

# 秀珍菇子实体多糖的提取工艺优化及体外抗氧化性

杨润亚, 李维焕, 吕芳芳

(鲁东大学 生命科学学院, 山东 烟台 264025)

**摘要:** 采用响应面法优化了秀珍菇子实体中水溶性多糖的超声提取工艺, 并初步测定了多糖提取物的抗氧化活性。结果表明, 在提取温度为 40 ℃、超声功率为 400 W、料液比为 1:30、浸提时间 114 min 的最佳提取工艺条件下, 响应面拟和所得方程对秀珍菇多糖的最大提取率预测值 60.74 mg/g, 实测值 60.19 mg/g, 实测结果与预测值符合良好。秀珍菇的多糖提取物具有清除羟基自由基的作用, 在一定范围内随着多糖浓度的增加其清除效果及还原力均加强。

**关键词:** 秀珍菇; 超声提取; 多糖; 响应面分析; 抗氧化性

**中图分类号:** TS 284.2      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1673—1689(2012)10—1093—07

## Optimization of the Extraction Technique and the Antioxidant Activity of Polysaccharides from *Pleurotus geesteranus*

YANG Run-ya, LI Wei-huan, LU Fang-fang

(College of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China)

**Abstract:** The ultrasonic extraction process of polysaccharides from *Pleurotus geesteranus* was optimized by response surface analysis, and the antioxidant activity of the extracts were determined. The results showed that, the optimum ultrasonic extraction conditions were obtained as follows: temperature at 40 ℃, ultrasonic power at 400 W, time duration for 114 min, and the ratio of solution (water) to solid (fruit body powder) of 30:1. Under this condition, the extraction yield of the polysaccharide from *Pleurotus geesteranus* was 60.19 mg/g, which was consistent with the predicted value (60.74 mg/g). The Polysaccharide extracts have a certain extent function to scavenging hydroxyl radical. Their antioxidant power and the reducing capacity increased with the increase of polysaccharides concentration.

**Keywords:** *Pleurotus geesteranus*, ultrasonic extraction, polysaccharide, response surface analysis, antioxidant activity

多糖是天然生物高分子家族中最重要的成员之一, 广泛存在于植物、动物和微生物组织中, 自 20

世纪 50 年代发现其免疫调节及抗肿瘤活性后, 多糖即成为当今生命科学研究热点之一<sup>[1]</sup>。食用菌

收稿日期: 2011-12-05

基金项目: 山东省农业良种工程项目(鲁科农字[2006]90 号)。

\* 通信作者: 杨润亚(1974—), 女, 陕西蒲城人, 农学博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事生态学方面的研究。Email: yry74@163.com

是人类实践活动中最早认识和利用的一类菌物,具有种类繁多、世代短、生物量大、易培养、分布广和营养成分丰富等特点。食用菌多糖具有抗病毒、抗肿瘤、抗辐射、抗溃疡、抗衰老、增强免疫力、降血脂、降血糖等多种生理活性,是新药和功能食品开发的重要原料,目前也已成为农学、医学、食品科学等领域的研究热点之一<sup>[2-3]</sup>。

秀珍菇(*Pleurotus geesteranus* Singer)俗称袖珍菇、小平菇,是国内近年来成功引种的优质生产栽培品种,也是平菇家族中最受消费者青睐的品种之一,其营养丰富,口感脆嫩,菇味清香浓郁,隶属担子菌亚门,层菌纲,伞菌目,侧耳科,侧耳属。目前,国内外对秀珍菇的研究主要集中在种质资源、生物学特性及栽培技术等方面<sup>[4-5]</sup>。

响应面法是利用合理的试验设计及试验数据,采用多元二次回归方程来拟合因素与响应值之间的函数关系,通过对回归方程的分析来寻求最优工艺参数,解决多变量问题的一种试验设计方法<sup>[6]</sup>。目前已被广泛用于农业、生物、食品、化学、制造等领域,进行活性物质提取或目标过程的优化<sup>[7-10]</sup>,但在秀珍菇多糖的提取工艺研究方面尚未见报道。作者以秀珍菇子实体为材料,采用响应面法优化秀珍菇多糖的超声提取工艺,并对多糖提取物的体外抗氧化性进行了初步测定,以期对秀珍菇的深层开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

秀珍菇子实体:鲁大秀珍1号—LD1子实体,由鲁东大学菌物科学与技术研究院选育。置于烘箱里50℃烘干,粉碎后称取80g,按照料液比为1:30加入80%(体积比)的乙醇,放入超声波清洗器中提取1h(功率80%、温度70℃),之后抽滤,除去滤液,重复两次。滤渣在60℃下干燥,得到去除部分单糖、低聚糖和酚类化合物的秀珍菇粉,备用。

无水乙醇、蒽酮、浓硫酸、葡萄糖、硫酸亚铁、水杨酸、双氧水、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁:均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

7200紫外可见分光光度计:尤尼克(上海)仪器有限公司;DHG-9143BS-III型数显电热恒温鼓风干燥箱:上海新苗医疗器械制造有限公司;FA1604

型电子天平:上海天平仪器厂;KQ-500B型超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;SHB-IV双A循环水式多用真空泵:郑州长城科工贸有限公司;XA-1型高速万能粉碎机:江苏姜堰市银河实验仪器厂。

### 1.3 方法

**1.3.1 葡萄糖标准曲线的制作** 准确称取葡萄糖10mg,加蒸馏水定容至100mL容量瓶中。取7支试管,分别加入上述葡萄糖溶液0.0、0.1、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5mL,并分别加蒸馏水补充至2.0mL。加入0.2%的蒽酮—硫酸试剂(称取蒽酮0.2g,加浓硫酸定容至100mL容量瓶中即得,现用现配)4.0mL,摇匀后沸水浴10min,冷却至室温,用分光光度计测定620nm波长处相应的吸光度。以测得的吸光度为横坐标,以葡萄糖的质量浓度(mg/mL)为纵坐标,绘制葡萄糖标准曲线。所得数据经回归处理,得到标准曲线回归方程为: $y=0.2471x+0.0009$ ,  $R^2=0.9963$ 。其中y为被测样品中葡萄糖的质量浓度,x为吸光度。

**1.3.2 样品多糖含量的测定** 称取1.0g秀珍菇子实体粉末于锥形瓶中,于不同条件下进行超声波辅助提取,抽滤后将滤液用蒸馏水定容至50mL,准确吸取0.1mL,用蒸馏水补充至2.0mL,再分别加入0.2%的蒽酮—硫酸试剂4.0mL,摇匀后沸水浴10min,冷却至室温,用分光光度计在波长620nm处测定相应的吸光度,根据标准曲线回归方程,由吸光度求出提取液中多糖的浓度,并按照下列公式计算各处理的多糖提取率。

$$\text{多糖提取率}(\text{mg/g}) =$$

$$\text{求出的多糖质量浓度}(\text{mg/mL}) \times \text{定容体积}(\text{mL})$$

**1.3.3 单因素试验** 以水为提取溶剂,考察提取温度(35、45、55、65、75℃)、料液比(1:20、1:30、1:40、1:50)、提取时间(20、40、60、80、100min)以及超声功率(250、300、350、400、450W)对多糖提取率的影响。每处理做3个重复。

**1.3.4 响应面试验** 在单因素试验基础上,选取超声温度、超声功率、超声时间3个因素为自变量,以单因素试验得出的各最佳条件为中心点,以秀珍菇子实体中多糖提取率为响应值,采用design expert软件设计3因素3水平响应面分析试验方案,按试验结果采用design expert 7.0软件进行数据处理和分析,优化秀珍菇子实体多糖超声提取的工艺参数,确定最佳试验方案。

### 1.3.5 秀珍菇多糖提取物对羟基自由基的清除率测定

参照文献[11]的方法。取5支具塞试管依次向其中各加入2.0 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 2.0 mL, 1.0 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2.0 mL, 振荡, 摇匀。再加入6.0 mmol/L 水杨酸3.0 mL, 摇匀, 于37℃水浴加热15 min。加热完毕后, 以超纯水调零, 于510 nm处分别测定吸光度A<sub>0</sub>。之后分别向5支试管中加入待试样品(秀珍菇的纯水提取物, 多糖质量浓度为49.57 mg/mL) 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 接着再分别添加超纯水0.8、0.6、0.4、0.2、0.0 mL, 摇匀, 继续水浴加热15 min, 待加热完毕后再分别测其吸光度A<sub>x</sub>。考虑到样品本身的吸光度, 做了对照试验: 用2.0 mL蒸馏水取代H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液, 严格重复上述过程, 测吸光度A<sub>x0</sub>, 则样品对羟基自由基的清除率见式(1)。

$$\text{对羟基自由基的清除率}/\% = \frac{A_0 - (A_x - A_{x0})}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

**1.3.6 秀珍菇多糖提取物还原力的测定** 参照文献[12]的方法。向样品管中加入0.2 mL不同浓度的样品(空白管中加0.2 mL水), 用蒸馏水定容至1 mL, 依次加入2.5 mL pH为6.6的磷酸缓冲液, 2.5 mL 1 g/dL的铁氰化钾, 50℃水浴20 min, 加入1 mL 10 g/dL的三氯乙酸后于5 000 r/min离心10 min(必要时离心), 取上清液2.5 mL, 加蒸馏水2.5 mL, 0.1 g/dL三氯化铁0.5 mL混匀5 min后, 在700 nm测定吸光度, 计算还原力。

$$\text{还原力} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / A_{\text{空白}}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

**2.1.1 提取时间对多糖提取率的影响** 在超声功率300 W, 超声温度45℃, 料液比1:30的条件下, 分别选取超声时间为20、40、60、80、100 min进行超声提取试验, 测定并计算各处理的多糖提取率, 结果见图1。

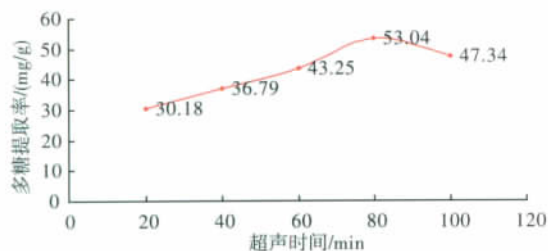


图1 超声时间对多糖提取率的影响

Fig.1 Effect of ultrasonic time on extraction yield of polysaccharides

由图1可知:随着超声提取时间的延长,多糖提取率先增大后减小,在80 min时提取率最大。这是因为在一定范围(0~80 min)内,超声时间越长,细胞破碎程度越大,细胞内部的多糖物质向外扩散越多,则溶剂中多糖的质量分数越高。但超声波具有较强的剪切作用,时间太长(80 min后)会使大分子的多糖链断裂或破坏多糖结构,造成多糖质量分数下降。因此,秀珍菇多糖提取的最佳提取时间为80 min。

**2.1.2 超声功率对多糖提取率的影响** 在超声温度45℃, 超声时间40 min、料液比1:30条件下, 分别选取超声功率为50%、60%、70%、80%、90%即250、300、350、400、450 W进行超声提取试验, 测定并计算各处理的多糖提取率, 结果见图2。由图2可知, 随着超声功率的升高, 多糖提取率先增大后减小, 在300 W时提取率最大。这可能是因为较强的超声作用(功率超过300 W)会破坏多糖结构, 造成多糖含量下降。因此, 秀珍菇多糖的最佳提取功率为60%(300 W)。

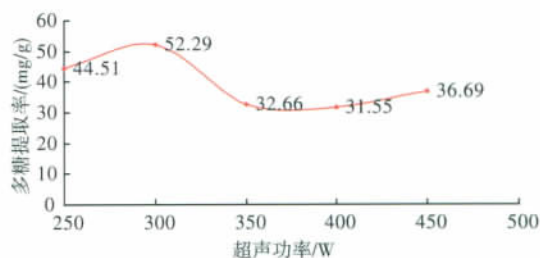


图2 超声功率对多糖提取率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic power on extraction yield of polysaccharides

**2.1.3 提取温度对多糖提取率的影响** 在超声功率300 W, 超声时间40 min, 料液比1:30的条件下, 分别选取超声温度为35、45、55、65、75℃进行超声提取试验, 测定并计算各处理的多糖提取率, 结果见图3。

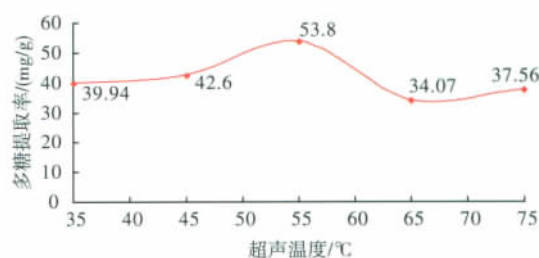


图3 超声温度对多糖提取率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic temperature on extraction yield of polysaccharides

由图 3 可知,随着超声温度的升高,多糖提取率先增大后减小,在 55 ℃时达到最大,55 ℃后随着温度的提高黄酮提取率反而降低,所以 55 ℃为最佳提取温度。这是因为多糖在溶剂中的溶解度一般随着温度的升高而增大,溶剂中多糖的质量分数则随着提取温度的升高不断增大(55 ℃之前),但温度太高可能会破坏多糖结构,造成多糖质量分数下降(55 ℃之后)。

**2.1.4 料液比对多糖提取率的影响** 在超声功率 300 W,超声温度 45 ℃、超声时间 40 min 的条件下,分别选取料液比 1:20、1:30、1:40 和 1:50 进行超声提取试验,测定并计算各处理的多糖提取率,结果见图 4。

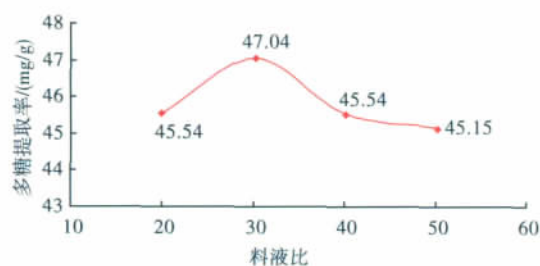


图 4 料液比对多糖提取率的影响

Fig.4 Effect of material-to-liquid ratio on extraction yield of polysaccharides

由图 4 可知:随着料液比的变化,多糖提取率先增大后减小,料液比为 1:30 时提取率最大。但与其它 3 个因素相比,多糖提取率总体上变化相对较小,因而在响应面设计试验中不再对该因素进行优化。

## 2.2 响应面设计试验结果

**2.2.1 试验结果及方差分析** 在单因素试验基础上,确定出响应面设计试验方案的因素水平表,见表 1。按照响应面设计试验方案进行试验,试验结果见表 2。

表 1 响应面设计试验因素水平表

Tab.1 Factors and levels of response surface analysis test

| 编号 | $X_1$ 超声温度/℃ | $X_2$ 超声功率 /% | $X_3$ 超声时间/min |
|----|--------------|---------------|----------------|
| -1 | 40           | 40            | 40             |
| 0  | 55           | 60            | 80             |
| 1  | 70           | 80            | 120            |

对表 2 中数据采用 design expert 7.0 软件进行处理和分析,获得秀珍菇多糖提取率对超声提取温度、功率及时间的二次多元回归方程:

$$Y (\text{多糖提取率}) = 48.60 + 1.49X_1 + 5.29X_2 + 1.59X_3 - 7.69X_1X_2 - 4.23X_1X_3 + 2.99X_2X_3 - 1.84X_1^2 - 1.28X_2^2 - 5.15X_3^2$$

表 2 秀珍菇多糖超声提取的响应面设计试验结果

Tab.2 Results of the ultrasonic extraction of polysaccharides from *Pleurotus geesteranus* by response surface central composite design

| 编号 | $X_1$ | $X_2$ | $X_3$ | 多糖提取率/(mg/g) |
|----|-------|-------|-------|--------------|
| 1  | -1    | -1    | -1    | 22.54        |
| 2  | 1     | -1    | -1    | 50.47        |
| 3  | -1    | 1     | -1    | 42.87        |
| 4  | 1     | 1     | -1    | 38.02        |
| 5  | -1    | -1    | 1     | 30.00        |
| 6  | 1     | -1    | 1     | 38.99        |
| 7  | -1    | 1     | 1     | 60.26        |
| 8  | 1     | 1     | 1     | 40.49        |
| 9  | -1    | 0     | 0     | 47.59        |
| 10 | 1     | 0     | 0     | 45.00        |
| 11 | 0     | -1    | 0     | 40.24        |
| 12 | 0     | 1     | 0     | 53.47        |
| 13 | 0     | 0     | -1    | 42.96        |
| 14 | 0     | 0     | 1     | 43.00        |
| 15 | 0     | 0     | 0     | 48.95        |
| 16 | 0     | 0     | 0     | 48.96        |
| 17 | 0     | 0     | 0     | 48.95        |

表 3 为该模型及其各回归系数的方差分析。其中  $P < 0.05$  表明该项影响显著,  $P < 0.01$  表明该项影响极显著,  $P > 0.10$  则表明该项影响不显著<sup>[13]</sup>。由表 3 可知,此模型  $P < 0.01$ ,表明该响应回归模型达到了极显著水平,说明该模型是有意义的。该模型的  $R^2 = 0.9885$ ,  $R^2_{Adj} = 0.9782$ , 变异系数为 2.74%,说明该模型拟合程度比较好,试验误差小,该模型能解释 97.82%响应值的变化。该模型的方差分析结果说明,该实验操作可信,可以用回归方程代替试验真实点对试验结果进行分析和预测。该模型中  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_1X_2$ 、 $X_1X_3$ 、 $X_2X_3$  及  $X_3^2$  各因素对秀珍菇多糖提取率的影响均极显著,  $X_1^2$  影响显著,  $X_2^2$  影响不显著。

表 3 回归系数及显著性检验

Tab.3 Test of significance for the regression coefficients

| 方差来源     | 平方和     | 自由度 | 均方差    | F 值    | P 值     |
|----------|---------|-----|--------|--------|---------|
| 模型       | 1283.26 | 9   | 142.58 | 95.76  | <0.0001 |
| $X_1$    | 22.16   | 1   | 22.16  | 14.88  | 0.0032  |
| $X_2$    | 279.68  | 1   | 279.68 | 187.83 | <0.0001 |
| $X_3$    | 25.23   | 1   | 25.23  | 16.94  | 0.0021  |
| $X_1X_2$ | 473.59  | 1   | 473.59 | 318.05 | <0.0001 |
| $X_1X_3$ | 143.24  | 1   | 143.24 | 96.20  | <0.0001 |
| $X_2X_3$ | 71.28   | 1   | 71.28  | 47.87  | <0.0001 |
| $X_1^2$  | 9.29    | 1   | 9.29   | 6.24   | 0.0316  |
| $X_2^2$  | 4.48    | 1   | 4.48   | 3.01   | 0.1134  |
| $X_3^2$  | 73.00   | 1   | 73.00  | 49.02  | <0.0001 |
| 残差       | 14.89   | 10  | 1.49   |        |         |
| 失拟项      | 14.67   | 5   | 2.93   | 66.16  | 0.0001  |
| 纯误差      | 0.22    | 5   | 0.044  |        |         |
| 总离差      | 1298.15 | 19  |        |        |         |

注:  $R^2=0.9885$ ,  $R^2_{Adj}=0.9782$ ,  $CV=2.74\%$

**2.2.2 响应面分析** 通过模型方程所作的响应曲面图及其等高线见图 5~7。等高线的形状反映交互效应的强弱大小: 圆形表示两因素交互作用不显著, 而椭圆形则表示两因素交互作用显著。由图 5 可知, 温度和功率的交互作用显著, 且温度轴向等高线变化密集, 功率轴向等高线变化相对稀疏, 故功率对响应值峰值的影响较温度影响大。由图 6 可知, 温度 and 时间的交互作用显著, 且时间轴向等高线变化密集, 温度轴向等高线变化相对稀疏, 故温度对响应值峰值的影响较时间影响大。由图 7 可知, 功率和时间的交互作用显著, 且功率轴向等高线变化密集, 时间轴向等高线变化相对稀疏, 故时间对响应值峰值的影响较功率影响大。

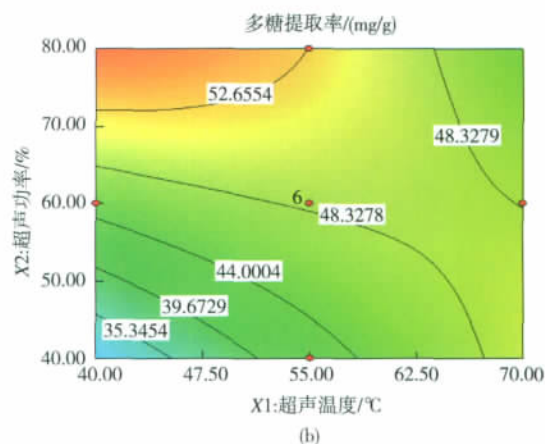
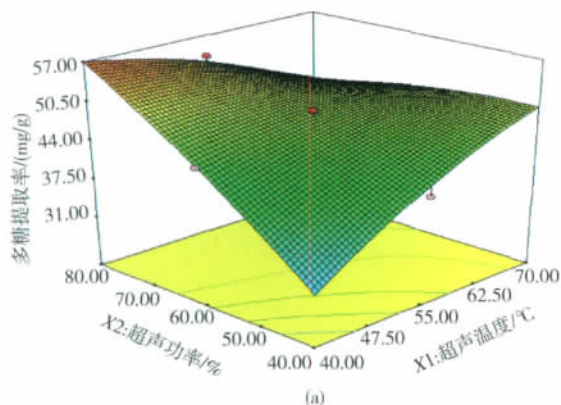


图 5 提取温度与超声功率对多糖提取率影响的响应曲面和等高线

Fig.5 Response surface and contour plots showing the interactive effects of ultrasonic extraction temperature and material-to-liquid ratio on extraction yield of polysaccharides

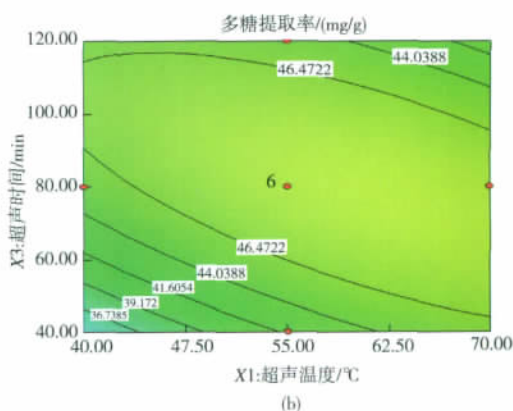
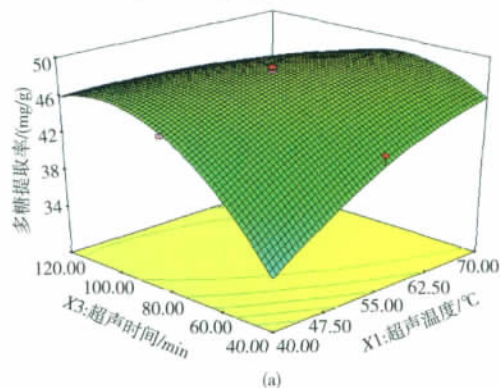


图 6 提取时间与提取温度对多糖提取率影响的响应曲面和等高线

Fig.6 Response surface and contour plots showing the interactive effects of ultrasonic extraction time and ultrasonic extraction temperature on extraction yield of polysaccharides

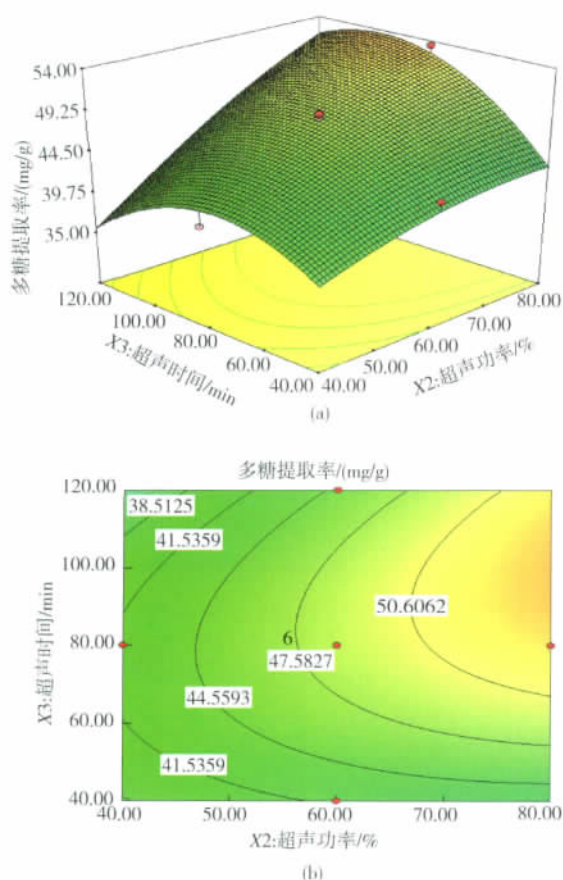


图7 提取时间与超声功率对秀珍菇多糖提取率影响的响应曲面和等高线

Fig.7 Response surface and contour plots showing the interactive effects of ultrasonic extraction time and material-to-liquid ratio on extraction yield of polysaccharides

通过软件分析可以得到,当超声温度为 40℃,超声功率为 80%(400 W),超声时间为 114.14 min 时,秀珍菇子实体多糖提取率有一个预测的最大值 60.74 mg/g。

采用上述最优提取条件进行验证实验(考虑到实际操作的情况,将多糖最佳提取条件修正为超声温度 40℃、超声功率 400 W、超声时间为 114 min),实际测得的多糖得率为 60.19 mg/g,与模型预测值的误差为 0.9%。因此作者采用响应曲面法优化得到的超声波提取条件参数基本准确可靠,在实际应用中具有一定的参考价值。

## 参考文献:

- [1] PAULINE M R. Glycosylation and the immune system[J]. *Science*, 2001, 291: 2370-2376.
- [2] 李金灿,陆辉,张相日,等. 食用菌多糖特性与保健作用研究新进展[J]. *中国食用菌*, 2005, 24(6): 7-11.

## 2.3 秀珍菇多糖提取物的抗氧化活性

图 8 为不同质量浓度的秀珍菇多糖提取物对羟自由基的清除率及其还原力。从图 8 可以看出,随着反应体系中秀珍菇提取物中多糖质量浓度的增加,其对羟基自由基的清除率及其还原力均逐渐增大,而且具有较好的线性关系。

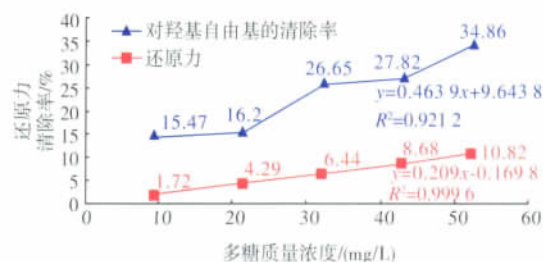


图8 秀珍菇多糖提取物的抗氧化活性

Fig.8 Antioxidant activity of the extracts from *Pleurotus geesteranus*

抗氧化剂一般可通过直接清除过量的自由基实现抗氧化作用,也可通过增强体内的抗氧化系统,抑制自由基的产生。许多研究证实,抗氧化剂的抗氧化活性同其还原力密切相关。还原力是表示抗氧化物质提供电子能力的重要指标,抗氧化剂通过自身的还原作用给出电子而使自由基变为稳定的分子,从而失去活性。抗氧化剂的还原力越强,则其抗氧化性越强,因此可以通过测定还原力来说明抗氧化剂的抗氧化活性大小。作者仅通过测定秀珍菇多糖对羟自由基的清除率及其还原力初步评价其抗氧化性,但对其他评估指标(如超氧阴离子自由基,氮自由基等)及抗氧化系统等的影响有待进一步研究。

## 3 结 语

通过单因素和响应曲面试验,对秀珍菇子实体多糖的超声提取工艺条件进行优化分析,得到超声提取秀珍菇子实体多糖的最佳工艺条件为:温度 40℃、功率 400 W、时间 114 min。在此条件下多糖得率为 60.19 mg/g。秀珍菇多糖具有较明显的抗氧化活性,值得进一步研究开发。

- LI Jin-can, LU Hui, ZHANG Xiang-ri, et al. New progress on the characteristic and function of mushroom polysaccharides[J]. **Edible Fungi of China**, 2005, 24(6): 7-11. (in Chinese)
- [3] ZHANG H N, HE J H, YUAN L, et al. In vitro and in vivo protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on alloxan induced pancreatic islets damage[J]. **Life Sciences**, 2003, 73(18): 2307-2312.
- [4] 李维焕, 蔡德华, 郑芳, 等. 秀珍菇菌株的亲缘关系分析[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 267-271.  
LI Wei-huan, CAI De-hua, ZHENG Fang, et al. Analysis of the phylogenetic relationships of *Pleurotus pulmonarius* strains[J]. **Food Science**, 2010, 31(17): 267-271. (in Chinese)
- [5] 翁伯琦, 江枝和, 林勇. 不同培养料对秀珍菇子实体蛋白质营养评价的影响[J]. 食用菌学报, 2002, 9(2): 10-13.  
WEN Bo-qi, JIANG Zhi-he, LIN yong. Effect of different kinds of composts on the nutritional evaluation of the protein in *Pleurotus geesteranus* fruitbodies[J]. **Acta Edulis Fungi**, 2002, 9(2): 10-13. (in Chinese)
- [6] BEZERRA M A, SANTELLI R E, OLIVEIRA E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry[J]. **Talanta**, 2008, 76(5): 965-977.
- [7] 董艳红, 李姝婧, 郑惠华, 等. 响应曲面优化超声波提取灵芝多糖工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(6): 98-101.  
DONG Yan-hong, LI Shu-jing, ZHENG Hui-hua, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of *Ganoderma lucidum* polysaccharides by response surface methodology[J]. **Food Science**, 2009, 30(6): 98-101. (in Chinese)
- [8] FAN G, HAN Y, GU Z. Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM)[J]. **Food Science and Technology**, 2008, 41(1): 155-160.
- [9] 李蕾, 岳喜华, 于欢, 等. 响应面法优化酸浆果多糖的提取工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(1): 53-56.  
LI Lei, YUE Xi-hua, YU Huan, et al. Optimization of the extraction of polysaccharide (PAP) by response surface analysis[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(1): 53-56. (in Chinese)
- [10] 许晖, 孙兰萍. 羊肚菌培养条件响应面法优化[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(5): 92-98.  
XU Hui, SUN Lan-ping. Optimization of culture conditions for extracellular polysaccharide and mycelium biomass by *Morchella esculenta* AS51620[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2007, 26(5): 92-98. (in Chinese)
- [11] 杨润亚, 明永飞, 王慧. 无花果叶中黄酮的提取及其抗氧化活性测定[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 78-82.  
YANG Run-ya, MING Yong-fei, WANG Hui. Extraction and free radical scavenging activity of total flavonoids from the leaves of *Ficus carica* Linn[J]. **Food Science**, 2010, 31(14): 78-82. (in Chinese)
- [12] Mi-Yae Shon, Tae-Hun Kim, Nak-Ju Sung. Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts[J]. **Food Chemistry**, 2003, 82: 593-597.
- [13] YANG B, LIU X, GAO Y X. Extraction optimization of bioactive compounds (crocin, geniposide and total phenolic compounds) from *Gardenia* (*Gardenia jasminoides* Ellis) fruits with response surface methodology [J]. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2009, 10(3): 610-615.