

# 石蒜属植物多糖组成的分析比较研究

吴彦<sup>1,2</sup>, 周守标<sup>2\*</sup>, 万安<sup>2</sup>

(1. 安庆师范学院生命科学系, 安徽安庆 246011; 2. 安徽师范大学生命科学院, 安徽芜湖 241000)

**摘要:** 对五种石蒜属植物: 安徽石蒜、中国石蒜、忽地笑、换锦花、石蒜多糖的结构组成进行了对比分析。结果表明, 安徽石蒜多糖与其他四种植物多糖差异较大, 而忽地笑多糖和石蒜多糖相似、中国石蒜多糖和换锦花多糖相似。该研究为探讨石蒜属种间亲缘关系提供实验依据。

**关键词:** 石蒜属; 植物多糖; 单糖组成; 对比分析

**中图分类号:** Q946.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2005)03-0264-05

## Analysis and comparison of polysacchride content in *Lycoris*

WU Yan<sup>1,2</sup>, ZHOU Shou-biao<sup>2</sup>, WAN An<sup>2</sup>

(1. The Life Science Dept. of Anqing Normal College, Anqing 246011, China; 2. College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

**Abstract:** The plant of *Lycoris* Herb. has great economic value. In this article, analysis and comparison of polysaccharides content had been studied in five plants; *L. radiata*, *L. anhuiensis*, *L. chinensis*, *L. aurea*, and *L. sprengeri*. The results showed similarities between *L. aurea* and *L. radiata*; there was another similarity between *L. chinensis* and *L. sprengeri*; *L. anhuiensis* showed an outlying sacch ride profile. It can provide experimental basis for construction upon taxonomic groupings of polysacchride in *Lycoris* Herb.

**Key words:** *Lycoris* Herb.; plant polysacchride; content of sacchride; analysis and comparison

石蒜属(*Lycoris* Herb.)植物具有很高的经济价值。因其丰富的花型和色彩, 现已成为世界著名球根花卉。在我国民间自古即作为药用植物而被利用。石蒜属植物在中国有 15 种(季春峰, 2002), 占全世界石蒜属的 75%, 故又被称作“中国郁金香”。目前石蒜属研究主要集中于杂交育种和药用开发上, 应用和开发力度十分有限, 还有巨大的开发利用潜力。尽管国内外很多学者对石蒜属已经做了大量的研究工作, 但对石蒜属植物生物大分子方面的研究还不多(聂刘旺等, 2000), 尤其多糖类物质的研究较少。本文对五种石蒜属植物: 安徽石蒜、中国石蒜、忽地笑、换锦花、石蒜多糖进行了分离和提纯, 并就其结构组成进行对比分析。研究结果为石蒜属植

物多糖的生物活性、药用价值开发利用和探讨石蒜属植物种间亲缘关系提供实验依据。

### 1 材料试剂与设备

#### 1.1 材料

五种石蒜属植物的材料来源见表 1

#### 1.2 试剂

浓硫酸, 氢氧化钡, 碳酸钡, 标准单糖: D-葡萄糖、D-半乳糖、D-木糖、D-甘露糖、L-鼠李糖, 吡啶, 羟胺盐酸盐, 苯甲酰氯, 氯仿, 盐酸, 无水碳酸钠。

#### 1.3 设备

电热恒温水浴锅, 电热鼓风干燥箱, 离心机, 布

收稿日期: 2004-05-31 修订日期: 2004-07-20

基金项目: 安徽省自然科学基金资助课题(00042415); 安徽省高等学校自然科学基金项目(2005KJ367ZC)。

作者简介: 吴彦(1973-), 男, 安徽安庆人, 讲师, 硕士研究生。\* 通讯联系人, 教授, 硕士生导师, E-mail: zhoushoubiao@vip. 163. com

氏漏斗,真空泵,透析袋,红外光谱仪(美国 Nicolet 公司 AVATAR360 型),高效液相色谱仪(日本岛津 LC-10A)

## 2 实验方法

### 2.1 石蒜属植物多糖的提纯工艺流程

新鲜植物→烘干、粉碎→热水浸提→抽滤去除残渣→淀粉酶处理→浓缩→离心去杂质→浓缩液醇析过夜→粗多糖→复溶→去脂→脱蛋白→脱色→离子交换柱层析纯化→去离子→沉淀、洗涤、干燥→多糖纯品。

操作要点:(1)粉碎:先采用组织捣碎机捣碎,再用超声波粉碎细胞,可提高多糖得率。(2)淀粉酶处理:由于石蒜属植物尤其鳞茎中含淀粉量较多,在热水浸提过程中,部分可溶性淀粉也随多糖被提取出来,需进一步用酶法去除。(3)醇析:4 倍体积 95% 乙醇沉淀,放置 4 ℃ 条件下静置过夜。(4)离心分离:3 000 r/min 离心 20 min。(5)去脂:加入乙醚震荡 10 min,倒入分液漏斗静置分液,取下层糖液。重复 3 次。(6)脱蛋白:加 Sevag 试剂(正丁醇:氯仿=1:4)充分震荡 20 min 后除去水层与氯仿层交界外的变性蛋白质,取上层糖液。重复 3 次。(7)柱层析纯化:采用 DEAE-纤维素离子交换柱层析法。

表 1 材料来源及凭证标本  
Table 2 Origin of samples and vouchers

| 物种 Species   | 采集地 Locality                  | 采集人 Collector   | 材料编号 No.      |
|--|-------------------------------|-----------------|---------------|
| 安徽石蒜 <i>Lycoris anhuiensis</i> Y. Hsu et Q. J. Fan | 琅琊山,南京                        | 周守标等            | 010101,020801 |
| 中国石蒜 <i>L. chinensis</i> Traub.                    | 琅琊山,南京                        | 秦卫华等            | 010702,020802 |
| 忽地笑 <i>L. aurea</i> Herb.                          | 杭州,南京                         | 秦卫华等            | 010703,020803 |
| 换锦花 <i>L. sprengeri</i> Comes ex Baker             | 采石矶                           | 周守标等            | 010708        |
| 石蒜 <i>L. radiata</i> Herb.                         | 芜湖,采石矶,敬亭山,黄山,九华山,马仁山,天堂寨,琅琊山 | 吴彦、周守标、秦卫华、汪恒英等 | 010710~010716 |

### 2.2 多糖分子构型分析

红外光谱分析, KBr 压片法(李道荣等,2002)。

### 2.3 多糖的单糖组成分析

高效液相色谱分析—糖脎全苯甲酸酯紫外标记法(张懋杰,1987)。

2.3.1 多糖样品水解 称取纯多糖样品 100 mg,用 0.5 mol/L 硫酸 5 mL 溶解,密封,水浴煮沸 5 h,冷却。以氢氧化钡中和,pH 值接近 7,再用碳酸钡中和至中性。过滤,取清液,减压浓缩至干,置于干燥器内过夜(盛家荣,1999)。

2.3.2 糖脎全苯甲酸酯衍生物的制备 取上述经水解后浓缩至干的单糖样品,加入 10 mL 吡啶溶液充分溶解。取 0.1 mL 单糖的吡啶溶液置于 5 mL 具磨口塞试管中,再加入 0.1 mL 羟胺盐酸盐吡啶溶液(浓度为 10 mg/mL),摇匀后,在 80 ℃ 水浴中加热 10 min,冷却后加入 0.1 mL 苯甲酰氯,再在 80 ℃ 水浴中加热 60 min,冷却后,加入 2 mL 氯仿,用 3 × 1.5 mL 2 mol/L 盐酸洗涤,再用少量水洗后,以无水碳酸钠干燥,取 20 μL 氯仿溶液进行色谱分析。

2.3.3 标准单糖的糖脎全苯甲酸酯衍生物的制备:

分别称取标准单糖:D-葡萄糖、D-半乳糖、D-木糖、D-甘露糖、L-鼠李糖。同上述酸解后的糖样处理,待用。

2.3.4 高效液相色谱分析条件: 高效液相色谱仪,紫外鉴定器(波长 254 nm)固定相:ODS;流动相:甲醇:水=55:45(甲醇为色谱纯);流速:0.8 mL/min;操作温度:室温。

## 3 结果

### 3.1 红外光谱对比分析

由图 1~5 表明:五种植物多糖的红外图谱在 3 420 cm<sup>-1</sup> 和 1 060 cm<sup>-1</sup> 左右都有两吸收峰,它们分别代表了糖类 O-H 的伸缩振动和变角振动;在 2 920 cm<sup>-1</sup>, 1 250 cm<sup>-1</sup> 左右有两吸收峰,分别代表了糖类 C-H 的伸缩振动和变角振动(谭周进,2002);忽地笑、石蒜、中国石蒜、换锦花中的多糖在 810~839 cm<sup>-1</sup> 处出现了 α-D-半乳糖吡喃糖的特征吸收峰(霍光华,2002;张懋杰,1987),安徽石蒜则没有;由谱图可知,五种石蒜属植物中提取的物质具有糖类的一般特征吸收峰,且忽地笑、石蒜、中国石蒜、换锦花多糖其单糖组成有半乳糖。

### 3.2 高效液相色谱对比分析

高效液相色谱分析—糖脎全苯甲酸酯紫外标记法用紫外鉴定器检测,灵敏度为 6 × 10<sup>-11</sup> mol(以葡萄糖为例),较一般的高效液相色谱分析差折射鉴

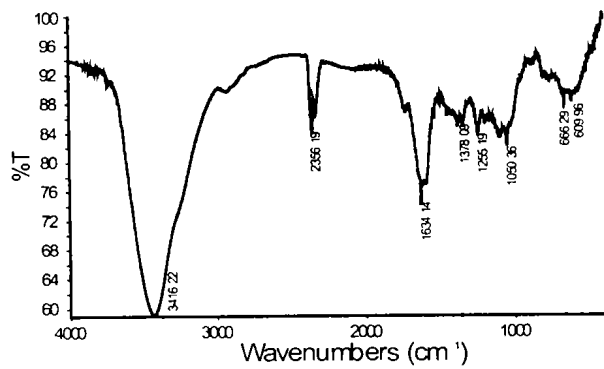


图 1 安徽石蒜多糖的红外图谱

Fig. 1 IR spectrum of polysacchride in *L. anhuiensis*

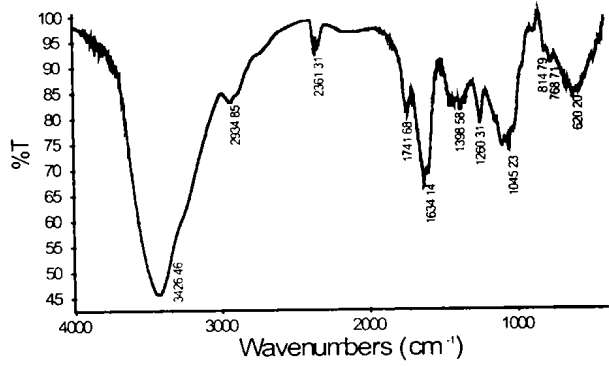


图 2 忽地笑多糖的红外图谱

Fig. 2 IR spectrum of polysacchride in *L. aurea*

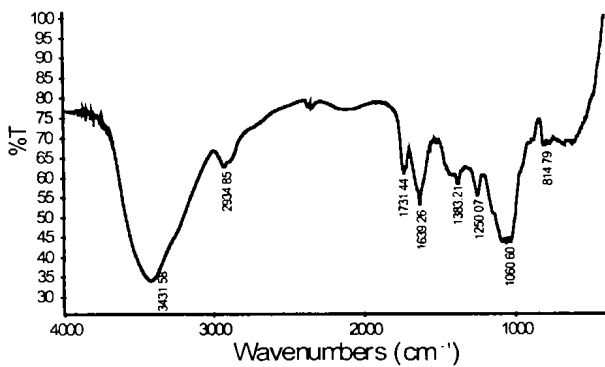


图 3 石蒜多糖的红外图谱

Fig. 3 IR spectrum of polysacchride in *L. radiata*

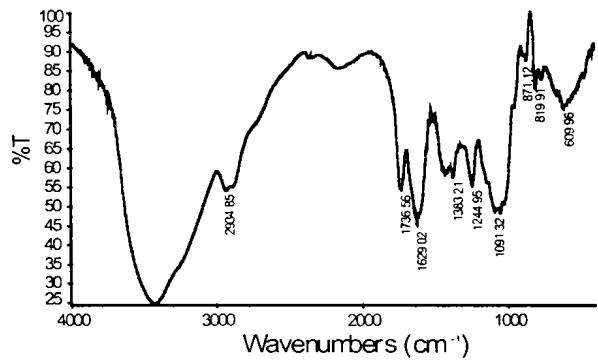


图 4 中国石蒜多糖的红外图谱

Fig. 4 IR spectrum of polysacchride in *L. chinensis*

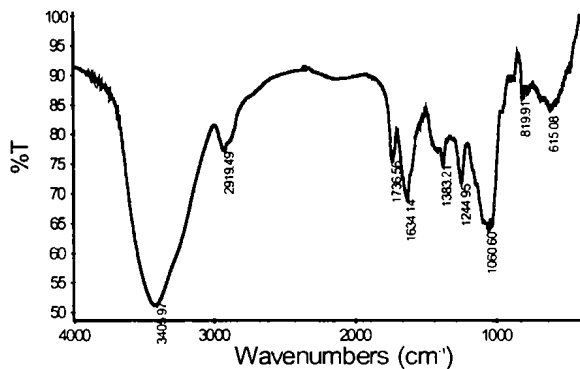


图 5 换锦花多糖的红外图谱

Fig. 5 IR spectrum of polysacchride in *L. sprengeri*

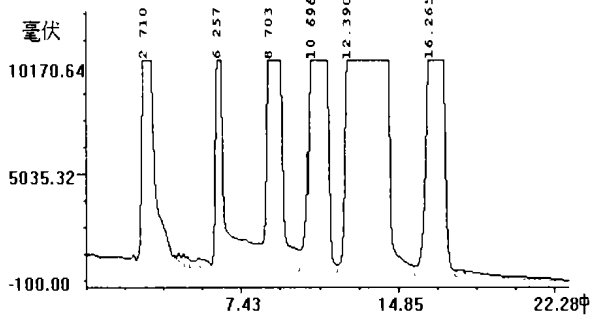


图 6 标准单糖的高效液相色谱图

Fig. 6 HPLC of the standard sacchride

定器测定单糖,灵敏度提高约 500~1 000 倍。

糖衍生化后不仅分析灵敏度有所提高,而且对难分离的若干常见糖的分离度有明显改善,结构相似的葡萄糖、甘露糖和半乳糖以及麦芽糖和纤维二糖均能有效地分离。本方法特别适用于生物样品中微量糖的分离和测定(张樵杰,1987)。

由图 6 可知,按出峰时间先后顺序依次为:吡啶溶剂峰、L-鼠李糖、D-木糖、D-甘露糖、D-葡萄糖、D-半乳糖。对比标准单糖可知石蒜属五种植物多糖中的单糖组成和比例如表 2。

## 4 结论

### 4.1 详细比较五种植物多糖的红外图谱吸收峰

由红外图谱可知,五种石蒜属植物中提取的物质具有糖类的一般特征吸收峰,证明为糖类物质。实验图谱表明安徽石蒜多糖与其他几种多糖对比差距较大。忽地笑和石蒜多糖在 3 430  $\text{cm}^{-1}$ 、1 740  $\text{cm}^{-1}$ 、1 635  $\text{cm}^{-1}$ 、1 390  $\text{cm}^{-1}$ 、1 255  $\text{cm}^{-1}$ 、1 050  $\text{cm}^{-1}$  左右处均有相似吸收峰,在 2 934.85  $\text{cm}^{-1}$ 、814.79

表 2 五种石蒜属植物多糖的分析对比  
Table 2 Interspecific comparison of polysacchride in five *Lycoris* Herb. plants

|                                   | 安徽石蒜<br><i>L. anhuiensis</i> | 忽地笑<br><i>L. aurea</i> | 石蒜<br><i>L. radiata</i> | 中国石蒜<br><i>L. chinensis</i> | 换锦花<br><i>L. sprengeri</i> |
|-----------------------------------|------------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 颜色 Color                          | 灰色                           | 浅灰色                    | 白色                      | 褐色                          | 浅灰色                        |
| 溶于热水 Dissolve in hot water        | 溶                            | 易溶                     | 易溶                      | 溶                           | 易溶                         |
| 溶于乙醇等有机溶剂 Dissolve in alcohol etc | 不溶                           | 不溶                     | 不溶                      | 不溶                          | 不溶                         |
| 多糖含量 Polysaccharide content(%)    | 5.28                         | 8.06                   | 7.80                    | 5.12                        | 7.55                       |
| 单糖组成 Monosaccharide compositim    | 葡萄糖                          | 木糖、葡萄糖、半乳糖             | 木糖、葡萄糖、半乳糖              | 葡萄糖、半乳糖                     | 葡萄糖、半乳糖                    |
| 单糖比例 Monosaccharide ratio         | 1                            | 0.996 : 1 : 0.47       | 0.42 : 1 : 1.16         | 1 : 0.58                    | 1 : 0.397                  |

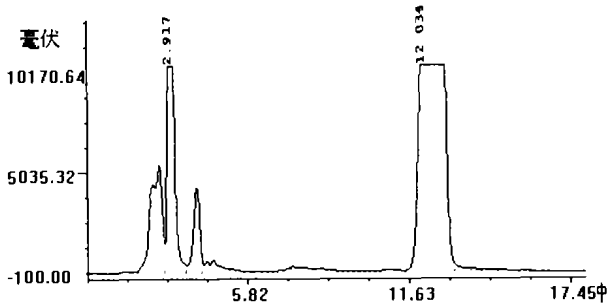


图 7 安徽石蒜多糖的高效液相色谱图  
Fig. 7 HPLC of polysacchride in *L. anhuiensis*

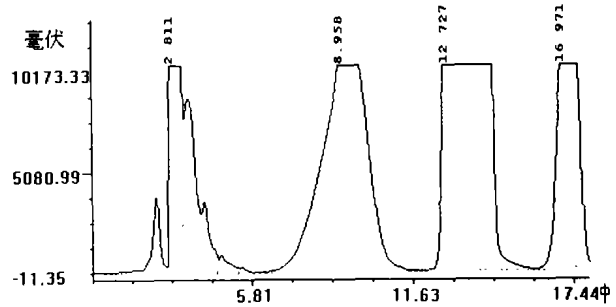


图 8 忽地笑多糖的高效液相色谱图  
Fig. 8 HPLC of polysacchride in *L. aurea*

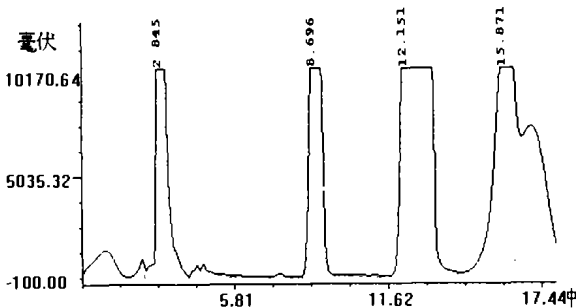


图 9 石蒜多糖的高效液相色谱图  
Fig. 9 HPLC of polysacchride in *L. radiata*

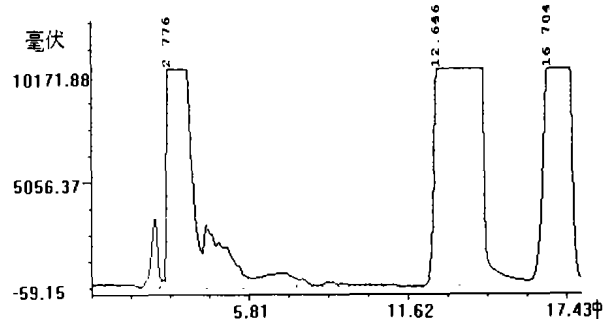


图 10 中国石蒜多糖的高效液相色谱图  
Fig. 10 HPLC of polysacchride in *L. chinensis*

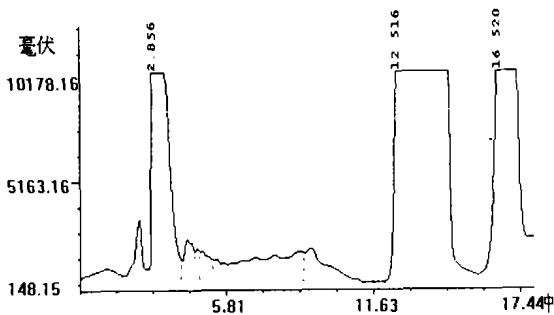


图 11 换锦花多糖的高效液相色谱图  
Fig. 11 HPLC of polysacchride in *L. sprengeri*

换锦花多糖在  $3\ 400\ \text{cm}^{-1}$ 、 $2\ 925\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 630\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 080\ \text{cm}^{-1}$ 、 $610\ \text{cm}^{-1}$  左右处均有相似的吸收峰，在  $1\ 736.56\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 383.21\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 244.95\ \text{cm}^{-1}$ 、 $819.91\ \text{cm}^{-1}$  四处则具有相同的吸收峰，表明两者具有极为相似的官能团组成。两者多糖差距比忽地笑多糖和石蒜多糖之间要小。

4.2 由高效液相色谱分析可知，安徽石蒜多糖同其他四种差距较大

同是多糖，其单糖组成为葡萄糖，其余四种为杂多糖；忽地笑多糖和石蒜多糖一级结构单糖组成相同，为木糖、葡萄糖、半乳糖；而中国石蒜多糖和换锦花多糖一级结构单糖组成相同，为葡萄糖、半乳糖。

4.3 红外光谱分析和高效液相色谱分析的结果相吻合也是安徽石蒜多糖差别大一些，而忽地笑和石

$\text{cm}^{-1}$  两处则吸收峰完全一样，表明两者多糖具有极为相似的官能团组成(魏玉西,1998)。中国石蒜和

蒜多糖相似、中国石蒜和换锦花多糖相似度更大。

#### 4.4 多糖的组成

也就是多糖一级结构对其生物活性有一定的影响,而多糖的高级结构更有赖于一级结构的排步(黄芳,1998)。与基因的遗传密码类似,可能存在多糖密码,即所谓的糖码,生物多糖可能按照一定的规则排列组合并相互识别。石蒜属中不同植物的多糖结构组成不同,会导致不同的生物活性和药用价值(廖代伟等,1997)。另外,多糖结构组成的差异可为探讨石蒜属种间亲缘关系提供实验证据。

#### 参考文献:

- 张懋杰. 1987. 复合多糖生化研究技术(第一版)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 62-65.
- 季春峰. 2002. 石蒜属资源开发与利用[J]. 中国野生植物资源, 21(6): 14-15.
- 霍光华, 李来生, 高荫榆. 2002. 波谱在多糖结构分析上的应用[J]. 生命的化学, 22(2): 194-196.
- Huang F(黄芳), Meng YW(蒙义文). 1998. Studies on polysaccharides with biological activity(活性多糖的研究进展)[J]. *Natural Product Research and Development*(天然产物研究与开发), 11(5): 90-98.
- Li DR(李道荣), Li k(李魁), Duan XM(段雪梅). 2002. Technology study on extraction of polysaccharide from pollen(蒲公英花粉多糖提取工艺研究)[J]. *J Zhengzhou Institute of Technology*(郑州工程学院学报), 23(4): 55-57.
- Liao DW(廖代伟), He SX(何苏雄), Lin YZ(林银钟), et al. 1997. Study on micro-catalysis in life science(生命科学中的微催化作用研究)[J]. *J Xiamen Univ*(厦门大学学报), 36(3): 478-481.
- Nie LW(聂刘旺), Zhang DC(张定成), Zhang HJ(张海军), et al. 2000. A study on three isozymes in plant of *Lycoris Herb*(安徽产石蒜属植物三种同工酶的分析)[J]. *J Biology*(生物学杂志), 17(3): 19-22.
- Sheng JR(盛家荣), Zeng LH(曾令辉), Zai C(翟春), et al. 1999. The extraction, isolation and structure analysis of polysaccharide(多糖的提取、分离及结构分析)[J]. *J Guangxi Teachers College*(广西师院学报), 16(4): 49-54.
- Tan ZJ(谭周进), Xie DP(谢达平), Wang Z(王征), et al. 2002. Studies on isolation, purification and properties of polysaccharide from *armillaria mellea*(蜜环菌多糖分离纯化及性质的研究)[J]. *Food Science*(食品科学), 23(9): 49-53.
- Wei YX(魏玉西), Hang H(杭瑚). 1998. Purification and analysis of polysaccharide from *P. urceolata*(多管藻多糖的提纯及分析)[J]. *J Qingdao Univ*(青岛大学学报), 11(3): 85-88.
- (上接第 235 页 Continue from page 235)
- 表明在培养基中使用两种或两种以上抗生素,可以防止细菌的抗药性,有时效果比单独使用更好。
- 参考文献:
- Barrett C, Cassells AC. 1994. An evaluation of antibiotics for the elimination of *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* (Brown) from *Pelargonium X domesticum* cv. Grand Slam explants *in vitro*[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 36(2): 169-175.
- Bistrichanov S, Haralampieva V, Kaloyanova N. 1997. Testing of different types of antibiotics against bacterial contamination in *Hydrangea hortensis in vitro*[J]. *Bulgarian J Agricul Sci*, 3(6): 749-753.
- Blackman SA, Brown KL, Manalo JR, et al. 1996. Embryo culture as a means to rescue deteriorated maize seeds[J]. *Crop Sci*, 36(6): 1 693-1 698.
- Han ML(韩美丽), Lu RS(陆荣生), Huang HY(黄华艳), et al. 1999. Studies of vitrification and bacteria contamination control methods in the subculture of *Spathiphyllum kochii* (绿巨人组培苗继代过程中玻璃苗及细菌污染的消除方法研究)[J]. *Guangxi Fore Sci*(广西林业科学), 28(1): 16-19.
- Fu WH(傅婉华), Li WA(李文安). 1991. Utilization of antibiotics in clone propagation of *Alocasia sanderiann* (利用抗菌素进行的海芋快速繁殖)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), 27(5): 373-375.
- Levin R, Stav R, Alper Y, et al. 1996. *In vitro* multiplication in liquid culture of *Syngonium* contaminated with *Bacillus* spp. and *Rathayibacter tritici*[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 45(3): 277-280.
- Reed BM, Mentzer J, Tanprasert P, et al. 1998. Internal bacterial contamination of micropropagated hazelnut; identification and antibiotic treatment[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 52: 67-70.
- Reuveni O, Shlesinger DR, Lavi U. 1990. *In vitro* propagation of dioecious *Carica papaya* L. [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 20(1): 41-46.
- Zhai JZ(翟建中), Gu MQ(顾梅俏). 1999. Elimination off contamination in tissue culture of *Vinca major* cv. *Variegata* (长春蔓组培生产中污染的防除)[J]. *Forest Pest and Disease*(森林病虫通讯), (4): 30-32.
- Zhou JH(周俊辉). 1999. Problems and their countermeasures during *in vitro* propagation of plants(植物快速繁殖技术中存在的问题与对策)[J]. *J Zhongkai Agrotechnical Coll*(仲恺农业技术学院学报), 12(4): 64-70.
- Zhou JH(周俊辉), Zhou HG(周厚高), Liu HQ(刘花全). 2003. Endophytic bacterial contamination in plant tissue culture(植物组织培养中的内生细菌污染问题)[J]. *Guihaia*(广西植物), 23(1): 41-47.
- Zhou JH(周俊辉), Liu HQ(刘花全), Luo HJ(罗慧君), et al. 2002. Study on contamination control in stem culture of *Dieffenbachia amoena* cv. *Camilla*(玛丽安万年青茎段培养污染防止研究)[J]. *J Zhongkai Agrotechnical Coll*(仲恺农业技术学院学报), 15(4): 43-48.