

枸杞多糖 LBP-I 的分离纯化及性质鉴定

何进 梁运祥

张声华

(华中农业大学生命科学技术学院, 武汉 430070) (华中农业大学食品科学技术系)

Isolation, purification and property identification of polysaccharide-I from *Lycium barbarum* L. He jin, Liang Yun-Xiang (College of Life Science and Technology, Central Chinese Agriculture University, Wuhan 430070), Zhang Sheng-Hua (Department of Food Science and Technology, Central Chinese Agriculture University), *J. Plant Resour. & Environ.* 1996, 5(3): 61~62
LBP-I was obtained by isolation and purification from dry fruits of *Lycium barbarum* L. (Fructus Lycii) and it was shown to be single substance by ion exchange and gel chromatography. The results showed that LBP-I is a kind of glycoproteins composed of protein and acidic heteropolysaccharide consisting of galacturonic acid and neutral saccharide. The neutral saccharide contained galactose, glucose, rhamnose, arabinose, mannose and xylose in mole ratio of 5.17:4.13:3.15:1.00:0.84:0.48. The contents of neutral saccharide, galacturonic acid and protein are 81.37%, 3.69%, 9.24%, respectively. The molecular weight is more than 20 000. IR analysis showed that main chains composed of α -pyranglycoside linkage.

关键词 枸杞;多糖;分离纯化;性质

Key words *Lycium barbarum* L.; polysaccharide; isolation and purification; property

枸杞多糖(LBP)是枸杞的主要活性成分之一,具有多方面的药理作用^[2]。本文报道一种枸杞多糖的分离纯化和性质鉴定。

1. 材料与 方法

1.1 材料 枸杞子(Fructus Lycii)从中药店购得,为宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)的干燥成熟果实。

1.2 主要仪器 LKB 2137 自动柱层析系统,岛津 GC-9A 气相色谱仪,岛津 UV-265FW 紫外可见分光光度计。日立 260-10 型红外光谱仪,PE-2400CHN 元素分析仪。

1.3 样品制备 以一般方法^[1]提取 LBP,得 LBP 粗品,称取 LBP 粗品,上 DEAE 纤维素(OH⁻型)柱,以水洗脱,自动部分收集,硫酸-苯酚法^[5]显色,呈现一高峰,合并高峰部分,浓缩至小体积再上 Sephadex G-25 柱以除去小分子物质。收集高分子糖类部分,浓缩,冷冻干燥得 LBP-I 半纯品。取半纯品溶于水中,上 Sephacryl S-300 柱,以水洗脱,自动部分收集,显色,收集最大峰高峰部分,浓缩,冷冻干燥得纯品 LBP-I。

1.4 纯度鉴定

1.4.1 凝胶层析 取样品 1mg 溶于 0.5ml 水中,上平衡好的 Sephacryl S-300 柱(1.1 cm × 38 cm),0.2 mol/L NaCl 洗脱,流速 10 ml/h,同时以 1 ml/管自动部分收集,硫酸-苯酚法显色,以洗脱体积(V_e)为横坐标,吸收值(ABS)为纵坐标作图。

1.4.2 离子交换层析 采用 DEAE 纤维素(B₄O₇²⁻型)柱层析,0.05 mol/L 硼砂洗脱,部分收集,显色作图。

1.5 气相色谱分析 样品 20 mg 溶于 2 ml 1 mol/L 硫酸中,封管水解 10 h,中和,离心,上清液冷冻干燥,再置干燥器中放置 24 h 后以 0.2 ml 吡啶溶解,加三甲基氯硅烷-六甲基二硅胺烷(2:1)0.2 ml,50~60℃ 放置 5 min 后进行分析。混和单糖标准采用同样方法制成三甲基硅烷衍生物,进行气相色谱分析。色谱柱为 2m ×

3mm 不锈钢柱,担体为 Chromosob W(60~80 目),5% SE-30 为固定液,FID 检测器,C-R6A 数据处理机。柱温 180℃,检测器温度 230℃,气体流速:Air 500 ml/min, H₂ 50 ml/min, N₂ 20 ml/min。进样量:标准 1 μl,样品 5 μl。

1.6 半乳糖醛酸的定性 LBP-I 水解液通过阳离子交换柱后,再通过弱 OH⁻ 型阴离子交换柱,以 0.5 mol/L H₂SO₄ 洗脱后,硫酸-半胱氨酸反应^[3]呈蓝色,为半乳糖醛酸的特征反应。

1.7 含量测定 中性糖含量采用硫酸-苯酚法,以同摩尔比的混和单糖为标准,在 λ_{max} 485 nm 处测定;半乳糖醛酸含量以硫酸-吡啶法^[4]测定。蛋白质含量以 Folin-酚法测定。元素含量用元素分析仪测定。

1.8 红外光谱 (KBr 压片)

2. 结果与讨论

(1) LBP-I 为白色纤维状疏松固体,溶解性好,极易溶于水,能溶于酒精,不溶于丙酮、氯仿等有机溶剂。

(2) LBP-I 凝胶层析(V_e 为 18 ml)和离子交换层析均为单峰,表明 LBP-I 为单一组份。LBP-I 半纯品离子交换层析为单峰,而凝胶层析除在 V_e 18 ml 处有一大峰外,另在 14 ml 及 28 ml 处有 2 个小峰,表明半纯品是由性质相同而分子量不同的多糖混和物组成。同时以分子量 20 000 的葡聚糖(Dextran)进行层析,V_e 为 23 ml,说明 LBP-I 分子量大于 20 000。

(3) 气相色谱图(见图 1)结果表明,LBP-I 中性糖由半乳糖、葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖及木糖组成,其摩尔比为 5.17:4.13:3.15:1.00:0.84:0.48。比色法测得中性糖含量为 81.37%。LBP-I 为含半乳糖醛酸的杂多糖,半乳糖醛酸含量为 3.69%。

(4) 元素含量:C 40.04%,H 5.85%,N 1.52%。Folin-酚法测定蛋白质含量为 9.42%,表明 LBP-I 为含糖链和蛋白链的糖蛋白。

(5) 红外光谱表明 LBP-I 具有多糖的特征吸收峰 3 400, 2 920, 1 630, 1 400 和 1 030 cm⁻¹,指纹区存在 840 cm⁻¹,而无 890 cm⁻¹吸收峰,说明糖链为 α-吡喃糖苷键连接。

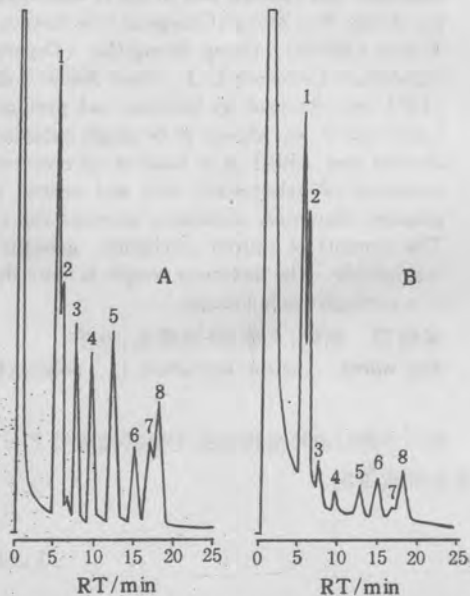


图 1 标准单糖(A)和 LBP-I(B)水解物的三甲基硅烷衍生物气相色谱图

Fig 1 Gas chromatogram of trimethylsilyl derivatives of standard monosaccharides (A) and hydrolyzate of LBP-I (B)

1. 阿拉伯糖 alabinose; 2. 鼠李糖 rhamnose; 3, 4. 木糖 xylose; 5. 甘露糖 mannose; 6. 半乳糖 galactose; 7, 8. 葡萄糖 glucose

参 考 文 献

- 1 王 强,陈绥清,张志华等. 1991; 中草药 22(2):67~68.
- 2 李 弘. 1995; 中草药 26(9):490~494.
- 3 黄乔书,吕归宝,李雅臣等. 1992; 药学报 17(3):200~206.
- 4 Bitter T, H M Muir. 1962; *Anal Biochem* 4(4): 330~334.
- 5 McKelvy J F, Y C Lee. 1969; *Arch. Biochem. Biophys.* 132(1): 99~104.