

# 仙人掌多糖提取纯化及其抗凝血活性研究

蔡为荣<sup>1</sup>, 顾小红<sup>2,3</sup>, 汤坚<sup>2,3,\*</sup>

(1.安徽工程科技学院生化工程系, 安徽 芜湖 241000; 2.江南大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122; 3.江南大学测试中心, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 对仙人掌多糖的提取、纯化及其抗凝血活性进行研究, 并采用响应面分析法对提取工艺进行优化。结果表明: 曲面回归方程拟合性好; 优化工艺为提取温度 75℃、提取时间 3.63h, 液料比 3.42:1(mL/g), 提取 2 次, 粗多糖得率为 0.655%(湿基); 粗多糖经阴离子琼脂糖离子交换层析和凝胶层析分离纯化共得到 3 个多糖组分 WSP1、WSP2a 和 WSP3, 重均分子量分别为  $2.32 \times 10^6$ 、 $1.24 \times 10^6$  和  $7.92 \times 10^6$ 。对氨基苯甲酸(PMP)衍生化高效液相色谱法检测表明: WSP1 主要成分为半乳糖; WSP2a 由鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸组成, 含量(质量分数)分别为 6.3%、32.3%、12.9%、1.5%、4.8%、37.1%、0.7%、4.4%; WSP3 成分主要有阿拉伯糖、半乳糖和木糖以及少量鼠李糖、甘露糖、糖醛酸。纤维蛋白原转化纤维蛋白的抑制实验初步表明, 仙人掌多糖组分 WSP2a 和 WSP3 具有抗凝血活性。

**关键词:** 米邦塔仙人掌; 多糖; 提取; 纯化; 抗凝血

## Extraction, Purification and Anticoagulant Activity of Polysaccharides from *Opuntia milpa alta*

CAI Wei-rong<sup>1</sup>, GU Xiao-hong<sup>2,3</sup>, TANG Jian<sup>2,3,\*</sup>

(1. Department of Biochemistry Engineering, Anhui University of Science and Technology, Wuhu 241000, China;  
2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;  
3. Testing and Analysis Center, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** *Opuntia milpa alta* was used as raw material to extract active polysaccharides by hot water extraction. Extracted *Opuntia milpa alta* polysaccharides were purified/fractionated by DEAE-Sepharose CL-6B and Sepharose CL-6B chromatography to obtain fractions WSP1 and WSP3 and subfraction from fraction WSP2 WSP2a. Response surface analysis based on central composite design was employed to examine effects of extraction temperature and time and liquid/material ratio on *Opuntia milpa alta* polysaccharide extraction. Besides, WSP1, WSP3 and WSP2a were analyzed for monosaccharide composition and anticoagulant activity. Results showed that two-time extraction for 3.63 h each time at 75 °C and a liquid/material ratio of 3.42 mL/g gave an optimal crude *Opuntia milpa alta* polysaccharide yield, reaching up to 0.655% (calculated on the basis of wet weight). WSP1, WSP3 and WSP2a exhibited weight average molecular weights of  $2.32 \times 10^6$ ,  $1.24 \times 10^6$  and  $7.92 \times 10^6$ , respectively. The predominant monosaccharide in WSP1 was galactose. WSP2a consisted of 6.3% of rhamnose, 32.3% of arabinose, 12.9% of xylose, 1.5% of mannose, 4.8% of glucose, 37.1% of galactose, 0.7% of glucuronic acid and 4.4% of galacturonic acid. The monosaccharide composition of WSP3 mainly consisted of arabinose, xylose, rhamnose and trace of glucose, mannose and uronic acid. WSP2a and WSP3 showed obvious anticoagulant activity.

**Key words:** *Opuntia milpa alta*; polysaccharide; extraction; purification; anticoagulation

中图分类号: Q946.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)06-0131-06

随着人民生活水平的提高和饮食结构的改变, 血液高凝及其引发的血栓性疾病已日益危害人们健康<sup>[1]</sup>。肝素多糖已在血栓性疾病治疗中发挥相当重要的作用, 但

易引起出血、高血钾症等副作用<sup>[2]</sup>, 从天然产物中寻找抗凝血活性成分, 或将其主结构作为先导化合物进而研发新药, 开发功能性食品, 具有毒性小、研发费用低、

收稿日期: 2009-09-12

基金项目: 教育部国际合作项目(教外司美 2008103)

作者简介: 蔡为荣(1963—), 男, 副教授, 博士, 主要从事天然产物功能因子研究。E-mail: weirongcai0781@sina.com

\*通信作者: 汤坚(1945—), 男, 教授, 学士, 主要从事食品功能因子检测与食品风味化学研究。E-mail: guxh@sytu.edu.cn

周期短和全民保健的优势<sup>[3]</sup>。

米邦塔仙人掌(*Opuntia milpa alta*)系墨西哥农业专家经过多年选种、培育出来的以菜用为主的仙人掌。1997年,农业部从墨西哥引入该植物,现在北京、上海、安徽、山东、黑龙江、浙江、江苏、海南、河北、河南、内蒙古、山西、宁夏等地均建有较大规模的生产基地,种植面积约2万多亩,年产量达16万吨<sup>[4]</sup>。研究表明,仙人掌多糖具有降血糖<sup>[5]</sup>、抗溃疡作用<sup>[6]</sup>、辅助降血脂<sup>[7]</sup>、抗病毒<sup>[8]</sup>等活性,其药用或保健功能越来越引起人们的关注。国内侧重仙人掌干粉中多糖的提取研究<sup>[9-10]</sup>,而黏液质(mucilage)和黏液质多糖是仙人掌重要特征之一,对含黏液质仙人掌多糖的组分分离、单糖成分及糖醛酸含量的研究相对较少,其抗凝血功能未见报道。

本实验选择米邦塔仙人掌为研究对象,采用响应面法优化多糖提取工艺,分离纯化各多糖组分,研究其单糖组成和重均分子量分布,并对多糖组分抗凝血活性进行了初步研究,旨在为仙人掌多糖资源优化和深度开发提供试验科学依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

米邦塔食用仙人掌 上海林辉生物科技有限公司。  
衍生化试剂 1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮(PMP, 纯度99%) 美国 Acros Organics 公司; 单糖标准品: 甘露糖(Man)、半乳糖(Gal)、鼠李糖(Rham)、阿拉伯糖(Ara)、木糖(Xyl)、葡萄糖(Glc)、葡萄糖醛酸(GlcUA)、半乳糖醛酸(GalUA)、纤维蛋白原 Sigma 公司; 凝血酶 美国 Instrumentation Laboratory 公司; 乙睛(色谱级); 无水乙醇、95%乙醇溶液、丙酮、浓硫酸、苯酚等(均为分析纯)。

### 1.2 仪器与设备

721 分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;  
TDL240B 高速离心机 湘仪离心机仪器有限公司; Waters 600 高效液相色谱仪 美国 Waters 公司;  
SPECTRAMax PLUS384型酶标仪 美国 Molecular Device 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 仙人掌多糖的提取

取新鲜仙人掌,除刺去皮后用清水洗净,切成2mm细丝,用80%乙醇溶液浸泡提取3次,除去脂溶性物质。残渣挥发干乙醇,粉碎过200目筛,得仙人掌粉末。取一定量仙人掌粉末在不同浸提条件下二次提取,合并水提取液,减压浓缩,Sevag法去蛋白,加入4倍体积95%乙醇溶液,产生大量白色沉淀,离心收集沉淀。无水乙醇、丙酮、无水乙醚各淋洗二次,真空干燥得粗多糖(图1)。

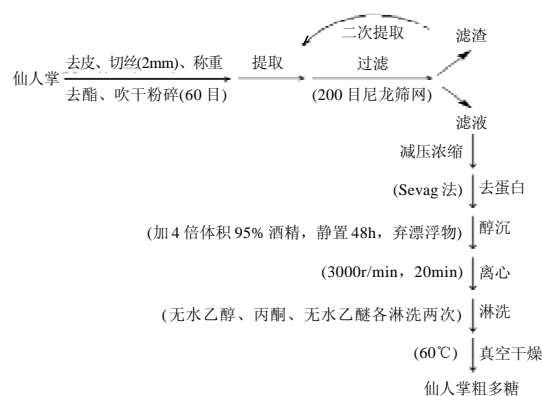


图1 仙人掌粗多糖提取流程图

Fig.1 Schematic diagram of extraction of process of *Opuntia milpa alta* polysaccharides

#### 1.3.2 响应面分析因素水平的选取

根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理<sup>[11]</sup>,综合单因素影响试验结果,选取提取温度( $X_1$ )、提取时间( $X_2$ )、液料比( $X_3$ )等多糖浸提影响较为显著的3个因素,在单因子试验的基础上采用三因素三水平的响应面分析方法,试验因素与水平设计见表1。

表1 响应面分析因素与水平  
Table 1 Variables and levels in central composition design

水平	因素		
	$X_1/^\circ\text{C}$	$X_2/\text{h}$	$X_3(\text{mL/g})$
-1	70	2	2:1
0	80	3	3:1
1	90	4	4:1

#### 1.3.3 仙人掌多糖分级纯化及纯度鉴定

取仙人掌粗多糖500mg,溶于去离子水,离心(10000r/min, 20min)除去不溶物,溶液上DEAE-Sepharose CL-6B柱(26mm × 300cm),先用0.05mol/L磷酸盐缓冲液(pH5.9)、再加0~1.8mol/L NaCl溶液梯度洗脱。分步收集器收集(6mL/min, 10mL/管),逐管检测多糖含量,分别收集各单一峰组分,透析脱盐后,冻干。高效凝胶过滤色谱法(HPGPC)进行纯度鉴定<sup>[12]</sup>。不纯组分进一步上 Sepharose CL-6B 柱(16mm × 100cm),0.2mol/L NaCl溶液洗脱。分步收集器收集(40mL/h, 10mL/管),逐管检测多酚含量,分别收集单一峰组分,透析脱盐后,冷干。再 HPGPC 检测纯度和重均分子量。

#### 1.3.4 多糖得率的测定

改良苯酚-硫酸法<sup>[13]</sup>,葡萄糖作标样。

$$\text{粗多糖得率}/\% = \frac{\text{多糖质量}}{\text{仙人掌粉质量}} \times 100$$

1.3.5 单糖组成分析

对氨基苯甲酸衍生化高效液相色谱法<sup>[14]</sup>, 色谱条件: ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(250mm × 4.6mm, 5 μm); 流动相: 0.1mol/L 磷酸盐(pH6.7)缓冲液-乙腈(83:17, V/V); 柱温: 30℃, 检测波长: 250nm; 流速: 1mL/min; 进样体积: 20 μL。

1.3.6 纤维蛋白原转化纤维蛋白抑制率测定

准确称取纤维蛋白原(fibrinogen)、凝血酶(thrombin)和多糖样品, 溶于pH7.2缓冲液(0.05mol/L Tris-HCl溶液, 0.12mmol/L NaCl溶液), 使纤维蛋白原质量浓度为0.1g/100mL, 多糖组分质量浓度为1mg/mL, 凝血酶质量浓度为0.125g/100mL。在96孔微平板的小孔中分别加入140 μL纤维蛋白原、40 μL多糖、5 μL凝血酶, 混合, 37℃预热2min, 在405nm波长处测吸光度, 每孔设置一个空白对照孔, 用缓冲液代替凝血酶作为空白对照。以时间为横坐标, 纤维蛋白原转化纤维蛋白体系的吸光度(405nm)为纵坐标作图。体系吸光度稳定后(10min)后取值, 样品对纤维蛋白原转化抑制率Y按下式计算<sup>[15]</sup>:

$$Y\% = \frac{A_e - A_i}{A_e - A_0} \times 100$$

式中: A<sub>e</sub>为无抑制剂体系吸光度; A<sub>i</sub>为加多糖后体系吸光度; A<sub>0</sub>为含pH7.2缓冲液体系吸光度。

2 结果与分析

2.1 仙人掌多糖的提取

表2 响应面分析方案及试验结果

Table 2 Central composition design matrix and corresponding response values of *Opuntia milpa* alta polysaccharaide extraction yield

试验号	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Y/%
1	-1	-1	0	4.68
2	1	-1	0	6.01
3	-1	1	0	5.54
4	1	1	0	6.46
5	-1	0	-1	4.88
6	1	0	-1	5.63
7	-1	0	1	5.22
8	1	0	1	6.46
9	0	-1	-1	5.18
10	0	1	-1	6.11
11	0	-1	1	6.01
12	0	1	1	6.37
13	0	0	0	6.47
14	0	0	0	6.46
15	0	0	0	6.41
16	0	0	0	6.38
17	0	0	0	6.22

影响提取工艺的主要因素为提取温度(X<sub>1</sub>)、提取时间(X<sub>2</sub>)、液料比(X<sub>3</sub>), 对三因素进行二次回归设计试验和分析, 以粗多糖得率为响应值, 试验采用Box-Behnken设计, 设计方案和试验结果见表2。

试验号1~12是析因试验, 试验号13~17是中心试验, 17个试验点分为析因点和零点, 其中析因点为自变量取值在X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、X<sub>3</sub>所构成的三维顶点零点为区域的中心点, 零点试验重复5次, 用以估计试验误差。采用Design-expert的ANOVA程序对所得数据进行方程拟合和回归分析如表3所示。

表3 回归方程多项式拟合与分析

Table 3 Analysis of variance for developed regression equation describing *Opuntia milpa* alta polysaccharaide extraction yield as a function of various extraction conditions

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	5.808	9	0.645	90.38	< 0.0001	***
X <sub>1</sub>	2.247	1	2.247	314.73	< 0.0001	***
X <sub>2</sub>	0.845	1	0.845	118.35	< 0.0001	***
X <sub>3</sub>	0.638	1	0.638	89.42	< 0.0001	***
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.042	1	0.042	5.89	0.0457	*
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.060	1	0.060	8.41	0.0230	*
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.081	1	0.081	11.38	0.0119	*
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1.240	1	1.240	173.72	< 0.0001	***
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.126	1	0.126	17.60	0.0041	**
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.373	1	0.373	52.28	0.0002	***
残差	0.050	7	0.007			
失拟	0.009	3	0.003	0.30	0.8217	
误差	0.041	4	0.010			
总回归	5.858	16				

复相关系数平方(R<sup>2</sup>): 0.9908 修正相关系数平方(R<sup>2</sup><sub>adj</sub>): 0.9785

注: \*.显著性水平10%; \*\*.显著性水平5%; \*\*\*.显著性水平1%。

从表3可看出, 多糖得率回归方程的失拟项检验F=0.3 < F<sub>0.10(3, 7)</sub> = 5.27, 表示失拟项不显著; 方程模型显著性检验F = 90.38 > F<sub>0.01(9, 7)</sub> = 5.61, 表示方程高度显著; 从回归方程各项方差检验可看出, 方程的一次项的影响均极显著, 交互项影响显著, 二次项显著性参差不齐; 模型的修正相关系数平方为0.9785, 说明该模型能反映97.85%响应值的变化, 试验误差小, 因而该模型拟合程度较好。拟合后, 回归方程为

$$Y = 6.39 + 0.53X_1 + 0.33X_2 + 0.28X_3 - 0.10X_1X_2 + 0.12X_1X_3 - 0.14X_2X_3 - 0.54X_1^2 - 0.17X_2^2 - 0.30X_3^2$$

多糖得率三维响应面如图2所示, 从中可清楚地观察到各因素对提取得率的影响, 以及各因素之间的交互作用。提取温度(X<sub>1</sub>)对仙人掌多糖提取的影响最为显著, 表现为曲面较陡; 而提取时间(X<sub>2</sub>)与液料比(X<sub>3</sub>)次之, 表现为曲面稍为平坦, 且随其数值的增加, 响应值趋向较大值。

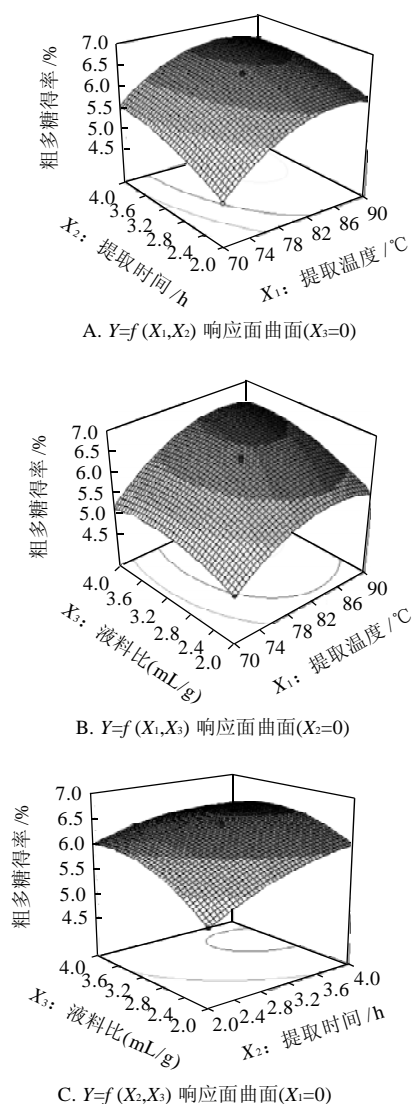


图2 仙人掌多糖提取的响应曲面图

Fig.2 Three-dimensional response surface plot showing the interactive effects of various extraction conditions on *Opuntia milpa alta* polysaccharide extraction yield

对回归方程取一阶偏导数并令其等于零, 整理得  $X_1=0.497$ 、 $X_2=-0.629$ 、 $X_3=0.416$ ,  $Y=0.659\%$ , 即提取仙人掌多糖的最佳条件为提取温度  $75^\circ\text{C}$ 、提取时间  $3.63\text{h}$ 、液料比  $3.42:1(\text{mL/g})$  时, 粗多糖得率理论值可达  $6.59\%$ 。以新鲜仙人掌原料计, 仙人掌粗多糖得率  $0.655\%$ (湿基)。在这个最优条件下进行了 5 批实验, 实际测得的粗多糖得率平均值为  $0.655\%$ (湿基), 相对标准偏差(RSD)为  $0.61\%$ 。表明响应面法优化可较好地用于仙人掌多糖提取工艺的优化。

## 2.2 多糖的组分纯化及各组分单糖成分的分析

通常多糖、蛋白质等均是具有不同电荷量的生物大分子混合物, 而离子交换层析可以依据离子交换剂对各种离子或离子化合物结合力的不同, 分离纯化电荷不同

的生物大分子。经多次实验, 选出 1.33 节条件, 仙人掌粗多糖(Crude polysaccharide, CP)经 DEAE Sepharose CL-6B 纯化后得到 3 个组分的水溶性多糖(water-soluble polysaccharides, WSP)WSP1、WSP2、WSP3(图 3A), 三者经透析、冻干、称重, 计算出在粗多糖中的含量分别为  $11.59\%$ 、 $45.21\%$  和  $20.48\%$ , 总回收率为  $77.3\%$ , 表明仙人掌茎中至少有 3 种多糖<sup>[16]</sup>。WSP1 直接由  $0.05\text{mol/L}$  磷酸盐缓冲液( $\text{pH}5.9$ )洗脱获得, 可知此组分为中性多糖<sup>[17]</sup>; DEAE-Sepharose CL-6B 系在  $\text{pH}2\sim 12$  稳定的、弱、阴离子琼脂糖离子交换树脂, 兼有体积排阻效应。WSP2 与 WSP3 由  $0\sim 1.8\text{mol/L}$  NaCl 溶液在其上梯度洗脱获得, 提示 WSP2、WSP3 的电荷性及多糖大小有所差异。

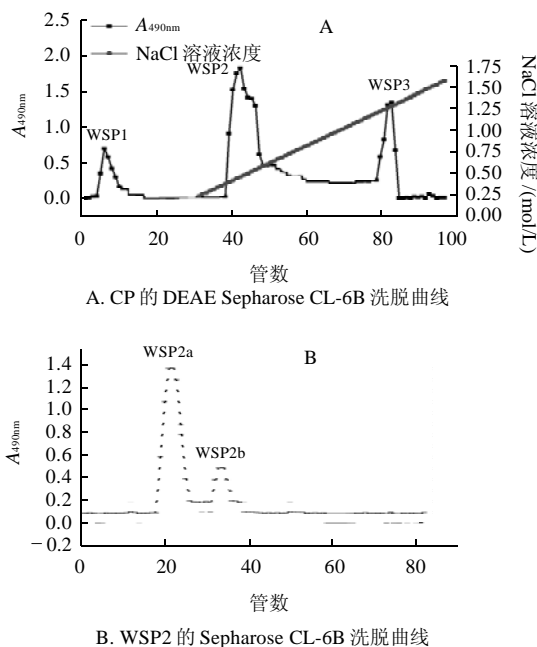


图3 仙人掌粗多糖的 DEAE Sepharose CL-6B 和组分 WSP2 的 Sepharose CL-6B 的洗脱曲线

Fig.3 Elution profiles of crude *Opuntia milpa alta* polysaccharides on DEAE-Sepharose CL-6B column and WSP2 on Sepharose CL-6B column

分子筛原理是 HPGPC 测定多糖或糖复合物重均分子量的根据, 多糖或糖复合物的重均分子量( $M_w$ )与其在凝胶柱上的洗脱体积  $V_e$  与分配系数  $K$  之间存在  $V_e=V_0+KV_i$ 、 $\ln M_w=A-BV_e$  的关系( $V_0$ 、 $V_i$  分别为流动相在颗粒间与颗粒内体积,  $A$ 、 $B$  为常数), 经系列葡聚糖标准品和 Empower 色谱工作站处理得到相对分子量与洗脱体积  $V_e$  及保留时间相关的标准曲线, 用于多糖的均一性和重均分子量的检测<sup>[18-19]</sup>。HPGPC 结果(图 3)显示, WSP1、WSP3 重均分子量分别为  $2.32 \times 10^6$  和  $7.92 \times 10^6$ , 与 Majdoub 报道相近<sup>[20]</sup>。WSP2 纯度不高, 再经 Sepharose CL-6B 纯化后得二个亚组分 WSP2a、WSP2b(图 3B),

重均分子量分别为  $1.24 \times 10^6$ 、5979，两者经透析、冻干、称重，计算得出分别为 WSP2 进糖量的 56.82% 和 14.35%，回收率为 71.2%。后者(量少, HPGPC 图未列)可能为多糖-蛋白质复合物中结合力较弱的蛋白质成分<sup>[20-21]</sup>。经计算，仙人掌粗多糖中 WSP2a 含量为  $45.21\% \times 56.82\% = 25.68\%$ 。

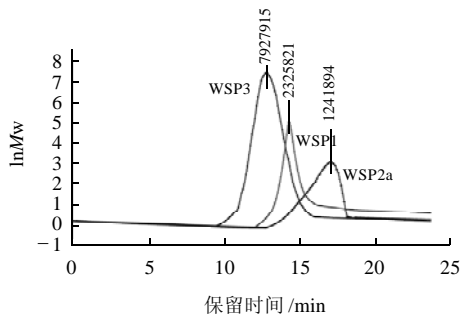


图4 WSP1、WSP3、WSP2a 的高效凝胶色谱图  
Fig.4 HPGPC chromatograms of WSP1, WSP3 and WSP2a

WSP1、WSP3、WSP2a 3 组分多糖经 PMP 衍生化后，按 1.3.5 节方法进行 HPLC 分析可知(表 4)，三组分的单糖成分主要为阿拉伯糖、半乳糖和木糖；WSP1 主要成分半乳糖，其中阿拉伯糖与木糖含量相接近，与 Majdoub 等<sup>[21]</sup>报道一致；WSP3、WSP2a 与 WSP1 不同，为酸性多糖；其中半乳糖与阿拉伯糖的含量比值为 1.15~1.07，与 Matsuhira 等<sup>[22]</sup>研究相近。仙人掌多糖组分含量(质量分数)差异可能与其提取技术、多糖纯度，仙人掌地域、年龄及采摘季节等因素有关。其中 WSP2a 中糖醛酸含量(4.4%)最高。

表 4 WSP1, WSP2a 和 WSP3 的单糖成分及含量  
Table 4 Monosaccharide composition of WSP1, WSP2a and WSP3

组分	鼠李糖	阿拉伯糖	木糖	甘露糖	葡萄糖	半乳糖	葡萄糖醛酸	半乳糖醛酸
WSP1	3.3	13.7	10.7	4.7	9.1	58.5	—	—
WSP2a	6.3	32.3	12.9	1.5	4.8	37.1	0.7	4.4
WSP3	2.5	34.0	12.6	5.2	7.7	36.3	0.5	1.2

注：—为未检出。

### 2.3 多糖对纤维蛋白原转化纤维蛋白的影响

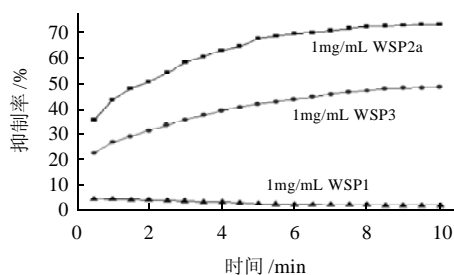


图5 WSP1, WSP2a 和 WSP3 对纤维蛋白原转化为纤维蛋白的抑制曲线  
Fig.5 Inhibitory curves of WSP1, WSP3 and WSP2a against transformation of fibrinogen to fibrin

“瀑布学说”阐述了血液凝固通过两条途径、三个阶段来完成，即内源性和外源性两条途径，凝血酶原激活物的形成、凝血酶原激活变成凝血酶、纤维蛋白原转化为凝胶状的纤维蛋白三个阶段<sup>[23-24]</sup>。纤维蛋白原转化纤维蛋白是内源性和外源性途径共有的最后一步作用过程，纤维蛋白交联进而生成血栓。图 5 显示，在多糖组分质量浓度为 1mg/mL、凝血酶作用纤维蛋白原转化体系 10min 时，WSP2a、WSP3 和 WSP1 对纤维蛋白原转化纤维蛋白的抑制趋于稳定，抑制率分别为 73.3%、48.5% 和 2.2%。显示 WSP2a 具有较强的抗凝血活性。

从表 4 和图 5 可知，WSP3 和 WSP2a 单糖组成与比例不同，糖醛酸含量有较大差别；糖醛酸含量高者，抑制纤维蛋白原转化纤维蛋白的活性越高。非硫酸基植物多糖抗凝血活性与糖醛酸含量有很大关系，糖醛酸还原后，其相应的生物学活性很低<sup>[25-26]</sup>。因此下一步的工作是进一步研究 WSP3 和 WSP2a 抗凝血活性的作用机制，如对血小板聚结的影响，对凝血内外途径的影响，以及多糖的功效与结构关系，为众多的非硫酸基植物多糖抗凝血活性和仙人掌功能产品研究提供有益参考。

### 3 结论

3.1 本实验利用响应面法的 Box-Behnken 设计对仙人掌多糖的提取工艺进行了优化，方差分析表明拟合较好。优化后的工艺为提取温度 75℃、提取时间 3.63h，液料比 3.42:1(mL/g)。在此条件下提取 2 次，仙人掌粗多糖得率 0.655%(湿基)。

3.2 提取的粗多糖用 DEAE Sepharose CL-6B 阴离子琼脂糖离子交换层析和 Sepharose CL-6B 凝胶层析分离纯化，磷酸盐缓冲液与 NaCl 溶液梯度洗脱，透析脱盐，冻干，得到 WSP1, WSP2a 和 WSP3 三个组分多糖，重均分子量分别为  $2.32 \times 10^6$ 、 $1.24 \times 10^6$  和  $7.92 \times 10^6$ ，三者粗多糖中的含量分别为 11.59%、25.68% 和 20.48%。

3.3 采用对氨基苯甲酸衍生化高效液相色谱法对 3 个组分的单糖组成进行了研究，结果表明，WSP1 主要成分为半乳糖；WSP2a 与 WSP3 由阿拉伯糖、半乳糖和木糖、鼠李糖、甘露糖、葡萄糖和糖醛酸组成。

3.4 纤维蛋白原转化纤维蛋白体系浊度实验结果表明，组分 WSP2a 与 WSP3 具有抑制纤维蛋白原转化纤维蛋白的活性，质量浓度为 1mg/mL 时抑制率分别为 73.3% 和 48.5%，初步显示仙人掌多糖 WSP2a 与 WSP3 具有抗凝血活性。

### 参考文献:

[1] 王有国. 血粘导致脑梗阻[J]. 中国心血管病研究杂志, 2001(2): 19-20.  
[2] THOMAS D P. Does low molecular weight heparin cause less bleeding

- [J]. Thromb Haemost, 1997, 78: 1422-1425.
- [3] 周永国, 杨越冬, 王树元. 天然活性多糖在生物医药领域中的研究进展[J]. 高分子通报, 2006(9): 16-23.
- [4] 季慧. “米邦塔”仙人掌成分分析及产品开发[D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- [5] TREJO GONZLEZ A, GABRIEL-ORTIZ G, PUEBLA-PEREZ A M. A purified extract from prickly pear cactus (*Opuntia fuliginosa*) controls experimentally induced diabetes in rats[J]. Ethnopharmacol, 1996, 55(1): 27-33.
- [6] GALATI E M, MONFORTE M T, TRIPODO M M. Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill.(Cactaceae): ultrastructural study[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2001, 76(1): 1-9.
- [7] FERNANDEZ M L, VEGA S, AYALA M T, et al. Pectin Isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs[J]. Journal of Nutrition, 1990, 120: 1283-1290.
- [8] AHAMD A, DAVIES J, RANDALL S, et al. Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*[J]. Antiviral Research, 1996, 30: 75-85.
- [9] 方涛, 褚翠翠, 陆宁. 食用仙人掌功能性成分研究进展[J]. 食品与机械, 2007, 23(1): 148-154.
- [10] 蒋长明, 唐孟忠, 刘树兴. 仙人掌多糖提取工艺的研究[J]. 农产品加工: 学刊, 2009, 175(6): 72-79.
- [11] 张驰. 六西格玛试验设计[M]. 广州: 广东经济出版社, 2003: 296-315.
- [12] 钦传光, 黄开勋, 徐辉碧. 凝胶过滤色谱法测定泥鳅多糖的组成及分子量[J]. 分析化学, 2002, 30(4): 411-413.
- [13] 董群, 郑丽伊, 方积年. 改良的苯酚-硫酸法测定多糖和寡糖含量的研究[J]. 中国药理学杂志, 1996(9): 155-158.
- [14] YANG Xingbin, ZHAO Yan, WANG Qingwei, et al. Analysis of the monosaccharide components in *Angelica* polysaccharides by high performance liquid chromatography[J]. Analytical science, 2005, 21: 1177-1180.
- [15] YAN Wangen, WANG Zhang, XU Shiyong. A new method for determination of antithrombotic activity of egg white protein hydrolysate by microplate reader[J]. Chinese Chemical Letter, 2007(18): 449-451.
- [16] MATSUHIRO B, LILLO L E, SAENZ, C et al. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 63: 263-267
- [17] CAI Weirong, GU Xiaohong, TANG Jian. Extraction, purification and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*[J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 71: 403-415.
- [18] 聂少平, 谢明勇, 申明月. 应用高效液相色谱法测定茶叶多糖[J]. 食品科学, 2006, 27(4): 177-181.
- [19] DAWKINS J V. High performance gel permeation chromatography of polymers[J]. Pure and Applied Chemistry, 1982, 54(2): 282-292.
- [20] MAJDOUB H, ROUDES LI S, PICTON L, et al. Prickly pear nopal pectin's from *Opuntia ficus indica* physico-chemical study in dilute and semi-dilute solutions[J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 46: 69-79.
- [21] MAJDOUB H, ROUDES LI S, DERATANI A, et al. Polysaccharides from prickly pear peel and nopsals of *Opuntia ficus indica*: extraction, characterization and polyelectrolyte behaviour[J]. Polymer International, 2001, 50: 552-560
- [22] MATSUHIRO B, LILLO L E, SAENZ C, et al. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 63(2): 263-267.
- [23] DAVID E W, RARNOFF O D. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting[J]. Science, 1964, 145(18): 1310-1312.
- [24] MACFARLANE R G. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier[J]. Nature, 1964, 202: 498-499.
- [25] YOON S J, PEREIRA M S, HWANG J K, et al. The medicinal plant *Porana volubilis* contains polysaccharides with anticoagulant activity mediated by heparin cofactor II[J]. Thrombosis Research, 2002, 106(1): 51-58.
- [26] YOON S J, YU M A, PYUN Y R, et al. The nontoxic mushroom *Auricularia auricula* contains a polysaccharide with anticoagulant activity mediated by antithrombin[J]. Thrombosis Research, 2003, 112(3): 151-158.