

DOI:10.11937/bfyy.201503036

微波辅助法提取牛蒡叶粗多糖的工艺研究

王士杰, 韩凤波, 罗超

(吉林农业科技学院 中药学院, 吉林 吉林 132101)

摘要:以牛蒡叶为试材,采用微波辅助碱液提取法,通过单因素试验和正交实验考察了料液比、微波提取功率、提取时间、提取次数等因素对牛蒡叶多糖提取率的影响。结果表明:影响牛蒡叶多糖提取率因素从大到小依次为微波功率、微波提取时间、料液比。最佳提取条件为微波功率 80 W、浸提时间 120 s、料液比 1:30 g/mL,在此工艺条件下,多糖提取率达 36.12%。

关键词:牛蒡叶;微波辅助;碱液提取法;多糖;提取工艺

中图分类号:Q 946.3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2015)03-0122-04

牛蒡(*Arctium lappa* L.)属菊科牛蒡属 2 年生草本植物,又名东洋萝卜、狗宝、黑根、牛蒡子、大力子、鼠粘草、鼠粘子、牛子、鼠见愁、蒡翁菜、夜叉头、恶实、吉松等^[1],我国大部分地区均有野生分布,亦有少量栽培,以

南方和重庆、四川为多。牛蒡具有很强的保健功能,果实、根、茎叶均可使用^[2]。牛蒡有健胃、益气、利尿、泻下、滋阴壮阳、清热解毒、抑菌消炎等多种生理功效^[3-5],且其营养价值极高,富含多糖(主要为菊糖)、纤维素、蛋白质、钙、磷、铁等人体所需的多种维生素及矿物质。牛蒡在我国种植历史较早,牛蒡叶具有抗菌和真菌作用,并含有抗肿瘤物质,其鲜叶水煎,可用于治疗急性乳腺炎等。牛蒡叶中多糖主要为菊糖,菊糖又称菊粉,是一种自然界广泛存在的果聚糖,最早从菊芋中提取出而得名^[6]。目前,对牛蒡的研究主要集中在叶中提取食用色素和绿原酸,根中提取菊糖和多酚类物质,利用牛蒡渣提取膳

第一作者简介:王士杰(1978-),男,博士,讲师,现主要从事药用植物栽培与加工等研究工作。E-mail:jlcccs@yeah.net.

基金项目:吉林省教育厅“十二五”科学技术研究资助项目(111022013033);吉林农业科技学院博士启动基金资助项目(119022012009)。

收稿日期:2014-11-13

[14] 张素斌,李晓平. 竹荪多糖提取方法的比较研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(14): 246-250.

[15] 朱彩平,惠乐乐,柳小林,等. 酶法提取平菇多糖工艺研究[J]. 中成药, 2011, 33(8): 1435-1438.

[16] 凡军民,谢春芹,贾君,等. 纤维素酶法提取杏鲍菇多糖工艺优化[J]. 食品科技, 2013, 38(3): 192-196.

[17] 李玲,王维香,王晓君. 果胶酶法提取川芎多糖工艺的研究[J]. 中药材, 2008, 31(4): 600-602.

[18] 余洋定,启航,李冬梅,等. 果胶酶辅助提取裙带菜孢子叶多糖的工艺条件优化[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 175-177.

[19] 孔俊豪,史劲松,孙达峰,等. 白芨多糖的酶法精制工艺条件研究[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 52-56.

Study on Difference Extraction Methods for Polysaccharide from *Cordyceps* Flowers

ZHANG Su-bin, CAI Li-yan

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061)

Abstract: Taking *Cordyceps* flowers from Xinhui as raw material, the content of polysaccharide from *Cordyceps* flowers was measured by the phenol-sulfuric acid method. Polysaccharide was extracted from *Cordyceps* flowers using hot water, single enzyme (cellulase, pectinase, papain) and ultrasonic wave respectively, the extraction ratios of polysaccharide and optimized conditions for these methods were compared. The results indicated that the pectinase extraction was the best among these five methods and the extraction ratios was 22.23% at pH 5.5, pectinase of 1.00%, enzymolysis temperature of 40°C for 90 minutes. The extraction ratios for hot water method, cellulase method, papain method and ultrasonic wave method were 18.12%, 15.01%, 18.57% and 13.34% respectively, under the optimal conditions.

Keywords: *Cordyceps* flowers; polysaccharide extraction; enzymatic method; ultrasonic wave

食纤维,牛蒡子中提取木脂素和挥发油等方面^[7-11]。而大量的牛蒡叶却被浪费,对于牛蒡叶的研究不多,特别是牛蒡叶多糖的提取研究极少,只有传统的水提醇沉法和碱液法,耗能、提取时间长。该研究在碱液提取牛蒡叶多糖基础上,采用了微波辅助法,不仅方便、省时、能耗少、有效成分的得率高,且利用碱液浸提能产生较高的经济效益、社会效益和生态效益,具有重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试鲜牛蒡叶采自吉林市松花江边,采挖根部时,取其茎叶,洗净晾干,备用。经吉林农林业科技学院马尧教授鉴定确定为菊科 Asteraceae 牛蒡属 *Arctium* 牛蒡 *Arctium lappa* L. 成熟叶片。

供试药剂:浓硫酸、苯酚、95%乙醇、盐酸、氢氧化钠、乙酸乙酯等试剂均为分析纯,标准葡萄糖纯度 99.5%。

1.2 试验方法

1.2.1 牛蒡叶多糖提取方法 新鲜牛蒡叶置于鼓风干燥箱中,60℃干燥 3 h,粉碎,过 60 目筛,干燥至恒重备用。采用微波辅助碱液提取法,精确称取 5.0 g 已预处理过的牛蒡叶放入圆底烧瓶中,加入乙酸乙酯萃取 10 min,过滤,以一定的液料比加入 2%的氢氧化钠溶液,将其放入工业微波炉中进行浸提,其后取出。对混合液进行过滤,取清液,以盐酸调整 pH 为 5,在 4 000 r/min 下离心 20 min,收集清液。将清液在 60℃下浓缩,浓缩液至原来体积的 1/3 为宜。按浓缩液与 95%乙醇以 1:3 比例加入 95%乙醇溶液,静置 30 min,使沉淀完全析出。将醇析后的溶液放入离心机中,以 4 000 r/min 离心 15 min,去上清液,所得沉淀物即成品粗多糖。

1.2.2 牛蒡叶粗多糖含量测定 采用改良的苯酚-硫酸法,参照文献^[12]。牛蒡叶粗多糖得率计算公式:牛蒡叶粗多糖得率(%)=牛蒡叶粗多糖质量(kg)/牛蒡叶质量(kg)×100%。

1.2.3 单因素试验 不同微波功率对多糖的提取:取过筛牛蒡叶粉 12 份,每份 5.0 g,采用料液比 1:25 g/mL^[13],即加入 2%碱液 125 mL,在微波功率分别为 60、70、80、90 W 条件下处理 120 s^[14],按 1.2.1 法提取 1 次,测定多糖含量。不同提取时间时多糖的提取:取过筛牛蒡叶粉 12 份,每份 5.0 g,取料液比 1:25 g/mL,即加入 2%碱液 125 mL,在提取时间分别为 60、120、180、240 s 条件下,微波功率 80 W,按 1.2.1 法提取 1 次,测定多糖含量。不同料液比对多糖的提取:取过筛牛蒡叶粉 12 份,每份 5.0 g,加入 2%碱液,按料液比分别为 1:20、1:25、1:30、1:35 g/mL,在提取时间为 120 s 条件下,微波功率 80 W,按照 1.2.1 法提取 1 次,测定多糖含量。不同提取次数对多糖的提取:取过筛牛蒡叶粉 12

份,每份 5.0 g,取料液比为 1:25 g/mL,加入 125 mL 碱液,碱液浓度为 2%,在提取时间为 120 s 条件下,微波功率 80 W 下,按 1.2.1 法分别提取 1、2、3、4 次测定多糖含量。

1.2.4 正交实验 结合单因素试验结果,设计 $L_9(3^4)$ 正交实验,以粗多糖提取率作为评价指标,结合极差及方差分析结果,最终确定最佳提取工艺条件。

表 1 正交实验因素水平

Table 1 Factors and levels for orthogonal test design

水平	因素		
	A 微波功率 /W	B 提取时间 /s	C 料液比 /(g·mL ⁻¹)
1	60	60	1:20
2	70	120	1:25
3	80	180	1:30

1.3 方法学考察

1.3.1 精密度试验 精密吸取对照品溶液 1.0 mL 葡萄糖,置于 100 mL 容量瓶中,分别取上述溶液 2.0 mL,测定吸光度,按此方法平行测定吸光度 6 次,计算吸光度 RSD 值。

1.3.2 重现性试验 精密称取 5.0 g 牛蒡叶 6 份,取料液比 1:25 g/mL,提取时间 120 s,微波功率 80 W,提取 1 次,所提多糖置于 50 mL 量瓶中,并稀释至刻度,精密称取 2 mL,测定吸光度,计算吸光度 RSD 值。

1.3.3 稳定性试验 精密称取 5.0 g 牛蒡叶 2 份,取料液比 1:25 g/mL,提取时间 120 s,微波功率 80 W,提取 1 次,所提多糖置 50 mL 量瓶中,并稀释至刻度,精密称取 2 mL,测定吸光度。每隔 20 min 测定 1 次,稳定时间考察 2 h,计算吸光度 RSD 值。

1.3.4 回收率试验 精密量取已知多糖含量的同一批供试品溶液 5 份,分别加入已知不等量的葡萄糖对照品溶液,置 50 mL 量瓶,并稀释至刻度,精密称取 2 mL,测定吸光度,计算回收率和 RSD 值。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的制作

以多糖溶液的浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,吸光度为纵坐标,得到标准曲线,试验结果表明,葡萄糖在 10~36 $\mu\text{g/mL}$ 范围线性良好,回归方程为: $Y=0.0119X-0.0077$, $R^2=0.9999$ 。

2.2 方法学考察结果

2.2.1 精密度试验 测的吸光度值分别为 0.233、0.231、0.234、0.229、0.231、0.232,求得吸光度 RSD 值为 0.76%,表明检测方法精密度良好。

2.2.2 重现性试验 测的吸光度值分别为 0.398、0.409、0.415、0.417、0.417、0.412,计算得吸光度 RSD 值为 1.76%,表明检测方法重现性良好。

2.2.3 稳定性试验 测的吸光度值分别为 0.416、0.415、0.412、0.410、0.408、0.399,计算得吸光度 RSD 值

为 1.50%,表明稳定性良好。

2.2.4 回收率试验 由表 2 可知,平均回收率回收率为 100.21%和 RSD 值为 0.85%,表明回收率较好,方法稳定、可靠,可用于牛蒡叶多糖的含量测定。

表 2 回收率试验结果

Table 2 Results of recovery test

编号	多糖含量 /μg	对照品量 /μg	测得值 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	70.05	70.48	139.86	99.05	100.21	0.85
2	70.07	70.49	140.65	100.12		
3	70.11	70.50	141.74	101.59		
4	70.12	70.51	140.48	99.79		
5	70.11	70.52	140.68	100.07		
6	70.09	70.53	141.05	100.61		

2.3 单因素试验结果与分析

2.3.1 微波功率对多糖提取率影响 由图 1 可知,在微波功率 80 W 之前,随着功率的增加多糖提取率不断提高,在微波功率达到 80 W 后,多糖提取效率开始显著下降。推测造成这种现象的原因可能是由于微波热效应导致多糖糊化或者发生了部分降解。

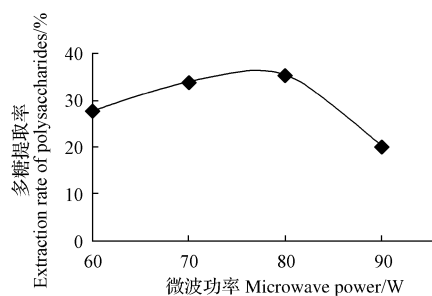


图 1 不同微波功率对多糖提取率的影响

Fig. 1 Effect of microwave power on the extraction rate of polysaccharides

2.3.2 微波处理时间对牛蒡叶中多糖提取率的影响

由图 2 可知,随着处理时间的延长,多糖提取率呈现出先升后降的整体趋势。微波处理时间在 120 s 时,牛蒡叶多糖提取率达到最高,提取率达到 32.6%,其后开始下降,当微波提取时间延长至 240 s 时,多糖提取率为 19.4%,提取效率明显降低,原因可能是微波处理时间过长导致多糖降解。

2.3.3 料液比对牛蒡多糖提取率的影响 由图 3 可知,牛蒡叶中多糖提取料液比 1:30 g/mL 时,牛蒡多糖提取率达到 33.2%,较料液比 1:20 g/mL 时提取率 16.8%提高近 1 倍,表明在此阶段降低料液比能够提高牛蒡多糖得率。当料液比达到 1:35 g/mL 时,提取率与 1:30 g/mL 时相差不大,表明牛蒡叶多糖可能已经基本溶出,从降低操作成本考虑,应选择料液比较高的条件。

2.3.4 微波辅助提取次数对牛蒡多糖提取率的影响

由图 4 可知,随着提取次数的增加,多糖提取率也随之升高,但提取率增幅较小,考虑增加提取次数会增加生

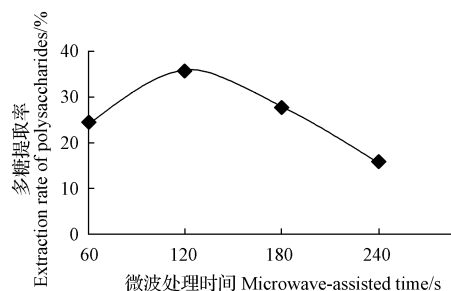


图 2 不同微波处理时间对多糖提取率的影响

Fig. 2 Effect of microwave-assisted time on the extraction rate of polysaccharides

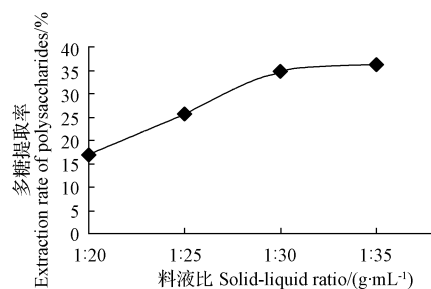


图 3 不同料液比对多糖提取率的影响

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of polysaccharides

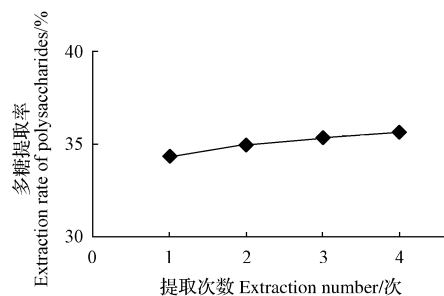


图 4 不同提取次数对多糖提取率的影响

Fig. 4 Effect of number of extraction on the extraction rate of polysaccharides

产成本,并且在此过程中会增加杂质含量,不利于多糖的纯化,故正交实验采用微波提取 1 次处理。

2.4 正交实验结果与分析

由表 3 可知,各因素对多糖提取率影响的大小依次为:微波功率(A)>提取时间(B)>料液比(C),3 种因素的 K 值表明各因素水平的影响程度是 A₃>A₂>A₁, B₂>B₃>B₁, C₃>C₂>C₁,各因素水平的最佳组合为 A₃B₂C₃,即微波提取牛蒡多糖的优化工艺条件为:微波功率 80 W,微波提取时间 120 s,料液比 1:30 g/mL。

由表 4 可知,微波功率和微波处理时间对牛蒡多糖提取率有显著影响,而料液比影响不显著。对正交实验得到的优化工艺进行验证,重复 3 次,牛蒡叶粗多糖平均提取率为 36.12%。

表 3 正交实验结果

Table 3 Results of orthogonal test design

序号	A 微波功率	B 提取时间	C 料液比	粗多糖得率/%
1	1	1	1	11.29
2	1	2	2	20.91
3	1	3	3	18.05
4	2	1	2	17.37
5	2	2	3	28.17
6	2	3	1	21.43
7	3	1	3	25.26
8	3	2	1	35.12
9	3	3	2	31.21
K1	16.750	17.973	22.280	
K2	22.323	27.733	23.163	
K3	30.197	23.563	23.827	
R	13.447	9.760	1.547	

表 4 正交实验方差分析

Table 4 Analysis of variance for the experimental results of orthogonal array design

方差来源	自由度	偏差平方和	F 比	F 临界值	显著性
A	2	273.864	75.821	19.000	*
B	2	143.895	39.838	19.000	*
C	2	3.621	1.000	19.000	

注: * 表示显著水平($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

通过单因素试验和正交实验相结合的方法,确定了牛蒡叶提取多糖最佳工艺条件为:微波功率 80 W、料液比 1:30 g/mL、浸提时间 120 s。在此工艺条件下,多糖得率可达到 36.12%,高于孟岩等^[15]和胡喜兰等^[16]只采用碱液法提取牛蒡叶中多糖的得率 31.34%和 20.26%,该试验用碱液提取牛蒡叶中多糖,并在碱液法提取牛蒡叶中多糖基础上用了微波辅助法,若考虑成本,微波辅助碱液法略高。该试验提取多糖时未进行脱蛋白处理,但孟岩等^[15]对牛蒡叶中蛋白和多糖同时进行提取,自然界中植物体内多糖和蛋白成分往往结合在一起发挥生理功能,微波是否影响蛋白的提取或通过影响蛋白而对多糖的提取造成影响,还有待于进一步研究。

试验先进行了预试验,通过对比脱色与不脱色,表

明色素对试验结果有影响,影响多糖纯度,故在试验前都对原材料进行了脱色处理。采用微波辅助碱液法提取牛蒡叶中粗多糖,能够提高多糖提取率,缩短提取时间,更适应工业化生产的要求,改进了以往牛蒡叶中多糖提取工艺,对于后续大量制备牛蒡叶中粗多糖具有重要的参考价值。

参考文献

- [1] 蒋晗,杨晶晶,葛建. 浅谈牛蒡的开发和利用[J]. 现代园艺,2011(15):127.
- [2] 秦雨. 您吃过牛蒡了吗[J]. 中老年保健,2004,25(11):40-41.
- [3] 罗焱辉,王昭晶. 均匀设计法优化微波辅助提取牛蒡菊糖工艺[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2006,35(3):329.
- [4] 李瑾,吴理娟. 牛蒡根总多糖的提取研究[J]. 首都医药,2009,16(14):53.
- [5] 方积年,丁侃. 天然药物-多糖的主要生物活性及分离纯化方法[J]. 中国天然药物,2007,95(5):338-347.
- [6] 曹泽虹,董玉玮,王卫东,等. 牛蒡菊糖的提取及其抗氧化性能的研究[J]. 农业机械,2011(35):135-139.
- [7] 刘丹赤,尹玲,邵长明. 牛蒡的研究与开发进展[J]. 北方园艺,2007(8):41-42.
- [8] 曹泽虹,李勇,董玉玮,等. 牛蒡菊糖提取工艺的研究[J]. 食品科学,2009,30(18):202-205.
- [9] 饶志娟,郑建仙,贾呈祥. 功能性食品基料菊粉的研究进展[J]. 中国甜菜业,2002(4):26-30.
- [10] 曹剑锋. 牛蒡根及其化学成分的药理活性研究[D]. 济南:山东大学,2012.
- [11] 龚又明,刘利根,宋科峰,等. 牛蒡子的研究进展[J]. 海峡药学,2005,17(4):1-4.
- [12] 董玉玮,苗敬芝,曹泽虹,等. 不同工艺条件对酶法提取牛蒡多糖的影响[J]. 徐州工程学院学报,2007,22(12):20-23.
- [13] 马利华,秦卫东,陈学红. 超声波-微波协同提取牛蒡多糖工艺的研究[J]. 徐州工程学院学报(自然科学版),2008,23(3):17-21.
- [14] 徐鑫,陈小辉,刘国燕,等. 微波辅助法提取牛蒡根中菊糖的研究[J]. 食品科学,2007,28(10):207-210.
- [15] 孟岩,张玉苍,何连芳,等. 牛蒡叶中蛋白和多糖提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2010,31(10):313-315.
- [16] 胡喜兰,许瑞波,陈宇. 牛蒡叶多糖的提取及生物活性研究[J]. 食品科学,2013,34(2):78-82.

Study on Microwave-assisted Extraction of Polysaccharides from *Arctium lappa* L.

WANG Shi-jie, HAN Feng-bo, LUO Chao

(The College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin Jilin 132101)

Abstract: Taking *Arctium lappa* L. as material, polysaccharides was extrated from *Arctium lappa* L. by microwave-assisted alkaline liquor method. By single factor analysis and orthogonal test, microwave power, microwave processing, ratio of solid to liquid, extraction times four factors as the rate of extraction were chosen to determine their conditions. The results showed that the orthogonal factors affecting ranking as: microwave power > microwave-assisted time > ratio of solid to liquid. The best combination of factor of the polysaccharides extraction were microwave power 80 W, microwave extracting 120 seconds, ratio of solid to liquid 1:30 g/mL, under which the extraction ratio of polysaccharides was 36.12%.

Keywords: *Arctium lappa* L.; microwave-assist; alkaline liquor extraction; polysaccharide; extraction technology