

茶新菇水溶性多糖的提取及其对氧自由基清除效果的研究

秦恩华

(湖北民族学院生物科学与技术学院, 湖北 恩施 445000)

摘要: 本文以茶新菇为原料提取水溶性多糖, 同时在体外进行多糖对氧自由基的效应实验, 实验结果表明, 当为 NaOH 浓度为 0.77 mol/L, 提取时间为 2.71 h, 料液比为 1:88.22 (m/v) 时, 水溶性多糖的最高提取率为 2.950%, 茶新菇水溶性多糖对氧自由基具有清除效果, 其 EC₅₀ 为 1.5 mg/mL。

关键词: 茶新菇; 水溶多糖; 氧自由基

中图分类号: TS201.1; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)06-0048-03

Extraction of Alkali-soluble Polysaccharides from *Agrocybechg Fruit-body* and its Effect on Superoxide Radical

QIN En-hua

(School of Bioscience and Biotechnology, Hubei nationalities institute, Enshi 445000, China)

Abstract: In this paper, a water-soluble polysaccharides was extracted from *Agrocybechg Fruit-body* was studied and its elimination effect in vitro on the superoxide radicals O₂⁻ was investigated. The results showed that the concentration of NaOH, extracting time and the ratio of the powder to the water were 0.77 mol/L, 2.71 h, 1:88.22, respectively, under which the extracting rate of the polysaccharide reached 2.950%. Besides, the achieved water-soluble polysaccharide showed great elimination effect on O₂⁻ with the EC₅₀ value being of 1.5 mg/ml.

Key words: *Agrocybechg Fruit-body*; Alkali-soluble polysaccharides; superoxide radical

茶新菇, 学名 *Agrocybechg sing Hnang.sp.nor*, 又名茶树菇、柳松茸、柳环菌。与杨树菇相似种。茶新菇味道鲜美, 口感脆嫩, 香味浓郁, 质地细嫩, 是一种可取代金针菇、平菇的新型食用菌。其营养价值丰富, 100 g 干品中含蛋白质 14.2 g, 脂肪 10.27 g, 纤维素 14.4 g, 总糖 59.93 g, 钾 471.3 mg, 钠 186.6 mg, 钙 26.2 mg, 铁 42.3 mg, 具有补肾健脾和止泻等功效, 对高血压、心血管、肥胖症亦有疗效。本文主要对茶新菇水溶性多糖的提取工艺进行了优化, 同时对其在体外对氧自由基的清除效果进行了探讨。

1 材料、仪器与试剂

1.1 实验材料

茶新菇: 恩施市购买, 50 °C 条件下烘干, 粉碎备用。

1.2 试剂

收稿日期: 2007-03-28

作者简介: 秦恩华, 1964-, 女, 实验师, 研究方向为于食品微生物及资源开发

95%乙醇; 98%硫酸; 苯酚; 三氯甲烷; 正丁醇; 葡萄糖等(以上试剂均为分析纯)。

1.3 实验仪器

755B 紫外可见光分光光度计; W1150C 型磨粉磨浆机; 800B 离心机; R-201 旋转蒸发器。

2 实验方法

2.1 茶新菇水溶性多糖的提取工艺流程^[1-3]

茶新菇粉末→水提离心→去除滤液, 滤渣用稀碱溶液浸提→离心→去除滤渣, 滤液用酸中和→沉淀

↓

上清液→浓缩→醇沉→离心→去掉上清液→洗涤离心物(包括前面得到的沉淀)→干燥→水溶性粗多糖

2.2 多糖得率测定^[4]

总糖含量测定: 硫酸蒽酮法。

还原糖含量: 菲林试剂滴定法。多糖含量=总糖含量-还原糖含量

多糖得率/%=[(总糖含量-还原糖含量)÷原料重量]×100%

2.3 茶新菇多糖对氧自由基清除率的测定^[4]

2.3.1 氧自由基清除原理

邻苯三酚在碱性条件下能迅速自氧化, 释放出氧自由基, 生成有色的中间产物, 由此出现的一系列颜色变化, 可以利用分光光度法进行测定。当有抑制剂存在时, 可清除氧自由基, 从而阻止中间产物的积累, 根据吸光度数值的变化可求出抗氧化剂的活性。

2.3.2 实验步骤

取 4.5 mL pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液, 4.2 mL 蒸馏水, 混匀后在 25℃ 水浴中保温 20 min, 取出后立即加入在 25℃ 预热过的 3 mmol/L 邻苯三酚 0.3 mL (以 10 mmol/L HCl 配制, 空白管用 10 mmol/L HCl 代替邻苯三酚的 HCl 溶液), 迅速摇匀后倒入比色杯, 325 nm 下每隔 1 min 测定吸光度, 计算线性范围内每分钟吸光度的增加。在加入邻苯三酚前, 先加入一定体积的多糖溶液, 蒸馏水减少, 然后按上述方法计算抑制率。

2.3.3 氧自由基清除率的计算

$$\text{清除率 (\%)} = \frac{\Delta A_0 - \Delta A}{\Delta A_0} \times 100\%$$

其中: ΔA_0 为未加多糖时邻苯三酚的自氧化速率; ΔA 为加入多糖溶液后邻苯三酚的自氧化速率。

3 结果与分析

3.1 茶新菇水溶性多糖的提取工艺优化

选取碱液浓度、提取时间和料液比三因素, 采用中心组合设计对茶新菇水溶性多糖提取工艺进行优化, 因素水平见表 1, 实验结果见表 2。

表 1 碱溶多糖的因素水平编码表

因素水平	X1 (NaOH/%)	X2 (时间/h)	X3 (料液比)
1	1.5	3	1:60
0	1.0	2	1:50
-1	0.5	1	1:40

对表 2 的结果用 SAS 软件的 RSREG 程序进行分析, 得到回归方程 $Y=2.722-0.0764X_1+0.3325X_2+0.1086X_3-0.9446X_1^2-0.5615X_1X_2-0.6439X_2^2-0.2578X_1X_3+0.156X_2X_3-0.0921X_3^2$ 。对回归方程进行方差分析, 结果见表 3, 其中决定系数 $R^2=0.9358$ 。这说明此回归方程可以很好的拟合实验数据。

对各因素进行方差分析结果见表 4, 由其显著水平可以看出, X_1 最显著, 其次为 X_2 和 X_3 , 说明碱浓度对茶新菇水溶性多糖的提取影响最显著, 其次是提取时间, 而料液比影响最小。

表 2 中心组合设计实验表

实验号	X1	X2	X3	多糖得率/%
1	-1	-1	0	0.608
2	-1	0	-1	1.286
3	-1	0	1	2.084
4	-1	1	0	1.965
5	0	-1	-1	1.518
6	0	-1	1	1.358
7	0	1	-1	2.302
8	0	1	1	2.766
9	1	-1	0	1.425
10	1	0	-1	1.802
11	1	0	1	0.569
12	1	1	0	0.536
13	0	0	0	2.521
14	0	0	0	2.863
15	0	0	0	2.782

表 3 回归方程的方差分析

方差来源	自由度	平方和	F	显著水平
总回归	9	7.1580	8.101	0.0165*
线性项	3	1.0255	3.482	0.1064
平方项	3	4.5083	15.307	0.0059**
交互项	3	1.6242	5.515	0.0483*
失拟项	3	0.4270	4.456	0.1887
误差项	2	0.0639		
总误差	5	0.4909		

注: *为 0.05 水平上显著; **为 0.01 水平上显著。

表 4 各个因素的方差分析

方差来源	自由度	平方和	F	Prob>F
X1	4	4.8682	12.396	0.0083**
X2	4	3.7737	9.609	0.0144**
X3	4	0.4888	1.245	0.3994

注: *为 0.05 水平上显著; **为 0.01 水平上显著。

通过岭脊分析表明, 其稳定点为最大值, 预测值为 2.964%, 此时的提取条件为 $X_1=-0.5134$, $X_2=0.7137$, $X_3=1.9110$, 即碱浓度为 0.77 mol/L, 提取时间为 2.71 h, 料液比为 1:88.22。通过验证实验得出茶新菇水溶性多糖的得率为 2.950%, 与预测值很接近。

3.2 茶新菇水溶性多糖对氧自由基的清除作用

采用不同浓度的茶新菇水溶性多糖, 按照实验方法的步骤进行氧自由基清除率的测定, 具体结果见表 5。

表 5 茶新菇水溶性多糖对氧自由基清除率

反应液体体系中多糖浓度/($\mu\text{g/mL}$)	清除率/%
100	5
300	10
500	15
700	25
900	30

由表 5 可以看出, 茶新菇水溶性多糖对氧自由基 O^2 的清除作用较明显, 随着多糖浓度的增加, 清除率上升。通过对以上数据进行的统计分析, 可以得出多糖浓度 (x , $\mu\text{g/mL}$) 与清除率 (y , %) 的回归方程为 $y=0.411+0.033x$, 其相关系数 $r=0.994$ 。对回归方程进

行 t 检验得 $t=13.079$, 查表得 $t>t_{0.001,3}=12.924$, 所以此回归方程在 0.001 水平上显著。其 EC_{50} 为 1.5 mg/mL 。

参考文献

- [1] 耿慧,梁忠岩,史军花,等.碱提猴头发酵菌丝体多糖的分离、纯化及初步研究[J].特产研究,2003(1):4-6
- [2] 罗兴武,曾克峰.中心组合实验优化鸡尾菇碱溶性多糖的提取工艺[J].湖北民族学院学报(自科版),2006(2):196-198
- [3] 黄才欢,李炎,王秀芬.茯苓多糖的提取及结构表征[J].广州食品工业科技,2003,3(67):13-15
- [4] 聂凌鸿,宁正祥.广州淮山水溶多糖的分离纯化及体外抗氧化活性的研究[J].食品科学,2003,11(24):129-133

(上接第 44 页)

参考文献

- [1] 高云.红枣乳酸菌饮料的研制[J].鞍山钢铁学院学报,2001,24(4):256-261
- [2] 凌代文,东秀珠.乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M].北京,中国轻工业出版社,1999
- [3] 沈萍.微生物学实验[M].北京,高等教育出版社,1999

- [4] 黄伟坤.食品检验与分析[M],1997:819-820
- [5] 郑坚强,蒋福虎.乳制品工业中常用的稳定剂[J].食品研究与开发,2003,24(4):21-26
- [6] 杨大庆.红枣带肉果汁饮料稳定性的实验研究[J].陕西科技大学学报,2003,(21):34-37
- [7] 杜荣骞.生物统计学(第二版)[M].北京,高等教育出版社,2003

(上接第 47 页)

3 结论

酶法提取干红辣椒中的天然辣椒素是可行的, 与传统的乙醇提取法相比, 产量提高了 33%。

酶法提取天然辣椒素的最佳酶解条件: 酶解温度为 55 $^{\circ}\text{C}$, 酶解液初始 pH 为 5.4, 酶解时间为 4 h, 酶量为 2.5 mg/g 辣椒。天然辣椒素产量为 7.65 mg/g 辣椒。

参考文献

- [1] Neil L. Sass, Mark Rounsavill, Harold Combs. J. Agric. Food Chem.,1997,25:6. 1419-1420
- [2] Epstein JB, Marcoe JH. Topical application of capsaicin for treatment of oral neuropathic pain and trigeminal neuralgia [J].Oral Surg Oral Med Oral Pathol , 1994, 77(2):135-140.
- [3] Rains C, Bryson HM. Topical capsaicin:a review of its pharmacological properties and therapeutic potential in osteoarthritis [J].DrugsAging,1995,7(4):317-328.
- [4] Rumsfield JA, West DP. Topical capsaicin in dermatologic and peripheral pain disorders [J] DICP.1991,25(4):381-387

每周吃 1 次无盐餐

食盐是生活中不可缺少的营养物质, 但如果食之过量就会对人体造成伤害。有调查显示, 目前我国大部分省份每人每天吃盐约 16 g, 大大超过世界卫生组织推荐的 5 g 安全量。

超量吃盐可导致高血压、肾脏疾病、糖尿病等。而肾脏病患者合并高血压的几率是 80%。其中, 又有 80%是容量依赖型高血压, 这和体内钠离子浓度关系极为密切。钠离子可以留住水, 医学上叫水钠潴留。因此, 肾病临床治疗原则规定, 所有的肾病病人都要低盐饮食。

建议应酬多、饭局多、口味重的人, 每天吃 0.5 kg 水果、0.5 kg 蔬菜, 每周 2 次出汗活动。出汗可排出盐分。此外还可定期吃 1 顿没有食盐的午餐或晚餐。没有食盐的食物有利于平衡细胞内外渗透的压力, 逐渐将口味调淡。

建议 40 岁以上高血压患者或有高血压家族遗传倾向的人, 每周吃 1 次无盐餐, 但 1 周最多 2 次。因为盐摄入得太少, 同样会破坏体内的离子平衡, 对身体不利。