

# 祁白芷多糖脱色工艺优化及抗氧化活性研究

邱晓月<sup>1,2</sup>, 景永帅<sup>3</sup>, 李明月<sup>1,2</sup>, 庞心悦<sup>1,2</sup>, 吴兰芳<sup>1,2\*</sup>, 郑玉光<sup>1,2</sup>

(1. 河北中医学院药学院, 石家庄 050200; 2. 河北省中药炮制技术创新中心, 石家庄 050091;  
3. 河北科技大学化学与制药工程学院, 石家庄 050018)

**摘要:** **目的** 研究祁白芷多糖的脱色工艺及抗氧化活性。**方法** 采用活性炭脱色法、双氧水脱色法及大孔树脂脱色法 3 种脱色方法对祁白芷多糖进行脱色, 以脱色率和多糖保留率为考察标准。通过 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、羟基(hydroxyl radical, ·OH)自由基以及还原能力的测定, 对比祁白芷多糖的脱色前后抗氧化活性。**结果** 对比 3 种脱色方法, 选择脱色效果较优的大孔树脂脱色法, 通过正交实验设计得出大孔树脂脱色法的最优条件为: 多糖与大孔树脂湿重的质量比为 1:25、脱色温度为 20°C、调节 pH 为 6、脱色时间 3 h, 在此条件下, 多糖脱色率为 56.22%, 多糖保留率为 75.34%。且脱色前后的祁白芷多糖均具有一定的抗氧化活性。**结论** 大孔树脂脱色法对祁白芷多糖的脱色效果较于其他两种的更优, 且脱色前的祁白芷多糖抗氧化活性优于脱色后的。为改善祁白芷多糖的外观和将其开发为抗氧化剂提供了前期基础。

**关键词:** 祁白芷; 多糖; 脱色工艺; 大孔树脂法; 抗氧化活性

## Study on optimization of decolorization process and antioxidant activity of polysaccharide from *Angelica dahurica*

QIU Xiao-Yue<sup>1,2</sup>, JING Yong-Shuai<sup>3</sup>, LI Peng-Yue<sup>1,2</sup>, PANG Xin-Yue<sup>1,2</sup>,  
WU Lan-Fang<sup>1,2\*</sup>, ZHENG Yu-Guang<sup>1,2</sup>

(1. College of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China; 2. Traditional Chinese Medicine Processing Technology Innovation Center of Hebei Province, Shijiazhuang 050091, China; 3. College of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the decolorization process and antioxidant activity of *Angelica dahurica* polysaccharides. **Methods** Three decolorization methods including activated carbon, hydrogen peroxide and macroporous resin were used to decolorize the polysaccharides of *Angelica dahurica*. The criteria were based on the rate of decolorization and the retention rate of polysaccharide. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), hydroxyl radical (·OH) and reducing ability were determined to compare the antioxidant activities of *Angelica dahurica* polysaccharides before and after decolorization. **Results** The three decolorization methods were compared, and the macroporous resin decolorization method with better decolorization effect was selected. Through orthogonal experimental design, the optimal conditions of the macroporous resin decolorization method were obtained as

**基金项目:** 河北省省级科技计划项目(H2021423057)、河北省二期现代农业产业技术体系创新团队项目(HBCT2018060205)、河北省中医药管理局中医药科研计划项目(2020128)

**Fund:** Supported by the Science and Technology Program of Hebei (H2021423057), the Hebei Phase II Modern Agricultural Industry Technology System Innovation Team Project (HBCT2018060205), and the Traditional Chinese Medicine Scientific Research Program of Hebei Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine (2020128)

\***通信作者:** 吴兰芳, 博士, 副教授, 主要研究方向为药食两用资源开发与利用。E-mail: wulanfang757@163.com

\***Corresponding author:** WU Lan-Fang, Ph.D, Associate Professor, College of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, No.3, Xingyuan Road, Shijiazhuang 050200, China. E-mail: wulanfang757@163.com

follows: The ratio of polysaccharide mass to macroporous resin wet weight was 1:25, decolorization temperature was 20°C, the pH was adjusted to 6 and decolorization time was 3 h. Under this condition, the decolorization rate of polysaccharide was 56.22% and the retention rate of polysaccharide was 75.34%. The polysaccharides of *Angelica dahurica* before and after decolorization had antioxidant activity. **Conclusion** The decoloration effect of the macroporous resin decoloration method on *Angelicae dahuricae* polysaccharide is more significant than the other two, and the antioxidant activity of *Angelicae dahuricae* polysaccharide before decoloration is better than that after decoloration. In order to improve the appearance of *Angelicae dahuricae* polysaccharide and study it as an antioxidant, it provides a foundation.

**KEY WORDS:** *Angelica dahurica*; polysaccharide; decolorization process; macroporous resin method; antioxidant activity

## 0 引言

白芷是植物白芷[*Angelica dahurica* (Fisch.ex Hoffm.) Benth.et Hook.f.]或杭白芷[*Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. formosana (Boiss.) Shan et Yuan]的干燥根, 辛, 温, 入肺、胃经, 具有祛风解表、止痛、消肿排脓、燥湿止带的功效<sup>[1]</sup>。常煎煮或煲汤用于感冒头痛、眉棱骨痛、鼻塞、鼻渊、牙痛、白带、疮疡肿痛等症的治疗<sup>[2-4]</sup>。白芷所含的化学成分极其丰富<sup>[5-7]</sup>, 包括挥发油类<sup>[8]</sup>、香豆素类<sup>[9]</sup>、生物碱类<sup>[10-11]</sup>、多糖类<sup>[12]</sup>等, 具有抗炎<sup>[13]</sup>、镇痛<sup>[14]</sup>、抗肿瘤<sup>[15]</sup>和降血糖<sup>[16]</sup>等多种作用。

祁白芷[*Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. ex Franch. et Sav. var. dahurica cv. Qibaizhi Yuan et Shan]主产河北安国, 是八大祁药之一, 在我国具有悠久的药食两用历史, 多地居民用来煲汤或泡茶<sup>[5-6]</sup>。文献报道祁白芷多糖通常采用水提醇沉法制备<sup>[17-18]</sup>, 其具有抗氧化<sup>[19]</sup>、抗肿瘤<sup>[20]</sup>和免疫调节<sup>[21]</sup>等活性。在前期的实验中发现, 祁白芷多糖的颜色较深, 由于植物来源的多样性、成分的复杂性及提取方法的局限性等方面的影响, 常使得到的多糖溶液为黄褐色, 影响了祁白芷多糖的性质及活性的测定, 并且影响祁白芷多糖的进一步开发和利用<sup>[22-23]</sup>。本研究比对了活性炭脱色法、双氧水脱色法及大孔树脂脱色法 3 种脱色方法对祁白芷多糖的脱色效果, 确认适用于祁白芷多糖的脱色方法, 并通过正交实验设计优化脱色工艺, 并考察其对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、羟基(hydroxyl radical, ·OH)自由基清除作用和对 Fe<sup>3+</sup>的还原能力, 评价脱色前后祁白芷多糖的体外抗氧化活性, 以期为祁白芷多糖在中药新药和功能食品的研发和生产上提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

祁白芷, 购于河北安国, 经河北中医学院郑玉光教授鉴定为伞形科植物白芷[*Angelica dahurica* (Fisch.ex Hoffm.)

Benth.et Hook.f.]的干燥根。

活性炭粉末(分析纯, 天津市登峰化学试剂厂); 双氧水(浓度 30%, 上海远大过氧化物有限公司); 大孔树脂(D101, 河北宝恩树脂科技有限公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(分析纯, 北京索莱宝科技有限公司); 抗坏血酸、无水乙醇、水杨酸、三氯乙酸(分析纯, 天津市永大化学试剂公司); 硫酸亚铁、铁氰化钾、三氯化铁(分析纯, 北京化工厂)。

### 1.2 仪器与设备

SQP 电子天平(精度 0.01 mg, 德国赛多利斯有限公司); Eppendorf Centrifuge 5418 离心机(德国艾本德公司); UV-2600 紫外可见分光光度计(日本岛津仪器制造有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 祁白芷多糖的制备

称取适量祁白芷, 粉碎, 过 40 目筛, 加 3 倍的 80%乙醇脱脂, 然后残渣于 80°C 水浴中, 加蒸馏水以 20:1 (V:m) 的液料比, 提取 2 次。合并滤液, 浓缩后, 加无水乙醇至浓缩液中, 边加边搅拌, 使混合液中乙醇体积分数达到 80%, 静置, 离心, 冷冻干燥, 得祁白芷多糖。

#### 1.3.2 测定方法

##### (1) 脱色率的计算

在 200~800 nm 波长处对祁白芷多糖溶液进行扫描, 确定 310 nm 为后续测定波长, 并通过式(1)运算。

$$\text{脱色率}/\% = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $A_0$  和  $A_x$  分别为脱色前后祁白芷多糖的吸光度。

##### (2) 多糖保留率的计算

用硫酸-苯酚法<sup>[24-26]</sup>测定脱色前后样品溶液中的总糖含量, 并通过式(2)运算。

$$\text{多糖保留率}/\% = \frac{M_m}{M_n} \times 100\% \quad (2)$$

式中,  $M_n$  和  $M_m$  为脱色前后祁白芷多糖的质量浓度, mg/mL。

### (3) 脱色效果评价

采用综合加权评分法评价多糖的脱色效果<sup>[27]</sup>, 将多糖脱色率( $E$ )和多糖保留率( $F$ )的权重系数分别设为 0.5, 实验项最大指标设为 100 分, 对其他项进行如下评分, 见式(3)。

$$\text{综合评价} = \frac{E}{E_{\max}} \times 100 \times 0.5 + \frac{F}{F_{\max}} \times 100 \times 0.5 \quad (3)$$

#### 1.3.3 3 种脱色材料的预处理

##### (1) 活性炭粉末预处理

活性炭用水洗涤若干次以除去悬浮的颗粒, 120°C 烘干 10 h, 冷却备用。

##### (2) 双氧水配制

将质量分数为 30% 的过氧化氢稀释至所需的质量分数。

##### (3) 大孔树脂预处理

取大孔树脂充分分散于去离子水中, 静置后将上层清液的悬浮小颗粒移去, 操作 3~5 次, 最终 pH 为 7 左右, 以确保大孔树脂颗粒的均匀性。移除上层清液, 加入 2 mol/L 的 NaOH 溶液, 浸泡 1 h, 用水冲洗至 pH 为中性。同理, 2 mol/L 的 HCl 按照上述操作进行。冷藏备用<sup>[28]</sup>。

#### 1.3.4 多糖脱色

称取祁白芷粗多糖 1.0 g, 定容至 100 mL 容量瓶, 得 10 mg/mL 溶液。

##### (1) 活性炭脱色法

分别取 20 mL 样品溶液, 置 50 mL 三角烧瓶, 共 3 份, 加入 6% 的活性炭粉末, pH 为 7, 在 50°C 的水浴条件下恒温脱色 90 min, 趁热过滤。

##### (2) 双氧水脱色法

分别取 20 mL 样品溶液, 置 50 mL 三角烧瓶, 共 3 份, 加入 10% 的双氧水, pH 为 7, 在 50°C 的水浴条件下恒温脱色 90 min, 趁热过滤。

##### (3) 大孔树脂脱色法

分别取 20 mL 样品溶液, 置 50 mL 三角烧瓶, 共 3 份, 按照多糖含量与大孔树脂湿重比为 1:25 ( $m:m$ ) 加入预处理的树脂, pH 为 7, 在 50°C 的水浴条件下恒温脱色 90 min, 趁热过滤。

#### 1.3.5 大孔树脂脱色法的工艺优化实验

##### (1) 大孔树脂脱色方法的单因素实验

树脂用量对脱色效果的影响: 分别取 20 mL 样品溶液, 置于 50 mL 三角烧瓶, 共 15 份, 每组 3 份, 分别加入多糖质量与大孔树脂湿重比为 1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 ( $m:m$ ) 的大孔树脂, 50°C 水浴加热, 脱色 90 min, pH 为 7, 过滤除去大孔树脂, 测定脱色后吸光度, 计算祁白芷多糖的多糖脱色率和多糖保留率并绘制其综合评价曲线。

脱色温度对脱色效果的影响: 分别取 20 mL 样品溶液, 置于 50 mL 三角烧瓶, 共 15 份, 每组 3 份, 加入多糖质量与大孔树脂湿重比为 1:20 ( $m:m$ ) 的大孔树脂, pH 为 7, 分别

按 20、35、50、65、80°C 水浴加热, 脱色 90 min, 过滤除去大孔树脂, 测定脱色后吸光度, 计算祁白芷多糖的多糖脱色率和多糖保留率并绘制其综合评价曲线。

脱色时间对脱色效果的影响: 分别取 20 mL 样品溶液, 置于 50 mL 三角烧瓶, 共 15 份, 每组 3 份, 加入多糖质量与大孔树脂湿重比为 1:20 ( $m:m$ ) 的大孔树脂, pH 为 7, 35°C 水浴加热, 分别按 1、3、5、7、9 h 进行脱色, 过滤除去大孔树脂, 测定脱色后的吸光度, 计算祁白芷多糖的多糖脱色率和多糖保留率并绘制其综合评价曲线。

脱色 pH 对脱色效果的影响: 分别取 20 mL 样品溶液, 置于 50 mL 三角烧瓶, 共 15 份, 每组 3 份, 加入多糖质量与大孔树脂湿重比为 1:20 ( $m:m$ ) 的大孔树脂, 调节溶液 pH 分别为 5、6、7、8、9, 35°C 水浴加热, 脱色 90 min, 过滤除去大孔树脂, 测定脱色后的吸光度, 计算祁白芷多糖的多糖脱色率和多糖保留率并绘制其综合评价曲线。

##### (2) 大孔树脂法的正交实验

在单因素实验结果基础上, 优选因素水平, 依据  $L_9(3^4)$  表进行实验, 根据结果进行工艺优化<sup>[29]</sup>。

##### (3) 验证实验

根据正交实验结果进行验证实验, 平行 3 次<sup>[30]</sup>。

#### 1.3.6 样品脱色前后的抗氧化性实验

取祁白芷多糖 0.80 g 于 500 mL 容量瓶中, 充分溶解定容, 得质量浓度为 16 mg/mL 的祁白芷多糖溶液, 离心, 吸取上清液, 配制质量浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0 mg/mL 的多糖供试液供以下抗氧化实验测定。

##### (1) 祁白芷多糖对 DPPH 自由基清除能力的测定

参考苗慧琴<sup>[31]</sup>的方法并调整, 计算 DPPH 自由基清除率和半数清除浓度 (half maximal inhibitory concentration,  $IC_{50}$ ), 表示祁白芷多糖的 DPPH 自由基清除能力。

##### (2) 祁白芷多糖对羟基自由基清除能力的测定

参考陈俊彰<sup>[32]</sup>的方法加以调整, 计算羟基自由基清除率和  $IC_{50}$ , 表示祁白芷多糖的羟基自由基清除能力。

##### (3) 祁白芷多糖还原力的测定

参考王薇薇<sup>[33]</sup>的方法加以调整, 计算还原力。

## 1.4 数据处理

所有实验平行测定 3 次, 取平均值  $\pm$  标准偏差。采用 Excel 2021 和 IBM SPSS Statistics 23 对数据进行统计分析; 采用 Origin 2019 进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 脱色方法的确定

如表 1 所示, 从多糖脱色率方面来看, 双氧水脱色法与其他两种方法相比, 多糖脱色率较差, 大孔树脂脱色法和活性炭脱色法的多糖脱色率相近且较好。分析其原因是双氧水脱色法的原理是将多糖中的色素氧化, 氧化后的色

素依旧在水溶液中。从多糖保留率方面来看, 大孔树脂脱色法较好, 可能是活性炭不仅能吸附色素, 还能够吸附多糖, 所以损失了一部分多糖; 双氧水具有强氧化性, 会破坏多糖。另外, 在中药提取物和保健食品的生产中, 部分企业也应用大孔树脂进行样品的脱色, 主要由于大孔树脂可重复利用, 脱色条件比较温和, 仪器设备要求不高, 并且多糖损失较少, 可较好改善产品的外观, 提高有效成分的含量。综上所述, 后续实验进行大孔树脂脱色法的工艺优化。

表 1 3 种脱色方法的脱色效果对比  
Table 1 Decolorization effects comparison of 3 kinds of decolorization methods

	活性炭法	大孔树脂法	双氧水法
多糖脱色率/%	40.86±1.95	44.68±1.52	12.54±2.53
多糖保留率/%	75.00±1.37	86.54±3.19	61.54±2.87
综合评价	49.59	100.00	89.06

## 2.2 大孔树脂脱色法的工艺优化实验结果

### 2.2.1 大孔树脂法的单因素实验

#### (1) 树脂用量对脱色效果的影响

如图 1 所示, 多糖脱色率随着树脂用量的加大而逐渐上升, 多糖保留率随着树脂用量加大而逐渐下降。因为大孔树脂不仅能吸附色素, 还能够吸附多糖。当多糖与大孔树脂湿重的质量比为 1:20 (*m:m*) 时, 综合评分最高, 为 93.39。当多糖与大孔树脂湿重的质量比为 1:20 (*m:m*) 以后, 综合评分下降。可知多糖与大孔树脂湿重的质量比 1:20 (*m:m*) 为最佳树脂用量。

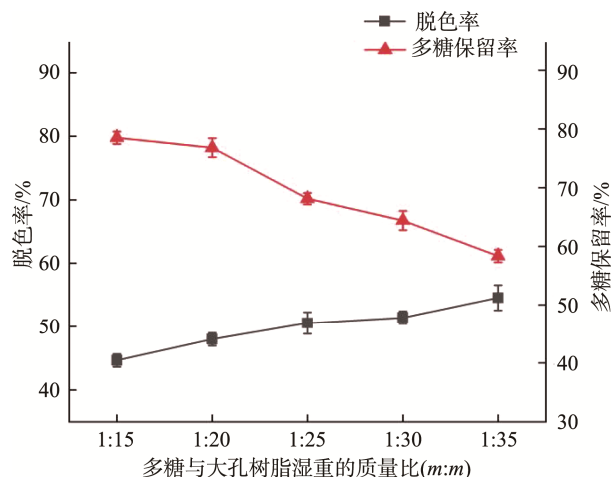


图 1 树脂用量对大孔树脂脱色祁白芷多糖的影响(*n*=3)  
Fig.1 Effects of resin dosage on decolorization of *Angelicae dahurica* polysaccharides by macroporous resin (*n*=3)

#### (2) 温度对脱色效果的影响

如图 2 所示, 在实验温度范围内, 温度越高, 祁白芷多糖的脱色效果越好, 而祁白芷多糖的保留率呈相反的趋势, 当脱色温度到达 35°C 后, 多糖保留率下降较快, 温度过高直接分解多糖, 多糖被破坏。当脱色温度到达 50°C 后, 多糖脱色率较稳定。当脱色温度在 20~35°C 时, 多糖脱色率和多糖保留率的综合评价小幅度上升, 35°C 后逐渐降低, 因此取 35°C 进行后续的实验。

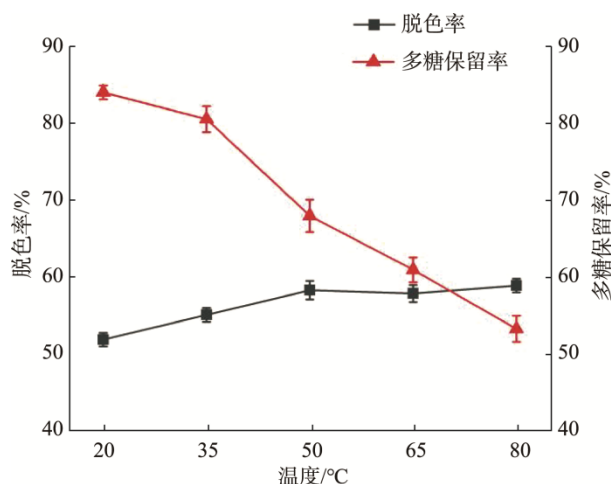


图 2 温度对祁白芷多糖用大孔树脂脱色效果的影响(*n*=3)  
Fig.2 Effects of temperature on the decolorization of *Angelicae dahurica* polysaccharides by macroporous resin (*n*=3)

#### (3) 脱色时间对祁白芷多糖脱色效果的影响

如图 3 示, 在实验时间范围内, 祁白芷多糖的脱色效果随脱色的时间越长并且越好, 而多糖保留率则反之。脱色 1~5 h 时, 多糖脱色率和多糖保留率的综合评价逐渐上升; 脱色 5~9 h 时, 综合评价趋于平稳, 取 5 h 为最佳脱色时间。

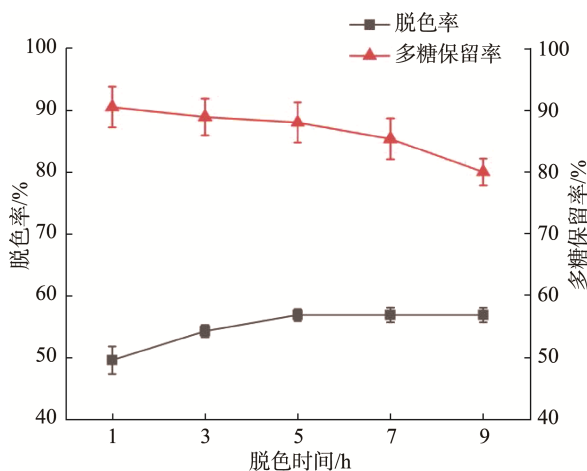


图 3 脱色时间对祁白芷多糖用大孔树脂脱色效果的影响(*n*=3)  
Fig.3 Effects of decolorization time on the decolorization of *Angelicae dahurica* polysaccharides by macroporous resin (*n*=3)

#### (4) 脱色 pH 对脱色效果的影响

如图 4 示, 当 pH 在 5~7 时, 多糖脱色率较高且逐渐下降, 而多糖保留率较低; 当 pH 在 7~9 时, 多糖脱色率上下波动, 而多糖保留率较高。当 pH 在 5~7 时, 多糖脱色率和多糖保留率的综合评价逐渐升高; pH 在 7~9 时, 综合评价波动明显。确定 pH 为 7 时最佳脱色 pH。因为多糖溶液中含有酚类化合物, 使多糖溶液具有较深的颜色, 若用碱水提取多糖则其颜色会更深。

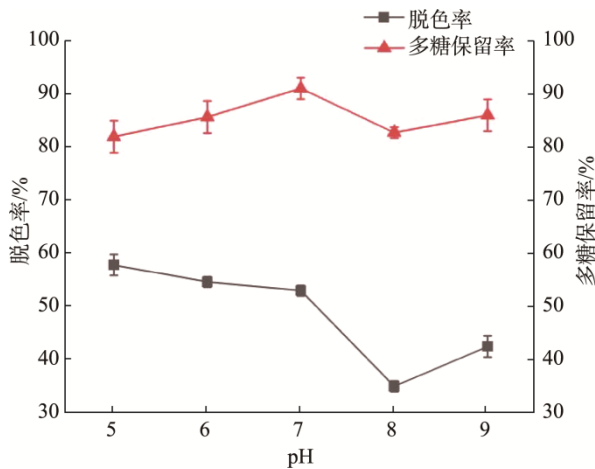


图 4 pH 对祁白芷多糖用大孔树脂脱色效果的影响( $n=3$ )

Fig.4 Effects of pH on the decolorization of *Angelica dahurica* polysaccharides by macroporous resin ( $n=3$ )

#### 2.2.2 正交实验及验证实验结果

根据大孔树脂脱色法的单因素实验的结果, 进行 4 因素 3 水平的正交设计实验, 见表 2~4。

根据综合评分直观结果, 大孔树脂脱色法用于祁白芷多糖脱色的影响因素依次为: 脱色 pH ( $D$ )>树脂用量( $A$ )>脱色温度( $B$ )>脱色时间( $C$ )。最后确定大孔树脂脱色法最佳脱色条件为:  $A_3B_1C_1D_2$ , 即多糖与大孔树脂湿重的质量比为 1:25 ( $m:m$ )、脱色温度为 20°C、脱色 pH 为 6、脱色时间 3 h。

取已制备的祁白芷多糖供试品溶液(0.1 mg/mL) 20 mL, 加入多糖与大孔树脂湿重的质量比为 1:25 ( $m:m$ )的大孔树脂, pH 调至 6, 水浴 20°C, 脱色 3 h。在上述条件下, 多糖脱色率分别为 56.22%±0.02%, 多糖保留率分别为 75.34%±0.01%。正交实验中最佳综合评价的  $A_3B_1C_3D_2$  脱色条件的结果: 脱色率为 50.55%±0.03%、多糖保留率为 71.23%±0.02%, 验证实验与之基本相符, 确定为最优的工艺条件。

表 2 祁白芷多糖用大孔树脂脱色正交实验因素水平表

Table 2 Orthogonal test factor level table of the decolorization of *Angelica dahurica* polysaccharides by macroporous resin

水平	因素			
	A 用量( $m:m$ )	B 温度/°C	C 时间/h	D pH
1	1:15	20	3	5
2	1:20	35	5	6
3	1:25	50	7	7

表 3 正交实验及综合评价极差分析表

Table 3 Analysis table of orthogonal test results and comprehensive evaluation range

序号	A	B	C	D	综合评价		
					重复I	重复II	重复III
1	1	1	1	1	90.69	90.04	89.28
2	1	2	2	2	85.01	85.31	85.95
3	1	3	3	3	74.54	76.02	80.09
4	2	1	2	3	86.48	82.25	85.88
5	2	2	3	1	83.88	87.05	89.86
6	2	3	1	2	89.39	91.83	91.47
7	3	1	3	2	96.69	96.89	92.63
8	3	2	1	3	88.76	86.39	86.79
9	3	3	2	1	89.21	87.56	89.81
$K_1$	267.19	278.93	276.82	272.15			
$K_2$	265.60	266.90	268.91	281.04			
$K_3$	279.02	265.98	266.09	258.63			
R	13.42	12.95	10.72	22.41			

表 4 方差分析结果

Table 4 Analysis results of variance

因素	偏差平方和	自由度	F	显著性
A	185.99	2	24.85	**
B	102.59	2	13.71	**
C	54.37	2	7.27	*
D	276.02	2	36.88	**
E(误差)	67.35	18		

注: \*表示在  $P<0.05$  水平上差异显著; \*\*表示在  $P<0.01$  水平上差异极显著。

#### 2.2.3 抗氧化活性测定

##### (1) 祁白芷多糖对 DPPH 自由基清除能力

自由基作为人体正常代谢的产物, 在机体内处于动态平衡。一旦这种平衡状态被打破, 将会对生物体造成损伤, 引发疾病。多糖可直接或间接地消除自由基, 维持体内自由基的平衡, 避免疾病的发生。植物多糖作为一种具备多种生物活性的天然产物, 因高效、低毒而成为食品抗氧化活性领域的研究热点。如图 5 示, 祁白芷多糖对 DPPH 自由基均具有较好的清除效果, 清除率随着祁白芷多糖浓度的增加逐渐增强。并且脱色前祁白芷多糖的清除率优于脱色后的。当质量浓度达到 16 mg/mL 时, 脱色前后的清除率接近。因  $IC_{50}$  值越小, 抗氧化剂的 DPPH 自由基清除能力越强。祁白芷多糖的  $IC_{50}$  值脱色前为 1.149 mg/mL, 脱色后为 1.776 mg/mL, 而维生素 C (vitamin C, VC) 的  $IC_{50}$  值为 0.007 mg/mL。可得出 VC 的  $IC_{50}$  值显著高于脱色前后的祁白芷多糖, 脱色前的 DPPH 自由基清除能力高于脱色后, 但不及 VC。

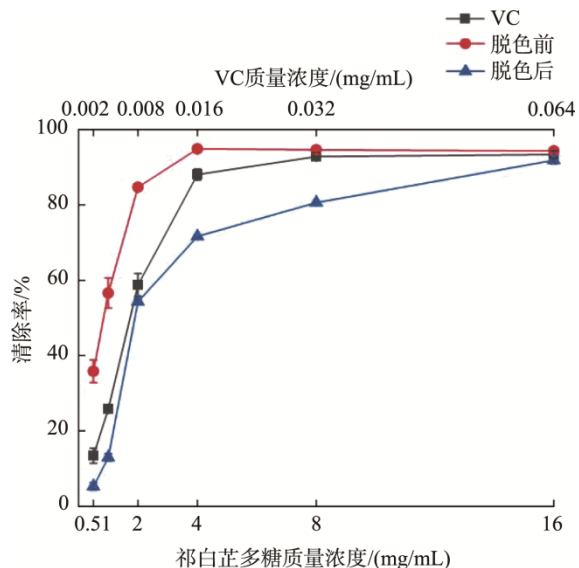


图 5 祁白芷多糖对 DPPH 自由基的清除作用(n=3)  
Fig.5 Scavenging effects of *Angelicae dahurica* polysaccharide on DPPH free radical (n=3)

(2) 祁白芷多糖对羟基自由基清除能力

如图 6 所示, 各浓度的祁白芷多糖对羟基自由基具有一定的清除效果, 伴随着祁白芷多糖浓度的增加, 清除能力逐渐增强。祁白芷多糖的 IC<sub>50</sub> 值脱色前为 2.289 mg/mL, 脱色后为 5.098 mg/mL, 而 VC 的 IC<sub>50</sub> 值为 0.925 mg/mL。VC 的羟基自由基清除能力显著高于祁白芷多糖, 在祁白芷多糖质量浓度为 4 mg/mL 时, 脱色前的清除率明显高于脱色后的。

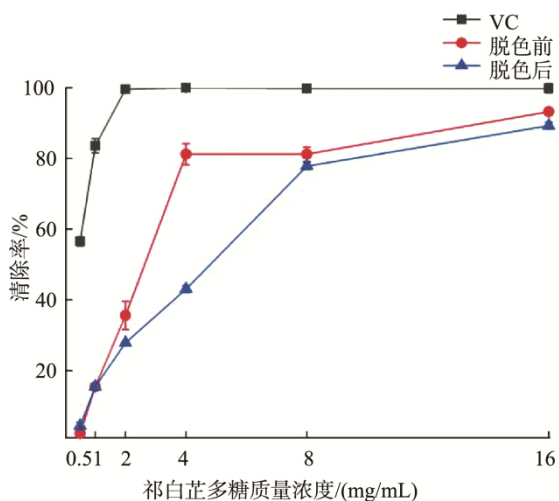
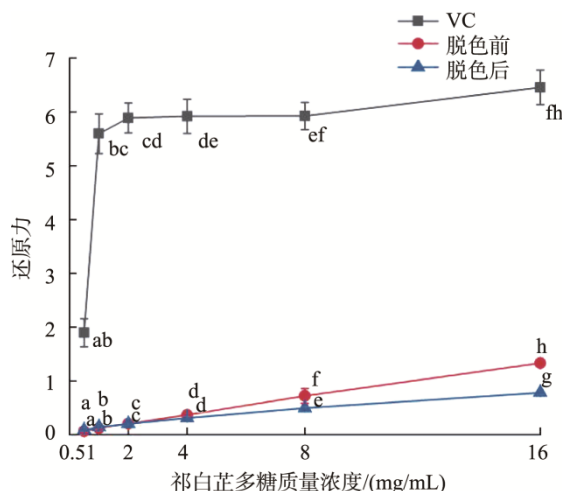


图 6 祁白芷多糖对羟基自由基的清除作用(n=3)  
Fig.6 Scavenging effects of *Angelicae dahurica* polysaccharide on hydroxyl radical (n=3)

(3) 祁白芷多糖还原力的测定结果

由图 7 可知, 不同浓度的祁白芷多糖表现出一定的还原能力, 并且祁白芷多糖的还原力随多糖浓度的增加而增

大, 且呈浓度依赖性。但与 VC 相比, 祁白芷多糖的还原力比 VC 的还原力弱, 并且脱色前的祁白芷多糖还原力高于脱色后的。说明多糖脱色使得多糖损失的一部分可能包括抗氧化的活性成分。



注: 不同小写字母表示同一质量浓度下, 不同样品之间差异显著(P<0.05)。

图 7 祁白芷多糖的还原力(n=3)  
Fig.7 Reducing power of *Angelicae dahurica* polysaccharide (n=3)

3 结论与讨论

本研究以河北八大祁药之一祁白芷为研究对象, 采用水提醇沉法提取多糖成分, 进一步研究对比了活性炭脱色法、双氧水脱色法及大孔树脂脱色法 3 种脱色方法对祁白芷多糖的脱色效果, 确认适用于祁白芷多糖的脱色方法为大孔树脂脱色法, 主要考察了树脂用量、脱色温度、脱色时间和脱色 pH 对祁白芷多糖效果的影响, 并且通过正交实验优化大孔树脂脱色工艺, 得到最优的脱色条件为: 多糖与大孔树脂湿重的质量比为 1:25 (m:m)、脱色温度 20°C、脱色 pH 为 6、脱色时间 3 h。在最优条件下, 进行 3 次重复实验, 多糖脱色率为 56.22%±0.02%, 多糖保留率为 75.34%±0.01%。另外, 本研究通过脱色前后的祁白芷多糖对 DPPH 等 2 种自由基清除作用以及还原能力评价祁白芷多糖的抗氧化活性。在祁白芷多糖对 DPPH 自由基清除能力的测定中, 祁白芷多糖的 IC<sub>50</sub> 值脱色前为 1.149 mg/mL, 脱色后的为 1.776 mg/mL。在祁白芷多糖对羟基自由基清除能力的测定中, 祁白芷多糖的 IC<sub>50</sub> 值脱色前为 2.289 mg/mL, 脱色后的为 5.098 mg/mL。因此, 在一定质量浓度范围内, 随着祁白芷多糖质量浓度的增大, 其对 DPPH 和 OH 自由基清除能力和还原能力也增强, 且呈现一定的浓度依赖性。但在脱色前后的祁白芷多糖抗氧化活性和还原能力对比中, 脱色前的祁白芷多糖的抗氧化活性和还原能力均优于脱色后的, 说明脱色使祁白芷多糖保留率降低, 脱色去除的杂

质色素等物质也可能影响多糖的抗氧化活性和还原能力,导致脱色后的抗氧化活性和还原能力略有降低。

本研究通过优化祁白芷多糖脱色工艺改善了祁白芷多糖的外观,进一步明确了祁白芷多糖的抗氧化活性,为祁白芷多糖作为药品、保健食品或食品添加剂的开发与利用提供了前期基础和数据支持。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部. 2020 年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.  
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: A. 2020 Edition [M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2020.
- [2] 陶弘景. 本草经集注[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.  
TAO HJ. Variorum of Shennong's Classic of Materia Medica [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.
- [3] 王梦月, 贾敏如. 白芷本草考证[J]. 中药材, 2004, (5): 382–385.  
WANG MY, JIA MR. The herbalogical textual research on "Bai Zhi" [J]. Chin Med Mat, 2004, (5): 382–385.
- [4] 卫若楠, 翟艳会, 朱向东. 白芷的临床应用及其用量探究[J]. 吉林中医药, 2021, 41(3): 384–387.  
WEI RN, ZHAI YH, ZHU XD. Exploration on the clinical application and dosage of *Angelicae dahuricae* Radix [J]. Jilin J Chin Med, 2021, 41(3): 384–387.
- [5] 练有扬, 杨娜, 赵雨晴, 等. 白芷的化学成分及药理活性研究进展[J]. 科学技术创新, 2019, (3): 36–37.  
LIAN YY, YANG N, ZHAO YQ, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Angelica dahurica* [J]. Sci Technol Innov, 2019, (3): 36–37.
- [6] 吉庆, 马宇衡, 张焯. 白芷的化学成分及药理作用研究进展[J]. 食品与药品, 2020, 22(6): 509–514.  
JI Q, MA YH, ZHANG Y. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Angelicae dahuricae* Radix [J]. Food Drug, 2020, 22(6): 509–514.
- [7] 赵爱红, 杨秀伟, 杨鑫宝, 等. 祁白芷根中新的天然产物[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(16): 2400–2407.  
ZHAO AIH, YANG XW, YANG XB, et al. A new natural product from root of *Angelica dahurica* cv. Qibaizhi [J]. Chin J Chin Mat Med, 2012, 37(16): 2400–2407.
- [8] 徐广, 任星宇, 杨丹, 等. 不同处理方法对白芷挥发油提取量、成分及美白活性的影响[J]. 化学世界, 2021, 62(11): 677–685.  
XU G, REN XY, YANG D, et al. Effects of different process on extraction amount, composition and whitening activity of volatile oil from *Angelica* [J]. Chem World, 2021, 62(11): 677–685.
- [9] 徐珊, 刘鹏宇, 何全中. 白芷总香豆素对痛经模型小鼠的影响[J]. 中医药信息, 2020, 37(5): 5–10.  
XU S, LIU PY, HE QZ. Effect of total coumarin of *Angelica dahurica* on dysmenorrhea model mice [J]. Inf Tradit Chin Med, 2020, 37(5): 5–10.
- [10] 王建新, 马翠花. 白芷生物碱对 HeLa 细胞的抑制作用[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(7): 1886–1888.  
WANG JX, MA CH. Inhibitory effect of *Angelica dahurica* alkaloids on HeLa cells [J]. Chin J Gerontol, 2014, 34(7): 1886–1888.
- [11] 栗坤, 李青旺, 刘静. 白芷生物碱对小鼠 U14 宫颈癌抗肿瘤活性作用的研究[J]. 燕山大学学报, 2012, 36(1): 89–94.  
LI K, LI QW, LIU J. Effect of AAD anti-tumor on mice bearing in U14 cervical cancer [J]. J Yanshan Univ, 2012, 36(1): 89–94.
- [12] 刘红萍, 吴江, 王芬, 等. 白芷多糖对免疫低下模型小鼠免疫调节作用的研究[J]. 四川医学, 2020, 41(11): 1126–1131.  
LIU HP, WU J, WANG F, et al. Study on the immunomodulatory effects of *Angelicae dahuricae* Radix polysaccharide on immunosuppressive mice [J]. Sichuan Med J, 2020, 41(11): 1126–1131.
- [13] 雷雨恬, 黄婷, 陈文莉, 等. 不同等级川白芷有效成分含量及抗炎镇痛作用对比研究[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(1): 105–110.  
LEI YT, HUANG T, CHEN WL, et al. Comparative study on the anti-inflammatory, analgesic effects and components content of different grades of *Angelica dahurica* var. Formosana [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2021, 37(1): 105–110.
- [14] 徐方颺, 王新志, 孙田焯, 等. 基于网络药理学白芷香豆素类镇痛作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(3): 196–199, 274–275.  
XU FB, WANG XZ, SUN TY, et al. Preliminary study on analgesic effect of coumarin in Baizhi (*Angelicae dahuricae* Radix) based on network pharmacology [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2021, 39(3): 196–199, 274–275.
- [15] 王蕊, 刘军, 杨天宇, 等. 白芷化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(2): 123–128.  
WANG R, LIU J, YANG DY, et al. Research progress in chemical constituents and pharmacological action of *Angelica dahurica* [J]. Inf Tradit Chin Med, 2020, 37(2): 123–128.
- [16] 王晴, 金圣柱, 李光耀, 等. 白芷多糖对 2 型糖尿病大鼠的降糖保肝作用[J/OL]. 食品科学: 1-12. [2022-06-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220621.1522.004.html>  
WANG Q, JIN SZ, LI GY, et al. The effect of *Angelica dahurica* polysaccharide on hypoglycemic and hepatoprotective in type 2 diabetic rats [J/OL]. Food Sci: 1-12. [2022-06-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220621.1522.004.html>
- [17] NYAMHUU TS, PAGMADULAM N, KHURELTGOO K. Characterization of polysaccharides isolated from stem of *Angelica dahurica* [J]. Mongolian J Agric Scis, 2014, 11(2): 142–145.
- [18] 唐森, 农艳宁, 覃逸明, 等. 响应面法优化白芷水溶性多糖提取工艺的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 4937–4943.  
TANG S, NONG YN, QIN YM, et al. Optimization of extraction process of water soluble polysaccharide from *Angelica dahurica* by response surface methodology [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(15): 4937–4943.
- [19] 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.  
WANG DC, GAO LJ, GAO YX. Antioxidant activity of polysaccharides from *Angelicae dahurica* Radix in vitro [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2009, 20(1): 173–174.

- [20] DONG XD, LIU YN, ZHAO Y, *et al.* Structural characterization of a water-soluble polysaccharide from *Angelica dahurica* and its antitumor activity in H22 tumor-bearing mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 193: 219–227.
- [21] 李永超, 宋杨, 齐云. 白芷的药理作用研究进展[J]. *国外医药*, 2007, (4): 161–164.  
LI YC, SONG Y, QI Y. Research progress of pharmacological action of *Angelica dahurica* [J]. *Fore Med*, 2007, (4): 161–164.
- [22] 胡政宇, 周鸿立. 白芷多糖提取分离及其生物活性的研究进展[J]. *中国调味品*, 2017, 42(12): 174–177.  
HU ZY, ZHOU HL. Research progress in extraction, separation and biological activity of polysaccharides from *Angelica dahurica* [J]. *Chin Cond*, 2017, 42(12): 174–177.
- [23] 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, (11): 166–169.  
FU XP, YANG XJ. The study on decolorization methods of plant polysaccharide [J]. *Food Res Dev*, 2007, (11): 166–169.
- [24] 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, (8): 342–346.  
XU GY, YAN J, GUO XQ, *et al.* The betterment and apply of phenol-sulphate acid method [J]. *Food Sci*, 2005, (8): 342–346.
- [25] KATJA S, NATASA U, DARJA K, *et al.* Simple method for the determination of polysaccharides in herbal syrup [J]. *J Carbohydr Chem*, 2018, 37(7–8): 431–441.
- [26] 徐晓飞, 陈健. 多糖含量测定的研究进展[J]. *食品科学*, 2009, 30(21): 443–448.  
XU XF, CHEN J. Research progress in methods for quantitative determination of polysaccharides [J]. *Food Sci*, 2009, 30(21): 443–448.
- [27] 杨颖, 谢佳雨, 周冰倩, 等. 白术粗多糖的大孔树脂脱色工艺优化研究[J]. *食品科技*, 2020, 45(8): 169–173.  
YANG Y, XIE JY, ZHOU BQ, *et al.* Processing optimization on decolorization of the crude polysaccharide from *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. *Food Sci Technol*, 2020, 45(8): 169–173.
- [28] 何卓宏, 李运超, 杨凌杰, 等. 东海乌参多糖制备及其抗氧化活性研究[J]. *安徽农业科学*, 2022, 50(8): 160–162, 168.  
HE ZH, LI YJ, YANG LJ, *et al.* Preparation and antioxidant activity of polysaccharides from *Acaudina leucoprocta* [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2022, 50(8): 160–162, 168.
- [29] 李江萍, 庞谢辉. 正交试验优化白芷多糖的活性炭脱色工艺研究[J]. *现代药物与临床*, 2012, 27(4): 366–369.  
LI JP, PANG XH. Optimization of decoloration technology for active carbon on polysaccharides from *Angelicae dahuricae* Radix by orthogonal test [J]. *Drugs Clin*, 2012, 27(4): 366–369.
- [30] 冉靛, 周婵媛, 张桂玲, 等. 黑虎掌菌多糖脱色工艺及其抗氧化活性[J]. *食品工业*, 2020, 41(5): 170–174.  
RAN L, ZHOU CY, ZHANG GL, *et al.* Decolorization process and antioxidant activity of polysaccharide from *Sarcodon aspratium* (Berk.)S. Ito [J]. *Food Ind*, 2020, 41(5): 170–174.
- [31] 苗慧琴. 山药块茎多糖的分离纯化及体外抗氧化性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.  
MIAO HQ. Study on separation, purification and antioxidant activity *in vitro* of Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) tuber polysaccharides [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014.
- [32] 陈俊彰. 佛手山药中性多糖的结构分析及体外抗氧化活性研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2015.  
CHEN JZ. Study on structure and the antioxidant activity *in vitro* of neutral polysaccharide from *Dioscorea opposita* foshou [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2015.
- [33] 王薇薇. 红松松塔多糖的提取、分离纯化及抗氧化活性研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2013.  
WANG WW. Study on the extraction, purification and anti-oxidant activity of polysaccharides from pinecone of *Pinus koraiensis* [D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2013.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

## 作者简介



邱晓月, 硕士研究生, 主要研究方向为药食两用资源开发与利用。  
E-mail: 1131037627@qq.com



吴兰芳, 博士, 副教授, 主要研究方向为药食两用资源开发与利用。  
E-mail: wulanfang757@163.com