

多糖提取常用方法

简介

生物活性多糖主要有真菌多糖、植物多糖、动物多糖 3 大类，多糖的提取首先要根据多糖的存在形式及提取部位，决定在提取之前是否做预处理。动物多糖和微生物多糖多有脂质包围，一般需要先加入丙酮、乙醚、乙醇或乙醇乙醚的混合液进行回流脱脂，释放多糖；植物多糖提取时需注意一些含脂较高的根、茎、叶、花、果及种子类。在提取前先用低极性有机溶剂对原料进行脱脂预处理。多糖的提取方法主要有溶剂提取法、生物提取法、强化提取法等。

制备方法

1 多糖提取

溶剂提取法：水提法、碱提法。

水提法：以水为溶剂，可采用热水浸提或冷水浸提（植物多糖多采用热水浸提，可直接或离心去除杂质），由于多糖不溶于乙醇，可通过沉淀将多糖提纯出来。水提法的确缺点在于温度高、耗时长、提取率低。影响多糖提取率的因素有：水的用量、提取温度、浸提固液比、提取时间以及提取次数等。

碱提法：一些含有糖醛酸的多糖和酸性多糖在碱性条件下都比较稳定，可提高多糖的提取率，一般用硼氢化钠或硼氢化钾作为溶剂。但提取液中含有其它杂质，使粘度过大，过滤困难，碱性较强时多糖降解。

酶提取法：酶可以加速样品中多糖成分的释放和提取，酶提取法具有条件温和、杂质易除、回收率高等特点，具有发展前景。

超临界流体萃取法：采用二氧化碳作为流体，在超临界条件下，二氧化碳使样品的各组分依次萃取出来，当恢复常温和常压时，溶解在二氧化碳中的多糖组分立即以液体状态与气态流体分离，从而提取到多糖。超临界流体萃取法具有提取率高、萃取能力强、时间短、无溶剂残留等优点。

2 去除蛋白

去除蛋白方法包括：Sevag 法、酶解法、盐酸法、三氯醋酸法、三氟三氯乙烷法、其它方法等。

Sevag 法和三氟三氯乙烷法在避免降解上有较好效果但要达到除尽游离蛋白质的目的仍需反复处理。

酶解法：在样品溶液中加入蛋白质水解酶，如胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、链霉

蛋白酶等，使样品中的蛋白质降解。通常与 Sevag 法综合使用除蛋白质效果较好。

盐酸法：取样品浓缩液，用 2mol/L 盐酸调节其 PH 至 3，放置过夜，在 3000r/min 条件下离心，弃去沉淀，即脱去蛋白质。

其它方法：可加入 5%ZnSO₄ 溶液和饱和 Ba(OH)₂ 溶液，振荡后离心去蛋白。此法除蛋白不够彻底，可结合 Sevag 法使用。还可在提取液中加入 50%的 TCA 溶液至沉淀完全，在 4000r/min 的条件下离心 10min，收集上清液，即为除蛋白液。

除去蛋白质的样品用紫外分光光度计检验，观察在 280nm 处是否有吸收，如果无吸收则表明蛋白质已经除尽。

3 除色素

弱碱性树脂：对于植物来源的多糖，可能含有酚型化合物而颜色较深，这类色素大多呈负性离子，不能用活性炭吸收剂脱色，可用弱碱性树脂 DEAE 纤维素来吸附色素。

氧化脱色：若糖和色素时结合的，易被 DEAE 纤维素吸附，不能被水洗脱，这类色素可进行氧化脱色。以浓氨水或 NaOH 液调至 PH8.0 左右，50℃下滴加 H₂O₂ 至浅黄色，孵育 2 h。

乙醚和无水乙醇洗涤：依次用丙酮、无水乙醚和无水乙醇洗涤多糖，即可得到较为纯净的多糖。此法较为简单，便于操作，多糖损失也较小。

4 除低聚糖等小分子杂质

逆向流水透析法：用一根导管将水通入透析袋底部，另用一根导管将水引出，根据水量控制流速，使水缓慢流动 48 小时。

扩散效应：将分子量小的物质如无机盐、低聚糖等从透析袋渗透到袋外的蒸馏水中，不断换水即可保持浓度差，从而除尽小分子杂质。具体的做法是根据多糖溶液的体积截取相应长度的透析袋，用透析夹夹住一端，灌入多糖液，离液面 2—3cm 处夹紧透析袋，置于一大烧杯中，注入蒸馏水至完全浸没透析袋后，用磁力搅拌器慢速搅拌，每 12 h 换一次水，重复 3—4 次。

参考文献

- [1]李国胜, 白新鹏. 火龙果茎多糖提取方法比较[J]. 热带农业科学, 2021.
- [2]张琳, 杨范莉, 张祺嘉钰, 等. 不同提取方法对不同产地麦冬中芦丁和麦冬多糖含量及其抗氧化活性的影响[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(3):5.
- [3]秦忠雪, 唐嘉阳, 阮佳. 食用菌粗多糖测定中粗多糖提取方法的优化研究[J]. 预防医学情报杂志, 2021, 37(2):6.
- [4]侯引军. 植物多糖提取方法研究进展[J]. 2020.