

麦芽低聚糖的生产及利用

1. 前 言

麦芽低聚糖(Maltooligosaccharide, 简称MOS)是由淀粉得到的,由2-10个葡萄糖聚合而成的糖。淀粉通常是由直链状的直链淀粉和分枝状的支链淀粉以2:8的比例组成的巨大分子,直链淀粉是葡萄糖以数千个 α -1,4键结合而成的高分子糖,支链淀粉由2-3万个葡萄糖结合而成,其中4%以 α -1,6键结合,其它为 α -1,4键结合。因此,通过分解淀粉而生成的糖种类很多,以 α -1,4键结合的直链MOS有:麦芽糖(G_2),麦芽三糖(G_3)、四糖(G_4)、五糖(G_5)、六糖(G_6)、七糖(G_7)、八糖(G_8)、九糖(G_9)、十糖(G_{10}),由于支链淀粉的分枝部分而得到的分子内具 α -1,6键的分枝型MOS有:异麦芽糖,巴糖(葡糖基麦芽糖),葡糖基麦芽三糖等。

以前,在淀粉水解产物水饴和饴粉之中,含有混合状态的上述MOS和葡萄糖,水饴和饴粉主要用于制造面包、制药、制酒和健康食品等。 G_2 的单一制品以及含有 G_2 的糖制品可以利用来源于植物的 β -淀粉酶大量地生产。然而, G_3 以上的低聚糖由于以前没有高效的具有特异性的生产用酶,生产十分困难。近来,具有生成MOS特异性、以微生物为来源的酶相继被发现(如表1所示),从而促进了主要含有MOS的制品以及MOS纯品的实用化,许多产品相继在市场上出现。

对MOS集中精力地进行开发研究是在1973年以后,因为人们认为 G_3 以上的MOS在单独使用时具有优良的特性。自从发现利用 G_3 测定血液中的 α -淀粉酶活性可以诊断疾病以来,对MOS的更为关注,开发活动更加活跃。

表1. 各种麦芽低聚糖(MOS)的生成酶

酶产生菌	生成糖	酶产生量(IU/ml)
灰色链霉菌 (<i>Streptomyces griseus</i>)	G_3	5.5
枯草杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>)	G_3	<1
施氏假单胞菌 (<i>Pseudomonas stutzeri</i>)	G_4	3.6
嗜糖假单胞菌 (<i>P. saccharophila</i>)	G_4	13.2
环状芽孢杆菌 (<i>Bacillus circulans</i>)	G_4 、 G_5	0.5
地衣芽孢杆菌 (<i>B. Licheniformis</i>)	主要是 G_5	—
蜡状芽孢杆菌 (<i>B. cereus</i>)	主要是 G_5	0.5
假单胞菌 (<i>P. sp.</i>)	G_5	8.4
产气节杆菌 (<i>Aerobacter aerogenes</i>)	G_5	0.2
枯草杆菌 (<i>B. subtilis</i>)	G_6	—
环状芽孢杆菌 (<i>B. circulans</i>)	G_6	<0.1
环状芽孢杆菌 (<i>B. circulans</i>)	G_6	1.1
嗜碱芽孢杆菌 (<i>Alkalophilic Bacillus sp.</i>)	G_6	1.1

2. MOS的性质及其应用

由于以往缺乏大量的纯品,故有关性质的了解不多,Donnelly等曾定性地检测过MOS的吸湿性。在90%的相对湿度下,各种温度时的吸湿顺序为:

24°C $G_8 > G_4 > G_5 = G_7 > G_{11} > G_2$

30°C $G_8 > G_4 = G_7 > G_5 > G_6 > G_{11} > G_2$

38°C $G_8 > G_4 = G_5 = G_7 > G_8 > G_{11} > G_2$

其中 G_3 的吸湿性总是最高的。此外, G_3-G_{10} 的比旋光度($[\alpha]^{25}$) 在+159~+191的范围内,高于葡萄糖的+53和 G_2 的+129~+130。对酵母的同化性为:葡萄糖和 G_2 可以很好地发酵,而 G_3 只能稍稍发酵, G_4 以上则完全不能发酵,利用酵母的同化性可以从MOS混合物中有选择地除去葡萄糖和 G_2 。

MOS在体内具有很高的利用性,Martin以 ^{14}C 标记葡萄糖、蔗糖及 G_3 ,由口腔投入小白鼠体内,随时测定呼吸的二氧化碳中的放射能以检查各种糖在体内的利用性。与葡萄糖相比, G_3 的利用性明显地高,与蔗糖相同或超出。Birch等对DE43的水饴进行酒精分级沉淀,分成 G_7 以上的MOS和 G_6 以下的MOS组分,以葡萄糖对照饲养小白鼠,观测体重和脂肪量的变化,结果增加量大小的顺序为 G_7 以上 $>G_6$ 以下 $>$ 葡萄糖。根据这些实验结果,说明糖的聚合度越高其利用性就越高。由于还没有发现可生成 G_7 以上MOS的酶,所以在现阶段还很难生产,今后最易于商品化的MOS将是 G_4 和 G_5 的制品。最近,日本食品化工有限集团制备出了 $G_3 \sim G_{10}$ 的高纯度MOS,并对其性质作了详细地考查。

1) 甜度

如以蔗糖的甜度为100,则各种MOS的甜度分别为: $G_7=5$ 、 $G_8=10$ 、 $G_5=17$ 、 $G_4=20$ 、 $G_2=32$ 、 $G_6=44$ 、葡萄糖=70,随着聚合度的增加甜度在减少, G_4 以上只能隐约地感到甜味,但味质良好。低甜度性质是一种有利的食品原料性质,和其他各种食品混合也不会对口

味产生恶劣影响,而且能够大量地使用。

2) 粘度

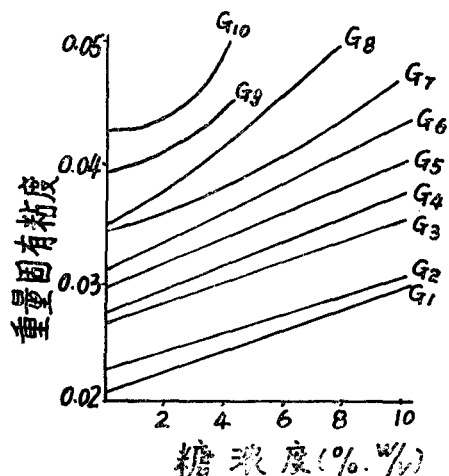


图1. 各种麦芽低聚糖 (MOS) 的重量固有粘度

图1所示是各种MOS的固有粘度, G_3 以上和 G_2 以下之间存在着明显的差异, G_2 的粘度特性与蔗糖相同, G_3 以上的MOS具有极高的粘性,在使食品具有布丁感方面能有效地利用。

3) 保湿性

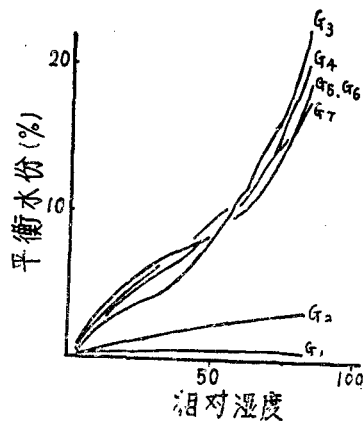


图2. 各种相对湿度下麦芽低聚糖的平衡水份

图2所示是25°C时相对湿度与各种MOS平衡水份间的关系, G_3 以上和 G_2 以下区别明显,此性质适用于生产需要保持水份的食品。

4) 水份活度

水份活度在食品保藏中担负着重要角色,

0.95以下革兰氏阴性杆菌便停止发育，乳酸杆菌等细菌的繁殖具有优势；0.88以下细菌和酵母停止发育，霉菌能够生长；到0.80以下除耐干性的霉菌外，都不能生长；0.70以下微生物则全不能生长。因此，如在低水份活度下保藏的话，室温下也能起到抑制微生物的作用，可以长时间地保持食品的品质。水份活度（ A_w ）以 p/p_0 表示（ p ：水溶液的蒸汽压， p_0 ：纯水的蒸汽压），溶质吸入的水分子越多，则 A_w 越小。在糖浓度为70%时，随着聚合度的增加，葡萄糖、 G_2 、 G_3 、 G_4 在20℃时的 A_w 为0.75、0.82、0.89、0.915，是逐渐增大的，所以对于MOS要相当大的糖浓度才能发挥静菌效果。

5) 机能性

近来，为了进一步维持健康，增进人体的机能，加强了被称为调整用食品原料的MOS

的研究。例如： G_4 虽未曾显示对双歧杆菌(Bifidobacterium)等有用菌具有增殖效果，但对产气荚膜梭菌(Clostridium perfringens)等肠内腐败菌的生长具有特别的抑制作用。再有，它对一种植物病原菌胡萝卜软腐欧文氏菌(Erwinia carotovora)具有抗性，如以 G_4 的抗菌活性计为100，则葡萄糖为0， G_2 为8， G_3 为105， G_7 为75， G_6 为40。今后，如果进行更多的研究来评介这类效果的话，机能性食品原料的说法便可以接受。

此外，与葡萄糖和蔗糖相比，MOS不存在加热时的着色以及与氨基酸的褐变反应，因此能够用于生产不宜着色的食品。

由于上述的这些性质，MOS的用途很多（如表2所示）。还有一些特殊的用途，例如用于病人、老年人和幼儿的滋补食品，已有报道聚合度为5的MOS可以作为肾脏病患者的能量来

表2. 麦芽低聚糖的用途

用 途	食 品 名
浓厚感	各种饮料、烧酒、威士忌、鸡尾酒、辣酱油、酱油、番茄酱、果酱、调味汁
布丁风格	面糕、奶油乳蛋糕、婴儿食品、果冻等
粉末化基剂	粉末饮料、粉末汤、粉末调味料、咖啡伴侣、粉末香料
儿童食品	奶油糖果、太妃糖、巧克力
防止褐变、着色	馅、奶油类、果酱等
形成光泽和皮膜	米糕、煮豆、紫菜加工、糖果等
调节冻结温度	雪糕、冰淇淋、制膜剂、冷冻食品等
延长保存期	日本及西洋糕点

源。另外，用 G_5 作为临床检查用试剂，配以 α -葡萄糖苷酶、ATP、己糖激酶、 Mg^{2+} 、NAD、G-6-p脱氢酶混合而成的共同作用酶系，通过测定360nm波长下NAD和NADH的吸收强度，可以测定血清中的 α -淀粉酶的活性，用于诊断急性肝炎等各种疾病。

3. MOS的生产及MOS生产用酶

利用碳柱层析法和凝胶过滤法可以由MOS混合物中分离出各种MOS，但分离量很

少，纯度很高，适用于医药及试剂用纯品的制备，分离用载体可用聚丙烯酰胺凝胶(Biogel) p-2, Toyopearl HW-40s等。使用实用的凝胶层析柱也可生产高纯度的MOS，但产品的价格较高。由于食用上无需高纯度的MOS，只要利用可以由淀粉生成单一MOS的酶，而生成主要含有MOS的糖液或饴粉制品即达到目的，故利用离子交换等方法将主要成份分离精制，便可以容易地生产出高纯度的产品。

1) 麦芽糖 (G_2)

G_2 是利用主要来源于植物的 β -淀粉酶及分枝酶的混合酶系,作用于液化淀粉而生产的,分枝酶的同时使用可以提高MOS的收率,但 G_4 以上的糖明显地减少。淀粉的基质浓度以20~40%为好,液化时DE值控制在2~5, G_2 的生成率可达到90%。将含有80%以上 G_2 的糖化液结晶,可制成 G_2 的粉末产品,90%以上的 G_2 糖化蒸发浓缩(熬糖)便可得到结晶;由95%以上的 G_2 液得到99%以上纯度的 G_2 结晶收率在40%以上。

分枝酶大体上有两类:切断支链淀粉等长分支的异淀粉酶和作用于短分支基质的苗霉多糖酶。苗霉多糖酶可以利用苗霉菌属(*Aerobacterium*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)的微生物来生产,具有很高的稳定性,适用于 G_2 的制造。 β -淀粉酶也可利用微生物生产,已知的有芽孢杆菌属、链霉菌属、假单胞菌属(*Pseudomonas*),然而其活性还不很强,而且没有植物 β -淀粉酶便宜,故还未达到实用化水平。

2) 麦芽四糖 (G_4)

至今,已知可以利用施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)生产 G_4 生成酶,在可以产生MOS生成酶的菌体中其酶产生量较高,早就考虑用于实用化,但由于该菌种专利权的原因,开发应用被推迟了。去年以来,开发研究迅速开展,已有几种产品进入市场。

笔者等对假单胞菌属中施氏菌以外的可产生类似 α -淀粉酶的菌株也很注意,收集了许多保藏菌株进行培养,观察菌体培养液作用于可溶性淀粉而生成糖的结果发现,嗜糖假单胞菌(*P. saccharophila*) IAM1504,可以产生大量的 G_4 生成酶。该菌的最适培养基为:可溶性淀粉1%、聚蛋白胨1%、 KH_2PO_4 0.1%, K_2HPO_4 0.28%,溶于自来水,调pH至7, 30°C振荡培养2天,经离心分离得到最终pH值为6.8的高活性粗酶液(培养液上清液最高活性可达14.3单位/ml)。由该粗酶液进行硫

酸铵盐析,透析而得透析酶,经柱层析、火棉胶袋浓缩,再层析收集活性组成便得到精制酶,此时的酶比粗酶至少精制了130倍以上,回收率高于65%。用凝胶过滤分离两次,用电泳测定显示单一的峰即为获得了精制的酶。

该酶分子量62000,等电点(PI) 4.7,最适pH6.7, pH5.5—10.5内可保持90%以上的活性,最适温度范围50—55°C,添加2mM $CaCl_2$ 可使温度稳定性提高5°C。金属离子及抑制剂对酶活的影响为(以不添加时的残余酶活定为100): Sr^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Li^+ 为114—105, Ca^{2+} 、 Rb^+ 为100—98, Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 为60—20, Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 为5—1.5, Ag^+ 、 Hg^{2+} 为0,氯化汞安息香酸(PCMB)为40以下,其推测是由于含有汞的原因,碘醋酸、SDS、L-半胱氨酸没有抑制性。

在30°C、pH7、底物浓度为1%的条件下,若以可溶性淀粉的反应初速度为100,则角质玉米淀粉、还原可溶性淀粉、鲐的糖原和 β -极限糊精(大豆 β -淀粉酶分解率41.7%)分别为95、90、67、8。对苗多糖、 α 及 β -环状糊精不作用。此外生成糖显示出负的变旋光,生成糖异构体确认是 α 型。

作用方式:以终浓度为1%的可溶性淀粉作为底物,添加5单位/克底物的酶, pH7、30°C下反应,用柱层析定时取样分析的结果表明,该酶在反应的整个过程中均在生成 G_4 ,斑点原点残留有高分子糖。用直链淀粉 G_4 的生成率为70—80%,支链淀粉为40%,因此推测该酶的作用是由淀粉分子的非还原性末端开始,在分枝前停止。对各种MOS的作用经双向纸层析检出结果,反应生成物为 $G_5 \rightarrow G_4 + G_1$, $G_6 \rightarrow G_4 + G_2$, $G_7 \rightarrow G_4 + G_3$, $G_8 \rightarrow G_4$, $G_9 \rightarrow G_4 + G_1 \dots \dots$,由 ^{14}C -葡萄糖标记的MOS (G_n , $n \geq 5$)生成无放射性的 G_4 和放射性的 G ($n - 4m$, $m \geq 1$),由此说明该酶对 $G_1 - G_4$ 完全不发生作用,从 G_5 以上由非还原性末端以4个葡萄糖单位进行切断。

以上说明的是嗜糖假单胞菌 G_4 生成酶的各

表3.

二种G₄生成酶的比较

	嗜糖假单胞菌酶	施氏假单胞菌酶
分子量 (SDS-PAGE)	62000	57000
等电点 (PI)	4.7	5.3
最适pH	6.7	6.5
pH稳定性	5.5-11	6.5-11
最适温度	55°C	45°C
温度稳定性	<45°C	<30°C
温度 (添加Ca ²⁺)	<45°C	—
抑制剂	Hg ²⁺ , Ag ⁺ , Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺	Hg ²⁺ , Cu ²⁺
异构型	α	α

种性质, 其与施氏假单胞菌产生酶的比较如表3所示, 确定在分子量、等电点、耐热性方面存在差异。

3) 麦芽五糖 (G₅)

可产生G₅生成酶的菌体已知的有地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)、环状芽孢杆菌 (*B. circulans*)、蜡状芽孢杆菌 (*B. cereus*), 但由每种菌体产生的酶在反应的整个过程中, 还生成大量G₅以外的MOS副产品, 难以得到G₅的纯品, 所以希望找到只生成G₅的酶。由各地的土壤, 食品筛选淀粉酶产生菌的结果, 在具有 α -淀粉酶活性的420个样品中, G₄生成酶产生菌有4种 (即所谓的施氏假单胞菌型), G₅生成酶产生菌有5种, 其中4种为原来的芽孢杆菌属菌体, 另一种认为是新型的菌种, 根据鉴定结果, 命名为假单胞菌 KO-8940。该菌为革兰氏阴性, 好气, 具有一条鞭毛, 有运动性, 大小为0.5~0.75 \times 1~3 μ m的杆菌。该菌的生产培养基组成及培养条件为: 由牛肉膏0.8%、硫酸铵1.0%、麦芽糖0.8%溶于自来水, pH调至8, 在500毫升三角瓶中加入100毫升培养基, 45°C、200r.p.m振荡培养3天, 可以得到8.41单位/ml活性的粗酶液 (培养基上清液)。

该酶的精制比较容易, 用硫酸盐析能够收集83%以上的酶活, 获得透析酶后, 用DEAE-Toyopearl650M的柱层析分离, 因为该酶完全不被吸附而大部分的夹杂蛋白质易被吸附,

所以精制分离非常容易, 这一阶段比活性约提高40倍, 回收率在70%以上。得到的活性成分用火棉胶袋浓缩, 由Toyopearl Hw-55S凝胶柱过滤溶出, 便可得到精制的酶, 其比粗酶液精制约110倍, 回收率高于43%。

该酶分子量为72000, 等电点为6.5, 最适pH值6.5, pH6.5-9可以保持80%以上的酶活, 粗酶液最适pH为6.5, pH稳定范围为6.5-10.5。最适温度55°C, 2mM的钙离子可使温度稳定性提高5°C。金属离子及各种抑制剂对酶活的影响为 (以不添加时的残余活性剂为100): Rb⁺、Mg²⁺为120-108, Co²⁺、Ca²⁺、Sr²⁺、Li⁺、Al³⁺、Ba²⁺、Mn²⁺为100-92, Fe³⁺、Zn²⁺分别为47、1, Ag⁺、Hg⁺、Cu²⁺为0, 氯化汞安息香酸、碘醋酸、SDS分别为48、63、50。

在45°C、pH6.5、底物浓度为1%的反应条件下, 以可溶性淀粉的反应初速度定为100, 则角质玉米淀粉、还原可溶性淀粉、鲐的糖原、 β -极限糊精 (大豆 β -淀粉酶分解率41.7%) 分别为94、91、76和41。对茁多糖、 α 和 β -环状糊精完全不作用。此外, 生成糖显示负的变旋光, 因此认为生成糖异构体为 α 型。

作用方式: 以1%终浓度的可溶性淀粉作为底物, 加入0.1以及21单位/ml的酶液, pH6.5、45°C反应, 定时取样用纸层析检出的结果说明该酶在反应初期只生成G₅, 斑点原点残留有高分子糖。由可溶性淀粉可达到40%的生

成率，主要成份是 G_5 ，随着反应的进行高分子糖在减少，同时 G_5 也在分解为 G_2 和 G_3 ，最终几乎所有的高分子糖均变为 G_3 和 G_2 ，由双向纸层析检出的结果，推测 G_5 生成酶是按以下顺序作用：

① G_7 以上的糖分子最容易被作用，由其非还原性末端以 G_5 单位水解。

② G_6 以下的糖分子由非还原性末端以 G_3 单位水解，由还原性末端按 G_2 单位水解。

③跳过淀粉分子的分支部分内切型水解为高分子糖。

④ G_1 、 G_2 、 G_3 完全不被作用。

由上所述，在反应初期该酶只生成 G_5 ，因此可以利用膜反应器将生成的 G_5 不断地提出，而进行高纯度制品的大量生产。另外，还可以生产 G_2 和 G_3 的混合物，特别是 G_3 具有抑制肠内腐败菌等机能性，引起人们极大关心。可以将该混合物用柱分离，经酵母处理，便可生产以 G_3 为主的机能性食品原料，与酒精以及其它的食品原料相混合可以进一步开发出多种多样的食品。不久的将来， G_5 将进入实用化，将活跃 G_3 的开发研究。

金其荣、冷云伟译自（日）淀粉科学，37（3）：163-171，1990。

果香型汽水风味因素

唐山市果脯厂 王世锦

果香型汽水，在当前各种保健饮料、疗效饮料纷呈异彩的商品世界里，只能算是一种低等饮料。但同时它又是很普通的大众饮料，在我国饮料诸多品种中，消费量仍处首位，夏季更是如此。各厂家都希望自己的产品受到消费者的欢迎，要实现这个愿望，就得解决好一个问题——质量，而衡量质量的一个重要标志就是风味。关于风味的概念，各种资料大同小异。我认为食品的风味主要是指人对于食品给予嗅觉器官和味觉器官的刺激而产生的综合反应。要设计风味好的汽水配方，需要弄清决定汽水风味的因素以及它们之间的关系。下面依据自己的工作体会谈谈个人看法，以和各位同行交流。

一、香精的选择和适量添加

果香型汽水，不论是果味汽水还是果汁汽水，都需要添加香精。无论哪个厂家的香精都不会和原果所含呈香物质的种类和比例一丝不

差，因此香精的香味和原果香味都有一定距离。尽管质量很好的香精香味非常逼真，也不能和原果香味完全一样。质量次的香精和原果香味距离就更大了，有的甚至有异味。香气是汽水风味的一个重要因素，汽水风味的好坏，首先决定于香味的优劣。要生产好的汽水，必须选择质量好，香味逼真的香精。例如：柑桔、香蕉、菠萝、柠檬等香精一般都选择上海、杭州、广州、桂林等香料厂的产品；哈密瓜香精全国应首推杭州香料厂产品；水蜜桃香精是成都香料厂的产品较好，进口的有美国大力士等。

香精选定后，添加适量也是一个关键。添加量少，香味寡淡。添加多了会得不到正常香味。以果味汽水为例，国产香精添加量一般在0.08~0.12%之间，如果使用美国大力士水蜜桃香精也按这个量添加，得到的不会是水蜜桃味，而是一种难以表达使人很不舒服的气味。添加量降到0.01~0.012%时，桃子香味纯真