



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106103726 A

(43)申请公布日 2016.11.09

(21)申请号 201580014132.2

(22)申请日 2015.01.16

(30)优先权数据

155/MUM/2014 2014.01.16 IN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.09.14

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2015/000030 2015.01.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/107413 EN 2015.07.23

(71)申请人 A·M·拉里

地址 印度孟买

(72)发明人 A·M·拉里 A·A·奥达尼斯

M·P·派德内卡

(74)专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事

务所(普通合伙) 11277

代理人 刘新宇 李茂家

(51)Int.Cl.

G12P 19/04(2006.01)

C08B 37/00(2006.01)

D21C 5/00(2006.01)

C08H 8/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

从农业废弃物分级分离寡糖的方法

(57)摘要

本发明提供用于将从农业废弃物中获得的全纤维素分级分离为适合于商业应用的阿拉伯木寡糖、木寡糖和纤维寡糖的连续且成本有效的化学酶方法。所述方法包括将全纤维素与水性介质在受控条件下混合,以获得包含可溶性阿拉伯木寡糖的水性提取物和不溶性固体级分;接着在受控条件下用碱性溶液处理所述固体级分,以得到可溶性木寡糖和纤维素残渣。其后,将所述纤维素残渣悬浮于酸性水溶液中,接着用酶在受控条件下处理,从而得到可溶性纤维寡糖。从所述方法获得的阿拉伯木寡糖、木寡糖和纤维寡糖具有大于4的聚合度。

1. 一种从全纤维素分级分离不同寡糖的顺序方法,其包括:
 - a) 将全纤维素与水性介质在100-140℃范围内的温度下混合20-40分钟,优选30分钟,以获得含有可溶性阿拉伯木寡糖和不溶性固体级分的水性提取物;
 - b) 用碱性溶液,在100-150℃范围内的温度下处理由步骤(a)得到的所述固体级分20-40分钟,优选30分钟,以得到含有可溶性木寡糖和纤维素残渣的半纤维素提取物;
 - c) 将由步骤(b)得到的所述纤维素残渣悬浮于酸性水溶液中,以得到纤维素浆料;以及
 - d) 用酶在45-55℃范围内的受控温度下处理由步骤(c)得到的所述纤维素浆料2小时的时间,从而得到含有可溶性纤维寡糖的纤维素提取物。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述全纤维素从包括壳、糠、外皮、荚、穗轴及油籽粉的农业废弃物得到。
3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述全纤维素与所述水性介质以1:10的比例在120℃下混合。
4. 根据权利要求1所述的方法,其中所述半纤维素提取物通过在120℃下用碱性溶液处理所述固体级分得到。
5. 根据权利要求1或3所述的方法,其中所述碱性溶液的浓度在0.2M-2.5M的范围内,最优选为0.5M。
6. 根据权利要求1所述的方法,其中制作所述纤维素浆料的纤维素与水的比例是1:10(w/v)。
7. 根据权利要求1所述的方法,其中所述酶选自由内切葡聚糖酶、内切木聚糖酶、甘露聚糖酶和半乳聚糖酶组成的组,最优选为内切葡聚糖酶。
8. 根据权利要求6所述的方法,其中用于所述方法的所述内切葡聚糖酶的浓度在纤维素的10-100FPU/gm的范围内,最优选为纤维素的40FPU/gm。
9. 根据权利要求1所述的方法,其中通过所述方法获得的所述可溶性阿拉伯木寡糖、所述可溶性木寡糖和所述可溶性纤维寡糖具有大于4的聚合度。

从农业废弃物分级分离寡糖的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于从农业废弃物中将寡糖分级分离(fractionation)为适于商业应用的阿拉伯木寡糖、木寡糖和纤维寡糖的连续、有效且廉价的化学酶法顺序方法。

背景技术

[0002] 寡糖形成被广泛用作食品添加剂和营养补充剂的一组重要的聚合的碳水化合物。寡糖由通过糖苷键以2至10的聚合度连接的单体糖单元构成。它们通过酸或酶容易水解为它们各自的单体糖成分。寡糖提供多种健康益处,这使得它们可以用作食品添加剂。寡糖的理化性质和生理性质根据所生产的寡糖混合物而改变。聚合度为3至10的寡糖是益生元,具有低发热值,被用作可溶性膳食纤维。

[0003] 寡糖通过非酶法或酶法制造。非酶法包括从天然源提取寡糖和使用单糖或双糖为起始材料化学合成。酶法包括利用糖苷酶和糖基转移酶作为催化剂合成寡糖和多糖酶水解成寡糖。

[0004] 从农业废弃物生产寡糖使得可以开发诸如果壳、糠、外皮、荚、穗轴及油籽粉等否则用作动物饲料的农业废弃物。这些废弃物含有主要的纤维素和半纤维素,与蛋白质、植物化学物质和木质素。所有这些成分以复杂的聚合物基体排列,这防止多糖水解的可及性。然而,热化学处理提供了当进一步进行受控酶水解时有助于获得高产率的期望性质的寡糖的顺从的生物物质。从容易获得的农业废弃物生产生物活性寡糖给予基于农业的工业以前景光明的益处。

[0005] 现有技术提供了从生物质制造寡糖的各种方法。这些方法包括将微生物细胞或酶用于将生物质分解成寡糖。但是,现有技术中所述的这些方法需要用于生产寡糖所需的特定酶。现有技术中所述的方法生产需要用于其纯化的下游操作的寡糖混合物,从而增加了生产成本。

[0006] US5246840公开了一种通过使用糖苷酶和糖基转移酶作为催化剂合成寡糖的方法。寡糖合成通过将较短寡糖的糖苷酶催化合成与较长寡糖的糖基转移酶催化合成组合来实现。

[0007] US4677198公开了一种从生物质制备含有寡糖的产物的方法,其提供了将盐酸用于将生物质部分水解成易发酵的含寡糖产物,而且酸容易回收。这些寡糖进一步进行发酵以用于制备产品,如乙醇。

[0008] JP2008136376描述了一种从麦麸/米糠生产酸性木寡糖的方法。在该方法中,在pH范围为1.0-4.0的酸性条件下,或者pH范围为9.0-13.0的碱性条件下,在100-150°C之间的温度下,在麸皮或米糠的热水处理后,随后进行离子交换处理,得到酸性木寡糖。该方法产生聚合度为2-5的酸性木寡糖。

[0009] EP1304412公开了一种使用酶从木质纤维浆生产木寡糖的方法,该方法包括使用半纤维素酶对木素纤维素浆进行酶水解,随后进行膜分离,从而得到具有高浓度木寡糖-木质素混合物的非渗透物级分,将该级分进一步处理以回收木寡糖。

[0010] US4908311公开了一种通过酶从纤维素基物质获得纤维寡糖的方法。由属于纤维弧菌属(Genus Cellvibrio)的微生物生产的纤维素酶用作纤维素材料的酶分解的催化剂。酶水解与膜过滤反应器组合有助于抑制剂的去和纤维寡糖的累积。

[0011] US7947656描述了一种通过酶分解纤维素材料生产纤维寡糖的方法。该方法包括使用纤维素酶将具有平均聚合度不大于700、平均粒径不大于100的纤维素材料分解,以选择性地生产纤维寡糖。

[0012] US20110020498公开了一种用木聚糖内切酶从麦麸制备(阿拉伯)木聚糖寡糖的方法。另外,该方法包括脱淀粉、脱蛋白质,随后用来自枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)的木聚糖内切酶进行酶水解。(阿拉伯)木聚糖寡糖的纯化用离子交换层析法进行。这种方法生产的(阿拉伯)木聚糖寡糖的平均聚合度为4至10,阿拉伯糖取代的平均程度为0.15至0.35,并具有良好的感官和颜色性质。

[0013] US20100021975描述了一种通过在蒸煮过程后得到的浆料的冷碱提取生产木寡糖的方法。该方法包括木聚糖的冷碱提取,接下来是膜分离过程,以获得富含木聚糖的保留物。木聚糖级分进一步通过水解-热解和酶水解处理,以将木聚糖转化为木寡糖。

[0014] US20090062232描述了一种从植物材料制备高纯度木寡糖的方法,其包括植物材料的碱处理、压力和热处理,随后固液分离。固体残渣进一步使用木聚糖酶进行酶水解。将粗糖提取物浓缩,随后脱盐和活性炭处理,以生产不含UV吸收物质和着色杂质的高纯度木寡糖组合物。

[0015] US20110244073描述了一种制备阿拉伯木聚糖和阿拉伯木寡糖的方法。制备水溶性阿拉伯木聚糖的方法包括在热稳定的淀粉酶的存在下,对未提取水的阿拉伯木聚糖进行热水处理,接着在冷却至70℃后,将乙醇加入以使最终浓度为70/30(v/v)乙醇/水。

[0016] US5633032描述了一种制备谷物提取物的方法。在该方法中,使由研磨获得的谷物(cereal)麸皮材料在70-80℃的温度下进行碱处理,随后固液分离。不溶性残渣再次在70-80℃用碱性过氧化氢处理,然后固液分离。然后可溶性级分被喷雾干燥,并用作粘合剂和增稠剂。

[0017] US20120231147涉及通过谷粒(grain)产品的自动水解生产木寡糖。在此方法中,玉米纤维从蒸馏器分离,并且具有可溶物(DDGS)的干燥谷粒使用去离子水在140-220℃范围内的温度下进行自动水解,从而得到含有木寡糖、单糖和酸的提取物。此提取物用酸进一步水解,以形成单糖。

[0018] US20120232264描述了一种用于生物质处理的两步方法。该方法的第一步骤包括用加压水在100至200℃的温度下处理生物质,以释放作为木寡糖的半纤维素。在第二步骤中,将不溶性残渣再次用加压水在200至300℃的温度下处理,以得到纤维寡糖。将由此得到的木寡糖和纤维寡糖采用固体酸催化剂进一步水解,以分别产生木糖和葡萄糖。

[0019] US20120115192提供一种使用多步骤多酶体系从生物质中生产可发酵糖的方法。在该方法中,生物质首先用5%至10%w/v的碱在50至200℃范围的温度下在1至20巴的压力下处理,以去除半纤维素,留下纤维素残渣。此外,半纤维素通过加入乙醇溶剂沉淀。因此,沉淀的半纤维素和纤维素然后使用木聚糖酶和纤维素酶制剂进行酶水解以生产可发酵糖。

[0020] 上述的方法使用酶和化学方法从生物质生产木寡糖或纤维寡糖。酶方法包括利用细胞壁修饰酶如淀粉酶、葡糖淀粉酶、蛋白酶、支链淀粉酶和脂肪酶等处理生物质,以去除

淀粉和非碳水化合物组分。此后,包含在生物质中的碳水化合物使用木聚糖酶或纤维素酶水解以分别产生木寡糖或纤维寡糖。现有技术中描述的两步方法增加了生产的总成本,因为它需要用于多糖提取的化学预处理,随后使用特定的酶将其水解成寡糖。

发明内容

[0021] 本发明涉及一种用于寡糖分级分离的方法,其中该方法包括在受控的条件下使从农业废弃物产生的全纤维素与水性介质混合,以得到含有可溶性阿拉伯木寡糖和不溶性固体级分的水性提取物。此后,将从水性提取物中回收的不溶性固体级分在100-150°C范围的温度下在反应器中与0.2-2.5M摩尔浓度的碱性溶液混合20-40分钟,以获得半纤维素提取物。将半纤维素提取物过滤,以得到作为滤液的木寡糖和作为残渣的纤维素。纤维素残渣用pH为5.0的酶溶液处理2小时,以将纤维素水解成纤维寡糖。

[0022] 本发明的一个目的是提供一种用于获得聚合度大于4的可溶性阿拉伯木寡糖、可溶性木寡糖和可溶性纤维寡糖的方法。

[0023] 本发明提供一种用于从农业废弃物分级分离寡糖的方法,其中该方法包括在100至140°C范围的温度下用水处理从农业废弃物得到的全纤维素30分钟,以获得含阿拉伯木寡糖的水性提取物。

[0024] 本发明的另一个目的是提供一种使用不存在如阿拉伯木聚糖酶和木聚糖酶等酶的热碱方法从水不溶性固体级分生产木寡糖的方法。

[0025] 本发明的目的之一是通过纤维素残渣的受控酶水解生产聚合度大于4的可溶性纤维寡糖。

[0026] 因此,本发明提供了对从农业废弃物得到的全纤维素用水、碱和酶的分步处理,以得到分别含有可溶性阿拉伯木寡糖、木寡糖和纤维寡糖的单独产物流。本发明是成本有效的,因为所有的化学提取在较温和的条件下进行。本发明还摒弃了纯化寡糖的额外步骤的需要,因为本方法产生包含不同寡糖的单独产物流。

附图说明

[0027] 相对于以下进一步描述本发明,其中:

[0028] 图1提供了从由农业废弃物制备的全纤维素生产寡糖的示意图。将全纤维素用水在100至140°C的温度下在反应器1中处理20-40分钟以形成水性提取物。然后将水性提取物进行固液分离,以产生含有阿拉伯木寡糖的可溶性级分1和不溶性固体级分。使从反应器1中获得的不溶性固体级分在100-150°C的温度下在反应器2中经受摩尔浓度在0.2-2.5M范围内的碱性溶液;接着固液分离,以得到含木寡糖的可溶性级分2和纤维素性质的不溶性残渣。将纤维素残渣在pH为5.0的酸化水中在45-55°C范围内的温度下在反应器3中进行受控酶水解2小时以生产纤维寡糖。

具体实施方式

[0029] 定义:

[0030] 本文所使用的术语“全纤维素”指的是从木质纤维素材料的碱预处理得到的碳水化合物级分,其包括纤维素、由作为最丰富的生物聚合物的糖(葡萄糖)构成的通常结构单

元(building block),以及半纤维素。

[0031] 本文所用的术语“水性提取物”是指通过将全纤维素与水性介质在受控条件下混合的方法得到的提取物。

[0032] 本文所用的术语“不溶性固体级分”是指通过过滤水性提取物而获得的级分。

[0033] 本文所用的术语“半纤维素提取物”是指通过将不溶性固体级分用碱性溶液处理的提取方法得到的提取物。

[0034] 本发明涉及从农业废弃物分级分离寡糖的方法。还提供从农业废弃物获得的全纤维素的分步化学酶处理,以产生单独产物流中的阿拉伯木寡糖、木寡糖和纤维寡糖,所述阿拉伯木寡糖、木寡糖和纤维寡糖可进一步转化成商业应用的产品。所述的方法在寡糖生产时间方面获得高效率。温和反应条件和酶的更好利用使得本发明在经济上比现有技术所述的方法更有利。

[0035] 本发明提供在如温度、pH、接触时间和其它参数等的受控条件下从农业废弃物分级分离寡糖的方法,以实现分步分级分离的寡糖。

[0036] 本发明的另一个目的是提供全纤维素的分步处理,以得到含有可溶性阿拉伯木寡糖、木寡糖和纤维寡糖的单独产物流。

[0037] 本发明的另一个目的是提供具有较温和条件而不需要纯化过程的成本有效方法,以获得所需产物。

[0038] 本发明的再另一个目的是提供半纤维素和纤维素水解的更干净、低能量消耗的方法,产生更好质量和高产率的寡糖分级分离。

[0039] 根据本发明,阿拉伯木寡糖可以从全纤维素用水处理得到。在本发明的一个实施方案中,全纤维素与水的固-液比为1:10(w/v)来制作浆料。然后,将浆料在受控条件下进行水解。

[0040] 在本发明的一个实施方案中,全纤维素的水解可以在100-140℃范围内的温度下进行20-40分钟,优选为30分钟,以得到水性提取物。进行固液分离,以便从水性提取物回收含有阿拉伯木寡糖的可溶性级分,留下固体级分。

[0041] 根据本发明,分离木寡糖的方法包括从水处理得到的固体级分的热碱处理,接着固液分离,以得到含木寡糖的半纤维素提取物。

[0042] 本发明的一个实施方案提供获得半纤维素提取物的方法,其中该方法包括在100-150℃范围内的温度下在反应器中将从水性提取物中获得的固体级分用具有0.2-2.5M浓度的碱性溶液处理/与所述碱性溶液混合20-40分钟,优选30分钟。

[0043] 在本发明的一个实施方案中,碱选自NaOH、KOH、H₂O₂和LiOH组成的组。

[0044] 根据本发明,从农业废弃物中分级分离寡糖的方法包括:通过过滤从可溶性半纤维素提取物中分离不溶性纤维素。此后,使不溶性纤维素残渣悬浮在水中,并用酸将浆料的pH值调节到4.5-5.5。

[0045] 在本发明的另一个实施方案中,纤维素浆料的酸性pH通过使用酸调节,其中所述酸选自H₂SO₄、HNO₃、HCl和CH₃COOH组成的组。

[0046] 根据本发明,在不溶性固体级分的热碱处理后得到的纤维素的水解,通过在受控条件下使用酶进行。

[0047] 在本发明的一个实施方案中,用于纤维素水解的酶选自内切葡聚糖酶、内切木

聚糖酶、甘露聚糖酶,和半乳聚糖酶组成的组,优选为内切葡聚糖酶。

[0048] 在本发明的又一实施方案中,内切葡聚糖酶在所述方法中以纤维素的10-100FPU/gm的浓度,优选为纤维素的40FPU/gm的浓度使用。

[0049] 在本发明的最优选实施方案中,纤维素的酶水解可以在45-55℃范围内的温度下、4.5-5.5范围内的pH下进行2小时,随后过滤,以使纤维素转换为纤维寡糖。纤维素残渣在40-60℃范围内的温度下干燥。

[0050] 本发明使得寡糖从其它生物质组分中以基本上纯的形式分离。本发明的另一个优点是,其可以用于生产具有良好限定的分子量分布和已知特性(如水或碱可溶性)的大分子多糖。通过本发明的方法生产的寡糖可被用作食品、饲料、药物或聚合物组分。用于分离阿拉伯木聚糖的温和热化学方法的使用,确保较高分子尺寸的部分从农业废弃物完好地分离。本发明能够生产聚合度大于4的可溶性阿拉伯木寡糖、可溶性木寡糖和可溶性纤维寡糖。该方法的运行成本也低,因为不需要纯酶制剂(阿拉伯木聚糖酶、内切木聚糖酶)用于生产阿拉伯木寡糖和木寡糖。目前的生产计划确保从全纤维素回收多种产品,从而提高了农业废弃物的整体经济价值。旨在使农业废弃物的酚类化合物和其它组份物价稳定的方法的组合可以对农业加工工业具有很大的商业价值。给出以下实施例是为了对本发明进行举例说明,并不意欲限制本发明的范围。

[0051] 实施例

[0052] (1)阿拉伯木寡糖的制备

[0053] 称取100克从农业废弃物得到的全纤维素,并与水以1:10的比例混合。将浆料装入反应器,在120℃的温度下进行水解30分钟。然后将水性提取物用尼龙筛进行固液分离,从而得到阿拉伯木寡糖滤液和不溶性固体级分。将滤液进一步进行溶剂沉淀,以得到纯的阿拉伯木寡糖。将不溶性固体级分在50℃下干燥。不溶性固体级分的重量:53克,阿拉伯木寡糖的重量:40克。

[0054] 表1:在固体与液体的比为1:25的情况下时间对阿拉伯木寡糖提取的影响

[0055]

时间(分钟)	阿拉伯木寡糖提取 (在全纤维素中阿拉伯木聚糖的%w/w)
20	45.31
30	65.44
40	60.41

[0056] 表2:在固体与液体的比为1:10的情况下温度对阿拉伯木寡糖提取的影响

	温度(°C)	阿拉伯木寡糖提取 (在全纤维素中阿拉伯木聚糖的%w/w)
[0057]	100	82
	120	84
	140	81

[0058] (2)木寡糖的制备

[0059] 使50克不溶性固体级分在120°C下以1:10的比例用0.5M的氢氧化钠溶液处理30分钟,以获得半纤维素提取物。然后使半纤维素提取物通过尼龙布过滤,以分离木寡糖和不溶性纤维素残渣。纯木寡糖通过溶剂沉淀回收。木寡糖的重量:18克;残渣的重量:25克。

[0060] 表3:在固体与液体的比为1:10的情况下碱浓度对木寡糖提取的影响

	碱浓度, (M)	木寡糖提取 (在不溶性固体级分中木聚糖的%w/w)
[0061]	0.25	60
	0.5	78
	1.25	75
	2.5	76

[0062] 表4:在固体与液体的比为1:10的情况下温度对木寡糖提取的影响

	温度(°C)	木寡糖提取 (在不溶性固体级分中木聚糖的%w/w)
[0063]	80	42
	100	62
	120	77
	150	45

[0064] 表5:在固体与液体的比为1:10的情况下时间对木寡糖提取的影响

时间(分钟)	木寡糖提取 (在不溶性固体级分中木聚糖的%w/w)
[0065] 20	58
30	80
40	82

[0066] (3)纤维寡糖的制备

[0067] 将10克的不溶性纤维素残渣与水以1:10的比例混合,以制作纤维素浆料,并通过加入盐酸调节浆料的pH至pH 4.8。将纤维素的40FPU/gm的纤维素酶溶解在酸化水中,然后加入到纤维素浆料中。在50℃下进行酶水解2小时。然后,将含有纤维寡糖的酶水解产物通过过滤分离。纤维寡糖的重量:2.6克

[0068] 表6:酶浓度对纤维寡糖提取的影响

[0069]

酶活性, 纤维素的FPU/gm	纤维寡糖(DP>4)提取 (在纤维素中碳水化合物的%w/w)
10	23
20	28
40	32
100	25

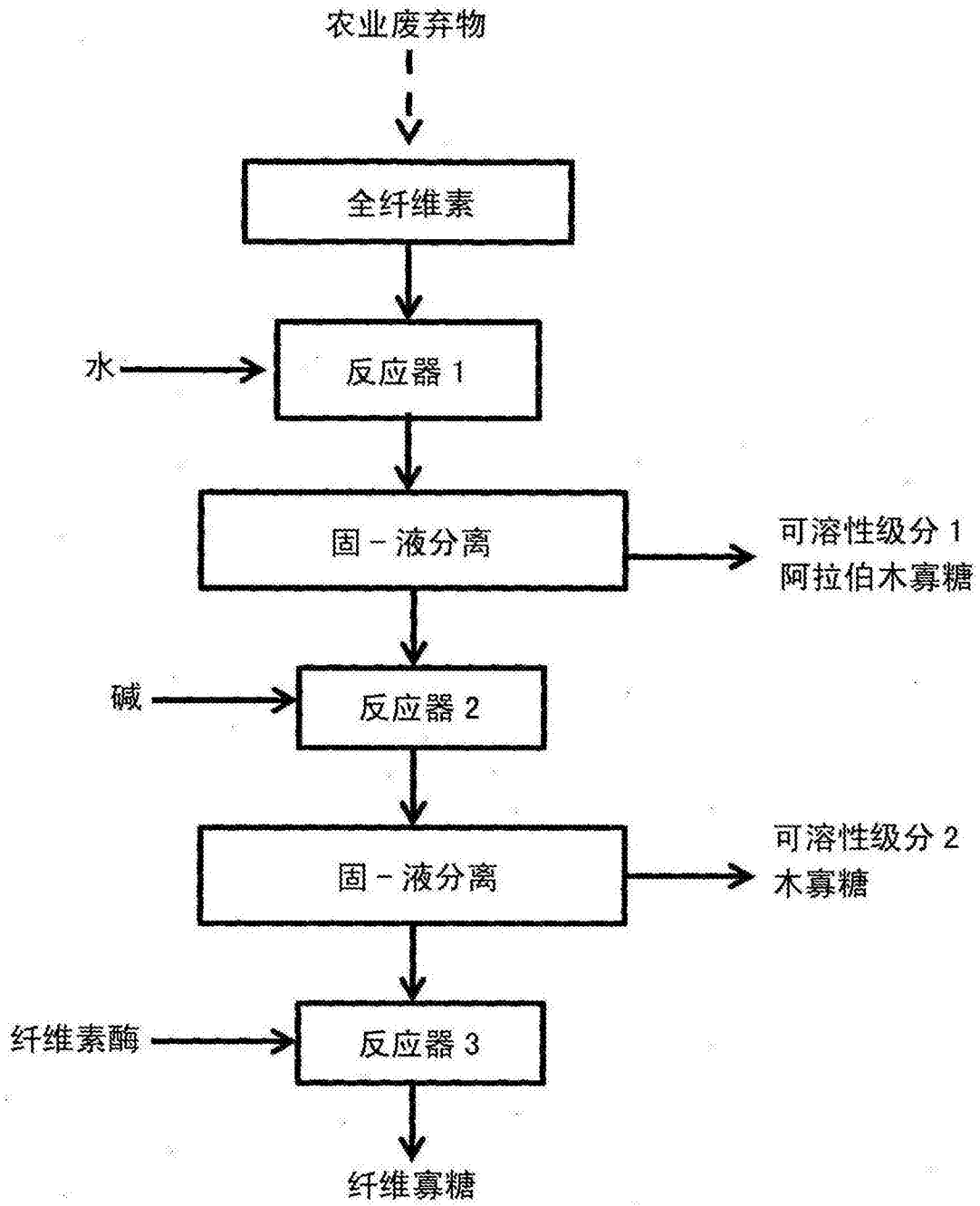


图1