

• 药剂与工艺 •

基于 QbD 与绿色化学理念的岩藻多糖制备工艺设计与优化

王欣雨^{1,2}, 陈 博^{1,4#}, 田 甜^{2,3}, 蒋剑平⁶, 龚行楚^{1,2,3,5*}

1. 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310058

2. 浙江大学金华研究院, 浙江 金华 321299

3. 天津中医药大学中药制药工程学院, 天津 300193

4. 浙江大学工程师学院, 浙江 杭州 310015

5. 现代中药创制全国重点实验室, 浙江 杭州 310058

6. 浙大城市学院医学院, 浙江 杭州 310015

摘要: 目的 针对目前岩藻多糖制备工艺中存在周期长、成本高昂、污染环境的问题, 开发一种更为绿色高效的岩藻多糖制备新工艺。方法 新工艺不使用有机溶剂, 采用“多段变温提取、酸化、脱色、透析、真空干燥”步骤制备岩藻多糖。以岩藻多糖质量分数和产率作为工艺评价指标, 通过鱼骨图以及失效模式与影响分析辨析潜在的关键工艺参数(critical process parameters, CPPs)。使用确定性筛选实验设计(definitive screening design, DSD)确定 CPPs 为提取温度、提取时间、液固比、透析相对分子质量、脱色时间。建立 CPPs 和工艺评价指标之间的定量数学模型。基于蒙特卡罗方法计算不同工艺参数条件下的风险值, 根据风险阈值确定设计空间并进行实验验证。结果 优化所得岩藻多糖制备工艺参数范围为液固比 14~22 mg/mL, 提取温度 75~85 °C, 提取时间为 26~30 min, 脱色时间为 30~40 min, 透析相对分子质量为 1 000~6 000; 所得岩藻多糖质量分数>75%, 产率>3%。新工艺绿色度得分达到 77 分, 高于传统酸提取工艺的 59 分。结论 新工艺能够得到高纯度岩藻多糖, 符合绿色发展理念, 有良好工业转化前景。

关键词: 岩藻多糖; 羊栖菜; 绿色化学; 质量源于设计; 工业化

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)12-4206-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.12.005

Design and optimization of fucoidan preparation process based on QbD and green chemistry concept

WANG Xinyu^{1,2}, CHEN Bo^{1,4}, TIAN Tian^{2,3}, JIANG Jianping⁶, GONG Xingchu^{1,2,3,5}

1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

2. Jinhua Institute of Zhejiang University, Jinhua 321299, China

3. College of Pharmaceutical Engineering of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

4. Polytechnic Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310015, China

5. National Key Laboratory of Chinese Medicine Modernization, Hangzhou 310058, China

6. School of Medicine, Hangzhou City University, Hangzhou 310015, China

Abstract: Objective To develop a greener and more efficient fucoidan preparation process addressing the current challenges of long production cycles, high costs, and environmental pollution in existing methods. **Methods** The novel process eliminates organic

收稿日期: 2025-02-10

基金项目: 国家重点研发计划项目(2024YFC3506901); 浙江省“尖兵领雁+X”科技计划项目(2025C02088); 技术开发委托合同(XH-2022-KYC-210000-0001); 金华市公益性技术应用研究项目(2023-4-188)

作者简介: 王欣雨(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制。E-mail: 22219171@zju.edu.cn

#共同第一作者: 陈 博(2002—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制。E-mail: 22360539@zju.edu.cn

***通信作者:** 龚行楚(1982—), 男, 博士, 副教授, 从事中药制药工程研究。E-mail: gongxingchu@zju.edu.cn

solvents and employs sequential steps to prepare fucoidan: multi-stage temperature-varied extraction, acidification, decolorization, dialysis, and vacuum drying. Fucoidan mass fraction and yield were selected as process evaluation criteria. Fishbone diagrams and failure mode and effects analysis were utilized to identify potential critical process parameters (CPPs). A definitive screening design (DSD) was used to confirm the CPPs as extraction temperature, extraction time, liquid-to-solid ratio, dialysis molecular weight cutoff, and decolorization time. Quantitative mathematical models were established to CPPs with evaluation criteria. Risk values under varying parameter conditions were calculated using Monte Carlo simulations, and the design space was determined based on risk thresholds, followed by experimental validation. **Results** Optimized process parameters included a liquid-to-solid ratio of 14—22 mg/mL, extraction temperature of 75—85 °C, extraction time of 26—30 min, decolorization time of 30—40 min, and dialysis molecular weight cutoff of 1 000—6 000. The resulting fucoidan exhibited mass fraction > 75% and yield > 3%. The greenness score of the novel process reached 77, surpassing the 59 score of conventional acid extraction. **Conclusion** The developed process achieves high-purity fucoidan, aligns with green manufacturing principles, and demonstrates strong potential for industrial-scale application.

Key words: fucoidan; *Sargassum fusiforme* (Harv.) Setch.; green chemistry; quality by design; industrialization

绿色制造已成为全球工业发展的重要趋势。1998 年,耶鲁大学的 Anastas 和 Warner 首次提出绿色化学的 12 项原则^[1],主张通过设计和采用更安全、环保的化学工艺与产品,从源头减少或消除对环境和人类健康的危害。2021 年,欧盟委员会发布的关于工业 5.0 的报告^[2],提出了以人为本、可持续性和韧性 3 大核心主张,其中可持续性强调工业发展应尊重地球的生态承载能力,有效降低工业活动对环境的影响。2022 年,美国发布的《国家先进制造业战略》中明确将清洁和可持续制造列为国家战略目标^[3]。2024 年,中共中央国务院发布的《关于加快经济社会发展全面绿色转型的意见》中明确提出,企业应开展绿色设计,推行绿色制造,降低产品全生命周期能源资源消耗和生态环境影响^[4]。在这一背景下,推动中药领域的绿色制造转型显得尤为迫切。

羊栖菜 *Sargassum fusiforme* (Harv.) Setch. 为褐藻门马尾藻科马尾藻属植物,主产于我国辽宁、山东、浙江等沿海地区,具有丰富的药用和营养价值,温州洞头区作为羊栖菜主产区之一,被誉为“中国羊栖菜之乡”。研究表明,羊栖菜含有多糖、蛋白质、多酚、微量元素等多类成分^[5]。其中,岩藻多糖因其抗氧化^[6]、抗病毒^[7]、抗肿瘤^[8-10]等生物活性,在疾病治疗^[11]、保健品生产^[12]、药物递送^[13-14]等领域已经有较多应用^[15-16]。

目前,岩藻多糖的提取主要依赖热水浸提、酸碱处理及盐溶液提取等传统方法^[17],然而,这些方法存在提取效率低、杂质含量高、成本较高等问题。尽管酶辅助提取法^[18]、超声/微波辅助提取法^[19]、低共溶剂提取法^[20]、亚临界水提取法^[21]等新兴提取技术在一定程度上提高了提取效率,但仍受限于成

本、设备规模及能耗,尚未实现大规模工业应用。在纯化方面,等电点沉淀、盐析及 *Sevage* 等方法虽能去除蛋白质^[22],但存在岩藻多糖纯度低、设备腐蚀风险高及使用有害溶剂(如氯仿)等问题。阴离子交换色谱法虽能基于硫酸基团特性实现岩藻多糖的高效纯化^[23],但其处理量有限^[24]。乙醇沉淀法虽操作简便,但存在挥发性有机化合物污染的风险。因此,开发一种环保、高效且适用于工业化生产的岩藻多糖制备工艺具有重要的现实意义。

本研究提出了一种不使用有机溶剂的高纯度岩藻多糖制备新工艺,该工艺包括多段变温提取、酸化、脱色、透析及真空干燥等步骤,并基于质量源于设计(quality by design, QbD)理念对工艺参数进行了系统优化。根据羊栖菜的药理活性及相关临床研究,确定了工艺评价指标。通过鱼骨图分析法与失效模式及影响分析(failure mode and effects analysis, FMEA)相结合,识别了潜在的关键工艺参数(critical process parameters, CPPs)。采用确定性筛选实验设计(definitive screening design, DSD)确定 CPPs,建立 CPPs 和工艺评价指标之间的定量数学模型,基于蒙特卡罗方法计算设计空间并验证其可靠性。最后,通过绿色度得分对新工艺与传统工艺进行了比较,以评估其环境友好性和可持续性,并指出新工艺存在的不足之处以及进一步改进方向。

1 仪器与材料

1.1 仪器

THY-2015B 型数控恒温槽,宁波天恒仪器厂;GX-3015 型高温循环器,宁波双嘉仪器有限公司;XS105 型电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;G6860A 型紫外可见分光光度仪,安捷伦

科技有限公司; Direct-Q 型纯水机, 杭州景元科技有限公司; 透析袋, 透析相对分子质量 1 000、3 500、6 000, 上海易佰聚经贸有限公司; MD2100 型透析夹, 上海源叶生物科技有限公司; DZF-6090B 型真空干燥箱, 天津市静海区赛得利斯实验分析仪器制造厂; Rotavapor R-200 型旋转蒸发仪, 瑞士苏黎世步琦有限公司。

1.2 材料

羊栖菜产地为温州洞头, 由浙江石原金牛化工有限公司提供, 经浙江大学药学院龚行楚副教授鉴定, 为马尾藻科马尾藻属藻类植物羊栖菜 *S. fusiforme* (Harv.) Setch. 的干燥藻体。

浓硫酸 (95.0%~98.0%)、双氧水 (30%)、苯酚 ($\geq 99.0\%$)、 NaClO_2 溶液 (25%), 国药集团化学试剂有限公司; *L*-岩藻糖对照品, 质量分数 $\geq 98\%$, 北京索莱宝科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 岩藻多糖提取工艺路线

根据前期预实验结果, 羊栖菜经过热水提取, 岩藻多糖得率不到 3%, 质量分数低于 30%, 而将热水提取后药渣重新煮沸提取, 多糖得率接近 10%, 质量分数高于 50%。因此, 本研究采用多段变温提取方式, 第 1 段热水提取能够除去羊栖菜中大部分小分子杂质; 第 2 段煮沸提取集中获得较高纯度多糖^[25]。将提取液浓缩、酸化、脱色、透析、真空干燥, 最终得到岩藻多糖, 步骤如图 1 所示。

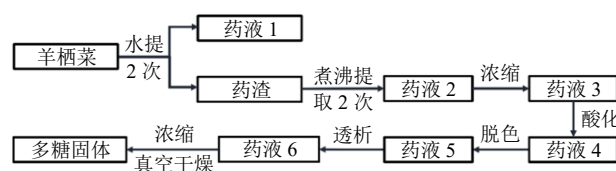


图 1 岩藻多糖制备工艺流程图

Fig. 1 Flow diagram for preparation of fucoidan

2.2 岩藻多糖制备流程

称取羊栖菜 20.00 g, 置于提取罐中, 加入 200 mL 去离子水使其吸水膨胀, 根据设定的液固比继续加入一定量的去离子水, 开始提取, 加热至提取罐中温度达到设定值时计时, 进行一定时间提取。相同条件重复提取 2 次。第 1 段提取完成后, 弃去水提液。开始第 2 段提取, 加入相同液固比的去离子水, 开始提取, 加热, 当提取罐中温度达到 100 °C 时开始计时, 提取一段时间, 相同条件重复提取 2 次。将第 2 段提取所得 2 次水提液合并, 将提取得

到的溶液用旋转蒸发仪浓缩至质量约 400 g。加入盐酸溶液调节 pH 值至 2~3, 离心, 取上清液按一定体积比缓慢加入 25% NaClO_2 溶液, 在设定温度下脱色一段时间。脱色后的溶液进行透析, 透析液置于清水环境中, 每日更换水 3 次, 持续透析 2 d。透析结束后, 将脱色后的溶液在旋转蒸发仪中浓缩, 55 °C 下真空干燥, 称定终产物质量 (m_0)。

2.3 工艺评价指标和潜在 CPPs 的确定

结合羊栖菜的药理活性及临床应用研究, 将岩藻多糖的质量分数及产率作为制备工艺评价指标。采用鱼骨图法筛选影响工艺评价指标的潜在风险因素, 结果如图 2 所示。

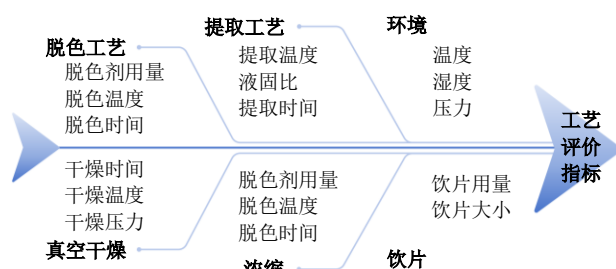


图 2 岩藻多糖制备工艺鱼骨图

Fig. 2 Fishbone diagram of fucoidan preparation process

基于鱼骨图 (图 2) 分析结果, 以 FMEA 法量化各工艺出现风险的概率以及对产品的最终影响。工艺失效事件发生频率 (P)、严重程度 (S) 和可检测程度 (D) 均按 0~10 分进行评估, 分值越高表示该因素的风险程度越大, 相乘分数为风险优先系数 (risk priority number, RPN, $\text{RPN} = S \times P \times D$), 0~50 视为低风险, 50 以上视为高风险, 将高风险工艺参数筛选为潜在的 CPPs。根据表 1 结果, 最终筛选得到潜在的 CPPs 为提取温度、提取时间、液固比、透析相对分子质量、脱色温度、脱色时间、脱色剂用量。

2.4 工艺评价指标的测定

2.4.1 岩藻多糖质量分数与产率的测定 岩藻多糖质量分数检测方法来源于中华人民共和国水产行业标准^[26]。精密称量 *L*-岩藻糖对照品 20 mg, 加水稀释成不同质量浓度的岩藻糖对照品溶液。精密量取 1.0 mL 不同质量浓度的 *L*-岩藻糖对照品溶液于比色管中, 在每个比色管中加入 52 mg/mL 苯酚溶液 1.0 mL, 塞上塞子, 混匀。加入 5.0 mL 浓硫酸, 静置 10 min, 涡旋混匀, 室温下静置 20 min。将得到的溶液在 490 nm 波长处测定吸光度 (A) 值。以岩藻多糖的质量浓度为横坐标 (X), A 值为纵坐标

表 1 FMEA 分析结果
Table 1 FMEA analysis results

来源	因素	S	P	D	RPN	等级
环境	温度	2	2	1	4	低
	湿度	2	2	1	4	低
	压力	2	2	1	4	低
饮片	饮片用量	3	2	1	6	低
	饮片大小	3	2	2	12	低
提取工艺	提取温度	6	5	2	60	高
	液固比	6	4	3	72	高
	提取时间	5	4	3	60	高
透析工艺	透析加水量	2	2	1	4	低
	透析相对分子质量	6	5	6	180	高
	透析时间	3	4	3	36	低
脱色工艺	脱色剂用量	7	5	3	105	高
	脱色温度	6	5	2	60	高
	脱色时间	5	4	3	60	高
真空干燥	干燥时间	2	2	1	4	低
	干燥温度	2	2	1	4	低
	干燥压力	2	2	1	4	低

标 (Y), 绘制标准曲线, 计算得到岩藻多糖标准曲线的回归方程为 $Y=2.3879X+0.008$, $R^2=0.9992$, 线性范围为 0.078~0.322 mg/mL。

将固体产物加入去离子水复溶, 称取复溶液 (m_1) 约 300 mg 于 25 mL 量瓶中, 摇匀。吸取样品溶液 1.0 mL, 按上述步骤操作, 测定 A 值。根据标准曲线求出相应的岩藻多糖质量浓度 (c_1)。精密称定干燥的称量瓶空瓶质量, 加入适量的复溶液后, 称定其质量。放入 105 °C 烘箱中干燥 3~4 h, 取出, 放入干燥器中至恒定质量, 称定质量。分别利用公式 (1)~(3) 计算岩藻多糖质量分数和产率。

$$W=(M_3-M_1)/(M_2-M_1) \tag{1}$$

$$\text{质量分数}=c_1V/m_1W \tag{2}$$

$$\text{产率}=m_0/M_0 \tag{3}$$

M_1 为干燥至恒定质量的称量瓶空瓶质量, M_2 为加入提取液后称量瓶和提取液总质量, M_3 为加入提取液后烘至恒定质量的称量瓶和固体总质量, m_0 为干燥后岩藻多糖固体质量, M_0 为称取的羊栖菜药材质量, c_1 为苯酚-硫酸法所测样品溶液中岩藻多糖质量浓度, V 为 25 mL 量瓶容量, W 为所测溶液总固含量

2.4.2 多糖脱色率的测定 取待测样品, 进行紫外-可见光谱 (200~800 nm 全波长) 扫描, 以确定色素的最大吸收波长, 结果见图 3。扫描结果未出现明显的吸收峰, 根据颜色互补原理, 样品溶液呈现

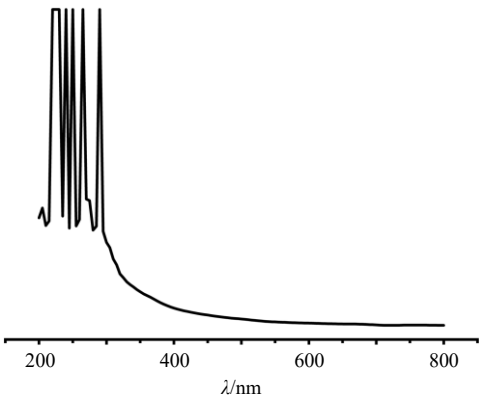


图 3 紫外-可见全光谱扫描图
Fig. 3 UV-vis full-spectrum scanning image

黄褐色, 因此推测其主要吸收紫色和蓝色光。基于此, 选择在 450 nm 处测定脱色前后样品溶液的 A 值, 并基于公式 (4) 计算多糖的脱色率。

$$\text{脱色率}=(A_1-A_2)/A_1 \tag{4}$$

A_1 为脱色前 A 值, A_2 为脱色后 A 值

2.5 单因素实验

2.5.1 脱色工艺参数考察 NaClO_2 溶液是工业上常见的脱色剂, 不易发生分解, 较为稳定, 在储运方面拥有优势。因此, 本研究使用 NaClO_2 溶液进行脱色。表 2 展示了脱色剂用量对岩藻多糖质量分数、产率、脱色率的影响。经过单因素方差分析, 发现脱色剂用量对脱色率 ($P=0.0002$) 和岩藻多糖产率 ($P=0.0002$) 均有显著影响, 但对多糖质量分数无显著影响 ($P=0.299$)。综合考虑后, 后续脱色剂用量的考察范围为 0.01~0.06 mL/g 药材。

表 2 不同脱色剂用量对岩藻多糖质量分数、脱色率、产率的影响

Table 2 Effects of different decolorizing agent dosages on mass fraction, decolorization rate, and yield of fucoidan			
脱色剂用量/(mL·g ⁻¹)	质量分数/%	脱色率/%	产率/%
0.01	81.15±4.33	68.90±2.89	4.57±0.01
0.03	85.52±0.20	91.28±0.41	5.31±0.05
0.06	82.09±3.64	92.42±0.06	5.41±0.06
0.09	80.79±2.56	91.18±0.77	5.10±0.05

改变脱色时间为 20、40、60、80 min 开展实验, 其结果如表 3 所示。经过单因素方差分析发现, 脱色时间对于岩藻多糖产率 ($P=0.0383$) 以及脱色率 ($P=0.0083$) 有显著影响, 而对岩藻多糖质量分数 ($P=0.4670$) 无显著影响。综合考虑后, 后续脱色时间的考察范围为 20~40 min。

改变脱色温度为 30、40、50、60 °C 进行单因

2.6.2 CPPs 筛选 本研究采用加权决定系数法来筛选 CPPs^[28], 其步骤如下。

根据公式 (5), 对各工艺评价指标进行标准化处理。

$$Y'_i = (Y_i - \bar{Y}_i) / s_i \quad (5)$$

Y'_i 为各评价指标标准化后的值, Y_i 为各指标实验得到的真实值, $\bar{Y}_i$ 为各指标平均值, 下标 i 取值为 1 和 2, 分别对应 2 个工艺评价指标, s_i 为该评价指标实测值的标准差

通过多元线性回归建立工艺参数与各指标间的定量模型, 见公式 (6)。

$$Y'_i = a_{0,i} + \sum_{j=1}^7 a_{i,j} X_j \quad (6)$$

$a_{0,i}$ 为常数项, $a_{i,j}$ 为各项的回归系数, X_j 为工艺参数, 下标 j 取值为 1, 2, ..., 7, 分别对应 7 个工艺参数

采用公式 (7) 计算加权标准偏回归系数之和, 即得到各方法参数的重要性指数 (I_j)。

$$I_j = \sum_{i=1}^2 w_i |a_{i,j}| \quad (7)$$

I_j 为各参数的重要性指数, w_i 为各指标的权重

本研究工艺评价指标为岩藻多糖质量分数、产率, 各指标的权重同样重要, 即 $w_i = 0.5$ 。根据多元线性拟合建模得到每个模型的决定系数 (R^2), 通过公式 (8) 可计算得加权决定系数之和。

$$R_w^2 = \sum_{i=1}^2 w_i R_i^2 \quad (8)$$

R_w^2 为各指标加权决定系数之和, R_i^2 为各指标模型的决定系数, 每个指标的权重 w_i 与重要性指数 I 计算时相等

各模型标准偏回归系数及重要性指数结果如表 7 所示。设置 R_w^2 变化阈值为 0.02 时, 认为在这 1 步建模过程中删去了 1 个关键参数, 剩下的工艺参数与这 1 步删去的这个参数即认为是 CPPs, 其结果见表 8。

根据表 8 中 R_w^2 差值, 确定 CPPs 为 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_6 , 即提取温度、提取时间、液固比、透析相对分子质量、脱色时间。

CPPs 对工艺评价指标的影响。采用公式 (9)

表 7 各模型标准偏回归系数及 I 结果

Table 7 Results of standard partial regression coefficient and I of each model

模型 项目	标准偏回归系数		I
	Y_1	Y_2	
X_1	-0.426 7	-0.233 1	0.329 9
X_2	0.175 2	0.591 8	0.383 5
X_3	0.183 1	0.328 5	0.255 8
X_4	-0.014 7	-0.233 8	0.124 2
X_5	-0.019 1	-0.213 4	0.116 2
X_6	-0.417 6	-0.139 0	0.278 3
X_7	-0.082 7	-0.131 3	0.107 0

表 8 依次删去方法参数后模型 R_w^2 结果

Table 8 R_w^2 results of model after removing method parameters in turn

模型项目	R^2		R_w^2	R_w^2 差值
	Y_1	Y_2		
所有因子建模	0.333 0	0.505 0	0.419 0	—
删除 X_7	0.327 7	0.491 6	0.409 6	0.009 4
删除 X_5	0.327 4	0.456 1	0.391 8	0.017 9
删除 X_4	0.327 2	0.413 6	0.370 4	0.021 3
删除 X_3	0.301 1	0.329 7	0.315 4	0.055 0
删除 X_6	0.165 5	0.314 7	0.240 1	0.075 3
删除 X_1	0.023 9	0.272 4	0.148 1	0.091 9

建立 CPPs 与工艺评价指标之间的定量模型。

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^n b_i X_{c,i} + \sum_{i=1}^n b_{ii} X_{c,i}^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n b_{ij} X_{c,i} X_{c,j} \quad (9)$$

b_0 为常数项, n 为 CPPs 数目, b_i 、 b_{ii} 、 b_{ij} 为各项的偏回归系数, $X_{c,i}$ 、 $X_{c,j}$ 为各 CPPs

采用逐步回归法简化模型, 添加项和删除项的显著性水平设为 0.1。各模型的偏回归系数和方差分析结果见表 9。模型的 P 值均小于 0.05, 表明模型具有显著性, 模型的的决定性系数均大于 0.85, 表明所建立的模型能够较好地拟合数据, 能够解释大多数变异。

工艺评价指标与 CPPs 间的关系见图 4、5。分析 2 图可知, 随着提取时间的延长, 岩藻多糖的产

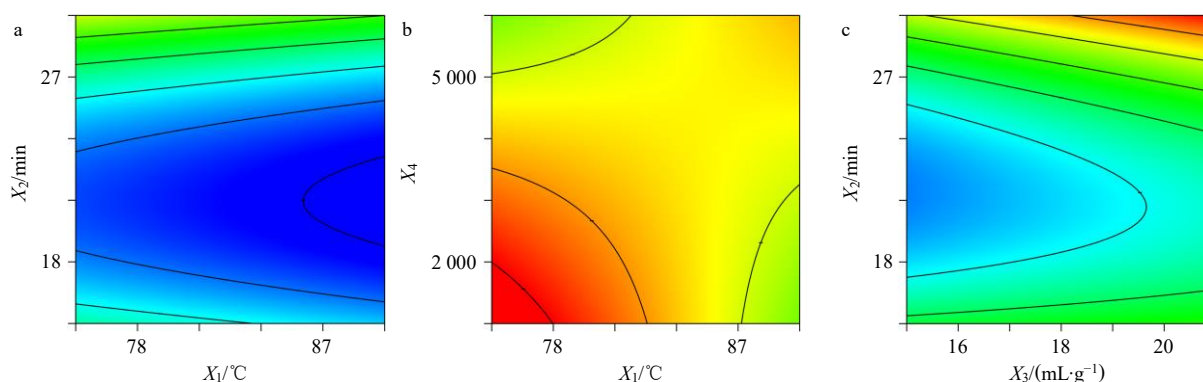
表 9 多元二次回归模型的偏回归系数及方差分析

Table 9 Partial regression coefficient and analysis of variance of multiple quadratic regression model

工艺评价 指标	岩藻多糖质量分数		岩藻多糖产率	
	偏回归系数	P 值	偏回归系数	P 值
常数项	79.110 9	—	2.674 2	—
X_1	-2.879 3	0.005 4	-0.237 1	0.031 6
X_2	—	—	0.602 1	-0.000 1
X_3	—	—	0.334 3	0.005 2
X_4	—	—	-0.237 9	0.031 2
X_6	-2.817 9	0.000 6	—	—
$X_1 X_4$	3.503 9	0.002 7	0.579 5	0.000 2
$X_1 X_6$	-3.731 9	0.001 7	—	—
$X_2 X_3$	1.822 6	0.082 7	0.197 5	0.084 2
X_1^2	-3.304 1	0.081 5	—	—
X_2^2	—	—	1.462 2	<0.000 1
模型 P 值	0.000 2		<0.000 1	
R^2	0.851 9		0.923 3	

“—” 代表经过逐步回归, 该项被删去。

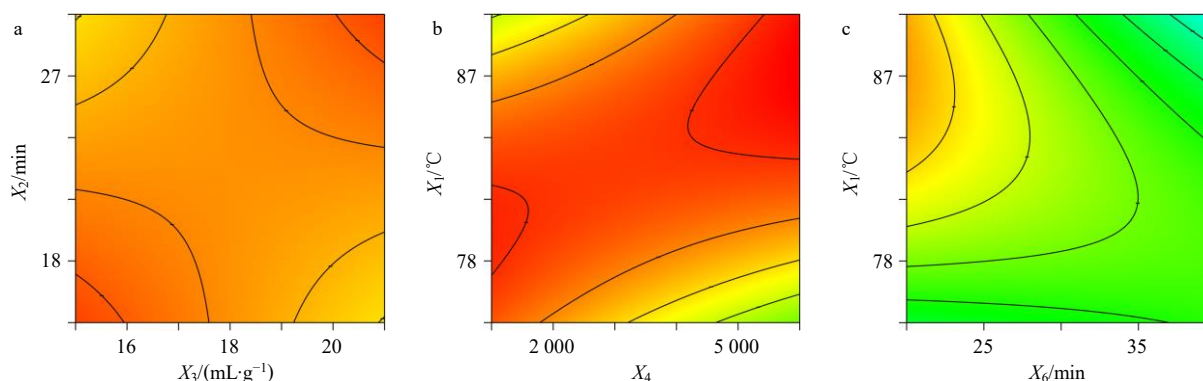
“—” means the item was deleted after stepwise regression.



a-固定 X_3 为 $18 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 X_4 为 3 500; b-固定 X_2 为 18 min、 X_3 为 $21 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$; c-固定 X_1 为 78°C 、 X_4 为 1 000。
a-fixed X_3 for $18 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, X_4 for 3 500; b-fixed X_2 for 18 min, X_3 for $21 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$; c-fixed X_1 for 78°C , X_4 for 1 000.

图 4 岩藻多糖产率等高线图

Fig. 4 Contour plot of fucoidan yield



a-固定 X_1 为 78°C 、 X_4 为 1 000、 X_6 为 30 min; b-固定 X_2 为 30 min、 X_3 为 $21 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 X_6 为 20 min; c-固定 X_2 为 30 min、 X_3 为 $15 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 X_4 为 6 000。
a-fixed X_1 for 78°C , X_4 for 1 000, X_6 for 30 min; b-fixed X_2 for 30 min, X_3 for $21 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, X_6 for 20 min; c-fixed X_2 for 30 min, X_3 for $15 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, X_4 for 6 000.

图 5 岩藻多糖质量分数等高线图

Fig. 5 Contour plot of fucoidan mass fraction

率呈现出先下降后上升的趋势。另一方面,岩藻多糖的产率与液固比呈正相关,即随着液固比的增加,产率也随之提升;而与透析相对分子质量及提取温度则呈负相关,岩藻多糖的质量分数随着提取时间、透析相对分子质量、液固比以及脱色时间的增加而逐渐降低。随着提取温度的升高,质量分数初期呈上升趋势,但在达到某一峰值后,质量分数又逐渐下降。

2.7 设计空间的建立及验证

使用 MATLAB (R2023a, 美国 MathWorks 公司) 软件,基于蒙特卡罗方法计算不同工艺条件下工艺评价指标不达标的概率,将该概率作为风险大小的定量表征值^[29-31]。将岩藻多糖的质量分数和产率下限值分别设置为 75%和 3%,工艺最大可接受的风险值为 0.1,低于该风险阈值的参数组合为设计空间内的点。分别设置工艺参数提取温度、提取时间、液固比、透析相对分子质量、脱色剂用量、

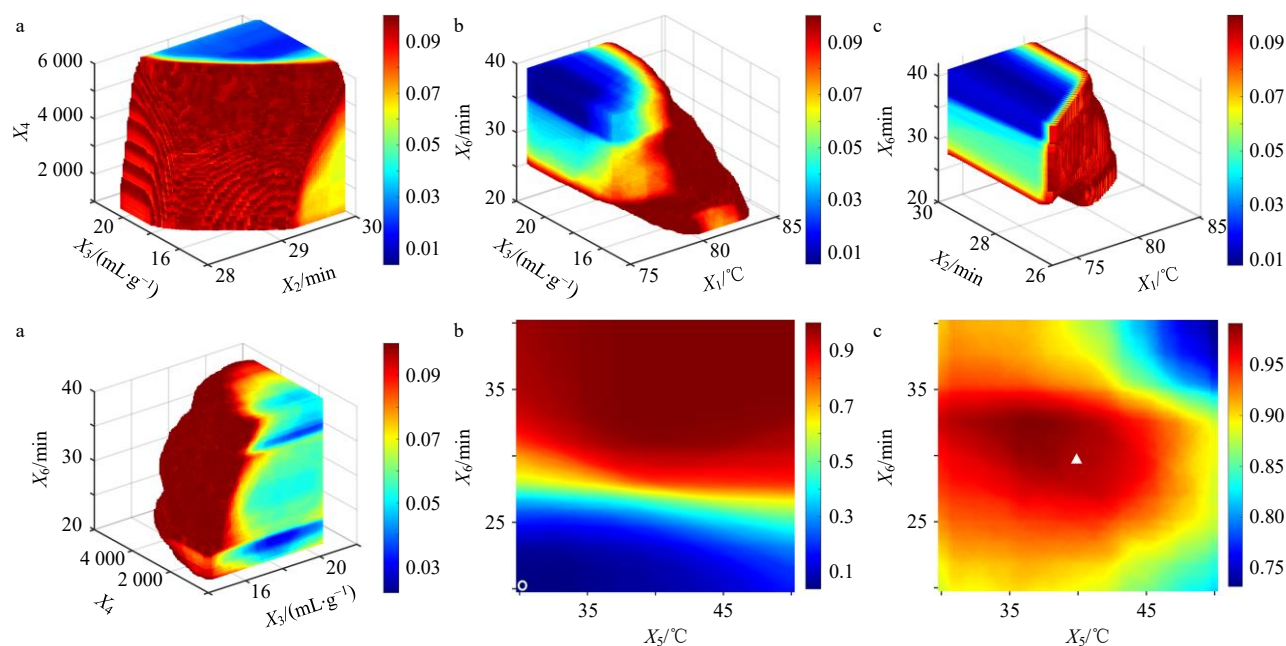
脱色时间的计算步长为分别 0.2、0.03、0.05、50、0.001、0.4,模拟次数 1 000 次,逐步回归 P 值为 0.05,计算所得设计空间如图 6 所示。根据设计空间范围,推荐 CPPs 范围为液固比 $14\sim 22 \text{ mg/mL}$,提取温度 $75\sim 85^\circ\text{C}$,提取时间 $26\sim 30 \text{ min}$,脱色时间 $30\sim 40 \text{ min}$,透析相对分子质量 $1\,000\sim 6\,000$ 。

为验证设计空间的可靠性,分别在设计空间内、外各选取一点进行验证实验(图 6-e、f)。每个验证点重复 3 次,验证实验条件及结果如表 10 所示。利用公式(10)计算实验值与预测值的相对偏差(RD)。

$$\text{RD} = |\text{EV} - \text{PV}| / \text{EV} \quad (10)$$

EV 为实验值, PV 为预测值

由验证实验的结果可知,所得 RD 指标均小于 8%,实测值与预测值接近,说明模型的预测性能良好。设计空间内的实验点结果均符合工艺评价指标要求,而设计空间外的点均不能达到所设的标准。



a-固定 X_1 为 82 °C、 X_6 为 20 min; b-固定 X_2 为 30 min、 X_4 为 1 000; c-固定 X_3 为 21 mL·g⁻¹、 X_4 为 1 000; d-固定 X_1 为 80 °C、 X_2 为 30 min; e-设计空间内验证点 (●为设计空间内一点); f-设计空间外验证点 (▲为设计空间外一点)。
a-fixed X_1 for 82 °C, X_6 for 20 min; b-fixed X_2 for 30 min, X_4 for 1 000; c-fixed X_3 for 21 mL·g⁻¹, X_4 for 1 000; d-fixed X_1 for 80 °C, X_2 for 30 min; e-validation points within design space (● is a point within design space); f-validation points outside design space (▲ is a point outside design space).

图 6 岩藻多糖制备工艺设计空间及验证点

Fig. 6 Fucoidan preparation process design space and verification points

表 10 验证实验条件及结果

Table 10 Verification conditions and results

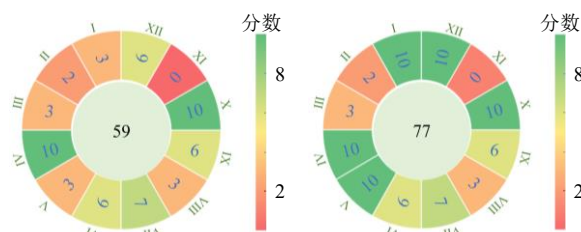
验证点	X_1 / °C	X_2 / min	X_3 / (mL·g ⁻¹)	X_4	X_6 / min	产率/%			质量分数/%		
						实测值	预测值	RD	实测值	预测值	RD
设计空间内	85	30	15	1 000	20	4.03	4.17	3.47	83.95	78.86	6.06
	85	30	15	1 000	20	4.15	4.17	0.48	81.41	78.86	3.13
	85	30	15	1 000	20	4.07	4.17	2.46	82.49	78.86	4.40
设计空间外	75	15	15	6 000	30	2.63	2.82	7.22	77.13	77.01	0.16
	75	15	15	6 000	30	2.67	2.82	5.70	74.50	77.01	3.37
	75	15	15	6 000	30	2.76	2.82	2.28	75.69	77.01	1.74

说明所建立的设计空间可靠,在设计空间内进行操作能够得到所需产品。

2.8 绿色度计算

课题组先前基于绿色化学 12 项原则,提出了一种绿色度评估方法^[32]。根据该法对传统酸提结合乙醇纯化的制备工艺与本研究所提出的新工艺进行了对比分析,如图 7 所示。结果显示,相较于传统工艺,本研究提出的新工艺在绿色度打分指标上提升了 30.51%。

新工艺路线在设计时即避免使用有机溶剂,避免了挥发性有机化合物污染,遵循绿色化学第 1 条原则——防止污染产生优于治理。具体而言,新工



a-酸提醇沉工艺; b-新工艺; I~XII-12 项原则。
a-acid extraction and alcohol precipitation process; b-new technology;
I~XII-12 principles.

图 7 绿色度计算结果

Fig. 7 Greenness calculation results

艺以水作为唯一溶剂,具有安全、无害的优点,这也符合第 5 条原则中要求的溶剂较安全。此外,该

工艺无有机溶剂,那么也避免了有机溶剂存放和使用过程中的燃爆风险,符合绿色化学第 12 原则——降低化学事故隐患。综上所述,新工艺更符合绿色化学原则,工艺打分为 77 分,相比酸提醇沉工艺的 59 分有明显提升。

3 讨论

新工艺在环境保护和岩藻多糖质量分数方面相较于传统工艺取得了显著提升,但仍存在一些不足之处。在提取阶段,热水提取过程中仍有部分岩藻多糖被提出,造成损失。多段变温提取方式不仅耗水资源量大,且能耗高。透析工艺所需时间较长,降低了整体制备效率。因此,本实验工艺仍有改进空间,比如采用连续提取代替间歇提取,以及采用膜分离替代透析等。

本研究结合 QbD 及绿色化学理念,提出了不使用有机溶剂的岩藻多糖制备新工艺,该工艺主要步骤包括多段变温提取、酸化、脱色、透析、真空干燥。利用鱼骨图和 FMEA 方法确定潜在 CPPs,使用 DSD 筛选 CPPs 为提取温度、提取时间、液固比、透析相对分子质量、脱色时间。采用二阶多项式建立定量模型,模型 R^2 大于 0.85。采用风险控制的思想获得设计空间,推荐 CPPs 的操作范围为液固比 14~22 mg/mL,提取温度 75~85 °C,提取时间 26~30 min,脱色时间 30~40 min,透析相对分子质量 1 000~6 000。验证结果表明,该设计空间较为可靠。

新工艺遵循绿色化学原则,采用水为唯一溶剂,避免了有害溶剂,提高工艺的安全性、绿色性,降低化学事故风险。本研究所提出的新工艺绿色度得分从传统酸提碱沉工艺的 59 分提升到 77 分,具有良好工业化前景。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Anastas P T, Warner J C. *Green Chemistry: Theory and Practice* [M]. Oxford: Oxford university press, 2000: 29-56.
- [2] European Commission. *Directorate-General for Research and Innovation. Industry 5.0: Towards a Sustainable, Human-Centric and Resilient European Industry* [M/OL]. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2021. <https://data.europa.eu/doi/10.2777/308407>.
- [3] National Science and Technology Council. Subcommittee on Advanced Manufacturing. National Strategy for Advanced Manufacturing [R/OL]. (2022-10-07) [2025-02-01]. <https://www.manufacturingusa.com/reports/national-strategy-advanced-manufacturing>.
- [4] 中华人民共和国中央人民政府. 中共中央国务院关于加快经济社会发展全面绿色转型的意见 [EB/OL]. (2024-08-30) [2025-02-01]. https://www.gov.cn/gongbao/2024/issue_11546/202408/content_6970974.html.
- [5] 贾璐铭, 赵菲, 刘怡君, 等. 羊栖菜多糖组成结构、药理活性及其应用研究进展 [J]. 农产品加工, 2024(14): 75-79.
- [6] Mahgoub H A, El-Adl M M, Ghanem H M, *et al.* The effect of fucoidan or potassium permanganate on growth performance, intestinal pathology, and antioxidant status in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Fish Physiol Biochem*, 2020, 46(6): 2109-2131.
- [7] Oliyai N, Moosavi-Nasab M, Mazloomi S M. Therapeutic activity of fucoidan and carrageenan as marine algal polysaccharides against viruses [J]. *3 Biotech*, 2022, 12(7): 154.
- [8] Rasin A B, Silchenko A S, Kusaykin M I, *et al.* Enzymatic transformation and anti-tumor activity of *Sargassum horneri* fucoidan [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 246: 116635.
- [9] Etman S M, Elnaggar Y S R, Abdallah O Y. "Fucoidan, a natural biopolymer in cancer combating: From edible algae to nanocarrier tailoring" [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 147: 799-808.
- [10] 胡晨熙, 肖保衡, 刘剑, 等. 羊栖菜褐藻糖胶 CSFP-1 抗肿瘤活性及机制研究 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(9): 1581-1588.
- [11] 太敏瑞, 蔡泓滢, 李瑞, 等. 不同褐藻来源岩藻多糖理化性质及其免疫调节作用 [J]. 广东海洋大学学报, 2022, 42: 62-71.
- [12] Koyanagi S, Tanigawa N, Nakagawa H, *et al.* Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and antitumor activities [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 65(2): 173-179.
- [13] George A, Shrivastav P S. Fucoidan, a brown seaweed polysaccharide in nanodrug delivery [J]. *Drug Deliv Transl Re*, 2023, 13(10): 2427-2446.
- [14] Suresh V, Anbazhagan C, Thangam R, *et al.* Stabilization of mitochondrial and microsomal function of fucoidan from *Sargassum plagiophyllum* in diethylnitrosamine induced hepatocarcinogenesis [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92(2): 1377-1385.
- [15] 何维彬, 高亮, 艾玉廷, 等. 羊栖菜化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2327-2337.
- [16] 秦益民, 任丹丹, 姜进举, 等. 岩藻多糖的功能特性及其在食品中的应用 [J]. 食品科学技术学报, 2021,

- 39(5): 26-31.
- [17] Isnansetyo A, Fikriyah A, Kasanah N, *et al.* Non-specific immune potentiating activity of fucoidan from a tropical brown algae (Phaeophyceae), *Sargassum cristaefolium* in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Aquac Int*, 2016, 24(2): 465-477.
- [18] 符灏瑜, 周定鹏, 刘静, 等. 羊栖菜多糖的提取、理化性质研究及其应用 [J]. 轻工科技, 2021, 37(3): 7-9.
- [19] Flórez-Fernández N, López-García M, González-Muñoz M J, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of fucoidan from *Sargassum muticum* [J]. *J Appl Phycol*, 2017, 29(3): 1553-1561.
- [20] Saravana P S, Cho Y N, Woo H C, *et al.* Green and efficient extraction of polysaccharides from brown seaweed by adding deep eutectic solvent in subcritical water hydrolysis [J]. *J Clean Prod*, 2018, 198: 1474-1484.
- [21] Huang C Y, Wu S J, Yang W N, *et al.* Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process [J]. *Food Chem*, 2016, 197: 1121-1129.
- [22] Rajauria G, Ravindran R, Garcia-Vaquero M, *et al.* Purification and molecular characterization of fucoidan isolated from *Ascophyllum nodosum* Brown seaweed grown in Ireland [J]. *Mar Drugs*, 2023, 21(5): 315.
- [23] Sanniyasi E, Venkatasubramanian G, Anbalagan M M, *et al.* *In vitro* anti-HIV-1 activity of the bioactive compound extracted and purified from two different marine macroalgae (seaweeds) (*Dictyota bartayesiana* J. V. Lamouroux and *Turbinaria decurrens* Bory) [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12185.
- [24] Wang M, Veeraperumal S, Zhong S, *et al.* Fucoidan-derived functional oligosaccharides: Recent developments, preparation, and potential applications [J]. *Foods*, 2023, 12(4): 878.
- [25] 陈博, 王欣雨, 艾玉廷, 等. 基于裂区设计优化适用于多批次羊栖菜的提取工艺参数 [J]. 中草药, 2024, 55(17): 5822-5831.
- [26] 岩藻多糖 [S]. 2012: 3.
- [27] Jones B, And Nachtsheim C J. A class of three-level designs for definitive screening in the presence of second-order effects [J]. *J Qual Technol*, 2011, 43(1): 1-15.
- [28] 严斌俊, 郭正泰, 瞿海斌, 等. 丹红注射液醇沉关键工艺参数筛选方法 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(11): 1672-1675.
- [29] Tai Y N, Zhao M T, Ding F, *et al.* Analytical quality by design based on knowledge organization: A case study of developing an ultrahigh-performance liquid chromatography method for the detection of phenolic compounds [J]. *Phytochem Anal*, 2024, 35(5): 1088-1099.
- [30] Zhao M T, Tai Y N, Wu G L, *et al.* Integrated application of risk management techniques in developing an analysis method for traditional Chinese medicine: A case study of a percolation solution for Xiaochaihu Capsules [J]. *Chemosensors*, 2024, 12(8): 161.
- [31] Abudurehman K, Wang Q L, Zhang H, *et al.* Development of a QAMS analysis method for industrial lanolin alcohol based on the concept of analytical quality by design [J]. *Separations*, 2024, 11(9): 276.
- [32] Ren D, Xie J, Chen T, *et al.* Design and optimization of a greener sinomenine hydrochloride preparation process considering variations among different batches of the medicinal herb [J]. *Chin J Chem Eng*, 2024, 71: 77-90.

[责任编辑 郑礼胜]