

玉米芯生产低聚木糖脱色工艺研究

孙军涛¹, 李亚欣², 肖付刚¹, 崔春利¹

(1. 许昌学院 食品与生物工程学院, 河南 许昌 461000;

2. 河南职业技术学院, 河南 郑州 450046)

摘要:研究了玉米芯生产低聚木糖的脱色工艺。采用由木聚糖酶和纤维素酶组成的复合酶对玉米芯进行水解生产低聚木糖,通过活性炭对低聚木糖提取液脱色工艺进行优化。结果表明,低聚木糖活性炭脱色的最佳工艺条件为:温度为40℃,脱色时间30 min,活性炭添加量20%,可溶性总糖含量11 mg/mL。产品脱色率可达68.93%,还原糖损失率为34.75%,脱色后的低聚木糖溶液经乙醇沉淀后制备低聚木糖,得率为11.58%。

关键词:玉米芯;低聚木糖;复合酶;活性炭;脱色

中图分类号:TS 210.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2015)03-0007-04

Study on the decolorization of xylo-oligosaccharides from corncobs

SUN Jun-tao¹, LI Ya-xin², XIAO Fu-gang¹, CUI Chun-li¹

(1. College of Food and Biological Engineering, Xuchang University, Xuchang Henan 461000;

2. Henan Vocational Technical College, Zhengzhou Henan 450046)

Abstract: The decolorization process of xylo-oligosaccharides from corncobs was studied. xylo-oligosaccharides were extracted from corncobs by complex enzyme, which consisted of xylanase and cellulose. The decolorization process of xylo-oligosaccharides extract was optimized with activated carbon. Result indicated that the optimal parameters were as follows: activated carbon amount 20%, total soluble sugar content 11 mg/mL, at 40℃ for 30 min. Under the optimal conditions, the decolorization rate and the loss rate of reducing sugar were 68.93% and 34.75%, respectively. The yield of xylo-oligosaccharides after ethanol precipitation was 11.58%.

Key words: corncob; xylo-oligosaccharide; compound enzyme; activated carbon; decolorization

低聚木糖亦称木寡糖(xylooligosaccharide, XOS),由2~7个D-木糖以 β -1,4-木糖苷键连接而成的功能性低聚糖^[1-3]。主要由富含木聚糖的植物资源,如玉米芯、棉籽壳、花生壳、甘蔗渣和稻壳等为原料,经水解制得^[4-6]。低聚木糖难于消化吸收,在肠道内残存率高,是肠道双歧杆菌的增殖因子,其选择性高于其他功能性低聚糖^[7-8]。低聚木糖是目前广泛应用于食品、药品和化妆品等工业的一种重要的功能性低聚糖。

玉米是我国三大粮食作物之一。据统计,2013年我国玉米的总产量约为2.11亿t,按照3 kg玉米

产1 kg玉米芯计算,2013年大约可产生0.70亿t左右的玉米芯。目前我国的玉米芯还没有得到有效的利用,基本处于初加工阶段,绝大部分作为燃料被烧掉。以玉米芯为原料,制备功能性低聚木糖,不仅可以综合利用农产品资源,同时也可以增加农民收入,具有很好的市场前景^[9-10]。

玉米芯中含有较多的天然色素物质,同时在玉米芯低聚木糖的生产中,经过蒸煮、酶水解等复杂过程也发生成色反应,导致最终产品色泽较深,产品品质较差,脱色是保证低聚木糖产品品质的一个重要工序。本实验通过复合酶法制备玉米芯低聚木糖,用粉状活性炭对低聚木糖酶解液脱色工艺进行研究,最后采用乙醇沉淀法制备低聚木糖。为玉米芯制备功能性低聚木糖工业化生产提供一定的理论基础。

收稿日期:2015-01-05

基金项目:河南省教育厅科学技术研究重点项目(14B416007);许昌学院重点科研基金项目(2015106);2014年许昌市科技经费资助项目重点科技计划项目(000293/20141213)

作者简介:孙军涛,1982年出生,男,博士,讲师。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

玉米芯:河南省许昌县产;D-木糖:上海迈坤化工有限公司;木聚糖酶和纤维素酶:江苏锐阳生物科技有限公司;3,5-二硝基水杨酸:上海科丰化学试剂有限公司;粉状活性炭:天津市科密欧化学试剂有限公司;无水乙醇:天津市大茂化学试剂厂。

FA1004B 分析天平:上海佑科仪器仪表有限公司;BLUESTAR 紫外分光光度计:北京莱伯泰科仪器有限公司;TDZ5-WS 离心机:湖南湘仪实验仪器开发有限公司;FW-100 万能粉碎机:北京科伟永兴仪器有限公司;DK-8D 电热恒温水浴锅:常州普天仪器制造有限公司;SHZ-D 循环水真空泵:巩义市峪华科仪器厂;IS128pH 计:上海仪迈仪器科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 测定方法

1.2.1.1 还原糖测定

还原糖测定采用 DNS 法^[11]。

还原糖损失率计算:

还原糖损失率/% =

$$\frac{\text{脱色前还原糖含量} - \text{脱色后还原糖含量}}{\text{脱色前还原糖含量}} \times 100$$

1.2.1.2 可溶性总糖测定

向待测液中加入浓度为 72 g/L 的浓硫酸,置于沸水浴中 2 h,然后用 6 mol/L 的氢氧化钠溶液中和至中性,按还原糖的测定方法测定待测液中可溶性总糖的含量。

1.2.1.3 脱色率测定^[12]

色值的测定:将待测糖液样品调至中性,用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,在 420 nm 处测定滤液的吸光值及色值。

色值计算:

$$\text{色值}/\text{IU} = -\frac{\lg T_s}{b\rho} \times 1\,000 = \frac{A}{b\rho} \times 1\,000$$

式中: T_s —糖液样品的透光率; A —糖液的吸光度; b —比色皿的厚度,cm; ρ —糖液浓度,g/mL。

脱色率计算:

$$\text{脱色率}/\% = \frac{\text{脱色前色值} - \text{脱色后色值}}{\text{脱色前色值}} \times 100$$

1.2.2 复合酶法制备玉米芯低聚木糖

取一定量的玉米芯粉,按照料液比 1:15,添加

15% 由木聚糖酶和纤维素酶按照 2:1 的比例组成复合酶,在 50 ℃ 和 pH 5.0 下酶解 1 h,反应结束后,沸水浴 5 min,冷却至室温,过滤,4 000 r/min 下离心 15 min,所得上清液即为低聚木糖溶液。

1.2.3 活性炭脱色

以制备的玉米芯低聚木糖溶液的可溶性总糖量、活性炭添加量、脱色时间和脱色温度为单因素条件,测定不同条件下的脱色率和还原糖损失率,在单因素实验的基础上设计正交实验,优化脱色条件^[13-14]。

1.2.4 脱色低聚木糖成品制备

脱色后的低聚木糖液加入无水乙醇,使醇浓度达到 80%,置于 4 ℃ 冰箱过夜^[15]。将醇沉好后的溶液过滤,收集沉淀物,干燥后即低聚木糖成品。

2 结果与分析

2.1 低聚木糖活性炭脱色的单因素实验

2.1.1 活性炭添加量对脱色效果的影响

不同活性炭添加量对玉米芯低聚木糖脱色效果的影响结果如图 1 所示。随着活性炭添加量的增加,低聚木糖的脱色率和还原糖的损失率明显增加。当活性炭添加量较低时,随着活性炭添加量的增加,脱色率快速上升;当活性炭添加量增至 30% 时,脱色率达 74.69%,还原糖损失率为 43.22%,有较好的脱色效果;继续增加活性炭的添加量,脱色率的增加幅度趋于平缓,而还原糖的损失率却急剧上升,因此,从脱色率、还原糖损失率和节省成本综合考虑,确定活性炭添加量为 30%。

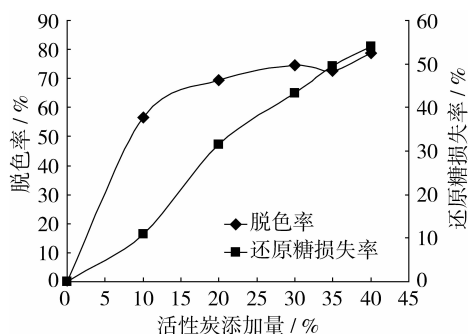


图1 活性炭添加量对低聚木糖脱色效果的影响

2.1.2 温度对脱色效果的影响

由图 2 可以看出,温度较低时,随着温度的升高,脱色率明显增加;温度升到 40 ℃ 时,脱色率达到 71.08%,还原糖损失率为 23.86%,脱色效果较好;温度继续升高,活性炭对低聚木糖液中色素的吸附率趋于平衡,脱色率稍有下降,可能是由于温度过

高,破坏了活性炭对色素吸附与解析的动态平衡,导致部分被吸附的色素释放出来,使脱色率降低,而且高温也可能会产生非酶褐变反应。因此,在 40 ℃ 下,对玉米芯低聚木糖进行活性炭脱色比较合适。

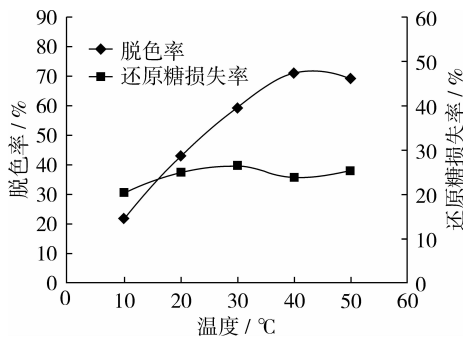


图 2 温度对低聚木糖脱色效果的影响

2.1.3 脱色时间对脱色效果的影响

由图 3 可以看出,随着脱色时间的延长,活性炭对低聚木糖溶液的脱色率逐渐提高,当脱色时间达到 20 min 时,脱色率为 75.69%,还原糖损失率为 20.16%;脱色时间继续延长,活性炭对色素的吸附已经逐步达到饱和状态,脱色率增加缓慢,而还原糖损失率持续升高。因此,玉米芯低聚木糖活性炭脱色时间选择 20 min 比较合适。

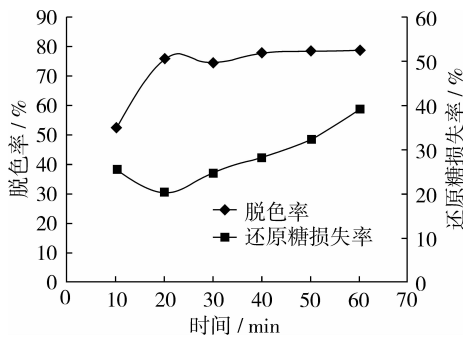


图 3 脱色时间对低聚木糖脱色效果的影响

2.1.4 可溶性总糖含量对脱色效果的影响

可溶性总糖含量对低聚木糖溶液脱色效果有一定的影响,可溶性总糖含量较低时,溶液体积较大,会影响活性炭对色素吸附;可溶性总糖含量较高时,溶液浓度过高,粘度较大,会影响色素物质与活性炭之间的接触,影响脱色效果。可溶性总糖含量对玉米芯低聚木糖活性炭脱色效果的影响见图 4 所示。

从图 4 可以看出,活性炭对色素的吸附作用远大于对低聚木糖的吸附作用;当低聚木糖提取液中的可溶性总糖含量为 9.6 mg/mL 时,脱色率达到 65.94%,此时,还原糖损失率达到 29.21%;可溶性总糖含量继续升高,低聚木糖脱色率增加平缓并有

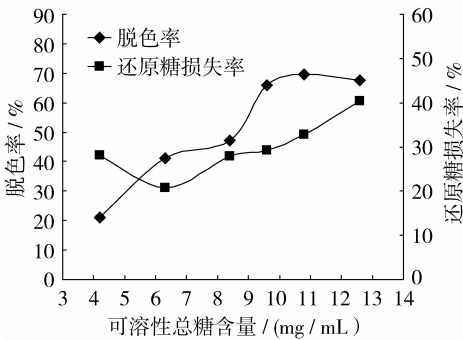


图 4 可溶性总糖含量对低聚木糖脱色效果的影响

下降趋势,而活性炭对还原糖的吸附却持续增加。综合考虑,玉米芯低聚木糖活性炭脱色的可溶性总糖含量选择为 9.6 mg/mL 比较合适。

2.2 正交实验

在单因素实验的基础上设计正交实验的因素水平如表 1 所示,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验,根据正交试验结果中脱色率和还原糖损失率确定综合指标 G,即将还原糖损失率换算为还原糖保留率,再结合相应的脱色率,求二者平均值,结果如表 2 所示。

表 1 正交试验因素水平表

水平	A 温度/℃	B 脱色时间 /min	C 活性炭添加量 /%	D 可溶性总糖含量 /(mg/mL)
1	30	10	20	9
2	40	20	30	10
3	50	30	40	11

表 2 正交试验结果

序号	A	B	C	D	E 脱色率 /%	F 还原糖 损失率 /%	G 综合 指标 /%
1	1(30)	1(10)	1(20)	1(9)	54.26	37.41	58.43
2	1	2(20)	2(30)	2(10)	52.67	45.19	53.74
3	1	3(30)	3(40)	3(11)	78.71	59.71	59.50
4	2(40)	1	2	3	65.63	42.38	61.63
5	2	2	3	1	73.44	51.25	61.1
6	2	3	1	2	68.08	35.19	66.45
7	3(50)	1	3	2	67.20	49.57	58.82
8	3	2	1	3	66.49	33.87	66.31
9	3	3	2	1	60.75	39.65	60.55

对低聚木糖活性炭脱色正交试验结果进行极差分析,结果如表 3 所示。

表 3 中综合指标结果显示,四个影响因素的主次顺序为: A > C > D > B,即影响低聚木糖活性炭脱色效果的因素依次为活性炭添加量、温度、可溶性总糖含量、脱色时间;最佳工艺条件为 $A_2B_3C_1D_3$,即脱色温度为 40 ℃,脱色时间为 30 min,活性炭添加量

为 20% ,可溶性总糖含量为 11 mg/mL。在此条件下,低聚木糖溶液脱色率达到 68. 93% ,还原糖损失率为 34. 75% 。

表 3 正交试验极差分析结果

指标		k ₁	k ₂	k ₃	R	主次因素	最优水平
E/%	A	61. 880	69. 050	64. 813	7. 170	C > D > A > B	A ₂
	B	62. 363	64. 200	69. 180	6. 817		B ₃
	C	62. 943	59. 683	73. 117	13. 434		C ₃
	D	62. 817	62. 650	70. 277	7. 627		D ₃
F/%	A	47. 437	42. 940	41. 030	6. 407	C > A > D > B	A ₃
	B	43. 120	43. 437	44. 850	1. 730		B ₁
	C	35. 490	42. 407	53. 510	18. 020		C ₁
	D	42. 770	43. 317	45. 320	2. 550		D ₁
G/%	A	57. 223	63. 060	61. 893	5. 837	A > C > D > B	A ₂
	B	59. 627	60. 383	62. 167	2. 540		B ₃
	C	63. 730	58. 640	59. 807	5. 090		C ₁
	D	60. 027	59. 670	62. 480	2. 810		D ₃

低聚木糖制备过程中,酶解玉米芯希望得到更多的可溶性总糖,但用活性炭脱色时,可溶性总糖为 11 mg/mL 时最佳,因此活性炭脱色时应根据酶解液中可溶性总糖的量做适当稀释后再脱色。活性炭脱色过程中,因酶解玉米芯制备的低聚木糖未脱色会呈现黄色,严重影响低聚木糖的质量品质,虽然低聚木糖脱色过程中还原糖有一定的损失率,但低聚木糖制备过程中脱色仍是不可缺少的工艺。

2. 3 脱色低聚木糖制备

优化后制得的脱色低聚木糖液通过乙醇沉淀,再进行干燥、粉碎后,得到低聚木糖成品。经测定计算,每克玉米芯可得到低聚木糖 115. 8 mg,得率为 11. 58% ,制备的低聚木糖呈白色粉末状,具有较好的感官品质。

3 结论

通过复合酶酶解玉米芯制备低聚木糖,然后利用活性炭对低聚木糖进行脱色,确定了低聚木糖的最适脱色条件为:脱色温度为 40 ℃ ,脱色时间为 30 min,活性炭添加量为 20% ,可溶性总糖含量为 11 mg/mL。在此条件下,低聚木糖溶液的脱色率达到 68. 93% ,相应的还原糖损失率为 34. 75% 。脱色后的低聚木糖溶液经乙醇沉淀、干燥、粉碎后,得率为 11. 58% 。

参考文献:

[1] Lagaert S, Pollet A, Delcour J A, et al. Characterization of two β - xylosidase from *Bifidobacterium adolescentis* and their contribution to the hydrolysis of prebiotic xylooligosaccharides[J]. Applied Microbi-

ology and Biotechnology, 2011, 92 (6): 1179 - 1185.

[2] Shin J H, Choi J H, Lee O S, et al. Thermostable xylanase from *Streptomyces thermocyaneotolaceus* for optimal production of xylooligosaccharides [J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2009, 14: 391 - 399.

[3] Ai Z, Jiang Z, Li L, et al. Immobilization of *Streptomyces olivaceoviridis* E - 86 xylanase on Eudragit S - 100 for xylo - oligosaccharide production [J]. Process Biochemistry, 2005, 40: 2707 - 2714.

[4] Daniel Obed Otieno, Birgitte Kiaer Ahring. The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannooligosaccharides (MOS) [J]. Carbohydrate Research, 2012, 360: 84 - 92.

[5] Simkhada J R, Yoo H Y, Choi Y H, et al. An extremely alkaline novel xylanase from a newly isolated *Streptomyces* strain cultivated in corn cob medium [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 168 (7): 2017 - 2027.

[6] Ana Flávia Azevedo Carvalho, Pedro de Oliva Neto, Douglas Fernandes da Silva, et al. Xylo - oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis [J]. Food Research International, 2013, 51: 75 - 85.

[7] Voragen A G J. Technological aspects of functional food related carbohydrates [J]. Trends Food Sci. Technol, 1998, 9: 328 - 335.

[8] Patel S and Goyal A. Functional oligosaccharides: production, properties and applications [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2011, 27: 1119 - 1128.

[9] Wang B, Cheng B, Feng H. Enriched arabinoxylan in corn fiber for value - added products [J]. Biotechnology Letter, 2008, 30: 275 - 279.

[10] Digantkumar Chapla, Pratima Pandit, Amita Shah. Production of xylooligosaccharides from corn cob xylan by fungal xylanase and their utilization by probiotics [J]. Bioresource Technology, 2012, 115: 215 - 221.

[11] Miller G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar [J]. Analytical Chemistry, 1959, 31 (3): 426 - 428.

[12] 谢建华,申明月,聂少平,等. 青钱柳多糖活性炭脱色工艺 [J]. 南昌大学学报 (理科版), 2013, 37 (4): 382 - 385.

[13] Tseng - Hsing Wang, Shin Lu. Production of xylooligosaccharide from wheat bran by microwave assisted enzymatic hydrolysis [J]. Food Chemistry, 2013, 138: 1531 - 1535.

[14] 邹东恢,梁敏,杨勇,等. 香菇多糖复合酶法提取及其脱色工艺优化 [J]. 农业机械学报, 2009, 40 (3): 135 - 138.

[15] Jing Bian, Feng Peng, Xiao - Peng Peng, et al. Structural features and antioxidant activity of xylooligosaccharides enzymatically produced from sugarcane bagasse [J]. Bioresource Technology, 2013, 127: 236 - 241. ㊞