

大豆纤维中的多糖—多肽复合物

郑建仙

霄霖

(华南理工大学轻工食品学院, 广州, 510000)

(无锡轻工大学食品学院, 无锡, 214036)

摘要 利用 1 mol/L NaOH 溶液从大豆细胞壁物质(膳食纤维)中提出 RF5, 经柱层析进一步分级成 PRF5-1 和 PRF5-2 两种纯组分, 它们均是多糖—多酚—多肽复合物。由 $\beta(1 \rightarrow 4)$ 糖苷键连的木聚糖构成多糖部分的主链结构, 主链分别通过 C_3 和 C_2 分支点连有 Ara 和 GlcA 作为侧链, PRF5-2 组分中在 C_3 位还连有 [Ara(1 $\rightarrow$ 4)Glc(1 $\rightarrow$)] 侧链。多酚类物质鉴定出其中主要的 5 种, 分别是水杨酸、阿魏酸、香豆酸、香草酸和 2, 5-二羟基苯甲酸等。多糖与多肽之间是通过多酚(主要是阿魏酸和香豆酸)活泼羟基团的共价作用联系在一起。RF5 对面团的粉质与拉伸特性有明显的改良作用。

关键词 大豆, 膳食纤维; 多糖—多酚—多肽复合物; 结构; 改良作用

中图分类号 O225

0 引言

由豆渣经特殊湿热处理而得的高活性多功能大豆纤维添加剂, 是一种性质独特的膳食纤维制品^[1]。它的独特之处不仅具有多种明显的生理功能, 而且当添加量较小时还能较明显地改良面团特性, 是一种潜在的面粉品质改良剂。这在很大程度上是由于其含有一种复合物组分——多糖—多肽复合物(RF5), 后者通过多酚类化合物活泼羟基团的共价作用与面粉蛋白结合形成更大分子的面筋网络结构, 于是能改良面团特性。本文中首次报道了这种复合物的化学结构及其对面团特性的影响。

1 材料与方法

1.1 多糖—多肽复合物组分(RF5)的分离

用改良的 CNDF 法提取出纯净的细胞壁物质(膳食纤维), 之后依次用 H_2O , 1% $(NH_4)_2C_2O_4$ 和 0.6% $NaClO_2$ —0.24% HAC 提取所得残渣, 经水洗涤干净后, 用 1 mol/L NaOH 水溶液在 N_2 , 20℃ 条件下搅拌提取 2h, 提取液对水透析 72h, 冷冻干燥得组分 RF5。

1.2 凝胶柱层析

取 50mg 的 RF5, 缓慢溶解于 0.4 mol/L NaOH 中, 过滤取滤液注入 Sepharose CL-2B

收稿日期: 1996-01-21

第一作者: 郑建仙, 男, 1966 年 10 月出生, 博士后, 副教授

©1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

凝胶色谱柱(2×100cm,凝胶床96cm).洗脱液为0.4mol/L NaOH,流速0.25ml/min,每管收集5ml,取样用硫酸苯酚法显色后在480nm处进行比色。

1.3 单糖分析

取适量复合多糖样品,经1mol/L H₂SO₄在100℃温度下水解5h,转化成糖醇乙酰衍生物(Alditol acetates),在日本岛津公司GC-14A气相色谱仪上进行分离鉴定^[2,3]。

1.4 甲基化分析

先将样品分散于DMSO溶剂中,在N₂保护下滴加甲基亚磺酰负离子进行甲基化,再经水解和乙酰化后用气相色谱进行分离鉴定^[4]。

1.5 氨基酸自动分析

复合多糖样品先经6mol/L HCl水解24h(110℃),然后在日立835-20氨基酸自动分析仪上分离分析。

1.6 结合态多酚类物质的提取

取80mg RF5分散于20ml 4mol/L NaOH中,通N₂在室温下水解4h;用6mol/L HCl调节pH=2后离心去除絮凝物,用5倍体积的已烷分数次抽提以去除可能含有的脂肪酸或其它类脂污染物;之后用乙酸-乙醚(1:1)分6次提取水解释放出的多酚类物质,经无水Na₂SO₄脱水后在30℃下真空浓缩至小体积,转移至10ml的磨口三角瓶中,通N₂吹干。

1.7 多酚类物质的GC-MS联机分析

多酚类物质先转化成三甲基硅醚衍生物,然后在配有GC-9610气相色谱仪的Finnigan MAT4600质谱仪上分析^[1]。

1.8 面团特性分析

粉质曲线按AACC54-21方法进行,拉伸曲线按AACC54-10方法进行分析^[5]。

2 结果与讨论

2.1 RF5的凝胶柱层析

RF5经Sephacrose CL-2B凝胶柱层析的结果见图1,有两个峰,说明RF5再分级出两种组分,各命名为PRF5-1和PRF5-2。经凝胶电泳分析确认这两种分级物均为纯组分,分别占流出组分总量的60%和40%。层析柱对RF5的定量回收率为88%。

2.2 PRF5-1和PRF5-2的多糖结构分析

表1和表2的结果表明,从RF5进一步分级提纯的2种组分以碳水化合物为主,蛋白质含量较少。

PRF5-1和PRF5-2的单糖组成均以Ara和Xyl为主,同时含有少量的GlcA;其中后者的GlcA含量要高些(占总糖的11.3%),分子量较前者小(从图1的凝胶层析结果可知)。在PRF5-2分子中,其Ara:Xyl的比值(1:1.53)要较PRF5-1的Ara:Xyl比值(1:3.67)大,说明PRF5-2分子的分支程度相对要

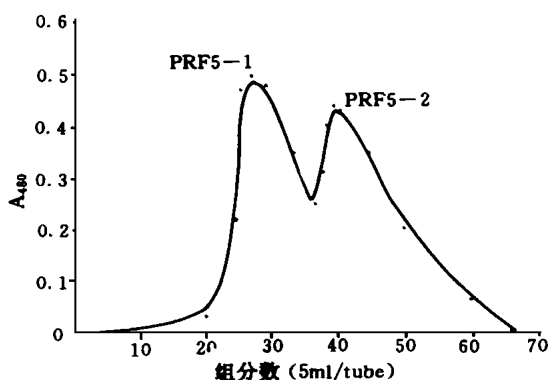


图1 RF5组分的凝胶层析图

— · — RF5

大些

表 1 PRF5-1和 PRF5-2的化学成分 (%)

组 分	蛋白质	碳水化合物*	Rha	Ara	Xyl	Glc	Gal	Glc A
PRF5-1	4. 2	93. 2	+	20. 5	75. 2	-	+ **	4. 3
PRF5-2	6. 4	90. 3	+	32. 8	50. 3	5. 6	+	11. 3

注: * 蛋白质与碳水化合物的单位是占该组分的质量分数,单糖单位是占水解单糖的摩尔分数.

** “+”表示微量存在,“-”表示不存在,下同.

表 2 PRF5-1和 PRF5-2的氨基酸组成 (%)

组 分	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Cys	Val	Met	
PRF5-1	4. 1	1. 7	2. 2	5. 8	2. 1	1. 7	0. 4	1. 9	0. 7	
PRF5-2	5. 7	2. 6	3. 4	7. 8	3. 2	2. 6	0. 6	2. 4	0. 9	
组 分	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	Hpr	Pro	总 和
PRF5-1	1. 8	2. 9	0. 8	1. 9	2. 1	1. 2	2. 1	1. 5	2. 0	36. 9
PRF5-2	2. 1	4. 4	1. 2	2. 1	2. 9	1. 4	2. 3	1. 8	2. 8	50. 2

PRF5-1和 PRF5-2的糖苷键连接方式是很相似的. 表 3的甲基化结果表明,在这两种多糖分子中,Ara只以非还原尾端出现,说明是以旁链形式连接在主链上. 位于非还原尾端的 Xyl数量很少,而位于链中央的 Xyl残基如 [→ 4) Xyl(1→], [→ 3, 4) Xyl(1→]和 [→ 2, 4) Xyl(1→]数量很多. 显然,这说明通过 (1→ 4)糖苷键连接的木糖链是这两种多糖分子的主链,该主链中有部分木糖残基在 C₂和 C₃位上带有分支点. 葡糖醛酸 GlcA只检出 2, 3, 4-Me₃ GlcA,说明也只能以单糖侧链形式连接于木糖主链上.

表 3 PRF5-1和 PRF5-2的甲基化分析 (摩尔分数)

甲基化单糖	糖苷键位置	PRF5-1	PRF5-2
3, 4-Me ₂ Rha ^a	→ 2) Rha(1→	+	+
2, 3, 5-Me ₃ Ara	Ara(1→	19. 3	33. 4
2, 3-Me ₂ Ara	→ 5) Ara(1→	+	+
2, 3, 4-Me ₃ Xyl	Xyl(1→	+	+
2, 3-Me ₂ Xyl	→ 4) Xyl(1→	51. 2	10. 2
2-Me Xyl	→ 3, 4) Xyl(1→	20. 7	33. 4
3-Me Xyl	→ 2, 4) Xyl(1→	4. 3	9
2, 3, 6-Me ₃ Glc	→ 4) Glc(1→	-	5
2, 3, 6-Me ₃ Gal	→ 4) Gal(1→	+	+
2, 3, 4-Me ₃ Glc A	Glc A(1→	4. 5	9

注: * 3, 4-Me₂ Rha= 1, 2, 5-tri-O-acetyl-3, 4-di-o-methyl-rhamnitol, etc.

为弄清 GlcA是连接在主链木糖的 C₂还是 C₃分支点上,特进行酸部分水解试验. 分别取 PRF5-1和 PRF5-2各 20mg分散于 2ml 12. 5mmol/L的草酸水溶液中,升温至 100℃水解 7h. 结束后通 N₂ 浓缩,然后注入 Sephadex G-50凝胶层析柱 (2. 0× 100cm)进行洗脱,层析结果见图 2.

分析表明,小分子组分主要含有 Ara (PRF5-1 89%, PRF5-2 94%),同时含有少量的 Xyl(约 6%),其中 PRF5-2组分的还检出少量 Glc(3%).大分子组分几乎不含 Ara(< 3%),这说明酸部分水解几乎已将旁链的 Ara除尽,当然主链也有部分断裂. 将部分水解的大分子组分 DPRF5-1和 DPRF5-2再次甲基化,分析结果见表 4.由于去除了旁链 Ara,所以此时 [→ 2, 4) Xyl(1→]的存在表明 GlcA是连接在主链的 C₂位置上. 同时,非还原尾端的 [Xyl(1

种类与数量都比较多。限于作者所掌握的标准谱图资料有限,只鉴定出其中主要的 5种酸性化合物,质谱数据列于表 5,它们在 RF5中的相对含量比例为 2 8∶ 2∶ 2 1∶ 1. 2∶ 1.

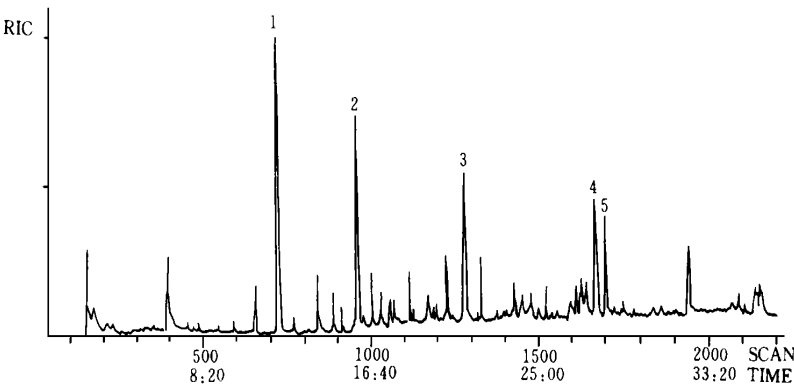


图 4 RF5中多酚类物质三甲基硅烷化衍生物的重构总离子流图

表 5 存在于 RF5中 5种酚酸类化合物的质谱数据

峰号	衍生化合物	主要质谱数据 m/z(相对丰度)	原化合物
1	2-(三甲基硅氧基)苯甲酸三甲基硅酯	45(6), 73(25), 75(8), 76(4), 79(5), 91(5), 126(11), 133(10), 135(8), 147(7), 179(9), 193(35), 195(11), 223(47), 224(19), 225(10), 267(100), 268(20), 269(10), 282(40), 283(12)	邻羟基苯甲酸(水杨酸)
2	3-甲氧基-4-(三甲基硅氧基)肉桂酸三甲基硅酯	44(10), 45(23), 73(40), 79(41), 117(8), 146(9), 148(11), 178(10), 209(6), 219(15), 222(9), 249(40), 250(14), 279(15), 293(28), 308(37), 323(48), 325(22), 338(100), 339(25)	3-甲氧基-4-羟基肉桂酸(阿魏酸)
3	对-(三甲基硅氧基)肉桂酸三甲基硅酯	43(11), 45(19), 59(11), 73(100), 91(4), 115(14), 133(7. 2), 139(15), 147(12), 149(14), 179(19), 191(13), 203(14), 208(12), 219(90), 224(6. 4), 233(8. 2), 249(41), 293(85), 308(94), 338(11)	4-羟基肉桂酸(香豆酸)
4	3-甲氧基-4-(三甲基硅氧基)苯甲酸三甲基硅酯	40(10. 2), 42(9. 5), 45(11), 57(20), 59(12), 73(43), 89(12), 102(8), 126(20), 134(14), 142(12), 165(9. 2), 179(10), 207(8), 223(46), 254(35), 267(60), 282(25. 3), 297(100), 312(77)	3-甲氧基-4-羟基苯甲酸(香草酸)
5	2, 5-双(三甲基硅氧基)苯甲酸三甲基硅酯	45(12), 73(95), 74(9), 76(11), 79(5. 4), 131(5), 133(6. 8), 147(7), 165(6. 8), 179(5. 8), 193(100), 223(10), 237(5), 267(11), 281(10), 355(28), 360(10), 370(20)	2, 5-二羟基苯甲酸

2. 4 RF5组分的复合结构模型

综合上述结果与分析,可知 RF5(包含 PRF5-1和 PRF5-2两纯组分)是由多糖、多肽和多酚类物质所组成的复合物,多糖、多肽是通过酚酸类化合物(主要是阿魏酸和香豆酸)的活泼羟基团的共价作用而联结在一起。以谷物胚乳和糊粉层细胞为对象的研究表明,阿魏酸通过与阿拉伯糖取代基的 O5 原子形成酯键而共价联接于阿拉伯木聚糖上,酯键连于阿木聚糖上的阿魏酸可通过半胱氨酸的巯基与酚酸双键的还原作用而与多肽连接在一起,也可通

过与酪氨酸残基的交联作用而与多肽相连接 Hoseney 等人曾提出如图 5 所示的复合模型^[7]。

未能确定的是,这些以谷物为对象的研究结论是否完全适用于 RF5 组分中,限于条件未能对这方面作更深入的研究 许多试验表明,酚酸类物质在维持植物细胞壁结构上起着重要的作用。

2.5 RF5组分对面团特性的影响

RF5对面团粉质与拉伸曲线的影响情况见图 6,表 6和表 7.显然,RF5对面团粉质曲线有明显的改良作用,如添加 1.0% 时面团稳定时间由原来的 2min 延长到 5.4min,衰落值由原来的 120Bu 降低到 65Bu,评价值由原来的 38 上升到 50.而且,添加量与改良效果之间有很大的相关性,在试验范围内添加量越大效果越好。

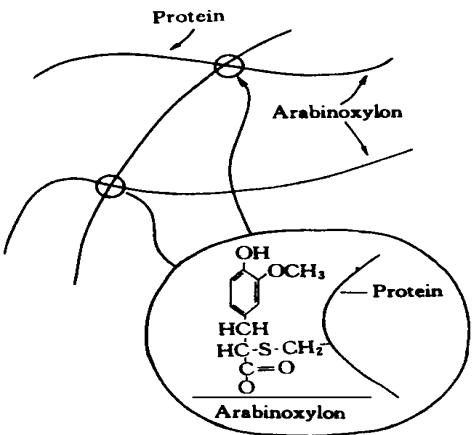


图 5 阿拉伯木聚糖、蛋白质和阿魏酸的复合模型^[7]

表 6 RF5对面团粉质曲线的影响

添加量 (%)	吸水率 (%)	面团形成时间 (min)	面团稳定时间 (min)	衰落期 (Bu)	终带宽 (Bu)	评价值
0	63.6	2.2	2	120	35	38
0.5	65.2	2.7	4	85	35	44
1.0	67.4	3.0	5.4	65	35	50
1.5	69.1	4.0	6	55	35	55

表 7 RF5对面团拉伸曲线的影响

添加量 (%)	保温 45min				保温 90min				保温 135min			
	粉力 (cm ²)	抗拉阻力 (Bu)	延伸性 (cm)	拉力 比数	粉力 (cm ²)	抗拉阻力 (Bu)	延伸性 (cm)	拉力 比数	粉力 (cm ²)	抗拉阻力 (Bu)	延伸性 (cm)	拉力 比数
0	62	240	15.8	15.2	73	280	15.2	18.4	78	330	14	23.6
0.5	60	260	13.6	15.2	73	340	13.8	24.6	82	385	13.6	28.3
1.0	58	280	13.8	19.1	75	365	13.5	27.0	85	450	13.2	34.1
1.5	55	310	11.8	20.3	69	410	11.5	35.7	78	500	10.7	46.7

评价面团拉伸曲线特性有 4 个主要参数:粉力、抗拉阻力、延伸性和拉力比数,在一定范围内这 4 个参数的数值越大,表明面团的拉伸特性越好。综观图 6 和表 7 的分析结果,添加 RF5 所引起面团拉伸特性变化的趋势是: 1)抗拉阻力和拉力比数增大,这表明是强化了面团的筋力; 2)粉力略有下降且延伸性也有所下降,这又表明了恶化了面团特性。因此,RF5 的添加对面团拉伸特性的影响存在双重性,综合效果取决于两种对立的变化程度的相对大小。在试验范围内,改良作用明显超过了恶化作用,所以总的来说 RF5 的添加是改良了面团拉伸特性。

面团粉质特性和拉伸特性合称面团流变学特性,简称为面团特性。因此,RF5 组分可以改良面团特性,进而可以改善面包的焙烤品质与面条的烹煮品质,是引致大豆纤维独特性质。

的重要成分。

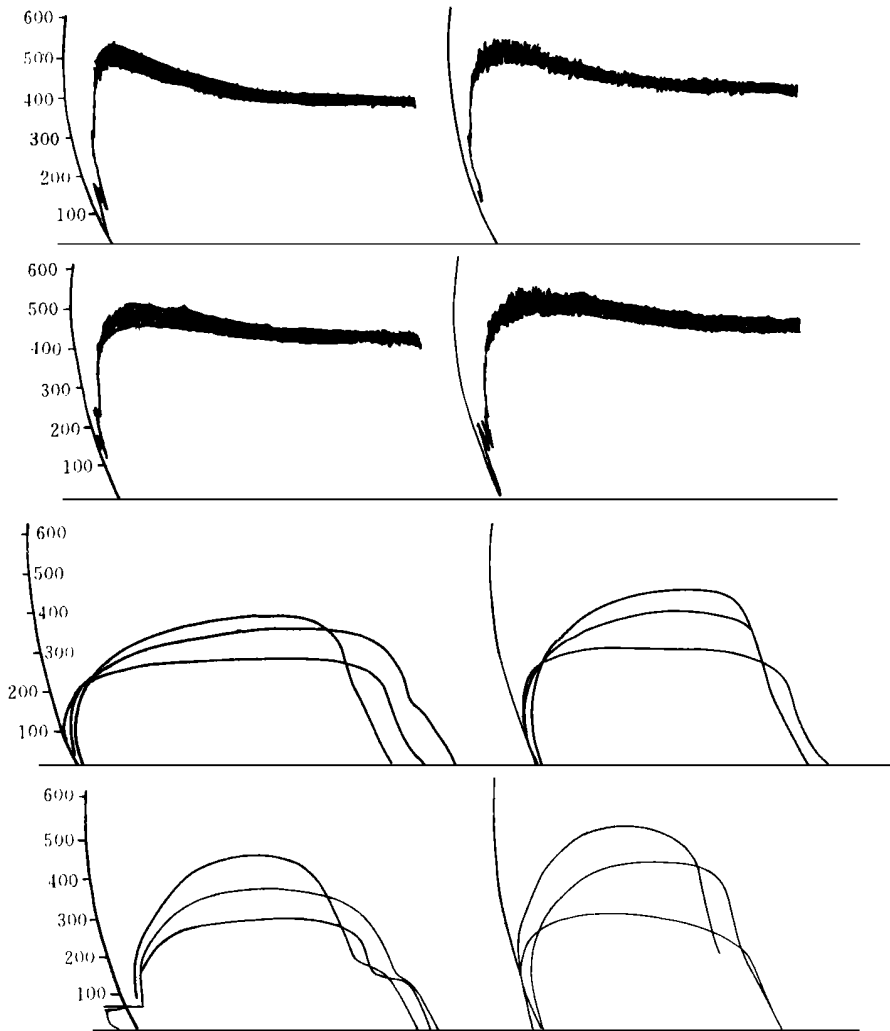


图 6 RF5组分对面团粉质与拉伸曲线的影响

上左: 0% ; 上右: 0.5% ; 下左: 1.0% ; 下右: 1.5% (粉质与拉伸 4张图各自对应)

RF5组分改良面团特性的原因,可认为是阿拉伯木聚糖通过与酚酸(如阿魏酸)的活性双键而与面粉蛋白结合成更大分子的网络结构,于是强化了面筋筋力^[8]。由于更大分子的网络结构势必与部分淀粉发生某种作用,因此 RF5组分还能延缓淀粉凝胶的老化速度而延长面包的货架寿命,这也是大豆纤维能够延缓面包陈化的一个重要原因。

3 结 论

1) 用 1mol/L NaOH提取出的 RF5组分,是大豆纤维的重要组成部分,占纯净纤维总量的 12.7%。RF5由多糖、多肽和多酚类化合物三者组成的复合物,可通过凝胶色谱柱进一步分级成 PRF5-1和 PRF5-2两种纯组分。

2) RF5的多糖部分由 Xyl通过 $\beta(1 \rightarrow 4)$ 糖苷键连接的木聚糖作为主链,主链上有部

分 Xyl残基分别通过 C₃和 C₂分支点连接单个 Ara和 GlcA残基作为侧链,其中 PRF5-2纯组分还存在少量的 [Ara(1→4)Glc(1→)]低聚结构作侧链连于 C₃分支点上。多酚类化合物主要有水杨酸、阿魏酸、香豆酸、香草酸和 2,5-二羟基苯甲酸等,其中阿魏酸和香豆酸(分别占 22%和 23%)在联结多糖与多肽链间起重要作用。

3) RF5组分可明显改良面团的粉质特性与拉伸特性,是引致大豆纤维能改良面团特性这一有别于普通纤维的独特性质的关键成分之一。

参 考 文 献

- 1 郑建仙. 活性多糖化学与工艺学的研究. [博士学位论文]. 1993年
- 2 Blakeney A B, et al. Carbohydr. Res. 1983, 113 29
- 3 Yoshiaki S, et al. Agric. Biol. Chem. 1978, 42 417
- 4 Yoshiaki, So et al. Agric. Biol. Chem. 1970, 42 825
- 5 商业部谷化所译. 美国谷物化学家协会审批方法. 第八版. 1987年
- 6 Kundrg W, et al. Helv. Chem. Acta. 1961, 44 969
- 7 Hoseney R C, et al. Cereal Chem. 1981, 58 421
- 8 郑建仙. 功能性食品. 中国轻工业出版社, 1995年 2 陈 廷. 决策分析. 科学出版社, 1987

Studies on the Complex polysaccharide — Polypeptide of Soybean Fibre

Zheng Jianxian

(College of food Engineering, South China University of Technology)

Ding Xiaolin

(School of Food Sci. and Techn., Wuxi Univ. of Technology)

Abstract RF5 was extracted from the soybean cell wall material (dietary fibre) by using 1mol/L NaOH solution and then fractionated into two pure compositions, PRF5-1 and PRF5-2, by chromatography. Both compounds are polysaccharide-polyphenol-polypeptide complex with the $\beta(1 \rightarrow 4)$ linked xylan backbone, which is branched at position C₃ and C₂ with arabinose and glucuronic acid residues respectively. PRF5-2 is further branched at position C₃ with [Ara(1→4)Glc(1→)] as substituent. The polyphenol compounds were characterized to contain salicylic acid, ferulic acid, coumaric acid, vanillic acid and gentisic acid etc. The covalent interactions between polysaccharide and polypeptide are through the activated hydroxy groups of polyphenol compounds (mainly ferulic acid and coumaric acid). RF5 was found to have significant improvement on dough farinograph and extensograph properties.

Key-words Soybean, Dietary Fibre, Complex Polysaccharide-Polyphenol-Polypeptide, Structure, Improvement.

(责任编辑: 秦和平)