

## 马齿苋多糖的活性炭脱色工艺优选

吴光杰, 李玉萍\*, 李资玲, 龚妍春

(江西科技师范大学生命科学学院, 南昌 330013)

**[摘要]** 目的: 优选马齿苋多糖的活性炭脱色工艺。方法: 在单因素试验基础上, 根据 Box-Behnken 中心组合设计原理, 选取活性炭用量、脱色时间和脱色温度三因素三水平进行响应面分析, 建立马齿苋多糖溶液脱色率的二次多项数学模型, 分析各因素显著性, 确定马齿苋多糖溶液的最佳脱色工艺。结果: 最佳工艺条件为活性炭用量  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 脱色时间 50 min, 脱色温度  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 脱色率 68.05%。结论: 优选的脱色工艺简单、稳定、可预测性好。

**[关键词]** 马齿苋; 多糖; 活性炭; 响应面法; 脱色工艺

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0043-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013120043

## Optimization of Depigmenting Technology for Polysaccharides from *Portulaca oleracea* with Activated Carbon

WU Guang-jie, LI Yu-ping\*, LI Zi-ling, GONG Yan-chun

(College of Life Science, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize depigmenting technology of polysaccharides from *Portulaca oleracea* with activated carbon. **Method:** On the basis of single-factor tests, according to Box-Behnken center-uni- ted experimental design principles, response surface analysis of three factors and three levels was adopted with activated carbon dosage, depigmenting time and temperature as factors. A second order quadratic equation for decolorization of polysaccharides was built, after analyzed significance of three factors, optimal decolorization conditions of polysaccharides solution was concluded. **Result:** Optimal decolorization technology were as follows: the amount of activated carbon  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , decolorization time 50 minutes, decolorization temperature at  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Under these conditions, decolorization rate of polysaccharides was up to 68.05%. **Conclusion:** This optimized decolorization technology was simple and stable with good predictability.

**[Key words]** *Portulaca oleracea*; polysaccharides; activated carbon; response surface methodology; decolorization technology

马齿苋广泛分布于我国境内,具有清热解毒、凉血止血的功效<sup>[1-3]</sup>,含有生物碱、黄酮、香豆素、去甲肾上腺激素、多巴胺、多糖和蒽醌苷等生物活性物质,其中马齿苋多糖是由一系列单糖聚合而成的大

分子物质,研究表明多糖类物质具有增强人体免疫力、抗肿瘤、抗衰老、降糖及改善糖尿病症状的作用<sup>[4-6]</sup>。

马齿苋多糖水提醇沉后得到的多糖色泽较深,不利于马齿苋多糖成分的进一步分离和马齿苋多糖产品的开发。目前,多糖脱色方法主要有活性炭法、双氧水法及大孔树脂脱色法等。预试验结果表明,利用双氧水法脱色可能会破坏多糖的天然结构,影响马齿苋多糖的生物活性;而树脂法操作较复杂,且树脂价格较贵,样品处理量有限,不利于大规模应用;活性炭价格便宜、易得,对深色水性溶液具有较

**[收稿日期]** 20130106(011)

**[基金项目]** 南昌市产学研项目(2010CXYS002)

**[第一作者]** 吴光杰, 硕士, 讲师, 从事天然产物研究, Tel: 0791-83801937, E-mail: wgjql@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \* 李玉萍, 博士, 教授, 从事生物医学药学研究, Tel: 0791-88539361, E-mail: liyp20012000@yahoo.com.cn

好的脱色能力。因此,本实验采用活性炭对马齿苋多糖溶液进行脱色,优选其脱色工艺参数,为马齿苋多糖的开发应用提供实验依据。

### 1 材料

Lambda 35 型紫外-可见分光光度计(美国 Perkin Elmer 公司),Primo R 型高速离心机(德国 Heraeus 公司),JJ500 型精密电子天平(美国双杰兄弟公司)。

马齿苋购自南昌市黄庆仁栈华氏大药房,产地江西,经江西科技师范大学生命科学学院李玉萍教授鉴定为马齿苋科马齿苋属马齿苋 *Portulaca oleracea* L. 的干燥全草,试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 马齿苋多糖的制备与测定** 称取干燥的马齿苋粉末 10 g,置索氏提取器中,加入石油醚(沸程 60~90 ℃)150 mL,于 90 ℃ 回流提取 2 h 脱脂,抽滤,滤渣挥干溶剂后,加 80% 乙醇 150 mL 于 95 ℃ 水浴回流 2 h,双层滤布过滤,滤渣加 400 mL 水于 90 ℃ 回流提取 1 h,双层滤布过滤,滤渣加水 200 mL 于 90 ℃ 回流提取 2 次,每次 1 h,过滤,合并 3 次滤液,离心(5 000 r·min<sup>-1</sup>,10 min),取上清液浓缩,浓缩液中加入无水乙醇使乙醇体积分数达 80% 以上,置于 4 ℃ 冰箱中醇沉过夜,离心,沉淀物依次用无水乙醇、丙酮、乙醚各洗涤 2 次,真空干燥(60 ℃,0.095 MPa)至恒重,即得。称取马齿苋多糖 10 g,加水溶解并定容至 1 L,得 10 g·L<sup>-1</sup> 的马齿苋多糖溶液,备用,于 420 nm 处测定马齿苋多糖溶液脱色前后的吸光度。

$$\text{脱色率} = (A_{\text{脱色前}} - A_{\text{脱色后}}) / A_{\text{脱色前}} \times 100\%$$

#### 2.2 单因素试验考察

**2.2.1 活性炭用量** 固定脱色温度 40 ℃,脱色时间 40 min,考察活性炭用量(5,10,20,30,40,60 g·L<sup>-1</sup>)对马齿苋多糖溶液脱色效果的影响,结果脱色率依次为 45.21%,54.36%,63.75%,65.38%,65.51%,66.02%,故选择活性炭用量 20 g·L<sup>-1</sup>。

**2.2.2 脱色时间** 固定活性炭用量 20 g·L<sup>-1</sup>,脱色温度 40 ℃,考察脱色时间(10,20,30,40,50,60,70 min)对马齿苋多糖溶液脱色效果的影响,结果脱色率依次为 56.91%,60.37%,67.11%,68.20%,68.01%,67.72%,67.21%,故选择脱色时间 40 min。

**2.2.3 脱色温度** 固定活性炭用量 20 g·L<sup>-1</sup>,脱色时间 40 min,考察脱色温度(20,30,40,50,60,70,80 ℃)对马齿苋多糖溶液脱色效果的影响,结果脱色

率依次为 60.80%,65.01%,67.91%,68.82%,67.05%,66.31%,64.25%,说明温度对活性炭的吸附性影响较大。当温度升高时,色素分子的扩散速度加快,多糖溶液的黏度下降,有利于色素的吸附,但当温度 >50 ℃ 时,色素的解吸附速率也加快,故选择脱色温度约 50 ℃。

**2.3 响应面法优化脱色工艺** 在单因素试验基础上,采用中心组合试验 Box-Behnken 设计方案。选取活性炭用量、脱色时间及脱色温度为自变量,设计 -1,0,1 水平,按方程  $x_i = (X_i - X_0) / \Delta X$  对自变量进行编码,其中,  $x_i$  为变量的编码值,  $X_i$  为变量的真实值,  $X_0$  为试验中心点变量的真实值,  $\Delta X$  为变量的变化步长,以脱色率为响应值,因素水平编码见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 马齿苋多糖的活性炭脱色工艺 Box-Behnken 中心组合试验因素水平

编码	$X_1$ 活性炭用量 /g·L <sup>-1</sup>	$X_2$ 脱色时间 /min	$X_3$ 脱色温度 /℃
-1	10	30	40
0	20	40	50
1	30	50	60

表 2 马齿苋多糖的活性炭脱色工艺 Box-Behnken 中心组合试验安排

No.	$X_1$	$X_2$	$X_3$	脱色率/%	
				实测值	预测值
1	-1	-1	0	50.50	50.55
2	1	-1	0	60.79	60.65
3	-1	1	0	53.21	53.35
4	1	1	0	68.01	67.95
5	-1	0	-1	51.19	51.37
6	1	0	-1	63.90	64.28
7	-1	0	1	53.52	53.13
8	1	0	1	65.09	64.92
9	0	-1	-1	55.19	54.98
10	0	1	-1	63.00	62.68
11	0	-1	1	58.53	58.83
12	0	1	1	61.06	61.23
13	0	0	0	60.00	60.14
14	0	0	0	61.51	60.14
15	0	0	0	60.50	60.14
16	0	0	0	59.04	60.14
17	0	0	0	59.77	60.14

利用 Design Expert 7.0 软件对表 2 中试验数据进行多元回归拟合,得二次多项回归模型方程  $Y = 60.14 + 6.17X_1 + 2.52X_2 + 0.60X_3 + 1.13X_1X_2 - 0.28X_1X_3 - 1.32X_2X_3 - 1.51X_1^2 - 0.51X_2^2 - 0.21X_3^2$ ,对该模型进行显著性检验见表 3,回归模型系数显著性检验见表 4。

表 3 回归模型方差分析

变异来源	SS	f	MS	F	P
模型	382.77	9	42.53	70.93	<0.000 1
残差	4.2	7	0.60		
失拟项	0.71	3	0.24	0.27	0.845 2
纯误差	3.49	4	0.87		
总和	386.97	16			

注: $R^2 = 0.989 2$ ,校正  $R^2 = 0.975 2$ 。

表 4 回归模型系数的显著性检验

因素	回归系数	f	标准偏差	95%		P
				置信下限	置信上限	
截距	60.14	1	0.35	59.32	60.96	
$X_1$	6.17	1	0.27	5.53	6.82	<0.000 1
$X_2$	2.52	1	0.27	1.88	3.17	<0.000 1
$X_3$	0.60	1	0.27	-0.047	1.25	0.064 5
$X_1X_2$	1.13	1	0.39	0.21	2.04	0.022 8
$X_1X_3$	-0.28	1	0.39	-1.19	0.64	0.500 5
$X_2X_3$	-1.32	1	0.39	-2.24	-0.41	0.011 1
$X_1^2$	-1.51	1	0.38	-2.40	-0.62	0.005 2
$X_2^2$	-0.51	1	0.38	-1.40	0.38	0.220 6
$X_3^2$	-0.21	1	0.38	-1.10	0.68	0.599 5

由表 3 可知,回归模型极显著,失拟项不显著。 $R^2 = 0.989 2$ ,说明该模型能解释 98.92% 响应值的变化,因而该模型的拟合程度较好,试验误差小,可用此模型来分析和预测活性炭对马齿苋多糖的脱色率。由表 4 可知,模型一次项  $X_1, X_2$  对脱色率影响极显著,  $X_3$  则影响不显著;二次项  $X_1^2$  对脱色率影响显著,  $X_2^2$  和  $X_3^2$  不具显著性影响;交互项  $X_1X_2, X_2X_3$  对脱色率影响显著,  $X_1X_3$  则不具显著性影响。

**2.4 验证试验** 通过软件分析得马齿苋多糖溶液脱色的最佳条件为活性炭用量  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,脱色时间 50 min,脱色温度  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ,脱色率理论值 68.74%。按

优选的脱色工艺进行 3 次验证试验,结果马齿苋多糖平均脱色率 68.05% (RSD 1.96%),与理论值的相对误差 1.00%,同时在该脱色工艺条件下,马齿苋多糖保留率 >70%,说明基于响应面法所得的脱色工艺参数准确可靠,适用于马齿苋多糖溶液。

### 3 讨论

通过二次回归设计得到了马齿苋多糖脱色率与活性炭用量、脱色时间以及脱色温度的回归模型,并经试验证明该模型可靠,能够较好的预测马齿苋多糖溶液的脱色率。该方法所得函数表达式较正交试验设计更加直观,并且克服了各因素不能在整个取值区域内组合的缺点<sup>[7]</sup>。多糖溶液中色素成分大部分为天然产物中业已存在的物质,还有部分色素为天然产物处理过程中产生。活性炭为黑色多孔颗粒,无臭、无味、无毒,可反复使用且价格便宜,对水溶性色素具有稳定、可靠的脱色效果,还可获得较高的多糖保留率,适用于规模化生产。

### [参考文献]

- [1] 金英子,张红英,孙晓宇. 马齿苋不同提取物对 D-半乳糖致衰老小鼠空间学习能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):178.
- [2] Chen J, Shi Y P, Liu J Y. Determination of noradrenaline and dopamine in Chinese herbal extracts from *Portulaca oleracea* L. by high-performance liquid chromatography [J]. J Chromatography A, 2003, 1003(1):127.
- [3] Liu L X, Peter Howe, Zhou Y F, et al. Fatty acids and  $\beta$ -carotene in Australian purslane (*Portulaca oleracea*) varieties [J]. J Chromatography A, 2000, 893(1):207.
- [4] 许小华,郝鹏飞,杨云,等. 墨旱莲多糖对正常小鼠免疫功能的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):181.
- [5] Zhang J Y, Chen X G, Hu Z D, et al. Quantification of noradrenaline and dopamine in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection [J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 471(2):203.
- [6] 李玉萍,叶军,苏虎,等. 马齿苋多糖的研究进展[J]. 食品科学,2007,28(7):538.
- [7] 吴光杰,李玉萍,皮小芳,等. 响应面法优化马齿苋多糖脱色工艺[J]. 食品科技,2012,36(10):166.

[责任编辑 全燕]