

张 勇,周丽明. 废啤酒酵母中碱不溶性胞壁多糖提取工艺的优化[J]. 江苏农业科学,2014,42(1):230-232.

废啤酒酵母中碱不溶性胞壁多糖提取工艺的优化

张 勇,周丽明

(上饶师范学院生命科学院,江西上饶 334001)

摘要:以废啤酒酵母为原料,采用 NaOH 溶液提取碱不溶性酵母胞壁多糖,用正交试验优化提取工艺。结果表明:最佳提取工艺条件为:料液比为 1 g : 10 mL,处理时间 1 h,处理温度 100 ℃,碱液浓度 1 mol/L,在此工艺条件下酵母胞壁多糖提取率为 2.88%。

关键词:碱不溶性;胞壁多糖;废啤酒酵母;提取工艺

中图分类号: TS261.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)01-0230-02

酵母细胞壁中存在碱不溶性葡聚糖、碱溶性葡聚糖、酸溶性葡聚糖等物质。其中不溶性葡聚糖具有黏性高、热稳定性好以及制备工艺简单等优点,被广泛应用于食品、医药、化妆品、造纸、建筑等行业^[1]。我国酵母资源丰富,年产啤酒沉淀酵母泥 3 万~5 万 t(干基)^[2]。啤酒酵母细胞壁含有大量多糖,约占酵母细胞干重的 40%^[3]。目前关于从啤酒废酵母中提取蛋白质、核酸、谷胱甘肽等研究很多^[4],对其胞壁多糖的研究尚不多见。笔者对从废啤酒酵母中提取碱不溶性酵母胞壁多糖的工艺条件进行了研究,旨在为废啤酒酵母的综合利用提供參考。

1 材料与方法

1.1 材料

废啤酒酵母(湖北金龙泉啤酒有限公司)、试剂均为国产分析纯,320-S 型 pH 计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],DZT-6020 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),722S 型可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),HN-12A 型红外消化炉(上海勇规分析仪器有限公司)。

1.2 溶液的配制

标准葡萄糖溶液制备:取 105 ℃ 干燥至恒重的 D-葡萄糖,精确称重,配成浓度为 3.62 mg/mL 的标准储备液,使用前用蒸馏水稀释成浓度为 0.036 2 mg/mL 的标准葡萄糖使用液。80% 苯酚:80 g 苯酚(分析纯重蒸馏试剂),加 20 g 水使之溶解,置冰箱中长期避光贮存。6% 苯酚:临用前用 80% 苯酚配制。

1.3 方法

1.3.1 标准曲线的制作 采用苯酚-硫酸法^[5]。分别吸取标准葡萄糖液 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 mL 于试管中,各加水补至 2.0 mL,另一试管加入 2.0 mL 蒸馏水作为空白对照。各试管分别加入 6% 苯酚 1.0 mL,然后冷水浴中迅速加入浓硫酸 5.0 mL,摇匀,并于冷水浴中放置 5 min,再置于沸水浴中加热 15 min,取出冷却至室温后于 490 nm 处测

其吸光度值,得标准曲线。

1.3.2 酵母胞壁多糖提取与纯化方法 碱不溶性葡聚糖提取与纯化工艺流程如下:废啤酒酵母→碱液处理→中和→溶剂洗涤→干燥→酵母胞壁多糖。用一定浓度一定体积的碱液(NaOH)对 100 g 废啤酒酵母在一定温度下搅拌一定时间,冷却后用 HCl 调节 pH 值为 4.5,3 000 r/min 离心 20 min 后弃上清液,沉淀即为酵母胞壁多糖粗品。用 200 mL 蒸馏水洗出沉淀,100 ℃ 水浴 20 min,3 000 r/min 离心 20 min;用 100 mL 95% 乙醇洗出沉淀,用电动搅拌器搅拌 15 min 后 3 000 r/min 离心 20 min,重复 1 次;用 100 mL 丙酮洗出沉淀,搅拌 15 min 后 3 000 r/min 离心 20 min,重复 1 次;用 100 mL 无水乙醚洗出沉淀,搅拌 15 min,3 000 r/min 离心 20 min,沉淀置于沸水浴中挥发残余无水乙醚;最后置于 37 ℃ 下真空烘干,即得酵母胞壁多糖成品。

1.3.3 酵母胞壁多糖中多糖含量测定方法^[6] 称取约 10 mg 酵母胞壁多糖,用 20 mL 3 mol/L H₂SO₄ 于 100 ℃ 水浴 90 min,然后将水解液定容至 250 mL。吸取水解液 1.0 mL,按“1.3.1”节方法操作,测其吸光度值。根据回归方程计算水解液中多糖的浓度,按下式计算酵母胞壁多糖提取率。

$$\text{多糖提取率} = \frac{\text{水解液中多糖浓度}(\text{mg/L}) \times 250 \times \text{胞壁多糖成品质量}(\text{g})}{\text{称取的胞壁多糖质量}(\text{mg}) \times \text{废啤酒酵母质量}(\text{g})} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 标准曲线

由图 1 可知,葡萄糖含量在 0~0.065 16 mg 范围内与其吸光度值线性关系良好,在此范围内的线性回归方程为: $y = 0.0057x + 0.0008$, $r = 0.9998$ 。

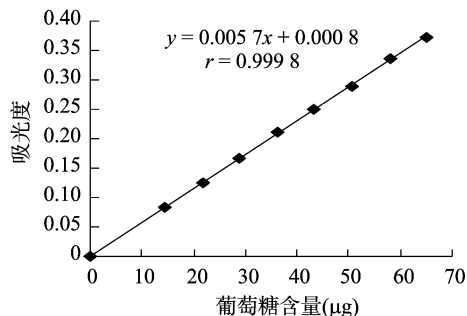


图1 葡萄糖标准曲线

收稿日期:2013-04-22

作者简介:张 勇(1978—),男,湖北襄阳人,硕士,讲师,从事生物活性物质研究。E-mail:1328662368@qq.com。

2.2 单因素试验

2.2.1 料液比对酵母胞壁多糖提取率的影响 在处理温度为 100 ℃、处理时间为 1 h 条件下,选择料液比(g : mL)分别为 1 : 5、1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25,将废啤酒酵母悬浮于 1 mol/L NaOH 溶液中,考察料液比对酵母胞壁多糖提取率的影响。由图 2 可知,当料液比达到 1 g : 10 mL 时酵母胞壁多糖提取率达到最大,继续减小料液比,多糖提取率下降,这可能是由于 NaOH 用量增大后,在溶出杂质的同时对多糖也有一定的破坏性,所以确定料液比为 1 g : 10 mL。

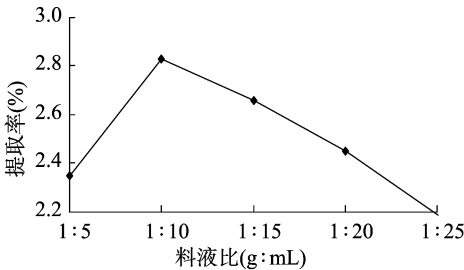


图2 料液比对酵母胞壁多糖提取率的影响

2.2.2 处理时间对酵母胞壁多糖提取率的影响 在处理温度为 100 ℃、料液比为 1 g : 10 mL 条件下,将废啤酒酵母悬浮于 1 mol/L NaOH 溶液中分别处理 0.5、1、1.5、2、2.5 h,考察处理时间对酵母胞壁多糖提取率的影响。由图 3 可知,当处理时间为 1 h 时,提取率达到最大,之后再延长处理时间,提取率反而下降。可见,若处理时间过长,在除去杂质的同时也会破坏多糖,致使提取率下降,所以 1 h 为最佳处理时间。

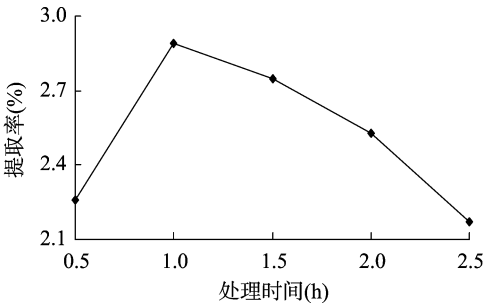


图3 处理时间对酵母胞壁多糖提取率的影响

2.2.3 处理温度对酵母胞壁多糖提取率的影响 在料液比为 1 g : 10 mL 的条件下,选择处理温度分别为 60、70、80、90、100 ℃,将废啤酒酵母悬浮于 1 mol/L 的 NaOH 溶液中处理 1 h,考察处理温度对酵母胞壁多糖提取率的影响。由图 4 可知,当处理温度为 100 ℃时,提取率最高。这可能是由于温度比较低时,碱溶不彻底,杂质较多,故选择处理温度为 100 ℃。

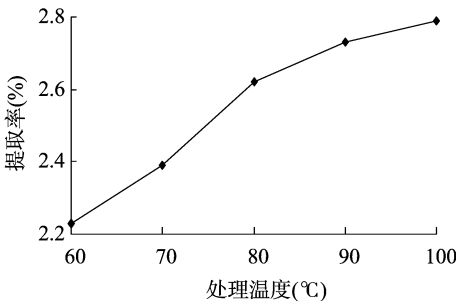


图4 处理温度对酵母胞壁多糖提取率的影响

2.2.4 碱液浓度对酵母胞壁多糖提取率的影响 在处理温度为 100 ℃、料液比为 1 g : 10 mL 的条件下,将废啤酒酵母分别悬浮于 0.5、0.75、1、1.25、1.5 mol/L NaOH 溶液中处理 1 h,考察碱液浓度对酵母胞壁多糖提取率的影响。由图 5 可知,当碱液浓度为 1 mol/L 时提取率最高。随着碱液浓度的提高,杂质不断被溶解的同时多糖也在一定程度上被降解,碱液浓度越大,对多糖的破坏越严重,故选择碱液浓度为 1 mol/L。

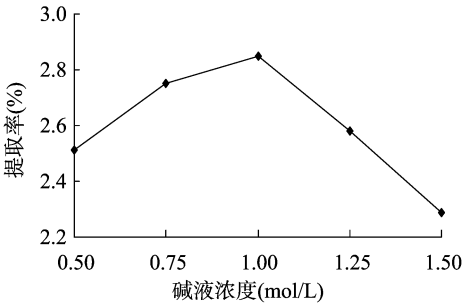


图5 碱液浓度对酵母胞壁多糖提取率的影响

2.3 酵母胞壁多糖提取最佳工艺的确定

为了确定酵母胞壁多糖提取最佳工艺,在单因素试验的基础上设计了 4 因素 3 水平正交试验 $L_9(3^4)$ (表 1)。由表 2 可知,4 种因素对酵母胞壁多糖提取率影响的主次顺序依次为:料液比 > 碱液浓度 > 处理时间 > 处理温度。酵母胞壁多糖的最佳提取条件是 $A_1B_1C_3D_2$,即料液比为 1 g : 10 mL,处理时间 1 h,处理温度 100 ℃,碱液浓度 1 mol/L。按此条件进行试验,酵母胞壁多糖提取率为 2.88%。

表 1 酵母胞壁多糖提取最佳工艺正交试验 $L_9(3^4)$ 因素水平

水平	因素			
	A:料液比	B:处理时间(h)	C:处理温度(℃)	D:碱液浓度(mol/L)
1	1 : 10	1.0	80	0.75
2	1 : 15	1.5	90	1.00
3	1 : 20	2.0	100	1.25

表 2 酵母胞壁多糖提取最佳工艺正交试验结果与极差分析

序号	因素水平				多糖提取率(%)
	A:料液比(g : mL)	B:处理时间	C:处理温度	D:碱液浓度	
1	1	1	1	1	2.51
2	1	2	2	2	2.63
3	1	3	3	3	2.28
4	2	1	2	3	2.31
5	2	2	3	1	2.43
6	2	3	1	2	2.25
7	3	1	3	2	2.45
8	3	2	1	3	1.92
9	3	3	2	1	2.19
k_1	2.47	2.42	2.23	2.38	
k_2	2.33	2.33	2.38	2.44	
k_3	2.19	2.24	2.39	2.17	
R	0.28	0.18	0.16	0.27	

3 结论

本研究表明,NaOH 溶液提取碱不溶性酵母胞壁多糖的

吴 真,林 鹿. 麦草水解残渣制备活性炭[J]. 江苏农业科学,2014,42(1):232 – 233.

麦草水解残渣制备活性炭

吴 真¹, 林 鹿²

(1. 淮阴师范学院江苏省生物质能与酶技术重点实验室, 江苏淮安 223300; 2. 华南理工大学制浆造纸国家重点实验室, 广东广州 510640)

摘要:为充分利用麦草资源,降低利用麦草制木糖成本,对麦草甲酸 – 盐酸水解残渣制备活性炭的条件进行探讨。结果表明,以麦草甲酸 – 盐酸水解残渣为原料制备活性炭,较佳的活化条件为:活化温度 800 ℃,活化时间 0.5 h,此时活性炭的得率为 32.09%,脱色力为 16 mL 亚甲基蓝,其脱色效果与外购活性炭基本相当,可以用于对木糖水解液的预脱色。

关键词:麦草;水解残渣;活性炭

中图分类号:TQ424.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002 – 1302(2014)01 – 0232 – 02

麦草是一种蕴藏着巨大经济效益的生物资源,麦草中含有 30% 左右半纤维素,可利用其制备木糖及木糖醇^[1]。工业上一般采用酸法水解工艺水解生物质原料中半纤维素组分制备木糖产品,这一过程往往会产生大量的水解残渣。水解残渣的主要组分为含碳量较高的纤维素和木质素,可利用其制备活性炭并重新用于木糖水解液的脱色,可降低木糖生产成本^[2]。

我们在前期研究中发现甲酸 – 盐酸溶液可在低温、可循环条件下有效地水解麦草中的纤维素及半纤维素^[3],得到可溶性糖类产物。甲酸本身有催化水解反应的作用,且易于回收,能重复利用。本研究采用甲酸 – 盐酸溶液水解麦草半纤维素,水解液用于制备木糖,水解残渣用于制备活性炭,初步探讨活性炭的制备条件。

1 材料与方法

1.1 材料

麦草取自山东,采用甲酸 – 盐酸混合溶液水解麦草,过滤水解液并收集水解残渣,通风厨中风干。麦草及麦草水解残渣组分见表 1。

1.2 方法

1.2.1 活性炭制备 活性炭的制备一般分为两步:第一步是

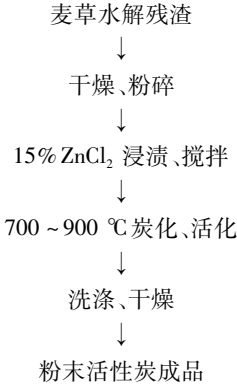
表 1 麦草及其水解残渣主要组分

材料	水分 (%)	灰分 (%)	克拉森木素 (%)	纤维素 (%)	聚戊糖 (%)	其他 (%)
麦草	8.02	8.71	18.05	28.52	23.96	12.74
麦草水解残渣	8.39	10.54	32.53	41.67	—	6.87

注:“—”表示未检出。

在 CO₂ 或蒸汽或两者混合气体环境中含碳原料的高温炭化,第二步是焦炭的活化。在化学法活化过程中,化学活化剂既作为脱水机又作为氧化剂,炭化与活化同时进行,减少了实验步骤,同时活化温度较低,有利于形成多孔结构^[4]。本试验采用 ZnCl₂ 作为活化剂,因 ZnCl₂ 能作为电子对的给予体和接受体中心与纤维素复合体的 –OH 基发生作用,导致纤维素分子间链的断裂,形成链状纤维素分子,极易环构化形成缩合苯环平面状结构^[5],从而形成微孔、中孔、过度孔发达的缩聚碳。

本试验设计的麦草水解残渣制备活性炭工艺为:



收稿日期:2013 – 05 – 18
基金项目:江苏省淮安市科技支撑计划(编号:HASZ2012029)。
作者简介:吴 真(1983—),男,江西九江人,工程师,主要从事植物资源化学研究工作。Tel:(0517)83526983;E-mail:scutwuzhen@126.com。

最佳工艺条件为料液比 1 : 10,处理时间 1 h,处理温度 100 ℃,碱液浓度 1 mol/L,在此工艺条件下酵母胞壁多糖提取率为 2.88%。

参考文献:

[1] 胡晓忠,冯万祥. 酵母葡聚糖的制备及理化性质[J]. 华东理工大学学报,1999,25(5):477 – 479.
[2] 黄国宏,李科德,曾庆孝. 酵母 β – 1,3 – 葡聚糖研究进展[J]. 酿酒科技,2006(12):100 – 103.

[3] 段胜林,王 雪,苑 鹏,等. 采用催化自溶和生物破壁技术提取啤酒酵母细胞壁多糖[J]. 食品与发酵工业,2012,38(5):138 – 143.
[4] 杨建梅. 啤酒废酵母中 β – 1,3 – D – 葡聚糖的制备及性质研究[D]. 泰安:山东农业大学,2012.
[5] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州:浙江大学出版社,1999:132 – 136.
[6] 张 勇. 酵母多糖的研究——产多糖酵母菌株筛选、发酵工艺及酵母多糖提取、分离纯化和免疫活性的研究[D]. 武汉:湖北工业大学,2005.