

酸酶结合法制备葡甘露低聚糖的工艺研究

许牡丹, 汤木红

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西 西安 712021)

摘要: 本文采用酸酶结合的方法制备葡甘露低聚糖, 通过单因素实验和正交实验确定最佳工艺条件为: 酸解时间 1.5 h, 酶解温度 55 °C, HCl 浓度 0.07 mol/L, 酸解温度 85 °C, 加酶量 6000 U/g, 底物质量浓度 80 g/L。因素影响大小顺序为: 酸解时间 > 酶解温度 > HCl 浓度 > 酸解温度 > 加酶量 > 底物质量浓度。

关键词: 葡甘露低聚糖; 酸解; 酶解

中图分类号: TS244; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)01-0032-03

Preparation Of Manno-oligosaccharides by Enzymatic Acidolysis

XU Mu-dan, TANG Mu-hong

(College of Life Science and Engineering Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: In this paper, the preparation of manno-oligosaccharides (MOS) was studied by enzymatic acidolysis. The preparation conditions were optimized by orthogonal experiment and the optimal acidolysis time, enzymatic temperature, HCl concentration, acidolysis temperature, enzyme dosage, and substrate concentration were 1.5 h, 55 °C, 0.07 mol/L, 85 °C, 6000 U/g, and 80 g/L, respectively. And the order of their influences was acidolysis time > zymohydrolysis temperature > HCl concentration > acidolysis temperature > enzyme dosage > substrate concentration.

Key words: Manno-oligosaccharides; acidolysis; enzymatic hydrolysis

葡甘露低聚糖 (Manno-oligosaccharides) 又称甘露寡聚糖, 是唯一能结合肠道中外源性病菌的新型功能性低聚糖, 它是甘露聚糖类物质的酶降解产物, 广泛存在于魔芋粉、瓜儿豆胶、田菁胶及多种微生物细胞壁内^[1], 它具有低热、稳定、安全无毒等良好的理化性质。葡甘露低聚糖是葡萄糖和甘露糖以 β -1,4糖苷键相连形成的低聚糖, 它具有如下生理功能: ①优化动物胃肠道微生态环境, 降低胃肠道疾病。②调节免疫防御机制, 增强动物免疫力。③发挥多样生物活性, 吸附霉菌毒素^[2]。

目前主要利用酶法生产葡甘露低聚糖, 主要优点是副反应少, 成本低等。但由于魔芋精粉在水中呈胶体状, 粘度大, 酶反应底物质量浓度低, 难以提高产量。本实验通过采用先酸解再酶解的方法, 对魔芋精粉进行预处理, 先降低其粘度, 提高酶解底物质量浓度, 再酶解, 进而提高酶解效率, 增大产量。

1 材料与amp;方法

收稿日期: 2007-09-04

项目基金: 陕西省自然科学基金研究计划项目 (2006B19); 陕西省科技厅科技攻关项目 (2007K07-25); 陕西省教育厅专项科研计划项目 (07JK197)

作者简介: 许牡丹 (1963-), 女, 教授, 研究方向为食品生物技术及分析检测

1.1 主要材料与试剂

魔芋精粉 (武汉清江魔芋制品有限公司), 盐酸, 薄层层析硅胶 (青岛海浪硅胶厂), 黑曲霉 (自制) 正丙醇。

1.2 仪器与设备

UV—754 紫外可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司), 电热恒温水浴锅 (北京化玻联医疗器材有限公司), PHS-3C 型 pH 计 (上海精密科学仪器有限公司)。

2 实验方法

配制一定浓度的 HCl 溶液, 加入魔芋精粉, 在恒温水浴中反应一定时间之后, 冷却, 调节 pH 值, 然后加入自制黑曲霉酶液, 在恒温水浴中反应, 降解结束后沸水灭活 15 min, 冷却之后离心, 取上清液, 即为样液。

用薄层比色法检测样液中甘露低聚糖的含量。取一定样液点样在自制的薄层层析用硅胶板上, 采用上行展开法, 展开剂为 $V_{\text{正丙醇}}:V_{\text{水}}=85:15$ 。按照低聚糖的 Rf 值刮下薄层板上的硅胶, 用蒸馏水洗脱, 再采用苯酚-硫酸法定量。

转化率 = 低聚糖质量 / 魔芋精粉质量

3 结果与讨论

3.1 酸解条件优化

3.1.1 底物质量浓度的影响

按照实验方法,选择不同的底物质量浓度。实验结果如图1,由图可以看出,底物质量浓度在小于70 g/L时转化率是随质量浓度的增大而增大,大于70 g/L时随底物质量浓度增大而降低。魔芋精粉溶在水中呈胶体状,稀酸溶液对其有一定的水解作用^[3],可以使其分子量减小,降低其粘度。底物质量浓度的增大会增大低聚糖的产量,但底物质量浓度过大,会使胶体粘度过大,影响酸与底物的接触,从而影响水解效果降低转化率。

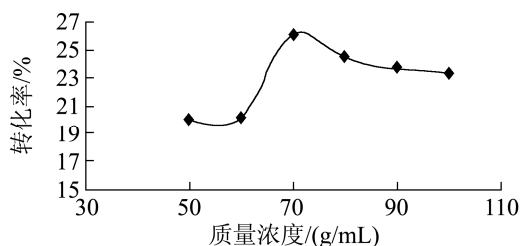


图1 底物质量浓度对转化率的影响

3.1.2 HCl 浓度的影响

按照实验方法,底物质量浓度为70 g/L,选择不同的HCl浓度。实验结果如图2,由图可以看出,HCl浓度为0.07 mol/L时,转化率上升到最高,然后随HCl浓度的增大而减小。一方面,HCl浓度太大对糖的破坏就越大,另外,过度的水解会使单糖的含量增大,导致低聚糖的转化率下降。

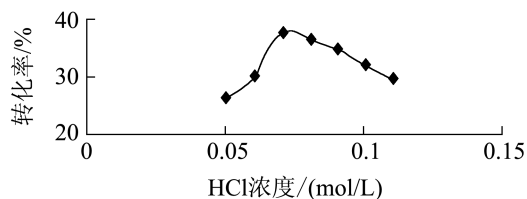


图2 HCl 浓度对转化率的影响

3.1.3 酸解时间的影响

按照实验方法,底物质量浓度为70 g/L,HCl浓度为0.07 mol/L,选择不同的酸解时间。实验结果如图3,由图可知酸解时间超过1 h后,转化率随着时间的延长会降低。酸解时间过长对糖也有破坏,酸解过度生成过多单糖也会使转化率降低。

3.1.4 酸解温度的影响

按照实验方法,底物质量浓度为70 g/L,HCl浓度为0.07mol/L,水解时间为1 h,选择不同的水解温度。结果如图4,由图可以看出,80℃为最适水解温度。低于75℃时几乎没有反应粘度降低很小,温度过

高也会水解过度,使转化率略有降低。

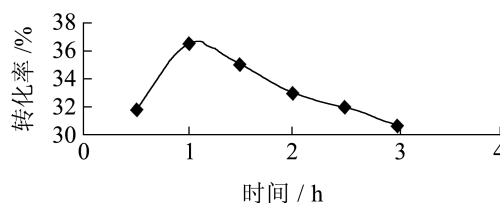


图3 酶解时间对转化率的影响

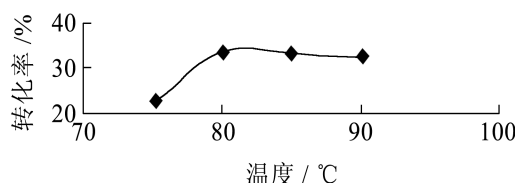


图4 酶解温度对转化率的影响

3.2 酶解条件优化

3.2.1 加酶量的影响

按照实验方法,取最优酸解条件,选择不同的加酶量。结果如图5,由图可知加酶量增加到6000 U/g,转化率不再增加,反而有少量减小,因为过多的酶会把魔芋精粉水解成单糖,导致低聚糖的含量下降。

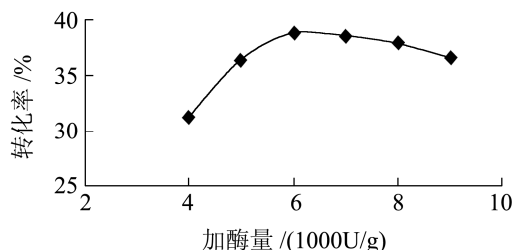


图5 加酶量对转化率的影响

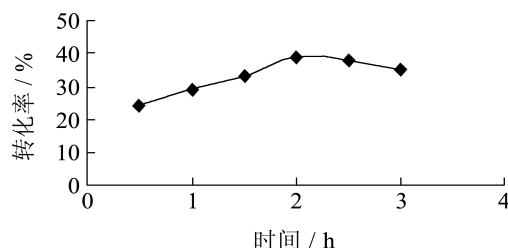


图6 酶解时间对转化率的影响

3.2.2 酶解温度的影响

按照实验方法,取最优酸解条件,加酶量为6000 U/g,选择不同的酶解时间。结果如图6,由图可知酶解最适时间是2 h,时间太短酶解不完全,太长会酶解过度,都会影响转化率。

3.2.3 酶解温度的影响

按照实验方法,取最优酸解条件,加酶量为6000 U/g,酶解时间为2 h,选择不同的酶解温度。结果如图7,由图可知最适酶解温度为55℃,温度太高会导致酶失活。

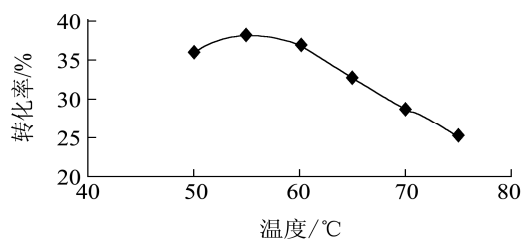


图7 酶解温度对转化率的影响

3.3 酸-酶结合正交实验优化

对单因素进行正交实验优化, 如表1。由表可知, 因素影响大小顺序为: 酸解时间>酶解温度>HCl 浓度>酸解温度>加酶量>底物质量浓度, 最佳工艺条件为: 酸解时间 1.5 h, 酶解温度 55 °C, HCl 浓度 0.07 mol/L, 酸解温度 85 °C, 加酶量 6000 U/g, 底物质量浓度 80g/L。

表1 正交试验结果

实验号	底物质量浓度/(g/L)	HCl 浓度/(mol/L)	酸解时间/h	酸解温度/°C	加酶量/(1000 U/g)	酶解时间/h	酶解温度/°C	转化率/%
1	1(60)	1(0.06)	1(0.5)	1(75)	1(5)	1(1.5)	1(50)	34.60
2	1	2(0.07)	2(1)	2(80)	2(6)	2(2)	2(55)	39.50
3	1	3(0.08)	3(1.5)	3(85)	3(7)	3(2.5)	3(60)	30.64
4	2(70)	1	1	2	2	3	3	34.76
5	2	2	2	3	3	1	1	35.47
6	2	3	3	1	1	2	2	31.56
7	3(80)	1	2	1	3	2	3	22.77
8	3	2	3	2	1	3	1	32.17
9	3	3	1	3	2	1	2	43.70
10	1	1	3	3	2	2	1	32.14
11	1	2	1	1	3	3	2	40.05
12	1	3	2	2	1	1	3	30.14
13	2	1	2	3	1	3	2	37.87
14	2	2	3	1	2	1	3	34.81
15	2	3	1	2	3	2	1	37.72
16	3	1	3	2	3	1	2	35.56
17	3	2	1	3	1	2	3	43.62
18	3	3	2	1	2	3	1	34.76
K_1	34.512	32.950	39.075	33.092	34.993	35.713	34.477	
K_2	35.365	37.603	33.418	34.975	36.612	34.552	38.040	
K_3	35.430	34.753	32.813	37.240	33.702	35.042	32.790	
R	0.918	4.653	6.262	4.148	2.910	1.161	5.250	

4 结论

采用酸酶结合的方法水解魔芋精粉制备葡甘露低聚糖, 一方面防止过度酸解对糖的破坏以及产生过多副产物, 另一方面又能对原料进行预处理, 增大酶解时的底物质量浓度, 提高酶解效率。

参考文献

- [1] 许牡丹,柯蕾. 甘露低聚糖的酶法制备与研究进展[J].食品研究与开发.2005,26(4):163 -165
- [2] 刘红.魔芋的药用研究进展[J].湖北民族学院学报医学版, 2002,19(3):35-37
- [3] 郭振楚.糖类化学[M].化学工业出版社,2005