

# 四齿四棱草总皂苷提取工艺优化及抗氧化性研究

## Study on optimization of extraction process for total saponins from *S.tetradonta* and its antioxidant activity

欧阳凯<sup>1</sup> 何先元<sup>1</sup> 陈飞<sup>1</sup>

OUYANG Kai<sup>1</sup> HE Xian-yuan<sup>1</sup> CHEN Fei<sup>1</sup>

黄英如<sup>1</sup> 周卯勤<sup>2</sup> 程鹏<sup>3</sup>

HUANG Ying-ru<sup>1</sup> ZHOU Mao-qin<sup>2</sup> CHENG Peng<sup>3</sup>

(1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 400016; 2. 重庆市药物种植研究所, 重庆 408435;  
3. 重庆医科大学实验管理中心, 重庆 400016)

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;  
2. Chongqing Institute of Medicinal Plant Cultivatio, Chongqing 408435, China;  
3. Experimental Management Center of Chongqing Medicinal University, Chongqing 400016, China)

**摘要:**通过单因素和响应面分析试验设计,以总皂苷得率为响应值,对四齿四棱草总皂苷超声提取工艺进行优化。同时采用紫外分光光度法检测四齿四棱草总皂苷对 DPPH 自由基、ABTS 自由基的清除能力和总的还原能力。结果表明:优化工艺条件为提取时间 40 min、液料比 30:1(mL/g)、乙醇浓度 77%,该条件下四齿四棱草总皂苷得率为 3.1 mg/g。四齿四棱草总皂苷对 DPPH 自由基的清除作用较强,总的还原能力及对 ABTS 自由基的清除作用相对较弱。

**关键词:**四齿四棱草;总皂苷;抗氧化性;紫外分光光度法

**Abstract:** To investigate ultrasonic method of total saponins from *S.tetradonta* and study the antioxidant activities. By using the single factor experiment and response surface methodology, taking he total saponin yields as the response value, the extraction procees was optimized. Meanwhile, UV spectrophotometry were used to determine the abilities of total saponins from *S.tetradonta* on scavenging DPPH·, ABTS· and FRAP assay. The results indicated that the optimal extraction conditions were as follows: ultrasonic time 40 min, ratio of water to material 30 mL/g, and ethanol concentration 77%. Under these conditions, the content of total saponins reached 3.1 mg/g. The total saponins from *S.tetradonta* had a strong ability to scavenge of DPPH·. And its total reducing power assays and ABTS· scavenging effect

were relatively weak.

**Keywords:** *S.tetradonta*; total saponins; antioxidant activity; UV spectrophotometry

四齿四棱草 [*Schnabelia tetradonta* (Sun) C. T. Wu et G. Chen] 又名四棱筋骨草、筋骨草,是中国特有的四棱草属植物。多年生草本植物,具有祛风除湿、舒筋活络的功效,主治风湿筋骨痛、腰痛、四肢麻木、跌打肿痛等症<sup>[1]</sup>。分布于四川省阿坝、重庆、涪陵等地<sup>[2]</sup>,民间应用广泛,多用于泡酒、炖猪蹄。研究<sup>[3-5]</sup>表明,四齿四棱草含有黄酮、多糖、生物碱和皂苷类化学成分。皂苷作为一类具有多种生理功能的生物活性物质,有抗氧化<sup>[6]</sup>、降血糖、降血脂<sup>[7]</sup>、抗炎<sup>[8]</sup>、免疫调节<sup>[9]</sup>等功效。

目前,皂苷的提取方法有微波辅助提取法、酶法提取法、回流法及超声提取法等<sup>[10]</sup>,与其他提取方法相比,超声提取法具有提取效率高、经济成本低、提取方法简单、不破坏产物的理化性质及结构等特点。近年来超声提取法已经广泛应用于多糖<sup>[11]</sup>、黄酮<sup>[12-13]</sup>、多酚<sup>[14]</sup>等成分的研究中。目前尚未见有关超声提取法应用于四齿四棱草总皂苷提取的报道。本试验拟采用响应面法优化四齿四棱草总皂苷的超声提取工艺,并对其抗氧化活性进行研究,以期为后续四齿四棱草药理活性的深入研究提供理论依据,为四齿四棱草的综合开发利用提供理论指导。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

四齿四棱草:采自重庆市南川区金佛山;

**基金项目:**国家自然科学基金项目(编号:81373668);重庆市卫生局科技项目(编号:2012-2-144)

**作者简介:**欧阳凯,女,重庆医科大学在读硕士研究生。

**通讯作者:**何先元(1963—),男,重庆医科大学教授。

E-mail:hxy9418@126.com

**收稿日期:**2015-11-25

齐墩果酸:批号 140824,成都普菲生物技术有限公司;

$V_C$ :批号 24040,美国 Accustandard 公司;

DPPH(1,1,二苯基-2-三硝基苯肼):批号:M07334,成都格雷西亚化学技术有限公司;

ABTS:批号:G61826,成都格雷西亚化学技术有限公司;

其他试剂:分析纯,市售。

## 1.2 主要仪器设备

紫外分光光度计:UV-1750 型,岛津仪器(苏州)有限公司;

高速粉碎机:FW-100 型,上海金鹏分析仪器有限公司;

电子天平:AL204 型,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;

超声波清洗器:KQ 5200DA 型,昆山市超声仪器有限公司;

恒温水浴锅:HH-6 型,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;

旋转蒸发器:RE-3000 型,上海亚荣生化仪器厂;

循环水式真空泵:SHZ-D(Ⅲ)型,巩义市予华仪器有限公司。

## 1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线的绘制 称取齐墩果酸标准品 1.4 mg,加入无水乙醇超声溶解,定容至 10 mL,摇匀,即得齐墩果酸标准品溶液。分别移取 0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL 齐墩果酸标准品溶液于 10 mL 具塞试管中,80 °C 恒温水浴蒸干,加入 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL 和高氯酸 0.8 mL 摇匀,65 °C 反应 20 min,冷却至室温后,加乙酸乙酯定容至刻度,摇匀,以试剂空白为对照,在 550 nm 波长下测定吸光度。以吸光度为纵坐标,质量浓度为横坐标作标准曲线,得回归方程为: $A = 50.283C - 0.0186$ ,  $R^2 = 0.9996$ ,线性范围为 0.0014~0.0140 mg/mL。

1.3.2 四齿四棱草总皂苷的提取 将四齿四棱草粉碎,过 80 目筛,称取粉末 1.0 g,置于锥形瓶中,根据单因素条件及响应面试验设计进行超声提取(200 W,40 kHz)。提取液过滤,减压浓缩后加蒸馏水溶解,以乙酸乙酯萃取 3 次,每次 20 mL,合并脂层并用水洗涤,合并水层,用水饱和正丁醇萃取 3 次,每次 20 mL,合并萃取液并用正丁醇饱和水洗涤,将正丁醇层浓缩后用无水乙醇定容至 10 mL,即得四齿四棱草总皂苷溶液<sup>[15]</sup>。

1.3.3 总皂苷的测定 吸取总皂苷溶液 1.0 mL,置于 10 mL 具塞试管中,80 °C 恒温水浴蒸干,按 1.3.1 的方法测定吸光度。根据其回归方程计算出溶液浓度,按式(1)求得总皂苷的得率。

$$Y = \frac{C \times V_1 \times V_3}{V_2 \times m} \quad (1)$$

式中:

$Y$ ——总皂苷得率,mg/g;

$C$ ——测量液的皂苷浓度,mg/mL;

$V_1$ ——测量液的定容体积,mL;

$V_2$ ——测量时的量取体积,mL;

$V_3$ ——提取液的定容体积,mL;

$m$ ——样品的质量,g。

### 1.3.4 单因素试验设计

(1) 超声提取时间对四齿四棱草总皂苷得率的影响:按液料比 30:1(mL/g)加 75%乙醇,超声提取时间分别为 10,20,30,40,50,60 min,考察超声提取时间对四齿四棱草总皂苷得率的影响。

(2) 液料比对四齿四棱草总皂苷得率的影响:提取时间为 30 min,分别以 10:1,20:1,30:1,40:1,50:1,60:1(mL/g)的液料比加入 75%乙醇,考察液料比对四齿四棱草总皂苷得率的影响。

(3) 乙醇浓度对四齿四棱草总皂苷得率的影响:以液料比 30:1(mL/g)分别加入 45%,55%,65%,75%,85%,95%乙醇,超声提取 30 min,考察乙醇浓度对四齿四棱草总皂苷得率的影响。

1.3.5 响应面试验优化四齿四棱草总皂苷提取条件 以超声提取时间、液料比、乙醇浓度为变量,以总皂苷的得率为评价指标,采用三因素三水平的响应面分析法,依据回归分析确定各工艺条件的影响因素,分析优化四齿四棱草总皂苷的超声提取工艺<sup>[16]</sup>。

### 1.3.6 四齿四棱草总皂苷的抗氧化性

(1) 清除 DPPH 自由基的作用:分别取 0.0125,0.025,0.05,0.1,0.2 mg/mL 的总皂苷溶液 1.5 mL 于试管中加入 DPPH(0.2 mmol/L)溶液 1.5 mL,摇匀后避光保存 30 min,于 517 nm 波长处测定吸光度值  $A_1$ 。空白吸光度值  $A_0$  为 1.5 mL 无水乙醇与 1.5 mL DPPH 混合后测定的吸光度,以样品溶液 1.5 mL 和无水乙醇 1.5 mL 的混合溶液为吸光度  $A_2$ 。 $V_C$  为阳性对照,在 517 nm 波长处测定吸光度<sup>[17]</sup>。DPPH 自由基清除率( $R_1$ )按式(2)计算:

$$R_1 = 1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

(2) 清除 ABTS 自由基的作用:称取 ABTS 40.0 mg,加入蒸馏水 10 mL,1.0 mg/mL 的过硫酸钾溶液 8.0 mL,在室温条件下避光反应 16 h 后移至 250 mL 容量瓶,加入蒸馏水 32 mL,无水乙醇定容,放置 10 h,备用。以  $V_C$  为阳性对照,分别往试管中加入 0.02,0.04,0.06,0.08,0.10 mg/mL 的样品溶液 0.5 mL,80%乙醇 1.5 mL,ABTS 反应液 2.0 mL,静置 6 min,于 734 nm 处测定吸光度  $A_1$ ,以溶剂代替样液为空白对照,其测定的吸光度值为  $A_0$ <sup>[18]</sup>。ABTS 自由基清除率( $R_2$ )按式(2)计算:

$$R_2 = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (3)$$

(3) 总还原力的测定:以  $V_C$  为阳性对照,取 1 mL 样品液,依次加入 pH=6.6,0.2 mol/L 的磷酸缓冲液 2.5 mL,1%铁氰化钾溶液 2.5 mL,混匀,50 °C 水浴 20 min,加入 10%三氯乙酸溶液 2.5 mL,取 2.5 mL 上清液,加入蒸馏水 2.5 mL,10%三氯化铁溶液,700 nm 测定吸光度。以吸光度值的大小来表示样品还原能力的大小<sup>[19]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

2.1.1 超声提取时间对四齿四棱草总皂苷得率的影响 由图 1 可知,当超声提取时间为 30 min 时,总皂苷的得率达到最高值,30 min 后,随着时间的延长,总皂苷得率逐渐降低,这可能是超声能使细胞壁破碎,有利于总皂苷的流出,但超声时间过长可能会使总皂苷的结构破坏,得率下降<sup>[20]</sup>。因此,最佳的提取时间选择 30 min。

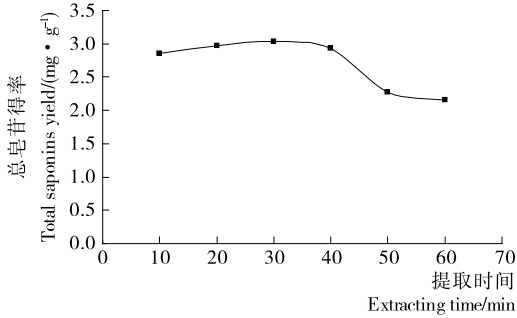


图 1 提取时间对总皂苷得率的影响

Figure 1 Effect of extraction time on total saponins yield

2.1.2 液料比对四齿四棱草总皂苷得率的影响 由图 2 可知,当液料比小于 40 mL/g 时,随液料比的增加,总皂苷得率逐渐升高;当液料比超过 40 mL/g 时,随液料比增加总皂苷得率反而降低。可能是液料比太低,四齿四棱草在提取溶剂中的浸泡不完全,短时间内不利于总皂苷的浸出,当提取液体积过大时,易提取出杂质影响后续处理<sup>[20]</sup>。因此,最佳的液料比选择 40 mL/g。

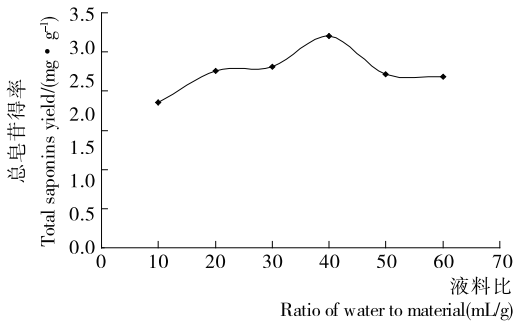


图 2 液料比对总皂苷得率的影响

Figure 2 Effect of ratio of water to material on total saponins yield

2.1.3 乙醇浓度对四齿四棱草总皂苷得率的影响 据图 3 可知,当乙醇浓度在 45%~75% 时总皂苷的得率随着乙醇浓度的升高而增加,继续增加乙醇浓度总皂苷得率反而下降,这可能是随着提取溶剂浓度的增加,溶剂的极性发生变化,使得提取出来的杂质增多,从而影响了总皂苷的得率。故最佳的乙醇浓度选择 75%。

### 2.2 响应面法优化提取工艺条件

2.2.1 响应面试验结果与分析 采用 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,以总皂苷得率为响应值,试验因素与水平安排见表 1,试验设计及结果见表 2。

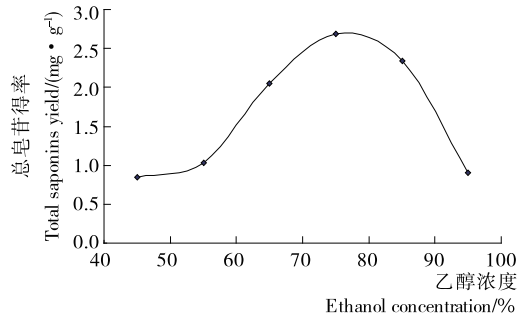


图 3 乙醇浓度对总皂苷得率的影响

Figure 3 Effect of ethanol concentration on total saponins yield

表 1 响应面分析因素水平表

Table 1 Factors and levels of RSM

水平	A 超声提取时间/min	B 液料比 (mL/g)	C 乙醇浓度/%
-1	20	30	65
0	30	40	75
1	40	50	85

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Experiment design and results of RSM

试验号	A	B	C	总皂苷得率/(mg · g <sup>-1</sup> )
1	-1	0	1	2.35
2	-1	1	0	2.72
3	-1	-1	0	2.85
4	1	1	0	2.81
5	0	-1	-1	2.22
6	0	1	-1	1.88
7	1	0	-1	2.25
8	0	0	0	2.70
9	0	0	0	2.51
10	-1	0	-1	2.13
11	0	0	0	2.57
12	1	-1	0	3.08
13	0	1	1	2.27
14	0	0	0	2.47
15	1	0	1	2.84
16	0	0	0	2.50
17	0	-1	1	2.36

运用 Design-Expert 8.0.6.1 软件对所得数据进行分析,得到总皂苷得率(Y)对提取时间、液料比、乙醇浓度的二次多项回归方程为:

$$Y = 2.55 + 0.12A - 0.10B + 0.17C - 0.035AB + 0.092AC + 0.063BC + 0.26A^2 + 0.053B^2 - 0.42C^2. \quad (4)$$

该模型的方差分析结果及可信度分析见表 3、4。

表3 方差分析结果<sup>†</sup>

Table 3 Variance analysis results

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.470	9	0.160	21.22	0.000 3	* * *
A	0.110	1	0.110	14.06	0.007 2	* *
B	0.086	1	0.086	11.20	0.012 3	*
C	0.220	1	0.220	29.19	0.001 0	* *
AB	$4.900 \times 10^{-3}$	1	$4.900 \times 10^{-3}$	0.64	0.450 9	
AC	0.034	1	0.034	4.45	0.072 8	
BC	0.016	1	0.016	2.03	0.197 0	
A <sup>2</sup>	0.290	1	0.290	37.73	0.000 5	* * *
B <sup>2</sup>	0.012	1	0.012	1.51	0.258 9	
C <sup>2</sup>	0.740	1	0.740	96.59	<0.000 1	* * *
残差	0.054	7	$7.689 \times 10^{-3}$			
失拟项	0.020	3	$6.808 \times 10^{-3}$	0.82	0.548 7	
纯误差	0.033	4	$8.350 \times 10^{-3}$			
总误差	1.520	16				

<sup>†</sup> \* . P < 0.05; \* \* . P < 0.01; \* \* \* . P < 0.001.

表4 模型的可信度分析

Table 4 The credibility analysis of the model

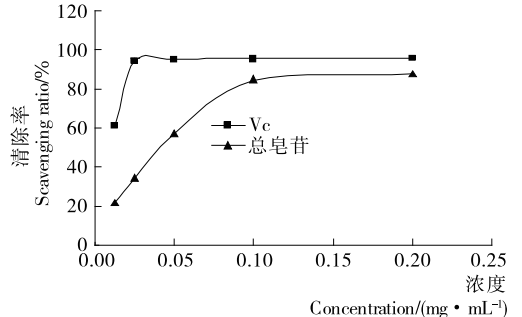
标准差	拟合度	平均值	校正决定系数 R <sup>2</sup>	变异系数	预测拟合度	感应值	信噪比
0.088	0.964 6	2.50	0.919 2	3.51	0.751 0	0.38	18.902

由表 3、4 可知,相关系数  $R^2 = 0.964 6$ ,失拟项  $P = 0.548 7 > 0.05$ ,模型的拟合度良好;由表 3 可知,模型的  $F = 21.22$ , $P = 0.000 3$  整体模型达到极显著水平 ( $P < 0.001$ ),表明模型选择适合;由表 3 中的 P 值可知,一次项 A、C 较显著,B 达显著水平。二次项 B<sup>2</sup> 无显著影响,A<sup>2</sup>、C<sup>2</sup> 达显著水平,交互项均无显著影响,各交互因素的响应曲面图见图 4。由 F 值可知,三因素对总皂苷得率的影响大小为  $C > A > B$ ;由表 4 中的校正决定系数  $R^2 = 0.919 2$ ,变异系数为 3.51%,说明该模型只有 8.08 的变异无法用模型解释。本次试验的信噪比为  $18.902 > 4$ ,表明模型的可信度较高<sup>[21]</sup>,能用该模型及方程预测和分析四齿四棱草总皂苷的得率。

2.2.2 最佳提取条件的确定及验证实验 通过 Design-Expert 8.0.6.1 软件分析得到最优提取条件超声提取时间为 40 min,液料比为 30 : 1(mL/g),乙醇浓度为 77.35%,预测值为 3.14 mg/g。考虑到实际操作的可性,将四齿四棱草总皂苷的提取工艺修正为提取时间为 40 min,液料比为 30 : 1(mL/g),乙醇浓度为 77%,在此条件下,重复实验 3 次,四齿四棱草总皂苷得率为 3.10 mg/g,与预测值接近。

### 2.3 四齿四棱草的抗氧化活性测定

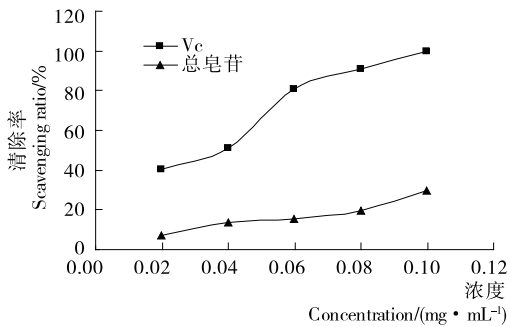
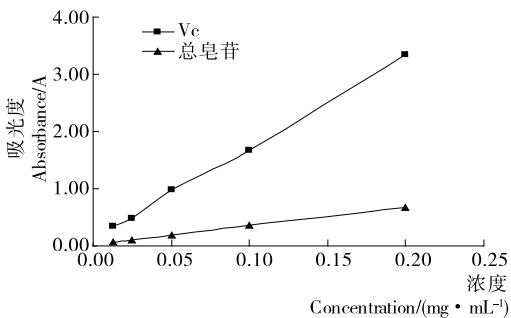
2.3.1 对 DPPH 自由基的清除作用 DPPH 自由基是一种稳定的自由基,含该自由基的溶液呈紫色,当与抗氧化物质反应时,抗氧化物质会提供电子,溶液的颜色发生改变。由图 4 可知,在 0.012 5~0.200 0 mg/mL 范围内,V<sub>C</sub> 与总皂苷随着浓度的增加,清除 DPPH 自由基的能力逐渐增强。与 V<sub>C</sub> 相比,总皂苷溶液的作用效果稍弱。当总皂苷溶液浓度

图4 V<sub>C</sub>、总皂苷清除 DPPH 自由基的作用Figure 4 The scavenging effects of V<sub>C</sub> and total saponins solution on DPPH ·

为 0.038 2 mg/mL 时,DPPH 自由基的清除率达到 50%,表明四齿四棱草总皂苷对 DPPH 自由基的清除能力较强。

2.3.2 对 ABTS 自由基的清除作用 ABTS 作为一种水溶性自由基引发剂,经氧化后生成一种蓝色的自由基 ABTS<sup>+</sup>,当与抗氧化物质反应时,颜色会由深变淡,吸光度逐渐减小。由图 5 可知,随着浓度的增加,样品溶液清除 ABTS 自由基的能力增大。不同浓度的总皂苷溶液对 ABTS 自由基的清除作用均低于相对应的 V<sub>C</sub> 溶液。在 0.02~0.10 mg/mL 范围内,总皂苷对 ABTS 自由基的清除率低于 40%,说明总皂苷对 ABTS 自由基的清除作用较弱。

2.3.3 总的还原能力测定 由图 6 可知,当浓度为 0.012 5~0.200 0 mg/mL 时,总皂苷及 V<sub>C</sub> 的吸光度与浓度均呈良好的线性关系。回归方程为  $Y_1(V_C) = 16.014 0X + 0.122 9$ ,

图 5 V<sub>C</sub>、总皂苷清除 ABTS 自由基的作用Figure 5 The scavenging effects of V<sub>C</sub> and total saponins solution on ABTS ·图 6 V<sub>C</sub>、总皂苷总还原能力的测定Figure 6 Total reducing power of V<sub>C</sub> and total saponins solution

$R = 0.999\ 4; Y_2(\text{总皂苷}) = 3.274\ 2X + 0.026\ 3, R = 0.999\ 7$ 。样品的吸光度值随着浓度的增加而增大,即还原能力随着浓度的增加而增大。但其还原能力相对 V<sub>C</sub> 较弱。

### 3 结论

本试验应用高效率、低能耗的超声提取法,采用响应面分析试验设计优化四齿四棱草总皂苷的提取工艺,确定了最佳提取条件,并对优化工艺条件下提取的总皂苷进行抗氧化研究。试验结果表明,最优提取条件超声提取时间为 40 min,液料比为 30 : 1(mL/g),乙醇浓度为 77.35%,预测值为 3.14 mg/g,实际测定值为 3.10 mg/g。四齿四棱草总皂苷具有较强清除 DPPH 自由基的能力,有望开发成为天然的抗氧化剂。本研究为四齿四棱草的开发提供了一定的参考依据,但是四齿四棱草总皂苷的纯化、结构鉴定及药理活性等方面的研究还有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 张萃蓉,潘世民,韩建华,等. 四棱草和四齿四棱草生长发育与生态环境的研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(8): 467-468.
- [2] 四川省中医药研究院南川药物种植研究所,四川省中药材公司. 四川中药材栽培技术[M]. 重庆: 重庆出版社, 1988: 740-743.
- [3] 窦辉,彭树林,李帮经,等. 四齿四棱草根部的两个新二萜化合物[J]. 有机化学, 2004, 24(11): 1 469-1 471.
- [4] 窦辉,廖循,陈昌祥,等. 四齿四棱草根部分环肽化合物的分离及鉴定[J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(10): 1 849-1 852.
- [5] 李帮经,陈昌祥,窦辉,等. 四齿四棱草水提取物的化学成分研

究[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1): 61-64, 87.

- [6] 许柏艳,李金,田晶,等. 文冠果壳皂甙的分离纯化及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 252-255, 269.
- [7] 马春宇. 苦瓜总皂苷对 2 型糖尿病大鼠降糖、调脂作用的机制研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2014: 49-50.
- [8] YU G J, CHOI I W, KIM G Y, et al. Anti-inflammatory potential of saponins derived from cultured wild ginseng roots in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages[J]. Int. Mol. Med., 2015, 35(6): 1 690-1 698.
- [9] 程晓华,熊玉卿. 五环三萜皂苷的药理作用研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(5): 792-795.
- [10] 令狐晨,阿依吐伦·斯马义. 皂苷提取纯化及其抗氧化活性的研究进展[J]. 广州化工, 2015, 43(6): 7-9, 22.
- [11] 董秀芳,李楠,韩冬,等. 裙带菜孢子叶多糖的超声辅助提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 162-166, 177.
- [12] 若源,谢晶,王婷,等. 超声波辅助提取银杏叶中总黄酮的工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 167-170.
- [13] 董周永,任辉,周亚军. 松籽壳总黄酮超声提取工艺响应面优化[J]. 食品与机械, 2011, 27(5): 100-102.
- [14] 王雨,单杨,李高阳. 超声波辅助提取野桂花蜜中多酚的工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(3): 189-193.
- [15] 解红霞,赵科,张娜,等. 响应面法优化芹叶铁线莲总皂苷超声提取工艺[J]. 中药材, 2014, 37(7): 1 269-1 271.
- [16] 吴晖,赖富饶,胡筱波. 响应面分析法优化油菜花粉多糖提取工艺的研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(5): 66-69, 73.
- [17] 邱丹纆,温扬敏,苏齐,等. 兖州卷柏生物碱的抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(3): 442-445.
- [18] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radi. Biol. Med., 1999, 26(9/10): 1 231-1 237.
- [19] 王蓓蓓,段玉峰,邵红军,等. 红托竹荪多糖抗氧化活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(8): 1 122-1 125.
- [20] 刘小攀,田春莲,覃基信,等. Box-Behnken 响应面法优化超声辅助提取忽地笑多糖工艺研究[J]. 中药材, 2015, 38(7): 1 520-1 523.
- [21] 王玲丽,滕红梅,郭艳茹,等. 响应面分析法优化超声提取细叶远志皂苷工艺研究[J]. 中药材, 2014, 37(4): 679-683.