

# 超声高温热水香菇多糖提取工艺优化

孙亚杰, 徐灵 (蚌埠学院医院, 安徽蚌埠 233030)

**摘要** [目的]研究提取香菇多糖最佳工艺条件,提高香菇多糖的提取得率。[方法]采用超声波高温热水法提取香菇多糖,基于 Box-Behnken 统计法分析了水料比、超声温度、超声功率、超声时间等工艺参数对香菇多糖提取率的影响。[结果]提取工艺参数对香菇多糖提取率的影响顺序为超声时间 > 水料比 > 超声功率 > 超声温度;超声高温热水法提取香菇多糖的最佳工艺条件为水料比 30:1、超声温度 64 ℃、超声功率为 580 W、超声时间 60 min,提取得率为 15.845 6%。[结论]该研究可为其他提取工艺提供理论依据。

**关键词** 香菇;多糖;超声高温热水法;提取工艺;优化

中图分类号 S646.1<sup>2</sup> 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)36-203-04

## Optimization of Extraction Process for *Lentinusedodes* Polysaccharide Based on Combination Ultrasonic with High Temperature Hot Water

SUN Ya-jie, XU Ling (Hospitals of University, College of Bengbu, Bengbu, Anhui 233030)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the optimal process conditions to increase the productivity of extracting *Lentinusedodes* polysaccharide. [Method] *Lentinusedodes* polysaccharide was extracted by combination ultrasonic with high temperature hot water method, based on the Box-Behnken statistics method, the influence of process parameters on the extraction rate of *Lentinusedodes* polysaccharide was studied, which include water to material ratio, ultrasonic temperature, ultrasonic power and ultrasonic time. [Result] The order of effect of process parameters on the extraction rate was ultrasonic time, water to material ratio, ultrasonic power and ultrasonic temperature, respectively. The extraction rate of *Lentinusedodes* polysaccharide had maximum value (15.845 6%) when water to material ratio, ultrasonic temperature, ultrasonic power, and ultrasonic time were 30:1, 64 ℃, 580 W and 60 min, respectively. [Conclusion] The study provides the theoretical basis for the other extraction process.

**Key words** *Lentinusedodes*; Polysaccharide; Ultrasonic with high temperature hot water method; Extraction process; Optimization

香菇(*Lentinusedodes*)为担子菌纲伞形科真菌,是世界上第二大食用菌种,是一种高蛋白、低脂肪的营养保健食品<sup>[1]</sup>。香菇多糖( $\beta$ -1,3 葡聚糖)是香菇中最重要的一种生物活性物质,主要为甘露糖甘肽,其余为多种糖分和各种氨基酸等,为 T 淋巴细胞的特异性免疫佐剂,具有抑制肿瘤、调节免疫、抗病毒和抗氧化等多方面的药理活性,且毒副作用小<sup>[2]</sup>。

香菇多糖以  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D 葡聚糖为主链一级结构,支链是由  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-D 键和  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D 键相连的 D-葡萄糖聚合体组成(图 1)。香菇多糖分子量为  $4 \times 10^5 \sim 8 \times 10^5$ ,分支度为 2/5,通过 X 衍射分析,葡聚糖为右旋三螺旋六方晶系。香菇多糖的提取方法主要有酸浸法、碱浸法、水醇法、酶解法、微波法和超声法等<sup>[4]</sup>。由于废渣中含有大量的香菇多糖残余,水醇法提取得率较低<sup>[5-6]</sup>。超声法香菇多糖的提取率相比水醇法有了较大的提高,约为 10%<sup>[7-8]</sup>。华洵璐等<sup>[9]</sup>提出了超声法和酶解法组合提取香菇多糖,得率约为 14%,但废渣中仍然含有大量的香菇多糖未被充分提取。该研究提出超声波-高温热水法提取香菇多糖,旨在进一步提高多糖的提取得率和香菇的利用率。

## 1 材料与与方法

**1.1 仪器** XDW-L100 超微粉碎机(济南达微机械有限公司)、R508B 旋转蒸发器(上海实验室设备有限公司)、XZD-5 全自动方形杀菌锅(上海实验室设备有限公司)、C-2518R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)、小型超声

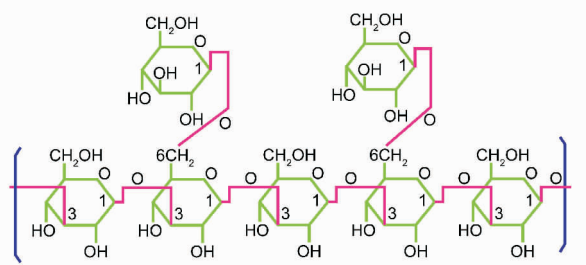


图 1 香菇多糖分子结构<sup>[3]</sup>

波清洗机 YQ-620A(上海易净超声波仪器有限公司)、A590 双光束紫外可见分光光度计(湖南中科君微电子科技有限公司)、DV2T 粘度计(美国 Brookfield 公司)、SP-2300A2 型光吸收型全波长酶标仪(上海闪谱生物科技有限公司)、KDM(DW)-500 调温电热套(江苏省金坛市友联仪器有限公司)。

**1.2 试验材料** 浓硫酸、苯酚、稀盐酸、三氯乙酸、葡萄糖、苯酚、无水乙醇、三氯甲烷、无水乙醇、氯化亚铁等为分析纯,由安徽新科化工有限公司提供;香菇由湖北品源食品有限公司提供。

**1.3 试验方法** 香菇清洗干净后,烘干至恒重,粉碎后备用。把预处理的香菇粉末和离子水按一定的水料比配比,在 100 ℃、0.1 MPa 条件下,把料液浓缩至 1/3,离心、复溶后在 70 ℃下超声提取。考察水料比、超声温度、超声功率和超声时间对香菇多糖提取得率的影响,每个参数选出 3 个水平(表 1),基于 Box-Behnken 统计法,对试验结果进行响应曲面<sup>[10]</sup>分析。

## 2 结果与分析

基于 Box-Behnken 统计法,试验结果如表 2 所示。由方差分析结果可知,模型的  $F = 14.6243, P < 0.0001$ ,表明模型

**基金项目** 安徽省自然科学基金资助项目(1308085ME65);安徽高校省级科学研究项目(KJ2013Z192)。

**作者简介** 孙亚杰(1974-),女,安徽固镇人,主治医师,从事中药作用机理研究。

**收稿日期** 2015-11-25

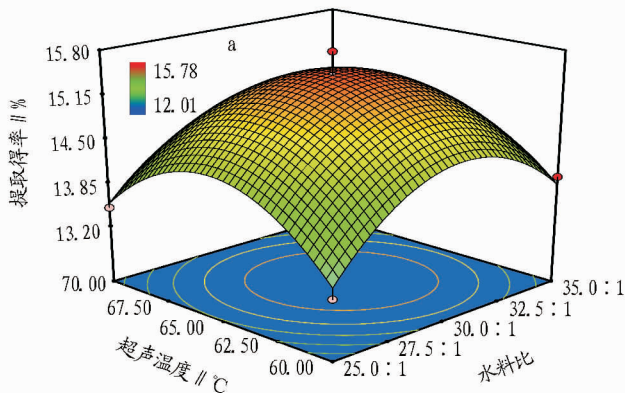
表1 试验参数水平

水平	因素			
	A(水料比)	B(超声温度/℃)	C(超声功率/W)	D(超声时间/min)
-1	25:1	60	500	40
0	30:1	65	600	50
1	35:1	70	700	60

表2 试验结果

组别	因素				提取得率/%
	水料比	超声温度/℃	超声功率/W	超声时间/min	
1	25:1	60	600	50	13.21
2	35:1	60	600	50	13.95
3	25:1	70	600	50	13.48
4	35:1	70	600	50	13.76
5	30:1	65	500	40	12.55
6	30:1	65	700	40	12.68
7	30:1	65	500	60	15.33
8	30:1	65	700	60	15.48
9	25:1	65	600	40	12.66
10	35:1	65	600	40	13.18
11	25:1	65	600	60	14.53
12	35:1	65	600	60	14.38
13	30:1	60	500	50	13.48
14	30:1	70	500	50	13.57
15	30:1	60	700	50	13.92
16	30:1	70	700	50	13.84
17	25:1	65	500	50	13.88
18	35:1	65	500	50	13.90
19	25:1	65	700	50	13.77
20	35:1	65	700	50	13.78
21	30:1	60	600	40	12.33
22	30:1	70	600	40	12.01
23	30:1	60	600	60	15.58
24	30:1	70	600	60	15.48
25	30:1	65	600	50	15.39
26	30:1	65	600	50	15.78
27	30:1	65	600	50	15.44
28	30:1	65	600	50	15.43
29	30:1	65	600	50	15.39

是极显著的,可以用来研究水料比、超声温度、超声功率和超声时间对香菇多糖提取得率的影响;水料比、超声温度、超声功率的 $P$ 值分别为0.320 8、0.814 4、0.590 4,超声时间 $P$ 值 $<0.000 1$ ,因此香菇多糖提取工艺参数对提取率的影响顺序为超声时间 $>$ 水料比 $>$ 超声功率 $>$ 超声温度,二次项中4个



参数均极显著。基于 Design Expert 软件回归得到4个工艺参数对多糖提取得率的响应面方程为  $y = 15.49 + 0.12A - 0.027B + 0.063C + 1.28D - 0.12AB - 2.5 \times 10^{-3}AC - 0.17AD - 0.042BC + 0.055BD + 5.10 \times 10^{-3}CD - 0.96A^2 - 0.95B^2 - 0.75C^2 - 0.75D^2$ 。

由超声功率为600 W、超声时间为50 min时,水料比、超声温度对香菇多糖提取得率的交互作用响应曲面和等高线(图2)可知,随着水料比的增加,提取得率先增加后降低;随着超声温度提高,提取得率也是先增加后降低。超声温度为65℃、超声时间为50 min时,水料比、超声功率对香菇多糖提取得率的交互作用响应曲面和等高线(图3)显示,随着水料比和超声功率的增加,提取得率先增加后降低。超声温度为65℃、超声功率为600 W时,水料比、超声时间对香菇多糖提取得率的交互作用响应曲面和等高线(图4)显示,随着水料比的增加,提取得率先增加后降低;提取得率随着超声时间的增加逐渐升高。水料比为30:1、超声时间为50 min时,超声温度、超声功率对香菇多糖提取得率的交互作用响应曲面和等高线(图5)显示,随着超声温度的提高,提取得率先增加后降低;提取得率随着超声功率的增加也是先增加后降低。从水料比为30:1、超声功率为600 W时,超声温度、超声时间对香菇多糖提取得率的交互作用响应曲面和等高线(图6)可看出,随着超声温度的增加,提取得率先增加后降低;提取得率随着超声时间的增加逐渐升高。水料比为30:1、超声温度为65℃时,超声功率、超声时间对香菇多糖提取得率的交互作用响应曲面和等高线(图7)显示,随着超声功率的增加,提取得率先增加后降低;提取得率随着超声时间的增加逐渐升高。

基于 Design Expert 软件对试验数据(表2)进行最优化分析,超声波-高温热水法提取香菇多糖的最佳工艺条件为水料比29.02:1、超声温度63.51℃、超声功率579.84 W、超声时间59.21 min,将工艺参数圆整为水料比30:1、超声温度64℃、超声功率580 W、超声时间60 min,在此工艺参数组合条件下,做3次验证试验,3次多糖提取得率的平均值为15.845 6%,与预测值(15.855 3%)的误差为0.061%,说明该研究的香菇多糖提取得率模型是可靠的。

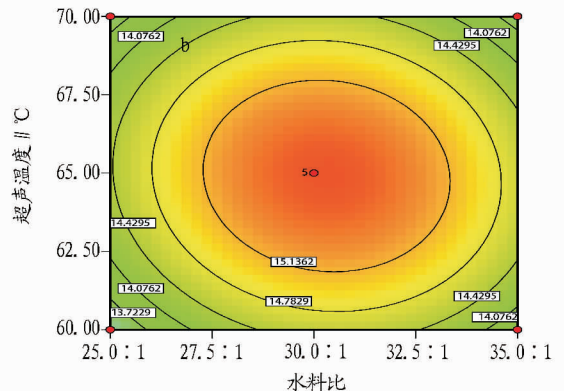


图2 水料比、超声温度对提取得率的交互作用响应曲面(a)和等高线(b)

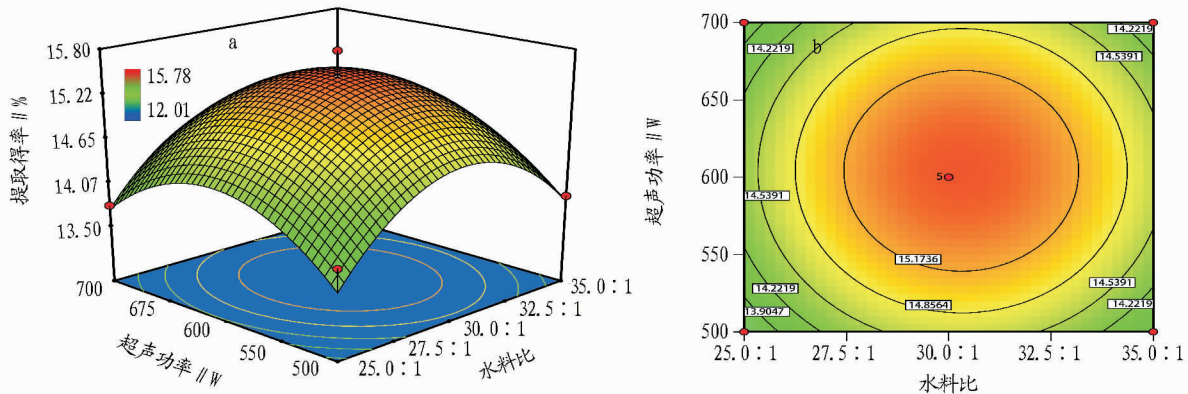


图3 水料比、超声功率对提取得率的交互作用响应曲面(a)和等高线(b)

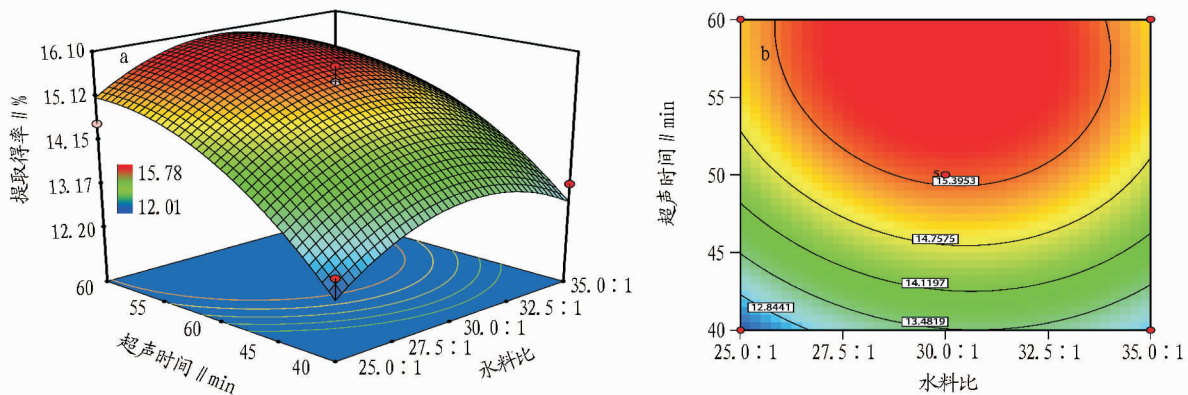


图4 水料比、超声时间对提取得率的交互作用响应曲面(a)和等高线(b)

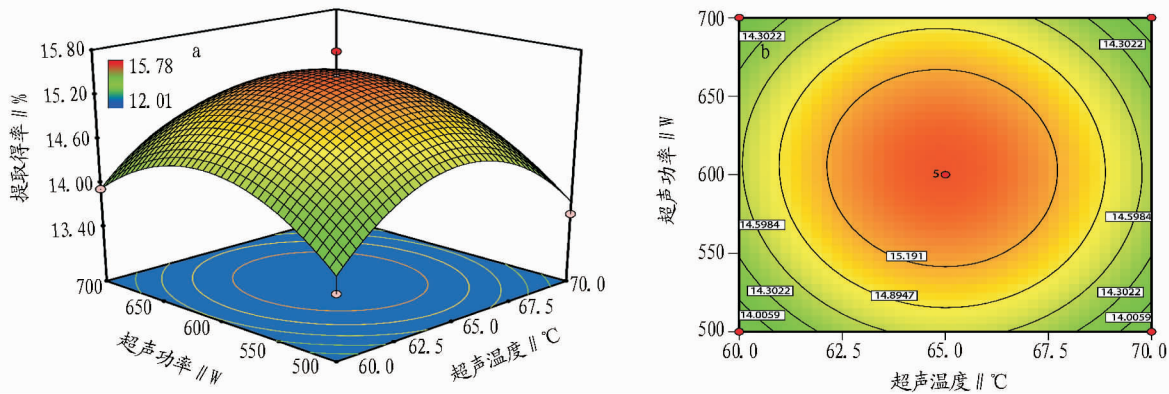


图5 超声温度、超声功率对提取得率的交互作用响应曲面(a)和等高线(b)

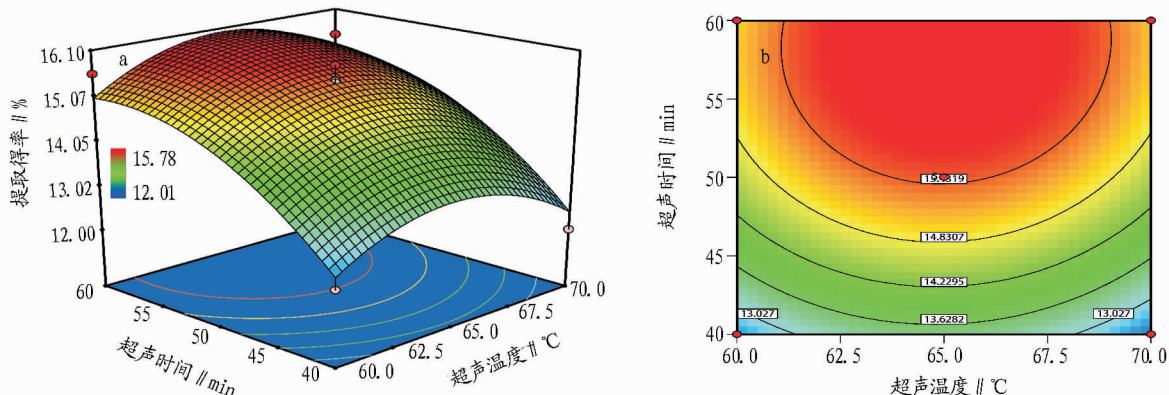


图6 超声温度、超声时间对提取得率的交互作用响应曲面(a)和等高线(b)



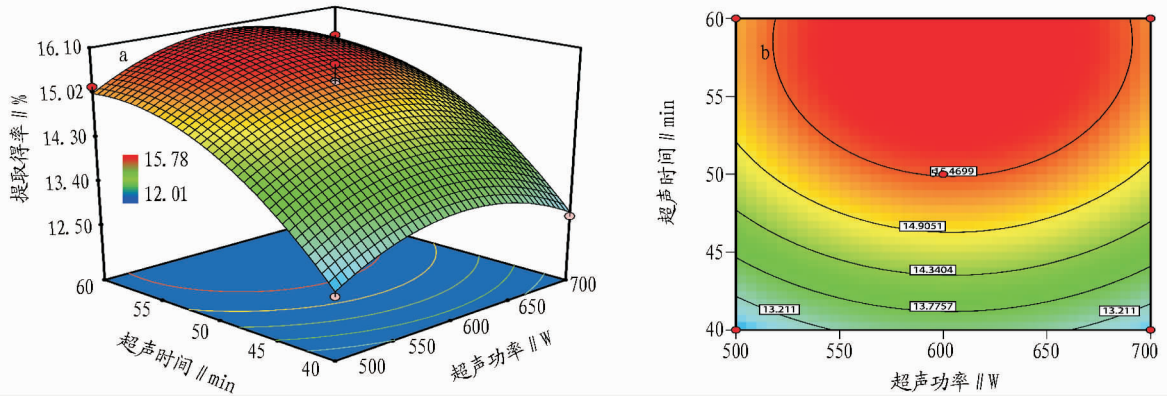


图7 超声功率、超声时间对提取得率的交互作用响应曲面 (a) 和等高线 (b)

### 3 结论

(1) 基于响应曲面法提出了超声波-高温热水法提取香菇多糖, 进一步提高了多糖的提取得率和香菇的利用率。

(2) 提取工艺参数对香菇多糖提取率的影响顺序为超声时间 > 水料比 > 超声功率 > 超声温度, 二次项中 4 个参数均极显著。

(3) 超声波-高温热水法提取香菇多糖的最佳工艺条件为水料比 30:1、超声温度 64 °C、超声功率 580 W 和超声时间 60 min。

### 参考文献

- [1] 林楠, 钟耀广, 王淑琴, 等. 香菇多糖的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(5): 174-176.
- [2] 朱俊访, 李博, 袁阳. 多元非线性回归与 BP 神经网络在香菇多糖提取

- 工艺研究中的应用[J]. 海峡药学, 2014, 26(2): 15-17.
- [3] 龚俊涛, 王宗成, 董可因, 等. 香菇多糖的研究[J]. 药学实践杂志, 1996, 14(1): 23-75.
- [4] 邹林武. 香菇多糖提取工艺及其分子结构改性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [5] 魏楨元, 钟耀广, 刘长江. 响应面优化法对香菇多糖提取的工艺研究[J]. 辽宁农业科学, 2010(2): 11-14.
- [6] 燕航, 钟耀广. 影响香菇多糖提取的因素研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(2): 179-180.
- [7] 王恒, 李凤林, 马玮曼. 超声波辅助法提取香菇多糖工艺优化研究[J]. 吉林农业, 2010(7): 40.
- [8] 王琛, 陈平, 江亮. 超声波辅助技术在香菇柄多糖提取中的应用研究[J]. 武汉工业学院学报, 2008, 27(1): 15-17.
- [9] 华海璐, 张一平, 匡群. 酶法结合超声破壁提取香菇水溶性糖和多糖的研究[J]. 食用菌, 2011(2): 54-57.
- [10] 刘春景, 唐敦兵, 何华, 等. 基于响应曲面车削加工表面粗糙度稳健性分析[J]. 南京航空航天大学学报, 2012, 44(4): 520-525.

(上接第 159 页)

度的草甘膦。与空白相比, 高浓度草甘膦处理组尽管酶活性很高, 草甘膦仍然会诱发铜绿微囊藻密度下降和蛋白合成受阻等毒性效应。

(3) 铜绿微囊藻细胞内外各种形态的磷代谢和转化随草甘膦浓度的变化差异明显。添加草甘膦后, 细胞内外可直接利用的磷形态——正磷酸盐的含量和所占比例在低浓度组较大、高浓度组较小, 可能直接造成了铜绿微囊藻的生长刺激或抑制效应。

### 参考文献

- [1] 孙克. 从选择性除草剂市场恢复情况分析草甘膦抗性杂草的发展[J]. 农药, 2012, 51(4): 235-253.
- [2] 卢信, 赵炳梓, 张佳宝, 等. 除草剂草甘膦的性质及环境行为综述[J]. 土壤通报, 2005, 36(5): 785-790.
- [3] QIU H M, GENG J J, REN H Q. Physiological and biochemical responses of *Microcystis aeruginosa* to glyphosate and its Roundup® formulation[J]. Journal of hazardous materials, 2013, 24(8): 172-176.
- [4] COUPE R H, KALKHOFF S J, CAPEL P D. Fate and transport of glyphosate and amino methylphosphonic acid in surface waters of agricultural basins[J]. Pest management science, 2012, 68: 16-30.
- [5] PESCE S, BATTISSON I, BARDOT C. Response of spring and summer river in emicrobial communities following glyphosate exposure[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2009, 72: 1905-1912.

- [6] 周垂帆, 王玉军, 俞元春, 等. 铜和草甘膦对蚯蚓的毒性效应研究[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(8): 1077-1082.
- [7] 王云彪, 李润琴, 邓茗岑, 等. 砷与农药草甘膦、敌敌畏对秀丽隐杆线虫的联合毒性[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(2): 262-267.
- [8] 张伟, 王进军, 高立明, 等. 草甘膦在水-土壤系统中的环境行为及研究进展[J]. 农药, 2006, 45(10): 649-654.
- [9] 李婷, 景元书, 韩玮. 不同磷条件下高温胁迫对铜绿微囊藻增殖的影响及其恢复[J]. 环境工程学报, 2015, 9(10): 4780-4788.
- [10] 付保荣, 鲁男, 苗斌, 等. 环境因子对铜绿微囊藻生长和产毒的影响[J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2015, 42(1): 85-90.
- [11] 张琼. 马拉硫磷影响下铜绿微囊藻的生长及其磷利用过程研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2009.
- [12] 刘春晓, 王平, 李海燕, 等. DBP 对铜绿微囊藻生长和抗氧化酶的影响[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(2): 7-12.
- [13] BCHANAN B B, GRUISSEM W, RUSSELL L J. Biochemistry and molecular biology of plants[M]. Beijing: Science Press, 2004.
- [14] LI J H, WANG Z W, CAO X, et al. Effect of orthophosphate and bioavailability of dissolved organic phosphorous compounds to typically harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. Marine pollution bulletin, 2015, 92: 52-58.
- [15] SHI X L, YANG L Y, NIU X J, et al. Intracellular phosphorus metabolism of *Microcystis aeruginosa* under various redox potential in darkness[J]. Microbiology research, 2003, 158: 345-352.
- [16] CALABRESE E J, BALDWIN L A. Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology[J]. TRENDS in pharmacological sciences, 2001, 22: 285-289.