

发酵法提取燕麦 β -葡聚糖的初步探索

潘妍,何聪芬,韩扬,台喜生,王昌涛

(北京工商大学植物资源研究开发北京市重点实验室,北京,100037)

摘 要 研究了发酵法对提取燕麦麸皮中的 β -葡聚糖的影响,比较了发酵液中 β -葡聚糖的含量。结果显示,4种酵母菌发酵后发酵液中 β -葡聚糖含量都比未经过发酵的燕麦麸培养液中 β -葡聚糖含量明显增加。采用酵母发酵的方法提取燕麦 β -葡聚糖的最优发酵条件:发酵培养基在灭菌前加蛋白酶、淀粉酶和糖化酶共同处理,所用菌种为黄酒酵母,发酵时间控制在 48 h;摇床参数为 170 r/min,28℃。

关键词 β -葡聚糖,酵母菌,发酵

燕麦麸皮中含有丰富的 1-3、1-4 β -葡聚糖^[1-3],而酵母菌细胞壁含有 1-3、1-6 β -葡聚糖^[4-6],用酵母菌发酵燕麦麸培养液,酵母菌大量繁殖的同时生成了酵母 β -葡聚糖;另一方面酵母菌可以利用燕麦麸培养液中的淀粉、蛋白质等营养成分,使燕麦麸培养液中本来含有的 β -葡聚糖纯度提高。本文采用发酵的方法提纯燕麦 β -葡聚糖进行了初步的研究。

1 材料与方法

1.1 材料

燕麦麸皮,由张家口面粉厂提供;啤酒酵母、酒精酵母、黄酒酵母、酿酒酵母,食品发酵研究所;蛋白酶、蛋白酶、糖化酶,购于 Novozymes 公司。

1.2 仪器与试剂

紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;超净台,苏州苏洁净化设备有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 配制燕麦麸皮培养液

取料液比为 1:20 配制燕麦麸皮培养液,然后再进行酶处理。

蛋白酶:调 pH 值至 10~11,55℃ 水浴 1 h;然后加 3%~5% 蛋白酶;继续 55℃ 水浴 3 h。

淀粉酶:5% 的淀粉酶加酶量为 1%,80℃ 水浴 30 min。

糖化酶:加 1% 的糖化酶,55℃ 水浴 2~3 h。

在接菌发酵之前对燕麦麸皮培养液进行高压灭菌 121℃,20 min。

1.3.2 燕麦麸皮培养液发酵

将酵母菌菌液接种到发酵培养基中,在 28℃,170 r/min 真空摇床发酵 48h。然后,对发酵液进行离心,12 000 r/min,20 min,取上清液。用刚果红法测定 β -葡聚糖的含量^[7,8],用福林-酚法测定蛋白质含量^[9],用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[10]。

2 实验结果

2.1 啤酒酵母

取燕麦麸皮和水的比例为 1:20 (g:mL)。1、2 号培养液不加酶处理,3 号培养液加入淀粉酶处理,4 号培养液加入蛋白酶处理,5 号培养液加入淀粉酶和糖化酶共同处理,6 号培养液加入蛋白酶、淀粉酶和糖化酶共同处理。在发酵过程中,1 号培养液不加入啤酒酵母的空白发酵液,2、3、4、5 和 6 号培养基分别加入啤酒酵母发酵。发酵 48h 后,测定发酵液中 β -葡聚糖含量、蛋白质含量和总糖含量。

表 1 啤酒酵母发酵产物的各项指标

| 培养液 编号 | β -葡聚糖含量 /mg·mL ⁻¹ | 蛋白质含量 /mg·mL ⁻¹ | 总糖含量 /mg·mL ⁻¹ | β -葡聚糖 提高率/% |
|-----------|--|-------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| 1 | 0.570 | 1.27 | 10.289 | - |
| 2 | 0.595 | 1.32 | 8.487 | 4.38 |
| 3 | 0.600 | 1.35 | 15.591 | 5.26 |
| 4 | 0.640 | 3.52 | 12.68 | 12.3 |
| 5 | 0.600 | 1.12 | 8.071 | 5.3 |
| 6 | 0.655 | 3.60 | 10.739 | 14.91 |

从表 1 可以看出,加入啤酒酵母的燕麦麸皮发酵液中 β -葡聚糖含量都增加;其中 3 种酶共同处理的燕麦麸皮发酵提取物 β -葡聚糖达到了 0.655mg/mL。不加酶处理也不加菌的培养液为空白,与空白比较就得到各种加菌培养液的 β -葡聚糖提高率。从表 1 可以看出,加蛋白酶、淀粉酶和糖化酶共同处理的燕麦

第一作者:在读硕士研究生(王昌涛为通讯作者)。

收稿日期:2008-12-10,改回日期:2009-02-18

麸发酵提高率最高,达到 14.91%。

2.2 酒精酵母

1、2、3、4、5 和 6 号培养液的处理方法同 2.1。加入酒精酵母发酵后,测定发酵液中 β -葡聚糖含量、蛋白质含量和总糖含量,并计算 β -葡聚糖的提高率。

表 2 酒精酵母发酵产品的各项指标

| 培养液 编号 | β -葡聚糖含量 /mg · mL ⁻¹ | 蛋白质含量 /mg · mL ⁻¹ | 总糖含量 /mg · mL ⁻¹ | β -葡聚糖 提高率/% |
|-----------|--|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| 1 | 0.539 | 1.269 | 12.177 | - |
| 2 | 0.578 | 1.356 | 9.873 | 4.38 |
| 3 | 0.729 | 1.399 | 8.556 | 5.26 |
| 4 | 0.657 | 3.844 | 9.37 | 12.3 |
| 5 | 0.867 | 1.424 | 8.712 | 5.3 |
| 6 | 0.885 | 4.117 | 7.950 | 14.91 |

从表 2 可以看出,加入酒精酵母的燕麦麸皮发酵液中 β -葡聚糖的含量均有所增加。加酶的燕麦麸培养基经酒精酵母发酵后 β -葡聚糖的提高率均高于 20%;且加蛋白酶、淀粉酶和糖化酶共同处理的燕麦麸发酵提高率最高,达到 64.19%。

2.3 黄酒酵母

1、2、3、4、5 和 6 号培养液的处理方法同 2.1。加入黄酒酵母发酵后,测定发酵液中 β -葡聚糖含量、蛋白质含量和总糖含量,并计算 β -葡聚糖含量的提高率。

表 3 黄酒酵母发酵产品的各项指标

| 培养液 编号 | β -葡聚糖含量 /mg · mL ⁻¹ | 蛋白质含量 /mg · mL ⁻¹ | 总糖含量 /mg · mL ⁻¹ | β -葡聚糖 提高率/% |
|-----------|--|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| 1 | 0.590 | 1.443 | 10.245 | - |
| 2 | 0.693 | 1.576 | 6.858 | 4.38 |
| 3 | 0.695 | 1.511 | 10.214 | 5.26 |
| 4 | 0.859 | 1.943 | 11.321 | 12.3 |
| 5 | 0.820 | 1.513 | 5.982 | 5.3 |
| 6 | 0.939 | 2.039 | 8.388 | 14.91 |

从表 3 中可以看出,加入黄酒酵母的燕麦麸皮发酵液中 β -葡聚糖的含量都增加。其中 3 种酶共同处理的燕麦麸皮发酵提取物 β -葡聚糖达到了 0.939mg/mL,加 3 种酶处理的燕麦培养基经黄酒酵母发酵后 β -葡聚糖的提取率最高,为 59.15%。

2.4 酿酒酵母

1、2、3、4、5 和 6 号培养液的处理方法同 2.1。加入酿酒酵母发酵后,测定发酵液中 β -葡聚糖含量、蛋白质含量和总糖含量,并计算 β -葡聚糖含量的提高率。

表 4 酿酒酵母发酵产品的各项指标

| 编号 | β -葡聚糖含量 /mg · mL ⁻¹ | 蛋白含量 /mg · mL ⁻¹ | 总糖含量 /mg · mL ⁻¹ |
|----|--|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 0.552 | 1.42 | 9.928 |
| 2 | 0.67 | 1.385 | 7.675 |
| 3 | 0.842 | 1.461 | 6.502 |
| 4 | 0.764 | 2.098 | 12.279 |
| 5 | 0.874 | 1.393 | 6.502 |
| 6 | 0.799 | 2.076 | 7.051 |

注:1:不加酶处理不加酿酒酵母;2:不加酶处理直接加入酿酒酵母;3:加淀粉酶处理后加入酿酒酵母;4:加蛋白酶处理后加入酿酒酵母;5:加淀粉酶和糖化酶共同处理后加入酿酒酵母;6:加蛋白酶、淀粉酶和糖化酶共同处理后加入酿酒酵母。

从表 4 可以看出加入酿酒酵母的各种发酵液中 β -葡聚糖的含量都增加,其中加淀粉酶和糖化酶处理的燕麦麸发酵液经酿酒酵母发酵后 β -葡聚糖增加最多,达到 0.874mg/mL。图 4 显示,加淀粉酶和糖化酶对燕麦麸发酵培养基作预处理,发酵后 β -葡聚糖的提高率为 58.33%。

3 结论

通过啤酒酵母、酒精酵母、黄酒酵母和酿酒酵母发酵来提取燕麦麸皮中的 β -葡聚糖均能使提取率提高。酶法处理使燕麦麸皮培养液中的大分子物质变为小分子物质,更好的被酵母菌所利用,进一步的增加了 β -葡聚糖的提取率。其中发酵最优条件为:料液比 1:20 (g:mL);发酵培养液在灭菌前加入蛋白酶、淀粉酶和糖化酶共同处理后,加入菌种为黄酒酵母;发酵时间控制为 48 h;摇床参数为 170 r/min, 28℃。

4 展望

发酵法提取 β -葡聚糖在国内外的生物提取领域比较新颖,值得更深一步的研究,并且应用到生产实践领域中去。

本课题值得更深一步研究的方向有:

- (1)广泛的搜集可发酵菌种,通过比较不同菌种的发酵结果,不断改进菌种,使 β -葡聚糖的得率得以更进一步的提高。
- (2)利用基因工程改良菌种,使菌种的次级代谢产物向 β -葡聚糖的方向靠拢。
- (3)通过设计正交实验不断优化发酵条件,一方面使发酵用菌种大量的增值;另一方面使 β -葡聚糖的得率和纯度提高。

参 考 文 献

1 汪海波. 燕麦中 β -葡聚糖的化学结构、溶液行为及降血糖

- 作用的机制研究[D]. 武汉:华中农业大学博士学位论文, 2004. 5
- 2 裴素萍,蔡东联,朱昱. 燕麦 β -葡聚糖治疗大鼠高脂血症[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(5): 510~513
 - 3 王子花. 燕麦 β -葡聚糖对 STZ 致 2 型糖尿病小鼠降血糖作用的研究[D]. 太谷:山西农业大学硕士学位论文, 2007, 6
 - 4 夏晓华,朱建国. 酿酒酵母菌的生物学特性[J]. 浙江检验医学, 2007, 5(3):27
 - 5 王颖,何宁,李清彪,等. 酿酒酵母 *S. cerevisiae* 高密度培养条件优化研究[J]. 工业微生物, 2007, 37(1):34~37
 - 6 O'Kennedy R. D., Baldwin C., Keshavarz-Moore E.. Effects of growth medium selection on plasmid DNA production and initial processing steps[J]. Biotechnol, 2000, 76: 175~183
 - 7 Wood P J, Paton D, Siddiqui L R, et al. Determination of β -glucan in oat and barley[J]. Cereal Chem, 1977, 54(3):524~533
 - 8 张娟,杜先锋,饶砚琴. 刚果红法测定燕麦中 β -葡聚糖含量的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2007, 34(1):23~26
 - 9 周先碗,胡晓倩. 生物化学仪器分析与实验技术[M]. 北京:化学工业出版社, 2003
 - 10 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 上海:上海科技出版社, 1989. 6

The Preliminary Study of Fermentation on Extracting β -glucan

PanYan, Han Congfen, Han Yang, Tai Xisheng, Wang Changtao

(Beijing Technology and Business University, Beijing Key Laboratory of Plant Resources Research and Development, Beijing 100037, China)

ABSTRACT The effect of fermentation on extracting β -glucan from oat bran was the focus of this study. The β -glucan content of different fermentation broth were compared, and it showed that the β -glucan content of fermentation broth after 4 kinds of yeast fermented were much more than that in the oat bran culture medium which has not been fermented. The optimal conditions for extracting oat β -glucan by yeast fermentation were obtained as follows: the fermentation medium was treated by protease, amylase and glucoamylase before the sterilization, the rice wine yeast strain was used, and the fermentation condition was 48 hours, 170r/min and 28 $^{\circ}\text{C}$.

Key words β -glucan, yeast, fermentation

《食品生产加工小作坊基本要求》国标通过

已通过审定的《食品生产加工小作坊质量安全控制基本要求》国家标准目前已进入报批程序。这项可望于年内发布的国家标准对全面实施《食品安全法》，整体提升我国食品质量安全水平具有重要意义。

这项标准由全国食品安全管理技术标准化技术委员会归口，中国标准化研究院与河北、陕西、山东等地方质监局和山东、湖南等省标准化研究院共同起草制定的。

我国目前有 2 亿多农户涉足食品生产。在近 45 万家食品生产加工主体中，10 人以下的小作坊约 35 万家。这些食品生产加工小作坊目前仍是食品供应的重要组成部分，特别是在广大农村地区，食品小作坊是农产品深加工的一个重要方式，也是发展农村经济、增加农民收入、解决农民就业的重要手段。同时，这些小作坊普遍存在生产设备简陋、生产环境卫生条件差、食品质量安全知识缺乏、质量卫生控制能力薄弱等问题。

我国现有的针对食品企业的质量安全管理与控制技术，对食品生产加工小作坊适用性不强，这使得食品生产加工小作坊得不到必要的指导，政府监管也缺少必要的技术支撑。该标准依据食品质量安全控制体系的要素，结合目前我国食品小作坊的现状特点，以最低程度确保食品质量安全为原则，对包括生产与加工场所、设施与设备、加工过程控制、人员、质量安全管理、包装贮存与运输和食品标识等方面进行了详细规定，为规范引导食品生产加工小作坊质量安全生产活动及政府有关部门监管食品生产加工小作坊提供技术支撑，具有较强的实用性。

新发布的《食品安全法》规定了食品生产加工小作坊应当符合《食品安全法》规定的与其生产经营规模、条件相适应的食品安全要求。因此，该标准对全面实施《食品安全法》、提升我国整体食品质量安全水平具有十分重要的意义。这项标准属于综合性管理标准，审查委员会建议作为推荐性国家标准发布实施。