葵花脱脂粕膳食纤维提取工艺的研究

陈永胜[1]，李志光[1]，钟慧敏[2]
(1.内蒙古民族大学,内蒙古 通辽 028043; 2.西北农林科技大学,陕西 杨凌 712100)

摘 要：本实验以葵花脱脂粕为原料，通过生物酶法和化学法研究葵花脱脂粕中膳食纤维的提取工艺，其中生物酶法得到的膳食纤维得率较高。生物酶法主要用植物精提复合酶和酸性蛋白酶，提取的最佳工艺组合为：植物精提复合酶的用量为0.4%，植物精提复合酶的酶解时间为2.5h；酸性蛋白酶的用量为0.2%，酸性蛋白酶的酶解时间为45min，此时膳食纤维的得率为78.3%。

关键词：葵花脱脂粕；膳食纤维；化学法；生物酶法

Study on Extraction Condition of Sunflower Dietary

CHEN Yong-sheng[1], LI Zhi-guang[1], ZHONG Hui-min[2]
(1. Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028043, China;
2. Northwest A and F University, Yangling 712100, China)

Abstract: In this research, sunflower meal was used as raw material, and dietary fiber of sunflower meal were extracted by enzymatic method and chemical method. The enzymatic method got a higher yield than the chemical method. Plant extraction complex enzymes and acidic protease were used in enzymatic method. The results showed that the optimal extracting condition: plant extraction complex enzymes addition dosage 0.4% for 2.5 hours and acidic protease addition dosage 0.2% for 45 min. On these conditions extraction ratio of dietary fiber is 78.3%.

Key words: sunflower meal; dietary fiber; chemical method; enzymatic method
中图分类号: TS229 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2007)12-0211-05

膳食纤维是由若干种干物质组成的复杂混合物，按其常用特性，可分为水溶性膳食纤维(SDF)和水不溶性膳食纤维(IDF)[1]。医学研究表明，膳食纤维对人体的健康，有着极为重要的生理功能。它被营养学家列为“第七营养素”[2]。膳食纤维有减肥、通便、防治便秘的功能，对降糖、降脂、防治糖尿病和心血管疾病功能也有一定的作用[3-4]。此外，大部分膳食纤维都有确定的抑制结肠癌的作用。自然界中富含纤维的原料很多，国外目前研究过的膳食纤维包括谷物纤维、果蔬纤维、豆类纤维、微生物纤维，其他天然纤维和合成纤维六大类约30种，我国对其研究开发上起步较晚，主要集中在对麦麸纤维、豆纤维和甜菜纤维三种的研究上，关

收稿日期：2007-11-08
作者简介：陈永胜(1971-)，男，副教授，博士，主要从事农业生物技术方面的研究。

static effect of flavonoids isolated from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens[J]. Fitoterapia, 2007, 78(6): 434-436.
[6] MA G, YANG C L, QU Y, et al. The flavonoid component isorhamnetin *in vitro* inhibits proliferation and induces apoptosis in Eca-109 cells[J]. Chemico-Biological Interactions, 2007, 167(2): 153-160.
[7] SOSULSKI K, SOSULSKI F W, COXWORTH E. Carbohydrate hydrolysis of canola to enhance oil extraction with hexane[J]. Soc, 1998, 65: 357-361.
[8] DELGADO-VARGAS F, PAREDES-LOPEZ O. Enzymatic treatment to enhaute carotenoid content in dehydrated marigold flower meal[J]. Plant Foods Hum Nutr, 1997, 50: 163-169.
[9] 奚奇辉, 李士敏. 纤维素酶在竹叶总黄酮提取中的应用[J]. 中草药, 2004, 35(2): 166-167.
[10] 王瑞红, 侯靖宇, 王爽. 纤维素酶在金银花提取工艺中的应用[J]. 黑龙江医药, 2003, 16(4): 286-287.
[11] 毛燕, 王学利. 毛竹等九种竹叶中蛋白质和总糖含量的测定[J]. 竹子研究汇刊, 1998, 27(2): 18-20.
[12] 丁红秀, 高荫榆, 郑渊月, 等. 毛竹叶柄类黄酮降血糖作用研究[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 742-744.
[13] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 浙江: 浙江大学出版社, 1999.
[14] 冯涛, 曹东旭, 吕晓玲. 竹叶总黄酮含量的测定[J]. 中国食品添加剂, 2002(6): 85-87.

于从葵花脱脂粕中提取膳食纤维的研究和相关报道还很少[5-7]。膳食纤维的提取方法主要有粗分离法、化学分离法、膜分离法、酶法、化学试剂和酶结合分离法[8]。本实验用植物精提酶和酸性蛋白酶作用于葵花籽，探讨各主要因素对得率的影响。并将提取结果与化学法提取结果相比较。本实验主要是比较化学法和生物酶法提取工艺的优劣，其中主要侧重对酶法的研究，未对化学法作深入研究。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 材料与试剂

葵花籽仁。

盐酸；氢氧化钠；蒸馏水；pH 试纸；5% 双氧水；SPE-008 植物精提复合酶 宁夏夏盛实业集团有限公司；酸性蛋白酶 肇东市日成酶制剂有限公司。

1.1.2 仪器

超声波细胞粉碎仪 宁波新芝生物科技股份有限公司；SHB-III 循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司；HH-4 数显恒温水浴锅 江苏金坛荣华仪器制造有限公司；DB-2 型不锈钢电热板 江苏金坛荣华仪器制造有限公司；DHG-9240 型电热恒温鼓风干燥箱 上海精宏实验设备有限公司；HZS-H 水浴振荡器 哈尔滨市东明医疗仪器厂制造；FD-1C 冷冻干燥机 北京德天佑科技发展有限公司。

1.2 方法

1.2.1 原料的制备

将葵花籽仁去杂，所得净仁研磨，称量加水，超声波破碎 20min，离心去油，收集沉淀置冷冻干燥机中干燥，干燥后过 140 目筛，备用。

1.2.2 化学法提取膳食纤维[9]

1.2.2.1 膳食纤维的提取

称取 5g 葵花脱脂粕于烧杯中，加入 40ml 40% NaOH，后置水浴中加热 2h，浴温控制在 40℃左右，然后冷却至室温，用 1:1 盐酸中和至中性，抽滤后用水洗请，滤渣收集于烧杯中，并加入 5% 的双氧水 40ml，在水浴锅中加热 1h，温度控制在 40℃，抽滤，洗涤，再抽滤，滤渣磨成粉末。称量，并计算膳食纤维得率。实验数据为三次平行实验的平均值。

$$膳食纤维得率 = \frac{M}{5} \times 100\%$$

1.2.2.2 吸水性测定

用电子天平称取一定质量的葵花膳食纤维(M_1)于烧杯中，加入水至全部浸湿，称量其吸水后的质量(M_2)，再抽滤，滤渣置于烧杯中，再让其吸水直至 M_2 恒重，由公式计算出葵花膳食纤维的吸水性。

$$吸水性 = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100\%$$

1.2.3 生物酶法提取膳食纤维[10]

1.2.3.1 膳食纤维的提取

称取处理后的葵花脱脂粕 5g 于高型烧杯中，加 50ml 蒸馏水，将高型烧杯放在电热炉上加热煮沸，使其充分吸水膨胀，15min 后取下烧杯冷却至室温，在托盘天平上称量，补充水分，使总的质量与煮沸前相等，记为 M_1。在电热炉上稍微加热升温至 60℃，用 1mol/L 的 HCl 溶液和 0.5mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值为 5.0±0.2，将烧杯放在 49℃的恒温水浴箱里，加适量植物精提复合酶，放在水浴振荡器中振荡反应，温度为 49℃左右，达到所需时间 t_1 后取下，用 140 目筛用清水冲洗多次，洗去酶解液，收集葵花脱脂粕于原烧杯中。然后调节温度为 40℃，用 1mol/L HCl 溶液和 0.5mol/L NaOH 溶液调节 pH 值为 2.5～5.0 之间，在 40℃恒温水浴箱内，加入蛋白酶，在水浴振荡器中反应，温度为 40℃左右，达到所需时间 t_2 后，用 140 目筛洗涤酶解液多次，收集。在电热炉上加热煮沸 10min 灭酶；最后放于 105～110℃鼓风干燥箱内脱水干燥至恒重，称量 M_2，计算膳食纤维得率。

$$膳食纤维得率 = \frac{M_2 - M_1}{5} \times 100\%$$

1.2.3.2 吸水性测定

方法同化学法。

1.3 实验设计

影响酶法提取膳食纤维的因素很多，本实验主要对植物精提复合酶的酶解时间和用量、酸性蛋白酶的酶解时间和用量作了研究。

1.3.1 单因素试验设计

针对生物酶法各因素对得率的影响，作单因素试验设计。

1.3.1.1 植物精提复合酶酶解时间与得率的关系的研究

室温下，pH7，料液比为 1:10，用水浸提均为 5g 的脱脂粕，时间为参数，以膳食纤维提取率为考察目标，确定最佳酶解时间。复合酶的用量确定为 0.4%；蛋白酶量，蛋白酶酶解时间分别确定为 0.3%，45min。

1.3.1.2 酸性蛋白酶酶解时间与得率的关系的研究

把复合酶制剂的量，复合酶解时间，分别确定为 0.4%，45min,；蛋白酶量确定为 0.3%。在此基础上

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	A植物精提复合酶酶解时间(h)	B蛋白酶酶解时间(min)	C植物精提复合酶用量(%)	D蛋白酶用量(%)
1	2	30	0.2	0.2
2	2.5	45	0.3	0.3
3	3	60	0.4	0.4

探索酸性蛋白酶酶解时间对膳食纤维得率的影响。

1.3.1.3 植物精提复合酶用量与得率的关系的研究

把复合酶的酶解时间确定为45min。蛋白酶制剂的用量与酶解时间分别确定为0.3%、45min。在此基础上探索植物精提复合酶酶用量对膳食纤维得率的影响。

1.3.1.4 酸性蛋白酶的用量与得率的关系的研究

把混合酶制剂的量，混合酶解时间分别确定为0.4%，45min；蛋白酶的酶解时间确定为45min。在此基础上探索酸性蛋白酶酶用量对膳食纤维得率的影响。

1.3.2 正交试验设计

1.3.2.1 因素水平表

由以上单因素的试验结果对生物酶法各因素对得率的综合影响，设计正交试验。本实验应用DPS 数据处理系统对正交试验进行分析。

1.3.2.2 试验条件

根据因素水平表列出$L_9(3^3)$正交试验方案，见表3。以膳食纤维的得率为考察指标，确定最佳提取条件。试验数据为3 次平行试验的平均值。

2 结果与分析

2.1 化学法提取膳食纤维结果及分析

表2 化学法提取膳食纤维结果表

Table 2 Chemical extraction of dietary fiber results

实验号	得率(%)	吸水性(%)
1	47.6	289
2	62.9	268
3	58.7	340
平均值	55.9	305

由表2 可以看出，化学法提出的膳食纤维吸水性比较好，平均值达到305%，说明该法提出的膳食纤维的质量相对较好。但是，用化学法提取膳食纤维的得率不是很高，平均值为55.9%。

2.2 单因素试验结果及分析

表3 植物精提复合酶酶解时间的确定

Table 3 Determination of plant extraction complex enzymes addition time

酶解时间(h)	1.5	2	2.5	3	3.5
得率(%)	75	75	78	76	74
吸水性(%)	207	233	240	243	228

2.2.1 蛋白酶－淀粉酶复合酶酶解时间与得率的关系

由表3 可以看出，蛋白酶－淀粉酶复合酶酶解时间在1.5～3.5h之间时，粗膳食纤维的得率是随着酶解时间的延长而升高的，当酶解时间达到2.5h 时，膳食纤维得率达到最大。然后随着酶解时间的延长，膳食纤维的得率反而降低。

2.2.2 酸性蛋白酶的酶解时间与得率的关系

表4 酸性蛋白酶酶解时间的确定

Table 4 Determination of acidic protease addition time

酶解时间(min)	15	30	45	60	75
得率(%)	74	74	82	78	72
吸水性(%)	181	223	227	218	191

由表4 可以看出，蛋白酶酶解时间在15～45min 之间，膳食纤维的得率随着时间的增加而增加，其中，在15～30min 期间得率增长缓慢；在30～45min 之间得率增长很快，达到82%；45～60min 期间得率下降非常缓慢，几乎不变；此后继续延长酶解时间，得率迅速下降。酶解时间为45min 为最佳酶解时间。其原因为：反应时间延长可使酶与蛋白质分子充分作用，从而形成更多的共价交联使得率增加，达到一定时间，蛋白酶充分降解，而且由于酶的专一性和高效性，以及混合酶的残留等综合考虑，在酶解时间继续延长时，膳食纤维得率又有些微的下降，本次试验确定酶解时间45min 为好。

2.2.3 蛋白酶－淀粉酶复合酶用量与得率的关系

表5 植物精提复合酶用量的确定

Table 5 Determination of plant extraction complex enzymes amount

酶用量(%)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
得率(%)	74	76	74	78	72
吸水性(%)	210	231	236	245	208

从表5 可以看出，混合酶用量在0.1%～0.4%之间粗膳食纤维得率是逐渐增长的，在0.4%时粗膳食纤维得率最高为78%；然后随着混和酶用量的增加粗膳食纤维得率反而迅速下降。这是因为混合酶制剂的加入，酶迅速地将葵花脱脂粕中的部分淀粉分解，提取的膳食纤维含一定的淀粉，所以得率高，随着酶剂量的增加和反应的进行，葵花脱脂粕中的淀粉被充分降解，膳食

纤维的纯度提高，但得率下降。

2.2.4 酸性蛋白酶的用量与得率的关系

表6 酸性蛋白酶的用量

Table 6 Determination of acidic protease amount

蛋白酶用量(%)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
得率(%)	71	78	82	76	72
吸水性(%)	246	255	229	246	214

由表6可以看出，当蛋白酶用量在0.1%～0.3%之间时，随蛋白酶用量的增加，得率迅速增加；当蛋白酶用量在0.3%～0.5%之间时，得率随着酶量的增加而减少，这是因为随着蛋白酶的加入，蛋白酶与葵花脱脂粕中蛋白质分子肽链作用增加，但此时葵花脱脂粕中蛋白质分子并没有完全作用彻底，即得到的纤维中仍含有一部分蛋白质。随着蛋白酶的继续加入，蛋白酶与葵花脱脂粕中蛋白质分子肽链的接触机会增强，即在同一时间内分解的肽链数不断增加，蛋白质分子降解充分，此时提取出的膳食纤维纯度很高，也可能是酶与蛋白质的作用以趋于饱和状态。而且葵花脱脂粕中的油分提取并不完全，会影响酶活力的充分发挥。还有可能是膳食纤维中含有碳氮键，酶使之降解，降低了得率，再加之有部分水溶性膳食纤维的流失都造成了膳食纤维得率是先增加而后减少的。所用到的酶的专一性和高效性对最后的结果有很大的影响，所以在蛋白酶用量为0.3%时，膳食纤维得率最高为82%。

2.3 正交试验结果与极差分析

从以上对正交试验结果的分析可以看出，$R_C > R_B > R_A > R_D$。即在生物酶法提取膳食纤维的各个影响因素中，影响程度大小为：植物精提酶用量＞蛋白酶酶解时间＞植物精提酶酶解时间＞蛋白酶用量，植物精提酶用量对膳食纤维的得率影响最大，酸性蛋白酶用量对膳食纤维得率在这几个因素中影响最小，较优的工艺参数组合为：A_2、B_2、C_3、D_1，即植物精提酶解时间为2.5h，混合酶酶解时间为0.4%，酸性蛋白酶用量为0.2%。酸性蛋白酶酶解时间为45min，此时膳食纤维的得率为78.3%。

表7 $L_9(3^3)$正交试验设计及结果

Table 7 Orthogonal test design and results

实验号	A	B	C	D	得率(%)
1	1	1	1	1	69.5
2	1	2	2	2	70.8
3	1	3	3	3	72.2
4	2	1	2	3	67.5
5	2	2	3	1	78.3
6	2	3	1	2	77.5
7	3	1	3	2	72.7
8	3	2	1	3	76.4
9	3	3	2	1	68.3

表8 极差分析结果表

Table 8 Range analysis result

总和	因子	水平1	水平2	水平3
	x(1)	2.125	2.233	2.174
	x(2)	2.097	2.255	2.18
	x(3)	2.234	2.066	2.232
	x(4)	2.161	2.21	2.161
均值	因子	水平1	水平2	水平3
	x(1)	0.70833	0.74433	0.72467
	x(2)	0.699	0.75167	0.72667
	x(3)	0.74467	0.68867	0.744
	x(4)	0.72033	0.73667	0.72033
因子	极小值	极大值	极差R	调整R'
x(1)	0.70833	0.7443	0.036	0.03242
x(2)	0.699	0.7517	0.0527	0.04744
x(3)	0.68867	0.7447	0.056	0.05044
x(4)	0.72033	0.7367	0.0163	0.01471

3 结论与讨论

3.1 由以上的分析结果可以得出如下结论:化学法提出的膳食纤维色泽为纯白色，吸水性好，得率较低。而用生物酶法提出的膳食纤维色泽为浅黄色，吸水性相对化学法较差，但得率较高。即化学法得到的膳食纤维的质量要高于生物酶法得到的膳食纤维。

3.2 生物酶法提取膳食纤维的最佳工艺条件为：植物精提酶用量为0.4%，酶解时间为2.5h，酸性蛋白酶用量0.2%，酶解时间45min。以上述条件提取的膳食纤维得率可达78.3%。

3.3 生物酶法是提取膳食纤维的方法中较为优秀的方法，得到的膳食纤维无论无论从色泽还是质量上都应该优于化学法。但本实验中生物酶法提取工艺还存在一些问题。主要原因是用水浸提离心脱脂得到的葵花脱脂粕脱脂不完全，而这对酶法提取的影响要远远大于对化学法的影响。在酶法提取过程中可以发现有油滴出现，影响了实验结果。在实验过程中对滤液的处理不够，所以损失了大部分可溶性膳食纤维。

3.4 从总体上说，酶法提取膳食纤维的工艺简单，制得的纤维得率高，纯度高，成分较理想，口感好，易被消化吸收，是一种可转化为工业生产的较理想的方法。有着很好的发展前景。

参考文献：

[1] 刘伟, 刘成梅. 膳食纤维的国内外研究现状与发展趋势[J]. 粮食与食品工业, 2003(4): 25-27.

[2] 闵锐. 开发人体第七营养素——膳食纤维[J]. 中国食物与营养, 1993(3): 18-21.

[3] 刘成梅, 李资玲, 梁瑞红. 膳食纤维的生理功能与应用现状[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(1): 122-124.

[4] 李建民, 侯玉泽. 膳食纤维的功能与应用进展[J]. 学大学学报: 农学版, 2003, 23(2): 75-78.

鱼精蛋白抑菌效果及在肠肉制品中的应用研究

王陆玲[1]，金明晓[1]，韩红梅[1]，修丽华[2,*]
(1.吉林工程技术师范学院，吉林 长春 130052；2.长春市产品质量监督检验院，吉林 长春 130012)

摘 要：本实验测定了鱼精蛋白对几种常见食品微生物的MIC，鱼精蛋白及其与山梨酸钾、甘氨酸、醋酸钠复配后的抗菌谱、抑菌圈大小。研究了鱼精蛋白和复配制剂在香肠制品中的应用，发现1‰山梨酸钾与1‰鱼精蛋白对香肠中的腐败菌抑制作用最好。

关键词：鱼精蛋白；复配；抑菌效果

Study on Bacteriostasis Effect of Protamine and Its Application in Sausage Products

WANG Lu-ling[1], JIN Ming-xiao[1], HAN Hong-mei[1], XIU Li-hua[2,*]
(1.Jilin Tercher's Institute of Engineering and Technology, Changchun 130052, China;
2.Changchun Products Quality Supervisor and Testing Institute, Changchun 130012, China)

Abstract: MIC of protamine to some usual food microorganisms, and antibiogram and bacteriostasis circle size of protamine and its mixture with potassium sorbate, glycin and sodium acetate were assayed in this study. And also the application of protamine and its mixture in sausage products were studied. 1‰ potassium sorbate mixing with 1‰ protamine has the best bacteriostasis effect in sausage.

Key words: protamine; mixture; bacteriostasis effect
中图分类号：TS264.4 文献标识码：A 文章编号：1002-6630(2007)12-0215-03

天然防腐剂是食品防腐剂发展的方向，在各种不同来源的天然防腐剂中，小分子抗菌肽已经成为食品防腐剂工业中的发展重点。这些具有抑菌、杀菌作用的各类小分子肽类，不但有天然防腐剂应用上的安全性优点，还具有广谱、高效抗菌性，更为重要的是，这些抗菌肽类对人体具有一定的营养保健作用，如抑制肿瘤、降血压、抗血凝等。

鱼精蛋白是以鱼类精巢为原料分离得到的具有广谱杀菌作用的蛋白质，分子量比较小，从几千到一万多道尔顿。一般由30个左右的氨基酸组成，其中三分之二以上是精氨酸[1-2]。鱼精蛋白的作用机制是抑制线粒体电子传递系统中的一些特定成分，抑制一些与细胞膜有关的新陈代谢过程。鱼精蛋白抽提物热稳定性较好，120℃ 30min也能维持活性，因此可作为高温处理时的芽孢菌抑制剂[3]。鱼精蛋白完全是天然成分，安全、无毒、无副作用[4]，到目前为止，还没有出现鱼精蛋白使用过程中发生对人体有毒害的事件。

1 材料与方法

1.1 材料

鱼精蛋白 浙江味海食品配料有限公司。

沙门氏菌(*Salmonella* sp.)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、干酪乳杆菌

收稿日期：2007-09-18 *通讯作者
作者简介：王陆玲(1960-)，女，教授，研究方向为食品防腐剂、发酵食品、食品有害微生物检测等。

[5] 郑建仙，高孔荣. 论膳食纤维[J]. 食品发酵工业，1994(4)：71-74.
[6] 李焕霞，任志，王华. 我国膳食纤维研究现状分析[J]. 中国食品添加剂，2007(2)：161-164.
[7] 高荣丽，陶冠军，杨严俊. 葵花籽粕的综合利用[J]. 食品工业科技，2006(7)：138-140.
[8] 李应彪，陆强. 麦麸膳食纤维的提取技术研究[J]. 粮油加工与食品机械，2005(11)：77-79.
[9] 藏荣鑫，杨具田，马省强. 对生物-化学法分离豆渣中大豆膳食纤维工艺的研究[J]. 西北民族大学学报，2003，24(3)：44-48.
[10] 冯志强，李梦琴，刘燕燕. 生物酶法提取麦麸膳食纤维的研究[J]. 现代食品科学，2005(8)：78-100.