

湿法超微粉碎提取石斛多糖的研究

董海丽, 刘 红

(淮南联合大学 化工系, 安徽 淮南 232038)

摘 要:以铁皮石斛为试材,采用湿法超微粉碎提取石斛多糖,通过单因素试验研究了磨齿磨隙、固液比、提取温度、提取时间对多糖得率的影响,在此基础上,采用正交实验对石斛多糖提取工艺进行了优化。结果表明:胶体磨齿磨隙 30 μm 、固液比 1:14 g/mL、提取温度 70℃、提取时间 31 min 时,石斛多糖得率可达 16.48%。表明湿式超微粉碎是一种有效的提取石斛多糖的方法。

关键词:超微粉碎;提取;石斛;多糖

中图分类号:TS 255.36 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)15-0150-03

石斛(*Dendrobium*)属兰科石斛属多年生草本植物^[1]。中药学认为其具有滋阴清热、生津益胃、止咳润肺、清音明目等作用^[2]。研究表明,石斛中含有石斛碱、石斛多糖、香豆素、萜酮类、香豆素、倍半萜类和甾体类等多种成分^[3-4],其中石斛多糖具有显著的抗肿瘤、抗氧化、降血糖、抗白内障和调节机体免疫力的作用^[5-6],被认为是石斛中的主要功能成分。因此,研究石斛多糖的有效提取方法对开发利用石斛资源具有重要意义。

目前,已有一些石斛多糖的提取方法的相关研究。王培培等^[7]采用水提取醇沉制备铁皮石斛多糖,方法简单,但得率低;尚喜雨等^[8]采用微波辅助强化提取铁皮石斛多糖;叶余原^[9]采用超声法强化提取铁皮石斛多糖。但微波和超声提取容易对多糖有效成分造成破坏。湿法超微粉碎法是把溶剂与原料一起放入超微粉碎机,在超微粉碎下对药材的细胞结构进行破坏,提高有效成分的溶出。纵伟等^[10]采用湿式超微粉碎提取怀菊花总

黄酮,时间短、得率高、有效成分破坏少。但采用湿式超微粉碎提取石斛多糖的研究目前尚鲜见报道。

因此,该试验将湿式超微粉碎技术应用于提取石斛多糖,为石斛多糖的提取提供新的提取方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

铁皮石斛购于淮南大药房;乙醇、苯酚、硫酸等为分析纯。

仪器与设备:胶体磨,温州胶体磨厂;TU1800S 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器公司;SBW-1 旋转蒸发器,上海申玻仪器公司。

1.2 试验方法

1.2.1 湿式超微粉碎提取石斛多糖 称取一定量的石斛,粉碎到 80 目,然后加入一定温度的水,在不同胶体磨磨齿间隙下破碎细胞,然后在一定的温度下维持一定时间浸提,浸提后 3 500 r/min 离心 10 min,取上清,真空浓缩,然后加无水乙醇调节到醇浓度 70%,静置 4 h 后收集沉淀,得多糖粗提物。

1.2.2 石斛多糖提取的单因素试验 磨齿间隙对石斛多糖提取得率的影响:称取 10 g 粉碎的石斛,加入 70℃水 150 mL,加入胶体磨,调节胶体磨磨齿间隙为

第一作者简介:董海丽(1970-),女,安徽亳州人,硕士,教授,研究方向为天然产物化学。E-mail:anhuidonghaili@163.com.

基金项目:安徽省高等学校省级自然科学基金资助项目(KJ2012B171)。

收稿日期:2013-03-07

Abstract: Taking cabbage as the main raw material to make pickle, adding different concentrations (0, 0.025%, 0.050%, 0.075%, 0.100%) of tea polyphenol and *Cleome gynandra* when prepare brine, the effect on nitrite content in the fermentation of pickle was studied. The results showed that the peak value of the nitrite in pickle was progressively reduced when the concentrations of tea polyphenol and *Cleome gynandra* were progressively increased in the process. And the content of nitrite reduced to a larger extent when *Cleome gynandra* was added. The peak value of the nitrite in pickling solution was progressively reduced when the concentrations of tea polyphenol were progressively increased, while the contents of the nitrite in pickling solution decreased when the concentration was lower than 0.075%, and then became higher when higher than 0.075%.

Key words: pickles; nitrite; *Cleome gynandra*; tea polyphenol

10~50 μm , 胶磨 2 次后, 维持在 70℃ 下保持 30 min, 然后离心、真空浓缩、醇沉, 研究磨齿间隙对石斛多糖提取得率的影响。固液比对石斛多糖提取得率的影响: 称取 10 g 粉碎的石斛, 按不同固液比加 70℃ 水, 加入胶体磨, 调节胶体磨磨齿间隙为 30 μm , 胶磨 2 次后, 维持在 70℃ 下保持 30 min, 然后离心、真空浓缩、醇沉, 研究 1:(5~25) 固液比对石斛多糖提取得率的影响。提取时间对石斛多糖提取得率的影响: 称取 10 g 粉碎的石斛, 加入 70℃ 水 150 mL, 加入胶体磨, 调节胶体磨磨齿间隙为 30 μm , 胶磨 2 次后, 维持在 70℃ 下保持 10~50 min, 然后离心、真空浓缩、醇沉, 研究提取时间对石斛多糖提取得率的影响。提取温度对石斛多糖提取得率的影响: 称取 10 g 粉碎的石斛, 加入 50~90℃ 水 150 mL, 加入胶体磨, 调节胶体磨磨齿间隙为 30 μm , 胶磨 2 次后, 维持 30 min, 然后离心、真空浓缩、醇沉, 研究提取温度对石斛多糖提取得率的影响。

1.2.3 石斛多糖提取的工艺优化 根据单因素试验结果, 选取磨齿磨隙、固液比、提取温度、提取时间 4 个因素, 以石斛多糖提取得率为指标, 研究石斛多糖最佳提取工艺。采用 $L_9(3^4)$ 正交实验设计, 正交实验因素与水平表见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	(A) 磨齿磨隙 / μm	(B) 固液比 / $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	(C) 提取温度 / $^{\circ}\text{C}$	(D) 提取时间 / min
1	25	1:14	69	29
2	30	1:15	70	30
3	35	1:16	71	31

1.3 项目测定

多糖得率的测定采用苯酚-硫酸法测定粗提取物中多糖含量^[11], 计算石斛多糖提取得率: 多糖得率(%) = 提取得到的多糖质量(g) / 原料质量(g) $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 磨齿间隙对石斛多糖提取得率的影响 由图 1 可知, 磨齿间隙在 30 μm 时, 多糖提取得率最高, 磨齿间隙大于或小于 30 μm , 多糖提取得率都降低。这是由于磨齿间隙越小, 石斛细胞破坏越大, 多糖越易于释放, 但若间隙过小, 细胞破碎程度过大, 导致大量小分子物质溶出, 溶液总溶质浓度高, 反而不利于多糖溶出。

2.1.2 固液比对石斛多糖提取得率的影响 由图 2 可知, 随着固液比的增加, 多糖得率增加, 当达到 1:15 g/mL 后, 继续增加溶剂用量, 得率增加缓慢。这是由于溶剂越多, 传质浓度差越大, 越有利于提取。但由于溶剂用量大, 会带来后续浓缩工作量增加, 因此, 综合考虑, 采用固液比 1:15 g/mL 为适宜。

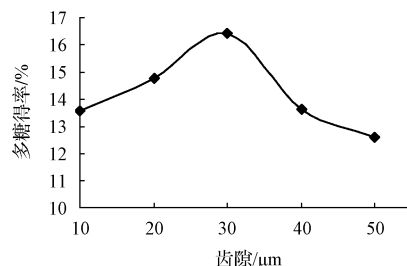


图 1 磨齿间隙对多糖提取得率的影响

Fig. 1 Effect of gap of mill teeth on yield of polysaccharide

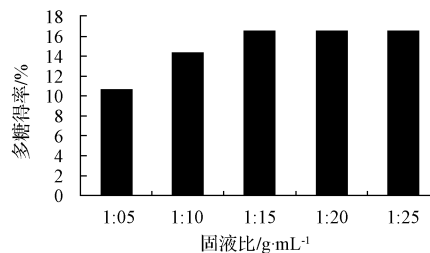


图 2 固液比对石斛多糖提取得率的影响

Fig. 2 Effect of ratio of solid to liquid on yield of polysaccharide

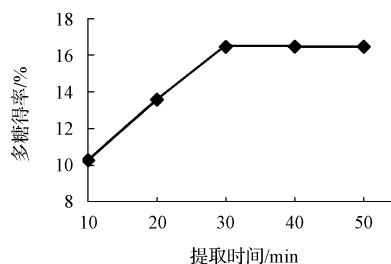


图 3 提取时间对石斛多糖提取得率的影响

Fig. 3 Effect of time on yield of polysaccharide

2.1.3 提取时间对石斛多糖提取得率的影响 由图 3 可知, 在 30 min 前, 得率随着提取时间的增加而增加, 提取时间超过 30 min 后, 石斛多糖提取得率增加缓慢, 这是由于 30 min 后, 多糖在溶液中传质过程达到平衡。因此, 采用 30 min 进行提取较适宜。

2.1.4 提取温度对石斛多糖提取得率的影响 由图 4 可知, 在 70℃ 以前, 随着提取温度的增加, 石斛多糖提取得率逐步升高, 这可能是由于较高温度加快分子运动, 使多糖分子进入溶液中速度加快。但达到 70℃ 以后, 石斛多糖提取得率又有所下降, 这可能是由于过高的温度导致原料中淀粉类物质糊化, 增加粘度, 导致提取得率降低。因此, 采用 70℃ 较适宜。

2.2 提取工艺条件的优化

由表 2 可知, 各因素对石斛多糖提取得率的影响程度依次为: D > C > A > B, 即: 提取时间 > 提取温度 > 磨齿磨隙 > 固液比。优化的提取条件为 $A_2B_1C_2D_3$, 即磨齿磨隙 30 μm 、固液比 1:14 g/mL、提取温度 70℃、提取时间 31 min。

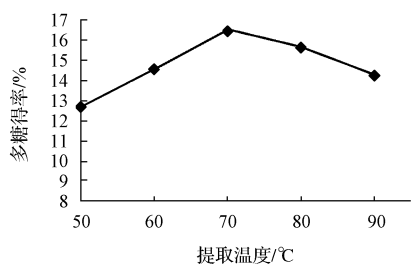


图4 提取温度对石斛多糖提取得率的影响

Fig. 4 Effect of temperature on yield of polysaccharide

表2 正交实验结果

Table 2 Results of orthogonal test

实验号	(A)磨齿磨隙 / μm	(B)固液比 / $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	(C)提取温度 / $^{\circ}\text{C}$	(D)提取时间 / min	得率 /%
1	25	1:14	69	29	15.43
2	25	1:15	70	30	16.23
3	25	1:16	71	31	15.99
4	30	1:14	70	31	16.45
5	30	1:15	71	29	15.53
6	30	1:16	69	30	16.32
7	35	1:14	71	30	16.12
8	35	1:15	69	31	15.77
9	35	1:16	70	29	15.63
k1	15.883	16.000	15.840	15.530	
k2	16.100	15.843	16.103	15.223	
k3	15.840	15.980	15.880	16.070	
R	0.260	0.157	0.263	0.693	

表3 方差分析结果

Table 3 Result of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	$F/F_{0.05}$	显著性
A	0.116	2	0.431	不显著
B	0.044	2	0.163	不显著
C	0.121	2	0.449	不显著
D	0.796	2	2.956	显著
误差	1.08	8		

由表3可知,提取时间对石斛多糖提取得率影响显著,胶体磨磨隙、固液比、提取温度对石斛多糖提取得率影响不显著,按上述优化条件进行放大试验,石斛多糖提取得率为16.48%。

3 结论

该研究对湿式超微粉碎提取石斛多糖工艺进行了研究,研究表明,湿式超微粉碎提取石斛多糖提取最佳工艺条件为:磨齿磨隙30 μm 、固液比1:14 g/mL、提取温度70 $^{\circ}\text{C}$ 、提取时间31 min,石斛多糖提取得率为16.48%。表明湿式超微粉碎是一种有效的提取石斛多糖的方法。

参考文献

- [1] 廖道龙,谢利,曾瑞珍,等. 石斛属植物倍性与形态学性状的相关性研究[J]. 西北植物学报,2012(1):2023-2029.
- [2] 蒋玉兰,罗建平. 药用石斛多糖药理活性及化学结构研究进展[J]. 时珍国医国药,2011,22(11):2985-2987.
- [3] 李璽,王春兰,郭顺星. 高效液相色谱法测定金钗石斛中石斛碱含量[J]. 中国药理学杂志,2009(4):252-254.
- [4] 凌志扬,房玉良. 石斛的化学成分及药理作用[J]. 中国当代医药,2012(5):13-14.
- [5] 盛家荣,李志华,易艳波,等. 铁皮石斛多糖的研究进展[J]. 广西科学院学报,2011(4):338-340.
- [6] 黄小燕,党翠芝,杨庆雄. 金钗石斛的抗氧化活性研究[J]. 贵州农业科学,2011(7):84-86.
- [7] 王培培,鲁芹飞,陈建南. 正交实验法优化铁皮石斛多糖的提取工艺[J]. 时珍国医国药,2012(11):2781-2782.
- [8] 尚喜雨,王传铭. 正交实验优选铁皮石斛多糖提取工艺的研究[J]. 辽宁中医杂志,2010(4):708-709.
- [9] 叶余原. 超声法提取铁皮石斛多糖工艺的研究[J]. 中药材,2009(4):617-620.
- [10] 纵伟,张欢欢. 湿式超微粉碎提取怀菊花总黄酮的研究[J]. 食品科学,2009(16):169-171.
- [11] 钟先锋,黄桂东,邓泽元,等. 荷叶多糖提取工艺的研究[J]. 食品与机械,2007,23(1):87-89.

Study on Extraction of *Dendrobium candidum* Polysaccharide by Wet Ultrafine Grinding Technology

DONG Hai-li, LIU Hong

(Department of Chemical Engineering, Huainan Union University, Huainan, Anhui 232038)

Abstract: Taking *Dendrobium candidum* as material, wet ultrafine grinding technology was used to extract *Dendrobium candidum* polysaccharide. The effect of gap of mill teeth, ratio of solid to liquid, extraction temperature and extraction time on yield of polysaccharide were studied by single factor test, and orthogonal test was used to optimum extraction conditions. The results showed that optimum conditions were gap of mill teeth 30 μm , ratio of solid to liquid 1:14 g/mL, extraction temperature 70 $^{\circ}\text{C}$ and extraction time 31 min. The yield of *Dendrobium candidum* polysaccharide was 16.48%. Wet ultrafine grinding extraction was a suitable method for extraction of *Dendrobium candidum* polysaccharide.

Key words: ultrafine grinding; extraction; *Dendrobium candidum*; polysaccharide