



北五味子多糖的分离纯化研究

孟宪军¹, 那广宁¹, 高晓旭^{1,2}, 李继海², 秦 琴¹
(1.沈阳农业大学食品学院, 沈阳 110161; 2.北华大学, 吉林 132013)

摘要: 应用水提醇沉以及除蛋白等方法, 从北五味子果实中获得多糖; 多糖经 DEAE-cellulose52 后得到 SCP-B₁、SCP-B₂、SCP-B₃; 经 SephadexS-300 柱层析和紫外吸收光谱分析证明: 3 种多糖均为均一多糖。

关键词: 北五味子多糖; 分离; 纯化

中图分类号: TS 201.2

文献标志码: A

文章编号: 1005-9989(2008)11-0197-03

Study on extraction and purification of polysaccharide from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Bail1

MENG Xian-jun¹, NA Guang-ning¹, GAO Xiao-xu^{1,2}, LI Ji-hai², QIN Qin¹

(1.Department of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161;
2.BeiHua University, Jilin 132013)

Abstract: A polysaccharide was obtained from *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill by method of water extraction and ethanol precipitation and eliminate protein; After DEAE-cellulose 52 SCP-B₁, SCP-B₂ and SCP-B₃ was obtained; The result indicate that SCP-B₁, SCP-B₂ and SCP-B₃ was homogeneous molecular weight assayed by UV scanning pattern and Sephadex S-300 column chromatography.

Key words :*Schisandra chinensis* (Turcz.)Bail1 polysaccharide; extraction; purification

北五味子是木兰科植物五味子(*Schisandra chinensis*(Turcz.)Baill)的干燥成熟果实, 因其果实甘、酸、辛、苦、咸五味俱全, 故名五味子, 又名五梅子、玄及、会及、山花椒等, 因主产于我国东北各地, 也称为北五味子和辽五味子。北五味子是著名的滋补性中药, 始载于《神农本草经》, 列为上品^[1]。五味子含多糖、木脂素、挥发油、戈米辛 A、B 等成分, 具有明显的医疗保健作用和极高的营养价值^[2]。目前国内外对北五味子多糖研究多集中在粗多糖的提取及功能方面, 而对其纯化以及单一多糖组分研究还很少^[3]。本文对北五味子果实中多糖进行系统的研究。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂 北五味子: 采自沈阳农业大学沃林中草药研究所北五味子种植基地, 干燥, 清洗, 烘干备用; 无水乙醇、葡萄糖、乙醚、苯酚、浓硫酸、三氯甲烷、正丁醇、三氯甲烷、木瓜蛋白酶等: 分析纯; DEAE-52 纤维素 Whatman 公司; SephadexS-300: 瑞典 Pharmacia 公司。

1.1.2 仪器与设备 7200 型可见分光光度计: 尤尼柯(上海)有限公司; RE-52 型旋转蒸发器: 上海博通经贸有限公司; SHZ-IIIB 型循环水真空泵:

收稿日期: 2008-05-22

基金项目: 吉林省科技厅资助项目(20060901-01)。

作者简介: 孟宪军(1962—), 男, 教授, 主要从事植物活性成分的研究工作。



上海华琦科学仪器有限公司；TDL-5000B型冷冻离心机：上海安亭科学仪器厂；上海市检测技术所上立检测仪器厂；UV-1100紫外可见分光光度计：上海分析仪器厂；透析袋(分子截流量为1000u)：美国产；BSZ-100自动部分收集器：上海沪西分析仪器厂；HL-2恒流泵：上海沪西分析仪器厂；TDL-5000B型离心机：上海安亭仪器厂；Sartorius分析天平：西德产。

1.2 实验方法

1.2.1 粗多糖的制备 将处理好的北五味子在大烧杯中用蒸馏水浸泡24h，取50g试材，按照 $L_9(3)^3$ 进行水提正交实验，滤液用压滤器过滤，然后旋转浓缩到一定体积，5倍乙醇沉淀，静置过夜，6000 r/min离心20 min，60℃干燥后称质量。多糖含量的测定采用苯酚-硫酸法^[4]。根据公式计算多糖得率：多糖得率(%)=多糖质量/试材质量×100

1.2.2 粗多糖脱蛋白处理 分别选用sevage法，三氯乙酸法，以及酶法与上述方法的结合进行脱蛋白处理，直至中间层无变性蛋白为止，蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法。最后将多糖用蒸馏水透析48h，浓缩、醇沉后得微黄色多糖纯化物^[5]。

1.2.3 北五味子均一多糖制备及纯度鉴定 DEAE-cellulose52柱层析^[6]：将处理好的填充料浸泡在pH6.8的蒸馏水中，装柱(30cm×1cm)后缓冲液平衡一夜^[8]，上样：50mg蒸馏水溶解的多糖浓缩液6mL，然后依次用蒸馏水：0.1mol/L NaCl、0.2mol/L NaCl、0.3mol/L NaCl溶液洗脱，每5min收集一管，5mL/管。硫酸-酚法跟踪检测，收集相同峰位，透析、浓缩、冻干。

多糖的Sephadex S-300柱层析^[6]：将溶胀好的填充料用0.1mol/L的NaCl溶液平衡一夜，上样后用相同离子浓度的NaCl溶液洗脱，收集相同峰位后，透析，浓缩，冻干。

将多糖配成1mg/mL的水溶液在紫外分光光度计200~400nm波长上扫描。

2 结果与讨论

2.1 不同方法对蛋白脱除的结果与讨论

不同方法对蛋白脱除的结果见图1。

由图1可以看出，三氯乙酸法脱蛋白效果明显好于sevage法，而且其脱蛋白程度较大。将酶法与上述方法相结合可以看出，酶法与三氯乙酸-正丁醇法结合脱蛋白效果较好。即酶解处理后，再经三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白，重复处理5次即

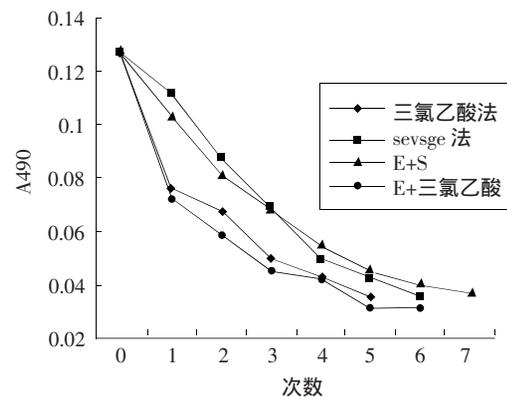


图1 不同方法对脱蛋白的影响

可，此时蛋白质含量为0.91mg/g；而酶法与Sevage法结合时，酶解处理后，再经7次Sevage法处理，蛋白质含量仍为1.633mg/g，脱除效率仍然较低。

2.2 北五味子多糖组分分离结果与讨论

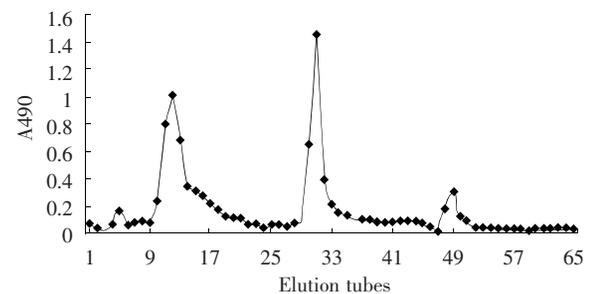


图2 北五味子多糖的DEAE-cellulose-52洗脱曲线

用DEAE-cellulose52层析柱将五味子多糖不同组分分离：多糖上样后，分别用水0.1、0.2、0.3mol/L的NaCl洗脱至硫酸-苯酚显阴性，结果出现一个水洗峰A，及B₁、B₂、B₃，3个盐洗峰(见图2)，分别出现在0.1mol/L、0.2mol/L、0.3mol/L盐洗脱100mL后。从多糖的洗脱曲线可知，水洗峰A含量极微，而SCP-B、SCP-B、SCP-B含量相对较高。其中水洗多糖组分为透明液体，盐洗脱组分SCP-B、SCP-B、SCP-B呈现不同程度的黄色。

2.3 北五味子多糖组纯化结果与讨论

北五味子多糖组纯化结果见图3~图5；北五味

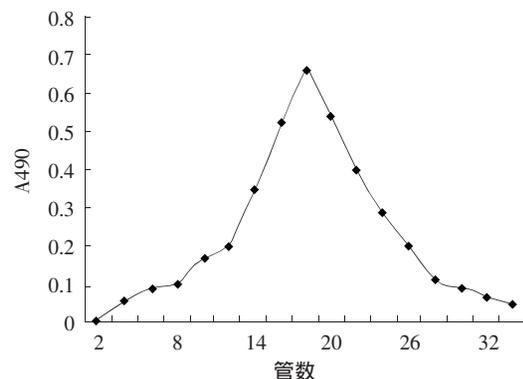


图3 SCP-B Sephadex S-300洗脱曲线

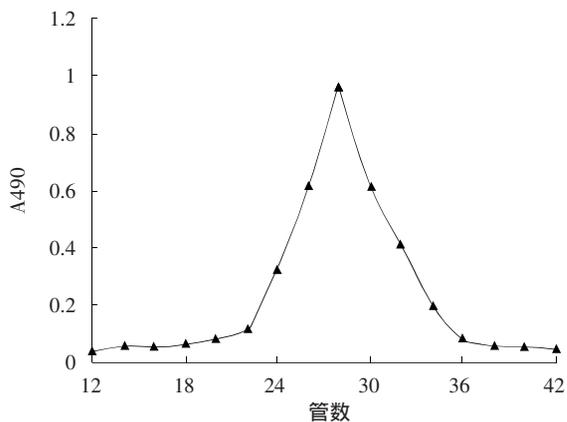


图4 SCP-B Sephadex S-300 洗脱曲线

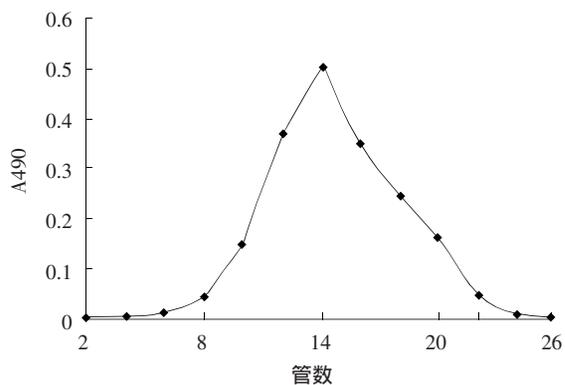


图5 SCP-B Sephadex S-300 洗脱曲线

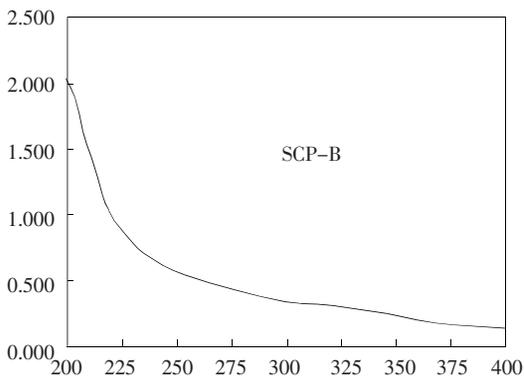


图6 SCP-B 的紫外吸收光谱图

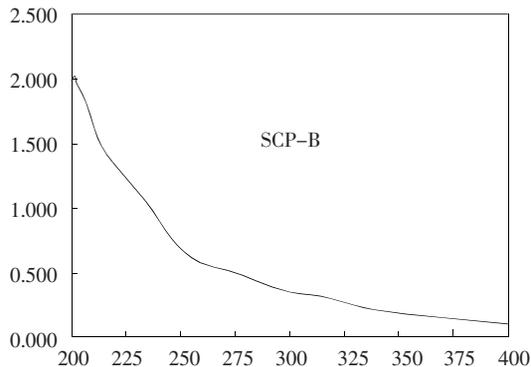


图7 SCP-B 的紫外吸收光谱图

子多糖紫外吸收光谱结果见图6~图8。

由图3~图5可知,将SCP-B、SCP-B、SCP-B等多糖经凝胶柱层析后,洗脱曲线为对称

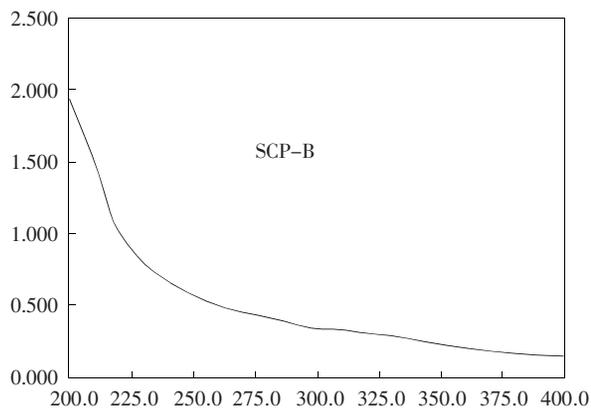


图8 SCP-B 的紫外吸收光谱图

而且单一峰,由图6、图7、图8紫外光谱图可见,SCP-B、SCP-B、SCP-B在280、260 nm处无吸收,表明它不含蛋白、多肽及核酸。结合SCP-B、SCP-B、SCP-B等多糖经凝胶柱洗脱曲线为对称而且单一峰,因此可证明它们均为均一组分。

3 结论

多糖脱蛋白的过程中,酶法与三氯乙酸-正丁醇法结合脱蛋白效果最佳。酶解处理后,再经三氯乙酸-正丁醇法脱蛋白重复处理5次即可,此时蛋白质含量为0.91 mg/g,明显好于其他方法。而酶法与Sevag法结合时,酶解处理后,再经7次Sevag法处理,蛋白质含量仍为1.633 mg/g,脱除效率仍然较低。

通过DEAE-cellulose 52层析柱吸附解析,将多糖分离成3种多糖组分SCP-B、SCP-B、SCP-B;经Sephadex S-300凝胶柱层析后,均为对称而且单一峰;由紫外光谱分析,SCP-B、SCP-B、SCP-B在280、260 nm处无吸收,表明它不含蛋白、多肽及核酸。因此可以更进一步证明SCP-B、SCP-B、SCP-B多糖均为均一组分。

参考文献:

- [1] 李晓光,高勤,翁文,等.五味子多糖的研究概况[J].时珍国医国药,2006,27(6):931-932
- [2] 应国清,俞志明,单剑峰,等.北五味子有效组分研究进展[J].河南中医,2005,25(6):84-87
- [3] 张兰杰,张维华,赵珊红.北五味子果实中多糖的提取与纯化研究[J].鞍山师范学院学报,2002,4(1):58-60
- [4] 张志军,刘建华,李淑芳,等.灵芝多糖含量的苯酚硫酸法检测研究[J].食品工业科技,2006,27(2):194-195
- [5] 刘晓红,肖凯军.金樱子粗多糖的脱蛋白研究[J].食品科技,2007,14(1):102-104
- [6] 王晶晶,冯颖,孟宪军.无梗五加多糖ASP-A的分离纯化及清除自由基研究[J].食品科技,2006,13(6):34-37