

香蕉多糖的分离纯化及其性质研究

沈建林, 余龙江*, 金文闻, 沈红元, 朱 涛
(华中科技大学生命科学与技术学院, 湖北 武汉 430074)

摘 要: 本文建立了香蕉多糖的提取纯化方法, 并对提取的香蕉多糖进行了理化性质分析。香蕉多糖经 40% 乙醇分级得到的组分 Len5, 用 Seohadex G-150 凝胶柱层析得到单一峰, Len5 的酸性水解液经纸层析和薄层层析分析, 其单糖组成为葡萄糖和木糖, 用 Sephadex G-150 凝胶柱层析法测得其分子量为 43000 道尔顿。

关键词: 香蕉; 多糖; 分离纯化; 理化性质

Isolation, Purification and Characteristics Study on Banana Polysaccharide

SHEN Jian-lin, YU Long-jiang*, JIN Wen-wen, SHEN Hong-yuan, ZHU Tao
(College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology,
Wuhan 430074, China)

Abstract: In this study, a method of banana polysaccharide isolation and purification was set up and the physical and chemical characteristics of banana polysaccharide was also analyzed. Product Lens was obtained when banana polysaccharide was classified with 40% ethanol, and a single apex was obtained in the Sephadex G-150 gel chromatography analysis. The monosaccharide components of the acidic solution of Lens5 were identified as glucose and xylose according to the results of paper chromatography and thin-layer chromatography analysis. The molecular weight of Len5 is 43000 Dalton according to the result of Sephadex G-150 gel chromatography analysis.

Key words: banana; polysaccharide; isolation and purification; physical and chemical characteristic

中图分类号: Q629.12

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)08-0073-03

多糖在自然界中分布很广, 具有增强免疫功能、抗辐射、抗肿瘤、抗炎、降血糖等广泛的生物学活

性, 近年来越来越受到人们的普遍关注。目前国内对多糖的研究主要集中在药用植物多糖和真菌多糖, 而对于我们日常使用的果蔬中含有的多糖研究相对较少^[1]。

收稿日期: 2003-11-12 * 通讯联系人

作者简介: 沈建林(1970-), 男, 硕士研究生, 主要从事功能性食品开发与研究。

香蕉, 属芭蕉科(Musaceae), 芭蕉属(musa), 为草木果树。我国香蕉资源丰富, 食用、药用价值极

- [2] Celestino Santos-Buelga, Augustin Scalbert. Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80: 1094-1117.
- [3] 国植, 徐莉. 原花青素: 具有广泛发展前景的植物药[J]. 国外医药—植物药分册, 1996, 11(5): 196-204.
- [4] 孔庆山, 刘崇怀, 潘兴, 等. 国内外鲜食葡萄发展现状、趋势、问题与对策[J]. 中国农业信息快讯, 2002, (7): 3-6.
- [5] 贺普超. 葡萄学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [6] 汤志刚, 周荣琪, 段占庭. 牛磺酸在大孔吸附树脂上的吸

- 附—解吸行为研究[J]. 离子交换与吸附, 2000, 16(3): 207-212.
- [7] 刘斌, 石任兵, 余超. 影响大孔吸附树脂吸附分离中草药化学成分的因素[J]. 中草药, 2002, 33(5): 475-476.
- [8] Richard B. Broadhurst, William T Jones. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin[J]. J Sci Fd Agric, 1978, 29: 778-794.
- [9] 叶振华. 吸着分离过程基础[M]. 北京: 化学工业出版社, 1988. 105.
- [10] 北川浩, 铃木谦一郎. 吸附的基础与设计[M]. 北京: 化学工业出版社, 1983. 110.

高^[2~4]，但目前对香蕉研究开发主要集中在香蕉的生产和粗加工上，如香蕉酒、香蕉饮料、香蕉干等，对香蕉的活性研究还很少，对香蕉中多糖的提取及生物活性的研究也几乎是一片空白。本文介绍了香蕉多糖的提取分离及纯化方法，并对提取的香蕉多糖理化性质进行了初步研究，为香蕉多糖的研究开发奠定了的基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

香蕉：直接采购市售普通香蕉。

纤维素酶(分析纯)上海伯奥生物科技有限公司提供 酶活 $\geq 15\text{U/mg}$ ；果胶酶(分析纯)SERVA 公司提供 酶活 $\geq 0.35\text{U/mg}$ ；凝胶 Sephadex G-150 Pharmacia(进口分装)；其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器

RE-52A 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂；3K30C 全自动高速冷冻离心机 Sigma 公司；DZF-6021 型真空干燥箱 上海益恒实验仪器有限公司；岛津 UV-240 紫外分光光度计。

2 实验方法

2.1 香蕉粗多糖的提取与纯化

选用成熟的市售香蕉，剥皮，切段，高温蒸气灭菌(105°C , 5min)后，用食品打碎机制成香蕉浆。冻融法破坏细胞壁，按文献[5]的方法加入纤维素酶和果胶酶在 45°C 水浴中酶解2h，再加4倍体积水在 90°C 水浴中浸提2h，提取2次，合并提取液。提取液离心(5000r/min , 10min)分离，取上清液低压浓缩，用四倍体积95%(V/V)乙醇沉淀，静置过夜，离心(5000r/min , 10min)，沉淀再用少量水溶解，用95%乙醇再沉淀一次，将沉淀先后用95%乙醇、无水乙醇、丙酮洗涤二次以脱水，真空干燥至恒重，即得香蕉粗多糖。用蒽酮-硫酸法^[6]检测其多糖含量。

香蕉粗多糖采用 Scvag 法^[7]除蛋白质后，用乙醇分级沉淀，使乙醇浓度达到20%、40%、60%、80%，冷冻干燥后分别得到香蕉多糖样品 Len1、Len2、Len3、Len4。根据组分的收率和初步抑菌活性筛选，对 Len2 组分进一步纯化分析。将样品 Len2 加于 Sephadex G-150 凝胶柱($11 \times 1000\text{mm}$)中，以 0.1mmol/L NaCl 洗脱，流速 12ml/h ，每4ml收集，蒽酮-硫酸法跟踪检测多糖，合并单一峰部分，透析，浓缩，用乙醇沉淀，无水乙醇、丙酮洗涤2次，低温真空干燥，即可得纯品香蕉多糖 Len5。

2.2 香蕉多糖理化性质

观察香蕉粗多糖的颜色、状态和溶解情况，并进

行化学性质实验，如 Molish 反应、苯酚-硫酸反应、蒽酮-硫酸反应等。

2.3 香蕉多糖 Len5 的单糖组成

用纸层析(参考陈洪亮等的方法^[8])和薄层层析法^[6]对香蕉多糖 Len5 的单糖组成进行分析。

2.4 香蕉多糖 Len5 的分子量测定

香蕉多糖 Len5 先通过紫外扫描和凝胶柱层析，检测其纯度后用于分子量的测定。用葡聚糖凝胶过滤法测定(参考肖桂武等的方法^[9])。层析柱规格 $11 \times 1000\text{mm}$ ，所用凝胶为 Sephadex G-150，取分子量为10000、40000、70000的标准多糖各3mg上柱，以 0.1mol/L NaCl 洗脱，流速 12ml/h ，每管4ml收集，蒽酮-硫酸法跟踪检测，测出洗脱体积 V_e ，以分子量200万的蓝色葡聚糖上柱，得外水体积 V_o ，以 $(V_e - V_o)/(V_t - V_o)$ 为横坐标，以分子量的对数为纵坐标得标准曲线，以同样的条件将香蕉多糖上柱，测定洗脱体积，在标准曲线上查出分子量。

3 结果与讨论

3.1 香蕉多糖的提取纯化

3.1.1 冻融法处理对香蕉多糖提取的影响

用冻融法处理香蕉浆后，香蕉多糖的收率、含量均明显高于未处理的一组(见表1)。

表1 冻融处理对香蕉多糖收率、含量的影响

	香蕉多糖的收率(%)	香蕉多糖的含量(%)
未处理	0.1641	20.51
处理后	0.3794	52.70

3.1.2 纤维素酶、果胶酶对香蕉多糖提取的影响

纤维素酶、果胶酶分别作用于植物细胞壁中的纤维素、果胶质，降解并破坏植物细胞壁网状结构，使细胞内容物最大限度地释放出来，从而大大提高香蕉多糖的收率。当用不同的酶对香蕉处理后，香蕉多糖的收率、含量均有不同程度提高，混合酶使用显著提高香蕉多糖收率及含量(见表2)。

表2 酶处理对香蕉多糖的收率、含量的影响

酶	香蕉多糖的收率(%)	香蕉多糖的含量(%)
未加酶	0.4253	44.01
纤维素酶	0.5694	45.41
果胶酶	0.6196	54.07
纤维素酶+果胶酶	0.9474	64.22

3.1.3 溶剂对香蕉多糖的提取的影响

采用不同的提取液，香蕉多糖的收率和含量有显著影响(见表3)，从表中可以看出，用15%(V/V)乙醇溶液

表3 不同溶剂浸提对香蕉多糖的收率、含量的影响

溶剂	香蕉多糖的收率 (%)	香蕉多糖的含量 (%)
蒸馏水	1.218	66.43
15%(V/V)乙醇溶液	1.416	83.11
0.1mol/L NaOH溶液	1.125	52.93

提取,得到的香蕉多糖收率较高,含量较大,用稀氢氧化钠提取时,提取物颜色变深,粘度大,不易干燥。

3.2 香蕉多糖的理化性质

物理性质:香蕉粗多糖为黄白色,无味,溶于水,易溶于热水,但不溶于高浓度的乙醇、苯、甲苯、氯仿、甲醇、丙酮等有机溶剂。

化学性质: Molish 反应在两层液面间形成一个紫色环。苯酚-硫酸反应呈橙黄色,蒽酮-硫酸反应呈亮绿色。

3.3 香蕉多糖 Len5 的单糖组成

香蕉多糖 Len5 经纸层析和薄层层析,与标准单糖进行对照,初步确定其单糖组成为:葡萄糖和木糖。

3.4 香蕉多糖的分子量的测定

香蕉多糖 Len5 呈黄白色粉末状,经紫外扫描,在 260nm 和 280nm 处未见蛋白质和核酸的特征吸收峰,茚三酮反应呈阴性,用葡聚糖凝胶层析,得到单一吸收峰(见图 1),初步确定其为均一组分的多糖,可用于分子量的测定。

3 种标准多糖的洗脱体积 V_e 分别 116、84、62ml,

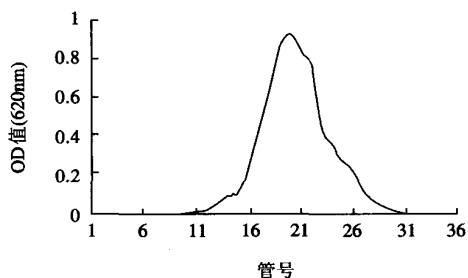


图1 香蕉多糖 Len5 的 Sephadex G-150 层析图谱

外水体积 V_o 为 33ml, 用线性回归得标准曲线方程为 $y = -0.9843x + 5.3453$, $r = 0.9821$, 其中 $X = (V_e - V_o)/(V_t - V_o)$, Y 为 $\log M$ (分子量的对数)。香蕉多糖 Len5 经柱层析, 洗脱体积为 78ml, 从标准曲线查得对应分子量为 43000 道尔顿。

4 结论

通过对香蕉多糖的提取的方法的初步研究, 建立香蕉多糖的提取流程: 取成熟的香蕉打浆后, 用冻融法对香蕉浆进行处理, 用 0.05% 的果胶酶和纤维素酶在 45℃ 水浴中酶解 2h, 在 90℃ 水浴中用 15% 乙醇提取 2h, 再经浓缩、醇沉、冷冻干燥得香蕉粗多糖, 将香蕉粗多糖用 Scvag 法去蛋白、乙醇分级和凝胶柱层析分离纯化后可得到纯品香蕉多糖。香蕉多糖 Len5 经过分析, 其单糖组成为葡萄糖和木糖, 分子量为 43000 道尔顿。本试验对香蕉多糖的提取和性质进行初步研究, 为香蕉多糖的活性研究和深加工利用奠定了基础。

参考文献:

- [1] 郑宝东, 郑金贵, 曾绍校. 果蔬多糖的研究现状及应用前景[J]. 食品科学, 2003, (1): 152-155.
- [2] 王建立, 管正学, 张学予. 我国香蕉资源的加工利用研究[J]. 资源科学, 1995, (1): 57-61.
- [3] 尹学哲, 全吉淑, 金泽武道. 香蕉的自由在清除作用及对血浆脂蛋白脂质过氧化的影响[J]. 食品科学, 2002, 23(11): 136-138.
- [4] 金京顺, 邱丽萍, 陈咏梅, 等. 香蕉粉抗胃溃疡作用的实验研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 1998, 19(4): 165-266.
- [5] 王素雅, 王璋. 酶法生产澄清型香蕉汁的研究[J]. 食品科技, 2002, (7): 44-46.
- [6] 李如亮. 生物化学实验[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1998.
- [7] 方积年. 多糖的分离纯化及其纯度鉴别与分子量测定[J]. 药学通报, 1984, 19(10): 46-48.
- [8] 陈洪亮, 李德法, 常碧影, 等. 芦荟多糖的提取及结构分析[J]. 兽药与饲料添加剂, 2002, 7(2): 1-3.
- [9] 肖桂武, 曾和平. 龙葵多糖的分离纯化和鉴定[J]. 中草药, 2000, 31(5): 326-328.

信息

美国研究发现无花果的杀菌作用

在最近召开的美国微生物学会议上, 研究人员指出, 无花果或无花果的提取物可以抑制食物中有害微生物的生存和生长。

将无花果切片浸入培养液中, 然后将大肠杆菌和里斯特菌接种于该培养液, 在培养 24h 以后, 结果表明, 细菌的生长降低了, 而没有加入无花果片的对照样显示细菌数增加。这些发现表明, 无花果可以为食品工业所利用, 它的活性成分经分离和提纯以后, 可以作为天然的食品添加剂, 加入到食品中防止食品的微生物污染, 延长保质期。