

文章编号 :1009 - 038X( 2002 )04 - 0332 - 04

# 小麦麸皮中戊聚糖的纯化分级及组成分析

郑学玲, 姚惠源

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

**摘要:**用乙醇逐步沉淀和离子交换柱层析方法对麸皮中制备的水溶戊聚糖(WSP)和水不溶戊聚糖(AEP)进行分级纯化,并对各组分的组成进行了分析.结果表明,用乙醇逐步沉淀时,随着乙醇体积分数的增加,所得分级组分具有较高的分支;用离子交换柱层析时,WSP可分级为2个组分,AEP可分级为3个组分,并且用NaCl较H<sub>2</sub>O洗脱的组分具有较高的分支和较高的相对分子质量.

**关键词:**小麦麸皮;水溶戊聚糖;水不溶戊聚糖;分级

文献标识码:A

## The Purification and Composition Analysis of Pentosans from Wheat Bran

ZHENG Xue-ling, YAO Hui-yuan

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** In order to obtain homogenous fractions, water soluble pentosan(WSP) and water insoluble pentosan(AEP) prepared from wheat bran were fractionated by stepwise ethanol precipitation and DEAE-cellulose column chromatograph. The composition of each pentosan was analyzed. The results showed that with the gradual increase of ethanol concentration, Ara/Xyl ratio of obtained fractions from WSP and AEP was raised, indicating a high branch degree of pentosans. WSP were purified into two fractions, and AEP were purified into three fractions upon DEAE-cellulose column chromatography. The fractions eluted with NaCl had higher branch degree and higher molecular weight than the fractions eluted with water.

**Key words:** wheat bran; water soluble pentosan; water insoluble pentosan; fractionation

国外对戊聚糖在面团特性、面包烘焙品质所具有的重要影响作用方面进行了大量研究<sup>[1~3]</sup>.此外,戊聚糖还具有降血脂、减肥、润肠通便、抗氧化等重要的生理功能<sup>[4]</sup>.小麦加工的副产物麸皮中含有大量的戊聚糖(20%左右)<sup>[5]</sup>,本实验以小麦麸皮

为原料制备戊聚糖,并对其进行分级纯化及功能性研究.

以H<sub>2</sub>O和碱为提取溶剂,以麸皮为原料,对所得的WSP和AEPN<sub>4</sub>(简称AEP)进行分级纯化,并对其组分进行分析.

收稿日期:2001-12-18; 修订日期:2002-04-22.

基金项目:国家“十五”重点科技攻关计划项目(2001BA501A04)资助课题.

作者简介:郑学玲(1972-),女,河南宁陵人,粮食、油脂与植物蛋白工程博士研究生.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

工业粗麸皮:由上海马来亚面粉有限公司提供;耐高温 $\alpha$ -淀粉酶:无锡杰能科生物工程有限公司提供;DEAE-cellulose:上海华美生物工程公司产品;食用酒精(体积分数为95%):无锡玉麟酒厂生产;三氯乙酸(TCA):上海振兴化工一厂生产;NaCl:上海试剂四厂生产。

### 1.2 主要仪器

离心沉淀机:LXJ-2型,上海医用分析仪器厂制造;旋转蒸发器:ZX-91,上海有机化学研究所制造;水循环真空泵:SHZ-III型,河南巩义市杜莆仪器厂制造;分光光度计:721型,上海第三分析仪器厂制造;层析柱:2.6 cm $\times$ 80 cm,上海华美生物工程公司制造;恒流泵:上海沪西分析仪器厂制造;自动部分收集器:上海沪西分析仪器厂制造;气相色谱仪:GC-14A型,美国Waters公司制造;高效液相色谱(HPLC)系统,美国Waters公司制造。

### 1.3 乙醇逐步沉淀纯化分级

在WSP、AEP中加入不同体积分数的乙醇,使最终乙醇的体积分数分别为20%、50%和80%,将WSP、AEP分为不同的组分,具体方法如下:

在WSP或AEP溶液中加入体积分数为95%的乙醇,调节加入的乙醇体积,使WSP、AEP溶液中乙醇的体积分数为20%,将其放置在4℃左右的冰箱中过夜,离心后分成沉淀和上清液两部分,沉淀部分称为WSP<sub>20</sub>或AEP<sub>20</sub>,在上清液中加入体积分数为95%的乙醇,调节加入乙醇体积,使乙醇的体积分数为50%,将其放置在4℃左右的冰箱中过夜,离心后分成沉淀和上清液两部分,沉淀部分称为WSP<sub>50</sub>或AEP<sub>50</sub>,在离心的上清液中加入体积分数为95%的乙醇,调节加入乙醇体积,使乙醇体积分数为80%,将其放置在4℃左右的冰箱中过夜,离心后分成沉淀和上清液两部分,沉淀部分称为WSP<sub>80</sub>或AEP<sub>80</sub>,离心的上清液透析72 h,然后浓缩,称为WSP<sub>80s</sub>或AEP<sub>80s</sub>。

### 1.4 DEAE-cellulose 柱层析分级

利用DEAE-cellulose柱,用H<sub>2</sub>O和不同离子强度的NaCl洗脱,每管收集5 mL,用苯酚-硫酸法在480 nm检测总糖含量。方法如下:

WSP或AEP溶液加热到92℃,保温30 min,冷却后加入TCA使其浓度在7%左右,4℃静止过夜,离心(10 000 g, 10 min),上清液透析72 h,过

DEAE-cellulose柱,分别用H<sub>2</sub>O和0.1, 0.5 mol/L的NaCl洗脱,检测总糖,收集得到不同的组分。

### 1.5 WSP、AEP 分级组分的组成分析

#### 1.5.1 蛋白质含量测定 福林-酚试剂法<sup>[6]</sup>

#### 1.5.2 戊聚糖含量测定 间苯三酚-盐酸法<sup>[7]</sup>

#### 1.5.3 总糖含量测定 苯酚-硫酸法<sup>[8]</sup>

#### 1.5.4 单糖组成分析

采用气相色谱法(GC法),用强酸使WSP、AEP水解为单糖,然后使单糖乙酰化,转化为各自的糖醇,进行GC分析。

样品处理:称取0.5 g样品于水解管中,加入1 mol/L硫酸5 mL左右,使水解管密封,于100℃下水解4 h,用碳酸钡中和,过滤,滤液置于45℃下真空干燥,加入0.5 mL的吡啶溶解单糖,再加入10 mg盐酸羟胺和6~8 mg肌醇,于90℃水浴中反应0.5 h,取出后冷却,再加入0.5 mL乙酸酐,于90℃水浴中反应30 min(反应过程中防止水进入),冷却后,取样进行GC分析。单糖标样的处理方法相同。

GC条件:采用GC-14A气相色谱仪,CR-4A积分仪,OV170石英玻璃毛细管柱,FID检测器,N<sub>2</sub>体积流量为2 mL/min,H<sub>2</sub>体积流量为40 mL/min,空气体积流量为550 mL/min,气化室温度为270℃,检测器温度为250℃。程序升温方式:以3℃/min的速度由190℃升到240℃,进样量为1  $\mu$ L。

### 1.6 相对分子质量分布的测定

采用高效液相色谱法(HPLC),WSP及AEP粗品经柱层析分级的样品用HPLC测定相对分子质量分布。测定方法如下:将测定样品配成质量浓度为1 mg/mL的溶液,微滤( $\Phi=0.45 \mu\text{m}$ ),滤液用于测定。HPLC条件:流动相为水,体积流量为0.9 mL/min,柱温45℃,池温37℃,进样量20  $\mu$ L, HPLC测定。HPLC柱经过标准葡聚糖(Dextran)校正。平均相对分子质量( $M_w$ )与保留时间( $R_T$ )之间的关系为:

$$\lg M_w = 12.9 - 0.463 R_T$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 WSP、AEP 乙醇逐步沉淀分级组分的得率及组成分析

用水和碱为溶剂制备的WSP和AEP是一种含有多种组分的粗品,为了研究戊聚糖的组成、结构以及结构与功能之间的关系,需要对所制备的戊聚糖进行纯化分级。用乙醇逐步沉淀法分级的组分得率、组成见表1。

表1 乙醇逐步沉淀法分级的组分得率及组成

Tab.1 The yield and composition analysis of fractions obtained by gradual ethanol precipitation

组分	得率 <sup>a</sup> /%	蛋白质 质量分数/%	总糖 质量分数/%	主要组成单糖 <sup>b</sup> 的质量分数/%				
				Ara <sup>c</sup>	Xyl <sup>d</sup>	Glu <sup>e</sup>	Gal <sup>f</sup>	Ara/Xyl <sup>g</sup>
WSP <sub>20</sub>	0.62	22.02	68.62	15.1	68.2	4.5	0.4	0.22
WSP <sub>50</sub>	1.51	9.15	82.50	18.2	61.4	13.5	0.8	0.30
WSP <sub>80</sub>	2.19	6.37	87.42	40.9	48.6	2.1	7.1	0.84
WSP <sub>80s</sub>	1.84	12.81	80.59	17.0	14.3	65.8	0.3	1.19
AEP <sub>20</sub>	1.83	37.21	57.22	17.4	66.4	7.5	0.4	0.27
AEP <sub>50</sub>	2.95	7.44	80.93	23.2	59.5	3.3	0.7	0.39
AEP <sub>80</sub>	3.56	4.55	89.37	45.5	42.7	1.1	2.4	1.07
AEP <sub>80s</sub>	3.08	9.56	85.21	16.0	12.7	61.8	0.3	1.26

注 a. 各组分的得率以各组分的量占原料麸皮的百分比表示; b. 各组成单糖所占的百分数; c. 阿拉伯糖; d. 木糖; e. 葡萄糖; f. 半乳糖; g. 阿拉伯糖和木糖的比值。

从表1可以看出,用乙醇沉淀WSP和AEP,当乙醇体积分数较低时,所得到的分级组分中含有大量的蛋白质.这一方面是由于所制得的戊聚糖粗品中含有较多的蛋白质,用乙醇沉淀戊聚糖时,大量的蛋白质也被沉淀出来,另一方面可能是蛋白质以共价键的形式与戊聚糖结合糖蛋白的形式存在.从表1还可以看出,沉淀分级的WSP<sub>20</sub>/AEP<sub>20</sub>,WSP<sub>50</sub>/AEP<sub>50</sub>,WSP<sub>80</sub>/AEP<sub>80</sub>各组分主要组成单糖是阿拉伯糖和木糖,此外还含有少量的葡萄糖和半乳糖.WSP,AEP中最终乙醇沉淀分级的上清液WSP<sub>80s</sub>/AEP<sub>80s</sub>主要组成单糖是葡萄糖,其次是阿拉伯糖和木糖,说明WSP<sub>80s</sub>/AEP<sub>80s</sub>中戊聚糖类物质含量较少,在用乙醇逐步沉淀时,大部分戊聚糖被沉淀,剩余少量的戊聚糖存在于上清液中没有被沉淀出来.从表1还可以看出,随着沉淀戊聚糖时乙醇体积分数的增加,戊聚糖分级组分的Ara/Xyl比值也逐渐增加,并且对于同一体积分数的乙醇沉淀组分,AEP分级组分较WSP分级组分具有较高的Ara/Xyl比值.Ara/Xyl比值反映了戊聚糖聚合物的分支程度,Ara/Xyl比值越高,戊聚糖聚合物的分支程度越大<sup>[9]</sup>.所以对于分级的各组分,当乙醇体积分数较大时,所得到的分级组分的分支程度也较大,具有较高的分子式量和较高的粘度.

## 2.2 DEAE-cellulose 柱层析分级

用H<sub>2</sub>O和不同浓度的NaCl对所制备的WSP和AEP进行梯度洗脱,洗脱曲线分别见图1,2.

用水和0.1 mol/L NaCl洗脱WSP可分级为两个组分,分别记为WSP<sub>A</sub>,WSP<sub>B</sub>;用水、0.1 mol/L NaCl和0.5 mol/L NaCl洗脱,AEP可分级为3个

组分,分别记为AEP<sub>A</sub>,AEP<sub>B</sub>和AEP<sub>C</sub>,其中AEP<sub>C</sub>组分含量较少,作者对前两种组分进行制备收集.WSP和AEP分级各组分的组成及相对分子质量分布见表2.

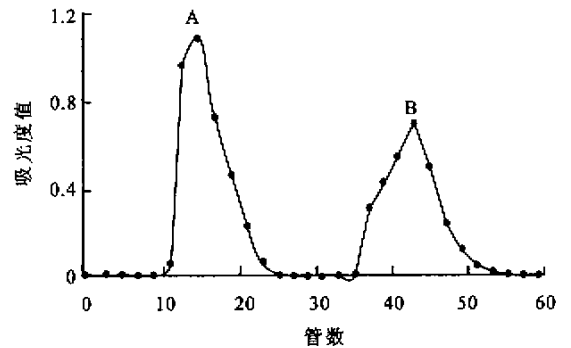


图1 水溶戊聚糖WSP的洗脱曲线

Fig.1 The elution diagram of WSP from DEAE-cellulose

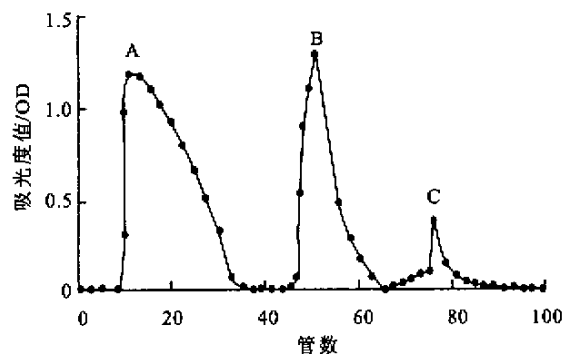
A,B,C分别表示用H<sub>2</sub>O,0.1 mol/L NaCl,0.5 mol/L NaCl洗脱得到的组分.

图2 水不溶戊聚糖AEP的洗脱曲线

Fig.2 The elution diagram of AEP

表 2 DEAE-cellulose 分级各组分的组成及相对分子质量分布

Tab.2 The composition and molecular weight distribution of fractions obtained by DEAE-cellulose chromatography

组 分	蛋白质 质量分数/%	总糖质量 分数/%	主要组成单糖质量分数/%					平均相对 分子质量
			Ara	Xyl	Glc	Gal	Ara/Xyl	
WSP <sub>A</sub>	12.31	84.82	37.2	46.8	4.0	5.3	0.79	359 030
WSP <sub>B</sub>	9.21	89.40	42.1	45.5	3.2	0.4	0.93	745 062
AEP <sub>A</sub>	13.70	80.82	40.1	47.7	8.0	0.1	0.84	571 562
AEP <sub>B</sub>	7.22	90.37	45.1	42.3	2.8	0.6	1.07	831 030

从表 2 可以看出,分级的各组分主要组成单糖是阿拉伯糖和木糖.对于同一浓度的洗脱剂,AEP 洗脱的组分较 WSP 洗脱的组分具有较高的 Ara/Xyl 比值,即分支程度较大.从表 2 还可以看出,Ara/Xyl 比值较大的组分具有较高的平均相对分子质量,这与文献 [9] 的研究结果相类似.

### 3 结 论

1) 用乙醇逐步沉淀分级法将 WSP, AEP 分为

不同的组分,所分级的组分具有不同的蛋白质质量分数和不同的单糖组成.随着乙醇体积分数的增加,所分级的戊聚糖组分含有较高的 Ara/Xyl 比值,并且对于同一体积分数的乙醇而言,AEP 分级的组分较 WSP 分级的组分具有较高的 Ara/Xyl 比值.

2) 通过对 DEAE-cellulose 分级各组分的组成分析及平均相对分子质量测定发现,具有较高 Ara/Xyl 比值的组分其平均相对分子质量亦较高.

### 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] MARTA S IZYDORCZYK, COSTAS G BILIADERIS. Cereal arabinoxylans: advances in structure and physicochemical properties[J]. *Carbohydrate Polymers*, 1995, 28: 33 - 48.
- [4] BERGMANS M E F. Optimisation of the selective extraction of (glucurono)arabinoxylans from wheat bran: use of barium and calcium hydroxide solution at elevated temperatures[J]. *J of Cereal Science*, 1996, 23: 235 - 245.
- [5] 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.
- [6] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1989.
- [7] DOUGLAS S G. A rapid method for the determination of pentosans in wheat flour[J]. *Food Chemistry*, 1981, 7: 139 - 145.
- [8] DUBIOS M GILLES. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28: 350 - 357.
- [9] KULP K. Enzymolysis of pentosans of wheat flour[J]. *Cereal Chem*, 1968, 45: 339 - 350.

(责任编辑:李春丽)