

文章编号:1671-1513(2011)03-0033-05

玉米麸皮中阿魏酰低聚糖的制备

潘海晓¹, 刘海顺², 王静¹, 赵冰¹, 苏颖¹

(1. 北京工商大学食品学院/食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京 100048;

2. 中储粮北京分公司承德粮油质检中心, 河北承德 067001)

摘要:以玉米麸皮为原料,利用纤维素酶辅助木聚糖酶制备阿魏酰低聚糖,通过正交试验对制备条件进行了优化,得到最佳制备条件:反应温度 60 ℃, pH 值 5.0, 反应时间 36 h, 纤维素酶质量浓度 8 g/L, 木聚糖酶质量浓度 6 g/L, 底物质量浓度 165 g/L, 在此条件下,产物中阿魏酰低聚糖的浓度达到 2.127 mmol/L.

关键词:玉米麸皮;纤维素酶;木聚糖酶;阿魏酰低聚糖

中图分类号: TS210.9

文献标志码: A

玉米是世界三大粮食作物之一,它含有较多的酚类化合物,如:阿魏酸、香草酸和香豆酸等. 酚酸都有很强的抗氧化活性,对于延缓人体衰老有显著的作用. 玉米麸皮中主要含有阿魏酸,其含量为 0.4% ~ 3.6%^[1-3]. 在植物中,阿魏酸主要通过酯键与细胞壁多糖和木质素交联,自身酯化或醚化形成双阿魏酸. 与其他植物细胞壁不同的是,玉米麸皮表面存在大量的纤维素、半纤维素,这严重影响酶解效率,而且研究发现,玉米麸皮中的阿魏酰低聚糖的结构也相当复杂^[4-9].

阿魏酰低聚糖(feruloylated oligosaccharides, FOs)是低聚糖中不同位置上的糖羟基与阿魏酸羧基酯化形成的一类化合物. 阿魏酰低聚糖由于既具有阿魏酰基又具有亲水性的低聚糖基团,因而具有较好的水溶性和耐热性. 近年来,虽然人们对天然抗氧化剂的研究比较多,但由于许多天然抗氧化剂不溶于水、不耐热,因此阿魏酰低聚糖的生物活性已经引起了人们的研究兴趣. 研究发现,阿魏酰低聚糖的抗氧化性高于阿魏酸与 VC,而且它可以体外抑制 Cu²⁺ 诱导人体脂蛋白的过氧化反应,保护正常小

鼠红细胞免受氧化应激的伤害,是一种潜在的抗氧化剂^[10-15].

本研究用廉价的玉米麸皮作原料,制备具有生理功能的阿魏酰低聚糖,以期玉米加工副产物玉米麸皮的综合利用提供一条新的途径.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米麸皮,中储粮北京分公司承德粮油质检中心,粉碎后过 40 目筛待用;耐高温 α -淀粉酶,北京奥博兴生物技术有限责任公司;糖化酶,北京奥博兴生物技术有限责任公司;碱性蛋白酶,诺维信公司;木聚糖酶,武汉新华扬生物有限公司;纤维素酶,北京宁馨儿生物科技开发有限公司;其他化学试剂均为分析级.

1.2 仪器与设备

SHZ-82 型水浴恒温振荡器,江苏省金坛市荣华制造有限公司;HH SY11-Ni2B 型电热恒温水浴锅,北京市长风仪器公司;JJ-1 型精密增力电动搅

收稿日期:2011-05-01

基金项目:北京市科技新星项目(2008B07).

作者简介:潘海晓,女,硕士研究生,研究方向为农副产品资源的开发利用;

王静,女,副教授,博士,主要从事农副产品资源的开发利用方面的研究. 通讯作者.

拌器,常州国华电器有限公司;Spectrumlab 53 型紫外-可见分光光度计,上海棱光技术有限公司;SHB-ⅢA 型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 玉米麸皮不溶性膳食纤维制备

在文献[15]和文献[16]制备玉米膳食纤维方法的基础上,进行了修改:玉米麸皮 100 g 用粉碎机粉碎后,过 40 目筛,用高压蒸气在 121 ℃ 处理,后取出加入 1 000 mL 馏水,60 ℃ 下搅拌 20 h,使其充分溶胀。加入耐高温 α -淀粉酶、碱性蛋白酶和糖化酶将玉米麸皮酶解,将混合物沉淀,弃去上清液,用热水,冷水清洗沉淀,至上清液无明显混浊,再用酒精和丙酮洗涤,最后放置在真空干燥箱内 45 ℃ 晾干。

1.3.2 玉米不溶性膳食纤维中阿魏酸含量的测定

10 mg 玉米不溶性膳食纤维加入 0.5 mL 2 mol·L⁻¹ 氢氧化钠,在摇床里反应 2 h,转速 150 r/min,后加入 0.3 mL 3.5 mol·L⁻¹ 的磷酸调 pH 值到 2.0。用乙酸乙酯萃取 5 次,每次加入乙酸乙酯 1.6 mL,离心 5 min,转速 1 000 g,上清液被放置在真空干燥箱内 45 ℃ 晾干,在 325 nm 下用紫外分光光度计测其吸光值。

1.3.3 阿魏酰低聚糖的酶解工艺

分别以纤维素酶、木聚糖酶浓度、反应时间、底物浓度为变量,先后进行单因素和正交试验,探索得到利用玉米麸皮制备阿魏酰低聚糖的最优条件。

1.3.3.1 单因素实验

1) 最适反应时间的确定。称取 3 g 玉米不溶性膳食纤维到 100 mL 三角瓶中,加入 0.12 g 木聚糖酶和 0.24 g 纤维素酶,再加入 30 mL MOPS 缓冲液(50 mmol/L, pH 值为 5.0),反应混合物置于一台恒温水浴摇床内,60 ℃ 下分别反应 12, 24, 36, 48, 60 h,振荡器转速设为 150 r/min。

2) 最适纤维素酶量的确定。称取 3 g 玉米不溶性膳食纤维到 100 mL 三角瓶中,加入 0.12 g 木聚糖酶,再分别加入 0.12, 0.18, 0.24, 0.30, 0.36 g 纤维素酶,后加入 30 mL MOPS 缓冲液(50 mmol/L, pH 值为 5.0),反应混合物置于一台恒温水浴摇床内,60 ℃ 下反应 36 h,振荡器转速设为 150 r/min。

3) 最适木聚糖酶量的确定。称取 3 g 玉米不溶性膳食纤维到 100 mL 三角瓶中,加入 0.24 g 纤维素

酶,再分别加入 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.30 g 木聚糖酶,后加入 30 mL 醋酸缓冲液,反应混合物置于一台恒温水浴摇床内,60 ℃ 下反应 48 h,振荡器转速设为 150 r/min。

4) 最适底物浓度的确定。分别称取 1~5 g 玉米不溶性膳食纤维到 100 mL 容量瓶中,加入 0.3 g 纤维素酶和 0.3 g 木聚糖酶,再加入 30 mL pH 值为 5.0 的醋酸缓冲液,反应混合物置于一台恒温水浴摇床内,60 ℃ 下反应 36 h,振荡器转速设为 150 r/min。

1.3.3.2 正交试验

为了探索酶解玉米麸皮获得阿魏酰低聚糖的最佳条件,参考单因素实验结果,采用正交表 L₉(4³) 设计正交试验,试验的因素水平见表 1。

表 1 玉米麸皮制备阿魏酰低聚糖正交试验因素水平表
Tab. 1 Design of orthogonal test in preparation of feruloyl oligosaccharides from maize bran

	反应 时间/h	底物质量浓度/ (g·L ⁻¹)	木聚糖酶质量 浓度/(g·L ⁻¹)	纤维素酶质量 浓度/(g·L ⁻¹)
1	24	99	4	6
2	36	132	6	8
3	48	165	8	10

1.3.4 阿魏酰低聚糖的测定

将酶解后的物质从恒温水浴摇床取出后,在高压锅内 100 ℃ 灭酶活 10 min,后进行抽滤,收集滤液,并将滤液过 0.45 μm 超滤膜,将得到的液体采用双波长法在 286 nm 和 325 nm 下测定其吸光值,计算得到阿魏酰低聚糖的浓度。

2 结果与讨论

2.1 玉米麸皮膳食纤维制备阿魏酰低聚糖的单因素实验结果

2.1.1 反应时间对阿魏酰低聚糖产量的影响

反应时间对阿魏酰低聚糖产量的影响如图 1。由图 1 可以看出,随着时间的增加,阿魏酰低聚糖的产量逐渐增加,反应 36 h,产量达到了最大值,之后随着时间的增加,阿魏酰低聚糖产量有所下降,反应 50 h 后趋于平缓。这是因为随着时间的延长,阿魏酰低聚糖进一步酶解为小分子的糖类,而导致其产量下降,后来随着时间进一步延长,酶解效率达到极

限,阿魏酰低聚糖含量基本达到平衡.通过单因素实验我们得到,制备阿魏酰低聚糖的最佳时间为反应 36 h.

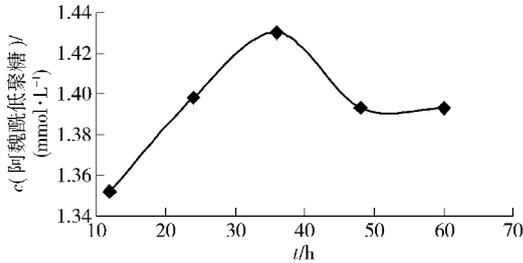


图1 反应时间对阿魏酰低聚糖浓度的影响
Fig. 1 Effect of reaction time on concentration of feruloyl oligosaccharides

2.1.2 木聚糖酶浓度对阿魏酰低聚糖产量的影响

木聚糖酶浓度对阿魏酰低聚糖产量的影响结果如图2.由图2可以看出,随着木聚糖酶质量浓度的增加,阿魏酰低聚糖的产量也在逐渐增加,当酶质量浓度达到 6 g/L 的时候,阿魏酰低聚糖的产量便不再随着酶质量浓度的增加而增加.这是因为随着木聚糖酶酶量的增加,更多的半纤维素降解,阿魏酰低聚糖产量增加,木聚糖酶酶量继续增加,酶解反应达到平衡,阿魏酰低聚糖含量不再增加.通过单因素实验,我们得到制备阿魏酰低聚糖的最佳木聚糖酶质量浓度为 6 g/L.

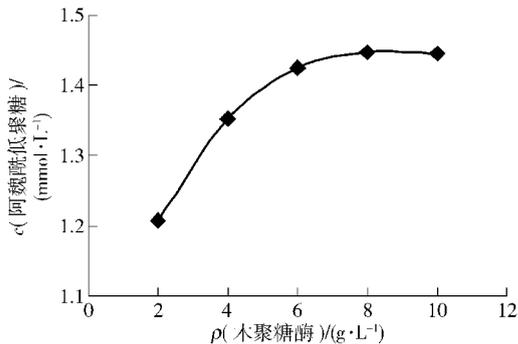


图2 木聚糖酶浓度对阿魏酰低聚糖质量浓度的影响
Fig. 2 Effect of xylanase concentration on concentration of feruloyl oligosaccharides

2.1.3 纤维素酶浓度对阿魏酰低聚糖产量的影响

纤维素酶浓度对阿魏酰低聚糖产量的影响如图3.由图3可以看出,随着纤维素酶浓度的增加,阿魏酰低聚糖的产量在逐渐增加,当酶质量浓度达到 8 g/L 时,阿魏酰低聚糖产量达到最大值,后随着纤维素酶浓度的增加,阿魏酰低聚糖的产量几乎不变.

这是因为,刚开始随着纤维素酶浓度的增加,大量的不溶性膳食纤维降解为可溶性膳食纤维,木聚糖酶能够更好地作用于半纤维素,因此阿魏酰低聚糖的含量增加,后随着纤维素酶浓度的增加,纤维素酶降解细胞壁能力达到极限,阿魏酰低聚糖含量基本不变.由单因素实验得到制备阿魏酰低聚糖的最佳纤维素酶质量浓度为 8 g/L.

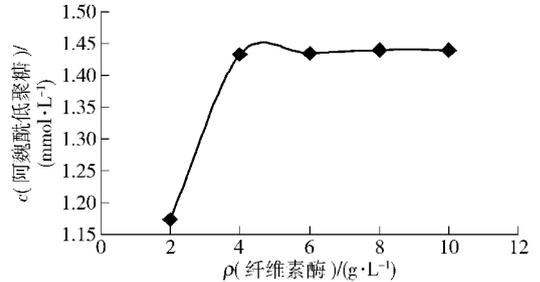


图3 纤维素酶浓度对阿魏酰低聚糖浓度的影响
Fig. 3 Effect of cellulase concentration on concentration of feruloyl oligosaccharides

2.1.4 底物浓度对阿魏酰低聚糖产量的影响

底物浓度对阿魏酰低聚糖产量的影响如图4,由图4可以看出,在其他条件一定的情况下,随着底物浓度的增加,阿魏酰低聚糖的产量在逐渐增加,当底物质量浓度达到 133 g/L 的时候,阿魏酰低聚糖的产量达到最大值,后随着底物浓度的增加,阿魏酰低聚糖的产量下降,这是因为料液比太高,混合液太过粘稠,酶不能够很好地与底物接触,从而导致阿魏酰低聚糖的产量下降.由单因素实验得到制备阿魏酰低聚糖的最佳底物质量浓度为 133 g/L.

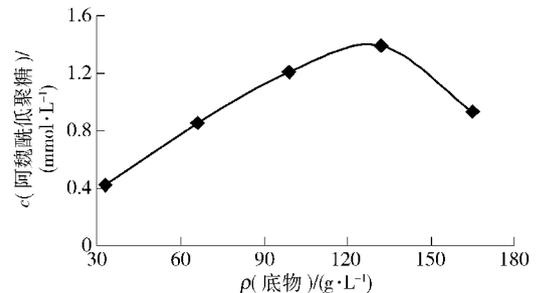


图4 底物浓度对阿魏酰低聚糖浓度的影响

Fig. 4 Effect of substrate concentration on concentration of feruloyl oligosaccharides

2.2 玉米麸皮制备阿魏酰低聚糖的正交试验结果

在单因素实验的基础上,采用正交表设计正交试验,探索利用玉米麸皮制备阿魏酰低聚糖的最佳条件,结果如表2.

表2 玉米麸皮制备阿魏酰低聚糖正交试验结果

Tab.2 Result of orthogonal test in preparation of feruloyl oligosaccharides from maize bran

	A (反应时间/h)	B (ρ (底物)/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$))	C (ρ (木聚糖酶)/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$))	D (ρ (纤维素酶)/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$))	c(阿魏酰低 聚糖)/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
1	1	1	1	1	1.338
2	1	2	2	2	1.601
3	1	3	3	3	1.848
4	2	1	2	3	1.322
5	2	2	3	1	1.667
6	2	3	1	2	2.127
7	3	1	3	2	1.505
8	3	2	1	3	1.897
9	3	3	2	1	1.835
K_1	1.612	1.405	1.804	1.63	
K_2	1.705	1.722	1.586	1.744	
K_3	1.746	1.937	1.673	1.689	
极差	0.314	0.532	0.218	0.114	
最优水平	$A_3B_3C_1D_2$				
主次因素	$B > C > A > D$				

运用极差对数据进行分析得到结果: $R_B > R_A > R_C > R_D$,极差 R 的值越大,说明该因素的效应越大,从正交试验可以得到制备阿魏酰低聚糖的主次因素依次是:底物浓度 > 反应时间 > 木聚糖酶浓度 > 纤维素酶浓度. 最佳因素水平为 $A_3B_3C_1D_2$,考虑到实际情况,反应时间太长,不利于工业化生产,因此反应时间选择 36 h,即制备玉米麸皮阿魏酰低聚糖的最佳反应条件:底物质量浓度为 165 g/L,木聚糖酶质量浓度 6 g/L,纤维素酶质量浓度 8 g/L,反应时间 36 h,pH 值为 5.0,温度 60 °C,得到的阿魏酰低聚糖浓度为 2.127 mmol/L.

3 结 论

1)将玉米麸皮进行高压处理,20 h 的搅拌处理可以使玉米麸皮充分溶胀,后经酶解得到玉米麸皮不溶性膳食纤维,克服了玉米麸皮表面细胞壁坚硬,酶解反应效率低的缺陷.

2)利用纤维素酶辅助木聚糖酶反应制备阿魏酰低聚糖,由于玉米麸皮表面存在大量的纤维素、半纤维素,这严重影响木聚糖酶酶解效率,采用纤维素酶水解其中的纤维素,使得木聚糖酶能够更好地作

用于玉米麸皮细胞壁多糖.

3)利用纤维素酶辅助木聚糖酶酶解玉米麸皮制备阿魏酰低聚糖,克服了传统的利用酸解,有机溶剂提取而造成的污染,也克服了传统的单一酶解玉米麸皮制备阿魏酰低聚糖效率低的缺点.

参考文献:

- [1] 罗艳玲. 碱解玉米皮制备阿魏酸的研究[J]. 食品学报, 2007, 7(5): 97-101.
- [2] 赵阳阳,欧仕益,林奇龄,等. 低聚糖阿魏酸酯含量的快速测定方法[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 329-332.
- [3] 薛枫. 双酶法降解玉米麸皮制备阿魏酸和低聚糖的研究[D]. 广州:暨南大学, 2003.
- [4] Allerdings E, Ralph J, Steinhart H, et al. Isolation and structural identification of complex feruloylated heteroxylan side-chains from maize bran [J]. Phytochemistry, 2006, 67: 1276-1286.
- [5] Bunzel M, Allerdings E, Ralph J, et al. Cross-linking of arabinoxylans via 8-8-coupled diferulates as demonstrated by isolation and identification of di-arabinosyl 8-8(cyclic)-dehydrodiferulate from maize bran[J]. Journal of Cereal

- Science, 2008, 47: 29–40.
- [6] Allerdings E, Ralph J, Paul F, et al. Isolation and structural identification of diabinosyl 8-O-4-dehydrodiferulate from maize bran insoluble fibre [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66: 113–124.
- [7] Funk C, Ralph J, Steinhart H, et al. Isolation and structural characterisation of 8-O-4/8-O-4- and 8-8/8-O-4-coupled dehydrotriferulic acids from maize bran [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66: 363–371.
- [8] Bunzel M, Ralph J, Funk C, et al. Structural elucidation of new ferulic acid-containing phenolic dimers and trimers isolated from maize bran [J]. *Tetrahedron Letters*, 2005, 46: 5845–5850.
- [9] Rouau X, Cheynier V, Surget A, et al. A dehydrotrimer of ferulic acid from maize bran [J]. *Phytochemistry*, 2003, 63: 899–903.
- [10] 袁小平. 酶解麦麸制备阿魏酰低聚糖及其生物活性的研究[D]. 无锡:江南大学, 2006.
- [11] Ou S Y, Kwok K C. Ferulic acid: pharmaceutical functions preparation and applications in foods [J]. *J Sci Food Agric*, 2004, 84(11): 1261–1270.
- [12] 焦霞, 陈静, 欧仕益. 麦麸酶解产物对糖尿病大鼠氧化应激损伤的保护作用 [J]. *食品与机械*, 2006, 22(2): 27–29.
- [13] Masuda T, Mizuguchi S, Tanaka T, et al. Isolation and structure determination of new antioxidative ferulic acid glucoside esters from the rhizome of *Alpinia speciosa*, a Zingiberaceae plant used in Okinawan food culture [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(5): 1479–1484.
- [14] 张璟, 欧仕益, 张宁. 麦麸酶解产品清除自由基的体外实验研究 [J]. *营养学报*, 2005, 27: 25–29.
- [15] Rose D J, Inglett G E. Production of feruloylated arabinosyl-oligosaccharides from maize (*Zea mays*) bran by microwave-assisted, autohydrolysis [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119: 1613–1618.
- [16] 胡叶碧. 改性玉米皮膳食纤维的酶法制备及其降血脂机理研究[D]. 无锡:江南大学, 2008.

Preparation of Feruloyl Oligosaccharides from Maize Bran

PAN Hai-xiao¹, LIU Hai-shun², WANG Jing¹, ZHAO Bin¹, SU Ying¹

(1. School of Food/Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 2. Chengde Grain Quality Test Center, China Grain Reserves Corporation Beijing Branch, Chengde 067001, China)

Abstract: Feruloyl oligosaccharides (FOS) were prepared from maize bran using xylanase and cellulase. The effect of temperature, pH, enzyme dosage, substrate concentration, and reaction time on the production of FOS was studied. The optimum reaction conditions were obtained by orthogonal test as follows: temperature 60°C, pH 5.0, reaction time 36 h, xylanase concentration 6 g/L, cellulase concentration 8 g/L, substrate concentration 167 g/L. Under the optimal conditions, the concentration of FOS reached 2.127 mmol/L.

Key words: maize bran; cellulose; xylanase; feruloyl oligosaccharides

(责任编辑:叶红波)