

超微粉碎预处理对玉米秸秆酶解液中还原糖组分的影响

赵晓燕, 朱海涛, 张桂香, 张立金, 何磊

(济南大学 酒店管理学院 食品科学与营养系, 山东 济南 250002)

摘要: HPLC 分析了玉米秸秆微粉酶解液中 5 种单糖组成, 主要包括阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖、果糖, 其中以葡萄糖与果糖为主。结果表明: 粒径大于 1 200 目的玉米秸秆粉酶解液还原糖单糖组分与 100~200 目的相比, 其含量明显高, 阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖和果糖分别提高了 48.38%、64.29%、37.63%、70.07% 和 22.34%。此外, 在超微细玉米秸秆粉的酶解液 HPLC 色谱图上出现三个新的未知响应峰, 推测可能为岩藻糖、蔗糖与纤维二糖。

关键词: 玉米秸秆; 超微粉碎; 酶解; 还原糖

中图分类号: S 216.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-7561(2015)06-0096-03

Effect of superfine comminution on reducing sugar components in corn stalk enzymatic hydrolysate

ZHAO Xiao-yan, ZHU Hai-tao, ZHANG Gui-xiang, ZHANG Li-jin, HE Lei

(Department of Food Science and Nutrition, School of Hotel Management, University of Jinan, Jinan Shandong 250022)

Abstract: The compositions of five different monosaccharides in corn stalk enzymatic hydrolysate were analyzed by HPLC. They were arabinose, mannose, galactose, glucose and fructose, in which glucose and fructose were the main compositions. The results showed that the reducing sugar composition contents in corn stalk powder with a particle >1 200 mesh was higher than that with a particle size 100~200 mesh. The content of arabinose, galactose, glucose, mannose and fructose in enzymatic hydrolysate with particle size of >1 200 mesh increased 48.38%、64.29%、37.63%、70.07% and 22.34%, respectively. In addition, three new unknown response peaks occurred in the chromatograms, which might be fucose, sucrose and cellobiose.

Key words: corn stalk; superfine comminution; enzymatic hydrolysis; reducing sugar

国内外对生物质的研究以玉米秸秆为主, 因为其纤维素、半纤维素、木质素含量较高, 相对其他生物质能够较易转化为生物质燃料。木质纤维素水解是将其纤维素及半纤维素分解为还原糖, 是利用可再生资源的前提。玉米秸秆属植物纤维废料, 研究玉米秸秆酶水解糖化的目的在于寻求一条玉米秸秆的合理利用新途径, 加工成食品、燃料、化工产品等。近几年来, 许多研究者在该领域开展了一系列的研究工作, 如酶解作用机理, 超声波与酶解联合作用, 微波与化学处理、酶解联合作用效果等^[1-3]。玉米秸秆所含成分复杂, 需要经过预处理, 破坏其结晶

性, 提高水解性能, 从而使其易于利用, 因此玉米秸秆预处理具有重要的现实意义。

近年来, 超微粉碎技术在纤维质生物材料加工中得到了广泛的研究应用, 处理后的粉末纤维素物质没有胀润性, 体积小, 可以提高基质浓度, 得到较高糖浓度的糖化液^[4]。将原料粉碎成极细的颗粒, 一方面使其表面积大大增加, 另一方面破坏其结构性, 以便在随后的糖化阶段中反应。超细粉体颗粒加工过程产生机械力化学效应, 导致颗粒表面活化; 通过超细粉碎得到的超细粉体具有一般颗粒所不具有的一些特殊的理化性质, 如良好的分散性、吸附性、化学反应活性等^[5]。另外, 超细粉体颗粒会产生小尺寸效应, 并在一定程度上产生界面效应。目前, 超微粉碎技术在食品制造业以及中药制药等领

收稿日期: 2015-06-01

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(21406133)

作者简介: 赵晓燕, 1975 年出生, 女, 副教授。

域都呈现出良好的发展态势^[5-6]。玉米秸秆作为植物纤维废料,若能结合更为先进的超微粉碎技术,将有更好的市场前景。

目前的研究多集中在对秸秆还原糖含量方面,对还原糖组分的分析研究较少,尤其是超微粉碎与酶解相结合所得到的还原糖组分方面,鲜有报道^[7]。玉米秸秆酶法糖化研究涉及微生物学、酶学、遗传学、生物工程等学科,目前仍有许多问题有待解决,其工业化生产还未成功,进行中的研究工作还很多。本文采用高效液相色谱方法对超微粉碎和普通粉碎的酶解液中还原糖单糖组分进行分析研究。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

玉米秸秆:北京郊区农田;商品纤维素酶(酶活力 14 000 U/g,生物级):北京夏盛公司;乙腈(HPLC级):Merck;水:Milli-Q 超纯水机(Millipore)制备的超纯水;葡萄糖、果糖、半乳糖、甘露糖、阿拉伯糖等标准品均为分析纯,来自 Sigma 公司。

1.2 主要仪器设备

DIONEX2500 高效液相色谱仪:美国 DIONEX 公司;超声波清洗机(Branson, 2510):东莞市必能信超声波机械设备有限公司;均质机(T-25basic):德国 IKA;角切式破碎机(HYP-150):北京中科浩宇有限公司;桌上型静音粉碎机(RT-34):北京中科浩宇有限公司;高速风选式超细粉碎机(FDV):北京中科浩宇有限公司;分体式超微粉碎机(HMB-701):北京中科浩宇有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

将所有去叶的玉米秸秆截取成小块,利用角切式破碎机进行破碎,置于烘箱中 50 °C 下进行干燥至恒重,将所得的粗糙的玉米秸秆利用静音粉碎机粉碎制备 100~200 目样品,利用分体式超微粉碎机进行粉碎制得 >1 200 粒度。

称取适量样品,加酶降解纤维提取还原糖,离心、过滤,滤渣用 10 mL 水分两次洗涤,合并滤液并定容于 50 mL 容量瓶中备用。进样时经 0.45 μm 的针头过滤器过滤。

果糖、葡萄糖、阿拉伯糖、甘露糖和半乳糖经 96 ± 2 °C 干燥 2 h 后,准确称取标准品各 10.0 mg,用超纯水溶解并分别定容在 10 mL 容量瓶中,配制成 1 mg/mL 的标准贮备液,标准贮备液置于 4 °C 冰箱中保存,使用时用流动相稀释成所需浓度。用示差折光检测器测定标准工作液和秸秆样品,采用标准曲线法计算样品中还原糖单糖的含量。

1.3.2 HPLC 色谱条件分析

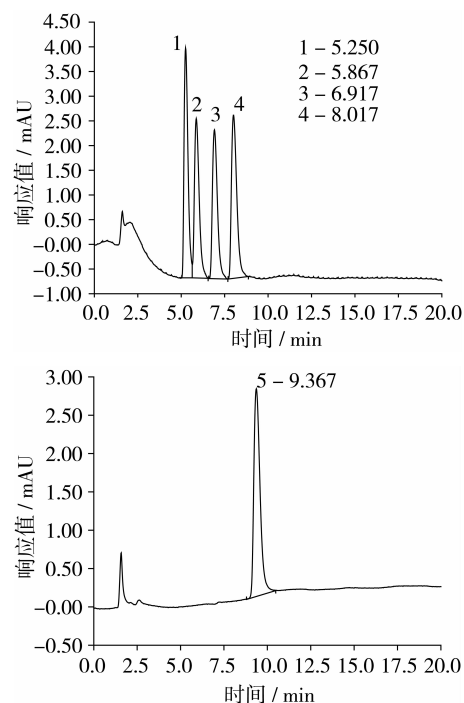
采用高效液相色谱法分析酶解液的还原糖组分^[8]。分析样品经林滤膜过滤后用于高效液相色谱分析。色谱仪含在线脱气装置的四元梯度泵 GP50、TCC-100 柱温箱、淋洗液自动发生器 EG-50、积分安培检测器(工作电极: Au 电极;参比电极: Ag/AgCl 电极;对电极 Pt 电极),扫描电位采用戴安公司推荐的脉冲电位波形。

色谱柱:糖分离柱 CarboPacPA-20 (4 × 100 mm),糖分离柱 CarboPacPA 20 (4 × 10 mm);柱温: 25 °C;流动相:以 0.018 mol/L NaOH 混合液为淋洗液;流速:1.0 mL/min;检测器:RID-10A 折光示差检测器;进样量:25 μL;ELSD 的漂移管温度为 82 °C,氮气流速为 2.1 mL/min,采用单标法测定。

2 结果与分析

2.1 标准单糖的 HPLC 色谱图

标准单糖阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖及果糖的 HPLC 色谱图如图 1 所示。



1 阿拉伯糖;2 半乳糖;3 葡萄糖;4 甘露糖;5 果糖

图1 标准品色谱图

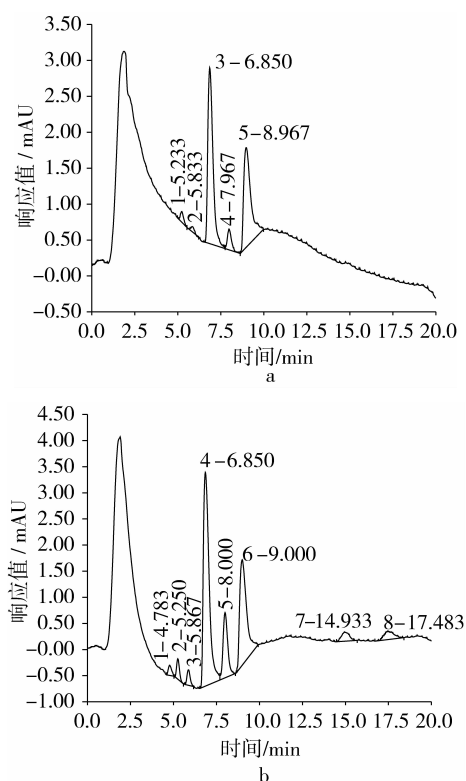
2.2 玉米秸秆酶解液中单糖的 HPLC 色谱图

经 HPLC 色谱分析后,不同粒度秸秆酶水解样中各单糖组分出峰顺序及时间与标准曲线上的各单糖的出峰顺序及时间相对照,分析纤维水解后的单糖组成,得到两种粒度秸秆酶解液中还原糖组分的色谱分析图(图 2)。

由图 2a 和图 2b 对照得出,不同粒度的秸秆酶解液中还原糖组分均含有阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、果糖及甘露糖这五种单糖组分,从各单糖的峰高

和峰面积来看,还原糖组分中各单糖在不同样品中的相对含量均存在差异,特别是果糖与葡萄糖含量存在较大的差异。此外,粒度大于 1 200 目秸秆酶解液还原糖组分在 4.78,14.93 与 17.48 min 附近出现三个响应峰,根据相关的文献报道,推测可能分别是岩藻糖、蔗糖与纤维二糖,研究结果尚需做进一步的验证。秸秆酶解液中各单糖含量如表 1 所示,大于 1 200 目样品酶解后的还原糖单糖组分的含量明显高于 100~200 目样品的还原糖单糖组分含量,阿拉伯糖提高了 48.38%,半乳糖提高了 64.29%,葡萄糖提高了 37.63%,甘露糖提高了 70.07%,果糖提高了 22.34%,单糖的提高有利于微生物发酵制备酸、醇等制品。

结果表明,粗粉碎与超微粉碎玉米秸秆酶解液还原糖组分中至少含有阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、果糖等五种单糖组分,但不同粒度的酶解液中,单糖之间的相对含量有一定差异。可能是因为玉米秸秆在超微粉碎机械力作用下,剪切和研磨的作用使纤维素原来致密的多孔网状结构被破坏,改变了纤维的原始结构,同时也增加了酶与粉体接触的表面积^[9],从而使超微细粉酶解液中单糖组分的含量增加。



a 100~200 目酶解液(1-阿拉伯糖,2-半乳糖,3-葡萄糖,4-甘露糖,5-果糖);b >1 200 目酶解液(1-岩藻糖,2-阿拉伯糖,3-半乳糖,4-葡萄糖,5-甘露糖,6-果糖,7-蔗糖,8-纤维二糖)

图 2 不同粒度玉米秸秆酶解液还原糖组分 HPLC 分析图

表 1 不同粒度秸秆酶解液中还原糖组分中单糖的含量

样品/目	阿拉伯糖/%	半乳糖/%	葡萄糖/%	甘露糖/%	果糖/%
100~200	0.08±0.001	0.05±0.002	2.79±0.02	0.22±0.001	9.86±0.05
>1 200	0.23±0.001	0.23±0.001	5.95±0.03	1.26±0.001	15.60±0.03

3 结论

通过 HPLC 对不同粒径玉米秸秆酶解液中还原糖组分及含量进行定性与定量分析,结果表明,秸秆的酶解液中主要含有阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖及果糖,其中以葡萄糖与果糖为主,大于 1 200 目样品酶解液还原糖单糖组分的含量明显高于 100~200 目样品的还原糖单糖组分含量,通过比较其值,可知阿拉伯糖提高了 48.38%、半乳糖提高了 64.29%、葡萄糖提高了 37.63%、甘露糖提高了 70.07%、果糖提高了 22.34%。在超微粉碎秸秆的酶解液 HPLC 色谱图出现三个新的响应峰,表明秸秆粒度的大小与纤维素酶共同作用将有利于秸秆纤维的降解,为秸秆的同时糖化与微生物发酵提供了有利条件。

参考文献:

- [1] Yang X S, Zhang S J, Zuo Z, et al. Ethanol production from the enzymatic hydrolysis of non - detoxified steam - exploded corn stalk [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(17): 7840 - 7844.
- [2] Lu Y L, Nathan S M. Biomimetic catalysis for hemicellulose hydrolysis in corn stover [J]. Biotechnology Progress, 2007, 23 (1): 116 - 123.
- [3] Uzun B B, Sarioğlu N. Rapid and catalytic pyrolysis of corn stalks [J]. Fuel Processing Technology, 2009, 90(5): 707 - 716.
- [4] Jin S Y, Chen H Z. Superfine grinding of steam - exploded rice straw and its enzymatic hydrolysis [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 30(3): 225 - 230.
- [5] Zhao X Y, Yang Z B, Gai G S, et al. Effect of superfine grinding on properties of ginger powder [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91(2): 217 - 222.
- [6] Zhao X Y, Du F L, Zhu Q J, et al. Effect of superfine pulverization on properties of Astragalus membranaceus powder [J]. Powder Technology, 2010, 203(3): 620 - 625.
- [7] 徐忠, 汪群慧, 姜兆华. 氨预处理对大豆秸秆纤维素酶解产糖影响的研究 [J]. 高等化学工程学报, 2004, 6(18): 773 - 776.
- [8] Cotie J F, Casabianca H, Chardon S, et al. Application of carbohydrate analysis to verify honey authenticity [J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1021(1-2): 145 - 155.
- [9] Zhao X Y, Chen J, Chen F L, et al. Surface characterization of corn stalk superfine powder studied by FTIR and XRD [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013, 104: 207 - 212.