doi:10.11751/ISSN.1002 - 1280.2019.11.10

响应面法优化超声波提取浮萍多糖工艺研究

于忠娜[1],王 军[2],刘桂伶[1],王玉梅[2],韩荣伟[2*]

(1.青岛农业大学海都学院,山东莱阳 265200;2.青岛农业大学食品科学与工程学院,山东青岛 266109)

[收稿日期] 2019 - 08 - 21　[文献标识码] A　[文章编号] 1002 - 1280 (2019) 11 - 0057 - 09　[中图分类号] R284.2

[摘　要] 为优化浮萍多糖的提取工艺,基于单因素试验结果对影响浮萍多糖提取率的三个显著因素及水平:料液比(1∶40、1∶50、1∶60)、超声时间(40 min、60 min、80 min)和超声功率(300 W、350 W、400 W)进行了研究。以浮萍多糖提取率为响应值,运用 Design - Expert 软件进行响应面设计并开展试验,通过工艺优化确定浮萍多糖的最佳提取条件为料液比 1∶40.06、超声时间 79.58 min、超声功率 341.37 W,此条件下浮萍多糖提取率的理论值可达到 1.188%;验证试验的浮萍多糖提取率为 1.125%,与理论值仅相差 0.063%。优化后的提取工艺条件准确可靠,可用于实际操作。

[关键词] 浮萍多糖;超声波处理;单因素试验;响应面分析

Study on the Optimization of Ultrasonic Extraction Duckweed Polysaccharide Technique with Response Surface Method

YU Zhong - na[1], WANG Jun[2], LIU Gui - ling[1], WANG Yu - mei[2], HAN Rong - wei[2*]

(1. *Haidu College · Qingdao Agricultural University*, *Laiyang*, *Shandong* 265200, *China*;

2. *College of Food Science and Engineering*, *Qingdao Agricultural University*, *Qingdao*, *Shandong* 266109, *China*)

Corresponding author: *HAN Rong - wei*, *E - mail*: *qauhan@qau.edu.cn*

Abstract: In order to optimize the extraction process of duckweed polysaccharides, three significant factors and levels affecting the extraction rate of duckweed polysaccharides were studied based on single factor test results, including the ratio of material to liquid (1∶40, 1∶50, 1∶60), ultrasonic time (40 min, 60 min, 80 min), and ultrasonic power (300 W, 350 W, 400 W). The response rate of the extract of duckweed was taken as the response value, and the design of the experimental scheme was optimized by a Design - Expert software. The optimal extraction conditions of duckweed polysaccharides were determined by process optimization: the ratio of material to liquid was 1∶40.06, the ultrasonic time was 79.58 min, and the ultrasonic power was 341.37 W. Under this condition, the theoretical extraction value of duckweed polysaccharides could reach 1.188%. It was

基金项目:山东省重点研发计划(公益类科技攻关)(2019GNC106024);国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP2019027);山东省高等学校科学技术计划项目(J17KA131)

作者简介:于忠娜,副教授,硕士,从事动物性食品安全研究。

通讯作者:韩荣伟。E - mail:qauhan@qau.edu.cn

verified by experiments that the extraction rate of duckweed polysaccharide was 1.125%, which was only 0.063% different from the theoretical value. The optimized extraction process conditions are accurate and reliable and can be used for practical operations.

Key words: duckweed polysaccharide; ultrasonic treatment; single factor experiment; response surface analysis

浮萍(Common Duckweed Herb,Herba spirodelae)为浮萍科植物紫背浮萍(*Spirodela polyrrhiz*(L.)Schleid)或青萍(*Lemna minor* L.)的全草,其生长周期短、繁殖快、喜阴喜湿等,其干燥的全草可以做家畜的饲料,在我国四川、浙江、湖北等地区的动物养殖中广泛分布并使用[1-3]。浮萍味辛,性寒,归肺经,有利尿消肿、发汗解表、止痒等功效。研究表明,浮萍中含有多糖、蛋白质、树脂、类脂、黄酮类化合物等多种物质,浮萍多糖是浮萍中重要的生物活性物质,具有免疫调节作用。而中兽药具有价格低廉、药物残留少、不会产生耐药性等优点,因而浮萍多糖在中兽药中的应用越来越受重视[4]。

国内对浮萍多糖的提取纯化方法研究较多,主要有堆热法、超滤法等,但这些方法对设备要求较高,技术工艺繁琐,费用较高[5-6]。本研究利用超声波的空化效应增加溶剂的穿透力,辅助浮萍多糖的提取[7-8],并通过 Design-Expert 软件进行响应面法设计,优化超声波辅助提取浮萍多糖的最佳提取工艺。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 浮萍干燥全草购于四川成都国际商贸城荷花池中药材专业市场,批号:20150416;去离子水,葡萄糖,浓硫酸,苯酚,乙醇,所用试剂均为分析纯,购于北京陆桥技术有限责任公司。

1.2 仪器与设备 FW100 高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;分样筛,浙江上虞市肖金化验仪器厂;SB25-12DTD 型超声波清洗器,宁波新芝生物科技股份有限公司;302 型电热鼓风干燥箱,中国山东龙口市先科仪器公司;TGL-16C 高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;SHZ-Ⅲ型循环水真空泵,上海亚荣生化仪器厂;WFJ7200 型紫外可见分光光度计,上海尤尼科仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 提取方法 用高速万能粉碎机将干燥浮萍全草粉碎,过 60 目分样筛,备用。准确称取 1.0 g 浮萍粉末,加入去离子水,静置 10 min,设定超声功率、时间、温度,进行超声波处理;超声处理后的样品 8000 r/min 离心 10 min,收集上清液并抽滤,滤液中加 95% 乙醇(*V*∶*V*,1∶4)过夜后 8000 r/min 离心 10 min 得到沉淀;沉淀物放入 60 ℃干燥箱中烘干得浮萍多糖粉末。

1.3.2 标准曲线的绘制 葡萄糖标准品在 105 ℃烘干至恒重后,准确称取 10.0 mg,加去离子水溶解并定容至 100 mL,得到浓度为 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液。吸取葡萄糖标准溶液 0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL,分别加入具塞试管中,加蒸馏水至 2.0 mL,加 5% 苯酚 1.0 mL,混匀,迅速加入 5.0 mL 浓硫酸,盖上塞,立刻摇匀,室温静置 30 min 后,以空白校正零点,用 1 cm 比色皿于 490 nm 处测定吸光度,平行 3 次并记录吸光度值,作出葡萄糖标准曲线,得到回归方程。多糖组分近似等于葡聚糖,故多糖回归方程为葡萄糖标准曲线回归方程系数乘以葡萄糖与葡聚糖间的转换系数 0.9[9]。

1.3.3 多糖提取率的测定与计算 准确称取 1.0 g 过分样筛的干燥浮萍粉末,加入一定质量的去离子水,静置 10 min,设置一定的超声功率、超声时间、温度,进行超声波处理,将经过超声波处理完的样品用台式离心机 8000 r/min 离心 10 min,收集上清液并抽滤。应用苯酚-硫酸法测滤液中的多糖含量[10],多糖提取率计算方法见公式(1)。

$$R = \frac{c \cdot n \cdot V}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中:*R* 为多糖提取率;*c* 为滤液中的多糖浓度;

n 为稀释倍数;V 为滤液总体积;m 为浮萍原料质量。

1.3.4　产品纯度的测定与计算　精密称取所得浮萍多糖粉末 50.0 mg,加去离子水溶解并定容至 250 mL。吸取上述溶液 1.0 mL 加入具塞试管(蒸馏水,做空白对照),补水至 2.0 mL,加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL,迅速加入 5.0 mL 浓硫酸,盖上塞,立刻摇匀,静置 30 min 后,于 490 nm 处测定吸光度。再以多糖为对照,通过标准曲线求得多糖含量,计算方法见公式(2)。

$$C = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \qquad (2)$$

式中:C 为样品纯度;m_1为产品中的多糖质量;m_2为待测样品质量。

1.3.5　单因素试验　按照 1.3.1 浮萍多糖提取工艺流程,考察料液比、超声波提取时间、超声波功率、提取温度以及提取次数等因素对浮萍多糖提取率的影响。具体操作如下:

(1)准确称取 6 份干燥浮萍粉末(1.0 g/份),设定超声波功率 400 W、超声波提取时间 80 min、超声波提取温度 50 ℃,提取次数 1 次等条件下,考察 1∶20、1∶30、1∶40、1∶50、1∶60、1∶70 等不同料液比对浮萍多糖提取率的影响。

(2)准确称取 6 份干燥浮萍粉末(1.0 g/份),设定料液比 1∶50、超声波功率 400 W、超声波提取温度 50 ℃、提取次数 1 次等条件下,考察 20 min、40 min、60 min、80 min、100 min、120 min 等不同提取时间对浮萍多糖提取率的影响。

(3)准确称取 6 份干燥浮萍粉末(1.0 g/份),设定料液比 1∶50、超声波提取温度 50 ℃、超声波提取时间 80 min、提取次数 1 次等条件下,考察 250 W、300 W、350 W、400 W、450 W、500 W 等不同超声功率对浮萍多糖提取率的影响。

(4)准确称取 6 份干燥浮萍粉末(1.0 g/份),设定料液比 1∶50、超声波功率 400 W、超声波提取时间 80 min、提取次数 1 次等条件下,考察 20 ℃、30 ℃、40 ℃、50 ℃、60 ℃、70 ℃等不同提取温度对浮萍多糖提取率的影响。

(5)准确称取 4 份干燥浮萍粉末(1.0 g/份),设定料液比 1∶50、超声波功率 400 W、超声波提取时间 80 min、超声波提取温度 50 ℃等条件下,考察 1 次、2 次、3 次、4 次等不同提取次数对浮萍多糖提取率的影响。

1.3.6　工艺优化试验设计　根据单因素实验结果,采用 Design - Expert 8.0 基于 Box - Behnken 中心组合的设计原理,料液比(A)、超声时间(B)和超声功率(C)为自变量(表 1),以浮萍多糖提取率为响应值进行响应面设计[11],优化浮萍多糖的提取工艺,实验方案见表 2。通过对实验数据进行回归分析,拟合如下模型:

$$Y = n_0A^2 + n_1B^2 + n_2C^2 + n_3AB + n_4AC + n_5BC + n_6A + n_7B + n_8C + n_9 \qquad (3)$$

式中:Y 为响应值,A、B、C 为自变量,n_0 ~ n_9 为系数[12]。

2　结果与分析

2.1　标准曲线　由测定结果计算出葡萄糖标准曲线回归方程为:$y = 15.957x + 0.00057$,$R^2 = 0.99921$。多糖组分近似等于葡聚糖,而葡萄糖与葡聚糖间的转换系数为 0.9,故上述方程可校正为:$y = 14.361x + 0.00051$,$R^2 = 0.99921$。以多糖浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制标准曲线,结果见图 1。

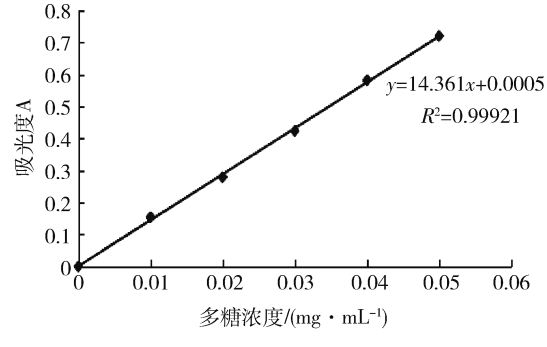

图 1　标准曲线

Fig 1　The standard curve

2.2　单因素试验结果分析

2.2.1　料液比对浮萍多糖提取率的影响　不同料液比对多糖提取率的影响结果见图 2。

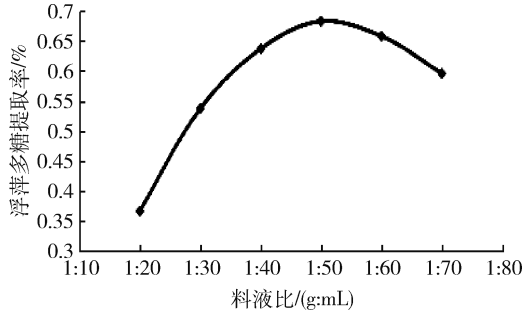

图 2　料液比对浮萍多糖提取率的影响

Fig 2　Effect of solid – liquid ratio on the extraction rate of polysaccharides duckweed

由图 2 可知,料液比在 1∶20 ~ 1∶50 之间时,浮萍多糖的提取率随料液比的增大而提高,在料液比为 1∶50 时达到最大,之后随料液比的增大而降低。这是因为随着溶剂量的增大,超声波需要处理的液体增多,使多糖的分离效率降低,多糖的损失率增加[13],故本试验选择料液比因素水平为 1∶40、1∶50 和 1∶60。

2.2.2　*超声波提取时间对浮萍多糖提取率的影响*　不同超声波提取时间对多糖提取率的影响结果见图 3。

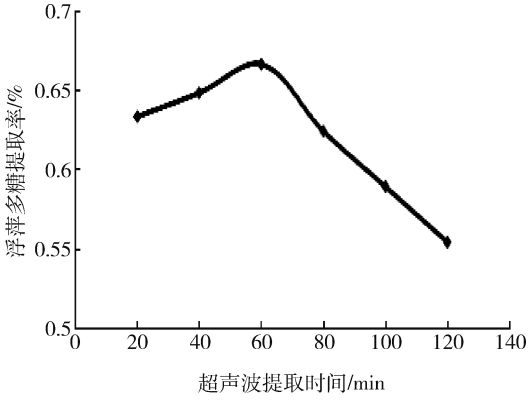

图 3　超声波提取时间多浮萍多糖提取率的影响

Fig 3　Effect of extraction time on the extraction rate of polysaccharides duckweed

由图 3 可知,在超声波提取时间试验条件范围内,浮萍多糖的提取率随着时间的延长呈现出先上升后下降的趋势,在超声波提取时间为 60 min 时达到最大。这是因为过长时间的超声波处理会引起热量积聚或机械剪切作用而破坏多糖的结构;同时,提取时间的增加也会导致能耗增加[14],因此本试验选择的超声提取时间因素水平为 40 min、60 min和 80 min。

2.2.3　*超声波功率对浮萍多糖提取率的影响*　不同超声波功率对浮萍多糖提取率的影响结果见图 4。可见,在超声波功率试验条件范围内,浮萍多糖的提取率随着超声波功率的增加呈现出先上升后下降的趋势,并在超声波功率为 350 W 时达到最大。这是因为超声波功率过低,细胞破碎效能不足,而功率过大导致浮萍多糖结构发生破坏或者使其降解[15],所以本试验中的超声波功率因素水平定为 300 W、350 W 和 400 W。

2.2.4　*超声波提取温度对浮萍多糖提取率的影响*　不同提取温度对多糖提取率的影响结果见图 5。

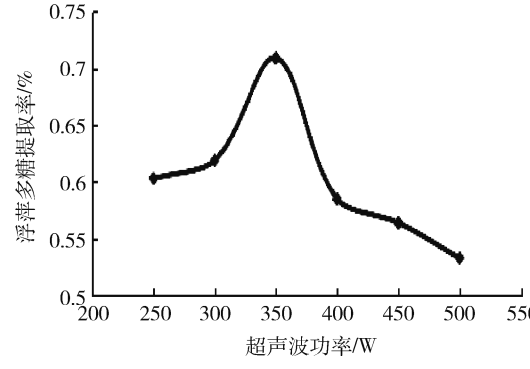

图 4　超声波功率对浮萍多糖提取率的影响

Fig 4　Effect of ultrasonic power on the extraction rate of polysaccharides duckweed

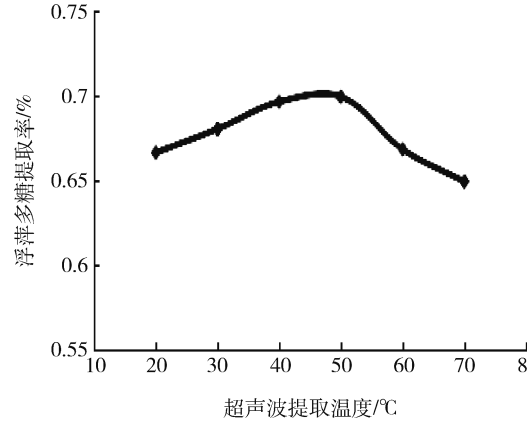

图 5　超声波提取温度对浮萍多糖提取率的影响

Fig 5　Effect of ultrasonic extraction temperature on the extraction rate of polysaccharides duckweed

由图 5 可知,在超声波提取温度试验条件范围内,浮萍多糖的提取率随着超声波温度的升高呈现出先上升后下降的趋势,并在超声波提取温度为 50 ℃时达到最大。这是因为提取温度过高,多糖会发生降解,影响浮萍多糖的提取率[16],所以本试验中的最佳超声波提取温度选择为 50 ℃。

2.2.5　提取次数对浮萍多糖提取率的影响　不同提取次数对多糖提取率的影响结果见图 6。

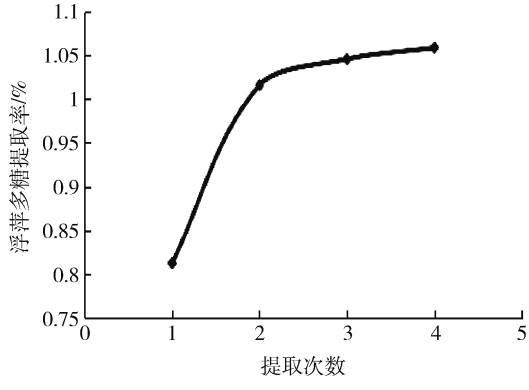

图 6　提取次数对浮萍多糖提取率的影响

Fig 6　Effect of extraction times on the extraction rate of polysaccharides duckweed

由图 6 可知,提取次数 1 ~ 2 次时,浮萍多糖的提取率有显著的提高,但第 3、4 次,浮萍多糖的提取率有提高,但不显著,结合实际成本考虑,故本试验选择提取 2 次为最佳提取次数。

2.3　响应面优化试验结果

2.3.1　优化实验因素的选取　根据单因素实验结果,选取料液比、超声时间和超声功率为自变量,以浮萍多糖提取率为响应值进行响应面试验设计(表 1)。

2.3.2　响应面模型的建立及分析　运用 Design - Expert 进行三因素三水平的响应面试验设计,共 17 个试验点,其中 12 个为分析因子,5 个为中心试验用以估计误差。试验结果见表 2。

根据得到的试验数据,运用 Design - Expert 对试验结果进行多远回归拟合,得到浮萍多糖提取率对试验自变量的二次多项回归方程:多糖提取率

表 1　响应面试验因素水平表

Tab 1　The response surface experiment factors and levels

水平	料液比	超声时间/min	超声功率/W
-1	1∶40	40	300
0	1∶50	60	350
1	1∶60	80	400

表 2　响应面试验设计结果表

Tab 2　Design and Results of the response surface experiment result

试验号	A - 料液比	B - 超声时间/min	C - 超声功率/W	多糖提取率/%
1	50	60	350	1.016
2	40	80	350	0.889
3	40	60	300	0.904
4	50	80	400	1.040
5	40	40	350	0.936
6	60	60	400	1.091
7	40	60	400	1.004
8	50	60	350	1.018
9	60	60	300	0.994
10	50	40	400	1.103
11	60	80	350	1.039
12	60	40	350	1.092
13	50	60	350	1.017
14	50	80	300	0.887
15	50	60	350	1.013
16	50	40	300	1.014
17	50	60	350	1.011

$Y = -0.019A^2 - 0.0065B^2 + 0.0025C^2 - 0.0008AB - 0.0013AC + 0.016BC + 0.060A - 0.036B + 0.055C + 1.01$。

方程中各项系数绝对值的大小直接反映各因素对响应值的影响程度,系数的正、负反映了影响的方向[17]。由方程的一次项系数可以得出,影响浮萍多糖提取率的因素的主次顺序为:料液比、超声功率、超声时间,响应面试验结果方差分析见表 3。

表 3　响应面试验结果方差分析表

Tab 3　ANOVA results of the response surface experiment

方差来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值
模型	0.067	9	7.404E－003	15.33	0.0008
A－料液比	0.029	1	0.029	60.40	0.0001 **
B－超声时间	0.011	1	0.011	21.77	0.0023 *
C－超声功率	0.024	1	0.024	49.89	0.0002 **
AB	9.000E－006	1	9.000E－006	0.019	0.8952
AC	2.250E－006	1	2.250E－006	4.660E－003	0.9475
BC	1.024E－003	1	1.024E－003	2.12	0.1886
A2	1.581E－003	1	1.581E－003	3.27	0.1133
B2	1.848E－004	1	1.848E－004	0.38	0.5557
C2	2.901E－005	1	2.901E－005	0.060	0.8134
残差	3.380E－003	7	4.828E－004		
失拟项	3.346E－003	3	1.115E－003	131.21	0.0002
误差	3.400E－005	4	8.500E－006		
总离差	0.070	16			

** 为极显著；* 为显著；$R^2=0.9517$；$R^2_{adj}=0.8897$；mE－00n = m × 10^{-n}

从模型的方差分析表可知，模型的决定系数 $R^2=0.9517>0.9$，说明该模型对试验数据的拟合程度较高，即该模型的预测值与试验数据之间的相关程度较高，该模型具有很高的参考价值。模型的修正决定系数 R^2_{adj} 为 0.8897，说明只有 11.03% 响应值的变化不能被该模型解释。从表中各因素的 *F* 值、*P* 值可知：料液比对浮萍多糖提取率的影响最大，其次是超声功率和超声时间。

2.3.3　*响应曲面分析*　利用 Design Expert 软件对表 2 数据进行拟合，所得到的响应面及其等高线图见图 7－图 9。通过等高线的形状可以判断因素之间交互效应的强弱，圆形标识两因素交互作用可以忽略，而椭圆形表示两因素交互作用显著[18]。根据浮萍多糖提取过程中各因素的两两交互作用确定各因素的最佳水平范围。

由图 7 等高线图可知水料比和超声时间的交互作用对浮萍多糖提取率的影响不显著。曲面图中显示，在所选的实验范围内存在多糖提取率的极值；水料比对于浮萍多糖提取率的影响较超声时间显著。

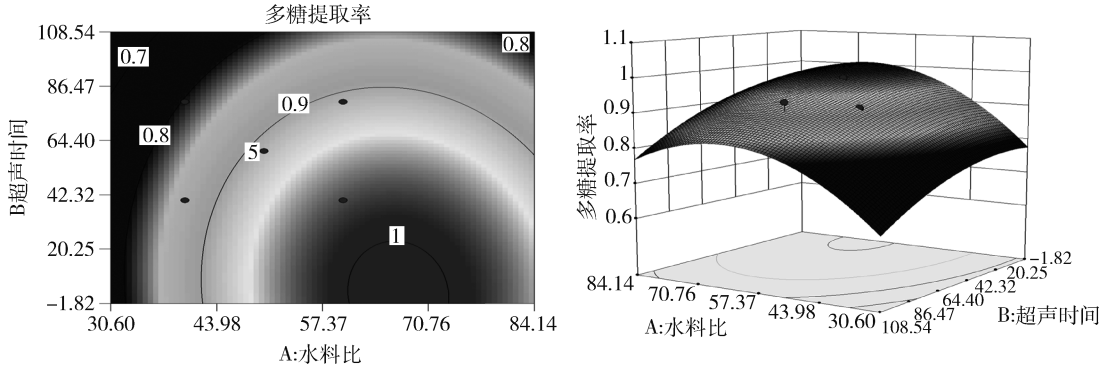

图 7　水料比和超声时间的相互作用及等高线分析图

Fig 7　The ratio of water and ultrasonic time interaction and contour analysis chart

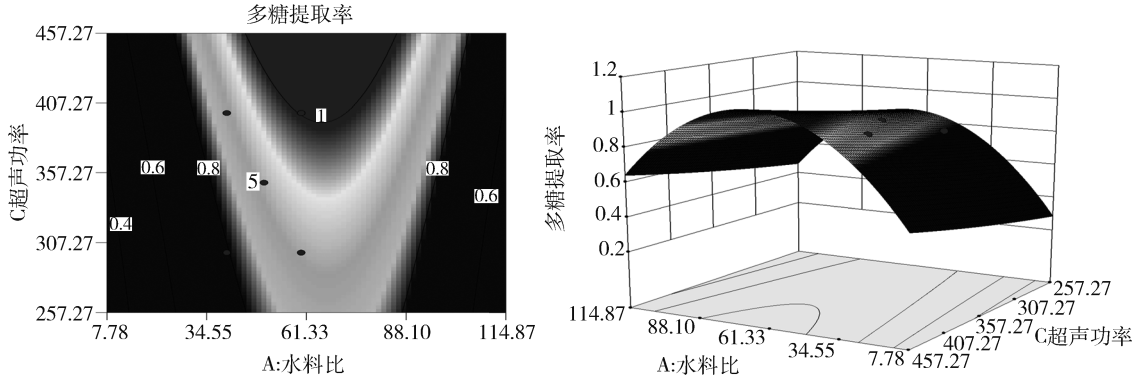

图 8　水料比和超声功率的相互作用及等高线分析图

Fig 8　The ratio of water and the interaction of ultrasonic power and contour analysis chart

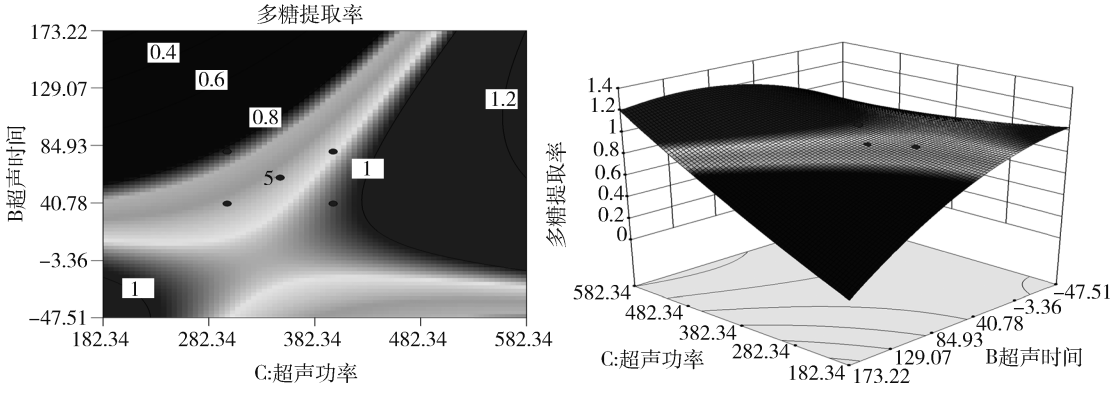

图 9　超声时间和超声功率的相互作用及等高线分析图

Fig 9　Interaction of ultrasonic time and ultrasonic power and contour maps

由图 8 等高线图和曲面图可知,水料比和超声功率的交互作用对浮萍多糖提取率影响较为显著,水料比对于浮萍多糖提取率的影响较超声功率显著。

由图 9 等高线图和曲面图可知,超声时间和超声功率的交互作用对浮萍多糖提取率的影响显著;超声功率对于浮萍多糖提取率的影响较超声时间显著。

综上可知,对浮萍多糖提取率的影响程度从大到小依次为料液比、超声功率和超声时间。通过响应面优化分析,得到浮萍多糖最大提取率为 1.188%,提取浮萍多糖的最佳工艺条件为料液比 1∶40.06、超声时间 79.58 min、超声功率 341.37 W。

2.3.4　*响应面试验模型验证*　在上述优化的提取条件下,浮萍多糖提取率的理论值可达到 1.188%。为了检验此最佳工艺条件的可靠性,考虑到实际操作的便利,将最佳工艺条件改为:料液比 1∶40、超声时间 80 min、超声功率 340 W,做 3 组平行试验,进行验证,结果如表 4 所示,得到的多糖提取率的平均值为 1.125%,与模型理论预测值仅相差 0.063%,因此,采用响应面分析优化得到的提取条件参数准确可靠,可用于实际操作。

表 4　多糖提取验证试验结果

Tab 4　Polysaccharide extraction and verification

水平	1	2	3	平均值
多糖提取率/%	1.123	1.105	1.148	1.125

2.4　*多糖含量测定结果*　根据响应面试验中得到的最佳提取条件,采用苯酚 – 硫酸法测定样品(粗多糖粉末)中的多糖含量,结果见表 5。

表 5　多糖含量测定结果

Tab 5　Polysaccharide content determination results

水平	1	2	3	平均值
多糖含量/%	17.70	18.34	18.06	18.03

超声波法提取浮萍多糖测得的样品纯度为 18.03%，国内堆热法提取浮萍多糖测得的样品纯度为 15% ~30%。相比可发现，提取的多糖的纯度仍需要提高。

3　讨 论

浮萍其营养价值很高，而蛋白、脂肪含量均超过其他水草[19]。本研究运用超声波辅助提取浮萍多糖，运用了超声波的空化效应，大大地增加了溶剂的穿透力，加深需提取成分的在溶液中的释放扩散，提高了物质的提取速度和工作效率。

通过响应面设计，优化浮萍多糖的提取工艺，试验值与模型理论预测值仅相差 0.063%。因此采用响应面分析优化得到的提取条件参数准确可靠，可用于实际操作。葛星星等曾用该方法对豆薯多糖进行工艺优化[20]，徐仰丽等也用该方法对虾壳进行脱盐处理[21]，都获得了较高的提取率和纯度，说明该方法切实可行。所以在浮萍多糖提取方面需要继续优化工艺，这也是该实验正在进行的后续探索。

超声波法提取浮萍多糖测得的样品纯度与国内堆热法[5]和超滤法提取浮萍多糖[6]测得的样品纯度相比可发现，在多糖提取率和多糖纯度方面仍需要提高，但本实验降低了设备需求，技术流程相对简单，更适合工业应用。另外，在葛星星、徐仰丽等进行的实验中，他们在单因素实验选取数据进行响应面优化时选择的数据段与该实验不同，可能这是导致该实验纯度相对较低的原因。后续工作将在不破坏多糖活性的前提下，改进试验过程，提高样品提取率和纯度。

参考文献：

[1] 罗铁成，侯恩太，路 锋，等. 浮萍药用研究概况[J]. 安徽农业科学，2010，38(16)：8423 - 8424.
Luo T C，Hou E T，Lu F，*et al*. Overview of pharmacological research on *Spirodela polyrhiza* (*L.*) schleid [J]. Journal of Anhui Agri Sci，2010，38(16)：8423 - 8424.

[2] Les D H，Crawford D J，Landolt E，*et al*. Phylogeny and systematic of *Lemnaceae*，the duckweed family [J]. Systematic Botany，2002，27(2)：221 - 240.

[3] Les D H，Landolt E，Crawford D J. Sysrematics of the *Lemnaceae* (duckweeds)：inferences from micromolecular and morphological data [J]. Plant Systematics and Evolution，1997，204：161 - 177.

[4] Golovchenko VV，Ovodova RG，Shashkov AS，*et al*. Structural studies of the pectic polysaccharide from duckweed *Lemna minor* L[J]. Phytochemistry，2002，60：89 - 97.

[5] 聂光军，岳文瑾，郑 艺，等. 堆热法提取浮萍多糖[J]. 安徽工程科技学院学报，2010，　25(4)：5 - 8.
Nie G J，Yue W J，Zheng Y，*et al*. Extraction of polysaccharides from *Lemna minor* L. by Stacking method[J]. Journal of Anhui Polytechnic University，2010，25(4)：5 - 8.

[6] 周 菁，王伯初，王 阳. 超滤法分离浮萍多糖的工艺[J]. 重庆大学学报(自然科学版)，2006，29(4)：69 - 72.
Zhou J，Wang B C，Wang Y. Technologic study on the isolation of Polysaccharides from *Herba Spirodelae seu Lemnae* by ultra filtration[J]. Journal of Chongqing University (Natural Science Edition)，2006，29(4)：69 - 72.

[7] 冯 颖，陈巧红，孟宪军，等. 响应面优化无梗五加果多糖超声波、微波法提取工艺研究[J]. 食品科学，2010，(22)：268 - 272.
Feng Y，Chen Q H，Meng X J，*et al*. Optimization of microwave and ultrasonic extraction of Polysaccharides from *Acanthopanax sessiliflorus* fruits by response surface methodology [J]. Food Science，2010 (22)：268 - 272.

[8] 张君萍，侯喜林，董海艳，等. 响应曲面法优化超声波提取沙葱籽多糖工艺[J]. 食品科学，2011，21(2)：98 - 103.
Zhang J P，Hou X L，Dong H Y，*et al*. Process optimization for the ultrasonic - assisted extraction of *Allium mongolicum* regel seed polysaccharides using response surface methodology [J]. Food Science，2011，21(2)：98 - 103.

[9] 宋国辉，黄纪念，孙 强，等. 超声波辅助提取麦胚多糖工艺的优化[J]. 河南农业科学，2013，(3)：139 - 142.
Song G H，Huang J N，Sun Q，*et al*. Optimization of ultrasonic - assisted extraction technology of polysaccharide from wheat germ [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences，2013 (3)：139 - 142.

[10] 周 菁，王伯初，王 阳. 浮萍多糖总糖含量测定与评价[J]. 重庆大学学报(自然科学版)，2005，28(10)：111 - 114.
Zhou J，Wang B C，Wang Y. Determination and evaluation of

saccharides content in extract of *Herba Spirodelae Seu Lemnae* polysaccharides[J]. Journal of Chongqing University (Natural Science Edition), 2005, 28(10): 111 – 114.

[11] 张 立, 王红利, 刘军海. 响应面优化米糠多糖的超声波辅助提取工艺研究[J]. 中国饲料, 2014, (14): 16 – 19.
Zhang L, Wang H L, Liu J H. Study on optimization of the ultrasonic—assisted extraction of pdysaacharide from race bran by response surface[J]. China Feed, 2014 (14): 16 – 19.

[12] 贾嘉琪, 赵秀红, 王 军, 等. 响应面优化玉竹多糖的提取工艺研究[J]. 食品工程, 2013(1):29 – 34.
Jia J Q, Zhao X H, Wang J, *et al*. Optimization of the extraction of polysaccharide in *Polygonatum odoratum* by response surface methodology[J]. Food Engineering, 2013 (1):29 – 34.

[13] 吴雅静, 张名位, 孙远明, 等. 荔枝多糖的超声波辅助提取工艺优化研究[J]. 华南师范大学报(自然科学报), 2007 (2): 119 – 124.
Wu Y J, Zhang M W, Sun Y M, *et al*. Investigation on the ultrasonic wave – assisted extraction technology for *Litchi* polysaccharides[J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 2007, (2): 119 – 124.

[14] 张利芳, 张名位, 黄 文, 等. 纤维素酶协同超声波辅助提取苦瓜多糖工艺优化[J]. 农业机械学报, 2010, 41(11): 142 – 147.
Zhang L F, Zhang M W, Huang W, *et al*. Optimization on cellulase and ultrasonic wave assisted extraction technology of *Momordica charantia* polysaccharides[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(11): 142 – 147.

[15] 蒋 征, 王 红, 吴启南. PD 试验结合 BBD 响应面法优化浮萍多糖的提取工艺研究[J]. 中药材, 2015, 38(6): 1283 – 1286.
Jiang Z, Wang H, Wu Q N. Optimization of polysaccharide extraction from *Spirodela polyrrhiza* by Plackett – Burman design combined with Box – Behnken response surface methodology[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2015, 38(6): 1283 – 1286.

[16] 万 阅, 齐计英, 曾 红, 等. 响应面法优化香菇多糖的超声波辅助提取工艺[J]. 生物技术通报, 2015, 31(1): 79 – 85.
Wan Y, Qi J Y, Zeng H, *et al*. Optimization of ultrasonic assisted extraction of lentinan by response surface methodology[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(1): 79 – 85.

[17] 王 阳. 浮萍多糖的提取分离及其初步药学研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2004: 6 – 26.
Wang Y. Research on extraction and isolation of polysaccharide from *Herba Spirodelae Seu Lemnae* and its primary pharmacodynamics[D]. Chongqing: Chongqing University, 2004: 6 – 26.

[18] Popov S V, Golovchenko V V, Ovodova R G, *et al*. Characterisation of the oral adjuvant effect of lemnan, a pectic polysaccharide of *Lemna minor* L[J]. Vaccine, 2006, 24(26): 5413 – 5419.

[19] Franz G. Polysaccharides in pharmacology. Current application and future concepts[J]. Planta Med, 1998, 55(6): 493 – 497.

[20] 葛星星,李 义,凌去非. 响应面法优化豆薯多糖的超声辅助提取工艺研究[J]. 中国饲料, 2017, 21: 11 – 15.
Ge X X, Li Y, Ling Q F. Optimization of ultrasonic assisted extraction of *Jicama polysaccharides* by response surface methodology[J]. China Feed, 2017, 21: 11 – 15.

[21] 徐仰丽, 苏来金, 叶 剑, 等. 响应面优化超声波辅助虾壳快速脱盐工艺[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(1): 99 – 104.
Xu Y L, Su L J, Ye J, *et al*. Optimization of ultrasonic – assisted desalinization of shrimp shell using response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2019, 40(1): 99 – 104.

(编 辑:李文平)