

# 发菜多糖的提取及性质研究

林永贤, 于海峰, 许鹏, 董永胜, 贾士儒

(天津市工业微生物重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300222)

**摘要:** 采用热水浸提法提取发菜多糖, 确定发菜多糖的最佳提取工艺条件为: 提取温度 80 °C, 水料比为 90:1, 浸提时间为 70 min, 浸提次数为 3 次。采用乙醇沉淀法得到发菜多糖。紫外扫描显示发菜多糖不含核酸及蛋白质, 红外光谱分析其具有多糖的特征吸收峰, 为一种非硫酸化的以  $\beta$ -糖苷键为主的多糖, 热重分析表明多糖的热降解温度为 256.8 °C。

**关键词:** 发菜; 多糖; 理化性质

中图分类号: O629.12; 文献标识码: A; 文章篇号: 1673-9078(2007)05-0034-04

## Extraction and Physicochemical Properties of *Nostoc flagelliform* Polysaccharide

LIN Yong-xian, YU Hai-feng, XU Peng, DONG Yong-sheng, JIA Shi-ru

(Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, School of Bioengineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300222, China)

**Abstract:** The *Nostoc flagelliform* polysaccharide was extracted by hot water and the best extraction conditions were determined. The optimal temperature, ratio of water to algae (v/w), time, extraction times for the extraction of *Nostoc flagelliform* polysaccharide were 80 °C, 90, 70 min and three times, respectively. Analysis of *Nostoc flagelliform* polysaccharide by UV spectrum showed that there were no absorption peaks of protein and nucleic acid at 280 nm and 260 nm, while the Fourier transform infrared spectrophotometer (FT-IR) analysis revealed that the sample has the typical characteristics of polysaccharide and was a non-sulfated polysaccharide with  $\beta$ -glycosides. Thermogravimetric analysis indicated that the degradation temperature of polysaccharide was 256.8 °C.

**Key words:** *Nostoc flagelliform*; Polysaccharide; Physicochemical properties

发菜 (*Nostoc flagelliform*) 是一种陆生性蓝细菌 (蓝藻), 常见于我国西北宁夏、甘肃、新疆、内蒙古等省区。发菜多糖是其在自然生长过程中分泌到细胞外的一种胶质物质, 对发菜适应恶劣自然环境有重要作用。目前对发菜的研究多集中于发菜人工培养和生理生态的研究上<sup>[1,2]</sup>, 也有发菜多糖的生理活性方面的报道<sup>[3]</sup>。但是对于发菜多糖的提取方法及理化性质方面的研究尚未见报道。

本文以发菜为材料, 采用热水浸提法浸提多糖, 对多糖的紫外、红外、热稳定性以及其他理化性质进行了分析, 以加深对发菜多糖性质的认识。

## 1 材料与方法

收稿日期: 2007-03-17

基金项目: 国家自然科学基金 (20376061), 天津市科技发展计划重点基金 (043801611)

作者简介: 林永贤, 硕士研究生, 研究方向发酵工程

通讯作者: 贾士儒

### 1.1 实验材料

1.1.1 发菜, 宁夏大学苏建宇博士惠赠。

#### 1.1.2 试剂

无水乙醇、苯酚 (分析纯重蒸馏试剂)、浓硫酸、溴化钾等, 以上试剂均为分析纯。

#### 1.1.3 仪器

752型分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司); ALPHA I-4/LD 冷冻干燥机 (德国 CHRIS 公司); UV2401 紫外可见分光光度计 (日本 SHIMADZU 公司); STA409PC 综合热分析仪 (德国 Netzsch 公司); VECTOR22 傅立叶变换红外光谱仪 (德国 BRUKER 公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 多糖提取: 热水浸提法<sup>[4,5]</sup>

1.2.2 多糖含量测定: 苯酚—硫酸法<sup>[6]</sup>

#### 1.2.3 紫外光谱测定

在 200~380 nm 波长范围内, 取 0.1% 的多糖溶液用 UV-2401PC 型紫外分光光度计扫描, 得紫外吸收光谱。

### 1.2.4 红外光谱分析

取多糖样品 1 mg 与 100~200 mg 的 KBr 在玛瑙研钵混合, 研磨, 压片, 于 ECTOR22 型傅立叶变换红外光谱仪上扫描。

### 1.2.5 热重分析

称取多糖样品约 30 mg 置于氧化铝样品池。升温范围 30~1000 °C, 升温速率 10 °C/min。实验在高纯氮气 (99.99%) 气氛中进行, 气体流速为 20 ml/min。根据质量减少与温度的变化做出热重曲线 (TG), 对热重曲线求导, 得到微商变化曲线 (DTG)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 热水浸提工艺提取发菜多糖

#### 2.1.1 水料比对发菜多糖得率的影响

不同的水料比对发菜多糖得率的影响如图 1 所示。随着水料比的增加, 多糖得率有较显著的提高, 但当水料比增加至 90:1 时多糖得率不再上升。

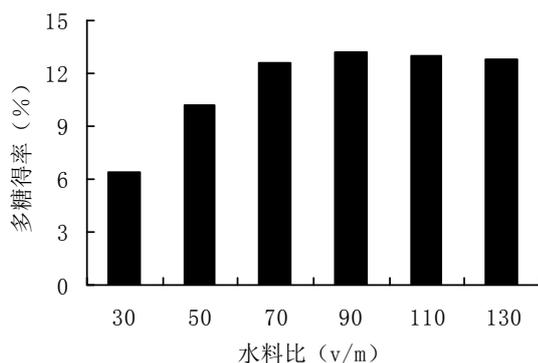


图 1 水料比对发菜多糖得率的影响

Fig.1 Effect of ratio of liquid-solid on the extraction yield of *Nostoc flagelliform polysaccharide*

#### 2.1.2 提取温度对发菜多糖得率的影响

温度对多糖的得率有很大的影响。由图 2 可看出, 多糖得率随温度的升高而增加, 80 °C 时最高。当温度继续升高, 多糖得率有所下降。所以, 选取 80 °C 为最佳提取温度为宜。

#### 2.1.3 提取时间对发菜多糖得率的影响

提取时间对发菜多糖得率的影响如图 3。提取 70 min 时多糖得率最高, 超过 70 min 后多糖得率下降, 因此, 确定提取时间以 70 min 为宜。

#### 2.1.4 不同提取次数与发菜多糖得率的关系

固定水料比 90:1, 温度 80 °C, 每次提取 70 min, 进行多次提取。结果见图 4。随着浸提次数的增加, 多糖得率也在增加, 但是浸提 4 次时多糖得率不再增加, 说明 3 次浸提已经将绝大部分发菜多糖提取出来,

因此确定浸提 3 次为最佳浸提次数。

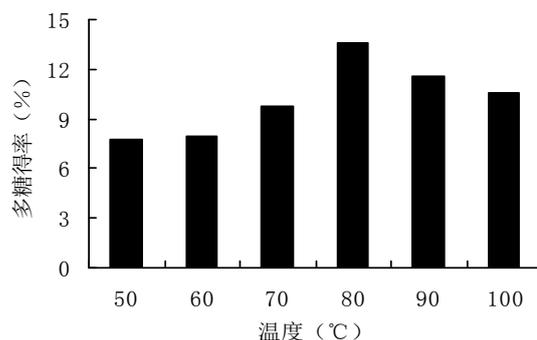


图 2 提取温度对发菜多糖得率的影响

Fig.2 Effect of temperature on the extraction yield of *Nostoc flagelliform polysaccharide*

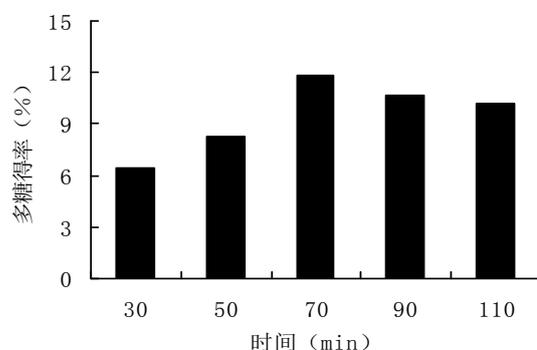


图 3 提取时间对发菜多糖得率的影响

Fig.3 Effect of time on the extraction yield of *Nostoc flagelliform polysaccharide*

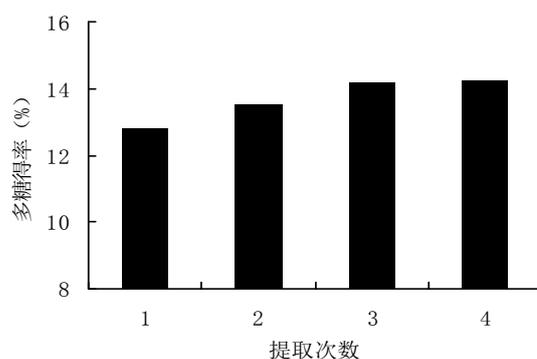


图 4 提取次数对发菜多糖得率的影响

Fig.4 Effect of times on the extraction yield of *Nostoc flagelliform polysaccharide*

综合以上各因素, 确定野生发菜多糖的浸提条件为水料比 90:1, 温度 80 °C, 每次提取 70 min, 浸提 3 次, 此时多糖的得率为 14.1%。

### 2.2 理化性质

热水浸提液经乙醇沉淀, 冷冻干燥后, 得到浅黄绿色的发菜多糖。可溶于水, 易溶于热水, 不溶于高

浓度乙醇、丙酮、氯仿等有机溶剂。多糖的碘-碘化钾反应为阴性,说明不含淀粉。考马斯亮蓝显色反应为阴性,说明多糖不含蛋白质。

### 2.3 紫外光谱

将发菜多糖样品制成 0.1% 的水溶液,用 UV-2401 型紫外可见分光光度计测定其在不同波长下的吸光度,得到多糖 NFP2 的紫外光谱(图 5)。在 200~380 nm 波长范围内,没有出现核酸(260 nm)和蛋白质(280 nm)的特征吸收峰,这说明该多糖中不存在核酸和蛋白质,是一种非蛋白多糖,这与考马斯亮蓝显色反应结果一致。

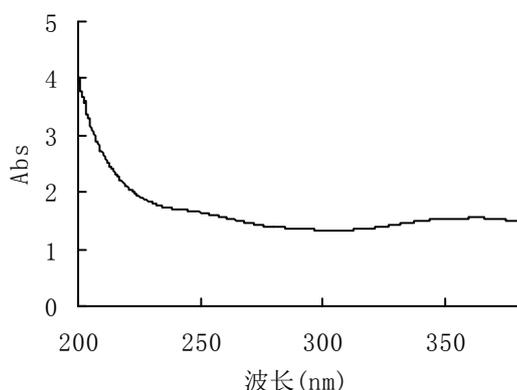


图 5 发菜多糖的紫外光谱

Fig.5 UV spectrum of *Nostoc flagelliform* Polysaccharide

### 2.4 红外光谱

从红外光谱中可以看出,在 4000~400  $\text{cm}^{-1}$  区间,样品具有多糖类物质的一般特征<sup>[7]</sup>:在 3419  $\text{cm}^{-1}$  出现强宽谱带对应于羟基的伸缩振动,表明多糖存在分子内和分子间的氢键。2924  $\text{cm}^{-1}$  的吸收峰为糖类的 C-H 伸缩振动,在这个区域的吸收峰是糖类物质的特征吸收峰。1636  $\text{cm}^{-1}$ , 1419  $\text{cm}^{-1}$  附近的吸收峰为羧基基团的吸收峰。897  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰是  $\beta$ -端基差异构体的 C-H 变角振动,说明发菜多糖的糖单元主要是由  $\beta$  糖苷键连接起来的。此外,红外扫描图谱在 1250  $\text{cm}^{-1}$ , 以及 1140  $\text{cm}^{-1}$  处没有发现 S=O 键和 S-O-S 键的吸收峰,说明发菜多糖是一种非硫酸化多糖。

### 2.5 热重分析

从热重分析曲线上可以得知多糖热分解曲线分为明显的 3 个阶段。从 30~170  $^{\circ}\text{C}$  是降解的第一阶段,此时主要是失去了多糖因物理作用而吸附的空气中的水份<sup>[8]</sup>。高于 210  $^{\circ}\text{C}$  的质量减少是样品的开始降解引起的,并在从 256.8  $^{\circ}\text{C}$  达到降解的最大速率,直到 510  $^{\circ}\text{C}$ ,此时多糖的失重约为 57%。第三阶段多糖的降解趋于缓和,直到 1000  $^{\circ}\text{C}$  为止,最终的多糖残渣质量为 25.86%。

发菜多糖与念珠藻 *Nostoc sp.* 和 *Nostoc carneum* 多糖的热降解温度均在 250  $^{\circ}\text{C}$  左右<sup>[9]</sup>,说明发菜多糖与其他念珠藻多糖具有相似的热稳定性。

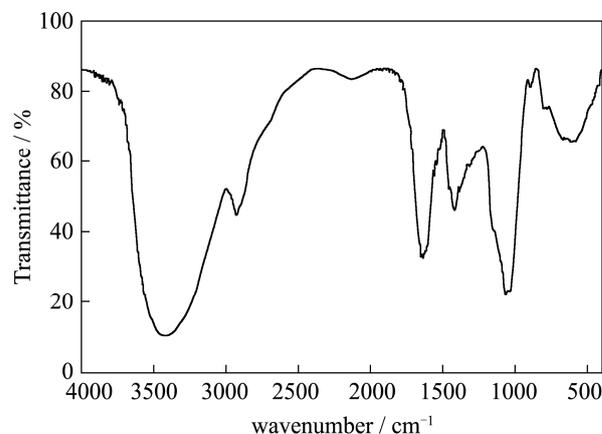


图 6 发菜多糖的红外光谱

Fig.6 FTIR spectrum analysis of *Nostoc flagelliform* Polysaccharide

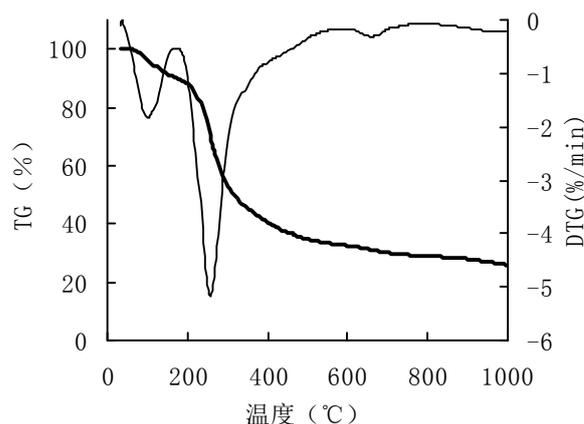


图 7 发菜多糖的热重分析

Fig.7 TG/DTG curves of *N. flagelliforme* polysaccharide

## 3 结论

采用热水浸提法提取发菜多糖,考察了料水比,提取温度,提取时间以及提取次数对多糖得率的影响。确定热水浸提法提取发菜多糖的条件为:90 倍水 80  $^{\circ}\text{C}$  浸提三次,每次 70 min。合并提取液,醇析,沉淀冷冻干燥后得到浅黄绿色发菜多糖。

发菜多糖能溶于水,不溶于高浓度的有机溶剂,符合一般水溶性多糖的特征。理化性质分析表明该多糖不含淀粉,蛋白质等杂质。红外光谱表明具有多糖的特征吸收,糖苷键主要是  $\beta$  构型。

多糖的热重分析显示多糖的热降解温度为 256.8  $^{\circ}\text{C}$ ,与其他念珠藻多糖具有相似的热稳定性。

(下转第 49 页)