

荔浦芋淀粉的级分及其凝胶色谱分析

The Analysis of the Lipu Taro Amylum and Its Separated by Gel-chromatography

沈钟苏¹, 陈全斌², 湛志华²Shen 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系, 广西桂林 541004)

(1. Department of Chemistry and Chemical Industry, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi, 541004, China; 2. Department of Resources and Environmental, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi, 541004, China)

摘要: 用正丁醇结晶法分离得到荔浦芋淀粉的直链淀粉与支链淀粉, 采用 HPLC 排阻凝胶色谱法测定荔浦芋直链淀粉与支链淀粉的纯度和相对分子量质量。结果得到, 荔浦芋直链淀粉的纯度为 100%, 其保留时间为 7.55min; 荔浦芋支链淀粉的纯度为 100%, 其保留时间为 6.35 min。直链淀粉的相对分子量质量为 5300, 支链淀粉的相对分子量质量为 61500。

关键词: 荔浦芋淀粉 直链淀粉 支链淀粉 凝胶色谱 相对分子量

中图分类号: O657.7 2 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2005)04-0303-03

Abstract This paper reports the amylose and amylopectin of the Lipu taro amyalum starch scattered by alkali solution and crystallized in the n-butanol. The purification and relative molecular mass of amylose and amylopectin have also been determined by the exclusion gel filtration chromatography. The results are as follows, Amylase 5300; Amylopectin 61500.

Key words Lipu Taro amyalum starch, amylase, amylopectin, gel filtration chromatography, relative molecular mass

荔浦芋属于天南星科多年生草本植物, 原产于印度、马来西亚和我国海南等热带沼泽地带, 后传入广西荔浦, 经多年培育, 荔浦芋成为荔浦的特有品牌。荔浦芋形如橄榄, 外皮粗糙, 剖而观之, 内呈槟榔纹, 故又名“槟榔芋”。荔浦芋以营养丰富, 肉质酥软, 味道芬芳的特点居各种芋头之上, 被誉为“芋中极品”。它除含碳水化合物外, 还含有一定量的蛋白质、维生素、花青素、胡萝卜素、硫胺素、核黄素、尼克酸、维生素 C 等, 以及人体生长所需的铁、锌、铜、锰等微量元素^[1]。本文将荔浦芋淀粉中直链淀粉与支链淀粉分离后, 对其的含量及其相对分子量分布作进一步研究。

1 材料、仪器与药品

材料: 荔浦芋购于广西桂林荔浦县。

仪器: DS-1DS-1型高速组织捣碎机 (上海标本模

型厂生产), 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); P200 高压恒流泵 (大连依利特分析仪器有限公司); Shim-pack DIOL-150 柱 (日本岛津公司生产); RID-6A 示差折光仪 (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、二甲亚砜 (DM SO)、正丁醇、盐酸、异戊醇、95% 乙醇、乙醚、碘 (AR)、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 荔浦芋淀粉的制备

荔浦芋经过清洗 → 去皮 → 切片 → 漂烫 → 磨浆 → 过筛 → 干燥得白色略带淡红色粉末。

2.2 荔浦芋淀粉级分的分离与纯化^[2,3]

随机抽取一定量的荔浦芋淀粉, 用无水乙醚以索氏提取器回流 5h, 进行脱脂处理, 样品经电热真空干

收稿日期: 2005-06-06

修回日期: 2005-06-28

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。

烤箱干燥 (40°C, 48 h), 粉碎, 再用正丁醇结晶法进行分级处理

2.3 荔浦芋直链淀粉和支链淀粉的初分

称取 10g 脱脂后的荔浦芋淀粉, 用少量无水乙醇及水润湿样品, 再加 350ml 0.5mol/L 氢氧化钠溶液, 在沸水浴中加热搅拌 20min, 使其完全分散, 冷却至室温, 用高速离心机以 4000rpm 离心 20 min, 弃去沉渣, 离心液用 2 mol/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 20 min, 冷却至室温, 在冰箱内放置 24 h, 以 4000rpm 离心 20min, 出现白色丝状结晶沉淀, 即为直链淀粉粗品, 离心液则为粗支链淀粉粗品

2.3.1 直链淀粉的纯化

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

2.3.2 支链淀粉的纯化

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 3 层, 取下层乳浊液, 加适量辛醇, 减压浓缩至原体积的 1/2, 加 40 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 48h, 以 4000rpm 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 200 ml 0.5mol/L 氢氧化钠, 以上述步骤反复多次纯化, 最后用无水乙醇洗涤沉淀数次, 再置于真空干燥箱干燥 (40°C, 48 h), 即得支链淀粉纯品

2.4 荔浦芋直链淀粉和支链淀粉的纯度测定^[4-6]

2.4.1 直链淀粉和支链淀粉溶液制备

分别称取 50mg 直链淀粉和支链淀粉样品, 用 90% 的 DMSO 水溶液溶解, 配制成 0.5% 的溶液, 用超声波振荡助溶, 离心 (4000rpm, 20 min)。上清液过 0.45 μ m 的滤膜, 得澄清透明溶液, 取 10 μ l 经过滤的样液注入高效液相色谱, 检测直链和支链淀粉的纯度

2.4.2 色谱条件

仪器: P200 高压恒流泵; Shim-pack DIO L-150 柱, RID-6A 示差折光仪; 流动相: DMSO:H₂O=1:4 (V/V); 流速: 1.0 ml/min; 柱压: 1.0 MPa; 柱温与室温同; 进样体积: 10 μ l 两种样品的 HPLC 色谱图见图 1 和图 2

由 Echrom 98 色谱数据处理工作站将色谱峰面积归一化计算, 荔浦芋直链淀粉的纯度为 100%, 其保留时间为 7.55min; 荔浦芋支链淀粉的纯度为

100%, 其保留时间为 6.35 min

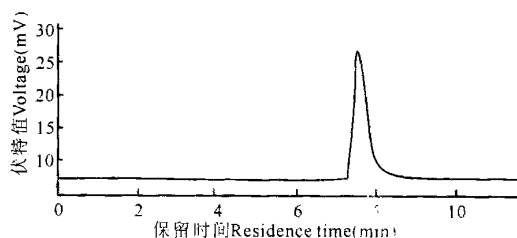


图 1 直链淀粉的 HPLC 色谱图

Fig. 1 The chromatogram of the amylose

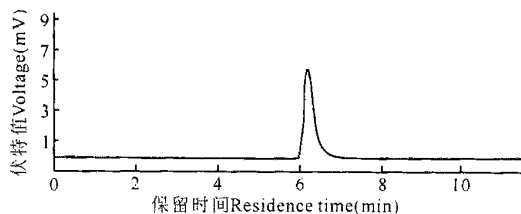


图 2 支链淀粉的 HPLC 色谱图

Fig. 2 The chromatogram of the amylopectin

2.5 HPLC 法测定荔浦芋直链淀粉和支链淀粉的相对分子质量

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量分布曲线

标准样品是分子质量分别为 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% 的标准系列溶液, 按 2.4.2 色谱条件, 将葡聚糖标样按相对分子质量由小到大依次进样, 每个样品平行进样 3 次, 记录各个标样分子质量相对应的保留时间, 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	相对分子量 Molecular	保留时间 Residence time (min)			平均值 Average	RSD (%)
		1	2	3		
葡聚糖 Dextran	180	9.50	9.50	9.50	9.50	0.00
T-10	10500	7.27	7.25	7.26	7.26	0.14
T-40	42000	5.82	5.83	5.83	5.83	0.10
T-70	70000	5.69	5.71	5.71	5.70	0.21
T-500	482000	5.55	5.53	5.51	5.53	0.36
T-2000	2000000	5.04	5.06	5.06	5.06	0.28

把标准样品的相对分子质量数值 (M) 的对数 $\text{Log}M_w$ 对相应保留时间 (t_r) 做直线回归处理, 得标准工作方程: $\text{Log}M_w = -0.8813t_r + 10.3781 (r = 0.9681)$, 标准相对分子质量分布曲线见图 3

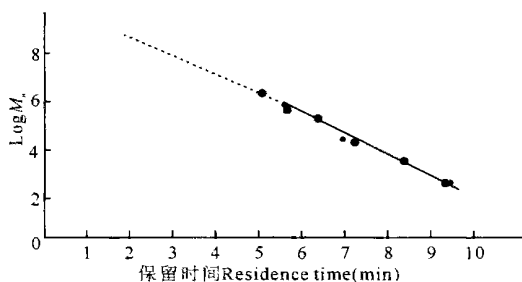


图3 Log M_w-t_R 校正曲线

Fig. 3 The Log M_w-t_R curve

2.5.2 荔浦芋直链和支链淀粉的相对分子质量测定
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 校正曲线计算得荔浦芋直链和支链淀粉的相对分子质量,结果见表2

表2 荔浦芋直链淀粉和支链淀粉的相对分子质量

Table 2 The molecular weight of the amylose and the amylopectin

样品 Samples	保留时间 Residence time(min)				RSD (%)	相对分子质量 Molecular weight
	1	2	3	平均值 Average		
直链淀粉 Amylose	7.55	7.55	7.53	7.55	0.19	5300
支链淀粉 Amylopectin	6.35	6.35	6.35	6.35	0.00	61500

3 结论

荔浦芋淀粉通过碱液分散后,荔浦芋直链淀粉和支链淀粉均溶入碱液中,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。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。

从荔浦芋直链和支链淀粉的 HPLC 色谱图,并由 Echrom9 色谱数据处理工作站的峰面积归一化计算,直链淀粉的纯度为 100%,保留时间为 7.55min;支链淀粉的纯度为 100%,保留时间为 6.35 min。直链淀粉和支链淀粉在高效液相色谱上均表现为 1 个峰,表明分离和提纯得到的直链淀粉和支链淀粉的纯度极高。

通过 HPLC 的测试,还得到荔浦芋直链淀粉的相对分子质量是 5300,支链淀粉的相对分子质量是 61500。

参考文献:

- [1] 李雅臣,李德玉,吴寿金.芋头化学成分的研究[J].中草药,1995,26(10):5552.
- [2] 何照范.植物淀粉及其利用[M].贵阳:贵州人民出版社,1990.
- [3] 沈钟苏,陈全斌,湛志华.桃榔淀粉及其级分的凝胶色谱分析[J].广西科学,2005,12(2):130-132.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 魏远安,方积年.高效凝胶渗透色谱法测定多糖纯度及分子量[J].药学学报,1989,24(7):532-536.

(责任编辑:邓大玉)

(上接第302页 Continue from page 302)

- [5] 张宏光,辛厚文.键参数拓扑指数及其在相关 XY, XY_2, XY_3, XY_4 同构型原子分子性质中的应用[J].化学物理学报,1989,2(6):413-419.
- [6] 余训民,杭义萍,毛明现.氯化物的酸性与分子拓扑指数的关系[J].化学通报,1998,(1):36-38.
- [7] 冯长君.价电子能级连接性指数及其应用[J].无机化学学报,1999,15(3):363-370.
- [8] 冯长君.价电子平均能级连接性指数及其应用[J].化学物理学报,2000,13(1):66-70.
- [9] 徐士友,万新军.价电子平均能级拓扑指数 m_W 及其应用[J].浙江大学学报,2004,31(2):171-176.
- [10] 秦正龙,冯长君.碱金属卤化物晶格能和磁化率的拓扑研究[J].分析科学学报,2002,18(4):303-305.
- [11] 徐士友,杜小滨.价电子能级拓扑指数 m_H 及其应用[J].合肥工业大学学报,2004,27(2):216-220.
- [12] 徐士友.拓扑指数 m_P 在无机物理化学性质[J].北京理工大学学报,2004,24(3):265-269.
- [13] 徐士友.价电子平均能量/能级拓扑指数 m_V 及其应用[J].华南理工大学学报,2003,31(10):90-96.
- [14] 徐士友,万新军.价电子平均能级拓扑指数 m_W 及其应用[J].浙江大学学报,2004,31(2):171-176.
- [15] 沐来龙,冯长君.碱金属碱土金属化合物标准熵的拓扑研究[J].化学物理学报,2004,16(1):19-24.
- [16] 秦正龙.一种新的拓扑指数对碱土金属卤化物的 QSPR 研究[J].徐州师范大学学报,2003,21(3):45-47.
- [17] 徐光宪,王祥云.物质结构[M].第2版.北京:高等教育出版社,1987.62.
- [18] 顾学民,龚毅生,藏希文,等.无机化学参考书[M].北京:高等教育出版社,1985.11-18.
- [19] 拉宾诺维奇,哈文.简明化学手册[M].尹承烈译.北京:化工工业出版社,1983.57-110.
- [20] 姚允斌,解涛,袁秀顺.物理化学手册[M].上海:上海科学技术出版社,1985.229.
- [21] 艾尔沃德 G H,芬德利 T J V. SI 化学数据表[M].周宁怀译.北京:高等教育出版社,1985.106.
- [22] 余训民,余训爽.分子价连接性指数中杂原子价点价值计算方法及应用[J].有机化学,2001,21(9):658-667.

(责任编辑:韦廷宗 邓大玉)