

黄原胶降解的研究进展

江丽丽 张 庆 徐世艾*

(烟台大学化工制造工程山东省高校重点实验室 烟台 264005)

摘 要: 综述了黄原胶的理化特性、降解意义及降解方法, 重点介绍了生物法降解黄原胶的国内外研究进展, 并对降解黄原胶的研究方向提出了寻求更多降解途径、开发寡糖产品等建议。

关键词: 黄原胶, 降解, 寡糖

Review of Research on Xanthan Gum Degradation

JIANG Li-Li ZHANG Qing XU Shi-Ai*

(Shandong Provincial Key Laboratory of Chemicals Manufacture Engineering, Yantai University, Yantai 264005)

Abstract: The progress in the biochemistry and degradation of xanthan gum were reviewed. Significance and technique of xanthan gum degradation were stressed. Biodegradation was discussed significantly and prospect of xanthan degradation was depicted.

Keywords: Xanthan gum, Degradation, Oligosaccharide

黄原胶(xanthan gum)是一种由野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)分泌的胞外水溶性多糖, 在食品、石油、医药、日用化工等领域都有着广泛的应用。目前国内外对黄原胶发酵、提取、特性及其应用研究较多, 但对其降解及制取寡糖的研究较少。

1 黄原胶的结构

黄原胶是由 D-葡萄糖、D-甘露糖和 D-葡萄糖醛酸构成的五糖重复单位, 葡萄糖以 β -(1, 4)-糖苷键相连, 构成其纤维素主链, 间隔的葡萄糖基上联接由 β -D-甘露糖- β -D-葡萄糖醛酸- α -D-甘露糖组成的侧链。与主链相连的甘露糖通常由乙酰基修饰, 侧链末端的甘露糖与丙酮酸发生缩醛反应而被修饰^[1] (见图 1)。

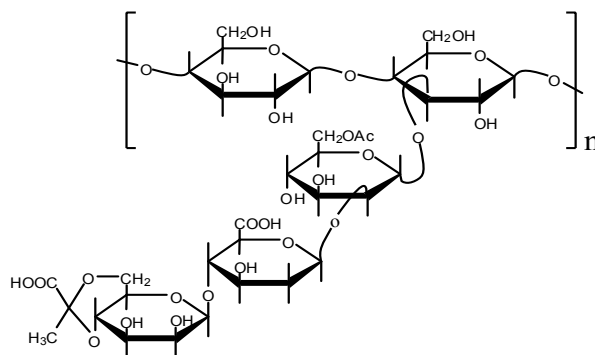


图 1 黄原胶的分子结构

Fig. 1 Structure of xanthan gum

由于侧链含有酸性基团, 因此黄原胶在水溶液中呈现多聚阴离子特性。黄原胶分子的带电荷侧链反向缠绕纤维素主链, 形成类似棒状的一级刚性结构, 使主链不易受到酸、碱和酶的攻击; 黄原胶分子

间靠氢键作用形成双链螺旋的二级立体结构, 双链螺旋结构赋予了分子很好的抗性来抑制自由基、酸、酶或反复冻融对分子的降解。因此, 黄原胶具有良好的稳定性。

2 研究黄原胶降解的意义

2.1 探讨黄原胶构效间关系的信息

近年来的研究报道了由野油菜黄单胞菌的突变菌株分泌的侧链缩短的黄原胶, 表明侧链长度的变化能够影响黄原胶的流变学性质。将由野油菜黄单胞菌的突变菌株分泌由重复的四糖单位(侧链由二糖构成, 图 2A)和三糖单位(侧链为单糖, 图 2B)组成的黄原胶, 与野生型黄原胶相比, 发现四糖单位组成的聚糖(图 2A)使溶液粘度增加的作用很弱^[2], 而由三糖单位(图 2B)组成的聚糖在相同质量浓度下使溶液粘度增大的能力要大于野生型黄原胶^[3]。因为突变株所产黄原胶的主链长度不同, 侧链长度对黄原胶粘度等特性的影响难以判断。生物降解则可能解决这个问题, 在合适的降解条件下, 将黄原胶侧链上的单糖逐个剥离, 逐一研究其性质, 并与野生型相比较, 可得到关于功能的关键组成位点的信息。

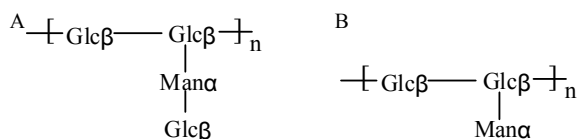


图 2 突变株所产黄原胶

Fig. 2 Modified xanthan

2.2 制备有特殊生物活性的寡糖产品

寡糖是哺乳动物细胞表面糖蛋白和糖脂以及微生物来源的生理活性物质的要素之一, 某些寡糖在抑菌、促进肠道双歧杆菌生长、改善动物肠道内菌群分布、提高免疫力、抑制肿瘤生长、保护机体受损细胞、抗氧化等方面有着神奇的功效, 而且无危害, 造成了目前寡糖工程在国际上竞相研究、炙手可热的局面。制备寡糖的方法有: 酶法降解多糖、化学法降解多糖、从天然物质中提取、化学合成、生物合成等。

黄原胶降解产生的寡糖是否也拥有某种生物活性的疑问激起了人们强烈的兴趣。目前已有报道发现: 黄原胶寡糖具有抗氧化活性, 能够在体外清除

1, 1-二苯基-2-苦基肼(DPPH·)、羟自由基(·OH)、超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)等自由基; 抑制 H_2O_2 诱导的小鼠红细胞溶血; 抑制并杀灭红色毛癣菌、石膏样小孢子菌、孢子丝菌、犬小孢子菌等浅表皮肤致病性真菌; 有较强的植物诱抗活性^[4]。

产生黄原胶的野油菜黄单胞杆菌是引起油菜发生茎腐病的致病菌, 每年可使油菜减产 30%左右。何晓燕等的研究发现, 黄原胶寡糖可抑制黄单胞杆菌的生长, 据此认为黄原胶寡糖具有潜在的防治油菜茎腐病能力^[5]。

2.3 制备具有新的理化特性的黄原胶

黄原胶分子量、侧链长度、侧链取代基的变化, 可引起其流变学、溶解度、分散度等方面性质的改变, 与其他分子的协同作用也将改变^[6]。生产具有新的理化特性的黄原胶, 例如, 在石油钻探工业中, 抗高温氧化的黄原胶将很有价值。使用降解黄原胶制备新的凝胶体系的研究也有报道, 将降解黄原胶与降解瓜胶^[7]或降解黄原胶与降解魔芋胶^[8]等在一定条件下共混, 可形成良好的凝胶体系。也可使用突变株生产具有新特性的黄原胶, 但突变株产黄原胶的得率较低^[9]。

2.4 提高黄原胶的工业应用效果

黄原胶的高度稳定性带来的影响有利有弊, 它在增大黄原胶应用范围的同时, 也产生了一些问题。比如在采油业中, 黄原胶应用于钻井、完井、调剖堵水及 3 次采油, 被形象地喻为“油井的优质催产素”。但黄原胶的使用也使得采出液原油物性发生变化, 原油密度增加, 粘度增大, 采出液含聚浓度增加, 原油乳化状态复杂, 增加了污水处理的难度, 增加了后续工艺如油料运输及产品纯化的成本^[10]。唯有做到可方便地将黄原胶降解, 才可使得对黄原胶的应用做到“进可攻, 退可守”。

另外, 通过对黄原胶降解的研究, 掌握黄原胶溶液增粘性、假塑性等特性变化的规律, 对于如何使含黄原胶的钻井液、压裂液等工作液在现场施工时避免失效有重要意义。

3 黄原胶降解的方法

多糖的降解通常可通过物理法(加热、超声波等)、化学法(酸、碱、氧化剂等)、生物法(酶解)来实现。对于制备寡糖来说, 物理法设备受限, 难以实

现工业化生产,且过程伴有支化和交联反应;化学法过程简单但降解无规则,易生成单糖,并伴有结构变化和副产物产生^[11];酶法则反应条件温和,选择性相对较好,是理想的多糖降解方法^[12]。

3.1 化学降解

梁凤来等报道,0.5 g/100 mL的黄原胶水溶液,85 °C高温放置 60 d,黄原胶在高温环境中与氧化性物质作用而发生热氧化降解,粘度损失可接近90%^[13]。李银素等通过对比氧饱和状态及氧不饱和状态的降解曲线,认为热氧化降解过程中导致黄原胶降解的主要原因是氧,高温加快了降解的速度^[14]。目前的研究多从黏度下降的角度来研究黄原胶的化学降解,以针对性的解决黄原胶在现场施工时可能发生的失效问题。

黄成栋用多种酸、碱、氧化剂处理黄原胶,采用薄层层析对产物进行分析,发现产物大多是单糖,认为化学降解这种非专一性的剧烈反应很难得到具有高附加值的寡糖产品^[15]。

3.2 单一酶降解

1980年,M Rinaudo等报道用一种纤维素酶对处于不规则构象的黄原胶主链进行随机降解,然而,对于具有规则的螺旋构象的黄原胶而言,该酶几乎没有降解作用。原因可能是由于处于不规则构象的黄原胶分子失去了双螺旋结构的保护,因此更易受攻击^[16]。

李志东等对加入 β -甘露聚糖酶使黄原胶降解进行了报道^[17]。在pH 7,温度为 90 °C的体系下,5 mg/mL的黄原胶溶液中加入体积分数为5%的 β -甘露聚糖酶,反应时间 2 h,可以使黄原胶的粘度降低98.9%。与此相反,吴襟等认为 β -甘露聚糖酶只能专一性的作用于 β -(1,4)-甘露糖苷键,而对黄原胶没有降解作用^[18]。

3.3 多种酶降解

Ruijssenaars等在从土壤中分离出 1 株类芽孢杆菌(*Paenibacillus alginolyticus* XL-1),该菌能够降解约整个黄原胶分子的 20%,而不会攻击葡聚糖主链。该菌利用黄原胶的过程中可分泌几种能降解黄原胶的酶,其中包括黄原胶底物诱导酶——黄原胶裂解酶。黄原胶裂解酶可专一性地作用于黄原胶的丙酮酸化的甘露糖侧链,受葡萄糖及低分子降解产物的抑制^[19]。

1982年,美国农业部北方研究所的Cadmus等人发现了耐高温耐盐的降解黄原胶杆菌群,该菌群在 65 °C的含盐条件下仍可分泌黄原胶酶,可作为黄原胶压裂液的降粘剂^[20]。该菌群降解黄原胶的产物有丙酮酸化的甘露糖和有支链的寡糖,因此作用于黄原胶的酶至少有 2 种,一种酶作用于黄原胶侧链,使侧链末端的丙酮酸化甘露糖断裂下来;另一种酶作用于主链的 β -(1,4)-D-葡聚糖苷键,使长链分子降解为寡糖^[21]。Ching等也发现了可降解黄原胶的耐盐菌群,降解产物为葡萄糖、葡萄糖醛酸、甘露糖、丙酮酸化甘露糖、乙酰化甘露糖和寡糖、多糖。经胞外粗酶处理 18 h,黄原胶的平均分子量从 6.5×10^6 下降到 6.0×10^4 。从防止增粘剂粘度下降的角度研究该酶的作用条件,发现该酶在无氧条件下仍可保持活性, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 、少量的生物灭活剂如甲醛(25 ppm)、2,2-二溴磷-3-腈(10 ppm)不能抑制降解酶的活性。50 ppm的甲醛可以有效地抑制黄原胶的降解^[22]。

近来日本京都大学的Nankai等人报道从土壤中分离出 1 株完全降解黄原胶的芽孢杆菌(*Bacillus* sp. strain GL1),并通过研究胞内及胞外酶作用后产物的分子量及结构,阐明了该菌降解黄原胶的途径^[6]。黄原胶的降解过程是在*Bacillus* sp. strain GL1分泌的 5 种胞外酶及胞内酶作用下共同完成(见图3)。首先,在胞外黄原胶裂解酶的作用下,黄原胶侧链上丙酮酰基化的甘露糖与葡萄糖醛酸残基之间糖苷键的断裂,随后,没有末端甘露糖残基的黄原胶主链,受到胞外 β -D-葡聚糖酶的攻击,转化为四元糖。四元糖在胞内被 β -D-葡萄糖苷酶转化,生成结构为不饱和葡萄糖醛酸-乙酰甘露糖-葡萄糖的三糖,然后,在胞内不饱和葡萄糖醛酸酶的作用下,不饱和葡萄糖醛酸从三糖上断裂下来,三糖转化为甘露糖-葡萄糖双糖,最后双糖经 α -D-甘露糖苷酶水解为甘露糖和葡萄糖。其中编码黄原胶裂解酶的基因已经测出,并可使用大肠杆菌生产这种酶^[23]。

中国科学院大连化学物理研究所的黄成栋、刘晗等从土壤中分离出一株鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)的菌株XT-11^[4,15],该菌可产生主链降解酶和侧链降解酶,该酶(粗酶)对温度敏感,最适反应温度为 30 ~40 °C;pH稳定性强,最适 pH 的范围为 5.0~7.0;对金属离子耐受性强,一价、二价的主族金属离子对酶活没有影响,而过渡金属离子以及

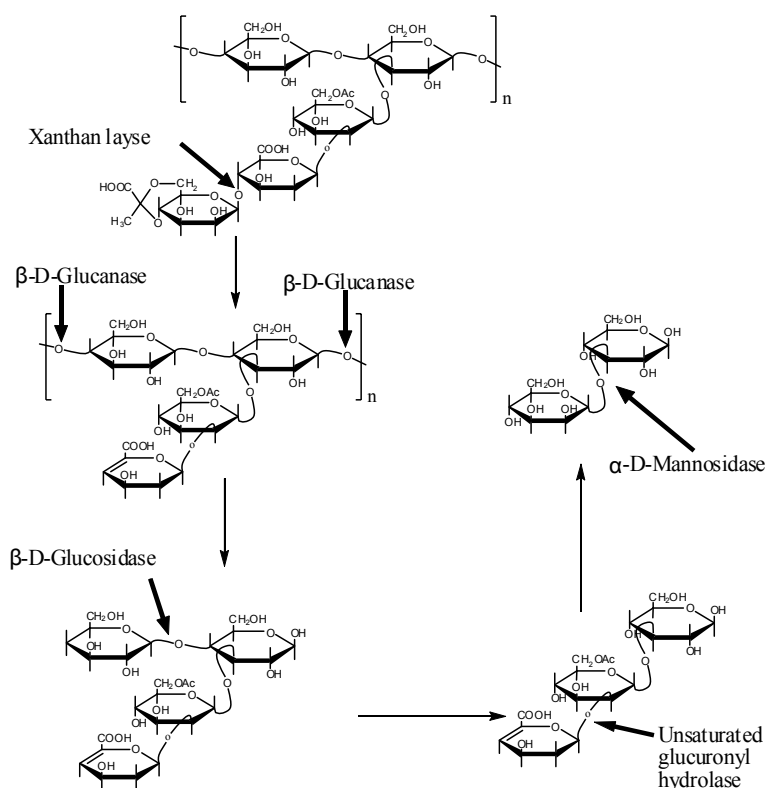


图3 芽胞杆菌 *Bacillus sp. strain GL1* 降解黄原胶的途径
Fig. 3 Xanthan depolymerization pathway in *Bacillus sp. strain GL1*

EDTA 则会大幅降低酶活力, 加入 Ca^{2+} 后能够很大程度的缓解EDTA的抑制作用^[24], 能够专一性地降解黄原胶, 降解产物包括单糖、分子量范围为 500~1000 的寡糖、不溶于水的纤维素。对该黄原胶寡糖活性进行研究, 发现黄原胶寡糖拥有较强的抑制真菌生长的能力, 而对细菌则没有抑制作用; 黄原胶寡糖还拥有很强的抗病毒活性, 一定的植物诱抗活性以及较强的抗氧化活性。

4 结论与展望

黄原胶的降解可通过化学法、酶法等实现, 早期研究黄原胶的降解目的有 2 个: 1) 抑制降解的实现, 以避免黄原胶作为增稠剂时失效。2) 在石油工业中用作破胶剂。随着寡糖研究的升温, 人们开始关注降解黄原胶生产寡糖的可能性。尽管黄原胶的分子结构比较稳定, 但其生物降解仍可通过数种菌产生的多种酶来实现, 降解产物在分子量大小及组成方面不尽相同, 有些黄原胶寡糖具有抗氧化、抑菌及植物诱抗活性。对于黄原胶的降解, 国外较偏重于对降解机理、编码降解酶的基因等理论的研究,

国内则更重视对降解产物的应用研究。

总结国外黄原胶降解的研究现状和发展趋势, 为提高黄原胶的应用范围, 得到更高附加值的产品, 可在以下方面进行深入研究:

- 1) 寻找更多可降解黄原胶的菌株与酶, 以期可在多种环境下降解黄原胶, 得到更丰富多样的降解产物。
- 2) 加强对黄原胶降解产物生物活性的研究, 开发不同功效的黄原胶寡糖产品。
- 3) 开展对黄原胶限制性降解产物理化性质的研究, 改进黄原胶的分散性等性质, 进一步拓宽黄原胶产品的市场。

参考文献

- [1] Jansson, PE, Kenne L, Lindberg B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydr Res*, 1975, **45**: 275-282.
- [2] Levy S, Schuyler SC, Maglothlin RK, *et al*. Dynamic simulations of the molecular conformations of wild type and mutant xanthan polymers suggest that conformational differences may contribute to observed differences in

- viscosity. *Biopolymers*, 1996, **38**: 251–277.
- [3] Hassler RA, Doherty DH. Genetic engineering of polysaccharide structure: production of variants of xanthan gum in *Xanthomonas campestris*. *Biotechnol Prog*, 1990, **6**: 182–187.
- [4] 黄成栋. 黄原胶的降解、产物寡糖结构的初步分析及生物活性探寻. 大连: 中国科学院大连化学物理研究所, 2004.
- [5] 何晓燕, 张利英, 白雪芳, 等. 黄原胶寡糖生物活性的研究. *微生物学通报*, 2005, **32**(3): 87–90.
- [6] Nankai H, Hashimoto W, Miki H, *et al*. Microbial system for polysaccharide depolymerisation: enzymatic route for xanthan epolymerisation by *Bacillus* sp. Strain GL-1. *Appl Environ Microbiol*, **65**: 2520–2526.
- [7] 关琛, 方波, 侯玉梅, 等. 降解瓜胶与降解黄原胶的协同凝胶化及其流变性研究. *食品科技*, 2007, **3**: 26–31.
- [8] 姚珺斐, 方波, 卢拥军, 等. 降解黄原胶与降解魔芋胶形成的凝胶体系的流变性. *华东理工大学学报*, 2006, **32**(8): 902–905.
- [9] Vanderslice RW, Doherty DH, Capage MA, *et al*. Genetic engineering of polysaccharide structure in *Xanthomonas campestris*. In: Crescenzi V, Dea M, Paolett S, Stivala S, *et al*. Biomedical and biotechnological advances in industrial polysaccharides. New York: Gordon and Breach, 1989, pp. 145–156.
- [10] 陈衡. 油田高含聚采油废水油水分离剂技术研究. 青岛: 中国海洋大学硕士论文, 2006.
- [11] 庄新姝, 王树荣, 袁振宏, 等. 纤维素超低酸水解产物的分析. *农业工程学报*, 2007, **23**(2): 177–182.
- [12] 高荣海, 李长彪, 孟宪文, 等. 大豆异黄酮糖苷水解工艺的研究. *中国油脂*, 2007, **32**(5): 52–55.
- [13] 梁凤来, 王玉香, 田义英. 黄原胶溶液热稳定剂的研究. *南开大学学报*, 2006, **33**(2): 99–101.
- [14] 李银素, 骆荣, 黄献西, 等. 黄原胶抗温稳定性的研究. *中国海上油气*, 1996, **8**(3): 53–57.
- [15] 刘晗. 黄原胶寡糖酶法制备及水解酶分泌菌株的定性. 大连: 中国科学院大连化学物理研究所, 2006.
- [16] Rinaudo M, Milsa M. Enzymic hydrolysis of the bacterial polysaccharide xanthan by cellulose. *Int J Biol Macromol*, 1980, **2**: 45–48.
- [17] 李志东, 蔡雯瑾, 李娜, 等. β -甘露糖酶降解黄原胶的工艺参数研究. *青岛科技大学学报*, 2007, **28**(1): 12–15.
- [18] 吴襟, 段子渊, 高启禹, 等. 诺卡氏菌形放线菌-甘露聚糖酶的水解特性. *微生物学通报*, 2006, **33**(4): 31–35.
- [19] Harald J Ruijsenaars, Jan AM de Bont, *et al*. A pyruvated mannose-specific xanthan lyase involved in xanthan degradation by *Paenibacillus alginolyticus* XL-1. *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**(6): 2446–2452.
- [20] Cadmus MC, Jackson LK, Burton KA, *et al*. Biodegradation of xanthan gum by *Bacillus* sp.. *Appl Environ Microbiol*, 1982, **44**: 5–11.
- [21] Martin C, Cadmus, Morey E, *et al*. High-temperature, salt-tolerant xanthanase. *Journal of Industrial Microbiology*, 1989, **4**: 127–133.
- [22] Ching TH, Nancy B, Kathy G, *et al*. Biodegradation of xanthan by salt-tolerant aerobic microorganisms. *Journal of Industrial Microbiology*, 1986, **1**: 31–37.
- [23] Hashimoto W, Miki H, Tsuchiya N, *et al*. Polysaccharide lyase: molecular cloning, sequencing and over expression of the xanthan lyase gene of *Bacillus* sp. strain GL1. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**(2): 713–720.
- [24] 黄成栋, 王洪荣, 白雪芳, 等. 黄原胶降解菌的筛选及其降解酶性质的研究. *微生物学通报*, 2005, **32**(1): 32–37.