

## 香菇多糖的超滤分离及保润性能研究

邹鹏<sup>1</sup>, 周骞<sup>2</sup>, 戴魁<sup>1</sup>, 郭东锋<sup>1\*</sup>, 舒俊生<sup>1</sup>, 徐峻<sup>1</sup>

(1. 安徽中烟工业有限责任公司技术中心, 合肥 230088; 2. 安徽三联学院, 合肥 230601)

**摘要:** 采用溶剂提取法从香菇中提取香菇多糖, 通过酶解法和 Seveg 法除去多糖中的蛋白质, 得到香菇精多糖。通过超滤分离手段将香菇多糖按照分子量大小分成 4 个组分, LE<sub>1</sub>、LE<sub>2</sub>、LE<sub>3</sub> 和 LE<sub>4</sub>。将 4 种香菇多糖以不同重量比添加到烟丝中, 分别测量其在 30% 和 80% 湿度下的平衡含水率, 表征其物理保润性能。结果表明, 添加香菇多糖能明显提升烟丝在干燥环境下的平衡含水率, 并降低潮湿环境下的平衡含水率。随着香菇多糖分子量的增加, 其在潮湿环境下的防潮性能不断提升, 而干燥环境下的保湿性能先增加后降低。

**关键词:** 香菇多糖; 超滤; 大分子保润剂

中图分类号: TS452.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2016)06-1029-04

### The ultrafiltration isolation of lentinan and its moisture retention characteristics

ZOU Peng<sup>1</sup>, ZHOU Qian<sup>2</sup>, DAI Kui<sup>1</sup>, GUO Dongfeng<sup>1</sup>, SHU Junsheng<sup>1</sup>, XU Jun<sup>1</sup>

(1. Technology Center of China Tobacco Anhui Industrial Co., Ltd., Hefei 230088; 2. Anhui Sanlian University, Hefei 230601)

**Abstract:** Lentinan was extracted from *Lentinus edodes* through solvent extraction and purified using the enzymolysis and Seveg methods. Subsequently, lentinan was divided into four divisions, LE<sub>1</sub>, LE<sub>2</sub>, LE<sub>3</sub> and LE<sub>4</sub>, using ultrafiltration method and they were added to a blank tobacco with a certain proportion. The equilibrium moisture content of tobacco under 30% and 80% humidity conditions was measured. The results showed that the equilibrium moisture content of tobacco under the 30% humidity condition increased greatly, but it reduced under the 80% condition. With the increase of molecular weight of lentinan, the dampproof property of humectant improved significantly under the humid environment; however, the moisturizing property of lentinan showed a trend of increasing firstly and then decreasing under the dry environment.

**Key words:** lentinan; ultrafiltration; macromolecular humectant

卷烟在不同地区销售时, 往往存在保润方面的问题, 这限制了中式卷烟的发展。因此在卷烟加工过程中, 需要加入烟草保润剂<sup>[1]</sup>。烟草保润剂既可以改善烟丝的柔韧性和耐加工性能, 也能保持烟丝水分不易变化, 从而改善卷烟品质<sup>[2]</sup>。目前常用的烟草保润剂为丙二醇、丙三醇、山梨醇等小分子<sup>[3]</sup>, 但小分子化合物往往存在保湿性能较差, 化学气息较为彰显的缺陷, 因此需要开发出品质更好的保润剂来满足产品需求<sup>[4]</sup>。天然多糖大分子保润剂含有较多的羟基, 亲水性能较好, 是目前研究较多的新型烟草保润剂<sup>[5]</sup>。胡有持等<sup>[6]</sup>从海藻羊栖菜中提取

多糖添加到卷烟中, 杨君等<sup>[7]</sup> 和黄芳芳等<sup>[8-9]</sup>从裂片石莼、龙须菜、卤地菊等植物中提取多糖制备成烟草大分子保润剂。目前针对植物天然多糖制备烟草保润剂的研究较多, 而针对另一类天然多糖如真菌多糖的烟用研究则相对较少。常见的真菌多糖如香菇多糖、灵芝多糖<sup>[10]</sup>和银耳多糖<sup>[11]</sup>等, 在医药、食品等领域得到了广泛的研究和应用, 但在烟草中的开发应用相对较少。本研究以天然香菇为原料, 提取并分级制备香菇多糖大分子, 研究它们在卷烟保润中的应用。

收稿日期: 2016-04-07

基金项目: 中式卷烟增香保润重大专项“通过加香加料提升膨胀烟丝使用价值”(110201201014 (BR-08)) 和安徽中烟公司项目“聚合物、生物大分子及其衍生物在卷烟增香保润中应用(20111002)”共同资助。

作者简介: 邹鹏, 博士, 工程师。E-mail: zoupeng@mail.ustc.edu.cn

\* 通信作者: 郭东锋, 博士, 高级农艺师。E-mail: gdf0221@163.com

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

香菇为安徽黄山野生香菇干品;乙醇、石油醚、丙酮、氯仿和正丁醇为分析纯,购自中国上海国药集团;木瓜蛋白酶规格为 $\geq 15 \text{ units} \cdot \text{mg}^{-1}$ ,购自中国 Aladdin 试剂公司。

AL204-1C 型电子分析天平(感量:0.0001 g,瑞士 Mettler Toledo 公司);RE-52AA 型旋转蒸发仪和 SHZ-III 型真空泵(上海亚荣生化仪器厂);Cijector-01 型烟用加香注射机(德国 Burghart 公司);恒温恒湿箱(德国 Binder 公司);电热恒温水浴锅(金坛市晶玻实验仪器厂);高速中药粉碎机(瑞安市永历机械有限公司);烟用加料泵(EasyPrep Pump);电热鼓风式干燥箱(天津华北实验仪器公司);超滤系统(上海朗极化工科技有限公司,超滤滤膜截留分子量分别为 100 kDa, 30 kDa, 10 kDa);微孔滤膜(孔隙 0.45  $\mu\text{m}$ ,上海半岛实业有限公司)。

使用的样品卷烟烟丝为未加香料的空白叶组,由国内主产区烟叶配方组合而成。

### 1.2 方法

将香菇子实体在烘箱中 60 $^{\circ}\text{C}$  下干燥 6 h,粉碎得到香菇粗粉。200 g 香菇粗粉放置在 1 L 的烧瓶中,加入 400 mL 的丙酮/石油醚混合溶液,在 40 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌加热 2 h,分离出提取液,得到除蜡质的香菇产物。将去蜡质的粗粉加入到 1 L 的烧瓶中,加入 400 mL 的 75% 酒精,在 40 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌加热 2 h,分离去除提取液,重复 2 次,得到精制香菇粉。将精制后的香菇粉加入到烧瓶中,加入 400 mL 的去离子水,在 50 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌加热 2 h,重复 2 次,分离并合并提取液。在减压下浓缩提取液至 100 mL,将溶液滴加到 500

mL 的 99% 乙醇中,得到淡棕色沉淀物,产物为粗香菇多糖,产率为 14.6%。

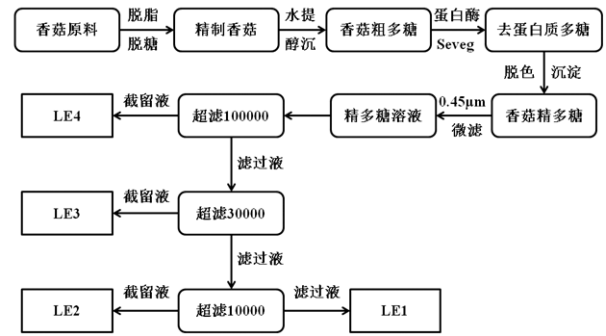


图 1 香菇多糖制备及分离方法

Figure 1 Extraction and fractionation methods of lentinan

将粗多糖溶解在以 5‰ 的浓度溶解在水中,加入一定量木瓜蛋白酶,在 40 $^{\circ}\text{C}$  下反应 4 h 后,加热至 100 $^{\circ}\text{C}$  反应 1 h,过滤掉不溶物后,在水中加入氯仿和正丁醇溶液,采用 Seveg 法除去剩余的蛋白质成分,重复操作 3 次,得到除蛋白质的多糖溶液。加热条件下加入少量活性炭,至溶液基本无色为止,过滤活性炭后,将剩余的水相物质浓缩并加入到过量乙醇中沉淀,抽滤得到多糖粉末。重复水溶醇沉 2 次,最终得到精制后的香菇多糖产物。

将香菇多糖溶解在水中,先使用 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤,再分别使用 100、30 和 10 kDa 的超滤滤膜进行膜分离,分别得到相对分子量 >100 kDa、30~100 kDa、10~30 kDa 和 <10 kDa 的分离液,将分离液浓缩后,加入到过量的 99% 乙醇中,沉淀得到相应的香菇多糖精多糖产物 LE<sub>1</sub>、LE<sub>2</sub>、LE<sub>3</sub> 和 LE<sub>4</sub>。将得到的多糖组分冷冻干燥,测得各样品的收率,结果如表 1 所示。

表 1 不同分子量的香菇多糖保润剂

Table 1 Lentinan humectants with different molecular weight

编号 No.	分子量范围/kDa Molecular weight range	样品收率/% Yield of each fraction	添加量 Addition amount
LE <sub>1</sub>	<10	38.72	以 0.1‰、0.2‰ 和 0.5‰ 的重量比添加到空白烟丝中
LE <sub>2</sub>	10~30	3.68	以 0.1‰、0.2‰ 和 0.5‰ 的重量比添加到空白烟丝中
LE <sub>3</sub>	30~100	7.34	以 0.1‰、0.2‰ 和 0.5‰ 的重量比添加到空白烟丝中
LE <sub>4</sub>	>100	50.26	以 0.1‰、0.2‰ 和 0.5‰ 的重量比添加到空白烟丝中

多糖产物中的总糖含量测定采用苯酚-硫酸法<sup>[12]</sup>。多糖产物中的蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法<sup>[13]</sup>。

将平衡好的烟丝分别放置在温度 22 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度分别为 30% 和 80% 的环境中平衡,至烟丝质量不再变

化后,取出烟丝测量其平衡含水率。平衡含水率的测量方法为烟草行业标准方法 YC/T3121996 所述的烘箱法。具体方法如下:将盛放烟丝的称量皿在 100 $^{\circ}\text{C}$  下烘 2 h,在保干器中冷却至室温,并放置 30 min,称量其重量为  $m_0$ 。在称量皿中加入待测烟丝

4~8 g, 测量其重量  $m_1$ 。将放有烟丝的称量器在干燥箱中烘干 2 h, 干燥箱温度为 100°C。取出称量皿, 放置在保干器中冷却至室温, 放置 30 min, 并称重为  $m_2$ 。平衡含水率  $W$  通过下式计算而得。

$$W=(m_1-m_2)/(m_1-m_0) \times 100\%$$

## 2 结果与分析

将提取并纯化后的精制香菇多糖通过微孔滤膜过滤后, 再使用不同截留分子量范围的超滤滤膜进行超滤分级, 分别得到不同分子量范围的香菇多糖超滤产物。分别测定各个多糖样品中的总糖含量和蛋白质含量, 结果如表 2 所示。

表 2 不同香菇多糖组分成分分析

Table 2 The main chemical composition of different lentinan fractions

编号 No.	总糖含量/% Total sugar content	蛋白质含量/% Protein content
LE <sub>1</sub>	24.74	0.46
LE <sub>2</sub>	46.82	0.87
LE <sub>3</sub>	45.39	0.93
LE <sub>4</sub>	56.47	0.57

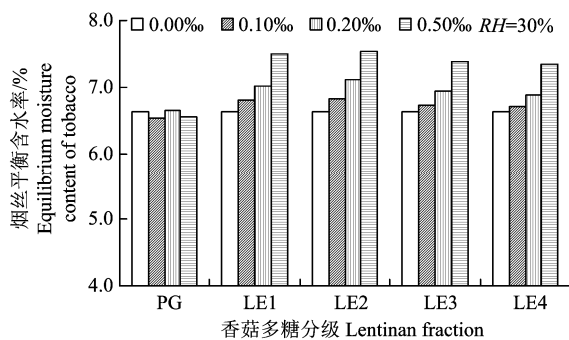


图 2 添加香菇多糖保润剂的烟丝在干燥环境下平衡含水率  
Figure 2 Equilibrium moisture content of tobacco added lentinan under the condition of 30% humidity

对比各个组分的成分含量可得, 4 个样品中蛋白质含量均较低, 说明经过纯化后, 多糖中蛋白质去除较为彻底。从总糖含量来看, LE<sub>2</sub>、LE<sub>3</sub> 和 LE<sub>4</sub> 样品的总糖含量相对较高, 达到 45% 以上, 而 LE<sub>1</sub> 样品中总糖含量相对较低。

将各分子量的香菇多糖 LE<sub>1</sub>、LE<sub>2</sub>、LE<sub>3</sub>、LE<sub>4</sub> 和丙二醇 (PG) 分别溶解在水中, 按照表 1 所列的比例添加到烟丝上, 分别放置在干燥和潮湿环境下平衡, 测量烟丝平衡含水率。

图 2 为添加不同添加量的大分子保润剂烟丝在干燥环境下的平衡含水率示意图, 与添加相同量丙二醇的烟丝进行对比。常用的小分子保润剂 PG 添

加量在 0.10%~2.00% 左右, 而本研究中保润剂的添加量在 0.10%~0.50% 之间, 添加量相对较低。从图 2 可得, 在较小的添加量范围内丙二醇的物理保润性能较差, 添加后烟丝的平衡含水率基本没有变化。而添加等量的香菇多糖大分子保润剂时, 烟丝的平衡含水率有较大幅度的提高。随着多糖添加量的增加, 烟丝的平衡含水率随之增加, 说明多糖保润剂在干燥环境下的保湿性能强于丙二醇小分子保润剂。从香菇多糖的组分来看, 添加 LE<sub>2</sub> 的烟丝平衡含水率最高, 其次为 LE<sub>1</sub>, 添加 LE<sub>3</sub> 和 LE<sub>4</sub> 多糖的样品平衡含水率相对较低。说明随着多糖保润剂分子量的增加, 其保湿性能先增强后减弱, 当相对分子量增大到 30 kDa 以上时, 多糖的保湿性能有所降低。从最终的平衡含水率来看, 4 个样品保湿效果均优于丙二醇, 而彼此之间差距相对较小。

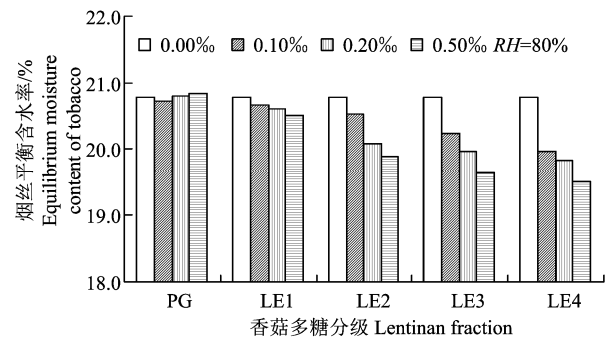


图 3 添加不同分子量香菇多糖保润剂的烟丝在潮湿环境下平衡含水率  
Figure 3 Equilibrium moisture content of tobacco added lentinan under the condition of 80% humidity

图 3 为添加不同添加量的大分子保润剂烟丝在潮湿环境下的平衡含水率示意图。与添加相同量丙二醇的烟丝进行对比, 在潮湿环境下, 添加少量的丙二醇保润剂后烟丝的平衡含水率与空白相比几乎没有变化, 随着丙二醇添加量的增加, 烟丝平衡含水率稍有增大。说明丙二醇在潮湿环境下不具备防潮功能。当添加香菇多糖保润剂时, 与空白样和添加丙二醇的样品相比, 烟丝的平衡含水率有所降低, 说明香菇多糖大分子保润剂具有较好的防潮功能。随着香菇多糖添加量的增加, 各个样品的平衡含水率持续下降, 说明大分子保润剂的添加量越大防潮性能越好。从香菇多糖的种类来看, 添加 LE<sub>1</sub> 样品的烟丝平衡含水率降低较少, 随着样品分子量的增加, 烟丝平衡含水率降低幅度增加, 其中添加 LE<sub>4</sub> 烟丝的平衡含水率最低。说明香菇多糖保润剂其分子量越大则防潮性能越好。而文献报道的裂片石莼多糖不同分子量间防潮性能差距较小<sup>[7]</sup>, 这可能是

不同多糖分子的糖单元、高级结构各异,从而亲水性有所差别,最终使得防潮性能表现不同。

将各个组分的香菇多糖按照 0.10% 的重量比添

加到卷烟中,通过卷烟感官评价来判断其质量,结果如表 3 所示。

表 3 添加香菇多糖保润剂卷烟的感官评价结果

Table 3 The smoking sensory evaluation results of cigarettes added with lentinan humectants

保润剂 Humectant	感官评价结果 Sensory evaluation result
PG	干燥感降低,甜感增加,香气量下降,香气质稍有降低,杂气稍有增加,对鼻腔刺激性增加
LE <sub>1</sub>	干燥感增加,甜感降低,浓度增加,香气量减少,香气质变差,杂气增加,对鼻腔和口腔刺激性增加
LE <sub>2</sub>	干燥感降低,甜感增加,浓度适中,香气量增加,香气质稍有改善,刺激性降低
LE <sub>3</sub>	干燥感降低,甜感增加,浓度增加,香气量增加明显,香气质基本不变,刺激性稍有降低
LE <sub>4</sub>	干燥感不变,甜感不变,浓度增加,香气量增加,香气质稍有降低,口腔和鼻腔刺激性增加

从评吸结果来看,添加丙二醇小分子保润剂能降低卷烟的干燥感、增加甜度,但会增加杂气,降低卷烟的香气品质。添加 LE<sub>1</sub> 大分子保润剂时,卷烟干燥感增加,甜度降低,香气变差,杂气增多,对口腔和鼻腔的刺激性增加。添加 LE<sub>2</sub> 保润剂时,卷烟干燥感下降,甜感增加,浓度适中,香气量增加,香气质改善,刺激性降低。添加 LE<sub>3</sub> 保润剂时,卷烟干燥感降低,甜感增加,浓度增加,香气量增加。添加 LE<sub>4</sub> 保润剂时,卷烟干燥感和甜度没有明显变化,浓度增加,香气质变差,刺激性稍有增加。从卷烟感官质量角度来看,LE<sub>2</sub> 和 LE<sub>3</sub> 是感官品质较好的烟草保润剂,而 LE<sub>4</sub> 在不增加干燥感的情况下,能增加卷烟烟气浓度,增加抽吸满足感,在更小的添加量下能作为烟草增浓剂使用。

### 3 讨论与结论

使用多种溶剂纯化处理香菇粉末,再采用水提醇沉法得到香菇粗多糖。通过酶解和 Seveg 法除去粗多糖中蛋白质,得到精制后的香菇精多糖。使用不同规格滤膜进行超滤,制备出不同分子量段的香菇多糖保润剂。将不同分子量的保润剂添加到卷烟中评价其保润性能。在干燥环境下,香菇多糖表现出较好的保润性能,添加后烟丝的平衡含水率高于添加丙二醇和空白样品。分子量为 10~30k Da 的香菇多糖保湿性能最好,更高分子量样品的保湿性能有所下降。在潮湿环境下,香菇多糖的防潮性能好于小分子保润剂。随着多糖分子量的增加,保润剂的防潮性能持续改善。从感官评价结果来看,分子量为 10~100k Da 范围的多糖保润剂感官品质最好。

### 参考文献:

- [1] 郭俊成,刘百战,程晓蕾,等.保润剂对烟草叶表面微结构的影响[J].中国烟草科学,2014,35(1):67-71.
- [2] 谢焰,吴达,金永明,等.国内外几种知名品牌卷烟化学特性比较[J].烟草科技,2008(6):33-37.
- [3] 康跃进,张爱忠,许淑红.丙二醇在卷烟加料中的应用[J].烟草科技,1996(4):29.
- [4] 张丽,张相辉,徐丽霞,等.保润剂对卷烟保润性能的影响[J].郑州轻工业学院学报(自然科学版),2012,27(5):38-40.
- [5] 王明锋,朱保昆,者为,等.多糖类新型保润剂 BR-22 的开发及应用研究[J].食品工业,2010(5):49-51.
- [6] 朱尊权,胡有持,刘惠民,等.羊栖菜多糖及其在烟草中的应用:200610128282.9 [P].2007-05-16.
- [7] 杨君,黄芳芳,秦敏朴,等.裂片石莼多糖超滤分离及其保润应用研究[J].云南农业大学学报(自然科学版),2015,30(1):58-63.
- [8] 黄芳芳,杨君,裴亚萍,等.龙须菜多糖微波辅助提取结合超滤纯化及其保湿应用研究[J].食品工业,2014,35(8):74-78.
- [9] 黄芳芳,蒋健,李雪青,等.卤地菊多糖超声波提取工艺技术及其卷烟保润性[J].烟草科技,2014(2):44-48.
- [10] 毛健,马海乐.灵芝多糖的研究进展[J].食品科学,2010,31(1):295-299.
- [11] 黄秀锦.银耳多糖的提取、分离、纯化及其功能性质研究[J].食品科学,2008,29(1):134-136.
- [12] 喻谨,岳永德,汤锋,等.响应面法优化微波辅助提取竹叶多糖工艺研究[J].安徽农业大学学报,2012,39(3):401-406.
- [13] 王卫国,吴强,胡宝坤,等.几种测定灰树花多糖中蛋白质含量方法的比较研究[J].中国食用菌,2003,22(1):27-30.