

米糠阿拉伯木聚糖提取工艺优化

迟燕平¹, 胡楠楠², 卢敏², 刘香英¹

(1. 吉林省农业科学院农产品加工研究所, 长春 130033; 2. 长春大学食品科学与工程学院, 长春 130022)

摘要:以米糠为原料, 在单因素试验的基础上, 采用二次通用旋转组合设计方法, 研究碱性过氧化氢提取阿拉伯木聚糖过程中, NaOH 浓度、H₂O₂ 浓度和温度 3 个因素对其得率的影响。结果表明, 最佳提取工艺为 NaOH 浓度 0.72 mol/L, H₂O₂ 浓度 1.25%, 提取温度为 66℃, 在此条件下阿拉伯木聚糖的得率为 23.47%, 其纯度为 66.31%。

关键词:米糠; 阿拉伯木聚糖; 二次通用旋转组合设计

中图分类号: TS244

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2016)05-0097-05

Optimization of Extraction Process of Arabinoxylan from Rice Bran

CHI Yanping¹, HU Nannan², LU Min², LIU Xiangying¹

(1. Institute of Agricultural Products Processing Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; 2. College of Food Science and Engineering, Changchun University, Changchun 130022, China)

Abstract: Using rice bran as materials, effects of the concentration of NaOH, H₂O₂ concentration and temperature on the yield of arabinoxylan were examined by means of quadratic general rotary unitized design of the single factor test. The results showed that the highest yield of arabinoxylan was got when the concentration of NaOH was 0.72 mol/L and H₂O₂ concentration was 1.25% at temperature of 66℃. Under this conditions, the yield of arabinoxylan was 23.47%, and its purity was 66.31%.

Key words: Rice bran; Arabinoxylan; Quadratic general rotary

米糠作为稻谷的主要加工产物, 不仅产量大, 而且营养丰富^[1]。米糠虽然只占稻谷总重的 6% ~ 8%, 却含有稻谷 64% 的营养成分及 90% 以上的人体必需元素^[2]。目前我国米糠的综合利用率还不到 10%^[3], 因此, 米糠综合利用的前景十分广阔。阿拉伯木聚糖 (Arabinoxylan, 简称 AX) 是米糠中的一种重要的非淀粉多糖, 具有较多的生理活性, 比如降血脂^[4]、降血糖^[5]、益生活性^[6]、增强免疫力^[7]、抗肿瘤^[8]等。在碱性条件下, AX 结构中其共价酯键会被打断能够使 AX 游离出来^[9]。Doner 等^[10]用氢氧化钠和氢氧化钙溶液从玉米纤维中提取了 39% 的阿拉伯糖和 50% 的木糖。郑学玲等^[11]用 NaOH 和 Ca(OH)₂ 提取麦麸中的 AX。本文采用碱性过氧化氢的方法来提取 AX, 并利用二次通用旋转组合设计对米糠中 AX 的提取工艺进行了优

化, 旨在提高米糠中 AX 的得率及其纯度, 使米糠资源得到合理利用。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

米糠, 吉林省农业科学院水稻所提供。

耐高温 α -淀粉酶和中性蛋白酶为生化试剂; 木糖、地衣酚、甲醇、乙醇、过氧化氢、氢氧化钠、盐酸为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

电子天平: 赛多利斯科学仪器有限公司; 数显恒温磁力搅拌器: 杭州仪表电机有限公司; Sorvall Evolution RC 落地式高速冷冻离心机: 美国赛默飞世尔科技; 722e 型可见分光光度计: 上海光谱仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 米糠的预处理

对米糠进行甲醇脱脂, 烘干得脱脂米糠。以料液比 1:8 开水煮沸 30 min, 调节其 pH 值为 5.6, 控制温度在 80℃, 加入 150 U/g 的耐高温 α -淀粉

收稿日期: 2016-05-23

基金项目: 吉林省科技支撑计划重点科技攻关项目 (2013020604NY)

作者简介: 迟燕平 (1977-), 女, 副研究员, 博士, 从事农副产品综合利用研究。

酶,并不断搅拌,反应 10 min,冷却。保持温度在 50℃,调节 pH 为 7.0,加入 160 U/g 中性蛋白酶,水解反应 50 min,离心(5 000 r/min, 15 min),弃去上清液,用热蒸馏水冲洗沉淀数遍,直至洗涤液不再浑浊,再利用 95% 的乙醇和丙酮分别清洗两遍,60℃烘干 10 h 备用。

1.3.2 阿拉伯木聚糖的提取^[6]

取脱淀粉脱蛋白的米糠粗纤维,10 倍水洗沥干,湿米糠与水按 1:4 混匀,用 4 mol/L 的盐酸调节 pH 值为 3.5,过夜,清水洗至 pH 为 7.0,沥干水,105℃烘干。称取烘干样品,按 1:30 比例加入蒸馏水,加入 H₂O₂ 和 NaOH,在恒温水浴提取 2 h 后离心(4 200 r/min, 15 min),取上清液,用 4 mol/L 的盐酸调节 pH 为 4.5,再离心,取上清,适度浓缩后用 65% 的乙醇沉淀过夜,离心,收集沉淀,沉淀用无水乙醇反复洗涤,干燥得到 AX 并称重。计算其得率:

$$\text{得率} = \frac{\text{碱提得到的 AX (g)}}{\text{米糠前处理的样品 (g)}} \times 100\%$$

1.3.3 标准曲线的制作和 AX 含量的测定

采用盐酸地衣酚^[12]的方法测定 AX 的含量。准确称量木糖 0.100 g(已烘干至恒重),定容至 100 mL,再稀释 10 倍至浓度为 100 μg/mL。分别移取 100 μg/mL 的木糖标准液 0 mL、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL 和 2.0 mL,用蒸馏水补至 3 mL,再分别加入 3 mL 0.1% FeCl₃ 浓盐酸溶液和 0.3 mL 1% 地衣酚无水乙醇溶液,混匀,沸水浴反应 30 min,迅速冷却,以空白管为参比,于 670 nm 和 580 nm 下比色。以所得吸光值之差为纵坐标,对应的木糖溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线。得到标准曲线: $Y=0.0116X+0.0044$, $R^2=0.99695$ 。

式中:Y-样品在 670 nm 和 580 nm 下的吸光度值之差;X-木糖浓度(μg/mL)。

称量 100 mg 碱提 AX,并加入 20 mL 2 mol/L HCl 于具塞试管中,100℃水浴加热 3 h;然后把水解液适度稀释。准确移取 1 mL 稀释液于具塞试管中,分别加入 2 mL 蒸馏水、3 mL 0.1% FeCl₃ 浓盐酸溶液及 0.3 mL 1% 的地衣酚无水乙醇溶液,漩涡混合仪混合均匀,沸水浴中反应 30 min(以样品放入后再次沸腾开始计时),反应结束,迅速冷却至室温,于 670 nm、580 nm 下测定吸光度。

$$\text{阿拉伯木聚糖含量 (\%)} = \frac{C \times n \times 0.88 \times 100}{m \times 10^6}$$

式中:C-由标准曲线得到木糖值;0.88-阿拉伯木聚糖的转换因子;n-稀释倍数;m-样品干重(g)。

1.3.4 二次回归旋转正交组合设计

(1)单因素试验。单独考察 NaOH 的浓度(0.2 mol/L、0.4 mol/L、0.6 mol/L、0.8 mol/L、1.0 mol/L)、H₂O₂ 的浓度(0.5%、0.75%、1.0%、1.25%、1.5%)和提取温度(30℃、40℃、50℃、60℃、70℃)对 AX 得率的影响。

(2)二次回归旋转组合设计。在单因素试验结果的基础上,根据二次回归旋转正交组合设计,以 NaOH 的浓度、H₂O₂ 的浓度和提取温度作为响应变量,分别用 A、B、C 表示,以 AX 的得率(Y)为响应值,通过对提取条件的优化,采用 DPS 软件对试验数据进行分析。试验因素、水平及编码见表 1。

表 1 通用旋转组合设计的因素水平编码表

水平	因素		
	A NaOH 浓度 (mol/L)	B H ₂ O ₂ 浓度 (%)	C 提取温度 (℃)
-1.682	0.40	1.00	50
-1	0.48	1.10	54
0	0.60	1.25	60
1	0.72	1.40	66
1.682	0.80	1.50	70

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 NaOH 浓度对 AX 得率的影响

如图 1 所示,随着 NaOH 的浓度逐渐增加,AX

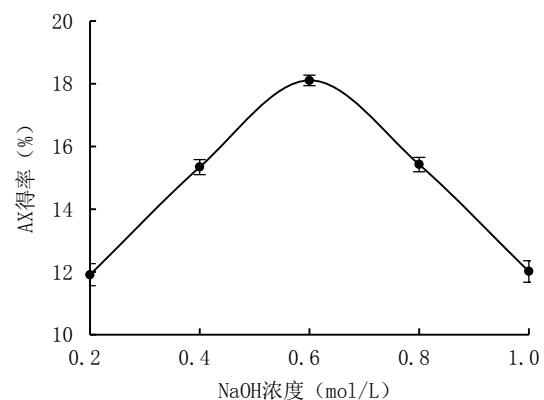


图 1 NaOH 浓度对 AX 得率的影响

的得率是先增加后减小。这是由于在碱性条件下,分子间的共价键被打断,水不溶性 AX 被提取出来;而当 NaOH 浓度过高时又会破坏糖结构,使其活性丧失,因此选用 NaOH 的浓度为 0.6 mol/L。

2.1.2 H₂O₂ 浓度对 AX 得率的影响

如图2所示,随着 H_2O_2 浓度的增加,AX得率一直有增大趋势,但当 H_2O_2 浓度达到1.25%以后,AX的得率稍有下降。可能由于多糖和木质素的连接会被 H_2O_2 打断,AX释放出来,而当 H_2O_2 的浓度过高时又导致多糖降解而使AX浓度下降,因此选用 H_2O_2 的浓度为1.25%。

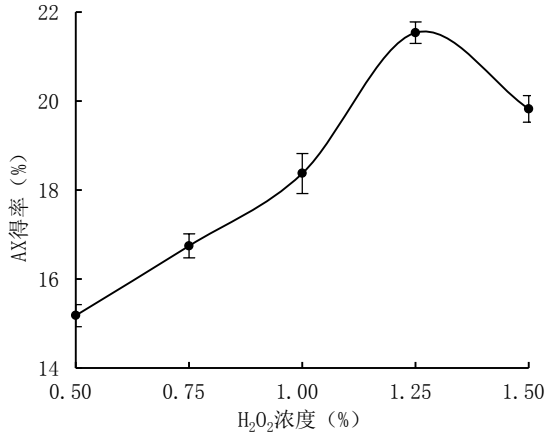


图2 H_2O_2 浓度对AX得率的影响

2.1.3 提取温度对AX得率的影响

如图3所示,AX得率随提取温度的升高而增大,但由于过高的温度会使糖分解而丧失活性,考虑到试验耗能及便于控制等因素,提取温度控制在60~70℃为宜。

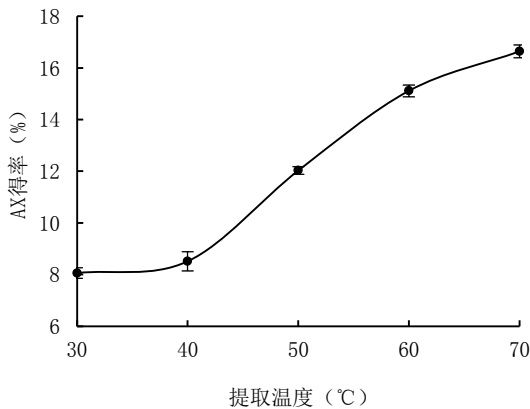


图3 提取温度对AX得率的影响

2.2 二次回归旋转组合设计及试验结果

在单因素试验的基础上,选取各因素较佳的水平进行二次回归旋转正交组合设计,结果见表2。

以NaOH的浓度(A)、 H_2O_2 的浓度(B)和提取温度(C)作为试验因素,阿拉伯木聚糖得率(Y)为目标函数,运用三元二次通用旋转组合方法对Y进行数据分析。

由表3可知,关于Y的回归方程显著性检验 $F_2=13.120\ 65>F_{0.05}(9, 10)=4.94$,说明该模型极显著($P<0.01$),而失拟项 $F_1=2.037\ 13<F_{0.01}(5, 5)=$

5.05,表明该回归模型与实际情况拟合较好。剔除 $\alpha=0.10$ 的不显著项后得到回归方程: $Y=22.35588+1.01730A+1.54447C-1.07975A^2-1.09212B^2-0.96484C^2-0.66375AB+0.68125AC+0.88875BC$ 。运用非线性规划对回归方程进行分析,当NaOH浓度为0.72 mol/L, H_2O_2 浓度为1.25%,提取温度为

表2 二次通用旋转组合试验结果

试验号	A	B	C	Y(%)
1	1	1	1	23.41
2	1	1	-1	17.89
3	1	-1	1	22.64
4	1	-1	-1	18.74
5	-1	1	1	21.79
6	-1	1	-1	17.06
7	-1	-1	1	16.43
8	-1	-1	-1	17.19
9	-1.681 8	0	0	17.96
10	1.681 8	0	0	20.15
11	0	-1.681 8	0	19.13
12	0	1.681 8	0	18.91
13	0	0	-1.681 8	17.09
14	0	0	1.681 8	21.67
15	0	0	0	20.98
16	0	0	0	22.81
17	0	0	0	22.76
18	0	0	0	22.82
19	0	0	0	22.01
20	0	0	0	22.84

表3 方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方和	F值	p值
A	14.133 5	1	14.133 5	16.438 1	0.002 3
B	1.673 0	1	1.673 0	1.945 8	0.193 2
C	32.576 9	1	32.576 9	37.888 9	0.000 1
A ²	16.801 5	1	16.801 5	19.541 1	0.001 3
B ²	17.188 8	1	17.188 8	19.991 5	0.001 2
C ²	13.415 8	1	13.415 8	15.603 3	0.002 7
AB	3.524 5	1	3.524 5	4.099 2	0.070 4
AC	3.712 8	1	3.712 8	4.318 2	0.064 4
BC	6.319 0	1	6.319 0	7.349 4	0.021 9
回归	101.530 5	9	11.281 2		0.000 2
剩余	8.598 0	10	0.859 8	$F_2=13.120\ 65$	0.000 2
失拟	5.767 2	5	1.153 4		
误差	2.830 8	5	0.566 2	$F_1=2.037\ 31$	0.226 7
总和	110.128 5	19			

66℃时,AX得率达到23.55%,影响AX得率的主次因素为:C(提取温度)>A(NaOH浓度)>B(H₂O₂浓度)。

2.3 单因素效应分析

将三个因素其中两个固定于0水平,就可以得到另一个因素对AX得率的单因素效应,根据各因素的偏回归模型做图4。三因素对AX得率

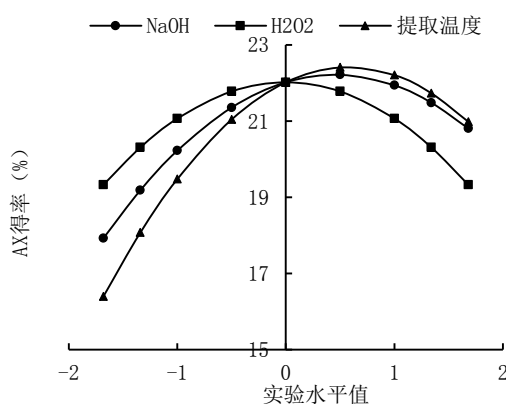


图4 单因素效应分析图

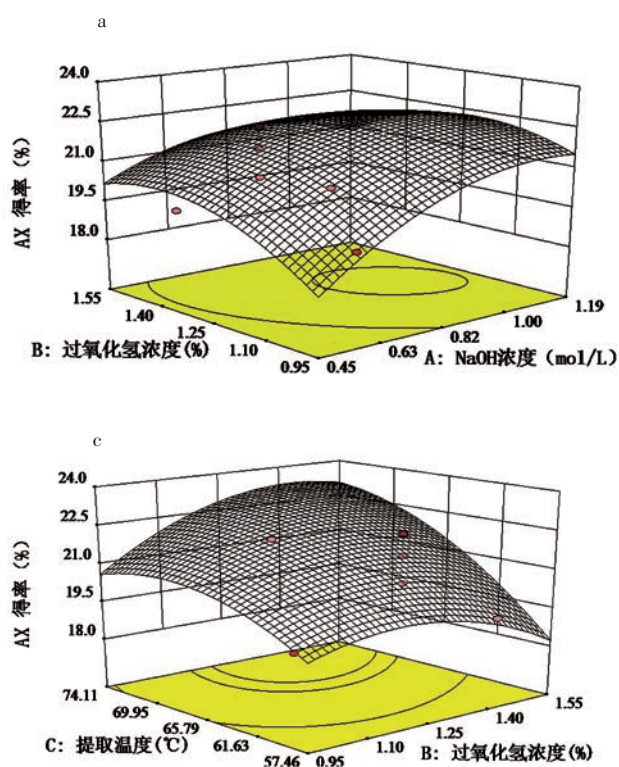


图5 各因素交互作用响应面图

3 结论

(1)以NaOH浓度(A)、H₂O₂浓度(B)和提取温度(C)作为试验考察因素,AX得率为因变量(Y),

的影响趋势均呈先增大后减小的趋势。其中提取温度的变化趋势最为明显,其次为NaOH浓度,说明提取温度对AX得率的影响最大。

2.4 各因素交互作用

由表3可知,A与B,A与C,B与C之间均存在显著的交互效应。如图5所示,提取温度对AX得率影响较大,温度的AX得率逐渐增加。图5a可知在一定NaOH浓度下,随着H₂O₂浓度的增加,AX得率先增加后减小,NaOH浓度也是相同的趋势。由图5b和c可知,H₂O₂浓度对AX得率影响较NaOH浓度要稍小。

2.5 验证试验

由DPS软件得出的AX的最佳提取条件为:NaOH浓度为0.72 mol/L,H₂O₂浓度为1.25%,提取温度为66℃时,AX得率达到23.55%。此条件下做验证试验,所得AX得率为23.47%,纯度为66.31%,与理论值23.55%接近,说明该模型能较好地预测实际提取量。

通过三元二次通用旋转组合设计,得到回归模型: $Y = 22.35588 + 1.01730A + 1.54447C - 1.07975A^2 - 1.09212B^2 - 0.96484C^2 - 0.66375AB + 0.68125AC + 0.88875BC$ 。

(2)通用旋转组合试验设计结果表明,NaOH浓度为0.72 mol/L,H₂O₂浓度为1.25%,提取温度为66℃时,AX得率达到最大值。主因素效应分析表明:C(提取温度)>A(NaOH浓度)>B(H₂O₂浓度)。

参考文献:

- [1] 邹陶.米糠综合利用技术研究[D].福州:福建农林大学,2014.
- [2] 印铁,曹秀娟,张晓琳,等.米糠增值转化应用的研究进展[J].粮油食品科技,2015,23(1):84-88.
- [3] 郭应安.米糠原油的制取[J].粮油食品科技,2013,21(1):31-32.
- [4] 王金华,张声华,陈雄,等.麦糟戊聚糖降脂功能研究[J].

- 食品科学,2005,26(9):450-452.
- [5] Lu Z X,Walker K Z,Mujr J G. Arabinoxylan fibre improves metabolic control in people with type II diabetes[J]. Europ J Clinical Nutrition,2004,58(3):621-628.
- [6] 张梅红. 小麦麸皮阿拉伯木聚糖的制备及益生活性研究[D].北京:中国农业科学院,2013.
- [7] Zhou S M, Liu X Z, Guo Y, et al. Comparison the immunological activities of arabinoxylans from wheat bran with alkali and xylanase-aided extraction[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 819 (4):784-789.
- [8] Vardakou M,Carmen N P,Gasson M. Invitro three-stage continuous fermentation of wheat arabinoxylan fract and induction of hydrolase activity by the gutmicroflora[J]. Bio Macromolecules, 2007, 41(5):584-589.
- [9] 刘 静,刘俊康. 玉米麸皮中阿拉伯木聚糖的提取、结构及性质[J]. 应用化工,2015,44(2):303-306,310.
- [10] L W Doner, H K Chau, M L Fishman, et al. An improved process for isolation of Corn Fiber Gum[J]. Cereal Chem,1998, 75 (4):408-411.
- [11] 郑学玲. 小麦麸皮戊聚糖的分离制备、理化性质及功能特性研究[D]. 江苏:江南大学,2002.
- [12] Shogren M D, Hashimoto S, Pomeranz Y. Cereal Pentosans: Their estimation and significance I pentosans in wheat and milled wheat products[J]. Cereal Chemistry, 1987, 64(1):30-34.
- (责任编辑:范杰英)

2017年《黑龙江农业科学》征订启事

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊。是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库等多家权威数据库收录。

本刊内容丰富,栏目新颖,信息全面,可读性强。月刊,每月10日出版,国内外公开发行。国内邮发代号14-61,每期定价12.00元,全年144.00元;国外发行代号M8321,每期定价12.00美元,全年144.00美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅,漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。另有合订本珍藏版欢迎订购。2007年合订本每册定价80.00元,2008~2009年合订本每册定价90.00元,2010~2015年合订本每册定价180.00元,邮费各10.00元,售完为止。

地 址:哈尔滨市南岗区学府路368号《黑龙江农业科学》编辑部 邮 编:150086

电 话:0451-86668373 投稿网址:www.haasep.cn