

啤酒酵母细胞壁 β -(1,3)-D-葡聚糖提取工艺研究进展王宜磊¹, 刘燕¹, 王文爽² (1. 菏泽学院生命科学系, 山东菏泽 274015; 2. 山东大学微生物技术国家重点实验室, 山东济南 250100)

摘要 论述了啤酒酵母葡聚糖的结构特点和生物活性, 介绍了葡聚糖的提取工艺及其可行性分析, 对各种方法的优越性进行了比较, 并对其良好的研究前景进行展望。

关键词 啤酒酵母; 结构特点; 生物活性; 提取工艺

中图分类号 TS261.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)30-12153-02

The Progress in Research of the Extracting Technology of β -(1,3)-D-glucan of Cell Wall in the Beer Yeast

WANG Yi-lei et al (Life Science Department of Heze University, Heze, Shandong 274015)

Abstract The structural features and bioactivities of glucan in beer yeast cell wall were described. Extracting technology and feasibility of glucan from beer yeast cell wall were introduced, the advantages of various methods were compared. Besides, the trends of the β -(1,3)-D-glucan research and its application prospects in industry were also put forward.

Key words Beer yeast; Structural features; Bioactivities; Extracting technology

啤酒酵母泥是啤酒酿造过程中的重要副产物, 其数量约为啤酒产量的 0.15%^[1]。目前, 我国的啤酒企业约有 500 多家, 年产啤酒超过 4 200 万 t, 啤酒废酵母年产量达 60 万~90 万 t, 干固物的总量约为 6.0 万~9.0 万 t。啤酒酵母具有很高的营养价值, 其蛋白质含量约占到 50%, 而且还含有丰富的 B 族维生素、多糖和矿物质, 以及辅酶 A、辅酶 Q、谷胱甘肽和细胞色素 C 等。近年来, 随着人们对环境保护意识的增强, 啤酒酵母泥的综合利用备受关注^[2]。

在我国, 啤酒酵母泥的综合利用起步较晚, 但发展迅速, 近年来除将其用作饲料酵母外, 还加大了啤酒酵母泥高附加值产品方面的研发工作, 如饲料添加剂、食用酵母、啤酒活性干酵母、生理活性物质(GSH、SOD)^[2]。

干啤酒酵母含有丰富的酵母多糖(葡聚糖和甘露聚糖等), 这些活性多糖可用作膳食纤维, 具有很好的抗癌效果。而且葡聚糖能提高人体免疫力, 具有抗肿瘤、抗病毒、抗细菌、降血脂等功效。另外, 葡聚糖热量低, 可减少血糖含量, 预防糖尿病。总之, 酵母多糖市场前景良好, 将其合理地加以利用将会产生巨大的经济效益和社会效益^[3]。

1 酵母多糖的结构与性质

酵母多糖主要包括葡聚糖和甘露聚糖, 葡聚糖位于细胞壁的最内层, 属于结构多糖, 约占细胞壁干重的 30%~60%^[4]。其生理功能是保持细胞壁的机械结构和正常生理形态。此外, 还具有抗肿瘤和提高人体免疫力的作用。甘露聚糖位于细胞壁最外层, 具有抗肿瘤、抗辐射、降低胆固醇含量和刺激机体免疫反应机能等作用。酵母细胞壁主要由 β -葡聚糖构成, Manners 等研究人员于 1969 年提出酵母葡聚糖是由 β -1,3-葡聚糖和 β -1,6-葡聚糖混合组成的, 两者比例约为 85:15^[5]。Manners 等通过葡聚糖的结构分析表明, 85% 的碱不溶性葡聚糖是 β -1,3-连接, 同时在链间穿插 3% 的 β -1,6-葡聚糖苷键, 并且有着 $1\ 450 \pm 150$ 的聚合度, 相当于

240 kD 的分子量; 其余 15% 的碱不溶性葡聚糖是 β -1,6-连接, 在链间穿插 19% 的 β -1,3-葡聚糖苷键, 有着 141 ± 10 的聚合度, 相当于 22 kD 的分子质量^[6]。葡聚糖的化学修饰和分支水平(DB)决定了它的溶解度和分子量, 而溶解度决定了葡聚糖作为免疫调节剂的活力。一般葡聚糖呈现最大活性时的分支水平为 0.2~0.5 和分子量为 100~200 kD^[7]。由于 β -葡聚糖具有良好的生物活性, 引起了国内外研究人员的高度重视, 因此对其提取方法进行了深入研究, 并且在传统的酸法浸提、碱法浸提等方法上又创造性地提取一些新型分离纯化方法。

2 啤酒废酵母葡聚糖的提取方法及可行性分析

目前, 国内外常用的浸取方法主要包括酸法、碱法、酸-碱一体法、酶-碱法、盐溶法、超声波法、有机溶剂法、高压法等。

2.1 sewage 去蛋白法分离葡聚糖 李卫旗等于 1999 年曾多次使用 sewage 去蛋白法分离葡聚糖, 但每次得率都很低(不足 1.5%)^[8]。原因是啤酒酵母细胞富含水不溶性 β -葡聚糖, 而水溶性多糖含量较低, 再加上酵母细胞壁多糖与蛋白质结合十分紧密, 在 sewage 液凝固蛋白质的同时, 大部分多糖也随之进入沉淀相中, 所以上清中仅含有少量的水溶性 β -葡聚糖, 因此该方法不适于提取酵母细胞的 β -葡聚糖。

2.2 酸浸提法 Antije Muller 等利用不同种类酸提取酵母 β -葡聚糖, 结果表明, 乙酸、蚁酸及磷酸提取效果较好^[9]。我国研究人员也进行了酸法浸提试验, 利用不同浓度的乙酸(3%^[10-12]和 6%^[13,8]), 其多糖得率一般均可达 18%~21%。酸法浸提得到的多糖主要是酸不溶性葡聚糖, 虽然得率较高, 色泽也较好, 但产品中因含有较多的甘露聚糖和蛋白质, 需做进一步纯化, 显然工艺过于复杂, 且质量较差, 不适于药用, 只能用于食品工业或饲料添加剂。

2.3 碱浸提法 国内外研究人员进行的碱浸提试验, 大多采用 3%~4% 的 NaOH 溶液, 60~90 °C 处理 2~3 h, 液固比一般为 4:1~6:1, 多糖得率多在 10% 左右。廖鲜艳等对此工艺进行分析, 将 3% NaOH 溶液改在 75 和 100 °C 2 个不同温度处理, 在碱浓度降低到 3% 的情况下也得到了较高的葡聚糖得率和较好的质量^[14]。万婕等进一步改进了廖鲜艳的做

基金项目 山东省科技计划资助项目(2011GSF2114); 菏泽市科技计划项目(2010S002)。

作者简介 王宜磊(1964-), 男, 山东巨野人, 教授, 从事微生物生理学研究。

收稿日期 2013-09-23

法,在碱处理后,再用盐酸调节 pH 至 4.5,离心,水洗,脱水,干燥,由于采用了酸性溶液洗涤,除去了酸溶性的糖原及 β -(1,6)-D-葡聚糖,得率虽有所下降,但纯度更高^[15]。

这些研究表明,碱法浸提的多糖得率虽不及酸法高,但蛋白质和甘露聚糖含量少,活性较高,品质明显得到提高,该法适于药用多糖提取。

2.4 酸碱法提取葡聚糖 张开诚尝试用酸碱法提取葡聚糖^[16]。首先采用 4% NaOH 溶液处理酵母泥,90 °C 处理 3 h,将不溶物再用 4% 的乙酸溶液处理 2 h。该方法虽然快速、高效,得到葡聚糖纯度较高,质量较好,但提取条件较剧烈,酸碱试剂易腐蚀设备、污染环境严重,尤其是在提取过程中会造成部分 β -1,3-葡聚糖的降解,使产品得率与生物活性降低^[11]。

2.5 有机溶剂法 目前大多采用三氟三氯乙烷有机溶剂按 1:1 的比例加到多糖提取液中,在低温下搅拌约 10 min,离心得上层水层,水层继续用上述方法处理几次即得。该方法虽然效率较高,但因溶剂沸点低,易挥发,不能大量使用。

2.6 酶碱浸提法 马森等尝试首先用木瓜蛋白酶解酵母泥 8 h,然后用 2% NaOH 处理 5 h,真空干燥后多糖得率为 11.00%,其纯度达 90.50%^[17]。徐希柱也按照碱-酶法提取工艺步骤,改变不同的蛋白酶进行 β -(1,3)-D 葡聚糖的提取,其中采用中性蛋白酶处理后的提取率达 13.6%, β -(1,3)-D-葡聚糖含量为 82.2%、碱性蛋白酶处理后的提取率达 13.2%, β -(1,3)-D-葡聚糖含量为 81.7%^[18]。酶-碱法不仅可得到分子链完整的 β -1,3-葡聚糖,而且可除去大部分的蛋白质,降低了后续处理过程中碱的浓度和用量。因而酶-碱法是提取 β -1,3-葡聚糖的理想方法。

2.7 超声波浸提法 张占雄等采用不同条件进行超声波处理酵母泥,将不溶物洗涤干燥,其多糖得率达 33%~36%^[19]。该方法提取酵母葡聚糖工艺简便,成本低廉,没有酸、碱废水的排放,大大减少了环境的污染。因此,试验结果具有极为重要的应用价值。但是所得产品纯度不高,含有较多甘露聚糖和蛋白质,并可能会引起多糖降解,而且难以工业化。因此还需进一步研究,优化提取条件,提高产品纯度。并且超声波浸提法只适用于实验室小规模多糖的提取,不适用于大规模生产。

3 前景与展望

综上所述,不同的处理方法各有千秋,在工业化生产中,可以根据不同的生产目的采用不同的工艺流程,如酸法由于产量大、纯度低,特别适合饲料添加剂的生产,其葡聚糖产品可用于鱼、鸡等的饲料中;碱法或酸碱法的产品可用于营养保健品、化妆品等的添加剂;而酶-碱法由于其纯度较高,可以用于进一步的葡聚糖深加工,如医药级、化学试剂等;超声

波法则由于超声设备等不是很成熟,目前还只是停留在实验室阶段。

我国是啤酒生产大国,有着巨大废啤酒酵母资源,因此,优化现有生产工艺,探求新的提取技术,在节能减耗和减少环境污染基础上,得到高品质可溶的 β -(1,3)-D-葡聚糖具有重大意义。尽量减少提取时对 β -(1,3)-D-葡聚糖结构破坏,从而提高 β -(1,3)-D-葡聚糖产量和品质提供一个新的途径。加强对 β -(1,3)-D-葡聚糖免疫活性研究,明确免疫活性与葡聚糖结构关系,以扩大 β -(1,3)-D-葡聚糖在临床及水产养殖中的作用。另外,目前虽对 β -(1,3)-D-葡聚糖的提高机体免疫力、抗肿瘤活性等生物活性报道的较多,但是对其在应用中产生的一些负效应报道的研究较少。因此, β -(1,3)-D-葡聚糖在应用时的其他一些负效应也值得研究。

参考文献

- [1] 马荣山,庄华丽. 5'-磷酸二酯酶在啤酒废酵母中的应用[J]. 中国酿造, 2008(18):69-71.
- [2] 王煜,王家林. 废啤酒酵母的综合应用[J]. 酿酒科技,2009(10):98-102.
- [3] 田春华,竹磊,朱海华,等. 啤酒酵母泥中酵母多糖提取工艺研究[J]. 江西农业学报,2010(7):103-104,110.
- [4] LIPKE P N, OVALLE R. Cell wall architecture in yeast: New structure and new challenges[J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180(15):3735-3740.
- [5] MANNERS D J, MASSON A J, PATTERSON J C. Structure of β -(1,3)-D-glucan from yeast cell walls[J]. Biochemical Journal, 1973, 135(1):19-30.
- [6] MANNERS D J, MASSON A J, PATTERSON J C, et al. The structure of a β -1,3-Glucan From Yeast Cell Walls[J]. Biochemical Journal, 1973, 135(1):31-36.
- [7] BONN J A, BEMILLER J N. (1-3)- β -D-Glucans as biological response modifiers: a review of structure functional activity relationships[J]. Carbohydrate Polymers, 1995, 28(1):3-14.
- [8] 李卫旗,黄埔宏,吴雪昌,等. 啤酒酵母中 β -(1,3)-葡聚糖的提取及其性能分析[J]. 浙江大学学报:理学版, 1999, 26(2):75-79.
- [9] MÜLLER A, ENSLEY H, PRETUS H, et al. The application of various protic acids in the extraction of β -(1-3)-D-Glucan from saccharomyces cerevisiae[J]. Carbohydrate Research, 1997, 299:203-208.
- [10] 徐希柱,樊祥东. 啤酒酵母细胞壁中 β -(1,3)-D-葡聚糖的提取与应用[J]. 粮食与油脂, 2008(3):41-43.
- [11] 黄刚良,刘曼西,曹元成,等. 啤酒酵母中 β -(1,3)-D-葡聚糖的提取及其机理研究[J]. 精细化工, 2003, 20(8):458-465.
- [12] 李祥,罗仓学,李力. 酵母残渣中 β -(1,3)-葡聚糖的提取及性质表征[J]. 酿酒, 2004, 31(4):27-29.
- [13] 黄丹,刘达玉. 酿酒酵母中活性多糖的提取工艺研究[J]. 食品工业, 2004(4):27-29.
- [14] 廖鲜艳,顾国贤. 啤酒酵母残渣制备碱不溶性葡聚糖[J]. 酿酒, 2001, 28(1):75-77.
- [15] 万婕,刘成梅,熊慧薇,等. 从破壁酵母中提取 β -葡聚糖的工艺研究[J]. 农产品加工(学刊), 2006(3):24-26.
- [16] 张开成. 啤酒酵母中 β -(1,3)-D-葡聚糖的提取与理化性能分析[J]. 饲料工业, 2004, 25(10):8-10.
- [17] 马森,卢家炯,林金梅,等. 啤酒废酵母中 β -(1,3)-葡聚糖的提取工艺[J]. 生物加工过程, 2009, 7(5):39-43.
- [18] 徐希柱. 啤酒酵母中 RNA、 β -(1,3)-D-葡聚糖和蛋白质的提取及应用研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2007:27-28.
- [19] 张占雄,康东端,赵国芬. 沙棘酵母酵母泥中活性多糖的提取及理化性质分析[J]. 畜牧与饲料科学, 2008(5):3-6.

(上接第 12152 页)

参考文献

- [1] 杨红文,马玉磊,彭兵. 浓香型瓶装酒库存过程中理化指标的变化[J]. 酿酒科技, 2002(6):58-59.
- [2] 胡志平. 浓香型白酒在陈酿过程中的酒质变化[J]. 酿酒科技, 2005

(12):35-37,40.

- [3] 李家民. 浓香型白酒贮存过程中总酯、总酸的变化规律[J]. 酿酒科技, 2008(1):59-61.
- [4] 张宗奇,张旭. 从白酒贮存过程中成分变化谈勾调理念更新[J]. 酿酒, 2008, 35(1):48-50.