

采用酶法从豆渣中制备 2 种膳食纤维*

黄晓青 瞿伟菁 王 燕 王淳凯 梁世瓢 张晓玲

(华东师范大学生命科学学院,上海 200062)

摘 要 豆渣经物理方法脱脂后,采用高温淀粉酶和纤维素酶进行降解,从中同时提取得到 2 种膳食纤维(水溶性纤维和水不溶性纤维)。高温淀粉酶的酶解条件为酶浓度 0.2%、温度 100℃、时间 120 min;纤维素酶的酶解条件为酶浓度 0.7%、温度 35℃、时间 6 h。分析表明,水溶性纤维中含蛋白质 33.57%,水不溶性纤维中含蛋白 26.3%。酶解获得的 2 种膳食纤维经动物实验证明,在调节糖代谢和降低血浆甘油三酯方面都有一定的生理活性。

关键词 豆渣,膳食纤维,酶解

膳食纤维对人体的生理作用已被广泛认同如调节血压^[1]、增加组织对胰岛素敏感性^[2]和调节血糖、血脂代谢等^[3,4],被誉为第 7 种营养素。增加膳食纤维摄食是现代饮食文明的趋势,为经济有效地利用资源,拓宽原料来源,延长资源加工的产业链,从多种作物的残渣、果渣、藻类以及食用菌的菇柄中制取膳食纤维的研究多有报道^[5,6,8]。提取膳食纤维的工艺方法有酒精沉淀法、酸碱法、抗压法、酶法等^[7]。其中有机试剂沉淀和酸碱法制备成本较低,但在环保上存在弊端。挤压法工艺流程简单,而获得的产品是水溶性与水不溶性纤维的混合物,在应用上受到限制。酶法具有快速、高效、无污染的特点,对于改进工艺具有积极意义,从传统食用资源看,大豆制品的弃渣中纤维含量不但高,而且是全大豆食品摄入时的天然组分之一,其可食性和安全性上为人们认可。现在报道的酶法制取膳食纤维工艺一般采用 α -淀粉酶、蛋白酶等^[8,9]对残渣中残留的淀粉和蛋白质进行降解,以提高产品的纯度和降低制备的难度。从营养学角度看,大豆残渣中的蛋白质成分无需去除,因此,本研究就成品中保留蛋白质,采用高温淀粉酶、纤维素酶,对大豆纤维进行改性处理,分别制备水溶性纤维和不溶性纤维的工艺以及该工艺下的产物是否会影响到其功能等问题进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

豆渣:为普陀区豆制品厂制豆腐的下脚料。

1.2 实验方法

1.2.1 原料的预处理

将豆渣用物理方法处理,使物料经历冷热剧烈变

化,以达到破除乳化和脱脂的目的。试验设计了 2 种工艺处理(1)低温冻结 24 h,沸水解冻。(2)低温冻结 24 h,高温蒸汽解冻,其后匀浆、过滤、水洗、离心。

1.2.2 高温淀粉酶及纤维素酶水解条件的确定

采用 3 因素 4 水平的正交设计试验。

1.2.3 两种膳食纤维生理活性测定

(1)水溶性纤维的动物试验:选用正常昆明种雄性小鼠,适应性饲养 3 d 后按体重随机分为 4 组,每组 8 只。A 组为对照,给以生理盐水;B、C、D 组分别按 400、200、100 mg/kg·d 剂量,灌喂大豆水溶性纤维。各组均喂以基础饲料,自由饮水。

表 1 高温淀粉酶正交试验设计

水平	因 素		
	温度/℃	酶浓度/%	时间/min
1	85	0.2	30
2	90	0.3	60
3	95	0.4	90
4	100	0.5	120

表 2 纤维素酶正交试验表

水平	因 素		
	温度/℃	酶浓度/%	时间/min
1	30	0.7	30
2	35	0.8	60
3	40	0.9	90
4	45	1	120

(2)水不溶性纤维的动物试验:小鼠和饲养条件同上,按体重随机分为 4 组,每组 8 只。AA 组为对照组,给以基础饲料;BB、CC、DD 组分别在基础饲料中添加了 2.5%、5%、10% 大豆不溶性纤维,各组自由取食,自

第一作者:硕士研究生(瞿伟菁为本文通讯作者)。

*上海市科委资助课题(No.982612029)

收稿日期 2003-04-10

由饮水。

试验观察了各组小鼠每日取食、饮水状态、称量每日排泄物总重。2 周后测定各组血清葡萄糖、胆固醇、甘油三酯,并检测其糖异生能力。所有数据经统计学处理后用“ $\bar{X} \pm S$ ”表示,组间差通过“ t ”检验。

1.3 实验中采用的主要分析方法

总糖 :硫酸 - 蒽酮法^[10];脂肪 :索氏抽提法^[11];血液生化指标 :血清葡萄糖、胆固醇、甘油三脂分别用葡萄糖酶法试剂盒、血清胆固醇酶法试剂盒、血清甘油三酯酶法试剂盒测定。

2 结果与讨论

2.1 预处理效果比较(见表 3)

表 3 预处理结果比较

	处理前脂肪含量	处理后脂肪含量	去除率
	/%	/%	/%
方法 1	4.2	2.3	45.24
方法 2	4.2	1.4	66.67

试验结果显示,采用方法 2 处理,原料中脂肪含量可降至 1% 左右,豆渣脱脂率达到 66.67%,原料基本符合后续工艺处理的要求。

2.2 高温淀粉酶、纤维素酶的降解条件

试验采用双酶法降解,先用淀粉酶除去豆渣中所残留的淀粉成分,再用纤维素酶降解,以期增加水溶性成分的含量,减小不溶性成分的分子质量。

由表 4 结果可见,高温淀粉酶浓度 0.5% 时,其酶解效果较好,但极差分析表明,酶浓度非主要影响因素,酶解效果与时间、温度有关。时间 120 min、温度 100℃,酶活力最强。因此,考虑到生产的效率和成本,高温淀粉酶的最佳反应条件可设定为:酶浓度 0.2%,温度 100℃,时间 120 min。

表 5 纤维素酶正交试验结果

试验号	温度/℃	酶浓度/%	时间/min	总糖含量/mg				平均值
1	30	0.7	30	1067.37	8936.62	1202.79	990.09	3049.22
2	30	0.8	60	968.11	9241.49	1194.99	1031.92	3109.13
3	30	0.9	90	1026.95	9269.58	1352.39	1029.08	3169.57
4	30	1	120	1026.25	9092.60	1312.68	976.62	3102.04
5	35	0.7	120	1107.78	10149.0	1472.21	1026.95	3438.99
6	35	0.8	90	994.34	9191.86	1421.16	1031.92	2159.82
7	35	0.9	60	1043.97	9241.49	1264.47	1065.24	3153.79
8	35	1	30	1071.62	9177.68	1140.39	1003.56	3098.31
9	40	0.7	60	1031.92	8901.17	1250.99	1063.82	3061.98
10	40	0.8	30	1019.16	9113.87	1189.32	941.17	3065.88
11	40	0.9	120	924.86	9248.58	1306.30	974.49	3113.56
12	40	1	90	1074.46	9347.86	1334.66	1011.35	3192.08
13	45	0.7	90	948.96	9553.45	1280.77	1021.28	3201.12
14	45	0.8	120	1056.73	9546.36	1478.59	1019.16	3275.21
15	45	0.9	30	1074.46	8922.44	1165.21	930.53	3023.16

表 4 高温淀粉酶正交试验结果及分析

试验号	温度/℃	酶浓度/%	时间/min	总糖含量/mg		平均值
1	85	0.2	30	95.53	87.81	91.67
2	85	0.3	60	92.84	89.37	91.10
3	85	0.4	90	94.90	99.72	97.31
4	85	0.5	120	95.67	91.42	93.58
5	90	0.2	120	96.53	97.02	96.78
6	90	0.3	90	99.15	94.68	96.91
7	90	0.4	60	102.84	100.85	101.84
8	90	0.5	30	103.05	92.98	98.02
9	95	0.2	60	105.25	92.91	99.08
10	95	0.3	30	105.53	108.08	106.81
11	95	0.4	120	105.60	91.07	98.34
12	95	0.5	90	109.36	93.97	101.67
13	100	0.2	90	109.57	116.10	112.83
14	100	0.3	120	110.64	105.11	109.89
15	100	0.4	30	114.68	107.16	108.90
16	100	0.5	60	124.25	104.26	114.25
K1	100.83	97.20	96.24			
K2	100.13	96.33	98.34			
K3	106.59	96.85	104.21			
K4	108.82	102.77	105.96			
R	8.69	6.44	9.72			

淀粉酶处理去除残留淀粉后,再以纤维素酶对原料进一步酶解。综合数据分析表明(见表 5)纤维素酶的最佳反应条件是:温度 35℃,酶浓度 0.7%,时间 120 min。

2 种酶解的极差均显示,反应时间是影响酶解效果的主要因素,由于纤维素酶在正交试验中最长反应时间为 2 h,考虑后者在试验中的效率,继续延长反应时间是否可提高反应效果,为此试验对延长时间进行了研究,分析酶解液中总糖的变化。

续表 5

试验号	温度/℃	酶浓度/%	时间/min	总糖含量/mg			平均值
16	45	1	60	1034.04	8901.17	1285.74	1086.51
K1	3107.49	3187.83	3059.14				3076.87
K2	3212.73	3152.51	3100.44				
K3	3108.37	3115.51	3180.65				
K4	3144.09	3117.32	3232.45				
R	105.44	72.32	173.31				

结果表明(见表6),延长酶解时间至12 h,酶解液中总糖含量在前6 h中一直保持着上升的势头,其后,溶液中的糖含量虽有增加但并不显著。根据以上结果,可将纤维素酶降解的最佳条件修改为:温度35℃、酶浓度0.7%、时间6 h。

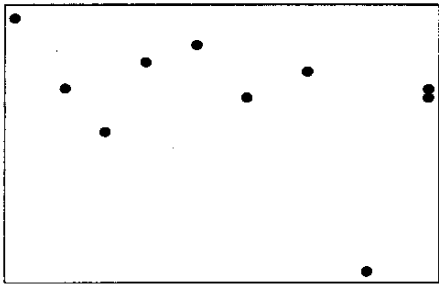
表 6 延长纤维素酶的酶解时间试验结果

酶解时间/h	OD 值	总糖含量/mg
0	0.058	851.1
2	0.0309	1029.08
4	0.383	1081.54
6	0.548	1198.53
8	0.567	1212.00
10	0.494	1160.25
12	0.5	1185.77

酶解后将固相、液相分离,固相经处理为大豆水不溶性膳食纤维(IDF,文中下同),得率约6%,液相纯化,浓缩后为大豆水溶性膳食纤维(SDF,文中下同),得率约为1%。

2.3 酶解产物的成分分析

纤维素降解后经硅胶板薄层层析分析,证明其SDF主要成分为阿拉伯-半乳聚糖,与有关报道相符^[12]。



Fru Ara Glu Rha Xyl Gal Man GluA SF
果糖 阿拉伯糖 葡萄糖 鼠李糖 木糖 半乳
糖 甘露糖 葡萄糖醛酸

图 1 水溶性膳食纤维单糖组分
薄层层析模式图

比较了 IDF 与原料中残留的脂肪蛋白(见表7)。结果显示, IDF 与原料相比,脂肪含量下降,蛋白成分得到富集。

表 7 原料与不溶性纤维成分比较(干基)

	原 料	可溶性纤维	不溶性纤维
脂 肪/%	4.20	未检出	0.80
蛋白质/%	19.6	3.57	26.3
水溶性糖/%	3.28	76.4	1.98

2.4 动物试验结果

分别饲喂大豆 SDF 和 IDF 的动物,2 周内各组小鼠饮食、取水并无明显变化。各组小鼠体重正常增长。说明 2 种纤维的摄入对健康小鼠的正常生长并无不良影响。结果见表 8 及表 9。

表 8 小鼠体重变化

组 别	动物数	饲喂量 /mg·kg ⁻¹	初体重 /g	终体重 /g
A	8		30.44±0.77	33.93±0.67
B	8	400	30.19±1.19	34.81±1.21
C	8	200	32.88±0.58	37.06±0.55
D	8	100	30.00±1.68	35.00±1.05
AA	8		30.37±1.27	37.13±2.35
BB	8	10%	28.63±1.02	35.81±2.53
CC	8	5%	28.13±0.74	37.93±1.39
DD	8	2.5%	30.18±1.81	36.25±1.91

表 9 小鼠排泄量

组 别	动物数	饲喂量 /mg·kg ⁻¹	排泄物总量/g		
			4~6 d	7~9 d	10~12 d
A	8		33.3	42.5	51.5
B	8	400	32.3	47.1	55.9
C	8	200	44.6	50.2	65.8
D	8	100	33.9	51.9	60.6
AA	8		46.7	47.2	44.8
BB	8	10%	47.0	47.0	48.2
CC	8	5%	38.8	39.2	44.2
DD	8	2.5%	36.8	48.0	41.9

实验 2 周后,小鼠禁食 12 h 后断尾取血测定空腹血糖。再以 2 g/kg 剂量 ip, 丙氨酸作为异生源,1 h 后眼眶取血,测定异生血糖、血清胆固醇、血清甘油三酯。测定结果见表 10 和表 11。

在服用大豆 SDF 或 IDF 饲料 2 周后, SDF 组空腹血糖与对照组无显著差异, IDF 组小鼠的空腹血糖与对

表 10 饲喂水溶性纤维素后小鼠血液生化指标的测定结果

组 别	饲喂量 /mg·kg ⁻¹	空腹血糖 /mmol·L ⁻¹	异生血糖 /mmol·L ⁻¹	异生率 /%	血清甘油三酯 /mmol·L ⁻¹	血清胆固醇 /mmol·L ⁻¹
A	生理盐水	5.36±0.95	8.59±0.92	60.26	1.785±0.70	1.426±0.38
B	400	5.38±1.43	7.00±0.83	30.11	0.929±0.37	1.537±0.47
C	200	5.39±1.16	7.38±0.61	36.92	1.051±0.32	1.483±0.79
D	100	4.93±1.46	8.08±1.61	63.89	1.632±0.51	1.318±0.41
	Ⓢ A-B)	0.033	3.40*		3.050*	0.519
	Ⓢ A-C)	0.057	2.90*		2.697*	0.184
	Ⓢ A-D)	0.698	1.04		0.503	0.541

Ⓢ(0.05)=2.131

表 11 饲喂不溶性纤维素后小鼠血液生化指标的测定结果

组 别	饲喂量 /mmol·L ⁻¹	空腹血糖 /mmol·L ⁻¹	异生血糖 /mmol·L ⁻¹	异生率 /%	血清甘油三酯 /mmol·L ⁻¹	血清胆固醇 /mmol·L ⁻¹
AA	普通饲料	11.13±1.08	13.89±2.03	24.79%	1.13±0.32	2.65±0.39
BB	2.5%纤维	6.94±0.48	14.94±2.55	115.27%	0.67±0.26	3.04±0.43
CC	5%纤维	8.68±1.92	15.05±1.07	73.38%	0.59±0.13	3.29±0.59
DD	10%纤维	8.01±1.18	14.74±3.33	84.02%	0.60±0.13	3.07±0.53
	Ⓢ AA-BB)	10.027*	0.911	3.156*	1.900	
	Ⓢ AA-CC)	3.146*	1.430	4.422*	2.559	
	Ⓢ AA-DD)	5.517*	0.616	44.30*	1.805	

Ⓢ(0.05)=2.131

照组相比有显著降低。但 ip.2 mg/kg 丙氨酸后发现，SDF 组血糖升高值低于对照组，表明 SDF 对正常小鼠的血糖无影响但可抑制其异生率；IDF 组与对照组的最终血糖无明显差别，但异生数大豆 IDF 组大大高于对照组，可能是大豆 IDF 在小肠内干扰糖类的消化吸收，使动物血糖下降。低血糖状态下的动物糖异生功能增强。

血脂方面，SDF 和 IDF 组动物的血清甘油三酯值有显著下降，而血清胆固醇并无出现有意义的变化。

3 小 结

经研究确定，本研究的工艺流程为：

鲜豆渣→破乳脱脂→高温淀粉酶处理（酶浓度 0.2%，100℃，120min）→纤维素酶处理（酶浓度 0.7%，35℃，6h）→固液相分离→固体脱色烘干→粉碎过筛→水水溶性改性纤维液相浓缩→去蛋白纯化→去盐→水溶性纤维
2 种纤维素经动物实验证明均具有一定生理活性。

参 考 文 献

1 Burke V. Dietary protein and soluble fiber reduce ambulatory blood pressure in treated hypertensive[J]. Hypertension, 2001, 38(4)

2 Bessesen D H. The role of carbohydrates in insulin resistance [J]. J Nutr 2001, 131(10)

3 郑建仙. 功能性食品[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1995

4 张烈雄, 黄祥辉. 大豆膳食纤维对成年大鼠腹腔脂肪集聚及血脂和血糖水平的影响[J]. 华东师范大学学报, 1996 (3)

5 钟耕, 王自永, 赵笑娟等. 纤维食品的研制[J]. 中国粮油学报, 1995, 10(1): 38~40

6 潘铎, 凌家煜, 雷震. 谷物膳食纤维的研制及应用[J]. 中国粮油学报, 1995, 10(1): 23~28

7 何锦凤. 论膳食纤维[J]. 食品与发酵工业, 1997, 23(5): 64~68

8 伍立居, 李平, 汪锦邦. 从玉米皮及豆皮中制备食用纤维的研究[J]. 食品与发酵工业, 1996(5): 44~48

9 郑建仙, 高孔荣. 论膳食纤维[J]. 食品与发酵工业, 1994 (4): 71~74

10 张惟杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987

11 刘福岭. 食品物理与化学分析方法. 北京: 轻工业出版社, 1987

12 郑建仙, 丁霄霖. 大豆膳食纤维化学与工艺学的研究[J]. 中国粮油学报, 1995, 10(3): 16~22