

响应面法优化发酵蔗渣制备膳食纤维工艺及结构特性分析

张 智, 闫建英, 冯丽荣, 汤华京, 宋 伟, 薛红洋

Optimization of Fermentation Extraction of Dietary Fiber from Bagasse by Response Surface Methodology and Its Structural Characteristics

ZHANG Zhi, YAN Jianying, FENG Lirong, TANG Huajing, SONG Wei, and XUE Hongyang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021100116>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

响应面优化黄精渣不溶性膳食纤维酶法提取工艺及其结构表征

Optimization of Enzymatic Extraction Process of Insoluble Dietary Fiber from *Polygonatum sibiricum* Residue by Response Surface Methodology and Its Characterization

食品工业科技. 2021, 42(20): 157-163

核桃粕膳食纤维提取、结构分析及粒度差异对其理化性质的影响

Extraction, structural analysis of walnut dietary fibers and effects of particles on its physiochemical properties

食品工业科技. 2017(18): 50-55

响应面优化二阶段法粗糙脉孢菌发酵产番茄红素工艺

Fermentation Conditions Optimization of a Two-stage Culture for Enhancing Production of Lycopene by *Neurospora crassa* Using Response Surface Methodology

食品工业科技. 2019, 40(17): 142-147

响应面法优化黄精-大枣果酒发酵工艺及其抗氧化活性

Optimization of Fermentation Process and Antioxidant Activity of Polygonati Rhizoma-Jujubae Fructus Fruit Wine by Response Surface Methodology

食品工业科技. 2021, 42(1): 156-161

响应面法优化胡萝卜-发酵蓝莓奶片的工艺研究

Optimization of Carrot-fermented Blueberry Milk Tablet by Response Surface Methodology

食品工业科技. 2019, 40(15): 100-105

六堡茶茶褐素的提取工艺优化及其理化性质

Optimization of the Extraction Technology and the Physiochemical Properties of Theabrownin from Liupao Tea

食品工业科技. 2018, 39(18): 143-148



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

张智, 闫建英, 冯丽荣, 等. 响应面法优化发酵蔗渣制备膳食纤维工艺及结构特性分析 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(17): 176–184. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100116

ZHANG Zhi, YAN Jianying, FENG Lirong, et al. Optimization of Fermentation Extraction of Dietary Fiber from Bagasse by Response Surface Methodology and Its Structural Characteristics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(17): 176–184. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100116

· 工艺技术 ·

响应面法优化发酵蔗渣制备膳食纤维工艺及结构特性分析

张 智¹, 闫建英¹, 冯丽荣², 汤华京², 宋 伟¹, 薛红洋¹

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040;

2. 黑龙江国宏节能环保有限公司, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘 要: 本研究以甘蔗渣作为原料, 采用枯草芽孢杆菌发酵法制备蔗渣膳食纤维, 通过单因素实验及响应面法优化可溶性膳食纤维 (soluble dietary fiber, SDF) 制备工艺, 并对发酵前和发酵后膳食纤维的理化性质、结构及体外抗氧化活性进行了对比研究。结果表明, 最佳制备工艺为接种量 10%、pH 为 7、发酵时间 71 h, 此条件下可溶性膳食纤维提取率为 17.95%±0.06%。理化性质的研究表明, 发酵后的膳食纤维较发酵前样品持水力、持油力及膨胀力都有所增大且结果差异显著 ($P<0.05$) ; 观察其超微结构发现, 经过发酵处理后膳食纤维粒径变小, 呈现片层状态; 红外图谱表明发酵后膳食纤维吸收峰强度增大, 整体峰型及位置未发生改变; X-射线衍射图谱表明发酵处理后衍射峰强度减弱, 结晶结构未发生变化。发酵后的膳食纤维 DPPH 自由基清除能率、还原力、羟自由基清除率相较于未发酵原料 (dietary fiber, DF) 最高分别提高了 32.9%、0.70、50.55% ($P<0.05$) 。发酵法制备蔗渣膳食纤维可以改善其理化性质及结构, 有效提高其抗氧化性。本实验为有效利用甘蔗原料, 为副产物的加工利用以及避免资源浪费提供了理论依据。

关键词: 蔗渣膳食纤维, 发酵, 响应面法, 理化性质, 结构特性

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2022)17-0176-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100116

本文网刊:



Optimization of Fermentation Extraction of Dietary Fiber from Bagasse by Response Surface Methodology and Its Structural Characteristics

ZHANG Zhi¹, YAN Jianying¹, FENG Lirong², TANG Huajing², SONG Wei¹, XUE Hongyang¹

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

2. Heilongjiang Guohong Energy Saving and Environmental Protection Co., Ltd., Harbin 150040, China)

Abstract: In this paper, bagasse was fermented to produce dietary fiber by *Bacillus subtilis*. The extraction process of soluble dietary fiber (SDF) was optimized by single factor test and response surface methodology. The physicochemical properties, structure and antioxidant activity *in vitro* of dietary fiber before and after fermentation were compared and analyzed. The results showed that the optimal extraction conditions were inoculum amount 10%, pH7 and fermentation time 71 h. Under these conditions, the extraction yield of soluble dietary fiber was 17.95%±0.06%. The analysis of physicochemical showed that the water-holding capacity, oil-holding capacity and swelling force of fermented dietary fiber (F-DF) were significantly increased compared with DF ($P<0.05$). The ultrastructure showed that the particle size of dietary fiber decreased and showed a lamellar state after fermentation. Fourier infrared spectrum showed that the intensity of dietary fiber absorption peak increased and the overall peak type and position did not change after fermentation. The X-ray diffraction pattern showed that the diffraction peak intensity decreased and the crystal structure did not change after

收稿日期: 2021-10-14

基金项目: 黑龙江省“揭榜挂帅”科技攻关项目 (2021ZXJ03B01)。

作者简介: 张智 (1964-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品发酵, 植物生物转化, 功能食品, E-mail: idzhangzhi@nefu.edu.cn。

fermentation. Compared with dietary fiber, the DPPH free radical scavenging energy, reducing power and hydroxyl radical scavenging rate of fermented dietary fiber were the highest, which were increased by 32.9%, 0.70 and 50.55% ($P < 0.05$), respectively. The preparation of bagasse dietary fiber by fermentation could improve its physical and chemical properties and structure, and effectively improve its antioxidant activity. Therefore, this experiment provides a theoretical basis for the effective use of sugarcane raw materials, the processing and utilization of by-products and the avoidance of resource waste.

Key words: bagasse dietary fiber; fermentation; response surface methodology; physiochemical properties; structural characteristics

甘蔗渣通常是甘蔗制糖过程中被压榨处理后剩余的残渣,是甘蔗加工过程中的副产物^[1],我国每年有大量的甘蔗渣被废弃,应该对其进行充分的处理和加工,避免造成资源浪费^[2]。由于甘蔗渣中纤维素、半纤维素和木质素成分居多^[3],因此甘蔗渣中膳食纤维含量较高。膳食纤维对人体的健康起着重要的作用,既可促进健康又可预防疾病^[4]。根据其溶解性的不同,将膳食纤维分为可溶性膳食纤维和不可溶性膳食纤维。相比于不可溶膳食纤维,可溶性膳食纤维能量低,吸水性强,可以使人产生饱腹感,可以控制肥胖、调节血糖,减少高血压等疾病^[4-6]。因此学者致力于利用各种方法来提高可溶性膳食纤维的含量。

目前常用的膳食纤维的制备方法有化学法^[7]、物理法^[8]、酶法^[9]和微生物发酵法^[10]等。微生物发酵法作为一种新型的制备方法,相比酶制剂制备成本较低,操作简便且安全性较高^[11]。对于微生物法制备膳食纤维的报道常见的是利用保加利亚乳杆菌^[12]、嗜热链球菌^[13]、乳酸菌^[14]、黑曲霉^[15]、绿色木霉^[16]、红曲霉^[10]等。保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌是酸奶生产所用常规菌种,对于温度、氧气等发酵条件要求严苛;黑曲霉等丝状真菌发酵时间较长、发酵条件需氧且固态发酵时容易产生孢子,形态不佳导致其应用比较受限。相较而言,枯草芽孢杆菌发酵时间较短,培养条件粗放,生长温度范围较宽,且菌体自身能合成消化性酶类,如蛋白酶、纤维素酶等,还能够直接分泌到培养基中发挥作用。闵钟慢等^[17]利用枯草芽孢杆菌为发酵菌种,制备米糠粕中可溶性膳食纤维,提取率为 12.88%。对于甘蔗渣中膳食纤维制备报道较少,林杰等^[18]利用酶法制备蔗渣膳食纤维,利用发酵法制备蔗渣中膳食纤维对于蔗渣利用具有重要意义。

本研究以枯草芽孢杆菌为发酵菌种,利用微生物发酵法从蔗渣中制备可溶性膳食纤维,利用响应面法对工艺流程进行优化,提高可溶性膳食纤维的提取率,通过对比持水性、持油性及膨胀力,分析发酵后理化性质的改变;利用扫描电镜、红外光谱及 X-射线分析发酵处理前后膳食纤维的结构变化,并对其抗氧化活性进行研究。本研究旨在提高蔗渣中可溶性膳食纤维的含量,改善其膳食纤维理化性质及结构特性,从而提高蔗渣资源的利用率,减少资源浪费。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜甘蔗渣 广西南宁甘蔗榨汁后副产物;枯草芽孢杆菌 B01 东北林业大学林学院食品微生物

实验室保存;其他试剂均为分析纯;斜面培养基:胰蛋白胨 10.0 g/L,酵母提取物 5.0 g/L,氯化钠 10.0 g/L,琼脂 20.0 g/L, pH7.4;种子培养基:胰蛋白胨 10.0 g/L,酵母提取物 5.0 g/L,氯化钠 10.0 g/L, pH7.4;蔗渣发酵培养基:蔗渣粉 20.0 g/L,磷酸氢二钾 2.5 g/L,磷酸氢二钠 2.5 g/L,蛋白胨 2.0 g/L,酵母浸粉 0.5 g/L, pH7.2±0.2。

THZ-98A 振荡培养箱 上海一恒公司;STIK 高压灭菌器 美国 STIK 公司;JSM-7500F 扫描电镜 日本 JEOL 公司;Spectrum 400 傅里叶红外光谱 美国 Thermo Nicolet 公司;X,Pert3 PowderX 射线衍射仪 荷兰马尔文帕纳科仪器公司。

1.2 实验方法

1.2.1 蔗渣预处理 利用粉碎机粉碎蔗渣,50 ℃ 烘干后过 80 目筛备用。

1.2.2 发酵法蔗渣膳食纤维制备工艺 配制蔗渣发酵培养基 50 mL,121 ℃ 灭菌 20 min,待冷却后,按照一定的比例接种枯草芽孢杆菌 B01,在 37 ℃、120 r/min 条件下摇床培养,发酵结束后,4000 r/min 离心 10 min,沉淀即为不可溶膳食纤维(IDF),上清液加入 4 倍体积 95% 乙醇过夜醇沉后在 4000 r/min 条件下离心 10 min,干燥所得沉淀即为可溶性膳食纤维(SDF),收集称重。

膳食纤维提取率公式:

$$\text{可溶性膳食纤维(SDF)} = \frac{m_1}{m} \times 100$$

$$\text{不可溶性膳食纤维(IDF)} = \frac{m_2}{m} \times 100$$

$$\text{总膳食纤维(DF)} = \frac{m_1 + m_2}{m} \times 100$$

式中: m 表示蔗渣原料的质量, g ; m_1 表示可溶性膳食纤维质量, g ; m_2 表示不可溶性膳食纤维质量, g 。

1.2.3 发酵法制备可溶性膳食纤维的单因素实验

1.2.3.1 发酵时间对 SDF 提取率的影响 配制七组 50 mL 蔗渣发酵培养基,每组三个平行样,调节 pH 为 7,121 ℃、20 min 灭菌冷却后,按照 6% 的接种量接入已活化的枯草芽孢杆菌,在 37 ℃ 发酵温度下分别摇瓶发酵 24、36、48、60、72、84、96 h,计算 SDF 的提取率。

1.2.3.2 接种量对 SDF 提取率的影响 配制七组 50 mL 蔗渣发酵培养基,每组三个平行样,调节 pH 为 7,121 ℃、20 min 灭菌冷却后,分别按照 2%、4%、

6%、8%、10%、12% 和 14% 的接种量接入已活化的枯草芽孢杆菌,在 37 ℃ 发酵温度下摇瓶发酵 48 h 后,计算 SDF 的提取率。

1.2.3.3 培养基 pH 对 SDF 提取率的影响 配制六组 50 mL 蔗渣发酵培养基,每组三个平行样,分别调节 pH 为 4、5、6、7、8 和 9。121 ℃、20 min 灭菌冷却后,按照 6% 的接种量接入已活化的枯草芽孢杆菌,在 37 ℃ 发酵温度下摇瓶发酵 48 h 后,计算 SDF 的提取率。

1.2.4 响应面法优化可溶性膳食纤维制备工艺 以单因素实验结果为基础,根据响应面试验 Box-Behnken 设计原理^[19],以发酵时间、接种量及培养基 pH 作为响应因素,以可溶性膳食纤维(SDF)的提取率作为响应值,设计三因素三水平的分析实验,每组实验设置三个平行样,取平均值,对数据进行回归分析及显著性检验,确定最佳工艺。试验因素水平如表 1 所示。

表 1 响应面试验因素水平

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

因素	水平		
	-1	0	1
A: 发酵时间(h)	60	72	84
B: 接种量(%)	8	10	12
C: pH	6	7	8

1.2.5 持水力、持油力及膨胀力的测定 对发酵前及发酵后的膳食纤维进行持水力、持油力及膨胀率的测定。

1.2.5.1 持水力 参照文献 [20] 的方法,取 50 mL 离心管称重记为 m_1 ,准确称取 1 g 膳食纤维(记为 m_2)加入离心管,室温下加入 25 mL 蒸馏水,不断搅拌 30 min 后离心,去上清液后用滤纸滤干,称取其质量记为 m_3 。

$$\text{持水力(g/g)} = \frac{m_3 - m_2 - m_1}{m_2}$$

1.2.5.2 持油力 参照文献 [20] 的方法,取 50 mL 离心管称重记为 m_1 ,准确称取 1 g 膳食纤维(记为 m_2)加入离心管,室温下加入 25 mL 油,不断搅拌 30 min 后离心,去上清液后用滤纸吸干油分,称取其质量记为 m_3 。

$$\text{持油力(g/g)} = \frac{m_3 - m_2 - m_1}{m_2}$$

1.2.5.3 膨胀力 参照文献 [20] 的方法,将 0.5 g 膳食纤维(记为 m)置于 10 mL 量筒中,体积记为 V_1 ,室温下加入 5 mL 蒸馏水放置 24 h,体积记为 V_2 。

$$\text{膨胀力(mL/g)} = \frac{V_2 - V_1}{m}$$

1.2.6 膳食纤维的结构测定

1.2.6.1 电镜检测 参照文献 [21] 将发酵前和发酵后的膳食纤维样品放置于烘箱中,干燥至质量恒定,

利用扫描电镜观察其超微结构,进行分析比较。

1.2.6.2 红外光谱分析 参照文献 [21] 分别取两种微量样品研磨压片后,在 4000~400 cm^{-1} 范围内进行红外测定,并对比分析结果。

1.2.6.3 X-射线衍射分析 参照文献 [22] 通过 X-射线衍射仪测定发酵前和发酵后膳食纤维的晶体结构,取适量样品,磨细后放入样品槽,用表面光滑的玻璃板压实表面,将样品槽插入仪器测定,对其进行定性定量分析。

1.2.7 抗氧化活性测定

1.2.7.1 DPPH 自由基清除力的测定 参照涂宗财等^[23]的方法并稍做改动,将发酵前后膳食纤维配制成不同浓度梯度的溶液,实验组:取 1 mL 样品与 1 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH-乙醇混合溶液,反应 30 min,在 517 nm 处测定各浓度膳食纤维溶液的吸光度值,记为 A_1 ;对照组:以乙醇代替 DPPH 与样品反应测得吸光度值记为 A_2 ;空白组:用蒸馏水代替样品在同等条件下测定吸光度值,标记为 A_0 ;阳性对照组:相同浓度的 V_C 溶液,计算 DPPH 自由基清除能力公式如下:

$$\text{DPPH自由基清除率(\%)} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$

1.2.7.2 还原力的测定 参照铁氰化钾法^[24],将发酵前后膳食纤维配制成不同浓度梯度的溶液,然后依次加入 2.5 mL 0.2 mol/L 的 PBS 缓冲液和 2.5 mL 1% 的 $\text{KFe}(\text{CN})_6$ 溶液,轻轻摇匀后将混合溶液在 50 ℃ 条件下恒温反应 20 min,再加入 2.5 mL 10% 的三氯乙酸溶液,6000 r/min 离心 10 min 后吸取上清液 2.5 mL,再依次加入 2.5 mL 去离子水、1.0 mL 浓度为 0.1% 的 FeCl_3 。以双蒸水为参照用紫外分光光度计在 700 nm 处测定吸光值,并用 V_C 作为阳性参照。

1.2.7.3 羟基自由基清除力的测定 参照文献 [25] 的方法,将发酵前后膳食纤维配制成不同浓度梯度的溶液,实验组:取 1 mL 样品依次加入 1.0 mL 9 mmol/L 的硫酸亚铁溶液、1.0 mL 9 mmol/L 的水杨酸溶液和 0.5 mL 0.1% 的过氧化氢溶液后摇匀,在 37 ℃ 下反应 30 min 后在 510 nm 波长条件下测定吸光度值,记为 A_1 ;对照组:以蒸馏水代替硫酸亚铁溶液、过氧化氢溶液和水杨酸与样品反应,相同条件下所测得的吸光度值记为 A_2 ;空白组:用蒸馏水代替样品溶液,测定同样的条件下的吸光度值记为 A_0 ;阳性对照组:相同浓度的 V_C 溶液,计算羟基自由基清除率公式如下:

$$\text{羟基自由基清除率(\%)} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$

1.3 数据处理

所有实验数据均平行测定 3 次,基础数据采用 Excel 处理,响应面试验由 Design Expert 8.0.6 进行设计分析,作图采用 Origin2021b 软件。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 发酵时间对 SDF 提取率的影响 图 1 结果显示,在发酵初期,随着时间的增长,蔗渣 SDF 的提取率也逐渐上升,发酵时间在 72 h 的时候,SDF 提取率达到最大,之后就呈现下降趋势,这与闵钟慢等^[15] 研究结果相似。这是由于随着时间的增长,菌体也在逐渐增长和繁殖,分泌的降解酶也逐渐增多,对底物逐渐进行分解利用,积累的 SDF 也逐渐增多,而在 72 h 之后,SDF 提取率开始下降,可能是细菌生长到达了发酵后期,菌体逐渐开始死亡,所以发酵效率开始逐渐降低,也可能由于发酵后期底物中的营养物质不足以提供菌体生长繁殖,导致 SDF 积累减少,所以,最适发酵时间为 72 h。

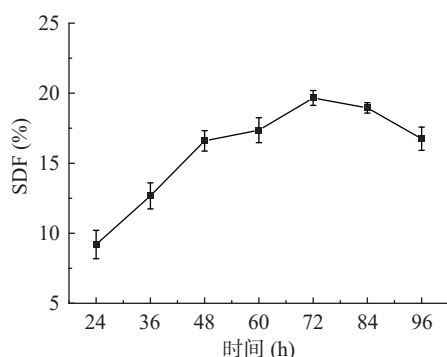


图 1 发酵时间对蔗渣 SDF 提取率的影响

Fig.1 Effect of fermentation time on extraction rate of bagasse soluble dietary fiber

2.1.2 接种量对 SDF 提取率的影响 由图 2 可知在接种量为 2%~10% 之间,随着接种量的增大,SDF 的提取率也在逐渐增大,接种量达到 10% 时,SDF 提取率达到了最大值,接种量大于 10% 后,SDF 提取率开始下降。许睿娉^[26] 研究发现在装液量为 50 mL 时,枯草芽孢杆菌最佳接种量为 10%;随着接种量的增大,菌体生长繁殖逐渐旺盛,对底物充分利用,分泌的酶量也逐渐增多,将会促进 SDF 的积累,在接种量达到 10% 时,SDF 提取率达到了最大值,提高接种量到 12% 的时候,SDF 提取率开始下降,可能是由

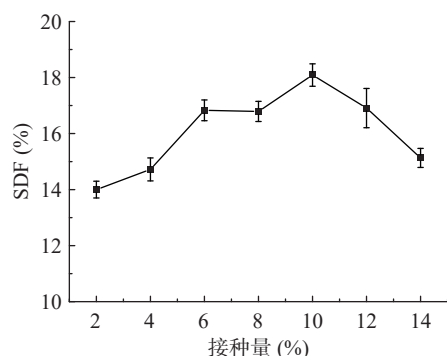


图 2 接种量对蔗渣 SDF 提取率的影响

Fig.2 Effect of inoculation amount on extraction rate of bagasse soluble dietary fiber

于菌体生长繁殖过于旺盛,底物营养物质供应不足以促使分解,开始逐渐消耗积累的膳食纤维,造成 SDF 的含量下降,所以最适接种量为 10%。

2.1.3 pH 对 SDF 提取率的影响 由图 3 可知培养基 pH 在 7 时,蔗渣 SDF 提取率达到了最大值,这与闵钟慢等^[17] 研究发现利用枯草芽孢杆菌制备米糠粕中膳食纤维时,最佳发酵 pH 为 7 的结果一致,在 pH 偏酸性或者碱性时,SDF 提取率均较低,这可能是由于菌体的最适 pH 为 7,微生物在生长繁殖时都有一定最适的 pH 范围,查阅资料^[27] 可知大多数细菌生长的最适范围在 6.3~7.5。且芽孢杆菌芽孢形成最适 pH 为 6.5~7.8,而且当 pH 在最适范围内时其芽孢的形成量比较恒定。所以此时菌体生长最好,分解效率也最高,所以最佳 pH 为 7。

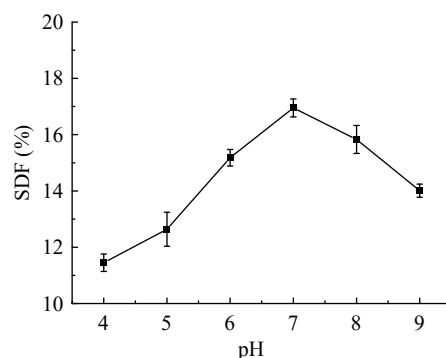


图 3 pH 对蔗渣 SDF 提取率的影响

Fig.3 Effect of pH on extraction rate of bagasse soluble dietary fiber

2.2 响应面试验结果

2.2.1 试验设计与结果 以单因素实验结果为基础,根据响应面试验 Box-Behnken 设计原理,以发酵时间、接种量及培养基 pH 作为响应因素,以可溶性膳食纤维的提取率(SDF)作为响应值,设计三因素三水平的分析实验,对数据进行回归分析及显著性检验,确定最佳工艺,结果见表 2。

2.2.2 回归方程与方差分析 对回归模型进行方差分析(表 3),可知 P 值 <0.0001 ,表明回归方程达到了极显著水平,模型显著回归。模型失拟项 P 值为 0.6869,大于 0.05,表示失拟项不显著,实验误差较小,拟合度高。显著性检验表明二次项 C^2 表现极为显著,而二次项 A^2 、 B^2 和交互项 BC 表现显著,说明这些因素对蔗渣 SDF 提取率的影响较大。由 F 值的大小可知影响因素影响大小顺序:接种量 $>$ pH $>$ 发酵时间。回归模型 $R^2=0.9749$,大于 90%,代表其相关性较好; $R^2_{adj}=0.9427$ 说明有 94.27% 的 SDF 提取率变异分布在 3 个相关因素中。此模型回归方程为: $Y=17.92-0.19A+0.40B-0.34C-0.21AB+0.79AC-1.05BC-2.51A^2-2.60B^2-4.12C^2$ 。分析结果表明利用响应面法设计所得的回归模型适用于蔗渣 SDF 制备实验。

表2 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2 Experimental scheme and results of Box-Behnken design

试验号	A: 发酵时间(h)	B: 接种量(%)	C: pH	SDF提取率(%)
1	72	12	6	12.49
2	84	12	7	13.15
3	60	8	7	12.03
4	72	8	6	10.25
5	72	12	8	10.03
6	60	10	8	10.21
7	72	10	7	18.25
8	72	10	7	19.11
9	84	8	7	12.11
10	72	8	8	12.01
11	60	12	7	13.91
12	84	10	6	10.79
13	60	10	6	12.77
14	72	10	7	17.96
15	84	10	8	11.37
16	72	10	7	17.15
17	72	10	7	17.12

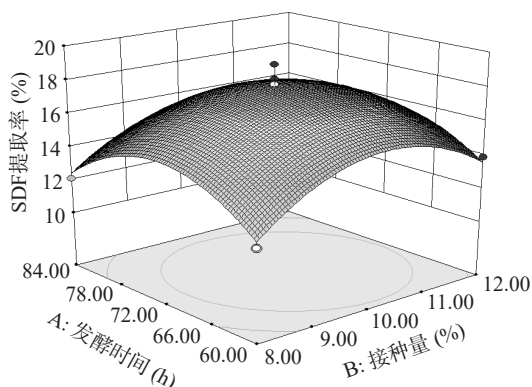
表3 回归模型的方差分析和显著性检验

Table 3 Analysis of variance and significance test of regression model

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	149.88	9	16.65	30.27	<0.0001
A发酵时间	0.28	1	0.28	0.51	<0.0001
B接种量	1.26	1	1.26	2.30	0.1734
C pH	0.90	1	0.90	1.63	0.2422
AB	0.18	1	0.18	0.32	0.5889
AC	2.46	1	2.46	4.48	0.0721
BC	4.45	1	4.45	8.09	0.0249
A ²	26.61	1	26.61	48.37	0.0002
B ²	28.55	1	28.55	51.89	0.0002
C ²	71.44	1	71.44	129.84	<0.0001
残差	3.85	7	0.55		
失拟	1.09	3	0.36	0.53	0.6869
误差	2.76	4	0.69		
总和	153.73	16			

 $R^2=0.9749$

2.2.3 响应面图分析 表3显示, $P_{AB} > P_{AC} > P_{BC}$, 比较 P 值可知发酵时间与接种量的交互作用对蔗渣膳食纤维制备量干扰最小, 而接种量与 pH 的交互作用对蔗渣膳食纤维制备量干扰最大。根据发酵时间、



接种量、pH 三个因素交互作用与响应值的关系得出三维响应面和等高线, 结果见图4。响应面坡度越陡、等高线越接近椭圆且越稀疏, 代表两两因素交互作用对响应值的影响越显著, 响应值的改变越敏感; 可以看出, BC 曲面拱形明显更陡峭, 等高线为椭圆形且相对稀疏, 其次是 AC, 这说明接种量与 pH 交互作用最显著, 其次显著的是发酵时间和 pH 的交互作用, 而 AB 曲面拱形不明显, 等高线形状较圆润且相对密集, 说明发酵时间和接种量之间的交互作用不显著, 这与方差分析结果一致。通过 Design Expert 8.0.6 软件分析模型确定微生物发酵制备蔗渣膳食纤维最优工艺条件为: 接种量 10.18%、pH 为 6.94、发酵时间 71.4 h, 理论值为 18.732%, 为方便实际生产, 对各因素进行了调整: 接种量 10%、pH 为 7、发酵时间 71 h, 在此条件下蔗渣 SDF 提取率为 17.95%, 与理论值相差 0.782%, 表明实测值和理论值拟合度较高。

2.3 理化性质的测定

发酵前(DF)和发酵后膳食纤维(F-DF)的持水力、持油力及膨胀力如表4所示:

表4 发酵前和发酵后膳食纤维的理化性质

Table 4 Physicochemical properties of dietary fiber before and after fermentation

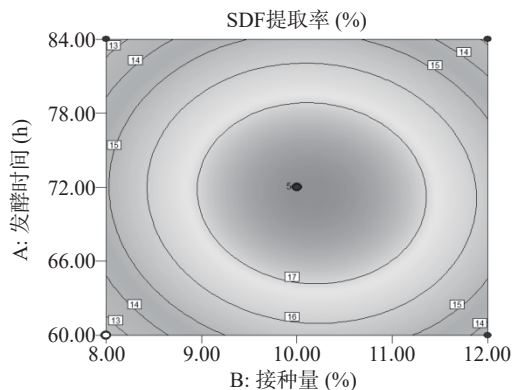
样品	持水力(g/g)	持油力(g/g)	膨胀力(mg/L)
DF	3.75±0.04 ^a	3.19±0.02 ^a	3.07±0.03 ^a
F-DF	5.10±0.09 ^b	6.93±0.13 ^b	5.34±0.11 ^b

注: 同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

由表可知, 发酵后的膳食纤维持水力、持油力及膨胀力均优于未发酵原料, 说明在经过发酵处理后, 蔗渣的理化性质发生了变化, 在持水、持油及膨胀性方面都有所提升。李杨等^[28]提出持水性更高可能是由于可溶性膳食纤维质量分数较高, 所以得出经过发酵处理后, 蔗渣致密的结构遭到破坏, 网状结构疏松, 产生更多的可溶性膳食纤维, 所以持水性更强, 同时也有利于水油分子进入, 改善其膨胀性。

2.4 结构分析

2.4.1 微观结构测定 图5是发酵前(DF)及发酵后膳食纤维(F-DF)放大 500 倍的微观结构图。从图中可以看出经过发酵处理的膳食纤维与原料的表现并



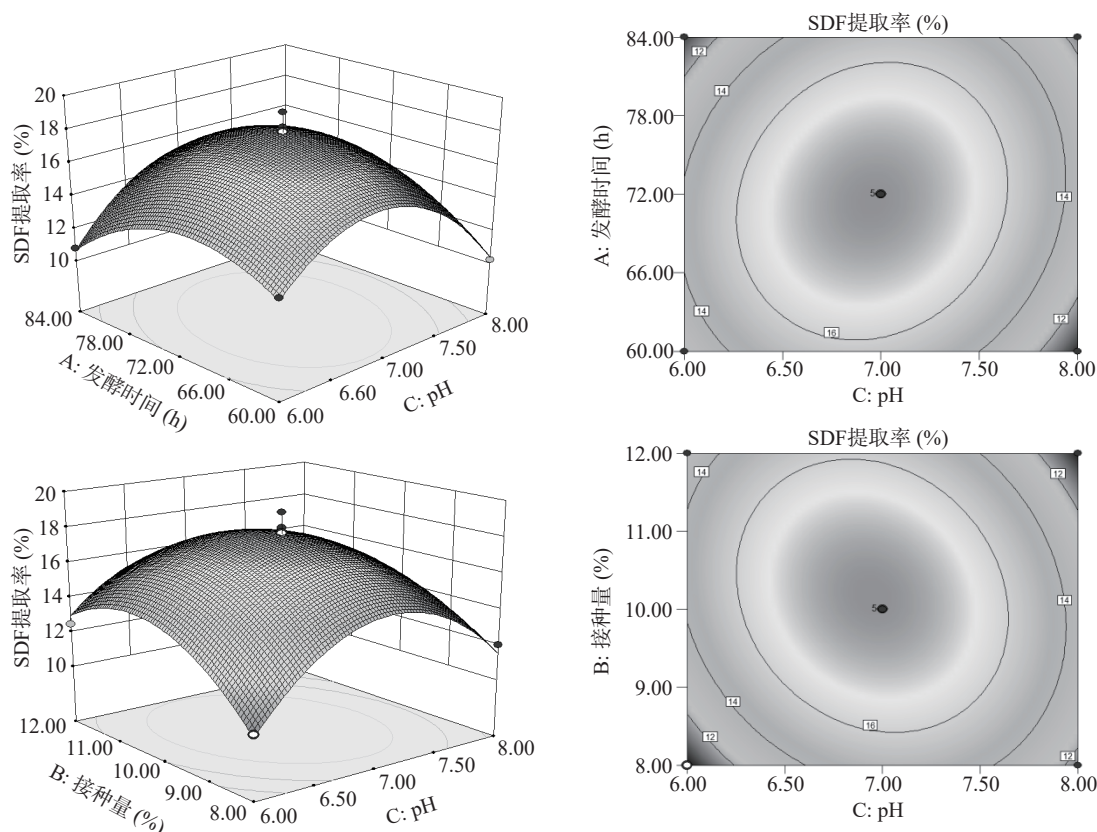
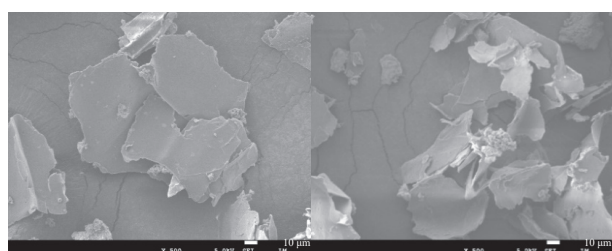


图 4 各因素交互作用对 SDF 提取率影响的响应面图

Fig.4 Response surface plots of the effects of factors on the extraction rate of soluble dietary fiber



蔗渣 DF 发酵后蔗渣膳食纤维 F-DF

图 5 发酵前和发酵后膳食纤维扫描电子显微镜图

Fig.5 Scanning electron microscopy of dietary fiber before and after fermentation

未发生太大的变化,发酵前原料表面光滑,结构致密,呈现大块状。经过发酵处理后,膳食纤维颗粒变小,表面出现裂纹,有球状颗粒物附着且结构较疏松,可能是由于细菌分泌的降解酶对纤维素进行了降解^[15]。且发酵后膳食纤维棱角明显,呈现片层状态,纤维素降解酶将膳食纤维分解成块状及片层状,这说明发酵处理都对蔗渣原料进行了不同程度的降解,并对其微观结构进行了改善。

2.4.2 红外光谱 图 6 为发酵前和发酵后膳食纤维的傅里叶红外光谱分析图,图中 3429 cm^{-1} 出现的吸收峰是由于纤维素和半纤维素 O-H 伸缩振动,代表分子间氢键形成^[29],发酵后膳食纤维 F-DF 在此处吸收峰的强度比发酵前原料 DF 更强,说明经过发酵处理 F-DF 发生糖苷键断裂,促使合成氢键的羟基增多,导致其内部缔合的氢键较多^[1]; 1603 cm^{-1} 处出现的峰可能是多糖分子中羰基的吸收峰,由 C=O 键伸

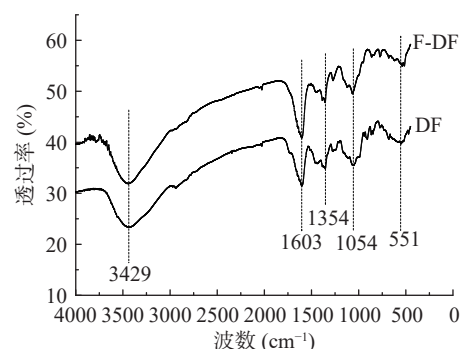


图 6 发酵前和发酵后膳食纤维傅里叶红外光谱图

Fig.6 Fourier transform infrared spectra of dietary fiber before and after fermentation

缩振动引起,表明其中存在糖醛酸^[30],此处 F-DF 吸收峰强度增大,代表经过发酵及酶处理,样品中糖醛酸增多; 1354 cm^{-1} 处的吸收峰是由于纤维素与半纤维素结构的 O-H 或 C-O 基团的伸缩振动,而 1054 cm^{-1} 处的吸收峰可能源于纤维素和半纤维素 C-O 的伸缩振动^[31],两种纤维素吸收峰在此处稍减弱,表明经过发酵处理样品中纤维素和半纤维素减少; 551 cm^{-1} 处的吸收峰可能是 $\beta\text{-C-H}$ 的振动特征峰^[32]。说明经过处理之后纤维素和半纤维素发生降解,晶体结构被破坏导致结晶度减小,且发酵处理对于纤维素及半纤维素降解更加彻底。

2.4.3 X-射线结构分析 对发酵前和发酵后膳食纤维进行 X-射线衍射分析,如图 7 所示,衍射角 2θ 在 $15^\circ\sim 25^\circ$ 的范围内均出现了衍射峰,符合 I 型纤维素

曲线的特征,图中经过发酵处理的样品衍射峰出现的位置和峰形都未发生改变,说明经过发酵处理并没有改变膳食纤维的结晶构型,而经过发酵处理后的膳食纤维衍射峰强度减弱,说明经过发酵处理之后纤维素和半纤维素发生降解,晶体结构被破坏导致结晶度减小,且发酵处理对于纤维素及半纤维素降解更加彻底。

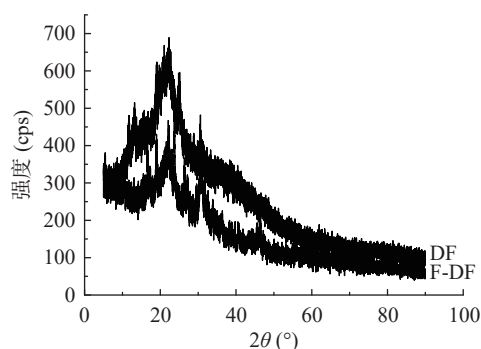


图7 发酵前和发酵后膳食纤维 X-射线衍射光谱
Fig.7 X-ray diffraction pattern of dietary fiber before and after fermentation

2.5 抗氧化实验结果

2.5.1 DPPH 自由基清除力 图8中分别描述了发酵前及发酵后膳食纤维的 DPPH 自由基清除能力,以 V_C 作为对照。整体来看 DPPH 自由基清除力 $V_C > F-DF > DF$, V_C 的 DPPH 自由基清除力一直处于平稳状态,发酵前(DF)和发酵后(F-DF)膳食纤维 DPPH 自由基清除力均随质量浓度的增大而增大,且发酵后膳食纤维的 DPPH 自由基清除力逐渐接近 V_C ,在质量浓度为 6 mg/mL 时 DPPH 自由基清除率达到了 82.91%,与 V_C 相差较小。张志旭等^[33] 研究发现苦瓜膳食纤维在质量浓度为 5 mg/mL 时 DPPH 自由基清除率也达到了 80% 左右。结果证明在质量浓度为 6 mg/mL 时 F-DF 有良好的 DPPH 自由基清除能力,与未发酵原料 DF 相比,经过发酵法所得的膳食纤维的 DPPH 自由基清除率提高了 32.9%,可能是经过发酵处理,菌体分泌降解酶,作用后使膳食纤维中还原糖含量增多^[34],使得其 DPPH 自由基清除能力增强,表现出更优的清除能力。

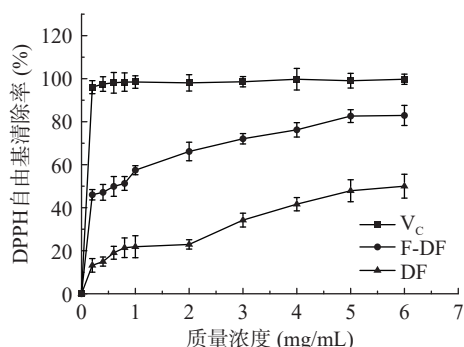


图8 发酵前和发酵后膳食纤维 DPPH 自由基清除能力
Fig.8 DPPH radical scavenging ability of dietary fiber before and after fermentation

2.5.2 还原力 图9表示发酵前及发酵后膳食纤维的还原力,以 V_C 作为对照。随着质量浓度的增高, V_C 、F-DF、DF 均呈现递增趋势,且 V_C 表现出较强的还原力, F-DF 次之。经过发酵处理的膳食纤维还原力更接近 V_C ,在质量浓度为 6 mg/mL 时还原力达到了 0.89,相较于未发酵膳食纤维 DF 还原力提高了 0.70。贾玮等^[35] 研究发现木瓜果皮中膳食纤维还原力为 0.43 ± 0.01 , 与其相比,发酵后的蔗渣膳食纤维还原力更高,可能是经过发酵处理使样品中可溶性膳食纤维积累量增多,使其表现出良好的还原性。

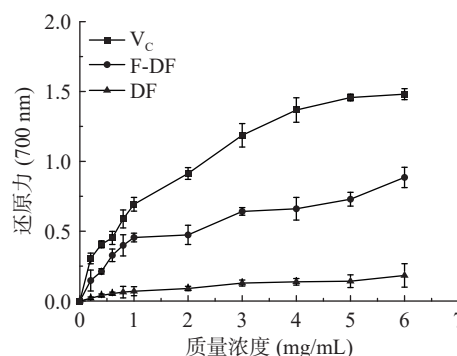


图9 发酵前和发酵后膳食纤维还原力
Fig.9 Reducing force of dietary fiber before and after fermentation

2.5.3 羟基自由基清除力 图10表示发酵前及发酵后膳食纤维的羟基自由基清除能力,以 V_C 作为对照。 V_C 表现出很强的羟基自由基清除能力,一直趋于一个稳定的状态,接近 100%, F-DF 和 DF 的羟基清除力随着质量浓度的增大而增大,且 F-DF 羟基清除力整体大于 DF,并逐渐趋向于 V_C ,在质量浓度为 9 mg/mL 时 F-DF 羟基清除力达到了 78.53%,相较于未发酵膳食纤维 DF 羟基清除率提高了 50.55%。证明经过发酵处理的膳食纤维具有良好的羟基自由基清除能力。

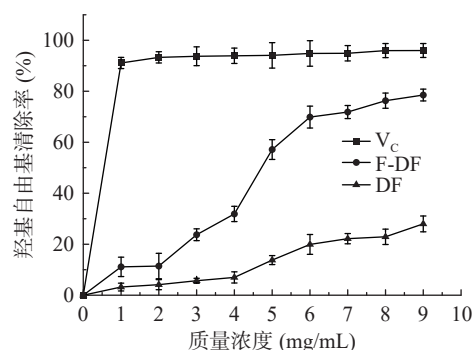


图10 发酵前和发酵后膳食纤维羟基自由基清除能力
Fig.10 Hydroxyl radical scavenging ability of dietary fiber before and after fermentation

3 结论

本试验以甘蔗渣作为原料,枯草芽孢杆菌作为发酵菌种,利用微生物发酵法进行可溶性膳食纤维的制备,以单因素实验结果为基础,利用 Box-Behnken 设计响应面实验分析得到最佳制备工艺为:接种量

10.18%、pH 为 6.94、发酵时间 71.4 h,在该条件下重复实验进行验证,对各因素进行调整为接种量 10%、pH 为 7、发酵时间 71 h,在此条件下蔗渣 SDF 提取率为 17.95%,与理论值相差 0.782%,表明实测值和理论值拟合度较高。利用持水力、持油力及膨胀力作为指标,分析发酵前后膳食纤维理化性质的变化,发现经过发酵处理理化性质改善;对经过发酵前后膳食纤维进行扫描电镜、红外光谱及 X-射线衍射分析,超微结构显示发酵后的膳食纤维疏松多孔,呈现片层状,表明发酵处理对蔗渣原料进行了降解,使其变得疏松柔软;红外图谱结果表明发酵所得膳食纤维与原料相比,发酵后膳食纤维的吸收峰强度增大,经过降解糖醛酸增多。X-射线衍射图谱表明发酵后膳食纤维符合 I 型纤维素曲线的特征,但相比原料衍射峰强度减弱,即经过发酵处理,原料中纤维素发生降解,纤维的结晶区域被破坏。体外抗氧化实验表明,在质量浓度为 6 mg/mL 时,发酵后膳食纤维表现出较强的 DPPH 自由基清除力、相对还原力分别达到了 82.91%、0.89,在质量浓度为 9 mg/mL 时羟基自由基清除力达到了 78.53%,接近于 V_C ,表明经过发酵处理可以可以改善膳食纤维理化性质及结构,有效提高膳食纤维的体外抗氧化活性。

本试验利用枯草芽孢杆菌发酵制备膳食纤维,SDF 提取率略高于保加利亚乳杆菌及嗜热链球菌发酵制备的 SDF,可能是由于枯草芽孢杆菌可以直接分泌大量纤维素酶等消化酶类作用于蔗渣;相较于黑曲霉等丝状真菌制备膳食纤维,虽然枯草芽孢杆菌制备膳食纤维发酵时间更短,且在发酵过程中会产生多种物质抑制病原微生物,但枯草芽孢杆菌 SDF 提取率略低于黑曲霉发酵 SDF 提取率,这是由于丝状真菌中纤维素酶含量较高,这也正是本实验的不足之处,因此,还有待进一步深入寻找能够高效降解纤维素且发酵时间较短且过程简易的菌株。经过枯草芽孢杆菌制备的膳食纤维粒径变小蔗渣膳食纤维理化性质及结构特性都有所改善,可溶性膳食纤维含量增多,持水膨胀性变强,可以增加饱腹感;结构疏松,入口更加柔软,促进肠道蠕动,使其成为优质膳食纤维的制备原料,提高了蔗渣在食品工业中的利用率,为蔗渣的有效利用提供了依据,减少了资源浪费。

参考文献

[1] MALI A K, NANTHAGOPALAN P. Comminution: A supplementation for pozzolanic adaptation of sugarcane bagasse ash[J]. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 2021, 33(12): 32–45.

[2] DINESH, PALSULE S. Bagasse fiber reinforced functionalized ethylene propylene rubber composites by palsule process[J]. *Journal of Natural Fibers*, 2021, 18(11): 1697984.

[3] 刘洋,洪亚楠,姚艳丽,等.中国甘蔗渣综合利用现状分析[J].*热带农业科学*, 2017, 37(2): 91–95. [LIU Yang, HONG Yanan, YAO Yanli, et al. Research progress in comprehensive utilization of bagasse in China[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2017, 37(2): 91–95.]

[4] 叶秋萍,曾新萍,郑晓倩.膳食纤维的制备技术及理化性能的研究进展[J].*食品研究与开发*, 2019, 49(17): 212–217. [YE Qiuping, ZENG Xinping, ZHENG Xiaoqian. Research progress on preparation technology and physicochemical properties of dietary fiber[J]. *Food Research and Development*, 2019, 49(17): 212–217.]

[5] NEYRINCK A M, RODRIGUEZ J, ZHANG Z, et al. Prebiotic dietary fiber intervention improves fecal markers related to inflammation in obese patients: Results from the food gut randomized placebo-controlled trial[J]. *European Journal of Nutrition*, 2021, 60(6): 1–12.

[6] 王晨,钟赛意,邹宇晓.膳食纤维经肠道微生态途径调节脂质代谢作用的研究进展[J].*食品科学*, 2019, 40(3): 338–347. [WANG Chen, ZHONG Saiyi, ZOU Yuxiao. Dietary fiber regulates lipid metabolism through the gut microbiota: A literature review[J]. *Food Science*, 2019, 40(3): 338–347.]

[7] 李施瑶,代玲敏,范宜杰,等.化学法提取红树莓果渣可溶性膳食纤维的工艺优化[J].*食品工业科技*, 2019, 40(19): 180–186. [LI Shiyao, DAI Lingmin, FAN Yijie, et al. Optimization of extraction process of soluble dietary fiber from raspberry pomaces by chemical method[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(19): 180–186.]

[8] 张晓雪,贾鸿震,于长青,等.超声波-微波协同提取沙棘果皮渣中可溶性膳食纤维工艺优化[J].*食品工业科技*, 2020, 41(11): 200–206. [ZHANG Xiaoxue, JIA Hongzhen, YU Changqing, et al. Optimization of ultrasonic-microwave synergistic extraction of soluble dietary fiber from seabuckthorn peel residue[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(11): 200–206.]

[9] 王磊,袁芳,高彦祥.响应面法优化酶法提取槭柑渣中可溶性膳食纤维工艺[J].*中国食品学报*, 2014, 14(10): 171–178. [WANG Lei, YUAN Fang, GAO Yanxiang. Optimization of enzyme extraction of soluble dietary fiber from ponkan pomace using response surface methodology[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(10): 171–178.]

[10] CHEN X, GUI R, LI N, et al. Production of soluble dietary fibers and red pigments from potato pomace in submerged fermentation by *Monascus purpureus*[J]. *Process Biochemistry*, 2021, 111: 159–166.

[11] WANG Z, YAN J, MA S, et al. Effect of wheat bran dietary fiber on structural properties of wheat starch after synergistic fermentation of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 190: 86–92.

[12] 李黎,王宇辉.响应面法优化发酵法提取枣渣中不溶性膳食纤维提取工艺优化[J].*中国食品添加剂*, 2017(9): 140–145. [LI Li, WANG Yuhui. Applying response surface methodology to optimize extraction of insoluble dietary fiber from jujube residues using fermentation[J]. *China Food Additives*, 2017(9): 140–145.]

[13] 赵泰霞,朱杏玲.微生物发酵法提取大豆渣膳食纤维的研究[J].*武夷学院学报*, 2016, 35(3): 18–22. [ZHAO Taixia, ZHU Xingling. A study on the extraction of soyea dietary fiber with fermentation method[J]. *Journal of Wuyi University*, 2016, 35(3): 18–22.]

- [14] 李成忠. 响应面优化乳酸菌发酵法提取柑橘皮渣膳食纤维工艺[J]. 食品工业, 2017, 38(7): 38-40. [LI Chengzhong. Response surface optimization of process for extracting dietary fiber from citrus peel residue by lactic acid bacteria fermentation[J]. The Food Industry, 2017, 38(7): 38-40.]
- [15] 闵钟煜, 高路, 高育哲, 等. 黑曲霉发酵法制备米糠粕可溶性膳食纤维工艺优化及其理化分析[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 112-118. [MIN Zhongman, GAO Lu, GAO Yuzhe, et al. Optimization of the preparation process for soluble dietary fiber from rice bran by *Aspergillus niger* fermentation and its physicochemical properties[J]. Food Science, 2018, 39(2): 112-118.]
- [16] 贾梦云. 绿色木霉发酵制备脱脂米糠可溶性膳食纤维及其在饼干中的应用[D]. 南昌: 南昌大学, 2020. [JIA Mengyun. Preparation of soluble dietary fiber from defatted rice bran *Bytrichoderma viride* and its application in biscuits[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020.]
- [17] 闵钟煜, 贾笑雨, 解铁民, 等. 微生物发酵法提取米糠粕中可溶性膳食纤维的研究[J]. 中国酿造, 2017, 36(8): 53-56. [MIN Zhongman, JIA Xiaoyu, XIE Tiemin. Extraction of soluble dietary fiber in rice bran meal by microbial fermentation method[J]. China Brewing, 2017, 36(8): 53-56.]
- [18] 林杰, 陈如溪, 王锡茂. 酶法制备蔗渣膳食纤维[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(11): 7-10. [LIN Jie, CHEN Ruxi, WANG Ximao. Preparation of bagasse dietary fibre by enzymatic method[J]. Food Research and Development, 2011, 32(11): 7-10.]
- [19] SREEDEVI P, JAYACHANDRAN L E, RAO P S. Response surface optimization and quality prediction of high pressure processed sugarcane juice (*Saccharum officinarum*)[J]. LWT, 2021: 152.
- [20] 王庆玲, 朱莉, 孟春棉, 等. 番茄皮渣膳食纤维的理化性质及其结构表征[J]. 现代食品科技, 2014, 30(11): 60-64. [WANG Qingling, ZHU Li, MENG Chunmian. Study on the physicochemical properties and structural characteristics of the dietary fiber in tomato pomace[J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(11): 60-64.]
- [21] 郑佳欣. 刺梨渣膳食纤维蒸汽爆破改性及结构、功能性质研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2020. [ZHENG Jiaxin. Study on steam explosion modification, structure and functional properties of dietary fiber from *Rosa roxburghii* Tratt residue[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2020.]
- [22] 尹立晨, 童群义. 改性豆渣膳食纤维的理化性质、结构及其益生活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(3): 141-148. [YIN Lichen, TONG Qunyi. Study on the physicochemical properties, structure and prebiotic activity of modified okara dietary fiber[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(3): 141-148.]
- [23] 涂宗财, 段邓乐, 王辉, 等. 豆渣膳食纤维的结构表征及其抗氧化性研究[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(6): 22-26. [TU Zongcai, DUAN Dengle, WANG Hui, et al. Structural characterization and antioxidant activity of soybean dregs dietary fiber[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2015, 30(6): 22-26.]
- [24] 郑义, 王卫东, 李勇, 等. 高良姜多糖提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2014, 35(2): 126-131. [ZHENG Yi, WANG Weidong, LI Yong, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activities of polysaccharides from *Alpinia officinarum* Hance[J]. Food Science, 2014, 35(2): 126-131.]
- [25] NAVARRO M, ARNAEZ E, MOREIRA I, et al. Polyphenolic characterization, antioxidant, and cytotoxic activities of *Mangifera indica* cultivars from Costa Rica[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2019, 8(9): 384.
- [26] 许睿婷. 枯草芽孢杆菌 HG-15 菌体发酵全可溶培养基配方与条件优化[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020. [XU Ruipin. Optimization of fermentation conditions and the formulation of fully soluble medium for *Bacillus subtilis* HG-15[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2020.]
- [27] WACKETT L P. Slow bacterial growth in the environment: An annotated selection of world wide web sites relevant to the topics in environmental microbiology[J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(9): 2231-2232.
- [28] 李杨, 胡森, 孙禹凡, 等. 提取方式对大豆膳食纤维理化及功能特性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(21): 18-24. [LI Yang, HU Miao, SUN Yufan, et al. Effect of different extraction methods on physicochemical and functional properties of soybean dietary fiber[J]. Food Science, 2018, 39(21): 18-24.]
- [29] WU Q, LUO M, YAO X, et al. Purification, structural characterization, and antioxidant activity of the COP-W1 polysaccharide from *Codonopsis tangshen* Oliv.[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 236: 116020.
- [30] 吕金顺, 韦长梅, 徐继明, 等. 马铃薯膳食纤维的结构特征分析[J]. 分析化学, 2007(3): 443-446. [LÜ Changshun, WEI Changmei, XU Jiming, et al. Feature analysis of structure of potato dietary fibre[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2007(3): 443-446.]
- [31] YUE S, LIANG L. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharide from four Auriculariales[J]. Carbohydrate Polymers, 2020: 229.
- [32] ZIYAN C, YAN Z, MENGKE Z, et al. Structural characterization and antioxidant activity of a new polysaccharide from *Bletilla striata* fibrous roots[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 22: 430-437.
- [33] 张志旭, 陈岳文, 刘东波. 苦瓜膳食纤维的抗氧化活性研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(8): 933-935. [ZHANG Zhixu, CHEN Yuewen, LIU Dongbo. Antioxidant activity of dietary fiber from balsam pear[J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(8): 933-935.]
- [34] 解春艳. 茶薪菇发酵制备麦麸膳食纤维与阿魏酰低聚糖及其生物活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2010. [XIE Chunyan. Preparation of wheat bran dietary fiber and feruloyl oligosaccharides by *Agrocybe chaxingu* fermentation and their biological activities[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2010.]
- [35] 贾玮, 张焱茜, 石琳, 等. 海南红心木瓜膳食纤维提取及抗氧化活性测定[J]. 食品科技, 2018, 43(7): 225-232. [JIA Wei, ZHANG Yanxi, SHI Lin, et al. Extraction process and antioxidant characterization of dietary fiber in papaya (Hainan Red Papaya)[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(7): 225-232.]