

少动鞘脂单胞菌 S1 胞外多糖脱乙酰及其流变学研究

张红城¹, 李春阳², 彭志英³, 赵谋明³

(1. 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093

2. 江苏省农科院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014 3. 华南理工大学食品科学系, 广东 广州 510640)

摘要: 本实验研究了少动鞘脂单胞菌 S1 胞外多糖的脱乙酰基的反应条件, 用神经网络方法对反应条件建模。研究了胞外多糖的乳化性、溶解性和流变性。结果表明少动鞘脂单胞菌 S1 胞外多糖具有良好增稠作用, 与黄原胶相似。

关键词: 胞外多糖; 乳化性; 溶解性; 流变性

Study of Deacetylation of Exopolysaccharides from *Sphingomonas paucimobilis* S1 and Its Rheology

ZHANG Hong-cheng¹, LI Chun-yang², PENG Zhi-ying³, ZHAO Mou-ming³

(1. Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100093, China;

2. Institute of Agro-food Science and Technology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

3. Department of Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Exopolysaccharides of *Sphingomonas paucimobilis* S1 was deacetylated. Emulsifying activity, dissolution and rheology of exopolysaccharides was studied. This kind of exopolysaccharides had a property of forming viscous solution similar to xanthan gum and can be acted as viscosifier.

Key words: exopolysaccharides; emulsify; dissolution; rheology

中图分类号: Q539

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0122-06

微生物胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)是微生物在生长代谢过程中分泌到细胞外的多糖。按其来源可分为真菌多糖和细菌多糖。按其存在形式可分为黏附于细胞壁外表面的荚膜型多糖和分泌到细胞外的黏液型多糖。微生物胞外多糖现在已被广泛应用于食品加工、医药工业、石油工业等, 成为高品质的植物、海藻类胶的替代品^[1]。EPS 中的乙酰基影响了微生物胞外多糖的流变性。因此有必要研究脱乙酰基的反应条件及少动鞘脂单胞菌 S1 胞外多糖的乳化性、溶解性和流变性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

少动鞘脂单胞菌 S1 胞外多糖(EPS), 自制; 脱乙酰胞外多糖(DEPS) 自制。

氢氧化钠、硫酸镁、磷酸氢钾、氯化钙、氯化钾、二甲苯。

花生油、阿拉伯胶、瓜尔豆胶、洋槐豆胶、黄原胶、结凝胶 市售。

1.1.2 设备

BS60 恒温水浴锅 北京医疗器械厂; NDJ-1 旋转式粘度计 上海天平仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 脱乙酰

将发酵液加入 NaOH 溶液, 调整适当 pH 值。然后放入恒温水浴锅中, 在一定温度下反应一定时间。

1.2.2 乳化性实验

将 6ml 二甲苯或花生油加入到包含 4ml EPS 的水溶液的带有刻度试管中, 强力搅拌、振荡 10min。24h 后分别测油相层、乳化层的高度, 计算乳化参数(EI), EI 值代表 EPS 的乳化能力。

收稿日期: 2007-08-25

作者简介: 张红城(1967-), 男, 博士, 研究方向为食品生物技术。

$$EI = \frac{\text{乳化层高度 (cm)}}{\text{总高度 (cm)}} \times 100$$

1 个月后再测 EI 值做为乳化稳定性研究。

1.2.3 溶解性研究

称取 0.5g 样品, 分别置于盛有 100ml 溶解不同介质的烧杯中, 用电力搅拌器连续搅拌, 记录形成均一溶液所需时间(min)。

1.2.4 黏度研究

分别测定不同浓度下、不同温度、pH 值、各种盐浓度影响下的黏度。

1.2.5 与洋槐豆胶、瓜尔豆胶协同作用研究

参考文献[1]。

1.3 数据处理

使用 MATLAB 5.2 版对数据建模。

2 结果与分析

2.1 脱乙酰研究

2.1.1 脱乙酰反应条件研究

从红外光谱、 $^1\text{H-NMR}$ 可以看出少动鞘脂单胞菌 S_1 的胞外多糖在 1730cm^{-1} 上有吸收峰, 在 1.208×10^{-6} 处有乙酯基的甲基位移, 因此少动单鞘脂单胞菌 S_1 的胞外多糖含有乙酰基。在黄原胶中乙酰基影响了黄原胶溶液的流变性^[2], 以及影响了与植物胶的相互作用^[3]。在结凝胶中, 乙酰基影响了凝胶的强度、透明度等^[4]。因此有必要研究脱乙酰基对少动鞘脂单胞菌 S_1 胞外多糖的影响。脱乙酰基方法主要有强碱法和弱碱法。本实验采用均匀设计实验, 研究不同 pH 值、不同温度、不同时间对脱乙酰的影响。乙酰基的测定方法有化学法^[5]、核磁共振法、紫外光谱法、红外色谱法、凝胶渗透、高效液相色谱法、热分析等^[6]。红外光谱法是比较简单的, 将 $A_{1727\text{cm}^{-1}}/A_{1063\text{cm}^{-1}}$ 的比值做为乙酰基相对含量。结果如表 1 所示。

表 1 脱乙酰化试验

Table 1 Factors, levels and results of deacetylation

试验号	pH	温度(°C)	时间(h)	$A_{1727\text{cm}^{-1}}/A_{1063\text{cm}^{-1}}$ (%)
1	8.0	55	5	53
2	9.0	70	1	35.7
3	10.0	45	12	37
4	10.5	60	2	0
5	11.0	80	0.5	18
6	11.5	50	8	37
7	12.0	65	1.5	41

为了考察 pH、温度、时间对脱乙酰的影响。采用神经网络方法, 对试验数据进行计算机仿真建模。

2.1.2 基于神经网络方法对脱乙酰反应条件建模

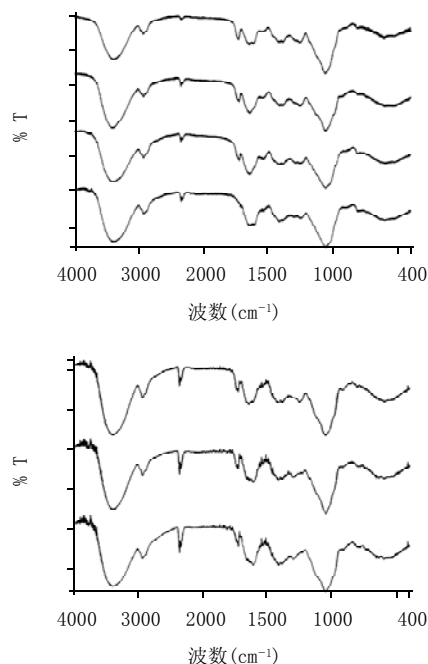


图 1 脱乙酰胞外多糖的 FT-IR 谱图

Fig.1 FT-IR of deacetylated EPS

2.1.2.1 神经网络概述^[7-8]

没有神经网络之前, 复杂问题的数学模型建立是用经典方法实现的。如最小二乘法, 回归方法等。这些方法需要大量繁杂的, 严格的数学公式推导, 有时因求解大矩阵而出现病态等。而神经网络方法具有模糊性、容错性、自适应性, 自学习能力和非线性映射能力, 使它在各种应用领域中都得到了广泛的应用。

神经网络的特征如下:

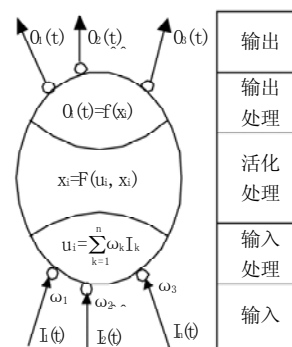


图 2 神经元模型

Fig.2 Model of neuron

图 2 为一典型的神经元模型, 在图中, 对于第 i 神经元当不考虑时间总和而只考虑空间总和时, 输入变化等于输入信号及权值的线性组合。即:

$$u_i = \sum_{k=1}^n \omega_k \times I_k \quad (1)$$

第 i 神经元在 t 时刻的活性度 $x_i(t)$ 可由下式表示:

$$x_i(t) = F(u_i, x_i) \quad (2)$$

式中, $F(u_i, x_i)$ 为用于确定第 i 个神经元活性度的函数。 $F = 1$;

输出 O_i 是第 i 个神经元活性度的函数, 即:

$$O_i = f(x_i) \quad (3)$$

式中, $f(*)$ 为包含阈值的任意函数, 又称为输出函数; $f(x)$ 为一般取为 sigmoid 型函数(式 4), 或者双曲正弦函数(式 5), 即:

$$f(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}} \quad (4)$$

或:

$$f(x) = \frac{1 - e^{-x}}{1 + e^{-x}} \quad (5)$$

2.1.2.2 模型的建立

构造如图 3 所示的神经网络前馈网络结构来建立问题的数学模型, 将表 1.1 实验数据 x_1 (pH 值), x_2 (温度), x_3 (时间) 作为神经网络的输入, 输入层为 3 个神经元。实验所得 y (相对乙酰基含量) 作为神经网络的输出, 输出层为 1 个神经元, 从而将神经网络训练成问题的模型。其中第一和第二隐含层分别为 10 个神经元和 8 个神经元,

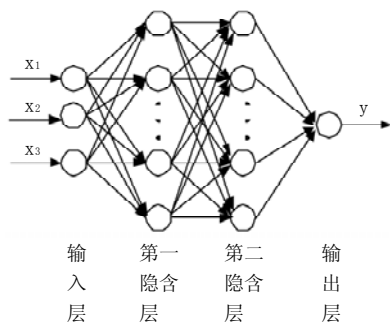


图 3 神经网络前馈网络结构

Fig.3 Structure of feed forward neural network

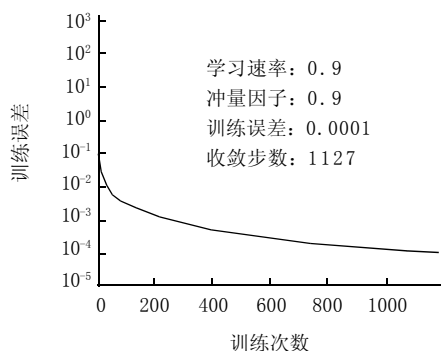


图 4 神经网络误差收敛图

Fig.4 Error converges of neural network

输出函数取为双曲正弦函数(式 5)。输出层的输出函数取为线性函数。运用反向传播(Back-Propagation)学习算法, 算法的训练参数为学习速率: 0.9; 冲量因子: 0.9; 训练误差: 0.0001。神经网络的误差收敛图为图 4 所示。

根据神经网络对表 1 的数据所构造的模型, 得 $A_{1727\text{cm}^{-1}}/A_{1063\text{cm}^{-1}}$ 值与温度及 pH 的关系(图 5), 乙酰基相对含量与温度及时间的关系(图 6)和乙酰基相对含量与时间及 pH 值的关系(图 7)。从图中可以看出, 对相对脱乙酰率影响比较大的是温度和 pH 值。完全脱掉乙酰基的工艺条件所需是 pH 为 10.5, 温度为 60℃, 时间为 2h。并且可以根据所构造模型求出所需部分脱乙酰基的工艺

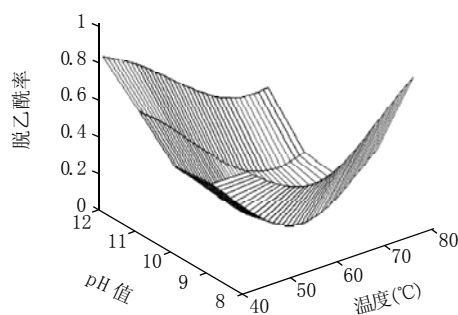


图 5 脱乙酰与温度及 pH 的关系

Fig.5 Relation of deacetylation with temperature and pH

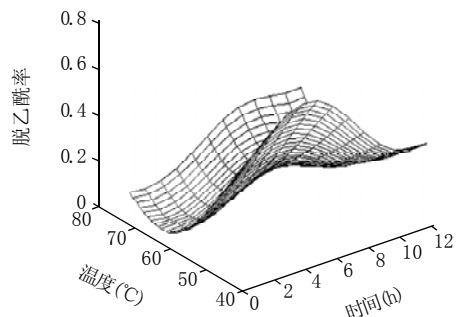


图 6 脱乙酰基与温度及时间的关系

Fig.6 Relation of deacetylation with temperature and time

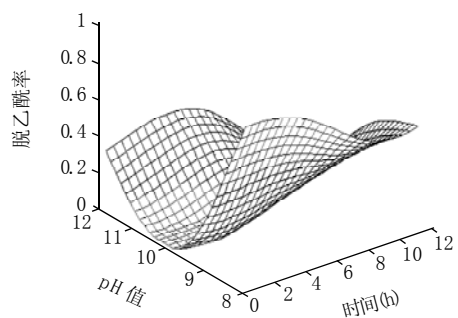


图 7 脱乙酰与时间及 pH 的关系

Fig.7 Relation of deacetylation with time and pH

参数(误差仅为 10^{-4})。

2.2 乳化性研究

表2 在不同油相中各种胶乳化能力的比较
Table 2 Emulsifying activity of various gums in different oils

胶 (3.5mg/ml)	乳化参数(EI)	
	二甲苯	花生油
阿拉伯胶	25	64
卡拉胶	67	75
黄原胶	64	87
结凝胶	67	93
EPS	81	94
DEPS	58	73

从表2中可以看出来自植物和海藻类胶——阿拉伯胶、卡拉胶的乳化能力不如微生物胞外多糖, EPS的乳化力好于阿拉伯胶、卡拉胶、黄原胶, 与结凝胶相近。脱乙酰后EPS(DEPS)与没脱乙酰的EPS相比, 乳化性明显下降。这可能是乙酰基做为疏水基团, 更有利于乳化力, 因此高含量乙酰基EPS有利于乳化力。

表3 各种浓度下EPS的乳化能力(EI)
Table 3 Emulsifying activity of various gums in different oils

	EPS (mg/ml)					
	0.5	1.0	2.0	5	10	20
二甲苯	62	74	78	82	84	84
花生油	78	85	89	92	95	95

从表3中可以看出EPS的乳化能力对植物油乳化效果好于二甲苯; 并且随着添加量增多, 乳化参数增大, 达到10mg/ml时几乎没有变化。因此当使用EPS做乳化剂时最适添加量应为10mg/ml。

表4 乳化稳定性(25 ± 2℃, 30d)
Table 4 Emulsifying stability of various gums in different oils (25 ± 2℃, 30d)

胶 (3.5mg/ml)	乳化参数	
	二甲苯	花生油
阿拉伯胶	11	30
卡拉胶	60	66
黄原胶	60	86
结凝胶	66	93.5
EPS	78	92.5
DEPS	22	41

从乳化稳定性上看, 卡拉胶、黄原胶、结凝胶、EPS的乳化稳定性较好, 乳化参数变化不大 / 而阿拉伯胶与脱乙酰的DEPS, 则乳化指数下降一半多, 乳化稳定性不好。

2.3 溶解性研究

从图8中可以看出, 加入盐以后的溶解时间要比不加盐的溶解时间长, 并且以后加入CaCl₂溶液最难溶

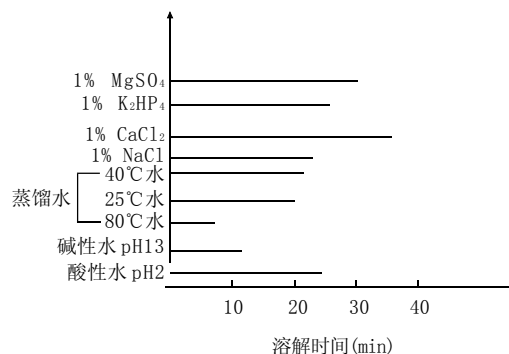


图8 EPS在不同溶液中的溶解时间

Fig.8 Dissolving time of EPS in different solution

解。从温度上可以看出随着温度升高, 溶解时间变短, 热水易溶解。碱性条件下比酸性条件下易溶解。

EPS溶解于二甲亚砜, 不溶解其它有机溶剂如无水乙醇、丙醇、乙酸乙酯和正丁醇等。

2.4 流变学研究

2.4.1 浓度的影响

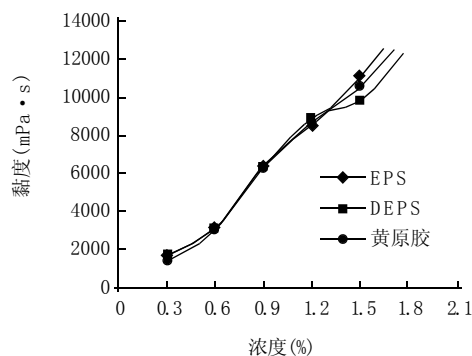
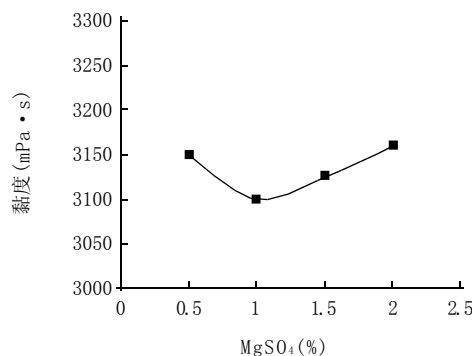


图9 EPS、DEPS、黄原胶在不同浓度下的黏度

Fig.9 Viscosity of EPS, DEPS and xanthan gum in different concentrations

从图9上可以看出黄原胶、EPS、DPS的三者黏度相近。都随着含量增加, 溶液黏度显著增加, 具有良好增黏特性。

2.4.2 盐对EPS黏度的影响



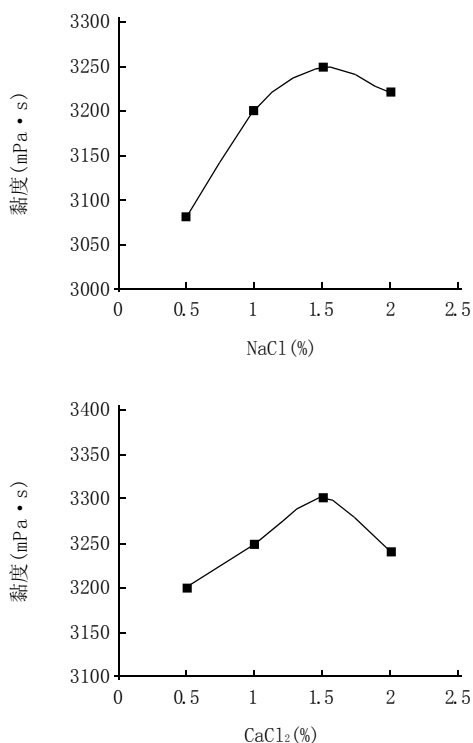


图10 不同离子对0.4% EPS溶液黏度的影响
Fig.10 Effects of different ions on viscosity of 0.4% EPS

从图10中可以看出,几种盐类对EPS溶液的黏度均无有害影响。这些盐在一定浓度范围内对EPS溶液起到增加黏度的作用。这可能是由于某些阳离子在溶液中与EPS交联作用结果。其中CaCl₂的增效作用比NaCl, MgSO₄明显。

2.4.3 pH的影响

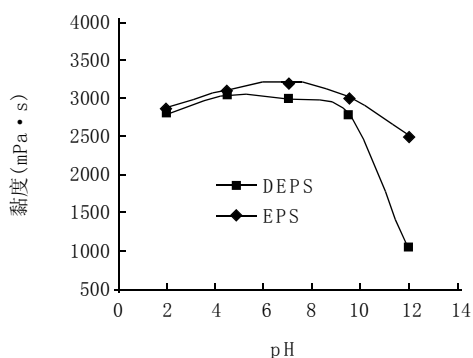


图11 pH值对0.4% EPS溶液黏度的影响
Fig.11 Effects of different pH on viscosity of 0.4% EPS

一种好的食品胶必须有良好的耐酸耐碱性,从图11中可以看出,EPS和DEPS对酸的增稠稳定性很好,而绝大多数食品的pH值均在酸性范围之内。而在强碱性(pH12)条件下,黏度下降明显,特别是脱乙酰基的DEPS。

2.4.4 温度的影响

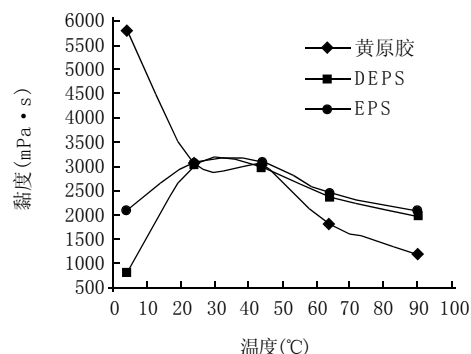


图12 不同温度下EPS、黄原胶、DEPS的黏度(含量均为0.4%)
Fig.12 Effects of different temperature on viscosity of 0.4% EPS, DEPS and xanthan gum

从图12中可以看出,EPS、DEPS和黄原胶一样都是随着温度升高($T > 24^{\circ}\text{C}$),溶液黏度呈下降趋势。当在低温条件下(4°C),绝大多数胶溶液的黏度都增大。这是因为随着温度下降,分子的热运动减慢,分子间相互作用力增大,从而溶液黏度增大。而EPS和DEPS的溶液黏度反而下降。特别是DEPS下降明显。这种现象还未见报道。这可能与在溶液中该多糖的分子形状受温度影响有关。在常温下其分子发生卷曲,从而将水分子包入其中,使溶液黏度增大。而在低温下分子卷曲打开,溶液黏度下降^[9]。但是由于实验条件有限,以及对该多糖结构的认识还不够充分,并且影响胶体溶液体系粘度的因素很多,如多糖分子结构各种基团、分子量、分子形状、浓度、pH值、离子种类及浓度、蛋白质等。因此温度对该多糖溶液黏度的影响的机理,还有待于进一步研究。从图12中可以看出EPS对温度稳定性优于黄原胶。这种胶(EPS)可以在工业上实现胶体溶液的冷输送,节省了能源消耗,降低了成本。

2.5 与洋槐豆胶协同作用

与洋槐豆胶、瓜尔豆胶无协同成凝胶作用,可证明不是黄原胶。

3 结论

3.1 在pH10.5、温度为 60°C 、时间2h条件下,可以脱去少动鞘脂单胞菌S₁胞外多糖中的乙酰基。

3.2 少动鞘脂单胞菌S₁胞外多糖EPS的乳化力好于阿拉伯胶、卡拉胶、黄原胶,与结凝胶相近。脱乙酰后乳化力下降。对于EPS,乳化最适浓度为10mg/ml。EPS的乳化稳定性好,脱乙酰后乳化稳定性较差。

3.3 少动鞘脂单胞菌S₁胞外多糖热水、碱性条件下易溶。加盐以后难溶,CaCl₂最难。溶解于二甲二矾,不溶解其它有机溶剂。

核磁共振研究膳食纤维面包制作过程的水分迁移行为

李资玲^{1,2}, 刘成梅^{2,*}, 万 婕², 吴 宇², 刘 伟²

(1. 江西科技师范学院生命科学院, 江西 南昌 330013

2. 南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 利用核磁共振测定三种不同配方面包在制作过程(和面、发酵、醒发和烘烤)中质子的自旋-自旋弛豫时间(T_2), 面团中流动性不同的水分, 表现出不同的弛豫时间。实验表明, 在面包制作过程中, 其束缚相和自由相的迁移行为不同, 此外 140MPa 处理的膳食纤维具有强持水性, 添加至面包中可改善其储藏性。

关键词: 面包; 膳食纤维; 核磁共振; 水分迁移

Study on Molecular Mobility in Dietary Fiber Bread by NMR

LI Zi-ling^{1,2}, LIU Cheng-mei^{2,*}, WAN Jie², WU Bei², LIU Wei²

(1. College of Life Science, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China;

2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Using nuclear magnetic resonance (NMR) studied spin-spin relaxation time (T_2) in dough and bread in the producing process (mixing, fermenting, waking and baking). It existed a positive correlation between the spin-spin relaxation characteristic and molecular mobility. In the producing process, water mobility behavior of bond state and free state was different, besides, dietary fiber which treated with 140 MPa pressure will drink water, it can be change the storage property of bread.

Key words: bread; dietary fiber; NMR; water mobility

中图分类号: TS213.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0127-04

收稿日期 2007-07-15

*通讯作者

基金项目: 教育部长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0540)

作者简介: 李资玲(1982-), 女, 助教, 研究方向为食品资源开发与利用。

3.4 少动鞘脂单胞菌 S₁ 胞外多糖具有增稠作用, 脱乙酰无影响, 增稠效果与黄原胶相似。盐类对 EPS 有增效作用, 其中 CaCl₂ 最好。酸性条件对黏度几乎没影响, 在碱性条件下黏度下降。与黄原胶、DEPS 相比, EPS 对温度稳定性好。EPS 和 DEPS 在 4℃ 条件下与 24℃ 条件相比, 黏度明显下降。

3.5 与洋槐豆胶、瓜尔豆胶无协同成凝胶作用。

参考文献:

- [1] 里景伟. 微生物多聚糖黄原胶生产与应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [2] CALLET F. Influence of acetyl and pyruvate contents on rheological properties of xanthan in dilute solution[J]. International Journal of

- Biological Macromolecules, 1987, 9(10): 291-293.
- [3] SHATWELL K. Influence of the acetyl substituent on the interaction of xanthan with plant polysaccharides[J]. Carbohydrate Research, 1991, 14: 29-51.
- [4] SUTHERLAND I. Structure-function relationships in microbial exopolysaccharides[J]. Biotechnology Advances, 1994(12): 393-448.
- [5] MCCOMB A. Determination of acetyl in pectin and in acetylated carbohydrate polymers[J]. Analytical Chemistry, 1957, 29(5): 819-921.
- [6] SHIGEMASA Y. Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 1996, 18: 237-242.
- [7] 邓君里. 人工神经网络[M]. 北京: 高等教育出版社, 1992.
- [8] 鲍约翰. 自适应模式识别与神经网络[M]. 北京: 北京科学出版社, 1992.
- [9] 郑忠. 胶体科学导论[M]. 广州: 华南理工大学, 1995: 432.