

黑木耳多糖的提取工艺研究

何彩梅, 唐 政

(贺州学院 化学与生物工程系, 广西 贺州 542899)

摘 要:在液料比、水浴浸提时间、水浴浸提温度、微波处理时间单因素试验的基础上,应用微波辅助水浸提法,采用4因素3水平正交实验设计,研究了广西贺州黑木耳多糖的最佳提取工艺。结果表明:以多糖的得率为考察指标筛选黑木耳多糖微波辅助水浸提法的最优提取工艺为:液料比30 mL/g,水浴浸提温度80℃,水浴浸提时间2.0 h,微波处理时间3 min,在此条件下黑木耳多糖得率为3.972%,低于已报道的其它黑木耳多糖得率,有待进一步研究。

关键词:黑木耳;多糖;微波辅助;提取工艺

中图分类号:S 646.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)07-0156-03

黑木耳(*Auricularia auricula*)是我国珍贵的药食胶质真菌,具有补气血、润肺、滋补强壮等作用^[1]。已有研究表明,黑木耳的生物活性主要来自其多糖成分^[2],并已证实黑木耳多糖具有抗凝血、抗肿瘤、抗炎等细胞保护作用,还具有降低血脂、血糖、血液黏度、胆固醇以及抗糖尿病、抗衰老、抗辐射、抗疲劳等多种生理功能,同时还能促进核酸、蛋白质的生物合成并防治多种老年性疾病^[3-11]。现已成为食品、医疗、保健等领域的研究热点。因此,提高黑木耳多糖得率的研究具有重要意义。近年来,微波辅助提取技术凭借其高效、快速、低能耗等优点被广泛应用于天然产物领域^[12-15]。现应用微波辅助水浸提法,采用正交实验设计研究了广西贺州黑木耳多糖提取的最优工艺条件,以期在黑木耳多糖的提取提供参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黑木耳(产自广西贺州),经清洁、消毒、烘干、粉

碎、筛分、密封、包装后存放于阴凉处备用。试剂:0.1 mg/mL 葡萄糖溶液、2 g/L 蒽酮、无水乙醇(分析纯)。试验仪器:723型可见光分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);微波炉(广东顺德市美的微波炉制造有限公司);HH-S恒温水浴锅(江苏国胜实验仪器厂);JJ-Z组织捣碎匀浆机(江苏省金坛市医疗仪器厂);电子天平(常熟市百灵天平仪器有限公司);离心机(江苏省金坛市医疗仪器厂)。

1.2 试验方法

1.2.1 粗多糖的提取 称取5.0 g黑木耳粉于烧杯中,按一定的液料比、水浴浸提温度、水浴浸提时间、微波处理时间对黑木耳进行多糖提取,提取液过滤,浓缩至约滤液体积的1/4,再加入一定体积无水乙醇,使终浓度为80%进行沉淀^[16],所得沉淀经离心、冷冻干燥后得粗多糖样品。

1.2.2 单因素试验 微波处理时间选取1、2、3、4、5 min 5个水平,水浴浸提时间选取1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h 5个水平,水浴浸提温度选取60、70、80、90℃ 4个水平,分别进行单因素试验。液料比选取20、25、30、35、40 mL/g 5个水平。

1.2.3 正交实验 根据单因素试验结果,以多糖得率为考察指标,选取液料比、水浴浸提时间、水浴浸提温度、微波处理时间4项作为考察因素,进行4因素3水平 $L_9(3^4)$ 正交实验设计,以确定黑木耳粗多糖提取的最优工艺条件,因素水平见表1。

第一作者简介:何彩梅(1984-),女,硕士,助教,现主要从事植物生理生化等研究工作。E-mail:shwjs@126.com.

责任作者:唐政(1977-),男,广西富川人,博士,讲师,研究方向为作物生态学和食品安全。E-mail:bioecology74tang@yeah.net.

基金项目:贺州学院博士科研启动基金资助项目(HZUBS201005);贺州学院院级资助项目(2012pyzk12)。

收稿日期:2012-12-13

Abstract: Taking *Tribulus terrestris* L. as test material, the effect of 4 different temperature bake-dried processes, dried in the shade and dried in the sun and storage condition by the way of simulating irrigation on the contents of main active constituents content of *Tribulus terrestris* L. were studied. The results showed that drying in the shade or 70℃ bake-dried processes was the suitable processing methods for *T. terrestris* L.. The flavonoids and saponins lost 15.76% and 13.96% respectively after 4 h storage in wet condition, which meant it would not tolerate wet.

Key words: *Tribulus terrestris* L.; processing ways; storage conditions; quality

表 1 正交实验因素水平

序号	A 液料比 /mL·g ⁻¹	B 浸提时间 /h	C 微波处理时间 /min	D 浸提温度 /℃
1	25	1.5	1	70
2	30	2.0	3	80
3	35	2.5	5	90

1.2.4 多糖得率标准曲线的制作 准确量取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 葡萄糖标准液(0.1 mg/mL)于 6 支试管中,分别加入蒸馏水至 1.0 mL,摇匀后加入 4 mL 蒽酮试剂,冷却,100℃ 恒温水浴锅水浴 10 min,冷却,室温放置 10 min 后于 490 nm 波长的分光光度计下测 OD 值^[17],以 5.0 mL 蒸馏水为空白对照,以葡萄糖浓度为横坐标,OD 值为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为: $y=0.0052x+0.002(R^2=0.999)$ 。黑木耳多糖得率计算:粗多糖样品加蒸馏水定容至 100 mL,按照葡萄糖标准曲线的方法测其 OD 值,根据标准曲线得黑木耳粗多糖中多糖的浓度,然后按下式计算多糖得率:多糖得率= $Y \times 100 \times 10 / G \times 10^6$,其中,Y 为多糖的浓度;100 为定容后体积;10 稀释倍数;G 为样品重量; 10^6 样品重量单位 g 换算成 μg 的倍数。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 微波处理时间对黑木耳多糖得率的影响 图 1 为液料比 1:30,水浴浸提温度 80℃,水浴浸提时间 2.0 h 时,不同微波处理时间对多糖得率的影响。由图 1 可知,随着微波处理时间延长,多糖得率有逐渐增大的趋势。这是由于处理时间过短,微波对黑木耳细胞膜的破坏作用有限,得率较低,随着时间的延长微波对细胞膜的破坏作用增大,多糖溶出增多,得率也相应增加。但超过 3 min 后得率不再增加,反而有所降低。这是由于微波加热升温极其迅速,当处理时间过长时,会因部分多糖分解而造成损失,因此选取微波处理时间为 3 min。

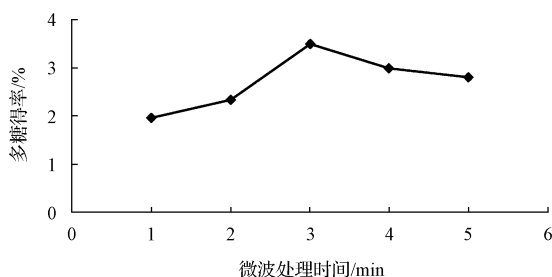


图 1 微波处理时间对黑木耳多糖得率的影响

2.1.2 水浴浸提时间对黑木耳多糖得率的影响 图 2 为液料比 1:30,水浴浸提温度 80℃,微波处理时间 3 min 时,不同水浴浸提时间对多糖得率的影响。由图 2 可知,当水浴浸提时间在 1.0~1.5 h 时多糖得率变化趋

于平缓,这是由于浸提时间较短时,多糖溶解不充分。在 1.5~2.0 h 时,多糖溶解逐渐增多,得率急剧增大。当超过 2.0 h 后,浸提剂几乎饱和且多糖在热及微波作用下发生断裂,所以得率下降,因此选取水浴浸提时间为 2.0 h。

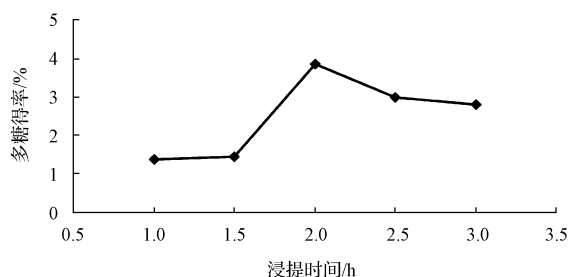


图 2 水浴浸提时间对黑木耳多糖得率的影响

2.1.3 水浴浸提温度对黑木耳多糖得率的影响 图 3 为液料比 1:30,水浴浸提时间为 2 h,微波处理时间 3 min 时,不同水浴浸提温度对多糖得率的影响。由图 3 可知,当水浴浸提温度低于 80℃ 时,随温度升高多糖得率呈上升趋势,在 80℃ 时,多糖得率达到最大值。再升高温度,多糖得率开始下降。这是由于在升温 and 微波作用下,多糖结构遭到破坏,造成得率下降。因此选取水浴浸提温度为 80℃。

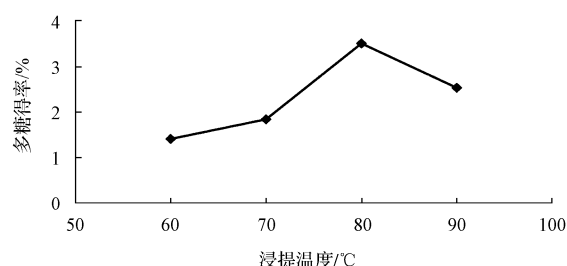


图 3 浸提温度对黑木耳多糖得率的影响

2.1.4 液料比对黑木耳多糖得率的影响 图 4 为水浴浸提温度 80℃,微波处理时间 3 min,水浴浸提时间 2.0 h 时,不同液料比对多糖得率的影响。由图 4 可知,随着液料比的增大,多糖得率逐步提高,当液料比超过 30 mL/g 后得率逐渐下降,因此选取的液料比为 30 mL/g。

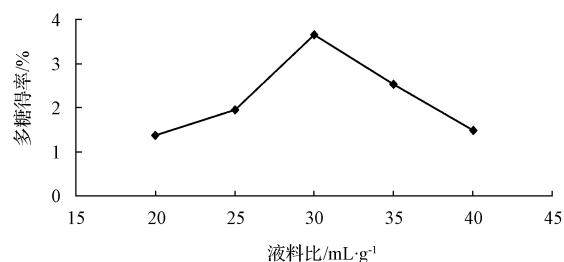


图 4 液料比对黑木耳多糖得率的影响

2.2 正交实验

由正交实验结果和极差分析可知,影响黑木耳多糖提取因素的主要顺序为水浴浸提时间(B),水浴浸提温度(D),微波处理时间(C),料液比(A);最优组合为 $A_2B_2C_2D_2$ 即液料比 30 mL/g,水浴浸提时间 2.0 h,微波处理时间 3 min,水浴浸提温度 80℃,在此最优提取条件下,黑木耳多糖得率为 3.972%,低于已报道的其它黑木耳多糖得率^[18-20],是试验失误,还是地域差异,有待进一步研究。

表 2 正交实验结果

实验号	A 液料比 /mL·g ⁻¹	B 浸提时间 /h	C 微波处理 时间/min	D 浸提温度 /℃	多糖得率 /%
1	1	1	1	1	2.23
2	1	2	2	2	3.60
3	1	3	3	3	1.80
4	2	1	2	3	2.94
5	2	2	3	1	2.36
6	2	3	1	2	2.37
7	3	1	3	2	2.46
8	3	2	1	3	3.07
9	3	3	2	1	1.73
K ₁	7.63	7.63	7.67	6.32	
K ₂	7.67	9.03	8.27	8.43	
K ₃	7.26	5.90	6.62	7.81	
极差 R	0.137	1.043	0.550	0.703	

3 结论

采用水为浸提剂,用微波进行处理提取黑木耳多糖,其最优工艺条件为液料比 30 mL/g,水浴浸提时间 2.0 h,微波处理时间 3 min,水浴浸提温度 80℃,在此最优提取条件下,黑木耳多糖得率为 3.972%。

参考文献

- [1] 都风华,刘景圣,王晶. 黑木耳、青椒复合果酱的研制[J]. 食品科学, 2006,27(7):270-272.
- [2] 张大为,赵亮,刘同军,等. 黑木耳多糖及其生物活性[J]. 食品与药品, 2007(9):68-70.

- [3] 于颖,徐桂花. 黑木耳多糖生物活性研究进展[J]. 中国食物与营养[J]. 2009(2):55-57.
- [4] 韩春然,徐丽萍. 黑木耳多糖的提取、纯化及降血脂作用的研究[J]. 中国食品学报, 2007,7(1):54-58.
- [5] 宗灿华,于国萍. 黑木耳多糖对糖尿病小鼠降血糖作用的研究[J]. 食用菌, 2007(4):60-61.
- [6] 周国华. 黑木耳多糖抗衰老及降血脂生物功效的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2005.
- [7] Seon-Joo Y, Myeong-Ae Y. The nontoxic mushroom *Auricularia auricula* contains a polysaccharide with anticoagulant activity mediated by antithrombin[J]. Thrombosis Research, 2003,112:151-158.
- [8] 张秀娟,于慧茹,耿丹,等. 黑木耳多糖对荷瘤小鼠细胞免疫功能的影响[J]. 中成药, 2005,27(6):691-693.
- [9] 张润光,刁小琴,关海宁. 黑木耳营养保健功能及其产品开发[J]. 保鲜与加工, 2010,10(1):54-56.
- [10] 刘雅静,袁延强,刘秀河,等. 黑木耳营养保健研究进展[J]. 中国食物与营养, 2010,10(7):66-68.
- [11] 李志强,郑慧哲,刘鹤瑞,等. 黑木耳多糖对兔动脉粥样硬化斑块中 FAK 表达的影响[J]. 牡丹江医学院学报, 2011,32(1):1-3.
- [12] 郭振库,王旭兵. 微波提取技术的研究方向探讨[J]. 材料导报, 2007,21(11):28-33.
- [13] 黎海彬,王邕,李俊芳,等. 微波辅助提取技术在天然产物提取中的应用[J]. 现代食品科技, 2005,21(3):148-150.
- [14] 张忠,李静,花旭斌,等. 微波辅助提取茶籽多糖工艺条件的研究[J]. 四川食品与发酵, 2007,43(1):23-25.
- [15] Pan X J. Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root[J]. Biochem, 2000,59(5):173-177.
- [16] 魏红,吴向阳,仰榴青,等. 黑木耳多糖的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2010,31(5):109-111.
- [17] 李超,王磊,任遥. 黑木耳多糖提取工艺条件的研究[J]. 食品工业, 2012,33(8):128-131.
- [18] 倪兆林,申元英,白丽,等. 云龙黑木耳中多糖的提取与测定[J]. 大理学院学报, 2012,11(3):31-34.
- [19] 王晓军,李颖. 微波辅助提取黑木耳多糖的研究[J]. 纺织高校基础科学学报, 2010,23(1):95-98.
- [20] 曾维才,张曾. 响应面法优化微波辅助提取黑木耳多糖工艺的研究[J]. 食品与发酵科技, 2011,47(5):45-48.

Study on Extraction Technology of Polysaccharides from *Auricularia auricula*

HE Cai-mei, TANG Zheng

(Department of Chemistry and Bioengineering, Hezhou University, Hezhou, Guangxi 542899)

Abstract: On the basis of single factor test of water to material ratio, extraction temperature, extraction time and microwave time, four factors and three levels of the orthogonal experiment was designed to optimize the extraction technology of polysaccharides from *Auricularia auricula* in Hezhou of Guangxi using microwave assisted water extraction method. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: water to material ratio 30 mL/g, extraction temperature 80℃, extraction time 2.0 h, microwave time 3 min. Under these conditions, the yield of *Auricularia auricular* polysaccharide was 3.972%, was much lower than other polysaccharide that has been reported, needs to be further research.

Key words: *Auricularia auricular*; polysaccharides; microwave assisted; extraction technology