



引用格式:申瑞玲,张文杰,董吉林. 酶-热水浸提法提取藜麦麸水溶性非淀粉多糖工艺研究[J]. 轻工学报,2016,31(1):29-34.

中图分类号:TS210.9 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.1.006

文章编号:2096-1553(2016)01-0029-06

# 酶-热水浸提法提取藜麦麸水溶性非淀粉多糖工艺研究

Extraction process of water-soluble non-starch polysaccharides from *Chenopodium quinoa* willd bran by enzyme-water method

申瑞玲,张文杰,董吉林

SHEN Rui-ling, ZHANG Wen-jie, DONG Ji-lin

郑州轻工业学院 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001

College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

## 关键词:

藜麦麸;水溶性非淀粉多糖;酶-热水浸提法

## Key words:

*Chenopodium quinoa* willd bran; water-soluble non-starch polysaccharide; enzyme-water method

**摘要:**以藜麦麸为原料,采用酶-热水浸提法对藜麦麸水溶性非淀粉多糖(NSP)提取工艺进行研究.利用苯酚-硫酸法测定NSP的得率,通过单因素试验和正交试验确定最佳提取工艺条件:料液比( $w/v$ )为1:16,复合多糖酶添加量为2.0 mg/g,浸提温度为90℃,浸提时间为100 min.该试验条件下藜麦麸水溶性NSP得率为7.55%.与其他提取方法相比,该法提取水溶性NSP的得率较高,对藜麦麸的利用更加充分,且浸提溶剂为水,在提取过程中没有强酸强碱性废液产生,不会造成环境污染.

收稿日期:2015-08-28

基金项目:国家自然科学基金项目(31271854);郑州轻工业学院研究生科技创新基金项目(2014025)

作者简介:申瑞玲(1967—),女,山西省灵石县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为谷物营养与加工.

**Abstract:** Using *Cheopodium quinoa* willd bran, the extraction process of water-soluble non-starch polysaccharides (NSP) was studied by enzyme-water method. Phenol-sulfate method was used to measure the yield of NSP. The optimal extraction conditions were determined through single factor assay and orthogonal assay. The results showed that the optimal extraction conditions were material-liquid ratio ( $w/v$ ) 1 : 16, the addition of viscozyme 2.0 mg/g, extraction temperature 90 °C, extraction time 100 min. Under the experiment conditions, the yield of NSP was 7.55%. Compared with other extraction methods, the extraction yield of water-soluble NSP was higher, to the use of *Cheopodium quinoa* willd bran more fully. And because extraction solvent was water, there was no strong acid alkali waste liquid generated in extraction process, which would not cause environmental pollution.

## 0 引言

藜麦(*Chenopodium quinoa* willd)属于苋科藜属假谷物,是目前联合国国际粮农组织(FAO)确认的唯一能满足人体基本营养需求的单体植物,已被正式推荐为最适宜人类的完美“全营养食品”<sup>[1]</sup>。藜麦因其丰富的营养价值和健康功效成为了研究的热点,我国对“超级谷物”藜麦的研究还处于种植和初级加工阶段<sup>[2]</sup>。藜麦麸是藜麦籽粒最外层的表皮,是藜麦初级加工过程的副产物,但其膳食纤维含量高达40%。藜麦非淀粉多糖(NSP)是藜麦膳食纤维的主要成分,包括水溶性组分和水不溶性组分。谷物麸多用作动物饲料,早期的研究认为,谷物麸中的部分水溶性黏性多糖会抑制动物的正常消化功能,妨碍动物对营养物质的吸收。但是越来越多的研究表明,水溶性多糖具有预防癌症、调节免疫力、保护胃肠道黏膜等多种保健作用<sup>[3-4]</sup>,是人体需要的重要营养成分。L. M. LAMOTHE 和 L. M. C. CORDEIRO 等<sup>[5-6]</sup>研究发现,藜麦膳食纤维富含果胶多糖、木聚糖和阿拉伯聚糖,表现出良好的保护黏膜、抗击肠道溃疡的活性,这引起了学者们的关注。

藜麦麸皂苷含量高,味道苦涩,若作为原料直接添加到食物中制成高纤维产品,则口感较差<sup>[7]</sup>。为了研究藜麦 NSP 对人体的保健作用,充分利用藜麦麸,本文拟以藜麦麸为主要原料,

采用酶-热水浸提法进行藜麦麸水溶性 NSP 的提取,并对其工艺进行优化,以期能为藜麦膳食纤维类功能产品的开发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

**主要材料与试剂:**藜麦麸,由山西亿隆藜麦开发有限公司提供,经测定麦麸水溶性膳食纤维含量为10.45%;复合多糖酶(*Viscozyme L*),丹麦 Novo Nordisk 公司产;高峰 $\alpha$ -淀粉酶、糖化酶,上海源叶生物科技有限公司产;D-葡萄糖标准对照品(纯度 $\geq 99.5\%$ ),美国 Sigma 公司产;乙醚、无水乙醇、苯酚、氢氧化钠,均为分析纯,天津市富宇精细化工有限公司产;硫酸、盐酸,均为分析纯,开封市芳晶化学试剂有限公司产。

**主要仪器:**TU-1810型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司产;YFS30 $\times$ 8新国标型圆形筛,杭州大成光电仪器有限公司产;HWS26型电热恒温水浴锅,上海一恒科技有限公司产;RE-52AA型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂产;TD5A-WS型台式低速离心机,户湘仪有限公司产;FD-LA-50型冷冻离心机,北京博医康实验仪器有限公司产。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 工艺流程** 原料预处理 $\rightarrow$ 复合多糖酶作用 $\rightarrow$ 灭酶 $\rightarrow$ 热水浸提 $\rightarrow$ 过滤 $\rightarrow$ 耐

热 $\alpha$ -淀粉酶作用 $\rightarrow$ 灭酶 $\rightarrow$ 糖化酶作用 $\rightarrow$ 灭酶 $\rightarrow$ 等电点沉淀法去蛋白质 $\rightarrow$ 过滤 $\rightarrow$ 真空浓缩 $\rightarrow$ 4倍体积乙醇沉淀 $\rightarrow$ 过滤 $\rightarrow$ 取沉淀 $\rightarrow$ 洗涤 $\rightarrow$ 冷冻干燥 $\rightarrow$ 粗多糖NSP.

**1.2.2 操作要点** 1)原料预处理:将藜麦麸粉碎过51目筛,用乙醚回流脱脂( $w/v=1:7$ )两次,常温风干过夜.

2)复合多糖酶作用:将脱脂藜麦麸与水按料液比( $w/v$ ) $=1:8\sim 1:24$ 的比例调配,添加 $0.5\sim 2.5\text{ mg/g}$ 的复合多糖酶,于 $45\text{ }^\circ\text{C}$ ,pH值为3.5的条件下处理30 min.

3)灭酶:复合多糖酶处理后,于 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下灭酶10 min.

4)热水浸提:灭酶后冷却,调节料液pH值为 $7.0\sim 11.0$ ,在温度 $75\sim 95\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下,热水浸提 $60\sim 140\text{ min}$ .

5)过滤:热水提取后的样品离心过滤,取上清液.

6)耐热 $\alpha$ -淀粉酶作用:离心过滤后上清液加入适量耐热 $\alpha$ -淀粉酶除去淀粉,用碘试剂检测淀粉是否已除去,直到碘试剂不变蓝.

7)糖化酶作用:加入 $100\text{ u/g}$ 原料的糖化酶,在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ ,pH值为4.5条件下,处理30 min.

8)等电点沉淀法去蛋白质:分别在藜麦蛋白质等电点pH值为4.0和9.0时将蛋白沉淀去除.

9)洗涤:乙醇沉淀离心过滤后,用95%乙醇洗涤沉淀3次.

**1.2.3 藜麦可溶性NSP得率的测定** 采用苯酚-硫酸法测定NSP得率.以葡萄糖为标准对照,配制 $10\sim 60\text{ }\mu\text{g/mL}$ 浓度范围的葡萄糖标准溶液, $y$ 为吸光度值, $x$ 为葡萄糖浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-1})$ ,得到标准曲线 $y=0.0087x+0.0093(R^2=0.9973)$ .

$$\text{NSP得率} = \frac{\text{提取液中NSP含量}}{\text{藜麦麸质量}} \times 100\%$$

### 1.3 单因素试验

**料液比:**称取30 g藜麦麸,经过预处理,以料液比( $w/v$ )分别为 $1:8,1:12,1:16,1:20,1:24$ 的配比加水,然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中复合多糖酶添加量为 $2.0\text{ mg/g}$ ,热水提取步骤中溶液pH值为7.0,温度 $85\text{ }^\circ\text{C}$ ,时间100 min.

**复合多糖酶添加量:**称取30 g藜麦麸,经过预处理,在料液比( $w/v$ ) $1:16$ ,温度 $45\text{ }^\circ\text{C}$ ,pH值为3.5条件下,复合多糖酶添加量分别为 $0.5\text{ mg/g},1.0\text{ mg/g},1.5\text{ mg/g},2.0\text{ mg/g},2.5\text{ mg/g}$ ,水解30 min.然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中热水提取步骤中溶液pH值为7.0,温度 $85\text{ }^\circ\text{C}$ ,时间100 min.

**浸提液pH值:**称取30 g藜麦麸,经过预处理,然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中料液比( $w/v$ ) $1:16$ ,复合多糖酶添加量为 $2.0\text{ mg/g}$ ,热水浸提步骤中分别调溶液pH值为 $7.0,8.0,9.0,10.0,11.0$ ,温度 $85\text{ }^\circ\text{C}$ ,时间100 min.

**浸提温度:**称取30 g藜麦麸,经过预处理,然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中料液比( $w/v$ ) $1:16$ ,复合多糖酶添加量为 $2.0\text{ mg/g}$ ,热水浸提温度分别为 $75\text{ }^\circ\text{C},80\text{ }^\circ\text{C},85\text{ }^\circ\text{C},90\text{ }^\circ\text{C},95\text{ }^\circ\text{C}$ ,pH值为7.0,热水提取时间100 min.

**浸提时间:**称取30 g藜麦麸,经过预处理,然后按照1.2.1工艺流程提取NSP,其中料液比( $w/v$ ) $1:16$ ,复合多糖酶添加量为 $2.0\text{ mg/g}$ ,热水浸提步骤中溶液pH值为9.0,温度 $85\text{ }^\circ\text{C}$ ,热水浸提时间分别为 $60\text{ min},80\text{ min},100\text{ min},120\text{ min},140\text{ min}$ .

### 1.4 正交试验优化

在单因素试验的基础上,选取料液比( $A$ )、复合多糖酶添加量( $B$ )、热水浸提温度( $C$ )、热水浸提时间( $D$ )4个主要影响因素,以NSP得率为指标,进行正交试验(见表1),以确定最佳

## 提取工艺.

表1  $L_9(3^4)$  正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	A(w/v)	B/(mg·g <sup>-1</sup> )	C/°C	D/min
1	1:12	1.5	80	80
2	1:16	2.0	85	100
3	1:20	2.5	90	120

## 1.5 数据处理

采用 Origin 8.6.0 和 SPASS 17.0 统计分析软件对数据进行分析.

## 2 结果与讨论

## 2.1 各因素对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

## 2.1.1 料液比对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

考察不同料液比对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响,结果如图 1 所示.由图 1 可知,随着料液比的增大,NSP 得率先升高后降低,当料液比(w/v)达到 1:16 时,NSP 得率达到最大值 7.31%.这可能是由于料液比较低时,多糖溶出不充分;料液比(w/v)从 1:8 增大到 1:16 的过程中,有更多的溶剂渗透到物料中,多糖与溶剂的接触面积增大,有利于提取,同时,添加的复合多糖酶能够与料液中的底物充分反应,因此提高了 NSP 的得率;当料液比继续增大,料液中多糖浓度和酶浓度均被稀释,反应不彻底,此外,在后续真空浓缩过程中损耗较多,使得 NSP 得率降低.因此,将料液比(w/v)的水平范围定为 1:12~1:20.

## 2.1.2 复合多糖酶添加量对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

考察不同复合多糖酶添加量对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响,结果如图 2 所示.由图 2 可知,复合多糖酶添加量对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响非常显著.随着复合多糖酶添加量的增大,NSP 得率明显升高,当酶添加量为 2.0 mg/g 时,NSP 得率达最高,为 7.32%,此后再增加酶的添加量,NSP 得率开始降低.这是因为 NSP 属于细胞壁多糖,复合多糖

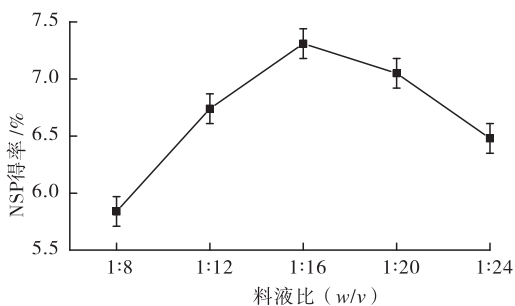


图 1 料液比对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

Fig. 1 Effect of solid-liquid ratio on the yield of NSP

酶能够将藜麦麸细胞壁纤维组织分解,有助于可溶性 NSP 的溶出.当酶的添加量较低时,细胞壁组织分解不完全,当酶的添加量高于适合浓度时,复合多糖酶会将已经溶出的 NSP 继续分解成小分子糖,使其在醇沉淀过程中因无法沉淀而被除去,造成 NSP 得率降低<sup>[8]</sup>.因此,将复合多糖酶添加量的水平范围定为 1.5~2.5 mg/g.

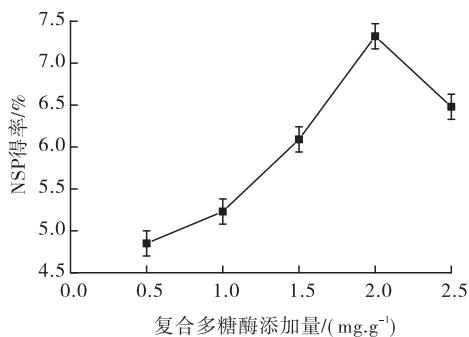


图 2 复合多糖酶添加量对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

Fig. 2 Effect of viscozyme concentration on the yield of NSP

## 2.1.3 浸提液 pH 值对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响

考察不同浸提液 pH 值对藜麦麸水溶性 NSP 得率的影响,结果如图 3 所示.由图 3 可知,在浸提液 pH 值从 7.0 升至 11.0 的过程中,NSP 得率呈先增大后减小的趋势,当 pH 值为 9.0 时,NSP 得率最高,但是 pH 值在 9.0~11.0 之间时 NSP 得率变化幅度较小,说明在弱

碱条件下,pH值对NSP得率的影响不显著.因此,选取浸提工艺的适宜pH值为9.0.

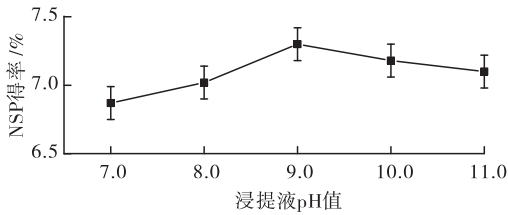


图3 浸提液pH值对藜麦麸水溶性NSP得率的影响

Fig. 3 Effect of pH value on the yield of NSP

**2.1.4 热水浸提温度对藜麦麸水溶性NSP得率的影响** 考察不同热水浸提温度对藜麦麸水溶性NSP得率的影响,结果如图4所示.由图4可知,热水浸提温度对藜麦麸水溶性NSP得率的影响较大.随着热水浸提温度的升高,NSP得率也随之增大,但是当温度升高到90℃之后,NSP得率又显著减小.这是因为随着温度的升高,料液对物料的穿透能力提高,多糖在料液中的溶解度增加,从而使多糖更容易被浸提出来,但是当温度继续升高时,多糖水解成小分子糖的速率也随之增高,从而导致NSP得率减小.此外,温度越高,提取的能耗越大.综合考虑,将热水浸提温度的水平范围定在80~90℃.

**2.1.5 热水浸提时间对藜麦麸水溶性NSP得率的影响** 考察不同热水浸提时间对藜麦麸水

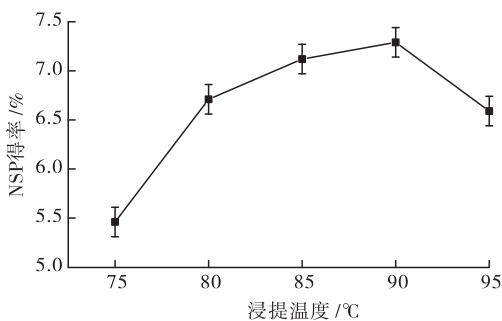


图4 热水浸提温度对藜麦麸水溶性NSP得率的影响

Fig. 4 Effect of temperature on the yield of NSP

溶性NSP得率的影响,结果如图5所示.由图5可知,随着浸提时间的增加,藜麦麸水溶性NSP得率先增大后缓慢减小.当热水浸提时间为80min时,NSP得率为7.30%;当热水浸提时间为100min时,NSP得率为7.37%.这表明,一般情况下,浸提时间越长,反应越充分,NSP得率愈高;但浸提时间过长,尤其是在高温条件下,NSP会发生降解,反而导致其得率减少.因此,将热水浸提时间的水平范围定为80~120min.

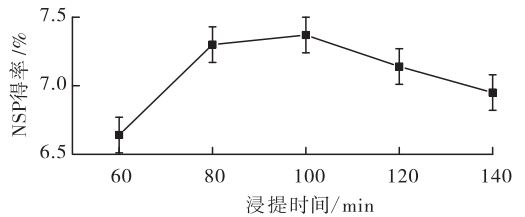


图5 热水浸提时间对藜麦麸水溶性NSP得率的影响

Fig. 5 Effect of hydrolysis time on the yield of NSP

**2.2 提取藜麦麸水溶性NSP的正交试验优化** 在上述单因素试验的基础上,对藜麦麸水溶性NSP的提取进行正交试验优化,结果见表2.从表2极差分析结果可知,各因素对藜麦

表2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal experiment

序号	A	B	C	D	得率/%
1	1	1	1	1	5.32
2	1	2	2	2	6.81
3	1	3	3	3	6.37
4	2	1	2	3	6.22
5	2	2	3	1	7.46
6	2	3	1	2	6.59
7	3	1	3	2	6.26
8	3	2	1	3	6.57
9	3	3	2	1	5.04
$k_1$	6.17	5.93	6.22	5.94	
$k_2$	6.76	7.01	6.02	6.55	
$k_3$	6.02	6.00	6.70	6.45	
R	0.74	1.07	0.67	0.61	

麸水溶性 NSP 得率影响的主次顺序为  $B > A > C > D$ , 即复合多糖酶添加量对得率的影响  $>$  料液比对得率的影响  $>$  浸提温度对得率的影响  $>$  浸提时间对得率的影响; 水溶性 NSP 最佳提取工艺为  $A_2B_2C_3D_2$ , 即料液比 ( $w/v$ ) 为  $1:16$ , 复合多糖酶添加量为  $2.0 \text{ mg/g}$ , 浸提温度为  $90 \text{ }^\circ\text{C}$ , 浸提时间为  $100 \text{ min}$ . 由于正交试验表中没有  $A_2B_2C_3D_2$  组合, 采用该最佳条件进行验证试验, 得藜麦麸水溶性 NSP 得率为  $7.55\%$ .

### 3 结论

本文采用酶-热水浸提法对藜麦麸水溶性 NSP 的提取工艺进行了研究, 以 NSP 得率为指标, 在单因素试验的基础上通过正交试验优化提取工艺条件, 所得最佳工艺条件为: 料液比 ( $w/v$ )  $1:16$ , 复合多糖酶添加量  $2.0 \text{ mg/g}$ , 浸提温度  $90 \text{ }^\circ\text{C}$ , 浸提时间  $100 \text{ min}$ . 在此条件下 NSP 得率为  $7.55\%$ . 与其他提取方法相比, 该法提取水溶性 NSP 的得率较高, 对藜麦麸的利用更加充分, 且浸提溶剂为水, 在提取过程中没有强酸强碱性废液产生, 不会造成环境污染. 本文的研究结果可为藜麦麸的充分利用及加快我国藜麦膳食纤维类功能产品的开发提供理论参考.

### 参考文献:

[1] ALAN B. Quinoa, an ancient crop to contribute to world

food security[R]. 37th FAO Conference, [S. L. : s. n. ], 2011.

- [2] 肖正春, 张广伦. 藜麦及其资源开发利用[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(2):62.
- [3] 王梅, 赵凤敏, 刘威, 等. 米糠多糖的提取、分析及应用[J]. 中国食物与营养, 2010(2):40.
- [4] ZEVALLOS V F, HERENCIA L I, CHANG F J, et al. Gastrointestinal effects of eating quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) in celiac patients[J]. American journal of gastroenterology, 2014, 109(2):270.
- [5] LAMOTHE L M, SRICHUWONG S, REUHS B L, et al. Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans[J]. Food chemistry, 2015, 167(1):490.
- [6] CORDEIRO L M C, REINHARDT V D, BAGGIO C H, et al. Arabinan and arabinan-rich pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: Structure and gastroprotective activity[J]. Food chemistry, 2012, 130(4):937.
- [7] Vega-Gálvez A, MIRANDA M, VERGARA J, et al. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd), an ancient Andean grain: a review[J]. Sci Food Agric, 2010, 90(15):2541.
- [8] 申瑞玲, 董吉林, 马婧, 等. 燕麦麸非淀粉多糖提取工艺的研究[J]. 粮油加工, 2008(1):108.

## 本刊数字网络传播声明

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品、万方数据资源系统、维普网等中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。其相关著作权使用费与本刊稿酬一并支付。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我刊上述声明。