

# 猴头菌多糖热水浸提工艺研究

秦培鹏, 刘涛 (新疆农业职业技术学院, 新疆昌吉 831100)

**摘要** [目的]优化热水浸提猴头菌多糖的工艺参数。[方法]采用热水浸提法对猴头菌中的多糖进行提取,对影响浸提效果的浸提温度、浸提时间、料液比、浸提次数等因素进行了研究。[结果]试验表明,猴头菌多糖提取的最佳工艺参数为:料液比 1:15 g/ml,浸提温度 80 ℃,浸提时间 2 h,浸提次数 2 次,乙醇沉淀多糖的终浓度为 75%,此条件下猴头菌多糖的提取率可达 8.87%。[结论]研究可为猴头菌及其他菌类热水浸提多糖提供参考。

**关键词** 猴头菌;菌丝体多糖;热水浸提

中图分类号 S646 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)15-04784-03

## Extraction Polysaccharides from *Hericium erinaceus* by Hot Water Method

QIN Pei-peng et al (Xinjiang Agricultural Vocational Technical College, Changji, Xinjiang 831100)

**Abstract** [Objective] To optimize technique parameters of extracting polysaccharides from *Hericium erinaceus* by hot water extraction. [Method] The main influencing factors for extraction, such as temperature, time, solid-liquid ratio, times were studied. [Result] The results showed that the optimal parameters to extract polysaccharides in *Hericium erinaceus* were as follows: the ratio of solid to liquid 1:15 g/ml, extraction at 80 ℃ for 2 h, with twice extraction, 75% ethanol concentration for polysaccharide precipitation. In this condition, the extraction rate of polysaccharide could reach 8.87%. [Conclusion] The study can provide reference for extracting polysaccharides from *Hericium erinaceus* and other bacteria by hot water extraction.

**Key words** *Hericium erinaceus*; Mycelium polysaccharides; Hot water extraction

猴头菌(*Hericium erinaceus*)为多孔菌目齿菌科猴菇菌,是一种珍贵的药食兼用菌,其性平、味甘,具有助消化、利五脏的功能<sup>[1]</sup>。多糖是猴头菌的一种重要功能性成分,具有促进溶血素形成,增加体液免疫功能,抗白细胞下降、抗衰老、抗凝血、降血糖、降血脂等功效,目前已广泛用于医药、功能性食品、化工等领域,具有广阔的市场前景<sup>[2-3]</sup>。

菌类多糖常见的提取方法主要有热水浸提、碱液浸提、盐溶液浸提以及酶法浸提等<sup>[4]</sup>。我国真菌多糖产品的获取主要采用水提醇沉法,由于在提取过程中,水的温度、用量、浸提时间、次数及醇沉浓度等因素的参数设定不同,造成多糖的提取率有很大差异性。笔者对猴头菌多糖的热水浸提法进行了优化试验,以期对猴头菌及其他菌类热水浸提多糖提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 原材料。**猴头菌菌种,辽宁省真菌研究所提供。

**1.1.2 培养基。**①马铃薯葡萄糖培养基(PDA):马铃薯 20%、葡萄糖 20%、琼脂 15%、水 1 000 ml;121 ℃灭菌 20 min。②液体种子培养基:马铃薯 20%、葡萄糖 2%、酵母膏 0.1%、磷酸二氢钾 0.2%、硫酸镁 0.1%、V<sub>B1</sub> 0.01%、pH 6.5;121 ℃灭菌 20 min。③基础培养基:可溶性淀粉 2.5%、酵母膏 2.5%、磷酸二氢钾 0.1%、硫酸镁 0.1%、V<sub>B1</sub> 100 mg/L、pH 5.0;121 ℃灭菌 20 min。

**1.1.3 主要试剂。**苯酚、浓硫酸、3,5-二硝基水杨酸、95%乙醇、氯化钠、氢氧化钠、丙三醇、葡萄糖等,以上试剂均为分析纯,上海圣宇化工有限公司生产。

**1.1.4 主要仪器与设备。**SZM-20 型超微粉碎机,山东泰安

山东正信仪器厂;50 目分样筛,杜浦正鹤纱网厂;DP522C 型电子天平,美国奥豪斯电子天平;ZK-82A 型真空干燥箱,上海试验仪器厂;SS200 型离心机,张家港恒安机械制造有限公司;UV754PC 型紫外-可见分光光度计,上海索域仪器厂;HH-4 型恒温水浴锅,江苏省南京市丽华仪器有限公司;RE301 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;shb-95 型循环水真空泵,郑州杜甫仪器厂。

### 1.2 方 法

**1.2.1 猴头菌的培养及菌丝体干粉的制备。**

**1.2.1.1 菌种活化。**将猴头菌菌种无菌接种到 PDA 斜面上,25 ℃,培养 3 d,至菌丝体覆盖斜面。

**1.2.1.2 液体菌种培养。**将 PDA 斜面菌种接入到 10 ml 液体种子培养基中,25 ℃恒温摇床中,转速 140 r/min,培养 24 h 待用。

**1.2.1.3 发酵液的制备。**液体种子培养基 100 ml 装入 250 ml 三角瓶中,初始 pH 5.5,接种量 7.5 ml,用恒温摇床 25 ℃,转速 140 r/min,培养 3 d。

**1.2.1.4 菌丝体干粉的制备。**发酵液经 3 500 r/min、15 min 离心后弃去上清液,得到菌丝体,50 ℃下真空干燥 8 h,粉碎过 50 目筛,获得菌丝干粉以备用。

**1.2.2 猴头菌多糖的提取。**在设定条件(不同的提取温度、提取时间、料液比、提取次数)下进行多糖提取,提取液经乙醇沉淀,得到猴头菌粗多糖。

**1.2.3 猴头菌多糖的测定。**

**1.2.3.1 多糖的测定。**采用苯酚-硫酸法<sup>[5-6]</sup>。精密称取 105 ℃干燥至恒重的葡萄糖标准 100 mg 定容 1 L 容量瓶中,得到浓度 100 mg/L 的标准溶液。分别取标准溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 ml 于比色管中;加水至 2.0 ml 再各加 5% 苯酚溶液 2.0 ml,摇匀后缓慢加入 6.0 ml 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,冷却,摇匀,在波长 490 nm 下测定吸光度,以糖的质量浓度为

横坐标,以吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,得直线方程为:

$$A = 4.5C + 0.045 (R^2 = 0.999)$$

式中, $A$  为吸光值; $C$  为多糖浓度(g/ml)。

**1.2.3.2 猴头菌多糖的测定及提取率计算。**准确移取 1.0 ml 猴头菌多糖提取液,稀释 150 倍,取稀释后的溶液 2.0 ml 于试管,加 1.0 ml 5.0% 苯酚溶液,振荡,立刻加 5.0 ml 浓硫酸,振荡,静置 5 min,再沸水浴 20 min 冷却,在波长 490 nm 下比色测定吸光度,将测定的吸光度代入标准曲线,计算多糖提取率<sup>[7-8]</sup>。

$$R = \frac{C \times V}{M} \times 100\%$$

式中, $R$  为猴头菌中多糖的提取率(%); $C$  为提取液中多糖的浓度(g/ml); $V$  为提取溶液的总体积(ml); $M$  提取所用的猴头菌子实体干粉质量(g)。

## 2 结果与分析

### 2.1 猴头菌多糖热水浸提工艺单因素试验

**2.1.1 浸提温度对多糖浸提效果的影响。**称取菌丝干粉 25 g,以 250 ml 的水浸提 2 h,浸提温度分别为 20、40、60、80、100 °C,测定不同温度下多糖提取率。由图 1 可知,浸提温度对多糖提取率影响较大,随着浸提温度的升高,多糖提取率增加明显,80 °C 时,达到最高,但当浸提温度超过 80 °C 后,多糖提取率开始降低。因此,80 °C 为适宜浸提温度。

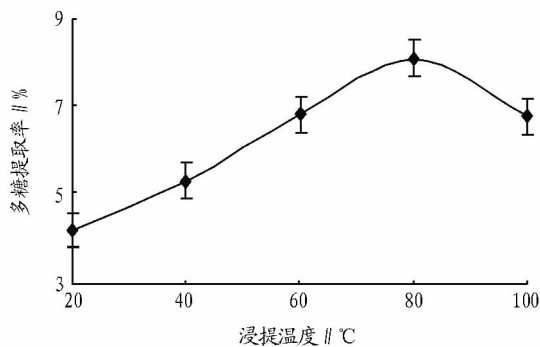


图 1 浸提温度对多糖提取效果的影响

**2.1.2 浸提时间对多糖浸提效果的影响。**称取菌丝干粉 25 g,以 250 ml 的水浸提,浸提温度为 80 °C,浸提时间分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h,测定不同时间下多糖提取率。由图 2 可知,多糖提取率随着浸提时间的延长而逐步增加,2.0 h 时,达到最高。但当浸提时间超过 2.0 h 后,多糖提取率开始下降。因此,浸提时间 2.0 h 较为合适。

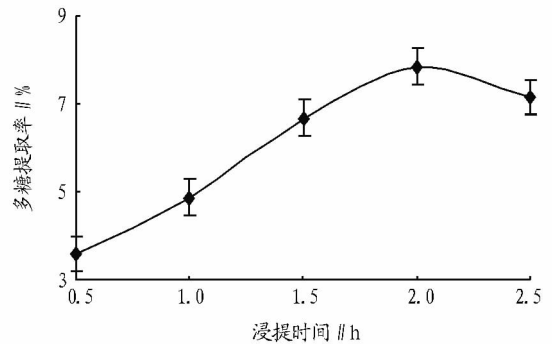


图 2 浸提时间对多糖提取效果的影响

**2.1.3 料液比对多糖浸提效果的影响。**称取菌丝干粉 25 g,浸提中干粉与水的比例分别为 1:10、1:15、1:20、1:25 (W/V)g/ml,浸提温度为 80 °C,浸提时间为 2 h,测定不同料液比对多糖提取率的影响。由图 3 可知,随着料液比中溶剂用量的升高,多糖提取率有所增加,1:20 g/ml 时达到最高,当料液比中溶剂用量继续增加,水的添加量增大,多糖被稀释,多糖提取率反而下降,且用水量增大,会加大后期浓缩能耗。因此,料液比采用 1:20 g/ml 较为合适。

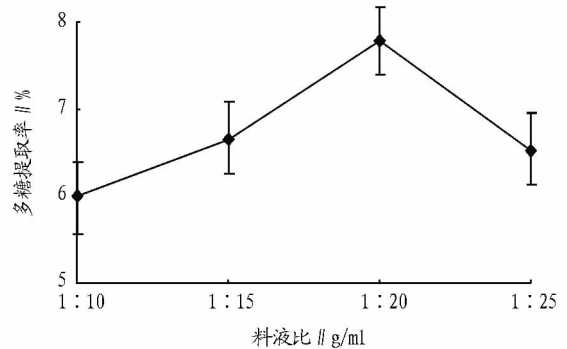


图 3 料液比对多糖提取效果的影响

分别为 40%、50%、60%、70%、80%,测定不同乙醇终浓度下多糖提取率。从图 4 得出,乙醇终浓度低于 70% 时,多糖提取率随着乙醇终浓度的升高而增加;当乙醇浓度达到 70% 时,多糖提取率最高;当乙醇浓度高于 70% 时,多糖提取率随之降低。因此,乙醇终浓度以 70% 为宜。

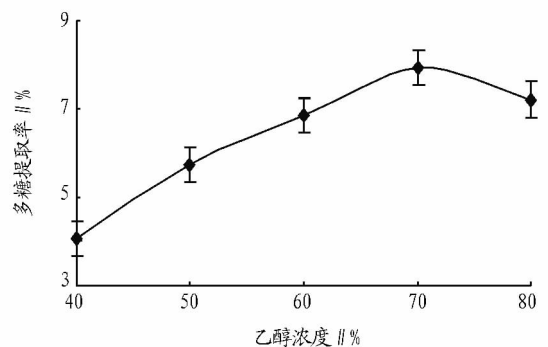


图 4 乙醇浓度对多糖提取效果的影响

**2.1.5 浸提次数对多糖浸提效果的影响。**取菌丝干粉 25 g,80 °C 浸提 2 h,浸提时料液比为 1:20 g/ml,乙醇浓度 70%,浸提液离心后对残渣按同样方法再进行 2 次提取,研究提取次数对多糖提取率的影响。从图 5 可以看出,随着浸提次数的增加,多糖提取率增幅降低,且提取次数增多会增大浓缩等后序步骤的工作量,因此,浸提次数不应过多,确定提取次数为 2 次。

**2.2 猴头菌多糖提取工艺的优化** 根据单因素试验结果,进行  $L_9(3^4)$  正交试验,并进行 3 次重复,因素水平设计如表 1,结果如表 2。

从表 2 可以得出,对猴头菌多糖提取率影响的主次顺序

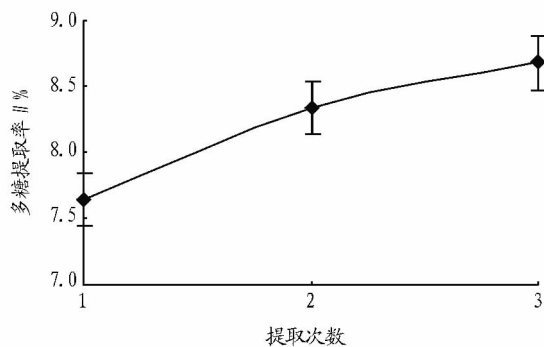


图5 浸提次数对多糖提取效果的影响

表1 菌丝体多糖提取正交试验因素与水平设计

水平	因素			
	浸提时间 (A)//h	料液比 (B)//g/ml	浸提温度 (C)//℃	乙醇浓度 (D)//%
1	1.5	1:10	70	65
2	2.0	1:15	80	70
3	2.5	1:20	90	75

为  $A > C > B > D$ , 即浸提时间对多糖提取率的影响最大, 乙醇浓度的影响最小。猴头菌菌丝体多糖提取的最优组合为  $A_2B_2C_2D_3$ , 提取工艺参数为: 浸提温度  $80\text{ }^\circ\text{C}$ , 浸提时间  $2.0\text{ h}$ , 料液比为  $1:15\text{ g/ml}$ , 乙醇沉淀多糖时终浓度为  $75\%$ , 浸提次数为  $2$  次, 此时多糖的提取率可达到  $8.87\%$ 。

### 3 结论

试验得出, 猴头菌多糖最佳的提取工艺参数为: 浸提温度  $80\text{ }^\circ\text{C}$ , 浸提时间  $2.0\text{ h}$ , 料液比为  $1:15\text{ g/ml}$ , 乙醇沉淀多糖时终浓度为  $75\%$ , 浸提次数为  $2$  次, 在此条件下, 多糖的提取

率可高达  $8.87\%$ 。

表2 菌丝体多糖提取正交试验结果

试验号	因素				多糖提取率 %
	浸提时间 (A)//h	料液比 (B)//g/ml	浸提温度 (C)//℃	乙醇浓度 (D)//%	
1	1.5	1:10	70	65	7.42
2	1.5	1:15	80	70	8.19
3	1.5	1:20	90	75	6.57
4	2.0	1:10	90	70	7.68
5	2.0	1:15	70	75	8.52
6	2.0	1:20	80	65	8.61
7	2.5	1:10	80	75	7.72
8	2.5	1:15	90	70	6.87
9	2.5	1:20	70	65	6.64
$k_1$	7.39	7.61	7.52	7.56	
$k_2$	8.27	7.86	8.17	7.58	
$k_3$	7.08	7.27	7.04	7.60	
R	1.19	0.59	1.13	0.04	

### 参考文献

- [1] 苗晓燕, 朱维红, 陈梅香, 等. 猴头菌丝体多糖提取工艺比较研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(6): 30-33.
- [2] 肖丽霞, 于洪涛, 胡晓松, 等. 猴头菇多糖的纯化工艺[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 186-190.
- [3] 吴志明, 李公斌, 辛秀兰, 等. 猴头菇多糖的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(7): 36-38.
- [4] 孙靖轩, 王延锋, 王金贺, 等. 食用菌多糖提取技术研究概况[J]. 中国食用菌, 2012, 31(3): 6-9.
- [5] 彭川丛, 孔静, 游丽君, 等. 超声波辅助热水浸提香菇多糖响应面优化工艺及其抗氧化活性的研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(4): 452-456.
- [6] 王超, 蒋璇, 彭杰, 等. 香菇粗多糖提取工艺的研究[J]. 江苏科技大学学报: 自然科学版, 2013, 27(1): 85-88.
- [7] 贾颖颖, 李永裕, 陈建烟, 等. 橄榄多糖提取工艺研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(9): 276-280.
- [8] 魏秀娟, 向发椿, 崔明筠, 等. 铁苋菜多糖提取工艺优化[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(34): 16548-16551.
- [9] 魏红福, 王志江. 杨梅素的提取工艺研究[J]. 广东微量元素科学, 2009, 16(7): 63-66.
- [10] 邓丹雯, 杨佩, 吕建垚, 等. 杨梅素提取工艺优化[J]. 食品与发酵工业, 2013(3): 210-215.
- [11] 王定勇, 刘恩桂, 冯玉静. 聚花过路黄化学成分研究[J]. 亚热带植物科学, 2007, 36(2): 19-21.
- [12] 覃洁萍, 许学键, 李剑江. 广西瑶族藤茶化学成份的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(4): 41-43.
- [13] PANIWNYK L, BEAUFOY E, LORIMER J P, et al. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica* [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2001, 8(3): 299-301.
- [14] 程海燕. 杨梅中黄酮类化合物的分离、鉴定及其核仁油脂的提取分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [15] 张明生, 张妮, 何磊磊, 等. 江口县显齿蛇葡萄中二氢杨梅素和杨梅素含量分析[J]. 广东农业科学, 2012(15): 124-126.
- [16] 何桂霞, 裴刚, 周天达, 等. 瑶族藤茶中杨梅素的分离与结构鉴定[J]. 中国民族医药杂志, 2000, 6(1): 40-41.
- [17] 王定勇, 刘恩桂, 冯玉静. 杨梅树皮中黄酮类成分研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(5): 1149-1150.
- [18] VERCRUYSE S A R, DELCOUR J A, DONDEYNE P. Isolation of quercetin, myricetin, and their respective dihydro-compounds by Sephadex LH-20 chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1985, 324: 495-497.
- [19] 张友胜, 施英, 徐玉娟, 等. 利用高速逆流色谱法同时纯化藤茶中的二氢杨梅素和杨梅素[J]. 现代化工, 2008, 28(3): 44-46.
- [20] LI X, KIM Y B, KIM Y, et al. Differential stress-response expression of two flavonol synthase genes and accumulation of flavonols in tartary buckwheat[J]. Journal of Plant Physiology, 2013, 170(18): 1630-1636.
- [21] 夏立. 由橙皮苷半合成生物活性黄酮醇及新型糖缀合物合成研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2012.

(上接第4783页)

- [60] 沙美, 丁林生. 枳椇子的化学成分研究[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(6): 418.
- [61] 高慧媛, 吴立军, 尹凯, 等. 中药黄独的化学成分研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2001, 18(6): 414-416.
- [62] 郑向炜, 张灿奎, 郑庆安, 等. 水青树茎皮的化学成分研究[J]. 植物科学学报, 2000, 18(6): 536-538.
- [63] 石晓峰, 刘东彦, 李爽, 等. RP-HPLC法同时测定雪松松针中杨梅素、槲皮素和山柰酚的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1550-1553.
- [64] 韩立芹, 姜盼, 金沙, 等. 早柳叶中三种黄酮类成分及水杨苷含量的高效液相色谱法测定[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(2): 396-398.
- [65] IURLINA M O, SAIZ A I, FRITZ R, et al. Major flavonoids of Argentinean honeys. Optimisation of the extraction method and analysis of their content in relationship to the geographical source of honeys[J]. Food Chemistry, 2009, 115(3): 1141-1149.
- [66] TSANOVA-SAVOVA S, RIBAROVA F. Free and conjugated myricetin, quercetin, and kaempferol in Bulgarian red wines[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2002, 15(6): 639-645.
- [67] 徐东翔. 植物资源化学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2004: 82-92.
- [68] 陶锋, 李向荣, 占洁. 黄酮醇类化合物提取分离方法的研究进展[J]. 中药材, 2008, 31(10): 1586-1588.
- [69] ROGERIO A P, KANASHIRO A, FONTANARI C, et al. Anti-inflammatory activity of quercetin and isoquercitrin in experimental murine allergic asthma[J]. Inflammation Research, 2007, 56(10): 402-408.
- [70] 姜仕先, 董乃维, 张婧, 等. 藤茶中杨梅素和二氢杨梅素的分离及抗心肌细胞凋亡作用[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2008, 42(1): 4-6.
- [71] 陈缙光, 王玫馨, 蔡沛洋, 等. 无刺根中蛇葡萄素和杨梅素的含量测定[J]. 中药材, 1997, 20(1): 23-25.
- [72] 张纪宁, 欧阳艳. 黄酮类化合物的提取工艺研究进展[J]. 伊犁师范学院学报, 2008, 6(2): 27-30.