

内部沸腾法提取香菇多糖的工艺优化

陈晓光, 韦藤幼, 彭梦微, 童张法*
(广西大学化学化工学院, 广西 南宁 530004)

摘要:目的: 为加快香菇多糖的提取速率, 提高浸膏中香菇多糖的含量。方法: 采用内部沸腾法提取香菇多糖, 采用少量的乙醇润湿物料使多糖溶出, 然后加入热水让物料内部的乙醇沸腾, 快速把多糖提取出来。结果: 在乙醇体积分数为20%、提取用热水量为物料的25倍及热水温度在90℃时, 提取过程在5min完成, 提取液经浓缩与醇沉, 香菇多糖的提取率为5.05%, 浸膏中香菇多糖含量为51.6%。结论: 与传统法相比, 新的提取方法的多糖提取率提高0.18%、浸膏中多糖含量提高10.2%, 整个提取时间缩短85min。内部沸腾法用于提取香菇多糖优势明显。

关键词: 内部沸腾法; 香菇多糖; 提取

Process Optimization for Extraction of Polysaccharides from Polysaccharides from Shiitake Mushroom by Inner Ebullition

CHEN Xiao-guang, WEI Teng-you, PENG Meng-wei, TONG Zhang-fa*
(School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: Objective: To accelerate and enhance the extraction of polysaccharides from shiitake mushroom by inner ebullition. Methods: A small amount of ethanol was used to wet the raw material for the dissolution of polysaccharides, and a given volume of hot water was then added to boil ethanol entering the raw material, resulting in rapid extraction of polysaccharides. Results: The maximum extraction of polysaccharides was obtained by wetting with 20% ethanol followed by 5 min extraction with a 25-fold volume of 90 °C hot water. The extraction yield and purity of polysaccharides obtained after concentration and subsequent ethanol precipitation was 5.05% and 51.6%, respectively. Compared to the traditional decoction method, the optimized method displayed an increase in polysaccharide yield purity respectively by 0.18% and 10.2% and a reduction in extraction time by 85 min. Conclusions: Inner ebullition has distinctive advantages in extracting polysaccharides from shiitake mushroom.

Key words: inner ebullition; polysaccharides; extraction

中图分类号: TQ018

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)10-0031-04

香菇(*Lentinus edodes*)是最常见的食用菌之一, 其营养丰富, 多糖为其主要有效成分。研究表明, 香菇多糖具有广泛的药理活性, 如免疫调节作用、抗肿瘤、抗衰老、护肝以及作为LAK细胞活性向上调节剂(LURA)等作用, 且毒副作用很小^[1-2]。目前, 香菇多糖传统提取方法工艺有热水浸提法^[3]、稀酸浸提法^[4]、稀碱浸提法^[5]等。热水浸提法提取时间长、杂质多且只能提取胞外多糖, 稀酸浸提法易引起糖苷键断裂, 稀碱浸提法提取的多糖中杂质较多、易导致多糖水解。一些现代提取方法如酶法提取^[6-7]、超声波^[8-9]、微波辅助

浸提法^[10-11]等, 虽然能够同时提取胞内和胞外多糖, 但是酶法提取需要进行高温灭活及酶的成本较高, 超声波、微波辅助提取由于设备昂贵、安全性差等因素, 很难实现规模化生产。

文献[12]提出了内部沸腾提取植物有效成分的方法, 该方法是用少量乙醇溶剂充分润湿被提物料, 然后迅速加入一定温度的提取液, 使渗透到物料内部的乙醇发生汽化, 发生内部沸腾, 强化提取过程。本实验采用内部沸腾法提取大分子物质——香菇多糖, 优化提取工艺, 为开发以香菇为资源的绿色保健型功能食品提供技术基础。

收稿日期: 2010-07-23

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划课题(桂科能05112001-3A6)

作者简介: 陈晓光(1981—), 男, 博士研究生, 研究方向为基本有机化工。E-mail: chen_007051@sina.com

*通信作者: 童张法(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为化学工程基础和精细化工应用。E-mail: zhftong@sina.com

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

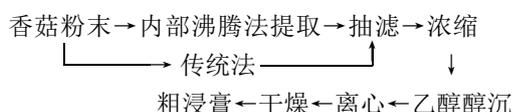
香菇购于南宁超市,产地广西百色市,30℃烘干后粉碎至60~80目;葡萄糖(AR,比旋光度 $[\alpha]^{20}_D$:+52.5°~+53.0°)、乙醇(AR)、苯酚(AR)广东汕头市西陇化工厂;浓硫酸(AR)廉江市爱廉化剂有限公司。

1.2 仪器与设备

UV-2102 PC型紫外-可见分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司;HS-4精密恒温浴槽 成都仪器厂;凯式定氮装置 自制。

1.3 方法

1.3.1 香菇多糖提取工艺流程



1.3.2 内部沸腾法提取香菇总糖

称取5g香菇粉末,用5mL一定体积分数的乙醇溶液均匀润湿30min,使乙醇溶液充分渗透物料;迅速加入一定量的某温度的水,提取一定时间后,过滤,取少量的滤液,用苯酚-硫酸法测定粗多糖含量。

按单因素试验法,分别在热水温度90℃、10倍水量提取5min条件下测定乙醇体积分数对香菇总糖提取率的影响;在热水温度90℃、5mL 20%乙醇润湿的条件下测定水用量(提取5min)和提取时间(25倍用水量)对香菇总糖提取率的影响;及在用5mL 20%乙醇润湿、25倍用水量及提取5min情况下确定最佳的提取温度。

1.3.3 传统煎煮法提取香菇总糖

为与内部沸腾提取法对比,取5g香菇粉末,加入125mL水,加热回流2h,过滤,取少量的滤液,用苯酚-硫酸法测定粗多糖含量。

1.3.4 醇沉法制备香菇多糖

分别将内部沸腾法和传统法得到的提取液的体积浓缩到被提物料的1.2倍,然后加入95%乙醇使浓缩液中的乙醇含量为75%,静置,醇沉过夜,过滤,50℃真空干燥,取少量粗浸膏分析多糖含量,确定最佳的含醇量。

1.4 分析方法

1.4.1 总糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法^[13],精密称取105℃干燥至质量恒定的无水葡萄糖14.8mg,置100mL容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀。分别取0、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8mL,加水补充至2.0mL,再加1mL 5%苯酚溶液,迅速加入浓硫酸5mL,摇匀,静置20min冷却至室温,以蒸馏水为空白,在490nm波长

处测定吸光度,绘制标准曲线,得回归方程为: $Y=0.006X+0.032$, $R^2=0.9991$,线性范围:0~266.4μg。

1.4.2 还原糖含量的测定

采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定^[14],精密称取105℃干燥至质量恒定的无水葡萄糖102.0mg,分置100mL容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀。分别取0、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45mL于试管中,用去离子水补足至0.50mL,再加入0.5mL的DNS溶液于试管中,混匀,沸水中加热5min后冷却,每管再加入4mL去离子水,摇匀后以空白管为对照,于540nm处测定其吸光度,绘制标准曲线,得回归方程为: $Y=0.0028X-0.0165$, $R^2=0.9991$ 线性范围:0~459μg。

1.4.3 香菇多糖含量的计算^[15]

香菇多糖的含量计算如下:

$$Y\% = (C_1 - C_2) \times 0.9 \times 100$$

式中:Y、 C_1 及 C_2 分别是香菇多糖、总糖及还原糖的含量/%;0.9为还原糖换算为多糖的系数^[16]。

1.4.4 浸膏中蛋白质含量的计算

醇沉后的蛋白质含量采用凯氏定氮法^[17]测定。

2 结果与分析

2.1 内部沸腾法中提取单因素对香菇总糖收率的影响

2.1.1 乙醇体积分数对总糖提取率的影响

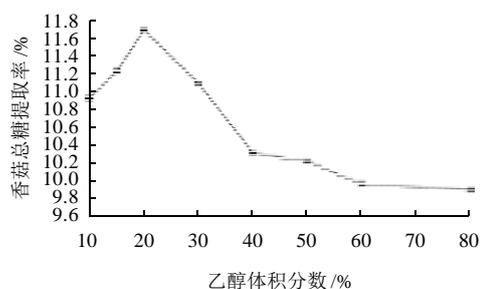


图1 内部沸腾法提取过程中乙醇体积分数对香菇总糖提取率的影响

Fig.1 Effect of ethanol concentration on extraction rate of total sugar during inner ebullition extraction

图1是不同解吸剂乙醇体积分数对香菇总糖提取率的影响。可以看出,随着乙醇体积分数的变化总糖提取率先增后减,在20%达到最大值。根据相似相容的原则,60%~80%的乙醇溶液渗透植物细胞及解吸有效成分的能力是最好的,文献[9]给出的最佳解吸剂乙醇体积分数为80%,但由于在高体积分数乙醇下,多糖溶解度很小,解吸不充分,所以,乙醇体积分数过高,提取率下降。但乙醇体积分数低于20%,物料内部乙

醇少, 内部沸腾不够强烈, 维持时间也短, 提取率也低。

2.1.2 提取温度对总糖提取率的影响

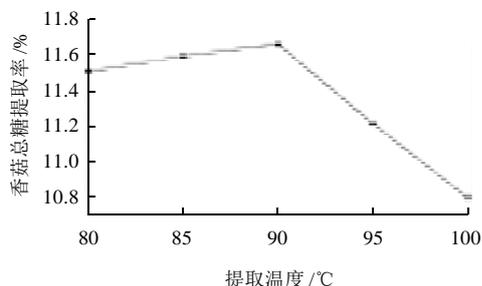


图2 内部沸腾法提取过程中提取温度对香菇总糖提取率的影响
Fig.2 Effect of extraction temperature on extraction rate of total sugar during inner ebullition extraction

图2是在解析剂乙醇体积分数20%条件下, 不同提取温度对总糖提取率的影响。由图2可知, 90°C为最佳温度。20%乙醇的共沸点87.1°C, 当物料的温度高于87.1°C, 物料内部的乙醇产生沸腾, 提取过程为对流扩散, 当物料的温度低于87.1°C, 物料内部的乙醇不沸腾, 提取过程为分子扩散。所以温度低于87.1°C时由于扩散速度慢, 在5min内提取不完全。但温度高于90°C时, 物料内部沸腾过快, 对流扩散维持时间太短, 另一方面, 由于多糖分子大, 扩散迁移速度较慢, 所以对流扩散的过早结束导致了提取率的下降。

2.1.3 提取时间对总糖提取率的影响

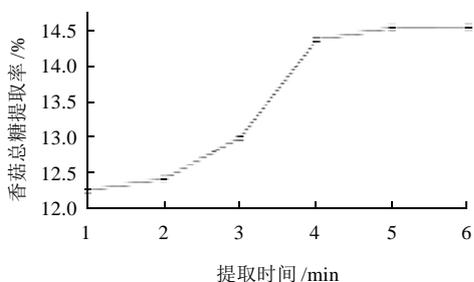


图3 内部沸腾法提取过程中提取时间对香菇总糖提取率的影响
Fig.3 Effect of extraction time on extraction rate of total sugar during inner ebullition extraction

从图3可以看出, 内部沸腾过程提取速度很快, 只要提取5min, 香菇总糖的提取率已趋向恒定。通常, 对流扩散的速度要比普通分子扩散速度快100倍, 所以内部沸腾的提取速度是最快的。

2.1.4 用水量对总糖提取率的影响

从图4可以看出, 香菇总糖的提取率随用水量的增加而慢慢趋向恒定。这是因为随着用水量的增加, 残留在物料内部的糖减少, 提取率升高, 当用水量达到为物料的25倍后, 提取率上升已不明显。最佳的用水量为物料的25倍。

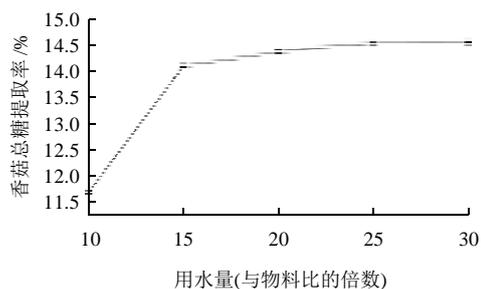


图4 内部沸腾法提取过程中用水量对香菇总糖提取率的影响
Fig.4 Effect of water amount on extraction rate of total sugar during inner ebullition extraction

2.2 内部沸腾法与传统煎煮法的比较

表1 内部沸腾法与传统法的比较(n=3)

Table 1 Comparison between inner ebullition and traditional decoction for extracting polysaccharides from shiitake mushroom

提取方法	提取时间/min	总糖提取率/%	多糖提取率/%	浸膏多糖含量/%	浸膏蛋白质含量/%
内部沸腾法	35	11.84	5.05	51.6	10.9
传统煎煮法	120	9.12	4.87	41.4	13.1

表1是内部沸腾法与传统煎煮法的比较, 从表中可以看出: 1)内部沸腾法总的提取时间为35min(加上乙醇解吸30min), 比传统法少85min; 2)内部沸腾提取的总糖提取率比传统法高2.72%, 这是由于内部沸腾提取比较充分, 各种糖的提取均比较完全; 3)经醇沉后, 内部沸腾多糖的提取率比传统法高0.18%, 两种方法多糖的提取都比较完全; 4)经醇沉后, 内部沸腾法得到的多糖的含量比传统法高10.2%, 主要原因是由于内部沸腾法缩短提取时间, 一些非糖杂质如蛋白质、色素、鞣酸等的提出量降低所致, 如表中给出的测定结果, 由内部沸腾法提取的粗浸膏中蛋白质含量比传统煎煮法低2.2%。

3 结论

本实验采用内部沸腾法提取香菇多糖, 确定最佳提取工艺条件为解吸剂乙醇体积分数20%、提取用水量为物料的25倍、提取时间(包括解析30min)35min、提取温度90°C, 在此条件下, 香菇多糖提取率为5.05%, 浸膏多糖含量可以达到51.6%, 比传统煎煮法高10.2%。可见, 内部沸腾的提取方法, 完全适合于植物多糖的提取, 为多糖的提取的提供了一种高效安全的提取方法。

参考文献:

[1] CHIHARA G, MAEDA Y, HAMURO J, et al. Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus Modes* (Berk.) Sing[J]. Nature, 1969, 222: 687-688.

- [2] CHIHARA G, HAMURO J, MAEDA Y, et al. Fractonaiton and purification of the polysaccharides with marked antitumour activity, especially lentinan, from *Lentinus Modes* (Berk.) Sing, an edible mushroom [J]. *Cancer Research* 1970, 30(1): 2776-2781.
- [3] 刘宁, 李健. 香菇多糖的提取工艺比较[J]. *食品科学*, 2007, 28(9): 199-202.
- [4] 王金华, 何霞辉. 香菇多糖的提取纯化及成份分析[J]. *食用菌*, 1991, 13(3): 14.
- [5] WANG Xiaohua, XU Xiaojuan, ZHANG Lina. Thermally induced conformation transition of triple-helical lentinan in NaCl aqueous solution [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2008, 112(33): 10343-10351.
- [6] 邹东恢, 梁敏, 杨勇, 等. 香菇多糖复合酶法提取及其脱色工艺优化[J]. *农业机械学报*, 2009, 40(3): 135-138.
- [7] 李波, 宋江良, 赵森. 酶法提取香菇多糖工艺研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(9): 274-277.
- [8] 边洪荣, 孙广利, 张海岚. 用正交试验法研究超声提取香菇多糖的最佳工艺[J]. *中药材*, 2006, 29(3): 289-291.
- [9] CHEN Yiyong, GU Xiaohong, HUANG Shengquan. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2010, 46(4): 429-435.
- [10] 任瑞, 马海乐, 朱春梅, 等. 香菇多糖微波降解反应动力学研究[J]. *化学工程*, 2009, 37(4): 38-40.
- [11] 黄桂萍, 肖红, 张敏生. 微波技术提取香菇多糖的研究[J]. *食品科学*, 2006, 27(11): 267-269.
- [12] 韦藤幼, 赵钟兴, 郝瑞然, 等. 内部沸腾强化肉桂皮中肉桂醛的提取工艺及机理[J]. *林产化学与工业*, 2006, 26(3): 63-65.
- [13] 刘兴华, 张丽华, 付娟妮. 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.
- [14] 赵凯, 许鹏举, 谷广焯. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(8): 534-536.
- [15] 孙军德, 温立丽, 鲁婷婷, 等. 桑黄液体发酵菌丝体多糖提取条件的优化[J]. *沈阳农业大学学报*, 2009, 40(3): 322-325.
- [16] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999.
- [17] 李建武, 萧能庚, 余瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1994.