

猴头菇多糖的工艺优化及机制探讨

钱瑾, 徐子怡, 朱朋媛, 朱飘飘, 王改玲*

蚌埠学院食品与生物工程学院, 安徽 蚌埠

收稿日期: 2025年4月2日; 录用日期: 2025年5月6日; 发布日期: 2025年5月15日

摘要

本研究先采用复合酶酶解, 再采用超声波辅助提取优化猴头菇多糖的提取工艺。结合单因素实验结果设计了L9(3⁴)正交实验方案, 正交实验揭示了超声波提取温度(40°C~70°C)、提取时间(10~30 min)、超声波功率(200~400)及料液比(1:10~1:30)对多糖提取率的交互作用机制。实验结果表明超声功率: 400 W; 超声时间: 20 min; 料液比: 1:15 (g/mL); 提取温度: 55°C为最佳提取工艺。在该条件下多糖提取率可达28.82。本研究结果为工业化生产高纯度猴头菇多糖提供了理论依据, 同时提出了传统提取技术的改进方向。

关键词

猴头菇, 多糖, 超声波-酶解协同法

Process Optimization and Mechanism Exploration of *Hericium erinaceus* Polysaccharides

Jin Qian, Ziyi Xu, Pengyuan Zhu, Piaoping Zhu, Gailing Wang*

School of Food and Bioengineering, Bengbu University, Bengbu Anhui

Received: Apr. 2nd, 2025; accepted: May 6th, 2025; published: May 15th, 2025

Abstract

This study systematically optimized the extraction process of *Hericium erinaceus* polysaccharides (HEPs) through an ultrasonic-enzymatic synergistic approach. By combining single-factor experiments with L9(3⁴) orthogonal design, the interaction mechanisms among ultrasonic extraction

*通讯作者。

temperature (40°C~70°C), extraction time (10~30 min), ultrasonic power (200~400 W), and solid-liquid ratio (1:10~1:30 g/mL) on polysaccharide extraction efficiency were comprehensively investigated. Experimental results demonstrated that the optimal process parameters were as follows: ultrasonic power of 400 W, extraction duration of 20 min, solid-liquid ratio of 1:15 (g/mL), and extraction temperature of 55°C. Under these conditions, the polysaccharide extraction yield reached 28.82%. This research provides theoretical foundations for the industrial production of high-purity HEPs while proposing systematic optimization strategies to enhance traditional extraction technologies.

Keywords

Hericium erinaceus, Polysaccharides, Ultrasonic-Enzymatic Hydrolysis Synergistic Method

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

1. 引言

猴头菇(*Hericium erinaceus*)多糖作为高价值 β -葡聚糖类活性物质,其免疫调节、神经保护及胃肠黏膜修复功能已被FDA新资源食品认证。然而,传统水提醇沉法存在提取效率低($<15\%$)、分子结构易破坏等问题,因此本研究采用超声-酶解协同技术优化猴头菇多糖的提取工艺。近年研究揭示,多糖构效关系受超声空化热力学(如温度梯度引发的糖链折叠,局部过热效应可导致抗氧化活性下降)和酶解特异性(如内切纤维素酶对 β -(1 \rightarrow 3)/ β -(1 \rightarrow 6)键的差异化切割)共同调控[1][2]。超声-酶解协同技术虽然能提升得率,但是也存在活性保-能耗成本大,难以工业化大生产,以及多糖活性损失等问题。因此,本实验在单因素实验的基础上重点考虑了超声波提取温度,时间,酶解pH及酶浓度等因素对多糖提取率和抗氧化活性的影响,本文旨在建立超声-酶解协同增效的量化模型,揭示能量传递与酶促反应的时空耦合机制;开发基于构效关系的活性保护策略,为食药两用真菌活性成分的绿色制造提供全新范式。

2. 材料与方法

2.1. 材料与仪器

猴头菇(市售,洗净,50目过筛粉碎),纤维素酶(标准品),木瓜蛋白酶(标准品),无水乙醇(分析纯),浓硫酸(分析纯)、6%苯酚(现配现用),盐酸(分析纯),氢氧化钠(分析纯)。

2.2. 仪器

T2602型双光束紫外可见分光光度计,KH20R冷冻离心机,手提式高速中药粉碎机,SK8210LHC型超声波清洗器,XY-SYG-24数显恒温水浴锅,LA84/A分析天平。

3. 实验方法

3.1. 猴头菇多糖的提取流程

干燥猴头菇药材 \rightarrow 粉碎机粉碎 \rightarrow 过40目筛(猴头菇粉末) \rightarrow 复合酶解 \rightarrow 超声波提取 \rightarrow 灭酶活 \rightarrow 除蛋白 \rightarrow 真空干燥 \rightarrow 猴头菇粗多糖测定。

3.2. 猴头菇多糖含量测定

采用苯酚硫酸法测定猴头菇多糖含量。精密称取 0.01 克葡萄糖于 100 mL 容量瓶中，作为葡萄糖标准品待用。精密吸取葡萄糖标准品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL 于 5 支 10 mL 的纳氏比色管中，不足 1 mL 的加水补足，快速加入 5 mL 浓硫酸和 1 mL 6% 苯酚溶液，轻轻震荡混匀，塞上塞子，将纳氏比色管置于沸水浴中保温 20 min，取出冷却，在 490 nm 处测吸光度值，绘制标准曲线，计算多糖含量，计算猴头菇多糖提取率。

3.3. 超声波提取猴头菇多糖单因素实验设计

根据上述实验流程精密称取 3.0 克猴头菇粉末至具塞比色管中，添加适量的纯化水，搅拌溶解，[3] 加入 3% 的复合酶(纤维素酶:木瓜蛋白酶 = 1:1)，调节 pH 值 5，40℃ 的水浴锅中酶解 15 min 分钟。参考文献设计超声波单因素提取实验。超声波功率设置五个水平(200、250、300、350、400 W)；超声波提取时间分别取 10 min、15 min、20 min、25 min、30 min；料液比水平为(g/mL) 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30；提取温度设置 30℃、40℃、50℃、60℃、70℃ 五个水平。根据单因素实验数据，取最佳因素水平设计正交实验。

3.4. 超声波提取猴头菇多糖正交实验设计(表 1)

Table 1. Level table of orthogonal experimental design for ultrasonic extraction of *Hericium erinaceus* polysaccharide
表 1. 超声波提取猴头菇多糖正交实验设计水平表

水平	超声功率(W)	超声时间(min)	料液比(g/mL)	提取温度(℃)
1	300	15	1:10	45
2	350	20	1:15	55
3	400	25	1:20	65

4. 实验结果分析

4.1. 猴头菇多糖含量测定标准曲线

根据 3.2 的方法绘制多糖浓度与吸光度标注曲线，如图 1 所示，曲线方程为 $y = 0.879x + 0.014$ ； $R^2 = 0.99451$ 。

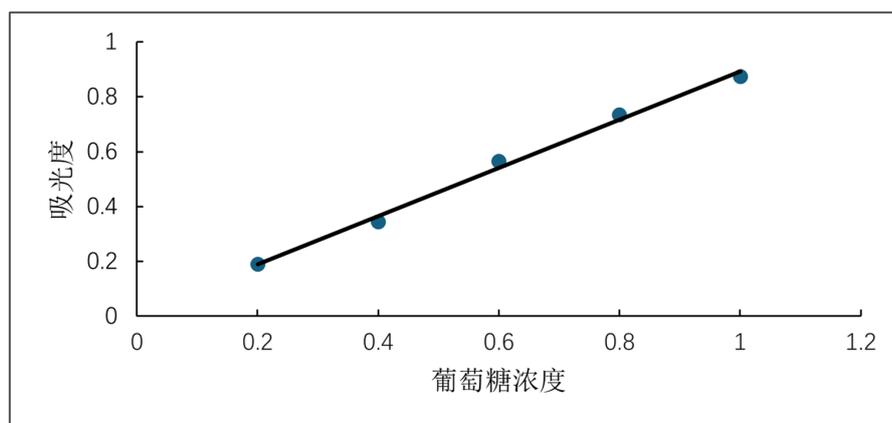


Figure 1. Glucose standard curve
图 1. 葡萄糖标准曲线

4.2. 超声波提取猴头菇多糖单因素实验结果分析

4.2.1. 超声波功率对多糖提取率影响

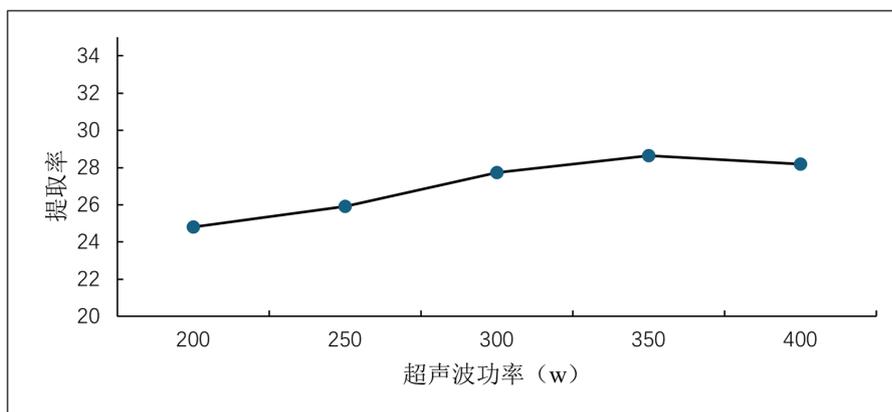


Figure 2. Effect of ultrasonic power on extraction rate of *Hericium erinaceus* polysaccharide
图 2. 超声功率对猴头菇多糖提取率影响

如图 2 所示, 超声波功率在 200~350 W 间, 多糖提取率缓慢增加, 在 350 W 得到最高, 超声波功率 400 W 时, 多糖提取率有降低趋势。分析原因, 笔者认为超声波功率小于 300 W 空化效应不足, 细胞壁破坏不充分, 多糖溶出率低。当功率达到 300~350 W 时, 空化效应显著增强, 细胞破碎效率高, 多糖释放充分, 提取率达峰值。然而当功率大于 350 W 时, 可能因为过高的机械剪切力和局部高温导致多糖分子降解或结构破坏, 提取率反而下降。

4.2.2. 超声提取时间对猴头菇多糖提取率影响

如图 3 所示, 随着超声波提取时间的延长, 猴头菇多糖提取率有所增加, 从 15 min 到 20 min, 增加明显。提取时间 20 min 得到最高提取率, 超过 20 min 再增加时间, 提取率有降低趋势。分析原因, 笔者认为时间较短是时, 空化效应未充分释放, 细胞壁破碎不足, 多糖溶出率低。超过 15 min 后, 空化效应和机械剪切力协同作用, 有效破坏细胞结构, 多糖释放量达到峰值。持续超声导致局部温度升高(热效应)或机械力过强, 可能引起多糖降解或与杂质结合, 提取率下降或停滞。

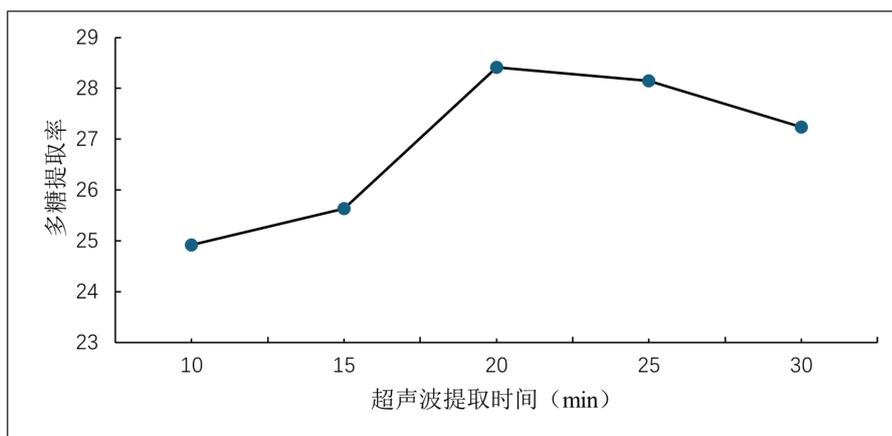


Figure 3. Effect of ultrasonic extraction time on extraction rate of *Hericium erinaceus* polysaccharide
图 3. 超声提取时间对猴头菇多糖提取率影响

4.2.3. 料液比对猴头菇多糖提取率影响

如图 4 所示, 随着料液比的增加, 猴头菇多糖的提取率明显提高后缓慢降低。分析认为料液比低时, 溶剂量不足, 猴头菇粉末未能充分浸润, 细胞壁破裂受限, 多糖溶出不彻底。随着料液比增加, 溶剂充分渗透至原料内部, 细胞破碎效率高, 多糖溶出量与扩散速率达到平衡, 提取率达到最高。溶剂量过多导致多糖浓度稀释, 增加后续浓缩成本; 同时溶出的杂质(如蛋白质、色素)增多, 可能干扰多糖纯度。

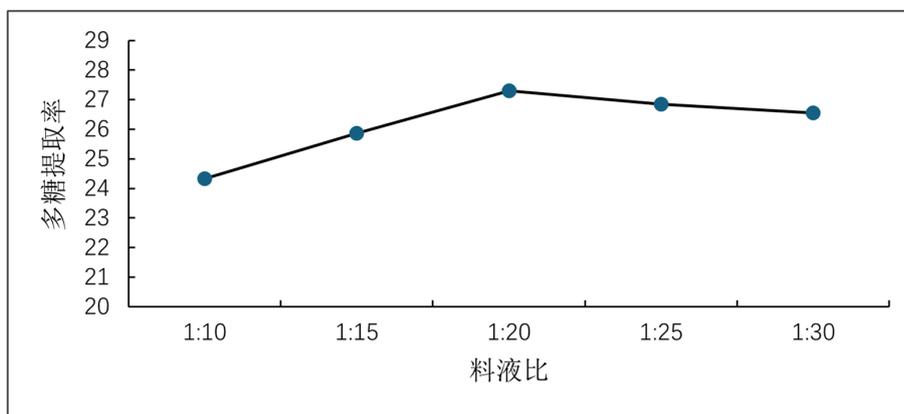


Figure 4. Effect of material liquid ratio on extraction rate of *Hericium erinaceus* polysaccharide
图 4. 料液比对猴头菇多糖提取率影响

4.2.4. 提取温度对猴头菇多糖提取率影响

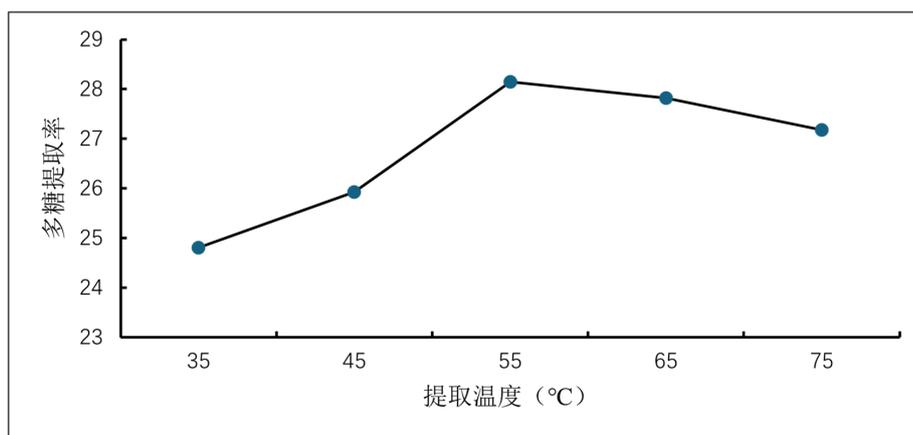


Figure 5. Effect of extraction temperature on extraction rate of *Hericium erinaceus* polysaccharide
图 5. 提取温度对猴头菇多糖提取率影响

如图 5 所示, 温度在 35°C~55°C 区间时猴头菇多糖提取率明显提高, 温度 55°C 时提取率最高。超过 55°C 提取率开始缓慢降低, 可能是因为温度低时溶剂渗透性差, 多糖溶出缓慢, 得率低。随着温度的提高溶剂活性增强, 细胞壁软化, 多糖释放效率高, 但是温度过高到达 65°C 以上时, 可能导致多糖热降解或与蛋白质结合, 得率下降。

4.3. 超声波提取猴头菇多糖正交实验结果分析

从表 2 正交实验结果分析可知料液比是影响多糖得率的最关键因素, 极差最大。提取温度影响次之,

超声时间与功率影响较弱。最优参数组合为 A2B2C2D3, 即提取温度 55℃, 超声时间 20 min, 料液比 1:15, 超声功率 400 W。

Table 2. Results of orthogonal experiment

表 2. 正交实验结果表

实验号	提取温度(℃)	超声时间(min)	料液比(g/mL)	超声功率(W)	多糖得率
1	45	15	1:10	300	25.1%
2	45	20	1:15	350	28.51%
3	45	25	1:20	400	25.34%
4	55	15	1:15	400	28.29%
5	55	20	1:20	300	26.56%
6	55	25	1:10	350	25.94%
7	65	15	1:20	350	24.77%
8	65	20	1:10	400	25.72%
9	65	25	1:15	300	26.79%
均值 1	26.317	26.053	25.587	26.150	
均值 2	26.930	26.930	27.863	26.407	
均值 3	25.760	26.023	25.557	26.540	
极差	1.170	0.907	2.306	0.300	

4.4. 超声波提取猴头菇多糖验证实验

根据正交实验结果, 对最优组合做验证实验, 实验设置 3 个平行实验, 取其平均值。实验结果表明, 在最佳工艺条件 A2B2C2D3 下, 提取率为 28.82%。

5. 结论与讨论

猴头菇多糖是一种具有多种生物活性的天然产物, 其提取工艺的优化对提高提取率和保持活性至关重要。猴头菇多糖的提取方法很多, [4] [5]如水提醇沉法、溶剂提取法、酶提法、超声辅助提取法、微波辅助提取法、超临界流体萃取法、超高压提取法及复合提取法等, 每种方法都有各自的优缺点。但应注意, 不同溶剂、不同方法所得到的多糖提取率、组成及结构会有不同, 生物活性也有差异。其中热水提取或水煎煮因符合中药的实际临床用药特点及多糖理化性质, 且安全简便, 最为常用[6] [7]。本研究采用酶联合超声波法提取猴头菇多糖, 利用纤维素酶和木瓜蛋白酶联合破坏细胞壁结构, 释放多糖。而超声波的空化效应可以产生微射流和冲击波, 进一步破碎细胞壁, 提高传质效率。两者协同作用可能增强细胞壁的破裂, 从而提升多糖的释放[8] [9]。通过单因素试验与正交实验设计研究猴头菇多糖提取条件, 在此最佳提取条件下猴头菇多糖提取率为 28.82%。与传统方法的对比, 该方法较单一, 超声波法和热水法提取率显著提升, 且时间缩短, 能耗降低。酶解可减少蛋白质共提, 结合后续脱蛋白工艺, 蛋白去除率提高, 多糖损失率降低。文献表明该方法提取的多糖分子量(约 1.7×10^4 Da)与热水法相近[10], 表明超声未显著破坏多糖主链结构, 红外光谱显示协同法多糖仍具备典型多糖特征吸收峰(如-OH、C-O-C), 结构未发生明显改变提取的多糖因结构完整, 保留了 β -葡聚糖等活性片段, 其清除自由基能力及免疫刺激作用与热水法相当或更优。协同法可能因温和提取条件保留更多酸性多糖侧链(如半乳糖醛酸), 增强抗炎或抗肿瘤活性。

基金项目

国家级大学生创新创业项目(202311305053); 安徽省教学研究项目(2021jyxm0919)。

参考文献

- [1] 张素斌, 黄劲峥. 猴头菇多糖提取方法的比较[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(4): 233-237.
- [2] 胡洋, 崔春, 陶倩, 等. 热水浸提及乙醇沉淀的工艺优化提高猴头菇多糖提取率[J]. 中国调味品, 2020, 45(1): 1-4+19.
- [3] 丁霄霄, 李凤伟, 商曰玲, 等. 灵芝多糖的复合酶法提取工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(5): 34-35+53.
- [4] Sakamoto, Y., Nakade, K. and Konno, N. (2011) Endo- β -1, 3-Glucanase GLU1, from the Fruiting Body of *Lentinula Edodes*, Belongs to a New Glycoside Hydrolase Family. *Applied and Environmental Microbiology*, **77**, 8350-8354. <https://doi.org/10.1128/aem.05581-11>
- [5] 王刚, 蔡才, 王亚珍, 等. 新橙皮苷二氢查耳酮的合成工艺及应用进展[J]. 江汉大学学报(自然科学版), 2020, 48(1): 37-44.
- [6] 马舒伟, 刘兴艳, 贾占东, 等. 不同提取方法对玄参多糖单糖组分和抗氧化活性的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(1): 220-224.
- [7] 马传贵, 沈亮, 张志秀. 猴头菇多糖的提取、结构特性及药理作用研究进展[J]. 食药用菌, 2024, 32(4): 239-245.
- [8] 周伟娥, 周学锋, 王宇阳, 等. 中药多糖成分前处理及检测方法研究进展[J]. 分析测试学报, 2020, 39(9): 1168-1175.
- [9] 李珊, 梁俭, 冯彬, 等. 响应面法优化超声波辅助提取山竹果皮多糖的工艺及其体外抗氧活性研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(10): 103-110.
- [10] 樊伟伟, 何进武, 侯萍, 等. 超声波辅助提取猴头菇多糖的研究[J]. 包装与食品机械, 2017(2): 78-81.