

# 二次回归正交旋转组合设计对麦麸中阿拉伯木聚糖酶解工艺的优化

张晓娜<sup>1,2</sup>, 周素梅<sup>1,\*</sup>, 王世平<sup>2</sup>

(1. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100094; 2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘要:** 在小麦麸皮中阿拉伯木聚糖酶解工艺初步研究的基础上, 采用二次回归正交旋转组合设计对其酶解工艺进行了优化。建立了水溶性阿拉伯木聚糖(WEAX)得率(Y)对温度( $X_1$ )、时间( $X_2$ )、酶用量(酶与底物质量比, g/g) ( $X_3$ )及pH值( $X_4$ )四个试验因素的正交回归模型:  $Y=12.84921-1.36983X_1+0.69076X_2+0.75443X_3-1.46276X_1^2-0.93773X_4^2$ 。从模型推知, 当温度为60℃、时间为3h、酶用量为0.75%、pH值为5时, 得率最大值达到15.28%, 验证实验结果与模型值相符。

**关键词:** 阿拉伯木聚糖; 戊聚糖酶; 酶解工艺; 正交旋转组合设计; 优化

## Optimizing Enzymatic Hydrolysis Conditions of Arabinoxylan in Wheat Bran through Quadratic Orthogonal Rotation Combination Design

ZHANG Xiao-na<sup>1,2</sup>, ZHOU Su-mei<sup>1,\*</sup>, WANG Shi-ping<sup>2</sup>

(1. Institute of Processing for Agricultural Products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Based on the primary studies on the enzymatic hydrolysis conditions of arabinoxylan in wheat bran, the enzymatic degradation conditions of arabinoxylan were optimized by quadratic regression orthogonal rotary tests. The quadratic orthogonal regression model is of arabinoxylan yield (Y) to four factors of temperature ( $X_1$ ), time ( $X_2$ ), the concentration of enzyme ( $X_3$ ) and pH value ( $X_4$ ) and established as  $Y=12.84921-1.36983X_1+0.69076X_2+0.75443X_3-1.46276X_1^2-0.93773X_4^2$ . It was concluded from the model that when temperature, time, enzyme concentration and pH value are 60℃, 3h, 0.75% and 5 respectively, the yield (Y) is the maximal (15.28%) and consistent with the confirmatory experiment result.

**Key words** arabinoxylan; pentosanase; enzymatic hydrolysis conditions; orthogonal rotation combination design; optimization

中图分类号: TS210.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)01-0141-05

我国是小麦生产大国, 每年仅小麦加工的副产物—麦麸就高达2000多万吨。麦麸中阿拉伯木聚糖(arabinoxylan, 简写AX, 又称戊聚糖)含量丰富, 达到干基的20%以上<sup>[1]</sup>。AX具有诸多重要的功能特性: 对面团的性质和面包的烘焙品质具有较大的影响; 具有润肠通便、减肥之功效; 增强人体免疫功能; 另外, 还具有抗氧化、降低胆固醇及调节血糖水平等功能<sup>[2]</sup>。目前, 麦麸在我国主要作为畜禽饲料、发酵培养基等, 经济价值较低。并且作为动物饲料, 麦麸中的AX还降低了饲料的表现代谢能, 抑制动物的正常生长发育, 从

而被视为抗营养因子。以麦麸为原料提取作为食品添加剂以及保健食品功能因子的AX之后, 再作为动物饲料, 则可产生双重益处。因此, 小麦麸皮中的AX具有重要的研究和开发价值。

通常根据阿拉伯木聚糖在水中溶解性将其分为水溶性阿拉伯木聚糖(water extractable-arabinoxylan, 简写WEAX)和水不可溶性阿拉伯木聚糖(water unextractable-arabinoxylan, 简写WUAX)<sup>[3]</sup>。麦麸中WEAX的含量较低, 仅占麦麸戊聚糖总量的10%左右<sup>[4]</sup>。AX的溶解性与其分子链的长短, 分子内或分子间的共价、非共

收稿日期: 2007-01-23

基金项目: 中国农业科学院科研基金项目

作者简介: 张晓娜(1977-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: xna2002@126.com

\*通讯作者: 周素梅(1971-), 副研究员, 研究方向为农产品深加工与功能食品。E-mail: zhousumei@yahoo.com.cn

价键作用有关。一般在极性条件下,如较强碱性环境中,WEAX 结构中以酯键与木质素结合的阿魏酸基团会被水解下来,打断分子间的交联,从而使原来不溶性的AX 变为水溶性的,因此,过去常在碱性条件下对AX 进行提取。但是,新的研究表明,阿魏酰基团对AX 的许多功能性质有重要作用<sup>[5]</sup>,因此碱提会造成对AX 功能特性的过多破坏,所以采用温和的方法来提高麦麸中可溶性AX 的含量是十分必要的。有研究表明戊聚糖酶(或称木聚糖酶)作为一种新型面包品质改良酶效果显著<sup>[6-7]</sup>,能否利用戊聚糖酶将麦麸中原不溶性的AX 较多地溶出,提高WEAX 的得率 and 功能活性,这对于AX 新产品的开发可能具有重要意义,因而有必要对麦麸中的AX 开展酶解性质的研究。

二次正交旋转组合设计是正交回归试验设计的一种,它既能分析各处理因子的影响,又能建立定量的数学模型,属更高级的试验设计技术<sup>[8]</sup>,其优点如下:第一,它牺牲部分正交性而获得旋转性,并基本保留回归正交设计试验次数少,计算简便以及部分消除回归系数之间的相关性等特点;第二,它有助于克服在回归正交设计中二次回归预测值 $y$ 的方差依赖于试验点在因子空间中的位置这个缺点,即它具有能有效地克服二次回归正交设计的无旋转性,能根据预测值直接寻求最优区域的优点<sup>[9]</sup>。本研究首先对作用温度、时间、酶用量及pH 值四个酶解条件进行单因素考察,并在此基础上,采用二次回归正交旋转设计法对麦麸AX 的酶解工艺进行系统优化,最终得到较好的酶解条件,使阿拉伯木聚糖的得率获得显著提高。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

小麦麸皮 北京古船面粉公司。

戊聚糖酶(Pentopan Mono BG、Shearzyme 500L、Viscozyme L) 诺维信公司;木聚糖(X0502-10G)、地衣酚(01875-10G) Sigma 公司;木糖、盐酸、三氯化铁、冰醋酸、无水醋酸钠、3,5-二硝基水杨酸等均为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

单螺杆挤压机 北京顺义世联机械厂;高速万能粉碎机 天津市泰期特仪器有限公司;分析天平(TB-214) 美国Denver 公司;pH 计(PHS-3C) 上海雷磁仪器厂;水浴恒温振荡器(THZ-82A) 江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;离心机(LXJ-IIB) 上海安亭科学仪器厂;漩涡混合仪(V-Classic) 意大利Velp 公司;紫外-可见分光光度计(UV-1201型) 北京瑞利分析仪器公司。

### 1.3 酶解工艺

样品→挤压后粉碎→加水混匀(料液比为1:20)→调

pH 值(4mol/L 的盐酸)→加酶→160r/min 恒温振荡→灭酶10min→4200r/min,离心10min→取上清液→酸水解→测定WEAX

### 1.4 方法

#### 1.4.1 麦麸中指标成分的测定

水分含量:直接干燥法,参照GB5009.3-85;酶活力:DNS 法(修正反应温度为50℃)<sup>[10]</sup>;水溶性戊聚糖含量:地衣酚-盐酸法<sup>[11]</sup>。

$$\text{WEAX 得率}(\%) = \frac{\text{麦麸中提取WEAX 的质量}}{\text{麦麸的质量}} \times 100$$

#### 1.4.2 麦麸的酶解试验

##### 1.4.2.1 作用温度对WEAX 得率的影响

作用温度分别为30、40、50、60℃;酶用量(以酶/底物的质量×100计,%,下同):0.50%;pH 值:5.0;时间:2h。

##### 1.4.2.2 作用时间对WEAX 得率的影响

作用时间分别为10、30、60、120、180min;酶用量0.50%;pH 值5.0;温度50℃。

##### 1.4.2.3 酶用量对WEAX 得率的影响

酶用量分别为0.10%、0.25%、0.50%、0.75%、1.00%;温度50℃;pH 5.0;时间2h。

##### 1.4.2.4 pH 值对WEAX 得率的影响

pH 值分别为4.0、5.0、6.0、7.0、8.0;酶用量0.50%;温度50℃;时间2h。

#### 1.4.3 二次回归旋转组合设计

依据单因素试验的结果确定因素水平范围,采用二次回归旋转法4(1/2)组合设计,共进行23次试验。

## 2 结果与分析

### 2.1 戊聚糖酶的筛选

戊聚糖酶(Pentopan Mono BG)可以水解戊聚糖,应用于面包制作中,可以改善面团操作性能及面团的稳定性,增大面包体积,提高产品质量;真菌木聚糖酶500L(Shearzyme 500L)是一种木聚糖酶,它仅对小麦中可溶性戊聚糖有特定的选择活性,对淀粉及蛋白质没有作用;复合糖酶(Viscozyme L)是一种含纤维素酶、半纤维素酶、 $\beta$ -葡聚糖酶的复合酶,是一种分解植物细胞壁有效的酶。

DNS 法测定的酶活力(如表1所示)发现,Pentopan 的酶活力是Shearzyme 的7.3倍,是Viscozyme L 的158.5倍,因此麦麸AX 酶解工艺研究中选择的戊聚糖酶是Pentopan。

### 2.2 AX 的酶解工艺单因素试验结果

表1 酶活力测定  
Table 1 Enzyme activity detection

酶种类	酶活力	作用条件
Pentopan Mono BG	25994 IU/g	pH5.2、50℃、0.01%(酶/底物)、 0.5h
Shearzyme 500L	3551 IU/ml	pH5.2、50℃、0.01%(酶/底物)、 0.5h
Viscozyme L	164 IU/ml	pH5.2、50℃、0.01%(酶/底物)、 0.5h

### 2.2.1 作用温度对WEAX得率的影响

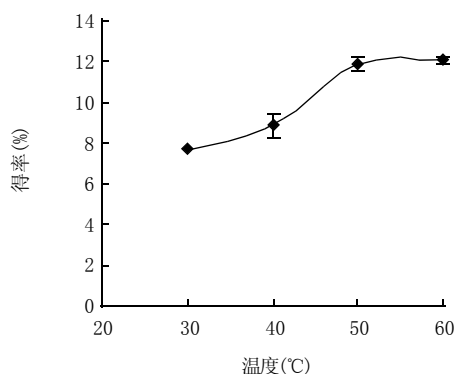


图1 作用温度对WEAX得率的影响  
Fig.1 Effects of temperature on yield of WEAX

由图1知,开始时随着作用温度的增加,WEAX得率逐渐增加,当作用温度达到50℃时,温度再增加,WEAX得率增加趋于平缓,说明Pentopan的适宜温度在50~60℃之间。

### 2.2.2 作用时间对WEAX得率的影响

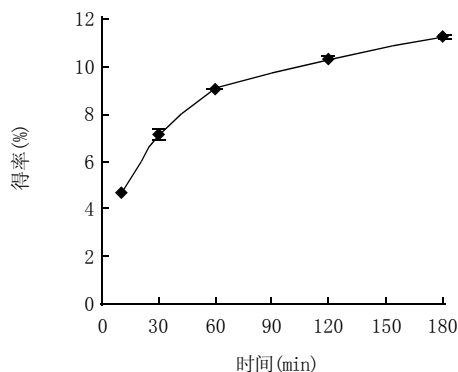


图2 作用时间对WEAX得率的影响  
Fig.2 Effects of time on yield of WEAX

由图2知,开始时随时间的延长WEAX得率不断提高,但2h之后,得率随时间的增加而趋于平缓。主要是因为提取开始时,部分可溶性淀粉及AX不断溶出,随着时间的进一步延长,整个提取液体系黏度变大,未溶出的少量AX由于传质过程受到黏度的影响,溶出速度减慢,使得提取率变得平缓。因此,酶解工

艺的适宜时间在120~180min之间。

### 2.2.3 酶用量对WEAX得率的影响

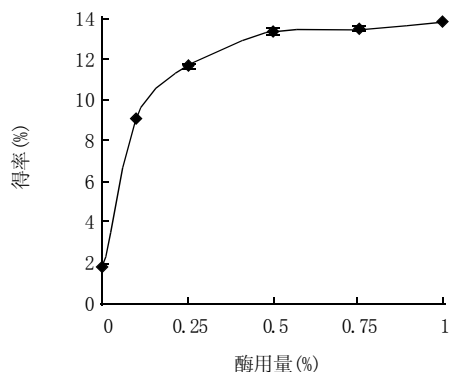


图3 酶用量对WEAX得率的影响  
Fig.3 Effects of dosage of enzyme on yield of WEAX

由图3知,酶用量在0~0.5%之间时,WEAX的得率增加比较显著,当酶用量超过0.5%时WEAX得率增加趋于平缓。表明在底物固定不变时,当酶用量达到一定值,酶与底物就会达到饱和,再增加酶用量没有多余的底物与之结合,致使WEAX得率不会再有明显增加。因此,选择0.5%左右的酶用量比较合适。

### 2.2.4 pH值对WEAX得率的影响

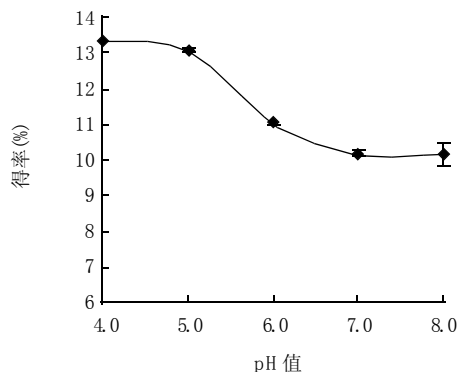


图4 pH值对WEAX得率的影响  
Fig.4 Effects of pH value on yield of WEAX

由图4知,pH值在4.0~5.0之间时,WEAX得率基本没有变化,当pH值超过5.0时,WEAX得率下降显著,说明Pentopan最适pH值在4.0左右,超出最适pH值后,随着pH值的增加,酶活性逐渐下降,所以pH值选择在4.0~5.0之间。

### 2.3 正交旋转回归法确定WEAX提取的最佳酶解工艺

针对传统单因素试验设计具有的明显不足,在此采用二次回归旋转组合设计对酶解工艺的主要影响因素进行优化试验,取作用温度( $X_1$ )、作用时间( $X_2$ )、酶用量( $X_3$ )和pH值( $X_4$ )作为四个考察因素,每个因素选取五个显著水平见表2。

表2 正交试验因素水平表  
Table 2 Factors and levels of orthogonal tests

变量名称	水平				
	1.682	1	0	-1	-1.682
作用温度(℃)	70.00	66.00	60.00	54.00	50.00
作用时间(min)	180.00	156.00	120.00	84.00	60.00
酶用量(%)	0.75	0.65	0.50	0.35	0.25
pH 值	6.00	5.60	5.00	4.40	4.00

### 2.3.1 数学模型

表3 二次回归旋转组合设计及试验结果  
Table 3 Quadratic rotary combination design and test results

处理号	温度 $X_1$	时间 $X_2$	酶用量 $X_3$	pH 值 $X_4$	WEA X 得率 (%)
1	1	1	1	1	11.52
2	1	1	-1	-1	6.88
3	1	-1	1	-1	8.41
4	1	-1	-1	1	9.18
5	-1	1	1	-1	12.58
6	-1	1	-1	1	10.68
7	-1	-1	1	1	9.98
8	-1	-1	-1	-1	10.61
9	-1.682	0	0	0	12.34
10	1.682	0	0	0	5.89
11	0	-1.682	0	0	11.30
12	0	1.682	0	0	14.84
13	0	0	-1.682	0	11.38
14	0	0	1.682	0	14.45
15	0	0	0	-1.682	10.23
16	0	0	0	1.682	10.97
17	0	0	0	0	12.94
18	0	0	0	0	13.44
19	0	0	0	0	12.91
20	0	0	0	0	12.19
21	0	0	0	0	11.55
22	0	0	0	0	13.29
23	0	0	0	0	12.68

试验结果见表3, 采用DPS数据处理系统用二次回归旋转组合试验统计方法对实验数据进行拟合, 得到的回归方程如下:

$$Y=12.84921-1.36983X_1+0.69076X_2+0.75443X_3+0.30201X_4-1.46276X_1^2-0.06445X_2^2-0.11925X_3^2-0.93773X_4^2-0.11625X_1X_2+0.16250X_1X_3+0.49625X_1X_4+0.49625X_2X_3+0.16250X_2X_4-0.11625X_3X_4 \quad (1)$$

#### 2.3.1.1 二次回归模型的显著性检验

为检验回归方程的有效性, 按  $F_1 = \text{失拟均方} / \text{误差均方}$ ,  $F_2 = \text{回归均方} / \text{剩余均方}$ ,  $F_3 = \text{回归均方} / \text{误差均方}$  的程序进行检验。由表4可知: 失拟项  $F_1$  达到了0.05水平上的显著, 但在  $\alpha=0.01$  水平不显著, 有可能存在失拟因子对试验结果产生影响, 根据作用条件分析, 这种失拟可能来自因子间的高阶互作用。 $F_2$  在0.01水平上极显著, 这表明方程与试验数据的配合是可

行的, 可用来建立其模型。并且通过对  $F_3$  的检验,  $F_3=16.55 > F_{0.01}=7.60$  达到极显著水平, 故认为, 仅就各试验因子而言, 方程回归结果是可靠的。

#### 2.3.1.2 重建二次回归模型

表4 试验结果方差分析表  
Table 4 Test results and variance analysis

变异来源	平方和	自由度	均方	比值 F	显著水平 p
$X_1$	25.6262	1	25.6262	22.46952	0.00146**
$X_2$	6.5163	1	6.5163	5.71359	0.04383*
$X_3$	7.7729	1	7.7729	6.81546	0.03110*
$X_4$	1.2457	1	1.2457	1.09221	0.32653
$X_1^2$	33.6439	1	33.6439	29.49965	0.00062**
$X_2^2$	0.0353	1	0.0353	0.03098	0.86467
$X_3^2$	0.1664	1	0.1664	0.14589	0.71244
$X_4^2$	13.6385	1	13.6385	11.9585	0.00859**
$X_1X_2$	0.2162	1	0.2162	0.18959	0.67477
$X_1X_3$	0.4225	1	0.4225	0.37046	0.55964
$X_1X_4$	3.9402	1	3.9402	3.45486	0.10013
$X_2X_3$	3.9402	1	3.9402	3.45486	0.10013
$X_2X_4$	0.4225	1	0.4225	0.37046	0.55964
$X_3X_4$	0.2162	1	0.2162	0.18959	0.67477
回归	98.1881	14	7.0134	$F_2=6.150$	0.00165**
剩余	9.1239	8	1.1405		
失拟	6.5449	2	3.2725	$F_1=7.613$	0.01407*
误差	2.579	6	0.4298		
总和	107.312	22			

注: \* 表示在0.05水平显著, \*\* 表示在0.01水平显著。

根据表4, 以下是  $\alpha=0.10$  显著水平剔除不显著项后, 简化后的回归方程:

$$Y=12.84921-1.36983X_1+0.69076X_2+0.75443X_3-1.46276X_1^2-0.93773X_4^2 \quad (2)$$

麦麸WEA X得率与作用温度、时间、酶用量以及pH值的相关系数  $R^2 = \text{回归平方和} / \text{总平方和} = 91.50\%$ , 表明该数学模型四个因素对产量的影响占91.50%, 而其它因素的影响和误差占8.50%。

#### 2.3.2 效应分析

##### 2.3.2.1 主要因素效应分析

用“降维法”将任意三个因素固定在零水平, 得到另一个因素与得率的效应方程为:

$$Y_1=12.84921-1.36983X_1-1.46276X_1^2$$

$$Y_2=12.84921+0.69076X_2-0.06445X_2^2$$

$$Y_3=12.84921+0.75443X_3-0.11925X_3^2$$

$$Y_4=12.84921+0.30201X_4-0.93773X_4^2$$

根据回归系数(绝对值)可知四个因素对WEA X得率的影响顺序为: 作用温度( $X_1$ )  $\geq$  酶用量( $X_3$ )  $\geq$  作用时间( $X_2$ )  $\geq$  pH值( $X_4$ )。由主效应方程可作出各因素与得率的关系图(图5)。由图5可知, 在  $-1.682 \leq X_i \leq 1.682$  的范围内, 作用时间和酶用量与WEA X得率的关系接近

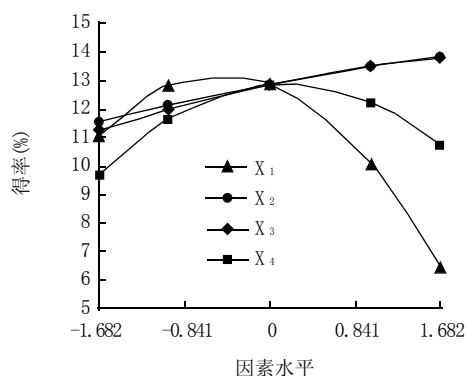


图5 试验因子的主效应分析  
Fig.5 Main effects of test factors

线性,表明这两个因素对得率作用显著,随着作用时间的延长和酶用量的增加,有利于WEAX得率的提高;作用温度和pH值与WEAX得率均呈开口向下的抛物线关系,表明这两个因素均存在一个合理范围,超过此范围得率会下降,作用温度在低水平和-1水平间时得率上升,-1水平与-0.5水平间得率趋于平稳,超过-0.5水平后,得率开始下降,而pH值在低水平到0.25水平时,产量上升,但超过0.25水平后,得率逐步下降,这些情况与酶作用时需要最适温度和最适pH值正好吻合。

#### 2.3.2.2 交互效应分析

通过对回归方程(1)的分析可知,作用温度与作用时间之间存在拮抗作用,酶用量与pH值之间也存在拮抗作用;而作用温度与酶用量和pH值之间均有协同作用,作用时间与pH值之间也有协同作用。

#### 2.3.3 最佳酶解方案

采用DPS数据处理系统对实验数据进行分析,求得麦麸水溶性AX的最佳酶解方案为:作用温度在0水平(60℃),作用时间在1.682水平(180min),酶用量在1.682水平(0.75%),pH值在0水平(5.0)。此酶解方案得出水溶性AX的最佳得率为15.28%。在此最佳酶解条件下,通过验证实验得出最佳得率为16.38%,实际值/模型最佳值=1.07,说明此最佳模型是可靠的。为了节约成本,考虑到时间问题,我们综合各因子得出人工最佳酶解方案为:作用温度60℃,作用时间120min,酶用量0.75%和pH5.0。此条件下,得率为15.56%。

### 3 结论

3.1 本实验通过DNS法测定Pentopan、Viscozyme L和

Shearzyme的酶活力,结果表明Pentopan对木聚糖的酶解作用最强。

3.2 采用Pentopan进行单因素水平试验,确定了酶解工艺中各单因素的适宜范围:作用温度50~60℃;作用时间为120~180min;酶用量为0.50%~0.75%;pH值为4.0~5.0。

3.3 在单因素试验的基础上,运用回归设计的理论与方法,通过DPS数据处理系统确定了最佳酶解工艺:作用温度60℃,作用时间180min,酶用量0.75%,pH值5.0。此时麦麸WEAX的最高得率可达到15.28%。在模型得出的最佳酶解条件下,通过验证实验得出最佳得率为16.38%与模型最佳值基本一致,说明此模型是可靠的。考虑到成本和工作效率,得出人工最佳酶解工艺为:作用温度60℃,作用时间120min,酶用量0.75%和pH5.0。此条件下,得率为15.56%。

#### 参考文献:

- [1] MAES C, DELCOUR J A. Structural characterization of water-extractable and water-unextractable arabinoxylans in wheat bran[J]. Cereal Sci, 2002, 35: 315-326.
- [2] 张岐军, 钱森和, 张艳, 等. 中国软质小麦品种戊聚糖含量的遗传变异及其与饼干加工品质的关系[J]. 中国农业科学, 2005, 38(9): 1734-1738.
- [3] IZYDORCZYK M S, BILIADERIS C G. Cereal arabinoxylans: advances in structure and physicochemical properties[J]. Carbo Polymers, 1995, 28: 33-48.
- [4] L SAULNIER, MAROT C, CHANLIAND E, et al. Cell wall polysaccharide interactions in maize bran[J]. Carbohydr Polym, 1995, 26: 279-287.
- [5] BRAVO L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance[J]. Nutr Rev, 1998, 56: 317-333.
- [6] FINCHER G B, STONE B A. Cell walls and their components in cereal[J]. Grain Technology, 1986(7): 207-295.
- [7] HOSENEY R C. Functional properties of pentosans in baked foods[J]. Food Technology, 1984(1): 114-117.
- [8] 唐启义, 冯光明. 实用统计分析及计算机处理平台[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 77-91.
- [9] 徐位力, 罗焕亮, 范恩友, 等. 二次正交旋转组合设计对马占相思组培增殖培养基的优化[J]. 广西植物, 2002, 22(6): 517-520.
- [10] 王清洁, 尹西竹, 刘永举, 等. DNS法测定饲用木聚糖酶活力[J]. 兽药与饲料添加剂, 2000, 13(5): 10.
- [11] HASHIMOTO S, SHOGREN M D, POMERANZ Y. Cereal pentosans: their estimation and significance I pentosans in wheat and milled wheat[J]. Products Cereal Chem, 1987, 64(1): 30-34.