

正交试验优化酶法提取菜籽皮不溶性膳食纤维工艺

王顺民, 郑 锐

(安徽工程大学生物与化学工程学院, 安徽 芜湖 241000)

摘 要: 目的: 以菜籽皮为原料, 研究不溶性膳食纤维的酶法提取工艺条件。方法: 采用淀粉酶和蛋白酶酶解菜籽皮, 以不溶性膳食纤维得率为指标, 通过正交试验优化最佳工艺条件。结果: 淀粉酶加酶量0.7%, 料液比1:20、pH5.5、温度40℃、酶解时间60min, 在此条件下菜籽不溶性膳食纤维得率为81.24%; 蛋白酶的添加量0.7%、料液比1:20、pH7.5、酶解温度40℃、酶解时间60min, 在此条件下菜籽不溶性膳食纤维得率为77.13%。结论: 确定了影响膳食纤维提取的主要影响因素, 得到了菜籽皮不溶性膳食纤维酶解法提取的最佳条件。

关键词: 菜籽皮; 不溶性膳食纤维; 酶法; 提取

Optimization of Enzymatic Extraction of Insoluble Dietary Fiber from Rapeseed Shells

WANG Shun-min, ZHENG Rui

(College of Biological and Chemical Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu 241000, China)

Abstract: The enzymatic extraction of insoluble dietary fiber (IDF) from rapeseed shells was optimized by orthogonal array design based on IDF yield. The IDF yield from rapeseed shells was 81.24% after 60 min of amylase hydrolysis at 40 °C and an initial pH of 5.5 with an enzyme dosage of 0.7% and a solid-to-liquid ratio of 1:20, and 77.13% after 60 min of protease hydrolysis at 40 °C and an initial pH of 7.5 with an enzyme dosage of 0.7% and a solid-to-liquid ratio of 1:20. In this study, we have identified main process parameters that influence IDF extraction from rapeseed shells and established the optimum process conditions.

Key words: rapeseed shell; insoluble dietary fiber; enzymatic method; extraction

中图分类号: TS214.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)08-0100-04

膳食纤维被称为“第七大营养素”。其中不可溶性膳食纤维(insoluble dietary fiber, IDF), 如纤维素、木质素及其他一些非纤维素多糖等不溶于温水或热水, 但能够吸水膨胀, 具有促进人体肠胃蠕动、调节肠胃道、防止便秘的功能^[1]。我国油菜种植和产量均居世界第一位, 年总产量达到1300多万t。其中油菜籽皮含不溶性膳食纤维达47%左右^[2], 开发利用油菜籽皮具有广阔的前景。目前利用油菜籽皮提取膳食纤维的研究非常少。膳食纤维的提取方法主要有化学法^[3]、酶法^[4]、超声波法^[5]和微波法^[6]等。以菜籽皮为原料采用酶法提取膳食纤维, 污染较小、条件温和, 且可避免化学溶剂对可溶性膳食纤维、半纤维素的溶解损失。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菜籽皮产自安徽芜湖; 淀粉酶(酶活250万U/g)、蛋白

酶(酶活700万U/g) 爱顿生物工程有限公司; 乙醇、氢氧化钠、盐酸等均为分析纯 中国国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

FA1004电子天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; PHS-2F型pH计 上海精密科学仪器有限公司; SHB-III型循环水式多用真空泵 郑州市上街华科仪器厂; L-550台式低速大容量离心机 长沙湘仪离心机有限公司; WF-100高速万能粉碎机 黄骅市振兴机电仪器厂。

1.3 工艺流程

原料→预处理→淀粉酶水解→抽滤→乙醇冲洗→预产品→烘干粉碎→称量→蛋白酶水解→抽滤→乙醇冲洗→烘干→半成品

1.4 酶解实验

预处理: 油菜籽壳清洗去杂, 105℃干燥3h, 粉碎过60目筛后, 为淀粉酶水解原料。油菜籽皮中脂肪含

收稿日期: 2011-12-26

基金项目: 安徽省优秀青年人才基金项目(2010SQRL084ZD)

作者简介: 王顺民(1975—), 男, 副教授, 硕士, 研究方向为农产品加工及功能性食品。E-mail: wangshunmin@126.com

量为5%^[2], 故不需要脱脂处理^[7], 而蛋白质含量超过10.58%^[2], 则需要蛋白酶处理。

1.4.1 淀粉酶水解试验

1.4.1.1 单因素试验

称取5g原料, 以料液比1:15加入蒸馏水后, 调节pH值为6.0, 加入质量分数0.7%的淀粉酶, 50℃水解1h, 测定IDF的得率。固定其他因素, 分别考察料液比(1:10~1:30)、加酶量(0.1%~0.9%)、温度(30~70℃)、时间(40~80min)和pH值(4.5~6.5)对IDF得率的影响。

1.4.1.2 正交优化试验

根据单因素试验结果, 在pH5.5条件下, 选择料液比、酶添加量、水解时间和酶解温度4个因素, 采用L₉(3⁴)进行正交试验优化提取条件。

1.4.2 蛋白酶水解试验

1.4.2.1 单因素试验

称取5g经淀粉酶最优工艺处理后的样品, 以料液比1:10加入蒸馏水, 调pH值为5.5、加酶量为质量分数0.5%, 50℃水解1h, 测定IDF的得率。固定其他条件, 分别考察料液比(1:10~1:30)、加酶量(0.1%~0.9%)、温度(30~70℃)、时间(40~80min)和pH值(5.5~8.5)对IDF得率的影响。

1.4.2.2 正交优化试验

在单因素试验的基础上, 选择料液比、酶添加量、pH值和酶解温度4个因素, 采用L₉(3⁴)进行正交试验, 酶解时间为1h, 优化提取条件。

1.5 指标的测定

水分测定: 按照GB/T 5009.3—2010《食品中水分的测定》中直接干燥法测定; 脂肪测定: 按照GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》中索氏抽提法测定; 膳食纤维测定: 按照GB/T 5009.88—2008《食品中溶性膳食纤维的测定》中不溶性膳食纤维的测定方法测定。

$$\text{得率}/\% = (\text{提取物质量}/\text{原料质量}) \times 100$$

1.6 数据处理

数据为3次实验结果的平均值。

2 结果与分析

2.1 酶水解工艺单因素研究

2.1.1 料液比

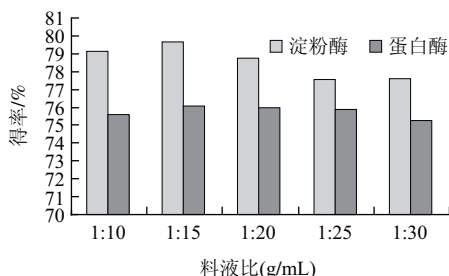


图1 料液比对水不溶性膳食纤维得率的影响

Fig.1 Effect of material/liquid ratio on the yield of IDF from rapeseed shell

由图1可知, 料液比1:15时, 淀粉酶和蛋白酶水解后不溶性膳食纤维得率最高, 分别达79.67%和67.07%, 即料液比为1:15时, 适合提取不溶性膳食纤维。

2.1.2 加酶量

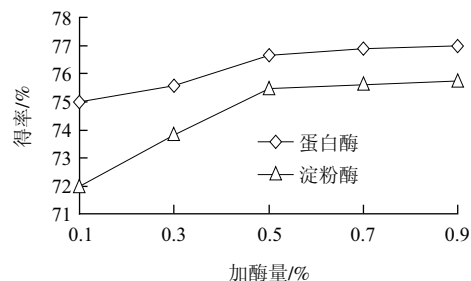


图2 加酶量对得率的影响

Fig.2 Effect of enzyme dosage on the yield of IDF from rapeseed shell

从图2可以看出, 水不溶性膳食纤维得率随着淀粉酶添加量的增加而增加, 加酶量为0.5%时, 得率最大。继续增加酶量, 水不溶性膳食纤维的得率略有增加。蛋白酶变化趋势与淀粉酶相同(图2)。故淀粉酶和蛋白酶的最佳添加量均为0.5%。

2.1.3 温度

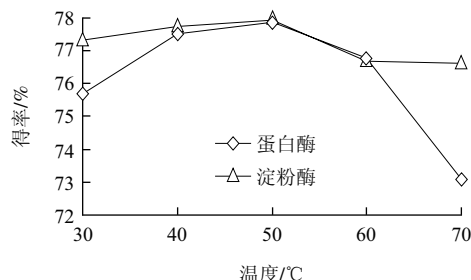


图3 温度对不溶性膳食纤维得率的影响

Fig.3 Effect of temperature on the yield of IDF from rapeseed shell

不溶性膳食纤维得率随着温度的升高而增加, 50℃时得率最大, 继续升高温度, 反而得率急剧下降(图3)。因为当温度达到蛋白质变性温度区域后, 分子运动剧烈, 足以打断酶稳定的二级和三级结构键, 此种变性作用常导致蛋白质聚集而使酶失活, 所以高温使水解急剧下降^[8]。所以50℃为最适酶解温度。

2.1.4 时间

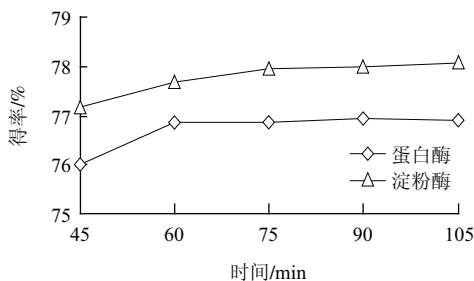


图4 酶解时间对不溶性膳食纤维得率的影响

Fig.4 Effect of time on the yield of IDF from rapeseed shell

由图4可以看出,得率随酶解时间的增加而增加。两种酶分别在水解60、75min后,得率增加趋势均变慢,其原因为随着水解时间的延长,底物浓度显著降低,溶液中水解产物逐渐增大,过高的产物和过低的底物浓度会对水解反应产生抑制作用^[16]。故两种酶最佳水解时间分别为75、60min。

2.1.5 pH值

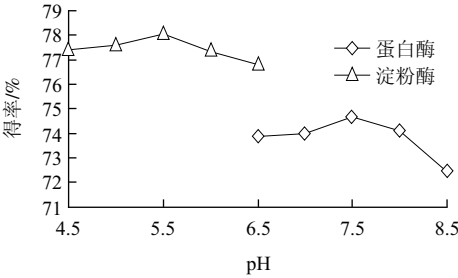


图5 pH值对不溶性膳食纤维得率的影响

Fig.5 Effect of pH on the yield of IDF from rapeseed shell

由图5可见,淀粉酶和蛋白酶的最佳pH值分别为5.5和7.5。当pH值继续增加时,水不溶性膳食纤维得率降低。原因是pH值偏离于酶的最适pH值时,酶活性中心的构象甚至整个酶分子结构发生改变,酶蛋白会变性而导致失活,从而导致原料水解不完全^[17]。且碱性条件,pH值的增大会增强对纤维素与半纤维素氢键的破坏作用,也会致使水不溶性膳食纤维溶解度增大,得率下降^[18]。

2.2 正交试验

2.2.1 淀粉酶水解工艺正交试验

根据表1的结果,经极差分析可知,试验因素主次顺序酶的添加量>料液比>温度>时间。最优组合 $A_3B_3C_2D_1$,即料液比1:20、酶添加量0.7%、时间60min、温度40℃。

表1 淀粉酶提取正交试验设计及结果
Table 1 Orthogonal array design and results for optimization of amylase hydrolysis

试验号	因素				得率/%
	A料液比	B酶添加量/%	C时间/min	D温度/℃	
1	1(1:10)	1(0.3)	1(50)	1(40)	72.23
2	1	2(0.5)	2(60)	2(50)	73.27
3	1	3(0.7)	3(70)	3(60)	72.67
4	2(1:15)	1	2	3	72.00
5	2	2	3	1	74.50
6	2	3	1	2	75.20
7	3(1:20)	1	3	2	73.33
8	3	2	1	3	73.53
9	3	3	2	1	76.80
k_1	72.723	72.520	73.653	74.510	
k_2	73.900	73.767	74.023	73.933	
k_3	74.553	74.890	73.500	72.733	
R	1.830	2.370	0.523	1.777	

表2 方差分析(淀粉酶)

Table 2 Analysis of variance for the yield of IDF from rapeseed shell by amylase hydrolysis

因素	偏差平方和	自由度	F值	显著性
A料液比	5.160	2	11.889	*
B酶添加量	8.433	2	19.431	**
C时间	0.434	2	1.000	
D温度	4.929	2	11.357	*
总和	18.956	8		

注: **.表示在 0.05 水平显著; *.表示在 0.1 水平显著。

由表2方差分析可知,酶的添加量B对得率的影响显著($P<0.05$)。料液比和温度对膳食纤维得率的影响比较显著($P<0.1$),而时间对膳食纤维得率影响较小。

2.2.2 蛋白酶水解工艺正交试验

表3 蛋白酶提取正交试验设计及结果
Table 3 Orthogonal array design and results for optimization of protease hydrolysis

试验号	因素				得率/%
	A料液比	B酶添加量/%	C pH	D温度/℃	
1	1(1:10)	1(0.3)	1(7.0)	1(40)	73.98
2	1	2(0.5)	2(7.5)	2(50)	74.93
3	1	3(0.7)	3(8.0)	3(60)	71.71
4	2(1:15)	1	2	3	70.73
5	2	2	3	1	75.74
6	2	3	1	2	75.88
7	3(1:20)	1	3	2	74.20
8	3	2	1	3	72.01
9	3	3	2	1	76.72
k_1	69.523	68.983	69.913	71.450	
k_2	70.067	70.170	70.173	70.903	
k_3	70.340	70.777	69.843	67.577	
R	0.817	1.794	0.330	3.873	

由表3的结果及极差分析得最优组合 $A_3B_3C_2D_1$,即料液比1:20、酶添加量0.7%、pH7.5、酶解温度40℃。试验因素主次顺序为:温度>酶添加量>料液比>pH值。

表4 方差分析(蛋白酶)

Table 4 Analysis of variance for the yield of IDF from rapeseed shell by amylase hydrolysis

因素	偏差平方和	自由度	F值	显著性
A料液比	0.963	2	10.355	
B酶添加量	5.114	2	54.989	*
C pH	0.093	2	1.000	
D温度	28.591	2	307.430	**
总和	34.761	8		

注: **.表示在 0.01 水平显著; *.表示在 0.05 水平显著。

由表4可知,温度D对膳食纤维得率影响显著($P<0.01$)。酶添加量B对膳食纤维得率的影响比较显著($P<0.05$),而料液比和pH值对膳食纤维得率影响较小。

经测定菜籽皮原料中不溶性膳食纤维含量为49.4%,蛋白质含量为12.9%。分别在最优条件下酶解3次,淀粉

酶酶解后的残渣中不溶性膳食纤维含量为53.27%，蛋白酶酶解后残渣的不溶性膳食纤维含量为71.98%。

3 讨论

冯郁蔺等^[9]采用酸碱结合处理方法提取花生壳不溶性膳食纤维，其提取率为75.8%，本实验结果与之一致。肖连冬等^[10]证实淀粉酶水解能显著降低麦糟IDF的淀粉含量，提高IDF的纯度。吴丽萍等^[11]探讨了淀粉酶和蛋白酶降解法提取花生壳膳食纤维，结果表明：纤维素酶用量0.4%、木瓜蛋白酶用量0.4%、温度50℃，pH6.0条件下酶解2.5h，在此条件下，蛋白质水解率达到70.2%，膳食纤维产率为81.5%。本实验结果略低于该结果，可能两者原料不一样，而且所用酶也不同所致。而陈辉等^[12]以 α -淀粉酶和木瓜蛋白酶提取花生粕不溶性膳食纤维，其提取率达到37.72%。葛邦国等^[13]证实用酶法提取香菇不溶性膳食纤维，淀粉酶最优条件为：pH6.0、温度55℃时，添加香量0.4%的淀粉酶，酶解时间60min；中性蛋白酶最优条件为pH7.0、温度50℃时、添加量0.4%、酶解时间90min，不溶性膳食纤维的提取率达到92.3%。本实验优化后获得的工艺条件与其相似。艾仄宜等^[14]采用经淀粉酶(0.08g/g)在料液比1:20(g/mL)、pH9.0和温度60℃条件下酶解2.0h得到的茶叶残渣再以蛋白酶酶解，得蛋白酶最佳水解条件为酶解温度65℃、酶添加量0.004g/g、pH4.0、酶解时间2h、料液比1:10(g/mL)，提取率达94.12%。潘曼等^[15]采用淀粉酶和蛋白酶处理桃渣提取膳食纤维，得最佳工艺条件为：料液比1:20，先以0.40%的淀粉酶在65℃、pH6.0条件下处理80min，再用0.4%的蛋白酶在50℃、pH3.0条件下处理60min。实验所得膳食纤维膨胀力达7.05mL/g。

4 结论

淀粉酶提取菜籽皮不溶性膳食纤维的最优工艺条件为：pH5.5、料液比1:20、酶添加量0.7%、酶解时间60min、酶解温度40℃，不溶性膳食纤维得率为81.24%。蛋白酶提取菜籽皮不溶性膳食纤维的最优工艺条件为：料液比1:20、酶的添加量0.7%、pH7.5、酶解温度40℃、酶解时间60min，不溶性膳食纤维得率为77.13%。

参考文献：

- [1] 周小理, 钱韻芳, 周一鸣. 酶法处理对苦荞麸皮膳食纤维物性的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(3): 36-39.
- [2] 刘运荣, 胡健华, 黎丽. 油菜籽皮中各成分含量的测定[J]. 中国油脂, 2006, 31(9): 64-65.
- [3] 李加兴, 梁先长, 黄诚, 等. 响应面法优化火棘水不溶性膳食纤维提取工艺[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 118-123.
- [4] 王文侠, 宋春丽, 张晓静, 等. 复合纤维素酶法制备玉米水溶性膳食纤维[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(3): 122-125.
- [5] 祝美云, 张庭静, 魏书信, 等. 超声萃取玉米皮中水溶性膳食纤维工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 30(1): 87-90.
- [6] 温志英, 杨丽钦. 花生壳水溶性膳食纤维微波辅助提取工艺及其性质研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(4): 99-103.
- [7] 阴文姬, 黄承钰. 不同种类食物中膳食纤维的测定[J]. 卫生研究, 2004, 33(3): 331-333.
- [8] 刘达玉, 左勇. 酶解法提取薯渣膳食纤维的研究[J]. 食品工业科技, 2005, 26(5): 90-92.
- [9] 冯郁蔺, 贾花芹, 郑战伟, 等. 花生壳中水不溶性膳食纤维的响应面法优化提取[J]. 中国油脂, 2011, 36(5): 71-73.
- [10] 肖连冬, 李慧星, 臧晋, 等. RSM法研究麦糟不溶性膳食纤维的淀粉酶水解工艺[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(11): 98-101.
- [11] 吴丽萍, 陈雪峰. 酶法提取花生壳膳食纤维及其性能研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(1): 194-196.
- [12] 陈辉, 何俊萍, 何义, 等. 酶法提取花生粕不溶性膳食纤维的研究[J]. 食品工业, 2011(1): 66-68.
- [13] 葛邦国, 吴茂玉, 马超, 等. 酶解法提取香菇水不溶性膳食纤维技术研究[J]. 食用菌, 2010, 32(3): 64-66.
- [14] 艾仄宜, 张洁, 杨晓萍, 等. 茶叶非水溶性膳食纤维的提取及其理化特性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(8): 121-124.
- [15] 潘曼, 钟海雁, 李忠海, 等. 酶法制备猕猴桃渣膳食纤维工艺研究[J]. 经济林研究, 2009, 27(1): 29-33.