

蓝刺头多糖提取工艺优化 及其抗氧化活性

史晓宇, 高珍珍⁺, 张超, 杨英^{*}

(内蒙古农业大学兽医学院, 内蒙古呼和浩特 010018)

摘要: 本试验用水提醇沉法提取蓝刺头多糖(*Echinops latifolius* tausch polysaccharide, ETP), 通过单因素和响应面法对ETP提取工艺进行优化, 并对蓝刺头提取物进行体外抗氧化活性的测定。结果表明, 蓝刺头多糖的最佳提取条件为: 料液比 1:20 g/mL、提取时间 2 h、提取温度 100 ℃。在最优条件下多糖的得率为 1.191%。清除自由基结果显示, 在一定浓度范围内, 蓝刺头多糖对 DPPH·清除率最高达 93.69%, 对·OH清除率最高达 97.44%, 对 O₂⁻·清除率最高达 67.96%。研究表明, 响应面对 ETP 的提取优化条件合理, 同时保留了该多糖良好的抗氧化活性, 为其临床应用提供一定的理论依据。

关键词: 蓝刺头多糖, 提取工艺, 响应面法优化, 抗氧化活性

Optimization of Extraction of *Echinops latifolius* Tausch Polysaccharides and Its Antioxidant Activity

SHI Xiao-yu, GAO Zhen-zhen⁺, ZHANG Chao, YANG Ying^{*}

(College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: In this experiment, the extraction of *Echinops latifolius* Tausch polysaccharides (ETP) was carried out by decoction and alcohol sedimentation technique. The extraction process of ETP was optimized by single factor experiments and response surface analysis, and the antioxidant activity *in vitro* was determined. The results showed that, the optimum extraction conditions for the polysaccharide were as follows: The ratio 1:20 g/mL (dry weight/water), reaction time 2 h, reaction temperature 100 ℃. The average extraction rate of polysaccharide under optimum conditions was 1.191%. The results of scavenging free radicals showed that the DPPH· clearance rate was up to 93.69%, the highest ·OH clearance rate was 97.44%, and the O₂⁻· clearance rate was up to 67.96%. The results showed that the response to ETP was optimized. At the same time, good antioxidative activity could be obtained, which would provide a theoretical basis for its clinical application.

Key words: *Echinops latifolius* Tausch polysaccharides; extraction conditions; response surface methodology; antioxidant activity

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2020)24-0137-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020120054

引文格式: 史晓宇, 高珍珍, 张超, 等. 蓝刺头多糖提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(24): 137-142.

SHI Xiao-yu, GAO Zhen-zhen, ZHANG Chao, et al. Optimization of Extraction of *Echinops latifolius* Tausch Polysaccharides and Its Antioxidant Activity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(24): 137-142. (in Chinese with English abstract) <http://www.spgykj.com>

蓝刺头(*Echinops latifolius* Tausch, ET)为菊科蓝刺头属植物, 主要分布在中国、蒙古、西伯利亚等地区。根和花序皆可入药, 干燥根为中药“禹州漏芦”, 可清热解毒、舒筋通脉、消痈、下乳; 干燥花序为蒙药“蓝刺头”, 蒙古语名“扎日阿-乌拉”, 可愈伤、固骨质、清热止痛^[1]。研究发现, 蓝刺头中含有生物碱、噁

吩类、挥发油类、黄酮类等多种化合物, 具有保肝、抗炎、杀虫、抗肿瘤等多种药理活性^[2], 具有良好应用开发前景。蓝刺头多糖(*Echinops latifolius* Tausch polysaccharide, ETP)为蓝刺头所含有的高分子化合物。研究表明, 具有多种生物活性, 如降血糖、抗氧化、改善脂代谢^[3-5]等, 可作为功能性食品的潜在

收稿日期: 2020-03-12 + 并列第一作者

作者简介: 史晓宇(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 兽医针灸学, E-mail: m18272618167@163.com。

高珍珍(1986-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 中兽医学, E-mail: gzznmzsy@126.com。

* 通信作者: 杨英(1960-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 中药药理与免疫学、兽医针灸学, E-mail: yangyingzsy@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金资助项目(31460674)。

原料。

大量研究表明,机体衰老、慢性疾病及癌症均与自由基有密切关系^[6],自由基参与的氧化反应会损伤核酸、碳水化合物、脂类及蛋白质,从而对机体产生影响^[7-8]。自由基具有极强的氧化反应能力^[9],能通过氧化作用来攻击机体内的的大分子物质,产生过氧化反应,对机体造成不可逆损伤^[10-12]。因此多糖的清除自由基能力常作为评价其抗氧化活性的重要指标^[13]。相关研究表明,蓝刺头粗多糖具有较强还原能力及一定的清除有机自由基能力^[14]。多糖的提取方法众多,其中溶剂提取法简单、成本低、应用最为广泛^[15],但对于提取工艺研究,目前主要集中在蓝刺头总黄酮的提取,多糖未有系统的提取条件研究。因此,本研究选用溶剂提取法,通过响应面实验筛选出最佳提取条件。

本实验选取干燥的蓝刺头花序为原料,通过响应面法对蓝刺头多糖提取工艺进行优化,旨在提高多糖得率,为工业化生产提供参考;对蓝刺头多糖抗氧化活性进行初步探究,为开发与利用蓝刺头多糖类食品奠定良好基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蓝刺头 采自内蒙古呼和浩特市,由内蒙古农业大学中兽医教研室鉴定;无水乙醇、无水葡萄糖、苯酚、浓硫酸、冰乙酸、抗坏血酸(V_c) 均为分析纯;抗超氧阴离子试剂盒、羟自由基测试盒 南京建成生物工程研究所;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 上海麦克林生化科技有限公司。

CU-600 型电热恒温水槽 上海一恒科学仪器有限公司;RE-52AA 旋转蒸发器、SHZ-III 型循环水真空泵 上海亚荣生化仪器厂;GZX-9146 MBE 数显鼓风干燥箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂;CP213 电子天平 奥豪斯仪器有限公司;热电冷冻干燥机 美国 Thermo Fisher Scientific;多功能酶标仪 美国 Synergy H4 Hybrid。

1.2 实验方法

1.2.1 ETP 的提取 将采摘后的蓝刺头花序放于 60 °C 烘干至恒重,采用水提醇沉法提取蓝刺头多糖。步骤为在一定温度和时间下水提,三层纱布对水提液进行过滤,旋转蒸发器进行浓缩(温度 55 °C,转速 50 r/min),用 95% 乙醇进行醇沉,静置过夜,弃掉上清液,真空冷冻干燥,收集,称重。

1.2.2 标准曲线的制作和多糖含量的测定 采用苯酚-硫酸法测定多糖含量。精密称取 105 °C 干燥至恒重的葡萄糖 100 mg,加蒸馏水溶解并定容至 100 mL,作为标准品溶液。精密量取标准品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置于 50 mL 容量瓶中,加蒸馏水定容。精密量取上述各溶液 80 μ L 置 96 孔微量反应板中,分别加 5% 苯酚溶液 40 μ L,迅速滴加浓硫酸 200 μ L,吹打摇匀,冷却至室温后,用酶标仪测定 490 nm 处的 OD 值。以标准品浓度(x,%)为横坐标,吸光度(y)为纵坐标,绘制标准曲线如,得回归方程为 $y = 9.6115x + 0.1204 (R^2 = 0.9937)$ 。精密称取蓝

刺头多糖 10 mg,加蒸馏水 10 mL 溶解成 1 mg/mL,取 80 μ L 置 96 孔微量反应板中,加 5% 苯酚溶液 40 μ L,迅速滴加浓硫酸 200 μ L,吹打摇匀,冷却至室温后,用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度 y 值,将平均 y 值代入回归方程,计算样品多糖含量。

多糖得率计算公式为:

$$\text{多糖得率}(\%) = \frac{\text{粗多糖质量}(\text{g})}{\text{原料质量}(\text{g})} \times 100$$

1.2.3 单因素实验 采用水提醇沉法提取蓝刺头多糖,测定多糖得率。选取料液比(1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 g/mL)、提取时间(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h)、提取温度(60、70、80、90、100 °C)、提取次数(1、2、3、4 次)、醇沉浓度(70%、75%、80%、85%、90%)做单因素试验,对蓝刺头多糖提取工艺进行优化,其中固定因素水平为料液比 1:25 g/mL、提取时间 2.0 h、提取温度 80 °C、提取次数 2 次、醇沉浓度 80%。

1.2.4 响应面试验 在单因素实验的基础上,选择影响较显著的三个因素料液比、提取温度和提取时间为自变量,以多糖得率为响应值,使用响应面软件 Design-Expert8.0.6.1 中 Box-Behnken 的设计方法,进行三因素三水平试验设计,优化蓝刺头多糖提取工艺。各组试验的编码水平与取值见表 1。当 $P < 0.05$,该模型和回归系数被认为差异性显著。

表 1 响应面分析因素水平

Table 1 Factors and levels of response surface analysis

水平	因素		
	X_1 料液比 (g/mL)	X_2 提取时间 (h)	X_3 提取温度 (°C)
-1	1:15	2.0	80
0	1:20	2.5	90
1	1:25	3.0	100

1.2.5 抗氧化活性测定 常见的评价体外抗氧化活性的指标有二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)清除能力、羟自由基(\cdot OH)清除能力和超氧阴离子自由基($O_2\cdot$)清除能力等。根据响应面试验结果,选取最佳工艺下得到的多糖样品进行清除三种自由基的相关试验,以抗坏血酸(V_c)作为阳性对照组。

1.2.5.1 ETP 对二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)清除能力的测定 通过酶标仪在 517 nm 波长处检测吸光度值,计算样品清除 DPPH· 自由基的能力。取 0.001953~0.125 mg/mL 多糖溶液 100 和 100 μ L DPPH 溶液加入 96 孔微量反应板,于室温避光反应 30 min。相应浓度的抗坏血酸(V_c)作为阳性对照,蒸馏水代替多糖溶液的反应体系为空白,并设置本底对照,使用酶标仪检测 517 nm 波长处的吸光值,根据公式(1)计算 ETP 对 DPPH· 的清除率。(A₀ 为空白吸光值, A_x 为样品吸光值, A_m 为本底对照吸光值。)

$$\text{清除率}(\%) = [A_0 - (A_x - A_m)] / A_0 \times 100 \text{ 式}(1)$$

1.2.5.2 ETP 对羟自由基(\cdot OH)清除能力的测定 根据试剂盒说明书操作,取 0.0625~1.0 mg/mL 多糖溶液 100 和 300 μ L 反应体系于 37 °C 反应

1 min, 迅速加入 1000 μL 显色剂, 室温放置 20 min, 取 200 μL 加入 96 孔微量反应板。相应浓度的抗坏血酸(V_c)作为阳性对照, 蒸馏水代替多糖溶液的反应体系为空白, 并设置本底对照, 使用酶标仪检测 550 nm 波长处的吸光值, 根据公式(1)计算 ETP 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率。

1.2.5.3 ETP 对超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)清除能力的测定 根据试剂盒说明书操作, 取 0.0625~4.0 mg/mL 多糖溶液 25 和 650 μL 反应体系于 37 $^\circ\text{C}$ 反应 40 min, 加入 1000 μL 显色剂, 室温放置 10 min 后取 200 μL 加入 96 孔微量反应板。相应浓度的抗坏血酸(V_c)作为阳性对照, 蒸馏水代替多糖溶液的反应体系为空白, 并设置本底对照, 使用酶标仪检测 550 nm 波长处的吸光值, 根据公式(1)计算 ETP 对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除率。

1.3 数据处理

结果以平均值 \pm 标准差 ($\bar{X} \pm S$) 表示, 采用 SPSS 20.0 软件对数据进行方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验, 内部均值采用 Duncan 比较显著性差异, $P < 0.05$ 为具有统计学显著性差异。同时应用 Design-Expert 8.0.6.1 进行响应面设计试验及数据分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 料液比对多糖得率的影响 料液比对多糖得率的影响见图 1。由图 1 可知, 在料液比为 1:20 时, 得率达到顶峰 0.86%, 随后下降。可能的原因是料液比较小时, 短时间内多糖的溶出达到平衡, 不利于多糖进一步溶出; 而料液比太大时, 受溶解度的约束作用变小, 且溶剂用量过多导致后续蒸发困难, 使得提取得率呈现下降趋势^[16-17]。该因素对多糖得率影响显著 ($P < 0.05$), 且料液比为 1:20 时提取效果最好, 故选择料液比 1:15、1:20、1:25 做后续响应面设计试验。

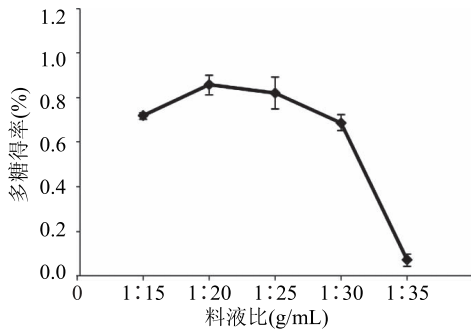


图1 料液比对多糖得率的影响

Fig.1 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of polysaccharides

2.1.2 提取时间对多糖得率的影响 提取时间对多糖得率的影响见图 2。由图 2 可知, 随着提取时间增加, 多糖得率有所上升, 在提取时间为 2 h 时达到顶峰 0.78%, 随后有所下降。可能的原因是初期多糖在溶剂中的浓度低, 主要成分在蓝刺头组织中, 内外浓度梯度大, 导致多糖溶出的速率较快; 随着时间增

加, 多糖浓度梯度持续减小, 从而使得溶出率减缓至不再增加^[18]; 也可能是由于细胞内的蛋白质等其他大分子穿透细胞膜, 对多糖的溶出产生阻力^[19]。该因素对多糖得率影响显著 ($P < 0.05$), 且提取时间为 2 h 时提取效果最好, 故选择提取时间 2.0、2.5、3.0 h 做后续响应面设计试验。

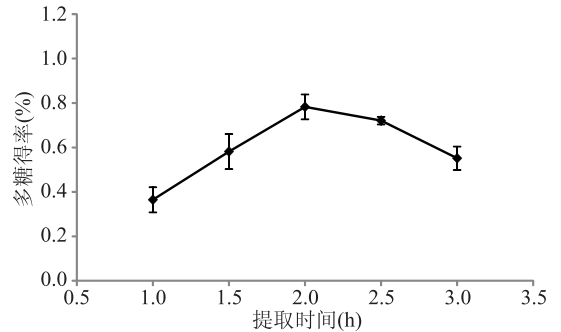


图2 提取时间对多糖得率的影响

Fig.2 Effect of time on the extraction rate of polysaccharides

2.1.3 提取温度对多糖得率的影响 提取温度对多糖得率的影响见图 3。由图 3 可知, 随着提取温度上升, 多糖得率有所上升, 在提取温度为 90 $^\circ\text{C}$ 时达到顶峰 0.82%, 随后趋于平缓。可能的原因是过高的温度对多糖的提取影响不明显^[20]。一定范围内, 该因素对多糖得率影响显著 ($P < 0.05$), 且提取温度为 90 $^\circ\text{C}$ 时提取效果最好, 故选择提取温度 80、90、100 $^\circ\text{C}$ 做后续响应面设计试验。

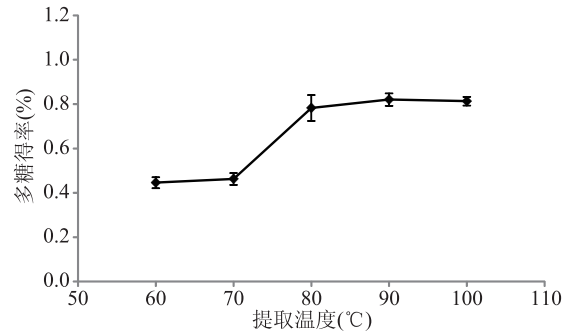


图3 提取温度对多糖得率的影响

Fig.3 Effect of temperature on the extraction rate of polysaccharides

2.1.4 提取次数对多糖得率的影响 提取次数对多糖得率的影响见图 4。由图 4 可知, 随着提取次数增加, 多糖得率有所上升, 在提取次数为 4 次时达到顶峰 1.13%。提取 2 次与 3 次差异较小, 考虑实际生产效率与成本, 后续响应面设计试验提取次数固定为 2 次。

2.1.5 醇沉浓度对多糖得率的影响 醇沉浓度对多糖得率的影响见图 5。由图 5 可知, 随着醇沉浓度增加, 多糖得率有所上升, 在醇沉浓度为 80% 时达到小高峰 0.82%, 醇沉浓度为 90% 时达到顶峰 1.06%。但考虑实际生产效率与成本, 后续响应面设计试验醇沉浓度固定为 80%。

2.2 响应面设计

2.2.1 响应面设计结果 试验设计及结果见表 2。

2.2.2 响应面分析 采用 Design-Expert 8.0.6.1 软件建立的回归模型方程为: 蓝刺头多糖得率 (Y) =

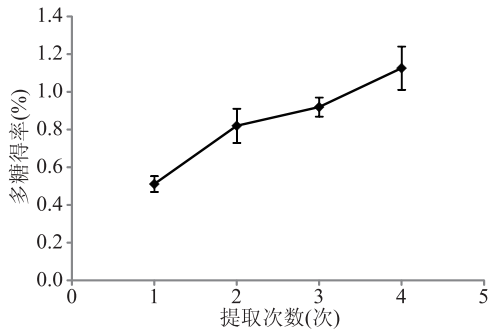


图4 提取次数对多糖得率的影响

Fig.4 Effects of extraction times on the extraction rate of polysaccharides

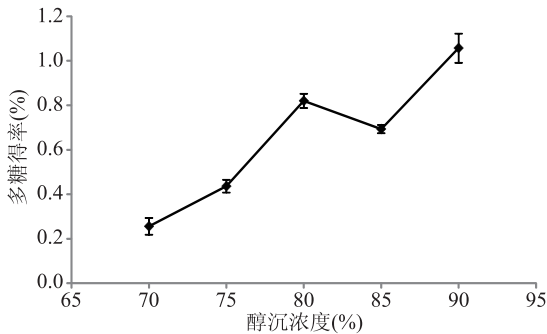


图5 醇沉浓度对多糖得率的影响

Fig.5 Effects of alcohol precipitation concentration on the extraction rate of polysaccharides

表2 响应面设计及结果

Table 2 Design and results of response surface

实验号	X ₁	X ₂	X ₃	Y 多糖得率 (%)
1	-1	0	1	0.93
2	0	0	0	0.80
3	1	1	0	0.85
4	0	0	0	0.89
5	0	0	0	0.79
6	1	0	1	1.12
7	1	0	-1	0.69
8	-1	-1	0	0.89
9	0	0	0	0.92
10	0	0	0	0.88
11	0	-1	-1	0.92
12	1	-1	0	0.96
13	0	-1	1	1.18
14	-1	0	-1	0.81
15	0	1	-1	0.90
16	-1	1	0	0.97
17	0	1	1	1.22

$$0.8567 + 0.0029X_1 - 0.0015X_2 + 0.1410X_3 - 0.0482X_1X_2 + 0.0784X_1X_3 + 0.0152X_2X_3 - 0.0524X_1^2 + 0.1141X_2^2 + 0.0848X_3^2$$

方差分析结果见表3。回归模型的 $P < 0.05$, 说明该模型的可信度水平大于 99.50%; 失拟项 $P > 0.05$, 不显著, 说明该模型与实际实验值拟合良

好, 回归方程可近似替代实验真实点^[21]。同时由对多糖得率的回归系数检验值 F 的大小可知, 在试验范围内, 各因素对多糖得率影响的大小顺序依次为: X_3 (提取温度) $> X_1$ (料液比) $> X_2$ (提取时间)。

表3 方差分析和显著性检验

Table 3 Analysis of variance and significant test

来源	平方和 (SS)	自由度 (DF)	均方 (MS)	F 值	P 值
模型	0.2907	9	0.0323	13.80	0.0011
X ₁	0.0001	1	0.0001	0.03	0.8713
X ₂	1.7111E-05	1	1.7111E-05	0.01	0.9343
X ₃	0.1590	1	0.1590	67.93	<0.0001
X ₁ X ₂	0.0093	1	0.0093	3.97	0.0865
X ₁ X ₃	0.0246	1	0.0246	10.51	0.0142
X ₂ X ₃	0.0009	1	0.0009	0.39	0.5503
X ₁ ²	0.0115	1	0.0115	4.93	0.0618
X ₂ ²	0.0548	1	0.0548	23.43	0.0019
X ₃ ²	0.0303	1	0.0303	12.94	0.0088
残差	0.0164	7	0.0023		
失拟项	0.0027	3	0.0009	0.26	0.8507
误差	0.0137	4	0.0034		
总离差	0.3071	16			

该二次回归模型的决定系数 R^2 为 0.9467, 说明试验结果和回归方程有 94.67% 的拟合; 矫正决定系数 $Adj R^2$ 为 0.8781, 表示该模型可以解释 87.81% 响应值的变化; 预测决定系数 $Pred R^2$ 为 0.7906, 表示该模型预测值的能力良好; 信噪比 $Adeq Precision$ 为 14.4905, 表明该模型是可取的, 可以应用于工艺优化^[22]。

将数据利用 Design-Expert 8.0.6.1 进行 3D 图形绘制, 做出料液比 (X_1)、提取时间 (X_2) 以及提取温度 (X_3) 对多糖得率影响的响应曲面图及等高线图, 见图 6。曲面图可以预测和检验变量的响应值, 确定变量间相互关系。响应面坡度越陡, 表示各因素间的交互作用对响应值的影响越显著, 坡度越缓, 表示各因素间交互作用对响应值的影响不显著; 等高图可以反映变量交互效应的强弱。等高线越密集, 表示二者交互作用对响应值的影响越显著, 等高线越稀疏, 表示二者交互作用对响应值的影响不显著^[23]。

通过响应面的陡峭程度可以发现, 提取温度对蓝刺头多糖得率的影响最大, 其次是提取时间和料液比。由图 6A 可知, 当提取温度一定时, 料液比与提取时间的响应曲面曲率均变化不大, 说明两者对响应值的影响不大。其等高线图显示两因素呈非明显的椭圆形状, 两者交互作用不显著^[24]。由图 6B 可知, 当提取时间一定时, 料液比使得响应面坡度变化较缓, 响应值受到料液比的影响较小^[25], 而提取温度的变化使得坡度曲率变化较大, 其对响应值的影响较大, 料液比与提取时间之间的交互作用不显著。由图 6C 可知, 当料液比一定时, 提取时间的变化对响应值的影响较小, 而提取温度的变化对响应曲面的坡度曲率影响较大, 提取时间与提取温度之间的

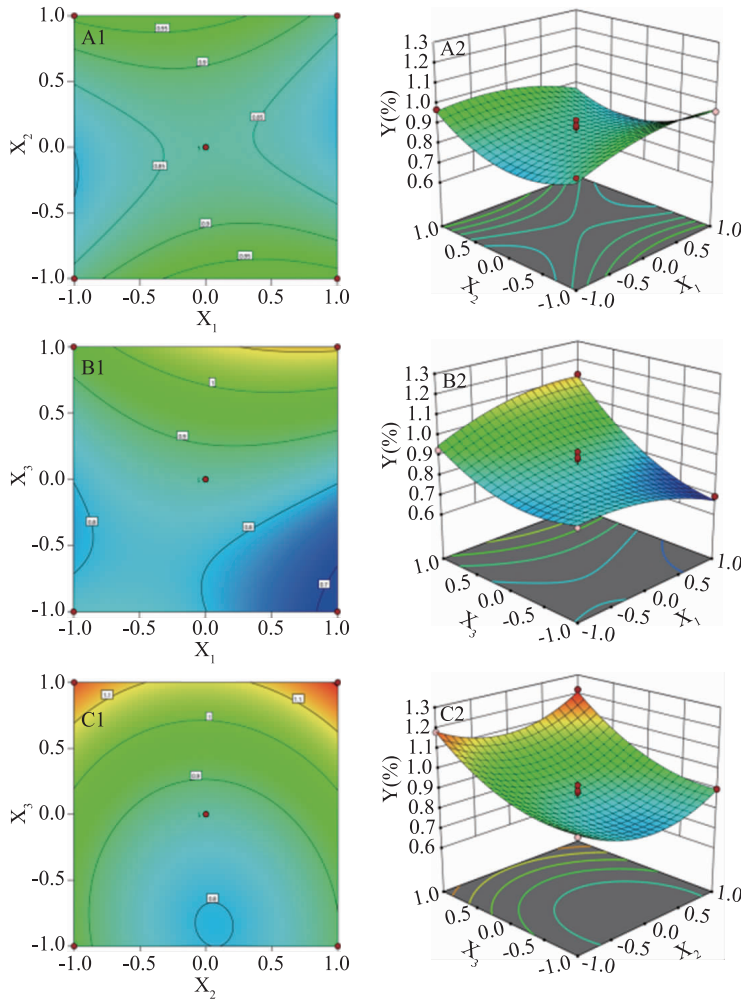


图6 不同交互作用对多糖得率的响应面图

Fig.6 Response surface diagram of different interactions on polysaccharide extraction rate

交互作用不显著。

通过软件分析,料液比为 1:20 g/mL、提取时间为 2 h、提取温度为 100 °C 为最佳提取条件,预测多糖得率为 1.19%。

2.3 验证实验

在料液比 1:20 g/mL、提取时间 2 h、提取温度 100 °C、提取次数 2 次、醇沉浓度 80% 的条件下进行三次平行验证实验,测得多糖得率平均值为 1.191%,与理论得率值相近。该值与预测值相近,表明回归模型可靠。

2.4 抗氧化活性测定结果

2.4.1 ETP 对二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)清除能力的测定 最大半效应浓度 EC_{50} 计算结果显示, V_c (0.0061 mg/mL) < 多糖 (0.0259 mg/mL)。从图 7A 可以看出,在 0.001953~0.125 mg/mL 的多糖浓度范围内,多糖的清除率由 15.91% 上升到 93.69%。在试验浓度范围内, V_c 的清除能力高于多糖。

2.4.2 ETP 对羟自由基(·OH)清除能力的测定 EC_{50} 计算结果显示,多糖 (0.1207 mg/mL) < V_c (0.1297 mg/mL)。从图 7B 可以看出,在 0.0625~1.0 mg/mL 的多糖浓度范围内,多糖的清除率由 33.01% 上升到 97.44%。在 0.0625~0.5 mg/mL 浓度范围内,对·OH 清除能力多糖 > V_c ,在浓度为 1.0 mg/mL

时, V_c 的清除能力高于多糖。

2.4.3 ETP 对超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)清除能力的测定 EC_{50} 计算结果显示, V_c (0.2298 mg/mL) < 多糖 (0.2549 mg/mL)。从图 7C 可以看出,在 0.0625~4.0 mg/mL 的多糖浓度范围内,多糖的清除率由 19.87% 上升到 67.81%。在试验浓度范围内, V_c 的清除能力高于多糖。

3 讨论与结论

本试验通过单因素实验和响应面分析法优化水提醇沉法提取蓝刺头多糖工艺参数,并对最优工艺下提取的 ETP 进行抗氧化活性进行测定。结果表明,水提醇沉法提取蓝刺头多糖最佳条件为提取温度 100 °C、料液比 1:20 g/mL、提取时间 2 h,此条件下实际得率可达 1.191%。在各影响因素中,提取温度对蓝刺头多糖得率的影响最大,其次是提取时间和料液比。蓝刺头多糖对 DPPH·、·OH、 $O_2^{\cdot-}$ 三种自由基均有一定清除作用,具有较好的抗氧化活性。

本研究在单因素实验的基础上,比较各影响因素,分析三个影响效果显著的因素及影响程度,结合 Box-Behnken 分析,建立优化水提醇沉法提取蓝刺头多糖的数学模型^[26]。研究得出水提醇沉法提取蓝刺头多糖的最佳工艺条件,为进一步深入研究蓝刺头多糖提供了参考依据,该方法在提高得率的同时,有

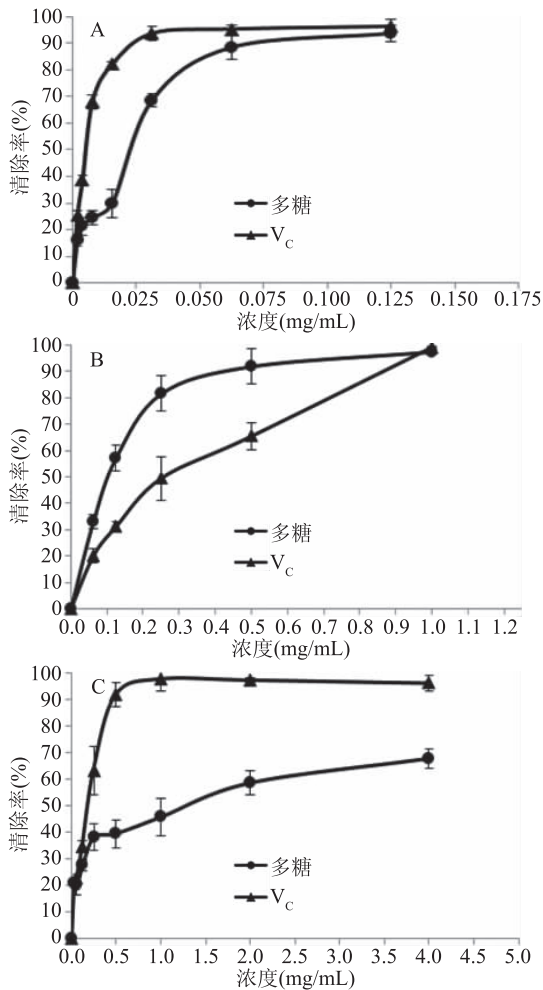


图7 ETP对三种自由基的清除作用

Fig.7 Scavenging effects of ETP on three free radicals

效保护了多糖的抗氧化活性,研究结果为蓝刺头多糖作为功能性原料用于食品工业提供了技术支持和理论数据。

参考文献

[1] 薛培凤, 波拉提·马卡比力, 杨雷, 等. 蒙药蓝刺头的化学成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(19): 3921-3926.
 [2] 帕尔哈提·柔孜, 波拉提·马卡比力, 吾古力汗·努尔哈别克, 等. 蓝刺头属植物在我国传统医药中的应用与研究概况[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19): 3865-3869.
 [3] 姜梦如, 刘丹丹, 朱浩, 等. 蓝刺头及蓝刺头复方水提物对实验性Ⅱ型糖尿病大鼠血糖及血脂的影响[J]. 中国兽医学报, 2017, 37(5): 923-929.
 [4] 高建萍, 杨雷, 杨楠, 等. 基于HPLC特征图谱及4种咖啡酸衍生物定量分析的蒙药材蓝刺头质量评价研究[J]. 中药材, 2018, 41(7): 1641-1645.
 [5] 张勇, 李文妍, 周燕, 等. 蓝刺头生物活性的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(16): 2030-2032.
 [6] 张国财, 赵博, 刘春延, 等. 响应面法优化超声波-微波协同提取富硒蛹虫草多糖工艺[J]. 食品科学, 2016, 37(12): 33-39.

[7] 田卫军, 刘宽辉, 高珍珍, 等. 多糖-硒化多糖复方抗氧化活性的比较[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(2): 359-368.
 [8] 蒋雨鹤, 康大成, 周光宏, 等. 两株发酵乳杆菌体外抗氧化活性研究[J]. 南京农业大学学报, 2017, 40(5): 915-920.
 [9] 王蓓, 常化松, 苏松坤, 等. 无刺蜂蜂胶乙醇提取物的体外抗氧化及抗炎活性[J]. 中国农业科学, 2019, 52(5): 939-948.
 [10] 王彦平, 曹娅, 谢克英, 等. 紫山药多糖抗氧化及延长果蝇寿命的作用[J]. 营养学报, 2017, 39(4): 386-389.
 [11] 张宁, 武永福. 黄花菜粗多糖梯度乙醇提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国食物与营养, 2014, 20(11): 60-62.
 [12] 黄越, 周春晖, 黄惠华. 不同提取方法猴头菇粗多糖的表征及其抗氧化活性的比较[J]. 食品工业科技, 2017, 38(3): 80-86.
 [13] 刘松, 董晓芳, 佟建明. 多糖提取和抗氧化活性评价方法的研究现状和进展[J]. 动物营养学报, 2016, 28(11): 3391-3399.
 [14] 谢友良, 赖小平, 易智彪. 蒙药蓝刺头研究进展[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(12): 22-24.
 [15] 张淑杰, 康玉凡. 天然活性多糖研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(2): 379-382, 389.
 [16] 魏凤华, 倪艳, 宋强, 等. 响应曲面法优化葛根总黄酮的提取工艺研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(1): 261-266.
 [17] 邓寒霜, 杨丽娜. 响应面法优化柴胡多糖提取工艺[J]. 中国现代中药, 2018, 20(6): 742-747.
 [18] Duan M, Shang H, Chen S, et al. Physicochemical properties and activities of comfrey polysaccharides extracted by different techniques [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, (115): 876-882.
 [19] 孔沛筠, 常雅宁, 聂嘉睿, 等. 木耳多糖提取工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. 食品与药品, 2018, 20(3): 187-193.
 [20] 王丽波, 程龙, 徐雅琴, 等. 南瓜籽多糖热水提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 农业工程学报, 2016, 32(9): 284-290.
 [21] Sulaiman M, Fazilah A M. Analysis of total phenolics, tannins and flavonoids from *Moringa oleifera* seed extract [J]. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015, 7(1): 132-135.
 [22] Jiang Y, Wang L, Zhang L, et al. Optimization of extraction and antioxidant activity of polysaccharides from *Salvia miltiorrhiza* Bunge residue [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, (79): 533-541.
 [23] 曹可可, 刘宁, 马双新, 等. 大班刚毛座腔菌高产漆酶条件的响应面优化及酶学特性[J]. 中国农业科学, 2015, 48(11): 2165-2175.
 [24] 包怡红, 邓启. 响应面法优化亚临界水萃取黑木耳多糖工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(10): 1053-1060.
 [25] 曹辰辰, 冯美琴, 孙健, 等. 响应面法优化益生发酵剂接种发酵香肠工艺[J]. 食品科学, 2019, 40(6): 69-76.
 [26] 杨倩, 蔡茵茵, 郭淋凯, 等. 响应面优化提取小球藻蛋白质及其性质研究[J]. 中国食品学报, 2018, 18(6): 183-190.