

以玉米芯为原料酶法制备低聚木糖的研究

张金永 丁兴红 夏黎明

(浙江大学材料与化工学院, 化学工程与生物工程系, 杭州, 310027)

摘 要 以玉米芯为原料, 在固液比 1:10, NaOH 质量浓度 4%, 50℃ 条件下处理 24 h, 木聚糖提取率为 91.0%。利用木聚糖酶降解木聚糖制备低聚木糖, 确立了最佳酶解工艺条件为: 50℃, pH 4.8, 木聚糖底物质量浓度 3.0%, 每克底物的木聚糖酶用量为 50 IU, 反应时间 0.5 h。在上述反应条件下, 产品平均聚合度为 3.61, 低聚木糖得率为 91.2%。该研究结果在可再生半纤维素资源利用方面具有重要的意义。

关键词 玉米芯, 木聚糖, 木聚糖酶, 酶水解, 低聚木糖

低聚木糖又称木寡糖, 由 2~7 个木糖以 β -1,4-糖苷键连接而成^[1], 其中木二糖、木三糖是主要有效成分。人体胃肠道内没有降解低聚木糖的酶系统, 低聚木糖在肠道内的残存率高, 对双歧杆菌有高选择性的增殖效果。由于食用后不会使血浆中的葡萄糖浓度上升, 所以低聚木糖也可作为糖尿病或肥胖症患者的甜味剂。低聚木糖具有耐酸、耐热、不易分解等特点, 作为功能性低聚糖, 可广泛应用于饮料、食品及医药等领域^[2~3]。

我国是一个农业大国, 每年都产生大量的玉米芯、甘蔗渣、秸秆等纤维废弃物, 如何有效地利用这些植物原料一直是人们关注的课题。文中以玉米芯为原料, 通过碱法抽提获得木聚糖, 进一步利用木聚糖酶降解木聚糖制备低聚木糖。这一研究工作在可再生半纤维素资源的开发利用方面具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 玉米芯

产自山东, 粉碎至 20~30 目。其化学成分为: 纤维素 38.5%, 半纤维素 35.0%, 木质素 17.5%, 其它 9.0%, 置于干燥处储存备用。

1.2 木聚糖酶

实验室自制, 由黑曲霉 (*Aspergillus niger* JY021) 固态发酵产生, 每克干曲含木聚糖酶活力 8 026 IU。

1.3 木聚糖底物的制备

将风干玉米芯按固液比 1:10 (质量: 体积) 加入一定浓度的 NaOH 溶液, 在特定温度条件下处理 24 h, 过滤滤渣, 滤液过离子交换柱脱盐, 再经过适当浓缩, 制

备成用于酶解的木聚糖底物。

$$\text{木聚糖提取率}(\%) = \frac{\text{碱提液中木聚糖含量}}{\text{原料中木聚糖含量}} \times 100\%$$

1.4 酶解反应

在 500 mL 的三角瓶中加入 150 mL 木聚糖含量为 3.0% 的酶解底物和一定量的木聚糖酶, 在 pH 4.8, 50℃, 50~100 r/min 的条件下反应一定时间。酶解结束后, 将三角瓶置于沸水浴中 10 min 使酶失活, 冷却后离心, 取上清液测定还原糖 (RS) 和可溶性总糖 (TS)。

1.5 分析测定方法

1.5.1 还原糖测定

采用 3,5-二硝基水杨酸 (DNS) 法^[4]。

1.5.2 木聚糖酶活力测定^[5]

以质量浓度为 1.2% 的木聚糖 (sigma 公司) 为底物, 在 pH 4.8, 50℃ 水浴中酶解反应 30 min, 用 DNS 法测定反应所生成的还原糖。在上述条件下, 每分钟催化产生 1 μ mol 还原糖 (以木糖计) 所需要的木聚糖酶定义为 1 个国际单位 (IU)。以纯木糖 (sigma 公司) 作标准曲线。

1.5.3 可溶性总糖测定

取一定量的样品 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液加入 H₂SO₄, 使 H₂SO₄ 质量分数达 6.5%, 100℃ 下反应 2 h, 20% NaOH 中和反应液, 过滤, 滤液采用 DNS 法测定还原糖。

$$\text{低聚木糖得率}(\%) = \frac{\text{可溶性总糖浓度}}{\text{木聚糖底物浓度}} \times 100\%$$

1.5.4 平均聚合度 (DP)

$$\text{平均聚合度 (DP)} = \text{TS/RS}$$

2 结果与讨论

2.1 玉米芯木聚糖的提取

2.1.1 NaOH 浓度对木聚糖提取率的影响

第一作者: 硕士研究生 (夏黎明为通讯作者)。

收稿日期: 2005-09-27

分别采用 1%~6% 质量浓度的 NaOH 从玉米芯中提取木聚糖,结果见图 1。

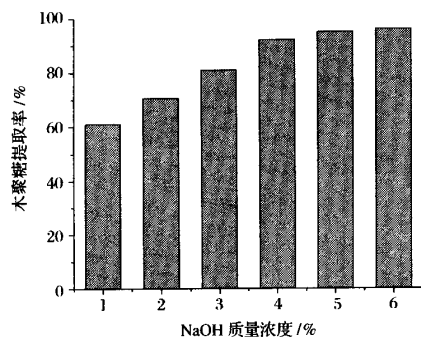


图 1 NaOH 浓度对玉米芯木聚糖提取率的影响

由图 1 看出,NaOH 质量浓度在 1%~4% 范围时,木聚糖提取率随碱液浓度的增加而迅速增加。NaOH 质量浓度为 4% 时,木聚糖提取率为 91.4%。当 NaOH 质量浓度超过 4%,木聚糖提取率虽略有提高,但考虑到碱液浓度太高,对后续的脱盐以及酶水解会造成困难,因此宜选择 NaOH 的质量浓度为 4%。

2.1.2 温度对木聚糖提取率的影响

采用 4% 质量浓度的 NaOH 溶液在不同温度条件下从玉米芯中提取木聚糖,结果如图 2。

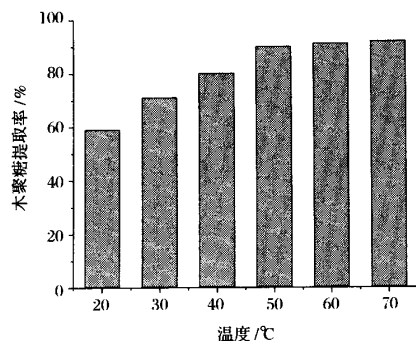


图 2 温度对玉米芯木聚糖提取率的影响

图 2 可以看出,木聚糖提取率随温度的升高呈上升趋势。当温度处于 20~50℃ 时,随着温度的升高,木聚糖提取率急剧上升。50℃ 时,木聚糖的提取率为 91.0%,超过 50℃ 时,木聚糖提取率变化不大,同时实验中发现,随着温度升高,提取液色素含量随之增加,导致提取液颜色加深,故选择适宜的抽提温度为 50℃。

2.2 木聚糖的酶法水解

2.2.1 木聚糖的酶解进程

木聚糖底物在酶用量为 50 IU/g 的条件下,酶解

0.3~24 h,结果如表 1。

表 1 木聚糖的酶解进程

酶解时间 /h	还原糖 /mg·mL ⁻¹	可溶性总糖 /mg·mL ⁻¹	平均 聚合度	低聚木糖得率 /%
0.0	0.02	1.39	70	—
0.3	1.52	19.74	13.0	65.8
0.5	7.58	27.36	3.61	91.2
1.5	11.11	27.45	2.47	91.5
4.5	12.66	27.60	2.18	92.0
8	13.69	27.81	2.03	92.7
12	14.01	28.02	2.0	93.4
24	14.09	28.32	1.9	94.4

由表 1 可以看出,酶解反应初期(0.5 h),产物的平均聚合度迅速下降,由起始的 70 降至 3.61,酶解液中可溶性总糖浓度也快速提高到 27.36 mg/mL。这显示所采用的木聚糖酶具有很高的内切型木聚糖酶活力,可快速切断主链 β -1,4 木糖苷键,生成短链低聚物^[6]。酶解 1.5 h 后,产物的平均聚合度及低聚木糖得率变化趋缓,这是由于产物低聚木糖对酶的反馈抑制作用增强所致,同时也显示出所用的木聚糖酶制剂中缺乏木二糖酶,而这一特性对于低聚木糖的制备是有利的。综合考虑低聚木糖得率和产品的平均聚合度,在制备低聚木糖时,适宜的酶解时间为 0.5 h。

2.2.2 酶解温度

木聚糖底物在酶用量为 50 IU/g,40~60℃ 条件下酶解 0.5 h。由表 2 可知,低聚木糖得率随着酶解温度的升高而迅速增加,在 50℃ 时到达最大值 91.2%,随后低聚木糖得率急剧下降。这是因为,酶解反应存在一个最适宜温度,当温度低于最适宜反应温度时,木聚糖酶酶活受到抑制,酶解速率较低,低聚木糖得率不高;而过高的酶解温度虽然可以提高木聚糖酶酶解速率,但同时也加快了酶的热失活速率。所以选择适宜的木聚糖酶酶解温度为 50℃。

表 2 反应温度对低聚木糖制备的影响

反应温度 /°C	还原糖 /mg·mL ⁻¹	可溶性总糖 /mg·mL ⁻¹	平均聚合度	低聚木糖得率 /%
40	4.22	21.15	5.01	70.5
45	7.11	26.31	3.70	87.7
50	7.58	27.36	3.61	91.2
55	1.99	15.72	7.88	52.4
60	0.21	10.58	49.90	35.3

2.2.3 反应体系的 pH 值

木聚糖底物在酶用量为 50 IU/g 酶解 0.5 h,由表 3 可知,反应体系的 pH 值是影响木聚糖酶酶活的关键因子,当反应体系的 pH 值大于 5.5 或小于 4.5 时,酶活力下降很快,酶解产物的平均聚合度较大,低

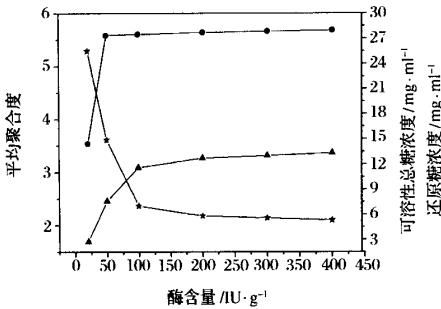
聚木糖得率较低。当反应体系的 pH 值在 4.5~5.0 时,低聚木糖得率均到达 90% 以上,在木聚糖酶的最适 pH 4.8 时达到最高,低聚木糖得率为 91.2%,平均聚合度为 3.61。

表 3 pH 值对低聚木糖制备的影响

pH	还原糖 /mg·mL ⁻¹	可溶性总糖 /mg·mL ⁻¹	平均聚合度	低聚木糖得率 /%
4.0	5.10	24.84	4.87	82.8
4.5	7.45	27.03	3.63	90.1
4.8	7.58	27.36	3.61	91.2
5.0	7.46	27.09	3.63	90.3
5.5	4.18	21.36	5.11	71.2
6.5	0.33	11.01	33.31	36.7

2.2.4 酶用量对低聚木糖制备的影响

酶用量对低聚糖制备的影响见图 3。



● — 可溶性总糖浓度 — ▲ — 还原糖浓度
图 3 酶用量对低聚木糖制备的影响

图 3 为不同酶用量条件下反应 0.5 h 时木聚糖底物的酶解结果。由图 3 可以看出,在相同的底物浓度和反应时间情况下,当每克底物的酶用量从 20 IU 增加到 50 IU 时,低聚木糖得率从 48% 增加到 91.2%,平均聚合度则从 5.29 下降到 3.61。当酶用

量大于 50 IU/g 底物时,低聚木糖得率无明显增加。综合考虑酶解成本和产品的平均聚合度,每克底物的木聚糖酶用量以 50 IU 为宜。

3 结 论

(1)玉米芯在固液比 1:10,NaOH 质量浓度 4%,50℃ 条件下抽提 24h,木聚糖提取率为 91.0%。

(2)黑曲霉木聚糖酶可迅速降解木聚糖底物,适用于制备低聚木糖。优化的酶解工艺条件为:50℃,pH 4.8,底物浓度 3.0%,木聚糖酶用量 50IU/g 底物。反应时间 0.5h。在上述反应条件下,产品平均聚合度为 3.61,低聚木糖得率为 91.2%。

(3)玉米芯是农业纤维废弃物,利用玉米芯酶法制备功能性低聚木糖,在资源利用、环境保护以及促进产业化结构调整等方面均具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 陈瑞娟. 新型低聚糖的介绍[J]. 食品与发酵工业,1993,19(2):82~90
- 2 郑建仙,耿立萍. 功能性低聚糖析论[J]. 食品与发酵工业,1997,23(1):39~46
- 3 邵蔚蓝,薛业敏. 以基因重组技术开发木聚糖类半纤维素资源[J]. 食品与生物技术,2002,21(1):88~93
- 4 Miller G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar[J]. Analytical Chem,1959,31(3):426~428
- 5 Mary M F. Purification and characterization of endoxylanase from *Aspergillus niger* [J]. Biotechnol Bioeng,1985,27:525~532
- 6 Biely P. Microbial xylanolytic systems[J]. Trends in Biotechnol,1985(3):286~290

Production of Xylooligosaccharides from Corncobs by Xylanase Hydrolysis

Zhang Jinyong Ding Xinghong Xia Liming

(Department of Chemical Engineering and Bioengineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

ABSTRACT Xylooligosaccharides production was carried out by enzymatic hydrolysis of xylan, which was obtained from corncobs treated with 4% NaOH solution at liquid-to-solid ratio 10:1 for 24 hours at 50℃. The yield of xylan extracted from corncob was 91.0%. The optimized process conditions for xylooligosaccharides production were as follows: reaction temperature 50℃, pH value 4.8, xylan substrate concentration 3.0%, xylanase amount, 50IU/g substrate, hydrolysis time 0.5 hours. The average degree of polymerization (DP) of the product was 3.61 and the total yield of xylooligosaccharides reached 91.2%. The results showed that the potential application of renewable hemicellulosic resource.

Key words corncob, xylan, xylanase, hydrolysis, xylooligosaccharides