

- 113-126.
- [25] Cho Y, Chrispeels M J. Serine-O-galactosyl linkages in glycopeptides from carrot cell walls[J]. *Phytochemistry*, 1976, 15:165-169.
- [26] Chrums S C, Stephen A M. Molecular weight distribution of hydrolysis products from the gum of *Acacia elata* A[J]. *Cunn. Carbohydr Res*, 1972, 21:91-98.
- [27] Chrums S C, Merrifield E H, Stephen A M. A comparative examination of two polysaccharide components from the gum of *Acacia mabelliae* [J]. *Carbohydr Res*, 1978, 63:337-341.
- [28] Chrums S C, Merrifield E H, Stephen A M. Smith degradation of gum exudates from some *Prosopis* species [J]. 1981, 90:261-267.
- [29] Cartier N, Chambat G, Joseleau J P. An arabinogalactan from the culture medium of *Rubus fruticosus* cells in suspension[J]. *Carbohydr. Res*, 1987, 168:275-283.
- [30] Dondain G, Phillips G O. The regulatory journey of gum Arabic[J]. *Foods food ingredients journal of Japan*. 1999, 179:38-56.
- [31] 村信一郎. 総合多糖類科学[M]. 講談社, 1974. 201-205.
- [32] Karacsonyi S, Patoprsty V, Kubackova M. Structural study on arabinogalactan-proteins from *Picea abies* L Karst[J]. *Carbohydr Res*, 1998, 271-279.
- [33] Classen B, Witthohn K, Blaschek W. Characterization of an arabinogalactan-protein isolated from pressed juice of *Echinacea purpurea* by precipitation with the α -glucosyl Yariv reagent[J]. *Carbohydrate Res*, 2000, 327 : 497-504.

燕麦麸中 β -葡聚糖的提取 及其分子量分布测定

管 晓¹, 姚惠源¹, 周素梅²

(1. 江南大学食品学院, 无锡 214036)

(2. 湖南常德金健米业股份有限公司, 常德 415001)

摘 要: 以燕麦麸为原料进行了提取 β -葡聚糖的研究, 探讨了不同提取工艺条件下得到的产品在组成及性质上的不同, 并采用凝胶过滤色谱法分别测定了它们的分子量分布。研究结果表明: 通过该工艺得到的 β -葡聚糖产品纯度可达到 80%, 其它主要杂质为蛋白质, 且 β -葡聚糖分子可能是以与蛋白质分子结合的状态存在。较高温度(65 和 95)下提取的 β -葡聚糖相对分子质量较大, 且分布范围较窄, 在 2.4×10^6 左右; 而较低温度(40)下得到的 β -葡聚糖分子分布范围宽, 且相对分子质量较小, 为 3.4×10^5 。碱性环境下提取 β -葡聚糖不会造成其分子降解。

关键词: 燕麦麸; β -葡聚糖; 提取; 分子量分布

Abstract: β -glucan was extracted from oat bran. The preparation produced 80% β -glucan and some protein. Gel filtration chromatography suggested that β -glucans extracted in different extraction conditions had different molecular weight distributions and some protein might be bonded to β -glucans. β -glucans extracted at higher temperature (65 and 95) had very high average molecular weights, about 2.4×10^6 , and their molecular weight distributions were rather limited. β -glucan extracted at lower temperature (40) had relatively low average molecular weights, about 3.4×10^5 , its molecular weight distributions were extensive. In addition, the results also showed β -glucan molecules could not be hydrolyzed in alkaline condition.

Key words: oat bran; β -glucans; extraction; molecular weight distribution

中图分类号: TS201.2*3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)07-0040-04

燕麦是起源于我国的一种古老的粮食作物, 已有两千多年的栽培历史。从植物分类学上来说, 它属于禾本科燕麦属一年生草本植物, 其籽粒营养价值丰富而全面, 尤其是蛋白质和脂肪含量在谷物类作物中

收稿日期: 2002-11-05

作者简介: 管晓(1979-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 粮食深加工与功能食品的开发。

均最高,另外还富含矿物质、维生素和膳食纤维,因此被誉为是谷类食品中最好的全价食品之一^[1]。中医认为:燕麦味苦、性干,可治虚汗,能预防多种疾病。现代医学界经过大量的临床观察或动物实验,也证实了经常食用燕麦能有效的预防和治疗由高血脂症引起的心脑血管疾病等^[2]。近些年来国内外又有研究成果进一步表明:燕麦的降血脂功效主要归因于其中所含的一种活性多糖——葡聚糖。尽管目前对葡聚糖具体的降血脂机理还不是很清楚,但一致认为与其粘度性质有很大的关系^[3]。葡聚糖在人体肠道内形成较高的粘性环境,从而有助于血液胆固醇、血脂水平的降低。

我们知道,高聚物所产生的粘度性质除了与分子结构和浓度有关外,还和分子量的大小存在着直接的联系。因此,葡聚糖分子大小的分布直接关系着它的粘度性质及其在食品中的应用。葡聚糖是一种可溶性膳食纤维,主要分布在燕麦籽粒的糊粉层和亚糊粉层中,通过现代加工技术,在燕麦麸中得到富集。本文拟就燕麦麸作为原料,讨论了不同的提取工艺条件对所得葡聚糖的分子量分布所造成的影响,为下一步的实际应用提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

燕麦麸 山西大同燕麦加工厂提供;苯酚 化学纯,江苏宜兴化工厂;NaOH 化学纯 上海化学试剂公司;耐高温-淀粉酶 无锡杰能科生物工程有限公司;食用酒精(体积分数为95%) 无锡玉麟酒厂;凝胶材料 Sepharose4B Sweden Pharmacia 公司;Dextran 系列标样(T-70,T-500,T-2000) Sweden Pharmacia 公司。

1.2 主要仪器

LXJ- 型离心沉淀机 上海医用分析仪器厂;722 光栅分光光度计 上海第三分析仪器厂;凝胶色谱柱 1.6 × 100cm 上海华美化学仪器厂;HL-2S 恒流泵 上海沪西分析仪器厂;BSZ-100 自动部分收集器 上海沪西分析仪器厂。

1.3 -葡聚糖的提取工艺

燕麦麸 加水(碱)搅拌提取 离心收集上清液 等电点法去蛋白 酶法去淀粉 60%乙醇沉淀 离心收集沉淀 干燥 -葡聚糖粗品(燕麦胶)

1.4 凝胶过滤色谱法测定 -葡聚糖相对分子质量分布

1.4.1 凝胶过滤色谱柱的校准

用 DextranT-70, T-500, T-2000(分子量分别为7万, 50万, 200万)三个标准分子量对色谱柱进行校准,以求得相对分子质量标准曲线。

1.4.2 上柱样品的制备

分别溶解分子量标样和不同提取工艺条件下得到的 -葡聚糖,高速离心得上清液。控制上清液浓度在 0.2% 左右,即为上柱样品。

1.4.3 色谱分离条件

色谱柱尺寸为 1.6 × 100cm;洗脱液为纯水(含 0.02% NaN₃);洗脱速度约为 15ml/h;上样量为 1ml;每管收集 3ml 洗脱液。

1.5 分析方法

-葡聚糖纯度鉴定 参照 McCleary and Glennie-Holmes(1985)^[4]。

总糖测定 苯酚-硫酸法(A_{490nm})。

蛋白质测定 凯氏定氮(固体样) 280nm 处紫外吸收(洗脱液)。

特性粘度测定 参照文献^[5]。

2 结果与amp;讨论

2.1 -葡聚糖的提取

提取工艺条件的改变(提取温度、提取液 pH 等)对最终得到的 -葡聚糖产品的得率、组成和分子量大小均有影响。表 1 列出了不同提取温度和 pH 条件下得到的产品相关指标。

表 1 不同提取条件得到的 -葡聚糖产品相关指标

试验号	提取条件		-葡聚糖纯度 (%)	蛋白质含量 (%)	特性粘度 100ml/g
	温度()	pH			
1	40	7.0	72	6.1	3.1
2	95	7.0	81	4.3	10.7
3	65	7.0	78	4.7	9.9
4	65	9.0	74	5.2	9.4
5	65	11.0	69	5.9	10.1

从表 1 中可以看出,通过上述提取工艺得到的 -葡聚糖产品纯度可达到 70%~81%,其它主要杂质为蛋白质。特性粘度是反映 -葡聚糖分子量大小的一个重要指标。不同提取温度下得到的 -葡聚糖特性粘度变化很大,但对 pH 的改变所受影响不大。由此

我们不难推测提取温度和pH对最终产品的分子量的分布存在着不同的影响。于是进一步利用凝胶过滤色谱法分别对各个提取条件下的产物的具体分子量进行了测定。

2.2 - 葡聚糖分子量分布测定

2.2.1 凝胶过滤色谱柱的校准

Sepharose 4B凝胶的线性葡聚糖最适分段分离范围在 $10^4 \sim 5 \times 10^6$ ，在这个范围内，各种线性多糖的洗脱体积与其分子量之间呈线性关系。对凝胶柱的校准就是要得到它的这个线性方程。我们利用 Dextran 系列标准分子量对凝胶柱进行校正后的结果如下。

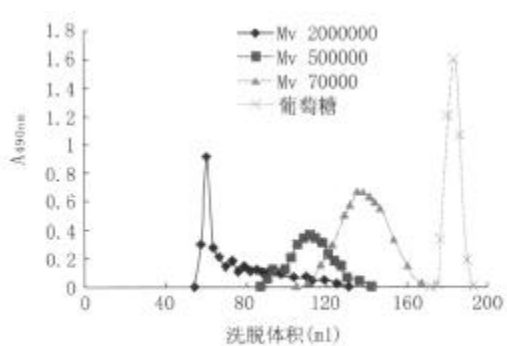


图1 标准分子量葡聚糖洗脱曲线

在此基础上，我们可以得到测定 - 葡聚糖分子量的标准曲线，见图2。

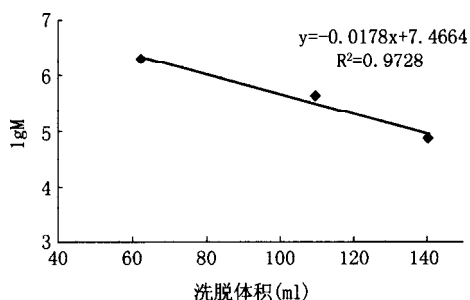


图2 相对分子质量标准曲线

从洗脱体积和分子量的对应关系来看，用该柱洗脱多糖产品，线性关系良好，适合于多糖分子量的校准。

2.2.2 提取温度对 - 葡聚糖分子量分布的影响

从图3中看出，- 葡聚糖是一分散性的多糖，分子量一般在一个较宽的范围内分布。而且不同温度下提取的 - 葡聚糖其分子量分布出现很大的差异。40 下得到的 - 葡聚糖洗脱峰最宽，从外水体积(约

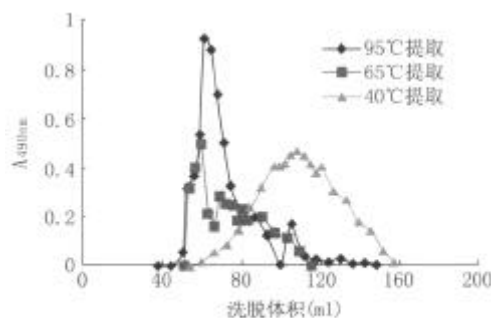


图3 不同温度下提取的β-葡聚糖洗脱曲线

50ml)一直到160ml，峰尖位置在110ml左右出现。95 和 65 的提取物峰形相对较窄，出峰位置较早。由此我们可以知道，40 的提取物分子量分布最广，但平均分子量较小；而95 和 65 的提取物分子量分布相对集中，平均分子量较高。

对照相对分子质量标准曲线，假设以各自洗脱峰尖位置对应的分子量来表示该聚合物的分子量的话，那么40 提取的 - 葡聚糖的分子量为 3.4×10^5 ，而95 和 65 的提取物分子量大致相当，为 2.4×10^6 。导致这种情况的原因可能在两个方面：40 的提取条件下，- 葡聚糖发生了酶解或微生物降解过程。我们知道，燕麦麸中存在着内源 - 葡聚糖酶，且这部分酶酶活较高，在适宜的条件下能迅速降解 - 葡聚糖。对 - 葡聚糖酶而言，40 ，pH7.0差不多是它的最适反应条件。那么在这种条件下提取麦麸中的 - 葡聚糖，同时也是一个酶解的过程，因此最终得到的 - 葡聚糖分子量较小，且分布广。高于65 ，可能致使内源酶失活，也不利于微生物的生长活动，故而 - 葡聚糖分子以较为完整的形式被提取出来。

2.2.3 提取过程 pH 的不同对 - 葡聚糖分子量分布的影响

从图4可以看出，65 不同酸碱条件下提取的 - 葡聚糖的洗脱曲线基本相似，出峰位置均在60ml左右洗脱体积处。这说明 - 葡聚糖分子对碱性条件较

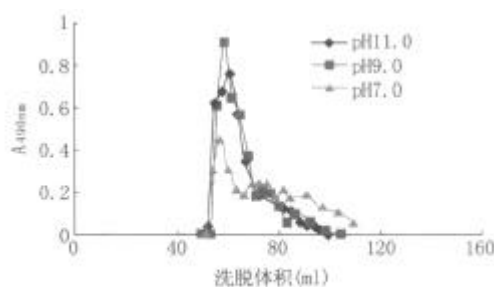


图4 65°C不同pH下提取的β-葡聚糖洗脱曲线

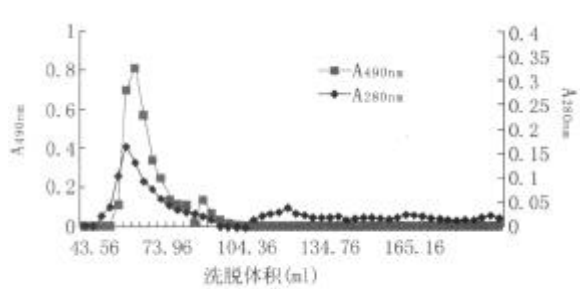


图5 β -葡聚糖粗品洗脱图谱

稳定,即使在 pH 为 11.0 的情况下也不易发生水解反应。同时我们也可以推测出碱性条件下 β -葡聚糖更好地溶出并不是通过切断分子间糖苷键,使其变成较小的可溶性糖分子这一方式达到的。

2.2.4 β -葡聚糖分子存在形式

从我们的产品分析结果来看,从燕麦麸中提取的 β -葡聚糖有一部分蛋白质(约 5%)的存在,即使在经过水提取、加热处理、等电点沉淀和酒精沉淀之后仍难以除去。结合文献报道,初步估计其中一部分蛋白质可能是和多糖结合在一起的。为进一步了解提取的 β -葡聚糖分子和蛋白质分子的存在状况,我们对 β -葡聚糖粗品进行洗脱,分别检测糖与蛋白质的分布,结果如图 5 所示。我们发现糖组分出现较明显的两个洗脱峰。经酶法鉴定,前一个较大的糖洗脱峰为 β -葡聚糖组分,而后一个较小的组分未有葡萄糖检出,根据文献报道,推测有可能是阿拉伯木聚糖或半乳甘露聚糖。与 β -葡聚糖的洗脱峰峰形较好对称的有一个较大的蛋白质吸收峰,此外从洗脱体积 105ml 开始到一个柱床体积甚至更大则不间断地出现有蛋白质吸收谱。一般文献中报道,燕麦麸中可溶性蛋白质的分子量一般在几万到几十万之间,如果以游离状态存在的话,不可能在 60ml 洗脱体积处出峰,再结合 β -葡聚糖与前面的那部分蛋白质的洗脱峰很好对称的结果,那么可以初步推断有较大吸收峰的那部分蛋白质是与 β -葡聚糖结合在一起的,而后一个较宽的蛋白质吸收带则是由游离态的蛋白引起的。

到此,我们就可以清楚的知道, β -葡聚糖分子极有可能是与蛋白质分子以结合的状态存在,上面所测的只是 β -葡聚糖与蛋白质复合物的相对分子质量,实际的 β -葡聚糖的分子量要略小于该数值。

3 结论

3.1 通过以上的提取工艺,我们从燕麦麸中提取的 β -葡聚糖纯度可达 80%,其它主要杂质为蛋白质。

3.2 β -葡聚糖分子量分布随提取温度的不同而改变,较低温度下(40)提取的 β -葡聚糖分子量分布范围较广,且平均分子量较小,为 3.4×10^5 ;较高温度下(65 和 95)的产物分子量分布范围较窄,平均分子量较大,大约 2.4×10^6 。

3.3 β -葡聚糖分子可能是与蛋白质分子以结合的状态存在,我们通过凝胶过滤色谱法测得的 β -葡聚糖分子量并不是 β -葡聚糖的真实相对分子量,而可能是 β -葡聚糖与蛋白质复合物的相对分子量,实际的 β -葡聚糖分子量略小于该值。

参考文献:

- [1] 李进.燕麦的营养价值与保健功效[J].新疆农业科技,1993(5):38-39.
- [2] 马德泉,田长叶等.裸燕麦营养与人类保健[J].青海农林科技,1998,(1):33-35.
- [3] Michael U Beer, Peter J Wood, John Weisz. Molecular weight distribution and (1-3)(1-4)- β -D-glucan content of consecutive extracts of various oat and barley cultivars[J]. Cereal chemistry, 1997, 74(4): 476-479.
- [4] Barry V McClear, Glennie-Holmes. Enzymic quantification of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in barley and malt [J]. Journal Institute of Brewing, 1985, 91: 285-295.
- [5] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 浙江大学出版社, 1999.
- [6] 何忠效等. 现代生物技术概论[M]. 北京师范大学出版社, 1999.

全国中文核心期刊

中国期刊方阵双效期刊