

木聚糖酶改性红松松仁膜衣膳食纤维工艺优化及结构分析

赵欣锐, 王秋阳, 杨晰茗, 孙阔, 焦思桐, 徐红艳*

(延边大学, 吉林 延吉 133002)

摘要: 本试验以红松松仁膜衣为原料, 对其不溶性膳食纤维进行木聚糖酶改性。采用响应面法优化改性工艺, 研究各自变量对改性后松仁膜衣可溶性膳食纤维 (Solubler Dietary Fiber of *Pinus koraiensis* nut coated-film, P-SDF) 得率的影响, 确定最优条件为: pH 5.6、加酶量 5 057 U/g、酶解时间 75 min, 改性后 P-SDF 得率达 13.0%; 通过扫描电子显微镜、红外光谱和 X-射线衍射检测改性前后 P-SDF, 结果表明: 改性后 P-SDF 的表面孔隙增加、疏松多孔、化学官能团变化较大、结晶区被破坏, 可预测其理化功能性质得到改善。木聚糖酶改性是一种适合松仁膜衣膳食纤维改性的优良方法。

关键词: 松仁膜衣; 膳食纤维; 木聚糖酶; 改性; 响应面法; 结构分析

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2019)05-0111-05

Optimizing the Preparation Process of Dietary Fiber of *Pinus Koraiensis* Nut Coated-Film Modified by Xylanase and Analysis of Its Structure

ZHAO Xinrui, WANG Qiuyang, YANG Ximing, SUN Kuo, JIAO Sitong, XU Hongyan*

(Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: *Pinus Koraiensis* nut coated-film was used as raw material in this experiment, and its IDF was modified by xylanase. Response surface analysis was used to optimize the modification process to study interaction effect of variables on the yield of modified P-SDF. The optimal conditions were determined as follows: the pH was 5.6, the enzyme dosage was 5 057 U/g, and the enzymatic hydrolysis time was 75 min, and the yield of modified P-SDF was 13.0%. The structure of modified P-SDF was detected by scanning electron microscope, infrared spectroscopy and X-ray diffraction. The results showed that the surface pores of modified P-SDF increased, the chemical functional groups were greatly changed, the crystallization zone was destroyed, so its physical and chemical functional properties can be predicted to be improved. Xylanase modification is an excellent modification method on dietary fiber of *Pinus Koraiensis* nut coated-film.

Key words: *Pinus Koraiensis* nut coated-film; Dietary fiber; Xylanase; Modification; Response surface method; Analysis of structure

红松 (*Pinus koraiensis*), 别称韩松, 主要分布在中国东北的小兴安岭到长白山一带及俄罗斯、朝鲜、日本等地域^[1-2]。红松松仁膜衣为松仁外层附着的一层红棕色薄皮, 是松仁生产加工过程中的副产物, 占松仁质量的 4% ~ 5%。松仁膜衣中含有黄酮、多酚、多糖、蛋白质^[3]以及大量的膳食纤维等营养和功能性成分, 但目前基本未被加工利用。

膳食纤维被誉为“第七大营养素”, 根据在水中溶解性不同, 分为不溶性膳食纤维和可溶性膳食纤维^[4]。可溶性膳食纤维可快速排泄胆固醇、促进体内有毒重金属的排出、在调节血糖与血脂、防止心血管疾病等方面具有良好的生理活性, 可作为稳定剂、增稠剂和胶凝剂等应用于食品工业^[5-9]。研究表明可溶性膳食纤维比不溶性膳食纤维具有更好的生理活性以及加工性能, 因此, 提高可溶性膳食纤维得率在实际应用上有着十分重要的意义^[10]。

本文以红松松仁膜衣为原料, 采用木聚糖酶法对 P-IDF 进行改性, 优化改性工艺条件, 并通过扫描电子显微镜、红外光谱和 X-射线衍射对改性

收稿日期: 2019-05-13

基金项目: 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目重点课题 (JJ-KH20180885KJ)

作者简介: 赵欣锐 (1996-), 女, 在读硕士, 研究方向为食品营养与安全。

通讯作者: 徐红艳, 女, 博士, 副教授, E-mail: xuhongyan@ybu.edu.cn

前后 P-SDF 与 P-IDF 的结构进行比较研究。旨在提高 P-SDF 得率,并改善其理化功能性质,以促进红松松仁膜衣的精深加工及功能性食品开发。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

红松松仁膜衣由梅河口市实全土特产品有限公司提供。高峰氏 α -淀粉酶、碱性蛋白酶、淀粉葡萄糖苷酶、木聚糖酶均购自北京博奥拓达科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

PHS-3C 型酸度计(上海仪电科学仪器股份有限公司);LGJ-10 型冷冻干燥机(北京四环仪器厂);日立扫描电子显微镜 S-3400N(江苏万科科教仪器有限公司);D/max-2200 型 X 射线衍射仪(日本理学公司);IRPrestige-21 型傅里叶变换红外光谱仪(岛津国际贸易有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 P-SDF、P-IDF 和 改 性 后 P-SDF、改 性 后 P-IDF 的 制 备

P-SDF 和 P-IDF 按照 GB 5009.88-2014 提取后冷冻干燥。

P-IDF 经木聚糖酶酶解后,沸水浴 10 min 灭酶、抽滤、沉淀为改性后 P-IDF;上清液按 1:4 加入无水乙醇,置于 4℃ 冰箱过夜,抽滤后沉淀为改性后 P-SDF,均冷冻干燥。

1.2.2 P-IDF 的木聚糖酶改性单因素试验

1.2.2.1 料液比对改性后 P-SDF 得率的影响

称取 1.000 g P-IDF,料液比分别为 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25(g:mL,下同),调节 pH 为 6.0,加入 6 000 U/g 木聚糖酶搅拌均匀,50℃ 水浴 60 min。上清液醇沉(按 1.2.1,下同),沉淀烘干称重。

1.2.2.2 加酶量对改性后 P-SDF 得率的影响

称取 1.000 g P-IDF,料液比为 1:20,调节 pH 为 6.0,分别以 4 000 U/g、5 000 U/g、6 000 U/g、7 000 U/g、8 000 U/g 加入木聚糖酶,搅拌均匀 50℃ 水浴 60 min。上清液醇沉,沉淀烘干称重。

1.2.2.3 pH 对改性后 P-SDF 得率的影响

称取 1.000 g P-IDF,料液比为 1:20,分别调节 pH 至 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5,以 5 000 U/g 加入木聚糖酶,搅拌均匀,50℃ 水浴 60 min。上清液醇沉,沉淀烘干称重。

1.2.2.4 酶解温度对改性后 P-SDF 得率的影响

称取 1.000 g P-IDF,料液比为 1:20,调节 pH 为 5.5,以 5 000 U/g 加入木聚糖酶,搅拌均匀,分别置于 40℃、45℃、50℃、55℃、60℃ 水浴 60 min。上清液醇沉,沉淀烘干称重。

1.2.2.5 酶解时间对改性后 P-SDF 得率的影响

称取 1.000 g P-IDF,料液比为 1:20,调节 pH 为 5.5,以 5 000 U/g 加入木聚糖酶,搅拌均匀,55℃ 分别水浴 30 min、60 min、90 min、120 min、150 min。上清液醇沉,沉淀烘干称重。

1.2.3 响应面试验优化木聚糖酶改性工艺条件

在单因素试验的基础上,采用 Box-Behnken 中心设计原理,以加酶量、酶解时间、pH 三个因素为试验因素,改性后 P-SDF 得率为响应值设计响应面试验。试验因素和水平编码见表 1。

表 1 响应面试验因素水平

水平	加酶量(U/g)	时间(min)	pH
-1	4 000	30	5.0
0	5 000	60	5.5
1	6 000	90	6.0

1.2.4 扫描电镜结构观察

根据杨开等^[11]方法进行测定。

1.2.5 X 射线衍射测试

根据易甜等^[12]方法进行测定。

1.2.6 红外光谱测定

根据皮双双等^[13]方法进行测定。

2 结果与分析

2.1 P-IDF 木聚糖酶改性的单因素试验结果

2.1.1 料液比对改性后 P-SDF 得率的影响

由图 1 可知,当料液比较小时,酶与反应底物不能充分接触,得率较低;随料液比逐渐增大,底物能够均匀分散,有利于与酶的充分接触,料液

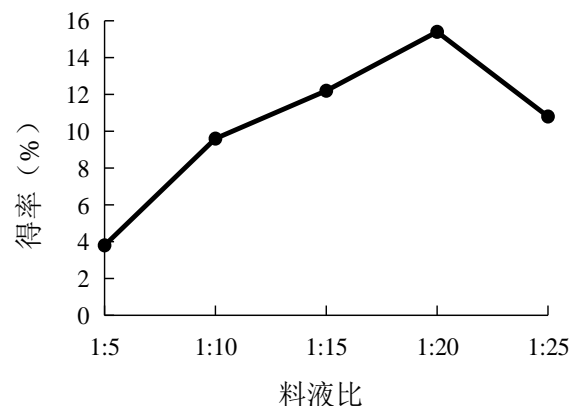


图 1 料液比对改性后 P-SDF 得率的影响

比为1:20时,得率最高;随着料液比不断增大,单位体积底物含量降低,底物扩散范围增大,反应速率降低,得率下降。因此,最佳料液比为1:20。

2.1.2 加酶量对改性后P-SDF得率的影响

由图2可知,加酶量小于5 000 U/g时,得率随加酶量增加而提高;高于5 000 U/g后,得率逐渐下降。原因可能为加酶量过大,使得制备出来的一部分SDF被降解成一些小分子物质而不能被乙醇沉淀,得率下降。因此,最佳加酶量为5 000 U/g。

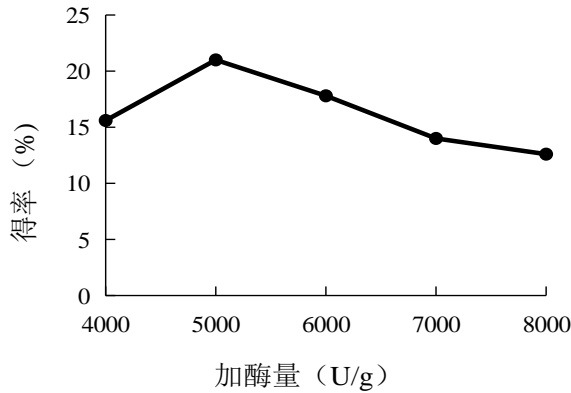


图2 加酶量对改性后P-SDF得率的影响

2.1.3 pH值对改性后P-SDF得率的影响

由图3可知,当pH低于5.5时,得率随pH增加而提高;当pH大于5.5时得率开始下降。pH值过高或过低都会使酶的活性减弱。因此,最佳pH为5.5。

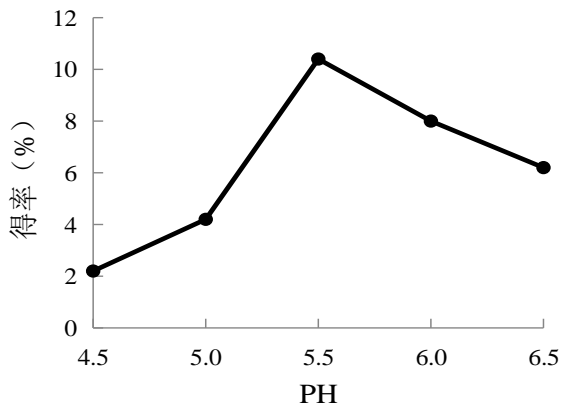


图3 pH值对改性后P-SDF得率的影响

2.1.4 酶解温度对改性后P-SDF得率的影响

由图4可知,酶的作用温度低于55℃时,得率随温度的升高而提高;温度高于55℃后,由于温度过高,酶活力降低,得率不断下降。因此,最佳酶解温度为55℃。

2.1.5 酶解时间对改性后P-SDF得率的影响

由图5可知,在60 min内,随着时间的延长,得率不断增加;60 min后,由于酶解反应基本完成,

此时酶开始以P-SDF为底物,分解得到小分子物质而无法被乙醇沉淀,从而得率下降。因此,最佳酶解时间为60 min。

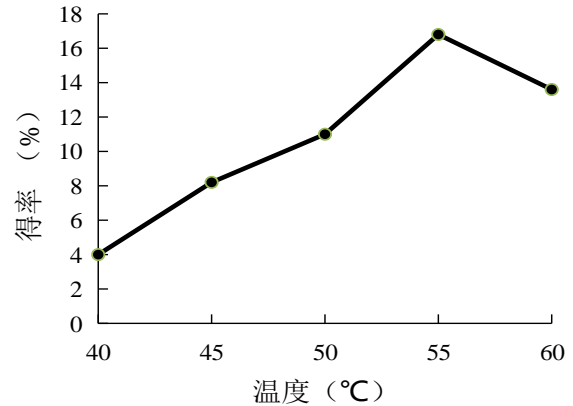


图4 酶解温度对改性后P-SDF得率的影响

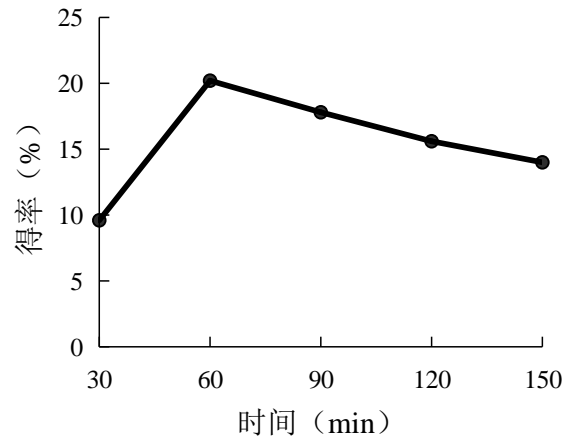


图5 酶解时间对改性后P-SDF得率的影响

2.2 P-IDF木聚糖酶改性工艺优化

2.2.1 响应面优化改性条件

实验方案与改性后P-SDF得率如表2所示。结果经回归拟合,得到回归模型为:

$$Y=14.000+0.1875X_1+0.1875X_2+4.8750X_3+1.3750X_1^2+0.1250X_2^2-0.5000X_1X_2-0.3750X_1X_3-1.1250X_2X_3$$

2.2.2 模型的显著性检验

由表3可知,一次项 X_3 极显著影响改性后P-SDF得率($P<0.01$),交互项 X_2X_3 极显著影响改性后P-SDF得率($P<0.01$),二次项 X_1^2 显著影响改性后P-SDF得率($P<0.05$),交互项 X_2X_3 显著影响改性后P-SDF得率($P<0.05$),其余项影响不显著($P>0.05$)。

由表4可知, $R^2=95.20%$;改性后P-SDF得率回归模型的P值为0.001,为极显著($P<0.01$);失拟项的P值为0.559,为不显著($P>0.05$)。表明该模型对各因素与响应值之间的真实关系具有可靠

表2 响应面试验设计方案与结果

试验号	加酶量(U/g)	时间(min)	pH	改性后P-SDF得率(%)
1	-1	-1	0	14.51
2	1	-1	0	16.02
3	-1	1	0	16.01
4	1	1	0	15.52
5	-1	0	-1	9.54
6	1	0	-1	10.52
7	-1	0	1	21.02
8	1	0	1	20.51
9	0	-1	-1	8.54
10	0	1	-1	11.03
11	0	-1	1	19.53
12	0	1	1	17.52
13	0	0	0	13.04
14	0	0	0	14.52
15	0	0	0	14.51

表3 响应面优化改性后P-SDF得率模型的系数检验

项	系数	系数标准误	T	P
常量	14.0000	0.4873	28.727	0.000
X ₁	0.1875	0.2984	0.628	0.557
X ₂	0.1875	0.2984	0.628	0.557
X ₃	4.8750	0.2984	16.335	0.000
X ₁ ²	1.3750	0.4393	3.130	0.026
X ₂ ²	0.1250	0.4393	0.285	0.787
X ₃ ²	-0.0000	0.4393	-0.000	1.000
X ₁ X ₂	-0.5000	0.4220	-1.185	0.289
X ₁ X ₃	-0.3750	0.4220	-0.889	0.415
X ₂ X ₃	-1.1250	0.4220	-2.666	0.045

性,可以利用此模型进行分析和预测木聚糖酶对于P-IDF的改性效果。

图6为木聚糖酶加酶量、酶解时间和pH三个因素影响改性后P-SDF得率的响应面和等值线。

综合分析响应面试验结果可知,木聚糖酶加

表4 响应面优化改性后P-SDF得率回归方程的方差分析

来源	自由度	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
回归	9	204.338	204.338	22.7042	31.87	0.001
线性	3	190.688	190.688	63.5625	89.21	0.000
平方	3	7.025	7.025	2.3417	3.29	0.116
交互作用	3	6.625	6.625	2.2083	3.10	0.127
残差误差	5	3.562	3.562	0.7125		
失拟	3	2.062	2.062	0.6875	0.92	0.559
纯误差	2	1.500	1.500	0.7500		
合计	14	207.900				

酶量、酶解时间和pH对改性后P-SDF得率的影响大小排序为:pH>加酶量=酶解时间,其中pH影响极显著($P<0.01$),交互项按影响大小排列依次为:酶解时间和pH>加酶量和酶解时间>加酶量和pH,且酶解时间和pH交互作用显著($P<0.05$)。依据回归方程,P-IDF改性最佳制备工艺为:pH5.6、加酶量5.057 U/g、酶解时间75 min。

2.2.3 验证试验

根据最佳工艺条件进行三次验证试验,改性后P-SDF得率分别为12.93%、13.02%和13.11%,平均得率为13.02%,与回归模型预测理论值14.52%接近,RSD为0.98%。表明该模型符合实际情况,响应面法优化P-IDF的改性条件具有真实可靠性。

2.3 扫描电镜结构比较

从扫描电镜图可看出,在相同放大倍数下(3000×),P-SDF颗粒表面较光滑,组织致密,具有

比较完整的组织;改性后P-SDF的颗粒表面粗糙,裂纹增多,纤维网络组织破坏得更加严重,疏松多孔,呈蜂窝状。改性后P-SDF将会暴露出大量亲水亲油基团,这种微观结构的变化可能有利于改善其水合性质和吸附能力^[14]。

2.4 X射线衍射图谱比较

改性前后P-SDF的X射线衍射谱图见图8,二者分别在扫描角度 2θ 为 21.14° 、 22.6° 处有明显的结晶衍射峰,同时分别在 32.14° 、 31.52° 两处有较弱的衍射峰,纤维素类物质的晶区一般是由无序的无定形区和有序的结晶区组成^[15],这些峰均表明二者具有纤维素I型的X射线衍射曲线特征,说明其晶型与其他植物源膳食纤维相同。改性后P-SDF衍射强度降低,表明酶使结晶区表面纤维素大分子断裂且水解,结晶区变小,即可溶性成分部分被包围在紧密的结晶纤维素结构内,改性处理对结晶区造成部分破坏,如使结晶区纤维素

分子间的氢键破坏,纤维素分子发生部分降解,水溶性成分得以溶出^[16]。非结晶区的无序性、无定型特性导致了膳食纤维结构更加松散、无序,与扫描电镜结果分析吻合。

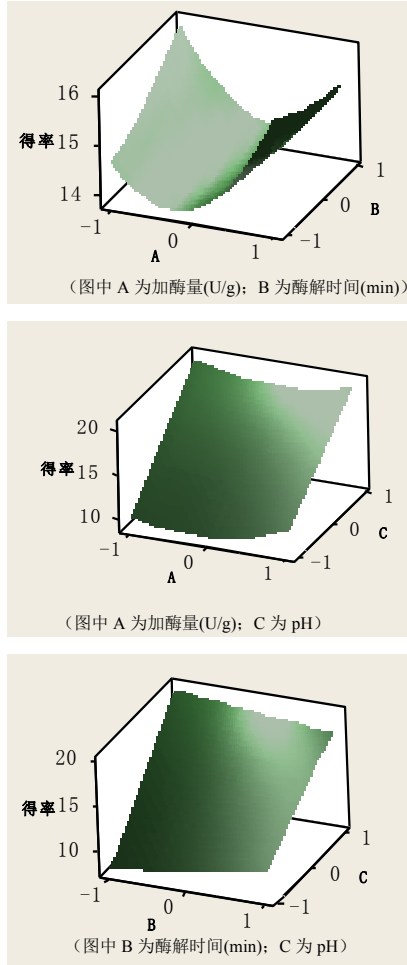


图6 各因素交互作用的响应面图

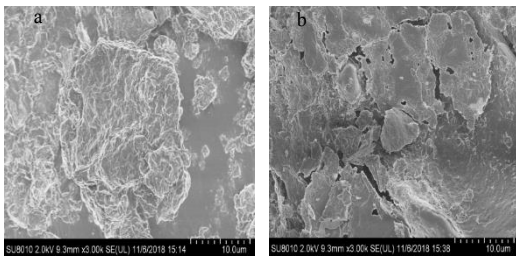


图7 改性前后P-SDF的扫描电镜图
a.P-SDF(3 000×);b.改性后P-SDF(3 000×)

2.5 红外光谱图比较

改性后P-SDF在 3408 cm^{-1} 处出现较强的圆滑吸收峰是O-H的伸缩振动^[17],P-SDF未出现该吸收峰,表明制备改性后P-SDF时,糖苷键断裂,形成氢键;P-SDF在 1745 cm^{-1} 处的特征吸收峰为醛的吸收峰,由C=O伸缩所致,改性后此峰消失,表明改性后P-SDF不含醛类物质;P-SDF在 835 cm^{-1} 、 893 cm^{-1} 处出现多糖的 β -构型糖苷键的吸

收峰,改性后P-SDF也出现该多糖吸收峰,但由于含量或结合程度不同,导致它们在吸收强度上存在较大差异。 1651 cm^{-1} 处的吸收峰是木质素中的芳香苯引起的, 1242 cm^{-1} 处的吸收峰是木质素组分的特征性弯曲或拉伸(图9)。在木聚糖酶改性后,这些峰的强度均降低,表明一些木质素被降解。木聚糖酶改性使P-SDF保留糖类特征吸收峰的同时,其结构发生了一定程度的改变。

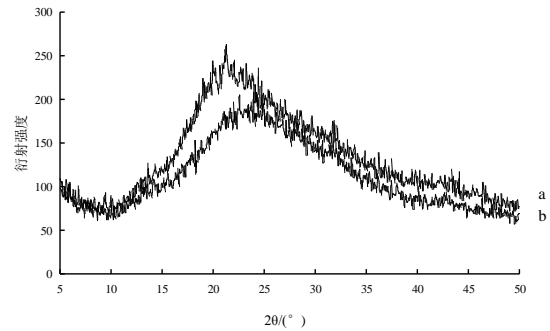


图8 改性前后P-SDF的XRD谱图
a.P-SDF;b.改性后P-SDF

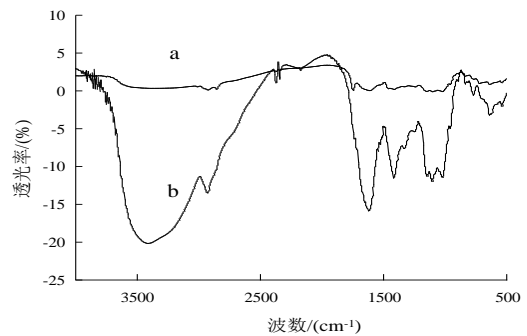


图9 改性前后P-SDF的红外光谱图
a.P-SDF;b.改性后P-SDF

3 结论

本文以红松松仁膜衣为原料,采用木聚糖酶对P-IDF进行改性,通过响应面法优化得到最佳改性条件为:pH5.6、加酶量 5057 U/g 、酶解时间 75 min ,各因素对改性后P-SDF得率的影响顺序为:pH>加酶量=酶解时间。通过验证试验,平均得率为 13.02% ,与回归模型预测的理论值接近,RSD为 0.98% ,表明该响应面优化的条件具有真实可靠性。

与P-SDF相比,改性后P-SDF得率提高的同时,其表面裂纹增多、疏松多孔、化学官能团变化较大、结晶区被破坏,可预测其理化功能性质得到改善。因此,木聚糖酶改性是一种适合松仁膜衣膳食纤维改性的优良方法。

(下转第122页)

>C>B,即对糖果口感影响最大的是麦芽糖浆。

3 结 论

以罗汉果为原料,在单因素的基础上采用响应面分析方法对罗汉果甜苷提取工艺进行优化,最终确定50%乙醇作为提取溶剂,将罗汉果在60℃的温度下提取100 min,反复提取3次,液料比为20:1,在此工艺下罗汉果甜苷的提取率为5.9%。

以罗汉果甜苷为原料通过正交试验确定天然利咽喉保健糖果的最佳制作配方为:50%麦芽糖浆、30%罗汉果甜苷浸提液、5%(奶粉:淀粉=1:1)、10%薄荷、0.5%钙、0.3%海藻酸钠,此法制作

出的糖果颜色均匀有光泽,口感细化且不粘牙,味道清凉甜味适中,不添加任何香精、色素且具有保健功能,可满足消费者对保健食品日益增长的需要。

参考文献:

- [1] 张庆莲,黄娟,吴智慧,等.罗汉果的药理及开发应用的研究概况[J].药学研究,2017,36(3):164-165,186.
- [2] 付红军,彭湘莲.枇杷叶中超声辅助提取熊果酸的工艺研究[J].中南林业科技大学学报,2011,31(6):144-147.
- [3] 施源德,欧阳锐,苏羽航,等.一种气凝胶型夹心鱼糜糖果的研制[J].宁德师范学院学报(自然科学版),2018,30(3):317-323.
- [4] 王喜萍,李长生.响应面法优化菝葜中活性成分提取工艺[J].食品科技,2014,39(2):205-209.
- [5] 赵楠.东北红松松仁蛋白的分离及其体外模拟消化研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2017.
- [6] 方琳娜,陈印军,刘时东.东北地区中低产田时空分布特征及其改良措施[J].吉林农业科学,2015,40(2):57-61.
- [7] 赵起越,程晓强,徐红艳.红松松仁膜衣营养成分的测定[J].吉林农业,2016(16):65.
- [8] 熊娟,龚玉杰,程志强,等.三种不同天然木质纤维材料降解过程中物种种类、组成和多样性的对比分析[J].东北农业科学,2018,43(5):27-33.
- [9] Zhang Ning, Huang Caihuan, Ou Shiyi. In vitro binding capacities of three dietary fibers and their mixture for four toxic elements, cholesterol, and bile acid[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 186(1): 236-239.
- [10] Ge Xiaolong, Tian Hongliang, Ding Chao, et al. Fecal Microbiota Transplantation in Combination with Soluble Dietary Fiber for Treatment of Slow Transit Constipation: A Pilot Study[J]. Archives of Medical Research, 2016, 47(3): 236-242.
- [11] S Ou, Y Li, L Fu, et al. In-vitro study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2001, 49(2): 1026-1029.
- [12] Elke Theuwissen, Ronald P Mensink. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease[J]. Physiology & Behavior, 2008, 94(2): 285-292.
- [13] Małgorzata Moczowska, Sabina Karp, Yuge Niu, et al. Enzymatic, enzymatic-ultrasonic and alkaline extraction of soluble dietary fibre from flaxseed—A physicochemical approach[J]. Food Hydrocolloids, 2019, (90) 105-112.
- [14] Tem ThiDang, ThavaVasanthan. Modification of rice bran dietary fiber concentrates using enzyme and extrusion cooking[J]. Food Hydrocolloids, 2019(89): 773-782.
- [15] 杨开,杨振寰,吴伟杰,等.雷笋膳食纤维酶法改性及其理化性能和结构变化[J].食品与发酵工业,2019,45(4):36-41.
- [16] 易甜,崔文文,王明锐,等.锦橙皮渣膳食纤维微粉化及其功能特性研究[J/OL].食品科学.<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20181029.1711.056.html>.
- [17] 皮双双,王静祎,陈亚淑,等.黑糯玉米芯可溶性膳食纤维的提取、结构表征及抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2018,39(11):219-224+231.
- [18] Luo Xianliang, Wang Qi, Fang Dongya, et al. Modification of insoluble dietary fibers from bamboo shoot shell: Structural characterization and functional properties[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018(120): 1461-1467.
- [19] 张馨月,刘海棠,刘忠,等.咖啡渣膳食纤维超高压改性吸水润胀性能的研究[J].食品工业,2018,39(3):134-137.
- [20] 周丽珍,孙海燕,刘冬,等.改性方法对豆渣膳食纤维的结构影响研究[J].食品科技,2011,36(1):143-147.
- [21] 樊红秀.高品质人参膳食纤维制取工艺优化及其功能特性的研究[D].长春:吉林农业大学,2013.

(上接第115页)

参考文献: