

野菊茎叶多糖微波辅助法提取工艺及 抗氧化活性研究

Study on microwave-assisted extraction process for polysaccharide from the
branches and leaves in *Chrysanthemum indicum* and its anti-oxidant activity

刘存芳 吴睿 赵桦 田光辉

LIU Cun-fang WU Rui ZHAO Hua TIAN Guang-hui

(陕西理工大学陕西省催化基础与应用重点实验室, 陕西 汉中 723000)

(Shaanxi Key Laboratory for Catalysis, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723000, China)

摘要:以野菊茎叶为原料,经脱色脱脂后用微波辅助法提取野菊茎叶中的多糖,用苯酚-硫酸法测定多糖的提取量。以料液比、提取温度、提取时间和微波功率为自变量,设计正交试验确定野菊茎叶多糖的最佳提取工艺条件,并通过 Fenton 体系和 DPPH 体系测试野菊茎叶多糖的抗氧化活性。结果表明,在料液比 1:40 (g/mL)、提取温度 80 °C、提取时间 10 min、微波功率 450 W 的条件下野菊茎叶多糖的提取量高达 6.32%,微波辅助能快速提取野菊茎叶中的多糖,提取效果显著;野菊茎叶多糖对 $\cdot\text{OH}$ 和 DPPH $\cdot$ 有清除作用且存在着量效关系,野菊茎叶多糖具有抗氧化活性。

关键词:野菊;茎叶;多糖;提取;抗氧化活性

Abstract: The polysaccharide obtained from the branches and leaves of *Chrysanthemum indicum* was extracted by microwave assisted extraction after its powders decolorized and degreased, and then the polysaccharide extraction content was determined by phenol-sulfuric acid method. The extraction process of the polysaccharide was studied by single factor experiment which controlled liquid-solid ratio, extraction temperature, extraction time, and microwave power, and the orthogonal experiment was tested and based on single factor experiment, then determined the best extraction process. Those free radical cleared effects of its polysaccharide were tested by Fenton reaction and DPPH reaction. The results showed that the polysaccharide extraction content from the branches and leaves of *C. indicum* could reach 6.32% when solid-liquid ratio was 1:40 (g/mL), extracted by using microwave power (450 W) at 80 °C for 10 min. The anti-oxidant activity tests of the polysaccharide from the branches and leaves of *C. indicum* showed a good scavenging activity

on $\cdot\text{OH}$ and DPPH $\cdot$, and the relationship between the polysaccharide and hydroxyl free radical clearance was found to be a concentration reliable. Finally, the polysaccharide was verified to be an untapped antioxidant substance.

Keywords: *Chrysanthemum indicum*; branches and leaves; polysaccharide; extraction; antioxidant activity

野菊 (*Chrysanthemum indicum* L.) 又称为苦蕒、野黄菊、路边黄等,是菊科的一种多年生草本植物,广泛分布于中国西南、华南、华中、华北及东北各地,秦岭山地和大巴山区盛产野菊^[1]。野菊花是野菊的头状花序,能治疗风热感冒、咽喉肿痛等病症^[2-4],野菊花中含有萜类和挥发油^[5-6]、多糖和糖苷^[7]、氨基酸和蛋白质、黄酮^[8]、黄色素以及营养成分^[9-10],其中野菊花的质量检验是以蒙花苷含量作为指标^[11],已将野菊花应用于药品、食品、化妆品、保健品等行业。在收集和加工野菊花的过程中会有大量的野菊茎叶产生,这些野菊茎叶中含有和野菊花相同的活性成分^[12],其茎叶的开发利用研究还较少^[13],野菊茎叶中多糖的研究更少^[14]。有对野菊同属植物茎叶中多糖提取的文献报道^[15],其多糖提取方法有热水浸提法、稀碱溶液加热提取法、纤维素酶辅助提取法、超声辅助提取法、水浴回流提取法等,热水浸提和水浴回流一般需要 2 h 或更长时间,超声辅助提取也需要 0.5 h 以上,而已用于植物多糖的微波提取只需要 10~20 min,微波提取有加热均匀、用时少、节省溶剂、耗能低等特点,且微波辅助提取野菊多糖的研究报道尚少。用微波辅助法提取野菊茎叶多糖可克服提取时间长、加热不均匀的缺陷,对微波辅助提取野菊茎叶多糖的工艺进行优化,探索工业化生产的提取技术。

本研究拟借助微波辅助法提取野菊茎叶中的多糖,以多糖的提取量为评价指标,设计正交试验优化多糖的提取工

基金项目:陕西省教育厅服务地方专项项目(编号:15JF013);陕西省科技厅社会发展科技攻关项目(编号:2015SF270)

作者简介:刘存芳(1971—),陕西理工大学副教授,硕士生导师,硕士。E-mail:liucf@sut.edu.cn

收稿日期:2017-10-08

艺,通过 DEAE-纤维素柱分离纯化多糖,并测试野菊茎叶多糖的抗氧化活性,旨在为野菊茎叶的综合利用以及野菊茎叶多糖的开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

野菊的茎叶:在2015年10月下旬收集于秦巴山区,由陕西理工大学省级植物学学科负责人赵桦教授鉴定,确定是菊科菊属植物野菊(*Chrysanthemum indicum* L.)的茎叶。摘除野菊茎叶上的杂草腐叶,置于50℃干燥箱中烘干至恒重,粉碎过200目筛,密封备用;

葡萄糖、苯酚、浓硫酸、乙醚、无水乙醇、氯化钠、氢氧化钠、氯仿、正丁醇、V_C、硫酸亚铁、邻二氮菲、磷酸等:分析纯,西安化学试剂厂;

水:二次蒸馏水,自制;

质量百分比6%苯酚溶液和0.01%过氧化氢溶液、0.75 mmol 邻二氮菲溶液、0.75 mmol 硫酸亚铁溶液、PBS溶液为pH=7.4的磷酸缓冲溶液、DPPH溶液为0.1 mmol/mL的1,1-二苯基-2-三硝基苯肼的乙醇溶液:临时配制。

1.1.2 主要仪器设备

紫外-可见分光光度计:UV-6300PC型,上海美谱达仪器有限公司;

SINEO 萃取仪:UWave-1000型,上海新仪微波化学科技有限公司;

循环水式多用真空泵:SHB-III型,郑州长城科工贸有限公司;

旋转蒸发器:RE-52AA型,上海亚荣生化仪器厂;

索氏提取器:50~500 mL,天津市世博伟业化玻仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 糖标准曲线的制作 苯酚-硫酸法测定多糖的提取量^[16],以葡萄糖作为基准制作标准曲线。准确称取10.000 mg葡萄糖定容于10 mL容量瓶中配成1 mg/mL的葡萄糖溶液。精确移取葡萄糖溶液和水于8支10 mL的具塞比色管,用水补足2 mL,配成浓度为0.02,0.04,0.06,0.08,0.10,0.12,0.14,0.16 mg/mL的溶液,再精确加入3 mL苯酚溶液和5 mL浓硫酸,摇匀,80℃水浴保温20 min,取出冷却至室温,以水为空白,在490 nm波长处逐个检测吸光度(*y*)值。

1.2.2 野菊茎叶多糖的提取及提取量的测定 准确称取0.6 g野菊茎叶粉末于小型索氏提取器的滤纸桶里,水浴加热乙醚抽提至无色^[17],再换用乙醇抽提至无色。将野菊茎叶粉末取出,晾干后放进塑料提取管内,加适量水,用微波辅助在不同料液比、提取温度、提取时间、微波功率等条件下提取野菊茎叶中的多糖,抽滤,野菊茎叶滤渣用相同方法再提取1次,将2次提取液转移到100 mL容量瓶中,洗涤,定容,移取2 mL溶液于具塞比色管中,加入3 mL苯酚溶液和5 mL浓硫酸,摇匀,80℃水浴保温20 min,取出冷却至室温,在490 nm波长处测定吸光度,依据标准曲线确定野菊茎

叶多糖的提取量。

1.2.3 野菊茎叶多糖提取的单因素试验及正交试验优化

(1) 料液比:在提取温度80℃,提取时间10 min,微波功率450 W,料液比分别为1:10,1:20,1:30,1:40,1:50,1:60(g/mL)的条件下,测定野菊茎叶多糖的提取量。

(2) 提取温度:在料液比1:40(g/mL),提取时间10 min,微波功率450 W,提取温度分别为50,60,70,80,90,100℃的条件下,测定野菊茎叶多糖的提取量。

(3) 提取时间:在料液比1:40(g/mL),提取温度80℃,微波功率450 W,提取时间分别为4,6,8,10,12,14 min的条件下,测定野菊茎叶多糖的提取量。

(4) 微波功率:在料液比1:40(g/mL),提取温度80℃,提取时间10 min,微波功率分别为300,350,400,450,500,550 W的条件下,测定野菊茎叶多糖的提取量。

(5) 正交试验:在单因素试验的基础上以料液比、提取温度、提取时间、微波功率为试验因素,以野菊茎叶多糖的提取量为评价指标,设计L₉(3⁴)正交试验优化野菊茎叶多糖的微波辅助法提取工艺条件。

1.2.4 野菊茎叶多糖的提取和纯化 称取100 g野菊茎叶粉末放入常量索氏提取器中依次用乙醚和乙醇抽提至提取液呈无色。取出野菊茎叶粉末,晾干,在最佳提取工艺下提取多糖,抽滤,将粉末用水再提取1次,合并提取液。将提取液减压浓缩蒸出总体积2/3的水,并加入5倍体积的乙醇,静置24 h,抽滤,滤饼干燥,得粗多糖。平行提取5次,合并粗多糖,用水-乙醇重结晶,再经Sevag法用正丁醇和氯仿脱蛋白,浓缩,通过DEAE-纤维素柱(5.0 cm×120.0 cm)依次用水和0.1 mol/L的氯化钠溶液进行洗脱分离,流速为2 mL/min,每管10 mL,苯酚-硫酸法检测,减压浓缩收集液。合并氯化钠溶液洗脱的糖液,乙醇沉淀过夜,抽滤,置于105℃干燥箱中干燥至恒重,得到野菊茎叶精制多糖。

1.2.5 野菊茎叶多糖的抗氧化活性

(1) 对·OH清除作用:通过Fenton体系中对Fe²⁺/H₂O₂产生的·OH清除率来确定。称取2.5 mg野菊茎叶精制多糖定容于25 mL容量瓶中,得浓度为0.1 mg/mL的多糖溶液,取8支10 mL具塞比色管,其中6支编号为1~6号,依次加入0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 mL多糖溶液;另2支标记为未损伤管和损伤管,不加多糖溶液。分别向8支具塞比色管中加入1 mL邻二氮菲溶液、1.5 mL PBS溶液和1 mL亚硫酸铁溶液,摇匀,再向1~6号以及损伤管中移取1 mL过氧化氢溶液,将8支比色管用水滴加至刻度线,摇匀,放置于培养箱内37℃下保温2 h,取出冷却至室温,在510 nm下测量吸光度(*I*)值。同时,以相同浓度的V_C作为对照。试验重复3次,取平均值。按式(1)计算·OH的清除率。

$$A = \frac{I_n - I_0}{I_1 - I_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

A——清除率,%;

I_n——加多糖溶液或V_C溶液的吸光度;

I_1 ——未损伤管溶液的吸光度;

I_0 ——损伤管溶液的吸光度。

(2) 对 DPPH·清除作用:准确称取野菊茎叶精制多糖分别置于 6 个 5 mL 的容量瓶中,配成浓度分别为 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mg/mL 多糖溶液;再取 6 个 5 mL 的容量瓶,称取 V_c ,配成和多糖溶液浓度相同的 V_c 溶液。分别移取 2 mL 不同浓度的多糖溶液于 6 支 5 mL 具塞比色管中,再分别加入 2 mL DPPH 溶液,混匀,避光室温放置 30 min,在 517 nm 波长处测定吸光度,记作 A_1 ;用水取代多糖溶液重复试验,在同样波长处测定吸光度,记作 A_0 ;以水取代 DPPH 溶液作为空白,在 517 nm 波长处测定吸光度,记作 A_2 。相同浓度的 V_c 作为对照代替多糖溶液重复试验。按式(2)计算 DPPH·的清除率。

$$B = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

B ——清除率, %;

A_0 ——水和 DPPH 溶液的吸光度;

A_1 ——不同浓度的多糖溶液和 DPPH 溶液反应后的吸光度;

A_2 ——不同浓度的多糖溶液和水的吸光度。

2 结果与分析

2.1 糖标准曲线

以葡萄糖的质量浓度(x)为横坐标,吸光度(y)值为纵坐标,绘制的糖标准曲线见图 1,得回归方程: $y = 15.038x + 0.0652$, $R^2 = 0.9983$,可见在 0.02~0.16 mg/mL 的范围内,质量浓度与吸光度呈良好的线性关系。

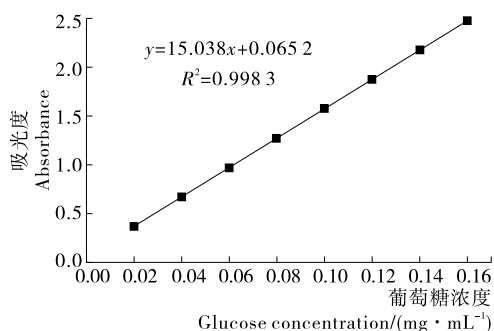


图 1 葡萄糖标准曲线

Figure 1 Glucose standard curve

2.2 提取野菊茎叶多糖的单因素试验

2.2.1 料液比对野菊茎叶多糖提取的影响 由图 2 可知,在 1:10~1:50 (g/mL)时随着料液比值的减小野菊茎叶多糖提取量持续增大;料液比在 1:50 (g/mL)之后提取量减小,可能是溶剂量增大会导致微波作用于野菊茎叶组织的能量减小,不利于多糖溶出。料液比在 1:40~1:50 (g/mL)时提取量没有显著性差异,故选取料液比 1:40 (g/mL)。

2.2.2 提取温度对野菊茎叶多糖提取的影响 由图 3 可知,在 50~80 °C 时野菊茎叶多糖提取量持续升高;当温度超过 80 °C 后,野菊茎叶多糖提取量逐渐下降,可能是持续的高温

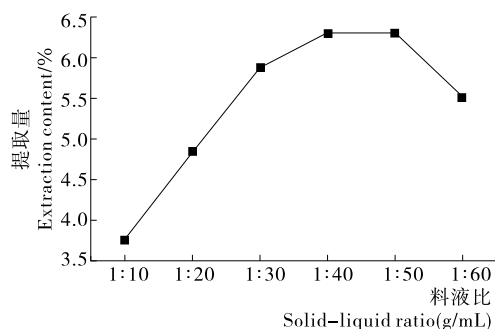


图 2 料液比对多糖提取量的影响

Figure 2 Effects of solid-liquid ratio on the polysaccharide extraction content

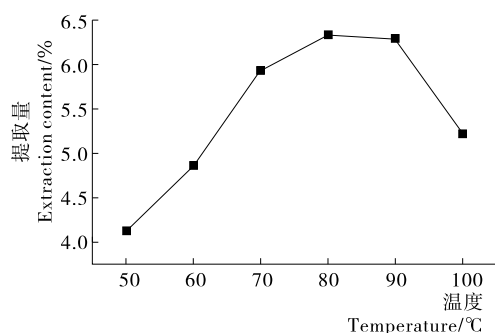


图 3 提取温度对多糖提取量的影响

Figure 3 Effects of extraction temperature on the polysaccharide extraction content

和微波处理会使野菊茎叶多糖发生分解,使提取量减小。因此选择提取温度 80 °C。

2.2.3 提取时间对野菊茎叶多糖提取的影响 由图 4 可知,在 4~8 min 时野菊茎叶多糖提取量持续递增;8 min 后开始下降,可能是较长时间的微波处理使部分多糖链断裂造成损失,使多糖提取量减小。因此选择提取时间 8 min。

2.2.4 微波功率对野菊茎叶多糖提取的影响 由图 5 可知,在 300~450 W 时野菊茎叶多糖提取量随着微波功率的增大而增大;微波功率达到 450 W 之后,其多糖提取量呈现出下降趋势,可能是较大的微波功率会破坏多糖结构促使多糖分解。因此选择微波功率 450 W。

2.3 正交试验优化野菊茎叶多糖的提取工艺

在单因素试验的基础上,每个因素取 3 个水平(表 1),以

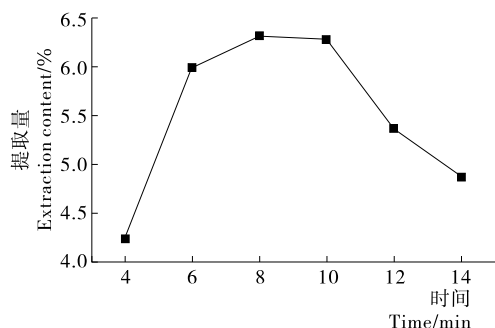


图 4 提取时间对多糖提取量的影响

Figure 4 Effects of extraction time on the polysaccharide extraction content

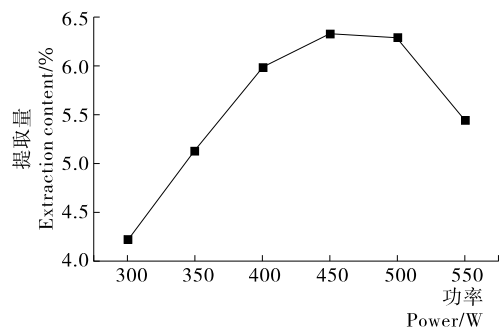


图 5 微波功率对多糖提取量的影响

Figure 5 Effects of microwave power on the polysaccharide extraction content

野菊茎叶多糖提取量为评价指标,设计正交试验来优化野菊茎叶多糖的提取工艺,结果见表 2。由表 2 可知,影响野菊茎叶多糖提取的因素主次为:微波功率>提取温度>提取时间>料液比,最佳提取工艺条件为料液比 1:40 (g/mL)、提取温度 80 ℃、提取时间 10 min、微波功率 450 W。

验证实验平行进行 3 次,在最佳提取工艺条件下野菊茎叶多糖提取量高达 6.32%,而且提取过程中温度不高,料液比适中,能快速进行多糖的提取,该工艺条件适合工业化生产。

2.4 野菊茎叶多糖的抗氧化活性

2.4.1 对 ·OH 的清除作用

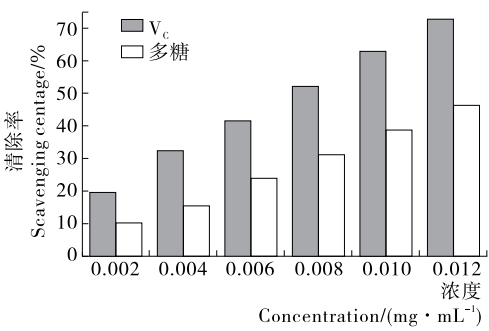


图 6 野菊茎叶多糖对 ·OH 的清除作用

Figure 6 Scavenging activity of polysaccharide from the branches and leaves of *Chrysanthemum indicum* on ·OH

Fe²⁺/H₂O₂产生的·OH有清除作用,且随其多糖浓度的增大对·OH的清除率不断提高,二者之间存在着一定的量效关系。和V_c比较,野菊茎叶多糖对·OH的清除率整体偏低,但也表现出明显的清除效果,说明其多糖能清除·OH,有抗氧化活性。

2.4.2 清除 DPPH·的作用 由图 7 可知,相同浓度下野菊茎叶多糖和 V_c 对 DPPH· 的清除作用存在差异,野菊茎叶多糖对 DPPH· 的清除效果弱于 V_c,但也反映出对 DPPH· 有明显的清除作用,且野菊茎叶多糖浓度和对 DPPH· 的清除率存在着量效关系。说明野菊茎叶多糖是一种潜在的抗氧化物质。

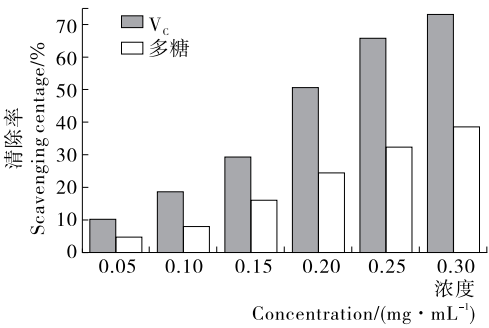


图 7 野菊茎叶多糖对 DPPH· 的清除作用

Figure 7 Scavenging activity of polysaccharide from the branches and leaves of *Chrysanthemum indicum* on DPPH·

3 结论

本研究借助微波辅助法提取野菊茎叶中的多糖,以多糖提取量为评价指标,通过单因素及正交试验确定野菊茎叶多糖的最佳提取工艺条件为料液比 1:40 (g/mL)、提取温度 80 ℃、提取时间 10 min、微波功率 450 W,在该条件下野菊茎叶多糖的提取量高达 6.32%。借助微波辅助法能快速提取野菊茎叶中的多糖,可为工业化生产提供技术参数,同时,也为分步提取天然产物中的活性成分提供了思路。本试验证实野菊茎叶多糖具有抗氧化活性,是一种潜在的抗氧化物

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 The factor and level graph

水平	A 料液比 (g/mL)	B 提取温 度/℃	C 提取时 间/min	D 微波功 率/W
1	1:30	70	6	400
2	1:40	80	8	450
3	1:50	90	10	500

表 2 正交试验结果

Table 2 Date and analysis of orthogonaltext

试验号	A	B	C	D	提取量/%
1	1	1	1	1	4.89
2	1	2	2	2	6.06
3	1	3	3	3	5.38
4	2	1	2	3	5.47
5	2	2	3	1	6.19
6	2	3	1	2	5.92
7	3	1	1	2	6.23
8	3	2	2	1	5.65
9	3	3	3	3	5.14
k ₁	5.443	5.530	5.487	5.577	
k ₂	5.860	5.967	5.557	6.070	
k ₃	5.673	5.480	5.933	5.330	
R	0.417	0.487	0.446	0.740	

质。后续将对野菊茎叶多糖的其他生物活性以及构效关系进行进一步的研究。

参考文献

- [1] 王淑荣, 焦锁国. 火焰原子吸收光谱法测定陕西秦岭不同地域野菊花中的微量元素[J]. 光谱实验室, 2013, 30(1): 325-328.
- [2] BUI T T L, BUI H T, NGUYEN P T, et al. Anti-inflammatory components of *Chrysanthemum indicum* flowers[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2015, 25(2): 266-269.
- [3] 郑艺欣, 李奕君, 林埔, 等. 野菊花水提物对果蝇热耐受能力的影响[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 141-144.
- [4] 陶金华, 段金殿, 钱大玮, 等. 菊属药用植物资源化学研究进展[J]. 中国现代中药, 2016, 18(9): 1 212-1 219.
- [5] WANG Jun-song, ZHOU Jing, KONG Ling-yi. Three new germacran-type sesquiterpene stereoisomers from the flowers of *Chrysanthemum indicum*[J]. Fitoterapia, 2012, 83(8): 1 675-1 679.
- [6] LEE B H, NAM T G, PARK W J, et al. Antioxidative and neuroprotective effects of volatile components in essential oils from *Chrysanthemum indicum* linné flowers[J]. Food Sci. Biotechnol, 2015, 24(2): 717-723.
- [7] DU Ning-ning, TIAN Wei, ZHEN Dong-fang, et al. Extraction, purification and elicitor activities of polysaccharides from *Chrysanthemum indicum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 82: 347-354.
- [8] KIM S J, LEE K T, CHOI H E, et al. Anti-inflammatory effects of flavonoids in Korean *Chrysanthemum* species via suppression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in LPS-induced RAW 264.7 Macrophages[J]. Food Sci. Biotechnol, 2015, 24(3): 975-985.
- [9] 王桃云, 邱业先, 李斌, 等. 野菊花黄色素提取工艺探索[J]. 食品与机械, 2002, 28(1): 26-27.
- [10] 申海进, 郭巧生, 房海灵. 野菊花乙醚提取物的理化性质及抗氧化能力[J]. 食品科学, 2012, 33(15): 43-47.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 314.
- [12] 吴雪松, 许凌, 张铁军, 等. 野菊的化学成分及质量评价研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(3): 443-452.
- [13] 刘晓丹, 刘存芳, 赖普辉, 等. 野菊花茎叶挥发油的化学成分及其对植物病原真菌抑制作用[J]. 食品工业科技, 2013, 34(24): 98-100.
- [14] 陆颖. 碱溶性野菊花多糖的结构分析及免疫活性研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2013: 1-26.
- [15] 卫强, 孙晓燕. 菊叶中多糖的含量测定方法研究[J]. 中成药, 2011, 33(3): 532-534.
- [16] 宫江宁, 饶玉, 杨义菊, 等. 大孔树脂吸附纯化黔产龙胆草多糖工艺优化[J]. 食品与机械, 2017, 33(5): 178-181.
- [17] 田光辉, 刘存芳, 辜天琪, 等. 野生藿香中多糖的提取与测定及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 249-251.
- (上接第 153 页)
- [8] KARABAY-YAVASOGLU N U, SUKATAR A, OZDEMIR G, et al. Antimicrobial activity of volatile components and various extracts of the red alga *Jania rubens*[J]. Phytother Res, 2007, 21(2): 153-156.
- [9] 卫强, 鲁轮, 龙先顺, 等. 提取方法对木槿叶挥发油成分及其对肺癌 A549 细胞抑制作用的影响[J]. 食品与机械, 2016, 32(4): 160-166.
- [10] 李昉, 杜方鹏. 一株牛蒡共生真菌杀虫活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(9): 1 357-1 360.
- [11] 邱春媚, 殷光玲. 角鲨烯软胶囊提高缺氧耐受力的研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(2): 52-54.
- [12] 徐年军, 何艳丽, 唐军, 等. 龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*) 高温逆境代谢产物的 GC-MS 分析[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(2): 221-227.
- [13] TIES P, BARRINGER S. Influence of lipid content and lipoxigenase on flavor volatiles in the tomato peel and flesh[J]. J Food Sci, 2012, 77(7): C830-C837.
- [14] 张红燕, 李晔, 袁贝, 等. 金枪鱼油冬化前后脂肪酸含量和主体风味的解析[J]. 核农学报, 2017, 31(2): 314-324.
- [15] 施文正, 王锡昌, 陶宁萍, 等. 致死方式对养殖草鱼肉挥发性成分的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(3): 456-465.
- [16] 王雪峰, 涂行浩, 吴佳佳, 等. 草鱼的营养评价及关键风味成分分析[J]. 中国食品学报, 2014(12): 182-189.
- [17] CHEN De-wei, ZHANG Min. Analysis of volatile compounds in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. J Food Drug Anal, 2006, 14(3): 297-303.
- [18] 周书娟. 褐藻羊栖菜等化学成分及其抗氧化活性的研究[D]. 温州: 温州大学, 2015: 21-24.
- [19] SUN S M, CHUNG G H, SHIN T S. Volatile compounds of the green alga, *Capsosiphon fulvescens* [J]. J Appl Phycol, 2012, 24(5): 1 003-1 013.
- [20] FRATINII G, LOIS S, PAZOS M, et al. Volatile profile of Atlantic shellfish species by HS-SPME GC/MS[J]. Food Res Int, 2012, 48(2): 856-865.
- [21] KAMENARSKA Z, IVANOVA A, STANCHEVA R, et al. Volatile compounds from some Black Sea red algae and their chemotaxonomic application[J]. Bot Mar, 2006, 49(1): 47-56.
- [22] ABDELBAKY H H, SHALLAN M A, BAROTY G E, et al. Volatile compounds of the microalga *Chlorella vulgaris* and their phytotoxic effect[J]. Pak J Biol Sci, 2002, 5(1): 61-65.
- [23] 刘家仁, 陈炳卿, 杨艳梅, 等. β -紫罗兰酮抑制 SGC-7901 细胞潜在的转移作用[J]. 卫生研究, 2005, 34(4): 435-438.
- [24] DONG Hong-wei, ZHANG Shuang, SUN Wen-guang, et al. β -Ionone arrests cell cycle of gastric carcinoma cancer cells by a MAPK pathway[J]. Arch Toxicol, 2013, 87(10): 1 797-1 808.
- [25] 王萍, 张银波, 江木兰. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. 中国油脂, 2008, 33(12): 42-46.
- [26] 孙翔宇, 高贵田, 段爱莉, 等. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 418-423.