

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.04.015

陈海珊, 李涛涛, 周玉恒, 等. 蔗渣制备低聚木糖的有机酸预处理条件研究[J]. 广西植物, 2014, 34(4): 505-509

Chen HS, Li TT, Zhou YH, et al. Study on pretreatment conditions of organic acid to get xylooligosaccharide with bagasse[J]. *Guihaia*, 2014, 34(4): 505-509

蔗渣制备低聚木糖的有机酸预处理条件研究

陈海珊¹, 李涛涛², 周玉恒¹, 蔡爱华¹, 覃香香¹

(1. 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西植物研究所, 广西 桂林 541006; 2. 百色民族高级中学, 广西 百色 533000)

摘要: 采用有机酸法水解制备蔗渣低聚木糖, 通过单因素实验、正交试验研究了甲酸-乙酸比例、温度、水解时间、固液比等因素的影响, 以水解率、总糖收率和聚糖收率为考察指标, 得到有机酸法水解蔗渣制备低聚木糖的最优预处理条件为甲酸: 乙酸=9:1、水解温度 100 °C、水解时间 60 min、固液比 1:7, 在此条件下蔗渣水解率为 47.78%, 总糖收率 20.57%, 聚糖收率 11.88%。HPLC 检测结果显示: 水解物中木二糖含量为 17.69%, 木三糖为 11.23%, 更高聚合度聚糖所占比例为 29.42%, 木糖为 36.78%。半纤维素有机酸水解物可进一步通过木聚糖酶水解、分离制备低聚木糖。研究结果可为蔗渣制备低聚木糖新工艺提供科学依据。

关键词: 蔗渣; 有机酸; 低聚木糖

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2014)04-0505-05

Study on pretreatment conditions of organic acid to get xylooligosaccharide with bagasse

CHEN Hai-Shan¹, LI Tao-Tao², ZHOU Yü-Heng¹,
CAI Ai-Hua¹, QIN Xiang-Xiang¹(1. *Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guilin 541006, China*; 2. *National Baise Senior High School, The Guangxi Autonomous Region, Baise 533000, China*)

Abstract: Xylooligosaccharide of bagasse were hydrolyzed with organic acid by single factor and orthogonal experiments, through the research of the effecting factors such as the ratio, temperature, hydrolysis time and solid-to-liquid ratio of formic acid and acetic acid. With the hydrolysis rate, total sugar and polysaccharide yield as index, the optional pretreatment technological conditions with the hydrolysis of organic acid to get xylooligosaccharide were obtained as follows: formic acid: acetic acid=9:1, hydrolyzing temperature 100 °C, hydrolyzing time 60 min and solid-to-liquid ratio 1:7, and under this condition, bagasse hydrolysis rate was 47.78%, total sugar yield 20.57%, and polysaccharide yield 11.88%. The results of HPLC test showed that xylobiose content was 17.69%, Xylotriose 11.23%, polysaccharide with higher polymerization degree 29.42% and xylose 36.78% in the hydrolyzate, and the hydrolyzate of Hemicellulose organic acid could be furtherly hydrolyzed with xylanase and be separated to obtain xylooligosaccharide. The result of this study would provide the scientific basis for new technology to get xylooligosaccharide with bagasse.

Key words: bagasse; organic acid; xylooligosaccharide

蔗渣是甘蔗制糖产业中的大宗副产物, 资源集中, 产量大, 其木质纤维素主要由 30%~40% 纤维

素, 20%~25% 半纤维素, 15%~25% 木素构成。目前, 蔗渣大部分代替燃煤作为锅炉燃料, 以提供生产

收稿日期: 2014-04-09 修回日期: 2014-06-16

基金项目: 广西自然科学基金(2010GXNSFA013060, 2013GXNSFBA019053); 广西科学研究与技术开发计划重点项目(桂科重 14122003-5); 广西植物研究所基本业务费(桂植业 10001, 桂植业 13007); 广西植物功能物质研究与利用重点实验室主任基金(ZRJ2012-2, ZRJ2013-2)。

作者简介: 陈海珊(1970-), 男, 广西桂林人, 副研究员, 从事生物质化学的研究工作, (E-mail) chhs@gxib.cn。

用能量,但这一资源的初级利用方式所获得的经济价值并不高。蔗渣用于制浆造纸可为企业带来较好的经济效益,但生产上主要采用碱法制浆工艺,这一工艺只利用了蔗渣的纤维素部分,半纤维素与木质素则进入黑液而无法利用,带来沉重的环境治理压力,限制了产业发展。有机酸法制浆克服了传统碱法制浆的污染问题,利用甲酸、乙酸选择性脱除木质素和半纤维素,有效地分离制浆过程的半纤维素降解物和木质素等副产品,对纤维素的损伤小于烧碱制浆,可获得较高的纸浆得率(Jahan, 2006; Ruggiero, *et al.*, 1998; Ede, *et al.*, 1988; Poppius, *et al.*, 1986)。该制浆工艺简单,溶剂可以回收重复利用,几乎没有黑液生成。蔗渣甲酸法制浆过程中,在木质素溶出的同时,半纤维素戊糖单元之间的苷键断裂形成单糖或寡糖而溶出,不同的甲酸蒸煮条件下其降解速率有很大差别(涂启梁等, 2008)。

低聚木糖又称木寡糖,是由 2~7 个木糖通过 β -(1,4)糖苷键连接而成,通过水解玉米芯、蔗渣等富含半纤维素的原料得到。低聚木糖除了具有低热量、稳定、安全、无毒等理化特性外,还有许多优良的生理活性,不易被人体消化酶系统所分解,可高选择性地促进肠道内双歧杆菌增殖,(Jayapal *et al.*, 2013; Samanta *et al.*, 2013; Broekaert *et al.*, 2011;)。此外,低聚木糖具有降血脂、降血糖、抗氧化等功能(Gobinath *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011),是一种功能性寡聚糖,在食品、医药、饲料等领域有重要应用。制浆是目前人类社会最大规模的纤维素、半纤维素、木质素分离工业,如能以有机酸制浆工艺为基础,通过控制水解条件,获得丰富的低聚木糖原料,以满足未来社会对低聚木糖的大规模需求。本文首次提出了与有机酸制浆相结合的低聚木糖制备工艺,研究了高收率聚糖的有机酸水解条件,研究结果可为蔗渣制备低聚木糖新工艺提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 原料 甘蔗渣:购于广西来宾市糖厂的除髓蔗渣,取样烘干至恒重备用。

1.1.2 试剂 甲酸、乙酸均为国产分析纯。D-木糖、L-阿拉伯糖购自美国 SIGMA 公司;木二糖、木三糖标准品购于日本和光纯药工业株式会社。

1.1.3 仪器与设备 CBM-20A 高效液相色谱仪

(HPLC),RID-10A 示差折光检测器(日本岛津公司);HH-S 数显恒温水浴锅(金坛市正基仪器有限公司);WYT-J 手持糖度计(折射仪)(成都兴晨光学仪器有限公司);TL-5.0W 台式离心机(上海市离心机械研究所);R-200 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司)

1.2 方法

1.2.1 不同条件对蔗渣有机酸水解的影响 蔗渣有机酸水解条件:(1)有机酸比例:甲酸:乙酸=9:1;8:2;7:3;6:4;(2)水解温度为 100 °C;90 °C;80 °C;70 °C;(3)水解时间为 30、60、90、120 min;(4)固液比为 1:6;1:7;1:8;1:9。

准确称取 10.000 g 蔗渣于 150 mL 三角瓶中,按前述有机酸水解条件分别加入不同比例的有机酸,静置,待蔗渣充分浸润后加热水解,在设定时间内水解完成后固液分离,水解残渣用提取溶剂洗涤 3 次,真空抽滤,滤液合并于 250 mL 容量瓶中,定容。抽滤残渣烘干后称重,取一定量的水解液于旋转蒸发仪中回收有机酸溶剂至干,用少量热水分次溶解固体残留物中的可溶部分后移入容量瓶中定容待测。

1.2.2 分析方法 高效液相色谱法(HPLC)测定:检测方法采用文献(石国良等, 2010)方法,分别取标准品于 60 °C 烘干至质量恒定,于容量瓶中用超纯水配制成质量浓度为 10 g/L 的标准液。吸取 10 mL 已定容有机酸水解上清液,纯水稀释至糖浓度 5~10 g/L,取 10 mL 稀释液加入酸性阳离子交换树脂,强碱性阴离子交换树脂,20 mg 活性炭脱盐脱色净化,净化液离心澄清,经 0.22 μm 水性微孔滤膜过滤得检测样品。检测条件:高效液相色谱仪,示差折光检测器。色谱柱:BC-100 碳水化合物 Ca^{2+} 柱。柱温 85 °C,流动相为超纯水。流速为 0.5 mL/min。

水解液样品测试图谱对照标准品图谱,利用面积比法计算样品中糖含量。

$$\begin{aligned} \text{水解率} &= (\text{蔗渣量} - \text{水解残渣量}) / \text{蔗渣量} \times 100\% \\ \text{聚糖收率} &= \text{木寡糖} / \text{木聚糖量} / \text{蔗渣量} \times 100\% \\ \text{总糖收率} &= \text{总糖量} / \text{蔗渣量} \times 100\% \end{aligned}$$

2 结果与分析

2.1 不同甲酸、乙酸比例条件对蔗渣有机酸水解的影响

在不同甲酸、乙酸比例条件下,固液比 1:7, 100 °C 水解 60 min 后,水解率、聚糖收率和总糖收

率变化趋势如图 1 所示,从图 1 可以看出,随着甲酸比例的增加,水解率、聚糖收率和总糖收率均有所提高;当甲酸、乙酸比例达到 7:3 以后,水解率和总糖收率的增加幅度减小,增加的甲酸使半纤维素和木质素水解溶出更为彻底,水解率和总糖收率缓慢增加,当甲酸、乙酸比例在达到 9:1 时达到最高;聚糖收率的变化趋势不明显则是因为过多的甲酸作用于低聚糖导致部分低聚木糖被水解的缘故。为获得高质量的纸浆,应该尽可能使半纤维素、纤维素和木质素三大组分分离,所以在不影响聚糖收率的前提下选择甲酸:乙酸比例在 9:1 进行水解。据文献报道,甲酸是一种脱木素剂,在常压脱木素时速率很慢,需添加过氧化氢或提高蒸煮温度(Young, *et al.*, 1998),乙酸可降低脱木素的温度和压力(Ruggerio, *et al.*, 1998)。选择适宜的甲酸、乙酸比例,在一定温度、蒸煮时间条件下可选择性分离黑小麦的纤维素、半纤维素和木素,获得的纸浆化学性能和机械性能良好(Quoc, *et al.*, 2001)。文献报道的根据不同原料使用适当的甲酸、乙酸比例可以获得较好的水解效果与本实验结果类似。

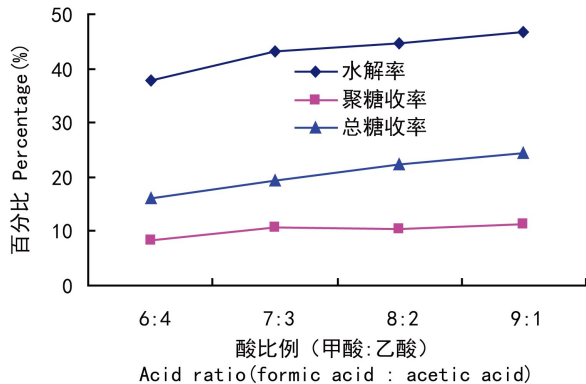


图 1 甲酸、乙酸比例对蔗渣水解效果的影响

Fig.1 Effect of the ratio of formic acid and acetic acid on the hydrolysis of bagasse

2.2 不同温度条件对蔗渣有机酸水解的影响

蔗渣在不同温度条件下,固液比 1:7,甲酸:乙酸比例为 9:1,水解 60 min 后,水解率、聚糖收率和总糖收率变化趋势如图 2 所示,在 70~90 °C 温度范围内水解率和总糖收率随着温度的升高而急剧增加;当温度达到 90 °C 之后,水解率和总糖得率增加的幅度变缓;聚糖收率则在 80 °C 之后就增长变慢,90 °C 时达到最高值,之后聚糖收率开始下降。这说明温度越高,木质素、半纤维素等越容易溶出,因而

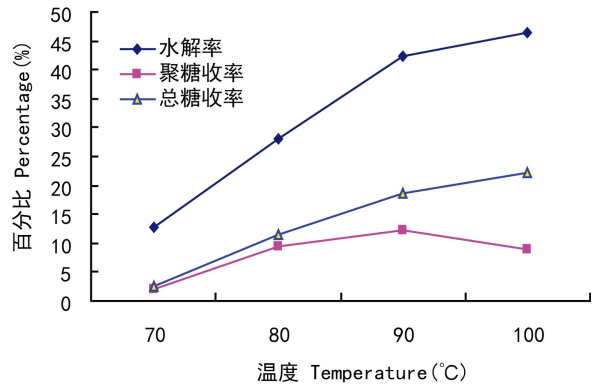


图 2 提取温度对蔗渣水解效果的影响

Fig. 2 Effect of the extracting temperature on the hydrolysis of bagasse

在相同的水解时间内,温度越高水解率和总糖收率就越高;而温度达到 80 °C 后,随着温度的升高,部分聚糖开始水解成单糖,90 °C 之后,半纤维素基本水解,聚糖水解增加。虽然增加温度可得到较高的水解率,半纤维素水解为木聚糖后会进一步水解为木糖单糖,要获得市场价值 10 倍于木糖的低聚木糖,需控制水解条件,尽可能使半纤维素水解停留在聚糖阶段。因此本研究最适温度选择为 90 °C。

2.3 不同提取时间对蔗渣有机酸水解的影响

蔗渣在固液比 1:7,甲酸:乙酸为 9:1,于 90 °C 水解不同时间后的结果见图 3,从图 3 中可看出,水解率和总糖收率都随时间的延长而增加,60 min 以后增加幅度变缓;这说明水解 30 min 后,蔗渣中大部分木素、半纤维素已溶出,聚糖收率则随时间增加而持续下降,因此综合考虑木素和半纤维素能充分溶出,又尽可能避免聚糖被水解为单糖,甲酸—乙酸水解蔗渣制备低聚木糖时水解时间以 60 min 为宜。在研究蔗渣甲酸法蒸煮过程中碳水化合物的降解规律中发现,在 100 °C,90% 甲酸蒸煮条件下,40 min 内半纤维素基本上被水解;前 80 min 内蒸煮液中少量的己糖主要由半纤维素水解产生(TU, *et al.*, 2008)。

2.4 不同固液比对蔗渣有机酸水解的影响

在不同固液比条件下,甲、乙酸的比 9:1,温度 90 °C,水解 60 min 后,水解率、聚糖收率和总糖收率变化趋势如图 4 所示,从图中可见,在不同固液比条件下,无论是水解率、总糖收率,还是聚糖得率增长变化都不显著,但聚糖收率存在下降趋势,说明提取液过多时,聚糖会部分分解,造成低聚糖的损

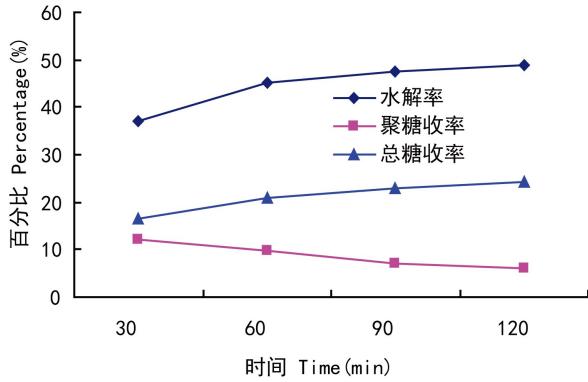


图3 提取时间对蔗渣水解效果的影响

Fig. 3 Effect of the extracting time on the hydrolysis of bagasse

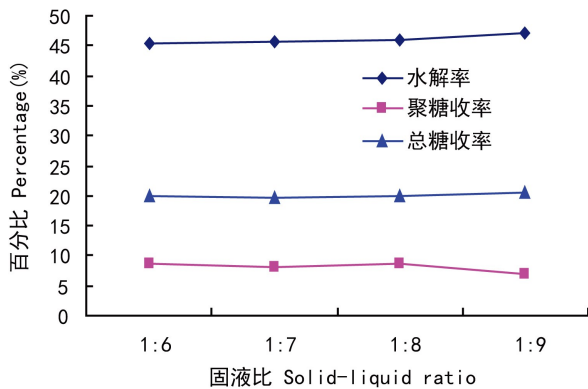


图4 固液比对蔗渣水解效果的影响

Fig. 4 Effect of the solid-liquid ratio on the hydrolysis of bagasse

失,而且固液比越高,稀释作用越明显,增加后续酸的回收成本。因此,在不影响水解率、总糖收率和聚糖收率,又不产生较低浓度水解液的情况下,甲酸—乙酸钠水解蔗渣制备低聚木糖时水解固液比选择1:8较为适合。

2.5 蔗渣有机酸水解正交试验

在单因素的实验基础上,以水解温度、时间、固液比、甲、乙酸比例为变量因素,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,优化蔗渣有机酸水解制备低聚木糖工艺,因素水平见表1。

本研究的主要目的是在分离木质纤维资源三大成分的同时获得更多的木聚糖,因此设置三个影响蔗渣水解因素,分别为水解率、总糖收率和聚糖得率(表2)。从三个指标单独分析出的优化条件可能不一致,所以在确定各因素的优化水平组合时需要通过两步进行:

表1 正交因素水平表

Table 1 Orthogonal factor level table

水平 Level	因素 Factor			
	A 温度 Temperature (°C)	B 时间 Time (min)	C 固液比 Solid-liquid ratio	D 酸比例 (甲酸:乙酸) Acid ratio
1	80	30	1:9	8:2
2	90	60	1:8	9:1
3	100	90	1:7	7:3

第一,根据表2中各指标不同水平平均值确定各因素的优化水平组合,水解率(%): $A_3B_3C_3D_3$;总糖收率(%): $A_3B_3C_3D_2$;聚糖收率(%): $A_2B_2C_1D_2$ 。

第二,根据各因素影响的主次,综合考虑,确定最佳工艺条件。根据极差大小列出各指标下的因素主次顺序:水解率(%): $A>B>C>D$;总糖收率(%): $A>B>C>D$;聚糖收率(%): $A>B>D>C$ 。对于因素A(温度),其对水解率、总糖收率和聚糖收率的影响都排在第一位,所以取 A_3 ;对于因素B(水解时间),其对水解率、总糖收率和聚糖收率都排在第二位,所以可选择 B_3 或 B_2 ,但取 B_2 时,水解率比取 B_3 时降低了3.9%,总糖收率降低了4.2%,而聚糖收率提高了12.4%,由于我们的目的是获取更多木聚糖,所以取 B_2 ;对于因素C(固液比),其对水解率和总糖收率的影响排在第三位,而对聚糖收率的影响排在第四位,属于次要因素,所以选择 C_3 ;对于因素D(酸比例),其对水解率和总糖收率的影响排在第四位,但是对聚糖收率的影响却排在第三位,所以选择 D_2 。通过上述两步分析考虑,得出最优组合应当为 $A_3B_2C_3D_2$,即水解温度100℃,水解时间60min,固液比1:7,酸比例(甲酸:乙酸)9:1,在此优化条件下,验证实验得到蔗渣水解的水解率为47.78%,总糖收率20.57%,聚糖收率11.88%,证明正交试验所得优化工艺是稳定的,具有可重复性,聚糖收率也达到最高值。

3.2.2 甘蔗渣有机酸水解液产物组成 甘蔗渣经有机酸水解后,HPLC图谱结果显示(图5),产物主要为木糖、木二糖、木三糖以及聚合度大于三的低聚糖,还含有少量的阿拉伯糖,其中木糖占36.78%,木二糖占17.69%,木三糖占11.23%,而更高聚合度聚糖的比例则为29.42%。由此可知,在前述水解条件下,甘蔗渣有机酸水解物除木糖(36.78%)外,以聚糖形式存在的成分占58.34%。要获得商品低聚木糖,还需以木聚糖酶将聚合度较高的聚糖水解成以木二糖、木三糖为主要成分的低聚木糖。有机酸水

表 2 $L_9(3^4)$ 正交实验结果Table 2 Results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

实验号	温度 (A) Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	时间 (B) Time (min)	固液比 (C) Solid-liquid ratio	酸比例 (D) Acid ratio 甲酸:乙酸	水解率 Hydrolysis Rate (%)	总糖收率 Total sugar yield (%)	聚糖收率 Polysaccharide Yield (%)
1	1(80)	1(30)	1(1:9)	1(8:2)	31.54	10.25	10.79
2	1	2(60)	2(1:8)	2(9:1)	40.21	19.87	11.05
3	1	3(90)	3(1:7)	3(7:3)	44.77	20.99	8.67
4	2(90)	1	2	3	45.35	21.13	10.95
5	2	2	3	1	46.68	22.47	11.28
6	2	3	1	2	47.34	23.09	10.88
7	3(100)	1	3	2	48.84	25.33	10.32
8	3	2	1	3	49.17	25.56	9.78
9	3	3	2	1	49.69	26.48	9.01
水解率 Hydrolysis rate (%)	K_1	116.52	125.73	128.05	127.91		
	K_2	139.37	136.06	135.25	136.39		
	K_3	147.7	141.8	140.29	139.29		
	k_1	38.84	41.91	42.68	42.64		
	k_2	46.46	45.35	45.08	45.46		
	k_3	49.23	47.27	46.76	46.43		
	极差(R)	10.39	5.36	4.08	3.79		
总糖收率 Total sugar yield (%)	K_1	51.11	56.71	58.9	59.2		
	K_2	66.69	67.9	67.48	68.52		
	K_3	77.37	70.56	68.79	67.68		
	k_1	17.04	18.9	19.63	19.73		
	k_2	22.23	22.63	22.49	22.84		
	k_3	25.79	23.52	22.93	22.56		
	极差(R)	8.75	4.62	3.3	3.11		
聚糖收率 Polysaccharide yield (%)	K_1	30.49	32.06	31.45	30.08		
	K_2	33.11	32.11	31.01	32.25		
	K_3	29.11	28.56	30.27	29.4		
	k_1	10.16	10.69	10.48	10.03		
	k_2	11.04	10.7	10.34	10.75		
	k_3	9.7	9.52	10.09	9.8		
	极差(R)	1.34	1.18	0.39	0.95		

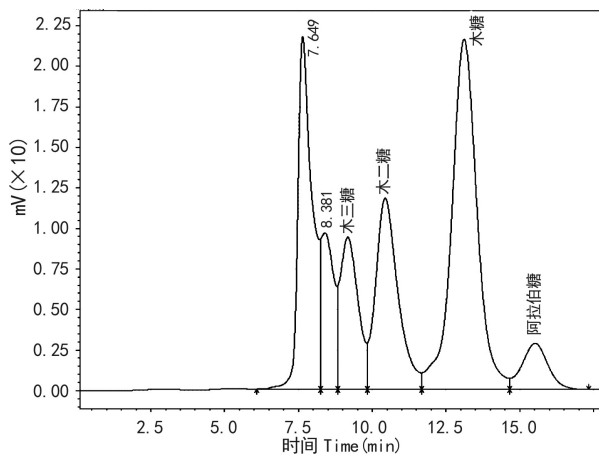


图 5 蔗渣有机酸水解产物组成 HPLC 分析结果

Fig. 5 HPLC analysis results of organic acid hydrolyzate product of bagasse

解得到的木糖,可通过微生物转化为木糖醇,得到另一高附加值产品。

3 结论

(1)通过单因素实验,以水解率、总糖收率和聚糖收率为指标,初步确定蔗渣有机酸水解制备低聚木糖的条件为酸比例(甲酸:乙酸)为 9:1;温度 90 $^{\circ}\text{C}$;水解时间为 60 min;固液比为 1:8。(2)正交试验得出蔗渣有机酸水解制备低聚木糖的最佳条件为酸比例(甲酸:乙酸)9:1,水解温度 100 $^{\circ}\text{C}$,水解时间 60 min,固液比 1:7,在此条件下蔗渣的水解率为 47.78%,总糖收率 20.57%,聚糖收率 11.88%。(3)蔗渣有机酸水解液中木糖含量为 36.78%,木二(下转第 504 页 Continue on page 504)