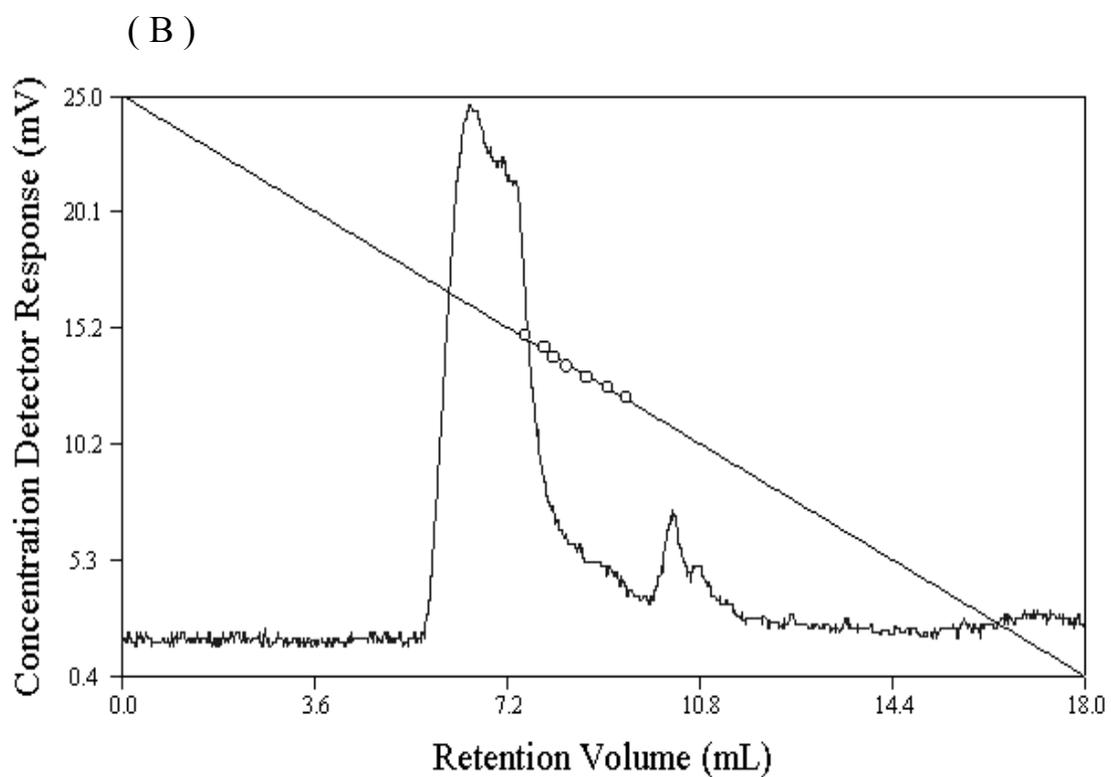
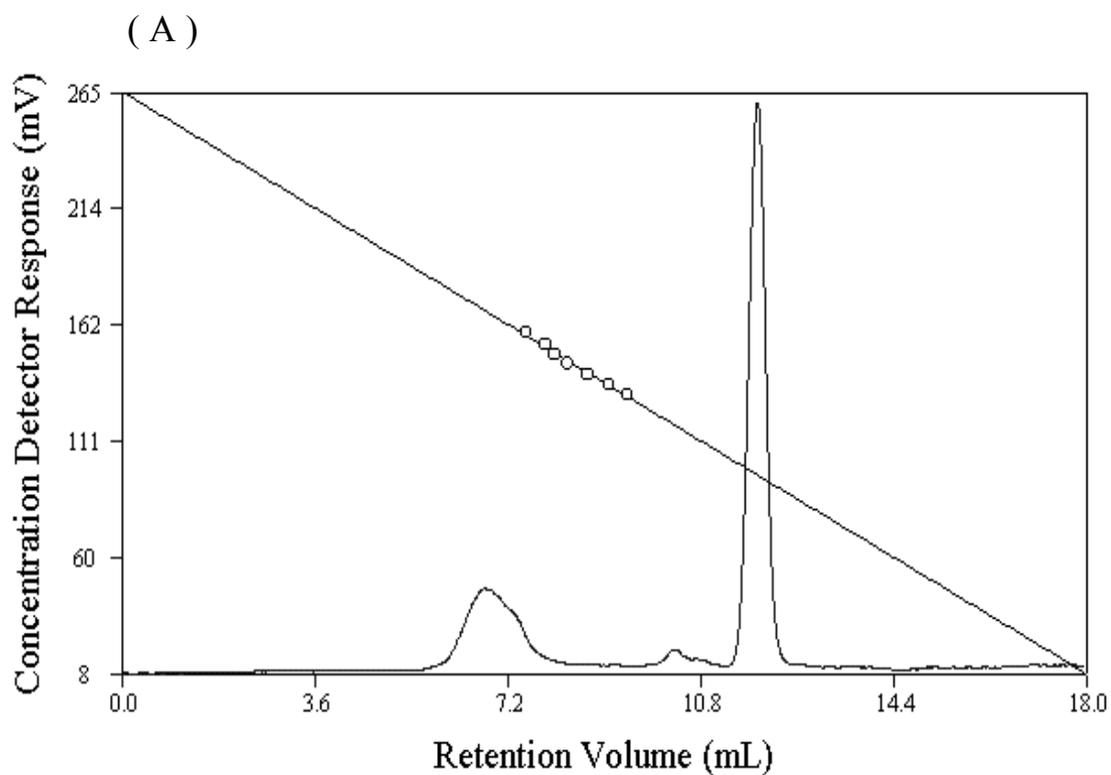


## 肆、結果與討論

### 一、木耳類萃取多醣之分子量

高效能分子篩層析儀能篩析分子量大小，分子量大者其滯留時間越短，並對照由常見的標準物-聚三葡萄糖 (pullulan) (Polymer Laboratories, USA) 所得而來的標準檢量線 (圖五中由左上角至右下角的斜線，線上圓圈為七種不同分子量的標準品，由右下方向左上方增加分子量) 即可測知樣品的重量平均分子量。將兩種多醣樣品溶於 0.1 M NaNO<sub>3</sub> 溶液中，並經加熱、0.45 μm 濾膜過濾後，直接以高效能分子篩層析儀分析其重量平均分子量，分別如圖八 (A) 和 (B) 所示。其重量平均分子量分別是毛耳萃取多醣為  $1.29 \times 10^6$  與銀耳萃取多醣為  $5.22 \times 10^6$  (Dalton)。以滯留時間以及組成成份推估，推測毛耳萃取多醣層析圖之波峰由左至右分別為由葡萄糖醛酸構成的酸性多醣、葡聚醣以及由葡萄糖、木糖、甘露糖組成的中性葡聚醣，如圖五 (A) 所示；銀耳萃取多醣層析圖之左邊波峰為由木糖、葡萄糖醛酸和甘露糖組成的酸性多醣，右邊是中性葡聚醣，如圖五 (B) 所示。銀耳多醣分子量測定結果與 Gao 等 (1996a、1996b) 自銀耳中提取之酸性多醣分子量大約是五百萬 (Dalton) 相符合；但毛耳多醣分子量測定與 Zhang 等 (1995) 和 Sone (1978) 以酒精萃取法由

木耳 (*Auricularia auricula - judae*) 所萃取出之三種多醣分子量分別為  $1.17 \times 10^6$ 、 $1.44 \times 10^6$  與  $2.00 \times 10^6$  dalton 有些許差距，推測應該與不同的萃取方法有關。



圖八、毛耳多醣 (A) 與銀耳多醣 (B) 之高效能分子篩層析圖

Fig. 8. HPSEC chromatograms of ( A ) : AP and ( B ) : TF.

## 二、極稀釋溶液之固有黏度 (intrinsic viscosity)

### 1. 固有黏度

$[\eta]$  為描述多醣分子在極稀溶液中分子所表現之黏度特性，其特性與多醣分子在溶液中所佔有的水體積有關。由測定結果顯示，銀耳多醣之  $[\eta]$  為 33.785 dL/g 比毛耳多醣  $[\eta]$  為 18.656 dL/g 來得大，這可能是因為與銀耳多醣有較大的分子量有關；而 Lai and Chiang (2002)、Zhang (1995) 與裘 (2002) 都認為較大的分子量通常也會有較大的固有黏度，但是，不僅只是分子結構如分子量、組成成份、排列方式等，萃取方法與溶劑特性也都會影響結果。

### 2. 雙糖溶液對木耳類萃取多醣固有黏度的影響

四種不同濃度 (5%、10%、20% 與 40% (w/v)) 的三種雙糖 (蔗糖麥、芽糖及海藻糖) 溶液對木耳類萃取多醣固有黏度的影響整理於圖九。由圖九可看出，隨著糖濃度的增加， $[\eta]$  值也有往下降的趨勢。Richardson *et al.*, (1998) 研究報告中推測：添加蔗糖於半乳糖甘露聚醣溶液中，由於蔗糖分子水合的機制有關，使得半乳糖甘露聚醣溶液之固有黏度下降，這與 Elfak *et al.*, (1977) 相似。但 Richardson *et al.*, (1998) 認為在糖濃度 20% (w/w) 下，水、糖及半乳糖甘露聚醣分子三者維持很好的平衡關係而成為良好溶劑 (good solvent)，

使得半乳糖甘露聚糖分子在 20 % (w/w) 蔗糖溶液中可以比單純在水溶液中與水分子之水合情況更好，也因此，在此濃度下關華豆膠及刺槐豆膠之固有黏度值，比水中之固有黏度較高；而此結果與本實驗銀耳多醣溶於 20 % (w/w) 蔗糖溶液中之結果相符合；兩種木耳類萃取多醣溶於 5 % (w/w) 麥芽糖溶液及銀耳多醣溶於 5 % (w/w) 蔗糖溶液也有類似的效果。以蔗糖和海藻糖而言，5 % (w/w)，10 % (w/w) 及 20 % (w/w) 糖濃度之  $[\eta]$  下降幅度並不是很大，但在 40 % (w/w) 糖濃度下，有很明顯的下降幅度；但是以麥芽糖而言，各種不同濃度之間  $[\eta]$  的差異有顯著的差別；這可能是因為在高糖濃度時，糖分子與水分子充份水合，減少木耳多醣分子與水分子水合的機會，使得木耳類多醣分子緊縮的因素。

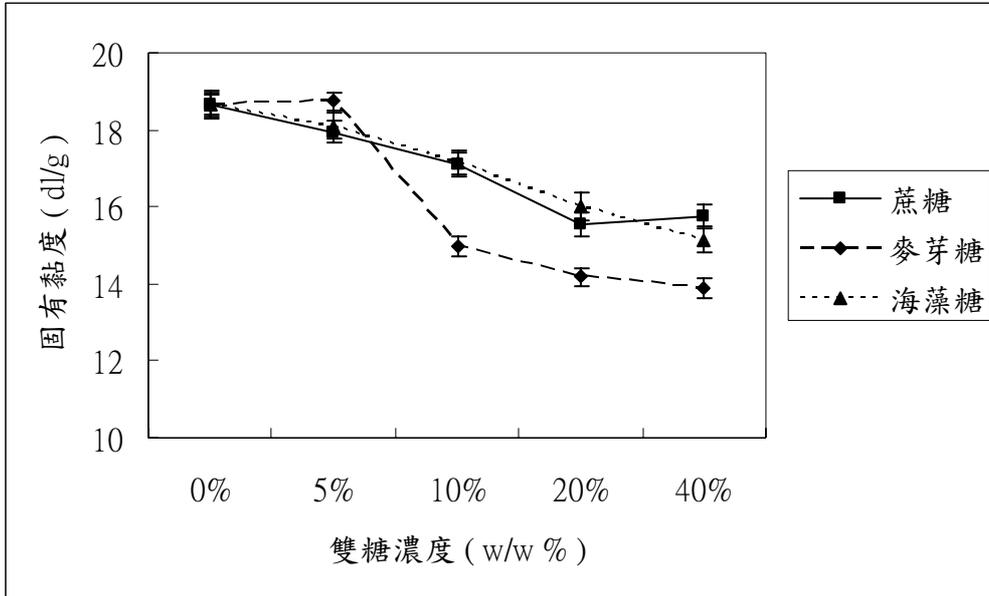
三種雙糖的影響效果顯示銀耳多醣在 40 % (w/w) 糖濃度下，添加蔗糖之多醣溶液較海藻糖及麥芽糖之  $[\eta]$  值來得小，推測和蔗糖分子水合的機制有關，此結果與裘 (2002) 認為海藻糖分子與水分子水合作用較強導致添加海藻糖之關華豆膠及刺槐豆膠溶液之  $[\eta]$  值下降的幅度比蔗糖及麥芽糖還大之結果相異，可能與多醣的組成成分以及結構有關；而毛耳多醣在 40 % (w/w) 糖濃度下以麥芽糖的  $[\eta]$  值最小這可能是因為麥芽糖分子與水分子水合作用較強的關係，這與 Kacurakova and Mathlouthi (1996) 所提出之海藻糖分子與水分子水

合作用較強的緣故有差異；所以推測與木耳類萃取多醣之組成成份、結構排列方式有關 (Ekdawi-Sever *et al.*, 2001)。

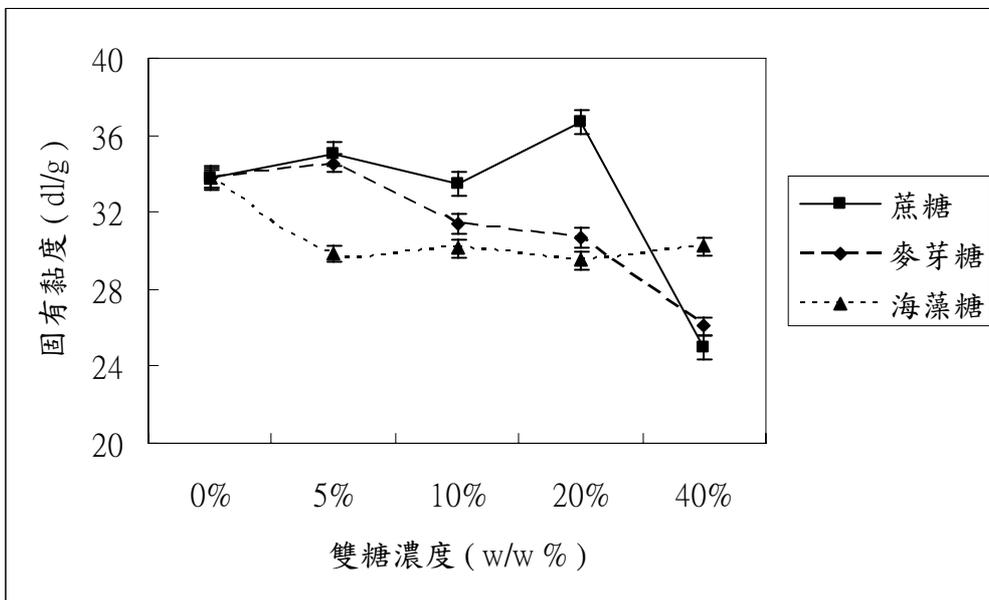
### 3. 離子強度對木耳類萃取多醣固有黏度的影響

三種鹽類(NaCl、KCl 與 MgCl<sub>2</sub>)四種濃度(100 mM、50 mM、25 mM 和 10 mM)對木耳類萃取多醣之影響整理如圖十所顯示，一般來說，溶液中的離子強度皆有降低多醣溶液黏度的效果，而 Lai and Chiang (2002)認為在低離子強度(10 mM)下，多醣的分子構形穩固的伸展造成溶液有較高的黏度；而在高離子強度之下，由於游離離子增加，使多醣因電荷屏障效應(charge shielding effect)而使分子構形皺縮，連帶降低溶液黏度。由圖七可看出，其中除了銀耳多醣溶於氯化鈉溶液之外，都有隨著離子濃度的增加而降低固有黏度之趨勢，又以氯化鎂降低兩種木耳類萃取多醣之  $[\eta]$  值最為明顯，據推測是因為二價陽離子比一價陽離子可以交聯(cross linking)更多多醣分子上的陰離子，使多醣分子有更大幅度的收縮，因而在同濃度下二價陽離子可以對木耳類萃取多醣造成更大的影響 (Launay *et al.*, 1997; Chao and Lai, 1999; Lai and Chiang, 2002)。

(A)



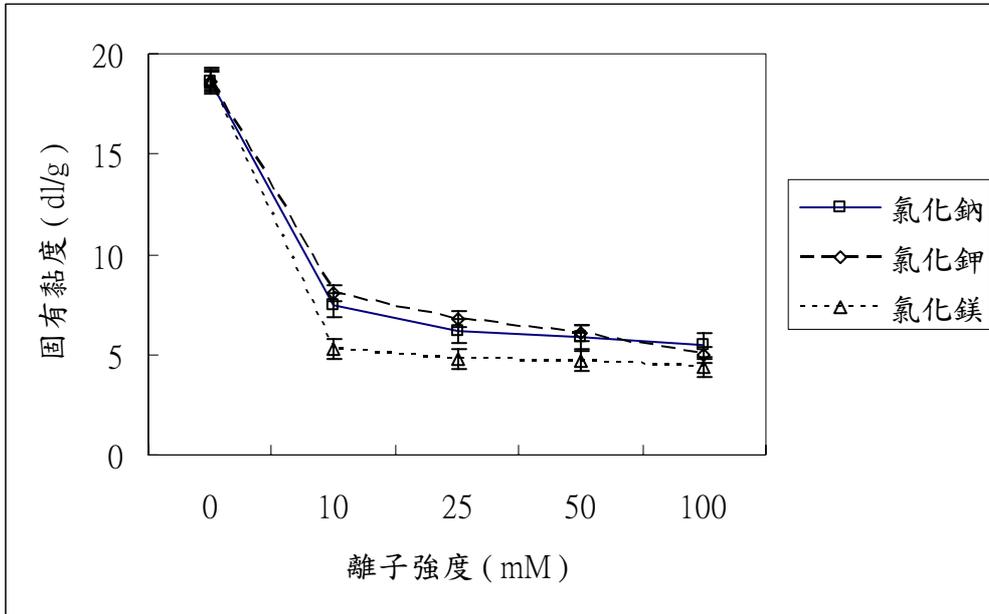
(B)



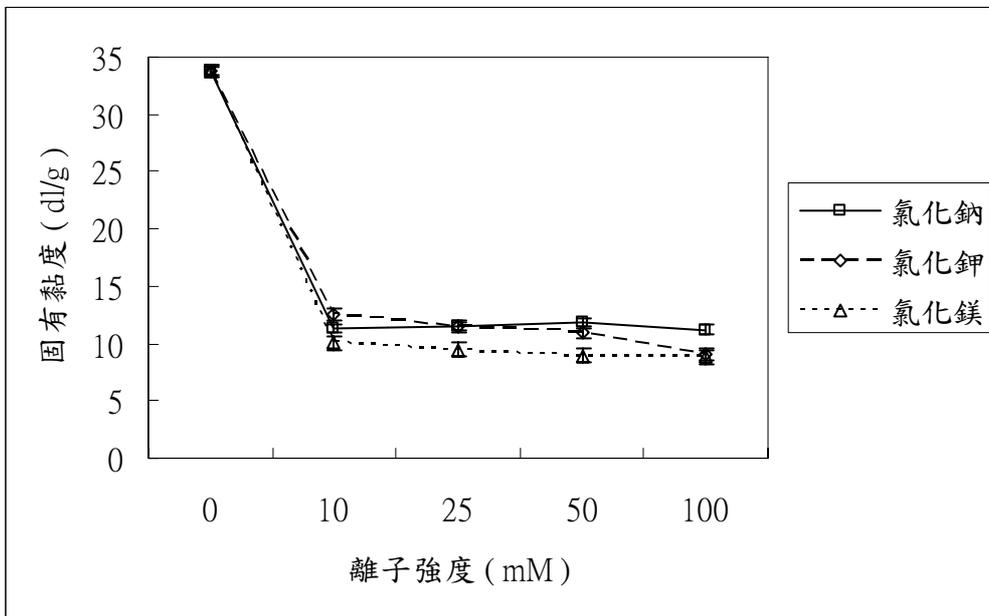
圖九、不同雙糖濃度下 (A) 毛耳多醣與 (B) 銀耳多醣之固有黏度關係圖。

Fig. 9. The intrinsic viscosities of wood ear extracted polysaccharide at various sugar concentrations. ((A) : AP, (B) : TF.)

(A)



(B)



圖十、不同離子強度下 (A) 毛耳多醣與 (B) 銀耳多醣之固有黏度係圖。

Fig. 10. The intrinsic viscosities of wood ear extracted polysaccharide at various ionic concentrations. ((A) : AP, (B) : TF.)

### 三、半稀釋 (semi-dilute) 溶液之黏度性質

#### 1. 木耳類萃取多醣之剪稀 (shear thinning) 現象

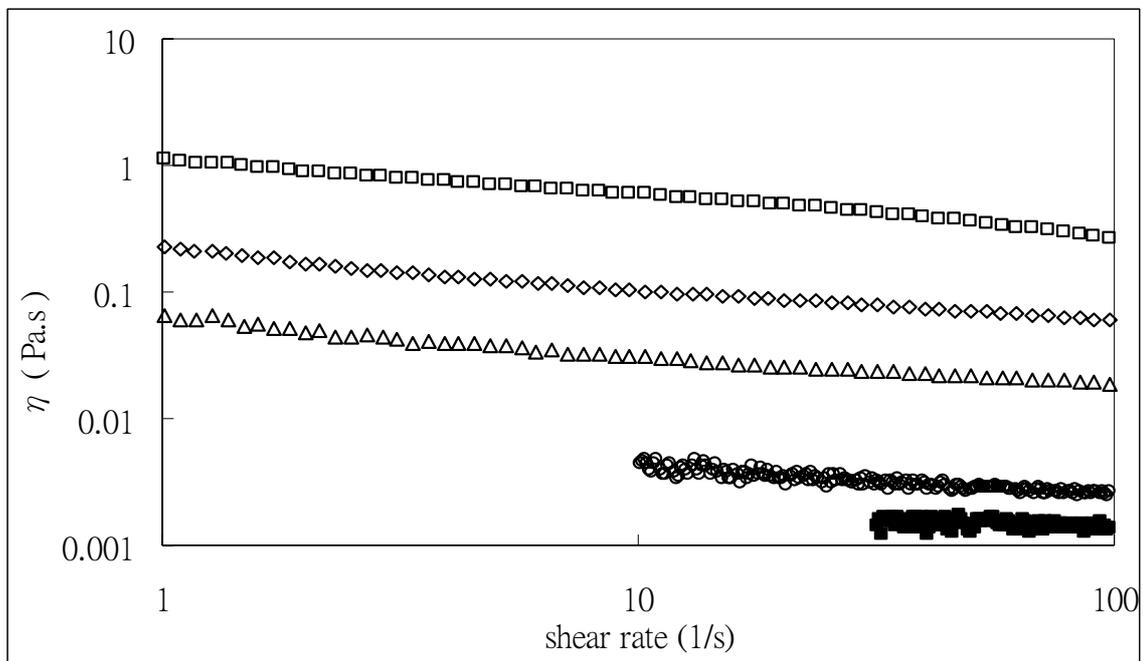
圖十一與圖十二為以動態流變儀測量半稀釋狀態之木耳類萃取多醣溶液在 25°C 的視黏度圖，多醣濃度為 2% (w/v)、1% (w/v)、0.5% (w/v)、0.1% (w/v) 及 0.05% (w/v)；隨著多醣濃度上升，視黏度也隨之升高；而隨著切變速率的增高，視黏度的下降，此種現象即為剪稀現象；濃度愈高，剪稀現象也愈明顯；這可能與多醣溶液中多醣分子纏結 (entanglement) 程度有關；多醣濃度愈高，多醣分子纏結程度愈高，黏度也愈高，而當切變速率增大時，多醣分子受其剪切力影響，多醣分子被拉張而排列整齊，使得多醣溶液之視黏度下降。而據此推測，由於銀耳分子量遠高於毛耳，因此剪稀現象也較毛耳明顯。但在 0.05% 時，由於濃度較低，其剪稀現象也較不明顯。此結果與楊 (2000) 以鹼萃取白木耳多醣並分析其基本動態流變性質，認為白木耳多醣 (tremellan) 溶液呈現剪稀非牛頓流體性質

(Non-Newtonian Fluids) 之假塑性流體 (pseudo-plastic) 且無法凝膠之結果相同。

#### 2. pH 值對木耳類萃取多醣黏度之影響

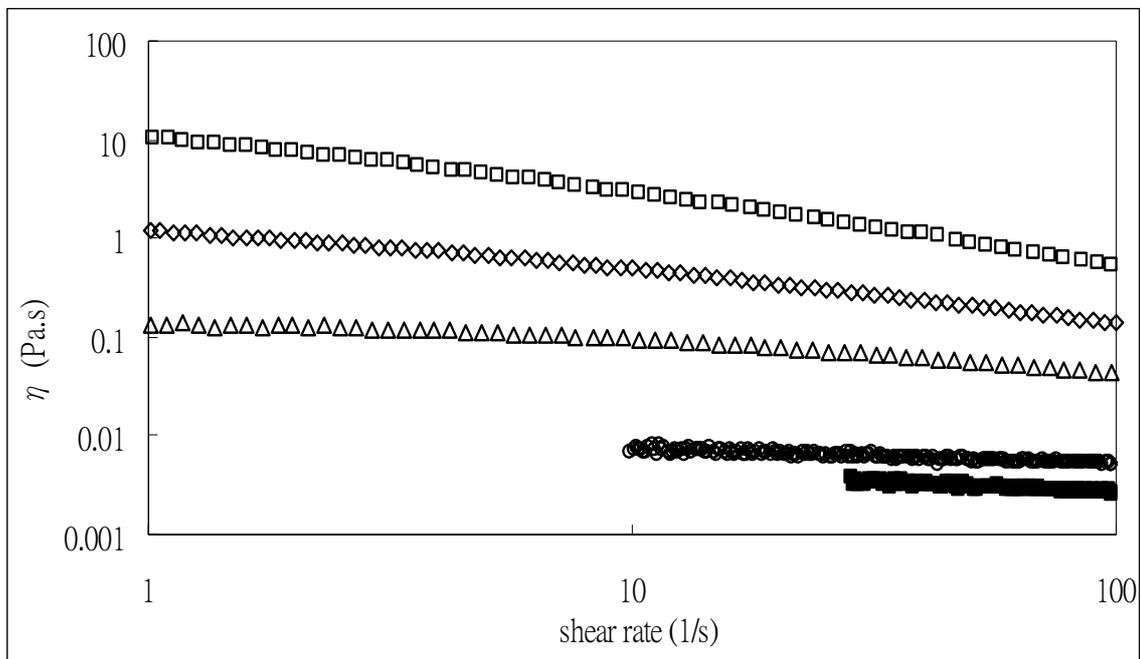
在 25°C 下，將已調整成不同 pH 值之溶液作為溶劑，加入 1.0%

(w/v) 多醣配置成的多醣溶液，由動態流變儀以 flow mode 測量視黏度，剪切速率由 1000 至 0.6 Hz，以  $\log \eta$  對剪切速率作圖，由圖十三可知隨著切變速率的增高，兩種木耳類萃取多醣溶液的視黏度也隨之下降，不同 pH 值之溶劑對兩種木耳類萃取多醣溶液之視黏度之變化並沒有顯著的影響。表三的數據顯示，不同 pH 值之溶劑在配製木耳類萃取多醣溶液後其 pH 值相差並不明顯。例如溶劑原始 pH 值為 4.13，配製成毛耳多醣溶液後之 pH 值為 6.11，而配製成銀耳多醣溶液後之 pH 值為 8.48；另溶劑原始 pH 值為 10.15，配製成毛耳多醣溶液後之 pH 值為 6.50，而配製成銀耳多醣溶液後之 pH 值為 8.13，因此推測兩種木耳類萃取多醣溶液可能具有類似於緩衝溶液 (buffer) 的功能，可以吸附或平衡溶液中的離子，所以能使 pH 值不致於產生較劇烈變化 (Galazka *et al.*, 1999; Goycoolea *et al.*, 1995)。



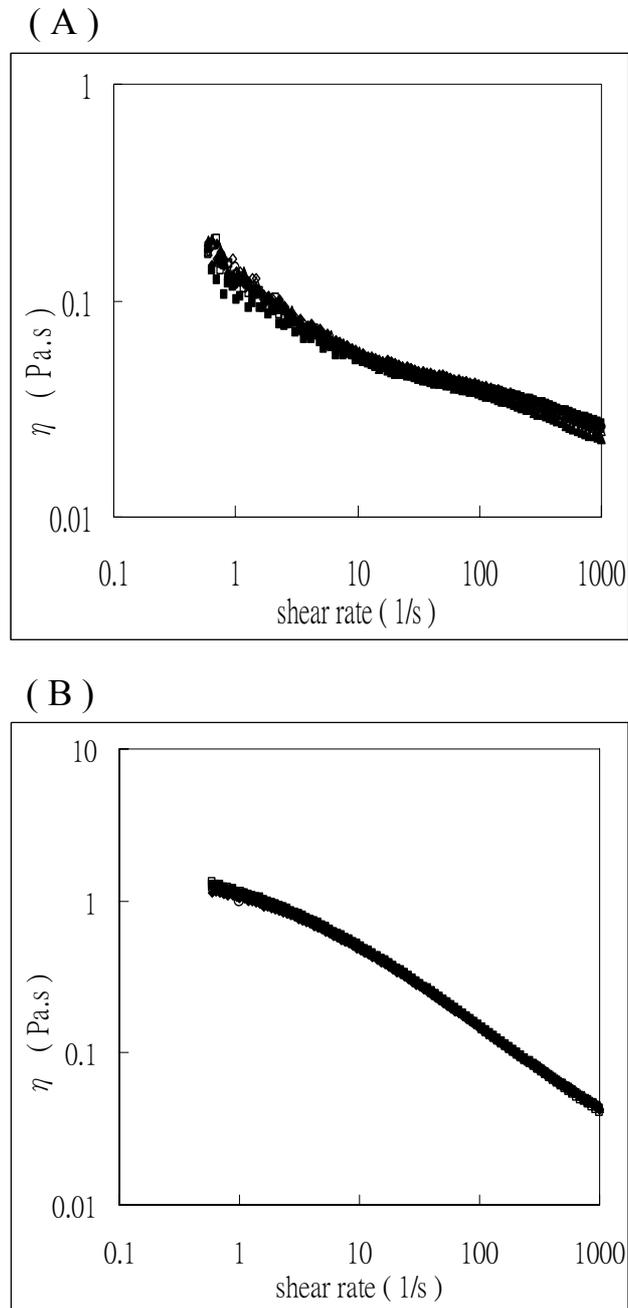
圖十一、不同濃度毛耳多醣溶液之視黏度與切變速率關係圖。

Fig. 11. Shear rate dependence of apparent viscosity for polysaccharide concentrations. (□ : 2 %, ◇ : 1 %, △ : 0.5 %, ○ : 0.1 %, ■ : 0.05 % (w/w) ; AP solution.)



圖十二、不同濃度銀耳多醣溶液之視黏度與切變速率關係圖。

Fig. 12. Shear rate dependence of apparent viscosity for polysaccharide concentrations. ( $\square$  : 2 %,  $\diamond$  : 1 %,  $\triangle$  : 0.5 %,  $\circ$  : 0.1 %,  $\blacksquare$  : 0.05 % (w/w) ; TF solution.)



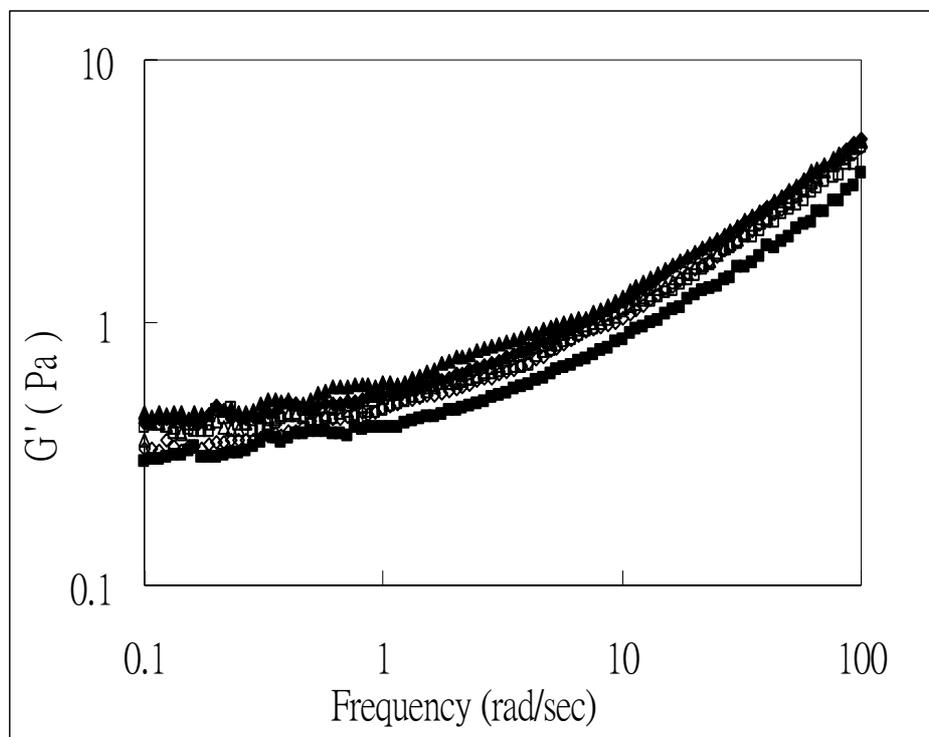
圖十三、不同 pH 值對 1.0 % ( w/v ) 木耳類萃取多醣溶液視黏度與切變速率之變化。

Fig. 13. apparent viscosity of 1.0 % ( w/v ) wood ear extracted polysaccharide solution at different pH as function of shear rate. (( A ) : AP, ( B ) : TF,  $\square$  : pH = 4,  $\diamond$  : pH = 5,  $\triangle$  : pH = 6,  $\circ$  : pH = 7,  $\blacktriangle$  :

pH = 8, ◆ : pH = 9, ■ : pH = 10.)

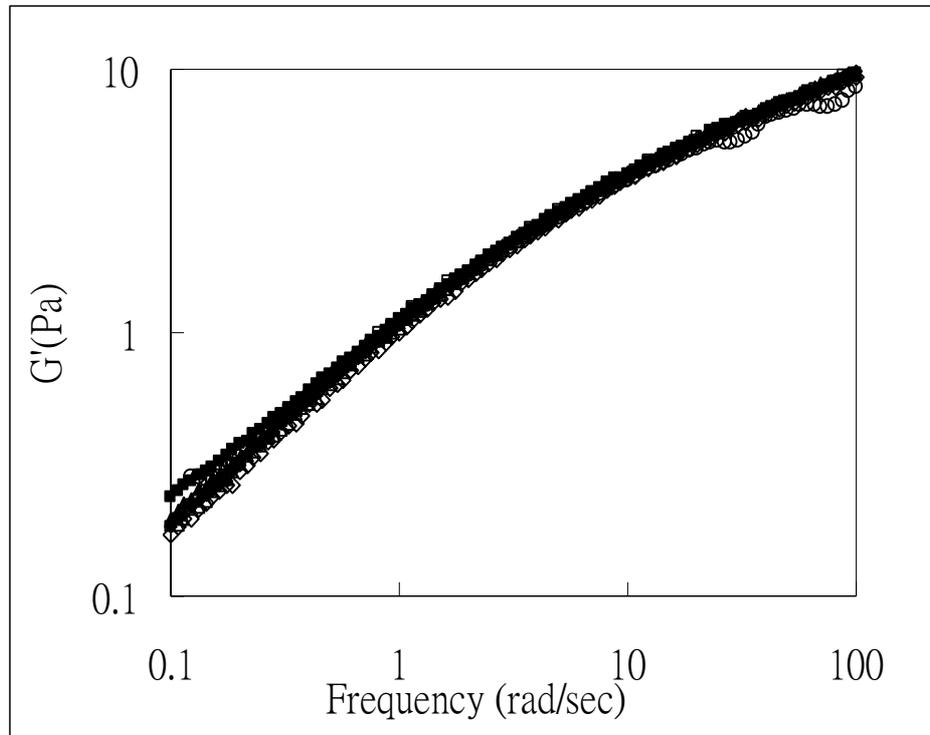
#### 四、 pH 值對木耳類萃取多醣彈性性質之影響

在 25°C 下，將已調整成不同 pH 值之溶液作為溶劑，加入 1.0 % (w/v) 多醣配置成的多醣溶液，經動態流變儀測量分析過後，以  $\log G'$  對  $\log \text{Hz}$  (頻率) 作圖，如圖十四及圖十五所示，兩種木耳類萃取多醣之  $G'$  值均隨頻率降低 (頻率範圍採 0.1 ~ 100 Hz) 而降低，而毛耳多醣之  $G'$  值在低頻時維持在 0.3 ~ 0.5 Pa 之間，這種不隨頻率降低之  $G'$  值區間稱之為平原區 (plateau) (Wientjes *et al.*, 2001)；銀耳多醣則繼續下降。這個現象可推測為低頻下其彈性鏈弛緩時間增加，其長鏈段之聚合物/聚合物之間關聯 (association) 的增加 (Richardson *et al.*, 1998)，亦是作用速率與程度增加，使得毛耳多醣分子在流變儀所施之變形作用下，其去關聯及再關聯作用達到平衡，因此在  $G'$  值在低頻時維持不變。而對兩種木耳類萃取多醣而言，不同的溶劑原始 pH 值對多醣溶液之  $G'$  值沒有顯著的影響，並對照表三，發現應該為配置溶液前後之 pH 值變化也不明顯所導致，所以據此猜測兩種木耳多醣可能有吸附離子的能力，所以能穩定 pH 值、擁有類似緩衝溶液 (buffer) 的功能，但是其機制尚待進一步的探討 (Galazka *et al.*, 1999；Goycoolea *et al.*, 1995)。



圖十四、不同 pH 值對 1.0 % ( w/v ) 毛耳多醣溶液儲存模數對掃描頻率之變化。

Fig. 14. Storage modulus of 1.0 % ( w/v ) AP solution at different pH as function of frequency. (  $\square$  : pH=4,  $\diamond$  : pH=5,  $\triangle$  : pH=6,  $\circ$  : pH=7,  $\blacktriangle$  : pH=8,  $\blacklozenge$  : pH=9,  $\blacksquare$  : pH=10.)

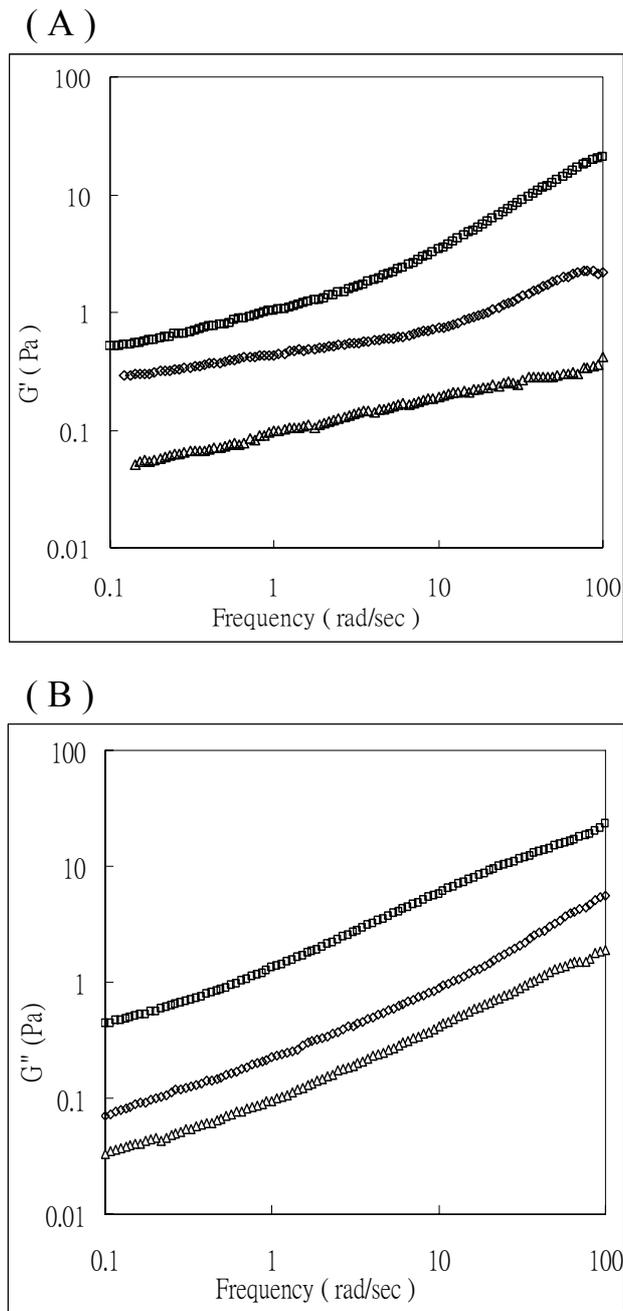


圖十五、不同 pH 值對 1.0 % ( w/v ) 銀耳多醣溶液儲存模數對掃描頻率之變化。

Fig. 15. Storage modulus of 1.0 % ( w/v ) TF solution at different pH as function of frequency. (  $\square$  : pH=4,  $\diamond$  : pH=5,  $\triangle$  : pH=6,  $\circ$  : pH=7,  $\blacktriangle$  : pH=8,  $\blacklozenge$  : pH=9,  $\blacksquare$  : pH=10.)

## 五、 木耳類萃取多醣之濃度對其動態流變性質之影響

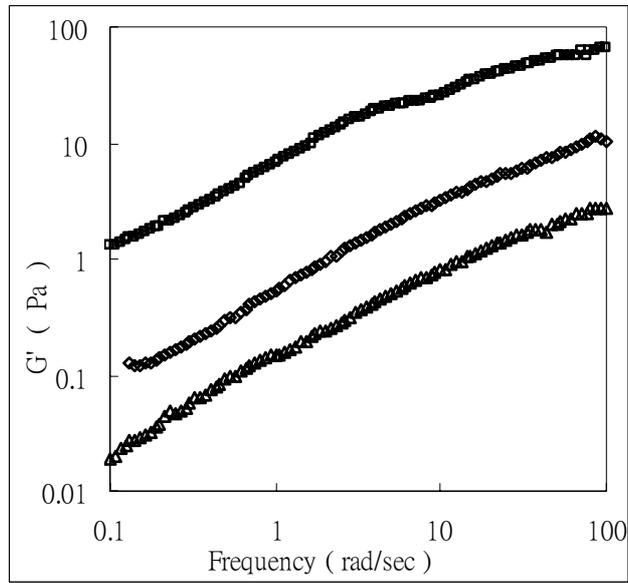
不同濃度之木耳類萃取多醣溶液 (0.5 %、1 %、2 % w/v) 在 25 °C 下經動態流變儀測量分析, 以  $\log G'$  對  $\log \text{Hz}$  作圖, 由圖十六 (A) 與圖十七 (A) 可看出兩種多木耳類萃取多醣之  $G'$  值均隨頻率降低 (頻率範圍採 0.1 ~ 100 Hz) 而降低。隨著頻率的降低, 毛耳多醣溶液在高濃度下 (2 % (w/v)) 在低頻時  $G'$  值對頻率的依賴性也減少, 有較明顯的平原區的現象出現, 但是在較低濃度 (0.5 % (w/v)) 下則隨著頻率減低而降低  $G'$  值, 並沒有類似平原區現象的出現, 而濃度的差異顯示了毛耳多醣隨著濃度的降低使濃度對頻率的依賴性也隨之降低。而只有較高濃度下才有平原區的出現, 可以推測為與多醣分子的重疊 (overlap) 與纏結 (entanglement) 有關, 隨著濃度的提升, 分子間的重疊與纏繞行為愈顯劇烈, 最後使得其無分支鏈段之聚合物/聚合物之間關聯的增加進而達趨近於去關聯與再關聯之間的平衡, 所以使  $G'$  值在低頻下對頻率的依賴性減少; 而由圖十六 (B) 及圖十七 (B) 看出  $G''$  值隨著頻率的降低而降低, 呈現線性, 顯示毛耳與銀耳多醣溶液的黏性性質為流體。而銀耳多醣顯示出其分子間並沒有很明顯的交互作用, 因此認為銀耳分子雖然分子量遠大於毛耳分子, 但分支度也較毛耳多, 所以兩者分子在其黏彈性質上有著不同的表現 (趙, 2001; Zhang *et al.*, 1995)。



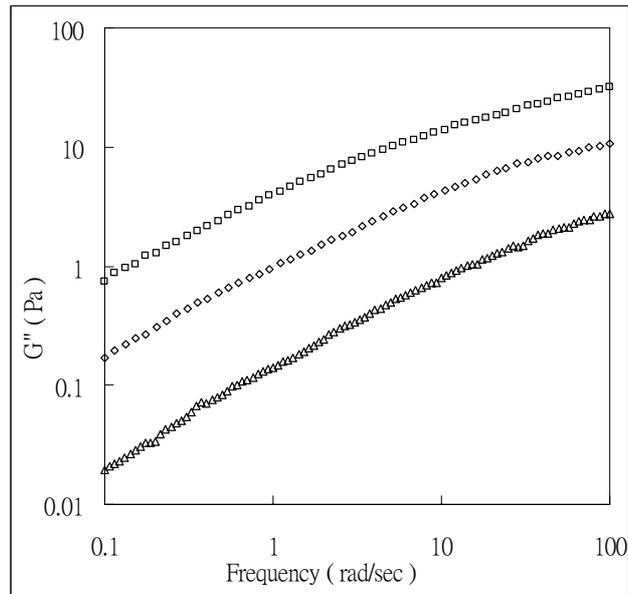
圖十六、不同濃度毛耳多醣溶液 (A) 儲存模數與 (B) 耗損模數對掃描頻率之變化。

Fig. 16. (A) Storage modulus and (B) loss modulus of AP solution at different concentration as function of frequency. ( $\square$ : 2%,  $\diamond$ : 1%,  $\triangle$ : 0.5% (w/v).)

(A)



(B)



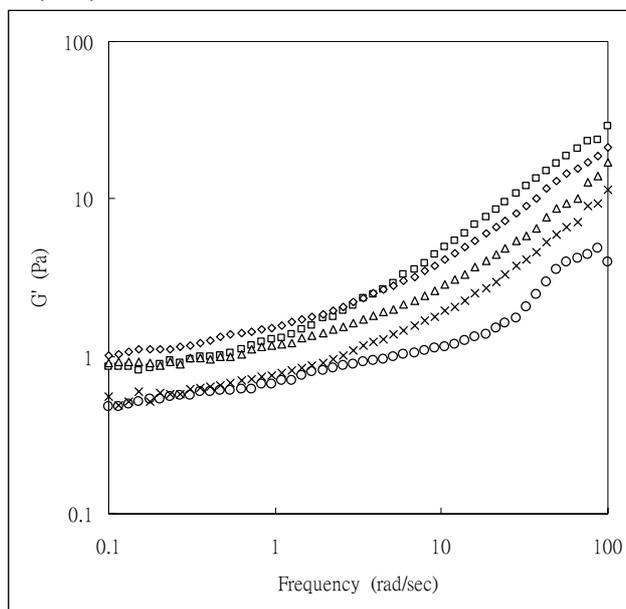
圖十七、不同濃度銀耳多醣溶液 (A) 儲存模數與 (B) 耗損模數對掃描頻率之變化。

Fig. 17. (A) Storage modulus and (B) loss modulus of TF solution at different concentration as function of frequency. ( $\square$ : 2%,  $\diamond$ : 1%,  $\triangle$ : 0.5% (w/v).)

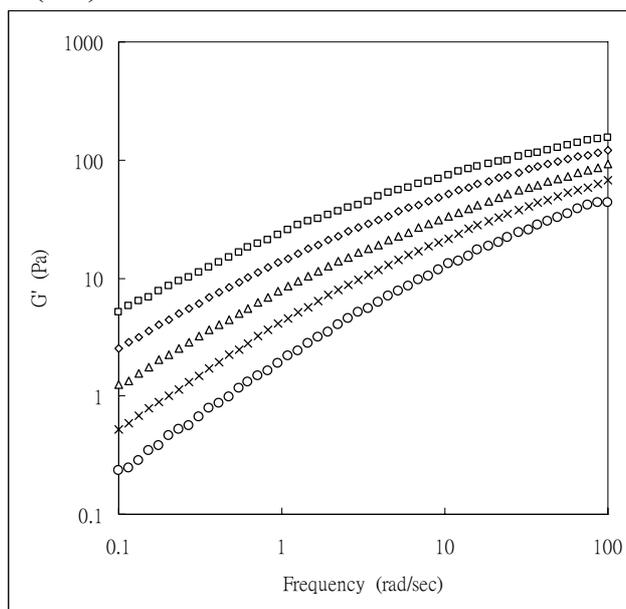
## 六、溫度對木耳類多醣彈性性質之影響

3% (w/v) 木耳類萃取多醣溶液以動態流變儀在不同溫度下 (20°C、30°C、40°C、50°C 與 60°C) 測量分析其  $G'$  值，再以  $\log G'$  對  $\log \text{Hz}$  作圖，如圖十八所示，隨著溫度的升高，使木耳類萃取多醣溶液之  $G'$  值皆呈下降之趨勢，這是由於高溫時分子的動能增加，使分子纏結的程度降低，連帶長分支鏈段關聯的程度也減少，導致  $G'$  值下降 (Wientjes *et al.*, 2001)。如果分別比較木耳類萃取多醣溶液在低溫 (30°C) 與高溫 (60°C) 的表現 (見圖十九)，可以發現木耳多醣溶液在較高溫度時，在低頻時  $G'$  值對頻率的依賴性減少之現象有較明顯之趨勢，且平原區的現象更顯著，因為溫度高時分子動能增加，使得其無分支鏈段之聚合物/聚合物之間關聯機會也增加進而達到趨近於去關聯與再關聯之間的平衡，所以使  $G'$  值在低頻下對頻率的依賴性減少 (Wientjes *et al.*, 2001)。這結果與 Wientjes *et al.*, (2001) 等人以不同分枝度之關華豆膠在不同溫度下其低頻率之  $G'$  值表現類似。

(A)

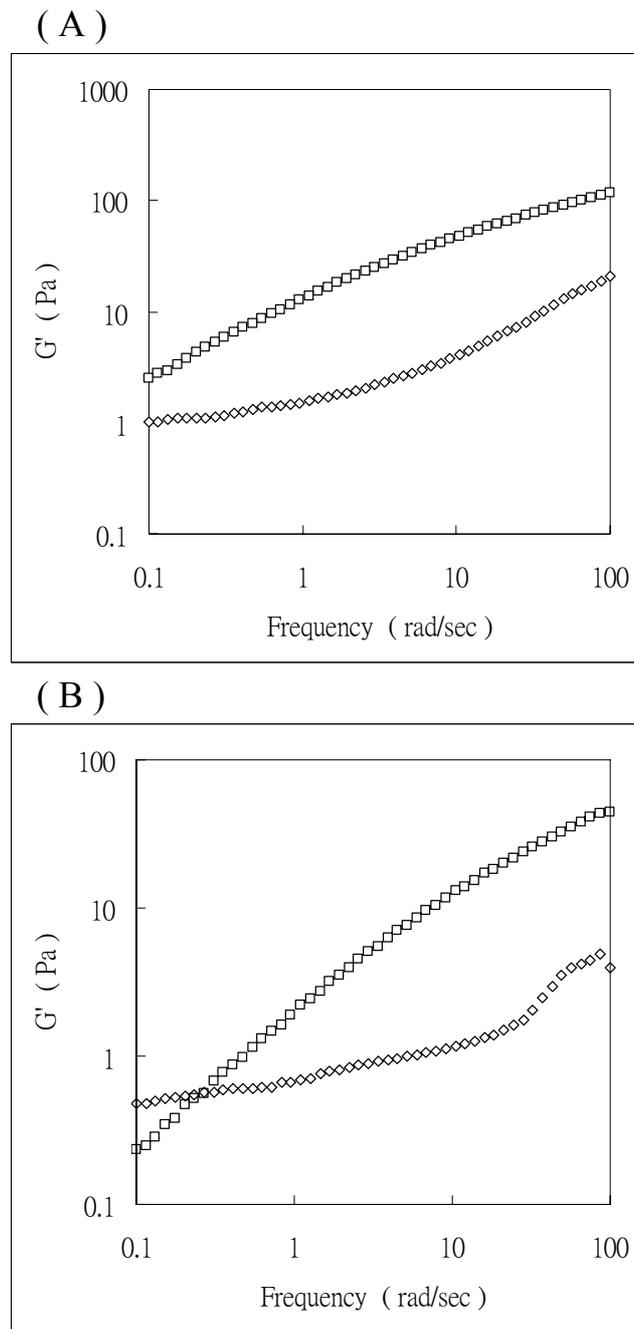


(B)



圖十八、溫度對 3% (w/v) 木耳類萃取多醣溶液 (A) 毛耳多醣 (B) 銀耳多醣儲存模數之影響。

Fig. 18. Storage modulus of 3% (w/v) polysaccharide solutions as function of frequency. ((A): AP, (B): TF,  $\square$ : 20°C,  $\diamond$ : 30°C,  $\triangle$ : 40°C,  $\times$ : 50°C,  $\circ$ : 60°C.)



圖十九、不同溫度下 3 % ( w/v ) 木耳類萃取多醣溶液儲存模數對頻率掃描之變化。

Fig. 19. Storage modulus of 3 % ( w/v ) polysaccharide solutions as function of frequency. ( ( A ) : 30°C, ( B ) : 60°C,  $\diamond$  : AP,  $\square$  : TF. )

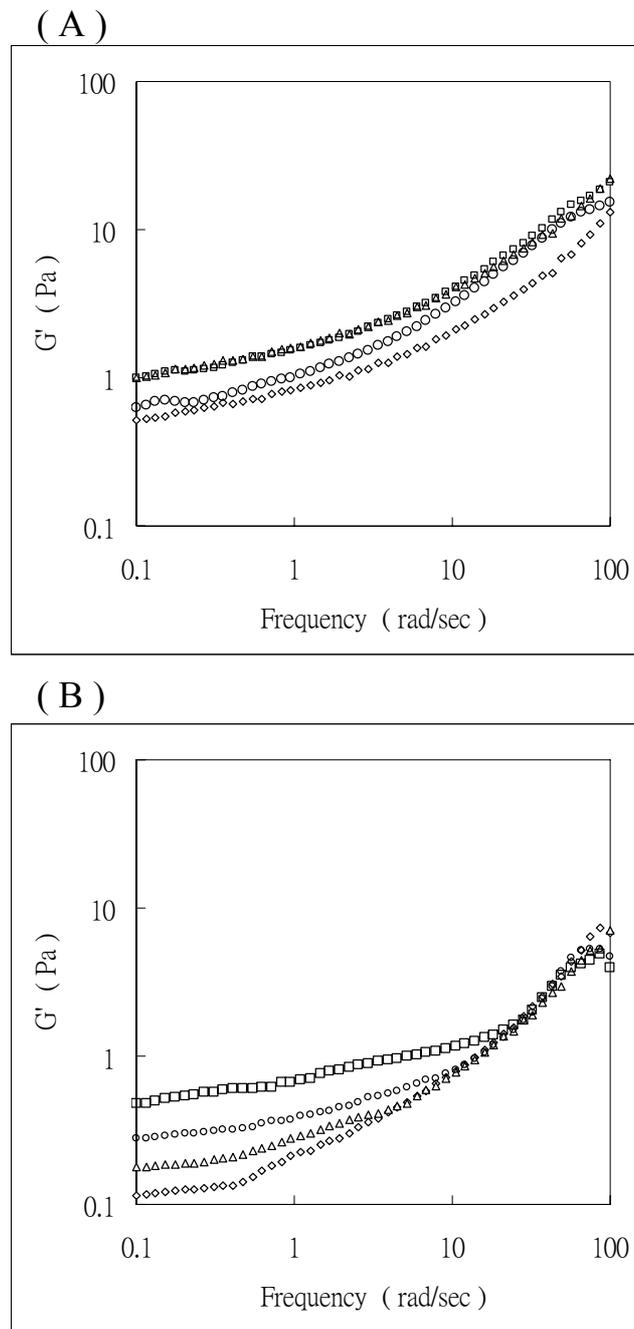
## 七、離子對木耳類萃取多醣彈性性質之影響

三種鹽類（氯化鈉、氯化鉀與氯化鎂）之四種濃度（100 mM、50 mM、25 mM 和 10mM）配製成木耳類萃取多醣溶液（3 % (w/v)）以動態流變儀在不同溫度下（20°C、30°C、40°C、50°C 與 60°C）測量分析其  $G'$  值，再以  $\log G'$  對  $\log \text{Hz}$  作圖，分別比較在不同溫度下其黏彈性值表現。

圖二十顯示添加 100 mM 三種鹽類於 3 % (w/v) 毛耳多醣溶液  $G'$  值對頻率掃描之結果。可以看出低溫和高溫時都以氯化鈉降低  $G'$  值的幅度最明顯，然而，銀耳多醣溶液卻無此類似現象。依照平原區的延緩出現以及  $G'$  值的下降幅度，依次為氯化鎂、氯化鉀及氯化鈉，也因此推測使毛耳多醣分子構形收縮與纏結的程度分別是氯化鎂 < 氯化鉀 < 氯化鈉，而這種現象在銀耳多醣也不甚明顯（見圖二十一）。如果與這兩種多醣溶液固有黏度結果比較（圖十），可以發現，在極稀多醣濃度下，100 mM 氯化鈉配製的木耳類萃取多醣溶液之固有黏度均較其他兩種離子高，顯示鈉離子較其他兩種離子使多醣的分子構形穩固的伸展造成溶液有較高的固有黏度，這可能為電荷屏障效應所導致。反映在高多醣濃度情況上，毛耳多醣因分支度較少，加上分子在氯化鈉溶液中比其他兩種離子溶液更易伸展，但因為電荷屏障效應，因此造成其無分支鏈段之聚合物/聚合物之間交聯機會減少，因

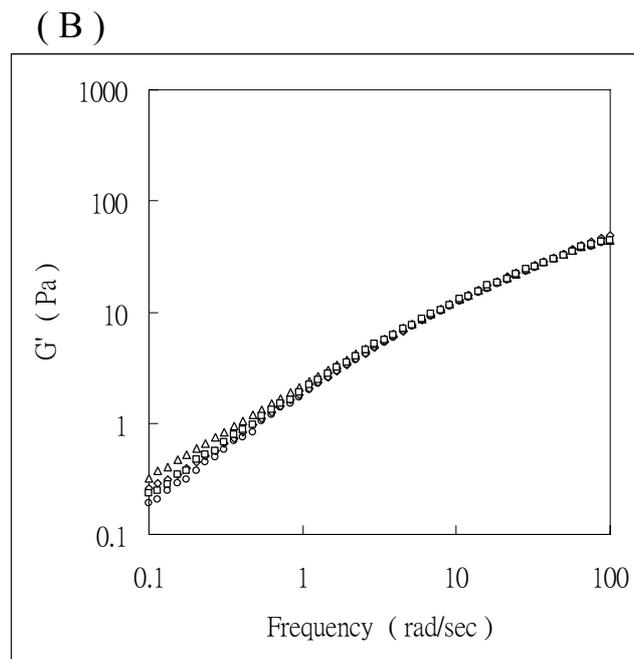
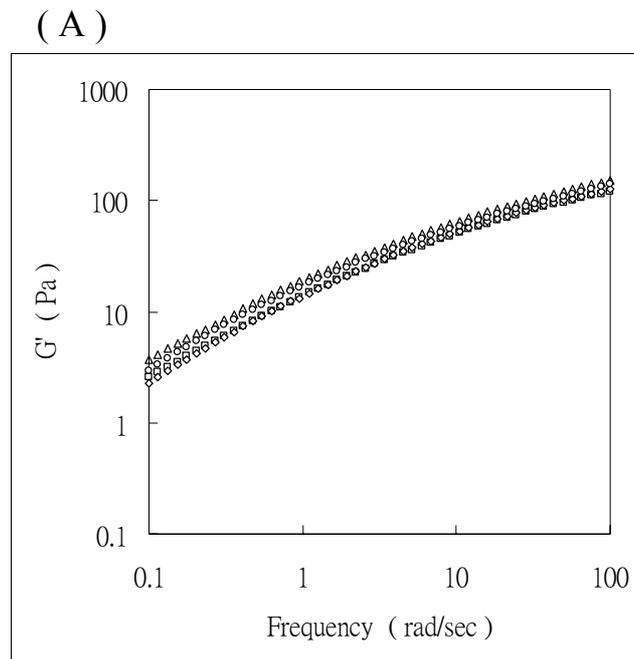
此其  $G'$  值較他兩種離子稍低，低頻時平原區變化也不明顯，但在高溫時分子動能增加，而無分支鏈段交聯機會減少的情況下，其低頻時  $G'$  值下降幅度並不如其他兩種離子趨緩，反而繼續下降。銀耳因分子量大分支度較廣，無分支鏈段之聚合物/聚合物之間交聯機會並不容易發生，因此離子強度對不同頻率之  $G'$  值並無顯著之影響。

圖二十二表示不同濃度之氯化鎂之離子強度對木耳類萃取多醣溶液儲存模數的影響。由圖可知在低頻時  $G'$  值下降趨勢是  $100 \text{ mM} > 50 \text{ mM} > 25 \text{ mM}$ ，這種高離子強度所顯示出的現象與前述之電荷屏障效應類似，離子濃度愈高，電荷屏障效應愈強，分子交聯機會愈少，其結果與一些學者所發現的趨勢相同（Launay *et al.*, 1997; Chao and Lai, 1999）。而不同濃度之氯化鉀與氯化鈉之離子強度對木耳類萃取多醣的影響也有類似的效果（見圖二十四與圖二十六）。因此，同樣地，對分支度較大之銀耳多醣的影響就不甚明顯（見圖二十三、圖二十五與圖二十七）。



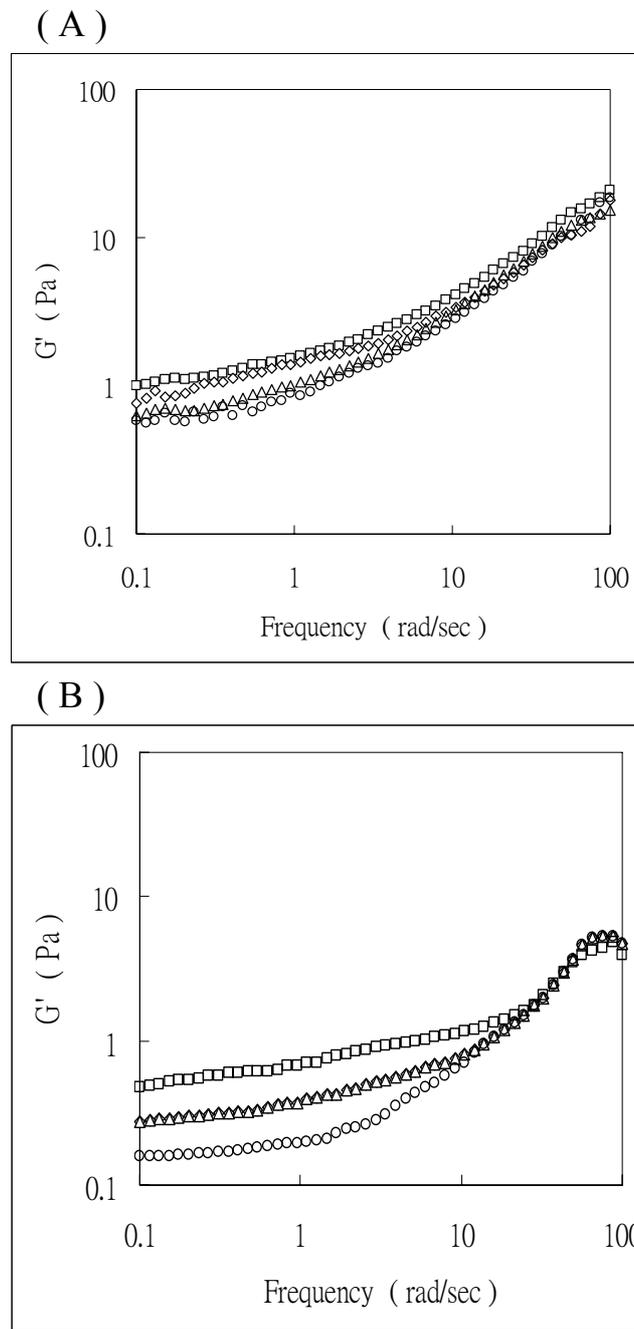
圖二十、添加 100 mM 不同鹽類於 3 % (w/v) 毛耳多醣溶液儲存模數對頻率掃描之變化。

Fig. 20. Storage modulus of 3 % (w/v) AP solutions as function of frequency with 100 mM ionic strength. ((A) : 30°C, (B) : 60°C,  $\square$  : no adding salt,  $\diamond$  : NaCl,  $\triangle$  : KCl,  $\circ$  : MgCl<sub>2</sub>.)



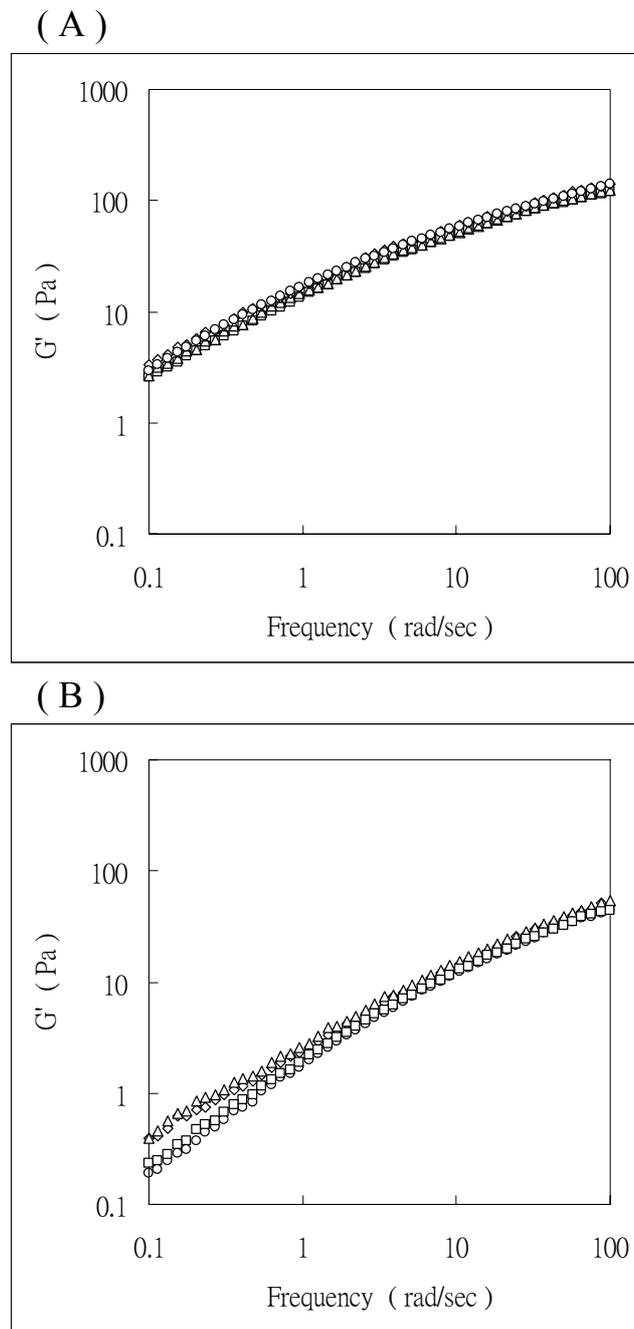
圖二十一、添加 100 mM 不同鹽類於 3% (w/v) 銀耳多醣溶液儲存模數對頻率掃描之變化。

Fig. 21. Storage modulus of 3% (w/v) TF solutions as function of frequency with 100 mM ionic strength. ((A) : 30°C, (B) : 60°C,  $\square$  : no adding salt,  $\diamond$  : NaCl,  $\triangle$  : KCl,  $\circ$  : MgCl<sub>2</sub>.)



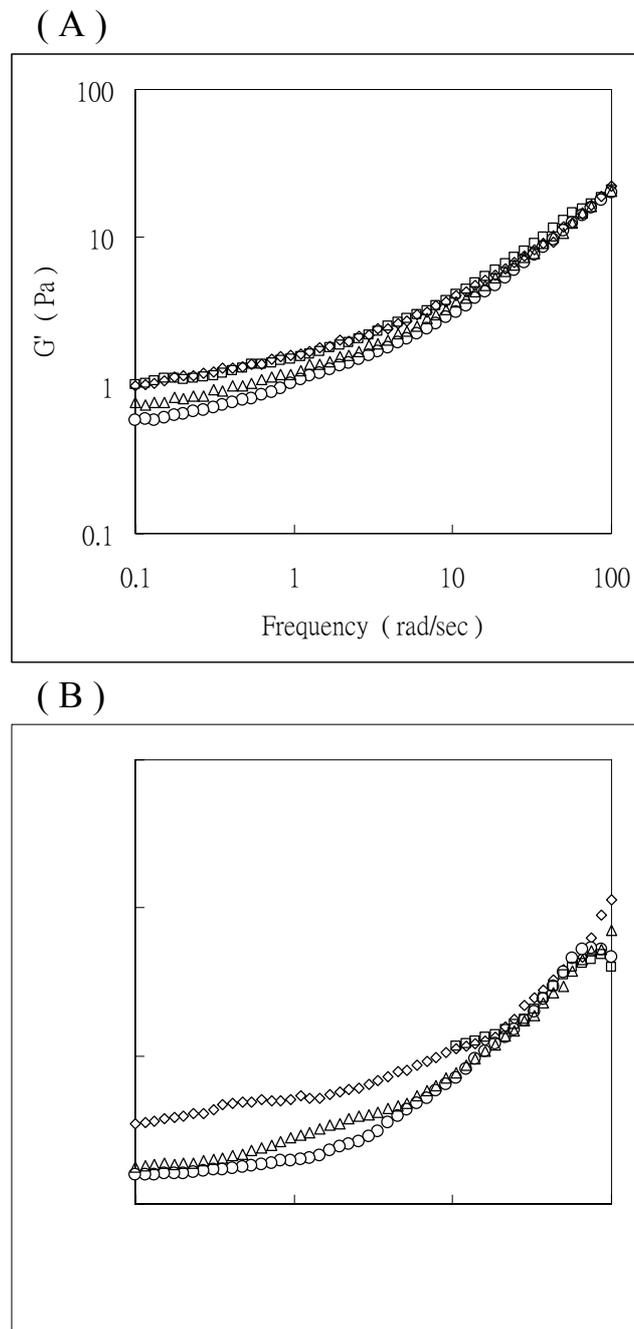
圖二十二、添加不同濃度氯化鎂於 3% (w/v) 毛耳多醣溶液儲存模數對頻率掃描之變化。

Fig. 22. Storage modulus of 3% (w/v) AP solutions as function of frequency with different concentration of  $\text{MgCl}_2$ . ((A):  $30^\circ\text{C}$ , (B):  $60^\circ\text{C}$ ,  $\square$ : no adding salt,  $\diamond$ : 25 mM,  $\triangle$ : 50 mM,  $\circ$ : 100 mM.)



圖二十三、添加不同濃度氯化鎂於 3 % ( w/v ) 銀耳多醣溶液儲存模數對頻率掃描之變化。

Fig. 23. Storage modulus of 3 % ( w/v ) TF solutions as function of frequency with different concentration of  $MgCl_2$ . ((A) : 30°C, (B) : 60°C,  $\square$  : no adding salt,  $\diamond$  : 25 mM,  $\triangle$  : 50 mM,  $\circ$  : 100 mM.)



圖二十四、添加不同濃度氯化鉀於 3% (w/v) 毛耳多醣溶液儲存模數對頻率掃描之變化。

Fig. 24. Storage modulus of 3% (w/v) AP solutions as function of frequency with different concentration of KCl. ((A) : 30°C, (B) : 60°C, □ : no adding salt, ◇ : 25 mM, △ : 50 mM, ○ : 100 mM.)