

贺江,向球,蔡翠玲,等.真姬菇多糖超声波辅助提取工艺及抗氧化活性研究[J].江苏农业科学,2014,42(4):232-234.

真姬菇多糖超声波辅助提取工艺及抗氧化活性研究

贺江,向球,蔡翠玲,雷瑞,赵进,郭威

(湖南文理学院生命科学院,湖南常德 415000)

摘要:为探讨真姬菇多糖的提取和抗氧化活性,通过单因素试验设计和正交设计对真姬菇多糖的超声波辅助提取工艺进行研究,采用自由基体外清除试验对真姬菇多糖的体外抗氧化活性进行探讨。结果表明,在超声功率为 200 W、料液比 1 g : 40 mL、提取温度 60 ℃、提取时间 60 min 的条件下,真姬菇多糖提取率可达 5.68%;真姬菇粗多糖对 DPPH · 自由基和 ABTS · ⁺ 自由基均表现出较好的体外清除效果,当浓度为 1.0 mg/mL 时,其自由基清除能力与浓度为 80 μmol/L 的维生素 C 相当。

关键词:真姬菇;真菌多糖;超声波辅助提取;抗氧化活性

中图分类号: TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)04-0232-03

我国食用菌资源丰富,许多食用菌以其独特的营养价值和药用功能而深受消费者喜爱。真姬菇别称玉蕈、蟹味菇、海鲜菇等,味道鲜美,肉厚质嫩,具有独特的蟹香味;是北温带地区的一种优良食用菌,于 20 世纪 80 年代从日本引入我国山西、辽宁、福建等省进行广泛栽培。已有研究表明,从真姬菇子实体中提取的以 β -1,3-D 葡聚糖为代表的多糖具有抗肿瘤、提高免疫力、预防衰老、延长寿命等一系列生理活性^[1-2]。目前,真姬菇大多作为高营养价值的烹饪食材供消费者享用;但从食用菌中提取多糖等活性成分,并开发出高附加值的保健食品或饮品也是食用菌资源开发与利用的一种有

效途径^[3-4]。目前,真姬菇多糖提取工艺相关的报道较少。因此,本研究以真姬菇为研究材料,采用目前广泛应用的超声波辅助提取工艺^[5-6]对其进行多糖提取,重点探讨其提取工艺,并进一步对真姬菇多糖的体外抗氧化活性进行初步研究。本研究的开展,有望为真姬菇资源的开发与利用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

真姬菇子实体(干品,产地古田县);浓硫酸、苯酚(5%)、无水乙醇、无水甲醇、葡萄糖、K₂S₂O₈ 等均为分析纯;DPPH、ABTS 等均为优级纯。

1.2 仪器与设备

KH5200 超声波提取设备(超声功率为 200 W)、UV-1750 紫外可见分光光度计(日本岛津)、电热鼓风干燥箱、恒温水浴锅、旋转蒸发仪、万能粉碎机、电子天平、高速离心机、涡旋振荡器以及其他常规玻璃仪器。

收稿日期:2013-08-10

基金项目:湖南省大学生研究性学习与创新性实验项目(编号:2012);湖南文理学院博士启动项目(编号:2011);湖南省教育厅科研项目(编号:12JC0828)。

作者简介:贺江(1983—),男,江西萍乡人,讲师,主要从事食品安全与食品生物技术相关研究。E-mail:hejiang1119@163.com。

椒粉,即从整个反应过程来看,黑胡椒粉比白胡椒粉稳定。但在低温阶段(小于 300 ℃)的白胡椒粉还是比黑胡椒粉稳定,因为在烹饪时,相同温度下的黑胡椒粉挥发性物质更容易挥发出来,所以在相同温度时会觉得黑胡椒粉更芳香、味道更浓郁,具有香中带辣的味道,而白胡椒粉的味道比黑胡椒粉要淡、柔和、清香。黑、白胡椒粉的活化能相对都比较小,说明黑、白胡椒粉的稳定性都很差,因此须要密封低温保存。

3 结论

不同胡椒粉的热图谱曲线不同,因此可以用其热变化特征的不同来鉴别不同品质的胡椒粉,同时可以用热分析方法来求解活化能进而判断胡椒粉的稳定性。与其他检测方法相比,本研究方法的样品用量少、快速、操作简单,可以给胡椒粉的生产和存放提供科学依据。

参考文献:

[1] 韦琨,窦德强,裴玉萍,等.胡椒的化学成分、药理作用及与卡

瓦胡椒的对比[J].中国中药杂志,2002,27(5):328-333.

[2] 刘进平.海南野生胡椒资源的开发利用[J].中国热带农业,2010,2(2):35-36.

[3] 蔡东宏.世界胡椒业历史与现状[J].云南热作科技,1999,22(1):24-27.

[4] Nambiar O T S, Menon R K. Black & white pepper market potential[J]. The Planters' Chronicle, 2000, 4: 183-190.

[5] 赵森,许铁峰.热分析法在中药鉴别中的应用[J].药学实践杂志,2001,19(1):29-30.

[6] 贾献云,冯明帅,司浩明,等.书写文件制成时间的系统检验[J].广东公安科技,2002(3):40-44.

[7] 双长明.浅论味精的食用安全[J].中国烹饪研究,1996(2):45-49.

[8] Coats A W, Redfern J P. Kinetic parameters from thermogravimetric data[J]. Nature, 1964, 201(4914):68-69.

[9] Morris J W. A comparison of linear and exponential models for drug expiry estimation[J]. Journal of Biopharmaceutical Statistics, 1992, 2(1):83-90.

1.3 方法

1.3.1 真姬菇多糖超声波辅助提取基本流程^[5-6] 将真姬菌子实体干品于 60 ℃ 下恒温干燥 10 h 后粉碎,过 100 目筛;准确称取 2.00 g 干粉样品,以蒸馏水为提取溶剂,按设定的一系列提取条件进行提取后,样液 4 000 r/min 离心 10 min;上清液加入 3 倍体积 95% 乙醇进行沉淀,离心收集沉淀,并用无水乙醇和乙醚分别洗涤 2 次,即得粗多糖;将粗多糖溶于蒸馏水中并定容至 20 mL,采用苯酚-硫酸法进行多糖含量的测定。

1.3.2 工艺参数对真姬菇多糖超声波辅助提取的影响 在固定的超声波功率条件下,设置一系列料液比(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50,g:mL)、提取温度(30、40、50、60、70 ℃)和提取时间(15、30、45、60、75 min)对真姬菇多糖进行提取,以探索这 3 个因素对真姬菇多糖提取效果的影响,每个处理重复 3 次。

1.3.3 真姬菇多糖超声波辅助提取工艺条件优化 本研究在探讨了料液比、提取温度、提取时间等因素对真姬菇多糖提取效果的影响后,进一步对每个因素分别选取 3 个水平,采用 L₉(3⁴) 正交表进行正交试验,以对真姬菇多糖超声波辅助提取的工艺条件进行优化,正交试验的因素和水平如表 1 所示。

表 1 真姬菇多糖超声波辅助提取工艺优化的因素和水平

水平	因素		
	A:料液比 (g:mL)	B:提取温度 (℃)	C:提取时间 (min)
1	1:30	50	30
2	1:40	60	45
3	1:50	70	60

1.3.4 多糖含量的测定及提取率的计算 采用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[7]。称取干燥后的葡萄糖 0.100 g,蒸馏水溶解并定容至 100 mL;分别吸取该葡萄糖标准溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,并用蒸馏水补至 2.0 mL,然后再分别加入 1.0 mL 5% 苯酚及 5.0 mL 浓硫酸;摇匀、冷却后用分光光度计在 485 nm 波长处测定吸光度,以试剂空白溶液为参比。以葡萄糖含量(mg/mL)为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,标准曲线方程为 $y = 1.2134x + 0.0615$,决定系数 $r^2 = 0.9996$ 。以相同操作测量提取样品在 485 nm 波长下的吸光度,带入标准曲线方程,求出多糖的浓度并进一步换算出多糖的得率,每组试验重复 3 次。

多糖得率 = (多糖提取量/子实体干重) × 100%

1.3.5 真姬菇多糖体外抗氧化活性的测定

1.3.5.1 对 DPPH· 自由基的清除试验^[8] 取比色管,分别先加入 4 mL 100 μmol/L 的 DPPH-甲醇溶液,再加入不同体积的粗多糖样品溶液,使样品中多糖终浓度分别为 0.6、0.8、1.0 mg/mL,定容至 5 mL,涡旋振荡后避光静置 30 min,用紫外-可见分光光度计在 517 nm 波长下测定吸光度。同时设定空白组和对照组,空白组用超纯水代替样品,对照组用甲醇代替 DPPH-甲醇溶液。按下列公式计算样品对 DPPH· 的清除率。

$C = \left(1 - \frac{D_1 - D_2}{D_0}\right) \times 100\%$

式中:C 为 DPPH· 的清除率,D₁ 为试验组的吸光度,D₂ 为对照组的吸光度,D₀ 为空白组的吸光度。

1.3.5.2 对 ABTS·⁺ 自由基的清除试验^[9] 将 7 mmol/L 的 ABTS 溶液和 7.35 mmol/L 的 K₂S₂O₈ 溶液按照 2:1 的体积比混合,并在室温下避光放置 16 h 形成 ABTS 自由基储备液。使用前将储备液稀释 80 倍,作为 ABTS 工作液。

取比色管,分别先加入 4 mL ABTS 工作液,再加入不同体积的粗多糖样品溶液,使样品中多糖终浓度分别为 0.6、0.8、1.0 mg/mL,定容至 5 mL 刻度并涡旋振荡后,避光静置 6 min,用紫外-可见分光光度计在 734 nm 波长下测定其吸光度。同时设定空白组和对照组,空白组用超纯水代替样品,对照组用超纯水代替 ABTS 工作液。按下列公式计算样品对 ABTS·⁺ 的清除率。

$C = \left(1 - \frac{D_1 - D_2}{D_0}\right) \times 100\%$

式中:C 为 ABTS·⁺ 的清除率,D₁ 为试验组的吸光度,D₂ 为对照组的吸光度,D₀ 为空白组的吸光度。

2 结果与分析

2.1 工艺参数对真姬菇多糖超声波辅助提取的影响

2.1.1 料液比对多糖提取得率的影响 在提取温度为 40 ℃ 条件下,控制料液比为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 (g:mL),于超声提取装置中提取 30 min。由图 1 可知,开始时随着提取用水量的增大,多糖得率逐渐提高,这是因为溶剂用量少时多糖不能充分溶出;当料液比为 1 g:40 mL 时多糖得率达到最大,进一步增加提取用水量,多糖得率逐渐降低,这主要是由后续多糖沉淀过程中的损失导致。

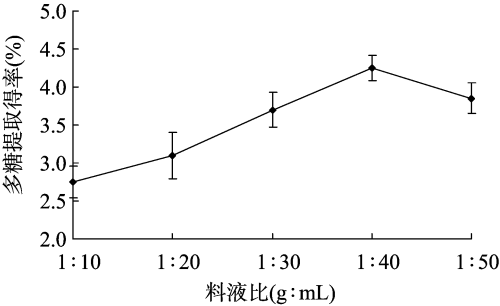


图1 料液比对多糖提取得率的影响

2.1.2 提取温度对多糖提取得率的影响 在料液比为 1 g:40 mL 的条件下,控制提取温度为 30、40、50、60、70 ℃,于超声提取装置中提取 30 min。由图 2 可知,随着浸提温度升高,多糖得率逐渐提高,这是因为温度升高能够加速多糖溶出;但当温度高于 60 ℃ 以后,多糖得率降低。

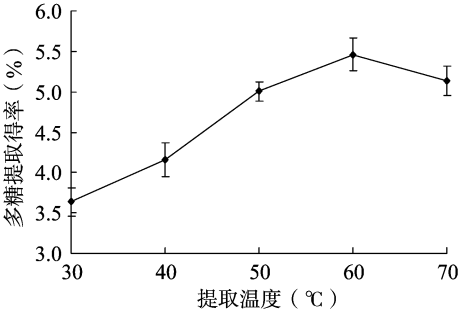


图2 提取温度对多糖提取得率的影响

2.1.3 提取时间对多糖提取得率的影响 在料液比为 1 g : 40 mL、提取温度为 60 ℃ 的条件下,控制提取时间为 15、30、45、60、75 min,于超声提取装置中提取。由图 3 可知,随着提取时间延长,多糖得率先逐渐提高,当时间为 45 min 时提取得率最高,进一步延长提取时间,提取得率不再提高,甚至稍有降低。这可能是因为超声具有较强的机械切割作用,长时间的作用会破坏多糖结构,导致在后处理过程中损失增大而影响多糖的得率^[10]。

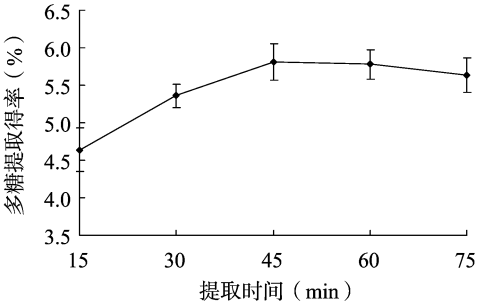


图3 提取时间对多糖提取得率的影响

2.2 真姬菇多糖超声波辅助提取工艺条件优化

选取料液比、提取温度和提取时间 3 个因素,每个因素设置 3 个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验,结果如表 2 所示。由表 2 可知,影响真姬菇多糖超声波辅助提取的各因素主次关系为 $B > A > C$ 。最优提取工艺条件组合为 $A_2B_2C_3$,即料液比 1 g : 40 mL、提取温度 60 ℃、提取时间 60 min,在该组合条件下提取得率可达 5.68%,明显高于李顺峰等采用浸提法对真姬菇多糖进行提取的最多得率(4.47%)^[2]。这一方面体现了超声波辅助提取工艺的优越性,但也可能是由供试材料的水分含量等特性不一致所致。对试验结果作进一步的方差分析,结果表明,料液比和提取温度在试验所设置的范围内均较显著地($\alpha = 0.10$)影响多糖提取得率,而提取时间在所设范围内对提取得率的影响不显著。

表 2 超声波提取多糖 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

试验号	A:料液比	B:提取温度	C:提取时间	空列	提取得率 (%)
1	1	1	1	1	4.85
2	1	2	2	2	5.29
3	1	3	3	3	5.12
4	2	1	2	3	5.18
5	2	2	3	1	5.68
6	2	3	1	2	5.27
7	3	1	3	2	5.12
8	3	2	1	3	5.20
9	3	3	2	1	5.26
k_1	5.087	5.050	5.107	5.263	
k_2	5.377	5.390	5.243	5.227	
k_3	5.193	5.217	5.307	5.167	
R	0.290	0.340	0.200	0.096	

2.3 真姬菇多糖体外抗氧化活性的测定

为探讨真姬菇粗多糖的体外抗氧化活性,本研究在上述试验的基础上对所获粗多糖进行了 DPPH · 自由基和 ABTS · ⁺ 自由基的清除试验。由图 4 可知,在试验所设的浓

度范围内,真姬菇多糖对 DPPH · 自由基和 ABTS · ⁺ 自由基均表现出了较好的体外清除效果,但对 ABTS · ⁺ 自由基的清除率明显高于对 DPPH · 自由基的清除率;此外,真姬菇粗多糖浓度为 1.0 mg/mL 时,其自由基清除能力与浓度为 80 μ mol/L 的维生素 C 基本相当。

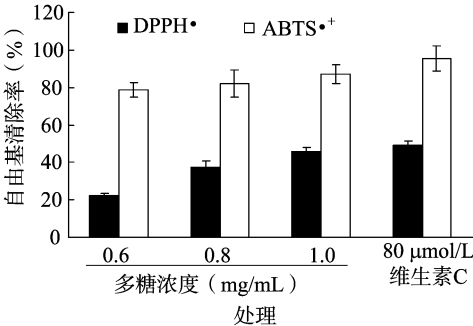


图4 真姬菇粗多糖体外清除自由基效果

3 结论

本研究通过单因素试验探讨了料液比、提取温度、提取时间等因素对真姬菇多糖超声波辅助提取效果的影响,并在此基础上采用正交设计对真姬菇多糖的超声波辅助提取工艺进行优化。结果表明,在固定超声功率为 200 W、料液比 1 g : 40 mL、提取温度 60 ℃、提取时间 60 min 的条件下,真姬菇多糖提取得率最高,可达 5.68%。本研究还进一步采用自由基体外清除试验对真姬菇粗多糖的抗氧化活性进行了初步探讨。结果表明,真姬菇粗多糖对 DPPH · 自由基和 ABTS · ⁺ 自由基均表现出较好的体外清除效果,当浓度为 1.0 mg/mL 时,其自由基清除能力与浓度为 80 μ mol/L 的维生素 C 相当。本研究结果可为我国真姬菇资源的开发和利用提供一定的基础。

参考文献:

[1]孙培龙,魏红福,杨开,等. 真姬菇研究进展[J]. 食品科技, 2005(9):54-57.

[2]李顺峰,刘兴华,张丽华,等. 真姬菇子实体多糖的提取工艺优化[J]. 农业工程学报,2008,24(2):281-284.

[3]周国英,兰贵红,何小燕. 食用菌多糖研究开发进展[J]. 实用预防医学,2004,11(1):203-204.

[4]王丽霞,杜德清. 食用菌多糖研究进展[J]. 浙江林业科技, 2005,25(5):49-53,56.

[5]罗登宏. 超声波辅助提取金针菇多糖工艺参数优化研究[J]. 江苏农业科学,2010(2):316-317.

[6]史碧波,王雪波,罗晓妙. 超声波辅助提取鸡油菌多糖的研究[J]. 食品与机械,2012,28(2):152-154,218.

[7]樊懿娜,赵婷,周叶,等. 苯酚-硫酸法测定灰树花中多糖含量的研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(25):15256-15257.

[8]Faller A L K, Fialho E. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods[J]. Journal of Food Composition and Analysis,2010,23(6):561-568.

[9]熊建华,闵嗣瑾,董开发,等. 南瓜不同部位抗氧化活性的比较[J]. 食品研究与开发,2011,32(11):135-138.

[10]秦秀丽,李凤林. 超声波法提取蛹虫草多糖的工艺研究[J]. 江苏农业科学,2011,39(5):378-380.