文章编号：1000-8608(2009)01-0044-04

甘薯多糖提取纯化及理化性质初步研究

田春宇*[1]， 王关林[2]

（1.大连理工大学 环境与生命学院，辽宁 大连 116024；
2.辽宁师范大学 生命科学学院，辽宁 大连 116029）

摘要： 通过正交实验，确立实验室小量、快速、高效提取甘薯多糖的最佳操作条件，建立了一种新的提取方法，即中性条件下，溶液与溶质体积比为2，乙醇与浓缩液体积比为3，浸提时间为2 h，浸提温度为65 ℃，甘薯多糖提取率大于90%. 利用这种改进的提取方法，分离纯化得到一种甘薯多糖. 经纸层析、Sephadex G-200柱层析、紫外扫描、红外光谱分析，确定该多糖为均一多糖，相对分子质量为4.6×10^4，单糖组成为β-葡萄糖.

关键词： 甘薯多糖；分离纯化；理化性质

中图分类号： Q539.7 **文献标志码：** A

0 引 言

甘薯（*Ipomoea batatas*（L.）Lam.），植物分类上属于旋花科甘薯属甘薯种草本植物，又名番薯、红薯，其块根营养丰富，是我国人民喜爱的粮菜兼用的天然食品. 甘薯块根还含有大量黏液物质，包括黏液蛋白、黏液多糖等，它们能保持人体心血管壁的弹性，防止动脉粥样硬化的发生，还能保持呼吸道、消化道和关节腔的润滑. 近年来，国外对甘薯营养方面的研究报道较多[1~5]，但对甘薯多糖的分离纯化研究尚未见报道. 目前，我国学者对甘薯多糖也开展了初步的研究工作[6~12]，但有关分离纯化的技术工艺报道较少，仍有待于深入研究.

本文研究影响甘薯多糖分离的各种条件，建立一种新的提取纯化方法，并对分离提纯的甘薯多糖理化性质进行初步分析.

1 材料与方法

实验材料所用甘薯（*Ipomoea batatas*（L.）Lam.）由辽宁师范大学植物生物工程研究所提供.

1.1 粗多糖的提取

1.1.1 提取条件的确立 以水做溶剂，调pH至中性、酸性和碱性，分别重复3次提取粗多糖，并计算粗多糖含量.

浸提时间用2、3、4 h，分别重复3次提取粗多糖，并计算粗多糖含量.

以A（溶液与溶质体积比）、B（乙醇与浓缩液体积比）、C（浸提时间，h）、D（浸提温度，℃）作研究对象，按$L_9(3^4)$（表1）设计正交实验，以最终确立提取条件.

表1 $L_9(3^4)$正交实验因素水平表

Tab.1 $L_9(3^4)$ orthogonal test design

水平	因素			
	A	B	C	D
1	1	1	2	45
2	2	2	3	65
3	4	3	4	85

1.1.2 提取 鲜甘薯洗净，称重，切碎，用组织粉碎机粉碎，加丙酮脱脂除杂，挥发有机溶剂，然后按照上面确立的提取条件操作，加入适量溶剂，搅拌浸提适当时间，离心得上清液. 沉淀的残渣按相同方法重复浸提1次. 合并两次上清液，减压浓缩过滤，加适量体积乙醇，静置，离心，得到沉淀，然后依次用95%乙醇、无水乙醇各洗脱1次. 真空干燥得褐色粉末状粗多糖A-1.

收稿日期： 2007-05-14； **修回日期：** 2008-12-03.
作者简介： 田春宇*（1974-），女，博士生.

1.2　粗多糖纯化

粗多糖用蒸馏水复溶，H_2O_2 去色素，胃蛋白酶-Sevag 法脱蛋白，再经 DEAE-52 纤维素柱层析，得到纯化的粗多糖样品.

1.3　理化性质分析

用纸层析法（国产新华层析滤纸）测定单糖组成；用红外光谱分析法（日本岛津-435 型红外分光光谱仪）测定多糖结构；用紫外光谱分析法（上海 751-紫外可见分光光度计）和凝胶层析法（Pharmacia 琼脂糖）测定多糖纯度及相对分子质量；用苯酚-硫酸法计算多糖含量.

2　结果与讨论

2.1　溶液 pH 对粗多糖得率的影响

实验结果表明，在不同 pH 条件下，甘薯多糖的得率差异很大. 中性条件下粗多糖得率最高，酸性条件下粗多糖得率最低（见表 2）. 分析原因为在酸性和碱性条件下，部分多糖被降解.

表 2　不同 pH 条件下得到的粗多糖含量

Tab. 2　Crude polysaccharides content at different pH

实验号	粗多糖含量/%		
	pH=7	pH=5	pH=9
1	2.23	1.15	1.70
2	2.36	1.07	1.55
3	2.01	1.30	1.91
平均值	2.20	1.17	1.72

2.2　浸提时间对粗多糖得率的影响

实验结果表明，随着浸提时间的增加，甘薯粗多糖得率也增加. 对多次平行实验数据做差异显著性分析发现，超过 3 h 得率增加不明显（见表 3）.

表 3　不同浸提时间下得到的粗多糖含量

Tab. 3　Crude polysaccharides content at different time of extraction

实验号	粗多糖含量/%			
	1 h	2 h	3 h	4 h
1	1.19	1.45	1.51	1.54
2	1.15	1.46	1.52	1.55
3	1.20	1.44	1.50	1.53
平均值	1.18	1.45	1.51	1.54

2.3　提取条件因子对提取率的影响

正交实验结果表明：D 因素对应的极差 R 最大，为影响甘薯多糖提取的主要因素；其次是 A 因素；B 因素影响较小；影响最不明显的是 C 因素. 故各因子对提取效果影响大小的顺序是：浸提温度＞溶液与溶质体积比＞乙醇与浓缩液体积比＞浸提时间.

在 9 个处理组合中，以组合 $A_2B_3C_1D_2$ 所得粗多糖含量最高，为 2.35%（见表 4）. 故本实验中确定浸提条件为溶液 pH＝7，溶液与溶质体积比为 2，乙醇与浓缩液体积比为 3，浸提时间为 2 h，浸提温度为 65 ℃. 以此条件进行甘薯多糖提取的放大实验，其提取率大于 90%.

表 4　正交实验结果

Tab. 4　Results of orthogonal test

实验号	因素				粗多糖含量/%
	A	B	C	D	
1	1	1	2	45	1.96
2	1	2	3	65	2.21
3	1	3	4	85	1.53
4	2	1	3	85	1.64
5	2	2	4	45	2.15
6	2	3	2	65	2.35
7	4	1	4	65	2.30
8	4	2	2	85	1.65
9	4	3	3	45	2.17
I	5.70	5.90	5.96	6.28	
II	6.14	6.01	6.02	6.86	
III	6.12	6.05	5.98	4.82	
K1	1.90	1.97	1.99	2.09	
K2	2.05	2.00	2.01	2.29	
K3	2.04	2.02	1.99	1.61	
R	0.15	0.05	0.02	0.68	

2.4　DEAE-52 纤维素柱层析图谱

A-2 经 DEAE-52 纤维素柱层析后，洗脱峰为单一对称峰，说明该多糖为单一均匀多糖（见图 1）.

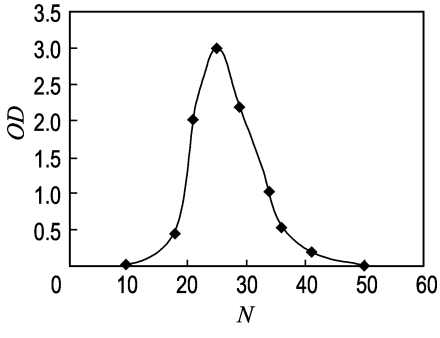


图 1　DEAE-52 纤维素柱层析图谱

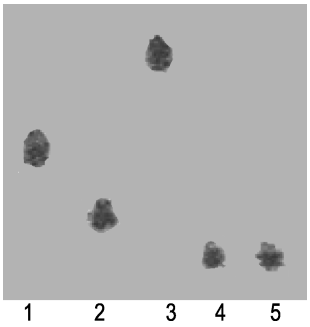
Fig. 1　Chromatography of DEAE-52 cellulose

2.5 纸层析图谱

收集上步所得洗脱峰，取样做纸层析. 结果如图 2，纸层析检出单一斑点，与标准单糖进行对照，初步确定其单糖组成为葡萄糖.

2.6 红外光谱分析

将经柱层析纯化的多糖样品用 KBr 压片. 在 400～4 000 cm^{-1} 区间扫描，显示多糖的特征吸收. 主要吸收谱带分别是 3 500～3 400 cm^{-1}（O—H 伸缩振动）、3 000～2 800 cm^{-1}（C—H 伸缩振动）、1 400～1 200 cm^{-1}（C—H 的变角振动，是糖类的特征吸收峰）. 890 cm^{-1} 有一吸收峰，是吡喃-β 型 C—H 弯曲振动的特征吸收峰，840 cm^{-1} 没有吸收峰，证明该多糖具有 β 型糖苷键（见图 3）.



1 甘露糖；2 半乳糖；3 木糖；4 葡萄糖；5 样品

图 2 纸层析法图谱

Fig. 2 Spectrum of paper layer chromatography

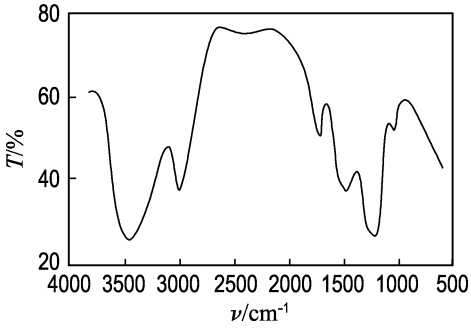


图 3 甘薯多糖红外光谱图

Fig. 3 IR spectrum of polysaccharide from sweet potato

2.7 多糖纯度及其相对分子质量

纯化样品紫外扫描结果表明，未见 260 nm 处的核酸吸收峰和 280 nm 处的蛋白质吸收峰，说明已除去了核酸和蛋白质.

纯化样品经 Sephadex G-200 柱层析，再次得到单一洗脱峰（见图 4），进一步确定其为均一组分的多糖.

记录洗脱体积和外水体积的比值，查标准曲线并计算得到多糖的相对分子质量为 4.6×10^4.

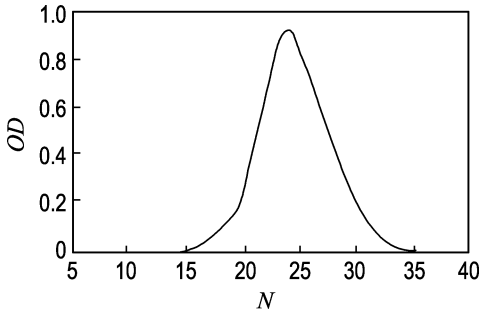


图 4 Sephadex G-200 柱层析图谱

Fig. 4 Sephadex G-200 elution profile

2.8 多糖含量测定

采用苯酚-硫酸法，绘制葡萄糖标准曲线，并查图计算得到纯多糖含量为 2.38%，比预实验所得含量略高，归因于稳定的提取条件和成熟的提取方案.

2.9 提纯的甘薯多糖定性分析

所得纯多糖为浅褐色粉末，相对分子质量为 4.6×10^4，易溶于水，其水溶液黏度较大. 不溶于乙醇、丙酮、乙醚、正丁醇等有机溶剂.

3 结 论

本实验采用了不同的溶液与溶质体积比、乙醇与浓缩液体积比、浸提时间和浸提温度来分离提取甘薯多糖. 结果表明，温度是影响甘薯多糖提取的主要因素，本方法采用 65 ℃ 为操作条件，避免了因高温而造成淀粉糊化影响后续工作. 溶液与溶质体积比为 2，减少了后期浓缩提取液的工作量. 浸提时间较短，为 2 h. 本方法更适合于实验室小量、快速、高效取得较纯的甘薯多糖样品，便于研究中的分析测定.

本实验所得多糖相对分子质量及多糖组分与已有报道[5,6]略有差异. 分析其原因，作者初步认为，在相同提取条件下，不同甘薯品种其单糖组成可能会有一些差异，并且已经提取了几种不同品种甘薯的多糖，比较其单糖组成，相关研究内容将在另一篇文章中详述.

参考文献：

[1] KUSANO S, ABE H, TAMURA H. Isolation of antidiabetic components from white-skinned sweet potato(*Ipomoea batatas*, L.) [J]. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 2001, **65**(1): 109-114

[2] YOSHIMOTO M. Antimutagenicity of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) roots [J]. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 1999, **63**(3): 537-541

[3] YOSHIMOTO M, OKUNO S, YAMAGUCHI M, *et al*. Antimutagenicity of deacylated anthocyanins in purple-fleshed sweet potato [J]. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 2001, **65**(7): 1652-1655

[4] BRADBURY J H,谢一芝. 生、熟甘薯的化学成分及其对人体营养的意义[J]. 杂粮作物，1988(6):46-49

[5] 耿德章. 中国老年人保健全书:2 版[M]. 北京:人民卫生出版社，1999

[6] 田庚元. 植物多糖的研究进展[J]. 中国中药杂志，1995，**20**(7):441

[7] 林　娟,邱宏端,林　霄,等. 甘薯多糖的提取纯化及成分分析[J]. 中国粮油学报，2003，**18**(2):64-66

[8] 赵国华,李志孝,陈宗道. 甘薯多糖 SPPS-I-Fr-II 组分的结构与抗肿瘤活性[J]. 中国粮油学报，2003，**18**(3):59-61

[9] 赵国华,李志孝,陈宗道. 甘薯多糖 SPPS-I-Fr-Ⅱ 组分的纯化及理化性质分析[J]. 中国粮油学报，2003，**18**(1):46-48

[10] 李亚娜,林永成,佘志刚. 甘薯糖蛋白的分离、纯化和结构分析[J]. 华南理工大学学报(自然科学版)，2004，**32**(9):59-62

[11] 王宪昌,呼晓姝,王建中. 甘薯茎蔓多糖提取技术及不同时期多糖含量比较[J]. 山东农业大学学报(自然科学版)，2006，**37**(2):204-207

[12] 林　茹,张福娣,黄碧芳,等. 超声波辅助热水提取甘薯多糖工艺[J]. 亚热带农业研究，2005，**1**(4):204-207

Isolation, purification and physical-chemical properties of polysaccharides from sweet potatoes

TIAN　Chun-yu[*1], WANG　Guan-lin[2]

(1. School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China; 2. College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China)

Abstract: An optimum method of polysaccharide isolation from sweet potatoes was put forward based on orthogonal test design. When pH is 7, the volume ratio of solution and solute is 2, the volume ratio of ethanol and condensed solution is 3, the operation is done in 2 h at 65 ℃, and the extraction rate is over 90%. The polysaccharide was isolated and purified from sweet potatoes using this method. Its relative molecular mass is 4.6×10^4. It is shown to be a single homogeneous component by paper layer chromatography, Sephadex G-200 column chromatography, ultraviolet detection and infrared ray. Its monosaccharide composition is β-glucose.

Key words: polysaccharide of sweet potatoes; isolation and purification; physical-chemical properties