

Optimization of Extraction Process and Antioxidant Activity *in Vitro* for Polysaccharide from *Oenothera erythrosepala* Root Polysaccharide

Zhaoqian Liu, Yingying Zhang, Hao Luan, Yu Hu, Demin Gao*

Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan Shandong
Email: Lzm20000417@163.com, *gdm0115@163.com

Received: Jan. 20th, 2020; accepted: Feb. 24th, 2020; published: Mar. 2nd, 2020

Abstract

To better explore the polysaccharides of *Oenothera erythrosepala*, the optimal extraction process of *Oenothera erythrosepala* polysaccharides was studied with the response surface method under a single factor. The content of polysaccharides from *Oenothera erythrosepala* in different periods was determined. Meanwhile, the repairing effect of polysaccharides from *Oenothera erythrosepala* was evaluated using RAW264.7 cells damaged by hydrogen peroxide. The results showed that the microwave extraction is more effective than the ultrasonic extraction and the traditional extraction. Through the single factor and the response surface analysis, the best extraction conditions of polysaccharide were microwave power 460 w, extraction time 25 min, feed liquid ratio 1:20, and the extraction rate under this condition was 78.55%. The contents of *Oenothera erythrosepala* polysaccharide in the different periods and soil showed that the highest content of polysaccharide was in November and sand. The activity test showed that *Oenothera erythrosepala* polysaccharide can effectively repair the damage of RAW264.7 by hydrogen peroxide oxidation.

Keywords

Oenothera erythrosepala, Polysaccharide, Ultrasonic Extraction, Microwave Extraction, The Response Surface, Hydrogen Peroxide, RAW264.7

月见草根多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究

刘兆倩, 张颖颖, 栾皓, 胡豫, 高德民*

山东中医药大学药学院, 山东 济南
Email: Lzm20000417@163.com, *gdm0115@163.com

*通讯作者。

文章引用: 刘兆倩, 张颖颖, 栾皓, 胡豫, 高德民. 月见草根多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 植物学研究, 2020, 9(2): 83-95. DOI: 10.12677/br.2020.92011

收稿日期：2020年1月20日；录用日期：2020年2月24日；发布日期：2020年3月2日

摘要

为了更好的开发月见草根中的多糖，本文运用单因素和响应面法对月见草根中多糖的最佳提取工艺进行了一系列研究。根据最佳提取工艺，对不同时期和不同土质中月见草根多糖的动态积累规律进行了分析，并研究了月见草根中多糖对过氧化氢氧化损伤的RAW264.7细胞的修复作用。结果显示，用微波提取法提取月见草根中多糖比用超声提取法和传统工艺法有更好的提取效果。通过单因素和响应面法分析，在微波提取法中，月见草根中多糖的最佳提取条件：微波功率460 w、浸提时间25 min、料液比1:20，在此条件下的提取率为78.55%。在最佳提取方法下，对不同时期和不同土质中月见草根多糖的动态积累规律研究得知，11月份的月见草根多糖的含量最高为75.61%，而砂质中种植的月见草根的多糖含量高于壤土。抗氧化实验显示月见草多糖对过氧化氢氧化损伤的RAW264.7是有明显的修复效果。

关键词

月见草，多糖，超声提取，微波提取，响应面，过氧化氢，RAW264.7

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

月见草(*Oenothera erythrosepala* Borb.)是柳叶菜科二年生草本植物，生于山区向阳坡地，林缘荒地、路旁等处[1]。月见草被认为是欧美十大防治妇女更年期综合症(PMS)天然药用植物之一，也是二十世纪发现的最重要的营养药物来源之一[2]。月见草的花具茉莉花的香气，主要成分是芳香醇及其衍生物，可制芳香浸膏或用于调和香精。月见草油中脂肪酸易被皮肤吸收，促进血液循环，防止表皮细胞角化，延缓衰老，可为皮肤提供韧性和保水功能，是化妆品中滋润剂和保湿剂[3]。月见草油还可调节血液中类脂物质，对高胆固醇、高血脂引起的冠状动脉梗塞、粥样硬化及脑血栓等症有显著疗效。月见草的根是药食两用药材，工业可酿酒或做食材使用，而入药具有清热解毒、祛除湿、强筋骨的功效，还可治疗咳嗽、感冒、胃刺激和肠痉挛等病症。

近年来，主要围绕月见草挥发油成分及活性机制和临床疗效等方面进行研究[4]，而对于月见草的根，尽管开发的产品类型多，但基础研究鲜有报道。月见草的根主要成分是多糖类化合物，但对多糖的提取工艺、多糖组分、质量标准等缺乏系统的研究。在对月见草多年种植的基础上，作者围绕月见草多糖的积累规律，提取工艺和活性等方面进行研究，这对于进一步深入开发月见草资源，具有重要的指导意义。

本文运用了传统工艺法、超声提取法、微波提取法分别对月见草根中的多糖进行单因素研究，研究每种方法的最佳提取工艺；进一步应用响应面法设计试验，使最佳提取条件更加明确；并研究了月见草根中多糖的动态积累规律和探究月见草多糖的抗氧化活性，为月见草更深入的研究提供了一定的基础。

2. 材料

2.1. 仪器与试剂

电子天平(上海青海仪器有限公司)、DZTW型调温电热套(北京市永光明医疗仪器厂)、KQ-250DE型数控超声波清洗器、微波炉(青岛海尔成套家电服务有限公司)、旋转蒸发器 RE52CS(上海亚荣生化仪器

厂)、循环水式多用真空泵 SHB-IIIA (上海沪析实业有限公司)、754PC 紫外 - 可见分光光度计(上海菁海仪器有限公司)、DHP-9162 电热恒温培养箱(上海一恒)、Spectra Max M5 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)、96 孔培养板(南通新星实验器材公司)、一次性无菌培养皿(直径 90 mm, 南通新星实验器材公司)、苏净安泰 BSC-1300IIA 生物洁净安全柜(苏州苏净集团)。

丙酮、无水乙醇、石油醚、苯酚(AR)、浓硫酸(AR)、葡萄糖、过氧化氢、DMSO, 均为分析纯; 胎牛血清、DMEM+F12 培养基(BR)、过氧化氢、RAW264.7 细胞、DMSO、MTT (BR), 均来自山东德仁医药有限公司。

2.2. 实验材料与处理

月见草(*Oenothera erythrosepala* Borb.)来源于山东中医药大学百草园和山东鲁山神农药谷, 由山东中医药大学药学院副教授高德民老师鉴定, 凭证标本保存于山东中医药大学标本馆(表 1)。

Table 1. *Oenothera erythrosepala* materials

表 1. 供试样品月见草材料

批号(标本号)	月见草材料来源地	采集日期	土壤类型	经纬度(E, N)	海拔(m)
20170620	山东中医药大学百草园	2017.06.20	壤土	116°47'29.25" 36°33'24.22"	29
20170919	山东中医药大学百草园	2017.09.09	壤土	116°47'34.19" 36°33'34.69"	48
20171120	山东中医药大学百草园	2017.11.20	壤土	116°47'34.39" 36°33'34.28"	51
20171121	山东鲁山神农药谷	2017.11.21	砂质土	118°4'34.91" 36°16'6.86"	423
20180221	山东中医药大学百草园	2018.02.21	壤土	116°47'34.01" 36°33'34.28"	51
20190420	山东中医药大学百草园	2019.04.20	壤土	116°47'34.13" 36°33'33.74"	51
20180619	山东中医药大学百草园	2018.06.19	壤土	116°47'34.44" 36°33'33.7"	51
20180821	山东中医药大学百草园	2018.08.21	壤土	116°47'34.34" 36°33'34.02"	51

将新鲜的月见草根切片于烘干箱中烘干后打成粉末状并过 50 目筛, 得粗细均匀的月见草粉末, 放置待用。

3. 方法

3.1. 多糖提取方法(单因素分析法)

3.1.1. 传统工艺法

精密称取多份月见草 20 g 粉末于烧杯中加入石油醚浸泡过夜, 抽滤, 将干燥的月见草粉末置于烧杯中分别以料液比(1:20)加入蒸馏水, 分别回流 4 h 过滤, 浓缩, Sevage 法除蛋白, 85%乙醇多次醇沉于 4℃ 下静置过夜, 过滤, 干燥得粉末[5] [6]。按 2.2 测定样品吸光度, 计算多糖含量。

3.1.2. 微波提取法

精密称取多份月见草 5 g 粉末于烧杯中加入石油醚浸泡过夜, 抽滤, 将干燥的月见草根别在时间(5 h,

15 h, 20 h, 25 h, 30 h)、料液比(1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30)、功率(120 w, 280 w, 460 w)条件下进行如表 2 所示的单因素实验, 过滤, 浓缩, 干燥[7] [8] [9]。

Table 2. Microwave extraction of polysaccharides from *Oenothera erythrosepala*
表 2. 月见草多糖微波提取法

试验号 (No.)	提取时间/min (Time/min)	料液比/g: mL (Ratio/g: mL)	微波功率/w (Power/w)	多糖提取率/% (Rate/%)
1	5	1:20	460	27.50
2	15	1:20	460	31.25
3	20	1:20	460	44.28
4	25	1:20	460	78.55
5	30	1:20	460	60.95
6	15	1:10	460	34.30
7	15	1:15	460	42.37
8	15	1:20	460	53.40
9	15	1:25	460	65.25
10	15	1:30	460	47.80
11	15	1:20	120	47.70
12	15	1:20	280	57.53

3.1.3. 超声提取法

精密称取多份月见草粉末 5 g 于烧杯中加入石油醚浸泡过夜, 抽滤, 将干燥的月见草分别在功率(40 w, 50 w, 60 w, 70 w, 80 w)、温度(20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C)、料液比(1:10, 1:15, 1:20, 1:25)条件下进行如表 3 所示的单因素实验过滤, 浓缩, 离心, 干燥[10] [11] [12]。

Table 3. Ultrasonic extraction of polysaccharides from *Oenothera erythrosepala*
表 3. 月见草多糖的超声提取法

试验号 (No.)	温度/ °C (T/ °C)	料液比/g: mL (Ratio/g: mL)	超声功率/w (Power/w)	时间/min (Time/min)	多糖提取率/% (Rate/%)
13	60	1:20	40	40	45.61
14	60	1:20	50	40	40.23
15	60	1:20	60	40	32.80
16	60	1:20	70	40	60.51
17	60	1:20	80	40	42.74
18	20	1:20	60	40	77.62
19	30	1:20	60	40	75.50
20	40	1:20	60	40	40.97
21	50	1:20	60	40	60.52
22	60	1:20	60	40	69.57
23	60	1:10	60	40	60.73
24	60	1:15	60	40	40.00
25	60	1:20	60	40	32.80
26	60	1:25	60	40	45.79

3.2. 多糖含量和提取率测定

3.2.1. 标准曲线的绘制

精密称取葡萄糖 0.01 g 将其定容于 100 mL 容量瓶中，制得 0.10 mg/mL 的葡萄糖对照品溶液。吸取葡萄糖标准溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 定容于 10 mL 容量瓶，分别取 2 mL 于具塞的试管中，精密加入 5% 苯酚溶液 1 mL 并迅速加入浓硫酸 5 mL，摇匀，放置 10 min，于 40℃ 水浴锅中保温 15 min，用分光光度计在波长 480 nm 处测定吸光度[13]，得标准曲线方程： $Y = 9.06X - 0.0162$ ， $R^2 = 0.9997$ 。

3.2.2. 测定方法

取多糖粉末 0.01 g 定容于 100 mL 容量瓶中，取 2 mL 进行苯酚硫酸法。

3.3. 月见草多糖的动态分析

对采集的不同土质、不同时期下的月见草根(表 1)，采用 3.1 中最佳提取方法提取月见草根中多糖并测定多糖含量，每次测定均做三组平行实验。

3.4. 月见草根中多糖体外抗氧化活性

3.4.1. 月见草根中多糖对过氧化氢损伤的 RAW264.7 细胞模型建立

取对数生长 RAW264.7 细胞，用含 10% 胎牛血清的 DMEM+F12 培养基重悬成细胞悬液。取对数生长期的 RAW264.7 细胞以 3×10^5 个/孔密度将细胞接种于 96 孔板，用含 10% 胎牛血清的培养基于 37℃，5% 二氧化碳培养 24 h 后，弃去原有细胞培养液，空白组加入不含血清的培养基 100 μ L，模型组和样品组加入用不含血清培养基稀释的 1000 μ M 过氧化氢 100 μ L。继续培养 10 h，弃去原有细胞培养液，样品组加入不含血清培养基稀释的不同浓度月见草多糖(62.5 μ g/mL, 125 μ g/mL, 250 μ g/mL, 500 μ g/mL, 1000 μ g/mL, 2000 μ g/mL)，每孔最终体积 100 μ L，每个浓度设 3 个复孔；空白组和模型组只加入不含血清培养基 100 μ L，继续培养 10 h，MTT 法检测细胞活性。

3.4.2. MTT 法测细胞活性

培养 10 h 后，加入 20 μ L 的 MTT 溶液，继续培养 4 h，吸去培养液，加入 100 μ L DMSO，10 min 后在 490 nm 下测吸光度，计算细胞存活率[14] [15]。

4. 结果及分析

4.1. 传统工艺法

通过对温度、料液比等参数的比较，传统工艺法提取月见草根多糖在温度 75℃、料液比为 1 g:20 mL 时，多糖的最高提取率为 75.00%。

4.2. 单因素水平试验及结果[16]

4.2.1. 微波提取法

采用微波提取法对月见草多糖进行提取，结果(表 2)所示，通过对比，最佳提取时间为 25 min，最佳料液比为 1 g:20 mL，最佳微波功率为 460 w。

4.2.2. 超声提取法

采用超声提取法对月见草多糖进行提取，结果如表 3 所示，通过对比，超声提取法的最佳提取温度为 20℃，最佳料液比为 1 g:20 mL，最佳超声功率为 60 w。

4.3. 月见草根多糖的动态分析

不同采收时间月见草根的多糖含量结果显示(表 4), 不同时期月见草根的多糖含量差异显著。在每年的 11 月份和 3 月份多糖含量较高, 而在 7、8 月份多糖的含量明显偏低。不同土质对月见草根中多糖的含量如表 4 所示, 不同土质下种植的月见草的根中多糖含量不同, 月见草的根中多糖的含量砂质土中要高于壤土中。

Table 4. The extraction rate of polysaccharides at different stages
表 4. 不同时期月见草根中多糖含量

样品批号	土壤类型	多糖含量(%)
20170620	壤土	39.82 ± 5.13
20170919	壤土	50.63 ± 3.93
20171120	壤土	75.61 ± 4.15
20171121	砂质土	75.96 ± 4.58
20180221	壤土	65.79 ± 3.85
20170420	壤土	53.49 ± 4.95
20180619	壤土	42.87 ± 4.62
20180821	壤土	36.51 ± 3.83

4.4. 月见草根中多糖的抗氧化活性

样品组与模型组有显著差异, 与模型组相比较月见草多糖能够明显提高经过氧化氢诱导损伤的 RAW264.7 的存活率(图 1)。在多糖浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 有一定的抗氧化活性且有剂量效应; 在多糖浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 与模型组差异有统计学意义($P < 0.05$)。

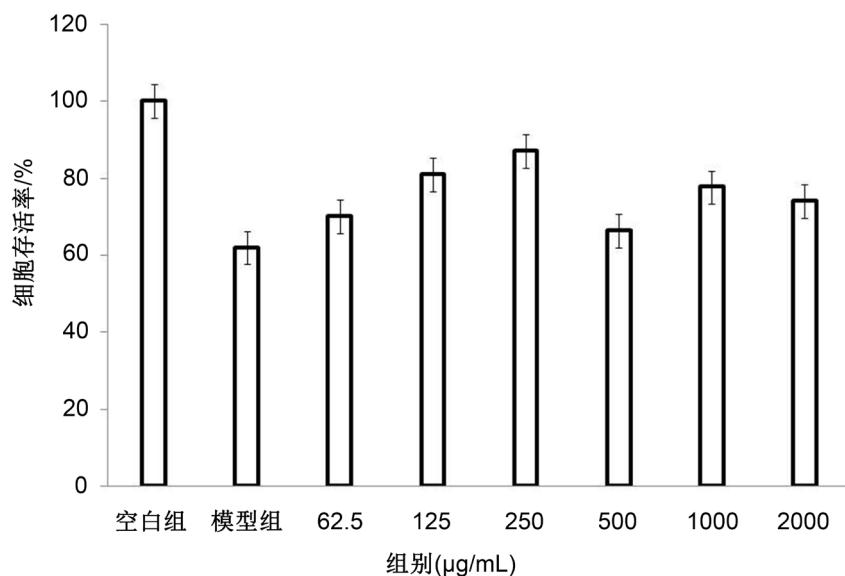


Figure 1. Repair effect of evening primrose polysaccharide on RAW264.7 cells damaged by hydrogen peroxide
图 1. 月见草多糖对过氧化氢损伤的 RAW264.7 细胞的修复作用

5. 响应面法优化月见草多糖提取工艺

5.1. 微波提取法

在单因素实验的基础上, 参考文献[17] [18] [19] [20]选取提取时间、料液比、微波功率进行三因素三水平的实验设计, 因素水平分别以-1、0、1编码, 以月见草根多糖的得率为响应值, 见表5。

Table 5. Table of test factors

表 5. 试验因素水平表

水平 (horizontal)	因素(factor)		
	提取时间/h (Time/min)	料液比/g:mL (Ratio/g: mL)	微波功率/w (Power/w)
-1	5	0.1	120
0	15	0.2	290
1	25	0.3	460

以提取时间、微波功率、料液比为自变量, 月见草多糖提取率为响应值, 利用 Design-Expert8.0.6 软件进行三因素三水平的响面数据分析, 结果见表6、表7。

Table 6. Response surface analysis of experimental design and results

表 6. 响应面分析实验设计及结果

编号(No.)	提取时间(Time)	微波功率(Power)	料液比(Ratio)	提取率% (Rate/%)
1	-1	1	0	27.5
2	0	1	0	53.4
3	1	1	0	78.55
4	0	1	-1	34.3
5	0	1	1	62.25
6	0	-1	0	47.7
7	0	0	0	57.53

Table 7. Fitting regression analysis results

表 7. 拟合回归分析结果

方差源(source)	平方和(sum of square)	自由度(free degree)	均方和(Mean square)	F值 F value	P值(P>F) P value
总模型	1773.44	6	307.50	21.50	0.0157
A	1303.05	1	1303.05	49.59	0.0059
B	2.70	1	16.25	0.036	0.8610
C	478.95	1	478.95	14.86	0.0308
AB	0.000	0	-	-	-
AC	0.000	0	-	-	-
BC	0.000	0	-	-	-
A^2	0.094	1	0.094	-	-
B^2	34.02	1	34.02	-	-
C^2	8.76	1	8.76	-	-
纯误差	0.000	0	-	-	-
总离差	1773.44	6	-	-	-

表注: A-时间, B-微波功率, C-料液比。

表 7 表明 A、B、C 因素对多糖提取率影响显著，表明三个因素对月见草多糖的提取有影响，提取时间、微波功率、料液比均对月见草多糖的提取有显著影响。

5.2. 超声提取法

在单因素基础上选取提取温度、料液比、超声功率进行三因素三水平的实验设计，实验结果见表 8。

Table 8. Table of test factors

表 8. 试验因素水平表

水平 (horizontal)	因素(factor)		
	提取温度/℃ (T/℃)	料液比/g:mL (Ratio/g: mL)	超声功率/w (Power/w)
-1	20	0.1	40
0	40	0.2	60
1	60	0.3	80

以提取时间、微波功率、料液比为自变量，月见草多糖提取率为响应值，利用 Design-Expert8.0.6 软件进行三因素三水平的响应面数据分析，结果见表 9 和表 10。

Table 9. Response surface analysis of experimental design and results

表 9. 响应面分析实验设计及结果

编号(No.)	提取温度(T)	微波功率(Power/w)	料液比(Ratio)	提取率% (Rate/%)
1	-1	-1	0	77.62
2	0	1	-1	40.97
3	1	0	0	69.57
4	1	0	-1	60.73
5	1	0	-1	32.8
6	1	0	0	45.79
7	1	-1	1	45.61

Table 10. Fitting regression analysis results

表 10. 拟合回归分析结果

方差源 (source)	平方和 (sum of square)	自由度 (free degree)	均方和 (Mean square)	F 值 F value	P 值(P > F) P value
总模型	2428.84	5	485.77	0.91	0.5987
A	30.24	1	30.24	0.056	0.8343
B	1.99	1	1.99	3.724E-003	0.9569
C	305.38	1	305.38	0.57	0.5289
AB	147.84	1	147.84	0.28	0.6517
AC	0.000	0	-	-	-
BC	71.10	1	71.10	0.13	0.7505
A^2	0.000	0	-	-	-
B^2	0.000	0	-	-	-

Continued

C^2	0.000	0	-	-	-
纯误差	1070.85	2	535.42	-	-
总离差	3499.69	7	-	-	-

表注: A-温度, B-料液比, C-超声功率。

表9表明A、B、C因素对多糖提取率影响显著,表明三个因素对月见草多糖的提取有影响,其中料液比对月见草多糖的提取有显著影响。

6. 响应面图分析[21]

根据上述表格分别得到微波提取法和超声提取法的三因素对月见草多糖提取率影响的响应面图和等高线图。

6.1. 微波提取法

由图2~4可知,说明微波功率和时间之间、时间和料液比之间对多糖提取率影响显著;料液比和微波功率之间对多糖提取率的影响不显著。

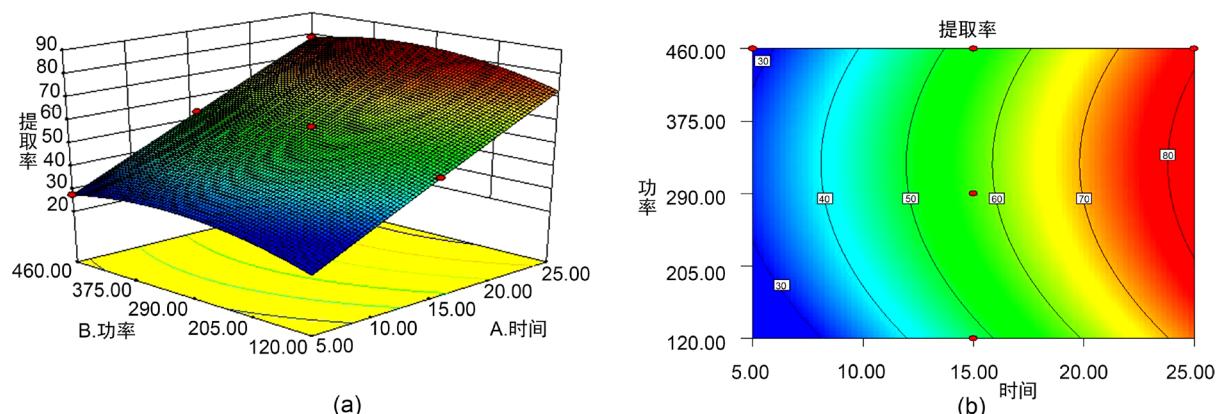


Figure 2. Response surface and contour line of microwave power and extraction time to the extraction rate of polysaccharides from monthly grass roots

图2. 微波功率与提取时间对月见草根多糖提取率的响应面及其等高线

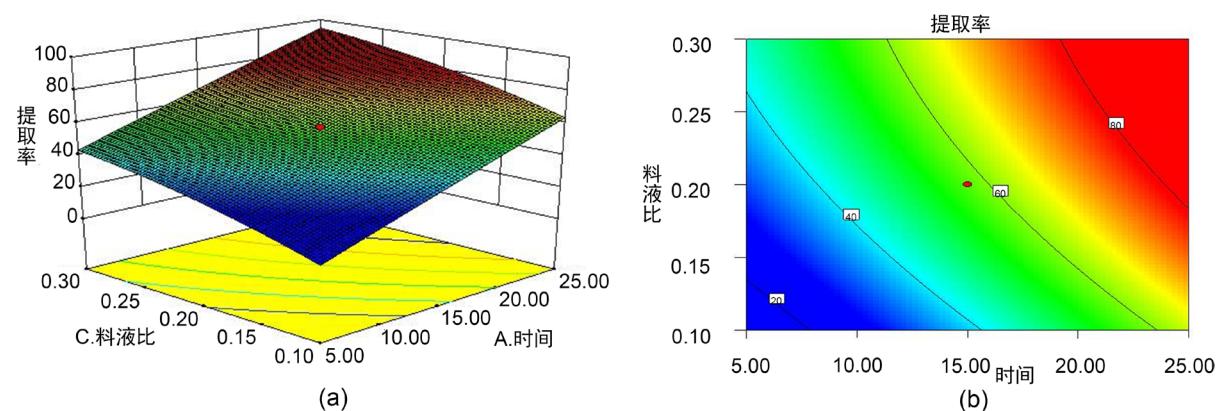


Figure 3. The response surface and contour line of the ratio of solid to liquid and extraction time to the extraction rate of polysaccharides from grass root

图3. 料液比与提取时间对月见草根多糖提取率响应面及其等高线

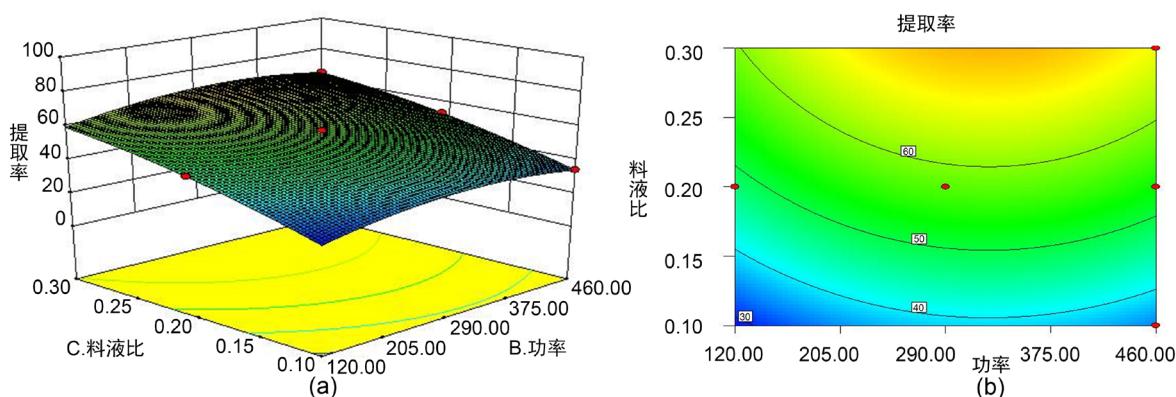


Figure 4. The ratio of feed to liquid and microwave power to the response surface and contour line of polysaccharides
图 4. 料液比与微波功率对月见草根多糖响应面及其等高线

6.2. 超声提取法

图 5~7 说明温度和料液比之间、温度和超声功率之间对月见草多糖的提取率影响显著：超声功率和料液比之间相互作用较小，对月见草多糖的提取率影响不显著。

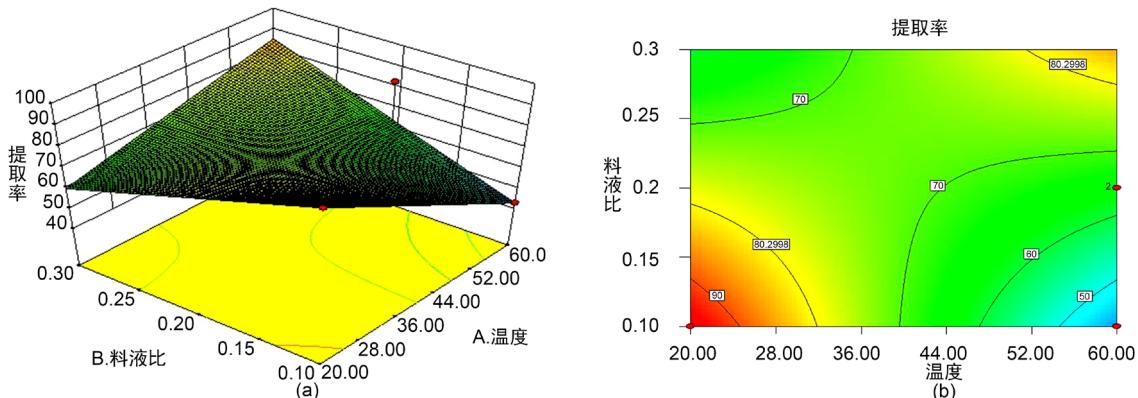


Figure 5. The response surface and contour line of the ratio of solid to liquid and extraction temperature to the extraction rate of polysaccharides from grass root
图 5. 料液比与提取温度对月见草根多糖提取率响应面及其等高线

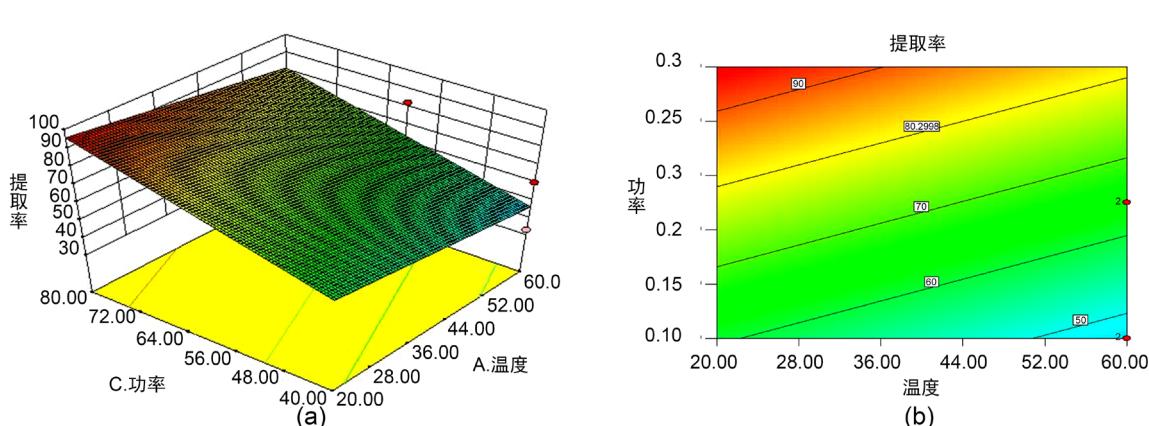


Figure 6. The response surface and contour line of ultrasonic power and extraction temperature to the extraction rate of polysaccharides
图 6. 超声功率与提取温度对月见草根多糖提取率响应面及其等高线

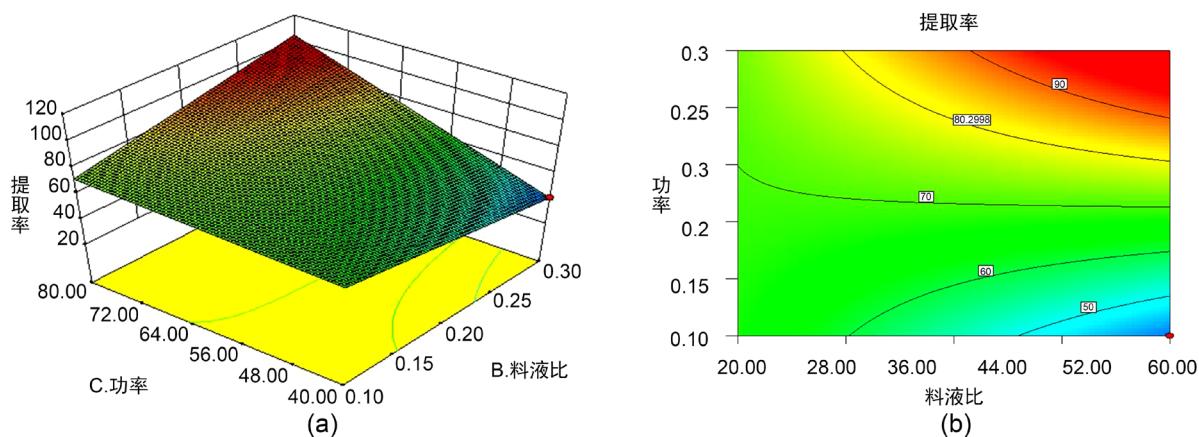


Figure 7. The response surface and contour line of the ratio of solid to liquid and ultrasonic power to the extraction rate of polysaccharides from grass root

图 7. 料液比与超声功率对月见草根多糖提取率响应面及其等高线

7. 结论

本实验通过单因素试验和响应面法分析设计，得到了月见草根中多糖在微波提取法中的最佳工艺条件：最佳提取时间为 25 min，最佳料液比为 1:20，最佳微波功率为 460 w，在此条件下的多糖提取率为 78.55%；在超声提取法中的最佳工艺条件：最佳提取温度为 20℃，最佳料液比为 1:20，最佳超声功率为 60 w，在此条件下的多糖提取率为 77.62%。通过研究得出，本实验所选用的微波提取法提取月见草中的多糖，与其它两种方法相比，具有提取效率高、速度快等特点。该提取方法也被用于紫荆花多糖[7]、天麻多糖[13]等多种多糖的提取工艺中，并获得了较好的效果。

微波提取多糖的效率高，其原理是微波能根据所遇介质性质不同会产生反射、吸收和穿透等现象[22]。微波辐射植物维管束和腺细胞，使细胞内部快速升温，内压提高，细胞壁膨胀破裂，提高溶剂活性细胞，内含物流出而溶解在溶剂中[23] [24] [25] [26]。但超声的作用效果没有微波的更彻底，超声时间太长，杂质可随有效成分一起被提取出来，而且超声时间越长，杂质含量越高[27] [28] [29]。与传统工艺法相比较，超声提取法和微波提取法，提取月见草多糖所用时间短，提取率也较高。综合分析上述三种提取方法，我们得到了月见草多糖的最佳提取工艺为微波提取法，并进一步明确了微波提取的最佳提取参数。

本实验通过对不同时期、不同土质的月见草根中多糖的含量进行分析，发现经过生长期的生长，11月份的月见草多糖含量最高，可达 75.61%。月见草的花期为第二年 6~9 月，在其花期时茎高 50~200 厘米，因此根部的营养成分在此时向上运输，导致根部多糖含量降低。在 11 月和 3 月附近，月见草的基生叶丛紧贴地面，根吸收主要的营养成分，因此，月见草根中的多糖在 11 月份时最高，且研究发现月见草更适合在砂质土壤中生长。通过对不同时期的月见草的根中的多糖含量进行比较，明确了提取月见草的根的多糖的最佳时期。并通过不同浓度的月见草根中多糖对过氧化氢损伤的 RAW264.7 细胞的修复作用进行比较，发现月见草多糖具有一定的抗氧化活性，为月见草根中多糖的进一步研究与开发奠定了基础。

基金项目

2017 年中医药公共卫生补助专项“全国中药资源普查项目”(财社【2017】66 号)；国家大科学装置—山东野生植物资源调查(2019-01)。

参考文献

- [1] 张梅, 刘利. 月见草的开发利用及栽培技术[J]. 农牧产品开发, 1999(10): 28.

- [2] 汪开治. 妇科良药月见草[J]. 植物杂志, 2002(6): 14.
- [3] 张梅. 月见草的特殊功效及其开发前景[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(4): 144-146.
- [4] 卢金清, 许家琦, 何冬黎, 等. 月见草全草挥发油成分的气相色谱-质谱联用分析[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(14): 1225-1226.
- [5] 王振斌, 刘加友, 马海乐, 等. 无花果多糖提取工艺优化及其超声波改性[J]. 农业工程学报, 2014, 30(10): 262-269.
- [6] Xu, Z., Li, Y. and Bi, H.T. (2009) Total Fractionation and Characterization of the Water-Soluble Polysaccharides Isolated from Panax Ginseng C. A. Meyer. *Carbohydrate Polymers*, **77**, 544-552.
- [7] 卫强, 桂芹, 邱镇, 等. 紫荆花中多糖的微波提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 39-44.
- [8] 黄晓君, 聂少平, 王玉婷, 等. 铁皮石斛多糖提取工艺优化及其成分分析[J]. 食品科学, 2013, 34(22): 21-26.
- [9] Temelli, F. (2006) Extraction and Functional Properties of Barley β -Glucan as Affected by Temperature and pH. *Journal of Food Science*, **62**, 1194-1201.
- [10] 刘言炜, 张发宇, 汪家权. 响应面法优化超声波辅助冻融提取蓝藻多糖工艺研究[J]. 食品科技, 2018, 43(5): 198-205.
- [11] 唐健波, 肖雄, 杨娟, 等. 响应面优化超声辅助提取刺梨多糖工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(2): 314-320.
- [12] Nyam, K.L., Tan, C.P., Lai, O.M., et al. (2009) Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Kalahari Melon Seed Oil: Optimization Using Response Surface Methodology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **86**, 1235-1240. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1462-8>
- [13] 张居作, 许巧玲, 徐君飞. 苦瓜多糖含量的苯酚硫酸法检测研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(5): 82-85.
- [14] 王玉荣, 杨康, 崔伟业, 等. 绞股蓝黄酮对过氧化氢损伤 A549 细胞的作用[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(5): 1014-1020.
- [15] 罗磊, 张冰洁, 马丽萍, 等. 金银花叶黄酮体外抗氧化能力及对 H_2O_2 诱导 RAW264.7 巨噬细胞损伤的保护作用 [J]. 食品科学, 2018, 39(11): 139-145.
- [16] 陈立江, 王永杰, 刘宇, 等. 星点设计-效应面法优选南瓜多糖提取工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(8): 107-112.
- [17] 王燕华, 武福华, 郭昭涵, 等. 响应面试验优化丹参中多糖的超声波提取工艺及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2015, 36(18): 7-12.
- [18] 邓黎, 王晓虹, 韩涛, 等. 响应曲面法优化虫草素和虫草多糖的综合提取工艺[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(10): 1428-1435+1427.
- [19] Wang, C., Xu, L., Guo, X., Cui, X. and Yang, Y. (2018) Optimization of the Extraction Process of Polysaccharides from Dendrobium Officinale and Evaluation of the *in Vivo* Immunmodulatory Activity. *Journal of Food Processing and Preservation*, **42**, e13598. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13598>
- [20] Wu, Y., Cui, S., Tang, J. and Gu, X. (2007) Optimization of Extraction Process of Crude Polysaccharides from Boat-Fruited Sterculia Seeds by Response Surface Methodology. *Food Chemistry*, **105**, 1599-1605. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.066>
- [21] 张晓静, 刘会东. 植物多糖提取分离及药理作用的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(8): 495-497.
- [22] 蒋德旗, 黄利敏, 王艳, 等. 响应面优化纤维素酶法提取桂花多糖工艺及其抗氧活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 271-275.
- [23] Liang, R.J. (2008) Optimization of Extraction Process of Glycyrrhiza Glabra Polysaccharides by Response Surface Methodology. *Carbohydrate Polymers*, **74**, 858-861. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.05.005>
- [24] 汪瑞敏, 朱秋劲, 张春花, 等. 不同提取方法对天麻多糖抗氧化活性的影响[J]. 食品科技, 2015, 40(3): 208-213.
- [25] 李云, 朱彩平, 张扬, 等. 微波辅助提取石榴皮多糖工艺优化及其免疫调节作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(6): 1015-1020+1077.
- [26] Jacob, J., Chia, L.H.L. and Boey, F.Y.C. (1995) Review-Thermal and Nonthermal Interaction of Microwave Radiation with Materials. *Journal of Materials Science*, **30**, 5321-5327. <https://doi.org/10.1007/BF00351541>
- [27] 李云, 朱彩平, 张扬, 等. 微波辅助提取石榴皮多糖工艺优化及其免疫调节作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(6): 1015-1020+1077.
- [28] Gao, S., Han, W. and Deng, X. (2004) Study of the Mechanism of Microwave-Assisted Extraction of *Mahonia bealei*

-
- (Fort.) Leaves and Chrysanthemum Morifolium (Ramat.) Petals. *Flavour and Fragrant Journal*, **19**, 244-250.
<https://doi.org/10.1002/ffj.1296>
- [29] 谭丽鹤, 李红玉. 桑蚕蛹多糖超声提取优化及水溶性多糖组分分析[J]. 中成药, 2016, 38(6): 1254-1259.