

常见食用菌子实体中壳聚糖的提取和检测

张淑红

(唐山师范学院 生命科学系,河北 唐山 063000)

摘要:采用微波技术从平菇、香菇和白灵菇子实体中提取壳聚糖,利用荧光素分光光度法检测其含量。结果表明:微波技术适合提取食用菌子实体壳聚糖。3种食用菌中,白灵菇子实体壳聚糖的得率最高,达到子实体湿重的1.55%,具有进一步开发研究的价值。

关键词:微波技术;食用菌;子实体;壳聚糖

中图分类号:S 646 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)18-0203-02

壳聚糖(Chitosan,CS)是甲壳素的脱乙酰化产物,自然界唯一大量存在的碱性多糖,由于具有生物相容性、可生物降解性、无毒副性及天然广谱抗菌力等,因此广泛应用于农业^[1-2]、医药^[3-4]、食品^[5]以及纺织^[6]等领域。工业生产中,壳聚糖主要是以虾、蟹壳为原料,但提取的壳聚糖具有脱乙酰度不稳定等缺陷^[7]。目前研究者发现在子囊菌纲、担子菌纲和半知菌纲等真菌细胞壁中壳聚糖的含量也是十分可观的,并且已经成功提取到质量较高的产品^[8]。关于食用菌壳聚糖的提取研究大部分是以菌丝体为材料进行的^[9],食用菌子实体壳聚糖的提取还少见报道。壳聚糖作为真菌的结构物质在不同的生长阶段其结构与性质可能不同,有研究报道^[10],糙皮侧耳子实体壳聚糖的杀菌率比糙皮侧耳菌丝壳聚糖的杀菌率高。因此,现以常见的食用菌子实体为材料提取壳聚糖并进行定量测定与比较,为食用菌子实体壳聚糖

的提取提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

平菇、香菇、白灵菇子实体均由市场购买;壳聚糖购自浙江澳兴生物科技有限公司,Mr=5.0×10⁴,脱乙酰度93.78%;荧光素购自Bio Basic Inc.;盐酸、氢氧化钠、冰醋酸、乙醇、磷酸、硼酸、甲基红、甲基橙均为分析纯。

1.2 样品壳聚糖的提取

采用微波技术提取3种食用菌子实体壳聚糖。称取10.00g原料于500mL锥形瓶,加入200mL7%NaOH溶液,50℃处理3h后,离心洗涤至上清液无色。向沉淀中加入20%氢氧化钠溶液,在中高微波火力下处理20min后,离心洗涤沉淀至上清液呈中性。向沉淀中加入50mL5%乙酸溶液,100℃下处理5h,离心分离。调节pH值为8~10,此时出现大量白色絮状沉淀,离心,无离子水洗涤沉淀至上清液呈中性。沉淀即所提取的样品壳聚糖,用1%醋酸溶液溶解^[10-11]。

1.3 样品壳聚糖的紫外吸收光谱

稀释样品壳聚糖溶液浓度为0.1%,以1%的乙酸溶液为空白对照,利用紫外可见分光光度计,于200~

作者简介:张淑红(1978-),女,河北石家庄人,硕士,讲师,现主要从事生物化学与分子生物学研究工作。E-mail:zsh3535@yahoo.com.cn。

基金项目:河北省教育厅资助项目(Z2008133)。

收稿日期:2010-06-21

Study of Sensitivity of Mycelia of *Hypsizigus marmoreus* Against Four Kinds of Antibiotics

ZOU Jin-mei¹, WANG Xu², HUANG Shi-yu¹, CHEN Ying¹, ZHANG Guo-guang¹

(1. Biology Department, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou, Fujian 363000; 2. Department of Biochemical Engineering, Chaoyang Normal College, Chaoyang, Liaoning 122000)

Abstract: The investigations were carried out that effect of four kind antibiotics, including kanamycin, ampicillin, ceftaxime and hygromycin on mycelia growth of *Hypsizigus marmoreus*. The results showed that it were no significant influence that cefotaxime, kanamycin and ampicillin against mycelia growth rate and clone morphology of *Hypsizigus marmoreus*. Hygromycin strongly inhibited mycelia growth of *Hypsizigus marmoreus*, and 10 mg/L of hygromycin can completely inhibit the growth of mycelia. The results laid a foundation of further study on the construction of *Agrobacterium Tumefaciens*-mediated genetic transformation system of *Hypsizigus marmoreus*.

Key words: *Hypsizigus marmoreus*; antibiotics; mycelium growth rate

400 nm 进行紫外扫描。

1.4 样品壳聚糖的定性

配制约 1% 的壳聚糖醋酸溶液,滴加甲基橙指示剂或甲基红指示剂,观察其颜色变化^[12]。

1.5 样品壳聚糖的定量

采用荧光素分光光度法,以商品壳聚糖为对照,测定样品壳聚糖的含量。计算壳聚糖得率(%)=(壳聚糖产量/食用菌子实体湿重)×100%^[13]。

2 结果与分析

2.1 壳聚糖样品的紫外光谱

提取得到的 3 种食用菌壳聚糖样品,其醋酸溶液在紫外区无吸收峰,说明壳聚糖分子无共轭双键。同时在 280 nm 和 260 nm 处没有核酸和蛋白质的特征吸收峰,证明采用此方法提取壳聚糖去除蛋白质和核酸的效果是理想的。白灵菇壳聚糖样品溶液的紫外光谱见图 1。

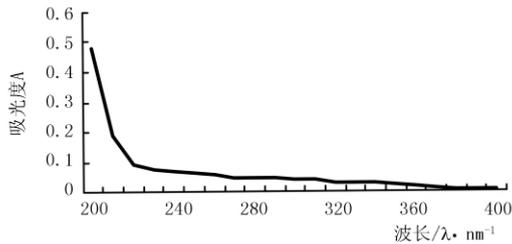


图 1 白灵菇壳聚糖样品溶液的紫外光谱

2.2 壳聚糖样品的定性

各壳聚糖样品溶液滴加甲基橙指示剂后,溶液立即由黄色转变为橙红色;而且,当滴加几滴甲基红指示剂时,溶液立即由黄色转变成深红色,表明各样品均为壳聚糖^[12]。

2.3 壳聚糖样品的定量

图 2 为荧光素分光光度法测定壳聚糖含量的标准曲线,方程为 $y = -0.0013x + 0.3031$, $R^2 = 0.9927$,将提取的 3 种食用菌子实体壳聚糖稀释合适倍数后按照试验方法测定其吸光度,由标准曲线计算得出平菇、香菇、白灵菇子实体中壳聚糖的含量。结果表明,白灵菇壳聚糖的得率最高,可达 1.55%,其次为平菇,为 0.53%,香菇壳聚糖的得率最低,只有 0.06%。

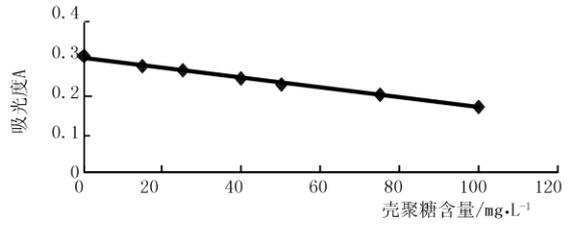


图 2 壳聚糖含量标准曲线

3 结论

采用微波技术从平菇、香菇和白灵菇子实体中提取得到壳聚糖,通过样品的紫外扫描和定性检测,说明微波法适合提取食用菌子实体壳聚糖。对 3 种食用菌壳聚糖含量进行比较,得出白灵菇子实体中壳聚糖的得率最高,达到子实体湿重的 1.55%,高于已报道真菌菌壳聚糖的含量^[9],具有进一步研究和开发利用的价值。

参考文献

- [1] 马承,罗庆熙.壳聚糖在农业领域中的应用[J].北方园艺,2008(9):55-56.
- [2] 杨玲玉,孟祥红,刘成圣,等.壳聚糖的抗菌性及其对果实病害的防治研究进展[J].中国农业科学,2009,42(2):626-635.
- [3] 段林楠.壳聚糖在医药中的应用[J].医药化工,2006(6):33-43.
- [4] 王春,扶雄,杨连生.一种新的蛋白释放载体-水溶性壳聚糖纳米粒子[J].科学通报,2007,52(1):35-40.
- [5] 赖凤英,向东,梁平.壳聚糖在食品工业中的应用[J].中国甜菜糖业,2004(2):28-30.
- [6] 施亦东,季莉,陈衍夏,等.水溶性壳聚糖的开发和纺织印染上的应用[J].四川丝绸,2005(4):23-27.
- [7] 蔡俊,杜予民.生物法制备壳聚糖的研究进展[J].现代食品科技,2005(1):163-166.
- [8] 陈勉,邓长江,朱希强,等.微生物来源壳聚糖提取工艺初探[J].食品与药品,2006(12):60-62.
- [9] 赵春燕,于艳敏,王振丽.从几种常见真菌中筛选壳聚糖高产菌株的研究[J].食品与发酵工业,2009(3):68-70.
- [10] 林进妹,潘裕添,黄家福.糙皮侧耳菌丝与子实体壳聚糖的提取与理化特征的比较[J].漳州师范学院学报(自然科学版),2008(4):94-98.
- [11] 郗和生,王吉龙,张春原,等.利用微波技术从黑曲霉提取壳聚糖的研究[J].石化技术,2001,8(4):222-224.
- [12] 刘高强,刘卫星,魏美才,等.马尾松毛虫蛹中壳聚糖的制备技术研究[J].中国食品学报,2006(6):36-39.
- [13] 李畅,董学芝,张国胜,等.保健食品中壳聚糖含量检测新方法的研究[J].分析实验室,2008,27(S1):423-425.

Extraction and Detection of Chitosan from Fruit Body of the Familiar Edible Fungi

ZHANG Shu-hong

(Tangshan Teacher's College, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract: The chitosan was extracted from fruit body of *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edode* and *Pleurotus nebrodensis* using microwave technique and was detected by spectrophotometry of fluorescein respectively. The results showed that the microwave technique was appropriate for extracting chitosan from fruit body of edible fungi. The obtained 1.55% chitosan of *Pleurotus nebrodensis* wet weight was much higher than the others, and it was worth to exploit and research farther.

Key words: microwave technique; edible fungi; fruit body; Chitosan