

杜娟, 时文静. 香菇、金针菇、黑木耳多糖的提取与测定[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 347–350.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.100

# 香菇、金针菇、黑木耳多糖的提取与测定

杜娟, 时文静

(安阳工学院, 河南安阳 455000)

**摘要:**以香菇、金针菇及黑木耳 3 种常见食用菌为主要原料, 研究了食用菌多糖的提取条件和测定方法。采用热水浸提、乙醇沉淀的方法提取多糖, 然后运用苯酚-硫酸法测定多糖含量。分别从液料比、浸提温度、浸提时间、乙醇浓度进行了单因素试验, 在此基础上, 设计  $L_9(3^4)$  的正交试验, 得出 3 种食用菌多糖提取的最优组合。结果表明, 影响香菇和金针菇多糖提取的主次因素是一致的, 依次为浸提温度、乙醇浓度、液料比; 而对于黑木耳, 液料比是最显著的影响因素, 其次为乙醇浓度、浸提温度。最终测定的多糖含量香菇最高, 为 3.51%; 其次为黑木耳, 为 3.50%; 最低是金针菇, 为 2.94%。

**关键词:**香菇; 金针菇; 黑木耳; 多糖; 提取; 苯酚-硫酸法

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0347-03

食用菌中的多糖类物质是增强免疫活性和抗衰老的有效成分之一, 具有抗肿瘤、抗病毒、抗突变、抗辐射和降血压等功能<sup>[1]</sup>。从食用菌中提取的多糖可作为配料添加到食药保健品中, 不仅没有毒副作用, 而且还能提供功效高、质量好的产品。现代医学研究发现, 食用菌中显著增强癌症患者抵抗力的生理活性物质即为食用菌多糖<sup>[2]</sup>。香菇、金针菇、黑木耳都是日常生活中常见的食用菌, 均含有十分丰富的多糖物质。香菇多糖是一种天然人体免疫调节剂, 具有调节人体免疫系统、抗病毒、抗感染以及延缓衰老等作用; 金针菇多糖不仅能有效提高人体免疫力, 而且还有抗感染、抗氧化、保肝保湿、辅助改善记忆和缓解体力疲劳等保健作用<sup>[3]</sup>; 木耳多糖同样是一类重要的活性物质, 在抗肿瘤、抗凝血、抗病毒等方面均有一定的生物活性。本研究主要以香菇、金针菇、黑木耳为原料, 利用水提醇沉法提取多糖, 并对提取条件进行优化, 分别从液料比、浸提温度、浸提时间、乙醇浓度进行单因素试验, 在此基础上设计正交试验, 以确定最佳提取条件。最后运用苯酚-硫酸法测定多糖含量, 并验证此方法的可行性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

新鲜香菇、金针菇、黑木耳购于丹尼斯超市。S2F-06A 粗脂肪测定仪, 上海洪纪仪器设备有限公司生产; 7720N 可见分光光度计, 济南海能仪器股份有限公司生产。

### 1.2 食用菌多糖的提取方法

将购买的新鲜香菇、金针菇、黑木耳洗净, 然后放入烘箱中 60 ℃ 烘干, 待完全干燥后取出, 于组织捣碎机中粉碎, 过 60 目筛, 置于干燥器中待用。

分别称取干燥后的香菇、金针菇、黑木耳子实体粉末 10.00 g, 用脂肪抽提器石油醚回流抽提除去脂肪, 残渣挥干溶剂后, 加入 95% 乙醇 90 ℃ 回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 离心, 挥干溶剂。将残渣分别用 300 mL (料液比 1:30) 蒸馏水浸泡, 水浴温度 95 ℃, 浸提 2 h, 提取 2 次。合并提取液并将其浓缩至 30 mL 左右, 用氯仿萃取 3 次, 以除去蛋白质。过滤后, 向滤液中加入 3 倍体积的 95% 乙醇醇析, 静置过夜, 多糖沉淀, 过滤。滤饼分别用无水乙醇 10 mL 洗 2 次、用乙醚 10 mL 洗 2 次, 60 ℃ 烘干至恒质量, 即得粗多糖样品。

### 1.3 食用菌多糖提取的因素研究

**1.3.1 单因素试验** 选择不同液料比, 分别为 20、25、30、35、40 mL/g, 进行多糖提取, 比较液料比对多糖提取率的影响; 控制浸提温度分别为 80、85、90、95、100 ℃ 进行多糖提取, 比较温度对多糖提取率的影响; 选择浸提时间分别为 1、2、3、4、5 h 进行提取, 比较时间对多糖提取率的影响; 选择乙醇浓度分别为 75%、80%、85%、90%、95% 进行醇析沉淀, 比较乙醇浓度对多糖提取率的影响。

**1.3.2 正交试验设计** 根据单因素试验结果, 从液料比、浸提温度、乙醇浓度这 3 个因素进行正交试验, 从而进一步确定最优的提取条件。

表 1 食用菌多糖提取工艺正交试验因素水平

| 水平 | 因素            |             |             |
|----|---------------|-------------|-------------|
|    | A: 液料比 (mL/g) | B: 浸提温度 (℃) | D: 乙醇浓度 (%) |
| 1  | 28            | 88          | 85          |
| 2  | 30            | 90          | 90          |
| 3  | 32            | 92          | 95          |

### 1.4 食用菌多糖含量的测定

**1.4.1 葡萄糖标准溶液的制备** 准确称取在 105 ℃ 下干燥至恒质量的分析纯葡萄糖对照品 100 mg (称准至 0.000 2 g), 加水溶解, 转移至 100 mL 容量瓶中, 定容, 配制成 1 mg/mL 的标准溶液。再取 25 mL 1 mg/mL 的标准溶液用水定容至 500 mL, 使得溶液浓度为 50 μg/mL。

**1.4.2 标准曲线的绘制** 吸取葡萄糖标准溶液 (50 μg/mL)

收稿日期: 2015-11-03

基金项目: 安阳市农产品加工及贮藏工程重点学科项目 (编号: 20136902)。

作者简介: 杜娟 (1978—), 女, 河南安阳市人, 硕士, 讲师, 研究方向为食品分析。E-mail: 45983177@qq.com。

0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.2、1.6 mL于7支具塞试管中,各用蒸馏水补至2.0 mL,然后加入6%苯酚溶液1.0 mL及浓硫酸5.0 mL,摇匀,于沸水浴中加热10 min,冷却,于490 nm波长测定吸光度,以吸光度(D)为纵坐标,葡萄糖浓度(C)为横坐标作标准曲线,求得回归方程。

1.4.3 换算因子的测定<sup>[4]</sup> 准确称取60℃干燥至恒质量的香菇、金针菇、黑木耳粗多糖各0.1 g,加入适量水溶解后转移至500 mL容量瓶中,定容,作为多糖储备液。准确吸取上述溶液1.0 mL,按“1.4.2”节操作方法测定吸光度,由回归方程计算出粗多糖溶液中葡萄糖的浓度( $C_0$ )。按下式计算出换算因子:

$$f = m / (C_0 D_0) \quad (1)$$

式中: $m$ 为粗多糖质量( $\mu\text{g}$ ); $C_0$ 为粗多糖液中葡萄糖的浓度; $D_0$ 为粗多糖的稀释倍数。

1.4.4 样品溶液的制备 精确称取香菇、金针菇、黑木耳粗多糖样品粉末各0.1 g,置于烧瓶中,加95%乙醇100 mL,90℃提取1 h,过滤,滤饼用95%热乙醇洗涤数次,然后将滤饼连同滤纸一起放入烧瓶中,加入100 mL蒸馏水,100℃提取1 h,过滤,滤饼用热蒸馏水洗涤数次,洗液并入滤液,冷却后转移至500 mL容量瓶中,定容,摇匀备用。

1.4.5 多糖含量的测定 准确吸取上述样品溶液1.0 mL于具塞试管中,按“1.4.2”节方法操作,测定样液中葡萄糖的含量。平行测定3次,由回归方程计算样液中葡萄糖的含量,按下式计算样品中多糖的含量:

$$\text{多糖含量} = (C \cdot D \cdot f / m) \times 100\% \quad (2)$$

式中: $C$ 为样品溶液中的葡萄糖浓度; $D$ 为样品溶液的稀释倍数; $f$ 为换算因子; $m$ 为样品的质量( $\mu\text{g}$ )。

1.4.6 稳定性试验 分别取3种样品溶液适量,按“1.4.2”节方法,测其吸光度,每隔30 min测1次,连续测定6次,记录结果。

1.4.7 精密度试验 分别取3种样液适量,按“1.4.2”节方法,重复测定吸光度5次,记录数据。

1.4.8 回收率试验 取3种多糖样品溶液1.0 mL于3支试管中,分别加入0.1 mL葡萄糖标准溶液(50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),按“1.4.2”节方法,测其吸光度,重复操作3次,计算回收率。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

2.1.1 液料比对食用菌多糖提取率的影响 不同液料比下所得提取率见图1,在10~40 mL/g范围内,随着液料比的增加,3种食用菌多糖的提取率均是先增后减,且在液料比为30 mL/g时,香菇多糖和金针菇多糖的提取率较高,而黑木耳多糖则是在35 mL/g左右。这主要是因为液料比在一定程度上决定了多糖的提取率,当其过低时会导致多糖提取不充分,而过高时又不易提取,因此选择合适的液料比至关重要。

2.1.2 浸提温度对食用菌多糖提取率的影响 不同浸提温度下测定的多糖提取率见图2,随着温度的上升,多糖的提取率也呈上升趋势。这是由于浸提温度较低时,溶质的渗透能力和溶解能力也比较低,不利于多糖的浸出,从而导致多糖的提取率较低。但在90℃后变化很小,故90℃左右为较佳温度。

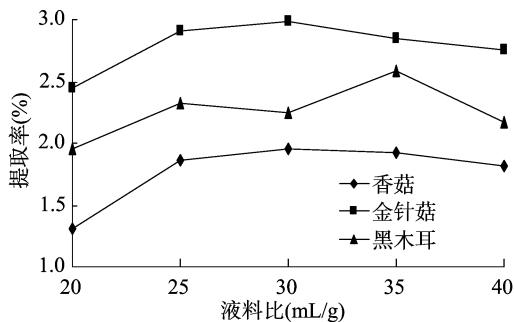


图1 液料比对食用菌多糖提取率的影响

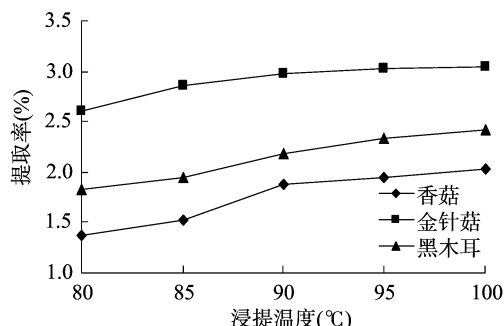


图2 浸提温度对食用菌多糖提取率的影响

2.1.3 浸提时间对食用菌多糖提取率的影响 不同提取时间下测定的多糖提取率见图3,随着提取时间的延长,多糖的提取率会增高,但效果不太明显。这主要由于多糖的浸出量在一定范围内与浸提时间成正比,二者之间有一个平衡状态,当提取时间较短时,多糖因不被充分提取而提取率较低,随着时间的延长,浸出量也在增加,但提取一定时间后,到达平衡状态,时间的作用就不明显了。

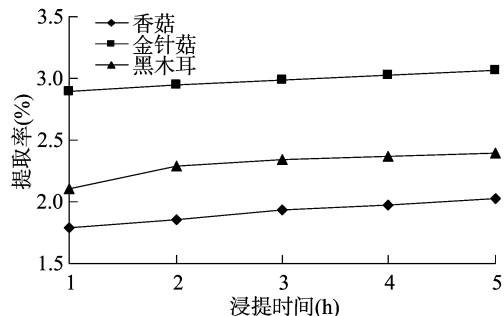


图3 浸提时间对食用菌多糖提取率的影响

2.1.4 乙醇浓度对食用菌多糖提取率的影响 不同乙醇浓度下所得多糖提取率见图4,结果表明,多糖提取率随着乙醇浓度的升高而上升,在95%的浓度下提取效果较好。这与乙醇沉淀多糖的原理是相通的,即通过降低水溶液的介电常数使多糖脱水从而产生沉淀来分离多糖,乙醇浓度越大,多糖的沉淀率越高。

### 2.2 正交试验结果

2.2.1 香菇多糖的提取 从表2可以看出,处理组合 $A_2B_3D_2$ 提取率最高,为2.16%。通过极差分析, $A$ 、 $B$ 、 $D$ 3个因素中浸提温度为最主要因素,其次为乙醇浓度,最后是液料比,比较 $k$ 值得最优组合为 $A_2B_3D_3$ ,进行试验得提取率为

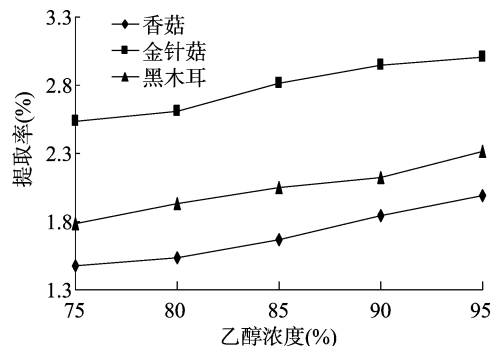


图4 乙醇浓度对食用菌多糖提取率的影响

2.29%, 高于  $A_2B_3D_2$  条件下的提取率,故香菇多糖的最佳提取条件为  $A_2B_3D_3$ ,即液料比为 30 mL/g,温度为 92 ℃,乙醇浓

度为 95%。  
2.2.2 金针菇多糖的提取 从表 2 可以看出,处理组合  $A_2B_3D_2$ ,提取率最高,为 3.03%。通过极差分析,3 个因素对提取率的影响大小依次为浸提温度、乙醇浓度、液料比,理论上最佳提取条件为  $A_2B_3D_3$ ,经验证得, $A_2B_3D_3$  条件下的提取率为 3.27%,高于 3.03%,故金针菇多糖的最佳提取条件为  $A_2B_3D_3$ ,即液料比 30 mL/g,温度 92 ℃,乙醇浓度 95%。  
2.2.3 黑木耳多糖的提取 从表 2 可以看出,处理组合  $A_3B_2D_3$  提取率最高,为 2.52%。通过极差分析,3 个因素对提取率的影响为液料比 > 乙醇浓度 > 浸提温度,最佳提取条件为  $A_3B_3D_3$ ,进行试验得提取率 2.49%,低于 2.52%,表明  $A_3B_2D_3$  组合才是木耳多糖的最佳提取条件,即液料比 32 mL/g,温度 90 ℃,乙醇浓度 95%。

表 2 食用菌多糖提取正交试验结果

| 处理号           | 因素    |      |      |        | 香菇多糖提取率 (%) | 金针菇多糖提取率 (%) | 木耳多糖提取率 (%) |
|---------------|-------|------|------|--------|-------------|--------------|-------------|
|               | A:液料比 | B:温度 | C:空列 | D:乙醇浓度 |             |              |             |
| 1             | 1     | 1    | 1    | 1      | 1.79        | 2.76         | 2.03        |
| 2             | 1     | 2    | 2    | 2      | 1.88        | 2.88         | 2.19        |
| 3             | 1     | 3    | 3    | 3      | 2.08        | 3.01         | 2.25        |
| 4             | 2     | 1    | 2    | 3      | 1.94        | 2.94         | 2.27        |
| 5             | 2     | 2    | 3    | 1      | 1.95        | 2.89         | 2.16        |
| 6             | 2     | 3    | 1    | 2      | 2.16        | 3.03         | 2.31        |
| 7             | 3     | 1    | 3    | 2      | 1.92        | 2.79         | 2.36        |
| 8             | 3     | 2    | 1    | 3      | 2.01        | 2.91         | 2.52        |
| 9             | 3     | 3    | 2    | 1      | 1.89        | 2.83         | 2.44        |
| $k_1$ (香菇多糖)  | 1.92  | 1.88 | 1.99 | 1.88   |             |              |             |
| $k_2$ (香菇多糖)  | 2.02  | 1.95 | 1.90 | 1.99   |             |              |             |
| $k_3$ (香菇多糖)  | 1.94  | 2.04 | 1.98 | 2.01   |             |              |             |
| $R$ (香菇多糖)    | 0.10  | 0.16 | 0.09 | 0.13   |             |              |             |
| $k_1$ (金针菇多糖) | 2.88  | 2.83 | 2.90 | 2.83   |             |              |             |
| $k_2$ (金针菇多糖) | 2.95  | 2.89 | 2.88 | 2.90   |             |              |             |
| $k_3$ (金针菇多糖) | 2.84  | 2.96 | 2.90 | 2.95   |             |              |             |
| $R$ (金针菇多糖)   | 0.11  | 0.13 | 0.02 | 0.12   |             |              |             |
| $k_1$ (木耳多糖)  | 2.16  | 2.22 | 2.26 | 2.21   |             |              |             |
| $k_2$ (木耳多糖)  | 2.25  | 2.29 | 2.30 | 2.29   |             |              |             |
| $k_3$ (木耳多糖)  | 2.44  | 2.33 | 2.26 | 2.35   |             |              |             |
| $R$ (木耳多糖)    | 0.28  | 0.11 | 0.04 | 0.14   |             |              |             |

2.3 食用菌多糖含量的测定

2.3.1 葡萄糖标准曲线的绘制 求得回归方程  $C = 24.08 \times D + 0.011$ ,  $r = 0.990$ 。式中:  $C$  为葡萄糖浓度,  $D$  为测定的吸光度。

2.3.2 换算因子的测定 本试验中测得的换算因子为  $f_{\text{香菇}} = 3.427$ ,  $f_{\text{金针菇}} = 3.046$ ,  $f_{\text{黑木耳}} = 7.192$ 。

2.3.3 多糖含量的测定结果 从表 3 可以看出,3 种食用菌多糖含量的测定结果,香菇中多糖含量最高,其次为黑木耳,金针菇多糖含量最低。

表 3 不同食用菌多糖含量比较

| 测定项目      | 香菇    | 金针菇   | 黑木耳   |
|-----------|-------|-------|-------|
| 吸光度 $D$   | 0.421 | 0.398 | 0.201 |
| 多糖含量 (%)  | 3.51  | 2.94  | 3.50  |
| $RSD$ (%) | 1.10  | 2.08  | 0.76  |

注:  $n = 3$ 。

2.3.4 稳定性试验结果 测定结果(表 4)表明,3 种样品溶液在 3 h 内基本保持稳定,波动很小,说明该测定方法稳定性良好。

表 4 稳定性试验结果

| 食用菌 | 不同时间 (min) 吸光度 $D$ |       |       |       |       |       |       |
|-----|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|     | 0                  | 30    | 60    | 90    | 120   | 150   | 180   |
| 香菇  | 0.421              | 0.422 | 0.422 | 0.423 | 0.422 | 0.424 | 0.423 |
| 金针菇 | 0.398              | 0.398 | 0.397 | 0.398 | 0.397 | 0.398 | 0.398 |
| 黑木耳 | 0.201              | 0.201 | 0.199 | 0.201 | 0.200 | 0.201 | 0.200 |

2.3.5 精密度试验结果 由试验数据计算得出的 3 个相对标准偏差 ( $RSD$ ) 均小于 5% (表 5),表明该测定方法精密度良好。

表 5 精密度试验结果

| 次数        | 香菇多糖  | 金针菇多糖 | 黑木耳多糖 |
|-----------|-------|-------|-------|
| 1         | 0.423 | 0.396 | 0.199 |
| 2         | 0.421 | 0.397 | 0.198 |
| 3         | 0.422 | 0.397 | 0.197 |
| 4         | 0.422 | 0.397 | 0.197 |
| 5         | 0.423 | 0.398 | 0.198 |
| 平均值       | 0.422 | 0.397 | 0.198 |
| $RSD$ (%) | 2.05  | 1.78  | 4.37  |

杨庆余,张雄峰,高微寒,等. 热风干制温度对山楂切片抗氧化成分及性能的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):350-352.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.101

# 热风干制温度对山楂切片抗氧化成分及性能的影响

杨庆余<sup>1</sup>, 张雄峰<sup>2</sup>, 高微寒<sup>1</sup>, 刘 军<sup>1</sup>, 王冬宇<sup>1</sup>, 杨 丽<sup>1</sup>, 王存堂<sup>1</sup>

(. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院,黑龙江齐齐哈尔 161006; 2. 江西省烟叶科学研究所,江西南昌 330025)

**摘要:**试验以新鲜山楂为原料,经过切片后在不同温度(50、60、70、80、90℃)条件下进行热风干制,研究山楂切片在干制后抗氧化成分及性能的变化。干制后,山楂总酚、总黄酮含量以及抗氧化性能指标均显著下降。中温(60、70、80℃)干制的山楂切片具有较高的抗氧化成分及性能。与鲜山楂相比,干制处理的山楂切片果肉发生褐变,不同温度干制样品复水性能差异不显著。

**关键词:**山楂切片;热风干制;总酚含量;抗氧化性能

**中图分类号:** TS255.42 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0350-03

山楂为蔷薇科植物,属于药食同源的果实,含有丰富的抗氧化成分,如多酚、黄酮类物质,对心血管系统有明显的药理作用<sup>[1]</sup>。鲜山楂含水量大,不易贮存,通常将其干制以后贮存并在中药中应用。果蔬干制后能延长货架期,抑制微生物生长组织生化反应,降低包装的质量和减少运输成本,干制技术是果蔬加工中最常用的方式。一般认为,由于干制过程中营养成分的损失,干制品与鲜果相比营养价值较低<sup>[2]</sup>。Korus的研究证实,与鲜样相比,不同干制处理的甘蓝叶片有较低的抗坏血酸和总酚含量<sup>[3]</sup>。此外,Wojdylo等研究发现,当对草莓采用不同干制方式处理后,其酚酸含量和抗氧化活性有不同程度的降低<sup>[4]</sup>。

近年来,山楂的黄酮成分及抗氧化活性多有报道,热风干

制对山楂抗氧化成分及性能的影响未见报道。因此,在本研究中不同的干制温度对鲜山楂进行干制处理。主要研究干制温度对山楂切片的总酚、总黄酮含量及抗氧化性能的影响,旨在为山楂干制过程中最大限度保留营养成分提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

山楂果实于2014年10月采自于黑龙江省齐齐哈尔市。选择大小均匀、成熟度一致、无机械损伤、无病虫害的果实,将山楂清洗干净,用打孔器沿垂直方向去除山楂籽,然后用不锈钢刀片将山楂切成2 mm厚的切片。山楂切片在不同温度条件下(50、60、70、80、90℃)干制,在干制试验开始之前2 h,将热风干燥箱开机并选定温度。在获得稳定的干制条件后,100 g山楂切片单层平铺置于铁丝网上,置于干燥箱内,干制试验开始,直至连续3次质量不再变化为止。将每个温度干制后的切片分为两部分,一部分用于测定果肉褐变度 $D_{420\text{ nm}}$ 和复水性能,另一部分粉碎过筛后用于测定抗氧化成分及性

收稿日期:2015-07-13

基金项目:黑龙江省自然科学基金面上项目(编号:C2015050);齐齐哈尔大学青年教师科研启动支持计划项目(编号:2014K-M25)

作者简介:杨庆余(1982—),男,黑龙江大庆人,博士,讲师,主要研究方向为农产品储藏与加工方面的研究。E-mail: robbertwang@163.com。

2.3.6 回收率试验结果 经测定得3种食用菌多糖的加标回收率,试验结果表明,香菇的回收率最高,黑木耳次之,金针菇最低,且每组的RSD均小于5%(表6),表明此测定方法可行。

表6 回收率试验结果

| 原料  | 原含量<br>(μg) | 加标量<br>(μg) | 加标测定值<br>(μg) | 回收率<br>(%) | RSD<br>(%) |
|-----|-------------|-------------|---------------|------------|------------|
| 香菇  | 10.149      | 5.000       | 15.331        | 101.2      | 1.93       |
| 金针菇 | 9.595       | 5.000       | 14.436        | 98.9       | 2.61       |
| 黑木耳 | 4.851       | 5.000       | 9.813         | 99.6       | 2.23       |

注: $n=6$ 。

## 3 结论

影响香菇、金针菇多糖提取率的主次因素是一致的,依次为浸提温度、乙醇浓度、液料比;影响黑木耳多糖提取率的最显著因素为液料比,然后依次为乙醇浓度、浸提温度。正交试验结果,香菇、金针菇在液料比30 mL/g、浸提温度90℃、乙

醇浓度95%的条件下提取率较高,黑木耳多糖的最佳提取条件则是液料比32 mL/g、浸提温度90℃、乙醇浓度95%。在对多糖含量的测定试验中,通过稳定性试验、精密度试验及回收率试验,表明苯酚-硫酸法简单易行,结果可靠,是较好的测定方法。3种多糖含量的测定结果由高到低依次顺序为香菇、黑木耳、金针菇。

## 参考文献:

- [1]郭春沅. 真菌多糖的免疫调节作用[J]. 中国食用菌,2000,19(3):6-7.
- [2]周日宝. 湖南药用真菌的研究[J]. 湖南林业科技,1994,21(3):55-59.
- [3]刘孝永,陈蕾蕾,裴纪莹,等. 金针菇多糖研究进展[J]. 中国食物与营养,2012,18(5):63-67.
- [4]钟世红,卫莹芳,古 锐,等. 苯酚-硫酸比色法测定红毛五加皮多糖的含量[J]. 时珍国医国药,2010,21(2):266-267.