

响应面法优化核桃枝多酚的提取工艺及体外抗氧化活性研究^Δ

王晓岚*,刘冬梅,段煜[#](潍坊医学院药学院,山东潍坊 261053)

中图分类号 R284.2;R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)22-3124-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.22.27

摘要 目的:优化核桃枝多酚的提取工艺并评价其体外抗氧化活性。方法:以核桃枝多酚提取量为响应值,以料液比、提取温度和乙醇体积分数为响应因子,在单因素试验的基础上,采用响应面法优化核桃枝多酚的提取工艺;以维生素C为阳性对照,考察核桃枝多酚对羟自由基、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的清除能力及总还原能力,评价其体外抗氧化活性。结果:优化的核桃枝多酚的提取条件为料液比1:25(g/mL)、提取温度50℃、乙醇体积分数70%;验证试验中核桃枝多酚的提取量为9.30 mg/g (RSD=0.57%,n=3)。核桃枝多酚在质量浓度分别为12.0、3.0、3.0 μg/mL时对羟自由基、DPPH自由基的清除率和总还原能力分别为50.24%、95.42%、1.118,同质量浓度下维生素C的相关数据分别为93.71%、46.17%、0.628(P<0.05)。结论:用响应面法优化得到的核桃枝多酚提取工艺稳定、可行;核桃枝多酚具有一定的体外抗氧化活性。

关键词 核桃枝;多酚;提取工艺;响应面法;抗氧化活性

Optimization of Extraction Technology of Polyphenols from *Juglans regia* Branch by Response Surface Method and Study on Its Antioxidant Activity *in vitro*

WANG Xiaolan, LIU Dongmei, DUAN Yu (School of Pharmacy, Weifang Medical University, Shandong Weifang 261053, China)

达到“色黑如漆,味甘如饴”的标准。经过3批工艺验证试验证明,优化的熟地黄炮制工艺经济合理、稳定可行,适用于工业化炮制生产熟地黄。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:124-126.
- [2] 尚明月.地黄降压汤对肾性高血压大鼠血压及血浆血管紧张素Ⅱ、醛固酮影响的实验研究[D].长春:吉林大学,2007.
- [3] 刘静,刘梅,杨波,等.地黄提取物对高尿酸血症小鼠的影响[J].中国药物应用与监测,2015,12(6):347-350.
- [4] 张景岳.景岳全书[M].北京:人民卫生出版社,1991:1071.
- [5] 刘方,徐绍玲.地黄不同炮制品中梓醇含量比较[J].中国药房,2003,14(6):378-379.
- [6] 高涌.熟地黄炮制方法的研究[J].中医学报,2012,27(7):865-866.
- [7] 张志钦,王一硕,张振岭,等.专利设备炮制熟地黄的工艺研究及成品质量分析[J].时珍国医国药,2013,24(2):1461-1463.
- [8] 李卫先.用不同方法炮制的熟地黄还原糖含量的比较[J].中医药导报,2008,14(11):79-80.
- [9] 王小平,王进,陈建章.建昌帮与樟树帮、中国药典法炮制的熟地黄中还原糖含量比较[J].时珍国医国药,2010,21(1):90-91.
- [10] 胡志方,王小平,郭慧玲.江西建昌帮炮制地黄中辅料作用探索: I [J].中国实验方剂学杂志,2013,19(4):1-5.
- [11] 武双,崔秀明,郭从亮,等.不同蒸制法对三七主根中皂苷的影响[J].中草药,2015,46(22):3352-3356.
- [12] 刘峰,张恒,李静,等.地黄中梓醇的变化条件研究[J].中医药信息,2014,31(1):10-13.
- [13] 尚庆伟,贺清辉,张建军.地黄炮制过程中毛蕊花糖苷变化的研究[J].新中医,2014,46(5):209-211.
- [14] 黄洪新,徐道华,刘俊臣,等.地黄炮制前后5-羟甲基糠醛含量的研究[J].时珍国医国药,2012,23(4):938-939.
- [15] 张文萌,张石,付金楠,等. RP-HPLC 双波长法同时测定熟地黄中4种成分的含量[J].沈阳药科大学学报,2012,29(5):367-372.
- [16] 岳超,高杰,石上梅,等. HPLC 测定地黄炮制前后3种苷类物质的含量[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(4):71-74.
- [17] 李晓林,王敏,刘红彦,等.道地产区地黄不同品种间多糖量的比较[J].中草药,2008,39(8):1251-1253.
- [18] 秦梅颂,周丽丽,邹宇.正交试验法优选地黄多糖的提取工艺[J].安徽农学通报,2011,17(7):33-35.

^Δ 基金项目:山东省自然科学基金资助项目(No.ZR2013HQ024)

* 讲师,硕士。研究方向:天然药物化学。电话:0536-8462493。

E-mail: xiaolan_wang@126.com

[#] 通信作者:副教授,博士。研究方向:天然药物化学。电话:0536-8462493。E-mail: yudian78@126.com

(收稿日期:2016-11-24 修回日期:2016-12-29)

(编辑:刘萍)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of polyphenols from *Juglans regia* branch and evaluate its antioxidant activity *in vitro*. METHODS: Using extraction amount of polyphenols from *J. regia* branch as response value, solvent-solid ratio, extraction temperature and ethanol volume fraction as response factors, based on single factor test, response surface method was used to optimize the extraction technology of polyphenols from *J. regia* branch. Using vitamin C as positive control, scavenging on hydroxyl radicals and 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and total reducing activities of polyphenols from *J. regia* branch were investigated. And its antioxidant activity *in vitro* was evaluated. RESULTS: Optimized extraction conditions for polyphenols from *J. regia* branch was as follow as solid-liquid ratio of 1:25 (g/mL), extraction temperature of 50 °C, ethanol volume fraction of 70%. The extraction amount of polyphenols from *J. regia* branch was 9.30 mg/g (RSD=0.57%, n=3) in the verification test. Clearance rate on hydroxyl radicals and DPPH radicals and total reducing activity of polyphenols from *J. regia* branch were respectively 50.24%, 95.42%, 1.118 when it was under the mass concentration of 12.0, 3.0, 3.0 µg/mL; and the related data of vitamin C was 93.71%, 46.17%, 0.628 under the same mass concentration ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Extraction technology of polyphenols from *J. regia* branch optimized by response surface method is stable and feasible; polyphenols from *J. regia* branch shows certain antioxidant activity *in vitro*.

KEYWORDS *Juglans regia* branch; Polyphenols; Extraction technology; Response surface method; Antioxidant activity

核桃(*Juglans regia* L.),又名胡桃,为胡桃科(Juglandaceae)核桃属(*Juglans* L.)植物。核桃枝为核桃的嫩枝,具有杀虫止痒、解毒散结的功效,现代药理研究表明其可用于治疗食管癌、乳腺癌、胃癌及淋巴系统肿瘤等^[1-2]。已有研究表明,核桃果实、壳、青衣含有丰富的多酚类物质,并具有良好的抗氧化活性^[3],而国内外文献中对核桃枝多酚含量及其活性的文献报道较少。响应面法能以较少的试验次数和较短的时间对所选的考察因素及试验参数进行较全面的研究,故目前较多地应用于生物医药领域^[4]。笔者在本文中采用响应面法对核桃枝多酚的提取工艺进行优化研究,并考察提取所得的核桃枝多酚的体外抗氧化活性,旨在为核桃枝的开发利用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

UV-5100紫外-可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);EL204电子分析天平[瑞士梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.2 药材、药品与试剂

新鲜核桃枝于2016年4月采自山东潍坊,由潍坊医学院生药学教研室许崇梅副教授鉴定为核桃的新鲜枝条(核桃枝置于-40 °C冰箱中冻存,临用时粉碎,过50目筛);没食子酸对照品(批号:110831-201206,供含量测定用)、维生素C对照品(批号:100425-201103,纯度:100%)均来源于中国食品药品检定研究院;福林酚试剂(国药集团化学试剂有限公司);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)购自美国Sigma公司;其余试剂均为分析纯,水为去离子水。

2 方法与结果

2.1 多酚含量的测定

2.1.1 标准曲线的绘制 采用福林酚法^[5]。制备100 µg/mL的没食子酸对照品贮备液,准确移取0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL置于50 mL量瓶中,加入5 mL福林酚试

剂,摇匀,加入10 mL 20%碳酸钠溶液,水定容至刻度,室温反应2 h。于760 nm波长处测定吸光度(A),以没食子酸对照品溶液质量浓度为横坐标(c)、A为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程: $A=188.46c+0.0185$ ($R^2=0.9994$),表明没食子酸检测质量浓度线性范围为1.0~5.0 µg/mL。

2.1.2 核桃枝多酚含量的测定 准确称取核桃枝粉末5.0 g置于圆底烧瓶中,以一定料液比加入一定体积分数的乙醇溶液,在一定温度下,回流提取一定时间,抽滤,定容于250 mL量瓶中。准确移取200 µL提取液置于10 mL量瓶中,加入1 mL福林酚试剂,摇匀后,加入2 mL 20%碳酸钠溶液,加水定容至刻度,室温反应2 h。于760 nm波长处测定A,代入回归方程,计算多酚提取量(mg/g)=核桃枝中多酚质量/核桃枝药材质量。

2.1.3 含量测定的方法学验证 准确称取核桃枝粉末5.0 g,加入100 mL 70%乙醇溶液,在50 °C时提取90 min,作为供试品溶液。(1)准确度试验:通过加样回收率试验考察。向供试品溶液中加入一定量的没食子酸对照品溶液,按照“2.1.2”项下方法检测多酚含量,计算回收率为99.03% (RSD=0.74%, n=6)。(2)重复性试验:取同一质量浓度供试品溶液6份,检测多酚含量,结果RSD为0.71% (n=6),表明该方法重复性良好。(3)稳定性试验:取同一供试品溶液,按照“2.1.2”项下方法分别放置0、2、4、8、10、12、24 h后取样检测,结果吸光度的RSD为1.12% (n=7),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。(4)精密度试验:分别取同一质量浓度没食子酸对照品溶液,连续测量6次,结果吸光度的RSD为0.41% (n=6),表明该仪器精密度良好。以上方法学试验结果显示,该方法稳定、可靠,可用于核桃枝多酚的含量测定。

2.2 单因素试验

2.2.1 料液比对多酚提取量的影响 准确称取核桃枝粉末5.0 g,按照“2.1.2”项下方法,在提取时间90 min、

提取温度 50 ℃、乙醇体积分数 50% 条件下平行测定 3 次,考察料液比为 1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40 时对多酚提取量的影响,结果见图 1A。

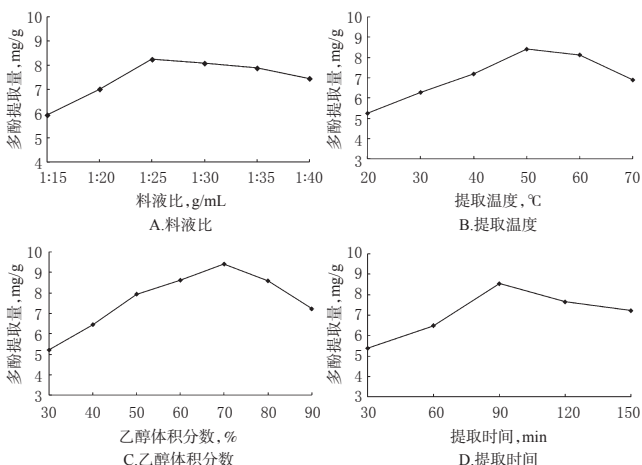


图 1 各因素对多酚提取量影响的单因素试验

Fig 1 Single factor test for the effects of each factor on extraction amount of polyphenols from *J. regia* branch

由图 1A 可知,料液比在 1:15~1:25 范围内,随着溶剂用量的增加,多酚提取量明显升高;当料液比为 1:25 时,提取量达到最大值 8.24 mg/g;此后随着溶剂用量的增加,多酚提取量无显著增加,反而有下降趋势。因此,选择料液比 1:20~1:30 进行响应面优化试验。

2.2.2 提取温度对多酚提取量的影响 准确称取核桃枝粉末 5.0 g,按照“2.1.2”项下方法,在提取时间 90 min、料液比 1:25、乙醇体积分数 50% 条件下平行测定 3 次,考察提取温度为 20、30、40、50、60、70 ℃ 时对多酚提取量的影响,结果见图 1B。

由图 1B 可知,提取温度在 20~50 ℃ 范围内,多酚提取量随着温度的升高而增加;超过 55 ℃ 后,温度继续升高,多酚提取量呈下降趋势,这可能是由于温度过高使热不稳定的多酚被破坏所致。因此,选择提取温度 40~60 ℃ 进行响应面优化试验。

2.2.3 乙醇体积分数对多酚提取量的影响 准确称取核桃枝粉末 5.0 g,按照“2.1.2”项下方法,在提取时间 90 min、料液比 1:25、提取温度 50 ℃ 条件下平行测定 3 次,考察乙醇体积分数为 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 时对多酚提取量的影响,结果见图 1C。

由图 1C 可知,当乙醇体积分数在 30%~70% 范围内,随着乙醇体积分数的增大,多酚提取量显著增加;当乙醇体积分数达到 70% 时,多酚提取量达到最大值;此后多酚提取量呈下降趋势。因此,选择乙醇体积分数 60%~80% 进行响应面优化试验。

2.2.4 提取时间对多酚提取量的影响 准确称取核桃枝粉末 5.0 g,按照“2.1.2”项下方法,在料液比 1:25、提取温度 50 ℃、乙醇体积分数 50% 条件下平行测定 3 次,考

察提取时间为 30、60、90、120、150 min 时对多酚提取量的影响,结果见图 1D。

由图 1D 可知,提取时间在 30~90 min 时,多酚提取量随着提取时间延长而显著增加;提取时间为 90 min 时多酚提取量达到最大;此后随着提取时间的延长,多酚提取量反而降低,这可能由于时间的增加使部分多酚被氧化而导致含量降低。因此,选择提取时间为 90 min。

2.3 响应面法优化核桃枝多酚的提取条件

2.3.1 响应模型的建立和分析 在单因素试验的基础上,根据 Box-Behnken 试验设计原理^[6],设定提取时间为 90 min,核桃枝粉末用量 5.0 g,选取料液比(X_1)、提取温度(X_2)和乙醇体积分数(X_3)这 3 个影响较为显著的因素作为考察变量,采用 3 因素 3 水平的响应面分析法,以多酚提取量为响应值,对核桃枝多酚提取工艺进行优化。多酚含量测定按照“2.1.2”项下方法。因素与水平见表 1,试验方案与结果见表 2。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	X_1 (料液比),g/mL	X_2 (提取温度),℃	X_3 (乙醇体积分数),%
-1	1:20	40	60
0	1:25	50	70
1	1:30	60	80

表 2 试验方案与结果

Tab 2 Design and results of tests

试验号	X_1	X_2	X_3	多酚提取量,mg/g
1	0	-1	-1	7.12
2	1	-1	0	7.44
3	0	1	1	7.22
4	0	1	-1	7.63
5	0	0	0	9.34
6	-1	0	-1	7.67
7	0	-1	1	6.29
8	-1	1	0	7.69
9	0	0	0	9.40
10	-1	-1	0	6.28
11	0	0	0	9.38
12	1	1	0	7.89
13	-1	0	1	6.51
14	1	0	1	7.69
15	0	0	0	9.28
16	0	0	0	9.30
17	1	0	-1	7.72

利用 Design-Expert 8.0 软件对表 2 试验数据进行二次多项式回归拟合,得多酚提取量对 X_1 、 X_2 、 X_3 的数学回归模型为:多酚提取量(mg/g) = 9.34 + 0.32 X_1 + 0.41 X_2 - 0.3 X_3 - 0.24 X_1X_2 - 0.28 X_1X_3 + 0.1 X_2X_3 - 0.84 X_1^2 - 1.17 X_2^2 - 1.1 X_3^2 。对此模型进行方差分析,结果见表 3;绘制响应面和等高线图,见图 2。

响应面图上等高线的形状可反映交互效应的强弱,椭圆形表示两因素交互作用显著,圆形则表示交互作用不显著^[7]。由图 2 可知, X_1 与 X_2 的曲面变化幅度较大,提

表3 方差分析结果

Tab 3 Variance analysis results

误差来源	离均差平方和	自由度	均方差	F	P
模型	19.01	9	2.11	423.94	<0.000 1
X_1	0.84	1	0.84	168.30	<0.000 1
X_2	1.36	1	1.36	273.23	<0.000 1
X_3	0.74	1	0.74	148.15	<0.000 1
X_1X_2	0.23	1	0.23	46.25	0.0003
X_1X_3	0.32	1	0.32	64.07	<0.000 1
X_2X_3	0.044	1	0.044	8.85	0.020 7
X_1^2	2.98	1	2.98	598.10	<0.000 1
X_2^2	5.80	1	5.80	1 164.32	<0.000 1
X_3^2	5.11	1	5.11	1 024.92	<0.000 1
残差	0.035	7	4.982×10^{-3}		
失拟	0.024	3	8.158×10^{-3}	3.14	0.1491
误差	0.010	4	2.600×10^{-3}		
总和	19.04	16			

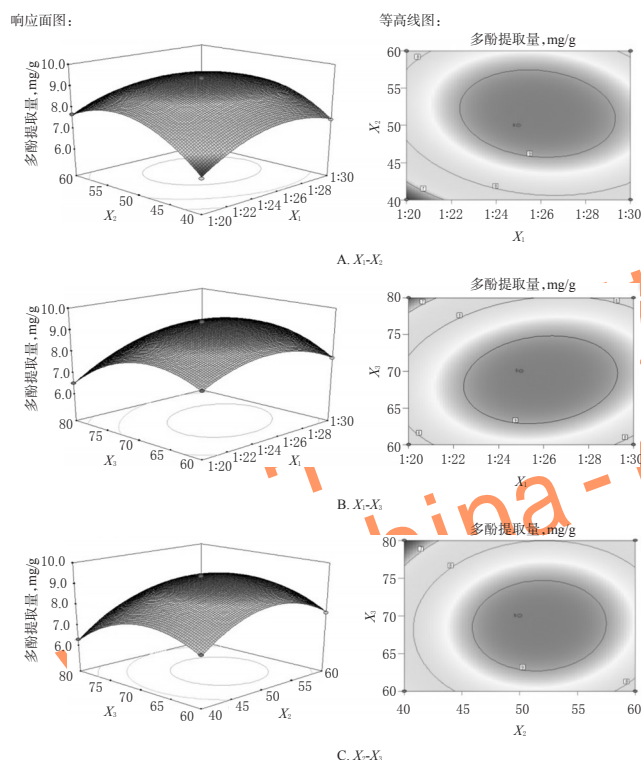


图2 各因素对多酚提取量影响的响应面和等高线图

Fig 2 Response surface and contour plots for the effects of each factor on extraction amount of polyphenols

示料液比和提取温度对多酚提取量的影响最为显著;其次为乙醇体积分数,表现为曲面变化幅度较平缓,这与方差分析结果一致。由等高线的形状可知, X_1 与 X_2 的等高线呈椭圆形,提示二者交互作用最为显著; X_1 与 X_3 的交互作用次之; X_2 与 X_3 的等高线近似圆形,提示二者交互作用不显著。

通过响应面法进行多元回归模型预测,得到最优提取工艺条件为:料液比1:25.76(g/mL)、提取温度51.56℃、乙醇体积分数68.89%。该条件下多酚提取量预测值为9.42 mg/g。

2.3.2 验证试验 准确称取核桃枝粉末5.0 g,考虑实际操作条件,重新调整设定各参数为料液比1:25(g/mL)、提取温度50℃、乙醇体积分数70%,在此条件下核桃枝多酚提取量为9.30 mg/g(RSD=0.57%, $n=3$),与预测值相对误差为1.28%。验证值与预测值比较接近,提示采用响应面法优化所得核桃枝多酚提取条件稳定。

为了适应工业生产,验证提取工艺的可靠性,进行了放大试验。准确称取核桃枝粉末250.0 g,各3份,按上述条件提取多酚,测得多酚提取量分别为9.29、9.35、9.31 mg/g,均值为9.32 mg/g(RSD=0.33%, $n=3$),与预测值相对误差为1.07%,实测值与预测值比较接近。

2.4 核桃枝多酚体外抗氧化活性研究

2.4.1 羟自由基清除能力 采用经典羟自由基清除率检测方法^[8]。在10 mL具塞刻度试管中,依次分别加入1.0 mL的4.5 mmol/L硫酸亚铁、1.0 mL的4.5 mmol/L水杨酸-乙醇溶液,摇匀,分别准确加入0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL质量浓度为50 μ g/mL(以核桃枝多酚提取物质量计,溶剂为乙醇溶液,下同)的核桃枝多酚溶液及2.0、1.8、1.6、1.4、1.2、1.0、0.8 mL水,最后加入1.0 mL的4.4 mmol/L过氧化氢溶液,于37℃水浴反应30 min,在510 nm波长处测A。将加入样品溶液体积为0 mL的试管的A记为 A_0 ,其余试管记为 A_i ,用1 mL水代替1 mL过氧化氢溶液所得A记为 A_{10} ,以维生素C为阳性对照,平行测定3次,取平均值。计算清除率 $\{[1 - (A_i - A_0)/A_{10}] \times 100\%$,得多酚质量浓度分别为2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 μ g/mL时对羟自由基的清除率为10.32%、19.87%、27.24%、36.73%、42.17%、50.24%(维生素C为93.71%)。采用SPSS 16.0软件进行独立样本t检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义(下同),结果见图3A。

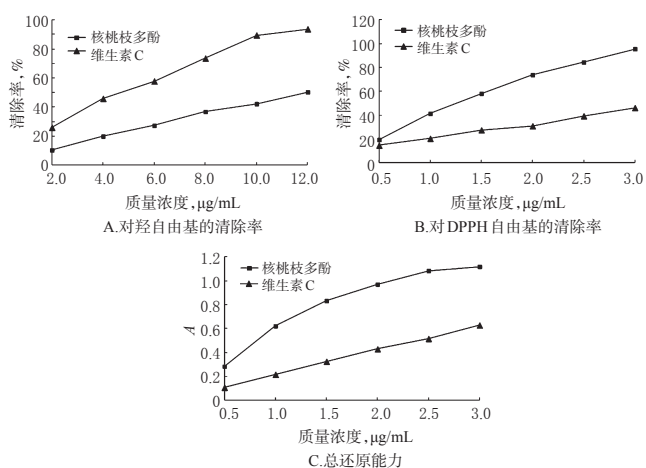


图3 核桃枝多酚的体外抗氧化活性测定结果

Fig 3 Determination results of antioxidant activity in vitro of polyphenols from *J. regia* branch

由图3A可知,在试验质量浓度范围内,核桃枝多酚和维生素C均具有清除羟自由基的作用,且清除率随着质量浓度的增大而升高,呈明显的剂量依赖关系。但多

酚对羟自由基的清除率明显低于相同质量浓度的维生素C,二者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.4.2 DPPH 自由基清除能力 采用经典DPPH自由基清除率检测方法^[9]。在10 mL具塞刻度试管中,精密加入2.0 mL的0.04 mg/mL DPPH乙醇溶液,分别准确移取20、40、60、80、100、120 μL 质量浓度为125.0 $\mu\text{g/mL}$ 的核桃枝多酚溶液,加水至5 mL,充分混合,室温避光反应30 min,571 nm波长处测定 A ,记为 A_i ;以等体积无水乙醇代替多酚提取液,同法操作所得 A 记为 A_0 ;以等体积无水乙醇代替DPPH乙醇溶液,加入不同质量浓度的多酚提取液,同法操作所得 A 记为 A_{i0} ;以维生素C为阳性对照,平行测定3次,取平均值,计算清除率。结果,多酚质量浓度分别为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 $\mu\text{g/mL}$ 时,对DPPH自由基的清除率分别为19.30%、41.21%、58.00%、73.75%、84.37%、95.42%(维生素C为46.17%),结果见图3B。

由图3B可知,在试验质量浓度范围内,核桃枝多酚和维生素C均具有清除DPPH自由基的作用,且清除率随着质量浓度的增大而升高,呈明显的剂量依赖关系。并且在相同质量浓度下,多酚的清除率明显高于维生素C,二者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.4.3 总还原能力 采用普鲁士蓝法^[10]。在700 nm波长下测定 A ,待测样品的 A 越大,其还原力越强,抗氧化活性就越强^[11]。准确移取20、40、60、80、100、120 μL 质量浓度为125.0 $\mu\text{g/mL}$ 的核桃枝多酚溶液,加水至0.5 mL,依次加入1.0 mL pH 6.6的磷酸盐缓冲溶液、2.0 mL 1%铁氰化钾,于50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴20 min后急速冷却,加入1.0 mL 10%三氯乙酸、0.5 mL 0.1%三氯化铁,摇匀,室温下静置10 min;以维生素C为阳性对照,在700 nm波长处测 A ,平行测定3次,取平均值。结果,核桃枝多酚质量浓度分别为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 $\mu\text{g/mL}$ 时, A 分别为0.284、0.621、0.832、0.97、1.084、1.118(维生素C为0.628),结果见图3C。

由图3C可知,在试验质量浓度范围内,随核桃枝多酚和维生素C的质量浓度增大而 A 明显增加,提示二者均具有良好的还原能力,且核桃枝多酚的还原能力要优于维生素C,二者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

本研究通过响应面法得到核桃枝多酚的最优提取工艺,验证试验结果显示采用该工艺得到的多酚提取量符合理论预测值,提示采用Box-Behnken响应面法优化核桃枝多酚提取条件可行,并且可以为核桃枝多酚提取的产业化提供指导。

本研究从羟自由基和DPPH自由基的清除能力及总还原能力3个方面对核桃枝多酚体外抗氧化活性进行了评价,较全面地反映了核桃枝多酚的抗氧化活性。试验结果显示,核桃枝多酚具有良好的体外抗氧化活性,其

在清除DPPH自由基和总还原能力方面优于等量维生素C,可作为潜在的天然抗氧化剂和自由基清除剂加以开发。

生命科学研究表明,人类的某些疾病(如肿瘤、心脑血管疾病)的发病机制与体内物质的氧化有着密切的联系,从天然产物中寻找抗氧化剂是目前研究的热点^[12]。多酚类化合物是一类活性较强的抗氧化物质,而目前对核桃枝多酚的提取方式和提取物活性研究的文献报道较少^[13],因此本研究对核桃枝资源的开发利用具有一定的指导意义。但同时本研究也存在着一定的局限性,如未对核桃枝多酚的体内抗氧化活性进行评价,未确定核桃枝多酚的具体种类和成分,这些研究将在后续工作中进行。

参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典:上册[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社,2006:2184.
- [2] 于冬梅,刘熙,李冬梅,等. 云南漾濞泡核桃壳醇沉物对人肺癌、肝癌细胞增殖的影响[J]. 中成药,2015,37(10):2299-2302.
- [3] 郜海燕,李兴飞,陈杭君,等. 山核桃多酚物质提取及抗氧化研究进展[J]. 食品科学,2011,32(5):336-340.
- [4] 杨欣,宋健平,关业枝,等. 响应面法优化巴戟天低聚糖提取工艺[J]. 中国药房,2015,26(34):4847-4850.
- [5] 黄雅,陈华国,周欣,等. 黔产接骨草中总多酚的含量测定及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2017,29(2):255-263.
- [6] 金林,赵万顺,郭巧生,等. 响应面法优化白芍提取工艺的研究[J]. 中国中药杂志,2015,40(15):2988-2993.
- [7] Sun Y, Wu WQ, Zhang WQ, *et al.* Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from Kudingcha made from Ilexkudingcha C. J. Tseng by using response surface methodology[J]. *Separation and Purification Technology*, 2011,78(3):311-320.
- [8] 王春景,胡小梅,张鼎,等. 鸡眼草抗氧化活性部位的筛选及其黄酮和总酚含量[J]. 中药材,2014,37(5):868-871.
- [9] 乐世俊,唐于平,王林艳,等. 红花中黄酮类化合物的分离与体外抗氧化研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(17):3295-3300.
- [10] 于侃超,杨晓杰,王瑶,等. 不同提取方法对桔梗多糖体外抗氧化性的影响[J]. 天然产物研究与开发,2016,28(2):251-256.
- [11] 曾维才,石碧. 天然产物抗氧化活性的常见评价方法[J]. 化工进展,2013,32(6):1205-1213.
- [12] 杜玉,娄红祥. 天然植物抗氧化剂的作用机制研究概况[J]. 中药材,2006,29(7):739-743.
- [13] 潘乔丹,黄河河,杜清华,等. 核桃根和枝不同极性成分的抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2013,41(10):262-264.

(收稿日期:2016-11-09 修回日期:2017-04-13)

(编辑:刘 萍)