

茶多糖的制备

2017. 10. 25-27

一、实验目的：

学习制备多糖的原理和方法。

二、原理：

利用茶叶中的多糖溶于水不溶于乙醇的性质，采用“水提醇沉淀”的方法，从茶叶粉的热水浸提液中获得茶多糖粗品；再利用蛋白质在有机溶剂中变性沉淀的性质用“Sevag法”除去其中的蛋白质杂质，得到初步纯化的茶多糖样品。

茶多糖 (Tea-PolySaccharide, TPS) 是茶叶中一类与蛋白质、果胶等结合在一起的酸性杂多糖，具有降血糖、抗炎、抗凝血等药理作用及改善和治疗糖尿病等疾病的功能。

参与构成茶多糖的单糖有鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖和葡萄糖醛酸等。

多糖的提取方法:

1. 溶剂法: 水提醇沉法

酸提法

碱提法

超临界流体萃取法

2. 酶解法: 单一酶解法

复合酶解法

3. 物理强化法: 微波辅助法

超声波辅助法

多糖的纯化:

1. 除蛋白: Sevag法

三氟三氯乙烷法

三氯乙酸法

2. 脱色: 物理吸附法 (活性炭吸附)

氧化吸附法 (双氧水氧化)

3. 多糖的分级: 分级沉淀法

色谱法 (凝胶过滤层析法)

多糖的分析鉴定：

含量测定

纯度鉴定

分子量范围的测定

特征结构的测定

厦门大学生命科学学院

三、实验操作：

1. 主要仪器：

水浴锅、离心机、10 mL/50mL/250mL 离心管

2. 主要试剂：

Saveg试剂（氯仿:正丁醇 = 4:1, v/v）

乙醇、丙酮、乙醚

3. 实验步骤:

- 1. 称取茶叶粉2g于50-100 mL烧杯 → 蒸馏水20 mL, 保鲜膜覆盖 → 水浴锅铁圈固定后置于90°C水浴约1h → 50 mL离心管, 3000 rpm离心10 min;
- 2. 量筒量取上清液体积 → 加入3倍体积的无水乙醇 → 250mL离心管以4000 rpm离心20 min;
- 3. 沉淀转入50 mL离心管 → 10mL蒸馏水溶解 (总体积约11-12 mL) → 加入等体积Sevag试剂 → 剧烈手动振摇2 min, 放气, 3000 rpm 离心10 min;
- 4. 用滴管小心转移上清液至250mL离心管 → 氨水调pH 8.0 → 80°C下加入等体积H₂O₂, 保鲜膜覆盖, 30min → 加3倍体积的无水乙醇, 4000 rpm离心20 min;
- 5. 转移沉淀至10 mL 离心管 → 5mL无水乙醇充分捣匀 → 3000 rpm 5min离心 → 5mL丙酮捣匀, 离心 → 5mL乙醚捣匀, 离心 → 转移沉淀至培养皿内, 60° 烘箱2h, 105° 4h 烘干后置干燥器保存。

热水浸提



多糖析出



除蛋白



脱色

多糖析出



脱水干燥

注意事项：

1. 同时离心的两个配对的样品必须用**托盘天平**平衡重量；
2. 使用有机试剂时要注意通风。

思考题：

1. 如何判断多糖中的蛋白质是否已经被除净？
2. 脱水干燥的步骤中，乙醇、丙酮和乙醚的顺序能不能改变？为什么？

• 参考文献:

1. 徐翠莲, 杜琳茹等. 多糖的提取、分离纯化及分析鉴定方法研究. *河南科学*, 2009, 27: 1524-1529。
2. 汪东风, 谢晓凤等. 茶多糖的组分及理化性质. *茶叶科学*, 1996, 16: 1-8.
3. 崔宏春, 于继忠等. 茶多糖的提取及分离纯化研究进展. *茶叶*, 2011, 37(2), 67-71.



离心机的使用 Centrifuge





(1) 离心机要置**水平**位置，以保证**旋转轴垂直地球水平面**。

(2) **样品倾入离心杯后应与离心管套一起两两平衡，平衡后把它们放置于转子的对称位置。**

加入的液体体积不能超过杯体的2/3。

(3) 盖好盖子，打开**电源开关**，调整离心时间和离心速度。

(4) 启动离心后**等转速达到所要求的转速后**才能离开(一般要2~3min)。

(6) 离心结束后要等到转速为零时才能打开离心机盖，取出样品。

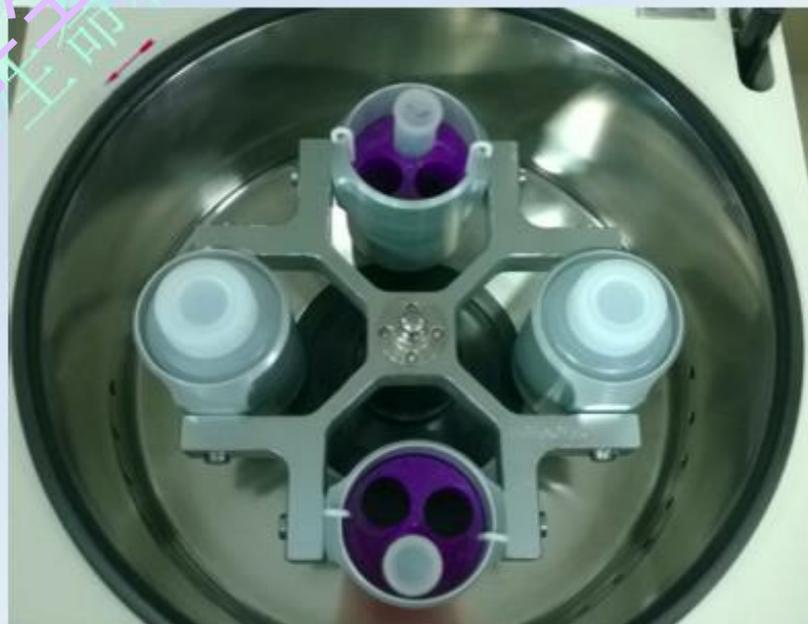
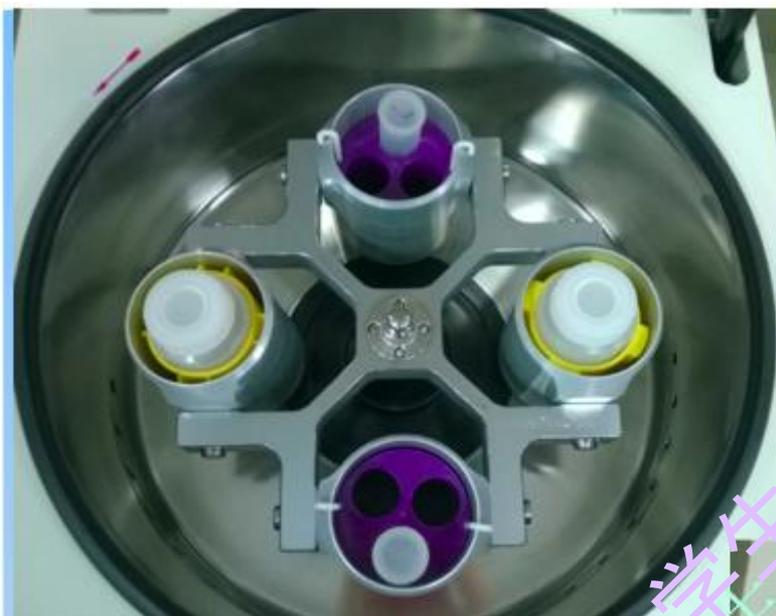


厦门大学生命科学学院 2016级 生物化学实验



廈門大學生命科學學院

厦门大学生命科学学院 2016级 生物化学实验



厦门大学生命科学学院

下周实验：

茶多糖的红外光谱测定

厦门大学生命科学学院