

棉籽糖的酶法提取新工艺研究

温辉梁^{1,2}, 方志杰¹, 袁美兰²

(1. 南京理工大学化工学院, 江苏 南京 210094

2. 南昌大学食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 本文对棉籽饼粕中棉籽糖的果胶酶法和纤维素酶法提取工艺进行了研究, 实验结果表明: 果胶酶和纤维素酶均可较显著地提高棉籽糖的提取率, 分别是乙醇法提取的 117% 和 139%。

关键词: 棉籽糖; 果胶酶; 纤维素酶; 提取

New Extraction Technology Study of Raffinose by Enzyme Method

WEN Hui-liang, FANG Zhi-jie, YUAN Mei-lan

(1. School of Chemical Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, China

2. The Key Lab of Food Science of MOE, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: This paper studied the extraction technology of pectase and cellulase method of raffinose in cottonseed cake. The research results show that pectase and cellulase both can enhance the extraction rate of raffinose remarkably and the extraction rate of pectase and cellulase methods are 117% and 139% of ethanol method, respectively.

Key words: raffinose; pectase; cellulase; extraction

中图分类号: TS244

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)08-0264-03

植物成分的传统提取法如煎煮、有机溶剂浸出等提取温度较高、提取率低、能量消耗高; 而选用恰当的

酶, 可较温和地将植物组织分解, 加速有效成分的释放, 从而提高其提取率。郑宝东等^[1]采用质量分数为

收稿日期: 2005-06-27

基金项目: 江西省教育厅重点课题

作者简介: 温辉梁(1963-), 教授, 在读博士, 研究方向为功能食品及添加剂。

-
- | | |
|---|--|
| [2] 张燕萍. 变性淀粉制造与应用[M]. 化学工业出版社, 2001. 184-270. | [9] 杨铭铎, 曲敏. 氧化玉米淀粉磷酸酯的研究[J]. 中国粮油学报, 2001, (4): 25-26. |
| [3] Solarek DB. Modified starches: Properties and uses[M]. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1986. 104-107. | [10] Lewandwicz G, Fornal J. Starch esters obtained by microwave radiation-structure and functionality[J]. Industrial Crops and Products, 2000, (11): 249-257. |
| [4] 高嘉安. 淀粉与淀粉制品工艺学[M]. 中国农业出版社, 2001. 226-230. | [11] Abraham TE. Stabilization of paste viscosity cassava starch by heat misture treatment[J]. Starch, 1993, (45): 131. |
| [5] 高福成, 王海鸥. 现代食品工程高新技术[M]. 2000, 130. | [12] S Lim, P A Seib Preparation and Pasting Properties of Wheat and Corn Starch Phosphates[J]. Cereal Chemistry, 1993, 70 (2): 137-144. |
| [6] 郑大中, 刘红英. 微波技术在化工领域中的应用[J]. 河南科技, 1992, (9): 18-19. | [13] 李光磊, 张军和. 玉米淀粉磷酸单酯的制备及特性研究[J]. 粮油与食品机械, 2001, (3): 31-33. |
| [7] 毕先钧, 谢小光. 微波加热技术在有机合成和材料制备等方面的应用进展[J]. 云南化工, 1998, (2): 7-9. | |
| [8] 张燕萍. 变性淀粉制造与应用[M]. 化学工业出版社, 2001, 105-106. | |

2×10^{-2} 的果胶酶在 45°C 和 pH4.5 的条件下水解竹荪 2h, 可提高多糖提取率达 200%。陈祥贵等^[2] 采用浓度为 0.15% 的纤维素酶在 50°C 、pH4.5 条件下水解金针菇 6h, 结果表明纤维素酶法对多糖的浸提率是水煮法的 2.8 倍, 是浸煮法的 1.8 倍。但将酶用于棉籽糖的提取还未见报道。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

棉籽饼粕: 购自江西省高安市某榨油厂; 果胶酶 (10U/mg): 德国 E. Merck 公司; 纤维素酶 (1500 单位/g): 中国医药 (集团) 上海化学试剂公司。

1.2 实验设备

FA1604 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); HH.S11-2 电热恒温水浴锅 (北京长安科学仪器厂); 6511 型电动搅拌机 (上海标本模型厂); LD5-10 型离心机 (北京医用离心机厂); RE-85Z 旋转蒸发仪 (巩义英峪予华仪器厂); 722S 型分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 果胶酶法提取

1.3.1.1 果胶酶活力的测定 参考文献[3]。

1.3.1.2 果胶酶水解最高酶活条件的确定

各因素水平设定如下: pH 值 (4.0、4.2、4.4), 温度 (35°C 、 40°C 、 45°C), 以提取液中糖的含量作为确定其最适水解 pH 值和温度的指标。

提取工艺: 经烘干粉碎的 60 目棉籽饼粉 5g \rightarrow 用 80% 乙醇 (料液比 1: 9) 在 70°C 下提取 60min \rightarrow 抽滤 \rightarrow 滤渣酶解 (一定 pH 值浓度为 1.0mg/ml 果胶酶溶液 30ml, 在一定温度下水解 100min) \rightarrow 加乙醇至体系中乙醇含量达到 80% \rightarrow 升温至 70°C \rightarrow 在搅拌下提取 60min \rightarrow 抽滤 \rightarrow 醋酸铅除蛋白 \rightarrow 真空浓缩 \rightarrow 蒽酮比色法检测

1.3.1.3 果胶酶水解条件的单因素试验

影响果胶酶提取棉籽糖得率的主要因素包括酶浓度、酶解时间、酶用量, 各因素的水平设定如下: 酶浓度 (0.5、0.8、1.1、1.4、1.6、1.8 及 2.0mg/ml), 酶解时间 (60、80、100、120 及 140min), 果胶酶体积 (20、25、30、35 及 40ml)。

1.3.1.4 果胶酶法提取的正交试验

在单因素试验的基础上, 选定各因素的水平如下: 酶浓度 (1.4、1.6、1.8mg/ml)、酶解时间 (100、120、140min)、酶用量 (20、25、30ml)。

1.3.2 纤维素酶提取法

1.3.2.1 纤维素酶活力的测定 参见文献[4]。

1.3.2.2 纤维素酶水解最高酶活条件的确定

各因素水平设定如下: 温度 (40°C 、 45°C 、 50°C 、 55°C 及 60°C), pH 值 (4.0、4.4、4.8、5.2、5.6 及 6.0), 以确定纤维素酶水解的最适温度和 pH 值。

提取工艺如前, 但纤维素酶浓度改为 1.6mg/ml, 体积为 25ml。

1.3.2.3 纤维素酶法提取的单因素试验

各因素的水平设定如下: 纤维素酶浓度 (0.3%、0.5%、0.8%、1.0%、1.3% 及 1.5%)、作用时间 (60、80、100、120、140、160 及 180, 单位 min)。

1.3.2.4 纤维素酶法提取的正交试验

在单因素试验的基础上, 选定各因素的水平如下: 酶用量 (1.3%、1.5%、1.8%)、酶解时间 (120、140、160min)、酶体积 (20、25、30ml)。

1.3.3 乙醇提取与酶法提取之间的比较

乙醇提取法提取工艺: 经烘干、粉碎的 60 目棉籽饼粉 5g \rightarrow 用 80% 乙醇 (料液比 1: 9) 在 70°C 下提取 60min \rightarrow 抽滤 \rightarrow 滤渣在同等条件下进行第二次提取 \rightarrow 抽滤 \rightarrow 醋酸铅除蛋白 \rightarrow 真空浓缩 \rightarrow 蒽酮比色法检测酶法提取工艺如 1.3.2.2 中所述, 其中第二次提取时的工艺条件均在前面所得到的两种酶法二次提取的最佳条件下进行。

2 结果与讨论

2.1 果胶酶法提取

2.1.1 果胶酶的活力

经测定得到果胶酶的活力为 7.5U/mg 即 7500U/g。

2.1.2 果胶酶最高酶活条件的测定结果

经测定, 得到果胶酶最适水解 pH 值为 4.2, 最适水解温度为 35°C 。

2.1.3 果胶酶提取的单因素试验结果

实验结果表明, 各单因素试验的最适条件分别为: 水解时间为 120min, 酶浓度为 1.6mg/ml, 酶用量为 25ml。

2.1.4 果胶酶法提取的正交试验结果

棉籽糖果胶酶提取法的正交试验结果如表 1 所示。

由极差及方差分析得到棉籽糖果胶酶法提取的最佳条件为: 酶浓度 1.8mg/ml, 水解时间 120min, 酶用量 30ml。

2.2 纤维素酶法提取

2.2.1 纤维素酶的活力

经测定, 得到纤维素酶的活力为: 1.2U/mg 即 1200U/g。

2.2.2 纤维素酶的最高酶活条件

经测定, 得到纤维素酶的最适水解温度为 45°C , 最适水解 pH 值为 4.0。

表1 正交试验数据及极差分析

Table 1 Orthogonal experimental data and range analysis of pectase method

实验号	A 酶用量 (%)	B 水解时间 (min)	C 酶体积 (ml)	提取率 (%)	合计 (%)
1	1(1.3)	1(120)	3(30)	3.72,3.82	7.54
2	1(1.3)	2(140)	1(20)	3.77,3.85	7.62
3	1(1.3)	3(160)	2(25)	4.06,3.94	8.00
4	2(1.5)	1(120)	2(25)	3.79,3.77	7.56
5	2(1.5)	2(140)	3(30)	3.99,4.09	8.08
6	2(1.5)	3(160)	1(20)	3.97,4.11	8.08
7	3(1.8)	1(120)	1(20)	3.84,3.90	7.74
8	3(1.8)	2(140)	2(25)	4.09,4.17	8.26
9	3(1.8)	3(160)	3(30)	4.15,4.27	8.42
K ₁	23.16	22.84	23.44		
K ₂	23.72	23.9	23.82		
K ₃	24.42	24.5	24.04		
k ₁	3.86	3.81	3.91		
k ₂	3.95	3.99	3.97		
k ₃	4.07	4.08	4.01		
R	0.21	0.27	0.10		
因素主次 B > A > C					

2.2.3 纤维素酶法提取的单因素试验

实验结果表明, 各单因素试验的最佳条件分别为: 酶用量为 1.5%、水解时间为 140min。

2.2.4 纤维素酶提取法正交试验结果

由极差及方差分析得到纤维素酶法提取的最佳工艺条件为: 酶用量为 1.8%, 水解时间为 160min, 酶液体积为 20ml。

2.3 乙醇提取与酶法提取的比较结果 见表3。

表3 不同提取方法间提取率的对比

Table 3 The extraction rates of pectinase, cellulase and ethanol methods

对比项	果胶酶法	纤维素酶法	乙醇提取法
提取率 (%)	10.40	12.41	8.91
相当于乙醇提取法的倍数	117%	139%	0

表2 正交试验数据及极差分析

Table 2 Orthogonal experimental data and range analysis of cellulase method

实验号	A 酶用量 (%)	B 水解时间 (min)	C 酶体积 (ml)	提取率 (%)	合计 (%)
1	1(1.3)	1(120)	3(30)	3.72,3.82	7.54
2	1(1.3)	2(140)	1(20)	3.77,3.85	7.62
3	1(1.3)	3(160)	2(25)	4.06,3.94	8.00
4	2(1.5)	1(120)	2(25)	3.79,3.77	7.56
5	2(1.5)	2(140)	3(30)	3.99,4.09	8.08
6	2(1.5)	3(160)	1(20)	3.97,4.11	8.08
7	3(1.8)	1(120)	1(20)	3.84,3.90	7.74
8	3(1.8)	2(140)	2(25)	4.09,4.17	8.26
9	3(1.8)	3(160)	3(30)	4.15,4.27	8.42
K ₁	23.16	22.84	23.44		
K ₂	23.72	23.9	23.82		
K ₃	24.42	24.5	24.04		
k ₁	3.86	3.81	3.91		
k ₂	3.95	3.99	3.97		
k ₃	4.07	4.08	4.01		
R	0.21	0.27	0.10		
因素主次 B > A > C					

由以上结果可看出, 果胶酶法和纤维素酶法均可显著地提高糖的提取率, 其原因是加入果胶酶或纤维素酶可降解原料细胞壁, 加速其中的糖分的释放, 从而达到提高提取率的目的。在两种酶法中, 纤维素酶法又比果胶酶法效果更加显著。

参考文献:

[1] 郑宝东, 等. 竹荪酶法提取营养成分的研究[J]. 福建农业大学学报, 1995, (4): 491-494.
[2] 陈祥贵, 等. 金针菇多糖的酶法提取及利用[J]. 四川工业学院学报, 1999, (4): 38-41.
[3] 宁正祥. 食品成分分析手册[J]. 中国轻工业出版社, 1997. 691-693, 688-690.
[4] 刘国生, 等. 纤维素酶CMC糖化力测定方法的改进[J]. 饲料研究, 1999, (1): 20-22.