

## 多糖纯化注意事项

### 纯化简介

多糖是一类天然高分子化合物，它是由醛糖或酮糖通过苷键连接在一起的多聚物，常由一百个以上甚至几千个单糖基通过糖苷键连接而成的。在高等植物、藻类、菌类及动物体内均有存在。按其来源，多糖可分为动物多糖、植物多糖、微生物多糖以及人工生物合成多糖等，具有多种生物功能，是构成动植物和微生物的细胞外结构物质、能量物质；作为生命过程中起核心作用的分子如遗传物质、酶、抗体、激素、膜蛋白和脂类，多糖是其不可缺少的组成部分，多糖还可与蛋白质、脂类形成的糖蛋白、脂多糖，在细胞的识别、分泌以及在蛋白质的加工和转移等方面起作用。

### 纯化原则

多糖类物质结构复杂，由不同分子质量的中性或酸性糖混合组成，具有微观不均一性。多糖分离纯化的核心是获得低分散性、电荷均一的多糖，以适宜后续结构解析和活性功能的深入分析。分离纯化原则是在不破坏多糖活性的前提下进行多糖的分离纯化。尽量不引入新的杂质，或引入的新杂质易于除去，如小分子盐类可经过透析作用除去，铵根离子可通过加热挥发除去等。

### 方法及局限

#### 1 分级沉淀法

用乙醇进行分级分离适用于大规模分离。但该法往往需要多次重复进行才能达到较好的效果，为避免生物活性大分子变性失活，沉淀应在低温下进行，且需确保连续 5 次加入沉淀剂时无沉淀产生。

#### 2 季铵盐络合法

季铵盐及其氢氧化物可以与酸多糖形成不溶性沉淀，多用于酸性多糖分离。如需分离中性多糖，需加入硼砂缓冲液使糖酸度提高或调解溶液 PH。不用于碱性多糖的分离纯化。

#### 3 凝胶柱层析法

该方法不宜用于粘多糖的纯化。

#### 4 离子交换层析

北京百欧泰生物科技有限公司

Tel: 400-669-8850 Email: info@biotyscience.com

Address: 北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号

该方法适用于分离各种酸性、中性与粘多糖，但多于凝胶柱层析交替使用，达到较好的分离纯化效果。

### 5 透析法

该方法操作简单、技术成熟，但周期较长需要 2-3d，常温条件下可能造成多糖变质，需在使用时加入少量防腐剂。

### 6 三氯乙酸法

该方法可大概率去除蛋白质等杂质，但多糖在三氯乙酸中不稳定，糖苷键容易断裂，造成多糖损失，回收率低。

### 7 Sevag 法

Sevag 法分离多糖中蛋白质较为有效，但所用试剂氯仿为有害物质，可造成多糖活性下降和有害物质残留。

## 影响因素

### 1 难溶于水

难溶于水，可溶于稀碱溶液。如半乳糖，粉碎后需用 NaOH 容易提取。

### 2 温度影响

在低温下难溶于水，需加热到 70-80℃后用氯仿提取。

### 3 粘多糖

粘多糖与蛋白质常以共价键结合，提取时需破坏粘多糖与蛋白质的结合键，增加了提取难度。常用蛋白水解酶或碱处理，促进粘多糖提取。

## 参考文献

- [1]张邦伟. 对正安野木瓜多糖提取相关问题的分析[J]. 大科技, 2014(3):2.
- [2]Jinwei Li, Liuping Fan, Shaodong Ding,. Isolation, purification and structure of a new water-soluble polysaccharide from Zizyphus jujuba cv. Jinsixiaozao. [J] Carbohydrate Polymers. 83(2011)477-482.
- [3]Sun Xiao-chun, YAN Jun, HE Gang, et al. Purification and Analysis of Monosaccharide Composition of Ligusticum chuanxiong polysaccharide. [J] Journal of Sichuan Agricultural University. 1000-2650-(2011)01-0056-05.

[4]Shu Ren-geng, JIANG Yue-ping, CAI Yong-hong, et al. Exploration of Extraction and Isolation Method of Plant Polysaccharides. [J] China Pharmacy. 1001-0408(2011)11-1052-04.