

文章编号 :1003- 8701(2010)05- 0054- 04

黑木耳多糖提取条件的研究

王广慧,王佩华,王 鹏

(黑龙江省绥化学院,黑龙江 绥化 152061)

摘 要:研究了黑木耳多糖的不同提取方法。结果表明,采用超声波协同酶解并结合高压热水浸提法可显著提高多糖的提取率,其最适提取条件为:浸提剂倍数为 50,超声波功率为 120W;复合酶反应最适 pH 值为 5,最适温度为 50℃,添加量为 1.5%,反应 80 min;蛋白酶反应最适 pH 值为 6,最适温度为 50℃,添加量为 2.0%,反应 60 min;高压热水浸提温度 1150C,浸提 80 min。黑木耳多糖提取率可达 16.82%。

关键词:黑木耳;多糖;提取

中图分类号:S646.6

文献标识码:A

Studies on the Extractive Conditions of Polysaccharide from *Auricularia auricular*

WANG Guang- hui¹, WANG Pei- hua², WANG Peng¹

(Suihua College, Suihua 152061, China)

Abstract: Different extraction methods of auricularia polysaccharide were studied in this paper. The results showed that the ultrasonic synergistic combination of enzyme and high- pressure hot water extraction could significantly increase the extraction rate of polysaccharides. The optimal extraction conditions were as follows: the extraction solvent ratio was 50 and the ultrasonic power was 120W; the amount of complex enzyme consisting of pectinase and cellulase used was 1.5% with a reaction time of 80min at 50℃ and pH5. The amount of protease used was 2.0% with a reaction time of 60min at 50℃ and pH6, and the extraction time of high- pressure hot water extraction was 80min at 115℃. Auricularia polysaccharide extraction rate was 16.82%.

Keywords: *Auricularia auricular*; Polysaccharide; Extraction

黑木耳(*auricularia auricular*)属层菌纲,木耳目,木耳科,木耳属。黑木耳中除含有人体所必需的 8 种氨基酸和维生素外,还富含多糖物质。黑木耳多糖对人体有降血糖、降血脂、抗衰老、抗溃疡、抗辐射、抗血栓形成、提高机体免疫力等功效^[1],因此黑木耳多糖具有较高的营养价值和药用价值。本文对黑木耳多糖的提取方法进行了新的探索,采用超声波协同酶解并结合高压热水浸提法提取黑木耳多糖,获得了较高的提取率,为黑木耳

多糖的开发应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大兴安岭野生黑木耳(北大荒牌);纤维素酶(4 万酶活/g,天津利华酶制剂有限公司);果胶酶(2 万酶活/g,天津利华酶制剂有限公司);木瓜蛋白酶(25 万酶活/g,丹麦诺维信公司);其余试剂为国产分析纯。

1.2 仪器

752 型紫外可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;RE- 52AA 型旋转蒸发器,上海亚荣旋转蒸发器厂;DL- 360B 型超声波清洗器,上

收稿日期 2010- 05- 31

基金项目:黑龙江省绥化学院科学技术研究项目(2009)

作者简介:王广慧(1973-),女,副教授,硕士,从事生物化学与分子生物学研究。

海之信超声仪器有限公司 ;YXQ- SG46- 280S 型高压灭菌锅 ,上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

1.3 方法

1.3.1 黑木耳多糖的提取方法

1.3.1.1 热水浸提法[2]

1.3.1.2 超声波提取法[3]

1.3.1.3 酶解提取法[4]

1.3.1.4 超声波协同酶解结合热水浸提法

黑木耳经除杂、干燥、粉碎、过筛等预处理后,得到黑木耳子实体干粉,按 1:50(w/v)加水,待温度升至 50℃后采用超声波协同酶法酶解样品:在 120W 的超声场中先加入 1.5%复合酶(纤维素酶和果胶酶),酶解 pH 值为 5,反应 80 min;然后加入 2%木瓜蛋白酶,酶解 pH 值为 6,反应 60 min。而后迅速升温至 80℃,灭酶浸提 90 min。将混合物离心除杂、减压浓缩、加入三倍体积的 95%乙醇沉淀多糖,静置过夜,洗涤。将多糖沉淀复溶,加入 5%三氯乙酸溶液反复脱蛋白、离心、定容。

1.3.1.5 超声波协同酶解结合高压热水浸提法

以上述超声波协同酶解法提取结束后,改用在 115℃下高压热水浸提 80 min。

1.3.2 测定方法及实验参数的确定

还原糖用 DNS 法^[5]测定,总糖用苯酚-硫酸法测定^[5],多糖 = 总糖 - 还原糖。提取率计算:多糖得率(%)= 多糖量 / 子实体干重(× 100%)。

2 结果与分析

2.1 不同方法提取黑木耳多糖提取率的比较

用设计中的 5 种方法提取黑木耳多糖,测定多糖提取率,结果见图 1,可见采用超声波协同酶解结合高压热水浸提法所提取的黑木耳多糖提取率最高,达到 16.82%。

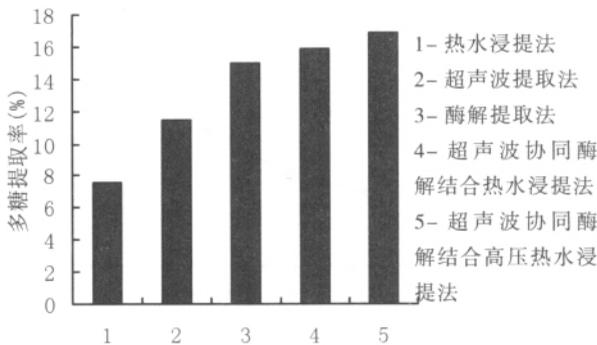


图 1 不同方法提取多糖得率的比较

2.2 超声波协同酶解结合高压热水浸提法提取黑木耳多糖最适条件的确定

2.2.1 浸提剂倍数对多糖得率的影响

当体系中其它因素不变,分别取浸提剂倍数为 20、30、40、50、60、70 时测定黑木耳多糖提取率,结果见图 2,可见浸提剂倍数为 50 时多糖得率最大。原因可能是随着浸提剂倍数的增大,反应体系中的水分会增加,从而降低了反应产物的浓度,减少了产物对酶促反应的反馈抑制作用,但随着反应体系中水分的增加,酶的浓度相应会下降而降低了酶促反应速度,使多糖得率下降。

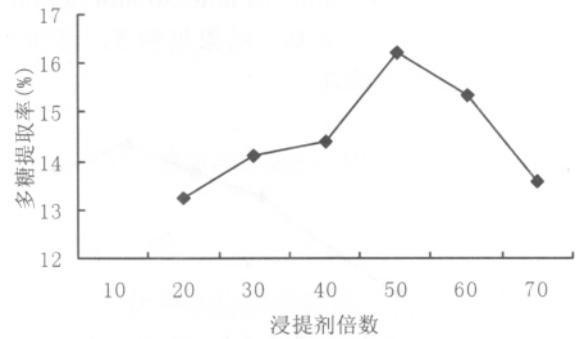


图 2 浸提剂倍数对多糖得率的影响

2.2.2 超声波协同酶反应 pH 对多糖得率的影响

当其它因素不变,分别在复合酶反应 pH 为 3.5、4、4.5、5、5.5、6 时测定黑木耳多糖提取率,结果见图 3,可知当 pH 为 5 时多糖得率最高。

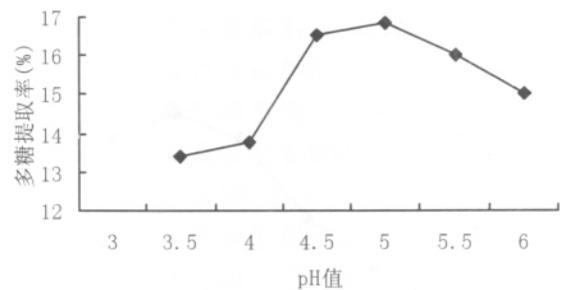


图 3 复合酶反应 pH 对多糖得率的影响

而当固定其它因素,分别在蛋白酶反应 pH 为 5、5.5、6、6.5、7 时测定黑木耳多糖提取率,结果见图 4,可知当 pH 为 6 时多糖得率最高。

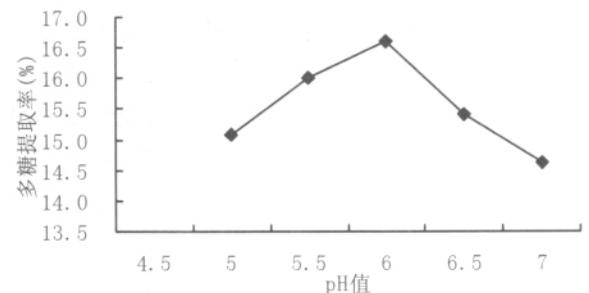


图 4 蛋白酶反应 pH 对多糖得率的影响

pH对多糖得率的影响机制很复杂,主要有以下两个方面:第一,过酸、过碱的环境都能使酶变性失活;第二,pH能影响酶分子活性部位及底物中有关基团的解离。在最适pH时,酶分子上活性基团的解离状态最适于与底物结合,高于或低于最适pH时,酶和底物间的结合力降低,从而影响酶促反应速度,使多糖得率下降。

2.2.3 超声波协同酶反应时间对多糖得率的影响

当其它因素不变,调节复合酶反应时间,分别在40 min、50 min、60 min、70 min、80 min、90 min时测定黑木耳多糖提取率,结果见图5,可知在80 min时多糖得率最高。

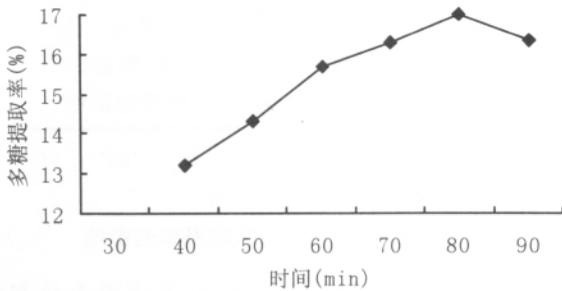


图5 复合酶反应时间对多糖得率的影响

而当固定其它因素,调节蛋白酶反应时间,分别在30 min、40 min、50 min、60 min、70 min时测定黑木耳多糖提取率,结果见图6,可知在60 min时多糖得率最高。

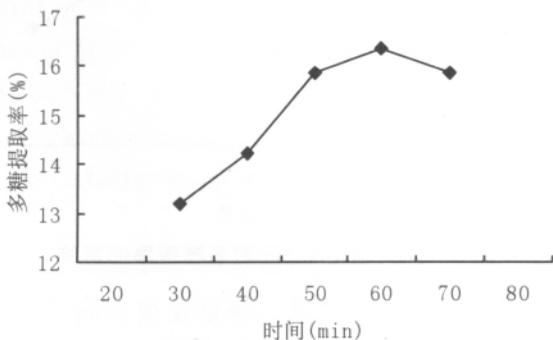


图6 蛋白酶反应时间对多糖得率的影响

由以上两图中可看到:开始一段时间内,随着时间的延长多糖得率增加,但超过一定限度后得率开始下降。产生此现象的原因很多,如由于反应的进行使底物浓度降低、产物的生成而逐渐增大了逆反应、酶本身在反应中失活、产物的抑制等。

2.2.4 超声波协同酶反应温度对多糖得率的影响

当其它因素不变,调节复合酶反应温度,分别在30℃、40℃、50℃、60℃、70℃测定黑木耳多糖提取率,结果见图7,可知在50℃时多糖得率最高。

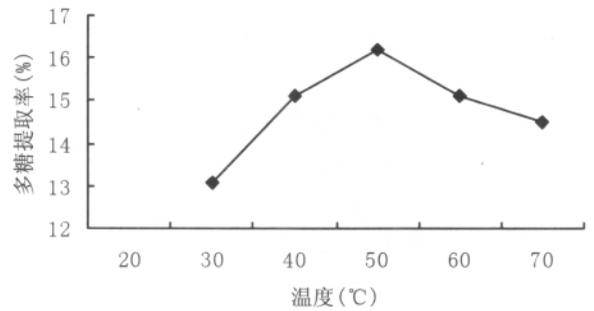


图7 复合酶反应温度对多糖得率的影响

而当固定其它因素,调节蛋白酶反应温度,分别在35℃、40℃、45℃、50℃、55℃时测定黑木耳多糖提取率,结果见图8,可知在50℃时多糖得率最高。

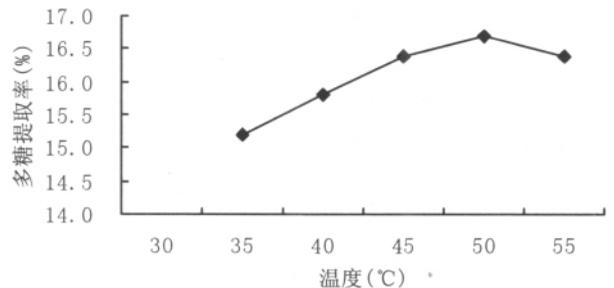


图8 蛋白酶反应温度对多糖得率的影响

温度对多糖得率的影响主要表现在两个方面:一方面,在较低温度范围内,酶促反应速度随温度升高而加快,但升到一定限度时,由于酶遇热变性失活而使活性酶的浓度大为降低,结果是随着温度升高反应速度反而下降,致使多糖得率下降。

2.2.5 酶添加量对多糖得率的影响

当其它因素不变,调节复合酶添加量,分别在0.75%、1.0%、1.25%、1.5%、1.75%时测定黑木耳多糖提取率,结果见图9,可知在1.5%时多糖得率最高。

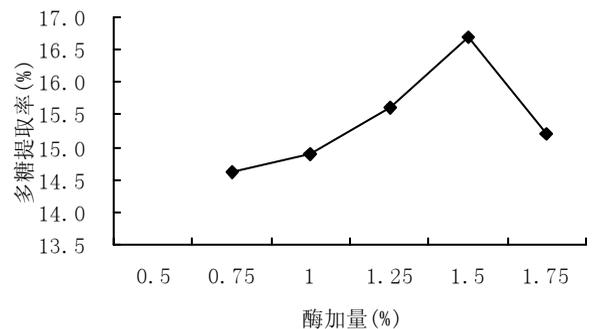


图9 复合酶添加量对多糖得率的影响

而当固定其它因素,调节蛋白酶添加量,分别在1.25%、1.5%、1.75%、2.0%、2.25%时测定黑木

耳多糖提取率,结果见图 10,可知在 2.0%时多糖得率最高。

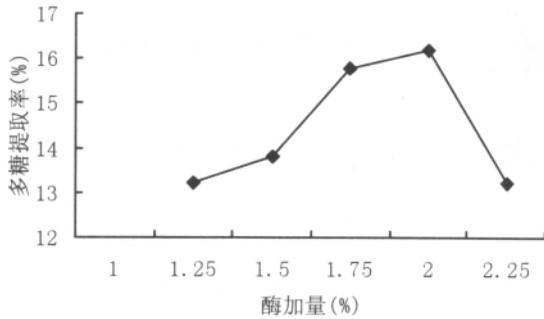


图 10 蛋白酶添加量对多糖得率的影响

由以上两图可知,随着酶浓度上升,酶与底物接触机会增加,酶促反应加快,使多糖更快地分离出来,但当酶浓度升高到一定程度后,随着底物浓度的相应降低,产物的生成而逐渐增大了逆反应,使多糖得率下降。

2.2.6 超声波功率对多糖得率的影响

保持体系中其它因素不变,分别在超声波功率为 100W、120W、140W、160W、180W 时测定黑木耳多糖提取率,结果见图 11,可知在 120W 时多糖得率最高。

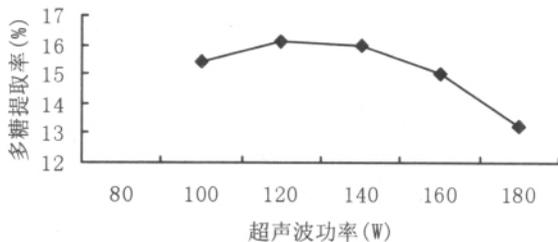


图 11 超声波功率对多糖得率的影响

此现象表明,低功率可能未起到破壁作用,而过高的功率可能破坏了多糖结构^[6],使其分解为单糖溶出。

2.2.7 高压热水浸提时间对多糖得率的影响

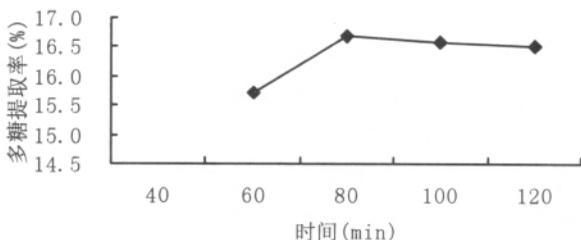


图 12 高压热水浸提时间对多糖得率的影响

在超声场中酶解提取结束后,于 115℃下高压热水浸提 60 min、80 min、100 min、120 min,分别测定黑木耳多糖提取率,结果见图 12,可知

在 80 min 时多糖得率最高。

2.2.8 高压热水浸提温度对多糖得率的影响

在超声场中酶解提取结束后,分别于 75℃、108℃、115℃、121℃下高压热水浸提 80 min,然后测定黑木耳多糖提取率,结果见图 13,可知在 115℃时多糖得率最高。

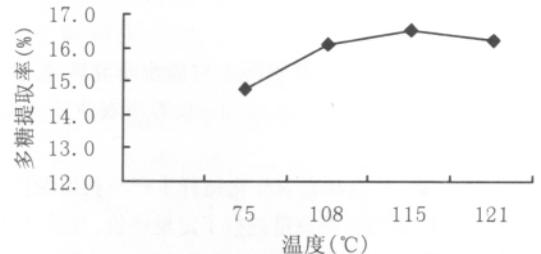


图 13 高压热水浸提温度对多糖得率的影响

3 结 论

采用超声波协同酶解结合高压热水浸提法提取黑木耳多糖,可显著提高多糖提取率,可达 16.82%。由于超声波的空化作用可加速植物有效成分的溶出,而超声波的次级效应,如机械振动、乳化、扩散、击碎、化学效应等也能加速欲提取成分的扩散释放并充分与溶剂混合,有利于提取^[6]。此外,酶法提取具有水解效率高、产品质量好、反应条件更加温和等优点。而高压提取又可将被提取物的组织细胞及亚细胞结构解体,使细胞内的化学成分与溶媒充分接触得到直接溶解。超声波协同酶解结合高压热水浸提法综合了 3 种提取技术的优点,所以提取效率较高。其最适提取条件为:浸提剂倍数为 50,超声波功率为 120W;复合酶反应最适 pH 值为 5,最适温度为 50℃,添加量为 1.5%,反应 80 min;蛋白酶反应最适 pH 值为 6,最适温度为 50℃,添加量为 2.0%,反应 60 min;高压热水浸提温度 115℃,浸提 80 min。

参考文献:

- [1] 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,2009(2):55-57.
- [2] 王金凤.木耳多糖提取工艺研究[J].食品科学,2004,25(6):144.
- [3] 胡小军.超声强化提取木耳多糖的工艺研究[J].食品研究与开发,2007,28(8):62-64.
- [4] 张立娟,于国萍.细胞破壁酶在黑木耳多糖提取中作用条件的研究[J].食用菌,2005(3):8-10.
- [5] 北京大学生物系生物化学教研室.生物化学实验指导[M].北京:人民教育出版社,1980:22-24.
- [6] 史碧波,罗晓妙,刘满.超声波在鸡枞菌多糖提取中的应用研究[J].现代食品科技,2008,24(1):64-66.