

低聚木糖的生产及应用研究进展*

许正宏 熊筱晶 陶文沂

(江南大学生物工程学院, 无锡 214036)

摘 要 低聚木糖是功能性低聚糖类中功能较好的一种, 工业应用范围广泛。文章着重介绍了低聚木糖的理化特性、生产以及应用等方面的国内外研究进展, 并简要介绍了课题组的一些研究工作进展。

关键词 低聚木糖, 木聚糖酶, 研究进展

低聚木糖(xylo-oligosaccharide)作为一种附加值高、市场前景看好的功能性食品添加剂, 是目前国内外竞相研究开发的功能性低聚糖之一^[1]。

1 低聚木糖的特性及应用

一般认为, 低聚木糖是由木二糖~木十糖等组成的, 其中以木二糖、木三糖为主要有效成分。在自然界中, 竹笋等天然植物中含有少量的低聚木糖。另外, 一部分植物半纤维素在人体大肠内也可以被分解转化为低聚木糖^[2]。

1.1 理化性质^[3,4]

低聚木糖中, 木二糖的甜度为蔗糖的40%, 含量为50%的低聚木糖产品甜度约为蔗糖的30%, 还可作为保湿剂在食品中使用。其粘度很低, 且随温度升高而迅速下降。比其他功能低聚糖更耐酸、耐热, 5%低聚木糖水溶液在 pH2.5~8.0 范围内加热 1h 后无明显变化, 100℃加热 1h, 几乎不分解。因此低聚木糖可广泛用于酸性或需高温处理的食品, 如日本已将低聚木糖添加到黑醋中生产出保健醋饮料。此外, 低聚木糖可作为低热量食品添加剂, 即便过量摄食, 也不会导致肥胖。

1.2 生理学特性

低聚木糖具有良好的生理学特性, 主要表现在以下几方面:

(1) 显著的双歧杆菌增殖能力^[3,5]。低聚木糖有明显的双歧杆菌增殖作用, 而且除青春双歧杆菌、婴儿双歧杆菌和长双歧杆菌外, 大多数肠道菌对低聚木糖的利用都比较差。低聚木糖是目前发现有效用量最少的低聚糖。实验表明, 每天只需口服 0.7 g, 2 周后大肠杆菌中的双歧杆菌的比例从 8.9% 增加到 17.9%, 而拟杆菌(可能的致病菌)则从 52.6% 减少到 44.4%, 3 周后, 双歧杆菌的比例增加到 20.2%, 拟杆菌降至 32.9%。

(2) 不被消化特性^[6,7]。与其他的低聚糖相比, 木二糖在消化系统中最稳定, 不被消化酶水解, 且代谢不依赖胰岛素, 可满足患有诸如糖尿病、肥胖病和高血脂症等特殊人群的需要。另外, 与某些低聚糖产品含有可消化性单糖相比, 他的主要伴随成分为木糖, 略有特殊气味, 具爽口甜味, 也是一种不消化单糖, 因此可不采用色谱分离技术进行分离纯化, 普通浓度的低聚木糖产品就能满足食品加工的要求, 同时又降低了生产成本。

(3) 无龋齿性^[8]。低聚木糖不能被口腔内变异链球菌等细菌分解成粘着性的单糖如葡萄糖、果糖、半乳糖等, 与蔗糖并用时能阻止蔗糖被龋齿病原菌作用而生成水不溶性的高分子葡聚糖(牙垢), 因此无龋齿性并具有抗龋齿性, 适合作为儿童食品的甜味添加剂。

(4) 促进人体对钙的吸收^[3]。摄入低聚

第一作者: 博士研究生, 讲师。

* 江苏省科委“九五”工业科技攻关(No. BE96042)及原国家轻工总会科技攻关(No. 轻科 97023)资助项目

收稿时间 2001-08-13

木糖后,大鼠对钙的消化吸收率可提高 23%,体内钙的保留率提高 21%。因此低聚木糖可作为开发孕妇、老年食品的理想原料。

1.3 低聚木糖在食品、农业、药物等方面的应用研究

由于低聚木糖具有良好的理化特性,①可添加在低 pH 的食品中,如乳酸饮料、醋饮料中,即便长期保存,也不会分解而影响其保健效果;②添加量小,效果显著,故不会破坏原有食品的风味;③添加在焙烤食品中,可保持食品水分,改变面团的流变特性。最近,日本学者应用小鼠实验研究表明,喂养含低聚木糖食物的小鼠,其体重以及脂肪组织重量均低于正常喂养的小鼠^[9]。用低聚木糖作为营养物栽培的农作物,具有抗病、生长迅速和果实产量大等优良性状^[10]。我国学者在“九五”期间也对其作为生物农药的应用可能性及机理进行了深入研究,并取得了一定的进展(尚未发表数据)。

由于低聚木糖具有表面活性部位,可吸附肠道有毒物质及病原菌,提高机体抗病力,激活免疫系统,因此可在医药中广泛应用。含有低聚木糖的难消化性低聚糖可以预防和治疗腹泻^[11]以及降低幼儿耳炎发病率^[12]等。

此外,低聚木糖还是一种效果良好的饲料添加剂。

2 低聚木糖的生产

2.1 低聚木糖生产原料——木聚糖的制备

制备低聚木糖的原料为木聚糖,它在玉米芯、甘蔗渣、棉子壳和燕麦、桦木等农林产品中含量相对较高,平均可达 30% 左右^[13]。存在于植物细胞的细胞壁中,与其他的一些成分以一定的方式相互作用。在低聚木糖生产过程中,这些成分会妨碍木聚糖与木聚糖酶之间的作用,从而降低形成速率和产率,因此在水解之前,必须对原料进行有效地处理,提取出木聚糖。木聚糖的制备方法通常有以下几种:

(1) 直接高温蒸煮提取木聚糖。Sasaka

等^[14]在 1995 年提出的直接高温蒸煮提取法是利用木聚糖含有的乙酰基侧链在高温蒸煮时脱乙酰,形成乙酸,从而使体系的 pH 值下降,木聚糖分子发生自水解而溶解度增加。但高温蒸煮法的提取液中还原糖与总糖之比较低,不利于低聚木糖的生产,且其他副反应随温度变化而较明显^[4]。

(2) 碱法提取木聚糖。日本的 Isao 在酶法制备木聚糖的研究中对原料预处理进行了研究,采用不同稀碱溶液提取木聚糖,取得了较好的结果。

(3) 酸法提取木聚糖。目前,酸法提取木聚糖已成功用于木糖生产。但提取木聚糖存在较大的缺点,比如提取液中木糖比例很高,不能满足低聚木糖的生产要求;在提取过程中会产生许多副反应并生成一些可能的致癌物质,从而影响到终产品的安全性。杨瑞金等在高温蒸煮法的基础上提出酸预处理后湿法蒸煮的方法^[4],副反应大大降低,且工艺上较为可行。

2.2 低聚木糖的生产方法

国内已有文献报道以玉米芯为原料,采用霉菌深层发酵直接生产低聚木糖^[16]。他们筛选出 1 株产低聚木糖的微生物,直接接种到含木聚糖的基质中进行发酵,木二糖对木聚糖转化率可达 52.2%。该法生产低聚木糖虽然工艺和设备简单,但低聚木糖的提取相对困难,且产品色泽很深,产品安全性有待测试,因此不宜用于工业生产。1998 年,日本的 Hiroharu 等人^[17]研究了将固定化米曲霉菌丝置于装有木聚糖悬浮液的反应器中,水解得到低聚木糖,结果表明,该固定菌丝可以连续生产 4 批次并保持较高的酶活和稳定性,但该法生产的低聚木糖中含有大量木糖。

酶法制备是目前生产低聚木糖的主要方法。利用内切木聚糖酶水解木聚糖底物得到的以木二糖、木三糖为主要成分的混合物,因此酶解法的关键在于木聚糖酶对底物的适应性,即选择合适的木聚糖酶。早在 80 年代中后期,日本的入江利夫研究小组就认

为^[18,19],不同来源的木聚糖底物要求使用不同的微生物木聚糖酶。例如,以桦木木聚糖为底物时宜选用绿色木霉产木聚糖酶;以棉子壳、玉米芯等木聚糖为底物时宜选用球毛壳菌(*Chaetomium gracil*)产的木聚糖酶。这是因为,首先木聚糖的结构根据其来源不同而不尽相同,除了木糖残基以 β -1,4糖苷键相连构成的主链外,一般还含有其他种类的糖和其他基团形成的侧链或简单的支叉结构,有的木聚糖还含有乙酰基侧链,因此大多数木聚糖为非均一性多聚糖。其次,木聚糖酶是一类复合酶系,主要包括内切 β -木聚糖酶、端切木聚糖酶、 β -木糖苷酶等。不同来源的酶系组分有所不同。目前,已报道的能产木聚糖酶的微生物有细菌、链霉菌、曲霉、青霉、木霉和毛壳霉等,它们所含的酶系不尽相同,当用于制备低聚木糖时,则希望得到仅从内部切 β -1,4糖苷键的酶,从而得到酶解产物木二糖、木三糖,而希望没有或减少从一端切 β -1,4糖苷键的酶和水解木二糖、木三糖的木糖苷酶。入江利夫等的研究指出,绿色木霉产木聚糖酶对不同来源的木聚糖底物有较好的适应性,因此是较理想的低聚木糖生产用木聚糖酶。后来,他们又转而对球毛壳霉木聚糖酶进行研究,通过对球毛壳霉菌株进行诱变,大幅度提高了球毛壳霉菌株的产木聚糖酶能力,同时也大大改善了木聚糖酶系组成。诱变后菌株(*Chaetomium gracil* 1161)的木聚糖酶酶活从出发菌株的21 U/g培养物提高到2410 U/g培养基(固态发酵),酶液用于水解桦木木聚糖得到的水解产物的低聚木糖与木糖之比也从原来的34/66上升到72/21。他们对球毛壳霉变异菌株1161进行进一步的2.5 t规模的固态发酵生产木聚糖酶的试验,固态发酵的酶活进一步提高到2600 U/g培养基^[17]。日本已将该项技术用于低聚木糖的工业化生产,用玉米芯为原料,碱法制备木聚糖后再用球毛壳菌固定发酵生产。

江南大学(原无锡轻工大学)生物工程学

院陶文沂教授课题组自1996年以来,先后承担了江苏省科技厅“九五”工业攻关项目及国家轻工总局重点科研项目“木聚糖酶的生产 and 应用研究”,已于2000年5月完成了工厂8m³发酵罐规模的生产性实验研究,已经通过江苏省科技厅以及原国家轻工总会组织的专家组验收和鉴定。选育获得了1株产木聚糖酶菌株,该菌株不产纤维素酶,且所产的木聚糖酶酶系中几乎不含木糖苷酶,对不同来源的底物有良好的适应性。利用该菌产的木聚糖酶粗酶直接酶解麸皮、蔗渣以及玉米芯等来源的木聚糖时,所得的水解产物不含木糖,且水解得到的粗品中以木二糖和木三糖2个组分为主,完全符合高纯度低聚木糖生产的要求。该工艺目前已经申请国家发明专利并获受理(申请号:CN00109788.1)^[25]。

2.3 低聚木糖生产研究现状

在日本,低聚木糖被认为是最有前途的功能性低聚糖之一^[1],已实现工业化生产并广泛应用,目前其年产量已超过1500 t。经日本保健食品学术委员会审定,厚生省第64号许可证认定低聚木糖为特定保健用食品添加剂。我国低聚木糖的生产目前还处于研制阶段,尚未有工业化产品面市。

日本市场上销售的低聚木糖产品是三得利公司酶法生产的低聚木糖,有以下4种产品形式:低聚木糖70(液态),2500日元/kg;低聚木糖35(粉末),3000日元/kg;低聚木糖20(粉末),1900日元/kg(其中数字表示低聚木糖对总糖含量百分数),片剂(1.4 g \times 48粒,木聚糖含量25%),每盒单价1580日元^[15],且已经应用于饮料和调味醋等产品。

其他关于低聚木糖的研究仍以日本为多。如野口等人用纸浆漂白用的芽孢杆菌木聚糖酶来制备低聚木糖,又如荒木等用产碱杆菌(*Alcaligenes*)生产的 β -1,3-木聚糖酶。法国Patrice等用梭状芽孢杆菌(*Clostridium*)的木聚糖酶从玉米芯制备低聚木糖^[21]。建议从农林业的废弃物,如玉米芯、麸皮、啤酒糟、桉树中提取木聚糖,再用物

理、化学或生物技术方法制备低聚木糖和木糖醇,并开展应用于药物和食品工业的研究,特别提出了要进行低聚木糖的纯化,结构特征及其作为抗炎药或抗肿瘤剂生物活性量化的研究。

低聚木糖的研究在国内仍处于研究阶段。1997 年蔡静平等^[16]报道了真菌分解玉米芯生产低聚木糖的研究。1999~2000 年吴克^[23]、洪枫^[15]、袁其朋^[24]、杨瑞金^[4]等陆续报道了他们制备低聚木糖的研究结果。

3 问题及展望

获得高纯度低聚木糖的关键之一是选用合适的木聚糖酶系,通过克隆等技术来改造木聚糖酶系将是一条有效的途径。Tomoy-^[22]成功的实现了嗜热脂肪芽孢杆菌的木聚糖酶和 β -木糖苷酶的克隆基因在大肠杆菌上表达,并且 2 种基因既可以同时表达,也可单独表达,也就是说木聚糖酶系的生产可按生产者的要求来进行。但目前还未发展到大规模工业化应用的阶段。与此同时,从自然界中筛选适合的菌株也可行的方法,低聚木糖的纯化方法也是国内外研究者的研究热点,至今未有更大突破。

在国外,尤其在日本,低聚木糖的生理功能已引起人们的高度重视,其年需求量已达 1 500 t。在我国,低聚木糖等功能性食品的出现,不仅将促进我国低聚糖工业向一个新的方向发展,而且还可以处理农林废料,变废为宝,保护环境,具有十分重大的经济效益和社会效益。

参 考 文 献

- 1 胡学智. 工业微生物, 2000(3):44~49
- 2 赵国志,王锡忠,温继发等. 粮油食品科技, 1998(5):18~20
- 3 郑建仙. 功能性食品甜味剂. 北京:中国轻工业出版社, 1997. 174~183
- 4 杨瑞金,许时婴,王璋. 中国食品添加剂. 北京:中国轻工业出版社, 2000. 89~93
- 5 Okazaki M, Fujikawa S, Matsumoto N. Bifidobact. Microflora. 1990(9):77~86
- 6 徐槐. 功能性生物制品, 1995(1):11
- 7 郑建仙,耿立萍. 食品与发酵工业, 1996, 22(1):49~54
- 8 郭本恒,刘文. 杭州食品科技, 2000(1):33~36
- 9 Ino Taeko, Nakahara Koichi, Nishijima Yasushi. JP 98290681
- 10 Hirookas Shoichi, Kamata Sunao, Hasegawa Kaori et al. JP 97278619
- 11 Dohnalek Margaret, Ione Halpin, Karin Margaret et al. JP 9702829
- 12 Dohnalek Margaret, Ione Halpin, Karin Margaret et al. JP 9702830
- 13 尤新. 木糖醇的生产和应用. 北京:中国轻工业出版社, 1984. 7~8
- 14 Sasaka E Ozer. Biotech. and Bioeng. 1995(45):517~523
- 15 洪枫,陈琳,余世凯等. 林产化工通讯, 1999(4):14~19
- 16 蔡静平,黄淑霞,曾实. 微生物学通报, 1995(2):91~94
- 17 Hiroharu Tokoda, Keigo Sato, Kotoyoshi Nakanishi. Biosci. Biotech. Biochem. 1998(4):801~803
- 18 Toshio Irie, Tetsuya konishi, Yasunori Tagoyama et al. Hakkokogakul, 1998(5):405~409
- 19 Toshio Irie, Tetsuya konishi, Toshiaki Kutsuna et al. Hakkokogakul, 1992(1):1~7
- 20 Toshio Irie, Toshiaki Kutsuna, Tetsuya konishi. Hakkokogakul, 1992(4):279~284
- 21 Patrice Pellerin, Michele Gosselin, Jean-paul Lepoutre. Microb. Technol. 1991(8):617~621
- 22 Tomoya Baba, Rya Shinke, Takashi Nanmori. J. Appl. Glycosci. 1996(3):373~376
- 23 吴克,张洁,刘斌等. 无锡轻工大学学报, 1999, 18(5):46~47
- 24 袁其朋,马润宇,张华军. 无锡轻工大学学报, 1999, 18(5):159~161
- 25 陶文沂,许正宏,孙志浩等. 高纯度低聚木糖的酶法生产, 中国专利(申请号:CN00109788.1)

Research Progress of Production and Application of Xylo-oligosaccharide

Xu Zhenghong Xiong Xiaojing Tao Wenyi

(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036)

ABSTRACT Xylo-oligosaccharide is a kind of functional oligosaccharide, it can be extensively applied in industry. The research progress of physical-chemical properties, production and application of xylo-oligosaccharide is introduced in this article.

Key words xylo-oligosaccharide, xylanase, research progress