

高功能性大豆低聚糖的 制备及功效研究应用技术

赵秀红◎著

化学工业出版社

CHEMICAL INDUSTRY PUBLISHING HOUSE

沈阳市优秀自然科学著作

高功能性大豆低聚糖的 制备及功效研究应用技术

赵秀红 著

辽宁科学技术出版社

沈 阳

© 2018 赵秀红

图书在版编目 (CIP) 数据

高功能性大豆低聚糖的制备及功效研究应用技术/
赵秀红著. —沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2018. 11
(沈阳市优秀自然科学著作)
ISBN 978-7-5591-0713-8

I. ①高… II. ①赵… III. ①大豆—寡糖—研究
IV. ①Q533

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 076575 号

出版发行: 辽宁科学技术出版社

(地址: 沈阳市和平区十一纬路 25 号 邮编: 110003)

印刷者: 辽宁鼎籍数码科技有限公司

幅面尺寸: 185 mm×260 mm

印 张: 8

字 数: 192 千字

出版时间: 2018 年 11 月第 1 版

印刷时间: 2018 年 11 月第 1 次印刷

责任编辑: 郑 红

特约编辑: 王奉安

封面设计: 嵘 嵘

版式设计: 周凤仪

责任校对: 徐 跃

书 号: ISBN 978-7-5591-0713-8

定 价: 38.00 元

联系电话: 024-23284526

邮购热线: 024-23284502

<http://www.lnkj.com.cn>

前言

我国大豆产量位居世界前列，拥有广阔的原料资源，大豆深加工产业已是具有广阔发展前景的常青产业。

1996年，我国制定的《国家大豆行动计划》，提出了提高蛋白质供给量，促进整个中华民族身体素质的全面提高。2005年，标志商标许可使用工作正式启动，国家开始通过法律手段推动大豆产业的发展，加快实现《国家大豆行动计划》目标。我国大豆消费目标是：到2010年人均大豆年消费需求达到16kg，总消费需求达到2310万t；到2030年，人均年消费需求达到25kg，总消费需求达到4000万t。大豆除生产蛋白质外，还可以生产豆腐、豆油等初加工产品和大豆卵磷脂、异黄酮、低聚糖、皂苷等高科技附加值更高的精深加工产品。

大豆低聚糖是对人体生理功能有益的活性物质。研究表明，大豆低聚糖能促进肠道内双歧杆菌的增殖，抑制肠内有害菌的繁殖和腐败物生成，可防癌、抗癌。豆粕是大豆制油后的副产物，目前主要用作饲料。国内外已有利用豆粕制备单种或两种产品的研究或生产，但是这些研究和生产在提取所需产品的同时，其他活性成分往往因忽视而被丢弃，造成资源浪费和环境污染。本技术以低变性脱脂豆粕为原料，从中提取高收率、高活性的大豆低聚糖产品，并对提高大豆低聚糖纯度的关键性技术进行重点研究。本技术的研制成功，将对有效利用大豆资源，减少环境污染，降低生产成本，提高企业经济效益具有重要意义。为了适应国际和国内市场需求，满足社会的需要，特出版本书。希望能够为培养粮油行业的高技能人才，对本行业的发展起到积极的推动作用。

本书系统阐述了大豆低聚糖的提取及超滤预处理工艺、发酵法精制大豆低聚糖、酶法改性大豆低聚糖、膜技术纯化大豆低聚糖、大豆低聚糖免疫学功能、大豆低聚糖试验性生产产品分析等内容。作者基于近10年的研究与生产实践，结合国内外最新的研究成果，突出理论与生产实际相结合，努力体现研究的科学性与经济实用性，反映近年来大豆低聚糖提取及功能性大豆低聚糖提高研究新成就。相信本书对推动我国大豆低聚糖提取及功能性大豆低聚糖提高技术的进步与生产应用具有一定的理论价值与应用价值。

本书在编写过程中，吸纳了相关书籍之所长，并参考了大量文献，在此对原作者表示感谢。同时，得到了沈阳市科协和辽宁科学技术出版社的大力帮助和支持，在此一并表示衷心的感谢！

由于作者水平有限，书中难免有疏漏和不足之处，敬请读者批评指正。

作者

2017年6月

目 录

1 概论	001
1.1 大豆低聚糖的结构	001
1.2 大豆低聚糖的形成机制	002
1.3 大豆低聚糖的性质及应用	003
1.3.1 大豆低聚糖的理化性质	003
1.3.2 大豆低聚糖的应用	004
1.4 大豆低聚糖的生理功能	004
1.4.1 在人体内的代谢机制	004
1.4.2 促进肠道内双歧杆菌生长增殖	005
1.4.3 阻碍肠道病原菌存活	005
1.4.4 抑制肠内腐败产物生成, 保护肝脏	005
1.4.5 预防、治疗便秘	006
1.4.6 降血清胆固醇	006
1.4.7 提高免疫功能	006
1.4.8 有改善皮肤过敏的作用	007
1.4.9 消除致癌因子, 抑制肿瘤细胞增生	007
1.4.10 促进钙的吸收	007
1.5 大豆低聚糖的生产	007
1.6 大豆低聚糖的立题意义	008
1.7 大豆低聚糖的研究开发现状	009
1.7.1 利用生物技术提高功能性大豆低聚糖的研究开发现状	010
1.7.2 膜技术在分离纯化大豆低聚糖中的研究开发现状	013
1.8 本课题主要研究的内容	016
1.9 研究技术路线	017
2 大豆低聚糖的提取及超滤预处理工艺研究	018
2.1 材料与方法	019

2.1.1	材料	019
2.1.2	主要试剂及仪器	019
2.1.3	试验方法	019
2.1.4	分析方法	020
2.2	结果与分析	021
2.2.1	不同提取方法对大豆低聚糖提取条件的研究	021
2.2.2	大豆乳清超滤前预处理方法研究	028
2.2.3	活性炭脱色试验的研究	030
2.3	结论	034
2.4	讨论	035
3	发酵法精制大豆低聚糖的研究	037
3.1	材料与方法	037
3.1.1	菌种	037
3.1.2	培养基	037
3.1.3	主要仪器	038
3.1.4	试验方法	038
3.2	结果与分析	038
3.2.1	菌株筛选	038
3.2.2	驯化后乳酸菌 A 的生长曲线	039
3.2.3	乳酸菌发酵条件的优化	040
3.3	结论	044
3.4	讨论	044
3.4.1	关于氮源种类的探讨	044
3.4.2	关于 pH 对菌体生长作用的探讨	044
4	酶法改性大豆低聚糖的研究	045
4.1	材料与方法	045
4.1.1	材料	045
4.1.2	主要试剂及仪器	045
4.1.3	试验方法	046
4.2	结果与分析	049
4.2.1	不同菌种产 FFase 的比较	049
4.2.2	日本曲霉 1 发酵条件的优化	052
4.2.3	FFase 的纯化	057
4.2.4	FFase 的性质	061
4.2.5	质谱法分析低聚糖的分子量	065
4.2.6	建立回归模型	067
4.3	结论	072
4.4	讨论	073

4.4.1	培养基的优化	073
4.4.2	影响微生物生长的环境因素	073
4.4.3	酶的分离纯化	074
4.4.4	酶学性质的研究	074
4.4.5	微生物产 FFase 的研究	074
5	膜技术纯化大豆低聚糖的工艺研究	075
5.1	材料与方法	075
5.1.1	超滤试验材料和试验装置	075
5.1.2	纳滤试验装置	076
5.1.3	测定方法和有关计算公式	076
5.2	结果与分析	077
5.2.1	超滤法纯化大豆低聚糖的工艺研究	077
5.2.2	纳滤法纯化大豆低聚糖的工艺研究	083
5.3	结论	089
5.4	讨论	089
6	大豆低聚糖的免疫学功能研究	092
6.1	材料与方法	092
6.1.1	材料	092
6.1.2	主要试剂及仪器	092
6.1.3	试验方法	093
6.2	结果与分析	094
6.2.1	大豆低聚糖对小鼠细胞免疫的影响	094
6.2.2	大豆低聚糖对小鼠体液免疫的影响	095
6.2.3	大豆低聚糖对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响	095
6.3	结论	096
6.4	讨论	096
7	大豆低聚糖试验性生产产品分析	099
7.1	大豆低聚糖产品分析	099
7.2	大豆低聚糖产品检测结果	100
7.3	酶法改性大豆低聚糖系统生产产品检测	101
7.4	结论	102
7.5	讨论	103
8	结论与展望	104
8.1	结论	104
8.2	本技术的创新点	106
8.3	展望	106
	参考文献	108

1 概论

低聚糖是功能性食品中最早出现、最有影响的功能因子。欧美、日本已广泛用于食品加工工业中。低聚糖是由 2~10 个单糖或其衍生物聚合而成的一种寡聚体化合物。根据单糖组分的差异可将低聚糖分为两类,由一种单糖结合而成的低聚糖称为均低聚糖,由两种或两种以上单糖结合而成的低聚糖称为杂低聚糖。若按低聚糖的生物学功能来划分,则为功能性低聚糖和普通低聚糖两大类,蔗糖、乳糖、麦芽糖等属于普通低聚糖,仅作为供能物质,无促双歧杆菌生长等特殊生理作用,而功能性低聚糖则是一类人体难以消化的糖类,所以又被称为非吸收性寡糖。这类低聚糖具有一般糖类的口感,但甜度只有蔗糖的 30%~50%,对人和动植物有特殊的生理作用,从而被称为功能性低聚糖。由于单糖构成糖分子的结合方式不同,功能性低聚糖有各种名称,其理化性质和生理功能也不尽相同。目前为止,已经或正在开发研究的功能性低聚糖主要有:低聚果糖、异麦芽低聚糖,也称分枝低聚糖、大豆低聚糖、低聚半乳糖、低聚乳蔗糖、低聚龙胆糖、低聚甘露糖、低聚木糖、偶联糖、乳酮糖、棉籽糖、海藻糖、低聚壳多糖、低聚帕拉金糖等。是一类重要的双歧杆菌促生长因子。大豆低聚糖是功能性低聚糖家族中的一个重要成员。

大豆低聚糖是大豆中可溶性糖的总称,广泛分布在植物中,尤其以豆科植物居多,在成熟大豆中含量最高,约占全大豆总质量的 10%,主要由棉籽糖、水苏糖和蔗糖组成,其主要成分棉籽糖、水苏糖在小肠内不会被吸收,而在双歧杆菌较多的消化道下部才会被利用。因此具有促进人体肠道内双歧杆菌增长,促进肠道蠕动、防止便秘、预防肠癌、抑制病原菌、提高机体免疫力、降血脂、降血压、降血糖、预防龋齿和保肝等一系列保健功能的特殊活性物质,被人类称为 21 世纪的功能性保健食品。目前已经被广泛应用于饮料、酸奶、糕点等食品中。我国大豆资源丰富,人们对大豆及其相关产品营养价值也有很充分的认识,因此对其进行研究对于食品、医药工业的发展都具有重要意义。

1.1 大豆低聚糖的结构

大豆低聚糖是大豆中含有寡糖类物质的总称。在大豆种子中占 10%左右,主要包括棉籽糖、水苏糖和蔗糖(图 1-1)。其中棉籽糖占 1%、水苏糖占 4%、蔗糖占 5%,还有少量葡萄糖、果糖、右旋肌醇甲醚和半乳糖苷肌醇甲醚等。

棉籽糖和水苏糖都是棉籽糖半乳糖苷系列寡糖。1876 年,Loiseau 第一次在甜菜

蜜中发现三糖棉籽糖；1890 年，Planta 和 Schulze 发现四糖水苏糖；1910 年，Bourquelot 和 Bridel 发现五糖毛蕊花糖；1941 年，Murakami 发现六糖筋骨草糖。这些糖在结构上的共同之处就是以蔗糖为基础，依次以 α -（1→6）糖苷键键合的吡喃半乳糖残基连接在蔗糖的葡萄糖部分，形成四糖、五糖、六糖。

图 1-1 为大豆低聚糖的化学结构。

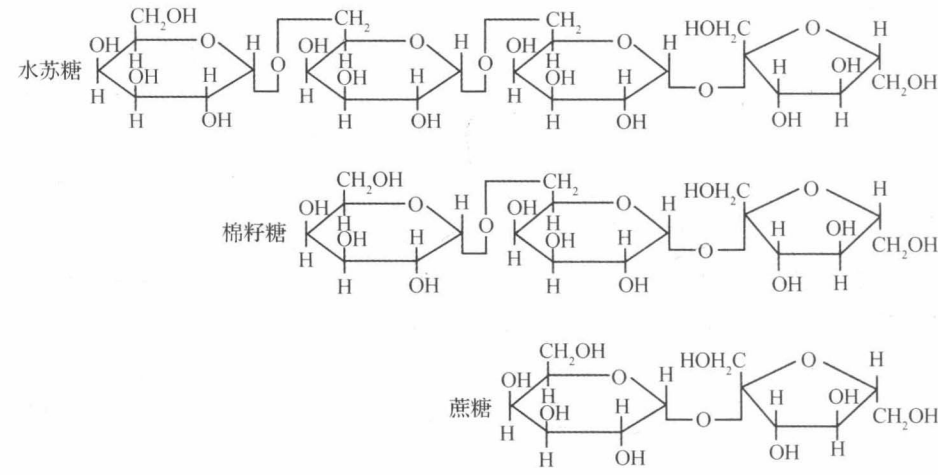


图 1-1 大豆低聚糖的化学结构

1.2 大豆低聚糖的形成机制

可溶性糖在成熟的种子和胚组织的胞内定位是在一个有限的范围（图 1-2）。

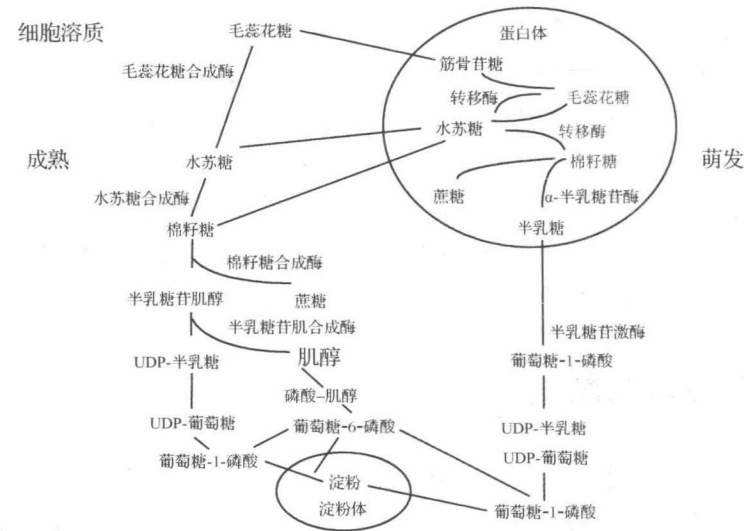


图 1-2 种子萌发和成熟期间可溶性糖的形成途径

在成熟的棉花种子中，蔗糖均匀地分布在蛋白体和非特异细胞质中，而棉籽

糖、水苏糖主要在非特异细胞质中；在豌豆叶中，蔗糖主要存在于细胞溶质中，但在蛋白体和淀粉体中已有发现。成熟的羽扇豆种子的子叶中，85%以上的可溶性糖是在蛋白体外，而 α -半乳糖苷酶存在于羽扇豆子叶的蛋白体中。在大豆籽粒中，大豆低聚糖主要分布在大豆胚轴中。发育期的大豆种子免疫细胞定位揭示 α -半乳糖苷酶的确限于蛋白体和高尔基体，棉籽糖存在于叶子的细胞溶质和液泡中，肌醇、半乳糖苷肌醇、蔗糖、半乳糖苷肌醇合成酶和水苏糖合成酶在液泡外，但是，半乳糖苷肌醇独立于半乳糖苷肌醇转移酶，水苏糖和高級的寡聚物存在于液泡内。

总之，种子成熟期间，寡糖的合成发生在细胞溶质中。相反，水解酶在蛋白体内，蛋白体形成液泡。萌发期间寡糖的降解发生在蛋白体内。成熟的大豆胚轴中，可溶性糖的含量为干重的28%，其中寡糖占50%以上，在油类种子 and 禾谷类的含油胚中淀粉降解可以提供碳源以合成大量的寡糖。在种子成熟期间，合成可表示如下。

葡萄糖-1-磷酸 $\longrightarrow$ UDP-葡萄糖+UDP-半乳糖

葡萄糖-1-磷酸 $\longrightarrow$ L-肌醇-1-磷酸 $\longrightarrow$ 肌醇

UDP-半乳糖+肌醇 $\xrightarrow{\text{半乳糖苷合成酶}}$ 半乳糖苷肌醇

半乳糖苷肌醇+蔗糖 $\xrightarrow{\text{棉籽糖合成酶}}$ 棉籽糖+肌醇

半乳糖苷肌醇+棉籽糖 $\xrightarrow{\text{水苏糖合成酶}}$ 水苏糖+肌醇

半乳糖苷肌醇+水苏糖 $\xrightarrow{\text{毛蕊花糖合成酶}}$ 毛蕊花糖+肌醇

1.3 大豆低聚糖的性质及应用

1.3.1 大豆低聚糖的理化性质

大豆低聚糖主要由棉籽糖、水苏糖、蔗糖三部分构成。液态的大豆低聚糖为淡黄色、透明黏稠状液体；固体产品为淡黄色粉末，极易溶于水。其吸湿性和保湿性比蔗糖小，但优于果葡糖浆，水分活性接近蔗糖。大豆低聚糖能溶于低分子烯醇，但不溶于非极性有机溶剂。此外，大豆低聚糖的甜度较低，为蔗糖的70%。其热能是8.36 kJ/g，仅是蔗糖热能的1/2，且安全无毒性。功能性大豆低聚糖的部分物理性质见表1-1。纯晶体水苏糖为带4个结晶水的片状物，在真空中115℃失水；棉籽糖分子中的5个结晶水，在加热时易失去一部分或全部失去。脱水棉籽糖又易吸收周围水分恢复成原来的带水状态。无水水苏糖的熔点为167~170℃，水苏糖溶于水，不溶于乙醚、乙醇等有机溶剂。有弱甜味，甜度、能量值比蔗糖低。水苏糖的保湿性和吸湿性均小于蔗糖但高于异构糖，渗透压接近蔗糖，且没有还原性。棉籽

糖不吸湿，但在高湿情况下易溶，与蔗糖共用时能抑制蔗糖可能的结晶析出现象。大豆低聚糖稳定性较高，即使在 140 ℃ 高温或在 pH3.0 的酸性条件下加热，或经发酵处理，仍保持其稳定性。

表 1-1 功能性大豆低聚糖的物理性质

品名	含结晶水蔗糖：水（摩尔数比）	分子量（含结晶水）	熔点/℃	溶解度/（g·100g 水 ⁻¹ ）
棉籽糖	1：5	594.51	80	13
水苏糖	1：4	738.65	101~105	14~15

1.3.2 大豆低聚糖的应用

大豆低聚糖可添加到乳制品的乳酸菌饮料、碳酸饮料、粉末饮料中制成营养型、保健型、美容型等各种饮品；大豆低聚糖在酸性条件下与氨基酸共热能够发生美拉德反应，所以可以将其添加到焙烤食品或酸性食品中，可使产品增色；根据其良好的保湿性，可在面包中使用大豆低聚糖，来抑制食品中淀粉老化和结晶糖的析出，延长产品货架期；大豆低聚糖甜味优于蔗糖，甜度为蔗糖的 70%~75%，可在巧克力、果酱以及糕点中代替蔗糖使用，来降低这些制品的甜度，预防龋齿，保持口腔卫生，增强产品的营养保健功能，供糖尿病患者、肥胖病患者食用；由于其能量值低，还可在低能量食品中发挥作用，最大限度地满足那些喜爱甜食又担心发胖者的要求；在挂面中添加 2%~4% 大豆低聚糖，可提高面条的弹性和韧性。大豆低聚糖除以上应用外，还可应用于冰淇淋、雪糕、果冻、布丁、沙司、甜味奶粉等产品中。

1.4 大豆低聚糖的生理功能

功能性食品是指具有生物防御、生物节律调整、防止疾病、恢复健康等有关的功能因子经设计加工，对生物体有明显调整功能的食品，即除营养（一级功能）、感觉（二级功能）外，还具有调节生理功能（三级功能）的食品。大豆低聚糖作为功能性食品，具有能作为营养源，能提供甜味，是双歧因子，且具有低热量、抗蛀牙等作用。

1.4.1 在人体内的代谢机制

虽然大豆低聚糖很难被体内的酶类消化分解，但不能证明不被利用。经试验证明，在服用大豆低聚糖的人群的粪便中其检出量很少或没有，证明已被利用。大豆低聚糖进入肠道初期虽然无法被水解、吸收，但是它可以增加渗透压以及肠道中水的存在，这样一定程度上可以起到通便的效果，大豆低聚糖主要选择性刺激大肠中厌氧菌，如双歧杆菌和乳酸菌的生长，并且被发酵利用。

1.4.2 促进肠道内双歧杆菌生长增殖

由于在单胃动物胃肠道内没有水解水苏糖和棉籽糖的 β -半乳糖苷酶系统,所以它们很难或不会被机体消化吸收,而直接进入肠道系统,被乳酸杆菌和双歧杆菌发酵利用,使其大量增殖。大豆低聚糖中水苏糖、棉籽糖含量高,因此大豆低聚糖对双歧杆菌的增殖效果比其他酶解淀粉低聚糖类高3倍以上。双歧杆菌是人体肠道内的有益菌,其数量随年龄的增长而逐渐减少。肠道内双歧杆菌数量的多少是衡量人体健康与否的指标之一。双歧杆菌和乳酸杆菌等有益菌,可在动物肠道中合成动物生长所必需的营养物质,如B族维生素、维生素K、烟酸和氨基酸等,被动物吸收利用;其发酵产生的醋酸或乳酸可降低肠道pH,有利于二价铁、钙等矿物质和维生素D的吸收,同时还参与代谢、促进胃肠蠕动,它还可以促进乳糖的吸收,使一些难消化的糖类纤维素等到达大肠后发酵产生短链脂肪酸,这些短链脂肪酸可降解血清胆固醇,改善脂肪代谢。

经试验研究证明,每天摄入10~15g大豆低聚糖,17d后双歧杆菌可由原来的0.99%增加到45%。双歧杆菌还能够增加血中超氧化物歧化酶的活性和含量,消除体内的自由基,有效防止人体衰老。因而有目的地增加肠道内的双歧杆菌数量就显得十分必要。摄取双歧杆菌制品受许多条件的限制,效果不好;而通过摄入大豆低聚糖来促进肠道内双歧杆菌自然增殖则更方便实用。且大豆低聚糖因保持固有糖的黏性,在进入肠道后能够牢牢地控制生存在肠壁中的双歧杆菌,使其不会同粪便一起排泄出体外,从而达到双歧杆菌增殖目的。

1.4.3 阻碍肠道病原菌存活

病原菌通过细胞表面或绒毛上的特异性凝集素与动物肠壁黏膜上皮细胞表面上相应的糖受体结合,黏附在肠壁上发育繁殖,低聚糖具有与此糖受体相似的结构,它可竞争性地和病原菌细胞表外源凝集素结合,阻碍病原菌在上皮黏附,促使其随粪便排泄,减少对动物的危害。双歧杆菌能够发酵大豆低聚糖产生短链脂肪酸(主要是醋酸和乳酸)和一些抗生素,从而抑制外源致病菌和肠道内固有腐败细菌生长繁殖。Chung等和Tamura分别于1970年和1983年报道了醋酸和乳酸对沙门氏菌和大肠杆菌的抑制作用。双歧杆菌可通过磷脂酸与肠黏膜表面形成一层具有保护作用的生物膜屏障,从而阻止有害微生物的入侵和定殖。

1.4.4 抑制肠内腐败产物生成,保护肝脏

人体肠道内腐败细菌(如产气荚膜梭状芽孢杆菌和大肠杆菌等)将氨基酸转化生成氨、吲哚等有毒代谢物质。大豆低聚糖可明显减少和缓解有毒代谢物质,同时抑制肠内生成致癌物质有关的 β -葡萄糖醛酸酶和A-zoledaotase等酶的活力。因此减轻了肝脏解毒的负担,促进有益菌增殖,防治肝炎和肝硬化等疾病的发生。

1.4.5 预防、治疗便秘

便秘患者多半是因肠内缺少双歧杆菌所致。尤其是老年人,随着年龄增长,肠内双歧杆菌逐渐减少而极易患上便秘。人体在代谢过程中产生大量难以消化的低聚糖,当大肠积累低聚糖过多时,就会出现腹胀、便秘等症状。摄入大豆低聚糖后,肠道内增殖的双歧杆菌可发酵低聚糖,将其分解转化为大量短链脂肪酸,刺激肠道蠕动,增加粪便的湿润度并保持一定的渗透性,从而双向调节肠道内环境而防止便秘的发生。试验证明,健康人每天摄取 3 g 大豆低聚糖,就能促进双歧杆菌生长,产生通便作用。

1.4.6 降血清胆固醇

低聚糖的重要作用之一是降低血脂。王素敏等报道,大豆低聚糖使小鼠血清总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)分别降低 38% 和 59%,高密度脂蛋白升高 45%,说明大豆低聚糖具有良好的降血脂作用。

国外报道,果寡糖、半乳糖和 α -葡聚糖具有降低血清胆固醇的功效。胆固醇是一种脂溶性物质,和蛋白分子结合成脂蛋白微粒在血液中运行,人体血液中胆固醇含量高会导致动脉硬化和高血压的发生。经自然高血压鼠、糖尿病肥胖病鼠等的试验表明,摄取低聚糖后,总胆固醇、甘油三酯、游离脂肪酸、血脂、血压等均有所降低。大豆低聚糖能促进双歧杆菌影响和干扰 β -羟基- β -甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶的活性,能改变糖的代谢途径,阻断由糖转化为脂肪的途径,抑制胆固醇合成,降低血清胆固醇含量,从而降低血脂,保护动脉。试验证明,包括双歧杆菌在内的乳酸菌及其他发酵乳制品可以影响胆固醇的代谢,将其转化为人体不吸收的类固醇,降低血清胆固醇水平,从而大大降低冠心病、高血压、动脉硬化的发病概率。

1.4.7 提高免疫功能

佐剂和免疫调节效应是免疫刺激的两个组成部分。低聚糖能与一定的毒素、病毒、真核细菌的表面结合而作为这些外抗原的佐剂,能减缓抗原吸收的时间,增加抗原的效价。大豆低聚糖作为佐剂的效用可加强细胞免疫和体液免疫。大豆低聚糖还具有抗原性,能够产生特异性免疫应答。双歧杆菌作为抗原产生的抗体比其他免疫球蛋白能力高 7~10 倍,这些免疫球蛋白阻止有害菌附着在肠黏膜上,便于抗体清除这些细菌,双歧杆菌还能够激活巨噬细胞,使其产生大量的淋巴因子,并且通过诱导反应大大增强机体的免疫力和抗肿瘤的能力。

在细胞免疫反应中,淋巴细胞增生是一系列免疫应答的基础。大豆低聚糖能大量增殖肠道内的双歧杆菌,刺激 β -淋巴细胞产生出大量的免疫球蛋白。胡刚等的研究表明,大豆低聚糖可直接作用于脾淋巴细胞和 NK 细胞,促进脾淋巴细胞的转化,提高 NK 细胞的杀伤活性,从而增强机体免疫力。

1.4.8 有改善皮肤过敏的作用

日本甜菜制糖等几家企业联合做出的研究发现,大豆中所含的低聚糖有改善过敏性皮炎的作用。31名患者的饮用试验证明,皮肤的瘙痒有所减轻。试验选择31名17~36岁患者,给予他们内服大豆低聚糖粉末3g,每天2次,时间为3个月。试验结果表明,有70%患者的皮肤瘙痒有所减轻,有90%原来因瘙痒无法入睡的患者症状得到了改善。经过采用皮肤症状范围数值化的SCORAD技术测验,也证实了患者症状减轻,而且血液中嗜酸粒细胞数量减少了20%,回到基本正常的范围。

1.4.9 消除致癌因子,抑制肿瘤细胞增生

康白等报道,肠内某些细菌可产生致癌因子。而低聚糖可以降低这些致癌因子。肠道中某些细菌可产生 β -葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸酶、硝酸还原酶等,这些酶作用于日粮或动物内源物可以产生生殖性毒物。而双歧杆菌和乳酸杆菌中这些酶的活力与梭状芽孢菌等有害菌相比活性很小,故可以通过低聚糖抑制有害菌生长而降低肠道中这些酶的活性。夏英等报道,日粮中添加低聚糖,肠道中双歧杆菌将可发酵性糖转变为乳酸或醋酸等挥发性脂肪酸,粪便中的丙酸和丁酸等有机酸含量较大幅度提高,抵制了杂菌的滋生,因而培植有益菌的增殖能较大程度上保证动物健康。

1.4.10 促进钙的吸收

食物中的结合钙必须溶解后变为离子钙才能被吸收,而肠内溶物的酸度对钙的吸收具有重要影响,pH3左右时钙呈离子状态,最容易吸收。大豆低聚糖进入结肠后,能够吸收更多的水分而溶解更多的钙。同时,由于其在结肠内被生理性细菌酵解而产生大量短链脂肪酸(如乙酸、丙酸、丁酸和乳酸等),降低结肠内的pH,提高钙离子的浓度,从而促进其吸收。另外,大豆低聚糖还能与肠内钙通过钙结合蛋白的主动运转、通过调整肠道菌群来调节雌激素的代谢、改善膳食营养状况等途径来促进钙的吸收。

1.5 大豆低聚糖的生产

目前生产大豆低聚糖的方法主要是从生产大豆浓缩蛋白(SPC)和大豆分离蛋白(SPI)的副产物乳清中提取和纯化,不同加工方法所获得乳清中低聚糖的含量有一定的差别。大豆乳清的主要成分见表1-2。大豆中蛋白质含量在40%左右,其中约有90%可在pH4.5~4.8间沉淀。沉淀部分为大豆球蛋白,未沉淀部分为大豆乳清蛋白。大豆分离蛋白乳清是用盐酸和磷酸等调节脱脂大豆蛋白胶体溶液的pH,利用

大豆蛋白的等电点分离大豆蛋白后，获得的大豆低聚糖。大豆浓缩蛋白的制造法将乙醇添加到脱脂大豆粉，利用大豆蛋白醇沉淀性质来提取大豆蛋白的方法，由于乙醇为极强性有机溶剂，它可取代蛋白质分子内部与表面的水分，从而使蛋白质胶体表面水化膜被破坏。大豆蛋白质在醇溶液中肽链呈高度暴露状态，使低聚糖极易从蛋白质的大分子中游离出来，从而获得大豆低聚糖。

表 1-2 大豆乳清的主要成分

成分	组成		分子量
蛋白质	2S	胰蛋白酶抑制剂	8 000~21 500
		细胞色素 C	12 000
		血球凝聚素	10 000
	7S	脂肪氧合酶	102 000
		β-淀粉酶	61 700
		7S 球蛋白	180 000~210 000
	11S	11S 球蛋白	300 000~360 000
	15S	15S 球蛋白	600 000
糖类	双糖	蔗糖	342
	三糖	棉籽糖	594
	四糖	水苏糖	738
脂肪			
无机盐			<100

国内大豆低聚糖生产首先是将原料大豆乳清稀释后，经加热处理，除去残存的大豆蛋白，然后经过滤除去微量的大豆蛋白后，再用离子交换树脂进行脱色、脱盐，最后经浓缩即能生产出糖浆状的大豆低聚糖。还有将大豆低聚糖粉末化，造粒制成颗粒状的制品。日本采用柱色谱分离的方法去除大豆低聚糖中的蔗糖，我国在此方面还不具备工业化生产条件。

1.6 大豆低聚糖的立题意义

根据国际卫生组织的统计，21 世纪是一个低热、低糖、低胆固醇的饮食消费，大豆低聚糖作为一种新兴的功能性低聚糖，在众多的天然保健品中已经独树一帜。我国是目前世界上最大的大豆生产国，但丰富的大豆资源因缺乏深加工，而没有得到很好的开发和利用。近年来，我国低聚糖产业虽然有所发展，但还是停留在生产低级产品的水平上，难以使大豆低聚糖产品化，市场也属刚刚启动阶段，大豆低聚糖的生产和开发具有重要意义。

在低聚糖出现的 20 a 来，全球产量在 1995 年时即达 6.5 万 t。作为健康食品的

原料,由于其独特的生理功效而得到迅速发展,低聚糖在日本、欧美等国家逐渐被人们所认识。1989年,日本三菱集团的东日本制糖公司生产大豆低聚糖 1 000 t,1999年,Calips 食品工业委托日本制糖公司制造,总计生产 700 t,本公司消费 500 t,外销 200 t。我国于 1996 年开始生产,目前产量约 3 万 t,主要是低聚异麦芽糖,而更为优良的大豆低聚糖则基本上由日本垄断。低聚糖是营养保健功能性食品的原料,可广泛用于医药等相关行业,具有止泻和治疗糖尿病的作用,并显著增强免疫功能。目前产品主要依赖进口,行业需求量为 5 000 t。鉴于大豆低聚糖的优良特性,目前我国大豆低聚糖被广泛应用于食品添加剂、饮料甜味剂、保健品及功能性食品行业。据专家预测,以目前市场状况做静态分析,国际上大豆低聚糖年需求量达 1.93 万 t。其中光是我国共约 5.5 亿人的老年人、儿童、孕妇的肠胃不良及糖尿病等人群这个目标市场,国内大豆低聚糖市场年需求量就有上万 t。未来 5~10 a,全球低聚糖每年需求量将达 20 万~30 万 t。从动态分析看,因大豆低聚糖独有的纯天然特性,替代其他低聚糖或蔗糖的可能得以实现。随着对大豆低聚糖的深入研究,相信在不久的将来,大豆低聚糖在减少人类疾病和改善人类健康方面也将起到特殊重要的作用。在其他行业如食品、饮料市场细化、个性化产品的出现,届时全球对大豆低聚糖的需求量将难以测算,估计将会出现一个爆炸性的增长,新型低聚糖的市场前景广阔。

自 20 世纪 70 年代以来,我国的大豆蛋白工业发展迅速,至今已经建成了数百家具有相当规模的大豆蛋白生产企业,一个日产 8.5 t 规模的蛋白厂,每天将排放近 300 m³ 高浓度大豆乳清废水,其 COD 达 15 000~22 000 mg/L,有机物主要是可溶性蛋白和低聚糖,严重污染环境。目前,该废水的处理方法是直接将乳清废水进行多级生物处理,利用厌氧和好氧法降低废水中的 COD 及 BOD 值,但此法考虑的仅仅是处理,而废水中可回收的并极具经济价值的大量低聚糖、可溶性蛋白却被无谓消耗、浪费,不仅耗费了大量的处理费用,而且浪费了其中的有用资源。如果能回收其中的低分子可溶性蛋白质和大豆低聚糖等物质,不但可以实现有效资源的回收,而且减轻了大豆乳清液排放所造成的环境污染。大豆低聚糖在国际市场上每吨售价高达 5 万元人民币,一种没有主要原料消耗,工艺又是综合利用的产品,价格昂贵到如此程度,实属少有。大豆低聚糖的生产不但能给生产厂带来丰厚的经济效益,也会给应用企业带来一定的社会效益,大豆低聚糖的经济效益、社会效益、开发利用价值、推广应用等诸多方面,都是其他同类产品所不可比拟的。为了更有效地利用我国的大豆资源,综合开发大豆产品,减少环境污染,推动农产品精深加工及综合利用优化进程,生产功能性低聚糖含量更高的大豆低聚糖新产品,有必要对大豆低聚糖的提取制备工艺、提高功能性低聚糖含量方面进行深入系统的研究。

1.7 大豆低聚糖的研究开发现状

近年来,随着大豆低聚糖对人体整肠作用的深入研究,使大豆低聚糖日益受到

人们的重视,世界各国都在大量开发和研究,并被广泛用于食品、医药等行业。日本、美国及欧洲对大豆低聚糖的研究较多。在日本,20世纪80年代末到90年代早期就有产品推向市场,产品有糖浆、颗粒状、粉末状等形式。日本早在1995年就正式批准大豆低聚糖为特定保健用食品,并开始极力推荐国民补食含有大豆低聚糖的功能性食品。现在日本已经成为全球大豆低聚糖产业化规模最大的国家。日本三菱集团、Calips 食品工业公司、野田食菌工业、常盘药品工业、八云香产等厂家是大豆低聚糖的主要生产厂家。日本可以生产高纯度90%的大豆低聚糖。20世纪末,大豆低聚糖产品被美国FDA认定为一般安全性食品,大豆低聚糖开始被广泛应用于膳食补充剂、药品及功能性食品的研发中。欧共体特别批准大豆低聚糖为功能性食品配料,规定可以不经任何批准就加入食品配方中。日本健康劳动福利委员会创立了FHC体系实施特定保健食品的申请批准制度,先后多次公布了对提出申请的多种食品的审批结果,总共批准保健用食品58种,其中属双歧因子低聚糖的多达34种产品,涉及7个品种的糖,大豆低聚糖就是其中的一个品种。

我国早在20世纪90年代初期就开始了大豆低聚糖的研究开发。1996年开始投入生产,到1998年年底生产能力已达3万t,实际产量1万t。1997年6月,卫生部食品监督检验所微生物室完成了对动物和人体服用大豆低聚糖的观察试验,证实服用大豆低聚糖可以促进肠道菌群双歧杆菌增殖,使有益菌的数量明显增加、有害菌数量明显减少。大豆低聚糖被列入国家“九五”重点攻关项目。东北农业大学、哈尔滨工业大学、中国农业大学和广西中科万士达药业有限公司与中国科学院物理研究所合作的有关研究人员对制取大豆低聚糖进行了研究。华中农业大学的黄进等研究了大豆异黄酮、皂苷和低聚糖的同步提取,得出的最佳的提取条件是:乙醇浓度50%,固液比1:27,提取温度60℃,提取时间5h。在此条件下,3种活性物质的提取率可分别达到:大豆异黄酮0.28%,皂苷2.38%,大豆低聚糖10.68%。黑龙江农业科学院大豆研究所赵贵兴等对大豆低聚糖制备工艺进行了研究,确定了提取活性炭脱色和离子交换脱盐等过程的较优工艺参数,最后制得70%的大豆糖浆;刘军等进行了大豆低聚糖、乳清蛋白的提取研究,利用膜分离技术,将乳清废水中的低聚糖、乳清蛋白同时提取出来;兰剑丽对大豆低聚糖的生产工艺技术进行了系统阐述;刘峥等采用碱液为提取剂,在微波条件下提取大豆低聚糖,既保持了碱液提取的优点,又有操作简单、效率高、时间短的特点,是一种较佳的低聚糖提取技术。

目前,我国山东谷神生物科技集团有限公司、哈尔滨高科大豆食品有限公司、山东香驰粮油有限公司、山东临沂山松生物制品有限公司等厂家有批量生产,已有大豆低聚糖粉末、糖浆、冲剂、系列饮料等保健食品。中国目前生产的大豆低聚糖纯度基本在20%~30%。

1.7.1 利用生物技术提高功能性大豆低聚糖的研究开发现状

1.7.1.1 发酵精制大豆低聚糖法

为提高功能性大豆低聚糖的含量,袁其朋等利用面包酵母对大豆低聚糖碳源利