

文章编号:1671-1513(2011)05-0030-06

微波辅助提取双孢蘑菇柄中多糖的工艺研究

谢建华¹, 庞杰², 李志明¹, 谢丙清¹, 余奇飞¹, 陈艺碳³

(1. 福建漳州职业技术学院 食品与生物工程系, 福建 漳州 363000;

2. 福建农林大学 食品科学学院, 福建 福州 350002;

3. 武汉大学 资源与环境科学学院, 湖北 武汉 430072)

摘要:为提高双孢蘑菇柄中多糖的提取率,采用微波辅助法提取双孢蘑菇柄中多糖.分别对微波功率、微波处理时间、液料比、提取次数4个因素进行单因素实验和正交试验,并通过极差、方差分析,对提取过程中显著影响提取率的因素进行了统计分析.结果表明:微波辅助提取多糖的较佳工艺条件为微波强度60%、辐射时间6 min、液料比1:12、提取次数4次,该工艺条件下提取多糖提取率为1.64%.

关键词:双孢蘑菇柄;多糖;微波辅助提取;正交试验

中图分类号:TS210.4;TS242.9

文献标志码:A

多糖是来自高等植物、动物细胞膜、微生物细胞壁中的一类天然生物大分子物质,具有多方面的生物活性和保健功能,是所有生命有机体的重要组成部分,并与维持生命所必需的多种生理功能有关,对于预防和治疗包括癌症在内的多种疾病都有巨大的潜力^[1-5].由于多糖多种多样的生物活性功能以及在功能食品和临床上广泛使用,使多糖生物资源的开发利用和研究日益活跃,成为天然药物、生物化学、生命科学的研究热点.

目前关于多糖提取的方法很多,如常规的水提法、酶提取法等^[6-7],但这些方法存在着费时,耗能高,成本高等缺点.近年来,国内外已将微波辅助技术应用于天然植物活性成分的提取^[8-11],该技术具有选择性高、提取时间短、易挥发性成分的提取率以及不需要特殊的分离步骤等优点.鉴于此,我们尝试将微波应用于双孢蘑菇柄中多糖的提取,并确定微波提取的较佳工艺条件,以期工业化生产提供理论基础和实验依据.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蘑菇柄,采摘福建漳州;95%浓硫酸(AR级);无水乙醇(AR级);苯酚(AR级);标准葡萄糖.

D8523CTL-2H电脑型微波炉(微波炉总功率1350W),格兰仕集团有限公司;80-2型离心机,上海浦东物理光学仪器厂;高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;WF722型可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;SHB-III循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司.

1.2 实验设计

1.2.1 单因素实验设计

采用微波辅助提取蘑菇柄中多糖,研究微波强度、料液比、微波时间、提取次数等因素对多糖提取效果的影响.

1.2.1.1 不同微波强度的提取实验

称取蘑菇柄样品,以1:6料液比加入蒸馏水,微波辐射6 min,提取次数为1次,比较不同微波炉

收稿日期:2011-05-23

基金项目:福建漳州市科技项目(Z05011).

作者简介:谢建华,男,讲师,硕士,主要从事农产品深加工及产品开发方面的研究;

庞杰,男,研究员,博士生导师,主要从事农产品深加工及产品开发方面的研究.通讯作者.

强度(20%,40%,60%,80%,100%)对多糖提取效果的影响,以选取较佳微波强度。

1.2.1.2 不同料液比的提取实验

在微波强度为60%,微波辐射6 min,提取次数为1次的条件下,比较不同料液比(1:4,1:6,1:8,1:10,1:12)对多糖提取效果的影响,以选取较佳料液比。

1.2.1.3 不同时间的提取实验

称取蘑菇柄样品,以1:8料液比加入蒸馏水,微波功率60%,提取次数为1次的条件下,比较不同辐射时间(2,6,10,14,18 min)对多糖提取效果的影响,以选取较佳辐射时间。

1.2.1.4 不同提取次数的提取实验

称取蘑菇柄样品,以1:8料液比加入蒸馏水,微波辐射6 min,微波炉功率采用60%,比较不同提取次数(1,2,3,4,5次)对多糖提取效果的影响,以选取较佳提取次数。

1.2.2 正交试验设计

为进一步优化蘑菇柄中多糖的提取工艺条件,在单因素实验的基础上,选 $L_{16}(4^5)$ 作正交试验设计^[12],以确定提取蘑菇柄中可溶性多糖的较佳工艺参数。

1.3 实验方法

1.3.1 蘑菇柄中多糖提取方法

准确称取50 g新鲜蘑菇柄→放入高速粉碎机粉碎→将粉碎后的蘑菇按各种条件(液固比、功率、时间、提取次数)进行微波提取→离心过滤→滤液浓缩→乙醇沉淀→粗多糖→定容(即为待测样液)。

1.3.2 多糖的含量测定^[13]

标准曲线制作:准确称取已干燥的标准葡萄糖0.5 g于500 mL容量瓶中,配制成1 mg/mL的标准葡萄糖溶液。分别吸取0,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 mL标准葡萄糖溶液,置于具塞试管中,加入苯酚试液各1 mL,摇匀。迅速加入浓硫酸各10 mL,放置5 min后,置于沸水浴中加热2 min,定容至25 mL,冷却后在490 nm处比色,绘制标准曲线,如图1。

图1 多糖标准曲线

Fig. 1 Standard curve of glucose

样品测定:吸取定容液2 mL,按上述步骤测定吸光度,计算含量。

$$\text{多糖提取率} = \frac{\text{提取液中多糖质量}}{\text{蘑菇柄取样质量}} \times 100.$$

2 结果与结论

2.1 单因素实验

2.1.1 微波强度对蘑菇柄中多糖提取率的影响

不同功率对微波辅助提取多糖效果的影响见图2。

图2 不同功率对微波辅助提取多糖效果的影响

Fig. 2 Effect of microwave power on polysaccharide yield

从图2中可以看出,当微波作用时间一定时,60%微波强度(微波炉总功率为1350 W)时多糖的提取效果较佳,而超过60%时,微波强度对多糖提取率反而下降,这可能是由于强度增加,提取体系剧烈沸腾,导致多糖损失,为方便操作所以功率采用60%为较佳。

2.1.2 料液比对蘑菇柄中多糖提取率的影响

料液比是提取过程的一个重要影响因素,从传质速率的角度讲,主要表现在影响固相主体和液相主体之间的浓度差,即传质推动力,料液比大,提取过程中液相浓度增加快,两相间的浓度差减少加快,从而使传质推动力衰减加快,见图3。从图3中可以看出,随着料液比下降,蘑菇柄多糖提取率也逐渐上升,但从提取成本考虑,料液比1:8处为较佳。

2.1.3 时间对蘑菇柄中多糖提取率的影响

时间对多糖提取率的影响见图4。从图4中可以看出,辐射6 min,多糖提取效果较好,然后随时间增加,对多糖提取影响减小。可能由于微波短时间内对细胞膜的破碎作用较大,溶出物增多。当溶解到饱和时有效成分不再被溶解。所以选择6 min左右为宜。

2.1.4 提取次数对蘑菇柄中多糖提取率的影响

提取次数对多糖提取率的影响见图5。从图5中可以看出,提取率随提取次数的增加而增加,提取2次后其增加不明显,所以从提取成本考虑,选取较

辐射时间、提取次数4个因素进行正交试验设计,因素水平见表1,实验结果及极差分析见表2.

图3 不同料液比对微波辅助提取多糖效果的影响

Fig. 3 Effect of solvent/solid ratio on polysaccharide yield

图5 微波提取次数对多糖提取效果的影响

Fig. 5 Effect of distillation times on polysaccharide yield

表1 正交试验因素水平表 $L_{16}(4^5)$

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal test $L_{16}(4^5)$

水平	因素			
	料液比(A)	微波强度(B)/%	$t(C)/\text{min}$	提取次数(D)/次
1	1:6	40	4	1
2	1:8	60	6	2
3	1:10	80	8	3
4	1:12	100	10	4

图4 不同微波时间对多糖提取效果的影响

Fig. 4 Effect of microwave time on polysaccharide yield

佳提取次数为2次.

2.2 正交试验

在单因素实验的基础上,以料液比、微波强度、

表2 微波辅助提取多糖正交试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of orthogonal experiment

序号	A 料液比	B 微波强度/%	C 辐射时间/min	D 提取次数/次	E 空列	多糖 提取率/%
1	1	1	1	1	1	0.79
2	1	2	2	2	2	1.41
3	1	3	3	3	3	1.34
4	1	4	4	4	4	0.77
5	2	1	2	3	4	1.31
6	2	2	1	4	3	1.39
7	2	3	4	1	2	1.21
8	2	4	3	2	1	0.96
9	3	1	3	4	2	1.30
10	3	2	4	3	1	1.47
11	3	3	1	2	4	1.32
12	3	4	2	1	3	0.99
13	4	1	4	2	3	1.17
14	4	2	3	1	4	1.51
15	4	3	2	4	1	1.55
16	4	4	1	3	2	0.88

续表2

序号	A 料液比	B 微波强度/%	C 辐射时间/min	D 提取次数/次	E 空列	多糖 提取率/%
K_1	4.31	4.57	4.38	4.50	4.77	
K_2	4.87	5.78	5.26	4.86	4.80	
K_3	5.08	5.42	5.11	5.00	4.89	
K_4	5.11	3.60	4.62	5.01	4.91	
\bar{K}_1	1.077 5	1.142 5	1.095 0	1.125 0	1.192 5	$T = 19.37$
\bar{K}_2	1.217 5	1.445 0	1.315 0	1.215 0	1.200 0	
\bar{K}_3	1.270 0	1.355 0	1.277 5	1.250 0	1.222 5	
\bar{K}_4	1.277 5	0.900 0	1.155 0	1.252 5	1.227 5	
R	0.80	2.18	0.88	0.51	0.14	

由表2 正交试验结果极差分析可知,微波辅助提取蘑菇柄多糖的各因素影响的主次为微波强度 > 辐射时间 > 料液比 > 提取次数,较佳提取工艺为 $B_2C_2A_4D_4$,即微波强度为 60%,辐射时间 6 min,料

液比 1:12,次数为 4 次. 将正交结果进行方差分析,见表3,从方差分析来看,微波强度、辐射时间和料液比均有极显著差异($P < 0.01$),而提取次数差异显著($P < 0.05$).

表3 微波辅助提取多糖正交试验的方差分析

Tab.3 Range analysis of polysaccharide yield

方差来源	偏差平方和	自由度	方差	F 值	F_{α}	显著性
A	0.103 1	3	0.034 4	29.71		**
B	0.707 6	3	0.235 9	204.00	$F_{0.05}(3,3) = 9.28$	**
C	0.127 3	3	0.042 4	36.70	$F_{0.01}(3,3) = 29.46$	**
D	0.042 6	3	0.014 2	12.29		*
误差 E	0.003 5	3	0.001 2			
总变异	0.984 1	15				

2.3 正交试验各水平间的多重比较

2.3.1 料液比各水平间差异显著性的 SSR 检验

表4 SSR 检验显示:料液比水平 4、水平 3 与水平 1 之间存在极显著性差异($P < 0.01$),而水平 2 与水平 1 之间显著性差异($P < 0.05$);水平 4、水平 3、水平 2 之间不存在显著性差异($P > 0.05$). 从表2的极差分析显示料液比 1:12 较佳,但由于水平 4 与水平 3、水平 2 之间不存在显著性,如果从成本角度考虑,可选择料液比为 1:8.

表4 料液比各水平间差异显著性 SSR 检验

Tab.4 Shortest significant test of solvent/solid ratio among different levels

水平	A_4	A_3	A_2	A_1
平均值	1.277 5	1.270 0	1.217 5	1.077 5
5% 显著水平	a	a	a	b
1% 显著水平	A	A	AB	B

2.3.2 微波强度各水平间差异显著性的 SSR 检验

表5 SSR 检验显示:微波强度水平 2 与水平 3 之间存在显著性差异($P < 0.05$),水平 2 和水平 3 与水平 1、水平 4 之间则存在极显著性差异($P < 0.01$),所以微波强度的较佳工艺参数确定为微波强度为 60%.

表5 微波强度各水平间差异显著性 SSR 检验

Tab.5 Shortest significant test of microwave power among different levels

水平	B_2	B_3	B_1	B_4
平均值	1.445 0	1.355 0	1.142 5	0.900 0
5% 显著水平	a	b	c	d
1% 显著水平	A	A	B	C

2.3.3 辐射时间各水平间差异显著性的 SSR 检验

表6 SSR 检验显示:辐射时间水平 3 与水平 2 之间、水平 4 与水平 1 之间不存在显著性差异($P > 0.05$),而水平 2 与水平 1、水平 4 之间存在极显著

性差异($P < 0.01$),水平3与水平4之间存在显著性差异($P < 0.05$).所以辐射时间以6 min较为合适.

表6 辐射时间各水平间差异显著性SSR检验

Tab.6 Shortest significant test of microwave time among different levels

水平	C ₂	C ₃	C ₄	C ₁
平均值	1.315 0	1.277 5	1.155 0	1.095 0
5%显著水平	a	a	b	b
1%显著水平	A	AB	BC	C

2.3.4 提取次数各水平间差异显著性的SSR检验

表7 SSR检验显示:提取次数水平4、水平3、水平2之间没有显著性差异($P > 0.05$),而水平4、水平3、水平2与水平1之间存在显著性差异($P < 0.05$),这说明提取次数达到2次后其提取次数增加对提取效果影响不大,所以提取次数选择2次为宜.

表7 提取次数各水平间差异显著性SSR检验

Tab.7 Shortest significant test of distillation times among different levels

水平	D ₄	D ₃	D ₂	D ₁
平均值	1.252 5	1.250 0	1.215 0	1.125 0
5%显著水平	a	a	a	b
1%显著水平	A	A	A	A

2.4 验证实验

取一定量样品,根据方差分析得到的较佳提取条件(微波强度为60%,辐射时间6 min,料液比1:12,次数为4次)和修正后的较佳提取条件(即微波强度为60%,辐射时间6 min,料液比1:8,次数为2次)进行实验,各平行提取3次,测定多糖提取率如表8.实验证明,根据较佳的提取条件所测得的多糖提取率均大于正交设计表中其他提取条件下多糖提取率,且提取条件修正对提取结果不会起到影响.

表8 验证实验结果

Tab.8 Result of verification test %

样品	1	2	3	平均值
多糖提取率 (极差分析较佳工艺)	1.64	1.63	1.64	1.64
多糖提取率 (修正后较佳工艺)	1.62	1.63	1.63	1.63

3 结论

通过单因素实验和正交试验表明,在微波辅助

提取双孢蘑菇中多糖的过程中,微波强度、料液比和辐射时间是影响多糖提取率的主要因素.通过极差分析得出微波辅助提取双孢蘑菇中多糖的较佳条件是B₂C₂A₄D₄,即微波强度为60%,料液比1:12,辐射时间6 min,次数为4次.而方差分析表明微波强度、料液比和辐射时间对双孢蘑菇中多糖提取效果具有极显著影响($P < 0.01$),而料液比对多糖提取具有显著的影响($P < 0.05$).通过各因素水平间的比较,表明较佳的工艺参数微波强度60%,辐射时间6 min,料液比1:8,次数为2次.通过验证实验证明较佳提取工艺B₂C₂A₄D₄和修正后工艺B₂C₂A₂D₂的实验结果相一致,且多糖提取率也较正交试验的其它结果高.微波技术应用于食用菌中多糖的提取是可行的,是一种省时便捷,值得推广的方法.

参考文献:

- [1] 周世文,徐传福.多糖的免疫药理作用[J].中国生化药物杂志,1994,15(2):143-147.
- [2] 赵武述,张玉琴,任丽鹃,等.苜蓿多糖的免疫增强效应[J].中国医药学报,1993,14(3):273-276.
- [3] 曹文广,杜平,焦炳华,等.枸杞子多糖、黄芪多糖、刺五加多糖和鼠伤寒菌内毒素多糖对LAK活性的影响[J].第二军医大学学报,1992,13(3):206-211.
- [4] 王长云,管华诗.多糖抗病毒作用研究进展I:多糖抗病毒作用[J].生物工程进展,2000,20(1):17-20.
- [5] 王长云,管华诗.多糖抗病毒作用研究进展II:硫酸化多糖抗病毒作用[J].生物工程进展,2000,20(2):3-8.
- [6] 王鸿磊,王红艳,丁强,等.响应面法优化双孢菇柄多糖的提取工艺研究[J].北方园艺,2010(22):163-166.
- [7] 熊泽,邵伟,黄艺.双孢蘑菇多糖提取工艺优化研究[J].三峡大学学报:自然科学版,2007(4):367-370.
- [8] 叶怀义,于浩.巴西菇多糖提取方法研究[J].江苏食品与发酵,2004(1):11-13.
- [9] 汪兴平,周志,张家年.微波对茶多酚浸出特性的影响研究[J].食品工业科技,2001,22(11):19-20.
- [10] 杨文杰,黄惠华.螺旋藻多糖的水提与微波辅助提取的比较[J].食品工业科技,2003(8):40-42.
- [11] 刘依,韩鲁佳.微波技术应用在板蓝根多糖提取中的应用[J].中国农业大学学报,2002,7(2):27-30.
- [12] 王钦德,杨坚.食品试验设计与统计分析[M].2版.北京:中国农业大学出版社,2010:70-85.
- [13] 张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,1994:16-17.

Microwave-assisted Technology for Extracting Polysaccharides from Root of *Agaricus Bisporus* Stipe

XIE Jian-hua¹, PANG Jie², LI Zhi-ming¹, XIE Bing-qing¹, YU Qi-fei¹, CHEN Yi-xian³

(1. *Department of Food and Biology Engineering, Zhangzhou Institute of Technology, Zhangzhou 363000, China;*

2. *Food Science College, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;*

3. *School of Resource and Environmental Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China)*

Abstract: The microwave-assisted extraction technology was used to increase the extraction ratio of polysaccharides from the root of *Agaricus bisporus* stipe. The influence of factors on the extraction of the polysaccharides was studied by single factor test and orthogonal experiment design methods, including microwave power, lid-liquid ratio, radiation time and extraction times. Results showed that the optimum conditions were obtained as follows: the microwave power 60%, the ratio of material to solvent 1:12, the time for microwave extraction 6 minute and extraction times 4. Under the technological conditions, the content of polysaccharides was 1.64%.

Key words: root of *agaricus bisporus* stipe; polysaccharides; microwave-assisted extraction; orthogonal experiment

(责任编辑:檀彩莲)

(上接第24页)

Effect of Type of Bagging on Quality and Safety of Pomegranate

LI Xiang¹, MA Jian-zhong¹, SHI Yun-dong², ZHANG Qing¹, ZHOU Xin-ming³

(1. *College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xian 710021, China;*

2. *School of Resource and Environment, Yuxi Normal University, Yuxi 653000, China;*

3. *Xian Science and Technology Bureau, Xian 710061, China)*

Abstract: The aim was to study the effect of bagging methods (paper bag and plastic bag) on the growth rhythm, fruit quality and safety of pomegranate from Lintong Shaanxi. The results showed that, bagging cultivation technique could improve color and luster of pomegranate greatly and reduce fruit cracking rate. Reducing sugar in bagging fruits was less than the controls (no bagging), but the contents of titratable acid were higher than the controls. The contents of heavy metals (Pb, As and Hg) and pesticide residue (cypermethrin) in bagging fruits were obviously lower than the controls (no bagging). Bagging cultivation technique was an important measure for producing high quality pomegranate and increasing productivity of pomegranate.

Key words: bagging; pomegranate; quality; safety

(责任编辑:叶红波)