

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.04.018

木质化秋葵均一多糖的理化特性及结构表征研究

叶云芳, 丁曼, 刘咏, 王军辉

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:文章以木质化秋葵为原料,采用水提醇沉法和 DEAE-Cellulose 阴离子交换层析法获取木质化秋葵纯化多糖 AP1-c,并对 AP1-c 的理化性质和结构进行研究。结果表明,AP1-c 是分子量为 658 kDa 的均一多糖,总糖、糖醛酸、蛋白质的质量分数分别为 95.36%、24.83%、0.72%。傅里叶变换红外(Fourier transform infrared, FTIR)光谱分析表明 AP1-c 具有典型的多糖特征吸收峰。单糖组成结果显示,AP1-c 主要由半乳糖(Gal)、鼠李糖(Rha)、阿拉伯糖(Ara)和葡萄糖(Glc)组成,摩尔比为 1.85 : 1.00 : 0.24 : 0.67。甲基化分析表明 AP1-c 主要存在 5 种糖苷键连接方式,分别为 1,3,4-linked-Rhap、1-linked-Araf、1,4-linked-Galp、1-linked-Galp、1,6-linked-Glcp,对应的摩尔比为 2.9 : 1.6 : 2.7 : 2.3 : 0.7。结合化学和仪器方法可推断出 AP1-c 的主链由 $\rightarrow 3,4\text{-}\alpha\text{-D-Rhap-(1}\rightarrow\text{,}\rightarrow 4\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ 组成,而支链包括 $\alpha\text{-L-Araf-(1}\rightarrow\text{,}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow\text{,}\rightarrow 6\text{-}\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$ 。研究结果为木质化秋葵的开发利用奠定了理论基础。

关键词:木质化秋葵;多糖;理化性质;结构表征

中图分类号:TS201.4

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2023)04-0547-07

Physicochemical properties and structural characterization of homogeneous polysaccharide extracted from lignified okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)

YE Yunfang, DING Man, LIU Yong, WANG Junhui

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: The polysaccharide AP1-c was isolated and purified from the lignified okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) by hot water extraction and DEAE-Cellulose-52 chromatography. The physicochemical properties and structural characterization of AP1-c were investigated. The results show that the AP1-c is a homogeneous polysaccharide with molecular weight of 658 kDa, the contents of total sugar, glucuronic acid and protein are 95.36%, 24.83% and 0.72%, respectively. The Fourier transform infrared (FTIR) analysis shows that AP1-c has typical characteristic absorption peaks of polysaccharides. Monosaccharide composition analysis indicates that AP1-c consists of galactose (Gal), rhamnose (Rha), arabinose (Ara) and glucose (Glc) at a molar ratio of 1.85 : 1.00 : 0.24 : 0.67. Methylation analysis of AP1-c reveals the presence of 1,3,4-linked-Rhap, 1-linked-Araf, 1,4-linked-Galp, 1-linked-Galp and 1,6-linked-Glcp with the molar ratio of 2.9 : 1.6 : 2.7 : 2.3 : 0.7. Structural analysis determines that AP1-c possesses a backbone consisting of $\rightarrow 3,4\text{-}\alpha\text{-D-Rhap-(1}\rightarrow$ and $\rightarrow 4\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ residues, while the branched chain is composed of $\alpha\text{-L-Araf-(1}\rightarrow\text{,}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ and $\rightarrow 6\text{-}\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$ residues. The results of this study lay a theoretical foundation for the development and utilization of lignified okra.

Key words: lignified okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench); polysaccharide; physicochemical

收稿日期:2020-06-02;修回日期:2020-09-02

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(JZ2020YYPY0246;JZ2020HGQA0187)

作者简介:叶云芳(1995—),女,安徽六安人,合肥工业大学硕士生;

刘咏(1968—),女,安徽凤阳人,合肥工业大学教授,硕士生导师;

王军辉(1976—),男,广西陆川人,博士,合肥工业大学教授,硕士生导师。

property; structural characterization

秋葵 (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) 又名黄秋葵、羊角豆, 是锦葵科秋葵属一年生草本开花植物, 原产于非洲, 现广泛种植于亚洲、中东和欧洲的东南部等地区^[1]。秋葵入药历史悠久, 早在我国明代时期, 李时珍在《本草纲目》中记载了秋葵的形态特征和药用价值, 言明秋葵的叶、花、根茎和种子都具有一定的药用价值, 可用来治疗恶疮、痈疖、脾虚乏力和肠燥便秘等病症^[2]。近些年对秋葵的研究发现秋葵嫩果荚富含多种营养物质, 包括氨基酸、蛋白质、脂肪、碳水化合物、微量元素以及黄酮类化合物等, 其中多糖的含量尤为丰富, 是秋葵中主要的活性成分^[3-4]。据报道, 秋葵多糖具有降血糖、抗疲劳、调节机体免疫功能及抑制肿瘤细胞生长等多种生物活性^[5]。其优良生物活性吸引了国内外研究学者的广泛关注。20 世纪 60 年代已经发现从秋葵嫩荚中获得的水提多糖是由鼠李糖、半乳糖和半乳糖醛酸组成的酸性多糖^[6]; 秋葵水提多糖的结构被证明主要由 (1→2) 连接的 α -Rhap 和 (1→4) 连接的 α -GalpA 组成, 其中 (1→4) 连接的 β -Galp 侧链部分连接到 L-Rhap 的 O-4 上^[7]。目前, 对秋葵嫩荚多糖的研究已逐渐趋于成熟, 多集中在多糖的表征和功能特性等方面。

秋葵成熟后的果实逐渐木质化, 无法食用。木质化秋葵是秋葵收获种子后留下的副产物, 但其却占秋葵总质量的 50% 以上, 还富含大量的细胞壁多糖。但由于国内外目前尚缺乏对木质化秋葵的系统研究, 造成木质化秋葵的利用率较低, 经常被当作废弃物扔掉。因此, 为了寻找合适的处理方法, 更好地利用木质化秋葵这一丰富的农作物资源, 提取多糖是最佳的开发方法之一。本研究通过对木质化秋葵进行多糖的提取纯化, 并对纯化后的均一多糖进行理化性质测定和结构表征, 研究结果为木质化秋葵的开发利用提供可靠的数据及理论依据, 以促进木质化秋葵的综合利用。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

收获了种子的木质化秋葵果荚于 2017 年 9 月收集于安徽省凤阳县, 自然晒干后经高速中药粉碎机粉碎, 于烘箱中进一步干燥至恒重。利用 95% 乙醇浸泡干燥的木质化秋葵果荚粗粉 3 d 以脱色脱脂, 风干后保存备用。

DEAE-Cellulose 阴离子交换树脂购于北京索来宝公司; 单糖标准品和葡聚糖标准品购于美国 Sigma 公司; 三氯乙酸(光谱级) 购于 Aladdin; 其余试剂(分析纯) 均购于中国国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器

高速中药粉碎机(达微机械, 济南); 高速冷冻离心机(Thermo Fisher Scientific, 美国); 紫外可见分光光度计(菁华科技仪器, 上海); 傅里叶变换红外(Fourier transform infrared, FTIR) 光谱仪(Thermo 公司, 美国); 高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography, HPLC) (Waters 公司, 美国); 气相色谱仪(gas chromatograph, GC) (Agilent 公司, 美国); 核磁共振仪(Agilent 公司, 美国)。

1.3 木质化秋葵多糖的分离纯化

称取脱色脱脂后的木质化秋葵粗粉 100 g, 以 1:30 的料液比在 100 °C 下提取 2 h, 提取 2 次。合并 2 次提取液, 在 60 °C 下减压蒸发, 将提取液浓缩至原来体积的 1/10, 以 8 000 r/min 的转速离心 10 min 去除不溶物。利用 Sevag 试剂^[8] (V(三氯甲烷):V(正丁醇)=1:4) 对糖液进行脱蛋白处理, 分液漏斗上层溶液减压浓缩去除未反应的三氯甲烷或正丁醇后, 用自来水和蒸馏水分别透析 72、48 h。透析液浓缩离心冻干即得木质化秋葵粗多糖。

称取木质化秋葵粗多糖 500 mg 溶解于 500 mL 蒸馏水中, 在电动搅拌器快速搅拌的条件下缓慢加入 95% 乙醇, 使得糖液的最终乙醇体积分数为 40%。将其在 4 °C 冰箱中冷藏过夜后, 以 8 000 r/min 离心 10 min, 合并沉淀溶解于蒸馏水中, 透析冷冻干燥后得到的组分即为 40% 醇沉组分 AP1。

称取 40% 醇沉组分 AP1 (120 mg) 溶解于 10 mL 超纯水中, 以 8 000 r/min 离心后, 吸取上清液缓慢加入到 DEAE-Cellulose 阴离子交换层析柱中 (3.0 cm × 40.0 cm), 以 0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L 的 NaCl 溶液依次对 AP1 进行洗脱, 得到 4 个纯化组分, 分别命名为 AP1-a、AP1-b、AP1-c、AP1-d。

1.4 木质化秋葵均一多糖的理化性质测定

1.4.1 总糖、蛋白质和糖醛酸质量分数的测定

以 D-Glc 为标准品, 用苯酚-硫酸法^[9] 测定总

糖质量分数;以牛血清白蛋白为标准品,采用考马斯亮蓝法^[10]测定蛋白质质量分数;用硫酸-咪唑法^[11]测定糖醛酸质量分数,用半乳糖醛酸作标准曲线。

1.4.2 分子量和均一性的测定

用双蒸水配制质量浓度为 1 mg/mL 的多糖溶液,通过 0.22 μm 过滤器过滤后备用。使用高效液相色谱系统、2424 蒸发光散射检测器以及 TSK 凝胶柱 G4000PWXL(7.8 mm \times 300.0 mm)与 G5000PWXL(7.8 mm \times 300.0 mm)的串联线性柱对多糖的均一性和分子量进行检测。将一系列标准葡聚糖(T-10、T-40、T-70、T-500)按峰时间和相对分子质量的对数绘制标准曲线。参照上述制备的标准曲线计算多糖分子量^[12]。

1.4.3 紫外吸收光谱表征

将木质化秋葵均一多糖配制成 1 mg/mL 的溶液,于紫外可见光谱仪上在 190~400 nm 波长范围内进行扫描^[13]。

1.5 木质化秋葵均一多糖的结构表征

1.5.1 单糖组成

采用 GC 对多糖的单糖组成进行分析^[12]。纯化后的多糖组分(10 mg)在 110 $^{\circ}\text{C}$ 下用 2 mL 三氟乙酸溶液(TFA)水聚 4 h,水解产物在室温下用 NaBH_4 还原 3 h 后,加入 25% 乙酸溶液终止反应。利用吡啶和乙酸酐对样品进行乙酰化处理,将样品转化为醛醇乙酸酯。采用 HP-5 毛细管柱(0.25 μm \times 320 μm \times 30 μm)和气相色谱系统(Agilent Technologies)对获得的醛醇乙酸酯进行分析。柱烘箱初始温度为 150 $^{\circ}\text{C}$,升温过程设定为 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$,4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 270 $^{\circ}\text{C}$ 。 N_2 流速为 20 mL/min,以鼠李糖(Rha)、阿拉伯糖(Ara)、甘露糖(Man)、木糖(Xyl)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)为单糖标准品分析样品的单糖组成。

1.5.2 FTIR 表征

使用 Perkin-Elmer 分光光度计(Spectrum 100, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA)在 4 000~500 cm^{-1} 的扫描范围内记录样品的 FTIR 光谱^[14]。

1.5.3 部分酸水解分析

将 50 mg 多糖溶解于 0.5 mol/L 三氟乙酸溶液(8 mL),并在 100 $^{\circ}\text{C}$ 下水解 1 h。将水解产物在超纯水中透析 48 h 后浓缩冷冻干燥,即得到多糖的部分酸水解组分^[14],利用 GC 对其进行进一步分析。

1.5.4 甲基化分析

将 30 mg 真空干燥的木质化秋葵多糖溶解于 5 mL 无水二甲基亚砜中,在 N_2 保护下快速加入 2 mL 制备好的甲基亚磺酰甲基钠试剂并搅拌 0.5 h,使其充分溶解。在避光和冰浴条件下,缓慢加入 2 mL CH_3I 试剂,在 50 $^{\circ}\text{C}$ 的油浴锅中搅拌 1 h 后室温下搅拌过夜。将反应物透析冷冻干燥即可得到甲基化的多糖。取少量多糖样品进行红外光谱检测,若 3 500 cm^{-1} 处的羟基峰完全消失可证明多糖甲基化完全^[15];反之,应对多糖进行重复甲基化处理,直至甲基化完全。根据文献^[16]方法,利用 88% 甲酸在 100 $^{\circ}\text{C}$ 对甲基化样品进行解聚处理,并参照上述单糖组成分析方法对解聚产物进行衍生化。采用配备有 DB-5 毛细管柱的气相色谱-质谱联用仪(gas chromatograph-mass spectrometer,GC-MS)进行分析。

1.5.5 核磁共振光谱表征

称取 50 mg 多糖,溶于 99.9% 的重水(D_2O)中,于核磁共振仪中在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下进行核磁共振氢谱(^1H nuclear magnetic resonance, ^1H -NMR)、核磁共振碳谱(^{13}C nuclear magnetic resonance, ^{13}C -NMR)、异核单量子相干谱(heteronuclear single quantum coherence,HSQC)和 ^1H 的异核多碳相关谱(^1H detected heteronuclear multiple bond correlation,HMBC)波谱分析^[14]。

2 实验结果

2.1 木质化秋葵多糖的均一性分析

木质化秋葵粗多糖经 40% 乙醇醇沉后获得醇沉组分 AP1,AP1 经 DEAE-Cellulose 阴离子交换树脂分离纯化得到 4 个纯化组分,分别命名为 AP1-a、AP1-b、AP1-c、AP1-d,如图 1 所示。

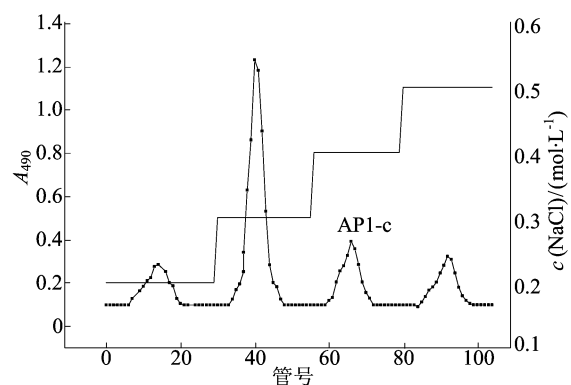


图1 多糖 AP1-c 的 DEAE-Cellulose 洗脱曲线

多糖 AP1-c 的 HPLC 分析结果如图 2 所示,

从图 2 可以看出,均一性测定 AP1-c 为均一多糖组分,因此以下研究均集中研究多糖 AP1-c,根据葡聚糖标准曲线计算出 AP1-c 的分子量为 658 kDa。

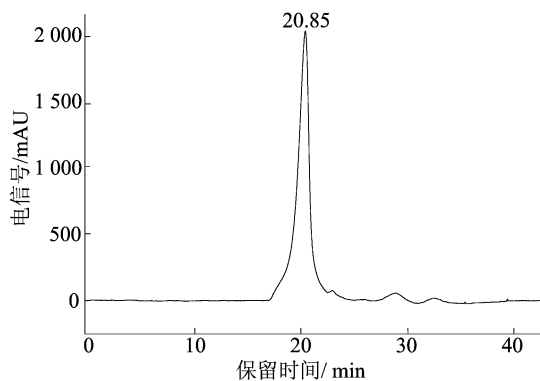


图 2 多糖 AP1-c 的 HPLC 谱图

2.2 木质化秋葵均一多糖的理化指标分析

通过苯酚硫酸法、咔唑硫酸法和考马斯亮蓝法测得 AP1-c 的总糖质量分数为 95.36%,糖醛酸质量分数为 24.83%,蛋白质质量分数为 0.72%。

2.3 单糖组成分析

利用 GC 测定单糖、AP1-c 及其部分水解产物的组成,结果如图 3 所示。

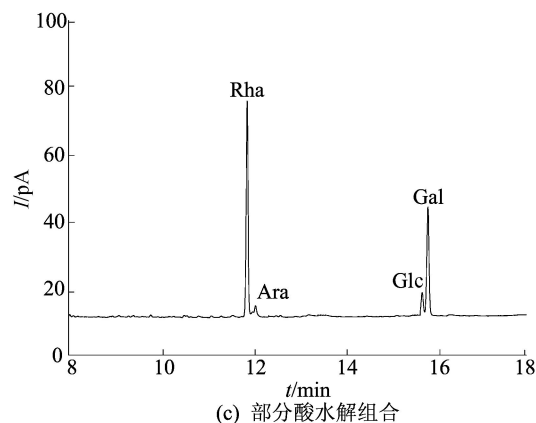


图 3 单糖、AP1-c 及其部分酸水解组分的 GC 谱图

通过与图 3a 的单糖标准品 (Rha、Xyl、Ara、Man、Glc、Gal) 进行对比,可以确定 AP1-c 组分主要由半乳糖 (Gal)、鼠李糖 (Rha)、阿拉伯糖 (Ara) 和葡萄糖 (Glc) 组成,其摩尔比为 1.85 : 1.00 : 0.24 : 0.67。

为了进一步了解多糖 AP1-c 的主链和支链组成,对其进行部分酸水解处理。AP1-c 的部分酸水解产物的 GC 谱图如图 3c 所示,由图 3c 可知,其单糖组成为 Gal、Rha、Glc、Ara,摩尔比为 0.55 : 1.00 : 0.11 : 0.04。与 AP1-c 相比,部分酸水解产物的 Gal 相对含量急速下降,Glc 和 Ara 的相对含量下降至痕量,而 Rha 的相对含量基本保持不变。由于多糖经三氟乙酸水解时,位于支链的多糖残基更易被水解^[14],因此部分酸水解后的 AP1-c 的支链被全部或部分去除。由此推测 Rha 和部分 Gal 残基可能位于主链上,而支链可能含有 Glc、Ara 和 Gal。

2.4 紫外光谱表征结果分析

经 TU-1901 型紫外可见分光光度计测得 AP1-c 的紫外光谱,如图 4 所示。

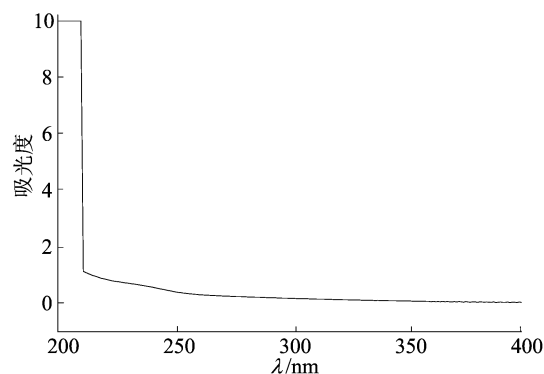
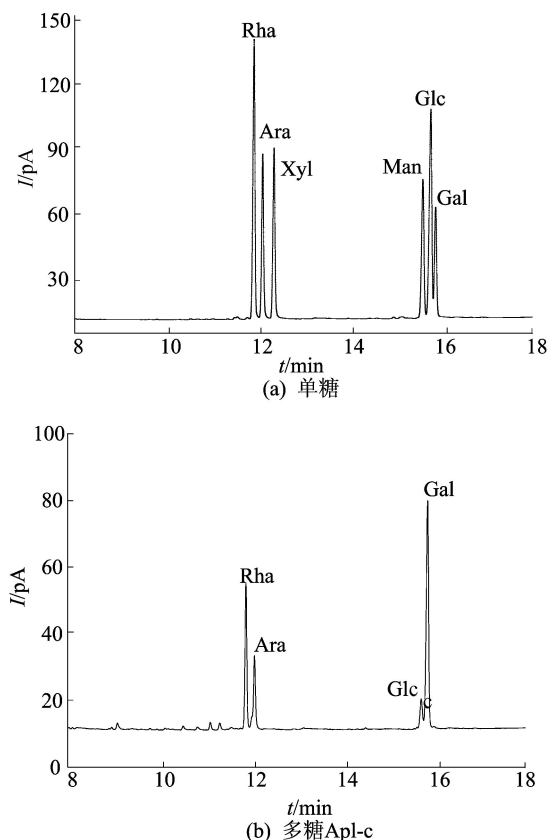


图 4 多糖 AP1-c 的紫外光谱图

从图 4 可以看出,在紫外光谱的 260 nm 或者

280 nm 处均没有吸收峰,说明 AP1-c 多糖中基本不含有核酸或者蛋白质^[17]。与考马斯亮蓝法测得的结果一致。

2.5 FTIR 表征结果分析

多糖 AP1-c 的 FTIR 谱图如图 5 所示。由图 5 可知,在 3 418 cm⁻¹ 处的强而宽的吸收峰主要是由于多糖分子间或分子内氢键中的 O—H 的拉伸振动引起的^[18];2 937 cm⁻¹ 的弱吸收峰归因于甲基或亚甲基的 C—H 的伸缩振动^[17];大约在 1 609 cm⁻¹ 处的信号是由脱质子羧基(COO—)的拉伸振动引起的^[19];1 426 cm⁻¹ 附近出现的吸收峰是由 C—H 键的弯曲振动引起的^[14];1 042 cm⁻¹ 处的吸收峰表明多糖中存在吡喃糖环^[20];而 896 cm⁻¹ 附近出现的吸收峰表明 AP1-c 中存在 β 型糖苷键^[20]。

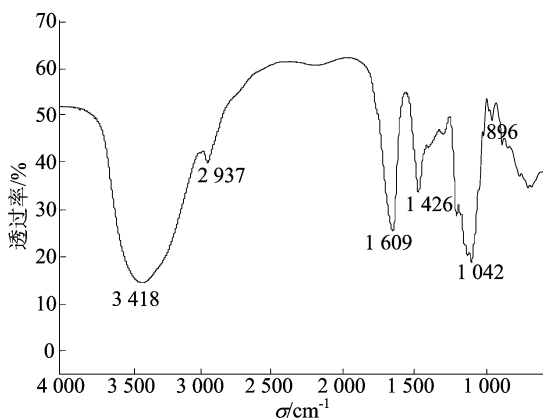


图 5 多糖 AP1-c 的 FTIR 谱图

2.6 甲基化分析结果

多糖 AP1-c 经完全甲基化、水解、还原和乙酰化处理后经 GC-MS 分析,所得结果与 GC-MS 数据库中标准物质质谱图进行比对,结果见表 1 所列。GC-MS 分析结果表明,组成 AP1-c 糖链的糖残基连接方式共有 5 种,分别为 1, 3, 4-linked-Rhap、1-linked-Araf、1, 4-linked-Galp、1-linked-Galp、1, 6-linked-Glcp, 对应的摩尔比为 2.9 : 1.6 : 2.7 : 2.3 : 0.7。

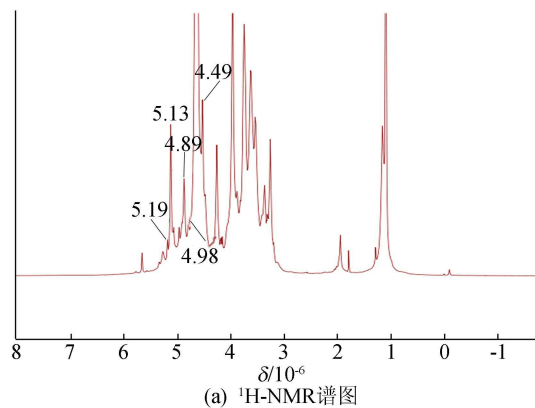
表 1 AP1-c 的甲基化分析

连接方式	质荷比
1,3,4-linked-Rhap	61,86,95,103,115,129,145,156,173
1-linked-Araf	61,73,85,103,115,129,145,187,217
1,4-linked-Galp	50,59,69,101,115,129,143,157,175,203
1-linked-Galp	43,71,87,101,117,129,145,161,205
1,6-linked-Glcp	87,89,101,117,129,131,161,173,205

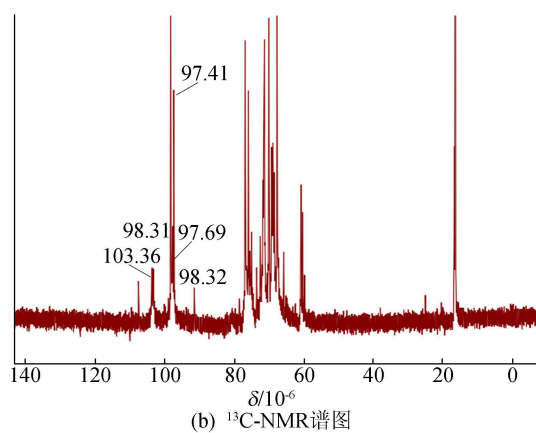
2.7 核磁共振光谱分析

核磁共振光谱是定性分析各种有机物、无机物的化学成分和结构的不可或缺的工具之一,其在多糖的结构解析中起着举足轻重的作用。多糖 AP1-c 的核磁共振光谱如图 6 所示。

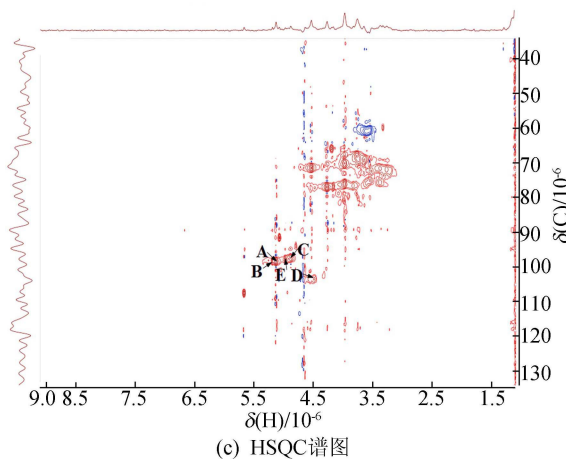
从图 6 可以看出,多糖的 ¹H-NMR 主要用来鉴别多糖结构中的 α 或 β 构型。在 ¹H-NMR 中,异头氢的信号为 4.8 × 10⁻⁶ ~ 5.5 × 10⁻⁶,其他 C-2~C-6 的质子信号^[21]均集中在 4.0 × 10⁻⁶ ~ 4.8 × 10⁻⁶。



(a) ¹H-NMR 谱图



(b) ¹³C-NMR 谱图



(c) HSQC 谱图

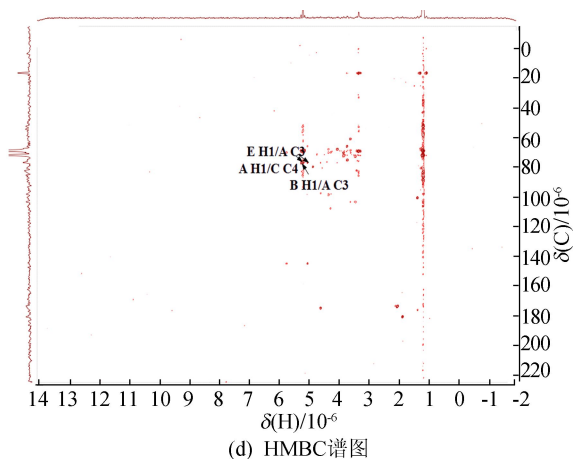


图 6 多糖 AP1-c 的核磁共振光谱

从图 6a 可以看出, AP1-c 的异头氢范围内信号峰的化学位移 δ 位于 5.13×10^{-6} 、 5.19×10^{-6} 、 4.89×10^{-6} 、 4.49×10^{-6} 、 4.98×10^{-6} , 分别归属于 $\rightarrow 3,4)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap-(1}\rightarrow$ (A)、 $\alpha\text{-L-Araf-(1}\rightarrow$ (B)、 $\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ (C)、 $\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ (D)、 $\rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$ (E) 糖残基的异头氢。 $^{13}\text{C-NMR}$ 的化学位移除了可以确定各类碳的位置, 还能区别分子的构型和构象^[22]。从图 6b 可以看出, δ 位于 98.32×10^{-6} 、 98.31×10^{-6} 、 97.41×10^{-6} 、 103.36×10^{-6} 、 97.69×10^{-6} 处的信号分别归属于 $\rightarrow 3,4)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap-(1}\rightarrow$ 、 $\alpha\text{-L-Araf-(1}\rightarrow$ 、 $\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ 、 $\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ 、 $\rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$ 的异头碳。各糖残基的其他位的化学位移见表 2 所列。

表 2 AP1-c 糖残基的化学位移 10^{-6}

糖残基		1	2	3	4	5	6
A	H	5.13	3.98	3.87	3.57	4.54	1.16
	C	98.32	76.04	76.80	72.36	71.38	16.81
B	H	5.19	4.17	3.60	4.27	3.96	
	C	98.31	76.82	60.83	76.91	60.53	
C	H	4.89	3.77	4.21	3.38	3.65	3.54
	C	97.41	68.12	75.15	76.84	69.10	60.53
D	H	4.49	3.27	4.19	4.24	3.94	3.85
	C	103.36	71.86	69.81	70.18	70.01	76.88
E	H	4.98	3.55	3.96	3.38	3.84	4.34
	C	97.69	75.06	70.09	71.59	64.92	60.85

二维核磁共振图谱的分辨率高, 包含大量信息, 一般与一维图谱以及甲基化和部分酸水解等结合起来分析多糖中糖残基的连接方式。AP1-c 的 HSQC 和 HMBC 图谱如图 6c、图 6d 所示。从图 6c 可以看出, 多糖 AP1-c 各糖残基的异头碳和

异头氢之间的交叉峰的化学位移 A1 (5.13/98.32)、B1 (5.19/98.31)、C1 (4.89/97.41)、D1 (4.49/103.36)、E1 (4.98/97.69)。从图 6d 可看出, 糖残基连接顺序中碳氢远程耦合的相关峰^[23]。结合 AP1-c 的甲基化和部分酸水解的分析结果以及参考文献推断, AP1-c 的主链是由 $\rightarrow 3,4)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap-(1}\rightarrow$ 、 $\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ 组成, 而支链则是 $\alpha\text{-L-Araf-(1}\rightarrow$ 、 $\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$ 、 $\rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ 通过 $\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap-(1}\rightarrow$ 的 O-3 位连接在主链上。相应地, HMBC 的交叉峰 EH1/A C3 (4.98/76.80) 表明 E 糖残基的 1 位连接在 A 糖残基的 3 位上, 交叉峰 AH1/CC4 (5.13/76.84) 表明残基 A 的 H-1 位连接在残基 C 的 C-4 位上, 以及交叉峰 BH1/AC3 (5.19/76.80) 则表明 B 糖残基的 H-1 与 A 糖残基的 C-3 相连。

3 结 论

本文以木质化秋葵脱色、脱脂和脱蛋白纯化后获得的水提醇沉均一多糖 AP1-c 为对象, 对其理化性质和结构特征进行研究。理化性质结果表明 AP1-c 的总糖、糖醛酸、蛋白质质量分数分别为 95.36%、24.83%、0.72%。紫外光谱在 260、280 nm 处均没有吸收峰, 表明 AP1-c 基本不含有核酸与蛋白质, 与理化性质测定结果一致。运用甲基化、HPLC、GC、GC-MS 及核磁共振光谱仪等化学和仪器方法共同表征 AP1-c 的结构, 结果表明 AP1-c 的主链是由 $\rightarrow 3,4)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap-(1}\rightarrow$ 、 $\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ 组成, 而支链则是 $\alpha\text{-L-Araf-(1}\rightarrow$ 、 $\beta\text{-D-Glcp-(1}\rightarrow$ 、 $\rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow$ 通过 $\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap-(1}\rightarrow$ 的 O-3 位连接在主链上。本文定性分析了木质化秋葵多糖的理化性质和结构特征, 研究结果为开发木质化秋葵资源提供了数据基础和理论支持。

[参 考 文 献]

- [1] 黄阿根, 陈学好, 高云中, 等. 黄秋葵的成分测定与分析[J]. 食品科学, 2007(10): 433-437.
- [2] 吴燕春, 谢金鲜. 黄秋葵的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2005, 23(10): 1898-1899.
- [3] 董彩文, 梁少华. 黄秋葵的功能特性及综合开发利用[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(5): 180-182.
- [4] 刘娜. 黄秋葵的综合利用及前景[J]. 中国食物与营养, 2007(6): 29-32.
- [5] 任丹丹, 陈谷. 黄秋葵多糖的提取、分离及其体外结合胆酸

- 盐能力的分析[J]. 食品科学, 2010(13):117-120.
- [6] WHISTLER R L, CONRAD H E. A crystalline galactobiose from acid hydrolysis of okra mucilage[J]. Journal of the American Chemical Society, 1954, 76(6):1673-1674.
- [7] TOMODA M, SHIMADA K, SAITO Y, et al. Isolation and structural features of a mucilage, "Okra-mucilage" from the immature fruits of *Abelmoschus esculentus* [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1983, 28:2933-2940.
- [8] SEVAG M G, LACKMAN D B, SMOLENS J. The isolation of the components of streptococcal nucleoproteins in serologically active form [J]. Journal of Biological Chemistry, 1938, 124(1):42-49.
- [9] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3):350-356.
- [10] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2):248-254.
- [11] BLUMENKRANTZ N, ASBOE-HANSEN G. New method for quantitative determination of uronic acids [J]. Analytical Biochemistry, 1973, 54(2):484-489.
- [12] WANG J H, XU J L, ZHANG J C, et al. Physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharide from floral mushroom cultivated in Huangshan Mountain [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 131:240-247.
- [13] HUI D, HAN X Q, GONG F Y, et al. Structure elucidation and immunological function analysis of a novel β -glucan from the fruit bodies of *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries [J]. Glycobiology, 2012, 22(12):1673-1683.
- [14] ZHANG B W, XU J L, ZHANG H, et al. Structure elucidation of a polysaccharide from umbilicaria esculenta and its immunostimulatory activity [J]. PLoS One, 2016, 11(12):1-18.
- [15] SIMS I M, CARNACHAN S M, BELL T J, et al. Methylation analysis of polysaccharides; technical advice [J]. Carbohydrate polymers, 2018, 188:1-7.
- [16] HAKOMARI S. A rapid permethylation of glycolipid, and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbanion in dimethyl sulfoxide [J]. Journal of Biochemistry, 1964, 55(2):205-208.
- [17] 蔡冰洁, 汪苗苗, 刘咏. 枳椇多糖的分级醇沉及其免疫调节活性的研究 [J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2018, 41(6):852-858.
- [18] XU J L, ZHANG J C, LIU Y, et al. Rheological properties of a polysaccharide from floral mushrooms cultivated in Huangshan Mountain [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 139:43-49.
- [19] DU Y Q, LIU Y, WANG J H. Polysaccharides from *Umbilicaria esculenta* cultivated in Huangshan Mountain and immunomodulatory activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72:1272-1276.
- [20] WANG J H, LUO J P, YANG X F, et al. Structural analysis of a rhamnoarabinogalactan from the stems of *Dendrobium nobile* Lindl [J]. Food Chemistry, 2010, 122(3):572-576.
- [21] ZHA X Q, LU C Q, CUI S H, et al. Structural identification and immunostimulating activity of a *Laminaria japonica* polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 78:429-438.
- [22] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999.
- [23] YANG B, PRASAD K N, JIANG Y. Structure identification of a polysaccharide purified from Litchi (*litchi chinensis*, sonn.) pulp [J]. Carbohydrate Polymer, 2016, 137:570-575.

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 518 页)

- [18] ZHANG Y, TANG Z R, FU X, et al. TiO_2 -graphene nanocomposites for gas-phase photocatalytic degradation of volatile aromatic pollutant; is TiO_2 -graphene truly different from other TiO_2 -carbon composite materials? [J]. ACS Nano, 2010, 4(12):7303-7314.
- [19] MONTEAGUDO J M, DURÁN A, SAN MARTÍN I, et al. Effect of sodium persulfate as electron acceptor on antipyrine degradation by solar TiO_2 or TiO_2/rGO photocatalysis [J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 364:257-268.
- [20] ZHOU C L, CHEN Z D, YANG H, et al. Nature-inspired strategy toward superhydrophobic fabrics for versatile oil/water separation [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(10):9184-9194.
- [21] 李淑荟, 黄剑莹, 赖跃坤. 绿色环保特殊浸润性纺织品的前沿进展 [J]. 高等学校化学学报, 2021, 42(4):1043-1060.
- [22] YANG Y, LI X J, ZHENG X, et al. 3D-printed biomimetic super-hydrophobic structure for microdroplet manipulation and oil/water separation [J]. Advanced Materials, 2018, 30(9):1704912.

(责任编辑 张淑艳)