

茯苓固態發酵產物中多醣與三萜類之微波萃取

陳柏翰 陳淑德*

國立宜蘭大學食品科學系

(接受刊載日期: 中華民國一〇二年七月二十五日)

茯苓為一種食藥用真菌，主要生物活性成分為三萜類及茯苓多醣體。藥理研究證實其具有抗發炎、抗氧化、免疫調節、抗腫瘤、降血糖、鎮靜、利尿及止吐等作用。本研究之目的先分析不同固態基質進行茯苓固態發酵之有效成分中的多醣和三萜類含量，再探討微波功率、萃取時間對茯苓固態發酵產物中多醣及三萜類含量之影響，並與熱水萃取、超音波萃取比較其萃取效果。研究結果發現太空包生產茯苓固態發酵產物以發酵兩週的茯苓薏仁發酵產物之多醣含量最多，達31.02%，發酵四週的茯苓大豆發酵產物之三萜類含量最高，達2.68%。茯苓多醣和三萜類的萃取溶劑分別為水及95%乙醇，固液比皆為1:20，控制微波輸出功率在300 W，微波加熱5 min為最佳微波萃取條件。微波萃取茯苓固態發酵產物之多醣與三萜類所需的時間明顯比熱水萃取6 h及超音波萃取20 min短且效率佳。

關鍵字: 微波萃取, 茯苓, 多醣, 三萜。

Microwave Extraction of Polysaccharides and Triterpenoids from Solid-state Fermented Products of *Poria cocos*

Bo-Han Chen and Su-Der Chen*

Department of Food Science, National Ilan University, Ilan, Taiwan

(Accepted for publication: July 25, 2013)

Poria cocos is an edible and medicinal fungus. The main bioactive compounds are polysaccharides and triterpenoids. The pharmacological studies confirmed that it has several biological functions such as anti-inflammatory, antioxidant, immuno-modulatory, anti-tumor, sedative, diuretic and antiemetic activities. The objectives of this study were to analyze the polysaccharide and triterpenoid contents in the solid-state fermented products of *Poria cocos* grown in different media, investigate the effect of microwave power, and extraction time on the polysaccharides and triterpenoids contents in the fermented products of *Poria cocos*, and compare the extraction efficiency of hot water extraction and ultrasonic extraction. The results showed that the highest polysaccharide content was 31.02% in *Poria*-fermented adlay, and the highest triterpenoid content was 2.68% in *Poria*-fermented soybean. The solvents used for extracting polysaccharide and triterpenoid were water and 95% ethanol, respectively. The solid-liquid ratio was 1 : 20. The optimal microwave extraction was achieved when heating under the microwave output power at 300 W for 5 min. Compared to using the hot water reflux method for 6 h or ultrasonic extraction for 20 min, shorter time and better efficiency were obtained when the microwave method was used to extract polysaccharide and triterpenoid in solid-state-fermented products of *Poria cocos*.

Key words: Microwave extraction, *Poria cocos*, Polysaccharides, Triterpenoids.

前 言

茯苓(*Poria cocos*)是一種藥膳兩用真菌，常於松樹根部形成菌核，主要產地在雲南、安徽、貴州、廣西、湖北、福建等地⁽¹⁾。茯苓具有滲濕、利水、健脾及安神等功能，被譽為中藥“八珍”之一，亦常被用於藥膳與保健食品中，茯苓的生物活性成分以多醣及三萜類為主⁽²⁾。

茯苓液態發酵技術可於短時間內得到大量菌絲體及多醣，這方面的研究包括培養液的pH值、培養液成分(包括葡萄糖、玉米澱粉及碳氮比)作探討；另外，文獻指出接種量以1-10%、攪拌速率以150或200 rpm和溫度以26-30℃為宜⁽³⁻⁵⁾。劉等人⁽⁶⁾研究利用松木屑、麩皮、糖、石膏以袋裝固態發酵約20天生產乳白色的菌絲，此茯苓在旱田栽培比森林常規栽培

* Corresponding author. E-mail: sdchen@niu.edu.tw

多出21.7%，並可以避免森林環境生態遭到破壞。劉等人⁽⁷⁾更提出從菌絲生長結束後即進入菌核生長期，約98天菌核表面會產生黃褐色堅硬的苓皮，唯上述文獻皆未探討多醣和三萜類含量，故本研究以茯苓固態發酵產物進行萃取，並進一步探討多醣及三萜類的含量。

在進行天然物萃取時，一般較被廣泛使用的萃取方法有震盪萃取及索氏萃取等，此是透過加熱或攪拌來提升物質溶解度及質量傳送以達萃取之目的，雖然這些方法設備簡單且操作容易，但所需的萃取時間長、溶劑消耗量大且萃取效率低^(8,9)。近年來逐漸發展出一些較新的萃取技術，如超音波輔助萃取、超臨界萃取和微波輔助萃取等。微波是一種電磁波，頻率介於0.3 GHz和300 GHz之間，一般家庭用的微波爐為2,450 MHz，微波萃取則是藉由溶劑或細胞內水分能夠吸收微波後，產生偶極高速轉動而摩擦生熱的現象，萃取物與溶劑可同時加熱，故微波萃取與傳統方法相比，微波萃取的優點有快速升溫、縮短萃取時間、萃取效率高、溶劑消耗量可較傳統萃取減少50-90%、成本較低⁽¹⁰⁻¹²⁾，此因微波可直接加熱或混合溶劑，與植物中的腺體或管束中的水直接作用，使植物組織破裂，造成活性化合物容易釋放於有機溶劑中^(13,14)，故微波萃取被認為是極具有潛力的萃取方法。

目前已有許多相關研究使用微波輔助萃取技術，如由紅豆杉中萃取紫杉烷類⁽¹⁵⁾、由柴胡根中萃取柴胡皂苷⁽¹⁶⁾、靈芝中三萜類之萃取⁽¹³⁾、由荳蔻中萃取精油⁽¹⁷⁾、由人參中萃取人參皂苷⁽¹⁸⁾、由甘草中萃取甘草酸⁽¹⁹⁾及萃取許多植物中的多醣類物質等⁽²⁰⁻²³⁾，且微波萃取確實有萃取所需花費時間較其他傳統萃取方法短的優點，故可利用微波萃取茯苓的有效成分-多醣與三萜類。

本研究之目的為利用以五穀雜糧作為固態發酵基質，進行茯苓固態發酵以代謝產生多醣和三萜類等有效成分，並進一步嘗試利用以熱水和乙醇分別萃取茯苓多醣和三萜類之微波萃取系統，探討是否能縮短傳統熱迴流萃取和超音波萃取的時間和提高萃取量。

材料與方法

一、材料

茯苓(*Poria cocos*) (BCRC 36022)購自食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心

(新竹，臺灣)。葡萄糖、95%乙醇和酚試劑(phenol)購自日本和光純藥工業株式會社(大阪，日本)。濃硫酸購自聯工公司(台北，台灣)。氫氧化鈉購自日本島久藥品株式會社(大阪，日本)。醋酸購自日本試藥工業株式會社(大阪，日本)。齊墩果酸(oleanolic acid)標準品、香草醛和過氯酸購自Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)。馬鈴薯葡萄糖洋菜培養基PDA (potato dextrose agar, Difco™)、馬鈴薯葡萄糖培養液PDB (potato dextrose broth, Difco™)。

二、設備

熱風乾燥機(Channel DV-120，台北，台灣)、分光光度計(Model U-2001, Hitachi Co., 東京，日本)、高速離心機、高溫蒸氣直立式滅菌釜、烘箱、電子精秤、無菌操作台、紅外線溫度計、超音波機(DC-600H, DELTA, 新北市，臺灣)。微波萃取裝置為本試驗室自行組裝，包括可調控功率的微波爐(妍華生技公司，新北市，臺灣)，其微波爐內有一個容積為500 mL的玻璃圓底燒瓶上方連接冷凝管，再外接5°C冷水循環機(Firstek, 8402H, 一升科技公司，新北市，臺灣)以維持冷凝管的低溫。

三、試驗方法

1. 茯苓菌種培養與預活化

將茯苓菌置於PDA平板培養基，在26°C培養箱中培養七天，取四塊1 cm² PDA菌塊接種於裝有150 mL PDB培養液的250 mL擋板三角瓶中，於26°C、150 rpm下進行搖瓶培養七天。

2. 茯苓固態發酵及樣品製備

從預活化茯苓菌之PDB培養液中取10 mL分別接種於經121°C殺菌釜滅菌1 h後冷卻的1 kg不同固態發酵基質(小麥、大豆、糙米、薏仁、燕麥)中，基質的水分含量約為50%，上述五種基質皆於26°C恆溫培養箱中分別培養14和28天。培養完成之太空包於121°C殺菌釜滅菌1 h後，於50°C熱風乾燥，並將乾燥後樣品磨粉備用。

3. 微波加熱溶劑之升溫曲線繪製

取50 mL蒸餾水或95%乙醇置於500 mL圓底燒瓶中，分別以不同微波功率(100、200、300、400、500和600 W)加熱，每1 min以紅外線溫度計測量溶劑溫度，直到溫度達

恆定，並繪製不同微波功率之升溫曲線。

4. 微波萃取茯苓固態發酵產物中多醣的萃取條件

取 2.5 g 樣品置於 500 mL 圓底燒瓶中，加入 50 mL 蒸餾水(固液比 1:20)混合均勻，分別於微波功率 300、400、500 及 600 W 下，萃取時間 10、20、30 min，萃取液離心 6,000 rpm 15 min 後，取上清液備用。

5. 多醣定量分析(酚-硫酸法)⁽²⁴⁾

取萃取液之上清液 0.3 mL 加入 1.2 mL 95% 乙醇混合均勻，以微量離心機離心 12,000 rpm 15 min，去除上清液，重複此步驟兩次，於 60°C 乾浴機將乙醇揮發至乾後，加入 1 mL 1 N NaOH，於 80°C 乾浴機下回溶。將回溶之多醣液稀釋 200 倍，取 1 mL 稀釋液加入 1 mL 5% 酚溶液及 5 mL 濃硫酸混勻後，冰浴 2 min，以分光光度計在波長 488 nm 下測其吸光值，再將吸光值代入葡萄糖標準曲線迴歸方程式，以換算多醣含量。

6. 微波萃取茯苓固態發酵產物三萜類的條件

取 2.5 g 樣品置於 500 mL 圓底燒瓶中，加入 50 mL 95% 乙醇(固液比 1:20)混合均勻，分別於微波功率 200、300、400 W 下，萃取時間 1、3、5、10、20 min，萃取液離心 6,000 rpm 15 min 後，取上清液備用。

7. 三萜定量分析⁽²⁵⁾

取乙醇萃取液之上清液 0.1 mL，於 80°C 乾浴機下揮發至乾，加入 0.4 mL 5% 香草醛-醋酸溶液及 1 mL 過氯酸溶液，在 60°C 下回溶，反應 15 min 後，冰浴至室溫，再加入 5 mL 醋酸震盪均勻，置於室溫反應 15 min，於分光光度計 548 nm 下測吸光值，再將吸光值代入齊墩果酸標準曲線迴歸方程式，以換算三萜類含量。

8. 統計分析

試驗結果三重複，並以平均值 ± 標準偏差表示，所得之數據使用 Statistical

Package for Social Science (SPSS, SPSS INC. 宏德國際軟體諮詢顧問股份有限公司) 17.0 統計套裝軟體進行統計分析，以多元全距檢定分析 (Duncan's Multiple Range Test)，以顯著水準為 $\alpha = 0.05$ ，比較其差異之顯著性。

結果與討論

一、不同茯苓固態發酵產物之多醣與三萜類含量

五種不同的穀類和雜糧基質(大豆、燕麥、薏仁、糙米及小麥)作為茯苓菌固態發酵基質，表一為發酵兩週及四週之茯苓固態發酵產物多醣與三萜類含量，由結果可知以薏仁及糙米基質作為茯苓菌發酵後的多醣含量較高，分別為 31.02% 及 30.34%，又以薏仁含量最高，和其他發酵產物相比具顯著差異。在三萜類含量方面，以大豆作為茯苓菌基質發酵後的三萜類含量最高為 2.68%，和其他茯苓發酵產物相比具顯著差異，而市售茯苓中藥的多醣和三萜類含量分別只有 0.15% 和 0.22%，故以薏仁、糙米及大豆作為茯苓固態發酵基質，可分別大幅增加茯苓發酵產物的多醣及三萜類有效成分含量，並可避免由土地中挖出來的茯苓可能遭受到重金屬和農藥的汙染。

二、茯苓固態發酵產物多醣之微波萃取

微波萃取設備的微波輸出功率是可調控設定，而非採用市售微波爐，藉由開和關以調控平均微波輸出功率，故不會產生微波輸出功率突然增加而造成的過熱現象。由圖一可知，以不同微波功率(100、200、300、400、500 和 600 W)加熱 50 mL 的水溫，其溫度在 100 及 200 W 下，由於微波輸出功率太低而需要更長的時間才能達到約 95°C，而 300、400、500 和 600 W 分

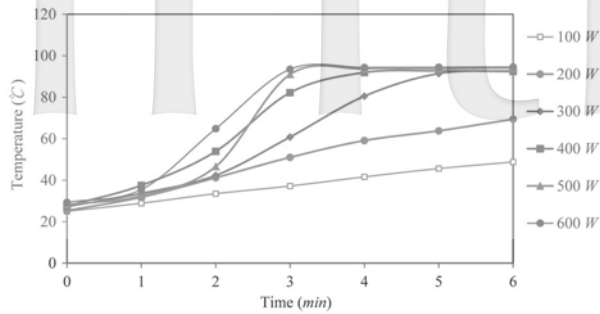
表一 不同茯苓固態發酵產物及市售茯苓之多醣與三萜類含量

Table 1. The contents of polysaccharides and triterpenoids in the solid-state fermented products of *Poria cocos* using different cereal media and a commercial *Poria* product

Medium	Soybean	Oat	Adlay	Brown rice	Wheat	Commercial <i>Poria</i>
Polysaccharide (%)	5.16 ± 0.32 ^{d*}	11.21 ± 1.33 ^c	31.02 ± 0.22 ^a	30.34 ± 2.44 ^a	25.13 ± 1.17 ^b	0.15 ± 0.00 ^e
Triterpenoid (%)	2.68 ± 0.01 ^a	1.04 ± 0.65 ^b	0.77 ± 0.32 ^c	0.26 ± 0.16 ^d	0.26 ± 0.19 ^d	0.22 ± 0.01 ^d

*Data are expressed as mean ± S.D. (n = 3).

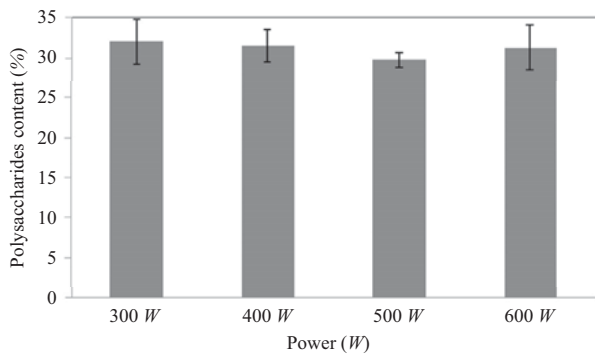
^{a-c} Means with different superscript letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$).



圖一 不同微波功率之50 mL水升溫曲線
Fig. 1. Temperature-time history during microwave heating with different power for 50 mL water.

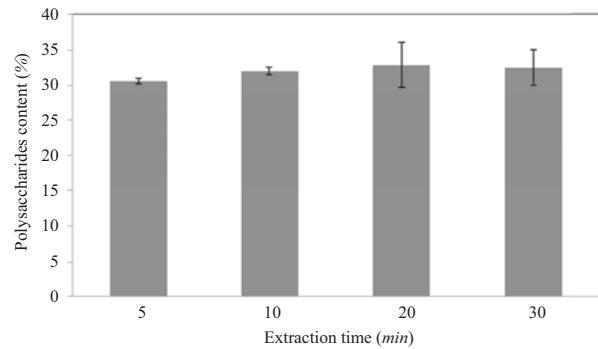
別約在5、4、3和3 min即可達到約95°C，由此可見較高的微波輸出功率可很快地在5 min內達到恒定溫度。

根據Chen等人⁽²⁶⁾建議微波輔助萃取銀耳多醣的固液比控制在1:20，故本研究亦以此固液比進行茯苓固態發酵薏仁產物之多醣的微波萃取研究，由圖二的結果得知在不同微波輸出功率(300、400、500及600 W)下，萃取10 min後的多醣含量約為29.82-32.06%，故在300-600 W的微波輸出功率對萃取多醣的含量並無顯著差異，且萃取時間已經足夠，考慮能源效率，故將微波輸出功率設定在300 W進行萃取。



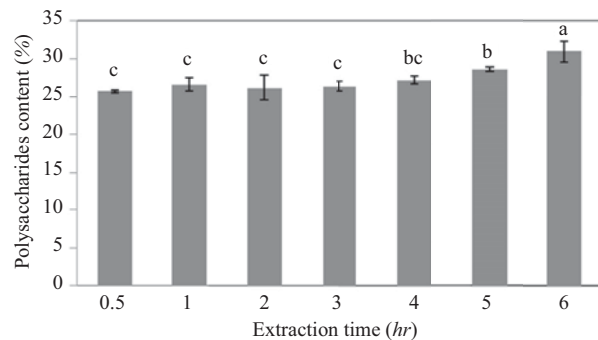
圖二 不同微波功率對茯苓固態發酵薏仁產物之多醣萃取量的影響
Fig. 2. Effects of different microwave power on extraction yield of polysaccharides from *Poria cocos* fermented adlay products.

圖三是探討在300 W微波輸出功率下，不同的萃取時間(5、10、20及30 min)對茯苓固態發酵薏仁產物之多醣萃取量的影響，結果顯示茯苓多醣萃取量分別為30.62、32.06、32.89及34.66%，並無顯著差異，表示在微波輸出功率300 W下，萃取時間5 min即可，故建議茯苓多醣的微波萃取條件為以蒸餾水作溶劑、1:20的固液比，經300 W微波萃取5 min，此可以節省萃取的時間和能源消耗。



圖三 微波功率300 W下不同萃取時間對發酵14天的茯苓固態發酵薏仁產物之多醣含量的影響
Fig. 3. Effect of extraction time on polysaccharides content from *Poria cocos* fermented adlay product under microwave power of 300 W.

進一步分析傳統熱水迴流萃取茯苓薏仁多醣的方法，固液比為1:20，熱水迴流萃取時間控制在0.5-6 h間，結果得茯苓多醣含量為25.81-30.97%，其中以熱水迴流萃取6 h達最高為30.97% (圖四)，而微波萃取在300 W加熱5 min可得多醣萃取量為30.62% (圖三)，由此可知微波熱水萃取茯苓多醣明顯較熱水迴流快速省時，且萃取效果較好。



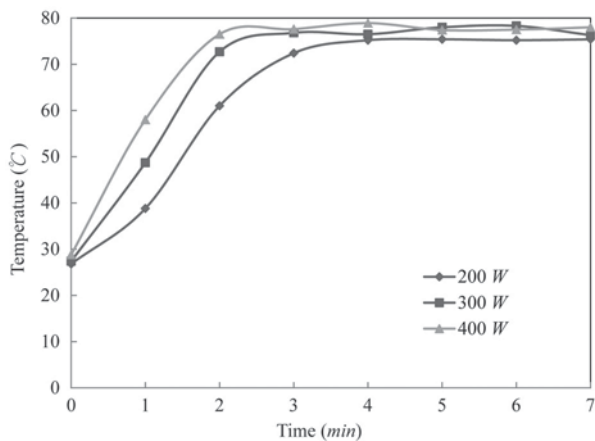
圖四 不同萃取時間對熱水迴流對萃取發酵14天的茯苓固態發酵薏仁產物之多醣含量的影響
Fig. 4. Effect of extraction time on polysaccharide content from the *Poria cocos* fermented adlay product using reflux extraction equipment in hot water. * Data are expressed as mean ± S.D. (n = 3). ** a-c Means in the different time with different superscript letters are significantly different (p < 0.05).

而Huang和Ning⁽⁹⁾以超音波/微波輔助萃取靈芝多醣，探討因子為微波功率、萃取時間及固液比，將其進行中央合成設計並繪製反應曲面圖得到最佳萃取靈芝多醣的條件為超音波功率50 W、微波功率284 W、萃取時間約12 min及固液比1:11.6，此與本研究微波萃取操作(微波功率300 W、萃取時間5 min及固液比1:20)

結果相仿。Huang和Ning⁽⁹⁾ 並發現隨著微波功率及萃取時間的增加，一開始其多醣萃取率會隨之增加，但若再提升微波功率則造成萃取溫度過高或萃取時間過長，其多醣結構會被破壞而有降解的情形，導致多醣萃取率下降，且其與傳統熱水萃取及超音波輔助萃取靈芝多醣比較，傳統熱水萃取及超音波輔助萃取之萃取時間分別為5 h及80 min，固液比約為1:20左右，但超音波/微波輔助萃取所需萃取時間短，僅需約12 min，且固液比只有1:10，所以溶劑消耗量減少，故使用微波是一種較佳的萃取多醣方法。

三、茯苓固態發酵產物三萜類之微波萃取

參考Chen等人⁽¹³⁾ 以95%乙醇作為微波萃取靈芝三萜類之萃取溶劑，本研究之三萜類萃取也選用95%乙醇作為萃取溶劑，由圖五結果得知，不同微波功率200、300和400 W加熱50 mL的95%乙醇，分別約在3、2和2 min即可達到約75°C，此和乙醇的沸點為78.4°C相近，微波加熱升溫較快達到此沸點，故相對於300 W微波加熱蒸餾水，則需要5 min才能達到恒定沸點(圖一)。

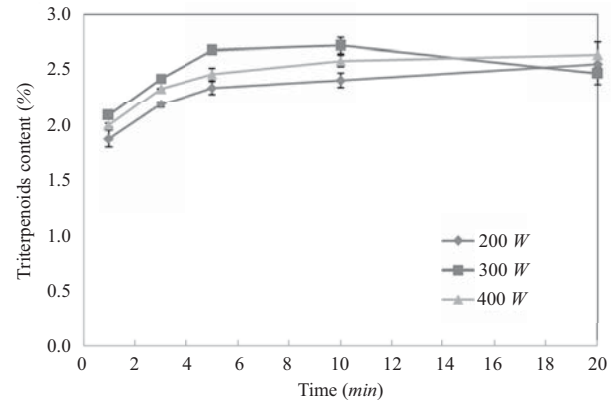


圖五 不同微波功率之50 mL 95%乙醇升溫曲線
Fig. 5. Temperature-time history of 50 mL 95% ethanol by microwave heating with different power.

由表一得知發酵28天的茯苓大豆固態發酵產物的三萜類含量達最高，故以此為樣品，利用微波萃取探討其三萜類之萃取量。首先固液比控制在1:20，微波輸出功率不論是200、300或400 W，當萃取時間為1 min和3 min時，三萜類萃取量未達最高，當微波萃取時間為5 min時，300 W微波萃取則能得到最高的三萜類含

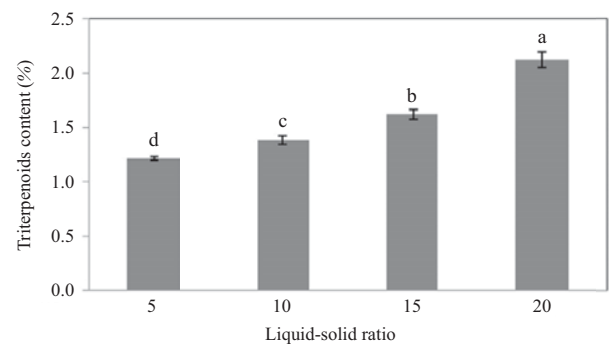
量為2.68%，此和微波萃取10 min的2.72%結果相近，不過當萃取時間增為20 min時，三萜類含量反而下降為2.47%，而不同的微波輸出功率對茯苓大豆發酵產物之三萜類萃取量差異不大(圖六)。圖七是探討不同的固液比分別為1:5、1:10、1:15及1:20對茯苓大豆三萜類萃取量之變化，結果顯示三萜類含量會因為液固比增加而提升萃取率，為節省溶劑使用量且又能同時有較好的萃取效果，故決定以固液比1:20為萃取條件，此操作結果和Chen等人⁽¹³⁾ 以微波輔助萃取靈芝之三萜類相近，其以95%乙醇，固液比為1:25，微波萃取5 min可達最高之萃取率和三萜類含量。

圖八為超音波萃取茯苓大豆發酵產物中三萜類之結果，超音波萃取20 min可得三萜類含



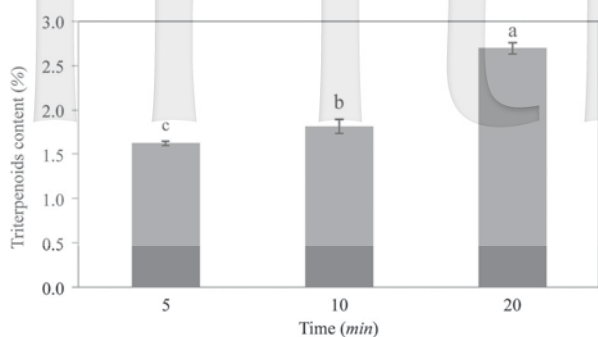
圖六 不同微波功率及萃取時間對茯苓三萜類含量之影響

Fig. 6. Effect of different microwave power and extraction time on the triterpenoid contents from *Poria cocos* fermented soybean.



圖七 不同固液比對微波萃取茯苓三萜類含量之影響

Fig. 7. Effect of different solid-liquid ratio on the triterpenoid contents from *Poria cocos* fermented soybean by microwave extraction. * Data are expressed as mean \pm S.D. (n = 3). ** ^{a-d} Means in the different liquid-solid ratio with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).



圖八 不同萃取時間對超音波萃取茯苓三萜類含量之影響

Fig. 8. Effect of different extraction time on the triterpenoid content from *Poria cocos* fermented soybean by ultrasonic extraction. * Data are expressed as mean \pm S.D. (n = 3). ** a-c Means in the different time with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

量為2.70%，此與微波萃取5 min之結果相近，說明微波萃取所需的萃取時間較超音波萃取短，這與微波使細胞內水分蒸發，使內部壓力上升造成的破壁效應及極性分子高速轉動摩擦生熱而快速加熱有關⁽¹¹⁾。故利用微波萃取茯苓大豆發酵產物之三萜類可縮短萃取時間，綜上所述，可以固液比為1：20、微波輸出功率300 W及萃取時間5 min作為茯苓大豆發酵產物之三萜類最佳萃取條件。

結 論

太空包生產茯苓固態發酵穀類產物中，以發酵的茯苓薏仁發酵產物之多醣含量最多，發酵四週的茯苓大豆發酵產物之三萜類含量最高。在微波萃取多醣及三萜類的部分，茯苓多醣和三萜類的萃取溶劑分別為水及95%乙醇，固液比皆為1：20，分別控制在微波輸出功率300 W、微波加熱5 min為最佳萃取條件。

謝 誌

感謝農委署101年度「開發保健食品」科技計畫-101農科-3.1.3-糧-Z1(4)「微波萃取茯苓固態發酵產物」經費支持，及陳慶真同學協助。

參 考 文 獻

- (1) 屈直、劉作易、朱國勝、劉永翔：茯苓菌種選育及生產技術研究。《西南農業學報》，20(3)：556-559 (2007)。
- (2) 張先淑、胡先明：茯苓三萜類化合物研究進展。《安徽農

業科學》，39(2)：815-816 (2011)。

- (3) 林家如：浸液醱酵培養基與培養條件對藥用茯苓(*Wolfiporia cocos*)菌絲體及胞外多醣體生成之影響。私立大葉大學碩士論文。員林，台灣 (2001)。
- (4) 陳宏慧：液態培養環境對茯苓(*Wolfiporia cocos*)菌絲體生長及其多醣體成分之影響。私立東海大學碩士論文。台中，台灣 (2005)。
- (5) 張艷、孔彥：茯苓真菌液體發酵產多醣培養條件優化的研究。《中國釀造》，7：96-99 (2009)。
- (6) 劉振武、鄭威、肖亞、夏釗、張利遷、程煉：茯苓旱田栽培技術研究。《河南農業科學》，2：92-93 (2007)。
- (7) 劉振武、方振華、鄭威、游平、劉會理、汪美玲、王飛、夏釗、張利遷、肖亞、周瑞、徐勇：茯苓旱田栽培袋裝菌種試驗研究。《現代農業科技》，2：11-13 (2007)。
- (8) Y. J. Wang, Z. Cheng, J. W. Mao, M. Fan and X. Q. Wu: Optimization of ultrasonic-assisted extraction process of *Poria cocos* polysaccharides by response surface methodology. *Carbohydr. Polym.*, 77(4): 713-717 (2009).
- (9) S. Q. Huang and Z. X. Ning: Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its immune enhancement activity. *Int. J. Biol. Macromol.*, 47(3): 336-341 (2010).
- (10) 劉川生、王平、王立飛、梅成、陳薇薇：微波萃取技術在天然藥物提取中的研究進展。《中國天然藥物》，1(3)：187-192 (2003)。
- (11) B. Kaufmann, and P. Christen: Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochem. Analysis*, 13(2): 105-113 (2002).
- (12) K. Ganzler, A. Salgo' and K. Valko': Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography. *J. Chromatogr.*, 371: 299-306 (1986).
- (13) Y. Chen, M. Y. Xie and X. F. Gong: Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*. *J. Food Eng.*, 81(1): 162-170 (2007).
- (14) M. Al-Harashsheh and S. W. Kingman: Microwave-assisted leaching - A review. *Hydrometallurgy*, 73: 189-203 (2004).
- (15) M. J. I. Mattina, W. A. I. Berger and C. L. Denson: Microwave assisted extraction of taxanes from *Taxus biomass*. *J. Agri. Food Chem.*, 45(12): 4691-4696 (1997).
- (16) J. H. Kwon, Y. H. Choi, H. W. Chung and G. D. Lee: The characteristics of a microwave extraction process used for saikosaponins from *Bupleurum falcatum* root. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 41: 67-75 (2006).
- (17) E. L. Marie, S. Jacqueline, B. Steven, L. Willem and C. Farid: Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *J. Food Eng.*, 79(3): 1079-1086 (2007).
- (18) Y. S. Youn, Y. K. Ming and S. C. Yuan: Microwave-assisted extraction of ginsenosides from ginseng root. *Microchem. J.*, 74: 131-139 (2003).
- (19) X. J. Pan, H. Z. Liu, G. H. Jia and Y. Y. Shu: Microwave assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. *Biochem. Eng. J.*, 5(3): 173-177 (2000).
- (20) N. Sutivisedsak, H. N. Cheng, J. L. Willett, W. C. Lesch, R. R. Tangsrud and A. Biswas: Microwave-assisted extraction of phenolics from bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Res. Int.*, 9: 143-149 (2009).
- (21) V. Beejmohun, O. Fliniaux, É. Grand, F. Lamblin,

- L. Bensaddek and P. Christen: Microwave-assisted extraction of the main phenolic compounds in flaxseed. *Phytochem. Analysis*, **18**: 275-282 (2007).
- (22) K. Kalia, K. Sharma, H. P. Singh and B. Singh: Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial parts of *Potentilla atrosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC. *J. Agr. Food Chem.*, **56**: 10129-10134 (2008).
- (23) J. Song, D. Li, C. Liu and Y. Zhang: Optimized microwave assisted extraction of total phenolics (TP) from *Ipomoea batatas* leaves and its antioxidant activity. *Innov. Food Sci. Emerging Technol.*, **12**: 282-287 (2011).
- (24) M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**(3): 350-356 (1956).
- (25) 孫中文、劉漢青、黃一平、鞠建明：藏藥印度獐芽菜總三萜和齊墩果酸的含量測定。《中國民族民間醫藥》，**1**: 21 (2010)。
- (26) Y. Chen, L. Zhao, B. Liu and S. Zuo: Application of response surface methodology to optimize microwave-assisted extraction of polysaccharide from *Tremella*. *Phys. Procedia*, **24**: 429-433 (2012).