

响应面法优化玉米芯木聚糖提取条件

华承伟¹, 谢凤珍², 陈晓静²

(1. 河南科技学院 生命科技学院, 河南 新乡 453003; 2. 河南科技学院 新科学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 为提高玉米芯中木聚糖得率, 采用响应面法对碱法提取玉米芯木聚糖条件进行优化。利用 Design-Expert 8 的 Min Run Res IV 多因子两水平设计, 对影响木聚糖提取的因素进行效应评价, 利用最峭攀登搜索法为响应面分析的中心组合设计确定中心区, 利用响应面分析得到优化提取条件。结果表明, 碱提温度、碱提时间、NaOH 质量分数和料液比对木聚糖提取率有显著影响, 其最佳条件为: NaOH 质量分数 16%, 温度 85 °C, 料液比 1:16, 提取时间 2.5 h。利用响应面法成功对玉米芯木聚糖提取条件进行优化, 提取率达到 25.6%。

关键词: 玉米芯; 木聚糖; 提取条件; 响应面; 优化

中图分类号: Q503 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)02-0157-04

Optimization of Extraction Conditions of Xylan from Corn Cob by Response Surface Methodology

HUA Cheng-wei¹, XIE Feng-zhen², CHEN Xiao-jing²

(1. School of Life Science and Technology, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China;
2. Xinke College, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: The conditions of alkali extraction for increasing xylan yield from corn cob were optimized by response surface methodology (RSM). Min Run Res IV design of Design-Expert 8 was used to evaluate the influence of different factors, and then the steepest ascent path was employed to determine the central region of the medium composition for the further central composite design (CCD). Four factors which had significant effects were screened out, including temperature, time, concentration of NaOH and the ratio of solid to liquid. The optimal composition of these factors were 16% of NaOH, 85 °C, liquid/material ratio of 1:16, and 2.5 h by RSM. Under the above conditions, the yield of corncob xylan was up to 25.6%.

Key words: corn cob; xylan; extraction conditions; response surface methodology; optimization

木聚糖是玉米芯、棉籽壳、木屑等细胞壁半纤维素的主要成分之一^[1], 主链由多个 β-D-吡喃木糖基通过 β-1,4-糖苷键连接的复杂分子多聚糖, 主链连有各种取代基, 分子中含有许多葡萄糖醛酸、乙酰基、阿拉伯糖、阿魏酸、香豆酸等侧链基团, 是自然界中非常重要的可再生资源^[2]。玉米芯是木聚糖含量较高的一种农业纤维废弃物, 据中国国家统计局统计报告称, 我国 2010 年玉米产量同比增长 8%, 达到 1.77 亿 t, 我国 2010 年玉米产量为 1.72 亿 t, 按

3 kg 玉米产 1 kg 玉米芯计算, 我国每年大约产玉米芯 0.57 亿 t 左右。然而玉米芯作为一种农业废弃物, 在很长时间内不能被充分利用, 绝大部分作为农家燃料被烧掉或作为粗饲料, 利用率很低, 造成很大的资源浪费。玉米芯中多聚戊糖占 35%~40%, 主要为木聚糖, 包括水不溶性(A)和醇不溶性(B)2 个组分, 是提取木聚糖的良好原料。

木聚糖具有免疫调节功能, 也是一种很好的膳食纤维, 可用于功能性食品的开发; 也可为低聚木

收稿日期: 2011-06-15

基金项目: 河南科技学院重点科研项目

作者简介: 华承伟(1972-), 男, 河南邓州人, 讲师, 博士, 主要从事食品生物技术研究。E-mail: hcwxfxhy@yahoo.cn

糖、木糖及木糖醇的开发提供原料,其中低聚木糖及木糖醇也是功能性食品常见成分。本研究对玉米芯进行预处理后的碱法提取木聚糖工艺进行响应面法优化,旨在为低聚木糖的生产工业化奠定基础,也为玉米芯资源的综合利用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料与设备

玉米芯(自然风干,河南新乡郊区);木糖(Sigma公司);氢氧化钠、盐酸、乙醇等(分析纯,天津科密欧化学试剂公司)。旋风式粉碎磨 JFS-13A(浙江托普仪器有限公司);SIGMA 3K30 离心机;紫外可见分光光度计 TU-1900(北京普析通用仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 木聚糖提取 准确称取一定量经旋风磨粉碎过筛的玉米芯,按 1:10(W/V)的量加入含 1%有效氯的 NaClO 溶液,室温搅拌 24 h,脱除原料色素及部分木质素。滤布压滤,收集滤渣,加入一定质量分数的 NaOH 溶液,充分搅拌,加热煮沸并保持一定时间后趁热用 50 μm 尼龙滤布压滤,滤液用浓盐酸中和至 pH 值 6.0,加入等体积去离子水充分搅拌后静置使之产生沉淀,收集上清,取沉淀,5 000 r/min离心 10 min,沉淀加入去离子水搅拌混匀后离心,重复 3 次,去除盐类及色素,80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,得到木聚糖 A 组分。上清加入一定体积工业乙醇(95%)醇沉 2 h,离心 10 min,沉淀加入 75%乙醇洗涤 3 次,烘干,得木聚糖 B 组分。合并 2 次得到的沉淀,得到木聚糖粗品。

1.2.2 木聚糖测定 准确称取木聚糖样品 1.000 0 g,加入到盛有 25 mL 0.5 mol/L 的硫酸溶液试管中,煮沸 2 h,冷却至室温,用 NaOH 中和至中性,移入 100 mL 容量瓶中,用去离子水定容。以木糖作标准,DNS 法测定还原糖质量^[3],其值乘以木聚糖聚合系数 0.9 作为木聚糖质量。提取率按下式计算:

$$\text{提取率} = \frac{m(\text{木聚糖质量})}{M(\text{玉米芯质量})} \times 100\%$$

1.2.3 Min Run Res IV 试验设计 Design-Expert

的 Minimum Run Equireplicated Res IV Design 是一个适用于 5~50 个因子,水平数为 2 的经济有效的试验设计。可以通过较少的试验次数,快速从众多因子中筛选出具有显著影响的因子。本研究在单因素试验的基础上,利用上述设计对 NaOH 质量分数(A),提取温度(B),料液比(C),玉米芯粒度(D),提取时间(E)和醇沉体积(F)6 种因素进行试验,每个因素取高(+1)和低(-1)2 个编码水平,试验设计见表 1,水平设置以实际水平代替编码水平。试验结果用 Design-Expert 8.0 进行方差分析及多元回归处理。

1.2.4 最峭攀登搜索法确定中心组合设计中心区 根据上述试验结果确定显著影响因素,以拟合的多元回归方程系数符号和大小确定爬坡方向和步长,使响应值快速接近最大响应中心。

1.2.5 响应面分析 采用中心组合设计(central composite design,CCD),每个因素取 5 个水平: $\pm\alpha$ (轴向点), ± 1 (因素点)和中心点,本试验中 $\alpha=2$,试验结果用 Design-Expert 8.0 进行分析。

1.2.6 试验结果的验证 对上述响应面分析结果进行可靠性分析,得到最优化试验结果。

1.3 统计学分析

本试验数据方差分析及多元回归分析采用 Design-Expert 8.0 软件。方差分析及回归方程的显著性检验采用 F -检验,以 $P < 0.05$ 为显著。多元回归模型拟合度采用 R^2 表示,以 $R^2 > 0.9$ 为优。回归模型拟合度失拟(Lack of Fit)以 $P > 0.05$ 判定为失拟不显著,说明回归模型与数据拟合较好。

2 结果与分析

2.1 显著性影响因子的筛选

Min Run Res IV 设计及试验结果(响应值为 R_1)见表 1,结果分析采用手动模式和主效应(main effects)分析。方差分析结果见表 2,以 P 值 < 0.05 为显著影响因子。得到的多元回归方程为: $R_1 = 17.3 + 1.5A - 0.31B + 1.07C - 0.16D - 0.29E + 0.21F, R^2 = 0.99$,所选模型显著。

表 1 Min Run Res IV 试验设计方案及响应值结果

序号	A/%	B/ $^{\circ}\text{C}$	C(1:x)	D/ μm	E/h	F/倍	提取率/%	序号	A/%	B/ $^{\circ}\text{C}$	C(1:x)	D/ μm	E/h	F/倍	提取率/%
1	10	100	5	250	4	2	14.0	8	20	60	10	830	2	4	21.2
2	10	60	5	250	2	2	15.4	9	20	100	10	830	4	4	20.0
3	10	100	10	250	2	4	16.9	10	20	60	5	830	4	2	17.7
4	10	60	10	830	4	2	16.9	11	20	100	5	250	2	4	17.8
5	10	60	5	830	2	4	15.4	12	20	100	10	250	4	2	18.7
6	10	60	10	250	4	4	19.8	13	10	100	5	830	2	2	14.5
7	10	100	5	830	4	4	14.2	14	20	60	10	250	2	2	19.7

表 2 Min Run Res^{IV} 试验结果方差分析

变异来源	平方和	自由度	均值	F 值	P 值	显著性
模型	71.82	6	11.97	89.14	<0.000 1	显著
A	24.00	1	24.00	178.72	<0.000 1	显著
B	1.14	1	1.14	8.46	0.022 7	显著
C	12.33	1	12.33	91.79	<0.000 1	显著
D	0.31	1	0.31	2.29	0.174 1	不显著
E	0.96	1	0.96	7.16	0.031 7	显著
F	0.53	1	0.53	3.91	0.088 4	不显著

试验结果显示,NaOH 质量分数、温度、料液比和提取时间对试验结果影响显著,而玉米芯粒度(μm)和乙醇体积对试验结果影响不显著。

2.2 中心组合设计中心点的确定

选取 NaOH 质量分数、温度、料液比和提取时间 4 个影响显著的因子,利用最峭攀登搜索法确定中心组合设计的中心点,根据多元回归系数结合实际情况,确定搜索方向和步长,结果见表 3。

表 3 最峭攀登搜索设计及试验结果

序号	A/%	B/ $^{\circ}\text{C}$	C(1:x)	E/h	提取率/%
1	5	100	5	4	19.8
2	10	90	10	3.0	22.2
3	15	85	15	2.5	24.6
4	20	80	20	2.0	23.2
5	25	75	25	1.5	17.6
6	30	70	30	1.0	16.9

由表 3 可知,在 NaOH 质量分数 15%、温度 85 $^{\circ}\text{C}$ 、料液比 1:15 和提取时间 2.5 h 条件下提取

率最高,因此,以上述条件作为试验的中心点。

2.3 中心组合设计及响应面分析

根据上面得到的中心点数据,利用 Design-Expert 8.0 响应面分析中的中心组合设计,设计 4 因素 5 水平(-2,-1,0,1,2; $\alpha=2$)的试验,试验增加 6 个中心点用于估算误差。试验设计和结果见表 4,水平设置以实际水平代替编码水平。

利用 Design-Expert 8.0 对试验结果进行二次多项式拟合,对表 4 的数据进行方差分析后,得到模型的二次多项式拟合方程为: $R_2 = -439.820 83 - 0.010 833A + 10.080 83B + 2.302 50C + 18.741 67E + 0.010 750AB + 0.008 25AC + 0.342 50AE + 0.005 75BC + 0.257 50BE - 0.067 500CE - 0.0576 25A^2 - 0.065 125B^2 - 0.088 625C^2 - 9.112 50E^2$ 。模型相关系数 $R^2 = 0.939$,接近 1,模型拟合较好。方差分析结果见表 5。NaOH 质量分数、温度、料液比和提取时间对响应值的影响见图 1。

表 4 中心组合设计方案及响应值结果

序号	A/%	B/ $^{\circ}\text{C}$	C(1:x)	E/h	提取率/%	序号	A/%	B/ $^{\circ}\text{C}$	C(1:x)	E/h	提取率/%
1	10	80	10	2	19.9	16	20	90	20	3	20.6
2	20	80	10	2	17.7	17	5	85	15	2.5	17.5
3	10	90	10	2	16.7	18	25	85	15	2.5	21.9
4	20	90	10	2	16.6	19	15	75	15	2.5	20.6
5	10	80	20	2	21.5	20	15	95	15	2.5	17.3
6	20	80	20	2	19.9	21	15	85	5	2.5	17.5
7	10	90	20	2	18.0	22	15	85	25	2.5	15.7
8	20	90	20	2	19.9	23	15	85	15	1.5	17.4
9	10	80	10	3	15.8	24	15	85	15	3.5	15.3
10	20	80	10	3	18.7	25	15	85	15	2.5	27.3
11	10	90	10	3	16.2	26	15	85	15	2.5	25.8
12	20	90	10	3	18.8	27	15	85	15	2.5	25.2
13	10	80	20	3	16.5	28	15	85	15	2.5	26.7
14	20	80	20	3	20.1	29	15	85	15	2.5	25.0
15	10	90	20	3	18.0	30	15	85	15	2.5	24.9

表 5 方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	341.05	14	24.36	16.51	<0.000 1	显著
Residual	22.14	15	1.48			
Lack of Fit	17.27	10	1.73	1.77	0.274 1	不显著
R-Squared values			0.939			

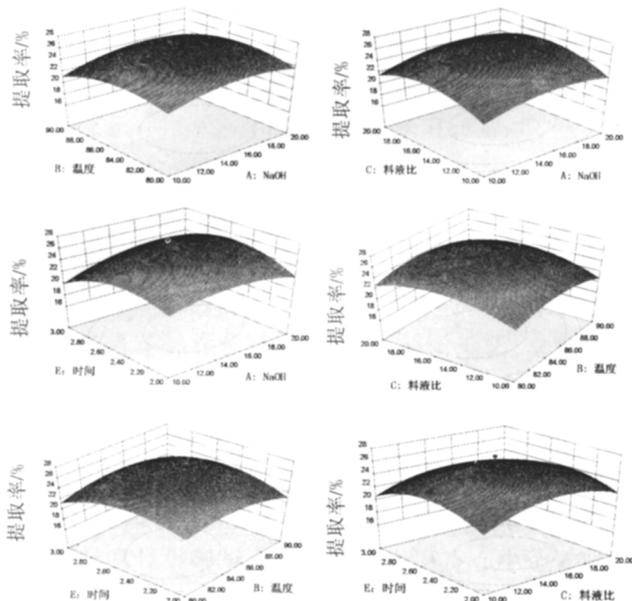


图 1 NaOH 质量分数、温度、料液比和提取时间对木聚糖提取率的影响

利用 Design-Expert 8.0 对回归方程进行优化, 优化结果为: NaOH 16%, 温度 85 °C, 料液比 1:16 和提取时间 2.5 h, 预测响应最大值 25.98%, 从响应面三维图可以看出, 各因子之间交互作用较好, 最佳预测点在试验考察范围内, 可以用此二次多项式回归方程得到的最优发酵条件对优化结果进行验证。

2.4 中心组合设计响应面优化结果验证

根据优化结果及实际试验操作条件, 采用 NaOH 16%、温度 85 °C、料液比 1:16 和提取时间 2.5 h 对模型进行 3 次以上试验验证, 木聚糖平均提取率达 25.6%, 与预测值接近。说明响应面分析得到的最优提取条件与预测结果符合实际。

3 讨论

玉米芯中的水不溶性玉米芯木聚糖约由 89.7% 的 D-木糖、6.5% 的阿拉伯糖、3.8% 的葡萄糖组成, 基本不含半乳糖。而醇不溶性木聚糖约由 81.0% 的 D-木糖、10.6% 的阿拉伯糖、3.8% 的葡萄糖、4.6% 的半乳糖组成, 其支链数高于水不溶性玉米芯木聚糖^[4]。玉米芯中木聚糖与木质素、纤维素等紧密结合, 难于被化学物质作用或酶解, 因此, 其提取之前需经过预处理破坏木聚糖和其他碳水化合物结合的化学键而便于提取。目前, 国内外常见的提取方法有蒸煮法、沉淀法、碱提法、蒸汽爆破法和超声波法等^[5-7]。蒸煮法污染小但提取率低且

还原糖含量高。蒸汽爆破法需在 150 °C 以上高温处理, 能耗高且还原糖和木寡糖含量高, 不利于生产所需要的高分子量木聚糖和低聚木糖。超声波法也需要结合稀硫酸和 110 °C 以上高温预处理, 然后经超强超声波处理, 但提取率最高也只能得到玉米芯总木聚糖的 39% 左右^[8], 另外, 这种方法不利于规模化生产。

碱法提取虽然造成一定的污染, 但提取率高, 所得木聚糖分子量高且产物中木糖等还原糖含量低。本试验采用次氯酸钠预处理, 可在一定程度上降解木质素, 去除色素。试验中发现, 过高质量分数的碱、温度及较长的提取时间虽然能增加总糖的提取量, 但木聚糖提取率低, 可能与木聚糖在较为剧烈的条件下降解有关, 因此有必要利用中心组合设计及响应面分析方法对碱法提取的重要影响因子进行优化。本试验木聚糖提取率达 25.6%, 还原糖及木寡糖含量低(数据未给出), 产品色泽为乳白色, 对于提高木聚糖得率及工业生产具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1] Obel N, Neumetzler L, Pauly M. Hemicelluloses and cell expansion[J]. Plant Cell Monographs, 2007, 6: 57-88.
- [2] 王海, 李里特, 石波. 玉米芯木聚糖和桦木木聚糖组成成分及结构的研究[J]. 食品科学, 2004, 25(3): 36-42.
- [3] Miller G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars[J]. Analytical Chemistry, 1959, 31: 426-428.
- [4] Ehrental I, Montgomery R, Smith F. The carbohydrates of gramineae II. The constitution of the hemicelluloses of wheat straw and corn cobs[J]. J Amer Chem Soc, 1954, 76: 5509-5513.
- [5] Garrote G, Herminia D, Parajo J C. Kinetic modeling of corncob autohydrolysis [J]. Process Biochemistry, 2001, 31: 571-578.
- [6] Yang R, Zhang C, Feng H, et al. A kinetic study of xylan solubility and degradation during corncob steaming [J]. Biosystems Engineering, 2006, 93(4): 375-382.
- [7] Wang Y, Zhang J. A novel hybrid process, enhanced by ultrasonication, for xylan extraction from corncobs and hydrolysis of xylan to xylose by xylanase[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 77: 140-145.
- [8] Yang W, Ajapur V K, Krishnamurthy K, et al. Expedited extraction of xylan from corncob by power ultrasound[J]. Int J Agric & Biol Eng, 2009, 2(4): 76-83.