

优化纤维素酶水解桃渣制备可溶性膳食纤维工艺条件的研究*

孙 慧, 刘 凌

(中国食品发酵工业研究院, 北京, 100027)

摘 要 以工业化生产桃汁的废弃榨渣为原料, 通过纤维素酶水解制备可溶性膳食纤维, 以获得高得率的可溶性膳食纤维的。先通过单因素实验初步确定了制备工艺条件, 再根据 Box-Behnken 的中心组合实验设计原则, 在单因素实验的基础上采用 3 因素 3 水平的响应面分析法, 建立了可溶性膳食纤维得率与各影响因子的回归方程, 并确定了加酶量 1.25%、温度 45℃、pH 4.5 的工艺条件, 在此条件下可溶性膳食纤维的理论得率达 20.68%, 验证实验结果为 20.56%。

关键词 可溶性膳食纤维, 纤维素酶, 响应面分析法, 优化

近年来, 膳食纤维在食品营养和临床医学上的重要作用越来越受到人们的关注, 被称为人类第七大营养元素^[1]。膳食纤维按其溶解性可分为水溶性(soluble dietary fiber, 简称 SDF) 和不溶性(insoluble dietary fiber, 简称 IDF) 2 种。大量研究表明, 膳食纤维有多种生理功能^[2,3], 它可以降低体内胆固醇、脂肪酸, 预防结肠癌、糖尿病、冠心病等^[4,5]。

随着我国果蔬加工业的飞速发展, 每年都会有大量的加工下脚料——果蔬渣产生, 而果渣的主要固性成分就是膳食纤维。目前我国这些果蔬渣仅有少部分经粗加工用作廉价饲料或用于提取果胶, 大部分被废弃, 导致资源的浪费和对环境的污染。工业化生产桃汁的废弃榨渣因夹杂坚硬的破碎核桃, 同时黏度大, 难以干燥, 不适于用作饲料多被废弃。而且桃渣极易腐败变质污染环境。文中通过对桃渣膳食纤维制备工艺的研究, 以期工业化大量处理桃渣, 开发高附加值产品和提高原料利用率提供基础数据。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

果汁生产企业桃汁生产线的废弃榨渣。

1.2 主要仪器设备

pHS-25 型 pH 计: 上海精科雷磁; RE-52 型旋转蒸发器: 上海亚荣生化仪器厂; 电热恒温水浴锅: 天津市泰斯特仪器有限公司; 循环水式多用真空泵: 郑州长城科工贸有限公司; 电热鼓风干燥箱: 江苏省东台

市电器厂; 电子天平: 北京赛多利斯天平有限公司。

2 实验方法

2.1 产品质量的分析测定方法^[6,7]

蛋白质含量的测定(GB5009.5-1985); 脂肪含量的测定(GB5009.6-1985); 水分含量的测定(GB5009.3-1985); 灰分含量的测定(GB5009.4-1985); 总膳食纤维(TDF)、SDF 含量的测定(AOAC)参考文献^[6]。

2.2 酶法提取可溶性膳食纤维

桃渣→浸泡→过滤除杂→酶解→过滤→真空浓缩→醇沉→过滤→干燥→SDF

2.3 操作要点

(1) 桃渣预处理: 用温水浸泡湿桃渣, 分离核渣、水洗、过滤, 重复数次直至用苯酚-硫酸法检测滤液中糖含量为 0。

(2) 酶解: 向反应体系中添加纤维素酶后充分搅拌, 确保原料与酶混合均匀且充分接触。

(3) 减压浓缩: 在 60℃、真空度 0.1MPa 的条件下浓缩至液体呈现粘稠状。

(4) 醇沉: 加入 4 倍浓缩液体积的 95% 乙醇进行醇沉。

(5) 烘干: 烘干温度为 60℃。

3 结果与分析

3.1 桃渣成分分析

分析湿桃渣成分, 结果见表 1。

表 1 桃渣的成分

成分	水分	蛋白质	脂肪	灰分	TDF	SDF
含量/%	84.29	1.29	0.26	0.5	9.12	3.68

* 第一作者: 硕士研究生(刘凌教授为通讯作者)。

* 科技部科研院所技术开发研究专项(NCSTE-2007-JKZX-006)

收稿日期: 2007-08-12, 改回日期: 2007-10-08

计算可知,桃渣中 SDF 占 TDF 比例为 40.35%,由资料可知豆渣、麦麸中 SDF 占 TDF 的比例分别为 3.89%、8.47%^[8,9]。因此,与豆渣、麦麸等谷类原料相比,桃渣更适宜用作制备 SDF 的原料。

3.2 桃渣水溶性膳食纤维制备条件对 SDF 得率的影响

3.2.1 加酶量对 SDF 得率的影响

在液料比 8:1,作用温度 50℃,pH5.0,作用时间 10h,加酶量分别为 0.05%、0.5%、1%、2.5% 和 5% 的条件下研究加酶量对 SDF 得率的影响,如图 1 所示。

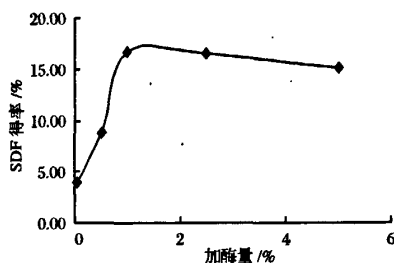


图1 加酶量对 SDF 得率的影响

由图 1 可以看出,加酶量<1%时,SDF 得率随着加酶量的增加而迅速增加;加酶量超过 1%之后,SDF 得率逐渐降低。分析其中原因,制备 SDF 过程中添加适量纤维素酶可使桃渣中 IDF 发生降解,分子链被切断,使分子量降低,溶解度发生改变,一部分 IDF 变成 SDF,从而使 SDF 得率增加;随着纤维素酶添加量的增加,IDF 降解为分子量较小的低聚糖甚至单糖,由于聚合度低而无法被乙醇沉淀,从而使 SDF 得率逐渐降低。因此选择 0.5%~1% 作为纤维素酶添加量的因素水平。

3.2.2 酶解温度对 SDF 得率的影响

在液料比 8:1,加酶量 1%,pH5.0,作用时间 10h,作用温度分别为 30℃、40℃、50℃、60℃ 和 70℃ 的条件下,研究温度对 SDF 得率的影响,如图 2。

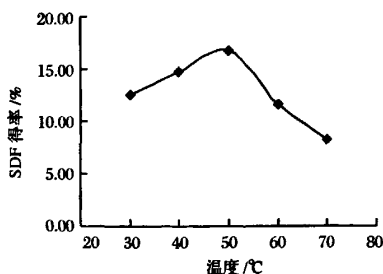


图2 酶解温度对 SDF 得率的影响

由图 2 可以看出,温度低于 50℃ 时 SDF 得率随着温度的增加而增加;高于 50℃,SDF 得率迅速下降。由此得出,以桃渣为底物时纤维素酶最适反应温度为 50℃ 左右,选择 40~60℃ 为因素水平。

3.2.3 酶解 pH 对 SDF 得率的影响

在液料比 8:1,加酶量 1%,作用时间 10h,作用温度 50℃,pH 分别为 3.0、4.0、5.0、6.0 和 7.0 的条件下研究 pH 对 SDF 得率的影响,如图 3。

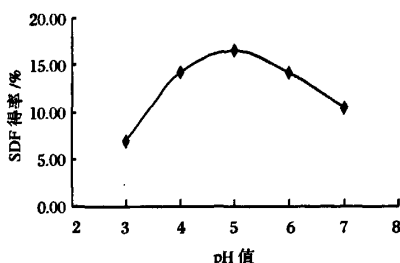


图3 酶解 pH 对 SDF 得率的影响

由图 3 可以看出, pH5.0 时 SDF 得率最高,纤维素酶对桃渣的最适 pH 范围是 5.0 左右,选择 pH4.0~6.0 作为因素水平。

3.2.4 酶解时间对 SDF 得率的影响

在原料 20 g,液料比 8:1,加酶量 1%,pH5.0,作用温度 50℃,作用时间 2、6、10、14、18 和 24 h 的条件下研究 pH 对 SDF 得率的影响,如图 4。

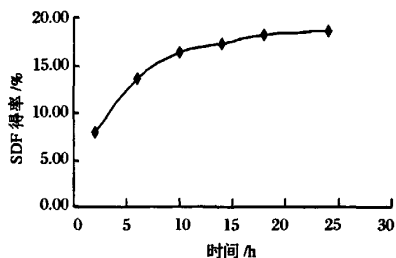


图4 酶解时间对 SDF 得率的影响

由图 4 可以看出随着酶解时间的延长 SDF 得率逐渐增加,当时间超过 18h 后 SDF 得率几乎不变,因此将酶解时间确定为 18h。

3.3 制备工艺的优化

3.3.1 响应面法的实验设计及结果

综合单因素实验结果,并根据 Box-Benhnken 的中心组合实验设计原则,选择对 SDF 得率影响较大的 3 个因素:纤维素酶添加量、作用温度、溶液 pH,分别以 X_1 、 X_2 和 X_3 代表,每一个自变量 3 个水平分别以 -1、0、1 进行编码,并以 SDF 得率为考察指标 Y_1 ,各因子

及水平编码如表 2 所示,实验方案及结果见表 3。

表 2 响应面实验变量设计表

变量	符号	代 码		
		-1	0	1
加酶量(%)	X_1	2.5	1	0.5
温度(℃)	X_2	60	50	40
pH 值	X_3	6	5	4

3.3.2 回归模型的建立与显著性检验

采用 SAS 软件通过其响应回归过程(RSREG)进行数据分析,建立了关于 SDF 得率的回归模型,并寻求最优响应因子水平。所得分析结果见表 4 和表 5。

由表 4 可以看出,加酶量、温度、pH 的一次项和平方项以及温度与 pH 的交叉项对响应值即 SDF 得率影响显著($P<0.05$),而加酶量与温度的交叉项及加酶量与 pH 的交叉项影响不显著($P>0.1$)。表明所选 3 个因素各自单独变化均会使可溶性膳食纤维得率发生明显变化,且 3 因素同时变化时,温度与

pH 对得率的影响存在交互效应。

表 3 响应面实验方案与结果

序号	变量			考察指标 Y_1
	X_1	X_2	X_3	
1	-1	-1	0	15.24
2	-1	1	0	18.80
3	1	-1	0	9.02
4	1	1	0	12.66
5	0	-1	-1	13.10
6	0	-1	1	13.02
7	0	1	-1	18.75
8	0	1	1	15.47
9	-1	0	-1	18.90
10	1	0	-1	12.51
11	-1	0	1	17.82
12	1	0	1	12.18
13	0	0	0	19.41
14	0	0	0	19.24
15	0	0	0	19.50

表 4 方差分析表

方差来源 Source	自由度 DF	平方和 SS	平均平方和 MS	F 值	P 值
X_1	1	74.359 01	74.359 01	594.832 4	0.000 1
X_2	1	29.261 25	29.261 25	234.074 4	0.000 1
X_3	1	2.844 112	2.844 112	22.751 38	0.005 016
$X_1 \times X_1$	1	24.824 19	24.824 19	198.580 2	0.000 1
$X_1 \times X_2$	1	0.001 6	0.001 6	0.012 799	0.914 327
$X_1 \times X_3$	1	0.014 062 5	0.140 625	1.124 925	0.337 383
$X_2 \times X_2$	1	30.210 4	30.210 4	241.667 1	0.000 1
$X_2 \times X_3$	1	2.56	2.56	20.478 63	0.006 252
$X_3 \times X_3$	1	7.634 231	7.634 231	61.069 78	0.000 55
模型	9	164.394	18.266	146.118 3	0.000 1
误差	5	0.625 042	0.125 008		
总回归	14	165.019			

表 5 回归方程中回归系数估计值

变量	系数	标准差	T 检验	P
X_1	-3.048 75	0.125 004	-24.389 2	0.000 1
X_2	1.191 25	0.125 004	15.299 49	0.000 1
X_3	-0.596 25	0.125 004	-4.769 84	0.005 016
$X_1 \times X_1$	-2.592 917	0.184 001	-14.091 9	0.000 1
$X_1 \times X_2$	0.02	0.176 783	0.113 133	0.914 327
$X_1 \times X_3$	0.187 5	0.176 783	1.060 625	0.337 383
$X_2 \times X_2$	-2.860 417	0.184 001	-15.545 6	0.000 1
$X_2 \times X_3$	-0.8	0.176 783	-4.525 33	0.000 252
$X_3 \times X_3$	-1.437 917	0.184 001	-7.814 72	0.000 55
RMSE	离回归标准差	0.353 565		
R-square	决定系数	99.62%		
Adj R-square	修改决定系数	98.94%		
CV	变异系数	2.250 861		

由表 5 可得出,SDF 得率的数学模型:
 $Y_1 = 19.383\ 33 - 3.048\ 75 \times X_1 + 1.191\ 25 \times X_2 - 0.596\ 25 \times X_3 - 2.592\ 917 \times X_1 \times X_1 - 2.860\ 417 \times X_2 \times X_2 + 0.02 \times X_1 \times X_2 + 0.187\ 5 \times X_1 \times X_3 -$

$$0.8 \times X_2 \times X_3 - 1.437\,917 \times X_3 \times X_3$$

由表5中数据可知,方程因变量 Y_1 与自变量 $X_1 \times X_2$ 、 $X_1 \times X_3$ 之间的线性关系不明显($P > 0.1$),而与其余自变量之间的线性关系明显($P < 0.05$),因此回归方程中可去掉 $X_1 \times X_2$ 、 $X_1 \times X_3$ 项,即:

$$Y_1 = 19.383\,33 - 3.048\,75 \times X_1 + 1.912\,5 \times X_2 - 0.596\,25 \times X_3 - 2.592\,917 \times X_1 \times X_1 - 2.860\,417 \times X_2 \times X_2 - 0.8 \times X_2 \times X_3 - 1.437\,917 \times X_3 \times X_3$$

回归方程决定系数为99.62%,修改决定系数为98.94%,即98.94%的数据可用此模型解释,失拟差异不显著,回归方程对实验数据拟合程度高,不存在未被模拟的影响因素,因此可用此模型对实验进行分析预测。

3.3.3 响应曲面及等高线分析

由回归方程所作的相应曲面图及其等高线图,见图6~图11。通过该组图即可对任何2因素交互影响SDF得率的效应进行分析评价。

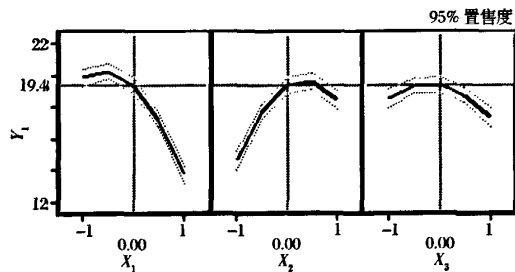


图5 SDF得率随各因素变化趋势图

由图5可知,SDF得率随各因素的变化有明显的变化趋势,即各因素变化对SDF得率都有显著影响,与单因素实验及方差分析结果一致。

由图6、图7、图8和图9可以看出,在不同的温度、pH条件下SDF得率均随加酶量的增加先增加后减少,变化趋势明显且幅度相同,说明加酶量是影响SDF得率的主要因素且与温度、pH两因素不存在明

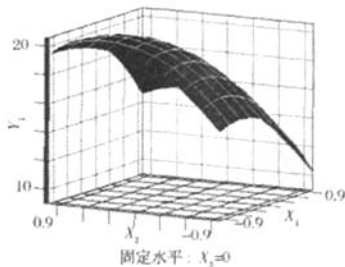


图6 加酶量和温度对SDF得率影响的响应面

显的交互影响作用,与方差分析结果一致;在不同加酶量条件下,SDF得率均随温度的增加先缓慢增加后迅速减少,变化趋势明显,说明温度也是影响SDF得率的主要因素,而在不同加酶量条件下SDF得率随pH的变化趋势不如温度明显,说明在pH4~6,pH是次于温度的影响因素。

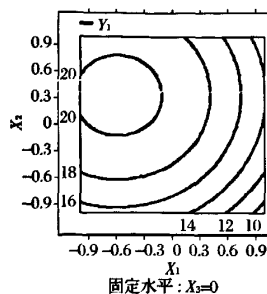


图7 加酶量和温度对SDF得率影响的等高线图

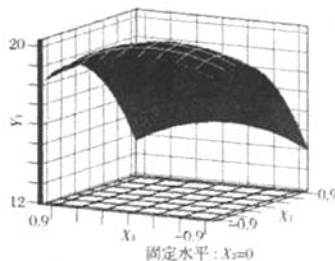


图8 加酶量和pH对SDF得率影响的响应面

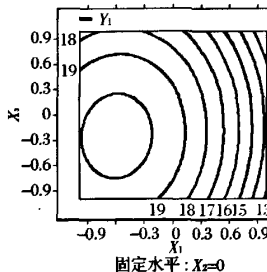


图9 加酶量和pH对SDF得率影响的等高线图

由图10和图11看出,虽然不同温度条件下SDF得率均随pH的减小先增加后减少,但是50℃后比50℃前减少的幅度要小。原因是温度高反应体系中酸挥发快,随着反应的进行,体系中的pH会逐渐变大,这样高温反应体系中的pH就会越来越大与其初始pH相同的低温反应体系,并且越接近最适pH,因此,高温反应体系中由pH降低所引起的得率减小的效应被减弱。pH和温度2因素之间存在交互影响作用,与方差分析结果一致。

对响应面图进行岭脊分析,可以得出最大响应值

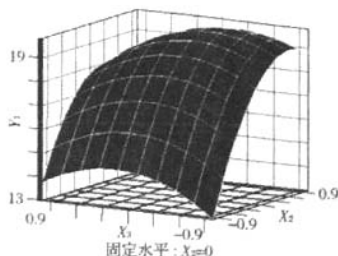


图10 pH和温度对SDF得率影响的响应面

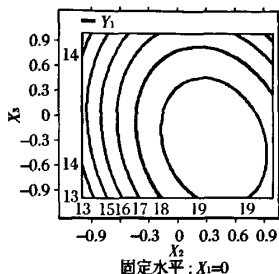


图11 温度和pH对SDF得率影响的等高线图

的编码坐标为 $(-0.5, 0.5, -0.5)$,即在实验选取的水平范围内当加酶量1.25%、温度45℃、pH4.5、时间18h,此时SDF得率最高为20.68%。

3.3.4 验证实验

在加酶量1.25%、温度45℃、pH4.5、时间18h条件下按照响应面实验中的操作方法提取SDF,最终得率为20.56%,与岭脊分析结果一致。

4 结论

以榨取桃汁后的剩余桃渣为底物利用纤维素酶酶解法制取SDF,通过设计响应面实验并对实验结果进行回归拟合,建立了关于SDF得率的回归模型。

通过方差分析以及对响应曲面图和等高线图分

析得出酶解过程中加酶量、温度对SDF得率影响十分显著,pH影响次之,并且温度和pH之间存在明显的交互作用。

通过对回归模型进行岭脊分析得出最佳反应条件为加酶量1.25%、温度45℃、pH4.5,在此条件下SDF得率理论值为20.68%,验证实验结果为20.56%。

参考文献

- 1 谢碧霞. 膳食纤维[M]. 北京:科学出版社,2006
- 2 郑建仙,高孔容. 论膳食纤维. 食品与发酵工业,1994,(4): 71~74
- 3 Robert H, Knopp H, Robert Superko, et al. Long-term blood cholesterol-lowering effects of a dietary fiber supplement[J]. Am J Prev Med, 1999, 17(1): 18~23
- 4 Maria Leontowicz, Shela Gorinstein. Sugar beet pulp and apple pomace dietary fibers improve lipid metabolism in rats fed cholesterol[J]. Food Chemistry, 2001,(72): 73~78
- 5 何锦凤,赫利民. 论膳食纤维. 食品与发酵工业,1997, 23(5):63~68
- 6 杨惠芬. 食品卫生理化检验标准手册[M]. 北京:中国标准出版社,1996
- 7 Lee S C, Prosky L, De Vries J W. Determination of total, soluble, and insoluble dietary fibre in foods-enzymatic-gravimetric methods, MES-TRIR buffer collaborative study[J]. J AOAC Int, 1992, 75:395~416
- 8 徐广超. 豆渣水溶性膳食纤维制备工艺的研究[J]. 河北工业大学学报(自然科学版),2005,26(1):54~57
- 9 Saffiatu S Claye, Ahmed Idouraine, Charles W Weber. Extraction and fractionation of insoluble fiber from five fiber sources[J]. Food Chemistry, 1996, 57(2):305~310

Study on Optimization for Preparation of Peach Residue Soluble Dietary Fibre by Cellulase

Sun Hui, Liu Ling

(China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100027, China)

ABSTRACT Using peach residue as a raw material, soluble dietary fibre was produced by cellulase. According to the Box-Behnken center united experimental design principles based on the single factor tests, the method of response surface analysis with 3 factors and 3 levels were adopted, the regression equation between the factors and the output of soluble dietary fibre was established, and the optimum conditions were: cellulase 1.25%, temperature 45℃, pH 4.5 and under this condition, the output rate of SDF would be reached 20.68% by calculation and the result of verified experiment was 20.56%.

Key words soluble dietary fibre, cellulase, response surface method(RSM) optimization