

# $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖的效应

郭雨桐<sup>1,2</sup>, 肖文军<sup>1</sup>

(1. 湖南农业大学 园艺园林学院, 湖南 长沙 410128; 2. 国家中医药管理局亚健康干预技术实验室, 湖南农业大学, 湖南 长沙 410128)

**摘 要:**以资源丰富且多糖含量高的茯苓为原料,以茯苓多糖的提取得率为指标,通过酶促降解的单因子试验、正交实验及验证试验,研究了 $\beta$ -葡聚糖酶对茯苓多糖的降解效应,优化筛选了 $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖的技术参数。结果表明:反应温度 55℃、时间 90 min、pH 5.5、酶浓度 6.5%是 $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖的最优技术参数,在该参数条件下,应用 $\beta$ -葡聚糖酶提取茯苓多糖的得率为 13.31%,对茯苓多糖的高值化利用具有较好的参考指导价值。

**关键词:**茯苓;茯苓多糖; $\beta$ -葡聚糖酶;酶促降解;提取

中图分类号:S 567.3<sup>+</sup>2 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2011)24-0018-05

茯苓为多孔菌科真菌茯苓的干燥菌核,是我国传统的中药材,又名茯菟,已有二百多年的应用历史,具有健脾健胃、安神守心、利水渗湿等功能,常用于治疗小便不利、水肿胀满、痰饮咳逆、呕秽、泄泻、惊悸和健忘等疾病<sup>[1-2]</sup>。茯苓的主要成分是茯苓聚糖(约占干重的 93%),经化学修饰切去茯苓聚糖分子主链上的 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-葡聚糖支链后,得到的 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-葡聚糖称为茯苓多糖,只有茯苓聚糖转化成为茯苓多糖才具有活性。茯苓多糖的提取一般用热水浸提法、碱液浸提法、酸液浸提法等先得到茯苓多糖的粗品,再通过纯化工工艺得到茯苓多糖的精品。但是据文献报道,运用传统的水提醇沉法茯苓多糖的提取得率仅为 1.3%。热水浸提法时间长且多糖提取率低,而酸碱液浸提法浸提程序较复杂,浸提条件较剧烈,极易破坏多糖的立体结构,使其生物活性受到限制<sup>[3]</sup>。运用微波法辅助提取茯苓多糖得率为 2.4%<sup>[4]</sup>,较之前的热水浸提法有了大幅提升;植物复合酶法提取茯苓多糖的得率为 3.56%,酶解加热水浸提法提取茯苓多糖的得率为 5.31%<sup>[5]</sup>。该试验拟用酶法降解茯苓多糖,选用 $\beta$ -葡聚糖酶为外源酶。 $\beta$ -葡聚糖酶是指可将 $\beta$ -葡聚糖降解为低分子量片断的酶,对 $\beta$ -葡聚糖具有重要的水解作用,其主要来源于微生物<sup>[6]</sup>。它的 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 4)糖苷键结构使其较其它酶类更适合降解茯苓多糖的 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-葡萄

糖聚合体,可最大限度的将茯苓多糖中的葡聚糖聚合体降解为还原糖和寡糖,将能提高茯苓多糖的得率,为茯苓多糖的开发利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

茯苓购于湖南省长沙市高桥大市场, $\beta$ -葡聚糖酶购于宁夏夏盛酶制剂公司。主要仪器为循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司 SHB-III),分光光度计(unic7200 specnhotometer SHB-III),鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司 DHG-9240A),粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司 FZ102),分析天平(上海精科天平 FAZ104S)。主要试剂为浓硫酸(分析型)、苯酚、精制葡萄糖、柠檬酸、磷酸氢二钠。

### 1.2 试验方法

原材料茯苓购买回来后可能会存在部分吸水现象,将其放入温度为 103℃的烘箱进行烘干,至测得它的含水量不超过 2%;将干燥后的茯苓用粉碎机进行粉碎,收集粒度低于 60 目筛的茯苓颗粒,室温贮藏于密封塑料袋中备用。

### 1.3 测定项目

**1.3.1 酶提取液中茯苓多糖含量的测定** 酶提取液中多糖含量采用改良后的苯酚浓硫酸法<sup>[6]</sup>,配制完成后放置 30 min 测定。将提取液定容至 500 mL 容量瓶中,准确量取定容好的样品 0.25 mL 于 25 mL 容量瓶中,加蒸馏水至 4 mL,加入 5%的苯酚溶液 2 mL,快速加入浓硫酸 6.0 mL,摇匀,使之充分混合,室温静置 30 min,在 490 nm 的波长下检测,记录吸光度值。利用葡萄糖标准曲线回归方程计算出多糖得率。

**1.3.2 标准曲线的制作** 精密称取 105℃ 干燥恒重的葡萄糖 100 mg 加水溶解至 500 mL 的容量瓶中,定容。精密量取葡萄糖对照品溶液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、

第一作者简介:郭雨桐(1987-),女,宁夏银川人,在读硕士,研究方向为药用植物资源工程。E-mail:gytyjj@126.com。

责任作者:肖文军(1969-),男,湖南城步人,教授,研究方向为植物功能成分的分离纯化工程。E-mail:xiaowenjun88@sina.com。

基金项目:湖南省科学技术厅资助项目(S2009W2052; 2008WK3001)。

收稿日期:2011-10-14

0.8、1.0、1.2 mL 置于 25 mL 容量瓶中,分别加水至 4.0 mL,分别加入 5% 的苯酚溶液 2 mL,再加入浓硫酸 6.0 mL,摇匀,使之充分混合,室温静置 30 min,在 490 nm 的波长下检测,记录吸光度值 A。得出回归方程  $A=5.46C-0.0083$ ,  $R^2=0.9993$ 。

1.3.3 茯苓多糖含量测定 多糖含量/% =  $[C \times V \times D / W \times 1000] \times 100$ 。式中: C 为测得的样品溶液的葡萄糖质量(mg/mL); D 为样品溶液的稀释倍数; V 为测定液总量(mL); W 为样品的质量(g)。

#### 1.4 $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖的提取工艺优化

1.4.1 酶反应的最适温度 调节恒温水浴锅,分别设定反应温度为 40、50、55、60、65℃, pH 5.5, 反应时间为 90 min,准确称取  $\beta$ -葡聚糖酶 0.10 g。置于小烧杯中(50 mL),加入 10 mL 40℃ 蒸馏水活化 10 min;准确称取粉碎后茯苓 2.0000 g 置于锥形瓶中,准确量取 60 mL pH 5.5 的缓冲液倒入锥形瓶中,缓缓加入活化后酶液并轻轻搅拌,再量取 10 mL 缓冲液用以清洗小烧杯,洗液一并倒入锥形瓶。轻轻振荡锥形瓶后分别放入调节好温度的水浴锅中,反应时间到后,对反应液进行酶的灭活,最后用苯酚浓硫酸法检测反应液中茯苓多糖的含量,比较得出最适反应温度。

1.4.2 酶反应的最适 pH 配制不同 pH 的柠檬酸- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液调节底物溶液的 pH 为 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5,反应温度为 1.4.1 中确定的最适值,反应时间、提取液用量、酶用量与 1.4.1 中相同。操作方法同上,计算比较得出最适反应 pH 值。

1.4.3 酶反应的最适时间 调节水浴锅温度至 1.4.1 中确定的最适值,底物溶液 pH 至 1.4.2 中最适值,提取液用量、酶用量与 1.4.1 中相同,分别设定反应时间为 60、90、120、150、180 min。操作方法同上,计算比较得出最适反应时间。

1.4.4 酶反应的最适酶用量 其它条件均为以上各步骤所确定的最适值,酶反应的酶用量分别设定为 0.01、0.03、0.07、0.10、0.13 g。操作方法同上,比较得出最适酶用量。

1.4.5 单因子正交实验 选取 4 个主要因素:酶用量、提取时间、提取温度、pH 值;每个因素设 3 个水平,选用了  $L_9(3^4)$  正交表<sup>[7]</sup>。以茯苓多糖的得率为指标,根据试验结果进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 酶解反应温度对茯苓多糖提取率的影响

准确称取茯苓 2.0000 g 于锥形瓶中, $\beta$ -葡聚糖酶用量为 0.10 g,调节恒温水浴锅,分别设定反应温度为 40、50、55、60、65℃。缓冲液 pH 5.5,反应时间 90 min。由图 1 可知,酶解温度在 50~60℃ 之间,随着温度的升高,多糖的提取率随之增大;但温度上升到

55℃ 后,随着温度的升高,多糖的含量反而减少。说明当温度超过最适温度后,可能是由于  $\beta$ -葡聚糖酶出现变性,酶活力随之降低,影响了与底物的结合,茯苓多糖的提取量随之下降,而温度过低则会降低反应速度。因此,选用 55℃ 为酶解的最佳温度。

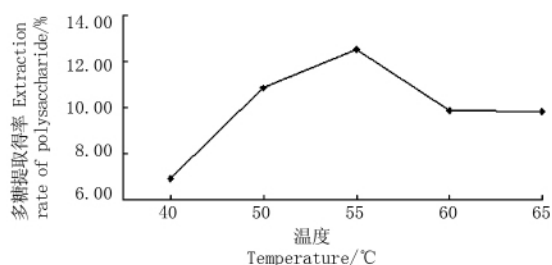


图 1 酶解反应温度对提取的影响

Fig. 1 The effect of enzymolysis time on the extraction

### 2.2 溶剂 pH 对茯苓多糖提取率的影响

准确称取茯苓 2.0000 g 于锥形瓶中, $\beta$ -葡聚糖酶用量为 0.10 g,设定反应温度为 55℃,配制不同 pH 的缓冲液,调节底物溶液的 pH 为 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5,反应时间 90 min。由图 2 可知,pH 在 4.5~5.5 之间时,多糖的提取率明显增加,而 pH 为 5.5~6.5 时,多糖提取率呈下降趋势,当溶剂 pH 5.5 时多糖的提取量达最高值。结果说明,溶剂的 pH 值对  $\beta$ -葡聚糖酶酶活力的影响较明显。当 pH 高于 5.5 时,酶与底物的结合率降低,使得多糖的提取率降低。在 pH 5.5 时,多糖的提取量最高,故  $\beta$ -葡聚糖酶提取茯苓多糖的最佳 pH 为 5.5。

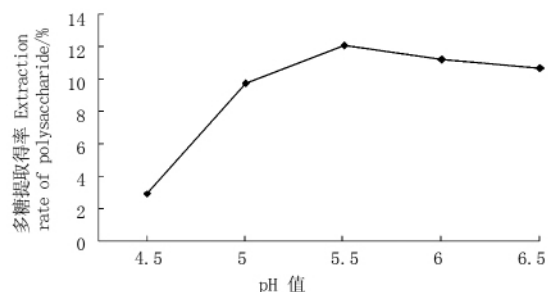


图 2 溶剂 pH 值对提取的影响

Fig. 2 The effect of pH of extraction solvent on the extraction

### 2.3 $\beta$ -葡聚糖酶反应时间对茯苓多糖提取率的影响

准确称取茯苓 2.0000 g 于锥形瓶中, $\beta$ -葡聚糖酶用量为 0.10 g,设定反应温度为 55℃,缓冲液 pH 5.5,分别设定反应时间为 60、90、120、150、180 min。由图 3 可知,在 60~90 min,随着  $\beta$ -葡聚糖酶反应时间的延长,多糖含量逐渐增加,但在 90~120 min,多糖含量却出现下降,120~150 min,多糖的提取量又有所升高,并在 150~180 min 多糖含量趋于稳定,接近于反

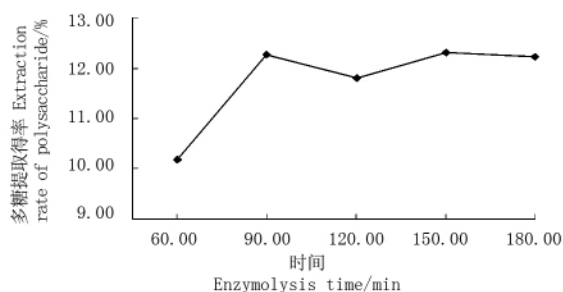


图3 酶解反应时间对多糖提取的影响

Fig. 3 The effect of enzymolysis time on the extraction

应时间为 90 min 的多糖提取量。虽然提取时间延长, 但 180 min 的多糖提取量与 90 min 相差不大, 出现这种现象, 可能是酶解反应时间过长引起糖的结构发生变化, 甚至发生碳链裂解, 导致多糖含量并无增加甚至减少, 而且时间过长也会使杂质溶出。所以选择 90 min 为  $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖的最佳反应时间。

#### 2.4 $\beta$ -葡聚糖酶用量对茯苓多糖提取率的影响

准确称取茯苓 2.0000 g 于锥形瓶中, 设定反应温度为 55℃, 冲液 pH 5.5, 反应时间为 90 min, 分别准确称取  $\beta$ -葡聚糖酶 0.01、0.03、0.07、0.10、0.13 g。由图 4 可知, 当  $\beta$ -葡聚糖酶的用量为 0.01~0.10 g 时, 多糖提取量随酶用量增加而逐渐升高; 而当酶用量大于 0.10 g 时, 随着酶用量的增加, 多糖含量呈平稳趋势。

由此可见, 酶用量增加虽能提高茯苓多糖提取量, 但作用有限, 并非酶用量越大多糖提取量越高, 可能是由于酶与底物作用达到饱和状态所致。故宜选择 0.10 g 的酶用量 (即酶用量为 5%)。

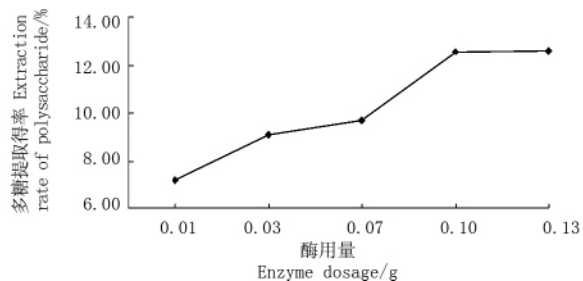


图4 酶用量对多糖提取的影响

Fig. 4 The effect of enzyme dosage on the extraction

#### 2.5 正交实验

单因素试验初步优化的工艺条件为: 酶解反应温度 55℃, 溶剂 pH 5.5, 酶解反应时间 90 min, 酶用量 5% (0.10 g)。单因素试验结果表明, 酶解反应温度、溶剂 pH 值、酶解反应时间、酶用量对茯苓多糖的提取率影响较大, 在此基础上设计正交实验: 酶解反应温度 50、55、60℃, 溶剂 pH 5.0、5.5、6.0, 酶解反应时间 60、90、120 min, 酶用量 0.07、0.10、0.13 g, 即 3.5%、5.0%、6.5%, 进行正交实验。选用因素及水平见表 1, 正交实验结果见表 2。

表 1

酶法正交因素水平

Table 1

The factors level  $L_9 (3^4)$

水平 Levels	酶用量 Enzyme dosage/g	酶解反应时间 Enzymolysis time/min	酶解温度 Enzymolysis temperature/℃	pH 值 pH value
1	0.07	60	50	5.0
2	0.10	90	55	5.5
3	0.13	120	60	6.0

表 2

酶法正交实验结果

Table 2

Results of orthogonal test

试验号 No.	A 酶用量 Enzyme dosage/g	B 酶解反应时间 Enzymolysis time/min	C 酶解温度 Enzymolysis temperature/℃	D pH 值 pH value	吸光度 A	多糖含量 Content of polysaccharide/%
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub>	0.07	60	50	5.0	0.4615	8.60
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	0.07	90	55	5.5	0.5455	10.14
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub>	0.07	120	60	6.0	0.4880	9.09
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	0.10	60	55	6.0	0.6075	11.28
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub>	0.10	90	60	5.0	0.6645	12.32
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub>	0.10	120	50	5.5	0.6670	12.37
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>2</sub>	0.13	60	60	5.5	0.7015	13.00
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub>	0.13	90	50	6.0	0.7215	13.13
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub>	0.13	120	55	5.0	0.7260	13.08
K <sub>1</sub>	9.277	10.960	11.367	11.333		
K <sub>2</sub>	11.990	11.863	11.500	11.837		
K <sub>3</sub>	13.070	11.513	11.470	11.167		
R	3.793	0.903	0.133	0.670		

由表 2 可知,由于 4 个因素的极差值  $R_A > R_B > R_D > R_C$ ,故影响茯苓多糖降解的因素的主次顺序为:  $A > B > D > C$ ,且经过方差分析表 3 可知,酶用量对多糖提取率的影响效果显著,而酶解时间、pH 值和酶

解温度对多糖提取率的影响效果不显著。由此得出,降解茯苓多糖的最佳组合为  $A_3 B_2 C_2 D_2$ ,即  $\beta$ -葡聚糖酶的用量为 0.13 g(6.5%),酶解反应时间为 90 min,反应温度为 55℃,pH 5.5 为最佳组合。

表 3  $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖的正交实验  $L_9(3^4)$  结果方差分析

Table 3 Variance analyse of orthogonal experimental results

因素 Factor	偏差平方和 Sum of square of deviations	自由度 Degree of freedom	F 比 F-ratio	$F_{0.05}$ 临界值 $F_{0.05}$ critical value	显著性 Significance
酶用量 Enzyme dosage/g	22.918	2	31.395	19.000	显著
提取时间 Extraction time/min	1.245	2	1.705	19.000	不显著
温度 Temperature/℃	0.029	2	0.040	19.000	不显著
pH 值 pH value	0.073	2	1.000	19.000	不显著
误差 Error	0.73	2			

## 2.6 最佳工艺条件的验证

以正交实验得出的最佳工艺参数进行验证试验,结果见表 4。通过单因子试验和正交实验筛选出的参数为  $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖的最佳工艺,茯苓多糖的平均提取率为 13.31%。

表 4 最佳工艺参数验证结果

Table 4 Result of authenticated test

试验号 No.	投料量 Dosage/g	多糖含量 Content of polysaccharide/%
1	2.000	13.28
2	2.000	13.25
3	2.000	13.39

## 3 讨论与结论

有试验表明,茯苓多糖在 90% 甲酸中加热,进行部分水解,修饰后的茯苓多糖可以溶解于水,完全水解的茯苓多糖,主要的寡糖成分是海带二糖、海带三糖、海带四糖和五糖,由此得出茯苓多糖是一种由(1→3)链接的  $\beta$ -葡聚糖<sup>[8]</sup>。该试验中采用的外源酶为用真菌发酵制成的  $\beta$ -葡聚糖酶,能够作用于植物细胞壁中的结构性非淀粉多糖  $\beta$ -葡聚糖的  $\beta$ -(1→3), (1→4) 糖苷键,使葡聚糖降解为寡糖。所以,该试验用酶可很好的将以  $\beta$ -(1→3) 糖苷键为主的茯苓多糖降解为寡糖,再用苯酚-浓硫酸法通过分光光度计检测其寡糖含量,进而得到茯苓多糖的提取率。 $\beta$ -葡聚糖酶对  $\beta$ -(1→3) 葡聚糖具有重要的水解作用,能使其降解为低分子量片段,失去亲水性和黏性;此外, $\beta$ -葡聚糖酶还可破坏植物细胞壁结构,增加细胞壁的通透性,促进茯苓多糖的浸出,进而达到提高茯苓多糖酶解得率的目的。

与其它的茯苓多糖提取方式相比较,将  $\beta$ -葡聚糖酶作为外源酶提取茯苓多糖有以下优点:茯苓多糖的得率有大幅提高;提取条件温和、杂质含量低、提取液粘度低;所得茯苓多糖立体结构不易被破坏、生物活性高,适合于药品及保健品的开发研制;提取过程能耗降

低,周期缩短,更加经济。因此是一种很好的提取茯苓多糖的方法。

该试验通过查找文献确定  $\beta$ -葡聚糖酶为降解茯苓多糖的最佳外源酶,并在此基础上探寻最佳的工艺参数,以达到茯苓多糖最好的降解效果。通过对酶用量、反应时间、反应温度、溶剂 pH 值 4 个因素的试验得出各单因子的最佳参数;又设计了四因素三水平的正交实验,综合以上试验得出最佳的工艺参数;最后 3 组验证试验数据充分证明了酶用量为 0.13 g(6.5%)、反应时间 90 min、反应温度 55℃、pH 5.5 为  $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖的最优工艺。试验得出  $\beta$ -葡聚糖酶降解茯苓多糖得率可达 13.31%,较文献中多糖得率有很大提高,此方法可为茯苓多糖的酶解提供技术支持,使茯苓多糖在医药领域应用更广泛,充分发挥其功效,提高茯苓的价值。

## 参考文献

- [1] Kanayama H, Adachi N, Togami M. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1983, 31(3): 1115-1118.
- [2] Narui T, Takahashi K, Kobayashi M, et al. A polysaccharide produced by laboratory cultivation of *Poria cocos* Wolf [M]. Carbohydr. Res., 1980, 87: 161-163.
- [3] 张璐, 刘强. 茯苓多糖制备工艺及药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(4): 61-63.
- [4] 陈端端. 微波法与传统工艺提取茯苓多糖的比较研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(11): 130.
- [5] 王在贵, 莫宏波, 杨普. 饲用木聚糖酶、 $\beta$ -葡聚糖酶的研究与应用进展 [J]. 饲料工业, 2003(1): 16-18.
- [6] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Anal Chem, 1956, 28: 350.
- [7] 盖钧镒. 试验统计方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 382.
- [8] 吴东孺. 糖类的生物化学 [M]. 1 版. 上海: 高等教育出版社, 1987: 551-553.

# 拉肖皂苷 C 对西瓜种子萌发和幼苗生长的影响

马 力<sup>1</sup>, 罗军勇<sup>2</sup>, 王维彦<sup>1</sup>, 张存莉<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 生命科学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西安市绿化养护管理处, 陕西 西安 710032)

**摘 要:**以西瓜为试材,以蒸馏水和 0.05 mg/L 的油菜素内酯溶液为对照,研究 0.0005、0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5 mg/L 浓度拉肖皂苷 C(LG-C)对西瓜种子萌发及幼苗生长的影响。结果表明:用不同浓度拉肖皂苷 C 浸种,西瓜种子萌发及幼苗生长状况差异显著。浓度为 0.001 mg/L 的拉肖皂苷 C 浸种最有利于种子萌发。与对照相比,西瓜幼苗生长量及健壮程度均有不同程度的增加,且呈现出低浓度促进、高浓度抑制的生长趋势,其中浓度为 0.005 mg/L 的拉肖皂苷 C 浸种效果最好。

**关键词:**拉肖皂苷 C;浸种;种子萌发;幼苗生长

**中图分类号:**S 482.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)24-0022-03

油菜甾醇类(BRs)物质普遍存在于植物界,已被公认为是区别于五大激素的一类新型植物激素,具有极高的生理活性。油菜甾醇类激素在不同植物及其不同器官均有广泛分布,是目前国内外研究最多的、促进植物高效增产的内源生长调节剂。外源甾体类激素,尤其是油菜甾醇类化合物也对一些植物种子的萌发及其幼苗生长具有促进作用。

**第一作者简介:**马力(1987-),男,在读硕士,现主要从事生物质资源开发与利用方面的研究工作。E-mail:625626505@qq.com。

**责任作者:**张存莉(1967-),女,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事天然产物化学和植物资源利用学方面的教学和科研工作。E-mail:zhangcunli529@163.com。

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(30840063)。

**收稿日期:**2011-09-29

拉肖皂苷 C(LG-C)是从百合科(Liliaceae)菝葜属(*Smilax*)植物黑刺菝葜(*Smilax scobinicaulis*)的根中提取出的一种甾体皂苷。拉肖皂苷 C 与油菜素内酯(BR)均具有油菜甾醇类植物激素相同的活性官能团。拉肖皂苷 C 作为一种甾体类激素类似物,其对植物的生理效应尚未引起普遍关注,对西瓜的作用尚未见报道。

现以西瓜为试材,对拉肖皂苷 C 浸种对西瓜的生长进行初步研究,明确拉肖皂苷 C 的生物学效应,以期拉肖皂苷 C 在农业生产上的应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 试材 “西农八号”西瓜种子(先正达生物科技有限公司),无土栽培基质、穴盘、营养钵(购自陕西杨陵华星种苗)。

1.1.2 试剂 拉肖皂苷纯品(实验室自制),油菜素内酯纯品(购自云南大学)。

## The Effect of $\beta$ -Glucanase in Degradation Pachymaran

GUO Yu-tong<sup>1,2</sup>, XIAO Wen-jun<sup>1</sup>

(1. College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128; 2. State Administration of Traditional Chinese Medicine Sub-health Intervention Technology Laboratory, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128)

**Abstract:** With the single-factor test, orthogonal experiment and verification test on enzyme dosage, enzymolysis time, enzymolysis temperature and pH value, using resource-rich, high-polysaccharide *Poria cocos* as the raw material and extraction rate of pachymaran as the comparative standard, the  $\beta$ -glucanase effective on the degradation of pachymaran systematically and optimized the selection of the  $\beta$ -glucanase's technical parameters on the degradation of pachymaran were studied. The results showed that when the pH was 5.0, the enzyme dosage was 0.13 g(6.5%), the enzymolysis temperature was 55°C, and the enzymolysis time was 90 min, the extraction rate of pachymaran, using the  $\beta$ -glucanase was 13.31%. It was significantly superior to the traditional yield of pachymaran.

**Key words:** *Poria cocos*; *Poria cocos* polysaccharide;  $\beta$ -glucanase; enzymatic degradation; extract