河南农业科学,2012,41(3):157-160
Journal of Henan Agricultural Sciences

玉米芯木聚糖的碱法提取及其酶解产物研究

王俊丽,聂国兴*,臧明夏,于广丽,曹香林
(河南师范大学 生命科学学院,河南 新乡 453007)

摘要:为了探明碱法提取玉米芯木聚糖的最适条件,对玉米芯木聚糖的提取条件进行了研究,并对提取的不同木聚糖进行酶解。结果表明:碱法提取玉米芯木聚糖时,在100 g/L NaOH、1∶20固液比、60 ℃、3 h的条件下进行一次性提取,木聚糖得率达29.45%。提取液离心可得到纯度达80.5%的水不溶性木聚糖(wis-X),乙醇沉淀得到的水溶性木聚糖(ws-X)纯度为6.4%。wis-X的酶解产物是木糖和3种低聚木糖,ws-X的酶解产物是葡萄糖和3种低聚木糖。因此,玉米芯是制备wis-X和低聚木糖的理想原料,从简化工艺和节约成本角度考虑,碱提前不需稀酸预处理,适宜条件下提取1次即可。

关键词:玉米芯;木聚糖;碱法提取;酶解产物
中图分类号:TS201.2　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1004-3268(2012)03-0157-04

Xylan Extraction from Corncob by Alkaline Method and Study on Its Enzymatic Hydrolysates

WANG Jun-li, NIE Guo-xing*, ZANG Ming-xia, YU Guang-li, CAO Xiang-lin
(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: The alkaline method was used to extract xylan from corncob. The influence on xylan yield of some factors such as alkaline concentration, the ratio of solid to liquid, extraction time, extraction temperature, whether carrying on pretreatment, and the times of extraction was analyzed. Besides, the different ingredients of xylan extracted from corncob were hydrolyzed by xylanase. The results showed that one-time extraction under the conditions of 100 g/L NaOH, 60 ℃ and 3 hours with the ratio of solid to liquid of 1∶20, the xylan yield reached 29.45%. To centrifugalize the extraction solution could get water-insoluble xylan (wis-X) with the purity of 80.5%. The water-soluble xylan (ws-X) obtained by alcohol precipitation had the purity of 6.4%. Hydrolyzed by xylanase, wis-X generated xylose and three kinds of xylooligosaccharides(XOS). The enzymatic hydrolysates of ws-X were glucose and three kinds of XOS. Therefore, corncob is an ideal resource to produce wis-X and XOS. In consideration of the cost and simplifying processions, pretreatment with dilute acid and extraction more than one time are unnecessary.

Key words: corncob; xylan; alkaline method; enzymatic hydrolysate

玉米芯的综合利用价值越来越受到人们的重视,它不仅可以制作真菌的优良培养基,还能用来制备木糖醇[1-2]、糠醛[3]、木糖[4]等高附加值的产品。随着低聚木糖和木聚糖在功能性食品及医药市场的走俏,玉米芯作为其生产原料更是成为人们关注的焦点[5-6]。玉米芯是木聚糖含量最高的农副产品,含量高达36%~40%,是制备木聚糖和低聚木糖的最佳原料。从植物原料中提取和分离半纤维素的研究始于20世纪50年代[7],至今已研发出多种方法,根据所使用溶剂的不同,可归纳为三大类,即酸水解法、碱水解法和热水解法[8],其基本原理都是破坏半纤维素与纤维素、木质素及其他成分间的结合键,从

收稿日期:2011-10-13
基金项目:河南省重点科技攻关项目(092102210127);河南省高校科技创新人才支持计划项目(2010HASTIT020)
作者简介:王俊丽(1971-),女,河南汝南人,副教授,硕士,主要从事功能性糖的研究。E-mail:wangjunli1971@126.com
*通讯作者:聂国兴(1971-),男,河南长垣人,教授,博士,主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail:niegx@htu.cn

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

而使半纤维素游离出来。碱法是应用最早的提取木聚糖的经典方法，提取效果主要受碱溶液质量分数和温度的影响[9]。本研究探讨了碱法提取玉米芯木聚糖的最适条件，并对玉米芯木聚糖酶解产物进行了分析，以期为玉米芯木聚糖和低聚木糖的工业化生产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料、试剂

玉米芯颗粒（直径 0.33 mm）购自海玉玉米芯开发有限公司；黑曲霉木聚糖酶由河南师范大学动物营养与饲料实验室提供；桦木木聚糖购自 Sigma 公司；其他试剂均为分析纯。

3,5-二硝基水杨酸（DNS）显色液[10]的制备：取 750 mL 去离子水，微热后依次加入 10.00 g 3,5-二硝基水杨酸、16.00 g NaOH、5.00 g 苯酚、5.00 g 亚硫酸钠和 300.00 g 酒石酸钾钠，溶解后定容至 1 000 mL，于棕色瓶中室温下放置 1 周后使用。

1.2 试验方法

1.2.1 玉米芯木聚糖的提取和制备 采用氢氧化钠溶液进行提取。选取的单因素条件分别为：NaOH 溶液的质量浓度，10～200 g/L；固液比，1∶5～1∶30；温度，40～90 ℃；提取时间，1～6 h。提取后过滤，将滤液 pH 值调至 7。根据提取液的木聚糖得率确定最适碱质量浓度、固液比、提取温度和提取时间，在此条件下探讨稀硫酸预处理（按 1∶20 的固液比，将玉米芯于 0.1% H_2SO_4 溶液中室温浸泡 12 h，再用蒸馏水洗至 pH 值为 6，然后按以上条件进行碱法提取）和提取次数（第 1 次提取过滤后，收集滤渣，同样条件再提取 1 次，合并 2 次滤液）对木聚糖得率的影响。

对提取液进行离心，用蒸馏水洗涤沉淀数次得 wis-X，上清液与等量 95% 乙醇混合后离心得水溶性木聚糖 ws-X。wis-X 和 ws-X 于 50 ℃烘干后，分别用蒸馏水配制成 1% 的混悬液和水溶液，按照 1.2.2 的方法测定其中的木聚糖含量，即纯度。

1.2.2 糖含量测定 取一定体积的木聚糖提取液，加入等量 8% H_2SO_4 于 100 ℃水解 2 h，调 pH 值至 7，以 DNS 法测定其中的还原糖含量[10]。根据提取液中的还原糖含量，推算出木聚糖得率。

$$\text{木聚糖得率}=\frac{\text{提取液中还原糖质量}\times 0.88}{\text{玉米芯质量}}\times 100\%。$$

1.2.3 木聚糖酶解 按照 700 IU/g 木聚糖添加木聚糖酶，将 wis-X 和 ws-X 酶解 5 h，计算其酶解率，并与桦木木聚糖标准品相比较。

$$\text{酶解率}=\frac{\text{酶解液中的直接还原糖质量}}{\text{总还原糖质量}}\times 100\%。$$

1.2.4 酶解液薄层层析 将 wis-X、ws-X 及桦木木聚糖的酶解液进行薄层层析。展开剂[11]：正丁醇∶冰醋酸∶水＝2∶1∶1；显色剂[11]：苯胺-二苯胺显色剂。标准溶液：1% 木糖和葡萄糖标准品水溶液；点样量：2 μL。将标准液和试样液分别点于薄层层析板上，放入展开槽中展开，取出风干后喷上显色剂，在 85 ℃显色 10 min，冷却至室温。

2 结果与分析

2.1 提取条件对木聚糖得率的影响

木聚糖得率随着 NaOH 溶液质量浓度的增加而提高（图 1），当 NaOH 溶液质量浓度大于 100 g/L 时，木聚糖得率趋于稳定，故选择 100 g/L NaOH 为最适质量浓度。根据木聚糖得率，最佳固液比为 1∶20（图 2）。考虑木聚糖得率和提取效率，3 h 为最佳提取时间（图 3）。由图 4 可知，木聚糖得率随着提取温度的升高而提高，60 ℃之后提高幅度趋缓。另外，提取温度越高，能耗及对生产设备的要求也越高，且提取液的颜色加深，不利于后续的分离纯化，故选 60 ℃作为最适提取温度。

因此，玉米芯木聚糖提取的最佳单因素条件为：100 g/L NaOH、1∶20 的固液比、60 ℃、3 h，在此条件下，木聚糖得率达到 29.45%。

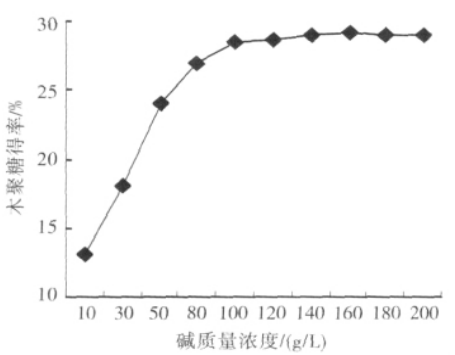


图 1 碱质量体积比对木聚糖得率的影响

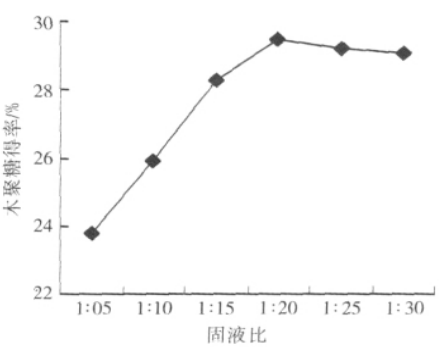


图 2 固液比对木聚糖得率的影响

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

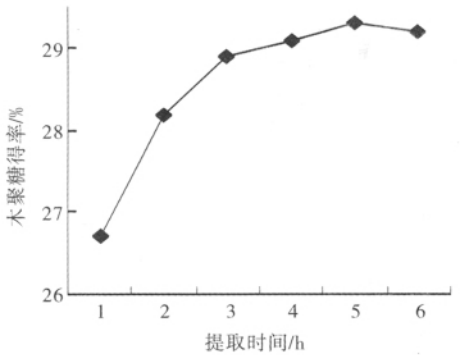


图 3　提取时间对木聚糖得率的影响

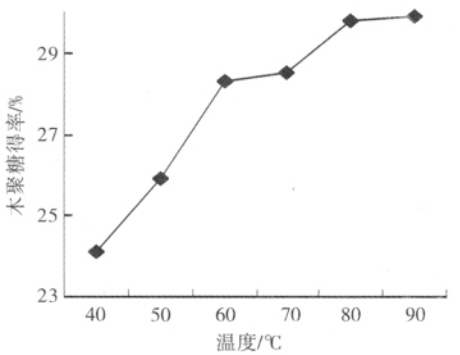


图 4　提取温度对木聚糖得率的影响

2.2　预处理和提取次数对木聚糖得率的影响

利用 2.1 得出的最佳单因素条件作为提取条件，比较是否稀酸预处理和不同提取次数对木聚糖得率的影响。由表 1 可知，经 1%稀硫酸预处理后，木聚糖得率比不处理有所提高。经过 1 次提取，木聚糖得率提高 1.47 个百分点；经过 2 次提取，木聚糖得率提高 0.94 个百分点。提取 2 次与提取 1 次相比，经稀酸处理和不经处理木聚糖得率分别提高 3.47 个百分点和 4.00 个百分点。

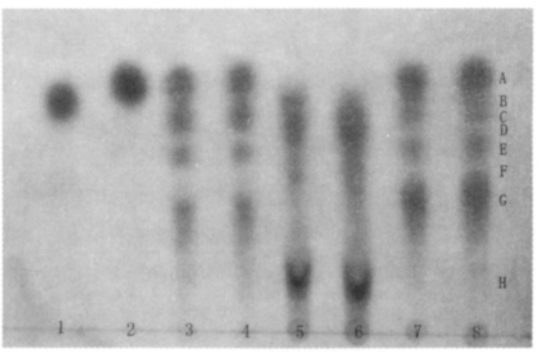
表 1　稀酸预处理和提取次数对木聚糖得率的影响

提取次数/次	木聚糖得率/%		木聚糖得率增加的百分点
	预处理	不进行预处理	
1	30.93	29.46	1.47
2	34.40	33.46	0.94
木聚糖得率增加的百分点	3.47	4.00	

2.3　wis-X 和 ws-X 的性质及酶解产物分析

对提取液进一步处理得到的 wis-X 纯度达 80.5%，未干燥时呈乳白色，黏度较大，烘干后呈棕黄色块状，质地坚硬，粉碎并溶于水后呈乳白色的悬浮液，乙醇沉淀得到的 ws-X 纯度为 6.4%，未干燥时呈深棕色，黏度较小，烘干后呈灰白色块状，质地疏松，粉碎并溶于水后呈深棕色澄清溶液。

wis-X、ws-X 及桦木木聚糖的酶解率分别为 30.25%、29.15%和 21.38%。薄层层析可知（图 5），wis-X 和桦木木聚糖酶解后的糖谱一致，有木糖（糖带 A）和 3 种聚合度较低的低聚木糖（糖带 C、E 和 G），且木糖含量较高；ws-X 酶解后未检测到木糖，但有少量的葡萄糖（糖带 B）和 3 种低聚木糖（糖带 D、F 和 H）。



1. 葡萄糖；2. 木糖；3、4. wis-X；5、6. ws-X；7、8. 桦木木聚糖

图 5　不同木聚糖酶解的薄层层析结果

3　结论与讨论

本研究通过单因素试验，确定了碱法提取玉米芯木聚糖的最适条件：100 g/L NaOH、1∶20 固液比、60 ℃、3 h，在此条件下进行一次性提取，木聚糖得率可达 29.45%。在此基础上探讨了是否稀硫酸预处理和不同提取次数对木聚糖得率的影响。稀酸预处理虽能提高木聚糖得率，但提高幅度不大，且后续的去酸处理步骤繁琐，效率较低，故提取玉米芯木聚糖时，稀硫酸预处理的意义不大。2 次提取可明显提高木聚糖得率，但碱提 2 次后木聚糖的质量分数和纯度均降低，提取液的成分更复杂，不利于后续的分离纯化，且提取 1 次即可达到较高的木聚糖得率。玉米芯资源丰富、价格低廉，从简化生产程序和节约成本等角度考虑，碱提 1 次即可。

对提取液进行离心可得到纯度达 80.5%的 wis-X，乙醇沉淀得到的 ws-X 纯度仅为 6.4%。说明碱法提取玉米芯木聚糖时产生的杂质主要为水溶性，从而导致 ws-X 的纯度非常低。因此，碱提法更适于制备水不溶性木聚糖。利用黑曲酶木聚糖酶对 wis-X 和 ws-X 进行酶解，相同条件下的酶解率分别为 30.25%、29.15%，说明黑曲酶木聚糖酶对玉米芯 wis-X 和 ws-X 的酶解效率是一致的。但两者的酶解产物有较大差异，wis-X 的酶解产物是木糖和 3 种低聚木糖，ws-X 的酶解产物是少量的葡萄糖和 3 种低聚木糖，提示 wis-X 和 ws-X 结构上的差异会导致酶解产物的显著不同。

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

参考文献：

[1] 张飞伟，苏艳秋，黄敏，等. 利用玉米芯水解液发酵生产木糖醇的研究[J]. 四川大学学报：自然科学版，2008，45(2)：451-454.

[2] 张朝晖，董丽辉，周晓云. 固定化酵母细胞发酵玉米芯酶解液生产木糖醇[J]. 纤维素科学与技术，2008，16(1)：1-6.

[3] 庄伟强，刘爱军. 利用玉米芯制取糠醛的最佳工艺条件研究[J]. 泰山学院学报，2003，25(3)：68-70.

[4] 蒋闻，李十中，王二强，等. 微波辐照玉米芯水解制取木糖的研究[J]. 太阳能学报，2008，29(8)：1045-1049.

[5] 马庆一，刘鑫，陈春涛，等. 酶法从玉米芯中获取木寡糖可行性的研究[J]. 食品科技，2006(9)：279-283.

[6] 舒国伟，张璐，刘谕，等. 玉米芯中提取木聚糖的研究[J]. 甘肃农业大学学报，2008，43(2)：131-135.

[7] Meier H. Barium hydroxide as a selective precipitating agent for hemicelluloses[J]. Acta Chemica Scandinavica，1958，12：144-146.

[8] Benko Z，Andersson A，Szengyel Z，*et al*. Heat extraction of cornfiber hemicellulose[J]. Appl Biochem Biotechnol，2007(136-140)：253-265.

[9] Hromádková Z，Kováčiková J，Ebringerová A. Study of the classical and ultrasound-assisted extraction of the corn cob xylan[J]. Industrial Crops and Products，1999，9：101-109.

[10] 聂国兴，李春喜，张建新，等. 底物浓度、DNS量对木聚糖酶活性测定结果的影响[J]. 饲料工业，2002，23(11)：24-25.

[11] 杨书艳，徐春梅，邬敏辰. 用玉米芯酸酶法制备低聚木糖的研究[J]. 安徽农业科学，2007，35(12)：3651-3653.

（上接第100页） 的肠道微生物进行抑菌活性研究，不仅可以为松毛虫的防治提供新的思路，而且可以充分利用紫茎泽兰生产出高附加值的产品，提高其活性物质和有效成分的利用率。

参考文献：

[1] 徐海根，王健民，强胜，等. 生物多样性公约热点研究：外来物种入侵、生物安全、遗传资源[M]. 北京：科学出版社，2004：24.

[2] 张修玉，许振成，宋巍巍，等. 紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum*)入侵地的生物多样性[J]. 生态环境学报，2010，19(7)：1525-1531.

[3] 李兵，周金玉，马武芬. 紫茎泽兰在云南等地的开发利用前景[J]. 现代农业科技，2008(17)：94-95.

[4] 范立鹏，王志刚，毕拥国，等. 紫茎泽兰乙醇提取物对美国白蛾幼虫的生物活性测定[J]. 河北农业大学学报，2010，33(3)：97-99.

[5] 张妙直，田兆丰，刘佳磊，等. 紫茎泽兰提取物对几种植物病原真菌的抑制作用[J]. 安徽农业科学，2010，38(12)：6090-6091，6105.

[6] 李永明，李正跃，叶敏. 紫茎泽兰不同部位的化学成分及其生物活性[J]. 云南农业大学学报，2008，23(1)：42-46.

[7] 侯陶谦. 中国松毛虫[M]. 北京：科学出版社，1987：6-31.

[8] 童清，刘宏屏. 思茅松毛虫研究进展[J]. 中国森林病虫，2009，28(4)：23-26.

[9] 胡光辉，刘云彩，王忠祥，等. 思茅松人工林主要虫害及其持续控制技术[J]. 西部林业科学，2007，36(4)：34-39.

[10] 叶景阳，王存荣. 松毛虫的危害与治理[J]. 国土绿化，2010(2)：45-46.

[11] 相辉，黄勇平. 肠道微生物与昆虫的共生关系[J]. 昆虫知识，2008，45(5)：687-693.

[12] Bogus M I，Kędra E，Bania J，*et al*. Different defense strategies of *Dendrolimus pini*，*Galleria mellonella*，and *Calliphora vicina* against fungal infection[J]. Journal of Insect Physiology，2007，53(9)：909-922.

[13] 闫乾胜，杨婕，李华民，等. 入侵物种紫茎泽兰化学成分及生物活性研究进展[J]. 北京师范大学学报，2006，42(1)：70-73.

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net