

灵芝孢子破壁对其多糖提取率的影响

倪江洪,宋炳生,李汉宝,谢虞升*

(南京军区南京总医院,江苏 南京 210002)

灵芝孢子是赤芝 *Ganoclerma luadum* (Fr.) kast的孢子,是灵芝的精华,也是近年抗癌及增强机体免疫功能的热门药物之一。灵芝孢子是否需要破壁的研究非常活跃,有的人认为破壁后内含成分容易氧化;有的人认为灵芝孢子不破壁就很难被吸收利用。对此本实验以多糖为指标,破壁的孢子与未破壁的孢子进行提取率的比较,以供用药参考。

1 仪器、药品与试剂

721分光光度计(上海第三分析仪器厂);JEM-1200EX透射电镜(日本);灵芝孢子经鉴定为赤芝 *Ganoclerma luadum* (Fr.) kast的孢子;纤维素酶、果胶酶、中性蛋白酶、酸性蛋白酶(无锡酶制剂三厂)。

2 实验方法

2.1 酶破壁法

孢子粉 100 g $\xrightarrow[3\text{ d}]{95\% \text{ 乙醇}}$ 滤去乙醇 $\xrightarrow[10\text{ 倍量}]{10\% \text{ 乙醇}}$ 纤维素酶 $\xrightarrow[24\text{ h}]{\text{水解}}$ 24 h $\xrightarrow[55^\circ\text{C}]{\text{中性蛋白酶}}$ 水解 24 h $\xrightarrow[\text{pH } 4.0]{\text{酸性蛋白酶}}$ 水解 24 h 滤过,用适量水洗去残留的酶,微波干燥,研粉得 98 g,收率为 97.5%。

2.2 电子显微镜对照观察:将酶法破壁的灵芝孢子粉和未经破壁的灵芝孢子粉分别浸入 2% 琼脂液中,离心 5 min (3 000 r/min),待凝胶后取沉淀物,放入 2.5% 戊二醛固定 (4℃) 4 h 以上,然后按照电镜常规标本处理、包埋、切片、染色,置电镜下观察见图 1。

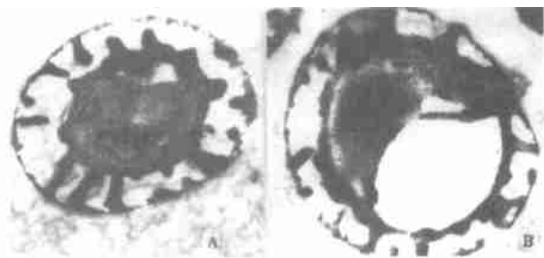


图 1 未破壁灵芝孢子 (A) 与酶破壁灵芝孢子 (B) 在电子显微镜下的比较

2.3 多糖的测定

2.3.1 标准曲线的制备:精密称取干燥至恒重的葡萄糖对照品 35.5 mg,置 100 mL 量瓶中,加水溶解至刻度,精密吸取 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 于 10 mL 具塞试管中,另取一具塞试管作空白管,各管补加水至 1.0 mL,再加入 0.2% 蒽酮-硫酸试剂 4 mL,振摇,沸水浴中加热 3 min,取出凉至室温,于 625 nm 处测定吸光度,求出回归方程为 $Y = 3.394X - 0.019$, $r = 0.9996$ 。

2.3.2 供试品溶液的制备:精密称取灵芝孢子粉、经机械破壁(破壁率在 95% 以上)同批灵芝孢子粉及经以上酶法破壁的同批灵芝孢子粉各约 2.0 g,加水 50 mL,沸水浴上回流 3 h 共 2 次,滤过,滤液合并,并浓缩至 10 mL,加 95% 乙醇 4 倍量沉淀,并用 95% 乙醇洗涤,加水加热溶解,定容至 50 mL,精密吸取 1 mL 供测定用。

2.3.3 供试品的测定:精密吸取各供试液 1 mL,按标准曲线制备项下方法测定吸光度,计算提取率,见表 1。

表 1 灵芝孢子多糖的提取率 ($n = 3$)

供试品	提取率 (%)
未破壁	1.13
机械破壁	1.16
酶法破壁	2.14

3 讨论

结果显示,酶破壁法提取率最高,机械破壁法将孢子直接击碎破壁比较理想,但目前费用较昂贵。酶破壁法多糖提取率高于机械破壁法,可能是由于酶解作用降解出更多的可溶性多糖,但更可靠的解释有待进一步研究。未破壁的多糖提取率最低,这与孢子的壁垒影响提取有关,但未破壁的孢子仍能提出相当于酶法破壁的 60% 以上。

参考文献:

- [1] 蒋家新,赵彭涛,王新辉. 灵芝孢子酶法破壁的研究 [J]. 食品科学, 1996, 97(4): 19-21.
- [2] 李晓晖,何云庆,李荣芷. 不同产地灵芝中多糖的测定 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(2): 83-84.