

图4 卵蛋白的淋出曲线

$$\therefore B = 0.24896$$

$$\text{故 } \exp\left[\frac{(B\sigma_D)^2}{2}\right] = 1.0292$$

经加宽改正后得到丝朊真实的分子量及其分布为:

$$\bar{M}_{n(\text{真})} = \bar{M}_{n(\text{测})} \exp\left[\frac{(B\sigma_D)^2}{2}\right] = 3.7945 \times 10^4$$

$$\bar{M}_{w(\text{真})} = \bar{M}_{w(\text{测})} / \exp\left[\frac{(B\sigma_D)^2}{2}\right]$$

$$= 4.2332 \times 10^4$$

$$D_{(\text{真})} = \frac{\bar{M}_{w(\text{真})}}{\bar{M}_{n(\text{真})}} = 1.1156$$

## 四、讨 论

1. 本文仅对硅胶层析法用于蚕丝丝朊分子量测定的可能性进行了初步探索。实验结果表明用硅胶- $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  体系测得的数据可多次重复,且能将不同的分子量组分分开,因此采用这种非常规体系测定丝朊的分子量是可行的,结果是可信的。

2. 用硅胶层析法测定高聚物分子量是通过试样与标准蛋白质分子量相比较而确定的,因而它是一个相对的方法。此外,采用 NDG-L 类为填料,以示差折光法检测其分离效率和灵敏度的方法,尚待改进。

\* 承杨百春等同志提供样品特此致谢。

## 参 考 文 献

- [1] 北条舒正:《統絹糸の構造》。
- [2] 卢善真等:《生物化学与生物物理进展》,1982年,第6期。
- [3] 施良和:《凝胶色谱法》,科学出版社,1980年。
- [4] 袁静明:《凝胶层析法及其应用》,科学出版社,1975年。
- [5] 李良训等:《苏州丝绸工学院学报》,1982年,第1期。

[本文于1983年8月7日收到]

## 用 121 MB 型氨基酸分析仪测定山黧豆中的毒素

李天荣 路 苹 张林生

(西北农学院中心实验室,陕西杨陵)

汪沛洪

(西北农学院植物生理生化教研室,陕西杨陵)

山黧豆 (*Lathyrus sativus*) 适应性强,含蛋白质 25%, 高于小麦。近年来在世界一些干旱地区种植面积不断扩大。因山黧豆中含有毒素  $\beta$ -草酰氨基丙酸 ( $\beta\text{OAA}$ ), 所以国内外对选育低毒山黧豆品种、去毒及  $\beta\text{OAA}$  的测定方法<sup>[1-3]</sup> 做了不少研究; 测定  $\beta\text{OAA}$  多采用纸层析比色

法。本文介绍用 121 MB 型氨基酸分析仪测定  $\beta\text{OAA}$ , 其优点是测定小肽化合物不会污染层析柱。

### 1. 原理

$\beta\text{OAA}$  属双肽化合物, 溶于水、酒精、柠檬酸缓冲液中, 水溶液呈酸性<sup>[2]</sup>, 可用阳离子交换

柱层析洗脱时,它首先被洗脱下来,能较好地和其它氨基酸分离。所含游离氨基与茚三酮作用呈蓝色,可用氨基酸分析仪进行测定。

## 二、测定方法:

1. 提取与纯化 称取通过 40 目的山豆样品 0.1—0.3 克于小研钵中,加等量石英砂、数滴 75% 乙醇,磨细;移入带塞的三角瓶中,用 75% 乙醇 10—30 毫升浸提。塞紧瓶盖轻摇匀,常温下放置过夜,中间轻摇 2 次,将浸提液过滤到瓷蒸发皿中,用 75% 乙醇洗净三角瓶和滤纸,收集滤液在 80℃ 水浴上蒸干。

加 1% 盐酸 5—10 毫升,溶解皿中残渣,全部无损地将其移入 732 型阳离子交换柱内(或定容后取一定量上柱)。自始至终严格控制流速(每分钟 10 滴)。用盐酸酸化热的纯水洗皿 2 次,移入柱内。用 20 毫升 75% 乙醇洗涤 2 次。再用酸化水洗二次。去掉废液,换上净蒸发皿,再用 2N 氢氧化钠 30 毫升洗脱,收集全部铵洗脱液于皿中,80℃ 水浴上蒸干,纯水洗沉淀 2 次,每次洗后蒸干,保存备用。

2. 测定 用 pH 2.2 盐酸-柠檬酸钠缓冲液溶解沉淀,定容 5—50 毫升,每分钟 4000 转离心 15 分钟,取上清液上机测定。

## 三、分析结果

1. 定性  $\beta$ OAA 用 121 MB 型氨基酸分析仪的层析中柱分离效果好,在酸性氨基酸前,洗脱如图 1。

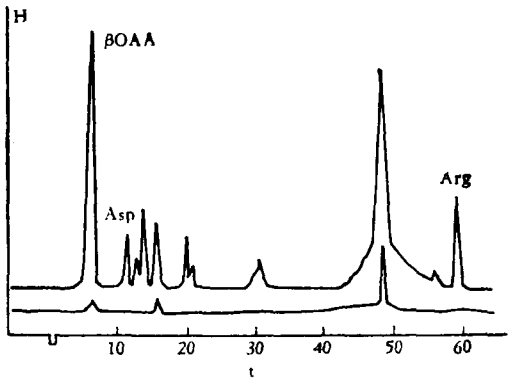


图 1  $\beta$ OAA 提取液中各种氨基酸的图谱

上机约 6 分钟  $\beta$ OAA 即出峰,不到 7 分钟便洗脱完毕,峰形完整,和其它氨基酸不重叠,不污

染树脂。

样品出峰时间和位置与  $\beta$ OAA 标准样完全一致,证明样品中的峰是  $\beta$ OAA。将标准样待测样品的混合液上机测定时,结果是混合液的峰面积增大并与理论值接近,出峰时间,位置和峰形完全一致,进一步证明样品中小肽确系  $\beta$ OAA 见图 2。

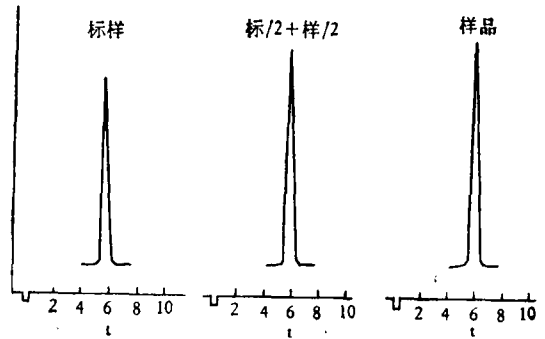


图 2  $\beta$ OAA 标样、样品、混合液图谱

2. 定量 用 100 nM/ml 的  $\beta$ OAA 标准样品上机测定,回收率平均为 102.88%。同法测定山豆 Puse-24,其结果的重复性和再现性见表 1 和表 2。

表 1 山豆 Puse-24 分析结果的重复性 (%)

分析结果	分析结果	平均值	绝对偏差	相对偏差	备注
重复次数					
1	0.1897		0.0055	2.8	1983.4.21
2	0.2012		0.0060	3.1	
3	0.1946	0.1952	0.0006	0.31	

同一样品三个平行试验。相对偏差在 0.3—3.1%,重复性很好,符合要求。

表 2 分析结果的再现性 (%)

分析结果	1983.10.25(1)	1982.4.21(2)	平均值	绝对偏差	相对偏差
样品名称					
Puse-24	0.1981	0.1952	0.19665	0.0029	1.5

同一样品两次分析结果基本一致,相对偏差为 1.5%,说明该法准确、快速。

对不同山豆中  $\beta$ OAA 含量的分析结果见表 3。

(下转第 84 页)

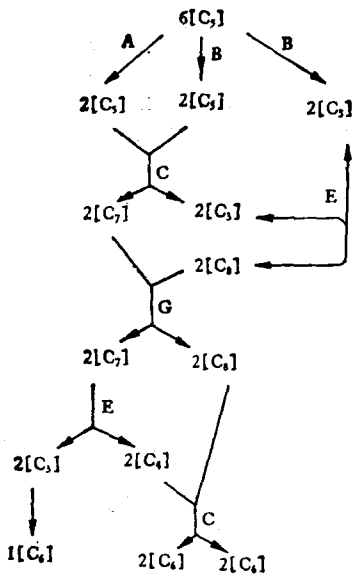
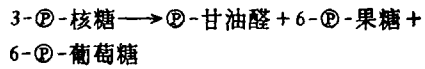


图5 磷酸戊糖代谢途径非氧化阶段反应略图

二羟丙酮酶是由最初高浓度的 5-②-戊糖抑制的。当 5-②-戊糖浓度下降时，转二羟丙酮酶的抑制被解除，从而形成了新的反应。因此，非氧化阶段的主要反应概括为图 4。

图 5 是图 4 反应的简化形式：与图 4 中有关的一些反应见图 6。

因此，其总反应式为：



综上所述，从六个葡萄糖出发经一个磷酸戊糖循环，取回五个六碳糖，消耗一个六碳糖，生成 38 个 ATP。

现在 Williams 等人根据 Katz 和 Wood 提出的方案，用鼠肝作材料，对磷酸戊糖代谢途径进行研究并提出较满意的修正方案，不但解释了原来 Horeker 的标记实验结果，也解释了旧方案所不能解释的实验结果，把实验结果和理论推想统一起来。这种新的观点即将写入新的教科书中。

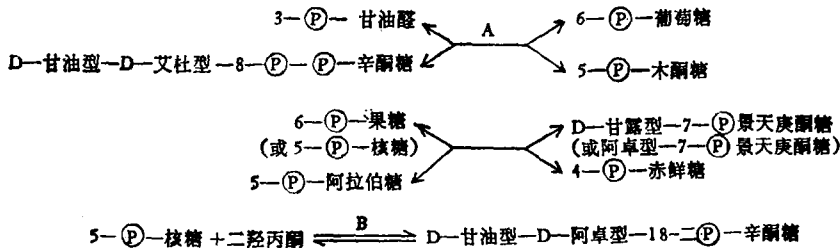


图6 磷酸戊糖循环非氧化阶段继续进行的附加反应

A. 图 4 中的转羟乙醛基酶 (EC. 2.2.1.1.)

B. 图 4 中醛缩糖 (EC. 4.1.2.13)

[Mujaja, B.W.: *Biochemical Education*, 3 (3), 76-78, 1980. 徽州师范

专科学校蒋立科 复旦大学生物系张培德摘译 沈仁权审校]

(上接第 74 页)

表 3 不同山豆分析结果 (%)

山豆名称	该法分析结果	其它方法分析结果	备注
扁荚	0.0786	0.07—0.10	国内纸层析
黑咀黑龙江	0.1971	0.17—0.23	国内纸层析
Puse-24	0.1981	0.2	美国分析结果

同一样品用该法分析与国内外分析结果基本一

致，说明该法定量比较准确。

### 参 考 文 献

- [1] Rao, S. L. N. et al.: *Biochem Pharm.*, 16, 218, 1967.
- [2] 兰州大学化学系等: 《兰州大学学报》, 2, 45, 1975.
- [3] Nagarajan, V. et al.: *Med. Res.*, 559, 1011, 1967.
- [4] 陕西省土肥所品种资源组等: 《低毒山豆研究阶段报告》, 1981.

[本文于 1983 年 9 月 27 日收到]