

从活性干酵母中提取海藻糖的工艺

唐传核 葛文光

(无锡轻工大学食品学院, 无锡 214036)

摘要 提出了一条活性干酵母中提取海藻糖的工艺路线。通过控制抽提温度、乙醇浓度以及抽提时间, 得出较佳的提取工艺条件。用阴阳离子交换柱去除杂质, 同时起到一定的脱色作用, 进而运用超滤进行澄清。最后经浓缩、结晶以及干燥, 制成海藻糖产品。其得率可达: 每 100 g 活性干酵母产 14.5 g 海藻糖

关键词 酵母; 海藻糖; 提取; 超滤澄清

分类号 TS245.9

0 前 言

海藻糖是由两个葡萄糖组成的非还原性双糖, 它广泛存在于自然界, 包括动植物以及微生物中, 尤其在酵母、霉菌、蘑菇等真菌中, 有时其含量高达干基的 15% 以上。早在 1832 年 Wiggers 就从黑麦中分离到海藻糖结晶物。然而引起人们注意却是在近段时期。人们发现它具有独特的生物学特性, 几乎对所有的生物活性分子都有一定的保护作用。于是它的生产方法立即成为国际研究焦点^[1]。

自从 1950 年 Laura 等^[2]从各种酵母中制备到海藻糖, 并证明活性干酵母中海藻糖含量较高之后, 相继有人^[3]研究了从面包酵母中提取海藻糖, 指出影响抽提率的主要是酵母中的海藻糖酶, 采用 73℃ 以上、体积分数为 45% ~ 50% 的乙醇溶液能获得较大的提取率。

作者在以前工艺的基础上提出一种较简单的生产海藻糖的工艺。其中运用超滤技术清淨, 免去了过去采用重金属盐来澄清的步骤。本工艺简单易行, 适于工业化生产。

1 材料、仪器及分析方法

1.1 材料

市售活性面包酵母(哈尔滨高利酵母有限公司出品); 06 大孔强酸阳离子树脂和 71 强碱阴离子树脂。实验中所用试剂均为分析级。

1.2 主要仪器

平板超滤系统, TCA10 000 膜(膜面积 0.1 m², 适用 pH 范围: 4~8) Sartorius 德国制; 两套玻璃离子交换柱(∅ 30 mm × 500 mm)。

1.3 分析方法

- 1.3.1 灰分的测定 采用电导灰分法^[4];
- 1.3.2 色值的测定 采用文献[5]中的方法;
- 1.3.3 固形物含量测定 采用折光法^[4];
- 1.3.4 海藻糖以及其它糖的测定 高效液相色谱法 柱条件:氨基柱 APS; 柱长: 10 cm; 流速: 1.0 mL/min; 流动相:乙腈体积:水体积 = 85: 15; 柱温: 40℃.

2 实 验

2.1 工艺流程

活性面包干酵母→提取→冷却及离心→上清液→浓缩去醇→阴阳离子交换 (阴阳体积比为 2 1)→超滤清淨→蒸发及煮糖→结晶→过滤及真空干燥→成品

2.2 实验步骤

2.2.1 提取参数的确定 由于影响海藻糖提取率的最直接因素是海藻糖酶的分解,因此必须采取一定的措施来抑制该酶的活性 采用的方法有有机溶剂抽提、高温抽提以及调节 pH 值等.通过对一些因素采用单因素分析,确知乙醇体积分数、抽提温度以及抽提时间对海藻糖得率影响较大.采用 $L_9(3^4)$ 正交实验确定最佳提取参数,以海藻糖的产品得率为指标,各因素安排见表 1.

表 1 试验正交表 $L_9(3^4)$

水平	因 素		
	乙醇体积分数 /%	抽提温度 /℃	提取时间 /h
	A	B	C
1	30	40	0.5
2	45	60	1.0
3	60	80	1.5

2.2.2 冷却及离心分离 提取液先冷却至室温,再离心分离.以 3 000 r/min 离心 15 min 一般能使固液分离

2.2.3 浓缩去醇 最好采用真空浓缩,既可以回收乙醇,又使其中的各种反应减到较低程度.海藻糖的性态稳定,且为完全非还原性的.本实验采用常温浓缩.

2.2.4 离子交换 离子交换在本实验中主要是起到去除各种离子杂质的目的,同时也起脱色的效果.各种阴阳树脂,只要能起到脱盐作用都可以使用.本实验中所采用的树脂为 06 和 717.经实验,树脂的用量大致如下:每百克干酵母,使用 06 湿树脂为 200~ 300 mL,71 树脂的用量为 06 树脂的 4 倍.

2.2.5 超滤澄清 经离子交换后的稀释液还含有少量的多糖类物质,这对以后的结晶以及产品质量会有影响,必须除去.采用截留量为 10 000 的 TCA 膜,大分子的脱除率在 98% 以上.控制操作压力在 100 kPa,进行稀释渗滤.

2.2.6 蒸发及煮糖 工业上蒸发一般分两步.首先在蒸发缸内使糖液浓缩,然后在煮糖罐内使糖从溶液中结晶析出.本实验由于条件的限制,也由于海藻糖特殊的性质,采用常压蒸发,使糖液达到所需的质量分数.

2.2.7 结晶 结晶是本工艺中重要的一环,结晶的多少与好坏直接影响产品的得率和产品的质量.海藻糖由于溶解度较大,实验中采用加有机溶剂乙醇进行结晶.糖液的质量分数最好控制在 20% ~ 50%,所加乙醇的量为糖液的 2~ 10 倍.

2.2.8 过滤及真空干燥 过滤后用少量的醇冲洗.真空干燥的条件: 40~ 50℃, 15 h.之后,就得到海藻糖的两水合结晶物.

3 结果与讨论

3.1 海藻糖提取参数的确定

根据表 1 进行正交试验,结果见表 2.

表 2 正交实验结果

实验号	因 素			得率 / %		A	B	C
	A /%	B /℃	C /h					
1	30	40	0.5	1.168	K1	3.865	3.553	3.774
2	30	60	1.0	1.262	K2	4.035	3.855	3.856
3	30	80	1.5	1.435	K3	3.370	4.222	3.959
4	45	40	1.0	1.248	k1	1.288	1.184	1.258
5	45	60	1.5	1.387	k2	1.345	1.285	1.285
6	45	80	0.5	1.400	k3	1.243	1.407	1.320
7	60	40	1.5	1.137	R	0.102	0.223	0.062
8	60	60	0.5	1.206				
9	60	80	1.0	1.387				

从实验结果可知,各因素影响得率的程度顺序为: 抽提温度> 乙醇体积分数> 抽提时间。抽提温度对海藻糖得率的影响最大,随着温度的升高,海藻糖得率也不断升高,说明温度较高能有效地抑制海藻糖的分解;据报道^[6],温度高于 70℃海藻糖已基本失活,故抽提温度选稍大于 80℃(微沸状态)。其次是乙醇体积分数,一般来说海藻糖是溶于乙醇溶液的,适度的乙醇体积分数能有效地抑制海藻糖的活性。乙醇体积分数过大,会造成酵母细胞壁皱缩,影响海藻糖的溶出,其得率反而下降。综合考虑,乙醇体积分数选取 45%~ 50%。至于抽提时间,可以发现,时间越长,越有利于海藻糖的溶出,但考虑工艺的效益性,选取 1.0~ 1.5 h。

3.2 离子交换脱盐以及脱色

流速对糖液脱盐及脱色的影响见图 1。

由图 1 可看出,脱色率随着流速的增加有所下降,可能是由于流速过快,来不及充分地达到离子交换平衡。为了控制脱色率,对流速要进行一定的限制。流速小于 3.0 BV/h 时,脱色率已达 85% 以上。而对于脱盐率,则没有这么严格,在整个试验范围内,其脱盐率都在 97% 以上。

样液的 pH 值对脱色和脱盐也有较大的影响,见图 2。

实验表明,脱色率随样液 pH

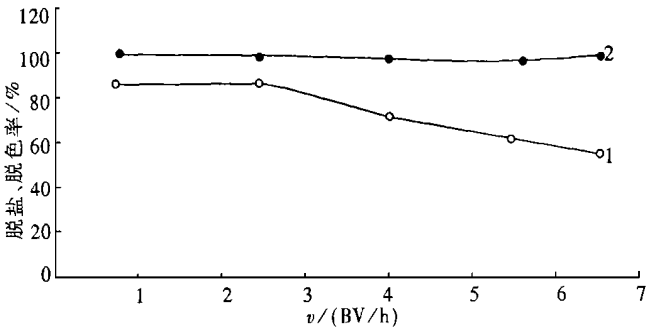


图 1 流速对糖液的脱色以及脱盐的影响

1 脱色曲线 2 脱盐曲线

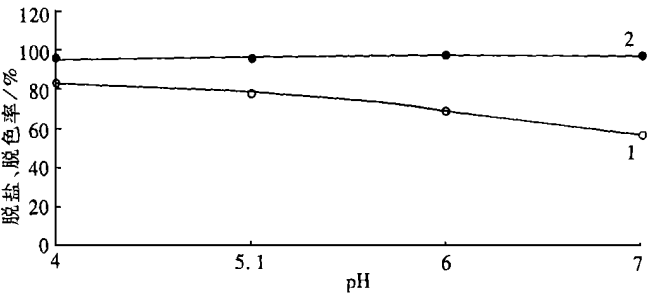


图 2 pH 值对脱色和脱盐率的影响

1 脱色曲线 2 脱盐曲线

值的下降而有所增大,相反,脱盐率却有所减少。如果流速大于 4.0 BV/h,要达到 80% 以上的脱色率,样液的 pH 值就必须控制在 5.0 以下,相反,此时的脱盐率却在 95% 以下。综上所述,要控制一定的脱色和脱盐率,可以通过调节流速和 pH 值实现。本实验的最佳工艺条件为:流速 1.0~ 3.0 BV/h, pH 值 6.0~ 7.0,此时脱色率在 85% 以上,脱盐率在 98% 以上。

3.3 超滤澄清

超滤与稀释相结合,可使溶液中大分子和小分子溶质得到更好的分离,既保持较大的渗透通量,防止膜的阻塞,又提高海藻糖的回收率。根据加水方式不同,超滤方式分间歇式操作和连续式操作,两种情况的比较见表 3。

表 3 超滤方式的比较

超滤方式	超滤前固形物含量 /%	超滤后固形物含量 /%	总耗水量 /mL	低聚糖回收率 /%
间歇式操作 (分 3 次)	2.7	0.30	2000	94.5
连续式操作	2.7	0.15	2000	97.2

注:起先都采用 1 L 样液,都先超滤至 500 mL,然后间歇式每次加 500 mL 进行渗滤,连续式保持 500 mL 不变进行渗滤。固形物的测量以超滤出口刚出来的样液为准。

从表 3 可看出,经连续式超滤的溶液其低聚糖的回收率均高于间歇式操作的,即在开始相同情况下,达到同样的糖回收率,连续式与间歇式相比,具有耗水量少、时间短、操作简便等优点。

经过超滤与没有经过超滤所得产品的对比,见表 4。

表 4 是否超滤与产品的得率和纯度的关系 /%

	海藻糖得率	光学纯度
经超滤	13.9	95.5
没经超滤	10.2	90.2

3.4 结晶

以前的工艺参数对结晶有一定的影响。一般来说,样液中的海藻糖纯度越高,越容易结晶,而且其结晶出的产品得率也高。在一定的纯度下,结晶的得率又跟样液的饱和度以及温度等因素有关。本实验中采用加乙醇对海藻糖进行晶析。一方面,海藻糖在乙醇中溶解度较低,容易析出,而且得率也较高;另一方面操作较易控制。

样液海藻糖的过饱和度对结晶得率的影响见表 5。

由表 5 可见,样液质量分数以 20%~ 50% 较佳,其结晶率可在 85% 以上。较稀样液的结晶率较小,而且乙醇的用量也较大。对于较高质量分数如大于 50% 的样液,加入乙醇后容易产生聚晶,影响其产品质量。

采用本工艺生产出的产品质量见表 6。

表 5 海藻糖浓度对结晶得率的影响

海藻糖 /%	结晶得率 /%
22.1	78.7
33.1	86.0
44.1	90.5
53.3	97.0
59.1	91.1

注:1) 样液量:无水乙醇量 = 1:4
2) 各种质量分数的海藻糖溶液的纯度一样。

表 6 本工艺产品的质量指标

项目	纯度	干燥失重	灰分	旋光度	溶解度	其它糖含量
分析值	96.5%	9.5%	0.23%	178.5°	94.4%	3.0% 以下
分析方法等	HPLC 法	减压干燥 60℃, 2 h	600℃ 马福炉	C= 7.水 [α] _D ₂₀	C= 7.水 400 nm, 10 mm	HPLC 法

4 结 论

- 1) 从活性干酵母中提取海藻糖的最佳条件: 体积分数 43% ~ 50% 的乙醇, 80℃ (微沸) 下抽提 1.0 h, 固液比为 1: 15.
- 2) 采用阴阳离子交换树脂脱色及脱盐的工艺条件: 流速为 1.0~ 3.0 BV/h, pH 值 6.0 ~ 7.0. 此时脱色率在 85% 以上, 脱盐率在 98% 以上.
- 3) 平板超滤 (膜 TCA10 000): 采用连续式渗滤操作. 此法相比间歇式有较多优点, 低聚糖的回收率可在 97% 以上.
- 4) 海藻糖质量分数在 20% ~ 50%, 乙醇量为样液的 2~ 5 倍, 具有较高的结晶率, 结晶率在 85% 以上.

该工艺简单可行, 操作方便, 适合于工业化生产, 既能保证产品质量, 又能降低生产成本. 特别是为啤酒行业的废酵母综合利用提供了一条新路.

参 考 文 献

- 1 唐传核, 葛文光. 海藻糖的开发现状与应用前景. 中国食品用化学品, 1997, (3): 1~ 4
- 2 Stewart Laura C. Preparation of Trehalose from Yeasts. JACS, 1950, 72 2059~ 61
- 3 Yumi Yoshikawa. Extraction of Trehalose from Baker's yeast. 化学工业论文集, 1991, 17(3): 601~ 609
- 4 张笃思主编. 甘蔗制糖工业分析. 北京: 中国轻工业出版社, 1981
- 5 无锡轻工业学院, 天津轻工业学院合编. 食品分析. 北京: 中国轻工业出版社, 1980
- 6 Hirofumi Nakano. Purification and Some Properties of a Trehalase from a Green Alga. Biosci Biotech Biochem, 1994, 58(8): 1430~ 1434

Extraction Technology of Trehalose from Dried Active Baker's Yeast

Tang Chuanhe Ge Wenguang

(School of Food Science & Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi, 214036)

Abstract In this paper a method of producing trehalose from yeasts was proposed. The optimum extracting conditions were obtained, which include temperature, alcohol concentration and extracting time. The extract was decolored and desalted by using anion and cation exchange resin. The desalted liquid was filtered with an ultrafilter membrane. At last, the permeate was concentrated and crystalized with alcohol and then separated by centrifugation of Bushfilter. The crystals were obtained with a yield of 14.5 g trehalose (including two H₂O) / 100 g dried active yeasts.

Key words baker's yeast; trehalose; extraction; ultrafiltration

(责任编辑: 秦和平)