

响应面法优化西番莲果皮中 可溶性膳食纤维的酸酶法提取工艺

蒋琳兰^{1*}, 张丰进^{1,2}, 陈良云¹, 陈龙浩¹, 晏聪慧¹

(1. 广州军区广州总医院, 广州 510010; 2. 华南理工大学 生物科学与工程学院, 广州 510640)

[摘要] 目的: 优选西番莲果皮中可溶性膳食纤维的提取工艺, 为其功能产品的研发提供参考。方法: 在单因素试验基础上, 选择柠檬酸溶液质量分数、料液比、耐高温 α -淀粉酶添加量、复合酶反应温度为自变量, 西番莲果皮可溶性膳食纤维提取量为因变量, 利用 Box-Behnken 响应面法优选提取工艺参数。结果: 最佳工艺条件为料液比 1:40, 耐高温 α -淀粉酶添加量 $5.0 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 柠檬酸溶液质量分数 0.18%, 复合酶反应温度 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 。可溶性膳食纤维提取率 13.82%, 与预测值的相对偏差 -6.56%。结论: 采用响应面法优化的西番莲果皮中可溶性膳食纤维提取条件稳定可靠, 具有一定的实用价值。

[关键词] 西番莲; 可溶性膳食纤维; 酸酶法; 耐高温 α -淀粉酶; 木瓜蛋白酶

[中图分类号] R283.6; R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0031-04

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2015090031

Optimization of Acid Enzymatic Extraction Process of Soluble Dietary Fiber from *Passiflora edulis* Peel by Response Surface Methodology JIANG Lin-lan^{1*}, ZHANG Feng-jin^{1,2}, CHEN Liang-yun¹, CHEN Long-hao¹, YAN Cong-hui¹ (1. General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510010, China; 2. School of Bioscience & Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize acid enzymatic extraction process of soluble dietary fiber from *Passiflora edulis* peel and provide references for research and development of its functional food. **Method:** Based on single factor tests, with the concentration of citric acid solution, solid-liquid ratio, thermostable alpha amylase dosage, reaction temperature of complex enzyme as independent variables, extracting amount of soluble dietary fiber as dependent variable, Box-Behnken response surface methodology was used to optimize extraction conditions. **Result:** Optimum process conditions were as follows: solid-liquid ratio of 1:40, thermostable alpha amylase dosage of $5.0 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, the concentration of citric acid solution of 0.18% and reaction temperature of complex enzyme at $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Yield of soluble dietary fiber was 13.82%, whose relative error was -6.56% by comparing with the predictive value. **Conclusion:** Optimization of extraction process of soluble dietary fiber from *P. edulis* peel by response surface methodology is accurate and reliable with some practical value.

[Key words] *Passiflora edulis*; soluble dietary fiber; acid enzymatic method; thermostable alpha amylase; papain

西番莲又名百香果, 原产地拉丁美洲, 现广泛分布于我国广东、云南、福建、海南等地^[1]。西番莲果实产量很大, 每 100 g 中果皮质量达 45 ~ 55 g^[2], 在加工过程中造成了巨大资源浪费。Yapo 等^[3]对紫果西番莲果皮的组成和性能进行分析, 结果发现其总膳食纤维 (total dietary fiber, TDF) 质量分数占果

皮干重的 73%, 其中不可溶膳食纤维 (insoluble dietary fiber, IDF) 组分达 60%。保证合理膳食纤维 (dietary fiber, DF) 摄入量有助于身体健康, 还可有效防治冠心病、糖尿病等疾病的发生^[4-5]。此外 DF 还有一些其他功能特性, 包括良好的外观特性和咀嚼感、超常耐烘烤性、良好的增稠稳定功能

[收稿日期] 20140807(016)

[基金项目] 广东医院制剂研究开发技术平台建设项目(2011A08030004)

[通讯作者] * 蒋琳兰, 硕士, 主任药师, 从事天然药物化学与药物制剂研究, Tel:020-88653475, E-mail: jlinlan@vip.tom.com

等^[6]。普通的 DF 是绿色添加剂,其可溶性膳食纤维(souble dietary fiber, SDF)质量分数 < 3%,物化特性不理想且生理活性较低,摄入过多还会引起人胃肠道不适^[7];而高品质 DF 中 SDF 质量分数 > 10%,持水力、结合水力及膨胀力均高于普通 DF 的 2 倍以上,且物化性能和生理活性较强^[8]。故开发西番莲果皮 SDF,可提高其资源利用率,延长加工产业链,提高产品附加值。

国外研究表明相对于硝酸和盐酸,柠檬酸在提取西番莲果皮果胶时具有明显优势^[9]。故本实验以紫果西番莲果皮为研究对象,采用响应面法优选西番莲果皮中 SDF 的提取工艺,以提高 TDF 中 SDF 质量分数,改善 DF 的品质,为西番莲果皮膳食纤维功能产品的研发提供数据支撑。

1 材料

KDC 型电子可控沉淀器(广东会城无线电厂),BP210S 型电子分析天平(德国赛多利斯公司),YF-118B 型中草药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司)。紫果西番莲果皮(广东省梅州市五华县水寨腾骊公司,经广东省药学院田素英教授鉴定为西番莲科紫果西番莲 *Passiflora edulis* 的新鲜果皮),耐高温 α -淀粉酶($1\ 087\ \text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)、木瓜蛋白酶($800\ \text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$) (阿拉丁试剂,货号分别为 1126816-16290, P123425),其余试剂均为分析纯。

2 方法及结果

2.1 可溶性膳食纤维(SDF)的提取

将新鲜紫果西番莲果皮(紫色)洗净,干燥,粉碎过 60 目筛,干燥贮存。称取一定量果皮粉末置于 2 L 烧杯中,按料液比 1:30 加入柠檬酸溶液,超声提取 30 min,调节 pH 6.23,加入耐高温 α -淀粉酶,于 85 °C 水浴 20 min,冷却至 65 °C,加入木瓜蛋白酶溶液 1 mL,65 °C 水浴 30 min,冷却后过滤,滤液浓缩后加 4 倍量 95% 乙醇沉淀,沉淀干燥后粉碎,得 SDF^[10]。

2.2 单因素试验考察

2.2.1 柠檬酸质量分数

取果皮 10 g,按 2.1 项下方法提取 SDF,柠檬酸质量分数分别为 0,0.05%,0.20%,0.50%,0.75%,1.50%,结果 SDF 提取量分别为 0.92,1.04,1.14,1.11,1.08,1.04 g。

2.2.2 料液比

取果皮 10 g,料液比分别为 1:20,1:25,1:30,1:35,1:40,其他条件同 2.1 项下,结果 SDF 提取量分别为 0.98,0.99,1.05,1.07,1.11 g,从节约成本角度考虑,后续试验中料液比选择 1:30。

2.2.3 反应温度

取果皮 10 g,按 2.1 项下方法提取 SDF,反应温度在 40 ~ 80 °C 时,SDF 提取量几乎

无变化,在 1.09 ~ 1.12 g。说明柠檬酸溶液反应温度对提取工艺影响不明显。

2.2.4 耐高温 α -淀粉酶添加量

取果皮 10 g,按 2.1 项下方法提取 SDF,耐高温 α -淀粉酶添加量分别为 5,10,20,30,40 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$,结果 SDF 提取量分别为 0.98,1.07,1.13,1.12,1.09 g,故在后续研究中,耐高温 α -淀粉酶添加量中间水平选择 17.5 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

2.2.5 木瓜蛋白酶添加量

取果皮 10 g,按 2.1 项下方法提取 SDF,木瓜蛋白酶能使西番莲果皮中大分子蛋白质水解成小分子肽或氨基酸,有利于 SDF 从致密的纤维结构中释放。但在酸酶法制备紫果西番莲果皮 SDF 过程中,木瓜蛋白酶添加量分别为 100,300,500,1 000,1 500 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 时,木瓜蛋白酶添加量对 SDF 提取量的影响较小。

2.2.6 复合酶反应温度

取果皮 10 g,按 2.1 项下方法提取 SDF,反应温度分别设定为 40,50,60,70,80 °C,结果 SDF 提取量分别为 0.97,1.01,1.06,1.15,1.04 g。温度在 40 ~ 70 °C 时,随温度的提高,SDF 提取量逐渐增加;但当温度 > 70 °C 时,SDF 提取量逐渐降低,这可能是因为温度过高抑制了酶的活性所致。

2.2.7 复合酶反应 pH

取果皮 10 g,按 2.1 项下方法提取 SDF,反应 pH 分别设定为 4,5,6,7,8。结果 SDF 提取量在 0.98 ~ 1.04 g。说明 pH 对 SDF 提取量的影响不大。

2.3 响应面优化

在单因素试验基础上,选择柠檬酸溶液质量分数、料液比、耐高温 α -淀粉酶添加量和复合酶反应温度为考察因素,以 SDF 提取量为评价指标,称取紫果西番莲果皮 10 g,设计四因素三水平的 Box-Behnken 响应面试验优选酶解工艺条件 ($n = 2$),因素编码水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 紫果西番莲果皮中可溶性膳食纤维提取工艺响应面试验因素水平

Table 1 Factors and levels of response surface test of extraction process of souble dietary fiber from *Passiflora edulis* peel

编码水平	A 柠檬酸溶液质量分数/%	B 料液比	C 耐高温 α -淀粉酶添加量/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$	D 复合酶反应温度/°C
-1	0.05	1:20	5.0	40
0	0.15	1:30	17.5	60
1	0.25	1:40	30.0	80

采用 Design Expert 7.0 软件对表中数据进行回归分析,得各因素与 SDF 提取量间的二次多项回归

表 2 紫果西番莲果皮中可溶性膳食纤维提取工艺响应面试验分析
Table 2 Response surface test analysis of extraction process of
souble dietary fiber from *Passiflora edulis* peel

No.	A	B	C	D	SDF 提取量/g
1	0	1	0	1	1.52
2	-1	0	0	1	1.00
3	0	0	1	-1	1.35
4	0	0	0	0	1.37
5	0	0	0	0	1.33
6	0	0	0	0	1.35
7	0	0	-1	-1	1.25
8	0	-1	0	-1	1.13
9	0	-1	1	0	1.21
10	0	-1	0	1	1.17
11	1	0	0	1	1.27
12	-1	1	0	0	0.77
13	-1	0	0	-1	0.90
14	0	-1	-1	0	1.14
15	1	0	0	-1	1.25
16	0	0	-1	1	1.39
17	0	1	-1	0	1.29
18	0	0	0	0	1.35
19	0	0	0	0	1.46
20	0	0	1	1	1.40
21	0	1	1	0	1.37
22	1	0	-1	0	1.22
23	-1	0	-1	0	1.09
24	-1	0	1	0	1.05
25	0	1	0	-1	1.26
26	1	1	0	0	1.28
27	1	0	1	0	1.34
28	-1	-1	0	0	0.71
29	1	-1	0	0	0.93

方程 $Y = 1.37 + 0.15A + 0.100B + 0.028C + 0.051D + 0.073AB + 0.040AC + 0.055BD - 0.26A^2 - 0.14B^2 + 0.023C^2$ 。方差分析表明模型为极显著,失拟项不显著,说明该模型可靠;模型复相关系数 0.970 6,说明响应值的变化有 97.06% 来源于所选变量,模型拟合度良好。同时,该模型信噪比 18.348,说明具有很强的响应信号。方程中 A, B, D, AB, A² 和 B² 均为显著性影响因素,说明各因素对响应值的影响不是简单的线性关系。4 个因素对西番莲果皮中 SDF 提取量的影响顺序为 A > B > D > C。各因素交互作用的响应面和等高线见图 1~4。

由图 1 可知,不同水平柠檬酸溶液质量分数对料液比响应抛物曲线最高点位置的影响较大,而不同水平料液比对柠檬酸溶液质量分数的响应抛物曲线最高点位置的影响开始时较大,但达 1:30 后影响较小,等高线呈椭圆形,说明这 2 个因素存在着较强的交互作用,见图 4。由图 2 可知,SDF 提取量随着

表 3 可溶性膳食纤维提取量方差分析
Table 3 Variance analysis of extraction amount of souble dietary
fiber

方差来源	SS	f	MS	F	P
模型	1.04	10	0.10	28.51	<0.000 1
A	0.26	1	0.26	71.67	<0.000 1
B	0.12	1	0.12	32.94	<0.000 1
C	9.633×10^{-3}	1	9.633×10^{-3}	2.64	0.121 3
D	0.031	1	0.031	8.51	0.009 2
AB	0.021	1	0.021	5.77	0.027 3
AC	6.400×10^{-3}	1	6.400×10^{-3}	1.76	0.201 6
BD	0.012	1	0.012	3.32	0.085 0
A ²	0.46	1	0.46	127.58	<0.000 1
B ²	0.13	1	0.13	37.02	<0.000 1
C ²	3.687×10^{-3}	1	3.687×10^{-3}	1.01	0.327 7
残差	0.066	18	3.643×10^{-3}		
失拟项	0.055	14	3.935×10^{-3}	1.50	0.373 9
纯误差	0.010	4	2.620×10^{-3}		
总离差	1.10	28			

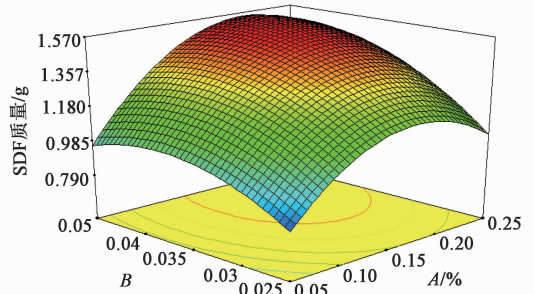


图 1 料液比和柠檬酸溶液质量分数对西番莲果皮中 SDF 提取量影响的响应面

Fig.1 Response surface of solid-liquid ratio and the concentration of citric acid solution on extraction amount of souble dietary fiber from *Passiflora edulis* peel

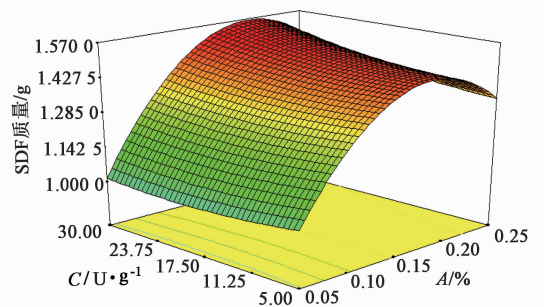


图 2 耐高温 α -淀粉酶和柠檬酸溶液质量分数对西番莲果皮中 SDF 提取量影响的响应面

Fig.2 Response surface of thermostable alpha amylase dosage and concentration of citric acid solution on extraction amount of souble dietary fiber from *Passiflora edulis* peel

柠檬酸溶液质量分数的增加而增加,但响应值对耐高温 α -淀粉酶并不敏感。由图 3 可知,相对于复合酶反应温度,不同水平料液比对响应值较为敏感,且

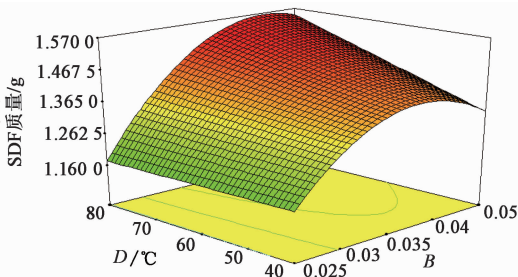


图 3 复合酶反应温度和料液比对西番莲果皮中 SDF 提取量影响的响应面

Fig. 3 Response surface of reaction temperature of complex enzyme and solid-liquid ratio on extraction amount of soluble dietary fiber from *Passiflora edulis* peel

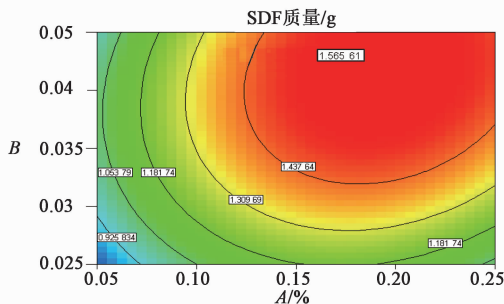


图 4 料液比和柠檬酸溶液质量分数对西番莲果皮中 SDF 提取量影响的等值线

Fig. 4 Contour plot of solid-liquid ratio and the concentration of citric acid solution on on extraction amount of soluble dietary fiber from *Passiflora edulis* peel

随着料液比的增加 SDF 提取量逐渐增大。由图 4 可知,两因素交互作用很明显,这与回归分析的结果一致。通过分析得最佳工艺条件为料液比 1:40,耐高温 α -淀粉酶添加量 $30 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,柠檬酸溶液质量分数 0.19%,复合酶反应温度 $80 \text{ }^\circ\text{C}$; SDF 提取率 15.66%。但实际操作中为节约成本,建议采用料液比 1:40,耐高温 α -淀粉酶添加量 $5.0 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,柠檬酸溶液质量分数 0.18%,复合酶反应温度 $80 \text{ }^\circ\text{C}$; SDF 提取率 14.79%,即西番莲果皮 100 g 可提取得到 SDF 14.79 g。

2.4 验证试验 称取西番莲果皮 5 份,每份 10 g,按优选的工艺条件进行验证,结果 SDF 平均提取率 13.82%,与理论提取率的相对偏差 -6.56%,说明采用响应面法优化的酶解工艺条件准确可靠。

3 讨论

响应面法是通过中心组合试验研究各因素间交互作用的一种回归分析方法,具有较高的近似精度,并可对试验值进行预测^[11]。响应面回归分析适用于非线性模型拟合,得到的预测值和实测值偏差较

小,可解决多变量问题。SDF 的提取方法中,微生物发酵是一种比较新颖的方法,其原理是利用微生物发酵技术发酵原材料制备 SDF,安全、高效、低成本^[12]。但微生物发酵法也存在局限性,如菌种选育和 SDF 性质改良作用不明显等问题^[12]。结合生产实际和实验室条件等考虑,本文选择了酸酶法提取紫果西番莲果皮中 SDF。制备的膳食纤维粒径均匀,质地细腻,呈淡黄色粉末状,明显改善了 SDF 品质。

[参考文献]

- [1] 古粹芝. 中国植物志. 第 52 卷[M]. 北京:科学出版社,1999:113.
- [2] 谭丽德,玉灵莉,陈全斌. 我国西番莲的研究状况浅析[J]. 福建热作科技,2007,32(3):40-42.
- [3] Yapo B M, Koffi K L. Dietary fiber components in yellow passion fruit rind-a potential fiber source[J]. J Agr Food Chem, 2008, 56(14):5880-5883.
- [4] Post R E, Mainous A G, King D E, et al. Dietary fiber for the treatment of type 2 diabetes mellitus; a meta-analysis[J]. J Am Board Fam Med, 2012, 25(1):16-23.
- [5] Kaczmarezyk M M, Miller M J, Freund G G. The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer [J]. Metabolism, 2012, 61(8):1058-1066.
- [6] 陆克峰,杨海军. 膳食纤维在功能性食品中的应用及其发展前景[J]. 中国食物与营养,2004(3):24-26.
- [7] Bijkerk C J, Muris J W M, Knottnerus J A, et al. Systematic review: the role of different types of fibre in the treatment of irritable bowel syndrome[J]. Aliment Pharm Therap, 2004, 19(3):245-251.
- [8] 张艳荣,王大为,祝威. 高品质玉米膳食纤维生产工艺的研究[J]. 食品科学,2004,25(9):213-217.
- [9] Kliemann E, Simas D, Nunes K, et al. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis* flavicarpa) using response surface methodology [J]. Int J Food Sci Tech, 2009, 44(3):476-483.
- [10] 陈良云,蒋琳兰. 制备工艺对西番莲种子膳食纤维理化性质影响的比较研究[J]. 食品工业科技,2012,33(23):81-84.
- [11] 刘家水,李世杰,张丹雁,等. 响应曲面法优化南板蓝根中总生物碱的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(9):41-44.
- [12] 裘纪莹,陈蕾蕾,王未名,等. 发酵法制备高品质膳食纤维的研究进展[J]. 中国食物与营养,2010(6):24-27.

[责任编辑 刘德文]