

阿拉伯糖的稀酸水解法制备与动力学分析

Process optimization and kinetics of arabinose preparation by dilute acid hydrolysis

田 龙^{1,2} 仝奋飞^{3,4}

TIAN Long^{1,2} TONG Fen-fei^{3,4}

(1. 南阳师范学院, 河南 南阳 473061; 2. 农业生物质资源化工程技术研究中心, 河南 南阳 473061; 3. 南阳市京德啤酒技术开发有限公司, 河南 南阳 473000; 4. 河南省工坊啤酒工程技术研究中心, 河南 南阳 473000)

(1. Nanyang Normal University, Nanyang, Henan 473061, China; 2. Research Center of Henan Provincial Agricultural Biomass Resource Engineering and Technology, Nanyang, Henan 473061, China; 3. Nanyang Jingde Beer Technology Development Co., Ltd., Nanyang, Henan 473000, China; 4. Henan Gongfang Beer Engineering Technology Research Center, Nanyang, Henan 473000, China)

摘要:目的: 优选生物质水解制备阿拉伯糖工艺, 并对其水解过程进行动力学分析。方法: 利用单因素试验和响应面法优化稀酸水解阿拉伯胶制备阿拉伯糖的工艺条件, 并进行水解过程的动力学研究。结果: 最佳水解工艺条件为: 反应时间 237 min, 硫酸浓度 0.16 mol/L, 反应温度 91 ℃, 在此条件下进行 3 次平行验证实验, 水解液中 L-阿拉伯糖浓度的平均值为 35.45 g/L。利用 Saeman 模型拟合, 得到阿拉伯糖生成与降解的动力学参数。阿拉伯胶的水解为内扩散控制反应过程。结论: 阿拉伯胶的水解过程为连续的拟均相一阶反应过程, Saeman 模型能较好地描述阿拉伯胶水解制备阿拉伯糖的过程。

关键词: L-阿拉伯糖; 水解; 制备; 动力学

Abstract: Objective: Preferred biomass hydrolysis for preparation of arabinose and its kinetic analysis during the hydrolysis process.

Methods: Single factor experiment and response surface methodology were used to optimize the conditions for the preparation of arabinose from gum Arabic by dilute acid hydrolysis, and the kinetics of the hydrolysis process was studied.

Results: The optimum hydrolysis conditions were as follows: reaction time 237 min, sulfuric acid concentration 0.16 mol/L, reaction temperature 91 ℃. Three parallel experiments were carried out under these conditions. The average concentration of L-arabinose in the hydrolysate was 35.45 g/L. The kinetic parameters of arabinose formation and degradation were obtained by Saeman model fitting. The hydrolysis of Arabic gum is an internal diffusion controlled reaction process. **Conclusion:** The

hydrolysis process of gum Arabic is a continuous pseudo homogeneous first-order reaction process, and the Saeman model can better describe the hydrolysis process of gum Arabic to arabinose.

Keywords: L-arabinose; hydrolysis; preparation; kinetics

L-阿拉伯糖是一种戊醛糖, 在自然界中分布广泛, 其降糖功效较强, 可抑制人体吸收蔗糖, 因而可预防肥胖及高血脂^[1]。2008 年中国批准 L-阿拉伯糖为新资源食品。

当前, 国内外生产 L-阿拉伯糖的方法包括酸解法、微生物法、酶解法、化学合成法等。其中, 微生物法的缺点是菌种易突变, 发酵过程难以控制^[2]。酶解法的专一性较好, 然而该工艺只有在多种酶协同作用的条件下才能得到较好的水解效率, 因而难以实现工业化生产^[3]。化学合成法的生产条件复杂, 成本较高, 限制了它在工业化生产中的应用^[4]。相对而言, 酸解法提取 L-阿拉伯糖具有过程简单的优势^[5]。目前, 关于利用响应面方法优化阿拉伯糖的水解制备条件及动力学分析未见报道。阿拉伯胶富含 L-阿拉伯糖单体, 是制备阿拉伯糖的良好原料来源^[6]。研究拟以阿拉伯胶为原料, 通过单因素试验和响应面法优化影响阿拉伯胶酸水解提取 L-阿拉伯糖的工艺参数, 并对水解过程进行动力学分析, 以期后续分离提纯工艺的过程设计和优化提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

阿拉伯胶: 工业级, L-阿拉伯糖含量 40.5%, 沧州康鑫蜂蜡胶业有限公司;

浓硫酸、氢氧化钠、邻苯二甲酸氢钾: 分析纯, 天津市

作者简介: 田龙(1977—), 男, 南阳师范学院副教授, 博士。

E-mail: 316401779@163.com

收稿日期: 2022-02-23 改回日期: 2023-04-27

科密欧化学试剂有限公司;

L-阿拉伯糖标准品、*D*-半乳糖标准品和 *L*-鼠李糖标准品:上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

乙腈:色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司。

1.2 主要设备

恒温水浴锅:HH-4 型,常州国华电器有限公司;

旋转蒸发仪:EYELA N 型,上海爱朗仪器有限公司;

循环水真空泵:SHZ-IIIB 型,上海亚荣生化有限公司;

恒温鼓风干燥箱:DGG-9140A 型,上海森信实验仪器有限公司;

离心机:TGL-5-A 型,上海安亭分析仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:TU-1900 型,北京普析通用仪器有限公司;

超纯水系统:Milli-Q 型,美国 Millipore 公司;

高效液相色谱仪:D3000 型,美国 Agilent 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 水解反应 在 250 mL 三口烧瓶中加入适量水,加热至设定温度,再按照固液比 1:15 (g/mL) 加入阿拉伯胶,磁力搅拌至完全溶解后加入一定体积、一定浓度的硫酸,分别考察反应时间、硫酸浓度、反应温度 3 个因素对阿拉伯胶水解的影响。

1.3.2 检测 *L*-阿拉伯糖含量的方法 采用 D3000 型高效液相色谱仪检测,电喷雾化学检测器检测器, GRACE Prevail Carbohydrate ES (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,进液量 5 μL,流动相为乙腈—水(体积比 3:1),流速 1 mL/min,柱温 30 °C^{[7]10}。

1.3.3 水解率计算 阿拉伯糖的水解率计算公式如式(1)所示。

$$H = \frac{m_0}{m_1} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

H ——阿拉伯糖水解率,%;

m_0 ——水解液中阿拉伯糖的含量,%;

m_1 ——原料中阿拉伯糖的含量,%。

1.3.4 单因素试验 在前期试验的基础上,以反应时间、硫酸浓度和反应温度为考察因素。

(1) 反应时间:在反应温度 90 °C、硫酸浓度 0.15 mol/L 的条件下,改变反应时间,考察其对阿拉伯胶水解的影响。

(2) 硫酸浓度:在反应温度 90 °C、反应时间 200 min 的条件下,改变硫酸浓度,考察其对阿拉伯胶水解的影响。

(3) 反应温度:在硫酸浓度 0.15 mol/L、反应时间 200 min 的条件下,改变反应温度,考察其对阿拉伯胶水解的影响。

1.3.5 响应面试验 在单因素试验的基础上,以反应时间、硫酸浓度、反应温度为自变量,*L*-阿拉伯糖浓度为响应值(Y),设计 Box-Behnken 优化试验。

1.5 动力学试验

称取 5 g 阿拉伯胶,在硫酸浓度 0.16 mol/L,固液比 1:15 (g/mL)、反应温度分别为 80、90、100 °C 的条件下进行水解,每隔 30 s 取样,冰水快速冷却之后,测定其 *L*-阿拉伯糖含量。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 反应时间对水解的影响 由图 1 可知,反应时间为 100~200 min 时,*L*-阿拉伯糖质量浓度呈线性趋势增长,此后随着反应时间的延长,溶液中的 *L*-阿拉伯糖质量浓度趋向平衡,在反应时间为 300 min 时,溶液中的 *L*-阿拉伯糖质量浓度为 35.2 g/L,计算可知,此时阿拉伯胶的水解率为 86.9%,可见阿拉伯胶的水解速率较慢。这是因为在阿拉伯胶的分子结构中,*L*-阿拉伯糖的一端通过 1,3 糖苷键与 *L*-鼠李糖相连接^{[7]47}。在没有催化剂的条件下,可通过加热的方法使糖苷键断裂,得到 *L*-鼠李糖,但外界提供的能量难以使 *L*-阿拉伯糖另一端与 *D*-半乳糖相连的 1,3 糖苷键断裂。添加适量酸作为催化剂时,生成的水合氢离子攻击糖苷键,导致部分阿拉伯聚糖继续水解。综合考虑,较佳的反应时间为 200 min,此时 *L*-阿拉伯糖质量浓度为 33.3 g/L。

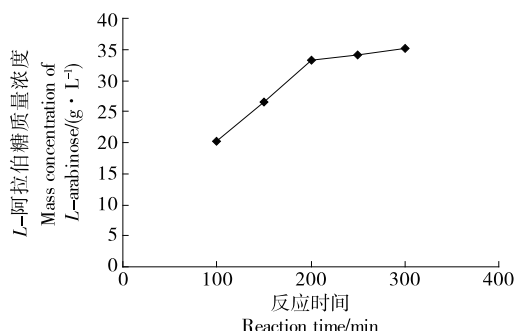


图 1 *L*-阿拉伯糖质量浓度随反应时间的变化

Figure 1 Concentration of *L*-arabinose vary with reaction time

2.1.2 硫酸浓度对水解的影响 由图 2 可知,*L*-阿拉伯糖质量浓度随硫酸浓度的升高而增大,当酸浓度高于 0.2 mol/L 后,*L*-阿拉伯糖质量浓度有下降趋势。这是因为硫酸浓度为 0.2 mol/L 时,已有足够量的氢离子进攻 *L*-阿拉伯聚糖的糖苷键,使其以最大速率水解^[8]。当硫酸浓度过大时,*L*-阿拉伯糖质量浓度降低,这是因为高浓度的氢离子使部分 *L*-阿拉伯糖发生降解,生成糠醛等副产物^[9]。因此,硫酸浓度以 0.2 mol/L 较为合适。

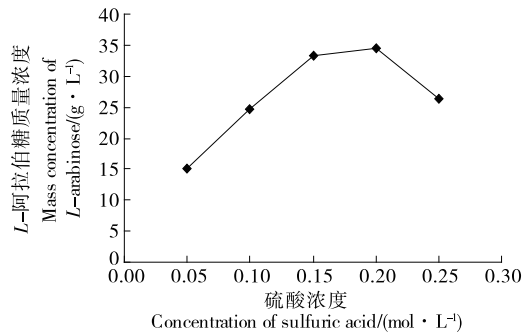


图2 硫酸浓度对L-阿拉伯糖质量浓度的影响
Figure 2 Concentration of *L*-arabinose vary with concentrations of sulfuric acid

2.1.3 反应温度对水解的影响 由图3可知,随着反应温度的升高,*L*-阿拉伯糖质量浓度迅速上升,但是当反应温度超过90℃后,水解液中的阿拉伯糖质量浓度反而下降。原因是随着水解温度升高,阿拉伯胶大分子链的运动加剧,多糖分子在吸收能量后能够摆脱自身分子间的氢键作用力的束缚并溶解在溶液中,而溶解后的多糖分子更容易受到氢离子进攻并水解成单糖,因此随着温度的升高,其水解速率迅速增大^[9]。当反应温度过高时,溶液中的*L*-阿拉伯糖被降解为糠醛,此时*L*-阿拉伯糖质量浓度降低。

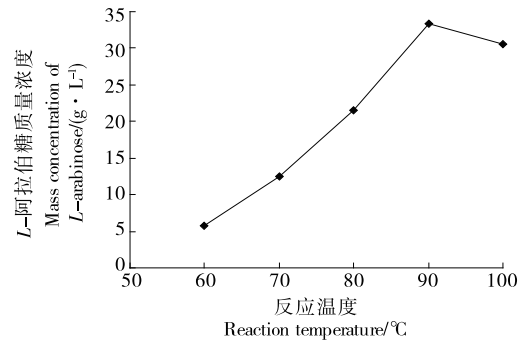


图3 L-阿拉伯糖质量浓度随反应温度的变化
Figure 3 Concentration of *L*-arabinose vary with different temperature

2.2 响应面法优化试验

2.2.1 回归曲线方程的建立 试验因素和水平见表1,试验设计及结果见表2。

表1 试验因素及水平表

Table 1 Coded values and corresponding actual values			
水平	A 反应时间/ min	B 硫酸浓度/ (mol · L ⁻¹)	C 反应温度/ ℃
-1	150	0.10	80
0	200	0.15	90
1	250	0.20	100

表2数据进行拟合,得到回归方程为:

$$Y=32.27+5.12A+1.26B+1.02C-0.53AB-0.98AC+0.87BC-3.31A^2-2.43B^2-2.46C^2。$$
 (2)

2.2.2 模型的方差分析 回归方程的方差分析如表3所示。由表3可知,总模型*F*值为95.98远大于1,表明模

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results for response surface analysis				
序号	A	B	C	Y <i>L</i> -阿拉伯糖质量浓度/ (g · L ⁻¹)
1	-1	-1	0	19.85
2	1	-1	0	31.09
3	-1	1	0	23.02
4	1	1	0	32.13
5	-1	0	-1	19.31
6	1	0	-1	31.58
7	-1	0	1	23.37
8	1	0	1	31.73
9	0	-1	-1	25.79
10	0	1	-1	26.98
11	0	-1	1	26.04
12	0	1	1	30.69
13	0	0	0	32.87
14	0	0	0	31.68
15	0	0	0	31.19
16	0	0	0	32.92
17	0	0	0	32.67

表3 回归方程各项的方差分析

Table 3 Analysis of variance for the fitted regression model					
方差来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
模型	346.35	9	38.48	95.98	<0.000 1
A	209.92	1	209.92	523.56	<0.000 1
B	12.63	1	12.63	31.49	0.000 8
C	8.34	1	8.34	20.81	0.002 6
AB	1.13	1	1.13	2.83	0.136 5
AC	3.82	1	3.82	9.53	0.017 6
BC	2.99	1	2.99	7.46	0.029 2
A ²	46.14	1	46.14	115.09	<0.000 1
B ²	24.92	1	24.92	62.16	0.000 1
C ²	25.44	1	25.44	63.45	<0.000 1
剩余	2.81	7	0.40		
失拟项	0.35	3	0.12	0.19	0.898 3
纯误差	2.46	4	0.61		
总误差	349.15	16			
<i>R</i> ²	0.992 0				

型显著; $P < 0.000\ 1$, 方程极显著。失拟项的 P 值 > 0.05 , 试验误差很小; 二次多项式方程的相关系数 $R^2 = 0.992\ 0$, 回归极显著, 该模拟结果的可信度很高。

2.2.3 影响因素的交互作用分析 利用 Design-Expert 8.0 软件绘制三因素的交互作用对 L -阿拉伯糖浓度影响的响应面及等高线, 结果见图 4、图 5。

由图 4、图 5 可知, 各因素间交互作用的等高线都接近为椭圆。各因素交互作用大小为 $AC > BC > AB$, 与表 3 的分析结果吻合。

利用 Design Expert 8.0 软件分析得到最佳反应条件为: 反应时间 237 min, 硫酸浓度 0.159 5 mol/L, 反应温度 90.9 $^{\circ}\text{C}$ 。

为方便操作, 将工艺参数调整为: 反应时间 237 min, 硫酸浓度 0.16 mol/L, 反应温度 91 $^{\circ}\text{C}$, 在此条件下进行 3 次平行验证实验, 水解液中 L -阿拉伯糖质量浓度的平均值为 35.45 g/L。与预测值 34.341 6 g/L 之间的偏差很小, 实际值与预测值接近, 表明响应面法优化阿拉伯糖的制备工艺准确可靠, 具有一定的实用价值。

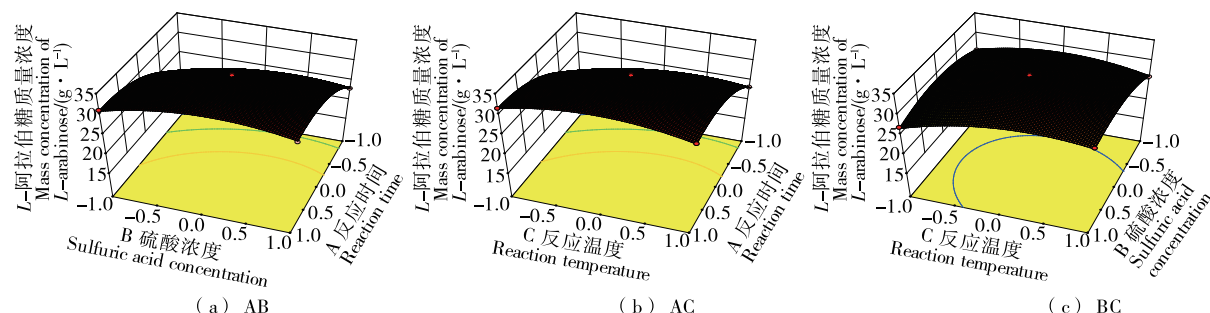


图 4 各因素之间的响应面图

Figure 4 Response surface graph between three factors

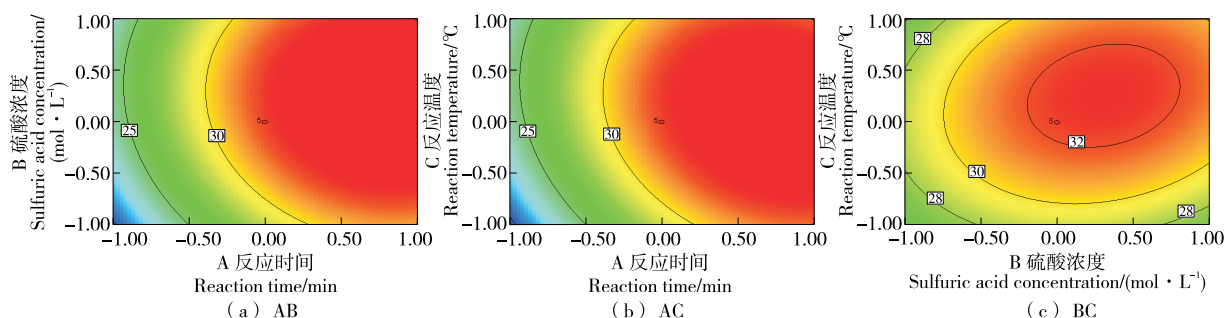
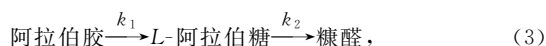


图 5 各因素相互作用的等高线图

Figure 5 Contour curves of pairwise interactive effects

2.3 动力学分析

根据 Saeman 模型, 阿拉伯胶的水解过程可看作是连续的拟均相一阶反应^[10-11], 即:



式中:

k_1 ——阿拉伯胶水解为 L -阿拉伯糖的反应速率常数, min^{-1} ;

k_2 —— L -阿拉伯糖降解为糠醛的反应速率常数, min^{-1} 。

于是可推导出低聚木糖质量浓度与反应时间关系式:

$$L = \frac{k_1 L_0}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}), \quad (4)$$

式中:

L ——水解液中的 L -阿拉伯糖质量浓度, g/L;

L_0 ——阿拉伯胶中 L -阿拉伯糖含量, %;

t ——反应时间, min。

得到水解液中 L -阿拉伯糖质量浓度(L)随反应时间(t)变化的数学表达式为:

$$L = \frac{40.5 k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}). \quad (5)$$

表 4 是动力学方程的拟合参数。从表 4 可以看出: 拟合系数均大于 0.98, 说明得到的水解动力学符合实际情况。另一方面, k_1 、 k_2 均与反应温度呈正相关, 表明升高温度对提高水解速率是有利的。

根据 Arrhenius 方程:

$$k = k_0 e^{-\frac{E_a}{RT}}, \quad (6)$$

式中:

k_0 ——指前因子, $\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{min})$;

E_a ——反应活化能, J/mol;

表 4 动力学参数

Table 4 Kinetic parameters

提取温度/℃	动力学参数		
	k_1/min^{-1}	k_2/min^{-1}	R^2
80	0.382	0.126	0.982 9
90	0.461	0.133	0.986 3
100	0.772	0.137	0.994 2

R ——气体常数,8.314 J/mol;

T ——绝对温度,K。

对式(6)两边取对数,可得:

$$\ln k = \ln k_0 - E_a/8.314 T. \quad (7)$$

根据式(7)可知, $\ln k$ 与 $1/T$ 呈线性关系。根据表 4 的数据,通过计算可求出阿拉伯糖生成的活化能为 38.693 kJ/mol,指前因子为 $1.9 \times 10^5 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{min})$, L -阿拉伯糖降解活化能为 46.26 kJ/mol,指前因子为 $0.611 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{min})$ 。由于其指前因子很小,故在试验条件下, L -阿拉伯糖生成速率远大于其降解速率,这有利于减少糠醛的生成,可获得较高的阿拉伯糖收率^[12]。从活化能的大小来看,由于目标产物降解反应的活化能要大于其生成的反应活化能,故高温不利于目标产物的生产^[13-14]。

3 结论

通过单因素试验和响应面试验优化了稀酸水解阿拉伯胶生产阿拉伯糖的条件,得到的最佳水解条件是:反应时间 237 min,硫酸浓度 0.16 mol/L,反应温度 91 ℃,水解液中 L -阿拉伯糖浓度的平均值为 35.45 g/L。Saeman 模型可以较好地描述阿拉伯胶的水解过程。阿拉伯胶的水解是一个内扩散控制反应过程。

参考文献

[1] 黄伟红,魏显宁,周娟,等.利用 L -阿拉伯糖结晶母液回收 L -阿拉伯糖的研究[J].中国食品添加剂,2016(5): 85-91.
HUANG W H, WEI X N, ZHOU J, et al. Study on the recovery of L -arabinose from L -arabinose crystallization mother liquor [J]. China Food Additives, 2016(5): 85-91.

[2] 李道义,闫巧娟,江正强,等.酵母菌发酵玉米皮酸水解液制备结晶 L -阿拉伯糖的研究[J].食品科学,2007,28(4): 125-128.
LI D Y, YAN Q J, JIANG Z Q, et al. Preparation of crystalline L -arabinose from acid hydrolysate of corn bran by yeast[J]. Food Science, 2007, 28(4): 125-128.

[3] 邹鸿菲,张泽生,郑敏.微生物分离玉米皮水解液中 L -阿拉伯糖的研究[J].食品工业科技,2012,33(12): 214-216.
ZOU H F, ZHANG Z S, ZHENG M. Study on microbial separation of L -arabinose from hydrolysate of corn husk[J]. Food Industry Science and Technology, 2012, 33(12): 214-216.

[4] WULFF G, HANSEN A. Synthesis of monosaccharides with the

acid of a new synthetic equivalent for the glycolaldehyde anion[J]. Carbohydrate Research, 1987, 164: 123-140.

[5] 郑琳,张鹤之,崔泰花,等.化学诱变快速筛选高产甘露醇柠檬串珠菌株的研究[J].河南农业大学学报,2016,50(4): 516-520.
ZHENG L, ZHANG H Z, CUI T H, et al. Study on rapid screening of high-yield mannitol citrimine beaded strain by chemical mutagenesis[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2016, 50(4): 516-520.

[6] 曹艳子,刘艳,单春乔,等.初探微生物法处理农作物生产 L -阿拉伯糖[J].中国酿造,2012,31(5): 151-154.
CAO Y Z, LIU Y, SHAN C Q, et al. Preliminary study on L -arabinose production from crops by microbial treatment[J]. China Brewing, 2012, 31(5): 151-154.

[7] 李景恩.江香薷多糖和两种阿拉伯胶的结构解析及功能特性[D].南昌:南昌大学,2014.
LI J E. Structural analysis and functional characteristics of Elsholtzia splendens polysaccharide and two kinds of arabic gum [D]. Nanchang: Nanchang University, 2014.

[8] QING Q, ZHOU L, HUANG M, et al. Improving enzymatic saccharification of bamboo shoot shell by alkalic salt pretreatment with H_2O_2 [J]. Bioresource Technology, 2016, 201: 230-236.

[9] 方永亮,郑珩,余江河,等.功能性甜味剂 L -阿拉伯糖的研究进展[J].氨基酸和生物资源,2009,31(1): 8-12.
FANG Y L, ZHENG H, YU J H, et al. Research progress of functional sweetener L -arabinose[J]. Amino Acids and Biological Resources, 2009, 31(1): 8-12.

[10] GARROTE G, DOMNGUEZ H, PARAJO J. Generation of xylose solutions from Eucalyptus globulus wood by autohydrolysis-posthydrolysis processes: Posthydrolysis kinetics [J]. Bioresource Technology, 2001, 79: 155-164.

[11] RAHMAN S H A, CHOUDHURY J P, AHMAD A L. Production of xylose from oil palm empty fruit bunch fiber using sulfuric acid [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 30(1): 97-103.

[12] LI Y S, LI X H, TAN C X. An improved method for the isolation of L -arabinose and D -galactose from gum arabic [J]. Organic Preparations and Procedures International, 2013, 45(4): 332-335.

[13] ZHANG R, LU X, SUN Y, et al. Modeling and optimization of dilute nitric acid hydrolysis on corn stover[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2011, 86(2): 306-314.

[14] SHATALOV A A, PEREIRA H. Xylose production from giant reed (*Arundo donax* L.): Modeling and optimization of dilute acid hydrolysis[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(1): 210-217.