

超濾法分离与纯化香菇多糖

范云鹏¹, 李十中^{1*}, 刘冬梅¹, 王星云², 熊先锋^{2*}

(1. 天津大学化工学院, 天津 300072; 2. 禹城福田药业有限公司, 山东 禹城 251200)

香菇 *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. 是一种食用菌, 其主要药用成分为香菇多糖, 含量约为 12.8 mg/g^[1]。相对分子质量为 400 000~800 000 的香菇多糖具有抗癌活性, 通过调节胞质分裂增强身体免疫系统功能^[2]。而且香菇多糖还对艾滋病有一定疗效^[3]。

香菇多糖的纯化主要采用有机溶剂分级沉淀法^[4], 色谱法^[5]等。但有机溶剂法易引入有害物质, 色谱法设备昂贵、复杂, 产率低, 成本太高。近年来有采用超滤法^[6]提取香菇多糖的研究, 可以降低成本, 提高产率, 但产品纯度较低。为充分发挥膜分离技术的优势, 探索多糖分离纯化的新方法, 本研究采用超滤-渗滤法改善产品纯度, 并引入冷冻干燥技术, 改进香菇多糖的提取纯化工艺, 以期提高产品收率、降低成本。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器: 香菇由福建省古田县福佳食品有限公司提供。超滤膜(截流相对分子质量为 50 000、20 000、10 000 和 4 000 的高分子合金膜, 滤膜的有效面积为 43 cm²)由中国科学院上海原子核研究所提供。PB303-N 型电子精密仪器天平[梅特勒·托利多(上海)有限公司], 752 型紫外光栅分光光度计(上海第二光学仪器厂), 5-DX 傅立叶变换红外光谱仪(Nicolet, 美国), LGJ-10 冷冻干燥机(北京四环科学仪器四厂)。

1.2 方法: 称取 10 g 香菇, 粉碎后用乙醇浸泡除去杂质, 按固液比 10:1 加入蒸馏水, 于 90℃ 水浴恒温搅拌浸提 6 h, 4 000 r/min 离心分离除去大部分固体物质, 然后采用 0.5 μm 膜微滤得到香菇多糖提取液。

2 结果与讨论

2.1 多糖溶液中相对分子质量的分布: 在室温 0.3 MPa 下, 把香菇多糖的提取液依次用截留相对分子质量为 50 000、20 000、10 000 和 4 000 的滤膜进行渗滤, 多糖溶液则被分为 5 份, 然后用硫酸-蒽酮法

测定每段溶液中总糖的含量, 提取液中糖的相对分子质量分布见图 1。相对分子质量为 50 000 以上的多糖约占总糖的 20.0%, 而相对分子质量 4 000 以下的寡糖和单糖约占 37.3%。与有机溶剂分级沉淀法相比, 超滤分级纯化可以很方便得到香菇多糖的相对分子质量分布, 对多糖纯化及药理研究都有指导意义。

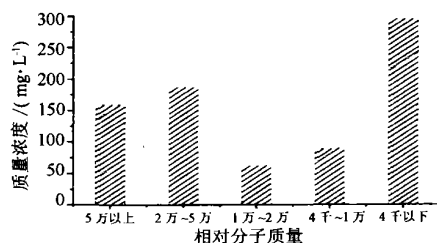


图 1 香菇提取液中多糖的相对分子质量分布

Fig. 1 Distribution of molecular weight of mushroom polysaccharides in extract

2.2 超滤-渗滤法对香菇多糖的分级纯化: 要 100% 截留目的产物, 所选超滤膜的截留相对分子质量需是其相对分子质量的 1/10, 为了得到具有抗癌活性的香菇多糖, 故选用截留相对分子质量为 50 000 的滤膜对香菇提取液进行超滤, 操作温度和压力对膜通量的影响见图 2、3。

在 0.3 MPa 压力差下, 用截留相对分子质量为 50 000 的滤膜对香菇提取液进行超滤, 温度对膜通量的影响见图 2。同样条件下, 温度高的料液通量大于低温时的通量。因为在一定范围内, 温度升高使溶液黏度下降, 扩散系数和传质系数增大, 且多糖溶解度增大, 即溶质与水亲合力也加大, 相应会减少浓差极化, 故通量在高温时较大。而温度升高会导致滤膜性能和溶液理化性质的改变, 综合考虑, 选用 30℃ 为超滤温度。

在 30℃ 对香菇提取液进行超滤, 压力差的影响见图 3。随压力上升, 平均通量显著增大。压力差较小时, 压力的增大使溶液通过滤膜的动力增大, 故通量明显增大。达到 0.3 MPa 后, 通量趋于恒定, 如再

* 收稿日期: 2004-02-03

* 通讯作者

增加压力, 通量增加使得膜面上被截留溶质的浓度增加, 浓差极化作用增加, 开始形成较厚的膜面凝胶层, 导致阻力大大增加, 因而通量增加较少。

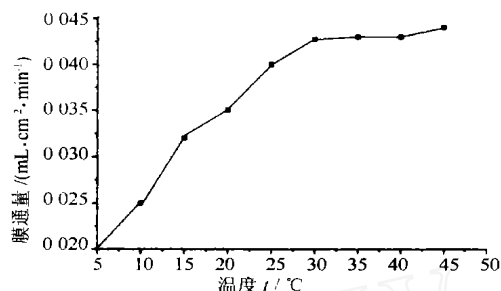


图 2 温度对超滤渗滤的影响

Fig. 2 Effect of temperature on ultrafiltration

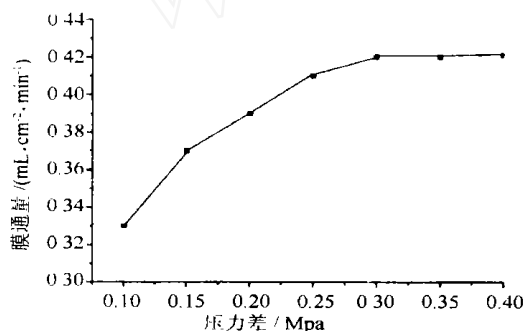


图 3 压力对超滤渗滤的影响

Fig. 3 Effect of pressure on ultrafiltration

在最佳超滤操作条件(30℃、0.3 MPa)下, 对提取液中香菇多糖进行分级纯化, 并在浓缩倍数为 5:1 时进行渗滤。这样不仅使溶液中的小分子糖类充分通过滤膜, 提高了制品纯度, 而且溶液浓度小, 浓差极化影响小, 开始渗滤后膜通量较稳定, 衰减较小, 见图 4。

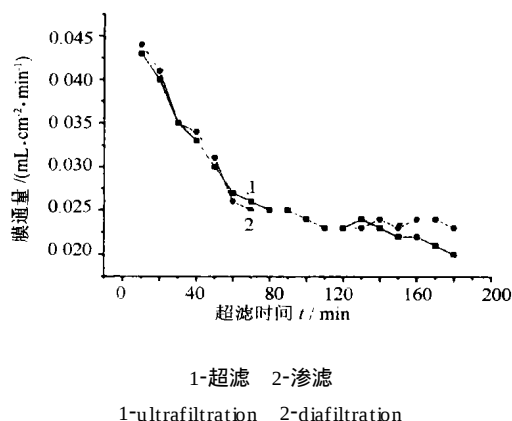


图 4 膜通量随时间变化曲线

Fig. 4 Permeating flux varied with time

2.3 超滤纯化和超滤-渗滤纯化所得产物的比较: 在 30℃, 0.3 MPa 压力差下, 用截留相对分子质量为 50 000 的滤膜对香菇多糖提取液进行超滤渗滤纯化, 用 Sevag 法除去浓缩液中的蛋白质, 然后冷冻干燥, 得到多糖制品。

用 3, 5-二硝基水杨酸法测定溶液中还原糖的含量, 多糖的含量即为总糖的含量减去还原糖的含量, 然后根据制品纯度 = (浓缩液体积 × 浓缩液多糖质量浓度 / 多糖干制品质量) × 100%^[6], 收率 = (制品多糖质量 / 香菇质量) × 100%, 计算得多糖制品的纯度为 80.4%, 收率为 1.59%, 而超滤纯化所得产品纯度仅为 74.4%^[6]。超滤-渗滤纯化法与超滤纯化法相比, 纯度提高了 8.1%, 这是因为渗滤时浓缩液中的小分子糖类能够充分通过滤膜, 提高了制品的纯度。

3 结论

超滤-渗滤是一种有效的纯化香菇多糖的方法, 工作条件为: 温度 30℃, 压力差 0.3 MPa, 所得产品相对纯度为 80.4%, 收率为 1.59%, 接近 Lentinan 的理论收率值(约 1.2%)。与单纯的超滤工艺过程相比, 本实验所得产品纯度提高了 8.1%, 虽然仅得到了 Lentinan 粗品, 但为改善 Lentinan 提纯工艺, 降低成本提供了一条新途径。

本研究得到了天津大学分析中心范国梁副教授和周维义工程师的大力支持和帮助, 在此表示感谢!

References

- [1] Minato K, Mizuno M, Terai H, et al. Autolysis of lentinan, an antitumor polysaccharide, during storage of *Lentinus edodes*, shiitake mushroom [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47 (4): 1530-1532.
- [2] Maeda Y, Takahama S, Kohara Y. Polygenic control of the expression of biological activities of an antitumor polysaccharide, lentinan [J]. *Int J Immunopharmacol*, 1997, 19(9/10): 469-472.
- [3] Kaneko Y, Chihara G, Taguchi T. Activity of lentinan against cancer and AIDS [J]. *Int J Immunother*, 1989 (4): 203-213.
- [4] Wang W G, Zhang Y L, Han S B. Studies of technology of isolation and purification of lentinan [J]. *Edible Fungi China* (中国食用菌), 2002, 21 (1): 30-32.
- [5] Garg C, Reek G R. Isolation and separation of HM G proteins and histones H1 and H5 and core histones by column chromatography on phosphocellulose [J]. *Protein Express Purif*, 1998, 14(2): 155-159.
- [6] Zheng Z K, Xu X H, Chen Z X. Study on ultrafiltration purifying of lentinan [J]. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 2000, 21 (3): 73-75.