

复合酶处理对麦麸中膳食纤维的影响

宋 玉, 曹 磊, 石林娟, 王 健, 刘 超

(安徽省农业科学院 农产品加工研究所, 安徽 合肥 230031)

摘 要:以小麦麸为原材料, 采用 α -淀粉酶结合复合纤维素酶处理, 研究了不同酶处理方法对小麦麸膳食纤维中淀粉、蛋白质及植酸的去除作用及其对膳食纤维最终得率的影响。实验结果表明: α -淀粉酶结合复合纤维素酶处理法的效果显著优于单独使用一种酶处理, 能显著降低膳食纤维中淀粉、蛋白质以及植酸的含量, 且将麦麸可溶性膳食纤维的得率提高至 25.3%。

关键词:小麦麸; α -淀粉酶; 复合纤维素酶; 可溶性膳食纤维

中图分类号:S 816.44 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2015)01-0013-04

Effects of composite enzyme processing on wheat bran dietary fiber

SONG Yu, CAO Lei, SHI Lin-juan, WANG Jian, LIU Chao

(Institute of Agro-products Processing, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei Anhui 230031)

Abstract: The effect of different enzyme treatments which dealt with α -amylase combined with composite cellulase on the final yield of dietary fiber and removal function of starch, protein, phytic acid in wheat bran dietary fiber was studied. The results indicated that the effect of treatment with α -amylase combined with composite cellulase was significantly better than that with one enzyme alone, and it significantly reduced the content of starch, protein, and phytic acid in dietary fiber. And the yield of wheat bran soluble dietary fiber (SDF) was raised to 25.3%.

Key words: wheat bran; α -amylase; composite cellulase; soluble dietary fiber

小麦麸皮是制粉工业的主要副产品, 麸皮中含有大量的膳食纤维、蛋白质、矿物质和维生素等营养成分。膳食纤维具有降低胆固醇、改善血糖生成反应、预防便秘、解毒等作用, 被誉为第七大营养素^[1-4]。根据在热水中的溶解性, 膳食纤维大致可分为不溶性膳食纤维 (Insoluble Dietary Fiber, IDF) 和水溶性膳食纤维 (Soluble Dietary Fiber, SDF) 两类。许多研究表明, 膳食纤维中水溶性成分即 SDF 起着关键性的作用^[5], 当膳食纤维具有溶解的特性后, 不但应用范围大, 而且口感更好。

由于当前对麦麸的深度开发利用技术尚处于较低水平, 绝大部分的麸皮仅用于酿酒、饲料等领域, 极少有麦麸食品上市, 食用和商品价值较低^[6]。同时, 现阶段膳食纤维产业化制备一般采用化学法和机械降解处理法, 这不仅使几乎全部的水溶性膳食纤维和半数的纤维素损失了^[7], 而且严重污染环

境。因此, 如何对麦麸中膳食纤维进行高效提取, 如何更大限度地提高水溶性膳食纤维 (SDF) 出品率是当前研究的重点。

天然来源的膳食纤维中 SDF 含量很低, 通过改性手段可以使一部分 IDF 溶解成为 SDF, 从而提高 SDF 产量。有研究认为, 膳食纤维组成中 SDF 占膳食纤维总量的 10% 以上才能成为高品质的膳食纤维^[8]。因此, 提高 SDF 的比例, 是提高和改善膳食纤维质量和生理功能的主要途经。利用复合生物酶法 (纤维素酶、半纤维素酶、木聚糖酶) 的改性作用, 对膳食纤维进行降解, 可破坏纤维和其他营养物质的交联结构, 使纤维类大分子糖苷键断裂, 聚合度下降, 部分不溶性纤维转化成非消化性的可溶性多糖, 提高其可溶性纤维含量和蛋白质等其它营养成分的溶出^[9-12]。

本实验主要测定了经过 α -淀粉酶结合复合纤维素酶 (纤维素酶、半纤维素酶和木聚糖酶) 处理后的麦麸膳食纤维中蛋白质、淀粉以及植酸等杂质的含量变化, 间接研究了不同处理方法对麦麸膳食纤维纯度的影响, 以期开发高纯度可溶性及不溶性膳食纤维功能食品提供理论依据。

收稿日期: 2014-06-20

基金项目: 安徽省自主创新专项 (11Z0101051); 安徽省农业科学院科技创新团队 (14C1206); 安徽省农业科学院学科建设项目 (14A1232)

作者简介: 宋玉, 1985 年出生, 女, 安徽凤阳人, 硕士。

通讯作者: 刘超, 1963 年出生, 男, 研究员。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小麦麸皮,市购,水洗后 60 ℃ 烘干备用; α -淀粉酶,来源于细菌,酶活力 3 700 U/g,北京索莱宝科技有限公司;纤维素酶(来源于李氏木霉,酶活力 110 000 U/g)、半纤维素酶(来源于黑曲霉,酶活力 2 000 U/g)、木聚糖酶(来源于真菌,酶活力 140 000 U/g),宁夏夏盛实业有限公司;盐酸、无水乙醇,国药集团化学试剂有限公司,均为分析纯。

1.2 仪器与设备

电子分析天平,ML104,瑞士 Mettler Toledo(梅特勒-托利多)公司;紫外可见分光光度计,1900PC,上海谱元仪器有限公司;低温冰箱,DW-25L262,青岛海尔特种电器有限公司;烘箱,GZX-GF101-3-BS,上海恒跃医疗器械有限公司;实验室试管干燥器,C20,郑州长城科工贸;磁力搅拌器,85-2A,金坛市医疗仪器厂;离心机,TGL-16M,湘智离心机厂。

1.3 实验方法

1.3.1 酶处理方法:

酶解处理分为三组:复合纤维素酶处理; α -淀粉酶结合碱处理; α -淀粉酶、复合纤维素酶结合碱处理,复合纤维素酶中纤维素酶、半纤维素酶和木聚糖酶的比例为 1:1:1,CK 组为原料麦麸经水浴后直接沉淀烘干上清液醇沉,酶处理得到的不溶性及可溶性膳食纤维烘干至恒重后称重,计算两者的得率:

得率(可溶性及不溶性膳食纤维)/% = 酶处理后膳食纤维重量/样品麦麸重量 $\times$ 100。

CK 组:麦麸→水浴(60 ℃,5 h)→离心(3 500 r/min,10 min)→沉淀(IDF)/上清醇沉(SDF)。

处理一:麦麸→复合纤维素酶处理(酶解条件:酶解温度 60 ℃,加酶量 0.7%,反应时间 4 h)→离心(3 500 r/min,10 min)→沉淀(IDF)/上清醇沉(SDF)。

处理二:麦麸→ α -淀粉酶处理(酶解条件:酶解温度 65 ℃,加酶量 0.4%,反应时间 40 min)→碱处理(条件:处理温度 50 ℃,碱含量 4%,处理时间 45 min)→酸调 pH→离心(3 500 r/min,10 min)→沉淀(IDF)/上清醇沉(SDF)。

处理三:麦麸→ α -淀粉酶处理(酶解条件:酶解温度 65 ℃,加酶量 0.4%,反应时间 40 min)→碱处理(条件:处理温度 50 ℃,碱含量 4%,处理时间 45 min)→酸调 pH→复合纤维素酶处理(酶解条件:酶解温度 60 ℃,加酶量 0.7%,反应时间 4 h)→离心(3 500 r/min,10 min)→沉淀(IDF)/上清醇沉(SDF)。

1.3.2 可溶性蛋白质含量测定

采用考马斯亮蓝 G250 法^[13]进行测定。

取干燥待测样品 0.5 g,加少量石英砂、蒸馏水研磨成匀浆,定容至 100 mL,静置 30 min,过滤,滤液定容至 100 mL,备用。

取 2 mL 滤液,加入考马斯亮蓝 G250 2 mL,另取一支试管加入蒸馏水 2 mL、考马斯亮蓝 G250 2 mL 作为空白对照,在 595 nm 波长下测定其吸光度。

1.3.3 淀粉含量测定

采用蒽酮比色法^[14]测定淀粉含量。

操作步骤:称取 0.5 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 80% 乙醇溶液 2 滴使样品湿润,再加入 5 mL 水,摇匀,加入 25 mL 热的 80% 乙醇溶液,摇匀后放置 5 min,离心(2 500 r/min,5 min),倾出上清液,再用 30 mL 80% 乙醇溶液提取 1 次。在上述残留物中加入 5 mL 水和 30 mL 52% 高氯酸溶液,搅拌 10 min,离心(2 500 r/min,10 min),将上清液转入 100 mL 容量瓶中,残留物用 35 mL 52% 高氯酸溶液提取,合并提取液,以水定容,过滤,弃去最初 5 mL 滤液。吸取 10 mL 滤液于 250 mL 容量瓶中,加水定容。取上述淀粉提取液 2 mL,沸水浴显色后于 640 nm 波长处测定溶液的吸光度。

1.3.4 植酸含量测定

植酸提取及含量测定参考文献^[15-16],采用分光光度法间接测定样品中的植酸含量。

准确称取 0.5 g 待测样品粉末于 250 mL 具塞锥形瓶中,加入 40 mL 提取剂(50 g/L 的三氯乙酸和 100 g/L Na₂SO₄),摇匀,浸泡过夜。在 20 ℃、120 r/min 条件下振荡 30 min 后,提取液分别经过滤纸、0.22 μ m 滤膜,取上述滤液 10 mL 依次加入 500 μ g/mL 铁标准液 3 mL 和 3.5 mol/L NaCl 2 mL,加去离子水至 15 mL。摇匀后,于 60 ℃ 条件下反应 20 min。取出后冷却,经 0.22 μ m 滤膜过滤,取上述滤液 1 mL,依次加入 50 g/L 盐酸羟胺 2 mL、1 g/L 邻菲罗啉 2 mL,加去离子水至 25 mL。摇匀,静置 30 min 后于 510 nm 下比色。根据标准曲线的回归方程计算 ΔA 相应的植酸浓度。

准确配制 300 μ g/mL 的植酸标准液,按表 1 进行标准曲线绘制。

表 1 植酸标准曲线制作 mL

管号	0	1	2	3	4	5	空白
300 μ g/mL 植酸标准液	0	2	4	6	8	10	0
500 μ g/mL 铁标准液	3	3	3	3	3	3	0
3.5 mol/L NaCl	2	2	2	2	2	2	2
加水至 15 mL,摇匀,于 60 ℃ 中反应 20 min。冷却,过 0.22 μ m 滤膜							
取上述滤液	1	1	1	1	1	1	1
50 g/L 盐酸羟胺	2	2	2	2	2	2	2
1 g/L 邻菲罗啉	2	2	2	2	2	2	2
加水至 25 mL,摇匀,静置 30 min							
OD ₅₁₀	A ₀	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	调零

注:以试剂空白调零。

以0号管的OD值 A_0 依次减去各管的OD值得到的 ΔA_i 为纵坐标,植酸浓度为横坐标制作标准曲线,得回归方程: $y=0.0597x-0.0031$, $R^2=0.9954$ 。

植酸含量计算公式如下:样品中植酸含量/(mg/g)= $3.75C/W$,其中C为测定样品溶液中的植酸浓度,单位 $\mu\text{g/mL}$;W为取样量,单位为g。

1.4 数据分析

数据分析采用SPSS19.0软件系统进行统计分析,不同处理组间显著性检验采用Duncan法,结果以均值 $\pm$ 标准偏差表示,显著性水平为0.05。

2 结果与分析

2.1 不同处理组麦麸中IDF和SDF得率的变化

由表2可知,IDF在麦麸膳食纤维中所占比例较大,CK组及处理1中IDF含量显著高于处理2和处理3,主要原因是处理2组经过淀粉酶解、碱处理过程,处理3经过淀粉酶解、碱处理以及纤维素酶酶解,麦麸中原有的淀粉、蛋白质和不可溶纤维被部分降解为可溶性部分,随着后续的清洗步骤被洗掉,导致得率降低,而处理1仅仅经过复合纤维素酶处理,IDF的降解效果不明显,可能是由于纤维素酶水解纤维素时,需要酶与纤维素直接接触,在天然纤维素酶解过程中,半纤维、木质素、果胶等杂质的存在以及纤维素的结晶度、聚合度等因素对酶解的效率均有直接影响^[17],麦麸表面覆盖大量淀粉,影响了纤维素酶的效果。

CK组的IDF和SDF得率高于处理1和处理2($P<0.05$),主要原因可能是CK组没有经过酶处理,得到的IDF和SDF中杂质较多,纯度低;处理3组的SDF显著高于其他三组($P<0.05$),达到25.3%,主要原因可能是处理3中 α -淀粉酶处理后加入了复合纤维素酶处理,使麦麸中的不可溶膳食纤维部分分解成为小分子量的单糖或寡糖^[10],从而提高了SDF的得率,并且 α -淀粉酶水解麦麸中淀粉成为糊精及低聚糖,这两种糖类可能跟随可溶性膳食纤维溶解于后面的水解液中,所以当用乙醇沉淀可溶性纤维时,酶水解液中的低聚糖及糊精也随之沉淀导致可溶性膳食纤维得率增大^[18]。与此对应,单独使用复合纤维素酶却没有达到两种酶协同作用的效果,其SDF含量显著低于两种酶共同处理组(处理3),也是与淀粉没有降解从而导致IDF的降解效果不佳有关。

表2 不同处理组膳食纤维得率变化 %		
处理组	IDF	SDF
CK组	79.1 $\pm$ 5.35 ^a	14.4 $\pm$ 0.28 ^b
处理1	61.3 $\pm$ 5.11 ^b	10.4 $\pm$ 0.15 ^c
处理2	18.2 $\pm$ 2.33 ^c	9.1 $\pm$ 1.33 ^c
处理3	17.4 $\pm$ 1.37 ^c	25.3 $\pm$ 0.2 ^a

注:不含相同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同处理组麦麸SDF中可溶性蛋白质含量

如图1所示,CK组和处理1组SDF中蛋白质含量略低于原料麦麸,但差异不显著,处理2和处理3SDF中的蛋白质含量均低于原料麦麸以及另外两组(CK组和处理1, $P<0.05$),原因可能是处理2和处理3样品中蛋白经过碱处理,其胱氨酸、赖氨酸或丝氨酸等氨基酸残基受到破坏,主链肽键断裂,导致一级结构变化,二级结构也可能发生重大变化,构成蛋白质的氨基酸发生了降解、变旋和交连^[19],从而导致蛋白质可溶性降低,发生沉淀,所以SDF中可溶性蛋白质的含量减少。

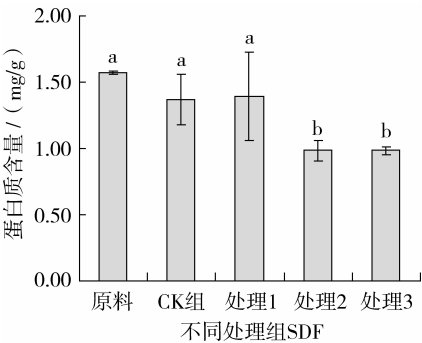


图1 不同处理组SDF中可溶性蛋白质含量变化
注:不含相同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.3 不同处理组麦麸中淀粉含量

由图2可知,相对于原料麦麸,四个处理组IDF中的淀粉含量都有所降低,但四组中降低的程度不同,处理3组淀粉含量显著低于原料麦麸及其他三个处理组($P<0.05$),其淀粉去除率达到58.25%,主要原因是处理3经过 α -淀粉酶处理后,其直链淀粉经过降解,黏度迅速下降,后期又经过长时间的水浴及水洗过程,淀粉含量减少较多,而CK组和处理1的淀粉含量较高,主要原因是其没有经过淀粉酶处理,水浴过程中部分淀粉在水中溶胀、分裂,发生糊化作用,水洗后部分可溶性淀粉被去除,其中大部分的不可溶性淀粉尚存在于样品中。

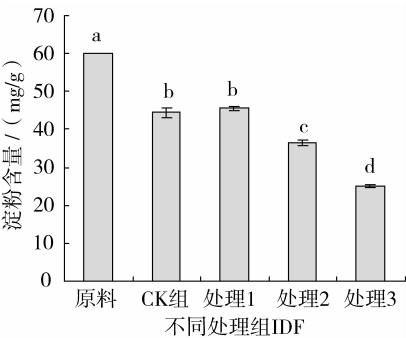


图2 不同处理组IDF中淀粉含量变化
注:不含相同字母表示差异显著($P<0.05$)。

由图3可知,处理2和处理3组SDF中淀粉含

量显著低于 CK 组及处理 1 组($P < 0.05$),主要原因还是处理 2 和处理 3 使用了淀粉酶处理,部分淀粉酶解,CK 组和处理 1 组 SDF 中的淀粉含量与原料麦麸差异不显著,主要原因是 CK 组和处理 1 组没有经过 α -淀粉酶处理,大部分淀粉尚存在。

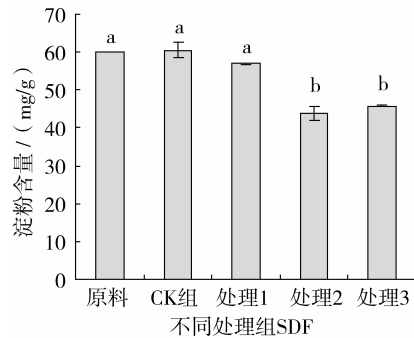


图 3 不同处理组 SDF 中淀粉含量变化
注:不含相同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.4 不同处理组麦麸中植酸含量

麦麸中的植酸热稳定性较差,高温水浴处理后,各处理组中均有不同程度的降解。由表 3 可知,原料麦麸中植酸含量为 78.46 mg/g,CK 组 IDF 中的植酸含量显著高于其他处理组($P < 0.05$),主要原因是其他处理组中使用了碱处理和加热水浴处理,植酸受热、强碱处理易分解;处理 2 和处理 3 的 SDF 中未检出植酸含量,可能是由于植酸在长时间的水浴处理以及 SDF 的醇沉收集过程中大量损失,含量低于本实验的检测限;总体看来,所有处理组 SDF 中的植酸含量显著低于同处理的 IDF 中的植酸含量,主要原因也在于 SDF 提取中的醇沉过程。

表 3 不同处理组膳食纤维中植酸含量的变化 mg/g

组别	原料麦麸中植酸含量	IDF 中植酸含量	SDF 中植酸含量
原料	78.46 ± 0.30 ^a	—	—
CK 组	—	35.53 ± 1.11 ^b	9.03 ± 0.82 ^c
处理 1	—	24.99 ± 0.91 ^d	7.34 ± 0.83 ^c
处理 2	—	28.8 ± 1.53 ^c	未检出
处理 3	—	26.01 ± 0.64 ^d	未检出

注:不含相同字母表示差异显著($P < 0.05$);—指没有数据。

3 结论

相对于对照组, α -淀粉酶结合复合酶处理组(处理 3)样品的膳食纤维中的蛋白质、淀粉以及植酸等杂质的含量显著减少,且麦麸中可溶性膳食纤维的得率提高。

单纯使用复合纤维素酶处理(处理 1)较 α -淀粉酶结合复合酶处理(处理 3)效果差,其 SDF 含量显著低于 α -淀粉酶结合复合酶处理,说明先采用 α -淀粉酶降解麦麸中淀粉,有利于后续复合纤维

素酶的酶解效果,两者共同作用能达到提高 SDF 得率的效果。

总之,相比较于化学法和机械法,采用复合酶法处理麦麸膳食纤维,效率高,成本适中,每千克膳食纤维仅需要 α -淀粉酶 4 g、复合纤维素酶 7 g,且能显著提高其中的可溶性膳食纤维含量,提高了膳食纤维的利用率。

参考文献:

[1] 陶颜娟,钱海峰,朱科学,等. 麦麸膳食纤维对面团流变学性质的影响[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(6): 28-32.

[2] Peters U, Sinha R, Chatterjee N, et al. Dietary fibre and colorectal adenoma in a colorectal cancer early detection programme[J]. The Lancet, 2003, 361: 1491-1495.

[3] Giacco R, Clemente G, Riccardi G. Dietary fibre in treatment of diabetes: myth or reality[J]. Digestive and Liver Diseases, 2002, 34(2): 140-144.

[4] Champ M, Guillon F. Stuctural and phisical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology[J]. Food Reasearch Internationnal 2000, 33: 233-245.

[5] 刘静. 膳食纤维的生理功能及其在食品工业中的应用[J]. 内蒙古科技与经济, 2007, 2(135): 53-55.

[6] 陈建宝. 麦麸的挤压膨化加工及其对麦麸主要成分的影响研究[D]. 杭州:浙江工业大学, 2008.

[7] 韩东平,刘玉环,李瑞贞,等. 提高豆渣膳食纤维活性改性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 670-672.

[8] 郑建仙. 功能性食品(第二卷)[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1999:50-65.

[9] 胡叶碧,王璋. 纤维素酶和木聚糖酶对玉米皮膳食纤维组成和功能性质的影响[J]. 食品工业科技, 2006, 27(6): 103-105.

[10] 姜竹茂,缪静. 从豆渣提取可溶性膳食纤维的研究[J]. 中国粮油学报, 2001, 16(3): 52-55.

[11] 林变,蔡英英. 茶渣膳食纤维的酶法改性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2014, 35(1): 64-67.

[12] 戴余军,石会军,李长春,等. 菠萝皮可溶性膳食纤维酶法提取工艺的研究[J]. 食品工业, 2014, 35(2): 58-61.

[13] 赵英永,戴云,崔秀明. 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定草乌中可溶性蛋白质含量[J]. 云南民族大学学报, 2006, 15(3): 235-237.

[14] 郭冬生,彭小兰. 蒽酮比色法和酶水解法两种淀粉测定方法的比较研究[J]. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2007, 19(3): 34-36.

[15] 吕杰,李耀根,肖志芳. 分光光度法测定食物中植酸的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2000, 10(6): 652-655.

[16] 吕杰,肖志芳,李耀根. 火焰原子吸收法间接测定食物中植酸的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 1999, 9(1): 13-16.

[17] 田萍,王浩菊,马齐,等. 纤维素酶降解小麦秸秆最适条件的研究及其动力学分析[J]. 氨基酸和生物资源, 2012(2): 13-15.

[18] 王遂,李桂春,宫晓波. 酶法脱淀粉技术用于膳食纤维制取工艺的研究[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1999(3): 73-77.

[19] 张英君,陈有亮,董雅芳. 碱处理引起蛋白质的变旋和赖丙复合物的生成[J]. 肉类工业, 2001, 236: 31-36