

# 多糖的研究进展

王涛<sup>1,2</sup>, 赵谋明<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640) (2. 南方李锦记有限公司, 广东 广州 510180)

**摘要:** 对多糖的提取、分离纯化、性质测定及其生物活性等进行了综述。多糖具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗衰老、免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗炎等生物活性, 多糖类保健品开发将大有所为。

**关键词:** 多糖; 提取; 纯化; 性质测定; 生物活性

中图分类号: TS241; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)01-0103-05

## Research Progress of Polysaccharide

WANG Tao<sup>1,2</sup>, ZHAO Mou-ming<sup>1</sup>

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Nanfang Lee Kum Kee Co. Ltd., Guangzhou 510180, China)

**Abstract:** The extraction, separation and purification, Characterization and the bioactivity of polysaccharide were reviewed in this paper. As polysaccharides possess lots of bioactivities, such as hypoglycemic activity, antilipemic function, antioxidation, anti-ageing efficiency, immune regulation, untitumor, and so on, development of functional foods containing polysaccharides has a promising prospect.

**Key words:** Polysaccharide; Extraction; Separation and purification; Characterization; Bioactivity

多糖又称多聚糖(polysaccharide), 由单糖聚合而成聚合度大于 10 的极性大分子, 分子量为数万至数百万, 是构成生命活动的 4 大基本物质之一, 与生命的多种生理功能密切相关。多糖是自然界含量最丰富的生物聚合物, 几乎存在与所有生物体中。

2001 年 3 月 23 日出版的美国科学杂志汇编了 7 篇综述和 6 篇简介组成一个专辑“糖和糖生物学”, 其中一篇题为“灰姑娘的马车已经来了”, 预示着长期被人类看成灰姑娘的多糖类已经搭上了仙人的马车, 必将以其天生的丽质出现于科学领域的最前沿<sup>[1,2]</sup>。

### 1 多糖的提取

多糖的种类繁多, 传统上, 水提法是研究和应用的最多的一种方法。水提法可用水浸煮提取, 也可用冷水浸提。如各类的真菌中所含多糖类化合物, 其提取分离多以水浸煮提取的居多, 贾薇等<sup>[3]</sup>报道了姬松茸菌丝体多糖的热水提取的方法, 结果显示干菌丝体粗多糖提取的最佳提取条件的是料水 1:30, 沸水浴 2 h, 80% 的乙醇沉淀, 干菌丝体粗多糖得率达 5.73%。刘美琴等<sup>[4]</sup>用热水提取香菇菌丝体多糖时,

收稿日期: 2006-09-10

广州市科技攻关项目资助(2004Z1-E0061)

作者简介: 王涛, 在读工程硕士, 助理工程师。研究方向: 食品生物技术

通讯作者: 赵谋明教授

用沸水提取, 再用 3 倍体积的 95% 酒精进行醇析, 经纯化而得。水提取得多数是中性多糖, 用弱碱性水溶液可以提取糖醛酸类多糖, 而在酸性条件下可能引起多糖中糖苷键的断裂, 提取时应尽量避免。对于蛋白多糖, 可利用酶法提取多糖。

除上述介绍的方法外, 现在研究比较多的是多种技术结合的多糖提取方法, 这些技术包括超声波技术、高压均浆处理、微波技术等等。于淑娟等<sup>[5]</sup>率先采用超声波催化纤维素酶法提取灵芝多糖, 并将该法与传统的水提浸提法和碱溶法进行了比较, 结果表明该法在产品的固形物含量、多糖提取率及提取速度等方面明显优于其它方法。

### 2 多糖的分离纯化

#### 2.1 分离

多糖中的水溶性多糖是人们研究最多, 也是活性较大的组分。最简单有效的方法是利用多糖在乙醇中的溶解度的不同进行分离。但是乙醇沉淀不一定得到纯的多糖, 由于蛋白质的溶解性与多糖相似, 在水提醇沉的过程中, 会引入蛋白质杂质。除蛋白质的方法传统上有 Sevag 法, 三氟三氯乙烷法及三氯乙酸-正丁法等。Sevag 法是用得最多的方法, 该方法是将多糖的水溶液与氯仿混合, 并震荡成乳化液, 此时蛋白质变性成胶状, 离心后蛋白质存在于有机相和水相之间。

为加速蛋白质变性,最好采用 pH=4~5 的缓冲溶液,并加入正丁醇或正戊醇,或将氯仿正丁醇(5:1)加入糖液 1 份中振摇后离心去蛋白质。

## 2.2 纯化

纯化的方法常见的色谱法,包括凝胶柱色谱法和离子柱交换色谱法等,色谱法是利用填料对不同种类的糖如不同构型的吡喃糖苷及呋喃糖苷在吸附作用上的差异,使混合物中各糖分达到彼此分离的目的。根据不同的多糖特性选用不同的色谱柱。其中凝胶柱色谱中用的比较多的是葡聚糖(Sephadex)或琼脂糖凝胶(Sepharse)等做吸附剂,以不同浓度的盐溶液和缓冲液做洗脱剂,使各种多糖得以分离纯化。其中影响凝胶分离的因素主要是凝胶类型和粒度、洗脱剂种类、pH 值和洗脱速率、分离温度和分离柱的径高比等。日本东北大学药学系 Konno 等用 Sepharose6 B、Sephacryls-200 和 S-500、DEAE-Teyopearl650M 等色谱柱对人参粗多糖进行反复分离纯化,并经透析和 Sephadex-G10 处理,最后分出 21 种均一性多糖。离子柱交换色谱法中最常见的交换剂为 DEAE-纤维素(硼酸型或碱型),此法目前最为常用,它一方面可纯化多糖,另一方面还适于分离各种酸性多糖、中性多糖和粘多糖。其中该方法要注意树脂类型和粒度、洗脱剂种类、pH 值和洗脱剂的选择可以根据多糖的酸碱性进行调节。党参总多糖加水溶解, Ba(OH)<sub>2</sub> 沉淀,沉淀物除尽 Ba 离子,再将沉淀物上 DEAE-纤维素(碱性)色谱柱,依次用水、不同浓度的 NaHCO<sub>3</sub> 及 0.05 mol/L 液洗脱,得四种单一多糖。

纯化除了采用上述方法外,还采用沉淀法、制备性区域电泳、超滤法、国外多采用 LKB 柱色谱系统,用比旋度、示差折射及紫外检测多糖等等。

## 2.3 多糖纯度鉴定

将粗多糖各组分离后,还需测定各组纯度。多糖纯度标准不能用通常化合物的标准来衡量,因为即使多糖为纯品其微观也不均一,测定多糖纯度有超滤离心分析、高压电泳、纸色谱、薄层色谱、凝胶色谱、高效液相色谱(HPLC)、比旋度、高效凝胶渗透色谱等。

## 3 多糖的性质测定分析

### 3.1 多糖分子量测定

多糖的相对分子质量测定是研究多糖性质的一项比较重要的工作,但多糖分子量测定因其不均一性而比较困难,通常所测得的分子量一般只能是一种统计平均值。现常用于多糖相对分子质量测定的方法有凝胶色谱法、端基法、特异粘度法、超滤法、蒸汽压渗

透计法和光散射法。

### 3.2 结构分析

多糖结构分析的手段研究主要有化学、物理等方面,新的技术的发展使分析手段更快速、高效和灵敏,但化学方法仍然是经典的方法。

#### 3.2.1 化学方法

##### 3.2.1.1 酸水解法

酸水解是鉴定多糖的单糖组成常用的方法。他又分完全酸水解与部分酸水解,现在酸水解法已实现完全自动化,通常多糖的酸水解条件是用 1~3 mol/l 硫酸或 2 mol/l 三氟乙酸,80~100 °C 密闭加热 6~8 h,若多糖中含又糖醛酸,则需要更加强烈的水解条件。当水解完成后,用氢氧化钡或硫酸钡等碱液中和,进而用色谱分析。如纸色谱、薄层色谱、气相色谱及高压液相色谱等。

##### 3.2.1.2 甲基化反应

甲基化分析是多糖结构分析最有力的手段之一。该法可以阐明单糖的连接方式,重复结构中某种单糖的数目,末端糖的性质及分支的位置。但该法不能解决多糖中多糖的连接顺序。水解后的甲基化的糖醇乙酰衍生物可用气相色谱进行定性、定量分析或层析分离。

##### 3.2.1.3 碱降解法

碱降解发生在与单糖的羟基或羧基连接的酯上,多糖还原端的单糖被逐个剥落,可分析多糖的键型。

目前化学降解方法中还有碘酸盐氧化法、Smith 降解法、酶水解法、免疫化学法和反射化学法。

#### 3.2.2 物理分析法

包括红外光谱、核磁共振、质谱、气相色谱、紫外光谱等。红外光谱法在多糖结构分析上主要是确定吡喃糖的苷键构型及常规观察其他官能团。气相色谱和气相一质谱连用是多糖结构测定中不可缺少的工具。使用这两种方法,通常可快速准确的测出多糖的组分及各单糖之间的摩尔比。

核磁共振光谱(NMR)主要用于解决多糖结构中糖苷键的构型以及重复结构中单糖的数目。用 NMR 技术研究糖链结构的优点是不破坏样品,糖链的结构特性通过化学位移,偶合常数、积分面积、NOE 及弛豫时间等参数表达。近年来,NMR 技术的发展为生物大分子的结构研究创造了良好的条件。

另外,紫外光谱常用来检测多糖中是否含蛋白质、核酸、多肽类,它们的紫外吸收峰在 260~280 nm。

## 4 多糖的生物活性

## 4.1 多糖降血糖作用

### 4.1.1 桑叶多糖

方晓等<sup>[6]</sup>研究了桑叶浸出液对糖尿病模型大鼠的降血糖作用。采用四噻啉诱导大鼠的糖尿病模型,以 0.8 g/d 桑叶浸出液予以灌胃,30 d 后大鼠血糖由  $18.99 \pm 4.28$  mmol/L 降至  $10.82 \pm 3.22$  mmol/L,提示桑叶浸出液对实验性糖尿病大鼠有显著地降血糖作用。陈福君等<sup>[7]</sup>报道自桑叶中提取的桑叶总多糖(TPM),腹腔注射给药(50, 100, 200 mg/kg bw),对四噻啉糖尿病小鼠有显著的降血糖作用;TPM 腹腔注射给药可以提高正常大鼠血中胰岛素水平。

### 4.1.2 银耳多糖

Tadashi Kiho 等<sup>[8]</sup>从银耳中分离出一种酸性杂多糖(TAP)。降血糖作用可能是由于加速肝脏的代谢;TAP 无促进胰岛素分泌作用。

### 4.1.3 山药多糖

Maurica M<sup>[9]</sup>高血糖,其乙醇提取物的水溶液部分与降血糖活性有关,氯仿提取物能使饥饿的 Wistar 大鼠血糖升高。山药块茎多糖在甲醇-水(V/V=1:1)中,提取物能显著降低小鼠的血糖。

另外从相关资料<sup>[10]</sup>表明,从猴头、黑木耳和灵芝等真菌中提取多糖,从海带、紫菜、茶叶、甘蔗、稻根、米糠等食物原料中提取的多糖,以及从中草药中提取的黄芪多糖、人参多糖、知母多糖、麻黄多糖和乌头多糖等 80 余种多糖可使四噻啉糖诱发的高血糖试验动物的血糖浓度明显下降。

## 4.2 多糖降血脂作用

### 4.2.1 南瓜多糖

叶盛英等<sup>[11]</sup>用南瓜多糖 200 mg/kg 和 500 mg/kg 水溶液,经胃分别注入正常及糖尿病模型小鼠后,能显著降低正常及糖尿病小鼠血清 TG、TC 及 LDL,升高 HDL 及 HDL/TC ( $p < 0.05$ )。众所周知,血清中 TG、TC、LDL 均是动脉硬化形成的促进因子,并与 HDL/TC 比值呈负相关,LDL 升高是心肌梗死的危险因素,而 HDL 则能将外周血中的胆固醇带回肝脏代谢生成胆汁酸,因此 HDL 升高是抗心肌梗死的安全因子。

### 4.2.2 茶多糖

冯磊等<sup>[12]</sup>用正常小鼠 25 mg/kg 体重和 50 mg/kg 体重的剂量给予腹腔注射茶多糖,3h 后血清总胆固醇较对照组分别下降 18% 和 24%;对试验性高胆固醇血症小鼠,口服 50 mg/kg 体重和 100 mg/kg 体重的茶多糖,20 h 后血清总胆固醇比对照组分别下降 34% 和 43%;对试验性高脂血症大鼠,口服 22.5 mg/kg 体重

和 45 mg/kg 体重的茶多糖 10 d,血清总胆固醇比对照组分别下降 12% 和 17%,血清甘油三酯降低 15% 和 23%,低密度脂蛋白胆固醇分别下降 6% 和 29%,高密度脂蛋白胆固醇均增加 26%。

### 4.2.3 羊栖菜多糖

李亚娜等<sup>[13]</sup>用羊栖菜多糖对试验型肥胖大鼠的血脂有显著的降低作用,且呈量效关系,尤其是降 TC 作用,羊栖菜多糖的降血脂作用还表现在升高 HDL-C 和降低 LDL-C 的效应上,且对试验大鼠的体力无影响。

此外还有山楂叶多糖<sup>[14]</sup>、海藻酸钠和卡拉胶两种可溶性海藻多糖<sup>[15]</sup>、沙棘多糖<sup>[16]</sup>、桑叶多糖<sup>[17]</sup>、虫草多糖<sup>[18]</sup>及枸杞多糖<sup>[19]</sup>等均表现出了降血脂的活性。

## 4.3 多糖的抗氧化、抗衰老作用

### 4.3.1 灵芝多糖

邢国庆等<sup>[20]</sup>研究发现灵芝多糖口服液可提高实验动物体内 SOD 含量,增强机体对自由基的清除能力,故能减少自由基对机体的损伤,具有延缓衰老之功效。

### 4.3.2 芦笋多糖

苗明三等<sup>[21]</sup>从芦笋中提取的芦笋多糖可显著提高 D-半乳糖所致衰老小鼠血过氧化氢酶(CAT),超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力,显著降低血浆、脑、肝均浆 LPO 水平,可显著拮抗衰老所致胸腺、脾脏和脑组织的萎缩。

### 4.3.3 硫酸化奶多糖

邓成华等<sup>[22]</sup>从口藤侧耳属虎奶菌核中提取的多糖经过硫酸化衍生后的硫酸化奶多糖的研究表明,对体外引发的大鼠肝线粒体脂质过氧化,次多糖可抑制丙二醛(MDA)含量的增加;在四氯化碳致小鼠肝损伤体系中,该多糖可使丙二醛(MDA)生成量显著降低,超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)酶活力明显升高,可显著起到抗衰老作用。

研究还表明中华猕猴桃<sup>[23]</sup>、银杏外种皮多糖<sup>[24]</sup>、油柑多糖<sup>[25]</sup>、螺旋藻多糖、褐藻多糖、猴头菌丝多糖、南沙参多糖、魔芋多糖、北五味子多糖、青竹梅多糖、鼠尾藻多糖等均具有一定程度的抗氧化等作用。

## 4.4 多糖的免疫调节作用

### 4.4.1 枸杞多糖

刘彦平等<sup>[26]</sup>以 BALB/C 小鼠为研究对象,分组灌服枸杞多糖、环磷酰胺、环磷酰胺加枸杞多糖,测定总 T 淋巴细胞、TB、TH、TH/TB 的数量及淋巴细胞转化率。结果表明枸杞多糖能增加总 T 细胞及 TH 亚群百分含量,提高淋巴细胞转化率,对环磷酰胺所诱

发的免疫功能低下反应,枸杞多糖还有回复作用,使降低的总 T 细胞, TH、TH/TB 及淋转率回复到正常或接近正常对照水平。

#### 4.4.2 褐藻多糖

杨晓林<sup>[27]</sup>报道褐藻多糖胶是小鼠 B 细胞的有丝分裂原,具有多克隆激活 B 细胞增殖作用,而对 T 细胞没有诱导增殖作用。

#### 4.5 多糖的抗肿瘤、抗病毒、抗炎作用

螺旋藻多糖能提高荷瘤小鼠脾、胸腺指数,提高淋巴细胞转化率,促进 NK 细胞杀伤靶细胞作用,同时使淋巴细胞产生白细胞介素—2 的功能增强,使环磷胺致动物的白细胞降低得到改善<sup>[28]</sup>。含磺酸基的海藻类多糖和硫酸酯化匀多糖如卡拉胶、右旋糖等抗病毒效果良好。云芝多糖可增强小鼠对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌、等细菌感染的非特异抵抗力。

#### 4.6 多糖的其他生物活性

猪茯苓多糖<sup>[29]</sup>能抑 HBV 转基因小鼠 HbsAg 表达,从而抑制肝炎病毒。Pacciarini 等<sup>[30]</sup>发现大肠埃希菌中含有的一种多糖具有抑制 HIV 病毒的传播作用;Liu 等<sup>[31]</sup>比较了几种治疗缺铁性贫血的药物,发现用结合了铁的多糖复合物治疗缺铁性贫血能减少胃肠道的反应,使患者更容易吸收;枸杞多糖具有肾性高血压<sup>[32]</sup>和营养保护作用<sup>[33]</sup>;另外人们还发现<sup>[34]</sup>,金银花多糖具有抗生育作用,紫苏多糖、茯苓多糖、和毛孢藻多糖等植物多糖可提高小鼠的抗辐射能力。

### 5 多糖在保健品中发展

20 世纪 70 年代,心血管病、癌症发病率明显上升,世纪人口老龄化趋势越来越明显以来,各种多糖类保健食品应运而生。目前,我国各种不同功能的多糖保健品种类繁多,据不完全统计,全国有近 100 个科研单位在从事这方面的研究,相当部分的产品已进入商品化阶段或批量投放市场。主要有以以下几个系列:(1)功能性口服液类,如灵芝口服液、猴头菇口服液、桑糖口服液(桑叶)、脑心舒口服液(蜜环菌)等。(2)保健茶类,如灵芝乌龙茶、新世纪保健茶(桑叶)等。(3)保健滋补酒类,虫草枸杞保元酒、松茸酒、香菇特酿酒等。(4)保健胶囊类,学者灵芝宝、虫草胶囊等。21 世纪已经到了,随着人们生活水平的提高,保健食品的需求将有较大幅度的增长,国外有一生物化学家预言:“在生物化学领域中,轰轰烈烈的蛋白质时代即将成为过去,取而代之的将是一个多糖的时代。”多糖类保健品开发将会大有可为。

### 参考文献

- [1] 王克夷. 灰姑娘的马车已经来了. 生命的化学, 2001,21(3): 257-259.
- [2] Pauline M R, Time E, Peter C. et al. Glycosylation and immune system[J]. Science, 2001,291(5512):2370-2375.
- [3] 贾薇, 刘艳芳, 张劲松, 等. 姬松茸菌丝体多糖提取方法初探[J]. 食用菌学报, 2003,10(3):41-44.
- [4] 刘美琴, 等. 香菇菌丝体多糖的分离鉴定和免疫功能的研究[J]. 生物化学与生物物理学报, 1999,31(1):46-50.
- [5] 于淑娟, 等. 超声波酶法提取灵芝多糖的机理研究[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 1998,26(2):123-127.
- [6] 方晓, 蒋振东. 桑叶浸出液对糖尿病模型大鼠降血糖作用初步观察[J]. 浙江医学, 1999,21(4):218-218,230.
- [7] 陈福君, 卢军, 张永煜. 桑的药理研究(I): 桑叶降血糖有效组分对糖尿病动物糖代谢的影响[J]. 沈阳药科大学学报, 1996,13(1):24.
- [8] Tadashi Kibo, et al. Effect of a polysaccharide (TAP) from the fruiting bodies of Tremella aurantia on glucose metabolism in mouse liver[J]. Biotecnol. Biochem, 2000, 64 (2): 417.
- [9] Maurice M. Dioscoreatine. The Hypoglycemic Activity of Dioscorans A,B,C,D and F;Glycans of Dioscorea japonica Rhizophors[J]. Planta, 1986,53(3):168.
- [10] 吴寿金, 李德玉. 降血糖植物多糖的研究概况[J]. 中草药, 1992,23(10):549.
- [11] 叶盛英, 郭琪. 南瓜多糖的提取及其药理作用研究概况[J]. 天津药学, 2003,15(2):58-60.
- [12] 冯磊, 张青飞. 茶叶多糖对实验性高脂血症大鼠脂质代谢的影响[J]. 浙江中医杂志, 2003,38 (5) :221-222
- [13] 李亚娜, 彭志英. 羊栖草多糖减肥功能评价[J]. 广州食品工业科技, 2004,20(2):63-64.
- [14] 黄飞. 山楂叶多糖的功能活性测定研究[J]. 广西轻工业, 2001, 2:47-49
- [15] 王常青, 杨桂兰. 两种海藻多糖对大鼠脂质代谢和血小板功能的比较[J]. 中国预防医学杂志. 1998,31(6):342-346.
- [16] 黄晓青, 瞿伟箐, 张晓玲. 沙棘多糖对小鼠试验性高脂血症的影响[J]. 营养学报, 2004,26(3):222-224.
- [17] Hosseinzadeh H., Sadeghi A. Antihyperglycemic Effects of Morus Nigra and Morus Alba in Mice (P). Japan: 97140351, 1995-11-21.
- [18] 姚思宇, 赵鹏, 刘荣珍, 等. 虫草多糖降血脂作用的动物试验研究[J]. 中国热带医学, 2004,4(2):197-198.

(下转第 95 页)