

朱 月,段蕊晔,毕晓丹. 杏鲍菇多糖提取条件研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(5):276-278.

杏鲍菇多糖提取条件研究

朱 月,段蕊晔,毕晓丹
(赤峰学院生命科学学院,内蒙古赤峰 024000)

摘要:研究了水浴振荡方法的水浴振荡转速、浸提时间、料液比、浸提温度等 4 个因素对杏鲍菇粗多糖提取率的影响,并在单因素试验的基础上,对任意 3 个影响因素进行正交试验,通过数据统计分析,确定杏鲍菇粗多糖提取的最佳条件,并验证其重复性。结果表明,水浴振荡转速 300 r/min、浸提时间 0.5 h、料液比 1 g:30 mL、浸提温度 70 ℃ 为杏鲍菇粗多糖最佳提取条件,粗多糖得率为 33.55%。在 300 r/min 的水浴振荡条件下,影响杏鲍菇粗多糖提取的主次因素为浸提时间>料液比>浸提温度。试验确定的最佳条件稳定可行。

关键词:杏鲍菇;粗多糖;水浴振荡;提取

中图分类号:S646.1⁺41.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)05-0276-03

杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)别称刺芹侧耳,属于真菌门担子菌纲伞菌目侧耳属,是一种药食两用的真菌。在欧洲南部、非洲北部、中亚地区和东亚地区(中国)均有分布。已有研究表明,杏鲍菇多糖不但含量高,而且具有抗氧化、降血脂、抑制肿瘤、抗病毒、降低胆固醇和增强机体免疫的功效^[1]。因此,更多学者关注杏鲍菇多糖提取技术与生物学功能等方面的研究,关注杏鲍菇多糖的开发与利用。超声波^[2]、微波辅助^[3]和传统水浴浸提杏鲍菇多糖^[4]等方法已有报道,但尚未见水浴振荡提取杏鲍菇多糖条件的研究报道。本试验通过单因素试验与正交试验相结合的方法研究水浴振荡对杏鲍菇粗多糖提取的影响,确定在以振荡为辅助的条件下热水浸提杏鲍菇粗多糖的最佳方法。为进一步研究、开发和利用杏鲍菇多糖提供可选择的多糖提取的技术手段。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 内蒙古自治区赤峰市市售杏鲍菇。

1.1.2 主要仪器 SHA-C 恒温振荡器(江苏省常州国华电

器有限公司)、LRH-250A 生化培养箱(广东省医疗器械厂)、PL203 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]等。DD-5M 低速离心机(湖南省长沙湘仪离心机仪器有限公司)、UV-9100 紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)。

1.1.3 试剂 葡萄糖、苯酚、浓硫酸等均为国产分析纯,所用溶剂为去离子水。

1.2 方法

1.2.1 试验材料预处理 将杏鲍菇用清水洗净,切成薄片,平铺在托盘里,放到 80 ℃ 恒温干燥箱烘干至恒重。用组织捣碎机制成粉末,过孔径为 150 μm 的细筛,收集过筛粉末,备用。

1.2.2 葡萄糖标准曲线^[5]的绘制 将葡萄糖(分析纯)在 80 ℃ 干燥箱内烘至恒重,配成质量浓度为 0.2 mg/mL 的标准葡萄糖溶液。按表 1 加样,使各样品管内葡萄糖浓度依次为 20、40、60、80、100 μg,摇匀,静置 10 min 后,在 25 ℃ 恒温水浴

表 1 葡萄糖标准曲线制备试剂加入量及加样顺序

试剂	空白管加入量 (mL)	样品管加入量(mL)				
		1	2	3	4	5
葡萄糖标准液	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
去离子水	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0
5% 苯酚	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
浓硫酸	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

收稿日期:2012-10-09

作者简介:朱 月(1958—),女,辽宁黑山人,教授,主要从事生物化学教学与多糖研究。E-mail:cfzy212@126.com。

与发酵工业,2001,28(5):54-58.

[4]杨士章,施 帅,张海涛,等. 发酵鸭肌肉蛋白的降解[J]. 江苏农业学报,2011,27(2):401-404.

[5]施 帅,陆应林,徐幸莲. 南京板鸭加工过程中小肽及游离氨基酸变化的研究[J]. 食品科学,2006,27(3):100-103.

[6]张 俐,杨迎伍,阚健全. 微生态制剂及其在功能食品中的应用[J]. 食品工业科技,2002,23(6):72-74.

[7]戚巍威,徐为民,徐幸莲,等. 传统风鸭加工过程中非蛋白氮和游离氨基酸的变化[J]. 江苏农业学报,2008,24(2):190-193.

[8]张兰威,郭清泉,郑冬梅,等. 自然发酵与乳酸菌发酵风干香肠的理化特性及微生物变化[J]. 肉类工业,2001(7):26-28.

[9]杨士章,张焕新,施 帅,等. 板鸭中优势乳酸菌的分离、筛选及鉴定[J]. 食品科学,2010,31(7):242-246.

[10]刘 慧. 现代食品微生物学试验技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,2006:262-265.

[11]陈 松,冯月荣. 发酵肉制品生产加工中 HACCP 的应用研究[J]. 食品科技,2005(9):21-24.

[12]黄加成,林庆文. 乳酸菌发酵香肠发酵期间品质之变化[J]. 台湾:食品科学,1992,19(3):417-425.

[13]Coppola R, Lorizzo M, Saotta R, et al. Characterization of micrococci and staphylococci isolated from soppressata molisana, a Southern Italy fermented sausage[J]. Food Microbiology, 1997, 14:47-53.

[14]熊素玉,姚新奎,谭小海,等. 不同温度及 pH 条件对乳酸菌生长影响的研究[J]. 新疆农业科学,2006,43(6):533-538.

[15]李凤彩,程文新,谢 华,等. 发酵香肠菌种筛选标准探讨[J]. 食品工业科技,2002,23(6):78-79.

中保温 20 min,以空白管调零,在 490 nm 处测各样品管吸光度。以葡萄糖浓度为横坐标,以吸光度为纵坐标,采用 Excel 制备葡萄糖标准曲线。

1.2.3 单因素水平对杏鲍菇粗多糖得率的影响

1.2.3.1 振荡速度对杏鲍菇粗多糖得率的影响 在料液比为 1 g : 20 mL,浸提时间为 1 h、浸提温度为 80 ℃、浸提 1 次的条件下,分别在振荡速度为 75、150、225、300 r/min 等 4 个水平下振荡,浸提,以 3 000 r/min 离心,收集上清液,定容至一定体积,采用苯酚-硫酸法测定各试验因素不同水平杏鲍菇粗多糖的吸光度,依据直线方程计算粗多糖得率。再以试验因素不同水平为横坐标,相应水平下的粗多糖得率(%)为纵坐标作图,分析其影响趋势,确定振荡速度、料液比、浸提温度、浸提时间 4 种单因素的 3 个不同水平。

1.2.3.2 浸提时间对杏鲍菇粗多糖得率的影响 在振荡速度为 300 r/min、料液比为 1 g : 20 mL、浸提温度为 80 ℃、浸提 1 次的条件下,分别浸提 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h,下同“1.2.3.1”。

1.2.3.3 料液比对杏鲍菇粗多糖得率的影响 在振荡速度为 300 r/min、浸提温度为 80 ℃、浸提时间为 1 h、浸提 1 次的条件下,分别在料液比为 1 g : 10 mL、1 g : 20 mL、1 g : 30 mL、1 g : 40 mL、1 g : 50 mL、1 g : 60 mL 下浸提,下同“1.2.3.1”。

1.2.3.4 浸提温度对杏鲍菇多糖得率的影响 在振荡速度为 300 r/min、料液比 1 g : 20 mL、浸提时间为 1 h、浸提 1 次的条件下,分别在浸提温度为 50、60、70、80、90、100 ℃下浸提,下同“1.2.3.1”。

1.2.4 正交试验优选杏鲍菇粗多糖提取条件 选用单因素试验确定 4 因素 3 水平,建立 $L_9(3^4)$ 正交试验表,进行正交试验。通过正交试验的极差与方差分析,确定水浴振荡提取杏鲍菇粗多糖的最佳方法。

1.2.5 验证性试验验证优选条件的可重复性 以正交试验优选的最佳条件进行重复性试验,比较各试验组杏鲍菇多糖得率,分析判断试验的可重复性。

2 结果与分析

2.1 直线方程

依据苯酚-硫酸法求得的直线方程为 $y = 0.0147x - 0.0132$,相关系数为 0.9993,表明葡萄糖浓度在 20 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内与吸光度呈正相关。方程中的 y 为吸光度, x 为葡萄糖的质量浓度($\mu\text{g/mL}$)。

2.2 单因素对杏鲍菇粗多糖得率的影响

图 1 至图 4 显示,振荡速度、浸提时间、浸提温度、料液比对杏鲍菇粗多糖得率均有影响。图 1 表明,在零转速的条件下

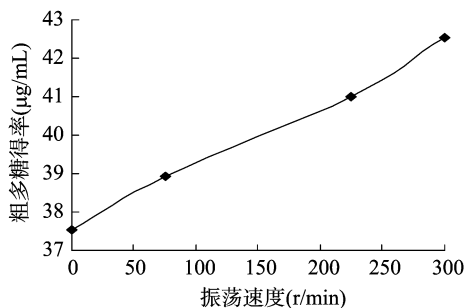


图1 振荡速度对粗多糖得率的影响

下,杏鲍菇粗多糖提取量最低,随着振荡速度的增加,粗多糖得率增加。在所研究的范围内,振荡速度达 300 r/min 时,粗多糖得率最多。证明以不同的振荡速度为辅助条件,热水浸提杏鲍菇粗多糖得率会提高。

图 2 表明,在 0.5 ~ 1 h 范围内,随着浸提时间的增加,粗多糖得率明显增加;当浸提时间大于 1 h 时,粗多糖提取量呈现明显的下降趋势。

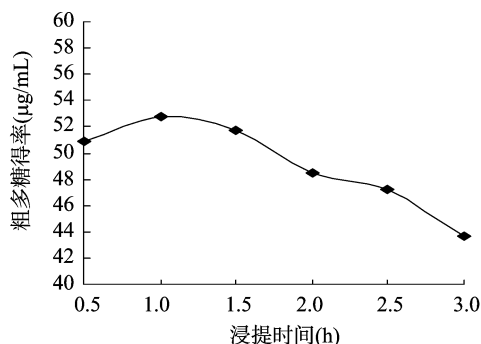


图2 浸提时间对粗多糖得率的影响

图 3 表明,料液比在 1 g : 10 mL ~ 1 g : 20 mL 的范围内,随提取剂的增加,粗多糖得率明显增加;以后随着料液比的增加,粗多糖提取量呈现下降趋势。

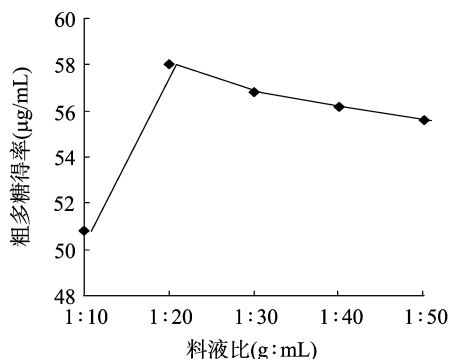


图3 料液比对粗多糖得率的影响

图 4 表明,在 50 ~ 80 ℃ 范围内,粗多糖得率随着温度的升高而增加;80 ℃ 时,粗多糖得率最高;以后随着温度的提高,粗多糖提取量开始下降。

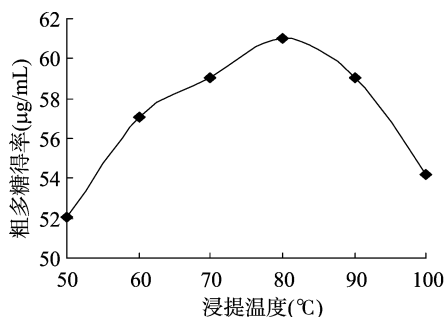


图4 温度对粗多糖得率的影响

以振荡为辅助条件提取杏鲍菇粗多糖,不但加速了细胞之间的相互碰撞,使细胞破碎,增加糖的释放量,而且振荡也加快了糖分子的热运动,加快糖的溶出,节省了浸提所需的时间,在适宜的时间范围内达到最佳溶出量。

2.3 正交试验结果与分析

单因素试验确定了以 300 r/min 的振荡速度为辅助浸提条件、正交因素水平(表 2)及 $L_9(3^4)$ 正交试验设计。 $L_9(3^4)$ 正交试验结果与分析见表 3 和表 4。

表 2 杏鲍菇多糖提取正交试验因素水平

水平	因素		
	A:料液比 (g : mL)	B:浸提温度 (℃)	C:浸提时间 (h)
1	1 : 20	70	0.5
2	1 : 30	80	1.0
3	1 : 40	90	1.5

表 3 杏鲍菇多糖提取正交试验方案及结果

编号	因素				粗多糖得率 (%)
	A	B	C	D(空列)	
1	1	1	1	1	32.63
2	1	2	2	2	30.83
3	1	3	3	3	28.65
4	2	1	2	3	31.95
5	2	2	3	1	29.23
6	2	3	1	2	31.99
7	3	1	3	2	28.93
8	3	2	1	3	30.97
9	3	3	2	1	29.37
k_1	30.70	31.17	31.86	30.41	
k_2	31.06	30.34	30.72	30.58	
k_3	29.76	30.00	28.94	30.52	
R	1.30	1.17	2.92	0.17	

正交试验的极差和方差分析结果表明,在振荡速度一定的条件下,浸提时间对粗多糖提取的影响最大,其次是料液比和浸提温度,主次关系依次是浸提时间 > 料液比 > 温度。

2.4 验证性试验结果分析

以振荡频率 300 r/min、料液比 1 g : 30 mL、浸提温度 70 ℃、浸提时间 0.5 h 为条件进行验证性试验,结果粗多糖的提取率为 33.55%,高于正交试验中的 9 个试验组。

(上接第 271 页)

吸附值高于 140 mg/g,达到木质活性炭一级标准。

参考文献:

[1]柳羽丰,王滨生,王佳祥. 非粮燃料乙醇发展综述[J]. 化学工程师,2009(7):53-55.
[2]吴创之,马隆龙. 生物质能现代化利用技术[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
[3]Galbe M,Zacchi G. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production[J]. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology,2007,108:41-65.
[4]Sun Y,Cheng J J. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermuda-grass for ethanol production[J]. Bioresource Technology,2005,96(14):1599-1606.
[5]张鑫,刘岩. 木质纤维素原料预处理技术的研究进展[J]. 节能与环保,2005(3):19-21.
[6]辛芬,陈汉平,王贤华,等. 木质纤维素生物质生产乙醇的预处理技术[J]. 能源工程,2006(3):24-28.
[7]Sasaki M,Kabyemela B,Malaluan R,et al. Cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical water[J]. The Journal of Supercritical

表 4 杏鲍菇多糖提取正交试验方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
料液比	2.711	2	1.356	58.315	*
提取温度	2.160	2	1.080	46.465	*
提取时间	13.049	2	6.524	280.683	**
误差	0.046	2	0.023		

注: $F_{0.05(2,2)}=19.00$, $F_{0.01(2,2)}=99$,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$ 。

3 结论

水浴振荡提取杏鲍菇试验的结果表明,振荡速度对粗多糖得率有显著影响,在所研究的范围内,随着转速的增加,糖释放量增加。

在振荡转速一定的条件下,浸提温度、浸提时间、料液比对水浸提粗多糖均有影响。其最佳条件是振荡转速 300 r/min,料液比 1 g : 30 mL,浸提温度 70 ℃,浸提时间 0.5 h。与传统的水浸提方法相比,在相同的浸提时间、浸提温度、料液比的条件下,该试验会获取更多的粗多糖。说明正交试验所优选的杏鲍菇粗多糖提取方法稳定可行。

参考文献:

[1]郭金龙,陈有君,孙国琴,等. 苯酚-硫酸法测定杏鲍菇多糖方法的研究[J]. 食品科学,2008,29(12):555-558.
[2]高娟娟,梁安慧,阳敏,等. 超声波对杏鲍菇多糖提取率影响试验[J]. 食用菌,2005,27(6):49-50.
[3]杜敏华,田龙. 微波辅助法提取杏鲍菇多糖研究[J]. 食品科技,2007(3):117-119.
[4]孟思,刘晓宇,李信辉,等. 杏鲍菇粗多糖提取工艺研究[J]. 食品科学,2007,28(9):141-144.
[5]朱月,毕晓丹,赵雪梅. “洛阳红”牡丹多糖提取条件的研究[J]. 北方园艺,2011(4):149-151.
Fluids,1998,13(1-3):261-268.
[8]Sasaki M,Zhen F,Fukushima Y,et al. Dissolution and hydrolysis of cellulose in subcritical and supercritical water[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research,2000,39(8):2883-2890.
[9]程贤甦,刘晓玲. 玉米秸秆发酵残渣中木质素的分离与性质研究[J]. 现代化工,2006(增刊):99-100.
[10]崔春霞,司崇殿,郭庆杰. 麦秸活性炭的制备及脱色性能[J]. 青岛科技大学学报:自然科学版,2010,31(1):42-46.
[11]邓辉,查志华,张根林,等. 氯化锌活化棉杆制备活性炭及孔结构表征[J]. 石河子大学学报:自然科学版,2009,27(6):760-763.
[12]韩彬,薛罡,荣达,等. 稻草秸秆基活性炭对苯酚和亚甲基蓝的吸附性能研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(7):3196-3199.
[13]陈晓红. 碘量法测定葡萄糖含量微型实验研究[J]. 光谱实验室,2006,23(6):1265-1266.
[14]董宇,申哲民,雷阳明,等. 亚临界水解预处理稻草秸秆制备活性炭及表征[J]. 环境科学,2012(5):1753-1759.
[15]El-Hendawy A N A,Samra S E,Girgis B S. Adsorption characteristics of activated carbons obtained from corncobs[J]. Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,2001,180(3):209-221.