

不同方法对虫草花多糖提取效果的研究

张素斌, 蔡丽燕

(肇庆学院 化学化工学院, 广东 肇庆 526061)

摘 要:以虫草花子实体为原料,分别采用热水提取法、单一酶法(纤维素酶、果胶酶、木瓜蛋白酶)、超声波法对虫草花多糖进行提取,用苯酚-硫酸法测定虫草花多糖,并比较几种提取方法的多糖提取率和提取条件。结果表明:果胶酶法是虫草花多糖提取的较优方法,在加酶量 1.00%、pH 5.5、提取温度 40℃下提取 90 min,其多糖提取率为 22.23%,而在最佳提取条件下,热水提取法、纤维素酶法、木瓜蛋白酶法和超声波法的多糖提取率分别为 18.12%、15.01%、18.57%、13.34%。

关键词:虫草花;多糖提取;酶法;超声

中图分类号:TS 244 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)03-0119-04

虫草花既非虫、非草、也非花,它是将蛹虫草菌种接种到大米等固体培养基上,在一定的条件下培养而得的蛹虫草子实体,又名虫草花^[1]。虫草花的培养基是仿造天然虫子所含的各种养分,包括谷物类、豆类、蛋奶类等,因此虫草花属于一种真菌类,与常见的香菇、平菇等食用菌很相似,只是菌种、生长环境和生长条件不同^[2]。虫草花的外形与蛹虫草(北冬虫夏草)、冬虫夏草相似,同属于一个科属,但其药效有限,主要用于食用,已作为新型保健食品走上了饭桌^[3]。多糖是一种生物活性物质,可提高人体免疫能力,此外还具有抗氧化、抗炎、降血脂等功效^[4]。对于蛹虫草或虫草花的多糖提取方法,文献报道的有热水浸提法^[5-6]、超声波法^[7-10]、复合酶法^[11]等。现以新会虫草花子实体为原料,分别采用热水提取法、单一酶法(纤维素酶、果胶酶、木瓜蛋白酶)、超声波法提取虫草花多糖,研究这几种方法的提取条件以及提取率,以期得出较优的虫草花多糖提取方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

虫草花子实体产自新会,购自肇庆市天天邦健中药饮片有限公司,样品粉碎后密封备用。其水分含量为 11.82%。

纤维素酶(0.2 万 IU/g)、木瓜蛋白酶(80.0 万 IU/g)、果胶酶(2.0 万 IU/g),北京鸿润宝顺科技有限公司;苯酚、葡萄糖、浓硫酸均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 标准曲线的绘制 采用苯酚-硫酸法测定多糖含量。准确吸取 0.1 mg/mL 葡萄糖溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 分别置于具塞试管中,各管加水至 2.0 mL,加 1.0 mL 5% 苯酚,摇匀,迅速加 5.0 mL 浓硫酸,摇匀,放置 10 min,置沸水浴中 15 min,取出迅速冷却至室温。以试剂空白做参比,在 488 nm 处测定吸光度 A。以 A 为纵坐标,测定液总糖浓度 ρ (mg/mL) 为横坐标作图,得回归方程为 $A=6.943\rho-0.005$, $r=0.995$ 。

1.2.2 虫草花多糖提取方法 热水提取法:参考文献[5-6],选择料液比、提取温度与时间这 3 个因素为影响热水提取法的主要因素,每个因素设 3 个水平进行 $L_9(3^4)$ 正交实验(表 1);酶法提取:样品加入某一种酶(纤维素酶、木瓜蛋白酶、果胶酶),在一定 pH(使用 HAc-NaAc 缓冲溶液)条件下,水浴提取,灭酶,参考文献[12-17],选择加酶量、酶解温度、时间与 pH 为酶提取法的主要影响因素,每个因素设 3 个水平进行 $L_9(3^4)$ 正交实验;超声波法:该试验所用超声仪为固定功率(500 W),因此仅考察料液比与时间对超声波法提取虫草花多糖的影响。料液比对多糖提取的影响:准确称取虫草花样品,置于烧杯中,分别按料液比为 1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70 g/mL 加入蒸馏水,超声提取 30 min。超声时间对多糖提取的影响:准确称取虫草花样品,置于烧杯中,按料液比为 1:30 g/mL 加入蒸馏水,分别超声 20、30、40、50、60 min。

1.2.3 虫草花还原糖与蔗糖等低聚糖总量的测定 按 1.2.2 方法提取的提取液,各加入 5 mL 醋酸锌和亚铁氰化钾溶液,以水定容至 250 mL,混匀,放置 30 min,过滤,吸取滤液 50 mL 于 100 mL 容量瓶中,加入 5 mL 6 mol/L

第一作者简介:张素斌(1972-),女,硕士,讲师,研究方向为食品分析。E-mail:zqzsb707@163.com.

收稿日期:2014-11-06

的 HCl 后在 68~70℃ 水浴中加热 15 min, 迅速冷却, 用 20% NaOH 中和, 定容, 采用直接滴定法测定还原糖含量^[18-19] 即得虫草花的还原糖与蔗糖等低聚糖总量。

1.2.4 多糖提取率的测定 准确吸取适量虫草花多糖提取液, 按 1.2.1 的方法显色测定, 按下式计算总糖含量: 总糖含量(%) = $(\rho \times V \times n) / (m \times 1\ 000) \times 100$, 式中: ρ 为测定液总糖浓度(mg/mL); V 为提取液体积; n 为测总糖时的稀释倍数; m 为样品质量(g)。多糖提取率(%) = 总糖含量(%) - 低聚糖总量(%) (酶法还需减去酶空白)。

2 结果与分析

2.1 热水提取法

由表 1 正交实验的直观分析结果可知, 影响热水提取虫草花多糖的主次因素为: 提取时间 > 料液比 > 提取温度, 即温度的影响最小。由于该研究侧重于比较多糖提取率, 不考虑节省能源, 因此选择 90℃ 为最佳提取温度, 最佳提取条件为 $A_1B_3C_1$, 即料液比为 1 : 30 g/mL, 在 90℃ 下提取 2 h。以最佳提取条件进行验证试验, 得出热水提取法的虫草花多糖提取率为 18.12%。

表 1 热水提取法的正交实验设计与结果

Table 1 Orthogonal design for hot water extraction and results

试验号 Test No.	A 料液比 Solid-liquid ratio /(g · mL ⁻¹)	B 提取温度 Extraction temperature /℃	C 提取时间 Extraction time/h	D (空列)	多糖提取率 Extraction rate of polysaccharide/%
1	1(1 : 30)	1(70)	1(2)	1	16.76
2	1	2(80)	2(3)	2	14.74
3	1	3(90)	3(4)	3	15.54
4	2(1 : 40)	1	2	3	11.98
5	2	2	3	1	14.28
6	2	3	1	2	16.83
7	3(1 : 50)	1	3	2	13.57
8	3	2	1	3	14.40
9	3	3	2	1	12.11
k_1	15.68	14.10	16.00	14.38	
k_2	14.36	14.47	12.94	15.04	
k_3	13.36	14.83	14.46	13.97	
R	2.32	0.73	3.06	1.07	

2.2 酶提取法

2.2.1 纤维素酶法 从表 2 正交实验的直观分析结果可知, 温度对纤维素酶法提取多糖影响最大, 而其余 3 个因素的影响差别不大。最佳提取条件为 $A_3B_2C_3D_2$, 即加酶量 1.00%、提取温度 50℃、提取时间 90 min、pH 5。以最佳提取条件进行验证试验, 得出纤维素酶法提取虫草花多糖的提取率为 15.01%。

2.2.2 果胶酶法 从表 3 正交实验的直观分析结果可知, 影响果胶酶法提取虫草花多糖的主次因素依次为时间、加酶量、温度、pH 值。最佳提取条件为 $A_3B_1C_3D_3$,

表 2 纤维素酶法的正交实验设计与结果

Table 2 Orthogonal design for cellulase extraction and results

试验号 Test No.	A 加酶量 Cellulase dosage/%	B 提取温度 Extraction temperature /℃	C 提取时间 Extraction time/min	D pH 值 pH value	多糖提取率 Extraction rate of polysaccharide/%
1	1(0.25)	1(40)	1(40)	1(4)	11.83
2	1	2(50)	2(60)	2(5)	14.96
3	1	3(60)	3(90)	3(6)	12.60
4	2(0.50)	1	2	3	13.71
5	2	2	3	1	15.00
6	2	3	1	2	13.15
7	3(1.00)	1	3	2	14.99
8	3	2	1	3	14.69
9	3	3	2	1	12.99
k_1	13.13	13.51	13.22	13.27	
k_2	13.95	14.88	13.89	14.37	
k_3	14.22	12.91	14.20	13.67	
R	1.09	1.97	0.98	1.10	

表 3 果胶酶法提取虫草花多糖的正交实验设计与结果

Table 3 Orthogonal design for pectinase extraction and results

试验号 Test No.	A 加酶量 Pectinase dosage/%	B 提取温度 Extraction temperature /℃	C 提取时间 Extraction time/min	D pH 值 pH value	多糖提取率 Extraction rate of polysaccharide/%
1	1(0.25)	1(40)	1(40)	1(3.5)	19.97
2	1	2(50)	2(60)	2(4.5)	20.38
3	1	3(60)	3(90)	3(5.5)	21.61
4	2(0.50)	1	2	3	19.52
5	2	2		1	20.13
6	2	3	1	2	15.01
7	3(1.00)	1	3	2	22.07
8	3	2	1	3	20.71
9	3	3	2	1	19.70
k_1	20.65	20.52	18.56	19.94	
k_2	18.22	20.41	19.87	19.15	
k_3	20.83	18.77	21.27	20.61	
R	2.61	1.75	2.71	1.46	

即加酶量 1.00%、提取温度 40℃、提取时间 90 min、pH 5.5。以最佳提取条件进行验证试验, 得出果胶酶法提取虫草花多糖的提取率为 22.23%。

2.2.3 木瓜蛋白酶法 从表 4 正交实验的直观分析结果可知, 温度对木瓜蛋白酶法提取多糖的影响最大, 时间的影响次之, 加酶量的影响相对较小, pH 值的影响最小。最佳提取条件为 $A_3B_1C_1D_2$, 即加酶量 1.00%、提取温度 40℃、提取时间 40 min、pH 5。以最佳提取条件进行验证试验, 得出木瓜蛋白酶法虫草花多糖的提取率为 18.57%。

2.3 超声波法

2.3.1 料液比对多糖提取的影响 由图 1 可知, 料液比为 1 : 30 g/mL 时多糖提取率最大, 再增大水的比例, 多糖提取率降低。

2.3.2 超声时间对多糖提取的影响 由图 2 可知, 超声提取 40 min 时多糖提取率最大, 测得多糖提取率为 13.34%。

表4 木瓜蛋白酶法提取虫草花多糖的正交实验设计与结果

Table 4 Orthogonal design for papain extraction and results

试验号 Test No.	A 加酶量 Papain dosage/%	B 提取温度 Extraction temperature /℃	C 提取时间 Extraction time/min	D pH 值 pH value	多糖提取率 Extraction rate of polysaccharide/%
1	1(0.25)	1(40)	1(40)	1(4)	17.38
2	1	2(50)	2(60)	2(5)	14.73
3	1	3(60)	3(90)	3(6)	13.76
4	2(0.50)	1	2	3	15.89
5	2	2	3	1	16.87
6	2	3	1	2	15.54
7	3(1.00)	1	3	2	18.40
8	3	2	1	3	18.31
9	3	3	2	1	14.16
k_1	15.29	17.22	17.08	16.14	
k_2	16.10	16.63	14.93	16.22	
k_3	16.96	14.49	16.34	15.99	
R	1.67	2.73	2.15	0.23	

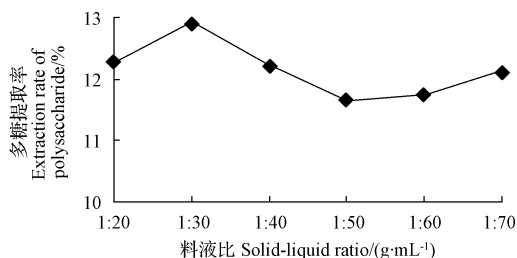


图1 料液比对虫草花多糖提取的影响

Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on polysaccharide extraction from *Cordyceps* flowers

表5

虫草花多糖提取方法的比较

Table 5 Comparison on extraction methods of polysaccharide from *Cordyceps* flowers

提取方法 Extraction method	料液比 Solid-liquid ratio / (g · mL ⁻¹)	提取温度 Extraction temperature/℃	提取时间 Extraction time/min	pH 值 pH value	加酶量 Enzyme dosage / %	多糖提取率 Extraction rate of polysaccharide/%
热水提取法 Hot water method	1 : 30	90	120			18.12
纤维素酶法 Cellulase method	1 : 30	50	90	5.0	1	15.01
果胶酶法 Pectinase method	1 : 30	40	90	5.5	1	22.23
木瓜蛋白酶法 Papain method	1 : 30	40	40	5.0	1	18.57
超声波法 Ultrasonic wave method	1 : 30		40			13.34

其多糖提取率为 22.23%。而在最佳提取条件下,热水提取法、纤维素酶法、木瓜蛋白酶法和超声波法的多糖提取率分别为 18.12%、15.01%、18.57%、13.34%。

参考文献

- [1] 桂仲争,滕国琴,贾俊强,等. 蛹虫草食药两用开发价值[J]. 中国食物与营养, 2012, 18(3): 70-73.
- [2] 谢丽娜. 虫草花与冬虫夏草的区别[J]. 海峡药学, 2010, 22(7): 54-55.
- [3] 代君君,范涛,吴传华,等. 人工栽培蛹虫草研究的概述[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(18): 5469-5471.
- [4] 薛丹,黄豆豆,黄光辉. 植物多糖提取分离纯化的研究进展[J]. 中药材, 2014, 37(1): 157-161.
- [5] 项明,唐芳荣,吕艳,等. 蛹虫草菌丝体胞内多糖热水浸提工艺探究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(8): 12-16.
- [6] 逯城宇,张尊凯,刘艳,等. 蛹虫草 N102 多糖提取条件优化及其抗肿瘤

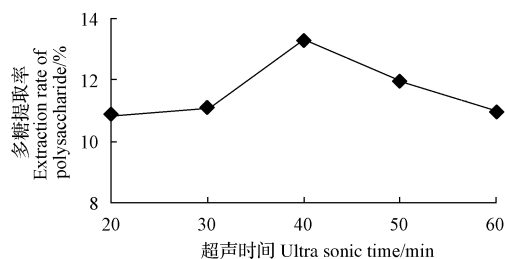


图2 超声时间对虫草花多糖提取率的影响

Fig. 2 Effect of ultrasonic time on polysaccharide extraction from *Cordyceps* flowers

2.4 虫草花多糖提取方法的比较

从表5可以看出,多糖提取率从高到低依次是果胶酶法、木瓜蛋白酶法、热水提取法、纤维素酶法、超声波法。总的来说,几种单一酶法所用温度较低,用时较短,多糖提取率除纤维素酶法低于热水提取法外,木瓜蛋白酶法与热水提取法接近,果胶酶法则高于热水提取法,而超声波法虽提取时间较短但多糖提取率却最低。由试验结果可看出,用热水较长时间的提取可使虫草花多糖较好地溶出,果胶酶和木瓜蛋白酶对于虫草花多糖的溶出也有较好的效果,可能是由于虫草花多糖较多地包藏于果胶与蛋白质中,而酶可将这些物质水解后释放出多糖。

3 结论

试验表明,果胶酶法是虫草花多糖提取的较优方法,在加酶量 1.00%、pH 5.5、提取温度 40℃下提取 90 min,

瘤活性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(14): 250-254.

- [7] 吴琼英,陈炼,屈红森,等. 超声波辅助提取家蚕蛹虫草子实体多糖的工艺条件优化[J]. 蚕业科学, 2013, 39(3): 587-592.
- [8] 颜辉,朱冬吉,吴杰. 超声波辅助提取蛹虫草多糖的研究[J]. 江苏农业科学, 2009(1): 255-257.
- [9] 邓黎,王晓虹,韩涛,等. 响应曲面法优化虫草素和虫草多糖的综合提取工艺[J]. 天然产物研究与开发, 2013(25): 1428-1435.
- [10] 李银花,宋卉,李洪燕. 正交实验优化超声辅助提取虫草花多糖工艺[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(6): 1456-1458.
- [11] 钟旭美,陈铭中,陈丽琼. 复合酶法提取蛹虫草活性多糖的工艺优化研究[J]. 食品科技, 2013, 38(10): 210-213.
- [12] 华南理工大学,大连轻工业学院,郑州轻工业学院,等. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2006: 177-178.
- [13] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.7-2008, 中华人民共和国国家标准[S]. 北京:中国标准出版社, 2009.

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