

酶水解制备山药皮可溶性膳食纤维及性能测定

曲玲玉¹, 李大为¹, 张鹏¹, 朱运平^{1,2,3}, 李秀婷^{1,2,3}, 滕超^{1,2,3*}

¹北京工商大学食品学院; ²京工商大学食品质量与安全北京实验室;

³北京工商大学北京市食品添加剂工程技术研究中心, 北京 100048

摘要:本研究以山药皮为原料研究纤维素酶法制备可溶性膳食纤维工艺条件, 研究考察了料液比、加酶量、提取时间、提取温度、醇沉时间等因素, 确定最佳工艺条件为: 料液比 1:30、酶添加量 4 U/mL、提取时间 2 h、提取温度 50 °C, 醇沉时间 4 h。通过响应面法对工艺条件进一步优化, 确定料液比 1:35, 酶添加量 5 U/mL, 温度 48 °C 时, SDF 制备率最高达 22.87%, 较初始 SDF 含量 7.96% 提高近 3 倍。同时对制备的 SDF 性能进行测定, 其持水性可达到 10.74 g/g, 溶胀力为 6.45 mL/g, 具备了一定的工业应用潜力。

关键词: 山药皮; 水溶性膳食纤维; 酶水解; 响应面分析

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.03.026

Preparation and Analysis of Soluble Dietary Fiber from the Peel of *Rhizoma Dioscoreae* by Enzymatic Method

QU Ling-yu¹, LI Da-wei¹, ZHANG Peng¹, ZHU Yun-ping^{1,2,3}, LI Xiu-ting^{1,2,3}, TENG Chao^{1,2,3*}

¹Beijing Laboratory of Food Quality and Safety, Beijing Technology & Business University; ²Food quality and safety Lab, Beijing Technology & Business University; ³Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, Beijing Technology & Business University, Beijing 100048, China

Abstract: Preparation of soluble dietary fiber (SDF) from the peel of *Rhizoma Dioscoreae* by cellulase hydrolysis was studied. In order to optimize conditions, conventional single factor method was designed and the outcomes were as follows: solid/liquid ratio of 1:30, the dosage of cellulase of 4 U/mL, extraction time of 2 h, extraction temperature of 50 °C and alcohol precipitation time of 4 h, respectively. For further enhance the amount of soluble fiber, response surface analysis method was carried out. The conditions were further optimized as: solid/liquid ratio of 1:35, the dosage of cellulase of 5 U/mL, extraction temperature of 48 °C. Under these conditions, the yield of SDF was 22.87%, which was 3 times of the initial yield of 7.96%. In addition, the properties of the resulting SDF were also investigated. The water holding capacity and swelling capacity were 10.74 g/g and 6.45 mL/g, respectively.

Key words: peel of *Rhizoma Dioscoreae*; soluble dietary fiber; enzymatic hydrolysis; response surface methodology

膳食纤维(dietary fiber, 简称 DF)是指不易被人体消化吸收且结构复杂的多糖类天然大分子物质的总称^[1]。因其不易被胃与小肠消化吸收且对人体具有许多特殊的功效, 因此被人们称为“第七营养素”^[2]。膳食纤维根据溶解性的差异可分为水溶性膳食纤维(SDF)和水不溶性膳食纤维(IDF)。其中的水溶性膳食纤维因含有的大量亲水基团和侧链基团, 除具有显著生理功能外, 还可以提高食品的持水性、保形性, 以及冷冻等稳定性, 常作为营养添加剂、

食品改良剂等广泛应用于生产主食馒头、面包以及制糖业和饮料制作中^[3]。

山药是一种药食兼用的蔬菜, 因其具有降血糖、健脾益胃、助消化等功效而深受消费者青睐。目前, 我国河南、山东、四川等地区山药的种植面积及年加工量逐年递增。全国年产约 1.2 万吨, 出口约 1200 吨, 但山药含水量高, 季节性强, 不便长期贮藏和运输, 因而山药大部分被加工成山药粉、山药干、山药饮料等制品。而鲜山药在加工过程中一般都需要去皮, 刮去的皮屑约占 20% 左右, 其中仅少量作为饲料添加成份廉价出售, 其余大部分作为废料丢弃, 不但污染环境, 而且是对资源的极大浪费^[4]。

已有研究表明, 山药皮含有大量多糖类、黄酮

收稿日期: 2014-11-13 接受日期: 2014-12-03

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(31201449); 国家自然科学基金(31371723); 北京市属高等学校创新团队建设与教师职业发展计划(IDH120130506)

* 通讯作者 Tel: 86-013811497538; E-mail: tc2076paper@163.com

类、皂苷类和多酚类等活性物质^[5]。本研究针对山药皮粉末中水溶性膳食纤维的提取方法的优化,开展了一系列的研究,为扩大膳食纤维来源、开发山药合理利用渠道提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

怀山药:购于河南焦作。纤维素酶:适用温度35~65℃,最适pH值5.6~6.4,北京奥博星生物技术责任公司;三氯乙酸、磷酸氢二钠、乳酸、无水亚硫酸钠、羧甲基纤维素钠、葡萄糖、纤维素酶等均为国产分析纯。

FZ102型植物式样粉碎机,天津泰斯特仪器有限公司;TDA电热恒温水浴锅,北京市长风仪器仪表公司;WF J7200型可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司;RE-52CS旋转蒸发器,上海荣华仪器厂;SHY-2水浴恒温振荡器,江苏金坛市金城国胜实验仪器厂;DHG-9246电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;PHS-3D pH计,Thermo公司等。

1.2 样品前处理

山药洗净,削皮(厚度参照正常山药加工,约1~2 mm左右)置于60℃烘箱中烘干,用粉碎机粉碎,过40目筛备用^[6,7]。

1.3 水溶性膳食纤维(SDF)的测定方法

称取5 g山药皮粉末于锥形瓶中,按一定料液比混匀并调节pH值至6,加入适量纤维素酶,置于恒温水浴锅中边搅拌边进行水解,反应完毕后灭酶处理;过滤,用一倍体积去离子水水洗,取5 mL上清液,加4倍体积的95%的乙醇溶液混匀,静置过夜,5000 rpm离心20 min,取沉淀干燥至恒重即为天然水溶性膳食纤维。

$$SDF(\%) = \frac{M \times V}{5 \times 5} \times 100\%$$

式中,M:沉淀的质量;V:滤液体积。

1.4 酶解法制备山药皮水溶性膳食纤维

1.4.1 料液比对SDF得率的影响

纤维素酶加酶量为2 U/mL,提取温度50℃,水解时间2 h,pH=6.0,醇沉时间4 h,考察料液比分别为1:15、1:20、1:25、1:30、1:35时对山药皮粉末中SDF得率的影响。

1.4.2 水解时间对SDF得率的影响

纤维素酶加酶量为2 U/mL,提取温度50℃,

pH=6.0,醇沉时间4 h,料液比1:30,考察水解时间分别为1、1.5、2、2.5、3 h时,对山药皮粉末中SDF得率的影响。

1.4.3 醇沉时间对SDF得率的影响

纤维素酶加酶量为2 U/mL,提取温度50℃,水解时间2 h,pH=6.0,料液比1:30,考察醇沉时间分别为2、4、6、8、10 h时,对山药皮粉末中SDF提取率的影响。

1.4.4 提取温度对SDF得率的影响

纤维素酶加酶量为2 U/mL,pH=6.0,醇沉时间4 h,料液比1:30,水解时间2 h,醇沉时间4 h,考察提取温度分别为40、45、50、55、60℃时,对山药皮粉末中SDF得率的影响。

1.4.5 酶添加量对SDF得率的影响

pH=6.0,醇沉时间4 h,料液比1:30,水解时间2 h,提取温度50℃,考察纤维素酶添加量为1.0 U/mL、2.0 U/mL、3.0 U/mL、4.0 U/mL、5.0 U/mL时,对山药皮粉末中SDF得率的影响。

1.5 酶解法制备山药皮水溶性膳食纤维的响应面优化

根据单因素试验结果,确定料液比(A)、纤维素酶用量(B)、醇沉时间(C)3因素为自变量,以山药皮粉末SDF得率为响应值,对膳食纤维的提取条件做进一步优化。利用Design-Expert 8.05b分析软件,采用Box-Behnken设计,进行三因素三水平的响应面分析试验,各因子的水平设置及编码值见表1。

表1 响应面分析因素及水平表

水平 Factor	料液比(A) Solid-liquid ratio	酶用量(B) Cellulose addition (U/mL)	温度(C) Temperature (℃)
1	1:14	25	40
2	1:16	30	50
3	1:18	35	55

1.6 纤维素酶法制备可溶性膳食纤维性质测定

1.6.1 SDF持水力测定

取一定质量提取的水溶性膳食纤维于50 mL离心管中,加入30 mL去离子水室温充分震荡30 min,3000 rpm离心10 min,弃去上清液,称其质量。

$$\text{持水力}(\text{g/g}) = (\text{湿质量} - \text{干质量}) / \text{干质量}$$

1.6.2 SDF膨胀力测定

取一定量提取的膳食纤维于20 mL量筒中,测定体积后,加入10 mL去离子,室温放置24 h,测其

体积^[6]。

溶胀力(mL/g) = (浸泡后体积-干品体积)/干质量

2 结果与分析

2.1 酶解法制备 SDF 单因素试验

2.1.1 料液比对 SDF 得率的影响

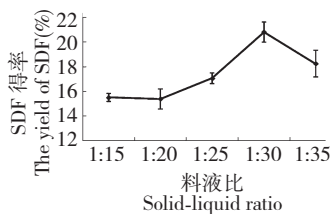


图1 料液比对 SDF 得率影响

Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on yield of SDF

由图1可看出,料液比对 SDF 得率影响较明显。当料液比为 1:15 时,SDF 得率仅为 15.51%,当料液比介于 1:20 至 1:30 时,SDF 得率上升较快,最高值为 20.81%,较原材料中 SDF 含量 7.96% 相比,提高了 2.5 倍左右。当料液比超过 1:30 时,山药皮 SDF 得率略有下降。分析原因可能是由于水量少时,山药皮粉末浓度较大,液体流动性差,酶与底物难以充分结合,影响底物的水解效率,SDF 不能充分分散于溶液中,底物大部分没有被水解;当料液比为 1:30 时,水量适宜,底物充分溶解,酶与底物作用充分,SDF 得率最高;当继续增大水量后,由于水分相对增加,稀释了酶的浓度,影响了酶的作用效率,同时增大了后续浓缩滤液的难度,增加能耗和成本,因此综合考虑,确定 1:30 为最佳料液比。

2.1.2 酶解时间对 SDF 得率的影响

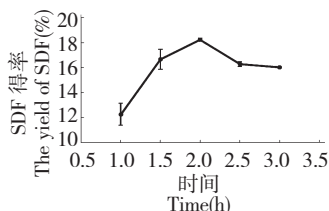


图2 酶解时间对 SDF 得率影响

Fig. 2 Effects of hydrolysis time on yield of SDF

由图2可以看出,提取时间对 SDF 得率影响较显著。在反应初期,随着提取时间的增加山药皮粉末中 SDF 得率逐渐增大,当提取时间为 1 h 时,SDF 得率较低,仅为 12.26%,当提取时间为 2 h 时,SDF 得率为 18.24%;当提取时间超过 2 h 时,山药皮

SDF 得率略有下降,说明继续增加提取时间不能增加其得率。这种现象可能是在水解反应初期,底物中有大量不溶性多糖,水解酶主要使不溶性的纤维素分子间糖苷键断裂,降解生成可溶性多糖^[8];随着反应时间增加,生成的中间产物 SDF 浓度逐渐增大,分子降解充分,所以在反应初期表现为 SDF 得率增加。当反应进行到一定时间,SDF 同时被进一步水解,大分子降解生成的小分子低聚糖和单糖增加,不溶性多糖浓度降低,更多的酶作用于 SDF,所以后期 SDF 得率有所下降。水解反应进行到 2.5h 时,大量 SDF 被降解,其生成速度小于被降解的速度,且小分子糖不能被乙醇沉淀,导致 SDF 得率下降。因此综合考虑,确定 2h 为最佳提取时间。

2.1.3 醇沉时间对 SDF 得率的影响

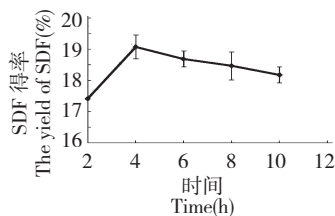


图3 醇沉时间对 SDF 得率的影响

Fig. 3 Effects of alcohol precipitation time on yield of SDF

由图3可知,醇沉 4 h 时,SDF 的得率达到最大值;当醇沉时间小于 4 h 时,SDF 得率呈上升趋势;当醇沉时间大于 4 h 时,随着时间的增加,SDF 得率不断地下降。分析其原因,结合图2 酶解时间来看,在 4 h 之前,SDF 酶解产量逐渐增加,因而 SDF 的析出量不断增加,而在 4 h 之后,乙醇挥发,乙醇浓度下降,SDF 又回溶于乙醇溶液中,同时 SDF 被酶解成小分子糖类,结构被破坏,析出量逐渐减少,综合考虑选取 4 h 为最佳醇沉时间。

2.1.4 提取温度对 SDF 得率的影响

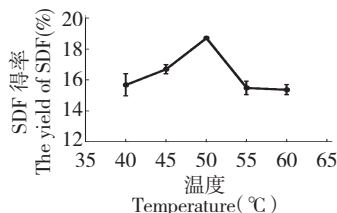


图4 温度对 SDF 得率的影响

Fig. 4 Effects of temperature on yield of SDF

由于本试验为酶解法制备 SDF,因此体系温度主要通过影响酶解效率进而影响 SDF 制备得率^[9]。

由图 4 可知,温度从 40 ℃ 升至 50 ℃,SDF 得率逐渐增加,说明纤维素酶的酶解效率逐渐提高,在 50 ℃ 时得率达到最高,当提取温度高于 50 ℃ 时,SDF 提取率随着温度的升高而降低。这是由于可溶性膳食纤维主要成分为天然果胶和 β -葡聚糖,提取温度过高,会使其本身分子结构受到破坏,多数研究表明纤维素酶作用底物的最适温度在 45 ~ 65 ℃ 之间^[10,11],因而温度的升高可能也会对纤维素酶的作用活性起到一定的抑制作用,因而选取 50 ℃ 作为最适反应温度。

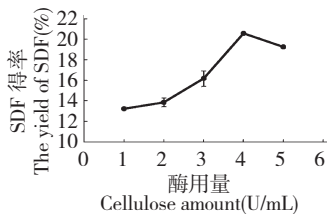


图 5 酶用量对 SDF 得率的影响

Fig. 5 Effects of cellulose amount on yield of SDF

2.1.5 酶添加量对 SDF 得率的影响

由图 5 可以看出,当酶用量为 1 U/mL 时,SDF 得率仅为 13.22%;当酶用量介于 2 U/mL 至 4 U/

mL 时,山药皮粉末 SDF 得率逐渐升高,当酶用量为 4 U/mL 时 SDF 得率达到最大,为 20.56%。当继续增加酶用量,SDF 得率略有下降,其趋势与邓红波^[12]研究的玉米秸秆的研究结果类似,纤维素水解酶可以破坏样品中不溶性膳食纤维分子间氢键从而切断分子链,使其发生降解,进而使溶解度发生改变。当酶用量较小时,底物浓度较大,添加的酶量不能充分作用于底物,SDF 得率较低;随着纤维素酶添加量的增加,酶与底物能够充分结合,并发生酶解作用,使 SDF 得率迅速升高;继续增加酶用量时,纤维素酶过量而继续水解 SDF,此时 SDF 的生成速度小于被降解的速度而得率逐渐下降。因此综合考虑,确定 4 U/mL 为最佳酶用量。

2.2 响应面法优化膳食纤维的实验设计

本文采用 Box-Behnken 设计实验,结合响应面分析方法,以料液比、酶用量、温度三因素为变量,以 SDF 得率为响应值,对膳食纤维的提取条件进行优化。采用 Box-Behnken 设计,以单因素优化中获得的最佳值为中心点,以 A/料液比 1:30, B/酶用量 4 U/g, C/温度 50 ℃ 为三因素,以 SDF 得率 Y 为响应值,Box-Behnken 试验的设计表及实验结果见表 2,二次回归分析的结果见表 3。

表 2 Box-Behnken 设计及其结果

Table 2 Experimental design and results of the Box-Behnken design

试验号 Factor	A 料液比 Solid-liquid ratio	B 酶用量 Cellulose amount (U/mL)	C 温度 Temperature (°C)	Y 得率 Yield (%)
1	30	5	55	12.29
2	30	4	50	13.44
3	35	3	50	13.63
4	35	4	55	10.80
5	25	3	50	21.12
6	30	3	45	8.02
7	25	4	45	7.42
8	30	5	45	13.82
9	35	5	50	18.33
10	25	4	55	10.50
11	25	5	50	20.24
12	30	4	50	19.46
13	35	4	45	21.89
14	30	4	50	20.90
15	30	4	50	22.30
16	30	3	55	9.92
17	30	4	50	23.39

表3 Box-Benhnken 设计回归分析结果
Table 3 Regression analysis results of Box-Benhnken design

来源 Factor	平方和 Quadratic sum	自由度 Variance	均方 Mean square	F 值 Fvalue	P > F 值 P > F value	显著性 Significance
模型 Model	330.6	9	36.73	1.77	0.2313	不显著
A(料液比) Solid-liquid ratio	3.6	1	3.6	0.17	0.6891	
B(酶用量) Cellulose amount	17.97	1	17.97	0.87	0.3827	
C(提取时间) Time	7.3	1	7.3	0.35	0.5716	
AB	7.78	1	7.78	0.38	0.5593	
AC	50.2	1	50.2	2.42	0.1635	
BC	2.94	1	2.94	0.14	0.7175	
A ²	5.46E-03	1	5.46E-03	2.63E-04	0.9875	
B ²	10.83	1	10.83	0.52	0.4931	
C ²	223.24	1	223.24	10.77	0.0134	
残差 Residual	145.03	7	20.72			
失拟项 Lack of fit	84.17	3	28.06	1.84	0.2796	不显著
净误差 Net error	60.87	4	15.22			
总离差 Total deviation	475.63	16				

经过 SAS V8.0 对以上数据进行处理,得到一个二次回归方程,方程如下:

$$\text{得率} = 10.9 + 0.67 \times A + 1.5 \times B - 0.95 \times C + 1.39 \times AB - 3.54 \times AC - 0.86 \times BC + 0.036 \times BC + 0.036 \times A^2 - 1.6 \times B^2 - 7.28 \times C^2$$

式中:响应值 Y 为 SDF 得率(%), A、B、C 分别为料液比、酶用量、温度。从方差分析结果(表3)中可以看出:模型的 P 值为 0.2313,表明模型不显著;以下二次项对结果的影响并不十分显著:BC (p = 0.7175), AB (p = 0.5593), AC (p = 0.1635), 且 B² (p = 0.4931)、C² (p = 0.0134) 对结果显著性影响较高,加之失拟项不显著,这说明了该模型相对复杂,并不是简单的线性关系。

可以用该模型代替真实试验点进行膳食纤维提取条件最优值的简单预测。用 F-检验考察各因子对响应值的影响,及各因子之间的相互影响。

2.3 Box-Benhnken 实验响应面分析结果

通过多元回归方程分析可知 3 个因素及其交互作用对山药皮粉末中 SDF 得率的影响情况,根据响应面分析最优点得到的数据,分别对菜山药粉末和怀山药粉末进行验证,在料液比 1:35,酶用量 5 U/mL,提取时间 2 h,温度 48 °C, pH 6.0,醇沉时间 4 h 的条件下,菜山药粉末 SDF 得率为 21.30%,怀山药

粉末为 22.16%,菜山药的 SDF 比原来的山药皮粉末中的 SDF 多出将近 4 倍。结果说明纤维素酶水解山药皮粉末可以制得较多的膳食纤维,对于之后的山药皮粉末工业化生产膳食纤维具有很大的意义。

2.4 山药皮粉末可溶性膳食纤维的性能测定

膳食纤维的高持水力和高溶胀力,主要取决于其化学结构中含有的大量亲水基团,在改善食品持水性,增加食品体积方面有很好的应用。另外,膳食纤维分子表面带有很多活性基团,可以吸附胆固醇、胆汁酸等有机化合物。因此对山药皮粉末中 SDF 性质的考察可以初步确定其具体的应用价值,实验测定结果见表 4。

由于膳食纤维大分子中含有多种亲水基团,吸水膨胀后具有吸附有毒物质、增加胃肠蠕动及排便体积等作用,因而持水力和膨胀力是评价其品质高低的两个非常重要的指标。由表 4 中持水力数据对比可看出,山药皮粉末和芒果皮中的水溶性膳食纤维的持水力相对较高,从膨胀力对比数据来看,豆渣和山药皮粉末中的水溶性膳食纤维的膨胀力相对较高,由此说明山药皮粉末中 SDF 持水力和膨胀力均处于较高水平,以山药皮为原料开发高质量膳食纤维具有较好前景。张玉倩等^[18]分析双酶法、酶-化

表4 山药皮粉末水溶性膳食纤维的性能测定结果
Table 4 The result of the performance of SDF in yam peel powder

原料 Raw materials	持水力 Water retention(g/g)	膨胀力 Expansion force(mL/g)	文献来源 Reference
小麦麸皮	4.00	4.00	严万婕 ^[13]
苹果肉渣	5.07	3.92	付成程等 ^[14]
甘薯渣	7.75	3.93	张赟彬等 ^[6]
豆渣	8.25	9.38	刘昊飞等 ^[15]
柚子皮	9.40	6.10	刘玉梅等 ^[16]
芒果皮	10.5	5.80	刘铭等 ^[17]
山药皮粉末	10.74	6.45	*

注: * 为本实验。

Note: * indicated present experiment.

学提取方法等对小麦膳食纤维物理性质的影响,结果表明酶-化学法对蛋白质的水解更彻底,针对本实验原材料本身的优势,后续可继续探讨酶-化学法、复合酶水解、以及微波辐照超声等方法,进一步提高SDF的提取率,充分发挥山药皮的潜在价值,增加对市场的适应程度。

3 结论

本论文以山药皮粉末为原料,研究了酶解法制备SDF的工艺并对其进行优化,并加以验证,初步得到以下结论:(1)通过单因素实验考察了料液比、酶用量、提取时间、醇沉时间和提取温度对山药皮粉末SDF得率的影响,结果显示,最佳条件为料液比为1:30、酶用量为4U/mL、提取时间为2h、提取温度为50℃。通过响应面实验考察料液比、酶用量、提取时间对SDF得率的影响,确定其最佳提取工艺为:料液比1:35,酶用量为5U/g,温度为48.16℃,最佳提取条件下膳食纤维的最大得率为22.87%,较原料中初始SDF含量7.96%提高了近3倍。(2)实验测定山药皮粉末SDF持水力为10.74g/g,膨胀力为6.45mL/g。结果证实其基本性能良好。

参考文献

- Hu XJ(扈晓杰), Han D(韩冬), Li D(李铎). The definition, analytic methods and intake status of dietary fiber. *China Food Addit*(中国食品添加剂), 2011, 11: 133-137.
- Thompson DN, Chen HC. Comparison of pretreatment methods on the basis of available surface area. *Biores Technol*, 1992, 39: 155-163.
- Zheng JX(郑建仙). The physiological functions of dietary fibre. *Cereals Oils*(粮食与油脂), 1994, 8: 1-3.

- Wang ZZ(王震宙), Huang SH(黄绍华). Application of functional components in yam and in food processing. *Food Ind*(食品工业), 2004, 04: 51-52.
- Wu XT(吴祥庭), Zhu T(朱涛), Zheng QM(郑巧敏), et al. Study on extraction of sweet Chinese Yam skin saponins by using response surface methodology. *J Chin Cereals Oils Assoc*(中国粮油学报), 2011, 26(06): 91-95.
- Chai WZ(柴巍中). The main analysis methods of dietary fiber and its application in China. *Food Nutri China*(中国食物与营养), 2003, 8: 36-38.
- Zhang BB(张赟彬), Miu CQ(缪存铅), Chen XQ(陈小琴). Study on enzymatic extraction of sweet potato dregs soluble dietary fiber. *Food Proc*(粮油加工), 2008, (01): 122-125.
- Yu XL(余兴莲), Wang L(王丽), Xu WM(徐伟民). Progress in the studies of cellulose degradation by celullase. *J Ningbo Univ*(宁波大学学报), 2007, 20: 78-82.
- Chen HZ(陈洪章), Li ZH(李佐虎). Factors of enzymatic hydrolysis for cellulose and adsorption of cellulase. *Chem Reaction Eng Technol*(化学反应工程与工艺), 2000, 16: 30-35.
- Zhou J(周建), Luo XG(罗学刚), Su L(苏林). Research progress and prospect on the enzymic hydrolysis for cellulose. *Sci Technol Chem Ind*(化工科技), 2006, 14(2): 51-56.
- Luo GM(罗贵民). *Enzyme Engineering*. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.
- Deng HB(邓洪波). Preparation of corn bran dietary fiber by enzyme hydrolysis and its hypolipidemic mechanisms. Changchun: Jilin University, MSc. 2008.
- Yan WJ(严万婕), Liu CM(刘成梅), Liu W(刘伟), et al. Optimization of the technology of extracting dietary fiber from wheat bran. *Food Sci Technol*(食品科技), 2004, 4: 36-37.

(下转第511页)