

枸杞子阿拉伯半乳糖聚糖糖蛋白 的微细构造研究(I)

秦小明¹, 宁恩创¹, 林华娟²

(1. 广西大学生物技术与糖业工程学院, 南宁 530005)

(2. 日本岐阜大学联合农学研究科 岐阜市, 日本 501-1193)

摘 要 对从枸杞子水溶性粗多糖中分离出来的一种主要阿拉伯半乳糖聚糖糖蛋白Cp-2-B的微细构造进行了研究。通过高碘酸氧化和缓和Smith分解, 从分解产物中分离出一个分子量为1.8万的半乳糖聚糖 (Cp-2-B-SD)。甲基化分析和GC-MS分析结果表明Cp-2-B-SD为典型的梳状构造。它的主链是由(1→3)结合的半乳糖残基组成, 其中约30%的半乳糖残基带有取代基。另外, 还通过蛋白质水解酶反应以及阿拉伯半乳糖聚糖糖蛋白(AGP)与 β -galactosyl Yariv试剂的特有免疫反应等手段, 探讨了Cp-2-B的微细构造特征。

关键词: 枸杞子; 阿拉伯半乳糖聚糖糖蛋白(AGP); 微细构造

Abstract: To characterize the fine structure of the predominant arabinogalactan-protein (Cp-2-B) isolated from the fruit of *Lycium chinense* Mill, a periodate oxidation and Smith degradation were performed, and a galactan (Cp-2-B-SD, $M_w=18,000$) was obtained. The result of methylation and GC-MS analysis suggested that Cp-2-B-SD had a typical comb-like structure: a backbone of (1→3)-galactosyl residues was in existence and ca. 30% of the galactosyl residues in the backbone had substituents. Protease enzymatic reaction and an immune reaction with the β -galactosyl Yariv reagent were then examined to characterize the common structure of Cp-2-B.

Key words: *Lycium chinense* Mill; arabinogalactan-protein; fine structure

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)07-0034-07

枸杞子是我国的一种传统名贵中药材。近年来, 大量的研究表明, 从枸杞子中提取的水溶性成分具有增强机体免疫力^[1~3], 抗肿瘤^[4~5], 抑制由DEX (Dextroamphetamine)诱导的DNA片断化^[6], 抗遗传损伤^[7]等一系列的药理作用, 其所含有的多糖被认为可能与上述功能存在因果关系。因此, 将枸杞子含有的多糖成分进行分离提纯, 解析其构造特征以及研究其构效关系具有很高的学术价值。

笔者从枸杞子提取得到的粗多糖经过DEAE-cellulose 柱层析(HCO_3^- 型), 分别得到了3种冷水可溶性多糖(Cp-1, -2 以及 -3)和4种热水可溶性多糖(Hp-0, -2, -3 以及 -4)^[8]。经过进一步的DEAE-cellulose 柱层析($\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ 型), 从Cp-1, Cp-2 和 Hp-2 等3种组分中分离纯化出4种被推测可能具有一定药理作用的type II类型的阿拉伯半乳糖聚糖糖蛋白(Cp-1-C, Cp-1-D, Cp-2-B 和 Hp-2-C), 并通过甲基化分析, GC-MS, NMR分析分别对它们的糖部分和蛋白质部分的构造特征进行了初步研究^[9,10]。

关于type II类型的AGP分子结构, 很多研究者通过酸加水分解、酶分解、甲基化分析、NMR等方法进行了探讨, 但是到目前为止, 有关它们的微细构造(例如主链的结构特征、侧链的长度和侧链的数量等)的报道还十分少见^[11~14]。Cp-2-B作为枸杞子中含量最多的活性多糖成分, 研究它的微细化学结构特征, 对解析枸杞子AGP的化学结构和枸杞子的药理作用的因果关系, 以及今后在食品加工、制药等方面的应用方面具有极其重要作用。

在本文中我们运用高碘酸氧化, 缓和Smith分解, 蛋白质水解酶以及阿拉伯半乳糖聚糖糖蛋白与 β -galactosyl Yariv试剂特有的免疫反应等手段, 对Cp-2-B的微细构造进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

冻结干燥的枸杞子(2000年购于宁夏)先经过加热回流脱脂(氯仿/甲醇=1:1, v/v, 75℃, 3h)。在

收稿日期: 2003-01-03

作者简介: 秦小明(1964-), 男, 副教授, 博士, 研究方向: 食品化学成分的分离、纯化、构造解析及农产品贮藏与加工。

残渣中加入5倍量的冷水,浸提数次(4℃,每次4h),直至抽出液离心后的上清液的Molish反应呈阴性。冷水抽出后的残渣再加入5倍量的蒸馏水,用高压锅在121℃温度下进行热水浸提(每次1h)数次,直至抽出液离心后的上清液的Molish反应呈阴性。冷水和热水抽出液分别加入3倍量的乙醇,所得的沉淀物在流动水中透析,冻结干燥后,分别得到冷水和热水抽出多糖(Cp和Hp)。将Cp和Hp溶解于少量的水中,分别上预先平衡好的DEAE-Cellulose层析柱(HCO₃⁻型,4.0×50cm),分别得到3种冷水可溶性多糖(Cp-1, -2以及-3)和4种热水可溶性多糖(Hp-0, -2, -3以及-4)^[8]。再经过进一步的DEAE-cellulose柱层析(B₄O₇²⁻型),又从3个组分(Cp-1, Cp-2和Hp-2)中分离提纯出4种被推测与枸杞子的一系列药理作用有因果关系的多糖组分: type II类型的阿拉伯半乳糖聚糖糖蛋白(Cp-1-C, Cp-1-D, Cp-2-B和Hp-2-C)^[9,10]。通过上述操作所得的Cp-2-B即为本试验的材料。

1.2 实验方法与仪器条件

1.2.1 糖、蛋白质含量的测定

总糖含量、半乳糖醛酸含量以及蛋白质含量分别采用苯酚-硫酸法^[15], 咔唑-硫酸法^[16]以及Lowry改良法^[17]测定, 分别使用半乳糖、半乳糖醛酸和牛血清蛋白(均为Sigma公司制)作为标准物质, 在相同条件下反应作标准曲线计算出样品中的含量。

1.2.2 糖组成分析

在糖样品(约5mg)中加入2ml 0.25mol/L硫酸后密封, 保持100℃条件下16h, 用碳酸钡中和, 离心后按Blakeney法^[18]制备成单糖的全乙酰化糖醇衍生物进行气相色谱分析(岛津GC-18A, 操作温度220℃, N₂流速60 ml/min), 分离柱为岛津的毛细管柱CBP-10-M25-025(0.2×25m)。

1.2.3 高压液相色谱(HPLC)

HPLC采用日本分光制880-PU, 检测器830-R1, 柱温箱为860-C0和SIC制Chromatocorder-11记录仪。分析条件如下: Shodex OHpak HB-805 (8×300mm), 柱温45℃, 流速1.0ml/min, 溶媒H₂O。

1.2.4 红外光谱分析(IR分析)

冻结干燥的粉末状样品采用KBr压片法进行测定。对于甲基化反应的样品, 加少量氯仿将样品溶解后, 均匀地涂付在NaCl板上进行测定。所使用的设备为Perkin Elmer公司制造的System 2000 FT-IR 红外光谱分析系统。

1.2.5 甲基化分析

将糖样品按照箱守法^[19]进行数次甲基化反应直至从红外光谱图上观察不到羟基的吸收峰。然后将所得产物按Blakeney法^[18]制备成单糖的糖醇乙酸酯衍生物进行气相色谱分析(岛津GC-MS QP-5000, 带数据处理系统; 程序升温条件: 150℃保持2min, 然后以5℃/min的速度升温至250℃; 离子化电压70eV), 分离柱为毛细管柱DB-1(J & W Scientific USA, 0.25×30m)。

2 结果与讨论

2.1 Cp-2-B的高碘酸氧化与缓和Smith分解

Cp-2-B的高碘酸氧化和Smith分解按照Goldstein法^[20]进行。即准确称量Cp-2-B样品(50mg), 溶解于50ml 0.05mol/L高碘酸钠水溶液, 然后装入棕色瓶中, 在避光、低温(4℃)、缓慢搅拌的条件下进行氧化。高碘酸的消耗量和甲酸的生成量分别按照Fleury-Lange法^[21]和Whistler法^[22]进行跟踪测定。如图1所示, 氧化反应进行到第4d, 高碘酸的消耗量分别为0.77mol/L糖残基, 甲酸的生成量为0.26mol/L糖残基, 第5d后的测定结果基本保持不变, 据此可以断定高碘酸氧化反应已经完成。这个实测值与按照甲基化分析所得的结果计算出来的理论值(高碘酸的消耗量为0.82mol/L糖残基, 甲酸的生成量为0.21mol/L糖残基)^[10]基本相符。同时这个结果也证实, 我们在前一报告^[10]中根据甲基化分析结果推测出来的构造是基本合理的。

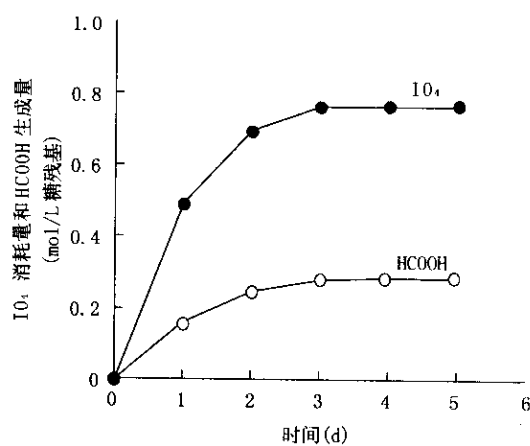


图1 高碘酸氧化过程中IO₄⁻的消耗量和甲酸生成量

在高碘酸氧化后的溶液中加入20ml乙二醇除掉过剩的高碘酸, 再加入0.01N的氢氧化钠中和, 然后将混合液在流动水中透析48h。取出透析内液, 加入100mg氢硼化钠, 在室温, 缓慢搅拌的条件下进行还原。反应进行12h后, 往溶液中加入1mol/L的醋酸

以分解过剩的氢硼化钠。最后将所得的溶液透析48h, 浓缩, 冻结干燥。

上述操作所获得的产物(多糖的多元醇)溶解于0.2N的硫酸(20ml), 在室温, 缓慢搅拌的条件下进行缓和Smith分解。反应进行12h后, 用饱和碳酸钡溶液中和至中性, 并离心分离除去生成的沉淀。再往其上清液中逐滴加入3倍量的甲醇, 放置在4℃的条件下12h以充分沉淀多糖。最后将离心分离得到沉淀物重新溶解于水, 透析48h, 浓缩, 冻结干燥。即获得Smith分解多糖(Cp-2-B-SD)。

2.2 缓和Smith分解多糖(Cp-2-B-SD)的纯化与分子量分布

采用凝胶层析对Cp-2-B-SD进行纯化, 同时了解它的分子量分布情况。预先装填好Sephacryl S-300层析柱(2.6×90cm), 并用蒸馏水使它平衡稳定。称取上述操作所获得的Cp-2-B-SD(15mg)溶解于水中, 上柱, 然后用蒸馏水溶出(流速: 60ml/h)。溶出液按照3 ml/管自动收集, 以苯酚-硫酸法测定糖含量。另外以Dextran T-10(Mw=10,500)、T-20(Mw=20,000)、T-40(Mw=43,500)为标准物质, 分别在相同条件下溶出。溶出的结果如图2所示, Cp-2-B-SD主要出现一个峰。另外, 把第40~65管以及第66~80管的溶出液合并, 分别测定它们的阿拉伯糖和半乳糖的构成比例。实验结果表明, 这两个组分的分析结果基本一致。因此, 可以认为Cp-2-B-SD是一个均一的多糖。利用分子量的对数与溶出液体积的直线关系可以计算出它的重量平均分子量为1.8万。

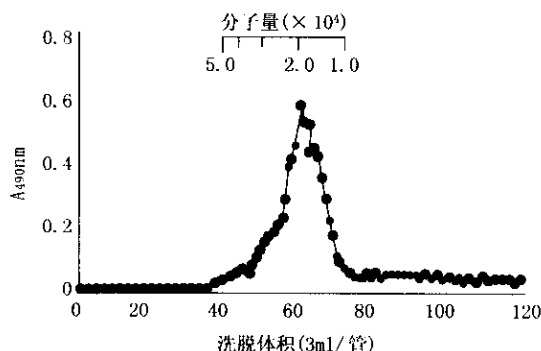


图2 Cp-2-B-SD在凝胶层析柱Sephacryl S-300上的洗脱曲线

化学组成以及构成单糖的分析表明, Cp-2-B-SD的蛋白质含量为21%, 半乳糖醛酸为5%, 半乳糖和阿拉伯糖的构成比例约为8:1(=82.4:12.9), 即构成单糖的90%为半乳糖。而在Cp-2-B中, 这3个参数分别为12.5%, 11.9%和1:1(=47.4:45.5)。从这个结果可以看出, 经过高碘酸氧化与缓和Smith分解后, Cp-2-B去掉了大部分的阿拉伯糖和大约50%的半乳糖醛

酸, 糖链的残余部分是一个分子量为1.8万的半乳糖聚糖。因此, 根据高碘酸氧化的特点, 可以推测, 这个残余的半乳糖聚糖应该基本上是由不能被高碘酸氧化的(1→3)结合的半乳糖所构成。也就是说, Cp-2-B糖蛋白的分子中存在着一个由半乳糖残基通过(1→3)结合构成的半乳糖聚糖骨骼。另外, Cp-2-B-SD与Cp-2-B相比含有更多的蛋白质, Sephadex S-300层析柱溶出时显示出单一的峰, 而且在前面的报告^[10]中我们已经证实, 糖链和蛋白质是通过糖残基与含羟基的氨基酸(苏氨酸, 丝氨酸)形成糖苷键结合在一起的。从上述分析结果可以推测, 蛋白质是结合在Cp-2-B分子中由(1→3)结合半乳糖残基构成的骨骼上的。即与蛋白质结合的糖很可能是半乳糖。这个推测与一些文献^{[12][23~25]}的报道是一致的。当然, 由于Cp-2-B-SD同时还含有少量的阿拉伯糖, 不能完全排除蛋白质与阿拉伯糖结合的可能性, 因为从一些植物分离纯化出来的AGP中也发现了蛋白质与阿拉伯糖结合的存在^[23]。

2.3 缓和Smith分解多糖(Cp-2-B-SD)的构造特征

为了证实对Smith分解多糖Cp-2-B-SD的构造特征的推测, 我们进行了甲基化分析。称取样品(5mg)溶解于1ml DMSO (Dimethyl sulfoxide), 然后按照箱守法^[19]进行甲基化反应, 直至反应产物从红外光谱图上观察不到羟基的吸收峰(3300cm⁻¹附近)。然后将所得产物按Blakeney法^[18]制备成单糖的糖醇乙酸酯衍生物供气质联用仪(岛津GC-MS QP-5000)进行分析。从气相色谱得出的结果可以看出(图2), Cp-2-B-SD主要给出了6个峰(A, B, C, D, E, F), 从它们出现时间以及质谱图的分析结果(图4)可以推测, 阿拉伯糖为呋喃糖, 半乳糖为吡喃糖, 这6个化合物分别为(表2): (A)非还原末端阿拉伯糖由来的衍生物Araf(1→, (B)0-3结合的阿拉伯糖由来的衍生物→3)Araf(1→, (C)非还原末端半乳糖由来的衍生物Galp(1→, (D)0-3结合的半乳糖由来的衍生物→3)Galp(1→, (E)0-6结合的半乳糖由来的衍生物→6)Galp(1→以及(F)0-3, 6结合的半乳糖由来的衍生物→3, 6)Galp(1→。Cp-2-B-SD甲基化后半乳糖和阿拉伯糖诱导体的比率为6.1:1.0(=85.2:14.0), 而甲基化反应前的比率为6.7:1.0(=82.4:12.9), 两者基本一致, 因此, 可以认为Cp-2-B-SD的甲基化反应比较彻底, 实验所得到的分析结果是可靠的。从表2的分析结果看出, Cp-2-B-SD中有74%[(45.8+17.6)/85.2]的半乳糖是通过(1→3)结合的, 而且, (1→3)结合的半乳糖主链上有28%[(17.6)/(45.8+17.6)]的半乳糖残基带有取代基。至于存在着少量的非还原末端的阿拉伯糖和半乳

糖则可能是在高碘酸氧化和 Smith 分解时重新形成的。由于 Cp-2-B-SD 是由连续的(1→3)结合的半乳糖残基通过糖苷键组成的半乳糖聚糖,且一部分半乳糖残基通过(1→6)糖苷键结合在主链上,这样的结构从理论上是不能被高碘酸氧化的。因此,这个实验结果与高碘酸氧化反应结果是相符的。

综上所述,可以断定,Cp-2-B 糖蛋白的分子中一定存在着一个由半乳糖残基通过(1→3)结合构成的半乳糖聚糖的骨骼,阿拉伯聚糖(或寡糖,单糖)和一部分半乳糖醛酸结合在这个骨骼的上面。

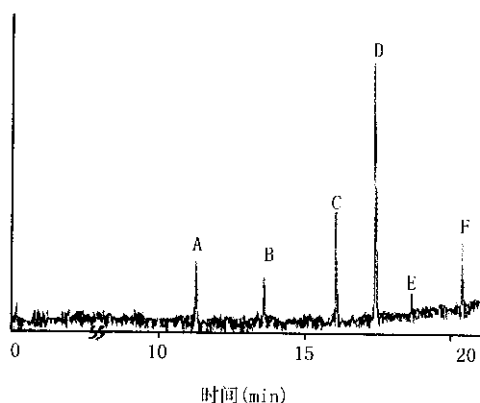


图3 部分甲基化Cp-2-B-SD的全乙酰化糖醇诱导体的气相色谱图

到目前为止,关于 type II 类型的 AGP 分子的微观构造(例如主链、侧链的长度和侧链的数量等)的报道还十分少见。Churms^[26]提出了二个分子模型:梳状构造(Comb-like model)和树枝状构造(Branch on branch model)。后来的实验结果也证实了大多数的 AGP 是梳状构造^[27,28]。但也有一些文献报道^[11,12]认为 AGP 的主链是(1→3)和(1→6)结合的半乳糖残基交替组成的。在 Cp-2-B 的 Smith 分解产物中,我们成功地分离出由连续的(1→3)结合的半乳糖残基组成的半乳糖聚糖,而且(1→3)结合的半乳糖主链上有 28% 的半乳糖带有分枝链。因此,可以断定 Cp-2-B 的糖链属于高度分枝的梳状构造:AGP 分子的骨骼是 β -(3,6)-半乳糖聚糖、阿拉伯糖组成的寡糖支链、少量的非还原末端阿拉伯糖、岩藻糖、鼠李糖、木糖、甘露糖和半乳糖醛酸等结合在骨骼中的(1→6)结合的半乳糖残基组成的支链上。

2.4 Cp-2-B 与蛋白质水解酶的反应

很多的文献报道^[11,12]、AGP 的糖链主要是通过丝氨酸、苏氨酸、羟脯氨酸等与蛋白质结合。但是,AGP 分子中的蛋白质部分是以一条多肽链形式还是以多条短肽链形式存在,这个问题至今仍然是个谜^[29]。在前面的报告^[10]中我们已经证实 Cp-2-B 的糖链主要是通过丝氨酸与蛋白质结合。本实验中,我们对 Cp-2-B 能否

被蛋白酶分解进行了探讨。

称取 Cp-2-B 样品 15mg 溶解于 20ml 磷酸缓冲液(pH7.5)中,加入 1mg 蛋白酶(放线菌 *Streptomyces caespitosus* 由来 ICN, Biomedical, Inc.),混合均匀后在 37℃ 恒温培养 24h。然后将反应液加热到 100℃,保持沸腾 10min,再进行离心分离。所得的上清液分别用 Amberlite IR-120(H⁺)和 IRA-410(OH⁻)离子交换树脂进行脱盐处理后,浓缩到 1ml 供 HPLC 分析(分离柱为 Shodex OHpak HB-805,分析条件见前文)。实验结果表明,蛋白酶分解反应前后的 Cp-2-B 溶出的时间和峰的面积基本相同,说明分子量基本上没有变化。因此,可以认为 Cp-2-B 不能被这种蛋白酶分解。究其原因,有如下的可能性:(1)Cp-2-B 的蛋白质部分是一条多肽链,由于糖链部分拥有高度分枝的梳状构造,阻碍了蛋白酶的分解;(2)Cp-2-B 的蛋白质部分不是一条多肽长链,而是以多条短肽链的形式存在。Dondain^[30]曾经报道,蛋白质含量在 <1% 以及 >20% 的 AGP 不能被这种蛋白酶水解,而 1%~10% 的则可以被水解。Cp-2-B 的蛋白质含量为 12.5%,属于不能被蛋白酶分解的范围。因此,这个实验结果与 Dondain 的实验结果是不矛盾的。

2.5 Cp-2-B 与 Yariv 试剂的特有免疫反应

众所周知,利用抗原抗体的特异性反应可以推测多糖的一次,甚至是高层次化学构造^[31]。在利用多糖特有的免疫反应进行多糖物质的分离、鉴定、化学结构的解析方面,很多的研究者进行了深入的探讨、特别是在利用植物的 type II 类型的 AGP 与 β -galactosyl Yariv 试剂的特异反应方面有较多的文献记载^[12]^[32~34],运用化学方法合成 AGP 也取得了很大进展^[12]。

参照 Yariv^[32]的方法制备了 β -galactosyl Yariv 试剂[1,3,5-tri-(p- β -D-galactopyranosyl oxyphenylazo)-2,4,6-trihydroxybenzene]。称取 Cp-2-B 样品 10mg,溶解于 10ml 蒸馏水中,将同体积的 β -galactosyl Yariv 试剂(1mg/ml)和 NaCl 溶液缓慢滴入到 Cp-2-B 溶液中(混合溶液中的 NaCl 的最终浓度为 0.15mol/L)。很明显地观察到有絮状沉淀出现,这个沉淀物质被认为是 type II 类型的 AGP 与 β -galactosyl Yariv 试剂反应后生成的 AGP-Yariv 复合物。这个实验结果证实了我们在前面报告中所推测的结构特征。

从以上的分析,我们得出结论:Cp-2-B 的糖链具有高度分枝的梳状构造,它的骨骼是 β -(3,6)-半乳糖聚糖;由阿拉伯糖组成的寡糖支链、少量的非还原末端阿拉伯糖、岩藻糖、鼠李糖、木糖、甘露糖和半乳糖醛酸等结合在这个骨骼上。同时,我们也注意到,Cp-2-B 分子中含有一定量的半乳糖醛酸,它在

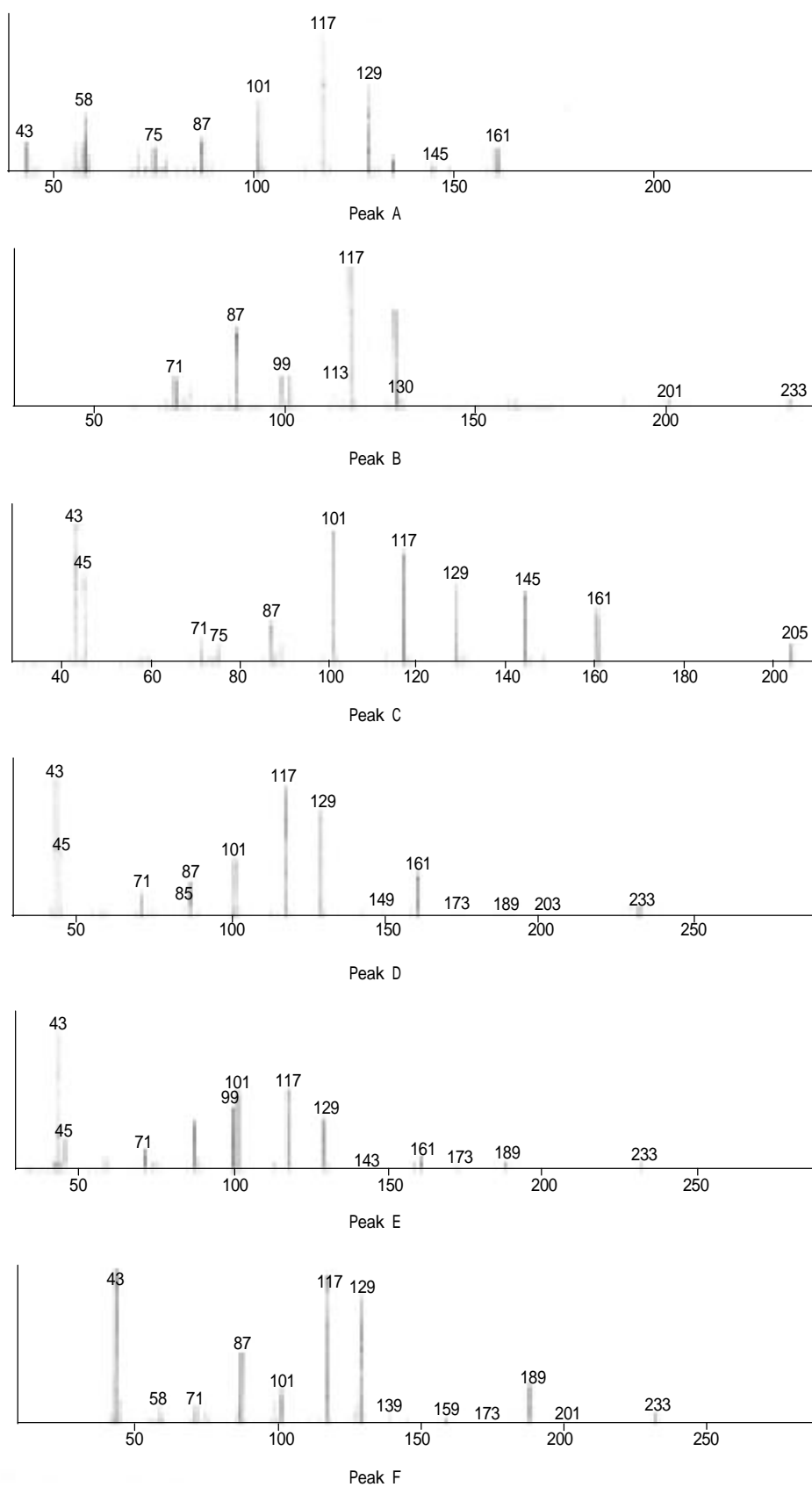


图4 气相色谱图中A,B,C,D,E和F峰的质谱图

表1 Cp-2-B-SD的甲基化分析结果

色谱峰	诱导体	归属	峰面积比(摩尔比)
A	1,4-二-乙酰基-2,3,5-三-甲基-L-阿拉伯糖醇	Araf(1→	9.2
B	1,3,4-三-乙酰基-2,5-二-甲基-L-阿拉伯糖醇	→3)Araf(1→	4.8
	小计		14.0
C	1,5-二-乙酰基-2,3,4,6-四-甲基-D-半乳糖醇	Galp(1→	19.2
D	1,3,5-三-乙酰基-2,4,6-三-甲基-D-半乳糖醇	→3)Galp(1→	45.8
E	1,5,6-三-乙酰基-2,3,4-三-甲基-D-半乳糖醇	→6)Galp(1→	2.6
F	1,3,5,6-四-乙酰基-2,4-二-甲基-D-半乳糖醇	→3,6)Galp(1→	17.6
	小计		85.2

分子中的存在形式(残基的结合状态); 是否存在着类似果胶物质的, 由连续的(1→4)结合的半乳糖醛酸残基组成的 Smooth 领域; 半乳糖醛酸的存在对 AGP 的生理活性的影响等还有待进一步的探讨。

参考文献:

- [1] 盛宝珠,赵新明,梁克勤等.枸杞对60岁以上老年人免疫功能的调节作用[J].中药药理与临床,1988,4(2):43-44.
- [2] Dharmananda S.Lycium fruit for HIV/AIDS[J].Tradition Medicine,1995,(10):23-24.
- [3] 孙文娟,睢大员,于晓凤等.吉林枸杞糖蛋白的初步药理研究[J].白求恩医科大学学报,1996,22(50):486-487.
- [4] 刘菊年,程炳权,张建荣等.枸杞多糖对恶性肿瘤放疗患者免疫功能的影响[J].中华放射医学与防护杂志,1996,16(1):18-20.
- [5] 杜守英,钱玉昆.枸杞子提取物对人淋巴细胞表面IL-2R表达的影响[J].中华微生物学和免疫学杂志,1995,15(3):176-178.
- [6] 刘玉涛,周禾,白小微等.枸杞多糖对小鼠胸腺细胞凋亡的调节[J].北京医科大学学报,1996,28:111-133.
- [7] 陶茂萱,赵忠良.枸杞多糖对遗传损伤的体外研究[J].中草药,1992,23(9):474-476.
- [8] 秦小明,山内亮,相澤宏一等.枸杞子多糖研究[J].岐阜大学農学研究报告,1999,64:83-88.
- [9] Qin X,Yamauchi,R Aizawa,K Inakuma et al.Isolation and characterization of arabinogalactan-protein from the fruit of Lycium chinense Mill[J].Journal of Applied Glycoscience,2000,47:155-161.
- [10] Qin X,Yamauchi,R Aizawa K et al.Structural features of arabinogalactan-proteins from the fruit of Lycium chinense Mill[J].Carbohydrate Res,2001,333:79-85.
- [11] Clarke A E,Anderson R L,Stone B A.Form and function of arabinogalactans and arabinogalactan-proteins[J].Phytochemistry,1979,18:521-540.
- [12] Fincher G B,Stone B A.Arabinogalactan-proteins: Structure,biosynthesis and functions[J].Ann Rev Plant Physiol,1983,34:47-70.
- [13] Saulnier L,Brillouet J M.An arabinogalactan-protein from the pulp of grape berries[J].Carbohydr. Res,1989,188:137-144.
- [14] Saulnier L,Brillouet J M.New investigation of the structure of grape arabinogalactan-protein[J].Carbohydr Res,1992,224: 219-235.
- [15] Dubois M,Gilles K A,Hamilton J K et al.Colorimetric method for determination of sugars and related substance[J].Anal Chem,1956,28:350-356.
- [16] Dische Z.Methods in carbohydrate chemistry[M].New York Academic press,1962.1488.
- [17] Millar G C.Protein determination for large number of samples[J].Anal Chem,1959,31:964.
- [18] Blakeney A B,Harris P J,Henry R J et al.A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis[J].Carbohydrate Res,1983,113:291-299.
- [19] Harris P J,Heney R J,Blakeney A B et al.An improved procedure for the methylation analysis of oligosaccharides[J].Carbohydrate Res,1984,127:59-73.
- [20] Goldstein I J, Haay G W, Lewis B A et al.Methods Carbohydr[J].Chem,1965,(5):361-370.
- [21] Whistler R L,Wolfrom M L.Periodate oxidation: Determination of periodate[J].Methods Carbohydr Chem,1962,(1):435-441.
- [22] Whistler R L,Hickson J L.Maltotetraose and crystalline pentadeacetylmaltotetraitol[J].J Am Chem Soc,1954,76:1671-1673.
- [23] Gane A M,Craik D.Munro S L A et al.Structural analysis of the carbohydrate moiety of Arabinogalactan-proteins from Stigmas and Styles of Nicotiana glauca[J].Carbohydr Res,1995,277:67-85.
- [24] Tsumuraya Y,Hashimoto Y.An arabinogalactan and arabinogalactan containing proteoglycan from radish (Raphanus sativus)seeds[J].Carbohydr Res,1987,161:

- 113-126.
- [25] Cho Y, Chrispeels M J. Serine-O-galactosyl linkages in glycopeptides from carrot cell walls[J]. *Phytochemistry*, 1976, 15: 165-169.
- [26] Chrums S C, Stephen A M. Molecular weight distribution of hydrolysis products from the gum of *Acacia elata* A[J]. *Cunn. Carbohydr Res*, 1972, 21: 91-98.
- [27] Chrums S C, Merrifield E H, Stephen A M. A comparative examination of two polysaccharide components from the gum of *Acacia mabellae* [J]. *Carbohydr Res*, 1978, 63: 337-341.
- [28] Chrums S C, Merrifield E H, Stephen A M. Smith degradation of gum exudates from some *prosopis* species [J]. 1981, 90: 261-267.
- [29] Cartier N, Chambat G, Joseleau J P. An arabinogalactan from the culture medium of *Rubus fruticosus* cells in suspension[J]. *Carbohydr. Res*, 1987, 168: 275-283.
- [30] Dondain G, Phillips G O. The regulatory journey of gum Arabic[J]. *Foods food ingredients journal of Japan*. 1999, 179: 38-56.
- [31] 村信一郎. 総合多糖類科学[M]. 講談社, 1974. 201-205.
- [32] Karacsonyi S, Patoprsty V, Kubackova M. Structural study on arabinogalactan-proteins from *Picea abies* L Karst[J]. *Carbohydr Res*, 1998, 271-279.
- [33] Classen B, Witthohn K, Blaschek W. Characterization of an arabinogalactan-protein isolated from pressed juice of *Echinacea purpurea* by precipitation with the β -glucosyl Yariv reagent[J]. *Carbohydrate Res*, 2000, 327: 497-504.

燕麦麸中 β - 葡聚糖的提取 及其分子量分布测定

管 晓¹, 姚惠源¹, 周素梅²

(1. 江南大学食品学院, 无锡 214036)

(2. 湖南常德金健米业股份有限公司, 常德 415001)

摘 要: 以燕麦麸为原料进行了提取 β - 葡聚糖的研究, 探讨了不同提取工艺条件下得到的产品在组成及性质上的不同, 并采用凝胶过滤色谱法分别测定了它们的分子量分布。研究结果表明: 通过该工艺得到的 β - 葡聚糖产品纯度可达到 80%, 其它主要杂质为蛋白质, 且 β - 葡聚糖分子可能是以与蛋白质分子结合的状态存在。较高温度(65℃和 95℃)下提取的 β - 葡聚糖相对分子质量较大, 且分布范围较窄, 在 2.4×10^6 左右; 而较低温度(40℃)下得到的 β - 葡聚糖分子分布范围宽, 且相对分子质量较小, 为 3.4×10^5 。碱性环境下提取 β - 葡聚糖不会造成其分子降解。

关键词: 燕麦麸; β - 葡聚糖; 提取; 分子量分布

Abstract: β -glucan was extracted from oat bran. The preparation produced 80% β -glucan and some protein. Gel filtration chromatography suggested that β -glucan extracted in different extraction conditions had different molecular weight distributions and some protein might be bonded to β -glucans. β -glucan extracted at higher temperature (65℃ and 95℃) had very high average molecular weights, about 2.4×10^6 , and their molecular weight distributions were rather limited. β -glucan extracted at lower temperature (40℃) had relatively low average molecular weights, about 3.4×10^5 , its molecular weight distributions were extensive. In addition, the results also showed β -glucan molecules could not be hydrolyzed in alkaline condition.

Key words: oat bran; β -glucan; extraction; molecular weight distribution

中图分类号: TS201.2*3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)07-0040-04

燕麦是起源于我国的一种古老的粮食作物, 已有两千多年的栽培历史。从植物分类学上来说, 它属

于禾本科燕麦属一年生草本植物, 其籽粒营养价值丰富而全面, 尤其是蛋白质和脂肪含量在谷物类作物中

收稿日期: 2002-11-05

作者简介: 管晓(1979-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 粮食深加工与功能食品的开发。