

# 棉子糖酸性催化水解动力学

太原工业大学 钟穗生

## 一、前言

糖是人们喜爱的甜味剂,世界各国生产食品所用的甜味剂素以蔗糖和甜菜糖为主。到了二十世纪初期,由于生物工程技术及酶制剂技术的成熟,以多糖(polysaccharides)为主体成份的淀粉及纤维素水解制糖的研究十分活跃,在短短的二十多年中,发表的论文,浩瀚如海,不胜枚举。

双糖(disaccharides)特别是蔗糖(Sucrose)的水解也已有大量研究。导出的酸催化水解动力学模型,多系基于应用无机酸。最近,作者应用草酸催化确立了水解活化能和动力学方程。

三糖(trisaccharides)的水解以棉子糖(raffinose)为代表,研究其水解动力学方面的文章,见之于报导的,还不很多。棉子糖存在于许多植物中,特别是棉子、甜菜糖蜜、桉树的干性分泌物中。〔1~3〕它是由半乳糖(galactose)、葡萄糖(glucose)和果糖(fructose)三种单糖,通过Ga-G键和G-F键联结而构

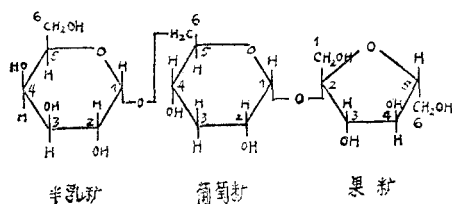


图1 棉子糖的结构式

成,棉子糖可以看成是半乳糖基团取代在蔗糖分子中葡萄糖端羟基上的三糖分子〔4〕。

业已知道,棉子糖在酸的催化作用下,水解生成半乳糖、葡萄糖及果糖。而在蔗糖酶(sucrase)的作用下,只有G-F键断裂,生成果糖和蜜二糖(melibiose)。但是,在 $\alpha$ -半乳

糖苷酶(galactase)的作用下,则只有Ga-G键断开,生成半乳糖和蔗糖。

不同酸对棉子糖的催化作用和效果是有差异的。格朗德占-乔顿(Grandchamp-Chaudun)认为〔5〕,使用盐酸的效果优于硫酸及其它的酸,它们之间的差异,在Ga-G键断裂时更为显著。

使用同一种酸催化,两种键的水解断裂速度差别甚大。根据斯捷图里及其同行(Szejtli)等的报导〔6,7〕,当用盐酸为催化剂时,G-F键的断裂速度约1000倍快于Ga-G键。有人则解释为,半乳糖基团的取代,使G-F键的水解能力下降〔8〕。

本研究工作的目的,在于确定棉子糖在盐酸和草酸的催化作用下,Ga-G键和G-F键水解断裂的特性,在此基础上,计算两种键断裂的活化能,并建立酸催化的水解动力学模型。

## 二、实验部分

### (一)原材料

1. 棉子糖 Sigma Chemical Company 出品的化学试剂。白色粉末,熔点 $118\sim 119^{\circ}\text{C}$ 。用蒸馏水配成40%(w/v)水溶液用于酸水解。

2. 草酸 Fisher Scientific Company 出品的结晶草酸( $\text{HOCCOOH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ),熔点 $101.5^{\circ}\text{C}$ 。研究中使用0.4、0.8、1.6%(w/v)三种浓度的水溶液。当与等体积的棉子糖溶液混合,即分别变成0.2、0.4和0.8%(w/v)三种水解介质中的浓度。

3. 盐酸 Fisher Scientific Company 出品,含HCl 36.5%,比重1.18。配成0.02、0.2和2%(w/v)三种浓度。当与等体积棉子糖溶液混合,即分别变成0.01、0.1和1%(w/v)三种实际介质浓度。

## (二)水解方法

将上述制备好的一种酸溶液 25 毫升, 加入些有搅拌的 200 毫升三颈玻璃反应器中, 启动电热装置, 将内容物热至某指定温度, 然后倾入已经恒定在相同温度下的棉子糖溶液 25 毫升, 水解即时开始。保持恒温反应, 直至果糖含量不变, 而 Ga-G 键的分解尚未发生 (由 HPLC 色谱仪严密控制), 此时即为 G-F 键的水解终点。水解期间, 每间隔一定时间取样 2 毫升, 终止反应后即于冰箱内保存待测。

## (三)分析测试

葡萄糖、果糖的定量分析在一台高压液相色谱仪 (Varian Model 5000 HPLC) 中进行。分离主柱用一种离子交换树脂 HPX-87H (美国 Bio-Rad 实验站提供) 填充。为保护主柱, 于其前面装设一个用 HPX-85H 离子交换树脂 (Bio-Rad 实验站提供) 充填的微型警戒柱 (Micro-guard Column), 该柱子经 100 次注射后进行更换。折射检出器 Waters Model 401 用于糖分析。主柱温度恒定在 45°C。移动用

为 0.01NH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 流速为 0.9 毫升/分。内部参考标准为正丙醇。

## 三、结果与讨论

将主反应物浓度与水解时间关系的实验数据, 在单对数座标上进行标绘, 可以看出数据点呈现直线关系。经最小二乘方法进行该线的拟合, 即得到一系列拟合后的直线。这些直线的斜率乘以 (-2.303), 即得到各种试验条件下的水解速度常数, 列出于表 1 中。表 1 数据清楚表明: 酸的浓度和水解温度对水解速度常数都有明显影响, 分别讨论于后。

### (一)酸浓度对水解速度的影响

当以酸浓度和水解速度常数在双对数座标上进行标绘, 这时数据点经联合最小二乘方处理, 即可分别得到为图 2 及图 3 所示的三条平行直线。直线表明: 在不同水解温度下, 酸浓度与水解速度常数的关系, 符合下式表示的线性关系:

$$\ln k = \ln k_1 + m \ln c$$

表 1

棉子糖中 G-F 键在盐酸和草酸介质中酸性催化的水解速度常数

温 度 °C	盐酸浓度 % (w/v)	k, 分 <sup>-1</sup>		温 度 °C	草酸浓度 % (w/v)	k, 分 <sup>-1</sup>	
		观测值	计算值*			观测值	计算值**
60	0.01	0.000420	0.000530	60	0.2	0.002873	0.002955
	0.10	0.007866	0.008959		0.4	0.005807	0.006059
70	1.00	0.089872	0.091466	70	0.8	0.013751	0.012422
	0.01	0.001834	0.001624		0.2	0.008668	0.008953
80	0.10	0.025585	0.021342		0.4	0.018082	0.018355
	1.00	0.268915	0.280502	80	0.8	0.037012	0.037634
	0.01	0.004317	0.004673		0.2	0.028082	0.025473
	0.10	0.066170	0.061424		0.4	0.051361	0.052226
	1.00	0.709347	0.807329		0.8	0.102072	0.107080

\* 根据方程式  $k = 7.92 \times 10^{17} C_{\text{盐酸}}^{1.12} \exp(-25,455/RT)$  计算

\*\* 根据方程式  $k = 6.10 \times 10^{16} C_{\text{草酸}}^{1.036} \exp(-25,179/RT)$  计算

或写成幂函数的关系

$$k = k_1 C^m \quad (2)$$

式中, k 为一级水解速度常数 (分<sup>-1</sup>)

k<sub>1</sub> 及 m 为实验常数

C 为盐酸或草酸的浓度 (克/毫升)

### (二)温度对水解速度的影响

当以水解速度常数的对数值与绝对温度倒

数进行标绘时, 即得到图 4 及图 5 所表示的三条平行直线。表明: 在三种水平的酸浓度下, 水解温度对水解速度的影响, 斜率大小表示其影响程度之大小。显而易见, 水解温度与水解速度之间服从阿伦尼乌斯 (Arrhenius) 关系:

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E}{RT} \quad (3)$$

或写成为下形式:

20

高粱粉蜜  
棉子粉

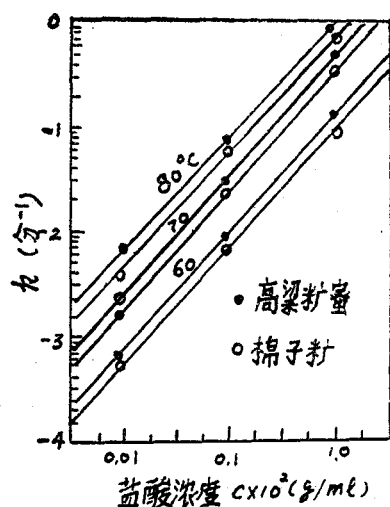


图 2 水解速度常数与盐酸浓度的关系

高粱粉蜜  
棉子粉

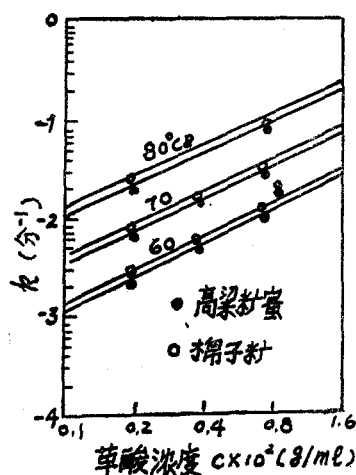


图 3 水解速度常数与草酸浓度的关系

$$k = k_0 e^{-E/RT} \quad (4)$$

式中,  $K_0$  为前指数因子(无因次)

$E$  为水解活化能(卡/克分子)

$R$  为气体常数(卡/克分子·度)

$T$  为绝对温度(K)

(三) 水解动力学模型

综合图 2 至图 5, 在盐酸或草酸溶液中棉子糖的水解速度, 与酸浓度、水解温度存在以下函数关系:

$$\ln k = \ln k' + m \ln C - \frac{E}{RT} \quad (5)$$

或写成

$$k = k' C^m e^{-E/RT} \quad (6)$$

式中,  $k'$  为实验常数

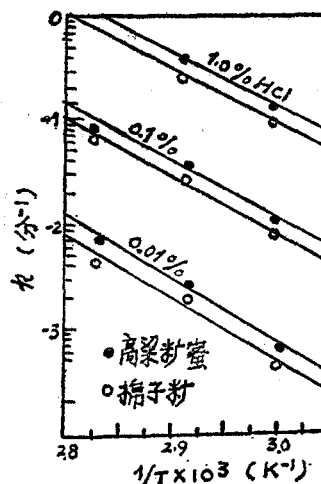


图 4 高粱糖蜜与棉子糖在盐酸作用下, 水解速度常数与温度的关系

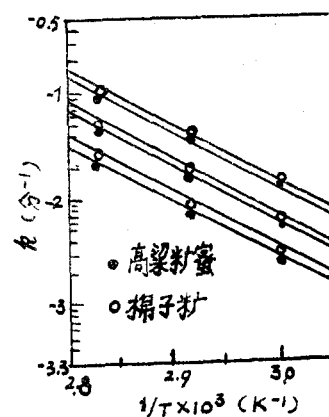


图 5 高粱糖蜜与棉子糖在草酸作用下, 水解速度常数与温度的关系

为证实上述方程的准确性和求出实验常数, 将实验数据(表 I)对式(5)进行线性回归。本研究应用 SAS 中的 GLM 法于美国堪州大学的 IBM 电子计算机进行数学回归, 结果如下:

棉子糖 G-F 键应用草酸水解

$$k = 6.10 \times 10^{16} C_{\text{草酸}}^{1.036} \text{EXP}(-25178/RT) \quad (7)$$

棉子糖 G-F 键应用盐酸水解

$$k = 7.92 \times 10^{17} C_{\text{盐酸}}^{1.119} \text{EXP}(-25455/RT) \quad (8)$$

式(7)和式(8)即分别为棉子糖在草酸和盐酸水解介质中的动力学模型。根据式(7)和式(8)计算的水解速度常数一并列于表 1 中。

数理统计结果: 棉子糖应用盐酸和草酸催化水解的  $R^2$  值分别为 0.9969 和 0.9974, 这两

个数值表明导出的方程式(7)和(8)是相当精确的。

#### (四)几个动力学问题的讨论

弗札—哈里斯 (Feather-Harris)、斯捷图里及其同行 (Szejtli et al) 曾先后研究过棉子糖酸性水解, 他们认为: Ga 取代基导致了 G-F 键水解能力下降。然而, 他们的结论仅仅基于盐酸介质中进行的水解

为弄清 Ga 取代基对 G-F 水解的影响, 现将作者对高粱糖蜜 (Sorghummolasses) 应用盐酸和草酸的水解结果 [9, 10], 一并标绘于图2至图5中。对比表明: 棉子糖中 G-F 键和高粱糖蜜中的水解速度不同。当它们同在盐酸介质中水解, 棉子糖中 G-F 键的水解速度约 25% 低于高粱糖蜜; 而在草酸介质中水解, 前者的水解速度约 39% 快于后者。由此, 本研究的结论是: 在盐酸介质中, Ga 取代基降低了 G-F 键的水解能力, 但在草酸介质中, Ga 取代基促进了 G-F 键的水解, 这种现象很可能是草酸和棉子糖之间的分子缔合作用, 形成了一种更易水解的棉子糖草酸脂而造成的, 当然, 作者的这一推测尚待进一步证实。

斯捷图里曾报导, 棉子糖的 Ga-G 键和在蜜二糖分子中的 Ga-G 键的水解速度相同 [8]。因此, 棉子糖分子中的两种键的水解能力可以进行比较。根据本研究测定, 蜜二糖 Ga-G 键在 0.8% (w/v) 草酸和 80°C 时, k 值为 0.000098 分<sup>-1</sup> [10], 而棉子糖在相同条件下为 0.102072 分<sup>-1</sup>, 这就是说, 棉子糖 G-F 键的水解速度比 Ga-G 键大 1041 倍。

## 四、研究结论

本研究得出如下结论:

1. 确立了棉子糖在盐酸和草酸介质中的水解动力学模型。

2. 在盐酸介质中, 棉子糖 G-F 键的水解速度约 25% 低于高粱糖蜜中蔗糖分子的 G-F 键。这种情况可归因于 Ga 取代基导致构形变化更加困难。

3. 在草酸介质中, 棉子糖 G-F 键的水解速度约 39% 快于高粱糖蜜中蔗糖分子的 G-F 键, 这种情况很可能是分子缔合作用生成了更易水解的络合物。

4. 当水解进行在草酸介质中, 棉子糖分子中 G-F 键的水解速度大约 3 个数量级快于 Ga-G 键的水解速度。

#### 参考文献

- (1) М. З. Хелемский, Е. А. Воробьева, М. Л. Пельц, Трубы ТСИНС, 11, 18 (1963)
- (2) М. З. Хелемский, Технологические Качества Сахарной Свеклы, VI, Москва (1967)
- (3) A. L. Lehninger, Biochemistry, Worth Publishers, Inc. (1975)
- (4) W. N. Howarth, E. L. Hirst, D. A. Rucii, Trans. Chem. Soc. (London) 123, 3125 (1923)
- (5) Andress de Grandchamp-Chaudun, Compt. rend, 236, 244 (1953). (C. A. 46: 2891 f)
- (6) E. A. Moelwyn-Hughes, Trans. Faraday Soc., 25, 503 (1929)
- (7) J. Szejtli, R. D. Henriques, M. Castineira, Acta Chim Acad Sci., Hung., 66, 213 (1970)
- (8) M. S. Feather, J. F. Harris, J. Organic Chem., 30, 153 (1965)
- (9) 钟穗生, L. T. Fan, J. Food Sci., 49 (6) 1428 (1984)
- (10) 钟穗生, L. T. Fan, 太原工业大学学报, 1, 85 (1985)

## 柞蚕 $\beta$ 葡萄糖苷酶和多酚氧化酶的初探

上海科技大学生物工程系 周祖荫

动植物中含有丰富的醌类物质。这些物质

在食品加工过程中, 在食品中存在的多酚氧化