

## 纤维素酶改性油莎豆粕可溶性膳食纤维结构与功能研究

周龙珠<sup>1,2</sup>, 王朋<sup>1\*</sup>, 董双<sup>1,3</sup>, 王静<sup>1</sup>, 丁雪纯<sup>1</sup>, 杨娜<sup>1</sup>, 王金荣<sup>1</sup>, 乔汉桢<sup>1</sup>, 甘利平<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>河南工业大学生物工程学院 郑州 450001

<sup>2</sup>中国农业科学院北京畜牧兽医研究所 畜禽营养与饲养全国重点实验室 北京 100193

<sup>3</sup>中国农业大学动物科学技术学院 北京 100193)

**摘要** 以油莎豆粕为原料,通过复合酶法( $\alpha$ -淀粉酶、糖化酶和胰蛋白酶)提取油莎豆粕可溶性膳食纤维(SDF),采用纤维素酶对 SDF 进行酶解改性,优化纤维素酶酶解条件(酶添加量、酶解温度、酶解时间和酶解 pH 值),并比较改性前、后 SDF 含量、理化性质、结构特性和抗氧化能力。结果表明,纤维素酶改性的最佳工艺条件是:pH 值为 6.5,酶解温度 40 °C,酶添加量 0.9%,酶解时间 2.5 h,SDF 含量由 3.55%增至 10.86%。通过观察超微结构发现,改性使纤维结构改变,衍射峰强度减弱,改善了其结构特性,同时微观结构特性也得到改善。此外,纤维素酶改性使油莎豆粕 SDF 的持水力、膨胀性和持油力较改性前分别提高了 54.58%,43.73%,38.40%;SDF 质量浓度在 0.5~5 mg/mL 范围,改性后 SDF 对 1,1-二苯基苦基苯肼(DPPH)自由基、2,2'-连氮-二(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸),ABTS 自由基和羟基自由基( $\cdot$ OH)的清除力显著提高,最高时分别达到 42.87%,44.05%,41.46%,还原  $Fe^{3+}$  的能力在 5 mg/mL 时提高了 1.25 倍。本研究为进一步提升油莎豆粕的开发价值及其在食品和制药工业等方面应用提供参考。

**关键词** 油莎豆粕;可溶性膳食纤维;结构特性;理化性质;抗氧化能力

**文章编号** 1009-7848(2024)07-0241-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.07.024

油莎豆 (*Cyperus esculentus* L. Var. sativus) 又名油莎草,是莎草科多年生草本植物。原产地在非洲和地中海沿岸国家,1952 年传入中国,具有耐寒、耐旱、耐涝、耐贫瘠、耐盐碱等优点<sup>[1-2]</sup>。2016 年农业农村部将油莎豆作为我国大力推广的新型油料作物<sup>[3]</sup>。2018 年中国科学院油料所选育的“中油莎 1 号”油莎豆含油量达 31.3%,产油量超过 2 550 kg/hm<sup>2</sup>,其产油量约为大豆的 4 倍,油菜的 2 倍,花生的 1.5 倍,被誉为“油料作物之王”<sup>[4]</sup>。虽然油莎豆在世界范围内被广泛种植,但是目前对其研究仍十分有限,严重限制了其应用。

油莎豆富含油脂、淀粉、纤维、蛋白、黄酮类和酚类物质,在功能性食品和制药上均具有广泛的应用价值<sup>[5]</sup>。油莎豆油料经溶剂浸出法提取油脂后的残渣称为油莎豆粕。油莎豆粕中含极少量的残余油脂,而淀粉、膳食纤维(Dietary fiber,DF)以及矿物质等成分含量较高<sup>[6]</sup>。最新研究指出,相较于燕麦麸和大麦麸皮来源 DF,油莎豆粕 DF 具有更

高的持水力、持油力以及乳化稳定性<sup>[7]</sup>。此外,油莎豆粕具有高 DF 含量,其可以有效预防许多疾病,包括结肠癌、冠心病、肥胖症、糖尿病和胃肠疾病等,添加油莎豆粕 DF 的食品具有更高的营养价值和蒸煮品质<sup>[8]</sup>。然而,关于油莎豆粕 DF 的组分、结构与生物学功能相关研究极度欠缺,其营养价值、功能特性及加工工艺方面有待进一步开发。

DF 主要指不能被小肠消化吸收的碳水化合物聚合物,被认为是继糖类、蛋白质、脂肪、维生素、矿物质和水之后的第七大营养素<sup>[9-10]</sup>。基于其物理化学性质差异,DF 可以分为不可溶性膳食纤维(Insoluble dietary fiber,IDF)和可溶性膳食纤维(Soluble dietary fiber,SDF)两类<sup>[11-12]</sup>。近年来,因 SDF 具有良好的理化特性以及生物活性而被广泛应用于人类临床医学和功能性食品加工等领域<sup>[13]</sup>。优质的 DF 中 SDF 比例通常不低于 10%,而通常天然植物纤维中 SDF 的含量仅为 3%~5%,在一定程度上限制了其功效发挥<sup>[14]</sup>。SDF 的改性方法主要包括物理法、化学法和生物法。生物法因具有催化活性高,特异性强,反应条件温和、可控而受到广泛认可<sup>[15-17]</sup>。酶解法是生物法改性技术的一种,其中纤维素酶可通过促进细胞壁中的纤维素

收稿日期: 2023-07-09

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD1300300)

第一作者: 周龙珠,女,硕士生

通信作者: 王朋 E-mail: wangpeng@haut.edu.cn

水解和部分半纤维素的释放,进而破坏 IDF 紧密结构,使其质地松散,粒径变小<sup>[18]</sup>。油莎豆粕 DF 含量丰富,且以粗纤维为主<sup>[9]</sup>。本研究采用复合酶制备油莎豆粕 SDF,通过纤维素酶法对其进行改性,采用单因素实验和正交试验对纤维素酶酶解工艺进行优化,比较改性前、后油莎豆粕 SDF 的物理性质、结构特性和抗氧化性,以期为提高油莎豆粕膳食纤维在食品中应用开发提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

油莎豆粕(水分 5.61%,粗蛋白质 7.10%,粗脂肪 5.45%,粗灰分 3.60%,淀粉 39.71%)购买于河北保定市。

$\alpha$ -淀粉酶( $5 \times 10^3$  U/g),麦克林试剂有限公司;纤维素酶( $5 \times 10^4$  U/g),上海源叶生物科技有限公司;糖化酶( $4 \times 10^4$  U/g)、胰蛋白酶( $1.5 \times 10^6$  U/g)、胆固醇、邻苯二甲醛、DPPH、ABTS、阿拉丁试剂有限公司;无水酒精,新乡市三伟消毒制剂有限公司;碳酸钠、水杨酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、无水甲醇、抗坏血酸、过硫酸钾、三氯乙酸、七水合硫酸亚铁、过氧化氢、铁氰化钾,天津市科密欧化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

SYC-C 恒温水浴振荡器,上海新苗医疗器械制造有限公司;DZKW-4 电子恒温水浴锅,北京中兴伟业仪器有限公司;SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵,北京凯亚仪器有限公司;DW-86L437T 超低温冰箱,澳柯玛股份有限公司;Eppendorf5810R 高速冷冻离心机,艾本德中国有限公司;LGJ-18AXD 真空冷冻干燥机,河南兄弟仪器设备有限公司;紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;pH 计,梅特勒-托利多仪器有限公司;Quanta250FEG 扫描电子显微镜,美国 FEI 公司;Minifle\*600 X-射线衍射仪,日本理学公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 油莎豆粕前处理 取一定量油莎豆粕,用粉碎机将其粉碎,放入 60 °C 烘箱下烘干至恒重,取烘干后的油莎豆粕过 100 目筛。

1.3.2 SDF 未改性制备工艺 参考 Goff 等<sup>[9]</sup>的方法稍作修改,准确称取油莎豆粕样品 20 g( $M$ )放

入 500 mL 锥形瓶中,加入质量体积比为 1:7,pH 值为 6.0 的磷酸缓冲液,分别加入 0.8%胰蛋白酶,2.0%的  $\alpha$ -淀粉酶和糖化酶。混匀后放入水浴振荡锅 40 °C 水浴振荡 90 min,95 °C 灭活 15 min,室温冷却后 10 000 r/min 离心 15 min,将离心管中上清液用真空泵抽滤装置抽滤,加入滤液 4 倍体积的 95%乙醇溶液进行醇沉 12 h。醇沉溶液转移至离心管中,10 000 r/min 离心 15 min 后,将沉淀转移至培养皿中,贴上保鲜膜后放入 -80 °C 冰箱冷冻 24 h。将冷冻后的培养皿放入真空冷冻干燥机中,温度 -80 °C,压强 50 Pa 下冷冻干燥 24 h,至样品完全干燥,即得 SDF,准确称量 SDF 的质量( $M_{SDF}$ )并计算其含量,如公式(1)所示:

$$\text{SDF 含量}(\%) = \frac{M_{SDF}}{M} \times 100 \quad (1)$$

1.3.3 SDF 改性制备工艺 灭活复合酶冷却后,添加一定浓度纤维素酶,在一定温度下水浴振荡一定时间,再次 95 °C 灭活 15 min,冷却,离心,抽滤,醇沉,离心,干燥,制得改性后 SDF,具体操作如 1.3.2 节所述。

1.3.3.1 单因素实验优化 以油莎豆粕中 SDF 含量为评价指标,采用单因素轮换法依次考察纤维素酶添加量(0.3%,0.6%,0.9%,1.2%,1.5%)、酶解温度(30,40,50,60,70 °C)、酶解时间(1.5,2.0,2.5,3.0,3.5 h)和酶解 pH 值(4.5,5.5,6.0,6.5,7.0)对 SDF 含量的影响。

1.3.3.2 正交试验优化 根据单因素实验结果,正交试验设计为纤维素酶添加量、酶解温度、酶解时间和酶解 pH 值 4 个因素,每个因素 3 个水平,每个试验 3 次重复,取平均值。因素与水平见表 1。

### 1.3.4 SDF 的结构特性

1.3.4.1 扫描电镜分析方法 取干燥后的纤维素酶改性前和改性后的 SDF 样品,将其研磨后,采用扫描电子显微镜观察其在放大倍数为 2 000 倍和 5 000 倍下的显微结构。

1.3.4.2 X-射线衍射分析方法 利用 X-射线衍射(X-ray diffraction,XRD)对改性前、后 SDF 的晶体结构进行分析。称取一定量改性前、后的 SDF 样品,测定条件为:管内电压 40 kV,管内电流 40 mA,衍射角范围为 5°~70°,结晶度可利用 Origin 2018 软件计算。

表1 正交试验因素水平表  
Table 1 Orthogonal test factor level table

水平	因素			
	A(酶添加量)/%	B(酶解温度)/°C	C(酶解时间)/h	D(酶解 pH 值)
1	0.6	40	2.0	5.5
2	0.9	50	2.5	6.0
3	1.2	60	3.0	6.5

### 1.3.5 SDF 的物理性质

1.3.5.1 持水力测定 参考 Zhai 等<sup>[19]</sup>的方法稍作修改,称取一定量在 105 °C 烘箱中干燥到恒重的纤维素酶改性前、后的 SDF,水中浸泡 1 h,用 4 倍乙醇溶液将其沉淀,4 000 r/min 离心 15 min,称取沉淀的质量,持水力(Water holding capacity, WHC)计算如公式(2)所示:

$$\text{WHC}(\text{g/g}) = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \quad (2)$$

式中: $m_0$ 为样品质量,g; $m_1$ 为沉淀质量,g。

1.3.5.2 膨胀性测定 参考周淑仪等<sup>[20]</sup>的方法稍作修改,称取一定量纤维素酶改性前、后的 SDF,置于 10 mL 量筒中,加入 5 mL 蒸馏水,充分混匀,待溶液平衡稳定后记录溶液体积,将量筒在室温下静置 24 h,记录吸水后 SDF 溶液的体积,计算膨胀性(Swelling capacity, SC)。其计算方法如公式(3)所示:

$$\text{SC}(\text{mL/g}) = \frac{V_2 - V_1}{m_0} \quad (3)$$

式中: $m_0$ 为样品质量,g; $V_1$ 为吸水膨胀前溶液体积,mL; $V_2$ 为吸水膨胀后溶液体积,mL。

1.3.5.3 持油力测定 参考杜斌等<sup>[21]</sup>的方法稍作修改,称取一定量纤维素酶改性前、后的 SDF,置于 10 mL 离心管中,记录离心管和样品的总质量,加入 3 mL 大豆油,用玻璃棒搅拌 1 min 后,静置 30 min。静置后,1 000 r/min 离心 25 min,将上层未吸附的大豆油除去,称重,记录质量,计算持油力(Oil holding capacity, OHC),其计算方法如公式(4)所示:

$$\text{OHC}(\text{g/g}) = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \quad (4)$$

式中: $m_0$ 为样品质量,g; $m_1$ 为吸油前样品和离心管总质量,g; $m_2$ 为吸油后样品和离心管的总质量,g。

### 1.3.6 SDF 的抗氧化能力

1.3.6.1 DPPH 法测定 参考 Huang 等<sup>[22]</sup>的方法稍作修改。将 DPPH 溶于乙醇,浓度为 0.1 mmol/L,取 2 mL DPPH 乙醇溶液分别加入 2 mL 不同质量浓度改性前、后 SDF 溶液(0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/mL),充分混合后室温避光反应 30 min,于波长 517 nm 下测吸光度  $A_1$ 。用抗坏血酸(VC)作为阳性对照。DPPH 清除率的计算方法如公式(5)所示:

$$\text{DPPH 清除率}(\%) = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100 \quad (5)$$

式中: $A_0$ 为无 SDF 对照组的吸光度; $A_1$ 为 SDF 的吸光度; $A_2$ 为无 DPPH 组的吸光度。

1.3.6.2 ABTS 法测定 参考 Chen 等<sup>[8]</sup>的方法稍作修改。将等体积的 7 mmol/L ABTS 和 1.4 mmol/L 过硫酸钾充分混合,室温避光反应 16 h,制备成 ABTS 自由基。使用前将 ABTS 自由基溶液稀释至吸光度在波长 734 nm 下为  $0.70 \pm 0.02$  的溶液,分别用 0.3 mL 改性前、后不同质量浓度的 SDF 溶液(0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mg/mL)加入 2.7 mL ABTS 自由基溶液,混匀后室温静置 5 min,于  $\text{OD}_{734\text{nm}}$  测吸光度  $A_1$ 。用 VC 作阳性对照。ABTS 清除率的计算方法如公式(6)所示:

$$\text{ABTS 清除率}(\%) = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100 \quad (6)$$

式中: $A_0$ 为无 SDF 对照组的吸光度; $A_1$ 为 SDF 的吸光度; $A_2$ 为无 ABTS 自由基组的吸光度。

1.3.6.3 水杨酸法测定 参考 Huang 等<sup>[22]</sup>的方法稍作修改。取 6 mmol/L  $\text{FeSO}_4$ 、6 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液各 1 mL,加入 1 mL 改性前、后不同质量浓度(0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/mL)的 SDF 溶液,重复混匀,40 °C 水浴 1 h,于  $\text{OD}_{510\text{nm}}$  处测吸光度  $A_1$ 。用 VC 作阳性对照。羟基自由基的清除率计算方法如公式(7)所示:



$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = (1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}) \times 100 \quad (7)$$

式中: $A_0$ 为无SDF对照组的吸光度; $A_1$ 为SDF的吸光度; $A_2$ 为无 $H_2O_2$ 组的吸光度。

1.3.6.4 铁氰化钾还原法测定 参考尹培培等<sup>[23]</sup>的方法稍作修改。将2 mL改性前、后不同浓度的SDF溶液加入10 mL离心管,再分别加入pH 6.6的2 mL 0.2 mol/L磷酸缓冲液和2 mL 1%的铁氰化钾溶液,混匀后于50 °C反应20 min,冷却至室温加入2 mL 10%三氯乙酸溶液终止反应,混匀后10 000 r/min离心10 min后,取2 mL上清液。将2 mL无菌水和0.4 mL 1%的 $FeCl_3$ 溶液加入上清液中,混匀后室温下避光反应10 min,在10 000 r/min离心10 min后,取上清液在 $OD_{700nm}$ 时测吸光度。用VC作阳性对照。

#### 1.4 数据统计与分析

结果均为“平均值±标准差”,每组试验重复3次,采用SPSS 24.0软件分析,改性前、后油莎豆粕可溶性膳食纤维理化性质采用 $t$ 检验分析,剩余指标均采用单因素方差分析,并采用Duncan法进行显著性统计检验,以 $P < 0.05$ 作为差异显著性判断标准,使用Origin 2018软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SDF制备工艺优化单因素实验

通过试验可知,在未加入纤维素酶时,油莎豆粕中SDF含量为 $(3.55 \pm 0.17)\%$ ,加入纤维素酶后,SDF含量受其作用效果的影响发生变化,具体试验结果如下。

2.1.1 纤维素酶添加量对SDF含量的影响 考察不同纤维素酶用量(0.3%,0.6%,0.9%,1.2%,1.5%)对油莎豆粕中SDF含量的影响,结果如图1所示,在0.3%~0.9%范围内,SDF的含量随纤维素酶剂量的增加呈显著性升高( $P < 0.05$ ),且在纤维素酶用量为0.9%时达到峰值,含量为6.64%。SDF含量的提高可能与提高酶与原料的接触率有关。Idrovo等<sup>[24]</sup>向胡萝卜粉中添加纤维素酶后,SDF的产率也有所提高。在0.9%~1.5%范围内,SDF的含量随着酶添加剂量升高而降低。当酶添加过量时,所得到的SDF会发生水解,生成分子质量更低且不能被乙醇沉淀的葡萄糖、寡糖等糖类物质,进而

降低油莎豆粕中SDF的含量<sup>[25-26]</sup>。

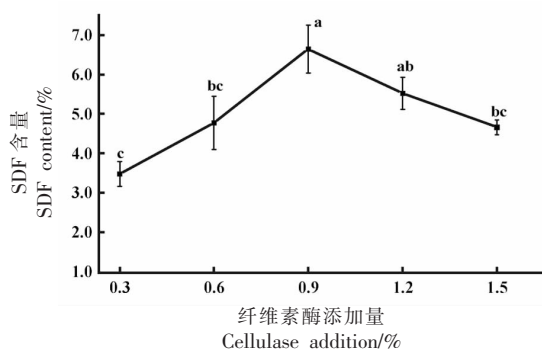
2.1.2 酶解温度对SDF含量的影响 考察纤维素酶酶解温度(30,40,50,60,70 °C)对油莎豆粕中SDF含量的影响,结果如图2所示,随着酶解温度的升高,SDF含量先升高后降低。当纤维素酶酶解温度为50 °C时,SDF含量达到最大值,为6.12%。酶解温度低时,纤维素酶活性不能完全表达。这可能是由于随着纤维素酶酶解温度的升高,使酶解的分子数增多,酶解反应加快,有利于对SDF的提取。酶解温度过高时,纤维素酶失活,酶解反应速度受到限制。此外,高温可能会使反应中的溶剂汽化并破坏其有效成分,导致载体与溶剂之间接触不足<sup>[27]</sup>。

2.1.3 酶解时间对SDF含量的影响 纤维素酶酶解时间(1.5,2.0,2.5,3.0,3.5 h)对SDF含量的影响结果如图3所示,随着酶解时间的延长,油莎豆粕中SDF含量先升高后降低。当酶解时间为2.5 h时,SDF含量达到最大,为5.79%。酶解时间较短时,纤维素酶不能完全与油莎豆粕作用;酶解时间过长时,纤维素酶可使SDF进一步降解,导致含量降低。

2.1.4 酶解pH值对SDF含量的影响 纤维素酶酶解pH值(4.5,5.5,6.0,6.5,7.0)对SDF含量的影响结果如图4所示,当酶解液pH值在5.0~6.0内时,油莎豆粕中SDF的含量随pH的增大而增大,当pH继续增大后,油莎豆粕中SDF含量开始降低。其中酶解液pH值为6.0时,SDF含量达到最高,为7.60%。由此可知酶解时pH条件对SDF的制备具有较大影响,造成这一结果的原因可能与纤维素酶最适pH和油莎豆粕中SDF产物有关。一方面,当pH值低于或高于纤维素酶最适pH时,会导致其酶活力降低,本研究中纤维素酶最适pH值为5.5左右;另一方面,SDF产物纤维二糖和葡萄糖等是纤维素酶抑制剂,会降低纤维素酶活性。

### 2.2 SDF改性制备工艺正交试验优化

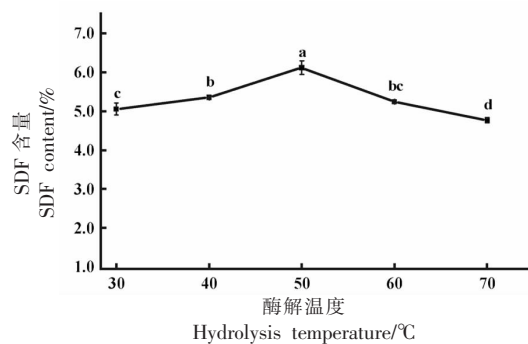
表2为正交试验结果,根据极差 $r$ 值可知,影响SDF含量大小的因素排序为 $D > A > B > C$ 。酶解pH值的影响最大,酶解时间的影响最小,这是由于纤维素酶活性对各因素的敏感度不同,相对而言,提取液的酸碱度对其影响最大。根据各因素平均值和直观比较,最佳工艺条件为 $A_2B_1C_2D_3$ ,即



注:不同字母标注的数据表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图 1 纤维素酶添加量对油莎豆粕 SDF 含量的影响

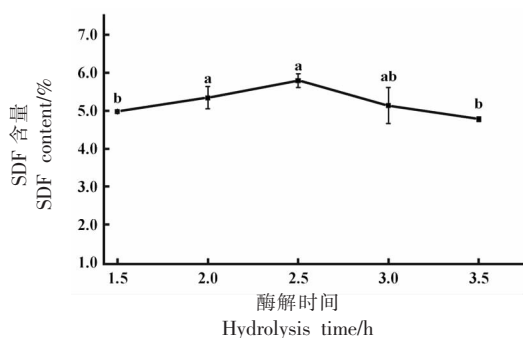
Fig.1 Effect of cellulase addition on SDF content in *Cyperus esculentus* meal



注:不同字母标注的数据表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图 2 纤维素酶酶解温度对油莎豆粕 SDF 含量的影响

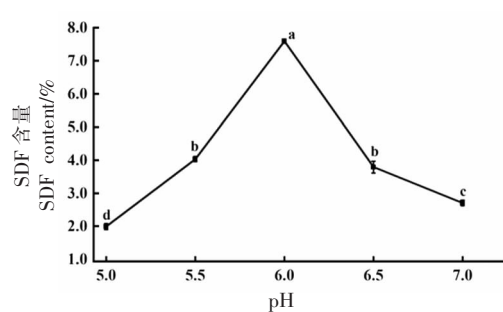
Fig.2 Effect of cellulase hydrolysis temperature on SDF content in *Cyperus esculentus* meal



注:不同字母标注的数据表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图 3 纤维素酶酶解时间对油莎豆粕 SDF 含量的影响

Fig.3 Effect of cellulase hydrolysis time on SDF content in *Cyperus esculentus* meal



注:不同字母标注的数据表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图 4 纤维素酶酶解 pH 值对油莎豆粕 SDF 含量的影响

Fig.4 Effect of cellulase hydrolysis pH value on SDF content in *Cyperus esculentus* meal

SDF 最佳酶解工艺为纤维素酶添加量 0.9%,酶解温度 40 °C,酶解时间 2.5 h,酶解 pH 值为 6.5,油莎豆粕中 SDF 含量达到最高值 ( $10.86 \pm 0.17$ )%。由于试验中各因素间相互影响,共同作用下反映出的最佳改性工艺与单因素实验结果有所不同。采取正交法从全面试验中挑选有代表性的部分,观察各因素间的影响程度,最终选取最佳改性工艺,在一定程度上也提高了油莎豆粕 SDF 的含量。

## 2.3 SDF 结构特性分析

2.3.1 扫描电镜分析 用扫描电子显微镜观察了放大倍数为 2 000 倍和 5 000 倍下纤维素酶改性前、后 SDF 的形态特征,结果如图 5 所示。这些显微图像清楚地显示了改性前、后 SDF 之间的形态变化。改性前 SDF 为不规则形状的碎片,部分表面粗糙,分布有许多小孔或者凹槽,符合 SDF 的一般形态;改性后 SDF 结构较改性前差异较大,

由碎片状变为蜂窝状,表面出现大量的孔洞,整体更加松散、粗糙。Hua 等<sup>[28]</sup>通过扫描电镜观察人参渣中 SDF 结构同样具有大量孔洞和蜂窝状网络结构。这表明纤维素酶改性可以破坏纤维素、半纤维素和木质素的基质,从而促进 IDF 向 SDF 的转化<sup>[16]</sup>。Ma 等<sup>[29]</sup>也得到了类似的结果。SDF 的微观结构决定了其物理化学性质。多孔和蜂窝网格状结构会增加比表面积,暴露出更多的极性基团,从而促进水和油的吸附和结合,可能进一步影响其在各领域的应用。

2.3.2 X-射线衍射分析 XRD 是通过分析 X-射线在试验晶体中衍射产生的晶体衍射效应现象,来检测试验样品晶体结构差异。衍射强度受纤维的结晶度以及照射角的影响,根据它们的变化可以绘制 XRD 曲线,如图 6 所示。SDF 主要为非结晶区域,然而也存在部分结晶区域,通过纤维素酶

表2 正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal experimental design and results

试验号	因素				SDF 含量/%
	A(酶添加量)	B(酶解温度)	C(酶解时间)	D(酶解 pH 值)	
1	1	1	1	1	7.39 ± 0.01
2	1	2	2	2	8.44 ± 0.20
3	1	3	3	3	9.57 ± 0.05
4	2	1	2	3	10.86 ± 0.17
5	2	2	3	1	8.02 ± 0.03
6	2	3	1	2	8.89 ± 0.09
7	3	1	3	2	9.15 ± 0.03
8	3	2	1	3	9.67 ± 0.08
9	3	3	2	1	7.78 ± 0.03
$K_1$	25.40	27.40	25.95	23.19	
$K_2$	27.77	26.13	27.08	26.48	
$K_3$	26.60	26.24	26.48	30.10	
$k_1$	8.47	9.13	8.65	7.73	
$k_2$	9.26	8.71	9.03	8.83	
$k_3$	8.87	8.75	8.83	10.03	
$r$	0.79	0.42	0.38	2.3	
主要因素					$D > A > B > C$
优化方案					$A_2B_1C_2D_3$

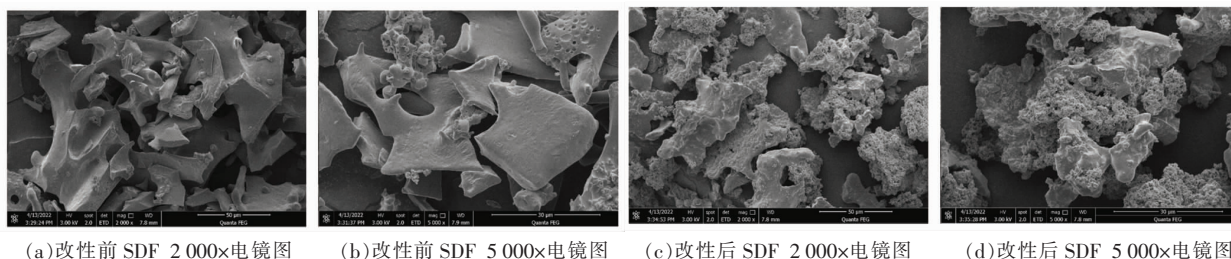


图5 纤维素酶酶解改性前、后油莎豆粕 SDF 扫描电镜图

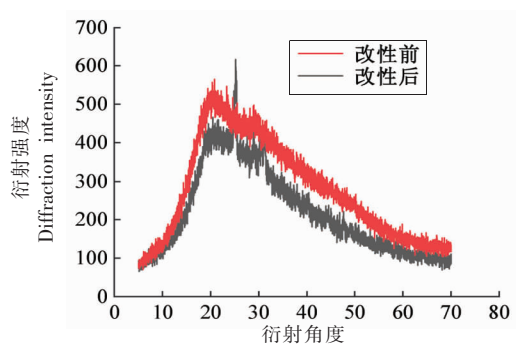
Fig.5 Scanning electron microscopy of *Cyperus esculentus* meal SDF before and after cellulase enzymatic

图6 纤维素酶酶解改性前、后油莎豆粕 SDF 的 X-射线衍射图

Fig.6 X-ray diffraction patterns of SDF from *Cyperus esculentus* meal before and after enzymatic hydrolysis modification

改性后可改变 SDF 结晶度，改性后的 SDF 结晶度由改性前的 6.79% 降至 4.61%。改性前、后的峰型和出峰位置大部分没有明显变化，然而在衍射角为  $25.22^\circ$  时，出现明显特征衍射峰，说明纤维素酶改性对样品颗粒内部的晶体结构产生了一定程度的破坏，使 SDF 变得蓬松，晶体结构发生一些改变，可能会发生重排成为更规则的分子，也可能是由半纤维素木聚糖的衍射峰引起的无定形的峰<sup>[29-30]</sup>。在  $25^\circ \sim 30^\circ$  之间也有一些微弱的衍射峰，表明改性前和改性后 SDF 均显示晶态和非晶态共存的状态<sup>[14]</sup>。脱晶是激活纤维素功能的一种重要途径，因此，晶体结构改变暗示其理化特性



和生物学功能发生变化。

## 2.4 SDF 物理性质分析

持水力、膨胀性和持油力是衡量 SDF 物理性质的重要指标,研究结果如表 3 所示,纤维素酶改性显著提高油莎豆粕 SDF 的持水力、膨胀性和持油力( $P < 0.05$ ),其中持水力从 2.95 g/g 提高为 4.56 g/g,膨胀性从 2.63 mL/g 提高为 3.78 mL/g,持油力从 2.63 g/g 提高为 3.64 g/g(表 3)。持水力和膨胀性反映了 SDF 的水合能力,可衡量 SDF 的保

水性能<sup>[30]</sup>。纤维素酶改性可以打破半纤维素和纤维素之间的  $\beta$ -糖苷键,使得羟基、羧基和氨基等更多的亲水基团暴露出来<sup>[16]</sup>,因而可以提高其水合能力。Daiva 等<sup>[31]</sup>也得到了相似的结论。持油力反映油莎豆粕 SDF 结合油脂的能力,与纤维颗粒的表面结构、疏水性和总电荷密度有关。酶改性作用使原本紧密的结构变得疏松,比表面积增大,孔隙增多,因此油脂更易被吸附。

表 3 改性前、后油莎豆粕可溶性膳食纤维理化性质分析结果

Table 3 Analysis results of physicochemical properties of soluble dietary fiber of *Cyperus esculentus* meal before and after modification

样品	持水力/(g/g)	膨胀性/(mL/g)	持油力/(g/g)
改性前 SDF	2.95 ± 0.075	2.63 ± 0.015	2.63 ± 0.034
改性后 SDF	4.56 ± 0.040**	3.78 ± 0.060**	3.64 ± 0.039**

注:\*\*. 表示不同数据之间差异极显著( $P < 0.01$ )。

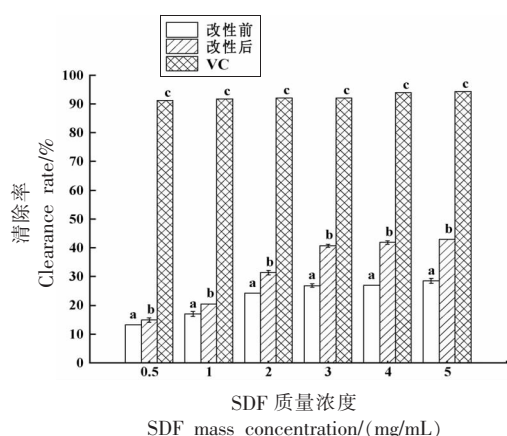
## 2.5 SDF 抗氧化能力分析

2.5.1 对 DPPH 自由基的清除能力 DPPH 化学结构稳定,溶于乙醇呈紫色,DPPH 被捕获并清除溶液中其它自由基后,颜色变浅或消失,其褪色程度与清除自由基的量成正比<sup>[32]</sup>。图 7 描述了改性前、后 SDF 对 DPPH 自由基清除的能力,以 VC 作对照。整体来看改性前 SDF、改性后 SDF 和 VC 的 DPPH 自由基清除率差异显著( $P < 0.05$ ),VC 的清除率均达 90%以上,表现出极强的抗氧化性。SDF 质量浓度在 0.5~5 mg/mL 范围内,改性前、后的 SDF 清除能力均随质量浓度的升高呈明显的上升趋势,其中改性前由 13.16%增至 28.45%,改性后由 14.87%增至 42.87%。因为 SDF 含量越高,其结构就越疏松,疏松的结构会暴露出更多的电子供体,从而提升其清除自由基的能力。同时,在不同质量浓度下也发现改性后 SDF 对自由基的清除率显著高于改性前( $P < 0.05$ ),可能是纤维素酶作用使其含有更多的阿拉伯木聚糖、木聚糖等还原糖<sup>[18]</sup>,从而对 DPPH 的清除能力增强。

2.5.2 对 ABTS 自由基的清除能力 ABTS 法被广泛应用于样品的总抗氧化能力的测定,当样品中存在抗氧化成分时,反应体系颜色变浅,褪色程度与抗氧化成分清除 ABTS<sup>+</sup>自由基的量成正比<sup>[32]</sup>。

在波长 734 nm 处吸光度降低,吸光度越低,表明所检测物质的总抗氧化能力越强。图 8 为改性前、后 SDF 对 ABTS<sup>+</sup>自由基的清除能力。改性前 SDF、改性后 SDF 和 VC 的 ABTS 自由基清除率有显著差异( $P < 0.05$ ),其中 VC 的清除率均达 99%以上,表现出极强的抗氧化性。SDF 质量浓度在 0.5~5 mg/mL 范围内,纤维素酶改性前、后的 SDF 清除能力均随质量浓度的升高呈明显的上升趋势,其中改性前由 4.63%增至 42.38%,改性后由 5.56%增至 44.05%。在不同质量浓度下也可发现改性后 SDF 的清除率显著高于改性前( $P < 0.05$ ),抗氧化能力在酶解改性下增强,然而与清除 DPPH 自由基相比,改性前、后的差异较小。由于 DPPH、ABTS<sup>+</sup>自由基的清除均主要依靠抗氧化剂的供氢能力来实现,猜测 SDF 抗氧化能力增强的原因可能与 DPPH 法中提到还原糖含量增加有关。

2.5.3 对羟自由基的清除能力 水杨酸法指在试剂的作用下 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的氧被还原产生·OH,水杨酸与·OH 结合生成有色化合物,根据颜色变化,吸光度会发生变化,根据吸光度值可以计算出 SDF 对·OH 的清除率<sup>[33]</sup>。结果如图 9 所示,在一定范围内,改性前 SDF、改性后 SDF 和 VC 对·OH 清除率均逐渐增强,说明 SDF 和 VC 对·OH 的清除能力存在一定的量效关系。其中 VC 的清除率达 99%

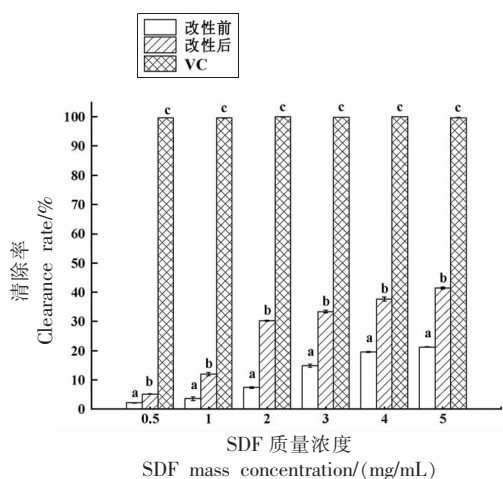


注:不同字母标注的数据表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图7 纤维素酶酶解改性前、后油莎豆粕 SDF 对 DPPH 自由基的清除能力

Fig.7 Scavenging ability of SDF from *Cyperus esculentus* meal on DPPH free radical before and after cellulase hydrolysis modification

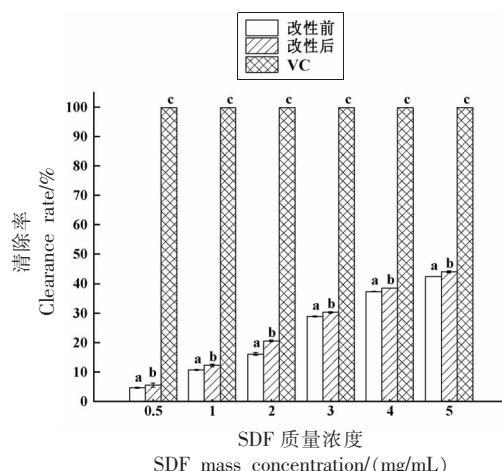
以上,显著高于 SDF 的清除率( $P < 0.05$ )。改性前 SDF 和改性后 SDF 的 $\cdot\text{OH}$ 清除率在质量浓度为 0.5~5 mg/mL 范围内,呈上升趋势且差异显著,其中改性前由 2.18%增至 21.28%,改性后由 5.20%增至 41.46%。在相同质量浓度下,改性前的清除率明显低于改性后的清除率。可能是由于纤维素酶改性使 SDF 含量增加,粒径变小,官能团暴露,



注:不同字母标注的数据表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图9 纤维素酶酶解改性前、后油莎豆粕 SDF 对羟基自由基的清除能力

Fig.9 Scavenging capacity of SDF from *Cyperus esculentus* meal on hydroxyl radical before and after cellulase enzymatic modification



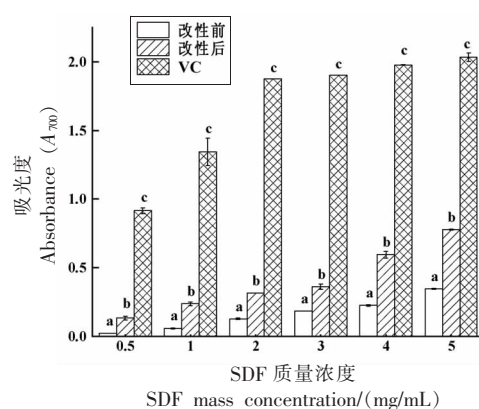
注:不同字母标注的数据表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图8 纤维素酶酶解改性前、后油莎豆粕 SDF 对 ABTS 自由基的清除能力

Fig.8 Scavenging ability of *Cyperus esculentus* meal SDF to ABTS free radicals before and after cellulase enzymatic modification

出现更多的供氢体或电子供体<sup>[34]</sup>,从而使改性后 SDF 的抗氧化力增强。

2.5.4 对铁氰化钾的还原能力 抗氧化活性与还原力之间存在相关性,可通过测定还原力来表示抗氧化活性强弱。测得溶液吸光度值越高,还原能力越强,抗氧化能力也越强。结果如图 10 所示,可看出纤维素酶改性前、后的 SDF 和 VC 对溶液影



注:不同字母标注的数据表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图10 纤维素酶酶解改性前、后油莎豆粕 SDF 对铁氰化钾的还原能力

Fig.10 Reduction ability of *Cyperus esculentus* meal SDF to potassium ferricyanide before and after cellulase enzymatic modification



响较大,吸光值测定差异显著( $P < 0.05$ ),且均随着样品质量浓度的升高,吸光度值有明显的上升趋势,表明试验组和对照组将铁氰化钾中的  $Fe^{3+}$  (棕红色)还原成  $Fe^{2+}$  (浅绿色)的能力越来越强。其中 VC 的吸光值可升至 2.034,证明其具有强还原性。在质量浓度为 5 mg/mL 时,改性前、后 SDF 的吸光度分别达到了 0.346 和 0.778。同一质量浓度下改性后 SDF 的吸光值显著高于改性前 ( $P < 0.05$ ),进一步说明酶解改性后 SDF 抗氧化能力更强。

### 3 结论

本文探究了纤维素酶改性油莎豆粕 SDF 的最佳工艺条件,对改性前、后 SDF 的结构、理化特性与抗氧化功能进行研究。结果表明,纤维素酶改性最佳制备条件:酶添加量 0.9%,酶解温度 40 °C,酶解时间 2.5 h,酶解 pH 6.5,SDF 含量较改性前有较大提升,达到 10.86%。经扫描电镜和 X-射线衍射分析,改性后 SDF 孔隙增多,呈蜂窝网格状结构,比表面积增加,暴露出更多的极性基团,结晶度降低,较改性前结构特性有所改善。纤维素酶改性显著提高了油莎豆粕 SDF 的持水力、膨胀性和持油力等理化性质;也显著提高了对 DPPH 自由基、ABTS 自由基和  $\cdot OH$  的清除力以及还原  $Fe^{3+}$  等抗氧化能力。本试验为油莎豆粕副产物资源的充分利用,开发高得率的新型 SDF 产品提供思路,同时为利用酶法改性获得高品质 SDF 提供了理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] SUN J H, WANG T W, HUA F Q, et al. Silage fermentation: A potential microbial approach for the forage utilization of *Cyperus esculentus* L. by-product[J]. Fermentation, 2021, 7(4): 273-273.
- [2] GENDY A E N G E, IBRAHIM A Y, IBRAHIM A E, et al. Evaluation of the productivity of *Cyperus esculentus* L. cultivated in different phytogeographical locations in Egypt (ex-situ conservation) and its anti-oxidant activity[J]. Egyptian Pharmaceutical Journal, 2020, 19(2): 97-102.
- [3] 连四超, 刘玉兰, 朱文学, 等. 油莎豆脱皮和榨油条件对其工艺效果的影响[J]. 中国油脂, 2021, 46(12): 6-10.
- [4] LIAN S C, LIU Y L, ZHU W X, et al. Influence of decortication and pressing oil conditions on the process effect of *Cyperus esculentus* [J]. China Oils and Fats, 2021, 46(12): 6-10.
- [5] 赵永国. 我国育成首个高油高产油莎豆品种[J]. 食品工业, 2018, 39(4): 284.
- [6] ZHAO Y G. The first high oil and high yield sedge variety bred in China[J]. Food Industry, 2018, 39(4): 284.
- [7] 师煌伟, 王力, 王璐, 等. 油莎豆粕的营养价值及其替代部分玉米对生长猪的饲喂效果研究[J]. 中国畜牧杂志, 2022, 58(1): 178-182.
- [8] SHI H W, WANG L, WANG L, et al. Nutritional value of *Cyperus esculentus* meal and the effect of its different replacement levels with corn on growing pig[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2022, 58(1): 178-182.
- [9] YU Y L, LU X Y, ZHANG T H, et al. Tiger nut (*Cyperus esculentus* L.): Nutrition, processing, function and applications[J]. Foods, 2022, 11(4): 601-620.
- [10] SANCHEZ-ZAPATA E, FUENTES-ZARAGOZA E, FERNANDEZ-LOPEZ J, et al. Preparation of dietary fiber powder from tiger nut (*Cyperus esculentus*) milk ("Horchata") byproducts and its physicochemical properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(17): 7719-7725.
- [11] 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.
- [12] GOFF H D, REPIN N, FABEK H, et al. Dietary fibre for glycaemia control: Towards a mechanistic understanding[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2018, 14: 39-53.
- [13] JONES, J M. CODEX -aligned dietary fiber definitions help to bridge the 'fiber gap'[J]. Nutrition Journal, 2014, 13(1): 34-44.
- [14] SHEHZAD H, MINAXI S, RAJEEV B. Valorisation of sea buckthorn pomace by optimization of ultrasonic-assisted extraction of soluble dietary fibre using response surface methodology[J]. Foods, 2021,

- 10(6): 1330–1341.
- [12] LI S Y, LI J S, ZHU Z Z, et al. Soluble dietary fiber and polyphenol complex in lotus root: Preparation, interaction and identification[J]. Food Chemistry, 2020, 314(C): 126219.
- [13] WEI C H, GE Y F, LIU D Z, et al. Effects of high-temperature, high-pressure, and ultrasonic treatment on the physicochemical properties and structure of soluble dietary fibers of millet Bran[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 8: 820715.
- [14] CHEN J J, HUANG H R, CHEN Y, et al. Effects of fermentation on the structural characteristics and *in vitro* binding capacity of soluble dietary fiber from tea residues[J]. LWT, 2020, 131: 109818.
- [15] HAI R H, JIA J C, YI C, et al. Modification of tea residue dietary fiber by high-temperature cooking assisted enzymatic method: Structural, physicochemical and functional properties[J]. LWT, 2021, 145: 111314.
- [16] MENG S, WANG W H, LONG K C. Soluble dietary fibers from black soybean hulls: Physical and enzymatic modification, structure, physical properties, and cholesterol binding capacity[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(6): 1668–1674.
- [17] LI Y N, YU Y S, WU J J, et al. Comparison the structural, physicochemical, and prebiotic properties of litchi pomace dietary fibers before and after modification[J]. Foods, 2022, 11(3): 248–259.
- [18] 张帅, 郭晓雪, 任丽琨, 等. 酶法改性影响膳食纤维的构成及生物作用效果的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(4): 1089–1098.
- ZHANG S, GUO X X, REN L K, et al. Research progress of enzymatic modification on the composition and biological effects of dietary fiber[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(4): 1089–1098.
- [19] ZHAI X Y, AO H P, LIU W H, et al. Physicochemical and structural properties of dietary fiber from *Rosa roxburghii* pomace by steam explosion[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 59(6): 1–11.
- [20] 周淑仪, 李敏. 百香果皮可溶性膳食纤维酶法提取及性质研究[J]. 食品科技, 2019, 44(7): 283–290.
- ZHOU S Y, LI M. The enzymatic extraction and characteristics of soluble dietary fiber from passion fruit peel[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(7): 283–290.
- [21] 杜斌, 冯军, 李苗苗, 等. 发酵法制取蓝莓果渣可溶性膳食纤维工艺优化及其特性分析[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(9): 118–123.
- DU B, FENG J, LI M M, et al. Optimization of fermentation of blueberry pomace for soluble dietary fiber preparation and quality indexes analysis [J]. Food Research and Development, 2020, 41(9): 118–123.
- [22] HUANG L R, ZHANG W X, CHENG J, et al. Antioxidant and physicochemical properties of soluble dietary fiber from garlic straw as treated by energy-gathered ultrasound[J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 678–688.
- [23] 尹培培, 刘昌衡, 赵鲁豫, 等. 芦笋膳食纤维及酚类物质的抗氧化活性[J]. 食品工业, 2019, 40(7): 190–194.
- YIN P P, LIU C H, ZHAO L Y, et al. Antioxidant activity of dietary fibers and phenolic compounds in Asparagus[J]. Food Industry, 2019, 40(7): 190–194.
- [24] IDROVO E A M, PÉREZ C D, GERSCHENSON L N, et al. Gelling pectins from carrot leftovers extracted by industrial-enzymes with ultrasound pretreatment[J]. LWT, 2019, 111: 640–646.
- [25] 王天, 江含秀, 路丽妮, 等. 藜麦可溶性膳食纤维提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(2): 137–146.
- WANG T, JIANG H X, LU L N, et al. Optimization of extraction process of quinoa soluble dietary fiber and its antioxidant activity[J]. China Food Additives, 2022, 33(2): 137–146.
- [26] 李晶, 张连富. 玉米皮水溶性膳食纤维的酶法制备[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(10): 112–117.
- LI J, ZHANG L F. The preparation of water-soluble dietary fiber from corn bran by enzymatic hydrolysis [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2014, 29(10): 112–117.
- [27] 杨翠凤, 滕峥, 吴观英, 等. 超声波辅助酶法提取百香果籽可溶性膳食纤维 (英文)[J]. Agricultural Science & Technology, 2020, 21(1): 28–32.
- YANG C F, TENG Z, WU G Y, et al. Ultrasound-assisted enzymatic extraction of SDF on passion fruit seeds[J]. Agricultural Science & Technology, 2020, 21(1): 28–32.
- [28] HUA M, SUN Y S, SHAO Z J, et al. Functional

- soluble dietary fiber from ginseng residue: Polysaccharide characterization, structure, antioxidant, and enzyme inhibitory activity[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2020, 44(12): e13524.
- [29] MA R, CHEN J N, ZHOU X J, et al. Effect of chemical and enzymatic modifications on the structural and physicochemical properties of dietary fiber from purple turnip (*Brassica rapa* L.) [J]. *LWT*, 2021, 145: 111313.
- [30] 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(C): 105549.
- [31] DAIVA Z, RUTA V, RIMGAILĖ D, et al. A comparative study on the structural and functional properties of water-soluble and alkali-soluble dietary fibres from rice bran after hot-water, ultrasound, hydrolysis by cellulase, and combined pre-treatments [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2021, 57(2): 1137–1149.
- [32] CAROCHO M, FERREIRA I C F R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 51(1): 15–25.
- [33] YU P, LI X D, CHEN G H, et al. Hydrogen peroxide-generating nanomedicine for enhanced chemodynamic therapy [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2021, 32(7): 2127–2138.
- [34] MEDEIROS F M, COSTA B L A N, LUCAS S V R, et al. Gallic acid-laminarin conjugate is a better antioxidant than sulfated or carboxylated laminarin [J]. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2020, 9(12): 1192.

### Studies on Structure and Function of Cellulase-Modified Soluble Dietary Fiber from *Cyperus esculentus* Meal

Zhou Longzhu<sup>1,2</sup>, Wang Peng<sup>1\*</sup>, Dong Shuang<sup>1,3</sup>, Wang Jing<sup>1</sup>, Ding Xuechun<sup>1</sup>, Yang Na<sup>1</sup>,  
Wang Jinrong<sup>1</sup>, Qiao Hanzhen<sup>1</sup>, Gan Liping<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001

<sup>2</sup>State Key Laboratory of Animal Nutrition and Feeding, Institute of Animal Sciences of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193

<sup>3</sup>College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193

**Abstract** Utilizing *Cyperus esculentus* meal as raw material, soluble dietary fiber (SDF) was extracted from it using a composite enzyme method ( $\alpha$ -amylase, glucoamylase and trypsin). The SDF was enzymatically modified by cellulase, and the enzymatic hydrolysis conditions of cellulase (enzyme addition amount, enzymatic hydrolysis temperature, enzymatic hydrolysis time, enzymatic hydrolysis pH value) were optimized. The content, physicochemical properties, structural characteristics and antioxidant capacity of SDF before and after modification were compared. The results showed that the optimum conditions for cellulase modification were as follows: pH 6.5, hydrolysis temperature 40 °C, enzyme addition 0.9%, hydrolysis time 2.5 h, SDF content increased from 3.55% to 10.86%. By observing the ultrastructure, it was found that the modification changed the fiber structure, weakened the diffraction peak intensity, improved its structural characteristics, and improved the microstructure characteristics. In addition, cellulase modification increased the water holding capacity, swelling capacity and oil holding capacity of *Cyperus esculentus* meal SDF by 54.58%, 43.73% and 38.40%, respectively. When the mass concentration of SDF was in the range of 0.5–5 mg/mL, the scavenging ability of modified SDF on 1,1-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical, hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ) was significantly improved. The highest values were 42.87%, 44.05% and 41.46%, and the ability to reduce  $\text{Fe}^{3+}$  increased by 1.25 times at 5 mg/mL. This study provides a reference for further improving the development value of *Cyperus esculentus* meal and its application in human food and pharmaceutical industry.

**Keywords** *Cyperus esculentus* meal; soluble dietary fiber; structural properties; physicochemical properties; antioxidant capacity