

Extraction Process of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides

Yuantaoyin, Qingzhi Yao*

College of Life Science, Inner Mongolia Agriculture University, Huhhot Inner Mongolia
Email: 113700616@qq.com, *yaoqingzhi@163.com

Received: Mar. 5th, 2018; accepted: Mar. 16th, 2018; published: Mar. 23rd, 2018

Abstract

In this paper, the optimum extraction process of two kinds of *Ganoderma lucidum* polysaccharide was studied, and the content of two kinds of *Ganoderma lucidum* polysaccharide was compared. The hot water extraction method is used to study the conditions of extracting polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. With taking the polysaccharide yield as the evaluation index, the single factor test and L18 (35) orthogonal test are used to examine the effect of the extraction ratio, pH value, extraction temperature, ethanol concentration and extraction time on the yield of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. The optimum processing conditions for *Ganoderma lucidum* polysaccharides extraction with hot water are determined as that of extraction ratio 1:40, pH 7.5, extraction temperature 90°C, extraction time 1.5 h, and ethanol concentration 90%. The content of *Ganoderma lucidum* polysaccharide was determined by Seavage method with the removal of free protein and 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS).

Keywords

Ganoderma, Polysaccharide, Extraction, Hot Water Extraction

灵芝多糖提取工艺研究

殷远滔, 姚庆智*

内蒙古农业大学生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特
Email: 113700616@qq.com, *yaoqingzhi@163.com

收稿日期: 2018年3月5日; 录用日期: 2018年3月16日; 发布日期: 2018年3月23日

摘要

本文主要研究了两种灵芝多糖的最佳提取工艺, 比较两种灵芝多糖含量的不同。采用热水浸提法对灵芝
*通讯作者。

多糖的提取工艺条件进行研究,以多糖得率为评价指标,选用单因素试验和 $L_{18}(3^5)$ 正交试验法,考察浸提比、pH值、浸提温度、乙醇浓度、浸提时间等5个因素对灵芝多糖得率的影响。确定了热水浸提法提取灵芝多糖的最佳工艺条件是浸提比1:40、pH 7.5、浸提温度90℃、浸提时间1.5 h、乙醇浓度90%。采用Sevage法除游离蛋白,3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定灵芝多糖含量。

关键词

灵芝, 多糖, 提取工艺, 热水浸提法

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

灵芝[*Ganoderma lucidum*(*Leys ex Fr*)*Karst*]又称为赤芝、红芝,俗称瑞草、灵芝草;日本人称之为万年茸,其英文名称为 *Reishi mushroom*。根据卯晓兰主编的《中国大型真菌》描述,灵芝属菌物界、真菌门、担子菌亚门、层菌纲、非褶菌目、灵芝科。灵芝的生活史是由成熟的担孢子离开母体开始,当遇到适宜的温、湿度、营养及空气等条件时,孢子萌发成菌丝体。当灵芝菌丝体达到生理成熟后,遇到适宜的条件,菌丝开始分化,在菌丝体表面开始出现纽结,发育成灵芝子实体原基,最后成为子实体。灵芝的开发经历了简单利用灵芝子实体到以子实体发酵菌丝体为原料提取多糖等活性成分[1]、发展灵芝孢子破壁技术提取孢子内涵物的过程。灵芝为担子菌纲多孔菌科灵芝属真菌。

灵芝主要药效成分为灵芝多糖(*Ganoderma lucidum* Polysaccharide),具有多种药理学活性功能及保健养生效果[2] [3] [4],目前,对灵芝进行了有效成分、药理和临床等方面的研究,就药理作用而言,灵芝具有多种药理活性成分,其灵芝中包含了多肽、多糖、三萜类、16种氨基酸(其中含有七种人体必需氨基酸)、蛋白质、甾类、甘露醇、香豆精苷、生物碱、有机酸(主含延胡索酸)等10类药理活性成分,以及微量元素 Ge、P、Fe、Ca、Mn、Zn 等[5] [6] [7]。而且各药理活性成分在发挥保健及药理作用时各成分之间还体现有协同效应。已从它的子实体、菌丝体和孢子中分离出数十类。灵芝的菌丝体,是其营养体,它是由菌丝体的气生菌丝及分泌物共同组成的一种营养结构。菌丝呈细管状,管壁即细胞壁由葡聚糖、糖蛋白、蛋白质及几丁质微丝等成分组成。子实体灵芝的子实体,是其繁殖体,常因其粘附大量的孢子粉,而使盖面因灰褐色粉末覆盖而失去了光泽[8] [9] [10]。灵芝在成熟时可产生数百分子孢子,这些孢子飘散在子实体周围似一阵烟雾一样围绕着灵芝子实体,因此称为孢子粉。灵芝孢子是灵芝的种子,浓缩了灵芝的精华,具有灵芝全部遗传活性物质,药理活性成分更具多样性。在电镜下孢子大小,只有 $8\sim 12\mu\text{m}\times 6\sim 7\mu\text{m}$ [11]。由于灵芝孢子细胞壁由具有抗压、耐酸和不易酶解的几丁质、树脂和纤维素等成分组成,孢内药理活性成分难以外释,增加了人体对各有效成分的吸收利用难度[12] [13] [14],因此采用热水浸提法对灵芝多糖的提取工艺条件进行研究,为灵芝多糖的开发利用提供理论资料和基础技术,它的深入研究和开发将成为中药现代化的一个典范。

2. 实验材料与设备

2.1. 实验材料

赤灵芝粉(林源珍宝参茸销售有限公司)、平盖灵芝粉(白山市名源特产有限公司)。

不同产地的不同种灵芝由于其生长环境、栽培条件的不同, 会导致多糖含量的差异。

2.1.1. 主要试剂

主要试剂如表 1。

2.1.2. 主要仪器

主要仪器如表 2。

2.2. 实验方法

2.2.1. 灵芝多糖提取的工艺流程

灵芝多糖的提取: 原料烘干至恒重→索氏提取→热水浸提并调节 pH 值→离心分离(常温 3000 r/min, 20 min), 得上清液→Sevage 法脱蛋白→乙醇沉淀→过滤, 得沉淀物→干燥得灵芝多糖。

2.2.2. 灵芝多糖提取的操作要点

1) 原料的处理

将灵芝粉用滤纸分批包好, 放进索氏提取装置中进行脱脂肪。

注: 灵芝要尽量粉碎, 不要留大块, 以便提取完全。

Table 1. List of experimental drugs

表 1. 实验药品清单

实验药品名称	规格	生产厂家
3,5-二硝基水杨酸	化学纯	国药集团化学试剂有限公司
酒石酸钾钠	分析纯	天津市光复科技发展有限公司
亚硫酸钠	分析纯	北京化工厂
苯酚	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
正丁醇	分析纯	天津市富宇精细化工有限公司
石油醚	分析纯	天津天泰精细化学品有限公司
三氯甲烷	分析纯	北京化工厂
乙醇	分析纯	天津市富宇精细化工有限公司
氢氧化钠	分析纯	北京化工厂
盐酸	分析纯	北京化工厂
葡萄糖标准品	分析纯	北京化工厂

Table 2. List of experimental instruments

表 2. 实验仪器清单

仪器名称	型号	生产厂家
气浴恒温振荡器	THZ-82B	金坛市医疗仪器厂
旋转蒸发器	RE 3000D	上海亚荣生化仪器厂
723A 可见分光光度计	UV762	上海佑科仪器仪表有限公司
低速离心机	XiangYi-L-550	北京医疗仪器修理厂
电热鼓风干燥机	101—1AB	天津市泰斯特仪器有限公司
电子天平	AL104	梅特勒-托利多仪器有限公司
恒温水浴锅	02060705-023	余姚市东方电仪器厂

2) 多糖的浸提

灵芝多糖的浸提法有水浸提、碱法水解、酶解等,在此次实验中,我们通过对热水浸提法的研究选出最佳的浸提方法,在实验中用浸提率的高低为标准来衡量浸提各因素对浸提效果的影响。

在提取时要避免温度浮动,并通过不断搅拌使局部温度不会过度偏高。浓缩水提液时应尽量缩短时间,减少料液受热时间,以减少多糖分解的机会。

3) 蛋白质的去除

灵芝中的蛋白质、胶质、粗纤维及脂肪等成分不利于糖类物质析出。分离之前,必须去除蛋白质。Sevage 法脱蛋白: Sevage 法是利用蛋白质遇到有机溶剂会变性而不溶于水的特点分离去除蛋白的。

将上述澄清溶液中,加入用氯仿和正丁醇按 4:1 比例所配制成的 Sevage 试剂,使溶液产生絮状凝聚物在摇床上 45℃ 下振摇 30 至 40 min,离心 1 min,然后将两相分开。再向水相中加入其体积 1/3 的氯仿-正丁醇,重复操作,直至无乳白色变性蛋白质析出,无凝聚物生成。

注:灵芝多糖在实际提取和应用上,对其产品和色泽无特别要求时,尽量不要去脱色。因为我们在提取多糖的同时也应注重其他有效成分的提取。

4) 醇沉

将乙醇慢慢注入脱蛋白和冷却后的浓缩液中,此时灵芝多糖呈现絮状凝胶物沉淀析出,而大部分的蛋白质和其他成分保留在溶液中,并边加边搅至完全混合均匀,静止过夜。然后过滤,得沉淀物。

2.2.3. 灵芝多糖提取条件研究

采用热水浸提法对灵芝多糖的提取工艺条件进行优化根据前人研究结果[3],以多糖得率为评价指标,考察浸提比、pH 值、浸提温度、乙醇浓度、浸提时间等 5 个因素对对灵芝多糖得率的影响,得出最佳提取条件。

- 1) 采用单因素试验和 L18 (35)正交实验设计得出热水浸提最佳条件;
- 2) Sevage 法脱蛋白得多糖样品。

2.3. 灵芝多糖含量测定

测定灵芝多糖含量采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法。取提出的灵芝多糖 5 mg,加 7.5 mL 蒸馏水及 5 mL 6 mol/L HCl 溶液于 50 mL 的锥形瓶中,置沸水浴中加热水解 30 min。待水解液冷却,定容至 50 mL 作为总糖测试液。另取 5 mg 多糖配置单糖供试液。其他操作与制作标准曲线相同。

2.3.1. 配制标准葡萄糖溶液

取一定量的葡萄糖放入烘箱中,105℃干燥至恒质量,冷却后,精确称取 50 mg,定容至 500 mL,即为 0.1 mg/mL 的标准液。

2.3.2. 配制显色剂 DNS 溶液

将 6.3 g 3,5-二硝基水杨酸(DNS)溶于 262 mL 2 mol/L NaOH 溶液中,将此溶液与 500 mL 含有 182.0 g 酒石酸钾钠的热水(不超过 50℃)混合,向该溶液中再加入 5.0 g 重蒸酚和 5.0 g 亚硫酸钠,充分搅拌使之溶解,待溶液冷却后,以蒸馏水稀释到 1000 mL 储存于棕色瓶中(在冰箱中放置 1 周后方可使用)。

注:3,5-二硝基水杨酸和 NaOH 加入的时间要很接近,或者先加入 NaOH,否则将产生难容的沉淀,导致溶液配置失败。

2.3.3. 制作葡萄糖标准曲线

取 6 支 20 mL 具塞刻度试管,编好号后,按表 3 分别加入 0.1 mg/mL 葡萄糖标准溶液、蒸馏水和 DNS 试剂,配成不同葡萄糖含量的反应液。

Table 3. Glucose standard curve reagent table**表 3.** 葡萄糖标准曲线试剂表

试剂 \ 管号	0.1 mg/mL 葡萄糖标准体积(mL)	蒸馏水体积(mL)	DNS 体积(mL)	葡萄糖质量(mg)	吸光度 A540
0	0	2	1.5	0	0
1	0.2	1.8	1.5	0.2	0.231
2	0.4	1.6	1.5	0.4	0.504
3	0.6	1.4	1.5	0.6	0.775
4	0.8	1.2	1.5	0.8	1.095
5	1.0	1.0	1.5	1.0	1.353

将各管摇匀, 在沸水浴中准确加热 5 min, 取出, 冷却至室温, 用蒸馏水定容至 20 mL, 加塞后颠倒混匀, 在分光光度计上进行比色。调波长 540 nm, 用 0 号管调零, 测出 1~5 号管的吸光度。以吸光度为纵坐标, 葡萄糖含量(mg)为横坐标, 绘制葡萄糖标准曲线。

2.4. 灵芝多糖提取的单因素分析方法

2.4.1. 材料预处理

分别称取灵芝粉 2 g, 放入编号的三角瓶中, 加蒸馏水, 使其组织软化, 备用。

2.4.2. 不同浸提比提取灵芝多糖方法

取 5 个三角瓶, 按表 4 的浸提比加蒸馏水(以干品重量计) pH 7 下置于 90℃ 恒温水浴锅中浸提 2 h, 3000 r/min 离心 20 min, 弃沉淀留上清液, 加入约 1/3 原体积的 Seville 试剂, 置于气浴恒温振荡器中 45℃ 振荡 30 min, 取上清, 再加 4 倍于热水浓缩后体积的 95% 乙醇, 醇析 24 h, 过滤得到粗多糖。

2.4.3. 不同 pH 值提取灵芝多糖方法

取 5 个三角瓶, 以 1:30 浸提比加蒸馏水(以干品重量计), 按表 4 调 pH 值, 置于 90℃ 恒温水浴锅中浸提 2 h, 离心、脱蛋白、浓缩、醇析、过滤, 得到粗多糖。

2.4.4. 不同浸提温度提取灵芝多糖方法

取 5 个三角瓶, 以 1:30 的浸提比加蒸馏水(以干品重量计), pH 7 下置于不同温度下(见表 4)恒温水浴浸提 2 h, 离心、脱蛋白、浓缩、醇析、过滤, 得到粗多糖。

2.4.5. 不同浸提时间提取灵芝多糖方法

取 5 个三角瓶, 按 1:30 的浸提比(以干品重量计)、pH 7 下置于 90℃ 恒温水浴锅中浸提不同时间(见表 4), 离心、脱蛋白、浓缩、醇析、过滤, 得到粗多糖。

2.4.6. 不同乙醇浓度提取灵芝多糖方法

取 5 个三角瓶, 按 1:30 的浸提比加蒸馏水(以干品重量计), pH 7 下置于 90℃ 恒温水浴锅中浸提 2 h, 离心、脱蛋白、浓缩, 再加 4 倍于浓缩后体积的不同浓度乙醇(见表 4)醇析 24 h, 再过滤, 得到粗多糖。

2.5. 正交试验方法

本实验通过对各单因素影响灵芝多糖提取效果的分析, 确定正交试验的因素和水平(表 5)。采用热水浸提法提取多糖, 对实验结果进行极差分析, 确定灵芝最佳的提取工艺。实验数据用 Microsoft Excel 2007 进行统计分析。

Table 4. The single factor extraction conditions of *Ganoderma lucidum* polysaccharides**表 4.** 灵芝多糖的单因素提取条件

提取因素	因素水平	多糖提取条件
pH 值	6.0、6.5、7.0、7.5、8.0	浸提温度 90℃、浸提时间 2 h、乙醇浓度 95%、浸提比 1:30
浸提温度	60℃、70℃、80℃、90℃、100℃	pH 7、浸提时间 2 h、乙醇浓度 95%、浸提比 1:30
浸提时间	1 h、1.5 h、2 h、2.5 h、3 h	pH 7、浸提温度 90℃、乙醇浓度 95%、浸提比 1:30
乙醇浓度	80%、85%、90%、95%、100%	pH 7、浸提温度 90℃、浸提时间 2 h、浸提比 1:30
浸提比	1:10、1:20、1:30、1:40、1:50	pH 7、浸提温度 90℃、浸提时间 2 h、乙醇浓度 95%

Table 5. Extraction of Polysaccharides from *Ganoderma lucidum***表 5.** 提取灵芝多糖因素水平

水平	A pH 值	B 浸提时间(h)	C 浸提温度(℃)	D 乙醇浓度(%)	E 浸提比
1	6.5	1.5	70	85	1:20
2	7.0	2.0	80	90	1:30
3	7.5	2.5	90	95	1:40

3. 结果与分析

3.1. 影响灵芝多糖提取的单因素分析

3.1.1. 计算多糖的含量及得率

将粗多糖沉淀物置于 60℃ 干燥至恒重。按以下公式计算

$$\text{样品多糖含量}(\text{mg}) = C_2 - C_1 \quad \text{式 3-1}$$

式中 C_1 为葡萄糖含量(mg); C_2 为总糖含量(mg) (图 1)。

$$\text{多糖得率} = \frac{\text{样品溶液多糖含量}(\text{mg}) \times \frac{\text{提出粗多糖量}(\text{mg})}{5}}{\text{灵芝干粉量} \times 1000} \times 100\% \quad \text{式 3-2}$$

3.1.2. 不同浸提比对灵芝多糖提取的影响

用不同的浸提比进行提取效果比较, 结果见表 6 和图 2。从图 2 看出随着浸提比的增加多糖得率提高, 最后曲线出现一个高峰, 即在 1:40, 这是由于当浸提比小于 1:40 时增加水分更有利于多糖的浸出, 达到一定值之后无影响。从实验结果考虑, 选取 1:20, 1:30, 1:40 三个浸提比作为正交试验浸提比的三个水平。

3.1.3. 不同 pH 值对灵芝多糖提取的影响

调节不同的 pH 值, 提取灵芝多糖。从图 3 和表 7 看出, 在 pH 7.0 时多糖得率最高, 达 0.41%, pH < 7.0 多糖得率随着 pH 值升高呈上升趋势, 在 pH > 7.5 以后, 多糖得率则随 pH 值升高呈下降趋势。这是由于灵芝多糖大多是碱性多糖根据相似相溶原理碱性环境有利于多糖浸出, 多糖提取率较高, 但当碱性过强时浸提液呈粘性不利于过滤导致多糖得率降低。对比它们的多糖含量进行分析, 在 pH 7.0 时多糖含量最高, 在 pH > 7.0 以后, 多糖含量均较高, 故选取 pH 6.5、7.0、7.5 三值作为正交试验 pH 值的因素水平。

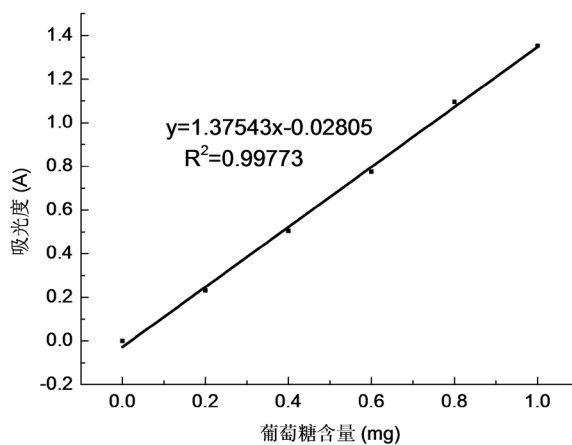
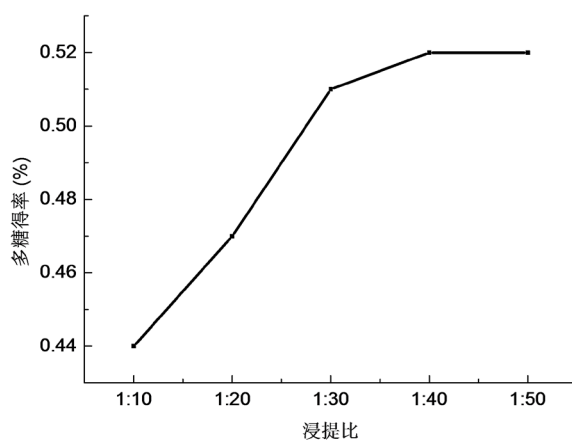


Figure 1. Glucose standard curve

图 1. 葡萄糖标准曲线



注: 图表中(1)为赤灵芝, (2)为平盖灵芝。图像分析以赤灵芝多糖例。以下同是。

Figure 2. The polysaccharide content of different extraction ratio

图 2. 不同浸提比的多糖含量

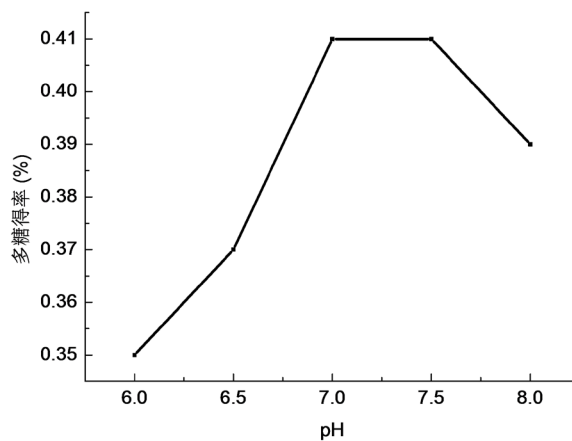


Figure 3. Polysaccharide content of different pH values

图 3. 不同 pH 值的多糖含量

Table 6. Effect of different extraction ratio of polysaccharide content**表 6.** 不同浸提比对多糖含量的影响

试验号	浸提比	(1)灵芝多糖含量(mg)	(2)灵芝多糖含量(mg)	(1)多糖得率(%)
1	1:10	0.2727	0.1276	0.44
2	1:20	0.2910	0.1488	0.47
3	1:30	0.3148	0.2389	0.51
4	1:40	0.3163	0.2488	0.52
5	1:50	0.3170	0.2141	0.52

Table 7. Effect of different pH on the content of polysaccharide**表 7.** 不同 pH 对多糖含量的影响

试验号	pH 值	(1)灵芝多糖含量(mg)	(2)灵芝多糖含量(mg)	(1)多糖得率(%)
1	6	0.2391	0.1571	0.35
2	6.5	0.2480	0.2073	0.37
3	7	0.2734	0.2202	0.41
4	7.5	0.2712	0.2242	0.41
5	8	0.2661	0.2026	0.39

3.1.4. 不同浸提温度对灵芝多糖提取的影响

温度的高低直接影响多糖提取率。以不同的温度提取灵芝多糖。由实验结果(见图 4、表 8)得知, 浸提温度为 80℃、90℃多糖量均较高, 分别达 0.41%、0.42%, 但 100℃提取率明显下降, 出现此现象的原因可能是高温对多糖的结构与活性有一定的影响, 100℃时多糖容易分解产生单糖而溶解在浓乙醇中进而影响多糖的提取率, 从多糖含量看, 90℃时所得多糖含量也较高, 因此取 70℃、80℃、90℃为正交试验浸提温度的三个水平。

3.1.5. 不同浸提时间对灵芝多糖提取的影响

以不同的浸提时间提取灵芝多糖, 结果见图 5 和表 9。从曲线走势看到, 浸提 2 h 时, 多糖得率高达 0.62%, 以后增加较为平缓, 多糖提取率几乎保持不变。可能由于加热时间过长, 促进多糖的溶解使得提取率增大, 但是加热时间过长提取率无明显变化, 因此提取时间选择由此确定 1.5 h, 2 h, 2.5 h 作为正交试验浸提时间因素的三个水平。

3.1.6. 不同乙醇浓度对灵芝多糖提取的影响

用乙醇沉淀法提取多糖时, 乙醇的浓度对多糖的含量影响最大。图 6、表 10 结果显示, 低浓度的醇析效果不佳, 多糖得率低, 多糖含量也低, 当乙醇浓度达 95% 时, 醇析效果最好, 多糖含量最高, 100% 乙醇时多糖含量也较高, 但从经济、实验成本角度考虑, 不宜选用 100% 乙醇, 乙醇浓度为 85% 和 90% 时的多糖得率和含量都明显高于 80% 的提取效果。选取 85%、90%、95% 三个数据作为正交试验乙醇浓度因素的三个水平。

3.2. 灵芝多糖提取工艺的优化

为了提高在多因素条件下灵芝多糖的提取率, 我们在单因素试验的基础上进行多因素正交试验, 以优化提取工艺。结合 3.2 的试验结果和分析, 我们采用五因素三水平 L18(3⁵) 正交法进行正交试验。采用热水浸提法, 提取灵芝多糖, 结果见表 11。

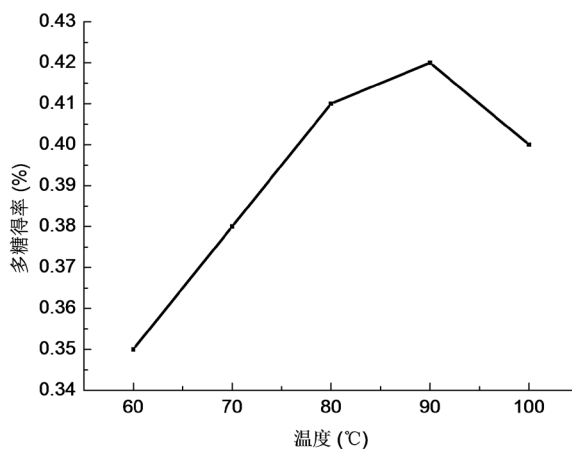


Figure 4. The content of polysaccharide in different extraction temperatures

图 4. 不同浸提温度的多糖含量

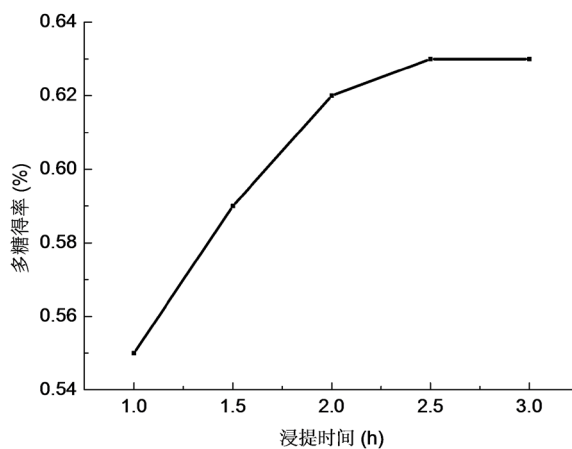


Figure 5. Polysaccharide content of different extraction times

图 5. 不同浸提时间的多糖含量

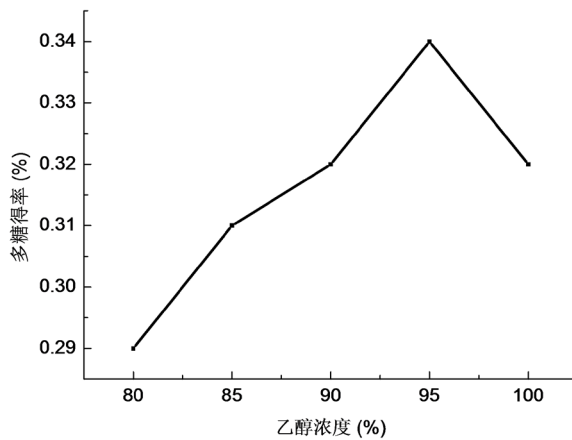


Figure 6. The content of polysaccharides in different ethanol concentrations

图 6. 不同乙醇浓度的多糖含量

Table 8. Influence of different extraction temperatures on polysaccharide content**表 8.** 不同浸提温度对多糖含量的影响

试验号	浸提温度(°C)	(1)灵芝多糖含量(mg)	(2)灵芝多糖含量(mg)	(1)多糖得率(%)
1	60	0.2443	0.1583	0.35
2	70	0.2574	0.1617	0.38
3	80	0.2755	0.1635	0.41
4	90	0.2799	0.1648	0.42
5	100	0.2785	0.1609	0.40

Table 9. Effect of different extraction time on polysaccharide content**表 9.** 不同浸提时间对多糖含量的影响

试验号	浸提时间(h)	(1)灵芝多糖含量(mg)	(2)灵芝多糖含量(mg)	(1)多糖得率(%)
1	1	0.3206	0.2531	0.55
2	1.5	0.3388	0.2627	0.59
3	2	0.3527	0.2652	0.62
4	2.5	0.3548	0.2648	0.63
5	3	0.3591	0.2614	0.63

Table 10. The effect of different ethanol concentration on the content of polysaccharide**表 10.** 不同乙醇浓度对多糖含量的影响

试验号	乙醇浓度(%)	(1)灵芝多糖含量(mg)	(2)灵芝多糖含量(mg)	(1)多糖得率(%)
1	80	0.2024	0.1248	0.29
2	85	0.2188	0.1387	0.31
3	90	0.2247	0.1659	0.32
4	95	0.2356	0.1846	0.34
5	100	0.2312	0.1538	0.32

Table 11. L18 (35) orthogonal test scheme and test results**表 11.** L18(35)正交试验方案及试验结果

试验号	A	B	C	D	E	(1)多糖含量(mg)	(1)多糖得率(%)
1	1	1	1	1	1	0.3189	0.509
2	1	2	2	2	2	0.3538	0.626
3	1	3	3	3	3	0.3799	0.722
4	2	1	1	2	2	0.3471	0.603
5	2	2	2	3	3	0.3876	0.751
6	2	3	3	1	1	0.3706	0.687
7	3	1	2	1	3	0.3537	0.626
8	3	2	3	2	1	0.3918	0.768
9	3	3	1	3	2	0.3789	0.721

Continued

10	1	1	3	3	2	0.3857	0.744
11	1	2	1	1	3	0.3506	0.615
12	1	3	2	2	1	0.3897	0.760
13	2	1	2	3	1	0.3912	0.765
14	2	2	3	1	2	0.3554	0.632
15	2	3	1	2	3	0.3302	0.545
16	3	1	3	2	3	0.3958	0.775
17	3	2	1	3	1	0.3756	0.705
18	3	3	2	1	2	0.3679	0.677
\bar{K}_1	0.663	0.670	0.616	0.624	0.691		
\bar{K}_2	0.664	0.683	0.701	0.679	0.655		
\bar{K}_3	0.712	0.685	0.721	0.735	0.672		
极差 R	0.049	0.015	0.105	0.111	0.032		

注: 1,2,3 分别表示各因素水平; \bar{K}_1 , \bar{K}_2 , \bar{K}_3 为各因素各水平多糖含量的总和。

由正交试验结果可知, 极差 R 愈大的因素对指标的影响愈显著, 即影响灵芝多糖提取率因素大小依次是 D (乙醇浓度)、C (浸提温度)、E (浸提比)、A (pH 值)、B (浸取时间), 其中乙醇浓度和浸提温度是主要因素, 浸提时间对多糖提取的影响最小。正交试验结果显示, 18 组实验中, 第 16 组灵芝多糖得率最高为 0.775%, 提取条件是 A3B1C3D2E3, 即 pH 7.5, 浸取时间 1.5 h, 浸取温度 90℃, 乙醇浓度 90%, 浸提比 1:40。

4. 结论

本实验采用热水浸提法对灵芝多糖进行提取, 对影响多糖得率的各种因素分析, 得出最佳工艺条件为: pH 7.5, 浸取温度 90℃, 乙醇浓度 90%, 浸提比 1:40, 浸提时间为 1.5 h。最优条件下多糖提取量为 0.775%。

由各因素分析表中看出, 不管哪个因素影响, 结果表明赤灵芝粉中多糖含量多于平盖灵芝粉中的多糖, 不同产地的不同种灵芝由于其生长环境、栽培条件的不同, 会导致多糖含量的差异, 对于灵芝多糖的提取有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 刘太锋. 灵芝的现代研究概述[J]. 产业与科技论坛, 2012, 11(18): 60-62.
- [2] 禹建春, 罗向华, 吴昌枝, 等. 灵芝多糖的提取工艺研究[J]. 海峡药学, 2012, 24(8): 25-26.
- [3] 杨晓梅, 鲍隆友, 耿向永, 等. 西藏野生灵芝粗多糖提取工艺研究[J]. 长江蔬菜, 2010(22): 41-45.
- [4] Pan, K., et al. (2013) Optimization Extraction of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides and Its Immunity and Antioxidant Activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, **55**, 301-306. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.01.022>
- [5] 孟凡冰, 李云成, 张淑蓉, 等. 灵芝孢子多糖提取工艺优化[J]. 食品与发酵工艺, 2012, 38(1): 209-213.
- [6] 林志彬, 王鹏云. 灵芝孢子及其活性成分的药理研究[J]. 北京大学学报, 2006, 35(5): 541-547.
- [7] 付立忠. 灵芝品种子实体多糖和三萜含量分析与评价[J]. 中国食用菌, 2009, 28(4): 38-40.

-
- [8] 刘超. 紫芝和松杉灵芝化学成分研究及灵芝三萜酸的含量测定[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国协和医科大学, 2009.
- [9] Huang, S., *et al.* (2010) Optimization of Alkaline Extraction of Polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and Their Effect on Immune Function in Mice. *Molecules*, **15**, 3694-3708. <https://doi.org/10.3390/molecules15053694>
- [10] 黄秀香, 李晓东, 劳德永. 半枝莲多糖提取及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(19): 59-62.
- [11] 于源, 王鹏, 李银平, 等. 浒苔多糖提取结构与活性研究进展[J]. 中国渔业质量与标准, 2013, 3(3): 83-87.
- [12] 于文杰, 陈庆红, 牛丽君, 等. 长白山野生木灵芝的识别[J]. 北华大学学报, 2012, 13(4): 451-453.
- [13] 何滨, 李莹, 徐志霞. 不同地区、品种灵芝的多糖提取工艺优化[J]. 农技服务, 2013, 30(7): 777-778.
- [14] Xie, J., *et al.* (2012) Comparison of Polysaccharides from Two Species of *Ganoderma*. *Molecules*, **17**, 740-752. <https://doi.org/10.3390/molecules17010740>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2327-0810, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: amb@hanspub.org