

香菇多糖分离最佳工艺及最佳原料探讨[△]

南阳理工学院生化系 (473004) 王卫国* 赵永亮

摘要 对香菇多糖提取、纯化条件进行优化研究,结果表明:香菇多糖提取最佳工艺条件为: pH 7.0, 96℃ 浸提 4 h,料水比为 1∶ 20,醇析浓度为 70%,蛋白质去除时样品 氯仿+ 正丁醇 (V∶ V)为 1∶ 1,氯仿 正丁醇 (V/V)为 1∶ 0.25,萃取时间为 30 min 效果最好。不同类型的香菇原料的提取结果表明: 椴栽和袋栽香菇、花菇和板菇,其香菇多糖含量相差不大。从经济角度和工艺的简易性考虑,分离制备香菇多糖应以袋栽板菇为最佳。
关键词 香菇多糖 分离 香菇

Studies on the Choice of Material and Optimal Conditions for the Extraction of Lentinan from Mushroom

Department of Biochemical Engineering, Nanyang Institute of Science and Technology (Nanyang 473004) Wang Weiguo and Zhao Yongliang

Abstract Conditions for the extraction and purification of lentinan from mushroom were optimized. Result of the optimization showed that extraction with 20 times of water at 96℃ for 4 h with pH adjusted to 7.0 gave the best result. Lentinan could be obtained by adding with 70% ethanol to an ultimate concentration of 70% and made protein free with a mixed solvent of 1∶ 0.25 chloroform∶ n-butanol. All natural or artificially cultivated lentinus edodes gave nearly identical yields, but from the point of economy and simplicity, artificially cultivated non-brindled lentinus edodes seemed to be the best choice.

Key words lentinan isolation *Lentinus edodes*

香菇堪称食用菌的上品。近年来的研究发现,香菇中的香菇多糖能治疗癌病^[1,2]。它是刺激机体的免疫系统使机体的免疫功能得到恢复和提高,由机体本身的抵抗力去杀死肿瘤细胞。它的作用是间接的,所以毒副作用小。香菇多糖日本已生产并外销。但因工艺复杂,收率低,成本高,普通肿瘤病人无法接受。为此,我们对香菇多糖的提取工艺进行了较为系统的研究,初步探讨出了一条较为理想的生产工艺,为其工业化生产提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料:香菇(花菇、板菇)为市售,选用袋栽或椴木栽干品。实验所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 多糖的总量测定:采用苯酚-硫酸法^[3],以葡萄糖为标准品。

1.2.2 多糖粗品中除去蛋白质采用 Serag 法^[4]。

1.2.3 工艺流程:原料→烘干→粉碎→称重→调配→热水抽提→过滤→滤液醇析→复溶→去除杂蛋白→香菇多糖

2 结果与讨论

2.1 香菇多糖提取条件的确立:影响香菇多糖提取得率的因素很多,如提取时间、提取次数、温度、pH 值、溶剂体积、搅拌等。现针对这些因素采用六因素二水平正交法确立多糖的提取条件,因素水平见表 1。根据因素水平表,分 8 组实验,每组取干香菇 1 kg 提取多糖,结果见表 2。

表 1 因素水平表

因素	A 时间 (h)	B 次数	C 温度 (℃)	D pH	E 溶剂体积	F 搅拌
1	3 (A ₁)	1 (B ₁)	90 (C ₁)	70 (D ₁)	15 (E ₁)	不搅拌 (F ₁)
2	4 (A ₂)	2 (B ₂)	96 (C ₂)	10 (D ₂)	20 (E ₂)	搅拌 (F ₂)

从极差结果来看,初步得出影响多糖提取得率因素的主次顺序为 E> C, D> B> F> A,影响作用较大的是 E, C, D,即溶剂体积、温度和 pH 值,其它因素影响较小可以忽略不计,8 号提取条件最好,即 A₂ B₂ C₂ D₁ E₂ F₁,多糖得率为 6.5%。由实验结果确立这三个主要影响因素参数为溶剂体积为样品的 20 倍,温度为 96℃,pH 7.0。

2.2 醇析作用对多糖得率的影响:取一定量的多糖浸提液分装于 4 支试管中,并依次加入无水乙醇,直至乙醇浓度分别为 50%, 60%, 70%, 80%, 放置

* Address: Wang Weiguo, Department of Biochemistry, Nanyang College of Technology, Nanyang
王卫国 男,硕士,副教授。发表论文 10 篇,副主编出版论著一部,主持完成并通过省级鉴定攻关项目一项,完成国家发明专利 2 项,现主持省市级科研项目 4 项。
[△]南阳市科委重点资助项目

表 2 香菇多糖提取正交结果

实验号	A	B	C	D	E	F	粗多糖得率(%)
1	A ₁	B ₁	C ₁	D ₂	E ₂	F ₁	0.80
2	A ₂	B ₁	C ₂	D ₂	E ₁	F ₁	1.0
3	A ₁	B ₂	C ₂	D ₂	E ₂	F ₂	5.0
4	A ₂	B ₂	C ₁	D ₂	E ₁	F ₂	0.5
5	A ₁	B ₁	C ₂	D ₁	E ₁	F ₂	3.6
6	A ₂	B ₁	C ₁	D ₁	E ₂	F ₂	4.5
7	A ₁	B ₂	C ₁	D ₁	E ₁	F ₁	1.5
8	A ₂	B ₂	C ₂	D ₁	E ₂	F ₁	6.5
K ₁	10.9	9.9	7.3	16.1	6.6	12	
K ₂	12.5	13.5	16.1	7.3	18.8	11.4	
k ₁	2.73	2.48	1.83	4.00	1.65	3	
k ₂	3.13	3.38	4.00	4.00	4.4	2.6	
R	0.395	0.90	2.17	2.17	2.55	0.4	

一定时间后,离心收集沉淀并烘干称重,结果乙醇终浓度在 70% 左右时效果最佳,经醇析后沉淀即为多糖粗品

2.3 多糖粗品的纯化: 多糖粗品中的蛋白质可用 Sev ag 法除去 为了准确地探讨 Sev ag 法中的氯仿与正丁醇的配比及样品体积,正交试验法进行优化选择,结果见表 3 表 4

表 3 多糖粗品纯化因素水平表

因素	A	B	C
	样品-氯仿-正丁醇 (V/V)	氯仿-正丁醇 (V/V)	时间 (min)
1	A ₁ (1:0.5)	B ₁ (1:0.2)	C ₁ (10)
2	A ₂ (1:1)	B ₂ (1:0.25)	C ₂ (20)
3	A ₃ (1:1.5)	B ₃ (1:0.4)	C ₂ (30)

正交试验结果表明影响多糖粗品纯化最重要的因素是抽提时间 C,其次是样品与氯仿-正丁醇的体积比及氯仿与正丁醇的体积比 由实验结果确立这三个影响因素的参数为 C₃A₂B₂,即氯仿与正丁醇的体积比为 1:0.25,样品与氯仿-正丁醇的体积比为 1:1,提取时间为 30 min,即 5号实验提取效果最好,多糖得率为 61%。

2.4 材料类型对多糖得率的影响: 本试验采用椴栽和袋栽两种类型的花菇和板菇,经醇析后,发现椴栽香菇的粗多糖含量远高于袋栽香菇(约 2倍),但经 Sev ag 法除蛋白质后,初步提取的纯多糖并无明显差异,为此我们又做了样品类型的单因素试验: 取一定的香菇干粉采用上述试验得出的最佳工艺过程进

表 4 多糖粗品纯化正交试验结果

试验号	A	B	C	多糖得率%*
1	A ₁	B ₁	C ₁	30
2	A ₁	B ₂	C ₂	59
3	A ₁	B ₁	C ₃	48
4	A ₂	B ₁	C ₂	55
5	A ₂	B ₂	C ₃	61
6	A ₂	B ₁	C ₁	46
7	A ₃	B ₁	C ₃	49
8	A ₃	B ₂	C ₂	36
9	A ₃	B ₃	C ₁	40
K ₁	137	121	112	
K ₂	162	156	154	
K ₃	125	134	158	
k ₁	45.6	40.3	37.3	
k ₂	54	52.0	51.3	
k ₃	41.7	44.7	52.7	
R	12.3	11.7	15.7	

* 指 Sev ag 法除蛋白后所得多糖与醇析所得粗多糖中的多糖总量之比

行抽提和醇析,结果如表 5

从表 5可以看出袋栽的花菇和板菇以及椴栽的花菇和板菇之间多糖含量并无大的差异,但是椴栽

表 5 材料类型对多糖得率的影响

材料		粗多糖(%)	香菇多糖(%)*
袋栽	板菇	2.5	0.05
	花菇	2.7	0.05
椴栽	板菇	6.5	0.06
	花菇	6.5	0.06

* 指经 Sev ag 法除蛋白后所得多糖与原料的质量百分比 香菇的粗多糖得率却远远高于袋栽香菇,但经 Sev ag 法除蛋白后,这两种材料的香菇多糖得率却无显著差异。形成这种情况的原因是因为椴栽香菇蛋白质含量远大于袋栽香菇但其多糖含量并无显著差异,考虑到经济(椴栽板菇的成本是袋栽的 2倍)及生产方便性(袋栽香菇的蛋白含量小于椴栽香菇),我们认为提取香菇多糖用袋栽板菇更为经济简便。

参考文献

1 王格林,刘红. 药学报,1996,31(2): 86
2 傅颖媛,黄淑云,刘茂林,等. 微生物学通报,1995,22(3): 172
3 Dubis M and Hess, W.C. Anal Chem, 1956, 28: 350
4 张维杰主编. 复合多糖生化研究技术. 上海: 上海科技出版社, 1987: 212

(1999-08-23收稿)

《辽宁中医杂志》《辽宁中医学院学报》2001年征订启事

《辽宁中医杂志》是综合性中医药学术月刊,创刊 40余年,从 2001年起改为大 16开,增加内页至 64页。每册定价 4.50元,半年 27.00元。国内代号 8-87,全国各地邮局均可订阅。国外代号 M530,中国国际图书贸易总公司(北京 399信箱)订购。《辽宁中医学院学报》于 1984年创刊,内部发行,1998年 9月经新闻出版署新出期[1998]1041号文件批准。《辽宁中医学院学报》1999年起面向国内外公开发刊,刊号为 ISSN 1008-4231,CN21-1392/R 季刊,国内代号 8-179,每册定价 4.00元,全年 16元。

地址: 辽宁省沈阳市崇山东路 79号,邮编: 110032 电话 传真: 024-86237420; E-mail lntcn@21cn.com
《辽宁中医杂志》编辑部
《辽宁中医学院学报》编辑部