

活性炭联合陶瓷膜超滤纯化香菇多糖

张 佳¹ 陈劲春^{1*} 李金刚²

(1. 北京化工大学生命科学与技术学院, 北京 100029; 2. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118)

摘 要: 为了改善香菇多糖精制工艺及降低生产成本, 以 45 % 香菇多糖粗品为原料, 利用陶瓷膜超滤对其进行纯化精制。结果表明, 4.5 mg/mL 的香菇多糖粗品溶液用 1 % 活性炭作预处理, 超滤温度为 40 ℃, 超滤压力为 0.2 MPa, 膜面流速为 4.5 m/s 时纯化效果最优。蛋白质的脱除率可达 81 %, 多糖粗品脱色率达 90.9 %, 精制得香菇多糖的纯度为 89.7 %, 回收率 77.6 %。

关键词: 香菇多糖; 活性炭; 陶瓷膜超滤

中图分类号: R932

引 言

香菇多糖(lentinan, LNT)是从香菇子实体中分离得到的一类活性物质, 研究表明分子量在 400000 ~ 800000 的香菇多糖具有显著的抗病毒、抗肿瘤、调节免疫功能和抗感染活性^[1], 还有研究证明其对艾滋病有很好的疗效, 在临床上具有很好的应用前景。

香菇多糖的药效与多糖的分子量及纯度有很大关系。目前已报道的分离纯化香菇多糖的方法有有机溶剂沉淀法^[2]、离心沉淀色谱法^[3]、阴阳离子交换树脂法^[4]、酶解法^[5]、凝胶层析法^[6]等, 但有机溶剂法易引入有害物质, 安全性受到质疑; 色谱法设备昂贵、复杂, 成本太高; 酶解法简单易行, 收率却不高; 而离子交换法仅对两性的蛋白质有去除作用, 却不能去除中性杂质。近二三十年来, 利用有机膜超滤来纯化精制香菇多糖的技术研究倍受人们的关注^[7-10], 通过有机膜超滤可将香菇多糖纯度提高到 74.4 %^[7], 而将有机膜超滤和渗滤结合则可将香菇多糖纯度提高到 80.4 %^[8], 但实践证明有机膜始终存在着不能解决膜污染、不能抗高压和高温等问题^[10]。

本文以 45 % 的香菇多糖粗品为研究对象, 先用活性炭预处理, 再用陶瓷膜超滤法进行纯化精制。采用合适孔径的无机陶瓷膜超滤来纯化香菇多糖,

既体现了超滤无相变、无溶剂污染、容易保持生物分子的活性、操作简单可靠等优点, 又可弥补有机膜的诸多缺点。

1 材料与方法

1.1 实验材料

45 % 香菇提取物, 上海康舟真菌多糖公司; 次氯酸钠, D-无水葡萄糖、苯酚、考马斯亮蓝 G250、活性炭、磷酸, 化学纯, 北京化学试剂公司; 牛血清白蛋白, Sigma 公司。

1.2 实验仪器

陶瓷膜超滤装置 膜截流分子量 50000, 膜组件形式管式, 江苏久吾高科; UV-2800 紫外可见分光光度计, 上海日立有限公司; GL-20 G 高速冷冻离心机, 上海安亭科学仪器厂; 真空低温冷冻干燥箱, 上海精宏实验仪器公司; BS223S 电子天平, 北京 Sartorius 仪器系统有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 药液的制备 将 45 % 的香菇多糖粗品, 在 37 ℃ 水浴条件下溶于去离子水配制成 4.5 mg/mL 的香菇多糖粗品溶液, 冷却至常温, 抽滤除去不溶物, 测定其蛋白质含量^[11]、多糖含量^[12]及色值^[13]。

1.3.2 不同量的活性炭预处理药液 将活性炭用 90 % 的乙醇浸泡 2 h, 抽滤; 再用去离子水浸泡搅拌 2 h, 抽滤, 重复 2 次后烘干备用。取 5 份 100 mL/份药液, 加入不同量的处理后的活性炭, 搅拌 2 h, 静置 0.5 h 后抽滤。测定溶液中蛋白质含量、多糖含量及色值后将滤液放入真空干燥低温冷冻箱干燥^[2]得多糖干制品, 称重, 计算多糖纯度和收率。

收稿日期: 2007-03-12

第一作者: 女, 1981 年生, 硕士生

*通讯联系人

E-mail: jingchunchen@hotmail.com

1.3.3 陶瓷膜超滤 将 4.5 mg/mL 的香菇多糖粗品溶液加 1% 的活性炭, 搅拌 5 h, 静置 0.5 h 后抽滤。将抽滤液在不同的超滤温度、跨膜压差和膜面流速下进行超滤。每次试验取 500 mL 抽滤液装入料槽中, 开泵超滤, 开机稳定后, 量取 4 min 内的滤过液, 重复 3 次求平均值, 计算超滤通量^[13]。将截流液进行全循环, 当滤出液体积达到 400 mL 时, 往料槽中加入 100 mL 蒸馏水, 继续超滤, 直到滤出液体积达到 500 mL 为止。将截流液测定蛋白含量及多糖含量后放入真空低温冷冻干燥箱得多糖干制品, 称重, 计算多糖纯度和收率。

2 结果与讨论

2.1 活性炭用量对香菇多糖粗品纯化效果的影响

香菇多糖粗品中成分复杂, 除了有效成分香菇多糖外, 还含有大量的寡糖、有机大分子色素、蛋白质等, 这些无效成份不仅对香菇多糖的纯度、成色有很大的影响, 还增加了超滤过程的能耗。依据活性炭对有机大分子色素以及蛋白质等杂质具有较强的吸附能力的特点^[14], 用不同量的活性炭处理香菇多糖粗品溶液, 纯化结果如图 1 所示。

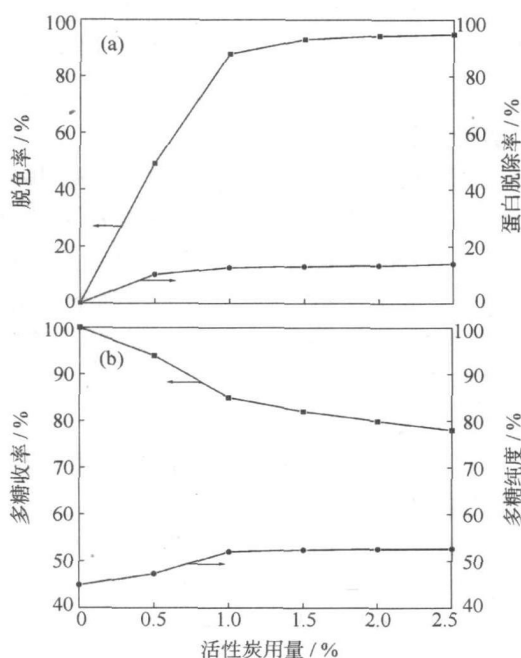


图 1 活性炭用量对纯化效果的影响

Fig. 1 Effect of varying the amount of activated carbon on the purification of lentinan

由图 1(a) 可以看出, 活性炭脱色效果随其用量的增加而增强, 在 0~1% 范围内脱色效果增强幅度

较大, 此后增强幅度减小, 当活性炭用量增加到 1.5% 时, 脱色率趋于稳定, 多糖溶液已基本无颜色, 溶液澄亮。在图 1(a) 中还可以看出无论活性炭用量多少, 蛋白质去除率基本上都在 10% 左右, 说明活性炭只对很少一部分蛋白质有吸附作用, 不能作为主要的除蛋白方法。

由图 1(b) 可以看出, 随着活性炭用量的增加, 除杂率不断上升, 多糖干制品中的多糖纯度也随之增大, 但同时多糖损失也不断增加, 多糖收率随之降低。当活性炭用量大于 1% 时, 干制品中多糖纯度基本趋于稳定, 但多糖收率却降低不少, 说明活性炭吸附色素等杂质的同时, 将一部分的香菇多糖也吸附了, 而且当溶液中杂质越少时增加活性炭用量, 多糖损失越大。综合考虑, 1% 的活性炭用量为最优。

2.2 超滤条件的确定

2.2.1 不同膜面流速下跨膜压差对膜通量的影响

在 313 K 下, 选择截留分子量为 50000^[9] 的滤膜对香菇多糖粗品溶液进行超滤。不同的膜面流速 (u) 下, 压差对膜通量的影响见图 2。

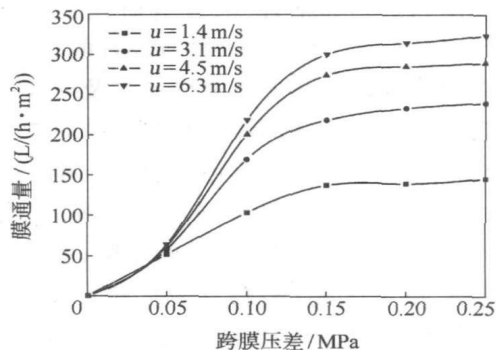


图 2 不同膜面流速下跨膜压差对膜通量的影响

Fig. 2 Effect of pressure intensity and flow velocity on the membrane flux

当压差小于 0.05 MPa 时, 即使膜面流速再大, 膜通量也很小, 说明在此范围内, 压差是影响膜通量的主要因素; 当压差为 0.05~0.2 MPa 时, 压差大、膜面流速高的料液通量明显大于小压差、低流速时的通量, 这是由于压力的增大和膜面流速的提高都可使溶液通过滤膜的动力增大, 故通量明显增大; 当压差达 0.2~0.3 MPa 时, 膜通量基本趋于恒定, 若继续增大压力, 则耗能高, 不经济; 膜表面浓差极化效应增加, 导致通量增加减少; 并且通透性越高, 一部分香菇多糖分子随杂质透过, 导致收率降低。综合考虑, 选择超滤压差为 0.2 MPa。

2.2.2 膜面流速对膜通量的影响 在 313 K、0.2

MPa 下对香菇多糖粗品溶液进行超滤,膜面流速对膜通量的影响如图 3。膜面流速越高,膜通量衰减越小,超滤稳定时的膜通量越大。这是由于膜面流速提高时,对膜表面的冲击比较大,减小了膜表面浓差极化效应,使得膜通透性提高,膜通量增大。由图 3 可以看出,当膜面流速大于 4.5 m/s 时,膜通量随流速增加而增加的幅度已非常微小,结合 2.2.1 节结果,选择膜面流速为 4.5 m/s。

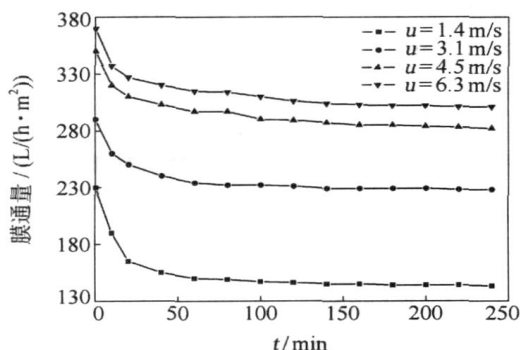


图 3 膜面流速对膜通量衰减的影响

Fig. 3 Effect of flow velocity on the attenuation of the membrane flux

2.2.3 超滤温度对膜通量的影响 调节膜面流速 4.5 m/s、跨膜压差 0.2 MPa 对香菇多糖粗品溶液进行超滤,温度对膜通量的影响见图 4。相同条件下,温度越高,膜通量越大。这是因为在一定范围内,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,浓差极化效应减小,故通量在高温时较大。但考虑到多糖在高温下可能会分解成单糖而影响多糖收率,而且超滤温度越高能耗越高。综合考虑,选用 40 为超滤温度。

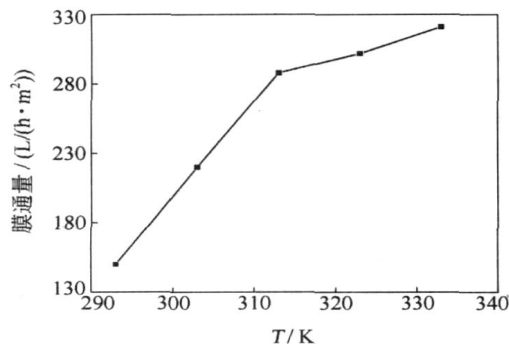


图 4 温度对膜通量的影响

Fig. 4 Effect of the temperature on the membrane flux

2.3 陶瓷膜超滤与有机膜超滤的比较

将经过 1% 活性炭预处理,在超滤温度 40、跨

膜压差 0.20 MPa、膜面流速 4.5 m/s 下超滤得到的香菇多糖粗品溶液测定蛋白含量和色值,计算得多糖粗品脱色率为 98.2%,蛋白质去除率为 81.0%;然后放入真空低温冷冻干燥箱得多糖干制品,称重,计算得多糖纯度为 89.7%,收率为 77.6%。比通过有机膜超滤香菇多糖的纯度^[8]提高了 15.2%,比有机膜超滤和渗滤结合纯化香菇多糖的纯度^[9]提高了 9.3%。

由于有机膜材质为高分子材料,形成有机膜的中空纤维丝强度低,在一定压力下易变形,且在溶剂中易溶胀,从而影响膜的分离性能;而陶瓷膜由无机氧化物在高于 1800 高温烧结而成,膜孔为刚性,不易被压缩变形,在溶剂中不会发生溶胀,稳定性好,分离性能稳定。

另外,有机膜结构为海绵状或双皮层,这种结构在超滤过程中易于堵塞,清洗困难,且容易被压实而形成不可逆的膜污染,从而导致膜通量迅速降低、膜分离性能不稳定。而陶瓷膜具有多层不对称结构的微孔,不易形成深层污染,在超滤过程中膜通量稳定,纯化效果良好。且由于陶瓷膜优越的耐酸碱、耐高温特性,对于绝大多数污染物,均可以采用一种适当的清洗剂、清洗工艺使膜再生,而不用考虑清洗剂对膜材质本身的影响。另外,非对称结构的陶瓷膜还可采用反冲的方法清除膜表面污物。

3 结论

用 1% 活性炭对香菇多糖粗品预处理后,采用截留分子量为 50000 的陶瓷膜超滤。超滤条件为温度 40、跨膜压差 0.20 MPa、膜面流速 4.5 m/s。在此条件下,多糖粗品脱色率达 98.2%,蛋白质脱除率为 81.0%,多糖纯度从 45% 提高到 89.7%,收率为 77.6%。

参考文献:

- [1] MAEDA Y Y, TAKAHAMA S, KOHARA Y, et al. Polygenic control of the expression of biological activities of an antitumor polysaccharide, lentinan[J]. Int J Immunopharmac, 1997, 19(9-10): 469-472.
- [2] 王卫国,赵永亮,韩山宝. 香菇多糖分离纯化技术研究[J]. 中国食用菌, 2002, 21(2): 30-32.
- [3] 潘慧娟,应奇才. 离心沉淀色谱法分离纯化香菇多糖[J]. 中华医药学杂志, 2004, 3(2): 84-87.
- [4] 谢红旗,周春山. 阴离子交换树脂分离香菇多糖种蛋白质[J]. 化学研究与应用, 2006, 18(2): 211-213.

- [5] 郭亚贞,王愷,曲鹏鹏. 香菇多糖的纯化和结构分析[J]. 上海水产大学学报,2000,9(1):35-39.
- [6] 屈永年,曾凡龙,高海涛,等. 香菇多糖的提取和纯化的研究[J]. 数理医药学杂志,2003,16(6):537-538.
- [7] 郑宗昆,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.
- [8] 范云鹏,李十中,刘冬梅,等. 超滤法分离与纯化香菇多糖[J]. 中草药,2004,35(12):1357-1358.
- [9] 念保义,陈铭,王峥敏,等. 超滤膜分离香菇多糖的研究[J]. 化学工业与工程技术,2003,24(4):27-28.
- [10] 邹节明,阮征,李建华,等. 超滤技术分离中药有效成分的实验研究[J]. 中国医药学报,2003,18(2):76-82.
- [11] 陈毓荃. 生物化学实验与技术[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [12] 李宝良,李书剑. 香菇多糖苯酚试剂测定研究[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(11):1329-1330.
- [13] 李亚娜,林永成,余志刚. 用超滤过程浓缩纯化羊栖菜粗多糖浸提液[J]. 化工进展,2004,23(11):1243-1248.
- [14] 孙淑斌,王传怀. 活性炭对氨基酸混合液吸附脱色的研究[J]. 中国生化药物杂志,1995,16(4):180-181.

Isolation and purification of lentinan by activated carbon and ceramic membrane ultra filtration

ZHANG Jia¹ CHEN JinChun¹ LI JinGang²

(1. College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029;

2. College of Herbal Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun Jilin 130118, China)

Abstract: In order to improve the purity of lentinan and to reduce the cost of its preparation, a simple process including both pretreatment by activated carbon and ultra filtration with a ceramic membrane has been studied in detail. The optimal conditions were found to be as follows: 1 % activated carbon for pretreatment of a sample containing 45 % lentinan, and for subsequent ultra filtration with the ceramic membrane a temperature of 40 °C, pressure of 0.20 MPa and flow velocity of 4.5 m/s on the surface of the membrane. Under these conditions, the deproteinization ratio reached 81.0 %, the decolorization ratio was 90.9 %, the sample purity increased from 45 % to 89.7 % and the recovery reached 77.6 %.

Key words: lentinan; activated carbon; ceramic membrane ultra filtration

下 期 预 告

- | | | | |
|---|------|--------------------------|------|
| (-)-2-(N-正丙基氨基)-5-羟基四氢化萘的合成 | 左洪剑等 | 沉降离心机圆形转鼓内液面速度的数值模拟 | 黄志新等 |
| 掺锂聚苯胺/活性炭超级电容器电极材料 | 毛定文等 | 粒子群优化算法在非线性模型预测控制中的研究 | |
| 食用菌中高分子活性中心元素分布与其自由基清除能力之间的关系 | 张金颖等 | 应用 | 关圣涛等 |
| 新型明胶纳米纤维毡的制备及其细胞培养 | 左璞晶等 | 一种非对称数据传输方案及其在管理信息系统中的应用 | 何 新等 |
| 纳米二氧化锡的改性及锡/碳复合微球的制备 | 胡卫强等 | 高岭石层间尿素-水体系的分子动力学模拟 | 田玉玺等 |
| 溶胶-凝胶法合成 $\text{ZnGa}_2\text{O}_4:\text{Eu}$ 及其光学性能 | 刘 晴等 | 基于 DSP 的数字调制器实验模块设计 | 聂 伟等 |
| 由十二烷基苯磺酰氯制备两亲性聚合物 | 朱万超等 | 甲酸钠热分解行为的实验研究 | 张伟伟等 |
| 新型双光子引发剂 9-苄基-3,6-二[2-(吡啶-4-基)-乙烯基]吡啶的合成及聚合特性 | 尹 龙等 | 狭缝孔内水煤气变换反应平衡的蒙特卡罗模拟 | 彭 璇 |
| 用于超级电容器电极材料的球形炭气凝胶 | 蒋亚嫒等 | 以甜高粱渣为原料生产乙醇 | 班靖洋等 |
| $\text{Zn}(\text{OH})_6^{4-}$ 和 $\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ 系列配合物的电子结构 | 吴静怡等 | 非正态假设下投资组合的风险分解 | 黄 黎等 |
| 搅拌槽内流动结构的 PIV 研究 | 吴 莹等 | 垃圾填埋场选址问题的模糊数学模型研究 | 李安宇等 |
| | | 改进遗传算法在天然气管网设计中的应用 | 魏玉峰等 |
| | | 固定化双菌串连发酵生产 1,3-丙二醇 | 陈 国等 |