

杭白菊多糖超声提取工艺的研究

王 丰, 赵 敏, 薛晓丽

(吉林农业科技学院, 吉林 九站 132101)

摘 要:以杭白菊干品为原料,选超声时间、超声温度、超声功率、液料比为考察因素,进行 $L_9(3^4)$ 正交实验,并用药典方法对多糖含量进行测定,研究菊花多糖的超声波最佳提取工艺。结果表明:菊花多糖的最佳提取工艺为提取温度 60°C ,提取时间30 min,料液比1:40,提取功率40 W;提取温度是影响菊花多糖提取率的最主要因素。

关键词:杭白菊;超声提取;正交实验;多糖

中图分类号:Q 946.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)02-0028-04

杭白菊(拉丁药名 *Chrysanthemum morifolium* Ramat)是菊科植物的干燥头状花序,属宿根草本植物,为菊花的一种,花瓣洁白如玉,花蕊黄如纯金,花朵呈蝶形或扁球形的特点。直径2.5~4 cm,常数个相连成片,舌状花白色或黄色,平展或微叠,彼此相连,通常无腺点,管状花多数,外露^[1]。菊花是常用中草药,具有极高的药用价值,菊花中含有黄酮类、挥发油类、绿原酸类、多糖类生物活性物质,有研究证明,菊花中的多糖类物质含量较高,相对分子量较大,具有多糖类物质的结构特征^[2]。多糖是一种良好的氧自由基清除剂,具有良好的预防保健作用^[3]和免疫调节功能^[4]。多糖在抗肿瘤、抗炎、抗病毒、降血压、抗衰老、抗凝血、促进免疫等方面都发挥重要生理活性^[5]。

现以杭白菊为原料,采用超声技术对其多糖的提取方法进行研究,确定最佳提取工艺,按优化的超声条件进行菊花多糖的提取,与传统提取比较,超声提取不仅提高了菊花多糖的提取率而且缩短了提取时间^[6]。其研究结果对菊花在药物、食品等领域的深入开发提供了一定的理论基础和参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

准确称取菊花干品45.005 g(含水率4.566%)^[6],粉碎,过60目筛,置于三角瓶中,加入石油醚(菊花干品约1 g,加入石油醚20 mL),超声30 min脱脂,放置阴干。试验仪器:紫外可见分光光度计(UV-1700 日本岛津)、数控超声波清洗器(KQ-3200DB 昆山市超声仪器有限公司)、循环水式多用真空泵(SHB-III 郑州长城科工

贸有限公司)、数显恒温水浴锅(HH-S4 金坛市医疗仪器厂)、电子天平(AL204 梅特勒-托利多仪器上海有限公司)、旋转蒸发仪(RE501 瑞士布琪)、粉碎机(WK90 青州)、移液枪、烧杯、量筒、三角瓶、容量瓶、滤纸、铁架台、玻璃棒、试管。药品与试剂:葡萄糖(分析纯)、石油醚(分析纯)、苯酚(分析纯)、硫酸(分析纯)。

1.2 试验方法

通过单因素试验,确定出每一个单因子对菊花多糖含量(苯酚-硫酸法^[7])的影响,根据试验结果,确定提取温度、提取时间、提取功率、固液比为影响菊花多糖含量的主要因素^[5,8],在此基础上设计四因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交实验,找到菊花多糖的超声波提取最佳工艺^[8-11]。

1.2.1 提取温度单因素试验 准确称取已处理好的菊花粉末3.003 g,考察不同提取温度对多糖含量的影响,确定最佳提取温度。

1.2.2 提取时间单因素试验 准确称取已处理好的菊花粉末3.010 g,考察不同提取时间对多糖含量的影响,确定最佳提取时间。

1.2.3 提取料液比单因素试验 准确称取已处理好的菊花粉末3.008 g,考察不同提取料液比对多糖含量的影响,确定最佳提取固液比。

1.2.4 提取功率单因素试验 准确称取已处理好的菊花粉末3.005 g,考察不同提取功率对多糖含量的影响,确定最佳提取功率。

1.2.5 葡萄糖标准曲线制备 对照品溶液的制备:精密称取 105°C 干燥至恒重的无水葡萄糖对照品10.002 mg,置100 mL容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得0.10002 mg/mL无水葡萄糖标准储备液。标准曲线的制备:精密量取对照溶液2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 mL,分别置25 mL容量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密量取上述各溶液2 mL,置具塞试管中,分别加入4%苯酚溶液(苯酚2 g,水48 mL)1 mL,混匀,迅速加入浓硫酸7.0 mL,摇

第一作者简介:王丰(1973-),女,吉林永吉人,硕士,副教授,现从事分析化学和天然产物提取的研究与教学工作。E-mail:jlnkwf@163.com。

收稿日期:2011-10-14

匀,于 40℃水浴中 30 min,取出,再冰水浴 5 min,以相应试剂为空白(4%苯酚溶液 1 mL,浓硫酸 7.0 mL)置于紫外-可见分光光度计,在 490 nm 的波长处测定吸光度,以吸光度(0.081、0.191、0.300、0.406、0.508)为纵坐标,浓度为横坐标(0.010、0.020、0.030、0.040、0.050),绘制标准曲线。

1.3 项目测定

称取已处理好的菊花粉末约 1.0 g,通过超声提取、真空过滤,以旋转蒸发器减压浓缩,将浓缩液定容于 25 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,精密量取 2 mL,按照标准曲线的制备方法,自“加 4% 苯酚溶液 1 mL”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中无水葡萄糖的含量(mL),计算得多糖得率^[5]。多糖得率^[10]=[多糖的干品重量(g)/原料重量(g)]×100%。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的制作

葡萄糖标准曲线的回归方程为: $Y=0.0107X-0.0239$, $r^2=0.9998$, Y 代表 490 nm 吸光度值(A), X 表示葡萄糖浓度, r 为相关系数。结果表明,在 10.000~50.000 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内具有良好的线性关系。

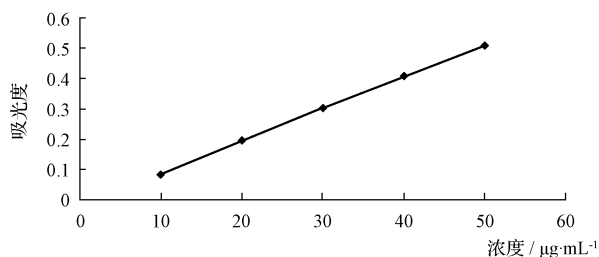


图1 葡萄糖标准曲线

2.2 单因素试验

2.2.1 提取温度对多糖含量的影响 由图 2 可知,随着温度的升高,多糖得率随之增加。40℃后提取温度对多糖得率影响较小,以后随着提取温度的上升,多糖得率上升幅度变小,因此,在试验设计的 3 个水平中,提取温度为 60℃时,多糖得率最大。考虑到进一步升高温度会降低多糖的活性,并且对设备的要求条件升高,因此选择 60℃作为最佳提取温度。

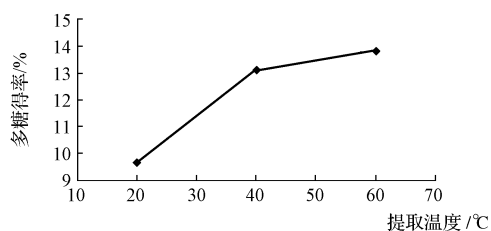


图2 温度对多糖提取率的影响

2.2.2 提取时间对多糖含量的影响 由图 3 可知,随着提取时间增加,多糖得率增加。30 min 后提取时间对多

糖得率影响较小。而随着提取时间的延长,多糖得率略有上升,但变化不明显,可见延长提取时间并不能有效提高多糖得率,在较短时间内,即可得到满意的提取结果,因此选择 30 min 作为最优提取时间。

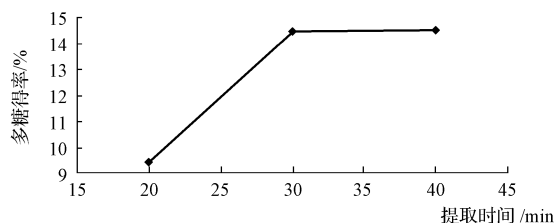


图3 时间对多糖提取率的影响

2.2.3 料液比对多糖含量的影响 由图 4 可知,随着浸提液体积的增加,多糖提取率逐渐增加,但当料液比达 1:40 以后,多糖得率开始降低。这是因为液固两相存在溶解平衡和吸附平衡,低温有利于吸附,由于料液比的增大,在产生相同热量的条件下,提取温度下降,吸附作用增强导致提取率下降。因此,在料液比为 1:40 的条件下,可以得到较理想的结果。



图4 料液比对多糖含量的影响

2.2.4 提取功率对多糖含量的影响 由图 5 可知,随着提取功率增加,多糖得率增加。但当功率达 70 W 以后,虽然功率再次上升,但多糖得率只是略有上升,在 100 W 的条件下,多糖得率最高,因此选择 100 W 作为最优提取功率。

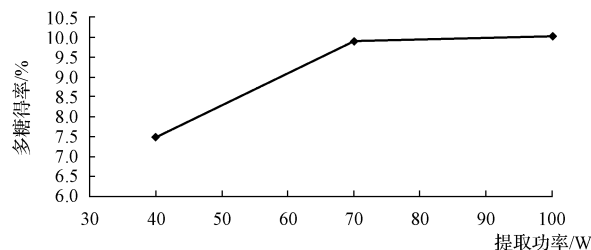


图5 功率对多糖含量的影响

2.3 正交实验

根据以上单因素试验结果,设计正交实验水平,见表 1。称取已处理好的菊花粉末 9 份,每份约 1 g,按照表 1 设计水平进行正交实验,从而确定出超声波提取菊花多糖的最佳提取工艺。

表 1 正交实验水平设计

水平	因 素			
	A 温度/℃	B 料液比/g·mL ⁻¹	C 时间/min	D 功率/W
1	20	1:30	20	40
2	40	1:40	30	70
3	60	1:50	40	100

由表 2 可知,影响菊花多糖提取率的 4 个因素的主次顺序为:提取温度(A)>提取时间(C)>料液比(B)>提取功率(D),最优组合为 A₃B₂C₂D₁,即提取温度 60℃,提取时间 30 min,料液比 1:40,提取功率 40 W,此条件下菊花多糖得率为 13.185%。对优化提取条件进行方差分析,从而确定出菊花多糖的超声波提取最佳工艺。 $F_{0.05}(2,4)=6.94$,因 $F_A=14.152>F_{0.01}(2,4)=6.94$, $P>0.05$,故因素 A 显著;因 $F_B=6.437<F_{0.01}(2,4)=6.94$, $P<0.05$,故因素 B 不显著;因 $F_C=5.845<F_{0.01}(2,4)=6.94$, $P<0.05$,故因素 C 不显著;因 $F_D=2.000<F_{0.01}(2,4)=6.94$, $P<0.05$,故因素 D 不显著。

表 2 菊花多糖提取工艺优化的正交实验

序号	A	B	C	D	多糖得率/%
1	1	1	1	1	8.221
2	1	2	2	2	10.279
3	1	3	3	3	8.107
4	2	1	3	3	7.412
5	2	2	2	2	8.130
6	2	3	1	1	7.211
7	3	1	3	2	8.164
8	3	2	1	3	12.001
9	3	3	2	1	13.185
K ₁	26.607	23.797	27.433	29.546	
K ₂	22.753	30.410	30.886	25.654	
K ₃	33.260	28.513	24.401	27.520	
k ₁	8.869	7.932	9.144	9.849	
k ₂	7.584	10.137	10.295	8.551	
k ₃	11.087	9.504	8.134	9.173	
R	3.503	0.633	2.161	1.298	

由表 3 可知,在 $\alpha=0.05$ 水平下, $F_{0.05}(2,4)=6.94$,由于 F_A 大于 $F_{0.05}(2,4)=6.94$,则提取温度对菊花多糖含量的影响显著, F_B 略小于 $F_{0.05}(2,4)=6.94$, F_C 、 F_D 均小于 $F_{0.05}(2,4)=6.94$,故 B、C、D 三因素对菊花多糖含量提取均不显著。影响菊花多糖得率的 4 个因素的主次顺序为:提取温度(A)>提取时间(C)>提取功率(D)>料液比(B)。对于 A 因素有 $k_3>k_1>k_2$,对于 B 因素有 $k_2>k_3>k_1$,对于 C 因素有 $k_2>k_1>k_3$,对于 D 因素有 $k_1>k_3>k_2$,最优组合为 A₃B₂C₂D₁,即提取温度 60℃,提取时间 30 min,料液比 1:40,提取功率 40 W,确定出菊花多糖的超声波提取最佳工艺。

表 3 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	临界值 F
总和 T	36.676	8				
因素 A	16.997	2	16.997	14.152	$P>0.05$	*
因素 B	7.773	2	7.773	6.437	$P<0.05$	
因素 C	7.020	2	7.020	5.845	$P<0.05$	
因素 D	2.526	2	2.526	2.000	$P<0.05$	
误差 E	2.402	2				

2.4 平行试验

根据正交实验中得出的最佳因素组合 A₃B₂C₂D₁ 进行 3 次平行试验,得最佳条件下多糖得率(表 4)。

表 4 A₃B₂C₂D₁ 条件时超声波作用下多糖得率

试验	1	2	3	平均值
多糖得率/%	13.201	13.393	13.115	13.236

3 结论与讨论

试验结果表明,菊花多糖的最佳提取工艺为:提取温度 60℃,提取时间 30 min,料液比为 1:40,提取功率为 40 W。

该试验中的菊花多糖得率有误差,分析其原因,主要是由于苯酚-硫酸法存在一定的缺陷,如该方法测定多糖含量时,无法去掉单糖成分的干扰,测定结果比实际含量偏高,而且试验中用到硫酸,硫酸遇水剧烈放热,从而显色条件难以控制,影响测定结果,导致测定的多糖含量有误差,高浓度硫酸具有严重的腐蚀性,不便操作,苯酚容易氧化,见光或遇氧即逐渐氧化成淡红色,因此在实际测定工作中,要注意避光或迅速操作,以获得理想的提取结果。

该试验以水为溶剂,采用超声波从菊花中提取多糖,选出多糖的最佳提取工艺。其中影响菊花多糖提取的因素还有很多,如提取方法、菊花的粉碎度、提取的 pH 值、提取次数。但该试验的进行可以为菊花多糖提取技术的进一步研究及实现产业化提供技术支持。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2010.
- [3] 李贵荣. 野菊花多糖的提取及其活性氧自由基的清除作用[J]. 中国公共卫生,2002,18(3):269-270.
- [4] 马力,唐凤敏,曾天舒. 菊花多糖和绿原酸免疫调节作用的研究[J]. 医药报道,2008,27(10):1168-1170.
- [5] 丁宝金,金丽琴,吕建新. 多糖的生物活性研究进展[J]. 中国药理学杂志,2004,39(8):561-563.
- [6] 丁宝金,金丽琴,吕建新. 苯酚-硫酸光度法测定细脚拟青霉多糖的含量[J]. 温州医学院学报,2004,34(1):15-16.
- [7] 赵鹏,蔡飞,庞菁华,等. 超声波辅助提取菊花多糖工艺优化研究[J]. 中国酿造,2009,209(8):169-171.
- [8] 延绥宏,李稳宏,蔡静,等. 菊花多糖超声提取工艺及数学模拟[J]. 中国药理学杂志,2010,30(3):118.
- [9] 张桂青,李雪玲,夏涛. 菊花多糖最佳提取工艺研究[J]. 安徽农业大学学报,2006,33(4):555-559.
- [10] 史晓磊,段雅庆. 超声波提取芦笋中多糖的工艺研究[J]. 农产品加工学刊,2009,193(12):66-68.
- [11] 荷露,刘莹,胡亚蕊,等. 玉竹多糖提取工艺的研究[J]. 农业科技与装备,2011,199(1):28-31.

露地栽培菜豆品种比较试验

车培忠, 于立芝, 于桂香, 许 玲, 宋丽芬, 许 娟

(中国农业大学 烟台研究院, 山东 烟台 264670)

摘 要:对“挂满架架豆王”、“世纪王架芸豆”、“津良大白条”、“蓟农九粒白”、“长龙1号”、“老来少”当地农家种6个蔓生菜豆品种在烟台地区进行了露地栽培的比较试验。结果表明:“世纪王架芸豆”、“老来少”和“津良大白条”3个品种的综合性状好,产量较高,每667 m²产值可达7 000元以上,比较适宜烟台地区种植。

关键词:露地;菜豆;品种;比较试验

中图分类号:S 643.1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)02-0031-02

菜豆俗称芸豆、四季豆,含有大量的维生素C、维生素A、维生素B及钙、铁等。它以营养价值高、味道鲜美而深受消费者的喜爱。栽培菜豆经济效益高,是发展优质、高效农业、增加农民收入的推广项目之一。烟台市露地栽培菜豆品种较多,生长状况和产量表现有明显的差异。为了筛选出适宜烟台地区春季露地栽培的优良菜豆品种,于2011年春季选择了目前在烟台地区有一定栽培面积的6个菜豆品种进行了生长、产量及经济效益的品种比较试验,以期在生产上选择优质、高产、高效的品种提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

“挂满架架豆王”、“世纪王架芸豆”、“津良大白条”、

“蓟农九粒白”、“长龙1号”、“老来少”当地农家种6个在烟台地区有一定栽培面积的蔓生菜豆品种。

1.2 试验方法

试验在中国农业大学烟台研究院实训基地内进行。采用畦栽^[1],每畦1.4 m×8 m=11.2 m²为1个小区。试验采用随机区组排列,3次重复。2011年5月12日播种,行距70 cm,株距33 cm,每小区24穴,每穴4粒种子。播种后8 d出苗,幼苗出齐后进行查苗、间苗和补苗,每穴留3株。标准化栽培管理^[2-3]。每小区随机选择8穴作为样本,定期调查各参试品种的生态学特征和生物学特性。7月9日始收,8月7日终收,记录各小区产量,并观察、测定荚果的特征和有关性状。

2 结果与分析

2.1 生育期调查

由表1可知,参试品种中V1播种至始花天数最长,为51 d,播种至始收天数也最长,为67 d;其它5个参试品种的播种至始花天数和播种至始收天数在40~42 d,

第一作者简介:车培忠(1955-),男,山东烟台人,本科,教授,现从事园艺植物研究与推广工作。

基金项目:山东省农业厅标准化委员会资助项目(DB37/T1406-2009)。

收稿日期:2011-11-07

Study on the Extraction of the Polysaccharides from *Chrysanthemum morifolium* Ramat by the Ultrasonic Wave Extraction

WANG Feng, ZHAO Min, XUE Xiao-li

(Jilin Agricultural Science and Technology College, Jiuzhan, Jilin 132101)

Abstract: The ultrasonic wave extraction of Polygonatum *Chrysanthemum morifolium* Ramat and determine the best extraction were studied. The content of polysaccharides were observed to extraction time, extraction temperature, extraction power, liquid ratio investigated factors. For L₉ (3⁴) orthogonal test. It was determined on the polysaccharide with the official method. The results was the optimum extraction conditions were Polygonatum: A₃B₂C₂D₁. The extraction time 30 minute, extraction temperature 60 centigrade, extraction power 40 W, liquid ratio of 1:40, which was the most important factor in the number of extraction affect. The Polygonatums' extraction process research provided the basis for the *Chrysanthemum morifolium* Ramat.

Key words: *Chrysanthemum morifolium* Ramat; ultrasonic wave extraction; orthogonal test; polysaccharide