

响应面法优化脐橙渣中水溶性膳食纤维提取工艺

吴笑臣, 王科军, 钟金莲, 罗序中*
(赣南师范学院化学与生命科学学院, 江西 赣州 341000)

摘要: 以赣南脐橙渣为原料, 采用纤维素酶制备水溶性膳食纤维。在单因素试验基础上, 选取酶解温度、加酶量(质量分数)和酶解时间为响应变量, 以水溶性膳食纤维得率为响应值, 利用 Box-Behnken 试验设计方案和响应面分析法, 建立水溶性膳食纤维得率与响应变量的回归方程, 并确定最佳提取条件为酶解温度 48℃、加酶量 1.25%、酶解时间 5h, 此条件下水溶性膳食纤维得率为 13.11%, 与预测值 13.14% 较为一致。

关键词: 脐橙渣; 水溶性膳食纤维; 响应面分析法; 优化

Response Surface Methodology for Optimization of Extraction Process of Soluble Dietary Fiber from Navel Orange Residue

WU Xiao-chen, WANG Ke-jun, ZHONG Jin-lian, LUO Xu-zhong*
(College of Chemistry and Life Science, Gannan Normal University, Ganzhou 341000, China)

Abstract: Navel orange residue was treated with cellulase to extract soluble dietary fiber. Extraction parameters including extraction temperature, cellulase dose and length of extraction time were optimized using Box-Behnken design and response surface methodology based on single factor investigations for achieving maximum yield of soluble dietary fiber. A regression equation reflecting the relationship between the yield of soluble dietary fiber and the extraction parameters was set up. The optimal extraction parameters were found as follows: extraction temperature, 48 °C; cellulase dose, 1.25%; length of extraction time, 5 h. Under the optimized conditions, the actual yield of soluble dietary fiber was 13.11%, close to the predicted value of 13.14%.

Key words: navel orange residue; soluble dietary fiber; response surface methodology; optimization

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)04-0109-06

膳食纤维(dietary fiber, DF)具有预防肥胖症、缓解便秘、改善肠道菌群、降低血糖、降低血清胆固醇水平、防治高血压、抗肠胃癌症、清除重金属离子、抗氧化、清除自由基等功效^[1-4], 是继蛋白质、脂肪、水、矿物质、维生素、碳水化合物之后, 能够改善人体营养状况、调节机体功能的“第七类营养素”^[5]。它主要来源于植物的细胞壁, 在蔬菜水果、粗粮杂粮、豆类及菌藻类等食物中含量丰富。科研工作者从膳食纤维的功能、成分测定分析、制备方法与工艺到改性应用进行了深入细致的研究^[6-7], 其中因水溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF)在持水率、防治消化道疾病

等许多方面比水不溶性膳食纤维(insoluble dietary fiber, IDF)具有更强的生理功能而成为研究报道的热点之一^[8-10]。赣南脐橙是江西省最具特色的柑橘产业, 年产量近 200 万吨, 产值超过 40 亿元。随着脐橙榨汁加工业的快速发展, 每年都会产生大量的脐橙渣, 这些残渣的主要成分就是膳食纤维。目前国内柑橘加工后的皮渣一般作为饲料、肥料或废弃物处理, 利用率及经济效益低, 且易污染环境^[11-12]。因此, 充分开发脐橙渣资源, 最大限度地提高脐橙产业的科技含量和产品附加值是十分必要的, 对减少环境污染、发展地方经济等都具有非常重要的意义。本实验利用纤维素酶提取脐橙渣中水溶

收稿日期: 2011-01-24

基金项目: 江西省科技厅科技支撑计划项目(2010BNB1400); 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ10587);

江西省教育厅青年科学基金项目(GJJ11214); 赣州市果业基金项目(GZGY2008-1);

赣南师范学院自然科学研究课题(09kyz10)

作者简介: 吴笑臣(1975—), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为食品加工技术。E-mail: wuxiaochen1111@126.com

* 通信作者: 罗序中(1969—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品加工技术及有机小分子凝胶。

E-mail: luoxuzhong@yahoo.com.cn

性膳食纤维, 并应用响应面分析法对提取工艺进行优化, 旨在为赣南脐橙渣资源的研究开发提供实验依据。

1 材料与方

1.1 材料与试剂

新鲜脐橙榨汁后剩余皮渣 江西省脐橙工程技术研究中心; 纤维素酶(酶比活力 16800U/g, 实验值, 方法见 IUPAC 标准^[13]) 湖州礼来生物技术有限公司; 乙醇(分析纯) 天津市大茂化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

PH-10 pH 计 德国 Sartorius 公司; HH-2 型数显恒温水浴锅 常州国华电器有限公司; SHB-III 循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司; RE-52A 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; DZF-6090 型真空干燥箱 上海三发科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 SDF 提取工艺流程

脐橙渣→干燥→粉碎过筛→加缓冲液→调节 pH 值→恒温酶解→抽滤→滤液→真空浓缩→醇沉→离心分离→真空干燥→SDF

1.3.2 SDF 提取操作要点

将湿脐橙渣晾晒后再经 60℃ 烘干 24h, 粉碎过 40 目筛备用。准确称取 10g 样品, 在不同的影响因素下按相应的比例加入醋酸-醋酸钠缓冲液和纤维素酶, 进行酶解反应, 反应一定时间后过滤, 上清液减压浓缩至 20mL 左右, 再加 4 倍体积的 95% 乙醇进行醇沉, 静置过夜, 离心, 沉淀 60℃ 真空干燥, 得到 SDF。

1.3.3 单因素试验

为了确定工艺条件, 分别对影响 SDF 得率的酶解温度、加酶量(质量分数)、酶解时间、pH 值和液料比 5 个因素进行研究。在酶解温度 30、40、50、60、70℃ 五个水平, 加酶量 0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6% 六个水平, 酶解时间 2、3、4、5、6h 五个水平, pH2.8、3.8、4.8、5.8、6.8、7.8 六个水平, 液料比 12:1、15:1、18:1、21:1、24:1(mL/g) 五个水平, 分别进行单因素试验, 计算 SDF 得率, 以确定各因素的变化范围及适宜值。

1.3.4 响应面优化试验

通过单因素试验, 观察到酶解温度、加酶量和酶解时间对 SDF 得率影响较大, 因此选取此三因素为响应变量, 以 SDF 得率为响应值, 按 Box-Behnken 试验方案, 设计三因素三水平的二次回归方程拟合各响应变量与 SDF 得率之间的函数关系, 采用响应面分析法对提取工艺进行优化^[14]。试验因素编码及水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验因素水平表

Table 1 Coded values and corresponding real values of the optimization parameters tested in Box-Behnken experimental design

因素	符号	编码及实际值		
		-1	0	1
酶解温度/℃	X_1	40	50	60
加酶量/%	X_2	1.0	1.2	1.4
酶解时间/h	X_3	4	5	6

1.4 分析评价方法

1.4.1 脐橙渣成分及水溶性膳食纤维测定

蛋白质: 参照 GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》^[15]进行; 脂肪: 参照 GB/T 14772—2008《食品中粗脂肪的测定》^[16]进行; 灰分: 参照 GB 5009.4—2010《食品中灰分的测定》^[17]进行; 总膳食纤维(total dietary fiber, TDF)、IDF、SDF: 参照酶-重量测定法^[18]进行。

1.4.2 SDF 得率计算

$$\text{SDF 得率/\%} = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

式中: m_1 为提取物质量; m_2 为原料质量。

1.4.3 试验设计与数据处理

采用软件 Design-Expert 7.1.6 Trial 进行试验设计与数据处理。

2 结果与分析

2.1 脐橙渣的成分分析

对经干燥粉碎后的脐橙渣进行成分分析, 结果见表 2。

表 2 脐橙渣的成分

Table 2 Chemical composition of navel orange residue

成分	蛋白质	脂肪	灰分	TDF	IDF	SDF
含量/%	0.92	3.45	1.33	57.1	49.6	7.5

由表 2 可知, 脐橙渣中 SDF 占 7.5%, 高于豆渣、麦麸等谷物类^[19-20], 适宜用作制备 SDF 的原料, 而其中蛋白质和脂肪等常规成分含量均较低, 不需进行除蛋白、脱脂处理。

2.2 单因素试验

2.2.1 酶解温度对 SDF 得率的影响

将反应体系控制在液料比 18:1、pH4.8、酶解时间 5h、加酶量 1.2%, 酶解温度分别为 30、40、50、60、70℃ 条件下, 研究酶解温度对 SDF 得率的影响, 结果见图 1。

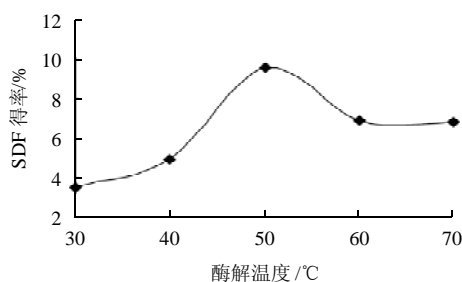


图1 酶解温度对SDF得率的影响

Fig.1 Effect of temperature on the extraction yield of SDF

由图1可知,温度低于50℃时,随着温度的提高SDF得率迅速增加;高于50℃时,SDF得率逐渐下降。由此得出,以脐橙渣为底物时纤维素酶的最适反应温度为50℃左右,因此选择40~60℃为酶解温度的因素水平。

2.2.2 加酶量对SDF得率的影响

在液料比18:1、pH4.8、酶解时间5h、酶解温度50℃,加酶量(质量分数)分别在0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.4%、1.6%条件下,研究加酶量对SDF得率的影响,结果见图2。

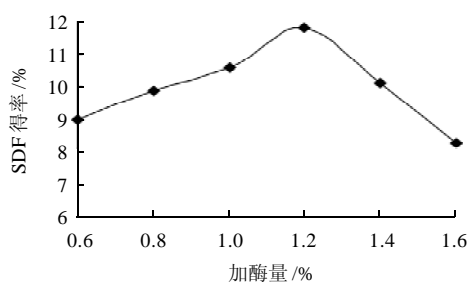


图2 加酶量对SDF得率的影响

Fig.2 Effect of cellulase dose on the extraction yield of SDF

由图2可知,当加酶量从0.6%增加到1.2%时,SDF得率逐渐增加,并且在1.2%时达到最大;当加酶量超过1.2%时,SDF得率迅速降低。分析其原因,添加适量纤维素酶可使脐橙渣中的IDF发生降解,分子链被切断,使分子质量降低,溶解度增大,一部分IDF变成SDF,从而使SDF得率增加;随着纤维素酶量的继续增大,IDF降解为分子质量更小的低聚糖甚至单糖,由于聚合度低而无法被乙醇沉淀,从而使SDF得率迅速降低^[21]。因此选择1.0%~1.4%作为纤维素酶添加量的因素水平。

2.2.3 酶解时间对SDF得率的影响

在液料比18:1、pH4.8、酶解温度50℃、加酶量1.2%,酶解时间分别2、3、4、5、6h条件下,考察酶解时间对SDF得率的影响,结果见图3。

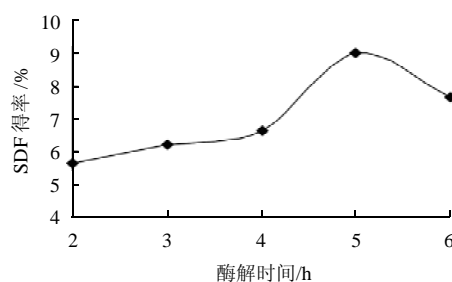


图3 酶解时间对SDF得率的影响

Fig.3 Effect of hydrolysis time on the extraction yield of SDF

由图3可知,酶解时间在2~5h范围内,随着酶解时间的延长SDF得率逐渐增大,并在5h时达到最大;当酶解时间超过5h,SDF得率有所下降。这是因为水溶性膳食纤维主要成分为果胶,如果提取时间过长,会导致果胶被解酯裂解为分子质量更小的低聚糖甚至单糖,从而降低SDF的产量^[8]。因此选择4~5h作为酶解时间的因素水平。

2.2.4 酶解pH值对SDF得率的影响

在液料比18:1、酶解温度50℃、加酶量1.2%、酶解时间5h,pH值分别为2.8、3.8、4.8、5.8、6.8、7.8条件下,研究pH值对SDF得率的影响,结果见图4。

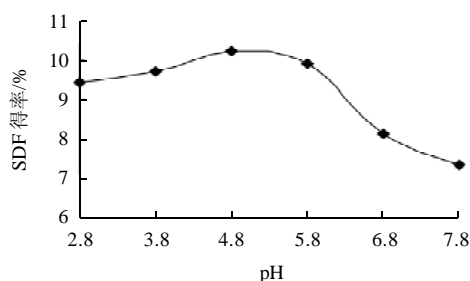


图4 pH值对SDF得率的影响

Fig.4 Effect of pH on the extraction yield of SDF

由图4可知,在pH2.8~4.8范围内,SDF得率缓慢增加,在pH4.8时得率最大;而当pH值超过4.8后,SDF得率迅速减小。可见所用纤维素酶酶活在pH4.8时最大,因此将酶解pH值确定为4.8。

2.2.5 液料比对SDF得率的影响

在酶解温度50℃、加酶量1.2%、酶解时间5h、pH4.8,液料比分别在12:1、15:1、18:1、21:1和24:1条件下,研究液料比对SDF得率的影响,结果见图5。

由图5可知,当液料比在12:1~18:1时,SDF得率随着液料比的增大而增加,当液料比超过18:1时,SDF得率变化不大。由于增大液料比,会增加缓冲液的用

量, 增加后续处理的费用, 因此综合考虑, 液料比确定为 18:1 较为合适。

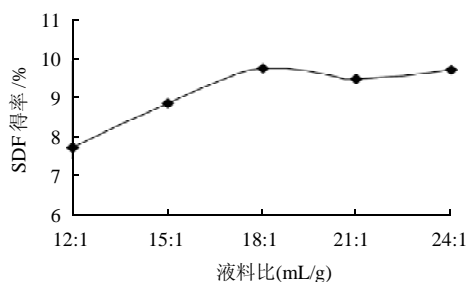


图5 液料比对 SDF 得率的影响

Fig.5 Effect of material-to-liquid ratio on the extraction yield of SDF

2.3 制备工艺的优化

2.3.1 响应面法试验设计及结果

表3 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 3 Box-Behnken design and corresponding experimental results

试验号	X_1 酶解温度/°C	X_2 加酶量/%	X_3 酶解时间/h	SDF 得率/%
1	40	1.0	5	11.14
2	60	1.0	5	10.19
3	40	1.4	5	11.72
4	60	1.4	5	10.56
5	40	1.2	4	11.28
6	60	1.2	4	10.89
7	40	1.2	6	11.8
8	60	1.2	6	10.7
9	50	1.0	4	11.38
10	50	1.4	4	11.81
11	50	1.0	6	11.91
12	50	1.4	6	12.03
13	50	1.2	5	13.14
14	50	1.2	5	12.96
15	50	1.2	5	13.15
16	50	1.2	5	13.2
17	50	1.2	5	12.92

根据 Box-Behnken 试验设计原理, 综合单因素试验结果, 采用三因素三水平的设计方案进行优化试验, 试验设计及结果见表 3。利用 Design-Expert 7.1.6 软件, 以酶解温度、加酶量、酶解时间为响应变量, 以脐橙渣中 SDF 得率为响应值对表 3 数据进行二次多项式回归拟合, 获得二次多项式回归模型为:

$$Y = 13.07 - 0.45X_1 + 0.19X_2 + 0.13X_3 - 0.053X_1X_2 - 0.18X_1X_3 - 0.078X_2X_3 - 1.39X_1^2 - 0.78X_2^2 - 0.51X_3^2$$

由表 4 可知, 该模型效应极显著 ($P < 0.0001$), 各因素中一次项、二次项及交互项中 X_1X_3 均表现出显著水平, 交互项 X_1X_2 、 X_2X_3 不显著。回归模型的决定系数为 0.9900, 修正决定系数为 0.9772, 即 97.72% 的数据

可用此模型解释, 失拟差异不显著, 说明回归方程拟合程度高, 可以应用于从脐橙中提取 SDF 的分析预测。

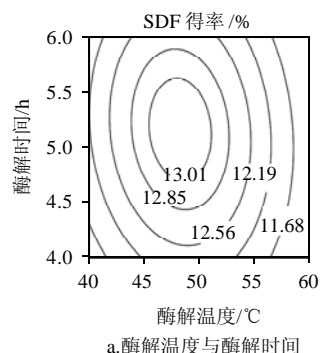
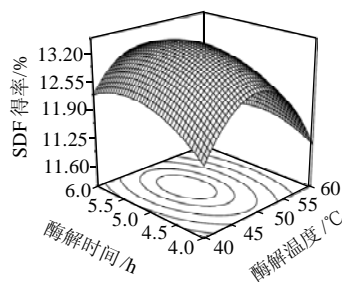
表4 二次多项模型方差分析表

Table 4 Analysis of variance for the fitted regression model

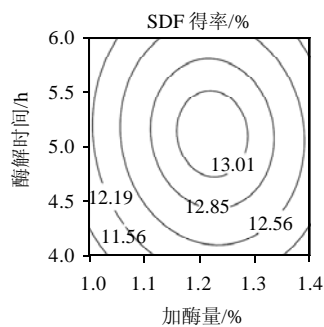
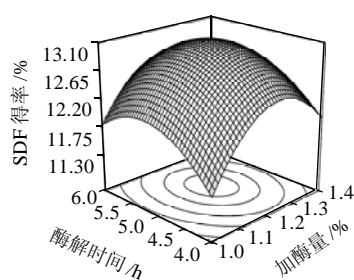
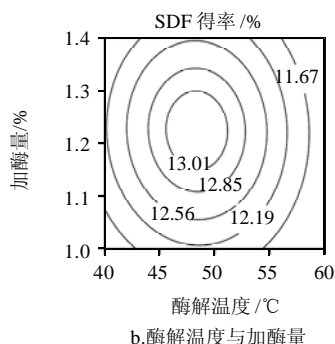
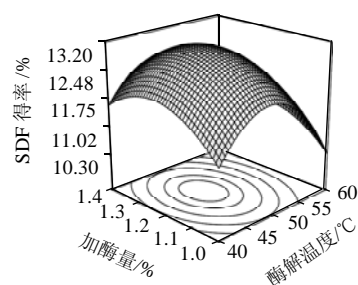
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	15.145074	9	1.682786	77.080893	< 0.0001
X_1	1.62	1	1.62	74.204947	< 0.0001
X_2	0.28125	1	0.28125	12.882803	0.0089
X_3	0.1458	1	0.1458	6.678445	0.0362
X_1X_2	0.011025	1	0.011025	0.505006	0.5003
X_1X_3	0.126025	1	0.126025	5.772641	0.0473
X_2X_3	0.024025	1	0.024025	1.100478	0.3290
X_1^2	8.173244	1	8.173244	374.379736	< 0.0001
X_2^2	2.550202	1	2.550202	116.813353	< 0.0001
X_3^2	1.109160	1	1.109160	50.805666	0.0002
残差	0.15282	7	0.021831		
失拟项	0.0901	3	0.030033	1.915391	0.2686
净误差	0.06272	4	0.01568		
总离差	15.297894	16			
$R^2 = 0.9900$		$R^2_{Adj} = 0.9772$			

2.3.2 响应面及等高线分析

为了考察各个交互项对 SDF 得率的影响, 在其他因素固定不变的情况下, 利用 Design-Expert 7.1.6 Trial 软件对回归方程进行运算, 作出交互项的响应曲面图及等高线图见图 6。



a. 酶解温度与酶解时间



c. 加酶量与酶解时间

固定水平: 酶解温度 50℃; 加酶量 1.2%; 酶解时间 5h。

图6 各两因素交互作用对SDF得率影响的响应面及等高线图
Fig.6 Response surface plots showing the pairwise interaction effects of extraction parameters on the extraction yield of SDF

图6a显示,在不同温度条件下随着酶解时间的增加,SDF得率均出现先增加后减少的趋势,但变化幅度是不同的。其原因可能是纤维素酶是由内切酶(Cx)、外切酶(CI)和二糖酶(Cb)组成的复合酶^[22],在整个体系中

发生着以不同物质为底物的复杂酶促反应,生成的SDF其浓度又影响反应的方向。在40~50℃时,酶活逐渐增强,体系中SDF不断生成并在5h时其浓度达到最大值,继而抑制SDF的生成,少量SDF作为底物被降解,因此5h后SDF得率的增幅反而小于5h前的增幅;而在50~60℃时,部分纤维素酶酶活降低,但温度的升高在一定程度上使SDF的生成增多^[23],弥补了因酶活不足导致SDF的减少,因此5h后SDF得率的降幅又小于5h前的降幅。可见在不同的温度条件下,酶解时间对SDF得率的影响是不同的,其交互作用显著,与方差分析结果一致。

由图6b、6c可以看出,在不同的温度、时间条件下,随着加酶量的增大SDF得率均出现先增大后减小的变化,且幅度较大,说明加酶量是影响SDF得率的主要因素,但其与温度、时间两因素之间的交互作用不显著。

2.3.3 SDF提取最佳条件的确定与验证

对响应面图进行岭脊分析,可以得到最大响应值的提取条件为酶解温度(X_1)48.27℃、加酶量(X_2)1.22%、酶解时间(X_3)5.15h,其对应的响应值为13.14%。考虑到实际情况,将最优条件定为酶解温度48℃、加酶量1.25%、酶解时间5h,在其他因素不变的情况下进行验证实验,重复3次,SDF平均得率为13.11%,与预测值接近,重复性好,表明该模型能较好地预测脐橙渣中SDF的提取情况。

3 结 论

在单因素试验基础上,采用Box-Behnken试验设计,以酶解温度、加酶量、酶解时间为响应变量,以水溶性膳食纤维得率为响应值,建立了脐橙渣中水溶性膳食纤维的三元二次数学回归模型。通过方差分析以及对响应曲面图和等高线图分析得出,酶解温度(X_1)、加酶量(X_2)、酶解时间(X_3)以及酶解温度与酶解时间的交互作用(X_1X_3)对脐橙渣中水溶性膳食纤维得率影响显著。经优化后的最佳提取条件为酶解温度48℃、加酶量1.25%、酶解时间5h,在此条件下SDF的实际得率为13.11%,该模型能较好地预测脐橙渣中水溶性膳食纤维的提取情况。

参考文献:

- [1] 胥晶,张涛,江波. 国内外膳食纤维的研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6): 360-367.
- [2] MARLETT J A, MCBURNEY M I, SLAVN J L, et al. Position of the american dietetic association: health implications of dietary fiber[J]. Journal of the American Dietetic Association, 2002, 102(7): 993-1000.
- [3] JIMENEZ-ESCRIG A, SANCHEZ-MUNIZ F J. Dietary fiber from edible sea-weeds: chemical structure physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism[J]. Nutr Res, 2000, 20(4): 585-598.

- [4] SANGNARK A, NOOMHORM A. Effect of particle sizes on *in vitro* calcium and magnesium binding capacity of prepared dietary fibers[J]. Food Research International, 2003, 36(1): 91-96.
- [5] 王彦玲, 刘冬, 付全意, 等. 膳食纤维的国内外研究进展[J]. 中国酿造, 2008, 182(5): 1-4.
- [6] 黄晟, 朱科学, 钱海峰, 等. 超微及冷冻粉碎对麦麸膳食纤维理化性质的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(15): 40-44.
- [7] 张世仙, 杨春梅, 吴金鸿, 等. 豆渣膳食纤维提取方法及功能研究进展[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2009, 34(4): 93-97.
- [8] 李加兴, 刘飞, 范芳利, 等. 响应面法优化猕猴桃皮渣可溶性膳食纤维提取工艺[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 143-148.
- [9] SCHWESINGER W H, KURTIN W E, PAGE C P, et al. Soluble dietary fibers protects against cholesterol gallstone formation[J]. Am J Surgery, 1999, 177(4): 307-310.
- [10] 史红兵, 宋纪蓉, 黄洁, 等. 苹果渣制备可溶性膳食纤维的工艺研究[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2002, 32(2): 148-156.
- [11] 高彦祥, 方政. 柑橘类果汁加工副产品综合利用研究进展[J]. 饮料工业, 2005, 8(1): 1-7.
- [12] 李焕霞. 柑橘膳食纤维制备工艺技术及品质分析研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007.
- [13] GHOSE T K. Measurement of cellulase activities[J]. Pure and Applied Chemistry, 1987, 59(2): 257-268.
- [14] MONTGOMERY D C. 实验设计与分析[M]. 3版. 汪仁官, 陈荣昭, 译. 北京: 中国统计出版社, 1998: 589-645.
- [15] 卫生部. GB 5009.5 — 2010 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [16] 卫生部. GB/T 14772 — 2008 食品中粗脂肪的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [17] 卫生部. GB 5009.4 — 2010 食品安全国家标准食品中灰分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [18] 杨晓莉, 杨月欣, 周瑞华, 等. 食品中总的、不溶性及可溶性膳食纤维的酶 - 重量测定法[J]. 卫生研究, 2001, 30(6): 377-378..
- [19] 徐广超, 姚惠源. 豆渣水溶性膳食纤维制备工艺的研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2005, 26(1): 54-57.
- [20] 牛磊, 朱永义, 陈志成, 等. 黑小麦麸皮中有色膳食纤维的提取工艺研究[J]. 粮食与饲料工业, 2007(10): 17-20.
- [21] 孙慧, 刘凌. 优化纤维素酶水解桃渣制备可溶性膳食纤维工艺条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(11): 60-64.
- [22] SANCHEZ C. Lignocellulic residues: biodegradation and bioconversion by fungi[J]. Biotechnol Adv, 2009, 27(2): 185-194.
- [23] 洪华荣. 胡萝卜渣膳食纤维提取工艺及其功能特征研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2007.