



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105169491 B

(45)授权公告日 2017. 10. 24

(21)申请号 201510669394.4

A61L 27/54(2006.01)

(22)申请日 2015.10.16

A61L 27/20(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61L 27/12(2006.01)

申请公布号 CN 105169491 A

A61K 47/36(2006.01)

(43)申请公布日 2015.12.23

(56)对比文件

(73)专利权人 武汉纺织大学

CN 102895258 A, 2013.01.30,

地址 430073 湖北省武汉市洪山区纺织路1号

EP 0822839 B1, 2001.09.26,

WO 96/33750 A1, 1996.10.31,

CN 104548200 A, 2015.04.29,

(72)发明人 陶咏真 张如权 徐卫林 王哲
柏自奎 周应山

审查员 李征

(74)专利代理机构 武汉宇晨专利事务所 42001
代理人 王敏锋

(51)Int. Cl.

A61L 27/52(2006.01)

A61L 27/56(2006.01)

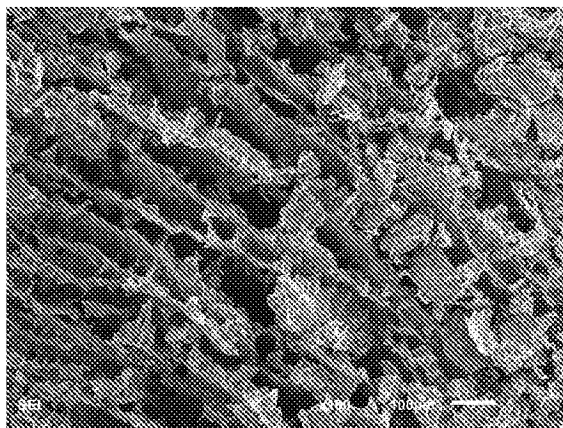
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

一种制备真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的方法

(57)摘要

本发明公开了一种制备真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的方法,属于天然高分子材料技术领域。制备方法采用将不同质量比的虎奶菇高支化多糖和黄原胶溶解在NaOH水溶液中,所得虎奶菇高支化多糖和黄原胶溶液与三偏磷酸钠水溶液在37℃温度下交联反应10 min~48 h后,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架。本发明方法操作简便,所用原材料来源丰富,所使用的交联剂具有水溶性且无毒,而且所制得的支架材料具有药物可控释放性,力学性能良好且兼有生物相容性,该高支化多糖-黄原胶水凝胶支架可用于制备人工组织支架、食品或营养物质及药物控制释放载体。



1. 一种制备真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的方法,其特征在于:所述的制备方法包括以下步骤:

a将干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取去除脂肪,然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在生理盐水中,其中每100g虎奶菇菌核用1L生理盐水浸泡,在高压120℃温度下提取,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣,残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到虎奶菇高支化多糖;

b将虎奶菇高支化多糖溶解在pH值为12~14的NaOH水溶液中,搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液;

c将黄原胶加入到经b步骤得到的虎奶菇高支化多糖溶液中,搅拌12h,得混合均匀的虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液,黄原胶的浓度为0.5%~5%w/v,虎奶菇高支化多糖与黄原胶的质量比为1:0.25~1:2.5;

d将三偏磷酸钠溶解在去离子水中,搅拌至完全溶解,得浓度为75~262.5mg/mL的三偏磷酸钠水溶液;

e将经d步骤得到的浓度为75~262.5mg/mL的三偏磷酸钠水溶液加入至经c步骤得到的虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液中,其中虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液与三偏磷酸钠水溶液的体积比为25:8,快速搅拌5min,在37℃温度下交联反应10min~48h,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架。

一种制备真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种制备真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的方法。属于天然高分子材料技术领域,这种真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶三维贯通多孔支架可广泛应用于组织工程材料和生物医用材料及药物可控释放等行业。

背景技术

[0002] 高分子水凝胶具有一定弹性、三维贯通多孔结构,适合模拟细胞外基质、提供适合细胞生长所需的三维微环境及细胞和细胞外基质之间的生物物理信号,维持细胞正常表型与生理功能。多糖是自然界中广泛存在的生物大分子,它参与细胞的各种生命活动而产生多种生物学功能,它与维持生命的种种生理机能有着密切联系。近年来,真菌多糖作为有生物活性的多糖的一个重要来源,已经引起了越来越多的关注。大量研究表明真菌多糖具有抗癌、保肝、免疫、抗凝血、降血糖、抗病毒和抗氧化等丰富的生物活性,在保健食品和药物新资源领域得到了广泛应用,因而成为一个非常活跃的研究领域。

[0003] 真菌多糖来源丰富,有待进一步加强其研究和开发的深度和广度。虎奶菇是生长在热带和亚热带地区的一种食用菌。它有鲜美的味道和丰富的营养价值;对一些疾病,如哮喘、天花和高血压等有一定的药效;能促进胎儿发育,提高成活率。近年发现从虎奶菇中提取的多糖及其衍生物有抗肿瘤活性,对机体起免疫调节作用。从虎奶菇中提取的多糖具有高支化结构,该高支化多糖呈球形链构象,其外围有大量能进行功能化的羟基,它们可发生功能化反应或者与其周围物质发生相互作用。从材料的角度看,这些球形的、带有大量糖残基的多糖分子有利于与其他多糖或蛋白质发生多键合作用和团束效应。然而,虎奶菇高支化多糖水溶液黏度较低,不易于形成水凝胶。多糖可以与其他多糖或其他生物大分子通过氢键或离子间的静电引力进行物理交联,或通过直接化学交联,及化学修饰后交联形成水凝胶。

[0004] 黄原胶是由D-葡聚糖、D-甘露糖、D-葡萄糖醛酸、乙酸和丙酮酸构成的“五糖重复单元”连接而成的线性水溶性天然多糖。以黄原胶为原料所制备的水凝胶亲水性强、无毒、可降解、生物相容性好,常用作高吸水性树脂、药物载体和微胶囊等,在生物医用领域具有广泛的应用前景。黄原胶生物大分子易于通过氢键形成双螺旋结构,这些双螺旋结构通过分子间作用力,如静电力、氢键以及链间缠结进一步形成网络状的物理交联水凝胶。然而,黄原胶物理水凝胶存在的问题是:易溶于水,耐水性及力学性能差,容易损坏。黄原胶侧链上的葡萄糖醛酸和丙酮酸基团及整个分子主链结构中的大量羟基,有利于黄原胶的化学修饰及改性。三偏磷酸钠是一种食品添加剂,具有水溶性且无毒,在生理温度(37℃)及弱碱性条件下,可用作酯化试剂与多糖上的羟基发生化学交联反应形成不溶于水且力学性能大大提高的水凝胶。黄原胶水凝胶刚性质脆,易碎,可通过在黄原胶分子网络中引入另一种聚合物形成互穿网络,借助强迫互溶和协同效应,从而进一步改善黄原胶水凝胶的力学性能。Alireza Shalviri等(Carbohydrate Polymers,2010,79:898-907)以三偏磷酸钠为交联剂,制备淀粉/黄原胶互穿网络型水凝胶,其成膜性好并且可根据药物所带电荷对凝胶膜进

行选择性渗透,可用作多种药物载体。基于以上分析,结合虎奶菇高支化多糖与黄原胶的优点,经三偏磷酸钠交联的复合多糖生物医用水凝胶支架材料的制备存在着极大的优势。该水凝胶不仅可提供维持细胞生长的微环境且具有特定的生物活性,从而有望应用于生物医学及组织工程领域。真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶作为一种良好的支架材料,不仅仅取决于它的生物相容性及可生物降解性,更重要的是它的独特化学结构及生物活性等特性,因此优于合成高分子水凝胶或其他多糖水凝胶。真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶在组织工程、药物控制释放、食品及营养物质载体等领域具有广阔的应用前景。

[0005] 正因为天然多糖水凝胶存在极大的应用价值,因此其制备及应用开发成为目前国内、外研究热点之一。研制理想的人工支架材料代替器官移植手术修复组织缺损或病变,是生物材料科学和医学领域的重要课题之一。目前多糖水凝胶制备主要采用海藻酸钠、壳聚糖等作原料。例如:中国专利公开号为CN103087334A,公开日为2013年5月8日,发明名称为“海藻酸钠-沙蒿胶复合水凝胶的制备方法”的申请案。该申请案公开了通过在海藻酸钠溶液体系中引入沙蒿胶,利用微孔碳酸钙在葡萄糖酸内酯溶液中缓慢释放出 Ca^{2+} 原位形成海藻酸-沙蒿胶复合水凝胶,使得海藻酸钠与沙蒿胶的性能互补,从而增强海藻酸钠基水凝胶的吸水性能和机械性能。该方法的缺点在于:所采用的交联剂是 Ca^{2+} ,依赖的是静电作用力形成交联网络,得到的是物理水凝胶。因此在药物控制释放过程中,水凝胶中的交联剂 Ca^{2+} 易于被扩散体系中的其它离子替换,使得水凝胶溶于水等问题。

发明内容

[0006] 针对上述技术存在的不足,本发明的目的是提供一种工艺简便,污染小,所得产品具有很好的力学性能、药物可控性释放、良好的生物相容性、生物降解性和生物活性的水凝胶支架制备方法。

[0007] 为实现上述目的,本发明提供的技术方案是:

[0008] 一种制备真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的方法,所述的制备方法包括以下步骤:

[0009] a将干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取去除脂肪,然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在生理盐水中,其中每100g虎奶菇菌核用1L生理盐水浸泡,在高压120℃温度下提取,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣;残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到虎奶菇高支化多糖。

[0010] b将虎奶菇高支化多糖溶解在pH值为12~14的NaOH水溶液中,搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液。

[0011] c将黄原胶加入到经b步骤得到的虎奶菇高支化多糖溶液中,搅拌12h,得混合均匀的虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液,黄原胶的浓度为0.5%~5%w/v,虎奶菇高支化多糖与黄原胶的质量比为1:0.25~1:2.5。

[0012] d将三偏磷酸钠溶解在去离子水中,搅拌至完全溶解,得浓度为75~262.5mg/mL的三偏磷酸钠水溶液。

[0013] e将经d步骤得到的浓度为75~262.5mg/mL的三偏磷酸钠水溶液加入至经c步骤得到的虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液中,其中虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液与三偏磷酸钠水溶液的体积比为25:8,快速搅拌5min,在37℃温度下交联反应10min~48h,得真菌高支化

多糖-黄原胶水凝胶支架。

[0014] 由于采用了以上技术方案,本发明的技术方案针对虎奶菇高支化多糖和黄原胶的结构特点,采用水溶性、无毒的三偏磷酸钠酯化交联制备药物可控释放且力学性能良好的高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,将药物或细胞生长因子包埋在该水凝胶支架中,利用高支化多糖与黄原胶的含量比例来调节水凝胶的力学性能及多孔结构的孔径大小。真菌高支化多糖的生物活性有利于细胞的粘附和生长。水凝胶中高支化多糖外围的羟基、黄原胶糖环上的羟基及羧基,以及交联剂引入的偏磷酸钠基团对药物或细胞生长因子具有一定的相互作用,结合水凝胶的孔径及所带的电荷可调控药物或细胞生长因子以不同的速率释放,从而模拟生长因子在细胞外基质中的控制释放行为及可控诱导细胞增殖分化。此外,黄原胶以双螺旋链形成的刚性聚集体构象存在,高支化多糖均匀分布在这些双螺旋链有序排列的聚集体的孔隙处,三偏磷酸钠沿着螺旋链周围发生酯化交联形成高支化多糖与黄原胶水凝胶支架,高支化多糖的存在及交联反应对黄原胶的双螺旋结构无显著影响,交联对水凝胶的强度有良好的增强效果。

[0015] 本发明制备高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的方法与已有技术相比具有以下优点:

[0016] 本发明制备方法具有操作简单,成本低廉,原料来源丰富,所使用的原料之一虎奶菇高支化多糖具有生物活性,可在适合细胞生长的生理条件下原位制备水凝胶,由此制备方法得到的高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,用作药物载体时可控制药物缓慢释放,提高药效;作为组织工程支架材料时可装载细胞生长因子且模拟细胞外基质控制细胞生长因子缓慢释放的功能,从而诱导细胞增殖分化成再生组织,并且真菌高支化多糖的存在,可赋予水凝胶支架的生物活性。实验表明,本方法所得的高支化多糖-黄原胶水凝胶支架具有三维贯通的多孔结构,模型分子牛血清蛋白在该水凝胶中包埋量大,且具有良好的可控释放行为。因此,该方法可广泛应用于制备人工组织支架材料,而且在药物控制释放及食品等领域也具有广阔的应用前景。值得注意的是:虎奶菇高支化多糖-黄原胶水凝胶不仅在结构上与细胞外基质相似,更重要的是,它其中含有真菌高支化多糖,具有特定的生物活性,并且作为一种高支化多糖,其结构易于灵活调控物理性能或携带各种化学信号分子,从而优化细胞存活并且诱导细胞特定分化行为。因此,将细胞生长因子包埋到虎奶菇高支化多糖-黄原胶水凝胶中并通过高支化多糖独特化学结构来调控其释放行为可更好地模拟其在体内的释放及诱导新生组织的均匀形成。此外,在水凝胶支架中,黄原胶保持了刚性的双螺旋聚集体结构,并且糖环上的羧基能诱导细胞培养液中添加的 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 的吸附沉积,使得支架矿化,有利于骨细胞的粘附和增殖等。

附图说明

[0017] 图1为实施例6的高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的扫描电镜图片。

[0018] 图2为实施例3,4,5,6的高支化多糖-黄原胶水凝胶支架对牛血清蛋白控制释放曲线。

具体实施方式

[0019] 以下结合具体的实施例对本发明的技术方案作进一步说明。

[0020] 一种制备真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的方法,所述的制备方法包括以下步骤:

[0021] a将干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取6h去除脂肪,所用乙酸乙酯和丙酮均为化学纯试剂。然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在80℃温度下的生理盐水中2h,离心;残渣在高压120℃温度下浸泡30min,其中每100g虎奶菇菌核用1L生理盐水浸泡,在8000转的转速下离心20min得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣;残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到虎奶菇高支化多糖,也可采用其它方法干燥得到虎奶菇高支化多糖。

[0022] b室温下,将虎奶菇高支化多糖溶解在pH值为12~14的NaOH水溶液中,磁力搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液,此处NaOH的浓度为0.01~1mol/L,2%w/v代表质量体积浓度,表示100克溶剂中溶解2克溶质。

[0023] c室温下,将黄原胶加入到经b步骤得到的虎奶菇高支化多糖溶液中,继续磁力搅拌12h,得混合均匀的虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液,黄原胶的浓度为0.5%~5%w/v,虎奶菇高支化多糖与黄原胶的质量比为1:0.25~1:2.5。

[0024] d室温下,将三偏磷酸钠溶解在去离子水中,搅拌至完全溶解,也可摇匀,得浓度为75~262.5mg/mL的三偏磷酸钠水溶液。

[0025] e室温下,将经d步骤得到的浓度为75~262.5mg/mL的三偏磷酸钠水溶液加入至经c步骤得到的虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液中,其中虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液与三偏磷酸钠水溶液的体积比为25:8,三偏磷酸钠与黄原胶的重复糖单元的摩尔比为1.46~14.6,快速搅拌5min,此处可采用磁力搅拌,也可采用机械搅拌,在37℃温度下交联反应10min~48h,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,采用流变仪研究水凝胶的流变行为,用去离子水清洗且冷冻干燥得高支化多糖-黄原胶三维贯通多孔支架,利用扫描电镜观察冷冻干燥后支架的形貌,在磷酸缓冲盐溶液中测试干燥后支架材料的溶胀率及对牛血清蛋白的释放行为。

[0026] 实施例1

[0027] 将500g干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取6h去除脂肪,然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在5L 80℃温度下的生理盐水中2h,离心,残渣在高压120℃温度下5L生理盐水中浸泡30min,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣,残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到虎奶菇高支化多糖。将0.5g虎奶菇高支化多糖溶解在25mL pH=12的NaOH水溶液中,磁力搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液,将0.125g黄原胶加入到上述的浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液中,继续磁力搅拌12h,得混合均匀的虎奶菇高支化多糖-黄原胶溶液,将8mL 75mg/mL的三偏磷酸钠加入上述高支化多糖-黄原胶溶液中,快速搅拌5min得预凝胶溶液,将预凝胶溶液在37℃温度下交联反应10min后,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,用流变仪研究水凝胶支架的流变行为,用去离子水清洗且冷冻干燥得高支化多糖-黄原胶三维贯通多孔支架,用扫描电镜观察冷冻干燥后支架的形貌,在磷酸缓冲盐溶液中测试干燥后支架材料的溶胀率及对牛血清蛋白的释放行为。

[0028] 实施例2

[0029] 将500g干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取6h去除脂肪,

然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在5L 80℃温度下的生理盐水中2h,离心,残渣在高压120℃温度下5L生理盐水中浸泡30min,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣,残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到高支化虎奶菇多糖。将0.5g虎奶菇高支化多糖溶解在25mL pH=13的NaOH水溶液中,磁力搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液,将0.25g黄原胶加入到上述的浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液中,继续磁力搅拌12h,得混合均匀的高支化多糖-黄原胶溶液,将8mL 112.5mg/mL的三偏磷酸钠加入上述高支化多糖-黄原胶溶液中,快速搅拌5min得预凝胶溶液,将预凝胶溶液在37℃温度下交联反应1h后,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,用流变仪研究水凝胶支架的流变行为,用去离子水清洗且冷冻干燥得高支化多糖-黄原胶三维贯通多孔支架,用扫描电镜观察冷冻干燥后支架的形貌,在磷酸缓冲盐溶液中测试干燥后支架材料的溶胀率及对牛血清蛋白的释放行为。

[0030] 实施例3

[0031] 将500g干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取6h去除脂肪,然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在5L 80℃温度下的生理盐水中2h,离心,残渣在高压120℃温度下5L生理盐水中浸泡30min,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣,残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到高支化虎奶菇多糖。将0.5g虎奶菇高支化多糖溶解在25mL pH=14的NaOH水溶液中,磁力搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液,将0.5g黄原胶加入到上述的浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液中,继续磁力搅拌12h,得混合均匀的高支化多糖-黄原胶溶液,将8mL 150mg/mL的三偏磷酸钠加入上述高支化多糖-黄原胶溶液中,快速搅拌5min得预凝胶溶液,将预凝胶溶液在37℃温度下交联反应10min后,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,用流变仪研究水凝胶支架的流变行为,用去离子水清洗且冷冻干燥得高支化多糖-黄原胶三维贯通多孔支架,用扫描电镜观察冷冻干燥后支架的形貌,在磷酸缓冲盐溶液中测试干燥后支架材料的溶胀率及对牛血清蛋白的释放行为。

[0032] 实施例4

[0033] 将500g干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取6h去除脂肪,然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在5L 80℃温度下的生理盐水中2h,离心,残渣在高压120℃温度下5L生理盐水中浸泡30min,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣,残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到高支化虎奶菇多糖。将0.5g虎奶菇高支化多糖溶解在25mL pH=13的NaOH水溶液中,磁力搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液,将0.75g黄原胶加入到上述的浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液中,继续磁力搅拌12h,得混合均匀的高支化多糖-黄原胶溶液,将8mL 187.5mg/mL的三偏磷酸钠加入上述高支化多糖-黄原胶溶液中,快速搅拌5min得预凝胶溶液,将预凝胶溶液在37℃温度下交联反应24h后,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,用流变仪研究水凝胶支架的流变行为,用去离子水清洗且冷冻干燥得高支化多糖-黄原胶三维贯通多孔支架,用扫描电镜观察冷冻干燥后支架的形貌,在磷酸缓冲盐溶液中测试干燥后支架材料的溶胀率及对牛血清蛋白的释放行为。

[0034] 实施例5

[0035] 将500g干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取6h去除脂肪,

然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在5L 80℃温度下的生理盐水中2h,离心,残渣在高压120℃温度下5L生理盐水中浸泡30min,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣,残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到高支化虎奶菇多糖。将0.5g虎奶菇高支化多糖溶解在25mL pH=13的NaOH水溶液中,磁力搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液,将1.0g黄原胶加入到上述的浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液中,继续磁力搅拌12h,得混合均匀的高支化多糖-黄原胶溶液,将8mL 225mg/mL的三偏磷酸钠加入上述高支化多糖-黄原胶溶液中,快速搅拌5min得预凝胶溶液,将预凝胶溶液在37℃温度下交联反应48h后,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,用流变仪研究水凝胶支架的流变行为,用去离子水清洗且冷冻干燥得高支化多糖-黄原胶三维贯通多孔支架,用扫描电镜观察冷冻干燥后支架的形貌,在磷酸缓冲盐溶液中测试干燥后支架材料的溶胀率及对牛血清蛋白的释放行为。

[0036] 实施例6

[0037] 将500g干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取6h去除脂肪,然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在5L 80℃温度下的生理盐水中2h,离心,残渣在高压120℃温度下5L生理盐水中浸泡30min,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣,残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到高支化虎奶菇多糖。将0.5g虎奶菇高支化多糖溶解在25mL pH=13的NaOH水溶液中,磁力搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液,将1.25g黄原胶加入到上述的浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液中,继续磁力搅拌12h,得混合均匀的高支化多糖-黄原胶溶液,将8mL 262.5mg/mL的三偏磷酸钠加入上述高支化多糖-黄原胶溶液中,快速搅拌5min得预凝胶溶液,将预凝胶溶液在37℃温度下交联反应3h后,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,用流变仪研究水凝胶支架的流变行为,用去离子水清洗且冷冻干燥得高支化多糖-黄原胶三维贯通多孔支架,用扫描电镜观察冷冻干燥后支架的形貌,在磷酸缓冲盐溶液中测试干燥后支架材料的溶胀率及对牛血清蛋白的释放行为。(此实施例为最佳实施例)

[0038] 实施例7

[0039] 将500g干燥的虎奶菇菌核粉碎,依次用乙酸乙酯、丙酮进行索氏提取6h去除脂肪,然后将去脂肪后的虎奶菇菌核浸泡在5L 80℃温度下的生理盐水中2h,离心,残渣在高压120℃温度下5L生理盐水中浸泡30min,离心得提取液,冷却提取液后再离心且收集残渣,残渣用去离子水离心清洗且冷冻干燥得到高支化虎奶菇多糖。将0.5g虎奶菇高支化多糖溶解在25mL pH=13的NaOH水溶液中,磁力搅拌2h后制备成浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液,将1.25g黄原胶加入到上述的浓度为2%w/v的虎奶菇高支化多糖溶液中,继续磁力搅拌12h,得混合均匀的高支化多糖-黄原胶溶液,将8mL 75mg/mL的三偏磷酸钠加入上述高支化多糖-黄原胶溶液中,快速搅拌5min得预凝胶溶液,将预凝胶溶液在37℃温度下交联反应3h后,得真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架,用流变仪研究水凝胶支架的流变行为,用去离子水清洗且冷冻干燥得高支化多糖-黄原胶三维贯通多孔支架,用扫描电镜观察冷冻干燥后支架的形貌,在磷酸缓冲盐溶液中测试干燥后支架材料的溶胀率及对牛血清蛋白的释放行为。

[0040] 实施例3~7的真菌高支化多糖-黄原胶水凝胶支架的性能见表一

[0041] 表一

实施例	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$			剪切模量 (Pa)	质量溶胀 率	
	k	n	R^2			
[0042]	3	1.86	0.24	0.995	55.8±0.1	6.82
	4	1.60	0.31	0.985	155.9±0.4	8.74
	5	1.30	0.47	0.998	256.3±0.6	11.14
	6	1.19	0.49	0.979	391.6±0.7	14.86
	7	5.30	0.45	0.974	382.7±0.7	13.51

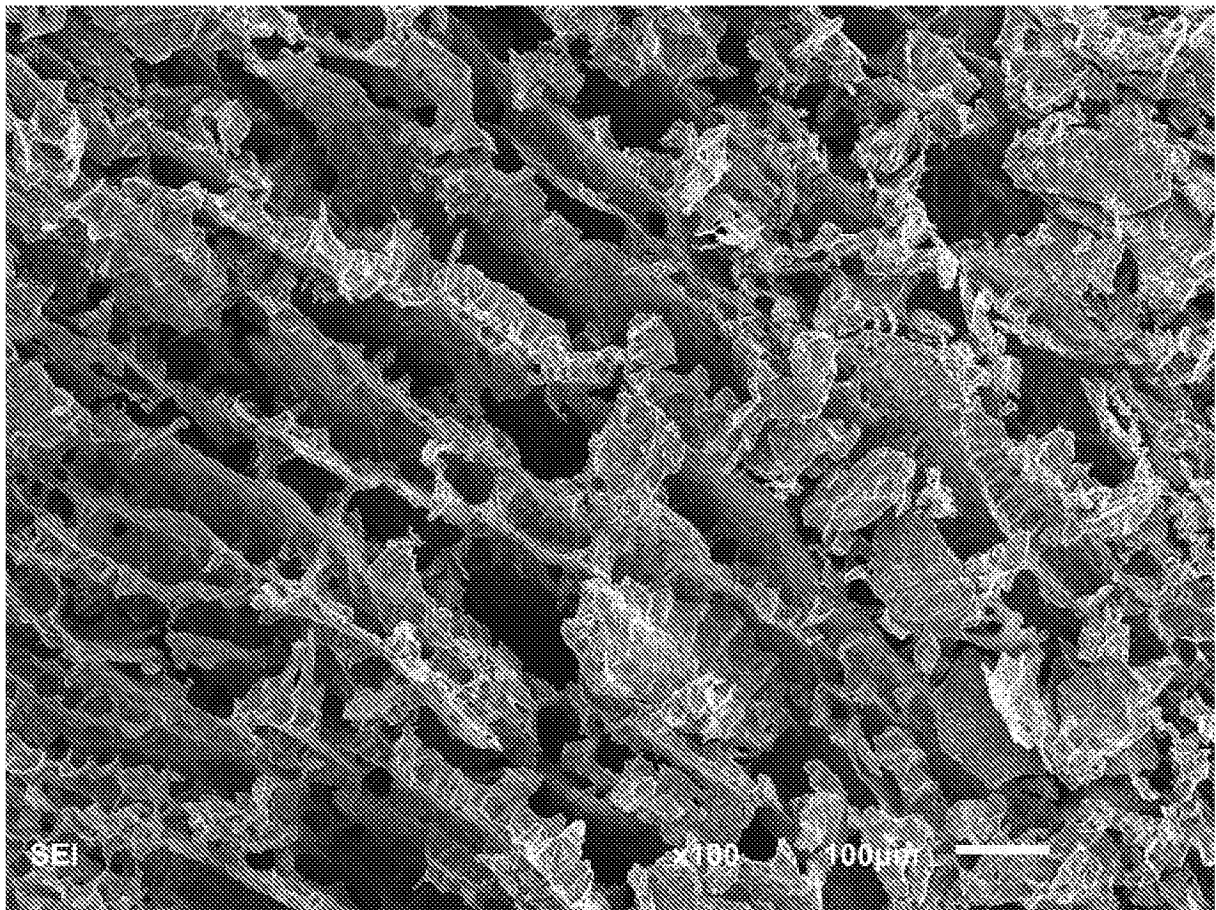


图1

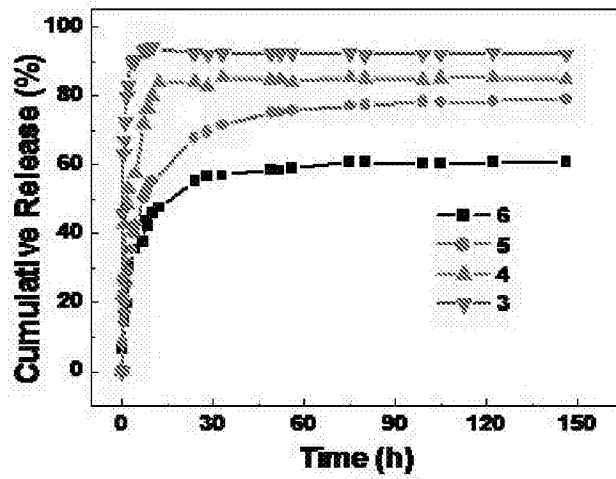


图2