

# 发酵法提取青稞麸皮中 $\beta$ -葡聚糖的工艺优化及其理化性质研究

刘新琦<sup>1,2</sup>, 何先喆<sup>1</sup>, 刘纯洁<sup>1</sup>, 唐庆九<sup>2</sup>, 顾飞燕<sup>3</sup>, 俞 苓<sup>1,\*</sup>

(1. 上海应用技术大学香料香精技术与工程学院, 上海 201418;

2. 上海市农业科学院食用菌研究所, 上海 201403;

3. 上海宏度精细化工有限公司, 上海 201108)

**摘要:**为提高青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖的产量和纯度, 选用发酵法提取制备青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖。运用单因素、正交试验确定最优提取条件, 并对该条件下得到的青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖进行了分子量、单糖组成等理化分析。结果表明, 发酵法提取青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖最佳工艺参数为: 料液比 1:6, 接种 0.05% 高活性干酵母, 在 32 °C 条件下发酵 34 h。在最优条件下生产的 $\beta$ -葡聚糖, 得率为 5.21%  $\pm$  0.02%, 与传统水提法相比提高了 60.8%, 纯度为 91.21%。发酵法提取的青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖理化分析特征为单糖组成主要为 D-葡萄糖, 其平均相对分子质量为 1.366  $\times$  10<sup>5</sup>, 水提法提取的青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖单糖组成有 D-阿拉伯糖、D-半乳糖、D-木糖、D-甘露糖、D-葡萄糖, 平均分子量为 7.759  $\times$  10<sup>5</sup>。

**关键词:** 青稞麸皮,  $\beta$ -葡聚糖, 发酵, 分子量, 单糖组成

## Study on Optimization of Extraction Process of Barley Bran $\beta$ -Glucan by Fermentation and Its Physicochemical Properties

LIU Xin-qi<sup>1,2</sup>, HE Xian-zhe<sup>1</sup>, LIU Jie-chun<sup>1</sup>, TANG Qing-jiu<sup>2</sup>, GU Fei-yan<sup>3</sup>, YU Ling<sup>1,\*</sup>

(1. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China;

2. Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China;

3. Hongdu Fine Chemical Co., Ltd., Shanghai 201108, China)

**Abstract:** In order to improve the content and purity of  $\beta$ -glucan in the barley bran, the barley bran  $\beta$ -glucan was prepared by fermentation. Single factor and orthogonal experiments were used to optimize the extraction conditions, and physical and chemical properties of the  $\beta$ -glucan which obtained by fermentation were analyzed. The optimal process parameters for the extraction of barley bran  $\beta$ -glucan by fermentation method were as follows: Inoculation with 0.05% high active dry yeast, ratio of material to liquid 1:6, fermentation temperature 32 °C, fermentation time 34 h. The yield of  $\beta$ -glucan produced under optimal conditions was 5.21%  $\pm$  0.02%, which was increased by 60.8% compared with the traditional water extraction method, and the purity was 91.21%. The physical and chemical analysis of the barley bran  $\beta$ -glucan extracted by fermentation method was characterized by monosaccharide composition mainly D-glucose, and its average relative molecular mass was 1.366  $\times$  10<sup>5</sup>. The barley bran  $\beta$ -glucan monosaccharide extracted by water extraction method was consisted of D-arabinose, D-galactose, D-xylose, D-mannose, D-glucose. It's average relative molecular mass was 7.759  $\times$  10<sup>5</sup>.

**Key words:** barley bran;  $\beta$ -glucan; fermentation; molecular weight; monosaccharide composition

中图分类号: TS210.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)07-0049-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020.07.009

**引文格式:** 刘新琦, 何先喆, 刘纯洁, 等. 发酵法提取青稞麸皮中 $\beta$ -葡聚糖的工艺优化及其理化性质研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(7): 49-54.

青稞 (*Hordeum vulgare*) 为禾本科植物, 大麦属<sup>[1]</sup>, 具有高蛋白质、高膳食纤维、低脂、低糖等特点<sup>[2]</sup>。青稞由于富含丰富的 $\beta$ -葡聚糖而备受国内外学者的关注<sup>[3]</sup>。有研究表明 $\beta$ -葡聚糖具有调节血糖<sup>[4]</sup>、提高免疫力<sup>[5-6]</sup>、抗肿瘤、抗病毒<sup>[7]</sup>等功效, 除此

之外其还具有良好的保湿性<sup>[8]</sup>, 可用作保湿化妆品添加剂<sup>[9]</sup>。

$\beta$ -葡聚糖常用的提取工艺主要分为三类, 分别为水提法<sup>[10]</sup>、碱提法<sup>[11]</sup>和酸提法<sup>[12]</sup>。水提法易操作且提取条件温和, 但 $\beta$ -葡聚糖得率低<sup>[13]</sup>; 酸提和碱

收稿日期: 2019-06-17

作者简介: 刘新琦(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物功能因子的功效评价与应用, E-mail: 757016932@qq.com。

\* 通讯作者: 俞苓(1966-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 天然产物提取与应用, E-mail: yling@sit.edu.cn。

提法虽使得率有所提高,但要严格控制实验 pH,而且实验过程中产生大量热量使实验难度增加<sup>[14]</sup>。有报道在传统水提工艺的基础上利用超声-微波协同<sup>[15]</sup>、超高压<sup>[16]</sup>等对提取工艺进行优化,可以进一步提高得率,但这些提取方法获得的 $\beta$ -葡聚糖需要进一步纯化<sup>[17]</sup>,实验步骤较长。发酵法提取青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖,利用酵母菌丰富的酶系统,消耗青稞麸皮中的淀粉和蛋白质,有效释放青稞麸皮中 $\beta$ -葡聚糖。另外,由于酵母生长过程中不消耗发酵液中的 $\beta$ -葡聚糖,同时还能利用还原糖、蛋白质等其他物质作为营养物进行生长,从而达到对 $\beta$ -葡聚糖去杂纯化的效果<sup>[18]</sup>,且提高 $\beta$ -葡聚糖得率。目前发酵法提取 $\beta$ -葡聚糖的报道只见于燕麦<sup>[19]</sup>,尚未见发酵法提取青稞 $\beta$ -葡聚糖。因此本文研究了发酵法提取青稞 $\beta$ -葡聚糖,并通过单因素和正交试验对其工艺条件进行优化,并对得到的青稞 $\beta$ -葡聚糖进行分离、纯化以及理化性质分析,为青稞 $\beta$ -葡聚糖的开发利用提供科学基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

青稞麸皮 市售;高活性干酵母、酿酒干酵母、啤酒干酵母、葡萄酒干酵母 均为安琪酵母有限公司,属酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)类的不同类产品; $\beta$ -葡聚糖标准品、无水葡萄糖、牛血清蛋白、酪蛋白、刚果红、无水乙醇、考马斯亮蓝 G250、三氯乙酸、活性炭、硅藻土、碘试液 均为国产分析纯,国药(上海)化学试剂有限公司;标准单糖:D-半乳糖、D-葡萄糖、D-阿拉伯糖、L-岩藻糖、L-鼠李糖、D-甘露糖、D-木糖、三氟乙酸 美国 Sigma 公司。

L530 型离心机、FD50 冷冻真空干燥机、旋转蒸发仪 湘仪仪器公司;UV210 紫外分光光度计 棱光技术公司;HPLC MALLS 索映仪器设备公司;Waters 2695 型高效液相色谱仪、VETEX 70 红外光谱 美国 Waters;DMAX-20 射线衍射仪 美国 TA;ICS2500 离子色谱仪 Dionex 公司;SK-GEL 系列凝胶色谱柱 G6000PWXL、G4000PWXL (7.8 mm × 300 mm) TOSOH。

### 1.2 实验方法

1.2.1 发酵法提取青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖 青稞麸皮糊化液的制备:青稞麸皮经干燥、粉碎后过 100 目筛,将粉碎后的青稞麸皮粉末以一定的料液比加入一定量的水,58 °C 糊化 20 min 制成青稞糊化液。市售干酵母活化:将市售干酵母加入 2% 葡萄糖溶液,32 °C,水浴 20 min 进行活化。在接菌发酵之前对青稞糊化液进行高温灭菌 121 °C,20 min<sup>[20]</sup>。

将青稞糊化液与活化过的活性干酵母混合搅匀,放入摇床,设置摇床转速 110 r/min 进行振荡发酵。经发酵后将发酵液放入离心机,设置转速 4000 r/min 离心 10 min,收集上清液,缓慢加入 3.5 倍体积分数为 85% 的乙醇,并于 4 °C 冰箱里醇沉多糖 4 h,收集沉淀进行真空冷冻干燥,得到青稞 $\beta$ -葡聚糖粗品。将青稞 $\beta$ -葡聚糖粗品配制成 10 mg/mL 的溶液,加入 5% 活性炭,于 45 °C 水浴下 20 min,再将

硅藻土均匀铺在滤纸上,抽滤除去溶液中的活性炭,收集滤液。将滤液旋转蒸发浓缩至原体积的 1/3,通过真空冷冻干燥得到青稞 $\beta$ -葡聚糖粉末。真空冷冻干燥条件:冷冻温度为-85 °C,真空度为 0.95 Pa。

1.2.2 水提法提取青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖 参考董磊<sup>[21]</sup>关于水提青稞 $\beta$ -葡聚糖条件的优化方法并加以改进。工艺流程如下:料液比 1:22 在 52 °C 下提取 3 h;4000 r/min 离心 10 min 后取上清液后同 1.2.1 中实验方法,得到水提 $\beta$ -葡聚糖产品。

1.2.3  $\beta$ -葡聚糖含量测定及得率计算 根据刚果红法<sup>[22]</sup>测定 $\beta$ -葡聚糖含量,配制 1 mg/mL 的 $\beta$ -葡聚糖标准品溶液冷藏待用,将刚果红溶解于 pH8.0 的磷酸缓冲液中,配制 0.1 mol/L 的刚果红溶液。将 $\beta$ -葡聚糖标准品溶液稀释为 20、40、60、80、100  $\mu$ g/mL,分别取 2 mL 不同浓度 $\beta$ -葡聚糖标准品溶液加 4 mL 刚果红溶液,25 °C 水浴 30 min,以 2 mL 蒸馏水加 4 mL 刚果红溶液为空白对照,于 545 nm 处测定吸光值。吸光值与 $\beta$ -葡聚糖标准品含量的线性方程为  $y = 2.83x - 0.002$  ( $R^2 = 0.9966$ )。式中纵坐标  $y$  代表吸光度值,横坐标  $x$  代表 $\beta$ -葡聚糖含量 ( $\mu$ g/mL)。将冷冻干燥后的 $\beta$ -葡聚糖粉末溶于蒸馏水中,配成 1 mg/mL 的 $\beta$ -葡聚糖溶液,测定吸光值,计算 $\beta$ -葡聚糖含量,再按以下公式计算 $\beta$ -葡聚糖得率和纯度。

青稞 $\beta$ -葡聚糖得率 (%) =  $\beta$ -葡聚糖粉末的质量 / 青稞麸皮粉的质量 × 100 式(1)

青稞 $\beta$ -葡聚糖纯度 (%) =  $\beta$ -葡聚糖粉末中 $\beta$ -葡聚糖的质量 /  $\beta$ -葡聚糖粉末质量 × 100 式(2)

1.2.4 蛋白质含量的测定 以牛血清蛋白为标准样,用考马斯亮蓝法<sup>[23]</sup>绘制蛋白质标准曲线。配制 0.1 mg/mL 的蛋白质标准溶液冷藏待用;称取 10 mg 考马斯亮蓝 G250,加 5 mL 95% 乙醇溶解,再加入 10 mL 85% 磷酸溶液,最后用蒸馏水定容至 100 mL,置于棕色瓶中备用。将蛋白质标准溶液稀释为 20、40、60、80、100  $\mu$ g/mL,分别取 1 mL 不同浓度蛋白质标准溶液加 5 mL 考马斯亮蓝 G250 溶液混匀,常温静置 10 min,以 1 mL 蒸馏水加 5 mL 考马斯亮蓝 G250 溶液为空白对照,于 595 nm 处测定吸光值。吸光值与蛋白质含量的相关性方程为  $y = 8.7171x + 0.0225$  ( $R^2 = 0.9976$ ),将冷冻干燥后的 $\beta$ -葡聚糖粉末溶于蒸馏水中,配成 1 mg/mL 的 $\beta$ -葡聚糖溶液,测定吸光值,通过测定样品吸光度值可计算得蛋白质含量。

蛋白质含量 (%) =  $\frac{\text{蛋白质质量}}{\beta\text{-葡聚糖粉末质量}} \times 100$

式(3)

1.2.5 单因素实验 固定基本条件为接种量 0.05% (酵母/麸皮, g/g),料液比 1:5,发酵时间 36 h,发酵温度 32 °C。研究不同菌种(高活性干酵母、酿酒干酵母、啤酒干酵母、葡萄酒干酵母)、接种量(0.01%、0.03%、0.05%、0.07%、0.09%)、料液比(1:3、1:4、1:5、1:6、1:7)、发酵温度(28、30、32、34、36 °C)、发酵时间(6、12、18、24、36、42、48 h)等因素对青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖得率的影响。

1.2.6 正交优化试验 根据单因素实验结果,选择

料液比(A)、接种量(B)、发酵时间(C)进行 $L_9(3^3)$ 正交试验,优化发酵法提取青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖的工艺,因素水平的选择见表1。

表1 发酵法提取 $\beta$ -葡聚糖正交试验因素水平表  
Table 1 Factors and levels table of orthogonal test for extracting  $\beta$ -glucan by fermentation method

水平	因素		
	料液比	接种量(%)	发酵时间(h)
1	1:4	0.04	34
2	1:5	0.05	36
3	1:6	0.06	38

1.2.7  $\beta$ -葡聚糖分子量的测定 参考文献[24-26]通过HPSEC-MALLS-RI联用分析发酵法优化工艺制备的样品和1.2.2实验所得到的两个样品的分子量分布。分别称取两种样品5 mg于1 mL流动相,过0.22  $\mu$ L的水相微孔膜,上样分析。实验通过Waters2695型高效液相色谱仪连接MALLS、RI System。TSK-GEL系列凝胶色谱柱G6000PW<sub>XL</sub>、G4000PW<sub>XL</sub>串联使用,柱温30  $^{\circ}$ C,进样量100  $\mu$ L,流动相为0.15 mol/L的硝酸钠和0.05 mol/L磷酸二氢钠(pH=7,0.02%叠氮钠),流速0.5 mL/min进行等度洗脱分析。8角度激光光散射仪的光源波长选用623.8 nm,溶液中多糖折光指数增量(dn/dc)为0.146 mL/g进行计算。使用Astra(6.1.1版)进行数据分析软件收集和分析光散射数据,计算分子量。

1.2.8 单糖组成的测定 采用高效阴离子交换色谱分析法对所得的样品进行单糖组成测定<sup>[27-29]</sup>。称取2 mg样品溶于3 mL浓度为2 mol/L的三氟乙酸,加入反应瓶中。然后放置在110  $^{\circ}$ C油浴中水解3 h。冷却至室温,加入3 mL甲醇,用氮气在40  $^{\circ}$ C下吹干,重复4~5次以完全除去三氟乙酸。将反应瓶中的样品用超纯水定容至25 mL待测。标准品:L-海藻糖、L-鼠李糖、D-阿拉伯糖、D-氨基葡萄糖、D-半乳糖、D-葡萄糖、D-木糖、D-甘露糖、D-果糖、D-半乳糖醛酸、D-葡糖醛酸混标。实验采用带脉冲安培检测器的ICS2500离子色谱仪,连接阴离子交换分析色谱柱Carbo Pac<sup>TM</sup>PA20(3 mm  $\times$  150 mm),2.5 mmol/L的NaOH溶液和超纯水为流动相,流速为0.45 mL/min,上样量25  $\mu$ L,柱温为30  $^{\circ}$ C,进行等度洗脱分析。

### 1.3 数据分析

本研究中的试验均重复进行3次,运用Microsoft Excel 2003、Origin 8.0和SPSS 18.0数据处理软件对实验数据进行整理、图表绘制和显著性分析(以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义),实验结果采用平均值 $\pm$ 标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同酵母菌发酵对青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖提取效果的影响

运用四种活性干酵母发酵获得的 $\beta$ -葡聚糖得率结果如图1。结果发现,发酵法获得 $\beta$ -葡聚糖的得率均较水提法高,这是由于酵母中含有丰富的酶系统,使青稞麸皮中的 $\beta$ -葡聚糖更好地溶解出来,四种

酵母中高活性干酵母发酵得率最高, $\beta$ -葡聚糖得率为 $4.78\% \pm 0.03\%$ ,较水提法高47.53%,因此选取高活性干酵母为发酵菌种。

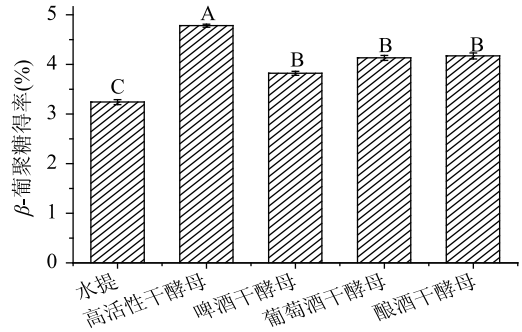


图1 不同酵母菌对 $\beta$ -葡聚糖得率的影响

Fig.1 Effects of different yeasts on extraction yield of  $\beta$ -glucan

注:不同大写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),图2~图5同。

### 2.2 发酵法提取青稞 $\beta$ -葡聚糖单因素实验

2.2.1 料液比对青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖提取效果的影响 随着料液比的提高, $\beta$ -葡聚糖的得率先增加后稳定(图2),料液比太小时 $\beta$ -葡聚糖无法充分溶解,料液比增大后得率也随着增大;当料液比为1:5时, $\beta$ -葡聚糖得率为 $4.98\% \pm 0.03\%$ ,与料液比为1:6、1:7结果无显著性差异( $P > 0.05$ ),但显著高于料液比1:3、1:4( $P < 0.05$ ),根据液固相萃取的基本理论,增大料液比有利于溶质的溶出,但是过大的料液比不仅增加了水的消耗,而且增高了后续的浓缩成本<sup>[30]</sup>,因此选取料液比1:5。

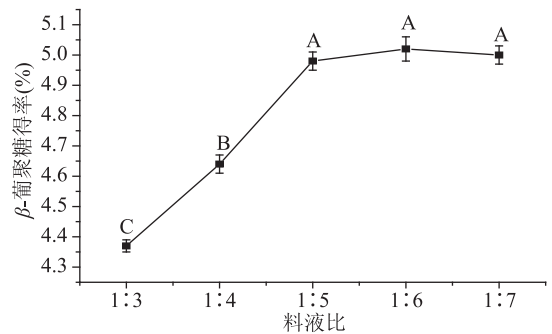


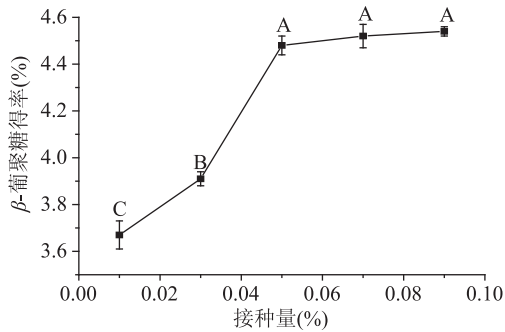
图2 料液比对 $\beta$ -葡聚糖得率的影响

Fig.2 Effects of ratio of material to liquid on extraction yield of  $\beta$ -glucan

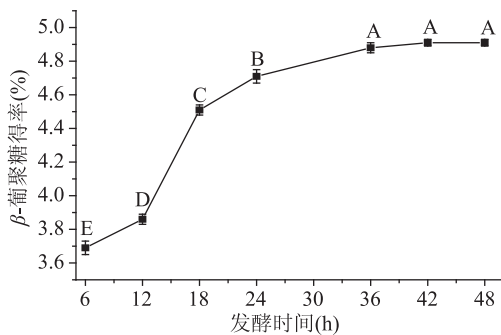
2.2.2 接种量对青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖提取效果的影响 接种量为0.01%~0.05%时, $\beta$ -葡聚糖得率快速增加(图3),接种量为0.05%时, $\beta$ -葡聚糖得率为 $4.48\% \pm 0.04\%$ ,与接种量为0.07%、0.09%无显著性差异( $P > 0.05$ ),但显著高于接种量为0.01%、0.03%( $P < 0.05$ ),这是由于0.05%接种量已经使发酵液达到饱和,虽然增加接种量 $\beta$ -葡聚糖还在不断析出,但是对实际生产意义不大,因此选择接种量为0.05%。

2.2.3 发酵时间对青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖提取效果的影响 随着发酵时间的延长, $\beta$ -葡聚糖的得率先增加后趋于平缓(图4),发酵时间为36 h时, $\beta$ -葡聚糖得率为 $4.88\% \pm 0.03\%$ ,与42、48 h试验结果无显著性

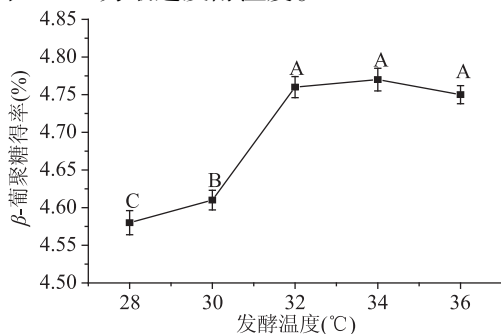


图3 接种量对 $\beta$ -葡聚糖得率的影响Fig.3 Effects of inoculation amount on extraction yield of  $\beta$ -glucan

差异( $P > 0.05$ ),但显著高于发酵时间为6、12、18、24 h( $P < 0.05$ )。这是由于在前18 h内酵母大量繁殖,利用自身酶系统通过发酵分解纤维素,到36 h时反应几乎完全,因此选取36 h为最适发酵时间。并且在36 h时通过淀粉碘试实验<sup>[28]</sup>,发酵液未使得碘液变色,说明淀粉已被消耗完,规避了后续除淀粉的操作步骤。

图4 发酵时间对 $\beta$ -葡聚糖得率的影响Fig.4 Effects of fermentation time on extraction yield of  $\beta$ -glucan

2.2.4 发酵温度对青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖提取效果的影响 随着发酵温度在28~36 $^{\circ}\text{C}$ 升高, $\beta$ -葡聚糖的得率先升高后略有下降(图5)。在32 $^{\circ}\text{C}$ 条件下获得的 $\beta$ -葡聚糖得率为 $4.76\% \pm 0.04\%$ ,与在34和36 $^{\circ}\text{C}$ 之间无显著性差异( $P > 0.05$ ),但显著高于28、30 $^{\circ}\text{C}$ ( $P < 0.05$ ),这可能的原因是在32 $^{\circ}\text{C}$ 时酵母内环境较稳定,新陈代谢所需的酶活性达到较高水平<sup>[31]</sup>,因此选取32 $^{\circ}\text{C}$ 为最适发酵温度。

图5 发酵温度对 $\beta$ -葡聚糖得率的影响Fig.5 Effects of fermentation temperature on extraction yield of  $\beta$ -glucan

## 2.3 正交试验结果分析

基于单因素实验,进一步进行正交试验,结果见表2。由表2极差分析可知,影响因素强弱顺序为发酵时间>料液比>接种量。青稞 $\beta$ -葡聚糖提取的最佳工艺条件是 $A_3B_2C_1$ ,即提取效果最佳条件为料液比1:6,接种量0.05%,发酵时间34 h。方差分析结果见表3,由表3也可以看出,影响青稞 $\beta$ -葡聚糖得率的三个因素排序为发酵时间、料液比和接种量,这与表2分析结论是一致的。通过实验验证最佳条件,结果显示发酵法提取的青稞 $\beta$ -葡聚糖的得率平均为 $5.21\% \pm 0.02\%$ ,优化条件可行。

表2 发酵法提取 $\beta$ -葡聚糖正交试验表及实验结果Table 2 Orthogonal test table and experimental results of extraction of  $\beta$ -glucan by fermentation method

序号	A	B	C	得率(%)
1	1	1	1	4.42
2	1	2	2	4.99
3	1	3	3	4.17
4	2	1	2	4.84
5	2	2	3	4.29
6	2	3	1	4.91
7	3	1	3	4.54
8	3	2	1	5.25
9	3	3	2	4.68
$k_1$	4.527	4.600	4.860	
$k_2$	4.680	4.843	4.837	
$k_3$	4.823	4.587	4.333	
极差	0.296	0.256	0.527	

表3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F值	F临界值	显著性
料液比	0.132	2	0.503	5.14	**
接种量	0.125	2	0.476	5.14	**
发酵时间	0.531	2	2.022	5.14	**

注:\*\*表示该因素对结果的影响达极显著水平( $P < 0.01$ ),\*表示该因素对结果的影响达显著水平( $P < 0.05$ )。

## 2.4 发酵法提取 $\beta$ -葡聚糖的理化分析

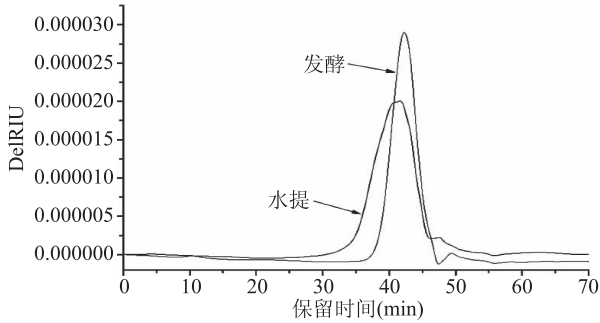
2.4.1  $\beta$ -葡聚糖的保留率与纯度 比较了发酵法与水提法获得的青稞 $\beta$ -葡聚糖的保留率和蛋白质清除率,其结果见表4。发酵法得到的 $\beta$ -葡聚糖中含的蛋白质含量明显低于水提法得到的 $\beta$ -葡聚糖。两种方法得到的 $\beta$ -葡聚糖经过除蛋白处理后的 $\beta$ -葡聚糖保留率均在70%以上。

2.4.2  $\beta$ -葡聚糖分子量的测定 用HPSEC-MALLS-RI联用法测定2种方法提取的 $\beta$ -葡聚糖分子量分布图(图6),运用激光检测器和Astra软件分析后所得结果为:水提的青稞 $\beta$ -葡聚糖平均分子量为 $7.759 \times 10^5$ ,与董磊<sup>[21]</sup>水提法提取青稞麸皮 $\beta$ -葡聚糖中结果相似;发酵法提取的青稞 $\beta$ -葡聚糖平均分子量为 $1.366 \times 10^5$ ,较水提法平均分子量小。

2.4.3  $\beta$ -葡聚糖的单糖组成分析 标准单糖组成(图7)与水提法 $\beta$ -葡聚糖单糖组成(图8)、发酵法

表4 活性炭吸附后 $\beta$ -葡聚糖保留率、纯度及蛋白质清除率

Table 4 $\beta$ -glucan retention, purity and protein clearance rate after activated carbon adsorption				
提取方法	蛋白质含量(%)	$\beta$ -葡聚糖保留率(%)	$\beta$ -葡聚糖纯度(%)	蛋白质清除率(%)
发酵法	吸附前	5.12	87.54	91.21
	吸附后	0.112	87.54	91.21
水提法	吸附前	20.19	70.20	88.58
	吸附后	4.32	70.20	88.58

图6 两种提取方法得到的 $\beta$ -葡聚糖 HPSCE 图谱Fig.6 HPSCE profile of  $\beta$ -glucan obtained by two extraction methods

$\beta$ -葡聚糖单糖组成(图9)相比较发现:水提法提取的青稞 $\beta$ -葡聚糖中具有较多的杂糖,如D-阿拉伯糖、D-半乳糖、D-木糖、D-甘露糖,与文献[21]中结果相符,其产品需要额外加入除杂工艺;而发酵法提取的青稞 $\beta$ -葡聚糖中主要为D-葡萄糖以及少量D-木糖。

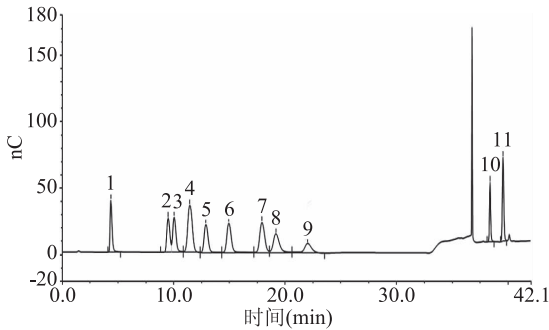


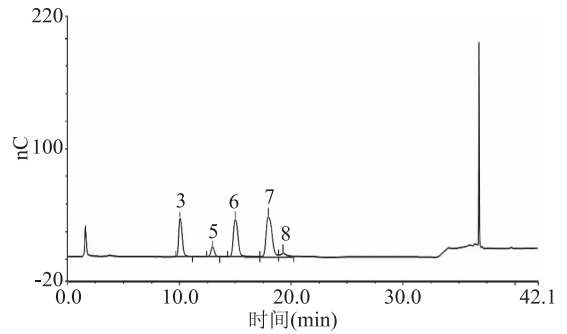
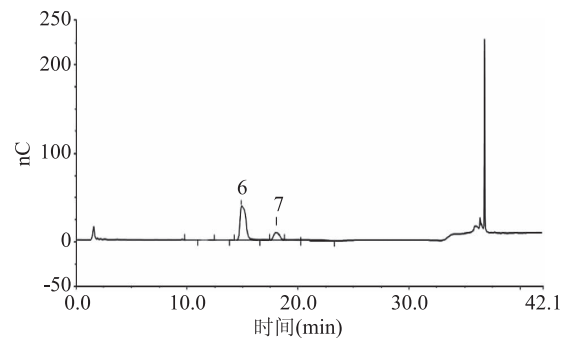
图7 标准单糖组成

Fig.7 Standard monosaccharide composition

注:1:L-海藻糖;2:L-鼠李糖;3:D-阿拉伯糖;  
4:D-氨基葡萄糖;5:D-半乳糖;6:D-葡萄糖;  
7:D-木糖;8:D-甘露糖;9:D-果糖;  
10:D-半乳糖醛酸;11:D-葡萄糖醛酸。

### 3 结论

通过单因素和正交实验得到的发酵法提取 $\beta$ -葡聚糖最佳工艺条件为:高活性干酵母为菌种、接种量0.05%、料液比1:6,发酵温度32℃,发酵时间34h,在该条件下 $\beta$ -葡聚糖平均得率为5.21%,与传统水提法提取的青稞 $\beta$ -葡聚糖相比,得率提高了60.8%。水提法提取的青稞 $\beta$ -葡聚糖单糖组成为D-阿拉伯糖、D-半乳糖、D-葡萄糖、D-木糖以及D-甘露糖。

图8 水提法 $\beta$ -葡聚糖单糖组成Fig.8 Composition of the  $\beta$ -glucan monosaccharide by water extraction图9 发酵法 $\beta$ -葡聚糖单糖组成Fig.9 Composition of the  $\beta$ -glucan monosaccharide by fermentation extraction

而通过发酵法得到的青稞 $\beta$ -葡聚糖单糖组成主要为D-葡萄糖,且与水提法相比含有更少量的蛋白质,通过活性炭吸附可以清除掉97.81%,纯度可达到91.21%。通过理化分析比较发现水提 $\beta$ -葡聚糖平均分子量为 $7.759 \times 10^5$ ,发酵法提取的 $\beta$ -葡聚糖平均分子量为 $1.366 \times 10^5$ 。

### 参考文献

- [1]本草纲目药物彩色图鉴[M].北京:人民卫生出版社,2001:221.
- [2]张峰,杨勇,赵国华,等.青稞 $\beta$ -葡聚糖研究进展[J].粮食与油脂,2003(12):3-5.
- [3]张文会.青稞 $\beta$ -葡聚糖提取工艺优化[J].农产品加工,2017,434(6):23-25.
- [4]邓婧,马小涵,赵天天,等.青稞 $\beta$ -葡聚糖对淀粉体外消化性的影响[J].食品科学,2018,39(10):106-111.
- [5]朱娅敏,张海波,夏长虹,等.酵母 $\beta$ -葡聚糖对小鼠免疫力增强作用的研究[J].食品与发酵科技,2016,52(2):1-2,21.
- [6]Wang M, Zhang L, Yang R, et al.Improvement of immune responses to influenza vaccine (H5N1) by sulfated yeast beta-glucan[J].International Journal of Biological Macromolecules, 2016,93:203-207.
- [7]孙培龙,胡君荣,杨开,等.药用食用菌 $\beta$ -葡聚糖的研究进展[J].中国食用菌,2008,27(1):9-13.
- [8]孟宏,董银卯,邱显荣.燕麦 $\beta$ -葡聚糖对实验大鼠皮肤保湿性的影响[M].2006年中国化妆品学术研讨会,2006:308-311.
- [9]严明强,张红兵. $\beta$ -葡聚糖在化妆品中的应用[J].香料香精化妆品,2007,12(6):31-34.

- [10] Aktas-Akyildiz E, Sibakov J, Nappa M, et al. Extraction of soluble  $\beta$ -glucan from oat and barley fractions: Process efficiency and dispersion stability [J]. *Journal of Cereal Science*, 2018, 81: 60-68.
- [11] 王谦, 董海丽. 超高压提取青稞  $\beta$ -葡聚糖工艺优化 [J]. *粮食与油脂*, 2016, 29(5): 79-81.
- [12] Babu L R, Joy D B. Green extraction techniques, structural analysis and antioxidant activities of  $\beta$ -glucan present in oats [J]. *Current Advances in Mechanical Design & Production VII*, 2016, 7(1): 511-519.
- [13] Zhu F, Du B, Xu B. A critical review on production and industrial applications of beta-glucans [J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 52: 275-288.
- [14] Cui W, Wood P J, Blackwell B, et al. Physicochemical properties and structural characterization by two-dimensional NMR spectroscopy of wheat  $\beta$ -D-glucan comparison with other cereal  $\beta$ -D-glucans [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2000, 41(3): 249-258.
- [15] 游茂兰, 覃小丽, 段娇娇, 等. 超声-微波协同提取青稞  $\beta$ -葡聚糖 [J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(8): 182-187.
- [16] 王谦, 董海丽. 超高压提取青稞  $\beta$ -葡聚糖工艺优化 [J]. *粮食与油脂*, 2016, 29(5): 79-81.
- [17] 张宁, 艾连中, 张汇. 谷物  $\beta$ -葡聚糖结构、功能及其应用研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2018, 39(9): 318-324.
- [18] 朱双杰, 孙艳辉, 贾晓丽, 等. 酵母发酵法提纯地木耳粗多糖的工艺优化 [J]. *食品与生物技术学报*, 2012, 31(11): 65-68.
- [19] 潘妍, 何聪芬, 韩扬, 等. 发酵法提取燕麦  $\beta$ -葡聚糖的初步探索 [J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(4): 116-118.
- [20] 顾飞燕. 青稞  $\beta$ -葡聚糖的提取及其在化妆品中的应用 [D]. 上海: 上海应用技术大学, 2018.
- [21] 董磊. 青稞  $\beta$ -葡聚糖理化性质、流变性质以及在化妆品中应用 [D]. 上海: 上海应用技术大学, 2015.
- [22] 张娟, 杜先锋, 饶砚琴. 刚果红法测定燕麦中  $\beta$ -葡聚糖含量的研究 [J]. *安徽大学学报*, 2007, 34(1): 23-26.
- [23] 王文平, 郭祀远, 李琳, 等. 考马斯亮蓝法测定野木瓜多糖中蛋白质的含量 [J]. *食品研究与开发*, 2008, 29(1): 40-42.
- [24] 杨树娟, 姜文圣, 钱如贵, 等. HPGPC 法测定库拉索芦荟多糖的分子量和含量 [J]. *今日药学*, 2016, 26(11): 786-791.
- [25] 王亚涛. 灵芝孢子粉多糖的分离纯化与结构鉴定 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
- [26] Liu Y F, Tang Q J, Zhang J S, et al. Characterization of polysaccharides from the fruiting bodies of two species of genus *Ganoderma* (Agaricomycetes) and determination of water-soluble  $\beta$ -D-glucan using high performance liquid chromatography [J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2017, 19(1): 75-85.
- [27] 张芝华, 俞苓, 刘艳芳, 等. 不同灵芝孢子粉产品的多糖成分比较 [J]. *食用菌学报*, 2017, 24(4): 59-64.
- [28] 林月, 沈照鹏, 宗雯雯, 等. 石莼 (*Ulva lactuca* L.) 营养成分和多糖组成分析 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(17): 304-308, 113.
- [29] 聂纪英. 淀粉与碘的显色反应 [J]. *生物学教学*, 2001, 26(11): 46-46.
- [30] 管骁, 姚惠源. 燕麦麸皮中  $\beta$ -葡聚糖提取工艺的研究 [J]. *食品科技*, 2002(10): 63-65.
- [31] 刘开放, 席志文, 黄琳娜, 等. 布拉酵母高密度发酵培养基及发酵工艺优化 [J]. *食品科学*, 2019, 40(8): 56-62.
- (上接第 48 页)
- and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts [J]. *Meat Science*, 2012, 90: 361-367.
- [18] 唐悠. KCl、乳酸钙替代钠盐对风干香猪肉的品质改善 [J]. *肉类研究*, 2017, 31(3): 7-11.
- [19] 陈佳新, 逢晓云, 夏秀芳, 等. KCl 部分替代 NaCl 对低钠盐肉脯质量的影响 [J]. *肉类研究*, 2017, 31(6): 24-28.
- [20] 张露, 张雅玮, 惠腾. 低钠盐对干腌肉制品加工过程中理化特性的影响 [J]. *食品科学*, 2014, 35(17): 77-82.
- [21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 4789.2-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 2726-2016 食品安全国家标准 熟肉制品 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [23] 郑加旭, 贾冬英, 张凤, 等. 菌剂发酵对牛肉干质构和风味特性的影响 [J]. *食品科技*, 2017, 42(11): 131-135.
- [24] Guàrdia M D, Guerrero L, Gelabert J, et al. Sensory characterisation and consumer acceptability of small calibre fermented sausages with 50% substitution of NaCl by mixtures of KCl and potassium lactate [J]. *Meat Science*, 2008, 80(4): 1225-1230.
- [25] Fellendorf S, Kerry J P, Hamill R M, et al. Impact on the physicochemical and sensory properties of salt reduced corned beef formulated with and without the use of salt replacers [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 92: 584-592.
- [26] Vidal V A S, Biachi João P, Paglarini C S, et al. Reducing 50% sodium chloride in healthier jerked beef: An efficient design to ensure suitable stability, technological and sensory properties [J]. *Meat Science*, 2019, 152: 49-57.
- [27] Blesa E, M Aliño, Barat J M, et al. Microbiology and physico-chemical changes of dry-cured ham during the post-salting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts [J]. *Meat Science*, 2008, 78(1-2): 135-142.
- [28] Choi S H, Chin K B. Evaluation of sodium lactate as a replacement for conventional chemical preservatives in comminuted sausages inoculated with *listeria monocytogenes* [J]. *Meat Science*, 2003, 65: 531-537.
- [29] Pietrasik Z, Gaudette N J. The impact of salt replacers and flavor enhancer on the processing characteristics and consumer acceptance of restructured cooked hams [J]. *Meat Science*, 2014, 96(3): 1165-1170.
- [30] Oliveira H, Sónia Pedro, Nunes M L, et al. Processing of salted cod (*Gadus* spp.): A review [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2012, 11(6): 546-564.
- [31] 尹敬, 任晓镁, 钱焯, 等. 含 KCl、氨基酸的低钠盐替代食盐对风干草鱼加工过程中理化特性的影响 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(3): 12-19, 24.