

车前草多糖的脱色工艺研究

廖春燕¹, 黄敏², 黄瑶¹, 杨远萍¹

(1. 广西工学院生物与化学工程系, 广西柳州 5450062)

(2. 广东轻工职业技术学院食品与生物工程系, 广东广州 510300)

摘要: 以脱色率和多糖保留率为指标, 采用活性炭和大孔吸附树脂两种方法对车前草多糖脱色。结果表明, 活性炭脱色的最佳条件为: 在 60℃下, 加入 0.75% (m/V) 的活性炭, 脱色 30 min, 在此工艺条件下脱色率为 76.22%, 多糖保留率为 65.31%。大孔吸附树脂脱色的最佳条件是: 以蒸馏水为洗脱剂, 样液 pH 值为 8.0, 洗脱流速为 2 mL/min, 洗脱液体积为 3 BV (1 BV=20 mL), 在此工艺条件下脱色率为 79.78%, 多糖保留率为 89.76%。大孔吸附树脂脱色效果优于活性炭脱色效果。

关键词: 车前草; 多糖; 脱色; 活性炭; AB-8 大孔吸附树脂

文章编号: 1673-9078(2012)8-1028-1030

Decoloring Process of Polysaccharide Extracted from *Plantago asiatica* L

LIAO Chun-yan¹, HUANG Min², HUANG Yao¹, YANG Yuan-ping¹

(1. Department of biological and chemical Engineering of Guangxi University of Technology, Liuzhou 545006, China)

(2. Department of food bioengineering, Guangdong Industry Technical College, Guangzhou 510300, China)

Abstract: The decoloring methods with active carbon and AB-8 macroporous adsorption resin were compared for polysaccharide extracted from *Plantago asiatica* L was decolorized by analyzing the decoloration rate and polysaccharide retention rate. The results showed that the best conditions for decoloration with active carbon were: 0.75% active carbon, decoloring temperature 60 °C and treatment time 30min, under which the decolorization rate was 76.22% and the polysaccharide retention rate was 65.31%. The best conditions for AB-8 macroporous adsorption resin were as follows: the elution solvent 3 BV (1 BV=20 mL), flow rate 2 mL/min, and pH of polysaccharide solution 8.0, under which the decolorization rate was 79.78% and the polysaccharide retention rate was 89.76%. The decoloration with macroporous adsorption resin was better than that with active carbon.

Key words: *Plantago asiatica* L; polysaccharide; decoloration; active carbon; AB-8 macroporous adsorption resin

车前草是一种极具开发潜力的药用食品用原料。《中国药典》记载其有清热利尿、祛痰、凉血、解毒的功效^[1]。车前草多糖是车前草中主要的有效成分, 位于种皮外表细胞壁层。车前子多糖具有缓泻、降血糖、降血脂、抗炎及免疫活性等多种生物活性, 并作为一种亲水性胶体被广泛用于食品、药品行业^[2,3]。

国内对车前草多糖的研究多集中其提取、抗氧化及某些药理研究^[4], 而对其脱色纯化工艺深入研究较少。因此, 对车前草多糖脱色纯化工艺进行研究可丰富车前草的应用范围, 为合理开发车前草产品奠定基础。本文采用活性炭和大孔吸附树脂两种方法对车前草粗多糖的脱色效果进行初探, 为车前草多糖的开发利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试剂和仪器

收稿日期: 2012-04-12

作者简介: 廖春燕 (1979-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 生物催化

车前草, 产地广西柳州; AB-8 大孔树脂, 天津南大树脂科技有限公司; 考马斯亮蓝, 国药集团化学试剂有限公司; 活性炭, 广东省台山市化工厂; 硫酸、苯酚、葡萄糖等试剂均为分析纯, 广东省汕头市西陇化工厂。

UV-2000 紫外分光光度计, 韩国新科公司; HZ-9212 水浴恒温振荡器, 太仓市华利达实验设备有限公司; RE-52 旋转蒸发器, 上海普度生化科技有限公司; XK96 快速混匀器, 姜堰市新康医疗器械有限公司; LXJ-II 高速离心机, 上海医分仪器制造有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 车前草多糖提取液的制备

车前草→洗净烘干→粉碎→过筛 (40 目)→热水提取 (料液比 1:20, 80℃浸提回流 2 h)→四层纱布过滤→离心机 (3000 r/min) 离心 20 min→取上清液→稀释一定倍数→车前草多糖样液 (浓度为 40 mg/L)

1.2.2 多糖保留率的测定

采用苯酚-硫酸法^[5]测定多糖含量。多糖保留率按

下式计算:

$$\text{多糖保留率}(\%) = \frac{\text{脱色后溶液多糖含量}}{\text{脱色前溶液多糖含量}} \times 100\%$$

1.2.3 脱色率的测定

以蒸馏水为空白对照,将车前草多糖提取液在300~700 nm 波长范围进行扫描。结果显示车提取液在440 nm 处有最大吸收。提取液在440 nm 测定吸光度,按下式计算脱色率:

$$\text{脱色率}(\%) = \frac{\text{脱色前吸光度} - \text{脱色后吸光度}}{\text{脱色前吸光度}} \times 100\%$$

1.2.4 活性炭脱色工艺

1.2.4.1 活性炭脱色工艺流程

样液→加入活性炭→恒温振荡一定时间→离心机(3000 r/min)离心20min→上清液→测脱色率及多糖保留率

1.2.4.2 评价指标的选择

以脱色率和多糖保留率为评价指标进行综合评分,权重系数均为0.5,综合评分值=(脱色率/脱色率最大值)×100×0.5+(多糖保留率/多糖保留率的最大值)×100×0.5。

1.2.5 AB-8 树脂脱色工艺

1.2.5.1 树脂的预处理

将树脂用无水乙醇充分浸泡24 h后,用乙醇溶液反复冲洗树脂至洗出液不呈白色浑浊为止,并以蒸馏水洗净乙醇;然后用5% HCl溶液浸泡3 h,并用蒸馏水洗至中性;最后用2% NaOH溶液浸泡3 h,并用蒸馏水洗至中性,备用。

1.2.5.2 上柱及洗脱

将AB-8大孔树脂在湿法搅拌下装入1.6 cm×20 cm 层析柱中,装柱高度为12.5 cm。取车前草多糖提取液(浓度为40 mg/L)20 mL,调节pH值,装入滴液漏斗中,开始上样。由滴液漏斗向层析柱滴流,流速控制为1.0 mL/min。以蒸馏水为洗脱剂,调节洗脱流速,分管收集洗脱液,分别计算多糖保留率与脱色率。

2 结果与讨论

2.1 活性炭脱色工艺

2.1.1 正交试验

根据预实验的结果,选择脱色温度、脱色时间、活性炭添加量3个因素,采用正交试验确定最佳的脱色工艺条件。以多糖保留率和脱色率为指标,采用L₉(3⁴)正交表对以上3因素进行正交试验。因素水平见表1。以综合评分法分析试验结果,正交试验结果见表2,方差分析见表3。

由表2可以看出,上述因素对活性炭脱色影响的主要顺序为:活性炭添加量>脱色温度>脱色时间。从表3

方差分析表可以看出,活性炭添加量对结果影响非常显著,而脱色温度和脱色时间对结果影响不显著。根据极差分析表,优方案为A₃B₂C₂,即活性炭添加量(m/V)为0.75%,脱色温度为60℃、脱色时间为30 min。

表1 正交试验的因素和水平

水平	A (温度/°C)	B [活性炭添加量(m/V)/%]	C (时间/min)
1	40	0.5	20
2	50	0.75	30
3	60	1.0	40

表2 正交试验结果

试管号	A	空列	B	C	脱色率/%	多糖保留率/%	综合评分
1	1	1	1	1	34.22	64.28	70.03
2	1	2	2	2	75.97	64.1	94.76
3	1	3	3	3	75.31	53.24	85.97
4	2	1	2	3	81.09	59.19	94.02
5	2	2	3	1	73.31	54.17	85.51
6	2	3	1	2	47.85	59.61	74.54
7	3	1	3	2	83.93	53.99	91.69
8	3	2	1	3	51.12	63.39	79.41
9	3	3	2	1	75.6	64.75	95.04
K ₁	250.76	255.74	223.98	250.58			
K ₂	254.07	259.68	283.82	260.99			
K ₃	266.14	255.55	263.17	259.4			
k ₁	83.59	85.25	74.66	83.53			
k ₂	84.69	86.56	94.61	87.00			
k ₃	88.71	85.18	87.72	86.47			
R	5.02	1.38	19.95	3.47			

表3 方差分析结果

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F值	显著性
温度(A)	43.687	2	21.84	12.055	
活性炭添加量(B)	615.9	2	307.95	169.95	**
时间(C)	20.965	2	10.48	5.785	
误差(e)	3.624	2	1.81		

注: F_{0.05}(2,2)=19.00, F_{0.01}(2,2)=99, **表示有非常显著影响。

2.1.2 验证试验

取3份车前草多糖提取液,每份按正交试验所得出的优化工艺方案进行试验,测得脱色率和多糖保留率平均值分别为65.31%、76.22%,综合分为95.4,结果表明正交试验所确定的工艺为最佳工艺条件。

2.2 AB-8 大孔吸附树脂脱色

2.2.1 pH值对脱色效果的影响

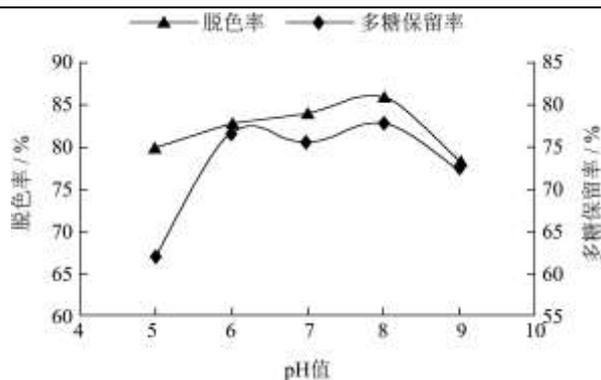


图1 pH值对脱色效果的影响

Fig.1 Effect of pH value on decoloration process

以蒸馏水为洗脱剂,调节样液pH值为5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,考查pH值对车前草多糖脱色效果的影响,结果如图1所示。由图1可知,脱色率随着pH值的增加先升高后降低,在当pH值为8时脱色率最高;对于多糖保留率,pH值为8时最大,在强酸或强碱条件下均不利于多糖的吸附和洗脱,且多糖在强酸或强碱条件下易分解。综合考虑,本实验样液的pH值为8.0。

2.2.2 洗脱流速对脱色效果的影响

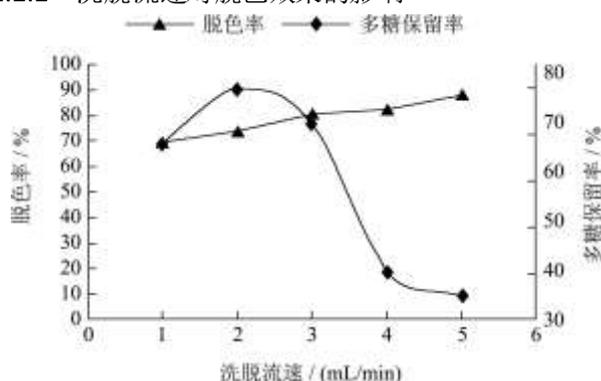


图2 洗脱流速对脱色效果的影响

Fig.2 Effect of flow rate on decoloration process

用蒸馏水做洗脱剂,分别以1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL/min的流速洗脱,结果如图2所示。当洗脱流速为2.0 mL/min时,多糖保留率最高;洗脱流速对多糖保留率有较大的影响,当洗脱流速太低时,多糖被吸附的很牢固,多糖难以从树脂上解析下来;洗脱流速太高时,洗脱液与多糖接触不充分,使多糖难以树脂上解析下来,造成多糖保留率过低。对于脱色率,脱色率随着洗脱流速的增加缓慢增加。综合考虑,洗脱流速选择在2.0 mL/min左右为宜。

2.2.3 洗脱剂用量对多糖和色素洗脱效果的影响

用蒸馏水作为洗脱剂,样液pH为7.0,洗脱流速为2.0 mL/min,分管收集洗脱液,每管10 mL,流出液用硫酸-苯酚法检测,测定每管洗脱液多糖的吸光度及色素的吸光度,考查洗脱剂用量对多糖和色素洗脱效果的影响,结果如图3所示。

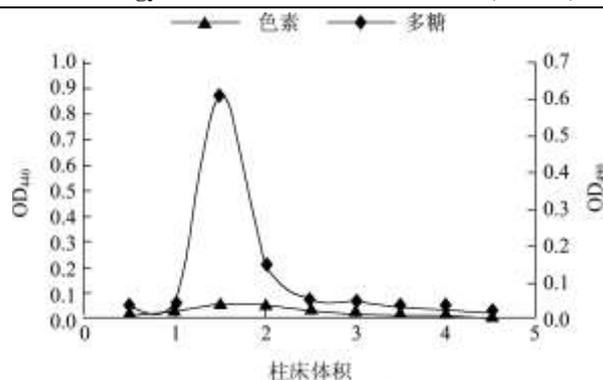


图3 洗脱剂用量对多糖和色素洗脱效果的影响

Fig.3 Effect of elution solvent amount on polysaccharide and pigment desorption process

由图3可知,多糖的洗脱峰的前后斜率较大,多糖物质相对集中出峰,有利于集中收集多糖溶液。当洗脱体积为1.5 BV (1 BV=20 mL)时,流出液中车前草多糖的浓度最大,当洗脱体积为大于3 BV,多糖流出量很少,多糖几乎完全解析。对于色素,色素的洗脱峰延后,不集中,吸光度小。吸光度越小表明色素解析率越小,收集的多糖溶液中的色素成分越少,脱色率越好,本实验中洗脱下来的色素较少,洗脱剂用量的多少对色素解析率影响不大,所以以多糖解析率为主要参考指标。本试验确定洗脱剂用量为3 BV。

2.2.4 AB-8大孔树脂对车前草多糖的脱色效果

在上述的最佳操作条件下,即样液的pH值为8.0,洗脱流速为2.0 mL/min,洗脱体积为3 BV,此条件下测得车前草多糖提取液的脱色率为79.78%,多糖保留率为89.76%。

3 结论

3.1 活性炭脱色的工艺条件为:活性炭添加量(m/V)0.75%,温度为60℃、脱色时间为30 min,此工艺条件下脱色率为76.22%,多糖保留率为65.31%。AB-8大孔吸附树脂脱色的最佳条件是:样液浓度为40mg/L,pH值为8.0,洗脱流速为2.0 mL/min,洗脱体积为3 BV,此工艺条件下脱色率为79.78%,多糖保留率为89.76%。

3.2 两种方法都能有效的去除车前草多糖色素,AB-8大孔树脂的脱色效果优于活性炭脱色。

3.3 活性炭具有价格低廉,安全无毒及可重复利用等特点^[6],但在脱色结束后,多糖溶液中会滞留一些难以去除的活性炭粉末。虽然树脂作用时间较活性炭长,但树脂脱色后没有在溶液滞留下难以去除的杂质,树脂脱色多糖保留率和脱色率都比活性炭脱色的高。而且在脱色的同时还能祛除其他的杂质,如蛋白质、单宁类化合物等,从而达到进一步的纯化。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:化学工业出版社,2005
- [2] 杨亚军,周秋贵,曾红,等.车前草化学成分及新生物活性研究进展[J].中成药,2011,33(10):1771-1776
- [3] 王涛,赵谋明.多糖的研究进展[J].现代食品科技,2007,23(1):103-106
- [4] 肖怀秋,李玉珍.车前草粗多糖提取及生物学活性研究[J].食品与发酵科技,2009,45(3):37-40
- [5] 杨勇杰,姜瑞芝.苯酚-硫酸法测定杂多糖含量的研究[J].中成药,2005,27(6):706-708
- [6] 李瑞,陈华,夏秋瑜,等.椰壳活性炭脱色蔗糖溶液的研究[J].现代食品科技,2007,23(12):54-56

现代食品科技