

会员登录

用户名:
密码:
验证码: 9700

登陆 注册

相关文章

- 不同酸度条件对紫花苜蓿叶蛋...
- 不同酶解条件对豆粕降解的影...
- 四种植物活性提取物对菜籽油...
- 富含β-胡萝卜素的菌体饲料制...
- 两种氨基酸水杨醛席夫碱及其...
- 包埋法制备凝胶珠条件的试验...
- 氧化时长对不同油脂过氧化指...
- 脂肪酸钙生产工艺参数的筛选...
- 压力传感器产气体系与注射器...
- 碱式碳酸铜生物效价的研究
- 脱毒油茶粕饲料在罗非鱼养殖...
- 不同铬源在高添加水平下对肉...

合作伙伴



啤酒酵母多糖提取工艺条件的研究

作者:吴小刚 吴周和 吴传茂 期号:2006年第9期

摘要 试验研究了从啤酒酵母中提取胞壁多糖的提取工艺。提取工艺路线为:酵母溶解→冻融→超声波破碎→碱溶→中和→沉淀→洗涤→烘干。通过正交试验对酵母破壁和碱溶条件进行优化,寻求最佳的工艺条件,多糖得率为19.4%,用苯酚-硫酸法测定多糖的含量为51.9%。

关键词 酵母多糖;破壁;碱溶;提取工艺
中图分类号 Q815

Studying on craft condition of beer yeast polysaccharide - extracting
Wu Xiaogang, Wu Zhouhe, Wu Chuanmao

Abstract This experiment is studying on the craft of polysaccharides extraction from beer yeast cell-wall. The craft route drawn: yeast dissolve→freeze thawing→ultrasonic crush→alkali abstraction→neutralize→deposit→solvent wash→dry. Seek the best craft condition, as well as optimize conditions of crush wall and alkali dissolving by orthogonal experiment, yield of polysaccharide is 19.4%. Determination with phenol-sulphuric acid law, content of polysaccharide is 51.9%.

Key words yeast polysaccharide; crash wall; alkali dissolving; extracting craft

近年来,多糖及多糖复合物在生物体的作用越来越受到生物学家们的重视,成为生物学研究热点之一。酵母细胞壁中60%是多糖(polysaccharide),其主要成分是葡聚糖(glucan)和甘露聚糖(mannan) [1],它们在人的消化道中难以被消化,可以作为膳食纤维发挥作用,并具有增强免疫力、提高巨噬细胞活性、抗病毒等功效;酵母多糖在食品中还可做增稠剂;还有保湿、成膜、无刺激性的特点。故广泛用于医药、食品、化妆品、饲料等行业,也被称为“生物反应修饰物(BRM)” [2]。目前,对啤酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)的综合利用大多数集中在对其中的蛋白质、核酸、维生素、微量元素和酶方面,对其细胞壁多糖的开发应用研究很少 [3]。每年我国500多家大型啤酒生产企业排弃的废酵母泥多达几十万吨。本课题主要是研究采用现代生化分离技术从啤酒酵母中提取酵母细胞壁中碱性多糖,对其进行分离纯化,旨在选择一条适宜的工艺路线,寻求最佳工艺条件,制备胞壁多糖,为酵母多糖的开发应用提供参考。

1 试验材料与仪器

啤酒酵母粉(湖北某酵母有限公司提供)。氢氧化钾(天津市化学试剂厂)、35%醋酸(郑州化学试剂厂)、95%乙醇(天津石英厂霸州市化工分厂)、丙酮(湖北省化工科技开发公司华飞化学试剂厂)、乙醚(上海马陆制药厂)、浓硫酸(洛阳市化学试剂厂)、苯酚(上海试剂一厂)均为分析纯。

超声波细胞粉碎机(TY92-II型)、电热恒温水浴锅(HH-sy11-Ni2型,北京长源实验设备厂)、精密增力电动搅拌机(JJ-1型,常州国华电器有限公司)、低速自动平衡离心机(KDZ5-2型,北京医用离心机厂)、可见分光光度计(722S型,上海精密科学仪器有限公司制造)、电子天平(BP211D,德国 Sartorius公司)、真空干燥箱(DZF-6020,上海精宏实验设备有限公司)。

2 试验方法

2.1 酵母胞壁多糖的提取工序 [4]

- ①酵母溶解:称取干酵母粉,用一定体积的纯水溶解。
- ②冻融:将酵母沉淀置于-20℃下冷冻2h,再置于100℃水中骤然升温使其融化,如此反复3次。
- ③超声波破碎:确定超声波破碎时间和功率,选择最佳破碎时间和功率。
- ④碱溶:确定碱浓度、温度、时间等条件,选择最佳工艺。
- ⑤中和:室温放冷,用醋酸中和至pH值为6~7,离心静置,收集上清液。
- ⑥沉淀:以95%乙醇作沉淀剂,沉淀12h,乙醇与上清液的体积比为2:1。
- ⑦洗涤:沉淀用丙酮洗涤2次,用乙醚洗涤1次。
- ⑧烘干:30℃下干燥12h。

2.2 多糖得率ζ的计算方法

$\zeta = (\text{粗多糖质量} / \text{啤酒酵母质量}) \times 100\%$

2.3 测定多糖含量(p)——硫酸-苯酚法 [5]

$p = (\text{测得的多糖总量} / \text{粗多糖}) \times 100\%$

2.3.1 标准曲线的制作

分别吸取标准葡萄糖溶液(40μg/ml) 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6及1.8ml置于比色管中,分别补水至2.0ml,再加入6%苯酚1.0ml后,置冷水中迅速加入浓硫酸5.0ml,摇匀后于冷水中放置5min,然后置沸水浴中加热15min,再置冷水中放置5min,最后于490nm波长下测吸光度。以2.0ml水按同样显色操作为空白样,横坐标为多糖微克数,纵坐标为吸光度值,可制得标准曲线。

2.3.2 酵母多糖含量的测定

称取酵母粗多糖5mg置于100ml容量瓶中定容、摇匀。吸取样液1.0ml(相当于40μg左右的多糖),按上述步骤操作测吸光度,以标准曲线计算多糖的含量。

2.4 超声波破碎工序的工艺参数选择

选择功率、工作次数、浓度为因素进行正交试验,工序因素水-平见表1。

2.5 碱溶工序的工艺参数选择

选择浓度、温度、时间为因素进行正交试验，碱溶工序因素-水平见表2。

表2 碱溶工序因素-水平

项目	因素		
	A 浓度(%)	B 温度(°C)	C 时间(b)
1	2	80	1.5
2	3	90	2
3	4	100	2.5

3 结果与分析

3.1 标准曲线的制备

标准葡萄糖溶液与苯酚-硫酸试剂在一定条件下显色，测定吸光度结果见表3，所制得的标准曲线见图1。

表3 标准曲线的参数

标准葡萄糖用量 (ml)	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8
标准葡萄糖含量 (μg)	16	24	32	40	48	56	64	72
所测吸光度值	0.093	0.116	0.173	0.265	0.289	0.365	0.399	0.465

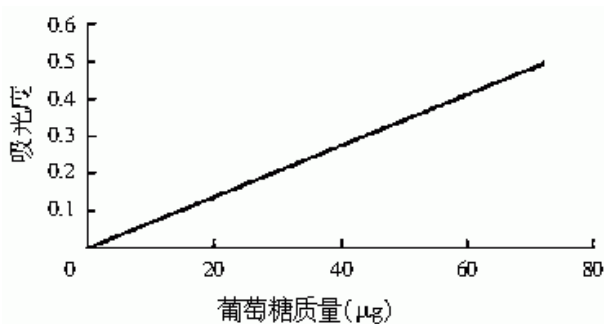


图1 葡萄糖标准曲线

由图1可知，在葡萄糖含量为0~80μg范围内，吸光度与葡萄糖含量成线性关系，得回归方程为 $y=0.006\ 9x$ ，线性相关系数为 $R^2=0.954\ 7$ 。

3.2 超声波破碎工序的工艺参数正交试验结果分析

超声波破碎工艺参数选择试验按正交试验表L9（34），试验结果见表4。

表4 超声波破碎正交试验结果分析

项目	因素			得率 ζ(%)	含量 P(%)	X=ζ×P (%)
	A	B	C			
1	1	1	1	19.56	22.91	4.48
2	1	2	2	20.49	23.78	4.87
3	1	3	3	19.54	24.90	4.87
4	2	1	2	20.16	24.36	4.91
5	2	2	3	20.30	25.81	5.24
6	2	3	1	19.44	51.92	10.09
7	3	1	3	21.07	26.10	5.60
8	3	2	1	19.51	21.46	4.19
9	3	3	2	27.89	14.21	3.96
K_1	0.142 2	0.149 9	0.187 6			
K_2	0.202 4	0.143 0	0.137 5			
K_3	0.137 5	0.179 2	0.157 0			
R	0.021 6	0.012 1	0.016 7			

在表4中，比较A、B、C中R值的大小可以看出A（功率）的R值为0.021 6，比B（工作次数）和C（浓度）的R值大，说明功率的水平变化对结果的影响最大，可判定为主要因素，工作次数和浓度为次要因素。由表4中数据可知，最佳破碎条件为A2B3C1。

3.3 碱溶工序的工艺参数正交试验结果分析

碱溶工艺参数选择试验按正交试验表L9（34），试验结果见表5。

	3	3	2	10.08	28.89	2.91
K ₁	0.0716	0.0386	0.0711			
K ₂	0.0739	0.0596	0.0672			
K ₃	0.0639	0.1022	0.0510			
R	0.0033	0.0212	0.0167			

在表5中, 比较A、B、C中R值的大小可以看出, B(温度)的R值为0.0212, 比C(碱溶时间)和A(碱溶液浓度)的R值大。因此, 温度为主要因素, 温度的变化对结果影响最大, 时间和浓度为次要因素。由表5中数据可知, 最佳碱溶条件为A2B3C1。

4 结论与讨论

- ①酵母多糖易溶于热碱是提取胞壁多糖的依据, 它们又较易溶于水而不溶于酒精、丙酮等, 可以将其分离。
- ②超声波破碎最佳工艺参数是功率400~500W、工作次数150次、浓度1:3; 碱溶最佳工艺条件是碱液浓度3%、温度100℃、时间1.5h。在最佳提取条件下, 胞壁多糖的得率为19.4%、纯度为51.9%。
- ③用苯酚-硫酸法测多糖含量时, 是在490nm处测定的多糖含量, 所以所测的均为己糖的含量, 而不包括戊糖的含量[5]。
- ④碱提后及时用醋酸中和至pH值为6~7, 这是因为酸或碱都可能引起多糖降解或发生结构的变化, 要尽量避免过酸或过碱的环境, 所以碱提结束后要及时用酸中和, 而且中和还可以进一步除去胶状物等杂质[4]。
- ⑤采用超声波破碎的目的是促使细胞的细胞壁破裂, 通过镜检可得到证实, 因而增大了酵母与碱液的接触面积, 使得胞壁多糖的得率和含量提高。

参考文献

- 1 江萍, 王义华, 周碧君, 等. 三种酵母胞壁多糖的化学组成及血清试验. 食品科学, 1999, 20(9):48~51
- 2 李卫旗. 啤酒酵母中 β -(1~3)葡聚糖的提取及其性能分析. 浙江大学学报(理学版), 1999, 26(2):75~79
- 3 周晓兰, 施碧红, 吴松刚. 啤酒酵母胞外多糖发酵条件的研究. 工业微生物2003, 32(1):34~36
- 4 刘浪新, 陈道宗, 王光慈. 啤酒酵母多糖提取工艺的研究. 重庆大学学报, 1994, 17(6):43~48
- 5 张惟杰. 复合多糖生化研究技术. 上海科学技术出版社, 1987
- 6 Ryoko Gonda, Mieko Kanari. Characterization of polysaccharides having activity on the Reticuloendothelial system from the rhizome of curuma Longa. Chem. Pharm. Bull, 1990, 38(2):482
- 7 Noriko Shimisu, Ryoko Gonda, Naoko ohara. Characterization of two acidic polysaccharides having immunological activities from the root of panax ginseng. Biol. Pharm. Bull, 1993, 16(1):22

(编辑: 王芳, xfang2005@163.com)

...评论...

· 我用苯酚加浓硫酸后出现蓝紫色, 加葡萄糖的管也是蓝紫色, 而非橙红色? 为什么???? 2006-7-11 (发布人: 杨梅)

发表
评论

*40字以内

提交

重置

关于我们 | 网站导航 | 友情连接 | 联系我们 | 会员须知 | 广告服务 | 服务条款

版权所有: 饲料工业杂志社 Copyright © <http://www.feedindustry.com.cn> 2004-2005 All Rights 辽ICP备05006846号

饲料工业杂志社地址: 沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编: 110036 投稿: E-mail: tg@feedindustry.com.cn 广告: E-mail: ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部: (024) 86391926 (传真) 编辑二部: (024) 86391925 (传真) 网络部、发行部: (024) 86391237 总编室: (024) 86391923 (传真)