

长白山有机黑木耳多糖的提取工艺研究

林 花,车成来,王 霞,王欣宇,王宇辉,玄东哲,金龙哲

(延边州农业科学院,吉林 延吉 133001)

摘要:为了开发微波辅助提取方法,对长白山地区有机黑木耳多糖条件进行优化,确定最佳提取工艺。结果表明:单因子试验和正交试验的最佳条件即以水为提取剂,微波功率为 800 W,料液比为 1:40,浸提温度为 95 ℃,微波辐射时间为 40 min,水浴萃取浸提 2 次,时间分别为 1.5 h,加水量分别为 400、500 mL,在此条件下,多糖提取率为 19.30%。鞣酸沉淀法脱除蛋白质后,测定黑木耳多糖含量为 44.5%。

关键词:长白山有机黑木耳;多糖;提取工艺;微波辅助提取法

中图分类号:S646.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)10-0095-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.10.0095

黑木耳多糖具有抗凝血^[1]、抗血栓^[2]、增强机体免疫功能^[3]等多种有益于人体健康的功效,黑木耳中含有丰富的甘露聚糖、甘露糖、葡萄糖、木糖、葡萄糖醛酸等碳水化合物^[4-5],是菌中之佳品,生物利用度高。随着人们对黑木耳多糖等系列健康食品需求量的增加,黑木耳多糖在医疗、保健及食品工业中逐渐得到大量应用,成为世界公认的保健食品。目前,黑木耳国内的市场潜力巨大,吉林省作为黑木耳的主产区之一,不但产量大,而且品质佳^[6],然而,产品多以粗加工为主,精深加工相对滞后,因此,黑木耳的精深加工成为大势所趋,能创造出巨大的社会效益^[7-9]。

长白山黑木耳作为地方特色产品^[10],依托长白山地区丰富的生物资源优势,是营养价值和药用价值非常高的食药食用菌,本文对长白山有机黑木耳多糖的提取方法进行研究,为长白山地区有机黑木耳的开发应用提供科学依据,打造长白山地区绿色特色品牌。

1 材料与方法

1.1 材料

供试黑木耳取自吉林省延边朝鲜族自治州农业科学院农特产品加工研究所、吉林省蛟河市。

1.2 方法

1.2.1 多糖提取工艺的提取及制备 将黑木耳

子实体清理去杂、55 ℃烘干至恒重,进行高速微细粉碎,过(20~60)目筛,制成黑木耳干粉,备用。称取黑木耳粉末 20 g,加蒸馏水分别进入微波/超声波萃取设备进行处理,按 3 000 r·min⁻¹的转速离心 15 min,取上清液,热水提取 2 次后,过滤,合并上清液浓缩,95%乙醇沉淀,静置、离心、烘干得到粗多糖。将粗多糖复溶,向滤液中加入 1%粉末活性炭,放到磁力搅拌器中搅拌均匀 15 min,抽滤除净活性炭。在微沸状态下,用鞣酸沉淀法^[11-12]脱蛋白,流水透析过夜。95%乙醇沉淀,抽滤,取残渣。放入真空干燥箱内进行干燥过夜,得黑木耳多糖干品。

1.2.2 不同样品原料对多糖提取率的影响 称取长白山有机黑木耳子实体粉末、吉林蛟河黑木耳子实体粉末各 20 g,按 1.2.1 步骤在相同条件下对 2 种不同原料进行微波辅助提取,提取条件为 95 ℃、800 W、40 min,比较不同样品原料条件下的多糖提取率。

1.2.3 单因素试验 以不同料液比、提取温度进行恒温浸提,热水浸提以不同提取时间、加水量进行单因素条件试验,并研究不同鞣酸浓度对多糖提取率的影响。

(1)固液质量比对多糖提取率的影响。分别称取 5 份 20.00 g 干燥的黑木耳子实体粉末(过 20~60 目筛),分别以 1:20、1:35、1:40、1:45 和 1:50 的液料比加入相应的蒸馏水,将微波萃取仪的功率、处理辐射时间分别控制在 800 W、40 min,温度调整为 95 ℃,共提取 3 次,每份平行做 3 次。取上清液比较不同料液比条件下的多糖提取率。

(2)微波浸提温度对多糖提取率的影响。分

收稿日期:2017-08-22

基金项目:延边州科技发展计划资助项目(2014AC29)

第一作者简介:林花(1981-),女,吉林省延吉市人,学士,助理研究员,从事天然产物有效成分提取研究。E-mail:664130853@qq.com。

通讯作者:金龙哲(1965-),男,吉林省延吉市人,学士,副研究员,从事食品科学与加工技术研究。E-mail:23124951@qq.com。

别称取 5 份 20.00 g 干燥的黑木耳子实体粉末(过 20~60 目筛),按(1)确定的料液比加入蒸馏水,将微波萃取仪的功率、处理时间分别控制在 800 W、40 min 时,对其温度进行设置,选择 80、90、95、100 ℃ 四个条件下的温度,共提取 3 次,每份平行做 3 次。取上清液比较不同浸提温度条件下的多糖提取率。

(3) 热水浸提条件对多糖提取率的影响。以确定的微波提取条件 95 ℃、800 W、40 min 提取黑木耳多糖,过滤后,再进行 2 次热水浸提,温度为 95 ℃,热水浸提时控制时间分别设置为 2.0 h(1.0 h, 1.0 h)、2.5 h(1.0 h, 1.5 h)、3.0 h(1.5 h, 1.5 h),加水量分别设置为 400、500 mL,500、400 mL,500、500 mL,比较不同浸提条件下的多糖提取率,确定 2 次热水浸提的时间和加水量条件。共提取 3 次,每份平行做 3 次。

1.2.4 正交试验设计 正交试验的因素为:料液比、提取温度、提取时间和加水量。采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表,确定最佳提取工艺条件。

1.2.5 多糖提取率测定 多糖提取率=多糖量/子实体干重 $\times 100\%$ 。

1.2.6 鞣酸沉淀法脱除蛋白质 在微沸状态下,向多糖提取液经浓缩得到的粗多糖分别滴加 1%、2%、3%、4% 的鞣酸溶液,进行脱蛋白试验,并测定黑木耳的多糖含量。

2 结果与分析

2.1 样品材料的选择

不同样品原料所得黑木耳粗多糖的提取率相差很大。在提取延边州长白山地区有机黑木耳和蛟河木耳粗多糖的条件相同时,延边州长白山地区有机黑木耳的粗多糖提取率明显高于蛟河木耳,延边州长白山地区有机黑木耳粗多糖的提取率最高可达到 18.82%,平均高于 16%;而蛟河木耳粗多糖的提取率最高可达到 6.4%,平均高于 6%,由此可知,延边州长白山地区有机黑木耳的营养价值高于蛟河地区(见图 1)。

2.2 料液比条件的选择

由图 2 可以看出,料液比为 1:20~1:40 时,黑木耳多糖提取率随料液比中液体比例的增大而有不同程度的提高,在料液比值为 1:40 时提取率达到最大,为 18.82%,随着料液比中液体比例的增大,黑木耳多糖提取率呈下降趋势。因此,料液比以 1:40 的条件为最佳。

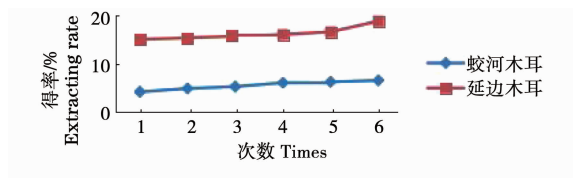


图 1 不同样品材料对粗多糖提取率的影响
Fig. 1 Effect of different sample materials on extracting rate of crude polysaccharide

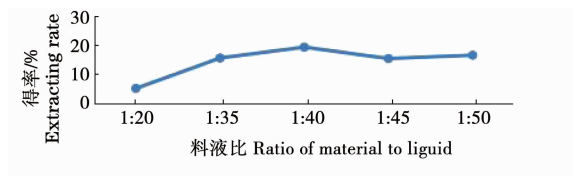


图 2 料液比对粗多糖提取率的影响
Fig. 2 Effect of ratio of material to liquid on extracting rate of crude polysaccharide

2.3 微波提取温度条件的选择

将微波萃取仪的功率、处理时间分别控制在 800 W、40 min 时,对其进行温度的设置,当温度达到 95 ℃ 时,黑木耳粗多糖的提取率最高,达到 18.82%(见图 3)。

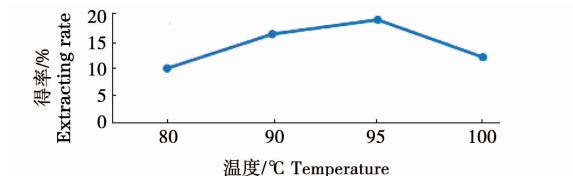


图 3 微波提取温度条件对粗多糖提取率的影响
Fig. 3 Effect of microwave extraction temperature conditions on extracting rate of crude polysaccharide

2.4 热水浸提不同时间和加水量条件的处理

热水浸提时控制时间、加水量的条件,使得黑木耳粗多糖的提取率也受到不同的影响,由表 1

表 1 热水浸提条件的处理对粗多糖提取率的影响

Table 1 Effect of treatment of hot water extraction conditions on extracting rate of crude polysaccharide

时间/h Time	加水量/mL The additive quantity of water	提取率/% Extracting rate
2.0(1.0, 1.0)	400、500	14.30
2.5(1.0, 1.5)	400、500	10.20
3.0(1.5, 1.5)	400、500	18.82
3.0(1.5, 1.5)	500、400	12.03
3.0(1.5, 1.5)	500、500	12.95

可见,当加水量一定,提取时间每次 1.5 h 时,黑木耳粗多糖的提取率最好;当提取时间一定,加水量分别在 400、500 mL 时黑木耳粗多糖的提取率明显高于加水量在 500、500 mL 时的提取率。

2.5 正交试验设计结果与分析

为优化提取工艺条件,试验考虑了黑木耳多糖提取工艺过程中料液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)、加水量(D),根据单因素试验确定的 4 个因素,进行 4 因素 3 水平的正交试验和正交试验设计直观分析,以多糖提取率为考察指标,确定黑木耳多糖的最佳提取工艺条件,选用因素及水平见表 2,各因素条件对黑木耳多糖提取率影响的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果见表 3。

表 2 黑木耳多糖正交试验因素水平
Table 2 Factors and levels of orthogonal test for polysaccharides extracting from *Auricularia auricula*

水平 Levels	因素 Factors			
	A 料液比 Ratio of material to liquid	B 提取温度/℃ Extraction temperature	C 热水浸提时间/h Time	D 加水量/mL The additive quantity of water
1	1:35	90	2.0	400、500
2	1:40	95	2.5	500、400
3	1:50	100	3.0	500、500

表 3 $L_9(3^4)$ 正交试验设计结果直观分析
Table 3 Visual analysis of orthogonal experimental design result

试验号 No.	因素 Factors				多糖提取率/% Extracting rate
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	10.86
2	1	2	2	2	11.58
3	1	3	3	3	12.18
4	2	1	2	3	11.09
5	2	2	3	1	19.30
6	2	3	1	2	10.00
7	3	1	3	2	15.00
8	3	2	1	3	9.98
9	3	3	2	1	11.07
K1	11.54	12.32	10.28	12.87	
K2	12.59	12.74	11.24	12.19	
K3	12.01	11.08	14.62	11.08	
R	1.05	1.66	4.34	1.78	

由表 3 可知,影响黑木耳多糖提取率因素的优先顺序为 $C>D>B>A$,即提取时间>加水量>提取温度>料液比,最优化的提取条件应为 $A_2B_2C_3D_1$,即料液比为 1:40,提取温度为 95℃,浸提时间为 3.0 h,加水量分别为 400、500 mL。在此条件下做验证试验,结果多糖的提取率达到 19.30%。

2.6 鞣酸沉淀法脱除蛋白质工艺试验优化

多糖提取液经浓缩得到的粗多糖滴加配制的鞣酸溶液后浓度会有变化,因此对脱蛋白效果及黑木耳多糖含量产生影响,向多糖溶液中滴加 3%鞣酸溶液时,多糖含量达到最大值,多糖提取率最高可达 12%。黑木耳多糖含量测定为 44.5%(见图 4)。

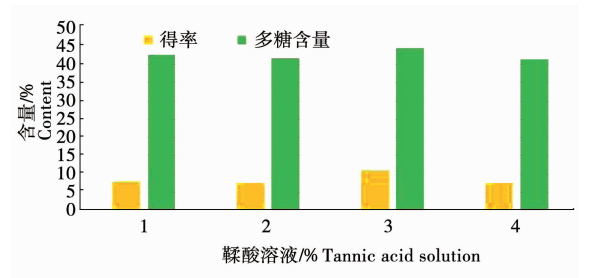


图 4 鞣酸沉淀法脱除蛋白质工艺试验结果
Fig. 4 Test result of protein removal by tannic acid precipitation method

3 结论

目前工业化提取黑木耳多糖时多采用热水浸提,耗时长、产量低、成本高,无法满足市场需求^[13-14],微波强化固液浸取法具有设备简单、适用范围广、提取率高、节省溶剂、节省时间、节能、不产生噪音和污染等众多优点^[15-16],可以大幅度提高细胞内活性成分释放的速率^[17-18],并使被提取物质充分溶出^[19],是一种颇具发展潜力的新型辅助提取技术^[20]。在天然产物的提取中,微波辅助萃取法的黑木耳多糖与传统常规水提法相比具有提高产率、缩短提取时间、节约能耗等优点,经微波处理一定量水浸润后的干料,然后再加水或有机溶剂浸提有效成分,这样破壁效果好,而且既节省能源,又可进行连续工业化生产。本试验以长白山有机黑木耳为主要原料,利用微波处理技术,达到较好的提取率,并确定了长白山地区有机

黑木耳多糖的最佳提取工艺,条件为微波功率 800 W,料液比 1:40,提取温度为 95 ℃,微波时间为 40 min,热水浸提 2 次,时间分别为 1.5 h,加水量分别为 400、500 mL。按照最佳优化提取条件,粗多糖提取率为 19.30%,鞣酸沉淀法脱蛋白后,黑木耳多糖含量测定为 44.5%。此条件下较温和,能耗较低,是很好的生产方法。

参考文献:

- [1] Cui J,Chisti Y. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production[J]. *Biotechnol Adv*,2003,21(2): 109.
- [2] Hiroshi Takii,Takashi Kometani. Antidiabeti ceffectof glycyrrhizin in genetically diabetic KK-Aymice[J]. *Biol Pharm Bull*,2001,24(5): 484-487.
- [3] 张秀娟,季宇彬. 黑木耳多糖药理学研究进展[J]. *中国微生物学杂志*,2003,15(6):373-374.
- [4] 郑钧予,丑建栋,彭晓龙. 复合酶法提取黑木耳多糖方法优化[J]. *安徽农业科学*,2015,43(3):183-185.
- [5] 郭村荣. 黑木耳-防病保健功效多[J]. *中国食物与营养*,2004,9(9):43-44.
- [6] 沈正军. 黑木耳多糖提取法与保健功能[N]. *中国食品安全报*,2012-06-02(B02).
- [7] 唐平,俞卫平,支明玉. 黑木耳的开发研究进展[J]. *农产品加工*,2012(5):99-102.
- [8] 张娜,张小燕,陈双. 黑木耳系列加工产品研究进展[J]. *保*

鲜与加工,2013,13(3):50-52.

- [9] 李家磊,洪滨,卢淑雯. 黑龙江省黑木耳加工进展与开发前景[J]. *中国食物与营养*,2014,20(8):33-37.
- [10] 陈明. 长白山特色农产品发展战略研究[D]. 上海:上海交通大学,2010.
- [11] 孔祥辉,张介驰,戴肖东. 黑木耳多糖的提取与纯化[J]. *生物技术*,2005,15(1):81-82.
- [12] 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.
- [13] 王献友,陈培云,吴广臣. 黑木耳多糖提取及其药理活性的研究进展[J]. *南方农业学报*,2012,43(5):683-687.
- [14] 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.
- [15] 赵玉红,党媛,王振宇. 提取方法对黑木耳多糖提取效果的影响[J]. *安徽农业科学*,2014,42(30):10664-10668,10672.
- [16] 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(1):95-98.
- [17] 陈源. 响应面法优化微波提取茂谷橘橙皮总黄酮工艺[J]. *中国食品学报*,2013,4(4):30-35.
- [18] 王广慧. 微波辅助高压法提取金针菇黄铜条件的优化[J]. *食品研究与开发*,2017,38(8):46-49.
- [19] 王广慧,魏雅冬,于德涵. 高压热水浸提法提取金针菇黄铜的优化研究[J]. *食品科技*,2015,40(3):241-244.
- [20] 李志涛,孙金旭,王倩,等. 白灵菇多糖的提取及其免疫活性研究[J]. *食品研究与开发*,2017,38(7):56-58.

Extraction Method of Polysaccharides from Organic *Auricularia auricula* of Changbai Mountain

LIN Hua,CHE Cheng-lai,WANG Xia,WANG Xin-yu,WANG Yu-hui,XUAN Dong-zhe,JIN Long-zhe
(Yanbian Korean Autonomous Prefecture Academy of Agricultural Sciences, Yanji, Jilin 133001)

Abstract: To explore the extraction methods of microwave assisted extraction,optimizing the conditions on polysaccharides from organic *Auricularia auricula* of Changbai mountain,finally to determine the best extraction method. The results of single factor test and orthogonal test proved that better extration conditions were water as extraction agent,microwave power 800 W, ratio of material to liquid 1:40,extraction temperature 95 ℃,the microwave radiation time 40 minutes,water bath extraction time was two times,and the time was 1.5 hours each time,water content were 400 and 500 mL,under these coditions,the extraction rate of polysaccharide was 19.30%. After removing protein by tannic acid method of precipitation,the content of polysaccharides in *Auricularia auricula* was 44.5%.

Keywords: organic *Auricularia auricula* of Changbai mountain; polysaccharides; extraction technology; microwave assisted extraction

(本文作者还有宋洪花,单位同第一作者)