**Polymerization**
Quarterly, 2018
Volume 8, Number 1
Pages 57-68
ISSN: 2252-0449

# Isolation, Purification and Characterization of Non-cellulosic Water-soluble Polysaccharides: A Review

Maryam Ahang[1], Ali Abbasian[1*], and Kambiz Jahanbin[2]
1. Department of Polymer Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O. Box: 14515-775, Tehran, Iran
2. Department of Food Science and Technology, School of Agricultural Engineering, Shahrood University of Technology, P.O. Box: 316, Shahrood, Iran

Received: 27 April 2017, Accepted: 2 August 2017

## Abstract

Nowadays, finding biopolymers with desirable properties for wide industrial applications is one of the important issues to research around the world. Polysaccharides are the biopolymers which have a variety of applications in different industries and in the field of medicine. Abundance, biodegradability, renewability and being natural make them appropriate materials to replace some of petroleum-based products and to be used for the applications requiring biocompatibility. Due to their structural variations in nature, polysaccharides' properties are immense. In order to explain and improve the properties, structural characterization of polysaccharides is necessary and is of interest for the researchers nowadays. Because of structural varieties of non-cellulosic water-soluble polysaccharides, identification of the polysaccharides' structure for finding their medical properties is also of importance in the research studies. The first step in structural characterization of water-soluble polysaccharide is to isolate and purify the polysaccharide, as various sources of polysaccharides made by plants, animals and bacteria have different impurities. Every non-polysaccharide material in the samples requires specific method to be isolated. Different method and tools exist to characterize the chemical structure of these biopolymers. This review introduces the common methods and tests used for isolation, purification and structural characterization of the water-soluble polysaccharides.

## Key Words

**biopolymer, polysaccharide, isolation, purification, structural characterization**

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: abbasian.a@srbiau.ac.ir

مقالات علمی

بسپارش
فصلنامه علمی- ترویجی
سال هشتم، شماره ۱،
صفحه ۶۸-۵۷، ۱۳۹۷
ISSN: 2252-0449

# مروری بر جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی پلی‌ساکاریدهای غیرسلولوزی محلول در آب

مریم آهنگ[۱]، علی عباسیان[۱*]، کامبیز جهان‌بین[۲]

۱- تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه مهندسی پلیمر، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵

۲- شاهرود، دانشگاه صنعتی شاهرود، دانشکده مهندسی کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، صندوق پستی: ۳۱۶

دریافت: ۱۳۹۶/۲/۷، پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۱۱

## چکیده

امروزه یافتن پلیمرهای طبیعی با خواص مطلوب برای استفاده در صنعت از محورهای مهم پژوهش‌ها در دنیاست. پلی‌ساکاریدها یکی از انواع پلیمرهای طبیعی هستند که کاربردهای گوناگونی در صنایع مختلف و همچنین در زمینه دارویی دارند. به علت فراوانی، زیست‌تخریب‌پذیری، طبیعی‌بودن و تجدیدپذیری، گزینه مناسبی برای جایگزینی برخی از مواد پایه‌نفتی و کاربردهای نیازمند زیست‌سازگاری مطلوب هستند. تنوع ساختاری بسیار زیاد پلی‌ساکاریدها در طبیعت سبب ایجاد طیف وسیعی از خواص گوناگون شده است. بدین دلیل، شناسایی ساختار پلی‌ساکاریدها برای توجیه و بهبود خواص آن‌ها لازم است و یکی از علوم مورد توجه پژوهشگران در عصر حاضر قلمداد می‌شود. شناسایی ساختار پلی‌ساکاریدهای غیرسلولوزی محلول در آب، به‌دلیل تنوع ساختاری بسیار زیاد و نیز برای تعیین خواص و آثار دارویی آن‌ها به‌طور گسترده در پژوهش‌ها و مقالات سراسر دنیا انجام می‌شود. قدم اول برای شناسایی ساختار پلی‌ساکاریدها خالص‌سازی و جداسازی آن‌ها از هر گونه ناخالصی دیگر درون بافت طبیعی است. زیرا، پلی‌ساکاریدها در طبیعت توسط گیاهان، جانوران و باکتری‌ها تولید می‌شوند و در کنار سایر ناخالصی‌ها قرار دارند که هر کدام نیازمند روش خاصی برای جداسازی هستند. در این مقاله، انواع روش‌ها و آزمون‌های متداول استفاده شده برای جداسازی و خالص‌سازی پلی‌ساکاریدهای محلول در آب و شناسایی ساختار آن‌ها مرور شده‌اند.

مریم آهنگ

علی عباسیان

کامبیز جهان‌بین

## واژگان کلیدی

زیست‌پلیمر،
پلی‌ساکارید،
جداسازی،
خالص‌سازی،
شناسایی ساختار

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:
abbasian.a@srbiau.ac.ir

## مقدمه

امروزه، با توجه به ملاحظات زیست‌محیطی یافتن جایگزینی با منشأ طبیعی برای پلیمرهای نفتی اهمیت پیدا کرده است. پلیمرهای جایگزین باید از نظر قیمت و خواص توان رقابت با پلیمرهای پایه نفتی را داشته باشند [۱]. در میان انواع پلیمرهای طبیعی، پلی‌ساکاریدها توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند، زیرا موادی غیرسمی، زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار هستند و به وفور از منابع تجدیدپذیر در طبیعت تهیه می‌شوند. این دسته از پلیمرهای زیستی، در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، دارویی و سوخت‌های زیستی کاربرد دارند [۲]. برخی از پلی‌ساکاریدها از نظر دارویی ضدسرطان و ضدمیکروب بوده و دارای خاصیت پاداکسندگی هستند. هر نوعِ خاصی از پلی‌ساکارید می‌تواند نوعی سلول سرطانی را از رشدِ بازدارد [۳]. پلی‌ساکاریدهایی نظیر گلوکومانان، به‌دلیل داشتن قابلیت ژل‌شدن و زیست‌تخریب‌پذیری به‌طور گسترده در دارورسانی برای ساخت کپسول‌ها استفاده می‌شوند. بعضی از پلی‌ساکاریدها نیز قابلیت تشکیل فیلم دارند. به‌عنوان مثال، تا کنون فیلم‌های ترانما به‌صورت آمیزه‌ای از گلوکومانان با کیتوسان، سلولوز، ژلاتین، پلی‌آکریل‌آمید و غیره ساخته شده‌اند [۴]. در صنعت نیز پلی‌ساکاریدهایی نظیر نشاسته به‌عنوان پرکننده در لاستیک و پلاستیک [۵] یا به‌عنوان چسب طبیعی به‌منظور استفاده در کاغذ و مقوا و بسته‌بندی فراوری می‌شوند.

نکته مهم در رویارویی با پلیمرهای طبیعی آن است که با توجه به منبع استحصال، پلی‌ساکاریدهای با ساختارهای گوناگون و در نتیجه خواص متفاوت به‌دست می‌آیند. برای مثال، فعالیت زیستی پلی‌ساکاریدها به خواص فیزیکی-شیمیایی از جمله وزن مولکولی و نوع تک‌ساکاریدها بستگی دارد. تشخیص ساختار پلی‌ساکاریدِ به‌دست آمده، قطبیت، شاخه‌ها، طول زنجیر و وزن مولکولی برای استفاده صنعتی بسیار حائز اهمیت است [۶]. برای دست‌یابی به ساختار پلی‌ساکارید، دانستن نوع تک‌ساکاریدهای سازنده و اتصال گلیکوزیدی، محل شاخه‌ها و وزن مولکولی لازم است. در پژوهش‌ها، بررسی ساختار پلی‌ساکارید با چنین دقتی برای پلی‌ساکاریدهایی با ساختار نامعلوم انجام می‌شود. پلی‌ساکاریدهای شناخته‌شده‌تر مانند نشاسته و سلولوز به‌دلیل مشخص‌بودن ساختار به‌طور پیش‌فرض، در سایر پژوهش‌های روز دنیا مورد شناسایی دقیق ساختار قرار نمی‌گیرند. نقطه تمرکز این مقاله مروری، بررسی روش‌های استخراج و شناسایی ساختار آن دسته از پلی‌ساکاریدهای غیرسلولوزی محلول در آب است که ساختار پیش‌شناخته شده‌ای ندارند و بناست به‌منظور شناسایی، خالص‌سازی شوند. سعی شده است، پس از توضیح مختصری درباره ویژگی‌های ساختار پلی‌ساکارید، روش‌های جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی پلی‌ساکاریدهای غیرسلولوزی محلول در آب شرح داده شوند. پلی‌ساکاریدها در طبیعت (در منابع گیاهی یا غیر آن) در کنار مواد دیگری قرار گرفته‌اند که از منظر شناسایی، ناخالصی محسوب می‌شوند و باید جدا شوند. به همین دلیل پلی‌ساکاریدها ابتدا استخراج و سپس طی مراحل مختلف خالص می‌شوند و در نهایت با روش‌های مختلف شیمیایی، سوانگاری و طیف‌سنجی شناسایی می‌شوند.

## تعریف پلی‌ساکاریدها

پلی‌ساکاریدها دسته‌ای از کربوهیدرات‌ها محسوب می‌شوند که می‌توانند نقش ذخیره یا ساختاری داشته باشند. هر سال تقریباً $۴\times۱۰^{۱۱}$ تن کربوهیدرات را در طبیعت گیاهان، حیوانات یا باکتری‌های فتوسنتزکننده تولید می‌کنند. سهم عمده‌ای از کربوهیدرات تولید شده به پلی‌ساکاریدها اختصاص دارد. دانستن ویژگی‌های ساختاری آن‌ها برای فهم و درک مراحل شناسایی لازم است. پلی‌ساکاریدها پلیمرهایی هستند که از واحدهای ساکارید ساخته شده‌اند و گاه با نام گلیکان نیز از آن‌ها یاد می‌شود. تک‌ساکاریدها با ساختار حلقوی در زنجیر پلی‌ساکارید قرار می‌گیرند [۷]. همچنین، تک‌ساکاریدها ممکن است با الگوی خطی یا به‌شکل شاخه‌دار با شاخه‌های کوتاه یا بلند به هم متصل شده باشند. برهم‌کنش زنجیرها و نیروهای بین‌مولکولی در پلی‌ساکاریدهای خطی باعث می‌شود تا به‌سختی در آب حل شوند. اما پلی‌ساکاریدهای شاخه‌دار انحلال بهتری در آب دارند و در غلظت مناسب خمیر چسبناکی ایجاد می‌کنند که احتمالاً به‌دلیل نفوذ و گره‌خوردگی زنجیرهاست. بنابراین، پلی‌ساکاریدهای شاخه‌دار گزینه مناسبی برای ساخت چسب یا پیونده هستند [۸].

برای پلی‌ساکاریدها نیز مانند هر پلیمر دیگری وزن مولکولی مشخصی نمی‌توان تعیین کرد و برای آن وزن مولکولی میانگین تعریف می‌شود. وزن مولکولی پلی‌ساکاریدها بین ۱۶ kDa تا ۱۶۰۰۰ kDa متغیر است [۷].

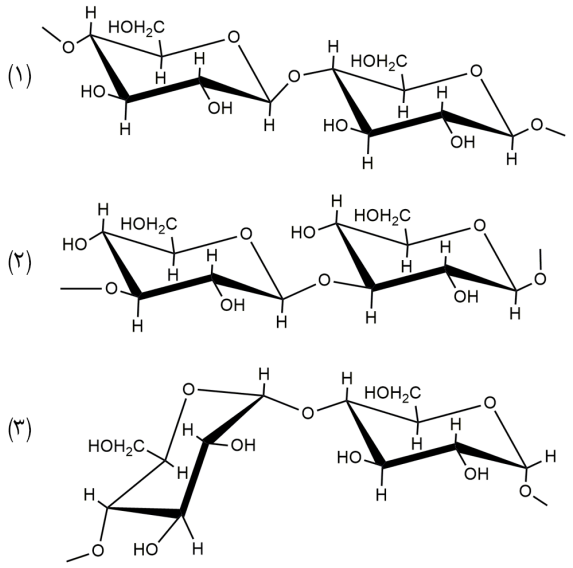
## اتصال تک‌ساکاریدها به یکدیگر

تک‌ساکاریدها دارای دو شکل خطی و حلقوی هستند. در حالت محلول، طی واکنش درون‌مولکولی بین گروه آلدهید و یک گروه هیدروکسیل، شکل حلقوی به خود می‌گیرند و همی‌استال تشکیل می‌دهند. شکل حلقوی تک‌ساکاریدهای ۶ کربنی می‌تواند دارای ۶

یا ۵ اتم کربن در حلقه باشد که در این حالت به‌ترتیب پیرانوز یا فورانوز نامیده می‌شود. تنها شکل حلقوی تک‌ساکاریدها می‌تواند در زنجیر پلی‌ساکارید قرار گیرد [۹].

هنگامی که گروه هیدروکسیلِ یک تک‌ساکارید (یا همی‌استالِ حلقوی) با همی‌استالِ بعدی واکنش می‌دهد، اتصال گلیکوزیدی تشکیل می‌شود. این اتصال می‌تواند بین کربن اول (کربن آنومر) از یک تک‌ساکارید با هرکدام از کربن‌های همی‌استالِ مجاور تشکیل شود. بسته به اینکه اتصال در موقعیت کربن اول چگونه باشد، پیکربندیِ آنومری از نوع α یا β به خود می‌گیرد و به‌واسطه یک اتم اکسیژن به کربنی از تک‌ساکارید بعدی متصل می‌شود. ماهیت اتصال گلیکوزیدی اثر بسزایی در ساختار و خواص پلی‌ساکارید نظیر انحلال، گرانروی و خواص ژل‌شدن دارد.

شکل ۱ سه نوع پلیمر متشکل از گلوکوز را نشان می‌دهد که با وجود داشتن تک‌ساکاریدهای یکسان و اختلاف در نوع اتصال گلیکوزیدی، خواص متفاوتی دارند. سلولوز با اتصال‌های β(۱→۴)، در آب نامحلول است و ساختار بلوری منظم با پیوندهای هیدروژنی قوی دارد. در مقابل، آمیلوز با اتصال‌های α(۱→۴)، بلورهای ضعیفی دارد، با گرما در آب حل می‌شود و ساختار مارپیچ و ژل تشکیل می‌دهد. کوردلان نیز با اتصال β(۱→۳)، پلی‌ساکارید ژل‌شونده دیگری با ساختار مارپیچ است [۹]. دانستن تمام ویژگی‌های یاد شده برای پلی‌ساکاریدها از جمله نوع تک‌ساکاریدها، الگوی قرارگیری آن‌ها در زنجیر اصلی و شاخه‌ها، وزن مولکولی، تعداد اتم‌های حلقه و نوع اتصال گلیکوزیدی در تعیین ساختار پلی‌ساکارید نقش دارند.




شکل ۱- ساختار پلی‌ساکاریدهای متشکل از گلوکوز: (۱) سلولوز، (۲) کوردلان و (۳) آمیلوز [۹].

## استخراج و خالص‌سازی پلی‌ساکارید محلول در آب

به‌طور کلی، پلی‌ساکاریدها مولکول‌های آب‌دوستی هستند. روش‌های استخراج و خالص‌سازی پلی‌ساکاریدهای محلول در آب با کوچک‌مولکول‌ها متفاوت است. با توجه به خواص متفاوت پلی‌ساکاریدها در منابع مختلف، روش‌های متناسب با ویژگی‌های هر پلی‌ساکارید برای جداسازی و خالص‌سازی آن به‌کار گرفته می‌شود. روش‌های مختلفی برای این منظور وجود دارند. مبنا و اساس انتخاب روش‌های خالص‌سازی به نحوی است که برای شناسایی ساختار مناسب باشد، ویژگی‌های ذاتی پلی‌ساکارید حفظ و از تغییر ساختار آن حین فرایند جداسازی و خالص‌سازی جلوگیری شود [۱۰]. پلی‌ساکاریدها همراه با چربی، پروتئین و سایر مواد کربوهیدراتی در گیاهان یا منابع دیگر پلی‌ساکاریدی وجود دارند. برای شروع مراحل جداسازی و خالص‌سازی به‌منظور تماس بیشتر حلال، اولین گام پیش از استخراج پلی‌ساکارید محلول در آب، خرد کردن بافت حاوی آن است. افزون بر روش‌های سنتی و رایج خرد کردن، در سال‌های اخیر استفاده از فناوری فراصوت نیز برای افزایش بازده استخراج پلی‌ساکارید به‌کار گرفته شده است [۱۱]. در مراحل جداسازی و خالص‌سازی باید چربی، رنگ‌دانه‌های قطبی و غیرقطبی، پروتئین، بافت نامحلول و هرگونه ماده دیگر از پلی‌ساکارید مورد شناسایی جدا شود. در اینجا به روش‌های متداول در این زمینه اشاره می‌شود.

## چربی‌زدایی و رنگبری

چربی در کنار پلی‌ساکارید ناخالصی به‌شمار می‌رود و باید جداسازی شود. همچنین، رنگ‌دانه‌های موجود در بعضی از بافت‌های حاوی پلی‌ساکارید نیز در انجام برخی از آزمون‌های شناسایی اختلال ایجاد می‌کنند که باید طی مراحل استخراج و خالص‌سازی جدا شوند.

پس از خردکردن، نمونه‌های حاوی چربی و مواد غیرقطبی (نظیر رنگ‌دانه‌های غیرقطبی) با حلال‌های مختلف تحت بازشارش در دستگاه سوکسله قرار می‌گیرند. اتانول با خلوص زیاد برای استخراج مواد معدنی و قندهای کوچک‌مولکول، رنگ‌دانه‌ها، اسیدهای آلی، آمینواسیدها و پپتیدهای با وزن مولکولی کم به‌کار می‌رود. فایده دیگر استفاده از اتانول، غیرفعال‌سازی آنزیم‌های موجود در بافت دارای پلی‌ساکارید است. مخلوط کلروفرم:متانول (۵:۹۵) و هگزان نیز از جمله حلال‌های استفاده شده در چربی‌زدایی هستند. در بین حلال‌های چربی‌زدا، اتانول خطر آتش‌گیری کمتری دارد [۱۲].

همچنین، رنگ‌دانه‌ها را با کربن فعال و هیدروژن پراکسید می‌توان جدا کرد. کربن فعال در کنار رنگ‌دانه، جاذب پلی‌ساکارید

نیز هست و باید توجه داشت که استفاده از آن بازده استخراج پلی‌ساکارید را کم می‌کند. هیدروژن پراکسید نیز ممکن است در ساختار پلی‌ساکارید آبکافت ناقص ایجاد کند که برای استخراج پلی‌ساکارید به‌منظور شناسایی ساختار مطلوب نیست [۱۳،۱۴].

پس از چربی‌زدایی و رنگبری، نمونه آماده استخراج پلی‌ساکارید است. در مرحله بعد، استخراج پلی‌ساکاریدِ محلول در آب انجام می‌گیرد. حلال‌های مختلفی برای این منظور استفاده می‌شوند. چند نمونه از رایج‌ترین روش‌های استخراج در پی معرفی می‌شوند.

**استخراج با آب**

آب در دماهای مختلف اولین انتخاب برای استخراج پلی‌ساکاریدهای محلول در آب خنثی است. اساس این روش، انحلال‌پذیری پلی‌ساکاریدها در آب داغ است. به‌طور طبیعی با افزایش دمای آب، بازده استخراج بیشتر می‌شود. با این روش کمترین آسیب به ساختار پلی‌ساکارید وارد می‌شود. نحوه درست استفاده از این روش، استخراج در چند مرحله (معمولاً سه مرحله و با نسبت آب:نمونه برابر با ۱:۱۰) و سپس ترکیب و تغلیظ محصولات استخراج است [۱۰].

**استخراج قلیایی و اسیدی**

برخی از پلی‌ساکاریدهای اسیدی یا با جرم مولکولی زیاد به سادگی در آب داغ حل نمی‌شوند و انحلال آن‌ها در محلول قلیایی رقیق بسیار بیشتر از آب داغ است. بدین دلیل، محلول‌های قلیایی برای استخراج پلی‌ساکاریدهای دیواره یاخته استفاده می‌شوند. به نظر می‌رسد، در شرایط قلیایی پیوند استری و سایر پیوندهای اشتراکی و غیراشتراکی شکسته می‌شوند و پلی‌ساکاریدهای استخراج‌نشدنی از شبکه پیچیده دیواره یاخته آزاد می‌شوند [۱۵]. بنابراین، محلول آبی ۱۵٪-۵ وزنی از $NaCO_3$ یا NaOH اغلب در موارد خاص به جای آب داغ استفاده می‌شود [۱۶]. شایان ذکر است، پلی‌ساکاریدهای آزاد شده با قلیا در آب محلول‌اند [۱۵].

در استخراج قلیایی دمای محلول باید کمتر از ۱۰°C نگه‌داشته شود. در غیر این‌صورت، ساختار پلی‌ساکارید تخریب می‌شود. در عمل، استخراج با آب داغ اولین گزینه برای استخراج پلی‌ساکاریدهاست و پس از آن استخراج قلیایی برای باقی‌مانده پلی‌ساکاریدها در نمونه استفاده می‌شود.

استخراج اسیدی نیز برای بعضی از پلی‌ساکاریدها کاربرد دارد. برای مثال، پلی‌ساکارید اسیدی پکتین به‌طور متداول با محلول آبی اسیدی استخراج می‌شود. البته برای شناسایی ساختار، معمولاً از استخراج با محلول‌های اسیدی به‌دلیل امکانِ آبکافت اتصال‌های گلیکوزیدی، اجتناب می‌شود [۱۵].

**پروتئین‌زدایی از پلی‌ساکارید محلول در آب**

محصول مراحل قبلیِ استخراج، ترکیبی شامل پلی‌ساکارید محلول در آب و سایر مواد مانند پروتئین است. برای جداسازی پروتئین نیز روش‌های مختلف مانند روش سواگ، استفاده از آنزیم‌ها و اسید وجود دارند.

**پروتئین‌زدایی با روش سواگ**

از متداول‌ترین روش‌های پروتئین‌زداییِ پلی‌ساکارید محلول در آب که اثر تخریبی بر اتصال گلیکوزیدی ندارد، روش سواگ است. در این روش مخلوطی از کلروفرم و ۱-بوتانول با نسبت ۴ به ۱ به نمونه اضافه شده، سبب واسرشتگی شدن پروتئین و رسوب‌کردن آن می‌شود و می‌توان محلول پلی‌ساکارید را از آن به‌راحتی جدا کرد. تکرار روش سواگ پروتئینِ نمونه را به‌طور کامل استخراج می‌کند [۱۷].

**پروتئین‌زدایی با روش آنزیمی**

آنزیم‌ها موادی هستند که به‌صورت انتخابی عمل می‌کنند. آنزیم‌های گوارش‌کننده پروتئین مانند پروتئاز نیز بدون آسیب‌رساندن به ساختار پلی‌ساکارید می‌توانند با گوارش پروتئین آن را از پلی‌ساکارید جدا کنند. معمولاً در شرایطی که عمل‌آوری‌های شیمیایی سبب تخریب ساختار یا گروه‌های عاملی می‌شود، استفاده از آنزیم‌ها مورد توجه قرار می‌گیرند [۱۸]. اما، هزینه زیاد پروتئین‌زدایی با آنزیم‌ها سبب می‌شود تا سایر روش‌ها ترجیح داده شوند.

**سایر روش‌های پروتئین‌زدایی**

پروتئین را می‌توان با تری‌کلرواستیک اسید (TCA) رسوب داد. اما TCA ممکن است سبب رسوب‌دهی پلی‌ساکاریدهایی مانند آلژینات شود. در ضمن، احتمال آبکافت و تغییر ساختار پلی‌ساکارید نیز وجود دارد. عبور محلول از روی نوعی رزین تبادلگر یون کاتیونی نیز می‌تواند پروتئین را از نمونه جدا کند. از آنجا که پروتئین دارای بار مثبت است با ستون پیوند برقرار می‌کند و پلی‌ساکاریدها همراه با سیال خروجی از درون ستون عبور می‌کنند. جذب پروتئین بر سِلیت (celit)، خاک دیاتومه و انواع رس نیز از روش‌های دیگر برای جدایش پروتئین هستند [۱۵].

### رسوب‌دهی پلی‌ساکارید محلول در آب

محلول به‌دست آمده پس از مرحله پروتئین‌زدایی، حاوی پلی‌ساکارید محلول در آب است. با رسوب‌دهی می‌توان به پلی‌ساکارید موجود در آن دست یافت. پلی‌ساکاریدها در اَستون یا اتانول نامحلول‌اند و معمولاً پس از پروتئین‌زدایی با افزودن اتانول با نسبت حجمی ۳ یا ۴ برابر به محلول آبی پلی‌ساکارید، رسوب می‌کنند [۱۵].

### خالص‌سازی نهایی پلی‌ساکارید محلول در آب

پلی‌ساکارید رسوب کرده باید از راه ستون‌های سوانگاری خالص شود. سوانگاری ژل صافشی با استفاده از ستون‌های سفاروز (sepharose)، سفادکس (sephadec) و سفاکریل (sephacryl) می‌توانند پلی‌ساکاریدهای مختلف را بر اساس وزن مولکولی به‌خوبی از هم جدا کنند [۱۵]. شرکت‌هایی مانند سیگما و فارماسیا چنین موادی را با همین نام تجاری عرضه می‌کنند. برای مثال، ماده سفادکس ژلی است که از شبکه‌ای‌کردنِ دکسترانِ محلول در آب با اپی‌کلروهیدرین به‌دست می‌آید. پلیمر نامحلول در آبِ به‌دست آمده، اتصالات عرضی گلیسیرین-اتری دارد. از آنجا که این ژل به‌شدت آب‌دوست است، در مجاورت آب متورم می‌شود. دانه‌های متورم می‌توانند مواد را بر اساس اندازه از هم جدا کنند. درجه تورم بر خواص جداسازی این ژل اثر می‌گذارد. هرچه ژل چگال‌تر باشد، محدوده اجزا تنگ‌تر می‌شود. در مجموعه G از سفادکس، عدد مقابل G مقدار آب جذبی را نشان می‌دهد، برای مثال G-15، ۱/۵ mL/g (بر اساس وزن دانه‌های خشک) و G-100، ۱۰ mL/g آب جذب می‌کنند. G-15 چگال‌تر از G-100 است و برای جداسازی ترکیبات کوچک‌تر استفاده می‌شود. سفادکس G-100 وزن مولکولی بین ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ را جدا می‌کند [۱۹].

نوع دیگر سوانگاری که در خالص‌سازی پلی‌ساکاریدها کاربرد دارد، سوانگاری تبادل یونی است که در آن برای جداسازی، از ترکیبات باردار یا یونی استفاده می‌شود و مولکول‌های مد نظر به‌طور گزینشی استخراج می‌شوند. اساس کار سوانگاری تبادل یونی برقراری پیوند برگشت‌پذیر بین مولکول‌های باردار با ماتریس نامحلول دارای بار مخالف است. مواد ماتریس نامحلول به‌صورت شیمیایی با گروه‌های باردار مثبت و منفی عامل‌دار می‌شوند. این مواد می‌توانند پلیمرهای سنتزی، سیلیکا یا انواع پلی‌ساکارید باشند که گروه‌های عاملی مختلف از جمله آمونیوم چهارتایی، تری‌متیل بنزیل آمونیوم، دی‌اتیل آمینواتیل، دی‌متیل آمینواتیل و سایر ترکیبات به آن‌ها افزوده می‌شود [۱۹].

ستون دی‌اتیل‌آمینواتیل‌سلولوز برای جداسازی پلی‌ساکاریدهای محلول در آب خنثی از اسیدی مناسب است [۱۵].

### شناسایی

برای مطالعه ساختار پلی‌ساکارید باید ویژگی‌های ساختاری آن با استفاده از روش‌های شیمیایی و دستگاهی مشخص شود. اولین پارامتر مهم در تشخیص ساختار پلی‌ساکارید، مشخص‌کردن نوع تک‌ساکاریدها یا قندهای سازنده زنجیر است. انواع مختلف قندها می‌توانند در زنجیر پلی‌ساکارید با نسبت‌های مولی متفاوت به هم متصل شوند. این اطلاعات را می‌توان از روش‌های سوانگاری و آبکافت اسیدی ناقص به‌دست آورد.

اینکه اتم اتصال در تک‌ساکاریدهای مجاور، کدام اتم حلقه باشد و حلقه‌های پلی‌ساکارید از نوع فورانوزی یا پیرانوزی باشند، اثر زیادی بر خواص پلی‌ساکارید دارد. برای شناسایی این موارد نیز از روش‌هایی از جمله سوانگاری، طیف‌سنجی زیرقرمز و اکسایش با پریدات استفاده می‌شود. گروه‌های عاملی و نوع اتصالات آلفا و بتا نیز پارامترهای بسیار مهمی در تشخیص ساختار پلی‌ساکاریدند که با استفاده از درجه چرخش نوری، طیف زیرقرمز و رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) سنجیده می‌شوند.

نکته مهم این است که نتایج حاصل از تمام این آزمون‌ها در کنار هم به پیش‌بینی ساختار احتمالی پلی‌ساکارید منجر می‌شوند و یک آزمون به تنهایی نمی‌تواند ساختار پلی‌ساکارید را معین کند.

### اطمینان از خلوص پلی‌ساکارید مورد شناسایی

روش‌های جداسازی و خالص‌سازی که پیش‌تر گفته شد، برای پلی‌ساکاریدهای محلول در آب کاربرد دارند. در ادامه برای دست‌یابی به جواب‌های دقیق از آزمون‌های شناسایی شیمیایی و دستگاهی از خلوص پلی‌ساکارید به‌دست آمده اطمینان حاصل می‌شود. وجود هرگونه ناخالصی اعم از پروتئین یا رنگ‌دانه‌ها در دقت آزمون و تحلیلِ درستِ جواب‌ها اختلال ایجاد می‌کنند. بررسی خلوص پلی‌ساکارید از این جهت اهمیت دارد که در صورت دقیق و درست‌نبودن مراحل خالص‌سازی از انجام بی‌دلیل آزمون‌های شناسایی و صرف وقت و هزینه نابجا جلوگیری می‌شود. خلوص پلی‌ساکارید محلول در آب را در انتهای مراحل خالص‌سازی با روش‌های زیر می‌توان تأیید کرد.

پلی‌ساکاریدها در مجاورت معرف فنول-سولفوریک اسید به رنگ آجری تیره درمی‌آیند. روش فنول-سولفوریک اسید برای تعیین قند کل استفاده می‌شود. قند کل با این روش و با استفاده از D-گلوکوز به‌عنوان استاندارد اندازه‌گیری می‌شود.

بدین ترتیب که برای اندازه‌گیری آن با استفاده از منحنی واسنجی (calibration) به‌دست آمده از نمونه‌های استاندارد قندی، شدت جذب آن در طول موج ۴۹۰ (برای هگزوزها) و ۴۸۰ nm (برای پنتوزها و اورونیک اسیدها) اندازه‌گیری شده و مقدار قند کل به‌دست می‌آید [۲۰]. هر چه درصد قند کل به‌دست آمده بیشتر باشد، به‌معنی زیادبودن خلوص پلی‌ساکارید است.

روش دیگری که با آن نبود ناخالصی پروتئین مشخص می‌شود، سنجش مقدار پروتئین با روش UV-Bradford است. در این روش، ابتدا محلولی با غلظت مشخص از نمونه ساخته شده و سپس با استفاده از منحنی واسنجی (رسم شده از روی محلول‌های استاندارد ساخته شده از آلبومین گاوی)، مقدار دقیق پروتئین موجود در نمونه مشخص می‌شود. در این روش از کوماسی بلو (coomassie blue) که معرف پروتئین است، استفاده شده و دستگاه UV در واقع جذب نور آبی در ۲۸۰ nm را می‌سنجد. در صورت عدم جذب در این طول موج، نبود ناخالصی پروتئین در نمونه تأیید می‌شود [۲۱].

بررسی طیف زیرقرمز نیز یکی از راه‌های اطمینان از خلوص پلی‌ساکارید به‌دست آمده است. در طیف زیرقرمز باید تنها قله‌های مربوط به پیوندها و گروه‌های عاملی مربوط به پلی‌ساکارید وجود داشته باشند.

**سوانگاری**

انواع سوانگاری مایع و گازی به تنهایی برای تعیین وزن مولکولی، شناسایی واحدهای تک‌ساکاریدی و نسبت مولی آن‌ها کاربرد دارند. همچنین، در ترکیب با طیف‌سنج جرمی برای شناسایی ویژگی‌های بیشتری از پلی‌ساکارید استفاده می‌شوند که در ادامه شرح داده می‌شوند.

در سوانگاری ژل‌تراوایی جداسازی براساس اندازه مولکول‌ها انجام می‌شود. با واسنجی ستون با استانداردهای با وزن مولکولی مشخص نظیر پولولان و دکستران می‌توان وزن مولکولی پلی‌ساکارید مورد آزمون را به‌دست آورد [۲۲].

سوانگاری گازی برای شناسایی مواد تبخیرشدنی کاربرد دارد. از آنجا که پلی‌ساکاریدها به گاز تبدیل نمی‌شوند، ابتدا به واحدهای تک‌ساکاریدی آب‌کافت شده، سپس با سوانگاری گازی شناسایی می‌شوند. بدین منظور، پلی‌ساکارید با استفاده از اسید آب‌کافت شده و با افزودن سدیم بوروهیدرید کاهش یافته به آلدیتول تبدیل می‌شود. آلدیتول‌های تشکیل شده با استفاده از مخلوط پیریدین-استیک انیدرید استیل‌دار شده و به آلدیتول استات‌های متناظر تبدیل می‌شوند. از طرفی، آلدیتول استات تک‌ساکاریدهای استاندارد همراه با استاندارد داخلی به دستگاه سوانگاری تزریق می‌شوند. بدین ترتیب با استفاده از سوانگاری گازی، تک‌ساکاریدهای سازنده و نسبت مولی آن‌ها به‌دست می‌آید [۲۳].

سوانگاری گازی در ترکیب با طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) ابزار شناسایی قدرتمندی است. در این روش، تجزیه با ایجاد مشتقات تبخیرشدنی نظیر اترهای دی‌متیل سیلیل انجام می‌پذیرد. طیف‌های حاصل، برای نشان‌دادن ساختار حلقه تک‌ساکاریدها (پیرانوز و فورانوز) و تشخیص نوع برخی از اتصالات گلیکوزیدی سودمند است. برای اینکه بتوان از چنین روشی استفاده کرد، نیاز به پیش‌عمل‌آوری وجود دارد:

۱- پرمتیل‌دارکردن با سود و متیل یدید،

۲- متانول‌کافت با هیدروکلریک اسید و متانول و

۳- سیلیل‌دار کردن با استفاده از ترکیباتی نظیر هگزامتیل دی‌سیلازان.

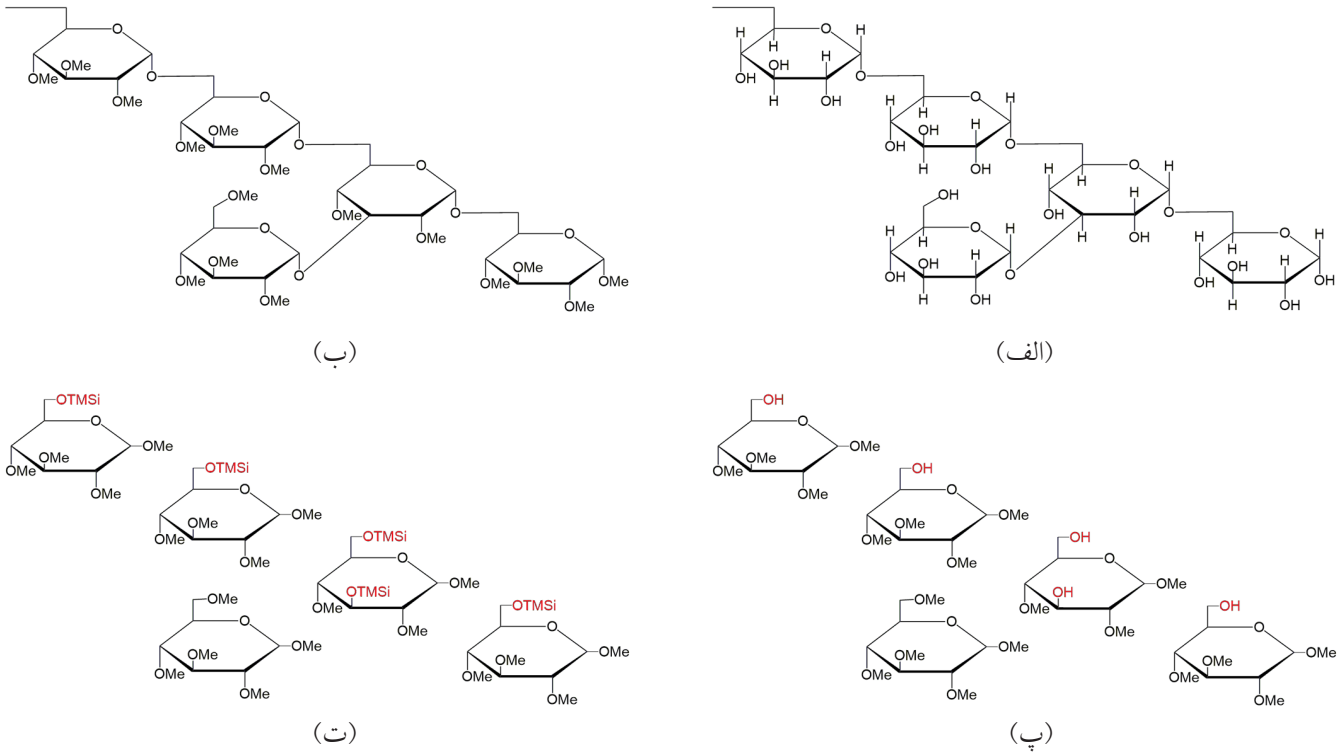
پس از سیلیل‌دار کردن، سوانگار چند قله از آنومرهای آلفا و بتای مربوط به حلقه‌های پیرانوز و فورانوز را نشان می‌دهد. هر کدام از قله‌ها پس از خروج از ستون یک طیف جرمی می‌دهد.

قدرت و حساسیت GC-MS امکان مشتق‌سازی و شناسایی با مقادیر کمی از نمونه را فراهم می‌کند. مطابق شکل ۲ با متیل‌دارکردن، گروه متیل روی تمام هیدروکسیل‌های قند می‌نشیند. متانول‌کافت باعث آبکافت زنجیر قند شده و گروه هیدروکسیل آزاد می‌کند که حالا می‌تواند سیلیل‌دار شود. موقعیت گروه تری‌متیل سیلیل (TMSi) نشان می‌دهد، قند از کجا به همسایه آن اتصال دارد. ساختار قند حاوی گروه متیل و TMSi را می‌توان با GC-MS تعیین کرد و از موقعیت اتصال آگاهی یافت [۲۴،۲۵].

روش دیگری که با عنوان متیل‌دارکردن از آن یاد می‌شود، نیز وجود دارد که با آن اطلاعاتی در باره موقعیت جانشینی پیوندهای گلیکوزیدی به‌دست می‌آید. در این روش، ابتدا قندها به‌طور کامل متیل‌دار می‌شوند. سپس با آبکافت به آلدوز تبدیل شده و با $NaBH_4$ به آلدیتول‌های متناظر کاهش می‌یابند. در نهایت، تحت واکنش استیل‌دارشدن قرار می‌گیرند و به آلدیتول‌های استات تبدیل می‌شوند. در این مرحله، محصولات را به‌خوبی می‌توان با GC-MS شناسایی کرد [۲۶].

**آبکافت اسیدی ناقص**

در آبکافت اسیدی ناقص طبق روشی که در ادامه توضیح داده می‌شود، ۴ جزء از پلی‌ساکارید خالص شده به‌دست می‌آید. تجزیه هر یک از اجزا می‌تواند نوع واحدهای سازنده زنجیر اصلی و

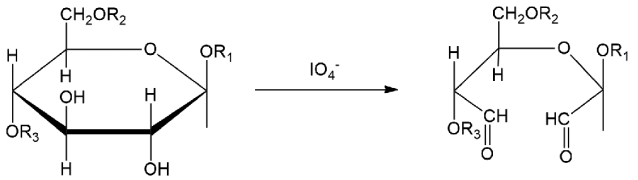



شکل ۲- (الف) ساختار اصلی، (ب) جانشینی گروه‌های هیدروکسیل با متیل در اثر متیل‌دار شدن، (پ) متانول‌کافت و (ت) جانشینی گروه‌های هیدروکسیل جدید با تری‌متیل سیلیل در اثر سیلیل‌دار شدن [۲۴].

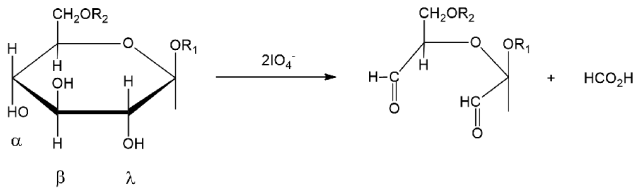
شاخه‌ها را مشخص کند. اساس روش آبکافت اسیدی آن است که ابتدا شاخه‌ها و پیوندهای ضعیف‌تر در مجاورت اسید شکسته می‌شوند و پیوندهای قوی زنجیر اصلی پلی‌ساکارید کمتر تحت تأثیر آبکافت قرار می‌گیرند. ۸۰ mg پلی‌ساکارید با ۳ mL از محلول ۰/۰۵ M تری فلوئورواستیک اسید در دمای ۸۰°C به‌مدت ۱۶ h آبکافت می‌شود. پلی‌ساکارید آبکافت شده برای حذف رسوبات مرکزگریزی می‌شود و رسوبات جدا شده با عنوان پلی‌ساکارید ۱ هستند. سپس سیال رویی به‌مدت ۲۴ h دیالیز می‌شود و در انتها جزء جدا شده جمع‌آوری و پلی‌ساکارید ۴ نامیده می‌شود. سیال باقی‌مانده در کیسه دیالیز با اتانول رسوب‌دهی شده و رسوب و سیال روی آن به‌ترتیب پلی‌ساکاریدهای ۲ و ۳ نامیده می‌شوند. تمام اجزا پس از خشک‌شدن با سوانگاری گازی (طبق روند مخصوص به سوانگاری، پس از آبکافت کامل با تری فلوئورواستیک اسید و مشتق‌سازی به آلدیتول استات) تجزیه می‌شوند. پلی‌ساکاریدهای ۱ و ۲، تشکیل‌دهنده زنجیر اصلی هستند و پلی‌ساکاریدهای ۳ و ۴ نیز تشکیل‌دهنده اجزای مونومری شاخه‌های جانبی پلی‌ساکارید خالص هستند [۲۷]. نتایج تجزیه محصولات آبکافت اسیدی نسبت مولی تک‌ساکاریدهای موجود در هر بخش پلی‌ساکارید (شاخه و زنجیر اصلی) را نیز مشخص می‌کند.

**اکسایش با پریدات**

در سازوکار اکسایش با پریدات، در حالتی که دو کربن مجاور در حلقه قند دارای گروه OH باشند، ۱ مول پریدات مصرف می‌شود (شکل ۳). در حالتی که سه کربن مجاور دارای گروه OH باشند، ۲ مول پریدات مصرف شده و با شکست پیوند ۱ مول فرمیک اسید نیز تولید می‌شود (شکل ۴). اگر به‌علت نحوه برقراری پیوند در کل زنجیر یا وجود شاخه‌ها در مجاورشدن گروه‌های OH تداخل ایجاد شود، مشخص می‌شود که حلقه قندی قابلیت اکسایش با پریدات را نداشته است [۲۲]. بدین ترتیب، می‌توان احتمالاتی را برای وجود انواع اتصالات در نظر گرفت. برای مثال اتصال ۶←۱ (اتصال بین کربن شماره ۱ با کربن شماره ۶ تک‌ساکارید مجاور) یا اتصال ←۱ (تک‌ساکارید انتهای زنجیر که




شکل ۳- مصرف یک مول پریدات به‌ازای دو گروه هیدروکسیل مجاور هنگام اکسایش با پریدات [۲۲].



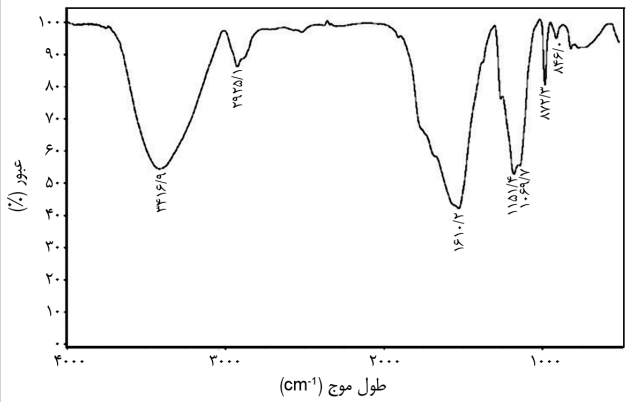

شکل ۴- مصرف ۲ مول پریدات و تولید ۱ مول فرمیک اسید به‌ازای سه گروه هیدروکسیل مجاور حین اکسایش با پریدات [۲۲].

فقط کربن شماره ۱ آن درگیر اتصال است) دارای ۳ گروه OH مجاور هستند. با اکسایش آن، ۲ مول پریدات مصرف شده و یک مول فرمیک اسید تولید می‌شود. بدین دلیل اگر مصرف پریدات دو برابر فرمیک اسید باشد، می‌توان احتمال داد که بیشتر اتصالات موجود از نوع ۶←۱ و ←۱ هستند.

محصولات حاصل از اکسایش با پریدات نیز کاملاً آبکافت شده و با سوانگاری گازی تحلیل می‌شوند. واحدهایی که قابلیت اکسایش نداشته‌اند، پس از آبکافت در نتایج سوانگاری دیده می‌شوند. برای مثال، اتصالاتی نظیر ۳←۱ داشته‌اند که دو گروه OH مجاور نداشته و اکسایش‌پذیر نبوده‌اند. احتمالات به‌دست آمده از اکسایش با پریدات، نتایج حاصل از GC-MS را تأیید می‌کند.

**طیف‌سنجی زیرقرمز**

طیف زیرقرمز به‌دست آمده از پلی‌ساکارید خالص، طیف جامعی از انواع گروه‌های عاملی و سایر مشخصات یک پلی‌ساکارید است [۱۵]. این طیف شامل قله پهن مربوط به گروه‌های هیدروکسیل پلی‌ساکارید است. در طیف زیرقرمز حلقه‌های تک‌ساکاریدی با تعداد اتم حلقه مشخص، طول موج‌های متفاوتی برای بروز قله‌ها وجود دارند و حلقه‌های فورانوزی و پیرانوزی در طول موج خاص خود جذب نشان می‌دهند [۱۵]. وجود اتصالات نوع آلفا یا بتا نیز در این طیف جذب مخصوص به خود را دارند. اطلاعات به‌دست آمده از طیف زیر قرمز مؤید سایر آزمون‌ها برای تشخیص ساختار پلی‌ساکارید است. برای مثال، طیف نشان داده شده در شکل ۵ مربوط به پلی‌ساکارید خالص شده از ریشه گیاه چوبک تماشایی است که قله‌های مربوط به گروه‌های هیدروکسیل، پیوند C-H، حلقه‌های پیرانوز، پیکربندی آلفا و بتا به‌ترتیب در ۳۴۱۶، ۲۹۲۵، ۱۱۵۱، ۸۴۶ و $cm^{-1}$ ۸۷۲ در آن دیده می‌شود [۲۸]. نبود قله‌های مربوط به پیوندهایی غیر از پیوندهای موجود در ساختار یک پلی‌ساکارید بیانگر خلوص نمونه حاصل است. اطلاعات مشخص شده در طیف زیرقرمز در سایر روش‌های تجزیه و شناسایی دیگر نیز به‌دست می‌آید.




شکل ۵- طیف زیرقرمز پلی‌ساکارید محلول در آب خالص شده از ریشه چوبک تماشایی [۲۸].

**درجه چرخش نوری**

پیش‌تر قطبیت‌سنجی از ضروریات تجزیه تک‌ساکاریدها بوده است. اگرچه اکنون نیز مقدار چرخش نوری در مقالات ذکر می‌شود، اما از کمترین اهمیت در شناسایی برخوردار است. قندها مانند هر ترکیب نامتقارن دیگر در صفحه نور قطبیده خطی، چرخش نشان می‌دهند. فعالیت نوری نمونه با قطبش‌سنج مشاهده و با عنوان درجه چرخش، (α)، اندازه‌گیری می‌شود. امروزه، درجه چرخش نوری در تخمین خلوص آنومری گلیکوزیدها نقش دارد، زیرا پیوندهای گلیکوزیدی α و β چرخش بسیار متفاوتی نشان می‌دهند [۷].

**NMR**

طیف‌سنجی NMR نیز از روش‌های بسیار سودمند برای تعیین ساختار پلی‌ساکاریدهاست و می‌تواند اطلاعات ساختاری از جمله ترکیب تک‌ساکاریدها، پیکربندی آنومر یا الگوی پیوندها و توالی واحدهای تک‌ساکاریدی را مشخص کند.

هر پلی‌ساکارید طیف منحصر به فردی در $^{13}$C-NMR و $^{1}$H-NMR دارد. ممکن است $^{1}$H-NMR در محدوده ۳ تا ۵ ppm طیف شلوغی نشان دهد، در نتیجه تفسیر چنین طیفی دشوار است. در طیف $^{1}$H-NMR پلی‌ساکاریدها، تمام جابه‌جایی‌ها در محدوده ppm ۶-۱ دیده می‌شود. پروتون آنومر در هر تک‌ساکارید با توجه به پیکربندی α یا β سیگنال مشخصی دارد. برای مثال، بیشتر پروتون‌های آنومر α در محدوده ppm ۶-۵ و پروتون‌های آنومر β در ppm ۵-۴ دیده می‌شوند. طیف $^{1}$H-NMR به‌دلیل فراوانی بیشتر، نسبت به $^{13}$C-NMR سیگنال‌های حساس‌تری دارد، در نتیجه سیگنال‌های بلند $^{1}$H-NMR گاه برای محاسبات کمّی نیز استفاده می‌شوند. اما طیف $^{13}$C-NMR با وجود سیگنال‌های ضعیف مزیت مهمی نسبت به طیف $^{1}$H-NMR

جدول ۱- جمع‌بندی کلی روش‌های استفاده شده در شناسایی ساختار پلی‌ساکارید و نتایج حاصل از آن‌ها.

| روش یا دستگاه | نتایج حاصل |
|---|---|
| GC | نوع تک‌ساکاریدها و نسبت مولی آن‌ها |
| HPGPC | وزن مولکولی |
| GC-MS | نسبت مولی تک‌ساکاریدها، شماره اتم اتصال، نوع تک‌ساکاریدها، تعداد اتم حلقه |
| درجه چرخش نوری | تعیین فراوانی اتصالات نوع آلفا یا بتا |
| طیف‌سنجی زیرقرمز | گروه‌های عاملی، تعداد اتم حلقه، نوع اتصالات، پیوندهای اتری و غیره |
| آبکافت اسیدی ناقص | تعیین نوع واحدهای سازنده زنجیر اصلی و شاخه‌ها، نسبت مولی آن‌ها در هر بخش ساختار |
| اکسایش با پریدات | مشخص‌کردن احتمال وجود برخی از اتصالات |
| NMR | ترکیب تک‌ساکاریدها، پیکربندی آنومر، الگوی پیوندها، توالی واحدهای تک‌ساکاریدی |

دارد. جابه‌جایی شیمیایی در این طیف در محدوده بزرگتری بروز می‌کند و هم‌پوشانی طیف قبلی را ندارد. در طیف $^{13}$C-NMR سیگنال کربن آنومر در محدوده ppm ۱۱۰-۹۰ و سیگنال کربن‌های غیرآنومر در ppm ۸۵-۶۰ ظاهر می‌شود. درکل، هم‌پوشانی زیاد سیگنال‌ها موجب شده است، NMR یک‌بعدی به‌تنهایی برای شناسایی ساختار پلی‌ساکاریدها و چندساکاریدهای پیچیده کافی نباشد [۲۲].

### جمع‌بندی

تمام روش‌ها و آزمون‌های پیش‌گفته به پیش‌بینی ساختار پلی‌ساکارید منجر می‌شوند که جمع‌بندی کلی از آزمون‌ها و نتایج به‌دست آمده از آن‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. آزمون‌های مربوط به شناسایی ساختار پلی‌ساکارید در صورتی به‌درستی پاسخ می‌دهند که پلی‌ساکارید خالص باشد. از طرفی، تطابق نتیجه آزمون‌ها با یکدیگر صحت شناسایی را ثابت می‌کند. برای مثال، نسبت مولی به‌دست آمده از سوانگاری گازی و طیف‌سنجی جرمی باید برابر باشند یا مثلاً نوع اتصالات آلفا یا بتا که از آزمون‌های IR، درجه چرخش نوری و NMR به‌دست می‌آیند، باید با هم تطابق داشته باشد. با دانستن نوع تک‌ساکاریدهای سازنده، تک‌ساکاریدهای زنجیر اصلی و شاخه‌ها و نسبت مولی آن‌ها مشخص می‌شود که پلی‌ساکارید موجود از چه نوعی است و می‌توان آن را نام‌گذاری کرد. با استفاده از وزن مولکولی به‌دست آمده از سوانگاری و وزن مولکولی واحدهای سازنده (طبق نسبت مولی) درجه پلیمرشدن پلی‌ساکارید نیز محاسبه می‌شود و ساختار پلی‌ساکارید به‌دست می‌آید.

## نتیجه‌گیری

پلی‌ساکاریدهای محلول در آب بسیاری با ساختار ناشناخته در طبیعت وجود دارند که به‌علت تفاوت ساختار آن‌ها ممکن است، خواص ویژه و منحصر به‌فردی نیز داشته باشند. بدین دلیل، دانستن ساختار این پلی‌ساکاریدهای نوین برای تعریف کاربردهای جدید و همچنین درک و بهبود خواص پلی‌ساکاریدها مورد توجه پژوهشگران است. روش‌های جداسازی و خالص‌سازی مختلفی برای استحصال پلی‌ساکاریدهای غیرسلولوزی محلول در آب وجود دارد که به فراخور منبع پلی‌ساکارید و موقعیت مصرف می‌توانند استفاده شوند. امکان شناسایی ساختار پلی‌ساکارید ناشناخته پس از خالص‌سازیِ کامل وجود دارد. انواع آزمون‌های شیمیایی و دستگاهی روی پلی‌ساکارید خالص انجام می‌شود. هر کدام از آزمون‌ها قسمتی از ویژگی‌های ساختاری پلی‌ساکارید را

مشخص می‌کند. نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های مختلف در کنار هم با مشخص‌کردن نوع و تعداد واحدهای تکرارشونده، گروه‌های عاملی، نوع پیوندها، نوع اتصالات و اتم محل اتصال به پیش‌بینی ساختار شیمیایی پلی‌ساکارید محلول در آب منجر می‌شود.

## مراجع


1. Norström E., Fogelström L., Nordqvist P., Khabbaz F., and Malmström E., Xylan – A Green Binder for Wood Adhesives, *Eur. Polym. J.*, **67**, 1–11, 2015.
2. Liu J., Willför S., and Xu C., A Review of Bioactive Plant Polysaccharides: Biological Activities, Functionalization, and Biomedical Applications, *Bioact. Carbohydr. Dietary Fibre*, **5**, 31–61, 2015.
3. Jia X., Zhang C., Qiu J., Wang L., Bao J., Wang K., Zhang Y., Chen M., Wan J., Su H., Han J., and He C., Purification, Structural Characterization and Anticancer Activity of The Novel Polysaccharides from *Rhynchosia Minima* Root, *Carbohydr. Polym.*, **132**, 67–71, 2015.
4. An N.T., Thien D.T., Dong N.T., Dung P.L., and Du N.V., Characterization of Glucomannan from Some *Amorphophallus* Species in Vietnam, *Carbohydr. Polym.*, **80**, 308–311, 2010.
5. Vilpoux O. and Averous L., Starch-based Plastics, in Technology, *Use and Potentialities of Latin American Starchy Tubers,* NGO Raizes and Cargill Foundation, Sao Paolo, 521–553, 2002.
6. Byern J.V. and Grundwald I., *Biological Adhesive Systems from Nature to Technical and Medical Applications*, Springer, Wien/NewYork, 189-199, 2010.
7. Lindhorst T.K., *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Wiley-VCH, Germany, 258-310, 2003.
8. Belitz H.D., Grosch W., and Schieberle P., *Food Chemistry*, Springer-Verlag Berlin-Heidelberg, Germany, 248-339, 2009.
9. Walter R., *Polysaccharide Association Structures in Food*, Marcel Dekker, USA, 336-337, 1998.
10. Chaplin M.F. and Kennedy J.F., *Carbohydrate Analysis: A Practical Approach*, Oxford University, Oxford, 1994.
11. Du N., Tian W., Zheng D., Zhang X., and Qin P., Extraction, Purification and Elicitor Activities of Polysaccharides from *Chrysanthemum Indicum*, *Int. J. Biol. Macromol.*, **82**, 347–354, 2016.
12. *Food Polysaccharides and Their Applications*, Alistair S., Philips M.G., and Wiliams P. (Eds.), CRC, USA, 320-350, 2006.
13. Yang R., Meng D., Song Y., Li J., Zhang Y., Hu X., Ni Y., and Li Q., Simultaneous Decoloration and Deproteinization of Crude Polysaccharide from Pumpkin Residues by Cross-linked Polystyrene Macroporous Resin, *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 8450–8456, 2012.
14. Liu J., Luo J., Sun Y., Ye H., Lu Z., and Zeng X., A Simple Method for the Simultaneous Decoloration and Deproteinization of Crude Levan Extract from *Paenibacillus polymyxa* EJS-3 by Macroporous Resin, *Bioresour. Technol.*, **101**, 6077–6083, 2010.
15. Izydorczyk M., *Understanding the Chemistry of Food Carbohydrates*, CRC, USA, 1–64, 2005.
16. Liu J., Sun Y., Liu L., and Yu C., A Water-Soluble Polysaccharide (EFP-AW1) from the Alkaline Extract of the Roots of a Traditional Chinese Medicine, *Euphorbia Fischeriana:* Fraction and Characterization, *Carbohydr. Polym.*, **88**, 1299–1303, 2012.
17. Staub A.M., Removal of Proteins from Polysaccharides, *Methods Carbohydr. Chem.*, **5**, 5–7, 1965.
18. Younes I., Gorbel-Bellaaj O., Nasri R., Chaabouni M., Rinaudo M., and Nasri M., Chitin and Chitosan Preparation from Shrimp Shells Using Optimized Enzymatic Deproteinization, *Process Biochem.*, **47**, 2032–2039, 2012.
19. *Natural Products Isolation*, Sarker S.D., Latif Z., and Gray A.I. (Eds), Humana, New Jersy, 159–169, 2006.
20. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., and Smith F., Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substance, *Anal. Chem.*, **28**, 350–356, 1956.
21. Bradford M.M., A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, *Anal. Biochem.*, **72**, 248–254, 1976.

22. *Food Carbohydrates Chemistry, Physical Properties and Applications*, Cui S.W. (Ed.), Taylor and Francis, USA, 58–167, 2005.
23. Liu Y. and Wang F., Structural Characterization of An Active Polysaccharide from *Phellinus Ribis*, *Carbohydr. Polym.*, **70**, 386–392, 2007.
24. Walford S.N., Gc-Ms As a Tool for Carbohydrate Analysis in a Research Envirnoment, *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, **27**, 1–15, 2010.
25. Du Clou H. and Walford S.N., An Introduction to Gas Chromatography Mass Spectroscopy for the Structural Elucidation of Polysaccharides from Sugar Processing Streams, *Proc. South Afr. Sugar Technol. Assoc.,* **83**, 392–409, 2010.
26. Sassaki G.L., Iacomini M., and Gorin P.A.J., Methylation-GC-MS Analysis of Arabinofuranose- and Galactofuranose-Containing Structures: Rapid Synthesis of Partially O-Methylated Alditol Acetate Standards, *An. Acad. Bras. Cienc. (Anais da Academia Brasileira de Ciências)*, **77**, 223–234, 2005.
27. Sun Y., Li T., and Liu J., Structural Characterization and Hydroxyl Radicals Scavenging Capacity of a Polysaccharide from the Fruiting Bodies of *Auricularia polytricha*, *Carbohydr. Polym.*, **80**, 378–381, 2010.
28. Jahanbin K., Gohari A.R., Moini S., Emam-Djomeh Z., and Masi, P., Isolation, Structural Characterization and Antioxidant Activity of a New Water-Soluble Polysaccharide from *Acanthophyllum bracteatum* Roots, *Int. J. Biol. Macromol.*, **49**, 567–572, 2011.