

大白菇菌丝体多糖提取工艺的优化

李佳琳¹, 刘德江¹, 薛春梅¹, 罗志文¹, 刘明洋², 赵永勋¹

(1. 佳木斯大学 生命科学学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 2. 富锦市第三中学, 黑龙江 富锦 156100)

摘要:用发酵法培养大白菇菌丝体, 并对菌丝体进行多糖提取工艺优化试验。通过单因素和正交实验方法, 测定粗多糖含量, 摸索大白菇菌丝体多糖提取的最佳时间、温度、料液比、提取次数、浸提液最终浓度。结果表明: 大白菇菌丝体多糖提取的最佳条件为: 浸提液浓度 80%, 浸提时间 1 h, 浸提温度 25℃, 浸提比为 1:50。

关键词:多糖; 菌丝体; 提取工艺; 优化; 大白菇

中图分类号:TS 245.9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)21-0027-03

大白菇(*Russula delica* Fr.) 为伞菌目(Agaricales) 红菇科(Russulaceae) 红菇属(*Russula*) 食、药用真菌^[1]。红菇属的研究国内研究不多, 尤其是对于多糖提取工艺的研究更少。大白菇子实体不具有毒性, 其蛋白、氨基酸、多糖、微量元素含量与红菇(*Russula vinosa*) 十分相近, 也具有抗肿瘤、抗病毒和增强免疫活性的功效^[2]。试验表明, 大白菇子实体提取物抗癌率高, 对艾氏癌和荷瘤 180 小鼠的抑制率可达 90% 以上, 且对衣原体、支原体等多种病原菌有明显抵抗作用^[3-4]。

大白菇为外生菌根类真菌, 自然界中要与宿主植物根形成共生菌根才可出菇, 野生大白菇的数量非常有限, 自然界采摘受季节影响且数量少, 所以成本高, 经济效益低, 从而影响了大白菇产品的开发和利用推广。现以大白菇液体深层发酵培养的菌丝体作为原料^[5-6], 提取大白菇中的粗多糖, 为后续的菌丝体多糖成分鉴定及抗肿瘤作用的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大白菇菌株购自中国林业科学院生态研究所菌种保藏中心, 现保存于佳木斯大学生命科学学院微生物学实验室冰箱菌种保存库中。

试验所用药品均为试剂纯, 试验仪器为微生物研究常规设备。

1.2 试验方法

1.2.1 多糖的提取 大白菇液体发酵培养菌丝体后, 菌丝体离心、洗涤、干燥, 4℃ 冰箱保存待用; 称取大白菇菌丝体干粉与蒸馏水按 1:50 比例混合, 经超声波处

理 20 min, 放置于 80℃ 水浴锅中回流提取 4 h。将回流物在 4 000 r/min 条件下, 离心 20 min, 收集滤液 4℃ 冰箱保存, 滤渣按 1:20 比例加入蒸馏水, 重复上述操作; 滤液处理: 合并离心后滤液, 经过旋转蒸发器蒸发浓缩、冷却, 加入 5 倍体积的 95% 乙醇沉淀多糖, 4℃ 冰箱醇沉 24 h。多糖洗涤: 醇沉后在 4 000 r/min 条件下离心 20 min, 离心沉淀物用无水乙醇、丙酮、乙醚反复洗涤, 离心沉淀物真空干燥, 获得粗多糖。采用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[7]。

1.2.2 大白菇菌丝体多糖提取工艺的单因素试验 大白菇菌丝体多糖提取工艺优化试验的 5 个因素: 提取时间、提取温度、料液比例、提取次数、浸提液最终浓度。各试验因素的水平范围分别为: 提取时间(A): 1~5 h; 提取温度(B): 20~40℃; 料液比例(C): (1:20)~(1:60); 提取次数(D): 1~5 次; 浸提液最终浓度(E): 50%~90%, 每个影响因素设计 5 个重复试验, 选用平均值为试验参数, 确定各因素对试验的影响。

1.2.3 大白菇发酵菌丝体水提多糖正交实验 在浸提次数为 1 次的条件下, 选择影响菌丝体提取多糖含量的 4 种因素: 浸提液浓度、浸提时间、浸提温度、浸提比, 每个因素设置 3 个不同阶段, 采用 $L_9(3^4)$ 正交实验方法, 试验组见表 1。

表 1 正交实验因子与水平安排

水平	因子			
	浓度/%	时间/h	温度/℃	浸提比
1	60	1	25	1:40
2	70	2	30	1:50
3	80	3	35	1:60

2 结果与分析

2.1 单因素试验

浸提液浓度达到 70% 时, 多糖含量 32.62%; 当浸提时间为 3 h 时, 多糖含量为 31.76%; 浸提温度在 30℃ 时, 多糖含量为 31.65%; 浸提比例为 1:50 时, 多糖含量为 31.64%; 当浸提次数达到 3 次时, 多糖含量为 32.54%。

第一作者简介: 李佳琳(1979-), 女, 硕士, 实验师, 现主要从事食用菌生物化学研究工作。E-mail: jmslj1@126.com。
责任作者: 赵永勋(1955-), 男, 本科, 教授, 硕士生导师, 现主要从事真菌生物化学研究工作。E-mail: zhaoyongxun887@163.com。
基金项目: 佳木斯大学科学技术研究资助项目(S2010-58)。
收稿日期: 2011-08-23

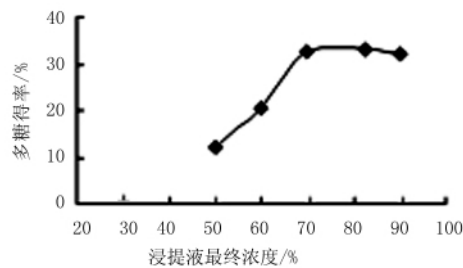


图 1 浸提液浓度对多糖得率的影响

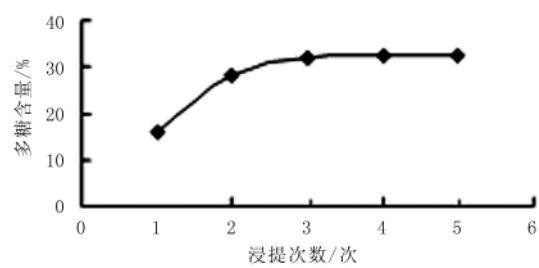


图 2 浸提次数对多糖得率的影响

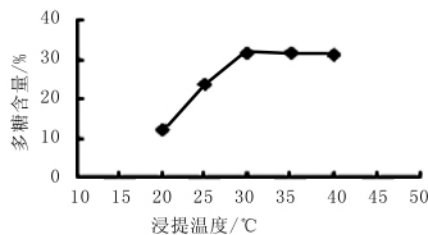


图 3 浸提温度对多糖得率的影响

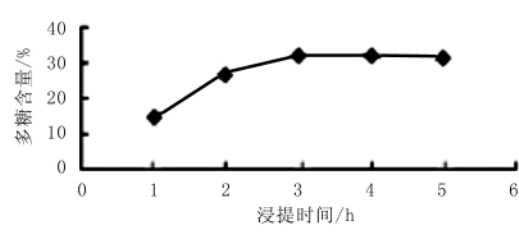


图 4 浸提时间对多糖得率的影响

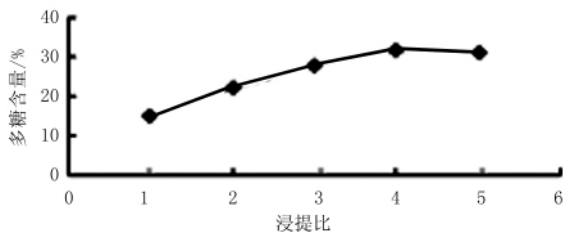


图 5 浸提比对多糖得率的影响

2.2 正交实验

由表 2 可知,大白菇多糖提取率影响程度为:浸提液的浓度>浸提温度>浸提比>浸提时间。热水浸提水溶性多糖最佳浸提组合是:A3B1C3D2。因此,热水浸提水溶性多糖最佳条件为浸提液浓度为 80%, 浸提

表 2 正交实验结果与极差分析

序号	浸提液浓度 /%	浸提时间 /h	浸提温度 /°C	浸提比	多糖得率 /%
1	1(60)	1(1)	1(25)	1(1 : 40)	22.56
2	1(60)	2(2)	2(30)	2(1 : 50)	25.76
3	1(60)	3(3)	3(35)	3(1 : 60)	24.88
4	2(70)	1(1)	2(30)	3(1 : 60)	24.24
5	2(70)	2(2)	3(35)	1(1 : 40)	28.06
6	2(70)	3(3)	1(25)	2(1 : 50)	26.33
7	3(80)	1(1)	3(35)	2(1 : 50)	31.56
8	3(80)	2(2)	1(25)	3(1 : 60)	27.33
9	3(80)	3(3)	2(30)	1(1 : 40)	24.66
I	73.2	78.36	76.22	75.28	
II	78.63	81.15	74.66	83.65	
III	83.55	75.87	84.50	77.33	
K1	24.40	26.12	25.41	25.10	
K2	26.21	27.05	24.89	27.89	
K3	27.85	25.29	28.17	25.78	
R	3.45	1.76	3.28	2.79	

时间 1 h,浸提温度 25℃,浸提比是 1:50。

3 讨论与结论

水提醇沉多糖是根据多糖溶于水而不溶于乙醇等特点,随着浸提液浓度逐渐增加多糖得率不断提高,当浸提液浓度达到 70%后,多糖得率差别不显著,考虑到试验中乙醇用量特别大,选定浸提液浓度为 70%为最佳;真菌菌丝体多糖溶解于介质中需要一定时间,时间短多糖溶出不充分,当浸提时间为 3 h 时,多糖获得率最高,随浸提时间的增加,获得率呈下降趋势,可能是由于多糖在高温下提取时间过长,造成多糖结构的破坏,部分糖链发生断裂,导致多糖提取率略有下降;温度对多糖的提取具有一定的影响,温度低时,多糖提取率呈下降趋势,而温度过高将引起多糖降解,提取率也有下降趋势,浸提温度在 30℃ 时,多糖获得率最大;浸提比例为 1:50 时,多糖得率最大,随浸提比例的增加,水提多糖的含量也将加大,收集液体的量也将增加,浓缩的工作量较大,并增加试剂的用量;增加提取次数主要是使多糖能够充分析出,当浸提次数达到 3 次时,再增加对残渣的处理次数,浸提次数增加多糖提取率变化不大,而且由于复提会消耗大量的原料和人力,所以提取 3 次为最佳次数。

理论上浸提比越大多糖的提取率越高,浸提比越小多糖的提取率越低,提取不充分,而滤液过多也会给后面的试验带来麻烦,所以浸提比只要能达到多糖提取的最佳效果即可。

通过对大白菇菌丝体多糖提取工艺的优化,可以使我们获得大量的菌丝体多糖,为我们后期进行大白菇多糖分离纯化、成分分析和对荷瘤小鼠抗肿瘤活性等试验积累原材料。

大棚吊蔓西瓜壁蜂授粉效果的研究

马志峰¹, 王智民¹, 王荣花², 杨安平¹, 张显²

(1. 杨凌职业技术学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以“玲珑王”礼品西瓜为试材,应用比较法研究壁蜂与人工授粉对大棚吊蔓西瓜坐果的影响。结果表明:壁蜂授粉的效果优于人工授粉,第2、第3雌花的平均坐果率分别比人工授粉提高了5.9%和10.4%,西瓜平均产量和商品率分别提高了7.2%和3.92%。每667 m²节约授粉开支718元,商品瓜增加322 kg,效益增加2 326元。

关键词:大棚;吊蔓西瓜;壁蜂;授粉

中图分类号:S 651.27 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)21-0029-03

西瓜在自然生长情况下通过蜜蜂等昆虫传粉坐果^[1]。而保护地栽培西瓜,由于棚室缺少蜜蜂等传媒昆虫,一般采用人工授粉来保证坐果^[2]。大棚西瓜吊蔓栽培,栽植密度大,一般每667 m²栽植1 800~2 000株,人工授粉费工费时。人工授粉常常因劳动力不足而错过最佳授粉时间,也容易因人为因素出现授粉不均、漏授、错授、伤瓜、踩蔓等现象。近几年,陕西渭南、延安、杨凌等地大棚吊蔓西瓜发展面积较大,瓜农迫切需要一种既能解决西瓜授粉问题,又省工省力,操作简便,且投资少、效果好的授粉方法。

壁蜂是我国近些年来在果树上大力提倡推广的优良传粉昆虫^[3],它具有一年1代,自然生存,性温和,无

需喂养,管理简单,使用成本低;以采集花粉为主,访花速度快,授粉均匀、效率高;在管巢外授粉活动40 d左右,飞迁半径小(60~70 m),非常适合以户为单位的家庭果园、菜园应用^[4]。目前,我国在有关果树壁蜂授粉方面的研究和应用报道很多^[5-8],但在保护地西瓜上应用壁蜂授粉未见报道。2011年春季,在杨凌现代农业示范园西甜瓜生产基地进行了大棚吊蔓西瓜壁蜂授粉的试验研究,取得了理想的效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验品种为“玲珑王”礼品西瓜。该品种为特早熟西瓜,雌花持续坐果能力强,单果重1.5~2.5 kg,果实短椭圆型,红瓤,品质佳,耐贮运。

1.2 试验方法

试验在6栋新建钢架大棚内进行,每个大棚长74 m,宽8 m,高3.6 m,占地面积592 m²,南北棚向,两侧设置有防虫网。试验设2个处理,壁蜂授粉和人工

第一作者简介:马志峰(1961-),男,陕西眉县人,本科,副教授,现主要从事园艺专业的教学与研究工作。E-mail: mazhifeng712100@163.com。

基金项目:陕西省果业发展专项资金资助项目。

收稿日期:2011-08-23

参考文献

- [1] 王青云,石木标.中国红菇的研究现状与展望[J].中国食用菌,2004,23(4):10-11.
- [2] 赵永勋,张昆.磷盖红菇液体深层发酵培养条件研究[J].北方园艺,2010(2):220-221.
- [3] 赵永勋,李克颖,张跃华.多脂磷伞菌丝体多糖抗肿瘤活性研究[J].食用菌学报,2007,14(2):49-51.
- [4] 应渐浙,藏穆.西南地区大型经济真菌[M].北京:科学出版社,1994.

社,1994.

- [5] 兰蓉,张震,吴迪.白灵菇多糖液体发酵工艺的优化[J].中国食用菌,2010,29(2):42-44.
- [6] 周永斌,张志军,刘连强.白灰树花菌丝体最适营养生长条件的研究[J].中国食用菌,2010,29(6):26-27.
- [7] 欧阳小丽,张晓昱,王宏勋,等.茶薪菇菌丝体多糖提取方法的研究[J].中国食用菌,2004,23(5):35-36.

Extracting Conditions for Mycelia Polysaccharides of *Russula delica* Fr.

LI Jia-lin¹, LIU De-jiang¹, XUE Chun-mei¹, LUO Zhi-wen¹, LIU Ming-yang², ZHAO Yong-xun¹

(1. College of Life Sciences, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. Fujin No. 3 Middle School, Fujin, Heilongjiang 156100)

Abstract: Using zymotechnics to culture mycelia polysaccharides of *Russula delica* Fr., and optimize extracting conditions for mycelia polysaccharides. Determining polysaccharides content and exploring the best time, temperature, material/liquid, extraction times, and the final extract concentration of mycelia polysaccharides of *Russula delica* Fr. by one factor and orthogonal test. The results showed that the optimal extracting conditions were that vat liquor concentration was 80%; extraction time was 1 h; extraction temperature was 25°C; extraction liquor ratio was 1:50.

Key words: polysaccharides; mycelium; extracting conditions; optimization; *Russula delica* Fr.