

## 多糖的分析方法与过程

### 技术简介

多糖与核酸、蛋白质和脂质被称为生命的四种基本物质，它们在许多生命活动中起着重要作用。一些已知的活动包括免疫调节、抗肿瘤、降血糖、降血脂、抗病毒、消除氧化性自由基和延缓衰老。多糖是由 10 个以上单糖分子通过糖苷键聚合而成，多糖的分子量相对较大，存在于自然界的高等植物、动物、藻类和细菌中，大多数多糖都来自组织细胞，它们的毒性较小，对细胞和身体有副作用，是理想的药物来源。

多糖的活性和其结构息息相关。通常采用酶解法、单糖组成分析法、甲基化分析法和核磁分析法等方法对多糖的结构进行解析。

### 分析流程

#### 1 多糖提取

多糖通过氢键或离子键与细胞壁或间质物质相连。根据多糖存在的不同部位使用不同的提取方法。热水、酸、碱、乙醇等作为溶剂，可通过微波或超声波辅助粗提；可在较温和的条件下利用复合酶特异性地降解细胞壁和细胞内大分子屏障，从而加速多糖的释放。

#### 2 多糖除杂

杂质，无机盐、脂质、蛋白质和低分子非极性物质。对于低分子量杂质，可以使用渗析法去除。蛋白质可使用蛋白酶法、Sevag 法、TCA 法和三氟三氯乙烷法去除。脂肪可使用有机溶剂如乙醇、乙醚和石油醚除去。去除颜料杂质的方法是吸附和氧化。

#### 3 多糖纯化

分离并除去杂质后，可获得混合的多糖溶液，将混合的多糖溶液分离成多种单一多糖的过程就是多糖的纯化。

#### 4 多糖解析

含糖量测定：单糖、多糖及其衍生物在硫酸的作用下水解成单糖，确定样品中的糖含量方法是显像剂-硫酸法。

分子量测定：常用的方法是凝胶过滤法和高效液相色谱法。这两种方法必须使用分子量已知的标准多糖作为对照。对于分子量小于 50,000 的多糖，可以使用质谱法。

组分分析：常用仪器分析法包括分光光度法、红外光谱法、核磁共振法、气相色谱法

和质谱法。

结构鉴定：主要分析多糖的分子量范围、单糖的类型、比例和连接顺序以及糖苷键的构型。常见的结构分析方法有高碘酸氧化、Smith 降解法和甲基化反应。

## 解析方法

### 1 水解法

水解法将多糖链分解成单糖，这是分析单糖组成成分的主要手段。水解后的多糖经过中和、过滤可采用气相色谱、纸层析、薄层层析、高效液相色谱和离子色谱进行分析。

### 2 高碘酸氧化法

高碘酸可以选择性的氧化断裂糖分子中的连二羟基或连三羟基处，生成相应的多糖醛、甲酸，反应定量进行，可以判断糖苷键的位置、直链多糖的聚合度和支链多糖的分支数。

### 3 Smith 降解

Smith 降解是将高碘酸氧化产物还原后进行酸水解或部分水解。根据降解不同产物可以推断糖苷键的位置，在降解产物中若有赤藓糖生成，则提示多糖具有 1-4 结合的糖苷键；若有甘油生成，则提示有 1-6、1-2 结合的糖苷键或有还原末端葡萄糖残基；若能检出单糖，如葡萄糖、半乳糖、甘露糖等，则有 1-3 糖苷键结合的存在。

### 4 甲基化反应

甲基化反应是用甲基化试剂将各种单糖残基中的游离羟基全部甲基化，进而将甲基化多糖水解后得到的化合物，其羟基所在的位置即为单糖残基的连接位置。

### 5 核磁共振法

运用核磁共振技术可获得碳水化合物完全的结构信息，突破了其他方法测定多糖结构的局限性，为复杂的多糖结构解析提供了有利工具。通过综合分析一维、二维图谱，互相验证，得到较为准确的多糖结构信息。

## 参考文献

[1]徐航, 朱锐, 刘玮, 等. 多糖高级结构解析方法的研究进展[J]. 药学进展, 2015(05):364-369.

[2]李雪琴, 李科, 秦雪梅, 等. 多糖的结构解析方法研究进展[J]. 山西医科大学学报, 2021, 52(3):8.

- [3]邱博韬, 张鸿宇, 许志茹, 等. 多糖分析方法研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(6):7.
- [4]林常青. 质谱在多糖结构分析中的应用[J]. 分析测试技术与仪器, 2005, 11(3):7.
- [5]唐婷, 韦璐, 赵瑄. 紫薯果胶类多糖的成分分析及稳定性研究[J]. 食品研究与开发, 2021.