

石子林, 李军乔, 王雅琼, 等. 蕨麻地上部分多糖提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3): 720-726.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.03.026

蕨麻地上部分多糖提取工艺优化及其抗氧化活性

石子林^{1,2,3}, 李军乔^{1,2,3}, 王雅琼^{1,2,3}, 董浩^{1,2,3}, 牛永昆^{1,2,3}, 李晨芹^{1,2,3}

(1. 青海民族大学青藏高原蕨麻研究中心, 青海 西宁 810000; 2. 青海省生物技术与分析测试重点实验室, 青海 西宁 810000; 3. 青海民族大学生态环境与资源学院, 青海 西宁 810000)

摘要: 通过优化蕨麻地上部分多糖提取工艺, 为蕨麻地上部分的综合利用提供试验依据。本研究以蕨麻地上部分多糖提取率为评估指标, 以液料比、提取温度、提取时间为影响因素, 在单因素试验基础上结合响应面法优化蕨麻地上部分多糖提取工艺, 并采用 2, 2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS) 自由基清除法以及 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除法测定其抗氧化活性。最佳提取工艺条件为: 液料比 41: 1 (ml/g), 提取温度 80 ℃, 提取时间 97 min, 提取率为 2.68%。在最佳提取工艺条件下, 多糖对 DPPH 自由基、ABTS 自由基的半抑制质量浓度分别为 0.76 mg/ml、0.64 mg/ml。本研究采用响应面法得到蕨麻地上部分多糖的最佳提取工艺, 该工艺简便可行, 提取的多糖具有较强的抗氧化活性。

关键词: 蕨麻; 多糖; 响应面法; 提取工艺; 抗氧化活性

中图分类号: S566.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)03-0720-07

Optimization on the extraction process of polysaccharide from the aerial part of *Potentilla anserina* L. and its antioxidant activity

SHI Zi-lin^{1,2,3}, LI Jun-qiao^{1,2,3}, WANG Ya-qiong^{1,2,3}, DONG Hao^{1,2,3}, NIU Yong-kun^{1,2,3}, LI Chen-qin^{1,2,3}

(1. Tibetan Plateau Juema Research Centre, Qinghai University for Nationalities, Xining 810000, China; 2. Qinghai Provincial Biotechnology and Analytical Test Key Laboratory, Xining 810000, China; 3. College of Ecological Environment and Resources, Qinghai University for Nationalities, Xining 810000, China)

Abstract: To provide experimental basis for comprehensive utilization of the aerial parts of *Potentilla anserina* L., the extraction process of polysaccharide was optimized. In this study, the yield of polysaccharide was used as the evaluation index, and the liquid-solid ratio, extraction time and extraction temperature were taken as influencing factors. The extraction process was optimized by response surface methodology on the basis of single factor test. The antioxidant activity of polysaccharide was determined by 2, 2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) and 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals scavenging methods. The optimum extraction conditions were as follows: liquid-solid ratio 41: 1 (ml/g), extraction temperature 80 ℃, extraction time 97 min. Under the above conditions, the yield of polysaccharide was 2.68%. Under the optimum extraction conditions, the half-inhibiting concentrations of DPPH and ABTS were 0.76 mg/ml and 0.64

mg/ml, respectively. In this study, the optimum extraction process of polysaccharide from the aerial parts of *Potentilla anserina* L. obtained by response surface method is convenient and feasible, and the polysaccharide has strong antioxidant activity.

Key words: *Potentilla anserina* L.; polysaccharide; response surface method; extraction process; antioxidant activity

收稿日期: 2019-12-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31660425); 青海省科技成果转化项目 (2017-NK-148); 青海省自然科学基金项目 (2019-ZJ-978Q); 青海民族大学 2019 年度校级理工自然科学项目 (2019XJC08)

作者简介: 石子林 (1996-), 男, 湖北黄石人, 硕士研究生, 主要从事植物资源开发与利用研究。(E-mail) 2424632465@qq.com

通讯作者: 李军乔, (E-mail) ljqlily2002@126.com

蕨麻是鹅绒委陵菜(*Potentilla anserina* L.)的变种,为蔷薇科(Rosaceae)委陵菜属(*Potentilla* L.),多年生草本^[1],鹅绒委陵菜广泛分布于中国华北、东北、西北、西南等地区,生长在海拔500~4 100 m的路边、河岸、山坡以及高寒草甸上^[2]。在青藏高原等高寒地区因其根部较为膨大,故而称之为蕨麻,其中尤以青海省的分布区域最广,储量最高,品质最好^[3]。

蕨麻在民间为药食两用的植物,已有约1 200年的历史。有研究表明,蕨麻地下部分具有抗缺氧^[4-5]、抗氧化^[6-7]、抑菌^[8]以及保肝护肝^[9-10]等作用,在食品、化妆品、保健品等行业具有较大的利用价值。汪境成等^[11]研究发现,蕨麻地上部分富含黄酮、香豆素、生物碱、鞣质、多糖和三萜等,地下部分富含黄酮、香豆素、多糖、皂苷等。

多糖是一类由糖苷键结合,结构较为复杂的生物活性物质,因其具有降血脂、抗菌、抗氧化、抗肿瘤以及增强免疫活性^[12-13]等功效而备受国内外学者关注。王迦琦等^[14]用水提醇沉法提取北虫草多糖,多糖提取率为7.94%。陆海勤等^[15]用超声协同高压矩形脉冲电场对黄花菜的多糖进行提取,多糖提取率为10.03%。党金宁等^[16]用乙醇/硫酸铵在水溶液中形成的双水相体系作为多糖提取剂,对蕨麻地下部分含有的多糖进行提取,多糖提取率为14.46%。高丹丹等^[17]用水提醇沉法提取蕨麻地下部分多糖,并用Box-Behnken中心组合试验设计原理对工艺进行优化,得其多糖提取率为24.53%。

蕨麻地下部分因其丰富的多糖储量,而广受学者关注。目前,对蕨麻地下部分多糖的研究较为充分,而对蕨麻地上部分多糖的研究则较少。每到蕨麻收获季节,蕨麻的地上部分往往被搁置,由此造成了极大的资源浪费,综合开发利用蕨麻地上部分也逐渐被提上了日程。本试验拟以蕨麻采摘后的地上部分为材料,对其多糖提取率进行测定,并对提取的蕨麻多糖进行抗氧化活性研究,以期提高蕨麻的附加值,为进一步开发利用蕨麻地上部分提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

蕨麻地上部分于2019年11月采自青海省西宁市湟源县牧场村蕨麻种植基地,经青海民族大学生

态环境与资源学院李军乔教授鉴定为蔷薇科委陵菜属植物蕨麻。1,1-二苯基-2-三硝基苯(DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、D-无水葡萄糖、维生素C均购自上海源叶生物科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$,其余试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

本试验所用仪器有:Neofuge23R台式高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司产品)、XFB-400高速中草药粉碎机(吉首市中诚制药机械厂产品)、EPED-20TH实验室级超纯水器(南京易普易达科技发展有限公司产品)、仪表恒温水浴锅(龙口市电炉制造厂产品)、UV-5500型紫外-可见光分光光度计(上海元析仪器有限公司产品)、移液枪(Eppendorf公司产品)、HZQ-X160恒温振荡培养箱(苏州培英实验设备有限公司产品)。

1.3 材料预处理

将采收的蕨麻地上部分自然风干至恒质量,粉碎后过60目筛,将过筛后的蕨麻地上部分用索氏提取法加20倍的石油醚进行回流提取6 h,除去石油醚后,将蕨麻地上部分粉末自然风干,备用。

1.4 提取方法

精密称取1 g蕨麻地上部分粉末,以纯水作溶剂,按一定液料比,在一定温度下提取一定时间后,抽滤,取抽滤后的滤液进行浓缩,并定容至20 ml。用Sevage法脱蛋白质:向溶液中加入5 ml Sevage试剂(三氯甲烷:正丁醇=4:1,体积比),在恒温振荡培养箱(25℃、150 r/min)中反应15 min,再于高速冷冻离心机中离心(25℃、11 000 r/min)15 min,重复上述过程5~8次,直至蛋白质脱尽。取上清液,并添加4倍体积的无水乙醇,在4℃下静置过夜,离心(4℃、11 000 r/min)15 min,将所得沉淀依次用丙酮、无水乙醇洗涤后冻干,获得蕨麻地上部分多糖粗提物。

1.5 葡萄糖标准曲线的制作

精密称量5 mg干燥至恒质量的葡萄糖标准品,置于50 ml容量瓶中,纯水定容,得0.1 mg/ml葡萄糖标准溶液,分别吸取0.5 ml、1.0 ml、1.5 ml、2.0 ml、2.5 ml葡萄糖标准溶液于试管中,并依次滴加1.0 ml 5%苯酚、1.0 ml纯水和5.0 ml浓硫酸,定容至10.0 ml,摇匀,置于沸水浴中反应15 min后取出,冷却至室温,并于490 nm波长下测其吸光度

(A), 纯水作空白对照。以多糖质量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 得回归方程为: $Y = 51.296 0x + 0.006 2$ ($R^2 = 0.999 4$), 多糖质量浓度为 0.05~0.25 mg/ml 时, 线性关系良好。

1.6 多糖质量浓度的测定

精密称取 5 mg 多糖粗提物, 置于 25 ml 容量瓶中, 纯水定容, 获得待测液。取 1 ml 待测液于试管中, 按照方法 1.5 中的方法进行显色并测其吸光度, 结合标准曲线获得待测液中的多糖质量浓度, 并计算其提取率。多糖提取率 = (多糖质量/蕨麻地上部分粉末质量) × 100%。

1.7 蕨麻地上部分多糖提取工艺单因素试验

按方法 1.4 的提取方法, 研究液料比、提取温度、提取时间 3 个因素对蕨麻地上部分多糖提取率的影响。

1.7.1 液料比 称取 1 g 蕨麻地上部分粉末, 固定提取温度 70 ℃, 提取时间 90 min, 考察不同液料比 [20 : 1 (ml/g)、30 : 1 (ml/g)、40 : 1 (ml/g)、50 : 1 (ml/g)、60 : 1 (ml/g)] 对蕨麻地上部分多糖提取率的影响。

1.7.2 提取温度 称取 1 g 蕨麻地上部分粉末, 固定液料比 40 : 1 (ml/g), 提取时间 90 min, 考察不同提取温度 (50 ℃、60 ℃、70 ℃、80 ℃、90 ℃) 对蕨麻地上部分多糖提取率的影响。

1.7.3 提取时间 称取 1 g 蕨麻地上部分粉末, 固定液料比 40 : 1 (ml/g), 提取温度 80 ℃, 考察不同提取时间 (30 min、60 min、90 min、120 min、150 min) 对蕨麻地上部分多糖提取率的影响。

1.8 蕨麻地上部分多糖提取工艺的响应面法优化

在上述单因素试验的基础上, 根据 Box-Behnken 响应面法试验设计原理, 选取液料比 (A)、提取温度 (B)、提取时间 (C) 为影响因素, 以蕨麻地上部分多糖提取率为响应值 (Y), 采取 3 因素 3 水平试验, 确定最佳提取工艺。试验因素设计水平如表 1 显示。

表 1 响应面法的试验因素水平

Table 1 Levels of experimental factors for response surface method

| 水平 | 液料比 (ml/g) | 提取时间 (min) | 提取温度 (℃) |
|----|---------------|---------------|-------------|
| -1 | 30 : 1 | 60 | 70 |
| 0 | 40 : 1 | 90 | 80 |
| 1 | 50 : 1 | 120 | 90 |

1.9 蕨麻地上部分多糖抗氧化性试验

1.9.1 DPPH 自由基清除试验 将最优条件下提取的蕨麻地上部分多糖配制成质量浓度为 0.2 mg/ml、0.4 mg/ml、0.6 mg/ml、0.8 mg/ml、1.0 mg/ml、1.2 mg/ml、1.4 mg/ml、1.6 mg/ml、1.8 mg/ml 的试液, 同时配制 0.04 mg/ml 的 DPPH 溶液。分别取不同质量浓度的蕨麻地上部分多糖溶液各 0.5 ml 于试管中, 滴加 1.5 ml 无水乙醇, 再滴加 2.0 ml DPPH 溶液, 摇匀, 避光静置反应 30 min, 于 517 nm 处测其吸光度, 得样品组清除率。对照组用 0.5 ml 超纯水代替多糖溶液, 空白组则用 2.0 ml 无水乙醇代替 DPPH 溶液。以 V_c 为阳性对照, 按上述方法进行操作。清除率计算公式如下:

$$\text{清除率} = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$$

A_0 : 空白组吸光度, A_1 : 样品组吸光度, A_2 : 对照组吸光度。

1.9.2 ABTS 自由基清除试验 将最优条件下提取的蕨麻地上部分多糖配制成质量浓度为 0.2 mg/ml、0.4 mg/ml、0.6 mg/ml、0.8 mg/ml、1.0 mg/ml、1.2 mg/ml、1.4 mg/ml、1.6 mg/ml、1.8 mg/ml 的试液, 用 2.45 mmol/L 的过硫酸钾将 ABTS 配制成 7.00 mmol/L 的储备液, 避光静置过夜后用超纯水将其稀释至 $\lambda_{734} = 0.70 \pm 0.02$, 得 ABTS · + 工作液。精密吸取各质量浓度的蕨麻地上部分多糖溶液 0.1 ml 于试管中, 滴加 3.9 ml ABTS · + 工作液, 摇匀, 避光静置反应 30 min 后于 734 nm 处测其吸光度, 得样品组清除率。对照组用 0.1 ml 超纯水代替多糖溶液, 空白组则用 3.9 ml 无水乙醇代替 ABTS · + 工作液。以 V_c 为阳性对照, 按上述方法进行操作。

2 结果与分析

2.1 蕨麻地上部分多糖提取工艺单因素试验结果

2.1.1 液料比 图 1 显示, 蕨麻地上部分多糖提取率随液料比的增大而呈现先增大后减小的趋势, 当液料比达到 40 : 1 (ml/g) 时, 提取率达到最大值, 此时的提取率为 2.13%。因此, 选择蕨麻地上部分多糖提取工艺的最佳液料比为 40 : 1 (ml/g)。

2.1.2 提取温度 结果 (图 1) 表明, 蕨麻地上部分多糖提取率随提取温度的增大而呈现先增大后减小的趋势, 当提取温度达到 80 ℃ 时, 提取率达到最大值, 此时的提取率为 2.58%。因此, 选择蕨麻地上

部分多糖提取工艺的最佳提取温度为 80 ℃。

2.1.3 提取时间 蕨麻地上部分多糖提取率随提取时间的增大而呈现先增大后减小的趋势,当提取

时间达到 90 min 时,提取率达到最大值,此时的提取率为 2.74%(图 1)。因此,选择蕨麻地上部分多糖提取工艺的最佳提取时间为 90 min。

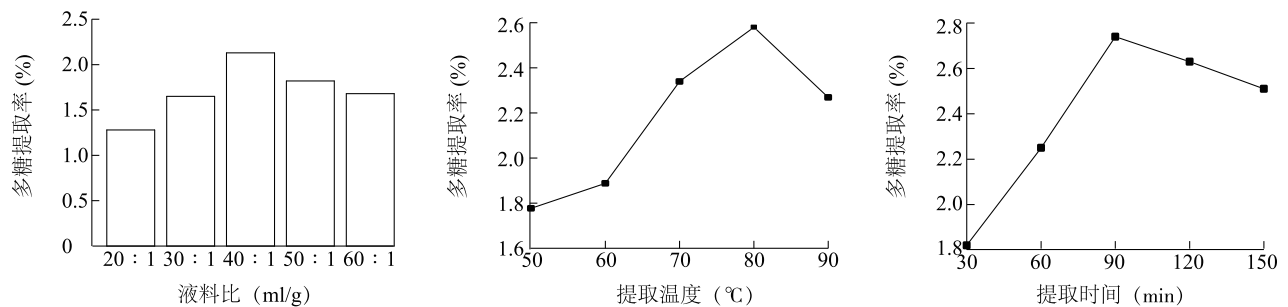


图 1 液料比、提取温度和提取时间对蕨麻地上部分多糖提取率的影响
Fig.1 Effects of liquid-solid ratio, extraction temperature and extraction time on the yield of polysaccharides

2.2 蕨麻地上部分多糖提取工艺响应面法优化试验结果

根据 Box-Behnken 响应面法试验设计原理,设计 3 因素 3 水平试验,探究液料比、提取时间、提取温度 3 因素相互作用对蕨麻地上部分多糖提取率的影响,试验设计方案如表 2 显示。利用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 2 中 17 组试验数据进行回归统计分析,得到回归方程为:

$$Y = -15.189\ 800 + 0.490\ 300A + 0.164\ 300B + 0.027\ 100C + 0.000\ 525AB + 0.000\ 167AC + 0.000\ 058BC - 0.006\ 680A^2 - 0.001\ 205B^2 - 0.000\ 198C^2$$

Y:多糖提取率;A:液料比;B:提取温度;C:提取时间。

表 3 显示,回归模型整体的 $P<0.000\ 1$,可信度水平大于 99.999%,说明该模型具有高度的显著性。一次项 A、C 以及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 均具有显著影响,并且其差异具有统计学意义 ($P<0.010\ 0$)。A、B、C 三因素交互项的显著性较差,说明试验因素与响应值是一种非线性关系。回归方程的 $R^2 = 0.988\ 2$,说明此模型与本试验具有良好的拟合性。 $R^2_{adj} = 0.973\ 1$,说明该模型可解释 97.31% 响应值的变化。失拟项 $P = 0.135\ 6 > 0.050\ 0$,失拟项差异不显著,说明差异无统计学意义,试验误差较小,操作可信度较高,因而可用该模型来确定最佳的提取工艺。此外,由 F 值可看出,3 个因素对蕨麻地上部分多糖提取率的影响表现为:液料比>提取时间>提取温度。

为了更直观地看出各因素对蕨麻地上部分多糖

提取率的影响,绘制了三维响应面图,试验因素对蕨麻地上部分多糖提取率的影响越显著,响应面的坡度越陡峭,反之则较为缓和。

表 2 Box-Behnken 响应面法试验设计和结果
Table 2 Design and results of Box-Behnken experiment

| 试验号 | 试验因素水平 | | | 多糖提取率 (%) |
|-----|--------|------|------|-----------|
| | 液料比 | 提取温度 | 提取时间 | |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 2.65 |
| 2 | 1 | 1 | 0 | 2.07 |
| 3 | 0 | -1 | -1 | 2.41 |
| 4 | -1 | 0 | -1 | 1.64 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 2.72 |
| 6 | 0 | -1 | 1 | 2.51 |
| 7 | -1 | -1 | 0 | 1.87 |
| 8 | 1 | 0 | -1 | 1.87 |
| 9 | 1 | 0 | 1 | 2.18 |
| 10 | 0 | 1 | 1 | 2.44 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 2.71 |
| 12 | -1 | 0 | 1 | 1.75 |
| 13 | 0 | 1 | -1 | 2.27 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 2.77 |
| 15 | -1 | 1 | 0 | 1.78 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 2.68 |
| 17 | 1 | -1 | 0 | 1.95 |

各试验因素中 0、1、-1 见表 1。

表3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方和 | F 值 | P 值 |
|----------------|-----------|-----|-----------|-------------|----------|
| 模型 | 2.407 931 | 9 | 0.267 548 | 65.380 890 | <0.000 1 |
| A | 0.132 613 | 1 | 0.132 613 | 32.406 620 | 0.000 7 |
| B | 0.004 050 | 1 | 0.004 050 | 0.989 702 | 0.353 0 |
| C | 0.059 513 | 1 | 0.059 513 | 14.543 110 | 0.006 6 |
| AB | 0.011 025 | 1 | 0.011 025 | 2.694 187 | 0.144 7 |
| AC | 0.010 000 | 1 | 0.010 000 | 2.443 707 | 0.162 0 |
| BC | 0.001 225 | 1 | 0.001 225 | 0.299 354 | 0.601 3 |
| A ² | 1.878 838 | 1 | 1.878 838 | 459.133 000 | <0.000 1 |
| B ² | 0.061 138 | 1 | 0.061 138 | 14.940 310 | 0.006 2 |
| C ² | 0.133 406 | 1 | 0.133 406 | 32.600 600 | 0.000 7 |
| 残差 | 0.028 645 | 7 | 0.004 092 | | |
| 失拟项 | 0.020 525 | 3 | 0.006 842 | 3.370 279 | 0.135 6 |
| 残误差 | 0.008 120 | 4 | 0.002 030 | | |

A: 液料比; B: 提取温度; C: 提取时间。

图2显示,当液料比为30:1~40:1 (ml/g), 提取温度为70~80 ℃时,蕨麻地上部分多糖提取率随着因素水平的提升而增加,之后提取率随着各因素水平的继续增加而降低,并且液料比曲线较提取温度曲线更为陡峭,说明液料比对多糖提取率的影响高于提取温度。

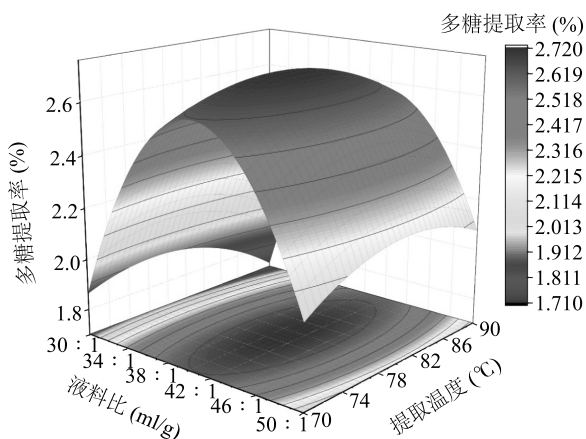


图2 多糖提取率随液料比及提取温度变化的响应面图

Fig.2 Response surface plot of polysaccharide extraction rate with liquid-solid ratio and extraction temperature

图3显示,当液料比为30:1~42:1 (ml/g), 提取时间为60~95 min时,蕨麻地上部分多糖提取率随着因素水平的增加而增加,之后提取率随着各因素

素水平的继续增加而降低,并且液料比曲线较提取时间曲线更为陡峭,说明液料比对多糖提取率的影响高于提取时间。

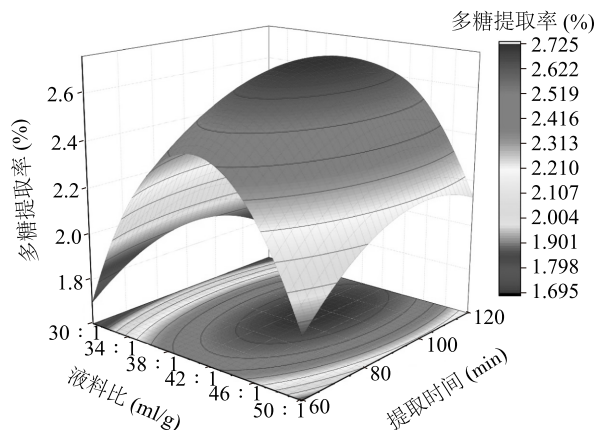


图3 多糖提取率随液料比及提取时间变化的响应面图

Fig.3 Response surface plot of polysaccharide extraction rate with liquid-solid ratio and extraction time

图4显示,当提取温度为70~82 ℃,提取时间为60~95 min时,蕨麻地上部分多糖提取率随着因素水平的增加而增加,之后提取率随着各因素水平的继续增加而降低,并且提取时间曲线较提取温度曲线更为陡峭,说明提取时间对多糖提取率的影响高于提取温度。

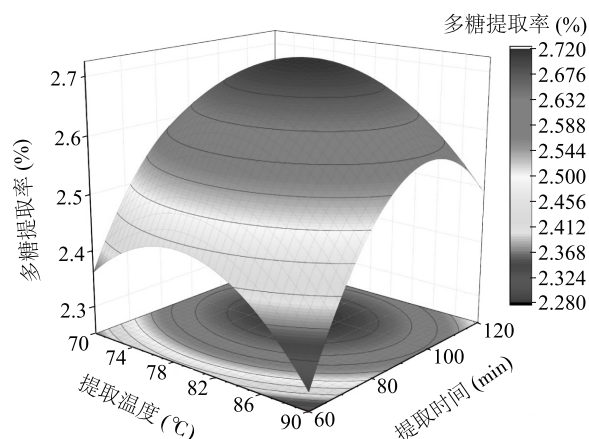


图4 多糖提取率随提取温度及提取时间变化的响应面图

Fig.4 Response surface plot of polysaccharide extraction rate with extraction temperature and extraction time

综上,各因素对蕨麻地上部分多糖提取率的影响表现为:液料比>提取时间>提取温度,与表3结论相符。

经响应面法优化后,所得的最佳提取工艺为:液

料比41.04 : 1.00 (ml/g), 提取温度 79.47 °C, 提取时间 97.61 min, 此时蕨麻地上部分多糖的提取率为 2.72%。考虑到实际操作的简便性, 选取液料比为 41.00 : 1.00 (ml/g), 提取温度 80.00 °C, 提取时间 97.00 min, 在此条件下进行 3 次平行试验, 多糖提取率平均值为 2.68%。试验结果表明, 蕨麻地上部分多糖提取率与回归方程预测值 2.72% 相近, 该模型可较好地预测各因素与多糖提取率之间的关系, 同时也证明了蕨麻地上部分多糖提取工艺的稳定性及可行性。

2.3 蕨麻地上部分多糖抗氧化性

2.3.1 DPPH 自由基清除率 图 5 显示, 蕨麻地上部分多糖具有清除 DPPH 自由基的能力, 并且其清除能力随着多糖质量浓度的增高而增高, 多糖质量浓度为 1.40 mg/ml 时, DPPH 自由基清除率可达 74.15%, 之后随多糖质量浓度继续增加, DPPH 自由基清除率变化缓慢。半抑制质量浓度 (IC_{50}) 为 0.76 mg/ml。

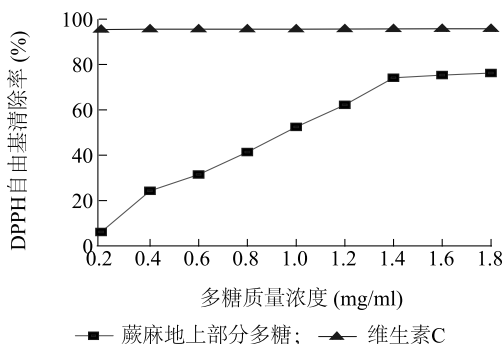


图5 蕨麻地上部分多糖和阳性对照品 V_C 清除 DPPH 自由基能力

Fig.5 DPPH radical scavenging activity of polysaccharides and V_C

2.3.2 ABTS 自由基清除率 图 6 显示, 蕨麻地上部分多糖具有清除 ABTS 自由基的能力, 其清除能力随着多糖质量浓度的增高而增高, 多糖质量浓度为 1.20 mg/ml 时, ABTS 自由基清除率可达 61.65%, 之后随多糖质量浓度继续增加, ABTS 自由基清除率变化缓慢。 IC_{50} 为 0.64 mg/ml。

3 结论

目前, 对植物多糖的提取主要有加热回流法、酶辅助提取法以及超声波辅助提取法等^[18-20]。由于

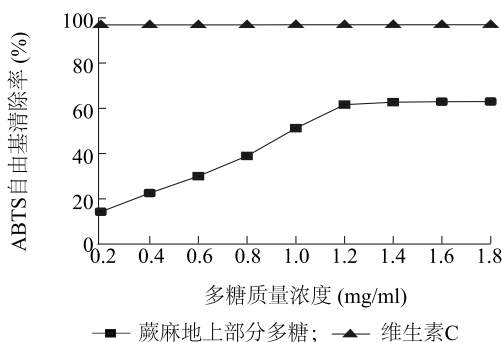


图6 蕨麻地上部分多糖和阳性对照品 V_C 清除 ABTS 自由基能力

Fig.6 ABTS radical scavenging activity of polysaccharides and V_C

加热回流法较为简便, 多糖提取率也较高, 因此本试验采用加热回流法对蕨麻地上部分多糖提取工艺进行探究。不同提取条件对多糖提取率的影响不同, 通常需要优化工艺条件来提高多糖提取率。Box-Behnken 响应面法是中药材提取工艺优化中一种较为常用的方法, 此法结合数学和统计学, 对各个因素进行多重回归分析, 得到回归拟合方程, 模型预测性较好, 与传统的正交试验法相比, 更能反映各因素各水平之间的相互关系, 在工艺优化等领域受广大学者青睐。

本试验通过单因素法确定各因素的取值范围, 并在此基础上结合响应面法对提取工艺进行优化。结果表明, 该模型能较好地预测各因素与蕨麻地上部分多糖提取率之间的关系, 可靠性较高, 并结合 ABTS 自由基清除法、DPPH 自由基清除法测定了蕨麻地上部分多糖的抗氧化性能, 对蕨麻地上部分后续研究具有指导意义。

参考文献:

- [1] 李军乔. 青藏高原蕨麻[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 1-35.
- [2] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济植物志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1987: 270-273.
- [3] 青海经济植物志编写组. 青海经济植物志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1978: 270-273.
- [4] 杨 硕, 张 岭, 龚海英, 等. 蕨麻正丁醇部位下调缺氧内皮细胞 HIF-1 α 及 ET-1 表达[J]. 天津中医药, 2015, 32(3): 168-172.
- [5] 刘冬妍, 陈 飞, 李 霞, 等. 普莱特康胶囊抗缺氧作用研究[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2019, 28(3): 26-29.
- [6] 慕星星, 石继鹏, 王铖博, 等. 不同取代度蕨麻多糖的制备、表征及体外抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 191-

- 198.
- [7] 陈炼红,张梦苑,伍红,等.复合酶法提取蕨麻多糖及其抗氧化活性研究[J].西南民族大学学报(自然科学版),2015,41(4):407-411.
- [8] 杨冬梅,朱兴一,王秋霜,等.蕨麻提取物的抑菌作用及其稳定性研究[J].食品科学,2010,31(7):127-130.
- [9] 罗慧英,曹茸茸,黄亚红.藏药蕨麻对原代培养小鼠肝细胞酒精损伤保护作用研究[J].中国现代应用药学,2016,33(9):1130-1133.
- [10] 闵光涛,冯颖,闵光宁,等.蕨麻提取物保护小鼠四氯化碳急性肝损伤的作用机制[J].兰州大学学报(医学版),2012,38(1):49-56.
- [11] 汪境成,李军乔,包锦渊.青藏高原蕨麻化学成分研究初报[J].上海农业学报,2015,31(5):145-148.
- [12] FERREIRA I C, HELENO S A, REIS F S, et al. Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities [J]. *Phytochemistry*, 2015, 114:38-55.
- [13] ZHAO X, MA S, LIU N, et al. A polysaccharide from *Trametes robiniophila* inhibits human osteosarcoma xenograft tumor growth *in vivo* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 124: 157-163.
- [14] 王迦琦,许梦然,高婧文,等.北虫草多糖提取工艺优化及其细胞氧化损伤保护作用[J/OL].食品工业科技,2020,[2020-01-20].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20200107.1101.002.html>.
- [15] 陆海勤,宫晓丽,李冬梅,等.响应面优化超声协同高压矩形脉冲电场提取黄花菜多糖工艺及其抗氧化活性研究[J/OL].食品工业科技,2019,[2020-01-19].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20191217.1702.022.html>.
- [16] 党金宁,祁小妮,李振亮,等.乙醇/硫酸铵双水相体系提取蕨麻多糖及其抑菌抗氧化活性[J].食品工业科技,2018,39(5):191-196,202.
- [17] 高丹丹,杨璐璐,祁高展.响应面法优化蕨麻多糖的提取工艺[J].天然产物研究与开发,2015,27(6):1099-1104.
- [18] 陈灿辉,江文韬,林彤,等.竹笋多糖的提取、结构鉴定与生理功效研究进展[J].江苏农业学报,2019,35(6):1513-1520.
- [19] 赵立春,张亚玉,李小沛,等.人参多糖3种提取工艺的优化比较[J].江苏农业科学,2019,47(21):254-260.
- [20] 尹学伟,王秋月,李清虎,等.响应面法优化糯高粱多糖提取工艺及其抗氧化活性分析[J].南方农业学报,2019,50(7):1572-1578.

(责任编辑:王妮)