

中心组合设计法优化超声波提取啤酒糟中木糖的技术研究

林松毅,李秋杰,魏巍,刘静波

(吉林大学军需科技学院营养与功能食品研究室,吉林 长春 130062)

摘要: 以啤酒糟为原料,以啤酒糟中的木糖为研究对象,通过超声波法提取啤酒糟中的木糖,探讨超声功率、超声料液比、超声时间 3 个因素对木糖得率的影响。通过中心组合实验设计,优化出超声波提取啤酒糟中木糖的最佳提取工艺条件。结果表明,在超声功率 643.5 W、超声时间 18.8 min、超声料液比 23.03:1 的条件下,木糖得率的理论预测值为 1.858%,在此最佳工艺条件下,经 3 次实验验证,木糖得率的平均值为 1.854%。

关键词: 啤酒糟; 综合利用; 木糖; 中心组合设计; 超声波

中图分类号: TS262.5; TS261.9; X797

文献标识码: A **文章编号:** 1001-9286(2009)08-0115-05

Central Composite Design Optimization of the Extraction of Xylose from Brewer's Spent Grains by Ultrasonic Wave

LIN Song-yi, LI Qiu-jie, WEI Wei and LIU Jing-bo

(Nutrition and Functional Food Lab, College of Quartermaster Technology, Jilin University, Changchun, Jilin 130062, China)

Abstract: The extraction of xylose from brewer's spent grains by ultrasonic wave was studied and the effects of ultrasonic power, ultrasonic time, and ultrasonic solid-liquid ratio on xylose yield were investigated. The best extraction conditions of xylose were determined through CDC optimization. The results showed that the theoretical yield of xylose was 1.858% when ultrasonic power was 643.5 W, ultrasonic time was 18.8 min and ultrasonic solid-liquid ratio was 23.03:1. Through three times experimental testing, the average yield of xylose was 1.854%.

Key words: brewer's spent grains; comprehensive utilization; xylose; central composite design (CCD); ultrasonic wave

啤酒糟是啤酒工业生产中最主要的副产物,每生产 1 kL 啤酒,就有 250 kg 湿糟^[1]。近年来,我国啤酒工业已发展成为世界上第二大啤酒生产国,由于啤酒生产工艺不同,使得主辅料种类与比例、麦汁制备工艺等方面差异造成组分不尽相同,但总体含有丰富的粗蛋白、粗纤维、糖分和微量元素^[2~4]。大量的研究资料表明,啤酒糟中含有丰富的木糖成分,而木糖作为保健功能因子,具有较好的生理活性和医学性能。为综合开发利用啤酒糟再生资源,开辟木糖提取的新途径,本试验以啤酒糟为原料,采用超声波工艺提取啤酒糟中的木糖,这为木糖的提取提供了一个优良、便捷的工艺条件。而随着科学技术的发展,超声波技术已经广泛应用于多种物质的提取^[5~6]。资料表明,超声波的强烈搅拌、振动、空化作用可以破坏细胞结构,加速有效物质的溶出,不仅可以提高提取效率,而且可缩短时间,节省能源^[7~8]。因此,本实验的开展和进

行,不仅为综合开发利用啤酒糟这一再生资源提供研究思路,而且为功能因子木糖的提取开辟了新途径,同时也为减少啤酒糟对生产企业环境的污染提供一定的技术信息,为综合治理啤酒工业“三废”找到了一条有效的绿化途径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

啤酒糟:由吉林大学军需科技学院营养与功能性食品研究室提供;木糖:色谱纯级标准品;购买于 SIGMA 公司;3,5-二硝基水杨酸:国药集团化学试剂有限公司;四水合酒石酸钾钠、氢氧化钠、叠氮化钠等分析纯试剂均由北京化工厂生产。

1.2 仪器与设备

JY92-2D 型超声波细胞粉碎机:宁波新芝生物科技

基金项目:吉林省科技厅农业重点项目(20070201)。

收稿日期:2009-05-11

作者简介:林松毅(1970-),女,工学博士,副教授,研究方向:营养与功能食品。

通讯作者:刘静波(1962-),女,工学博士,教授,吉林大学军需科技学院院长,研究方向为营养与功能食品,Email:ljb168@sohu.com。

股份有限公司生产;J-6型多头磁力加热搅拌器:江苏金坛荣华仪器制造有限公司生产;CR20B2型高速冷冻离心机:日立公司生产(HitachiKokiCo,Ltd);HH-S数显恒温水浴锅:常州市国立试验设备研究所生产;T6新悦-可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司生产;AG204型电子天平:METTLETOLEDO,瑞士生产;电热恒温鼓风干燥箱:上海跃进医疗器械厂生产。

1.3 实验方法

1.3.1 对啤酒糟中木糖的微波提取工艺流程

弃去←残渣

↑

啤酒糟→烘干→粉碎→过100目筛→超声波提取→离心→上清液→木糖含量检测

1.3.2 木糖的定量检测方法

采用DNS比色法测定木糖含量^[9]。

1.3.2.1 检测波长的确定

精确称取木糖标准品100 mg至100 mL容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,即得到1 mg/mL的木糖标准液。吸取木糖标准液置于干燥洁净的试管中,加入2 mL DNS溶液,振荡均匀,沸水浴加热显色5 min后立即冷却至室温。以同样处理的蒸馏水作空白对照,在400~800 nm区域进行慢速扫描获得图谱,以确定木糖的最大吸收波长。

1.3.2.2 木糖含量检测的标准曲线绘制

分别准确量取木糖标准液(1 mg/mL):0、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL、1.2 mL标准液置于7只15 mL刻度的干燥洁净的试管中,然后分别加入蒽酮溶液2 mL,振荡均匀,沸水浴显色5 min后立即流水冷却至室温。以同样处理的蒸馏水作空白对照。迅速在499 nm波长处测定各样的吸光值。以木糖的浓度为横坐标(mg/mL),吸光值(A_{499})为纵坐标,绘制木糖含量与 A_{499} 的相关标准曲线。

1.3.2.3 啤酒糟中木糖浓度与得率的计算方法

用木糖提取液和DNS溶液以1:2的比例混合反应,测定反应液的吸光值。并利用下面公式(1)和(2)计算提取液中木糖的含量即啤酒糟中的木糖含量^[10]。

$$\text{木糖浓度(mg/mL)} = \frac{\text{吸光值}}{3.18371} \quad (1)$$

$$\text{木糖得率(\%)} = \frac{\text{木糖浓度(mg/mL)} \times \text{体积} \times \text{稀释倍数}}{\text{干啤酒糟质量(mg)}} \times 100\% \quad (2)$$

1.4 实验方案

1.4.1 单因素实验方案

1.4.1.1 超声功率对啤酒糟中木糖得率的影响

在超声时间30 min,超声料液比10:1的条件下,对

比分析超声功率依次为300 W、400 W、500 W、600 W和700 W 5种条件下木糖的得率,以确定适宜的超声功率范围。

1.4.1.2 超声时间对啤酒糟中木糖得率的影响

在超声功率500 W、超声料液比10:1的条件下,对比分析超声时间依次为10 min、20 min、30 min、40 min和50 min 5种条件下木糖的得率,以确定适宜的超声时间范围。

1.4.1.3 超声料液比对啤酒糟中木糖得率的影响

在超声功率500 W、超声时间20 min的实验条件下,对比分析超声料液比依次为5:1、10:1、15:1、20:1和25:1 5种实验条件下木糖的得率,以确定适宜的超声料液比范围。

1.4.2 中心组合实验设计方案

以单因素实验为基础,选定3因素3水平进行中心组合实验设计,自变量 x_1 (超声功率,W)、 x_2 (超声时间,min)、 x_3 (超声料液比,mg/mL)的3个水平编码见表1。

表1 中心组合实验因素水平编码表

因素	代码	编码水平		
		-1	0	1
超声功率(W)	X1	400	500	600
超声时间(min)	X2	15	20	25
超声料液比(mg/mL)	X3	15:1	20:1	25:1

利用Design Expert软件中的Central Composite模型,进行超声功率、超声时间以及超声料液比3个因素对木糖得率的响应面分析,并对所获得的响应面回归模型进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 木糖标准品的光谱扫描图谱

在450~750 nm区域进行慢速扫描获得木糖图谱,结果见图1。

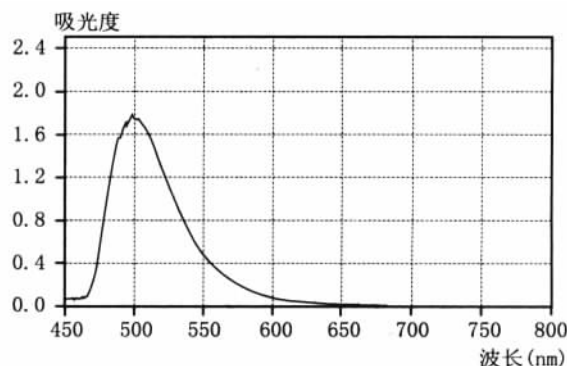


图1 木糖标准品的光谱扫描图谱

由图1可知,木糖的最大吸收波长为499 nm,故用DNS比色法测定木糖含量时选用499 nm作为吸收

波长。

2.2 木糖含量测定的标准曲线回归方程

在 499 nm 波长处测定各管的吸光值(OD),以木糖的浓度为横坐标(mg/mL),吸光值(A_{499})为纵坐标,绘制出木糖含量与 A_{499} 的相关标准曲线,见图 2。

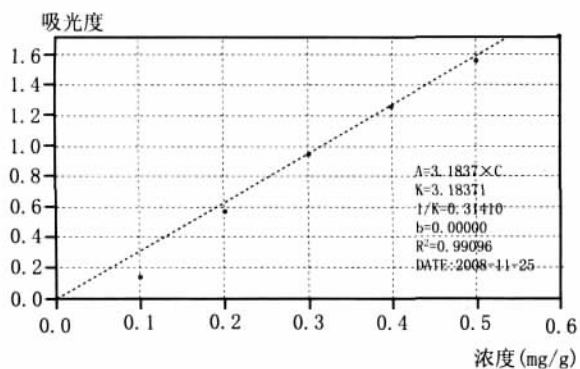


图 2 木糖含量测定的标准曲线

由图 2 可知,其回归方程为: $A=3.18371 \times C$, 相关系数 $R^2=0.99096$, 线性关系良好。

2.3 超声功率对啤酒糟中木糖得率的影响

不同超声功率对啤酒糟中木糖得率的影响见图 3。

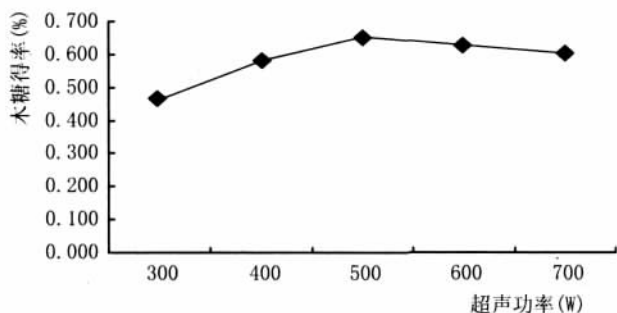


图 3 超声功率对木糖得率的影响

由图 3 可知,其他条件不变,随超声功率的增加,木糖得率呈现增加的趋势,说明超声功率越大,空化和机械作用越强烈,分子扩散速度越大,木糖分子溶出越快,在超声功率 500 W 时达到最佳,功率继续增加对提取得率提高难以起到很大作用,故而超声功率选取 500 W 左右为宜。

2.4 超声时间对啤酒糟中木糖得率的影响

不同超声时间对啤酒糟中木糖得率的影响结果见图 4。

由图 4 可知,超声波处理时间越长,超声波对物料的作用越充分,物质浸出率越高。当达到一定时间后,溶液体系渗透压达到平衡,浸出率趋于平稳,而超声时间继续增加甚至会降低物质的得率,这大概是由于长时间的超声处理,导致空化效应的加强,破坏了木糖分子结构。故而,超声时间选取 20 min 左右为宜。

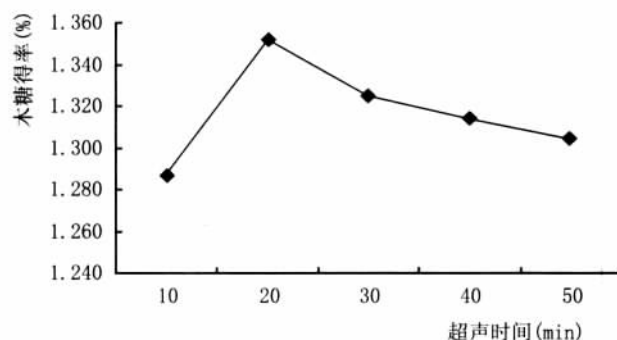


图 4 超声时间对木糖得率的影响

2.5 超声料液比对啤酒糟中木糖得率的影响

不同超声料液比对啤酒糟中木糖得率的影响结果见图 5。

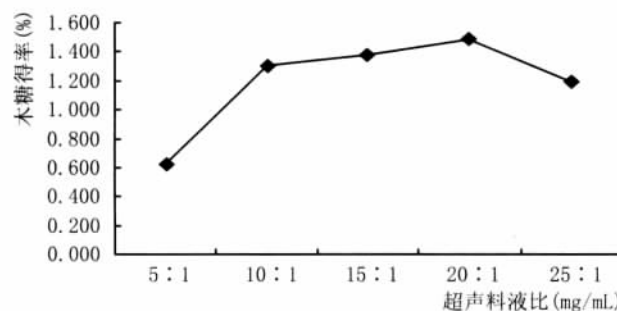


图 5 超声料液比对木糖得率的影响

由图 5 可知,一定量物料的前提下,溶剂用量越大,其与溶剂的接触面浓度差也就越大,进而其渗透压越大,利于功能性成分的浸出^[11],当达到一定值以后,由于物料中的功能性成分含量逐渐减少,越来越难以溶出,提取得率趋于稳定。当液固比在 20:1 时,得率达到最大 1.498%,此后继续增加,反而会导致得率的下降。故而,超声料液比选取 20:1 左右为宜。

2.6 中心组合实验设计结果与分析

2.6.1 中心组合设计方案与实验结果

为了研究超声法对啤酒糟中木糖的提取效果中各因素的显著性,优化超声波提取的工艺参数,在实验中利用 Design Expert 软件中的 Central Composite 进行实验设计,其方案与实验结果见表 2。

2.6.2 回归模型的显著性分析

以木糖得率为响应值(Y),经 CCD(Central Composite Design)程序进行多元回归分析,回归模型方差分析结果见表 3,求得的二次多元方程为:

$$\text{木糖得率}(\%): Y = 2.45383 - 0.00031X_1 - 0.09082X_2 + 0.09979X_3 + 0.00006X_1X_2 + 0.0001X_1X_3 - 0.0007X_2X_3 + 0.00182X_2^2 - 0.00325X_3^2$$

由表 3 可知,回归方程的失拟检验 $P=0.1705 > 0.05$, 差异不显著;总回归方程 F 检验 $P=0.0150 < 0.05$, 达到显

表 2 中心组合设计方案与实验结果

实验号	因素			木糖得率(%) 实测值
	X_1 超声功率 (W)	X_2 超声时间 (min)	X_3 超声料液比 (mg/mL)	
1	500	12	20	1.931
2	600	25	15	1.795
3	600	15	15	1.673
4	400	25	15	1.733
5	500	28	20	1.938
6	500	20	20	1.808
7	400	15	25	1.818
8	500	20	12	1.576
9	332	20	20	1.789
10	600	25	25	1.871
11	500	20	20	1.819
12	500	20	28	1.576
13	668	20	20	1.829
14	600	15	25	1.957
15	500	20	20	1.863
16	400	15	15	1.868
17	400	25	25	1.753

著水平,说明该模型与实际试验拟合较好,可以用于超声波法提取啤酒糟中的木糖试验的理论预测。方程一次项的影响 p 值均 >0.1 (不显著);二次项的影响中 X_{12} 的 $p=0.9472>0.1$ (不显著), X_{22} 的 $p=0.0335<0.05$ (显著), X_{32} 的 $p=0.0022<0.01$ (极显著);而各因素间的交互作用中只有 $X_1 \cdot X_3$ 的 $p=0.0490<0.05$ (显著),其他交互作用的 p 值均 >0.1 (不显著)。由此可以看出,该方程的回归模型是显著($p=0.0150$)的,而且,超声料液比(X_3)的二次项对超声波提取啤酒糟中的木糖的影响达到极显著水平,而超声时间(X_2)的二次项的影响达到显著水平;交互

项中,超声功率和超声料液比($X_1 \cdot X_3$)对木糖得率的影响达到显著水平。总之,超声料液比对超声比提取啤酒糟中的木糖的影响最大,其次是超声功率,而超声时间的影响最小。而且回归模型的决定系数为 0.8820,即该模型可以解释木糖得率中 88.2 % 的变化。

2.6.3 影响木糖得率的响应面分析

响应曲面分析(RSM)的图形是特定的响应值 Y 对应自变量构成的一个三维空间图,可以直观地反映出各自变量对响应变量的影响^[12~13]。

以木糖得率为响应指标值,对超声功率、超声时间、超声料液比 3 个因素进行响应面分析,其响应面图谱以及它们相应的等高线图,结果见图 6。

由图 6 可以看出,超声功率、超声时间、超声料液比 3 个因素对木糖得率的影响程度,在切面上都呈抛物线趋势,二者之间有明显的交互作用,由等高线图以及相应图谱分析可知,超声料液比对木糖得率的影响最大,其次为超声功率,而超声时间的影响最小。

2.7 模拟寻优及验证

2.7.1 模拟寻优结果

通过对木糖得率的回归模型进行二次多项数学解逆矩阵以及相关数学分析,得到木糖在超声功率 643.5 W、超声时间 18.8 min、超声料液比 23.03:1 的工艺条件下,木糖得率的理论预测值为 1.858 %。

2.7.2 验证试验

按照中心组合实验获得的木糖提取的最优工艺条件,平行 3 次提取啤酒糟中的木糖,测定的木糖得率分别为:1.852 %、1.854 %和 1.856 %,平均值为 1.854 %,与预测值的误差为 0.4 %。

3 结论

3.1 利用中心组合实验设计优化超声波提取啤酒糟中木糖的浸提技术的回归模型为:

$$\text{木糖得率}(\%) : Y = 2.45383 - 0.00031 X_1 - 0.09082 X_2 + 0.09979 X_3 + 0.00006 X_1 X_2 + 0.0001 X_1 X_3 - 0.0007 X_2 X_3 + 0.00182 X_2^2 - 0.00325 X_3^2$$

其中: X_1 (超声功率), X_2 (超声时间), X_3 (超声料液比)。

3.2 应用 Design Expert 软件中的 Central Composite 程序,进行中心组合实验设计,优化获得超声波提取啤酒糟中木糖的最佳工艺参数:超声功率为 643.5 W、超声时间为 18.8 min、超声料液比为 23.03:1,且在此最佳工艺条件下,经 3 次实验验证,得到的木糖得率的平均为 1.854 %,与理论预测值的误差为 0.4 %。

表 3 回归模型方差分析

变异来源	平方和 (SS)	自由度 (df)	均方 (MS)	F 值	p 值 (Prob>F)	显著性
Model	0.18	9	0.020	5.82	0.0150	*
X_1 -超声功率	0.0027	1	0.0027	0.80	0.4016	
X_2 -超声时间	0.0017	1	0.0017	0.51	0.5003	
X_3 -超声料液比	0.008	1	0.008	2.37	0.1673	
$X_1 X_2$	0.007	1	0.007	2.07	0.1932	
$X_1 X_3$	0.019	1	0.019	5.66	0.0490	*
$X_2 X_3$	0.002	1	0.0024	0.71	0.4278	
X_1^2	0.000015	1	0.000016	0.0047	0.9472	
X_2^2	0.023	1	0.023	6.96	0.0335	*
X_3^2	0.074	1	0.074	22.12	0.0022	**
残差	0.024	7	0.00336			
失拟项	0.022	5	0.00436	5.15	0.1705	
误差项	0.0017	2	0.00085			
总变异	0.20	16				

注: $R^2=0.8820$, Adjusted $R^2=0.7304$, Predicted $R^2=0.0740$, Adequate Precision=9.400。

**极显著水平 ($p < 0.01$); *显著水平 ($p < 0.05$); #较显著水平 ($p < 0.1$)。

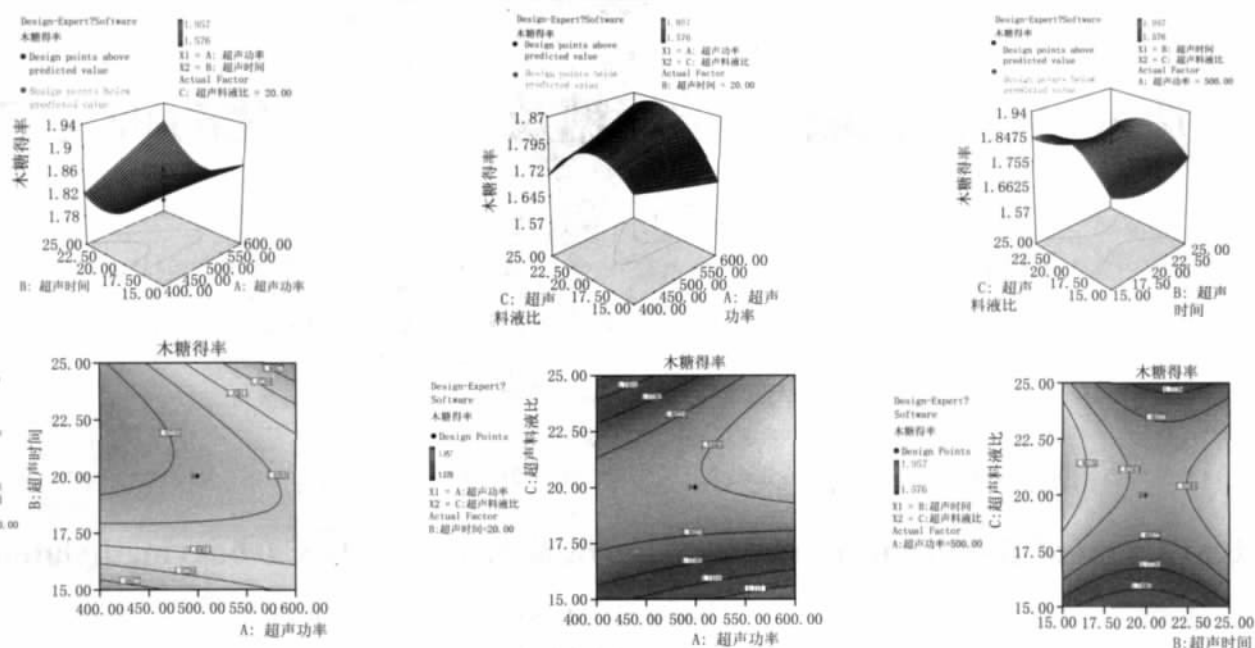


图6 影响木糖得率的各因素响应面图谱

3.3 研究表明,超声波法提取啤酒糟中的木糖的工艺路线是可行的,中心组合实验设计法优化超声波提取木糖的浸提模型具有现实指导意义。与常规提取方法相比,本实验的开展,为超声波技术在木糖加工工业中的应用,提供了一定的理论基础。超声波法提取功能性有效成分具有周期短、成本低、不破坏活性成分等显著优点,今后伴随科技的发展,超声波技术在食品工业中的应用,也定将更加广泛。

参考文献:

- [1] 陈健旋.啤酒糟生产单细胞蛋白饲料[J].漳州职业技术学院学报,2007,9(1):8-11.
- [2] 马晓建,陈俊英,张如意,等.酒糟综合利用的发展前景[J].酿酒科技,2006,(4):96.
- [3] P. Ud' en. Recovery of insoluble fibre fractions by filtration and centrifugation [J]. A nimal Feed Science and Technology , 2006 ,(129):316.
- [4] Grzegorz Klosowski , Boguslaw Czupryn' ski . Kinetics of acetals and esters formation during alcoholic fermentation of various starchy raw materials with application of yeasts *Saccharomyces cerevisiae* [J] . Journal of Food Engineering , 2006 ,

(72):242.

- [5] 赵子剑,陈迪钊,连琰,等.均匀设计法优化超声波提取茯苓多糖工艺条件的研究[J].时珍国医国药,2009,20(2):325-326.
- [6] 罗耀辉.均匀设计法优化超声波提取牛蒡多糖工艺的研究[J].河南师范大学学报(自然科学版),2008,36(1):115-117.
- [7] 徐怀德.天然产物提取工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2006.51-52.
- [8] SI NISTERRA J V. Applicati on of ultras ound t o biotechnol ogy: an overview[J]. Ultrasonic, 1992, 30 (3):180-185.
- [9] 蔡芸梅,蒋俊树,刘斌,等.3,5-二硝基水杨酸比色法测定木糖含量的研究[J].食品科技,2008,(05):219-221.
- [10] 杜冬云,金传明,余大银.从玉米芯中提取木糖的实验研究[J].湖北师范学院学报,1996,(3):104-106.
- [11] 郭晓萍,王建中,曲留柱.响应面法优化超声波辅助提取绒藤脂溶性成分的工艺研究[J].安徽农业科学,2009,37(2):661-664.
- [12] 陈文伟,蒋家新,贾振宝,等.中心组合设计优化绿茶色素提取研究[J].食品科技,2008,(07):186-189.
- [13] 梁伟娜,王唯红,曹素琼.中心组合设计法优化分离对乙酰氨基酚、盐酸麻黄碱和咖啡因的HPLC条件[J].中国医药工业杂志,2009,40(3):196-199.

习酒引进大学生到生产岗位实习

本刊讯 经过一个周的理论培训后,7月13日,贵州茅台酒厂(集团)习酒有限责任公司2009年新引进的48名大学生被安排到生产岗位实习。

从7月13日到9月12日的3个月时间里,学员们分别交替到制酒车间、包装车间、制曲车间进行不同岗位的劳动体验。(小小)