

水苏糖制备工艺的研究进展

黄珍金¹, 吕蕾¹, 黄桂东^{1,2,3,4}, 钟先锋^{1,3,4,5*}

(1.佛山科学技术学院 食品科学与工程学院, 广东 佛山 528231; 2.广东省传统发酵食品工程技术研究中心, 广东 佛山 528231; 3.广东省食品流通安全控制工程技术研究中心, 广东 佛山 528231; 4.佛山市酿造工程技术研究中心, 广东 佛山 528231; 5.佛山农业生物制造工程技术研究中心, 广东 佛山 528231)

摘要:水苏糖是一种天然存在于植物中的功能性低聚糖,具有改善肠道菌群结构的功效。目前工业上制备水苏糖存在纯度低、成本高、效率低的问题。基于水苏糖制备工艺的发展现状,分别从水苏糖的提取、纯化两方面讨论不同制备工艺的优劣性,以期工业化生产水苏糖的相关研究工作提供参考。

关键词:水苏糖;功能性低聚糖;提取;纯化;制备工艺

Advances in Stachyose Preparation Technology

HUANG Zhen-jin¹, LÜ Lei¹, HUANG Gui-dong^{1,2,3,4}, ZHONG Xian-feng^{1,3,4,5*}

(1. College of Food Science and Engineering, Foshan University, Foshan 528231, Guangdong, China; 2. Guangdong Engineering Research Center for Traditional Fermentational Food, Foshan 528231, Guangdong, China; 3. Guangdong Engineering Research Center for Safety Control of Food Circulation, Foshan 528231, Guangdong, China; 4. Foshan Engineering Research Center for Brewing Technology, Foshan 528231, Guangdong, China; 5. Foshan Engineering Research Center for Agricultural Biological Manufacturing, Foshan 528231, Guangdong, China)

Abstract: Stachyose is a type of functional oligosaccharide that naturally exists in plants, may improve intestinal flora composition. At present, the industrial stachyose preparation process faces problems of low purity, high cost, and low efficiency. Based on the development of stachyose preparation methods. The advantages and disadvantages of two aspects of existing preparation technologies (extraction and purification) were discussed to provide a frame of reference for analyses of research related to improving industrial stachyose production.

Key words: stachyose; functional oligosaccharides; extraction; purification; preparation technology

引文格式:

黄珍金, 吕蕾, 黄桂东, 等. 水苏糖制备工艺的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(14): 216-224.

HUANG Zhenjin, LÜ Lei, HUANG Guidong, et al. Advances in Stachyose Preparation Technology[J]. Food Research and Development, 2021, 42(14): 216-224.

人体肠道是个复杂的微生物生态系统。约有1 000种以上的细菌存在,有益菌和有害菌群之间的生

态平衡直接影响宿主的健康^[1-2]。《益生菌的科学共识(2020年版)》^[3]指出益生菌可以通过调节肠道内的菌群比例改善人体肠道健康。益生菌的“食物”称为益生元(prebiotics),它是一种被广泛认可的营养物质,具有促进肠道有益菌生长从而形成有利的菌落结构的功能^[4-6],益生元的概念最早由Gibson和Robefroid在1995年提出^[7],常见的益生元有低聚果糖、大豆低聚糖、低聚木糖、低聚异麦芽糖、低聚半乳糖以及水苏糖

基金项目:国家自然科学基金项目(31660459);广东省自然科学基金项目(2018A0303130275,2020A1515011444)

作者简介:黄珍金(1996—),女(汉),硕士研究生,研究方向:食品加工与安全。

*通信作者:钟先锋(1981—),男(汉),副教授,博士,研究方向:食品加工与安全控制。

等^[8]。水苏糖与普通益生元相比,能够更高效地促进肠道双歧杆菌等有益菌的增殖^[9],被誉为“超强双歧因

子”,是近年来较热门的肠道功能食品原料^[10]。水苏糖的分子结构见图1,棉籽低聚糖家族的结构关系见图2。

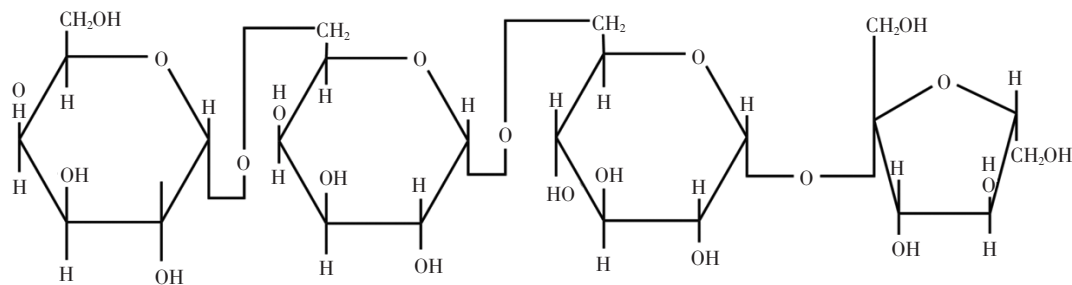


图1 水苏糖的分子结构

Fig.1 Molecular structure of stachyose

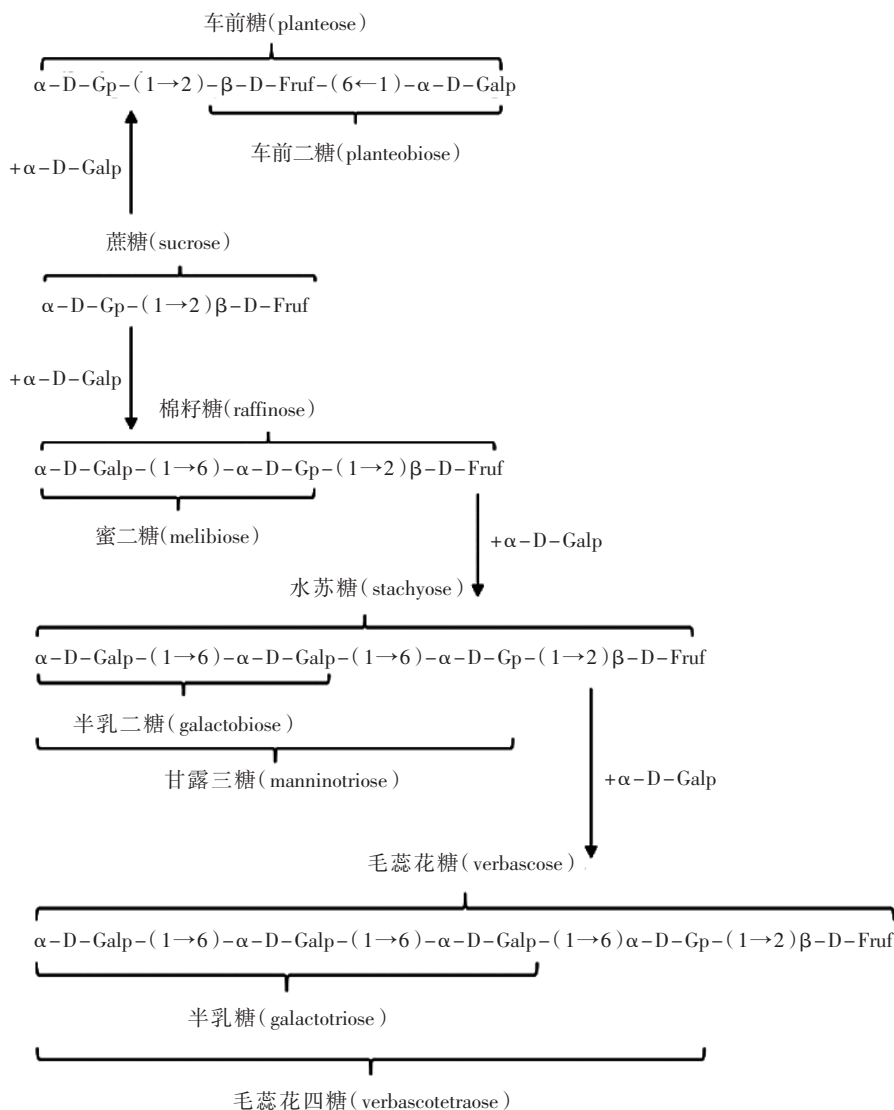


图2 棉籽低聚糖家族的结构关系

Fig.2 Strutural relationships of the raffinose oligosaccharides

水苏糖是一种天然存在的四糖,属于棉籽糖属半乳糖苷类非还原性功能低聚糖^[11-12],纯品为白色粉末,微甜,甜度为蔗糖的22%^[13]。水苏糖的分子式为: $C_{24}H_{42}O_{21}$,分子结构为:半乳糖-半乳糖-葡萄糖-果糖

(如图1所示),是典型的棉籽低聚糖家庭成员^[14-15](如图2所示),主要存在于唇形科水苏属植物中。近年来,水苏糖的生理功能不断被挖掘,目前已报道的功能有:机体免疫调节、改善排便、预防化学性肝损伤、合成维

生素B族、促进肠道吸收微量元素、预防糖尿病等^[16-21]。

水苏糖被广泛应用于药品、食品、化妆品等领域^[22]。国内外市场需求量不断增大,具有广阔的应用前景,但由于缺乏高效的生产方法,导致高纯度水苏糖的造价昂贵,限制其应用的发展,因此,探索出一个快速、高效、低成本的生产高纯度水苏糖的方法具有重要意义。

水苏糖的制备主要分为提取和纯化两个阶段。本文基于目前水苏糖制备工艺的发展现状,从水苏糖的提取工艺及纯化工艺两方面的研究进展作以综述,讨论不同制备工艺的优劣性,以期工业化生产水苏糖的相关研究工作提供参考。

1 水苏糖的制备概况

近年来,研究水苏糖制备工艺的成果多达千余项,成果中涉及到的原料、方法以及提取效果不尽相同。目前国际市场上10余种低聚糖中,除大豆低聚糖、棉籽糖外,其余低聚糖主要采取酶法制备^[23],因酶法制备水苏糖的成本较高,得率较低^[24],所以从天然植物中提取水苏糖是目前制备水苏糖的主流方法,更适用于工业化生产。可作为提取水苏糖的植物原料有:地黄、丹参、银条(又称草石蚕)、泽兰、大豆等^[25-27]。传统水苏糖制备工艺流程见图3。

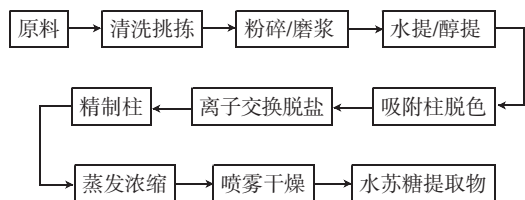


图3 传统水苏糖制备工艺流程

Fig.3 Traditional preparation process of stachyose

如图3所示,传统的制备工艺流程是将植物原料经浸提、脱色、脱盐、干燥等操作后,得到水苏糖提取物,在此基础上,研究人员结合生物、物理、化学等技术进一步优化试验条件,以提高水苏糖纯度。常见的水苏糖提取工艺主要分为三大类型:溶液提取法、微生物发酵法、酶解提取法,常见的纯化方法有膜分离法、柱层析纯化法、结晶法等。

近期, Gerliani 等^[28]利用电活化技术结合植物酸碱溶液,提取大豆粉中的蛋白质、可溶性碳水化合物和矿物质的过程中发现,获得的分析物和催化物样本中存在一定量的水苏糖和棉籽糖,且它们的含量在一定电压范围内,随着阳极液电压的升高而增加,最高分别达到 222.49 mg/g 和 34.29 mg/g, 该试验的发现可能为水苏糖的提取提供新的研究方向。

2 水苏糖的提取工艺研究进展

2.1 溶液提取法

溶剂提取法是最传统的提取方法,常用于提取天然植物中的有效成分。根据相似相溶的原理,选择对提取物溶解度大的溶剂将其从溶解度小的溶剂中提取出来。常用于提取水苏糖的溶剂是水和乙醇,根据不同的研究目的,来选择适当的提取液、提取原料、提取工艺。

2.1.1 单一提取法

以水作为提取溶剂时,提取成本低,且水对植物细胞的穿透性强。张敏等^[29]以去离子水作为溶剂,提取地黄中的水苏糖,通过单因素试验和正交试验探究最佳的提取条件,最终在浸提温度为 50 °C 的条件下,料液比 1:12(kg/L),浸提时间 60 min 为最佳,水苏糖的提取率为 58.84%。更多的研究人员选择以草石蚕作为原料,因草石蚕中的水苏糖含量高^[30],且其具有质脆、含水量高的质构特点,姚红等^[31]采用鲜品匀浆法,利用机械和液力剪切将鲜草石蚕磨成浆,使有效成分流出,更有利于水苏糖的提取,最终水苏糖提取率达 91.62%。经过多步纯化后,获得纯度达 96.10%的水苏糖粉末,该研究提取纯度高、成本低,可望为工业化制备高纯度水苏糖提供参考,但以水作为提取液时,水质易发霉变质,不易保存。

以乙醇作为提取剂时,具有渗透性强、相对水提取液而言保存期更长的优点,但不同浓度的乙醇对提取出的成分影响较大,Zhong 等^[32]在提取银条中的水苏糖时,采用响应面法探究不同因素对水苏糖提取影响的大小,最终结果表明,影响大小为料液比>乙醇体积比>提取温度>提取时间,所以以乙醇作为提取液的关键是要探究并把控好最佳的乙醇提取浓度。

2.1.2 辅助提取法

单一的水提或醇提法,提取水苏糖的效率不高且杂质多,通常需要结合一些辅助技术提取。辅助提取法是指通过物理或生物技术辅助溶液提取的方法,例如借助超声波、微波、超高压等辅助技术,辅助技术是在单一提取法的基础上,在浸出提取物环节加以辅助,后续经过离心、上清液除杂精制等步骤,与图3所示流程类似,具体操作根据实际产生杂质的性质而定。利用辅助技术提取,可明显促进植物有效成分的流出^[33-35]。

超声波辅助提取实际上是利用超声波具有空化效应、机械效应和热效应的特点,加快分子的运动速度和增大介质的穿透力,达到加快有效成分溶出的目的^[36]。王启为等^[37]利用超声波辅助水提法提取草石蚕

中的水苏糖,结果表明,对提取率影响从大到小为提取时间>超声波功率>提取温度;胡斌杰等^[39]的研究发现,在超声波技术的辅助下,水提法的提取时间可缩短3/4,多糖提取率提高30.00%。但超声波技术需要控制好超声时间,时间过长会破坏多糖结构,使糖链断裂,导致提取率降低。

微波法辅助的原理是利用细胞内的极性物质,吸收并转化微波能为热能,使胞内温度快速上升,水分气化,增大胞内压力,从而冲破细胞膜和细胞壁形成裂缝或孔洞,进而加速胞外提取剂进入胞内,溶解有效物质然后流出胞外。陈传云等^[39]发明了一种利用微波辅助提取水苏糖的方法,从50 kg新鲜草石蚕中,获得15 kg水苏糖,水苏糖的纯度为90.02%,该方法具有提取时间短,效率高的特点。微波辅助法的使用前提是,被处理的物料需具有良好吸水性,且产物热稳定性良好。

超高压辅助提取天然植物中的生物活性成分是一项新兴技术。该技术可以有效地加快传质速率、植物细胞破裂以提高提取率,缩短处理时间、减少溶剂消耗。Wu等^[40]采用高压辅助提取法从灰树花菌丝体中提取多糖和 β -葡聚糖,与常规摇晃浸泡的提取液相比,高压处理过的提取液中,多糖含量更高且活性更强。

汽爆辅助法是利用高温高压-瞬时泄压的方法,使渗进植物组织内部的蒸汽分子的内能转化为机械能,破坏生物质组织细胞层间,从而使细胞内容物加速流出^[41]。与微波辅助法原理相似,均是利用物理压强变化促进提取物的溶出,避免了化学处理导致的二次污染,具有低成本、无污染的特点。洪枫等^[41]利用汽爆技术从玉米秸秆中提取木低聚糖,试验表明,汽爆液中的糖类主要是低聚糖及一些可溶性聚糖,在1.60 MPa和2.00 MPa蒸汽压下维压5 min,最终低聚糖得率为36.00%~59.00%。该方法目前没有应用于水苏糖的制备,但木低聚糖与水苏糖结构功能相似,具有可参比性,且水苏糖热稳定性好,汽爆法可能成为辅助提取水苏糖的新途径。

2.2 微生物发酵法

微生物发酵是目前最经济的提纯水苏糖的方法,近年来,以微生物发酵法制备水苏糖的研究不断涌现,微生物发酵法是利用微生物选择性地消耗某些糖类,以此作为代谢繁殖的生长源,该方法具有优先消耗非功能性低聚糖的特点,从而提高目标成分的功能性低聚糖纯度。微生物发酵法的关键在于控制影响微生物生长代谢的因素^[42],例如,微生物的种类及数量

(纯种或混菌)、酶活性、发酵环境(温度、氧气、pH值等)等。

2.2.1 微生物种类及数量

研究分析某种微生物的发酵特性,将其合理运用,可有效提高目的产物的纯度^[43]。王智荣^[44]探究了乳酸菌、3种酵母、米曲霉和裂褶菌等菌株发酵提纯水苏糖的效果。试验结果表明,其中米曲霉和裂褶菌适合作为水苏糖发酵提纯菌株,以裂褶菌效果最佳:裂褶菌经48 h发酵后,水苏糖保留率为93.31%,占总糖含量的87.04%。舒丹阳等^[45]的试验记录了黑曲霉、米曲霉、干酪乳杆菌、瑞士乳杆菌、鼠李糖乳杆菌这5种不同的菌株对草石蚕中单、双糖及水苏糖的降解情况,为初步探索微生物发酵制备水苏糖的领域提供选菌参考依据。

在发酵食品和酶制剂行业中,多菌混合发酵效果比纯种发酵更佳^[46]。混合发酵具有多菌共生、酶系互补、相辅相成的优点,可以克服纯种发酵中间产物浓度过大的问题。将混菌发酵技术应用到提纯水苏糖的研究中,可有效提高提纯水苏糖的效率。王雪等^[47]利用日本曲霉与乳酸菌的混菌组合发酵提纯银条中的水苏糖,结果表明,经混菌发酵后,提取液中的蔗糖及单糖组分比纯种发酵有所降低,蔗糖及单糖的总量降至3.00%,水苏糖保留率在95.00%以上,占总糖含量的90.00%,结合工业色谱分离技术进一步纯化水苏糖,最终获得水苏糖纯度为90.00%~95.00%(占总糖),该方法已被国内多个著名企业应用。

2.2.2 酶活性

酶是微生物发酵的重要影响因素之一,可以通过添加促进单、双糖消耗,或抑制水苏糖降解的酶抑制剂,以快速提高水苏糖的纯度,缩短提取时间。周文斯等^[48]以草石蚕为原料,探究了乙二胺四乙酸二钠(ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt, EDTA-2Na)和抗坏血酸(ascorbic acid/Vitamin C, V_c)这2种蔗糖酶抑制剂对黑曲霉发酵提纯水苏糖的影响。试验结果表明,在发酵过程中,通过添加适量的蔗糖酶抑制剂可以有效降低水苏糖被蔗糖酶降解的概率,从而提高水苏糖含量。其中EDTA-2Na对蔗糖酶的抑制效果更优于 V_c 。该研究通过单因素试验,探究出最佳的EDTA-2Na添加量为提取液质量的0.01%,在最优试验条件下,最终获得水苏糖的纯度为80.43%。

2.2.3 发酵环境

微生物生长代谢过程中,发酵环境所提供的营养物质和能量直接影响目标产物的生物合成效率和质量,所以需要对所选菌种的最佳培养条件进行探究。

谢瑾^[9]的研究中,较全面地探究了影响微生物发酵的条件。在该研究中,以0.01%黑曲霉和0.01%乳酸菌作为最佳混菌发酵组合,试验结果显示发酵36 h后,同步发酵组的水苏糖保留率比滞后发酵组高出10.12%,因为微生物之间存在协同作用,所以同步发酵比滞后发酵更有利于提高提取液中水苏糖纯度;发酵液pH值在5.5~7.0,有利于减缓水苏糖的降解且不影响微生物消耗蔗糖;与静置发酵相比,摇床发酵可以提供更多氧气供微生物代谢,提高反应效率;带渣发酵比过滤发酵提供的营养物质更全面,微生物生长更协调。

因此得知,微生物发酵提纯水苏糖具有生产成本低、工艺简单,但产物成分较复杂、产物质量受到多方面因素影响等特点。

2.3 酶解提取法

酶解提取法是利用酶催化分解植物细胞的细胞壁成分,使得细胞壁破裂,胞内物质溶出,从而达到提取目的的一种方法。常用作提取水苏糖的酶有果胶酶和纤维素酶,以及复合酶。钟先锋等^[50]于2019年获得授权的发明专利“一种从银条中提取高纯度水苏糖的方法”,该方法利用木瓜蛋白酶和植物复合酶结合醇提法,经过一系列除杂、精制工艺后获得纯度为95.00%~99.90%的水苏糖,可见酶提取法具有物料成本低,工艺简单,反应条件温和提取率高等优点。但也具有一定的局限性,主要原因是影响酶活性的因素较多,例如温度和pH值等,若要使得酶活性达到最高,其最佳反应条件都在一个很小的范围内,需要精确把控,否则酶活性大大降低,影响提取效果。各种提取方法的比较见表1。

表1 各种提取方法的比较
Table 1 Comparison of various extraction methods

对比项目	溶剂提取法	微生物发酵法	酶解提取法
特点	适用性强、易操作	绿色、环保	专一性高
成本	较低	低	低
单位提取用时	长	较长	较长
提取率	较低	高	高
局限性	用时较长、损耗大、回收率低	影响因素多、产物成分复杂	对条件要求严格、专一性强

3 水苏糖的纯化工艺研究进展

3.1 膜分离法

水苏糖经粗提后,提取液中存在许多杂质,主要有蛋白质、色素、盐类、氨基酸等,膜分离法需要根据杂质性质,选择除杂效果好、可回收的滤膜。

膜分离法的原理是利用膜的选择透过性,实现不同物质的分离与纯化。研究中常见的分离膜有超滤膜、反渗透膜、纳滤膜、电渗析膜等。其中超滤膜、纳滤膜、反渗透膜都属于过滤膜,超滤膜的孔径在1 nm~300 nm,可用于截留一些生物大分子和胶状物;纳滤膜可截留相对分子量在300~1 000的物质;反渗透膜的原理是通过向高浓度一端施加一定的压力,在膜两侧形成压力差,使得溶剂分子从高浓度向低浓度一端转移。张敏等^[51]以去离子水作为溶剂,提取地黄中的水苏糖,结合纳滤膜及反渗透膜技术进行纯化。试验中使用到的纳滤膜和反渗透膜经过清理后可反复利用,它们的膜通透恢复率分别为95.52%、97.22%。

电渗析膜实质上是一种带电离子交换膜^[51]。电渗析膜设在溶液电场的阴阳极之间,当电场运作时,溶液中的阴阳离子定向运动,通过具有离子选择性的电渗析膜,从而实现去除某些带电离子的作用。电渗析膜的脱盐效率高,因此常用于工业化脱盐,如海水淡化^[52]、废水处理^[53]等。在食品工业中可应用于去除无机盐离子、蛋白质等物质,段舒然等^[54]利用电渗析法纯化棉籽糖提取液,在该研究中他们探究了操作电压和循环流量的变化对纯化效果、能耗大小的影响。最终结果表明,脱盐率最高可达到91.20%,棉籽糖回收率达94.50%。

3.2 柱层析纯化法

柱层析法,又称色层法或色谱法,是科学试验中经典的分离多组分混合物的方法,可用于物质的定性、定量、纯化操作。层析柱通常由固定相、流动相两部分组成,根据不同的柱内填充物可以将其分很多类,如碳-钙色谱柱^[55]、高效阴离子交换色谱柱^[56]、N-苯基-苯基氨基-β-环糊精-粘结手性固定相-高效液相色谱^[57]等。它们的工作原理相同,在样品进入柱子后,根据各组分在流动相、固定相之间分配系数不同、固定相的吸附能力不同,使得各组分以不同速度向下迁移,按一定顺序流出并收集,达到分离纯化的目的。

当柱层析法用于含量检测时,常与质谱法联用,高效液相色谱法是检测低聚糖含量较为准确的方法^[58],该方法具有分析时间短、选择性高、灵敏度高、精度高等优点。Wang等^[59]建立了一种同时测定地黄中环烯醚萜苷和低聚糖(蔗糖、蜜二糖、棉籽糖、甘露糖和水苏糖)的方法。该研究利用亲水性相互作用液相色谱法对7种分析物进行快速分离,最后用三重四极杆串联质谱法对分析物进行灵敏和选择性检测,结果显示,所有分析物的相关系数均在0.99以上,具有良好的线性,精密密度偏差小于5.00%,回收率在93.80%~105.50%之间。

当柱层析法用于纯化水苏糖时,常用的固定相填充物有树脂、活性炭等。树脂又分为离子交换树脂、大孔吸附树脂、凝胶型树脂,其原理是利用树脂的吸附作用将特定组分截留,然后进行洗脱以达到样品组分分离的目的,该方法具有脱盐率高、脱色效果好、可自动化进行、重复循环使用等优势。离子交换树脂和大孔吸附树脂常用于去除水苏糖提取液中盐分、色素、蛋白质、氨基酸等杂质。谢瑾^[49]在提取干基草石蚕中的水苏糖研究中,利用 D001 型大孔强酸性阳离子交换树脂和 D301 型大孔弱碱性阴离子交换树脂在流速为 3.77 BV/h,温度为 35℃时,蛋白质洗脱率为 93.70%,灰分洗脱率为 97.81%,脱色率高达 99.50%。刘聪等^[60]利用 HW-40C 凝胶为固定相去除蛋白,纯化棉籽糖。该研究在最佳工艺条件下,获得纯度达 89.10%的棉籽糖,收率为 64.80%。凝胶型树脂具有分离效率高、操作简便等优势,但需要注意的是,凝胶型树脂孔隙较小,若提取液中含有较多色素时,应先去除,否则凝胶树脂易被色素大分子堵塞出现树脂“中毒”现象。

活性炭属于多孔介质,其吸附疏水性有机物能力强,常用于脱色。其原理是利用静电力将小分子有机物或疏水性分子,物理吸附在活性炭的微孔中,达到去除流动相杂质的目的。Bao 等^[61]利用活性炭吸附分离棉子糖和蔗糖,通过吸附-解吸循环,最终得到棉籽糖纯度大于 90.00%、回收率为 79.20%。Bernal 等^[62]在浓度为 5 g/L 的诺利特粉末活性炭(norit powdered activated charcoal,NPAC),超滤跨膜压力为 100 kPa,进料流量为 4.24 L/h, pH 3 的条件下,对甜菜糖蜜进行脱色处理,最终甜菜糖蜜的颜色降低了 96.50%以上,该研究还用 NaOH 复原活性炭,其除色能力损失低于 10.00%。

3.3 结晶法

结晶法的原理是根据不同物质的结晶条件不同,将被提取物质从饱和溶液中析出结晶,而其他杂质依然留在溶液中,以此达到纯化的目的。在水苏糖制备研究领域中,张金泽等^[63]以利用重结晶、活性炭吸附的方法纯化水苏糖,重结晶是指晶体的二次结晶,即将晶体溶解或熔融后,再从溶液或熔体中结晶的过程,重结晶可以使物质高度纯化,用此方法制得的水苏糖晶体纯度高于 99.00%,该方法于 2016 年获得中国发明专利授权。宋建民等^[64]发明的“一种高纯度水苏糖的制备方法”是以草石蚕为原料,通过水提法、微生物发酵法、醇提法等多重提取方法,结合碱沉、过滤、活性炭脱色、冷却结晶的纯化方法获得纯度高于 99.00%的水苏糖晶体。结晶法纯化水苏糖具有产物纯度高、溶剂

环保、工艺简单的特点,可用于水苏糖商业标准品的制备,但自然冷却结晶周期长,效率低。3 种纯化方法的比较见表 2。

表 2 3 种纯化方法的比较
Table 2 Comparison of various purification methods

对比项目	膜分离法	柱层析纯化法	结晶法
纯化效果	一般	较好	好
特点	节能、分离效率高	分离准确度高	操作简单、溶剂环保
局限性	膜易受损坏或污染、更换不方便	不适用于大量量的分离、处理能力有限	结晶周期长、效率低
操作难易度	较难	简单	简单
成本	较高	高	低

4 总结和展望

水苏糖较其他低聚糖,可以更有效地促进肠道益生菌的生长繁殖,应用前景广阔,水苏糖的生产制备是目前较为热门的研究方向,本文从提取工艺和纯化工艺两方面,综述了制备水苏糖的技术研究现状。从经济效益层面来说,微生物发酵法是目前最经济的水苏糖提纯方法,较适合工业化生产,其中混菌发酵优于单菌发酵,且多菌同步发酵优于滞后发酵,发酵环境的 pH 值根据不同的发酵菌而定,通常 pH 值在 5.5~7.0 为合适;摇床发酵优于静置发酵;带渣发酵优于过滤发酵。此外,还可以通过添加一些酶抑制剂调节提纯速率,实现低成本、高效率地大批量生产水苏糖。

但微生物发酵法存在产物杂质多的缺点,需在后期精制过程中多步除杂。虽然我国在水苏糖纯化领域,部分工艺制备的水苏糖纯度已达到国际标准,可用于生产高纯度的试验标准品,但是存在一定局限性。如膜分离法、柱层析纯化法存在耗材成本高、处理量小的问题;结晶法的时间成本与生产量成正比,与蒸发面积(场地面积)成反比,均不适合大规模纯化水苏糖。因此,建立一个高效、低成本的纯化水苏糖的方法,以应用于工业化大批量生产,是水苏糖加工应用领域今后需要继续研究探讨的方向。

参考文献:

- [1] TOSCANO M, DE GRANDI R, PASTORELLI L, et al. A consumer's guide for probiotics: 10 golden rules for a correct use[J]. Digestive and Liver Disease, 2017, 49(11): 1177-1184.
- [2] 中华预防医学会微生态学分会. 中国消化道微生态调节剂临床应用共识(2016 版)[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(6): 621-631. Microecology Branch of Chinese Preventive Medicine Association. Consensus on Clinical Application of Digestive tract Microecological regulators in China (2016 Edition)[J]. Chinese Journal of Microeco-

- logy, 2016, 28(6): 621–631.
- [3] 中国食品科学技术学会益生菌分会. 益生菌的科学共识(2020年版)[J]. 中国食品学报, 2020, 20(5): 303–307.
- Probiotics Society of the Chinese Institute of Food Science and Technology. Scientific consensus on probiotics (2020)[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20 (5): 303–307.
- [4] SCOTT K P, GRIMALDI R, CUNNINGHAM M, et al. Developments in understanding and applying prebiotics in research and practice—an ISAPP conference paper[J]. Journal of Applied Microbiology, 2020, 128(4): 934–949.
- [5] HUNGIN A P S, MITCHELL C R, WHORWELL P, et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms—an updated evidence-based international consensus[J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2018, 47(8): 1054–1070.
- [6] BAJURY D M, NASHRI S M, KING JIE HUNG P, et al. Evaluation of potential prebiotics: a review[J]. Food Reviews International, 2018, 34(7): 639–664.
- [7] GIBSON G R, ROBERFROID M B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics[J]. The Journal of Nutrition, 1995, 125(6): 1401–1412.
- [8] LI C N, WANG X, LEI L, et al. Berberine combined with stachyose induces better glycometabolism than berberine alone through modulating gut microbiota and fecal metabolomics in diabetic mice [J]. Phytotherapy Research, 2020, 34(5): 1166–1174.
- [9] ZARTL B, SILBERBAUER K, LOEPPERT R, et al. Fermentation of non-digestible raffinose family oligosaccharides and galactomannans by probiotics[J]. Food & Function, 2018, 9(3): 1638–1646.
- [10] LIU Y Y, LI T, ALIM A, et al. Regulatory effects of stachyose on colonic and hepatic inflammation, gut microbiota dysbiosis, and peripheral CD4(+) T cell distribution abnormality in high-fat diet-fed mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(42): 11665–11674.
- [11] ZHONG X F, ZHANG Y B, HUANG G D, et al. Proteomic analysis of stachyose contribution to the growth of *Lactobacillus acidophilus* CICC22162[J]. Food & Function, 2018, 9(5): 2979–2988.
- [12] BHATIA L, SHARMA A, BACHHETI R K, et al. Lignocellulose derived functional oligosaccharides: production, properties, and health benefits[J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2019, 49(8): 744–758.
- [13] 梁丽心. 功能性低聚糖——水苏糖[J]. 中国食品添加剂, 2004(4): 51–54.
- LIANG Lixin. Functional oligosaccharide—stachyose[J]. China Food Additives, 2004(4): 51–54.
- [14] FRENCH D. The raffinose family of oligosaccharides[J]. Advances in Carbohydrate Chemistry, 1954, 9: 149–184.
- [15] VAN DEN ENDE W. Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides[J]. Frontiers in Plant Science, 2013, 4: 247.
- [16] 韩诗雯, 高加涛, 桑若杰, 等. 水苏糖调节肠道功能及作用机制研究[J]. 食品科技, 2019, 44(4): 281–284.
- HAN Shiwen, GAO Jiatao, SANG Ruojie, et al. The function and mechanism of stachyose on intestinal tract[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(4): 281–284.
- [17] 马璇. 草石蚕水苏糖的提取纯化工艺研究[D]. 沈阳: 沈阳理工大学, 2019.
- MA Xuan. Study on extraction and purification process of stachyose in *Stachys sieboldii* Miq[D]. Shenyang: Shenyang University of Chemical Technology, 2019.
- [18] LI T, LU X S, YANG X B. Evaluation of clinical safety and beneficial effects of stachyose-enriched α -galacto-oligosaccharides on gut microbiota and bowel function in humans[J]. Food & Function, 2017, 8(1): 262–269.
- [19] CHEN X F, LIAO D Q, QIN Z X, et al. Synergistic interactions of catalpol and stachyose in STZ-HFD induced diabetic mice: Synergism in regulation of blood glucose, lipids, and hepatic and renal function[J]. Chinese Herbal Medicines, 2019, 11(1): 70–77.
- [20] HE L W, ZHANG F, JIAN Z Y, et al. Stachyose modulates gut microbiota and alleviates dextran sulfate sodium-induced acute colitis in mice[J]. Saudi Journal of Gastroenterology : Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association, 2020, 26(3): 153–159.
- [21] KENNEDY P J, MURPHY A B, CRYAN J F, et al. Microbiome in brain function and mental health[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 57: 289–301.
- [22] GIACOBBO A, BERNARDES A M, DE PINHO M N. Sequential pressure-driven membrane operations to recover and fractionate polyphenols and polysaccharides from second racking wine lees[J]. Separation and Purification Technology, 2017, 173: 49–54.
- [23] 李炳学, 牛菲, 张宁. 酶法合成功能性低聚糖[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(1): 1–6.
- LI Bingxue, NIU Fei, ZHANG Ning. Enzymatic synthesis of functional oligosaccharides[J]. Journal of Microbiology, 2017, 37(1): 1–6.
- [24] NAKATA H, SAKURAI H, NAGURA T, et al. Raffinose production using α -galactosidase from *Paraphaeosphaeria* sp[J]. Mycoscience, 2013, 54(4): 247–251.
- [25] 王东辉, 廖娜, 孙鹏, 等. 地黄不同器官运输型糖含量的变化[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(8): 1563–1570.
- WANG Donghui, LIAO Na, SUN Peng, et al. Changes of transport sugar content in different organs of *Rehmannia glutinosa*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(8): 1563–1570.
- [26] 郑云枫, 程建明, 丁宁, 等. 一种从丹参水提醇沉物中制备水苏糖的方法: CN102229627A[P]. 2011–11–02.
- ZHENG Yunfeng, CHENG Jianming, DING Ning, et al. Method for preparing stachyose by using water-extraction alcohol-precipitation of *Salvia miltiorrhiza*: CN102229627A[P]. 2011–11–02.
- [27] 陈燕, 钟先锋, 黄桂东, 等. 银条水苏糖提取条件研究[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(1): 123–130.
- CHEN Yan, ZHONG Xianfeng, HUANG Guidong, et al. Extraction

- conditions of stachyose from *Stachys floridana* shuttlw. ex Benth.[J]. Natural Product Research and Development, 2011, 23(1): 123–130.
- [28] GERLIANI N, HAMMAMI R, AIDER M. Extraction of protein and carbohydrates from soybean meal using acidic and alkaline solutions produced by electro-activation[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(2): 1125–1138.
- [29] 张敏, 史宝利. 膜分离技术在水苏糖提取中的应用[J]. 食品工业, 2019, 40(10): 102–106.
- ZHANG Min, SHI Baoli. Application of membrane separation technology on the extraction of stachyose[J]. The Food Industry, 2019, 40(10): 102–106.
- [30] YIN J F, YANG G L, WANG S M, et al. Purification and determination of stachyose in Chinese artichoke (*Stachys sieboldii* Miq.) by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection[J]. Talanta, 2006, 70(1): 208–212.
- [31] 姚红. 草石蚕水苏糖制备工艺的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2010.
- YAO Hong. Study on the preparation technology of stachyose from *Stachys sieboldii* Miq[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010.
- [32] ZHONG X F, HUANG G D, CHEN Y, et al. Optimization of extracting stachyose from *Stachys floridana* shuttlw. ex Benth. by response surface methodology[J]. Journal of Food Science and Technology, 2013, 50(5): 942–949.
- [33] CHEMAT F, ROMBAUT N, SICAIRE A G, et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 34: 540–560.
- [34] XI J, SHEN D J, LI Y, et al. Ultrahigh pressure extraction as a tool to improve the antioxidant activities of green tea extracts[J]. Food Research International, 2011, 44(9): 2783–2787.
- [35] MITTAL R, TAVANANDI H A, MANTRI V A, et al. Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phycobiliproteins from marine macro-algae, *Gelidium pusillum* (Rhodophyta)[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 38: 92–103.
- [36] BHANGUS K, GUPTA S, ASHOKKUMAR M. Ultrasonic enhancement of lipase-catalysed transesterification for biodiesel synthesis[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 34: 305–309.
- [37] 王启为, 任建林. 超声波法提取草石蚕中水苏糖[J]. 石油化工应用, 2014, 33(6): 97–99.
- WANG Qiwei, REN Jianlin. Ultrasonic extraction of stachyose from *Stachys sieboldii* Miq[J]. Petrochemical Industry Application, 2014, 33(6): 97–99.
- [38] 胡斌杰, 陈金锋, 王宫南. 超声波法与传统热水法提取灵芝多糖的比较研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(2): 190–192.
- HU Binjie, CHEN Jinfeng, WANG Gongnan. Comparative study on extraction of *Ganoderma lucidum* polysaccharides by ultrasonic method and traditional hot water method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2007, 28(2): 190–192.
- [39] 陈传云, 梁远争, 李胜明. 一种草石蚕中水苏糖膜提取工艺: CN106543238A[P]. 2017–03–29.
- CHEN CHUANYUN, LIANG YUANZHENG, LI SHENGMING. Membrane extraction process for stachyose in *Stachys sieboldii*: CN106543238A[P]. 2017–03–29.
- [40] WU S J, CHEN Y W, WANG C Y, et al. Anti-inflammatory properties of high pressure-assisted extracts of *Grifola frondosa* in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 macrophages[J]. Food Science & Technology, 2017, 52(3): 671–678.
- [41] 洪枫, 单谷, 孙伟东, 等. 采用蒸汽爆破技术制备木低聚糖的尝试[J]. 林产化工通讯, 1999, 33(6): 3–6.
- HONG Feng, SHAN Gu, SUN Weidong, et al. A primary study on xylo-oligosaccharide production with steam explosion[J]. Journal of Chemical Industry of Forest Products, 1999, 33(6): 3–6.
- [42] 张百良. 生物能源技术与工程化[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 84–103.
- ZHANG Bailiang. Bioenergy technology and engineering [M]. Beijing: Science Press, 2009: 84–103.
- [43] LIN T J, LEE Y C. High-content fructooligosaccharides production using two immobilized microorganisms in an internal-loop airlift bioreactor[J]. Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers, 2008, 39(3): 211–217.
- [44] 王智荣. 草石蚕制备高纯度水苏糖的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2017.
- WANG Zhirong. Study on production of high purity stachyose from *Stachys sieboldii* Miq[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017.
- [45] 舒丹阳, 谢瑾, 崔春. 微生物发酵法制备高纯度水苏糖的研究[J]. 中国调味品, 2019, 44(5): 1–4.
- SHU Danyang, XIE Jin, CUI Chun. Study on preparation of high-purity stachyose by microbial fermentation[J]. China Condiment, 2019, 44(5): 1–4.
- [46] SHI C Y, ZHANG Y, LU Z Q, et al. Solid-state fermentation of corn-soybean meal mixed feed with *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* for degrading antinutritional factors and enhancing nutritional value[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2017, 8: 50.
- [47] 王雪, 张金泽, 段素芳, 等. 水苏糖发酵提纯菌株的筛选研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(10): 94–97.
- WANG Xue, ZHANG Jinze, DUAN Sufang, et al. Study on purification of stachyose by fermentation[J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(10): 94–97.
- [48] 周文斯, 熊健, 谢瑾, 等. 发酵法提纯草石蚕中水苏糖的工艺研究[J]. 中国调味品, 2018, 43(7): 21–25, 32.
- ZHOU Wensi, XIONG Jian, XIE Jin, et al. Study on extraction and purification of stachyose from *Stachys seiboibii* by fermentation method[J]. China Condiment, 2018, 43(7): 21–25, 32.
- [49] 谢瑾. 微生物发酵法提高水苏糖纯度的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- XIE Jin. Study on improving purity of stachyose using microorganism fermentation method[D]. Guangzhou: South China University of

- Technology, 2018.
- [50] 钟先锋, 黄桂东, 白永亮, 等. 一种从银条中提取高纯度水苏糖的方法: CN106496287A[P]. 2017-03-15.
- ZHONG XIANFENG, HUANG GUIDONG, BAI YONGLIANG, et al. Method for extracting high purity stachyose from *Stachys floridana* shuttlw. ex Benth: CN106496287A[P]. 2017-03-15.
- [51] ATUNGULU G, KOIDE S, SASAKI S, et al. Ion-exchange membrane mediated electrodialysis of scallop broth: Ion, free amino acid and heavy metal profiles[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(4): 1285-1290.
- [52] GALAMA A H, SAAKES M, BRUNING H, et al. Seawater pre-desalination with electrodialysis[J]. Desalination, 2014, 342: 61-69.
- [53] LV Y, YAN H Y, YANG B J, et al. Bipolar membrane electrodialysis for the recycling of ammonium chloride wastewater: Membrane selection and process optimization[J]. Chemical Engineering Research and Design, 2018, 138: 105-115.
- [54] 段舒然, 鲍宗必, 闻光东, 等. 棉籽糖纯化过程中电渗析脱盐研究[J]. 食品科学, 2016, 37(1): 28-32.
- DUAN Shuran, BAO Zongbi, WEN Guangdong, et al. Electrodialytic desalination in raffinose purification[J]. Food Science, 2016, 37(1): 28-32.
- [55] YAMAMORI A, TAKATA Y, FUKUSHI E, et al. Structural analysis of a novel oligosaccharide isolated from fermented beverage of plant extracts[J]. Journal of Applied Glycoscience, 2017, 64(4): 123-127.
- [56] MENG Y, YI L, CHEN L, et al. Purification, structure characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Saposhnikovia divaricata*[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2019, 17(10): 792-800.
- [57] LI L, CHENG B P, ZHOU R D, et al. Preparation and evaluation of a novel N-benzyl-phenethylamino- β -cyclodextrin-bonded chiral stationary phase for HPLC[J]. Talanta, 2017, 174: 179-191.
- [58] 周扬, 刘力, 郭冷秋, 等. HPLC-ELSD 测定生地黄饮片中水苏糖的含量[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(5): 53-56.
- ZHOU Yang, LIU Li, GUO Lengqiu, et al. Content determination of stachyose in *Radix-rehmanniae* pieces by HPLC-ELSD[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2019, 15(5): 53-56.
- [59] WANG X, WU C T, XU M, et al. Optimisation for simultaneous determination of iridoid glycosides and oligosaccharides in *Radix Rehmannia* by microwave assisted extraction and HILIC-UHPLC-TQ-MS/MS[J]. Phytochemical Analysis, 2020, 31(3): 340-348.
- [60] 刘聪, 鲍宗必, 邢华斌, 等. 凝胶色谱法分离纯化棉籽低聚糖和蛋白[J]. 高校化学工程学报, 2014, 28(3): 503-509.
- LIU Cong, BAO Zongbi, XING Huabin, et al. Separation and purification of raffinose and proteins by gel permeation chromatography[J]. Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities, 2014, 28(3): 503-509.
- [61] BAO Z B, DUAN S R, ZHANG Z G, et al. Adsorption separation of raffinose from sucrose by activated carbon: Equilibrium, kinetics and dynamic breakthrough[J]. Separation Science and Technology, 2016, 51(10): 1636-1644.
- [62] BERNAL M, RUIZ M O, GEANTA R M, et al. Colour removal from beet molasses by ultrafiltration with activated charcoal[J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 283: 313-322.
- [63] 张金泽, 林静, 周志桥, 等. 一种水苏糖结晶的制备方法: CN103265583A[P]. 2013-08-28.
- ZHANG Jinze, LIN Jing, ZHOU Zhijiao, et al. Method for preparing stachyose crystal: CN103265583A[P]. 2013-08-28.
- [64] 宋建民, 王德海, 宛荣生, 等. 一种高纯度水苏糖的制备方法: CN110759956A[P]. 2020-02-07.
- SONG Jianmin, WANG Dehai, WAN Rongsheng, et al. Preparation method of high-purity stachyose: CN110759956A[P]. 2020-02-07.

加工编辑:张弘

收稿日期:2020-08-23