

朱月,宋义,毕晓丹,等.杏鲍菇多糖提取方法的比较[J].江苏农业科学,2015,43(2):259-262.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.083

杏鲍菇多糖提取方法的比较

朱月,宋义,毕晓丹,李永春

(赤峰学院生命科学院,内蒙古赤峰 024000)

摘要:以单因素试验、正交试验、验证性试验设计为基本研究方法,以杏鲍菇多糖提取率为评价指标,确定 2 种辅助方法提取杏鲍菇多糖的优组合条件及 2 种优组合的比较。结果表明,微波辅助提取多糖的优组合是微波功率为 500 W,浸提时间 6 min,料液比 1 g:30 mL,浸提次数为 5 次,多糖提取率为 3.64%。恒温水浴振荡辅助提取多糖的优组合是速度为 225 r/min,浸提时间 100 min,料液比 1 g:30 mL,浸提次数为 4 次,浸提温度 65 ℃,多糖提取率为 3.46%。结果微波辅助法优于水浴振荡辅助法,2 者杏鲍菇多糖得率差异显著。

关键词:杏鲍菇多糖;微波;恒温水浴振荡;提取;比较研究

中图分类号:TS201.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)02-0259-04

杏鲍菇 [*PLEurothus eryngii* (DC.:Fr.)Quel], 别称刺芹侧耳,属口蘑科侧耳属^[1]。现代药理学研究表明,杏鲍菇中所含的多糖能增强机体免疫,具有抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、降低机体胆固醇含量、防止动脉硬化等作用^[2-3]。筛选杏鲍菇多糖提取的最佳方法,提高多糖提取率,对于杏鲍菇多糖的有效利用与开发,提高其经济价值、保健价值和药用价值具有十分重要的意义。水浴振荡及微波辅助提取杏鲍菇多糖技术^[4-5]已有报道,但关于 2 种辅助法提取杏鲍菇多糖的比较研究目前还未见报道。本试验通过对水浴振荡辅助法与微波辅助法提取杏鲍菇多糖技术的比较研究,进一步优选杏鲍菇多糖提取技术,提高杏鲍菇多糖的产率,为杏鲍菇资源的开发和利用提供技术手段。

1 材料与方法

收稿日期:2014-04-21

作者简介:朱月(1958—),女,辽宁黑山人,教授,现从事生物化学教学和食用菌多糖研究。E-mail:cfzy212@126.com。

1.1 材料

1.1.1 材料与试剂 市售新鲜的杏鲍菇。浓硫酸、苯酚、无水乙醇、葡萄糖,以上试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备 电热鼓风干燥箱(CS101-AB型);分光光度计(UV-9600);恒温水浴振荡器(国华SHA-1);试验专用微波炉(NJL07-3型);电子天平(PL203);离心机(DD-5M);500~5 000 μL(Eppendorf Research)移液枪等。

1.2 方法

1.2.1 材料预处理 将新鲜杏鲍菇用清水洗净沥干,烘干粉碎,过 100 目筛,收集粉末干燥至恒质量,备用。

1.2.2 葡萄糖标准曲线的制作 采用苯酚-硫酸法测定不同标准葡萄糖浓度下的吸光度,以葡萄糖浓度为横坐标、吸光度为纵坐标,采用 Excel 制作葡萄糖标准曲线^[6],求出多糖含量的直线方程。

1.2.3 最适辅助条件的确定 设定浸提条件为试验的固定因素,微波功率、水浴振荡速度为试验的可变因素,以多糖提取率为评价指标,通过单因素试验和统计学分析,确定杏鲍菇粗多糖提取的最适微波功率和最适水浴振荡速度。

[20]Tudela J A,Marin A,Garrido Y,et al. Off-odour development in modified atmosphere packaged baby spinach is an unresolved problem[J]. Postharvest Biology and Technology,2013,75:75-85.

[21]Mangaraj S,Goswami T K. Modeling of respiration rate of litchi fruit under aerobic conditions[J]. Food and Bioprocess Technology,2011,4(2):272-281.

[22]Gorris L G M,Peppelenbos H W. Modified atmosphere and vacuum packaging to extend the shelf life of respiring food products[J]. HortTechnology,1992,2(3):303-309.

[23]胡花丽,李鹏霞,王毓宁,等. 薄膜包装限气贮藏在水果果实上的保鲜效果[J]. 西北农业学报,2011,20(3):138-143.

[24]马锋旺,李嘉瑞,吉爱梅. 若干果实因素对猕猴桃贮藏期间失重的影响[J]. 落叶果树,1994,26(3):13-14.

[25]隋媛媛,于海业,张蕾,等. 温室黄瓜病虫害的叶绿素荧光光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析,2012,32(5):1292-1295.

[26]冯伟,王晓宇,宋晓,等. 白粉病胁迫下小麦冠层叶绿素密

度的高光谱估测[J]. 农业工程学报,2013,29(13):114-123.

[27]胡云峰,陈君然,肖娟,等. 臭氧处理对切分青椒贮藏品质的影响[J]. 农业工程学报,2012,28(16):259-263.

[28]朱军伟,谢晶,林永艳,等. 贮藏温度和包装方法对两种叶菜采后品质的影响[J]. 食品与机械,2012,28(4):175-178.

[29]Kurca A,Yemiş O,Özkan M. Chlorophyll and colour changes in grapevine leaves preserved by passive modification[J]. European Food Research and Technology,2006,223(3):387-393.

[30]Chung H S,Moon K D. Sprouting and quality control of fresh ginger rhizomes by modified atmosphere packaging with film perforation[J]. Food Science and Biotechnology,2011,20(3):621-627.

[31]Villanueva M J,Tenorio M D,Sagardoy M,et al. Physical,chemical,histological and microbiological changes in fresh green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) stored in modified atmosphere packaging[J]. Food Chemistry,2005,91(4):609-619.

1.2.4 最适辅助条件下粗多糖提取条件水平的确定 分别以试验确定的最适辅助条件为固定因素,以设定的浸提条件中的任一条件为可变因素,其他浸提条件为固定因素进行单因素试验。每个单因素试验重复 3 组。以多糖提取率为评价指标,采用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析或 Kruskal - Wallis 检验,分别比较相同浸提条件不同水平对多糖提取的影响程度,确定单因素水平。

1.2.5 2 种辅助方法的优选及比较 分别在最适辅助条件下,依试验所确定的单因素水平进行正交设计和试验。采用 Excel 和 SPSS 17.0 软件进行统计学分析^[7],确定 2 种辅助方法提取杏鲍菇多糖的优组合浸提条件并比较差异程度。

1.2.6 验证性试验 采用正交试验确定的提取杏鲍菇多糖的优组合浸提条件进行验证性试验(试验重复 3 次),所得的多糖产率与正交试验各组所得的多糖产率进行比较,判断优组合条件的可靠性、可重复性和稳定性。采用 t 检验和单因素方差分析的统计学方法对 2 种辅助方法进行比较分析。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖标准曲线及杏鲍菇多糖提取率计算方法

葡萄糖标准曲线回归方程 $y = 0.0062x + 0.0045$ 。相关系数 $r = 0.9976$ 。说明葡萄糖浓度在 30 ~ 150 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,葡萄糖浓度与吸光度呈线性关系(图 1)。

根据回归方程及试验的相关操作,杏鲍菇多糖提取率计算方法如下:多糖提取液多糖质量浓度($\mu\text{g/mL}$) = (D 值 - 0.0045)/0.0062;多糖提取率 = (多糖质量浓度 \times 多糖提取液总体积)/杏鲍菇干粉质量 $\times 100\%$ 。

2.2 杏鲍菇多糖辅助条件优选结果

在其他浸提条件不变的条件下,杏鲍菇多糖的提取率随着微波功率的提高而呈现上升趋势,当微波功率达到该微波

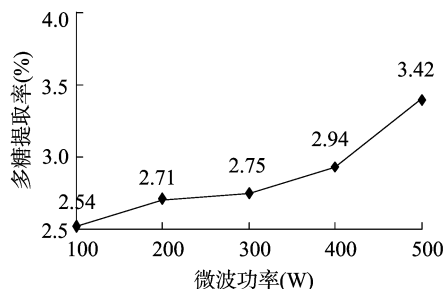


图2 微波功率对杏鲍菇多糖提取率的影响

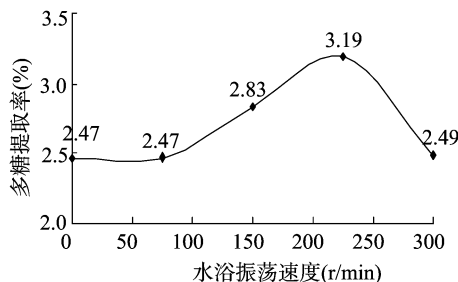


图3 水浴振荡速度对杏鲍菇多糖提取率的影响

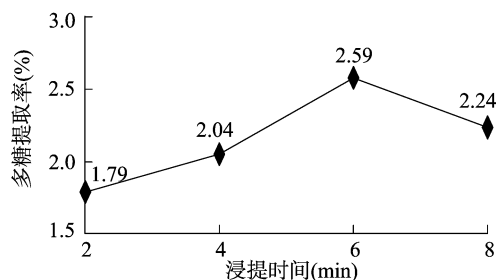


图4 浸提时间对杏鲍菇多糖产率的影响

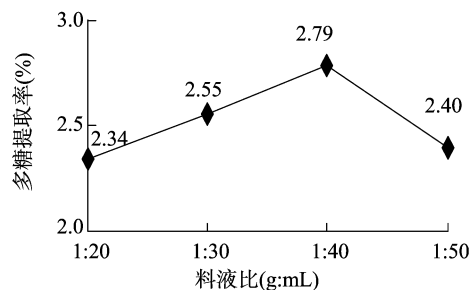


图5 料液比对杏鲍菇多糖提取率的影响

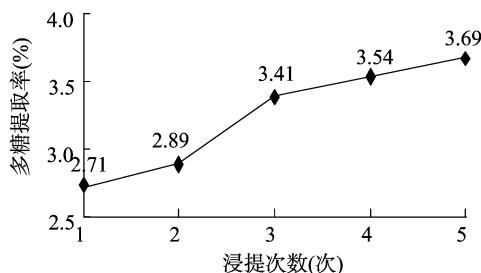


图6 浸提次数对杏鲍菇多糖产率的影响

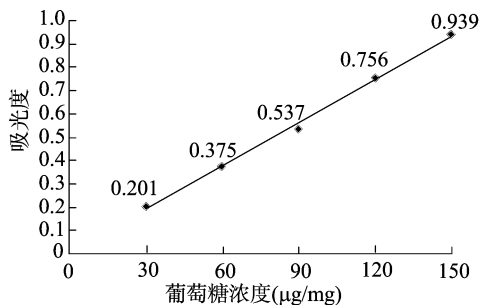


图1 葡萄糖标准曲线

炉可调功率 500 W 左右时达到最大值(图 2)。因此,选择 500 W 为微波辅助提取杏鲍菇多糖的微波功率。随着水浴振荡速度的增加,多糖提取率呈上升趋势,且振荡速度在 225 r/min 左右时达到最大值(图 3)。因此,确定 225 r/min 为水浴振荡辅助提取杏鲍菇多糖的最佳振荡速度。

2.3 杏鲍菇多糖提取条件水平的确定

2.3.1 最适微波功率下提取因素水平的确定 在最适微波功率条件下不同浸提时间、料液比、浸提次数对杏鲍菇多糖提取均产生影响(图 4、图 5、图 6)。Kruskal - Wallis 检验^[8]结果显示,浸提时间、料液比对杏鲍菇多糖提取影响显著。单因素方差分析结果^[9]显示,浸提次数对杏鲍菇多糖提取影响极显著。综合以上分析结果,确定最适微波辅助条件下浸提杏

鲍菇多糖的因素水平(表 1)。

表 1 微波辅助条件下杏鲍菇多糖提取条件因素水平

水平	因素		
	A:时间(min)	B:料液比(g:mL)	C:浸提次数(次)
1	4	1:20	2
2	6	1:30	3
3	8	1:40	5

2.3.2 最适水浴振荡速度下提取因素水平的确定 在最适水浴振荡速度条件下不同的浸提时间,浸提次数、料液比、浸提温度对杏鲍菇多糖提取率均产生影响(图 7、图 8、图 9、图 10)。单因素方差分析结果显示,不同的浸提时间、不同的温度、不同的浸提次数对杏鲍菇多糖提取率的影响极显著。所设定的料液比对杏鲍菇多糖提取虽然有影响,但影响不显著。

综合以上分析结果,确定最适水浴振荡辅助条件下浸提杏鲍菇多糖的因素水平(表 2)。

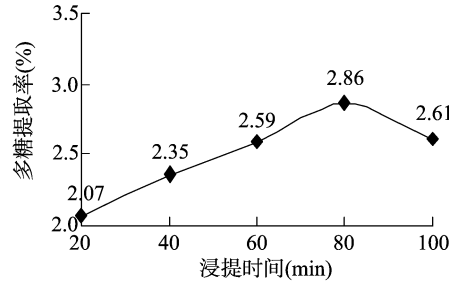


图7 浸提时间对杏鲍菇多糖提取率的影响

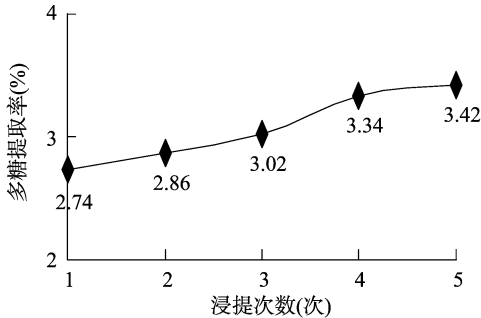


图8 浸提次数对杏鲍菇多糖提取率的影响

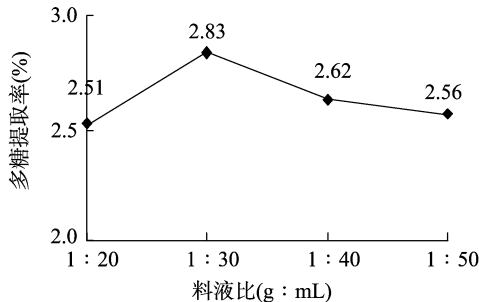


图9 浸提料液比对杏鲍菇多糖提取率的影响

2.4 不同辅助条件下提取杏鲍菇多糖的最适条件

2.4.1 微波辅助提取杏鲍菇多糖最适条件的确定 根据表 1 设计的 3 因素 3 水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表,以杏鲍菇多糖产率为评价指标,进行正交试验。极差分析结果见表 2。正交试验方差分析结果见表 3。

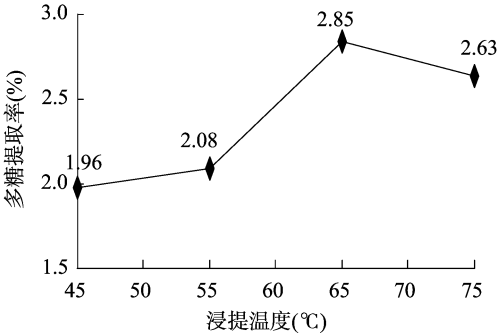


图10 浸提温度对杏鲍菇多糖提取率的影响

由表 2 可见,3 因素在不同水平条件下对多糖提取均产生影响,影响的主次关系从大至小依次为浸提次数、料液比和时间,优组合是 $A_2B_2C_3$,即在微波功率为 500 W 的辅助条件下,浸提 5 次、料液比 1 g:30 mL、浸提 6 min 为杏鲍菇多糖提取的最佳组合。表 3 结果显示,在所设定的条件中浸提次数对杏鲍菇多糖提取的影响显著。

表 2 微波辅助提取杏鲍菇多糖正交试验结果的极差分析

试验号	因素				水溶性糖含量(%)
	A	B	C	D(空列)	
1	1	1	1	1	2.94
2	1	2	2	2	3.18
3	1	3	3	3	3.29
4	2	1	2	3	3.26
5	2	2	3	1	3.63
6	2	3	1	2	2.94
7	3	1	3	2	3.39
8	3	2	1	3	3.08
9	3	3	2	1	3.11
k_1	3.14	3.20	2.99	3.23	
k_2	3.28	3.30	3.18	3.17	
k_3	3.19	3.11	3.44	3.21	
R(极差)	0.14	0.19	0.45		

表 3 微波辅助提取杏鲍菇多糖正交试验结果的方差分析

变异来源	Ⅲ型平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A:时间	0.030	2	0.015	5.847	0.146
B:料液比	0.051	2	0.025	9.934	0.091
C:浸提次数	0.305	2	0.153	60.004	0.016 *
误差	0.005	2	0.003		
总计	92.679	9			
校正的总计	0.391	8			

注: * 表示差异显著 ($P < 0.05$)。

表 4 水浴振荡辅助提取杏鲍菇多糖因素水平

水平	因素			
	A:时间(min)	B:浸提次数(次)	C:温度(℃)	D:料液比(g:mL)
1	60	2	55	1:20
2	80	3	65	1:30
3	100	4	75	1:40

2.4.2 水浴振荡辅助提取杏鲍菇多糖最佳条件的确定 根据表 4 确定的 4 因素 3 水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交表,以多糖提取率为指标,进行正交试验。极差分析结果见表 5,方差分析

见表 6。表 5 极差分析结果显示,4 因素在不同水平条件下对多糖提取均产生影响,影响的主次关系从大至小依次为浸提温度、浸提时间、浸提次数和浸提料液比。在水浴振荡为 225 r/min 条件下,浸提温度 65 ℃、浸提 4 次、料液比 1 g : 30 mL、浸提 100 min 为浸提的最佳组合。表 6 结果显示,4 因素中除料液比外,其他 3 因素对多糖提取均有极显著影响。

表 5 水浴振荡辅助提取杏鲍菇多糖正交试验设计及极差分析结果

试验号	因素				水溶性糖含量(%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	2.68
2	1	2	2	2	3.10
3	1	3	3	3	3.16
4	2	1	2	3	3.28
5	2	2	3	1	3.15
6	2	3	1	2	2.98
7	3	1	3	2	3.25
8	3	2	1	3	2.89
9	3	3	2	1	3.33
k_1	2.98	3.07	2.85	3.05	
k_2	3.14	3.05	3.24	3.11	
k_3	3.16	3.16	3.19	3.11	
R (极差)	0.18	0.11	0.39	0.06	

表 6 水浴振荡辅助提取杏鲍菇多糖正交试验方差分析结果

变异来源	Ⅲ型平方和	自由度	均方	F 值	显著性
时间	0.112	2	0.056	26.461	0.000**
浸提次数	0.042	2	0.021	9.914	0.005**
温度	0.537	2	0.269	126.631	0.000**
料液比	0.012	2	0.006	2.767	0.116
误差	0.019	9	0.002		
总计	172.341	18			
校正的总计	0.723	17			

注:**表示差异极显著($P<0.01$)。

2.5 验证性试验

称取 1.00 g 的杏鲍菇干粉 3 份,在微波功率为 500 W 的辅助条件下,以 1 g : 30 mL 的料液比浸提 6 min、浸提 5 次。结果杏鲍菇多糖的提取率为 3.64%,高于正交试验中的任何一组。

称取 1.00 g 杏鲍菇干粉 3 份,在水浴振荡速度为 225 r/min 的辅助条件下,在 65 ℃ 的温度下,以 1 g : 30 mL 的料液比浸提 100 min、浸提 4 次,结果杏鲍菇多糖的提取率为 3.46%,高于正交试验中的任何一组。

统计分析结果,2 种辅助方法提取杏鲍菇多糖的得率差异显著(表 7),微波辅助法杏鲍菇多糖得率高于水浴振荡辅助法。

表 7 2 种优组合提取杏鲍菇多糖得率的比较

提取方法	平均值	均值标准误差	标准差	t 值	$t_{0.05}(4)$	显著性
微波法	3.640	0.012	0.021			
水浴振荡法	3.459	0.043	0.074	4.024	2.776	0.016*

注:*表示差异显著。

3 结论与讨论

本研究以杏鲍菇多糖提取率为评价指标,在单因素试验的基础上,筛选和确定微波辅助法和水浴振荡辅助法提取杏鲍菇多糖的最适辅助条件,并在最适辅助条件下,确定影响提取杏鲍菇多糖的因素水平,通过正交试验和统计分析确定 2 种辅助方法在最适辅助条件下提取条件的优组合,并对 2 种优组合进行验证性试验及比较。研究结果表明,500 W 的微波功率、225 r/min 的水浴振荡速度是提取杏鲍菇多糖比较适宜的辅助条件;不同的浸提时间、浸提温度、浸提次数、料液比对其多糖的提取也产生不同程度的影响。在微波功率为 500 W 的辅助条件下,浸提条件优组合是浸提时间 6 min、料液比 1 g : 30 mL、浸提 5 次,杏鲍菇多糖提取率为 3.64%;在水浴振荡速度为 225 r/min 的辅助条件下,浸提条件的优组合是浸提时间 100 min、料液比 1 g : 30 mL、浸提 4 次、浸提温度 65 ℃,杏鲍菇多糖提取率为 3.46%。优组合浸提条件下多糖得率均高于正交试验各试验组的得率,优选的浸提条件具有可重复性,方法可靠、稳定。微波辅助法提取杏鲍菇多糖优于水浴振荡辅助提取法,2 者杏鲍菇多糖得率差异显著。

本试验证明微波辅助法优于水浴振荡法,原因是微波萃取技术可穿透萃取介质,直接作用于物质内部,使杏鲍菇多糖从原料内部向外部扩散的速度加快,增大目标物质在介质中的溶解度,增强传质驱动力,加速目标物质由原料内部向界面层扩散,从而使萃取速率提高数倍^[10],区别于水浴振荡法的外部振荡原理^[11]。与水浴振荡辅助法提取多糖相比,微波辅助法提取多糖可在浸提时间较短的前提下获取相对较高的多糖提取率。

参考文献:

[1] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州:河南科学技术出版社, 2000:64.

[2] 迟桂荣,徐琳,吴继卫,等. 杏鲍菇多糖的抗病毒、抗肿瘤研究[J]. 莱阳农学院学报,2006,23(3):174-176.

[3] 张俊会,王谦. 杏鲍菇多糖的抗氧化活性研究[J]. 中国食用菌,2003,22(2):38-39.

[4] 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.

[5] 杜敏华,田龙. 微波辅助法提取杏鲍菇多糖研究[J]. 食品科技,2007,32(3):117-119.

[6] 陈静静,江波,张涛,等. 银杏外种皮多糖的提取和纯化工艺研究[J]. 食品工业科技,2011,32(7):242-245.

[7] 刘加妹,周志坚. 利用 SPSS 处理生物实验数据[J]. 生殖医学杂志,2008,17(2):130-134.

[8] 张静. 非参数单因子方差分析[J]. 数学教学研究,2010,29(9):61-62,65.

[9] 黄创绵,蔡汝山. 单因素方差分析方法在环境试验中的应用[J]. 电子产品可靠性与环境试验,2010,28(6):21-26.

[10] 张彩文. 微波萃取在天然产物化学成分提取中的应用研究[J]. 周口师范学院学报,2008,25(5):76-80.

[11] 邹伟,张宝善,李冰,等. 水浴振荡辅助酶法提取双孢蘑菇多糖的工艺研究[J]. 食品工业科技,2011,32(5):223-224,334.