

春生田头菇粗多糖超声辅助提取及抗氧化性测定

Ultrasound-assisted extraction and antioxidant study of crude polysaccharide from *Agrocybe praecox*

韩晓磊^{1,2} 吕慧英² 梁珏钦² 范伟³

HAN Xiaolei^{1,2} LU Huiying² LIANG Jueqin² FAN Wei³

刘 韬⁴ 黄志群⁵ 杨国舜⁶ 熊 智¹

LIU Tao⁴ HUANG Zhiqun⁵ YANG Guoshun⁶ XIONG Zhi¹

- (1. 西南林业大学生物多样性保护学院, 云南 昆明 650224; 2. 湖南省农业科学院农产品加工研究所, 湖南 长沙 410125; 3. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 4. 沅江市农业农村局, 湖南 益阳 413100; 5. 湖南芦荟生物科技有限公司, 湖南 益阳 413100; 6. 湖南博大天能实业股份有限公司, 湖南 益阳 413100)

(1. College of Biodiversity Conservation, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China; 2. Institute of Agricultural Product Processing, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China; 3. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 4. Agriculture and Rural Bureau of Yuanjiang City, Yiyang, Hunan 413100, China; 5. Hunan Lugu Biotechnology Co., Ltd., Yiyang, Hunan 413100, China; 6. Hunan Boda Tianeng Industry Co., Ltd., Yiyang, Hunan 413100, China)

摘要:目的:为高效利用洞庭湖特色芦苇食用菌资源,开发食用菌多糖功能性食品。方法:以芦苇食用菌春生田头菇为试验原料,以多糖提取率为指标,采用超声辅助热水提取法进行粗多糖提取,以液料比、超声时间、超声功率、热水浸提温度、热水浸提时间为单因素条件进行试验,依据 Box-Behnken 中心组合试验设计建立数学模型,优化春生田头菇粗多糖的提取工艺条件,并考察春生田头菇粗多糖对 DPPH 自由基、ABTS 自由基的清除能力。结果:结合实际,最佳提取工艺条件为料液比 1:50 (g/mL)、超声提取时间 20 min、超声功率 150 W、热水浸提温度 80 ℃、热水浸提时间 4 h。在此工艺条件下,春生田头菇粗多糖提取率为 5.08%。提取的粗多糖对

DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除率分别为 55.05%, 58.47%, 半抑制浓度 IC₅₀ 为 1.03, 0.28 mg/mL。结论:春生田头菇多糖在超声辅助热水提取法最佳工艺参数下,提取得率较高,同时该粗多糖具有一定的体外抗氧化能力。

关键词:春生田头菇;粗多糖;超声辅助;热水浸提;抗氧化性

Abstract: Objective: In order to explore the extraction method and antioxidant activity of crude polysaccharide from edible fungus resources of reed. **Methods:** The characteristic *Agrocybe praecox* of reed edible fungus of Dongting Lake District was used as raw material, the extraction rate of polysaccharide was used as the index, and the extraction was carried out by ultrasonic-assisted hot water alcohol precipitation method. After taking the liquid-material ratio, ultrasonic extraction time, ultrasonic extraction power, hot water extraction temperature, hot water extraction time as the factors to finish the single factor experiments. Then the experiments was optimized by Box-Behnken center combined experimental design for the crude polysaccharide extraction process of *Agrocybe praecox*. The scavenging abilities of the crude polysaccharide on DPPH · free

基金项目:湖南省农业科技创新资金项目(编号:2022CX93);湖南创新型省份建设专项—科技特派员服务乡村振兴项目(编号:2022NK4280)

作者简介:韩晓磊,男,湖南省农业科学院农产品加工研究所助理研究员,西南林业大学在读硕士研究生。

通信作者:熊智(1965—),男,西南林业大学教授,博士。

E-mail: 82110335@qq.com

吕慧英(1981—),女,湖南省农业科学院农产品加工研究所副研究员,博士。E-mail: lhy110300@163.com

收稿日期:2022-10-02 **改回日期:**2023-07-05

radical and ABTS⁺ · free radical were also studied. **Results:** The results showed that the optimal extraction conditions were determined; the ratio of solid to liquid of 1 : 50 (g/mL), ultrasonic extraction time of 20 min, extraction power of 150 W, Hot water extraction temperature of 80 °C, extraction time of 4 h. Under the conditions, the extraction rate of crude polysaccharide was 5.08%. The scavenging rates of DPPH · and ABTS⁺ · were 55.05% and 58.47%, respectively. The semi-inhibitory concentrations of IC₅₀ were 1.03 and 0.28 mg/mL, respectively. **Conclusion:** Under the optimal process parameters of ultrasonic-assisted hot water extraction, the extraction rate of polysaccharide is high, and the crude polysaccharide has a certain antioxidant activity in vitro.

Keywords: *Agrocybe praecox*; crude polysaccharide; ultrasonic wave; hot water extraction; antioxidant activity

田头菇 [*Agrocybe praecox* (Pers.) Fayod], 又名春生田头菇或早生田头菇, 其子实体具有良好的口感和风味, 富含多种活性成分, 营养价值丰富^[1]。目前, 关于田头菇属菌菇研究主要集中在酶活性成分与生态功能以及其对瓜果和绿叶作物的生长调节和品质影响的相互作用等方面^[2-3]。多糖 (Polysaccharides, PS) 是一种存在于动物、微生物及高等植物的天然高分子碳水化合物^[4], 是一类分子结构复杂且庞大的糖类物质。具有活性结构的多糖有抗氧化、抗癌、降血糖和免疫调节等功能, 同时具有天然、无毒、来源丰富等特点^[5]。已有研究^[6-8]表明, 春生田头菇中含有较丰富的多糖类物质, 其在总糖含量中所占比例较高。但目前有关春生田头菇功能活性成分和功效方面的研究较少, 未见该食用菌功能活性物质提取及功效方面的研究。

多糖提取方法目前主要有水浸提法、酶法、超声波法、微波法等, 其中水浸提法操作简便, 但提取效率低、耗能较大, 而超声波或微波提取对多糖提取率具有明显的提升, 同时可以提高其生物学活性, 课题组通过前期预试验发现使用传统的水提醇沉法进行提取时, 虽然操作简单快捷, 但春生田头菇的粗多糖提取率偏低, 不利于粗多糖的进一步分离纯化和后期结构解析。研究拟采用超声辅助热水提取春生田头菇多糖, 通过单因素试验和响应面法优化提取工艺条件, 得到最佳提取工艺参数, 并对春生田头菇多糖的体外抗氧化活性进行研究, 以期为高效利用特色芦苇食用菌资源和开发多糖功能性食品提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料

新鲜春生田头菇采摘于沅江市胭脂湖芦苇食用菌种

植基地 (采摘时间为 2022 年 4 月 5 日), 采后的样品放入存有冰块约为 4 °C 的冷藏箱保存, 在 3 h 内运回实验室后转入 (4±1) °C 的低温冷库预冷约 12 h, 预冷后的菌菇在 45~50 °C 条件下, 热风干燥样品至恒重, 贮藏于干燥器中备用。

1.2 试剂

3-乙基-2-亚硝基亚胺-2,3(2H) 苯噻唑 (ABTS): 纯度 ≥98%, 上海麦克林生化科技有限公司;

1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH): 纯度 ≥98%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

D(+)-无水葡萄糖: 纯度 ≥98%, 西陇化工股份有限公司;

L-抗坏血酸 (V_C): 分析纯, 西陇化工股份有限公司;

萘酚: 分析纯, 北京沃凯生物科技有限公司;

氢氧化钠、草酸、三氯乙酸、乙酸乙酯、冰乙酸、浓硫酸、磷酸、硫酸锌、苯酚、过硫酸钾、甲醇、无水乙醇、丙酮、对氨基苯磺酸等: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司;

试验用水均为去离子水 (RO) 以及蒸馏水。

1.3 仪器

电子天平: AL-204 型, 梅特勒托利多科技 (中国) 有限公司;

小型高速粉碎机: WK-600A 型, 天津新诺仪器科技有限公司;

旋转蒸发器: R-1001VN 型, 郑州长城科工贸有限公司;

紫外可见分光光度计: UV-A360 型, 翱艺仪器 (上海) 有限公司;

循环水式真空泵: SHZ-III 型, 上海标和仪器有限公司;

数控超声波仪器: KQ-500DE 型, 昆山市超声仪器有限公司;

高速冷冻离心机: HR/T16M 型, 湖南赫西仪器装备有限公司;

电热恒温鼓风干燥箱: DHG-9053A 型, 上海精宏实验仪器设备有限公司。

1.4 方法

1.4.1 春生田头菇粗多糖提取工艺 将烘干至恒重的春生田头菇样品, 用高速粉碎机粉碎成粉末后过 60 目筛, 准确称取 8.000 0 g 于三角瓶内, 加入一定量的去离子水。按试验设计的料液比、超声提取时间、超声提取功率放入数控超声波仪器中进行超声提取, 超声后在不同温度条件下封口水浴浸提相应时间, 提取结束后, 全部提取内容物转移至离心管, 4 500 r/min 离心 10 min, 收集上层清液于烧瓶中浓缩至原体积的 1/3, 浓缩后的溶液加入 4 倍体积的 95% 乙醇进行沉淀过夜后减压抽滤, 沉淀物依次用

4 倍体积的无水乙醇洗涤,重复处理至溶液无颜色。收集滤液于冷冻干燥机上,设置参数为预冻温度 $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$,预冻 12 h ,干燥温度 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$,冷冻干燥 48 h 。干燥后得春生田头菇粗多糖冻干物,将冻干物加入蒸馏水溶解,定容至 100 mL ,即得到春生田头菇粗多糖提取液,备用。

1.4.2 春生田头菇粗多糖含量测定 采用蒽酮—硫酸法。

(1) 葡萄糖标准溶液配制和标准曲线测定:准确称量葡萄糖标准品 100 mg ,加蒸馏水定容到 100 mL ,配制成质量浓度为 1 mg/mL 的标准葡萄糖溶液,备用。分别精密吸取葡萄糖标准溶液 $0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2\text{ mL}$ 于 10 mL 具塞容量瓶中,分别加水补至 2 mL ,摇匀。分别向葡萄糖梯度溶液中加入 6 mL 配制好的蒽酮试剂,摇匀置于冰水中冷却,再置于沸水浴($95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上)中加热 $12\sim 15\text{ min}$ 后取出迅速于冰水浴中冷却 15 min ,以第1管为参比,在 625 nm 波长下迅速测定其他管的吸光度,并记录。

(2) 绘制葡萄糖标准曲线图:以标准葡萄糖溶液吸光值为纵坐标、标准葡萄糖含量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,并计算得出线性回归方程为 $y=6.394\ 3x-0.027\ 8$ ($R^2=0.993\ 9$), R^2 值越接近 1 表明标准曲线的线性关系越好。

(3) 样品多糖提取率测定:将春生田头菇粗多糖提取液浓度调整到测定范围,准确吸取 2 mL 待测液于具塞试管中,按照1.4.2(1)中步骤在 625 nm 处测定其吸光值,并记录,按照葡萄糖含量的标准曲线,根据式(1)计算粗多糖提取率。

$$R = \frac{C \times V \times D}{m} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R ——春生田头菇粗多糖提取率, $\%$;

C ——粗多糖浓度, g/mL ;

V ——粗多糖溶液体积, mL ;

D ——稀释倍数;

m ——春生田头菇干粉质量, g 。

1.4.3 春生田头菇粗多糖提取单因素试验 以春生田头菇粗多糖提取率为指标,研究料液比、超声提取功率和提取时间、热水浸提温度和时间对粗多糖提取率的影响。在提过程中,固定超声提取时间 20 min 、超声提取功率 200 W 、热水浸提温度 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、热水提取时间 3 h ,考察液料比 $[1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60\text{ (g/mL)}]$ 对春生田头菇粗多糖得率的影响。固定料液比 $1:30\text{ (g/mL)}$ 、超声提取功率 200 W 、热水浸提温度 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、热水提取时间 3 h ,考察超声提取时间($10, 15, 20, 25, 30\text{ min}$)对春生田头菇粗多糖提取率的影响。固定料液比 $1:30\text{ (g/mL)}$ 、超声提取时间 20 min 、热水浸提温度 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、热水提取时

间 3 h ,考察超声提取功率($100, 150, 200, 250, 300\text{ W}$)对其提取率的影响。固定料液比 $1:30\text{ (g/mL)}$ 、超声提取时间 20 min 、超声提取功率 200 W 、热水提取时间 3 h ,考察热水浸提温度($75, 80, 85, 90, 95\text{ }^{\circ}\text{C}$)对其提取率的影响。固定料液比 $1:30\text{ (g/mL)}$ 、超声提取时间 20 min 、超声提取功率 200 W 、热水浸提温度 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$,考察热水浸提时间($1, 2, 3, 4, 5\text{ h}$)对其提取率的影响。

1.4.4 响应面优化试验 根据单因素试验结果,采用Box-Behnken响应面优化法进行响应面试验,选取料液比、超声提取功率、热水浸提时间和温度进行四因素三水平试验,根据因素间交互作用优化春生田头菇粗多糖提取工艺参数。

1.4.5 春生田头菇粗多糖抗氧化能力测定

(1) 清除DPPH自由基能力:取 2.0 mL 配制好的不同质量浓度的春生田头菇粗多糖溶液($0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14\text{ mg/mL}$)于比色管中,分别加入 2.0 mL 无水乙醇和 2.0 mL 0.02 mg/mL 的DPPH溶液,溶液充分混匀后于室温避光条件下静置 30 min ,在分光光度计上于 517 nm 处测定吸光度,记 A_i ;以 2.0 mL 超纯水替代 0.02 mg/mL DPPH溶液,按上述方法测定吸光度,记 A_j ;以 2.0 mL 维生素C溶液替代粗多糖溶液,按上述方法测定吸光度,记 A_c ,重复试验3次。按式(2)计算DPPH自由基清除率。

$$R_{\text{DPPH}} = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_c} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

R_{DPPH} ——DPPH自由基清除率, $\%$;

A_i ——加入DPPH时溶液的吸光度;

A_j ——未加入DPPH溶液后的吸光值;

A_c ——加入维生素C的吸光值。

(2) ABTS自由基清除能力:以 2.45 mmol/L $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 溶液为溶剂,配制 7 mmol/L ABTS溶液,于暗室静置 $12\sim 16\text{ h}$ 。用去离子水将混合液的 734 nm 处吸光度值调至 0.700 ± 0.020 。将春生田头菇粗多糖溶液($0\sim 5.0\text{ mg/mL}$)与稀释后的ABTS溶液按照 $1:4$ 混合,于 734 nm 处测其吸光度值,记 A_i ;以超纯水替代 7 mmol/L ABTS溶液,按上述方法测定吸光度,记 A_j ;以维生素C溶液替代粗多糖溶液,按上述方法测定吸光度,记 A_c ,重复试验3次。按式(3)计算ABTS自由基清除率。

$$R_{\text{ABTS}} = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_c} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

R_{ABTS} ——ABTS自由基清除率, $\%$;

A_i ——加入ABTS溶液的吸光度;

A_j ——未加入ABTS溶液的吸光度;

A_c ——加入维生素C的吸光值。

1.4.6 数据统计与分析 试验采用 Microsoft Office Excel 2019 软件进行数据统计并作图,采用 IBM SPSS Statistics 22.0 统计软件中的方差分析(ANOVA)法进行显著性分析(显著水平设为 $P < 0.05$)。所有测试重复 3 次,采用 Design-Expert 8.0.5 软件设计响应面试验参数,并对试验数据进行分析。

2 结果分析

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对粗多糖提取影响 由图 1 可知,料液比对春生田头菇粗多糖提取率的影响呈现出多糖提取率先升后降的趋势,当料液比达到 1 : 40 (g/mL)时,粗多糖提取率达到最大,为 4.89%,之后逐渐下降,表明较高的料液比增加了粗多糖在水中的溶解度,但超过样品与提取用水一定比例后粗多糖不升反降。其原因可能是当水的比例过大后,其他水溶性物质增加,使粗多糖与水分子结合量下降,导致粗多糖在水中的溶解量下降,提取率降低^[9]。故选择液料比 1 : 30, 1 : 40, 1 : 50 (g/mL) 3 个条件进行响应面优化较为适宜。

2.1.2 超声提取功率对粗多糖提取影响 由图 2 可知,超声提取功率对春生田头菇粗多糖含量的影响较明显,随着超声提取功率的增大,粗多糖提取率快速增加,在功率为 250 W 时达到最大,此时粗多糖提取率为 5.18%,随后超声功率增大多糖提取率也明显下降,因为超声提取

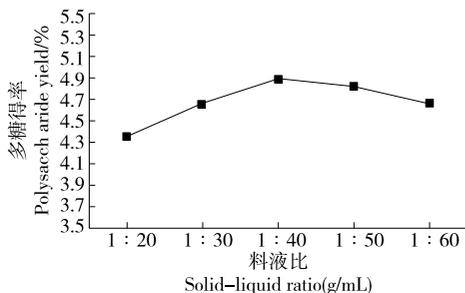


图 1 料液比对粗多糖提取影响

Figure 1 Effects of solid-liquid ratio on extraction of crude polysaccharide

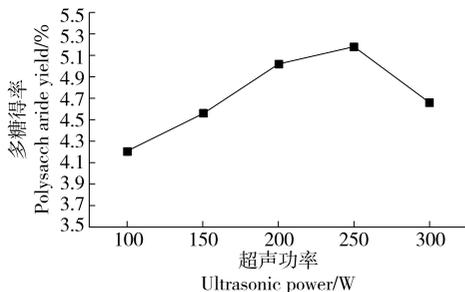


图 2 超声提取功率对粗多糖提取影响

Figure 2 Effects of ultrasonic extraction power on extraction of crude polysaccharide

功率过高时会破坏多糖内部结构,使多糖进一步减少,导致多糖提取率下降^[10]。因此,选取超声提取功率 150, 200, 250 W 3 个条件进行响应面优化较为适宜。

2.1.3 超声提取时间对粗多糖提取影响 由图 3 可知,超声提取时间对春生田头菇粗多糖提取率的影响不明显,随着超声提取时间的增加,粗多糖的提取率缓慢增加,增长不显著。在超声提取 20 min 后,粗多糖含量相对较高,随着提取时间的延长,多糖得率呈现波动,但整体波动变化不大。因此,选择超声时间 20 min 为最佳提取条件,不再进行响应面优化。

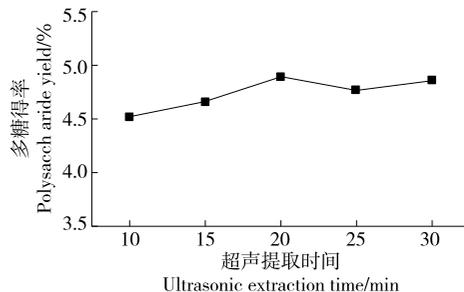


图 3 超声提取时间对粗多糖提取影响

Figure 3 Effects of ultrasonic extraction time on extraction of crude polysaccharide

2.1.4 热水浸提温度对粗多糖提取影响 由图 4 可知,热水浸提温度对春生田头菇粗多糖提取率的影响较为明显,随着热水浸提温度的不断上升,粗多糖提取率显著增加,热水浸提温度达到 85 °C 时粗多糖提取率最大,为 5.11%,随后提取率开始逐步下降,可能是因为热水浸提温度过低时,多糖分子动能降低,分子动能减少无法促进粗多糖在水中的进一步溶解析出,而热水浸提温度太高,析出的粗多糖裂解增加,从而降低了粗多糖的提取率^[11]。因此,选择热水浸提温度为 80, 85, 90 °C 3 个条件进行响应面优化较为适宜。

2.1.5 热水浸提时间对粗多糖提取影响 由图 5 可知,热水浸提时间对春生田头菇粗多糖含量的影响较明显,随着热水浸提温度的上升,粗多糖提取率上升,在提取

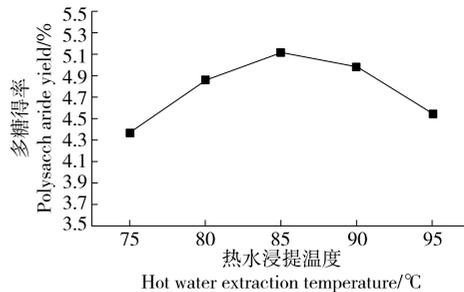


图 4 热水浸提温度对粗多糖提取影响

Figure 4 Effects of hot water extraction temperature on extraction of crude polysaccharides

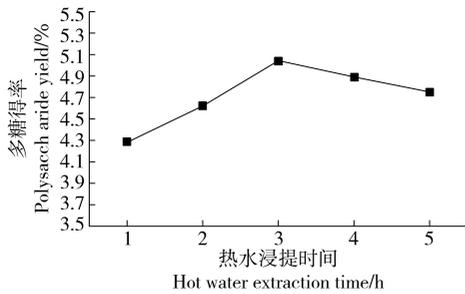


图5 热水浸提时间对粗多糖提取影响

Figure 5 Effects of hot water extraction time on extraction of crude polysaccharides

3 h后达到最大,之后再延长提取时间,多糖提取率反而略微降低,主要是因为提取时间过长后,分子内部热能迅速增加,加快了多糖结构的破坏,导致粗多糖降解^[12]。因此,选择2,3,4 h 3个条件进行响应面优化较为适宜。

2.2 响应面试验

2.2.1 响应面优化试验设计 根据单因素试验确定料液比、超声提取功率、热水浸提温度和时间组成四因素三水平进行 Box-Behnken 中心试验响应面优化,设计参数见表1,设计方案及结果见表2。

2.2.2 响应面方差分析 采用 Design Expert 8.0.5 软件对试验结果进行响应面二次回归拟合分析,得到回归方程:

$$R = 4.9300 + 0.0025A + 0.0408B + 0.0800C + 0.1267D - 0.3150AB + 0.0750AC + 0.0875AD + 0.3850BC - 0.1725BD - 0.1879A^2 - 0.3729B^2 - 0.1567C^2 - 0.0092D^2 \quad (4)$$

由表3可知,该模型回归极显著($P < 0.001$),回归方程因变量与自变量之间的线性关系较为明显,说明该模型差异显著;失拟项 $P = 0.6569 > 0.05$,不显著,说明真实值与模型预测值之间无失拟存在,表明该数字模型具有较好的试验预测性^[12],可用于该试验的预测。回归方程的可信度分析显示, $R^2 = 0.9864$, $R^2_{adj} = 0.9706$,变异系数 $CV = 1.12\%$,说明预测值与实际值相关性较好,该试验误差较小,采用的试验方法可靠,可用此模型分析和预测超声辅助提取春生田头菇粗多糖各项工艺参数^[13]。对该模型各项交互因素的分析,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 的影响差

表1 Box-Behnken 中心试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken design

水平	A 料液比 (g/mL)	B 超声提取 功率/W	C 热水浸提 温度/°C	D 热水浸提 时间/h
-1	1:30	150	80	2
0	1:40	200	85	3
1	1:50	250	90	4

表2 Box-Behnken 试验设计方案及结果

Table 2 Experimental design and results

试验号	A	B	C	D	粗多糖提取率/%
1	0	1	1	0	4.05
2	1	1	0	0	4.88
3	0	0	1	1	4.99
4	1	0	0	-1	4.55
5	0	-1	-1	0	4.67
6	-1	0	0	1	4.07
7	0	-1	0	-1	4.76
8	-1	0	-1	0	4.92
9	-1	0	1	0	4.99
10	1	0	1	0	4.69
11	0	0	0	0	4.77
12	-1	0	0	-1	4.52
13	0	0	1	-1	4.66
14	0	0	0	0	4.74
15	1	-1	0	0	4.91
16	0	1	-1	0	4.99
17	0	0	-1	1	4.53
18	1	0	-1	0	4.83
19	0	0	0	0	4.61
20	0	1	0	1	4.75
21	0	-1	0	1	4.68
22	-1	1	0	0	4.45
23	0	-1	1	0	4.58
24	-1	-1	0	0	3.99
25	0	0	-1	-1	4.56
26	1	0	0	1	4.23
27	0	1	0	-1	4.02

异极为显著,交互项 AB、BC、BD 影响差异极显著,交互项 AD 影响差异高度显著,交互项 AC 影响差异显著,CD 影响差异不显著;表明超声提取功率与料液比、热水浸提温度、热水浸提时间相互作用关系极强。料液比与热水浸提温度和时间相互作用关系强。可以看出,一次项中对粗多糖提取率的影响依次为热水浸提时间 > 热水浸提温度 > 超声提取功率 > 料液比。

2.2.3 交互因子效应分析 AB、AC、BC、BD 相关交互作用见图6~图9。由图6、图8、图9可知,AB、BC、BD 的等高线图均为椭圆形状,且响应面陡峭,说明料液比(A)与超声提取功率(B)、热水浸提温度(C)和热水浸提温度(D)交互作用明显,其中 BC 交互作用关系弱于 AB 和 BD;由图7可知,AC 的等高线图均接近圆形,且响应面平缓,说明 AC 交互作用关系不明显。

表 3 方差分析结果[†]

Table 3 Analysis of variance results

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性
模型	2.340 0	14	0.167 1	62.290	<0.000 1	* * *
A	0.000 1	1	0.000 1	0.028	0.870 0	
B	0.020 0	1	0.020 0	7.460	0.018 2	*
C	0.076 8	1	0.076 8	28.630	0.000 2	* *
D	0.192 5	1	0.192 5	71.770	<0.000 1	* * *
AB	0.396 9	1	0.396 9	147.950	<0.000 1	* * *
AC	0.022 5	1	0.022 5	8.390	0.013 4	*
AD	0.030 6	1	0.030 6	11.420	0.005 5	* *
BC	0.592 9	1	0.592 9	221.010	<0.000 1	* * *
BD	0.119 0	1	0.119 0	44.370	<0.000 1	* * *
CD	0.000 0	1	0.000 0	0.000	1.000 0	
A ²	0.188 3	1	0.188 3	70.200	<0.000 1	* * *
B ²	0.741 7	1	0.741 7	276.480	<0.000 1	* * *
C ²	0.130 9	1	0.130 9	48.800	<0.000 1	* * *
D ²	0.000 4	1	0.000 4	0.167	0.689 9	
残差	0.032 2	12	0.002 7			
失拟项	0.026 0	10	0.002 6	0.838	0.656 9	
纯误差	0.006 2	2	0.003 1			
总和	2.370 0	26				

[†] 拟合度 $R^2 = 0.986 4$; 校正拟合度 $R^2 = 0.970 6$; * * * 表示差异极显著 ($P < 0.001$); * * 表示差异高度显著 ($P < 0.01$); * 表示差异显著 ($P < 0.05$)。

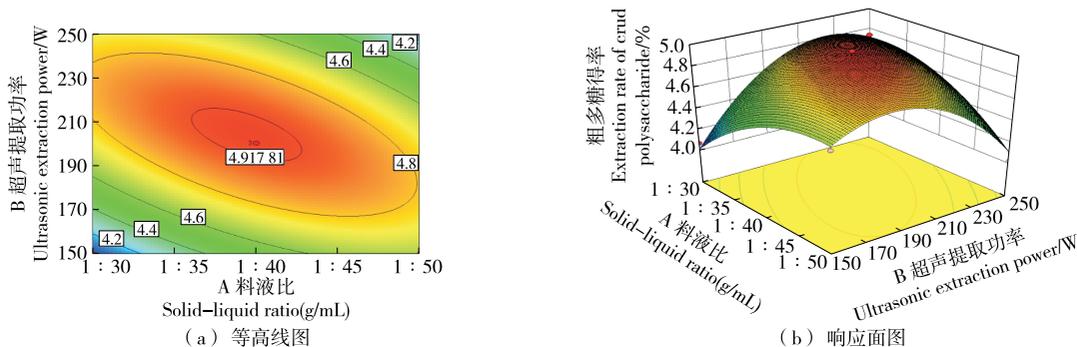


图 6 料液比与超声提取功率交互关系

Figure 6 Interaction between solid-liquid ratio and ultrasonic extraction power

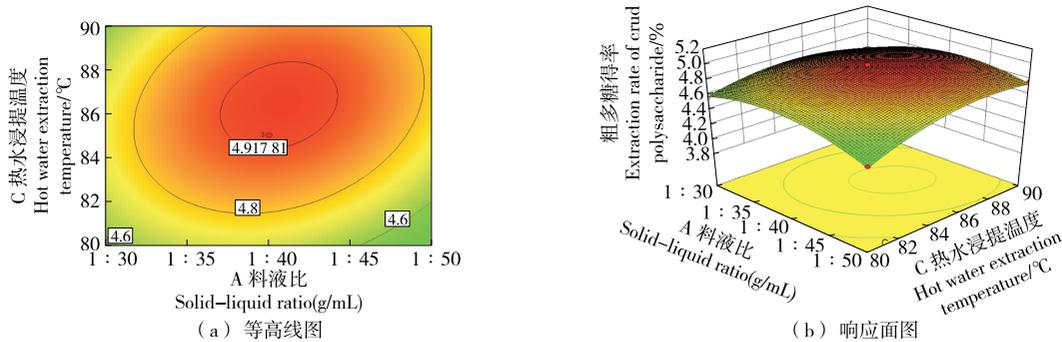


图 7 料液比与热水浸提温度交互关系

Figure 7 Interaction between solid-liquid ratio and hot water extraction temperature

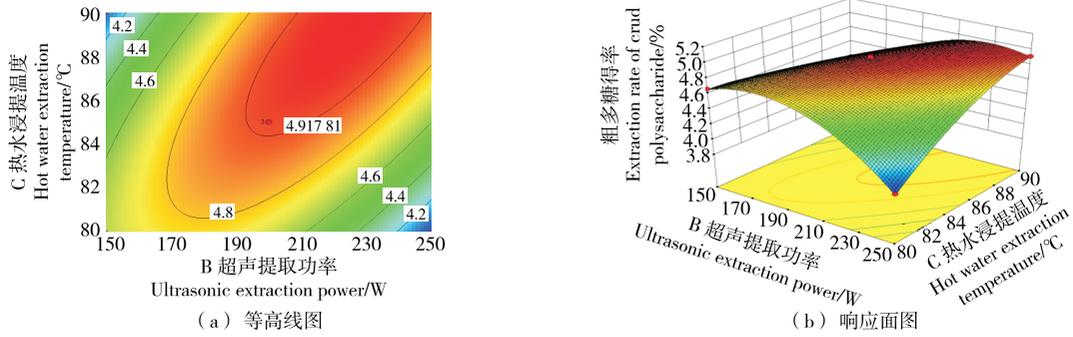


图 8 超声提取功率与热水浸提温度交互关系

Figure 8 Interactive relationship between ultrasonic extraction power and hot water extraction temperature

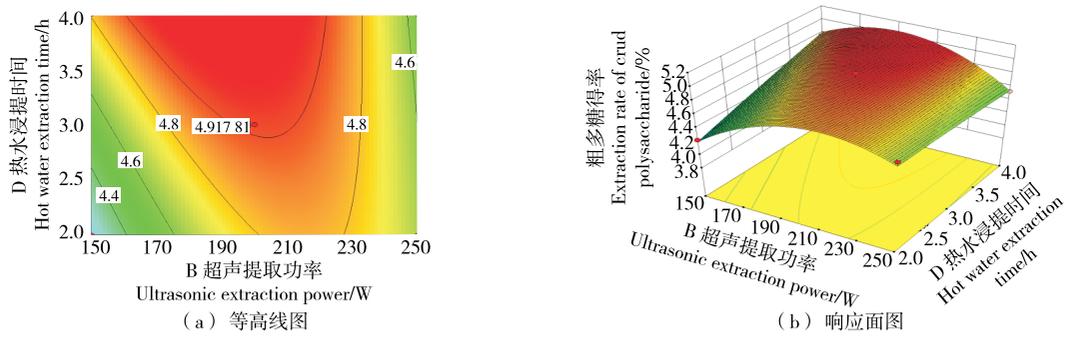


图 9 超声提取功率与热水浸提时间交互关系

Figure 9 Interactive relationship between ultrasonic extraction power and hot water extraction time

2.2.4 回归模型进行中心组合设计分析 利用响应面分析方法对回归模型进行中心组合设计分析,超声辅助提取法提取田头菇粗多糖工艺软件得到理论最优条件为:超声功率 162.147 W,热水浸提温度 82.547 °C,料液比为 1 : 47.754 (g/mL),热水浸提时间 4.00 h,模型预测多糖提取率可达到 5.11%。结合实际可操作性对模型预测最佳提取工艺参数进行调整:超声功率 150 W,热水浸提温度 80 °C,物料比 1 : 50 (g/mL),提取时间 4 h,经 3 次平行实验验证,春生田头菇粗多糖平均提取率为 5.08%,与预测值接近,重复性较好。因此,采用响应面法优化得到的提取条件相对可靠,在该菌菇粗多糖的提取工艺上具有较好的应用价值。

2.3 春生田头菇粗多糖抗氧化活性

由图 10 和图 11 可知,随着粗多糖质量浓度的增加,对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的清除能力也逐渐增加,但均显著低于同质量浓度维生素 C 的 ($P < 0.05$),与文献[14]的研究结果一致。当春生田头菇粗多糖质量浓度为 0.14 mg/mL 时,其对 DPPH 自由基的清除率为 55.05%,经计算 IC_{50} 为 1.03 mg/mL;对 ABTS 自由基的清除率为 58.47%, IC_{50} 为 0.28 mg/mL。结果表明,春生田头菇粗多糖在体外有一定的抗氧化活性。

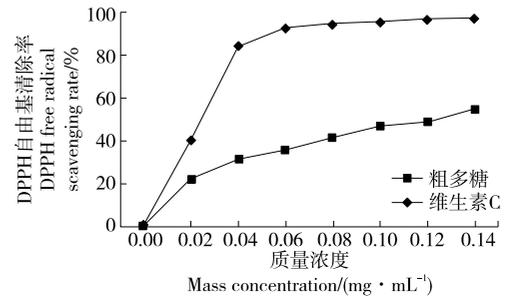


图 10 粗多糖对 DPPH 自由基清除率影响

Figure 10 Effects of crude polysaccharide on DPPH free radical scavenging

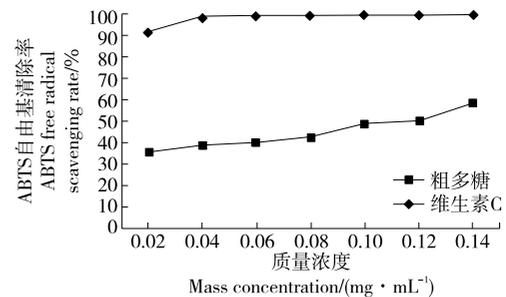


图 11 粗多糖对 ABTS 自由基清除率影响

Figure 11 Effects of crude polysaccharide on ABTS free radical scavenging

3 结论

研究采用超声辅助热水浸提法提取春生田头菇粗多糖,并探讨其抗氧化能力。结果表明,春生田头菇粗多糖的最佳工艺条件为:料液比 1:50 (g/mL)、超声提取时间 20 min、提取功率 150 W、热水浸提温度 80 ℃、浸提时间 4 h,该条件下春生田头菇粗多糖提取率高达 5.08%;该粗多糖具有一定的体外抗氧化能力。但由于目前提取方法较为多元化,下一步可结合新工艺对其提取,同时对粗多糖进一步分离纯化,以期更加全面、准确地了解春生田头菇多糖的结构和功能活性。

参考文献

- [1] 韩晓磊, 梁玉钦, 方志辉, 等. 魔芋葡甘聚糖涂膜处理对采后胶状鳞伞菌保鲜效果的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 341-349.
HAN X L, LIANG J Q, FANG Z H, et al. Effect of konjac glucomannan coating treatment on fresh-keeping effect of postharvest colloidal scale umbrella fungus [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 341-349.
- [2] KRISTIINA H, MIILA R M, KARI T S, et al. Biochemical and molecular characterization of an atypical manganese peroxidase of the litter-decomposing fungus *Agrocybe praecox* [J]. Fungal Genetics and Biology, 2014, 72: 131-136.
- [3] JANA A, ALES L, LUDOVIT N, et al. Dual inoculation with mycorrhizal and saprotrophic fungi applicable in sustainable cultivation improves the yield and nutritive value of onion[J]. The Scientific World Journal, 2012, 2: 1-8.
- [4] 景年华, 史俊友, 田照秀, 等. 黑牛肝菌多糖超声提取工艺优化及抗氧化研究[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(8): 170-174.
JING N H, SHI J Y, TIAN Z X, et al. Study on optimization of ultrasonic extraction process and antioxidant of polysaccharides from *Boletus aereus*[J]. Anhui Agricultural Sciences, 2021, 49(8): 170-174.
- [5] 张新妍, 林传燕, 朱静. 美味牛肝菌多糖的药理活性研究进展[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(16): 4-5.
ZHANG X Y, LIN C Y, ZHU J. Research progress in pharmacological activities of *Boletus edulis* polysaccharides [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(16): 4-5.
- [6] 巩攀. 田头菇多糖提取物对有氧性运动疲劳恢复的作用[J]. 中国食用菌, 2021, 40(3): 94-98.
GONG P. Effect of active extract of *Agrocybe aegerita* on recovery of aerobic exercise fatigue[J]. Edible Fungi of China, 2021, 40(3): 94-98.
- [7] 吴芳, 冯立国, 黄晓辉, 等. 野生田头菇菌株的驯化及其子实体营养成分分析[J]. 菌物学报, 2020, 39(5): 848-855.
WU F, FENG L G, HUANG X H, et al. Domestic cultivation and nutritional component analysis of wild strain of *Agrocybe praecox* [J]. Mycosystema, 2020, 39(5): 848-855.
- [8] 张沙沙, 罗晓莉, 何容, 等. 基于响应面优化的超声波辅助提取香菇多糖工艺研究[J]. 中国食用菌, 2020, 39(3): 29-33.
ZHANG S S, LUO X L, HE R, et al. Study on ultrasonic-assisted extraction of lentinan based on response surface optimization[J]. Edible Fungi of China, 2020, 39(3): 29-33.
- [9] 刘良伟, 任杰, 侯俊财, 等. 牡蛎多糖结构特征、理化特性及抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(6): 57-63.
LIU L W, REN J, HOU J C, et al. Structural characteristics, physicochemical properties and antioxidant activity of oyster polysaccharides[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(6): 57-63.
- [10] LIAO B Y, ZHU D Y, THAKUR K, et al. Thermal and antioxidant properties of polysaccharides sequentially extracted from mulberry leaves (*Morus alba* L.) [J]. Molecules, 2017, 22(12): 2 271.
- [11] 常庆, 吴少雄, 王琦, 等. 超声波辅助提取纯化滇橄榄多糖的工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(6): 1 755-1 763.
CHANG Q, WU S X, WANG Q, et al. Study on process of ultrasonic assisted extraction and purification of polysaccharides from *Phyllanthus emblica* Linn.[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(6): 1 755-1 763.
- [12] 秦如冰, 叶丽, 尹嘉梁, 等. 响应面法优化暗褐脉柄牛肝菌粗多糖提取工艺[J]. 食品工业, 2022, 43(6): 199-203.
QIN R B, YE L, YIN J L, et al. Optimization of extraction process for crude polysaccharide from the fruiting bodies of *Phlebopus portentosus* based on response surface methodology [J]. Food Industry, 2022, 43(6): 199-203.
- [13] 刘茗铭, 边名鸿, 赵金松, 等. 纯种酒曲强化剂的制备及其工艺优化[J]. 酿酒, 2022, 49(1): 47-52.
LIU M M, BIAN M H, ZHAO J S, et al. Preparation and process optimization of purebred *Jiuqu* fortifier[J]. Liquor Making, 2022, 49(1): 47-52.
- [14] 刘书江, 刘俐伶, 李倩, 等. 曲面响应法优化超声辅助提取残次冬枣果胶工艺条件[J]. 滨州医学院学报, 2022, 45(3): 232-235.
LIU S J, LIU L L, LI Q, et al. Optimization of pectin extraction process from defective winter jujubes bu response surface method [J]. Journal of Binzhou Medical College, 2022, 45(3): 232-235.