

白及多糖提取工艺的研究

刘光斌^a, 黄忠^a, 黄长干^a, 温余德^b, 彭鹤斌^b (江西农业大学, a. 应用化学研究所, b. 理学院, 江西 南昌 330045)

摘要:目的 对从白及块茎中提取多糖的工艺进行改进, 为白及多糖的开发提供理论依据。方法 采用煎煮前浸泡 24 h 及加入一定量 ZTC1 + 1 (Ⅱ) 型天然澄清剂等新工艺, 运用苯酚-硫酸法测定多糖含量及转移率。结果 在提取液中, 加入澄清剂 4% 的 B 组分、2% 的 A 组分, 且 B:A = 2:1, 共澄清 4 h, 白及多糖含量及转移率均明显提高, 且提取效果最好。结论 白及多糖提取新工艺值得推广。

关键词: 白及多糖; 澄清剂; 提取

中图分类号: R931.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)04-0289-03

Study on Extraction Process of Polysaccharide from *Bletilla striata*

LIU Guang-bin^a, HUANG Zhong^a, HUANG Chang-gan^a, WEN Yu-de^b, PENG He-bin^b (a. Applied Chemical Institute, b. Science College, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To improve the technology of extracting polysaccharide from *Bletilla striata* (Thunb) Reichb. f. and provide theory basis for the product development. **METHODS** Several new technologies used in the experiment include soaking for 24 h before decoction and applying ZTC1 + 1 (Ⅱ) natural clarifying agent etc. The content and conversion of the polysaccharide was determined by phenol-sulfuric acid method. **RESULTS** The content and conversion of the polysaccharide obviously raised and best extraction effect was obtained, when clarifying for 4h and 4% B component, 2% A component (B:A = 2:1) were added. **CONCLUSION** The new technology distilling polysaccharide from *Bletilla striata* (Thunb) Reichb. f. is worthy to be generalized.

KEY WORDS: Polysaccharide of *Bletilla striata* (Thunb) Reichb. f.; clarifying agent; extraction

白及 (*Bletilla striata* (Thunb) Reichb. f.) 为兰科药用植物, 其块茎提取物白及粗多糖 (又称白及胶), 主要成分为白及多糖, 文献记载为葡萄糖聚糖^[1], 朱小平等^[2] 分析其糖苷键为 β 型, 纸色谱、薄板色谱及气相色谱分析表明白及多糖由甘露糖和葡萄糖两种单糖组成, 相对 Rf 值之比为 1.11:1。白及胶在医学临床上具有广泛的应用, 能收敛止血, 补肺。内服用于食道炎, 糜烂性胃炎等。外用于表皮烧烫伤, 炎性外痔等^[3]。随着研究的深入, 白及胶的功能特效也越来越多地被人们发现, 其中, 刘光斌等^[4] 对白及胶应用于日用化妆品方面进行了深入研究。

白及多糖的提取是研究其各种用途的基础, 有关其提取方法, 以传统的热水提取, 乙醇沉淀法为主, 该方法有许多不足, 如乙醇损耗量大, 工艺复杂, 有效成分损失严重。当前天然澄清剂在中药提取液中的分离纯化中已得到了广泛的应用, 如 101 果汁澄清剂、壳聚糖、甲壳素类等, 用于澄清药液, 有效除去淀粉、蛋白质、树脂、鞣质等杂质, 对中药有效成分几乎无影响。芮海云等^[5] 对不同理化方法提取该多糖进行

了研究, 结果表明热水处理为较理想的提取方法。在此基础上, 将 ZTC1 + 1 (Ⅱ) 型天然澄清剂应用于白及多糖的提取, 并对传统方法作一些改进, 以多糖含量及转移率为指标, 对传统方法和新方法进行比较研究, 以寻找出最佳提取工艺。

1 材料

1.1 原料

白及 (*Bletilla striata* (Thunb) Reichb. f.) 块茎, 由南昌黄庆仁栈华氏大药房提供, 已烘干, 研磨成粉。

1.2 仪器

JA2003N 电子天平: 上海精密科学仪器公司; HH—S 恒温水浴锅: 江苏金坛市医疗仪器厂; RE52—99 旋转蒸发器: 上海亚荣生化仪器厂; Anke7DL—5—A 离心机: 上海亚荣生化仪器厂; LG50 理化干燥箱: 上海跃进医疗器械厂; 722 可见分光光度计: 上海光谱仪器公司。

1.3 试剂

95% 乙醇; 98% 浓硫酸; 葡萄糖 (精密称取 105 °C 干燥至恒重的葡萄糖 100.0 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加水溶解, 稀

基金项目: 江西农业大学自然科学基金项目[2004(1324)]; 江西省教育厅科研项目[2006(145)]

作者简介: 刘光斌, 男, 高级工程师, 硕士 Tel: (0791)3813048 E-mail: lgb267@126.com

释至刻度,移取 10.0 mL 该溶液于 100 mL 量瓶中,配成 0.1 mg · mL⁻¹ 的葡萄糖标准溶液);苯酚(取苯酚 200 g,铝粉 0.2 g,碳酸氢钠 0.1 g,混合蒸馏,收集 182℃ 馏份,配成 5% 水溶液);3,5-二硝基水杨酸(DNS)试剂(将 6.3 g DNS 和 262 mL 2 mol · L⁻¹ NaOH 溶液,加到 500 mL 含有 185 g 酒石酸钾钠的热水溶液中,再加 5 g 结晶酚和 5 g 亚硫酸钠,搅拌溶解,冷却后加蒸馏水定容至 1000 mL,贮于棕色瓶中备用);ZTC1 + 1 II 型(A)(B)型天然澄清剂(以下简称澄清剂),由天津正天成公司提供^[6]; (A)组分:用少量蒸馏水搅成糊状,加入需要量的水,搅拌,配成 1% 浓度的溶液,溶胀 24 h,简称 A 澄清剂。(B)组分:用少量 1% 醋酸溶解 B 组分并搅成糊状,加入该足够量的醋酸,搅拌,配成 1% 浓度的溶液,溶胀 24 h。简称 B 澄清剂。所用试剂均为分析纯试剂。

2 方法

2.1 白及多糖的提取

2.1.1 粗提取液的制备 称取白及粉 20 g,加蒸馏水 400 mL,恒温 90℃ 煎煮 60 min,不断搅拌,补水至 400 mL,过滤,滤液备用。药渣继续每次加水 400 mL,煎煮时间分别为 40,30 min,过滤,合并 3 次滤液,浓缩至 300 mL,得粗提取液。

2.1.2 原法 ①原法(编号 1) 将“2.1.1”制备的粗提取液加入 3 倍量的乙醇使沉淀,静置。用双层纱布过滤,倾出上清液。收集灰白絮状沉淀加入 300 mL 水,加热搅拌使溶解。加入乙醇 135 mL,使含乙醇量达 30%,静置。3 000 r · min⁻¹ 离心 15 min,取上清液浓缩成 200 mL,继续加乙醇使含乙醇量达到 80%,静置。倾出上清液,淡黄色絮状沉淀于 55℃ 真空干燥,得白及总多糖。②原法浸泡(编号 2) 称取白及粉 20 g,加蒸馏水 400 mL,浸泡 24 h 后,恒温 90℃,煎煮 60 min,不断搅拌,补水至 400 mL,过滤,滤液备用。药渣继续每次加水 400 mL,煎煮时间分别为 40,30 min,过滤,合并 3 次滤液,

表 1 不同提取工艺所得白及多糖含量及多糖转移率

Tab 1 The content of the polysaccharide and the conversion of the polysaccharide by different extraction technology

编号	方法	澄清剂用量 (B% / A%)	多糖质量/g	总多糖含量/%	还原糖含量/%	多糖含量/%	多糖转移率/%
1	原法	/	4.137	35.81	2.44	33.37	93.18
2	原法浸泡	/	4.238	37.90	2.19	35.71	94.22
3	新法	(6 / 3)	4.737	41.67	2.21	39.46	94.70
4	新法浸泡(1)	(6 / 3)	5.340	43.09	1.89	41.20	95.61
5	新法浸泡(2)	(4 / 2)	5.190	45.86	1.46	44.40	96.82
6	新法浸泡(3)	(2 / 1)	5.233	42.08	2.14	39.94	94.91

3 结果与分析

表 1 是在不同提取工艺条件下,得出白及总多糖含量、多糖含量及转移率的结果。可以看出使用澄清剂提取白及多糖及转移率明显高于传统的水提醇沉法,即新法优于原法。在新法和原法中,加热煎煮前先浸泡 24 h 使白及多糖含量及转移率有所增大;在两种澄清剂用量中,以加入 4% 的 B 澄清剂和 2% 的 A 澄清剂,共澄清 4 h 较优,即编号 5 提取工艺效果最好。参考天津正天成公司的产品使用说明,并比较了 A, B 组分的加入顺序,以先加 B 后加 A 及 B: A 为 2: 1 较合适。

4 讨论

本实验中,编号 5 提取产品较编号 4 和编号 6 的多糖含

浓缩至 300 mL,得粗提取液。照“2.1.2”①提取白及总多糖。

2.1.3 新法 ①新法(编号 3) 将“2.1.1”制备的粗提取液中加入 6% B 澄清剂,于 80℃ 保温 2 h,再加入 3% A 澄清剂,继续 80℃ 保温 2 h,冷却,静置。3 000 r · min⁻¹ 离心 15 min,取上清液浓缩成 200 mL,继续加入乙醇使含乙醇量达 80%,静置。倾出上清液,白色絮状沉淀于 55℃ 真空干燥,得白及总多糖。②新法浸泡(编号 4,5,6) 称取三份白及粉各 20 g,各照“2.1.2”②自“加蒸馏水 400 mL”起,分别加入澄清剂(B%: A%) 用量分别为(6%: 3%)、(4%: 2%)、(2%: 1%),照“2.1.3”①提取白及总多糖。

2.2 测定方法

采用苯酚-硫酸法测定总多糖含量^[7-8],3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定还原糖含量^[9],多糖含量 = 总多糖含量 - 还原糖含量^[10],转移率 = 多糖含量/总多糖含量。以葡萄糖用苯酚-硫酸法绘出标准曲线,得线性回归方程 C = 0.1674A - 0.0022,相关系数 r = 0.999 9。

2.2.1 白及多糖含量的测定 取不同提取工艺(编号 1,2,3,4,5,6)所得白及总多糖干燥至恒重,称取 0.1000 g,加入少量蒸馏水,加热,搅拌使溶解,置于 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,量取 10.0 mL 于 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,作为样品溶液。从该溶液中各取 1.0 mL 于干燥比色管中,加蒸馏水补足至 2.0 mL,再加入苯酚溶液 1.0 mL,摇匀,迅速滴加浓硫酸 5.0 mL,即刻摇匀,放置 5 min,置于 90℃ 水浴加热 15 min,取出,冷却至室温,以试剂空白即标准 0 比色管校正零点,在 490 nm 处依次测量吸光度,分别为 0.441, 0.466, 0.511, 0.528, 0.561, 0.516。依据葡萄糖标准曲线及线性回归方程计算白及总多糖含量、多糖含量及转移率,结果如表 1。

量及转移率均较大,造成这种结果的原因,主要是所用的 ZTC1 + 1 II 型天然澄清剂加入于白及提取液中,发生了电中和、桥联、网捕和卷扫作用,澄清剂高分子把带负电的胶体粒子,如蛋白质,树胶,鞣质等胶体粒子吸附在一起而沉淀,而保留多糖成分。但若溶液中澄清剂浓度偏低或者偏高,则不形成桥联结构或胶体粒子表面完全被所吸附高分子所覆盖,形成吸附层,此时高分子澄清剂起保护作用,而影响提取效果。这与李永洁等^[10]提取黄芪多糖的结果是一致的。同时,把白及粉在煎煮前长时间浸泡,可以促进白及多糖以及其他成分的溶解,从而使白及多糖含量及转移率有所提高。

5 结论

在白及多糖的提取过程中,采用提前浸泡并加入一定量 ZTC1 + 1 II 型天然澄清剂的新工艺较传统的水提醇沉工艺使多糖含量及转移率都有效提高。尽管在新工艺中仍需要一定的乙醇用量,但综合评价,该澄清剂应用于白及多糖的提取,乙醇用量很少,降低了提取成本,缩短了提取时间,而且它不残留于产品中,安全无毒,操作简便,白及多糖提取新工艺值得推广。

参考文献

- [1] WANG Q P, ZHANG D H. The characters of *Blelitta* Reichb. f. and its potential developing vaines[J]. Resecrce Development & Market(资源开发与市场),2000,16(4):216-217.
- [2] ZHU X P, WU D. Isolation, purification component and some properties of polysaccharides from *Blelitta* Reichb. f. [J]. J Anhui Univ Nat Sci Ed(安徽大学学报自然科学版),1991,2(5):86-88.
- [3] DIAN H L, WEI L S, YUE S S. Extraction from *Blelitta striata* (Thunb) Reichb. f and Determination for its physical & Chemical Characteristic[J]. Chin J Clin Med Res(中国临床医药研究杂志),2004(115):53-53.
- [4] LIU G B, HUANG Z, HUANG Z G *et al.* The functions and application in cosmetics of *Bletilla striata*(Thunb) Reichb. f. [J]. De-tergent & Cosmetics(日用化学品科学),2005,28(8):22-24.
- [5] RUI H Y, WU G R, ZHANG W M *et al.* Research on extraction of polysaccharide from *Bletilla striata*(Thunb) Reichb. f[J]. Chinese Wild Plant Resources(中国野生植物资源),2000,2(20):14-16.
- [6] ZTC1 + 1(II) Direction for Natural Clarifying Agents[J/OL]. Tianjin ZhengTianCheng Technic CO., LTD. (天津正天成公司网站):<http://www.tjztc.com>.
- [7] ZHANG W J. Investigative Method for Complex Carbohydrate Biochemistry(糖复合物生化研究技术)[M]. Shanghai: Shanghai Science Publishing company,1987:1-2;6-7.
- [8] LI X D, CHEN J S, CHEN F, *et al.* Study on Methodology for Determination of polysaccharides of *Astragalus Membranaceus*[J]. World Science and Technology /Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica(世界科学技术-中医药现代化. 基础研究),2006,8(2):35-37.
- [9] HUANG X Y, HUANG T X. Determination of *Ganoderma* Polysaccharide[J]. J Youjiang Med Coll Natl Minorities(右江民族医学院学报),2001,23(3):434-434.
- [10] LI Y J, SHI Y Y. The Effect of ZTC1 + 1(II) Natural Clarifying Agents Used in *Astragalus* polysaccharide Production[J]. Shang-dong Pharmaceutical Industry(山东医药工业),2000,19(1):6-7.

收稿日期:2006-10-21