

莲壳膳食纤维微波—双酶协同提取工艺优化

Optimization on microwave-two enzymes synergistic methods for dietary fiber extraction in lotus seed shell

陈铁壁^{1,2} 靳娜² 王建辉² 刘冬敏^{1,2}

CHEN Tie-bi^{1,2} JIN Na² WANG Jian-hui² LIU Dong-min^{1,2}

樊敏¹ 邓胜国¹ 陈颖奕¹

FAN Min¹ DENG Guo-sheng¹ CHEN Ying-yi¹

(1. 湖南科技学院化学与生物工程学院, 湖南 永州 425199;

2. 长沙理工大学湖南省水生资源食品加工工程技术研究中心, 湖南 长沙 410114)

(1. Department of Biology and Chemistry, Hunan University of Science and Technology, Yongzhou, Hunan 425100, China; 2. Hunan Provincial Engineering Research Center for Food Processing of Aquatic Biotic Resources, Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410114, China)

摘要:以莲子壳为原料,采用微波—双酶协同提取莲壳膳食纤维,在单因素试验结果的基础上,进行正交试验,研究莲子壳筛目数、料液比、木瓜蛋白酶和糖化酶用量及提取时间对莲壳膳食纤维提取工艺的影响。结果表明:其最佳提取工艺条件为莲壳筛目数 60 目,液料比 20:1 (mL/g),木瓜蛋白酶加入量 3%,微波协同木瓜蛋白酶酶解提取时间为 6×20 s (提取 6 次,每次 20 s,间隔 2 min),糖化酶用量 4%,微波协同糖化酶提取时间 8×20 s (提取 8 次,每次 20 s,间隔 2 min),该条件下莲壳膳食纤维提取率为 72.36%。与双酶提取法相比,微波—双酶协同提取法可缩短 70% 的时间,提取率提高 82.87%。

关键词:莲子壳;膳食纤维;微波;木瓜蛋白酶;糖化酶

Abstract: To investigate the effect of microwave-two enzymes synergistic extraction methods on dietary fiber yields in lotus shell, the sieving mesh number of the lotus seed shell, ratio of solid-liquid, papain and glucoamylase dosages and extraction time were set out to conduct the orthogonal tests based on the results of single factor experiments. The optimal extraction conditions were as followed:

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(编号:31301564);湖南省自然科学基金项目(编号:2015JJ2011),湖湘青年英才支持计划项目(编号:2015RS4051);永州市科技局科技计划项目(编号:永科发[2009]20 号);湖南省高校科技创新团队支持计划资助(编号:2012-318);湖南省水生资源食品加工工程技术研究中心开放基金资助项目(编号:2016GCZX02,2015GCZX08)

作者简介:陈铁壁,男,湖南科技学院实验师,硕士。

通信作者:王建辉(1980—),男,长沙理工大学教授,博士。

E-mail: wangjh0909@163.com

收稿日期:2016—09—17

sieving mesh of 60, ratio of liquid-solid 20:1, papain dosage 3%, papain extraction time of 6×20 s (extracting 6 times, each time for 20 s with intervals of 2 min), dosage of glucoamylase 4%, and glucoamylase extraction time 8×20s (extracting 8 times, each time for 20 s with intervals of 2 min). Under the optimal conditions, the extraction rate of dietary fiber in lotus shell was 72.36%. Compared with enzyme extraction, microwave-two enzymes synergistic extraction can save 70% time, and greatly improve the extraction rate over 82.87% than two enzyme method.

Keywords: Lotus seed shell; dietary fiber; microwave; papain; glucoamylase

近年来,功能性食品已逐渐成为食品科学研究的前沿,作为功能性食品重要基料之一的膳食纤维已成为研究的热点^[1-2]。膳食纤维通常是指一类不能被人体消化酶类消化吸收,主要是由可食性植物细胞壁残余物(包括纤维素、半纤维素、木质素等)及与之缔合的相关物质组成的化合物,其有可溶性和不可溶性之分^[1,3]。现今膳食纤维的保健作用日益受到重视,营养学家纷纷认识到,膳食纤维对人体的正常代谢是不可或缺的,其主要生理功能包括促进肠道的畅通、降低血浆胆固醇含量、缓和餐后血糖上升幅度和排除有毒成分等诸多方面^[2,4-5]。

莲壳作为莲子加工副产品,其主要营养成分中纤维含量较高,蛋白质、淀粉、单宁、脂肪含量相对较低^[6]。由于莲子壳质硬壁厚,长期被弃或燃烧后作为肥料,利用率较低。从莲壳中提取膳食纤维,用于生产富含纤维的食品,可变废为宝,既可提高莲壳的综合经济效益,亦可满足膳食需要。当

前,国内外对莲壳有效成分的研究尚处于起步阶段^[7-8],对莲壳膳食纤维的研究尚未见报道。以往膳食纤维的提取多以常规的提取方法(如化学试剂/酶的方法)为主,而微波助提法所用时间短、溶剂消耗低、环境污染小、设备简单及加热萃取效率高。本研究拟以莲壳为原料,综合运用单因素和正交试验设计,利用微波协同双酶水解法在去除干扰因素(蛋白质、淀粉等)的情况下,提取莲子壳中膳食纤维,重点考察莲子壳筛目数、料液比、木瓜蛋白酶和糖化酶用量及提取时间对莲子壳膳食纤维提取工艺的影响,并进行工艺条件优化,旨在为莲壳资源的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

莲壳:湖南粒粒珍湘莲有限公司;
木瓜蛋白酶:合肥博美生物科技有限责任公司;
糖化酶:上海楷洋生物技术有限公司;
氢氧化钠:AR 级,天津市风船化学试剂有限公司;
盐酸:AR 级,衡阳市凯信化工试剂有限公司;
无水乙醇:AR 级,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

高速万能粉碎机:FW100 型,天津市泰斯特仪器有限公司;
岛津电子分析天平:AUY120 型,日本岛津公司;
微波化学反应器:MCR-3 型,巩义市予华仪器有限责任公司;
pH 计:DELTA 320 型,上海天普 pH 计有限公司。

1.3 方法

1.3.1 莲壳膳食纤维的提取工艺

(1) 莲壳干燥后粉碎,过筛,得不同筛目的莲壳固体颗粒,分装,放入干燥器内存储待用。
(2) 微波协同双酶法提取:称取 2.00 g 莲子壳粉末,加入一定比例的纯水,搅拌,调节至 pH 6.0^[9],加入一定量的木瓜蛋白酶,微波温度 50 ℃,功率 320 W^[10],提取一定的次数;再次调节 pH 至 5.0,加入一定量的糖化酶,微波温度 50 ℃,功率 320 W,提取一定的次数,灭酶,加入 3 倍体积预热至 60 ℃的 95%乙醇,4 ℃静置沉淀 24 h,过滤,用 75%的乙醇洗涤滤渣,干燥,即得莲子壳膳食纤维。

1.3.2 膳食纤维提取率的计算 膳食纤维提取率的计算公式见式(1)。

$$c = \frac{m_3}{m_1 + m_2} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

- c——膳食纤维的提取率,%;
- m₁——样品总量(干基),%;
- m₂——总酶量,%;
- m₃——膳食纤维总量(干基),%。

1.3.3 微波协同双酶法的单因素试验设计 称取干燥至质量恒定的湘莲壳粉末 2.00 g,调至微波温度 50 ℃,功率 320 W,按以下各因素设定参数,进行单因素试验。

(1) 样品筛目数:设定液料比 25:1(mL/g)、木瓜蛋白酶用量 4%,木瓜蛋白酶提取时间 6×20 s(提取 6 次,每次 20 s,间隔 2 min),糖化酶用量 1%,糖化酶提取时间 3×20 s(提取 3 次,每次 20 s,间隔 2 min),分别考察筛目数为 40,60,80,100,120 目时,莲壳膳食纤维提取率的变化。

(2) 液料比:设定样品筛目数 60 目,木瓜蛋白酶用量 4%,木瓜蛋白酶提取时间 6×20 s(提取 6 次,每次 20 s,间隔 2 min),糖化酶用量 1%,糖化酶提取时间 3×20 s(提取 3 次,每次 20 s,间隔 2 min),分别考察液料比 15:1,20:1,25:1,30:1,35:1(mL/g)时,莲壳膳食纤维提取率的变化。

(3) 木瓜蛋白酶用量:设定样品筛目数 60 目,液料比 25:1(mL/g),木瓜蛋白酶提取次数 6×20 s(提取 6 次,每次 20 s,间隔 2 min),糖化酶用量 1%,糖化酶提取时间 3×20 s(提取 3 次,每次 20 s,间隔 2 min),分别考察木瓜蛋白酶用量 1%,2%,3%,4%,5%时,莲壳膳食纤维提取率的变化。

(4) 木瓜蛋白酶微波提取时间:设定样品筛目数 60 目,液料比 25:1(mL/g),木瓜蛋白酶用量 3%,糖化酶用量 1%,糖化酶提取时间 3×20 s(提取 3 次,每次 20 s,间隔 2 min),分别考察木瓜蛋白酶提取时间为 2×20 s,3×20 s,4×20 s,5×20 s,6×20 s(每次 20 s,间隔 2 min)时,莲壳膳食纤维提取率的变化。

(5) 糖化酶用量:设定样品筛目数 60 目,液料比 25:1(mL/g),木瓜蛋白酶用量 3%,木瓜蛋白酶提取时间 5×20 s(提取 5 次,每次 20 s,间隔 2 min)、糖化酶提取时间 3×20 s(提取 3 次,每次 20 s,间隔 2 min),分别考察糖化酶用量为 2%,3%,4%,5%,6%时,莲壳膳食纤维提取率的变化。

(6) 糖化酶微波提取时间:设定样品筛目数 60 目,液料比 25:1(mL/g),木瓜蛋白酶用量 3%,木瓜蛋白酶提取时间 5×20 s(提取 5 次,每次 20 s,间隔 2 min),糖化酶用量 4%时,分别考察糖化酶提取时间为 6×20 s,7×20 s,8×20 s,9×20 s,10×20 s(每次 20 s,间隔 2 min)时,莲壳膳食纤维提取率的变化。

1.3.4 正交试验设计 在单因素试验结果的基础上,以莲壳膳食纤维的提取率为考察指标,选取对提取率有较大影响的因素进行正交试验优化,分析其对莲壳膳食纤维提取率的影响,确定各因素影响提取效果的主次顺序,进而确定提取莲壳膳食纤维的最佳工艺条件。

2 结果与分析

2.1 单因素试验考察

2.1.1 样品筛目数 由图 1 可知,随着样品筛目数的不断增大,莲壳膳食纤维提取率先增加后减少。筛目数为 60 目时,膳食纤维提取率最大,达 52.6%。说明不同筛目数的物料对膳食纤维提取的影响较大。究其原因,可能是筛分越细,越易破坏莲壳分子结构,从而造成分子漂浮,不易被乙醇溶剂提取亦或损失过大。因此,在其他条件不变的情况下,筛目数以 60 目为宜。

2.1.2 液料比 由图 2 可知,随着液料比不断增大,膳食纤维提取率不断增大,当液料比增大至 25:1(mL/g)后,可溶

性膳食纤维逐步溶解,膳食纤维提取率降低,莲子壳膳食纤维在料液比为 25:1(mL/g)时有最大的提取率。因此,在其他条件不变的情况下,选择液料比 25:1(mL/g)为宜。

2.1.3 木瓜蛋白酶用量 木瓜蛋白酶具有分解蛋白质能力强,适用 pH 范围广,热稳定性高等优点,被广泛应用于食品、医药、工业生产中。为制备纯度较高的膳食纤维,本试验利用木瓜蛋白酶对莲壳粉进行处理。由图 3 可知,随木瓜蛋白酶加入量的增加,莲壳膳食纤维提取率呈先升后降的趋势,加酶量为 3%时,提取率达到最大值 50.16%。说明酶与底物间的适宜比例尤为重要,在其他条件不变的情况下,木瓜蛋白酶用量确定为 3%。

2.1.4 木瓜蛋白酶提取时间 由图 4 可知,莲壳膳食纤维提取率先随木瓜蛋白酶提取时间的增加而缓慢上升,5×20 s 时达到最大(59.80%),而后提取率呈下降趋势。这可能源

于微波的离子传导和偶极子转动作用等影响,莲壳分子分解加快,极大地促进木瓜蛋白酶酶解反应速度;随着反应时间的延长,反应底物减少,产物积累对酶活性的反馈抑制作用^[11-12],从而导致提取率下降。因此,微波协同木瓜蛋白酶的提取时间选择 5×20 s 为宜。

2.1.5 糖化酶用量 糖化酶性能稳定,无腐蚀性,价格合理,可用于水解莲子壳中淀粉,其为制备较高纯度膳食纤维的理想酶类。由图 5 可知,莲壳膳食纤维提取率随糖化酶加酶量的增加先上升后降低,加酶量为 4%时达到最高,而后随着酶用量的增加,膳食纤维提取率开始下降。结合生产成本分析,选择糖化酶适宜量为 4%。

2.1.6 糖化酶提取时间 由图 6 可知,糖化酶提取时间对莲壳膳食纤维提取率的影响不大。随着提取时间的延长,莲壳膳食纤维提取率变化呈先增后减的趋势,但总体变化幅度不

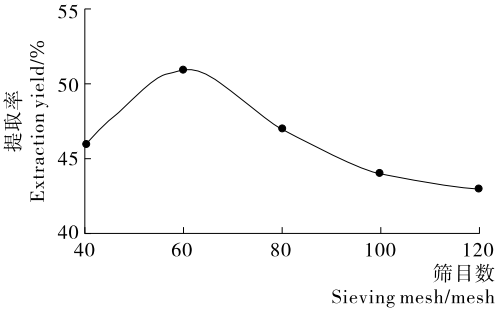


图 1 样品筛目数对莲壳膳食纤维提取率的影响
Figure 1 Effect of sample sieving mesh on extraction rate of dietary fiber in lotus shell

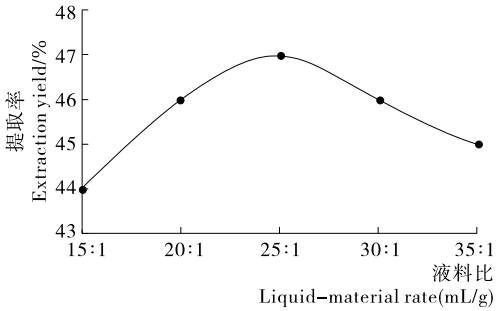


图 2 液料比对莲子壳膳食纤维提取率的影响
Figure 2 Effect of liquid-material rate on extraction rate of dietary fiber in lotus shell

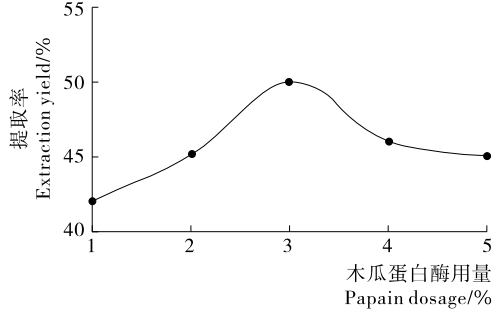


图 3 木瓜蛋白酶用量对莲子壳膳食纤维提取率的影响
Figure 3 Effect of papain dosage on extraction rate of dietary fiber in lotus shell

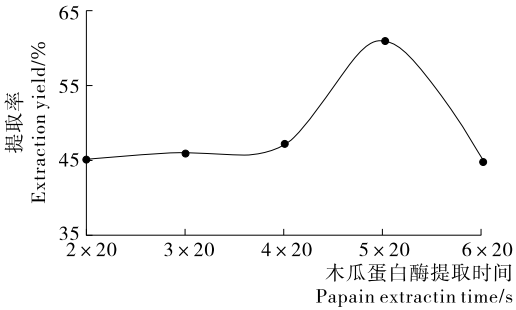


图 4 木瓜蛋白酶提取时间对莲子壳膳食纤维提取率的影响
Figure 4 Effect of papain extraction time on extraction rate of dietary fiber in lotus shell

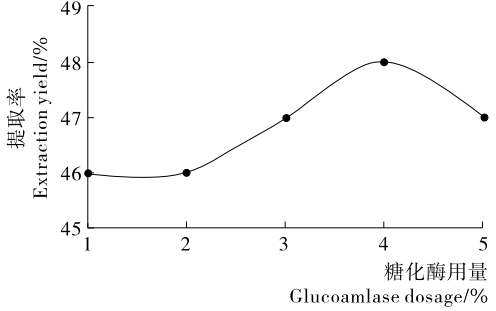


图 5 糖化酶用量对莲壳膳食纤维提取率的影响
Figure 5 Effect of glucoamylase dosage on extraction rate of dietary fiber in lotus shell

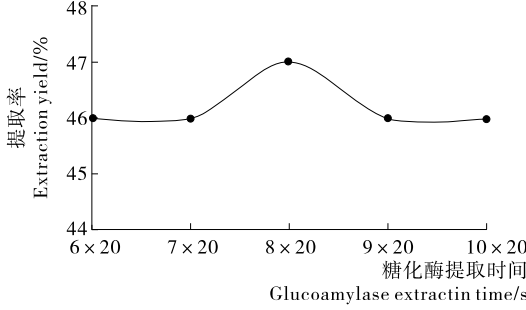


图 6 糖化酶提取时间对莲壳膳食纤维提取率的影响
Figure 6 Effect of glucoamylase extraction time on extraction rate of dietary fiber in lotus shell

大。出于节能考虑,选择糖化酶的最佳提取时间为 $8\times 20\text{ s}$ 。

2.2 正交试验

由单因素试验可知,糖化酶的用量及其提取时间对莲壳膳食纤维提取率的影响较少,因此根据单因素试验结果,选定糖化酶用量为 4% ,糖化酶提取时间为 $8\times 20\text{ s}$ 。正交试验中选定样品筛目数、液料比、木瓜蛋白酶用量、木瓜蛋白酶提取时间 4 个因素,以莲壳膳食纤维提取率为考察指标,设计四因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交试验,试验设计和结果见表 1、2。

表 1 正交试验设计
Table 1 Orthogonal array design

水平	A 筛目/ 目	B 液料比 (mL/g)	C 木瓜蛋白 酶用量/%	D 木瓜蛋白酶 提取时间/s
1	40	20 : 1	2	4×20
2	60	25 : 1	3	5×20
3	80	30 : 1	4	6×20

表 2 莲壳膳食纤维提取正交试验设计及结果
Table 2 Design and results of orthogonal tests for optimizing
extraction of dietary fiber in lotus shell

试验号	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	58.14
2	1	2	2	2	55.78
3	1	3	3	3	58.53
4	2	1	2	3	69.01
5	2	2	3	1	60.86
6	2	3	1	2	59.87
7	3	1	3	2	57.73
8	3	2	1	3	56.46
9	3	3	2	1	58.58
k_1	57.48	61.63	58.16	59.19	
k_2	63.25	57.70	61.12	57.79	
k_3	57.59	58.99	59.04	61.33	
R	5.77	3.93	2.96	3.54	

由表 2 可知,影响莲子壳膳食纤维提取率的 4 个因素的主次顺序依次为筛目 $>$ 液料比 $>$ 木瓜蛋白酶提取时间 $>$ 木瓜蛋白酶用量,最佳工艺组合为 $A_2B_1C_2D_3$,即:筛目数 60 目、液料比 20 : 1(mL/g)、木瓜蛋白酶用量为 3% 、木瓜蛋白酶提取时间为 $6\times 20\text{ s}$ (提取 6 次,每次 20 s,间隔 2 min),糖化酶用量为 4% ,糖化酶提取时间为 $8\times 20\text{ s}$ (提取 8 次,每次 20 s,间隔 2 min)。按照此工艺条件来提取莲子壳中的膳食纤维,重复 3 次,并取其平均值,得提取率为 72.36% 。

2.3 本法与双酶非微波提取法的提取效果比较

微波提取法采用间歇式萃取,由最佳优化工艺可知,微波一双酶总提取时间为 $14\times 20\text{ s}$ (总提取 14 次,每次 20 s,间隔 2 min),总耗时间约为 30 min;相同条件下,双酶非微波提取法总提取时间为 100 min(具体数据略),故微波提取法可缩短 70% 的时间,且提取率大幅提高(提高 82.87%),结果见表 3。因此,从省时、省试剂等诸方面综合考虑,微波一双酶协同提取法以其得率高、时间短、能耗低等特点明显优于常用的单纯双酶提取法。

表 3 微波一双酶提取法与双酶提取法的提取效果比较
Table 3 Comparison of extraction efficiency between micro-wave-enzymatic extraction and enzyme extraction

提取方法	木瓜蛋白酶 用量/%	糖化酶 用量/%	总提取 时间/s	提取率/%
微波一双酶提取法	3	4	14×20	72.36
双酶提取法	3	4	100×60	39.57

3 结论

本试验以莲壳为原料,研究了不同筛目数、液料比、木瓜蛋白酶用量、木瓜蛋白酶提取时间、糖化酶用量、糖化酶提取时间对莲子壳膳食纤维提取率的影响,通过单因素和正交试验分析,明确了微波一双酶协同提取法中影响莲壳膳食纤维提取率的 4 个因素的主次顺序:筛目 $>$ 液料比 $>$ 木瓜蛋白酶提取时间 $>$ 木瓜蛋白酶用量,确定了其最佳工艺条件为:莲子壳筛目为 60 目,液料比 20 : 1(mL/g),木瓜蛋白酶加入量 3% ,微波协同木瓜蛋白酶提取时间 $6\times 20\text{ s}$,糖化酶加入量 4% ,微波协同糖化酶提取时间 $8\times 20\text{ s}$,此条件下,莲子壳膳食纤维的平均提取率为 72.36% 。同时,将本试验与以往常用的双酶提取法相比,微波一双酶协同提取法可缩短 70% 的时间,且提取率提高了 82.87% 。然而,不同提取法制备的莲壳膳食纤维在理化性能及其构效关系的差异尚不明确,有待开展进一步研究。

参考文献

[1] 刘晓婷. 膳食纤维的开发及应用[J]. 中国食品与营养, 2004(9): 21-23.

[2] 赵二劳, 王璐. 膳食纤维的保健功能及其制备研究进展[J]. 食品与机械, 2011, 27(3): 165-168.

[3] 李建文, 杨月欣. 膳食纤维定义及分析方法研究进展[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 350-355.

[4] 吴非, 于胜男, 葛锡娟, 等. 菌质水溶性膳食纤维对小鼠肠蠕动与吸收的影响[J]. 食品与机械, 2015, 31(3): 8-10, 31.

[5] 张艳, 何翠, 刘玉凌, 等. 超声波改性对方竹笋膳食纤维性能和结构的影响[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(1): 151-155.

[6] 周德龙, 高建华, 杨祎静, 等. 莲子壳营养成分分析及类黄酮抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(7): 3 968-3 970.

[7] 李焕霞, 任志, 王华, 等. 我国膳食纤维研究现状分析[J]. 中国食品添加剂, 2007(2): 161-164.

[8] 胥晶, 张涛, 江波. 国内外膳食纤维的研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6): 360-367.

[9] 唐仕荣, 刘全德, 苗敬芝, 等. 超声波协同酶法提取牛蒡膳食纤维工艺[J]. 徐州工程学院学报, 2011, 26(1): 6-11.

[10] 王建辉, 刘永乐, 李赤翎, 等. 丝兰皂甙的微波辅助提取工艺研究[J]. 食品科学, 2012, 33(2): 58-62.

[11] 郑慧, 陈希平, 尤祯丹, 等. 蜂花粉可溶性膳食纤维酶法提取工艺优化及其理化分析[J]. 食品与机械, 2016, 32(12): 184-188.

[12] 杨梦曦, 朱叶, 邓雪盈, 等. 复合酶法提取豆渣膳食纤维的研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(4): 186-189.