

氢氧化钠预处理工艺对花生壳酶解制备还原糖的影响

余森艳, 谢敏, 王婷婷

(湖北工程学院新技术学院生物化学系, 湖北 孝感 432000)

摘要:针对花生壳直接酶解制备还原糖得率低的问题,提出了氢氧化钠(NaOH)预处理再进行酶解的方法.该方法通过对NaOH浓度、预处理温度、预处理时间进行单因素试验,然后在单因素试验的基础上确定正交试验工艺参数范围,以酶解后还原糖得率为指标,得出NaOH预处理花生壳的优化工艺条件.结果表明:在试验范围内固液比1:10,预处理工艺条件为NaOH质数分数2%,温度70℃,预处理时间6h,纤维素酶水解后还原糖得率达到了72.5%,较未处理前提高了53.9%.

关键词:固体废渣;预处理;生物降解;葡萄糖

中图分类号:TQ353.4+2

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2012.08.010

0 引言

我国是生产花生的大国,年总产量达1450万吨以上,占世界总产量的42%,每年约产生450万吨花生壳^[1],除少部分被用作饲料、制造胶合板等,其余大部分被丢弃或烧掉,造成资源的极大浪费和环境污染.花生壳中含有大量的纤维素、木质素、半纤维素等天然高分子物质,其中纤维素的含量最高^[2],若将其转化为容易利用的单糖不仅可以解决环境污染问题,还能产生良好的经济效益.

天然纤维的水解常用的是酸解法和酶解法,由于酶解法条件温和,耗能少,因此,酶解法是纤维素水解的必然趋势.但对未经预处理的天然纤维,其水解效率极低,而NaOH有较强的脱木质素作用,可显著提高酶解糖化率^[3].本研究采用NaOH预处理花生壳,并探讨不同的预处理工艺对酶解制备还原糖得率的影响,为花生壳及植物纤维原料用于制糖工业提供一定的参考和依据.

1 实验部分

1.1 材料与设备

花生壳:市售普通花生取壳;纤维素酶:酶活力4500 IU/mg,宝丽美化工生产;NaOH等试剂,均为分析纯.

721型紫外分光光度计;DGX-9243BC恒温鼓风干燥箱;FW135中草药粉碎机;JY2002电子天平;HH-6数显恒温水浴锅等.

1.2 实验方法

1.2.1 葡萄糖标准曲线 采用DNS(3,5-二硝基水杨酸)法^[4]绘制葡萄糖标准曲线,见图1.

回归方程为 $y = 1.6818x - 0.1442$, $R^2 = 0.9873$.

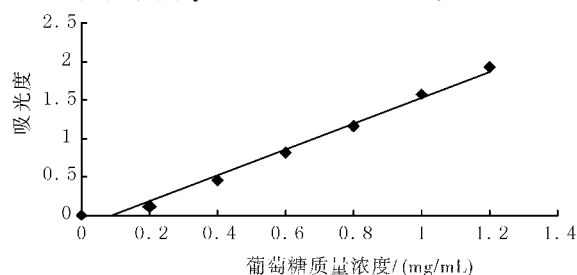


图1 葡萄糖标准曲线图

Fig. 1 The standard curve of glucose

1.2.2 NaOH预处理花生壳 花生取壳后,经清洗、风干,粉碎后过孔径为0.425 mm筛,称取一定量筛分后的花生壳粉于250 mL三角瓶中,按照固液比1:10(g/mL,下同)加入一定体积和质数分数的NaOH,在不同温度、时间、NaOH用量下对花生壳粉进行预处理试验. NaOH预处理后样品用蒸馏水洗至中性,烘干后用于酶解试验.

1.2.3 NaOH预处理花生壳后酶解及还原糖含量测定 向NaOH预处理后的花生壳粉中加入0.6 IU/g纤维素酶,在pH 4.8,50℃条件下酶解反应48 h.水解结束后在80℃灭酶一段时间,离心10 min取上清液,脱色,在具塞刻度试管中加2 mL待测液和1.5 mL DNS试剂,沸水浴中反应5 min,取出冷却至室温,用蒸馏水定容至10 mL,加塞摇匀,在540 nm波长下进行比色测定,对照

收稿日期:2012-04-23

作者简介:余森艳(1977-),女,湖北应城人,讲师,硕士.研究方向:生物工程技术及发酵产品.

标准曲线得到样品中还原糖的含量。

1.2.4 单因素试验及正交试验 主要以 NaOH 质量分数、预处理温度、预处理时间进行单因素试

验。在单因素试验的基础上确定正交试验工艺参数范围,因素水平见表 1。以酶解后还原糖得率为指标,得出 NaOH 预处理花生壳的优化工艺条件。

表 1 NaOH 预处理工艺正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test on preparation by sodium hydroxide of peanut shell

水平	因素		
	A (NaOH 质量分数)/%	B (预处理温度)/℃	C (预处理时间)/h
1	1.5	60	4
2	2	70	5
3	2.5	80	6

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果

2.1.1 不同质量分数 NaOH 预处理对花生壳酶解制备还原糖的影响 花生壳在温度 70 ℃,固液比 1:10 的条件下用不同质量分数的 NaOH 预处理 4 h,同时做对照试验,反应结束后酶解测定其还原糖得率。

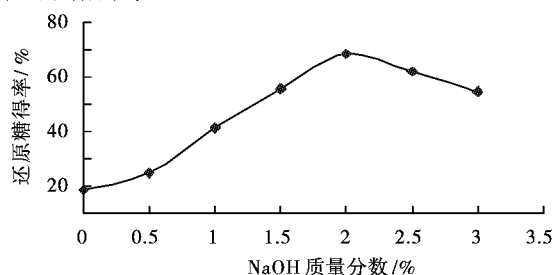


图 2 不同质量分数 NaOH 预处理对花生壳酶解还原糖得率的影响

Fig. 2 Pretreatment by different sodium hydroxide concentration on reducing sugar of peanut shell by enzymatic hydrolysis

如图 2 所示,还原糖得率随 NaOH 质量分数增加呈现先上升、到某一最大值后又下降的趋势。对照实验中,未进行预处理样品酶解后还原糖得率较低,只有 18.6%。因花生壳中的木质素对纤维素的降解有屏蔽作用,导致水解糖化率低^[6-7]。因此,在对花生壳酶解前,用 NaOH 预处理除去木质素后,能有效提高水解糖化率。在本试验条件下,NaOH 预处理质量分数为 2% 时,酶解后还原糖得率较为理想。

2.1.2 预处理温度对花生壳酶解制备还原糖的影响 花生壳在固液比 1:10,不同温度条件下用质量分数为 2% 的 NaOH 处理 4 h,反应结束后酶解测定其还原糖得率。

如图 3 所示,一定温度范围内提高预处理温度对酶解后还原糖得率有较大影响,随着预处理温度的升高,还原糖得率也升高,在 70 ℃ 时还原

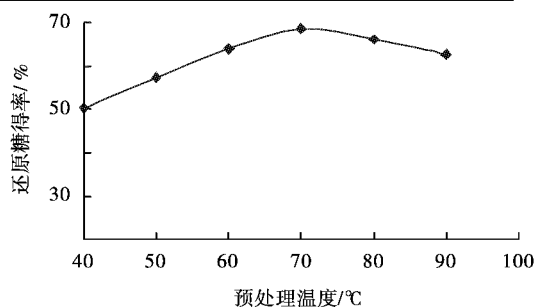


图 3 预处理温度对花生壳酶解还原糖得率的影响

Fig. 3 Pretreatment of different temperature by sodium hydroxide on reducing sugar of peanut shell by enzymatic hydrolysis

糖得率为 71.5% 达到最大,当温度超过 70 ℃ 时还原糖的得率有所下降,因此预处理温度不宜过高。

2.1.3 预处理时间对花生壳酶解制备还原糖的影响 花生壳在 70 ℃ 温度,固液比 1:10 的条件下用质量分数 2% 的 NaOH 预处理不同时间,反应结束后酶解测定其还原糖得率。

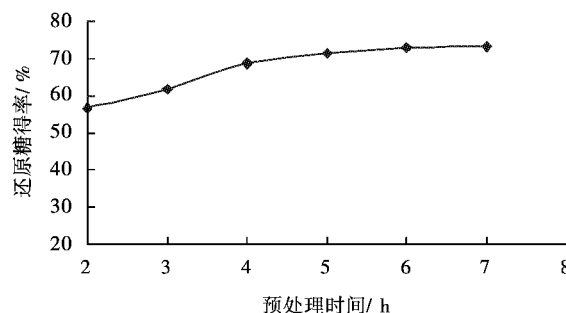


图 4 预处理时间对花生壳酶解还原糖得率的影响

Fig. 4 Pretreatment of different time by sodium hydroxide on reducing sugar of peanut shell by enzymatic hydrolysis

如图 4 所示,随着预处理时间的延长,花生壳酶解后还原糖得率也不断增加,当反应时间超过 6 h 后酶解得率变化不大,影响不明显。

2.2 正交试验结果

根据单因素试验,以 NaOH 质量分数、预处理温度、预处理时间三个因素,按表 1 进行正交试

验,以还原糖得率为参考指标,其结果如表2所示。

表2 NaOH 预处理工艺正交试验结果
Table 2 Results of orthogonal test on sodium hydroxide pretreatment

试验号	A	B	C	还原糖得率/%
1	1	1	1	54.1
2	1	2	2	60.8
3	1	3	3	64.9
4	2	1	3	70.8
5	2	2	1	68.7
6	2	3	2	71.4
7	3	1	2	60.1
8	3	2	3	63.6
9	3	3	1	62.5
K ₁	179.8	185.0	185.3	
K ₂	210.9	193.1	192.3	
K ₃	186.2	198.8	199.3	
k ₁	59.9	61.7	61.8	
k ₂	70.3	64.4	64.1	
k ₃	62.1	62.3	66.4	
R	10.4	2.7	4.6	

从表2结果可知,在NaOH预处理花生壳酶解制备还原糖的各个影响因素中,影响程度大小

依次是:A>C>B,即NaOH浓度对还原糖得率的影响最大,预处理温度对还原糖得率的影响最小,最佳工艺参数组合为A₂B₂C₃,即预处理NaOH质量分数为2%,温度为70℃,预处理时间为6h。通过验证性试验,结果表明花生壳在最佳预处理工艺条件下还原糖得率达到72.5%,比未进行预处理直接酶解制备还原糖得率提高了53.9%。

参考文献:

- [1] 周泉城,黄景荣,李全宏.花生壳茎叶等综合利用研究进展[J].中国粮油学报,2009,24(10):140-144.
- [2] 李春光,董令叶,吉洋洋,等.花生壳纤维素提取及半纤维素与木质素脱除工艺探讨[J].中国农学通报,2010,26(22):350-354.
- [3] 鲁杰,石淑兰,邢效功,等.NaOH预处理对植物纤维素酶解特性的影响[J].纤维素科学与技术,2004,12(1):1-6.
- [4] 陈毓荃.生物化学实验方法和技术[M].北京:科学出版社,2002.
- [5] 唐楚颖,马春燕,陆豫,等.绿色木霉降解木薯杆产糖及其工艺优化研究[J].安徽农业科学,2011,39(31):19310-19312.
- [6] M-Zuhairs. The effect of crystallinity of cellulose on the rate of reducing sugars production by heterogeneous enzymatic hydrolysis [J]. Bioresource Technology, 2008, 99: 4078-4085.

Effect of sodium hydroxide pretreatment of peanut shell on reducing sugar by enzymolysis

YU Sen-yan, XIE Min, WANG Ting-ting

(Department of Biochemistry, College of Technology, Hubei Engineering University, Xiaogan 432000, China)

Abstract: Pretreatment of peanut shell by sodium hydroxide and then enzymolysis was proposed to solve the low yield of reducing sugar. Through single-factor trial of sodium hydroxide concentration, pretreatment temperature and time and orthogonal design, the optimal pretreatment technology was determined with the hydrolysis of reducing sugar as index. The results show that the peanut shell and 2% of sodium hydroxide in the case of 10:1 at 70℃ processing 6 hours is the best pretreatment technology, and the reducing sugar content by enzymolysis is up to 72.5%, which increases by 53.9% compared with that before pretreatment.

Key words: solid waste slag; pretreatment; biodegradation; glucose

本文编辑:张 瑞