

内部沸腾法提取骨碎补多糖及其抗氧化活性研究

梁家灿¹, 文慧香², 梁云贞^{3*} (1. 昆明学院农学与生命科学学院, 云南昆明 650200; 2. 南华大学化学化工学院, 湖南衡阳 421000; 3. 广西民族师范学院化学与生物工程学院, 广西崇左 532500)

摘要 以骨碎补为试验材料, 采用内部沸腾法来提取骨碎补中的多糖, 并且测定骨碎补里提取出来的多糖的抗氧化活性, 通过设置单因素试验和 4 因素 3 水平的正交试验, 研究乙醇解吸液体积分数、乙醇解吸时间、水浴提取温度、水浴提取时间对骨碎补多糖提取率的影响。结果表明, 提取骨碎补中多糖的最佳条件为乙醇解吸液体积分数 50%、解吸时间 15 min、水浴提取温度 80 °C、水浴提取时间 4 min, 在这个条件下的骨碎补多糖提取率为 10.90%。当骨碎补多糖质量浓度为 0.5% 时, 其对 DPPH 自由基的清除率达 74.8%, 对羟基自由基的清除率达 78.3%。

关键词 骨碎补; 多糖; 内部沸腾法; 抗氧化活性

中图分类号 R 284; R 285 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)14-0153-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.14.037



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Extraction of Rhizoma Drynariae Polysaccharide and Its Antioxidant Activity by Internal Boiling Method

LIANG Jia-can¹, WEN Hui-xiang², LIANG Yun-zhen³ (1. School of Agriculture and Life Sciences, Kunming University, Kunming, Yunnan 650200; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421000; 3. School of Chemistry and Biological Engineering, Guangxi Minzu Normal University, Chongzuo, Guangxi 532500)

Abstract Taking Rhizoma Drynariae as the test material, the internal boiling method was used to extract the polysaccharides in Rhizoma Drynariae, and the antioxidant activity of the polysaccharides extracted from Rhizoma Drynariae was determined. The effects of ethanol desorption liquid fraction, ethanol desorption time, water-bath extraction temperature and water-bath extraction time on the extraction rate of Rhizoma Drynariae were studied by setting up single factor experiment and orthogonal experiment with 4 factors and 3 levels. The results showed that the optimal conditions for extracting polysaccharides from Rhizoma Drynariae were 50% ethanol desorption liquid fraction, 15 min desorption time, 80 °C water-bath extraction temperature, and 4 min water-bath extraction time. Under these conditions, the extraction rate of Rhizoma Drynariae polysaccharide was 10.90%. When the mass concentration of drynaria polysaccharide was 0.5%, its scavenging rate for DPPH free radicals reached 74.8%, and the scavenging rate for hydroxyl radicals reached 78.3%.

Key words Rhizoma Drynariae; Polysaccharide; Internal boiling method; Antioxidant activity

骨碎补(*Davallia mariesii* Moore ex Bak.)是一种比较常用的中药,具有补肾、强骨、止痛等功效,用于治疗耳鸣耳聋、牙齿松动、筋骨伤折、肾虚腰痛、跌扑闪挫等症状^[1]。市场上比较常见的主流产品是水龙骨科的植物槲蕨(*Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm.)的干燥根茎。骨碎补研究较多的活性成分黄酮类化合物和多糖等^[2]。多糖类物质作为植物中主要的活性成分之一,在促进动物生长发育以及作为抗氧化剂等方面扮演着十分重要的角色^[3-4]。

内部沸腾法具有省时、高效、反应条件易达成等特点,因此相对于传统水提法等,在植物有机成分的提取方面具有十分明显的优势^[5]。该研究以中药骨碎补作为原料,采用内部沸腾法对其体内多糖进行提取,通过单因素试验和正交试验确定最佳的内部沸腾提取方案并在后续试验中测定骨碎补多糖的抗羟基自由基和 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的氧化活性。

1 材料与方

1.1 试材与试剂 骨碎补样品,广西崇左市龙州县;98%硫酸、苯酚、无水乙醇,均为分析纯,购于广东光华科技股份有限公司;三氯乙酸、正丁醇、过氧化氢,均为分析纯,购于成都市新都区木兰镇工业开发区;水杨酸(≥99.5%)、FeSO₄·

7H₂O(99.0%~101.0%),购于天津市光复精细化工研究所;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(≥97%),购于上海蓝季科技发展有限公司。

1.2 仪器设备 DSY-9002 高速万能粉碎机(永康市九顺莹商贸有限公司);V-1100D 可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司);DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);AUW220D 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);HZ-2A 恒温水浴锅(南京南大万和科技有限公司);80-2 离心沉淀机(金坛市医疗仪器厂)。

1.3 试验方法

1.3.1 骨碎补样品处理 将采回的槲蕨根茎洗净后于电热鼓风干燥箱中烘干至恒重,粉碎,过 80 目筛。将过筛后的槲蕨根茎粉末用石油醚脱色风干后即所需的骨碎补样品。

1.3.2 葡萄糖标准曲线的绘制 参考郭燕菲等^[6]的方法绘制标准曲线,准确配制浓度为 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准品溶液。取 6 支试管依次准确量入 0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL 的上述葡萄糖标准品溶液,补水至 2 mL。用苯酚-浓硫酸法在 490 nm 处测定其吸光度,以葡萄糖含量(mg)为横坐标、吸光度为纵坐标绘制葡萄糖标准曲线,得到回归方程为 $y = 7.38x + 0.026$ ($R^2 = 0.999$)。

1.3.3 多糖提取 准确称量 0.250 g 骨碎补样品,加入 2.5 mL 乙醇,室温下解吸,加入热蒸馏水 10 mL 等温水浴提取后放入离心机中 3 000 r/min 离心 30 min,取上清液测其多糖含量,根据公式(1)计算骨碎补多糖提取率。

基金项目 2019 年广西壮族自治区大学生创新创业训练项目(201910604087)。

作者简介 梁家灿(1997—),男,广西横县人,硕士研究生,研究方向:资源利用。*通信作者,副教授,硕士,从事天然产物研究。

收稿日期 2021-09-23; **修回日期** 2021-10-19

$$\text{提取率} = m \times V \times N / (M \times v \times 1000) \times 100\% \quad (1)$$

式中, M 为骨碎补样品质量(g); V 为骨碎补样品提取液定容体积(mL); N 为稀释倍数; m 为骨碎补多糖提取液测得吸光度代入葡萄糖标准曲线线性回归方程计算得出的骨碎补多糖质量(mg); v 为用于测定吸光度所移取的骨碎补多糖提取液(mL)。

1.3.4 单因素试验。以乙醇解吸液体积分数为 40%、解吸时间为 15 min、水浴提取时间为 4 min、水浴提取温度为 50 °C 分别作为基础, 分别固定其他 3 个影响因素, 按照“1.3.3”方法对骨碎补多糖进行内部沸腾提取并计算比较多糖的提取率, 研究不同乙醇解吸液体积分数、解吸时间、水浴提取温度、水浴提取时间对多糖提取率的影响^[7-12]。

1.3.5 正交试验。根据单因素试验结果, 将影响提取率的 4 个影响因子设计成 4 因素 3 水平的正交表, 再根据其排列组合进行验证试验。通过比较提取率和正交方差确定最佳的内部沸腾提取骨碎补多糖的方案^[13-15]。

1.3.6 抗氧化活性试验。

1.3.6.1 DPPH 自由基清除能力的测定。取 5 支试管, 分别加入 2 mL“1.3.3”提取得到的不同浓度的骨碎补多糖溶液, 在每支试管中各加入 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液 2 mL, 摇匀后置于室温下避光静置 30 min, 以无水乙醇作为空白对照^[8], 在 517 nm 下测定反应体系的吸光度, 记为 A_1 ; 取 2 mL 不同浓度骨碎补多糖溶液和 2 mL 无水乙醇空白对照溶液的混合液测定其吸光度, 记为 A_2 ; 测定 2 mL 无水乙醇空白对照溶液和 0.2 mmol/L DPPH 溶液 2 mL 的混合液的吸光度, 记为 A_3 。以相同浓度的 V_c 溶液作为阳性对照, 其清除率计算公式如下:

$$\text{清除率} = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\% \quad (2)$$

1.3.6.2 羟基自由基清除能力的测定。取 5 支试管, 分别加入 2 mL“1.3.3”提取得到的不同浓度的骨碎补多糖溶液, 再加入 2 mL 的 6 mmol/L 的 FeSO_4 溶液和 6 mmol/L 的 H_2O_2 溶液 2 mL, 使其充分混匀, 静置反应 10 min, 再加入 2 mL 的 6 mmol/L 的水杨酸-乙醇溶液, 使其充分混匀再次静置反应 30 min, 以蒸馏水作为空白对照溶液, 在 510 nm 下测定吸光度, 记为 A_1 ; 然后以蒸馏水代替骨碎补多糖溶液重复上述步骤, 在 510 nm 下可见分光光度计测定其吸光度, 记为 A_2 ; 以 2 mL 蒸馏水代替 H_2O_2 溶液再次重复上述步骤, 在 510 nm 下测定其吸光度, 记为 A_3 ; 以相同浓度的 V_c 溶液作为阳性对照^[9], 羟基自由基清除率的计算公式^[10]如下:

$$\text{清除率} = [1 - (A_1 - A_3) / A_2] \times 100\% \quad (3)$$

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇解吸液体积分数对多糖提取率的影响。从图 1 可以看出, 当乙醇解吸液体积分数为 40% 时提取率达到了峰值(5.44%)。因为内部沸腾法的特性, 浸润骨碎补样品的乙醇体积分数较低时, 骨碎补将吸收乙醇后在后续加入热蒸馏水并水浴提取时内部不能形成有效的沸腾, 不利于多糖的提取。而乙醇解吸液体积分数过高可能会导致某些糖类物质

不易溶解, 故提取率反而下降。

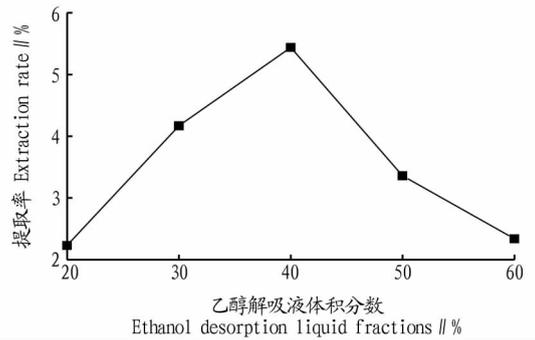


图 1 不同乙醇解吸液体积分数对骨碎补多糖提取率的影响

Fig.1 Effects of different ethanol desorption liquid fractions on the extraction rate of Rhizoma Drynariae polysaccharide

2.1.2 水浴提取时间对多糖提取率的影响。从图 2 可以看出, 当水浴提取时间为 4 min 时提取率达到了峰值(6.61%)。随着提取时间的延长会使得其他非糖物质也大量溶解于乙醇解吸液中, 使得随着水浴提取时间的延长骨碎补多糖的提取率反而下降。

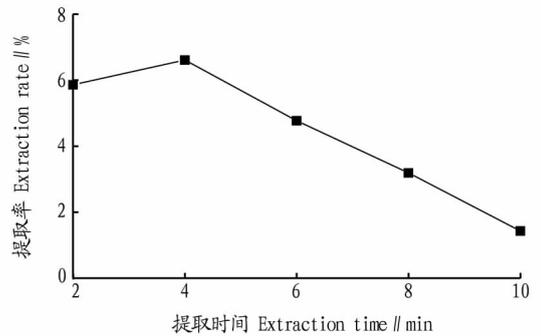


图 2 不同水浴提取时间对骨碎补多糖提取率的影响

Fig.2 Effect of different water-bath extraction time on the extraction rate of Rhizoma Drynariae polysaccharide

2.1.3 解吸时间对多糖提取率的影响。从图 3 可以看出, 解吸时间为 15 min 时提取率达到了峰值(9.32%)。乙醇解吸液与骨碎补样品之间的作用时间短会导致乙醇解吸液未能完全渗透细胞壁, 将骨碎补样品内部多糖成分充分分解吸, 从而使骨碎补多糖提取率未能达到峰值, 解吸时间过长非糖物质也得到了充分的解吸, 影响多糖的提取率。

2.1.4 水浴提取温度对多糖提取率的影响。从图 4 可以看出, 水浴提取温度在 80 °C 时骨碎补多糖提取率达到了峰值(10.35%)。水浴温度过高时虽然反应足够剧烈, 但是高温会加速乙醇解吸液的挥发, 并且过高的温度会破坏骨碎补内部的活性成分, 故水浴提取温度过高骨碎补多糖的提取率反而降低。

2.2 正交试验 从正交试验结果的极差 R (表 1) 可以看出, 各因素对骨碎补多糖提取的影响从大到小依次为水浴提取温度(C) > 水浴提取时间(D) > 解吸时间(B) > 乙醇解吸液体积分数(A)。细胞内外温度差是内部沸腾法提取骨碎补多糖的关键, 温度过低则产生压力不足, 温度过高则会加速乙醇的挥发影响多糖提取率。内部沸腾法提取骨碎补多糖的最佳提取条

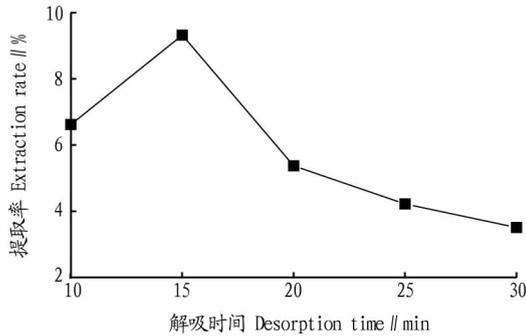


图3 不同解吸时间对骨碎补多糖提取率的影响

Fig.3 Effect of different desorption time on the extraction rate of Rhizoma Drynariae polysaccharide

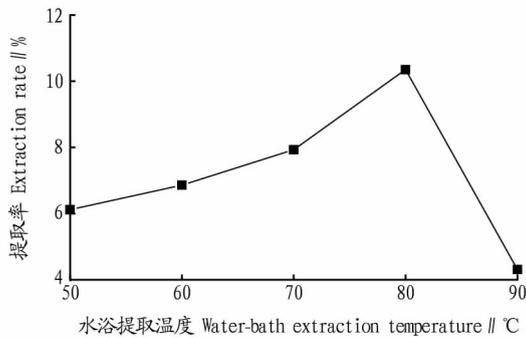


图4 不同水浴提取温度对骨碎补多糖提取率的影响

Fig.4 Effect of different water-bath extraction temperatures on the extraction rate of Rhizoma Drynariae polysaccharide

件为 A₃B₂C₂D₂, 即乙醇解吸液体积分数为 50%, 解吸时间为 15 min, 水浴提取温度为 80 °C, 水浴提取时间为 4 min。

表1 内部沸腾法提取骨碎补多糖的正交试验结果

Table 1 Orthogonal test results of extraction of Rhizoma Drynariae polysaccharide by internal boiling method

试验号 No.	A(乙醇解吸液 体积分数 Ethanol desorption solution fraction // %)	B(解 吸时间 Desorption time min)	C(水浴提 取温度 Water-bath extraction temper- ature // °C)	D(水浴提 取时间 Water-bath extraction time min)	提取率 Extraction rate // %
1	1(30)	1(10)	1(70)	1(2)	2.44
2	1	2(15)	2(80)	2(4)	10.89
3	1	3(20)	3(90)	3(6)	5.26
4	2(40)	1	2	3	6.12
5	2	2	3	1	7.21
6	2	3	1	2	4.47
7	3(50)	1	3	2	10.14
8	3	2	1	3	7.15
9	3	3	2	1	6.94
k ₁	6.20	6.23	4.69	5.53	
k ₂	5.93	8.42	7.98	8.50	
k ₃	8.08	5.56	7.54	6.18	
R	2.15	2.86	3.29	2.97	

2.3 内部沸腾法提取骨碎补多糖的重现性试验 根据得出的最佳提取条件进行 3 次重复试验, 通过计算得出骨碎补多糖平均提取率为 10.90%, 相对标准偏差 (RSD) 为 1.04%。据

此可以验证正交试验得出的最佳提取条件的稳定性和可重复性。所以可以确定内部沸腾法提取骨碎补多糖的最佳提取条件为 A₃B₂C₂D₂。

2.4 抗氧化活性试验

2.4.1 DPPH 自由基清除能力的测定。从图 5 可以看出, 骨碎补多糖具有一定的 DPPH 自由基清除能力, 其对 DPPH 自由基的清除率与多糖浓度相关。在多糖浓度为 0.5% 时, 骨碎补多糖对 DPPH 自由基的清除率达到 74.8%, 而作为阳性对照的 V_c 溶液对 DPPH 自由基的清除率达到了 82.1%, 仅相差 7.3 百分点。

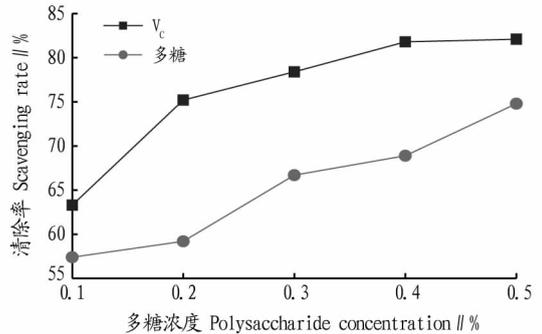


图5 骨碎补多糖对 DPPH 自由基的清除能力

Fig.5 The scavenging ability of Rhizoma Drynariae polysaccharide on DPPH free radicals

2.4.2 羟基自由基清除能力的测定。从图 6 可以看出, 相比 V_c, 骨碎补多糖对羟基自由基有良好的清除能力, 当多糖浓度为 0.5% 时, 骨碎补多糖对羟基自由基的清除率达到 78.3%, 而作为参照标准的 V_c 对羟基自由基的清除率为 84.1%, 仅相差 5.8 百分点。表明骨碎补多糖浓度与清除率之间有较好的量效关系。

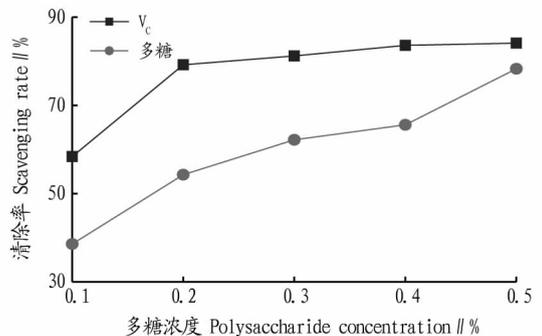


图6 骨碎补多糖对羟基自由基的清除能力

Fig.6 The scavenging ability of Drynaria polysaccharide on hydroxyl radicals

3 结论与讨论

该研究通过单因素试验和正交试验确定了内部沸腾提取骨碎补多糖的最佳提取方案为乙醇解吸液体积分数 50%、解吸时间 15 min、水浴提取温度 80 °C、水浴提取时间 4 min。并对其抗羟基自由基和 DPPH 自由基能力进行研究, 结果显示骨碎补多糖对羟基自由基和 DPPH 自由基的清除率分别达到了 78.3% 和 74.8%, 表明骨碎补多糖有良好的抗氧化能力。

(下转第 190 页)

业可以以村为单位通过互联网平台缩短中间环节,降低产品的流通成本,使得农产品快速到消费端,保障了农产品的新鲜程度和口感从而保障和提高了城郊农户预期务农收入。

因此,政府应当鼓励城郊农业对接同城社区需求,进一步加强与同城社区的联系交流,掌握供需双方的信息,合理引导城郊农业生产。其次进一步建设和完善城郊农产品的销售渠道,积极尝试社区团购等新的销售方式,帮助城郊农户解决农产品销售困难的问题,从而提高农户预期农业收入。同时,城郊农户预期务农收入的保障和提高,有利于激发城郊农户耕种意愿的积极性,吸引更多的城郊劳动力特别是60岁以上不再适合外出务工人员从事农业生产,进而提高城郊土地利用率,进而实现城郊农业现代化。

4.2 根据城郊农户实际耕种面积进行扶持和政策倾斜 政府对实际耕种面积大的城郊农户采取政策和资源倾斜,帮助鼓励城郊农户实现规模经营。试验结果表明,城郊农户实际种植面积越大耕种意愿更强烈;实际调研发现城郊实际耕种面积较大的这类农户普遍耕种意愿更强,在主观能动性上相比于耕种意愿弱的农户更加积极和配合,更符合城郊农业的发展需求。耕种意愿强的城郊农户发展规模经营一方面能在一定程度上解决因为各类原因不愿耕种而导致的城郊土地抛荒等问题;另一方面规模经营更能发挥出城郊农业的资源、区位、交通、技术等优势;适度规模经营已成为我国农业转型与现代化发展的有效路径^[15]。同时相比于偏远农村地区,城郊农业显然更适合发展适度规模经营和家庭农场经营。因此,政府应根据城郊农户实际耕种面积加强和改善城郊农业政策扶持力度,一方面需要提高农业补贴标准,增加涉农补贴项目;另一方面,需要将以农民拥有农田面积为依据的现行农业补贴政策,转变为以实际耕种农田面积为依据的农业补贴政策,从而更好地扶持实际耕种面积大、耕种意愿强的农民,使其获得更多的农业优惠政策的支持,从而吸引更多的城郊农户从事农业生产,培育更多城郊家庭农场,提高城郊农户的耕种意愿,缓解可耕地收益率不高、土地闲置问题,促进城郊农业的发展转型。

4.3 完善与精细农业所匹配的基础设施及设备 随着城市

化进程推进,城郊地区的土地价值也越来越凸显;由于城郊土地面积有限且价值较高,城郊农业不再适用于传统的粗放经营。新的环境对城郊农业提出了发展集约化、规模化、高效化和绿色化等新的要求,城郊农业需要发展以果树、鲜花和蔬菜等经济作物为主的农业产业,由粗放型农业向精细化农业发展。但实际调研结果显示有70%以上的农户反映农业基础设施条件一般或较差,现有基础设施主要配套于粮食作物的生产经营,仅能满足粗放型农业生产需求,而难以满足城郊农业精细化发展需求,抑制了城郊农户的耕种积极性,制约了城郊农业的现代化发展。因此政府应进一步加强和完善与精细农业匹配的设施设备,为城郊农业的发展奠定基础。

参考文献

- [1] 宋志军,刘黎明.我国现代城郊农业区的功能演变及规划方法研究[J].中国农业大学学报,2010,15(6):120-126.
- [2] 董光前,高新才,程国栋.甘肃黄河谷地城市与城郊生态功能区健康发展研究[J].城市发展研究,2012,19(2):133-135.
- [3] 李洪庆,刘黎明.现代城郊农业功能定位和布局模式探讨:以北京市为例[J].城市发展研究,2010,17(8):62-67.
- [4] 赵斌,郭洋洋,周大迈.我国城郊农业最新研究进展[J].北方园艺,2015(7):188-192.
- [5] 刘兴元,沈禹颖,赵海.西北干旱区生态涵养与高质生产耦合的城郊农业发展模式[J].草业科学,2017,34(3):644-652.
- [6] 马涛,王菲.中国城郊农业发展模式评析[J].城市问题,2015(9):44-48,67.
- [7] 葛爱飞.论城郊农业向都市农业的转变[J].农业技术与装备,2015(6):49-51.
- [8] HALDER P, PIETARINEN J, HAVU-NUUTINEN S, et al. The Theory of Planned Behavior model and students' intentions to use bioenergy: A cross-cultural perspective[J]. Renewable energy, 2016, 89:627-635.
- [9] 李翠珍,孔祥斌,梁颖,等.京津冀平原区不同类型农户耕地利用决策影响因素分析[J].农业工程学报,2011,27(9):316-322.
- [10] 王劲刚.基于农户的耕地利用影响因素分析:以汉中市为例[J].安徽农业科学,2015,43(12):290-293.
- [11] 刘艳婷,陈美球,谢贤鑫.江西省农户生态耕种采纳意愿与行为悖离研究[J].地域研究与开发,2021,40(2):118-123.
- [12] 赵金国,岳书铭.农户规模经营意愿影响因素分析研究[J].山东社会科学,2017(1):116-121.
- [13] 戚晓明.人力资本、家庭禀赋与被征地农民就业:基于CFPS2014数据的分析[J].南京农业大学学报(社会科学版),2017,17(5):59-67,152.
- [14] 梅建明.再论农地适度规模经营:兼评当前流行的“土地规模经营危害论”[J].中国农村经济,2002(9):31-35.
- [15] 何奇峰.适度规模经营中的劳动力因素:基于中部地区三个水稻种植户的案例分析[J].中国农业大学学报(社会科学版),2021,38(6):17-30.
- [16] 饲料研究,2021,44(7):82-85.
- [17] 黄茜,李建凤,廖立敏.内部沸腾法提取葡萄皮花色苷研究[J].食品研究与开发,2017,38(22):48-51.
- [18] 李建凤,李陈,廖立敏.内部沸腾法提取金银花多糖[J].食品与机械,2016,32(11):166-168,228.
- [19] 梁浩,钱玺丞,杜晓静,等.内部沸腾法强化提取血根碱的工艺研究[J].饲料研究,2020,43(9):86-89.
- [20] 刘玉环,贺亚银,张喜峰,等.内部沸腾法优化螺旋藻多糖提取工艺研究[J].牡丹江师范学院学报(自然科学版),2018(2):51-54,57.
- [21] 田野,李周,梅全喜,等.内部沸腾法提取冬虫夏草多糖工艺研究优化[J].时珍国医国药,2018,29(12):2893-2895.
- [22] 郑韵英,黄琼慧,严业雄,等.内部沸腾法提取火龙果皮多糖工艺优化[J].食品工业科技,2018,39(9):217-221.
- [23] 陈晓辉,陈雨婕,闻正顺,等.正交试验优选微波辅助提取火麻仁多糖的工艺[J].安徽农业科学,2021,49(6):166-169.
- [24] 江颖倩,彭梦超,吴岩斌,等.正交试验法优选浙江金钱兰多糖提取工艺研究[J].海峡药学,2021,33(4):31-34.
- [25] 李娇,刘悦,刘德江,等.正交试验法优化菱角多糖提取工艺[J].农学报,2021,11(4):51-55.

(上接第155页)

骨碎补作为一种传统中药材,在人体免疫疾病上有不同程度的作用。该试验的结果显示,骨碎补中多糖成分含量较高是其发挥药用价值的基础。通过多骨碎补多糖提取方法和含量的研究可以更科学地对中药进行使用。

参考文献

- [1] 谌顺清,梁伟,张雪妹,等.骨碎补化学成分和药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2021,46(11):2737-2745.
- [2] 于大鹏,孙卫强.骨碎补及其提取物应用于骨科疾病的药理作用研究概况[J].环球中医药,2021,14(4):761-766.
- [3] 陈淑娟,胡蓉婉,王春花,等.玛咖多糖的提取工艺研究[J].广东化工,2021,48(10):77-78.
- [4] 吕明帅,赵博,孙文玉,等.富硒黑木耳多糖的理化性质及抗氧化活性研究[J].中国调味品,2021,46(6):54-59.
- [5] 冯瑛,李洁,王旭捷,等.内部沸腾法提取茶多酚工艺优化及其与水提法的比较[J].食品工业科技,2019,40(18):160-164,176.
- [6] 郭燕菲,郭世伟,郭文亮,等.黄花蒿多糖的酶法提取工艺优化研究[J].