

· 中药工业 ·

文冠果种皮制备木糖工艺及其生物活性初步研究[△]严邑萍¹, 宋忠兴², 张严磊^{2*}

(1. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712083; 2. 陕西中医药大学/陕西省中药资源产业化协同创新中心;
3. 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712083)

[摘要] 目的: 以文冠果种皮醇提残渣为原料, 经稀硫酸高温短时水解、中和、脱色、低温结晶, 分离木糖、低聚木寡糖糖浆。方法: 在单因素实验的基础上, 通过正交试验法研究水解温度(A)、硫酸浓度(B)、料液比(C)、水解时间(D)对木糖得率的影响。结果: 文冠果种皮渣水解制备木糖的最佳工艺条件为硫酸浓度 $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 料液比 1:5, 温度 90°C , 水解时间 5 h, 该条件下木糖的产量最高可达文冠果种皮干燥基质量的 11%, 工艺条件稳定; 活性实验研究显示, 以文冠果种皮制备的木糖具有良好的促乳酸菌生长作用。结论: 文冠果种皮是适合制备木糖的原料, 同时有助于提高文冠果产业的经济附加值, 具有开发前景。

[关键词] 文冠果种皮; 木糖; 制备

Preparation of Xylose by Using Seed Capsule of *Xanthoceras sorbifolia*YAN YiPing¹, SONG ZhongXing², ZHANG YanLei^{2*}

(1. The Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, 712083, China;
2. Shaanxi University of Chinese Medicine/Shaanxi Collaborative Innovation Center of Industrialization of
Traditional Chinese Medicine Resources, Xianyang, 712083, China;
3. Shaanxi Key Laboratory of New Drugs and Bioactive Constituents of Traditional Chinese Medicine,
Xianyang, 712083, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare xylose by using the seed capsule of *Xanthoceras sorbifolia* as the raw material under sulfuric acid hydrolysis. **Methods:** The orthogonal experiment was applied to study the effect of reaction temperature (A), concentration of sulfuric acid (B), solid-liquid ratio (C), and reaction time (D) on the yield of xylose. **Results:** The main influence factors for yield of xylose were sulfuric acid concentration and temperature, the optimized preparation conditions were as follows: sulphuric acid concentration $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, liquid ratio 11:5, temperature 90°C , and reaction time 5 h, under this condition the yield of xylose could be up to 11.00%. Activity study showed that xylose prepared from *X. sorbifolia* has good effect to promote the growth of lactic acid bacteria. **Conclusion:** The seed capsule of *X. sorbifolia* is suitable for the preparation of xylose, this process can also help to improve the economic value of *X. sorbifolia* industry with development prospects.

[Keywords] Seedcapsule of *Xanthoceras sorbifolia* seed; xylose; preparation

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.1.022

文冠果 *Xanthoceras sorbifolia* Bunge 属于无患子科(Sapindaceae)文冠果属^[1], 又名木瓜, 是我国特有的珍稀木本油料作物, 其果种仁富含脂肪油, 出油率高达 53.6%~70%^[2]。目前文冠果被国家列为木本燃料油能源主要树种, 其选育推广受到国家高度重视, 大力发展文冠果势在必行。全国现有文冠

果栽培面积约 5.35 万 hm^2 , 年产种子在 100 万 kg 以上, 仅陕西省志丹县就有 200 hm^2 文冠果林, 种子年产量约有 2000 kg 以上。目前, 对文冠果的开发利用主要以种仁榨油为主, 另外有文冠果叶茶和从文冠果果壳中提取文冠果果壳甘的开发利用。文冠果的种皮坚硬, 重量占到种子的 50%, 文献报道其醇提

[△] [基金项目] 陕西省科技统筹创新工程计划项目(2011KTCL03-05); 陕西省教育厅产业化中试项目(2010JC05); 陕西省科技资源开放共享平台项目(2015FWPT-01)

* [通信作者] 张严磊, 博士, 讲师, 研究方向: 中药资源化学, Email: 604033608@163.com

物含有多种化学成分^[3]。分析发现,残渣主要成分为纤维素、半纤维素及木质素,是制备木糖、木聚糖的优良材料,但是目前通常都作为废渣处理,未能做到物尽其用。

木糖是目前市场前景广阔的一类产品,具有良好的食物配伍性,在与氨基酸混合加热过程中容易产生美拉德反应,起到增香及抗氧化的效果^[4];具有良好的保健功能,能改善肠胃功能^[5];工业上被用来生产木糖醇、糠醛、乙醇等化工产品^[6-8];在饲料酵母以及食品、医药、化工、皮革、染料等领域都有着广泛的用途。目前,木糖的工业化生产原料主要为玉米芯,另有报道用稻壳、秸秆、甘蔗叶、核桃壳等农林废弃物。制备方法主要有酸解法、酶解法等^[9-14],产率在11%左右,而生产成本约1.3万元/吨。由于原料来源的限制,且制备工艺较复杂,木糖及木寡糖的生产成本一直居高不下,且具有上涨的趋势,因此寻找新的木糖制备原料,及开发新的制备工艺非常必要。

鉴于以上原因,本文将以文冠果种皮醇提残渣为原料,经稀硫酸高温短时水解、中和、脱色、低温结晶,分离木糖、低聚木寡糖糖浆。为木糖、木寡糖提供新的原料来源,也为文冠果资源的综合开发与利用提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 文冠果种子去果仁,果皮粉碎备用;氢氧化钙、盐酸、去离子水等试剂及溶剂均为市售分析纯。

1.1.2 仪器 85-2 数显恒温磁力搅拌器(苏州学森仪器设备有限公司);HH-4 型电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司);SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);FW-1000AD 型快速开盖高速万能粉碎机(天津鑫博得仪器有限公司);超导核磁共振仪(INOVA-400 MHz,美国 Varian 公司)。

1.2 方法

1.2.1 木糖制备方法 参考文献[11, 15]的方法,并做少许改进:将文冠果种子砸碎,取出种仁、果皮,粉碎过筛,加乙醇回流1 h,冷却后抽滤。滤液回收乙醇得浸膏,浸膏用于制备萜类、黄酮类等药用化合物,滤渣干燥备用。每次称5 g 干燥的滤渣,

加入到装置了机械搅拌和冷凝器的三口瓶中,搅拌下加入一定量的稀硫酸溶液,一定温度下水解一定的时间。冷却后抽滤,滤渣水洗干燥,用于制备高吸附性能活性炭。滤液在70~75℃下用氢氧化钙固体调节pH为3.0~3.5,保温搅拌1 h,加入活性炭搅拌均匀后静置过夜,再加热至75℃,保温搅拌1 h,趁热抽滤,得到淡黄色透明滤液。滤液浓缩,并及时抽滤除掉析出的硫酸钙沉淀,浓缩后得到透明糖浆。糖浆中加入无水乙醇,40℃水浴上搅拌使其溶解,并及时抽滤除掉不溶物,滤液减压浓缩后冷冻结晶,有白色结晶析出即为木糖,抽滤收集产品,结晶用少量无水乙醇洗掉表面母液,100℃下烘干,得文冠果种皮木糖,滤液浓缩至无乙醇,得粘稠的低聚木寡糖糖浆。

文冠果种皮木糖得率(%) = 木糖质量(g)/文冠果壳干基质量(g) × 100%

1.2.2 单因素试验 硫酸浓度对木糖得率的影响:每份文冠果种皮分别加入0.5、1、1.5、2.0、2.5、3.0 mol·L⁻¹的浓硫酸,料液比为1:5,温度为80℃,时间为1 h。

料液比对木糖得率的影响:每份文冠果种皮分别加入料液比分别为1:1、1:2、1:3、1:4、1:5的1.5 mol·L⁻¹硫酸,温度为80℃,时间为1 h。

温度对木糖得率的影响:每份文冠果种皮分别在40、50、60、70、80、90、100℃下,加入1.5 mol·L⁻¹的硫酸,料液比1:5,时间1 h。

时间对木糖得率的影响:每份文冠果种皮分别加热2、3、4、5、6、7、8 h,硫酸浓度1.5 mol·L⁻¹,料液比1:5,温度80℃。在此基础上设计正交试验,考查硫酸浓度、料液比、温度、时间对木糖得率的影响,确定文冠果种皮水解制备木糖的最佳工艺。

1.2.3 正交试验设计 根据单因素试验结果设计正交试验,因素及水平见表1。

表1 正交试验因素及水平

水平	硫酸浓度(A) /mol·L ⁻¹	料液比(B) /g·mL ⁻¹	温度(C)/℃	时间(D)/h
1	1.0	1:4	80	5.0
2	1.5	1:5	90	6.0
3	2.0	1:6	100	7.0

2 结果与讨论

2.1 木糖制备工艺条件的选择

2.1.1 硫酸浓度对木糖得率的影响 硫酸浓度对木

糖得率的影响见图1。

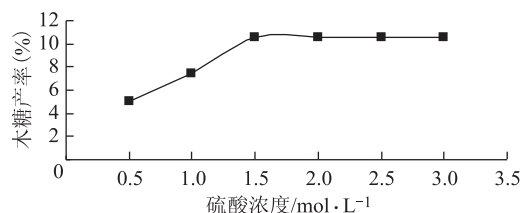


图1 硫酸浓度对木糖产率的影响

由图1可知,在硫酸浓度小于 $1.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着硫酸浓度的增大,文冠果种皮的水解速率也增大,因此木糖的产量也增加,但是当硫酸浓度大于 $1.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后,由于木糖的降解及向糠醛等的转化也加快,因此木糖的产量不但不再增加,反而有下降的趋势,因此选择硫酸浓度 $1.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最佳实验酸浓度。

2.1.2 料液比对木糖得率的影响 料液比对木糖得率的影响见图2。

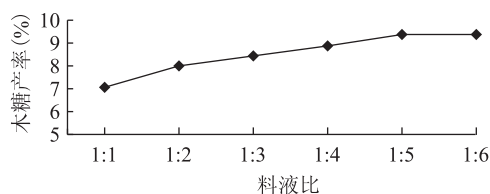


图2 料液比对木糖产率的影响

由图2可知,随着料液比的增加,木糖的得率一直增大,但增加的幅度并不明显,当料液比大于1:5之后,随着料液比的增加,木糖产量趋于稳定,因此选择1:5为最佳实验料液比。

2.1.3 温度对木糖得率的影响 温度对木糖得率的影响见图3。

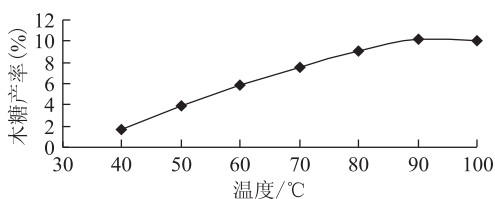


图3 反应温度对木糖产率的影响

图3可知,随着温度的升高,木糖产率增加明显,但是温度超过 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以后,木糖得率有下降的趋势,可能是因为随着温度的升高,木糖又会向糠醛等副产物转化,导致木糖最终产率降低,所以选择 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 为最佳试验温度。

2.1.4 时间对木糖得率的影响 时间对木糖得率的影响见图4。

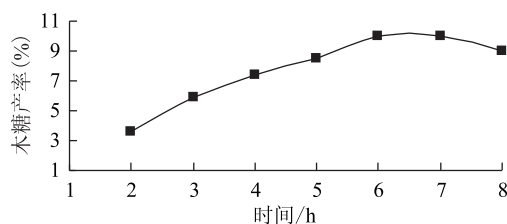


图4 时间对木糖产率的影响

图4可知,木糖产量随着时间的延长而增加明显,在6 h时达到最大值,此后随着时间的延长产量不再增加,反而有下降的趋势,可能是因为随着时间的延长,木糖在硫酸作用下会转变为糠醛等,导致木糖产率降低,因此选择6 h为最佳实验时间。

2.1.5 正交试验及结果 单因素试验的基础,设计正交试验,因素水平及结果见表2。

表2 正交试验结果

编号	硫酸浓度(A) /mol·L ⁻¹	料液比(B) /g·mL ⁻¹	温度(C) /℃	时间(D) /h	木糖产率 (%)
1	1(1.0)	1(1:4)	1(80)	1(5)	7.89
2	1(1)	2(1:5)	2(90)	2(6)	9.00
3	1(1)	3(1:6)	3(100)	3(7)	8.63
4	2(1.5)	1(1:4)	2(90)	3(7)	10.99
5	2(1.5)	2(1:5)	3(100)	1(5)	10.87
6	2(1.5)	3(1:6)	1(80)	2(6)	10.12
7	3(2)	1(1:4)	3(100)	2(6)	9.46
8	3(2)	2(1:5)	1(80)	3(7)	10.37
9	3(2)	3(1:6)	2(90)	1(5)	10.96
K ₁	8.51	9.45	9.46	9.91	
K ₂	10.66	10.08	10.32	9.53	
K ₃	10.26	9.90	9.65	10.00	
R	2.15	0.63	0.86	0.47	

由正交试验R值结果可知,硫酸浓度、水解温度对文冠果种皮木糖得率的影响较大,我们认为是高温短时水解的原因,一方面高温有利于纤维素的水解;另一方面短时减少了酸与木糖的作用,降低了木糖向糠醛的转变率。从各单因素的K值分析,得出最佳的提取条件为 $A_2B_2C_2D_3$,即硫酸浓度 $1.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,料液比1:5,温度 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$,提取时间7 h。结合R值得出的结论,时间对提取得率影响并不明显,虽然随着时间的延长木糖产量会增加,但是过长会使得木糖向糠醛转化,导致木糖最终得率降低;另外考虑节约能源的因素,因此最终选择高温短时水解的最佳提取工艺条件为 $A_2B_2C_2D_1$,即硫酸浓度 $1.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,料液比1:5,温度 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$,提取时间5 h。

2.1.6 最佳工艺条件稳定性试验 进行 3 次平行试验,对选择的最佳工艺条件进行稳定性验证,其结果见 3。由表 3 可知,在最佳工艺条件下,木糖的产率为 11%,工艺条件稳定。

表 3 最佳条件稳定性试验

编号	产率 (%)
1	11.02
2	10.98
3	11.01
平均值	11.00

2.1.7 文冠果种皮木糖的 NMR 表征 以氘代 DMSO 为溶剂,采用 INOVA-400MH 核磁共振仪,对文冠果种皮木糖进行了结构表征,结果见图 5。

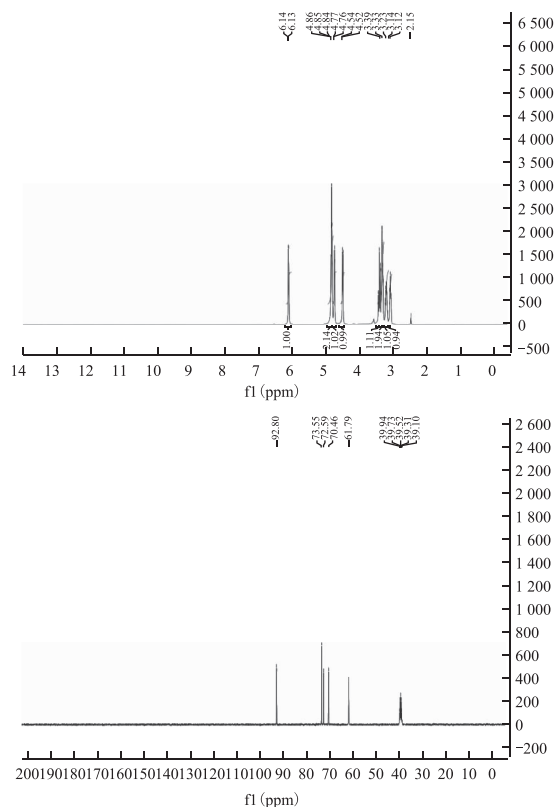


图 5 文冠果种皮木糖 NMR 表征

2.1.8 文冠果种皮木糖生物活性初步研究 在确定了最佳制备工艺条件之后,对文冠果种皮木糖的生物活性进行初步研究,主要考察其促进益生乳酸菌生长作用。见图 6。

由图 6 可以看出,与对照组相比(对照组不含木糖),文冠果种皮木糖具有明显的促乳酸菌生长作用。

在氮源一定的条件下,pH 的高低可以反映出碳源被微生物利用情况,pH 降低越多,说明木糖中的

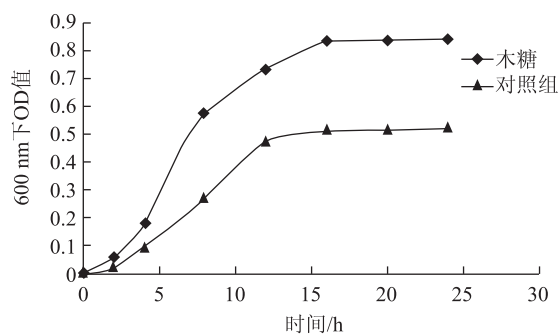


图 6 文冠果种皮木糖促乳酸菌生长曲线

碳源越容易被微生物利用,反之,越不易被利用。文冠果种皮木糖对益生乳酸菌生长的促进作用及过程中 pH 变化结果见图 7。

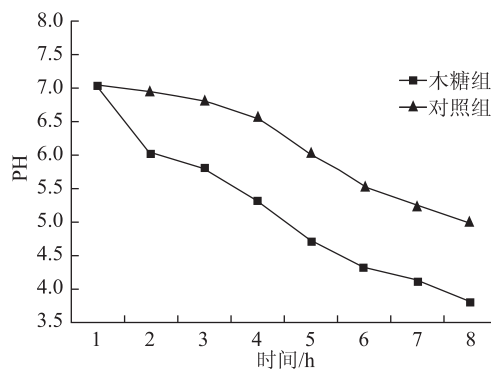


图 7 文冠果种皮木糖促乳酸菌生长过程中 pH 变化曲线

图 7 可以看出,文冠果种皮木糖在促乳酸菌生长过程中,pH 变化比对照组明显且快,说明文冠果种皮木糖能够很容易被益生乳酸菌所利用。

3 讨论与结论

文冠果为我国特有的木本油料作物,目前对其研究与开发主要以榨油及从种皮、果壳中提取果壳甘药用为主,过程中产生了大量的种皮,未见有效的开发利用。本研究以文冠果种皮渣为原料,制备对人体益生菌有益的木糖与木寡糖糖浆,得出的最佳工艺条件:硫酸浓度为 $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,料液比为 1:5,温度为 90°C ,水解时间为 5 h,该条件下木糖的产量最高,可达文冠果种皮干燥基质量的 11%,且纯度高、工艺条件稳定。活性实验研究显示,以文冠果种皮制备的木糖具有良好的促乳酸菌生长作用。本研究为文冠果资源的综合开发与利用提供了新的途径。

参考文献

- [1] 董桂杰,邵海市,陈芳,等. 文冠果的化学成分研究进展[J]. 黑龙江医药,2009,22(6):874-875.

(下转第 115 页)

主治有密切关系,因此增加诃子、毛诃子的鉴别有利于提高产品质量控制。参照《中华人民共和国药典》2015年版一部诃子、毛诃子的薄层色谱鉴别方法,采用相同的供试品溶液提取方法分别进行诃子和毛诃子的鉴别,参照中华人民共和国药典的薄层色谱条件,发现诃子和毛诃子阴性有干扰,展开效果不理想。故对薄层色谱条件进行筛选优化,最终采用本文的薄层色谱条件。结果表明,薄层色谱斑点清晰,方法专属性好,阴性无干扰。

在诃子和毛诃子的鉴别研究中,曾采用不同品牌的薄层板和 SPE 固相萃取小柱进行比较,并分别考察了高温、高湿、低温、低湿等环境对薄层展开效果的影响,结果均能得到清晰的薄层色谱斑点,阴性无干扰,说明方法的耐用性较好。

取大黄酚对照品溶液,经紫外-可见分光光度计在 210~400 nm 进行扫描,大黄酚在 225.4、257.3、288.1 nm 处有吸收峰,大黄酚在 257.3 nm 波长处有最大吸收,参考《中华人民共和国药典》2015年版一部大黄药材项下规定^[1],确定 254 nm 为本实验的测定波长。

原标准采用薄层扫描法测定决明子中大黄酚的含量,受上样技术、薄层板质量、展开条件、温湿度等因素影响较大,平行实验的精密度较差,方法准确性不够理想。故采用 HPLC 法测定大黄酚的含量,提高含量测定的重现性和自动化程度。经两种

方法测得的数据比较,无显著差异。

处方决明子中大黄酚的含量测定参考相关文献,对色谱条件进行优化,比较了乙腈-0.1% 磷酸梯度洗脱、不同比例的甲醇-0.1% 磷酸等度洗脱、不同比例的乙腈-甲醇-0.1% 磷酸洗脱系统,最后采用甲醇-0.1% 磷酸(80:20)洗脱系统,具有专属性高、重现性好,分离能力强、灵敏度高,与中华人民共和国药典系统相比有操作简便等优点。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [2] 杨俊荣,孙芳云. 诃子化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2008,20(3):450-451.
- [3] 刘玉梅,宋宝安,杨松,等. 诃子化学成分与生物活性的研究进展[J]. 贵州大学学报(自然科学版),2007,2(24):208.
- [4] 张海龙,裴月湖,华会明,等. 诃子化学成分及药理活性的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2001,18(6):452.
- [5] 杨永康,格桑索朗,吴家坤,等. 诃子,毛诃子和余甘子的植物分类研究和药学特性综述[J]. 中国医学生物技术应用杂志,2004(1):14.
- [6] 国家药品标准:青鹏软膏. 药典委网站公示稿.
- [7] 杨希,聂晶,谭静玲,等. 一清系列制剂中大黄素和大黄酚的含量比较[J]. 中国药师,2014,17(8):1340-1352.
- [8] 毋小东,苏晶,汪杨丽. HPLC 测定八正片中大黄素及大黄酚含量[J]. 食品与药品,2014,16(3):203.

(收稿日期 2016-02-25)

(上接第 110 页)

- [2] 侯元凯,黄琳,周忠惠. 文冠果果实性状相关性研究[J]. 林业科学研究,2011,24(3):395-398.
- [3] 王颖,潘英,邢亚超,等. 文冠果种皮化学成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志,2013,23(5):397-399.
- [4] 徐真真,黄国清,肖军霞,等. 干热条件下大豆分离蛋白-木糖美拉德反应研究[J]. 粮油食品科技,2015,23(2):26-30.
- [5] 史先振,朱圣陶,贺峰,等. 木糖改善胃肠道保健功能的实验研究[J]. 食品与药品,2008,10(9):40-42.
- [6] 马赛,李凭力,朱涛,等. 氯化铁催化木糖降解制备糠醛反应动力学[J]. 化工进展,2015,34(1):108-112.
- [7] 石琢,李清明,熊兴耀,等. 丝状真菌发酵木糖产乙醇的研究[J]. 中国酿造,2014,33(11):47-50.
- [8] 刘敏,汤婷婷,赵国明,等. Pd/C 催化氧化木糖制备木糖

酸[J]. 化学反应工程与工艺,2014,30(4):352-356.

- [9] 李雪雁,王丹,胡朝霞,等. 玉米芯酸法提取木糖的工艺改进[J]. 食品工业科技,2009,30(6):263-264,308.
- [10] 雷光鸿,崔素芬,李辰,等. 酸催化水解处理甘蔗叶提取木糖的研究[J]. 食品科技,2015,40(5):220-223.
- [11] 郑生宏,李大祥,方世辉,等. 茶籽壳酸水解制备木糖工艺研究[J]. 茶叶科学,2011,31(3):195-200.
- [12] 刘仁成,黄广民,姚伯元,等. 椰壳常压酸水解制备木糖[J]. 食品科学,2007,27(12):263-267.
- [13] 刘长虹,吴树新,朱艳坤,等. 玉米秸秆制备木糖工艺的研究[J]. 中国资源综合利用,2009,27(1):9-12.
- [14] 薛业敏,于瑾瑾,戴军,等. 极耐热性阿拉伯糖苷酶在木糖制备中的应用[J]. 食品与发酵工业,2007,33(9):14-19.
- [15] 李士雨,李响,齐向娟,等. 乙醇溶析结晶法由棉籽壳制备木糖[J]. 化工学报,2010,61(6):1482-1485.

(收稿日期 2016-03-02)