

# 米胚芽中 $\gamma$ -氨基丁酸的分离提取及鉴定

林少琴, 吴若红, 邹开煌, 程开  
(福建教育学院生化系, 福建 福州 350001)

**摘 要:** 本文报道了米糠胚芽中  $\gamma$ -氨基丁酸 GABA 的分离提取及鉴定, 对米糠胚芽中 GABA 的提取条件进行了探讨。初步研究表明, 以  $H_2O$  为介质, 在  $50^\circ C$  下搅拌抽提 4h, 提取效果较好。

**关键词:** 米胚芽; 米糠;  $\gamma$ -氨基丁酸

## Isolation and Identification of $\gamma$ -Aminobutyric Acid from Rice Germ

LIN Shao-qin, WU Ruo-hong, ZOU Kai-huang, CHENG Kai  
(Biochemistry Department, Fujian Institute of Education, Fuzhou 350001, China)

**Abstract:** Isolation and identification of  $\gamma$ -aminobutyric acid from the germ of rice brain was reported in this paper and the optimum extraction conditions of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in the rice brain were investigated. The results showed that  $50^\circ C$  stirring extraction for 4h by water were the optimal conditions.

**Key words:** rice germ; rice brain;  $\gamma$ -aminobutyric acid

中图分类号: O623.61

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2004)01-0076-03

稻米胚芽中富含多种生理活性物质及重要营养元素, 是一种得天独厚的天然营养源。尤其是所含  $\gamma$ -氨基丁酸 GABA, 具有降低血压等多种医疗保健功能, 引起人们的关注<sup>[1,2]</sup>。GABA 是广泛分布于动、植物中的一种非蛋白质氨基酸, 存在于哺乳动物脑和脊髓中的抑制性神经传导物质, 临床上常用作脑血栓后遗症、脑动脉硬化症造成的头疼、耳鸣、记忆障碍等症状的改善药使用。此外, GABA 还可作为少年儿童智力的营养补充剂和促进剂, 作为老年人的营养剂广泛应用于食品行业。是一种很好的医疗药物及保健品的原料素材。

$\gamma$ -氨基丁酸可由吡咯烷酮经氢氧化钙、碳酸铵水解解开环制得, 也可用谷氨酸为原料, 在一定条件下由谷氨酸脱羧酶作用脱去  $\alpha$ -羧基制得  $\gamma$ -氨基丁酸。本文作者在米胚芽资源的开发研究项目中, 从米糠中分离出  $\gamma$ -氨基丁酸 GABA, 并对其分离提取条件进行了探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

米糠取自福建省沙县粮食加工厂稻谷的第二道加工副产品; Sephadex G-25 系 Pharmacia 公司产品; 国产磺胺型阳离子交换树脂(100~200 目); 硅胶 H 层析板系青岛海洋化工厂产品; 其余试剂均为国产 A.R.

### 1.2 方法

#### 1.2.1 $\gamma$ -氨基丁酸的分离提取

米糠中加入 3~5 倍体积  $0.01 mol/L$  柠檬酸缓冲液 ( $pH 6.0$ ),  $37^\circ C$  水浴电动搅拌抽提 4h, 减压抽滤, 以  $4000 r/min$  离心 30min, 取出上清加入 10% 磺基水杨酸离心弃沉淀, 冷冻干燥后为黄棕色固体, 将其溶解于蒸馏水中、上 Sephadex G-25 层析柱 ( $1.5 \times 74 cm$ ) 分离, 蒸馏水洗脱, 收集与茚三酮溶液反应呈阳性的洗脱液, 浓缩, GABA 定性检查, 所得样品调节  $pH$  值约为 4, 上磺胺型阳离子交换柱 ( $2.0 \times 30 cm$ ), 冰乙酸-吡啶缓冲液进行  $pH$  线性梯度洗脱, 收集含 GABA 洗脱液, 浓缩, 硅胶 H 薄板层析鉴定。

#### 1.2.2 $\gamma$ -氨基丁酸含量的测定

比色法按 Tsushida 中的方法<sup>[3]</sup>略加以改进; 取样液  $300 \mu l$ , 加  $0.2 mol/L$   $pH 10.0$  硼酸盐缓冲液  $200 \mu l$ , 6% 重蒸酚  $100 \mu l$ , 混匀后再加入  $0.8 ml$  5%  $NaClO$  溶液, 振荡。于沸水浴中加热 10min 后置冰浴 5min, 待溶液出现兰绿色后, 加入  $2.0 ml$  60% 乙醇溶液, 于波长  $645 nm$  处比色, 并以已知浓度标准 GABA 溶液绘制标准曲线; 仪器测定方法: 用日立-838-50 型氨基酸自动分析仪测定。

#### 1.2.3 硅胶 H 薄层层析, 按文献<sup>[4]</sup>方法进行。

收稿日期: 2003-05-16

基金项目: 福建省教育厅科研项目 (K2001108)

作者简介: 林少琴, 女, 副教授, 从事生物化学教学及有关天然产物资源开发、营养保健食品等研究工作。

1.2.4 从米糠中提取  $\gamma$ -氨基丁酸条件实验

米糠分别用 0.01mol/L pH5.0、pH6.0 柠檬酸缓冲液、0.01mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液及蒸馏水抽提,测定比较在不同温度(25、37、50、60℃)条件下,不同搅拌抽提时间(0.5、2、4、6h),米糠提取液中  $\gamma$ -氨基丁酸的含量及水提取液中氨基酸的组成及含量分析。

## 2 结果与讨论

2.1  $\gamma$ -氨基丁酸的分离提取及鉴定

米糠用 0.01mol/L pH6.0 柠檬酸缓冲液提取后,经过 SephadexG-25 柱层析分离,用茚三酮检验,得两个洗脱峰。其中一个洗脱峰经按上述 1.2.2 实验比色法测定,含有 GABA,将此峰样品再经磺胺型阳离子交换柱进行 pH 值线性洗脱,分离纯化后,再经浓缩,用硅胶 H 板层析(展开剂为正丁醇:冰乙酸:水=4:1:1)有一斑点,其  $R_f$  值与 GABA 标准品相同,可确定该样品即为  $\gamma$ -氨基丁酸。

## 2.2 不同提取条件对米糠提取液 GABA 含量的影响

结果见表 1、表 2。

表 1 不同 pH 温度下米糠提取液 GABA 的含量

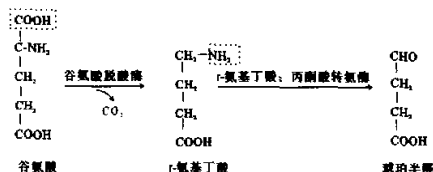
提取介质	GABA 含量(mg,%)			
	25℃	37℃	50℃	60℃
0.01mol/L 柠檬酸缓冲液 pH5.0	32.3	47.5	67.5	50.6
0.01mol/L 柠檬酸缓冲液 pH6.0	32.1	60.0	67.5	52.1
0.01mol/L 磷酸盐缓冲液 pH7.5	29.7	43.2	58.4	50.6
H <sub>2</sub> O	31.2	52.5	78.2	54.8

表 2 米糠水提取液 GABA 的含量随提取时间变化

提取温度(℃)	GABA 含量(mg,%)			
	0.5h	2h	4h	6h
37	38.3	47.6	53.8	56.2
50	45.0	61.5	78.1	81.3

由表 1 可知,采用不同 pH 值提取介质及温度,均对米糠提取液中 GABA 含量有较大影响。采用 0.01mol/L pH6.0 柠檬酸缓冲液或以水为介质提取,其 GABA 含量较高,这是由于米糠中含有各种酶,在提取过程中,各种酶被活化,其中谷氨酰脱羧酶可作用于谷氨酸脱去  $\alpha$ -羧基,生成  $\gamma$ -氨基丁酸 GABA,而另一种  $\gamma$ -氨基丁酸、丙酮酸转氨酶又可将  $\gamma$ -氨基丁酸转化成琥珀半醛,使 GABA 含量下降。

反应式为:



上述反应中的谷氨酰脱羧酶最适 pH5.9,  $\gamma$ -氨基丁酸:丙酮酸转氨酶最适 pH8.9<sup>[5]</sup>,所以微酸的环境更有利于  $\gamma$ -氨基丁酸的生成。

提取温度的影响如表 1 中所示:37℃时,以 0.01mol/L pH6.0 柠檬酸缓冲液提取, GABA 含量较高,但在 50℃时,以水提取,则其 GABA 含量更高;随温度升高,米糠提取液中的 GABA 含量增加,但增至 60℃提取过程开始出现糊化现象,使提取 GABA 含量下降。

由表 2 可知,采用不同的提取时间,米糠提取液中 GABA 含量也不相同:延长提取时间,米糠中 GABA 含量也随之增加,但一般提取时间 4h 后再延长,其米糠中 GABA 含量并不显著增大。故米糠最佳提取介质为水,最佳时间 4h,提取温度 50℃。

## 2.3 米糠提取液中氨基酸组成及含量分析

将米糠水提取液及水提取液经酸水解后,分别进行氨基酸组成与含量分析,结果见表 3。

表 3 米糠提取液中氨基酸组成及含量

氨基酸	氨基酸含量( $\mu$ g/ml)	
	水提取液	水提取液水解样品
ASP	/	377.73
Thr	46.46	217.65
Ser	/	163.90
Glu	32.08	484.15
Gly	64.88	324.61
Ala	136.25	415.97
Lys	22.04	147.98
Val	88.23	315.69
Met	37.08	195.03
Ile	43.14	227.01
Leu	76.15	356.48
Tyr	64.20	131.12
Phe	54.02	190.34
GABA	125.47	253.07
Lys	3.84	200.81
His	26.51	123.36
Arg	32.25	228.72
Pro	46.42	153.33

由表 3 分析结果可知,米糠水提取液经酸水解后,氨基酸含量显著增加。其中 GABA 含量,水解处理后可增加 2 倍,表明米糠中  $\gamma$ -氨基丁酸除了以游离形式存在、部分由谷氨酰脱羧酶转化生成外,还可能以其他形式存在于米胚芽中,或为蛋白质水解生成谷氨酸,再由其脱羧转化而成。此外,由表 3 可见,米糠水提取液中游离的谷氨酸含量不高,经酸水解后,谷氨酸含量急剧增加,总量为原来的 15 倍。因此欲提高米糠提取液中  $\gamma$ -氨基丁酸含量,可通过增加谷氨酰脱羧酶的活性和提高

米糠提取液谷氨酸含量的方法途径。

米胚芽  $\gamma$ -氨基丁酸作为一种抑制神经递质的重要氨基酸,其所具有的健脑、降压、镇定神经的功能,已被充分肯定<sup>[6]</sup>。目前在日本用发酵方法生产富含 GABA 的绿茶,已有商品出售;近年又有富含 GABA 的发芽糙米隆重登场,并已产业化、商品化<sup>[7]</sup>。国内市场现已有富含 GABA 桑茶保健品问世。我国为农业大国,米胚芽资源非常丰富,从中提制  $\gamma$ -氨基丁酸 GABA,医食同源,价廉安全,具有广阔的市场前景。

#### 参考文献:

[1] 王纪华.富含  $\gamma$ -氨基丁酸米胚的开发利用[J].北京农业科

学,1999,17(2):6-7.

[2] 李爱华.米胚的营养价值和胚芽米的加工技术[J].粮食与饲料工业,1997,(5):7-9.

[3] Tojiro Tsushida, Toshinobu Murai. Conversion of glutamic acid to  $\gamma$ -aminobutyric acid in yea leaves under anaerobic conditions [J]. Agric Biol chem, 1987, 51(11): 2865-2866.

[4] 朱俭,曹凯鸣,周润崎,等.生物化学实验[M].上海:上海科技出版社,1981.43-45.

[5] Streeter L G, Thompson J F. Plant physiol, 1972, (49): 572-578.

[6] 日本专利,特开平-280394.

[7] 安藤千夫.发芽玄米が日本丸を救う(I)[J].食の科学, 2001. (4):66-73.

## 酵母菌发酵制备叶酸功能食品的研究

吴周和, 吴传茂, 李小燕, 姜发堂, 陈 雄, 方尚玲  
(湖北工学院生物工程系, 湖北 武汉 430068)

**摘 要:** 从筛选出的一株酵母菌为发酵菌株, 研究其高产叶酸的发酵条件和加工合理性。对所含叶酸及氨基酸等进行了检测, 制成叶酸功能食品。

**关键词:** 酵母菌; 发酵; 叶酸; 功能食品

### Studies on Yeast Fermentation to Manufacture Folic Acid Function Food

WU Zhou-he, WU Chuan-mao, LI Xiao-yan, JIANG Fa-tang, CHEN Xiong, FANG Shang-ling  
(Bioengineering Department, Hubei Polytechnic University, Wuhan 430068, China)

**Abstract:** A yeast was taken as original yeast to produce folic acid by fermentation, The fermentation conditions of high folic acid yield and technological rationality were studied. The content of folic acid and amino acid were determined, and folic acid function food was manufactured.

**Key words:** yeast; fermentation; folic acid; function food

中图分类号: TS218

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)01-0078-04

叶酸(Folic acid)又名维生素B<sub>11</sub>, 是B族维生素的一种, 在人体内叶酸作为一碳单位转移系统中辅酶, 掺入嘌呤、嘧啶、核酸及蛋白质的生物合成, 对细胞分裂和生长具有特别重要的作用<sup>[1]</sup>。叶酸缺乏时导致核酸和蛋白质合成障碍, 引起各种疾病, 因此是一种极为重要的医药用品和保健品。处于生长发育期的机体, 如孕妇、乳母、婴幼儿对叶酸的需要量增加, 容易出现叶酸缺乏症。即使是营养良好的妇女, 在孕期, 体内血清及红细

胞叶酸水平均降低。而婴幼儿中与叶酸缺乏有关的营养性贫血占72%, 所以对孕妇、乳母、婴幼儿应该补充叶酸, 预防因叶酸缺乏导致的生理功能低下及某些疾病如巨幼红细胞贫血症、胃肠功能紊乱、智力退化及神经管畸形新生儿的发生<sup>[2~4]</sup>。作为预防, 孕妇在其膳食的基础上, 每日应增加500 $\mu$ g叶酸, 婴幼儿因年龄不同而增加不等, 以维持血浆的正常水平。我国已推出一种新药“斯利安片”用来预防叶酸缺乏病, 但使用化学合成的

收稿日期: 2003-05-15

基金项目: 湖北省教育厅资助重点项目(98-A10)

作者简介: 吴周和(1961-), 男, 副教授, 硕士生导师, 主要从事生物工程研究与教学方面的工作。