

银耳多糖的提取工艺研究

周帅飞, 毛淑敏, 秦红岩, 刘玉红* (山东中医药大学, 山东济南 250355)

摘要 [目的] 研究热水浸提法提取银耳多糖的最佳工艺条件。[方法] 采用苯酚-硫酸法测定银耳总多糖的含量, 以提取温度、提取时间、提取次数、溶剂用量为 4 个影响因素, 每个因素分别设计 3 个水平进行正交试验, 优化银耳多糖的提取工艺。[结果] 试验表明, 热水浸提法提取银耳多糖的最佳工艺为 40 倍量水, 90 °C 提取 3 h, 共提取 2 次, 此条件下多糖得率最高。[结论] 研究可为银耳多糖的开发应用提供参考依据。

关键词 银耳多糖; 热水浸提法; 正交试验; 苯酚-硫酸法

中图分类号 S646.6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)27-11148-02

Study on the Extraction Technology of Polysaccharide from *Tremella fuciformis*

ZHOU Shuai-fei et al (Shandong University of TCM, Jinan, Shandong 250355)

Abstract [Objective] To study the optimum technique conditions of polysaccharide from *Tremella fuciformis* by hot water extraction method. [Method] Total polysaccharide content was determined by phenol-sulfuric acid method. Four influencing factors of extraction temperature, extraction time, extraction times, solvent dosage were selected to design three levels orthogonal experiment. [Result] The optimal conditions were water (W/V) of 1:40, extraction at 90 °C for 3 h, 2 times repeated. [Conclusion] The study can provide reference basis for development and utilization of *Tremella* polysaccharides.

Key words *Tremella* polysaccharide; Hot water extraction method; Orthogonal test; Phenol-sulfuric acid method

银耳(*Tremella fuciformis* Berk)是一种经济价值高, 营养丰富的药食两用菌, 具有滋补生津、润肺养胃之功效。研究表明, 银耳中所含有的多糖具有广泛的生理活性, 如提高免疫力、抗肿瘤、抗衰老、降血糖和降血脂等^[1]。

目前, 提取银耳多糖有热水浸提法、碱提取法、酸提取法、酶提取法等, 郑良对这几种方法进行比较, 发现热水浸提法多糖得率最高^[2]; 通过单因素设计考察研究, 发现提取温度对多糖得率影响最大。为了有效开发利用这一资源, 笔者采用正交试验设计对热水浸提法提取银耳多糖的最佳工艺条件进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料 供试原料: 银耳, 济南建联中药有限公司, 经鉴定为银耳(*Tremella fuciformis* Berk)的干燥子实体。主要试剂: 葡萄糖, 上海化学试剂有限公司; 苯酚, 莱阳市康德化工有限公司; 浓硫酸, 莱阳经济技术开发区精细化工厂; 以上均为分析纯。主要仪器: UV-2550 型紫外分光光度计, 日本岛津仪器有限公司; SHZ-D(III) 型循环水真空泵, 巩义市英峪高科技仪器厂; FA1104 型分析天平, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; XMT-DA 型恒温水浴锅, 余姚市亚星仪器有限公司。

1.2 正交试验设计 为确定最佳提取条件, 笔者以溶剂用量、提取温度、提取时间、提取次数为 4 个因素, 每因素分别设计 3 个水平进行 $L_9(4^3)$ 正交试验。正交试验因素水平设计见表 1。

1.3 银耳多糖的提取方法 精密称取银耳 10 g, 共 9 份, 按照 $L_9(4^3)$ 正交设计表的试验条件进行提取。纱布过滤, 滤液合并, 80 °C 浓缩至 50 ml, 离心, 弃去残渣, 上清液加 4 倍量无水乙醇, 沉淀过夜, 抽滤, 收集沉淀, 依次用无水乙醇、丙酮洗

涤, 真空干燥, 得银耳粗多糖, 称重。

表 1 正交试验的因素与水平设计

水平	因素			
	溶剂用量 (A)//倍	提取温度 (B)//°C	提取时间 (C)//h	提取次数 (D)//次
1	30	70	2	1
2	40	80	3	2
3	50	90	4	3

1.4 多糖含量测定 采用苯酚-硫酸法^[3]进行测定。

1.4.1 溶液的制备。 葡萄糖对照品溶液的制备: 精密称取 105 °C 干燥至恒重的无水葡萄糖 10 mg, 加适量蒸馏水溶解, 转移至 100 ml 容量瓶中, 定容, 摇匀, 即得葡萄糖对照品溶液。苯酚溶液: 称取 5 g 重蒸苯酚, 用适量蒸馏水溶解, 定容至 100 ml, 得 5% 苯酚溶液。

1.4.2 标准曲线的制备。 移液管分别量取葡萄糖标准溶液 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 ml 于 15 ml 具塞试管中, 并按顺序编号 1、2、3、4、5、6、7, 后分别加水至 2.0 ml。各精密加入 5% 苯酚溶液 1.0 ml, 摇匀, 迅速精密加入浓硫酸 5.0 ml, 摇匀, 放置 10 min, 置 40 °C 水浴中保温 15 min, 取出后冷却至室温, 以蒸馏水为空白, 在 $\lambda_{490\text{nm}}$ 处测定吸光度 A 。以吸光度 A 为纵坐标, 糖浓度 C 为横坐标, 得回归方程: $A = 16.9520C - 0.1964$, $r = 0.9994$, 表明葡萄糖在 0.04 ~ 0.16 mg 范围内具有较好的线性关系。

2 结果与分析

2.1 银耳多糖的测定 分别精密称取银耳粗多糖 50 mg, 定容于 50 ml 容量瓶中, 取 0.2 ml 粗多糖溶液于具塞试管中, 加蒸馏水至 2.0 ml, 依试验方法测定, 正交试验结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

由试验结果可知, 影响银耳多糖提取的主次因素为: 温度(B) > 提取次数(D) > 提取时间(C) > 溶剂量(A), 其中温度对考察指标具有显著性影响($P < 0.05$)。选取显著性因素

作者简介 周帅飞(1989 -), 男, 河南宝丰人, 硕士研究生, 研究方向: 天然药物化学成分及化学分析, E-mail: zhoushuai159@163.com。* 通讯作者, E-mail: liuyuhongwu@126.com。

收稿日期 2013-08-15

的最佳水平,最佳提取工艺为 $A_2B_3C_2D_3$,可根据缩短工时原则取 D_2 ,最终的较优方案为 $A_2B_3C_2D_2$,即 40 倍量水,90 °C 提取 3 h,共提取 2 次。进行验证性试验,多糖提取率为 16.81%,说明了正交试验优化结果是可靠的。

表 2 正交试验结果

试验号	因素				粗多糖质量//g	粗多糖得率//%	多糖含量//%	多糖提取率//%
	A	B	C	D				
1	1	1	1	1	0.6	6	44.55	2.67
2	2	1	2	2	1.4	14	64.34	9.01
3	3	1	3	3	1.5	15	47.24	7.56
4	1	2	2	3	2.0	20	82.19	16.44
5	2	2	3	1	1.7	17	78.05	13.27
6	3	2	1	2	1.9	19	77.33	14.69
7	1	3	3	2	2.4	24	69.30	16.63
8	2	3	1	3	2.0	20	82.80	16.56
9	3	3	2	1	2.3	23	66.67	15.33
K_1	35.74	19.24	33.92	31.27				
K_2	38.84	44.40	40.78	40.33				
K_3	37.58	48.52	38.81	40.56				
R	3.10	29.28	6.86	9.29				

表 3 方差分析

方差来源	F	P
A	5.228	-
B	154.007	$P < 0.05$
C	20.889	-
D	50.736	-

2.2 精密度试验 精密称定同一样品,重复测定吸光度 5 次,测定结果 RSD 为 1.243%,表明该仪器精密度良好。

2.3 重复性试验 对同一批样品重复取样 5 次,按样品测定方法操作,测定结果 RSD 为 3.684%,表明该方法重复性良好。

2.4 稳定性试验 取同一样品,按样品测定方法操作,每隔 0.5 h 测定 1 次吸光度,连续测定 5 次,结果 RSD 为 3.513%,表明供试品溶液在 2.5 h 内稳定。

3 讨论

多糖是一种重要的生物活性物质,有降血脂、抗氧化、清

除自由基、抗辐射、抗凝血、抗血栓、抗溃疡、抗突变、抗病毒等作用,其独特活性及低毒效应在临床应用中具有极大的潜力^[4]。

该试验表明,银耳中多糖含量较高,确实为其发挥功效的物质基础成分。该试验优选了银耳多糖的最佳提取工艺:40 倍量蒸馏水,90 °C 提取 3 h,共提取 2 次,此条件下多糖的得率最高,可为银耳多糖的开发应用提供依据。

参考文献

- [1] 陈岗. 银耳多糖的功能特性及其应用[J]. 中国食品添加剂,2011(4):144-148.
- [2] 郑良. 银耳多糖提取条件及提取液黏度特性的研究[D]. 成都:四川大学,2003.
- [3] 王峥,李云森,李绍顺. 苯酚-硫酸法测定百蕊草中多糖的含量[J]. 中国现代应用药学,2006,23(6):483-484.
- [4] 陈飞飞,蔡东联. 银耳多糖的主要生物学效用研究进展[J]. 中西医结合学报,2008,6(8):862-866.
- [5] 刘卉,何蕾. 银耳多糖与透明质酸的保湿性能比较[J]. 安徽农业科学,2012,40(26):13093-13094.
- [6] 曹银娣,陈巧云,熊华,等. 米蛋白肽铁的螯合条件优化[J]. 食品与发酵工业,2007,33(4):61-64.
- [7] 刘永,黎彬庆,韦寿莲. 罗非鱼鳞胶原蛋白肽锌螯合物制备工艺优化[J]. 食品与发酵工业,2013,39(4):125-128.
- [8] 孙克岩,张志胜,佟海菊,等. 响应面优化牡蛎复合氨基酸螯合锌制备工艺研究[J]. 食品科技,2011,36(7):107-109.
- [9] 吴春,黄梅桂. 响应曲面法优化槲皮素络合反应条件的研究[J]. 化学世界,2008(10):37-40.
- [10] 曾仁权,钟国情. 复合氨基酸微量元素螯合物制备新工艺的研究[J]. 化学研究与应用,1998(10):99-102.
- [11] 吴茹怡,曾里,曾凡骏. 复合氨基酸螯合物鉴定方法的研究[J]. 食品科技,2006(3):104-107.
- [12] 张红漫,陈国松,冯改霞,等. 单项氨基酸微量元素螯合物的研究[J]. 氨基酸和生物资源,2002,24(4):46-50.
- [13] BASOLO F, JOHNSON R C. Coordination Chemistry The Chemistry of Metal Complexes [M]. California: W. A. Benja min. Inc. Publisher, 1964: 233-237.
- [14] STRICKLAND R D, FREEMAN M L, GURULE F T. Copper binding proteins in alkaline solution [J]. Analytical Chemistry, 1961, 33(4): 545-552.

(上接第 11147 页)