

复合酶提取法对浒苔(*Enteromorpha* sp.) 膳食纤维吸附能力的影响*

李月欣^{1,2} 刘楠¹ 周德庆^{1①}

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;

2. 上海海洋大学食品学院 上海 201306)

摘要 针对丰富的浒苔资源还未得到有效利用的现状,以浒苔为原料,采用复合酶提取法制备浒苔膳食纤维。浒苔在 55℃、pH=7.7 的条件下,由不同比例的蛋白酶和纤维素酶(5:1、10:1、15:1、20:1 和 25:1)配制的复合酶进行酶解,提取膳食纤维,测定不同提取条件得到的浒苔膳食纤维在模拟体内的环境下(pH=2.0 和 pH=7.0)吸附葡萄糖、胆固醇和亚硝酸盐的能力。结果显示,随着复合酶中蛋白酶比例的升高,膳食纤维对葡萄糖和胆固醇的吸附能力先增强后减弱。在蛋白酶:纤维素酶的比例为 10:1 时,膳食纤维对葡萄糖的最大吸附值为 20.03 mg/g;在蛋白酶:纤维素酶比例为 15:1 时,膳食纤维对胆固醇的最大吸附值为 21.93 mg/g。而浒苔膳食纤维吸附亚硝酸的能力则随着复合酶中蛋白酶比例的升高而逐渐增强,在蛋白酶:纤维素酶比例为 25:1 时,浒苔膳食纤维对亚硝酸盐达到最大吸附值 29.25 μmol/g。在人工肠液中(pH=7.0),膳食纤维对胆固醇的吸附能力较强;在人工胃液中(pH=2.0),膳食纤维对亚硝酸盐的吸附能力较强;膳食纤维对葡萄糖的吸附能力在人工肠、胃液中无显著差异($P>0.05$)。推测膳食纤维对亚硝酸盐的吸附主要发生在胃部,对胆固醇的吸附主要发生在肠部,而膳食纤维对葡萄糖的吸附在胃部和肠部同时进行,是一个持续的吸附过程。

关键词 复合酶;浒苔;膳食纤维;吸附能力

中图分类号 S986 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)04-0145-05

浒苔(*Enteromorpha* sp.)是一种大型绿藻,广泛分布于我国东南沿海和青岛海域(林英庭等, 2009)。浒苔资源丰富,近几年呈上升趋势,产量高达几百万 t(宋建侠, 2013)。而对浒苔的处理还停留在掩埋和作为粗加工的饲料等,造成了极大的浪费。浒苔的膳食纤维可占干基的 70%以上,是良好的膳食纤维来源(薛勇等, 2011)。

膳食纤维是一类碳水化合物多聚物,并含有少量的非碳水化合物组分(Rakha *et al*, 2010)。独特的化学结构赋予膳食纤维具有重要的生理功能,膳食纤维能够有效预防高血压(Brownlee, 2011)、心脏病(Debusca

et al, 2014)等心脑血管疾病,同时也可以防止肥胖、痔疮(Fuentes-Alventosa *et al*, 2009)、便秘、肠癌(韩冬, 2013)等胃肠疾病。膳食纤维的结构和组分对其生理功能有重要影响(Chen *et al*, 2014),膳食纤维的不同来源及其分离提取过程,导致其结构有很大区别(Huang *et al*, 2013),从而对其理化性质和生理功能产生较大影响(余凡等, 2013)。优化浒苔中膳食纤维的提取工艺,提高膳食纤维的吸附性能,对浒苔资源的有效利用及浒苔功能食品的开发具有重要意义。本研究以浒苔为原料,研究复合酶提取法对浒苔膳食纤维吸附能力的影响,并模拟人体胃、肠道不同 pH 条件,研究

* 中央级公益性科研院所基本科研业务费(20603022015001)和青岛市市南区科技发展资金项目(2014-14-008-SW)共同资助。李月欣, E-mail: liyuexin20082008@163.com

① 通讯作者:周德庆,研究员, E-mail: zhoudeqing@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2014-07-01, 收修改稿日期: 2014-12-29

浒苔膳食纤维吸附葡萄糖、胆固醇和亚硝酸盐的能力,期望为浒苔资源的高值化利用提供参考,为开发不同生理功能的膳食纤维功能食品提供理论和数据支持。

1 材料与方法

1.1 浒苔样品的制备

浒苔于2013年夏季采自山东青岛附近海域,清洗后沥干水分,低温烘干,粉碎后过40目筛,浒苔干粉于干燥器中储存备用。

1.2 膳食纤维的提取

采用复合酶法(蛋白酶和纤维素酶)提取浒苔膳食纤维(周静峰等,2011)。在温度为55℃、pH=7.7的环境中,采用蛋白酶和纤维素酶比例分别为5:1、10:1、15:1、20:1、25:1的复合酶对浒苔原料进行酶解(李月欣等,2014)。酶解90 min后,用乙醇分级沉淀酶解液,2 h后抽滤,收集滤渣,60℃烘箱干燥,得到粗膳食纤维。

1.3 膳食纤维吸附能力的测定

采用DNS显色法(陈利梅等,2010)测定葡萄糖浓度,根据标准曲线计算葡萄糖含量,通过公式(1)计算膳食纤维吸附葡萄糖的能力。

参考丁卓平等(2004),根据标准曲线计算胆固醇含量,通过公式(2)计算膳食纤维吸附胆固醇能力。

采用盐酸萘乙二胺显色法(张华等,2013),通过公式(3)计算膳食纤维吸附亚硝酸盐的能力。

$$\text{吸附葡萄糖的能力}(\text{mg/g}) = \frac{\text{吸附前葡萄糖含量}(\text{mg}) - \text{吸附后葡萄糖含量}(\text{mg})}{\text{膳食纤维的含量}(\text{g})} \quad (1)$$

$$\text{吸附胆固醇的能力}(\text{mg/g}) = \frac{\text{吸附前胆固醇量}(\text{mg}) - \text{吸附后胆固醇量}(\text{mg})}{\text{膳食纤维的含量}(\text{g})} \quad (2)$$

$$\text{吸附NO}_2\text{能力}(\mu\text{mol/g}) = \frac{\text{吸附前NO}_2\text{含量}(\mu\text{mol}) - \text{吸附后NO}_2\text{含量}(\mu\text{mol})}{\text{膳食纤维的含量}(\text{g})} \quad (3)$$

1.4 数据处理

用SPSS 17.0对试验数据进行分析统计, $P < 0.05$,差异显著; $P > 0.05$,差异不显著。

2 结果

2.1 提取条件对膳食纤维吸附葡萄糖能力的影响

分别选取蛋白酶和纤维素酶比例为5:1、10:1、15:1、20:1和25:1的条件下制备的浒苔膳食纤维,测

定其在不同的pH环境(pH=2.0和pH=7.0)吸附葡萄糖的能力。从图1可知,在pH=7.0条件下,蛋白酶和纤维素酶的比例为5:1和10:1时制备的浒苔膳食纤维对葡萄糖的吸附能力较强,分别为21.21 mg/g和21.93 mg/g。随着蛋白酶比例的升高、纤维素酶比例的降低,吸附葡萄糖的能力开始减弱。在蛋白酶和纤维素酶的比例为15:1时,对葡萄糖的吸附能力最弱,为16.80 mg/g。在pH=2.0条件下,复合酶配制比例对膳食纤维吸附葡萄糖的能力无显著影响($P > 0.05$)。

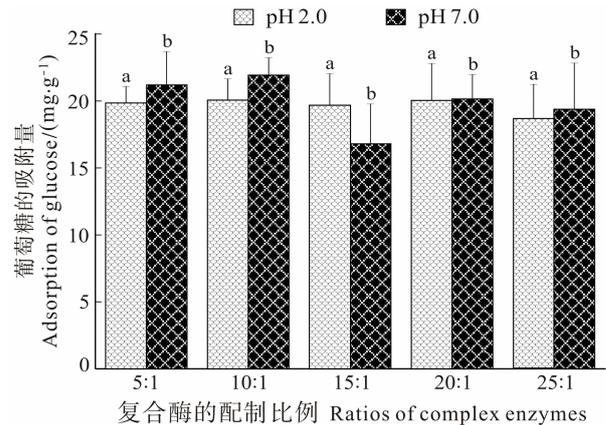


图1 蛋白酶和纤维素酶的比例对膳食纤维吸附葡萄糖能力的影响

Fig.1 Effects of different ratio of protease to cellulase on glucose adsorption to the extracted dietary fiber

图中数据为平均值±标准误(Mean±SE, n=5)

a. 差异不显著($P > 0.05$); b. 差异显著($P < 0.05$)。下同

Results are expressed as Mean±SE (n=5)

a. No significant difference ($P > 0.05$); b. Significant difference ($P < 0.05$). Same in the following figures

2.2 提取条件对膳食纤维吸附胆固醇能力的影响

利用不同比例的蛋白酶和纤维素酶的复合酶制备得到的膳食纤维吸附胆固醇能力的测定结果见图2。在pH为2.0的环境下,不同比例配制的复合酶酶解制备的浒苔膳食纤维对胆固醇的吸附无显著差异($P > 0.05$)。在pH为7.0的环境下,随着蛋白酶比例的升高,酶解得到的浒苔膳食纤维对胆固醇的吸附能力逐渐增加,在蛋白酶和纤维素酶的比例为15:1时达到最高(21.93 mg/g)。随着复合酶中蛋白酶比例的进一步升高,膳食纤维吸附胆固醇的能力逐渐下降。根据数理统计分析,复合酶比例的变化对制备得到的浒苔膳食纤维吸附胆固醇的能力影响显著($P < 0.05$)。

2.3 提取条件对膳食纤维吸附亚硝酸盐能力的影响

在不同比例蛋白酶和纤维素酶的条件下制备的

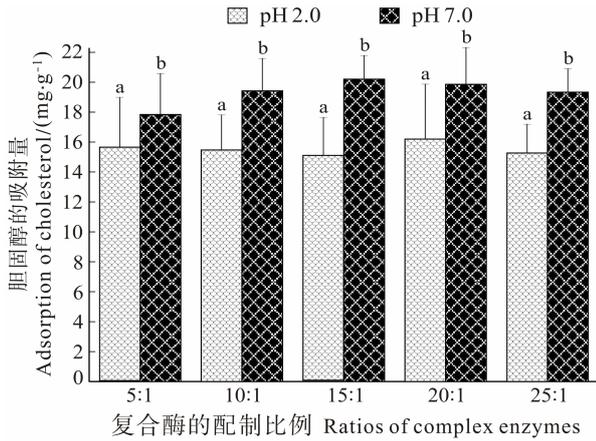


图 2 蛋白酶和纤维素酶的比例对膳食纤维吸附胆固醇能力的影响

Fig.2 Effects of different ratio of protease to cellulase on cholesterol adsorption to the extracted dietary fiber

膳食纤维吸附亚硝酸盐能力见图 3。在 pH 为 2.0 的环境下,任意比例的蛋白酶和纤维素酶酶解得到的膳食纤维对亚硝酸盐的吸附能力都明显高于 pH=7.0, 约是 pH 为 7.0 条件下的 3-5 倍。但酶解过程中不同的复合酶比例条件下制备的膳食纤维在 pH=2.0 条件下吸附亚硝酸盐能力无显著差异($P>0.05$)。

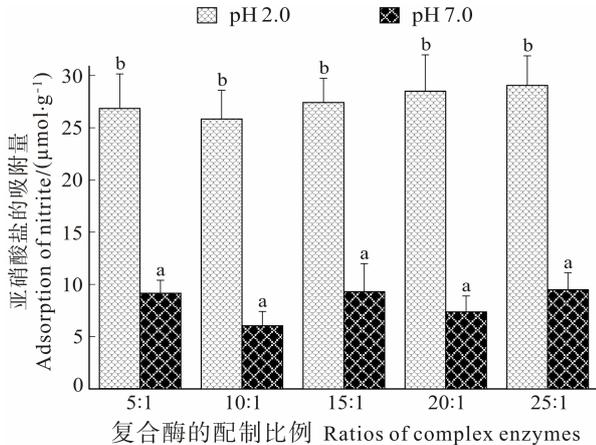


图 3 复合酶中蛋白酶和纤维素酶的比例对膳食纤维吸附亚硝酸盐能力的影响

Fig.3 Effects of different ratio of protease to cellulase on nitrite adsorption to the extracted dietary fiber

2.4 不同 pH 环境对膳食纤维吸附能力的影响

根据不同配制比例的复合酶对浒苔膳食纤维吸附能力的影响结果,采用蛋白酶和纤维素酶比例为 20:1 的条件,在 55℃、pH 为 7.7 的条件下,酶解 90 min 制备膳食纤维。在人工胃液和人工肠液中检测不同 pH 环境对膳食纤维吸附过程的影响(图 4-图 6)。在人工

胃液和人工肠液中,膳食纤维对葡萄糖、胆固醇和亚硝酸的吸附在初始阶段均迅速升高,然后逐渐稳定并

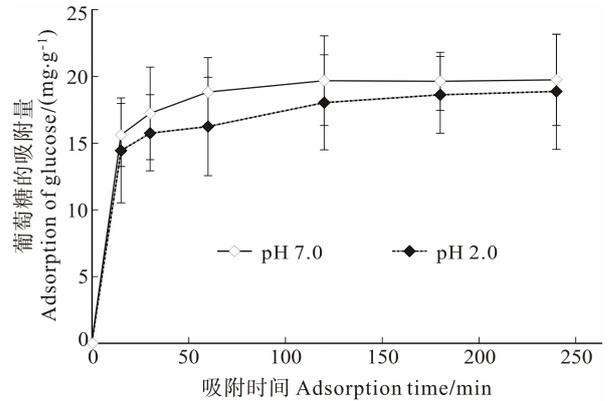


图 4 浒苔膳食纤维在人工胃液和人工肠液中吸附葡萄糖的能力

Fig.4 The adsorption of glucose to the dietary fiber in the simulated gastric fluid and intestinal fluid

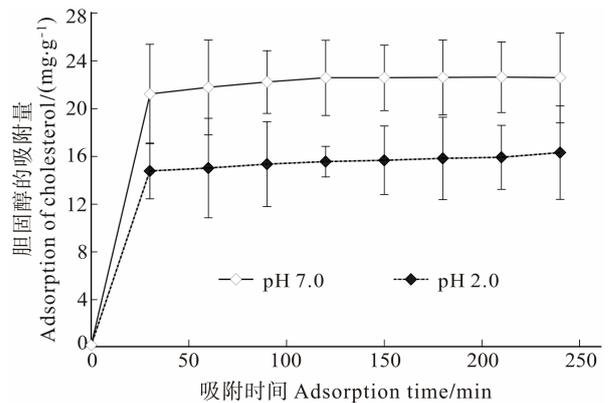


图 5 浒苔膳食纤维在人工胃液和人工肠液中吸附胆固醇的能力

Fig.5 The adsorption of cholesterol to the dietary fiber in the simulated gastric fluid and intestinal fluid

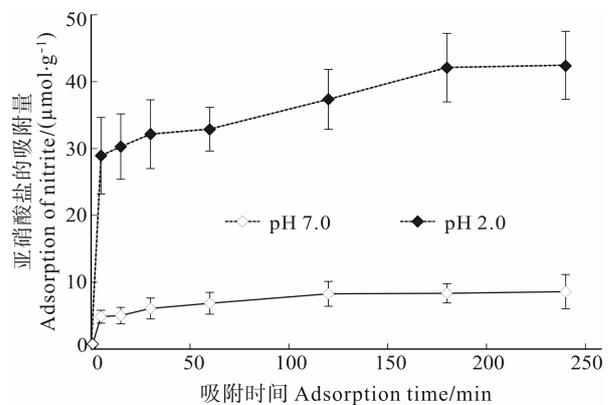


图 6 浒苔膳食纤维在人工胃液和人工肠液中吸附亚硝酸盐的能力

Fig.6 The adsorption of nitrite to the dietary fiber in the simulated gastric fluid and intestinal fluid

达到平衡。pH 环境的不同并没有引起膳食纤维对葡萄糖吸附特性的明显差异,在人工肠液中(pH=7.0),膳食纤维对胆固醇的吸附能力明显高于在人工胃液中(pH=2.0),其吸附能力相差 5.0 mg/g 以上。由图 6 可知,膳食纤维对亚硝酸盐的吸附在短时间内效果极为明显,5 min 内迅速升高,然后趋于平缓并达到平衡。在人工胃液中(pH=2.0),膳食纤维对亚硝酸盐的吸附能力明显强于人工肠液(pH=7.0),高达 5 倍以上。

3 讨论

3.1 复合酶配制比例对膳食纤维吸附葡萄糖、胆固醇及亚硝酸盐能力的影响

从浒苔提取膳食纤维的过程中,复合酶中蛋白酶和纤维素酶的配制比例对膳食纤维吸附葡萄糖、胆固醇和亚硝酸盐的能力有一定的影响。分析原因可能是蛋白酶与纤维素酶的相互作用在酶解过程中改变了膳食纤维的结构、组分及功能基团,从而使其对葡萄糖、胆固醇和亚硝酸盐的吸附能力产生了差异。在复合酶配制比例中蛋白酶比例较高,对浒苔酶解时起主要作用,这与黄纪念等(2011)的研究结果相吻合。此外,纤维素酶的量对膳食纤维的理化性质也产生一定影响,这主要是由于纤维素酶是一种复合酶,能够降解纤维素大分子为小分子单糖或多糖,对膳食纤维能够起到一定的改性作用。

3.2 不同 pH 环境对膳食纤维吸附葡萄糖、胆固醇以及亚硝酸盐能力的影响

在人工胃液(pH=2.0)和人工肠液(pH=7.0)两种不同环境中,浒苔膳食纤维对葡萄糖、胆固醇和亚硝酸盐的吸附过程均在短时间内急剧增大,然后逐渐升高,最后达到饱和状态。膳食纤维吸附葡萄糖能力在人工胃液和人工肠液中差异不显著,说明两种环境均有利于膳食纤维对葡萄糖的吸收。由此推测,在消化过程中,膳食纤维可在胃部和肠道中持续吸附葡萄糖,可有效地起到降低人体血糖的作用(张华等,2013)。膳食纤维在人工肠液中吸附胆固醇的能力明显高于在人工胃液中,表明中性条件(pH=7.0)有利于胆固醇的吸附,膳食纤维对胆固醇吸附主要发生在肠道。而膳食纤维在人工肠液中对亚硝酸盐的吸附明显弱于在人工胃液中,酸性条件有利于亚硝酸盐的吸附,推测膳食纤维对亚硝酸盐的吸附主要发生在胃部。这主要是由于酸性条件有利于膳食纤维中的活性基团与 NO_2^- 结合,膳食纤维中含有木聚糖等糖类复合体,这种复合体能够通过糖蛋白、阿魏酸、香豆酸等酚类

发生酰化作用而连接起来,从而抑制 N-硝基化合物的合成,达到吸附亚硝酸盐的目的(王志宏等,2012)。

4 结论

采用不同比例的蛋白酶和纤维素酶的复合酶进行酶解提取浒苔膳食纤维,测定不同提取条件获得的膳食纤维吸附葡萄糖、胆固醇和亚硝酸盐的能力。结果显示,在蛋白酶:纤维素酶的比例为 10:1 时,浒苔膳食纤维对葡萄糖的最大吸附值为 20.03 mg/g;在蛋白酶:纤维素酶比例为 15:1 时,浒苔膳食纤维对胆固醇的最大吸附值为 21.93 mg/g。在实验范围内,蛋白酶:纤维素酶比例为 25:1 时,浒苔膳食纤维对亚硝酸盐达到最大吸附值(29.25 $\mu\text{mol/g}$)。通过模拟人体内环境,研究发现,在人工肠液中,膳食纤维对胆固醇的吸附能力较强;在人工胃液中,膳食纤维对亚硝酸盐的吸附能力较强;膳食纤维对葡萄糖的吸附能力在人工肠、胃液中无显著差异。因此,针对酶解法对膳食纤维吸附特性的影响,可为开发不同生理功能的膳食纤维功能食品提供理论和数据支持。

参 考 文 献

- 丁卓平,王明华,刘振华,等.食品中胆固醇含量测定方法的研究与比较.食品科学,2004,25(1):130-135
- 王志宏,薛建斌,平晓丽,等.陈皮膳食纤维对亚硝酸盐的吸附作用.中国实验方剂学杂志,2012,18(8):92-95
- 李月欣,刘楠,周德庆.响应面法优化浒苔膳食纤维酶法提取工艺.食品工业,2014,35(4):52-56
- 张华,段倩,李星科,等.米糠膳食纤维功能理化性质的研究.湖北农业科学,2013,52(21):5293-5295
- 宋建侠.浒苔利用综述.科协论坛,2013(9):140-141
- 余凡,葛亚龙,杨恒拓.苜蓿中膳食纤维的提取工艺及生理功能的研究进展.杭州化工,2013,43(4):8-10,18
- 陈利梅,李德茂,叶乃好.浒苔不溶性膳食纤维理化性质研究.粮油加工,2010(4):106-108
- 林英庭,朱风华,徐坤,等.青岛海域浒苔营养成分分析与评价.饲料工业,2009,30(3):46-49
- 周静峰,何雄,师邱毅.酶法提取高品质浒苔膳食纤维工艺.食品研究与开发,2011,32(3):148-151
- 黄纪念,王长虹,孙强,等.响应面法优化不同蛋白酶制备麦麸膳食纤维.浙江农业科学,2011(2):344-349
- 韩冬.膳食纤维与肠道健康.中国微生态学杂志,2013,25(10):1225-1228
- 薛勇,韩晓银,王超,等.浒苔膳食纤维提取及其功能性初步研究.食品与发酵工业,2011,37(7):193-196
- Brownlee IA. The physiological roles of dietary fibre. Food Hydrocolloids, 2011, 25(2): 238-250
- Chen Y, Ye R, Yin L, et al. Novel blasting extrusion processing

- improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and *in vivo* evaluation. *J Food Eng*, 2014, 120: 1–8
- Debusca A, Tahergorabi R, Beamer SK, *et al.* Physicochemical properties of surimi gels fortified with dietary fiber. *Food Chem*, 2014, 148: 70–76
- Fuentes-Alventosa JM, Rodríguez-Gutiérrez G, Jaramillo-Carmona S. Effect of extraction method on chemical composition and functional characteristics of high dietary fibre powders obtained from asparagus by-products. *Food Chem*, 2009, 113(2): 665–671
- Huang Z, Ye R, Chen J, *et al.* An improved method for rapid quantitative analysis of the insoluble dietary fiber in common cereals and some sorts of beans. *J Cereal Sci*, 2013, 57(3): 270–274
- Rakha A, Åman P, Andersson R. Characterisation of dietary fibre components in rye products. *Food Chem*, 2010, 119(3): 859–867

(编辑 冯小花)

Effects of Complex Enzymes Extraction on Adsorption Capabilities of Dietary Fiber from *Enteromorpha* sp.

LI Yuexin^{1,2}, LIU Nan¹, ZHOU Deqing¹①

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

2. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract *Enteromorpha* sp. is widely distributed along the coast of China, particularly in the eastern regions, but it has not been utilized fully. To investigate the adsorption of glucose, cholesterol and nitrite to the dietary fiber extracted from *Enteromorpha* sp. by the method of complex enzymes (protease and cellulase), different ratios of protease to cellulase (5:1, 10:1, 15:1, 20:1, and 25:1) were used to extract dietary fiber from *Enteromorpha* sp. The results showed that the ratio of protease to cellulase in the complex enzymes had obvious effects on the adsorption capabilities of the dietary fiber. With the increased protease in the complex enzymes, the adsorption of glucose and cholesterol to the dietary fiber increased and then decreased. The dietary fiber using the 10:1 ratio of protease and cellulase had highest adsorption of glucose (20.03 mg/g). The dietary fiber using the 15:1 ratio of protease to cellulase had the highest adsorption of cholesterol (21.93 mg/g). With the increased protease, the adsorption of nitrite to the dietary fiber increased. The dietary fiber had highest adsorption of nitrite (29.25 $\mu\text{mol/g}$) at the 25:1 ratio of protease to cellulase. Furthermore, the adsorption capabilities of the dietary fiber in the simulated gastric fluid at pH 2.0 and the intestinal fluid at pH 7.0 were investigated. The adsorption of cholesterol to the dietary fiber was higher in the simulated intestinal fluid than that in the simulated gastric fluid, while nitrite was the opposite. The adsorption of glucose to the dietary fiber had no significant difference in the simulated intestinal and the simulated gastric fluids. These results indicated that the adsorption of nitrite to dietary fiber happened in the stomach and cholesterol happened in the intestinal, and that the adsorption of glucose to the dietary fiber happened both in the stomach and in the intestinal.

Key words Complex enzymes; *Enteromorpha* sp.; Dietary fiber; Adsorption capability

① Corresponding author: ZHOU Deqing, E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn