

# 山药多糖的化学分析及其生物活性

张季冬 (聊城大学东昌学院, 山东聊城 252000)

**摘要** 参考我国近5年来关于山药多糖的研究成果,列举了其提取分离技术,分析了其单糖组成和摩尔比,综述了其抗氧化、抗肿瘤、抗衰老、降血糖等生理活性,并对其今后的研究方向作了展望。

**关键词** 山药多糖;化学分析;生理活性

**中图分类号** Q946 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)23-011003-02

**Chemical Analysis and Physiological Activity of Polysaccharide from *Dioscorea opposita* Thunb**

ZHANG Ji-dong (Dongchang College of Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252000)

**Abstract** Based on the latest research results of polysaccharide in *Dioscorea opposita* Thunb in China in recent 5 years, the extraction and separation technologies were listed. Its monosaccharide composition and mole ratio were analyzed. And its antioxidation activity, antineoplastic activity, anti-aging, hypoglycemic effect and other many physiological functions were reviewed. The future research direction was predicted.

**Key words** Chinese yam polysaccharide; Chemical analysis; Physiological activity

山药是薯蓣科多年生宿根植物山药 (*Dioscorea opposita* Thunb.) 的块根,主产于河南、广东、广西等省,以河南焦作市(古怀庆府)所产最佳,又称“怀山药”。《本草纲目》记载其能“益肾气,健脾胃,止泻痢,化痰涎,润皮毛”。现代医学研究表明,山药具有增强免疫、抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、降血糖等多种生物活性,其主要功效成分是山药多糖<sup>[1]</sup>。为此,笔者结合国内最近5年的研究成果,对山药多糖的提取技术、化学结构和生理活性进行综述。

## 1 山药多糖的提取分离方法

**1.1 浸提法** 浸提的流程是:原料→脱脂→乙醇回流→热水浸提→冷却、离心、取上清液→减压浓缩→醇沉→去杂→干燥→粗多糖。水浸提涉及3个关键条件:温度、时间、料液比。孟庆华等研究了水提法提取怀山药多糖的工艺条件,结果表明,最佳浸提工艺为:浸提温度100℃,料液比1:30,浸提时间2h,浸提2次,加入浓缩液7.5%体积的3%三氯乙酸溶液除去蛋白质,再向浓缩液中加入5倍体积的无水乙醇溶液分离怀山药多糖<sup>[2]</sup>。徐琴等建议按1:60料液比,置于80℃水浴中提取6h<sup>[3]</sup>。刘秀河等通过响应面分析法考察了浸提温度、浸提时间和料液比对山药多糖的得率和含量的影响,认为浸提温度60~64℃、浸提时间3.2~3.5h和料液比1:20更为合适,温度较低,也减少了浓缩的时间<sup>[4]</sup>。

**1.2 超声辅助提取** 利用超声波的空化作用、热效应、机械作用,加速细胞壁的破碎,促进细胞内容物的溶出,可以缩短提取时间。李金忠等采用正交试验研究了超声波提取山药多糖的最佳试验条件,结果表明,影响多糖得率的因子依次是:温度>超声时间>料液比>超声功率;最佳工艺条件为:超声功率1000W,超声时间50min,提取温度60℃,料液比1:100;采用上述条件提取山药多糖,得率达20.27%,与传统的水提取法相比,得率提高2倍多,提取时间也缩短为50min<sup>[5]</sup>。

**1.3 微波辅助提取** 微波具有穿透力强、选择性高、加热效率高等特点。微波辐射可以大大加快反应速度(最高达1240倍),有效地提高得率。许本波等利用微波辅助提取山药

多糖,在单因素试验基础上,采用正交试验考察了各种因素对多糖得率的影响,主要因素影响顺序为:浸提温度>醇沉比>微波功率>料水比;确定了山药多糖提取的最佳工艺参数:微波功率464W,料水比1:20,浸提温度60℃,醇沉比4:1,在此条件下提取山药多糖,其得率达到了10.52%<sup>[6]</sup>。

**1.4 酶法提取** 在多糖水提工艺中,常可以加入2%木瓜蛋白酶、纤维素酶,酶解细胞壁结构和胞间连接物,促进细胞破壁和胞内物的浸出<sup>[7]</sup>。费玉婷等选用纤维素酶进行山药多糖的提取,通过正交试验研究了纤维素酶的作用时间、pH值、酶用量和温度对山药多糖提取率的影响,结果表明,提取温度是最重要的影响因素,提取的最佳工艺条件为:酶用量0.2%,温度55℃,时间3h, pH值7.0,在此条件下提取山药多糖得率为35.66%<sup>[8]</sup>。

## 2 山药多糖的化学结构

通常采用DEAE-Sepharose (DEAE离子交换纤维柱)和Sephadex-G-100柱分离、纯化多糖,用凝胶过滤法或HPLC法测定多糖的相对分子质量,多糖经酸解后,用PC(纸色谱)分析单糖组成,NMR(核磁共振)分析分子结构<sup>[7]</sup>。王刚等依次用水提取,乙醇和十六烷基三甲基溴胺盐沉淀法得到粗多糖,用葡聚糖凝胶柱层析和高效液相层析纯化多糖并测定分子量,采用HPLC法测定山药总多糖含量,结果从山药中得到2个均一多糖,相对分子质量分别为62000、7300D,总多糖含量为16.42%<sup>[9]</sup>。顾林等分离得到3种山药多糖组分,1种中性多糖和2种酸性多糖,中性多糖为葡萄糖和甘露糖组成,而酸性多糖I是由葡萄糖、半乳糖、甘露糖组成,酸性多糖II是由阿拉伯糖、木糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖组成<sup>[10]</sup>。进一步的研究表明,该中性糖有 $\alpha$ -异构体吡喃己糖环,应归属为 $\alpha$ -D-葡萄糖和 $\alpha$ -D-甘露糖,两者的摩尔比为0.56:0.44<sup>[11]</sup>。赵国华等纯化出1种单一多糖组分,单糖组成为葡萄糖、甘露糖和半乳糖,摩尔比为1.0:0.4:0.1,以 $\alpha$ -D-(1→3)-葡聚糖为主链,在6-O位有 $\alpha$ -D-(1→2)-低聚甘露半乳糖支链的杂多糖<sup>[12]</sup>。蔡婀娜等也曾纯化分离出2种山药多糖,分别命名为DTA和DTB;采用葡聚糖凝胶G100柱层析和醋酸纤维素薄膜纸电泳检测DTA的纯度,显示DTA为单一多糖,由果糖和葡萄糖2种单糖组成,摩尔比为1.00:26.36;并推测可能含有连续的 $\alpha$ -1,4和 $\beta$ -1,4结构<sup>[13]</sup>。综上,可以推测山

**基金项目** 聊城大学东昌学院科研基金(2007ZK003)。

**作者简介** 张季冬(1957-),男,山东聊城人,讲师,从事有机化学和生物化学的教学与研究工作。

**收稿日期** 2009-04-20

药多糖中含有多种组分,一级结构中含有 $\alpha$ -糖苷键或 $\beta$ -糖苷键,单糖组成中含有葡萄糖、半乳糖、甘露糖、果糖、阿拉伯糖等。

### 3 山药多糖的生理活性

**3.1 抗氧化活性** 苗明三研究证明山药多糖具有抗氧化作用<sup>[14]</sup>。舒媛等提取山药粗多糖,通过测定其还原能力及清除 $H_2O_2$ 、 $O_2^{\cdot -}$ 和 $\cdot OH$ 的能力,对未除蛋白质和 Sevag 法、蛋白酶法去除蛋白质后的 3 种山药多糖的抗氧化性进行比较,结果表明,Sevag 法去除蛋白得到的山药粗多糖抗氧化能力最强,其清除 $H_2O_2$ 、 $O_2^{\cdot -}$ 和 $\cdot OH$ 的能力分别为 65.31%、95.04% 和 53.73%<sup>[15]</sup>。孙设宗等探讨了山药多糖对小鼠 $CCl_4$ 肝损伤的保护作用及可能作用机制,认为山药多糖具有对抗和清除自由基的作用,可减轻试验性肝损伤所致炎症反应,对试验性肝损伤有保护作用<sup>[16]</sup>。

**3.2 抗肿瘤活性** 赵国华等用小鼠移植性实体瘤研究了中性山药多糖 RDPS-1 的体内抗肿瘤作用,结果表明,50 mg/kg RDPS-1 对 Lewis 肺癌有显著地抑制作用,对 B16 黑色素瘤抑制效果不明显,等于或高于 150 mg/kg 的 RDPS-1 剂量对两者都有显著的抑制效果,且中等剂量(150 mg/kg)作用最佳<sup>[12]</sup>。进一步的化学改性试验研究表明,化学改性对多糖 RDPS-1 的生物活性有显著的影响,低度羧甲基化、低度甲基化和中度乙酰化能显著提高 RDPS-1 的抗肿瘤活性,而部分降解和硫酸化使 RDPS-1 的抗肿瘤活性显著降低<sup>[17]</sup>。一般来说,抗肿瘤物质的作用机制有 2 种情形:细胞毒性或通过增强机体免疫能力而实现抗肿瘤作用。RDPS-1 的抗肿瘤作用是通过增强机体免疫功能实现的,RDPS-1 在体内能显著提高荷瘤小鼠的 T 淋巴细胞增殖能力和 NK 细胞活性,属于宿主介导抗肿瘤活性<sup>[18]</sup>。

**3.3 抗衰老作用** 衰老是自由基引发的自然过程。现在多用 D-半乳糖衰老模型小鼠进行抗衰老方面的研究。詹彤等研究了不同剂量山药多糖对 D-半乳糖所致小鼠代谢性衰老模型肝过氧化脂质(LPO)、肝脂褐质、脑 B 型单胺氧化酶(MAO-B)活性、脑和肝谷胱甘肽氧化酶(GSH-P)活性、心肌过氧化氢酶(CAT)活性、脑 Na-K-ATP 酶活性的影响。结果表明:山药多糖分别使小鼠 LPO 降低 10.6% 和 19.2%,小鼠肝脂褐质含量降低 31.8% 和 40.6%,小鼠心肌 CAT 活性分别上升 4.2% 和 12.7%,小鼠脑 SOD 上升 2.9% 和 16.3%,小鼠 Na-K-ATP 酶活性上升 21.1% 和 50.7%<sup>[19]</sup>。因此认为,山药多糖能通过一系列间接的生理生化机制,促进机体中 SOD、GSH-Px 等抗氧化酶的生物合成或活化,降低 MDA 的含量,提高机体的抗氧化能力,减轻细胞的胁迫损伤,从而减缓衰老的进程。

**3.4 提高免疫作用** 蒋艳玲利用 D-半乳糖模型研究了怀山药多糖对衰老小鼠的影响。结果表明,D-半乳糖模型为亚急性糖代谢衰老模型,模型复制成功后,免疫器官组织明显萎缩,胸腺皮质细胞数及脾淋巴、鞘淋巴细胞数明显减少;怀山药多糖则可明显拮抗 D-半乳糖所致衰老小鼠免疫器官组织的萎缩,使皮质厚度增加,皮质细胞数增加,淋巴细胞数增加;怀山药多糖能明显减轻衰老模型小鼠免疫器官的萎缩<sup>[20]</sup>。程林等比较研究了生山药及麸炒山药多糖对免疫低

下小鼠免疫功能调节作用的差异,结果表明,山药经麸炒后冷浸提取的多糖较生品具有更强的增强细胞免疫和体液免疫的作用<sup>[21]</sup>。

**3.5 降血糖作用** 糖尿病是由于糖、脂肪和蛋白质代谢紊乱引起的慢性病,分为 I 型和 II 型两大类。I 型主要表现为胰岛 $\beta$ 细胞受到破坏,血中胰岛素缺乏,但对胰岛素仍然敏感,需长期应用胰岛素治疗。研究活性多糖的降糖作用常常制作 DM 模型,常用的造模方法主要用四氧嘧啶(Alloxan)或链脲佐菌素(STZ)破坏胰岛 $\beta$ 细胞造成胰性 DM<sup>[22]</sup>。

胡国强等<sup>[23]</sup>、邵红利等<sup>[24]</sup>采用四氧嘧啶致糖尿病模型大鼠,以山药多糖连续灌胃给药,结果山药多糖对糖尿病大鼠的血糖有明显降低作用,可能与增加胰岛素分泌、改善受损的胰岛 $\beta$ 细胞功能有关。何云<sup>[25]</sup>探讨了山药多糖对四氧嘧啶诱导的糖尿病大鼠的降糖作用及其与剂量的关系,认为山药多糖的降糖作用随给药剂量的增加而增加,具有明显的量效关系。何云等进一步证明了山药多糖对糖尿病大鼠的胰岛功能具有保护作用<sup>[26]</sup>。

## 4 结语

山药原料丰富、物美价廉,具有极高的营养价值与医疗保健作用。目前,关于山药多糖的研究刚刚起步,也仅限于实验室理论探讨,还需要大量的研究数据。如山药多糖适于规模生产的提取、精制、纯化工艺,山药多糖化学结构及其抗肿瘤作用的构效关系,山药多糖的生理活性及其药理作用、毒理试验,山药多糖的应用价值及其市场开发情况等,都需要进行深入的研究和探讨。

## 参考文献

- [1] 孙锋,谷文英,丁霄霖. 山药粗多糖的提取工艺[J]. 食品与生物技术学报,2006,25(3):79-84.
- [2] 孟庆华,刘钟栋,陈肇敏,等. 怀山药多糖的提取[J]. 食品工业科技,2005,26(2):126-128.
- [3] 徐琴,徐增荣,沈振国,等. 淮山药多糖提取工艺的研究[J]. 食品工业科技,2006,27(12):117-119.
- [4] 刘秀河,吴艳,艾连中. 山药水溶性多糖提取工艺的研究[J]. 食品与机械,2006,22(2):21-23.
- [5] 李金忠,马海乐,吴沿友. 山药多糖的超声辅助提取技术研究[J]. 食品研究与开发,2005,26(4):72-75.
- [6] 许本波,张世俊,江洪波. 微波辅助法提取山药多糖的研究[J]. 安徽农学通报,2007,13(12):34-35.
- [7] 王金亭,张季冬. 南瓜多糖的单糖组成及其生理效应[J]. 现代生物医学进展,2008,8(12):2392-2394.
- [8] 费玉婷,乔建卫,蒋立勤. 纤维素酶法提取山药多糖的工艺研究[J]. 农产品加工(学刊),2008(6):31-33.
- [9] 王刚,杜士明,肖森生,等. 山药多糖的提取分离及山药总多糖的含量测定[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(10):1414-1416.
- [10] 顾林,姜军. 山药多糖的分离纯化及组成研究[J]. 食品科学,2007,28(9):158-161.
- [11] 顾林,姜军,孙婧. 山药多糖的分离纯化及其结构鉴定[J]. 食品科技,2007(5):109-112.
- [12] 赵国华,李志孝,陈宗道. 山药多糖 RDPS-1 的结构分析及抗肿瘤活性[J]. 药学报,2003,38(1):37-41.
- [13] 蔡婀娜,王昭晶,罗戴辉. 水提山药多糖的分离纯化与 DTA 的性质分析[J]. 福建中医学院学报,2006,16(3):40-43.
- [14] 苗明三. 怀山药多糖抗氧化作用研究[J]. 中国医药学报,1997,12(2):22-23.
- [15] 舒媛,刘安军,王丽霞. 山药多糖结合蛋白质对抗氧化作用的影响[J]. 食品研究与开发,2006,27(11):39-42.
- [16] 孙设宗,唐微,张红梅,等. 山药多糖对小鼠 $CCl_4$ 肝损伤的保护作用[J]. 邵阳医学院学报,2008,27(6):502-504.
- [17] 赵国华,李志孝,陈宗道. 化学改性对山药多糖抗肿瘤活性的影响[J]. 中国食品学报,2004,4(1):39-42.

量变化相似。

**2.2 怀牛膝不同生育时期各土层微生物总量和酶活性变化** 从表 2 可以看出,不同的取样深度土壤微生物的总数存在着较大差异。土壤微生物的分布状况均为:表层土 > 亚表层土 > 深层土,增重期表层土中土壤微生物总量最高达到了  $9.121 \times 10^6/g$ ,而苗期最低为  $6.945 \times 10^6/g$ ;亚表层和深层土中微生物总量也以增重期最高,苗期最低。不同的取样深度土壤酶活性也存在较大差异,与土壤微生物总量的分布状况基本一致,表现为:表层土 > 亚表层土 > 深层土;增重期,脲酶活性和蛋白酶活性均最大,脲酶活性在苗期最小,而蛋白酶活性是在收获期最小。微生物总量以及土壤酶活性随土层的这种变化规律既与牛膝根系的垂直分布有关,同时也与土层温度的变化有关<sup>[5]</sup>。

**2.3 怀牛膝不同生育时期土壤微生物数量和酶活性之间的相关性分析** 从表 3 可以看出,除了细菌和脲酶在苗期达到显著水平外,其余各因素在各个时期均达到了极显著水平。这说明微生物数量的多少与酶活性呈正相关关系。这与 Insam 及张国红等所报道的“微生物总数越多,酶活性越高”的结论是一致的<sup>[5-6]</sup>。

表 2 不同采样深度微生物总数和酶活性状况

Table 2 The situations of total number of microorganism and enzyme activity in different sampling depth

测定指标 Measuring index	土层深度 cm Soil depth	微生物总数 $\times 10^6/g$ Total number of microorganism	脲酶 mg/g Urease	蛋白酶 mg/g Protease
种植前	0~20	7.196	1.167	0.439
Before planting	20~40	5.413	0.815	0.325
	40~60	3.254	0.764	0.258
	苗期	0~20	6.945	1.035
Seedling period	20~40	4.625	0.792	0.234
	40~60	3.036	0.628	0.205
	盘裸期	0~20	7.524	1.325
Vigorous growing period	20~40	5.637	0.886	0.351
	40~60	3.891	0.783	0.265
	增重期	0~20	9.121	1.536
Weight gain period	20~40	6.958	1.036	0.432
	40~60	4.021	0.965	0.316
	收获期	0~20	7.732	1.257
Harvest period	20~40	5.832	0.982	0.259
	40~60	3.536	0.764	0.194

表 3 怀牛膝不同生育时期土壤微生物数量与土壤酶活性之间的关系

Table 3 The relationship between soil microorganism and enzyme activity in different growth periods of *A. bidentata*

生育时期 Growth periods	细菌-真菌 Bacteria-Fungi	细菌-脲酶 Bacteria-Urease	真菌-放线菌 Fungi-Actinomycete	真菌-脲酶 Fungi-Urease	放线菌-脲酶 Actinomycete-Urease
种植前 Before planting	0.629**	0.595**	0.712**	0.701**	0.821**
苗期 Seedling period	0.679**	0.425*	0.721**	0.672**	0.743**
盘裸期 Vigorous growing period	0.727**	0.519**	0.620**	0.725**	0.777**
增重期 Weight gain period	0.678**	0.619**	0.798**	0.613**	0.618**
增重期 Weight gain period	0.733**	0.607**	0.863**	0.663**	0.618**

3 结论

该研究结果表明,不同的取样时间、不同的取样深度,微生物的数量与酶活性都是不同的。在试验期内,土壤微生物数量和酶活性呈先下降后增加再下降的趋势;土壤微生物和土壤酶活性之间呈显著相关性;随着土层的加深,怀牛膝各生长期土壤微生物数量和土壤酶活性均表现为:表层 > 亚表层 > 深层。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005版) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 49.

[2] 刘舞霞, 郭青, 史叶龙. 牛膝栽培品的质量考察 III. 栽培措施和产地加工方法 [J]. 中药材, 1990, 13 (10): 8-9.

[3] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析手册 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.

[4] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.

[5] INSAM H. Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilizer practice and crop yield of three Lutisols [J]. Soil Biol Biochem, 1991, 23: 459-464.

[6] 张国红, 任华中, 高丽红. 京郊日光温室土壤微生物状况和酶活性 [J]. 中国农业科学, 2005, 38 (7): 1447-1552.

(上接第 11004 页)

[18] 赵国华, 李志孝, 陈宗道, 等. 山药多糖对荷瘤小鼠免疫功能的影响 [J]. 营养学报, 2003, 25 (1): 110-112.

[19] 詹彤, 陶靖, 王淑如. 水溶性山药多糖对小鼠的抗衰老作用 [J]. 药学进展, 1999, 23 (6): 356-360.

[20] 蒋艳玲. 怀山药多糖对衰老小鼠免疫器官组织的影响 [J]. 河南中医药学刊, 2002, 17 (6): 18-19.

[21] 程林, 陈斌, 蔡宝昌. 山药及其麸炒品的多糖部位对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17 (2): 86-89.

[22] 王金亭. 甘薯多糖的生物活性及其作用机制研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2008, 29 (7): 183-185.

[23] 胡国强, 杨保华, 张忠泉. 山药多糖对大鼠血糖及胰岛释放的影响 [J]. 山东中医杂志, 2004, 23 (4): 230-231.

[24] 郜红利, 肖本见, 梁文梅. 山药多糖对糖尿病小鼠降血糖作用 [J]. 中国公共卫生, 2006, 22 (7): 804-805.

[25] 何云. 山药多糖降血糖作用的实验研究 [J]. 华北煤炭医学院学报, 2008, 14 (1): 448-449.

[26] 何云, 戚玉敏, 刘景升, 等. 山药多糖对糖尿病大鼠胰岛素及血小板数的影响 [J]. 河北北方医学院学报: 医学版, 2009, 26 (1): 29-32.