张　嫚. 响应面法优化蒲菜中膳食纤维的提取工艺[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):233 - 235.

响应面法优化蒲菜中膳食纤维的提取工艺

张　嫚
(江苏食品药品职业技术学院,江苏淮安 223001)

摘要:以蒲菜为原料,研究木瓜蛋白酶添加量、α - 淀粉酶添加量、酶解温度、醇碱液料比、醇碱比、醇碱反应温度等 6 个因子对水不溶性膳食纤维提取率的影响。Plackett - Burman 法和最陡爬坡试验证明醇碱比、木瓜蛋白酶添加量和醇碱液料比为影响水不溶性膳食纤维提取率的重要因子,CCD 试验表明其最佳提取水平分别为 8∶25、5.79%、14.15 mL∶1 g,此时水不溶性膳食纤维提取率达 45.63%。在最佳提取条件下,非重要因子及其水平分别为:α - 淀粉酶添加量 200 U/g、酶解温度 55 ℃、醇碱反应温度 45 ℃,此时水溶性膳食纤维提取率为 3.58%,所得水不溶性膳食纤维的膨胀率为 3.72 mL/g,持水率为 319%。说明该数学模型对优化蒲菜水不溶性膳食纤维的提取工艺可行。

关键词:蒲菜;水不溶性膳食纤维;水溶性膳食纤维;优化;响应面; 提取工艺
中图分类号:TS255.3　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1002 - 1302(2013)09 - 0233 - 03

作为第七大营养素的膳食纤维多指来源于植物的内源性不消化碳水化合物和木质素,包括一部分不能消化的多糖、低聚糖以及其他植物缔合物。近年来,膳食纤维因可显著降低目前困扰人类的多种慢性疾病的发病率而备受关注[1]。膳食纤维的制备和应用成为功能食品研究的热点话题,因地制宜地选择绿色食品原料,提高农产品的附加值,生产安全无污染的膳食纤维具有重要价值。本研究以江苏淮安地区天然的蒲菜(*Typha latifolia*)为原料,以酶 - 化学法制备清洁无污染的膳食纤维,运用 Plackett - Burman(PB)法对试验进行统计学设计和数据分析,筛选出对目标值影响最大的关键因素,以减少优化过程中考察的因素数量和试验次数,根据 PB 试验结果设计最陡爬坡试验,以确定关键因素的中心点,然后利用响应面法对关键因素的提取条件进行优化[2],对最终成品进行检测。所有试验设计、数据处理及模型建立均采用 Design - Expert 8.0 Trial 软件进行处理[3]。

1　材料与方法

1.1　材料、试剂与仪器

蒲菜于收获季节购于江苏省淮安市前进路农贸市场。木瓜蛋白酶(80 万 U/g)和中温 α - 淀粉酶(1 万 U/g),食品级,上海佳和生物科技有限公司。

仪器:抽真空装置、可振荡水浴锅、电子分析天平、干燥器、pH 计、吸管、磁力搅拌器、打浆机、胶体磨、离心机、恒温干燥箱、过滤坩埚。

试剂:95% 乙醇、丙酮、盐酸、氢氧化钠等均为分析纯。

1.2　试验方法

1.2.1　蒲菜中膳食纤维提取工艺流程[4-5]　新鲜蒲菜预处理→粉碎→打浆→胶体磨处理→酶解→碱提→离心→干燥→蒲菜纤维粉成品→检测。操作要点:(1)新鲜蒲菜预处理。去除最外层木质化的皮层和可烹调的幼嫩蒲菜心,将剩余部分清洗干净,作为制备膳食纤维的原料。(2)粉碎。将清洗干净待用的蒲菜粉碎,淋洗,部分除去原料中的蛋白质和淀粉。(3)打浆。将粉碎的蒲菜配成固形物含量为 20% 的混合物,用打浆机进行打浆。(4)胶体磨处理。将固形物含量为 20% 的蒲菜浆液的混合物,经胶体磨处理 2 ~ 3 次。(5)酶解。pH 值调整为 6.0,加入中温 α - 淀粉酶和木瓜蛋白酶(75 ℃,0.6%),恒温水浴加热酶解,去除淀粉和蛋白质。(6)碱提。一定料液比加入 95% 乙醇 - 0.05 mol/L NaOH 溶液,经 4 000 r/min 离心 15 min,沉淀,去上清液,经 105 ℃干燥 4 h,得水不溶性膳食纤维。上清液经旋转蒸发仪进行浓缩,加入 4 倍体积 95% 乙醇,隔夜静止,得水溶性膳食纤维。

1.2.2　分析方法

1.2.2.1　水溶性膳食纤维、水不溶性膳食纤维测定方法　采用 GB/T 5009.88—2008《食品中膳食纤维的测定》的方法进行测定。

1.2.2.2　膨胀率测定[6]　准确称取经干燥制取的膳食纤维 0.1 mg,置于量筒中,准确吸取 5 mL 蒸馏水加入其中,振荡均匀,室温下放置 24 h,读取量筒中膳食纤维的体积,计算膨胀率。

1.2.2.3　持水率测定[6]　称取 2 g 膳食纤维粉放入烧杯中,然后加入 150 mL 的蒸馏水,搅拌均匀,静置 2 h 后,将纤维用快速滤纸滤去多余水分,把保留在滤纸上的湿样品转移到表面皿中称重(m_1),再将表面皿放入 110 ℃的烘箱中,烘烤至恒重,在干燥器中冷却后称重(m_2),根据下式计算持水力(WHC):$WHC = (m_1 - m_2)/m_2 \times 100\%$。

1.2.3　试验设计

1.2.3.1　PB 试验设计　PB 试验设计能从众多考察因素中快速筛选出最重要的几个因素,试图以最少的试验次数使因素的主效果得到尽可能精确的估计。本试验根据单因素试验结果,选取影响水不溶性膳食纤维提取率的 6 个试验因素[7],每个因素取 2 个水平,低水平用“ - 1”表示,高水平用“1”表示,为了避免因素间重要性的掩盖,水平间浓度梯度不宜过大。进行 12 次试验,响应值为水不溶性膳食纤维的提取率。自变量、编码和水平因素见表 1。

收稿日期:2013 - 03 - 01
基金项目:江苏省淮安市农业科技支撑计划(编号:SN1176)。
作者简介:张　嫚(1975—),女,山东莱州人,硕士,讲师,从事食品安全与质量控制、畜产品加工。E - mail:50628636@qq.com。

表 1　水不溶性膳食纤维提取条件的 PB 试验设计的因素水平

因子水平	木瓜蛋白酶添加量 X_1（%）	α－淀粉酶添加量 X_2（U/g）	酶解温度 X_3（℃）	醇碱液料比 X_4（mL∶g）	醇碱比 X_5	醇碱反应温度 X_6（℃）
－1	3	200	55	10∶1	1∶2	45
1	5	400	65	14∶1	1∶4	55

1.2.3.2　最陡爬坡试验　根据 PB 试验结果设计最陡爬坡试验路径，按一定的梯度从 1∶2 减少醇碱比（负效应），木瓜蛋白酶添加量从 4% 和醇碱液料比从 12 mL∶1 g 按一定的梯度增加（正效应），其余 3 个因素均取初始水平，检测水不溶性膳食纤维提取率的变化，从而确定这 3 个 因素的最适水平范围。

1.2.3.3　中心合成设计（central composite design，CCD）　通过 PB 试验筛选得到 3 个显著因素醇碱比、木瓜蛋白酶添加量和醇碱液料比，并以这 3 个因素为自变量，以最陡爬坡试验得出的浓度作为中心点，每个因素编码水平见表 2，根据相应的试验表进行试验后，使用 Design－Expert 8.0 Trial 软件进行响应面分析。

表 2　水不溶性膳食纤维提取条件的 CCD 试验因素水平

水平	A：醇碱比	B：木瓜蛋白酶添加量（%）	C：醇碱液料比（mL∶g）
－1	1∶5	4.5	12∶1
0	3∶10	6.0	14∶1
1	2∶5	7.5	16∶1

2　结果与分析

2.1　水不溶性膳食纤维提取条件的 PB 试验结果

PB 试验设计结果见表 3，采用 Design－Expert 8.0 Trial 软件对表 3 中的水不溶性纤维提取率进行回归分析，得到各影响因子的偏回归系数及显著性结果。表 4 表明，醇碱比、木瓜蛋白酶添加量和醇碱液料比对响应值的提取率影响明显。其中，醇碱比对响应值的影响是负效应，木瓜蛋白酶添加量和醇碱液料比对响应值的影响是正效应。

表 3　水不溶性膳食纤维提取条件的 PB 试验设计及结果

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	水不溶性纤维提取率（%）
1	1	－1	1	1	1	－1	38.6
2	1	－1	－1	－1	1	－1	34.4
3	－1	1	－1	1	1	－1	31.2
4	1	－1	1	1	－1	1	45.1
5	－1	－1	1	－1	1	1	29.8
6	1	1	－1	1	1	1	36.9
7	1	1	1	－1	－1	－1	41.7
8	1	1	－1	－1	－1	1	38.5
9	－1	－1	－1	－1	－1	－1	42.6
10	－1	1	1	－1	1	1	34.5
11	－1	－1	－1	1	－1	1	41.3
12	－1	1	1	1	－1	－1	39.6

2.2　水不溶性膳食纤维提取条件中心试验点的确定

表 5 表明，随着醇碱比的减小、木瓜蛋白酶添加量和液料比的增加，水不溶性膳食纤维提取率呈先增加后下降的趋势，提取率最高时，醇碱比、木瓜蛋白酶添加量和液料比分别为 3∶10、6%、14 mL∶1 g，以此水平作为中心点，进行下一步优化试验。

表 4　水不溶性膳食纤维提取条件的偏回归系数及影响因子的显著性分析

变量	回归系数	标准效应	贡献率（%）	排名
X_1	1.35	2.70	9.15	2
X_2	－0.78	－1.57	3.08	4
X_3	0.37	0.73	0.68	5
X_4	0.93	1.87	4.37	3
X_5	－3.62	－7.23	65.69	1
X_6	－0.17	－0.33	0.14	6

表 5　水不溶性膳食纤维提取条件的最陡爬坡试验设计及其结果

试验号	醇碱比	木瓜蛋白酶添加量（%）	醇碱液料比（mL∶g）	水不溶性膳食纤维提取率（%）
1	1∶2	4	12∶1	34.6
2	2∶5	5	13∶1	37.9
3	3∶10	6	14∶1	45.3
4	1∶5	7	15∶1	42.5
5	1∶10	8	16∶1	38.4

2.3　水不溶性膳食纤维最佳提取条件的确定

以醇碱比、木瓜蛋白酶添加量和醇碱液料比 3 个重要因素为自变量，各因素编码水平如表 2 所示，CCD 试验设计及结果如表 6 所示。

表 6　水不溶性膳食纤维提取条件的 CCD 试验设计及其结果

试验号	A：醇碱比	B：木瓜蛋白酶添加量	C：醇碱液料比	水不溶性膳食纤维提取率（%）
1	0	0	0	46.1
2	0	0	0	43.9
3	－1	－1	1	36.8
4	0	0	0	44.5
5	－1	－1	－1	35.9
6	1	－1	－1	41.5
7	0	0	0	44.8
8	0	0	1.68	39.6
9	1	1	1	38.5
10	0	0	0	45.6
11	1.68	0	0	38.2
12	1	－1	1	37.3
13	0	0	－1.68	35.8
14	1	1	－1	37.1
15	0	0	0	45.9
16	0	1.68	0	36.4
17	0	－1.68	0	39.6
18	－1	1	－1	31.6
19	－1	0	0	35.2
20	－1	1	1	38.8

试验数据使用 Design – Expert 8.0 Trial 软件进行二次回归拟合后，得到如下回归方程：$Y = 45.13 + 1.20A - 0.80B + 0.86C - 0.11AB - 1.36AC + 1.49BC - 2.94A^2 - 2.48B^2 - 2.59C^2$，$R^2 = 0.9827$，方程回归性显著。预测模型的使用条件醇碱比为 1∶5 ~ 2∶5、木瓜蛋白酶添加量为 4.5% ~ 7.5%、醇碱液料比为 12 ~ 14 mL∶1 g，在此条件下可以用该模型预测水不溶性膳食纤维的提取率。

表 7　水不溶性膳食纤维提取率回归方程方差分析结果

变异来源	平方和	均方	*F*	*P*
模型	330.15	36.68	63.28**	<0.000 1
A	19.56	19.56	33.75**	0.000 2
B	8.67	8.67	14.96**	0.003 1
C	10.01	10.01	17.26**	0.002 0
AB	0.10	0.10	0.17	0.684 8
AC	14.85	14.85	25.62**	0.000 5
BC	17.70	17.70	30.53**	0.000 3
A^2	124.77	124.77	215.22**	<0.000 1
B^2	88.83	88.83	153.24**	<0.000 1
C^2	96.59	96.59	166.61**	<0.000 1
残差	5.80	0.58		
失拟项	2.02	0.40	0.54	0.744 7
纯误差	3.77	0.75		
总值	335.95			

注：** 表示在 0.01 水平上差异显著。

利用 Design – Expert 8.0 Trial 软件对回归模型进行响应面分析，得到各响应面立体分析结果（图 1、图 2、图 3），对回归方程求解，得到模型极值点，即醇碱比、木瓜蛋白酶添加量和醇碱液料比分别为 8∶25、5.79%、14.15 mL∶1 g，在此条件下，水不溶性膳食纤维提取率达 45.329%，水溶性膳食纤维提取率为 3.58%，水不溶性膳食纤维的膨胀率为 3.72 mL/g，持水率为 319%。

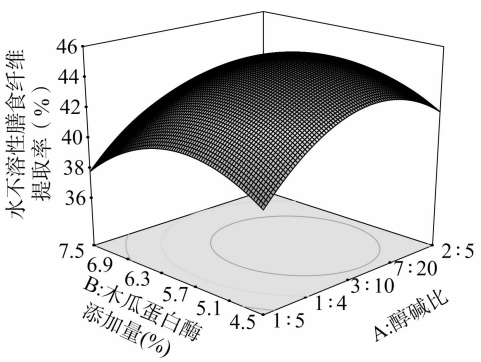

图1　木瓜蛋白酶添加量和醇碱比对水不溶性膳食纤维提取率交互作用的响应面

2.4　优化结果验证

为检验模型的准确性，在预测最佳提取条件下平行试验 3 次，水不溶性膳食纤维实际提取率为 45.63%，与预测值 45.329% 接近，证明该模型能较好地预测水不溶性膳食纤维实际提取率。

3　结论与讨论

利用 Plackett – Burman 法筛选出影响响应值的方法，更有利于突出重要因子，同时有效利用单因素试验已证明的结论，在此基础上，再用最陡爬坡试验和 CCD 进一步优化，在较短的时间内，快速优化提取条件，响应值比单因素试验和正交试验分别提高 21.2%、13.7%。Design – Expert 8.0 Trial 软件方便的操作和验证试验结果都表明，该软件可满足试验对数据处理的要求。

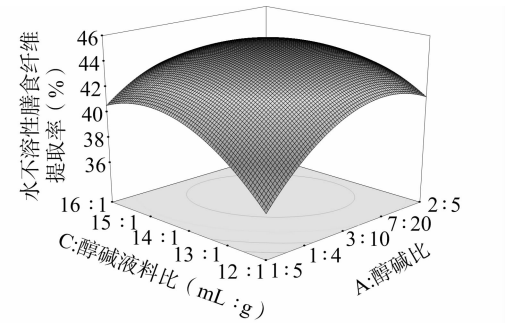

图2　醇碱液料比和醇碱比对水不溶性膳食纤维提取率交互作用的响应面

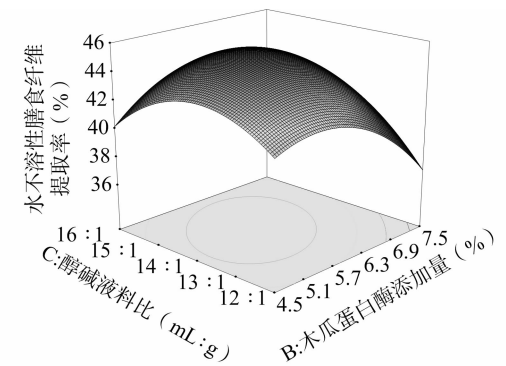

图3　醇碱液料比和木瓜蛋白酶添加量对水不溶性膳食纤维提取率交互作用的响应面

Plackett – Burman 法和最陡爬坡试验证明醇碱比、木瓜蛋白酶添加量和醇碱液料比为影响水不溶性膳食纤维提取率的重要因子，CCD 试验表明其最佳水平分别为 8∶25、5.79%、14.15 mL∶1 g，此时水不溶性膳食纤维提取率达 45.63%，在最佳提取条件下，非重要因子及其水平分别为：α – 淀粉酶添加量 200 U/g、酶解温度 55 ℃、醇碱反应温度 45 ℃，并测得水溶性膳食纤维提取率为 3.58%，水不溶性膳食纤维的膨胀率为 3.72 mL/g，持水率为 319%。

参考文献：

[1]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 – 362，367.

[2]张　超，张克峰，侯书国，等. 利用响应面法优化 ε – 聚赖氨酸发酵培养基[J]. 微生物学通报，2011，38(5)：641 – 646.

[3]徐向宏，何明珠. 试验设计与 Design – Expert，SPSS 应用[M]. 北京：科学出版社，2010.

[4]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.

[5]吴　晖，侯　萍，李晓凤，等. 不同原料中膳食纤维的提取及其特性研究进展[J]. 现代食品科技，2008，24(1)：91 – 95.

[6]秦　杰，苗敬芝，董玉玮. 双酶法提取花生粕中总膳食纤维的研究[J]. 食品科技，2011，36(10)：157 – 160.

[7]袁　建，李大川，石嘉怿，等. 响应面法优化麦麸蛋白质和膳食纤维的提取工艺[J]. 食品科学，2011，32(10)：25 – 30.