

羧甲基化大豆水酶法膳食纤维的制备及其性能研究

江连洲 张巧智 关嘉琦 巩 涵 李 杨 隋晓楠

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 大豆水酶法残渣可作为膳食纤维的来源。以大豆水酶法残渣为原料,对其中的膳食纤维进行羧甲基化修饰,在单因素试验的基础上,通过 Box-Behnken 响应面试验设计建立了碱化温度、氯乙酸添加量、醚化时间和醚化温度对羧甲基取代度的模型。研究表明,各参数对羧甲基取代度的影响程度依次为醚化时间、氯乙酸添加量、碱化温度、醚化温度。通过对试验结果的二次回归分析得到的最佳制备工艺为碱化温度 25℃、氯乙酸添加量为膳食纤维质量的 1.05 倍、醚化温度 70℃、醚化时间 3.8 h,在此最优条件下制备的水酶法膳食纤维羧甲基取代度为 0.430 5,其持水率、持油率和膨胀率分别较修饰前提升了 89.61%、20.63% 和 114.32%。红外光谱结果表明,制备的大豆水酶法膳食纤维发生了羧甲基取代反应。

关键词: 大豆; 膳食纤维; 水酶法; 羧甲基化修饰; 响应面分析

中图分类号: TS221 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2017)10-0330-08

Preparation of Dietary Fiber from Enzyme-assisted Aqueous Extraction of Soybeans through Carboxymethylation and Its Functional Properties

JIANG Lianzhou ZHANG Qiaozhi GUAN Jiaqi GONG Han LI Yang SUI Xiaonan

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Enzyme-assisted aqueous extraction (EAEP) is an environmental-friendly method which is an alternative to conventional hexane oil extraction. During EAEP of soybeans, an additional by-product, residue fraction was produced. About 4.4 kg residue would be produced for every liter soybean oil extracted. The residue fraction of EAEP of soybeans contains substantial amount of fibers, which can be considered as a rich resource of dietary fiber. A soybean dietary fiber was prepared from EAEP residues and further modified through carboxymethyl substitution. According to the results of single factor experiments, Box-Behnken response surface methodology was conducted to investigate the correlation between operating parameters and degree of substitution (DS). The results indicated that the effects of four parameters on DS followed an order of etherification time, chloroacetic acid dosage, alkalization temperature, and etherification temperature. For optimizing the four independent variables, square regression analysis was performed. The regression model was fitted with determination coefficient R^2 of 0.968 4 and optimal parameters were as follows: alkalization temperature was 25℃; dosage of chloroacetic acid was 1.05 times of the mass of raw fiber; etherification temperature was 70℃ and etherification time was 3.8 h. The DS under above conditions was 0.430 5. Compared with the raw sample, the water holding capacity, oil holding capacity and expansion capacity of modified fiber were 8.21 g/g, 3.80 g/g and 9.88 mL/g, which were improved by 89.61%, 20.63% and 114.32%, respectively. The infrared spectrum showed that carboxymethyl substitution was occurred during modification. The modified dietary fiber from EAEP of soybeans exhibited desired functional properties, which can be used in meat, beverage and bakery products.

Key words: soybeans; dietary fiber; enzyme-assisted aqueous extraction method; carboxymethylation modification; response surface analysis

收稿日期: 2017-02-20 修回日期: 2017-03-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0401402、2016YFD0400700)、国家自然科学基金重点项目(31430067)、国家自然科学基金面上项目(31571876)和东北农业大学大学生创新创业训练项目(201610224178)

作者简介: 江连洲(1960—),男,教授,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: jlzname@163.com

通信作者: 隋晓楠(1987—),男,副教授,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: xiaonan.sui@neau.edu.cn

引言

膳食纤维是指不被人体胃肠道消化酶分解、吸收,而在大肠中会部分或全部发酵的一类碳水化合物总称,包括纤维素、半纤维素、木质素、果胶、多糖等,膳食纤维不仅可以取自天然食物,还可以经物理、化学和生物法处理原料后获得^[1-2]。摄入膳食纤维对人体具有重要的生理保健功能,如降低胆固醇、降低餐后血糖、预防肥胖症、预防结肠癌等,因此又被称作“第七大营养素”^[3-5]。根据溶解性,膳食纤维分为可溶性膳食纤维(Soluble dietary fiber, SDF)和不溶性膳食纤维(Insoluble dietary fiber, IDF)。理想的膳食纤维组成中,SDF应在10%以上,其结构中丰富的亲水基团可形成网络凝胶结构,使膳食纤维具备持水、持油、吸附溶胀等特性,在人体内发挥上述生理功能^[6-8]。但天然来源的膳食纤维中多为不溶性膳食纤维,水溶性差、口感粗糙、加工特性低下,因此,通过物理、化学和生物方法对不溶性膳食纤维进行修饰改造,提升其理化性质和生理特性,一直是国内外学者研究的热点^[9]。羧甲基化修饰是一种重要的化学修饰方法,羧甲基是一种强亲水基团,通过取代反应添加到膳食纤维结构中,可增强其对水分的亲和作用,提升口感、加工和功能特性,使其在一定程度上具有与可溶性膳食纤维类似的功能作用^[10]。荆晓飞^[11]以玉米皮不溶性膳食纤维为原料,采用羧甲基化修饰的膳食纤维替代海绵蛋糕中的部分脂肪,降低烘焙损失;黄纪念等^[12]以不溶性麦麸膳食纤维为原料,通过羧甲基化反应制备高持水力麦麸膳食纤维,持水力提升105.79%;赵国华等^[13]以豆渣为原料,采用羧甲基化改性制备豆渣膳食纤维,经动物试验证明较原豆渣具有更强的降血糖作用。

水酶法是一种新型绿色提油技术,通过温和和酶解手段提取油脂,具有广阔的应用前景^[14-15]。水酶法残渣是水酶法提油工艺的主要副产物,提取1 L大豆油将产生约4.4 kg残渣^[16-17]。因此,对水酶法残渣的合理利用将关系到水酶法工艺的经济可行性。研究表明残渣的主要成分为不溶性纤维、蛋白质及少量矿物质,可作为膳食纤维的丰富来源^[18-19],但由于其中主要为不溶性膳食纤维,直接添加到食品中口感和功能特性不佳,因此,本文以大豆水酶法残渣为原料提取其中的膳食纤维,并通过羧甲基取代反应改善不溶性膳食纤维的亲水特性,在探讨影响羧甲基取代度主要因素的基础上,通过响应面法试验设计确定最佳取代条件,并进一步对修饰后膳食纤维的持水率、持油率、膨胀率等功能特

性进行测定。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

全脂大豆片(东农42号,含水率10.54%,粗脂肪质量分数19.73%,粗蛋白质量分数38.48%,灰分质量分数4.21%),聊城蓝山集团;Alcalase 2.4L碱性内切蛋白酶(AU),杰能科(中国)生物工程有限公司; α -淀粉酶、葡萄糖苷酶,北京索莱宝科技有限公司;甲醇、乙醇、异丙醇、氯乙酸、氢氧化钠、盐酸等均为分析纯。

T20型双螺杆挤压机,法国Cletral公司;电子分析天平,上海精密科学仪器有限公司;PHS-25型数显台式酸度计,上海雷磁仪器厂;HH-4型恒温水浴锅,上海邦西仪器科技有限公司;JJ-1型精密电动搅拌机,金坛市顺华仪器有限公司;FD5型冷冻干燥机,美国西盟国际集团;SHZ-B型恒温水浴振荡器,上海博讯实业有限公司;3-18K型高速冷冻离心机,Sigma公司;K-436型快速消解仪、K-370型自动凯氏定氮仪,瑞士步琦有限公司;高速剪切乳化机,上海昂尼仪器仪表有限公司;IRTracer-100型傅里叶变换红外光谱仪,日本岛津公司。

1.2 试验方法

1.2.1 基本化学成分测定

含水率测定,依据GB/T 5497—1985《粮食、油料检验 水分测定法》;粗脂肪含量测定,依据GB/T 14772—2008《食品中粗脂肪的测定》;粗蛋白含量测定,依据GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》;灰分含量测定,依据GB/T 5009.4—2010《食品中灰分的测定》。总膳食纤维含量(Total dietary fiber, TDF)、可溶性膳食纤维和不溶性膳食纤维含量,依据GB/T 22224—2008《食品中膳食纤维的测定》。

1.2.2 水酶法大豆残渣中膳食纤维制备

残渣作为大豆水酶法提油工艺的副产物,本文所采用的酶解条件为LI等^[15,20-21]优化的最佳提取工艺,其主要流程如下:

全脂大豆片→粉碎→调节含水率为14.5%→挤压膨化(60℃,300 r/min)→粉碎过60目筛→调节液料比为6 mL/g→调节温度为50℃,pH值为8.5→酶解3 h(加酶量1.85 mL/(100 g))→酶灭活(100℃,10 min)→离心分离(8 000 g,20 min)→收集残渣→液料比为10 mL/g,水洗3次至中性→抽滤,60℃干燥→水酶法膳食纤维。

1.2.3 羧甲基化水酶法膳食纤维制备

参照刘颖等^[10]羧甲基化修饰的方法,将上述水

酶法膳食纤维按液料比 10 mL/g 加入反应介质中, 取与膳食纤维等质量的 NaOH, 配制为一定质量浓度溶液后加入, 于设定温度下碱化一定时间。称取一定量的氯乙酸, 溶于上述介质后加入反应液中, 于设定温度下醚化一定时间。醚化反应结束后, 用乙酸中和溶液 pH 值至 7, 真空浓缩后加入 4 倍体积无水乙醇沉淀, 抽滤后于 60℃ 干燥, 粉碎后即得羧甲基化膳食纤维。

1.2.4 羧甲基取代度测定

参照黄纪念等^[12]、赵国华等^[13]的方法, 称取 0.3 g 水酶法膳食纤维, 向其中加入 40 mL HCl 溶液 (2 mol/L), 搅拌 3.5 h 后过滤, 用 80% 甲醇溶液洗涤样品直至滤液用 AgNO₃ 检查无 Cl⁻ 离子, 此时样品转化为酸式, 再将样品溶解于 50 mL NaOH 溶液 (0.5 mol/L) 中, 加热使溶液呈透明, 立即用 0.1 mol/L HCl 标准溶液滴定剩余 NaOH, 以酚酞为指示剂, 以红色刚褪去为滴定终点, 计算公式为

$$D_s = \frac{0.162X}{1 - 0.058X} \tag{1}$$

其中 $X = C_{\text{NaOH}} V_{\text{NaOH}} - C_{\text{HCl}} V_{\text{HCl}}$ (2)

式中 D_s ——样品羧甲基取代度

C_{NaOH} ——NaOH 溶液浓度, 取 0.5 mol/L

V_{NaOH} ——NaOH 溶液体积, 取 50 mL

C_{HCl} ——HCl 溶液浓度, 取 0.1 mol/L

V_{HCl} ——消耗 HCl 溶液体积, mL

1.2.5 试验设计

1.2.5.1 单因素试验

(1) 反应溶剂

分别以水、甲醇、乙醇和异丙醇为溶剂, 按 1.2.3 节中所述将大豆水酶法膳食纤维加入上述各介质中, 加入 15% NaOH 溶液, 于 25℃ 碱化 1 h, 加入与膳食纤维等量的氯乙酸于 70℃ 醚化 4 h, 以羧甲基取代度为指标确定最佳反应溶剂。

(2) 碱化温度

向水酶法膳食纤维溶液中加入 15% NaOH 溶液, 分别于 20、25、30、35、40℃ 碱化 1 h, 加入与膳食纤维等量的氯乙酸, 于 70℃ 醚化 4 h, 测定所得样品的羧甲基取代度。

(3) 氯乙酸添加量

向水酶法膳食纤维溶液中加入 15% NaOH 溶液, 于 25℃ 碱化 1 h, 分别称取与膳食纤维质量比为 0.5、0.75、1.0、1.25、1.5 的氯乙酸加入, 于 70℃ 醚化 4 h, 测定所得样品的羧甲基取代度。

(4) 醚化温度

向水酶法膳食纤维溶液中加入 15% NaOH 溶液, 于 25℃ 碱化 1 h, 加入与膳食纤维等量的氯乙

酸, 分别于 55、60、65、70、75℃ 醚化 4 h, 测定所得样品的羧甲基取代度。

(5) 醚化时间

向水酶法膳食纤维溶液中加入 15% NaOH 溶液, 于 25℃ 碱化 1 h, 加入与膳食纤维等量的氯乙酸, 于 70℃ 分别醚化 3、3.5、4、4.5、5 h, 测定所得样品的羧甲基取代度。

1.2.5.2 响应面试验

在上述单因素试验基础上, 采用 Box - Behnken 设计原理, 以碱化温度、氯乙酸添加量 (与膳食纤维质量比)、醚化时间、醚化温度为自变量, 以水酶法膳食纤维的羧甲基取代度为响应值, 试验因素编码见表 1。

表 1 Box - Behnken 试验因素编码

Tab.1 Codes of variables in Box - Behnken experiment

编码	因素			
	碱化温度	氯乙酸	醚化温度	醚化时间
	$x_1/^\circ\text{C}$	添加量 x_2	$x_3/^\circ\text{C}$	x_4/h
-1	20	0.75	65	3.5
0	25	1.00	70	4.0
1	30	1.25	75	4.5

1.2.6 水酶法膳食纤维物理化学性能测定

1.2.6.1 持水率和持油率

持水率的测定参照 FERNÁNDEZ-LÓPEZ 等^[22]的方法, 称取 1 g 膳食纤维与 30 mL 蒸馏水混合, 经高速剪切机均质 1 min 后于室温 (20℃) 下放置 24 h, 3 000 g 离心 20 min 后, 弃去上清液, 称取剩余固体的质量, 持水率计算公式为

$$W_{\text{HC}} = \frac{M_1 - M_0}{M_0} \tag{3}$$

式中 W_{HC} ——持水率, g/g

M_0 ——膳食纤维干质量, g

M_1 ——膳食纤维湿质量, g

持油率的测定与持水率相同, 但用葵花籽油替代蒸馏水与膳食纤维混合, 离心后弃掉上层游离油, 用滤纸轻轻吸干沉淀残渣表面的葵花籽油, 持油率计算公式为

$$O_{\text{HC}} = \frac{M_1 - M_0}{M_0} \tag{4}$$

式中 O_{HC} ——持油率, g/g

1.2.6.2 膨胀率

膨胀率的测定参照 FEMENIA 等^[23]的方法, 称取 0.3 g 膳食纤维, 置于 10 mL 量筒中, 准确记录此时量筒中膳食纤维的体积, 向其中加入 5 mL 蒸馏水, 振荡均匀后于室温放置 24 h, 再次读取水中膳食纤维的体积, 膨胀率计算公式为

$$E = \frac{V_1 - V_0}{M_d} \quad (5)$$

式中 E ——膨胀率, mL/g
 V_0 ——膨胀前体积, mL
 V_1 ——膨胀后体积, mL
 M_d ——膨胀前干质量, g

1.2.7 水酶法膳食纤维红外光谱测定

参照荆晓飞^[11]的方法,将 2 mg 膳食纤维样品与 200 mg 干燥的 KBr 混合后在玛瑙研钵中研磨均匀,使其粒度在 2.5 μm 以下,放入压片机模具中压成样品薄片,在 500 ~ 4 000 cm⁻¹ 范围内以 4 cm⁻¹ 的分辨率扫描 32 次,采集样品图谱数据,并在相同测试条件下采集背景。

1.2.8 数据分析

试验数据均表示为“平均值 ± 标准差”,试验重复 3 次。采用 SPSS 22.0 软件对数据进行差异显著性分析($p < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 大豆水酶法残渣的主要化学组成

大豆水酶法残渣的主要化学组成中含有 69.05% 碳水化合物、20.54% 蛋白质、6.43% 油脂及 3.98% 灰分。该化学组成与常用来提取大豆膳食纤维的豆制品加工副产物——豆渣组成相类似,如王波等^[24]曾报道豆渣中主要含有约 74% 碳水化合物、22% 蛋白质、0.43% 油脂及 3% 灰分。水酶法残渣中总膳食纤维质量分数为 68.22%,可作为膳食纤维的丰富来源,且其中还含有丰富的蛋白质,加入食品中可同时提供膳食纤维的保健功能并增加蛋白质含量。残渣中膳食纤维主要为 IDF,质量分数为 66.69%,占总膳食纤维的 97.76%,而 SDF 质量分数仅为 1.53%。当不溶性膳食纤维含量较多时,虽可起到促进肠道蠕动、增加排泄量等作用^[25],但食品口感粗糙,水溶性、持水率等加工特性不佳,限制了其保健功能的发挥,因此有必要对所提取的水酶法膳食纤维进行修饰改性处理,使其在一定程度上具备水溶性膳食纤维的功能和特性。

2.2 反应溶剂对膳食纤维羧甲基取代度的影响

羧甲基取代反应是在碱性条件下,通过取代膳食纤维多糖结构中的部分羟基,起到提升持水率、增强功能特性的作用,而羧甲基取代度可在一定程度上说明取代羟基数量的多少^[12]。由图 1 所示,溶剂的选择对羧甲基取代度有显著影响,在相同反应条件下,采用乙醇作为反应溶剂得到的羧甲基取代度最高,为 0.403 5,采用异丙醇的羧甲基取代度次之,为 0.328 8,且当以甲醇或异丙醇作为反应介质时,

碱化阶段纤维易结块,产物颜色偏深,不利于后续醚化反应,此现象与王伊沂等^[26]的发现一致。以水为溶剂的改性效果最差,其产物的羧甲基取代度仅为 0.190 6,该现象说明水作为载体对试验条件要求较苛刻,反应体系中副反应增多并严重抑制羧甲基化反应,造成醚化剂的效用大幅降低,增加了产物后处理的难度,因此,本试验选择乙醇作为反应溶剂,并进一步优化羧甲基取代反应的试验条件。

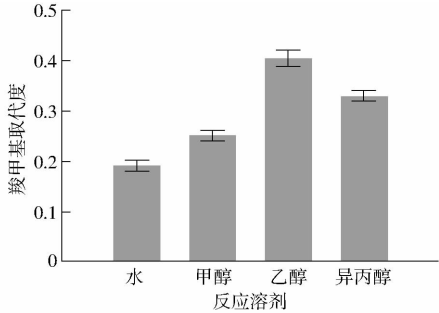


图 1 反应溶剂对水酶法膳食纤维羧甲基取代度的影响
Fig.1 Influence of solvent on DS of EAEP dietary fiber

2.3 单因素试验分析结果

2.3.1 碱化温度

以 15% NaOH 溶液分别于 20、25、30、35、40℃ 温度下碱化 1 h,加入与膳食纤维等量的氯乙酸于 70℃ 醚化 4 h,测定碱化温度对膳食纤维羧甲基取代度的影响,如图 2 所示。

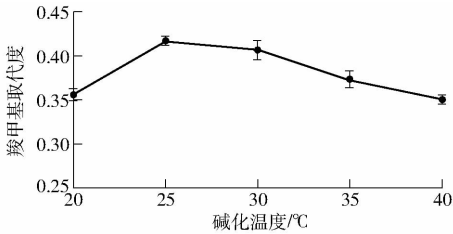


图 2 碱化温度对水酶法膳食纤维羧甲基取代度的影响
Fig.2 Influence of alkalization temperatures on DS of EAEP dietary fiber

碱化反应中,NaOH 作为反应中释放酸类物质的中和剂,具有促进膳食纤维溶胀,增进醚化反应活力的作用^[13]。NaOH 与膳食纤维结构单元上的羟基反应,形成多糖钠盐,作为下一步醚化反应的活性中心。随碱化温度的升高,羧甲基取代度呈先升高后逐渐下降的趋势,在 20 ~ 30℃ 范围内,温度的升高有利于羧甲基与膳食纤维的活性中心反应,反应速率不断增大,为后续醚化阶段提供更多活性末端,当温度为 25℃ 时,羧甲基取代度达到最大,为 0.417 3。继续升高温度,将不利于膳食纤维结构中羟基基团的外露,并逐步缩小反应空间,对取代反应有不利影响,刘颖等^[10]的研究同样发现碱化温度为 25℃ 时羧甲基取代度较为理想,且 25℃ 接近室温,对反应

设备及耗能要求较低,因此在优化碱化温度时选择 25℃ 为中心点。

2.3.2 氯乙酸添加量

以 15% NaOH 溶液分别于 25℃ 下碱化 1 h,分别加入与膳食纤维质量比为 0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 的氯乙酸于 70℃ 醚化 4 h,测定氯乙酸添加量对膳食纤维羧甲基取代度的影响,如图 3 所示。

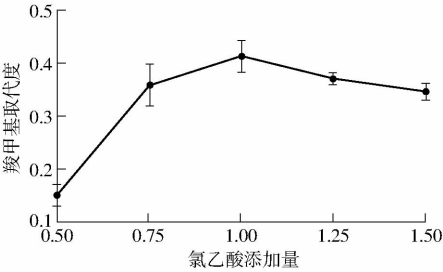


图 3 氯乙酸添加量对水酶法膳食纤维羧甲基取代度的影响
Fig.3 Influence of chloroacetic acid dosage on DS of EAEP dietary fiber

如图 3 可知,随氯乙酸添加量的增加,羧甲基取代度呈先增加后逐渐减小的趋势。当碱化反应中用碱量一定时,生成的多糖钠盐活性中心一定,此时增加氯乙酸添加量,其与活性中心碰撞的频率也随之增加,产物羧甲基取代度逐渐上升^[13]。但当氯乙酸添加量过高时,多余的氯乙酸会与 NaOH 反应,改变体系碱性环境,主反应醚化反应速率降低,副反应增加,致使取代度降低。由图 3 可知,当氯乙酸添加量为 1.0 时,产物羧甲基取代度最高,为 0.412 6,此条件可确保反应体系中效率最高,因此在优化氯乙酸添加量时选择与膳食纤维质量比为 1.0 作为中心点。

2.3.3 醚化温度

以 15% NaOH 溶液于 25℃ 下碱化 1 h,加入与膳食纤维等量的氯乙酸分别于 55、60、65、70、75℃ 醚化 4 h,测定醚化温度对膳食纤维羧甲基取代度的影响,如图 4 所示。

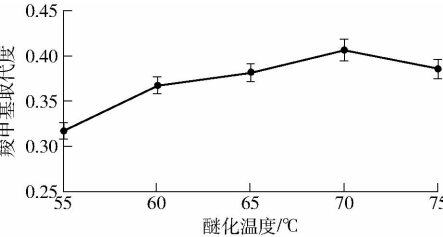


图 4 醚化温度对水酶法膳食纤维羧甲基取代度的影响
Fig.4 Influence of etherification temperature on DS of EAEP dietary fiber

如图 4 所示,随醚化温度的升高,产物羧甲基取代度呈先上升后逐渐下降的趋势。醚化温度在 55~70℃ 范围内时,羧甲基取代度从 0.315 7 上升

至 0.406 1。醚化温度的升高增加了醚化剂氯乙酸与多糖钠盐相互碰撞的频率,有利于反应基团与活性位点间的相互作用,从而促进羧甲基取代产物的生成^[24]。而当醚化温度高于 70℃ 时,继续升高温度,将导致膳食纤维在强碱条件下发生降解,已经取代的基团牢固程度下降,且纤维易发生焦化反应,产物颜色变深并结块。当醚化温度为 70℃ 时,羧甲基取代度最高,为 0.406 1,该温度既可保证主反应效率,又可有效控制副反应速率,使醚化剂利用充分,因此在优化醚化温度时选择 70℃ 为中心点。

2.3.4 醚化时间

以 15% NaOH 溶液于 25℃ 下碱化 1 h,加入与膳食纤维等量的氯乙酸于 70℃ 分别醚化 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 h,测定醚化时间对膳食纤维羧甲基取代度的影响,如图 5 所示。

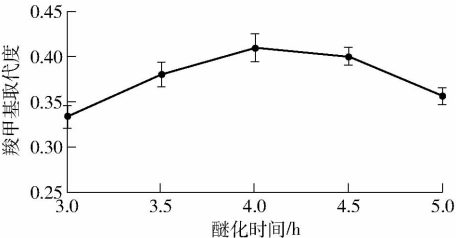


图 5 醚化时间对水酶法膳食纤维羧甲基取代度的影响
Fig.5 Influence of etherification time on DS of EAEP dietary fiber

由图 5 可知,当醚化时间在 3~4 h 时,羧甲基取代度随醚化时间的增加而逐渐上升,延长醚化时间将使取代反应进行得更充分,当醚化时间在 4~5 h 时,反应已达平衡,继续延长反应时间,由于体系长期处于强碱环境中易导致纤维发生降解,可能致使连接上的羧甲基被再次裂解下来,从而使羧甲基取代度逐渐降低。当醚化时间为 4 h 时,羧甲基取代度最大,为 0.409 5,因此在优化醚化时间时选择 4 h 为中心点。

2.4 响应面试验结果与分析

2.4.1 模型建立与方差分析

在上述单因素试验基础上,以膳食纤维羧甲基取代度为响应值,选择碱化温度、氯乙酸添加量、醚化温度和醚化时间 4 个因素,采用 Box-Behnken 试验设计进行响应面分析。试验设计及结果见表 2,表中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 分别为碱化温度、氯乙酸添加量、醚化温度和醚化时间的编码值。

通过 Design-Expert 8.0.6 软件,对表 2 中数据进行多元线性回归拟合,得到膳食纤维羧甲基取代度(D_5)对碱化温度 X_1 、氯乙酸添加量 X_2 、醚化温度 X_3 、醚化时间 X_4 的二次多项回归方程模型为

表 2 Box – Behnken 试验设计与结果

Tab.2 Experimental design and results of Box – Behnken design

试验序号	X_1	X_2	X_3	X_4	D_s
1	-1	-1	0	0	0.313 0
2	1	-1	0	0	0.264 2
3	-1	1	0	0	0.271 8
4	1	1	0	0	0.394 8
5	0	0	-1	-1	0.364 0
6	0	0	1	-1	0.358 3
7	0	0	-1	1	0.287 5
8	0	0	1	1	0.286 6
9	-1	0	0	-1	0.347 3
10	1	0	0	-1	0.372 2
11	-1	0	0	1	0.269 7
12	1	0	0	1	0.243 5
13	0	-1	-1	0	0.270 1
14	0	1	-1	0	0.369 5
15	0	-1	1	0	0.351 2
16	0	1	1	0	0.368 6
17	-1	0	-1	0	0.350 2
18	1	0	-1	0	0.273 2
19	-1	0	1	0	0.248 4
20	1	0	1	0	0.390 1
21	0	-1	0	-1	0.367 1
22	0	1	0	-1	0.369 7
23	0	-1	0	1	0.239 0
24	0	1	0	1	0.311 2
25	0	0	0	0	0.412 7
26	0	0	0	0	0.430 1
27	0	0	0	0	0.426 5
28	0	0	0	0	0.431 1
29	0	0	0	0	0.404 2

$$D_s = 0.42 + 0.011X_1 + 0.023X_2 + 7.39 \times 10^{-3}X_3 - 0.045X_4 + 0.043X_1X_2 + 0.055X_1X_3 - 0.013X_1X_4 - 0.021X_2X_3 + 0.017X_2X_4 + 1.20 \times 10^{-3}X_3X_4 - 0.63X_1^2 - 0.044X_2^2 - 0.041X_3^2 - 0.053X_4^2$$

对该模型进行方差分析,结果见表 3。由方差分析结果可知,所得回归模型 F 值为 30.60,差异性极显著 ($P < 0.000\ 1$),失拟项差异不显著 ($P > 0.05$),说明方程与试验结果误差较小,拟合程度较高。模型总体的 R^2 为 0.968 4,说明该方程中参数可解释 96.84% 的因变量变化,其他因素对取代度的影响可忽略不计,可通过该模型对羧甲基化工艺参数进行预测。由表 3 可知,一次项 X_2 、 X_4 ,二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2 及交互项 X_1X_2 、 X_1X_3 对羧甲基取代度的影响达到极显著水平 ($P < 0.01$),一次项 X_1 及交互项 X_2X_3 、 X_2X_4 达到显著水平 ($P < 0.05$),以上结果表明各参数对羧甲基取代度的影响具有交互作用,而非简单的线性关系。根据表 3 中各参数 F 值的

大小,判断各参数对羧甲基取代度影响程度的大小次序为:醚化时间、氯乙酸添加量、碱化温度、醚化温度。

表 3 响应面结果方差分析

Tab.3 ANOVA of response surface results

来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	0.10	14	7.19×10^{-3}	30.60	$<0.000\ 1$
X_1	1.58×10^{-3}	1	1.58×10^{-3}	6.72	0.021 3
X_2	6.58×10^{-3}	1	6.58×10^{-3}	28.01	0.000 1
X_3	6.56×10^{-4}	1	6.56×10^{-4}	2.79	0.117 0
X_4	0.024	1	0.024	103.86	$<0.000\ 1$
X_1X_2	7.38×10^{-3}	1	7.38×10^{-3}	31.41	$<0.000\ 1$
X_1X_3	0.012	1	0.012	50.91	$<0.000\ 1$
X_1X_4	6.53×10^{-4}	1	6.53×10^{-4}	2.78	0.117 7
X_2X_3	0.021	1	0.012	10.17	0.015 3
X_2X_4	1.21×10^{-3}	1	1.21×10^{-3}	5.15	0.039 5
X_3X_4	5.76×10^{-6}	1	5.76×10^{-6}	0.025	0.877 8
X_1^2	0.026	1	0.026	110.32	$<0.000\ 1$
X_2^2	0.013	1	0.013	54.03	$<0.000\ 1$
X_3^2	0.011	1	0.011	45.96	$<0.000\ 1$
X_4^2	0.019	1	0.019	79.02	$<0.000\ 1$
残差	3.29×10^{-3}	14	2.35×10^{-3}		
失拟项	2.72×10^{-3}	10	2.72×10^{-3}	1.92	0.276 5
纯误差	5.66×10^{-4}	4	1.42×10^{-4}		
总和	0.10	28	$R^2 = 0.968\ 4$		

2.4.2 响应面分析与优化

在回归方程基础上,考察各因素及其交互作用对羧甲基取代度的影响,所得响应曲面及等高线图如图 6 所示。在响应曲面中,曲面越陡峭则该因素对响应值影响较大,反之较小;而等高线图可反映因素间交互作用的程度,椭圆形表示交互作用显著,圆形表示交互作用不显著^[12]。结合图 6 及回归方程可知,碱化温度与氯乙酸添加量、碱化温度与醚化温度对羧甲基取代度影响极显著 ($P < 0.01$),氯乙酸添加量与醚化温度、氯乙酸添加量与醚化时间对羧甲基取代度影响显著 ($P < 0.05$)。在所考察因素范围内,响应值均随各因素先升高后降低,各曲面呈下开口凹面,中心位于所考察区域内,说明回归方程有极大值。

通过 Design-Expert 软件分析,得到羧甲基化制备大豆水酶法膳食纤维的最佳工艺参数为:碱化温度 25℃、氯乙酸添加量为膳食纤维质量的 1.04 倍、醚化温度 70.20℃、醚化时间 3.80 h,此条件下由回归方程推算出羧甲基取代度的预测值为 0.432 0。考虑到实际可操作性,将上述参数调整为:碱化温度 25℃、氯乙酸添加量为膳食纤维质量的 1.05 倍、醚化温度 70℃、醚化时间 3.8 h,在此最优条件下进行 3 次平行验证试验,得到的羧甲基取代度平均值为 0.430 5,与预测值较为接近,说明响应面优化的结

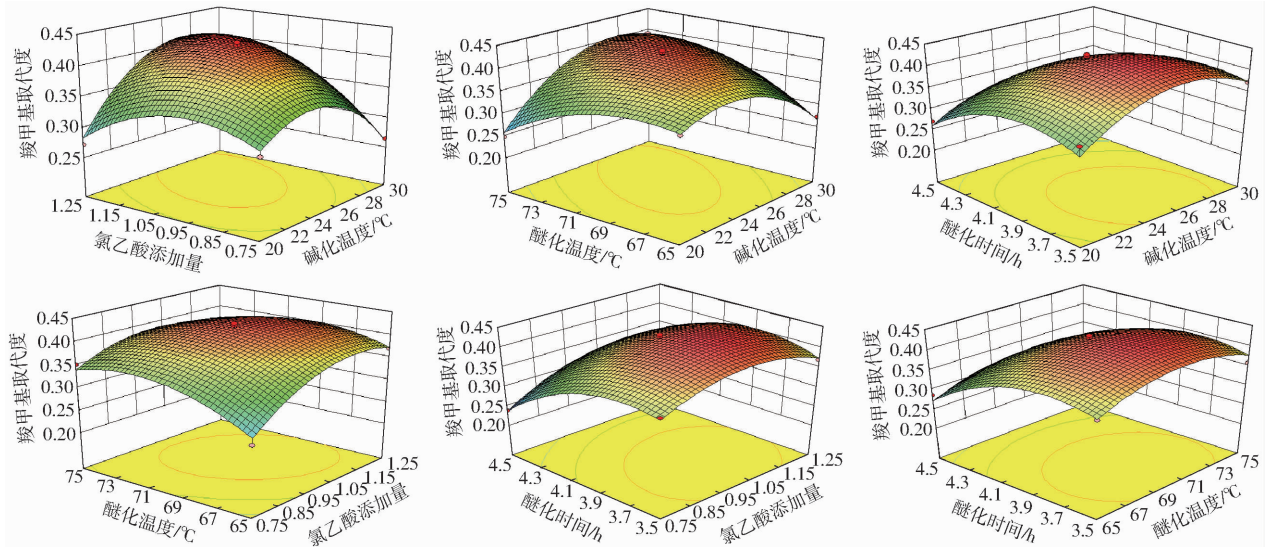


图 6 羧甲基化工艺参数对羧甲基取代度影响的响应曲面

Fig. 6 Response surfaces exhibiting effects of parameters on DS of EAEP dietary fiber

果准确可靠,具有一定的实际参考价值。

2.5 水酶法膳食纤维的物化特性

在上述最优条件下制备羧甲基化水酶法膳食纤维,测定修饰反应前后膳食纤维的物化特性,结果如表 4 所示。

表 4 水酶法膳食纤维的物化特性

Tab.4 Physiochemical properties of EAEP dietary fiber

膳食纤维类别	持水率/ (g·g ⁻¹)	持油率/ (g·g ⁻¹)	膨胀率/ (mL·g ⁻¹)
水酶法膳食纤维	4.33±0.06 ^b	3.15±0.09 ^b	4.61±0.13 ^b
羧甲基化水酶法 膳食纤维	8.21±0.07 ^a	3.80±0.15 ^a	9.88±0.10 ^a

注:同列不同字母表示差异显著。

制得的羧甲基化膳食纤维呈乳白色,无豆腥味,质地细腻。由表 4 可知,经羧甲基化处理后膳食纤维的各项物化指标均有不同程度的改善,其持水率、持油率和膨胀率分别提升至 8.21 g/g、3.80 g/g 和 9.88 mL/g,较原膳食纤维分别提升了 89.61%、20.63% 和 114.32%。修饰反应后膳食纤维良好的物化特性,有助于其功能特性的发挥,可将其应用于肉制品、焙烤食品、冷冻食品、饮料等中制备高功能性的产品。

2.6 水酶法膳食纤维的红外光谱结果

利用红外光谱对羧甲基修饰反应前后水酶法膳食纤维进行了表征,如图 7 所示。

由图 7 可知,在 3 300 cm⁻¹附近的宽峰是—OH 的振动吸收峰,2 880 ~ 3 000 cm⁻¹附近为糖类 C—H 键的伸缩振动峰,经羧甲基化修饰后的膳食纤维在这两个波数附近的吸收强度有所减弱,说明膳食纤维结构中羟基发生部分取代^[10-11,27]。在 1 635 cm⁻¹附近为羰基 C=O 的振动吸收峰,1 394 cm⁻¹附近为

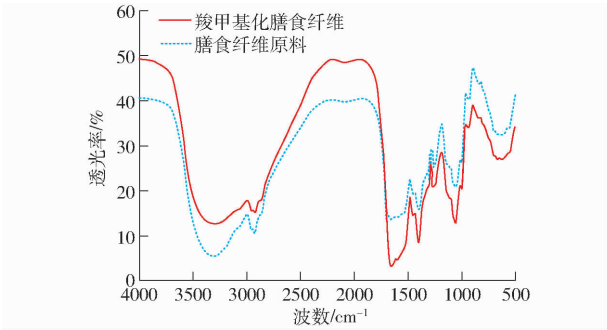


图 7 水酶法膳食纤维的红外光谱图

Fig.7 Infrared spectrum of EAEP dietary fiber

亚甲基—CH₂的振动吸收峰,而羧甲基的对称伸缩振动峰在 1 600 ~ 1 640 cm⁻¹范围内,不对称伸缩振动峰在 1 400 ~ 1 450 cm⁻¹范围内^[10-12],因此,羧甲基修饰样品中 1 635 cm⁻¹和 1 394 cm⁻¹处吸收峰的增强表明羧甲基成功取代了膳食纤维结构中的羟基。

3 结束语

采用羧甲基化对大豆水酶法膳食纤维进行修饰改性,在单因素试验基础上,通过 Box - Behnken 响应面法试验设计建立了碱化温度、氯乙酸添加量、醚化温度和醚化时间对羧甲基取代度影响的模型。试验结果表明,各因素对羧甲基取代度影响大小依次为醚化时间、氯乙酸添加量、碱化温度、醚化温度。经优化得到的最佳工艺参数为:碱化温度 25℃、氯乙酸添加量为膳食纤维质量的 1.05 倍、醚化温度 70℃、醚化时间 3.8 h,在上述最优条件下羧甲基取代度为 0.430 5。修饰反应后水酶法膳食纤维持水率、持油率和膨胀率分别较反应前提升了 89.61%、20.63% 和 114.32%。红外光谱谱图显示经修饰反应后水酶法膳食纤维结构中发生了羧甲基取代。

参 考 文 献

- DEVRIES J W, PROSKY L, LI B, et al. A historical perspective on defining dietary fiber[J]. Cereal Foods World, 1999, 44: 367 – 369.
- ANDERSON J W, BAIRD P, DAVIS R H, et al. Health benefits of dietary fiber[J]. Nutrition Reviews, 2009, 67(4): 188 – 205.
- MARLETT J A, MCBURNEY M I, SLAVIN J L. Position of the american dietetic association: health implications of dietary fiber [J]. Journal of the American Dietetic Association, 2002, 102(7): 993 – 1000.
- O'SHEA N, ARENDT E K, GALLAGHER E. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2012, 16: 1 – 10.
- 刘焕云, 李慧荔, 赵红. 燕麦麸中水溶性膳食纤维提取工艺优化[J]. 农业机械学报, 2008, 39(7): 103 – 106.
LIU Huanyun, LI Huili, ZHAO Hong. Optimization of extraction process of soluble dietary fibre from oat bran[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2008, 39(7): 103 – 106. (in Chinese)
- 于滨, 和法涛, 葛邦国, 等. 超微粉碎对苦瓜渣理化性质与体外降糖活性的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2014, 45(2): 233 – 238. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20140239&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2014.02.039.
YU Bin, HE Fatao, GE Bangguo, et al. Effect of superfine grinding on physicochemical properties and hypoglycemic activities in vitro of dietary fiber of balsam pear processed by extrusion[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(2): 233 – 238. (in Chinese)
- CRIZEL T D M, JABLONSKI A, RIOS A D O, et al. Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 2013, 53(1): 9 – 14.
- 江乐明, 樊灿梅, 聂少平, 等. 羧甲基化大粒车前子多糖的制备及其生物活性研究[J]. 食品科学, 2013, 34(22): 10 – 14.
JIANG Yueming, FAN Canmei, NIE Shaoping, et al. Preparation and immunoregulatory activity of carboxymethyl polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. [J]. Food Science, 2013, 34(22): 10 – 14. (in Chinese)
- 蓝海军. 以大豆膳食纤维为基质脂肪替代品的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
LAN Haijun. Study on preparation of soybean dietary fiber based fat substitute[D]. Nanchang: Nanchang University, 2007. (in Chinese)
- 刘颖, 宋丹丹, 付薇, 等. 响应面实验优化米糠膳食纤维脂肪替代物的制备工艺[J]. 食品科学, 2016, 37(4): 37 – 43.
LIU Ying, SONG Dandan, FU Wei, et al. Optimization of preparation process for fat substitute from rice bran dietary fiber by response surface methodology[J]. Food Science, 2016, 37(4): 37 – 43. (in Chinese)
- 荆晓飞. 玉米皮膳食纤维制备脂肪替代物的工艺研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2013.
JING Xiaofei. Study on the preparation of fat substitute from corn bran[D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2013. (in Chinese)
- 黄纪念, 孙强, 王长虹, 等. 羧甲基化法制备高持水力麦麸膳食纤维研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(6): 94 – 100.
HUANG Jinnian, SUN Qiang, WANG Changhong, et al. Research on the preparation of high-water-holding capacity of dietary fiber from wheat bran through carboxymethylation[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2012, 27(6): 94 – 100. (in Chinese)
- 赵国华, 曾凯红, 阚健全, 等. 羧甲基豆渣膳食纤维的制备及其性能研究[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(7): 88 – 90.
ZHAO Guohua, ZENG Kaihong, KAN Jianquan, et al. Study on the preparation of carboxymethyl soybean dietary fiber and functional properties [J]. Food and Fermentation Industries, 2003, 29(7): 88 – 90. (in Chinese)
- CAMPBELL K A, GLATZ C E, JOHNSON L A, et al. Advances in aqueous extraction processing of soybeans[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2011, 88(4): 449 – 465.
- LI Y, SUI X, QI B, et al. Optimization of ethanol-ultrasound-assisted destabilization of a cream recovered from enzymatic extraction of soybean oil[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2014, 91(1): 159 – 168.
- JMLN D M, MAURER D, JUNG S, et al. Pilot-plant proof-of-concept for integrated, countercurrent, two-stage, enzyme-assisted aqueous extraction of soybeans[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2011, 88(10): 1649 – 1658.
- YAO L, WANG T, WANG H. Effect of soy skim from soybean aqueous processing on the performance of corn ethanol fermentation[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(19): 9199 – 9205.
- ROVARIS A A, DIAS C O, CUNHA I P D, et al. Chemical composition of solid waste and effect of enzymatic oil extraction on the microstructure of soybean (*Glycine max*) [J]. Industrial Crops & Products, 2012, 36(1): 405 – 414.
- SEKHON J K. Effect of co-products of enzyme-assisted aqueous extraction of soybeans on ethanol production in dry-grind corn fermentation[J]. Bioresource Technology, 2015, 192(2): 451 – 460.
- 李杨, 江连洲, 张兆国, 等. 模糊评判优化水酶法提取膨化大豆油脂和蛋白[J]. 农业工程学报, 2010, 26(2): 375 – 380.
LI Yang, JIANG Lianzhou, ZHANG Zhaoquo, et al. Fuzzy optimization of enzyme assistant aqueous for extracting oil and protein from extruded soybean[J]. Transactions of the CSAE, 2010, 26(2): 375 – 380. (in Chinese)
- LI Y, ZHANG Y, WANG M, et al. Simplex-centroid mixture design applied to the aqueous enzymatic extraction of fatty acid-balanced oil from mixed seeds[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2013, 90(3): 349 – 357.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ J, SENDRA-NADAL E, NAVARRO C, et al. Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2009, 44(4): 748 – 756.
- FEMENIA A, LEFEBVRE A C, THEBAUDIN J Y, et al. Physical and sensory properties of model foods supplemented with cauliflower fiber[J]. Journal of Food Science, 2010, 62(62): 635 – 639.
- 王波, 张颖, 肖颜林, 等. 豆渣膳食纤维的制备工艺研究[J]. 食品与发酵科技, 2013(3): 10 – 14.
WANG Bo, ZHANG Ying, XIAO Yanlin, et al. The preparation of dietary fiber from soybean dregs[J]. Food and Fermentation Technology, 2013(3): 10 – 14. (in Chinese)
- 扈晓杰, 韩冬, 李铎. 膳食纤维的定义、分析方法和摄入现状[J]. 中国食品学报, 2011, 11(3): 133 – 137.
HU Xiaojie, HAN Dong, LI Duo. The definition, analytic methods and intake status of dietary fiber[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(3): 133 – 137. (in Chinese)
- 王伊沂, 林炜创, 盖春慧, 等. 羧甲基化反应改善膳食纤维性能的研究[J]. 中国油脂, 2009, 34(10): 62 – 65.
WANG Yiyi, LIN Weichuang, GAI Chunhui, et al. Properties improvement of dietary fibre by carboxymethylation modification [J]. China Oils and Fats, 2009, 34(10): 62 – 65. (in Chinese)
- 吴称意, 邵宇, 方敦, 等. 大豆膳食纤维改性及其对阳离子染料吸附特性[J]. 环境工程学报, 2015, 9(6): 2802 – 2806.
WU Chenyi, SHAO Yu, FANG Dun, et al. Modification of soybean dietary fiber and its absorption to cationic dyes[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, 9(6): 2802 – 2806. (in Chinese)