

发酵法精制大豆低聚糖的研究

袁其朋 马润宇 张 鑫

(北京化工大学化学工程学院 北京 100029)

摘要: 研究了三种面包酵母对大豆低聚糖碳源利用的选择性。结果表明: 面包酵母 C 可选择性地利用蔗糖, 而水苏糖和棉子糖的保留率大于 96%; 通过添加酵母膏, 经过 36h 培养, 面包酵母 C 可全部利用大豆低聚糖中的蔗糖。进一步研究表明, 以大豆乳清废糖浆为原料直接发酵再经下游处理, 可得到蔗糖含量低于 1.3% 的精制大豆低聚糖干粉。

关键词: 发酵, 面包酵母, 大豆低聚糖

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2001) 06-0056-04

PURIFICATION OF SOYA OLIGOSACCHARIDE BY FERMENTATION

YUAN Qi-Peng MA Run-Yu ZHANG Xin

(College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029)

Abstract: Selection of utilization of carbon source in soya oligosaccharide by three strains of *S. cerevisiae* was studied. The results showed that *S. cerevisiae* C could selectively utilize sucrose and the residual rate of stachyose and raffinose could be more than 96%. Using yeast extract as nitrogen source, the sucrose could be used up after 36 hours of culture. Further study showed that the content of sucrose in soya oligosaccharide powder was less than 1.3% after fermentation of waste water of soy whey and downstream processing.

Keywords: Fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, Soya oligosaccharide

大豆低聚糖是重要的功能性食品之一, 可选择性地促进人体肠道内的有益菌——双歧杆菌的生长, 且具有稳定性好、甜度低及热值低等良好的理化性质, 对保障人体健康具有重要的作用^[1]。在日本, 大豆低聚糖产品于 1989 年 2 月上市, 糖浆状产品价格高达 700 日元/公斤, 当年销售大豆低聚糖饮料 8000 万瓶^[2]。1990 年上市含大豆低聚糖的糖果, 迄今已应用到食品工业的各个领域。大豆低聚糖还是至目前为止美国 FDA 唯一认可应用于食品的功能性低聚糖。我国是大豆的故乡, 也是大豆制品的发源地之一, 充分利用我国大豆资源, 开发应用大豆低聚糖, 提高保健食品的营养保健作用对提高消费者的健康水平有积极作用。

普通型大豆低聚糖以生产大豆浓缩蛋白的副产物大豆乳清为原料, 经除蛋白、脱色、脱盐及真空浓缩而得到, 其组成为水分 24%、水苏糖 18%、棉子糖 6%、蔗糖 34%、其他 18%^[3]。由于含有较多的蔗糖, 糖尿病患者不能直接服用, 也不适用于肥胖症患者。而脱除蔗糖的精制大豆低聚糖则可克服上述缺点, 适用于所有人群, 应用范围广泛。

传统的精制大豆低聚糖通常通过柱层析或离子交换技术脱除蔗糖, 放大困难且成本较高。本文提出一种新的精制大豆低聚糖制备方法, 即考虑微生物对底物利用的选择性, 通过菌种筛选, 得到能选择性利用蔗糖的微生物, 控制合适的发酵条件, 以除

去大豆低聚糖中的蔗糖。

1 材料与方法

1.1 菌种

面包酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* A, B, C) 购于中科院微生物所, 经选育诱变而得。

1.2 培养基

普通型大豆低聚糖或大豆乳清添加少量蛋白质或蛋白胨酵母膏, pH6.2。

培养条件: 250mL 摇瓶装培养基 50mL, 在 1×10^5 Pa 下灭菌 15min。接种后置 TZ-2EH 台式恒温振荡培养箱在 180r/min, 30℃ 摇瓶培养, 厌氧发酵。定时取样分析。

1.3 分析方法

大豆低聚糖用 HPLC 进行分析 (北京农科院蔬菜所分析测试中心)。

色谱条件: 柱温, 80℃; 流动相, 超纯水, 0.5mL/min; 检测器, RID-6A。

柱型: Alltech 700CH Carbohydrate Column, 长 300 mm, 内径 6.5mm。

标样蔗糖、棉子糖由北京化学试剂公司购得, 水苏糖由美国 Sigma 公司购得。

1.4 大豆乳清废糖浆组成

乳清废糖浆物化特性 大豆乳清废糖浆来源于生产大豆异黄酮的副产物, 由华北制药厂 107 车间提供, 其各项指标如表 1 所示。

表 1 大豆乳清废糖浆中蛋白质及糖含量

组分名称	蛋白质	水苏糖	棉子糖	蔗糖	葡萄糖	木糖	果糖	总糖
含量 (%)	9.75	7.48	4.68	11.62	2.03	2.17	1.20	29.18

1.5 普通型大豆低聚糖组成

普通型大豆低聚糖由本实验室自制, 原料由华北制药厂 107 车间提供, 组成如表 2 所示。

表 2 普通型大豆低聚糖组成

组分名称	水分	水苏糖	棉子糖	蔗糖	葡萄糖	木糖	果糖	总糖
含量 (%)	22.47	19.30	8.20	33.70	6.21	6.52	3.60	77.53

2 结果与讨论

2.1 菌种对底物利用的选择性

配制总糖浓度为 5% 的普通型大豆低聚糖溶液, 灭菌后接种培养, 定期取样检测。结果如表 3 所示。

表 3 不同面包酵母发酵后大豆低聚糖的保留率 (%)

培养时间 h	酵母 A			酵母 B			酵母 C		
	水苏糖	棉子糖	蔗糖	水苏糖	棉子糖	蔗糖	水苏糖	棉子糖	蔗糖
12	100	100	67.2	96.3	98.6	79.1	100	100	77.2
24	99.1	99.4	55.3	94.5	96.4	68.3	99.6	100	65.4
36	94.2	98.7	44.3	87.2	95.3	54.3	96.2	98.8	56.7
48	86.7	97.2	42.1	65.3	89.5	48.1	94.7	97.2	48.8
120	74.2	87.3	37.2	44.2	77.1	43.2	88.6	94.3	35.6

从表 3 可以看出, 酵母 B 的选择性最差, 在蔗糖被利用的同时, 水苏糖和棉子糖也被大量利用。酵母 C 的选择性最好, 经过 120h 培养, 水苏糖和棉子糖的残留率分别为 88.6% 和 94.3%, 而蔗糖则有 64.4% 被利用。酵母 A 的选择性介于 B 和 C 之间, 因此可利用酵母 C 对碳源利用的选择性进行大豆低聚糖的精制。

2.2 添加酵母膏对发酵过程的影响

在表 3 中, 尽管酵母 C 选择性较好, 但经过 120h 的培养, 仍残留有相当量的蔗糖, 其主要原因是在发酵过程中无氮源加入, 以致酵母生长过程中缺乏氮源。因此, 我们在培养基中加入不同含量的酵母膏, 灭菌后接种培养, 结果如表 4 所示。

表 4 不同酵母膏添加量对大豆低聚糖保留率的影响 (%)

培养时间 h	酵母膏浓度 0.2%			酵母膏浓度 0.5%			酵母膏浓度 1.0%		
	水苏糖	棉子糖	蔗糖	水苏糖	棉子糖	蔗糖	水苏糖	棉子糖	蔗糖
12	100	100	27.2	100	100	24.1	100	100	22.6
24	99.3	99.8	14.7	99.5	99.7	2.1	99.6	100	1.4
36	96.4	98.7	7.5	96.2	98.3	未检出	96.2	98.8	未检出
48	94.5	97.6	5.8	94.1	97.5	未检出	94.7	97.2	未检出
120	87.2	94.8	3.2	86.2	92.1	未检出	88.6	94.3	未检出

注: 酵母 C 大豆低聚糖浓度为 5%

从表 4 可以看出, 当酵母膏浓度为 0.5% 和 1.0% 时, 经过 36h 的培养, 发酵液中蔗糖均已检测不到, 而水苏糖和棉子糖的残留率均在 96% 以上。而从经济角度考虑, 针对 5% 的大豆低聚糖溶液, 酵母膏浓度以 0.5% 为宜。

2.3 大豆乳清废糖浆直接发酵生产精制大豆低聚糖

大豆乳清废糖浆中含有一定量蛋白质, 可作为酵母生长的氮源, 若以此为原料, 经发酵除去蔗糖, 再进行下游处理, 则可大幅度降低生产成本。将大豆乳清废糖浆加水稀释, 配制成大豆低聚糖浓度约为 5% 的溶液, 灭菌后接种培养, 每 8h 取样分析, 结果如图 1 所示。

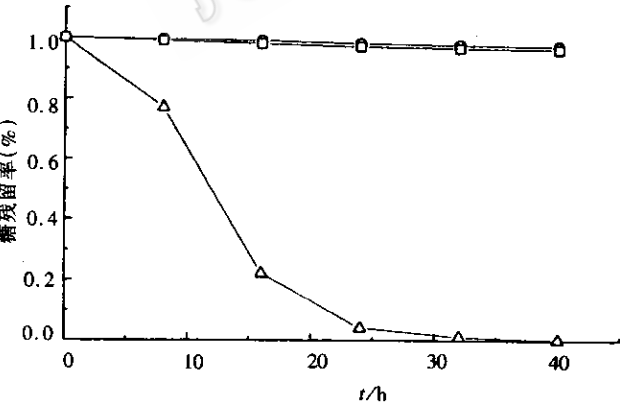


图 1 大豆乳清废糖浆直接发酵糖的残留率与培养时间的关系

—○— 棉子糖, —□— 水苏糖, —△— 蔗糖

从图中可以看出, 经过约 32h 的培养, 培养基中蔗糖浓度已接近 0, 而此时水苏糖和棉子糖的残留率均大于 96%。因此, 以大豆乳清废糖浆为原料直接加水稀释再经发酵除去蔗糖是可行的, 可减少生产普通型大豆低聚糖的纯化工序。

2.4 大豆低聚糖浓度对发酵过程的影响

大豆乳清废糖浆中总糖含量约为 30%, 根据制备普通型大豆低聚糖的研究结果, 絮凝除蛋白时需将大豆乳清废糖浆稀释到含糖约为 10%。而发酵法除蔗糖过程中发酵液的总糖浓度越高, 则下游处理浓缩所需费用越低, 考虑到絮凝蛋白的需要, 我们研究糖浓度为 8% 和 10% 两种条件下发酵过程中各糖浓度的变化。

表 5 大豆低聚糖浓度对大豆低聚糖保留率的影响 (%)

培养时间 h	低聚糖浓度 8.0%			低聚糖浓度 10%		
	水苏糖	棉子糖	蔗糖	水苏糖	棉子糖	蔗糖
12	100	100	27.2	100	100	24.1
24	99.3	99.8	1.7	99.5	100	2.1
36	96.4	98.7	未检出	96.7	98.9	未检出

从实验中发现, 当大豆低聚糖浓度为 8% 和 10% 时, 酵母菌生长良好, 而从表 5 的结果可以看出, 在这两种糖浓度下, 经过 36h 的发酵, 蔗糖均可被全部除去, 而水苏糖和棉子糖的残留率均在 96% 以上。

2.5 发酵液的下游处理

大豆乳清废糖浆经稀释、发酵后, 发酵液中尚含有酵母、蛋白质、色素及酵母代谢产物乙醇等, 要得到精制大豆低聚糖尚需去除上述杂质。

利用絮凝和离心, 可同时除去酵母和蛋白, 絮凝剂选 $Al(OH)_3$, 用量为 1L 发酵液加入 5g $Al(OH)_3$ 。离心条件: 转速 12000r/min, 10min。可得到澄清透明的发酵液。此过程低聚糖基本无损失。

脱色: 用活性炭脱色, 活性炭用量为料液体积的 1.0%。条件: 80℃ 搅拌 30min, 静置保温 40min, 趁热过滤。此过程低聚糖收率为 88.9%。

脱盐: 用离子交换树脂脱盐, 树脂采用上海树脂厂生产的 732 强酸性阳离子交换树脂和 701 弱碱性阴离子交换树脂。此过程低聚糖收率为 95.6%。

浓缩: 采用减压蒸馏, 真空度 730mmHg。浓缩至总糖浓度约为 15%。

喷雾干燥: 离心喷雾干燥, 进口温度 150℃、出口温度 70℃、喷头转速 21000r/min。

用上述方法生产的精制大豆低聚糖与日本生产的精制大豆低聚糖组成如表 6 所示^[3]。结果表明, 发酵法生产的精制大豆低聚糖中蔗糖含量明显低于日本生产的精制大豆低聚糖。

表 6 大豆低聚糖组成 (%)

产品	水分	水苏糖	棉子糖	蔗糖	其他
日本生产	24	52	17	5	2
发酵法生产	2.7	68	24	1.3	4

参 考 文 献

[1] 胡学智. 工业微生物, 1997, 27 (1): 30~39.
[2] 金其荣, 徐 勤. 食品科学, 1994, 11: 7~12.
[3] 郑建仙. 功能性食品甜味剂. 北京: 中国轻工业出版社, 1997, 143.