

梨渣可溶性膳食纤维提取工艺优化及功能特性分析

马凤¹, 张振宇¹, 陈启苗¹, 牛佳佳^{2*}, 曹庸¹, 苗建银^{1*}

(1. 华南农业大学食品学院, 广东省功能食品活性物重点实验室, 广东广州 510642)

(2. 河南省农业科学院园艺研究所, 河南郑州 450002)

摘要: 采用纤维素酶酶解制备梨渣可溶性膳食纤维 (SDF), 以梨渣 SDF 得率为评价指标, 通过单因素和响应面优化酶解制备 SDF 的最佳工艺条件, 并分析可溶性膳食纤维的理化性质和功能特性。结果表明, SDF 最佳提取工艺为酶底质量比 1.1%、时间 5.2 h、料液比 1:21、温度 37 °C、pH 值 4.5, 在此条件下进行的验证试验 SDF 得率为 6.29%, 与理论值 6.23% 较相符。与原梨渣相比, SDF 的持水性和膨胀性均得到提高, 且 SDF 对 DPPH ($IC_{50}=0.494$ mg/mL) 和 ABTS⁺ ($IC_{50}=0.429$ mg/mL) 自由基具有一定的清除能力, 表现出较好的抗氧化活性。SDF 在肠道中表现出更好的胆固醇吸附能力 (4.81 mg/g), 但在胃环境 (84.68%) 中对 NO₂⁻ 的吸附能力显著高于肠道环境 (16.21%)。梨渣可溶性膳食纤维具有较好的理化功能特性, 该研究为梨渣的高值化利用提供了理论依据。

关键词: 梨渣; 可溶性膳食纤维 (SDF); 酶法制备; 工艺优化; 抗氧化活性; 吸附能力

文章编号: 1673-9078(2024)03-229-238

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.3.0438

Extraction Process Optimization and Analysis of Functional Characteristics of Soluble Dietary Fibers of Pear Pomace

MA Feng¹, ZHANG Zhenyu¹, CHEN Qimiao¹, NIU Jiajia^{2*}, CAO Yong¹, MIAO Jianyin^{1*}

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, Guangzhou 510642, China)

(2. Institute of Horticulture, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The soluble dietary fibers (SDF) of pear pomace were prepared by enzymatic hydrolysis using cellulases, and the SDF yield was taken as the evaluation index to optimize the process conditions for the preparation of SDF by enzymatic hydrolysis through single factor experiments and response surface methodology. The physicochemical properties and functional characteristics of the pear pomace SDF were analyzed. The results showed the SDF extraction process to be optimized under the following conditions: an enzyme/substrate mass ratio of 1.1%, reaction time of 5.2 h, material-to-liquid ratio of 1:21, reaction temperature of 37 °C, and a pH value of 4.5. The resulting experimental SDF yield equaled 6.29%, which was consistent with the theoretical value of 6.23%. The SDF showed improved water holding and swelling capacity compared to the original pear pomace. In addition, SDF could scavenge DPPH ($IC_{50}=0.494$ mg/mL) and ABTS⁺ ($IC_{50}=0.429$ mg/mL) free radicals, demonstrating good antioxidant activity. SDF showed better cholesterol adsorption performance in the intestine

引文格式:

马凤,张振宇,陈启苗,等.梨渣可溶性膳食纤维提取工艺优化及功能特性分析[J].现代食品科技,2024,40(3):229-238.

MA Feng, ZHANG Zhenyu, CHEN Qimiao, et al. Extraction process optimization and analysis of functional characteristics of soluble dietary fibers of pear pomace [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(3): 229-238.

收稿日期: 2023-4-12

基金项目: 河南省大宗水果产业技术体系 (HARS-22-09-G4)

作者简介: 马凤 (1998-), 女, 在读研究生, 研究方向: 食品新原料与功能性食品, E-mail: MF5730070@163.com。

通讯作者: 牛佳佳 (1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 果蔬保鲜与加工, E-mail: 50817645@qq.com; 共同通讯作者: 苗建银 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品科学, E-mail: miaojy8181@scau.edu.cn

(4.81 mg/g), but the adsorption capacity for NO_2^- in the gastric environment (84.68%) was significantly higher than that in the intestinal environment (16.21%). The SDF of pear pomace seem to have good physical and chemical functional properties, and this study provides a theoretical basis for the high-value utilization of pear pomace.

Key words: pear pomace; soluble dietary fiber; enzymatic preparation; process optimization; antioxidant activity; adsorption capacity

膳食纤维 (Dietary Fiber, DF) 是第七大营养元素, 在各种水果中含量较高, 其质量分数大约为 16.74%~91.24%^[1]。膳食纤维包括不易消化的多糖、木质素、低聚糖和相关的植物物质, 可在大肠中完全或部分发酵, 但在人体小肠中不被消化和吸收^[2]。现已有研究证明摄入足够的膳食纤维可以降低胆固醇水平和患心血管、中风、结肠癌和肥胖等疾病的风险^[3]。膳食纤维按其溶解性分类, 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)^[4]。与不可溶膳食纤维相比, 可溶性膳食纤维不仅具有更好的质地和口感, 还具有较强的抗氧化、亚硝酸盐和胆固醇吸附能力, 易应用于食品加工中^[5]。但在大多数植物性原料中, 不可溶膳食纤维的含量要远远大于可溶性膳食纤维。所以, 对于功能性食品的开发, 改变膳食纤维比例, 增加可溶性膳食纤维含量, 改善其水合特性和生理功能变得非常重要^[6]。梨是中国除苹果、柑橘以外的第三大水果品种, 其种植面积和产量位居世界第一^[7]。金顶谢花酥梨是我国著名的梨类品种之一, 其口感酥脆易溶、汁多味甜^[8]。但梨的总体精深加能力较弱, 加工副产物利用率不高。梨类加工常以果汁饮料产品为主, 而随之产生的梨渣又因石细胞含量高, 难以被消化, 故不能作为理想的动物饲料^[9]。梨渣的不当处理会造成自然资源的浪费和环境污染。然而, 梨渣中含有大量的游离糖、黄酮和膳食纤维等物质, 是优质膳食纤维的良好来源^[10]。目前, 膳食纤维常见的提取方法为化学法、超声波辅助法、微波辅助法和生物酶法^[11]。其中酶水解是一种提取可溶性膳食纤维的环保技术, 具有安全、高效和无毒的特点, 因而被广泛使用。

本研究采用纤维素酶酶解制备梨渣中可溶性膳食纤维, 以 SDF 得率为指标, 利用单因素实验和响应面实验确定 SDF 的最佳提取工艺。同时, 探究梨渣膳食纤维的理化性质和功能性质, 为梨渣可作为良好的膳食纤维来源提供一定的理论基础, 促进梨渣高值化利用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金顶谢花酥梨梨渣, 河南省农业科学院园艺研究所; 纤维素酶 (1×10^4 U/g)、对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺、邻苯二甲醛, 上海麦克林生化科技有限公司; 冰乙酸 (分析纯), 四川西陇科学有限公司; 胆固醇, 四川维克奇生物科技有限公司; 1,1-二苯基-2-苦基苯肼 (DPPH), 上海源叶生物科技有限公司; 2,2-联基氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 (ABTS), 广州市齐云生物技术有限公司; 其他化学品和试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

多功能酶标仪 (2300 型), Perkin Elmer 公司; UV1750 紫外可见分光光度计, 日本岛津; L530 台式低速自动平衡离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; FD-1 型冷冻干燥机, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司; ME204 电子天平 (感量 1 μg), 梅特勒-托利多仪器有限公司; HH-6 恒温水浴锅, 常州朗越仪器制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 梨渣预处理

梨渣经 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温干燥箱烘干, 粉碎过 80 目筛。梨渣按 1:4 (g:mL) 加入体积分数为 95% 的乙醇, 搅拌均匀, 反应 2 h, 抽滤除去乙醇, 沉淀烘干, 即为去除游离单糖的梨渣粉, 用干燥器皿储存, 作为实验原料备用。

1.3.2 酶解制备膳食纤维

按一定料液比加入梨渣粉和蒸馏水, 用 1 mol/L NaOH 和 HCl 调溶液 pH 值至酶解条件, 加入纤维素酶进行恒温水浴酶解, 水浴酶解结束后, 95 $^{\circ}\text{C}$ 灭酶 10 min。离心 (4 000 r/min, 10 min) 后, 分别取沉淀和上清液: 沉淀经 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温干燥, 即得梨渣不溶性膳食纤维 IDF; 上清液经真空浓缩至 1/3 体积, 加入 4 倍体积无水乙醇进行醇沉 24 h

后离心 (4 000 r/min, 10 min), 沉淀经冷冻干燥, 即为梨渣可溶性膳食纤维 SDF。

1.3.3 SDF得率

按公式 (1) 计算梨渣 SDF 得率:

$$Y_1 = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

Y_1 —梨渣 SDF 得率, %;

m_1 —梨渣 SDF 的质量, g;

m_2 —称取梨渣粉的质量, g。

1.3.4 单因素实验

基于单因素实验原理, 以酶解温度 50 °C、时间 5 h、料液比 1:20、酶底质量比 (质量分数) 0.8% 和 pH 值 5.0 为基准条件, 固定其他因素及相应水平, 考察酶解温度 (40、45、50、55、60 °C)、酶解时间 (3、4、5、6、7 h)、料液比 (1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL)、酶底质量比 (0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%) 和 pH 值 (4.0、4.5、5.0、5.5、6.0) 对梨渣 SDF 得率的影响。

1.3.5 响应面优化实验

基于单因素实验的基础, 利用 Design-Expert 8.0.6 软件设计三因素三水平的实验方案, 选择对梨渣 SDF 得率有显著影响的三个因素: 酶底质量比、酶解时间、料液比为自变量, 梨渣 SDF 得率为响应值, 进行响应面优化实验。响应面因素和水平设计见表 1。

表 1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	因素		
	A- 酶底质量比/%	B- 酶解时间/h	C- 料液比(g/mL)
-1	0.8	4	1:15
0	1.0	5	1:20
1	1.2	6	1:25

1.3.6 梨渣膳食纤维理化性质

1.3.6.1 持水力

参照李晗等^[12]的方法进行测定, 分别称取梨渣粉、SDF、IDF 样品各 0.5 g (m_3) 于已干燥恒重的 50 mL 离心管中, 均加入 15 mL 蒸馏水, 振荡均匀, 室温静置 12 h, 4 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 称量剩余沉淀的质量 (m_4), 按公式 (2) 计算各样品持水力 (D_1):

$$D_1 = \frac{m_4 - m_3}{m_3} \quad (2)$$

式中:

D_1 —持水力, g/g;

m_3 —称取样品的质量, g;

m_4 —离心后沉淀的质量, g。

1.3.6.2 持油力

参照李晗等^[12]的方法进行测定, 分别称取梨渣粉、SDF、IDF 样品各 0.5 g (m_5) 于已干燥恒重的 50 mL 离心管中, 均加入 15 mL 花生油, 振荡均匀, 室温静置 12 h, 4 000 r/min 离心 20 min, 弃上清液, 称量剩余沉淀的质量 (m_6), 按公式 (3) 计算各样品持油力 (D_2):

$$D_2 = \frac{m_6 - m_5}{m_5} \quad (3)$$

式中:

D_2 —持油力, g/g;

m_5 —称取样品的质量, g;

m_6 —离心后沉淀的质量, g。

1.3.6.3 溶解性

参照李晗等^[12]的方法进行测定。分别称取梨渣粉、SDF、IDF 样品各 0.5 g (m_7) 于已干燥恒重的 50 mL 离心管中, 均加入 30 mL 蒸馏水, 搅匀, 75 °C 水浴 1 h, 4 000 r/min 离心 20 min, 取上清液冷冻干燥, 称量冻干粉质量 (m_8), 按公式 (4) 计算各样品溶解性 (D_3):

$$D_3 = \frac{m_8}{m_7} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

D_3 —溶解性, %;

m_7 —称取样品的质量, g;

m_8 —上清液冻干粉的质量, g。

1.3.6.4 膨胀力

参照李晗等^[12]的方法进行测定。称取梨渣粉、SDF、IDF 样品各 0.5 g (m_0) 于已干燥的 10 mL 量筒中, 摇晃使样品平铺均匀, 读取体积 V_1 。加入 8 mL 蒸馏水, 振荡均匀, 室温静置 12 h, 读取样品自由膨胀体积 V_2 , 按公式 (5) 计算膨胀力 (D_4):

$$D_4 = \frac{V_2 - V_1}{m_0} \quad (5)$$

式中:

D_4 —溶解性, mL/g;

V_1 —样品初始体积, mL;

V_2 —膨胀后样品的体积, mL;

m_0 —称取样品的质量, g。

1.3.7 梨渣SDF体外抗氧化能力的测定

1.3.7.1 DPPH自由基清除率

参考 Miao 等^[13]的方法进行测定,用无水乙醇配制 0.2 mmol/L 的 DPPH 反应液,用超纯水将梨渣 SDF 配制成不同浓度的待测样品。在 96 孔板中加入样液和 DPPH 反应液各 100 μ L,振荡摇匀,室温避光反应 30 min,测定 517 nm 处的吸光值,并以无水乙醇作为空白对照。按公式(6)计算样品对 DPPH 自由基的清除率(Y_2):

$$Y_2 = \left(1 - \frac{V_t - V_r}{A_0}\right) \times 100\% \quad (6)$$

式中:

Y_2 —DPPH 自由基清除率, %;

A_t —样液和 DPPH 反应液的吸光值;

A_0 —无水乙醇和 DPPH 反应液的吸光值;

A_r —样液和无水乙醇的吸光值。

1.3.7.2 ABTS⁺自由基清除率

参考 Xia 等^[14]的方法进行测定,取 5 mL 的 7 mmol/L ABTS 和 88 μ L 的 140 mmol/L 过硫酸钾混合,室温避光反应 12 h,之后再用超纯水将其稀释成吸光度 $A_{734\text{ nm}} = 0.7 \pm 0.02$ 的 ABTS⁺ 工作液,室温避光保存备用。用超纯水将梨渣 SDF 配制成不同浓度的待测样品,在 96 孔板中加入 100 μ L ABTS⁺ 工作液和 100 μ L 样液,震荡 2 min,37 $^{\circ}$ C 避光反应 10 min,测定 734 nm 处的吸光值,并以超纯水作为空白对照。按公式(7)计算样品对 ABTS⁺ 自由基的清除率(Y_3):

$$Y_3 = \left(1 - \frac{V_1 - V_2}{A_3}\right) \times 100\% \quad (7)$$

式中:

Y_3 —ABTS⁺ 自由基清除率, %;

A_1 —样液和 ABTS⁺ 工作液反应的吸光值;

A_3 —超纯水与 ABTS⁺ 工作液反应的吸光值;

A_2 —样液和超纯水反应的吸光值。

1.3.8 梨渣膳食纤维胆固醇吸附能力的测定

参考罗舜菁等^[15]的方法并略作修改,取鸡蛋黄 20 mL,在烧杯中与 180 mL 蒸馏水搅打成乳液,称取梨渣粉、SDF、IDF 各 0.5 g,分别与 15 mL 蛋黄乳液混合,将溶液 pH 值调为 2.0 和 7.0,模拟胃肠环境。37 $^{\circ}$ C 下震荡反应 2 h,4 000 r/min 离心 20 min 后取上清液 1 mL,用冰醋酸稀释到 10 mL,然后取 0.4 mL 稀释液加入 0.2 mL 1 mg/mL 的邻苯二甲醛及 4 mL 混合酸 ($V_{\text{冰醋酸}}:V_{\text{硫酸}} = 1:10$),混合均匀静置 10 min

后测 550 nm 处的吸光度。以不加样品的蛋黄乳液作空白对照,根据胆固醇标准曲线 ($Y = 94.635X - 0.0007$, $R^2 = 0.997$) 进行定量。按公式(8)计算样品的胆固醇吸附能力(Y_4):

$$Y_4 = \frac{M_1 - M_2}{M_0} \quad (8)$$

式中:

Y_4 —胆固醇吸附能力, mg/g;

M_1 —不加样品的蛋黄乳液中胆固醇含量, mg;

M_2 —加样品吸附后反应溶液中胆固醇含量, mg;

M_0 —称取的样品质量, g。

1.3.9 梨渣膳食纤维对 NO₂⁻清除率的测定

参考朱丽云等^[16]的方法并略作修改,称取梨渣粉、SDF、IDF 各 0.25 g,分别与 50 mL 的 100 μ mol/L NaNO₂ 溶液混合,将溶液 pH 值调为 2.0 和 7.0,模拟胃肠环境,37 $^{\circ}$ C 下震荡反应 2 h,4 000 r/min 离心 20 min。取 2 mL 上清液样品,加 2 mL 4 μ g/mL 对氨基苯磺酸溶液和 1 mL 2 μ g/mL 盐酸萘乙二胺,定容至 50 mL,避光反应 15 min,测定溶液 538 nm 处的吸光度。以标准曲线中零管为对照管,根据亚硝酸根离子标准曲线 ($Y = 0.0505X + 0.0021$, $R^2 = 0.999$) 进行定量,按公式(9)计算样品对 NO₂⁻ 的清除率(Y_5):

$$Y_5 = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100\% \quad (9)$$

式中:

Y_5 —NO₂⁻ 清除率, %;

C_0 —吸附前溶液中 NO₂⁻ 的初始浓度, μ mol/L;

C_1 —吸附后溶液中 NO₂⁻ 的最终浓度, μ mol/L。

1.4 数据结果分析

所有实验均设置三组平行实验,最终数据以均值 \pm 标准偏差表示。统计图利用软件 Excel 2010 和 Origin 2018 作图,响应面试验设计和结果分析在 Design Expert 8.0.6 下进行,实验结果用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行单因素方差分析 (ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 酶解温度对梨渣SDF得率的影响

由图 1 可知,随着酶解温度升高,梨渣 SDF 得率呈现先稳定升高后缓慢降低的趋势。在酶解 50 $^{\circ}$ C 时,SDF 得率达到最大 (5.6%)。在溶液反应体系中,温度对传质速率和溶剂密度均有较大影响,适宜的

酶解温度会提高纤维素蛋白酶的分子运动^[17], 但温度过高和过低均会抑制纤维素酶的酶活, 影响 SDF 得率。因此, 选择 50 °C 作为纤维素酶酶解梨渣的最佳酶解温度。

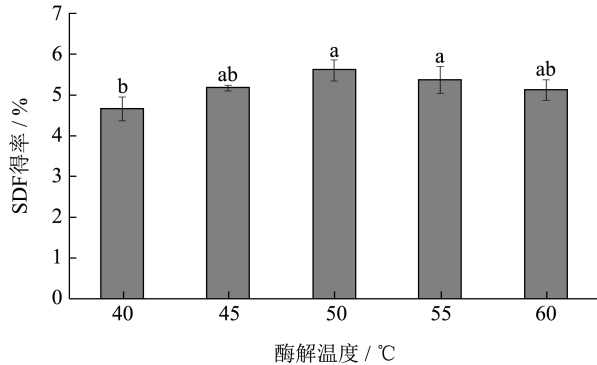


图 1 酶解温度对 SDF 得率的影响

Fig.1 The effect of enzymatic hydrolysis temperature on SDF yield

注: 不同字母表示显著差异, $P < 0.05$, 下同。

2.1.2 酶解 pH 值对梨渣 SDF 得率的影响

由图 2 可知, pH 值为 4.5 时, 梨渣 SDF 得率达到最大值, 为 5.67%。之后, 随着 pH 值增加, SDF 得率表现出缓慢降低的趋势。这是因为适宜的 pH 值条件可以增强蛋白酶活性, 增强酶解效果, 从而提高 SDF 得率。所以, 选择 pH 值为 4.5 作为最佳酶解条件。

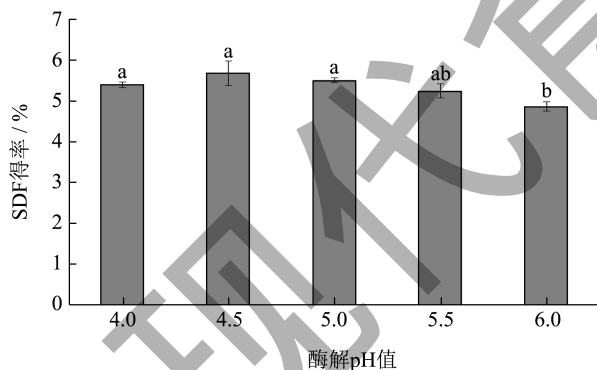


图 2 pH 值对 SDF 得率的影响

Fig.2 The effect of pH value on SDF yield

2.1.3 料液比对梨渣 SDF 得率的影响

由图 3 可知, SDF 得率随着料液比的增加表现出先稳定升高后缓慢下降的趋势, 在料液比为 1:20 时 SDF 得率最大 (5.67%), 且与料液比 1:15 和 1:25 时的得率具有显著差异, 说明料液比对 SDF 得率显著影响。这是因为料液比不断增加, 底物质量浓度过低, 蛋白酶不能与梨渣充分接触; 料液比过小, 底物质量浓度过大, 溶液体系过度粘稠, 反向抑制

了蛋白酶与底物的反应。所以, 选择料液比为 1:20 作为后序工艺优化的条件。

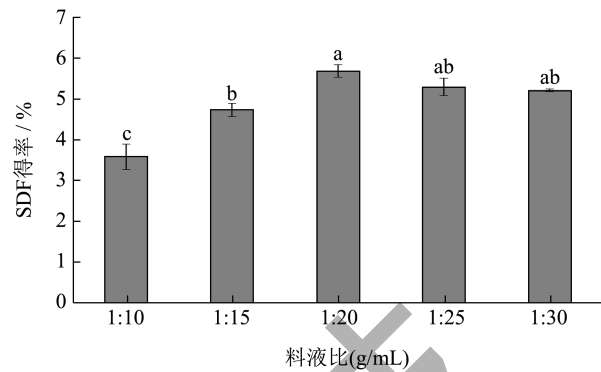


图 3 料液比对 SDF 得率的影响

Fig.3 The effect of soil-liquid ratio on SDF yield

2.1.4 酶底质量比对梨渣 SDF 得率的影响

由图 4 可知, 梨渣 SDF 得率在酶底质量比 0.4% 到 1.2% 的范围内具有显著差异, 呈现先升高后降低的趋势, 并在酶底质量比 1.0% 时达到最大值 (SDF 得率 6.03%), 即酶添加量过大会降低 SDF 得率。这与万仁口等^[18]利用纤维素酶酶解制备竹笋可溶性膳食纤维研究中的规律相似, 即过量的酶会降低其得率。这是因为酶添加量过低, 底物不能充分酶解, 降低梨渣 SDF 得率; 酶添加量过高, 溶液中可溶物质易被降解为醇溶性小分子物质, 导致 SDF 得率下降^[9]。所以, 酶底质量比对梨渣 SDF 得率具有显著影响, 选择酶底质量比 1.0% 作为进一步优化酶解的条件。

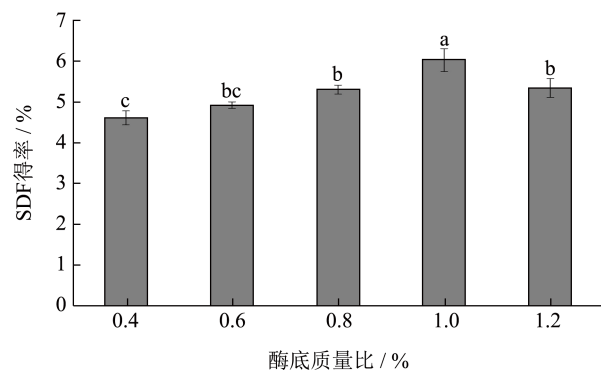


图 4 酶底质量比对 SDF 得率的影响

Fig.4 The effect of enzyme/substrate mass ratio on SDF yield

2.1.5 酶解时间对梨渣 SDF 得率的影响

由图 5 可知, 在酶解时间 3 h (SDF 得率 4.62%) 到 5 h (SDF 得率 5.56%) 范围内, SDF 得率呈现逐渐升高的趋势, 并在 5 h 条件下达到最大值。但随着继续延长酶解时间, SDF 得率又会降低。这是

因为，酶解时间过短，梨渣不能充分被纤维素酶酶解；但酶解时间过长会导致 SDF 过度降解而降低其得率。酶解时间对 SDF 得率具有显著影响，故选择酶解时间 5 h 作为后序优化实验的酶解条件。

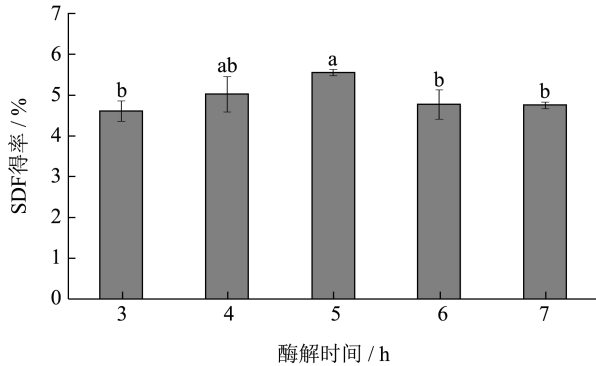


图 5 酶解时间对 SDF 得率的影响

Fig.5 The effect of enzymatic time on SDF yield

2.2 响应面实验

2.2.1 Box-Benhnken 实验设计及结果

在单因素实验的基础上，选择对梨渣 SDF 得率具有显著影响的三个因素：A- 酶底质量比、B- 酶解时间、C- 料液比为三个自变量，SDF 得率为响应值，对酶解条件进行优化。实验设计及结果见表 2。

表 2 响应面实验设计与结果

Table 2 The design and results of the response surface experimental

序号	A: 酶底质量比/%	B: 酶解时间/h	C: 料液比 (g/mL)	SDF 得率 /%
1	1.0	5	1:20	6.21 ± 0.34
2	1.0	6	1:15	5.49 ± 0.22
3	0.8	4	1:20	5.25 ± 0.43
4	0.8	6	1:20	4.98 ± 0.28
5	1.0	5	1:20	6.06 ± 0.67
6	1.0	6	1:25	5.33 ± 0.87
7	1.2	5	1:15	5.44 ± 0.83
8	1.0	5	1:20	6.12 ± 0.92
9	1.0	5	1:20	6.24 ± 1.03
10	1.0	4	1:25	5.65 ± 0.25
11	1.0	5	1:20	6.32 ± 0.67
12	0.8	5	1:15	4.89 ± 0.49
13	1.2	4	1:20	5.23 ± 0.51
14	0.8	5	1:25	5.41 ± 0.39
15	1.2	5	1:25	5.72 ± 0.47
16	1.0	4	1:15	5.16 ± 0.54
17	1.2	6	1:20	5.94 ± 0.75

$R^2=0.9726$ $R^2_{adj}=0.9374$

2.2.2 回归模型和方差分析

运用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 2 数据进行拟合分析后，得回归方程为：

$$Y_0=6.19+0.23 \times A+0.056 \times B+0.14 \times C+0.24 \times AB-0.06 \times AC-0.16 \times BC-0.44 \times A^2-0.4 \times B^2-0.38 \times C^2$$

由表 3 模型方差分析可知，该模型 F 值为 27.61, P=0.000 1, 极显著，表示回归模型高度显著；拟合项 P 值为 0.312 7 > 0.05, 不显著，表明该模型的实验值与预测值线性相关，具有较好的拟合度。模型的相关系数 $R^2=0.9726$, 校正系数 $R^2_{adj}=0.9374$, 即此模型可表示 93.74% 的响应值变化，可用于梨渣 SDF 得率的准确分析与预测。模型各因素 F 值越大，则对实验结果的影响越大。所以，各因素对梨渣 SDF 得率影响的主次顺序为酶底质量比 > 料液比 > 酶解时间。此外，由图 6 可知，各因素两两交互作用的响应面图，酶底质量比和酶解时间、料液比和酶解时间之间的响应面曲面图较陡峭，且底部投影为椭圆形，说明两两交互作用较显著^[19]，与表 3 方差分析的结果一致。

表 3 响应面二次模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for response surface

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	3.31	9	0.37	27.61	0.000 1	**
A- 酶底质量比	0.41	1	0.41	30.44	0.000 9	**
B- 酶解时间	0.025	1	0.025	1.9	0.210 2	
C- 料液比	0.16	1	0.16	12.00	0.010 5	*
AB	0.24	1	0.24	18.05	0.003 8	**
AC	0.014	1	0.014	1.08	0.332 8	
BC	0.11	1	0.11	7.94	0.025 9	*
A ²	0.82	1	0.82	61.62	0.000 1	**
B ²	0.67	1	0.67	50.32	0.000 2	**
C ²	0.62	1	0.62	46.61	0.000 2	**
残差	0.093	7	0.013			
拟合项	0.052	3	0.017	1.65	0.312 7	不显著
纯差	0.042	4	0.01			
总相关	3.4	16				
		$R^2=0.9726$	$R^2_{adj}=0.9374$			

注：* 为差异显著 (P < 0.050), ** 为差异极显著 (P < 0.01)。

2.2.3 模型优化及验证实验

通过 Design-Expert 8.0.6 软件对实验结果进行数据分析，回归模型条件下最佳酶解工艺为酶底质量比 1.06%、时间 5.13 h、料液比 1:20.67，梨渣 SDF 得率预测值为 6.23%。在实验室条件下，将最

佳酶解工艺调整为酶底质量比 1.1%、时间 5.2 h、料液比 1:21、温度 37 °C、pH 值 4.5。在该条件下进行三次重复实验，梨渣 SDF 得率为 6.29%，该实验值与模型预测值较接近。故该模型实用性高，具有较高拟合度。

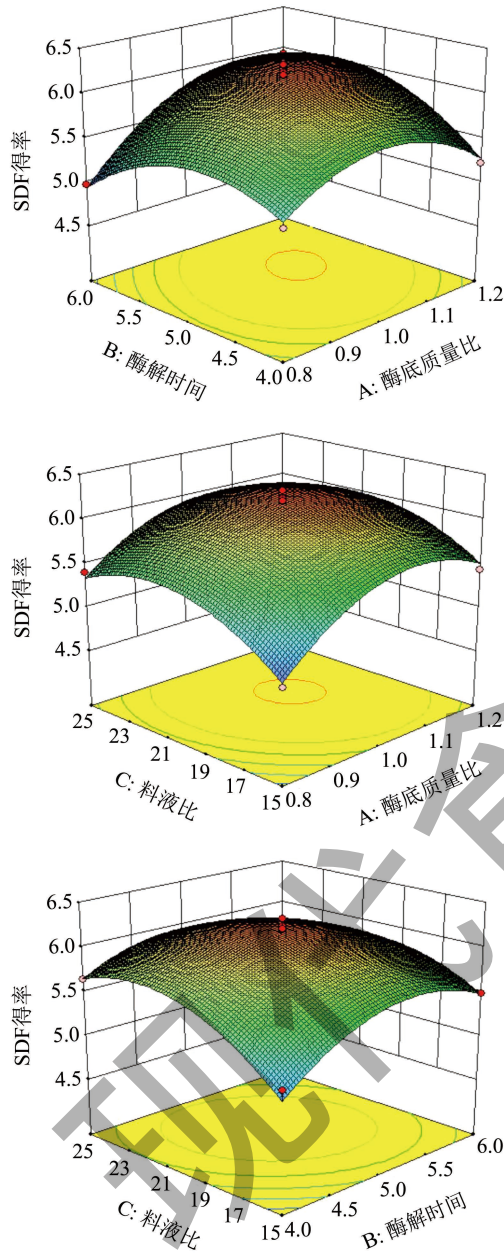


图 6 两两因素交互作用的响应面曲面图

Fig.6 Surface diagram of the response surface with the interaction of two factors

2.3 梨渣SDF理化性质

持水力、持油力和膨胀性是评价膳食纤维品质的重要指标。人体摄入持水力、持油力和膨胀力较强的膳食纤维，不仅可以增强饱腹感、延迟胃排空，减少脂肪在胃肠道的堆积，还可使肠道粪便体积变

大，质地变软，缩短排便时间^[20]。由表 4 可知，梨渣 SDF 的持水力 (5.33 g/g)、溶解性 (84.41%) 和膨胀力 (3.42 mL/g) 均大于 IDF 和原梨渣粉，这与李晗等^[12]的实验结果相似，即超声酶解制备的刺梨 SDF 的持水性、膨胀性和溶解性显著大于 IDF。这可能跟酶解制备的 SDF 结构松散，空隙率高，酶解后暴露出更多羧基和羟基等亲水基团有关^[21]。但梨渣 SDF 的持油力 (1.36 g/g) 要显著小于 IDF (4.48 g/g)，这是因为在酶解过程中 IDF 暴露出更多的亲油性基团。所以，梨渣经酶解所制备的膳食纤维具有较好的持水力和持油力，能有效改善人体肠道功能、有效降低肥胖和便秘的风险。

表 4 梨渣粉和膳食纤维的理化性质

Table 4 Physicochemical properties of pear residue powder and dietary fiber

样品	持水力 / (g/g)	持油力 / (g/g)	溶解性 / %	膨胀力 / (mL/g)
原梨渣粉	2.84 ± 0.02 ^c	1.03 ± 0.04 ^b	12.69 ± 1.22 ^b	2.38 ± 0.05 ^b
SDF	5.33 ± 0.37 ^a	1.36 ± 0.31 ^b	84.41 ± 2.81 ^a	3.42 ± 0.06 ^a
IDF	3.68 ± 0.32 ^b	4.48 ± 0.15 ^a	10.04 ± 0.54 ^b	2.58 ± 0.14 ^b

注：同列数据右肩不同的小写字母表示具有显著差异， $P < 0.05$ 。

2.4 梨渣SDF体外抗氧化活性

DPPH 是一种稳定的氮中心自由基，通过氢原子或电子的转移被抗氧化化合物还原，可用来评价抗氧化剂的自由基清除活性^[22,23]。ABTS 是一种自由基阳离子，广泛应用于检测化合物的总抗氧化能力^[24]。图 7 是梨渣 SDF 与常见抗氧化剂 Vc 的抗氧化活性对比，发现 Vc 在低浓度时对 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基的清除率均较高，但梨渣 SDF 对两种自由基的清除率均随着样品浓度的增加而呈显著升高趋势，具有一定的浓度依赖性。当样品质量浓度为 4 mg/mL 时，SDF 和 Vc 对 ABTS⁺ 自由基的清除率无显著差异，分别达到了 99.08% 和 99.98%，说明高浓度的 SDF 具有很好的自由基清除能力。此外，由图 8 可知，梨渣 SDF 清除 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基的 IC₅₀ 值分别为 0.494 mg/mL 和 0.429 mg/mL。在相关报道中，竹笋可溶性膳食纤维在质量浓度为 20 mg/mL 时，SDF 的 DPPH 自由基清除率 75.77%、ABTS⁺ 自由基清除率为 70.2%^[18]；从马铃薯中微波辅助提取的可溶性膳食纤维对 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基的清除能力也表现出相同的浓度依赖，其 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值为 4.215 mg/mL、ABTS⁺ 自由基的

IC₅₀ 值为 6.0 mg/mL^[24]。相比于以上物质, 本研究提取制备的梨渣 SDF 具有更强的自由基清除能力, 具有活性较好的抗氧化剂潜力。

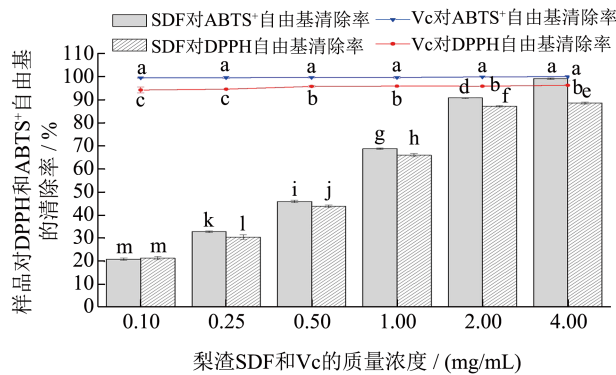


图7 梨渣 SDF 和 Vc 对 DPPH、ABTS⁺ 自由基的清除率
Fig.7 The scavenging rate of pear residue SDF and VC on DPPH and ABTS⁺ free radicals

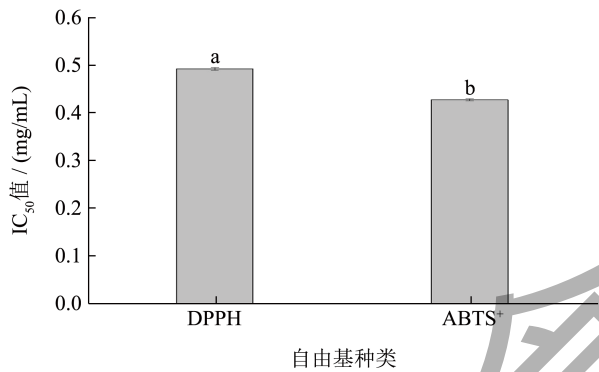


图8 梨渣 SDF 清除 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基的 IC₅₀ 值
Fig.8 IC₅₀ value of pear residue SDF to scavenge DPPH and ABTS⁺ radicals

2.5 梨渣膳食纤维的胆固醇吸附能力

膳食纤维对胆固醇的吸附能力常作为亲脂性物质的评价指标, 且已有文献报道膳食纤维可减少小肠对过量供给的甘油三酯和胆固醇的吸收和利用, 从而降低血胆固醇的水平^[25]。如图9所示, 膳食纤维对胆固醇的吸附能力受 pH 值条件的显著影响, SDF 和 IDF 在肠道环境中对胆固醇的吸附能力分别为 4.81 mg/g 和 19.51 mg/g, 分别是胃环境的 1.86 倍和 3.18 倍。因为在酸性条件下, 较多的 H⁺ 使样品与胆固醇均带有一定的正电荷, 两者产生排斥力, 减弱了样品对胆固醇的吸附^[26]。在同一 pH 值条件下, 梨渣 IDF 的胆固醇吸附能力较强, 这可能是酶解制备过程中产生了较多的亲油性基团, 使其吸附和清除油脂的能力变强^[12]。这与 Zheng^[27] 等研究的米糠膳食纤维的胆固醇吸附特性相似, 均表明 IDF 在肠道环境中具有更强的胆固醇吸附能力, 且吸附

能力为 9.36 mg/g。所以, 梨渣膳食纤维可有效吸收和清除肠道中的脂质物质, 充当脂质清除剂, 具有一定的生理功能。

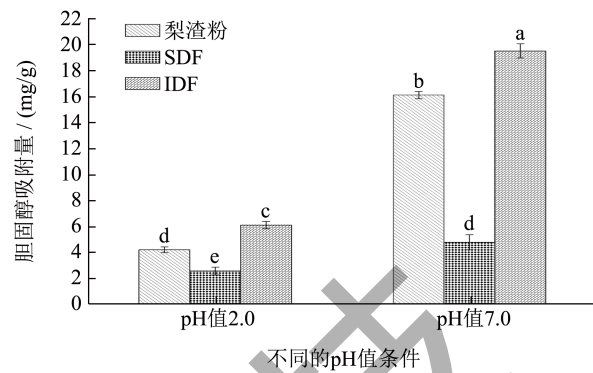


图9 梨渣及膳食纤维在不同 pH 值条件下的胆固醇吸附能力
Fig.9 The cholesterol adsorption capacity of pear pomace and dietary fiber under different pH conditions

2.6 梨渣膳食纤维对 NO₂⁻ 的吸附能力

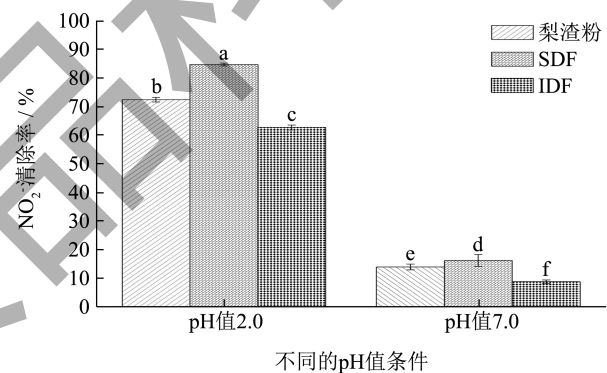


图10 梨渣及膳食纤维在不同 pH 值条件下对 NO₂⁻ 的吸附能力
Fig.10 The adsorption capacity of pear pomace and dietary fiber to NO₂⁻ under different pH conditions

饮食摄入的 NO₂⁻ 在人体内会与氨基酸的降解产物形成 N-亚硝基致癌化合物, 如亚硝酸胺^[28]。所以, 膳食纤维对亚硝酸盐的吸附作用是其重要的功能特性。由图10可知, 膳食纤维对 NO₂⁻ 的吸附能力受 pH 值环境的影响, 样品在胃环境 (pH 值 2.0) 中的吸附能力要显著高于肠道环境 (pH 值 7.0), 这与在柚子皮^[29]、人参^[30]、玉米糠^[31] 等膳食纤维研究中的 NO₂⁻ 吸附能力趋势一致。因为在酸性条件下, NO₂⁻ 能与 H⁺ 结合产生 HNO₂ 和 N₂O₃ 等氮氧化物, 这些化合物可与膳食纤维酚酸基团中带负电荷的氧原子结合, 并发生化学吸附^[32]。当 pH 值为 2.0 时, 三种样品对 NO₂⁻ 的吸附能力大小规律均为: SDF (84.68%) > 梨渣 (72.38%) > IDF (62.65%), 说明 SDF 清除亚硝酸钠的能力更强, 这可能是因为 SDF 可增加介质的粘度, 抑制 NO₂⁻ 的扩散 GAN^[29]。同时,

SDF 较强的膨胀力使其具有较大的表面积,可更好地吸附 NO_2^- 。所以,梨渣膳食纤维可有效降低人体胃部 NO_2^- 的含量,减小胃癌患病风险。

3 结论

本试验以金顶谢花酥梨的梨渣为原料,以梨渣 SDF 得率为指标,通过单因素和响应面优化得到纤维素酶酶解制备梨渣 SDF 的最佳酶解工艺。SDF 具有较好的理化性质和自由基清除能力,其清除 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基的 IC_{50} 值分别为 0.494、0.429 mg/mL。此外,梨渣 SDF 在胃肠环境中对亚硝酸盐的吸附能力要显著强于梨渣粉和 IDF,说明梨渣 SDF 可有效降低人体胃部中 NO_2^- 的含量,预防癌症的发生。本研究为梨渣可作为一种良好膳食纤维来源及其高值化利用提供理论基础,但膳食纤维的成分组成及其质构关系还有待进一步研究。

参考文献

- [1] HE Y, WANG B X, WEN L K, et al. Effects of dietary fiber on human health [J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(1): 1-10.
- [2] CHEN H H, ZHAO C M, LI J, et al. Effects of extrusion on structural and physicochemical properties of soluble dietary fiber from nodes of lotus root [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 93: 204-211.
- [3] LIU Y L, ZHANG H B, YI C P, et al. Chemical composition, structure, physicochemical and functional properties of rice bran dietary fiber modified by cellulase treatment [J]. Food Chemistry, 2021, 342: 128352.1-128352.9.
- [4] GUAN Z W, YU E Z, FENG Q. Soluble dietary fiber, one of the most important nutrients for the gut microbiota [J]. Molecules, 2021, 26(22): 6802.1-6802.15.
- [5] DONG W J, WANG D D, HU R S, et al. Chemical composition, structural and functional properties of soluble dietary fiber obtained from coffee peel using different extraction methods [J]. Food Research International, 2020, 136: 109497.1-109497.9.
- [6] BADER U A H, SAEED F, AHMED A, et al. Improving the physicochemical properties of partially enhanced soluble dietary fiber through innovative techniques: A coherent review [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(4): e13917.1-e13917.12.
- [7] 苏菲烟.澄清雪梨汁加工关键技术研究[D].成都:西华大学,2020.
- [8] 吕波,吕中伟,徐艳艳,等.金顶谢花酥梨叶片、新梢、果实生长动态及花芽分化进程研究[J].落叶果树,2016, 48(3):14-16.
- [9] PENG F, REN X, DU B, et al. Insoluble dietary fiber of pear fruit pomace (*Pyrus ussuriensis* Maxim) consumption ameliorates alterations of the obesity-related features and gut microbiota caused by high-fat diet [J]. Journal of Functional Foods, 2022, 99: 105354.1-105354.9.
- [10] YAN L, LI T, LIU C H, et al. Effects of high hydrostatic pressure and superfine grinding treatment on physicochemical /functional properties of pear pomace and chemical composition of its soluble dietary fibre [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 107: 171-177.
- [11] WANG K L, LI M, WANG Y X, et al. Effects of extraction methods on the structural characteristics and functional properties of dietary fiber extracted from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 110: 106162.1-106162.10.
- [12] 李晗,范方宇,戚建华,等.超声辅助酶法提取无籽刺梨渣膳食纤维及理化性质评价[J].食品科技,2021,46(4):194-201.
- [13] MIAO J Y, LIAO W W, KANG M, et al. Anti-fatigue and anti-oxidant activities of oyster (*Ostrea rivularis*) hydrolysate prepared by compound protease[J]. Food and Function, 2018, 9(12): 6577-6585.
- [14] XIA Z, MIAO J Y, CHEN B B, et al. Purification, identification, and antioxidative mechanism of three novel selenium-enriched oyster antioxidant peptides[J]. Food Research International, 2022: 111359.1-111359.12.
- [15] 罗舜菁,谢靓,熊绍百,等.微波对膳食纤维结构和功能特性的影响[J].食品与机械,2021,37(6):30-35.
- [16] 朱丽云,吴俊清,吴丽樱,等.碱提香菇柄膳食纤维的功能性分析[J].中国食品学报,2013,13(4):219-224.
- [17] 王凌翌,周利琴,刘志国,等.联合酶法提取豆渣蛋白肽和可溶性膳食纤维[J].中国油脂,2021,46(6):114-118.
- [18] 万仁口,贺杨正,李功景,等.酶解制备竹笋可溶性膳食纤维及其抗氧化活性研究[J].中国食品学报,2021,21(3): 153-160.
- [19] 刘锦良,沈衡平,刘辉,等.大蒜多肽提取工艺的优化及其体外活性的测定[J].食品研究与开发,2022,43(19):166-173.
- [20] DENG M, LIN Y S, DONG L H, et al. Physicochemical and functional properties of dietary fiber from pummelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) and grapefruit (*Citrus paradisi* Mcfad) cultivars[J]. Food Bioscience, 2021, 40: 100890.1-100890.9.
- [21] 王司琪,王佳佳,李泊铮,等.提取方法对玉木耳膳食纤维结构特征和功能特性的影响[J].食品科学,2022,43(24): 93-101.
- [22] ROMANET R, SARHANE Z, BAHUT F, et al. Exploring the chemical space of white wine antioxidant capacity: A

- combined DPPH, EPR and FT-ICR-MS study [J]. Food Chemistry, 2021, 355: 129566.1- 129566.9.
- [23] LIU Y, AO H P, ZHENG J X, et al. Improved functional properties of dietary fiber from *Rosa roxburghii* Tratt residue by steam explosion [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(1): e16119.1- e16119.12.
- [24] CHEN X L, HUANG C G, JIAN R C, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of soluble dietary fiber from potato pulp and its properties [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(10): e14204.1- e14204.8.
- [25] HUANG H R, CHEN J J, CHEN Y, et al. Modification of tea residue dietary fiber by high-temperature cooking assisted enzymatic method: Structural, physicochemical and functional properties [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 145: 111314.1-111314.9.
- [26] 李晗,杨宗玲,毕永雪,等.超声辅助酶法提取西番莲果皮可溶性膳食纤维及理化性质[J].食品工业科技,2020, 41(7):161-165,172.
- [27] ZHENG Y J, WANG X Y, TIAN H L, et al. Effect of four modification methods on adsorption capacities and *in vitro* hypoglycemic properties of millet bran dietary fibre[J]. Food Research International, 2021, 147: 110565.1-110565.10.
- [28] ZHENG Y J, XU B F, SHI P Q, et al. The influences of acetylation, hydroxypropylation, enzymatic hydrolysis and crosslinking on improved adsorption capacities and *in vitro* hypoglycemic properties of millet bran dietary fibre[J]. Food Chemistry, 2022, 368: 130883.1-130883.11.
- [29] GAN J P, HUANG Z Y, YU Q, et al. Microwave assisted extraction with three modifications on structural and functional properties of soluble dietary fibers from grapefruit peel [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105549.1-105549.9.
- [30] JIANG G H, BAI X S, WU Z G, et al. Modification of ginseng insoluble dietary fiber through alkaline hydrogen peroxide treatment and its impact on structure, physicochemical and functional properties[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 150: 111956.1-111956.9.
- [31] LI S, HU N N, ZHU J Y, et al. Influence of modification methods on physicochemical and structural properties of soluble dietary fiber from corn bran[J]. Food Chemistry: X, 2022, 14: 100298.1-100298.8.
- [32] HUA M, LU J X, QU D, et al. Structure, physicochemical properties and adsorption function of insoluble dietary fiber from ginseng residue: A potential functional ingredient[J]. Food Chemistry, 2019, 286: 522-529.