DOI:10.12441/spyswjs.20220704002 [文章编号] 1673-1689(2024)07-0095-10

部分水解瓜尔豆胶的制备、结构鉴定及热力学分析

王梦璐[1] 李 玥[2] 陆 辉[3] 朱 松[1*]

(1. 江南大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室,江苏 无锡 214122; 2. 江南大学食品学院,江苏 无锡 214122; 3. 苏州昕能胶体技术有限公司,江苏 苏州 215300)

摘要:采用可控酶解技术制备不同相对分子质量的部分水解瓜尔豆胶(PHGG),通过离子色谱法计算PHGG中半乳甘露聚糖质量分数。采用红外光谱、核磁共振及X射线衍射表征PHGG的分子结构,采用差示扫描量热法和热重分析法考察PHGG的热力学性质。结果表明,影响PHGG酶解的关键因素为底物质量浓度、酶添加量和酶解时间,通过调控以上因素,制备了中高相对分子质量PHGG(摩尔质量8.92×10^5 g/mol)、中相对分子质量PHGG(摩尔质量5.07×10^5 g/mol)和低相对分子质量PHGG(摩尔质量0.62×10^5 g/mol)。其中,中相对分子质量醇沉PHGG的半乳甘露聚糖质量分数达84.09%。不同相对分子质量PHGG的甘露糖与半乳糖的质量分数比值均降低,主要化学结构未发生改变,晶体区结构有轻微破坏,表明PHGG在较高温度下仍表现出良好的热稳定性。综上,经可控酶解制备的不同相对分子质量PHGG在热加工食品中有良好的稳定性,为瓜尔豆胶应用拓展提供了理论依据。

关键词:瓜尔豆胶;相对分子质量;酶解;结构表征;热力学特性

Preparation, Structure Identification and Thermodynamic Analysis of Partially Hydrolyzed Guar Gum

WANG Menglu[1] *LI Yue*[2] *LU Hui*[3] *ZHU Song*[1*]

(1. State Key Laboratory of Food Science and Resources, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Suzhou Xinneng Colloid Technology Co., Ltd., Suzhou 215300, China)

Abstract: Partially hydrolyzed guar gum (PHGG) with different relative molecular mass was prepared using controlled enzymatic hydrolysis technology, and the mass fraction of galactomannan in PHGG was calculated by ion chromatography. The molecular structure of PHGG was characterized by infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance and X-ray diffraction. Thermodynamic properties of PHGG were investigated by differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis. The results showed that the critical factors influencing the enzymatic hydrolysis of PHGG were substrate mass concentration, enzyme addition amount, and enzymatic hydrolysis time. By manipulating these factors, medium and high relative molecular mass PHGG (molar mass 8.92×10^5 g/mol), medium relative molecular mass PHGG (molar mass 5.07×10^5 g/mol) and low relative molecular mass PHGG (molar mass 0.62×10^5 g/mol) were prepared. Among them, the mass fraction of galactomannan in medium relative molecular mass alcohol-precipitated PHGG reached 84.09%. In PHGG with different relative molecular mass, the mass fraction ratio of mannose to galactose decreased, and the main chemical structure remained unchanged, but there were minor disruptions to the crystalline region structure, indicating that PHGG exhibited good thermal stability even at elevated temperatures.

基金项目:国家自然科学基金项目(32172197)。

通信作者:朱松(1979—),男,博士,研究员,博士研究生导师,主要从事植物源功能成分研究。E-mail: zhusong@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2022-07-04 **改回日期:**2022-09-23

Overall, PHGG with different relative molecular mass, prepared by controlled enzymatic hydrolysis, has good stability in thermally processed foods, which provides a theoretical basis for the application of guar gum.

Keywords: guar gum;relative molecular mass; enzymatic hydrolysis; structural characterization; thermodynamic characteristics

瓜尔豆胶（GG）是从瓜尔豆胚乳中提取的一种非均相中性多糖，由*β*-1，4-糖苷键连接*D*-吡喃甘露糖构成主链，侧链的*D*-吡喃半乳糖通过*α*-1，6-糖苷键连接甘露糖主链构成半乳甘露聚糖，瓜尔豆胶的甘露糖与半乳糖比值为1.6~2.0[1]。

天然多糖具有广泛的结构多样性，特定的酶修饰可用来生产具有不同性质的分子，拓展多糖的应用范围。采用酶解法获得食品级可添加的部分水解瓜尔豆胶（PHGG），比酸水解、碱水解、辐射等降解方法更温和，具有可控因素较多的优点，如通过调节酶的种类、加酶量、酶解时间、底物浓度等因素，制备不同相对分子质量的瓜尔豆胶，避免降解为极低相对分子质量的产物[2]。

大分子物质的相对分子质量、分子结构、热力学、流变学和微观结构等性质，与食品、药品、化工等领域的应用密切相关。现阶段研究多集中于单一水解为极低相对分子质量的寡糖和单糖，缺少对于中、高相对分子质量PHGG的可控制备及其产物结构和性质的评价。Mudgil等对低相对分子质量PHGG（相对分子质量为7 936）进行热力学分析和结构鉴定，结果证明：与高相对分子质量PHGG相比，低相对分子质量PHGG分解温度降低，具有良好热稳定性，且分子结构没有改变，添加在小麦面团中可增加体系吸水率和淀粉糊化度，影响小麦粉面团体系性质[3-4]。

瓜尔豆胶的可控酶解是获得不同相对分子质量瓜尔豆胶的有效方法。通过调节关键因素获得有利于泵传送的黏度或形成所需的凝胶体系，可弥补瓜尔豆胶水溶液因黏度高而造成的使用局限性。不同相对分子质量的PHGG可满足不同的生产需求。Lin等利用超声波降解法制备不同相对分子质量的魔芋凝胶，将其添加在中式香肠中，可模拟脂肪的质地和感官特征[5]，为健康食品的开发提供了思路。王世彬等在油田改造的压裂液中添加4.25×10^5 g/mol的酶解瓜尔豆胶，防止GG长链互相缠绕形成聚集体堵塞通道[6]。段汝清等将瓜尔豆胶酶解液与蛋清蛋白进行接枝反应，通过对凝胶强度、持水性及微观结构的研究显示，瓜尔豆胶酶解液能够有效改善蛋清蛋白的凝胶性质[7]。

研究采用*β*-甘露聚糖酶生产PHGG，以影响酶解的关键因素为调控指标，探究不同相对分子质量PHGG的制备方法，分析不同相对分子质量PHGG的化学组成、结构变化和热力学性质，为其在食品工业和其他领域的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

瓜尔豆片：苏州昕能胶体技术有限公司；*β*-甘露聚糖酶（5×10^4 U/g）：上海麦克林生化科技有限公司；普鲁兰酶（LP482001，2 000 U/mL）：北京酷尔化学科技有限公司；葡聚糖标准品Dextran T-300（相对分子质量300 600）、Dextran T-150（相对分子质量135 030）、Dextran T-10（相对分子质量9 750）、Dextran T-5（相对分子质量2 700）、葡萄糖（相对分子质量180）：国家标准物质研究中心。

1.2 仪器与设备

RET型加热磁力搅拌器、DHG-9053A型电热恒温鼓风干燥箱：上海一恒科学仪器有限公司；旋转黏度计：美国Brookfield公司；SCIENTZ-10N型冷冻干燥机：宁波新芝生物科技股份有限公司；NEXUS型傅里叶变换红外光谱仪：美国Thermo Nicolet公司；Avance III 400 MHz型全数字化核磁共振波谱仪：德国Bruker公司；TGA2型热重分析仪：瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司；D2 PHASER型X射线衍射仪：德国布鲁克AXS有限公司；DSC 8500型差示扫描量热仪：美国珀金埃尔默公司；Waters 1525型高效液相色谱：美国Waters公司；Agilent 1260型高效体积排阻色谱：美国怀雅特技术公司；Dionex ICS-5000$^+$型高压离子色谱：美国赛默飞世尔科技公司。

1.3 瓜尔豆胶酶解因素的确定

1.3.1 酶解方式对瓜尔豆胶相对分子质量的影响

在质量浓度为10 g/L的瓜尔豆胶溶液中加入140 U/g（以GG质量计）的普鲁兰酶，并分别添加100、200、300、400、500、600 U/g（以GG质量计）的

β-甘露聚糖酶，于45 ℃酶解20 min，迅速转移至90 ℃水浴中保温20 min，冷却后分别测定瓜尔豆胶的相对分子质量。

在质量浓度为10 g/L的瓜尔豆胶溶液中加入500 U/g（以GG质量计）的β-甘露聚糖酶，并分别添加100、120、140、160、180、200 U/g（以GG质量计）的普鲁兰酶，于45 ℃酶解20 min，迅速转移至90 ℃水浴中保温20 min，冷却后分别测定瓜尔豆胶的相对分子质量。

1.3.2 低相对分子质量PHGG酶解条件优化 在质量浓度为10 g/L的瓜尔豆胶溶液中加入500 U/g（以GG质量计）的β-甘露聚糖酶，于45 ℃分别酶解10、20、30、40、50、60 min，迅速转移至90 ℃水浴中保温20 min，冷却后分别测定瓜尔豆胶的相对分子质量。

分别在质量浓度为2、4、6、8、10、50、60 g/L的瓜尔豆胶溶液中加入200 U/g（以GG质量计）的β-甘露聚糖酶，于45 ℃酶解20 min，迅速转移至90 ℃水浴中保温20 min，冷却后分别测定瓜尔豆胶的相对分子质量。

在质量浓度为10 g/L的瓜尔豆胶溶液中分别加入100、200、300、400、500、600 U/g（以GG质量计）的β-甘露聚糖酶，于45 ℃酶解20 min，迅速转移至90 ℃水浴中保温20 min，冷却后分别测定瓜尔豆胶的相对分子质量。

在质量浓度为10 g/L的瓜尔豆胶溶液中加入200 U/g（以GG质量计）的β-甘露聚糖酶，分别于35、40、45、50、55、60 ℃酶解20 min，迅速转移至90 ℃水浴中保温20 min，冷却后分别测定瓜尔豆胶的相对分子质量。

1.3.3 瓜尔豆胶的可控酶解 根据1.3.2的结果调整瓜尔豆胶可控酶解的关键因素，按照表1制备不同相对分子质量的PHGG。

表1 可控酶解的试验方案

Table 1 Experimental scheme of controlled enzymatic hydrolysis

样品	酶添加量/（U/g）	酶解时间/min	$m_{瓜尔豆片}:m_{水}$	温度/℃
PHGG1	0.05	5	1	55
PHGG2	0.05	60	1	55
PHGG3	4.00	20	1	55

注：酶添加量以GG质量计。

1.4 PHGG的纯化

用1.3.3的样品配制质量浓度10 g/L的瓜尔豆胶水溶液，8 000 r/min离心10 min，取上清液加入无水乙醇，使溶液中无水乙醇体积分数达到80%，4 ℃下醇沉12 h。旋转蒸发浓缩醇沉液，用体积分数80%无水乙醇洗涤沉淀3次，冷冻干燥保存。

1.5 PHGG的相对分子质量测定

将方法1.3制备的样品充分水合后离心取上清液，用0.45 μm的滤膜过滤，用Agilent 1260型高效体积排阻色谱检测，色谱条件为：Shodex OHpak SB-805HQ（8 mm×300 mm）色谱柱，示差折光检测器和多角度光散射检测器，流动相为0.1 mol/L硝酸钠溶液，流量为0.5 mL/min，柱温为40 ℃；用Waters 1525型高效液相色谱检测，色谱条件为：Ultrahydrogel Linear（300 mm×7.8 mm）色谱柱，Waters 2410型示差折光检测器，流动相为0.1 mol/L硝酸钠溶液，流量为0.5 mL/min，柱温为40 ℃；相对分子质量校正曲线的标准品为Dextran T-300、Dextran T-150、Dextran T-10、Dextran T-5、葡萄糖。

1.6 单糖组成分析及半乳甘露聚糖质量分数测定

取方法1.4所得的样品10 mg，加入2 mL浓度为2 mol/L的三氟乙酸溶液，121 ℃酸水解2 h；定量稀释后，用0.45 μm滤膜过滤。用Dionex ICS-5000$^+$型离子色谱检测，色谱柱为Carbo Pac PA20（150 mm×3 mm），流动相：A液为200 mmol/L的NaOH溶液，B液为1 mol/L的乙酸钠溶液，流量为0.5 mL/min，柱温30 ℃。

瓜尔豆胶纯度用半乳甘露聚糖质量分数表示，见式（1）。

$$P=\frac{(c_m+c_g)\times 0.9\times V}{w\times 1\,000}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

P——半乳甘露聚糖质量分数，%；

c_m——甘露糖质量浓度，mg/L；

c_g——半乳糖质量浓度，mg/L；

V——水解体积，L；

w——样品质量，g。

1.7 PHGG的结构鉴定

1.7.1 红外光谱分析 采用傅里叶变换红外光谱仪，在4 000~400 cm^{-1}分别对方法1.4中纯化的样品进行红外光谱扫描。

1.7.2　核磁共振波谱分析　将方法 1.4 纯化的样品溶于 D_2O，全数字化核磁共振波谱仪的氢谱测定频率为 400 MHz（^{1}H-NMR），碳谱的测定频率为 125 MHz（^{13}C-NMR）。

1.7.3　X 射线衍射分析　将方法 1.4 纯化的样品粉末利用 X 射线衍射仪测定晶型，X 射线发生器输出功率为 300 W，辐射源为 CuKα，在 10°~80° 以 5（°）/min 的连续扫描速度和 0.02° 的扫描步长测定。

1.8　PHGG 的热稳定性

1.8.1　差示扫描量热分析　采用差示扫描量热仪对 1.3.3 的样品进行热力学分析，取 3 mg 样品置于铝坩埚中密封，N_2 流量为 20 mL/min，升温速率为 10 ℃/min，升温范围为 30~300 ℃，绘制 DSC 曲线。

1.8.2　热重分析　采用热重分析仪对 1.3.3 的样品进行热重分析，将约 3 mg 样品置于陶瓷坩埚中，N_2 流量为 10 mL/min，升温速率为 10 ℃/min，升温范围为 40~600 ℃，绘制 TGA 曲线。

1.9　数据处理

每组试验重复 3 次，采用 Origin 2022 分析作图；使用 SPSS Statistics 23 软件分析数据，显著性分析以 Duncan's tests 进行方差分析。

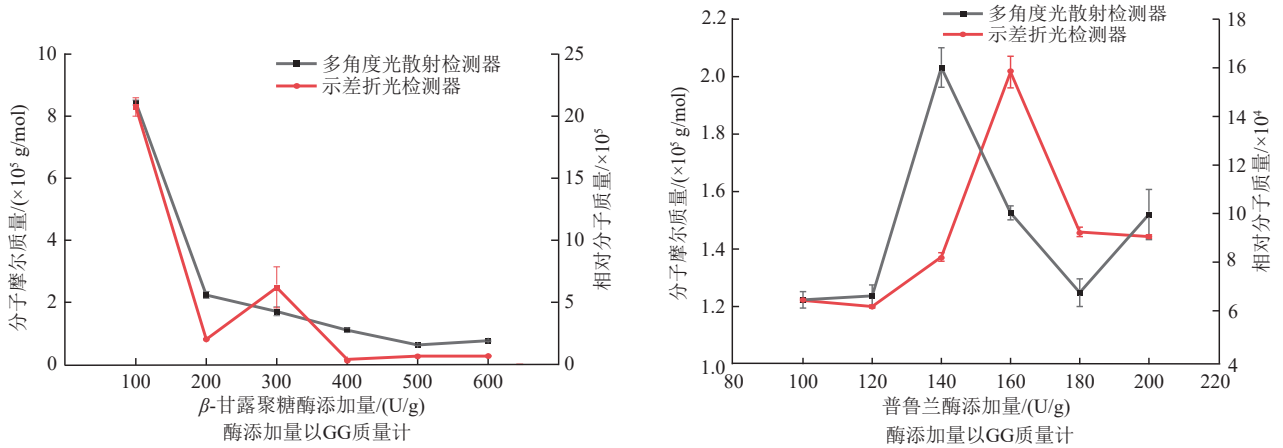
2　结果与分析

2.1　瓜尔豆胶酶解条件的优化

2.1.1　酶解方式对瓜尔豆胶相对分子质量的影响　根据两种酶的作用机理不同，普鲁兰酶添加量一定时，随着 β-甘露聚糖酶加入，瓜尔豆胶相对分子质量明显降低，与图 1（a）结果一致，这是因为 β-甘露聚糖酶随机作用于主链 β-1，4-糖苷键，对瓜尔豆胶相对分子质量影响很大。β-甘露聚糖酶添加量一定时，随着普鲁兰酶添加量增加，瓜尔豆胶相对分子质量没有明显降低，这是因为普鲁兰酶能够专一性切开分支中的 α-1，6-糖苷键，对降低瓜尔豆胶相对分子质量的贡献小。当普鲁兰酶添加量逐渐增加至 140~160 U/g（以 GG 质量计）时，瓜尔豆胶相对分子质量剧增，见图 1（b）。这与半乳糖质量分数过低时，半乳甘露聚糖主链未被取代的分子间氢键相互作用，出现大分子聚集有关[8]。用高效液相凝胶色谱-示差折光检测器法（HPSEC-RID 法）测得的相对分子质量，与高效液相凝胶色谱-多角度激光光散射检测器联用法（HPSEC-MALLS 联用法）测得的分子摩尔质量变化趋势一致。

以上结果显示，β-甘露聚糖酶是影响瓜尔豆胶相对分子质量的关键酶，因此选择 β-甘露聚糖酶对瓜尔豆胶进行单一酶解，可以明显降低瓜尔豆胶的相对分子质量，并且解决复合酶解的两个问题：复合酶解的方法提高了生产成本；普鲁兰酶的添加会造成半乳糖质量分数过低，出现聚集体，影响相对分子质量检测准确性。

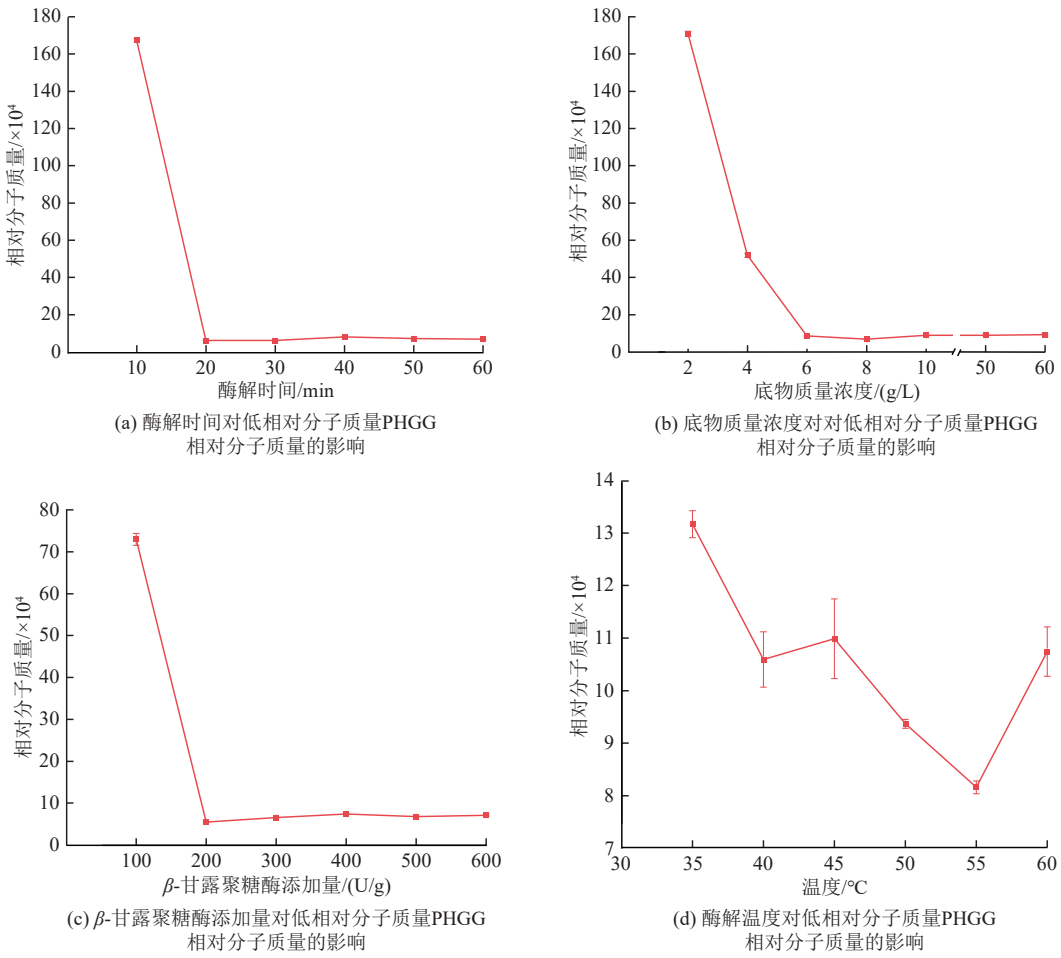
2.1.2　低相对分子质量 PHGG 酶解条件优化　考察酶解时间、底物质量浓度、β-甘露聚糖酶添加量和酶解温度对低相对分子质量 PHGG 的影响见图 2。由图 2（a）可知：当底物质量浓度较低时，延长酶解时间不会大幅降低相对分子质量；由图 2（b）可知：瓜尔豆胶质量浓度为 6 g/L 时，其相对分子质量下降至 87 000。随着瓜尔豆胶质量浓度升高至 60 g/L，



(a) 普鲁兰酶添加量为140 U/g　　(b) β-甘露聚糖酶添加量为500 U/g

图 1　复合酶解中酶添加量对瓜尔豆胶相对分子质量的影响

Fig. 1　Effect of enzyme dosage on relative molecular mass of guar gum in complex enzymatic hydrolysis



(a) 酶解时间对低相对分子质量PHGG相对分子质量的影响　(b) 底物质量浓度对对低相对分子质量PHGG相对分子质量的影响

(c) β-甘露聚糖酶添加量对低相对分子质量PHGG相对分子质量的影响　(d) 酶解温度对低相对分子质量PHGG相对分子质量的影响

图 2　低相对分子质量 PHGG 酶解的单因素试验

Fig. 2　Single-factor experiments on enzymatic hydrolysis of low relative molecular mass PHGG

其相对分子质量可由未酶解时的 2 520 000 降至 95 000，可能归因于酶添加量为 200 U/g（以 GG 质量计），酶的活性中心未被全部取代，若提高瓜尔豆胶的质量浓度，仍可大幅降低瓜尔豆胶溶液的相对分子质量；图 2(c)显示 β-甘露聚糖酶添加量为 200 U/g（以 GG 质量计）时，底物处于饱和状态，增加酶的添加量并不会造成相对分子质量的大幅降低；图 2(d)表明，酶解温度为 55 ℃时，β-甘露聚糖酶能高效发挥酶解能力。

以上结果表明，底物质量浓度影响酶活性中心的利用率，酶添加量影响底物酶解程度，延长酶解时间可以提高酶溶液的流动性，提高酶利用率。酶解时间、底物质量浓度、β-甘露聚糖酶添加量是影响相对分子质量的关键因素，通过控制这些因素，可制备不同相对分子质量的 PHGG。

2.2　瓜尔豆胶的可控酶解

根据 2.1 的结果，确定所需酶为 β-甘露聚糖酶，调整酶解时间、加酶量、底物质量浓度这 3 个影响酶解效率的关键因素，制备不同相对分子质量的 PHGG。PDI（polydispersity index，多分散性指数）值可显示酶解后不同链长多糖的分布均匀程度，由表 2 可知：PHGG3 的 PDI 值最大，链长分布最不均匀，可能因为天然瓜尔豆胶中半乳糖支化程度不一，β-甘露聚糖酶随机作用于 β-1，4-糖苷键，先水解半乳糖支化程度低的长链。

2.3　PHGG 的化学组成和理化性质

由表 2 可知：不同 PHGG 和 GG 的水分质量分数不同，可能因为酶解产物经热干燥后保存，使样品中自由水损失；酶解后灰分质量分数略有降低，与 Mudgil 等的研究结果[9]不同，这是因为试验过程未用柠檬酸调节体系 pH；瓜尔豆胶主要成分为半乳甘露聚糖，长链多糖分子缠绕包裹的少量脂肪颗粒，经酶解解聚后释放，导致 PHGG3 中脂肪质量分数大幅降低至 0.12%。

表 2 GG 和 PHGG 的化学成分及理化性质

Table 2 Chemical composition and pysicochemical properties of GG and PHGG

化学成分及理化性质	蛋白质质量分数/%	水分质量分数/%	灰分质量分数/%	脂肪质量分数/%	黏度/（mPa·s）	相对分子质量/×10^5	分子摩尔质量/（×10^{5}g/mol）	PDI
GG	4.12±0.27^{ab}	14.71±0.03^{a}	0.61±0.03^{a}	0.41±0.03^{a}	606.00	83.40	25.20	1.14
PHGG1	4.47±0.19^{a}	12.06±0.05^{c}	0.54±0.03^{b}	0.34±0.03^{b}	75.20	33.40	8.92	2.00
PHGG2	4.56±0.25^{a}	10.05±0.03^{d}	0.56±0.02^{b}	0.44±0.03^{a}	12.12	15.10	5.07	1.59
PHGG3	3.80±0.26^{b}	13.69±0.03^{b}	0.65±0.02^{a}	0.12±0.02^{c}	6.09	0.64	0.62	6.83

注：同一列数据的角标字母不同表示该列数据之间存在显著差异（P<0. 05）。

采用 HPSEC-RID 法测得的相对分子质量，与 HPSEC-MALLS 联用法测得的分子摩尔质量数值不同，可能因为高效体积排阻色谱所用填料的孔径大小不同，大分子先流出色谱柱，小分子后流出色谱柱。联用多角度激光光散射检测器时，照射到样品的激光会在各个方向产生散射光，任意方向的光散射强度均与分子摩尔质量的大小有关。示差折光检测器测定大分子的相对分子质量依赖于标准样品与待测物组成及结构的相似程度。

示差折光检测器可检测洗脱液浓度及折光指数增量值，未设置标准曲线时，通过计算可求得相对分子质量。因为示差折光检测器对浓度低、相对分子质量大的样品不敏感，而对浓度高、相对分子质量小的样品检测灵敏，所以大分子聚集态存在时，MALLS 可以检测到聚集现象，而 RID 无法检测到。HPSEC-MALLS 联用法测得 GG 的摩尔质量为 2.52×10^6 g/mol，与 Paquet 等用多角度激光光散射仪测得的结果[10]基本一致。有研究者通过马克-霍温克方程计算瓜尔豆胶的相对分子质量为 9×10^5 左右[9]，与 MALLS 的检测结果相差较大。

综上，选择 HPSEC-RID-MALLS 联用法检测大分子 GG 和 PHGG 的分子摩尔质量有更高的准确性，对于小分子物质（相对分子质量<100 000）的测定，两种方法的检测结果具有一致性。

2.4 PHGG 的单糖组成

样品溶解后离心除去不溶性杂质，经乙醇沉淀法纯化，除去 GG 和 PHGG 中含有的少量阿拉伯糖，通过公式（1）计算半乳甘露聚糖质量分数。由表 3 可知：不同相对分子质量醇沉 PHGG 的半乳甘露聚糖质量分数具有显著性差异，乙醇沉淀法处理减少了杂质对于样品结构鉴定的影响。此外，3 种醇沉 PHGG 的半乳糖和甘露糖质量分数具有明显差异，醇沉 PHGG2 的半乳糖和甘露糖质量分数高于其他相对分子质量产物。不同相对分子质量醇沉 PHGG 的甘露糖与半乳糖质量分数的比值（M/G）均小于 GG，可能因为半乳甘露聚糖溶解性与半乳糖侧链取代度有关，半乳糖取代度高，溶解性好[11]，β-甘露聚糖酶随机作用于主链的 β-1，4-糖苷键，取代度低的半乳甘露聚糖链溶解性得到改善；醇沉 GG 的 M/G 为 1.71，与文献报道基本一致[12]，PHGG3 经醇沉处理后，M/G 由 1.64 降为 1.11，可能因为 PHGG3 相对分子质量较小，含有大量单糖和短链寡糖导致醇沉后取代度降低。酶解处理提高了瓜尔豆胶的半乳甘露聚糖质量分

表 3 GG 和 PHGG 的单糖组成

Table 3 Monosaccharide composition of GG and PHGG

样品	阿拉伯糖质量分数/（mg/g）	半乳糖质量分数/（mg/g）	甘露糖质量分数/（mg/g）	半乳甘露聚糖质量分数/%	M/G
GG	13.93±0.01	246.14±1.23	439.45±1.52	61.70±0.03	1.79±0.01
PHGG1	16.42±0.02	293.82±0.99	438.35±1.34	65.90±0.06	1.49±0.01
PHGG2	15.84±0.02	279.33±1.90	431.14±1.77	63.94±0.04	1.54±0.01
PHGG3	14.34±0.03	256.88±1.56	420.49±1.82	60.96±0.11	1.64±0.01
醇沉 GG	—	340.55±1.67^{c}	583.82±1.04^{a}	83.19±0.24^{b}	1.71±0.01^{a}
醇沉 PHGG1	—	336.07±1.08^{d}	481.83±3.12^{c}	73.61±0.19^{c}	1.43±0.01^{c}
醇沉 PHGG2	—	366.21±1.25^{a}	568.14±3.22^{b}	84.09±0.27^{a}	1.55±0.01^{b}
醇沉 PHGG3	—	353.78±1.47^{b}	392.60±1.66^{d}	67.17±0.03^{d}	1.11±0.01^{d}

注：同一列数据的角标字母不同表示该列数据之间存在显著差异（P<0.05）；—表示未检测。

数和溶解性，其中醇沉PHGG2半乳甘露聚糖质量分数最高，达84.09%。

2.5　PHGG的结构鉴定

2.5.1　红外光谱分析　GG和PHGG的红外光谱鉴定结果见图3，3 350.54 cm^{-1}为形成氢键作用的O—H伸缩振动吸收峰的宽峰，2 908.21 cm^{-1}为C—H伸缩振动吸收峰，1 646.15 cm^{-1}为样品中结合水的吸收峰，1 417.97 cm^{-1}是—CH_2—的弯曲振动吸收峰，1 149.42 cm^{-1}为样品醇沉时残留乙醇或样品的C—C—O不对称伸缩振动吸收峰，1 019.51 cm^{-1}为C—O的伸缩振动吸收峰，870.31 cm^{-1}为α-半乳糖的特征吸收峰，808.88 cm^{-1}为β-甘露糖的特征吸收峰[13-14]。与瓜尔豆胶红外谱图相比，酶解未改变瓜尔豆胶的主体构型，没有官能团的改变且未引入其他结构。

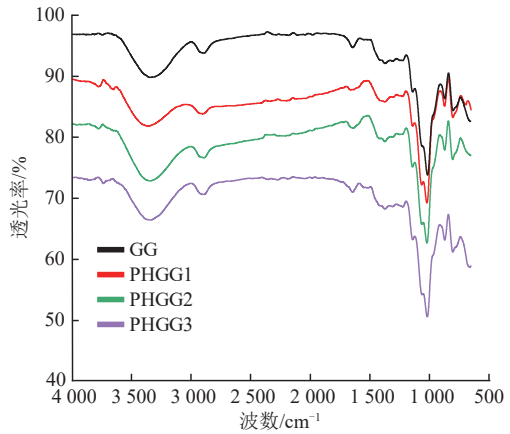


图3　GG和PHGG的傅里叶变换红外光谱

Fig. 3　FT-IR spectra of GG and PHGG

2.5.2　核磁共振波谱分析　由表4、图4可知：通过β-1，4糖苷键连接两个甘露糖的C1、C4碳原子化学位移分别为100.02、77.07和76.94，只连接羟基的C4碳原子化学位移为76.79和76.45，这与甘露糖紧邻非还原端的OH被半乳糖取代有关，并且导致通过α-1，6-糖苷键与半乳糖相连的C6信号峰由未连接半乳糖C6的化学位移（61.24）向低场移动（5.20）。

表4　GG和PHGG的^{13}C-NMR化学位移

Table 4　^{13}C-NMR chemical shifts of GG and PHGG

碳原子	β-D-甘露糖（无支链）	β-D-甘露糖（有支链）	α-D-半乳糖
C1	100.02	100.02	98.71
C2	71.28	71.28	69.29
C3	73.22	73.22	68.39
C4	76.79 76.45	77.07 76.94	69.78
C5	75.06	74.95	71.46
C6	61.24	66.40	61.24

由图4可知：化学位移为70.00的信号峰与样品峰叠加，氢谱中乙醇甲基三重峰化学位移为1.23，亚甲基四重峰出峰位置与C2—C6所连氢原子出峰交叠，不能区分。这可能是因为3种样品的相对分子质量大，高分子物质溶解过程产生高黏性，分子转动缓慢，普通的累加不能得到谱图。PHGG3相对分子质量小于100 000，在室温下溶解性高，所得氢谱和碳谱清晰显示酶解未改变分子的主链结构，没有引入其他官能团。

由图5可知：支链半乳糖单元中C1位H1的化学位移为5.23，主链甘露糖单元中C1位H1的化学位移为5.08，因为C2—C6只与一个氧原子相连，与碳原子直接相连的H所处环境很相似，化学位移在3.80~4.80出现信号重叠，很难区分所属H原子[15]。GG和PHGG1、PHGG2的碳谱和氢谱峰形很微弱，这是因为在化学位移16.77存在非常明显的乙醇碳原子信号峰干扰。

2.5.3　X射线衍射分析　多糖与水相互作用，导致与非晶态-晶态转换相关的结构改变，影响分子流动性。由图6可知：粉末状GG和PHGG在室温下是非晶态结构，2θ=20.48°处出现明显的衍射峰，在2θ=40.64°处出现较宽的弥散峰，是非晶态结构的特征峰[16]；临近衍射峰的2θ=14.90°处突起的峰表明，样品轻微分布不均，其中PHGG2样品分布最不均匀；随相对分子质量降低衍射峰强度下降，表明样品晶体颗粒变小，导致结晶度降低[17]，因此酶解反应对结晶区结构造成轻微破坏。

2.6　PHGG的热稳定性分析

2.6.1　差示扫描量热分析　PHGG的差示扫描量热分析结果见图7。吸热峰表示燃烧开始，半乳甘露聚糖主链上β-1，4-糖苷键和支链α-1，6-糖苷键开始断裂。PHGG1、PHGG2吸热峰温度分别为144、146 ℃，高于GG吸热峰温度（138 ℃），PHGG3没有明显的吸热峰出现，这可能与PHGG3链长更短、相对分子质量低有关。放热峰与挥发性产物的氧化和热分解有关，GG、PHGG1、PHGG2、PHGG3的放热峰温度分别为152、184、

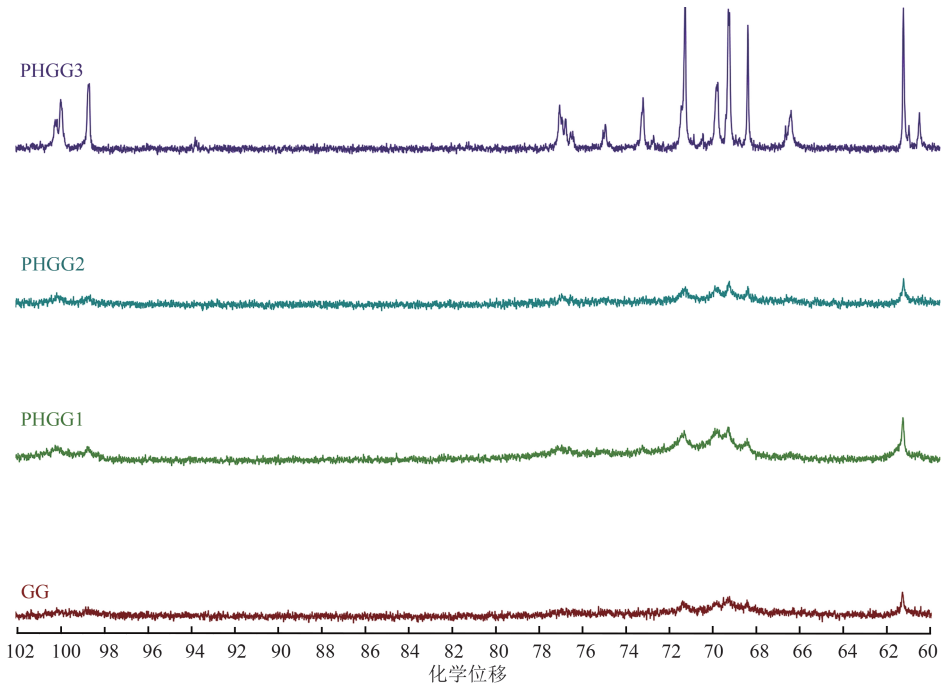


图 4　GG 和 PHGG 的 ^{13}C-NMR 谱图

Fig. 4　^{13}C-NMR spectra of guar gum and PHGG

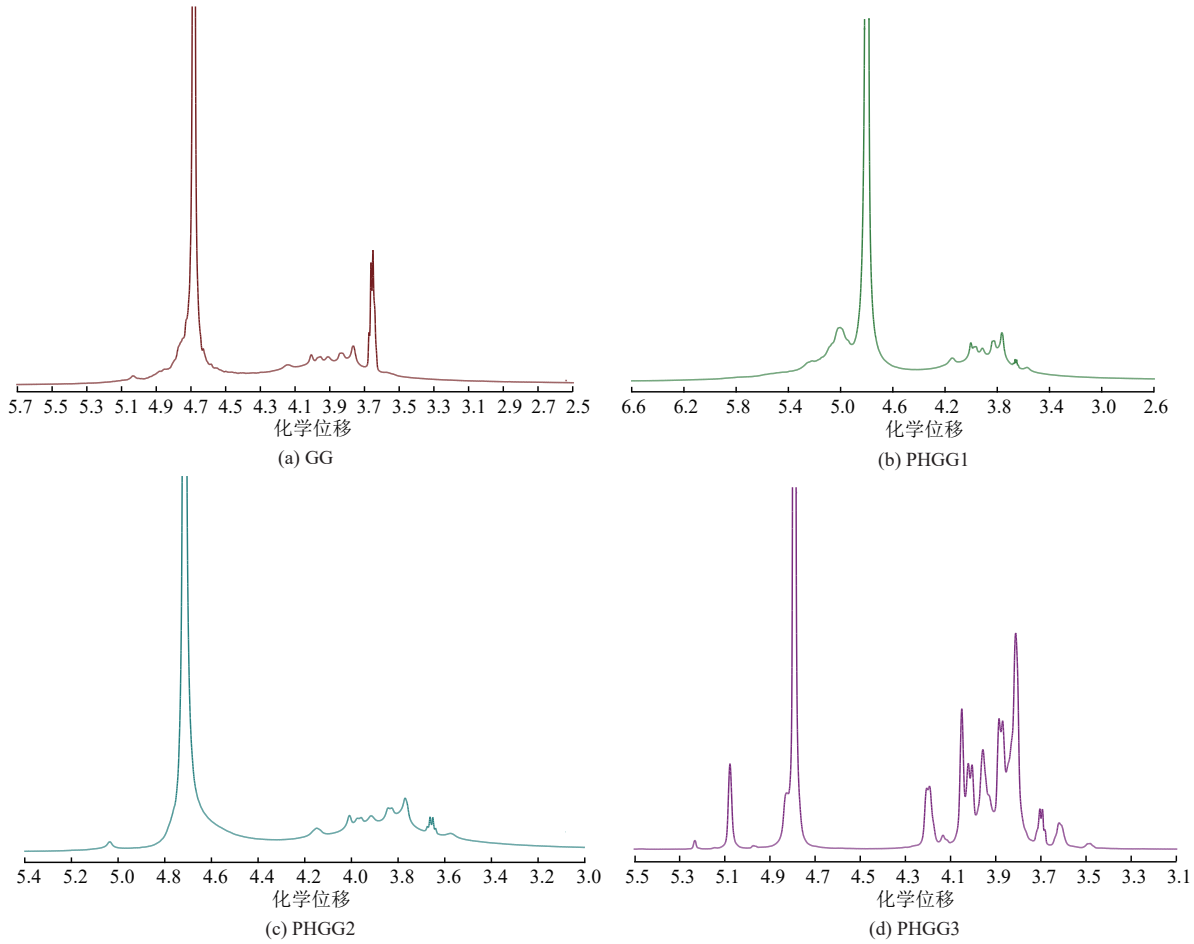


图 5　GG 和 PHGG 的 ^{1}H-NMR 谱图

Fig. 5　^{1}H-NMR spectra of guar gum and PHGG

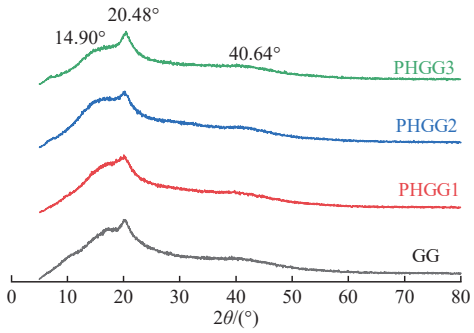


图 6　GG 和 PHGG 的 X 射线衍射图

Fig. 6　XRD patterns of guar gum and enzymatic hydrolysates

152、210 ℃。PHGG 放热峰温度随着相对分子质量的降低而提高，峰强度降低，这可能归因于长链分子降解后半乳甘露聚糖聚集状态和分子结晶区结构的改变[3]。β-甘露聚糖酶反应过程中随机作用于瓜尔豆胶主链，所得产物不均匀，可能造成 PHGG2 吸热峰温度低于 GG 吸热峰温度，X 射线衍射图谱能够验证这一猜想。PHGG 表现出优异的热稳定性，可作为热加工食品中稳定剂、膳食纤维强化剂等。

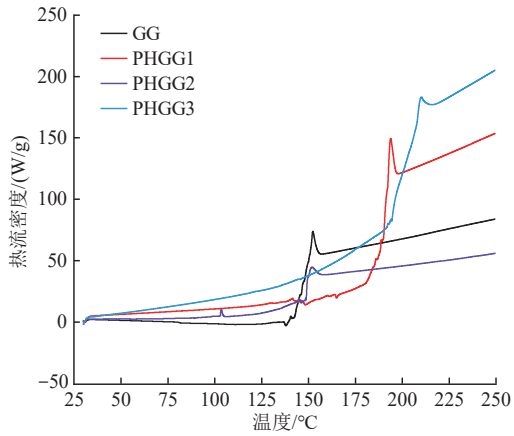


图 7　GG 和 PHGG 的 DSC 曲线

Fig. 7　DSC curves of guar gum and PHGG

2.6.2　热重分析　由图 8 热重分析结果可知：第一阶段失重温度为 40~200 ℃，是样品中自由水和结晶水的蒸发；第二阶段失重为多糖的分解和其他杂质的燃烧。GG、PHGG1、PHGG2 和 PHGG3 的第二个失重台阶的开始温度分别为 271.33、279.00、283.83、282.67 ℃，总失重率为 66.83%~72.46%，3 种酶解产物的分解温度均高于 GG，可能与酶解后样品的相对分子质量降低有关，产物包含短链寡糖、单糖；还可能与样品结晶区部分破坏有关。因此，酶解瓜尔豆胶良好的热稳定性有利于工业热加工产品使用。

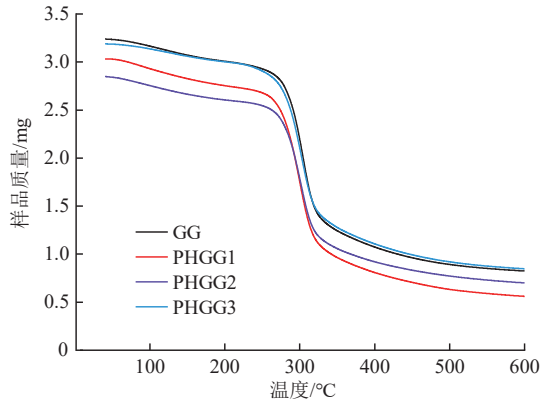


图 8　GG 和 PHGG 的热重分析曲线

Fig. 8　TGA curves of GG and PHGG

3　结 论

作者以不同相对分子质量的 PHGG 为研究对象，探究制备方法、结构性质及热力学性质的变化，研究结果表明，通过调整 3 种关键因素——底物质量浓度、酶解时间和酶添加量，以 β-甘露聚糖酶参与的单一酶解方式，在保证废水排放量少和生产便利的基础上制备中高相对分子质量、中相对分子质量和低相对分子质量的 PHGG。对酶解前后样品进行结构鉴定，表明酶解没有改变样品的主体结构，未引入新的官能团；PHGG 仍然是无定形物质但是晶体结构有较小的变化，晶体结构的改变小范围影响热力学特性，但 PHGG 仍在较高温度下具有良好的热力学稳定性。

综上所述，可控酶解制备的不同相对分子质量的 PHGG，添加在热处理产品中具有稳定性高的优势，并且解决了瓜尔豆胶水溶液高黏性限制应用的问题，拓展了 GG 的使用范围。此外，酶解后产物中含有小分子膳食纤维，添加 PHGG 作为一种稳定剂、增稠剂，同时起到改善肠道菌群的功效。现阶段对于中高相对分子质量的 PHGG 在食品中应用较少，还需要进一步研究。

参考文献

[1] MCCLEARY B V，CLARK A H，DEA I C M，et al. The fine structures of carob and guar galactomannans[J]. Carbohydrate Research，1985，139(1)：237-260.

[2] SUN M，TANG H B，DONG S Q，et al. Preparation，properties of partially hydrolized guar gum[J]. Advanced

Materials Research，2013，781-784：1901-1906．

[3] MUDGIL D，BARAK S，KHATKAR B S．X-ray diffraction，IR spectroscopy and thermal characterization of partially hydrolyzed guar gum[J]．International Journal of Biological Macromolecules，2012，50(4)：1035-1039．

[4] MUDGIL D，BARAK S，KHATKAR B S．Effect of partially hydrolyzed guar gum on pasting，thermo-mechanical and rheological properties of wheat dough[J]．International Journal of Biological Macromolecules，2016，93：131-135．

[5] LIN K W，HUANG C Y．Physicochemical and textural properties of ultrasound-degraded konjac flour and their influences on the quality of low-fat Chinese-style sausage[J]．Meat Science，2008，79(4)：615-622．

[6] 王世彬，张艺耀，郭建春，等．酶解制备小分子瓜尔胶[J]．油田化学，2014，31(2)：195-198．
WANG S B，ZHANG Y Y，GUO J C，et al．Preparation of guar gum with low molecular weight by enzymatic degradation [J]．Oilfield Chemistry，2014，31(2)：195-198．(in Chinese)

[7] 段汝清，苏宇杰，王俊伟，等．瓜尔豆胶酶解液改性蛋清蛋白凝胶性质的研究[J]．食品与生物技术学报，2018，37(7)：714-721．
DUAN R Q，SU Y J，WANG J W，et al．Effect of guar gum hydrolysate on gel properties of egg white protein[J]．Journal of Food Science and Biotechnology，2018，37(7)：714-721．(in Chinese)

[8] PAI V，SRINIVASARAO M，KHAN S A．Evolution of microstructure and rheology in mixed polysaccharide systems[J]．Macromolecules，2002，35(5)：1699-1707．

[9] MUDGIL D，BARAK S，PATEL A，et al．Partially hydrolyzed guar gum as a potential prebiotic source[J]．International Journal of Biological Macromolecules，2018，112：207-210．

[10] PAQUET É，HUSSAIN R，BAZINET L，et al．Effect of processing treatments and storage conditions on stability of fruit juice based beverages enriched with dietary fibers alone and in mixture with xanthan gum[J]．LWT - Food Science and Technology，2014，55(1)：131-138．

[11] SINGH S，SINGH G，ARYA S K．Mannans：an overview of properties and application in food products[J]．International Journal of Biological Macromolecules，2018，119：79-95．

[12] JIAN H L，LIN X J，ZHANG W A，et al．Characterization of fractional precipitation behavior of galactomannan gums with ethanol and isopropanol[J]．Food Hydrocolloids，2014，40：115-121．

[13] RODRIGUEZ-CANTO W，CHEL-GUERRERO L，FERNANDEZ V V A，et al．*Delonix regia* galactomannan hydrolysates：rheological behavior and physicochemical characterization[J]．Carbohydrate Polymers，2019，206：573-582．

[14] LAVUDI H N，KOTTAPALLI S，GOYCOOLEA F M．Extraction and physicochemical characterization of galactomannans from *Dichrostachys cinerea* seeds[J]．Food Hydrocolloids，2018，82：451-456．

[15] 李明鑫，肖亚飞，徐开俊，等．酸催化的葡萄糖均聚物及葡萄糖瓜尔胶共聚物的合成与结构表征[J]．高分子材料科学与工程，2020，36(10)：21-28．
LI M X，XIAO Y F，XU K J，et al．Synthesis and structure characterization of acid-catalyzed glucose homopolymer and glucosyl guar gum copolymer[J]．Polymer Materials Science & Engineering，2020，36(10)：21-28．(in Chinese)

[16] MARTINS J T，CERQUEIRA M A，BOURBON A I，et al．Synergistic effects between κ-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof[J]．Food Hydrocolloids，2012，29(2)：280-289．

[17] ANJUM A，ZUBER M，ZIA K M，et al．Preparation and characterization of guar gum based polyurethanes[J]．International Journal of Biological Macromolecules，2021，183：2174-2183．

（责任编辑：金文苑）