

24, 33.

[22] 霍涛涛, 张美敬, 陶 春, 等. 基于多组分评价的雷公藤提取物固体分散体的制备及体外表征[J]. 中草药, 2018, 49(1): 128-134.

[23] 石慧慧, 蔡雪萍, 鞠建明, 等. 枇杷叶三萜酸固体分散体的制备及体外溶出研究[J]. 中药材, 2014, 37(8): 1467-1470.

[24] 田 茜, 何 晨, 贺敬霞, 等. 沙棘总黄酮-聚乙烯吡咯烷酮 K30 固体分散体的制备、表征及体外溶出研究[J]. 中国药房, 2017, 28(1): 115-118.

[25] 冯春来, 丁洋洋, 李文静, 等. 漆黄素固体分散体的制备

[J]. 中成药, 2017, 39(12): 2503-2507.

[26] 熊万娜, 岳桂华, 叶美麟, 等. 芒果苷 PVP 固体分散体的制备和表征及在体外肠道菌群模型中的代谢[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(11): 1028-1032.

[27] 李必波, 赵 领, 张雪梅, 等. 紫外光谱法测定齐墩果酸缓释滴丸药物含量及体外释放度[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(4): 447-451.

[28] 解仲伯, 李远达, 林华庆, 等. 新型载体 Soluplus®制备灯盏花素固体分散体及其体外溶出行为研究与表征[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(5): 566-573.

鸡枞菌属真菌总多酚提取工艺优化及其抗氧化活性

张园娇, 胡 鹏, 李 祥, 陈建伟*
(南京中医药大学, 江苏 南京 210023)

摘要: **目的** 优化鸡枞菌属真菌总多酚提取工艺, 并评价其抗氧化活性。**方法** 在单因素试验基础上, 以料液比、提取温度、提取时间、提取次数为影响因素, 总多酚得率为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。然后, 测定总多酚对羟基自由基、DPPH 自由基、ABTS 自由基的清除作用及总抗氧化能力。**结果** 最佳条件为料液比1: 49, 提取温度 40 ℃, 提取时间 2.5 h, 提取次数 3 次, 总多酚得率 12.64 mg/g。100 μg/mL 总多酚对 3 种自由基的清除率均在 80% 以上, 而且总抗氧化能力良好, 并呈浓度依赖性。**结论** 该方法稳定可行, 可用于提取具有较强抗氧化活性的鸡枞菌属真菌总多酚。

关键词: 鸡枞菌属真菌; 总多酚; 提取; 抗氧化活性; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)10-2176-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.10.012

Extraction optimization for total polyphenols from *Termitomyces* fungi and the antioxidant activity

ZHANG Yuan-jiao, HU Peng, LI Xiang, CHEN Jian-wei*
(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the extraction for total polyphenols from *Termitomyces* fungi and to evaluate the antioxidant activity. **METHODS** With solid-liquid ratio, extraction temperature, extraction time and extraction times as influencing factors, total polyphenols yield as an evaluation index, the extraction was optimized by Box-Behnken response surface method on the basis of single factor test. Then the scavenging effects of total polyphenols on hydroxyl, DPPH and ABTS free radicals, together with total antioxidant capacity, were determined. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 1: 49 for solid-liquid ratio, 40 ℃ for extraction temperature, 2.5 h for extraction time, and three times for extraction times, the total polyphenols yield was 12.64 mg/g. The scaven-

收稿日期: 2018-03-30

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD, yskk-2010); 我国水生、耐盐中药资源的合理利用研究行业专项 (201407002)

作者简介: 张园娇 (1993—), 女, 硕士生, 研究方向为中药资源与鉴定。E-mail: 13770552470@163.com

* 通信作者: 陈建伟 (1955—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药品质评价与中药生物技术。E-mail: chenjw695@126.com

ging rates of total polyphenols (100 $\mu\text{g/mL}$) on three free radicals were all more than 80% , as well as good total antioxidant capacity in a dose-dependent manner. **CONCLUSION** This stable and feasible method can be used for the extraction for total polyphenols with strong antioxidant activity from *Termitomyces* fungi.

KEY WORDS: *Termitomyces* fungi; total polyphenols; extraction; antioxidant activity; Box-Behnken response surface method

鸡枞菌 *Termitomyces albuminosus* 记载于《本草纲目》^[1], 具有益胃、清神、治痔等功效, 鸡枞菌属真菌又称蚁巢伞属真菌, 是一类夏秋季节生长于白蚁巢上的大型食药菌, 该属真菌中不仅富含多糖、核苷、氨基酸、脂肪油等多种生物活性成分^[2-3], 还含有总多酚^[4]。近年来研究发现, 总多酚具有抗氧化、抗衰老作用, 但鲜有对鸡枞菌属真菌该成分的报道, 故本实验通过 Box-Behnken 响应面法优化该成分提取工艺, 并评价其抗氧化活性, 为其合理开发利用提供科学依据。

1 材料

鸡枞 (编号 S1) 采自云南楚雄彝族自治州, 为鸡枞菌 *Termitomyces albuminosus* (Berk.) Heim 的干燥子实体; 灰鸡枞 (编号 S2) 采自云南白族自治州, 为灰鸡枞菌 *Termitomyces eurhizus* (Berk.) Heim. 的干燥子实体; 黄鸡枞 (编号 S3) 采自四川绵阳, 为金黄鸡枞菌 *Termitomyces aurantiacus* Heim. 的干燥子实体, 以上药材均经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为正品, 低温烘干粉碎成细粉 (过 60 目筛) 后备用。

福林酚 (批号 505C041)、DPPH、ABTS 购自美国 Sigma 公司; 没食子酸对照品 (批号 YA0505YA14)、Trolox (6-羟基-2, 5, 7, 8-四甲基苯并二氢吡喃-2-羧酸) 购自上海源叶生物科技有限公司; 总抗氧化能力检测试剂盒 (FRAP 法) 购自北京天恩泽基因科技有限公司。过硫酸钾 ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)、水杨酸、硫酸亚铁 (FeSO_4)、无水乙醇、无水碳酸钠、丙酮均为分析纯; 水为超纯水。

α -1502 型紫外分光光度仪 (上海谱元仪器有限公司); 多功能酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司); DK-S22 型电热恒温水浴锅、DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); AY220 型电子分析天平 (日本岛津公司); SAGA-10TQ 型超纯水仪 (南京易普易达科技发展有限公司); HC-1000Y2 型粉碎机 (永康市绿可食品机械有限公司)。

2 方法

2.1 提取

方法 1: 精密称取药材 1.000 g, 以 50% 丙酮-水体系为溶剂, 料液比 1 : 15, 30 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴加热 1.5 h, 提取 3 次^[5]。

方法 2: 精密称取药材 1.000 g, 以纯水为溶剂, 料液比 1 : 30, 40 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴加热 1 h, 提取 3 次^[6]。

方法 3: 精密称取药材 1.000 g, 以 60% 乙醇为溶剂, 料液比 1 : 35, 超声 45 min, 提取 3 次^[7]。

结果表明, 3 种方法得率分别为 4.37、6.59、4.68 mg/g, 考虑到丙酮和乙醇作为有机溶剂具有一定毒性, 故选择第 2 种方法进行优化。

2.2 含有量测定 取药材用打粉机粉碎, 过 60 目筛, 精密称取 1.000 g, 恒温水浴浸提, 抽滤, 取滤液。采用 Folin-Ciocalteu 比色法测定含有量, 以没食子酸为对照品, 称取 10 mg 置于 100 mL 量瓶中, 以蒸馏水定容至刻度, 配成 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准液 (现用现配), 分别量取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置于 10 mL 量瓶中, 纯水定容至刻度, 摇匀, 另取 10 mL 蒸馏水作为空白溶液, 依次吸取 1 mL 于试管中, 加入 5 mL 10% 福林酚试剂, 摇匀, 5 min 后加入 4 mL 5% 碳酸钠溶液, 摇匀, 避光反应 1 h 后, 在 765 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标 (A), 没食子酸质量浓度为横坐标 (X) 进行回归, 得方程为 $A = 0.010\ 74X + 0.069\ 2$ ($r = 0.999\ 9$), 在 10 ~ 60 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。取提取液 1 mL, 通过上述回归方程测得总多酚质量浓度, 再根据公式 $C \times V/M \times 100\%$ 计算含有量 (C 为总多酚质量浓度, 单位 mg/mL; V 为滤液体积, 单位 mL; M 为药材干重, 单位 g)。

2.3 单因素试验 选择料液比 (1 : 10、1 : 20、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50)、提取时间 (0.5、1、1.5、2、2.5 h)、提取温度 (20、40、60、80 $^{\circ}\text{C}$)、提取次数 (1、2、3、4 次) 进行单因素试验, 平行 3 次, 考察其对总多酚得率的影响。

2.4 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上, 选择料液比 (A)、提取时间 (B)、提取温

度 (C)、提取次数 (D) 作为影响因素, 总多酚得率作为评价指标 (Y) 进行优化。因素水平见表 1。

表 1 因素水平
Tab. 1 Factors and levels

因素	水平		
	-1	0	1
A 料液比	1 : 30	1 : 40	1 : 50
B 提取时间/h	1.5	2	2.5
C 提取温度/℃	40	60	80
D 提取次数/次	1	2	3

2.5 抗氧化活性实验

2.5.1 DPPH 自由基清除率测定^[8-10] 配制 50 μg/mL DPPH 乙醇溶液, 取 100 μL, 与 50 μL 总多酚溶液置于 96 孔板中混合, 静置 30 min 后于 519 nm 波长处测定吸光度, 按照公式 $[1 - (A_x - A_{x_0}) / A_0] \times 100\%$ 计算清除率 (A_x 为样品溶液吸光度, A_{x_0} 为未加 DPPH 乙醇溶液吸光度, A_0 为空白溶液吸光度), 以水溶性维生素 E (Trolox) 为阳性对照, 平行 3 次。

2.5.2 羟基自由基清除率测定^[8-10] 取 FeSO₄ 溶液 (9 mmol/L)、乙醇-水杨酸溶液 (9 mmol/L) 各 20 μL 置于 96 孔板中, 接着加入 100 μL 总多酚溶液, 最后加入 20 μL H₂O₂ 溶液 (8.8 mmol/L), 混合摇匀, 37 ℃ 下水浴加热 15 min 后取出, 于 510 nm 波长处测定吸光度, 按照公式 $[1 - (A_x - A_{x_0}) / A_0] \times 100\%$ 计算清除率 (A_x 为样品溶液吸光度, A_{x_0} 为未加 H₂O₂ 溶液吸光度, A_0 为空白溶液吸光度), 以 Trolox 为阳性对照, 平行 3 次。

2.5.3 ABTS 自由基清除率测定^[10-11] 配制 ABTS 工作液, 方法为取 ABTS (7.4 mmol/L)、K₂S₂O₈ (2.6 mmol/L) 贮备液各 200 μL 混合, 室温下避光反应 12 h 后, 乙醇稀释 50 倍, 使其在 734 nm 波长处的吸光度为 0.7 ± 0.02 , 即得。取工作液 120 μL、总多酚溶液 30 μL 置于 96 孔板中混合, 静置 6 min 后, 于 734 nm 波长处测定吸光度, 按照公式 $[1 - (A_x - A_{x_0}) / A_0] \times 100\%$ 计算清除率 (A_x 为样品溶液吸光度, A_{x_0} 为未加 ABTS 工作液吸光度, A_0 为空白溶液吸光度), 以 Trolox 为阳性对照, 平行 3 次。

2.5.4 总抗氧化能力测定 配制 FRAP 工作液, 方法为称取 27.8 mg FeSO₄ · 7H₂O, 溶解并定容至 1 mL (100 mmol/L), 即得, 取适量稀释至 0.15、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5 mmol/L。于 96 孔板中加入 180 μL 工作液, 空白对照孔中加入 5 μL 蒸馏

水, 标准曲线检测孔中加入 5 μL 不同浓度 FeSO₄ 标准溶液, 样品检测孔中加入 5 μL 总多酚溶液, 37 ℃ 下孵育 3 ~ 5 min 后, 在 593 nm 波长处测定吸光度。以 Trolox 为阳性对照, FeSO₄ 浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线, 测定总抗氧化能力。

3 结果

3.1 单因素试验

3.1.1 料液比 由图 1 可知, 随着料液比增大, 总多酚得率呈先提高后降低的趋势, 在 1 : 40 时最大, 随后开始降低, 其原因可能为被提取物在溶剂中的溶出已饱和。从提取效率、降低能耗等方面综合考虑, 最佳料液比为 1 : 40。

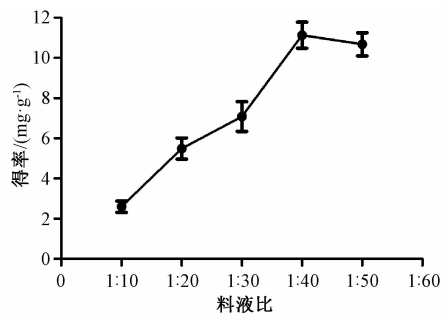


图 1 料液比对总多酚得率的影响

Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on total polyphenols yield

3.1.2 提取时间 由图 2 可知, 随着提取时间增大, 总多酚得率提高, 在 2 h 时最大, 随后趋于平缓并逐渐降低, 其原因可能为提取时间过长时有效成分发生降解。因此, 最佳提取时间为 2 h。

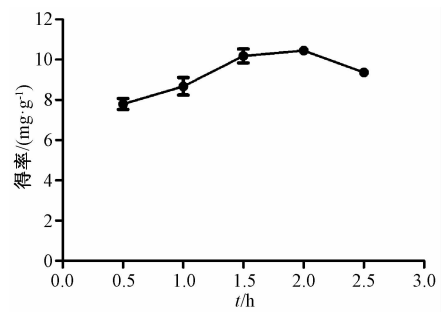


图 2 提取时间对总多酚得率的影响

Fig. 2 Effect of extraction time on total polyphenols yield

3.1.3 提取温度 由图 3 可知, 随着提取温度增加, 总多酚得率提高, 在 60 ℃ 时最大, 随后降低, 其原因可能为温度较高会破坏总多酚结构, 同时增加能源消耗。因此, 最佳提取温度为 60 ℃。

3.1.4 提取次数 由图 4 可知, 随着提取次数增加, 总多酚得率先提高后降低, 在 3 次时最大, 其原因可能为总多酚提取量已达到最大, 继续提取时

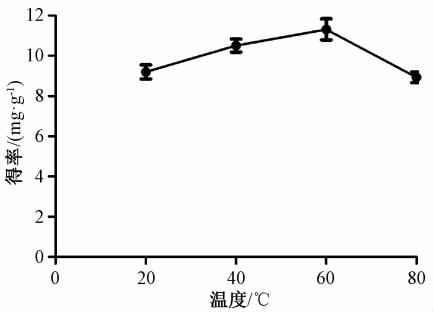


图 3 提取温度对总多酚得率的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on total polyphenols yield

反而浪费时间和能源。因此，最佳提取次数为 3 次。

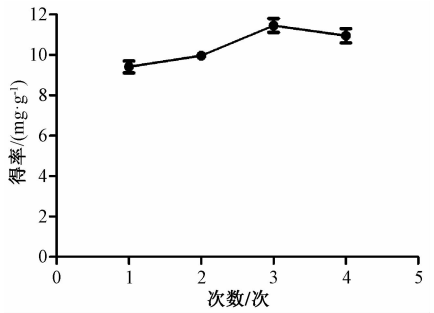


图 4 提取次数对总多酚得率的影响

Fig. 4 Effect of extraction times on total polyphenols yield

3.2 Box-Behnken 响应面法 结果见表 2。然后，通过 Design Expert 8.05 软件对数据进行拟合，得到方程为 $Y = 10.84 + 0.22A + 0.14B - 0.037C + 1.7D + 0.28AB + 0.085AC + 0.013AD - 0.2BC - 0.11BD - 0.42CD - 0.24A^2 - 0.027B^2 - 0.16C^2 - 0.95D^2$ ，方差分析见表 3，可知模型 $P < 0.0001$ ，失拟项 $P > 0.05$ ，总决定系数 (R^2) 0.9910，调整决定系数 (R^2_{adj}) 0.9821，表明模型稳定可靠，可用于预测实验结果。

响应面分析^[12-15]见图 5。通过 Design Expert 8.05 软件，得到最优工艺为料液比 1 : 48.89，提取温度 40℃，提取时间 2.5 h，提取次数 3 次，为了方便实际操作，将其修正为料液比 1 : 49，提取温度 40℃，提取时间 2.5 h，提取次数 3 次。再进行 3 批验证试验，测得总多酚得率为 12.64 mg/g，与预测值 12.26 mg/g 相近（相对误差为 3.09%），表明该模型可有效优化提取工艺。

3.3 抗氧化活性

3.3.1 DPPH 清除率 由图 6 可知，清除率随着总多酚质量浓度增加呈先提高后平稳的趋势，在

表 2 试验设计及结果

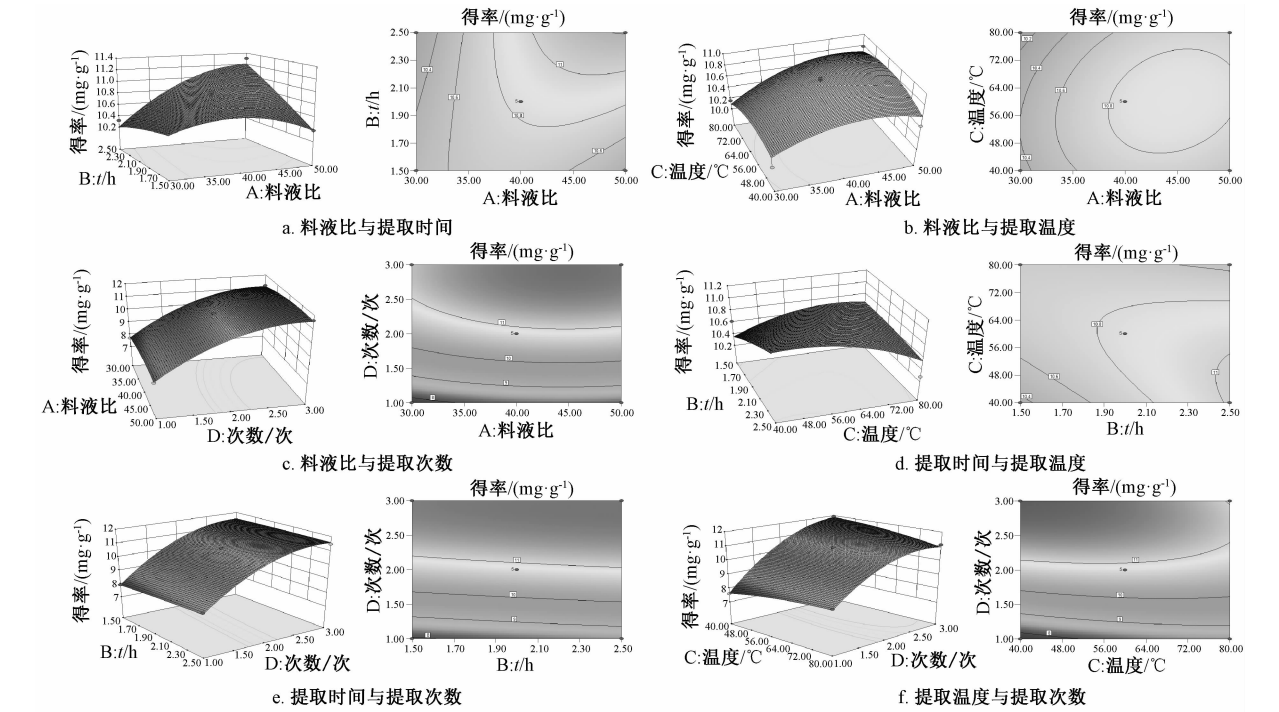
Tab. 2 Design and results of tests

试验号	A 料液比	B 提取时间	C 提取温度	D 提取次数	Y 总多酚得率/ (mg·g ⁻¹)
1	-1	1	0	0	10.32
2	0	-1	1	0	10.58
3	0	1	1	0	10.28
4	0	1	0	-1	8.50
5	0	-1	0	1	11.34
6	-1	0	0	-1	7.69
7	1	0	1	0	10.79
8	0	-1	0	-1	7.92
9	0	0	0	0	10.76
10	0	0	-1	1	11.93
11	1	0	-1	0	10.44
12	0	-1	-1	0	10.62
13	0	0	0	0	10.88
14	-1	0	-1	0	10.15
15	0	0	1	-1	8.47
16	-1	0	0	1	11.17
17	1	-1	0	0	10.38
18	0	0	0	0	10.91
19	1	1	0	0	11.30
20	-1	-1	0	0	10.51
21	0	0	-1	-1	7.60
22	-1	0	1	0	10.16
23	0	0	0	0	10.91
24	0	1	0	1	11.48
25	0	1	-1	0	11.10
26	1	0	0	-1	8.10
27	0	0	1	1	11.12
28	0	0	0	0	10.73
29	1	0	0	1	11.63

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	42.759 2	14	3.054 2	110.635 1	<0.000 1
A	0.580 8	1	0.580 8	21.038 7	0.000 4
B	0.221 4	1	0.221 4	8.020 2	0.013 3
C	0.016 1	1	0.016 1	0.584 4	0.457 3
D	34.646 0	1	34.646 0	1255.003 3	<0.000 1
AB	0.308 0	1	0.308 0	11.157 8	0.004 9
AC	0.028 9	1	0.028 9	1.046 9	0.323 6
AD	0.000 6	1	0.000 6	0.022 6	0.882 5
BC	0.152 1	1	0.152 1	5.509 6	0.034 1
BD	0.048 4	1	0.048 4	1.753 2	0.206 7
CD	0.705 6	1	0.705 6	25.559 4	0.000 2
A ²	0.367 9	1	0.367 9	13.327 9	0.002 6
B ²	0.004 7	1	0.004 7	0.170 2	0.686 2
C ²	0.172 7	1	0.172 7	6.255 5	0.025 4
D ²	5.846 9	1	5.846 9	211.794 6	<0.000 1
残差	0.386 5	14	0.027 6	—	—
失拟项	0.356 6	10	0.035 7	4.773 9	0.072 7
误差项	0.029 9	4	0.007 5	—	—
总和	43.145 7	28	—	—	—



注：各小图左边均为响应面图，右边均为等高线图

图 5 各因素响应面图

Fig. 5 Response surface plots for various factors

100 $\mu\text{g/mL}$ 时最大，S1 ~ S3 分别为 90.94%、89.45%、82.25%。

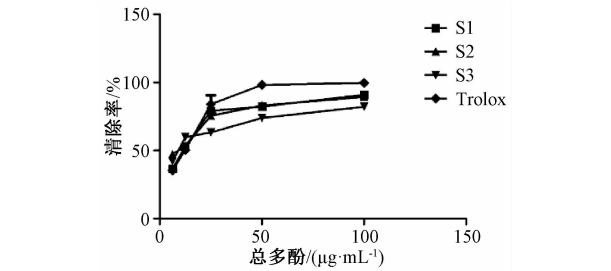


图 6 总多酚对 DPPH 自由基的清除作用

Fig. 6 Scavenging effects of total polyphenols on DPPH free radical

3.3.2 羟基自由基清除率 由图 7 可知，清除率随着总多酚质量浓度增加呈先提高后平稳的趋势，在 100 $\mu\text{g/mL}$ 时最大，S1 ~ S3 分别为 93.76%、97.46%、97.26%。

3.3.3 ABTS 自由基清除率 由图 8 可知，清除率随着总多酚质量浓度增加呈先提高后平稳的趋势，在 100 $\mu\text{g/mL}$ 时最大，S1 ~ S3 均达到 100%。

3.3.4 总抗氧化能力 FRAP 法所得标准曲线为 $Y=0.161\,4X+0.037\,4$ ($R^2=0.999\,8$)，在 0.15 ~ 5 mmol/L 范围内线性关系良好。由图 9 可知，总抗氧化能力随着总多酚质量浓度增加而提高，在

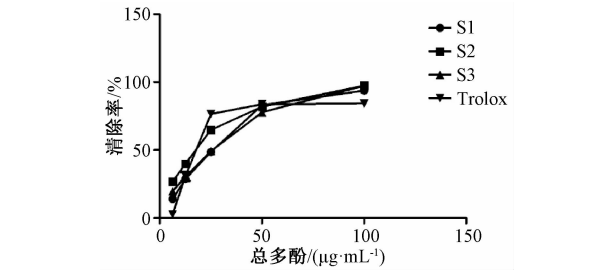


图 7 总多酚对羟基自由基的清除作用

Fig. 7 Scavenging effects of total polyphenols on hydroxy free radical

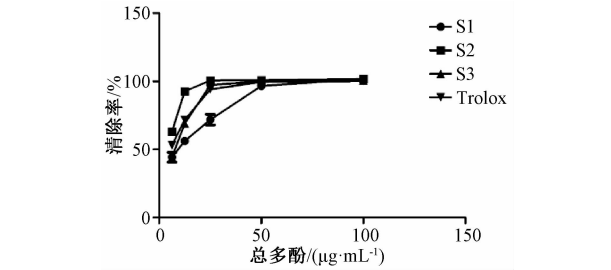


图 8 总多酚对 ABTS 自由基的清除作用

Fig. 8 Scavenging effects of total polyphenols on ABTS free radical

100 $\mu\text{g/mL}$ 时最大，依次为 S2 > S3 > S1。

4 讨论

目前，对鸡枞菌属真菌的研究主要集中在其

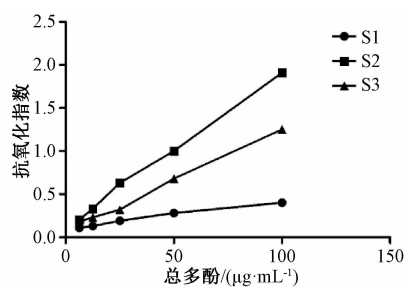


图 9 总多酚总抗氧化能力

Fig. 9 Total antioxidant capacities of total polyphenols

多糖类成分，而鲜有总多酚类成分的报道。本实验在单因素试验基础上通过 Box-Behnken 响应面法优化鸡枞菌属真菌总多酚提取工艺，发现当料液比为 1：50 时，该成分得率较 1：40 有所降低，而所优化出的料液比为 1：49，接近 1：50，可能是因为提取时间、提取次数、提取温度、料液比 4 个影响因素相互作用的结果，使得总多酚溶出量增加，得率提高，而且是通过软件计算得出，可能存在一定相对误差。

研究表明^[16]，总多酚提取大多采用乙醇、甲醇、丙酮等有机溶剂，本实验考虑到实际操作的安全高效，选择用水提取。目前，该成分含有量的测定方法较多，如普鲁士蓝法、酒石酸亚铁法、高锰酸钾法、紫外分光光度法、原子吸收法、Folin-Ciocalteu 法等^[17]，本实验发现，与高锰酸钾法、酒石酸法比较，Folin-Ciocalteu 法操作简便可行，效果更优，故采用该方法进行测定。

抗氧化活性实验结果表明，当总多酚含有量为 100 µg/mL 时，对羟基自由基、DPPH 自由基、ABTS 自由基的清除率均在 80% 以上，呈现出良好的抗氧化活性。前期报道^[18-19]，鸡枞菌属真菌中主要含有多糖、氨基酸、脂肪油、总多酚、蛋白质及其他一些粗纤维，由于本实验以水为溶剂提取总多酚，故多糖、氨基酸等水溶性成分也会被一同提取出来，可能是多种成分共同作用使得该成分抗氧化活性较强，具体原因还有待进一步研究。

参考文献：

[1] 李时珍. 本草纲目（校点本第三册）[M]. 北京：人民卫生出版社，1978.

[2] 张园娇, 高艳云, 马 赟, 等. 野生鸡（土从）脂肪油组成 GC/MS 比较分析[J]. 食品工业科技, 2017, 38 (1): 273-277.

[3] 张园娇, 胡 鹏, 马 赟, 等. UFLC-QTRAP-MS-MS 同时测定蚁巢伞属 3 种鸡（土从）中氨基酸核苷含量及 PCA 分析[J]. 中国中药杂志, 2017, 42 (6): 1152-1159.

[4] Mitra P, Mandal N C, Acharya K. Polyphenolic extract of *Termitomyces heimii*: antioxidant activity and phytochemical constituents[J]. *J Verbr Lebensm*, 2016, 11 (1): 25-31.

[5] 唐丽丽. 石榴皮多酚类物质的提取、纯化及抗氧化性研究[D]. 杨凌：西北农林科技大学，2010.

[6] 马雅鸽, 马亚宁, 张晓娟. 鸡枞菌总多酚提取工艺的优化[J]. 食品工业, 2015, 36 (6): 209-211.

[7] 汪铁山, 张生潭, 陈莉婧, 等. 半枝莲总多酚含量测定与超声提取工艺研究[J]. 中药材, 2010, 33 (11): 1808-1810.

[8] 白雨鑫, 郭 斌, 韩冠英, 等. 萝藦果壳多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36 (20): 278-283.

[9] 马婷婷, 田呈瑞, 李龙柱, 等. 响应曲面法优化黄参茎叶多酚的提取工艺及其抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32 (11): 1218-1226.

[10] Li X C, Lin J, Gao Y X, *et al.* Antioxidant activity and mechanism of *Rhizoma Cimicifugae*[J]. *Chem Cent J*, 2012, 6 (1): 140.

[11] Zeng D, Zhu S M. Purification, characterization, antioxidant and anticancer activities of novel polysaccharides extracted from *Bachu mushroom*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 107 (Pt A): 1086-1092.

[12] 李存玉, 马 赟, 刘奕洲, 等. Box-Behnken 响应面法优化川芎水提液纳滤工艺[J]. 中成药, 2017, 39 (2): 296-300.

[13] 高天曙, 赵义红, 王会丽. Box-Behnken 响应面分析法优化金银花药材中绿原酸与木犀草苷的提取工艺[J]. 中成药, 2014, 36 (10): 2211-2215.

[14] 王程成, 苏嘉炎, 蔡继炎, 等. 响应面优化朝鲜淫羊藿多糖提取条件及其肿瘤免疫活性研究[J]. 药学报, 2016, 51 (9): 1464-1471.

[15] 白雨鑫. 萝藦果壳多糖提取工艺优化及药理活性的研究[D]. 锦州：锦州医科大学，2016.

[16] 沈 慧, 陶宁萍, 赵林敏, 等. 辣木叶中多酚提取的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37 (18): 287-291, 296.

[17] 周 媛, 喻玲玲, 李新兰, 等. 苕麻叶中总多酚的含量测定[J]. 食品科技, 2009, 34 (4): 193-197.

[18] 张灵芝, 陈 健. 鸡枞菌子实体成分的分析与测定[J]. 食品工业科技, 2012, 33 (7): 358-361.

[19] 施渺筱, 李 祝, 邵静敏, 等. 伞塔菌与鸡枞菌子实体营养成分分析[J]. 食用菌, 2012 (1): 59, 62.