

# 龙牙楸木多糖复合酶法提取工艺优化及抗氧化活性研究

Optimization of polysaccharide extraction process from *Aralia elata* (Miq.)  
Seem by complex enzymes and the research of its antioxidant activity

张桂娟<sup>1</sup> 陈继凌<sup>2</sup> 陶荟竹<sup>1</sup>

ZHANG Gui-juan<sup>1</sup> CHEN Ji-ling<sup>2</sup> TAO Hui-zhu<sup>1</sup>

(1. 黑龙江生态工程职业学院, 黑龙江 哈尔滨 150025; 2. 精华制药集团股份有限公司, 江苏 南通 226000)

(1. Heilongjiang Vocational Institute of Ecological Engineering, Haerbin, Heilongjiang 150025, China; 2. Jinghua Pharmaceutical Group Co., Ltd., Nantong, Jiangsu 226000, China)

**摘要:**目的:优化龙牙楸木多糖复合酶法提取工艺,提高其抗氧化活性。方法:以纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶为复合酶提取龙牙楸木多糖,以酶解温度、酶解时间、料液比为自变量,通过 Box-Behnken 中心组合法设计三因素三水平试验方案,并通过测定自由基清除能力考察龙牙楸木多糖的抗氧化活性。结果:复合酶法提取龙牙楸木多糖的最佳工艺条件为:酶解温度 54 ℃,酶解时间 160 min,料液比( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}} : V_{\text{纯化水}}$ ) 1 : 31 (g/mL),此条件下龙牙楸木多糖平均提取率为  $(10.68 \pm 0.05)\%$ ,与模型预测值 10.78% 接近;抗氧化试验表明龙牙楸木多糖对 DPPH 自由基及羟基自由基的  $IC_{50}$  值分别为 2.00, 3.05 mg/mL,且清除作用均随多糖质量浓度的增大而升高,清除率最大值分别为 78.10%, 70.10%。结论:该复合酶法工艺条件提高了龙牙楸木多糖提取率;龙牙楸木多糖具有良好的抗氧化活性。

**关键词:**龙牙楸木;多糖;复合酶;抗氧化活性

**Abstract: Objective:** This study aimed to optimization of polysaccharide extraction process from *Aralia elata* (Miq.) Seem by complex enzymes and research of its antioxidant activity. **Methods:** The cellulase, pectinase and papain were combined as the compound enzymes and used to extract the polysaccharide from *A. elata* (AEPS). Enzymolysis temperature, enzymolysis duration, and solid-liquid ratio as the independent variables, a three-level-three-factor scheme was designed using the Box-Behnken method. After that, the antioxidant activity of AEPS was

determined by the free radical scavenging ability experiments. **Results:** The optimal process conditions for the extraction process of AEPS using complex enzymes were as follows: enzymolysis at 54 ℃ for 160 min, with a ratio of solid-liquid 1 : 31 (g/mL). Under the control of these conditions, the average AEPS extraction rate was  $(10.68 \pm 0.05)\%$ , closing to 10.78% predicted by the model. According to the DPPH assay, the half-maximal inhibitory concentrations ( $IC_{50}$ ) of AEPS concerning the free radicals and hydroxyl radicals were 2.00 mg/mL and 3.05 mg/mL, respectively. With the increasing polysaccharide concentration, the scavenging rate increased, with the maximum scavenging of 78.10% and 70.10%. **Conclusion:** The extraction rate of polysaccharides of *Aralia elata* was improved by the compound enzyme method, and AEPS had higher antioxidant activity.

**Keywords:** *Aralia elata* Seem; polysaccharide; complex enzyme; antioxidant activity

龙牙楸木 [*Aralia elata* (Miq.) Seem.] 为五加科楸木属多年生落叶小乔木,又名辽东楸木、刺嫩牙,可药食两用,其根皮和树皮多为药用部分,嫩芽被誉为“山菜之王”。龙牙楸木具有补气安神、除湿止痛、活血祛风的功能,临床上常用于治疗神经衰弱、风湿性关节炎、糖尿病、胃病等<sup>[1]</sup>,主要含皂苷、多糖、黄酮及挥发油等<sup>[2-4]</sup>成分;其中,多糖类成分具有增强机体免疫力、抗肿瘤、抗辐射损伤等作用<sup>[5-6]</sup>。

目前,常见的多糖提取方法有热水浸提法<sup>[7]</sup>、酸提取法<sup>[8]</sup>、碱提取法<sup>[9]</sup>、超声波辅助提取法<sup>[10]</sup>、微波辅助提取法<sup>[11]</sup>和酶提取法<sup>[12]</sup>等,而龙牙楸木多糖的提取方法仅见于热水浸提<sup>[13]</sup>及超声波辅助提取<sup>[14]</sup>。近年来,酶提取法具有提取条件温和,可破坏植物细胞壁而加速有效成分

**基金项目:**黑龙江省森林工业总局科技计划项目(编号:sgzjY2013012)

**作者简介:**张桂娟(1981—),女,黑龙江生态工程职业学院副教授,硕士。E-mail: zhangguijuan2006@163.com

**收稿日期:**2021-01-25

释放,缩短提取时间,并可减少干扰物质溶出,因此,被广泛应用于天然植物有效成分的提取<sup>[15-17]</sup>。其中,纤维素酶、果胶酶、木瓜蛋白酶为常用酶类,纤维素酶可水解植物细胞壁组成成分纤维素,木瓜蛋白酶对动植物蛋白、多肽、酰胺等有较强的水解能力,有助于糖蛋白复合物的水解而释放更多多糖,提高提取率。由于植物细胞壁组成结构复杂,单一酶破解细胞壁及细胞膜结构较难,易导致成分溶出不完全。试验拟选用纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶提取龙牙楸木多糖,应用响应面法优化其提取工艺,并考察其抗氧化能力,以期龙牙楸木多糖精深产品加工、资源合理应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 材料与试剂

龙牙楸木:采自黑龙江省伊春市,春季新发的嫩芽;

石油醚、乙醚、95%乙醇、无水乙醇、丙酮、浓硫酸、苯酚、葡萄糖、1,1-二苯基-2-苦味基胍(DPPH)、硫酸铁、水杨酸、过氧化氢:分析纯,天津市富宇精细化工有限公司;

纤维素酶( $1 \times 10^4$  U/g)、果胶酶( $4.9 \times 10^3$  U/g)、木瓜蛋白酶( $5 \times 10^5$  U/g):北京奥博星生物技术有限公司;

抗坏血酸:分析纯,无锡市亚盛化工有限公司;

纯化水:pH 7.0~7.5,自制。

#### 1.1.2 主要仪器与设备

紫外可见分光光度计:UV-2200 型,北京瑞利分析仪器有限公司;

数显恒温振荡器:WHY-2 型,常州普天仪器制造有限公司;

旋转蒸发仪:R-501 型,河南宇科自动化仪器仪表设备有限公司;

循环水真空泵:SHZ-DⅢ型,上海英化仪器设备有限公司;

电子天平:ESJ200-4 型,沈阳龙腾电子有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 龙牙楸木预处理 取龙牙楸木嫩芽鲜品于 80℃ 烘干 24 h,再于 60℃ 烘干至恒重,粉碎成粗粉。石油醚超声脱脂 1 h,过滤,挥干石油醚,干燥粗粉备用。

#### 1.2.2 多糖提取工艺

干燥龙牙楸木粗粉→复合酶水解→减压浓缩→醇沉→静置过夜→离心得沉淀→有机溶剂洗涤→挥干有机溶剂→龙牙楸木粗多糖

1.2.3 多糖提取率测定 采用苯酚-浓硫酸法<sup>[14]</sup>。按式(1)计算多糖提取率。

$$E = \frac{C \times V \times D}{W} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

$E$ ——多糖提取率,%;

$C$ ——供试品多糖质量浓度, $\mu\text{g/mL}$ ;

$V$ ——供试品溶液定容体积,mL;

$D$ ——稀释倍数;

$W$ ——龙牙楸木样品质量,g。

#### 1.2.4 单因素试验

(1) 料液比:精密称取一定量龙牙楸木粗粉,按质量分数 1.5% 分别加入纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶,用 pH 5.5 的磷酸氢二钠与柠檬酸缓冲液作为提取溶剂,酶解温度 50℃,酶解时间 60 min,考察料液比[( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}}$ : $V_{\text{缓冲液}}$ )分别为 1:15,1:20,1:25,1:30,1:35,1:40 (g/mL)]对多糖提取率的影响。

(2) 酶解时间:精密称取一定量龙牙楸木粗粉,按质量分数 1.5% 分别加入纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶,用 pH 5.5 的磷酸氢二钠与柠檬酸缓冲液作为提取溶剂,料液比( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}}$ : $V_{\text{缓冲液}}$ )1:25 (g/mL),酶解温度 50℃,考察酶解时间(30,60,90,120,150,180 min)对多糖提取率的影响。

(3) 酶解温度:精密称取一定量龙牙楸木粗粉,按质量分数 1.5% 分别加入纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶,用 pH 5.5 的磷酸氢二钠与柠檬酸缓冲液作为提取溶剂,料液比( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}}$ : $V_{\text{缓冲液}}$ )1:25 (g/mL),酶解时间 60 min,考察酶解温度(40,45,50,55,60℃)对多糖提取率的影响。

(4) 缓冲液 pH 值:精密称取一定量龙牙楸木粗粉,按质量分数 1.5% 分别加入纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶,用磷酸氢二钠与柠檬酸缓冲液作为提取溶剂,料液比( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}}$ : $V_{\text{缓冲液}}$ )1:25 (g/mL),酶解温度 50℃,酶解时间 60 min,考察缓冲液 pH 值(3.5,4.0,4.5,5.0,5.5,6.0)对多糖提取率的影响。

1.2.5 复合酶酶量配比正交试验 精密称取一定量龙牙楸木粗粉,在单因素试验最适料液比、酶解时间、酶解温度、pH 值下,以纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶的添加量为因素,以龙牙楸木多糖提取率为评价指标,设计  $L_9(3^3)$  正交试验,确定 3 种酶的最佳添加量。

1.2.6 响应面试验 在单因素试验基础上,根据 Box-Behnken 中心组合设计原理<sup>[18-19]</sup>,以多糖提取率为响应值,以酶解时间、料液比、酶解温度为响应因素,进行三因素三水平响应面分析试验。利用 Design Expert 8.0.5b 软件进行回归分析,优化提取工艺。

#### 1.2.7 抗氧化能力的测定

(1) DPPH 自由基清除能力:根据文献<sup>[20-21]</sup>并修改。将 DPPH 自由基溶于无水乙醇,制成 0.1 mmol/L 试液。精密量取 1 mL 不同浓度待测样品于试管中,加入 3.0 mL DPPH 试液,4.0 mL 无水乙醇,混匀,避光反应 30 min,测定 517 nm 处吸光度值,以 DPPH 自由基试液

作空白,按式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$R = \frac{A_0 - A_n}{A_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

$R$ ——自由基清除率, %;

$A_0$ ——空白试液吸光度值;

$A_n$ ——样品反应液吸光度值。

(2) 羟自由基清除能力:根据文献[22]并修改。精密量取 3 mL 不同浓度的龙牙楸木多糖溶液于 10 mL 容量瓶中,依次精密加入 0.1 mol/L 硫酸铁溶液、0.1 mol/L 水杨酸溶液及 0.1 mol/L 过氧化氢溶液各 2 mL,纯化水定容,37 °C 水浴 30 min,测定 510 nm 处吸光度值,按式(2)计算羟自由基清除率。

### 1.3 数据处理

利用 Design-Expert 8.0.5、Excel 软件进行数据处理与分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

**2.1.1 料液比** 由图 1 可知,多糖提取率随料液比的增加先短暂降低后升高再下降,当料液比( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}} : V_{\text{缓冲液}}$ )为 1:30 (g/mL)时,多糖提取率最大。说明随着提取溶剂的增加,可能因不同酶的作用起效快慢不同,其破坏细胞壁及水解糖蛋白释放多糖的功能优势不同<sup>[23]</sup>,当料液比增加至一定范围时,酶破解细胞壁的能力达到限度值,而未被酶破坏的细胞内外浓度差亦无明显变化,多糖释放量及溶出量稳定<sup>[24]</sup>。故料液比( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}} : V_{\text{缓冲液}}$ )以 1:30 (g/mL)为宜。

**2.1.2 酶解时间** 由图 2 可知,多糖提取率随酶解时间的延长先升高后暂时降低再升高再降低,当酶解时间为 150 min 时,多糖提取率达最大值。这可能是由于试验选用的为复合酶,而不同酶的起效作用时间及作用强度不同,或复合酶在释放细胞内多糖及其他成分的同时,对部分多糖糖苷键起水解作用<sup>[25]</sup>。故酶解时间以 150 min 为宜。

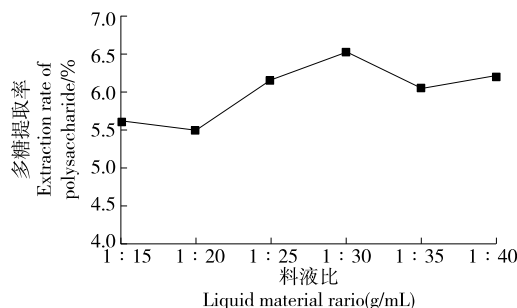


图 1 料液比对多糖提取率的影响

Figure 1 The effects of material liquid ratio on polysaccharide extraction yield

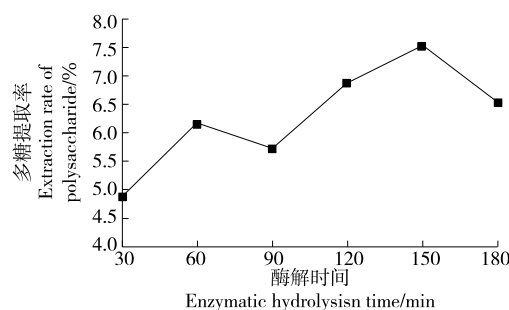


图 2 酶解时间对多糖提取率的影响

Figure 2 The effects of enzymatic hydrolysis time on polysaccharide extraction yield

**2.1.3 酶解温度** 由图 3 可知,多糖提取率随酶解温度的升高先增加后降低,当酶解温度为 50 °C 时,多糖提取率达最大值,说明复合酶随着酶解温度的升高活力增强,加快多糖的溶出,当酶解温度升高至一定值后,酶活力下降,提取率降低<sup>[26]</sup>。因此,酶解温度以 50 °C 为宜。

**2.1.4 缓冲液 pH 值** 由图 4 可知,随着 pH 值的升高,多糖提取率逐渐降低,当 pH 值为 3.5~4.0 时,提取率最高,可能是果胶酶在复合酶提取多糖过程中起主导作用,其在偏酸性条件下酶解作用强,亦或是龙牙楸木细胞中含碱性成分综合其溶剂的酸性,使释放的多糖未被酸水解而保留于溶剂中<sup>[27]</sup>。同时,为简化操作,测得以自制纯化水为溶剂,溶液 pH 值为 5.96 时的多糖提取率与 pH 值

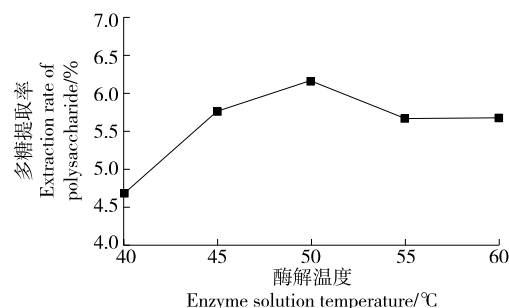


图 3 酶解温度对多糖提取率的影响

Figure 3 The effects of enzyme solution temperature on polysaccharide extraction yield

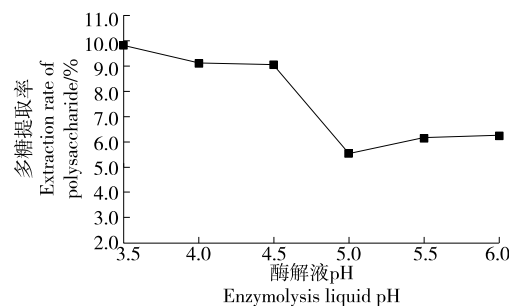


图 4 缓冲液 pH 值对多糖提取率的影响

Figure 4 The effects of buffer pH on the extraction rate of polysaccharides

为 4.0 时相近,因此,选择以纯化水为提取溶剂。

2.2 复合酶酶量配比正交试验

在单因素试验最适料液比、酶解时间、酶解温度、pH 值下,以纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶的添加量为因素,以龙牙楸多糖提取率为评价指标,设计  $L_9(3^3)$  正交试验。正交试验因素水平见表 1,正交试验设计与结果见表 2。

由表 2 可知,各因素对多糖提取率的影响程度依次为木瓜蛋白酶>果胶酶>纤维素酶。由表 3 可知,果胶酶添加量与木瓜蛋白酶添加量对多糖提取率影响显著,

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test factor level table

| 水平 | A 纤维素酶<br>添加量/% | B 果胶酶<br>添加量/% | C 木瓜蛋白酶<br>添加量/% |
|----|-----------------|----------------|------------------|
| 1  | 1.0             | 1.0            | 0.5              |
| 2  | 1.5             | 1.5            | 1.0              |
| 3  | 2.0             | 2.0            | 1.5              |

表 2 复合酶酶量配比正交试验设计与结果

Table 2 Design and results of orthogonal experiment of compound enzyme dosage ratio

| 试验号   | A     | B     | C     | D     | 多糖提取率/% |
|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| 1     | 1     | 1     | 1     | 1     | 9.20    |
| 2     | 1     | 2     | 2     | 2     | 9.64    |
| 3     | 1     | 3     | 3     | 3     | 8.41    |
| 4     | 2     | 1     | 2     | 3     | 8.96    |
| 5     | 2     | 2     | 3     | 1     | 9.13    |
| 6     | 2     | 3     | 1     | 2     | 9.12    |
| 7     | 3     | 1     | 3     | 2     | 8.65    |
| 8     | 3     | 2     | 1     | 3     | 10.40   |
| 9     | 3     | 3     | 2     | 1     | 9.30    |
| $k_1$ | 9.082 | 8.934 | 9.573 | 9.208 |         |
| $k_2$ | 9.067 | 9.723 | 9.299 | 9.137 |         |
| $k_3$ | 9.452 | 8.944 | 8.728 | 9.255 |         |
| R     | 0.385 | 0.789 | 0.845 | 0.118 |         |

表 3 方差分析表<sup>†</sup>

Table 3 Variance analysis table

| 差异源 | 离差平方和 | 自由度 | 均方差   | F 值    | 显著性 |
|-----|-------|-----|-------|--------|-----|
| A   | 0.095 | 2   | 0.048 | 13.571 |     |
| B   | 0.410 | 2   | 0.205 | 58.571 | *   |
| C   | 0.371 | 2   | 0.186 | 53.000 | *   |
| 误差  | 0.007 | 2   | 0.004 |        |     |
| 总和  | 0.883 | 8   |       |        |     |

<sup>†</sup> \* 差异显著 ( $P<0.05$ );  $F_{0.05}(2,2)=19.00$ ;  $F_{0.01}(2,2)=99.00$ 。

纤维素酶添加量对多糖提取率的影响不显著,从节约物料成本投入角度综合考虑,最佳复合酶酶量配比为  $A_1B_2C_1$ ,即纤维素酶添加量 1.0%、果胶酶添加量 1.5%、木瓜蛋白酶添加量 0.5%。

2.3 响应面试验优化

2.3.1 试验设计与结果 采用 Box-Behnken 中心组合试验设计方法,根据单因素试验结果,以酶解时间、酶解温度、料液比为相应变量,以多糖提取率为响应值进行响应面优化试验。响应面试验设计因素水平见表 4,试验设计与结果见表 5。

利用 Design-Expert 8.0.5 软件对试验数据进行二次多元回归拟合,得二次回归方程:

$$Y=10.46+0.37X_1+0.40X_2+0.35X_3-0.26X_1X_2+0.16X_1X_3+0.25X_2X_3-0.30X_1^2-0.65X_2^2-0.67X_3^2。(3)$$

由表 6 可知,回归模型  $P=0.000\ 4<0.01$ ,模型极显

表 4 Box-Behnken 试验设计因素水平表

Table 4 Box-Behnken experimental design factor level table

| 水平 | $X_1$ 酶解温度/℃ | $X_2$ 酶解时间/min | $X_3$ 料液比(g/mL) |
|----|--------------|----------------|-----------------|
| -1 | 45           | 120            | 1:25            |
| 0  | 50           | 150            | 1:30            |
| 1  | 55           | 180            | 1:35            |

表 5 Box-Behnken 试验设计与结果

Table 5 Box-Behnken experimental design and result for response surface

| 试验号 | $X_1$ | $X_2$ | $X_3$ | Y 多糖提取率/% |
|-----|-------|-------|-------|-----------|
| 1   | 0     | 1     | 1     | 10.20     |
| 2   | 0     | -1    | 1     | 8.79      |
| 3   | 1     | 0     | 1     | 10.45     |
| 4   | 0     | 0     | 0     | 10.71     |
| 5   | 0     | 0     | 0     | 10.32     |
| 6   | -1    | 0     | 1     | 9.20      |
| 7   | 1     | -1    | 0     | 9.18      |
| 8   | 0     | 0     | 0     | 10.68     |
| 9   | 1     | 0     | -1    | 9.46      |
| 10  | -1    | -1    | 0     | 9.15      |
| 11  | 0     | -1    | -1    | 8.58      |
| 12  | -1    | 0     | -1    | 8.84      |
| 13  | 0     | 0     | 0     | 10.13     |
| 14  | 0     | 1     | -1    | 8.98      |
| 15  | 0     | 0     | 0     | 10.44     |
| 16  | 1     | 1     | 0     | 10.40     |
| 17  | -1    | 1     | 0     | 9.32      |

表 6 方差分析表<sup>†</sup>

Table 6 Analysis of variance table

| 来源                            | 平方和  | 自由度 | 均方   | F 值   | P 值     | 显著性 |
|-------------------------------|------|-----|------|-------|---------|-----|
| 模型                            | 8.43 | 9   | 0.94 | 19.59 | 0.000 4 | * * |
| X <sub>1</sub>                | 1.11 | 1   | 1.11 | 23.21 | 0.001 9 | * * |
| X <sub>2</sub>                | 1.28 | 1   | 1.28 | 26.76 | 0.001 3 | * * |
| X <sub>3</sub>                | 0.97 | 1   | 0.97 | 20.20 | 0.002 8 | * * |
| X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> | 0.28 | 1   | 0.28 | 5.76  | 0.047 4 | *   |
| X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> | 0.10 | 1   | 0.10 | 2.07  | 0.192 9 |     |
| X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> | 0.26 | 1   | 0.26 | 5.33  | 0.054 2 |     |
| X <sub>1</sub> <sup>2</sup>   | 0.37 | 1   | 0.37 | 7.75  | 0.027 1 | *   |
| X <sub>2</sub> <sup>2</sup>   | 1.76 | 1   | 1.76 | 36.83 | 0.000 5 | * * |
| X <sub>3</sub> <sup>2</sup>   | 1.90 | 1   | 1.90 | 39.73 | 0.000 4 | * * |
| 残差                            | 0.33 | 7   | 0.05 |       |         |     |
| 失拟项                           | 0.09 | 3   | 0.03 | 0.53  | 0.686 2 |     |
| 净误差                           | 0.24 | 4   | 0.06 |       |         |     |
| 总离差                           | 8.77 | 16  |      |       |         |     |

<sup>†</sup> \* \* 表示  $P < 0.01$ , 差异极显著; \* 表示  $P < 0.05$ , 差异显著;  $R^2 = 0.961\ 8$ 。

著;失拟项  $P = 0.686\ 2 > 0.05$ , 失拟项不显著, 且  $R^2 = 0.961\ 8$ , 表明模型与实际操作的拟合程度较高, 试验误差小, 可运用该模型进行分析和预测龙牙楸木多糖提取过

程中的提取率。各因素中一次项  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  对龙牙楸木多糖提取率影响极显著, 交互项  $X_1X_2$  对多糖提取率影响显著;二次项  $X_1^2$  对多糖提取率影响显著,  $X_2^2$ 、 $X_3^2$  对多糖提取率影响极显著。由  $F$  值可知, 各因素对龙牙楸木多糖提取率的影响顺序为酶解时间 > 酶解温度 > 液料比。

2.3.2 响应曲面图及等高线图 由图 5~图 7 可知, 酶解时间、酶解温度、料液比对龙牙楸木多糖提取率影响较大, 表现为曲面陡峭。酶解时间与酶解温度的交互作用强于酶解温度与料液比的交互作用, 而酶解时间与料液比的交互作用最弱。

2.3.3 模型验证 由 Design-Expert 8.0.5 软件得出复合酶法提取龙牙楸木多糖最佳工艺为: 酶解温度  $53.7\ ^\circ\text{C}$ , 酶解时间  $160.2\ \text{min}$ , 料液比 ( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}} : V_{\text{纯化水}}$ )  $1.00 : 31.05\ (\text{g/mL})$ , 此时预测龙牙楸木多糖提取率为  $10.78\%$ 。考虑到实际操作可行性, 将最佳提取工艺调整为: 酶解温度  $54\ ^\circ\text{C}$ , 酶解时间  $160\ \text{min}$ , 料液比 ( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}} : V_{\text{纯化水}}$ )  $1 : 31\ (\text{g/mL})$ , 此条件下的龙牙楸木多糖提取率为  $(10.68 \pm 0.05)\% (n = 3)$ , 与预测值接近, 且较热水浸提 ( $5.87\%$ )<sup>[13]</sup> 和超声波辅助提取 ( $4.81\%$ )<sup>[14]</sup> 的分别提高了  $81.94\%$  和  $122.04\%$ , 说明该模型对龙牙楸木多糖提取工艺条件参数优化可靠, 具有较好的应用价值。

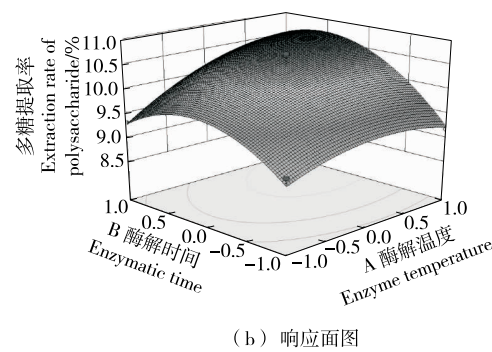
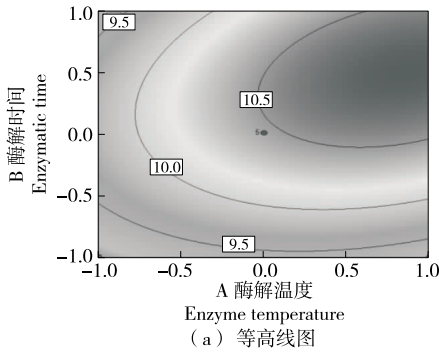


图 5 酶解温度与酶解时间的交互作用对多糖提取率的影响

Figure 5 The effects of interaction from extraction temperature and extraction time on the extraction rate

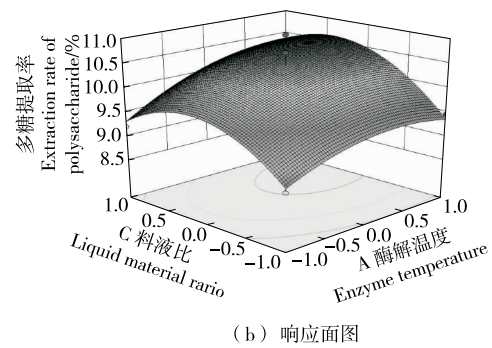
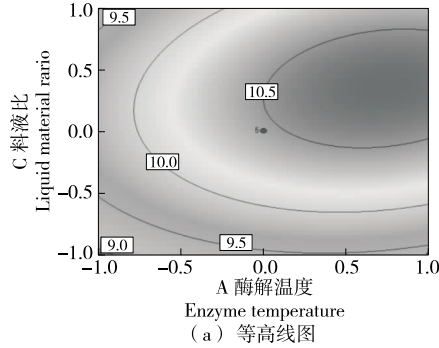


图 6 酶解温度与液料比的交互作用对多糖提取率的影响

Figure 6 The effects of interaction from extraction temperature and liquid-solid ratio on the extraction rate

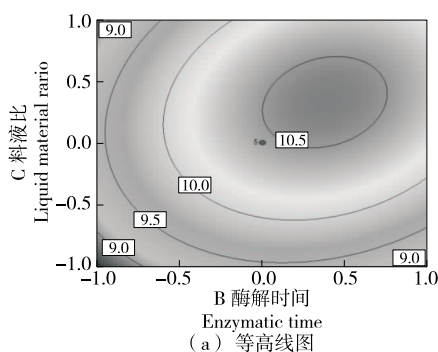
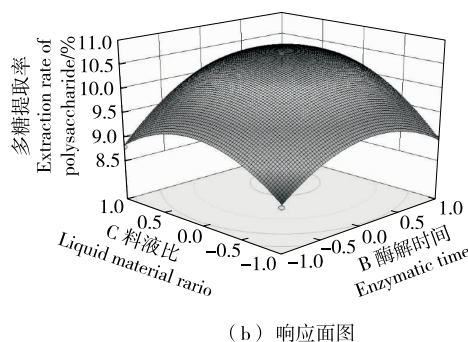


图 7 酶解时间与液料比的交互作用对多糖提取率的影响



(b) 响应面图

Figure 7 The effects of interaction from extraction time and liquid-solid ratio on the extraction rate

## 2.4 抗氧化活性

2.4.1 DPPH 自由基清除能力 由图 8 可知,当多糖质量浓度为 0~8 mg/mL 时,3 种提取方法所得多糖对 DPPH 自由基均具有一定的清除作用,且随着多糖质量浓度的增加,DPPH 自由基清除能力升高。3 种提取方法所得多糖清除 DPPH 自由基的  $IC_{50}$  值分别为 6.76, 4.96, 2.00 mg/mL,但三者对 DPPH 自由基的清除率均低于维生素 C。

2.4.2 羟基自由基清除能力 由图 9 可知,当多糖质量浓度为 0~10 mg/mL 时,热水浸提法、超声辅助提取法、复合酶法所得龙牙楸木多糖对羟基自由基均具有清除作用

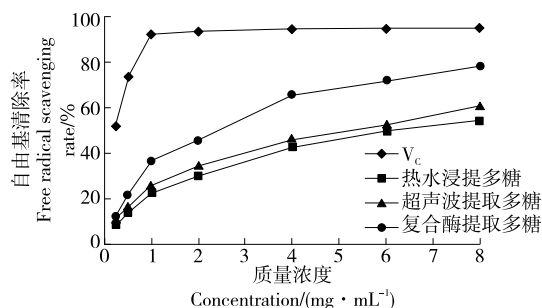


图 8 3 种多糖对 DPPH 自由基清除率的影响

Figure 8 The effect of three polysaccharides on DPPH free radical scavenging rate

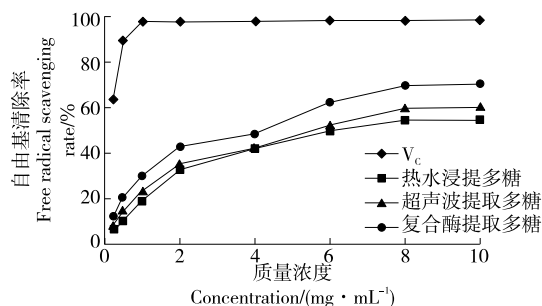


图 9 3 种多糖对羟基自由基清除率的影响

Figure 9 The effect of three polysaccharides on hydroxyl radical scavenging rate

用,且清除率随多糖质量浓度的增加而上升。当多糖质量浓度为 8~10 mg/mL 时,羟基自由基清除率上升趋势减弱,最大值分别为 54.42%, 60.13%, 70.10%。3 种提取方法所得多糖清除羟基自由基的  $IC_{50}$  值分别为 6.75, 5.25, 3.05 mg/mL,三者对羟基自由基的清除率低于维生素 C。

## 3 结论

以龙牙楸木为原料,以纯化水为溶剂,采用复合酶法提取龙牙楸木多糖,对其提取工艺进行优化并分析其抗氧化活性。结果表明,复合酶法提取龙牙楸木多糖的最佳条件为纤维素酶添加量 1.0%,果胶酶添加量 1.5%,木瓜蛋白酶添加量 0.5%,酶解温度 54 °C,酶解时间 160 min,料液比( $m_{\text{龙牙楸木粗粉}} : V_{\text{纯化水}}$ ) 1 : 31 (g/mL),此条件下龙牙楸木多糖提取率为  $(10.68 \pm 0.05)\%$ ,与预测值接近。抗氧化试验表明,龙牙楸木多糖对 DPPH 自由基及羟基自由基的  $IC_{50}$  值分别为 2.00, 3.05 mg/mL,且清除作用均随多糖质量浓度的增大而升高,清除率最大值分别为 78.10% 和 70.10%,表明龙牙楸木多糖具有良好的抗氧化活性。后续需研究龙牙楸木多糖的纯化、分离及结构鉴定等。

## 参考文献

- [1] 宋鉴达, 武伦鹏, 朱传翔, 等. 龙牙楸木中三萜皂苷药理作用的研究综述[J]. 人参研究, 2019(4): 47-51.  
SONG Jian-da, WU Lun-peng, ZHU Chuan-xiang, et al. A review of the pharmacological effects of triterpenoid saponins from *Aralia elata*[J]. Ginseng Research, 2019(4): 47-51.
- [2] 吕邵娃, 刘栋, 夏永刚, 等. 大孔树脂分离纯化龙牙楸木叶皂苷的研究[J]. 中药材, 2010, 33(12): 1 959-1 961.  
LU Shao-wa, LIU Dong, XIA Yong-gang, et al. Isolation and purification of saponins from leaves of *Aralia elata* by macroporous resin[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2010, 33(12): 1 959-1 961.
- [3] 徐洪宇, 蒯宜蕴, 赵焯, 等. 响应面优化提取龙牙楸木中总黄酮的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(3): 106-111.  
XU Hong-yu, KUAI Yi-yun, ZHAO Yang, et al. Optimization of ex-

- traction of flavonoids from *Aralia elata* using response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2019, 40(3): 106-111.
- [4] 齐明明, 李紫薇, 李聪, 等. 不同产地龙牙楸木芽中挥发油成分的 GC-MS 分析与比较[J]. 中药材, 2016, 39(7): 1 567-1 570.
- QI Ming-ming, LI Zi-wei, LI Cong, et al. Analysis and comparison of essential oil components in buds of *Aralia elata* from different origins by GC-MS[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2016, 39(7): 1 567-1 570.
- [5] 王丽君, 石莉萍. 龙牙楸木多糖的抗辐射损伤作用[J]. 中药材, 2006, 29(10): 1 085-1 087.
- WANG Li-jun, SHI Li-ping. Anti-radiation damage effect of polysaccharide of *Aralia elata* seem[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2006, 29(10): 1 085-1 087.
- [6] 王丽君, 姜虹. 龙牙楸木多糖抗肿瘤活性及对荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(2): 130-134.
- WANG Li-jun, JIANG Hong. Antitumor activity of polysaccharide from *Aralia elata* Seem and the effect on immune functions in tumor-bearing mice[J]. Chinese Journal of Immunology, 2011, 27(2): 130-134.
- [7] 王珊珊, 李泰雅, 谷舞, 等. 北五味子多糖热水浸提工艺优化及体外抗氧化性能研究[J]. 粮油食品科技, 2017, 25(1): 64-69.
- WANG Shan-shan, LI Tai-ya, GU Wu, et al. Optimization of hot water extraction process of *Schisandrae chinensis* polysaccharide and its in vitro antioxidation property study[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2017, 25(1): 64-69.
- [8] 袁清霞, 赵龙岩, 李子娇, 等. 酸法提取仙人掌多糖工艺[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(3): 42-45, 50.
- YUAN Qing-xia, ZHAO Long-yan, LI Zi-jiao, et al. Study on extraction of *Opuntia dillenii* haw polysaccharides by acid method[J]. Food Research and Development, 2012, 33(3): 42-45, 50.
- [9] 刘艳芳, 薛令坤, 唐庆九, 等. 刺芹侧耳下脚料水溶性细胞壁多糖碱提工艺优化及活性分析[J]. 食用菌学报, 2019, 26(4): 116-122.
- LIU Yan-fang, XUE Ling-kun, TANG Qing-jiu, et al. Alkaline extraction condition optimization for water soluble polysaccharide in cell wall of waste *Pleurotus eryngii* and its immunological activity in vitro[J]. Acta Edulis Fungi, 2019, 26(4): 116-122.
- [10] 张世奇, 杨娟, 惠永海, 等. 响应面法优化超声波辅助提取辣木叶多糖工艺[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(16): 69-74.
- ZHANG Shi-qi, YANG Juan, HUI Yong-hai, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from *Moringa Oleifera* Leaf by response surface methodology[J]. Food Research and Development, 2020, 41(16): 69-74.
- [11] 张雪春, 田智宇, 王振兴, 等. 核桃青皮多糖微波辅助提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(7): 146-151.
- ZHANG Xue-chun, TIAN Zhi-yu, WANG Zhen-xing. Study on microwave-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharides from Walnut husks[J]. Food & Machinery, 2016, 32(7): 146-151.
- [12] 高建德, 朱晓玉, 宋开蓉, 等. 复合酶辅助提取党参中多糖工艺的优化[J]. 中成药, 2018, 40(5): 1 189-1 193.
- GAO Jian-de, ZHU Xiao-yu, SONG Kai-rong, et al. Optimization of compound enzyme assisted extraction of polysaccharide from *Codonopsis Radix*[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2018, 40(5): 1 189-1 193.
- [13] 吴舜, 张桂娟, 吕文博. 龙牙楸木芽多糖提取与脱色工艺的研究[J]. 保鲜与加工, 2016, 16(6): 80-86, 91.
- WU Shun, ZHANG Gui-juan, LU Wen-bo. Study on extraction and decoloration technologies of polysaccharides from *Aralia elata* (Miq.) Seem. Buds[J]. Storage and Process, 2016, 16(6): 80-86, 91.
- [14] 张桂娟, 吴舜, 吕文博. 响应曲面法优化超声波提取龙牙楸木芽多糖的工艺研究[J]. 食品与发酵科技, 2016, 52(3): 1-5, 10.
- ZHANG Gui-juan, WU Shun, LU Wen-bo. Optimization of ultrasound-assisted extraction of *Aralia Elata* Bud polysaccharides using response surface method[J]. Food and Fermentation Technology, 2016, 52(3): 1-5, 10.
- [15] 张智, 刘洋, 尹文哲, 等. 蒲公英总黄酮复合酶法提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(2): 143-148.
- ZHANG Zhi, LIU Yang, YIN Wen-zhe, et al. Study on extraction process of total flavonoids in dandelion by using the compound enzymes and their antioxidant activities[J]. Food & Machinery, 2018, 34(2): 143-148.
- [16] ROSTAMI H, GHARIBZAHEDI S M T. Cellulase-assisted extraction of polysaccharides from *Malva sylvestris*: Process optimization and potential functionalities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 101: 196-206.
- [17] TIAN Chun-lian, WANG Peng, QIN Ji-xin, et al. Enzyme-assisted extraction and enrichment of galanthamine from *Lycoris aurea*[J]. Chinese Herbal Medicines, 2016, 8(2): 182-188.
- [18] 刘霞, 李伟, 王一凡, 等. 响应面法优化酶辅助提取山楂有机酸的工艺研究[J]. 食品工业, 2017, 38(6): 119-122.
- LIU Xia, LI Wei, WANG Yi-fan, et al. Optimization of enzyme-assisted extraction of total organic acid from *Crataegus pinnatifida* Bge. by response surface methodology[J]. The Food Industry, 2017, 38(6): 119-122.
- [19] ZHAO Hui, ZHANG Ji, YAN Lu-na. Study on optimization of extraction process of crude polysaccharides from *Pleurotus eryngii* by response surface method[J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2017, 38(1): 80-86.
- [20] 潘莹, 许经伟. 冬枣多糖的分离纯化及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2016, 37(13): 89-94.
- PAN Ying, XU Jing-wei. Isolation purification and antioxidant activity of polysaccharides from *Zizyphus jujube* cv. Dongzao[J]. Food Science, 2016, 37(13): 89-94.

- [21] 景永帅, 张丹参, 张瑞娟, 等. 北沙参多糖复合酶提取工艺及理化性质研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(11): 191-197.  
JING Yong-shuai, ZHANG Dan-shen, ZHANG Rui-juan, et al. Study on the compound enzyme extraction process of *Glehniae Radix* and its physicochemical properties[J]. Food Science, 2019, 35(11): 191-197.
- [22] 白生文, 汤超, 田惊, 等. 沙棘果渣总黄酮提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2015, 36(10): 59-64.  
BAI Sheng-wen, TANG Chao, TIAN Jing, et al. Extraction and antioxidant activity of total flavonoids from sea buckthorn pomace[J]. Food Science, 2015, 36(10): 59-64.
- [23] 顾浩峰. 酶法辅助提取猴头菇中硒多糖工艺中复合酶用量的优化[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(4): 39-44.  
GU Hao-feng. The optimization of dosage of complex enzymes in enzyme-assisted hericium se-polysaccharides extraction[J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2017, 53(4): 39-44.
- [24] 齐睿婷, 黄菊青, 高汪磊, 等. 竹茹多糖提取工艺优化及其理化性质分析[J]. 食品工业科技, 2015, 36(16): 299-303.  
QI Rui-ting, HUANG Ju-qing, GAO Wang-lei, et al. Extraction and physicochemical properties of the polysaccharides from bamboo shavings[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(16): 299-303.
- [25] 王莹, 陈圆, 聂倩倩, 等. 复合酶法辅助提取柚子皮多糖的工艺优化[J]. 湖南农业科学, 2018(5): 86-88, 91.  
WANG Ying, CHEN Yuan, NIE Qian-qian, et al. Optimization of polysaccharides extraction from pomelo peel by compound enzymes method[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2018(5): 86-88, 91.
- [26] 杨蓉生, 陈炼红, 唐俊妮, 等. 复合酶法提取红雪茶粗多糖工艺优化研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(12): 285-288.  
YANG Rong-sheng, CHEN Lian-hong, TANG Jun-ni, et al. Optimization of polysaccharide extraction from *Lethariella Cladonioides* by compound enzymes method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(12): 285-288.
- [27] 陈艳, 姚密, 李美凤, 等. 超声波辅助复合酶法提取松茸多糖的工艺研究[J]. 中国酿造, 2017, 36(10): 139-143.  
CHEN Yan, YAO Mi, LI Mei-feng, et al. Ultrasound-assisted compound enzyme extraction technology of polysaccharide from *Tricholoma matsutake*[J]. China Brewing, 2017, 36(10): 139-143.
- 
- (上接第 162 页)
- [14] 刘英, 周晓林, 胡忠康, 等. 基于优化卷积神经网络的木材缺陷检测[J]. 林业工程学报, 2019, 4(1): 115-120.  
LIU Ying, ZHOU Xiao-lin, HU Zhong-kang, et al. Wood defect detection based on optimized convolutional neural network[J]. Journal of Forestry Engineering, 2019, 4(1): 115-120.
- [15] 王泽霞, 陈革, 陈振中. 基于改进卷积神经网络的化纤丝饼表面缺陷识别[J]. 纺织学报, 2020, 41(4): 115-120.  
WANG Ze-xia, CHEN Ge, CHEN Zhen-zhong. Surface defect recognition of chemical fiber cake based on improved convolutional neural network[J]. Journal of Textile Research, 2020, 41(4): 115-120.
- [16] 王志中. 基于改进蚁群算法的移动机器人路径规划研究[J]. 机械设计与制造, 2018, 12(1): 242-244.  
WANG Zhi-zhong. Research on mobile robot path planning based on improved ant colony algorithm[J]. Mechanical Design and Manufacturing, 2018, 12(1): 242-244.
- 
- (上接第 179 页)
- [18] 史鸿乐, 汪诗翔, 刘义青, 等. 亚铁改性沸石活化过氧乙酸降解水中双氯芬酸的研究[J]. 中国环境科学, 2020, 40(5): 2 116-2 123.  
SHI Hong-le, WANG Shi-xiang, LIU Yi-qing, et al. Enhanced degradation of diclofenac by catalytic peracetic acid using  $\text{Fe}^{2+}$  modified zeolite[J]. China Environmental Science, 2020, 40(5): 2 116-2 123.
- [19] 胡卫珍, 齐振宇, 陈晓芳, 等. 凝胶渗透色谱联用多角度激光散射测定铁皮石斛多糖分子量及其分布[J]. 浙江农业科学, 2020, 61(6): 1 166-1 167, 1 175.  
HU Wei-zhen, QI Zhen-yu, CHEN Xiao-fang, et al. Determination of molecular weight and distribution of polysaccharides in *Dendrobium officinale* by size exclusion chromatography-multi angle laser light scattering[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2020, 61(6): 1 166-1 167, 1 175.
- [20] PINIER M, VERDU E F, NASSER-EDDINE M, et al. Polymeric binders suppress gliadin-induced toxicity in the intestinal epithelium[J]. Gastroenterology, 2009, 136(1): 288-298.
- [21] HU Y Q, YIN S W, ZHU J H, et al. Fabrication and characterization of novel Pickering emulsions and Pickering high internal emulsions stabilized by gliadin colloidal particles[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61(1): 300-310.
- [22] PAANANEN A, TAPPURA K, TATHAM A S, et al. Nanomechanical force measurements of gliadin protein interactions[J]. Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 2006, 83(6): 658-667.