

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2020.04.027

响应面法优化黄精叶多糖水提工艺

杨朝君¹, 严培¹, 罗禹², 穆怡含¹, 刘明坤³, 高平¹

(1. 四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065;
2. 西南医科大学药学院, 泸州 646000; 3. 泸州市森奥中药材有限公司, 泸州 646000)

摘要: 为建立与优化黄精叶多糖提取工艺, 采用水提法提取黄精叶多糖, 利用蒽酮-硫酸法测定多糖含量. 以多糖提取率及出膏率为试验指标, 在单因素试验基础上, 通过三因素三水平 Box-Behnken 响应面法(RSM)优化黄精叶中多糖的提取条件. 结果显示黄精叶多糖最佳提取工艺为: 提取温度 75 ℃, 液料比 15:1, 提取时间 2.5 h. 在此条件下, 药材的出膏率为(47.65±0.16)%, 多糖得率为(7.21±0.073)%. 该水提工艺条件稳定可行, 多糖得率较高.

关键词: 黄精叶; 多糖; 响应面法; 水提工艺

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2020)04-0791-06

Optimization of water extraction process for polysaccharides from leaves of polygonatum by response surface methodology

YANG Chao-Jun¹, YAN Pei¹, LUO Yu², MU Yi-Han¹, LIU Ming-Kun³, GAO Ping¹

1. Key Laboratory Bio-resources and Eco-environment of Ministry Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China;
2. School of Pharmaceutical Sciences, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China;
3. Luzhou Sen'ao traditional Chinese Medicine, Co., Ltd, Luzhou 646000, China)

Abstract: To establish and optimization the extraction process of polysaccharide from Polygonatum leaves, the polysaccharide was extracted by the water extraction method, and the content of polysaccharide was determined by the anthrone-sulfuric acid method. Based on the yield rate of polysaccharide and the extraction ratio, the three-factor and three-level Box-Behnken response surface methodology(RSM) was used to optimize the extraction process of polysaccharide from Polygonatum leaves by single factor test. The best extraction process of polysaccharide from Polygonatum leaves was: extraction temperature 75 ℃, the ratio of liquid-material 15 : 1, extraction time 2.5 h. Under this condition, the extraction ratio was (47.65±0.16) %, and the polysaccharide yield rate was (7.21±0.073) %. The water extraction process of polysaccharide from polygonatum leaves was stable and feasible, and also has a high yield rate.

Keywords: Leaves of polygonatum; Polysaccharides; Response surface methodology; Water extraction process

收稿日期: 2019-10-23
基金项目: 四川大学-泸州市人民政府战略合作项目(2018CDLZ-15); 合江县人民政府-西南医科大学战略合作项目(2019-HJXNYD-1)
作者简介: 杨朝君(1996-), 女, 四川泸州人, 硕士研究生, 主要研究领域为药用天然产物. E-mail: 438010189@qq.com
通讯作者: 高平. E-mail: gaop@scu.edu.cn

1 引言

中药黄精(*Polygonatum Rhizoma*)为百合科植物滇黄精(*Polygonatum kingianum*)、黄精(*Polygonatum sibiricum*)或多花黄精(*Polygonatum cyrtonema*)的干燥根茎^[1-3]。主要分布于四川、云南、贵州和陕西等地^[4]。研究表明,黄精中含有多种生物活性成分,如多糖、甾体皂苷、黄酮、植物甾醇、挥发油等^[5]。其中,多糖为黄精中主要药效成分之一,具有降血脂血糖、增强免疫力、抗氧化、抗肿瘤、耐疲劳、耐缺氧等多种药理作用^[6-7],具有较高医疗保健价值。目前,大多数的研究主要围绕黄精根部开展,而黄精叶等地上部分却未得到充分开发利用,相关研究也未见报道。生产实践表明,采集一吨黄精根部药材会产生约 400 kg 茎叶的副产物,一般做丢弃处理,既浪费资源又污染环境。因此,为有效提高黄精药材的综合利用价值,获取更大的经济收益,对黄精叶化学成分的相关研究极有必要^[8]。

目前提取植物多糖的研究中多采用溶剂提法、超声波辅助溶剂提取法、微波辅助溶剂提取法、超声-微波协同提取法、酶解法、超临界流体萃取法等^[9-12]。而溶剂提取法是从植物中提取多糖的常用方法,在所有溶剂中,水是典型的强极性溶剂,对植物组织的穿透力强,提取效率高,在生产上使用安全被广泛应用^[12]。此外,响应面法^[13](Response Surface Methodology, RSM)是一种综合试验设计和数学建模的优化方法,可有效减少试验次数,通过分析响应面图的陡峭程度和等高线图的疏密度,可判别在最优条件下不同变量的取值和所产生交互作用。在提取试验中 RSM 应用广泛且高效,Shen 等^[10]通过 RSM 法设计优化了云南重楼叶多糖的提取条件,实验收率 54.18%;张丽等^[14]通过 RSM 法优化黄精茎秆中总多糖、总皂苷、总黄酮的超声提取工艺;Han 等^[15]通过 RSM 法优化了构树多糖最佳提取条件,多糖得率为 8.61%。

本实验以黄精叶为研究对象,建立 Box-Behnken^[16]中心组合设计,首先通过单因素实验得到温度等影响因子的最佳实验值,然后通过模拟二次回归模型,分析提取时间、提取次数、料液比之间的交换作用以及对黄精叶出膏率和多糖得率的影响,从而高效的确定最优提取工艺条件。本实验对黄精叶多糖进行研究,为研究黄精叶多糖药用价值,提高黄精综合利用率及后续产品的开发提供理论

基础。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 实验材料 黄精叶(泸州森奥中药材有限公司),产地四川泸州市叙永县,为多花黄精。对照品 D-无水葡萄糖(成都植标化纯生物技术有限公司)。

2.1.2 试剂 浓硫酸、乙醇(成都市科隆化学制品有限公司)和蒽酮(上海科丰实业有限公司)。所有的化学试剂都是分析级。

2.1.3 仪器 精密电子天平(BSA124S,北京赛多利斯仪器系统有限公司);机械超声波清洗机(北京科玺世纪科技有限公司);电热恒温水浴锅(DK-S22,上海精宏实验设备有限公司);紫外分光光度计 721 型(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);电热鼓风干燥箱(101-O,上海阳光实验仪器有限公司);手提式高速万能粉碎机(DFT-200,温岭市林大机械有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准曲线绘制 取葡萄糖标准品适量,105℃烘干至恒重,精密称定,置于 100 mL 容量瓶中,用蒸馏水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。精密量取对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL,分别置于 10 mL 具塞刻度试管中,各加蒸馏水至 2.0 mL,摇匀,在冰水浴中缓慢滴加 0.2%蒽酮-硫酸溶液至刻度,混匀,放冷后置水浴中保温 10 min,取出,立即置冰水浴中冷却 10 min,取出。以相应试剂为空白,采用紫外-可见分光光度法^[17],在最大吸收波长下测定吸光度。以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线得回归方程为: $Y=1.9823x-0.0038$ ($r^2=0.9991$)。结果表明,在此浓度范围内葡萄糖溶液浓度与吸光值呈良好的线性关系,见图 1。

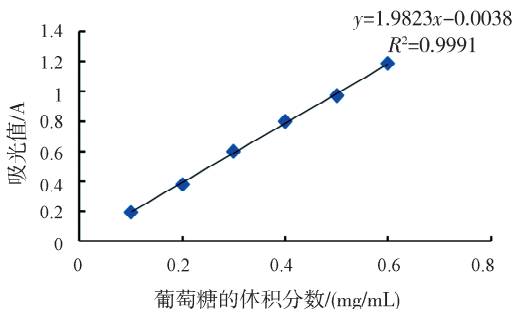


图 1 葡萄糖标准曲线

Fig. 1 The standard curve of glucose

2.2.2 黄精多糖的测定 取黄精药材的叶,在 40~

50℃恒温干燥箱中干燥,粉碎,过 40 目筛. 精确称重 3 g 黄精叶粉末,蒸馏水浸提,过滤,精密吸取滤液 1 mL,用蒸馏水稀释 150 倍后,精密吸取 0.6 mL 至 10 mL 刻度试管,加蒸馏水补足至 2.0 mL,按《中华人民共和国药典》2015 版一部(306 页),在 582 nm 测定吸光度^[2],根据以下公式计算黄精叶多糖含量.

$$W = \left(\frac{CV}{M} \right) \times 100\%$$

式中:W 为黄精叶多糖含量(%);C 为样品溶液多糖质量浓度 (mg/mL);V 为样品定容体积 (mL);M 为原料质量 (g).

2.2.3 单因素试验 影响黄精叶多糖提取的因素很多,其中经预实验,选择提取温度(4、20、40、60、70、80、100 ℃)、提取时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h)、液料比(5 : 1、10 : 1、15 : 1、20 : 1、25 : 1、30 : 1、40 : 1 mL/g).

2.2.4 响应面设计 应用 Design-Expert11 软件进行 Box-Behnken 实验设计,研究分析了提取温度(X_1)、提取时间(X_2)、液料比(X_3)这 3 个参数之间的相互作用对药材出膏率(Y)、黄精叶多糖得率(K)所产生的影响. 试验因素与水平设计见表 1.

表 1 响应面因素与水平

Tab. 1 Factors and levels of RSM

因素	水平		
	-1	0	1
X_1 温度/℃	40	70	100
X_2 时间/h	0.5	2	3.5
X_3 液料比/(mL/g)	5	15	25

3 结果与分析

3.1 单因素试验结果与分析

3.1.1 提取温度对黄精叶多糖提取率的影响 固定多糖的液料比 15 : 1,提取时间 2.0 h,考察提取温度对多糖提取率的影响,见图 2. 随温度升高,在 40~70 ℃之间,多糖提取率增加,80 ℃之后,随温度上升提取率有下降趋势. 可能与加温不适影响多糖稳定性有关. 从实验结果及节能方面考虑,选取 70 ℃为最佳提取温度.

3.1.2 提取时间对黄精叶多糖提取率的影响 固定多糖的提取温度为 70 ℃,液料比 15 : 1,考察提取时间对多糖提取率的影响,见图 3. 在 0.5~2.0

h 内,多糖提取率与时间的增加成正比,而 2.0~3.5 h 之间提取率没有明显变化,总体呈下降趋势. 时间的增加可能会导致多糖受热过高降解从而降低多糖提取率,为缩短提取时间节省能耗,提取时间选取 1.5 h 为宜.

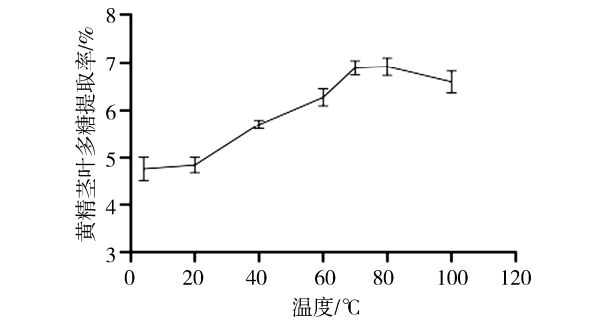


图 2 提取温度对黄精叶多糖提取率的影响
Fig. 2 The temperature impacts on extracting polysaccharides from leaves of polygonatum

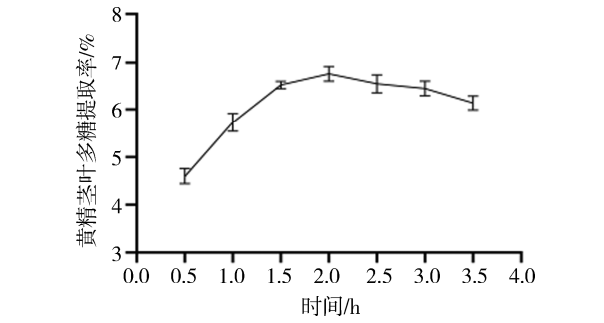


图 3 提取时间对黄精叶多糖提取率的影响
Fig. 3 The time impacts on extracting polysaccharides from leaves of polygonatum

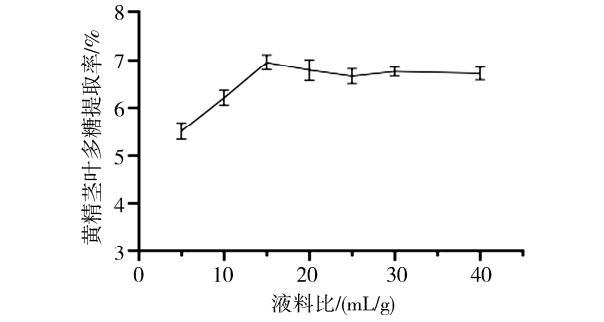


图 4 液料比对黄精叶多糖提取率的影响
Fig. 4 The liquid-material ratio impacts on extracting polysaccharides from leaves of polygonatum

3.1.3 液料比对黄精叶多糖提取率的影响 固定多糖的提取温度为 70 ℃,提取时间为 2.0 h,考察液料比对多糖提取率的影响,见图 4. 液料比在 5 : 1~15 : 1 之间,多糖提取率显著增加,在 15 : 1~40 : 1 之间时提取率没有明显变化. 可能由于干燥的黄精叶需吸收较多的水分,待充分浸润后才易于多糖溶出. 因此,从实验结果及节能方面考虑,

选择 15 : 1 为最佳液料比。

3.2 黄精叶出膏率 Box-Behnken 响应面实验设计
及实验结果

响应值指标为黄精叶出膏率(Y), 预测值为
(Y'), 见表 2.

表 2 黄精叶出膏率的响应面设计及结果

Tab. 2 The design and results of RSM test for extract
yield of leaves of polygonatum

序号	X ₁	X ₂	X ₃	Y(出膏率, %)	Y'(预测值, %)
1	-1	-1	0	42.75	42.89
2	-1	0	1	44.18	44.28
3	-1	0	-1	43.19	43.10
4	-1	1	0	45.67	45.51
5	0	-1	-1	44.00	43.94
6	0	-1	1	45.33	45.08
7	0	0	0	47.50	47.57
8	0	0	0	47.27	47.57
9	0	0	0	47.73	47.57
10	0	0	0	47.37	47.57
11	0	0	0	48.00	47.57
12	0	1	-1	45.97	46.22
13	0	1	1	45.57	45.63
14	1	-1	0	45.83	45.99
15	1	0	1	45.17	45.26
16	1	0	-1	46.00	45.90
17	1	1	0	46.33	46.19

表 3 黄精叶出膏率的回归模型的方差分析

Tab. 3 The variance analysis results of regression mode
for extract yield of leaves of polygonatum

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	38.46	9	4.27	49.62	<0.000 1 * *
X ₁	7.11	1	7.11	82.51	<0.000 1 * *
X ₂	3.96	1	3.96	46.00	0.000 3 * *
X ₃	0.148 5	1	0.148 5	1.72	0.230 5
X ₁ X ₂	1.46	1	1.46	17.00	0.004 4 * *
X ₁ X ₃	0.828 1	1	0.828 1	9.61	0.001 73 * *
X ₂ X ₃	0.748 2	1	0.748 2	8.69	0.021 5 *
X ₁ ²	9.55	1	9.55	110.84	<0.000 1 * *
X ₂ ²	3.59	1	3.59	41.67	0.000 3 * *
X ₃ ²	8.65	1	8.65	100.42	<0.00 01 * *
残差	0.602 9	7	0.086 1	—	—
失拟项	0.257 6	3	0.085 9	0.994 5	0.480 8
纯误差	0.345 3	4	0.086 3	—	—
总变异	39.07	16	—	—	—
R ²	0.984 6	—	—	—	—
Adj R ²	0.964 7	—	—	—	—
Pred R ²	0.880 7	—	—	—	—
精密度	20.793 2	—	—	—	—
C. V. %	0.645 1	—	—	—	—

注: * * 表示极显著 $P<0.01$; * 表示显著 $P<0.05$; R^2 为判定
系数校正值; Adj R^2 为判定系数预测值; C. V. 为变异系数

拟合全变量二次回归方程 $Y=45.57+0.9425\times X_1+0.7038\times X_2+0.1363\times X_3-0.6050\times X_1X_2-0.4550\times X_1X_3-0.4325\times X_2X_3-1.51\times X_1^2-0.9233X_2^2-1.43\times X_3^2$. 本模型的 F 值为 49.62, P 值<0.01, 极显著, 说明本模型具有显著性; 失拟项的 P 值为 0.4808, 不显著, 说明所建立模型拟合程度好. 相关系数 $R^2=0.9846$, Adj $R^2=0.9647$, 证明模型的实际值与预测值之间相关性好. 结果表明 X_1 、 X_2 对 Y 的影响极显著, X_3 对 Y 影响不显著. 三因素之间两两的交互作用对 Y 影响显著, 二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对 Y 极显著. 根据数据方差分析结果, 三因素对 Y 的影响大小排序为 $X_1>X_2>X_3$, 见表 3.

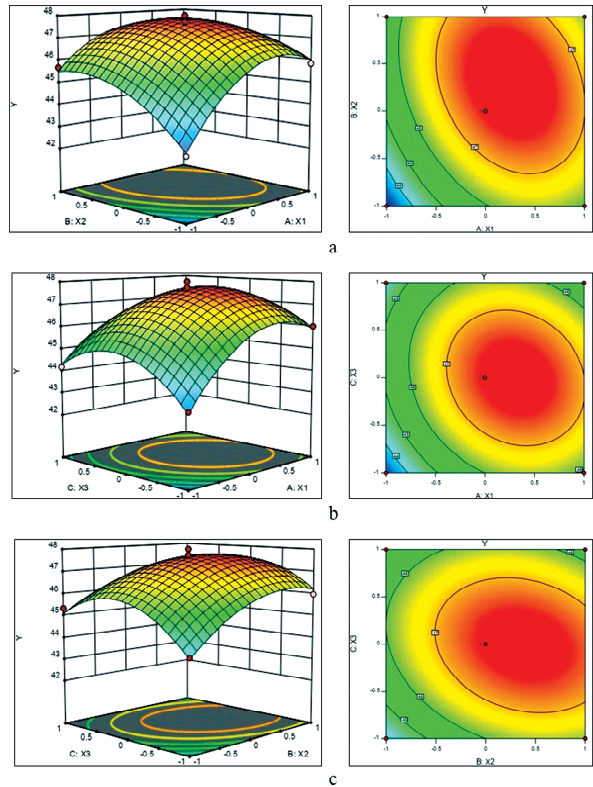


图 5 各因素交互作用对黄精叶多糖出膏率影响
Fig. 5 The interaction of various factors impacts on ex-
tract yield from leaves of polygonatum

由图 5(a)(b)可以看出 X_1 的响应面相对陡峭, 等高线较密集, X_2 和 X_3 的响应面相对平缓, 等高线稀疏, 说明 X_1 对 Y 的影响比 X_2 和 X_3 更显著. 由图 5(c)可知, X_2 的响应面相对陡峭, 等高线较密集, X_3 的响应面相对平缓, 等高线稀疏, 说明 X_2 对 Y 的影响比 X_3 更显著. 上述结果与方差分析结果 (表 3) 表现一致.

3.3 黄精叶多糖得率

响应值指标为黄精叶多糖得率(K) 预测值为

(K'),见表 4.

表 4 黄精叶多糖得率的响应面分析及结果
Tab. 4 RSM analysis and results for polysaccharide yield of leaves of polygonatum

序号	X_1	X_2	X_3	K (多糖得率,%)	K' (预测值,%)
1	-1	-1	0	5.757	5.69
2	-1	0	1	6.280	6.37
3	-1	0	-1	6.299	6.34
4	-1	1	0	6.725	6.66
5	0	-1	-1	6.298	6.33
6	0	-1	1	5.550	5.53
7	0	0	0	7.110	7.17
8	0	0	0	7.200	7.17
9	0	0	0	7.180	7.17
10	0	0	0	7.233	7.17
11	0	0	0	7.142	7.17
12	0	1	-1	6.400	6.42
13	0	1	1	6.910	6.88
14	1	-1	0	6.160	6.22
15	1	0	1	6.480	6.44
16	1	0	-1	6.915	6.82
17	1	1	0	6.619	6.69

对结果进行数据拟合分析,得到拟合全变量二次回归方程 $K=7.173+0.139125\times X_1+0.361125\times X_2-0.0865\times X_3-0.12725\times X_1X_2-0.104\times X_1X_3+0.3145\times X_2X_3-0.326875\times X_1^2-0.530875X_2^2-0.352625\times X_3^2$. 本模型的 F 值为 66.06, P 值 <0.01 ,极显著,说明本模型具有显著性;失拟项的 P 值为 0.063 3,不显著,说明所建立模型拟合程度好. $R^2=0.9884$, $Adj R^2=0.9734$,证明模型实际值与预测值之间相关性好. 结果表明 X_1 、 X_3 对 K 的影响极显著, X_2 对 K 影响显著. 两两因素的交互作用对 K 影响显著,二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对 K 影响极显著. 以上结果表明 X_1 、 X_2 、 X_3 是黄精叶多糖提取过程中的重要影响因素,三个因素对 K 的影响大小排序为 $X_2>X_1>X_3$,见表 5.

由图 6(a)可以看出 X_2 的响应面相对陡峭,等高线较密集, X_1 的响应面相对平缓,等高线稀疏,说明 X_2 对 K 影响比 X_1 更显著. 同理,由图 6(b)可以看出 X_1 的响应面相对陡峭,等高线较密集, X_3 的响应面相对平缓,等高线稀疏,说明 X_1 对 K 影响比 X_3 更显著. 由图 6(c)可知,响应面最陡峭,表明 X_2X_3 交互作用对黄精叶多糖的提取率影响最大. 上述结果与方差分析结果(表 5)表现一致.

表 5 黄精叶多糖得率参数数学回归分析结果
Tab. 5 Results of mathematical regression analysis for polysaccharide yield of leaves of polygonatum

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	4.16	9	0.4621	66.06	$<0.0001^{**}$
X_1	0.154 8	1	0.154 8	22.14	0.0022^{**}
X_2	1.04	1	1.04	149.15	$<0.0001^{**}$
X_3	0.059 9	1	0.059 9	8.56	0.0222^{*}
X_1X_2	0.064 8	1	0.064 8	9.26	0.0188^{*}
X_1X_3	0.043 3	1	0.043 3	6.19	0.0418^{*}
X_2X_3	0.395 6	1	0.039 56	56.56	0.0001^{**}
X_1^2	0.449 9	1	0.449 9	64.32	$<0.0001^{**}$
X_2^2	1.19	1	1.19	169.65	$<0.0001^{**}$
X_3^2	0.523 6	1	0.523 6	74.85	$<0.0001^{**}$
残差	0.049 0	7	0.007 0	—	—
失拟项	0.039 7	3	0.013 2	3.76	0.063 3
纯误差	0.009 3	4	0.002 3	—	—
总变异	4.21	16	—	—	—
R^2	0.988 4	—	—	—	—
Adj R^2	0.973 4	—	—	—	—
Pred R^2	0.845 7	—	—	—	—
精密度	25.654 8	—	—	—	—
C. V. %	1.27	—	—	—	—

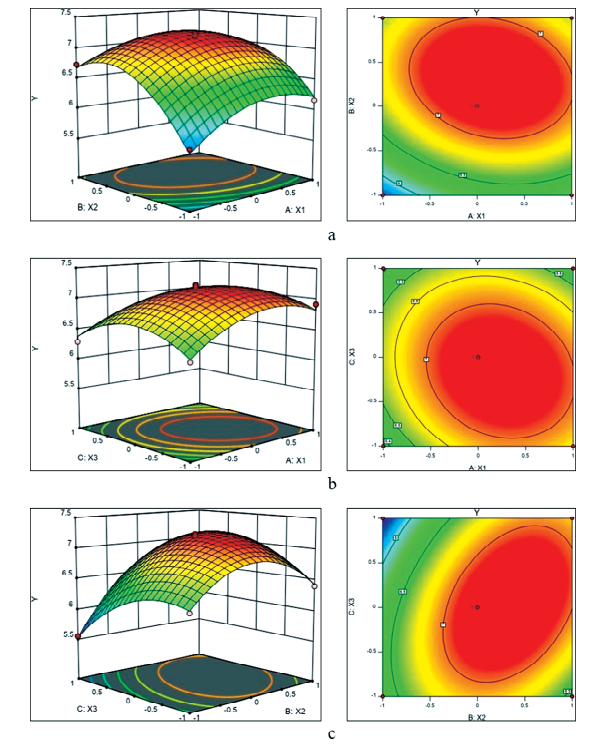


图 6 各因素交互作用对黄精叶多糖得率影响的响应面图
Fig. 6 The interaction of various factors impacts on polysaccharide yield from leaves of polygonatum

4 讨 论

通过以上回归模型的分析,以黄精叶出膏率以及黄精叶多糖得率为评价指标,表明在提取过程中, X_2 是影响多糖提取的关键因素, X_1 次之,而两个实验指标都同时证明了 X_3 是影响多糖得率最不显著的因素. 在两两交互作用中, $X_2 X_3$ 、 $X_1 X_2$ 的影响是最为显著的,而 $X_1 X_3$ 的影响是不显著的,推测,时间过长或加热温度不适,会造成多糖结构的破坏,影响多糖提出效果^[18-19]. 多糖提取最优工艺参数为:提取温度 75.4℃、提取时间 2.45 h、液料比 14.8:1(mL/g). 考虑到实际应用过程中操作简便,将工艺条件修正为:提取温度 75℃、提取时间 2.5 h、液料比 15:1(mL/g);在此基础上进行 3 次平行验证实验,实测药材出膏率为(47.65±0.16)%,与模型预测值 47.79%相差不大;实测多糖得率为(7.21±0.073)%,与模型预测黄精叶多糖得率 7.24%相差不大. 说明该模型能较好地预测各因素与黄精叶出膏率、多糖得率之间的关系,本实验研究黄精叶多糖提取工艺,为其综合利用开发提供了理论基础,具有应用价值.

参考文献:

[1] 楼柯浪,张春椿,陶倩,等. 不同产地多花黄精中元素含量的主成分及相关性分析[J]. 浙江中医杂志, 2018, 53: 696.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 306.

[3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 15 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 52.

[4] 王雨婷,刘婉滢,沈舶宁,等. 黄精的本草考证[J]. 中医药学报, 2019, 47: 81.

[5] Cai J, Zhu Y, Zuo Y, *et al.* Polygonatum sibiricum polysaccharide alleviates inflammatory cytokines and promotes glucose uptake in highglucose-and high-insulin-induced 3T3-L1 adipocytes by promoting Nrf2 expression. [J]. Mol Med Rep, 2019, 20: 3951.

[6] 杨华杰,龚千锋. 黄精炮制研究的进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23: 216.

[7] 张娇,王元忠,杨维泽,等. 黄精属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44: 1989.

[8] 苏文田,刘跃钧,蒋燕锋,等. 黄精产业发展现状与可持续发展的建议[J]. 中国中药杂志, 2018, 43: 2831.

[9] Yin C, Fan X, Fan Z, *et al.* Optimization of enzymes-microwave-ultrasound assisted extraction of *Lentinus edodes* polysaccharides and determination of its antioxidant activity[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 111: 446.

[10] Shen S, Chen D, Li X, *et al.* Optimization of extraction process and antioxidant activity of polysaccharides from leaves of *Paris polyphylla* [J]. Carbohydr Polym, 2014, 104: 80.

[11] Yin X, You Q, Zhou X. Complex enzyme-assisted extraction, purification, and antioxidant activity polysaccharides from the button mushroom, *Agaricus bisporus* (Higher Basidiomycetes) [J]. Int J Med Mushrooms, 2015, 17: 987.

[12] Zhang C, Gao Z, Hu C, *et al.* Antioxidant, antibacterial and anti-aging activities of intracellular zinc polysaccharides from *Grifola frondosa* SH-05 [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 95: 778.

[13] 邓寒霜,杨丽娜. 响应面优化柴胡多糖提取工艺[J]. 中国现代中药, 2018, 20: 742.

[14] 张丽,常青,王艳,等. 响应面法优化提取黄精茎秆中总多糖、总皂苷、总黄酮的工艺研究[J]. 中医药导报, 2019, 25: 64.

[15] Han Q, Wu Z, Huang B, *et al.* Extraction, antioxidant and antibacterial activities of *Broussonetia papyrifera* fruits polysaccharides[J]. Int J Biol Macromol, 2016, 92: 116.

[16] Zhang L, Koyyalamudi S R, Jeong S C, *et al.* Immunomodulatory activities of polysaccharides isolated from *Taxillus chinensis* and *Uncaria rhynophylla* [J]. Carbohydr Polym, 2013, 98: 1458.

[17] 吴其国,胡叶青,陈帅帅,等. 安徽不同产地野生与栽培多花黄精中黄精多糖含量比较[J]. 甘肃中医药大学学报, 2018, 35: 47.

[18] Sharifian-Nejad M S, Shekarchizadeh H. Physicochemical and functional properties of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) polysaccharides extracted under optimal conditions. [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 124: 946.

[19] 梁子敬,张景艳,冯海鹏,等. 响应面法优化黄芪多糖的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2018, 39: 72.

引用本文格式:

中 文: 杨朝君,严培,罗禹,等. 响应面法优化黄精叶多糖水提工艺[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2020, 57: 971.

英 文: Yang C J, Yan P, Luo Y, *et al.* Optimization of water extraction process for polysaccharides from leaves of polygonatum by response surface methodology [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2020, 57: 971.