

响应面法优化低聚果糖液脱色工艺

万 成, 聂少平, 张媛媛, 谢明勇*

(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 以粉末活性炭对酶法生产的低聚果糖溶液进行吸附脱色, 研究活性炭的用量、脱色温度及脱色时间对脱色效果的影响。在单因素试验的基础上, 利用响应曲面法对低聚果糖溶液脱色进行优化。得到最佳工艺条件为活性炭的用量 22 g/L、脱色温度 60℃、脱色时间 30 min, 在此条件下低聚果糖溶液的脱色率达 79.16%。

关键词: 低聚果糖溶液; 活性炭; 脱色; 响应面法

Application of Response Surface Methodology for Optimizing Decolorization of Enzymatically Prepared Fructooligosaccharides

WAN Cheng, NIE Shao-ping, ZHANG Yuan-yuan, XIE Ming-yong*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Activated carbon powder was used for the adsorptive decolorization of the enzymatically prepared fructooligosaccharide solution in our laboratory, and the effects of the dosage of activated carbon as well as decolorization temperature and time on decolorization rate and fructooligosaccharide loss rate were studied. On the basis of single factor experiments, response surface methodology was employed to optimize the above three conditions. Their optimal levels were found to be: 22 g/L activated carbon dosage used for 30 min decolorization at 60 °C. Under these conditions, the rate of decolorization of fructooligosaccharides solution was 79.16%.

Key words: fructooligosaccharide solution; activated carbon; decolorization; response surface methodology

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)02-0009-04

低聚果糖(fructooligosaccharides, FOS)又称蔗果低聚糖、寡果糖或蔗果三糖族低聚糖, 分子式为 $G-F-F_n$ ($n=1,2,3$), 它是由蔗糖和 1~3 个果糖基结合而成的蔗果三糖(GF₂)、蔗果四糖(GF₃)和蔗果五糖(GF₄)及其混合物的总称^[1]。近年研究发现, 低聚果糖具有良好的生理功能^[2]: 不易被消化, 防止产生龋齿和促进减肥; 可激活和增殖人体肠道中的双歧杆菌, 纠正肠内菌群失调; 除此之外还具有降低血脂和胆固醇, 提高免疫力等重要功能^[3-6]。低聚果糖在中国已经被国家食品药品监督管理局批准为保健食品。

采用微生物酶法生产的低聚果糖发酵液较黏稠, 颜色较深, 影响了制备的低聚果糖液的品质, 也不利于低聚果糖的检测和应用, 因此对低聚果糖液进行脱色处理是制备高含量低聚果糖工艺中的关键环节。对酶法生产低聚果糖的生产已有不少人做过探讨, 但对其脱色工

艺鲜有报道。活性炭因具有优良的物理、化学稳定性和吸附性, 在工业生产中成为最常用的脱色剂^[7-8], 本实验采用活性炭吸附法对酶法生产低聚果糖液脱色工艺进行研究, 以期探索一种有工业应用价值的脱色工艺条件^[9]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

活性炭(粉状炭, 比表面积 590~1500 m²/g, 总空容积 0.7~1 cm³/g) 广东汕头市西陇化工厂; 低聚果糖液本实验室酶法生产。

1.2 仪器与设备

ELSD-UM 3000蒸发光散射检测器 上海通微科技有限公司; TU-1900 双光束紫外分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; DSHZ-300 多用途恒温振荡器 江苏太仓市实验设备厂。

收稿日期: 2010-08-19

基金项目: 教育部“长江学者和创新团队发展计划”项目(IRT0540);

食品科学与技术国家重点实验室目标导向资助项目(SKLF-MB-200806)

作者简介: 万成(1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为营养保健与功能食品。E-mail: wanchengvip@sina.com

* 通信作者: 谢明勇(1957—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品化学、食品营养与安全及天然产物分离与应用。

E-mail: myxie@ncu.edu.cn

1.3 活性炭的预处理工艺流程

粉炭→1mol/L HCl 溶液→热去离子水→滤干→干燥(120℃, 干燥 8.0h)→冷却至室温备用^[10-11]

1.4 分析方法

1.4.1 脱色率的测定

溶液颜色采用分光光度法进行测定, 在 420nm 波长处测定样品脱色前后的吸光度。

$$\text{脱色率} / \% = \frac{\text{脱色前的吸光度} - \text{脱色后的吸光度}}{\text{脱色前的吸光度}} \times 100$$

1.4.2 低聚果糖损失率

低聚果糖含量的测定采用蒸发光散射检测器法进行, 具体方法参见文献[12]。

$$\text{低聚果糖损失率} / \% = \frac{\text{处理前低聚果糖含量} - \text{处理后低聚果糖含量}}{\text{处理前低聚果糖含量}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 活性炭用量对脱色效果的影响

称取已处理的活性炭, 按添加量 5、10、15、20、25、30g/L 的比例加入到 100mL 低聚果糖溶液中, 40℃ 水浴恒温振荡 30min 后, 离心过滤, 分别测吸光度和低聚果糖含量, 计算料液的脱色率和低聚果糖损失率, 结果见图 1。

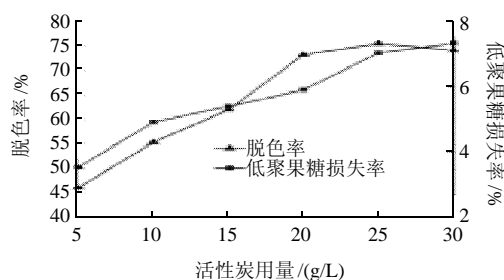


图 1 活性炭用量对脱色率、低聚果糖损失率的影响

Fig.1 Effect of activated carbon dosage on decolorization rate and fructooligosaccharide loss rate

由图 1 可知, 随着活性炭用量的增加脱色效果增强, 由于在脱色过程中活性炭也会吸附一部分低聚果糖, 当活性炭用量过大时, 低聚果糖的损失也会增大, 如当活性炭添加量为 20g/L 时, 脱色率为 73.31%, 低聚果糖损失率为 5.91%, 活性炭添加量 25g/L 时, 脱色率为 75.56%, 但低聚果糖的损失率达到了 7.05%, 故活性炭用量为 20g/L 时, 脱色效果较佳。

2.2 脱色温度对脱色效果的影响

称取已处理的活性炭, 按添加量 20g/L 加入到 100mL

低聚果糖溶液中, 分别在 30、40、50、60、70、80℃ 中水浴恒温振荡 30min, 离心过滤, 分别测定吸光度和低聚果糖含量, 计算料液的脱色率和低聚果糖损失率, 结果见图 2。

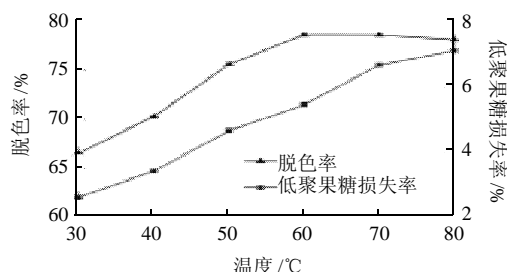


图 2 脱色温度对脱色率、低聚果糖损失率的影响

Fig.2 Effect of decolorization temperature on decolorization rate and fructooligosaccharide loss rate

由图 2 可知, 随着温度的升高活性炭的脱色效果逐渐增强, 在 60℃ 处开始缓慢下降。因此, 脱色温度为 60℃ 时, 脱色效果较佳。在 60℃ 时脱色率为 78.64%, 低聚果糖的损失率为 5.46%。

2.3 脱色时间对脱色效果的影响

称取已处理的活性炭, 按添加量 20g/L 加入到 100mL 低聚果糖溶液中, 40℃ 中恒温振荡 10、20、30、40、50、60min, 离心过滤, 分别测定吸光度和低聚果糖含量, 计算料液的脱色率和低聚果糖损失率, 结果见图 3。

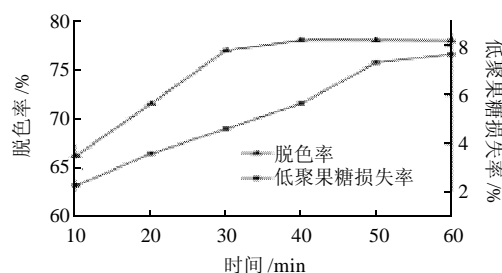


图 3 脱色时间对脱色率、低聚果糖损失率的影响

Fig.3 Effect of decolorization time on decolorization rate and fructooligosaccharide loss rate

由图 3 可知, 随着脱色时间的延长, 脱色率逐渐增加, 但脱色时间达到 30min 后脱色率提高不多, 但低聚果糖的损失率较大, 综合考虑选择脱色时间 30min 为宜。

2.4 响应面试验设计

在单因素试验基础上, 根据 Box-Behnken 的中心组合设计原理, 选取 3 个主要因素活性炭用量、温度、时间为自变量, 分别用 X_1 、 X_2 、 X_3 来表示, 每一个自变量的低、中、高试验水平分别以 -1、0、1 进行编码^[13], 在选定的条件下低聚果糖的损失率十分接近,

故以低聚果糖溶液的脱色率为响应值, 试验因素与水平设计见表1。

表1 响应面试验因素水平编码表

Table 1 Variables and levels in three-variable, three-level response surface design

因素	代码	水平		
		-1	0	1
活性炭用量/(g/L)	X_1	15	20	25
温度/℃	X_2	55	60	65
时间/min	X_3	25	30	35

2.4.1 响应面试验结果

Box-Behnken 的三因素三水平试验结果见表2, 共15个试验点。其中试验号1~12是析因试验, 试验号13~15是中心试验、这15个试验点可分为析因点和零点, 其中析因点为自变量取值在 X_1 、 X_2 、 X_3 所构成的三维顶点; 零点为区域的中心点, 零点试验重复3次, 用以估计试验误差。

表2 响应面分析试验结果

Table 2 Three-variable, three-level response surface design arrangement and corresponding experimental results

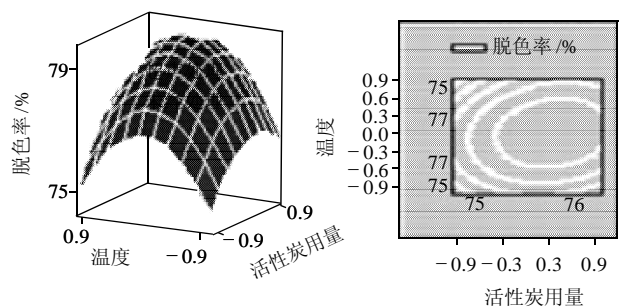
试验号	编码水平			脱色率/%
	X_1	X_2	X_3	
1	-1	-1	0	74.65
2	-1	1	0	73.68
3	1	-1	0	76.35
4	1	1	0	77.62
5	0	-1	0	76.68
6	0	-1	1	76.32
7	0	1	-1	76.81
8	0	1	1	77.34
9	-1	0	-1	77.42
10	1	0	-1	78.21
11	-1	0	1	77.12
12	1	0	1	78.65
13	0	0	0	79.78
14	0	0	0	79.62
15	0	0	0	79.65

2.4.2 模型的建立

利用 SAS 软件对表2数据进行多元回归拟合^[14], 自变量对响应值的影响可用回归方程表示为:

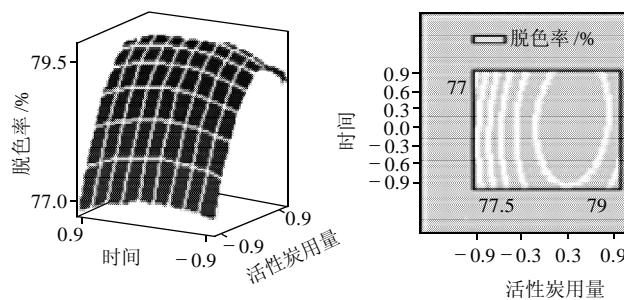
$$Y = 79.68333 + 0.995X_1 + 0.18125X_2 + 0.03875X_3 - 1.522917X_1X_1 + 0.56X_1X_2 + 0.185X_1X_3 - 2.585417X_2X_2 + 0.2225X_2X_3 - 0.310417X_3X_3$$

根据回归方程做出响应面图及等高线图, 见图4, Y_1 为低聚果糖溶液脱色率, 从图中可以直观看出各因子对响应值的影响变化趋势, 而且回归模型存在最大值。



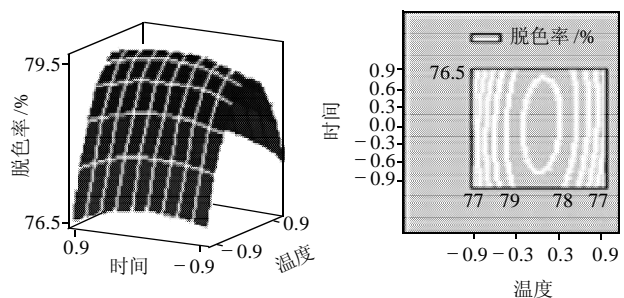
固定水平: 时间=0。

A. 活性炭用量、温度



固定水平: 温度=0。

B. 活性炭用量、时间



固定水平: 活性炭用量=0。

C. 温度、时间

图4 响应面法分析图和等高线图

Fig.4 Response surface and counter plots showing the effects of activated carbon dosage, decolorization temperature and time on decolorization rate

表3 回归方程偏回归系数的估计值

Table 3 Estimate values of partial regression coefficients of developed regression equation for decolorization rate

参数	自由度	参数估计	P 值
X_1	1	0.995	0.003561**
X_2	1	0.18125	0.389714
X_3	1	0.03875	0.84842
X_1^2	1	-1.522917	0.003005**
X_1X_2	1	0.56	0.094827
X_1X_3	1	0.185	0.527024
X_2^2	1	-2.585417	0.000265**
X_2X_3	1	0.2225	0.450991
X_3^2	1	-0.310417	0.323297
模型误差平方根		0.544553	
决定系数 R^2		96.51%	

注: *.显著($P \leq 0.05$); **.极显著($P \leq 0.01$)。下同。

表4 回归方程方差分析表

Table 4 Variance analysis of developed regression equation for decolorization rate

回归项	自由度	F 值	P 值
一次项	3	8.195025	0.0177*
平方项	3	31.1932292	0.0009**
交互项	3	1.589325	0.2661
总回归	9	40.977642	0.0039**

从表3、4得知,用上述回归方程描述各因子与响应值之间的关系时,其自变量和因变量之间的关系是显著的,决定系数为96.51%,说明回归方程的拟合程度很好,不存在模型拟合不足的现象,因此该响应面能够真实地反映实验结果。

2.4.3 确定最优值

为确定各因素的最佳取值,可以利用SAS软件进行岭脊分析^[15],通过岭脊分析后,得出回归模型存在最大值点, Y 的最大估计值为79.87%,稳定点(X_1 , X_2 , X_3)的代码值为(0.353697, 0.081841, 0.197144)。与之对应的实际值为活性炭用量(X_1)=21.76849g/L、温度(X_2)=60.451397℃、时间(X_3)=30.658580min,此时低聚果糖溶液脱色率最大估计值 Y =79.87%。为实际操作方便,选取活性炭用量(X_1)=22g/L、温度(X_2)=60℃、时间(X_3)=30min。

2.4.4 方法重现性实验^[16]

在响应面优化得到的最佳条件下共进行3次平行实验,结果见表5。实验结果表明,实际低聚果糖溶液脱色率为79.16%与预测值79.87%是非常接近的,此时低聚果糖损失率为5.34%。

表5 本方法的验证实验结果

Table 5 Results of verification of optimized decolorization conditions

实验号	脱色率/%	平均脱色率/%	RSD/%
1	79.52	79.16	0.99
2	78.26		
3	79.69		

3 结 论

在单因素试验基础上,运用响应面分析法对低聚果糖溶液脱色工艺进行优化。得到最佳工艺条件为活性炭用量22g/L、脱色温度60℃、脱色时间30min,在此条

件下低聚果糖溶液的脱色率达到79.16%,经验证实验,RSD值为0.99%,说明该方法稳定、可行。

参考文献:

- [1] 江波,王璋.低聚果糖:一种具有优越生理学特性的新型食品甜味剂[J].无锡轻工大学学报,1995,14(2):183-186.
- [2] 张伟.低聚果糖及其制备的研究进展[J].生物学杂志,2000(1):8-9.
- [3] YUN J W. Fructooligosaccharides: Occurrence, preparation and application[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1996, 19(2):107-117.
- [4] CAMPBELL J M, FAHEY G C, WOLF B W. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats[J]. Journal of Nutrition, 1997, 127(1): 130-136.
- [5] CRITTENDEN R G, PLAYNE M J. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides[J]. Trends in Food Science and Technology, 1996, 7(11): 353-361.
- [6] GIBSON G R, ROBERFROID M B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics[J]. Journal of Nutrition, 1995, 125(6): 1401-1412.
- [7] ROBERFROID M. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological-effects[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1993, 33(2): 103-148.
- [8] DAVID J S, FRED J E, DEBRA E P, et al. Improved methods for decolorizing corn zein[J]. Industrial Crops and Products, 2003, 18: 55-65.
- [9] 高健,李沛,邵荣,等.菊芋菊糖活性炭脱色的工艺条件[J].过程工程学报,2009,9(1):143-147.
- [10] 徐勇,余世袁,勇强,等.活性炭对低聚木糖的脱色[J].南京林业大学学报:自然科学版,2003(2):7-10.
- [11] 丁胜华,欧仕益.活性炭和大孔离子树脂对低聚木糖超滤液的脱色效果研究[C].“亚运食品安全与广东食品产业创新发展”学术研讨会暨2009年广东省食品学会年会论文集,2009.
- [12] 张媛媛,聂少平,万成.高效液相色谱-蒸发光散射检测法同时测定单糖、双糖及低聚果糖[J].食品科学,2009,30(18):237-239.
- [13] 张彬,谢明勇,殷军艺,等.响应面分析法优化超声提取茶多糖工艺的研究[J].食品科学,2008,29(9):234-238.
- [14] VASCONCELOS A F D, BARBOSA A M, DEKKER R F H, et al. Optimization of laccase production by *Botryosphaeria* sp in the presence of veratryl alcohol by the response-surface method[J]. Process Biochemistry, 2000, 35(10): 1131-1138.
- [15] SHIEH C J, LIAO H F, LEE C C. Optimization of lipase-catalyzed biodiesel by response surface methodology[J]. Bioresource technology, 2003, 88(2): 103-106.
- [16] VICENTE G, COTERON A, MARTINEZ M, et al. Application of the factorial design of experiments and response surface methodology to optimize biodiesel production[J]. Industrial Crops and Products, 1998, 8(1): 29-35.