

文章编号: 1673-1689(2011)01-0070-08

## 三角帆蚌多糖制备及基本理化性质

乔德亮<sup>1, 2, 3</sup>, 曾晓雄<sup>\* 2</sup>

(1. 皖西学院 化学与生命科学系, 安徽 六安 237012; 2. 南京农业大学 食品科技学院, 江苏 南京 210095; 3. 安徽仿生传感与检测技术省级实验室, 皖西学院, 安徽 六安 237012)

**摘 要:** 为充分利用三角帆蚌资源、开发利用其中的多糖类物质, 运用热水浸提、乙醇沉淀、Sevag 法脱蛋白质、乙醇再沉淀的方法提取获得了三角帆蚌多糖(HCPS), 提取率为 3.5% 左右。运用 DEAE-纤维素-52 色谱和葡聚糖 G-100 色谱对三角帆蚌粗多糖进行分离纯化, 得到 3 个纯化组分(HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3), 3 个组分 HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 的得率分别是 26.9%、30.2% 和 3.9%。运用化学的、物理的方法测量分析了三角帆蚌粗多糖及其纯化组分的部分理化性质, 包括总糖质量分数、蛋白质质量分数、硫酸基质量分数、相对粘度、单糖组成、相对分子质量以及红外光谱(FTIR)。HCPS-3 具有较高的蛋白质质量分数、较高的硫酸基质量分数和复杂的单糖组成, 这些与 HCPS-1、HCPS-2 明显不同。

**关键词:** 三角帆蚌; 多糖; 制备

**中图分类号:** S 968.3

**文献标识码:** A

## Preparation and Preliminary Feature of Polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*

QIAO De-liang<sup>1, 2, 3</sup>, ZENG Xiao-xiong<sup>\* 2</sup>

(1. Department of Chemistry and Life Science, West Anhui University, Lu'an 237012, China; 2. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Anhui Provincial Laboratory of Biomimetic Sensor and Detecting Technology, West Anhui University, Lu'an 237012, China)

**Abstract:** In order to utilize polysaccharides resources in *Hyriopsis cumingii*, polysaccharides from *Hyriopsis cumingii* (HCPS) was extracted by using methods of hot water lixiviation, ethanol precipitation, Sevag's deproteinization and ethanol precipitation again, the extraction yield of crude HCPS was about 3.5%. The crude HCPS was separated firstly through DEAE-cellulose 52 chromatography column and further purified through chromatography column of Sephadex G-100. Three purified fractions, named as HCPS-1, HCPS-2 and HCPS-3, were obtained. The recovery rates of HCPS-1, HCPS-2 and HCPS-3 was 26.9%, 30.2% and 3.9% respectively. Preliminary feature of crude HCPS, HCPS-1, HCPS-2 and HCPS-3, including polysaccharides content, protein content, sulfuric radical content, relative viscosity, monosaccharide

收稿日期: 2010-04-29

基金项目: 安徽省高等学校自然科学研究项目(KJ 2010B256)。

作者简介: 乔德亮(1967-), 男, 安徽和县人, 副教授, 主要从事食品生物功能因子开发与利用研究。Email: qiaodl@wxc.edu.cn

\* 通信作者: 曾晓雄(1964-), 男, 湖南新宁人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品生物功能因子开发与利用研究。Email: zengxx@njau.edu.cn

composition, relative molecular weight and FTIR spectrum, were determined. Results showed that HCPS-3 had more sulfuric acid radicals and protein than HCPS-1 and HCPS-2. The monosaccharide composition of HCPS-3 was more complicated than that of HCPS-1 or HCPS-2. HCPS-3 was quite different from HCPS-1 or HCPS-2.

**Key words:** *Hyriopsis cumingii*, polysaccharides, preparation

三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii* Lea) 俗称珍珠蚌、三角蚌等, 分类上属淡水双壳类软体动物, 为中国特有种, 国内分布范围较广, 主产区为鄱阳湖、洞庭湖、太湖、巢湖、洪泽湖等淡水湖泊及其周围水体<sup>[1-2]</sup>。由于三角帆蚌是我国最主要的优质的淡水珍珠养殖母蚌, 所以三角帆蚌的养殖业以及依赖于三角帆蚌的淡水珍珠产业得到了迅速发展, 现已遍及浙江、江苏、安徽、湖南、湖北、江西、福建等多个省份<sup>[3]</sup>。

三角帆蚌有多种应用价值, 目前主要是培育珍珠(珍珠再加工成化妆品、工艺品、药品等), 其次用作饲料、肥料以及食用、药用等。河蚌作为药用, 早在《食疗本草》《本草纲目》就有记载。现代研究表明, 三角帆蚌具有一定的药理功效, 在免疫调节、抗肿瘤、抗炎、抗衰老等方面发挥着重要的生物活性作用<sup>[4-7]</sup>。另外, 河蚌(包括三角帆蚌)自古以来就是人们喜食的美味之一。但是, 目前育珠蚌珍珠取出后, 其蚌肉很少作食用或药用, 多用作饲料、肥料, 其利用价值不高, 有许多甚至被废弃而污染环境。统计表明, 近年来我国淡水珍珠年产量达1 800 t, 育珠蚌珍珠取出后其蚌肉产量达43 000 t之多。所以三角帆蚌蚌肉(育珠生产的下脚料)这一丰富而宝贵的资源有必要而且值得去深入研究和开发利用。

多糖乃生物体内主要的生理活性物质之一。三角帆蚌多糖(HCPS)提取及其生物活性的文献已有一些报道<sup>[4-7]</sup>, 但对此多糖不同组分制备及其理化性质的研究少见报道。作者运用水提醇沉的方法提取三角帆蚌多糖, 再利用DEAE-纤维素离子交换色谱和葡聚糖凝胶过滤色谱对三角帆蚌多糖进行分离纯化并制备不同组分, 同时也分析测量了粗多糖及其纯化产品的基本理化性质, 以期对三角帆蚌多糖的进一步研究和开发利用积累一些资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料、主要仪器设备及试剂

三角帆蚌: 购于安徽省滁州市珍珠养殖场, 取其内脏组织用体积分数75%的乙醇浸泡备用; 电

脑数显恒流泵: DHL-2B型, 上海沪西分析仪器厂制造; 电脑全自动部份收集器: DBS-100A型, 上海沪西分析仪器厂制造; 乌氏粘度计: 南京大展机电技术研究所制造; 气相色谱仪: Agilent 6890N型, 美国Agilent公司制造; 高效液相色谱仪: Agilent 1100 Series型, 美国Agilent公司制造; 红外光谱仪: MB154S型, 加拿大Bomen公司制造; 紫外可见分光光度计: UV-2450型, 日本SHIMADZU公司制造。

DEAE-纤维素-52凝胶、葡聚糖G-100凝胶、牛血清白蛋白标准品、葡萄糖醛酸标准品、各单糖(鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、果糖、葡萄糖、半乳糖)标准品以及葡聚糖标准品: 购于Sigma公司, 其它试剂为常规分析纯试剂。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 多糖提取及分离纯化** 多糖的提取参照姚滢等(2005)<sup>[8]</sup>、孟宪军等(2010)<sup>[9]</sup>报道的方法稍作改动。热水浸提(温度、时间、水料比、次数分别是80℃、4 h、10 mL/g和2次)、75%乙醇沉淀、Sevag法脱蛋白质、90%乙醇再沉淀, 得粗多糖。粗多糖的DEAE-纤维素-52色谱柱法初步分离: 参照Ye等(2008)<sup>[10]</sup>、田晓艳等(2010)<sup>[11]</sup>报道的方法稍加改动。用0.0、0.1、0.3、0.5、0.7 mol/L NaCl溶液依次梯度洗脱, 流量1.0 mL/min, 分步收集(10 min/管), 每梯度20管, 硫酸-苯酚法检测各管多糖质量浓度, 收集不同洗脱梯度相应的组分, 得初步纯化产品。经DEAE-纤维素-52初步纯化的产品再用葡聚糖G-100凝胶色谱柱进一步纯化, 参照Cai等(2008)<sup>[12]</sup>、田晓艳等(2010)<sup>[11]</sup>报道的方法稍作修改。用去离子水洗脱, 流量0.25 mL/min, 分步收集(10 min/管), 硫酸-苯酚法检测各管多糖含量, 分别收集不同的组分, 得纯化产品。

### 1.2.2 粗多糖及纯化产品的部分理化性质分析

1) 总糖、蛋白质、硫酸基质量浓度及相对粘度的测定: 多糖样品中总糖质量分数的测定, 参照Dubois等(1956)<sup>[13]</sup>报道的苯酚-硫酸比色法, 以葡萄糖标准品为标样制作标准曲线。蛋白质质量分数的测定, 参照Bradford(1976)<sup>[14]</sup>报道的考马斯亮

蓝比色法,以牛血清白蛋白标准品为标样制作标准曲线。硫酸基质量浓度的测定,参照 Dodgson 等 (1962)<sup>[15]</sup> 报道的氯化钼-明胶比色法,以硫酸钾为标样制作标准曲线。相对粘度的测量使用乌氏粘度计按照说明书进行,测量条件为质量浓度 10 mg/mL、温度 25 ℃。

2) 单糖组成分析:多糖样品的单糖组成分析,参照 Liu 等 (2008)<sup>[16]</sup>、王磊等 (2008)<sup>[17]</sup> 报道的糖腈乙酸酯衍生物的气相色谱法稍作修改。称取多糖样品约 5 mg,加入 2 mol/L 三氟乙酸 4 mL 封管,120 ℃水解 2 h,水解液 50 ℃旋转蒸发至干。水解后的糖样中加入 10 mg 盐酸羟胺、5 mg 肌醇(内标物)、0.6 mL 吡啶,封口,放入 90 ℃水浴中加热反应 30 min 并振荡。冷至室温,再加入 1.0 mL 醋酸酐,90 ℃水浴中继续反应 30 min,冷却后得糖腈乙酸酯衍生物。反应产物用于气相色谱分析,使用 Agilent 6890N 气相色谱仪,5% 苯甲基硅氧烷毛细管色谱柱(HP-5, 30.0 m × 320 μm × 0.25 μm),火焰离子检测器。色谱柱程序升温:120 ℃保持 3 min,以 3 ℃/min 速度升温至 210 ℃,210 ℃再保持 4 min。色谱柱流速 1.0 mL/min,进样口温度 250 ℃,检测器温度 280 ℃,进样体积 1.0 μL,氮气、氢气和空气的流速分别是 25、30、400 mL/min。各标准单糖(鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、果糖、葡萄糖、半乳糖)同样进行糖腈乙酸酯衍生化,然后以同样条件进行气相色谱分析。

3) 纯度鉴定及相对分子质量测定:多糖样品的纯度鉴定和相对分子质量测定,参照 Roy 等 (2008)<sup>[18]</sup>、张桂和等 (2006)<sup>[19]</sup> 报道的分子排阻高效液相色谱法稍作修改。以标准相对分子质量的一系列葡聚糖为标样制作标准曲线。使用 Agilent 1100 series 高效液相色谱仪,TSK-Gel G3000 SW<sub>XL</sub> 色谱柱,示差检测器。流动相为含 0.1 mol/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 6.8),流动相流速 0.8 mL/min,色谱柱和检测器温度均是 25 ℃,进样次序按相对分子质量由小到大分别进样,进样体积 20 μL。

4) 红外光谱分析:多糖样品的红外光谱分析参照 Maciel 等 (2008)<sup>[20]</sup>、孙元琳等 (2006)<sup>[21]</sup> 报道的溴化钾压片法。使用 Bomen MB154S 型傅立叶变换红外光谱仪,扫描范围为 4000 cm<sup>-1</sup> ~ 500 cm<sup>-1</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 三角帆蚌多糖的提取及分离纯化

运用热水浸提、乙醇沉淀、Sevag 法脱蛋白质、

乙醇再沉淀的方法提取三角帆蚌多糖,获得了三角帆蚌粗多糖,相对于内脏质量,其粗多糖提取率为 3.5% 左右。利用 DEAE-纤维素 52 层析柱对三角帆蚌粗多糖进行初步分离,得到 3 个主要组分,分别是水洗脱的组分 F<sub>1</sub>、0.1 mol/L NaCl 溶液洗脱的组分 F<sub>2</sub>和 0.3 mol/L NaCl 溶液洗脱的组分 F<sub>3</sub>。利用葡聚糖 G-100 层析柱对经 DEAE-纤维素 52 色谱柱初步分离的 3 个组分(F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>和 F<sub>3</sub>)分别进行分离纯化,各得到一个纯化组分,分别命名为 HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3。相对于粗多糖质量 3 个纯化组分 HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 的得率分别是 26.9%、30.2% 和 3.9%。

多糖组分由于存在糖醛酸、硫酸基等一些荷电基团,因此要想获得纯多糖,通常先按照离子强度的不同进行初步分离,得到电荷单一的组分,然后再通过相对分子质量的不同进行第二次分离,获得电荷和分子量均单一的多糖。作者通过离子交换层析和凝胶过滤层析纯化三角帆蚌多糖,得到了 3 个纯化组分(HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3),用于进一步的分析。

### 2.2 三角帆蚌粗多糖及纯化产品的部分理化性质

2.2.1 总糖、蛋白质、硫酸基含量及相对粘度 三角帆蚌粗多糖及其纯化产品的总糖、蛋白质、硫酸基含量及相对粘度见表 1。从表 1 可以看出:三角帆蚌粗多糖的总糖质量分数为 76.43%。经过纯化以后,多糖产品的总糖含量显著提高,其中 HCPS-1、HCPS-2 已达到 96% 以上,HCPS-3 也达到 80% 以上。

三角帆蚌粗多糖的蛋白质质量分数为 1.36%,经过纯化以后,多糖产品中游离蛋白质已被去除。HCPS-1、HCPS-2 已检测不出蛋白质,表明 HCPS-1、HCPS-2 为单纯的不含蛋白的多糖组分。HCPS-3 的蛋白质含量比粗多糖要高许多倍,达到 9.42%,意味着 HCPS-3 很可能是糖蛋白组分。三角帆蚌粗多糖的硫酸基含量为 1.38%。经过纯化以后,HCPS-1、HCPS-2 中硫酸基含量明显减少,HCPS-3 中硫酸基含量明显提高达到 6.29%,且 HCPS-3 中硫酸基质量浓度显著高于粗 HCPS、HCPS-1 以及 HCPS-2。这些结果作者红外光谱扫描法的结果基本一致。有研究报道,一些含结合蛋白质的糖蛋白具有比单纯多糖本身更强的生物活性<sup>[22]</sup>,多糖硫酸化后可增强其生物活性<sup>[23-24]</sup>。本研究结果表明,HCPS-3 含有较高的蛋白质、很可能是糖蛋白组分,HCPS-1、HCPS-2 为不含蛋白质的多糖组分,HCPS-3 中硫酸基含量显著地高于粗多糖、

HCPS-1 和 HCPS-2, 是否 HCPS-3 的生物活性也显著地强于粗多糖、HCPS-1 和 HCPS-2, 这有待于进一步研究验证。

在质量浓度 10 mg/mL、温度 25 ℃条件下, 三角帆蚌粗多糖的相对粘度为 1.1810, 经过纯化以后, HCPS-1、HCPS-2 的相对粘度稍微减少, HCPS-3 的相对粘度有所增加。三者相对粘度高低顺序依次是 HCPS-3、HCPS-2、HCPS-1, 不过三者之间的差异不显著。一般认为, 多糖的相对粘度与其相对

分子质量间有一定相关性, 即相对分子质量越大则相对粘度越高。作者测量的 HCPS-1、HCPS-2、HCPS-3 三者相对粘度的高低顺序与测量的相对分子质量大小顺序基本一致, 符合“相对分子质量越大则相对粘度越高”的一般规律。HCPS-1、HCPS-2、HCPS-3 三者相对粘度差异不显著, 表明三者间相对分子质量差异也不显著, 此推测与相对分子质量测量的结果也基本一致。

表 1 三角帆蚌粗多糖及纯化产品的基本理化性质  
Tab.1 Preliminary feature of crude and purified HCPS

| 项 目    | 总糖<br>质量分数/ % | 蛋白质<br>质量分数/ % | 硫酸基<br>质量分数/ % | 相对粘度<br>(相对于去离子水) | 相对<br>分子质量 |
|--------|---------------|----------------|----------------|-------------------|------------|
| HCPS-1 | 98.882 6      | —              | 0.380 4        | 1.159 2           | 432.2      |
| HCPS-2 | 96.600 1      | —              | 0.595 9        | 1.163 1           | 457.9      |
| HCPS-3 | 80.058 0      | 9.423 8        | 6.293 8        | 1.308 0           | 503.1      |
| 粗 HCPS | 76.425 0      | 1.361 1        | 1.380 3        | 1.181 0           |            |

注: — 表示未检测出; 相对粘度测量条件为 10 mg/mL、25 ℃。

**2.2.2 单糖组成** 8 种标准单糖(鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、果糖、葡萄糖、半乳糖)的气相色谱图如图 1(A) 所示。可以看出, 此法除果糖检测不出外, 其余 7 种单糖均能被检出, 各色谱峰峰形对称、独立、易区分。依保留时间, 它们依次是鼠李糖、阿拉伯糖、岩藻糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖以及内标物肌醇。

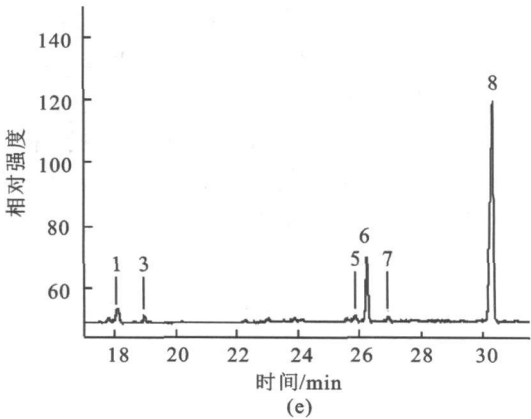
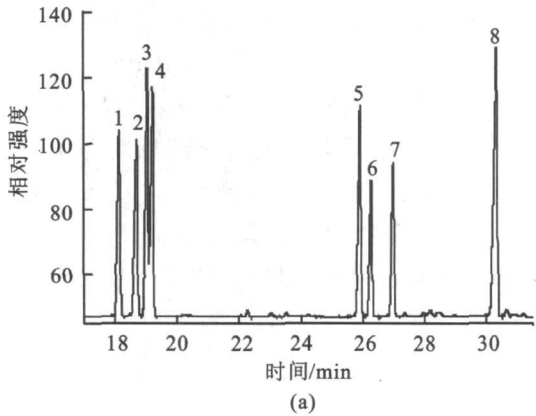
三角帆蚌粗多糖及其纯化产品单糖组成的气相色谱图如图 1(B)、1(C)、1(D)、1(E) 所示, 各单糖的摩尔分数比列于表 2。可以看出, 三角帆蚌粗多糖由 6 种单糖组成, HCPS-3 由 5 种单糖组成, 而

HCPS-1 仅由 2 种单糖组成, 它们都是葡萄糖占绝大多数。至于 HCPS-2, 其只含有一种单糖葡萄糖, 即完全由葡萄糖组成。三角帆蚌粗多糖的 6 种单糖中, 除主要组分葡萄糖来自 3 个组分(HCPS-1、HCPS-2、HCPS-3) 外, 其余 5 种单糖来自不同的组分(阿拉伯糖来自 HCPS-1, 鼠李糖、岩藻糖、甘露糖、半乳糖来自 HCPS-3)。这些结果表明, 三角帆蚌多糖纯化后的 3 个组分中, HCPS-3 具有比 HCPS-1、HCPS-2 更复杂的单糖组成, 三角帆蚌粗多糖单糖组成的复杂性主要由 HCPS-3 决定。

表 2 三角帆蚌粗多糖及纯化产品单糖组成的摩尔分数  
Tab.2 Monosaccharide composition of crude and purified HCPS

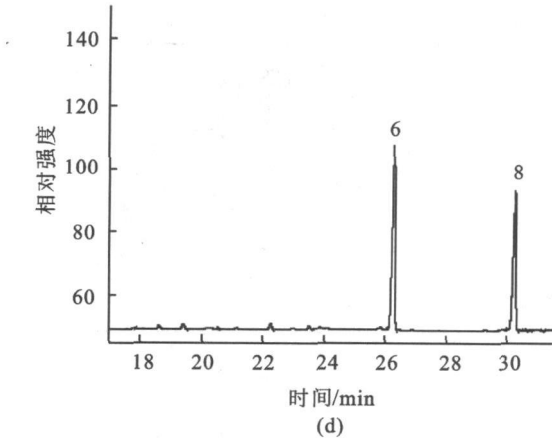
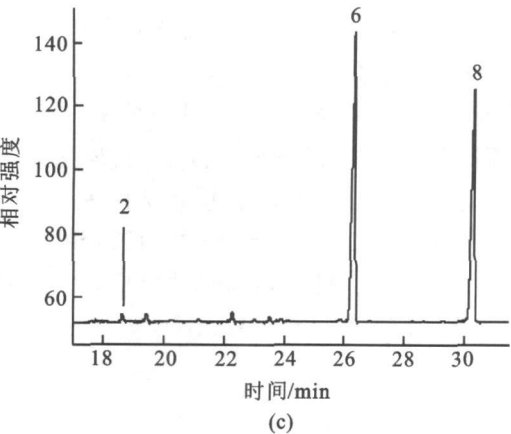
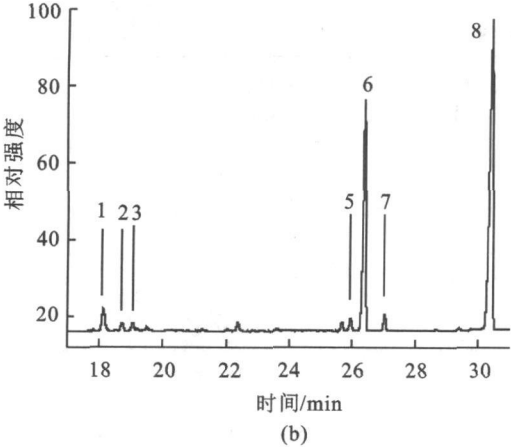
| 项 目    | 鼠李糖<br>摩尔分数/ % | 阿拉伯糖<br>摩尔分数/ % | 岩藻糖<br>摩尔分数/ % | 甘露糖<br>摩尔分数/ % | 葡萄糖<br>摩尔分数/ % |
|--------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| HCPS-1 | —              | 2.120 9         | —              | —              | 97.879 1       |
| HCPS-2 | —              | —               | —              | —              | 100.000 0      |
| HCPS-3 | 13.803 7       | —               | 4.511 8        | 7.698 7        | 64.918 9       |
| 粗 HCPS | 5.710 1        | 2.208 6         | 1.688 2        | 3.399 5        | 82.211 4       |

注: — 表示未检测出。



1: 鼠李糖; 2: 阿拉伯糖; 3: 岩藻糖; 4: 木糖; 5: 甘露糖; 6: 葡萄糖; 7: 半乳糖; 8: 肌醇

图 1 标准单糖的气相色谱图 (a) 和粗 HCPS (b)、HCPS-1 (c)、HCPS-2 (d)、HCPS-3 (e) 单糖组成的气相色谱图



2.2.3 纯度及相对分子质量 多糖的纯度鉴定在多糖的理论研究中占据重要地位。由于多糖结构极其复杂,其纯度标准不能用小分子化合物的纯度标准来衡量。通常所谓的多糖纯品,其微观也存在不均一性,它仅是一定相对分子质量范围的一个均一分布。目前多糖纯度鉴定的方法有超离心法、旋光测定法、高压电泳法、凝胶过滤法、高效液相色谱法等。分子排阻高效液相色谱法的分辨率要高于常压凝胶过滤柱色谱法,可以避免常压柱色谱由于分辨率低造成的高纯度假象<sup>[25]</sup>。

HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 3 个组分由葡聚糖凝胶过滤层析柱得出,都是单一的洗脱峰,证明它们具有一定的均一性。为进一步检验它们的纯度,采用了分子排阻高效液相色谱法进行鉴定分析,结果见图 2(a)、2(b)和 2(c)。从图中可以看出,HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 3 个组分各自也只得单一的洗脱峰且峰形尖锐、对称。这样,结合 DEAE-纤维素-52 离子交换色谱、葡聚糖 G-100 凝胶过滤色谱和分子排阻高效液相色谱进行分析,可以证明 HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 三者都是纯化的多糖组分。

分子排阻高效液相色谱法分离原理是根据组分的相对分子质量对物质进行分离的。多糖在分子排阻色谱柱上的保留时间与其相对分子质量密切相关,在一定范围内,保留时间与其相对分子质量的对数呈线性关系<sup>[26]</sup>。三角帆蚌多糖纯化组分

HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 的分子排阻高效液相色谱图如图 2(A)、2(B) 和 2(C) 所示。从图中可以看出, 3 个多糖组分在色谱柱上均显示为峰形对称的单峰。HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 的保留时间分别为 6 994、6 948 和 6. 925 min, 运用标准分子量的葡聚糖线性回归方程计算, 得到它们的平均相对分子质量分别是 432 200、457 900 和 503 100, 三者差异不显著。此结果与 2 2 1 节中测量的结果比较符合“相对分子质量越大则相对粘度越高”的一般规律。

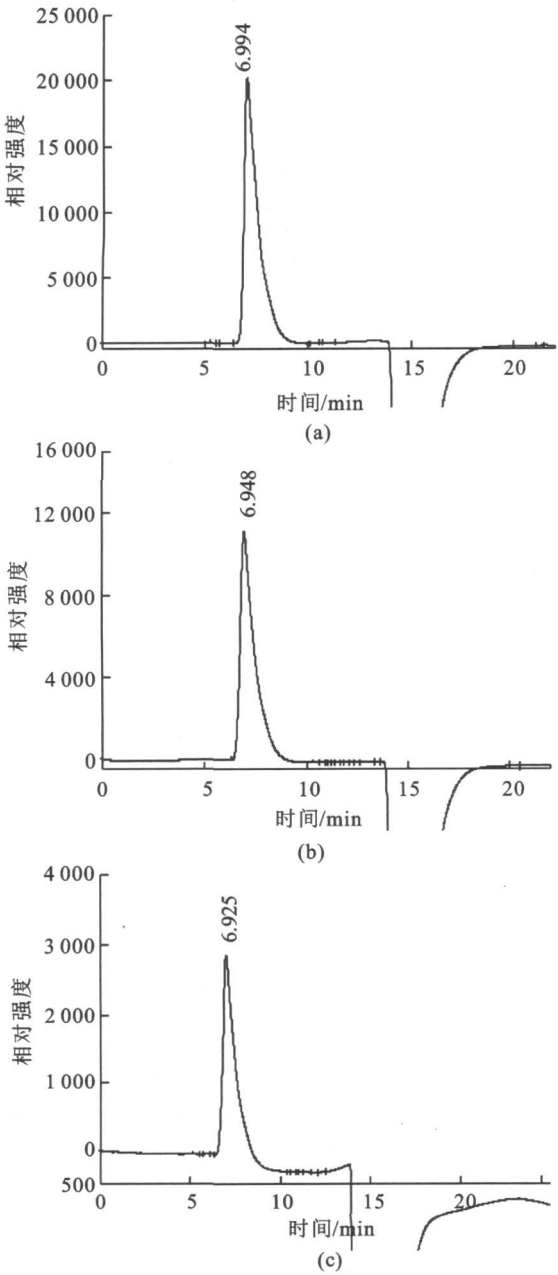


图 2 HCPS-1(a)、HCPS-2(b)、HCPS-3(c) 相对分子质量的高效液相色谱图

Fig 2 HPLC spectrum of relative molecular weight of HCPS-1 (a), HCPS-2 (b) and HCPS-3 (c)

2 2 4 红外光谱 三角帆蚌粗多糖及其纯化产品 (HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3) 的红外光谱见图 3。这 4 张图存在以下共同特征: 在  $3\ 700\sim\ 3\ 100\ \text{cm}^{-1}$  处出现的宽而强的吸收带是羟基的 O—H 伸缩振动, 在  $3\ 000\ \text{cm}^{-1}\sim\ 2\ 800\ \text{cm}^{-1}$  处出现的强吸收峰是烷基的 C—H 伸缩振动, 这两个吸收峰为多糖类物质的特征峰<sup>[27]</sup>, 进一步证明这 4 种物质是多糖类物质。在  $1\ 200\sim\ 900\ \text{cm}^{-1}$  处出现的一组强吸收峰是吡喃糖环的醚键(C—O—C)的伸缩振动和羟基的 O—H 变角振动<sup>[27]</sup>。

$1\ 700\sim\ 1\ 600\ \text{cm}^{-1}$  处出现的吸收峰除了是 C=O 非对称伸缩振动外, 也可能是氨基的 N—H 变角振动<sup>[27]</sup>。HCPS-3 在  $1\ 700\sim\ 1\ 600\ \text{cm}^{-1}$  处出现的吸收峰明显强于粗 HCPS、HCPS-1 及 HCPS-2, 表明 HCPS-3 比粗 HCPS、HCPS-1 及 HCPS-2 含有较高的蛋白质。 $1\ 240\ \text{cm}^{-1}\sim\ 1\ 230\ \text{cm}^{-1}$  处出现的吸收峰是硫酸基的 S=O 伸缩振动<sup>[27]</sup>。HCPS-3 在  $1\ 240\sim\ 1\ 230\ \text{cm}^{-1}$  处出现较强的吸收峰, 而粗多糖、HCPS-1 及 HCPS-2 在此处的吸收峰很弱, 表明 HCPS-3 比粗多糖、HCPS-1 及 HCPS-2 含有较高的硫酸基。这些结果与 2 2 1 节的化学法结果(粗 HCPS 含有少量蛋白质, HCPS-1、HCPS-2 不含蛋白质, HCPS-3 含有较高蛋白质; HCPS-3 中硫酸基含量显著地高于粗 HCPS、HCPS-1 以及 HCPS-2)基本一致。

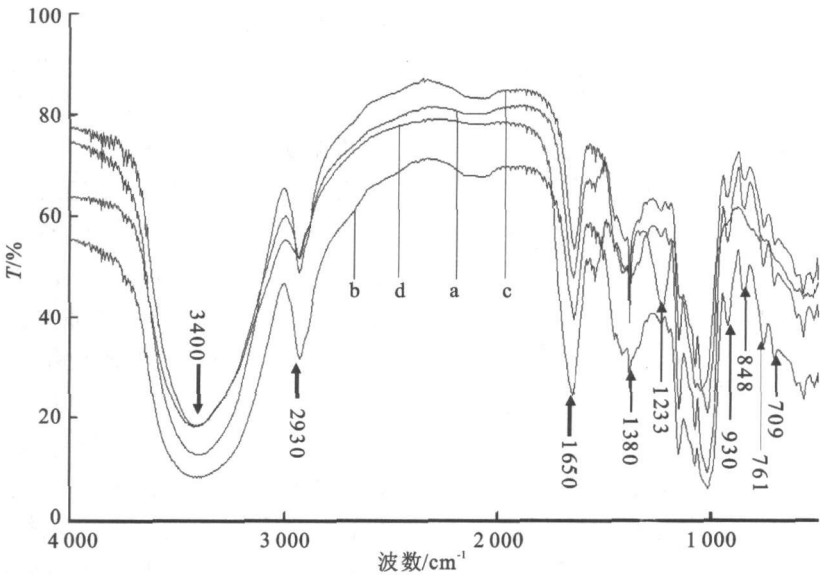
3 结 语

运用热水浸提、乙醇沉淀、Sevag 法脱蛋白、乙醇再沉淀的方法提取获得了三角帆蚌粗多糖, 相对于内脏质量其粗多糖提取率为 3. 5% 左右。运用 DEAE-纤维素-52 阴离子交换色谱柱和葡聚糖 G-100 凝胶过滤色谱柱对三角帆蚌粗多糖进行分离纯化, 得到 3 个纯化组分(HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3), 相对于粗多糖质量 HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 的得率分别是 26. 9%、30. 2% 和 3. 9%。采用 HPLC 法证明 HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 三者都是纯化的多糖组分。

运用化学的、物理的方法分别测量分析了三角帆蚌粗多糖及其纯化组分的基本理化性质。对于粗 HCPS、HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3: 总糖质量分数分别是 76. 43%、98. 88%、96. 60% 和 80. 06%, 蛋白质质量分数分别是 1. 36%、未检出、未检出和 9. 42%, 硫酸基质量分数分别是 1. 38%、0. 38%、0. 60% 和 6. 29%, 相对粘度分别是 1. 18、1. 16、1. 16 和 1. 31。粗 HCPS 由 6 种单糖组成, 鼠李糖、阿拉

伯糖、岩藻糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖摩尔分数分别是 5.71%、2.21%、1.69%、3.40%、82.21% 和 4.78%; HCPS-1 由 2 种单糖组成, 阿拉伯糖、葡萄糖摩尔分数分别是 2.12% 和 97.88%; HCPS-2 仅由一种单糖葡萄糖组成; HCPS-3 由 5 种单糖组成, 鼠李糖、岩藻糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖摩尔分数分别是 13.80%、4.50%、7.70%、64.92% 和 9.07%。HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 的相对分子

质量分别是 432 200、457 900 和 503 100。红外光谱扫描显示, 粗 HCPS、HCPS-1、HCPS-2 和 HCPS-3 含有多糖类物质的特征吸收峰、含有吡喃糖环的吸收峰。HCPS-3 比粗 HCPS、HCPS-1 及 HCPS-2 含有较强的蛋白氨基吸收峰、较强的硫酸基特征吸收峰。HCPS-3 具有较高的蛋白质质量分数、较高的硫酸基质量分数和复杂的单糖组成, 这些与 HCPS-1、HCPS-2 明显不同。



a: 粗 HCPS; b: HCPS-1; c: HCPS-2; d: HCPS-3

图 3 三角帆蚌粗多糖及纯化组分的傅立叶变换红外光谱图

Fig. 3 FTIR spectra of crude HCPS, HCPS 1, HCPS 2 and HCPS 3

参考文献(References):

[ 1 ] 刘月英, 张文珍, 王跃先, 等. 中国经济动物志(淡水软体动物) [ M ]. 北京: 科学出版社, 1979. 83– 85.

[ 2 ] 齐钟彦. 中国经济软体动物 [ M ]. 北京: 中国农业出版社, 1998. 200– 218.

[ 3 ] 陈蓝荪, 李家乐. 我国现代珍珠养殖产业的发展对策(上) [ J ]. 科学养鱼, 2007, (1): 3– 4.

CHENG Lan-sheng, LI Jia-le. Developing strategy of modern pearl-cultivating industry in China( I ) [ J ]. **Scientific Fish Farming**, 2007, (1): 3– 4.

[ 4 ] 张志澄, 吴皓, 狄留庆, 等. 淡水珠蚌类的研究进展 [ J ]. 中华中医药学刊, 2007, 25(1): 121– 123.

ZHANG, Zhi-cheng, WU Hao, DI Liu-qing, et al. A review about freshwater mussel ( Unionidae ) [ J ]. **Chinese Arch. Traditional Chinese Medicine**, 2007, 25: 121– 123.

[ 5 ] 胡健饶, 曹明富. 三角帆蚌多糖抑瘤作用的实验研究 [ J ]. 中国现代应用药学杂志, 2003, 20(1): 11– 13.

HU Jing-rao, CAO Ming-fu. Inhibitive effects of polysaccharide from *Hyriopsis cumingii* on tumor proliferation: An experimental study [ J ]. **Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy**, 2003, 20(1): 11– 13.

[ 6 ] 陈文星, 吴皓, 陆茵, 等. 珠蚌多糖对实验性移植肿瘤及 NK 细胞活性的作用 [ J ]. 中国海洋药物, 2007, 26(2): 30– 33.

CHEN Wen-xing, WU Hao, LU Yin, et al. Effects of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii* on experimental transplanted tumor in mice and on activity of NK cells in vitro [ J ]. **Chinese Journal of Marine Drugs**, 2007, 26(2): 30– 33.

[ 7 ] 陈文星, 吴皓, 陆茵, 等. 三角帆蚌寒凉药性与多糖效应相关性研究 [ J ]. 华夏医药, 2008, 3(2): 103– 106.

CHEN Wen-xing, WU Hao, LU Yin, et al. Correlation study on cold property of *Hyriopsis cumingii* and effect of polysaccharides [ J ]. **Huaxia Medicine**, 2008, 3(2): 103– 106.

[ 8 ] 姚滢, 魏江洲, 王俊, 等. 厚壳贻贝多糖的提取和免疫学活性研究 [ J ]. 第二军医大学学报, 2005, 26(8): 896– 899.

YAO Ying, WEI Jiang-zhou, WANG Jun, et al. Extraction of *Mytilus coruscus* polysaccharides and study on their immu-

- noactivities[ J]. **Academic Journal of Second Military Medicine University**, 2005, 26: 896– 899.
- [ 9] 孟宪军,孙希云,朱金艳,等. 蓝莓多糖的优化提取及抗氧化性研究[ J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(1): 56– 60.  
MENG Xian-jun, SUN Xi-yun, ZHU Jin-yan, et al. Extraction and antioxidant capability of blueberry polysaccharides [ J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010, 29(1): 56– 60.
- [ 10] Ye H, Wang K, Zhou C, et al. Purification, anti-tumor and antioxidant activities in vitro of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*[ J]. **Food Chemistry**, 2008, 111(2): 428– 432.
- [ 11] 田晓艳,刘延吉,祝寰宇,等. 沙棘多糖 HRP I a 纯化及鉴定[ J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(1): 23– 26.  
TIAN Xiao-yan, LIU Yan-ji, ZHU Huan-yu, et al. Purification, identification of polysaccharide HRP I a of *Hippophae rhamnoides* L. [ J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010, 29(1): 23– 26.
- [ 12] Cai W, Gu X, Tang J. Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta* [ J]. **Carbohydrate Polymers**, 2008, 71: 403– 410.
- [ 13] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [ J]. **Analytical Biochemistry**, 1956, 28: 350– 356.
- [ 14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [ J]. **Analytic Biochemistry**, 1976, 72: 248– 254.
- [ 15] Dodgson K S, Price R G. A note on the determination of the ester sulfate content of sulfate polysaccharides [ J]. **Biochemistry Journal**, 1962, 84: 106– 110.
- [ 16] Liu C, Li X, Li Y, et al. Structural characterisation and antimutagenic activity of a novel polysaccharide isolated from *Sepiella maindroni* ink [ J]. **Food Chemistry**, 2008, 110(4): 807– 813.
- [ 17] 王磊,刘秀凤,邱芳萍,等. 微波辅助提取玉米须多糖及其组成的研究[ J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(1): 72– 75.  
WANG Lei, LIU Xi-feng, QIU Fang-ping, et al. Extraction of corn silk polysaccharides by microwave assisted technology [ J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(1): 72– 75.
- [ 18] Roy S K, Maiti D, Mondal S, et al. Structural analysis of a polysaccharide isolated from the aqueous extract of an edible mushroom, *Pleurotus sajor-caju*, cultivar Black Japan [ J]. **Carbohydrate Research**, 2008, 343(6): 1108– 1113.
- [ 19] 张桂和,赵谋明,王伟. 方格星虫多糖分离纯化及性质鉴定[ J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(4): 63– 66.  
ZHANG Gui-he, ZHAO Mou-ming, WANG Wei. Isolation, purification and property identification of polysaccharide contained in *Sipunculus nudus* [ J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(4): 63– 66.
- [ 20] Maciel J S, Chaves L S, Souza B W S, et al. Structural characterization of cold extracted fraction of soluble sulfated polysaccharide from red seaweed *Gracilaria birdiae*[ J]. **Carbohydrate Polymers**, 2008, 71(4): 559– 565.
- [ 21] 孙元琳,顾小红,汤坚,等. 当归水溶性多糖的分离、纯化及结构初步分析[ J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(1): 1– 4.  
SUN Yuan-lin, GU Xiao-hong, TANG Jian, et al. The preparation, purification and structure analysis of water-soluble polysaccharides from *Angelica sinensis* [ J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(1): 1– 4.
- [ 22] 诸葛健,赵振锋,方慧英. 功能性多糖的构效关系[ J]. 无锡轻工大学学报(食品与生物技术学报), 2002, 21(2): 209– 212.  
ZHU Ge-jian, ZHAO Zhen-feng, FANG Hui-ying. The relationship between structure and function of polysaccharides [ J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry (Journal of Food Science and Biotechnology)**, 2002, 21(2): 209– 212.
- [ 23] 邱琳,辛现良,耿美玉. 多糖构效关系研究进展[ J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(9): 1764– 1768.  
QIU Lin, XIN Xian-liang, GENG Mei-yu. Advances in the structure-function relationships of polysaccharides [ J]. **Progress in Modern Biomedicine**, 2009, 9(9): 1764– 1768.
- [ 24] 闫亚美,冉林武,刘兰英,等. 硫酸酯化多糖生物活性及其构效关系研究进展[ J]. 安徽农业科学, 2009, 37(24): 11374– 11375.  
YAN Ya-mei, RAN Lin-wu, LIU Lan-ying, et al. Progress in sulfated polysaccharides biological activity and structure activity relationship [ J]. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, 2009, 37(24): 11374– 11375.
- [ 25] 魏远安,方积年. 高效凝胶渗透色谱法测定多糖纯度及分子量[ J]. 药学报, 1989, 24(7): 532– 536.  
WEI Yuan-an, FANG Ji-nian. Determination of purity and molecular weight of polysaccharides by high performance gel permeation chromatography [ J]. **Acta Pharmaceutica Sinica**, 1989, 24(7): 532– 536.
- [ 26] Hagel L. Comparison of some soft gels for the molecular-weight distribution analysis of dextran at enhanced flow-rates [ J]. **Journal of Chromatography A**, 1978, 160(1): 59– 71.
- [ 27] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[ M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999.