

桫欏淀粉的级分及其凝胶色谱分析

The Analysis of *Arenga pinnata* Amylum and Its Separated Gel-chromatography

沈钟苏¹, 陈全斌², 湛志华²

Shen Zhongsu¹, Chen Quanbin², Zhan Zhihua²

(1. 广西师范大学化学化工学院, 广西桂林 541004; 2. 广西师范大学资源与环境学院, 广西桂林 541004)

(1. Dept. of Chem. and Chemical Industry, Guangxi Normal Univ., Guilin, Guangxi, 541004, China; 2. Dept. of Natural Resources and Environmental, Guangxi Normal Univ., Guilin, Guangxi, 541004, China)

摘要:用正丁醇结晶法分离得到桫欏 (*Arenga pinnata*) 淀粉的直链淀粉与支链淀粉后, 采用 HPLC 排阻凝胶色谱法测定桫欏直链淀粉与支链淀粉的纯度和相对分子量。结果得到, 桫欏直链淀粉的纯度为 100%, 平均保留时间为 6.48 min, 支链淀粉的纯度为 100%, 平均保留时间为 4.12 min; 直链淀粉的相对分子量为 45000, 支链淀粉的相对分子量为 5600000。

关键词:桫欏淀粉 直链淀粉 支链淀粉 凝胶色谱 相对分子质量

中图分类号: O657.72 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2005)02-0130-03

Abstract *Arenga pinnata* amyllum dispersed *Arenga pinnata* by lye, and separated between the amylase and the amylopectin by butyl alcohol recrystal. The related molecular weight and purity of the amylose and the amylopectin were mensurated by HPLC with gel-chromatography. Their related molecular weight of the amylose is 45000, related molecular weight of the amylopectin is 5600000.

Key words *Arenga pinnata* amyllum, amylose, amylopectin, gel-chromatography, related molecular weight

桫欏 (*Arenga pinnata*) 属棕榈科植物, 是一种常绿的大乔木, 分布于我国华南及东南亚热带地区。桫欏茎髓富含淀粉, 取其心髓, 磨成浆, 水沉成粉, 晒干, 得到灰白、细腻的桫欏粉。桫欏粉清香扑鼻, 益气健胃, 含丰富的碳水化合物和人体必需微量元素、膳食纤维、B族维生素等, 有清肺解暑、生津止渴、消毒祛炎功能, 久服有补益虚羸损乏、可治腰脚无力、可达身轻辟谷之效^[1]。桫欏粉是具有药膳价值的营养保健品。文献 [2] 初步探讨桫欏粉的理化性质, 本文将桫欏粉中直链淀粉与支链淀粉分离后, 对其相对分子量分布作进一步研究

1 材料、仪器与试剂

材料: 桫欏原粉由广西龙州农业推广中心提供,

收稿日期: 2004-11-05

修回日期: 2005-03-28

作者简介: 沈钟苏 (1952-), 男, 江苏无锡人, 讲师, 主要从事天然有机化学研究

为土黄色无定形粉末

仪器: DL-4000B 高速冷冻离心机; 电热真空干燥箱 (上海实验仪器总厂生产); P200I 高压恒流泵 (大连依利特分析仪器有限公司生产); Shim-pack DIO L-150 柱 (日本岛津公司生产); RID-6A 示差折射仪 (日本岛津公司生产); Echrom 98 色谱数据工作站 (大连依利特分析仪器有限公司生产)。

化学试剂: 氢氧化钠, 氢氧化钾, 正丁醇, 盐酸, 异戊醇, 无水乙醇, 乙醚, 正丁醇, 二甲亚砜, Sephadex G-200, T 系列葡聚糖 (北京经科宏达生物技术有限公司生产)。

2 实验方法与结果

2.1 桫欏淀粉的制备

桫欏原粉加 30~40 倍水浸泡 24h, 过 120 目筛, 滤渣用 0.2%~0.5% Na₂CO₃ 浸提 3~4h, 过滤, 滤渣为土黄色粉末, 合并滤液, 中和, 水洗, 静置分层, 干燥得白色的桫欏淀粉。

2.2 桃椰淀粉级分的分离与纯化^[3-5]

随机抽取一定量的桃椰淀粉用无水乙醚以索氏提取器回流 2h,进行脱脂处理,样品经电热真空干燥箱干燥(40℃, 48 h),粉碎,再用正丁醇结晶法进行分级处理。

2.3 桃椰直链淀粉和支链淀粉的初分

称取 10g 脱脂后的桃椰淀粉,用少量无水乙醇及水润湿样品,再加 350 ml 0.5mol/L 氢氧化钠,在沸水浴中加热搅拌 20min,使其充分分散,冷却至室温,用高速离心机以 4000 rpm 离心 20 min,弃去沉渣,离心液用 2mol/L 盐酸中和,加 80 ml 1:1(V/V) 丁醇-异戊醇,置沸水浴中加热搅拌 20min,冷却至室温,在冰箱内放置 24 h,以 4000 rpm 离心 20min,沉淀即为直链淀粉粗品,离心液则为支链淀粉粗品。

2.3.1 直链淀粉纯化

将直链淀粉粗品移入丁醇饱和的 200ml 水溶液中,沸水浴中加热溶解,冷至室温,在冰箱内放置 24h,以 4000 rpm 离心 20min,沉淀物再以上述步骤反复 5 次纯化,最后用无水乙醇洗涤沉淀,再置于真空干燥箱干燥(40℃, 48 h),即得直链淀粉纯品。

2.3.2 支链淀粉纯化

将支链淀粉粗品置于分液漏斗中静置后,支链淀粉粗品形成三层,取下层乳浊液,加 40ml 1:1(V/V) 丁醇-异戊醇,置沸水浴中加热搅拌 20min,冷却至室温,在冰箱内放置 48h,以 4000 rpm 离心 20min,弃去沉渣,按离心液体积的两倍量加入无水乙醇,静置 24h,离心。沉淀物再溶入 200ml 0.5mol/L 氢氧化钠,以上述步骤反复 5 次纯化,最后用无水乙醇洗涤沉淀,再置于真空干燥箱干燥(40℃, 48 h),即得支链淀粉纯品。

2.4 桃椰直链淀粉和支链淀粉的纯度测定

2.4.1 直链淀粉和支链淀粉溶液制备

分别称取 50mg 直链和支链淀粉样品,用含量为 90% 的二甲亚砜(DMSO)水溶液溶解,用超声波振荡助溶,配制成 0.5% 的溶液,离心(4000rpm, 20 min),取上清液用高效液相色谱检验纯度。

2.4.2 色谱条件

仪器: P200 高压恒流泵, Shim-pack DIO L-150 柱, RID-6A 示差折射仪; 流动相: DMSO: H₂O = 1:4 (V/V); 流速: 1.0ml/min; 柱压: 1.0M Pa; 柱温: 室温; 进样体积: 20μl。样品的 HPLC 色谱图见图 1 和图 2。

由 Echrom98 色谱数据处理工作站归一化计算,桃椰直链淀粉的纯度为 100%, 其平均保留时间为 6.48 min; 桃椰支链淀粉的纯度为 100%, 其平均保留

时间为 4.12 min。

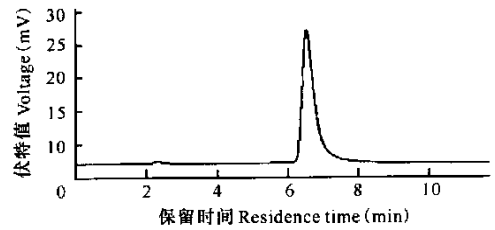


图 1 直链淀粉的 HPLC 图

Fig. 1 The chromatogram of the amylose

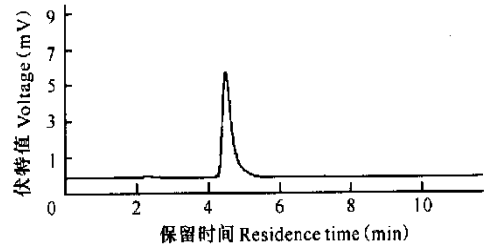


图 2 支链淀粉的 HPLC 图

Fig. 2 The chromatogram of the amylopectin

2.5 HPLC 法测定桃椰直链淀粉和支链淀粉的相对分子量^[6,7]

2.5.1 葡聚糖标准样品的高效排阻色谱和标准相对分子质分布曲线

标准样品是分子量分别为 10500(T-10), 42000(T-40), 70000(T-70), 482000(T-500), 2000000(T-2000) 的葡聚糖和葡萄糖。各标准品用 10ml 90% DMSO 水溶液溶解,配制成 0.5% 的溶液(用超声波助溶),制成标准系列溶液。

按 2.4.2 色谱条件,将葡聚糖标准系列溶液分子量由小到大依次进样,每个样品平行进样 3 次,记录样品相应的保留时间,结果见表 1。

表 1 各标准系列溶液的保留时间*

Table 1 The residence time of a series of the standard solutions

标准样品 Samples	分子量 Molecular weight	保留时间 Residence time (min)			平均值 Average
		1	2	3	
葡萄糖 Dextrose	180	9.50	9.50	9.50	9.50
T-10	10500	7.27	7.25	7.26	7.26
T-40	42000	5.82	5.83	5.83	5.83
T-70	70000	5.69	5.71	5.71	5.70
T-500	482000	5.55	5.53	5.51	5.53
T-2000	2000000	5.04	5.06	5.06	5.06

* RSD: 0~2%。

用标准样品的相对分子量的常用对数 $\log M_w$ 对平均保留时间 (t_R) 做直线回归处理,得标准工作方程: $\log M_w = -0.8813t_R + 10.3781 (r = 0.9681)$, 标准相对分子量分布曲线见图 3。

2.5.2 桫欏直链淀粉和支链淀粉的相对分子量测定
按上述步骤将直链淀粉和支链淀粉的样品溶液
进样,记录样品色谱各峰保留时间,由样品的保留时
间,用 $\log M_w - t_R$ 校正曲线计算得桫欏直链淀粉和支
链淀粉的相对分子量。结果见表 2

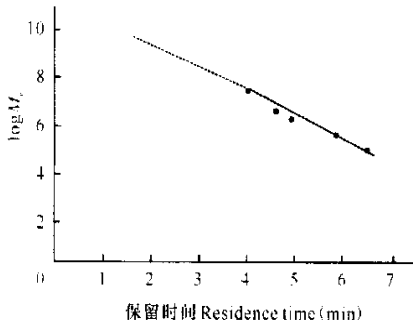


图 3 $\log M_w - t_R$ 曲线

Fig. 3 The $\log M_w - t_R$ curve

表 2 计算结果

Table 2 The result

样 品 Samples	保留时间 Residence time (min)				相对分子量 Molecular weight
	1	2	3	平均值 Average	
直链淀粉 Amylose	6.48	6.48	6.47	6.48	45000
支链淀粉 Amylopectin	4.12	4.13	4.12	4.12	5600000

3 结论

桫欏淀粉通过碱液分散后,桫欏直链淀粉和支链
淀粉均溶入溶液中,加入正丁醇-异戊醇,利用直链淀
粉和正丁醇形成溶解性小的复合物,形成丝状沉淀。

(上接第 129 页 Continue from page 129)

吸剂乙醇浓度 60%、用量为样品量的 1.6 倍,解吸时
间为 15min,溶剂乙醇浓度为 50%,提取 2 次,每次
15min 溶剂用量为样品量的 40 倍。

(2) 两步提取法黄酮得率为 2.69%,比水提法提
高了 0.57%,比醇提法略高;两步提取法浸膏黄酮含
量为 6.91%,比水提法提高了 1.89%、比醇提法提高
了 0.96%;两步法的取时间比传统法少 4~8 倍。解吸
热取两步提取法与传统方法相比,具有提取时间短、
得率高及浸膏杂质含量低等优点,有着较好的应用前
景。

参考文献:

[1] 苏瑞强,周宗仪,辛建玲.高新技术在银杏叶有效成分提取
中的应用研究[J].时珍国医国药,1998,9(6): 549-550.
[2] 梁立兴.银杏叶提取物(GBE)三种提取工艺比较[J].林
业科技开发,1998,(1): 11-13.

而支链淀粉结构分枝多,空间位阻大,不能和正丁醇
形成复合物,从而使直链淀粉和支链淀粉得到分离
在直链淀粉纯化过程中,非常容易老化,因为直淀粉
链之间由于氢键作用相互缔合,缠绕形成丝状结晶
直链淀粉的结晶不溶于水,甚至加热至沸腾也不溶
解,分离直链淀粉后,溶液经浓缩后必须再用正丁醇
-异戊醇处理 1~2 次,以防小分子量的直链淀粉混
杂到支链淀粉,再经无水乙醇多次洗涤,真空干燥,得
到桫欏直链淀粉结晶和支链淀粉纯品。桫欏直链淀粉
和支链淀粉的 HPLC 图分别只有 1 个单峰,相对分子
质量分布于一个比较窄小的范围内,说明通过上述手
段得到的桫欏直链淀粉和支链淀粉纯度很高。桫欏直
链淀粉的相对分子量是 45000,支链淀粉的相对分
子质量是 5600000

参考文献:

[1] 莫小曼.奇异食品桫欏粉[J].中国食品,2001,7: 30-31.
[2] 沈钟芬.桫欏淀粉理化性质的研究[J].食品科学,2004,
9: 46-49.
[3] 何照范.植物淀粉及其利用[M].贵阳:贵州人民出版
社,1990.
[4] 高群玉.绿豆淀粉颗粒性质的研究[J].食品工业科技,
1997,5: 36-37.
[5] 王航.椰子淀粉性质的研究[J].食品与发酵工业,
2002,7: 1-4.
[6] 黄立新.不同品种淀粉分子量分布研究[J].华南理工大
学学报,1997,7: 30-34.
[7] 杜先锋.葛根直链淀粉分子量的测定[J].合肥工业大
学学报,2001,4: 203-206.

(责任编辑:邓大玉)

[3] 周谨,闫小燕,贺高.红微波提取银杏黄酮苷的方法
研究[J].天然产物研究与开发,2002,14(1): 42-45.
[4] 郭国瑞,谢永荣,钟海山,等.超声波提取银杏黄酮苷的
工艺研究[J].赣南师范学院学报,2001,(3): 45-48.
[5] 游海,陶秉莹,张立麒.超临界萃取法从银杏叶中提取
黄酮类化合物、萜内酯的工艺研究[J].南昌大学学报
(工科版),2000,22(4): 34-38.
[6] 韦藤幼,赵群莉,阮莉姣,等.微波预处理法提取金银花
中绿原酸[J].中成药,2003,25(7): 534-537.
[7] 赵群莉,韦藤幼.微波预处理提取肉桂油工艺的研究
[J].广西科学,2003,10(3): 223-225.
[8] 韦藤幼,赵钟兴,林翠梧.解吸热提两步法提取植物有
效成分的方法[P].CN200410051011.9,2004-08-02.

(责任编辑:邓大玉)