

龙血树叶多糖的提取工艺优化及其抗氧化活性研究

张敏 邱其伟 侯云洪 杨学仙 郭洁*

普洱学院 生物与化学学院, 中国·云南 普洱 665000

摘要: 试验旨在优化龙血树叶多糖的提取工艺, 并评价其体外抗氧化活性。以多糖提取率为考察指标, 提取温度、提取时间、液料比、超声功率为考察因素, 利用单因素试验结合响应面实验优化提取工艺, 采用 DPPH 自由基和羟基自由基清除实验评价其抗氧化活性。结果表明龙血树叶多糖的最佳提取工艺为提取温度 62℃、提取时间 63min、液料比 43:1mL/g, 获得多糖提取率为 11.29%, 龙血树叶多糖对 DPPH 自由基和羟基自由基的清除率分别为 44.59% 和 25.20%, 表明龙血树叶多糖具有一定的抗氧化活性。

关键词: 龙血树叶; 多糖; 超声提取; 响应面法; 抗氧化性

Optimization of Extraction Process and Antioxidant Activity of Polysaccharides from *Dracaena cambodiana* Leaves

Zhang Min, Qiu Qiwei, Hou Yunhong, Yang Xuexian, Guo Jie*

College of Biology and Chemistry, Pu'er University, China Yunnan Pu'er 665000

Abstract: This study aimed to optimize the extraction process of polysaccharides from *Dracaena cambodiana* leaves and to evaluate their in vitro antioxidant activity. The extraction yield of polysaccharides was used as the response indicator, while extraction temperature, extraction time, liquid-to-solid ratio, and ultrasonic power were selected as influencing factors. A combination of single-factor experiments and response surface methodology (RSM) was employed to optimize the extraction conditions. The antioxidant activity of the extracted polysaccharides was assessed using DPPH radical and hydroxyl radical scavenging assays. The results revealed that the optimal extraction conditions were as follows: extraction temperature of 62 °C, extraction time of 63 min, and liquid-to-solid ratio of 43:1 mL/g. Under these optimized conditions, the extraction yield of polysaccharides reached 11.29%. Furthermore, the polysaccharides from *D. cambodiana* leaves exhibited scavenging rates of 44.59% and 25.20% against DPPH and hydroxyl radicals, respectively, indicating that they possess appreciable antioxidant capacity.

Keywords: *Dracaena cochinchinensis* leaves; Polysaccharides; Ultrasonic-assisted extraction; Response surface methodology; Antioxidant activity

0 引言

龙血树 (*Dracaena Vandelli* ex Linnaeus) 是热带地区特有的药用植物, 其树脂提取物龙血竭在传统医药中具有悠久的历史, 常用于活血化瘀、止血生肌等症。傣族贝叶经亦记载龙血树叶与血竭相药用功效相似^[1]。近年来, 以龙血树叶为原料的傣药制剂已开发上市, 临床反馈表明其在糖尿病治疗方面具有一定潜力。植物多糖作为重要的生物活性大分子, 具有抗氧化、免疫调节、降血糖等多种药理功能^[2]。已有研究从柬埔寨龙血树叶中分离得到一种新型多糖衍生物 LZS, 该组分由果糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、甘露糖、木糖和柠檬酸组成, 并表现出一定的细胞活性, 初步揭示了其降糖活性的物质基础^[3]。

上述研究初步阐明了龙血树叶多糖的化学特征与生物

活性, 但针对其提取工艺的相关研究鲜有报道。提取工艺直接影响多糖的得率、结构完整性及后续活性评价的可靠性。目前, 响应面法已广泛用于植物多糖提取条件的优化, 该法可通过建立数学模型分析多因素间的交互效应, 在较少实验次数下获得最优工艺参数。然而, 该方法尚未应用于龙血树叶多糖提取工艺的考察中。

本研究拟采用单因素试验结合 Box-Behnken 响应面设计, 系统考察提取温度、提取时间、液料比及超声功率对龙血树叶多糖提取率的影响, 优化提取工艺参数; 以 DPPH 自由基和羟基自由基清除率为指标, 评价龙血树叶多糖的体外抗氧化活性。旨在建立龙血树叶多糖的高效提取方法, 并为其作为天然抗氧化剂的进一步开发与利用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

龙血树树叶采于云南省普洱市，经由邱其伟老师鉴定百合科海南龙血树 (*Dracaena cambodiana* Pierre ex Gagn.) 的叶子。

无水乙醇、正丁醇、苯酚、硫酸亚铁、水杨酸购自天津市大茂化学试剂厂；三氯甲烷、丙酮、硫酸购自四川西陇科学有限公司；无水葡萄糖、抗坏血酸、1, 1- 二苯基 -2- 三硝基苯酚 (DPPH) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司；所有试剂均为分析纯。

1.2 仪器

PR2232HIE 型分析天平 (奥豪斯仪器常州有限公司)；DHG-9425A 型鼓风干燥箱 (江苏同军仪器有限公司)；SC-3616 型离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司)；UV-2600 型离心机 (岛津仪器苏州有限公司)；HH-W420 型恒温水浴锅 (金坛市大地自动化仪器厂)；SB25-12DT 型超声波清洗机 (宁波新芝生物科技公司)。

1.3 方法

1.3.1 龙血树叶预处理

龙血树叶洗净，50℃烘干，过 4 号药典筛，加入 6 倍量 80% 乙醇加热回流提取 2 次，每次 2h，以除去脂溶性杂质。将脱脂后的树叶粉末抽滤，50℃烘干^[4]。

1.3.2 龙血树叶多糖的提取与纯化

称量处理好的粉末 0.5g，采用超声提取法获得多糖水提液，减压浓缩，加无水乙醇至最终浓度为 80%，4℃静置 12h 后离心 (4000r/min, 10min) 收集沉淀。加水溶解后，使用 Sevag 法 (正丁醇：三氯甲烷 = 1 : 5, v/v) 除蛋白，离心收集上层，冻干，获得龙血树叶粗多糖。

1.3.3 龙血树叶多糖提取率的测定

采用苯酚-硫酸法^[5]测定龙血树叶中总多糖含量，吸光度 y 为纵坐标，葡萄糖标准溶液浓度 x 为横坐标，绘制葡萄糖标准曲线，获得线性回归方程 $y=14.163x+0.1642$ ， $R^2=0.9992$ 。

按以下公式计算多糖的提取率：

$$\omega = C \times 10^{-3} \times V \times N / m \times 100\% \quad (1)$$

以上方程式表示如下：C 为浓度 (mg/mL)；V 为液体体积 (mL)；N 代表稀释倍数；m 代表龙血树叶质量 (g)。

1.3.4 单因素实验

称取 0.5g 药材粉末，分别在提取温度 20、40、60、80℃，提取时间 30、60、90、120 min，液料比 20、30、

40、50 mL/g，超声功率 150、250、350、450W 条件下进行提取，参照 1.3.2 项中方法进行处理，按照提取率公式计算，考察不同条件对龙血树叶多糖提取率的影响。

1.3.5 响应面实验

根据单因素实验结果，筛选出对龙血树叶多糖提取率影响较大的三个因素提取温度 (A)、提取时间 (B)、液料比 (C) 为自变量，龙血树叶多糖提取率 (Y) 为响应值，运用 Box-Behnken 试验设计 3 因素 3 水平优化试验，获得拟合回归方程，分析各因素间交互作用，并确定龙血树叶多糖的最佳工艺参数。响应面试验因素与水平见表 1。

表1 响应面试验因素与水平编码

因素	水平		
	-1	0	1
A提取温度/℃	40	60	80
B提取时间/min	30	60	90
C液料比	30 : 1	40 : 1	50 : 1

1.3.6 龙血树叶多糖的抗氧化活性

(1) DPPH 自由基清除率测定：

量取 2.0 mL 不同浓度的龙血树叶多糖溶液 (0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4、2.8mg/mL)，与 0.1 mmol/L DPPH 乙醇溶液等比例混合，避光条件下充分反应 30 min，517nm 条件下测定样品吸光度 A_i ，溶剂与样品的吸光度 A_j ，不含多糖溶液的等量溶剂吸光度 A_0 ^[6]。以 VC 作为阳性对照。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\% \quad (2)$$

(2) 清除羟基自由基的能力测定：

量取不同浓度的龙血树叶多糖溶液 (0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4、2.8mg/mL) 各 1.0 mL，先后加入 9mmol/L 水杨酸乙醇溶液、9mmol/L FeSO₄ 溶液以及 8.8mmol/L H₂O₂ 溶液，充分混合，37℃下水浴 30min，510nm 条件下测定样品吸光度 A_b ，去离子水代替多糖溶液测定吸光度 A_a ^[6]。

$$\text{羟基自由基清除率} = (A_a - A_b) / A_b \times 100\% \quad (3)$$

1.3.7 统计分析

统计分析使用 SPSS 19.0 和 Excel 软件，各因素方差分析使用 Design-Expert 8.0.5 软件。

2 实验结果

2.1 单因素实验结果

为探究提取温度、时间、液料比及超声功率对龙血树叶多糖提取率的影响，本研究进行了单因素考察，结果见图 1。如图 1A 所示，提取率随温度升高先增后降，40℃

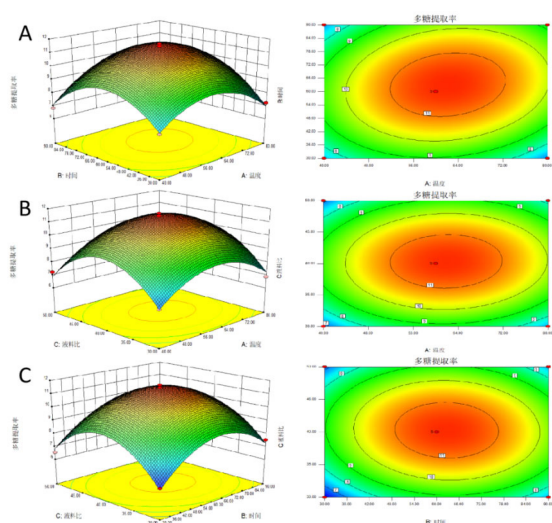


图2 不同因素交互作用的响应面图和等高线图

注: A.提取温度与提取时间对龙血树叶多糖提取率的影响; B.提取温度与料液比对龙血树叶多糖提取率的影响; C.提取时间和料液比对龙血树叶多糖提取率的影响

2.2.4 响应面试验方案优化及结果验证

由回归模型可知,龙血树叶多糖的最佳提取工艺参数为液料比 $40.31\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 、提取温度 62.17°C 、提取时间 63.09min ,在此条件下,预测多糖提取率为 11.47% ,结合实际情况,对理论参数进行适当修改,调整为液料比 $40\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 、提取温度 62°C 、超声提取 63min ,在此条件下重复 3 此实验,多糖提取率平均值为 11.29% ,相对误差值为 1.69% ,模型建立成功,故此方案可行。

2.3 龙血树叶多糖的抗氧化活性

以 VC 作为阳性对照,龙血树叶多糖对于 DPPH 自由基和羟基自由基的清除活性如图 3 所示。随着多糖溶液浓度的增加,其抗氧化活性也逐渐增强,当浓度到达 2.4mg/mL ,龙血树叶多糖对 DPPH 自由基和羟基自由基的清除率分别为 44.59% 和 25.20% ,表明龙血树叶多糖具有一定的抗氧化活性。

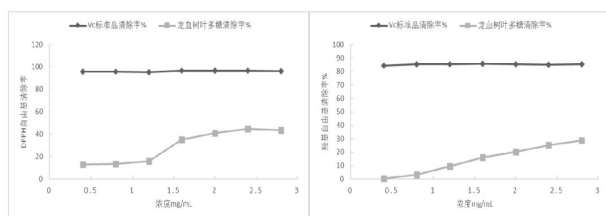


图3 龙血树叶多糖的DPPH自由基清除率(左)和羟基自由基的清除率(右)

3 结语

在单因素试验的基础上,本研究采用响应面法对龙血树叶多糖的提取工艺进行优化,获得工艺参数:液料比 $40:1(\text{mL/g})$ 、提取温度 62°C 、超声时间 63min ,多糖提取率为 11.29% ,所建模型可靠,优化工艺稳定可行。抗氧化活性评价结果显示,所得龙血树叶多糖对 DPPH 自由基和羟基自由基均表现出良好的清除能力。本研究可为龙血树叶多糖的高效制备及其抗氧化活性的深入开发提供参考依据。

参考文献:

- [1] 黄超,王兴红,刘接卿等.龙血竭的研究与开发[M].北京:科学出版社,2018.
 - [2] Cao X, Du X, Jiao H, et al. Carbohydrate-based drugs launched during 2000–2021[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2022.
 - [3] 孙赵龙,尹燕锋,刘宝等.龙血树叶降血糖活性多糖的纯化及结构解析[J].生物资源,2021,43(2):172–177.
 - [4] 李娉婷,廉争皓,朱芹等.响应面法优化莼菜多糖的提取工艺及其抗氧化活性的研究[J].杭州师范大学学报(自然科学版),2022,21(03):284–290.
 - [5] 唐新宗,胡松谋.一种从龙血竭药渣中提取多糖的方法[P].云南省:CN108341893B,2021–12–07.
 - [6] 曹清华.白术抗氧化活性成分的提取及鉴定研究[D].贵州师范大学,2018.
 - [7] 杨申明,郭文华,王振吉等.响应面法优化地参多糖提取工艺及其抗氧化活性分析[J].中国现代应用药学,2021,38(20):2554–2559.
 - [8] 郑婷婷,段义芳,张文杰等.疏花蛇菰多糖提取工艺优化及抗氧化活性分析[J].饲料工业,2026,47(14):143–152.
- 基金项目:云南省地方本科高校(部分)基础研究联合项目(202101BA070001–284);云南省普洱学院科研项目(PEXYXJYB202306)。

作者简介:张敏(1995.04–),女,汉族,山东德州,硕士,研究实习员,研究方向:中药、民族药药效物质基础。

* 通讯作者:郭洁(1993.02–),女,汉族,云南省双柏县,硕士,实验师,研究方向:微生物发酵中药。