

文章编号:1009-038X(2004)02-0001-04

小麦麸皮水溶性戊聚糖的分离及分级纯化

郑学玲^{1,2*}, 李利民², 姚惠源^{1*}

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036; 2. 郑州工程学院 粮油食品学院, 河南 郑州 450052)

摘要: 以水为溶剂从小麦麸皮中制备水溶性戊聚糖, 采用乙醇分级沉淀、离子交换色谱以及凝胶过滤色谱对所得到的水溶性戊聚糖进行纯化分级, 得到两个组成不同的组分 P-WSPII-S 和 P-WSPIII-S。单糖组成分析表明: P-WSPII-S 组分由阿拉伯糖和木糖组成, P-WSPIII-S 由阿拉伯糖、半乳糖组成, 并含有较多的蛋白质, 是一种糖蛋白复合物组分。

关键词: 小麦麸皮; 水溶戊聚糖; 分级纯化; 组成分析

中图分类号: TS 201.9

文献标识码: A

The Preparation, Fractionation, Purification and Composition Analysis of Wheat Bran Water-Soluble Pentosans

ZHENG Xue-ling^{1,2*}, LI Li-min², YAO Hui-yuan^{1*}

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Grain College, Zhengzhou Institute of Technology, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Water soluble pentosan was prepared from wheat bran using water. The prepared pentosan was a mixture, it was fractionated by stepwise ethanol precipitation, ion exchange chromatograph and gel filtration chromatograph, respectively. Two main purified fractions, P-WSPII-S and P-WSPIII-S were obtained. P-WSPII-S was composed by arabinose and xylose, and P-WSPIII-S was composed by arabinose and galactose. In addition, P-WSPIII-S also contained protein, which perhaps was a glucoprotein compound.

Key words: wheat bran; water soluble pentosan; fractionation; composition analysis

戊聚糖是一种非淀粉多糖, 主要由戊糖(阿拉伯糖和木糖)组成^[1], 广泛地存在于小麦、黑麦、大麦等谷物的外层中, 内层胚乳中含量较少^[2]。戊聚糖具有很高的吸水持水特性、高粘度特性, 以及氧化交联形成凝胶、乳化稳定等作用, 对面团特性及面制品的品质有重要的影响^[3~5]。对戊聚糖研究主要是从谷物皮层中提取戊聚糖, 将其开发为增稠剂、保湿剂、乳化稳定剂等应用于食品工业和化妆品工业^[6]。此外, 戊聚糖还具有预防和控制结肠癌与乳腺癌、降低血糖以及减肥等作用^[7,8], 可以作为

功能性因子添加到保健食品中。

作者以小麦麸皮为原料, 以水为提取溶剂制备水溶性戊聚糖, 分别采用乙醇分级沉淀、离子交换色谱以及凝胶过滤色谱等方法对所制备的粗水溶性戊聚糖进行纯化分级, 并对其组成进行分析。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

工业粗麸皮: 上海马来西亚面粉有限公司提供; 耐高温 α -淀粉酶: 无锡杰能科生物工程有限公

收稿日期: 2003-09-23; 修回日期: 2003-11-22。

基金项目: 国家“十五”重点科技攻关项目(2001 BA501A02)资助课题。

作者简介: 郑学玲(1972-), 女, 河南商丘人, 工学博士, 副教授。* 通讯作者。

司产品;DEAE-cellulose, Sephrose CL-4B;上海华美生物工程公司提供;其它试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

离心沉淀机:上海医用分析仪器产品;721 型分光光度计:上海第三分析仪器厂产品;层析柱:上海华美工程公司提供;恒流泵,自动部分收集器:上海沪西分析仪器厂产品;气相色谱仪(GC-14A 型):美国 Waters 公司产品。

2 实验方法

2.1 水溶性戊聚糖的制备

小麦麸皮用粉碎机粉碎后过 40 目筛,筛下物按 $W(\text{麸皮}):V(\text{体积分数为 } 80\% \text{ 的乙醇溶液})=1\text{ g}:5\text{ mL}$ 的比例,70 °C 回流 2 h,离心分离出上清液;不溶物按质量比 1:10 加入蒸馏水,并加入一定量的戊聚糖酶,60 °C 提取 2 h;离心分离上清液,将上清液加热到 95 °C,加入适量的耐高温 α -淀粉酶,保温 90 min,并不断振荡,然后冷却到 60 °C,加入适量糖化酶,保温 1 h;然后用中性蛋白酶处理,以分解其中含有的蛋白质,加热到 100 °C,并保温 20 min 进行灭酶处理;离心分离上清液,浓缩上清液至一定体积,然后加入 4 倍体积的乙醇,在 4 °C 静止,过夜;离心收集沉淀,沉淀部分加一定量水溶解,浓缩去除残余的乙醇,得到水溶性戊聚糖粗品(C-WSP)。

2.2 C-WSP 的乙醇沉淀分级纯化

C-WSP 溶液加入体积分数为 95% 的乙醇溶液,使乙醇最终体积分数为 65%,4 °C 静止过夜,离心分成上清液和沉淀两部分。沉淀部分加入一定量的水分溶解,浓缩去除残余的乙醇,得到组分 C-WSPI。上清液部分加入体积分数为 95% 的乙醇溶液,使最终乙醇体积分数为 80%,4 °C 静止过夜,离心收集沉淀部分。沉淀部分加入一定量的水分溶解,浓缩去除残余的乙醇,得到组分 C-WSPII。

2.3 DEAE-Cellulose 离子柱层析

C-WSPI 和 C-WSPII 经三氯乙酸脱蛋白处理

后,透析,然后分别用 DEAE-cellulose 离子柱层析;经碱洗、酸洗,再碱洗后用去离子水平衡,装填于层析柱中($D\ 2.6\text{ cm}\times 80\text{ cm}$),以不同离子强度的盐溶液洗脱;调整体积流量 20 mL/h,以每 10 min 每管 3 mL 收集,以苯酚-硫酸法检测总糖(以 A_{480} 表示),紫外检测仪检测蛋白质,收集主要的洗脱组分,透析,进行凝胶柱层析。

2.4 Sephrose CL-4B 凝胶过滤色谱分析

C-WSPI 和 C-WSPII 经 DEAE-cellulose 柱洗脱的主要组分进行凝胶过滤色谱分析,以 H_2O 为洗脱溶剂进行洗脱;洗脱体积流量为 15 mL/h,收集洗脱液,每管 3 mL,以苯酚-硫酸法检测总糖(以 A_{480} 表示),紫外检测仪检测蛋白质,收集主要的洗脱组分,透析,冷冻干燥,得到纯化的水溶性戊聚糖组分 C-WSPI-S、C-WSPII-S。

2.5 水溶性戊聚糖粗提物及分级纯化组分的组成分析

蛋白质测定:福林-酚试剂法;总糖测定:苯酚-硫酸法^[10];戊聚糖测定:Douglas 法^[11];阿魏酸测定:分光光度法^[12];组成单糖分析:气相色谱法。

3 结果与讨论

3.1 小麦麸皮水溶性戊聚糖及其乙醇沉淀分级组分的得率及组成分析

以水为提取溶剂,从小麦麸皮中分离得到水溶性戊聚糖粗品 C-WSP,采用乙醇沉淀分级的方法,将 C-WSP 分级得到两种组分 C-WSPI 和 C-WSPII,对其组成进行分析,结果见表 1。

从表中的实验结果可知,小麦麸皮中粗水溶性戊聚糖(C-WSP)的得率为 4.22%。除糖类外,还含有大量的蛋白质,从其单糖组成分析可知,它由阿拉伯糖、木糖、半乳糖、葡萄糖 4 种糖组成。将 C-WSP 组分采用乙醇分级沉淀的方法得到两种组分 C-WSPI 和 C-WSPII,从表 1 的组成分析可知,C-WSPI 和 C-WSPII 的组成不同,C-WSPI 主要由阿拉伯糖和木糖两种糖组成,蛋白质含量较少;而

表 1 C-WSP 及 C-WSPI、C-WSPII 的得率及组成分析

Tab. 1 The yield and composition of C-WSP, C-WSPI and C-WSPII

| 组分 | 得率 ^a /% | 总糖 质量分数/% | 蛋白质 质量分数/% | Ara 质量分数/% | Xyl 质量分数/% | Gal 质量分数/% | Glu 质量分数/% | Ara/Xyl ^b |
|---------|--------------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------------|
| C-WSP | 4.22 | 77.32 | 18.30 | 30.43 | 32.29 | 25.28 | 13.00 | 0.94 |
| C-WSPI | 2.54 | 90.42 | 4.72 | 38.12 | 48.96 | 3.08 | 7.82 | 0.79 |
| C-WSPII | 1.22 | 77.73 | 22.84 | 40.01 | 11.02 | 40.64 | 3.99 | 0.98 |

注:a.得率为各组分的质量与原料麸皮质量的百分比;b.表示 Ara/Gal 比值。

C-WSPII 组分主要由阿拉伯糖和半乳糖两种糖组成,另外含有较高的蛋白质含量,可能是一种糖-蛋白质复合物组分。

3.2 C-WSPI 和 C-WSPII 的 DEAE-cellulose 离子交换色谱

C-WSPI 和 C-WSPII 进一步用离子交换色谱进行分级,根据线形梯度洗脱的初步结果,分别用 H_2O , 0.01 mol/L NaCl 溶液、0.05 mol/L NaCl 溶液和 0.2 mol/L NaOH 溶液对 C-WSPI 和 C-WSPII 进行洗脱,结果如图 1 和 2 所示。

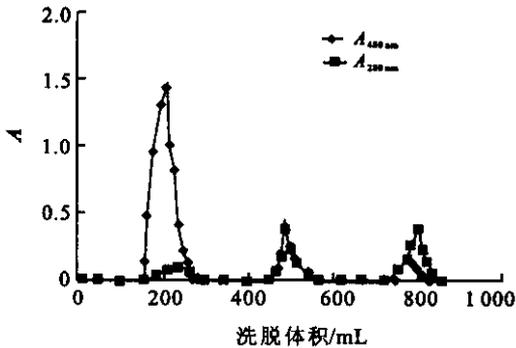


图 1 C-WSPI 的 DEAE-cellulose 的洗脱曲线

Fig. 1 The DEAE-cellulose Elution Curve of C-WSPI

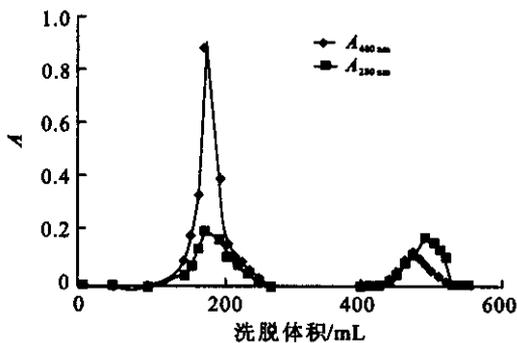


图 2 C-WSPII 的 DEAE-cellulose 的洗脱曲线

Fig. 2 The DEAE-cellulose Elution Curve of C-WSPII

从离子交换色谱的实验结果可知,C-WSPI 可被分级为 3 个组分,依次分别用 H_2O 、0.01 mol/L NaCl 溶液、0.05 mol/L NaCl 溶液洗脱所得,分别记为 C-WSPI1, C-WSPI2, C-WSPI3, 最后用 0.2 mol/L NaOH 溶液洗脱没有得到洗脱组分,说明 P-WSPI 中不含有酸性多糖,为中性多糖。C-WSPI1 为主要组分,而 C-WSPI2 和 C-WSPI3 量较少,故以后的实验中不再对 C-WSPI2 和 C-WSPI3 收集并进行研究,只对 C-WSPI1 进行反复收集,进行组成测定及进一步的分级纯化。

C-WSPII 经 H_2O , 0.01 mol/L NaCl 溶液, 0.05 mol/L NaCl 溶液和 0.2 mol/L NaOH 溶液洗脱,得到两个组分 C-WSPII1, C-WSPII2, 分别为 H_2O 和 0.05 mol/L NaCl 溶液洗脱得到。C-WS-

PII1 为主要组分,而 C-WSPII2 量较少,故以后的实验只对 C-WSPII1 进行反复收集,进行组成测定及进一步的分级纯化。

3.3 C-WSPII 及 C-WSPII1 组分的凝胶过滤色谱分级

C-WSPI 和 C-WSPII 的离子交换色谱分级的主要组分 C-WSPI1 和 C-WSPII1 经进一步去蛋白质处理后,用 Sephrose CL-4B 进行分级。C-WSPI1 和 C-WSPII1 的 Sephrose CL-4B 洗脱曲线分别如图 3 和 4 所示。

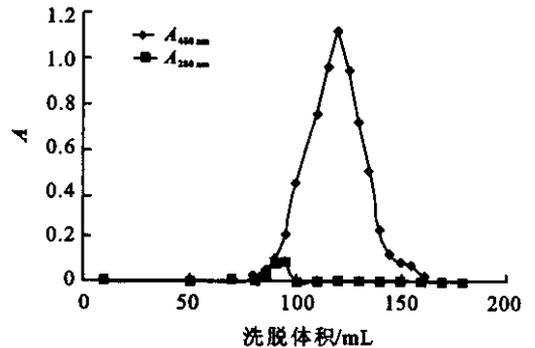


图 3 C-WSPI1 的 Sephrose CL-4B 凝胶柱层析结果

Fig. 3 The Sephrose CL-4B Elution curve of C-WSPI1

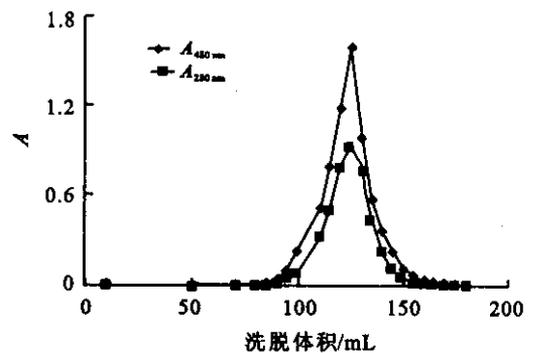


图 4 C-WSPII1 的 Sephrose CL-4B 凝胶柱层析结果

Fig. 4 The Sephrose CL-4B Elution curve of C-WSPII1

C-WSPI1 和 C-WSPII1 在 Sephrose CL-4B 层析柱上用 H_2O 洗脱时,均呈单一洗脱峰,其中 C-WSPI1 的洗脱组分中含有极少量蛋白质,并且蛋白质的洗脱峰与糖的洗脱峰不对称,说明 C-WSPI1 中可能含有极少量的游离蛋白质,收集不含蛋白质的洗脱组分,称为 C-WSPI1-S。C-WSPII1 的洗脱组分中含有糖和蛋白质,并且糖的洗脱峰和蛋白质的洗脱峰呈对称峰,结合图 2 的洗脱曲线,说明该组分可能是一种糖蛋白,收集该组分称为 C-WSPII1-S。

3.4 小麦麸皮水溶性戊聚糖纯化分级组分的组成

小麦麸皮水溶性戊聚糖(C-WSP)经乙醇分级沉淀、DEAE-cellulose 离子交换色谱和 Sephrose CL-4B 凝胶过滤色谱纯化分级,所得各分级组分的组

成如表2所示,其中C-WSPII-S和C-WSPIII-S单糖组成如表3所示。

表2 C-WSP各纯化分级组分的组成分析

Tab.2 The composition of different purified fractions of C-WSP

| 组分 | 得率 ^a / % | 总糖质 量分数/ % | 戊聚糖 质量分 数/% | 蛋白质 质量分 数/% | 阿魏酸 质量分 数/(mg/g) |
|------------|------------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------------|
| C-WSPII | 1.94 | 95.42 | 91.51 | 3.10 | 4.22 |
| C-WSPIII | 0.90 | 77.12 | 54.62 | 23.01 | 0 |
| C-WSPII-S | 1.73 | 97.24 | 95.32 | 0.88 | 4.93 |
| C-WSPIII-S | 0.82 | 78.01 | 57.48 | 22.43 | 0 |

注:a.得率为各组分的质量与原料麸皮质量的百分比。

表3 C-WSPIII-S及C-WSPIII-S的单糖组成分析

Tab.3 The sugar analysis of C-WSPIII-S and C-WSPIII-S

| 组分 | Ara质 量分 数/% | Xyl质 量分 数/% | Gal质 量分 数/% | Glu质 量分 数/% | Ara/ Xyl(Gal) |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| C-WSPII-S | 49.57 | 50.43 | 0 | 0 | 0.98 |
| C-WSPIII-S | 42.26 | 7.25 | 46.31 | 3.04 | 0.92 |

从实验结果可以看出,C-WSPI经离子交换色谱分级的组分C-WSPII中戊聚糖类物质的质量分数为91.51%,将其进一步用凝胶过滤色谱纯化,得到一个单一组分C-WSPII-S。C-WSPII-S与

C-WSPII相比较,具有较高的戊聚糖含量和较低的蛋白质含量,说明经凝胶过滤色谱处理后,该组分得到进一步纯化,并且该组分中含有一定量的阿魏酸。从表3的单糖组成分析可知,C-WSPII-S由阿拉伯糖和木糖两种糖组成,两者之间的比值为0.98。C-WSPIII及其凝胶过滤色谱产物C-WSPIII-S中戊聚糖含量较低,蛋白质质量分数较高,均在20%以上;结合其离子交换色谱及凝胶过滤色谱的洗脱曲线可知,该种组分是以糖-蛋白复合物的形式存在,从其单糖组成分析可知,C-WSPIII-S由阿拉伯糖、木糖、半乳糖和葡萄糖共4种糖组成,其中主要是阿拉伯糖和半乳糖。

4 结 论

小麦麸皮水溶戊聚糖经乙醇分级沉淀、离子交换色谱、凝胶过滤色谱等,可被分级纯化为两种组成不同的组分C-WSPII-S和C-WSPIII-S。C-WSPII-S组分由阿拉伯糖和木糖两种糖组成,两者之间的比值为0.98;C-WSPIII-S组分是一种糖与蛋白质复合物组分,糖类部分由阿拉伯糖、木糖、半乳糖和葡萄糖4种糖组成,其中主要是阿拉伯糖和半乳糖,另含22.43%的蛋白质。

参考文献:

- [1] Shelton D R, Dappolonia B L. Carbohydrate functionality in the baking process[J]. *Cereal foods World*, 1985,38(7):437-442.
- [2] Henry R J. Pentosan and (1→3) (1→4)-β-Glucan concentrations in endosperm and wholegrain of wheat, barley, oats, and rye[J]. *Journal of Cereal Science*, 1987,6:253-258.
- [3] Dappolonia B L, Gilles K A, Medcalf D G. The effect of water-soluble pentosans on gluten-starch loaves[J]. *Cereal Chem*, 1970,47:194.
- [4] Kulp K. Enzymolysis of pentosans of wheat flour[J]. *Cereal Chem*, 1968,45:339-350.
- [5] Moore A M, Hosney R C. Factors affecting the oxidative gelation of wheat water-solubles[J]. *Cereal Chem*, 1990,67(1):81-84.
- [6] Fincher G B, Stone B A. *Advances in Cereal Science and Technology*[M]. St. Paul: AACC, 1986.
- [7] Zhong X L. Arabinoxylan fiber from a by-product of wheat flour processing behaves physiologically like a soluble, fermentable fiber in the large bowel of rats[J]. *Journal of Nutrition*, 2000,130:1984-1990.
- [8] Mongeau R R. Insoluble fiber from breakfast cereals and brans; bile salt binding and water-holding capacity in relation to particle size[J]. *Cereal Chem*, 1982,59:413-417.
- [9] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京:轻工业出版社,1989.
- [10] Dubios M G. Colorimetric method for determination of Sugars and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956,28:350-357.
- [11] Douglas S G. A rapid method for the determination of pentosans in wheat flour[J]. *Food Chemistry*, 1981,(7):139-145.
- [12] Rybka K, Sitariski J. Ferulic acid in rye and wheat grain dietary fiber[J]. *Cereal Chem*, 1993,70(1):55-59.