

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241209002

引用格式: 刘占鳌, 裴艳琴, 叶华. 基于神经网络-遗传算法优化松花粉多糖提取工艺及其抗疲劳活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(13): 282–290.

LIU ZAO, PEI YQ, YE H. Optimization of extraction process and anti-fatigue activity from *Pollen pini* polysaccharide based on genetic algorithm-neural network algorithm [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(13): 282–290. (in Chinese with English abstract).

基于神经网络-遗传算法优化松花粉多糖提取工艺及其抗疲劳活性研究

刘占鳌*, 裴艳琴, 叶华

(西安医学高等专科学校, 西安 710309)

摘要: **目的** 探究神经网络-遗传算法(genetic algorithm-neural network, GA-NN)优化松花粉多糖的亚临界水提取工艺, 并进一步探究其抗疲劳活性。**方法** 以破壳松花粉为原料, 在单因素基础上, 通过 Box-Behnken 试验设计响应面试验, 并利用 GA-NN 算法构建神经网络模型及优化工艺, 在最佳工艺条件下, 通过小鼠负重游泳试验评价多糖的抗疲劳作用。**结果** 所构建的神经网络模型相对误差和决定系数(R^2)为 0.03267 和 0.98476, 遗传算法对亚临界水提取多糖工艺迭代 60 次后, 得到最佳参数为: 温度 148 °C, 时间 28 min, 液料比 40:1 (mL:g), 压力 5 MPa, 多糖得率为 23.7893 mg/g, 经验证, 实际值与预测值不存在显著性差异, 模型准确度良好。抗疲劳活性研究表明与空白组相比, 高剂量组小鼠体重有一定程度的增加, 其他组无显著性差异($P>0.05$)。相比空白组, 多糖组小鼠游泳时间延长($P<0.05$), 血乳酸、尿素氮含量降低, 肌糖原、肝糖原储备量均显著增加($P<0.05$)。**结论** GA-NN 能够有效优化松花粉多糖的亚临界水提取工艺, 且该多糖具有一定的抗疲劳作用。

关键词: 亚临界水; 神经网络; 工艺优化; 抗疲劳

Optimization of extraction process and anti-fatigue activity from *Pollen pini* polysaccharide based on genetic algorithm-neural network algorithm

LIU Zhan-Ao*, PEI Yan-Qin, YE Hua

(Xi'an Medical College, Xi'an 710309, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the subcritical water extraction process of *Pollen pini* polysaccharides based on genetic algorithm-neural network (GA-NN) algorithm and further explore its anti-fatigue activity. **Methods** Using broken shell *Pollen pini* as raw material, a response surface was designed through Box-Behnken test on a single factor basis, and a network neural model was constructed and optimized using GA-NN algorithm. Under the optimal process conditions, the anti-fatigue effect of polysaccharides was evaluated through mouse weight-bearing swimming test. **Results** The relative error and coefficient of determination (R^2) of the constructed neural network

收稿日期: 2024-12-09

基金项目: 西安医学高等专科学校 2019 年度校级科研项目(19Z01)

第一作者/*通信作者: 刘占鳌(1983—), 男, 硕士, 副教授, 主要研究方向为全科医学和高等职业教育。E-mail: y28980@163.com

model were 0.03267 and 0.98476, respectively. The genetic algorithm was iterated 60 times for subcritical water extraction of polysaccharides, and the optimal parameters were obtained as follows: Temperature 148 °C, time 28 min, liquid to material ratio 40:1 (mL/g), pressure 5 MPa, and polysaccharide yield of 23.7893 mg/g. After verification, there was no significant difference between the actual value and the predicted value, indicating good accuracy of the model. The study on anti fatigue activity showed that compared with the blank group, the high-dose group of mice had a certain degree of increase in body weight, while there was no significant difference in other groups ($P>0.05$). Compared with the blank group, the swimming time of mice in the polysaccharide group was prolonged, the levels of blood lactate and urea nitrogen were reduced, and the reserves of muscle glycogen and liver glycogen were significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** GA-NN can effectively optimize the subcritical water extraction process of *Pollen pini* polysaccharide, and the polysaccharide has a certain anti fatigue effect.

KEY WORDS: subcritical water; neural network; process optimization; resist fatigue

0 引言

松花粉是松科植物马尾松、油松等的花粉, 兼具药食两用特性, 富含蛋白质、不饱和脂肪酸、维生素、矿物质等营养成分及黄酮、植物甾醇等功能活性因子, 被誉为“世界上唯一的全营养食品”^[1-2]。近年来, 松花粉的研究主要集中在活性成分提取、功能及健康产品开发等方面^[3], 松花粉多糖是其发挥作用的主要活性物质之一, CHU 等^[4]研究表明松花粉多糖对 HepG₂ 细胞增殖具有抑制作用; LI 等^[5]发现松花粉多糖能够提高免疫器官体重指数, 淋巴细胞转移率等免疫指标, 有助于提升免疫力; 王寒月^[6]发现松花粉多糖能够通过调节糖代谢、氨基酸代谢减缓氧化应激反应及炎症发生; 此外, 松花粉多糖在降血糖、延缓衰老等方面同样疗效显著^[7]。但鲜少涉及松花粉的抗疲劳功效研究。

植物多糖属于生物大分子, 来源广泛, 其活性与其单糖组成、分子量、糖苷键类型等密切相关^[8], 而不同的提取方法原理不同常导致多糖分子量、单糖组成差异较大, 因此选择合适的提取方法对于保留多糖生物活性十分必要。目前松花粉多糖的提取方法包括: 水煮法、酶解法、超声波法、超临界 CO₂ 法、微波法等^[9], 但这些提取方法一般存在效率低、能耗高等缺点。亚临界水是在一定压力下, 将水加热至 100~374 °C 范围, 水仍保持液体状态, 继续升温, 水分子逐步由强极性变为非极性, 从而选择性地提取不同极性成分的方法, 该法能够促使多糖分子从基质中加速溶出, 具有绿色、高效、操作简单等优点^[10]。

人工神经网络(neural network, NN)是一种新兴的建模方法, 由输入层、隐藏层和输出层构成。通过学习算法训练, NN 不断的调整自己的权重和阈值, 使输出值接近真实值。传统的 NN 权重和阈值初值随机给定, 初值的确定直接影响 NN 的预测精度。遗传算法(genetic algorithm, GA)是一种模拟自然界生物进化过程的全局寻优方法, 通过自然选择、交叉、变异寻求最优解。为了提升 NN 的预测性能, 可以采用 GA 对 NN 权重和阈值初始值优化, 获得最优

的 NN 预测模型, 从而提升寻优速度和稳定性^[11]。

鉴于此, 本研究拟以松花粉为原料, 采用亚临界水法提取多糖, 并利用 GA-NN 对工艺优化, 在最优工艺的基础上, 对多糖的抗疲劳作用进一步探讨, 旨在为松花粉资源的高质化利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SPF 级雄性小鼠 50 只[上海懿尚生物科技有限公司, 体重(20±2) g, 许可证号: SYXK(沪)2022-0029]。

破壁松花粉(破壁率>98%, 朝阳松海生物科技有限公司); 葡萄糖标准品(纯度 99%, 上海源叶生物科技有限公司); 苯酚、浓硫酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 乙醇(分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司); 蒸馏水(实验室自制); 血乳酸检测试剂盒(货号: BC2235)、尿素氮检测试剂盒(货号: BC1535)、肝糖原检测试剂盒(货号: BC0340)、肌糖原检测试剂盒(货号: BC0345)(北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

UV759CRT 紫外分光光度计(佛山南北潮电子商务有限公司); HH-1 恒温水浴锅(常州市亿能实验仪器厂); EP-100X60 药材万能破碎机(鹤壁市先锋仪器仪表有限公司); LanJ-316J30 超声波清洗仪(广东蓝鲸智能超声波洗净设备有限公司); FA1004N 电子分析天平(感量 0.1 mg, 苏州顺强机电设备有限公司); RE-52CS 旋转蒸发器(上海秉越电子仪器有限公司); M1416R 低温高速离心机(深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 松花粉多糖制备

参考王娜等^[12]方法, 略有修改。将松花粉在 50 °C 下低温烘干 8 h, 粉碎, 过 80 目筛。以液料比 40:1 (mL:g) 加入高压反应釜, 利用氮气瓶加压, 设置压力为 5 MPa, 在温度

140 °C下, 萃取 25 min, 结束后冷却至室温, 12000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 采用 Sevage 法(正丁醇:氯仿=4:1, V:V)脱蛋白, 分离出水相, 浓缩后, 加入无水乙醇至浓度 95%, 4 °C下过夜, 6000 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 加入适量蒸馏水复溶 1 h, 过 3500 Da 透析袋, 透析 48 h, 收集滤液, 冻干成粉末, 即得松花粉多糖。

1.3.2 多糖的测定

采用硫酸-苯酚法^[13]测定多糖含量。准确称取一定量的葡萄糖标准品, 配制成 1 mg/mL 的标准溶液, 分别吸取 0、0.2、0.4、0.8、1.0、1.2 mL 标准溶液加入 25 mL 具塞试管, 以蒸馏水补充至 2 mL, 摇匀。加入 1 mL 浓度 5% 的苯酚溶液, 然后迅速加入 5 mL 浓硫酸, 摇匀, 沸水浴 15 min, 静置, 冷却至室温, 以蒸馏水补充至刻度线, 于 490 nm 波长下测定吸光值, 绘制标准曲线: $Y=0.7894X-0.0002$, $r^2=0.9978$ 。依据标准曲线计算松花粉多糖的含量。

1.3.3 单因素试验

按照 1.3.1 方法分别考察不同温度(120、130、140、150、160 °C)、不同液料比(10:1、20:1、30:1、40:1、50:1, mL:g)、不同提取时间(15、20、25、30、35 min)、不同压力(1、3、5、7、9 MPa)对松花粉多糖得率的影响。

1.3.4 响应面试验设计

在单因素试验基础上, 以合适的温度、液料比、时间、压力为考察变量, 以多糖得率为评价指标, 设计 4 因素 3 水平响应面试验, 试验设计因素和水平见表 1。

表 1 因素及水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	温度/°C	时间/min	液料比(mL:g)	压力/MPa
-1	130	20	30:1	3
0	140	25	40:1	5
1	150	30	50:1	7

1.3.5 神经网络-遗传算法优化

参考尹乐斌等^[14]方法, 略有修改。利用 Matlab 软件进行 GA 全局多点寻优, 以温度、时间、料液比、压力为输入层, 多糖得率为输出层, 示意图见图 1(a), 采用“traingdm”训练函数, 以测试集均方误差(mean squared error, MSE)为评价模型准确的指标, 建立基于响应面设计试验的参数优化, 以此模型的输出值构建个体适应度函数进行整体寻优, 对响应面结果和虚拟样本进行仿真试验, 拟合获得多糖最优目标, 并反馈其提取条件。根据实际情况设定种群大小、最大迭代数、交叉、变异、代构参数, 运行程序步骤^[11]见图 1(b)。

1.3.6 抗疲劳试验

(1) 分组与给药

参考周玉蕾^[15]方法。适应性喂养小鼠 1 周, 之后 7 d 内, 每天进行约 30 min 的游泳训练, 评估其游泳能力, 将小鼠随机分为 5 组, 空白对照组(CON 组)、阳性对照组(positive

control, PC 组)、低剂量组(low pine pollen polysaccharides, L-PP 组)、中剂量组(medium pine pollen polysaccharides, M-PP 组)、高剂量组(high pine pollen polysaccharides, H-PP 组), 确保各组游泳能力类似。其中 CON 组不作任何处理正常喂养, PC 组(红景天苷提取物 120 mg/(kg·d), 低中高剂量组分别为 0.05、0.25、0.50 g/(kg·d), 连续灌胃 28 d, 每 2 d 称量体重并记录。

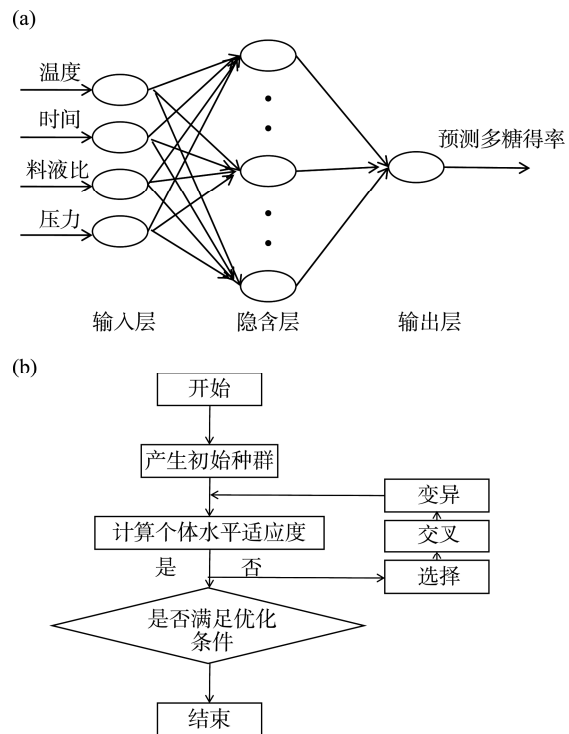


图 1 人工 NN 模型(a)及 GA 耦合优化流程图(b)
Fig.1 Artificial NN model (a) and GA coupling optimization flow chart (b)

(2) 负重游泳时间

对各试验组开展负重游泳试验, 将一块重量为小鼠 5% 的铅皮固定在小鼠尾部, 将其放置于游泳箱中, 水深 30 cm, 水温(25±1) °C, 以小鼠头部全部没入水中, 8 s 不浮出水面为终点, 记录游泳时间。

(3) 血清生化指标测定

将小鼠取出, 进行眼球取血, 7000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 分别按照试剂盒方法测定血乳酸、尿素氮含量。将取血后的小鼠颈部脱臼处死, 解剖取肝脏和后肢肌肉, 使用 0.9% 生理盐水清洗 3 遍, 拭干表面水分, 称取 500 mg 标本, 加入 5 mL 生理盐水, 匀浆机中低温制备匀浆液, 3500 r/min 离心 15 min, 取上清液, 按照试剂盒中的方法测定肌糖原和肝糖原含量。

1.4 数据处理

采用 SPSS 22.0 软件进行组间差异分析, 结果以平均值±标准偏差表示, 以 $P<0.05$ 为显著性差异, 采用 Design-expert 软件设计响应面, 利用 Matlab R2016a 软件

运行程序构建 NN 模型, 利用 Origin 2019b 软件作图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

由图 2 可知, 提取温度对松花粉多糖得率的影响较明显, 随着温度升高, 多糖得率呈先增后降的趋势, 在 140 °C 时得率最高达(23.8±0.7) mg/g, 适当的升温能够促使多糖分子快速从松花粉中溶出, 这是由于温度升高使水的表面张力和黏度降低, 更易渗透入细胞内, 达到增加多糖扩散速度的目的^[16]。当温度过高则导致多糖降解, 刁山山等^[17]采用亚临界水提取南瓜多糖, 在温度高于 150 °C 时, 多糖得率降低, 这与本研究结论较类似, 因此, 选择 140 °C 作为最佳的提取温度。由图 2 可知松花粉多糖随着提取时间的延长, 多糖得率逐渐升高, 当超过 25 min 后, 得率显著下降, 这是由于提取刚开始时溶剂传质效果较好, 多糖大量溶出, 但时间过长, 多糖处于高温下, 容易破坏分解^[18]。随着液料比的增加, 多糖得率在 40:1 (mL:g) 达到最高, 为(21.9±0.6) mg/g, 当松花粉比例较低时, 溶剂与松花粉接触面积增大, 更容易溶剂进入, 加速多糖溶出, 但此时多糖受原料限制浓度较低, 当松花粉过量时, 固液分配不均匀, 导致固液不易接触, 得率也较低^[19], 因此 40:1 (mL:g) 是最佳的液料比。研究表明升高压力能够迫使溶剂进入细胞, 加速多糖扩散溶出^[20], 由图 2 可知, 当压力为 5 MPa 时多糖得率最高为(23.2±0.7) mg/g, 当压力进一步增大, 导致多糖链断裂, 发生降解^[21], 因此选择 5 MPa 为最佳的提取压力。

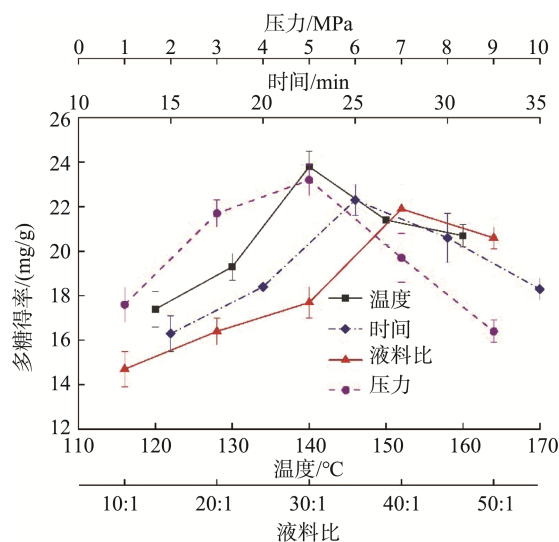


图 2 不同因素对松花粉多糖得率的影响
Fig.2 Effects of different factors on the yield of polysaccharides from *Pollen pini*

2.2 响应面试验设计及 GA-NN 优化结果

2.2.1 响应面试验结果

在单因素基础上, 以温度、时间、液料比、压力为考

察因素, 以多糖得率为响应值设计四因素三水平试验方案, 结果见表 2, 不同试验组的实测得率分布范围为 19.120~22.665 mg/g, 差异明显, 表明不同因素对多糖得率的影响较大, 对表 2 数据拟合可得回归方程为:

$$Y=22.47+0.427A+1.02B+0.241C+0.545D-0.01AB+0.48AC-0.40AD+0.215BC-0.05BD-0.23CD-0.75A^2-0.77B^2-0.51C^2-0.76D^2$$

表 2 响应面设计及结果
Table 2 Design and results of response surface

序列	温度 /°C	时间 /min	液料比 (mL:g)	压力 /MPa	实测得率 /(mg/g)
1	130	20	40:1	5	22.005
2	140	25	50:1	7	22.530
3	130	25	30:1	5	19.870
4	140	25	50:1	3	21.545
5	140	20	50:1	5	22.665
6	140	25	40:1	5	22.230
7	150	30	40:1	5	20.380
8	140	20	30:1	5	22.440
9	130	25	40:1	7	21.635
10	150	25	40:1	3	22.365
11	140	25	30:1	3	22.305
12	140	25	40:1	5	20.510
13	140	30	30:1	5	19.610
14	140	30	50:1	5	19.120
15	150	25	50:1	5	21.205
16	140	25	30:1	7	20.120
17	140	20	40:1	3	21.815
18	140	30	40:1	7	21.705
19	140	20	40:1	7	20.685
20	150	20	40:1	5	20.245
21	130	25	50:1	5	19.405
22	140	25	40:1	5	22.490
23	150	25	40:1	7	21.025
24	140	25	40:1	5	22.585
25	150	25	30:1	5	21.445
26	130	30	40:1	5	21.925
27	140	30	40:1	3	21.335
28	130	25	40:1	3	22.145
29	140	25	40:1	5	20.830

2.2.2 响应面方差分析及交互作用

方差分析结果见表 3, 由表 3 可知, 模型的显著性为极显著($P<0.001$), 失拟项 $P>0.05$ 不显著, 表明该模型可行性良好。一次项 A、B、D 均为极显著($P<0.01$), 二项式中

表3 方差分析结果
Table 3 Results of analysis of variance

来源	平方和	df	平均方差	F	P	显著性
模型	29.5	14	2.11	21.45	<0.0001	**
A-温度	2.19	1	2.19	22.28	0.0003	**
B-时间	12.6	1	12.6	128.25	<0.0001	**
C-料液比	0.6984	1	0.6984	7.11	0.0184	**
D-压力	3.56	1	3.56	36.23	<0.0001	**
AB	0.0004	1	0.0004	0.0041	0.9500	
AC	0.9216	1	0.9216	9.38	0.0084	**
AD	0.6521	1	0.6521	6.64	0.0022	**
BC	0.1849	1	0.1849	1.88	0.1916	
BD	0.0248	1	0.0248	0.2525	0.6231	
CD	0.2233	1	0.2233	2.27	0.1539	
A ²	3.61	1	3.61	36.76	<0.0001	**
B ²	3.84	1	3.84	39.14	<0.0001	**
C ²	1.72	1	1.72	17.5	0.0009	**
D ²	3.79	1	3.79	38.63	<0.0001	**
残差	1.38	14	0.0982			
失拟项	1.21	10	0.1214	3.01	0.1499	不显著
纯误差	0.1613	4	0.0403			
总和	30.87	28				

注: **表示极显著, $P < 0.01$ 。

AC、AD 均为极显著($P < 0.01$), A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 均为极显著($P < 0.01$), 由 F 大小可知 4 个因素对多糖得率的影响强度分别为时间(B)>压力(D)>温度(A)>料液比(C)。

由表 3 可知仅 AC、AD 两者对多糖得率的影响较显著, 因此对其进行交互作用分析, 结果见图 3。图 3(a)和 3(b)分别为温度、料液比交互作用的等高线图和 3D 曲面图, 等高线图呈椭圆, 表明交互作用明显, 在温度方向的等高线较密集, 表明温度对多糖得率的影响更大; 图 3(c)和 3(d)分别为温度、压力的交互作用, 等高线呈椭圆, 交互作用显著, 由 3D 曲面图可知, 压力方向的变化较陡峭, 表明压力对多糖得率的影响更大, 综上 A、C、D 三者对多糖得率的影响强度依次为 $D > A > C$, 这与方差分析结果较一致。

2.2.3 神经网络模型构建

(1)神经网络模型均方误差分析

通过建模确定网络拓扑结构为 4-10-1 型, 利用 Matlab 软件工具箱对试验数据训练, 训练集、测试集、验证集按照 70%、15%、15%随机分组并进行迭代训练^[22-23]。NN 预测值与期望值之间的误差采用均方误差表示(mean-square error, MSE)^[24], MSE 越小代表预测值与期望值越接近, 模型性能越好, 精确度越高^[25]。松花粉多糖提取 NN 模型的 MSE 值见图 4, 由图 4 可知, 随着训练步数增加, MSE 接近最佳值, 对应的误差为 0.03267, 当 NN 迭代至第 5 次时, 训练趋于平稳, 表示该模型达到了拟合要求。

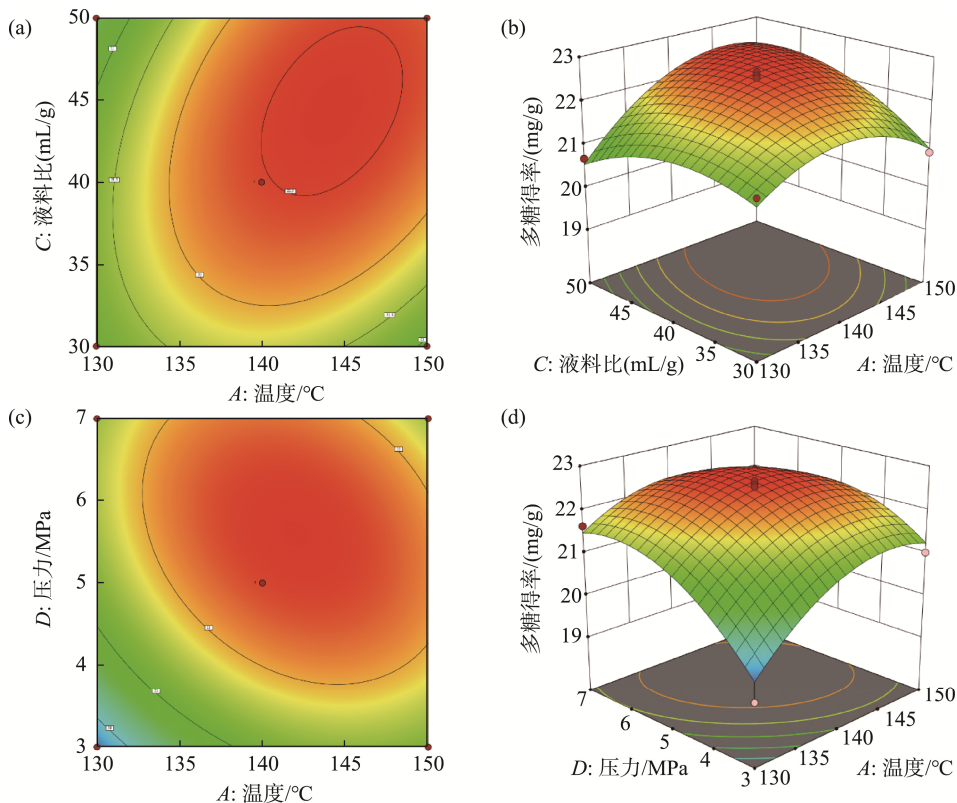


图3 响应面交互作用

Fig.3 Interaction of response surface

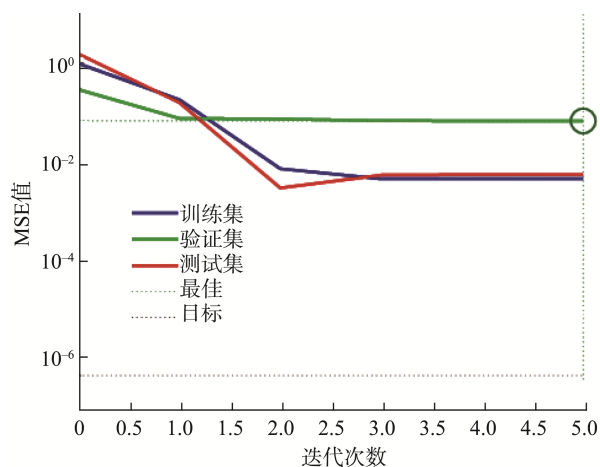


图 4 松花粉多糖提取 NN 模型的 MSE 值
Fig.4 MSE values of the NN model for extracting polysaccharides from *Pollen pini*

(2)相关系数的评估

通过训练集、验证集、测试集数据的目标值和输出值, 计算相关性系数, 拟合结果见图 5, 相关性系数达 0.98476, 表明建立的 NN 模型性能较好, 准确度较高。

(3)人工神经网络模型性能测试

对 NN 模型中 11 组数据进行验证集和期望值的随机

验证^[26], 见图 6。由图 6 可知预测值与期望值的变化趋势较一致, 表明所建模型输出的预测值具有较高的可行性。

(4)利用遗传算法优化及工艺参数验证

将训练好的 NN 与 GA 结合对提取工艺全局多点寻优, 程序运算后所得结果见图 7, 由图 7 可知, 迭代至 60 代后达到最佳适应度, 此时松花粉多糖得率为 23.9522 mg/g, 对应的工艺参数为温度 147.85 °C, 时间 27.99 min, 液料比 39.86:1 mL/g, 压力 4.97 MPa, 经修正, 取温度 148 °C, 时间 28 min, 液料比 40:1 mL/g, 压力 5 MPa, 验证试验结果($n=3$)为 23.7893 mg/g, 真实值较预测值低了 0.68%, 与预测值不存在显著性差异($P>0.05$)。

2.3 抗疲劳活性研究

2.3.1 松花粉多糖对小鼠体重的影响

由图 8 可知, 与 CON 组相比, PC 组、L-PP 组、M-PP 组之间不存在显著性差异($P>0.05$), H-PP 组在 14 d 之前, 体重略低于其他组, 之后的增长速度较快, 崔鹤馨等^[27]研究发现在饲料中添加 2%的松花粉多糖能够促进小猪体重增加。张任帅^[28]研究发现松花粉多糖能够促进肠道益生菌增殖, 加速腐败菌随粪便排出, 可能松花粉通过促进肠道益生菌, 提高小鼠的生长性能, 导致体重有一定程度的增长。

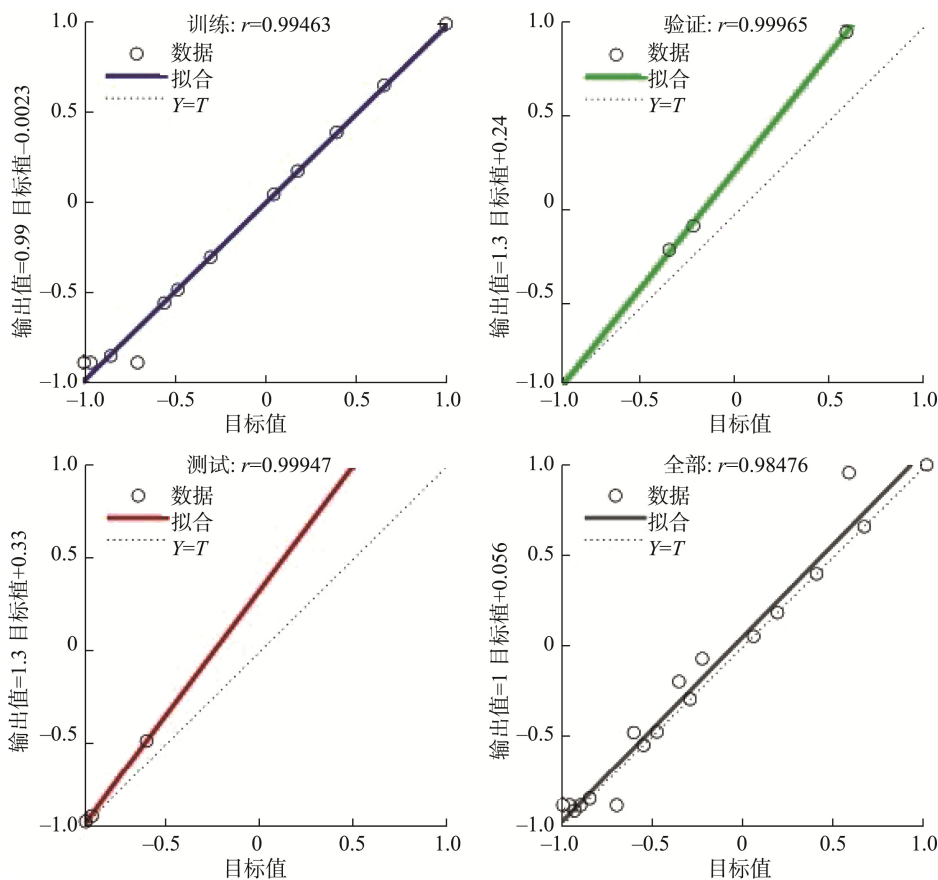


图 5 松花粉多糖提取模型构建的相关系数指标

Fig.5 Correlation coefficient index for constructing the *Pollen pini* polysaccharide extraction model

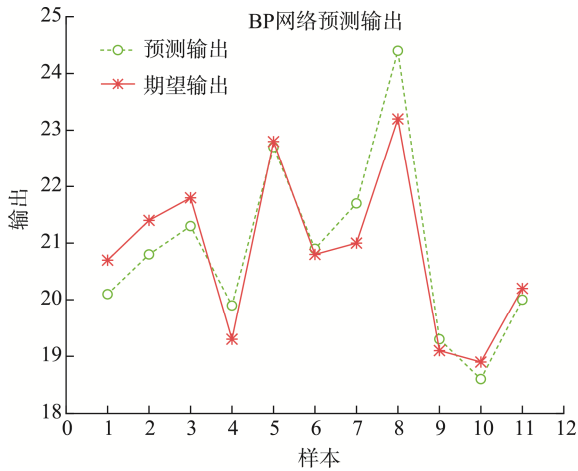


图 6 模型性能验证

Fig.6 Model performance validation

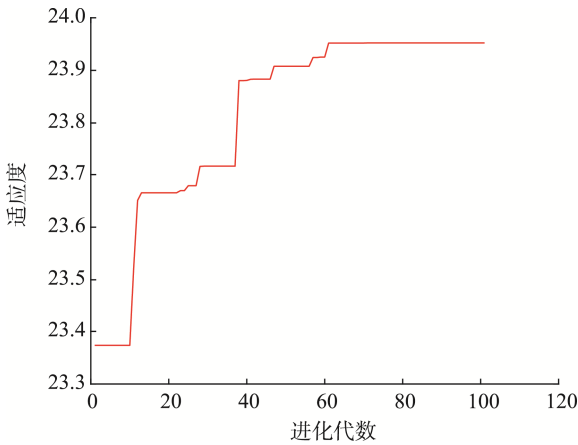


图 7 适应度曲线

Fig.7 Fitness curve

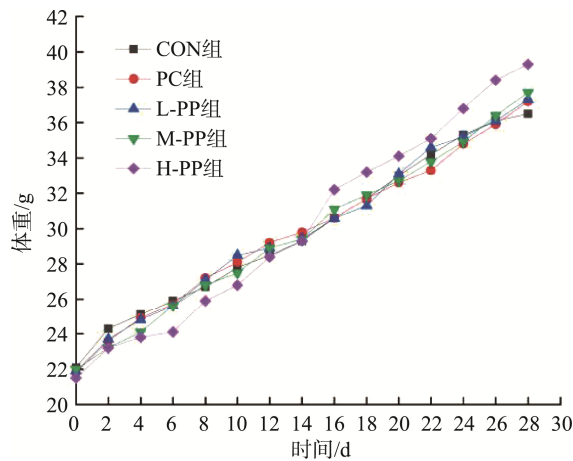


图 8 松花粉多糖对小鼠体重的影响(n=10)

Fig.8 Effects of *Pollen pini* polysaccharides on mouse body weight (n=10)

2.3.2 松花粉多糖对小鼠力竭游泳时间的影响

负重游泳时间能够客观反映小鼠的疲劳状况^[29], 如图 9 所示, 与 CON 组相比, 其他试验组的游泳时间均有延

长, 其中 H-PP 组时间最长, 较 CON 组延长了 91.9%, 与 PC 组相比, 其运动持久能力也显示出一定的优势。

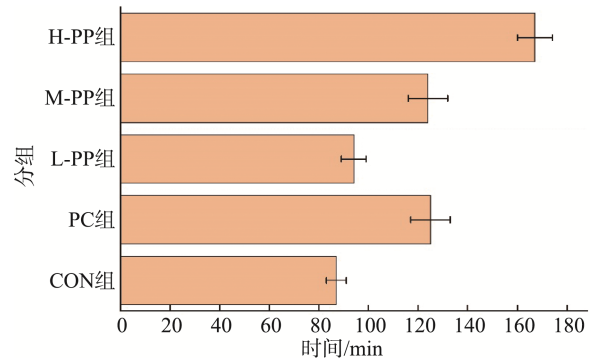
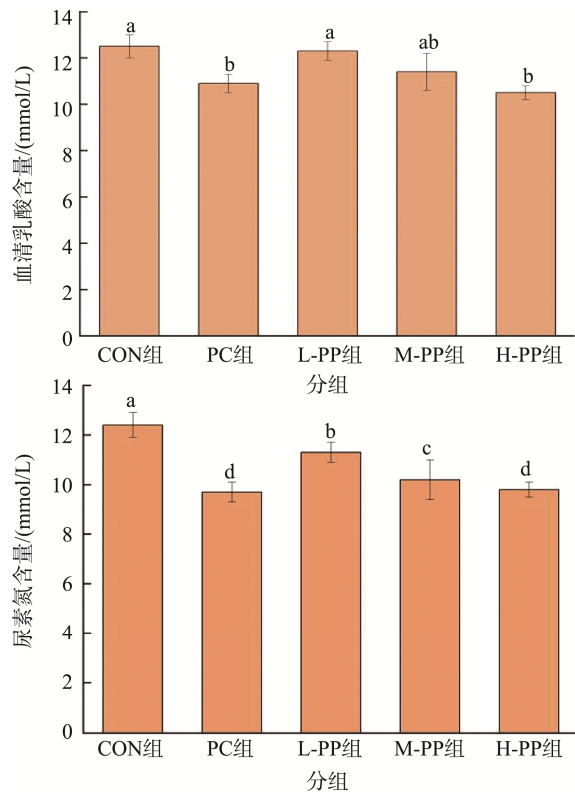


图 9 松花粉多糖对小鼠负重游泳时间的影响(n=10)

Fig.9 Effects of *Pollen pini* polysaccharides on the weight-bearing swimming time of mice (n=10)

2.3.3 松花粉多糖对小鼠运动后血清乳酸和尿素氮含量的影响

当运动时间过长时, 机体的乳酸、尿素氮等代谢废物会过度积累导致疲劳产生, 乳酸是细胞无氧呼吸下发生糖酵解的产物, 短时间内提供能量来源, 但产量过大就会引起疲劳, 尿素氮是蛋白质代谢的最终产物, 易导致肌肉收缩, 产生疲劳^[30]。由图 10 可知, 相比 CON 组, H-PP 组



注: 图中不同小写字母表示组间差异显著(P<0.05)。下同。

图 10 松花粉多糖对小鼠力竭运动后血清乳酸、尿素氮含量的影响(n=10)

Fig.10 Effects of *Pollen pini* polysaccharides on serum lactic acid and urea nitrogen content in mice after exhaustive exercise (n=10)

的血乳酸含量明显降低($P<0.05$), 表明松花粉多糖能够一定程度减少乳酸的产生; 此外各试验组的尿素氮均明显相对减少($P<0.05$), 其中 H-PP 组降低最多, 且与 L-PP、M-PP 组之间存在一定的剂量依赖关系。因此, 松花粉多糖能够通过调节糖、蛋白代谢等过程降低乳酸、尿素氮水平, 具有一定的抗疲劳作用。

2.3.4 松花粉多糖对小鼠运动后肝糖原和肌糖原含量的影响

糖原是能量的主要来源, 运动过程中, 肌糖原和肝糖原被分解利用并提供能量, 因此糖原含量对机体的运动能量有直接的影响^[31]。由图 11 可知, 与 CON 组相比, 其他试验组的肌糖原、肝糖原储备量均明显增加($P<0.05$), 其中低、中、高剂量组的肌糖原含量分别增加了 9%、19.7%、26.6%, 肝糖原含量分别增加了 19.1%、32.7%、37.4%。H-PP 组与 PC 组之间的肝糖原、肌糖原含量不存在显著性差异($P>0.05$), 表明与红景天苷提取物相比, 松花粉多糖在提高小鼠肝糖原、肌糖原储备量方面具有同等的能力。

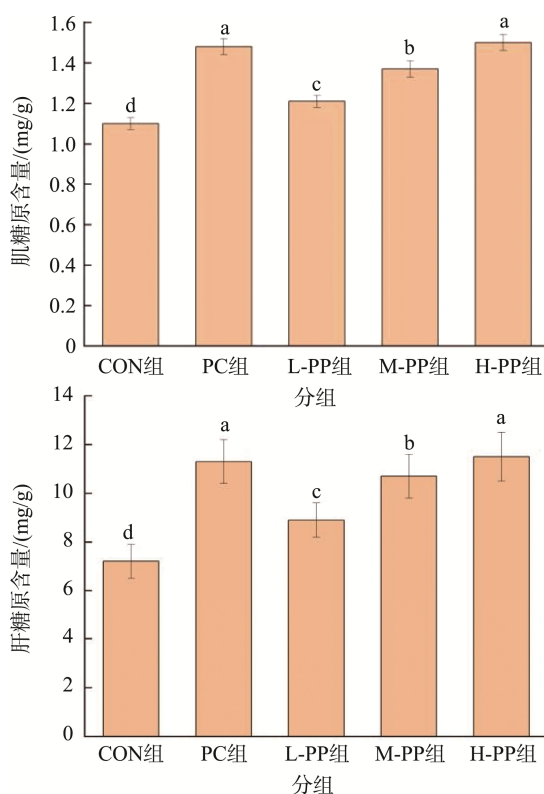


图 11 松花粉多糖对小鼠力竭运动后肌糖原、肝糖原含量的影响($n=10$)

Fig.11 Effects of *Pollen pini* polysaccharides on muscle glycogen and liver glycogen content in mice after exhaustive exercise ($n=10$)

3 结论

本研究以破壳松花粉为原料, 采用亚临界水法提取多糖, 分别考察提取温度、时间、液料比、压力对多糖得

率的影响, 通过响应面试验设计与 GA-NN 算法结合, 将 4 个因素与多糖得率之间通过 Matlab 软件构建了非线性关系, 模型具有良好的预测性能和准确性。将 NN 模型与 GA 结合, 以均方误差函数为适应度函数, 确定亚临界水萃取松花粉多糖的最佳工艺参数为: 温度 148 °C, 时间 28 min, 液料比 40:1 (mL:g), 压力 5 MPa, 对应的最佳多糖得率为 23.7893 mg/g, 经验证真实值与预测值之间不存在显著性差异。

抗疲劳活性试验表明松花粉多糖能够明显延长小鼠游泳时间, 降低血清乳酸、尿素氮含量, 提高肌糖原、肝糖原储备量, 表明松花粉多糖能够提高运动持久性、耐力, 具有一定的抗疲劳作用。NN 耦合 GA 具有较强的数据拟合能力和自我学习能力, 随着样本数据量的增加模型的准确度不断提升, 对于工业化生产的指导作用更科学精准。本研究表明松花粉多糖具有一定的抗疲劳作用, 但其作用机制尚不清晰, 未来将结合细胞组学、基因组学等手段进一步开展机理方面的探讨与研究, 为松花粉高值化产品开发提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] 宋世浩, 尹利端, 吕素媛, 等. 松花粉超临界 CO₂ 萃取物抑制小鼠良性前列腺增生[J]. 现代食品科技, 2024, 40(10): 105–112.
SONG SH, YIN LD, LV SY, et al. Supercritical CO₂ extract of pine pollen inhibits benign prostatic hyperplasia in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(10): 105–112.
- [2] 王桐, 曲涛, 程勇, 等. 破壁处理对松花粉营养成分和理化性质的影响[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(4): 58–63.
WANG T, QU T, CHENG Y, et al. Effect of cell wall disruption on nutrients and physicochemical properties of Pine pollen [J]. Food Research and Development, 2023, 44(4): 58–63.
- [3] 戴承恩, 何小平, 郑芬芬, 等. 松花粉主要活性成分及保健作用的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(8): 212–219.
DAI CEN, HE XP, ZHENG FF, et al. Research progress on the main active ingredients and health functions of Pine pollen [J]. Food Research and Development, 2019, 40(8): 212–219.
- [4] CHU HL, MAO H, FENG W, et al. Effects of sulfated polysaccharide from Masson pine (*Pinus massoniana*) pollen on the proliferation and cell cycle of HepG₂ cells [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 55: 104–108.
- [5] LI B, WEI K, YANG S, et al. Immunomodulatory effects of Taishan *Pinus massoniana* pollen polysaccharide and propolis on immunosuppressed chickens [J]. Microbial Pathogenesis, 2015, 78: 7–13.
- [6] 王寒月. 松花粉多糖酯化前后及 DSS 对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞氧化应激及炎症的影响[D]. 济南: 山东师范大学, 2023.
WANG HY. Effects of Pine pollen polysaccharides pre-sulfation and post-sulfation and DSS on LPS-induced oxidative stress and inflammation in RAW264.7 cells [D]. Ji'nan: Shandong Normal University, 2023.
- [7] 朱巧莎, 侯占群, 段盛林, 等. 松花粉的主要活性成分及其功能的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(9): 194–198.
ZHU QS, HOU ZQ, DUAN SL, et al. Research progress of main active components and functions of Pine pollen [J]. Food Research and Development, 2019, 40(9): 194–198.
- [8] 张桂凤, 刘闯, 刘光东, 等. 植物多糖的抗肿瘤机制及其构效关系研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(7): 428–437.

- ZHANG GF, LIU C, LIU GD, *et al.* Research progress on antitumor mechanism and structure-activity relationship of plant polysaccharides [J]. Food Industry Science and Technology, 2023, 44(7): 428–437.
- [9] 谭婉碧, 王琴飞, 余厚美, 等. 植物源功能活性多糖的提取及其研究进展[J]. 热带农业科学, 2022, 42(7): 90–98.
- TAN WB, WANG QF, YU HM, *et al.* Research progress, extraction and functional activity of plant polysaccharides [J]. Tropical Agricultural Sciences, 2022, 42(7): 90–98.
- [10] 杨冰洁, 张雨, 赵婧, 等. 亚临界水萃取、改性多糖的研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(1): 492–499.
- YANG BJ, ZHANG Y, ZHAO J, *et al.* Research progress on extraction and modification of polysaccharide by subcritical water [J]. Food Industry Science and Technology, 2023, 44(1): 492–499.
- [11] 姬云云, 田洪磊, 詹萍, 等. BP神经网络结合遗传算法优化羊肉汤中香辛料的添加量[J]. 中国食品学报, 2021, 21(3): 128–137.
- JI YY, TIAN HL, ZHAN P, *et al.* Optimizing of the amount of spices in stewed mutton soup using BP neural network and genetic algorithm [J]. Chinese Journal of Food Science, 2021, 21(3): 128–137.
- [12] 王娜, 邹恺平, 刘顺, 等. 索尼娅石斛多糖亚临界水提取工艺优化研究[J]. 中国药业, 2023, 32(11): 54–57.
- WANG N, ZOU KP, LIU S, *et al.* Optimization of the extraction process of polysaccharides from *Dendrobium sonia* [J]. China Pharmaceutical Industry, 2023, 32(11): 54–57.
- [13] 金瑾, 刘延奇, 秦令祥. 蒸汽爆破辅助提取莼菜多糖及苯酚-硫酸法测定其多糖含量的研究[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(5): 116–120.
- JIN J, LIU YQ, QIN LX. Study on steam explosion assisted extraction *Brasenia schreberi* polysaccharide and its content determination by phenol-sulfuric acid method [J]. Grain and Oil, 2022, 35(5): 116–120.
- [14] 尹乐斌, 邓鹏, 何平, 等. 基于遗传算法-神经网络及响应面法优化龙牙百合总黄酮提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(7): 105–113.
- YIN LB, DENG P, HE P, *et al.* Optimization of total flavonoid extraction from *Lilium brownii* based on genetic algorithm-neural network and response surface methodology [J]. Food Research and Development, 2021, 42(7): 105–113.
- [15] 周玉蕾. 松花粉粗多糖对小鼠抗疲劳作用的研究[D]. 吉林: 延边大学, 2022.
- ZHOU YL. Study on the anti fatigue effect of pine pollen crude polysaccharide in mice [D]. Jilin: Yanbian University, 2022.
- [16] BENITO-ROMÁN, ALONSO E, COCERO MJ. Pressurized hot water extraction of β -glucans from waxy barley [J]. Journal of Supercritical Fluids, 2013, 73: 120–125.
- [17] 刁山山, 张雨, 冯浩, 等. 亚临界水提取南瓜皮多糖工艺优化及其抗氧化能力[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(23): 90–98.
- DIAO SS, ZHANG Y, FENG H, *et al.* Optimization of extraction process and antioxidant activity of pumpkin peel polysaccharide by subcritical water [J]. Food Research and Development, 2023, 44(23): 90–98.
- [18] ZHANG F, ZHANG L, CHEN J, *et al.* Systematic evaluation of a series of pectic polysaccharides extracted from apple pomace by regulation of subcritical water conditions [Z]. 2021.
- [19] 孙林超. 超声辅助亚临界水提取香菇多糖工艺的研究[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(4): 81–84.
- SUN LC. Study on ultrasonic assisted subcritical water extraction of lentinan from *Lentinus edodes* [J]. Grain and Oil, 2019, 32(4): 81–84.
- [20] PINOT M, BENEDICTENOUALI H, JEANPATARIN T, *et al.* High pressure intrusion of water and LiCl aqueous solutions in hydrophobic KIT-6 mesoporous silica: Influence of the grafted group nature [J]. Microporous and Mesoporous Materials, 2019. DOI: 10.1016/j.micromeso.2019.02.006.
- [21] 续晓琪, 薛长湖, 常耀光. 基于神经网络的海参岩藻聚糖硫酸酯酶解模型建立及抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2019, 19(1): 20–27.
- XU XQ, XUE CH, CHANG YG. The model of enzymatic degraded sea *Cucumbr* fucoidans established by artificial neural network and studies on their antioxidant activity [J]. Journal of Chinese Food Science and Technology, 2019, 19(1): 20–27.
- [22] 孟庆龙, 冯树南, 谭涛, 等. 基于BP神经网络快速无损检测开阳枇杷糖度[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(13): 135–140.
- MENG QL, FENG SN, TAN T, *et al.* Nondestructive detection of the sugar content of Kaiyang *Loquat* based on BP neural network [J]. Food Research and Development, 2022, 43(13): 135–140.
- [23] 李国胜, 黄秀银, 白新鹏. 响应面法优化亚临界水提取火龙果茎多糖[J]. 福建农业学报, 2021, 36(2): 195–201.
- LI GS, HUANG XY, BAI XP. Response surface optimization on subcritical water extraction of polysaccharides from *Pitaya stems* [J]. Fujian Agricultural Journal, 2021, 36(2): 195–201.
- [24] 薛宏坤, 刘成海, 刘钊, 等. 响应面法和遗传算法-神经网络模型优化微波萃取蓝莓中花青素工艺[J]. 食品科学, 2018, 39(16): 280–288.
- XUE HK, LIU CH, LIU C, *et al.* A comparative study of the optimization of microwave extraction of anthocyanins from *Blueberry* by response surface methodology and genetic algorithm-artificial neural network [J]. Food Science, 2018, 39(16): 280–288.
- [25] 张剑林, 张亮亮, 姜露熙, 等. 基于神经网络优化黑木耳红枣发酵乳及其抗氧化分析[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(5): 141–147.
- ZHANG JL, ZHANG LL, JIANG LX, *et al.* Optimization of fermented milk of black fungus and red jujube based on artificial neural network and its antioxidant analysis [J]. Food Research and Development, 2023, 44(5): 141–147.
- [26] 王云龙, 刘松, 堵国成, 等. 基于人工神经网络的L-天冬酰胺酶发酵培养基优化[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(8): 27–33.
- WANG YL, LIU S, DU GC, *et al.* Optimization of *L*-asparaginase fermentation medium based on artificial neural network [J]. Food and Fermentation Industry, 2018, 44(8): 27–33.
- [27] 崔鹤馨, 王楠, 呼延含蓉, 等. 泰山松花粉多糖对仔猪生长性能、肠道细菌及消化道酶活性的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(11): 130–134.
- CUI HX, WANG N, HU YHR, *et al.* Effects of *Pinus taishanensis* pollen polysaccharide on growth performance, intestinal bacteria and digestive enzyme activities of piglets [J]. Chinese Journal of animal husbandry, 2020, 56(11): 130–134.
- [28] 张任帅. 松花粉与松花粉多糖对小鼠菌群代谢及相关代谢影响的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2019.
- ZHANG RS. Effects of *Pine Pollen* and *Pine Pollen* polysaccharide on flora metabolism and related metabolism in mice [D]. Ji'nan: Shandong Normal University, 2019.
- [29] 王瑞. 金线莲多糖及其衍生物抗氧化活性及抗疲劳研究[J]. 保鲜与加工, 2024, 24(8): 44–50.
- WANG R. Study on antioxidant and antifatigue activities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* and the derivatives [J]. Preservation and Processing, 2024, 24(8): 44–50.
- [30] YANG D, LIAN J, WANG L, *et al.* The anti-fatigue and anti-anoxia effects of *Tremella* extract [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2019, 26(8): 2052–2056.
- [31] 韩迦南, 刘倬睿, 曾沛涌, 等. 五加生脉饮对小鼠的抗疲劳作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2024, 50(3): 689–696.
- HAN JN, LIU ZR, ZENG PY, *et al.* Anti-fatigue effect of Wujia Shengmai Yin in mice and its mechanism [J]. Journal of Jilin University (Medical Edition), 2024, 5(3): 689–696.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)