

文章编号: 1000-5013(2008)02-0232-04

# 微波辅助酸水解麦糟制备低聚木糖的工艺

刘英丽, 李夏兰, 余晓芬, 方柏山

(华侨大学 工业生物技术福建省高等学校重点实验室, 福建 泉州 362021)

**摘要:** 采用单因素法, 考察了酸浓度、提取时间、浸泡时间、微波功率和料液比(麦糟质量与水的体积的比)对低聚木糖提取率的影响, 并在此基础上用正交设计对低聚木糖的提取工艺进行优化. 实验结果表明, 微波辅助提取低聚木糖的优化工艺组合为磷酸浓度为  $0.8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 提取时间为 25 min, 浸泡时间为 0.5 h, 微波功率为 440 W, 料液比为 1:50. 在此工艺条件下, 低聚木糖的提取率为 49.87%, 平均聚合度为 3.49.

**关键词:** 麦糟; 低聚木糖; 酸水解; 微波; 高效液相色谱

**中图分类号:** TS 201.1; Q 539<sup>+</sup>.403

**文献标识码:** A

低聚木糖(XOS)是新近发展起来的一种功能性低聚糖, 由 2~10 个木糖以  $\beta$ 1,4 糖苷键连接而成. 除具有功能性低聚糖一般的功能性质外, 它还具有独特的生理生化性质, 如有明显的双歧杆菌增殖作用、不被消化特性, 等等. 基于这些特性, 作为一种重要的功能性食品基料<sup>[1-2]</sup> 已引起广泛关注. 麦糟是啤酒厂液化和糖化大麦及大米淀粉之后的残渣, 富含半纤维素. 目前麦糟主要用作饲料<sup>[3]</sup>. 不同地域的啤酒厂所用原料有细微的区别, 致使麦糟中所含成分也不大相同, 在一般情况下, 其成分(质量分数)为 21.9% 葡聚糖, 木聚糖 20.6%, 阿拉伯聚糖 9.0%, 木质素 21.7%, 乙酰基 1.1%, 蛋白质 24.6%, 灰分 1.2%<sup>[3]</sup>. 因为麦糟是发酵过后的产物, 质地蓬松, 不需蒸爆, 预处理方法相对比较简单, 用其生产高附加值的低聚木糖, 具有重大的经济效益和社会效益<sup>[4]</sup>. 本文报道采用微波辅助酸水解提取低聚木糖工艺, 以替代传统的热水解<sup>[5]</sup>.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与材料

LC 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), Aminex HPX-87H 柱(美国 Bio-Rad 公司),  $0.2 \mu\text{m}$  的水性过滤膜(德国 MEMBRANA 公司), PJ23G-SCI 型美的微波炉(广东佛山美的集团), DKU-30 型恒温油浴槽(上海精宏实验设备有限公司). 麦糟由福建泉州清源啤酒厂提供, 其大麦和大米的质量比为 7:3. 磷酸、盐酸、氢氧化钠(分析纯, 广东汕头西陇化工厂); 硫酸、硝酸钙(分析纯, 上海试剂总厂); 三氯高铁、地衣酚(化学纯, 上海国药集团化学试剂有限公司); 酚酞(指示剂, 上海试剂二厂).

### 1.2 实验方法

**1.2.1 低聚木糖的测定<sup>[6-8]</sup>** 麦糟粉碎后过 50 目筛, 取 0.2 g 于烧杯中, 加入 10 mL 质量分数为 80% 的硝酸钙溶液, 置电炉上加热, 煮沸 5 min, 冷却后离心. 将沉淀用热水冲洗 3 次, 然后向沉淀中加 10 mL 浓度为  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的盐酸, 盖上玻盖, 混匀, 置沸水浴中, 搅拌煮沸 45 min, 冷却后离心. 将上层清液移入 100 mL 容量瓶中, 冲洗沉淀 3 次, 洗涤液并入容量瓶中, 向容量瓶中加 1 滴酚酞, 并用 NaOH 中和至显玫瑰色, 稀释至刻度. 随后, 将其过滤至烧杯中, 弃去最初滤出的几滴滤液. 木聚糖的测定采用地衣酚法, 测得麦糟中木聚糖质量分数为 20.1%.

收稿日期: 2007-08-11

作者简介: 刘英丽(1981-), 女; 通讯作者: 方柏山(1958-), 男, 教授, 主要从事微生物生化研究. E-mail: fangbs@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20276026, 20446004); 福建省科技计划重点项目(20031020)

1.2.2 微波辅助酸水解提取工艺<sup>[9]</sup> 称取相同质量的干麦糟(水的质量分数小于 10%), 分别加入磷酸溶液, 浸泡, 微波处理一定时间. 用 4 层纱布过滤, 弃滤渣, 得粗提液离心( $12\text{ kr}\cdot\text{min}^{-1}$ ) 10 min, 取上层清液, 通过高效液相色谱(HPLC)测定木糖质量浓度.

1.2.3 检测 (1) 木糖和葡萄糖的检测. 采用 HPLC 法<sup>[10]</sup> 进行木糖和葡萄糖的检测. 实验条件: Aminex HPLC-87H 柱, 柱温为  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 流动相为  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的硫酸, 流速为  $0.4\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 示差折光检测器. (2) 低聚木糖的检测. 微波所得的粗提液用质量分数为 4% 的硫酸, 在  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下反应 60 min, 低聚木糖量用 HPLC 测得的单糖水解前后增加量  $\Delta m$  表示<sup>[11]</sup>. 低聚木糖的提取率  $\eta$  为粗提液中低聚木糖的质量与麦糟中木聚糖的的质量的比值, 低聚木糖的平均聚合度  $S$  为硫酸水解后粗提液中的木糖量与硫酸水解前粗提液中的木糖量的比值<sup>[12]</sup>.

1.2.5 麦糟的预处理方法<sup>[13-14]</sup> 按料液比(麦糟质量(g)与水体积的比值(mL))为 1: 8 的比例, 将麦糟和水混合, 于  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  下煮沸 1 h, 冷却, 用 4 层纱布过滤, 水洗直到 pH 为中性. 于  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  干燥至水的质量分数小于 10%, 并经 HPLC 检测表明淀粉已被除净.

2 实验结果与讨论

2.1 单因素考察

2.2.1 磷酸浓度 称取 1 g 的干麦糟, 加入 60 mL 不同浓度的磷酸溶液, 浸泡 1 h, 用 264 W 的微波处理 20 min. 酸浓度( $C$ )对低聚木糖的提取率( $\eta$ )的影响, 如表 1 所示. 由表 1 可以看出, 随着酸浓度的增加, 低聚木糖的提取率升高, 在  $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时提取率最高达到 35.62%; 之后, 低聚木糖的提取率开始下降, 聚合度( $S$ )变小. 这是由于随着酸浓度(即催化剂浓度)的增加, 木聚糖水解速度加快; 但酸浓度超过一定值, 木聚糖水解速度增加不明显, 而由木聚糖转化的单糖和其他副产物增加.

表 1 磷酸浓度对低聚木糖提取的影响  
Tab.1 Effect of acid concentration on the extraction yield of XOS

$C/\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0.1	0.3	0.5	0.8	1.0	1.2
$\eta\%$	21.0	27.5	35.0	32.5	30.0	29.0
$S$	6.24	5.19	4.65	3.12	2.28	1.48

2.2.2 料液比 称取 1 g 的干麦糟, 分别加入不同体积的  $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的磷酸溶液浸泡 1 h, 用 264 W 的微波处理 15 min. 料液比( $m:V$ )对低聚木糖的提取结果影响, 如表 2 所示. 由表 2 可知, 随着料液比的加大, 低聚木糖的提取率升高. 在料液比为 1: 60 时提取率最大, 提取率达到 28.32%; 之后, 继续增加料液比, 低聚木糖的提取率稍微有些降低, 聚合度的变化不明显.

表 2 料液比对低聚木糖提取的影响  
Tab.2 Effect of the solid-liquid ratio on the extraction yield of XOS

$m:V$	1: 30	1: 40	1: 50	1: 60	1: 70
$\eta\%$	20.0	21.0	24.0	28.0	26.0
$S$	6.66	4.71	4.45	5.21	4.59

2.2.3 微波功率 称取 2 g 的干麦糟, 分别加入 70 mL,  $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的磷酸溶液浸泡 1 h, 用不同功率的微波处理 15 min. 微波功率( $E$ )对低聚木糖提取率的影响, 如表 3 所示. 从表 3 可知, 微波功率为 264 W 时, 低聚木糖的提取率最高, 提取率可达 27.01%; 而后, 随着微波功率的增大, 提取率略有下降, 聚合度随着功率的增加而变大. 具体原因还有待考究.

表 3 微波功率对低聚木糖提取的影响

Tab.3 Effect of the ouput power of microwave on the extraction yield of XOS

$E/\text{W}$	136	264	440	616
$\eta\%$	5	27	26	25
$S$	2.08	4.59	4.65	5.10

2.2.4 微波辅助提取时间 称取 1 g 的干麦糟, 加入 70 mL,  $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的磷酸溶液浸泡 1 h, 用 264 W 的微波处理不同的时间. 微波处理时间( $t_1$ )对低聚木糖的提取率的影响, 如表 4 所示. 由表 4 可知, 随着微波处理时间的延长, 低聚木糖的提取率也随之升高, 在 20 min 时提取率最高, 提取率达到 27.56%; 之后, 低聚木糖的提取率开始下降. 这可能是因为随着微波作用时间的增加,

表 4 微波处理时间对低聚木糖提取的影响  
Tab.4 Effect of the extracting time on the extraction yield of XOS

$t_1/\text{min}$	5	10	15	20	30
$\eta\%$	3	17.5	27	28	21
$S$	1.79	3.23	4.59	4.71	3.50

原料中的木聚糖越来越少,降解为低聚木糖的速率小于低聚木糖降解为单糖的速率,使得低聚木糖糖提取率有所下降,聚合度的变化趋势与提取率基

本保持一致.

2.2.5 浸泡时间的影响 称取 1 g 的干麦糟,加入 60 mL,0.5 mol·L<sup>-1</sup>的磷酸溶液,浸泡不同时间,用 264 W 的微波处理 20 min. 浸泡时间(*t*<sub>2</sub>)对低聚木糖的提取结果,如表 5 所示. 由表 5 可知,浸泡时间 1 h 时,低聚木糖提取率达到最大,提取率可达 30.68%;随后,低聚木糖提取率开始下降,但变化不大,聚合度的变化亦不大,这可能与麦糟的质地和结构有关.

2.3 正交实验

在单因素考察的基础上,用正交实验<sup>[15]</sup>对影响低聚木糖提取率的因素,如磷酸浓度(*C*)、微波提取时间(*t*<sub>1</sub>)、浸泡时间(*t*<sub>2</sub>)、微波功率(*E*)和料液比(*m*:*V*)进行优化,优化结果如表 6 所示. 从极差分析结果可知,影响低聚木糖提取率的因素的主次顺序:微波功率>磷酸浓度>微波提取时间>浸泡时间>料

表 5 浸泡时间对低聚木糖提取的影响

Tab. 5 Effect of the time of mustard soaked in water on the extraction yield of XOS

<i>t</i> <sub>1</sub> /h	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
<i>η</i> %	30.5	30.7	30.0	29.5	27.5
<i>S</i>	3.43	3.27	4.06	4.36	3.82

表 6 正交实验及实验结果的极差分析

Tab. 6 Orthogonal experimental design on the extracting process and the range analysis of results

实验号	<i>C</i> /mol·L <sup>-1</sup>	<i>t</i> <sub>1</sub> /min	<i>t</i> <sub>2</sub> /h	<i>E</i> /W	<i>m</i> : <i>V</i>	<i>S</i>	<i>η</i> %
1	0.3	10	0.5	136	1:40	1.22	1.33
2	0.3	15	1.0	264	1:50	8.02	19.51
3	0.3	20	1.5	440	1:60	6.14	21.68
4	0.3	25	2.0	616	1:70	4.17	22.80
5	0.5	10	1.0	440	1:70	4.49	22.16
6	0.5	15	0.5	616	1:60	5.10	27.60
7	0.5	20	2.0	136	1:50	2.84	9.17
8	0.5	25	1.5	264	1:40	4.21	25.71
9	0.8	10	1.5	616	1:50	6.65	27.96
10	0.8	15	2.0	440	1:40	5.45	45.50
11	0.8	20	0.5	264	1:70	4.67	37.54
12	0.8	25	1.0	136	1:60	4.02	16.87
13	1.0	10	2.0	264	1:60	3.93	22.78
14	1.0	15	1.5	136	1:70	1.99	11.95
15	1.0	20	1.0	616	1:40	3.83	19.63
16	1.0	25	0.5	440	1:50	2.99	48.30
<i>T</i> <sub>1</sub>	65.32	74.23	114.77	39.32	92.17		
<i>T</i> <sub>2</sub>	84.64	104.56	78.17	105.54	104.94		
<i>T</i> <sub>3</sub>	127.87	88.02	87.30	137.64	88.93		
<i>T</i> <sub>4</sub>	102.66	113.68	100.25	97.99	94.45		
<i>m</i> <sub>1</sub>	16.33	18.56	28.69	9.83	23.04		
<i>m</i> <sub>2</sub>	21.16	26.14	19.54	26.39	26.24		
<i>m</i> <sub>3</sub>	31.97	22.01	21.83	34.41	22.23		
<i>m</i> <sub>4</sub>	25.67	28.42	25.06	24.50	23.61		
<i>R</i>	15.64	9.86	9.15	24.58	4.01		

液比. 即微波辅助提取低聚木糖的优化工艺组合: 磷酸浓度为 0.8 mol·L<sup>-1</sup>,提取时间为 25 min,浸泡时间为 0.5 h,微波功率为 440 W,料液比为 1:50. 在此优化工艺下进行实验,得到低聚木糖的提取率为 49.87%,平均聚合度为 3.49.

3 结束语

整个实验过程中,低聚木糖的平均聚合度基本保持在 2~10 之间,通过单因素考察和正交实验得出最佳提取工艺条件为: 磷酸浓度为 0.8 mol·L<sup>-1</sup>,提取时间为 25 min,浸泡时间为 0.5 h,微波功率为

440 W, 料液比为 1: 50. 在该条件下, 其低聚木糖的提取率为 49. 87%, 平均聚合度为 3. 49, 比传统热酸水解抽提的提取率 42. 17% 提高了 18. 25%. 微波辅助酸水解麦糟的工艺可以一步得到低聚木糖, 提取所需时间短, 简化了工艺流程, 且粗提液颜色较浅, 易于脱色分离.

## 参考文献:

- [1] 徐 勇, 余世袁, 江 华, 等. 培养条件对低聚木糖增殖青春双歧杆菌的影响[J]. 林产化学与工业, 2001, 21(3): 34-38.
- [2] 胡学智. 日本的保健食品[J]. 工业微生物, 2000(3): 44-45.
- [3] CARVALHEIRO F, ESTEVES M P, PARAJO J C. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain[J]. Bioresource Tech, 2004, 91: 93-100.
- [4] 洪 枫, 陈 琳, 余世袁, 等. 新型功能性低聚糖的生产与研究[J]. 林产化工通讯, 1999, 33(4): 14-20.
- [5] KABEL M A, CARVALHEIRO F, GARROTE G, et al. Hydrothermally treated xylan rich by-products yield different classes of xylo-oligosaccharides[J]. Carbohydr Polym, 2002, 50: 47-52.
- [6] 王玉万, 徐文玉. 木质纤维素固体基质发酵物中半纤维素、纤维素和木质素的定量分析程序[J]. 微生物学通报, 1987(2): 82-84.
- [7] BROWNING B L, Sarkanen K V, et al. Methods in wood chemistry[M]. New York: John Wiley & Sons, 1967.
- [8] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 2版. 杭州: 浙江大学出版社, 1999: 14.
- [9] GARROTE G, DOMINGUEZ H, PARAJO J C. Mild autohydrolysis: an environmental friendly technology for xylo-oligosaccharides production from wood[J]. J Chem Technol Biotechnol, 1999, 74: 1101-1109.
- [10] CARVALHEIRO F, GARROTE G, PARAJO J C, et al. Kinetic modeling of brewery's spent grain autohydrolysis[J]. Biotechnol Prog, 2005, 21: 233-243.
- [11] SASKA M, OZER E. Aqueous extraction of sugarcane bagasse hemicellulose and production of xylose syrup[J]. Biotechnol Bioeng, 1995, 45: 517-523.
- [12] 顾 阳. 植物纤维中木聚糖的生物降解与调控[D]. 南京: 南京林业大学, 2003.
- [13] VAZQUEZ M J, ALONSO J L, DOMINGUEZ H, et al. Xylooligosaccharides: manufacture and applications[J]. Trends in Food Science & Technology, 2000, 11: 387-393.
- [14] 王秀梅. 小麦麸皮低聚木糖的酶法生产[D]. 无锡: 江南大学, 1999.
- [15] 方开泰, 马长兴. 正交与均匀试验设计[M]. 北京: 科学出版社, 2001.

# Microwave-Assisted Extracting Process of the Xylooligosaccharides from Brewery's Spent Grain by Acid Hydrolysis

LIU Ying-li, LI Xia-lan, YU Xiao-fen, FANG Bai-shan

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Fujian Province University, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**Abstract:** In this paper, the method of single factor was applied to investigate the influence of acid concentration, time of mustard soaked in water, extracting time, output power of microwave and ratio of solid to liquid on the extracting yield of xylooligosaccharides from Brewery's spent grain and then the extracting technic was optimized by orthogonal experiment. The experiment results showed the optimal conditions were as follows: the acid concentration was  $0.8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , the extracting time was 25 min, the time of mustard soaked in water was 0.5 h, the output power of microwave was 440 W and the ratio of solid to liquid was 1: 50. The extracting yield of xylooligosaccharides under the optimal conditions was 49. 87% and the average degree of polymerization was 3. 49.

**Keywords:** brewery's spent grain; acid hydrolysis; xylooligosaccharides; microwave; high performance liquid chromatography

(责任编辑: 黄仲一 英文审校: 陈国华)