

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/715

A61K 35/78

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00811040.9

[43] 公开日 2002 年 8 月 21 日

[11] 公开号 CN 1365283A

[22] 申请日 2000.6.8 [21] 申请号 00811040.9

[30] 优先权

[32] 1999.6.9 [33] US [31] 09/328,611

[86] 国际申请 PCT/US00/15693 2000.6.8

[87] 国际公布 WO00/74689 英 2000.12.14

[85] 进入国家阶段日期 2002.1.29

[71] 申请人 威斯康星旧生研究基金会

地址 美国威斯康星州

[72] 发明人 J·A·马莱特

M·H·菲舍尔

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 张元忠 王其灏

权利要求书 3 页 说明书 22 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 从亚麻籽壳制得的未发酵凝胶成分

[57] 摘要

本发明公开了一种纯化形式的亚麻籽壳凝胶成分, 及从亚麻籽壳中获得这种凝胶成分的方法。本发明也公开了使用这种凝胶组分作为轻泻剂和降胆固醇剂的方法。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权 利 要 求 书

1. 一种亚麻籽壳的凝胶成分, 其在通过单胃哺乳动物的消化系统时经受得住微生物发酵, 所述成分含有干重比至少为约 3: 1 的木糖和阿糖, 并且还含有少于约 2% (重量) 的鼠李糖。

5 2. 权利要求 1 的凝胶成分, 其中木糖对鼠李糖的干重比大于 50。

3. 权利要求 1 的凝胶成分, 其包含半乳糖, 具有的木糖对半乳糖干重比大于 25。

4. 权利要求 1 的凝胶成分, 其包含糖醛酸, 具有的木糖对糖醛酸干重比大于 25。

10 5. 权利要求 1 的凝胶成分, 其具有的糖组成基于干重百分比为:
约 0-3.5% 的鼠李糖;

约 15-20% 的阿糖;

约 55-70% 的木糖;

约 0-0.5% 的甘露糖;

15 约 1-2% 的半乳糖;

约 0-0.5% 的葡萄糖; 和

约 0.5-5% 的糖醛酸。

6. 权利要求 1 的凝胶成分, 其在甲酰胺中具有至少为 500 秒的表观粘度。

20 7. 权利要求 1 的凝胶成分, 其在稀碱溶液中是可溶的, 并且在该溶液酸化至最终 pH 值为约 4.5 时形成凝胶。

8. 一种用于需要便秘治疗的患者的药物制剂, 其包含有效剂量的权利要求 1 的凝胶成分。

25 9. 权利要求 8 的药物制剂, 其中有效剂量基于干重为约 2-6g 的凝胶。

10. 一种用于需要高血液胆固醇治疗的患者的药物制剂, 其包含有效剂量的权利要求 1 的凝胶成分。

11. 权利要求 10 的药物制剂, 其中有效剂量基于干重为约 3-7g 的凝胶。

30 12. 一种亚麻籽壳的碳水化合物成分, 所述成分在稀碱溶液中可溶, 并且在该溶液酸化至 pH 值为约 4.5 时保持可溶, 所述成分含有比例至少为约 4: 1 的木糖和阿糖, 并且还含有至少约 12% (重量)

的鼠李糖和至少约 15% (重量) 的糖醛酸。

13. 一种分离亚麻籽壳获得凝胶成分和另外的碳水化合物成分的方法, 该方法包括:

5 a) 将亚麻籽壳混合在含有约 0.15-1.0M 氢氧根离子的碱水溶液中, 由此将亚麻籽壳分离成碱溶性成分和碱不溶性成分;

b) 除去碱不溶性成分;

c) 将碱溶性成分酸化至 pH 约 3-6, 由此获得一种凝胶成分和一种含有另外的碳水化合物成分的酸化溶液; 和

d) 将该凝胶成分从含有另外的碳水化合物成分的溶液中分离。

10 14. 权利要求 13 的方法, 其中亚麻籽壳被混合在含有约 0.15-0.3M 氢氧根离子的碱水溶液中。

15. 权利要求 13 的方法, 其中碱溶性成分被酸化至 pH 约 4.5。

16. 权利要求 13 的方法, 其还包括用水溶液冲洗凝胶成分。

17. 权利要求 16 的方法, 其还包括干燥冲洗过的凝胶成分。

15 18. 一种从亚麻籽壳制得的凝胶成分, 其用权利要求 13 的方法生产。

19. 一种用于需要便秘治疗的患者的药物制剂, 其包含有效剂量的权利要求 18 的凝胶成分。

20. 权利要求 19 的药物制剂, 其中有效剂量基于干重为约 2-6g 的凝胶。

21. 一种用于需要高血液胆固醇治疗的患者的药物制剂, 其包含有效剂量的权利要求 18 的凝胶成分。

22. 权利要求 21 的药物制剂, 其中有效剂量基于干重为约 3-7g 的凝胶。

25 23. 一种从亚麻籽壳制得的碳水化合物成分, 其用权利要求 13 的方法生产。

24. 一种用于需要便秘治疗的患者的便秘治疗方法, 其包括给患者服用权利要求 8 的药物制剂, 用量和时间有效缓解便秘。

25. 一种用于需要便秘治疗的患者的便秘治疗方法, 其包括给患者服用权利要求 18 的药物制剂, 用量和时间有效缓解便秘。

26. 一种用于需要降低血清胆固醇治疗的患者的血清胆固醇降低方法, 其包括给患者服用权利要求 8 的药物制剂, 用量和时间有效

降低患者的血清胆固醇。

27. 一种用于需要降低血清胆固醇治疗的患者的血清胆固醇降低方法，其包括给患者服用权利要求 18 的药物制剂，用量和时间有效降低患者的血清胆固醇。

说明书

从亚麻籽壳制得的未发酵凝胶成分

按照 35 U. S. C. § 202 (c), 本发明的一部分是由国家卫生部提供的基金资助进行的, 资金号 DK21712, 因此美国政府在本发明中享有一定权力。

这个专利申请书要求 U. S. 专利申请书 NO. 09/328, 611 的优先权, 提交日 1999 年 6 月 9 日, 其全部内容在这里引入作为参考。

10 发明领域

本发明涉及轻泻剂、降低血清胆固醇的治疗和低热量食品增稠剂及脂肪替代物领域。具体地说, 本发明涉及从亚麻籽壳制取的未发酵凝胶状多糖和它们的分离方法。

15 发明背景

参考的各种科学和学术文章在整个发明专利说明书中用括号注明。这些文章在这里引入作为参考来描述本发明相关领域所处的状态。

亚麻 (*Plantago ovata*, 也称为 *ispaghula*) 的种籽壳被普遍用作轻泻剂并用来促进正常的肠功能。亚麻籽壳促进排泄的作用部分是通过增加粪便的量和湿度实现的 (Marteau 等人, 1994, Gut 35:1747-1752)。另外, 食用含有亚麻籽壳食物的人和动物的粪便是凝胶状的。这种凝胶特性通过减少在肠中的摩擦有助于亚麻籽壳的轻泻特性。观察到的粪便量和含水量的增加也是由于这种凝胶物的作用 (Marteau 等人, 1994, supra)。这种凝胶大部分是由未发酵的亚麻多糖组成的 (Cabotaje 等人, 1994, 1302-1307)。

目前使用的亚麻籽壳制剂具有某些缺点。亚麻籽壳的轻泻剂制剂一般是由磨碎的壳组成的, 并且当混在饮料中服药时具有粗糙和不舒服的口感。亚麻籽壳已经被制成小甜饼、饼干和类似产品; 然而, 这些产品往往在口中开始令人不舒服地凝胶化。更重要的是, 虽然这样, 亚麻籽壳在食管中能膨胀, 造成可能引起窒息的食管阻塞。因为这个原因, 亚麻籽壳制剂对吞咽困难的人 (例如老年人) 不推荐食用。

最后，所推荐的亚麻籽壳每日 3.5-11g 的剂量以任何形式服用都是方便。因而，所需要的是亚麻籽壳的方便和舒适的服用形式。

亚麻籽壳具有可溶性食用纤维源的许多特性。一般使用的可溶性食用纤维源包括果胶、树胶和燕麦糠。可溶性食用纤维（SDF）在食品 5 和医药制剂中具有许多应用。可溶性纤维是最低限度处理过的食品源如燕麦、燕麦糠和大麦的成分，或以浓缩物如树胶、果胶和粘胶形式提供的。树胶和粘胶通常是从植物源中分离的碳水聚合物。粘胶特别在水中产生滑的或凝胶状的溶液。果胶是部分甲基化的半乳糖醛酸的聚合链，也拥有在水中形成凝胶的能力。大部分可溶性纤维被快速 10 和完全地发酵并且没有轻泻特性。

可溶性食用纤维源也是粘性的，降低了人体和动物体内的血清胆固醇（Marlett, 1997, 109-121 页, Dietary Fiber and Health, Plenum 出版社, 纽约, Kritchevsky 和 Bonfield 编）。SDF 的粘度，而不是它在胃肠系统中的发酵，是其降胆固醇作用的关键（Marlett 15 等人, 1994, *Hepatology* 20:1450-1457）。在低位小肠腔体中的粘度妨碍了胆汁酸的吸附因而更多的胆汁酸通过粪便排出。血液胆固醇的降低被认为主要是由于它在肝脏中被使用来合成更多的胆汁酸以取代那些排出的胆汁酸。在肝脏中合成的胆汁酸占血液中胆固醇每日消耗量的 40-50%。然而，在饮食中加入一种可溶性纤维源，燕麦糠， 20 也增加了在胆汁酸循环中脱氧胆酸的比例，这样就降低了外源饮食胆固醇的吸附。饮食中补充亚麻壳也增加了约 50% 的胆汁酸排泄量（Gelissen 等人, 1994, *Am. J. Clin. Nutr.* 59:395-400）。

由于可溶性食用纤维浓缩物的水胶体特性，它们在食品工业中也经常用作增稠剂和低热量脂肪替代物（Ward, 1997, *Cereal Foods* 25 *World*, 42: 386-390）。低粘度树胶如阿拉伯树胶同时具有亲水性和亲油性，这使它们成为乳化剂、表面活性剂和稳定剂的理想选择。果胶和粘胶具有凝胶特性，这使它们成为食品产品增稠剂的理想选择。果胶一般从苹果和柑桔属水果中提取。通常使用的粘胶一般从海藻中提取并包括角叉胶、琼脂和海藻酸盐。通过树胶和粘胶和/或果胶结 30 合生成一种具有乳化特性和脂肪滑腻性的化合物可制得脂肪替代物。

发明概述

本发明以纯化形式提供了亚麻籽壳的凝胶成分。这种凝胶成分提供了完整亚麻籽壳的轻泻和降胆固醇作用，但是其形式是易于服药的形式，如药片、胶囊或液体，没有与使用完整亚麻籽壳相伴的某些不舒服或不安全特性。这种凝胶成分在治疗其它肠道异常和保持正常肠道功能以及作为食品增稠剂和脂肪替代物方面也有应用。

根据本发明的一个方面，提供了一种亚麻籽壳的凝胶成分，这种凝胶成分在通过单胃哺乳动物的消化系统时经受得住微生物发酵。在其它成分中，凝胶成分主要包含干重比至少为约（优选为约 3.5）的木糖和阿糖。这种成分中包含严格限制量的其它糖类，例如总共约 2.5-13.5% 的鼠李糖、半乳糖、葡萄糖和糖醛酸。更具体地说，该凝胶成分具有下列糖组成，以占糖总重的百分比表示：

约 0.5-4% 的鼠李糖；

约 19-22% 的阿糖；

约 68-76% 的木糖；

约 0-0.5% 的甘露糖；

约 1-2% 的半乳糖；

约 0-1% 的葡萄糖；和

约 1-6% 的糖醛酸

依靠进一步的纯化，该凝胶成分中的鼠李糖、葡萄糖和糖醛酸可变得更少。

该凝胶成分也是高粘度的，甲酰胺中 0.2% 的浓度的表观粘度至少为 500 秒，优选为 750 秒，并且最优选为 850 秒。这种成分在稀碱溶液中是可溶的并且在溶液酸化至最终 pH 值约 4.5 时形成凝胶。

根据本发明的另一方面，在获得亚麻籽壳凝胶成分的一个优选方法中，也获得了单独的碳水化合物成分。这种成分在稀碱溶液中可溶并且在将溶液酸化至 pH 值约 4.5 时仍保持可溶。这种成分包含比例至少约 4: 1 的木糖和阿糖并且还包含至少约 12%（重量）的鼠李糖和至少约 15%（重量）的糖醛酸。

根据本发明的另一方面，提供了分离亚麻籽壳获得凝胶成分和另外的碳水化合物成分的方法。这个方法包括：（a）在化学还原剂的存在下，将亚麻籽壳混合在包含约 0.15-0.1M（优选为 0.15-0.5M，

更优选为 0.15-0.4M, 更加优选为 0.15-0.3M, 并且最优选为 0.15-0.2M) 氢氧根离子的碱性水溶液中, 由此将亚麻籽壳分离成碱溶成分和碱不溶成分; (b) 除去碱不溶成分; (c) 酸化碱溶成分至 pH 值约 3-6 (优选约 4-5, 最优选约 4.5), 这导致凝胶成分的凝胶化; 5 和 (d) 将凝胶成分与在酸化溶液中包含的另外的碳水化合物成分分离, 例如通过离心法或其它方法。在优选的实施方案中, 本方法还包含用水溶液或缓冲溶液冲洗凝胶成分和干燥冲洗过的凝胶成分。

在本发明的另一方面中, 提供了从亚麻籽壳制取的凝胶成分, 它是通过前述步骤生产的。在本发明的这一方面中也提供了另外的碳水化合物成分。 10

根据本发明的另一方面, 提供了获得包含前述凝胶成分的多糖成分的另一选择方法。通过使用甲酰胺、二甲亚砷或 4-甲基吗啉 N-氧化物 (50%水溶液) 进行溶剂萃取获得了这种成分。将溶剂处理过的材料离心回收可溶材料, 然后将其倾倒入乙醇中获得 80%乙醇的浓度。形成的沉淀在组成上与碱性凝胶成分相同。 15

根据本发明的另一方面, 提供了用于治疗便秘或其它肠道异常、或用于降低病人血清中胆固醇含量的药物制剂。这些制剂的配方包含有效剂量的本发明亚麻籽壳凝胶成分。也提供了用于不同条件下治疗病人的方法, 它包括服用本发明的药物制剂。

20 本发明的其它特征和优点通过下面的发明详述和实例将变得清晰。

发明详述

25 本发明提供了从亚麻籽壳制得的高聚合的凝胶成分, 它在治疗和防止便秘和作为降胆固醇剂方面具有很大的用途。这种凝胶成分在通过胃肠系统过程中基本上保持未发酵 (实施例 6 和实施例 7) 并且通过各种方法促进排泄, 包括增加粪便的含水量和总重量以及赋予粪便滑的特征以利于粪便的排泄 (实施例 6)。

也证明了从亚麻籽壳获得的凝胶成分作为降胆固醇剂的应用。因此, 该凝胶成分可以单独使用或者与其它活性物质合并使用, 作为降低血清胆固醇的治疗方法。 30

食用亚麻籽壳的人和老鼠的粪便有时是凝胶状的 (Cabotaje 等

人, 1994, *supra*; 实施例 6)。然而, 纯化和表征凝胶材料的努力 (Kennedy 等人, *Carbohydrate Res.* 75: 265-274, 1979; Sandhu 等人, *Carbohydrate Res.* 93: 247-259, 1981) 还没有成功过, 并且没有人提供过具有本发明所描述的特征的高度纯化的凝胶成分。依照本发明开发的分离亚麻籽壳的方法导致了意想不到的发现, 与已经出版的报告相反 (例如 Kennedy 等人, 1979, *supra*), 亚麻籽壳的凝胶状、可碱溶成分可以进一步分离, 形成一种高粘度凝胶成分 (这里称为“成分 B”) 和一种具有确定组成特征的第二碳水化合物成分, 其如下面的更详细描述 (这里称为“成分 C”)。粘性的、凝胶组分 B 和另外的组分 C 在多种物质中都是可溶的, 包括稀碱和浓碱、甲酰胺、二甲亚砜和 4-甲基吗啉 N-氧化物 (50%水溶液); 结果, 这两种成分可以根据这些溶解性特征一起进行分离。然而, 这些成分的进一步分离不是不成功 (例如 Kennedy 等人, 1979, *supra*, 用强碱提取的凝胶成分不能进一步分离), 就是还没有被开发出来。本发明人发现, 使用适当的第一个提取步骤获得同时包含成分 B 和成分 C 的产品, 通过酸化包含这些成分的混合物的溶液可以分离这些成分。成分 B 通过离心浓缩以从酸化混合物中分离, 而成分 C 在酸中保持可溶。

碳水聚合物的描述

本发明的粘性成凝胶状亚麻籽壳成分 (成分 B) 主要含木糖和阿糖。在优选实施方案中, 该凝胶成分至少含有 50 重量%的木糖和阿糖, 在更优选实施方案中其至少含有 75 重量%的木糖和阿糖, 在最优选实施方案中其至少含有 85 重量%的木糖和阿糖。按照实施例 3 中的方法测量, 该凝胶成分具有至少 500 秒的表观粘度, 在更优选的实施方案中其具有至少 750 秒的表观粘度, 在最优选的实施方案中其具有至少 850 秒的表观粘度。与木糖相比, 该凝胶成分还特别缺乏鼠李糖、半乳糖和糖醛酸。在优选的实施方案中, 木糖对鼠李糖的重量比大于 50, 在更优选的实施方案中该重量比大于 60, 并且在最优选的实施方案中该重量比大于 65。在优选的实施方案中, 木糖对半乳糖的重量比大于 25, 在更优选的实施方案中该重量比大于 35, 并且在最优选的实施方案中该重量比大于 42。在优选的实施方案中, 木糖对糖醛酸的重量比大于 15, 在更优选的实施方案中该重量比大于

25, 并且在最优选的实施方案中该重量比大于 35。在优选的实施方案中, 成分 B 的木糖对阿糖的重量比为 2.5-4.5, 在更优选的实施方案中该重量比为 3.0-4.0, 并且在最优选的实施方案中该重量比为 3.25-3.75。

5 可酸溶亚麻籽壳成分(成分 C)也具有高含量的木糖和阿糖。在优选实施方案中, 酸溶成分至少含有 25 重量%的木糖和阿糖, 在更优选实施方案中其至少含有 40 重量%的木糖和阿糖, 在最优选实施方案中其至少含有 45 重量%的木糖和阿糖。虽然成分 C 具有与成分 B 近似的表观粘度, 但是它没有成分 B 的凝胶特性。与木糖相比, 成分 C 还特别富含鼠李糖、半乳糖和糖醛酸。在优选的实施方案中, 木糖对鼠李糖的重量比小于 6.0, 在更优选的实施方案中该重量比小于 4.5, 并且在最优选的实施方案中该重量比小于 3.0。在优选的实施方案中, 木糖对半乳糖的重量比小于 40, 在更优选的实施方案中该重量比小于 30, 并且在最优选的实施方案中该重量比小于 25。在优选的实施方案中, 木糖对糖醛酸的重量比小于 30, 在更优选的实施方案中该重量比小于 10, 并且在最优选的实施方案中该重量比小于 5.0。在优选的实施方案中, 成分 C 的木糖对阿糖的重量比大于 3.0, 在更优选的实施方案中该重量比大于 4.0, 并且在最优选的实施方案中该重量比大于 4.5。

亚麻籽壳成分的制备

本发明也提供了分离亚麻籽壳获得上述纯化和分离的成分的方法。在它最基本的形式中, 该方法具有下列步骤:

1. 将亚麻籽壳悬浮在包含还原剂的稀碱水溶液(优选为 0.15-0.2M 氢氧根离子)中, 在这个溶液中部分壳材料将溶解, 而某些部分保持不溶;

2. 除去碱不溶材料(在这里称作“成分 A”), 例如通过离心法。

3. 将步骤 1 的碱溶成分酸化至 pH 值 3-6, 优选 4.5, 以生成凝胶(成分 B)和酸溶成分(成分 C); 和

4. 从酸化溶液中分离凝胶, 例如通过离心法。

这个方法的一个实例在实施例 1 中讲授。这个方法存在的许多变

化将基本上不改变分离的产品。这些将在下面进行详细地描述。

碱溶步骤有一些变化。在实施例 1 中讲授的方法与现有技术中的方法相比已经提高了溶解作用。先前的亚麻籽壳多糖的碱溶解作用使用没有还原剂的碱浓溶液（即 1.2M NaOH, Kennedy 等人, 1979, supra）。认识到这种处理的苛刻性和在凝胶成分中多糖链的部分降解, 发明人推测在一个更适合用于进一步分离的形式下, 使用浓度小得多的碱溶液和适当的化学还原剂如硼氢化物的条件下, 已经论证了可以获得凝胶成分。虽然可以使用高达 4N 的碱溶液, 在碱溶解作用中碱浓度优选至少 0.15N 并且不大于 1.0N; 在更优选的实施方案中, 其至少 0.15N 并且不大于 0.5N; 在最优选的实施方案中, 其至少 0.15N 并且不大于 0.2-0.3N。在碱提取中可以使用任一种标准碱, 包括但不限于以下几种: 氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、氢氧化铵和氢氧化四甲基铵。

化学还原剂如硼氢化物应当加入该碱溶解步骤中, 以使碱催化的解聚作用最小。在实施例 1 中, 使用浓度为 1g/L 的氢氧化钠, 但是有效浓度范围为从 50mg/L 到 10g/L。在优选的实施方案中, 硼氢化钠的浓度至少为 100mg/L 并且不大于 4g/L, 在更优选的实施方案中浓度至少为 500mg/L 并且不大于 2g/L, 并且在最优选的实施方案中浓度至少为 800mg/L 并且不大于 1.2g/L。其它类型的硼氧化物也适合在这个步骤中使用, 包括但不限于以下的硼氢化锂、硼氢化钾和氟硼氢化钠。

亚麻籽壳的最初处理程度可能以本领域的技术人员众所周知的方式改变碱溶解作用。对壳材料进行处理使其成为小块是重要的, 为的是使粘性多糖容易与细胞壁的不可溶材料和纤维材料分离。在实施例 1 中, 亚麻籽壳被磨碎, 但是可以使用任何将植物材料磨成粉的处理方法, 并且这些方法在本领域中是众所周知的。

种籽壳材料与碱溶液的比对多糖成分的有效溶解是重要的。在实施例 1 中, 比例为将 2g 的亚麻籽壳加入到 400ml 碱溶液中, 但是这个比例可以在不明显影响溶解的情况下改变。例如, 向 400ml 碱溶液中加入像约 0.1g 那么少的种籽壳和像 4g 那么多的种籽壳使比例发生改变。另外, 溶解的时间在一个温度范围(4-50℃)内可以不同(0.5-24 小时)以使方法最优化。

本发明方法的步骤 2 要求将碱溶性材料与碱不溶性材料分离。在实施例 1 中，用离心法实现这一目标。然而，众多变化和其它方法可以替代使用，而基本上不改变所分离的可溶性材料。本领域的技术人员知道怎样改变时间和离心力来使分离适应不同的离心转子、植物材料
5 材料和碱溶液。其它能完成这种分离的方法在本领域中是众所周知的。其中一些方法将更适合本发明方法的大规模应用。所考虑的分离方法包括但不限于：流过离心法或过滤（带搅拌）。实例 1 还讲授了用碱溶液洗不溶性材料并且再分离以增加碱溶性材料的产率。这个洗涤步骤是任选的，但是可以使用以利于增加产率。

10 步骤 3 要求将步骤 2 的碱溶性材料进行酸化。在实施例 1 中，这是通过向复合碱溶性材料中加入冰醋酸直至 pH 调到 4.5 来完成。可以改变用于这个酸溶解作用的 pH 范围，而基本上不影响产品。在优选的实施方案中，pH 在 3-6 之间，在更优选的实施方案中，pH 在 4-5 之间，并且在最优选的实施方案中，pH 为约 4.5，如实施例 1 中描述的。
15 酸的选择也往往有变化。在这一步骤中适用的酸的实例其中有乙酸、盐酸、硫酸、草酸、三氯乙酸和三氟乙酸。这里和步骤 1 中一样，溶解作用的持续时间、温度等可以改变，但是优选是在室温下进行约 2 小时。

20 步骤 4 要求将酸不溶性凝胶状材料（成分 B）与酸溶性材料（成分 C）分离。一般使用离心法来完成这个分离。也可以任选进行不溶性凝胶物质的洗涤（例如用水、缓冲液或其它适当的溶剂）来提高分离的效率。

作为在步骤 4 中离心法的可供选择的另一些方法，可以使用两种其它方法，它们都能进行大规模制备。发明人观察到凝胶状材料成分
25 B 漂浮起来并且这些凝胶有好的完整性。因此，凝胶可以进行粗滤或使用刮片从酸化的混合物中撇去，例如如用于奶酪制作过程中除去凝乳的那种方法。凝胶材料随后被放入一个单独的容器中，在这里它可能被洗涤作为进一步的纯化步骤。另一选择，装有凝胶漂浮于上面的酸化溶液的容器可以从底部通过重力或通过轻微真空排干，在容器的
30 底部留下凝胶。同样，凝胶可以进行洗涤。

制备用于贮存和/或使用的成分 B 和成分 C 可以使用几种方法。成分 B 和 C 的多糖制剂可以以水合物的形式使用或储存。如果以水合

物的形式贮存，可以加入防腐剂和抑菌剂。干的多糖制剂对于应用或贮存特别有利。在优选的实施方案中，成分 B 和成分 C 进行干燥是通过用 95%乙醇处理，用乙醚洗涤并干燥。这些成分也可以使用其它溶剂进行干燥，如甲醇、丙酮或异丙醇。可以使用任何标准脱水方法（例如蒸发、冷冻干燥）来干燥这些成分，只要温度保持小于约 60℃，更优选小于约 40℃。

III. 亚麻籽壳成分的应用

本发明的亚麻籽壳成分具有作医疗作用。在这点上，粘性的凝胶成分，成分 B，已经被证明在促进排泄上是有效的并且也被用作降胆固醇剂。这个材料可以单独使用或同其它活性物质结合使用用于便秘、腹泻和/或高血清胆固醇的治疗或预防制剂。这些制剂可以将凝胶成分引入药片、胶囊或液体中以使其能够口服。在优选的实施方案中，将干燥状态的凝胶配制成药片或胶囊以便于服用。该凝胶在咽入时发生再水合。考虑到这种再水合作用，凝胶成分拥有水合特征是特别有利的。在凝胶成分分离和干燥后，它缓慢进行水合。然而，在对结肠切除过的老鼠喂食这些材料后的观察的基础上，显然凝胶确实在肠道上部进行水合，在这里它发挥了其降胆固醇作用。这个水合上的延迟是有利的，因为避免了过早水合例如由于延迟到食道中的危险，或将这种危险降到最小。

另外，该凝胶制剂可被引入到食品产品中。因为活性多糖通过本发明方法已经被从其它植物细胞成分中分离出来，它们将没有与目前使用的亚麻籽壳制剂相伴的不舒服的口感或需要服用很大剂量。

从亚麻籽壳制得的未发酵凝胶多糖对单胃哺乳动物消化系统有轻泻作用，着这使其为公众所知。对于成年人，干形式的凝胶成分的合适剂量是约 2g，每日 1 至 3 次，以保持肠道正常并用作对便秘的治疗。

如实施例 4 中描述的，亚麻籽壳的凝胶成分已经被证明可作为降胆固醇剂。因此，这个成分也可以单独使用或同其它活性物质结合用于医疗来降低血清胆固醇。对成年人，干形式的成分 B 的合适剂量是每日约 3g 至约 7g。另外，本发明的成分 B 和 C 可用作食品添加剂。它们在食品制造中可被用作增稠剂、胶凝剂和膨胀剂。它们也可以同

其它食品添加剂结合使用来生产脂肪模拟物。因为本发明的多糖制剂是部分不消化的，它们将是低热量的、可降低血清胆固醇的和促进排泄的。成分 B 和 C 的多糖制剂可用在许多食品产品中，其中目前使用的是树胶和粘胶。

- 5 提供下列的实施例用来更详细的描述本发明。它们的目的是举例说明本发明，并不是限制本发明。

实施例 1

亚麻籽壳的分离

- 10 在氮气气氛下将磨碎的亚麻籽壳 (2g) 和包含硼氢化钠 (400mg) 的 0.2N 氢氧化钾 (400ml) 搅拌 90 分钟。混合物在 23,500xg 的速度下离心 20 分钟。将上层清液轻轻倒出，与沉淀在离心分离机瓶中的不溶成分分离。不可溶成分 (指定为“成分 A”) 与新的氢氧化钾-硼氢化钠溶液 (100ml) 一起再搅拌 15 分钟并且再离心。合并两次
- 15 离心的上层清液。在室温下在搅拌条件下用冰醋酸将合并后的上层清液的 pH 值调节到 4.5，然后在 23,500xg 的速度下离心 60 分钟。将上层清液 (成分 C) 轻轻倒出，与沉淀在离心分离机瓶中的凝胶成分 (成分 B) 分离。凝胶用水 (50ml) 轻轻冲洗除去粘附的上层清液溶液，并且将这些冲洗水加入到上层清液中。将凝胶成分进行干燥，通
- 20 过用 95%乙醇处理，最后用乙醚冲洗并干燥。

在干燥成分 B 以前，在某些情况中这一成分通过重复上述的碱溶和酸化步骤进行进一步的纯化。凝胶被重新悬浮在 0.2N KOH 中，酸化至 pH 为 4.5 并离心回收该凝胶。

- 25 实施例 2

亚麻籽壳成分 B 和 C 的糖构成的测量

对由前面实施例 1 中的方法生产的凝胶成分 (成分 B) 和酸溶性成分 (成分 C) 各自的糖构成进行了测量。结果见表 1。

表 1. 亚麻籽壳成分的组成 (干重)

	亚麻籽壳 (2 g)	碱不可溶 (成分A)	碱可溶	
			酸不溶 (成分B)	酸可溶 (成分C)
产量 (g)	--	0.328	1.164	0.255
组成 (% 干重)				
鼠李糖	3.17	0.49	0.95	14.86
阿糖	19.93	33.58	19.45	8.11
木糖	49.15	3.16	67.20	38.79
甘露糖	2.17	10.84	0.0	0.0
半乳糖	3.83	12.86	1.59	1.89
葡萄糖	4.37	19.34	0.37	0.75
糖醛酸	5.41	3.58	1.74	16.84
% 干重的比				
木糖/鼠李糖	15.50	6.45	70.70	2.61
木糖/阿糖	2.47	0.094	3.46	4.78
木糖/半乳糖	12.83	0.25	42.26	20.52
木糖/糖醛酸	9.08	0.88	38.62	2.30

实施例 3

亚麻籽壳凝胶成分粘度的测量

5 对亚麻籽壳凝胶成分 (成分 B) 的表观粘度进行了测量。用于表
 观粘度测量的溶液通过将干成分在甲酰胺中的 0.2% 溶液搅拌过夜进
 行制备。然后溶液在搅拌下在 5 分钟内加热至 70℃, 并在室温下搅
 拌 1 小时。使用毛细管粘度计 (Ostwald Dropping Pipet Viscometer,
 10 Cat. No. 13-695, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) 对表观
 粘度进行测量。溶液的粘度测量三次并且求出平均值。

表 2. 亚麻籽壳成分 B 的表现粘度

	表现粘度 (秒)
碱可溶、酸不可溶成分 (成分B)	876
甲酰胺 (溶剂本身)	303

实施例 4

亚麻籽壳组分的溶剂萃取

亚麻籽壳组分也可以通过用不同溶剂萃取获得。这些溶剂包括甲酰胺、二甲亚砷和 4-甲基吗啉 N-氧化物 (50%水溶液)。

将磨碎的亚麻籽壳 (2g) 分成小批加入到选定的溶剂 (200ml) 中, 同时搅拌 30-60 分钟。在一份原始记录中, 混合物在室温下搅拌了两天, 然后再在 27,000xg 的速度下离心 40 分钟。在另一份原始记录中, 混合物在高温下搅拌, 高达 60℃, 因此搅拌的时间可降低至 12 小时那么少。

将做成丸状的不可溶材料在另外的溶剂 (50ml) 中重新悬浮并搅拌 30 分钟, 然后再进行离心。合并后的上清液在搅拌下加入到 95% 乙醇 (5 体积) 中, 使最终的乙醇浓度为 80%。在这个步骤中可以用甲醇、异丙醇、丙酮或类似的溶剂替代乙醇。收集沉淀并用无水乙醇冲洗, 再用乙醚冲洗, 然后干燥。

所形成的乙醇不溶性沉淀在组成上与实施例 1-3 所描述的碱溶性材料相似。通过前述最初的溶剂萃取获得的成分的糖构成列在表 3 中。

表 3. 成分的糖构成 (% 干重)

	甲酰胺	4-甲基吗啉 N-氧化物	二甲亚砜
鼠李糖	3.03	3.25	0.48
阿糖	18.95	16.54	17.38
木糖	65.56	57.47	65.33
甘露糖	0.05	0.0	0.12
半乳糖	1.54	1.50	1.64
葡萄糖	0.21	0.22	0.34
糖醛酸	4.30	4.69	0.94

实施例 5

5 亚麻籽壳及其成分对老鼠小肠胆汁酸再吸收的影响

膳食纤维降胆固醇作用的一个主要部位是在小肠下部 (回肠) , 是通过它对胆汁酸产生的作用。胆汁酸在小肠中起到乳化剂的作用, 以利于脂肪的消化和吸收。它们在肝脏中由胆固醇合成, 贮存在胆囊中并且响应吃饭而分泌入小肠。胆汁酸通过在回肠中的再吸收并通过
10 血液循环回肝脏保存下来。在肠中食物被消化并且作为消化物被吸收的液体移向远端, 象这样在小肠的下三分一里, 腔内的物质基本上由不能消化的材料 (即纤维) 和部分液体构成。现在已知许多粘性可溶纤维源在通过上部胃肠系统时保持它们的粘性, 并且在消化道下部基本上变成浓缩态。可溶纤维有效地干扰了在回肠中胆汁酸的再吸收,
15 这是在消化道中具有用于胆汁酸的必要传送蛋白质的唯一位置。通过粪便排泄出去的胆汁酸被在肝脏中由血液胆固醇新合成的胆汁酸取代, 这就有效地降低了血液胆固醇含量。

老鼠通过用外科手术除去盲肠和结肠, 并将回肠末端与直肠再连接起来。在 7-10 天的恢复期后, 这些动物分泌柔软的成型物质, 称
20 作回肠排泄物。与粪便相比, 优选回肠排泄物用于测量物质对胆汁酸吸收的影响, 因为在大肠中胆汁酸的细菌转换能够致使高达一半的胆汁酸在粪便中不可识别。

将测试食物喂给几组老鼠。每一种食物喂给四只老鼠；测试食物包含 5% 可以是下列之一的纤维：（1）亚麻籽壳（PSH）；（2）纤维素（作为参照物）；或（3）选定的单独使用或结合使用的种籽壳成分（A、B 或 C），其用量相当于在 5% 亚麻籽壳中的含量。测试食物还包含一种不可吸收的标志物，以便在回肠排泄物中的标志物浓度可被用于计算存在于收集的回肠排泄物中的测试食物的量。

急性测试食物研究的结果列于表 4 中。

表 4. 在喂食包含不同可溶纤维后排泄的胆酸

测试食物	排泄的胆酸* ($\mu\text{mol/g}$ 测试食物)
纤维素	8.32 $\pm$ 2.42
未磨碎PSH	18.41 $\pm$ 2.61
成分A	9.07 $\pm$ 2.75
成分B	16.08 $\pm$ 3.20
成分C	13.76 $\pm$ 2.71
结合的A、B、C	15.65 $\pm$ 1.37

平均值 $\pm$ 偏差，n = 4只老鼠

10

排泄出的胆汁酸量的增加表明再吸收进入血液中的胆汁酸量相应减少。能够阻止胆汁酸从回肠中再吸收入血液中的试剂被认为具有降胆固醇特性。上面的结果证明了亚麻籽壳的降胆固醇特性，更显著的是，证明了易于服用的凝胶成分，成分 B 的降胆固醇特性，成份 B 在降胆固醇效果上基本上与完整的亚麻籽壳相同。

15

实施例 6

亚麻籽壳的未发酵组分作为轻泻剂促进人体内的排泻

除了增加粪便重量，补充亚麻籽壳（PSH）生成的粪便还是滑的和凝胶状的。在这个实施例中，我们证明亚麻的凝胶成分避免了微生物发酵并且由此才具有了这些促进排泻的特征。

20

原料和方法：

实验设计。这个研究由 3 个时期构成：筛选阶段、PSH 时期和基础时期。在筛选阶段，受试验者消费 15g/天的 Metamucil® (5g/餐) (Smooth Texture Metamucil®, The Procter & Gamble Co., Cincinnati, OH)，同时还有他们的正常饮食，这个阶段进行 12 天

25

以提供额外的 8.8g/天的食用纤维。受试验者被要求在第 9-12 天中完成食物摄入记录以便依照记录评价并且获得关于典型食物摄入的更多信息。在第 9-12 天中从每一个受试验者获得两个粪便也依照记录进行评价。在下面的 7 天（研究的第 13-19 天）中，受试验者每一餐消费指定的低纤维饮食，每餐都有 PSH 及不可吸收的标记物（倍半氧化铬，200mg/餐）。在下面的两周中（研究的第 20-33 天），受试验者消费他们的正常饮食以使所有的 PSH 被排泄出来。在基础时期的 7 天（研究的第 34-40 天）中，消费同样控制的低纤维饮食和不可吸收的标记物，但是没有 PSH 增补剂。这个实验设计以初步研究的结果为基础。在初步研究中观察到，为获得高含量的 PSH 排泄物，消化增补剂 7-10 天是必要的。初步的观察也揭示了，从消化最后的测试剂量开始需要花费 7-10 天用于排泄所有的 PSH。因此，用于数据收集的 PSH 时期跟在构成筛选阶段的 12 天 PSH 消费期后面并且没有使用正交试验设计。

粪便和定性肠道反应、食物摄入和活性数据在控制饮食的两个星期中每日进行收集。本研究受到 Wisconsin-Madison 大学农业和生命科学学院人类受试验者委员会的认可。

受试验者。响应地区广告的 33 个人中的 21 个在筛选阶段进行了登记。用于从筛选阶段排除的标准是：乳糖不耐性、非杂食性饮食和不愿意遵循特定饮食。在筛选阶段对受试验者的依从性、可靠性、有效性和态度进行评价，并且从中选择 15 个受试验者（8 个男性和 7 个女性）参加这个研究。14 个受试验者完成了这个试验。（一个受试验者被允许在规定的收集期内不提供所有粪便，从该受试验者获得的数据被从最终的分析中删除掉。）受试验者的年龄范围为 18-30 岁（平均值 $\pm$ 标准偏差， 24 ± 1 岁）并且对于身高有正常的体重（身体质量指数， 24.2 ± 0.9 ）。

饮食。所有的受试验者在补充 PSH 和基础阶段消费固定饮食，该饮食包含提供给他们作为实验部分的食物。早餐在家里吃，包括 Rice Krispies® 麦片、脱脂牛奶、橙汁、白面包、人造黄油或黄油和果子冻。午餐包括三明治、新鲜水果和牛奶。晚餐包括肉、淀粉源、沙拉和甜点。受试验者食用规定量的菜单食品。面包和牛奶根据每日能量的需要量不同而不同。也允许食用限制量的无纤维小吃和酒。咖啡

被允许随意饮用。在晚餐时对受试验者进行监督。当更换空包用于第二天增补剂的分配时，对消费增补剂和不可吸收的标记物的情况每日进行验证。

5 数据和样品采集。所有在研究的 PSH 和基础阶段中排泄的粪便分别进行收集，立即冷藏，并在收集的 8 小时内称重和冷冻。受试验者使用 9 点评分来评价每一粪便，包括：-4 最不满意、-3 极度不满意、-2 非常不满意、-1 不满意、0 中等、+1 满意、+2 非常满意、+3 极度满意、+4 可能最满意。

10 受试验者完成每日食物摄入记录以核实食用了控制饮食中的项目。每日完成身体活动表以识别每日日程的任何大的变化。在整个样品采集的两周内，每一个参加者每日的日常工作保持前后一致。

分析。在每一个控制饮食时期的第 4-8 天（研究的第 16-20 天和第 37-41 天），将每一个受试验者排泄的粪便解冻，通过手动搅拌合并并且重新冷冻直至使用或进行如下所略述的处理。将双份等分试样
15 （3g）进行干燥（16 小时，70℃）以测定其含水量（Marlett 等人，JNCI 76: 1065-1070, 1986）。粪便铬含量使用 Guncaga 等人的方法（Clin. Chim. Acta 47: 77-81, 1974）的改进方法（Hosig 等人，Cereal Chem. 73:392-398, 1996）进行测定。将部分合并粪便
20 冷冻干燥用于在酸水解和还原后作为醛糖醇乙酸衍生物通过气相色谱法进行中性糖和氨基糖的双份（25mg）测定（Kraus 等人，J. Chromatog. 513: 71-81, 1990；Monsma 等人，Appl. Environ. Microbiol. 58: 3330-3336, 1992）以及用于使用比色法进行糖醛酸分析（Blumenkranz 等人，Anal. Biochem. 54: 484-489, 1973）。
25 解冻、合并后粪便的含水萃取物用于测量粪便的相对粘度（Ostwald dropping pipet 粘度计，Cat. No.13-695, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA）。含水成分通过下列方法获得，将等分试样（2g）和水（10ml）旋转混合，离心（30,000xg, 30min, 4℃），然后分离和重新离心上层清液。

30 将用于分散具有凝胶特征成分的离心方法应用于在两个节食阶段中从每一个受试验者获得的合并粪便的解冻后的等分试样上。将等分试样（25g）进行脱脂并且加入碱（0.18N），碱中含有硼氢化钠（0.026M）使碱催化的解聚作用最小。碱溶成分用冰醋酸酸化至 pH

4.5, 并且沉淀(成分1)通过加入乙醇来进行回收。成分1悬浮在水中, 加热至沸腾、离心、然后将上清液通过旋转蒸发浓缩。将浓溶液加入到乙醇中使最终乙醇浓度为70%。将浓缩上清液加入到乙醇中形成的纤维团用乙醇、醚冲洗、然后真空干燥。这个材料代表了PSH
5 粪便中的凝胶成分(成分2)。参照粪便样品的分析过程中在这一步没有形成沉淀。对这个原料的等分试样中的中性糖和氨基糖含量以及糖醛酸含量如上面所略述的那样进行测试。

计划菜单和每一个受试验者每天摄入的宏观营养和能量含量使用营养组成表进行了计算。食用纤维摄入量使用关于US食品的纤维
10 含量和构成的详细数据库, 根据食物摄入记录进行计算。在每一个控制饮食时期的第2-6天(第14-18天和第35-39天), 每日摄入量的总额用作中性糖(葡萄糖、阿糖、木糖、甘露糖、半乳糖)和糖醛酸的摄入量, 用于测定纤维衍生糖的表观可消化性。PSH增补剂的糖组成如上面所述的那样也在酸水解后用气相色谱法测定。使用在合并粪
15 便中的铬含量来调整糖的粪便排泄量, 以反映5天摄入量的排泄量(Chen等人, Am. J. Clin. Nutr. 68: 711-719, 1998)。纤维衍生糖的表观可消化性按照摄入量与排泄量的差进行计算, 并表示为摄入量的百分比(Chen等人, 1998, supra)。

统计分析。数据以平均值 $\pm$ 标准偏差的形式进行报告。在研究的基础和亚麻补充阶段中收集的数据使用SAS计算机程序软件release
20 6.12, 通过单向方差分析进行比较。有效差量通过最小有效差量方法分离测验进行鉴别。

结果:

从基础阶段和包含PSH阶段的粪便中都萃取出了第一个成分(成分1), 这个成分是通过凝胶分离方法分离出来的; 由PSH粪便中得到的这种碱溶性成分比从基础阶段粪便中得到的要明显多得多
25 ($P<0.0005$)。通过对从食用亚麻增补剂的受试验者的粪便中获得的碱溶性成分进行热水溶液处理, 提取凝胶状的可乙醇沉淀的成分(成分2)。从在研究的基础、低纤维阶段收集的粪便中没有提取到凝胶
30 状成分。

从食用PSH的14名受试验者的粪便中分离出的成分2的主要组成是多糖, 其中包含 $763 \pm 18\text{mg/g}$ 成分2的糖, 其中的大部分是木糖

($64 \pm 1\%$) 和阿糖 ($27 \pm 1\%$)；其余的糖是 (%)：葡萄糖 2、半乳糖 3、其它糖 (岩藻糖、核糖、甘露糖、肌醇、胞壁酸、葡糖胺、半乳糖胺) 3。在这个凝胶成分中，木糖和阿糖占粪便中相应糖的 53.9 ± 2.1 和 $31.1 \pm 1.4\%$ 。

5 因为与从含有 PSH 的粪便中分离的凝胶相比，从基础阶段粪便中没有获得成分，所以制备了粪便的含水提取液，用于比较从这两个研究阶段收集的粪便的相对粘度。含 PSH 粪便的含水提取液的表现粘度明显大于 ($P < 0.01$) 基础阶段、低纤维粪便的粘度，即 238 ± 38 对应 128 ± 7 秒。

10 PSH 增补剂增加平均每日湿排泄物从 117 ± 7 至 $188 \pm 13\text{g/天}$ ($P < 0.001$)，平均每日干排泄物从 29 ± 2 至 $37 \pm 2\text{g/天}$ ($P < 0.001$)，以及粪便含水量从 $74.4 \pm 0.9\%$ 至 $80.2 \pm 1.0\%$ ($P < 0.05$)。大肠功能的其它度量也有明显不同。每一粪便的平均湿重增加，从 121 ± 6 至 $173 \pm 14\text{g}$ ($P < 0.005$)；每一粪便的平均干重增加，从 30 ± 2 至 $34 \pm$
15 3g ($P < 0.0001$)，并且当食用 PSH 增补剂时，大便频率从 1.0 ± 0.1 增加至 1.1 ± 0.1 ($P < 0.05$)。

控制饮食的混合食物中含有纤维衍生糖的混合物，并且在低纤维基础时期中，纤维衍生的中性糖的总表现可消化度为 $67 \pm 4\%$ 。PSH 制剂的组成是 (mg/g)：21 鼠李糖、127 阿糖、325 木糖、8 甘露糖、
20 25 半乳糖、44 葡萄糖、35 糖醛酸、19 灰分、18 粗蛋白和 346 包衣。当增补剂被消化时，纤维衍生的木糖和阿糖的表现可消化度降低 ($P < 0.001$)，而糖醛酸的可消化度增加 ($P < 0.03$)。从在含有 PSH 粪便中的木糖和阿糖的总量中减去在基础饮食时期中排泄的这些糖，这提供了一种估计在 PSH 中的这两种主要糖的表现可消化度的方法。
25 由 PSH 提供的木糖、阿糖和中性糖的总表现可消化度分别为 59 ± 5 、 28 ± 7 和 $54 \pm 9\%$ ，并且是可变的。

30 所有的受试验者都能很好地容忍 PSH 的测试剂量。与在基础时期的大肠功能相比，PSH 导致更和缓的肠运动；更柔软的粪便，其更容易排出、更容易擦去；导致完全放松的感觉和增加的粪便体积。虽然受试验者感受到更多的气胀和腹鼓，但是 PSH 增补剂对腹绞痛、大便急、或经历重复的肠排空没有影响，也不会造成便秘。虽然粪便是柔软成型的，大多数粪便是可见的凝胶状并且当搅拌时将发生颤动。当

食用 PSH 增补剂时，饮食中由食品提供的宏观营养和食用纤维的含量没有变化。

因此，与其它粘性纤维在结肠中完全发酵相反，亚麻籽壳组分是不发酵的。前述研究结果表明，通过起到软化剂和润滑剂的作用，从含有 PSH 的粪便中分离的未发酵凝胶代表了一种对于食用纤维的新的轻泻机理。

实施例 7

在玻璃器中亚麻籽壳凝胶成分很少发酵的证明

10 亚麻籽壳及其成分在玻璃器中的发酵在 40ml 发酵瓶中进行。用于发酵的碳水化合物 200mg，其中 31mg 是牛肉汤培养基，35mg 是酵母；其余是亚麻籽壳的成分 A、B 和 C。这些成分从磨碎的亚麻籽壳中分离出来，如上面所述。“3 成分复合”样品由从亚麻籽壳分离出的三种成分，按它们在种壳中的最初含量重新混合构成。细菌培养液
15 由盲肠内容物组成，该内容物从喂食包含 5%（重量）亚麻籽壳的精制饮食的老鼠获得。试验规程和分析根据 Monsma & Marlett 描述的方法（J. Nutr. 126: 554-563, 1996）进行。由这种方法获得的结果已经表现出与在人体内发酵获得的结果的相似性（Monsma 等人，J. Nutr. 130: 585-593, 2000）。所有发酵试验均在厌氧室内准备
20 和进行，并且进行双组试验。

表 5 中列出了在玻璃器中发酵的结果。在发酵瓶中的碳水化合物由十一种中性糖和氨基糖，还有糖醛酸构成；这些是由实验基质牛肉汤培养液和酵母提供的（见表 5 脚注“a”和“b”）。归纳从这些源得到的糖的表观发酵结果，以便使这些测试成分的发酵是显著的。从
25 表中可以看出，成分 C 在 24 小时后几乎完全被发酵。相反，成分 B 仅仅部分被发酵（约 25-35%），并且其发酵在 48 小时后好象停止了。成分 A 的发酵很弱，并且其发酵限制在发酵期的头一个 12 小时。

表 5. 亚麻籽壳及其成分在玻璃瓶中发酵过程时中性糖的降低

多糖/糖	0 h		12 h	24 h	48 h	72 h
	缓冲剂 ^a 部分 ^b	—mg/瓶—	——— 剩余 % ———			
亚麻籽壳						
鼠李糖	0.6	4.5	21	22	21	22
阿糖	0.9	28.1	84	84	76	82
木糖	2.6	69.3	68	46	39	40
半乳糖	4.3	5.4	61	67	61	66
其它 ^c	65.5	9.2	23	22	19	21
3成分复合						
鼠李糖	0.6	4.4	19	22	22	22
阿糖	0.9	29.9	85	81	76	80
木糖	2.6	70.0	73	47	44	44
半乳糖	4.3	5.7	56	61	58	60
其它	65.5	8.6	24	22	21	20
成分C						
鼠李糖	0.6	21.4	16	6	6	6
阿糖	0.9	11.6	47	19	18	19
木糖	2.6	57.3	53	11	9	8
半乳糖	3.1	30.5	22	tr	tr	tr
其它	69.9	3.6	14	12	8	9
成分B						
鼠李糖	0.6	1.3	79	61	52	53
阿糖	0.9	26.8	93	85	78	76
木糖	2.6	91.4	84	76	65	59
其它	69.9	2.2	13	10	10	10
成分A						
鼠李糖	0.9	49.2	100	100	100	100
阿糖	2.6	4.6	68	58	59	59
甘露糖	15.4	16.0	56	58	65	55
半乳糖	4.3	19.8	91	89	94	98
葡萄糖	35.3	29.4	53	50	54	55
其它	17.4	0.7	27	23	19	19

^a 在牛肉汤培养液和酵母中的糖是发酵液的一部分并且给发酵液
5 提供了约 70-75mg 的碳水化合物。

^b 在测试基质中的糖，经计算给发酵液提供了约 120-125mg。

^c 包括在不是特别列出的下列糖中的那些糖：鼠李糖、岩藻糖、

核糖、阿糖、木糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖、肌醇、葡糖胺和半乳糖胺。虽然在计算待发酵的碳水化合物总量时包括糖醛酸，但是除了在成分 C 的总结外，它们在所有的样品中都没有进行测试，因此没有包括在这个总结中。

5

实施例 8

亚麻籽壳成分 B 的还原裂分和 NMR 分析

10 根据标准方法，将亚麻籽壳成分 B 的多糖完全甲基化，然后在三乙基硅烷和三甲基甲硅烷三氟甲基磺酸酯的存在下进行还原裂分。将产物原位乙酰化，然后在 DB-5 柱上通过气液色谱-质谱 (GLC-MS) 进行分析。结果列在表 6 中。

表 6. 还原裂分分析总结

峰	残基	摩尔百分率
1	端部的 Xylp	23.27
2	端部的 Ara ^f	16.95
3	3位连接的 Ara ^f	10.76
4	3位连接的 Xylp	4.33
5	端部的 Galp	1.07
6	2,3 位或 3,4 位连接的 Xylp	11.84 ^a
7	2,3 位连接的 Ara ^f	3.44
8	2,4 位连接的 Xylp	21.41 ^b
	3,5 位连接的 Ara ^f	0.58 ^b
9	2,5 位连接的 Xyl ^f	2.68
10	未识别	
11	3 位连接的 Galp	0.66 ^b
	2,3,4 位连接的 Xylp	3.01 ^b

15 ^a 标准甲基化分析表明这个 Xylp 残基是 3, 4 位连接的

^b 共流出成分在 RTX-200 柱上通过 GLC 进行分离

还原裂分方法比从标准甲基化/水解方法获得的成分更容易分离用于区分和定量，并且提供了更确定的结构信息。列在表 6 中的数据表明成分 B 中的多糖是高度支化的、非常复杂的分子。除了木糖和阿糖的单分支，木聚糖主链还包括可能两种糖都包含的未定长度的分支。

多糖也进行了二维 NMR 分析，其结果表明木糖残基是 β -连接的，而阿糖残基是 α -连接的。后者的排列由在多糖上的 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶的活动得到证实。

本发明不限于上述和作为例子的实施方案，而在不脱离附加的权利要求的范围内是能够变动和改进的。