

# 超声强化提取啤酒糟水溶性多糖的工艺研究

朱杰<sup>1</sup>, 李琳<sup>1</sup>, 何元哲<sup>1</sup>, 付全意<sup>1</sup>, 黄玲玲<sup>1</sup>, 别平平<sup>1,2</sup>, 李冰<sup>1,\*</sup>

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640; 2. 佛山市华昊华丰淀粉有限公司, 广东 佛山 528000)

**摘要:** 为获得啤酒糟水溶性多糖的工艺条件, 采用超声强化法提取啤酒糟多糖, 确定最佳工艺条件为超声功率 180W、超声温度 70℃、超声时间 15min、液固比 25:1(ml/g), 在此条件下多糖的得率为 5.79%。经过初步纯化, 多糖质量分数达到了 92.59%。结果表明, 超声可有效强化提取啤酒糟水溶性多糖。

**关键词:** 超声; 啤酒糟; 水溶性多糖; 提取

## Study on Extraction of Water Soluble Polysaccharide from Brewer's Spent Grain

ZHU Jie<sup>1</sup>, LI Lin<sup>1</sup>, HE Yuan-zhe<sup>1</sup>, FU Quan-yi<sup>1</sup>, HUANG Ling-ling<sup>1</sup>, BIE Ping-ping<sup>1,2</sup>, LI Bing<sup>1,\*</sup>

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2. Foshan Huahao Huafeng Starch Co. Ltd., Foshan 528000, China)

**Abstract:** Brewer's spent grain (BSG) contains about 28% (db) water soluble polysaccharide, which could be a good resource of the plant polysaccharide. The extraction of water soluble polysaccharide of BSG under ultrasonic assistance was carried out. The optimum extraction conditions were found at the ultrasonic power of 180 W, extraction temperature of around 70 °C, 15 min of ultrasonic treatment time, and the ratio of liquid to solid of 25:1 (ml/g). Under this condition, the yield of polysaccharide was up to 5.79%. Though the preliminary purification, the water soluble polysaccharide from BSG reached 92.59%. The results revealed that the extraction of water soluble plant polysaccharide was efficiently enhanced by ultrasound assistance.

**Key words:** ultrasonic; brewer's spent grains; water soluble polysaccharide; extraction

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)24-0047-04

多糖是除蛋白质和核酸外的一类重要天然生物大分子, 具有许多重要的生物活性和生理功能, 如免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、降血糖、抗凝血等<sup>[1-2]</sup>。对多糖提取的研究在国内外已经广泛开展, 传统的提取方法如水煎煮法、酸法、碱法等, 但这些方法提取时间长, 易破坏多糖的结构, 影响多糖的吸收和利用。超声作为一种外加物理场, 其力学效应赋予溶剂对细胞膜更大的渗透力, 强化细胞内外的质量传输, 破坏细胞的细胞壁, 使细胞内含物更易释放<sup>[3]</sup>, 已被广泛运用于多糖的提取过程。王芳等<sup>[4]</sup>比较 4 种处理方法的桑叶多糖得率, 综合考虑成本、工作效率等因素, 以超声法前处理、水浸提桑叶多糖得率较高; 葛玉等<sup>[5]</sup>比较酸浆果多糖的含量发现, 提取结果超声提取法虽然没有酶法含量高, 但时间短, 且纯度可达 50%。

近几年来, 寻找资源相对丰富, 成本低廉的植物多糖已成为食品界、医学界关注的热点。啤酒糟(brewer's

spent grain, BSG)是啤酒工业主要的副产物, 每投产 100kg 啤酒原料产生湿酒糟约 120~130kg(含水分 75%~80%), 以干物质计为 22~33kg, 其中含有大量的膳食纤维(约 70%, 干基)和蛋白质(约 20%, 干基), 及少量脂类、维生素、矿物质和氨基酸等。近年我国啤酒工业发展迅速, 2008 年啤酒产量已超过 400 亿升, 居世界第一, BSG 的产量随之上涨。但长期以来, 工厂主要是将湿酒糟作为粗饲料直接低价出售, 有的则是将湿酒糟直接排放, 造成资源浪费和环境污染<sup>[6]</sup>。国外学者将 BSG 添加到动物饲料中, 取得良好的效果<sup>[7-8]</sup>。目前开发 BSG 各种生物活性物质, 如膳食纤维、低聚糖、活性肽等, 成为国内外对 BSG 资源化研究的主要方向<sup>[9]</sup>。

目前国内鲜见报道 BSG 多糖的提取, 本研究采用超声波强化提取水溶性多糖, 设计正交试验得到最佳提取工艺条件, 并进行初步纯化, 最终获得纯度较高的 BSG 水溶性多糖。

收稿日期: 2009-07-01

基金项目: 广东省教育厅产学研基地科技成果转化重大项目(cgzhzd0704); 广东省科技攻关项目(2007B020801001)

作者简介: 朱杰(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为糖类物质及其药物的制备与生物利用。

E-mail: zhujie2009@163.com

\* 通讯作者: 李冰(1972—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品化工与生物化工。E-mail: bli@scut.edu.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

BSG(湿糟在温度-69℃,真空度500Pa条件下冷冻干燥72h,微粉粉碎,烘干备用) 广州珠江啤酒股份有限公司;铝片(纯度99.5%);试剂均为分析纯。

DZF-6050 真空干燥箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂;2100 可见分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司;SB3200DTD 超声波清洗机 宁波新芝生物科技股份有限公司;SIGMA3K 低速冷冻离心机、CHRIST 冻干机 博励行仪器有限公司;Wizard2.0 真空冷冻干燥机 美国 VIRTIS 公司;SXF-4-10 马弗炉 杭州蓝天化验仪器厂;Kjeltec 2300 福斯凯氏定氮仪 福斯(中国)公司。

### 1.2 BSG 成分分析方法

还原糖含量测定:3,5-二硝基水杨酸法(DNS 法)<sup>[10]</sup>;总糖含量测定:苯酚-硫酸法<sup>[11]</sup>;脂肪含量测定:索氏抽提法<sup>[12]</sup>;蛋白质含量测定:凯氏定氮法<sup>[12]</sup>;水分含量测定:GB 5009.3—85;粗纤维含量测定:GB/T 5009.10—2003;灰分含量测定:GB 5009.4—85。

### 1.3 BSG 多糖提取工艺流程

BSG 样品→过 80 目筛→超声波提取→3000r/min, 20min 离心取上清液→苯酚-硫酸法测定粗多糖含量。

$$\text{BSG 水溶性多糖得率}(\%) = \frac{\text{提取液多糖质量}}{\text{BSG 质量}} \times 100$$

### 1.4 BSG 多糖超声强化提取条件优化

在单因素试验基础上,以提取时间、提取温度、超声功率、液固比为因素设计正交试验。因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表  
Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	A 超声功率(W)	B 提取温度(℃)	C 提取时间(min)	D 液固比(ml/g)
1	120	60	15	15
2	150	70	20	20
3	180	80	25	25

### 1.5 BSG 多糖纯化

在最优条件下大批量提取 BSG 粗多糖,3500r/min 离心 20min,取上清液除去纤维素;在 55℃ 条件下真空浓缩,使上清液的体积浓缩至原来的 1/3;加入 4 倍体积的 95% 乙醇,冰箱放置过夜,次日离心收集沉淀;索氏提取除去脂肪,回流 8h 至石油醚提取液为无色为止,蒸干石油醚收集滤渣;在粗多糖溶液中加入溶液体积 1/5 的氯仿和 1/25 的正丁醇,反应 30min,离心去除沉淀,变性后的蛋白介于提取液与 Sevag 试剂交界处;加入适量的大孔吸附树脂静态吸附 2d 脱色,滤去

树脂;糖液透析 72h,除去小分子化合物等杂质,每隔 12h 换一次水;无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤除去小分子糖苷类、生物碱等杂质;将沉淀在温度-69℃、真空度 500Pa 条件下冷冻干燥 72h。

称量干燥后的多糖质量,取 1g 溶于 100ml 水中,采用苯酚-硫酸法测多糖含量、DNS 法测单糖含量、考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 BSG 成分分析

表 2 BSG 成分分析结果  
Table 2 Analysis on composition of BSG

组成	还原糖	多糖	脂肪	蛋白质	粗纤维	灰分
含量(% , 干基)	1.11	3.43	0.89	29.70	52.09	4.86

注:BSG 中水分含量为 5.69%;多糖含量为总糖含量减去还原糖含量<sup>[10]</sup>;DNS 法测定还原糖含量为 1.11%,用苯酚-硫酸法测得总糖含量为 4.54%。

由表 2 可以看出,BSG 多糖含量比较低,而蛋白质和纤维素的含量较多,影响多糖分离纯化的成分主要是蛋白质、粗纤维、单糖和小分子物质。

苯酚硫酸法是利用多糖类成分在硫酸的作用下先水解成单糖,并迅速脱水生成糠醛衍生物,然后和苯酚缩合成有色化合物,该化合物在波长 490nm 处有最大的吸收的性质进行测定的。而蛋白质在酸作用下会发生水解反应,先生成多肽,最后变成多种氨基酸,氨基酸中不含糠醛基团,不会与苯酚形成有色化合物。脂肪在酸作用下会水解产生游离脂肪酸,也不会与苯酚形成有色化合物。灰分中主要是可溶性的钾、钠、钙、镁等的氧化物和盐类,不会干扰苯酚硫酸法对多糖含量的测定。而纤维素在浓硫酸的作用下能水解产生葡萄糖,会影响测定结果,所以在用苯酚硫酸法测定多糖含量的时候要先去除纤维素,根据纤维素不溶于水和乙醇、乙醚等有机溶剂的特点,可以通过离心取上清液除去。

### 2.2 超声提取条件对 BSG 多糖得率的影响

#### 2.2.1 液固比对 BSG 多糖得率的影响

分别取相同质量的 BSG,固定超声功率 150W、提取时间 20min、提取温度 50℃,液固比分别为 5、10、15、20、25、30、35(ml/g),结果见图 1。

从图 1 可以看出,液固比在 5~25 范围内,多糖得率增长较快,超过 25 时,增长减缓。这是因为液固比越高,液体中多糖的浓度低,浓度差就越大,有利于多糖从 BSG 扩散到溶剂中。液固比增大到一定时,多糖基本都扩散到溶剂中了。但是,液固比过高,就会增加后续的浓缩成本。综合考虑,选用 15、20、25 的液固比水平做正交试验。

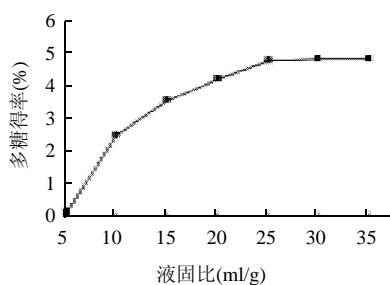


图1 液固比对BSG多糖得率的影响

Fig.1 Effect of liquid/solid ratio on BSG polysaccharide yield

### 2.2.2 提取时间对BSG多糖得率的影响

分别取相同质量的BSG, 固定超声功率150W、液固比20、提取温度50℃, 超声波提取时间分别为5、10、15、20、25、30、35min, 结果见图2。

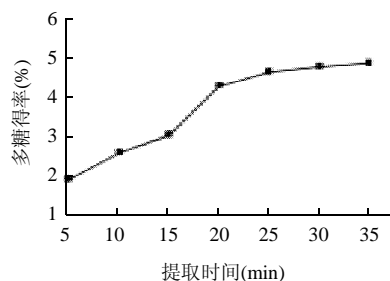


图2 提取时间对BSG多糖得率的影响

Fig.2 Effect of extraction time on BSG polysaccharide yield

从图2可以看出, 超声时间在5~25min内, 多糖得率增长较快; 在超过25min, 增长减缓。由于提取时间越长, BSG颗粒与溶剂的接触时间就越长, 其他条件相同, 延长提取时间会使更多的多糖扩散至提取溶剂, 提高多糖得率。由于提取时间越长, 对能源的消耗越多, 成本越高, 综合考虑, 选用15、20、25min水平做正交试验。

### 2.2.3 提取温度对BSG多糖得率的影响

分别取相同质量的BSG, 固定超声功率150W、液固比20、提取时间20min, 超声波提取温度分别为30、40、50、60、70、80℃, 结果见图3。

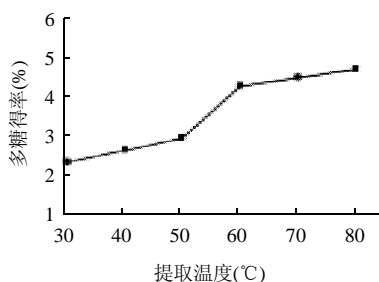


图3 提取温度对BSG多糖得率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on BSG polysaccharide yield

由图3可以看出, 提取温度越高, 多糖的得率越高, 且在50~60℃内增长率最大。超过60℃后得率增加变慢。研究表明, 提取温度越高, 分子产生的运动就越剧烈, 在超声的条件下, BSG颗粒容易膨胀、破裂, 增加多糖溶入溶剂, 提高多糖得率。而温度越高, 对能源的消耗越大, 多糖也越容易变性, 因而选择60、70、80℃的温度水平做正交试验。

### 2.2.4 超声功率对BSG多糖得率的影响

分别取相同质量的BSG, 固定提取温度50℃、液固比20、提取时间20min, 超声功率分别为0、30、60、90、120、150、180W, 结果见图4。

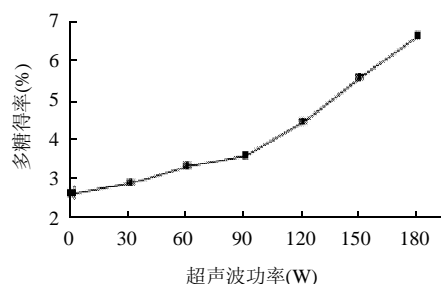


图4 超声功率对BSG多糖得率的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic power on BSG polysaccharide yield

由图4可看出, 多糖得率随超声波功率的升高而升高。研究表明, 超声功率越大, 超声的空化作用越强烈, 振动越剧烈, 其他条件相同, 超声功率的增大能加速多糖溶入溶剂, 提高多糖得率。由于仪器设备的限制, 以及能耗成本的综合考虑, 选择120、150、180W的功率水平做正交试验。

### 2.3 超声强化BSG多糖提取工艺的优化

表3 多糖提取工艺的正交试验结果与分析

Table 3 Results from orthogonal test for polysaccharide extraction technology

试验号	A	B	C	D	多糖得率(%)
1	1	1	1	1	3.477
2	1	2	2	2	3.586
3	1	3	3	3	5.021
4	2	1	2	3	4.177
5	2	2	3	1	3.679
6	2	3	1	2	3.912
7	3	1	3	2	4.171
8	3	2	1	3	5.788
9	3	3	2	1	4.015
K <sub>1</sub>	12.084	11.825	13.177	11.171	
K <sub>2</sub>	11.768	13.053	11.778	11.669	
K <sub>3</sub>	13.974	12.948	12.871	14.986	
k <sub>1</sub>	4.028	3.942	4.392	3.724	
k <sub>2</sub>	3.923	4.351	3.926	3.890	
k <sub>3</sub>	4.658	4.316	4.290	4.995	
R	0.735	0.409	0.466	1.271	

由表3极差分析结果可知, 超声功率(A)、提取温度(B)、提取时间(C)、液固比(D)对于多糖提取率的影响大小依次为 $D > A > C > B$ 。液固比与超声功率对多糖的提取起主导作用, 而超声作用持续时间与提取温度对结果的影响相差不大。正交试验结果表明, 各因素的最佳组合为 $A_3B_2C_1D_3$ , 即超声功率180W、提取温度70℃、提取时间15min、液固比25。经实验验证, 在该最佳提取条件下, BSG多糖得率达5.79%。

成分测定实验和正交试验中多糖含量结果不一致, 这是因为实验得到的多糖是能检测出的水溶性多糖, 经过超声处理后, 部分的纤维素、半纤维素等不溶性多糖分解, 产生了新的水溶性多糖, 所以在多糖含量上出现一定的偏差。

#### 2.4 BSG多糖的纯化结果

根据表2成分测定分析结果(以干基计), 纯化前后多糖、还原糖及蛋白质含量对照见表4。

表4 BSG多糖提取纯化前后对比分析(湿基)

Table 4 Comparisons of BSG compositions before and after purification

样品	质量(g)	多糖含量(%)	还原糖含量(%)	蛋白质含量(%)
BSG原料 (水分含量5.69%)	400	3.23	1.05	28.01
粗多糖	3.5959	92.59	1.11	3.39

提取出多糖呈浅黄色, 粉末状。结果表明, 经过对BSG多糖两次Sevag脱蛋白, 能够有效的去除蛋白质, 但仍存在3.39%的蛋白, 所以可在多糖提取后多次采用Sevag法降低粗多糖中蛋白含量。透析, 乙醇、乙醚、丙酮洗涤沉淀能除去一定量的小分子物质, 但由于多次的浓缩, 使得还原糖在粗多糖中的百分比略有提升。

理论上400g BSG在最优的提取工艺下能提取12.924g的多糖, 但经过最优工艺提取纯化后只得到3.5959g的粗多糖。这是因为大批量的提取降低了单位面积糖溶液的超声作用, 因此降低了多糖的提取效率。另外, BSG多糖在醇沉过程中, 有些多糖溶解在乙醇中没有沉淀下

来, 多次的醇沉也将带走一部分的多糖。此外, 浓缩溶液除蛋白、离心等操作过程也会造成一定程度的损失。

### 3 结 论

本实验测定了BSG的主要成分, 利用超声场强化提取BSG水溶性多糖, 通过设计正交试验得到了提取的最优工艺条件为超声功率180W、提取温度70℃、提取时间15min、液固比25。经实验验证, 在最佳提取条件下, BSG多糖得率达5.79%。通过石油醚脱脂、多次Sevag法脱蛋白、醇沉、脱色、透析等操作初步纯化, 最后多糖含量达到92.59%。

BSG多糖组分的分离鉴定以及多糖性质有待进一步的研究, 除超声强化外, 需开发更多、更快速、效率更高的多糖提取方法。

#### 参考文献:

- [1] 吴笛笛. 多糖的作用及其研究进展[J]. 沈阳师范大学学报, 2008(4): 221-223.
- [2] 李文杰, 张国棋, 孙敏. 食品中有效成分多糖作用的研究[J]. 中国卫生工程学, 2007(12): 363-366.
- [3] 张永林, 杜先锋. 超声波及其在粮食食品工业中的应用[J]. 西部粮油科技, 1999, 24(2): 14-16.
- [4] 王芳, 郑海雪. 桑叶多糖的提取工艺研究[J]. 浙江师范大学学报, 2008(1): 27-29.
- [5] 葛玉, 段玉峰, 刘俊花, 等. 酸浆果多糖不同提取工艺研究[J]. 食品科技, 2006, 27(8): 178-182.
- [6] 朱玉强. 啤酒糟综合应用研究进展[J]. 技术交流, 2007, 7(1): 71-72.
- [7] MUSSATTO S I, DRAGONE G, ROBERTO I C. Brewer's spent grain: generation, characteristics and potential applications[J]. Journal of Cereal Science, 2006, 43: 1-14.
- [8] BELIBASAKIS N G, TSIRGOGIANNI D. Effects of wet brewers grains on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows in hot weather[J]. Animal Feed Science and Technology, 1996, 57: 175-181.
- [9] ISHIWAKI N, MURAYAMA H, AWAYAMA H, et al. Development of high value uses of spent grain by fractionation technology[J]. MBAA Technical Quarterly, 2000, 37: 261-265.
- [10] 王俊刚, 张树珍, 杨本鹏, 等. 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定甘蔗茎节总糖和还原糖含量[J]. 甘蔗糖业, 2008(10): 45-49.
- [11] 郭春燕, 高婷, 赵二芳. 苯酚-硫酸显色法测定葡萄酒中总糖[J]. 中国酿造, 2008(22): 84-85.
- [12] 大连轻工业学院. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.