

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2020.06.002

太白贝母多糖分离及结构表征

张 华^{1,3}, 杜慧慧¹, 冉黄桥¹, 陶 红¹,
庞世海¹, 罗明和², 蒋永波¹, 周 浓¹

1. 重庆三峡学院 生物与食品工程学院, 重庆 万州 404120;
2. 武汉大学 药学院/组合生物合成与新药发现教育部重点实验室, 武汉 430071;
3. 重庆市渝东北特色生物资源开发利用工程技术研究中心, 重庆 万州 404120

摘要: 利用水提醇沉得到太白贝母粗多糖之后, 依次采用 AB-8 型大孔吸附树脂吸附、透析袋透析、二乙氨基乙基(diethylaminoethyl, DEAE)弱碱性阴离子交换纤维素柱层析对太白贝母多糖进行纯化, 之后利用葡聚糖凝胶 G-100 柱层析法测定太白贝母多糖的相对分子质量, 利用硅胶薄层层析法, 气相-质谱联用法以及傅里叶红外光谱法分析研究太白贝母多糖中单糖的组成类型以及结构特点. 结果表明太白贝母多糖经过 DEAE 纤维素柱纯化洗脱后, 至少得到 3 个分离的洗脱峰, 其中 NaCl 洗脱液洗脱多糖葡聚糖凝胶 G-100 层析柱洗脱 V_e/V_0 的比值为 1.07; 薄层层析结果显示太白贝母多糖水解物的 R_f 值为 0.39, 与 D(+)-半乳糖的 R_f 值(0.38)迁移率接近, 并且显色接近一致(均为蓝色); 太白贝母多糖水解物 GC-MS 出峰时间(1.522 min)与 D(+)-半乳糖出峰时间接近(1.520 min), 并且主要 m/z 碎片信息接近为 147.1 和 75.0. 红外光谱特性分析研究, 显示其在 $1\ 100\sim 1\ 010\ \text{cm}^{-1}$ 之间有 3 个强吸收峰($1\ 050\ \text{cm}^{-1}$, $1\ 027\ \text{cm}^{-1}$, $1\ 003\ \text{cm}^{-1}$), 此为吡喃糖苷的特征吸收峰; 在 $827\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰, 而在 $890\ \text{cm}^{-1}$ 处无吸收峰, 此为 α -型糖苷键链接特征. 可见太白贝母 NaCl 洗脱液洗脱的多糖相对分子质量约为 2×10^6 , 多糖的主要组成单糖类型是 D(+)-半乳糖, 属于 α -型吡喃糖.

关键词: 太白贝母; 多糖分离; 大孔吸附树脂; 单糖组成; 结构表征

中图分类号: TQ91 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-9868(2020)06-0011-09

贝母属于百合科多年生草本植物, 是一种药食同源植物. 主要药用或食用部位是贝母鳞茎, 其性苦、甘、微寒, 归肺、心经, 具有镇咳、祛痰、平喘、镇静、镇痛、抗心血管病、抗溃疡、抗血小板聚集、抗肿瘤等功效^[1-2]. 依据产地的不同, 贝母可以分为川贝母、浙贝母、土贝母、伊贝母^[3]. 太白贝母(*Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li)是川贝母入药的重要基源之一^[4], 其又名太贝、尖贝、秦贝. 大量研究表明太白贝母化学成分、植物形态和药理作用与野生川贝母没有明显差异, 同时太白贝母栽培技术已经较为成熟、且产量大, 适宜低海拔栽培, 尤其有分析认为重庆太白贝母栽培历史悠久、产业基础较好, 通过整合市场、技

收稿日期: 2019-08-25

基金项目: 重庆市基础与前沿研究计划项目(cstc2016jcyjA0555); 重庆市教委科学技术研究计划项目(KJQN201901227); 三峡研究院(三峡库区可持续发展研究中心)2018年度开放基金项目(18sxyjd09).

作者简介: 张 华(1982-), 女, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事植物化学物质鉴定及抗氧化活性分析的研究.

通信作者: 周 浓, 教授, 硕士研究生导师.

术、资金及政策资源,未来重庆可能建成全国最大的太白贝母生产基地,太白贝母也可能发展成为川贝母的主流品^[5],有替代川贝母入药的巨大商品经济价值.多糖作为近年来研究的热点之一,大量研究表明植物多糖具有抗衰老等多种生物学功效,而且对机体几乎没有毒性,故对其生物学功效的研究愈来愈引起人们的重视^[6-7].目前国内外关于贝母多糖相关的研究较多,主要集中在川贝母^[8-9]、平贝母^[10]、浙贝母^[11]多糖含量及药理活性,以及平贝母多糖单糖组成分析及活性研究方面^[12-13],但关于太白贝母多糖的相关研究甚少,且主要集中在太白贝母多糖提取纯化工艺,以及抗氧化活性研究等方面^[14-15].总体来讲仍然处于起步阶段,许多方面需要加强研究,尤其是太白贝母多糖相对分子量和结构表征等方面研究尚不足.本研究着重研究太白贝母多糖的相对分子质量、多糖的单糖组成类型以及结构表征,为进一步开发利用太白贝母多糖药用及食用价值提供理论参考.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

太白贝母样品购自四川成都荷花池中药材市场,其呈类圆锥形或近球形,呈“怀中抱月”之势,先端钝圆或稍尖.经过鉴定为百合科(Liliaceae)贝母属太白贝母(*Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li)的干燥鳞茎.

乙醇、盐酸、甲醇、硫酸、氯仿、磷酸、冰醋酸,重庆川东化工集团有限公司;丙酮,重庆市科龙化工试剂厂;正丁醇、BaCO₃、吡啶、六甲基二硅烷、苯胺、三甲基氯硅烷、无水葡萄糖,成都市科龙化工试剂厂;氢氧化钠,四川西陇化工有限公司;二苯胺,天津市凯通化学试剂有限公司;蒽酮,中国试剂网-上海市宁波路54号;NaCl,天津市鼎盛鑫化工有限公司;3500道尔顿的透析袋(截留分子量14000),北京经科宏达生物技术有限公司;AB-8型号大孔吸附树脂,东鸿化工有限公司;DEAE纤维素,上海金穗生物科技有限公司;标准单糖:D(+)-半乳糖(质量分数≥98,CAS号59-23-4)、D(+)-无水葡萄糖(质量分数≥98%,CAS号50-99-7)、鼠李糖(质量分数≥98%,CAS号6155-35-7)、D(+)-木糖(质量分数≥98%,CAS号58-86-6)、D(+)-甘露糖(质量分数≥98%,CAS号3458-28-4),北京索莱宝科技有限公司;分子量分别为T-500,T-70,T-40,T-10标准葡聚糖、蓝色葡聚糖(平均分子量 2×10^6)、葡聚糖凝胶G-100,美国Pharmacia公司.

722型可见分光光度计,上海欣茂仪器有限公司;FA1004型电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;EL104电子天平,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;薄层硅胶板,青岛海洋化工厂分厂;HH.S精密恒温水浴锅,江苏金坛市医疗仪器厂;ZWY-110X30往复式水浴恒温摇床,上海智城分析仪器有限公司;LC-4010低速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;TG16-WS高速离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;FW80型高速试样粉碎机,河北新兴电器厂;ZXFD-B5250十段编程鼓风干燥箱,上海智城分析仪器制造有限公司;RE-3000A旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;GDYQ-701S超声波清洗器,长春吉大小天鹅仪器有限公司;Alphal1-2 LDplus真空冷冻干燥机,德国Christ公司;7890A-5975C型GC-MS仪,美国Agilent公司;TENSOR 27傅里叶红外光谱仪,德国布鲁克公司.

1.2 实验方法

1.2.1 太白贝母样品预处理以及粗多糖的提取

将贝母干燥品粉碎,并过60目筛(0.280 mm)保存于干燥器备用,参见姜峻等^[16]报道的方法进行贝母粗多糖提取.准确称取60.0 g贝母样品(粉末)于1000 mL圆底烧瓶中,加入250 mL石油醚回流提取1 h,加入250 mL无水乙醇回流提取2 h.将有机溶剂挥干,得固体样渣.之后在固体样渣中加入250 mL蒸馏水90℃水浴提取1 h,之后取上清液.该水浴操作提取重复3次,合并上清液,浓缩至原来

样液体积的 1/3. 之后加入 4 倍体积的冷乙醇, 4 °C 醇沉 24 h. 醇沉过后以 4 000 r/min 离心 5 min, 得粗多糖沉淀. 加 300 mL 蒸馏水复溶, 加入 1 倍体积 Sevage 试剂($V_{\text{氯仿}} : V_{\text{正丁醇}} = 5 : 1$)震荡 15 min, 之后以 4 000 r/min 离心 6 min, 取上层多糖水溶液. 上述步骤重复 3 次, 合并多糖水溶液, 加入 4 倍体积冷的无水乙醇, 4 °C 醇沉 12 h, 得粗多糖沉淀. 蒸馏水定容 40 mL, 分装在多个 1.5 mL 的离心管中冷冻干燥, 得固体粗多糖干燥样品, 备用.

1.2.2 太白贝母粗多糖的大孔吸附树脂纯化

称取 3.0 g AB-8 型号大孔吸附树脂, 用蒸馏水充分清洗以去除表面杂质, 再用 25 mL 95% 无水乙醇浸泡 24 h, 使树脂充分溶胀. 之后弃去乙醇, 用蒸馏水洗涤至无味, 加 20 mL 4% 的 HCl 溶液浸泡 3 h, 用蒸馏水洗涤至中性. 再用 20 mL 4% 的 NaOH 溶液浸泡 3 h 之后, 用蒸馏水洗涤至中性, 最后加 20 mL 蒸馏水浸泡, 保存 4 °C 备用^[17]. 准确称取 100 mg 太白贝母固体粗多糖干燥样品溶于 10 mL 双蒸水中过夜溶胀, 将粗多糖溶液经大孔吸附树脂震荡摇床 24 h 后, 4 000 r/min 离心 6 min 去除大孔树脂得初步纯化的多糖溶液(I).

1.2.3 太白贝母粗多糖透析纯化处理

透析袋预处理: 用蒸馏水煮沸 5 min 后, 用 60 °C 蒸馏水洗冲 2 min, 置 4 °C 蒸馏水中待用^[18]. 将大孔树脂吸附纯化后的太白贝母多糖溶液(I)放入截留分子量为 3 500 Da 的透析袋中, 透析 48 h, 透析过后在多糖溶液中加入 95% 乙醇, 使乙醇浓度达到 80%, 得到白色絮状沉淀, 4 °C 过夜, 4 000 r/min 离心 6 min 后真空干燥沉淀, 得到多糖半纯产品(II).

1.2.4 DEAE(二乙基氨基乙基)弱碱性阴离子交换纤维柱层析分离纯化

DEAE 弱碱性阴离子交换纤维预处理: 取 25 g DEAE 加入 500 mL 水, 浸泡 24 h, 使纤维素颗粒充分膨胀, 去除悬浮的细颗粒. 其后再加入 4 倍量的 0.50 mol/L HCl 浸泡搅拌 4 h, 滤去酸液, 水洗至中性. 再加入 4 倍量的 0.50 mol/L NaOH 浸泡搅拌 4 h, 滤去碱液, 水洗至中性. 如此反复轮洗, 直至洗出液无色澄清为止, 脱气, 备用^[19].

采用 DEAE 柱层析(2.5×30 cm), 对经过透析袋透析过的贝母多糖半纯产品(II)进行分离纯化, 首先用 250 mL 蒸馏水进行洗脱, 之后用 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 mol/L NaCl(各 50 mL)依次进行洗脱后, 每 7 mL 收集 1 次. 用蒽酮硫酸方法跟踪^[20], 按照洗脱峰情况进行收集, 透析、冻干, 得贝母纯化多糖(III).

1.2.5 太白贝母多糖相对分子量的测定

采用葡聚糖凝胶 SephadexG-100 湿法装柱, 层析柱规格为 30×2.0 cm, 纯水平衡 12 h, 洗脱液采用蒸馏水, 洗脱速度 0.5 mL/min. 各标准葡聚糖和蓝色葡聚糖(Dextran blue 2×10^6) 上样量均为每 4 mL 含 5 mg 标准品溶液. 首先用蓝色葡聚糖测得洗脱体积为 V_0 , 然后用型号 T-500, T-70, T-40, T-10 标准葡聚糖相继上柱, 分管收集洗脱液, 每管 1.5 mL, 蒽酮比色法跟踪检测, 根据吸光度测定洗脱体积 V_e . 以 V_e/V_0 为纵坐标, 相对分子量的自然对数为横坐标, 绘制标准曲线. 同样洗脱条件下, 取每 4 mL 含 5 mg 贝母纯化多糖(III)水溶液上柱, 测定各自的洗脱体积 V'_e , 结合标准曲线和 V_e/V_0 值计算出相应的分子量^[21].

1.2.6 太白贝母多糖中单糖种类分析

称取 20 mg 太白贝母多糖样品于具塞试管中, 加入 6 mL 0.2 mol/L H_2SO_4 , 110 °C 水解 10 h, 冷却室温, $BaCO_3$ 中和, 离心去除沉淀, 取上清, 冷冻干燥得多糖水合物, 供薄层和质谱分析待用^[22]. 薄层和质谱分析目的为相互印证结果. 单糖标准品包括: D(+)-半乳糖、D(+)-无水葡萄糖、鼠李糖、D(+)-木糖、D(+)-甘露糖.

1.2.6.1 GC-MS 分析

将多糖样品水解物,标准单糖 D(+)-半乳糖、D(+)-无水葡萄糖、鼠李糖、D(+)-木糖、D(+)-甘露糖各 3 mg,以 0.6 mL 吡啶溶解,加六甲基二硅胺烷 0.4 mL 和三甲基氯硅烷 0.2 mL,于 60 °C 烘箱中放置 10 min,离心去除沉淀,进样^[22].

GC-MS 进样条件(Agilent 7890A-5975C 型号仪器)参照段红波等^[23]方法:色谱条件 DB-35MS 型毛细管柱(30 m×250 μm, 0.15 μm, 安捷伦);程序升温:炉温初始温度为 150 °C 保持 1 min,之后以 6 °C/min 升温至 190 °C,之后再以 15 °C/min 升温至 260 °C 程序升温,保持 3 min;载气氦气(纯度 99.999%),载气流速 1 mL/min;进样量 1 μL,进样口温度 250 °C,分流比 10:1. 质谱条件:EI 离子源,离子源温度 230 °C,传输线温度 250 °C,质量扫描范围 m/z : 20~550;检测器温度 260 °C.

1.2.6.2 硅胶薄层分析

展开剂参见杨成等^[24]配置方式,苯胺-二苯胺显色剂参见李群等^[25]专利配置方式,及张真庆等^[26]文献方式进行溶解. 展开显色:薄层板(100 mm×100 mm 规格),点样样品和标品浓度为 2 mg/mL,按照一定顺序毛细管点样到薄层板上风干后,重复点样 3~4 次,每个样间隔 15 mm,起始点样高度 10 mm. 点样后薄层板放入已预先饱和 30 min 的双槽层析缸中展开,展开距离 8 cm,取出吹干,喷显色剂苯胺-二苯胺显色后,自然风干,85±2 °C 加热显色至斑点清晰,约 7±2 min(展开时间约为 1.6 h)^[27-28].

1.2.7 太白贝母多糖傅里叶红外光谱分析

取 1.2.4 中得到的贝母纯化多糖(III)干燥样品 1 mg,与干燥的溴化钾(KBr)粉末于玛瑙钵中轻轻研磨均匀,经压片机压成薄片后即可上机测定. 检测器分辨率:4 cm⁻¹;扫描次数:64;测试范围:4 000~400 cm⁻¹^[29].

1.3 数据统计分析

Microsoft Excel 软件及 SPSS 22.0 软件对实验数据进行分析,结果取 3 次平行实验的平均值,通过 Origin 7.5 软件进行制图分析.

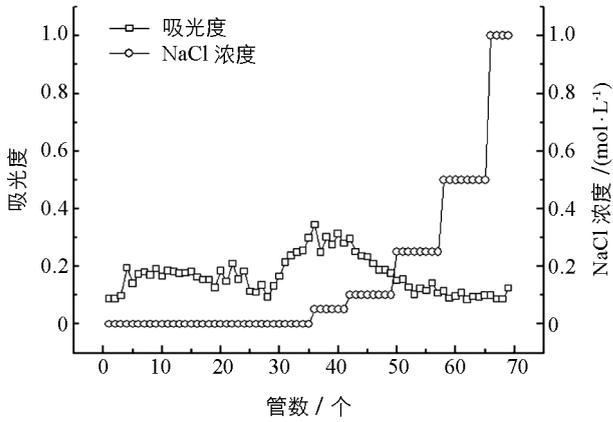
2 结果与分析

2.1 太白贝母多糖纯化

太白贝母多糖经过大孔吸附树脂纯化后得率约为 60%,经过透析处理后多糖得率约为 3.0%. 太白贝母多糖 DEAE 弱碱性阴离子交换纤维柱层析纯化结果如图 1. 太白贝母多糖先后采用蒸馏水和不同浓度梯度 NaCl 溶液(0.05~1.0 mol/L)经过 DEAE 纤维素柱纯化洗脱后,得到至少 3 个分离的洗脱峰,3-20 管和 21-28 管均为蒸馏水洗脱产物;29-53 管为 NaCl 溶液洗脱产物. 但是总体比较峰分离效果不明显,表明多糖级分之间相对分子质量没有数量级差异. 也可能受到 NaCl 洗脱溶液洗脱体积偏少,每管收集体积偏多的影响^[30]. 经过对太白贝母蒸馏水和 NaCl 洗脱多糖含量进行吸光度测定比对,显示 NaCl 洗脱产物含糖量较高,所以本实验主要对 NaCl 溶液洗脱产物进行进一步纯化. 而已经报道的平贝母多糖 DEAE 纤维素柱纯化洗脱结果显示,平贝母多糖蒸馏水洗脱量最多^[12],这可能是由于不同的太白贝母与平贝母具有不同性质的多糖.

2.2 太白贝母多糖分子量的测定

不同相对分子量葡聚糖标准品,经过葡聚糖凝胶 G-100 层析柱洗脱得出的标准曲线为 $y = -6.880 1x (V_e/V_o) + 12.979$,相关系数为 $R^2 = 0.936 8$ (图 2). 经过 DEAE 弱碱性阴离子交换纤维柱层析纯化的太白贝母多糖经过葡聚糖凝胶 G-100 层析柱洗脱, V_e/V_o 的比值为 1.07,由此推算,太白贝母多糖的相对分子量约为 2×10^6 .



洗脱梯度: 0-35 管为蒸馏水洗脱; 36-41 管为 0.05 mol/L NaCl 洗脱; 42-49 管为 0.10 mol/L NaCl 洗脱; 50-57 管为 0.25 mol/L NaCl 洗脱; 58-65 管为 0.50 mol/L NaCl 洗脱; 66-70 管为 1.00 mol/L NaCl 洗脱.

图 1 太白贝母多糖 DEAE 弱碱性阴离子交换纤维柱层析

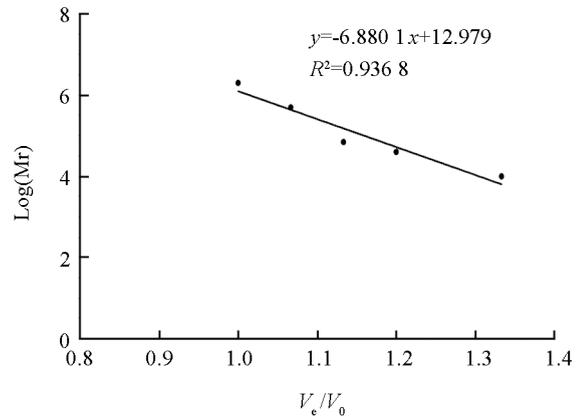
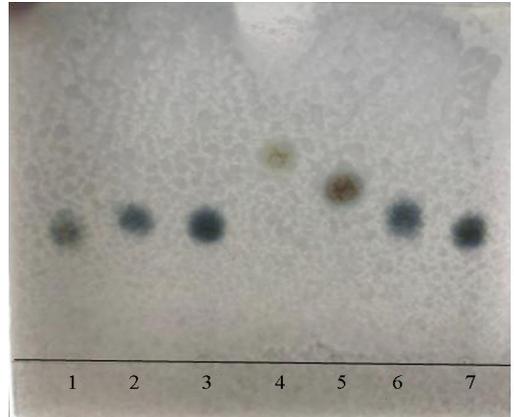


图 2 葡聚糖标准品标准曲线

2.3 太白贝母多糖中单糖种类分析

2.3.1 硅胶薄层层析分析结果

薄层层析结果显示(图 3 和表 1), 标准品的迁移率在 0.38~0.58 范围之内, 太白贝母多糖水解物的 R_f 值为 0.39, 与 D(+)-半乳糖的 R_f 值(0.38)迁移率接近, 并且显色颜色接近一致(均为蓝色), 可见薄层色谱结果显示太白贝母多糖的单糖成分可能为 D(+)-半乳糖. 硅胶薄层层析分析结果和 GC-MS 分析结果一致, 再次验证了贝母多糖的组成类型主要为 D(+)-半乳糖. 与平贝母多糖组成比较(由木糖组成, 同时含有少量葡萄糖和半乳糖组成), 太白贝母多糖不属于杂多糖^[12].



1 为 D(+)-半乳糖; 2 为 D(+)-无水葡萄糖; 3 和 7 为太白贝母多糖水解物; 4 为鼠李糖; 5 为 D(+)-木糖; 6 为 D(+)-甘露糖.

图 3 单糖标准品和太白贝母多糖水解产物薄层层析

表 1 单糖标准品和太白贝母多糖水解产物薄层层析

编号	化合物名称	R_f 值	颜色
1	D(+)-半乳糖	0.38	蓝色
2	D(+)-无水葡萄糖	0.41	蓝色
3,7	太白贝母多糖水解物	0.39	蓝色
4	鼠李糖	0.58	黄色
5	D(+)-木糖	0.49	棕褐色
6	D(+)-甘露糖	0.42	蓝色

2.3.2 GC-MS 分析结果

通过 GC-MS 对于单糖标准品和样品水解物的分析(图 4 和表 2), 可以看出太白贝母 GC-MS 出峰时间(1.522 min)与 D(+)-半乳糖出峰时间接近(1.520 min), 并且主要 m/z 碎片信息接近为 147.1 和 75.0.

太白贝母样品 GC-MS 主要 m/z 碎片信息与鼠李糖、D(+)-木糖、D(+)-甘露糖也较为类似,但是出峰时间不是很接近.由此可以看出太白贝母多糖的主要组成成分为 D(+)-半乳糖.此外 1.580~1.628 min 出峰时间,依据碎片信息为 79.0 和 52.0 等以及与美国化学协会标准化合物数据库比对(图 5),该碎片信息主要是由吡啶溶剂引起.

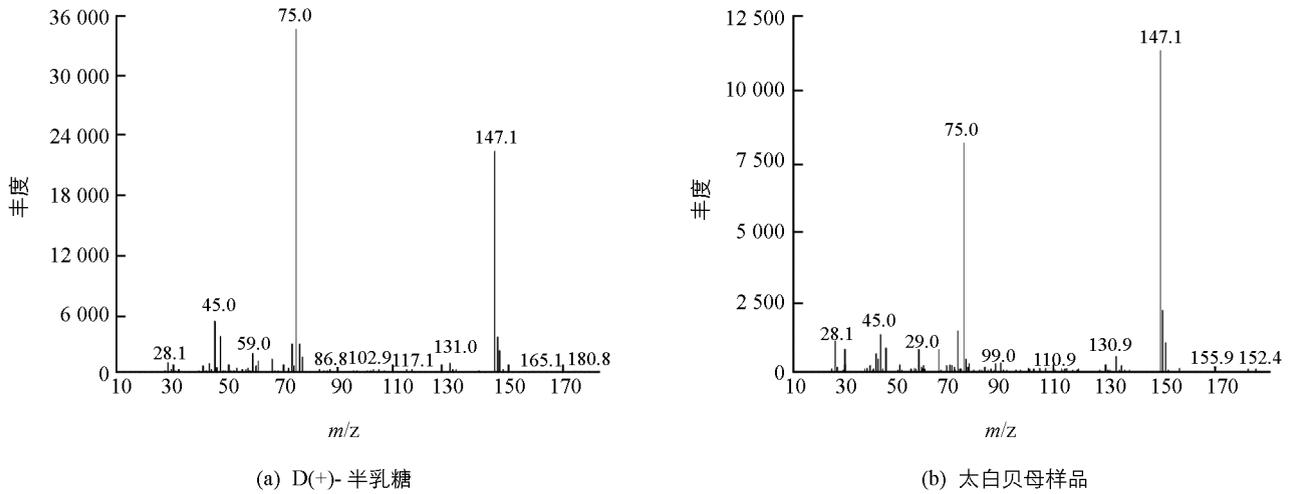


图 4 D(+)-半乳糖标准品和太白贝母样品质谱图

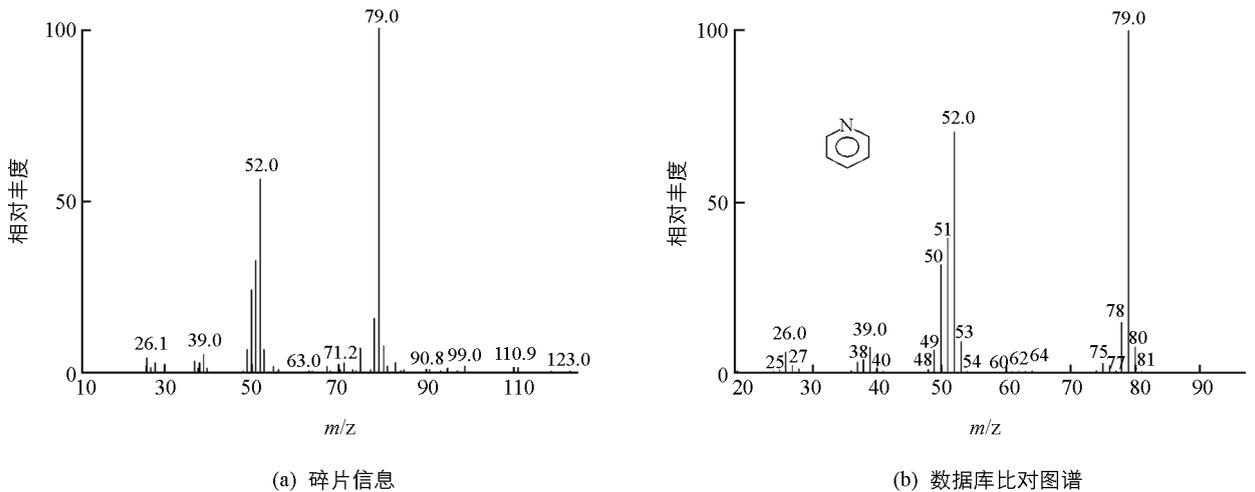


图 5 碎片信息和数据库质谱图

表 2 单糖标准品和太白贝母多糖 GC-MS 分析结果

序号	化合物名称	分子式	相对分子量/ ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)	采集时间 1/ min	对应采集时间 1 离子峰(m/z)	采集时间 2/ min	对应采集时间 2 离子峰(m/z)	采集时间 3/ min	对应采集时间 3 离子峰(m/z)
1	D(+)-半乳糖	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	180.16	1.501~1.543	147.1/75.0	1.580~1.622	79.0/52.0		
2	D(+)-无水葡萄糖	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	180.16	1.513~1.543	147.1/73; 59.1/93.0	1.598~1.622	79.0/51.1		
3	鼠李糖	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$	182.17	1.591~1.543	75.0/93/147.1	1.550~1.568	130.1/146.2	1.592~1.622	79.0/50.1
4	D(+)-木糖	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$	150.13	1.513~1.549	75.0/147.1				
5	D(+)-甘露糖	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	180.16	1.519~1.556	147.1/75.0	1.591~1.616	80.0/50.01		
6	太白贝母多糖	未知	未知	1.501~1.543	147.1/75.0	1.574~1.628	79.0/52.0		

2.4 太白贝母多糖傅里叶红外光谱分析

太白贝母纯化后对多糖进行红外光谱特性分析,图 6 显示特征谱带分别在 3 442, 2 256, 2 129,

1 654, 1 050, 1 027, 1 003, 827, 765, 632 cm^{-1} , 且具有明显的多糖特征谱带. 太白贝母多糖红外光谱在 3 600~3 200 cm^{-1} (3 442 cm^{-1}) 出现一宽峰, 表明多糖存在分子间、分子内氢键, 存在着 O—H 的伸缩振动^[31]. 呋喃糖在 1 100~1 010 cm^{-1} 之间会出现有 2 个较强吸收峰, 吡喃糖在 1 100~1 010 cm^{-1} 之间会有 3 个强吸收峰^[32]. 由光谱图 6 可知, 在 1 100~1 010 cm^{-1} 之间有 3 个强吸收峰 (1 050 cm^{-1} , 1 027 cm^{-1} , 1 003 cm^{-1}). 徐也等^[33]报道在 1 100~1 010 cm^{-1} 之间有 3 个强吸收峰 (1 103 cm^{-1} , 1 049 cm^{-1} 和 1 016 cm^{-1}), 此为吡喃糖苷的特征吸收峰, 这说明太白贝母多糖属于吡喃糖. 1 078 cm^{-1} 附近出现的峰是常见的吡喃糖环内酯和羟基吸收产生的吸收峰, 是由于糖环上 C—O—O 醚键的不对称伸缩振动, 构成了糖类的特征吸收峰, 也是葡聚糖典型的红外光谱信号^[34]. 在 1 000 cm^{-1} 以下的区域称为指纹区, 此区的光谱更为繁琐, 可用于整体分子特征的研究分析. 光谱图 6 在 827 cm^{-1} 处有吸收峰, 而在 890 cm^{-1} 处无吸收峰 (吡喃糖苷特征吸收峰)^[35], 说明太白贝母多糖是以 α -型糖苷键链接^[36]. 765 cm^{-1} 为吡喃环的对称环伸缩振动^[37].

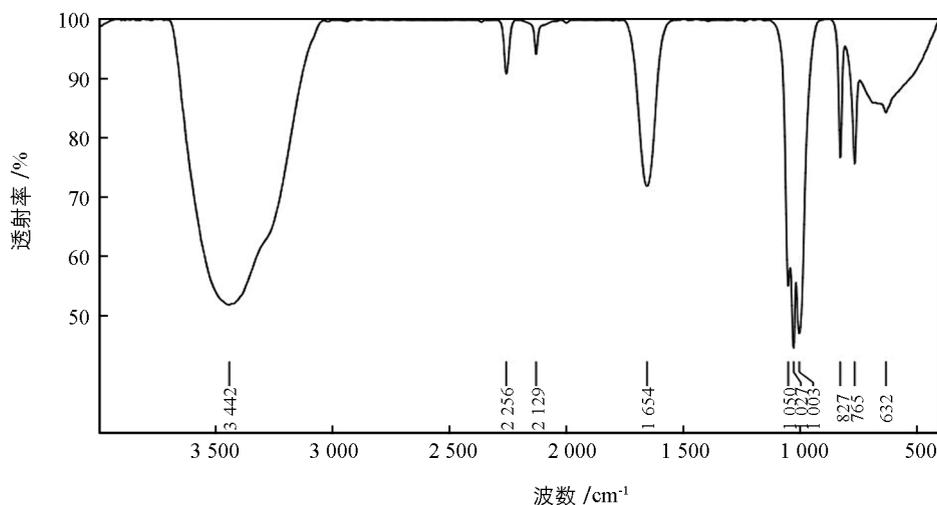


图 6 太白贝母多糖的红外光谱

3 结 论

本实验通过对太白贝母多糖的提取以纯化后, 测定太白贝母多糖的相对分子量以及多糖中单糖的结构特点分析, 结果显示太白贝母 NaCl 洗脱的多糖相对分子质量为 2×10^6 . 单糖组成类型相对较为单一, 主要的单糖类型是 D(+)-半乳糖, 并且是属于 α -型吡喃糖.

致谢: 重庆三峡学院颜复林、杨能、陈品同学在实验过程给予了帮助, 在此表示衷心的感谢.

参考文献:

- [1] 陈梅花, 王慧春, 朱艳媚, 等. 贝母的药理研究 [J]. 安徽农学通报, 2007, 13(1): 103-105.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [3] 刘 辉, 陈士林, 姚 辉, 等. 川贝母的资源学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1645-1648.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [5] 付绍智, 袁定明, 欧阳东, 等. 重庆太白贝母种植业发展历史现状及对策探讨 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(2): 476-477.
- [6] 张劲松, 樊 华, 李玉详, 等. 几种药用真菌粗提物对多种人体肿瘤细胞株增殖的抑制作用 [J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(2): 27-31.

- [7] 王 涛, 陈前锋, 邹 利, 等. 党参多糖提取工艺优化及不同购买地党参多糖含量比较 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2016, 41(2): 41-45.
- [8] 陈 阳, 王 曙. 川贝母和其它贝母中 β -D-葡萄糖 4- β -D-半乳糖和蔗糖含量的 HPLC-ELSD 测定 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(7): 1605-1606.
- [9] 王 虹, 穆卫东, 丁天保, 等. 不同产地贝母多糖与微量元素对比分析 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(3): 177-178.
- [10] 李 霞. 平贝母淀粉改性及抗炎抗氧化作用研究 [D]. 天津: 天津大学, 2010.
- [11] 马文华. 浙贝母多糖体外抗氧化活性的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(5): 1191-1193.
- [12] 刘春红, 马 宇, 何忠梅, 等. 平贝母多糖的分离纯化及抗氧化活性研究 [J]. 食品科学, 2011, 32(21): 29-33.
- [13] 刘春红, 金钟斗, 韩宝瑞. 平贝母多糖对 D-半乳糖诱导衰老模型小鼠的抗氧化作用 [J]. 食品科学, 2011, 32(23): 285-288.
- [14] 陈 林, 沈 力, 吴应梅, 等. 太白贝母粗多糖的提取及体外抗氧化研究 [J]. 食品科技, 2013, 38(10): 214-217.
- [15] 张 华, 冉黄桥, 杨 能, 等. 贝母粗多糖的 4 种类型树脂纯化 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(9): 61-64.
- [16] 姜 峻, 陈蕾俊, 王晓梅, 等. 正交试验优化浙贝母多糖的提取工艺 [J]. 现代食品科技, 2011, 27(7): 823-825, 772.
- [17] 王丽波, 赵 玉, 徐雅琴. 南瓜多糖大孔吸附树脂纯化工艺 [J]. 农业机械学报, 2010, 41(9): 138-142.
- [18] 吴玉和. 大孔树脂对中药多糖的分离纯化 [D]. 天津: 天津大学, 2009.
- [19] 李春英. 甘草多糖提取纯化工艺研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2002.
- [20] 吴谋成. 食品分析与感官评定 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 75-76.
- [21] 吴金松. 大叶麻竹笋多糖的分离纯化和鉴定 [D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- [22] 张娅芳. 麦冬多糖的结构分析及其体外抗氧化活性研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2007.
- [23] 段红波, 宦臣臣, 梁引库, 等. 蒲公英叶脂溶性成分的 GC-MS 分析及其活性探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 60-66.
- [24] 杨 成, 管 佳, 章江生, 等. 高效薄层色谱法鉴别 6 种中药多糖 [C] // 中国药学会. 2008 年中国药学会学术年会暨第八届中国药师周论文集. 石家庄, 2008: 3827-3833.
- [25] 李 群, 张会敏. 一种快速鉴别桑白皮, 密桑白皮的方法: CN 103487547 A [P]. 2014-01-01.
- [26] 张真庆, 于广利, 赵 峡, 等. 几种糖醛酸及其寡糖的薄层层析分析 [J]. 分析化学, 2005, 33(12): 1750-1752.
- [27] 颜 军, 郭晓强, 李晓光, 等. TLC 快速分析多糖的单糖组成 [J]. 食品科学, 2006, 27(12): 603-607.
- [28] 周静华, 万顺康, 张翠香. 大理百合多糖的提取、纯化及性质研究 [J]. 现代预防医学, 2011, 38(10): 1910-1911, 1914.
- [29] 刘 芳, 陈贵堂, 胡秋辉, 等. 金针菇锌多糖分离纯化及其结构特征 [J]. 食品科学, 2014, 35(5): 1-7.
- [30] 陈晓楠, 权晓琴, 金邦荃, 等. 玉米芯果胶多糖纯化及组分鉴定 [J]. 南京师范大学学报(工程技术版), 2015, 15(4): 75-81, 89.
- [31] 杨世林, 热娜·卡斯木. 天然药物化学 [M]. 北京: 科学出版社, 2010: 122-150.
- [32] QIAO D L, LIU J, KE C L, et al. Structural Characterization of Polysaccharides from *Hyriopsis Cumingii* [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(4): 1184-1190.
- [33] 徐 也, 刘晓风, 王永刚, 等. 临泽小枣粗多糖提取动力学模型建立及结构特征分析 [J]. 食品科学, 2019, 40(3): 1-8.
- [34] 何晋浙, 邵 平, 孟祥河, 等. 灵芝多糖的结构特征分析 [J]. 分析化学, 2010, 38(3): 372-376.
- [35] 陈春霞. 羧甲基茯苓多糖的化学研究 [J]. 中国食用菌, 1994, 13(5): 35-36.
- [36] 戴 艳. 骏枣多糖的提取纯化、结构分析及抗氧化活性研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- [37] 何晋浙, 胡飞华, 孙培龙, 等. 枸杞多糖结构及其单糖组分的分析研究 [J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(5): 48-50, 54.

Separation and Structure Characterization of Polysaccharides in *Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li

ZHANG Hua^{1,3}, DU Hui-hui¹, RAN Huang-qiao¹, TAO Hong¹, PANG Shi-hai¹, LUO Ming-he², JIANG Yong-bo¹, ZHOU Nong¹

1. College of Biology & Food Engineering, Chongqing Three Gorges University, Wanzhou Chongqing 404120, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan University/Key Laboratory of Combinatorial Biosynthesis and Drug Discovery (Ministry of Education), Wuhan 430071, China;

3. Engineering Technology Research Center of Characteristic Biological Resources in Northeast of Chongqing, Wanzhou Chongqing 404120, China

Abstract: Crude polysaccharides of *Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li (Tai Bai Bei Mu) were extracted with hot water and precipitated with cold ethanol. Next, they were adsorbed with AB-8 macroporous adsorption resin, separated with dialysis bag and purified with diethylaminoethyl (DEAE) faintly alkaline anion-exchange cellulose column chromatography. Finally, Sephadex G-100 chromatography was employed to determine the relative molecular mass and thin layer chromatography (TLC), chromatography-mass spectrometer (GC-MS), and Fourier transform infrared (FTIR) spectrometer were used to analyze their composition and structure. The results showed that there were at least 3 peaks eluted by DEAE cellulose, and the V_e/V_o value of the polysaccharides eluted by NaCl elution was 1.07. TLC showed that the R_f value of polysaccharide hydrolysate of *F. taipaiensis* (0.39) was similar to that of D(+)-galactose (0.38), and their color was similar (blue). The GC-MS also showed that the scan time was both close to each other (1.522 min and 1.520 min) and the m/z fragment information was similar (147.1 and 75.0), respectively. The FTIR results showed 3 strong absorption peaks ($1\ 050\ \text{cm}^{-1}$, $1\ 027\ \text{cm}^{-1}$ and $1\ 003\ \text{cm}^{-1}$) between $1\ 100\sim 1\ 010\ \text{cm}^{-1}$, which are the characteristic absorption peaks of pyranose, and that there was a strong absorption peak at $827\ \text{cm}^{-1}$ and no absorption at $890\ \text{cm}^{-1}$, suggesting an α type. In conclusion, the relative molecular mass of the polysaccharides of *F. taipaiensis* eluted by NaCl elution was 2×10^6 , and the monosaccharide included in the polysaccharides was mainly D(+)-galactose, which belongs to α -pyranose.

Key words: *Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li; polysaccharide separation; macroporous adsorption resin; monosaccharide composition; structure characterization