8	1.94
4	1:40	40	90	1.8	1.64
5	1:40	50	120	1.4	1.81
6	1:40	60	60	1.6	1.63
7	1:50	40	120	1.6	2.12
8	1:50	50	60	1.8	2.92
9	1:50	60	90	1.4	2.01
K1	1.897	1.92	2.183	1.94	
K2	1.693	2.16	1.8	1.833	
K3	2.35	1.86	1.957	2.167	
R	0.657	0.3	0.383	0.334	

2.2.2 茜草制诃子

4号样品茜草制诃子多糖提取率最高为3.29%。其多糖提取率高于同法提取的生药诃子。对结果进行极差分析,可看出茜草制诃子索氏提取茜草制诃子水溶性粗多糖四因素对多糖提取率的影响大小依次为A(料液比)>D(加酶量)>C(提取时

间)>B(提取温度),其中料液比及加酶量对实验结果影响最大,其次提取时间及提取温度。最终确定,最佳提取工艺为 $A_2B_1C_2D_3$,即在料液比为1:40,提取温度为40℃,提取时间为90min,加酶量为1.8%(表3)。

表3 茜草制诃子纤维素酶辅助提取法正交实验设计与结果

Table 3 *Rubia cordifolia* L. processed *Terminalia chebula* Retz orthogonal experimental design and results

编号 No.	料液比 A Solid-liquid ratio	提取温度 B Extraction temperature(℃)	提取时间 C Extraction time (min)	加酶量 D Enzyme dosage(%)	多糖提取率 Extraction rate(%)
1	1:30	40	60	1.4	2.22
2	1:30	50	90	1.6	1.86
3	1:30	60	120	1.8	2.26
4	1:40	40	90	1.8	3.29
5	1:40	50	120	1.4	1.93
6	1:40	60	60	1.6	2.96
7	1:50	40	120	1.6	2.59
8	1:50	50	60	1.8	3.04
9	1:50	60	90	1.4	2.76
K1	2.113	2.700	2.740	2.303	
K2	2.727	2.277	2.637	2.470	
K3	2.797	2.660	2.260	2.863	
R	0.684	0.423	0.480	0.560	

3 分析与讨论

3.1 单因素实验结果分析

3.1.1 料液比的影响

生药诃子及茜草制诃子粉末表面破碎细胞中附着多糖分子,其多糖提取过程,包含了表面的多糖溶解及细胞内多糖扩散两部分,在一定时间,较少的料液比情况下,多糖提取以表面吸附多糖的溶解扩散为主导,所以诃子料液比在1:10~1:20范围内,多糖提取率随料液比增加而增加;继续增加料液比,促进反应进程,多糖提取以表面吸附多糖的溶解扩散与细胞内多糖的扩散共同协作,但多糖提取是一个动态过程,此时进入细胞内的多糖大于溶出细胞的多糖,所以茜草制诃子料液比在1:10~1:20及诃子料液比在1:20~1:30范围内,其多糖提取率随料液比增加而降低^[7]。

再继续增加料液比将会以细胞内多糖的扩散为主导,同时料液比增加可增加底物与溶剂接触面积,提高多糖的溶解量,降低体系中提取的多糖浓度,减少产物对酶促反应的反馈抑制作用,在一定程度上

有利于多糖的酶法提取,故茜草制诃子料液比在1:20~1:40及诃子料液比在1:30~1:50范围内,其多糖提取率随料液比增加而增加;但是料液比增加一方面会降低体系中的酶浓度,降低反应速度,另一方面,后续浓缩工作量也会增大,增加生产成本,且浓缩过程会造成多糖损耗,反而使得茜草制诃子料液比在1:40~1:50范围内时,多糖提取率随料液比增加而降低^[8,9]。在本实验中,茜草制诃子最佳料液比低于生药诃子,推测是经过炮制后,诃子某些结构发生变化,多糖更容易溶出,从而对溶剂的需求量降低^[10,11]。

3.1.2 提取温度的影响

这与Bao等^[12]采用纤维素酶提取泡叶藻聚糖,提取温度在50℃前多糖提取率呈上升趋势,50℃后呈下降趋势结果相同。一方面纤维素酶是蛋白质,温度会对其活性产生影响,在最适温度前,温度升高会促使其活性增强,当温度超过最适温度后,升高温度反而会使纤维素酶变性失活,从而降低多糖提取率^[13]。另一方面,温度升高会增加反应物的能

量,促进分子间的运动,提高多糖在提取液中的溶解度,促进多糖提取反应的进行^[14,15]。本实验中,当提取温度超过 50 ℃ 后,多糖提取率随温度升高而降低,可见温度升高虽然会增加多糖溶解度及反应物能量,但超过最适温度后纤维素酶活性受到影响,多糖提取率反而降低。

3.1.3 酶解时间的影响

随着酶解时间的增加,酶促反应分子运动碰撞,细胞通透性不断增加,多糖更容易析出到溶剂中,酶解时间的增加有利于多糖充分溶出,多糖提取率呈增加趋势。酶解时间继续增加,纤维素酶依然在分解细胞壁,但细胞通透性过大也会使得其他大分子物质析出到溶剂中,反而抑制了多糖的析出,同时酶解时间过长也会破坏已提出多糖的结构,某些多糖也会吸附到蛋白上,在醇沉过程中被除去,导致多糖提取率呈下降趋势^[16-18]。因此,在生产实践中一定要控制反应时间,不仅可以得到较多的多糖,还可以节约成本。

3.1.4 加酶量的影响

底物与酶结合度影响了纤维素酶酶解细胞壁的速度,当酶量较低时,底物与酶结合不完全,部分底物不能完全反应,所以增加酶量,有利于底物与酶的结合。继续增加酶用量,酶解产物增多的同时其他大分子物质也会溶出,进而导致多糖溶解度降低^[19]。当酶量达到一定量后,再继续增加酶的用量会导致部分酶无法与底物充分结合,酶的利用率降低而成本增大;同时,酶用量过大也会抑制酶解,降低底物被水解的速度,从而影响多糖的提取率^[8,20]。这与 Chen^[21] 的研究有所差异,其在纤维素酶提取菊花多糖中,最佳加酶量为 2%,作者推测是由于提取的药用植物的结构不同导致需要的最适酶量不同。

3.2 正交实验结果分析

3.2.1 诃子及茜草制诃子多糖提取正交实验结果讨论

植物细胞壁主要由纤维素、半纤维素等组成,对植物形态发生、细胞生长和分化、细胞信号传导、水分运输等皆起重要作用^[22]。多糖从细胞扩散到提取介质中时,需要克服细胞壁与细胞间质的双重阻力^[23]。纤维素酶辅助提取多糖,主要通过纤维素酶接触植物的细胞壁中纤维素,纤维素酶吸附以及扩散,纤维素酶水解细胞壁中纤维素^[24],使得植物细胞壁变薄,细胞排列杂乱,从而增加细胞壁的通透

性,减少多糖的扩散阻力来促进多糖的析出^[25]。

正交实验结果显示提取温度、提取时间、料液比、加酶量对多糖得率均有影响,且影响大小相近。单因素实验结果与正交实验结果存在差异,可见诃子及茜草制诃子粗多糖提取率是由多个因素相互影响共同作用的结果。在粗多糖提取过程中,适当的升高温度,有利于提高酶的活性,使得加入的酶都充分发挥作用。同时温度升高会影响多糖的扩散系数,加快分子运动速度,诃子及茜草制诃子内多糖分子渗透、扩散、溶解速度加快,使得多糖分子更容易扩散到溶剂中,相应的缩短提取时间^[7]。料液比适当的增加,可降低多糖提取液的糖浓度,提高细胞内外多糖浓度差,推动多糖分子的传动扩散^[12],但料液比的增加会一定程度上影响酶浓度,正交实验结果表明诃子及茜草制诃子粗多糖提取时料液比对多糖提取率影响最大,最佳提取条件下料液比与单因素结果保持一致的情况下,随着料液比增加,酶浓度相应降低,需要增加适当的酶来参与反应。而加入适量的纤维素酶,有利于纤维素酶水解植物的细胞壁,降低多糖扩散阻力。同时纤维素酶加入到提取过程中,也会增加扩散系数,降低提取的活化能,从而有利于提取的进行^[7]。适当的酶解时间有利于纤维素酶与底物结合,充分进行反应,但时间过长,纤维素酶会对溶出多糖结构造成一定的影响,提取液中的葡萄糖也会抑制内切酶的活力,从而抑制酶解过程^[25,26]。

3.2.2 诃子及茜草制诃子多糖提取正交实验结果对比

相较于生药诃子的最佳提取条件,茜草制诃子的最佳提取条件中料液比 1:40 低于生药诃子的 1:50,提取温度 40 ℃ 也低于生药诃子 50 ℃,在生产实践中,溶剂需求量与提取温度的降低,不仅可节约溶剂使用量、降低能耗、节约成本,还降低了后续浓缩工作量及沉淀乙醇用量。茜草制诃子最优提取条件的多糖提取率高于生药诃子,可见经过炮制后其结构会发生一定的变化,诃子多糖含量增加,这与纪鹏^[27] 和王冬梅等^[28] 情况一致。纪鹏^[27] 在不同当归炮制品多糖提取实验中,发现酒制与油制当归中多糖含量高于其他炮制品。王冬梅等^[28] 在研究不同炮制方法对玉竹提取物得率影响实验中,发现经过酒蒸与蜜蒸玉竹的多糖得率提高了。在生产实践中,可将诃子先进行炮制后再进行多糖提取,会相应的节约成本并提高多糖得率。

本实验中生药诃子及茜草制诃子粗多糖最优提取条件下多糖提取率分别为 2.92%、3.29%，均高于 Niu 等^[29]采用冷浸法的最佳提取条件料液比 1:20,冷浸 8 h,冷浸次数为 1 次下提取的生药诃子多糖 2.84%，且本实验最优提取时间均低于 8 h。这与吴宪玲^[16]在提取西洋参多糖实验中酶提法相较于水提法在提取时间上更短,多糖提取率更高情况一致。本实验结果低于 Chun 等^[30]在热浸法最优条件下生药诃子多糖提取率为 6.10%，推测一方面是其进行了多次提取,提取次数本就会对多糖提取率造成一定影响,适当增加提取次数有利于增加多糖提取率,而本实验未对提取次数对纤维素酶提取诃子及茜草制诃子多糖提取率的影响进行研究,另一方面本实验提取温度较低,提取强度不够,会对多糖溶解度造成一定影响,导致多糖未能充分释放,所以多糖提取率更小^[31]。

4 结论

诃子的最佳提取条件为料液比为 1:50,提取温度为 50℃,提取时间为 60 min,加酶量为 1.8%,该条件下诃子粗多糖的最大提取率为 2.92%。而茜草制诃子最佳的提取工艺为料液比为 1:40,提取温度为 40℃,提取时间为 90 min,加酶量为 1.8%,该条件下茜草制诃子多糖的最大提取率为 3.29%。诃子及茜草制诃子的最佳提取工艺较接近,但茜草制诃子最佳工艺提取率高于生药诃子,且耗能低于生药诃子。该工艺耗能低、安全、有效、对多糖破坏较小,可为诃子及茜草制诃子纤维素酶提取工艺提供了依据。

参考文献

- Mao JZ. Basic Tibetan pharmaceutical processing(基础藏药炮制学)[M]. Beijing: Chinese Traditional Medicine Press, 2011:143-145.
- Fei WB. Study on the special processing methods and changing of chemical composition of *Terminalia chebula* Retz in Tibetan[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University(四川农业大学), 2017.
- Zhao SQ, He M, Liang XX, et al. Effects of the different processed products from *Terminalia chebula* Retz. on the morphology and distribution of argentaffin cells in the digestive tract of mice[J]. Vet Sci China(中国兽医科学), 2016, 46: 1048-1056.
- Li X. The impact of the different processed products of *Terminalia chebula* Retz. on antioxidant and blood biochemical

- indicators in mice[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University(四川农业大学), 2015:18-28.
- Yang JX, Cai JP, Zhu L. Application of cellulase in extraction of traditional Chinese medicine components[J]. Chin Med Mat(中药材), 2005, 28(1):64-67.
- Liu FG, Feng SX, Liu W, et al. Optimization of enzyme extraction process of *Aconitum gymnandrum* Maxim polysaccharides[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2018, 40:1395-1398.
- Kang JS. Study on the cellulose-assisted aqueous extraction of *Astragalus* polysaccharide[D]. Anhui: Hefei University of Technology(合肥工业大学), 2012.
- Huang X. Extraction and biological activities of polysaccharides from *Chrysanthemum morifolium* [D]. Chengdu: Sichuan agricultural university(四川农业大学), 2016.
- Jiang H, Sun HX, Li J, et al. Study on enzymatic hydrolysis of *Auricularia auricular*[J]. Food Ferment Ind(食品与发酵工业), 2005, 31:131-133.
- Guo X, Wang YQ, Wang D, et al. FTIR analysis of *Lapis Micae Aureus* before and after processing[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2013, 28:688-691.
- Wang JP, Zhang CG, Liu XC, et al. Study on the influence of processing on the physicochemical properties of *Dipsacales* [J]. Chin Med Mat(中药材), 2006, 29:895-897.
- Bao QY, Wei JLY, Jiang ZD, et al. Optimization of cellulase assisted extraction conditions for sulfated polysaccharide(Ascophyllan) from *Ascophyllum nodosum* by response surface methodology[J]. Chin J Proc Eng(过程工程学报), 2018, 18:632-638.
- Feng DY, Zuo JJ. Research and practice of feed enzyme preparation technology system(酶制剂技术体系的研究与实践)[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2011: 153-157.
- Liu HZ, Song F, Yu H, et al. Optimization of enzymatic extraction of polysaccharide from Chuju[J]. Chin Med Mater(中药材), 2010, 33:1632-1636.
- Wang J, Li YW, Jiang J, et al. Study on technology of polysaccharide extraction from *Dioscorea opposita* by microwave assisted enzymatic method[J]. Sci. Technol. Food Ind.(食品工业科技), 2008, 39(11):190-193.
- Wu XL. Extraction and purification of polysaccharides from *Panax ginseng* and preparation of capsules[D]. Harbin: Harbin University of Commerce(哈尔滨商业大学), 2016.
- Li SQ, Zhang B, Xin G, et al. Double-enzyme method for polysaccharides extraction from *Gomphidium rutilus* fruitbodies [J]. Food Sci(食品科学), 2010, 31:143-146.
- Chen SJ, Liu XJ, Yang XQ et al. Optimization of enzymatic

- extraction of visceral polysaccharides from abalone [J]. J South Agric(南方农业学报),2018,49:1389-1395.
- 19 Yong CW,Wang WL,Li XQ,et al. Optimization of enzymatic extraction of okra polysaccharides by response surface methodology[J]. China Food Addit(中国食品添加剂),2018,4:99-105.
- 20 Teng B. Studies on extraction, purification, structure analysis and biological activity of polysaccharides in raspberry fruit [D]. Harbin;Northeast Agricultural University(东北农业大学),2014.
- 21 Chen Y. Extraction, purification and activity of polysaccharides from *chrysanthemum*[D]. Guangzhou;South China University of Technology(华南理工大学),2015.
- 22 Li FC. Characterization of cell wall structural features that predominately affect plant growth and biomass saccharification[D]. Wuhan;Huazhong Agricultural University(华中农业大学),2015.
- 23 Zheng D,Sun PL,Shao P,et al. Research progress enzymatic extraction method of polysaccharides from edible-medicinal fungi[J]. Food Sci Technol(食品科技),2008,10:178-181.
- 24 Mei HZ. A comparative study of characterization of four endogenous cellulases from longicorn beetles [D]. Zhenjiang; Jiangsu University of Science and Technology(江苏科技大学),2016.
- 25 Wei FY,Kang JH,Zhang Y. Extraction kinetics of *Astragalus* polysaccharides cellulose-assisted aqueous extraction [J]. Chin J Proc Eng(过程工程学报),2012,12:839-843.
- 26 Tang XQ. Extraction, structure and biological activity research on *Angelica dahurica* polysaccharides from Sichuan Provinc[D]. Chengdu;Sichuan Agricultural University(四川农业大学),2016.
- 27 Ji P. Extraction, separation, purification and componential analysis of *Angelica Sinensis* polysaccharides and the different angelica processed products polysaccharides [D]. Lanzhou; Gansu agricultural university(甘肃农业大学),2012.
- 28 Wang DM,Lu ZJ,Wang YH,et al. Effects of different processing methods on the yield of extracts and antioxidant activity of *Polygonatum odoratum*[J]. Bull Bot Res(植物研究),2012,32:621-626.
- 29 Niu ML,Wang J,Wang J. Study on extraction method of polysaccharide from *Terminalia chebula* Retz[J]. J Inner Mongolia Med Univ(内蒙古医科大学学报),2014,36(2):148-151.
- 30 Chun H,Tang XM,Xu L,et al. Optimization of the extraction process for polysaccharide from *Terminalia chebula* Ritz by orthogonal test combined with response surface method[J]. J Mol Sci(分子科学学报),2017,33:291-296.
- 31 Miao TL. Optimization of extraction process and bioactivity of polysaccharide from *Cynoglossum lanceolatum* Forsk [D]. Jiamusi;Jiamusi University(佳木斯大学),2014.

(上接第43页)

- 15 Hashimoto J,Westerhof BE,Ito S. Carotid flow augmentation, arterial aging, and cerebral white matter Hyperintensities [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2018,38:2843-2853.
- 16 Shani J,Kushelevsky AP,Harari M,et al. Sustained decrease of blood pressure in psoriatic patients during treatment at the dead sea[J]. Pharmacol Res,1995,31:355-359.
- 17 Kushelevsky AP,Harari M,Hristakieva E,et al. Climatotherapy of psoriasis and hypertension in elderly patients at the dead-sea[J]. Pharmacol Res,1996,34(1-2):87-91.
- 18 Bernheim J,Saidi J,Kovatz S,et al. Decrease in blood pressure in the dead sea region [J]. Isr J Med Sci,1984,20:1193-1194.
- 19 Gavrikov NA,Platonov BP. Radiobiotelemetric study of neural regulation of the heart in patients with hypertension treated with seawater baths [J]. Ter Arkh,1976,48(4):76-81.