

响应面法优化超声波提取滁菊水溶性多糖工艺 及其红外光谱分析

于士军, 王睿, 祁婉玲, 张莹莹, 盛琪, 杜亚男, 马若兰

(滁州学院生物与食品工程学院食品检验检测中心, 滁州 239000)

摘要: 利用响应面法优化了超声波提取滁菊水溶性多糖的工艺条件。首先研究了超声波功率、提取温度、提取时间和料液比 4 个因素对滁菊水溶性多糖得率的影响, 然后在单因素试验的基础上, 通过响应面 Box-Behnken 实验设计与响应面分析对滁菊水溶性多糖的提取工艺进行了优化。得到最佳提取条件为超声波功率 180 W、提取温度 65℃、提取时间 30 min、液料比 40 mL·g⁻¹。在此条件下滁菊水溶性多糖的提取得率为(8.22±0.57)%, 与模型预测值 7.94%较接近, 经检测二者差异不显著, 表明该模型是可靠的。体外抗氧化试验表明, 在试验的 0.25~4 mg·mL⁻¹ 的范围内, 滁菊水溶性多糖的还原力及对羟基自由基、超氧自由基和 DPPH 自由基的清除能力随浓度的增加而增强。红外光谱分析表明, 提取得到的滁菊多糖为 α-吡喃构成的酸性蛋白聚糖。

关键词: 滁菊; 多糖; 超声波; 响应面; 优化

中图分类号: TS201.2; S567

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2019)04-0595-08

Optimization of ultrasound extraction of water-soluble polysaccharides from *Chrysanthemum morifolium* (Ramat) cv. Chuju by response surface methodology and analysis of FTIR

YU Shijun, WANG Rui, QI Wanling, ZHANG Yingying, SHENG Qi, DU Yanan, MA Ruolan

(Food Inspection and Testing Center, School of Biology and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou 239000)

Abstract: In this work, the ultrasound extraction technology of water-soluble polysaccharides from *Chrysanthemum morifolium* (Ramat) cv. Chuju was optimized by response surface methodology. Firstly the effects of four independent factors, such as ultrasound power, extraction temperature, extraction time and the ratio of water to raw material, on the extraction yield of water-soluble polysaccharides were investigated, and then the extraction process was optimized by Box-Behnken experiment design (BBD) and response surface methodology (RSM). The results indicated that the optimal extraction conditions were as follows: ultrasound power, 180 W; extraction temperature, 65℃; extraction time, 30 min; the ratio of water to raw material, 40:1 (mL·g⁻¹). Under these optimal conditions, the experimental yield of water-soluble polysaccharides was (8.22 ± 0.57)%, which was well matched with the value of 7.94% predicted by the model, indicating that the model is accurate and reliable. The results of antioxidant experiments in vitro indicated that the reducing power and the scavenging abilities of hydroxyl radicals, superoxide radicals and DPPH radicals increased with the increase of the concentration of the polysaccharides in the range of 0.25-4 mg·mL⁻¹. FTIR analysis showed that the obtained polysaccharides was acid polysaccharides with protein and composed of α-configuration pyranose.

Key words: *Chrysanthemum morifolium*; polysaccharide; ultrasound; response surface methodology; optimization

菊花是一种既可培育观赏的菊科植物, 还可作为常用的食用或中药材使用的植物。在我国具有悠

久的栽培历史, 相关文献有“菊甘, 苦, 性微寒”。“清热泻火、平肝明目。对风热感冒、浮肿疼痛、

收稿日期: 2018-09-19

基金项目: 科技部星火计划项目 (2015GA710033), 安徽省大学生创新训练项目 (201710377065), 滁州学院科研项目 (2017PY04), 滁州学院大学生创新训练项目 (2017CXXL071) 和滁州学院生物与食品工程学院实验室开放课题 (SWSP201604KF) 共同资助。

作者简介: 于士军, 博士, 讲师。E-mail: yushijun@outlook.com

头晕目眩等有良好的治疗效果的记载^[1]。《本草纲目》中收录上千种不同品种菊花,现代药理研究表明菊花中含有挥发油、有机酸类、多酚类、黄酮类、多糖微量元素等有效成分^[2-3],具有抗肿瘤^[4-5]、免疫调节^[6]、抗氧化^[7-8]等多种药理作用。

滁菊是菊目、菊科植物,主要产于滁州,是菊花中花瓣最为紧密的一种,是国家地理标志产品^[9],属安徽省四大著名道地药材,名列全国四大药菊之首,是原卫生部明确批准的可以药食两用的植物。滁菊作为一种药食同源植物,因具有多功能功效,在医学和食品方面得到广泛应用。多糖作为滁菊的一种重要功能成分,具有抗疲劳、提高耐缺氧能力、抗氧化和增强免疫功能的作用^[10-11]。目前关于滁菊多糖的提取工艺的研究多集中于酶法提取^[12-14],但由于不同酶的作用致使多糖的组分差异较大;同时,酶法提取工艺复杂,成本高。超声波提取具有速度快、成本低、效率高等特点,因此作者通过响应面法优化了超声波提取滁菊水溶性多糖的工艺,以期对滁菊水溶性多糖的快速高效提取提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

滁菊采集自安徽省滁州市城郊小和尚村(N 32°21'35.480", E 118°15'08.954"),所用硫酸、苯酚、无水乙醇、葡萄糖均为分析纯。

1.2 仪器与设备

Uwave-1000 超声波萃取反应仪,上海新仪微波化学科技有限公司;HHS 型电热恒温水浴锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;L550 型台式离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;JJ500 电子天平,常熟市双杰测试仪器厂;LFP-800T 粉碎机,永康红太阳机电有限公司;T6 新世纪紫外可见分光光度计,北京普析通用责任有限公司;XH-01N 漩涡混合器,金华市文坛科教实验仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 滁菊水溶性多糖的提取 用高速多功能粉碎机对干燥滁菊进行粉碎,过 100 目筛。准确称取适量滁菊粉末,加蒸馏水搅拌均匀,超声波辅助热水浸提,待浸提液冷却后将其置于离心机中离心,取上清液,加入上清液 3 倍体积的 95% 的乙醇溶液进行醇沉,置于 4 °C 冰箱 24 h,然后在 5 000 r·min⁻¹ 条件下离心 10 min,弃上清液,取沉淀物;将沉淀物置于 50 °C 干燥箱中干燥,即得到滁菊粗多糖。

1.3.2 滁菊水溶性多糖含量的测定 参考张惟杰的苯酚硫酸法^[15],以葡萄糖为标准品,绘制标准曲线,

并测定样品多糖含量。

(1) 标准曲线的绘制。配制质量浓度为 10、20、40、60、80 和 100 μg·mL⁻¹ 的葡萄糖溶液,分别取 1 mL 于各试管中,加入 1 mL 苯酚溶液,然后再加 5 mL 硫酸溶液反应,沸水浴 10 min,取出冷却至室温,以蒸馏水为空白对照,在 490 nm 处吸光度。绘制标准曲线得回归方程 $y=0.0045x-0.0222$, $R^2=0.9976$ 。

(2) 滁菊水溶性多糖含量的测定。准确称取按 1.3.1 节方法得到的滁菊粗多糖样品,用去离子水配制成适当浓度的粗多糖溶液,取 1.0 mL 样品溶液加入 4 mL 硫酸蒽酮溶液,按 1.3.2 (1) 方法测得吸光度,计算滁菊水溶性多糖的质量。然后根据提取时使用菊花质量计算出滁菊水溶性多糖的提取得率。

1.3.3 单因素试验 按照 1.3.1 中的方法分别考察超声功率(100、200、300、400、500 W)、提取时间(10、20、30、40、50 min)、提取温度(50、60、70、80、90 °C)及液料比(10:1、20:1、30:1、40:1 和 50 mL:1 g) 4 个因素对滁菊水溶性多糖提取得率的影响。

表 1 响应面试验因子和水平

Table 1 Factors and levels in response surface methodology experiment

因素 Factor	编码 Code	水平/Level		
		-1	0	1
功率/W Power	A	100	200	300
温度/°C Temperature	B	60	70	80
时间/min Time	C	20	30	40
液料比/mL·g ⁻¹ Water to material	D	30:1	40:1	50:1

1.3.4 响应面试验设计 在单因素试验结果的基础上,用响应面法对滁菊水溶性多糖的提取工艺进行优化。以超声波功率、提取温度、提取时间和液料比 4 个因素为自变量,以滁菊水溶性多糖得率为响应值(Y),根据 Box-Behnken 试验设计原理,进行四因素三水平的响应面试验分析,得到最佳的提取条件。试验因素与水平设计如表 1 所示。

1.3.5 多糖的红外色谱检测 分别取 1 mg 干燥的滁菊水溶性多糖,在红外灯下与 100~200 mg 干燥的 KBr 粉末研磨均匀,压成薄片,于 4000~400 cm⁻¹ 进行红外光谱测定。

1.3.6 抗氧化活性测定 还原力、羟基自由基清除率和超氧自由基清除率的测定参考文献[16],DPPH 自由基清除率测定参照文献[17]。

1.4 数据处理

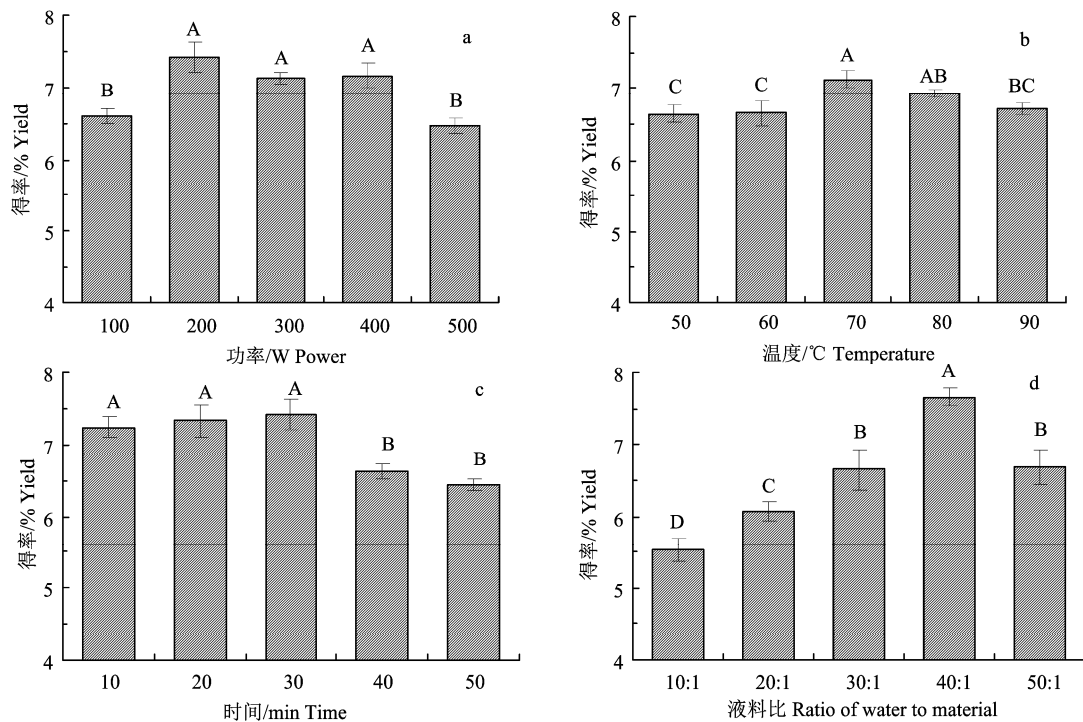
用 Excel 2013 和 SPSS19.0 软件对数据处理分

析, 采用 Duncan 新复极差法对不同处理之间差异显著性进行分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。使用 Design Expert 8.0.6 进行响应面试验设计及回归模型分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

通过超声波功率、提取温度、提取时间和液料比 4 个单因素试验分别研究了他们对滁菊水溶性多糖提取得率的影响。试验结果如图 1 所示。



注: 不同字母表示差异在 $P < 0.05$ 水平差异显著, 下同

Note: Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ level, and the same below

图 1 不同因素对滁菊水溶性多糖提取得率的影响

Figure 1 Effects of four independent factors on the yield of water soluble polysaccharide

2.1.2 提取温度对滁菊水溶性多糖得率的影响

当料液比为 1:30, 功率为 200 W 时, 研究提取温度分别为 50、60、70、80 和 90℃ 时提取滁菊水溶性多糖的得率。试验结果 (图 1b) 表明, 当提取温度低于 70℃ 时, 滁菊水溶性多糖得率随提取温度的升高而升高; 当提取温度高于 70℃ 后, 多糖得率随温度的升高呈现降低的变化趋势。其原因可能是提取温度过高, 多糖分解或水解而导致含量逐渐降低^[20]。

2.1.3 提取时间对滁菊水溶性多糖得率的影响

当料液比为 1:30, 超声波功率为 200 W, 提取温度为 70℃ 时, 研究提取时间分别为 10、20、30、40 和 50 min 时提取滁菊水溶性多糖的得率。试验结果 (图 1c) 显示, 当提取时间少于 30 min 时, 滁菊

2.1.1 超声波功率对滁菊水溶性多糖得率的影响

当料液比为 1:30, 提取温度为 70℃, 提取时间为 30 min 时, 研究超声波功率为 100、200、300、400 和 500 W 的条件下滁菊水溶性多糖提取得率。试验结果 (图 1a) 显示: 超声波功率为 200 W 时, 滁菊水溶性多糖的提取率最高; 超声波功率高于 200 W 之后, 随着超声波功率的升高, 滁菊水溶性多糖的得率呈现降低的趋势。可能是超声功率过高致使多糖分解所致^[18-19]。

水溶性多糖得率随提取时间的延长而升高, 30 min 后多糖提取得率反而下降。其原因可能是超声波长时间处理导致多糖分解^[21]。

2.1.4 液料比对滁菊水溶性多糖得率的影响 以提取时间 30 min, 超声波功率 100 W, 提取温度为 70℃ 为条件, 分别在液料比为 10:1、20:1、30:1、40:1 和 50 mL:1 g 的条件下提取滁菊水溶性多糖。试验结果 (图 1d) 表明, 在 10~40 mL·g⁻¹ 的范围内, 滁菊水溶性多糖的提取得率随液料比升高而升高, 当液料比为 40 mL:1 g 时多糖的提取得率最高; 之后多糖的得率随液料比的升高而降低, 这与 Tian 等人研究当归多糖提取时液料比对多糖得率的影响的变化一致^[22]。液料比越大, 滁菊中多糖与水溶液的浓度差

越大,越容易析出溶解;但是液料比太大,单位体积提取液受到的超声波的热效应、机械作用、空化效应会降低,不利于滁菊水溶性多糖的提取^[23]。也

有研究认为较高的液料比降低了提取溶剂的密度和粘性,促进了多糖分子在水中的溶解性^[19]。

表 2 响应面试验设计和结果

Table 2 Experimental design and results of RSM

试验号 No.	A	B	C	D	多糖得率/% Yield	预测值/% Predicted	试验号 No.	A	B	C	D	多糖得率/% Yield	预测值/% Predicted
1	1	0	-1	0	5.90	5.80	16	1	0	0	1	5.82	5.96
2	0	1	1	0	7.25	7.18	17	1	0	0	-1	5.18	5.45
3	0	0	0	0	8.36	8.42	18	-1	-1	0	0	5.00	5.54
4	1	1	0	0	6.21	5.67	19	0	0	0	0	8.04	8.42
5	-1	1	0	0	5.84	5.74	20	0	1	0	-1	6.47	6.50
6	0	0	0	0	8.56	8.42	21	0	1	-1	0	4.86	5.41
7	-1	0	0	-1	5.43	5.34	22	-1	0	1	0	5.48	5.54
8	0	0	-1	1	5.63	5.46	23	0	0	0	0	8.53	8.42
9	0	1	0	1	5.13	5.25	24	0	-1	0	1	7.05	6.98
10	0	-1	0	-1	5.94	5.77	25	-1	0	0	1	5.02	4.79
11	1	0	1	0	6.33	6.46	26	0	-1	1	0	6.82	6.31
12	0	0	1	1	6.24	6.46	27	0	-1	-1	0	7.19	7.30
13	0	0	1	-1	5.70	5.87	28	-1	0	-1	0	5.61	5.44
14	0	0	-1	-1	6.31	6.09	29	0	0	0	0	8.42	8.42
15	1	-1	0	0	6.79	6.89							

表 3 回归模型的方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model

方差来源 Source	平方和 SS	自由度 DF	均方 MS	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型/Model	34.94	14	2.50	19.35	< 0.000 1	显著
A	1.23	1	1.23	9.55	0.008 0	**
B	0.77	1	0.77	6.00	0.028 1	*
C	0.44	1	0.44	3.44	0.084 9	
D	0.001 3	1	0.001 3	0.009 9	0.922 2	
AB	0.50	1	0.50	3.91	0.068 1	
AC	0.078	1	0.078	0.60	0.449 7	
AD	0.28	1	0.28	2.14	0.166 0	
BC	1.91	1	1.91	14.84	0.001 8	**
BD	1.51	1	1.51	11.72	0.004 1	**
CD	0.37	1	0.37	2.86	0.113 0	
A ²	16.60	1	16.60	128.72	< 0.000 1	**
B ²	4.77	1	4.77	37.02	< 0.000 1	**
C ²	6.63	1	6.63	51.45	< 0.000 1	**
D ²	13.41	1	13.41	104.03	< 0.000 1	**
Residual	1.81	14	0.13			
Lack of fit	1.60	10	0.16	3.15	0.140 0	不显著
Pure error	0.20	4	0.051			
Corrected total	36.74	28				
R ²	0.9509					
R ² _{Adj}	0.9017					
Adeq precision	14.059					
C. V. %	5.62					

注:*、**分别为 0.05 及 0.01 水平上的显著性差异。

Note: "*" and "**" refer to the different significance at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

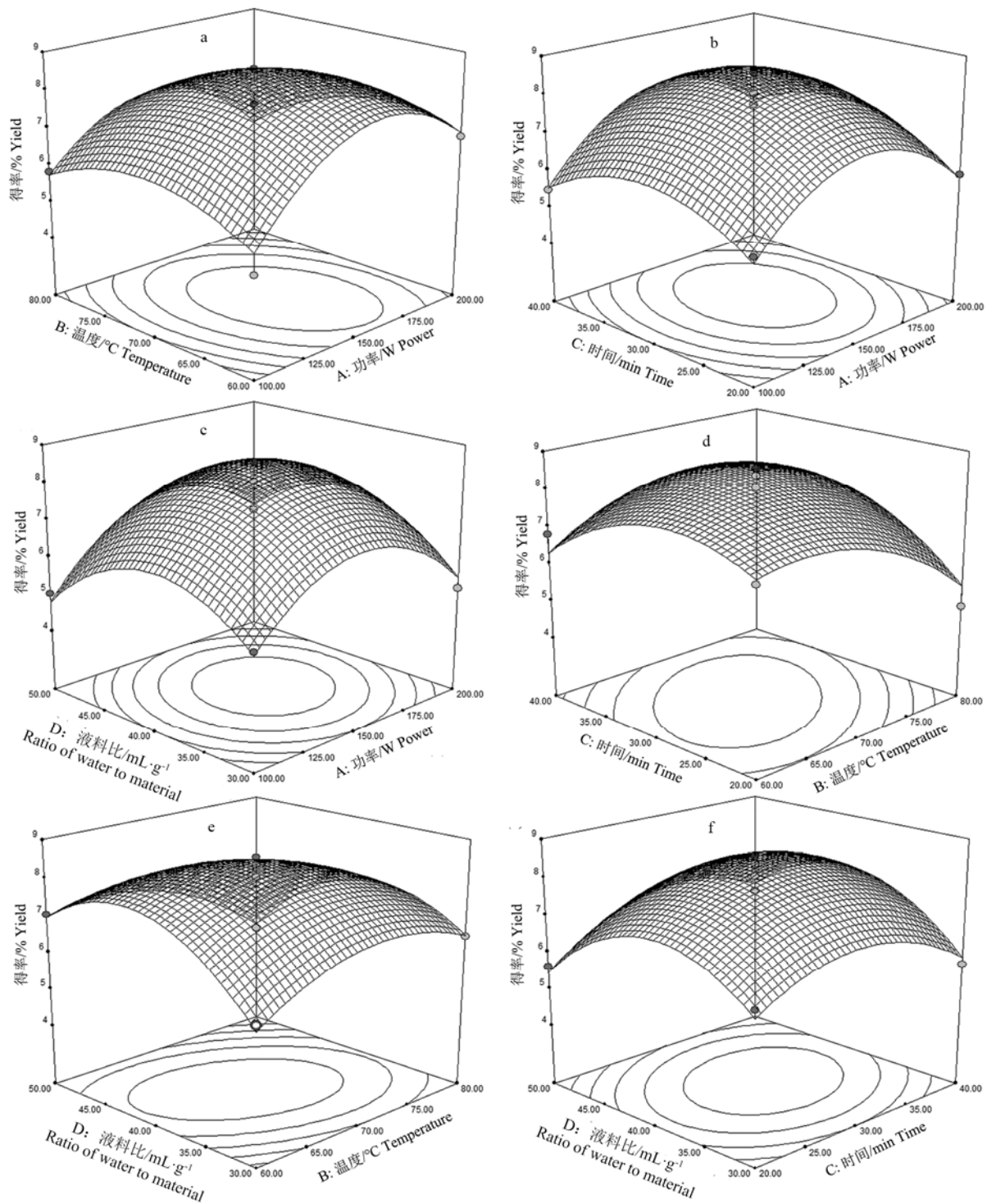


图 2 滁菊水溶性多糖提取得率的响应面图

Figure 2 Response surface graphs of the extraction yield of polysaccharides

2.2 响应面法优化滁菊水溶性多糖提取工艺

2.2.1 响应面试验设计及结果 依据单因素试验的结果, 以超声波功率、提取温度、时间和液料比 4 个因素为自变量, 以滁菊水溶性多糖得率为响应值, 使用 Design Expert 设计响应面试验, 如表 2 所示。

2.2.2 回归方程方程分析及显著性 为检验各试验

因素对滁菊水溶性多糖得率的影响和回归方程的有效性, 对所得数据的回归方程进行方差分析, 结果如表 3 所示。

P 值可以用于检测系数的显著性, P 值越小表明相应因变量的影响越大。同时, P 值还可以检验组合因子的交互作用^[24]。由表 3 中的数据可知: 模

型的 $P < 0.0001$ ，说明拟合模型达极显著水平；失拟项的 $P = 0.1400 > 0.05$ ，失拟项不显著。回归模型的 $R^2 = 0.9509$ ， $R^2_{Adj} = 0.9017$ ，说明模型的拟合度良好^[20]。较低的 C.V.% 值表明该模型具有良好的重复性和可靠性^[25]。因此，该回归模型可以用于对滁菊水溶性多糖得率进行分析及预测。由表 3 也可知，一次项 A 和 B、BC 和 BD 的交互项、及 A^2 、 B^2 、 C^2 和 D^2 的二次项对多糖得率的影响均为显著；在试验范围内各因素对滁菊水溶性多糖得率的影响大小依次是 $A > B > C > D$ ，即影响因素从大到小依次为超声波功率、提取温度、提取时间和液料比^[26]。

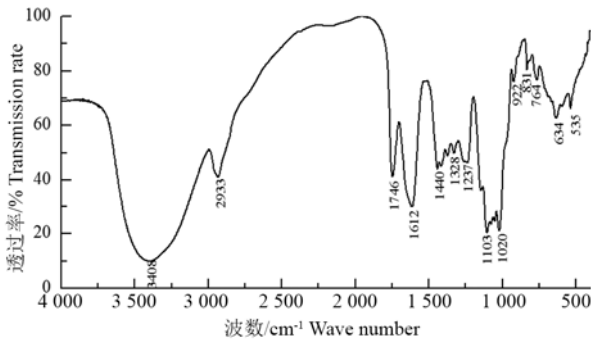


图 3 滁菊水溶多糖的 FTIR 图谱

Figure 3 FTIR spectrum of polysaccharides from *Chrysanthemum morifolium* (Ramat) cv. Chuju

利用 Design Expert 软件建立超声波功率、提取温度、提取时间和液料比 4 个因素的数学回归模型为：得率 (%) = $8.42 + 0.32A - 0.25B + 0.19C - 0.01D - 0.35AB + 0.14AC + 0.26AD + 0.69BC - 0.61BD + 0.30CD - 1.60A^2 - 0.86B^2 - 1.01C^2 - 1.44D^2$

2.2.3 响应面影响因素的交互作用 超声波功率、提取温度、提取时间和液料比 4 个因素的两两交互

作用的响应面和等高线分别如图 2 所示。

双曲面坡度平缓表示 2 个因素交互作用不显著，坡度陡峭表示 2 个因素交互作用显著；等高线的密集程度和形状可反映出交互效应的强弱大小，等高线越密集，说明二者交互作用越显著；椭圆形表示 2 个因素交互作用显著，而圆形表示 2 个因素的交互作用不显著^[20]。由图 2 (a) 可知，双曲面变化较为平缓且等高线呈椭圆形，表明超声波功率和提取温度的交互作用不显著，多糖得率随提取温度的变化小于随超声波功率的变化，说明多糖得率受超声波功率的影响较大。由图 2 (b) 可知，双曲面变化也较为平缓且等高线呈椭圆形，表明超声波功率和提取时间的交互作用也不显著，多糖得率随提取时间的变化小于随超声波功率的变化，说明多糖得率也是受超声波功率的影响较大。由图 2 (c) 可知，双曲面变化也较为平缓且等高线呈椭圆形，表明超声波功率和液料比的交互作用不显著，多糖得率随液料比的变化小于随超声波功率的变化，说明多糖得率也是受超声波功率的影响较大。由图 2 (d) 可知，双曲面较为陡峭且等高线呈椭圆形，表明提取温度和提取时间的交互作用显著，多糖得率随提取时间的变化小于随提取温度的变化，说明多糖得率受提取温度的影响较大。由图 2 (e) 可知，双曲面较为陡峭且等高线呈圆形，表明提取温度和液料比的交互作用显著，多糖得率随液料比的变化小于随提取温度的变化，说明多糖得率受提取温度的影响较大。由图 2 (f) 可知，双曲面较为平缓且等高线呈椭圆形，表明提取时间和液料比的交互作用不显著，多糖得率随液料比的变化小于随提取时间的变化，说明多糖得率受液料比的影响较大。

表 4 滁菊水溶性多糖抗氧化活性

Table 4 Antioxidant activities of polysaccharides from *Chrysanthemum morifolium* (Ramat) cv. Chuju

浓度/mg·mL ⁻¹ Concentration	总还原力 Total reducing power	羟基自由基清除率/% Scavenging rate of hydroxyl radical	超氧羟基自由基清除率/% Scavenging rate of superoxide hydroxyl radical	DPPH 清除率/% Scavenging rate of DPPH
0.25	0.057±0.005 ^D	3.37±2.39 ^F	27.57±1.85 ^F	27.16±3.06 ^E
0.50	0.061±0.004 ^D	11.68±2.02 ^E	57.50±0.39 ^E	27.70±0.86 ^E
1.00	0.107±0.013 ^C	22.41±1.24 ^D	69.92±1.35 ^D	35.70±1.59 ^D
2.00	0.212±0.018 ^B	36.23±2.01 ^C	76.79±1.51 ^C	46.24±4.24 ^C
4.00	0.372±0.012 ^A	57.62±2.12 ^B	86.77±1.43 ^B	58.10±2.79 ^B
0.20 (Vc)	0.363±0.019 ^A	96.42±3.15 ^A	91.50±2.33 ^A	86.10±1.64 ^A

2.2.4 最佳工艺参数确定及验证性实验 通过回归模型的分析，以多糖得率作为评价指标，滁菊水溶性多糖适宜的提取工艺参数为超声波功率 185.62

W、提取温度 66.78℃、提取时间 30.54 min、液料比 41.36 mL·g⁻¹。在此条件下，模型预测滁菊水溶性多糖得率为 7.94%。考虑到实际应用中操作方便，

将工艺参数调整为超声波功率 180 W、提取温度 65 °C、提取时间 30 min、液料比 40 mL·g⁻¹。

为检验该响应面模型的准确性, 使用调整后的条件提取滁菊水溶性多糖, 对模型进行验证。实验平行 5 次, 滁菊水溶性多糖得率的平均值为(8.22±0.57)%, 与预测值差异 0.26%, 实际值与理论值基本相符。说明模型优化得到的滁菊水溶性多糖提取工艺参数是可靠的。

2.3 滁菊水溶多糖的红外光谱分析

用红外光谱仪扫描所得多糖在 400 至 4 000 cm⁻¹ 的红外光谱图, 如图 3 所示。3 408 cm⁻¹ 是 O-H 的伸缩振动峰, 2 933 cm⁻¹ 是糖类 CH₃、CH₂、CH 等 C-H 伸缩振动峰, 1 700~1 500 cm⁻¹ 吸收峰是有 C=O 对称和不对称伸缩振东产生。1 746 cm⁻¹ 吸收峰表明该多糖中可能具有糖醛酸结构, 1 650~1 550 cm⁻¹ 处有较强吸收峰, 为 C=O 的伸缩振动及 C=O 的非对称伸缩振动, 多糖中可能含有-COOH, 是一种酸性多糖^[27]。1 400~1 200 cm⁻¹ 的吸收峰是 C-H 的变角振动, 1 103 cm⁻¹ 和 1 020 cm⁻¹ 为酯羰基(C-O-C) 伸缩振动和 C-O-H 连接所致, 是吡喃糖的特征峰^[28], 831 cm⁻¹ 吸收峰表面该多糖为 α-构型多糖^[29]。1 200~850 cm⁻¹ 的吸收峰表面该多糖中可能蛋白聚糖^[30]。

2.4 体外抗氧化活性

由表 4 可看出, 滁菊水溶性多糖的总还原力随其浓度的增加而增强, 在 4 mg·mL⁻¹ 时与 0.2 mg·mL⁻¹ 的维生素 C 的还原力无显著差异($P>0.05$); 滁菊水溶性多糖清除羟基自由基能力也随其浓度的增加而增强, 在 4 mg·mL⁻¹ 时达到 57.62%; 滁菊水溶性多糖在 0.25~4 mg·mL⁻¹ 的浓度范围内对超氧自由基清除率为 27.57%~86.77%, 清除率随多糖浓度的增加而增高; 滁菊水溶性多糖在 0.25~4 mg·mL⁻¹ 的浓度范围内对 DPPH 自由基的清除率为 27.16%~58.10%, 清除率亦随多糖浓度的增加而增高。试验浓度范围内, 滁菊水溶性多糖对超氧自由基的清除率高于对 DPPH 自由基的清除率。熊磊等人研究认为滁菊纤维素酶解多糖对 DPPH 自由基的清除作用强于对超氧自由基的清除作用^[14]。造成这种差异的原因可能是超声波辅助提取的滁菊水溶性多糖组分与结构不同于滁菊纤维素酶解多糖。

3 讨论与结论

在单因素试验的基础上, 通过 Box- Behnken 实验设计和响应面分析对滁菊水溶性多糖的提取工艺进行了研究。得到最佳提取条件为超声波功率 180

W、提取温度 65 °C、提取时间 30 min、液料比 40 mL·g⁻¹。在此条件下, 滁菊水溶性多糖的得率为(8.22±0.57)%, 与模型预测值 7.94%较接近, 经检测二者差异不显著。表明回归模型优化得到的滁菊水溶性多糖提取工艺条件参数是可行的。戴缘缘^[12]和刘汉珍^[13]等分别研究了果胶酶及果胶酶和纤维素酶辅助提取滁菊多糖工艺条件, 多糖得率均到 13%以上, 比本研究得到多糖的得率高。究其原因, 是由于果胶酶和纤维素酶的作用使原本不溶于水的多糖变成溶于水的多糖, 致使其试验所得多糖较高。体外抗氧化实验表明, 滁菊水溶性多糖的还原力及对羟基自由基清、超氧自由基和 DPPH 自由基的清除能力随浓度的增加而增强。在相同浓度下滁菊水溶性多糖具有较好的超氧自由基清除能力, 在浓度 4 mg·mL⁻¹ 时对超氧自由基清除率达 86.77%, 对 DPPH 自由基的清除率为 58.10%, 对羟基自由基的清除率为 57.62%; 表明滁菊水溶性多糖具有一定的还原性, 且其还原力随其浓度的增加而增强。同时, 多糖的红外光谱分析表明, 通过本研究方法提取得到的滁菊多糖为 α-型吡喃构成的酸性蛋白聚糖。其具体单糖组成及连接方式有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2015 一部[M]. 北京: 化工出版社, 2016.
- [2] 戴胜, 张明, 程文明, 等. HPLC 测定野菊花药材中 8 种黄酮和有机酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(12): 1961-1965.
- [3] LIN L Z, HARNLY J M. Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat)[J]. Food Chem, 2010, 120(1): 319-326.
- [4] YASUKAWA K, AKIHISA T, OINUMA H, et al. Inhibitory effect of di- and trihydroxy triterpenes from the flowers of compositae on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation in mice[J]. Biol Pharm Bull, 1996, 19(10): 1329-1331.
- [5] YASUKAWA K, AKIHISA T, OINUMA H, et al. Inhibitory effect of taraxastane-type triterpenes on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin[J]. Oncology 1996, 53(4): 341-344.
- [6] LIANG F J, HU C F, HE Z C, et al. An arabinogalactan from flowers of *Chrysanthemum morifolium*: structural and bioactivity studies[J]. Carbohydr Res, 2014, 387: 37-41.
- [7] ZHENG C P, DONG Q, CHEN H J, et al. Structural characterization of a polysaccharide from *Chrysanthemum morifolium* flowers and its antioxidant activity[J]. Carbohydr Polym, 2015, 130: 113-121.
- [8] ZHENG C P, DONG Q, DU Z Y, et al. Structural

- elucidation of a polysaccharide from *Chrysanthemum morifolium* flowers with anti-angiogenic activity[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 79: 674-680.
- [9] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 19692-2008[S] 地理标志产品 滁菊, 2008.
- [10] 张成孜. 滁菊多糖保健功效研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013.
- [11] 俞浩, 张成孜, 毛斌斌. 滁菊多糖抗疲劳耐缺氧作用效果观察[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(12): 365-367, 372.
- [12] 戴缘缘, 吴学凤, 孟飞, 等. 复合酶辅助提取滁菊多糖工艺条件优化[J]. *玉溪师范学院学报*, 2017, 33(12): 25-29.
- [13] 刘汉珍, 宋飞, 俞浩, 等. 酶法提取滁菊多糖的工艺优化[J]. *中药材*, 2010, 33(10): 1632-1636.
- [14] 熊磊, 年四辉, 朱玉. 纤维素酶解滁菊提取多糖工艺及滁菊多糖抗氧化性研究[J]. *皖南医学院学报*, 2014, 33(1): 23-26.
- [15] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999.
- [16] WANG Z Y, WANG C Y, QUAN Y. Extraction of polysaccharides from *Phellinus nigricans* mycelia and their antioxidant activities *in vitro*[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 99: 110-115.
- [17] YU S J, ZHANG Y, LI C R, et al. Optimization of ultrasonic extraction of mycelial polysaccharides from *Paecilomyces hepiali* using response surface methodology and its antioxidant activity[J]. *Afr J Biotechnol*, 2011, 10(75): 17241-17250.
- [18] CONTAMINE R F, WILHELM A M, BERLAN J, et al. Power measurement in sonochemistry[J]. *Ultrason Sonochem*, 1995, 2(1): S43-S47.
- [19] CHEN C, YOU L J, ABBASI A M, et al. Optimization for ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry fruits with antioxidant and hyperglycemic activity *in vitro*[J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 130: 122-132.
- [20] 李淑荣, 王丽, 唐选民, 等. 响应面法优化海鲜菇中多糖提取工艺[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(1): 172-176.
- [21] LIU Y, QIANG M L, SUN Z G, et al. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from *Hovenia dulcis* peduncles and their antioxidant potential[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 80: 350-357
- [22] TIAN S Y, HAO C C, XU G K, et al. Optimization conditions for extracting polysaccharide from *Angelica sinensis* and its antioxidant activities[J]. *J Food Drug Anal*, 2017, 25(4): 766-775.
- [23] 程海涛, 申献双. 响应面优化超声-微波协同提取紫米原花青素工艺[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(7): 186-191.
- [24] TAHMOUZI S. Optimization of polysaccharides from *Zagros oak* leaf using RSM: antioxidant and antimicrobial activities[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 106: 238-246.
- [25] THANGAM R, SURESH V, KANNAN S. Optimized extraction of polysaccharides from *Cymbopogon citratus* and its biological activities[J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 65: 415-423.
- [26] 宋佳敏, 王鸿飞, 孙朦, 等. 响应面法优化金蝉花多糖提取工艺及抗氧化活性分析[J]. *食品科学*, 2018, 39(4): 275-281.
- [27] ZHU Z Y, LIU N, SI C L, et al. Structure and anti-tumor activity of a high-molecular-weight polysaccharide from cultured mycelium of *Cordyceps gunnii*[J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 88(3): 1072-1076.
- [28] DONG H M, ZHANG Q, LI Y, et al. Extraction, characterization and antioxidant activities of polysaccharides of *Chuanminshen violaceum*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 86: 224-232.
- [29] JING Y S, HUANG L J, LV W J, et al. Structural characterization of a novel polysaccharide from pulp tissues of *Litchi chinensis* and its immunomodulatory activity[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(4): 902-911.
- [30] ZHU K X, ZHANG Y J, NIE S P, et al. Physicochemical properties and *in vitro* antioxidant activities of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. pulp[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 155: 354-361.