

## ◆ 生物科学 ◆

甘蔗渣制备低聚木糖的工艺优化<sup>\*</sup>张婷<sup>1\*\*</sup>, 孙德娇<sup>1</sup>, 王彩衣<sup>1</sup>, 黄鑫<sup>1</sup>, 陈少强<sup>1</sup>, 黎飞望<sup>1</sup>, 杨齐<sup>2</sup>

(1. 南宁学院食品与质量工程学院, 广西南宁 530200; 2. 广西多得乐生物科技有限公司, 广西南宁 530028)

**摘要:**甘蔗渣是一种常见的农业废弃物,对甘蔗渣制备低聚木糖的工艺进行优化,可为其高值化利用提供理论依据。本研究以甘蔗渣为原料,采用低浓度碱脱木质素-低强度酸水解-木聚糖酶酶解的工艺来制备低聚木糖,分别研究了碱处理浓度、碱处理温度和碱处理时间对木质素脱除率、木聚糖保留率的影响以及酸处理浓度、酸处理温度、酸处理时间对低聚木糖和木糖产率的影响,最后通过单因素试验结合响应面法对木聚糖酶酶解工艺进行优化。结果表明,低浓度碱脱木质素的处理参数为 KOH 溶液浓度 0.3 mol/L、碱处理温度 110 °C 和碱处理时间 1.5 h,在此条件下木质素脱除率和木聚糖保留率分别达到 57.8% 和 87.4%;低强度酸水解的处理参数为 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液浓度 0.1 mol/L、酸处理温度 80 °C 和酸处理时间 1 h,在此条件下的最优酶解工艺为酶用量 22 U/g 碱处理甘蔗渣(Alkali treated Sugarcane Bagasse, ASB)、酶解温度 40.5 °C、酶解时间 4.3 h,得到的低聚木糖产量为 12.66 g/L。本研究为甘蔗渣的高值化利用以及更好地制备低聚木糖提供了新思路 and 理论依据。

**关键词:**甘蔗渣;低聚木糖;碱处理;酸处理;酶解;响应面法

中图分类号:Q81 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2023)04-0727-08

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20230928.012

低聚糖是由 2-10 个单糖通过糖苷键连接而成的聚合物,分子量为 300-2 000,其种类较多,常见的有低聚果糖、低聚木糖、低聚半乳糖、低聚异麦芽糖等<sup>[1]</sup>。其中,功能性低聚糖具有独特的益生元活性、工艺特性和生理效应,能促进肠道内益生菌生长、改善肠道功能、维持肠道菌群平衡以及作为糖脂和糖蛋白组成部分参与人体正常机能等,因此,功能性低聚

糖常被应用于食品和保健品等行业<sup>[2-4]</sup>。与其他低聚糖相比,低聚木糖具有成本低、稳定性好等优势,能够极大地刺激双歧杆菌(*Bifidobacterium* sp.)和乳酸菌(*Lactobacillus* sp.)的生长,因此在食品配料方面具有很大的潜力<sup>[5]</sup>。

玉米芯、甘蔗渣、稻草、麦麸等农业废弃物中富含木质纤维素,木质纤维素主要包括纤维素、半纤维素

收稿日期:2023-05-15

修回日期:2023-05-27

\* 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2023KY1871)资助。

## 【第一作者简介】

张婷(1994-),女,博士,讲师,主要从事微生物酶资源开发与利用研究,E-mail:zhangting@nnxy.edu.cn。

## 【\*\*通信作者】

## 【引用本文】

张婷,孙德娇,王彩衣,等.甘蔗渣制备低聚木糖的工艺优化[J].广西科学,2023,30(4):727-734.

ZHANG T,SUN D J,WANG C Y,et al.Process Optimization of Producing Xylo-oligosaccharide from Sugarcane Bagasse [J].Guangxi Sciences,2023,30(4):727-734.

和木质素,其中,甘蔗渣含有纤维素 32%–45%、半纤维素 20%–32%和木质素 17%–32%<sup>[6]</sup>。半纤维素的主要组成成分是木聚糖,且商业低聚木糖的原料通常来自木质纤维素中的木聚糖,因此,甘蔗渣可以作为廉价的生产原料,通过自水解、化学法、物理法和酶促法制备低聚木糖<sup>[7]</sup>。相较于自水解、化学法和物理法,酶促法反应更加温和,生产过程绿色环保,更适合工业化生产的需求<sup>[7]</sup>。木聚糖酶(EC 3.2.1.8)作用于木聚糖主链内的糖苷键,但由于甘蔗渣内纤维素、半纤维素和木质素这3种主要成分相互交联形成网状结构,木聚糖酶很难透过网状结构结合到木聚糖上进行水解反应,因此必须对甘蔗渣进行适当的预处理<sup>[8,9]</sup>。甘蔗渣预处理的方法包括常规(物理、化学、生物、机械、热化学)和非常规(离子液体/电)预处理,如高浓度碱处理甘蔗渣(Alkali treated Sugarcane Bagasse, ASB)或蒸汽爆破预处理等,不仅不够环保,而且前期投资大、能耗高,均无法满足大规模工业制备需求<sup>[10-12]</sup>。碱处理能够破坏木质素的结构,削弱木质素和纤维素、木聚糖之间的氢键及化学联系,从而导致纤维素和木聚糖暴露以及木聚糖溶解;酸处理则有助于溶解和破碎纤维素原纤维和半纤维素<sup>[13]</sup>。本研究首先通过低浓度碱/酸处理法提取甘蔗渣中的木聚糖,然后利用木聚糖酶对提取出的木聚糖进行酶解,并对碱/酸处理条件及酶解条件进行单因素试验,最后通过响应面法对木聚糖酶的酶解工艺进行优化。该工艺是一种从木质纤维素生物质中制备低聚木糖的潜在策略,为甘蔗渣的高值化利用以及更好地制备低聚木糖提供了新思路 and 理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

甘蔗渣来自广西糖业集团良圻制糖有限公司,经干燥粉碎后过 80 目筛备用。经测定,甘蔗渣样品中含有纤维素 43.7%,木质素 22.1%,木聚糖 21.2%。KOH、浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、甲醇、蛋白胨、酵母提取物、NaCl 等均购自国药集团化学试剂有限公司;D-(+)-木糖(色谱纯,纯度≥98%)、低聚木糖(聚合度为 2–6;色谱纯,纯度≥98%)标准品、异丙基-β-D-硫代半乳糖苷等均购自北京索莱宝科技有限公司。木聚糖酶 rAfxynA 为木聚糖酶基因 *AfxynA* 的大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 表达产物,其最适作用温度为 50 °C,最适作用 pH 值为 7.0<sup>[14]</sup>。

### 1.2 低聚木糖的生产工艺

将甘蔗渣粉末与 KOH 溶液(0.1–0.5 mol/L)混合,于高温(90–130 °C)下处理 0.5–2.5 h 以脱除木质素,然后用水冲洗甘蔗渣至中性并烘干,得到 ASB<sup>[13]</sup>。将 ASB 与 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液(0.05–0.25 mol/L)混合以进行酸水解,在 50–90 °C 下处理 0.5–2.5 h,然后调节混合液 pH 值至中性并加入 10–50 U/g ASB 木聚糖酶进行酶解反应,在 30–55 °C 下处理 2–10 h。最后,通过高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)法检测酶解产物中低聚木糖和木糖的含量并计算其产率。

### 1.3 碱处理单因素试验

准确称取甘蔗渣粉末 10 g,装入 500 mL 三角瓶中,按固液比 1:10 g/mL 加入 KOH 溶液,充分混合后密闭瓶口,置于高压蒸汽灭菌锅中进行碱处理。选取 KOH 浓度(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L)、碱处理温度(90、100、110、120、130 °C)、碱处理时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h) 3 个因素进行单因素试验,按照 1.2 节的工艺得到 ASB,检测 ASB 中木质素脱除率和木聚糖保留率。

### 1.4 木质素脱除率和木聚糖保留率的检测

根据 Sluiter 等<sup>[15]</sup>的方法检测甘蔗渣中木质素和木聚糖的含量,计算木质素脱除率和木聚糖保留率。将 0.3 g 甘蔗渣与 3 mL 72% (V/V) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 混合,然后在 30 °C 下孵育 1 h,用去离子水将 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 浓度稀释至 4% (V/V) 后,于 121 °C、10<sup>5</sup> Pa 下孵育 1 h,使用过滤坩埚进行固液分离,并在 121 °C 下干燥固体部分至恒重。随后,将干燥固体在 575 °C 的马弗炉(上海黔通仪器科技有限公司)中放置 4 h,称量残留物即得灰分质量。不溶性木质素的质量则由干燥固体质量减去灰分质量而得。此外,滤液中的酸溶性木质素使用 Synergy<sup>TM</sup> H1 自动酶标仪(BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)在 240 nm 处进行测定。采用 HPLC 测定滤液中木糖的浓度<sup>[13]</sup>,以 78% 乙腈为溶剂,在温度 30 °C、流速为 1.0 mL/min 的条件下进行等密度洗脱,计算得到滤液中木糖的含量,木糖的含量乘以 0.88 换算出木聚糖的含量。本研究以木质素脱除率和木聚糖保留率的总和(Y/%)作为衡量碱处理效果的指标,公式如下:

$$\text{木质素脱除率}(\%) = \frac{\text{甘蔗渣木质素含量}(\text{g}) - \text{碱处理甘蔗渣木质素含量}(\text{g})}{\text{甘蔗渣木质素含量}(\text{g})} \times 100\%$$

$$\text{木聚糖保留率}(\%) = \frac{\text{碱处理甘蔗渣木聚糖含量}(\text{g})}{\text{甘蔗渣木聚糖含量}(\text{g})} \times 100\%$$

### 1.5 酸处理单因素试验

向 ASB 中加入  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液, 固液比为 1:10 g/mL, 充分混匀后进行酸处理。选取  $\text{H}_2\text{SO}_4$  浓度 (0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mol/L)、酸处理温度 (50、60、70、80、90  $^{\circ}\text{C}$ )、酸处理时间 (0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h) 3 个因素进行单因素试验, 按照 1.2 节工艺进行后续的酶解反应, 最后检测酶解产物中低聚木糖和木糖的产量, 并计算低聚木糖和木糖的产率。

### 1.6 低聚木糖和木糖产率的计算

ASB 中的木聚糖含量参考 1.4 节的方法进行测定, 酶解后的低聚木糖和木糖通过 HPLC 进行测定, 以 78% 乙腈为溶剂, 在温度 30  $^{\circ}\text{C}$ 、流速为 1.0 mL/min 的条件下进行等密度洗脱, 根据峰面积计算得到低聚木糖和木糖的浓度, 再乘以酶解反应体系的体积, 得到低聚木糖和木糖的产量, 按照下列公式计算低聚木糖和木糖的产率。

$$\text{低聚木糖产率}(\%) = \frac{\text{低聚木糖浓度}(\text{g/L}) \times \text{反应体积}(\text{L})}{\text{ASB 中木聚糖含量}(\text{g})} \times 100\%$$

$$\text{木糖产率}(\%) = \frac{\text{木糖浓度}(\text{g/L}) \times \text{反应体积}(\text{L})}{\text{ASB 中木聚糖含量}(\text{g})} \times 100\%$$

### 1.7 木聚糖酶酶解的单因素试验

将酸处理之后的甘蔗渣固液混合物调整 pH 值至 7.0, 然后加入木聚糖酶, 在水浴锅中振荡酶解, 选取木聚糖酶用量 (10、20、30、40、50 U/g ASB)、酶解温度 (35、40、45、50、55  $^{\circ}\text{C}$ )、酶解时间 (2、4、6、8、10 h) 3 个因素进行单因素试验, 按照 1.6 节的方法检测酶解产物中低聚木糖和木糖的产量, 并计算低聚木糖和木糖的产率。

### 1.8 木聚糖酶酶解的响应面优化试验

在单因素试验的基础上, 确定影响木聚糖酶水解的各因素的最佳用量范围, 以此设计响应面试验, 分别以酶解时间 (A)、酶解温度 (B) 和酶用量 (C) 作为自变量, 低聚木糖的产量作为因变量, 各因素水平编码见表 1。

### 1.9 数据处理

采用 Microsoft Excel (Office 2021) 和 Design Expert 8.0 软件进行数据处理、分析及图表绘制。

表 1 Box-Behnken 设计因素与水平

Table 1 Design factors and level of Box-Behnken

水平 Levels	因素 Factors		
	A 酶解时间/h A Hydrolysis time/h	B 酶解温度/ $^{\circ}\text{C}$ B Hydrolysis temperature/ $^{\circ}\text{C}$	C 酶用量/ (U/g ASB) C Xylanase dosage/ (U/g ASB)
-1	2	35	15
0	4	40	20
1	6	45	25

## 2 结果与分析

### 2.1 甘蔗渣碱处理的单因素试验结果

碱处理对木质素脱除率和木聚糖保留率的影响如图 1 所示。由图 1(a) 可知, 随着 KOH 浓度的增加, 木质素脱除率逐渐上升, 而木聚糖保留率则逐渐下降; Y 值呈先增加后降低的趋势, 且 KOH 溶液浓度为 0.3–0.4 mol/L 时, Y 值达到最大值。为了节约生产成本和降低后续处理的难度, 选择 0.3 mol/L 的 KOH 溶液作为最佳的碱处理浓度。由图 1(b) 可知, 随着温度的升高, 木质素脱除率逐渐上升, 而木聚

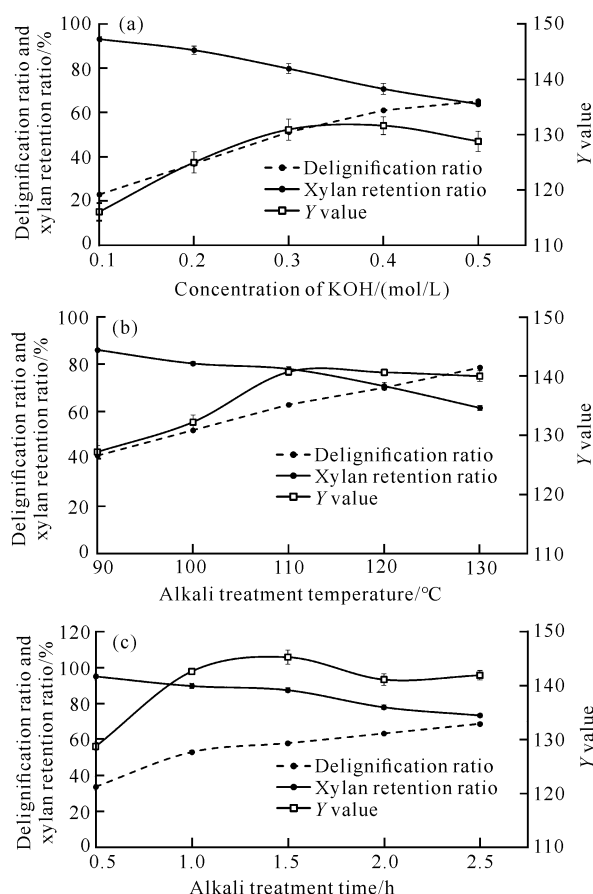


图 1 碱处理对木质素脱除率和木聚糖保留率的影响

Fig. 1 Effect of alkali treatment on the delignification ratio and xylan retention ratio

糖保留率则逐渐下降;同时,  $Y$  值呈先增加后降低的趋势, 并且在  $110 - 120\text{ }^{\circ}\text{C}$  时达到最大值。为了减少能耗, 选择在  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  对甘蔗渣进行脱木质素预处理。由图 1(c) 可知, 随着碱处理时间的延长, 木质素脱除率逐渐增加, 木聚糖保留率不断减少;  $Y$  值呈先增加后降低的趋势, 在  $1.5\text{ h}$  达到最大值。因此, 选择  $1.5\text{ h}$  作为甘蔗渣碱处理的时间。最终, 将甘蔗渣在  $0.3\text{ mol/L}$  的  $\text{KOH}$  溶液、 $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  处理  $1.5\text{ h}$  后, 木质素脱除率为  $57.8\%$ , 木聚糖保留率为  $87.4\%$ 。

## 2.2 ASB 酸处理的单因素试验结果

酸处理对低聚木糖和木糖产率的影响如图 2 所示。由图 2(a) 可知, 随着  $\text{H}_2\text{SO}_4$  浓度的增加, 木糖产率不断增加, 低聚木糖的产率呈先增加后降低的趋势。当  $\text{H}_2\text{SO}_4$  浓度为  $0.10\text{ mol/L}$  和  $0.15\text{ mol/L}$

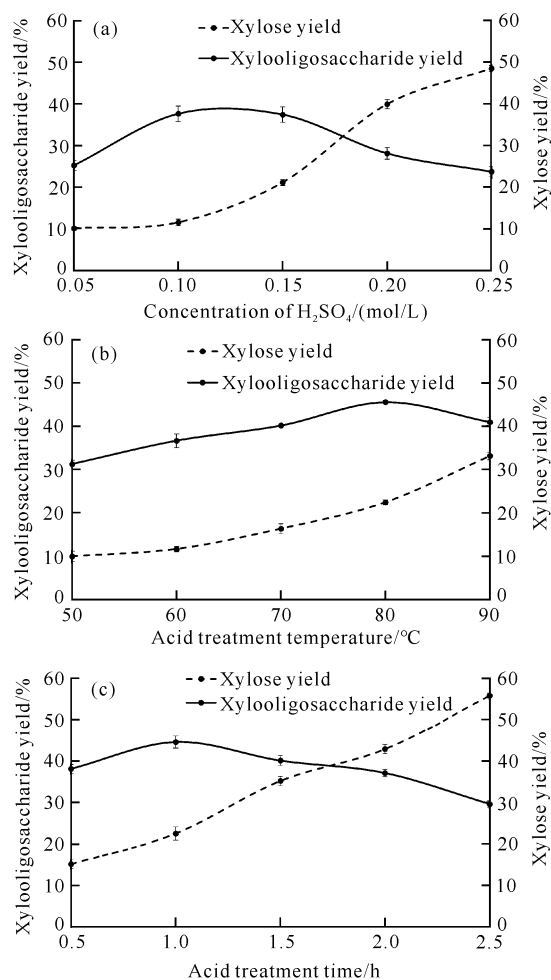


图 2 酸处理对低聚木糖和木糖产率的影响

Fig. 2 Effect of acid treatment on the yield of xylooligosaccharides and xylose

时, 低聚木糖的产率分别为  $37.6\%$  和  $37.4\%$ , 低聚木糖的产率在这两个浓度间达到最大值。为了降低生产成本和后续处理的难度, 选择使用  $0.10\text{ mol/L}$  的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液对碱处理后的甘蔗渣进行处理。由图 2(b) 可知, 随着酸处理温度的升高, 木糖产率不断增加, 低聚木糖的产率呈先增加后降低的趋势; 当温度为  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  时, 低聚木糖的产率达到最大值 ( $45.5\%$ ), 随后开始下降, 故选择  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  作为酸处理的温度。由图 2(c) 可知, 随着酸处理时间的延长, 木糖产率不断增加, 低聚木糖的产率呈先增加后降低的趋势; 酸处理时间为  $1\text{ h}$  时, 低聚木糖的产率达到最大值 ( $44.6\%$ ), 随后开始下降, 故选择  $1\text{ h}$  作为酸处理的时间。

## 2.3 木聚糖酶酶解的单因素试验

如图 3(a) 所示, 随着酶用量的增加, 低聚木糖的产率也逐渐增加, 当酶用量达到  $20\text{ U/g}$  ASB 时, 低聚木糖的产率开始缓慢下降。因此, 选择  $20\text{ U/g}$  ASB 的酶用量进行酶解试验。如图 3(b) 所示, 随着温度的升高, 低聚木糖的产率先增加后缓慢下降, 在  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  时低聚木糖的产率达到最大值。因此, 为取得较好的酶解效果, 选择  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  作为酶解温度。如图 3(c) 所示, 随着酶解时间的增加, 低聚木糖的产率呈先增加后缓慢降低的趋势,  $4\text{ h}$  时低聚木糖的产率最大。因此, 选择  $4\text{ h}$  作为酶解时间。

## 2.4 木聚糖酶酶解的响应面优化试验

### 2.4.1 响应面试验结果与分析

通过 Design Expert 8.0 软件对表 2 的试验结果建立数学模型, 得到二次多元回归方程:

$$Y = -39.18333 + 1.86667A + 1.88167B + 0.89333C - 0.075AB - 0.075AC + 0.011BC - 0.16146A^2 - 0.025833B^2 - 0.029833C^2$$

对试验结果进行回归方程分析和方差分析(表 3), 从分析结果可以看出, 试验模型  $P < 0.05$ , 说明该方程模型具有显著意义。失拟度为  $0.1113$ , 相对纯误差而言影响不显著 ( $P > 0.05$ ), 说明该方程拟合情况良好, 表明实验数据能够较好地反映各因素与低聚木糖产量的关系。根据回归方程系数显著性检验可以看出, 木聚糖酶用量对低聚木糖产量的影响最大, 其次为酶解时间, 酶解温度的影响最小。

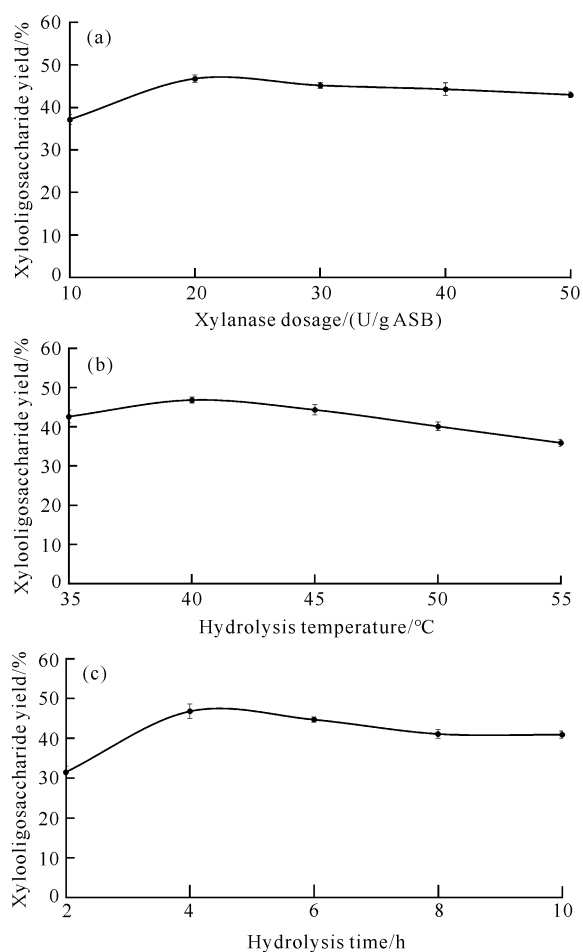


图3 酶解处理对低聚木糖产率的影响

Fig. 3 Effect of xylanase hydrolysis treatment on the yield of xylooligosaccharides

表2 响应面试验结果

Table 2 Results of response surface test

序号 Number	A 酶解 时间/h A Hydro- lysis time/h	B 酶解 温度/°C B Hydro- lysis tempera- ture/°C	C 木聚糖 酶用量/ (U/g ASB) C Xylanase dosage/ (U/g ASB)	低聚木糖 产量/(g/L) Xylooligosac- charides yield/ (g/L)
1	0	1	1	11.8
2	1	1	0	11.5
3	0	1	-1	10.2
4	-1	0	1	11.4
5	0	-1	1	11.6
6	-1	0	1	10.1
7	0	0	0	12.6
8	1	0	1	12.1
9	-1	1	0	11.5
10	0	-1	-1	11.1
11	0	0	0	12.6

续表

Continued table

序号 Number	A 酶解 时间/h A Hydro- lysis time/h	B 酶解 温度/°C B Hydro- lysis tempera- ture/°C	C 木聚糖 酶用量/ (U/g ASB) C Xylanase dosage/ (U/g ASB)	低聚木糖 产量/(g/L) Xylooligosac- charides yield/ (g/L)
12	1	0	-1	11.1
13	0	0	0	12.4
14	-1	-1	0	10.9
15	1	-1	0	11.2

表3 回归模型的显著性分析

Table 3 Significance analysis for regression model

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
Model	7.73	9	0.86	6.96	0.022 9 *
A	0.50	1	0.50	4.05	0.100 2
B	0.05	1	0.05	0.041	0.848 4
C	2.42	1	2.42	19.62	0.006 8 * *
AB	0.023	1	0.023	0.18	0.687 1
AC	0.023	1	0.023	0.18	0.687 1
BC	0.30	1	0.30	2.45	0.178 1
A <sup>2</sup>	1.54	1	1.54	12.49	0.016 7 *
B <sup>2</sup>	1.54	1	1.54	12.49	0.016 7 *
C <sup>2</sup>	2.05	1	2.05	16.65	0.009 5 * *
Residual	0.62	5	0.12		
Lack of fit	0.57	3	0.19	8.14	0.111 3
Pure error	0.047	2	0.023		
Total	8.34	14			

Note: \* indicates significant differences ( $P < 0.05$ ); \* \* indicates extremely significant differences ( $P < 0.01$ ).

#### 2.4.2 响应面的交互作用分析

采用 Design Expert 8.0 软件绘制三维响应曲面图(图4)。根据响应面结果可知,低聚木糖的产量均随着酶解温度、酶解时间和酶用量的增加呈先增加后减少的趋势;并且在图4(b)和图4(c)中,酶用量形成的曲面较为陡峭,表明酶用量对低聚木糖产量的影响较酶解时间和酶解温度更为显著。

#### 2.4.3 响应面优化结果验证

根据响应面分析结果,木聚糖酶酶解的最优工艺为酶解时间 4.33 h,酶解温度 40.45 °C,酶用量 21.89 U/g ASB,预测得到的低聚木糖产量为 12.69

g/L。为方便实际操作,将工艺条件进行微调,设置酶解时间为4.3 h,酶解温度为40.5 °C,酶用量为22 U/g ASB,以此条件进行验证试验,重复3次,得到低聚木糖的产量分别为12.62、12.71、12.65 g/L,取平均值12.66 g/L,这与预测结果基本相符。

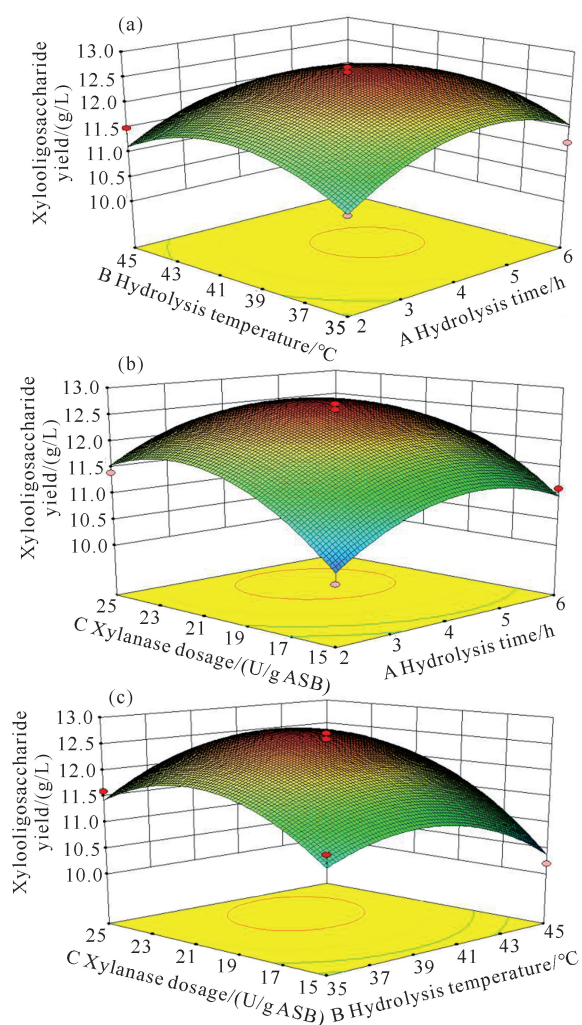


图4 各因素交互作用的3D响应曲面

Fig. 4 Three dimensional response surface of interactions among the three factors

### 3 讨论

为了高效水解甘蔗渣中的木聚糖以进行低聚木糖的制备,众多研究者对甘蔗渣进行了不同方法的预处理。常见的低聚木糖生产工艺为首先采用高浓度碱提取甘蔗渣中的木聚糖,然后采用酶解的方法进行制备。如韦杰等<sup>[16]</sup>用8.56%的NaOH抽提甘蔗渣中的木聚糖,蒋随新等<sup>[17]</sup>使用10%的KOH提取甘蔗渣中的木聚糖,这一工艺存在的问题主要是高浓度的碱抽提木聚糖的同时溶解了大量的木质素,后续还需进一步分离木质素和木聚糖,且后续碱的回收困

难,废水处理压力大,导致生产成本居高不下。NaOH虽然已广泛用于木质纤维素的预处理,但是废钠处理会造成水污染和土壤盐碱化;KOH对木质纤维素生物质的活性与NaOH相当,重要的是,经KOH预处理后的废液中含有丰富的钾离子,可以作为植物肥料<sup>[13]</sup>。Zhao等<sup>[13]</sup>研究表明,在KOH浓度1.9%、温度120 °C、处理时间50 min的条件下木质素去除率可达到76.7%,木聚糖回收率为64.2%。此外,也有研究者采用其他方法对甘蔗渣进行预处理,如杨淑娟等<sup>[18]</sup>采用NaOH-乙醇对甘蔗渣进行预处理,此处理条件下木质素的脱除率达到78.1%。而本研究采用0.3 mol/L KOH (1.68%)进行处理,木质素脱除率达到57.8%,低于上述研究结果;但本研究的木聚糖保留率达到87.4%,显著高于Zhao等<sup>[13]</sup>的研究结果。本研究的碱处理条件不仅减少了废水处理压力,而且高木聚糖保留率更利于后续低聚木糖的生产。

本研究制备低聚木糖采用的工艺为甘蔗渣碱脱木质素-稀酸水解-木聚糖酶酶解,其中,碱处理能够破坏木质纤维素的内在结构从而去除木质素,释放纤维素和木聚糖,并促进木聚糖的溶解;酸溶液对木质素的去除效果不佳,主要用于溶解木聚糖<sup>[13,19]</sup>。赵志刚等<sup>[19]</sup>利用NaOH、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和稀硫酸对甘蔗渣进行预处理,然后使用纤维素酶对预处理的甘蔗渣进行酶解,结果证实酸碱处理可以有效去除木质素并释放木聚糖,这与本研究处理方法类似。在用碱脱除甘蔗渣木质素的过程中,碱浓度对木聚糖的溶解性影响较大。Khaleghipour等<sup>[10]</sup>研究表明在2 mol/L NaOH,121 °C、60 min的条件下木聚糖和木质素的溶解率分别达到85.6%和84.1%,不利于用木聚糖制备低聚木糖,因此还需将溶解的木质素进行二次分离。本研究发现,增加碱浓度、延长碱处理时间或者提高碱处理温度都会导致木质素脱除率的持续增加和木聚糖保留率的持续降低,这与Khaleghipour等<sup>[10]</sup>的报道一致。

本研究在酶解之前要先进行低强度的酸水解,结果发现,随着酸浓度和酸处理温度的增加以及处理时间的延长,木糖的产率会持续增加,而低聚木糖的产率则呈先增加后减少的趋势。Akpinar等<sup>[20]</sup>对比了木聚糖酸水解与酶解两种处理方式,发现酸水解的产物不易控制,而且酸水解的时间越长,木糖产率越高,不利于低聚木糖的产生,这进一步说明酸处理对木聚糖水解释产物具有不确定性,但其具体影响机制还有待

进一步研究。

与其他已报道的酶解反应相比,本研究工艺在相同的低聚木糖产率下用时更短或用酶量更少。段永忠等<sup>[21]</sup>研究表明,在 50 °C 恒温水浴、pH 值为 5.4 的最适反应条件下,向底物浓度为 1.47% 的甘蔗渣中加入 1 000 IU/g 底物的木聚糖酶反应 1 h 后,低聚木糖的得率占可溶性总糖的 30%。而本研究在酶用量 22 U/g ASB、酶解时间 4.3 h、酶解温度 40.5 °C 的条件下,低聚木糖的产率超 40%,产量达到 12.66 g/L。类似地,Jayapal 等<sup>[22]</sup>提出的工艺中酶用量为 13.2 U/g 底物,比本工艺酶用量略低,但耗时更长。此外,本研究中低聚木糖的产率随酶用量的增加而增加,并逐渐趋于不变甚至降低的趋势,这一现象与欧阳嘉等<sup>[23]</sup>和 Silva 等<sup>[24]</sup>的研究结果一致。可能是由于木聚糖酶作用于木聚糖主链内的糖苷键,随着木聚糖酶添加量的增加,水解效率增大,低聚木糖的产率增加,而当底物浓度达到一定时,酶解反应趋于平衡,过量的酶可能会继续水解低聚木糖生成木糖,导致低聚木糖的产率不再增加甚至降低<sup>[23,24]</sup>。总的来说,本研究仍存在一些不足之处,比如如何解除酶解反应的平衡、提高低聚木糖的产量或者是去除酶解产物中的木糖,后续还需对其进行深入研究和探索,这也是本研究下一步的工作方向。

#### 4 结论

本研究采用低浓度碱脱木质素-低强度酸水解-木聚糖酶酶解的方法优化甘蔗渣制备低聚木糖的工艺,结果表明甘蔗渣经 0.3 mol/L 的 KOH 溶液在 110 °C 处理 1.5 h 后,木质素的脱除率能够达到 57.8%,同时木聚糖的保留率达到 87.4%;碱处理甘蔗渣经适当酸水解后,添加 22 U/g ASB 的木聚糖酶于 40.5 °C 酶解 4.3 h,可得到 12.66 g/L 的低聚木糖。优化后的工艺条件为从甘蔗渣中高效制备低聚木糖提供了理论指导。

#### 参考文献

- [1] 许春英. 低聚糖定义亟待统一[J]. 中国科技术语, 2023, 25(2): 91-96.
- [2] 李红. 低聚糖在功能性食品中的应用研究进展[J]. 现代食品, 2021(11): 55-57.
- [3] 赵金勇, 张沛. 功能性食品对肠道菌群调节作用的研究进展[J]. 现代食品, 2021(16): 40-43, 49.
- [4] 王海松, 任鹏飞. 不同单糖组成的低聚糖对人体肠道菌群的调节作用[J]. 中国食品学报, 2020, 20(7): 44-52.
- [5] YANG S Q, WU C X, YAN Q J, et al. Nondigestible functional oligosaccharides: enzymatic production and food applications for intestinal health [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2023, 14: 297-322.
- [6] ALOKIK A, ANU, KUMAR A, et al. Cellulosic and hemicellulosic fractions of sugarcane bagasse: potential, challenges and future perspective [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 169: 564-582.
- [7] BUENO D, DE FREITAS C, BRIENZO M. Enzymatic cocktail formulation for xylan hydrolysis into xylose and xylooligosaccharides [J]. Molecules, 2023, 28: 624.
- [8] SAMANTA A K, JAYAPAL N, JAYARAM C, et al. Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: production and applications [J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2015, 5(1): 62-71.
- [9] SHABBIRAHMED A M, HALDAR D, DEY P, et al. Sugarcane bagasse into value-added products: a review [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2022, 29(42): 62785-62806.
- [10] KHALEGHIPOUR L, LINARES-PASTÉN J A, RASHEDI H, et al. Extraction of sugarcane bagasse arabinoxylan, integrated with enzymatic production of xylooligosaccharides and separation of cellulose [J]. Biotechnology for Biofuels, 2021, 14(1): 153.
- [11] SHUKLA A, KUMAR D, GIRDHAR M, et al. Strategies of pretreatment of feedstocks for optimized bioethanol production: distinct and integrated approaches [J]. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 2023, 16(1): 44.
- [12] KUMAR J A, SATHISH S, PRABU D, et al. Agricultural waste biomass for sustainable bioenergy production: feedstock, characterization and pre-treatment methodologies [J]. Chemosphere, 2023, 331: 138680.
- [13] ZHAO S, ZHANG G L, CHEN C, et al. A combination of mild chemical pre-treatment and enzymatic hydrolysis efficiently produces xylooligosaccharides from sugarcane bagasse [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 291: 125972.
- [14] 杨齐, 毛丽春, 荆垒, 等. 烟曲霉 FC2-2 木聚糖酶基因的大肠杆菌表达产物的表征[J]. 基因组学与应用生物学, 2015, 34(7): 1451-1456.
- [15] SLUITER A, HAMES B, RUIZ R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass [R]. Colorado: National Renewable Energy Laboratory, 2008.
- [16] 韦杰, 段永忠, 唐湘华, 等. 响应面分析法对甘蔗渣中木聚糖提取条件的优化[J]. 生物技术通报, 2009(21): 291-296.

- [17] 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.
- [18] 杨淑娟, 游艳芝, 张威伟, 等. NaOH-乙醇预处理提高甘蔗渣酶法制备低聚木糖效率[J]. 北京林业大学学报, 2018, 40(2):114-120.
- [19] 赵志刚, 杨诚, 程可可, 等. 甘蔗渣酸碱结合法预处理的研究[J]. 安徽工业大学学报(自然科学版), 2016, 33(2):126-129.
- [20] AKPINAR O, ERDOGAN K, BAKIR U, et al. Comparison of acid and enzymatic hydrolysis of tobacco stalk xylan for preparation of xylooligosaccharides [J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(1):119-125.
- [21] 段永忠, 高正卿, 黄遵锡, 等. 甘蔗渣酶法制备低聚木糖的研究[J]. 甘蔗糖业, 2010(3):34-38.
- [22] JAYAPAL N, SAMANTA A K, KOLTE A P, et al. Value addition to sugarcane bagasse: xylan extraction and its process optimization for xylooligosaccharides production [J]. Industrial Crops and Products, 2013, 42:14-24.
- [23] 欧阳嘉, 刘明, 李鑫, 等. 重组木聚糖酶生产低聚木糖的实验研究[J]. 林产化学与工业, 2011, 31(2):37-42.
- [24] SILVA V T F, RUSCHONI U C M, FERRAZ A, et al. Xylan, xylooligosaccharides, and aromatic structures with antioxidant activity released by xylanase treatment of alkaline-sulfite-pretreated sugarcane bagasse [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2022, 10:940712.

## Process Optimization of Producing Xylooligosaccharide from Sugarcane Bagasse

ZHANG Ting<sup>1\*\*</sup>, SUN Dejjiao<sup>1</sup>, WANG Caiyi<sup>1</sup>, HUANG Xin<sup>1</sup>, CHEN Shaoqiang<sup>1</sup>, LI Feiwang<sup>1</sup>, YANG Qi<sup>2</sup>

(1. College of Food and Quality Engineering, Nanning University, Nanning, Guangxi, 530200, China; 2. Guangxi Duodele Biotechnology Co., Ltd., Nanning, Guangxi, 530028, China)

**Abstract:** Sugarcane bagasse is a common agricultural waste. Optimizing the process of preparing xylooligosaccharides from sugarcane bagasse can provide a theoretical basis for its high-value utilization. In this study, sugarcane bagasse was used as raw material to prepare xylooligosaccharides by low concentration alkali delignification – low intensity acid hydrolysis – xylanase enzymatic hydrolysis. The effects of alkali treatment concentration, alkali treatment temperature and alkali treatment time on lignin removal rate and xylan retention rate were studied. The effects of acid treatment concentration, acid treatment temperature and acid treatment time on the yield of xylooligosaccharides and xylose were studied. Finally, the xylanase enzymatic hydrolysis process was optimized by single factor test combined with response surface method. The results showed that the treatment parameters of low concentration alkali delignification were KOH solution concentration of 0.3 mol/L, alkali treatment temperature of 110 °C and alkali treatment time of 1.5 h. Under these conditions, the lignin removal rate and xylan retention rate reached 57.8% and 87.4%, respectively. The treatment parameters of low-intensity acid hydrolysis were H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution concentration 0.1 mol/L, acid treatment temperature 80 °C and acid treatment time 1 h. The optimal enzymatic process under these conditions was: enzyme dosage of 22 U/g Alkali treated Sugarcane Bagasse (ASB), enzymatic temperature of 40.5 °C, and enzymatic time of 4.3 h. The yield of xylooligosaccharides was 12.66 g/L. This study provides a new idea and theoretical basis for the high-value utilization of sugarcane bagasse and the better preparation of xylooligosaccharides.

**Key words:** sugarcane bagasse; xylooligosaccharide; alkali treatment; acid treatment; enzymolysis; response surface methodology

责任编辑:唐淑芬