DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2018.02.016

大孔树脂对金钗石斛粗多糖脱色的研究

张 玉[1,2]，吕文平[*1,2]，寇兴然[1,2]，齐明月[1,2]，张露月[1,2]，刘成祥[1,2]，王洪新[1,2]
（1. 江南大学 国家功能食品工程技术研究中心，江苏 无锡 214122；2. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122）

摘要：选取金钗石斛粗多糖脱色率和保留率为评价指标，采用5种大孔树脂AB-8、LSA700、LSD762、D101和D900对金钗石斛粗多糖色素脱除进行比较，得出D900树脂对金钗石斛粗多糖的脱色效果最好；应用响应面法优化金钗石斛粗多糖的脱色条件，发现脱色温度对金钗石斛粗多糖脱色率的影响最大，脱色时间与温度、树脂用量的交互影响对脱色率具有显著影响。金钗石斛脱色的最佳工艺为：脱色时间3.7 h，温度40 ℃，树脂用量0.33 g/mL。在上述条件下金钗石斛多糖脱色率及保留率分别为82.7%和76.5%。

关键词：金钗石斛多糖；大孔树脂；响应面法；脱色
中图分类号：R 284.2　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2018)02—0211—06

Study on Decolorization Technology of *Dendrobium nobile* Lindl. Polysaccharides by Macroporous Resin

ZHANG Yu[1,2]，*LV Wenping*[*1,2]，*KOU Xingran*[1,2]，*QI Mingyue*[1,2]，*ZHANG Luyue*[1,2]，*LIU Chengxiang*[1,2]，*WANG Hongxin*[1,2]
（1. National Engineering Research Center for Functional Food，Jiangnan University，Wuxi 214122，China；
2. School of Food Science and Technology，Jiangnan University，Wuxi 214122，China）

Abstract：Comparing decolorization rate and polysaccharide retention rate could be used as reference indexes，throughadopting the static adsorption to assess the best macroporous resins among AB-8，LSA700，LSD762，D101 and D900.The result showed D900 macroporous resin was the best while decolorizing polysaccharides. Besides，on the basis of Box-Behnken design principles，we adopted the method of response surface methodology in order to optimizing the resin decolorization technology of *Dendrobium nobile* Lindlpolysaccharides. The results turned out that thedecolorization temperature was superior to the time and the dosage of resin.Simultaneously，the interaction effects of time with temperature and resin on the decolorization rate had significant influence.The optimal decolorization conditions were as follows：decolorization time of 3.7 h，temperature of 40 ℃ and 0.33 g/mL resin. Under this conditions，the actual decolorization rate and polysaccharide retention rate of *Dendrobium nobile* Lindlpolysaccharides were 82.7 % and 76.5 %.

Keywords：*Dendrobium nobile* Lindl polysaccharides，macroporous resin，response surface methodology，decolorization

收稿日期：2015-09-10
基金项目：金钗石斛新食品原料申报研究开发项目(150100)。
* **通信作者**：吕文平(1968—)，男，山西寿阳人，工学博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事食品营养与功能因子的研究。
E-mail：lwpkxy@163.com
引用本文：张玉，吕文平，寇兴然，等. 大孔树脂对金钗石斛粗多糖脱色的研究[J]. 食品与生物技术学报，2018，37(2)：211-216.

金钗石斛（*Dendrobium nobile* Lindl）是兰科（Orchidaceae）石斛属（*Dendrobium*）多年生草本植物[1-2]，是中国药典（2010 版）记载的名贵中药材，具有滋阴、清热、益胃生津、清肝明目和润肺止咳等功效[3-5]。

多糖是金钗石斛中的主要功效成分之一[6-8]，研究表明，金钗石斛多糖具有免疫调节、抑制肿瘤细胞生长、抗衰老等功效[9-10]。传统方法提取的金钗石斛粗多糖往往含有色素等物质。色素的存在不仅影响多糖的品质，而且也是影响金钗石斛多糖价格的重要因素[11]。目前，石斛粗多糖溶液的脱色方法常常采用活性炭吸附法和双氧水氧化法等方法[12]，但以上方法耗时长、多糖保留率低，结构易破坏，脱色剂难去除。

大孔树脂作为一种廉价高效的高分子吸附材料，不仅处理量大、好，而且解吸与再生处理容易等[13]，被较多地用于多糖的脱色研究[14-15]，但尚未见应用于金钗石斛粗多糖脱色的研究报道[16]。本研究筛选出了适合金钗石斛粗多糖脱色的最佳树脂，而且利用响应面法对金钗石斛粗多糖脱色工艺进行了优化[17]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金钗石斛材料，来源于贵州赤水国礼金钗石斛发展有限公司；LSA-700、LSD-762 树脂，购于西安蓝晓科技新材料有限公司；AB-8、D900、D101 树脂，购于沧州宝恩吸附材料科技有限公司；95%乙醇、苯酚、浓硫酸、盐酸及氢氧化钠均为国产分析纯，购于国药集团。

1.2 实验仪器

摇摆式中药粉碎机：温岭市奥力中药机械有限公司产品；DHG-9075A 型恒温鼓风干燥箱：金坛市瑞华仪器有限公司产品；HH-4 数显恒温水浴锅：常州荣冠实验分析仪器厂制造；电子分析天平：奥豪斯仪器（上海）有限公司产品；BC-W203 旋转蒸发仪：上海贝凯生物化工设备有限公司产品；EX4-1.8 离心机：北京京立离心机有限公司产品；UV1800 全波长扫描仪：日本岛津公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 金钗石斛粗多糖的制备 金钗石斛（水分质量分数<12%）粉粹，过 60 目筛，置于三孔烧瓶中，以料液比 1:40（g/mL）加蒸馏水，60 ℃搅拌提取 4 h，过滤、浓缩，加入 4 倍体积无水乙醇使溶液含醇体积分数至 80%，4 ℃放置 12 h，过滤、80%乙醇洗涤得沉淀，40 ℃真空干燥即得金钗石斛粗多糖[18]。多糖质量分数 32.4%。

1.3.2 脱色方法与树脂筛选 采用静态吸附法[19]对金钗石斛粗多糖溶液进行脱色处理，取 2 g 预处理过的树脂置于具塞锥形瓶中，加入 20 mL 质量浓度为 2 g/dL 粗多糖样品溶液，在转速为 120 r/min、温度为 30 ℃的摇床中振荡 3 h，观察滤液颜色变化，在 450 nm 处测定多糖溶液脱色前后的吸光度值，计算脱色率。

1.3.3 金钗石斛粗多糖脱色率及保留率的计算 金钗石斛粗多糖含量测定方法，采用苯酚-硫酸法[20]；脱色前后采用 450 nm 波长为检测多糖溶液[21]。

$$多糖脱色率\ X(\%)=(OD_{脱色前}-OD_{脱色后})/OD_{脱色前}\times 100\% \quad (1)$$

$$多糖保留率\ Y(\%)=D_2/D_1 \quad (2)$$

式（2）中，D_1、D_2：分别为脱色前后溶液中多糖的质量分数。

1.3.4 脱色条件优化

1）单因素试验 分别取 10 mL 质量浓度为 2 g/dL 的样品溶液，采用静态吸附法[22]，比较脱色时间、脱色温度、树脂用量对金钗石斛粗多糖溶液脱色效果的影响。

2）响应面试验设计 在单因素试验结果的基础上，根据 Box-Behnken 响应面设计原理[23]，选取脱色时间（X_1）、脱色温度（X_2）和树脂用量（X_3）这 3 个因素，采用 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 法进行试验设计，试验自变量因素及水平编码见表 1。

表 1 Box-Behnken 方案设计的因素及水平编码

Table 1 Coded values of corresponding actual values of independent variables in response surface design

水平编码	因素		
	时间/h	温度/℃	树脂用量/(g/mL)
-1	2	30	0.2
0	3	40	0.3
1	4	50	0.4

1.3.5 数据分析 实验各组数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示，应用 spss20.0 软件处理各组数据，采用 One-Way ANOVA 法分析各组实验数据之间的差异显著关系[24]。其中，$P<0.05$ 表示差异显著，$P<0.01$ 表示差异极显

著。响应面实验中采用 Design Expert 8.0 软件制图。

2 结果与分析

2.1 树脂的筛选

利用 5 种大孔树脂对金钗石斛多糖溶液进行脱色处理，D900、LSA700 的脱色率分别为 83.0%和 82.4%，脱色的效果较好，D900 的多糖保留率高于 LSA762，见表 2。因此，本实验中选择 D900 作为金钗石斛粗多糖脱色的树脂。

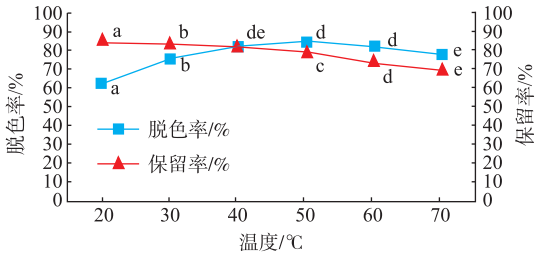
表 2　5 种大孔树脂脱色率(X)与多糖保留率(Y)

Table 2　Assessment of different resinon decolorization rate and polysaccharide retention rate

树脂型号	X	Y
D101	8.3%	12.1%
D900	83.0%	76.4%
AB-8	10.2%	52.6%
LSA700	82.4%	68.8%
LSD762	76.4%	70.5%

2.2 单因素实验结果

2.2.1 温度对脱色效果的影响　脱色率随温度的升高而升高；温度达到 50 ℃之后，脱色率下降，在 40 ℃条件下脱色率达到 82.4%，见图 1。吸附是放热过程，色素分子的扩散速度岁温度升高加快，利于吸附；当达到吸附平衡时，色素的解吸速度同样会加快，脱色率也会随之下降，因此 Box-Behnken 设计实验中脱色温度范围应选在 30~50 ℃。

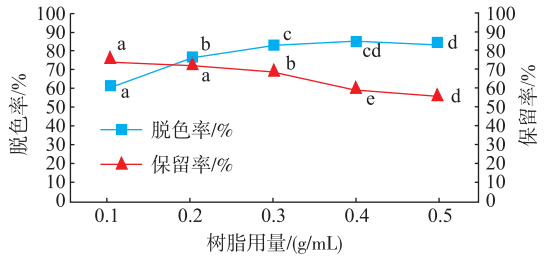


注：不同字母表示具有显著差异性(p<0.05)

图 1　温度对金钗石斛粗多糖脱色率和保留率的影响

Fig. 1　Effect of temperature on decolorization rateand polysaccharide retention rate

2.2.2 树脂用量对脱色效果的影响　树脂用量对脱色效果的影响由图 2 可知，随着树脂用量的增加脱色率不断升高，但当树脂用量高于 0.3 g/mL 时，金钗石斛粗多糖溶液的脱色率增幅放缓，可能由于树脂与多糖溶液之间达到吸附饱和，因此 Box-Behnken 设计实验中选择树脂用量范围为 0.2~0.4 g/mL。

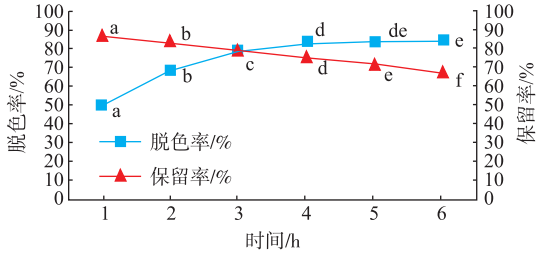


注：不同字母表示具有显著差异性(p<0.05)

图 2　树脂用量对金钗石斛粗多糖脱色率和保留率的影响

Fig. 2　Effect of resin on decolorization rateand polysaccharide retention rate

2.2.3 时间对脱色效果的影响　随着吸附时间的延长，金钗石斛脱色率逐渐增大，从第 4 小时开始，多糖的保留率开始大幅度下降，可能是由于此时树脂的吸附速率大于解吸速率，见图 3。因此，多糖保留率随脱色时间的延长，呈现出略微的下降趋势。综合考虑，选择脱色时间 2~4 h 作为响应面设计实验的脱色时间范围。



注：不同字母表示具有显著差异性(p<0.05)

图 3　时间对金钗石斛多糖脱色率和保留率的影响

Fig. 3　Effect of time on decolorization rateand polysaccharide retention rate

2.3 响应面实验结果与分析

2.3.1 数学模型的建立　采用 Design Expert8.0 软件对脱色率响应值进行回归拟合，建立二次回归模型，得回归方程：

$$Y=81.92+3.98X_1+4.74X_2+3.19X_3+1.35X_1X_2+1.67X_1X_3-5.46X_1^2-2.38X_2^2-1.47X_3^2$$

对上述方程进行方差分析，如下表 3，R^2=0.980 8，说明实验拟合程度良好，失拟项的 p 值为 0.142 6，说明模型失拟项不显著，校正系数 R^2_{adj}=0.976 1，说明此模型能说明实验中 97.61%的响应值的变化，可用来分析金钗石斛粗多糖脱色率[25]。此外，时间 X_1、温度 X_2、树脂用量 X_3 对金钗石斛粗多糖的脱色率有极显著影响；交互作用项 X_1X_2、X_1X_3 和 X_2^2、X_3^2 均

对脱色率有显著影响；其他变量的影响均不显著。由表 3 可知,影响金钗石斛粗多糖脱色率因素的顺序为 X_2(温度)>X_1(时间)>X_3(树脂用量)。

2.3.2 2 因素间的交互效应分析　根据表 3，可知 X_1X_2、X_1X_3 对脱色率的影响显著，而 X_2X_3 的影响不显著,回归方程作出响应面分析图(见图 4):脱色率随 X_1X_2、X_1X_3、X_2X_3 的改变而改变,呈现出先增后减的趋势，从响应面的最高点即该模型存在稳定点,且稳定点就是最大值[24]。

2.3.3 最优值预测及方法验证　软件解析得出金钗石斛粗多糖溶液的最佳脱色条件为:D900 树脂用量为 0.327 g/mL、脱色时间为 3.70 h、脱色温度为 39.17 ℃,在此条件下,金钗石斛粗多糖溶液脱色率理论值为 83.4%。考虑到实际操作的方便性和优化结果的准确性，将提取条件更改为 D900 树脂用量为 0.33 g/mL、脱色时间为 3.7 h、脱色温度为 40 ℃，3 次重复实验测出金钗石斛粗多糖溶液脱色率为 82.7%,多糖保留率 76.5%,与理论值相比,相对误差仅仅是 0.7%。

本实验中得到的金钗石斛粗多糖脱色工艺,多糖的脱色率保留率分别达到了 82.7%和 76.5%。而黄森等研究中的石斛多糖脱色率为 65.47%;在活性

表 3　方差分析表

Table 3　Analysis of variance table

方差来源	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值	P 值	显著性
模型	578.2	9	64.24	84.24	< 0.000 1	显著
X_1	126.93	1	126.93	166.44	< 0.000 1	**
X_2	180.07	1	180.07	236.13	< 0.000 1	**
X_3	81.66	1	81.66	107.08	< 0.000 1	**
X_1X_2	7.26	1	7.26	9.52	0.017 7	*
X_1X_3	11.17	1	11.17	14.65	0.006 5	*
X_2X_3	0.018	1	0.018	0.023	0.883 7	不显著
X_1^2	125.7	1	125.7	164.83	<0.000 1	**
X_2^2	23.88	1	23.88	31.32	0.000 8	*
X_3^2	9.04	1	9.04	11.85	0.010 8	*
残差	5.34	7	0.76			
失拟项	3.78	3	1.26	3.24	0.142 6	不显著
总离差	1.55	4	0.39			
总差	583.54	16				
R^2	0.980 8					
R^2_{adj}	0.976 1					

注:p 值小于 0.05,表示对应因素对响应值的影响显著,用 * 表示;p 值 小于 0.01 为极显著,用 ** 表示

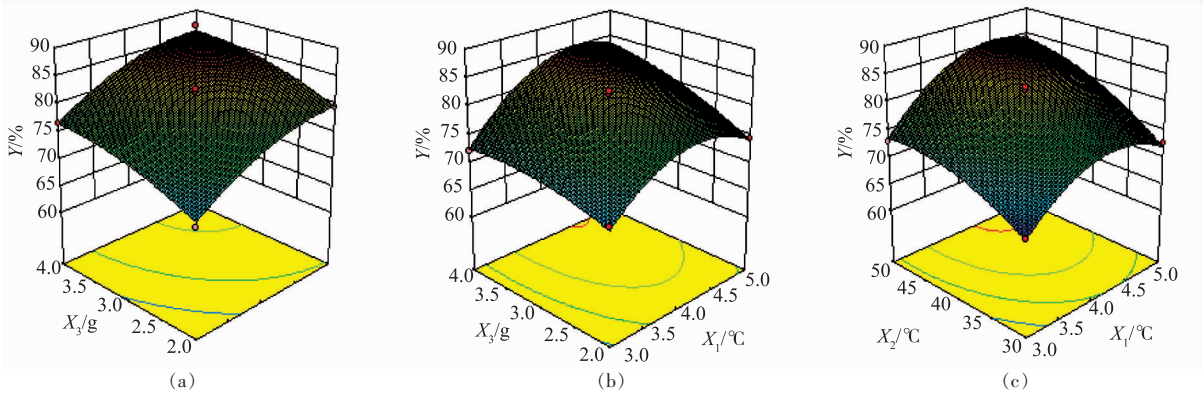


图 4　两因素交互影响脱色率的响应面图

Fig. 4　Response surfaces of the pairwise interactive effects of two decolorization conditions on decolorization rate

炭脱色时,会残留活性炭;双氧水脱色法对多糖的分子结构具有很大的破坏性[12,26]。因此,本实验优化的工艺不仅仅条件温和,成本低,同时多糖的保留率也较高。

3 结 语

本实验作者通过筛选合适树脂,利用 RSM 响应面法设计金钗石斛的脱色条件,构建脱色率与脱色时间、树脂用量和脱色温度三者之间的数学模型,确定了金钗石斛粗多糖的最佳脱色工艺为:D900 树脂用量为 3.3 g、脱色时间为 3.7 h、脱色温度为 40 ℃,经 3 次平行实验,得到脱色率为 82.7%,保留率为 76.5%,可以预见该回归模型具有很好的预测性,对金钗石斛多糖的进一步研究和深度开发具有一定的实践意义。

参考文献:

[1] WANG J H,ZHA X Q,PAN L H,et al. Structural characterization of an immunoactive polysaccharide DNP-W1B from *Dendrobium nobile* Lindl[J]. **Chemical Journal of Chinese Universities–Chinese**,2013,34(4):881-885.

[2] LUO A,HE X,ZHOU S,et al. Purification,composition analysis and antioxidant activity of the polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl[J]. **Carbohydrate Polymers**,2010,79(4):1014-1019.

[3] LIU Ning,SUN Zhirong,LIAO Xiaokang,et al. Mass fraction variation of alkaloids and polysaccharides in *Dendrobium nobile* Lindl with different harvest time[J]. **Journal of Jilin University(Science Edition)**,2010,48(3):5-6.(in Chinese)

[4] LUO A,HE X,ZHOU S,et al. In vitro antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide derived from *Dendrobium nobile* Lindl. extracts[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2009,45(4):359-363.

[5] LI Mingyuan,DENG Weize,TANG Xianfu,et al. Research status on functional ingredients and health care food of *Dendrobium nobile* Lindl[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2014,33(12):1233-1235.(in Chinese)

[6] SCOPARO C T,DESOUZA L M,RATTMANN Y D,et al. Polysaccharides from green and black teas and their protective effect against murine sepsis[J]. **Food Research International**,2013,53(2):780-785.

[7] WANG S,DONG X,MA H,et al. Purification,characterisation and protective effects of polysaccharides from alfalfa on hepatocytes [J]. **Carbohydr Polym**,2014,112:608-614.

[8] NWOKOCHA L M,WILLIAMS P A. Isolation and characterization of a novel polysaccharide from seeds of *Peltophorum pterocarpum*[J]. **Food Hydrocolloids**,2014,41:319-324.

[9] LIN Ping,BI Zhiming,XU Hong,et al. Advances in studies on pharmacology of plants from *Dendrobium Sw*[J]. **China Traditional Herb Drugs**,2006,34(11):19-22.(in Chinese)

[10] MOHANTY P,KUMARIA S,TANDON P,et al. High-efficiency cryopreservation of the medicinal orchid *Dendrobium nobile* Lindl[J]. **Journal of Plant Biotechnology**,2012,10(92):297-300.

[11] YAN Jingfan,JIAO Linshu,ZHANG Shengsheng,et al. Decolorization of carrageenane from eucheumaby two kinds of macroporous resin[J]. **Food and Fermentation Industries**,2015,25(3):121-122.(in Chinese)

[12] LUO A X,FAN Y J. Immune stimulating activity of water soluble polysaccharide fractions from *Dendrobium nobile* Lindl [J]. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**,2011,5(5):625-626.

[13] KONG Fanli,ZHANG Mingwei,KUANG Ruibing. Decoloration of polysaccharide from litchi fruits by microporous adsorbent resins[J]. **Food Science and Technology**,2012,37(5):180-181.(in Chinese)

[14] LI Yuanyuan,LI Xin,LIANyijun,et al. Optimization for conditions on elaeagnus polysaccharides decoloring material [J]. **Food Science and Technology**,2012,37(3):210-211.(in Chinese)

[15] YUAN Hongbo,ZHANG Jinsong,JIA Wei,et al. Study on decoloration of the low molecular weight *Ganoderma lucidum* polysaccharides by resin[J]. **Science and Technology of Food Industy**,2009,30(3):204-205.(in Chinese)

[16] CHEN Zhiguo,YE Songhan,FAN Ying,et al. Optimization of extraction technology of polysaccharidefrom *Dendrobium nobile* and effects on proliferation of mouse splenocytes[J]. **Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae**,2011,17(15):28-31.(in Chinese)

[17] HSIEH Y S,CHIEN C,LIAO S K,et al. Structure and bioactivity of the polysaccharides in medicinal plant *Dendrobium huoshanense*[J]. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**,2008,16(11):60-62.

[18] NWOKOCHA L M,WILIAMS P A. Isolation and characterization of a novel polysaccharide from seeds of *Peltophorum pterocarpum*[J]. **Food Hydrocolloids**,2014,41(3)19-21.
[19] QIN T,CHEN J,WANG D,et al. Optimization of selenylation conditions for Chinese angelica polysaccharide based on immune-enhancing activity[J]. **Carbohydrate Polymers**,2013,92(1):45-46.
[20] ZHANG Qianghua,XIONG Qingping,SHI Yingying. Research on decoloration of stevioside with macroporous resin[J]. **Science and Technology of Food Industry**,2011,32(5):249-251.(in Chinese)
[21] YANG Yongjie,JIANG Ruizhi,CHEN Yinghong,et al. Determination of sugars in heteropolysaccharide by phenol-sulfuricacid method[J]. **Chinese Traditional Patent Medicine**,2005,27(6):706-707.(in Chinese)
[22] HAO Gongyuan,WU Caie,YANG Jianting,et al. Decolorization of crude polysaccharide from ginkgo biloba pollen[J]. **Food Science**,2009,30(14):137-139.(in Chinese)
[23] SHEN Xia,ZHANG Yanhong,YUAN Huihui1,et al. Optimium extraction of polysaccharides from folium *Artemisia argyi* by response surface methodology[J]. **Chinese Traditional Patent Medicine**,2010,32(1):48-51.(in Chinese)
[24] 王军辉. 金钗石斛多糖的化学结构与抗白内障活性研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2011.
[25] LIU Junhai,HUAN Gbaoxu,JIANG Dechao. Optimium extraction of polysaccharides from folium *Artemisia argyi* by response surface methodology[J]. **Food Science**,2009,30(2):114-116.(in Chinese)
[26] HUANG Sen,CHA Xueqiang,LUO Jiangping,et al. Studies on the extraction of active polysaccharide from dendrobium huoshanense with box-behnken method[J]. **Journal of Chinese Medicinal Materials**,2007,30(5):593-594.(in Chinese)

科　技　信　息

美国批准甲酸作为家禽饲料酸化剂

据美国联邦公报消息,2018 年 1 月 2 日美国食品药品管理局发布通报，修订动物饲料和饮用水中允许使用的食品添加剂条例,批准甲酸作为家禽饲料酸化剂。

本次修订申请由巴斯夫公司提出。按照最新条例规定,甲酸添加至猪和家禽饲料中起降低 pH 的作用,添加量不超过饲料成品的 1.2%。

新条例自 2018 年 1 月 2 日起生效。有关人员可于 2018 年 2 月 1 日之前提交意见或者要求听证。

[信息来源]食品伙伴网. 美国批准甲酸作为家禽饲料酸化剂 [EB/OL]. (2018-1-3). http://news.foodmate.net/2018/01/453957.html

欧盟重新评估聚甘油脂肪酸酯作为食品添加剂不存在安全隐患

2017 年 12 月 20 日,欧洲食品安全局发布 10.2903/j.efsa.2017.5089 号公告,食品添加剂和营养源专家小组(ANS)重新评估了聚甘油脂肪酸酯(PEFA)(E 475)作为食品添加剂的安全性。

1978 年,食品科学委员会(SCF)批准了由粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会(JECFA)推荐的每日摄入量(ADI)为 25mg/公斤体重。聚甘油脂肪酸酯(PEFA)(E 475)在胃肠道中的吸收率极低,在胃肠道中快速且几乎完全水解为聚甘油和脂肪酸。

最近,欧洲食品安全局对聚甘油和特定脂肪酸的安全性重新进行了评估,在现有研究中没有发现不良反应。在短期,亚慢性或慢性毒性研究中未观察到任何剂量的不良反应。从亚慢性研究中没有观察到的不良反应水平(NOAEL)为每日 9000mg/公斤体重,在慢性研究(测试的最高剂量)为每日 2500mg/公斤体重。在有限的信息中没有发现聚甘油脂肪酸酯(PEFA)(E 475)的潜在的遗传毒性。生殖毒性研究显示聚甘油脂肪酸酯(PEFA)(E 475)没有副作用,但有一定局限性。来自临床研究的有限信息结果显示,志愿者每天接受高达 300mg/公斤体重的志愿者 3 周内没有任何不良反应。

考虑到以上所有情况,专家小组总结认为,用于食品添加剂的聚甘油脂肪酸酯(PEFA)(E 475)的最高暴露量对于儿童的平均值和第 95 百分点分别为平均每天 2.6 和 6.4 毫克/公斤体。在现有的报告和使用水平下，食品添加剂 PEFA(E 475)不存在安全隐患,并且没有必要设置 ADI。因此,小组建议对聚甘油脂肪酸酯 E 475 的欧盟规范进行修订。

[信息来源]厦门 WTO 工作站. 欧盟重新评估聚甘油脂肪酸酯作为食品添加剂不存在安全隐患 [EB/OL]. (2017-12-27). http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=56108