

正交试验优化白芷多糖的活性炭脱色工艺研究

李江萍¹, 庞谢辉²

1. 广东省湛江卫生学校 实验中心, 广东 湛江 524037

2. 广东省湛江卫生学校 药剂学教研室, 广东 湛江 524037

摘要: **目的** 采用正交试验优化活性炭对白芷多糖提取液脱色的工艺条件。**方法** 考察脱色温度、活性炭添加量和脱色时间对白芷多糖脱色效果的影响。在单因素试验的基础上, 以多糖脱色率和多糖剩余率为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验确定了最优工艺的参数。**结果** 活性炭添加量对脱色效果的影响最大, 其次为温度, 再次为时间。最佳脱色条件为脱色温度 60 ℃, 活性炭添加量 2%, 吸附时间 30 min, 在此条件下, 脱色率为 96.20%, 多糖剩余率为 82.36%。**结论** 活性炭对白芷多糖脱色工艺简便可行。

关键词: 白芷多糖; 活性炭; 脱色; 正交试验

中图分类号: R284.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2012)04-0366-04

Optimization of decoloration technology for active carbon on polysaccharides from *Angelicae Dahuricae Radix* by orthogonal test

LI Jiang-ping¹, PANG Xie-hui²

1. Laboratory Center, Zhanjiang Health School of Guangdong, Zhanjiang 524037, China

2. Department of Pharmaceutics, Zhanjiang Health School of Guangdong, Zhanjiang 524037, China

Abstract: Objective To optimize the decoloration technology for active carbon on polysaccharides from *Angelicae Dahuricae Radix* by orthogonal test. **Methods** Effects of decoloration temperature, amounts of active carbon, and decoloration time on polysaccharides from *Angelicae Dahuricae Radix* were investigated. Based on the single factor test method, $L_9(3^4)$ orthogonal test method was performed to optimize the technological parameters with decoloration ratio and the remaining rate of polysaccharide as indexes. **Results** The sequence of the effects on the decoloration was amount of active carbon, temperature, and time. The optimized decoloration conditions were decolorating temperature 60 ℃, the amount of active carbon 2%, and decolorating time 30 min. Under this condition the decoloration rate was 96.20% and the remaining rate of polysaccharide was 82.36%. **Conclusion** The process of the decoloration technology for active carbon on polysaccharides from *Angelicae Dahuricae Radix* is reasonable and feasible.

Key words: polysaccharides from *Angelicae Dahuricae Radix*; active carbon; decoloration; orthogonal test

白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 或杭白芷 *A. dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根, 具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓之功效^[1]。白芷中多糖类成分具有抗氧化、促细胞生长等作用^[2-3], 具有良好的开发前景。脱色是实现多糖产业化研究的一个重要环节。目前多糖脱色方法主要有 DEAE-纤维素法、大孔吸附树脂、双氧水聚酰胺和活性炭脱色法等^[4], 其中活性炭法有着对杂质的吸附能力很强、

脱色成本低、效果好且不会影响提取物的生物活性等优点, 在工业化生产中被广泛采用。本实验在单因素试验的基础上采用正交试验方法研究了活性炭吸附法对白芷多糖脱色效果的影响, 确定白芷多糖活性炭脱色的最优工艺条件, 为白芷多糖的纯化和进一步开发利用提供参考。

1 仪器与材料

UV-2450 紫外可见分光光度仪 (日本岛津公司), JA5003 型电子分析天平 (上海天平仪器厂), HH.S11-6 电热恒温水浴锅 (上海悦丰仪器仪表有

收稿日期: 2012-05-08

作者简介: 李江萍 (1964—), 女, 壮族, 广西人, 实验师, 1986 年毕业于广东省湛江卫生学校药剂专业, 主要从事天然药物化学、药物化学、药物分析化学等实验准备与指导工作。Tel: (0759)3094686 E-mail: wx_ljp@126.com

限公司), SHZ—D(III)循环水式真空泵(河南予华仪器有限公司), XW—80A 漩渦混合器(上海精科实业有限公司)。

白芷为市售, 产自浙江, 经本校中药教研室鉴定为杭白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Shan et Yuan 的干燥根; 活性炭(食品糖类专用, 阿拉丁化学有限公司), 葡萄糖对照品(中国药品生物制品检定所), 其他所用试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 多糖的提取

称取白芷药材适量, 粉碎, 过 2 号筛, 取 200 g, 石油醚脱脂, 加 5 倍体积水, 60 °C 提取 3 次, 2 h/次, 合并水提液, 离心, 取上清液, 浓缩至 500 mL, 加 95%乙醇调节乙醇体积分数为 50%, 放置 4 °C 冰箱过夜, 抽滤, 得粗多糖。恒温干燥后放入冰箱保存, 备用。

2.2 供试品溶液的配制

称取白芷粗多糖 1.0 g, 定容至 100 mL 量瓶, 得 10 mg/mL 溶液, 加 Sevag 试剂氯仿-正丁醇(4:1) 脱除蛋白 6 次, 脱蛋白后的糖液放冰箱保存, 备用。

2.3 多糖的测定

采用苯酚-硫酸法^[5]。以葡萄糖为对照品, 于 490 nm 波长处测定吸光度值, 以吸光度值对质量浓度进行线性回归, 得标准曲线的方程 $Y=0.0456X-0.0492$ ($r=0.9932$)。通过此方程计算白芷多糖的质量浓度。

2.4 脱色效果的计算

对活性炭脱色效果的评价采用脱色率和多糖剩余率来表示。

脱色率 = (脱色前吸光度值 - 脱色后吸光度值) / 脱色前吸光度值 × 100%

多糖剩余率 = 脱色后溶液中多糖的质量浓度 / 脱色前提取液中多糖的质量浓度 × 100%

2.5 单因素试验

2.5.1 活性炭添加量对脱色效果的影响 分别取 20 mL 供试品溶液, 置 50 mL 三角烧瓶, 加入相应量的活性炭, 60 °C 水浴加热, 脱色 30 min, 离心除去活性炭, 测定脱色后的吸光度值, 计算多糖的质量浓度。结果发现, 随着活性炭添加量的增加, 脱色率增大, 而多糖剩余率则相反, 随活性炭添加量增加而减少。8%的活性炭添加量的脱色效果最

好, 但多糖剩余率最低, 而 0.5%的活性炭添加量的脱色效果最差, 但多糖剩余率最高。见表 1。

表 1 活性炭添加量对脱色效果的影响

Table 1 Effect of amounts of active carbon on decoloration

活性炭添加量/(g·mL ⁻¹)	多糖脱色率/%	多糖剩余率/%
0.5%	77.32	96.44
1%	82.46	91.47
2%	92.58	85.92
4%	94.31	80.22
8%	97.72	76.22

2.5.2 脱色温度对脱色效果的影响 分别取 20 mL 供试品溶液, 置 50 mL 三角烧瓶, 加入质量浓度为 2%的活性炭, 分别以相应温度的水浴加热, 脱色 30 min, 离心除去活性炭, 测定脱色后的吸光度值, 计算多糖的质量浓度。结果发现, 在 50~90 °C 时, 随着温度的升高, 脱色率逐渐增大, 但从 70 °C 起, 多糖剩余率呈逐渐下降的趋势。见表 2。

表 2 脱色温度对脱色效果的影响

Table 2 Effect of decolorating temperature on decoloration

脱色温度/°C	多糖脱色率/%	多糖剩余率/%
50	92.82	85.47
60	94.34	87.33
70	95.58	84.72
80	96.31	74.69
90	98.72	70.52

2.5.3 脱色时间对脱色效果的影响 分别取 20 mL 供试品溶液, 置 50 mL 三角烧瓶, 加入 2%的活性炭, 60 °C 水浴加热, 按相应的时间进行脱色, 离心除去活性炭, 测定脱色后的吸光度值, 计算多糖的质量浓度。结果发现, 随着时间的延长, 30 min 后, 多糖脱色率呈略微上升趋势, 与之同时多糖剩余率呈明显的下降趋势。见表 3。

表 3 脱色时间对脱色效果的影响

Table 3 Effect of decolorating time on decoloration

脱色时间/min	多糖脱色率/%	多糖剩余率/%
15	81.56	96.59
30	93.58	91.63
45	94.44	86.42
60	96.37	85.36

2.6 因素水平的确定与试验设计

根据单因素预实验的结果可知,脱色温度(A)、活性炭的添加量(B)及脱色时间(C)是影响脱色效果的最主要因素,因此选取脱色温度、活性炭添加量和脱色时间3个因素进行正交试验设计,每个因素选3个水平,因素水平设计见表4。

以脱色率和多糖剩余率为考察指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交设计表进行试验。采用综合加权评分法^[6]进行考察,权重系数均为0.5,分别把两项中最大的指标定为100分,按综合评分=(脱色率/97.52%)×

$100 \times 0.5 + (\text{多糖剩余率}/88.55\%) \times 100 \times 0.5$ 计算。结果见表5、6。

表4 因素水平
Table 4 Factors and levels

水 平	因 素		
	A/°C	B/%	C/min
1	50	4	45
2	60	2	15
3	70	1	30

表5 正交试验设计与结果

Table 5 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D (空白)	脱色率/%	多糖剩余率/%	综合评分
1	1	1	1	1	95.76	75.48	91.72
2	1	2	2	2	96.13	83.42	96.40
3	1	3	3	3	88.22	88.55	95.23
4	2	1	2	3	97.52	74.53	92.08
5	2	2	3	1	96.20	82.36	96.13
6	2	3	1	2	90.44	86.64	95.29
7	3	1	3	2	96.32	75.27	91.89
8	3	2	1	3	95.68	81.4	95.02
9	3	3	2	1	89.71	86.32	94.74
K_1	283.35	275.70	282.03	282.60			
K_2	283.50	287.55	283.20	283.56			
K_3	281.64	285.27	283.26	282.33			
k_1	94.45	91.90	94.01	94.20			
k_2	94.50	95.85	94.40	94.52			
k_3	93.88	95.09	94.42	94.11			
R	0.62	3.95	0.41	0.41			

表6 方差分析

Table 6 Analysis of variance

因 素	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	0.70	2	2.19	
B	26.36	2	82.36	$P < 0.05$
C	0.32	2	0.89	
D (误差)	0.32	2		

$F_{0.05}(2,2) = 19.00$ $F_{0.01}(2,2) = 99.00$

结果表明,影响白芷多糖活性炭脱色效果的因素按影响程度的大小顺序为 $B > A > C$,即活性炭添加量对脱色效果的影响差异具有显著性($P < 0.05$),

是整个脱色工艺流程的关键条件,其次为脱色温度,再次为脱色时间。因此确定白芷多糖活性炭脱色最佳工艺条件为 $A_2B_2C_3$,即脱色温度为 $60\text{ }^\circ\text{C}$,活性炭添加量为2%,脱色时间为30 min。

2.8 最佳工艺验证试验

平行取已制备的多糖供试品溶液3份,设置脱色温度为 $60\text{ }^\circ\text{C}$,加入2%的活性炭,脱色30 min,计算脱色前后白芷多糖的多糖脱色率和多糖剩余率,结果见表7。在此条件下,多糖脱色率为96.29%,剩余率为83.22%,与正交试验结果基本相符,确定该工艺条件合理可行,是最优的工艺条件。

表7 工艺验证试验 (n=3)
Table 7 Verification tests (n=3)

序号	多糖脱色率/%	多糖剩余率/%
1	96.70	83.45
2	96.76	82.37
3	95.42	82.86
均值	96.29	83.22
RSD	0.79	0.93

3 讨论

水提醇沉是多糖提取的最常用方法,乙醇体积分数在30%~90%都可使多糖沉淀析出,综合考虑成本及效益,本实验采用50%乙醇进行醇沉。由于在白芷多糖的加热浸提过程中,其中的淀粉类物质会发生焦糖化作用,以及自身所带的其他杂质,形成色素,使提取液颜色加深,影响到多糖质量,因此对多糖进行脱色处理十分必要。

关于多糖的脱色,有多种方法,但是活性炭法具有成本低、反应条件温和、不影响产品本身的生物活性等优点,非常适合工业化生产的要求^[7]。实验从单因素试验的结果发现,无论采用何种因素,只要增加多糖的脱色率,都会降低多糖的剩余率。因此,要在两者关系中取得平衡,才能得到最佳的

脱色效果。

实验采用正交设计对活性炭添加量、脱色时间和脱色温度3种因素进行优化,得到白芷多糖活性炭脱色的最优工艺条件,即脱色温度60℃,活性炭添加量2%,吸附时间为30min,在此条件下既可以使脱色效果好,又可以使多糖剩余率有较高的水平,为白芷多糖的工业化生产提供了参考。

参考文献

- [1] 康学军,曲见松,顾忠泽.白芷多糖的分析[J].分析化学,2006,36(4):533-535.
- [2] 康学军,曲见松,郑水龙.白芷多糖的提取及其对小鼠皮肤细胞生长作用的研究[J].中国药理学通报,2005,21(5):637.
- [3] 王德才,高丽君,高艳霞.杭白芷多糖体外抗氧化活性的研究[J].时珍国医国药,2009,20(1):173-174.
- [4] 付学鹏,杨晓杰.植物多糖脱色技术的研究[J].食品研究与开发,2007,28(11):166-169.
- [5] 徐光域,颜军,郭晓强,等.硫酸-苯酚定糖法的改进与初步应用[J].食品科学,2005,26(8):342-346.
- [6] 扈瑞平,敖长金,杜玲,等.沙葱多糖活性炭脱色工艺的研究[J].科学技术与工程,2010,34(10):8381-8383.
- [7] 张安强,张劲松,潘迎捷.食药菌多糖的提取、分离纯化与结构分析[J].食用菌学报,2005,12(2):62-68.