

地木耳多糖的提取工艺研究

张唐伟^{a,b} 李天才^{①a}

^a(中国科学院西北高原生物研究所 西宁市西关大街 59 号 810008)

^b[中国科学院研究生院 北京市石景山区玉泉路 19 号(甲) 100049]

摘要 为了筛选地木耳多糖的最佳提取条件,本试验用水提取地木耳多糖,以提取温度、提取时间、液料比和提取次数为主要因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行提取工艺的优化;用苯酚-硫酸法测定多糖含量后计算多糖得率。结果发现,影响地木耳多糖提取的主要因素由大到小依次为提取温度>提取次数>提取时间>液料比。通过正交试验及其验证试验确定地木耳多糖最佳提取条件为:提取温度 90℃,提取次数 5 次,提取时间 3h,液料比 60:1,在此条件下,地木耳多糖得率可达 13.75%。

关键词 地木耳;多糖;提取;正交试验

中图分类号:O657.32

文献标识码:A

文章编号:1004-8138(2011)01-0144-05

1 引言

地木耳(*Nostoc commune vauch*)俗称地皮菜、地耳、鼻涕肉、地踏菜、地软、地衣、地捡皮等,为藻类蓝藻纲念珠藻科(*Nostocaceae*)念珠藻属植物念珠藻(*Nostoc commune vauch*)的藻体。它与发菜(*N. flagelliforme*)、葛仙米(*Nostoc sphaeroides kutzing*)为同属植物^[1]。地木耳是世界广生种,主要分布在石灰石区和喀斯特岩溶地带^[2]。在我国几乎都有分布,资源丰富,并且生命力极强,即使休眠几十年,一遇水又马上恢复生机。地木耳一般在夏秋季雨后采收,去杂质洗净,鲜用或晒干^[3]。地木耳含有丰富的蛋白质、多糖、维生素、钙、磷、铁等,《本草纲目》记载:地木耳气味甘、平、无毒,明目益气,补肾。《中国药典》记载:野生地木耳对补充维生素、蛋白质,清热解毒,凉血明目,治疗夜盲、皮疹赤热等有明显滋补食疗效果。从植物中提取多糖的提取剂有酸液、碱液、酶及热水,不同提取液多糖得率差异较大,以水提取成本低,方便实用^[4]。本文采用热水提取地木耳多糖,利用正交试验的原理,以提取温度、提取时间、液料比和提取次数为主要因素进行了正交试验,确定地木耳多糖的最佳提取条件,为地木耳多糖的开发及利用提供科学依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);SHB-III 循环水式多用真空泵(陕西太康生物科技有限公司);721 可见分光光度计(上海第三分析仪器厂);LG10-24A 型离心机(北京医用离心机产);420 型指针仪表电热恒温水箱(北京中兴伟业);电子天平(美国派布洛克公司)。

葡萄糖、苯酚、浓硫酸、乙醇等其他试剂均为分析纯。实验用水为蒸馏水。

① 联系人,手机:(0)13519710591;E-mail:zhangtangwei04@163.com;tccli@nwipb.ac.cn

作者简介:张唐伟(1987—),男,山东省菏泽市人,硕士研究生,研究方向为药用植物化学。

收稿日期:2010-04-23;接受日期:2010-05-24

地木耳采于西宁市西山,采回后清水洗去泥沙,并用蒸馏水冲洗3遍,于烘箱中烘干(60℃,12h),粉碎后过筛。

2.2 实验方法

2.2.1 校准曲线绘制

采用苯酚-硫酸法^[5],在490nm处测定吸光度。以葡萄糖的浓度 $C(\mu\text{g}/\text{mL})$ 为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制吸光度-葡萄糖浓度的校准曲线,其线性回归方程为 $C=0.0134A+0.0092$, $r^2=0.9956$,葡萄糖含量在10—50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈良好的线性关系。

2.2.2 提取方法

准确称取地木耳粉末2.0000g,按一定液料比加入蒸馏水,于恒温水浴中提取,然后过滤,滤渣用同样的方法提取,合并上清液,用旋转蒸发器将上清液浓缩到适当体积后,缓慢加入3倍体积的无水乙醇,4℃低温放置过夜,可见白色絮状粗多糖析出,4500r/min离心20min,收集沉淀物,干燥得粗多糖。采用苯酚-硫酸法测定粗多糖中多糖含量,计算多糖得率。计算公式:

$$\text{多糖得率}(\%) = (\text{粗多糖中多糖含量} / \text{地木耳干重}) \times 100\%$$

2.2.3 单因素试验

料液比采用1:40、1:50、1:60、1:70、1:80,5个水平,浸提温度采用50、60、70、80、90℃5个水平,浸提次数采用1、2、3、4、5,5个水平,浸提时间采用1、1.5、2、2.5、3h5个水平分别做单因素试验。

2.2.4 正交试验^[6]

在上述单因素试验的基础上,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行提取工艺的优化,以液料比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)及提取次数(D)为试验因素,以粗多糖得率为指标进行正交设计试验,对地木耳多糖的提取工艺进行优化。

3 结果与讨论

3.1 单因素试验结果

3.1.1 温度对地木耳多糖得率的影响

温度对多糖提取率的影响如图1所示。由图可知,温度对地木耳多糖的得率有明显的影响,随着温度的提高多糖得率显著上升。由于西宁地区处于青藏高原,水的沸点较低(水的沸点:92.5℃),所以最高温度选择90℃。

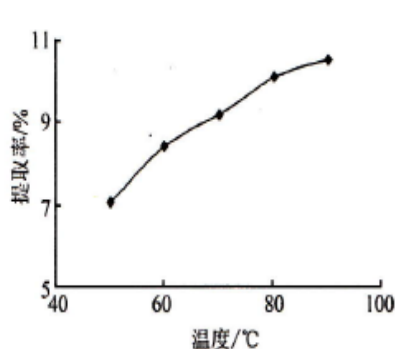


图1 温度对多糖得率的影响

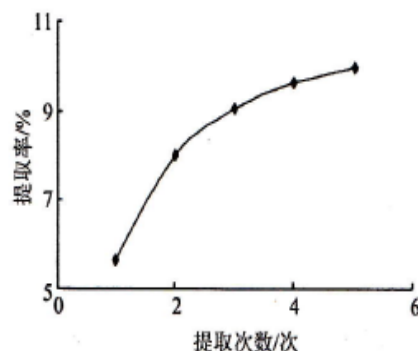


图2 提取次数对多糖得率的影响

3.1.2 提取次数对地木耳多糖得率的影响

提取次数对多糖得率的影响如图 2 所示。由图可知,随着提取次数的增加,多糖得率逐渐升高,但是在 3 次以后多糖得率增加不太显著。

3.1.3 提取时间对地木耳多糖得率的影响

提取时间对多糖得率的影响如图 3 所示。由图可知,随着每次提取时间的延长,多糖得率有所增加,但是在 2h 之后多糖得率增加的速度趋于平缓。

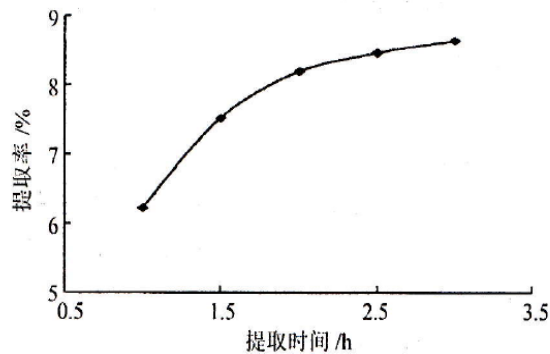


图 3 提取时间对多糖得率的影响

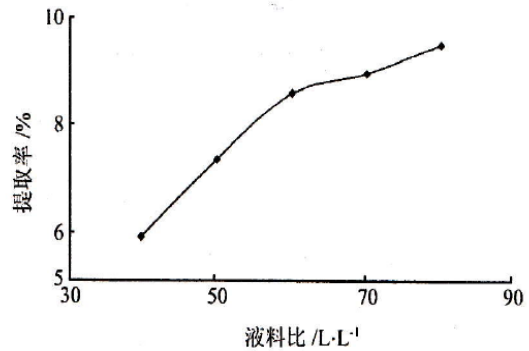


图 4 液料比对多糖得率的影响

3.1.4 液料比对地木耳多糖得率的影响

液料比对多糖得率的影响如图 4 所示。由图可知,液料比的上升会增加多糖得率,在 60 : 1 之后,上升的幅度降低。

3.2 正交试验设计及结果

3.2.1 正交试验设计

根据单因素试验结果,因素水平设计见表 1。

表 1 正交试验设计因素水平

水平	液料比 A(L/L)	提取温度 B(°C)	提取时间 C(h)	提取次数 D(次)
1	60	70	2	3
2	70	80	2.5	4
3	80	90	3	5

3.2.2 正交试验结果

正交试验结果见表 2,方差分析结果见表 3。

表 2 正交试验结果直观分析表

试验号	A 液料比 (L/L)	B 提取温度 (°C)	C 提取时间 (h)	D 提取次数 (次)	多糖得率 (%)
1	60	70	2	3	7.530
2	60	80	2.5	4	10.940
3	60	90	3	5	13.750
4	70	70	2.5	5	8.290
5	70	80	3	3	10.760
6	70	90	2	4	12.280
7	80	70	3	4	9.430
8	80	80	2	5	11.210
9	80	90	2.5	3	11.710
均值 1	10.740	8.417	10.340	10.000	
均值 2	10.443	10.970	10.313	10.833	
均值 3	10.783	12.580	11.313	11.083	
R	0.297	4.163	1.000	1.083	

通过直观分析,从级差 R 的大小可看出 4 个主要因素对地木耳多糖得率影响的大小顺序为:提取温度>提取次数>提取时间>液料比。因素 A 的级差最小,所以将此列作为方差分析的误差列^[7],结果见表 3。

表 3 方差分析表

方差来源	偏差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
提取温度	26.445	2	13.222	128.693	<0.01
提取时间	1.948	2	0.974	9.48	<0.05
提取次数	1.994	2	0.997	9.703	>0.05
误差	0.205	8	0.103		

注: $F_{0.05(2,2)}=19.00, F_{0.01(2,2)}=99.00$ 。

F 测验表明,提取温度 $P<0.05$,有显著意义,说明在所设的不同水平的温度下,其提取效果有显著差异。其他因素各个水平间均差异不显著。对有显著意义的因素确定最好水平,因此提取温度确定为 90°C 。直观分析提取地木耳多糖的最佳工艺条件为 $A_1B_3C_3D_3$,即液料比 60:1、提取温度 90°C ,提取时间 3h,提取次数 5 次,在此条件下多糖得率为 13.75%。

3.3 验证试验

称取 3 份 2.0000g 的地木耳样品于烧瓶中,按照液料比 60:1,在 90°C 的恒温水浴锅中冷凝回流提取 3h,过滤、离心,重复提取 5 次,加入乙醇沉淀,得粗多糖,测定粗多糖中糖含量,结果见表 4。从表 4 结果可知,地木耳多糖含量的平均值与正交试验所得的含量接近,因此,正交设计试验选出的最佳工艺条件是正确的。

表 4 验证试验结果

序号	地木耳多糖得率(%)	地木耳多糖平均得率(%)
1	13.74	
2	13.77	13.75
3	13.73	

4 结论

范群艳^[8]等通过响应面优化地木耳多糖提取工艺为:提取温度 99°C 、提取时间 3.76h、液料比 52.1:1、提取 3 次,此条件下地木耳多糖得率达 7.54%。而本试验的多糖得率明显高于他们的结果,究其原因可能是,本试验中的提取时间、提取次数和料液比均比他们的高,这样有助于提高多糖的得率。

该试验建立了地木耳多糖热水浸提的最佳工艺,通过正交设计对提取温度、提取时间、提取次数、液料比进行优化,结果表明提取温度对多糖提取得率具有显著的影响,其次为提取次数、提取时间、液料比。最优水平为 $A_1B_3C_3D_3$,即液料比为 60:1,提取温度为 90°C ,提取时间为 3h,提取次数为 5 次。此时,地木耳中可溶性多糖得率为 13.75%。本试验为地木耳多糖的提取提供了实验依据,为地木耳的进一步开发利用奠定了基础。

参考文献

- [1] 朱浩然. 中国淡水藻志(第九卷)[M]. 北京:科学出版社,2007. 253.
- [2] Potts M, Whitton B A. *The Ecology of Cyanobacteria*[M]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. 465—504.
- [3] 范群艳, 吴向阳, 仰榴青等. 地木耳的研究进展[J]. 常熟理工学院学报, 2007, 21(4): 55—59.
- [4] 罗先群, 王新广, 杨东升. 海藻多糖的结构、提取和生物活性研究新进展[J]. 中国食品添加剂, 2006, 4: 100—105.
- [5] 钟岩, 潘浦群, 王艳红等. 苯酚-硫酸法测定鲜人参中多糖含量[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1957—1958.
- [6] 盛小莉, 王凯平. 正交设计优化当归多糖提取工艺[J]. 中成药, 2008, 30(12): 1862—1864.

- [7] 苏本正, 黄丁毅, 于宗渊. 正交实验优选川芎羌活的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(1): 13.
- [8] 范群艳, 吴向阳, 仰榴青. 响应面分析法优化地木耳多糖提取工艺的研究[J]. 江苏大学学报, 2007, 17(3): 236—240.

Optimal Extraction Conditions on Polysaccharide of *Nostoc Commune Vauch*

ZHANG Tang-Wei^{a,b} LI Tian-Cai^a

^a(Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810008, P. R. China)

^b(Graduate University, Chinese Academy of Science, Beijing 100049, P. R. China)

Abstract The polysaccharide of *Nostoc commune vauch* was extracted by distilled water. The extraction temperature, extraction time, extraction ratio, extraction times were used as main factors, and the $L_9(3^4)$ orthogonal test was used for optimizing the extraction technology. The yield rate of polysaccharide was calculated, after the polysaccharide content was detected by phenol-vitriol. The effect of main factors on the extraction for the polysaccharide of *Nostoc commune vauch* from big to small were extraction temperature > extraction times > extraction time > extraction ratio. The best conditions for extracting the polysaccharide by the orthogonal test and verification test were as follows: the extraction temperature of 90°C, the extraction times of 5, the extraction time of 3h, the extraction ratio of 60, and the yield of polysaccharide from *Nostoc commune vauch* can achieve 13.75%.

Key words *Nostoc Commune Vauch*; Polysaccharide; Extraction; Orthogonal Test

本刊编辑部再次忠告: 请作者勿将联系地址省略! 尽管你单位的名称和你的姓名大名鼎鼎, 但并非人人皆知

某作者只告诉了本编辑部他所在单位的所在城市, 未告知街道名称和门牌号数。确实, 他单位是该城市鼎鼎有名的大单位, 所以编辑部发给他的信每次都能收到, 但是后来给他寄样刊时, 印刷品却被退回了, 邮局在上盖了个戳: 地址不详, 退! 可见, 虽然你单位大名鼎鼎, 但还并不是邮局人人皆知。“退”! 这还是一个好运。因为“退”! 毕竟你还遇上一个邮局负责任的人, 他还要花费人力物力来“退”! 也只好让邮件寄出者清楚“退”的缘故。若碰上一个不负责任的, 将邮件丢进了垃圾箱, 你到哪儿去叫苦呢! 有的作者联系地址只写上他单位的大名, 好像他在本单位也是大名鼎鼎, 本单位人人皆知的, 但情况往往并非如此。这种邮件, 单位的收发室, 也通常予以退回, 甚至丢进垃圾箱。所以, 请各位作者勿将你单位的地址(县、区、街道名称, 门牌号)和你自己的地址(院、部、系、室、组)省略, 举手之劳, 何乐不为? 邮件丢失才是一件大事, 请勿因小失大。

以上意见也是邮局对我们的要求。

若作者对我们的再次忠告和邮局的要求置之不理(甚至还同我们辩论), 本刊不得不停发邮件, 直到作者补齐详细地址后恢复。因此而延误出版的责任, 只好由您自己负责。

《光谱实验室》编辑部