Шар айрагны шаарнаас Олигосахаридыг энзимийн гидролизын аргаар ялгасан дүн

Э.Пүрэвдулам[1], Ч.Одгэрэл[1], Б.Мөнхжаргал[2], Ж.Мөнхцэцэг[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Биохимийн тэнхим
[2]МУИС, ШУС, Химийн тэнхим
Цахим хаяг: purevdulam@mnums.edu.mn, Утас: 95736767, 99092287

Түлхүүр үг:
Арабиноксилоолигосахарид
Нил улаан туяаны спектроскопи
Арабиноксилан
Спектрофотометр

Товч утга: Арабиноксилоолигосахарид нь β(1-4)-гликозидын холбоогоор холбогдсон 2-10 арабиноз, ксилозоос тогтсон арабиноксилан агуулсан лигниноцеллюлозоос химийн ба энзимийн гидролизын аргаар цэвэршүүлэн гарган авдаг бие махбодод пребиотик үйлчилгээ үзүүлдэг нүүрс ус юм. Шар айрагны шаарны хуурай үлдэгдэл 7.64%чийг, 15.75% ууураг, 4.81% өөх тос, 6.25% эрдэс тус тус агуулагдаж байгааг тогтоов. Богино долгионы зууханд энзимийн гидролизд оруулж цэвэршүүлэн гарган авсан олигосахаридын найралганд O-H , C-H болон гемицеллюлозын C-O, C-C-C, C-OH болон гликозидын холбоо бүхий бүтцийн нэгжүүдийг агуулж байна.

Үндэслэл: Дэлхий дахинд шар айрагны хэрэглээ ихсэж үүнийгээ даган үйлдвэрлэлээс гарах хог хаягдал нэмэгдэж байна. Шар айрагны үйлдвэрлэлийн явцад гардаг хаягдал нь чаналтын дараа гардаг шаар, ферментацид ашигласан хөрөнгө юм. Дэлхийд жилд 30 сая тонн шар айрагны шаар хаягддаг гэсэн судалгаа байна.[1] Харин ХХААХҮЯ-аас гаргасснаар Монгол улс 2017 онд 82415.2 л шар айраг үйлдвэрлэж 16.51 т шаар хаягдсан байна.[2] Шар айрагны шаарыг дахин боловсруулах боломжтой бөгөөд түүнээс олигосахаридыг цэвэршүүлэн авснаар пребиотик идэвхитэй, дархлааны тогтолцоо дэмжих бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх боломжтой. Шар айрагны хаягдал шаарны 40-50% нь полисахарид (15-18% целлюлоз, 24-31% нь гемицеллюлоз, 2-3% нь цардуул) байдаг. Гемицеллюлозын ихэнх хэсгийг арабиноксилан эзэлдэг.[3,4]

Зорилго: Шар айрагны үйлдвэрлэлийн хаягдал бүтээгдэхүүн шаарнаас энзимийн гидролизын аргаар олигосахарид цэвэршүүлэн авч, гарцыг үнэлэх

Зорилт:
1. Богино долгионоор урьдчилан боловсруулсан шаар айрагны шаарыг энзимийн гидролизд оруулан олигосахарид цэвэршүүлэн гарган авах,
2. Ялган авсан олигосахарын найрлага, бүтцийг нил улаан туяаны спектроскопийн аргаар үнэлэх

Судалгааны арга аргачлал: *Дээж бэлтгэх:* “АПУ” ХК–ны шар айрагны шаарыг богино долгионоор 700W 3 мин үйлчилж ксиланаза (Thermomyces Lanuginosu, рекомбинант, Aspergillus oryzae, 2500 нянгийн ксиланаза нэгж/гр) энзимээр 30 мин соронзон хутгагч дээр эргүүлсний дараа 24 цагийн турш 370С термостатанд урвалыг явуулна. Үйлчилсэн дээжээ 960С усан баннд хийж энзимийн үйлчлэлийг зогсоогоод 9000rpm хурдтайгаар 10 минут центрифугдэнэ. Супернатантыг нь ялган авч нүүрсээр нэвтрүүлжцэвэрлээд этанолоор тунадасжуулан ваакум ууршуулагчаар ууршуулж хөлдөөн хатаав. Бэлтгэсэн дээжээ химийн найрлагыг тодорхойлж, функциональ бүлгийг Вжоркманы аргаар судлав.

Химийн арга: Шар айрагны шаарны нийт уургийн хэмжээг Кьелдаль, тосны хэмжээг Сокслет, чийг болон эрдсийн нийт хэмжээг жингийн аргаар тус тус тогтоосон. Гидролизын явцыг шингэн үед ангижирсан сахарын хэмжээгээр тодорхойлох замаар хянаж байв. Ангижирсан сахарыг динитросалицилын хүчлийн (DNS) аргаар (Bailey, 1988 (UNICO 7200 spectrophotometer) багажаар тодорхойлсон.6 Уусаагүй үлдсэн хэсгийг богино долгионоор дахин үйлчилж энзимийн гидролизд дээж тус бүрийг 4 удаа давтан оруулав.

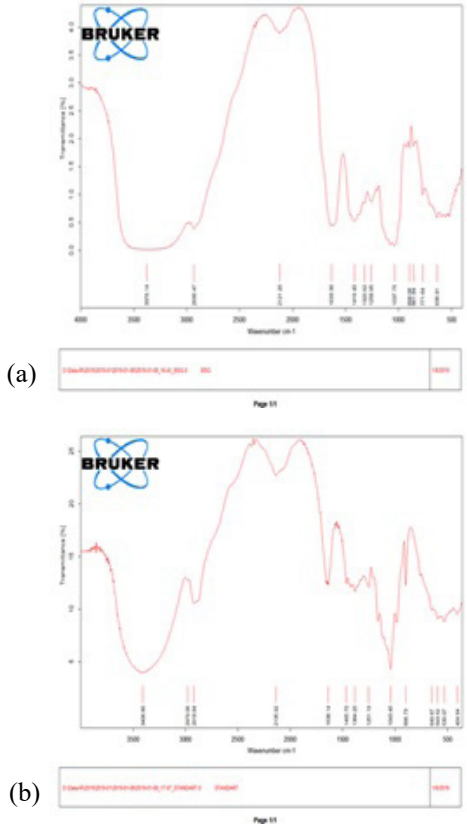
Вжоркманы арга: Ялган авсан олигосахаридын дээжнээс 0.2 мг авч KBr-ын нунтагтай холиод өндөр даралтаар үйлчилж шахмал бэлтгэв.7 Даралтанд KBr нь хайлж дээж нэгдлийг өөртөө суулгаж хатуу шахмал бэлтгээд түүнийгээ BRUKERALPHA-T багажаар 4000-500 см-1-т НУТ спектрийн шингээлтийг хэмжив.

Үр дүн: Судалгаанд ашигласан “АПУ” ХК–ны Шар айрагны шаарны хуурай үлдэгдлийн химийн найрлагыг хүснэгт 1-т харуулав.

Хүснэгт 1. Шар айрагны шаарны хуурай үлдэгдлийн химийн найрлага

Биохимийн үзүүлэлт	Дээж
Чийг	7.64%
Уураг	15.75%
Тос	4.81%
Эрдэс	6.25%

Гэрлийн шингээлтийг спектрофотометрийн 540 нм долгионы уртад олигосахарын уусмалын концентрацийг (мг/мл) тооцоолоход аль ч давталтын үед энзимийн хэмжээ 0.25 г байхад гидролиз сайн явагдаж байв. Богино долгионоор үйлчлэхэд 1-р гидролизын үедарабиноксилозийн ялгаралт 2.54г, 2-р гидролизын үед хамгийн их 2.81 г байв. Нүүрсустөрөгчид 2800-3000см-1 мужид шингээлтийн эрчим үүсгэдэг бөгөөд энэ нь нүүрстөрөгч-устөрөгч(C-H) холбооны агшиж сунах хэлбэлзээлтэй холбоотой байдаг.7 Шар айрагны шаарны дээж болон стандарт болгон ксилотетроз хэмжив (Хүснэгт 2, Зураг 1).



Зураг 1. НУТ-ны спектроскопийн үр дүн
(a) зураг шар айрагны шаар
(b) ксилотетроз стандарт

Бидний судалгааны дээжийн спектрограммыг шинжлэхэд хамгийн өндөр эрчимтэй пикүүдийг 3376,14, 2930.47, 2121.20, 1633,30, 1416.40, 1037.75, 898.08 см-1, харьцуулахаар авсан ксилотетраозийн дээжинд 3406.80, 2979.06, 2918.84, 1638.14, 1465.70, 1043.40, 896.73 см-1 мужид өгсөн байв.

Хүснэгт 2. Шар айрагны шаарын НУТ-ны спектрограммын хэмжилтийн дүн

Бүлэг	Дээжний долгионы давтамж ($см^{-1}$)	Ксилотетрозийн долгионы давтамж ($см^{-1}$)
O-H	3376.14	3406.80
C-H	1633.30	1638.14
C-O, C-C-C, C-OH	1037.75	1043.40
C=O	898.08	896.73

Caulerpalentillifer болон Bian нарын судалгаанд цэвэршүүлж авсан ксилоолигосахаридын НУТ шинжилгээнд 3406.80, -3376.14 см-1 мужийн шингээлт нь O-H холбоог илэрхийлнэ. 2979.06 -1638.14, 2930.47 – 1633.30 см-1 мужийн шингээлт нь C-H холбоог нүүрсустөрөгчийн холбоог, бусад шингээлт нь гемицеллюлозийн C-O, C-C-C, болон C-OH холбоосыг тус тус илэрхийлдэг. 896.73-898.08 см-1 мужид гликозидын холбоо шингээлт өгдөг.

Хэлцэмж: Пивоны шаарнаас арабиноксилан буюу полисахаридын цэвэршүүлэн авах судалгаа, түүний химийн бүтцийг, олон улсад төдийгүй Монголын эрдэмтэн судлаачид судалж байсан. Э.Солонго нар (2018) шар айрагны шаарнаас ферулын хүчил болон арабиноксиланы 4 өөр хандлагч хэрэглэн гарган авчээ. Энэ судалгаа нь шүлтийн уусмал ашигласан бидний судалгаатай химийн бүтэц болон нил улаан туяаны спектроскопийн үр дүн ойролцоо байна. Х.Бадамцэцэг нар (2019) арабиноксиланаар баяжуулсан махан хүнс гарган авсан ба энэ судалгаанд маш хүчтэй хүчил болон өндөр концентрацитай калийн гидроксид хэрэглэсэн байна. Бидний судалгаа нь энэхүү хүчтэй хүчил шүлтийн уусмал хэрэглэхээс зайлсхийж, хоруу чанар багатай буюу богино долгионоор урьдчилан боловсруулж шаарны эсийн ханыг задлан энзимийн гидролизийн аргаар арабиноксилоолигосахаридыг илүү сайн цэвэршүүлэн авах боломжийг анхлан судалж байгаагаараа ялгаатай.

Гидролизын аргаар буюу энзимийн тусламжтай арабиноксилоолигосахаридыг гарган авах нь энгийн, хоруу чанар багатай, сонгомол чанартай. Шар айрагны шаарны хуурай үлдэгдлийн химийн найрлага тодорхойлсон дүнг O.Kanauchi, K.Mitsuyama , Y.Araki нарын судалгааны үр дүнтэй харьцуулахад чийг, уураг нь ойролцоо тос, эрдсийн агууламжаараа нь ялгаатай байна. Энэ нь түүхий эдийн ургамал ургасан газар зүйн байршил, хэрэглэж байгаа бүтээгдэхүүний шинж чанараас хамаарна. Marta Kacurakova нар ксилоолигосахаридыг нил улаан туяаны спектроскопоор тодорхойлсон нь бидний судалгаатай нүүрсустөрөгчийн пикүүд нь ойролцоо байна. Энэ нь бидний гаргаж авахыг зорьсон арабиноксилоолигосахарид нь функциональ бүлгийн хувьд мөн байна гэдгийг батална. Шүлтийн гидролизийн аргатай харьцуулахад энзимийн гидролизийн аргаар арабиноксиланы ялган авахад илүү цэвэршилт сайтай хэдий ч гарц нь бага байв.

Дүгнэлт:

1. Богино долгионы зууханд шар айрагны шаарыг урьдчилсан боловсруулалт хийж, энзимийн

гидролизд оруулан олигосахарид ялгах боломжтойг тогтоов. 0.25мг энзимтэй, хоёр удаагийн давтамжтай гидролизыг явуулах нь хамгийн тохиромжтой байна.

2. Шар айрагны шаарны хуурай үлдэгдэл 7.64% чийг, 15.75% ууураг, 4.81% тос, 6.25% эрдэс тус тус агуулж байна. Богино долгионоор энзимийн гидролизд оруулж цэвэршүүлэн авсан олигосахаридын найрлаганд O-H , C-H болон гемицеллюлозын C-O, C-C-C, болон C-OH болон гликозидын холбоо бүхий бүтцийн нэгжүүдийг агуулж байна.

Талархал:
Уг судалгааг АШУҮИС “Улаанбуудайн дайвар бүтээгдэхүүнээс пребиотик үйлчилгээтэй олигосахарид ялгах технологи боловсруулах судалгаа” ШУТДС-ийн санхүүжилттэй (2016-2019он) төслийн хүрээнд хийж гүйцэтгэв.

Ном зүй:

1. *Lynch KM, Steffen EJ, Arendt EK. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. Journal of the Institute of Brewing. 2016;122(4):553-568.*
2. *Хүнс хөдөө аж ахуй, хөнгөн үйлдвэрийн яамны статик мэдээ 2017, 2017.*
3. *Beldman G, Hennekam J, Voragen AG. Enzymatic hydrolysis of beer brewers' spent grain and the influence of pretreatments. Biotechnology and bioengineering. Oct 5 1987;30(5):668-671.*
4. *Macheiner D, Adamitsch BF, Karner F, Hampel WA. Pretreatment and hydrolysis of brewer's spent grains. Engineering in life sciences. 2003;3(10):401-405.*
5. *Mendis M, Simsek S. Arabinoxylans and human health. Food Hydrocolloids. 2014;42:239-243.*
6. *Bailey MJ. A note on the use of dinitrosalicylic acid for determining the products of enzymatic reactions. Applied Microbiology and Biotechnology. 1988;29(5):494-496.*
7. *Savitha Prashanth M. Studies on purified arabinoxylans isolated from finger millet eleusine coracana bran with respect to their structural characterization and biological activity. 2015.*

The enzymatic hydrolysis of oligosaccharides from brewers spent grain

Purevdulam.E[1], Odgerel.Ch[1], Munkhjargal.B[2], Munkhtseteg.J[1]

[1]MNUMS School of Biomedicine, Department of Biochemistry
[2]Department of Chemistry, School of Arts and Sciences, National University of Mongolia
E-mail: Purevdulam@mnums.edu.mn, Tel: 95736767, 99092287

Arabonixylooligosaccharides are (AXOS) product of xylan hydrolysis, and oligomer of β 1-4 linked xylose and arabinose residues, it is the only nutraceutical that can be produced from lignocellulosic biomass and purification from Brewer’s spent grain by chemical and enzyme hydrolysis method. Brewery’s spent grain’s chemical compositions were determined that protein 15.75%, crude fat 2.81%, total ash 6.25% and total moisture 7.64%. The FT-IR spectra enable us the represents the O–H, C–H bond stretching of carbohydrate. The peak represents the C–O, C–C–C, and C–OH stretching in hemicelluloses, its represents the presence of β-glycosides bonds between the sugar molecules and this suggests the presence of xylan group.