

# 石斛中石斛多糖的提取工艺研究

钱叶,吕不望(杭州胡庆余堂药业有限公司,浙江 杭州 310016)

**摘要:**目的 研究石斛中石斛多糖的提取工艺。方法 采用正交试验法进行优选,紫外分光光度法测定多糖含量。结果 粉碎度、提取次数和加水量因素对石斛中石斛多糖的提取有显著性影响。结论 石斛中石斛多糖的最佳提取工艺为将药材粉碎至粗粉,加水 20 倍量,提取 4 次,每次 8h。

**关键词:**石斛;正交试验;石斛多糖;紫外分光光度法

中图分类号:R282.710.2 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2005)04-0293-02

## Study on extraction process of polysaccharide from *Caulis Dendrobii*

QIAN Ye, LV Bu-wang(*Hangzhou Hu Qing Yu Tang Pharmaceutical Co., Ltd, Hangzhou 310016, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the extraction process of polysaccharide from *Caulis Dendrobii*. **METHOD** The optimum extraction process was selected with the orthogonal design. The content of polysaccharide was determined by UV-spectrophotometry. **RESULTS** After breaking, the times of extracting and the amount of water had marked influence on the extraction of polysaccharide from *Caulis Dendrobii*. **CONCLUSION** The optimum extraction process of polysaccharide from *Caulis Dendrobii* was as following: grind *Caulis Dendrobii* to rough grains, adding 20 times water, extracting 4 times and 8 hours each time.

**KEY WORDS:** *Caulis Dendrobii*; orthogonal design; polysaccharide; UV-spectrophotometry

石斛为兰科植物环草石斛、马鞭石斛、黄草石斛、铁皮石斛或金钗石斛的新鲜或干燥茎,为一常用补阴药,具有益胃

生津,滋阴清热的功能,其主要化学成分为多糖及生物碱。近年来研究表明,石斛多糖是石斛强壮作用的有效成分,能增强机体免疫功能,并具有抗肿瘤活性<sup>[1]</sup>。笔者通过正交试验优选提取石斛中石斛多糖的最佳工艺。

## 1 仪器与材料

751 - GW型紫外分光光度计(惠普上海分析仪器有限公司);石斛药材经鉴定为铁皮石斛 *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl.的干燥茎,化学试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 正交实验设计

根据多糖性能,选用水煎煮工艺,选择提取时的加水量、提取时间、提取次数、药材粉碎度4个试验因素,每个因素3个水平进行优选,采用  $L_9(3^4)$ 表对石斛进行石斛多糖的提取和测定,并作为考察指标。因素水平表见表1。

表1 试验因素与水平

Tab 1 Factors and levels in the experiment

水平	因素			
	A加水量 (倍)	B提取 时间(h)	C提取 次数	D粉碎度
1	10	4	2	饮片
2	20	6	3	0.5cm长小段
3	30	8	4	粗粉

### 2.2 实验方法

**2.2.1 样品的提取** 取符合规定的石斛药材,按  $L_9(3^4)$ 表条件进行提取,提取液浓缩至相对密度约1.05,加4倍量乙醇使沉淀,混匀5min后,以3000r/min离心5min,弃去上清液,残渣用体积分数为80%乙醇溶液数毫升洗涤,离心后弃去上清液,反复操作3~4次,真空干燥,得多糖粗品。

**2.2.2 样品测定方法** 取经105℃干燥至恒重的粗多糖约50mg,精密称定,置于50mL量瓶中,加水溶解,并稀释至刻度,摇匀,精密量取10mL,置于100mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,备用,准确吸取样品测定液2.0mL,置于25mL比色管中,加入50g/L苯酚溶液1.0mL,在旋转混匀器上混匀,小心加入浓硫酸10.0mL,于旋转混匀器上小心混匀,置沸水浴中煮沸10min,取出,冷却至室温后用分光光度计在485nm波长处测定吸收度<sup>[2]</sup>。

**2.2.3 标准曲线** 精密称取经105℃干燥至恒重的葡萄糖100mg,置100mL量瓶中,加水适量使溶解,稀释至刻度,摇匀,精密吸取10mL,置100mL量瓶中,加水至刻度,摇匀,备用,此标准溶液1mL含葡萄糖0.1mg。

准确吸取葡萄糖标准溶液0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0mL(相当于葡萄糖0.0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1mg),分别置于25mL比色管中,准确补充水至2.0mL,加入50g/L苯酚溶液1.0mL,在旋转混匀器上混匀,小心加入浓硫酸10.0mL,于旋转混匀器上小心混匀,置沸水浴中煮沸10min,取出,冷却至室温后用分光光度计在485nm波长处测定吸收度,以吸收度值为Y,葡萄糖浓度为X,得回归方程:  $Y = 0.00900 + 0.00567X$ ,  $r = -0.9996$ 。

**2.2.4 重复性试验** 取在某一试验水平获得的粗多糖样品

6份,按以上方法测定, RSD为0.98%。

### 2.3 结果

按正交试验条件进行试验,计算多糖含量,并将结果进行方差分析,结果见表2、表3。从表中可知,  $A_{IIIj} > A_{IIj} > A_{Ij}$ ,  $B_{IIIj} > B_{IIj} > B_{Ij}$ ,  $C_{IIIj} > C_{IIj} > C_{Ij}$ ,  $D_{IIIj} > D_{IIj} > D_{Ij}$ ,各因素影响程度依次为  $D > C > A > B$ ,因而石斛中石斛多糖最佳的提取条件是  $A_3 B_3 C_3 D_3$ ,其中D和C、A因素对石斛中石斛多糖的提取分别有非常显著和显著性影响。

表2 正交试验设计及结果表

Tab 2 Orthogonal design and results

试验号	A	B	C	D	石斛多糖的含量(%)
1	1	1	1	1	11.983
2	1	2	2	2	14.223
3	1	3	3	3	23.156
4	2	1	2	3	22.447
5	2	2	3	1	19.523
6	2	3	1	2	15.654
7	3	1	3	2	20.037
8	3	2	1	3	21.004
9	3	3	2	1	17.291
I <sub>j</sub>	49.362	54.467	48.641	48.797	
II <sub>j</sub>	57.624	54.750	53.961	49.914	$\sum_{i=1}^9 y_i = 165.318$
III <sub>j</sub>	58.332	56.101	62.716	66.607	
I <sub>j</sub>	16.454	18.156	16.214	16.266	$\frac{(\sum y_i)^2}{9} = 3036.671$
II <sub>j</sub>	19.208	18.250	17.987	16.638	
III <sub>j</sub>	19.444	18.700	20.905	22.202	$\sum_{i=1}^9 y_i^2 = 3153.777$
R	2.990	0.544	4.692	5.937	

表3 方差分析表

Tab 3 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	显著性(P)
A	16.580	2	8.290	32.62	<0.05
B	0.508	2	0.254	1	>0.05
C	33.673	2	16.837	66.24	<0.05
D	66.344	2	33.172	130.51	<0.01
误差	0.508	2	0.254		

注:  $F_{1-0.05}(2, 2) = 19.00$ ,  $F_{1-0.01}(2, 2) = 99.00$

### 3 讨论

从  $L_9(3^4)$ 正交表对石斛中石斛多糖提取工艺的比较结果看,影响石斛多糖含量的因素依次为粉碎度 > 提取次数 > 加水量 > 提取时间,最佳提取条件为  $A_3 B_3 C_3 D_3$ ,但根据计算,A因素2,3水平间几乎在同一数量级,从省时节能,降低成本的角度考虑,选择  $A_2 B_3 C_3 D_3$ ,即石斛中石斛多糖的最佳提取条件为将药材粉碎至粗粉,加水20倍量,提取4次,每次8h。

### 参考文献

- [1] 黄民权,蔡体育,刘庆伦.铁皮石斛多糖对小白鼠白细胞和淋巴细胞移动抑制因子的影响[J].天然产物研究与开发,1996,8(3):39.
- [2] 王光亚.粗多糖的测定方法——分光光度法[J].保健食品功效成分的检测方法.北京:中国轻工业出版社,2002:19-23.

收稿日期:2003-10-15