

文章编号: 1009-038X(1999)04-0038-04

灵芝菌丝体胞内多糖提取工艺的优化

李平作,徐 柔,章克昌

(无锡轻工大学生物工程学院,江苏无锡 214036)

摘要:通过响应面分析(RSA)法,优化了灵芝菌丝体胞内多糖的热浸提条件,提取温度为 95℃,时间为 3.5 h,湿菌体与水的量比值为 1:2.5,此时胞内多糖提取率达到最大值,为 10.5 g/kg.

关键词:灵芝;胞内多糖;响应面分析

中图分类号:TQ920 文献标识码:A

灵芝多糖具有抗肿瘤功能及免疫活性^[1],作者的研究结果也证实了这一点^[2].由于胞内多糖主要存在于菌丝体的细胞壁或胞间质中^[3],因此提高灵芝菌丝体胞内多糖的提取率具有重要的意义.影响灵芝菌丝体多糖提取的因素主要是提取的温度、时间和料水比.响应面分析(Response Surface Analysis, RSA)方法将数学和统计学相结合,以较少的实验对试验因子进行研究^[4].因此,利用响应面分析对灵芝菌丝体多糖提取过程的上述 3 个条件进行优化.

1 材料与方法

1.1 菌种

灵芝(*Ganoderma lucidum*) 作者所在实验室筛选保存.

1.2 仪器设备

组织捣碎机 上海标本仪器厂制;高速冷冻离心机 Hitachi公司制;旋转薄膜蒸发器 上海玻璃仪器厂制.

1.3 方法

1.3.1 灵芝深层发酵菌丝体胞内多糖的提取路线 深层发酵液经离心分离后,向湿菌丝体中加 1.5~3.5 倍体积的蒸馏水,经组织捣碎机破碎(10 000 r/min) 10 min 后,于 80~100℃水浴回流提取 2~4 h,过滤后得到滤液和滤渣,向滤渣中再加入 1.5~3.5 倍体积的蒸馏水,重复上述操作 3~5 次,最后合并滤液,浓缩,边搅拌边加乙醇至体积分数为 60%,离心分离(6 000 r/min) 20 min 后,沉淀经真空干燥即为粗多糖.

收稿日期:1998-11-03;修订日期:1999-10-03

作者简介:李平作(1967年4月生),男,山东莱阳人,工学博士.

1.3.2 多糖测定 苯酚硫酸法^[5].

1.3.3 响应面实验设计与分析 参照文献 [4] 进行.

2 结果与讨论

选取提取温度、提取时间和料水比为自变量,提取率为响应值,采用响应面分析法在三因素三水平上对菌丝体胞内多糖的提取条件进行优化,实验设计及结果见表 1~ 5.

表 1 响应面分析因素及水平

因素	水 平		
	- 1	0	+ 1
提取温度 (X_1) / $^{\circ}$ C	80	90	100
提取时间 (X_2) /h	2	3	4
料水比 (X_3)	1: 1.5	1: 2.5	1: 3.5

表 2 响应面实验设计及实验结果

实验号	X_1	X_2	X_3	多糖得率 / (g /kg)
1	- 1	- 1	0	6.53
2	- 1	0	- 1	6.42
3	- 1	0	1	6.63
4	- 1	1	0	6.09
5	0	- 1	- 1	8.18
6	0	- 1	1	8.85
7	0	1	- 1	8.77
8	0	1	1	8.3
9	1	- 1	0	10.2
10	1	0	- 1	9.08
11	1	0	1	10.0
12	1	1	0	10.5
13	0	0	0	10.2
14	0	0	0	10.4
15	0	0	0	10.2

表 3 回归系数

系数	取值	系数	取值
α_0	112.2	α_{22}	- 14.98
α_1	12.87	α_{33}	- 26.88
α_2	4.55	α_{12}	1.25
α_3	- 6.02	α_{13}	36.95
α_{11}	- 27.98	α_{23}	- 6.70

表 4 回归方程方差分析

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值
回归	9	130.5	14.5	97.1
参差	5	0.75	0.15	
总离差	14	131.6		

注: $f_{0.01}(9, 5) = 10.2$

表 5 回归方程各项方差分析

方差来源	自由度	均方	F 值	显著性
一次项	3	241.3	377.1	**
二次项	3	93.4	145.8	**
交互项	3	4.1	6.4	
失拟项	3	1.57	2.45	
误差	2	0.64		

注: $f_{0.01(3,2)} = 99.2$; $f_{0.05(3,2)} = 19.2$

$f_{0.1(3,2)} = 9.16$

以多糖得率为响应值,经回归拟合后,实验因子对响应值的影响可用回归方程表示为:

$$y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3$$

从方差分析表中可以看出,用上述回归方程描述各因子与响应值之间的关系时,其因变量和全体自变量之间的线性关系显著 ($F > f_{0.01(9,5)}$).从回归方程各项方差的进一步检验也可看出,方程的失拟项很小,因此可用该回归方程代替实验真实点对实验结果进行分析.回归方程各项的方差分析结果还表明,方程一次项、二次项的影响都是显著的,因此各具体实验因子对响应值的影响不是简单的线性关系,各因子间的交互作用影响不显著.

根据上述回归方程作出响应面分析图及平面图,见图 1~ 4.可以看出,提取温度和提取时间的变化对多糖得率影响显著.为确定各因素的最佳取值,用 Box^[4]的 Complex Algo-

ri thm法对上述回归方程取一阶偏导等于零并整理得:

$$12.87 - 55.96X_1 - 1.25X_2 + 36.95X_3 = 0$$

$$4.55 - 29.96X_2 - 1.25X_1 - 6.7X_3 = 0$$

$$-6.02 - 53.76X_3 + 36.95X_1 - 6.7X_2 = 0$$

解得: $X_1 = 0.26, X_2 = 0.13, X_3 = -0.05$.

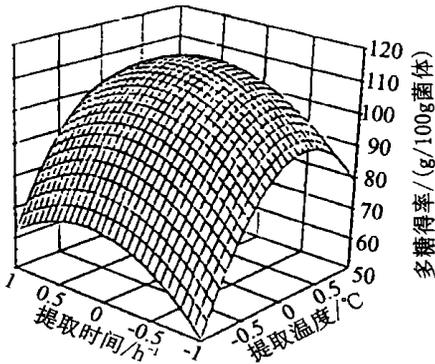


图 1 $Y = f(X_1, X_2)$ 响应面分析立体图

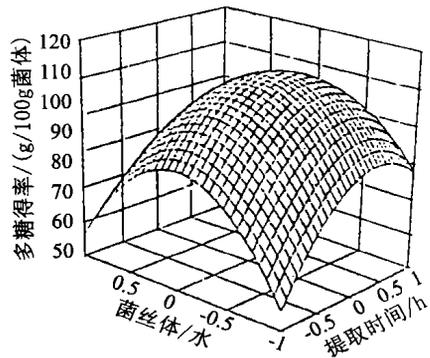


图 2 $Y = f(X_2, X_3)$ 响应面分析立体图

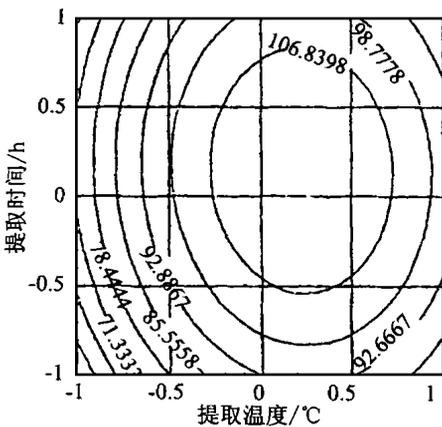


图 3 $Y = f(X_1, X_2)$ 响应面分析平面图

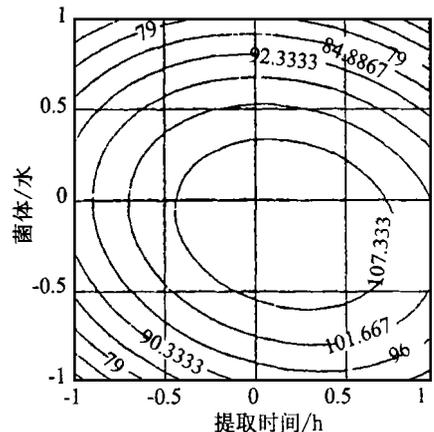


图 4 $Y = f(X_2, X_3)$ 响应面分析平面图

即最适提取温度为 92.6°C , 最适提取时间 3.26h , 最适料水比为 $1:2.4$. 此时多糖得率最高, 为 10.9g/kg . 考虑到实际工艺控制的方便, 最适提取温度为 95°C , 最适提取时间 3.5h , 最适料水比为 $1:2.5$.

为检验回归模型的准确性, 在上述最佳提取条件下进行菌丝体多糖的提取实验, 实际测定值是 10.5g/kg , 与模型预测值 (10.9g/kg) 相比, 其相对误差在 3% 左右. 因此该模型能较好地预测实际提取情况.

3 结 论

灵芝胞内多糖的热提取工艺中, 提取温度和提取时间对多糖的提取得率有较明显的影响, 最适提取温度为 95°C , 最适提取时间为 3.5h , 湿菌体与水的量比值为 $1:2.5$. 此条件下多糖提取率达到 10.5g/kg .

参考文献:

- [1] BOHN A, BEMMILLER J N. (1 \rightarrow 3)- β -Glucans as biological response modifiers: a review of structure- functional activity relationships [J]. Carbohydrate Polymers, 1995, 28: 3- 14
- [2] 李平作. 灵芝深层发酵生产生物活性物质的研究 [D]. 无锡: 无锡轻工大学, 1997.
- [3] 吴东儒主编. 糖类的生物化学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1987.
- [4] BOX G E P, HUNTER W G. Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis and model building [M]. New York: Wiley, 1990.
- [5] 张维杰主编. 复合多糖生化技术研究 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987.

Optimization for the Extraction of Intra- polysaccharides from Mycelia of *Ganoderma lucidum* by the Method of RSA

LI Ping-zuo, XU Rou, ZHANG Ke-chang

(School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Abstract The extraction process of intra- polysaccharides from mycelia of *Ganoderma lucidum* was optimized by the method of response surface analysis (RAS). The maximum yields of polysaccharides were up to 10.5 g/kg dry mycelia under the following conditions: extractim temperature 95 $^{\circ}$ C; extraction time 3.5 h; mycelia /distilled water 1: 2.5.

Key words *Ganoderma lucidum*; inrta- polysaccharides; RSA