

玉米芯中低聚木糖的定性定量研究

张培刚¹, 张静文², 张凤清², 徐萍², 任保国¹

(1.吉林工程技术师范学院, 吉林 长春 130052; 2.长春工业大学化学与生命科学学院, 吉林 长春 130012)

摘要: 利用传统的水提醇沉法从玉米芯提取可溶性糖, 通过部分酸水解、葡聚糖凝胶 Sephadex G-25 柱层析、薄层层析(TLC)、高效液相色谱(HPLC)等对玉米芯中低聚木糖的组成及含量进行研究。结果表明: 玉米芯中低聚木糖种类以木二糖和木三糖为主, 提取纯化得木二糖的纯度可达 95.63%, 得率为 6.84%; 木三糖的含量则较低, 仅为 0.22%。

关键词: 玉米芯; 低聚木糖; 木二糖; 木三糖; 组成; 含量

Investigations of Xylooligosaccharides in Corncob

ZHANG Pei-gang¹, ZHANG Jing-wen², ZHANG Feng-qing², XU Ping², REN Bao-guo¹

(1. Jilin Teacher's Institute of Engineering and Technology, Changchun 130052, China;

2. School of Chemistry and Life Science, Changchun University of Technology, Changchun 130012, China)

Abstract: Water-soluble crude polysaccharides obtained from corncob through water extraction and ethanol precipitation were partially hydrolyzed by trifluoroacetic acid. The crude polysaccharides and their hydrolysates were separately purified (fractionated) by Sephadex G-25 chromatography to be fractions A and B and they were then analyzed by thin-layer chromatography (TLC) and high-pressure liquid chromatography (HPLC). Xylobiose and xylotriose were major components of xylooligosaccharides from corncob. Fraction B mainly consisted of xylobiose with a yield of 6.84% in chromatographic purification and the xylobiose content was as high as 95.63%. However, the xylotriose content was only 0.22%.

Key words: corncob; xylooligosaccharides; xylobiose; xylotriose; component; content

中图分类号: TQ929.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)19-0125-03

低聚木糖是一种非消化性低聚糖, 以木二糖和木三糖为主, 具有优良的稳定性, 能在较宽的 pH 值、温度范围内保持稳定, 具有促进双歧杆菌增长以及改善肠道功能的作用, 能选择性增殖肠道内的双歧杆菌, 它的甜度比蔗糖和葡萄糖均低, 仅为蔗糖的 40%, 具有抗龋齿性^[1-3]。其独特的生理活性和良好的理化特性使得低聚木糖被认为是目前最有前途、国内外研究最为广泛的功能性低聚糖之一。中国是一个农业大国, 玉米是中国三大粮食作物之一。每年产玉米上千亿公斤, 估计玉米芯产量在 1000 万 t 以上。玉米芯中含有大约 35% 的半纤维素、35% 的纤维素和 15% 的木质素, 其中半纤维素的主要组成为木聚糖, 它通过降解可生成低聚木糖^[4-5]。目前中国对玉米芯的利用相对来说还很少, 基本上处于低水平的初加工阶段。因此以价廉易得的玉米芯为原料, 研究开发低聚木糖产品具有极大的竞争力和市场开发前景。实验选用吉林长春产的玉米芯为原料, 采用葡聚糖凝胶 Sephadex G-25 柱层析、薄层层析、高

效液相色谱分析玉米芯中低聚木糖种类及含量, 旨在为玉米芯中低聚木糖资源的研究开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

玉米芯来自长春市郊区, 干燥后粉碎至直径 2 ~ 5 mm 待用。

木糖、苯酚、硫酸(分析纯) 北京化工厂; 低聚木糖标品 广泽乳业提供; Sephadex G-25(生化试剂) 上海东风生化技术有限公司。

UV-2401 紫外分光光度计、Shimadzu 高效液相色谱日本岛津公司; DT200 型电子天平 常熟市衡阳电器厂; RE-52C 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; LG10-2.4A 离心机 北京医用离心机厂。

1.2 方法

1.2.1 总糖含量测定^[6]

收稿日期: 2009-07-12

基金项目: 吉林省教育厅基金资助项目(2007 第 415 号)

作者简介: 张培刚(1973 -), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为农畜产品加工与食品检验。E-mail: swspx@126.com

采用苯酚-硫酸法测定总糖含量,以105 干燥至恒重的无水葡萄糖为标准品制作标准曲线,得回归方程为 $y=0.0124x$, $R^2=0.9967$ 。

1.2.2 玉米芯粗糖的提取与纯化

干燥的玉米芯粉碎→热水浸提→上清液→浓缩→醇沉→离心→醇沉物加水复溶→冻融除杂→Sevag法去蛋白→醇沉→沉淀干燥得粗糖

1.2.3 部分酸水解^[7]

称取200mg糖样,加入8ml 0.05mol/L 三氟乙酸,95 水解16h,离心,取上清液,用无水乙醇蒸除三氟乙酸至中性,蒸干,得水解糖样。

1.2.3 SephadexG-25 凝胶柱纯化

将SephadexG-25 凝胶加蒸馏水,在100 水浴加热2.5h,使之充分溶胀。装柱(2.6cm × 40cm)后用0.1mol/L 的NaCl 溶液平衡。配制糖液上柱,然后用洗脱液0.1mol/L NaCl 洗脱,调节流速(5ml/10min),每管收集5ml,苯酚-硫酸法对糖类的洗脱情况进行跟踪测试,分部收集。将洗脱液按洗脱峰进行收集,真空浓缩,透析。

1.2.4 低聚木糖的成分分析:薄层层析法^[6]

展开剂为正丁醇:冰醋酸:水(体积比为2:1:1),显色剂为苯胺-邻苯二甲酸(苯胺0.93g、邻苯二甲酸1.66g溶于饱和的丁醇100ml)。

1.2.5 低聚木糖的液相色谱分析

仪器:Shimadzu 高效液相色谱;检测器:RID-10A;层析柱:TSK-Gel G3000PW_{XL};流动相:0.2mol/L NaCl;流速:0.6ml/min;柱温:35 ;进样量:20 μ l。

2 结果与分析

2.1 玉米芯粗糖薄层层析结果

玉米芯经热水浸提所得粗糖经冻融除杂、脱蛋白后,点样于薄层层析板上,展开显色后结果如图1 所示。



a. 木糖; b. 低聚木糖标样(木二糖、木三糖和木四糖); c. 玉米芯粗糖。

图1 玉米芯粗糖薄层层谱图

Fig. 1 TLC pattern of water-soluble crude polysaccharides from corn cob

由图1 可知,玉米芯粗糖中含有木二糖、木三糖,且随着糖链聚合度的增加,含量逐渐减少。

2.2 SephadexG-25 凝胶柱纯化结果

分别取50mg粗糖糖样和水解糖标样溶于一定量蒸馏水,4 过夜溶胀,搅拌,离心,将上清液过G-25 凝胶柱,在波长490nm 处洗脱曲线如图2、3 所示。

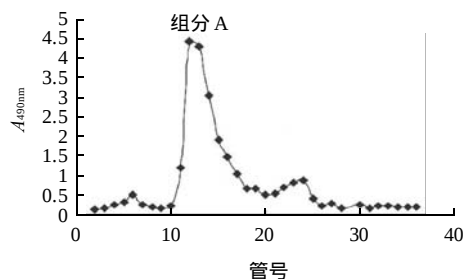


图2 玉米芯粗糖的SephadexG-25 洗脱曲线

Fig.2 Elution curve of water-soluble crude polysaccharides from corn cob by Sephadex G-25

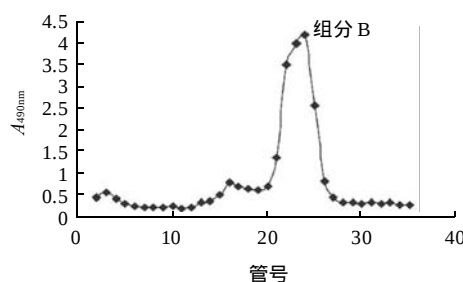


图3 玉米芯水解糖样的SephadexG-25 洗脱曲线

Fig.3 Elution curve of hydrolyzed water-soluble crude polysaccharides from corn cob by Sephadex G-25

按图2 所示,收集洗脱液11~17 管,浓缩,透析,真空干燥的组分A。按图3 所示,收集21~25 管,经浓缩、透析、干燥后,得组分B。

2.3 高效液相色谱分析

低聚木糖标样(木二糖、木三糖和木四糖)与组分A 和组分B 进行高效液相色谱分析,结果见图4~6。

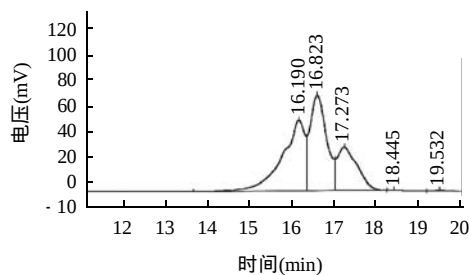


图4 低聚木糖混合标样的高效液相色谱图

Fig.4 HPLC chromatogram of standard mixture of xylobiose, xylotriose and xyloetraose

由图 4 低聚木糖标样的液相图谱可以看出, 木二糖的保留时间在 17.273min, 木三糖的保留时间在 16.623min, 木四糖的保留时间在 16.190min。根据 TSK-Gel G3000PW 色谱分析柱和凝胶过滤层析的原理, 聚合度大的低聚糖被优先洗脱。

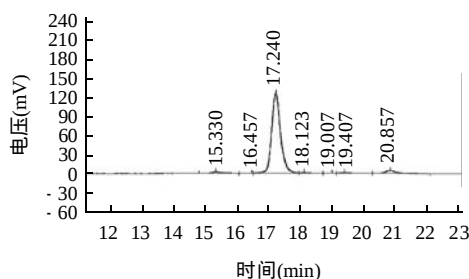


图 5 组分 A 的高效液相色谱图

Fig.5 HPLC chromatogram of fraction A shown in Fig.2

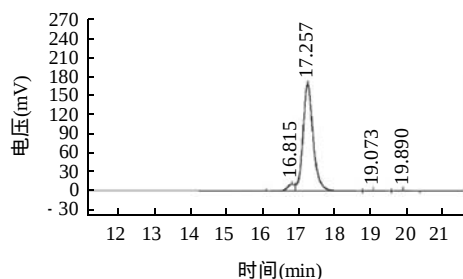


图 6 组分 B 的高效液相色谱图

Fig.6 HPLC chromatogram of fraction B shown in Fig.3

由图 5 可知, 组分 A 的液相图谱中, 保留时间为 17.240min 的最高峰应为木二糖, 由峰面积可计算出, 其纯度为 91.27%, 收率为 3.91%; 保留时间为 16.457min 的

峰可推测为木三糖, 其含量很低; 在 16.457min 之后出的峰, 可能为低聚木糖中的杂质和(或)游离的单糖糖基。

由图 6 可知, 组分 B 的高效液相色谱中, 保留时间为 17.257min 的最高峰应为木二糖, 其纯度为 95.62%, 收率为 6.84%; 保留时间为 16.815min 的峰可能为木三糖, 其纯度较低, 收率仅为 0.22%。

3 结 论

采用水提醇沉法所得的玉米芯粗糖经 SephadexG-25 凝胶柱分离纯化后, 可得到纯度为 91.27% 的木二糖, 收率为 3.91%。这与玉米芯粗糖的薄层层析检测结果相一致。玉米芯粗糖经部分酸水解后的糖样经 SephadexG-25 凝胶柱分离纯化可得到纯度为 95.62% 的木二糖, 收率为 6.84%; 其中可能含有少量木三糖, 收率仅为 0.22%。部分酸水解后, 木二糖收率提高了近一倍, 这可能是由于玉米芯粗糖中存在的木聚糖得到进一步降解成木二糖。

参考文献:

- [1] 郑建仙. 功能性低聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 178-184.
- [2] MUSSATTO S I, MANCILLA I M. Non-digestible oligosaccharides: a review[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 68(3): 587-597.
- [3] 许正宏, 熊筱晶, 陶文沂. 低聚木糖的生产及应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2002(1): 56-59.
- [4] 陈国符. 植物纤维化学[M]. 北京: 轻工业出版社, 1980: 204-209.
- [5] 石波, 李里特. 低聚木糖的制备与分离[J]. 食品添加剂, 2004, 25(1): 113-114.
- [6] 张维杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 2 版. 杭州: 浙江大学出版社, 1999.
- [7] 陈玉香, 张丽萍. 沙棘果皮水溶性多糖 Hn 的结构研究[J]. 分子科学学报, 2000, 16(1): 19-22.