

- from the Sponge *Melophylus isis* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63 (7): 915-919.
- [15] Ohana P, Delmer D P, Carlson R W, *et al*. Identification of a novel triterpenoid saponin from *Pisum sativum* as a specific inhibitor of the diguanylate cyclase of *Acetobacter xylinum* [J]. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39(2): 144-152
- [16] Emara S, Mohamed K M, Masujima T, *et al*. Separation of naturally occurring triterpenoidal saponins by capillary zone electrophoresis [J]. *Biomed Chromatogr*, 2001, 15(4): 252-256.
- [17] 彭军,王复,朱明华,等. 高效液相色谱法和毛细管电泳法测定甘草制品中甘草酸的含量[J]. 色谱, 1999, 17(1): 90-92
- [18] Li X H, Li X L, Hong L, *et al*. Determination of panaxadiol and panaxatriol in ginseng and its preparations by capillary supercritical fluid chromatography (SFC) [J]. *Biomed Chromatogr*, 1992, 6(2): 88-90.
- [19] 袁湘林,张玉奎,邹汉法,等. 基体辅助激光解吸电离飞行时间质谱用于人参皂甙 R_g 的定量分析. 分析化学 [J]. 2001, 29(1): 11-14.
- [20] Yoon S R, Nah J J, Kim S K, *et al*. Determination of furosinoside Rf and Rg2 from *Panax ginseng* using enzyme immunoassay [J]. *Chem Pharm Bull*, 1998, 46(7): 1144-1147.

香菇有效成分提取分离及分析方法研究进展

边洪荣,李小娜,潘海宇,张海岚

(华北煤炭医学院 药理学系,河北 唐山 063000)

香菇堪称食用菌的上品,营养丰富,香郁诱人,食药兼用,健脾益气,调和阴阳。其主要成分有香菇多糖(lentinan, LN T)、香菇嘌呤(eriadenine)、核苷酸、维生素、三萜类化合物、大量的蛋白质和氨基酸、多种矿物质及膳食纤维素等^[1]。现将其主要成分的提取分离及分析方法综述如下。

1 香菇多糖

香菇多糖是香菇中的重要药用成分,具有较强抗肿瘤活性。是以β-D-(1→3)葡萄糖残基为主链,(1→6)葡萄糖基为侧链的葡聚糖,相对分子质量约为50万。1969年最先由日本学者证实有抑制小鼠 S₁₈₀肉瘤生长的作用,作为优良的免疫调节剂进入临床,国内于1988年引进并实现国产化^[2]。另一些香菇中的多糖物质由D-葡萄糖、D-半乳糖、D-甘露糖、L-阿拉伯糖及D-木糖构成。王金华等用热水、稀酸、稀碱提取香菇多糖,多糖经分级表明,在香菇子实体中至少含有7种香菇多糖^[3]。

1.1 提取分离:目前,国内提取香菇多糖主要采取的方法有水提醇沉法、盐析法、超滤法、酶法、复合酶解法、色谱法等。传统的香菇多糖的提取方法是水提醇沉法,先用热水提取,然后用乙醇沉淀,除掉水提取液中的杂质,其工艺比较简单,易于推广^[4]。

任国梅等^[5]用蒸馏水在90℃~100℃加热回流提取,用氯仿-正丁醇去蛋白,经水流动透析,用72%乙醇沉淀多糖,得水提香菇多糖,收得率为3.32%。其子实体残渣用1 mol/L NaOH提取,充氮防氧化,调pH值至中性,经透析,沉淀为碱提非水溶性多糖,收得率为0.36%。上清液为碱提水溶性多糖,收得率1.94%。王卫国等^[6]基于原来的提取方法工艺复杂,收率低,成本高,普通肿瘤病人无法接受,通过对香菇多糖提取纯化条件进行正交设计优化研究。结果表明,香菇多糖提取最佳工艺条件为:pH7.0, 96℃浸提4h,

料水比为1:20,醇析浓度为70%,蛋白质去除时样品与氯仿-正丁醇为1:1,氯仿-正丁醇为1:0.25,萃取时间为30 min效果最好。由于乙醇沉淀的方法醇用量大,生产成本低,胡稳奇等^[7]采用盐析法提取香菇多糖,将水提液用一定饱和度的硫酸铵进行沉淀处理。结果表明,用80%硫酸铵盐析的效果比等量的95%乙醇沉淀更好。

工业化用酶在中药的提取制备中,取得了较好的效果,可提高收率,具有较大的应用潜力^[8]。张欣等^[9]采取了酶法提取香菇多糖,结果表明,利用复合酶解法结合热水浸提法提取菇柄多糖,提取率达7.13%(克多糖/100克菇柄干品),是热水浸提法的3.43倍,酶解的最适作用条件为pH4.5,温度46℃,时间80 min。陈哲超等^[10]采用复合酶解法提取香菇多糖蛋白,采用复合酶解和热水浸提法分离纯化香菇中多糖蛋白的综合程序。与单纯热水浸提法等其它方法相比,本法能显著提高香菇有效成分的浸提效果,总氨基酸与必需氨基酸百分比含量均提高2倍以上,香菇多糖含量提高了4倍,且酶解后大大改善了糖类的分布,抗肿瘤、抗病毒活性的具较高相对分子质量的葡聚糖物质含量也明显提高,效果极其显著。郑宗坤等^[11]采用螺旋卷式超滤器对香菇多糖进行提取研究。结果表明,在此实验范围内,用超滤作预处理较离心法效果好,超滤温度为25℃,pH值接近浸提介质的pH,超滤压力为0.15~0.18 MPa,制得香菇多糖的纯度为74.4%,回收率79.6%,是以D-葡聚糖为主的混和多糖。

1.2 分析方法

1.2.1 鉴别:多糖可以发生颜色反应^[3],与蒽酮试剂作用后溶液呈蓝绿色,与酚-硫酸反应溶液均呈桔红色。在浓硫酸作用下与α-萘酚反应,在多糖溶液与硫酸界面出现紫色环,搅拌后溶液呈紫色,与斐林试剂呈阴性反应。

陈孜等^[12]利用薄层色谱法鉴别香菇多糖,选用硅胶H

* 收稿日期: 2002-01-22

作者简介: 边洪荣(1955-),女,天津人,副教授。主要研究方向为中草药的提取、分离及分析。 Tel: 0315-3725674

薄层板,以乙酸乙酯-水-乙酸-甲酸(18:14:6:4)系统为展开剂,喷0.5%蒽酮试液或0.25%茚三酮试液进行显色,120℃烘干1h,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色之斑点。香菇多糖的鉴别还可采用分光光度法^[13],取香菇多糖用水溶解成1mg/mL的溶液,取2mL加入氢氧化钠(1→20)1mL及刚果红溶液1mL,测定其吸收光谱,应在480~495nm呈现最大吸收。然后向该溶液中加入稀盐酸(1→20)1mL,测定吸收光谱,在505~520nm呈现最大吸收。

1.2.2 含量测定:于村等^[14]对蒽酮-硫酸法、苯酚-硫酸法、直接滴定法进行了比较。实验结果表明:蒽酮-硫酸法所测香菇多糖含量偏高,回收率过高(113.6%~145.5%);直接滴定法灵敏度不高,回收率偏低(42.8%~85.8%);而苯酚-硫酸法不仅灵敏度高,回收试验也较理想(92.5%~110.2%)。因而,可认为苯酚-硫酸法是测定香菇多糖含量较为理想的方法。王金华等^[3]用微量凯氏定氮法、酚-硫酸法、地衣酚法分别测水溶性、酸溶性和碱溶性香菇多糖中蛋白质含量、总糖量和酸解后的戊糖量。

2 香菇嘌呤

香菇嘌呤又名香菇素,化学名2,3-二羟基-4-(9-腺嘌呤)丁酸,分子式为C₉H₁₁O₄N₅,相对分子质量253.22。具较强的降低转氨酶及降低胆固醇等作用,此外还具有抗病毒、抗变效应、防脱发作用和解毒作用^[15]。

2.1 提取分离:传统的方法有热水浸提法、甲醇热提法和乙醇热提法,提取后要去蛋白、过柱、洗脱。孙培龙等^[16]采用75%乙醇,按照固液比为(重量比,原料以干基计)1:10,回流萃取的温度为微沸(约83℃),回流时间3h,浓缩,纸电泳分离。由于香菇中香菇嘌呤含量很低,提取分离繁琐且得率很低,故可以利用化学方法合成,可得到香菇嘌呤白色针状结晶^[17]。

2.2 分析方法:香菇中香菇嘌呤的含量测定可采用紫外法,将提取液定量点样,纸电泳分离,紫外显示后进行区带洗脱,然后测紫外吸收值^[16],但过程相当繁琐、耗时,相当于一次小规模的分离提取过程,因此寻找一种简便可行的分析方法尤为重要。

3 核酸

香菇提取物中含核酸类物质,其中香菇孢子提取物中的双链核糖核酸(ds-RNA)能促进干扰素的分泌,是提高干扰素血中浓度的诱发因子^[1],使人体产生干扰病毒繁殖的蛋白质,可提高人体免疫力,有助于抗爱滋病和抗衰老^[18]。香菇中的核酸包括环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)、环磷酸胞苷(cCMP)、环磷酸腺苷(cAMP)是一种调节代谢的活性物质,具有抑制细胞生长和促进细胞分化的作用,可用于抗肿瘤、治疗牛皮癣以及冠心病、心绞痛等^[19]。

核酸的提取分离一般原则是先破碎细胞,然后用蛋白质变性剂如苯酚或去垢剂十二烷基硫酸钠等,或用蛋白酶处理除去蛋白质,最后所获得的核酸溶液用乙醇等使其沉淀。

核酸的含量测定可选用定磷法、定糖法和紫外吸收法。

4 氨基酸和微量元素

香菇中含有大量蛋白质、氨基酸和多种微量元素,朱锡林^[20]利用氨基酸分析仪和原子吸收光谱仪,对其氨基酸、微量元素进行了分析测试,经测定,香菇除含人体必需的8种氨基酸外,还含多种氨基酸,总量达11.76%。香菇含丰富的微量元素,其中钙、铁含量较其它元素高,对人体有利。故香菇可补充人体不足,增强食欲,帮助消化,改善睡眠,增强体质。

5 维生素

与其它食品相比,香菇中含有多种的维生素,如维生素D₂、B₁、B₂、B₁₂。其中香菇中含大量的麦角甾醇(又称维生素D原),其含量为128个国际单位,经紫外线照射变为维生素D₂,含量增加到1000个国际单位。香菇作为维生素D₂的供给源,占有重要的地位,多食香菇有助于小孩骨骼和牙齿的生长,能预防佝偻病^[1]。

维生素类含量测定已有许多成熟方法,如维生素D₂可选用紫外吸收法,维生素B₁、B₂可选用荧光分析法等,因其开发应用价值不如香菇多糖,香菇嘌呤高,在此不做赘述。

6 结语

我国香菇资源十分丰富,可天然采集和人工栽培。香菇的食用价值、药用价值均很高,值得进一步开发应用。

参考文献:

- [1] 陶名熏. 香菇的药效和食品开发[J]. 食品科学, 1986, 7(11): 11-13.
- [2] 宋炳生, 杨玉龙. 香菇多糖抗肿瘤活性的研究概况[J]. 中草药, 1998, 29(7): 492-495.
- [3] 王金华, 何霞辉. 香菇多糖的提取纯化及成分分析[J]. 食用菌, 1991, 13(3): 14.
- [4] 刘星, 夏志林, 毛行钟. 复方香菇多糖口服液的研制[J]. 福建医药杂志, 1999, 21(2): 93-94.
- [5] 任国梅, 陈孜, 朱芝兰. 香菇多糖提取方法探讨[J]. 中成药, 1997, 19(11): 3-5.
- [6] 王卫国, 赵永亮. 香菇多糖分离最佳工艺及最佳工艺原料探讨[J]. 中草药, 2000, 31(8): 584-585.
- [7] 胡稳奇, 张志光, 张天晓. 盐析法提取香菇、草菇多糖的探讨[J]. 中国食用菌, 1995, 14(3): 34-35.
- [8] 杨莉, 刘亚娜. 酶法在中药提取制备中的应用[J]. 中药材, 2001, 24(1): 72-73.
- [9] 张欣, 韩增华, 孔祥辉, 等. 酶法提取香菇柄多糖[J]. 生物技术, 1999, 9(1): 21-24.
- [10] 陈哲超, 林宇野, 谢必峰, 等. 复合酶解法提取香菇多糖蛋白的研究[J]. 生物工程进展, 1995, 15(1): 47-50.
- [11] 郑宗坤, 许贤华, 陈志行, 等. 超滤提取香菇多糖的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2000, 21(2): 73-75.
- [12] 陈孜, 任国梅. 薄层色谱法鉴别香菇多糖的研究[J]. 广州医药, 1996, 27(6): 48.
- [13] 李海生. 香菇多糖的构效关系与质量控制[J]. 国外医药-植物药分册, 1997, 12(2): 65-67.
- [14] 于村, 丁钢强, 俞莎, 等. 香菇多糖测定的方法学研究[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(3): 245-246.
- [15] 孙培龙, 蒋同集. 香菇嘌呤研究简述[J]. 食用菌, 1995, 17(4): 9-10.
- [16] 孙培龙, 吴学谦, 季培军, 等. 香菇及其他食用菌中香菇嘌呤含量的检测[J]. 食品工业科技, 2000, 21(5): 70-72.
- [17] 林电伟, 王植材, 郑其煌. 香菇嘌呤的改进合成方法[J]. 中国医药工业杂志, 1992, 23(9): 391-392.
- [18] 宋为民. 香菇药理新观—抗变效应[J]. 中国食用菌, 1991, 10(2): 7-8.
- [19] 刘宗林. 香菇发酵液中cAMP和cGMP分子结构及其作用机理[J]. 食品科学, 1998, 19(8): 7-11.
- [20] 朱锡林. 香菇营养成分分析初探[J]. 食用菌, 1988, 10(3): 31.