

苦菜中可溶性多糖提取工艺研究

朱加进

(浙江大学)

摘 要: 苦菜具有治疗痢疾的作用。经研究发现, 苦菜的茎叶及其浸出物还有较强的抗便秘作用。为了确定苦菜浸出物中抗便秘有效成分, 对苦菜中可溶性多糖的提取工艺进行了研究, 对料液比、温度、时间分别进行了单因素试验和 $L_9(3^3)$ 正交试验, 并通过极差、方差分析对提取过程中显著影响提取率的因素进行了统计分析。结果显示最佳工艺为料液比 1:20、温度 100℃、6 h, 用改良的苯酚-2 硫酸法测定最佳提取工艺时多糖提取率, 其提取率(相对于被提取的苦菜质量)达到 25.8%。

关键词: 苦菜(败酱草); 可溶性多糖; 提取工艺; 含量测定; 苯酚-2 硫酸法; 便秘

中图分类号: S377

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2002)01-0138-04

便秘是一种常见的肠道疾病。据统计, 患此种疾病的人占英国健康人口的 10%; 占美国男性 8%, 女性 20.8%; 占日本男性 9.1%, 女性 23.5%^[1]。Ratnaik 2000 年报道, 便秘是老年人的多发病和常见病, 而且往往便秘和腹泻交替出现^[2], 癌症病人使用止痛剂都会导致便秘^[3,4], 据 Boige 等 1999 年报道, 儿童的功能性便秘会引起大便失禁^[5], Amanda J. Lee 等 2001 年报道了膳食纤维的摄入、便秘与静脉曲张的关系^[6]。便秘还会导致肠粘液的减少, 从而诱发结肠癌^[7]。

苦菜, 学名败酱草 (*Patrinia villosa* (Thunb.) Juss.), 为败酱科植物。是一种常用的草药, 目前作为野菜已为很多人食用, 江浙一带已建立了很多苦菜种植基地, 据报道它具有治疗痢疾和腹泻的作用^[8]。我们研究发现, 苦菜还有抗便秘作用(另文报道)。为对苦菜防便秘又抗腹泻的疗效进行深入探索, 将对苦菜中“可溶性多糖”成分的双向作用进行研究。

本研究旨在探讨苦菜中可溶性多糖提取过程中显著影响的因素, 并通过正交试验确定其最佳提取工艺参数, 研究用苯酚-2 硫酸法测定多糖含量的关键技术。

1 材料与方法

1.1 材料

新鲜苦菜, 采摘自杭州郊县; 无水乙醇 (AR)、95% 乙醇 (AR), 杭州长征化学试剂厂; 硫酸 (AR), 浙江巨化集团公司试剂厂; 苯酚 (AR), 杭州双林化

学试剂厂(重蒸后备用)。

植物粉碎机(齐家务科学仪器厂), 752 紫外光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂), 离心机(北京医用离心机厂)。

1.2 方法

1.2.1 苦菜多糖提取方法

新鲜苦菜 摊晾 去除杂物 洗净 晒至半干 烘箱内 50℃ 烘干 植物粉碎机粉碎 密封保存

称取适量上述苦菜粉 按一定比例加入蒸馏水 在热水浴中热浸提数 h 冷却后过滤 从滤液中精确量取 20 mL, 用无水乙醇定容至 100 mL 混匀后静置 1 h 在离心机上以 4 000 r/min 离心 15 min 沉淀用适量 80% 的酒精洗涤 2 遍 沉淀用蒸馏水溶解并定容至 100 mL (即为待测的样液)^[9,10]。

1.2.2 多糖含量测定方法

标准曲线溶液的配制: 精确称取已经干燥的标准葡萄糖 20 mg, 用 500 mL 重蒸水定容, 分别吸取 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 mL, 各以水补至 2.0 mL, 然后加入 6% 苯酚水溶液 0.5 mL, 再加浓硫酸至总体积达 10 mL, 混合均匀后, 室温放置 30 min, 在波长 490 nm 处测定吸光度, 空白对照以重蒸水代替糖溶液。

样品测定: 吸取样品液 1.0 mL (相当于 40 Lg 左右的多糖)按上述步骤操作, 测吸光度, 以标准曲线计算多糖含量^[11]。

1.2.3 单因素试验

料液比采用 1:15、1:20、1:25、1:40 四个水平、浸提温度采用 80℃、90℃、100℃ 三个水平、浸提时间采用 3 h、4 h、5 h、6 h、7 h 五个水平分别进行单因素试验。

1.2.4 正交试验

选 $L_9(3^3)$ 作正交试验, 选定提取苦菜中可溶性

收稿日期: 2001-208-206 修订日期: 2001-209-207

基金项目: 浙江省教育厅科学基金资助项目: 老年性便秘功能食品的研究(97052)

作者简介: 朱加进, 讲师, 博士, 杭州市 浙江大学农业工程与食品科学学院食品科学与营养系, 310029

多糖的最佳工艺参数。用改进的苯酚2硫酸法测定多糖含量, 统计试验结果。

2 结果与讨论

2 1 多糖的测定

测得葡萄糖标准曲线的回归方程和苦菜中可溶性多糖的提取率(%) 分别为:

$$Y = 0.1736X, R = 0.9970$$
$$G = \frac{Y \times 0.04 \times B \times 100}{0.1736 \times M}$$

式中 Y——多糖在 490 nm 波长处测定的吸光度;
X——相当于 0.04 mg/mL 标准溶液的 mL 数;
G——苦菜中可溶性多糖的提取率, %; B——样品测定时的稀释倍数; M——苦菜样品的质量, mg。

在苦菜可溶性多糖的测定中, 采用傅蕙英等^[9] 1998 年测定 NSP (非淀粉多糖) 的方法, 即 3, 5-二硝基水杨酸测定法, 在低浓度时线性不好; 改用硫酸2苯酚法后, 数据稳定性很差。参照改良的苯酚2硫酸法^[11] 研究了自己的测定方法, 数据稳定性大大增加。经研究证明, 只要浓硫酸的量足够大, 硫酸2苯酚法就稳定。

2 2 热浸提工艺参数对苦菜中可溶性多糖提取率的影响

热浸提工艺涉及三个关键条件: 热浸提的料液比、热浸提的温度和热浸提的时间。下面就这三个方面进行单因素的试验。

2 2 1 料液比的影响

表 1 料液比对多糖提取率的影响

Table 1 Effect of solid2liquid ratio on the extraction percent of polysaccharides

料液比	多糖提取率/%
1 : 15	0.653
1 : 20	0.765
1 : 25	0.759
1 : 40	0.756

试验结果显示: 料液比的上升会增加多糖的溶出量, 到达一定比例后, 上升的幅度明显下降。1 : 20 和 1 : 25 为最佳。

2 2 2 温度的影响

表 2 温度对多糖提取率的影响

Table 2 Effect of temperature on the extraction percent of polysaccharides

温度/°C	可溶性多糖的提取率/%
80	1.02
90	1.52
100	2.28

温度单因素试验表明, 温度对苦菜多糖提取有显著的影响。温度的上升伴随着多糖提取率的显著上升, 在 100 °C 条件下多糖的提取率几乎是 80 °C 时提取率的两倍。

2 2 3 时间的影响

表 3 表明, 随着热浸提时间的增加苦菜多糖提取率也有所增加, 但增加的趋势逐渐趋缓。6 h 和 7 h 最佳。

表 3 时间对多糖提取率的影响

Table 3 Effect of period on the extraction percent of polysaccharides

时间/h	可溶性多糖的提取率/%
3	1.60
4	1.63
5	1.74
6	1.80
7	1.81

2 2 4 热浸提苦菜中可溶性多糖提取率的正交试验

在上述单因素试验的基础上, 选定 3 因素 3 水平作正交试验, 因素水平、试验结果计算见表 4。正交试验极差分析显示, 影响苦菜可溶性多糖提取率的诸因素的主次关系依次是热浸提温度(B)、热浸提料液比(A)、热浸提时间(C)。从图 1 可以直观地辨别各因素的最佳组合为 A 2B 3C 2。经验证试验: 最佳组合(1 : 20, 100 °C, 6 h) 时, 提取的苦菜(含水率 11.67%) 中可溶性多糖的提取率为 2.28% (相对于被提取的苦菜质量)。

表 4 正交试验结果

Table 4 The results of orthogonal experiment

试验	因素			可溶性多糖的提取率/%
	A 料液比	B 温度/°C	C 时间/h	
1	1 : 15	80	4	0.65
2	1 : 15	90	6	1.17
3	1 : 15	100	8	1.49
4	1 : 20	80	6	1.52
5	1 : 20	90	8	1.87
6	1 : 20	100	4	2.13
7	1 : 25	80	8	1.06
8	1 : 25	90	4	1.43
9	1 : 25	100	6	2.19
K ₁	3.31	3.23	4.21	
K ₂	5.52	4.47	4.88	
K ₃	4.68	5.81	4.42	
优水平	A 2	B 3	C 2	
R _j	0.663	0.775	0.201	
主次顺序	B	A	C	

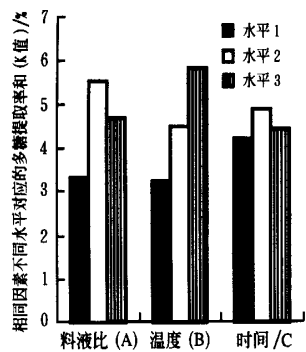


图 1 因素和多糖提取率关系图

Fig 1 The relationship between factors and the extraction percent of polysaccharides

2 2 5 正交试验的方差分析结果

为进一步判断上述 3 类受控制的因素对试验结果的影响是否存在, 将正交试验数据进行方差分析, 找出这些因素中起主导作用的变异来源。正交试验的方差分析结果(表 5): 温度的差异极显著 ($P < 0.01$), 料液比差异也呈显著水平 ($P < 0.05$), 说明温度和料液比对苦菜提取率起主要作用。时间则没有显著性差异, 即时间因素对最后结果的影响最小。

表 5 正交设计方差分析表

Table 5 The table of variance analysis of orthogonal experiment

变异来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	显著水平 αP
料液比	0.830	2	0.415	16.5	0.012
温度	1.11	2	0.555	22.0	0.0069
时间	0.078	2	0.039		
误差	0.022	2	0.011	3.49	
总和	2.04				

2 2 6 正交试验各处理间多重性比较

1) 料液比各水平间差异显著性的 SSR 检验

表 6 SSR 检验显示: 料液比水平 2(1/20)与水平 3(1/25)之间没有显著性差异 ($P > 5\%$), 而与水平 1(1/15)之间则存在显著性差异。水平 1 和 2 存在极显著差异 ($P < 0.01$), 水平 1 和 3 之间存在显著性差异 ($P < 0.05$), 所以料液比的最佳工艺参数确定为 1/20, 其次是 1/25, 而 1/15 不合适。

表 6 料液比各水平间差异显著性 SSR 检验

Table 6 The shortest significant range test of solid:liquid ratio among different levels

处理	平均	5% 显著水平	1% 极显著水平
2	1.84	a	A
3	1.56	a	AB
1	1.10	b	B

2) 时间各水平间差异显著性 SSR 检验

表 7 时间各水平间差异显著性 SSR 检验

Table 7 The shortest significant range test of period among different levels

处理	平均	5% 显著水平	1% 极显著水平
2	1.63	a	A
3	1.48	a	A
1	1.40	a	A

时间因素各水平间均无显著性差异 ($P > 0.05$), 因此由表 7 可知, 在统计学上 4 h、6 h、8 h 均可, 而从表 4 的极差分析显示提取率 6 h 最佳, 但如果从成本角度考虑, 4 h 最好, 由于 4 h 和 6 h 提取率差异不大, 因此, 实际操作中可选择 4 h 为最佳提取工艺参数。

3) 温度各水平间差异显著性 SSR 检验

表 8 的 SSR 检验说明: 温度的三个水平间都存在显著性差异 ($P < 0.05$)。水平 1 和 3 之间存在极显著差异 ($P < 0.01$), 提示温度的控制非常重要。从极差分析可知, 最佳工艺参数为多糖提取率最高的水平 3(100%)。

表 8 温度各水平间差异显著性 SSR 检验

Table 8 The shortest significant range test of temperature among different levels

处理	平均	5% 显著水平	1% 极显著水平
3	1.94	a	A
2	1.49	b	AB
1	1.08	c	B

目前国内外对多糖的研究报道很多, 国内对苦菜或同属植物的功效研究和化学成分的研究报道较多^[12~14], 而国外未见报道。对苦菜多糖的提取工艺研究国内外均未见报道, 对同属败酱科不同种的糙叶败酱 (*Patrinia scabra* Bunge) 多糖的提取已有报道^[15], 但未见提取工艺和提取过程中显著影响因素的报道。已有的硫酸 2 苯酚法测定, 其线性回归系数小, $R = 0.9897$, 经本研究改进后, $R = 0.9970$, 多糖提取率为 1.5%, 只有本研究的 16% 左右。

3 结 论

1) 在热浸提苦菜可溶性多糖的过程中, 温度和料液比是影响苦菜多糖提取率的主要因素。多糖提取最佳工艺条件为料液比 1/20、温度 100℃、时间 6 h。此时苦菜中可溶性多糖的提取率为 2.58%。如果考虑成本的因素, 则最佳工艺条件可选择料液比 1/20、温度 100℃、浸提时间 4 h。

2) 用硫酸 2 苯酚法测定多糖要保持“硫酸”足够过量。

[参 考 文 献]

- [1] Fukai K, Yamaguchi M, Tanihara M, et al Constipation assessment of schoolchildren by the Japanese Version of constipation assessment scale[J]. J Jpn Soc Nurs Res, 1997, 20: 57~ 63
- [2] Ratnaik R N. Diarrhea and Constipation in Geriatric Practice [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2000 126~ 150
- [3] Ramesh P R, et al Managing morphine-induced constipation: a controlled comparison of an ayurvedic formulation and senna [J]. Journal of Pain and Symptom Management, 1998, 16: 240~ 244
- [4] Daeninck Paul J, et al Reduction in constipation and laxative requirements following opioid rotation to methadone: a report of four cases[J]. Journal of Pain and Symptom Management, 1999, 18: 303~ 309
- [5] Boige N, et al Psychosomatic approach of encopresis in child[J]. Archives de Pediatrie, 1999, 6: 1331~ 1337.
- [6] Lee Amanda J, et al Fiber intake, constipation, and risk of varicose veins in the general population: edinburgh vein study [J]. Journal of Clinical Epidemiology, 2001, 54: 423~ 429
- [7] Shimotoyodome Akira, et al Decreased colonic mucous in rats with loperamide-induced constipation[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 2000, 126: 203~ 211
- [8] 卢寅熹. 败酱草的本草考证[J]. 时珍国药研究, 1996, 7 (3): 129~ 130
- [9] 傅蕙英, 许 皓. 苡麦面可溶性膳食纤维的降糖、降脂作用[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(1): 54~ 56
- [10] 许 辉, 田福利, 曹世明. 内蒙古产荞麦和苡麦中淀粉及非淀粉多糖的含量研究[J]. 内蒙古农牧学院学报, 1998, 19(4): 80~ 83
- [11] 董 群, 郑丽伊, 方积年. 改良的苯酚-2硫酸法测定多糖和寡糖含量的研究[J]. 中国药学杂志, 1996, 31 (9): 550~ 552
- [12] 雷海民等. 异叶败酱的生药学研究[J]. 西安医科大学学报, 1996, 17(3): 316~ 318
- [13] 仲山民等. 野生败酱的营养成分分析[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(1): 45~ 46
- [14] 王瑞俭, 孙宝民. 黄花败酱的药理研究与临床应用[J]. 长春中医学院学报, 1997, 13(62): 46
- [15] 杨建萍, 何福江, 李洪刚. 糙叶败酱多糖的含量测定[J]. 中草药, 1996, 27(11): 660~ 661

Key words: maltogenase; Benzyme; extremely high maltose syrup

Starch Paste Clarity and Its Influcence Factors (129)

Du Xianfeng¹, Xu Shiying², Wang Zhang² (1. *Department of Food Engineering, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;* 2. *School of Food Science, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036, China*)

Abstract: Starch paste clarity and the effects of molecular structure, retrogradation and some food ingredients such as NaCl, sucrose and citric acid were investigated. The experimental results indicate that the starch molecular structure is the principal factor to influence the starch paste clarity. NaCl was proved to be able to reduce starch paste clarity, and sucrose, citric acid are proved to be able to increase the clarity. During the initial storage period (4, 0~4 d), the clarity decreased abruptly, then it gradually decreased to its minimum as the leached but amylose completely formed a three-dimensional network with amylopectin embedded in and reinforced to the interpenetrating amylose gel matrix.

Key words: starch paste; clarity; molecular structure; food ingredient; retrogradation

Experimental Study on Extruded Rice Used as Beer Adjunct (132)

Shen Dechao, Meng Yang (Engineering Technology College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In this paper the influence of the parameters of the extrusion system of rice used as beer adjunct on indexes observed was studied by experiments in the laboratory. These parameters are the diameter of nozzle, barrel temperature, moisture content of rice and screw speed. The indexes include total reduced sugar concentration and filtration rate. The research results indicate that the extruded rice can be used as beer adjunct.

Key words: rice; extrusion; beer adjunct

Rheological Law of the Crop Stem Fibrous Material During Compression Process ... (135)

Yang Mingshao, Zhang Yong, Li Xuying (Inner Mongolia Agricultural and Husbandry University, Hohhot 010018, China)

Abstract: The exploitation of the loose crop material needs compression process. To determine the structural parameters and optimize the design of compression equipment, the law of compression process, the relationship among main parameters in the whole compression process and the characteristics of the material to be compressed are investigated. Based on the achievement acquired by our research group, a basic law of the stress and strain variation pattern was obtained by use of advanced measuring means, which provided a theoretical basis for the further study and optimum design of compression equipment.

Key words: crop material; rheology; compression

Extraction Technology of Soluble Polysaccharides From Wild Patrinia Villosa (138)

Zhu Jiajin (College of Agricultural Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: *Patrinia Villosa* (P. V.) can cure diarrhea, but it can also do good to constipation. Not only the leaves and the stems can relax the constipation, but also the water-solution extracted from P. V. has the similar function. In order to know the effective ingredients to prevent and cure constipation extracted in the water-solution, the extraction technology of soluble polysaccharides from wild P. V. was studied, and single factor test and orthogonal experiment design methods ($L_9(3^3)$) were applied to analyze the influence of each factor in solid-liquid ratio, temperature and time on the extraction percent of the polysaccharides from the water solution of P. V.. Experimental results indicated that temperature and solid-liquid ratio significantly affect the extraction percent of the soluble polysaccharides. The optimum solid-liquid ratio is 1:20, temperature is 100 and the extraction time is 6 hours. In this condition, the extraction percent of soluble polysaccharides is 25.8%.

Key words: *patrinia villosa*; soluble polysaccharides; extraction technology; content measurement; phenol-sulfate method; constipation

Extraction of Flavonoid From Pagodatree Flower (142)