

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.05.016

多花黄精多糖提取工艺优化及抗氧化机制研究

郭安君, 李雪影, 李晓炜, 罗建平, 查学强

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:文章以料液比、提取温度、提取时间为参数,在单因素试验的基础上,采用响应面法优化多花黄精多糖(*Polygonatum cyrtonema* Hua polysaccharides, PCP)的提取工艺,并分离纯化得到水洗糖;采用氧化低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, Ox-LDL)诱导巨噬细胞氧化应激为实验模型,研究 PCP 的抗氧化机制。结果显示,PCP 的最佳提取工艺为:料液比 1:25,提取温度 85 °C,提取时间 2.0 h。MTT 实验结果表明,PCP 对巨噬细胞不具有毒性;与模型组相比,PCP 显著提高了巨噬细胞的总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)的酶活力,降低了丙二醛(MDA)的量,表明 PCP 具有较强的抗氧化功能。Western Blot 实验结果显示,PCP 显著上调了 Nrf2 的蛋白水平,抑制了 Keap1 的蛋白表达,提示 PCP 发挥抗氧化作用可能与调控 Keap1/Nrf2 信号通路有关。研究结果为 PCP 的深入开发利用提供了一定的理论基础。

关键词:多花黄精多糖(PCP);响应面法;巨噬细胞;氧化应激

中图分类号:TS201.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-5060(2024)05-0678-07

Optimization of extraction process and antioxidant mechanism of *Polygonatum cyrtonema* Hua polysaccharides

GUO Anjun, LI Xueying, LI Xiaowei, LUO Jianping, ZHA Xueqiang

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: In this paper, a response surface methodology was employed to optimize the extraction process of *Polygonatum cyrtonema* Hua polysaccharides (PCP) by hot water based on single factor test, considering the parameters of ratio of raw material to water, extraction temperature and extraction time. The PCP was isolated and purified to obtain water-washed polysaccharides. The results showed that the optimal extraction parameters were as follows: ratio of raw material to water of 1:25, extraction temperature of 85 °C, and extraction time of 2.0 h. On this basis, the antioxidant mechanism of PCP was investigated using oxidized low-density lipoprotein (Ox-LDL)-treated macrophages. The MTT results indicated that PCP was not toxic to macrophages. Compared with the model group, PCP significantly increased the levels of total antioxidant capacity (T-AOC) and the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD), and decreased the content of malondialdehyde (MDA), indicating that PCP could enhance antioxidant effects in Ox-LDL-induced macrophages. Furthermore, Western Blot experiments showed that PCP could also significantly up-regulate the protein level of Nrf2 and down-regulate the protein expression of Keap1 in Ox-LDL-induced macrophages. These results revealed that PCP could regulate oxidative stress in macrophages induced by Ox-LDL, which might be related to the modulation of Keap1/Nrf2 signaling pathway. The study results may provide a theoretical basis for the further development and utilization of PCP.

收稿日期:2022-05-10; **修回日期:**2022-06-19

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32072176)

作者简介:郭安君(1996—),女,安徽潜山人,合肥工业大学硕士生;

罗建平(1966—),男,安徽合肥人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师;

查学强(1979—),男,安徽怀宁人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者, E-mail: zhaxueqiang@hfut.edu.cn.

Key words: *Polygonatum cyrtonema* Hua polysaccharides(PCP); response surface methodology; macrophages; oxidative stress

氧化应激是机体代谢过程中氧自由基的生成和降解失去平衡的一种病理表现,是导致动脉粥样硬化等疾病的重要致病因素之一^[1-2]。Keap1/Nrf2 信号通路在细胞抵抗氧化应激过程中起至关重要的作用^[3]。正常生理条件下,细胞质中的 Keap1 与 Nrf2 处于耦合状态,当机体出现氧化应激时,被激活的 Nrf2 解离进入细胞核,启动下游抗氧化反应原件,调节超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等相关因子的基因表达,从而保护细胞免受氧化损伤^[4]。多糖是一种广泛存在于生命体中的天然高分子活性物质。它们因具有高效、低毒、低副作用等特点,一直是食品和医学营养领域不断研究的热点^[5]。体内外研究表明,多糖具有显著的抗氧化作用,可通过改善机体氧化应激损伤抑制各类疾病的发生发展^[6-9]。

黄精为百合科黄精属草本植物,首载于晋代《名医别录》,兼具药用和食用的价值^[10]。2020 版《中国药典》中收录了滇黄精、黄精和多花黄精 3 种^[11]。多糖是黄精中主要的活性成分之一,其中多花黄精的多糖含量最高且品质最优^[12]。目前提取多糖的方法主要有热水浸提法、酸提法、碱提法、酶提法等,热水浸提法因其绿色安全、多糖提取率高等优点、应用最为广泛,而关于热水提取多花黄精多糖(*Polygonatum cyrtonema* Hua polysaccharides,PCP)的工艺研究较少^[13]。本研究采用热水浸提法,通过响应面分析试验,对 PCP 的提取参数进行优化,得到最佳提取工艺,并分离纯化得到水洗糖。在此基础上,采用氧化低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, Ox-LDL)诱导巨噬细胞氧化应激为实验模型,探讨了 PCP 的抗氧化机制,为研究多花黄精多糖的免疫调控及开发利用提供一定的理论基础。

1 实验材料

1.1 材料与试剂

多花黄精购于安徽九华山药材市场,经合肥工业大学查学强教授鉴定;C57/BL6 小鼠来源的巨噬细胞系 RAW264.7 购于北京协和医学院细胞资源中心;总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)测试盒、SOD 测试盒、GSH-Px 测试盒、丙二醛(MDA)测试盒均购于南京建成科技

有限公司;Keap1、Nrf2 抗体购于英国 Abcam 公司;其他试剂有 NaCl、乙醇、三氯甲烷、正丁醇、硫酸、苯酚、过硫酸铵、叠氮钠等。

1.2 仪器与设备

CO₂ 细胞培养箱(日本 SANYO 公司);蛋白电泳槽(Bio-Red 公司);全波长酶标仪(美国 Thermo Fisher 公司);可见光分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对多糖提取率的影响

将新鲜黄精根茎洗净,烘干后经高速粉碎机粉碎,过 60 目筛,待用。准确称取 10 g 多花黄精粉末,溶于一定量去离子水,分别配制成料液比为 1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 的溶液,90 °C 下水浴搅拌 2.0 h。采用苯酚硫酸法^[14]测定多糖质量分数,考察料液比对多糖提取率的影响。

2.1.2 提取温度对多糖提取率的影响

准确称取 5 份 10 g 多花黄精粉末,均配制成料液比为 1:25 的溶液,分别于 60、70、80、90、100 °C 下水浴搅拌 2 h,测定多糖的质量分数,考察不同提取温度对多糖提取率的影响。

2.1.3 提取时间对多糖提取率的影响

准确称取 5 份 10 g 多花黄精粉末,均配制成料液比为 1:25 的溶液,85 °C 下分别水浴搅拌 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h,测定多糖的质量分数,考察不同提取时间对多糖提取率的影响。

2.2 响应面试验设计

根据单因素试验结果,选择料液比、提取温度、提取时间 3 个指标进行响应面优化分析(三因素三水平),利用 Design-Expert 10.0.7 软件模拟获得二次多项式回归方程,得出提取多花黄精多糖的最佳工艺参数,以多糖提取率为响应值,试验因素和水平见表 1 所列。

表 1 响应面试验设计

因素	A	B	C
	料液比	提取温度/°C	提取时间/h
-1	1:20	80	1.5
0	1:25	90	2.0
1	1:30	100	2.5

2.3 多花黄精多糖的提取与分离纯化

准确称取一定量的多花黄精粉末,按照料液比 1:25 溶于去离子水,85 °C 下水浴搅拌 2.0 h,过滤后收集滤液并将滤渣按照上述步骤再提取 1 次。减压浓缩后醇沉,将所得沉淀用去离子水复溶,并采用 Sevage 法^[15]除去蛋白,透析 48 h 后冷冻干燥得到黄精粗多糖。将黄精粗多糖配制成 10 mg/mL 的溶液,过 0.22 μm 的滤膜,将配好的粗多糖溶液加入 DE-52 纤维素阴离子交换树脂中进行分离,依次用 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mol/L 的 NaCl 溶液进行洗脱,自动收集器收集,采用苯酚硫酸法测定多糖的质量分数和分布。大量收集水洗糖,冷冻干燥后得到多花黄精多糖 PCP。

2.4 体外抗氧化活性测定

2.4.1 MTT 法测定细胞存活率

参考文献^[16]采用 MTT 法检测多花黄精多糖对 RAW264.7 巨噬细胞存活的影响。将 RAW264.7 巨噬细胞以适当密度接种于细胞培养板,培养 4 h 后分别加入终质量浓度为 5、10、15、25、50、100、200 μg/mL 的 PCP 溶液,同时,设置空白对照组,加入等体积 DMEM 培养基。培养 24 h 后,分别加入 20 μL MTT,继续培养 4 h 后加入 100 μL DMSO,充分混匀,于 10 min 之内测定吸光度(570 nm),分析 PCP 对巨噬细胞存活的影响。

2.4.2 氧化应激相关因子的测定

实验设置以下 6 组:正常对照组(C1)、PCP 低剂量对照组(C2)、PCP 高剂量对照组(C3)、模型组(MG)、PCP 低剂量干预组(PCP-L)和 PCP 高剂量干预组(PCP-H)。

将 RAW264.7 巨噬细胞按 1×10^6 个/孔接种于 24 孔细胞培养板,于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养。模型组和 PCP 干预组每孔加入等体积 Ox-LDL(终质量浓度为 50 μg/mL),培养 1 h 后,分别加入最适质量浓度的 PCP 溶液(终质量浓度分别为 5、25 μg/mL),正常对照组加入等体积 DMEM 培养基,PCP 对照组加入等体积 PCP 溶液(终质量浓度分别为 5、25 μg/mL)。培养 24 h 后去除培养液,用 PBS 漂洗 2 次,收集细胞,按照试剂盒说明书分别测定细胞内 T-AOC 水平、SOD 酶活、GSH-Px 酶活和 MDA 的量。

2.4.3 Western Blot 实验

参考方法 2.4.2,RAW264.7 巨噬细胞培养 24 h 后去除培养液,用 PBS 清洗细胞 2 次。每孔

加入 500 μL 细胞裂解液,于冰上充分裂解,10 000 r/min 离心 20 min,小心吸取上清,BCA 法测定蛋白质量浓度后,加入 1/4 体积的 5× 上样缓冲液,100 °C 下煮沸 10 min,将所得变性蛋白置于 -80 °C 保存,待用。按每孔 50 ng 蛋白样品上样,SDS-PAGE 凝胶电泳,湿法转膜,TBST 清洗后于 5% 的脱脂奶粉中室温摇床震荡封闭 2 h。再放入稀释好的一抗溶液中摇床孵育过夜(4 °C),TBST 清洗后置于对应种属的二抗溶液中室温摇床孵育 1~2 h。加入适量 ECL 化学发光显影液(A、B 发光液按体积比 1:1 混合),于 ImageQuant LAS4000 mini 化学发光成像分析仪采集信息。

2.5 统计分析

实验数据均采用 GraphPad Prism8 软件分析,结果用(平均值±标准差)表示,用 SPSS8.0 软件统计分析,t 检验各组间差异。与对照组相比,*表示 $P < 0.05$ 有差异,**表示 $P < 0.01$ 差异显著,***表示 $P < 0.001$ 差异极显著;与模型组相比,#表示 $P < 0.05$ 有差异,##表示 $P < 0.01$ 差异显著。

3 结果与分析

3.1 单因素试验结果分析

以葡萄糖质量浓度为横坐标,490 nm 处吸光度为纵坐标,绘制葡萄糖标准曲线如图 1 所示,方程为 $y = 7.5534x + 0.0004$, $R^2 = 0.9983$,由此可计算出多糖质量浓度。

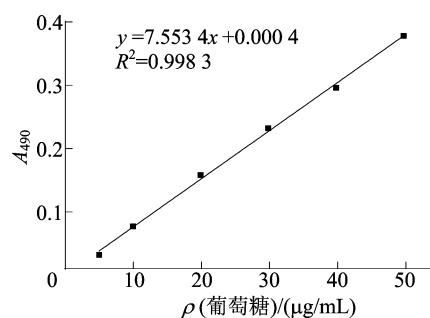


图 1 葡萄糖标准曲线

单因素试验结果如图 2 所示。从图 2a 可以看出,随着料液比的增加,多糖提取率呈不断升高的趋势,在料液比为 1:25 时达到最大值,当料液比大于 1:25,多糖提取率趋于稳定。原因可能是料液比较小时,多糖溶解不充分,提高料液比可增加黄精粉末与水的接触面积,有利于多糖的释放,但当多糖浸出达到饱和状态时,其释放不再增

多。因此,选择料液比为 1:25 进行后续试验。

从图 2b 可以看出,多糖提取率随提取温度的升高呈先上升后下降的趋势,提取温度约为 85 °C 时,达到最大值。原因可能是温度的升高会加剧多糖与水分子间的运动,但过高的温度可能会破坏多糖的空间结构,同时高温会使黄精中的其他成分(如淀粉和蛋白质)发生变性,使体系黏性系数增大,不利于多糖的溶解,从而降低了多糖提取率。因此,选择 85 °C 作为 PCP 的最佳提取温度。

从图 2c 可以看出,在 1.0~2.0 h 范围内,随着提取时间的延长,多糖提取率显著升高,时间超过 2.0 h 后,多糖提取率增加较为平缓。原因可能是水渗透到黄精内部以及多糖在水中溶解需要一定的时间,随着时间的延长,多糖在水中的质量浓度差不断减小,多糖基本全部浸出,因此,PCP 的最佳提取时间为 2.0 h。

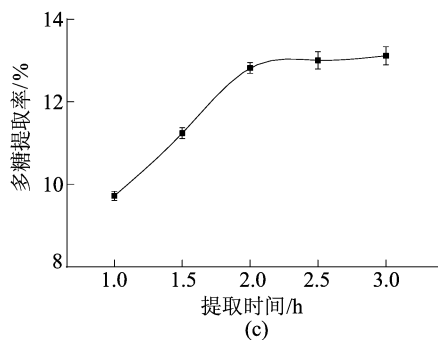
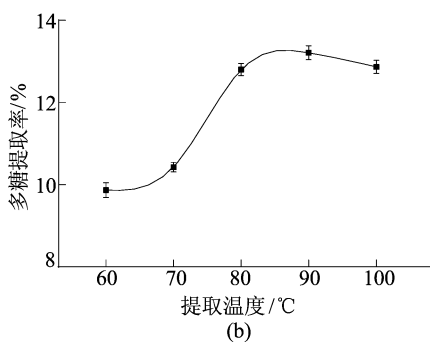
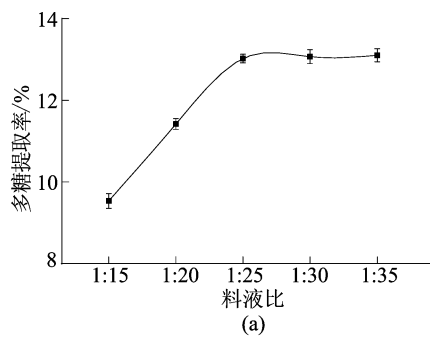


图 2 单因素试验结果

3.2 响应面法优化黄精多糖提取工艺

基于单因素试验结果,进行响应面优化设计,

结果见表 2 所列,利用 Design-Expert 10.0.7 软件对各因素进行二元回归拟合分析,确立的回归方程预测模型为:

$$Y = 13.15 + 0.38X + 0.12\theta + 0.47t + 0.15X\theta + 0.19Xt - 0.025\theta^2 - 0.7X^2 - 0.36\theta^2 - 0.2t^2,$$

其中:Y 为多花黄精多糖提取率;X 为料液比;θ 为提取温度;t 为提取时间。

表 2 响应面试验方案

试验序号	A	B	C	多糖提取率/%
1	0	0	0	13.12
2	0	0	0	13.13
3	-1	0	-1	11.53
4	0	0	0	13.11
5	0	-1	-1	12.01
6	0	1	-1	12.34
7	1	-1	0	12.21
8	0	0	0	13.19
9	0	-1	1	12.88
10	0	0	0	13.20
11	0	1	1	13.11
12	1	0	1	13.33
13	-1	0	1	12.22
14	1	0	-1	11.89
15	1	1	0	12.73
16	-1	-1	0	11.75
17	-1	1	0	11.65

方差分析是评价回归模型的有效方式之一,响应面的回归模型方差分析结果见表 3 所列。

表 3 响应面的回归模型方差分析结果

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	6.32	9	0.70	122.59	< 0.000 1	***
X	1.13	1	1.13	197.82	< 0.000 1	***
θ	0.12	1	0.12	20.97	0.003	**
t	1.78	1	1.78	310.33	< 0.000 1	***
XT	0.10	1	0.10	16.79	0.005	**
Xt	0.14	1	0.14	24.56	0.002	**
θt	0	1	0	0.44	0.530	
X ²	2.09	1	2.09	364.25	< 0.000 1	***
θ ²	0.55	1	0.55	95.98	< 0.000 1	***
t ²	0.17	1	0.17	30.53	0.001	***
残差	0.04	7	0.01			
失拟项	0.03	3	0.01	6.30	0.054	
绝对误差	0.01	4	0			
总误差	6.36	16				
R ²	0.993 7					
R _{adj} ²	0.985 6					
变异系数/%	0.60					

由表 3 可知,回归模型的 P 值为 0.000 1 (<0.001),说明该模型差异极显著,而失拟项不显著,表明外界非试验因素对试验结果没有显著影响。回归模型的相关系数 R^2 为 0.993 7,校正相关系数 R_{adj}^2 为 0.985 6,表明该方程的拟合度较好。变异系数小于 10%,表明试验的精确度和可信度高。根据 F 值大小可判断,3 个因素对多糖提取率的影响程度从大到小依次为提取时间、料液比、提取温度。

通过 Design-Expert 10.0.7 分析,可得出理论最佳提取工艺参数如下:料液比为 1:24.76、提取温度为 84.85 °C、提取时间为 2.15 h,此时多糖提取率为 13.55%。考虑到实际可操作性,在验证试验中将工艺参数调整为:料液比 1:25、提取温度 85 °C、提取时间 2.0 h。在此条件下,多糖提取率为 $(13.36 \pm 0.14)\%$ 。实际提取率为理论值的 98.60%,表明该响应面优化试验适用于多花黄精多糖的提取工艺优化。

3.3 多花黄精多糖的分离纯化分析

参照多花黄精多糖最佳提取工艺参数,提取多糖并除去蛋白后,粗多糖提取率为 7.85%。在 DE-52 纤维素阴离子交换树脂柱分离过程中,依次用不同浓度梯度的 NaCl 溶液进行洗脱。洗脱曲线如图 3 所示,从图 3 可以看出,水洗糖是多花黄精多糖的主要组分,因此大量收集水洗糖进行后续实验研究。

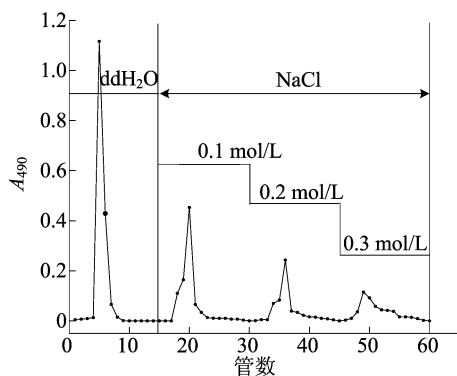


图 3 多花黄精多糖 DE52-Cellulose 洗脱曲线

3.4 多花黄精多糖体外抗氧化活性分析

3.4.1 对巨噬细胞存活率的影响

PCP 对 RAW264.7 巨噬细胞存活率的影响如图 4 所示,从图 4 可以看出,质量浓度在 5~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,PCP 对巨噬细胞的生长具有一定促进效应,且随着多糖质量浓度的增加逐渐增大。当多糖质量浓度大于 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞生

长减慢,表明 PCP 在一定范围内对 RAW264.7 巨噬细胞不具有毒性。

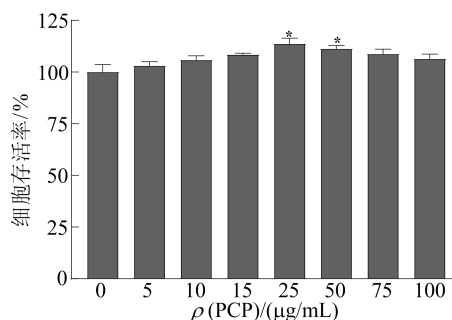
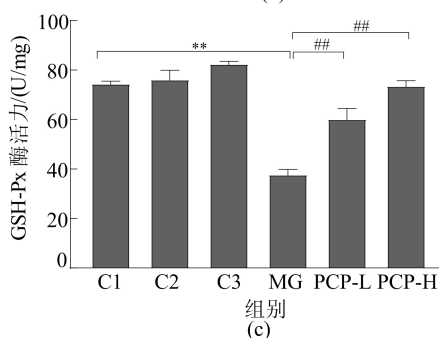
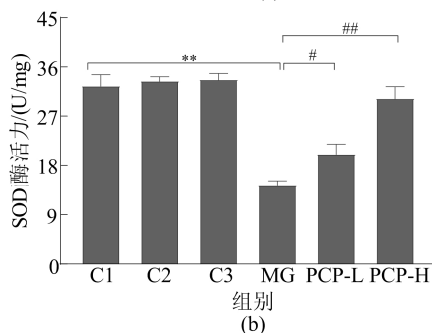
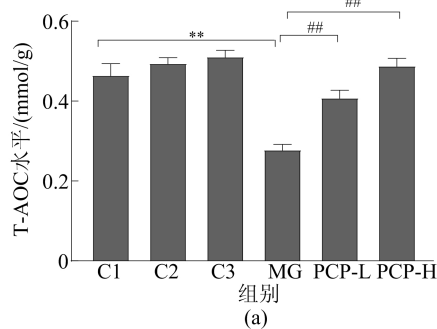


图 4 PCP 对 RAW264.7 巨噬细胞存活率的影响

3.4.2 对巨噬细胞氧化应激相关因子的影响

T-AOC 的大小可以反映机体总体抗氧化水平^[17]。PCP 对 Ox-LDL 诱导巨噬细胞氧化应激相关因子的影响如图 5 所示。由图 5a 可知,与模型组相比,PCP 可呈剂量依赖性提高 Ox-LDL 诱导的巨噬细胞 T-AOC,高剂量 PCP 干预后,T-AOC 水平上升了 75.90%,具有统计学意义($P < 0.01$)。



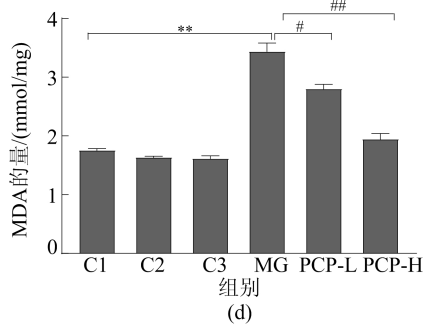


图 5 PCP 对巨噬细胞氧化应激相关因子的影响

从图 5b、图 5c 可以看出,与对照组相比,模型组巨噬细胞 SOD 和 GSH-Px 酶活力显著降低 ($P < 0.01$),PCP 干预组巨噬细胞 SOD 和 GSH-Px 的酶活力显著高于模型组巨噬细胞。从图 5d 可以看出,PCP 干预组巨噬细胞 MDA 的量显著低于模型组巨噬细胞。

上述结果表明,多花黄精多糖具有较强的抗氧化功能。

3.4.3 对 Keap1/Nrf2 信号通路的影响

Keap1/Nrf2 信号通路是机体抵抗氧化应激的经典信号通路,可调控下游 GSH-Px、SOD 等抗氧化酶的转录活性,在维持细胞内氧化还原稳态中发挥重要作用^[18]。文献^[19]研究了黄杞苷对 A β 1-42 诱导的小鼠小胶质瘤 BV-2 细胞氧化损伤的保护作用。实验结果发现,与模型组相比,黄杞苷可显著降低 BV-2 细胞 MDA 的量,显著提高 GSH-Px 和 SOD 的酶活性,同时可明显上调 Nrf2 的蛋白水平,抑制 Keap1 的蛋白表达,而抑制 Keap1/Nrf2 信号通路可逆转黄杞苷对 A β 1-42 诱导的 BV-2 细胞氧化应激的抑制作用^[19]。在本研究中,PCP 对巨噬细胞 Keap1/Nrf2 信号通路的影响如图 6 所示。

从图 6 可以看出:与对照组相比,模型组巨噬细胞 Keap1 蛋白的表达量显著升高,Nrf2 的蛋白水平显著降低;与模型组相比,PCP 可呈剂量依赖性地上调 Nrf2 的蛋白水平,同时显著抑制 Keap1 的表达,结果表明,PCP 发挥抗氧化作用可能与调控 Keap1/Nrf2 信号通路有关。

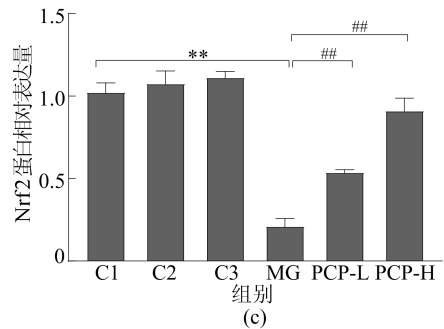
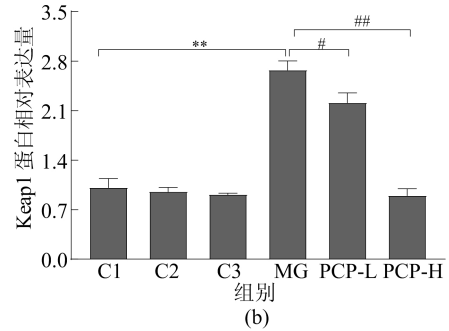
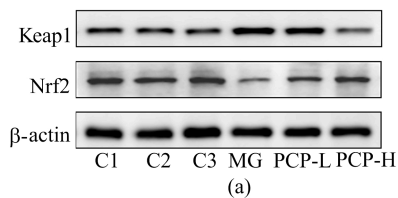


图 6 PCP 对巨噬细胞 Keap1/Nrf2 信号通路的影响

4 结 论

响应面法优化试验结果显示,热水浸提法提取多花黄精多糖的最佳工艺参数为:料液比 1:25、提取温度 85 $^{\circ}$ C、提取时间 2.0 h,该条件下多糖提取率为 13.36%。体外抗氧化活性实验结果表明,多花黄精多糖可能通过 Keap1/Nrf2 信号通路提高 Ox-LDL 诱导的巨噬细胞 T-AOC 水平,增强 GSH-Px 和 SOD 的酶活性,同时降低 MDA 的量,从而发挥抗氧化作用。

[参 考 文 献]

- [1] TALIB W H, AL-ATABY A, MAHMUD A I, et al. The impact of herbal infusion consumption on oxidative stress and cancer: the good, the bad, the misunderstood[J]. *Molecules*, 2020, 25(18): 4207-4241.
- [2] WANG W, KANG P M. Oxidative stress and antioxidant treatments in cardiovascular diseases [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(12): 1292-1317.
- [3] 何卫东,杨柳清,林姿,等. 地红方调控 Keap1/Nrf2 信号通路干预糖尿病血管内皮细胞氧化应激损伤的研究[J]. *福建中医药*, 2022, 53(3): 42-45.
- [4] BAIRD L, YAMAMOTO M. The molecular mechanisms regulating the KEAP1-NRF2 pathway [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2020, 40(13): e00099-20.
- [5] 张政. 金线莲水溶性多糖的结构及其免疫活性研究[D]. 南昌:南昌大学, 2021.
- [6] LI G Q, CHEN P F, ZHAO Y T, et al. Isolation, structural

- characterization and anti-oxidant activity of a novel polysaccharide from garlic bolt[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 267:118-194.
- [7] QI C X, LI L P, CHENG G D, et al. Platycodon grandiflorus polysaccharide with anti-apoptosis, anti-oxidant and anti-inflammatory activity against LPS/D-GalN induced acute liver injury in mice[J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2021, 29(2):4088-4097.
- [8] JIAO R, LIU Y, GAO H, et al. The anti-oxidant and antitumor properties of plant polysaccharides[J]. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2016, 44(3):463-488.
- [9] LIANG J, WU Y, YUAN H, et al. Dendrobium officinale polysaccharides attenuate learning and memory disabilities via anti-oxidant and anti-inflammatory actions[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 126:414-426.
- [10] 李诗萌. 黄精多糖的理化性质及免疫调节作用的研究[D]. 重庆:西南大学, 2020.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020:319-320.
- [12] SHEN W D, LI X Y, DENG Y Y, et al. *Polygonatum cyrtoneuma* Hua polysaccharide exhibits anti-fatigue activity via regulating osteocalcin signaling[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 175:235-241.
- [13] 朱巧, 邓欣, 张树冰, 等. 黄精多糖的提取工艺、组分分析与含量测定研究进展[J]. *中南药学*, 2017, 15(11):1586-1590.
- [14] 薛磊. 海带多糖干预高脂暴露诱发 LDLr~(-/-)小鼠动脉粥样硬化发生的调控机制[D]. 合肥:合肥工业大学, 2015.
- [15] 元希武, 房海灵, 陈泽群, 等. 桃胶多糖脱蛋白工艺研究[J]. *现代食品*, 2021(8):104-107.
- [16] ZHA X Q, XUE L, ZHANG H L, et al. Molecular mechanism of a new *Laminaria japonica* polysaccharide on the suppression of macrophage foam cell formation via regulating cellular lipid metabolism and suppressing cellular inflammation[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2015, 59(10):2008-2021.
- [17] 刘磊, 孟春阳, 李鹏, 等. 锌对脊髓缺血再灌注损伤大鼠 ATP 酶、MAO 活性和 T-AOC 含量影响的研究[J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(1):10-13.
- [18] WEN Z H, XUE R, DU M, et al. Hemp seed polysaccharides protect intestinal epithelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135:203-211.
- [19] HUANG Z X, JI H, SHI J F, et al. Engeletin attenuates A β 1-42-induced oxidative stress and neuroinflammation by Keap1/Nrf2 pathway[J]. *Inflammation*, 2020, 43(5):1759-1771.

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 666 页)

- [27] MAEZONO T, TOKUMURA M, SEKINE M, et al. Hydroxyl radical concentration profile in photo-Fenton oxidation process: generation and consumption of hydroxyl radicals during the discoloration of azo-dye Orange II [J]. *Chemosphere*, 2011, 82(10):1422-1430.
- [28] WANG Q Q, LEMLEY A T. Kinetic effect of humic acid on alachlor degradation by anodic Fenton treatment[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2004, 33(6):2343-2352.
- [29] ZHAO Z W, ZHANG W, LIU W, et al. Single-atom silver induced amorphization of hollow tubular g-C₃N₄ for enhanced visible light-driven photocatalytic degradation of naproxen[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 742:140642.
- [30] WU Y L, JIN X Y, LIU Y, et al. Facile synthesis of solar light-driven Z-scheme Ag₂CO₃/TNS-001 photocatalyst for the effective degradation of naproxen: mechanisms and degradation pathways [J]. *Separation and Purification Technology*, 2020, 254:117598.
- [31] FU K, PAN Y S, DING C, et al. Photocatalytic degradation of naproxen by Bi₂MoO₆/g-C₃N₄ heterojunction photocatalyst under visible light: mechanisms, degradation pathway, and DFT calculation[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2021, 412:113235.
- [32] YANG D, WANG W Q, PEI Z T, et al. Acute toxicity and ecological risk assessment of Benzophenone-3 (BP-3) and Benzophenone-4 (BP-4) in ultraviolet (UV)-filters[J]. *International Journal of Environmental Research & Public Health*, 2017, 14(11):1414.

(责任编辑 吴亮)