

文章编号 :1009 - 038X(2002)03 - 0230 - 03

发酵法生产高纯度低聚果糖

张涛, 江波, 王璋

(江南大学 食品学院 江苏 无锡 214036)

摘 要 :将筛选得到的酵母添加于固形物质量分数为 25% 的普通级低聚果糖(FOS)溶液中,以消除产品中的副产物葡萄糖,提高 FOS 的含量.研究了固形物质量分数、起始 pH 值、酵母添加量对消除葡萄糖的影响,得到了不含葡萄糖且 FOS 质量分数达 82.85% 的产品.后者再经果糖转移酶作用,于 50℃、pH 5.5 下反应 10 h, FOS 质量分数可提高至 85.23% .

关键词 :低聚果糖 ;酵母 ;发酵 ;果糖转移酶

中图分类号 :TQ 93

文献标识码 :A

Production of High-Purity Fructo-Oligosaccharides by Fermentation

ZHANG Tao, JIANG Bo, WANG Zhang

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract : The purity of the fructo-oligosaccharides(FOS) could be enhanced by assimilating glucose using yeast. The influences of the concentration of the syrup, pH and the yeast level on the assimilating process were investigated. The product with 82.85% of FOS was obtained and all glucose was removed. Fructosyltransferase was added to the treated syrup, and the net content of FOS was increased to 85.23% after incubating at 50 ℃, pH 5.5 for 10 h.

Key words : fructo-oligosaccharides ; yeast ; fermentation ; fructosyltransferase

随着人们对低能量及健康食品需求的增长,低聚果糖(FOS)由于其良好的生理特性受到广泛的关注.该糖在人体小肠内不被消化吸收,能量值很低,但到达大肠后可被双歧杆菌利用,因而被称为双歧杆菌增殖因子.此外, FOS 能降低血清胆固醇、磷脂和甘三脂,并具有不龋齿,防治便秘等生理功能^[1~4].工业上一般采用黑曲霉(*Aspergillus niger*)等产生的果糖转移酶作用于蔗糖溶液,经一系列的酶转移作用而获得 FOS 质量分数为 55% 左右的普通级 FOS 产品,但该产品中含有一定量的葡萄糖和蔗糖,葡萄糖和蔗糖的存在不利于某些特定人群(如糖尿病等患者)的身体健康,因而如何消除或转

化产品中的葡萄糖和蔗糖,从而制备出高质量分数的 FOS 产品,是目前急需解决的重要课题.

作者曾利用酵母消除产品中的葡萄糖以提高 FOS 纯度^[5],在上述工作的基础上,作者进一步研究其反应条件,并在酵母作用后的糖液中加入果糖转移酶,作用于其中的蔗糖,从而制备出更高质量分数的 FOS 产品.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 酵母菌 SK2.003、黑曲霉 As0023 均

收稿日期 2001 - 11 - 14 ; 修订日期 2002 - 01 - 20.

基金项目 :国家“九五”科技攻关项目(96-C03-01-01)资助课题.

作者简介 :张涛(1972 -),女,陕西咸阳人,食品科学与工程博士研究生.

为江南大学食品科学实验室保藏菌种.

1.1.2 培养基 酵母发酵培养基:见参考文献[5];黑曲霉发酵培养基:见参考文献[6].

1.1.3 普通级 FOS FOS 质量分数为 50% ~ 55%,江苏梁丰食品集团产品.

1.1.4 试剂 所用试剂均为化学纯以上或生化试剂.

1.2 方法

1.2.1 还原糖的测定方法 3,5-二硝基水杨酸比色法(DNS法)[7].

1.2.2 总糖测定方法 利用阿贝折光仪测定糖液中固形物含量.

1.2.3 还原糖相对含量的计算方法

$$\text{还原糖的相对含量} = \frac{\text{还原糖的绝对含量}}{\text{总糖含量}}$$

1.2.4 糖组分的分析 采用高效液相色谱法(HPLC)分析糖液中各成分含量. LiChrospher 3.9 mm × 150 mm 氨基柱,配有 R401 示差折光检测器,以 V(乙腈):V(水)=75:25 为流动相,体积流量为 1 mL/min.

1.2.5 酵母制备方法 接一环斜面种子于装有 25 mL 酵母液体发酵培养基的 250 mL 的三角瓶中,于 210 r/min、30 ℃条件下振荡培养 72 h,离心回收酵母菌体.

1.2.6 酵母作用于 FOS 的方法与条件 配制固形物质量分数为 20% 的普通级 FOS 于 250 mL 的三角瓶中,装液量为 25 mL,按 0.2 g/g(以总糖计)加入酵母湿菌体,经 30 ℃、210 r/min 摇瓶发酵 30 h,用 HPLC 分析最终产品的组成.

1.2.7 果糖转移酶的制备 见参考文献[6].

1.2.8 果糖转移酶酶活测定 见参考文献[6].

1.2.9 果糖转移酶作用于蔗糖的条件 果糖转移酶按 3 U/g(以蔗糖计)添加于经酵母处理后的固形物为 60% 的 FOS 溶液中,于 50 ℃、pH 5.5 条件下反应 10 h.

2 结果与讨论

2.1 酵母法纯化 FOS 作用条件

经过与其它酵母菌种比较[5],选择适应 FOS 高糖环境且不水解 FOS 的酵母菌 SK2.003 作为本试验菌种.

2.1.1 糖液固形物质量分数的影响 将培养所得的酵母湿菌体按总糖的 20% 加于不同固形物质量分数的普通级 FOS 溶液中.摇瓶培养以同化普通级 FOS 中的葡萄糖,结果如图 1 所示.可知,当糖液固

形物质量分数为 30% 时,葡萄糖的同化速率明显下降.这是由于随糖液固形物质量分数的增加,粘度增大,进而导致菌体的氧呼吸速率下降,葡萄糖的同化速率降低[8].由此可见,糖液固形物质量分数越低,还原糖去除率越高.但从经济性考虑,选取糖液固形物质量分数 25% 作为下一步试验的条件.

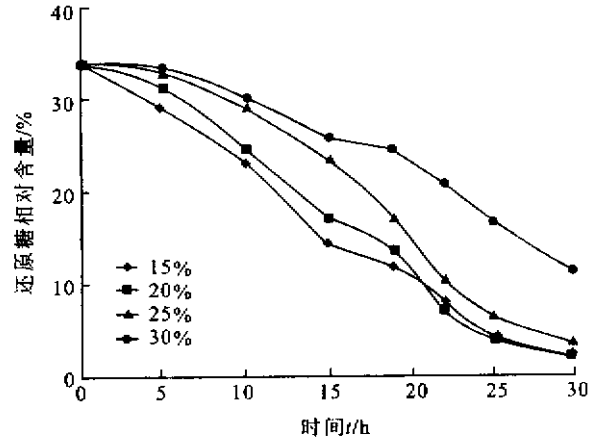


图 1 不同固形物质量分数的还原糖相对含量—时间变化曲线

Fig.1 Time course of reducing sugar with different syrup concentration

2.1.2 起始 pH 值的影响

pH 是微生物生长的一个重要的影响因素,每一个菌种都有其一定的耐受 pH 范围.在固形物质量分数为 25%、湿酵母添加量为总糖的 20%,选取起始 pH 值为 5.5、6.5、7.5,结果如图 2、图 3 所示.

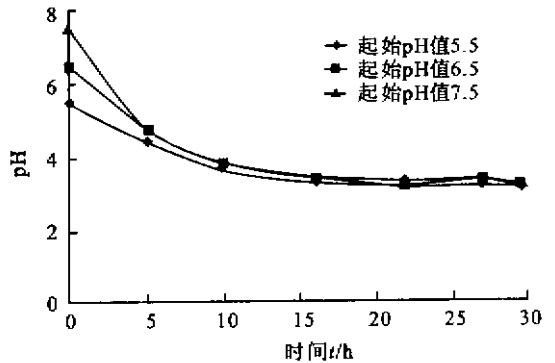


图 2 pH—时间变化曲线

Fig.2 Time course of pH (with different initial pH)

由图 2 可知,在同化前期,pH 有显著变化,而在后期,pH 变化不是很明显.这是因为酵母利用原料中葡萄糖的同时,生成有机酸[9],导致 pH 降低.由图 3 可知,pH 对酵母的耗糖速度影响不是很大,在 pH 为 6.5 时葡萄糖的同化速率最低.在酸性条件下,低聚果糖易分解,同时考虑到酵母的耐受能力,因此选取作用起始 pH 为 7.5.

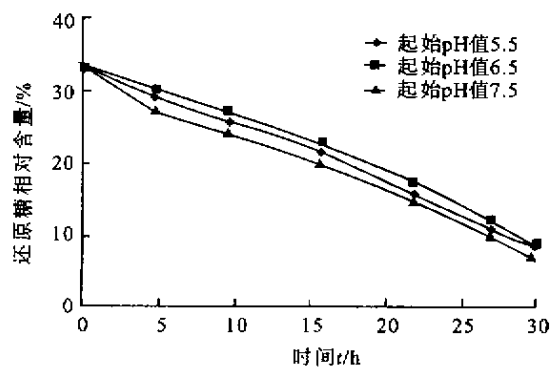


图 3 不同起始 pH 值的还原糖相对含量—时间变化曲线

Fig.3 Time course of reducing sugar with different initial pH

2.1.3 酵母添加量的影响 在固形物质量分数为 25%、起始 pH 值为 7.5 ,以酵母添加量为总糖的 30% 45% 60% 进行试验 ,结果如图 4 所示 .可知 ,随酵母添加量的增加 ,同化速率升高 ,但当酵母添加量增至一定值时 ,同化速率开始下降 .这是由于随酵母添加量增加 ,粘度增大 ,不利于酵母的呼吸^[8] ,因此酵母添加量以总糖的 45% 为宜 .

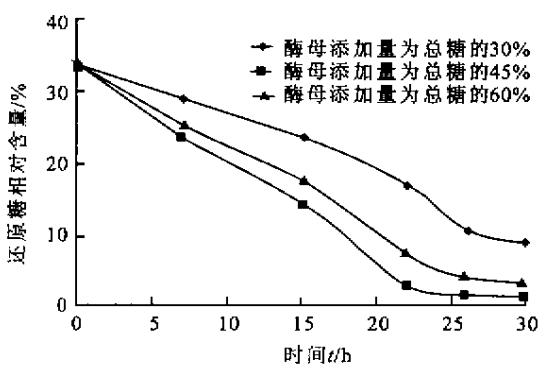


图 4 不同酵母添加量的还原糖相对含量—时间变化曲线

Fig. 4 Time course of reducing sugar with different yeast level

2.1.4 酵母作用后 FOS 组成的检测

将上述条件下发酵得到的 FOS 糖液以 3 000 r/min 离心 ,使糖液与菌体分离 ,上清糖液用活性炭脱色 ,微孔过滤 ,用 HPLC 检测其组成 .纯化前后 FOS 各成分含量的变化见表 1.FOS 糖液经 30 h 发酵后 ,其纯度由原来的 52.57% 提高至 82.85% ,葡

参考文献：

[1] 江波 . 固定化黑曲霉生产低聚果糖的研究 [D] . 无锡 : 无锡轻工业学院 , 1992 .

[2] HIDAKA H , EIDA T , TAKIZAKA T . Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health [J] . Bifidobacteria Microflora , 1986 , (5) 37 - 50 .

萄糖几乎消耗殆尽 .

尽管利用本法可制备得到 80% 的 FOS 产品 , 但欲制备更高纯度的产品 , 仍应与其它分离纯化手段相结合 , 作者又进行了以下试验 .

2.2 果糖转移酶进一步分离纯化 FOS

2.2.1 果糖转移酶反应 发酵结束后离心 , 使菌体与糖液分离 , 上清糖液用活性炭脱色 , 浓缩至固形物质量分数为 60% , 以 3 U/g 加入果糖转移酶 , 在 50 ℃、pH 5.5 进行酶反应 .

2.2.2 酶反应后 FOS 组成检测 反应期间定时取样 , 沸水浴中灭酶 10 min , 离心取上清液 , 微孔过滤 , HPLC 检测其 FOS 的含量 , 结果见表 1 . 可知 , 随酶反应时间的延长 , FOS 的纯度不断提高 , 酶反应 10 h 后 , 纯度由 82.85% 提高至 85.23% . 尽管酶反应提高了 FOS 的纯度 , 但纯度提高不是很大 . 这是因为发酵法虽然解除了葡萄糖对酶反应的竞争性抑制作用 , 但作用底物蔗糖质量分数仅有 10% 左右 , 资料表明 , 在蔗糖质量分数低于 10% 时 , 果糖转移酶转果糖基的能力有限^[10] .

表 1 HPLC 检测结果

Tab.1 Data from HPLC

糖液样品	质量分数 / %					总 FOS*
	葡萄糖	蔗糖	蔗果三糖	蔗果四糖	蔗果五糖	
普通级 FOS	33.08	14.38	29.11	19.91	3.55	52.57
酵母同化后 FOS	0.83	16.32	45.47	32.94	5.37	82.85
果糖转移酶反应 7 h 糖液	1.11	13.99	46.65	33.79	4.45	84.9
反应 10 h 糖液	1.19	13.58	45.44	34.4	5.39	85.23

* 总 FOS 为蔗果三糖、四糖、五糖的总和 .

3 结 论

从试验看出酵母对消除普通级 FOS 中的葡萄糖效果显著 , 消除葡萄糖后的 FOS 产品纯度可达到 82.85% . 在消除葡萄糖的 FOS 糖液中再加入果糖转移酶 , 在 50 ℃、pH 5.5 反应 10 h , 经进一步作用糖液中的蔗糖后 , FOS 质量分数可提高至 85.23% .

不同 ,经过调配 ,可以制成各种类型的氨基酸调味 的市场前景 .
液 经过浓缩干燥 ,也可制成固体调味料 ,具有良好

参考文献：

[1] 宋焕禄 . 复合氨基酸调味液 [J]. 北京轻工业学院学报 ,1994 ,12(1) :26 – 31 .
[2] 宋焕禄 . 李贤中 . 复合氨基酸调味液的生产及新原料的开发利用 [J]. 中国调味品 ,1993(12) :15 – 20 .
[3] 陈均志 . 复合氨基酸调味液的生产 [J]. 中国调味品 ,1991(1) :23 – 26 .
[4] 王荣民 . 高昊峰 . 半化学酱油新工艺研究 [J]. 食品与发酵工业 ,1993(3) :8 – 19 .
[5] OSAKI K , OKAMOTO Y . Fermentation of soy sauce with whole cel[J]. **J Food Sci** , 1985 ,50 :1289 – 1292 .
[6] HORITSU H , MAEDA T . A modified process for soy sauce fermentation by immobilizedyeast[J]. **Agric Biol Chem** ,1990 ,54 :
295 – 300 .
[7] IWASAKI K , NAKAJIMA M . Rapid ethanol fermentation for soy sauce production by immobilized yeasts cel[J]. **Agric Biol Chem** ,1991 ,55 :2201 – 2207 .
[8] 李丽霞 . 童明容 . 应用固定化酵母菌提高低盐固态酱油质量的研究 [J]. 微生物学杂志 , 1990 ,10(1 2) :38 – 41 .
[9] 上海粮油工业公司 . 发酵调味品生产技术 [下] [M]. 北京 : 轻工业出版社 ,1979 .

(责任编辑 杨 萌 朱 明)

(上接第 232 页)

[3] SHIOMIN , IZAWA M . Purification and characterization of sucrose 3sucrose 1-fructosyltransferase from the roots of *Asparagus*
[J]. **Agric Biol Chem** ,1980 ,44 :603 – 614 .
[4] R C MCKELLAR , H W MODLER . Metabolism of fructo-oligosaccharides by *Bifidobacterium spp.*[J]. **Appl Microbiol Biotechnol** ,1989 ,31 :537 – 541 .
[5] 江波 , 张涛 , 王璋 . 利用酵母提高低聚果糖纯度 [J]. 无锡轻工大学学报 , 2001 ,20(5) :445 – 448 .
[6] LAMIA L , HOCINE , 王璋 , 等 . 黑曲霉 AS0023 果糖转移酶和转化酶的酶学特性 [J]. 无锡轻工大学学报 , 2000 ,19(2) :133 – 137 .
[7] 北京大学生物化学教研室 . 生物化学实验指导 [M]. 北京 : 高等教育出版社 ,1979 .
[8] 熊宗贵 . 发酵工艺原理 [M]. 北京 : 中国医药科技出版社 ,1995 .
[9] H . J . 法夫 , M . W . 米勒 , E . M . 马克 . 酵母菌的生活 [M]. 王民俊 , 黄平 , 杨锦才 , 等译 . 贵阳 :《酿酒科技》编辑部 , 1984 .
[10] MURAMATSU , MASAYOSHI . Process for the preparation of branched fructooligosaccharides[P]. 欧洲专利 :EP 0 307 158 A2 , 1988-09-05 .

(责任编辑 杨 萌 朱 明)