

沙枣花多糖提取工艺优化及其对益生菌的增殖作用

赵燕燕, 房世杰, 张政, 祁华梅, 薄学敏, 魏佳, 吴斌

Optimization of Extraction Process of *Elaeagnus angustifolia* Flower Polysaccharide and Its Proliferation on Probiotic

ZHAO Yanyan, FANG Shijie, ZHANG Zheng, QI Huamei, BO Xuemin, WEI Jia, and WU Bin

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020145>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

Box-Behnken法优化甘草多糖提取工艺及其体外抗氧化活性分析

Application of Box-Behnken Design for Ultrasonic-assisted Extraction of *Glycyrrhiza* Polysaccharide and Its Antioxidant Activity Analysis *in vitro*

食品工业科技. 2021, 42(23): 192-200 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030248>

响应面法优化桂皮胶的提取工艺

Optimization of extraction process for *Cinnamon* gum by response surface methodology

食品工业科技. 2018, 39(2): 156-162,167 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.02.030>

沙枣花精油微胶囊制备工艺优化及缓释性能

Optimization of Microencapsulation Preparation Process and Controlled-release Properties of *Elaeagnus angustifolia* Flowers Essential Oil

食品工业科技. 2018, 39(15): 158-164 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.15.029>

响应面法优化白玉菇多糖的提取工艺

Optimization of the extraction technology of polysaccharide in white hypsizygus marmoreus by response surface methodology

食品工业科技. 2017(22): 145-149 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.22.029>

响应面法优化虹鳟鱼骨中可溶性钙提取工艺

Optimization of Soluble Calcium Extraction Process from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Bone by Response Surface Methodology

食品工业科技. 2018, 39(16): 150-154,160 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.16.027>

响应面法优化新疆芜菁多糖提取工艺及体外抗氧化活性研究

Optimization the extraction process of polysaccharide by response surface methodology from *Brassica rapa* L. and its antioxidant activity

食品工业科技. 2018, 39(2): 229-233 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.02.043>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

赵燕燕, 房世杰, 张政, 等. 沙枣花多糖提取工艺优化及其对益生菌的增殖作用[J]. 食品工业科技, 2023, 44(22): 134-142. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020145

ZHAO Yanyan, FANG Shijie, ZHANG Zheng, et al. Optimization of Extraction Process of *Elaeagnus angustifolia* Flower Polysaccharide and Its Proliferation on Probiotic[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(22): 134-142. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020145

· 生物工程 ·

沙枣花多糖提取工艺优化及其对 益生菌的增殖作用

赵燕燕¹, 房世杰², 张政², 祁华梅¹, 薄学敏¹, 魏佳^{2,*}, 吴斌^{2,*}

(1. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆乌鲁木齐 830049;

2. 新疆农业科学院农产品贮藏加工研究所, 新疆农产品加工与保鲜重点实验室,
新疆乌鲁木齐 830091)

摘要: 为探究沙枣花多糖的最佳提取工艺及其体外对益生菌增殖的影响。实验以沙枣花为原料, 利用超声波辅助热水浸提法提取沙枣花多糖, 分析料液比、超声时间、提取时间和提取温度对沙枣花多糖得率的影响, 运用响应面法对提取条件进行优化, 并比较不同多糖质量浓度 (0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 和 3.0%) 对三种益生菌增殖及产酸情况的影响。结果显示, 沙枣花多糖最佳提取条件为: 料液比 1:25 g/mL、超声时间 21 min、提取温度 72 °C、提取时间 62 min, 得到多糖得率为 12.45%±0.15%, 与理论预测值 (12.587%) 相近。当沙枣花多糖质量浓度为 2% 时, 嗜酸乳杆菌、两歧双歧杆菌和青春双歧杆菌的培养基中 OD 值达到最大, 分别为 1.23±0.01、1.06±0.02 和 1.22±0.02, 并且 pH 降到最低 (5.17±0.04、5.95±0.04 和 5.52±0.02), 在该浓度下培养 40 h 后, 三种益生菌的生长均趋于稳定。说明沙枣花多糖促进了三种益生菌的增殖和产酸活性。因此, 沙枣花多糖可以作为一种潜在的益生元被开发, 这为进一步地研究和利用沙枣花资源提供了理论基础。

关键词: 沙枣花, 多糖, 提取工艺, 响应面优化, 益生菌

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)22-0134-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020145



本文网刊:

Optimization of Extraction Process of *Elaeagnus angustifolia* Flower Polysaccharide and Its Proliferation on Probiotic

ZHAO Yanyan¹, FANG Shijie², ZHANG Zheng², QI Huamei¹, BO Xuemin¹, WEI Jia^{2,*}, WU Bin^{2,*}

(1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830049, China;

2. Institute of Agro-Products Storage and Processing, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Xinjiang Key Laboratory of Agricultural Products Processing and Preservation, Urumqi 830091, China)

Abstract: The study aimed to explore the optimal conditions for the extraction of polysaccharide from *Elaeagnus angustifolia* flower and its effect on probiotic proliferation *in vitro*. Polysaccharide was extracted from *Elaeagnus angustifolia* flower using hot water and ultrasonication. The effects of the material-liquid ratio, duration of ultrasonication, extraction time and extraction temperature on the polysaccharide yield were analyzed. The extraction conditions were optimized by response surface methodology, and the effects of different polysaccharide concentrations (0, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, and 3.0%) on the proliferation and acid production of three probiotics were compared. The results showed that the optimal extraction conditions of *Elaeagnus angustifolia* flower polysaccharide were as follows: Material-liquid ratio, 1:25 g/mL, duration of ultrasonication, 21 min, extraction temperature, 72 °C, extraction time, 62 min. The polysaccharide

收稿日期: 2023-02-15

基金项目: 新疆农业科学院青年科技骨干创新能力培养项目, 沙枣花精油高效提取工艺及功能评价 (XJNKQ-2021004)。

作者简介: 赵燕燕 (1998-), 女, 硕士, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程, E-mail: 2450739725@qq.com。

* 通信作者: 魏佳 (1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 农产品贮藏保鲜, E-mail: 327645095@qq.com。

吴斌 (1973-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: xjuwubin0320@sina.com。

yield was $12.45\% \pm 0.15\%$, which was close to the theoretical predicted yield (12.587%). The highest OD values of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, and *Bifidobacterium adolescentis* were obtained at a polysaccharide mass concentration of 2%, being 1.23 ± 0.01 , 1.06 ± 0.02 , and 1.22 ± 0.02 , respectively, and the lowest pH values (5.17 ± 0.04 , 5.95 ± 0.04 , and 5.52 ± 0.02 , respectively). The growth of the three probiotics stabilized after the incubation time reached to 40 h. It indicated that *Elaeagnus angustifolia* flower polysaccharide promoted the proliferation and acid production of three probiotics. These findings indicate the potential of the polysaccharide from *Elaeagnus angustifolia* flower as a prebiotic and provide a theoretical basis for further research and the utilization of *Elaeagnus angustifolia* flower resources.

Key words: *Elaeagnus angustifolia* flower; polysaccharide; extraction process; response surface optimization; probiotics

沙枣(*Elaeagnus angustifolia*)属胡颓子科, 主要分布在我国西北地区, 如宁夏, 甘肃和新疆等地。沙枣花外观呈淡黄色的钟形, 长约 5~7 mm, 香味与江南桂花相似, 享有“飘香沙漠的桂花”的美称^[1]。沙枣花含有黄酮、多酚和三萜皂苷等多种活性成分^[2-4], 不仅具有抗氧化活性、抗炎和抑菌作用, 还能治疗气促、哮喘和关节炎等疾病^[5-8]。目前, 关于沙枣花的研究聚焦于精油提取, 但较低的精油提取率限制了相关产品的开发^[9-10]。此外, 沙枣花中活性物质种类及其功效研究仍处于起步阶段。因此, 进一步挖掘沙枣花可能存在的功能活性对于打造生态、经济与社会效益兼具的“三效”沙枣产业, 加快新疆沙枣产业化发展和推进乡村振兴战略具有重要意义。

作为天然来源的重要生物大分子, 多糖具有免疫、抗肿瘤、保肝、降血脂、抗氧化活性和益生元等作用^[11-12]。近年来, 随着健康中国建设持续推进, 天然多糖的益生元作用引起了消费者广泛关注。在维持人体肠道菌群动态平衡过程中, 益生菌是一类必不可少的有益微生物, 它们通过抑制病原体生长、增强免疫力、防止腹泻、增加钙吸收和降低结肠癌风险, 为人体健康提供“生物屏障”^[13]。尤其是两个重要的益生菌菌属——双歧杆菌和乳杆菌, 已经被广泛应用于乳制品、饮料和食品中。一些植物多糖已被证明在促进益生菌增殖方面发挥着重要作用, 比如红枣多糖对于植物乳杆菌和鼠李糖乳杆菌的增殖有促进作用^[14]; 油菜籽多糖在刺激益生菌增殖和产酸方面表现出较强的活性^[15]; 从籽瓜中分离的多糖能够促进双歧杆菌和嗜酸乳杆菌的生长^[16]。然而, 目前关于沙枣花多糖的提取工艺及对其功能性作用的研究相对较少, 且沙枣花多糖是否也能够对益生菌增殖产生积极作用, 成为一种潜在的益生元仍需进一步探究。

目前, 提取植物多糖的方法主要有热水浸提法^[17]、酸碱提取法^[18]、酶解辅助提取法^[19]和超声波辅助提取法^[20]等。超声波辅助提取法作为近年来被广泛应用的一种提取技术, 具有提取时间短、操作温度低、能耗低、安全环保等优点。此外, 响应面方法(RSM)已被广泛用于评估单个因素及其交互作用对多糖得率的影响。为了提高多糖得率, 根据响应面法设计试验, 已有研究系统分析了提取参数对植物多糖得率的影响, 如银杏叶多糖^[21]、山药多糖^[22]、蛇足石杉多糖^[23]等。因此, 响应面法是优化多糖提取技术的有

效方法。

本研究以沙枣花作为实验材料, 采用热水浸提-超声波辅助法提取多糖, 并结合响应面法(Response Surface Methodology, RSM)优化提取工艺。以低聚果糖(FOS)作为对照, 明确沙枣花多糖对青春双歧杆菌(*Bifidobacterium adolescentis*)、两歧双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*)和嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)的增殖及生长的影响, 为沙枣花资源的高效利用提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

沙枣花 2022 年 5 月采集自中国新疆昌吉回族自治州阜康市, 50 °C 烘干 12 h 后用高速粉碎机研磨成粉末, 通过 60 目网筛后, 置于自封袋中, 室温(20±5 °C)下干燥储存, 用于后续实验; 两歧双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*)CICC 6071、青春双歧杆菌(*Bifidobacterium adolescentis*)CICC 6070 和嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CICC 6074 中国工业微生物菌种保藏管理中心; 低聚果糖(Fructooligosaccharides, FOS)、圆底立式厌氧培养袋 青岛海博生物技术有限公司; 硫酸镁、吐温 80、乙酸钠、氯化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、葡萄糖 天津福晨化学试剂有限公司; 酵母浸粉、蛋白胨、牛肉浸粉、胰蛋白胨 北京奥博星生物技术有限责任公司; 本实验使用的化学品均为分析纯。

SK-7200H 超声波清洗器 上海科导超声仪器有限公司; BTP-8ZLE0X 真空冷冻干燥机 美国 Spectronics 公司; RE100-Pro 数控旋转蒸发器 美国 SCILOGEX 公司; MIKRO 220R 台式高速离心机 德国 Hettich 科学仪器公司; UV-2600 紫外分光光度计 日本岛津公司; HH-2 恒温水浴锅 常州金坛精达仪器制造有限公司; DHG-9145A 电热鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司; GI54TW 高压灭菌器 美国致微仪器; SW-CJ-1D 超净工作台 苏州安泰空气技术有限公司; ZWY-1102C 恒温摇床 上海智城分析仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 沙枣花多糖提取工艺 参考刘宇等^[24]的方法并稍作修改。通过超声辅助-热水浸提的方法提取沙枣花多糖。首先称取一定重量干燥的沙枣花粉加入 5 倍无水乙醇浸泡 12 h, 过滤后加入同等体积的

石油醚浸泡 12 h 来脱脂脱色,然后将残留物干燥。接着称取 5 g 残留物粉末置于 250 mL 三角烧瓶中,按照一定的料液比加入超纯水,经超声(350 W)处理,设定提取温度和提取时间,并将以上步骤重复 2 次。萃取液经过离心(5000 r/min, 10 min)后,将上清液合并然后浓缩,添加 3 倍无水乙醇后置于 4 ℃ 12 h,将沉淀重新溶解于 5 倍蒸馏水中并浓缩去除乙醇,最后冷冻干燥 48 h,获得沙枣花多糖,根据以下公式计算得率:

$$\text{沙枣花多糖得率}(\%) = \frac{\text{沙枣花粗多糖质量}}{\text{沙枣花原料质量}} \times 100$$

1.2.2 单因素实验 按照 1.2.1 中的方法,固定超声时间为 20 min、提取温度为 70 ℃ 和提取时间 60 min,选择不同的料液比(1:10, 1:15, 1:20, 1:25 和 1:30 g/mL),考察对多糖得率的影响;固定料液比为 1:25 g/mL、提取温度 70 ℃ 和提取时间 60 min,设置不同的超声时间(10、20、30、40 和 50 min),考察对多糖得率的影响;保持相同的料液比 1:25 g/mL、超声时间 20 min 和提取时间 60 min,设定不同的提取温度(50、60、70、80 和 90 ℃),考察对多糖得率的影响;保持相同的料液比 1:25 g/mL、超声时间 20 min 和提取温度 70 ℃,设定不同的提取时间(40、50、60、70 和 80 min),考察对多糖得率的影响。

1.2.3 响应面试验 由单因素实验结果作为基础,采用三水平三因素 Box-Behnken 试验设计进行优化研究。响应面试验因素水平设计见表 1。

表 1 响应面试验因素水平设计
Table 1 Response surface experimental factors level

水平	因素		
	A 超声时间(min)	B 提取温度(℃)	C 提取时间(min)
-1	10	60	50
0	20	70	60
1	30	80	70

1.2.4 沙枣花多糖对益生菌生长的影响

1.2.4.1 培养基的配制 双歧杆菌培养基(液体):胰蛋白胨 10.0 g,牛肉浸粉 5.0 g,酵母浸粉 10.0 g,葡萄糖 5.0 g, L-半胱氨酸盐酸盐 0.5 g, CaCl₂ 0.2 g, MgSO₄·7H₂O 0.48 g, K₂HPO₄ 1.0 g, KH₂PO₄ 1.0 g, NaHCO₃ 10.0 g, NaCl 2.0 g, 溶解于 1000 mL 水中, pH7.2。

双歧杆菌培养基(固体):将 15.0 g 琼脂加入到 1000 mL 液体培养基中。

MRS 培养基(液体):蛋白胨 10.0 g,牛肉浸粉 10.0 g,酵母浸粉 5.0 g,葡萄糖 5.0 g,乙酸钠 5.0 g,柠檬酸二铵 2.0 g,吐温 80 1.0 mL, K₂HPO₄ 2.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.2 g, 溶解于 1000 mL 水中, pH6.7。

MRS 培养基(固体):将 15.0 g 琼脂加入到 1000 mL 液体培养基中。

1.2.4.2 菌种的活化 用 0.4 mL 无菌水将三个益生

菌菌种的冻干粉进行溶解并吹打均匀,接种在 5 mL 经 121 ℃ 灭菌 20 min 的液体培养基中,随后快速放进厌氧培养袋中,在 37 ℃ 下恒温培养 48 h。随后,取 5% 的培养液接种在经 121 ℃ 灭菌 20 min 的固体培养基上,用涂布棒涂抹均匀,37 ℃ 下于厌氧环境培养 48 h,接着挑取培养后的单菌接种在液体培养基中,再以相同的培养条件培养 48 h,最终得到活化的菌种。

1.2.4.3 沙枣花多糖对益生菌增殖及产酸的影响

参考包晓玮等^[25]的方法,稍作修改。在试管中分别加入 10 mL 的液体培养基(成分与 1.2.4.1 中一致,仅不加葡萄糖,下同),接着分别加入 0、0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 和 3.0% 的多糖溶液,在 3500 r/min 离心 10 min 后,取上清液配制成由沙枣花多糖作为唯一碳源的增殖培养基,并置于 121 ℃ 下灭菌 20 min。按照 5% 的比例接种已活化的三个菌种,在厌氧条件下恒温培养 48 h。用紫外分光光度计测定每个液体培养基在 600 nm 处的吸光度和各培养基的 pH 值,用 FOS 做阳性对照。

1.2.4.4 沙枣花多糖对益生菌生长速率的影响 参考 Wang 等^[15]的方法稍作修改。在试管中分别装入 10 mL 液体培养基,接着分别加入 2.0% 多糖溶液,3500 r/min 离心 10 min 后,取上清液配制成液体培养基,灭菌后接种已活化的三个菌种,在 37 ℃ 下厌氧培养 48 h,培养过程中在 0、4、8、16、24、32、40 和 48 h 分别取部分培养液在 600 nm 处测定吸光度及 pH,用 FOS 做阳性对照。以培养时间为横坐标,以 OD 值(600 nm)和 pH 为纵坐标,绘制不同菌种的生长速率曲线。

1.3 数据处理

设置三组平行实验,所有数据以平均值±标准差表示;运用 Origin 2019 软件进行图形绘制;通过 Design Expert 10 软件进行响应面设计分析及分析;使用 SPSS 20.0 软件进行方差分析及显著性检验, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 不同料液比对沙枣花多糖得率的影响 料液比的变化对沙枣花多糖得率的影响如图 1 所示。随着料液比的增加,多糖的得率不断增长,且当料液比为 1:25 g/mL 时,多糖得率达到最大(12.10%±0.11%),与料液比为 1:10~1:20 g/mL 时的多糖得率存在显著差异($P < 0.05$),当料液比继续增加到 1:30 g/mL 时多糖的得率则出现下降趋势,但无明显差异($P > 0.05$)。增加溶剂会有助于多糖的扩散、溶出,但是当固体和液体有效接触面积达到一定值之后,多糖的扩散就会趋于平衡,在处于平衡时增加溶剂并不会增加多糖的溶出,反而会造成部分多糖的损失^[26]。因此,选择料液比为 1:25 g/mL。

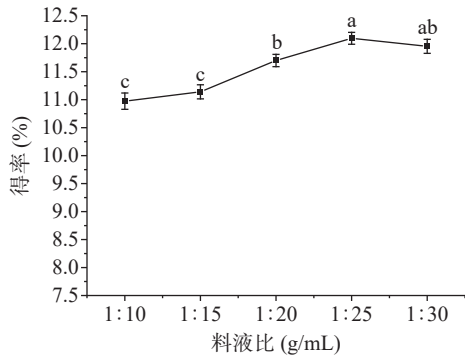


图 1 料液比对多糖得率的影响

Fig.1 Effect of solid-liquid ratio on polysaccharide yield
注: 不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$; 图 2-图 4 同。

2.1.2 不同超声时间对沙枣花多糖得率的影响 利用超声可以使多糖更充分地释放出来, 不同超声时间对多糖得率的影响如图 2 所示。在 10~20 min, 多糖得率随着超声时间延长逐渐增大, 且在 20 min 时, 多糖得率达到最大(12.14%±0.24%), 显著高于在 10、40 和 50 min 时的多糖得率($P < 0.05$)。随后, 多糖得率逐渐降低, 这可能是因为超声时间的延长会使多糖大分子链出现断裂, 从而使小分子的糖在醇沉过程中损失, 导致多糖的得率下降^[27]。因此, 选择超声时间为 20 min 较为合适。

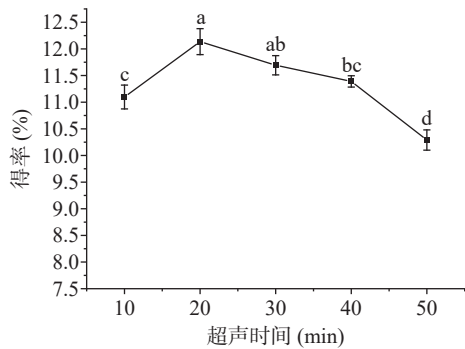


图 2 超声时间对多糖得率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic time on polysaccharide yield

2.1.3 不同提取温度对沙枣花多糖得率的影响 在较高温度下, 多糖扩散系数增加并且多糖在提取溶剂中的溶解度增强会使更多的多糖进入溶液中。由图 3 可以看出, 随着提取温度从 50 °C 提高到 70 °C, 多糖

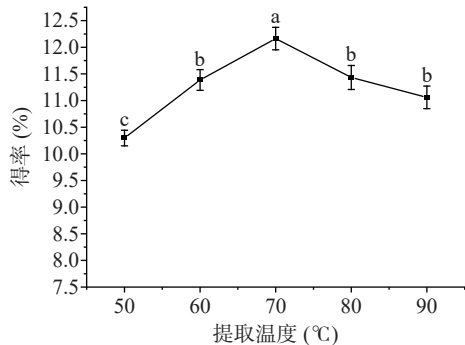


图 3 提取温度对多糖得率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on polysaccharide yield

得率显著升高($P < 0.05$), 从 10.30%±0.15% 增加到 12.16%±0.21%。然而, 当提取温度继续增加时, 多糖的得率呈现下降的趋势。虽然温度升高会加速分子的热运动, 利于多糖分子的溶出, 但温度过高则可能会使一些糖苷键断裂, 引起多糖的裂解^[28], 从而导致多糖得率的降低。因此, 选择 70 °C 为适宜的提取温度。

2.1.4 不同提取时间对沙枣花多糖得率的影响 提取时间是影响多糖得率的主要因素之一, 长时间提取有利于提高多糖的产量。由图 4 所示, 多糖的得率随着提取时间的延长呈先上升后下降的趋势。提取时间在 40~60 min 之间, 多糖得率显著提高($P < 0.05$), 且在 60 min 时, 多糖得率达到最大(12.23%±0.11%)。当提取时间超过 60 min, 多糖的得率不断降低, 这是由于多糖具有热不稳定性, 长时间的高温提取会使多糖降解, 降低其得率^[29]。因此选择提取时间为 60 min。

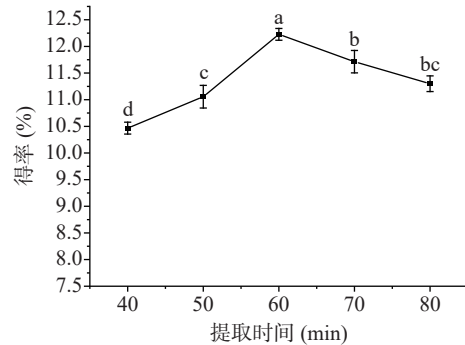


图 4 提取时间对多糖得率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on polysaccharide yield

2.2 响应面法优化沙枣花多糖的提取工艺

2.2.1 响应面试验设计及实验结果 由单因素实验结果作为基础, 将对多糖得率影响较大的三个因素,

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface experimental design and results

实验号	A	B	C	Y得率(%)
	超声时间	提取温度	提取时间	
1	-1	-1	0	7.76
2	1	-1	0	9.85
3	-1	1	0	11.26
4	1	1	0	10.29
5	-1	0	-1	9.33
6	1	0	-1	10.05
7	-1	0	1	10.11
8	1	0	1	11.5
9	0	-1	-1	9.06
10	0	1	-1	9.31
11	0	-1	1	8.79
12	0	1	1	10.92
13	0	0	0	12.41
14	0	0	0	12.38
15	0	0	0	12.07
16	0	0	0	12.64
17	0	0	0	12.56

超声时间(A)、提取温度(B)和提取时间(C)作为自变量,以得率(Y)作为响应值,进行响应面试验设计,共得到17组试验,结果见表2所示。

2.2.2 模型的建立及统计分析 运用 Design-Expert 10 软件对实验数据进行回归拟合,得到二次多项式方程为: $Y=12.41+0.40\times A+0.79\times B+0.45\times C-0.77\times AB+0.17\times AC+0.47\times BC-0.95\times A^2-1.67\times B^2-1.22\times C^2$ 。

回归模型的方差分析结果如表3所示,可以观

表3 回归模型的方差分析结果

Table 3 Variance analysis results of regression model

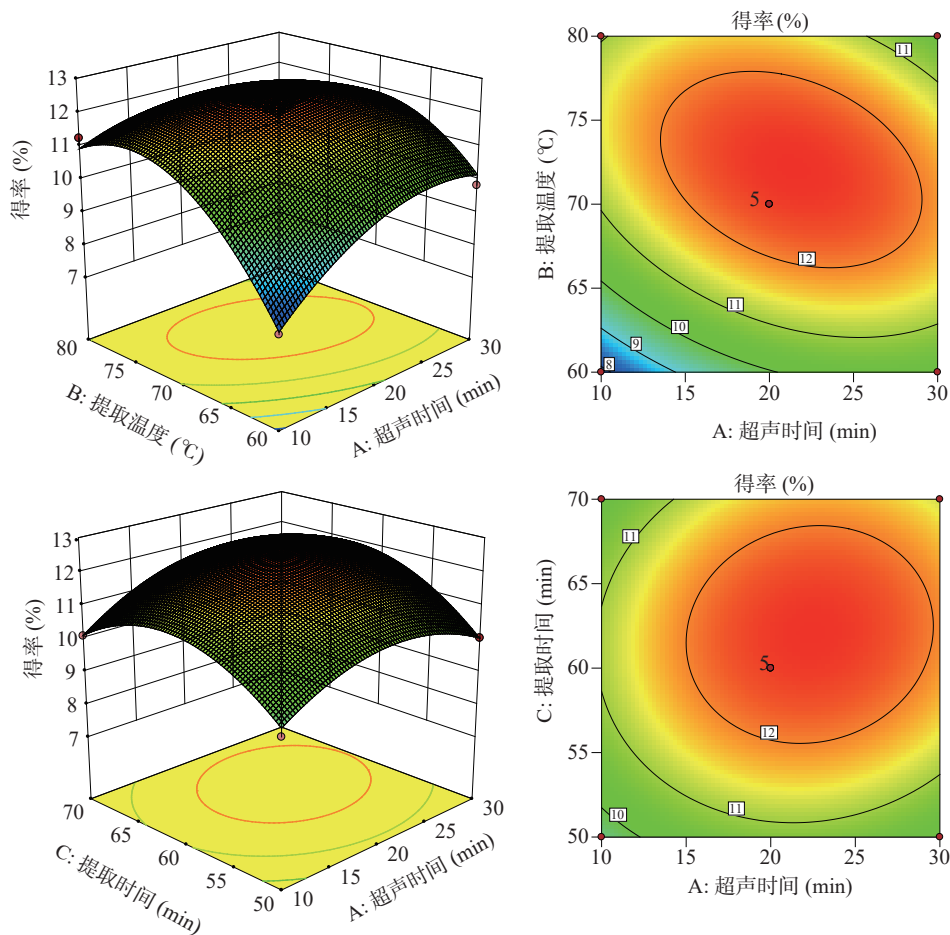
来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著度
模型	35.43	9	3.94	38.40	<0.0001	**
A超声时间	1.30	1	1.30	12.72	0.0091	**
B提取温度	4.99	1	4.99	48.70	0.0002	**
C提取时间	1.59	1	1.59	15.54	0.0056	**
AB	2.34	1	2.34	22.83	0.0020	**
AC	0.11	1	0.11	1.09	0.3302	
BC	0.88	1	0.88	8.62	0.0218	*
A ²	3.78	1	3.78	36.85	0.0005	**
B ²	11.81	1	11.81	115.20	<0.0001	**
C ²	6.24	1	6.24	60.86	0.0001	**
残差	0.72	7	0.10			
失拟项	0.53	3	0.18	3.65	0.1214	不显著
纯误差	0.19	4	0.048			
总误差	36.15	16				
决定系数R ²	0.9801					

注: *差异显著(P<0.05); **差异极显著(P<0.01)。

察到 $P<0.0001$, 表明该模型高度显著, 因此实验设计合理可行; 失拟项 $P=0.1214>0.05$, 不显著, 说明该拟合模型可以继续后续的优化设计; 模型的决定系数 $R^2=0.9801$, 此值越接近 1, 表明理论回归方程模型对实际条件拟合越好, 因此该模型适合用来优化沙枣花多糖的提取工艺。另外, 从表中 F 值可以看出, 本实验中 3 个因素对多糖得率的影响程度次序为: B(提取温度)>C(提取时间)>A(超声时间)。

2.2.3 响应面分析 图5表示了受超声时间、提取温度和提取时间各因素交互作用的影响沙枣花多糖得率的响应面图与等高线图, 可以观察到, 3D 响应面图均为开口向下, 等高线图均为椭圆形, 表示在本次实验范围内存在最高点和中心点。结合 3D 响应面图和等高线图可以得出, 本实验所设计的因素水平范围之内可以得到沙枣花多糖提取的最优条件。根据响应曲面的陡峭程度, 也可以判断各因素对响应值的影响程度, 表面越陡, 影响越大, 反之亦然。因此, 本实验中影响因素的大小顺序为提取温度>提取时间>超声时间。

通过软件分析再结合实际操作验证, 最终得出沙枣花多糖最佳提取工艺为: 料液比 1:25 g/mL、超声时间 21 min、提取温度 72 °C 和提取时间 62 min, 根据此条件, 进行了 3 组平行实验, 计算出多糖得率为 $12.45\%\pm 0.15\%$, 与理论预测值 12.587% 相近。因此, 该理论模型能够准确地反映各因素对沙枣花多



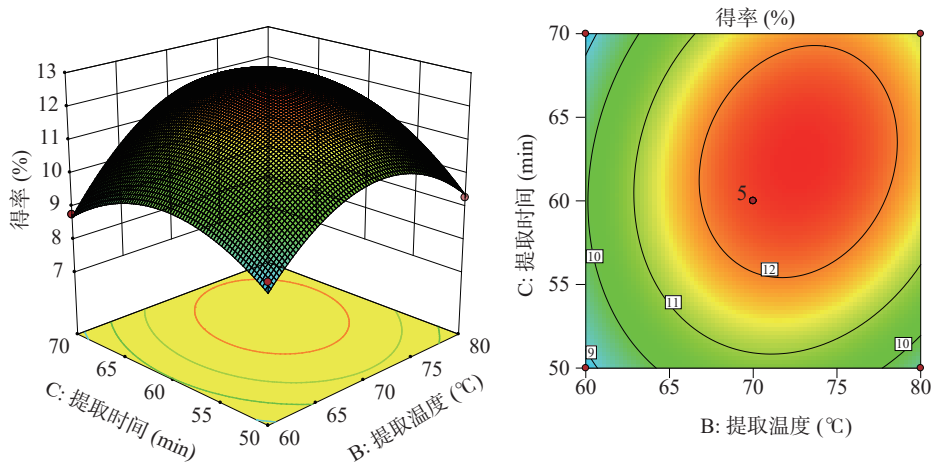


图 5 各因素交互作用对多糖得率影响的响应面图和等高线图

Fig.5 Response surface diagram and contour diagram of the influence of interaction of various factors on polysaccharide yield

糖得率的影响,证明了用响应面法优化沙枣花多糖得率的回归模型是准确可靠的。

2.3 沙枣花多糖对益生菌增殖的影响

OD 值测定由于具有简便和易操作的特点,通常用来检测菌体的数量变化。OD 值越大,表示培养液中含有的菌体数量越多。沙枣花多糖对青春双歧杆菌、两歧双歧杆菌和嗜酸乳杆菌的增殖情况如图 6 所示。结果显示,沙枣花多糖对三种益生菌的增殖均具有一定的促进作用,均呈现先上升后趋于稳定的趋势。多糖质量浓度为 0.5%~3.0% 时,沙枣花多糖和 FOS 对三种益生菌的增殖活性均具有显著性差异 ($P < 0.05$),当沙枣花多糖质量浓度为 2.0% 时,测定含有嗜酸乳杆菌、两歧双歧杆菌和青春双歧杆菌培养基的 OD 值最大,分别为 1.23 ± 0.01 、 1.06 ± 0.02 和 1.22 ± 0.02 ,表明此时培养基中所含菌体数量最多,益生菌的增殖活性最好。

2.4 沙枣花多糖对益生菌产酸的影响

图 7 为添加沙枣花多糖和 FOS 对三种益生菌培养基 pH 的影响。结果显示,当多糖质量浓度在 0~3.0% 范围内时,三种培养基的 pH 随着多糖质量浓度的增加而降低,且对三种益生菌 pH 的变化与 FOS 存在显著性差异 ($P < 0.05$)。当质量浓度为 2% 时,嗜酸乳杆菌、两歧双歧杆菌和青春双歧杆菌培养基的 pH 最低,分别为 5.17 ± 0.04 、 5.95 ± 0.04 和 5.52 ± 0.02 。由此表明,三种益生菌能够以沙枣花多糖作为碳源进行增殖并产酸。

2.5 沙枣花多糖对益生菌生长速率的影响

沙枣花多糖对三种益生菌生长速率的影响如图 8 所示。当培养时间为 0、4、8 和 16 h 时,沙枣花多糖对两歧双歧杆菌和青春双歧杆菌的促增殖效果和 FOS 没有显著差异 ($P > 0.05$),并在 16 h 之后,OD 值快速增加,于 40 h 时达到最大,分别为 1.05 ± 0.01 和 1.22 ± 0.02 (图 8B 和图 8C)。而添加沙枣花多糖后,嗜酸乳杆菌的 OD 值在 16 h 时显著高于 FOS ($P < 0.05$),说明此时对于嗜酸乳杆菌而言,沙枣花多糖要

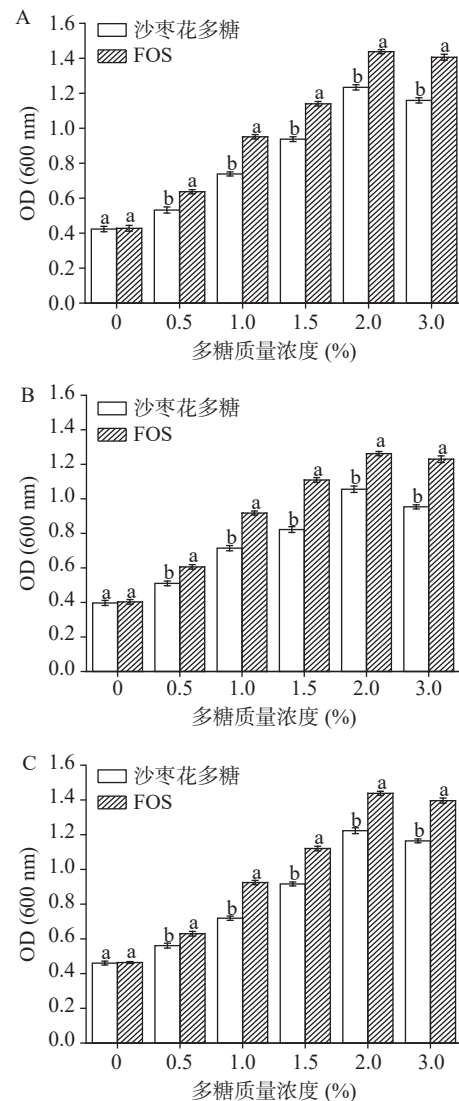


图 6 不同质量浓度多糖溶液对嗜酸乳杆菌(A)、两歧双歧杆菌(B)和青春双歧杆菌(C)增殖的影响

Fig.6 Effects of polysaccharide solutions with different mass concentrations on the proliferation of *Lactobacillus acidophilus* (A), *Bifidobacterium bifidum* (B) and *Bifidobacterium adolescentis* (C)

注:不同小写字母表示同一组培养条件下不同多糖对益生菌影响差异显著, $P < 0.05$; 图 7~图 8 同。

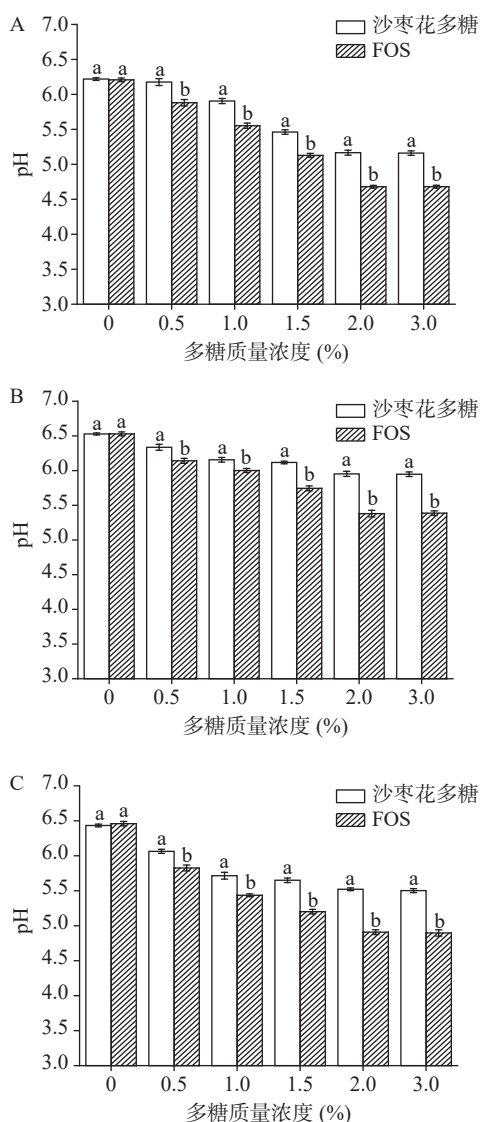


图 7 不同质量浓度的多糖溶液对嗜酸乳杆菌(A)、两歧双歧杆菌(B)和青春双歧杆菌(C)产酸的影响

Fig.7 Effects of polysaccharide solutions with different mass concentrations on acid production of *Lactobacillus acidophilus* (A), *Bifidobacterium bifidum* (B) and *Bifidobacterium adolescentis* (C)

优于 FOS 对其的促进作用,并在 32 h 后趋于稳定,在 40 h 时达到最大值(1.23±0.02)(图 8A)。由以上分析表明,沙枣花多糖对青春双歧杆菌和嗜酸乳杆菌的促增殖活性相当,优于两歧双歧杆菌。

在培养时间为 0~8 h 之间,沙枣花多糖对两歧双歧杆菌和青春双歧杆菌的 pH 均呈快速下降趋势,两歧双歧杆菌培养基在 32 h 之后 pH 趋于稳定,而青春双歧杆菌培养基在 40 h 之后 pH 趋于稳定,两者最低 pH 均出现在 48 h 时为 5.96±0.02 和 5.49±0.03 (图 8B 和图 8C);在培养时间为 16 h 时,添加沙枣花多糖的嗜酸乳杆菌培养基 pH 显著低于 FOS($P < 0.05$),说明此时的沙枣花多糖对嗜酸乳杆菌的促产酸能力高于 FOS,并且在 48 h 时, pH 达到最低为 5.16±0.03(图 8A)。由以上分析可以看出,沙枣花多糖对嗜酸乳杆菌的促产酸能力要优于另两种益生菌。

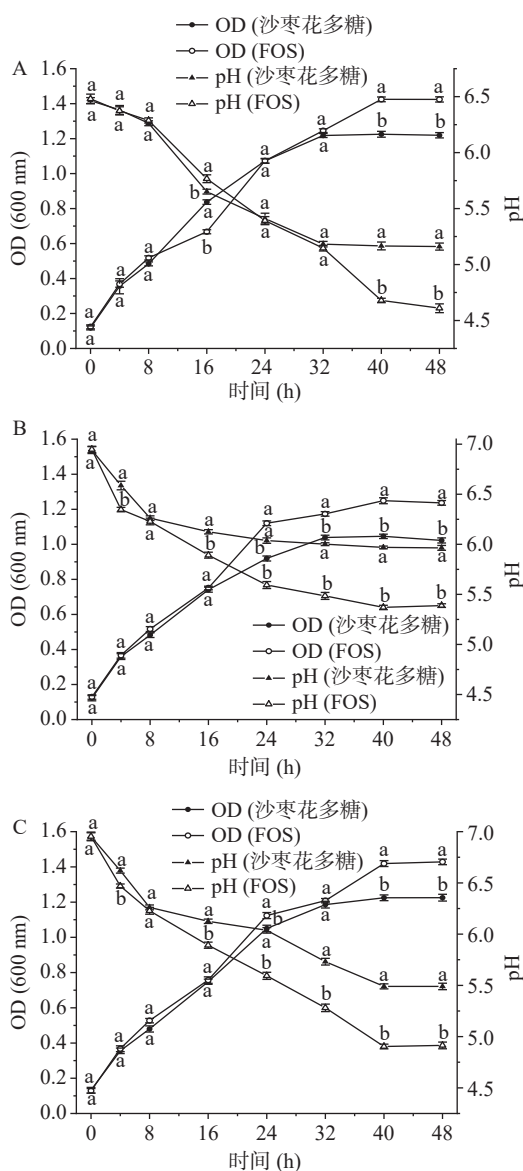


图 8 最适质量浓度下多糖溶液对嗜酸乳杆菌(A)、两歧双歧杆菌(B)和青春双歧杆菌(C)生长速率的影响

Fig.8 Effects of polysaccharide solution on growth rate of *Lactobacillus acidophilus* (A), *Bifidobacterium bifidum* (B) and *Bifidobacterium adolescentis* (C) at optimum mass concentration

3 讨论与结论

近年来,低聚糖和多糖等益生元作为功能性食品受到了广泛关注,它们可以促进肠道中有益菌的生长,同时对沙门氏菌、大肠杆菌等有害细菌具有拮抗作用,从而抑制其增殖以改善宿主健康。目前可获得的益生元,如菊粉及其衍生物和低聚半乳糖、低聚果糖等,已被广泛用作食品中的功能性成分^[30]。再后来,人们对益生元来源的开发日益拓展,通过研究发现,一些植物多糖可以在促进益生菌生长和活性方面发挥重要作用。与低聚糖类似,多糖进入肠道后会转化为碳源,通过调节肠道微生物群并且选择性地刺激有益菌群的生长,积累有机酸等代谢产物来抑制病原体,对人体提供健康益处^[31-33]。本研究中的结果表明,沙枣花中提取的多糖对青春双歧杆菌、两歧双歧杆菌和嗜酸乳杆菌的增殖均有一定的促进作用,当沙

枣花多糖质量浓度为 2.0% 时对所测益生菌的增殖最为显著, 质量浓度为 3.0% 时, OD 值则开始降低, 这是由于多糖浓度升高会导致培养基中渗透压失去平衡, 使菌体破裂, 从而抑制了益生菌的生长^[34]。这与 Wang 等^[15] 对菜籽多糖的研究相似。此外, 在此质量浓度下三种益生菌培养基的 pH 分别都有一定的降低, 促进了益生菌产酸的活性, 这是由于沙枣花多糖可以作为碳源被益生菌所代谢, 产生一些有机酸, 从而降低培养液的 pH。这与常雪花等^[16] 对籽瓜多糖的研究的结果相似。从多糖对三种益生菌培养基的生长速率曲线图中可以看出, 随着培养时间的延长, 各培养基中的 OD 值均升高, pH 均下降, 且当培养 40 h 之后, 生长速率趋于稳定, 这是由于培养基中可以被益生菌利用的碳源被消耗殆尽, 所以导致各菌种的生长变得缓慢。根据以上结果可以得出, 沙枣花多糖可以成为一种碳源被嗜酸乳杆菌、两歧双歧杆菌和青春双歧杆菌所利用, 从而促进菌体的增殖与生长。

在单因素实验的基础上, 通过设计响应面优化试验, 得到沙枣花多糖最佳提取工艺参数: 料液比 1:25 g/mL, 超声时间 21 min、提取温度 72 ℃、提取时间 62 min。在此条件下沙枣花多糖得率为 12.45%±0.15%。沙枣花多糖能够刺激青春双歧杆菌、两歧双歧杆菌和嗜酸乳杆菌的增殖与产酸, 并且促进菌种增殖的最佳多糖质量浓度为 2%。另外, 本研究只是确定了沙枣花多糖的最优提取条件和初步评价了沙枣花多糖对益生菌有一定的促增殖活性, 但关于其活性与结构之间可能存在的联系仍有待后续研究。

参考文献

[1] 赵金梅, 孙蕊, 巩丽莉, 等. 干燥方式对沙枣花品质和挥发性风味成分的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(22): 265-270. [ZHAO J M, SUN R, GONG L L, et al. Effects of drying methods on flower quality and volatile flavor components of *Elaeagnus angustifolia* [J]. Food Chemistry, 2020, 41(22): 265-270.]

[2] 王妍, 王立新. 沙枣花中微量元素的含量分析[J]. 食品科技, 2004(3): 98-99. [WANG Y, WANG L X. Analysis of trace elements in *Elaeagnus angustifolia* flower [J]. Food Science and Technology, 2004(3): 98-99.]

[3] 王基云, 姚遥, 肖旭, 等. 沙枣花黄酮成分的含量测定及其药理作用的初步研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(4): 812-814. [WANG J Y, YAO Y, XIAO X, et al. Determination of flavonoids in *Elaeagnus angustifolia* flower and preliminary study on its pharmacological effects [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2010, 21(4): 812-814.]

[4] XIE H J, CHEN X Y, LI M M, et al. Angustifolinoid B, a flavonoid glycoside dimer with cyclobutane from *Elaeagnus angustifolia* flowers [J]. Tetrahedron Letters, 2020, 61(23): 151946.

[5] 王基云, 王丹, 姜玥, 等. 宁夏沙枣花乙醇提取物对哮喘模型小鼠气道炎症的实验研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(1): 99-103. [WANG J Y, WANG D, JIANG Y, et al. Experimental study on the effect of ethanol extract from *Elaeagnus angustifolia* flower on airway inflammation in asthmatic model mice [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2019, 35(1): 99-103.]

[6] INCILAY G. Volatile composition, antimicrobial and antioxidant properties of different parts from *Elaeagnus angustifolia* L. [J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2014, 17(6): 1187-1202.

[7] BENDAIKHA S, GADAUT M, HARAKAT D, et al. Acylated flavonol glycosides from the flower of *Elaeagnus angustifolia* L [J]. Phytochemistry, 2014, 17(6): 1187-1202.

[8] 万超超, 王东东, 郭敬宇, 等. 新疆沙枣花抗氧化活性研究及总黄酮测定 [J]. 化学工程师, 2022, 36(4): 15-19. [WAN C C, WANG D D, GUO J Y, et al. Study on antioxidant activity and determination of total flavonoids of *Elaeagnus angustifolia* flowers in Xinjiang [J]. Chemical Engineer, 2022, 36(4): 15-19.]

[9] 赵保堂, 蔡苗苗, 刘京, 等. 沙枣花精油微胶囊制备工艺优化及缓释性能 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 158-164. [ZHAO B T, CAI M M, LIU J, et al. Optimization of preparation technology and sustained release performance of *Elaeagnus angustifolia* flower essential oil microcapsules [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(15): 158-164.]

[10] 黄英, 冀婉妮, 李雅雯, 等. 超临界 CO₂ 萃取温度对沙枣花精油组分的影响 [J]. 北方园艺, 2017(14): 124-129. [HUANG Y, JI W N, LI Y W, et al. Effect of supercritical CO₂ extraction temperature on essential oil components of *Elaeagnus angustifolia* flower [J]. North Gardening, 2017(14): 124-129.]

[11] HUO J Y, WU J H, HUANG M Q, et al. Structural characterization and immuno-stimulating activities of a novel polysaccharide from Huangshui, a byproduct of Chinese Baijiu [J]. Food Research International, 2020, 136: 109493.

[12] LIU C, DU P, GUO Y H, et al. Extraction, characterization of aloe polysaccharides and the in-depth analysis of its prebiotic effects on mice gut microbiota [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 261(11): 117874.

[13] WANG T, YE Z C, LIU S D, et al. Effects of crude *Sphallerocarpus gracilis* polysaccharides as potential prebiotics on acidifying activity and growth of probiotics in fermented milk [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 149: 111882.

[14] 赵建英, 李祥, 薛博文, 等. 红枣多糖对益生菌生长代谢的研究 [J]. 饲料研究, 2022(23): 73-77. [ZHAO J Y, LI X, XUE B W, et al. Study on growth and metabolism of probiotics by jujube polysaccharide [J]. Feed Research, 2022(23): 73-77.]

[15] WANG X, HUANG M Y, YANG F, et al. Rapeseed polysaccharides as prebiotics on growth and acidifying activity of probiotics *in vitro* [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 125(1): 232-240.

[16] 常雪花, 钱雅雯, 王振菊, 等. 籽瓜多糖对益生菌生长促进效应及其结构表征 [J]. 食品研究与开发, 2022, 43(19): 68-78. [CHANG X H, QIAN Y W, WANG Z J, et al. Effect of seed melon polysaccharide on growth of probiotics and its structural characterization [J]. Food Research and Development, 2022, 43(19): 68-78.]

[17] 叶春苗, 李莉峰, 韩艳秋. 水浸提法提取紫菜多糖生产工艺优化 [J]. 农产品加工, 2022(20): 33-35, 38. [YE C M, LI L F, HAN Y Q. Optimization of production technology for extracting laver polysaccharide by water extraction [J]. Farm Product Processing, 2022(20): 33-35, 38.]

[18] 陈文宁, 郑娟霞, 月金玲, 等. 酸与碱处理对海带多糖提取及其抗氧化活性的影响 [J]. 中国饲料, 2021(7): 17-20. [CHEN W N, ZHENG J X, YUE J L, et al. Effects of acid and alkali treatment on extraction and antioxidant activity of laminaria polysaccharide [J]. China Feed, 2021(7): 17-20.]

[19] 王昕, 李新生, 付静, 等. 复合酶法提取红茶粗多糖的工艺优化研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(8): 2924-2930.

- [WANG X, LI X S, FU J, et al. Optimization of extraction process of crude polysaccharide from black tea by complex enzymes[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2015, 6(8): 2924–2930.]
- [20] GAO J, HU D, SHEN Y, et al. Optimization of ultrasonic-assisted polysaccharide extraction from *Hyperici Perforati Herba* using response surface methodology and assessment of its antioxidant activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 225: 255–265.]
- [21] 谭琪明, 杨广安, 马海霞, 等. 影响银杏叶多糖提取因素的研究[J]. *当代化工研究*, 2021(8): 137–138. [TAN Q M, YANG G A, MA H X, et al. Study on the factors affecting the extraction of ginkgo biloba polysaccharide[J]. *Contemporary Chemical Research*, 2021(8): 137–138.]
- [22] 杨帆, 王宇鹏, 赵华. 响应面法优化超声辅助提取山药多糖工艺的研究[J]. *粮食与油脂*, 2020, 33(8): 73–76. [YANG F, WANG Y P, ZHAO H. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb by response surface methodology[J]. *Grain and Oil*, 2020, 33(8): 73–76.]
- [23] FENG Y N, ZHANG X F. Polysaccharide extracted from *Huperzia serrata* using response surface methodology and its biological activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 157: 267–275.]
- [24] 刘宇, 戴沅霖, 马越, 等. 金银花粗多糖提取工艺优化及其抗氧化活性评价[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(7): 188–196. [LIU Y, DAI Y L, MA Y, et al. Optimization of extraction process of crude polysaccharide from *Lonicera japonica* Thunb and evaluation of its antioxidant activity[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(7): 188–196.]
- [25] 包晓玮, 魏晨业, 王英, 等. 沙棘多糖对益生菌增殖和生长速率的影响[J]. *新疆农业大学学报*, 2021, 44(2): 150–156, 1–3. [BAO X W, WEI C Y, WANG Y, et al. Effect of *Hippophae rhamnoides* polysaccharide on proliferation and growth rate of probiotics[J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2021, 44(2): 150–156, 1–3.]
- [26] 姚欣, 孙宁云, 陈鑫, 等. 山竹壳多糖提取工艺优化及其生物活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(15): 101–108. [YAO X, SUN N Y, CHEN X, et al. Optimization of extraction technology of mangosteen shell polysaccharide and its biological activity[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(15): 101–108.]
- [27] XU Y, ZHANG L, BAILINA Y, et al. Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel[J]. *Journal of Food Engineering*, 2014, 126: 72–81.]
- [28] WANG Y, LIU Y, HU Y. Optimization of polysaccharides extraction from *Trametes robiniophila* and its antioxidant activities [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 111: 324–332.]
- [29] YING Z, HAN X X, LI J R. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves[J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(3): 1273–1279.]
- [30] SINGDEVSAKHAN S K, AUROSHREE P, MISHRA J, et al. Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their anti-tumor and immunomodulating properties: A review[J]. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2016, 7(1): 1–14.]
- [31] WANG Y D, CHEN G J, PENG Y J, et al. Simulated digestion and fermentation *in vitro* with human gut microbiota of polysaccharides from *Coralline pilulifera*[J]. *LWT*, 2019, 100: 167–174.]
- [32] CHEN G, CHEN X, YANG B, et al. New insight into bamboo shoot (*Chimonobambusa quadrangularis*) polysaccharides: Impact of extraction processes on its prebiotic activity[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 95: 367–377.]
- [33] LI F, SUN X J, YU W, et al. Enhanced konjac glucomannan hydrolysis by lytic polysaccharide monoxygenases and generating prebiotic oligosaccharides[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 253: 117241.]
- [34] 李霞, 张绮颖, 关媛, 等. 硫酸化木聚糖的制备及其体外益生菌增殖作用研究[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(13): 134–140. [LI X, ZHANG Q Y, GUAN Y, et al. Study on preparation of sulfated xylan and its proliferation of probiotics *in vitro*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(13): 134–140.]