

殷东林,王锐丽,段鸿斌. 蛹虫草子实体虫草多糖提取工艺的优化[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):277-279.

# 蛹虫草子实体虫草多糖提取工艺的优化

殷东林,王锐丽,段鸿斌

(信阳农林学院,河南信阳 464000)

**摘要:**以蛹虫草子实体为材料,研究虫草多糖的提取工艺,探讨热水浸提法、超声波助提法、微波助提法和索氏提取法 4 种提取方法的效果。结果发现,微波助提法是虫草多糖的最佳提取方法。通过正交试验考察了微波助提法中微波功率、微波时间、提取次数、料液比 4 个因素对虫草多糖提取效率的影响,建立了提取虫草多糖的最佳工艺,即微波功率 420 W、微波处理时间 4 min、提取次数 3 次、料液比 1 g : 40 mL,此时提取率可达 9.34% 以上。

**关键词:**蛹虫草;虫草多糖;提取工艺;正交试验;优化

**中图分类号:** R284.2      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0277-02

蛹虫草[*Cordyceps militaris* (Linn.) Link]为子囊菌亚门麦角菌目麦角菌科虫草属的模式种<sup>[1]</sup>,是一种药食两用的名贵食用菌。蛹虫草所含的虫草多糖、虫草酸和虫草菌素均高于冬虫夏草,其独特药理作用已日益引起药学界的高度重视。研究表明,虫草多糖是一种半乳甘露聚糖,它能促进淋巴细胞转化,提高血清 IgG 的抗体含量和机体的免疫功能,增强机体自身抗癌、抑癌的能力。它不仅能激活 T、B 淋巴细胞、巨噬细胞和自然杀伤细胞,还能活化补体、促进细胞因子包括肿瘤坏死因子和白细胞介素生成,从而对免疫系统发挥多方面的调节作用<sup>[2-3]</sup>。此外,多糖还具有抗炎作用,且效果明显,其发酵液中有抗菌活性物质,对金黄色葡萄球菌、马铃薯芽孢杆菌等均有明显的抑制作用,在研制新型杀菌剂和保鲜剂方面有良好的应用前景<sup>[4]</sup>。

目前,虫草多糖的提取方法有热水浸提法、碱提取法、稀酸浸提法和酶提取法等。其中,最常用、最简单有效的方法是热水浸提法,首先用蒸馏水浸润物料,再用热水浴浸提,然后利用多糖易溶于水而不溶于高浓度乙醇的性质,用无水乙醇沉淀得到多糖,即采用水提醇沉的办法。

为了进一步提高提取率、缩短提取时间,可用超声波辅助浸提和微波辅助浸提,这 2 种方法操作简单且不会引入杂质。超声波能破坏细胞和细胞膜结构,增加细胞内容物通过细胞膜的穿透能力,有助于多糖的释放与溶出,超声波使提取液不断振荡,有助于溶质扩散,缩短提取时间,提高有效成分的提取率和原料的利用率<sup>[5]</sup>;微波透过提取溶剂到达物料内部,使之快速升温,进而使其细胞内部压力增大。当压力超过细胞壁所能承受的能力时,细胞壁破裂,胞内有效成分易流出,从而易进入提取溶剂<sup>[6]</sup>。本研究采取单因素分析法和多因素正交分析法,对虫草多糖提取工艺进行优化,旨在为虫草多糖的提取提供一套快速、高效的方法。

## 1 材料与方法

收稿日期:2013-10-24

基金项目:河南省科技攻关(编号:132102110047)。

作者简介:殷东林(1983—),男,河南潢川人,硕士,讲师,主要从事生物技术研究。E-mail: ydl669@126.com。

### 1.1 材料

1.1.1 试剂 无水乙醇、浓硫酸、蒽酮,均为市售分析纯;蒸馏水。

1.1.2 器材用具 高速粉碎机,80 目筛,电子天平(上海越平科学仪器有限公司),微量移液器(上海求精生化试剂仪器有限公司),数显恒温水浴锅(上海梅香仪器有限公司),JY92-II 超声波细胞粉碎机(浙江宁波新芝生物科技股份有限公司),微波炉(广东省佛山市顺德区格兰仕微波炉电器有限公司),旋转蒸发器 RE52-86A(上海亚荣生化仪器厂),DHG-9023AS 型电热恒温鼓风干燥箱(浙江宁波东南仪器有限公司),TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

1.1.3 材料 蛹虫草由信阳农林学院生物技术系实验室培养。蛹虫草子实体干燥后粉碎,过 80 目筛。

### 1.2 方法

1.2.1 虫草多糖的提取 用单因素分析法确定虫草多糖最佳提取方法:(1)热水浸提法。取干质量 1 g 蛹虫草粉,加入 30 mL 蒸馏水,80 ℃ 水浴提取 2 h,提取结束后抽滤提取液,用真空旋转蒸发仪将滤液浓缩到适当体积。(2)超声波助提法。取干质量 1 g 蛹虫草粉,加入 55 mL 蒸馏水,用超声波细胞破碎仪 400 W 处理 90 次,每次 5 s,然后转入水浴 80 ℃ 提取 2 h,提取结束后抽滤提取液,用真空旋转蒸发仪将滤液浓缩到适当体积。(3)微波助提法。取干质量 1 g 蛹虫草粉,加入 80 ℃ 蒸馏水 40 mL,静置 20 min 湿润物料,微波功率为 420 W 下辐射 1 min,间隔 1 min 后再辐射 1 min,如此间隔辐射直至总辐射时间达到 4 min,然后转入水浴温度为 80 ℃ 下提取 1 h,提取结束后抽滤提取液,用真空旋转蒸发仪浓缩到适当体积。(4)索氏提取法。取干质量 1 g 蛹虫草粉,用 120 mL 蒸馏水于 80~100 ℃ 下热回流 3 次,收集提取液,用旋转蒸发仪浓缩至适当体积。以上 4 种方法均做 3 个重复,结果取平均值。得到的提取液浓缩到适当体积后,加入 3 倍体积的无水乙醇,静置过夜,进行醇析,所得沉淀在 45 ℃ 条件下烘干;再用 60 ℃ 蒸馏水将沉淀溶解,并定容到 100 mL,即得粗多糖原始样品溶液。从每组样品溶液中准确吸取 2.5 mL 至 100 mL 容量瓶中并定容(即将样品提取液稀释 40 倍),用蒽酮-硫酸法测定样品的吸光度。

1.2.2 蒽酮-硫酸法检测多糖含量

1.2.2.1 对照品溶液的配制 精确称取在 105 ℃ 下干燥至恒重的葡萄糖 0.05 g,加蒸馏水溶解,转移至 100 mL 容量瓶中定容,摇匀,即得 0.5 mg/mL 葡萄糖标准溶液。

1.2.2.2 2 g/L 硫酸蒽酮试液的配制 量取浓硫酸 100 mL 于烧杯中,精确称取蒽酮 0.2 g 加入浓硫酸中,搅拌溶解即得,然后转移至棕色瓶中,现用现配。

1.2.2.3 供试品溶液的制备 取最后稀释到适当体积的样品提取液,测定样品的吸光度。

1.2.3 葡萄糖标准曲线的绘制 精确量取葡萄糖对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL,分别置于 10 mL 容量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,分别精确量取上述溶液 1 mL 于具塞试管中,另取蒸馏水 1 mL 置于 25 mL 比色管中作空白对照,置冰水浴中,再精确加入蒽酮-硫酸试剂 4 mL,然后在沸水浴中加热 15 min(自加入沸水中即开始计时),之后用自来水冷却。以空白为参比,在 625 nm 波长处测定吸光度。以葡萄糖质量浓度( $x$ )为横坐标、吸光度( $y$ )为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.4 样品含量测定 精确量取样品提取液 1 mL,置冰水浴中,再精确加入蒽酮-硫酸试剂 4 mL,然后在沸水浴中加热 15 min(自加入沸水中即开始计时),之后用自来水冷却。以蒸馏水为对照,在 625 nm 波长处测定吸光度。测得吸光度代入标准曲线方程,计算样品中多糖的含量。

1.2.5 提取率计算 多糖提取率=测得的多糖含量/蛹虫草粉末质量  $\times 100\%$ 。

1.2.6 虫草多糖提取工艺的优化 用  $L_9(3^4)$  正交试验法研究微波助提法中的 4 个因素(微波功率、微波时间、提取次数、料液比,分别取 3 个水平)对虫草多糖提取的影响,以确定最佳提取条件。 $L_9(3^4)$  正交试验虫草多糖提取的影响因素及水平见表 1。

表 1 虫草多糖提取工艺的  $L_9(3^4)$  正交试验因素及水平

水平	A:微波功率 (W)	B:微波时间 (min)	C:提取次数	D:料液比 (g:mL)
1	350	3	1	1:20
2	420	4	2	1:40
3	490	5	3	1:60

2 结果与分析

2.1 标准曲线测定结果

以葡萄糖质量浓度( $x$ )对吸光度( $y$ )进行线性回归,得回归方程: $y = 7.743\ 7x - 0.017\ 9, r^2 = 0.999\ 4$ 。表明葡萄糖的质量浓度在 0.01~0.07 mg/mL 范围内与吸光度呈良好的线性关系(图 1)。

2.2 虫草多糖提取工艺的单因素试验结果

本研究采用热水浸提法、超声波助提法、微波助提法和索氏提取法 4 种方法对虫草多糖进行提取,结果见表 2。由表 2 可知,微波助提法的提取率最高,为 6.92%,确定为本研究的最佳提取方法。

2.3 虫草多糖提取工艺的正交试验结果

由表 3 可知,对虫草多糖提取率影响的因素从大到小依次为微波功率>提取次数>微波时间>料液比,最优组合为

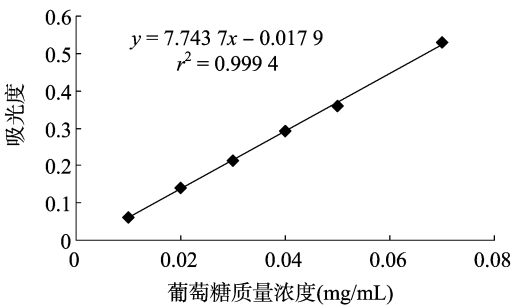


图 1 虫草多糖提取工艺的标准曲线

表 2 虫草多糖提取工艺的单因素试验结果

提取方法	吸光度				提取率 (%)
	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	
热水浸提法	0.104	0.075	0.094	0.091	5.63
超声波助提法	0.073	0.087	0.068	0.076	4.85
微波助提法	0.086	0.134	0.130	0.116	6.92
索氏提取法	0.079	0.082	0.147	0.103	6.25

表 3 虫草多糖提取工艺的正交试验结果

试验号	A:微波 功率(W)	B:微波 时间(min)	C:提取 次数	D:料液比 (g:mL)	提取率 (%)
1	350	3	1	1:20	5.21
2	350	4	2	1:40	5.78
3	350	5	3	1:60	7.54
4	420	3	2	1:60	5.16
5	420	4	3	1:20	9.34
6	420	5	1	1:40	8.83
7	490	3	3	1:40	4.59
8	490	4	1	1:60	6.25
9	490	5	2	1:20	3.71
$k_1$	6.18	4.99	6.76	6.09	
$k_2$	7.78	7.12	4.88	6.40	
$k_3$	4.85	6.69	7.16	6.32	
$R$	2.93	2.13	2.28	0.31	

$A_2B_2C_3D_2$ ,即微波功率 420 W、微波处理时间 4 min、提取次数 3 次、料液比 1 g:40 mL,此时提取率可达 9.34% 以上。

3 结论与讨论

本研究以蛹虫草子实体为材料,研究虫草多糖的提取工艺,探讨热水浸提法、超声波助提法、微波助提法和索氏提取法 4 种提取方法对虫草多糖提取效果的影响,通过单因素试验确定最佳提取方法为微波助提法,其多糖提取率为 6.92%。

通过正交试验考察微波助提法中微波功率、微波时间、提取次数、料液比 4 个因素对虫草多糖提取率的影响,建立提取虫草多糖的最佳工艺条件,即微波功率 420 W、微波处理时间 4 min、提取次数 3 次、料液比 1 g:40 mL,此时提取率可达 9.34% 以上。

由于蛹虫草成分复杂,热提取过程中单糖、水溶性蛋白以及鞣质等一系列杂质也会被一并提出,为多糖的纯化带来困难,所以,本试验所得的多糖含有一定的蛋白质。

热水浸提法是最常用、最简单有效的多糖提取方法,但该方法耗时较长,提取率也有待提高。为了进一步提高提取率、缩短提取时间,本研究确定用微波助提法加以优化。微波能

张丰收,程传策,薛刚,等. 烘烤工艺改进对烟叶质量的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):279-282.

# 烘烤工艺改进对烟叶质量的影响

张丰收<sup>1</sup>,程传策<sup>1</sup>,薛刚<sup>1</sup>,黄瑾<sup>2</sup>,韦建玉<sup>3</sup>,徐世晓<sup>1</sup>,刘玲玲<sup>1</sup>,陆亚祥<sup>1</sup>

(1. 河南农业大学烟草学院,河南郑州 450002; 2. 广西壮族自治区烟草公司贺州市公司,广西 贺州 542800;

3. 广西中烟工业有限责任公司,广西南宁 530022)

**摘要:**为了探明密集烤烟房配套的烘烤工艺,依据现有烘烤理论设置改进的烘烤工艺.以常规烘烤工艺为对照进行了烘烤比较.结果表明:与常规烘烤工艺相比,改进的烘烤工艺成熟度和叶片结构有所提高,总的外观质量较好;总糖、总氮、烟碱、蛋白质的含量及总糖与还原糖的差值有所降低,烟叶化学成分更为协调;改进的烘烤工艺阶段简单,操作方便.烟叶烘烤后,比常规烘烤工艺烘烤的烟叶橘黄烟、上等烟、上中等烟比例分别增加 3.38、4.74、2.03 百分点,鲜干比提高 0.03,均价提高 0.53 元/kg;各部位烟叶的香气物质总含量有所提高.

**关键词:**烤烟;烘烤工艺;外观质量;化学成分;经济性状;香气物质

**中图分类号:** TS44<sup>+</sup>1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0279-04

烘烤是烤烟生产中的关键环节,烟叶的烘烤质量受鲜烟叶素质、烤房性能与烘烤工艺的制约.烤房的结构不同,其性能、烘烤效果也不相同<sup>[1]</sup>,烘烤设备和烘烤工艺要相互适应,才能发挥先进设备的功用,烤出优质烟叶.过去中国对自然通风气流上升式普通烤房配套的烘烤工艺的研究较多,形成了适应普通烤房的低温低湿法烘烤工艺、五阶段烘烤工艺、三阶段烘烤工艺等.随着中国社会经济的发展及烤烟种植技术的不断提高,推广应用密集烤房或提高烤房的供热、排湿设备的机械化、自动化程度越来越受到重视<sup>[2-9]</sup>.然而,把适应于普通烤房的烘烤工艺直接用于密集烤房和提高了机械化、自动化程度的烤房,已限制了先进设备功能的充分发挥和烟叶质量的提高.或者说,现有的烘烤工艺已不能满足先进烤房建设发展的需要,对相配套的烘烤技术进行有益的探索极为迫切.为此,笔者开展了自动化加热排湿烤房配套的烘烤工艺探索,为中国自动化烤房的建设发展提供烘烤指导.

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间与地点

收稿日期:2013-10-31

基金项目:国家烟草专卖局项目(编号:3300806156)。

作者简介:张丰收(1982—),男,河南开封人,硕士研究生,主要从事烟草调制生理研究。E-mail:zhangfengshou521@163.com。

通信作者:程传策,副教授。E-mail:chcchce@sina.com。

透过提取溶剂到达物料内部,使之快速升温,进而使其细胞内部压力增大.当压力超过细胞壁所能承受的能力时,细胞壁破裂,胞内有效成分易于流出,从而易于进入提取溶剂.但所用微波功率过大或处理时间过长可能会使有效成分分解,造成损失,所以可通过正交试验确定最佳提取条件.总之,微波辅助萃取技术具有快速、萃取率高、成本低、质量好等优点,是天然产物萃取中一种非常有发展潜力的新型技术。

## 参考文献:

[1]梁宗琦.中国真菌志:第三十二卷 虫草属[M].北京:科学出

版社,2007.

### 1.2 供试材料与与方法

#### 1.2.1 供试品种 云烟 87。

1.2.2 试验地 供试烟田连片成方、地势较平坦,土壤肥力一致,共 13.33 hm<sup>2</sup>.烤烟移栽期和田间管理措施一致,种植密度 1 100 株/667m<sup>2</sup>,营养正常,单株有效留叶数 20 张。

### 1.3 试验设计

1.3.1 试验处理设置 T1(对照):常规烘烤工艺(表 1);T2(处理):改进烘烤工艺(表 2)。

1.3.1.1 编烟 使用 1.5 m 长的烟竿,下部叶和含水量大的烟叶每竿编烟 156 片,中上部叶和含水量小的烟叶 175 片.每竿烟重量 12.33 kg;使用烟夹夹烟时,要使烟夹饱满夹紧.编(夹)烟不得过量或欠量。

1.3.1.2 装烟 装烟竿距 12 cm,每房装烟 445 竿,总重量 5 486.85 kg。

1.3.2 供试烟叶 各试验处理采用同一烟叶品种,烟叶同时采摘,同时装炕,确保烟叶部位、成熟度均匀一致.下、中、上部烟叶分别以第 5~6 片、第 11~12 片、第 15~16 片叶位的烟叶为代表作为试验样品烟叶,其烤次分别为烤房的第 2 烤、第 4 烤和第 6 烤。

1.3.3 试验重复设置 为了确保试验结果的准确性并考虑到试验工作量,试验每个处理设置 3 次重复,每个处理的重复均设置在同一烤房内,方法为:3 次重复分别安排在距隔热墙

[2]吴凤瑶. 蛹虫草多糖的分子结构及生物学活性研究[D]. 镇江:江苏科技大学,2011.

[3]吴光昊,王 旻. 蛹虫草多糖的分离及免疫活性的研究[J]. 中国天然药物,2007,5(1):73-76.

[4]宾 文,宋丽艳,于荣敏. 人工培养蛹虫草多糖抗炎及免疫作用的研究[J]. 时珍国医国药,2003,14(1):1-2.

[5]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.

[6]施 英,吴娱明,廖森泰,等. 微波辅助提取蚕蛹虫草多糖的研究[J]. 广东农业科学,2006(11):41-42.