

微波辅助提取菱红菇多糖 及抗氧化活性研究

王娅玲, 李维峰, 郭芬, 张传利, 吴荣书*

(云南农业大学热带作物学院, 云南普洱 665000)

摘要: 探讨菱红菇多糖微波辅助提取工艺, 并研究其抗氧化活性。考察料液比、微波功率、微波时间对菱红菇多糖提取率的影响, 在单因素实验的基础上, 利用正交实验设计对提取工艺参数进行优化, 并对菱红菇多糖还原力和对羟自由基、亚硝酸根、超氧自由基的清除作用进行研究。实验结果表明, 菱红菇多糖微波辅助提取最佳提取条件为水料比 1:40 (g/mL), 微波功率 500W, 微波时间 7min, 在此条件下多糖平均得率为 7.82%。菱红菇多糖具有较强的还原能力和清除羟自由基、亚硝酸根、超氧自由基的能力。尽管菱红菇多糖抗氧化性低于 V_C , 但可作为潜在的天然抗氧化剂应用于食品工业中。

关键词: 菱红菇, 多糖, 微波, 提取, 抗氧化活性

Study on microwave-assisted extraction and the antioxidant activities of polysaccharide from *Russula vesca*

WANG Ya-ling, LI Wei-feng, GUO Fen, ZHANG Chuan-li, WU Rong-shu*

(Faculty of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Pu'er 665000, China)

Abstract: The microwave extraction process of polysaccharide from *russula vesca* and antioxidant activity of PAP was also studied. The effect of solid-liquid, microwave times and microwave power on content of PAP were investigated. Orthogonal test was carried out on the basis of single-factor experiments to determine the optimum process parameters. Additional, the reducing power of PAP and the clearance effect of $OH\cdot$, NO_2^- and $O_2^-\cdot$ were investigated. The optimize extraction process conditions as follows: extracting time 7min, the ratio of solid to liquid 1:40 (g/mL), microwave power 500W, and that crude polysaccharide yield was up to 7.82%. Furthermore, the PAP had better reducing power and had strong abilities to scavenge $\cdot OH$, NO_2^- and $O_2^-\cdot$. Although the antioxidant activity of PAP from *russula vesca* was weaker than V_C , but it could be used as a potential natural antioxidant in the food industry.

Key words: *Russula vesca*; polysaccharide; microwave; extraction; antioxidant activity

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)09-0251-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.09.046

多糖是由多个单糖聚合而成的大分子化合物, 作为生命活动的四大基本物质之一, 对生命有机体具有重要的意义。自 Brander 研究发现酵母细胞壁多糖具有抗肿瘤活性之后, 人们做了大量关于真菌多糖生物活性的研究。研究发现, 真菌多糖具有抗肿瘤、增强机体免疫力、降血脂、降血糖等生理功能^[1]。

菱红菇 (*Russula vesca* fr.), 别名细弱红菇, 属担子菌门、担子菌纲、红菇目、红菇科、红菇属^[2], 广泛分布于江苏、福建、云南、广西等地, 可食用, 质地脆嫩, 味道鲜美, 亦可入药, 具有和胃气、祛风、破血、缓冲等药效^[3]。目前国内外对红菇属真菌开展了一定的

研究^[4-7], 但是对菱红菇多糖的提取分离及其抗氧化活性的研究却还未见报道。本实验以野生菱红菇为实验材料, 研究了菱红菇多糖的微波辅助提取技术, 通过正交实验^[8]优化提取工艺, 并对菱红菇多糖的抗氧化活性进行了测定, 为进一步开发菱红菇的药用保健功能提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

菱红菇 野生菱红菇采集于云南省普洱市山地栗木杂生林下; 浓硫酸、无水乙醇、丙酮、苯酚、乙醚、氯仿、三氯乙酸、磷酸等试剂 均为分析纯。

收稿日期: 2014-08-11

作者简介: 王娅玲 (1985-), 女, 本科, 助教, 主要从事环境化学和食品化学方面的研究。

* 通讯作者: 吴荣书 (1960-), 女, 学士, 教授, 主要从食品安全与质量控制方面研究。

基金项目: 云南农业大学热带作物学院科研基金资助项目 (019RY2014001)。

电子天平 梅特勒 AL204;冷冻离心机 中科中佳 HC-3618R;分光光度计 上海精科 UV759;微波炉美的 EG823MF4-NA;真空干燥箱 上海一恒 DZF-6053;万能粉碎机 北京中兴伟业 FW-200;电热鼓风箱 上海一恒 DHG-9620A;水浴锅 上海一恒 HWS-24。

1.2 实验方法

1.2.1 原料的处理 将野生菱红菇洗净泥沙及粘附的杂物后 65℃ 烘干,高速中药粉碎机粉碎成粉末,过 70 目筛,按照 1:3 (g/mL) 比例加入无水乙醚连续回流萃取 2h,抽取脂肪,于烘箱中 60℃ 烘干后再按照 1:3 (g/mL) 比例加入 85% 乙醇连续回流萃取 2h,去除单糖、低聚糖等杂质,再于烘箱中 60℃ 烘干备用。

1.2.2 单因素实验 预处理后的菱红菇粉末通过基本实验条件:微波功率 400W,加水按料液比 1:40 (g/mL),微波处理时间 50min,分别研究不同料液比 (1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60)、不同微波功率 (200、300、400、500、600、700W)、不同微波时间 (2、3、4、5、6、7min) 对菱红菇多糖得率的影响。

1.2.3 菱红菇多糖微波正交实验设计 在上述单因素实验基础上,选择浸提料液比、微波功率和微波时间 3 个因素按照 $L_9(3^4)$ 设计三因素三水平实验(如表 1)。

表 1 正交实验因素水平表
Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素		
	A 料液比 (g/mL)	B 微波功率 (W)	C 微波时间 (min)
1	1:30	400	5
2	1:40	500	6
3	1:50	600	7

1.2.4 菱红菇多糖提取方法 菱红菇→洗净 60℃ 烘干→粉碎→过 70 目筛→去除脂质及单糖等杂质→微波浸提→抽滤→滤液测定多糖含量→Sevage 法去蛋白→水相加入乙醇,4℃ 沉淀过夜→4℃ 冷冻离心→沉淀→依次用 95% 乙醇、无水乙醇、乙醚、丙酮洗涤两次→60℃ 真空干燥至恒重→菱红菇多糖。

1.2.5 菱红菇多糖得率的计算及标准曲线的绘制 采用苯酚-硫酸法^[9]。准确称取干燥至恒重的葡萄糖标准品 0.1000g,蒸馏水溶解后转移至 100mL 容量瓶定容,摇匀,配成 1mg/mL 的葡萄糖标准溶液。分别吸取 2、4、6、8、10mL 葡萄糖标准溶液定容到 50mL,分别吸取定容后葡萄糖溶液 0.8mL 于 25mL 具塞比色管中,以蒸馏水为空白对照,各加新鲜配制 5% 苯酚 0.8mL,摇匀,再加入 98% 浓硫酸 5mL,震荡摇匀,40℃ 水浴加热 30min,冷却至室温,490nm 处测定吸光度,以葡萄糖浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,得线性回归方程 $y = 7.1713x + 0.0043$ ($R^2 = 0.9991$)。

精确吸取抽滤得到的定容好的菱红菇多糖溶液 0.8mL,按照上述方法测定吸光度值,代入回归曲线计算多糖含量,并按照下面公式计算多糖得率:

菱红菇多糖得率 (%) = (提取液中多糖质量/原料质量) × 100

1.2.6 抗氧化活性测定 将提取得到的菱红菇多糖配成 50、100、200、400、600、800、1000μg/mL 不同浓度的溶液进行如下抗氧化活性实验:还原能力测定采用铁氰化钾还原法^[10],羟基自由基清除能力测定采用 Fenton 反应—分光光度法^[11],亚硝酸根清除能力测定采用盐酸萘乙二胺法^[12],超氧阴离子的清除作用采用邻苯三酚自氧化法^[13]。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 料液比对多糖得率的影响 由图 1 可以看出,菱红菇多糖的得率随着料液比的增加而增加,提取液比例越高,则多糖溶出平衡越向水相中移动,多糖得率越高,当料液比达到 1:40 (g/mL) 后,菱红菇多糖达到提取得率最大值,之后再增加提取液比例,得率会略有降低,原因可能是溶剂增加会引起能量的额外损耗,导致在固定微波功率下溶剂温度上升较慢,同等提取时间下得率下降。因此确定最佳料液比为 1:40 (g/mL)。

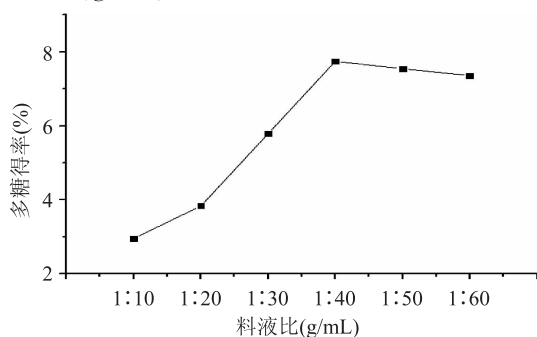


图 1 料液比对多糖得率的影响

Fig.1 Effect of the ratio between material and solvent on polysaccharides extraction rate

2.1.2 微波功率对多糖得率的影响 由图 2 可以看出,在 200~500W 范围内,随着微波功率的增加,菱红菇多糖的得率不断升高,但当微波功率超过 500W 后,多糖得率反而开始下降,原因可能是微波功率过高,导致原料细胞内过快的微波热效应会破坏多糖的结构,从而导致多糖降解,从而使得多糖得率下降,因此选择 500W 为最佳微波提取功率。

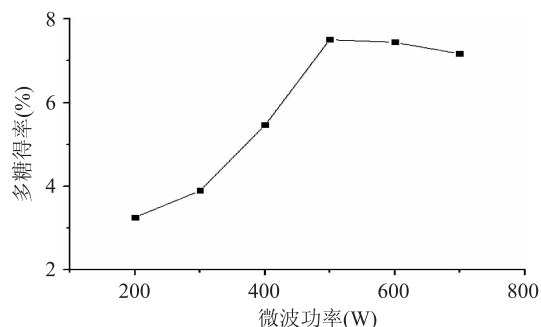


图 2 微波功率对多糖得率的影响

Fig.2 Effect of microwave power on polysaccharides extraction rate

2.1.3 微波时间对多糖得率的影响 从图3可以看出,微波作用时间2~6min范围内多糖得率随微波时间的延长而增加,在微波时间达到6min时达到最大值,之后继续微波提取得率会有所降低,其原因是微波长时间作用于多糖分子而使其结构发生改变,产生降解,从而导致多糖得率下降,所以选定6min为最佳微波时间。

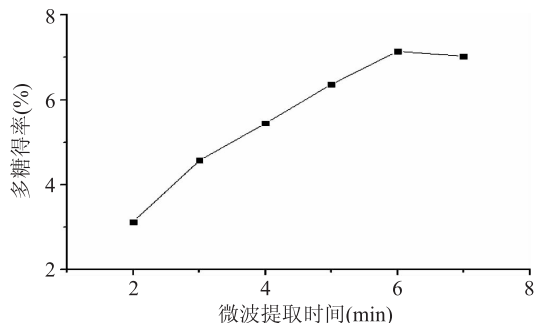


图3 微波时间对多糖得率的影响

Fig.3 Effect of microwave times on polysaccharides extraction rate

2.2 菱红菇多糖微波提取工艺的正交实验结果

以菱红菇多糖得率为评价指标,使用正交设计助手II进行数据统计分析,实验结果见表2。

表2 微波提取正交实验结果

Table 2 The results and analysis of orthogonal test

实验号	A	B	C	空列	多糖得率 (%)
1	1	1	1	1	5.438
2	1	2	2	2	6.227
3	1	3	3	3	6.575
4	2	1	2	3	6.793
5	2	2	3	1	7.636
6	2	3	1	2	6.438
7	3	1	3	2	7.135
8	3	2	1	3	7.123
9	3	3	2	1	6.447
k_1	6.080	6.455	6.333	6.507	
k_2	6.956	6.995	6.489	6.600	
k_3	6.487	6.487	7.115	6.830	
R	0.876	0.540	0.782	0.323	

通过极差R值的比较可以看出,影响菱红菇多糖得率因素的主次顺序为:料液比>微波时间>微波功率,菱红菇多糖的微波提取最佳条件是 $A_2B_2C_3$,即料液比为1:40(g/mL),微波功率为500W,微波时间为7min。在此条件下对菱红菇多糖进行3次平行提取实验,多糖得率分别为7.76%、7.83%、7.88%,平均值为7.82%,高于正交实验中所有多糖得率且重现性好,表明该条件稳定可行。

2.3 菱红菇多糖抗氧化指标测定结果

2.3.1 还原力的测定 抗氧化剂的还原能力与其抗氧化活性之间有着明显的相关性,抗氧化剂还原力越大,抗氧化能力越强,因此可以根据还原力的大小

判断抗氧化剂的抗氧化能力强弱。由图4可以看出,在0~1000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,菱红菇多糖还原能力随着浓度的增大而升高,但是其还原能力与 V_c 相比则显得较弱,在600 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下其还原力与100 $\mu\text{g/mL}$ 的 V_c 还原力相当。

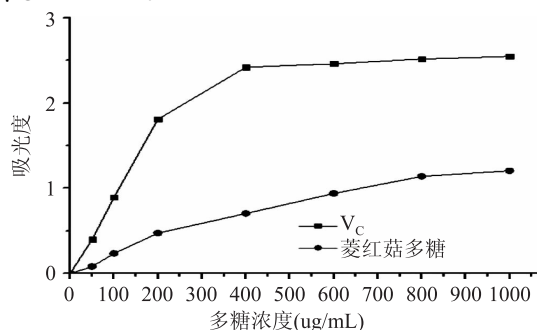


图4 多糖的还原力

Fig.4 Reducing power of polysaccharides

2.3.2 羟基自由基清除能力测定 在生物体内,羟自由基反应活性很强,它可以导致细胞膜系统氧化,并与生物大分子反应,造成细胞损伤乃至死亡^[14]。由图5可以看出菱红菇多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力随浓度的增加而升高,在多糖浓度1000 $\mu\text{g/mL}$ 时,清除率达到56.25%,表现出较强的羟自由基清除能力。

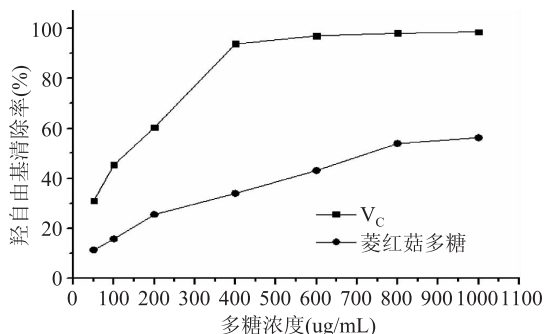


图5 多糖对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用

Fig.5 $\cdot\text{OH}$ scavenging capability of polysaccharides

2.2.3 亚硝酸根清除能力测定 亚硝酸盐广泛存在于腌制品中,其进入人体后会转化为强致癌物亚硝胺^[15],由图6可知,菱红菇多糖对亚硝酸盐具有一定的清除作用,在1000 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下菱红菇多糖亚硝酸盐清除率为45.61%,但同等浓度的 V_c 清除率为

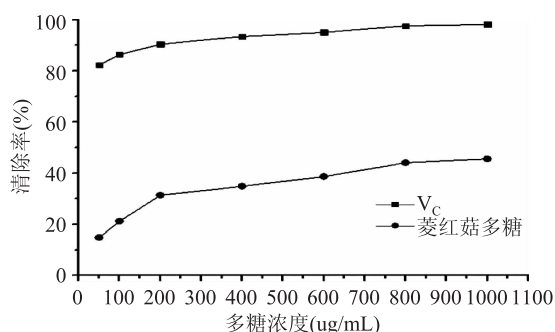


图6 多糖对亚硝酸根离子的清除作用

Fig.6 The scavenging capability of polysaccharides on NO_2^-

98.15%，因此菱红菇多糖的清除亚硝酸铬能力明显弱于 V_C 。

2.2.4 超氧阴离子清除能力测定 由图7可以看出，菱红菇多糖对超氧阴离子具有较好的抗氧化活性，其对超氧阴离子的清除率随着浓度的增大而增加，在菱红菇多糖浓度为 $1000 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时，清除率达到 56.01%。

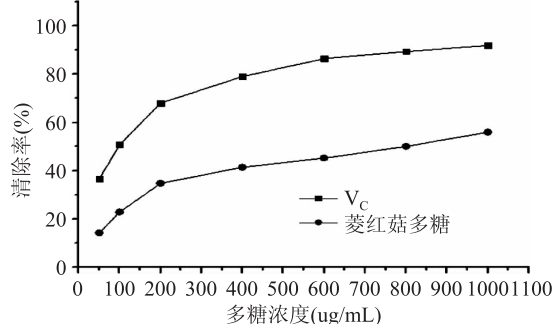


图7 多糖对超氧阴离子的清除作用

Fig.7 The scavenging capability of polysaccharides on $O_2^{\cdot -}$

3 结论

本研究通过单因素实验考察了浸提料液比、微波功率和微波时间对菱红菇多糖提取得率的影响，通过正交实验确定了影响得率的主次顺序为料液比 > 微波时间 > 微波功率，最佳提取条件为料液比为 1:40 (g/mL)，微波时间为 7min，微波功率为 500W，多糖得率为 7.82%。菱红菇多糖对亚硝酸盐、羟自由基和超氧自由基都有一定的清除作用，而且具有量效关系，其中对羟自由基和超氧自由基的清除能力较强，说明菱红菇多糖具有一定的抗氧化活性。

参考文献

[1] 李小定, 荣键华, 吴谋成. 真菌多糖生物活性研究进展[J]. 食用菌学报, 2002, 9(4): 50-58.

- [2] 宋斌, 李泰辉, 吴兴亮, 等. 中国红菇属种类及其分布[J]. 菌物研究, 2007, 5(1): 20-42.
- [3] 李秀. 云南思茅常见野生食用菌[J]. 思茅师专学报, 2005, 21(3): 25-28.
- [4] Tumay Yaltirak, Belma Aslim, Sahlan Ozrurk, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr. [J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(8): 2052-2056.
- [5] Yong-xu Sun, Ji-cheng Liu, Xiu-dong Yang, et al. Purification, structural analysis and hydroxyl radical-scavenging capacity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Russula virescens* [J]. Process Biochemistry, 2010, 45(6): 874-879.
- [6] 赵靓, 赵天瑞, 樊建. 云南野生大红菇多糖水提法工艺研究[J]. 中国食用菌, 2012, 31(1): 29-32.
- [7] 李碧禅, 李森, 王贺祥. 红菇子实体多糖的提取及其抗氧化活性研究[J]. 中国食用菌, 2012, 31(1): 42-45.
- [8] 袁建梅, 汪应灵, 耿明江, 等. 谷精草黄酮类化合物的提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(6): 239-241.
- [9] 孙素兰, 俞励平. 叶青山超声波法提取灵芝袋泡茶多糖的实验研究[J]. 食品与药品, 2006, 8(1): 52-54.
- [10] 蒋剑平, 徐敏, 卢焯琳, 等. 白花蛇舌草多糖的抗氧化活性研究[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(5): 1076-1078.
- [11] 王应男, 张公亮, 刘洋, 等. 榆耳菌丝体多糖的体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(12): 194-196.
- [12] 姜薇薇, 王树庆, 张瑞菊, 等. 盐酸茶乙二胺法测定食品中亚硝酸盐含量的影响因素研究[J]. 山东商业职业技术学院学报, 2011, 11(3): 87-93.
- [13] 李利华. 鱼腥草多糖体外抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(6): 3286-3288.
- [14] 王宗君, 廖丹葵. 茶树菇多糖抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(1): 50-55.
- [15] Ruckenstein E, Wei Guo. Cross-linked mercerized cellulose membranes and their application to membrane affinity chromatography [J]. Journal of Membrane Science, 2001, 187(1-2): 277-286.

食品添加剂在标签中应怎样标

大家购买食品的时候经常会看到食品添加剂的标签, 食品添加剂在标签中应怎样标示呢?

GB7718-2011 中规定, 食品添加剂应当标示其在 GB2760 中的食品添加剂通用名称。在同一预包装食品的标签上, 所使用的食品添加剂可以选择以下三种形式之一标示: 一是全部标示食品添加剂的具体名称; 二是全部标示食品添加剂的功能类别名称以及国际编码 (INS 号), 如果某种食品添加剂尚不存在相应的国际编码, 或因致敏物质标示需要, 可以标示其具体名称; 三是全部标示食品添加剂的功能类别名称, 同时标示具体名称。如产品中使用了防腐剂或着色剂, 需要在标签上明示。如: 食品添加剂“丙二醇”可以选择标示为: 1. 丙二醇; 2. 增稠剂 (1520); 3. 增稠剂 (丙二醇)。

来源: 慧聪食品工业网