

# 牛肝菌多糖提取工艺及抗肿瘤作用研究进展

朱静, 张甜 (南京中医药大学翰林学院, 江苏泰州 225300)

**摘要** 介绍了浸提法、泡沫分离法、微波提取法、微波前处理-热水浸提法、菌丝胞内多糖酶解法等几种牛肝菌多糖的提取工艺, 并对其抗肿瘤作用的研究进展进行综述。

**关键词** 牛肝菌; 多糖; 提取工艺; 抗肿瘤

**中图分类号** S646.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)31-0120-02

## Research Progress of the Extraction Process and Anti-tumor Activity of *Boletus edulis* Polysaccharides

ZHU Jing, ZHANG Tian (Hanlin School, Nanjing University of Chinese Medicine, Taizhou, Jiangsu 225300)

**Abstract** Several extraction technologies for *Boletus edulis* polysaccharides were introduced, such as extracting method, foam fractionation method, microwave extraction method, microwave pretreatment-hot water extraction method, hyphae intracellular polysaccharide enzymatic hydrolysis and so on. The research progress on its anti-tumor activity was reviewed.

**Key words** *Boletus edulis*; Polysaccharide; Extraction process; Anti-tumor

牛肝菌(*Boletus edulis*)俗称大脚菇,是一种珍贵的野生食用菌<sup>[1]</sup>,其菌肉厚而细软,味道鲜美,营养丰富,不仅用于人类日常食用,且具有一定的营养价值和药用价值。牛肝菌中含有蛋白质、氨基酸、可溶性多糖、粗纤维、脂肪及多种矿物质元素<sup>[2]</sup>。在所含有有效成分中,以可溶性多糖最受关注,其潜在的免疫调节以及肿瘤干预作用,使得牛肝菌被认为是目前最有开发前景的、具有保健功能的食品和药品的新型资源之一。但到目前为止,有关牛肝菌多糖提取纯化工艺的研究较少且存在提取率较低的问题,一定程度上阻碍了后续的开发进展。笔者介绍了牛肝菌多糖的几种提取工艺,并对其抗肿瘤作用的研究进展进行综述。

## 1 多糖的提取工艺

**1.1 浸提法** 将挑选后的牛肝菌烘干、打碎,以提取溶剂:样品为 15:1(V/W)的比例,采用沸水浸提 3 次,每次时间为 2 h,以虹吸法吸取上清,合并后离心,取上清,浓缩至原体积的 1/4,加 4 倍体积的乙醇沉淀,沉淀用水溶解,再反复醇沉 3 次,后将所获沉淀用丙酮洗涤,真空干燥得牛肝菌粗多糖,多糖产率为 7.66%<sup>[3]</sup>。

**1.2 泡沫分离法** 此法又称气浮法,它是以气泡作分离介质来富集表面活性物质的一种新型分离技术<sup>[4]</sup>,广泛运用于物质分离。不同极性的表面活性剂与牛肝菌多糖结合,在气体的作用下多糖以泡沫的形式得到富集,常温下,每批投料量为 200 mL 时,间歇式泡沫分离法最佳工艺条件为 pH=6、原料液浓度 0.640 mg/mL、气体流速 300 mL/min、表面活性剂用量(0.02 mg/mL) 25 mL、浮选时间 55 min,回收率可达 83.1%<sup>[5]</sup>。

**1.3 微波提取法** 利用微波强化固液浸提是一种发展新型辅助提取技术,其原理是微波射线辐射于溶剂并透过细胞壁达到细胞内部,因溶剂及细胞液吸收微波能,温度升高,细胞内压增大,以致细胞壁破裂,可提高传质速率。操作方法为

称取牛肝菌干品数克加水 20 倍泡发,调节 pH 为 8,将发泡物放入微波炉提取,火力为 100%,微波时间 2 min、料液比 1:30、提取次数 1 次,粗多糖的得率为 18.84 mg/g<sup>[6]</sup>。

**1.4 微波前处理-热水浸提法** 先将菌丝体放入微波炉中预处理,固定微波功率为 60%,处理时间为 30 s,然后取出放入 80 ℃ 水中浸提 2 h,在此参数组合下,多糖的提取率为 146.2 mg/g<sup>[7]</sup>。

**1.5 菌丝胞内多糖酶解法** 在胞内溶液中加入该溶液体积的 20% 氯仿和 4% 正丁醇,反应时间为 0.5 h,离心去沉淀得清液,使清液的胰蛋白酶百分含量为 2.0、pH 为 7.0,进行酶解,设置酶解温度为 40 ℃,酶解时间为 1 h,再加 0.5 倍体积的正丁醇-三氯乙酸(体积比 5:1),振荡时间为 20 min,静置时间为 1 h,最终多糖浸提率可达 7.37%<sup>[8]</sup>。

## 2 牛肝菌多糖的抗肿瘤作用

多糖是由糖苷键结合形成的糖链,由 10 个以上的单糖聚合而成的高分子碳水化合物,不同单糖组成的分子称为杂多糖。植物、真菌、细菌和海洋生物来源的多糖拥有多种药理活性,如抗肿瘤、抗炎症、抗氧化、抗病菌和增强免疫调节等作用<sup>[9-12]</sup>,其中抗肿瘤作用逐渐成为医药类的研究热点。作为牛肝菌各种药理活性的主要物质基础——牛肝菌多糖,主要含有半乳糖、葡萄糖、木糖和甘露糖等,现对其抗肿瘤活性进行综述。

**2.1 黄白粘盖牛肝菌抑制肝癌作用** Liu 等<sup>[13]</sup>从黄白粘盖牛肝菌乙酸乙酯粗提取物当中分离得到的粘盖牛肝菌素 Suillin 对人肿瘤细胞增殖具有明显的抑制作用,尤其对人肝癌细胞的增殖抑制作用最为明显,且增殖抑制的作用机制主要是通过诱导细胞凋亡的途径实现的。

**2.2 美味牛肝菌多糖抗 S-180 肿瘤** 唐微等<sup>[14]</sup>对美味牛肝菌的子实体进行粗多糖提取,并研究多糖对抗 S-180 肿瘤的作用。将粗多糖腹腔注射作用于 S-180 荷瘤小鼠,结果表明,美味牛肝菌多糖能够使小鼠胸腺的质量与脾脏等免疫器官的质量显著增加,小鼠外周血中白细胞的总数通过美味牛肝菌多糖作用得以提高,且多糖对于 S-180 荷瘤小鼠的生命具有一定的延长作用,因此,美味牛肝菌多糖对 S-

**基金项目** 江苏省高校自然科学基金项目(15KJB350004);江苏省高校大学生实践创新训练计划项目(201513981003Y)。

**作者简介** 朱静(1986-),女,江苏扬州人,讲师,博士,从事生物大分子结构与功能研究。

**收稿日期** 2016-08-31

180 具有显著性的抗肿瘤作用。

**2.3 点柄乳牛肝菌多糖抗小鼠肉瘤和艾氏瘤** 点柄乳牛肝菌(*Suillus granulatus*)属于牛肝菌目乳牛肝菌科真菌,味道鲜美、营养丰富,也具有较好的药理活性,其多糖成分对 S-180 小鼠肉瘤和艾氏癌的抑制率分别为 80% 和 70%<sup>[15]</sup>,还有驱风解毒、消肿之功效<sup>[16]</sup>。该菌子实体的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 提取物对肿瘤细胞也有一定的抑制活性<sup>[17]</sup>。

**2.4 褐环粘盖牛肝菌抗小鼠肉瘤、艾氏瘤及黑色素瘤细胞** 目前,对褐环粘盖牛肝菌主要营养成分的研究较少。该菌主要含有胆碱和腐胺等生物碱,抗肿瘤试验证实,褐环粘盖牛肝菌对小白鼠肉瘤 180 及艾氏癌细胞增殖有抑制作用,Francisco 等<sup>[18]</sup>从褐环粘盖牛肝菌乙醇提取物中分离得到一种新的神经酰胺,并分析出新分离出的神经酰胺(suillumide)和人工合成的二乙酰衍生物对黑色素瘤细胞有细胞毒活性。

### 3 结语

从提取技术分析,微波前处理-热水浸提法的提取效率最高,其次依次为泡沫分离法、微波提取法、热水浸提法。食用菌多糖提取工艺多采用传统热水浸提法,主要是操作简便,但此法需要消耗大量的乙醇溶剂,且操作周期长,提取率低,因而热水浸提法正逐渐被其他新技术取代。另外从多糖的原料来看,牛肝菌的菌丝体与成熟子实体相比,提取率明显增高。通过发酵获得菌丝体进而提取是目前其他真菌多糖改进提取工艺的有效措施之一。今后,牛肝菌多糖的提取亦可参照此法,采用新提取技术从菌丝体中提取,以获得更高的提取率。

牛肝菌多糖的抗肿瘤作用机理复杂,多是通过诱导细胞凋亡的途径,或是通过提高机体免疫力而间接发挥抑制肿瘤细胞增殖作用。今后,如何通过优化提取纯化工艺以提高牛肝菌多糖的纯度,明确其药理作用机制,进而开展构效关系研究将是开发具有潜在药用价值的牛肝菌多糖后续的主要研究重点。

### 参考文献

- [1] 李娜. 泰山美味牛肝菌多糖提取纯化及功能研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2008.
- [2] 邓百万, 陈文强. 美味牛肝菌营养菌丝体与野生子实体品质分析[J]. 中国食用菌, 2004, 23(5): 44-45.
- [3] 杨立红, 刘林德, 钟旭生, 等. 野生牛肝菌多糖的分离鉴定及其抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 335-338.
- [4] 董红星, 裴健, 刘剑. 泡沫分离法的现状与研究进展[J]. 化工时刊, 2004, 18(5): 20-22.
- [5] 李志洲. 泡沫分离法优化美味牛肝菌多糖分离工艺[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 130-134.
- [6] 杜敏华, 田龙. 微波辅助法提取多糖研究[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 55-56.
- [7] 王伟平, 陈维, 韩风云, 等. 微波前处理-热水浸提美味牛肝菌胞内多糖工艺的研究[J]. 食品科技, 2012, 37(6): 232-234.
- [8] 李志洲, 邓百万, 杨海涛, 等. 美味牛肝菌多糖最佳提取工艺研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 25(3): 27-29.
- [9] CHEN H X, ZANG M, QU Z S, et al. Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide conjugates from green tea (*Camellia Sinensis*) [J]. Food chemistry, 2008, 106(2): 559-563.
- [10] FU C L, TIAN H J, CAI T Y, et al. Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin [J]. Food chemistry, 2007, 100(3): 944-947.
- [11] LUO X, XU X Y, YU M Y, et al. Characterisation and immunostimulatory activity of an  $\alpha$ -(1-6)-D-glucan from the cultured *Armillariella tabescens* mycelia [J]. Food chemistry, 2008, 111(2): 357-363.
- [12] LU M K, CHENG J J, LIN C Y, et al. Purification, structural elucidation and anti-inflammatory effect of a water-soluble 1,6 branched 1,3- $\alpha$ -D galactan from cultured mycelia of *Poria cocos* [J]. Food chemistry, 2010, 118(5): 349-356.
- [13] LIU F Y, LUO K W, YU Z M, et al. Suillin from the mushroom *Suillus placidus* as potent apoptosis inducer in human hepatoma epG2 cells [J]. Chemico-biological interactions, 2009, 181(2): 168-174.
- [14] 唐薇, 鲁新成. 美味牛肝菌多糖的生物活性及其抗 S-180 肿瘤的效应 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 1999, 24(4): 478-481.
- [15] RODRIGUEZ I, SANTAMARINA M, BOLLAIN M H, et al. Speciation of organotin compounds in marine biomaterials after basic leaching in a non-focused microwave extractor equipped with pressurized vessels [J]. Chromatogr, 1997, 774(1/2): 379-387.
- [16] YUN M S, SUN P Q. Sichuan mushroom [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 1995: 315-319.
- [17] TRINGALI C, GERACI C, NICOLOSI G, et al. An antitumor principle from *Suillus granulatus* [J]. Nat Prod, 1989, 52(4): 844-845.
- [18] FRANCISCO L, GNACIO B, FERNANDO T, et al. A New Ceramide from *Suillus luteus* and Its Cytotoxic Activity against Human Melanoma Cells [J]. Biodiversity, 2008, 5(1): 120-125.

(上接第 107 页)

- [4] 魏中华, 徐娟, 郭明霞, 等. 国内多菌灵的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(3): 125-127.
- [5] 张帅, 李永平, 邵振润, 等. 2010 年全国农业有害生物抗药性监测结果及科学用药建议[J]. 中国植保导刊, 2011, 31(4): 40-41.

- [6] 邵振润, 周明国, 仇剑波, 等. 2010 年小麦赤霉病发生与抗药性调查研究及防控对策[J]. 农药, 2011, 50(5): 385-389.
- [7] 江苏省植物保护站. 农作物主要病虫害预测预报与防治 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2006.