

玉米芯纤维降解及果胶制备的前处理方法比较与优化

冯璇¹, 金邦荃¹, 梁光鑫¹, 李渊恒¹, 魏新苗¹, 权晓琴¹, 刘春泉², 李大婧²

(1. 南京师范大学金陵女子学院, 江苏 南京 210097)
(2. 江苏省农业科学院农产品加工所, 江苏 南京 210014)

[摘要] 研究比较了5种化学试剂提取玉米芯果胶的效果,进行了梯度筛选和响应面工艺优化.结果表明,常温下2% NaOH降解玉米芯纤维和提取果胶效果最优,是降解玉米芯提取果胶的最适前处理试剂;经响应面优化,其最佳工艺组合是 $A_3B_2C_1$,即分别为2% NaOH、1:27料液比、650 W×40 s微波功率和时间,Box-Behnken模型适用($R^2=0.9807$, $p<0.0001^{**}$);其玉米芯果胶最高得率达到12%以上,且含量达到36%以上.

[关键词] NaOH,前处理,响应面优化,果胶,玉米芯

[中图分类号] TS201.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-1292(2014)02-0079-07

The Comparison and Optimization of Corncob Fibre Pretreatments

Feng Xuan¹, Jin Bangquan¹, Liang Guangxin¹, Li Yuanheng¹, Wei Xinmiao¹,
Quan Xiaoqin¹, Liu Chunquan², Li Dajing²

(1. Ginling College, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)
(2. Institute of Argo-product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: This paper studies the effect of 5 solutions degrading corncob cellulose by gradient selecting and Box-Behnken response surface optimizing. The study shows that 2% NaOH can effectively degrade corncob cellulose and obtain solubility pectin and it's the best reagent to degrade corncob. The optimum values of extraction are determined to be $A_3B_2C_1$; 2% NaOH concentration, 27:1 V:W, 650 W×40 s microwave, and the Box-Behnken model is applicative ($R^2=0.9807$, $p<0.0001^{**}$); The yield can reach to more than 12% and the content can reach to more than 36%.

Key words: NaOH, pretreatment, response surface analysis, pectin, corncob

玉米是一种高产粮食作物,在世界粮食生产中占有重要位置.我国是农业大国,玉米栽培面积和产量均居世界第二位^[1].玉米芯是玉米果穗脱去籽粒后的穗轴,一般占玉米穗的20%~30%左右;与玉米秸秆相比,玉米芯干物质中不消化的木质素和纤维素相对较少,可能更有利于提取和制备可消化和可溶性膳食纤维,如半纤维素和果胶等^[1].然而我国农村玉米秸秆和玉米芯主要焚烧或用作饲料,其他方面的利用并不多.目前,一些科学家希望从这些废弃物中制备出高附加值的生物材料和生物柴油^[2-4].现阶段国内外多采用酸解、酶解、酸或酶与微波联用等方法^[5-7],分离提取植物源可消化膳食纤维-果胶,并作为稳定剂、悬浮剂等应用于食品加工业^[8-10];也可以低聚果胶的形式应用于新型食品补充剂的开发,以改善人体健康^[11,12].

本研究借鉴生物柴油制备工艺^[2-4]和植物果胶提取工艺^[5-7]的理念,试图从pH酸端到碱端,选择出适合玉米芯降解并提取果胶前处理的理想化学试剂;经过比较和响应面优化,得到高效降解玉米芯纤维并制备其果胶的工艺条件.

1 材料与方法

1.1 玉米芯及制备

6~7月份收集新鲜乳熟期玉米芯若干,50~60℃烘干,药物粉碎机粉碎,过40目筛,取筛下物,干燥

收稿日期:2014-04-27.

基金项目:2011年江苏省现代农业技术创新项目(CX(11)2067-1)、2012年江苏省重点大学生创新项目.

通讯联系人:金邦荃,博士,教授,研究方向:食品科学. E-mail: jinbangquan@njnu.edu.cn

密封保存备用.

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器

Spectrumlab54 紫外可见分光光度计(上海凌光技术有限公司);VIP271 微波炉(美国惠而浦公司);DGH-9140 电热恒温鼓风干燥箱(上海精密科学有限公司);LGR10-4.2 离心机(北京医用离心机厂);FM100 高速万能粉碎机(天津太斯特仪器有限公司);AUY220 1/万电子天平(日本岛津)等.

1.2.2 试剂

95% 乙醇、纤维素酶(BR)、D-半乳糖醛酸(BC)、哌唑(CP)、HCl、H₂SO₄、NaOH 和 NaHCO₃ 等,未标识者均为分析纯(AR).

1.3 试验设计

1.3.1 前处理试剂筛选

选择 5 种试剂预处理玉米芯,比较它们的降解效果,进行初步筛选.该 5 种试剂(HCl、纤维素酶、NaHCO₃、Na₂CO₃ 和 NaOH)的 pH 分别为 2.0、4.8、8.0、10.0 和 12.0;蒸馏水(dH₂O)为参照系,经 650 W×30 s 微波处理,比较和选择出适宜的水解试剂,如表 1 所示.

表 1 玉米芯前处理筛选
Table 1 Pretreatment of corncob

浓度梯度	HCl/%	纤维素酶/%	Na ₂ CO ₃ /%	NaHCO ₃ /%	NaOH/%
1	0	0	0	0	0
2	0.3	0.2	1	1	0.5
3	0.4	0.3	2	2	1
4	0.5	0.4	3	3	1.5
5	0.6	0.5	4	4	2
6	0.7	0.6			

注:每点设 3 个平行.

1.3.2 三前处理效果的单因素分析

经浓度梯度初步筛选后,对 HCl、纤维素酶(Cellulase)和 NaOH 降解玉米芯效果进一步比较,试图初选出理想的试剂和工作条件,如表 2 所示.

表 2 三前处理单因素分析
Table 2 ANOVA of 3 pretreatments

处理	分组	料液比(W:V)	微波功率/W	微波时间/s
0.6% HCl	1	1:10.0	0	0
	2	1:12.5	350	10
	3	1:15.0	500	20
	4	1:17.5	650	30
	5	1:20.0	750	40
0.5% Cellulase	6	1:10.0	0	0
	7	1:12.5	350	10
	8	1:15.0	500	20
	9	1:17.5	650	30
	10	1:20.0	750	40
1.5% NaOH	11	1:21.0	350	10
	12	1:23.0	500	20
	13	1:25.0	650	30
	14	1:27.0	750	40
	15	1:29.0	850	50

注:每点设 3 个平行,ANOVA:Analysis of Variance.

1.3.3 NaOH 前处理条件优化

采用 Box-Behnken 中心组合设计原理,优化 NaOH 前处理条件;同时采用 Design Expert 7.1 软件,对 NaOH 处理进行三因素三水平设计;以玉米芯水解产物-果胶得率(Y)为响应值建立回归方程,通过响应面编码评价其降解效果^[13],如表 3 所示。

1.4 D-半乳糖醛酸标准曲线

采用硫酸咔唑比色法,建立 D-半乳糖醛酸标准曲线,对玉米芯纤维降解提取的水解产物-果胶进行定性和定量分析,并计算其得率^[14]:

$$\text{果胶含量}(\%) = \frac{c \times 100\%}{w \times 10^6} \times 100\%,$$

式中, c 为对应的半乳糖醛酸浓度/(mg/L), w 为样品质量/g。

如图 1 所示,吸光度(Y)与半乳糖醛酸含量(X)之间的关系满足 $Y=0.0084X-0.0002$ 的线性关系($R^2=0.9948, p<0.01$);在 $0 \sim 60 \mu\text{g/mL}$ 范围内,线性良好。

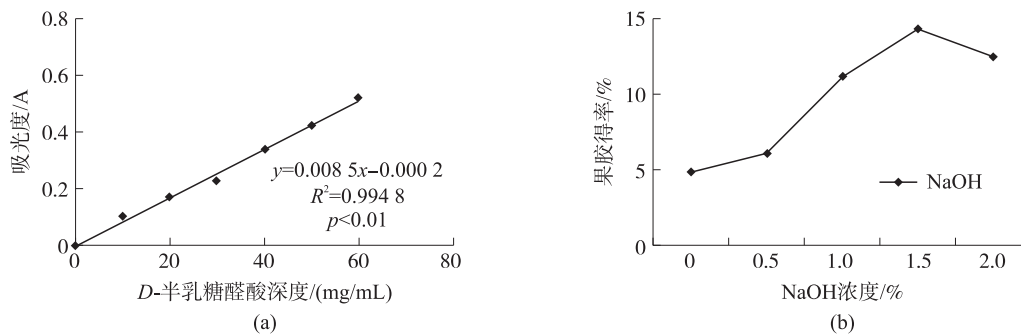


图 1 D-半乳糖醛酸标准曲线

Fig.1 Standard curve of D-GA

1.5 数据处理与统计分析

本文数据均以 $\bar{x} \pm SD$ 表示;运用 Design Expert 7.1.3 和 SPASS13.0 (ISBN7-980009-06-1) 软件,进行试验设计和统计分析;当 $p<0.05$ 或 0.01 时,表示组间差异显著或极显著并以 * 或 ** 标示^[15]。

2 结果与分析

2.1 玉米芯降解前处理试剂筛选

以 $1:15$ 料液比结合 $650 \text{ W} \times 30 \text{ s}$ 微波处理,比较 5 种不同试剂的降解效果并选出适宜浓度。结果表明,NaOH 降解玉米芯的效果是 5 种试剂中的最佳。 0.5% NaOH 时,果胶得率即达到 $5.99\% \pm 0.48\%$ ($p<0.05^*$,见图 2a); 1.5% NaOH 的降解效果最佳,其果胶得率最大,即 $14.2\% \pm 0.88\%$ ($p<0.01^{**}$,见图 2(a));其次为 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 , 2% Na_2CO_3 可得到 $4.5\% \pm 0.38\%$ 果胶,而 $2\% \sim 4\%$ NaHCO_3 的果胶得率约为 4.3% 左右($p<0.05^*$,见图 2(b));HCl 和 Cellulase 降解玉米芯效果不尽人意(见图 2(c))。

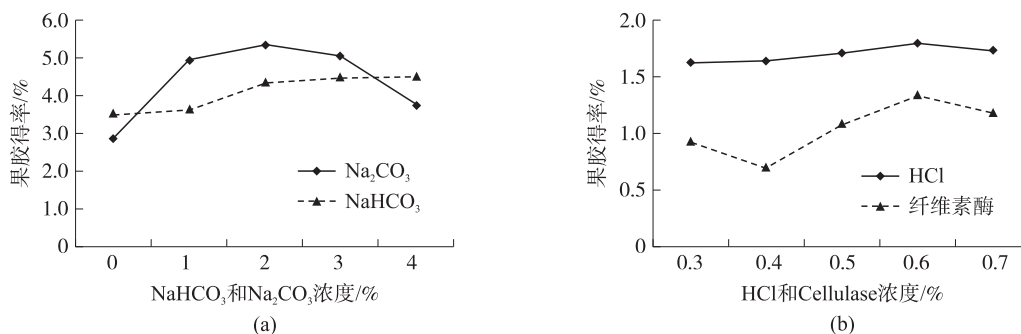


图 2 5 种试剂降解玉米芯纤维效果比较

Fig.2 Comparing with corncob degradation of 5 reagents

2.2 三前处理主要影响因素分析

初筛后,对3种代表性试剂NaOH、HCl和Cellulase的作用进行单因素梯度分析,试图找到其主要影响因素和适宜工作条件.

2.2.1 料液比的影响

当微波功率和时间一定时(650 W×30 s),用1:27料液比的1.5% NaOH可得到 $7.31\% \pm 0.28\%$ ($p < 0.05^*$)玉米芯果胶;而1:15的0.6% HCl和1:20的0.5% Cellulase仅略微提高果胶得率到 $2.00\% \pm 0.08\%$ 和 $1.97\% \pm 0.08\%$ ($p < 0.05^*$),如图3(a)和图3(b)所示.

2.2.2 微波功率的影响

微波功率一直是水提工艺中的重要影响因素之一,当确定了适宜的水解浓度和料液比之后,需筛选出适宜的微波功率.研究发现,30 s微波处理时,750 W微波功率1.5% NaOH可将果胶得率提高到 $8.33\% \pm 0.14\%$ ($p < 0.05^*$,图3(c)所示);0.6% HCl和0.5% Cellulase分别在650 W和750 W时,果胶得率有所提高,如图3(d)所示.

2.2.3 微波时间的影响

进一步评价微波时间的影响效果.研究发现,试剂浓度、料液比和微波功率确定后,40 s是NaOH、HCl和Cellulase合适的微波处理时间,NaOH提取果胶得率可达到 $9.52\% \pm 0.21\%$ ($p < 0.05^*$,如图3(e)所示),而后两种试剂提取果胶得率依然徘徊在1.5%上下(如图3(f)所示).

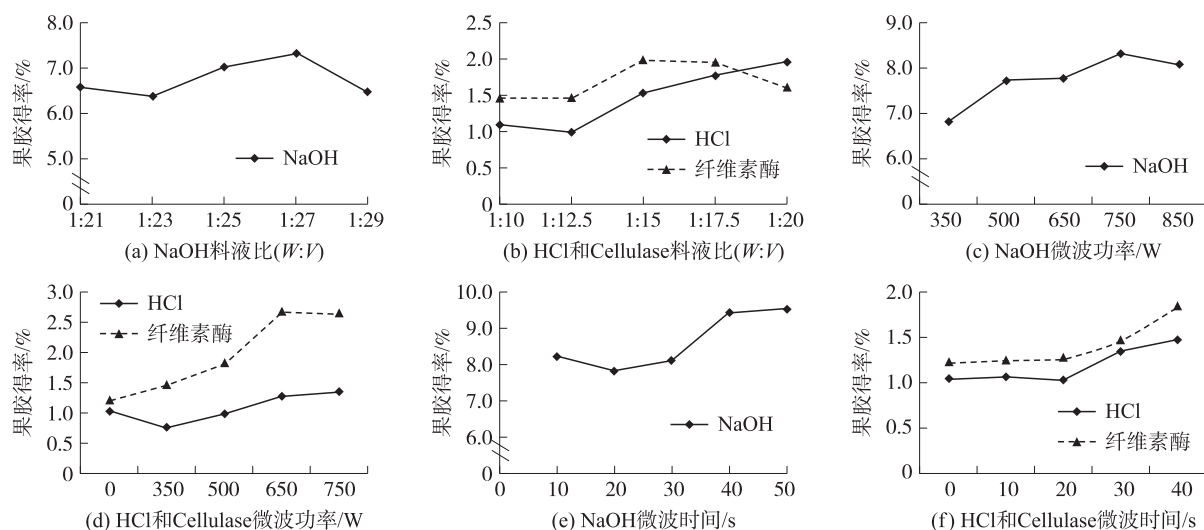


图3 三因素对NaOH、HCl和纤维素酶对降解玉米芯纤维的影响

Fig. 3 Three effects on corn fibre degradation by NaOH, HCl and Cellulase

2.3 NaOH 工艺条件优化及验证

2.3.1 NaOH 前处理玉米芯条件优化

对NaOH前处理玉米芯条件进行优化,经中心组合设计,得到17组处理方案.其中NaOH浓度、料液比和微波功率分别设为A、B、C三因素,进行NaOH前处理玉米芯工艺优化并建立二次多项回归方程: $Y = 10.37 + 1.66A - 0.048B + 0.49C + 0.11AB - 0.76AC + 0.40BC - 1.27A^2 - 1.06B^2 - 0.89C^2$ ($R^2 = 0.9359$, $p < 0.05^*$).

对响应面模型进行方差分析,由表4可知,回归模型达到极显著水平($p < 0.01^{**}$),失拟项不显著,说明方程与实际情况拟合较好,试验误差较小,因此可以用该方程代替试验真实点对试验结果进行分析^[16].其次,A和C一次项、 A^2 、 B^2 和 C^2 二次项以及AC交互项影响达到极显著水平($p < 0.01^{**}$),说明它们均对提高果胶得率具有明显作用^[17].如图4所示,三因素中NaOH浓度(A)对果胶得率的影响最大,其次为微波功率(C)和料液比(B).

2.3.2 优化条件验证

为了检验Box-Behnken模型的可行性,对响应面最优工艺条件进一步验证,结果表明 $A_3B_2C_1$ 组合优化效果最佳.由模型提示,2% NaOH、1:27.48料液比和662.81 W微波功率提取玉米芯果胶效果最佳,考虑到实际操作的便利,将其修正为2% NaOH、1:27料液比和650 W微波功率.在此条件下进行3次平行试

验,果胶平均得率为 $12\% \pm 0.46\%$,含量达到 36% 以上,重复性好(模型 $p < 0.0001^{**}$),表明 NaOH 前处理条件优化结果可靠。

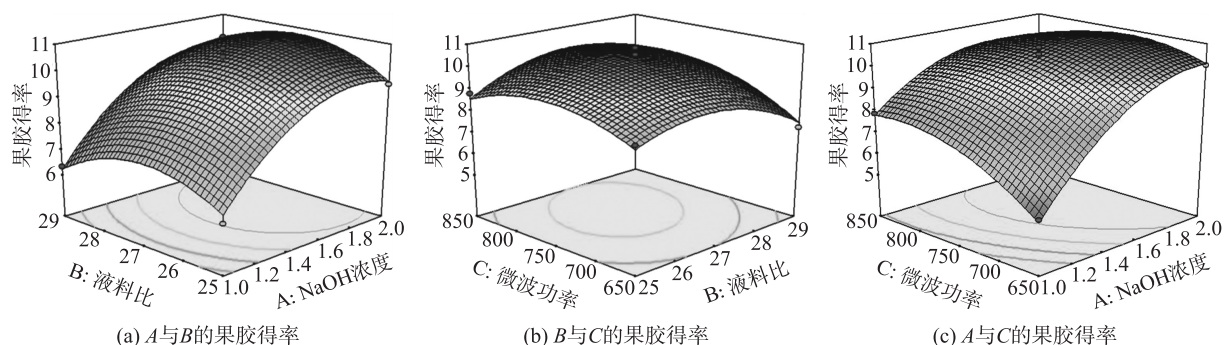


图4 NaOH 提取果胶响应面优化

Fig.4 Response surface of NaOH

表4 NaOH 响应面优化

Table 4 Optimal response surface of NaOH

编组	组合	预测值/%	实际值/%	项	标准差	P 值
1	$A_1 B_1 C_2$	6.19	6.23	常数	0.16	$<0.0001^{**}$
2	$A_3 B_1 C_2$	9.70	9.52	A	0.12	$<0.0001^{**}$
3	$A_1 B_3 C_2$	6.38	6.34	B	0.12	0.7123
4	$A_3 B_3 C_2$	9.70	10.07	C	0.12	0.0056^{**}
5	$A_1 B_2 C_1$	5.31	5.44	A^2	0.17	0.0001^{**}
6	$A_3 B_2 C_1$	10.14	10.07	B^2	0.17	0.0004^{**}
7	$A_1 B_2 C_3$	7.81	7.88	C^2	0.17	0.0012^{**}
8	$A_3 B_2 C_3$	9.60	9.47	AB	0.17	0.5493
9	$A_2 B_1 C_1$	8.33	8.56	AC	0.17	0.0034^{**}
10	$A_2 B_3 C_1$	7.54	7.25	BC	0.17	0.0585
11	$A_2 B_1 C_3$	8.51	8.8			
12	$A_2 B_3 C_3$	8.66	9.07			
13	$A_2 B_2 C_2$	10.37	10.85			
14	$A_2 B_2 C_2$	10.37	10.15			
15	$A_2 B_2 C_2$	10.37	10.09			
16	$A_2 B_2 C_2$	10.37	10.23			
17	$A_2 B_2 C_2$	10.37	10.55			
总模型	$p < 0.0001^{**}$					
失拟项	$p = 0.3521$					
相关系数	$R^2 = 0.9807$					

注:双尾法显著性检验。

3 讨论与结论

3.1 讨论

探讨 5 种玉米芯前处理方法,经前处理效果比较,常温下 2% NaOH 可有效降解玉米芯,其机理可能是打断了玉米芯纤维大分子结构,部分去除其他有机物的包被和屏蔽,从而有利于可消化和可溶性膳食纤维-果胶游离出来,故提高了其得率^[2-4,18,19]。

HCl 和 Cellulase 是常用于水解果蔬皮渣中纤维的试剂和手段^[7-12],本研究也就其降解玉米芯制备果胶进行了 4 单因素梯度筛选。结果发现,低浓度 HCl 和纤维素酶提取玉米芯果胶的效果甚微。因此,研究认为二者不宜作为处理玉米芯等的有效化学试剂。究其原因,玉米芯等总纤维主要由木质素和纤维素等大分子构成,该类高聚合物不易消化和降解^[1],故而仅用酸或酶水解不能有效切断纤维素和木质素等化合物的高分子聚合链,也不能有效打破植物细胞壁屏蔽,所以提取内部可溶性果胶困难^[20,21]。

采用 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 前处理玉米芯,与其他试剂进行比较,结果注意到碱式盐的 pH 分别在 8.0 和 10.0,降解玉米芯的效果虽不如 NaOH,但获得的果胶得率可以达到 5% 以上,且明显优于 HCl 和

Cellulase. 尽管本研究未对二者深入探究,但提示碱式盐前处理玉米芯效果虽弱于 NaOH,但它们对环境比较友好,是今后的工作目标之一。

3.2 结论

比较 5 种备选试剂,同时对 NaOH、HCl 和 Cellulase 等进行 4 因素梯度筛选并优化了 NaOH 工艺条件,本研究认为,低浓度 NaOH 是降解玉米芯的最适化学试剂;它的最佳工艺组合是 $A_3B_2C_1$,即分别为 2% NaOH、1:27 料液比、650 W×40 s 微波功率和时间($R^2=0.9807, p<0.0001^{**}$),玉米芯果胶最高得率达到 12% 以上,果胶含量达到 36% 以上;Box-Behnken 模型经验证是可行的。

[参考文献](References)

- [1] 董英. 玉米芯营养价值及其综合利用[J]. 粮食与油脂, 2003(5): 27-28.
Dong Ying. Corn cob nutritional value and utilization[J]. Food and Grease, 2003(5): 27-28. (in Chinese)
- [2] 吕昂, 张俐娜. 纤维素溶剂研究进展[J]. 高分子学报, 2007(10): 937-944.
Lü Ang, Zhang Lina. Advance in solvents of cellulose[J]. Journal of Polymer Science, 2007(10): 937-944. (in Chinese)
- [3] 王若兰, 牛会敏, 邓立阳, 等. 花生壳水溶性膳食纤维超声提取工艺响应面优化[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2013, 34(1): 6-11.
Wang Ruolan, Niu Huimin, Deng Liyang, et al. Optimization of extraction process of water-soluble dietary fiber from peanut null by response surface methodology[J]. Journal of Henan University of Technology: Natural Science Edition, 2013, 34(1): 6-11. (in Chinese)
- [4] 赵莎莎, 金邦荃, 顾晓俊, 等. 三联法制备猕猴桃果肉中果胶的工艺研究[J]. 南京师范大学学报: 工程技术版, 2013, 13(2): 81-86.
Zhao Shasha, Jing Bangquan, Gu Xiaojun, et al. Extraction of pectin from *Actinidia* pomace by triple technology in Box-Behnken model[J]. Journal of Nanjing Normal University: Engineering and Technology Edition, 2013, 13(2): 81-86. (in Chinese)
- [5] 赵莎莎, 姚晓丽, 吴旻丹, 等. 酶法提取猕猴桃皮和渣中果胶的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(12): 7 097-7 100.
Zhao Shasha, Yao Xiaoli, Wu Mindan, et al. Research on the extraction technology of the pectin from kiwifruit skin and slag[J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2011, 39(12): 7 097-7 100. (in Chinese)
- [6] Tamaki Y, Konishi T, Fukuta M. Isolation and structural characterization of pectin from endocarp of *Citrus depressa*[J]. Food Chemistry, 2008(107): 352-361.
- [7] 张燕. 果胶在发酵型酸性乳饮料中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2003, 18(12): 45-47.
Zhang Yan. The application of pectin in yogurt drink[J]. Food and Fermentation Industries, 2003, 18(12): 45-47. (in Chinese)
- [8] 汪海波, 汪芳安, 潘从道. 柑橘果皮果胶的改进提取工艺研究[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 136-141.
Wang Haibo, Wang Fangan, Pan Congdao. Study on improved pectin extraction method from orange peel[J]. Food Science, 2007, 28(2): 136-141.
- [9] Sijin Wang, Fang Chen, Jihong Wu. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology[J]. Journal of Food Engineering, 2007(78): 693-700.
- [10] 顾晓俊, 金邦荃, 赵莎莎, 等. 三联法制备猕猴桃皮中果胶的工艺研究[J]. 食品科技, 2013, 38(10): 88-97.
Gu Xiaojun, Jing Bangquan, Zhao Shasha, et al. Extraction of triple technology for extracting pectin from *Actinidia* peel[J]. Food Science and Technology, 2013, 38(10): 88-97. (in Chinese)
- [11] 邸铮, 付才力, 李娜, 等. 酶法提取苹果皮渣果胶的特性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(4): 133-137.
Di Zheng, Fu Caili, Li Na, et al. Enzymic extraction and characterization of pectin from apple pomace[J]. Food Science, 2007, 28(4): 133-137. (in Chinese)
- [12] 刘焕云, 李慧荔, 顿博影. 微波加热法提取柚果皮果胶的工艺[J]. 农业工程学报, 2008, 24(8): 302-304.
Liu Huanyun, Li Huili, Dun Boying. Extraction of pectin from shaddock peel by microwave heating[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(8): 302-304. (in Chinese)
- [13] 马亚琴, 孙志高, 吴厚玖, 等. 响应面法优化提取甜橙皮渣中果胶的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 10-13.
Ma Yaqin, Sun Zhigao, Wu Houjiu, et al. Extraction optimization of pectin from sweet orange peels using response surface

- methodology[J]. Food Science,2010,31(14):10-13. (in Chinese)
- [14] 丁建东,张雪红,姚先超,等. 咔唑比色法测定剑麻果胶含量[J]. 食品研究与开发,2010,31(11):138-140.
Ding Jiandong,Zhang Xuehong,Yao Xianchao,et al. Determination of sisal pectin content by carbazole colorimetric method[J]. Food Research and Development,2010,31(11):138-140. (in Chinese)
- [15] 徐端正. 生物统计在实验和临床药理学中的应用[M]. 北京:科学出版社,2004:79-82.
Xu Duanzheng. Biometric Applications in Experimental and Clinical Pharmacology[M]. Beijing:Science Press,2004:79-82. (in Chinese)
- [16] 陈健,孙爱东,高雪娟,等. 响应面分析法优化超声波提取槟榔原花青素工艺[J]. 食品科学,2011,32(4):82-86.
Chen Jian,Sun Aidong,Gao Xuejuan,et al. Process optimization for ultrasonic-assisted solvent extraction of proanthocyanidins from areca catechu L. fruit by response surface analysis[J]. Food Science,2011,32(4):82-86. (in Chinese)
- [17] 陈姗姗,葛静含,仇农学. 花生壳膳食纤维提取工艺及其性能研究[J]. 食品科学,2006(1):45-47.
Chen Shanshan,Ge Jinghan,Qiu Nongxue. Studies on the extraction of dietary fiber from peanut shell and its properties determination[J]. Food Industry,2006(1):45-47. (in Chinese)
- [18] 张艳荣,王大为,祝威. 高品质玉米膳食纤维生产工艺的研究[J]. 食品科学,2006(1):45-47.
Zhang Yanrong,Wang Dawei,Zhu Wei. Study on production technique of high quality corn dietary fiber[J]. Food Science,2006(1):45-47. (in Chinese)
- [19] Yeoh S,Shi J,Langrish T A G. Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels[J]. Desalination,2008(218):229-237.
- [20] 陶永霞,周建中,武运,等. 酶碱法提取枣渣可溶性膳食纤维的工艺研究[J]. 食品科学,2009,30(20):118-121.
Tao Yongxia,Zhou Jianzhong,Wu Yun,et al. Enzymolysis followed by alkaline hydrolysis for preparing water soluble dietary fiber from jujube fruit residues[J]. Food Science,2009,30(20):118-121. (in Chinese)
- [21] Wu Jin,Zhang Jun,Zhang Hao,et al. Homogeneous acetylation of cellulose in a new ionic liquid[J]. Biomacromolecules,2004,5(2):266-268.

[责任编辑:严海琳]