

文章编号:1673-1689(2005)02-0006-04

水溶戊聚糖分级纯化组分结构初步分析

郑学玲^{1,2}, 李利民¹, 姚惠源²

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 河南 郑州 450052; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 采用气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)、液质联用(LC/MS)、核磁共振(NMR)等分析手段, 对小麦麸皮水溶戊聚糖的分级纯化组分——P-WSPII-S 进行组成和结构初步分析。研究表明: P-WSPII-S 组分由木糖和阿拉伯糖两种糖组成, 两者的摩尔比为 0.98, 相对分子质量为 831 030, 其可能的结构为: D-吡喃木糖以 $\beta(1\rightarrow4)$ 连接为木聚糖主链, 侧链为 α -呋喃阿拉伯糖, D-吡喃木糖残基可在 C-2、C-3 位被阿拉伯糖单独取代或同时取代, 并且该组分中还含有一定量的阿魏酸基团, 其通过酯化的形式与阿拉伯木聚糖共价连接。

关键词: 小麦麸皮; 水溶戊聚糖; 结构分析

中图分类号: O 636.1

文献标识码: A

The Structural Analysis of Purified Fraction of Water Soluble Pentosan

ZHENG Xue-ling^{1,2}, LI Li-min¹, YAO Hui-yuan²

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

Abstract: A series of modern analysis methods, such as GC, HPLC, LC/MS and NMR were used to analyze the composition and main structural features of P-WSPII-S, a purified fraction of wheat bran crude WSP. The molecular weight of P-WSPII-S was 831,030, which consists of arabinose and xylose, with the Ara/Xyl ratio of 0.98. The possible structural feature of P-WSPII-S was a xylan backbone containing xylosyl residues, to which arabinose was linked as side branch. Xylose was substituted by arabinose at C-2 or C-3, or C-2 and C-3 at the same time. In addition, ferulic acid was involved in P-WSPII-S fraction, and covalently associated with arabinoxylan.

Key words: wheat bran; water soluble pentosan; structural analysis

戊聚糖是谷物中的一种非淀粉多糖, 其对谷物的加工、品质及营养有着非常重要的影响^[1,2]。戊聚糖的组成和结构非常复杂, 戊聚糖主要由阿拉伯木

聚糖(arabinoxylan)所组成, 即木糖经 $\beta(1\rightarrow4)$ 糖苷键连接而成的木聚糖为主链, 阿拉伯糖为侧链连接而成^[3,4], 另外, 戊聚糖中也可能含有阿拉伯半乳

收稿日期: 2003-11-09; 修回日期: 2004-01-18.

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, 副教授, 工学博士.

聚糖组分^[5]。有研究发现,戊聚糖还可能以蛋白质共价结合成糖蛋白的形式存在^[6]。尽管对戊聚糖的结构进行了许多研究,但由于戊聚糖自身组成、结构的复杂性,对不同来源的戊聚糖至今也没有一个固定的、详细的结构模式。

作者采用气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)、液质联用(LC/MS)、核磁共振(NMR)等现代仪器分析手段,对小麦麸皮水溶戊聚糖的分级纯化组分——P-WSPII-S进行组成和结构初步分析。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器

1.1.1 实验材料 小麦麸皮水溶戊聚糖纯化组分P-WSPII-S;作者所在实验室自制;高碘酸钠、碘酸钠、乙二醇、硼氢化钠、吡啶、醋酸酐、碘、碘化钾等均为分析纯试剂。

1.1.2 主要仪器 气相色谱仪:美国 Waters 公司产品;核磁共振仪:JEOL FX-400 型,日本电子株式会社产品;液相色谱仪:Waters 2690,美国 Waters 公司产品;质谱仪:Waters platform ZMD4000,ESI/MS,美国 Waters 公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 单糖组成分析 采用 GC 法进行单糖组成测定,称取 50 mg 左右样品,加入 5 mL 2 mol/L 的 H_2SO_4 溶液,100 °C 密闭水解 12 h, $BaCO_3$ 中和,过滤,减压浓缩干燥,加入 0.5 mL 吡啶、10 mg 盐酸羟胺和 10 mg 肌醇,90 °C 保温 30 min,然后加入 0.5 mL 乙酸酐,90 °C 保温 30 min,冷却后取上清液进行 GC 分析。

1.2.2 相对分子质量测定 采用 HPLC 法测定戊聚糖组分的相对分子质量。将样品配成质量浓度为 10 mg/mL 进样,采用 TSK 及 Ultrahydrogel linear 色谱柱,双柱串联,示差折光检测器检测,流动相为 0.1 mol/L 的 $NaNO_3$ 溶液,体积流量为 0.9 mL/min,柱温 45 °C,进样量 20 μ L,记录样品色谱曲线。

按 HPLC 测定的相同条件,将相对分子质量分别为 6 100,16 500,26 290,40 000,84 000,158 000,291 000 的标准 Dextran 相继进样,记录各自的保留时间 T_R ,以 T_R 为横坐标,lgM 为纵坐标,绘制标准曲线。待测样品按上述条件进样,求得 T_R ,通过标准曲线的回归方程计算多糖的相对分子质量。

1.2.3 P-WSPII-S 中酚酸的分离与鉴定

1) 皂化前 P-WSPII-S 中酚酸的分离与鉴定:取 10 mg P-WSPII-S 样品于 50 mL 棕色瓶中,加入

10 mL 氯仿振荡使其充分溶解,用甲醇定容至刻度,混匀,提取 3 h,中间不断振荡,然后用滤纸过滤,收集滤液,进行 LC-MS 测定^[7]。

2) 皂化处理后 P-WSPII-S 中酚酸的分离与鉴定:10 mg P-WSPII-S 样品加入 100 mL 0.5 mol/L NaOH 溶液,在 60 °C 充 N_2 条件下隔光反应 90 min,然后过滤,滤液用 4.15 mol/L HCL 酸化至 pH 3,在 48 °C 减压浓缩至干,甲醇溶解后进行 LC-MS 测定^[8]。

1.2.4 核磁共振分析 取样品 10 mg 溶于 0.5 mL D_2O 中,以 DDS 作内标,用 JEOL FX-600 共振分析仪在 70 °C 温度下进行 1H 谱和 ^{13}C 谱的连续测定。

2 结果与讨论

2.1 P-WSPII-S 组分的单糖组成分析

单糖组成分析是多糖结构测定的一个重要方面^[9],作者采用 GC 法对戊聚糖组分的单糖组成进行分析,实验结果为(质量分数):Ara 49.57%,Xyl 50.43%,Ara/Xyl 0.98。P-WSPII-S 由阿拉伯糖和木糖两种糖组成,并且两种糖的摩尔比为 0.98。

2.2 P-WSPII-S 组分相对分子质量测定

采用 HPLC 对 P-WSPII-S 组分进行相对分子质量测定,结果见图 1。

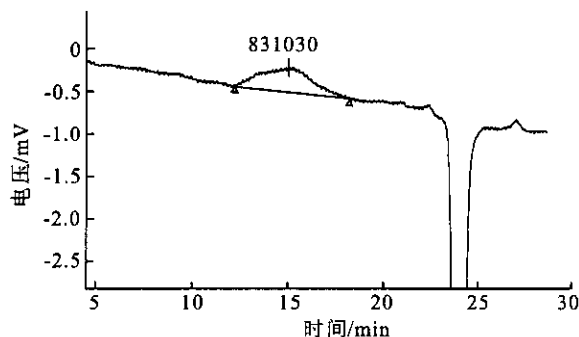


图1 P-WSPII-S 组分的 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatograph of P-WSPII-S

从测定结果可知,P-WSPII-S 的平均相对分子质量较大,为 83 万,这说明小麦麸皮戊聚糖组分具有较高的相对分子质量,这与其他研究者测定的小麦面粉中戊聚糖的相对分子质量大小基本相似^[10]。

2.3 P-WSPII-S 中酚酸的分离与鉴定

从 P-WSPII-S 中阿魏酸质量分数的测定结果可知,P-WSPII-S 组分阿魏酸质量分数较高,为 4.93 mg/g,对其酚酸进行分离,并采用 LC/MS 对酚酸种类进行鉴定,实验结果见图 2~5。

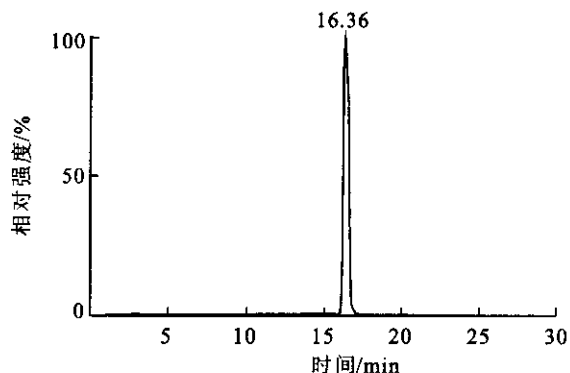


图2 标准阿魏酸的液相色谱图

Fig. 2 The liquid chromatograph of standard ferulic acid

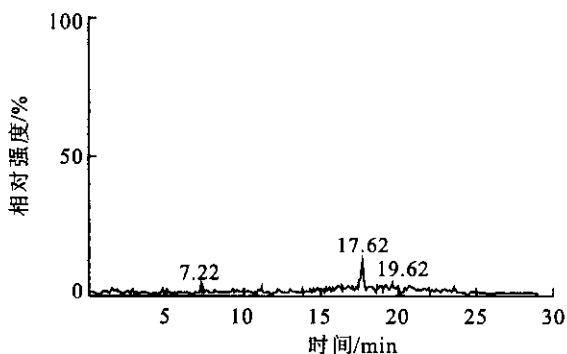


图3 P-WSPII-S 皂化前的液相色谱图

Fig. 3 LC chromatograph of P-WSPII-S before saponification treatment

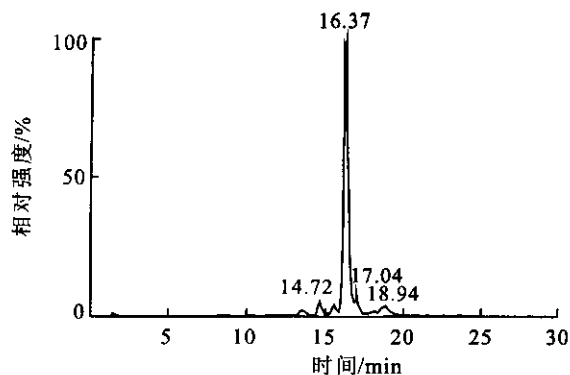


图4 P-WSPII-S 皂化后的液相色谱图

Fig. 4 LC chromatograph of P-WSPII-S after saponification treatment

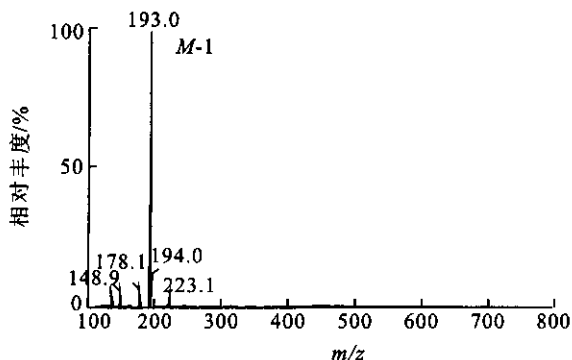


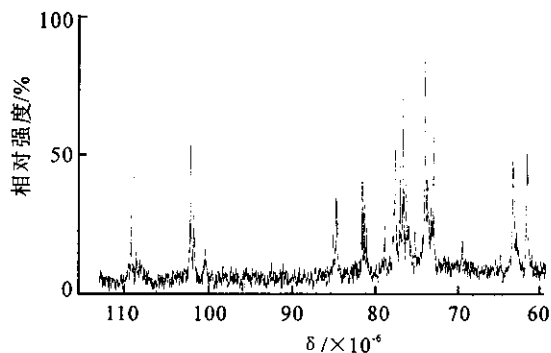
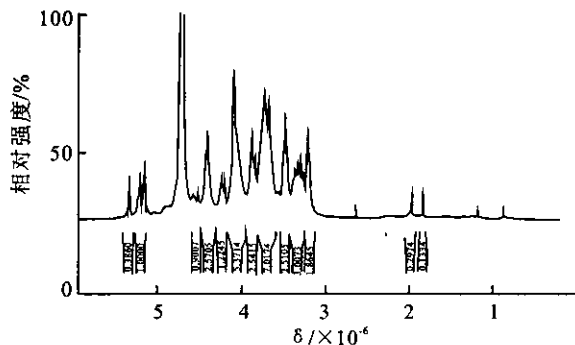
图5 P-WSPII-S 中阿魏酸的质谱图

Fig. 5 MS spectra of ferulic acid of P-WSPII-S
万方数据

从图2可知,标准阿魏酸样品在16.36 min有单一的吸收峰,没有皂化处理的P-WSPII-S样品在16.36 min附近没有吸收峰,如图3所示,说明P-WSPII-S样品中没有游离的阿魏酸。皂化后的P-WSPII-S在16.37 min有一较强的吸收峰,如图4所示,说明其是阿魏酸组分,将该组分进行质谱分析,如图5所示,发现其相对分子质量为194,进一步证明16.37 min的吸收峰为阿魏酸。从P-WSPII-S皂化前后的液相图谱比较可以看出,P-WSPII-S中的阿魏酸是以酯化的形式存在,而非游离态的形式存在,阿魏酸以共价的形式与P-WSPII-S相连接,构成戊聚糖结构的重要特征,并对其理化性质和功能性质有着非常重要的影响。以前的研究也证实^[11],戊聚糖中含有一定量的酚酸,主要是阿魏酸,它们与戊聚糖中的阿拉伯糖侧链共价连接,构成戊聚糖结构的组成部分,从而对戊聚糖的溶解性、氧化交联性质、粘度特性及面团特性、面包的烘焙品质有着非常重要的影响。

2.4 核磁共振(NMR)分析

自20世纪70年代将NMR引入糖类化学中,对多糖结构的分析起了决定性的作用。作者采用¹H-NMR及¹³C-NMR对P-WSPII-S组分结构进行分析,实验结果如图6~7所示。

图6 P-WSPII-S 组分的¹³C-NMR 图谱Fig. 6 ¹³C-NMR spectra of P-WSPII-S fraction图7 P-WSPII-S 组分的¹H-NMR 图谱Fig. 7 ¹H-NMR spectra of P-WSPII-S fraction

结合有关资料^[12],对P-WSPII-S组分的¹³C-

NMR 图谱进行初步分析和推测,从图谱中可以看出, δ 值为 $1.08 \times 10^{-4} \sim 1.10 \times 10^{-4}$ 的吸收峰由于 α -呋喃阿拉伯糖引起; δ 值为 $1.02 \times 10^{-4} \sim 1.03 \times 10^{-4}$ 处的吸收峰,即 δ 的吸收峰是由于 β -D-吡喃木糖残基引起。 δ 值为 $1.026 \times 10^{-4}, 7.72 \times 10^{-4}, 7.47 \times 10^{-4}$ 的吸收峰分别为 C-1(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xylp、C-4(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xylp 和 C-3(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xylp; δ 值为 6.25×10^{-4} 处的吸收峰为 C-5- α -Araf; δ 值为 8.26×10^{-4} 处的吸收峰为 C-3(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xylp 被 α -Araf 取代。C-2(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xylp 的吸收峰在 δ 值为 7.37×10^{-4} ,而图 6 在此没有吸收峰。据报道(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xylp 在 C-2 为被取代时,其在 δ 值为 7.37×10^{-4} 处的吸收峰消失,转变为 δ 值为 7.72×10^{-4} ,所以可以假设由(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xylp 构成的木聚糖主链上的 C-2 被 α -Araf 取代。

结合有关资料^[13],由图 7 可知, δ 值为 $5.2 \times 10^{-4} \sim 5.4 \times 10^{-6}$ 处的吸收峰为 α -Araf 引起,其中 δ 值为 5.2×10^{-6} 处的吸收峰为 β -D-Xylp 的 O-3 位

被 α -Araf 取代的结果, δ 值为 $4.4 \times 10^{-6} \sim 4.8 \times 10^{-6}$ 处的吸收峰为 β -D-Xylp 引起,其中 δ 值为 4.69×10^{-6} 处的大吸收峰为 β -D-Xylp 被 α -Araf 双取代的结果。

从 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 实验结果可以推测,P-WSPI1-S 组分中木糖可在 C-2、C-3 可被阿拉伯糖单独取代或同时被取代。

3 小 结

由研究结果可知,P-WSPI1-S 组分由木糖和阿拉伯糖两种糖组成,Ara/Xyl 两种糖之间的摩尔比为 0.98,相对分子质量为 831 030。其可能的结构为:D-吡喃木糖以 β (1 $\rightarrow$ 4)连接为木聚糖主链,侧链为 α -呋喃阿拉伯糖(α -Araf),D-吡喃木糖残基可在 C-2、C-3 位被阿拉伯糖单独取代或同时取代,并且该组分中还含有一定量的阿魏酸基团,其通过酯化的形式与 P-WSPI1-S 阿拉伯木聚糖共价连接。

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] 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.
- [3] Cleemput G Dort. Variation in the degree of D-xylose substitution in arabinoxylans extracted from a European wheat flour[J]. **J Cereal Sci**,1995,27:73-84.
- [4] Izdorczyk M, Biliaderis C G, Bushuk. Studies on the structure of wheat endosperm arabinoxylans[J]. **Carbohydr Polymer**, 1994,24:61-67.
- [5] Neukom H, Providol L. Recent investigation on wheat flour pentosans[J]. **Cereal Chem**, 1967,44:238-244.
- [6] Brillouet J M. Investigation of the structure of a heteroxylan from the outer pericarp beeswing bran of wheat kernel[J]. **Carbohydrate Research**, 1987,159:109-126.
- [7] Rybka K, Sitariski J. Ferulic acid in rye and wheat grain and grain dietary fiber[J]. **Cereal Chem**,1993, 70(1): 55-59.
- [8] Ciacco C F, Dappolonia B L. Characterization of pentosans from different wheat flour classes and of their gelling capacity[J]. **Cereal Chem**,1982,59:100-108.
- [9] 张翼伸. 多糖的结构测定[J]. 生物化学和生物物理进展,1983,(5):18-23.
- [10] Izdorczyk M, Biliaderis C G, Bushuk. Studies on the structure of wheat endosperm arabinoxylans[J]. **Carbohydr Polymer**, 1994,24:61-67.
- [11] Schooneveld M F, Voragen A G. Studies on the oxidative crosslinking of feruloylated arabinoxylans from wheat flour and wheat bran[J]. **Carbohydrate Polymers**, 1999,38:309-317.
- [12] Girhammar U, Nair B M. Certain physical properties of water soluble non-starchy polysaccharides from wheat, rye, barley and oats[J]. **Food Hydrocolloids**,1992,6:329-334.
- [13] Hoffmann R A, Leeftang B R. Characterisation by ^1H -NMR spectroscopy of oligo-saccharides derived from arabinoxylans of white endosperm of wheat[J]. **Carbohydrate Research**,1991, 221: 63-81.

(责任编辑:朱 明)