

利用稻壳提取阿拉伯木聚糖的研究

李丽坤<sup>1</sup>, 赵丽红<sup>1</sup>, 李伟群<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省桦南县农业技术推广中心, 佳木斯 154400;  
2. 黑龙江省土壤环境与植物营养重点实验室, 黑龙江省农业科学院土壤肥料  
与环境资源研究所, 哈尔滨 150086)

**摘要:**以稻壳为原材料, 通过微生物的降解, 利用香菇菌来分解半纤维素, 并着重从测定糖含量的方面进行判断阿拉伯木聚糖的产生。为阿拉伯木聚糖的生产提供一个崭新的思路。对开展农业的综合开发, 进行农业结构的产业化调整都有积极意义。  
**关键词:**阿拉伯木聚糖; 微生物; 半纤维素; 糖的测定  
**中图分类号:** Q538      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1002-2767(2008)01-0022-03

Research on Using Rice Hull to Extract *Arabinoxylans*

LI Li-kun<sup>1</sup>, ZHAO Li-hong<sup>1</sup>, LI Wei-qun<sup>2</sup>

(1. Huanan County Agricultural Technology Extension Center in Heilongjiang Province, Jiamusi 154400; 2. Key Laboratory of Soil Environment and Plant Nutrition, Soil and Fertilizer and Environment Resource Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

**Abstract:** Took rice hull as materials, using *Shitake Mushroom* to decompose the Lignocellulose through the degeneration of microbes, the production of *Arabinoxylans* Solubilization from the determination of the content of sugar was determined. The study offered a new thought of the production of *Arabinoxylans* Solubilization. It will offer the positive meaning to the industry adjust and the integrative development of agriculture.  
**Key words:** *Arabinoxylan*; microbe; hemicellulose; sugar determination

我国年产稻谷 1.85 亿 t, 产出米糠约 1 000 万 t, 尽管我国米糠产量居世界之首, 但米糠的深度开发应用及相应理论的研究尚处于较低水平。阿拉伯木聚糖(*Arabinoxylan*)是高等植物, 特别是禾谷类作物种子细胞壁的主要组成成分之一。在燕麦、小麦和水稻的种皮细胞中占 70%; 在鲜嫩蔬菜的组织中占 20%~30%, 这种成分分布极为广泛。而作为比较普遍的原材料, 米糠一直被广泛地认可和研究开发。

阿拉伯木聚糖, Biobran MGN-3 在很多的领域都有极为重要的利用价值。其化学结构如图 1 所示。

阿拉伯木聚糖 Biobran MGN-3 含糖量在 65%~80%; 蛋白质为 8%~15%<sup>[1]</sup>; 为淡褐色粉末, LD<sub>50</sub>> 36 g·kg<sup>-1</sup>, 在 65℃水中, 95%为可溶性, 具有吸湿性。它的最大吸收波长为 260 nm 和 974 nm<sup>[2]</sup>; 具有两个吸收

收稿日期: 2007-04-28  
基金项目: 黑龙江省重大科技攻关项目(2006BAD07A10-4); 国家科技支撑项目(2006BAD25B05)  
第一作者简介: 李丽坤(1958-), 女, 黑龙江省桦南县人, 主要从事土壤肥料及化验分析工作。Tel: 13946417020; E-mail: hljtf@163.com.

峰。阿拉伯木聚糖, MGN-3, 产品为粉末状, 带有微甜味和微酸味, 并且十分稳定, 具有很高的免疫调节活性。

着重阐述了如何利用稻壳为半纤维素生产的原材料, 从培养香菇菌来培养分解半纤维素的糖苷酶, 着重从测定糖含量的方面进行判断阿拉伯木聚糖的产生, 并利用糖的薄层层析方法和糖的紫外扫描方法进一步证明阿拉伯木聚糖的产生。从而论证本文所述方法对于阿拉伯木聚糖开发的积极作用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

去杂质干净稻壳, 香菇菌种(*Shitake Mushroom*)。

1.2 方法

1.2.1 总糖的测定方法 (1)蒽酮—硫酸法<sup>[3]</sup>: 糖类遇浓硫酸生成糖醛或其衍生物, 可与蒽酮试剂缩合产生颜色反应, 反应后溶液呈蓝绿色, 于 620 nm 处有最大的吸收峰, 显色与多糖含量呈线性关系。可用于多糖、单糖的测定, 即总糖的测定。(2)标准曲线的制作: 分取标准溶液加到标记的试管中, 取量

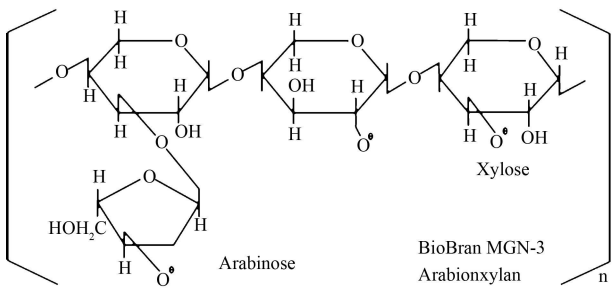


图 1 阿拉伯木聚糖的化学结构(BioBran MGN-3 Arabinoxylan)

与所选取的糖标准有关, 与实际操作中的样品糖量有关, 但其原则就是保证样品的糖浓度在所设计曲线范围中, 加入的糖有一定比例梯度, 例如: 0.0 10、0 20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL。之后用双重蒸馏水补齐到 1.00 mL, 分别加入 4.00 mL 试剂一(蒽酮试剂)振荡 3 次, 注意每次加的速度尽量一致, 以保持温度的较小变化差异, 使其对反应的影响不大。加完试剂后, 应迅速加塞, 防止蒸发, 同时并浸入冰水浴中冷却, 各管加完后, 一起浸入沸水浴中, 待水再一次沸腾时开始记时, 并每隔一定时间摇匀, 准确记时 10 min 后取出试管, 用自来水流水冷却 1 min, 室温放置 10 min, 于 620 nm 比色, 以木糖 0 mL 试管为空白对照。以光密度为纵坐标, 糖的含量微克数为横坐标, 绘制标准曲线图(见表 1)。

表 1 蒽酮法测定糖的标准曲线						
取样体积/mL	0.10	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00
OD <sub>620</sub>	0.108	0.195	0.438	0.650	0.868	1.178

注:  $r=0.9976792913$ ;  $a=-0.031553425$ ;  $b=1.169780820$ ; 木糖标准  $0.50\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.2.2 半纤维素的提取及处理方法 取 100 g 干稻壳于 400 mL 蒸馏水中加温, 控制在 90℃的环境下浸泡 2 h, 并不断搅拌; 四层纱布过滤两次, 收集滤液; 将滤液离心(制冷) 5 000 rpm、30 min 收集上清液体; 用 1N HCl 调 pH 至 4.5; 加入等体积冷乙醇沉淀后, 5 000 rpm、30 min 离心(制冷)收取沉淀; 将沉淀中再加入 50 mL 冷乙醇进行洗涤, 脱去水分, 5 000 rpm、20 min 离心(制冷), 收集沉淀; 重复洗涤脱水两次; 将收集到的经过脱水后的沉淀放置于平皿中, 干燥箱内 45℃干燥过夜, 收集产物即为半纤维素粗产品。

1.2.3 糖苷酶的制取及菌株的选取方法 土豆去皮 100 g, 切成小块, 加入蒸馏水 700 mL, 煮沸 1 h, 4 层纱布过滤两次去残渣, 上清液中加入葡萄糖 1.00 g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5 g、 $\text{MgSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.25 g 后定容至 500 mL, pH 保持自然状态。采用湿热法灭菌, 112 6℃、20 min。

接种供试菌种, 于空气浴振荡箱内 27℃、130~140 rpm, 培养 14 d。

培养后菌液, 取离心去沉淀后上清 0.10 mL, 分别加入 0.90 mL 降解淀粉后的提取液 0.90 mL, 标记后, 作如下处理: 调 pH 至 4.5, 40℃水浴 30 min; 再调 pH 至 6.0, 40℃水浴 30 min, 应用 3, 5-二硝基水杨酸

(DNS)比色法<sup>[4]</sup> 测定菌液还原糖含量(见表 2)。

表 2 DNS 方法测定还原糖的标准曲线						
取样体积/mL	0.40	0.50	0.60	0.80	0.90	1.00
OD <sub>550</sub>	0.240	0.315	0.371	0.504	0.576	0.651

注:  $r=0.9993912159$ ;  $a=-0.029583333$ ;  $b=0.6074642857$ ; 木糖标准  $1.00\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.2.4 酶解反应 通过将酶加入到所提取的半纤维素提取液中, 进行酶解反应, 通过比较前后的还原糖的数量, 尤其是木糖的数量增加, 来证明酶的作用效果使阿拉伯木聚糖降解生成木糖, 从而间接证明阿拉伯木聚糖的生成(见表 3)。

表 3 酶解反应标准曲线						
取样体积/mL	0.40	0.50	0.60	0.80	0.90	1.00
OD <sub>550</sub>	0.213	0.308	0.352	0.521	0.586	0.639

注:  $r=0.997166507$ ;  $a=-0.06425$ ;  $b=0.715357143$ ; 木糖标准  $1.00\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.2.5 糖的薄层层析 硅胶 G 规格: SG 2001, 粒度 180~250  $\mu\text{m}$ , 目数 60~80, 平均孔径 8~10 nm, 比表面积 300~400  $\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ , 孔体积(约) 0.8  $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。  
平板制备: 硅胶 G 5.00 g, 加入 0.30  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸二氢钠水溶液 12.00 mL。  
展开剂: 正丁醇: 冰醋酸: 水=4:1:1(体积比)<sup>[5]</sup>。  
染色剂: 苯胺的 2%丙酮溶液: 二苯胺的 2%丙酮溶液: 85%磷酸=5:5:1。

1.2.6 紫外检测扫描 检验木糖的生成。

## 2 结果与分析

### 2.1 半纤维素提取结果

基于实验设计, 以水为洗脱液, 100 g 干稻壳进行提取半纤维素的分析结果如表 4 所示。

表 4 水提取半纤维素结果	
洗脱液成分	蒸馏水
提取液颜色	棕褐(浅)
半纤维素干粉质量/g	0.30
干粉颜色	棕灰色
干稻壳中提取半纤维素质量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	3.00
提取液含总糖类质量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	7.71
测定 OD <sub>620</sub>	0.329
稻壳中提取总糖质量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	15.42
测定 OD <sub>550</sub>	0.171
提取液还原糖类质量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.33
稻壳中提取还原糖的质量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.66
糖类在总产品中的比例/%	2.60

### 2.2 酶解反应结果分析

在表 5 中,  $A+B<C$ , 即经过酶解后的样品中还原糖含量有了明显的增加, 但这不足以说明是目的产物阿拉伯木聚糖及其水解后木糖的增加造成的结果, 其中也有可能是其它单糖造成的增加, 例如, 在半纤维素的水解过程中同样有葡萄糖的生成, 所以要通过其它的实验加以证明其糖含量的增加是阿拉伯木聚糖起主要原因的。因此, 需进行薄层层析结果的分析。

表 5 酶解反应结果

项 目	A 还原糖	B 半纤维素 提取液	C 酶解后的半纤 维素提取液
OD <sub>550</sub>	0.029	0.129	0.264
糖含量/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.13	0.30	0.51
每 kg 稻壳经过酶解 后增加还原糖质量/g		0.144	
增产率/%		27	

2.3 糖的薄层层析结果分析

按本文所述层析方法，得到如图 2 所示薄层层析结果图，其中 A 为标准木糖样，B 为处理样品一，C、D 为处理样品二。C、D 样品为平行处理。

稻壳水提取液(离心后)，降解淀粉，稀释 20 倍体积后，除去蛋白，高速离心机 8 000 rpm、2 min 取上清液点样。

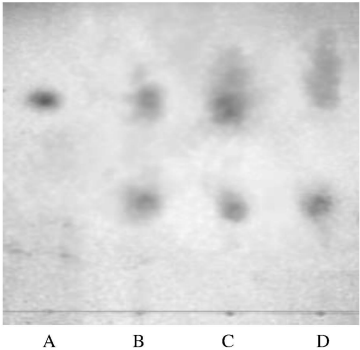


图 2 糖的薄层层析结果

A 标准木糖; B 半纤维素提取液; C、D 酶解后的半纤维素提取液

通过观察可以看到，样品 A 为纯的木糖，层析所得到的图象为较小的小黑圈，颜色深。表明糖的种类单一，利用同一水平线上的糖种类相似，可以判断其它样品的组成。比较 B 与 C、D 差异，三种样品都含有两个显色带，在下部的显色带初步判断为分子量较大的多糖，在上部的带中，C、D 的带明显比 B 的带拉的长，表明含有单糖数量增加，而在同一水平线上有木糖标准对照，可以判断木糖的存在，通过对颜色的深度对比得出 C、D 的木糖含量大于 B。通过对半纤维素的结构研究可以知道，木糖的来源为酶作用降解的阿拉伯木聚糖，这也间接证明了阿拉伯木聚糖的生成，进而达到本文实验目的——增加产品中木聚糖含量。为进一步说明其产物主要为木糖，对样品进行处理后，进行全波长的紫外扫描。

2.4 紫外扫描结果分析

通过对处理后的样品进行全波长扫描后，得到如图 3 所示的结果。

观察图 3，可以清晰地看到，B、C 在波长 260 nm 和波长 974 nm 处有两个较为明显的吸收峰。这和文献中关于阿拉伯木聚糖在全波长扫描过程中的结果一致，即阿拉伯木聚糖在波长为 260 nm 和 974 nm 处有两个吸收峰，证明所得到的产品为阿拉伯木聚糖。通过对 B、C 的比较可以看到，C 中的两个峰在高度上，较 B 有了明显的提高，通过对 B 中

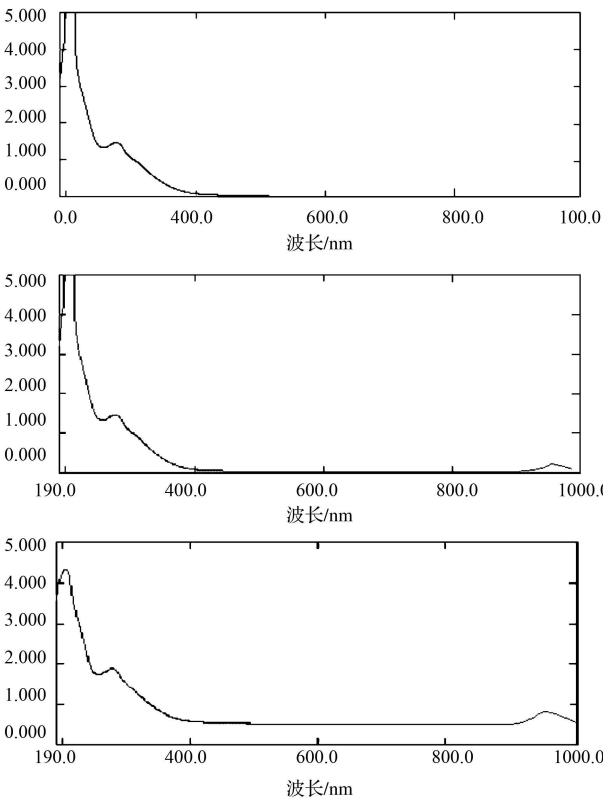


图 3 紫外扫描分析图

加入 A(酶)使得 C 中的两个吸收峰的高度较为明显的增加，证明了酶的作用的存在，即本实验所使用的酶对于增产有明显的促进左右，可以为进一步的实验研究所利用。

3 结论

以水为洗脱液，对干稻壳进行半纤维素提取，水与干稻壳质量比为 4 :1，平均得到 3.00 g 半纤维素粗制品，在提取后得到的液体中总糖类浓度 7.71  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。提取后得到的液体中还原糖类为 0.33  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。经过酶解反应后，在半纤维素提取液中糖含量浓度由 0.30  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  增加到 0.51  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，每千克稻壳经过酶解反应后增加还原糖质量 0.144 g，增产 27%。通过糖的薄层层析结果与糖的紫外扫描分析结果，证实经过酶作用后所提升的糖类为阿拉伯木糖。为阿拉伯木聚糖的生产提供一个崭新的思路。此项研究的开展对进行农业的综合开发，进行农业结构的产业化调整都有相当积极的意义。

参考文献:

[ 1 ] Ghoneum M, Jewett A. Production of Tumor Necrosis Factor  $\gamma$  and Interferon- $\gamma$  from Human Peripheral Blood Lymphocytes by MGN-3, a Modified Arabinosylane from Rice Bran and Its synergy with Interleukin-2 in vitro[ J ]. Cancer Detection and Prevention, 2001, 24(3): 314-324.

[ 2 ] 奚新伟, 沙长青, 李景鹏, 等. 阿拉伯木聚糖(Arabinosylan)的开发利用[ J ]. 中国生物工程杂志, 2004, 14(2): 65-67.

[ 3 ] 鄢永亮. Thermoascus aurantiacus 木聚糖酶的生产及应用研究[ D ]. 杭州: 浙江大学, 2003.

[ 4 ] 董丽辉. 固定化细胞生物转化半纤维素水解液生产木糖醇[ D ]. 杭州: 浙江工业大学, 2004.

[ 5 ] 刘宝亮. 稻壳中木聚糖的提取和生物降解[ D ]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2004.