

# 阳离子交换法分离纯化酵母细胞提取液中的谷胱甘肽

王 淼, 范崇东, 苏晓晋

(江南大学 食品科学与安全教育部重点实验室, 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

**摘 要:** 谷胱甘肽是重要的生物活性物质, 本文采用国产 D001 阳离子交换双柱(A 柱和 B 柱)对酵母细胞提取液中的 GSH 进行了分离纯化, 确定了 A、B 离子交换柱分离纯化酵母提取液中的谷胱甘肽的工艺参数为: A 柱上样的提取液 pH 为 5.5~6.0; B 柱上样液(A 柱的收集液)的 pH 为 2.4~2.8; B 柱的洗脱采用 1.2% 的 NaCl 溶液。A、B 两柱上样和洗脱液的流速均为 0.5ml/min。酵母提取液中 GSH 的回收率大于 70%, 纯化倍数大于 100 倍。

**关键词:** 谷胱甘肽; 离子交换; 分离纯化

Glutathione Isolation and Purification of Yeast Extract with Ion Exchange Resin Columns

WANG Miao, FAN Chong-dong, SU Xiao-jin

(Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** Glutathione, one of the most important biological active substance plays a central role in metabolic pathways of live

收稿日期: 2006-10-31

作者简介: 王淼(1962-), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品生物技术。

$y = -1359.2 + 376.1813X_1 + 14.25125X_2 - 197.5417X_3 - 31.23958X_1X_2 - 0.209271X_2X_3 + 3.125X_2X_3 + 163.5417X_3X_2$

模型显著性检验表明,  $Pro > F_{失拟} = 0.1982$ ,  $Pro > F_{方程} = 0.0001$ 。所以该模型失拟不显著, 回归显著。回归方程的确定系数  $R^2$  为 0.9968, 表明模型与实际情况拟合和很好。

利用 matlab 求解方程最大值, 当初始 pH 值为 6.02、温度为 36.4℃、麸皮含量为 0.31% 时, 发酵液菌体浓度最高, 为  $4.49 \times 10^9$  CFU/ml。为了检验模型的准确性, 在最佳发酵条件下进行发酵实验, 所得实际发酵液菌体浓度为  $4.35 \times 10^9$  CFU/ml, 表明所得的模型有一定的实验指导意义。

### 3 结 论

采用 Plackett-Burman 试验设计方法, 筛选出了影响纳豆菌发酵的三个显著因素: 初始 pH 值、发酵温度和麸皮含量。通过最陡爬坡法有效地逼近最大响应区域。然后, 利用响应面法建立了影响纳豆菌增殖的显著因素的数学模型, 对该模型方程的求解得最优发酵工艺: 初

始 pH 6.02, 发酵温度 36.4℃, 麸皮 0.31%。经验证, 在此条件下, 发酵液菌体浓度为  $4.35 \times 10^9$  CFU/ml。该结果为提高豆渣附加值、生产纳豆菌生态制剂提供了理论依据。

### 参 考 文 献:

- [1] 藤井久雄. 纳豆菌による粘物質の生成に関する研究[J]. 日本醸造協会志, 1987, 82(4): 66-72.
- [2] 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8版. 北京: 科学出版社, 1984: 792-735.
- [3] 王发祥, 钟青萍, 钟士清. 纳豆菌的研究和应用[J]. 广州食品工业科技, 2003, 19: 93-95.
- [4] 钟青萍, 王发祥, 钟士清, 等. 纳豆菌微生态制剂的稳定性研究[J]. 食品科学, 2006, 27(3): 133-136.
- [5] 钟青萍, 王发祥, 刘家畅, 等. 纳豆菌活菌干燥制剂的研制[J]. 食品科技, 2005, 26(8): 78-81.
- [6] 张振山, 叶素萍, 李泉, 等. 豆渣的处理与加工利用[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 400-406.
- [7] MONTGOMERY D C. Design and analysis of experiments[M]. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1991.
- [8] 王萍. 纳豆激酶的分离纯化及溶栓活性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2005.

organisms. In this paper, A, B two cation ion-exchange columns were used to isolate and purify of GSH from yeast extract. The technology parameters of both A and B were: for column A, sample pH 5.5~6.0, for column B, sample pH 2.6~2.8, column B eluate 1.2% NaCl. The recovery rate of GSH is more than 70%, while the GSH has been purified more than 100 times.

**Key words** glutathione (GSH); ion-exchange isolation and purification

中图分类号: Q939.97

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0211-07

谷胱甘肽(简称GSH)是一种活性三肽。作为机体内重要的生物活性巯基物质, GSH对于维持生物体内合适的氧化还原环境起着至关重要的作用。自1921年Hopkins首先发现GSH以来, 科学家们着重研究它在各种生物体内的生理作用。GSH具有维持红细胞膜的完整性、DNA的生物合成、细胞的正常生长以及细胞免疫等多种生理功能。临床上, 谷胱甘肽可以用于迅速提高机体免疫力, 在抗氧化、抗辐射、清除自由基、解毒、促进铁质吸收等方面具有良好的效果且无副作用; 在食品加工领域, 谷胱甘肽具有增强食品营养价值和强化食品风味等功能<sup>[1]</sup>。

GSH的制备方法有化学法、酶法和发酵法, 其中发酵法是最具潜力的方法<sup>[2]</sup>。谷胱甘肽的分离纯化是发酵法生产工艺中最重要的部分之一。从细胞中提取GSH得到的提取液中常常含有大量的蛋白质、氨基酸、肽等多种杂质, 要得到纯度较高的谷胱甘肽需要进行分离纯化。以往GSH的分离纯化在我国多采用铜盐法, 该法存在效率低, 需要H<sub>2</sub>S气体, 对环境污染大等缺点。由于GSH是在一定条件下带电荷的三肽, 利用离子交换法分离纯化谷胱甘肽是一种有效的途径, 在这方面日本学者研究较多, 已有专利报道<sup>[3-7]</sup>, 国内在这方面的研究报导不多, 特别是对于适合大规模工业化生产的方法缺乏深入的研究, 无法指导工业生产。本研究采用两步离子交换法, 通过第一步离子交换除去部分杂质; 第二步集中纯化GSH。这些研究希望能对GSH的规模化生产提供帮助。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

产朊假丝酵母(*Candida utilis*) WSH 02-08 GSH积累株 江南大学生物工程学院环境生物技术研究室提供; D001阳离子交换树脂 西安蓝深交换吸附材料有限责任公司提供, 采用常规的处理方法处理成H型待用; DTNB、98%GSH Sigma公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 谷胱甘肽提取液的制备

热水抽提法, 见参考文献[8]。

#### 1.2.2 离子交换固定床对谷胱甘肽的分离纯化

A、B两柱均为2.6×20mm的D001阳离子交换柱。

双柱法。提取液调节pH, 以一定速度流入柱A中, 直到GSH流出量恒定, 收集出峰部分的流出液, 上柱B, 在穿漏前停止进样, 用去离子水进行洗涤, 直到洗涤液中无GSH和蛋白质流出, 用洗脱液进行洗脱, 分部收集测定。

#### 1.2.3 GSH的含量分析

改良的DTNB法, 参见文献[9]。

#### 1.2.4 蛋白质的含量分析

紫外分光光度法, 参见文献[10]。

## 2 结果与分析

### 2.1 固定床离子交换柱分离GSH

采用固定床阳离子离子交换柱分离GSH时, 随着上样液的不加入, 流出曲线中出现了GSH的洗脱峰(见图4), 说明样品中存在一些交换能力比GSH强的物质。由于酵母提取液中含有大量的蛋白质、肽和氨基酸等, 它们都会与GSH竞争离子交换, 初步实验表明, 采用常规的离子交换法从酵母细胞提取液中分离GSH, 如果在GSH的漏点就开始洗涤和洗脱交换柱, 柱效率很低。本研究考虑采用A和B两柱来分离纯化GSH。首先A柱上样至出现GSH的洗脱峰并收集得到浓缩的GSH洗脱区域。利用第一个离子交换柱(A柱)除去了部分不吸附的蛋白质和吸附能力比GSH强的物质, 使得后期的GSH的分离更容易。然后将收集到的富含GSH的A柱流出液在B柱上进行吸附和洗脱, 使GSH得到进一步的纯化。

A柱的目的是为了去除部分杂蛋白质, 使GSH得到浓缩。在收集富含GSH的流出液时收集哪一部份样品对B柱的吸附和分离有非常重要的影响。本研究分别收集了A段(漏点到GSH峰最高点)、B段(GSH流出峰最高点到半峰高度)、C段(半峰高到出峰)溶液, 在B柱上进行分离研究, 从图1的实验结果可以看出, A段中的GSH在B柱上有较好的吸附效果, 吸附量大大增加, 没有GSH的替代峰, 说明可能A收集段溶液中交换能力强的物质基本被除去, GSH的流出曲线和单一物质的样品的交换穿透曲线一致。C段和B段都有GSH的洗脱峰, C段收集物更为明显, 这表明B和C中仍然有未能分离的交换能力比GSH强的物质存在, 本文研究了A段收集液在B柱上的分离条件。

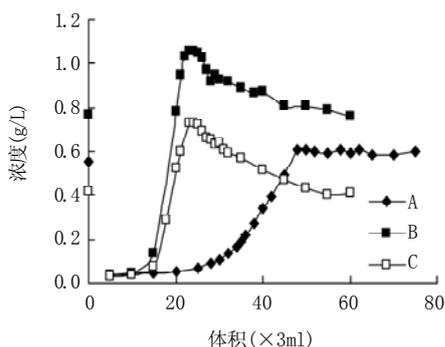
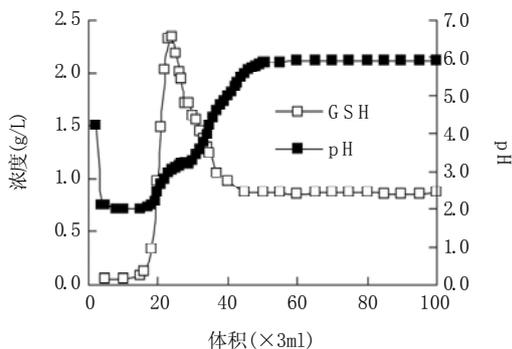
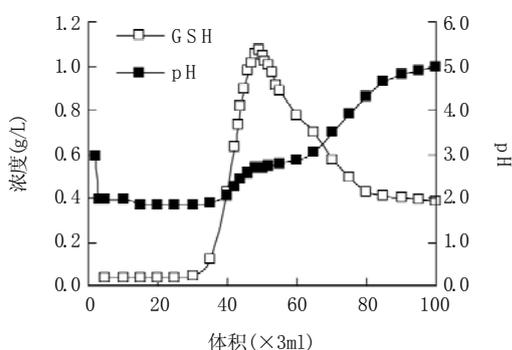


图1 不同收集段样品在B柱上吸附的比较

Fig.1 Adsorption of different eluting fractions of column A on the column B



上图GSH的上样浓度为1.0g/L; 下图GSH的上样浓度为2.0g/L.

图2 上柱过程中pH的变化曲线

Fig.2 pH value curves of the elute in ion exchange process

为了使工业生产中更方便控制A柱流出液的收集区间, 本研究还检测了A柱流出液的pH值, 图2的结果表明, 随着样品的不断加入, 由于离子的交换不断改变了流出液的pH, 从pH变化曲线可以看出交换主要分为两个阶段: 即GSH的交换阶段和GSH的洗出阶段。流出曲线中pH两个变化阶段中间出现了一个平台, 即GSH被交换出来的阶段, 该过程流出液pH相对恒定, GSH交换完成后流出液的pH逐步接近接近上样溶液的pH。由于pH的连续在线测定是可行的, 所以可以通过pH的即时监控得到收集样品的区间。

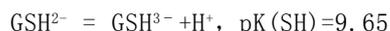
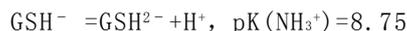
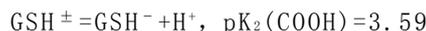
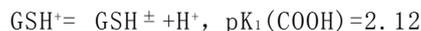
### 2.2 A柱吸附条件的研究

影响离子交换树脂上柱条件的因素很多, 流速、

pH、样品的上柱浓度、柱高等对固定床离子交换柱的分离效果有着显著的影响, 下面就对这些因素进行研究。

流速是影响离子交换吸附的重要条件, 较快的流速不利于吸附的进行, 理论上讲流速越慢吸附进行的越完全。图4A是流速对GSH在A柱吸附的影响。由于GSH分子量较小, 分子扩散速度快, 因此流速对吸附起始差异不大, 但0.5ml/min时的出峰更集中, 有利于收集和后续工作, 故应采用较低的流速。

pH影响着溶液中各种物质的带电性质, 对离子交换有较大的影响。离子交换pH的选择与GSH的pI有关。对于GSH的等电点这一特征性参数, 一些文献资料的报道相差较大, 有的文献报道的是5.96<sup>[11]</sup>, 而另一些文献则是2.83<sup>[12]</sup>。两者似乎都是通过不同的方法计算出来的。根据GSH游离酸碱基团的pKa值: NH<sub>3</sub><sup>+</sup> 8.66; COOH 3.53; COOH 2.12; 巯基 9.2。GSH在溶液中存在复杂的解离平衡:



GSH<sup>±</sup>是等电pH时的主要存在形式, 从理论近似计算,

$$pI = [pK_1(COOH) + pK_2(COOH)] / 2 = 2.86$$

又根据Handerson-Hasselbalch公式: pH = pK' +

$$\lg \frac{[\text{质子受体}]}{[\text{质子供体}]}$$

在一定pH条件下各种离子的解离分率(见图3)。

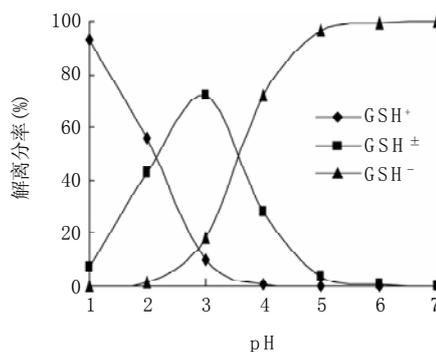


图3 谷胱甘肽溶液的解离曲线

Fig.3 Curves of GSH dissociation in solution

从图3可以看出当pH为1~2时, 溶液中以GSH<sup>+</sup>占绝对优势, 最高分率占到93%左右; 当pH3左右时, 溶液中以GSH<sup>±</sup>占优势, 约为72%; 当pH7时, 溶液中以GSH<sup>-</sup>占绝对优势, 几乎达100%。

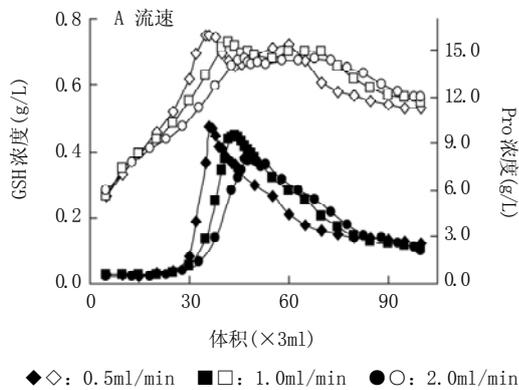
GSH在溶液中存在一定的构象, 分子内的酸碱基团之间以及分子间的酸碱基团之间的相互作用是否会影响GSH的pI, 目前笔者还没有得到有效证据。在目标物

pI 不能确切得知, 样品体系又非常复杂的情况下, 特别是在低 pH 时, 大多数氨基酸、肽等杂质也是带正电荷, 阳离子交换时上样的 pH 需要仔细摸索。

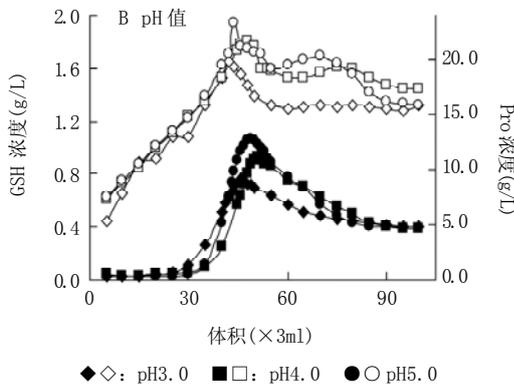
图 4B 是分别采用 pH3.0、4.0、5.0 的样品进行上柱比较, 实验结果表明, 该阳离子交换树脂在三种不同的 pH 条件下对 GSH 的交换性能差别不大。但 pH5.0 的穿透最慢, GSH 的出峰最高, 表明 GSH 在替代前初始吸附量更大。

图 4C 为不同浓度的起始上样液的离子交换情况, 从图 4C 中可以看出, 较高浓度的上样液, GSH 的出峰早而且集中, 这在生产中如果采用较高浓度的上样液可以节约时间。

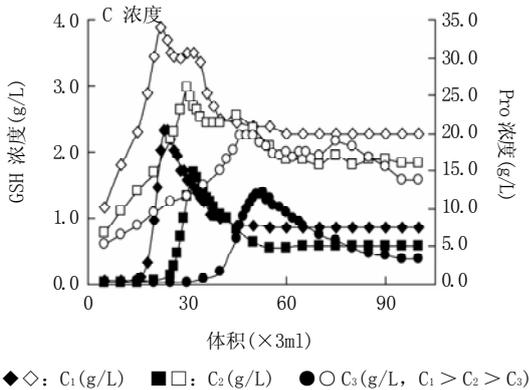
离子交换固定床高度较高时, 树脂用量大, 吸附量大, 但是吸附量和树脂量之间不是严格的正比关系。



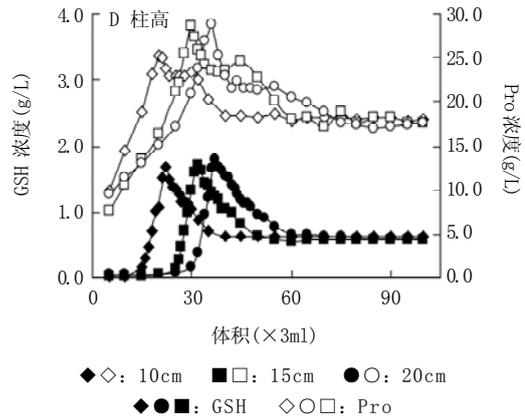
◆◇: 0.5ml/min ■□: 1.0ml/min ●○: 2.0ml/min



◆◇: pH3.0 ■□: pH4.0 ●○ pH5.0



◆◇: C<sub>1</sub>(g/L) ■□: C<sub>2</sub>(g/L) ●○ C<sub>3</sub>(g/L, C<sub>1</sub> > C<sub>2</sub> > C<sub>3</sub>)



◆◇: 10cm ■□: 15cm ●○: 20cm  
◆●■: GSH ◇○□: Pro

影响因素依次为: 流速、pH、浓度、柱高。

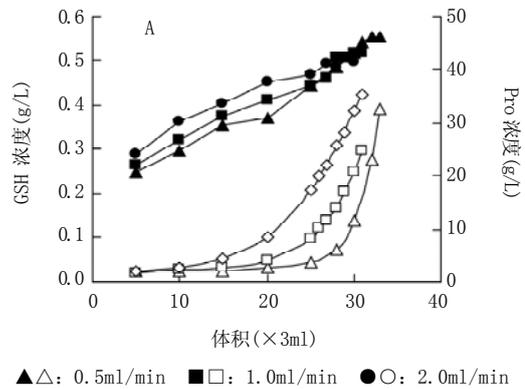
图 4 上柱条件对 A 柱离子交换的影响

Fig.4 Effects of ion exchange conditions on ion exchange efficiency of A column

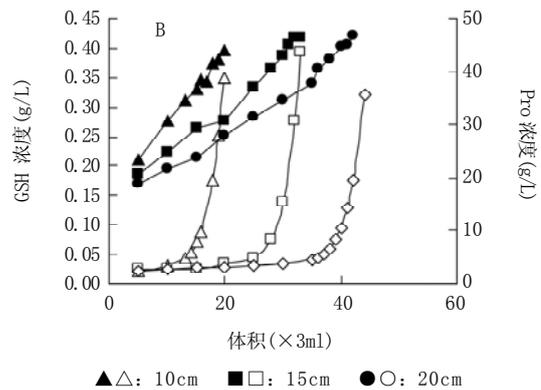
图 4D 中 10、15、20cm 的柱高的吸附表现出相似的规律。从图 4D 中可以看出 20cm 时峰顶浓度比较高, 同时出峰稍显集中, 高的床层有利于分离。但是柱高增加会造成一定的分子筛效应, 使得保留时间长, 引起峰形扩散, 操作压力增大, 图中峰形相似, 没有明显的扩散。

### 2.3 B 柱上样条件的研究

本研究采用不同的上样流速(0.5、1.0、2.0ml/min)对 B 柱的吸附情况进行了研究。不同流速下, GSH 的



▲△: 0.5ml/min ■□: 1.0ml/min ●○: 2.0ml/min



▲△: 10cm ■□: 15cm ●○: 20cm

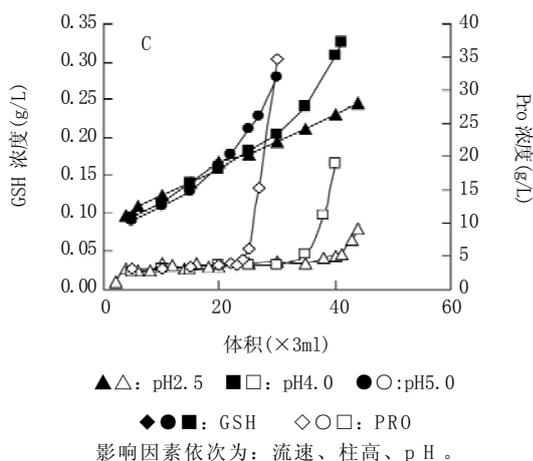


图5 上柱条件对B柱离子交换的影响  
Fig.5 Effects of flow velocity on ion exchange efficiency of column B

流出曲线是很相似的(见图5A)。较低流速对交换吸附有利, GSH 吸附增大, 较高的流速不利于吸附, 尤其是速度大于 1.0ml/min 时 GSH 很快流出, 不利于提高回收率和树脂的吸附效率。所以实验采用 0.5ml/min 为较优的吸附条件。

柱高也影响吸附和分离效果的一个重要因素。不同的柱高意味着不同的树脂量, 决定了不同的吸附量, 实验结果也表明柱高越高, 吸附 GSH 的量也相应增加。所以 B 选择怎样的柱高主要应考虑对洗脱的影响来决定。

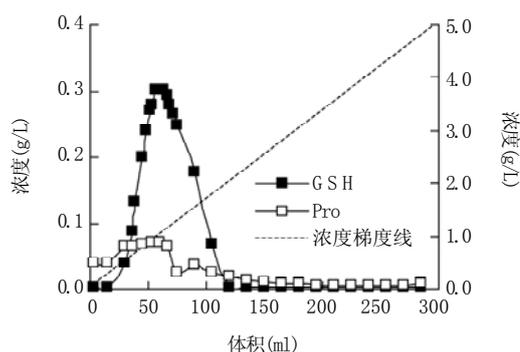
通过 A 柱的分离, 由于离子交换的发生, GSH 将树脂中的 H<sup>+</sup> 替换到溶液中, A 柱收集液的 pH 在 2~3 之间, 实验通过调节 pH 到 4、5、5.5 分别进行实验, 结果表明调节后溶液的吸附量没有提高。因此, 在 B 柱进行交换和吸附的过程中采用 pH2~3 的 A 柱洗脱液直接上样。

#### 2.4 B 柱洗脱条件的研究

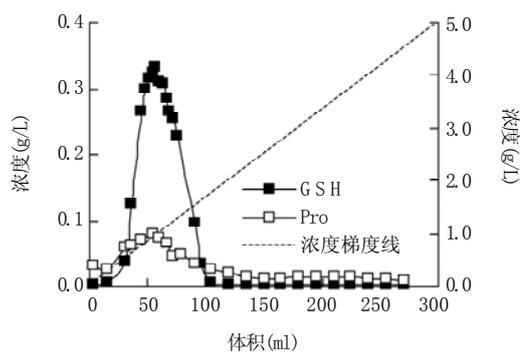
##### 2.4.1 洗脱剂对 B 柱洗脱的影响

要取得较好的分离纯化的效果, 选择优良的洗脱条件尤为重要, 首先必须确定采用哪一种洗脱剂。常用的洗脱剂有酸、碱、盐等。实验分别采用 5% 的 NaCl、NaOH、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、HCl 等进行洗脱的研究, 结果见如图 6。

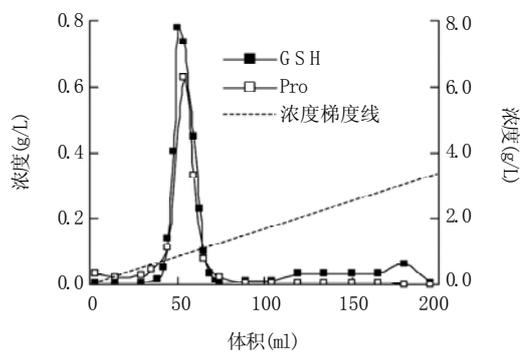
由图 6 D 的实验结果可见, 碱性洗脱洗脱峰很集中, 和国外有关报道一致, 但是蛋白质的洗脱也比较集中, 和 GSH 同时洗出, 由于在较高的 pH 条件下, 远离被吸附物质的等电点, 大多数物质带负电荷, 所以很容易被洗脱。此外由于 GSH 在碱性条件下不稳定, 故不宜采用碱性洗脱。而其他几种洗脱剂的 GSH 梯度洗脱曲线相似。特别是 HCl 和 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的洗脱曲线几乎一样, 与 NaCl 洗脱相比, 酸性洗脱在 GSH 流出时蛋白质浓度要高一些, 采用 NaCl 洗脱时 GSH 的出峰更集中一些。故可选择 NaCl 作为洗脱剂进行梯度洗脱。



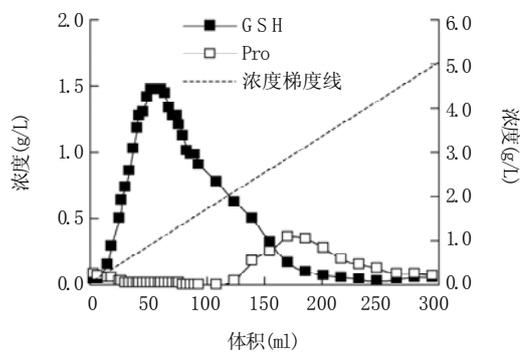
A. HCl 洗脱



B. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 洗脱



C. NaOH 洗脱



D. NaCl 洗脱

图6 不同洗脱剂梯度洗脱曲线  
Fig.6 Eluting curves of different eluants

##### 2.4.2 洗脱条件对 B 柱洗脱的影响

由于工业生产中很难采用线性梯度洗脱, 因此必需

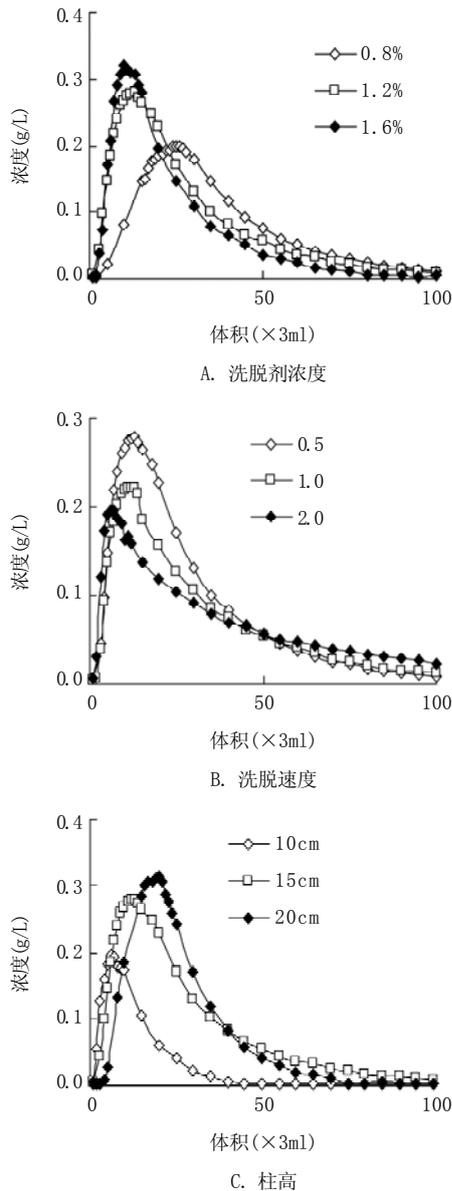


图7 洗脱条件对B柱洗脱的影响

Fig.7 Effects of the eluting conditions on eluting efficiency of column B

选择洗脱剂的浓度, 本研究选取了三种浓度, 对洗脱进行进一步的研究, 实验结果如图7A。结果表明, 在三种不同浓度的洗脱剂都可以使GSH洗出, 但是出峰位置有很大差别, 浓度较低的情况下, 出峰较晚, 而且峰形比较平缓, 但浓度为1.2%时出峰集中, 更高浓度(1.6%)洗脱时峰的变化不大, 过高的浓度会使得流出液中盐浓度较大, 所以实验选用1.2% NaCl作为理想的洗脱剂浓度。

流洗的速度对洗脱效果有明显的影 响, 图7B的实验结果显示洗脱一开始就有GSH流出, 但是洗脱的速度越快洗脱越不完全, GSH的峰形也变得更加平缓, 这样不利于提高GSH的回收率和浓度, 而较慢速度的洗

脱使吸附的GSH尽可能集中的洗脱下来, 取得较好的效果, 考虑到时间因素, 洗脱速度也不宜过慢, 建议洗脱速度为0.5ml/min(相当于线速度0.382m/h)。

柱的高度(床层高度)是又一个对洗脱效果有重要影响的因素。实验结果(图7C)表明柱高越高, 柱中树脂量越大, 吸附的GSH越多, 出峰高度越高, 吸附研究表明柱高对吸附效果没有明显影响, 所以柱高的选择主要取决于洗脱和工艺条件的限制。单从洗脱结果来看柱的高度越大越理想, 但是在工业生产中, 过高的柱高会使得柱压力增大。

将以上获得的A、B两柱的分离条件应用于产假丝酵母提取液总GSH的分离纯化结果见表1。实验结果表明, 从产品纯度和树脂的利用效率来讲, AB两柱的方法明显优越于单柱, 虽然AB两柱法有两次上柱操作, 使得产品的回收率稍低, 但产品的纯度大大提高。

表1 GSH在D001离子交换单柱和AB双柱上的分离纯化数据  
Table 1 Data of GSH separation and purification on D001 ion exchange column A and AB

	单柱	A	B
上样GSH浓度(g/L)	1.17	1.17	2.57
上样Pro浓度(g/L)	17.68	17.68	17.79
上样体积(ml)	99.00	165.00	60.00
收集GSH浓度(g/L)	0.94	2.57	1.40
收集Pro浓度(g/L)	0.31	17.79	0.22
收集溶液总体积(ml)	120.00	66.00	104.00
回收率(%)	89	88	83
AB的总回收率(%)			73.2
浓缩倍数	0.74	2.20	1.06
纯化倍数	65.26	2.5	40.9
AB的总纯化倍数			102.3
树脂效率(%)	41.1		53.7

### 3 结论

本文通过对影响酵母提取液中的GSH在固定床离子交换柱A、B上吸附和洗脱条件的研究, 确定了A、B离子交换柱分离纯化酵母提取液中的谷胱甘肽的工艺参数为: A柱上样的提取液pH5.5~6.0(提取液原始pH); B柱上样液(A柱的收集液)的pH2.4~2.8; B柱的洗脱采用1.2%的NaCl溶液。A、B两柱上样和洗脱液的流速均为0.5ml/min。酵母提取液中GSH的回收率大于70%, 纯化倍数大于100倍。

### 参考文献:

- [1] PENNINGCKX M. A short review on the role of glutathione in the response of yeast to nutritional, environmental, and oxidative stresses [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2000, 26(9/10): 737-742.
- [2] LIN J P, LI H Z, LI Y, et al. Biosynthesis of glutathione [J]. *Chinese Journal of Pharmaceuticals*, 2000, 31(5): 236-239.
- [3] 野口真夫. 谷胱甘肽的精制法: 日本, 52100421 [P]. 1977.

# 酶法提取、超滤分离香菇多糖新工艺研究

谢红旗, 周春山\*, 杜邵龙, 周尽花  
(中南大学化学化工学院, 湖南 长沙 410083)

**摘要:** 采用中性蛋白酶辅助水提法提取香菇多糖, 利用超滤膜分离多糖, 研究了酶法提取条件和超滤膜及分离参数的选择。结果表明, 中性蛋白酶在 pH4.8, 温度 50℃, 处理时间 60min 条件下, 能有效提高多糖的提取率, 降低杂质蛋白质的含量。采用截留分子量为 50、300kD 陶瓷超滤膜, 在温度 35℃, 压力 0.15MPa 的中性环境下, 能有效浓缩香菇多糖提取液, 并将多糖分级为三部分: 不含蛋白质的小分子量多糖、含少量蛋白质的中等分子量多糖和含大量蛋白质的大分子量多糖。

**关键词:** 香菇多糖; 中性蛋白酶; 酶处理; 超滤; 分级

Study on Enzymatic Extraction and Ultrafiltration Separation of Lentinan

XIE Hong-qi, ZHOU Chun-shan\*, DU Shao-long, ZHOU Jing-hua  
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

**Abstract:** A new lentinan extracting technology from lentinus edodes was developed with neutral proteinase, and the separation of lentinan by microfiltration was studied as well. The crude powder of lentinus edodes was treated by neutral proteinase before extraction in water. The optimized enzyme-based extraction conditions are as follows: treatment temperature 50℃, pH value of extraction media 5.0, extraction time 60 min and mass ratio of enzyme to lentinus edodes 1.5:100. Comparing with traditional extracting technology by water, the extraction yield of lentinan increases 40%, and the concentration of protein decreases 50% with the enzyme-based extracting technology. With two kinds membrane molecular weight cut-off 50 kD and 300 kD, the lentinan is separated into three parts: the small molecular weight polysaccharides without protein, the middle molecular weight polysaccharides with a little protein, and the large molecular weight polysaccharides with large amount of protein. The optimized separation conditions of ultrafiltration are as follows: temperature 35℃, pH value 7 and pressure 0.15MPa.

**Key words** lentinan; neutral proteinase; enzyme treatment; ultrafiltration; classify

中图分类号: Q939.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0217-03

近些年来, 研究表明香菇多糖具有广泛的药理学活性, 如免疫调节作用、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化作用、对化学物质所致肝损害具有保护作用等<sup>[1-2]</sup>, 并对其提取、分离纯化方法及其组成结构分析和药理活性

进行了大量的研究<sup>[3]</sup>。目前, 在市场上有香菇多糖的产品出售, 但其纯度较低, 主要含有大量蛋白质杂质, 且产品的分子量分布很宽, 影响了产品的生物活性。采用超滤膜分离多糖已有报道<sup>[4-5]</sup>, 但研究的重点是用超

收稿日期: 2006-02-28

\*通讯作者

作者简介: 谢红旗(1974-), 男, 博士, 主要从事天然产物活性成分的提取与分离研究。

- [4] 牧春彦, 今井敏. 谷胱甘肽的精制方法: 日本, 61027999[P]. 1986.  
[5] 牧春彦, 富田秀树. 谷胱甘肽的精制方法: 日本, 62246594[P]. 1987.  
[6] 盐见道夫, 木下格. 谷胱甘肽的精制方法: 日本, 62283994[P]. 1987.  
[7] 渡边幸一, 等. 谷胱甘肽的精制法: 日本, 06056884[P]. 1994.  
[8] 范崇东, 王淼, 徐榕榕. 热水提取酵母中谷胱甘肽的条件优化[J]. 食品工业科技, 2004, 25(2): 132-134.  
[9] ELLMAN G.L. A calorimetric method for determining low concentrations

- of mercaptans[J]. Arch of Biochem & Biophys, 1959, 82: 70-77.  
[10] 林加涵, 魏文铃, 彭宣宪. 现代生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.  
[11] 王辉, 冯万祥. 含汞树脂分离提纯谷胱甘肽[J]. 华东理工大学学报, 1996, 22(6): 717-721.  
[12] GOTOH T, IGUCHI H, KIKUCHI Ken-ichi. Separation of glutathione and its related amino acids by nanofiltration[J]. Biochemical Engineering Journal, 2004, 19: 165-170.