

响应面法优化玉米苞叶中木聚糖的提取工艺^{*}

覃香香¹, 周玉恒¹, 陈海珊^{1**}, 王磊¹, 蔡爱华¹, 韦逸飞², 姜瑞涛³

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西木质纤维素生物炼制工程技术研究中心, 广西桂林 541006; 2. 桂林医学院, 广西桂林 541004; 3. 桂林理工大学, 广西桂林 541006)

摘要: 为了给玉米苞叶工业化生产木聚糖提供基础研究资料, 本研究以玉米苞叶为原料, 采用响应面法(RSM)对玉米苞叶木聚糖碱法提取工艺进行优化研究, 选择碱浓度、提取温度和提取时间作为考察因素, 以玉米苞叶木聚糖提取率作为评价指标, 考察3个不同因素及其交互作用对玉米苞叶木聚糖提取率的影响。研究结果表明: 玉米苞叶木聚糖的最佳提取工艺条件为氢氧化钠浓度9.2%(M/V)、提取温度93.0℃、提取时间13.0h; 在此工艺参数条件下提取3批玉米苞叶, 获得的木聚糖平均提取率为(15.8±1.2)% (n=3), 与采用响应面法优化回归模型预测提取率(16.0%)基本一致。

关键词: 玉米苞叶 木聚糖 响应面法 高效液相(HPLC)

中图分类号: TQ619.8 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2019)02-0222-06

0 引言

玉米苞叶是玉米的外苞叶。据统计2016年我国玉米播种面积36 759.7万hm²^[1]。每公顷玉米可采收约600 kg苞叶, 中国一年玉米苞叶总产量约22 05.582万t^[2]。玉米苞叶是一种资源非常丰富的农副产物。目前, 玉米苞叶主要用于畜牧饲料、燃料、编制工艺品等^[3]。利用玉米苞叶进行深加工的相关报道有提取黄酮类化合物^[4]、膳食纤维^[5]、多糖^[6]等。玉米苞叶中的细胞壁半纤维素主要由木聚糖构成^[7], 木聚糖是植物细胞壁的主要组成成分之一, 其含量仅次于纤维素, 由β-(1→4)连接的木糖残基构成主链, 主链木糖基的2,3 C通常还链接不同取代基。据研究报告木聚糖提取物可增强免疫力^[8]、抗肿瘤^[9]、抗

氧化^[10]、降血糖^[11]、降血脂^[12]、预防和治疗心血管疾病^[13-14]。以木聚糖为平台化合物可生产木糖、木糖醇、低聚木糖^[15], 上述功能糖都是肠道微生物的益生元, 可促进乳酸菌和双歧杆菌增值^[16], 木糖醇可改善糖尿病症状和治疗肺部感染^[17]。

碱法提取是目前从农副产品废料中提取木聚糖普遍采用的制备工艺^[18-21]。木聚糖是玉米苞叶生物炼制产业链的关键平台化合物, 至今未见相关报道。响应面法(RSM)已被广泛用于生物化工工艺优化。本研究在单因素试验基础上, 采用响应面法进一步综合分析影响碱法提取玉米苞叶木聚糖提取率的关键因素, 确定最佳工艺参数, 为玉米苞叶高值化利用和资源深加工提供基础研究资料。

^{*} 广西功能物质研究与利用重点实验室主任基金项目(ZRJ2016-18, ZR2017-6), 广西植物研究所基本业务费项目(桂植业201701, 桂植业18012)和广西自然科学基金项目(2017GXNSFAA198009, 2018GXNSFAA050093)资助。

【作者简介】

覃香香(1980—), 女, 助理研究员, 硕士, 主要从事秸秆木质纤维功能多糖的制备及生理活性研究, E-mail: qinx2008@163.com。

【**通信作者】

陈海珊(1970—), 男, 副研究员, 主要从事木质纤维生物炼制制备功能糖研究, E-mail: 376839158@qq.com。

【引用文本】

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20190506.005

覃香香, 周玉恒, 陈海珊, 等. 响应面法优化玉米苞叶中木聚糖的提取工艺[J]. 广西科学, 2019, 26(2): 222-227.

QIN X X, ZHOU Y H, CHEN H S, et al. Optimization of extraction process for xylan from corn bracts by response surface methodology [J]. Guangxi Sciences, 2019, 26(2): 222-227.

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

新鲜玉米苞叶购于广西桂林市雁山区农贸市场。将玉米苞叶剪碎, 至于 80℃ 烘箱中干燥至恒重, 后粉碎备用。木糖(优级纯)、氢氧化钠(分析纯)、浓硫酸(分析纯)等购自上海国药化学试剂有限公司。恒温水浴锅(北京科学长安仪器公司), 30 L 高压灭菌锅(上海博迅实业有限公司), Precisa 水分分析仪 XM 60(普利赛斯国际贸易上海有限公司), 高效液相色谱仪(HPLC)、控制器 CBM-20A、泵 LC-20AT, RID-10A 示差折光检测器等购自日本岛津公司。

1.2 方法

1.2.1 木聚糖提取工艺流程

流程: 玉米苞叶→粉碎→碱提→真空抽滤→木聚糖粗提液。

工艺要点: 称 10 g(绝干重量)玉米苞叶, 添加碱液 100 mL, 搅拌器混匀, 置于恒温水浴摇床锅中进行提取, 提取时间根据后续试验条件 1.2.3 节的方法进行设置, 提取前称重, 提取结束补水至起始重量, 然后取布式漏斗, 垫 100 目塑料滤网, 抽真空状态下过滤样品, 滤出液即为木聚糖粗提物。

1.2.2 木聚糖的测定

采用高效液相色谱法检测^[22], 检测条件: Transnomic Ca²⁺ 色谱柱, 柱温 85℃, 流动相为超纯水, 流速 0.5 mL/min, RID-10A 示差折光检测器, 进样量 20 μL。

将 1.2.1 节获得的木聚糖粗提物采用稀硫酸中和 pH 值至 7.0, 定容至 100 mL, 取 20 mL 中和液, 添加 2 mL 15% 硫酸, 混匀, 置于 121℃ 水解 90 min 后, 添加去离子水定容至 $V_1 = 100$ mL, 水解液 10 000 r/min 离心 10 min, 留上清液。取 10 mL 上清液加入 20 mg 粉末活性炭(烘至恒重), 再加混合树脂(阴离子树脂: 阳离子树脂 = 2: 1, 已经经过 10 000 r/min 离心去除树脂中游离水)脱盐, 使样品电导率 $\leq 5 \mu\text{s}/\text{cm}^3$, 过 0.22 μm 水系微孔滤膜过滤后进行 HPLC 检测, 根据标准曲线换算得木糖浓度 ρ (g/L), 则木聚糖含量 m 为

$$m = \rho \times V_1 \times 5 \times K_1 \times 0.88,$$

式中: V_1 为粗提物中和定容后的总体积 100 mL, 5 为稀释倍数, K_1 为树脂和粉末活性炭对糖的吸附系数。吸附系数 K_1 计算: 配置 2 g/L 木糖, 检测添加活性炭和树脂制样前后的峰面积比值(做 3 个平行)。经分析可知活性炭和树脂的吸附系数 $K_1 = 1.366 \pm 0.001 (n=3)$ 。0.88 为单糖换算聚糖系数^[23]。

$$\text{木聚糖提取率}(\%) = m/M \times 100\%,$$

式中: m 为木聚糖质量 g; M 为原料绝干重量 g。

1.2.3 玉米苞叶木聚糖单因素试验

1.2.3.1 碱液浓度对木聚糖提取率的影响

称 10 g(绝干重量)玉米苞叶 9 份, 添加碱液 100 mL, 碱选择氢氧化钠, 质量浓度分别为 4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%, 提取时间 24 h, 提取结束后真空抽滤, 滤液按照 1.2.2 节方法进行木聚糖测定, 并计算木聚糖提取率。

1.2.3.2 提取温度对木聚糖提取率的影响

称 10 g(绝干重量)玉米苞叶 8 份, 添加碱液 100 mL, 碱液浓度按照 1.2.3.1 节最优条件执行, 提取温度分别为 30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃、90℃、100℃, 提取时间 24 h, 提取结束后真空抽滤, 滤液按照 1.2.2 节方法进行木聚糖测定, 并计算木聚糖提取率。

1.2.3.3 提取时间对木聚糖提取率的影响

称 10 g(绝干重量)玉米苞叶 8 份, 添加碱液 100 mL, 碱液浓度和提取温度分别按照 1.2.3.1 节和 1.2.3.2 节最优条件设置, 提取时间分别为 6 h、12 h、18 h、24 h、30 h、36 h、42 h、48 h, 提取结束后真空抽滤, 滤液按照 1.2.2 节方法进行木聚糖测定, 并计算木聚糖提取率。

1.2.4 玉米苞叶木聚糖提取工艺响应面法优化试验

在单因素试验结果基础上, 采用中心组合试验 Box-Behnken 设计方案做进一步优化。模型通过最小二乘法拟合二次多项方程可以表达为 $Y = A_0 + \sum A_i X_i + \sum A_{ii} X_i^2 + \sum A_{ij} X_i X_j$, 以木聚糖提取率为指标, 设计 3 因素 3 水平响应面分析试验, 试验因素见表 1, 根据 Design-Expert 7.0 软件分析确定最优发酵工艺参数。

表 1 Box-Behnken 设计因素及水平

Table 1 Bex-Behnken design variables and levels

因素 Variables	编码值 Variable symbol	水平 Levels		
		-1	0	+1
氢氧化钠 NaOH (%)	A	6	8	10
温度 Temperature (°C)	B	60	80	100
时间 Time (h)	C	12	18	24

1.2.5 数据统计分析

试验采用 Design-Expert 7.0 软件进行统计分析, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义, 并绘制相关图标。

2 结果与分析

2.1 木糖标准曲线

根据已知木糖标准品的浓度和高效液相对应木糖峰面积绘制标准曲线,可得木糖标准曲线线性回归方程 $Y = 30838X + 8292.9$, (Y :木糖液相检测峰面积, X :木糖浓度) 相关系数 $R^2 = 0.999$, 在 $1 \sim 5$ g/L 内木糖质量浓度和峰面积有良好线性关系。如图 1 所示,玉米苞叶木聚糖水解物主成分为木糖,且检测条件分离效果较理想。

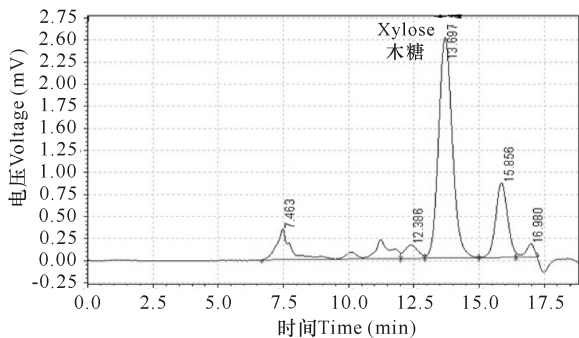


图 1 玉米苞叶木聚糖水溶液 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of corn bracts xylan hydrolyzate

2.2 各因素对木聚糖提取率的影响

2.2.1 碱浓度对玉米苞叶木聚糖提取率的影响

由图 2 可知,NaOH 质量浓度达到 8% 时,木聚糖提取率(14.0%)最高,因而选择以 8% 的 NaOH 浓度作为后续试验优化条件。

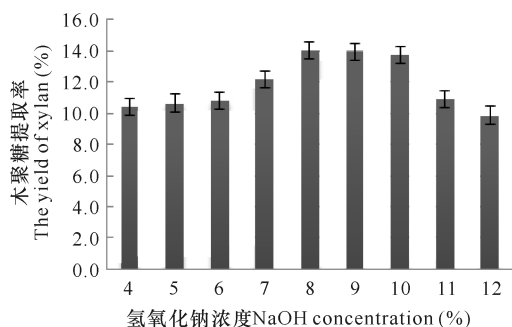


图 2 碱浓度对玉米苞叶木聚糖提取率的影响

Fig. 2 Effect of NaOH concentration on extraction rate of xylan from corn bracts

2.2.2 提取温度对玉米苞叶木聚糖提取率的影响

由图 3 可知,在 $30 \sim 80^\circ\text{C}$,木聚糖提取率随提取温度的升高逐渐增加, 80°C 以后木聚糖提取率逐渐降低。其中 80°C 时木聚糖提取率(14.7%)最高,因而提取温度选择 80°C 作为后续试验优化条件。

2.2.3 提取时间对玉米苞叶木聚糖提取率的影响

由图 4 可知,随着提取时间的延长,木聚糖提取率先增加后减少,其中,6~18 h 逐渐增加,18~48 h

木聚糖提取率有大幅度降低,提取时间为 18 h 时,木聚糖提取率(15.3%)最高。

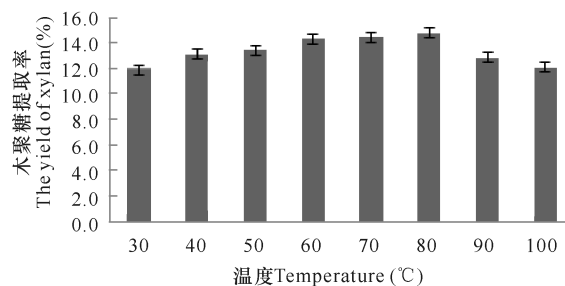


图 3 温度对玉米苞叶木聚糖提取率的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on extraction rate of xylan from corn bracts

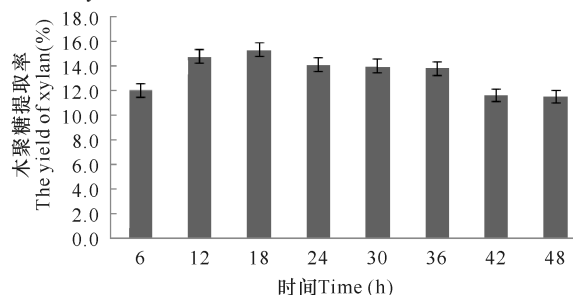


图 4 提取时间对玉米苞叶木聚糖提取率的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on extraction rate of xylan from corn bracts

2.3 响应面试验结果

2.3.1 试验结果及方差分析

响应面试验结果如表 2 所示,通过 Design-Expert 7.0 数据分析软件进行回归分析,得到的模型方差分析结果如表 3 所示。当 $\text{Prob} > F$ 值小于 0.05 时,即表示该项指标显著。结果表明,对木聚糖提取率所建立的二项式模型具有高度显著性 ($P = 0.0004 < 0.01$)。失拟项 $P = 0.0096 < 0.05$ 显著;模型的调整确定系数 $R^2 = 0.9115$,该模型能解释 91.15% 的响应值的变化,因该模型拟合程度比较好,试验误差小,可以用该模型对碱法提取玉米苞叶木聚糖进行分析和预测。

由表 4 可知,氢氧化钠浓度、提取温度、提取时间的一次项达到极显著水平 ($P < 0.01$),表明这 3 个因素对木聚糖提取率的线性效应极显著;对玉米苞叶木聚糖提取率的影响顺序:氢氧化钠浓度 > 提取时间 > 提取温度;二项 A^2 和 B^2 对木聚糖提取率的曲面效应显著 ($P < 0.01$),因素间交互作用影响:AB、BC 极显著;Design-Expert 7.0 数据分析软件回归分析,可得二次回归方程:

$$Y = -10.0625 + 2.33571A + 0.24491B + 0.7378C + 0.028125AB + 0.018750AC - 8.69048 \times 10^{-3}BC - 0.28036A^2 - 2.13393 \times 10^{-3}B^2 - 8.43254 \times 10^{-3}C^2$$

表 2 Box-Behnken 试验结果

Table 2 Box-Behnken test results

试验号 Test number	A: 氢氧化钠 A: NaOH (%)	B: 温度 B: Temperature (°C)	C: 时间 C: Time (h)	木聚糖提取率 The yield of xylan (%)
1	10	100	18	15.0
2	8	80	18	15.2
3	6	80	24	11.8
4	8	80	18	15.3
5	10	60	18	13.5
6	10	80	24	14.0
7	8	100	24	12.1
8	8	80	18	15.6
9	8	60	12	14.2
10	6	80	12	14.3
11	6	100	18	11.0
12	8	60	24	15.4
13	10	80	12	15.6
14	6	60	18	14.0
15	8	100	12	14.8
16	8	80	18	15.3
17	8	60	24	15.4

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of the regression equation

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of squares	自由度 dF	均方和 Mean square	F 值 F value	Prob>F
回归模型 Regression model	30.89	9	3.43	19.32	0.000 4
残差 Residual	1.24	7	0.18		
失拟项 Lack of fit	1.15	3	0.38	17.10	0.009 6
纯误差 Pure error	0.09	4	0.022		
总误差 Total error	32.14	16			

表 4 回归方程系数显著性检验

Table 4 Test of significance for the regression coefficients

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 dF	均方和 Mean square	F 值 F value	Prob>F
A	6.12	1	6.13	34.47	0.000 6
B	2.69	1	2.69	15.15	0.006 0
C	3.82	1	3.82	21.51	0.002 4
AB	5.06	1	5.06	28.49	0.001 1
AC	0.20	1	0.20	1.14	0.321 2
BC	5.08	1	5.08	28.56	0.001 1
A ²	5.22	1	5.22	29.36	0.001 0
B ²	3.02	1	3.02	17.01	0.004 4
C ²	0.38	1	0.38	2.15	0.185 9

注: $R^2 = 0.961 3$, 调整 $R^2 = 0.911 5$

Note: $R^2 = 0.961 3$, revise $R^2 = 0.911 5$

2.3.2 响应面分析

通过模型方程所作的响应曲面图及其等高线如图 5~7 所示, 结果表明, 碱浓度和提取温度交互作用最为显著 ($P < 0.01$), 其次为温度和时间。

由图 5 可知, 氢氧化钠浓度为 6%~8%, 温度为 60~80°C 时, 两者呈显著增效作用, 木聚糖提取率随

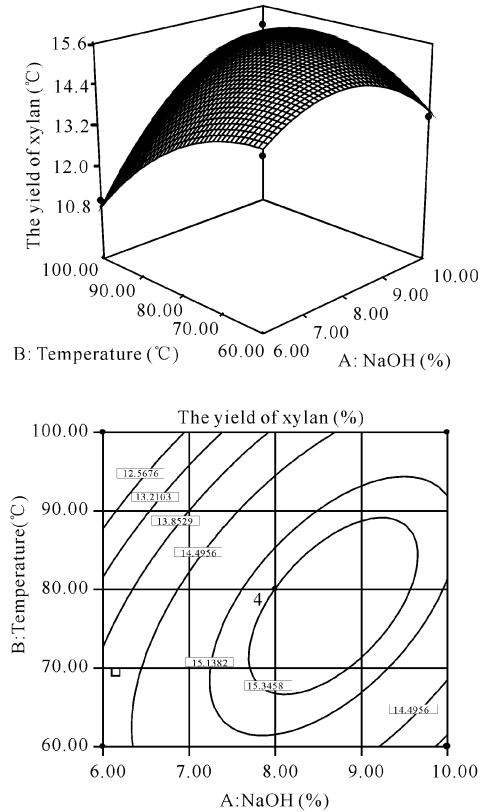


图 5 碱液浓度和提取温度对玉米苞叶木聚糖提取率的影响
Fig. 5 Effects of alkali concentration and extraction temperature on extraction rate of xylan from corn bracts

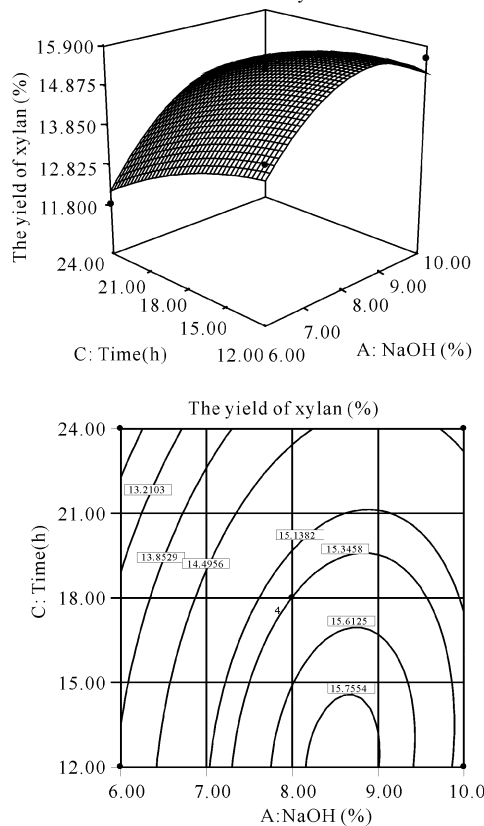


图 6 氢氧化钠浓度和提取时间对玉米苞叶木聚糖提取率的影响
Fig. 6 Effects of alkali concentration and extraction time on extraction rate of xylan from corn bracts

碱浓度的增加而增加;温度为 80~100℃时,木聚糖提取率随碱浓度的增加而降低。由图 6 可知,氢氧化钠浓度为 6%~8%,时间为 12~18 h 时,两者呈显著增效作用,木聚糖提取率随碱浓度的增加而增加;氢氧化钠浓度为 8%~10%,时间为 18~24 h 时,木聚糖提取率随碱浓度的增加反而开始降低。

通过软件分析,碱法提取玉米苞叶木聚糖的最佳条件:氢氧化钠浓度 9.12%,提取温度 92.48℃,提取时间 12.61 h,此条件下木聚糖提取率为 16.0%。

为检验 RSM 法的可靠性,采用上述最优提取条件进行玉米苞叶木聚糖的提取,同时考虑实际操作的情况,将木聚糖最佳提取条件修正为氢氧化钠浓度 9.2%,提取温度为 93℃,提取时间为 13.0 h,在此条件下,进行 3 个平行试验,木聚糖平均提取率为 (15.8±0.11)%,与理论预测值偏差 1.25%,证明采用响应面法正交优化工艺是稳定的,具有可重复性。

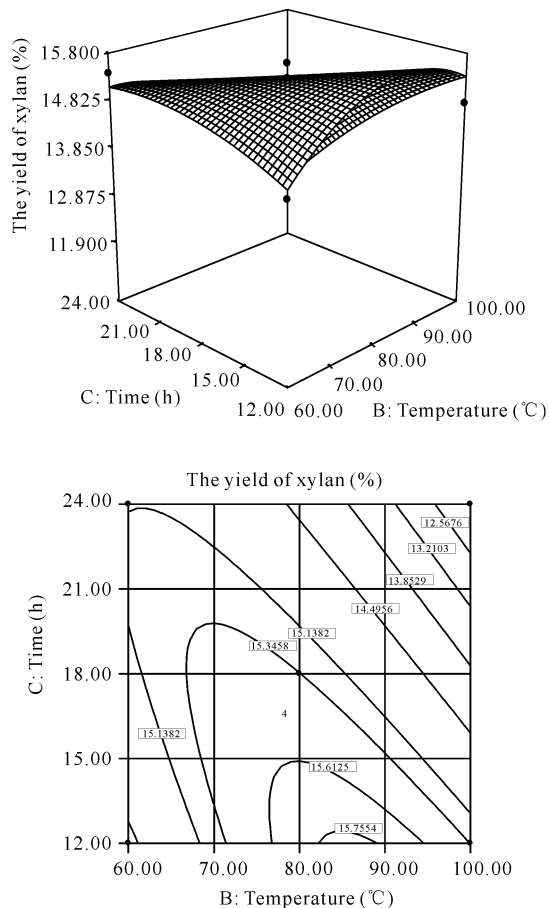


图 7 提取温度和提取时间对玉米苞叶木聚糖提取率的影响
Fig. 7 Effects of extraction temperature and extraction time on extraction rate of xylan from corn bracts

3 结论

本研究结果表明,碱法用于提取玉米苞叶中的木聚糖是可行的。氢氧化钠水溶液提取玉米苞叶木聚糖的优化工艺为氢氧化钠浓度 9.2%、提取温度

93℃、提取时间 13.0 h,在该工艺条件下,木聚糖提取率为 (15.8±0.11)%($n=3$)。氢氧化钠浓度、提取温度、提取时间对木聚糖提取率的影响显著;氢氧化钠浓度和提取时间、提取温度和提取时间的交互项对木聚糖提取率的曲面效应显著。

本研究结果为解决玉米苞叶高深加工利用提供思路,为玉米苞叶高效制备木聚糖提供依据。

参考文献

- [1] 习银生,杨丽,吴天龙. 2016 年中国玉米市场形势分析与 2017 年展望[J]. 农业展望,2017,13(4):4-9,14.
- [2] 张扬,刘洋,周鸿立. 玉米苞叶中的生物活性成分[J]. 吉林农业,2015(6):59.
- [3] 梁杰. 玉米苞叶的加工[J]. 农家之友,2001(12):29.
- [4] 张蕾,张伟,姜曼. 玉米苞叶黄酮微波提取技术及其抗氧化性质研究[J]. 食品与研究开发,2016,36(12):12-15.
- [5] 莫绪. 玉米苞叶膳食纤维的制备研究[J]. 广西轻工业,2007,23(9):24-25.
- [6] 张杨,张艳,杨秀东,等. 响应面法优化玉米苞叶多糖的提取工艺[J]. 食品工业科技,2016,37(14):267-271.
- [7] SCHELLER H V, ULVSKOV P. Hemicelluloses [J]. Annual Review of Plant Biology,2010,61:263-289.
- [8] LEE H L, YUN J M, WANG K H. Physicochemical and biological characterization of arabinoxylan is lated from rice bran by extraction and enzyme treatment in combination [M]. California: Lomaliada Bublislens, 2002:16-20.
- [9] MOORE K W, WAAL MALEFYT R, COFFMAN R L, et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor [J]. Annu Review of Immunology,2001,19:683-765.
- [10] 袁小平,王静,姚惠源. 小麦麸皮阿魏酰低聚糖对红细胞氧化性溶血抑制作用的研究[J]. 中国粮油学报,2005,20(1):13-16.
- [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]. 无锡:江南大学,2002.
- [12] 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):468-470.
- [13] SESSO H D, BUFING J E, RIFAI N, et al. C-reactive protein and the risk of developing hypertension [J]. JAMA,2003,290:294-500.
- [14] 吴建恒,蒋广元. 肿瘤坏死因子与高血压脑出血[J]. 中国医药指南,2013,11(31):356-357.
- [15] 任鸿均. 木糖醇生产技术问题[M]. 北京:化学工业出版社,2008.
- [16] 李凌燕. 小麦阿拉伯木聚糖提取物对小鼠肠道健康的影响[D]. 南宁:广西医科大学,2015.
- [17] 魏怡(译). 木糖醇可预防肺部感染[N]. 厦门晚报,2003-06-25(A2).
- [18] 姚笛,马萍,王颖,等. 响应面法优化玉米芯中木聚糖的提取工艺[J]. 食品科学,2011,32(8):111-115.
- [19] 蒋随新,卢春艳,李成喜,等. 用氢氧化钾和过氧化氢从

- 甘蔗渣中提取木聚糖的条件优化及甘蔗渣木聚糖酶解产低聚木糖的分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(9):3863-3870.
- [20] 刘焕燕, 李琴, 贺亮, 等. 响应面法优化毛竹笋壳中木聚糖的提取工艺[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(3):22-28.
- [21] 赵晓庆, 彭珍, 刘彬, 等. 小麦麸皮木聚糖制备方法的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(10):1111-1115.
- [22] 苗露, 周玉恒, 张厚瑞, 等. 蔗渣木聚糖含量检测方法的比较[J]. 食品科学, 2016, 37(16):162-167.
- [23] 武秋颖, 陈复生, 时冬梅, 等. 响应面优化超声辅助碱法提取花生壳木聚糖的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(2):307-310.

Optimization of Extraction Process for Xylan from Corn Bracts by Response Surface Methodology

QIN Xiangxiang¹, ZHOU Yuheng¹, CHEN Haishan¹, WANG Lei, CAI Aihua¹, WEI Yifei², JIANG Ruitao³

(1. Guangxi Lignocellulose Biorefinery Engineering Technology Research Center, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China; 2. Guilin Medical University, Guilin, Guangxi, 541004, China; 3. Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi, 541006, China)

Abstract: In order to provide basic research data for the industrial production of xylan from corn glutinous rice leaves, this study used corn bracts as raw material to optimize the alkali extraction of xylan from corn bract by the response surface methodology (RSM). NaOH concentration, extraction temperature and extraction time were selected as the influencing factors, and the extraction rate of xylan was evaluated as the evaluation index. The effects of 3 different factors and their interactions on the extraction rate of xylan from corn bract were investigated. The results indicated that the optimal xylan extraction conditions from corn bracts were NaOH concentration of 9.2% (M/V), extraction temperature of 93.0°C and extraction time of 13.0 h, respectively. Three batches of corn bract were extracted under the condition of this process parameter. The average extraction rate of xylan obtained was $(15.8 \pm 1.2)\%$ ($n=3$), which was basically consistent with the predicted extraction rate (16.0%) by response surface methodology.

Key words: corn bract, xylan, response surface methodology, HPLC

责任编辑: 陆 雁



微信公众号投稿更便捷

联系电话: 0771-2503923

邮箱: gxxk@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxxk.ijournal.cn/gxxk/ch>