

# 雲芝子之多醣分離純化及其抗氧化能力分析之研究

黃鈺中、楊博文

E-mail: 321350@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

雲芝是一種常見生長於腐木上的菇蕈類，主要的活性成分為多醣，多醣含有部分的醣?式C雲芝多醣具有免疫調節的潛力，臨床上常用於輔助病症治療和傳染病。回顧許多研究雲芝之文獻中，作者常使用酒精沉澱法以及利用DEAE-Sepharose CL-6B做多醣初步分離純化，可是在酒精沉澱法上並無顯示多醣樣品濃度其回收率與純化分離效果均是疑問。另外，DEAE-Sepharose CL-6B是高價格材料，在多醣分離純化的使用上重複性並不高。因此，本研究目的是要探討酒精沉澱前雲芝子實體多醣濃度之定量，多醣回收率才會到達90%以上，並探討大洋化成WA30LL樹脂是否能取代DEAE-Sepharose CL-6B使用在雲芝多醣的初步純化分離之步驟上。實驗結果顯示雲芝子實體多醣在4.11mg/ml的濃度進行酒精沉澱，多醣回收率可達90%以上。而在初步純化分離的步驟上，WA30LL對於雲芝子實體多醣具有分離效果，可分離出八種不同的組分波?。而在清除DPPH之抗氧化活性的實驗結果，第七、八的分離組分的波?具有較高的清除率。未來，第七、八分離組分的波?可進行後續純化並進行多種生化反應及動物細胞研究。

關鍵詞：雲芝、離子交換樹脂、酒精沉澱、多醣、抗氧化能力

## 目錄

封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要iv 英文摘要 vi 誌謝 vii 目錄 viii 圖目錄 xii 表目錄 xiv 第一章 前言 1 第二章 文獻回顧 2 第一節 雲芝(Coriolus Versicolor)背景介紹 2 第二節 雲芝之功效成份介紹 4 一、腺? 4 二、雲芝多醣 5 三、雲芝多醣的生理活性 5 四、雲芝醣? 6 五、三?衛 6 第三節 萃取方法介紹 7 一、超音波輔助萃取法 7 第四節 分離方法介紹 7 一、離子交換層析法 7 第四節 離子交換樹脂類型 8 一、離子交換樹脂 8 二、凝膠樹脂 10 第六節 研究目的 14 一、酒精沉澱法 14 二、離子交換層析法 15 三、抗氧化活性 17 第三章 材料與方法 18 第一節 實驗架構 18 第二節 實驗方法 19 一、實驗材料 19 二、雲芝前處理與萃取 20 三、酒精沉澱 20 四、離子交換層析法 21 (一)前處理 21 (二)各種樹脂對多醣分離純化之影響-靜態 21 (三)不同濃度NaCl沖洗液之分餾液pH值與值與多醣分離情形 22 (四)離子交換層析動態條件分析 22 五、分析方法 23 (一)總糖 23 (二)還原糖 23 (三)多糖 23 (四)清除DPPH能力 23 (五)分子量分析 24 第四章 結果與討論 25 第一節 酒精沉澱前之樣品多醣最佳濃度探討 25 第二節 各種樹脂對多醣分離純化之影響 28 一、靜態吸附試驗之陰離子與陽離子樹脂比較 28 二、靜態吸附試驗之強鹼與弱鹼陰離子樹脂比較 30 (一)篩選出對於雲芝子實體多醣吸附與解吸率最佳之強鹼陰離子樹脂30 (二)強鹼PA308與弱鹼WA30LL在不同濃度NaCl沖洗液之分餾液pH值與多醣分離情況 32 (三)大洋弱鹼性樹脂WA30LL之動態沖洗 36 (四)針對雲芝子實體多醣在大洋樹脂WA30LL和DEAE-Sepharose CL-6B之動態層析比較 39 第三節 分餾液之分子量分析 43 第四節 清除DPPH 自由基能力測定分析 54 第五章 結論 56 參考文獻 58 附錄 61

## 參考文獻

- 1.尤蓉、余曉斌。2005。雲芝胞內多醣CVP-II的分離與初步鑑定。華南師範大學學報(自然科版)1:82-85。
- 2.李宏燕、樊君。2005。大棗多醣的水提醇沉工藝研究。寧夏工程技術4(3):265-267。
- 3.李建武、余瑞元、陳麗蓉。1997。生物化學實驗原理與方法。藝軒圖書出版社59-93。
- 4.林德祥、邱巨香、陳葉明。2005。正交試驗法優選雲芝多醣醇沉工藝的研究。南京中醫藥大學學報21(5):328-330。
- 5.婁寧、周玫、陳瑗。1996。雲芝多醣對小鼠肝腎皮和紅細胞抗氧化能力之影響。中國藥理學通訊12(5):425-426。
- 6.張衛軍、劉金福、張平平、孔保華、胡春風。2008。大孔吸附樹脂對苦瓜皂苷吸附特性的研究。食品研究與開發29(2):5-7。
- 7.黃凱煜。2009。不同萃取法對雲芝子實體的活性分析比較研究。大葉大學。
- 8.羅祖友、陳根洪、鄭小江、吳謀成。2009。藤茶多醣AGP-3的分離純化與結構的初步鑑定。時珍國醫國藥20(7)。
- 9.Chan, Siu-Lung; Yeung, John H.K. 2006. Polysaccharide peptides from COV-1 strain of *Coriolus versicolor* induce hyperalgesia via inflammatory mediator release in the mouse. *Life Sciences*, 78(21):2463-2470.
10. Ho, C. Y., Lau Clara B.S., Kim C.F., Leung K.N., Fung K.P., Tse T.F., Chan Helen H.L., Chow Moses S.S. 2004. Differential effect of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on cytokine production by murine lymphocytes in vitro. *International Immunopharmacology*. 4(12):1549-1557.
11. Jian Cui, Yusuf Chisti 2003. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production. *Biotechnology Advances* 21(2003)109-122.
12. Jime?nez-Medina, E., Berruguilla, E., Romero, I., Algarra, I., Collado, A., Garrido, F., Garcia-Lora, A. 2008. The immunomodulator PSK induces in vitro cytotoxic activity in tumour cell lines via arrest of cell cycle and induction of apoptosis. *BMC cancer* 8: 78.
13. Li X.L., Zhou A.G., Han Y. 2006. Anti-oxidation and anti-microorganism activities of purification polysaccharide from *Lygodium japonicum* in vitro. *Carbohydrate polymers* 66:34-42.
14. S.P. Li, F.Q. Yang, Karl W.K. Tsimb 2006. Quality control of *Cordyceps sinensis*, a valued traditional Chinese medicine

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41 ,1571 – 1584. 15. Tseng Y.H., Yang J.H., Mau J.L. 2008. Antioxidant properties of polysaccharides from *Ganoderma tsugae*. Food Chemistry 107:732-738. 16. Tzf-Chen Hsieh, Jan Kunicki, Zbigniew Darzynkiewicz and Joseph Wu. 2002. Effects of Extracts of *Coriolus versicolor* (L'erm-Yunity??) on Cell-Cycle Progression and Expression of Interleukins -1, -6, and -8 in Promyelocytic HL-60 Leukemic Cells and Mitogenically Stimulated and Nonstimulated Human Lymphocytes. Journal of Alternative & Complementary Medicine. 8(5):591-602. 17. Wang Zhaojing, Luo Dianhui 2007. Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide purified from *Gynostemma pentaphyllum* Makino. Carbohydrate Polymers 68:54-58. 18. Wang Zhaojing, Luo Dianhui, Liang Zhongyan 2004. Structure of polysaccharides from the fruiting body of *Hericium erinaceus* Pers. Carbohydrate Polymers 57:241-247. 19. Wang H.X., NG T.B., Liu W.K., OOI V.E.C., Chang S.T. 1996. Polysaccharide-Peptide Complexes from the Cultured Mycelia of the Mushroom *Coriolus versicolor* and their Culture Activate Mouse Lymphocytes and Macrophage. Biochem&Cell Biol. 28(5):601-607. 20. Xiao Feng Xue, Jin Hui Zhou, Li Ming Wu, Liang Hu Fu, Jing Zhao. 2009. HPLC determination of adenosine in royal jelly. Food Chemistry 115:715-719. 21. Yang Q.Y., Yong S.C. and Yang X.T. 1987. The physio-chemical characteristics of the polysaccharide-peptide (PSP) of *Coriolus versicolor* (Yun-zhi). In Report on the Polysaccharide-Peptide (PSP) of *Coriolus versicolor*, pp, 1-6, Landford Press, China. 22. Yang Bao, Wang Jinshui, Zhao Mouming, Liu Yang, Wang Wei and Jiang Yueming 2006. Identification of polysaccharides from pericarp tissues of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit in relation to their antioxidant activities. Carbohydrate Research 341:534-638.