

棕榈粕甘露聚糖的制备与分析

王 韧¹, 倪娇娇¹, 盛义保², 曹树青¹, 刘国庆^{2*}, 樊婷婷^{1*}

¹合肥工业大学生物与食品工程学院, 合肥 230009; ²皖江禽业技术研究院, 合肥工业大学宣城校区, 宣城 242000

摘要:本研究从棕榈粕中提取甘露聚糖并对提取物结构进行分析。选取棕榈粕残渣为原料, 采用碱提法提取棕榈粕甘露聚糖, 并利用紫外光谱、薄层色谱法、红外光谱和¹H NMR 等实验手段对其产物进行初步分析。得到的试验结果表明: 不同浓度氢氧化钠提取率不同, 当碱浓度达到 10% 时甘露聚糖提取率最高, 可达到干重的 20% 左右; 紫外光谱分析表明提取物纯度较高; 薄层色谱法分析显示提取物的完全酸水解产物为甘露糖; 红外光谱和¹H NMR 光谱分析表明提取出的甘露聚糖多糖特征明显。因此通过本文研究, 利用碱提法从棕榈粕中提取的甘露聚糖为 β -D-甘露聚糖。

关键词: 棕榈粕; 甘露聚糖; 提取; 结构分析

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.S.031

Extraction and Analysis of Mannan from Palm Kernel Expeller

WANG Ren¹, NI Jiao-jiao¹, SHENG Yi-bao², CAO Shu-qing¹, LIU Guo-qing^{2*}, FAN Ting-ting^{1*}

¹School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China;

²Wanjiang Institute of Poultry Technology, Hefei University of Technology, Xuancheng Campus, Xuancheng 242000, China

Abstract: We extracted the mannan from palm kernel expeller and analyzed its structure in this study. The residue of palm pulp was chosen as raw material and we used adopts alkali method to extract mannan from palm meal. And UV spectrum, thin layer chromatography, infrared spectroscopy, and ¹H NMR methods were used to conduct a preliminary analysis of the product. The testing results showed that the different concentration of sodium hydroxide have different extraction rate. When the sodium hydroxide gets 10%, the concentration of alkali mannan is highest and achieve about 20% of the dry weight; the UV spectrum analysis showed that extraction has high purity; Thin-layer chromatography (TLC) analysis showed that completely acid hydrolysate of mannose was mannose; Infrared spectrum and the ¹H NMR spectroscopy analysis showed that the extracted mannan has significantly polysaccharide characteristics. Hence we can draw a conclusion the mannan extracted from palm kernel expeller by using alkali method is β -D- mannan.

Key words: palm meal; mannan; extract; structural analysis

棕榈粕(Palm Kernel Expeller)亦称“油棕仁渣”或“棕榈仁渣”,它是在榨压棕榈仁时棕榈仁脱壳榨油后的副产品,除去棕仁油的剩余物,初呈黑色泥块状,经去除杂质和控制水分加工处理后呈褐色小颗粒状^[1]。棕榈粕中所含的碳水化合物主要是非淀粉多糖,其中直链甘露聚糖(含有很少量的半乳糖)占 78%,纤维素 12%,葡萄糖醛酸木聚 3% 和阿拉伯木聚糖 3%。甘露聚糖具有亲水性、凝胶性、抗菌性、黏结性、可食性等多种特性,在食品、化工、纺织、造纸、医药等方面的应用受到越来越多的关注^[2]。棕榈粕其中甘露聚糖含量达 36%,是除酵母细胞壁

以外制备甘露寡糖的最佳原料^[3]。因此,作为棕榈粕中含量最为丰富的甘露聚糖的提取、纯化及应用具有十分广阔的前景。

一般情况下,棕榈粕中的甘露聚糖包括 4 个子家族,分别为纯甘露聚糖、半乳甘露聚糖、葡甘露聚糖、半乳葡甘露聚糖^[4]。纯甘露聚糖是纯甘露糖的聚合物或者其中甘露糖至少占总分子量的 95% 以上。半乳甘露聚糖、葡甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖则在它们的支链中分别含半乳糖、葡萄糖以及同时含有半乳糖和葡萄糖^[5]。棕榈粕中大部分甘露聚糖都非常坚固,高度结晶而且不溶于水^[6],然而, Dusterhoft 等发现约 66% 的棕榈仁粕中的甘露聚糖能够在经碱和氯化钠的一系列处理后溶解^[7]。本研究得到棕榈粕甘露聚糖提取分离方法,该方法具

有操作简单、产物纯度高的特点。本研究对棕榈粕中的有效成分的利用奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料

棕榈粕残渣,由合肥工业大学生物与食品工程学院刘国庆实验室提供,将其自然晾干后,机械粉碎过筛,备用。

1.1.2 主要试剂

乙醇、亚氯酸钠、乙酸、乙酸乙酯、盐酸、磷酸、氢氧化钠、苯胺、二苯胺、丙酮(国药集团化学试剂有限公司产品);葡萄糖,半乳糖,甘露糖标准单糖(Sigma产品);微量点样管(南京听航科学仪器有限公司);20×20 cm 硅胶 GF₂₅₄ 薄层板(青岛海洋化工厂)

1.2 提取方法

1.2.1 棕榈粕甘露聚糖的提取方法

棕榈粕→粉碎过筛(40目)→取10g棕榈粕粉末加入烧杯中(350 mL 双蒸水+8.4 g 亚氯酸钠+1.8 g 乙酸),通风橱中75-80℃水浴搅拌加热5h→离心(6000 r, 5 min, 4℃)收集沉淀→35 mL 蒸馏水再次离心漂洗→1%的稀盐酸溶解沉淀→80℃水浴锅中加热5 min→离心(6000 r, 5 min, 4℃)收集沉淀→加入2.5%氢氧化钠4℃提取16h→相同条件下分别用不同浓度氢氧化钠(5%、10%、15%、20%)4℃提取16h提取→盐酸调节提取物pH至4.0,4℃过夜→离心收集沉淀→冷冻干燥。

1.2.2 甘露聚糖纯度检验

紫外光谱(UV),对于多糖复合物常用紫外光谱扫描260 nm或280 nm有无特征吸收峰来判别其是否含有核酸或蛋白缀合物,多糖无特异紫外吸收^[8]。取适量多糖样品,用5% NaOH制成一定浓度,以5% NaOH做为空白,在紫外可见分光光度计上进行全波长扫描(220~400 nm)。

1.2.3 棕榈粕甘露聚糖的水解

为了确定甘露聚糖的组成成分,利用硫酸完全酸水解进行了初步验证。取20 mg多糖样品于试管中,加入1 mol/L的浓H₂SO₄ 2 mL,封管后105℃水解8 h,冷却至室温,加入BaCO₃中和至样品溶液中无气泡产生,8000 rpm离心5 min除去BaSO₄沉淀,取上清备用^[9]。

1.2.4 棕榈粕甘露聚糖的薄层色谱分析

单糖标准品制备:用双蒸水分别配制浓度为10 g/L的D-葡萄糖、D-半乳糖、D-甘露单糖标准液;展开板:20×20 cm 硅胶 GF₂₅₄ 薄层板;展开剂:乙酸乙酯:乙酸:甲醇:水(12:3:3);显色剂:称取2.0 g 二苯胺,加入到2 mL 苯胺中溶解,将上步混合液加入到100 mL 丙酮中,再向其中加入10 mL 85%磷酸,搅拌均匀。上样:硅胶板在100℃活化0.5 h,用毛细管进行点样2 μL,可点样多次吹干后在层析缸中展开,展开结束后烘干,放入显色剂中,200℃加热1 min 显色^[10]。

1.2.5 棕榈粕甘露聚糖的红外光谱分析

采用溴化钾压片法对样品进行红外光谱(IR)测定,红外光谱是分析多糖链结构的有力工具。如可根据特征吸收峰来鉴别不同的糖,识别吡喃糖,确定糖苷键及糖的构型,识别糖链上的主要取代基。还可根据3500 cm⁻¹处有无吸收判断甲基化反应是否完全等。取1~2 g样品研细后,加入100~200 mg 干燥KBr粉末,研细,在7-10 t/cm²压力下压成透明薄片进行测试。

1.2.6 棕榈粕甘露聚糖的核磁共振分析

采用核磁共振(NMR)^[10]法研究多糖结构,通过H¹ NMR 光谱分析糖类化合物的结构信息,H¹ NMR 谱主要用来解决确定多糖中的糖苷键的构型问题。将30 mg样品用D₂O溶解交换3次,经D₂O溶解后加入核磁管,在300 K下测定(Bruker Avance 600)。

2 结果与分析

从棕榈粕中对甘露聚糖的提取目前尚无人研究,在本研究中参照咖啡多糖提取方法^[11]和其他多糖的提取方法,总结后得出了较为理想的提取方法,提取率较高,产物纯度较高。

2.1 甘露聚糖的提取

在本试验中,经过多次对不同浓度的氢氧化钠提取,浓度分为5%、10%、15%、20%、25%,对提取率进行了探索,最终得出了甘露聚糖最佳碱提浓度为10%(图1)。

2.2 甘露聚糖的紫外扫描

通过紫外扫描,可以看出提取的甘露聚糖具有较高的纯度,无DNA和蛋白杂质(图2)。

2.3 甘露聚糖的薄层色谱分析

甘露聚糖样品经H₂SO₄完全水解后,利用薄层

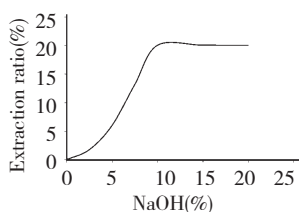


图1 不同浓度 NaOH 下甘露聚糖提取率

Fig. 1 The extraction rate of mannan under the different concentrations of NaOH

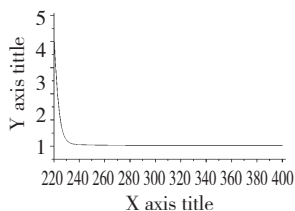


图2 甘露聚糖的紫外扫描图

Fig. 2 UV spectra of mannan

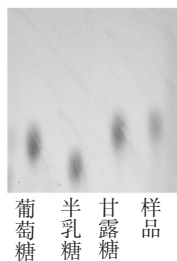


图3 甘露聚糖水解产物的薄层层析

Fig. 3 Thin-layer chromatograms of standards and samples of mannan

层析法分析(图3)。结果显示,甘露聚糖样品被完全水解为甘露糖。

2.4 多糖结构分析

红外光谱图表明甘露聚糖糖的吸收谱带具有多糖特征(图4),在 3400 cm^{-1} 处出现一宽峰,是O-H的伸缩振动峰,表明提取物中存在着分子内和分子间氢键。在 2930 cm^{-1} 和 1350 cm^{-1} 处的特征吸收峰

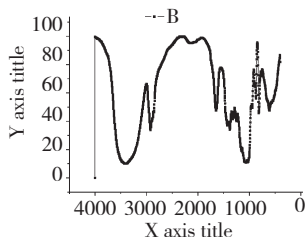


图4 甘露聚糖的红外光谱图

Fig. 4 IR spectrum of mannan

是C-H伸缩振动和变角振动峰,此峰是多糖的特征吸收峰。在 1640 cm^{-1} 处的特征吸收峰是羰基上的C=O伸缩振动峰。在 $1200\text{--}1010\text{ cm}^{-1}$ 间出现的吸收峰通常是糖环醚上的C-O-C和C-O-H上的C-O的伸缩振动峰。在 939 cm^{-1} 处也有着吸收,是D-吡喃糖苷的特征吸收峰。在 890 cm^{-1} 处有吸收峰,说明提取物是以 β 糖苷键相连的,因此结合单糖分析结果证明该物质为 β -D-甘露聚糖。

$^1\text{H NMR}$ 谱显示该棕榈粕甘露聚糖纯度高,杂质少(图5)。大部分质子信号集中在 $\delta\ 3.00\sim 4.80$,这是典型的多糖信号,异头碳 C^1 上质子的信号在 $\delta\ 4.64$,小于 5 ppm ,说明该甘露聚糖是 β 型多糖。

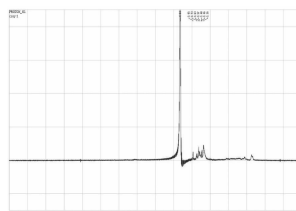


图5 甘露聚糖的 $^1\text{H NMR}$ 光谱图

Fig. 5 $^1\text{H NMR}$ of mannan

3 讨论

本研究从棕榈粕中提取了甘露聚糖,同时为甘露聚糖的制备提供了新的方式,通过多次比较研究获得了甘露聚糖最佳碱提取浓度为 10% ,完全酸水解产物分析及红外光谱和 $^1\text{H NMR}$ 分析结果表明提取的甘露聚糖为D-吡喃糖苷,且含有 β 糖苷键。

参考文献

- 1 Tian GY(田庚元). Study and applications of natural polysaccharide. *Mod Chem Ind* (上海化工), 2000, 10: 29-31
- 2 Chen XW(陈现伟), LI BG(李炳刚). 新型饲料添加剂—甘露寡糖. *World Feed* (饲料世界), 2006, 1: 29-30.
- 3 Mao GN(毛跟年), Qu JB(瞿建波), Li X(李鑫), et al. Research progress in preparation techniques of mannose-oligosaccharides and its derivatives. *Food Ind Sci Technol* (食品工业科技), 2011, 2: 366-372.
- 4 Fen T(冯婷), He CF(何聪芬), Zhao H(赵华), et al. Review on studies of plant polysaccharides. *J Beijing Technol Business Univ* (北京工商大学学报), 2004, 22(5): 1-4.
- 5 Wang YP(王云普), Wang YF(王永峰). 植物多糖的研究概况. *Chin J Integr Med* (中华实用中西医杂志), 2003, (12): 1835-1838.