

# 酶法提取石榴皮不溶性膳食纤维的工艺条件优化

杜 艳, 朱彩平\*

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 西安 710119)

**摘要:** **目的** 优化石榴皮中不溶性膳食纤维酶法提取的最优条件。**方法** 以果胶酶和木瓜蛋白酶水解石榴皮为原料, 以石榴皮不溶性膳食纤维得率为指标, 对液料比、酶添加量、酶解温度以及酶解时间 4 个单因素对石榴皮不溶性膳食纤维得率影响的基础上进行  $L_9(3^4)$  的正交优化试验。**结果** 在液料比为 20:1( $m/V$ )的条件下, 果胶酶添加量 0.9%, 酶解温度 55 °C, 酶解时间 65 min; 木瓜蛋白酶添加量 0.6%, 酶解温度 50 °C, 酶解时间 45 min, 在此条件下, 石榴皮不溶性膳食纤维的得率可达 31.87%±0.27%。**结论** 酶法提取石榴皮不溶性膳食纤维得率高, 条件温和、安全性高、利于环保。

**关键词:** 石榴皮; 酶法提取; 不溶性膳食纤维

## Optimization of process conditions for extracting pomegranate skin insoluble dietary fiber by enzymatic method

DU Yan, ZHU Cai-Ping\*

(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

**ABSTRACT: Objective** To optimized the process conditions for extracting pomegranate skin insoluble dietary fiber by enzymatic method **Methods** Pectinase and papain were used to hydrolyze pomegranate peel, and the yield of pomegranate peel insoluble dietary fiber was used as the experimental index. The orthogonal optimization experiment of  $L_9(3^4)$  was carried out on the basis of the influence of liquid-to-liquid ratio, enzyme addition amount, enzymatic hydrolysis temperature and enzymatic hydrolysis time on the yield of pomegranate skin insoluble dietary fiber. **Results** Under the condition of liquid-solid ratio ( $m/V$ ) of 20:1, the pectinase addition amount was 0.9%, the enzymatic hydrolysis temperature was 55 °C, and the enzymatic hydrolysis time was 65 min; the papain addition amount was 0.6%, the enzymatic hydrolysis temperature was 50 °C, and the hydrolysis time was 45 min. Under these conditions, the yield of pomegranate skin insoluble dietary fiber can reach 31.87%±0.27%. **Conclusion** Enzymatic extraction of pomegranate skin insoluble dietary fiber has high yield, mild conditions, high safety and environmental protection.

**KEY WORDS:** pomegranate peel; enzymatic extraction; insoluble dietary fiber

## 1 引言

石榴, 是石榴科石榴属落叶果树, 别名安石榴、丹若、

天浆等。新鲜石榴压榨成汁, 颜色鲜艳, 酸甜可口, 且坚持饮用有美容养颜的功效, 因其对人体健康有益, 现在已经广泛应用于很多国家的民间医学配方中<sup>[1,2]</sup>。石榴皮

基金项目: 国家自然科学基金项目(31301598)、中央高校基本科研业务费专项资金项目(GK201803086)

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (31301598) and Fundamental Research Fund for the Central Universities of China (GK201803086)

\*通讯作者: 朱彩平, 副教授, 主要研究方向为农副产品加工及利用。E-mail: zcaiping@snnu.edu.cn

\*Corresponding author: ZHU Cai-Ping, Associated Professor, College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xian 710119, China. E-mail: zcaiping@snnu.edu.cn

是石榴果的表皮, 大约是石榴鲜重的 40%<sup>[3]</sup>, 含有丰富的营养和生物活性成分, 如多糖、鞣质、多酚、氨基酸和维生素 C 等<sup>[4]</sup>, 还具有消炎、抗氧化、抗病毒等药理活性<sup>[5]</sup>。

膳食纤维被称为人类第七大营养素, 是维持人类身体健康和促进生长发育的必需营养素之一<sup>[6]</sup>。根据其在水中的溶解特性, 可分为水溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF)和水不溶性膳食纤维(insoluble dietary fiber, IDF)两大类<sup>[7]</sup>。IDF 主要是由一些细胞壁成分组成的, 包括半纤维素、纤维素、木质素和抗性淀粉等; SDF 主要包括一些树胶、果胶、菊粉和藻胶等物质<sup>[8]</sup>。

根据膳食纤维的结构特性和原料的理化特性, 可以采用化学法(酸法或碱法等)、酶法以及化学-酶结合等方法来提取膳食纤维<sup>[3,9]</sup>。一般情况下, 采用碱法提取膳食纤维的研究居多, 但碱法制得的纤维素产品, 色泽较差, 不易漂白, 且由于操作产生的大量废水会对环境造成严重污染。本实验室前期已采用碱法(NaOH)提取过石榴皮中的不溶性膳食纤维<sup>[10]</sup>, 发现所得的不溶性膳食纤维产品色泽较深, 且不易脱色。

本研究拟采用酶法提取石榴皮中不溶性膳食纤维, 并优化其工艺条件, 以期克服碱法提取的缺点并避免化学试剂对纤维素半纤维素的降解, 为石榴皮不溶性膳食纤维的工业化生产提供参考依据。

## 2 材料与方 法

### 2.1 材料与试剂

石榴购于陕西省西安市临潼区, 净皮甜品种; 果胶酶、木瓜蛋白酶(分析纯, 北京索莱宝生物科技有限公司); 氢氧化钠(分析纯, 天津天力化学试剂有限公司)。

### 2.2 仪器与设备

BS-224-S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); HH-S4 电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); Microflex 手提式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司); GZX-9146 MBE 数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂)。

### 2.3 实验方法

#### 2.3.1 工艺流程

原料→预处理→果胶酶水解→灭酶→冷却→木瓜蛋白酶水解→灭酶→趁热抽滤→滤渣→烘干→水不溶性膳食纤维成品。

#### 2.3.2 操作要点

石榴皮预处理: ①清洗: 在流淌的、清澈的自来水下冲洗 5 min, 边冲洗边轻轻搓洗石榴皮表面, 使其上的灰

尘、泥垢等杂质去除掉; ②切块、烘干: 将清洗干净的石榴皮用小刀切成均匀的块状以加快其烘干速度, 烘干时在 50~55 °C 的鼓风干燥箱中进行; ③粉碎、过筛: 将烘干至恒重的石榴皮块用高速万能粉碎机粉碎成粉末, 然后过 60 目筛以除去一些没有粉碎彻底的大块物质。

恒温酶解<sup>[11]</sup>: 果胶酶水解试验和木瓜蛋白酶水解试验, 应在恒定的温度下进行酶解, 且要求用玻璃棒沿同一个方向均匀搅拌使水解反应进行彻底。

灭酶: 果胶酶水解试验和木瓜蛋白酶水解试验进行完毕后, 应立即放入沸水中煮 5 min, 使酶完全失活。

抽滤: 酶解反应过后, 用布氏漏斗抽滤, 操作简单、方便易行。

#### 2.3.3 果胶酶单因素水解试验

称量 2.0 g 石榴皮粉末, 按液料比为 20:1(m/V)加入蒸馏水作为提取溶剂, 调节体系 pH 为果胶酶最适 pH 5.0, 加入质量分数为 0.4% 的果胶酶, 在 50 °C 的条件下, 酶解反应 1 h, 测定石榴皮不溶性膳食纤维的得率。固定其他因素, 考察液料比(10:1~30:1, m/V)、果胶酶添加量(0.2%~1.0%)、果胶酶酶解温度(30~70 °C)、果胶酶酶解时间(30~70 min)对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响。

#### 2.3.4 木瓜蛋白酶单因素水解试验

称量 2.0 g 石榴皮粉末, 按液料比为 20:1(m/V)加入蒸馏水作为提取溶剂, 调节体系 pH 为木瓜蛋白酶最适 pH 6.5, 加入质量分数为 0.4% 的木瓜蛋白酶, 在 50 °C 的条件下, 酶解反应 1 h, 测定石榴皮不溶性膳食纤维的得率。固定其他因素, 考察液料比(10:1~30:1, m/V)、木瓜蛋白酶添加量(0.2%~1.0%)、木瓜蛋白酶酶解温度(30~70 °C)、木瓜蛋白酶酶解时间(30~70 min)对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响。

#### 2.3.5 正交优化试验

分析果胶酶单因素水解试验和木瓜蛋白酶单因素水解试验的结果后, 选择对石榴皮不溶性膳食纤维的得率变化量影响较大的 4 个因素<sup>[12]</sup>, 进行  $L_9(3^4)$  的正交优化试验, 获得提取石榴皮中不溶性膳食纤维的最佳提取条件。

## 2.4 石榴皮不溶性膳食纤维的提取得率

石榴皮不溶性膳食纤维得率按下式进行计算:

$$R = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%$$

式中:

$R$  - 石榴皮不溶性膳食纤维的得率, %;

$m_1$  - 石榴皮不溶性膳食纤维的质量, g;

$m_2$  - 石榴皮干燥粉末的质量, g。

## 2.5 数据处理

使用 Origin 8.0 软件制图并处理数据。

### 3 结果与分析

#### 3.1 果胶酶单因素试验和木瓜蛋白酶单因素试验

##### 3.1.1 液料比对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响

由图 1 可以得知,随着液料比的增加,石榴皮不溶性膳食纤维的得率并不是一直增加,而是呈先增加后降低的趋势,当液料比为 20:1(m/V)时,果胶酶和木瓜蛋白酶水解后得到的石榴皮不溶性膳食纤维得率最高,分别为 27.24% 和 25.47%。这是因为提取溶剂与石榴皮粉末有一个最佳混合比例,当液料比很低时,溶剂未能与原料充分混合,过滤后,部分原料粘在容器壁上,从而导致产品得率较低,随着液料比的逐渐增大,溶剂与原料充分混合,酶解的物质不断溶出,过滤过程中产品基本无损失,产品得率不断提高,随着液料比的继续增大,已经没有更多的酶解物质溶出,而由于溶剂过多,过滤过程中会产生部分产品损失,于是得率下降。因此,提取石榴皮不溶性膳食纤维时最佳液料比为 20:1(m/V)。此外,当液料比为 10:1(m/V)时,果胶酶提取试验的得率误差较大,这主要是因为液料比较小,液体不能与样品充分混匀,过滤时因溶剂太少,操作十分不便,部分产品容易粘在容器壁上而引起。

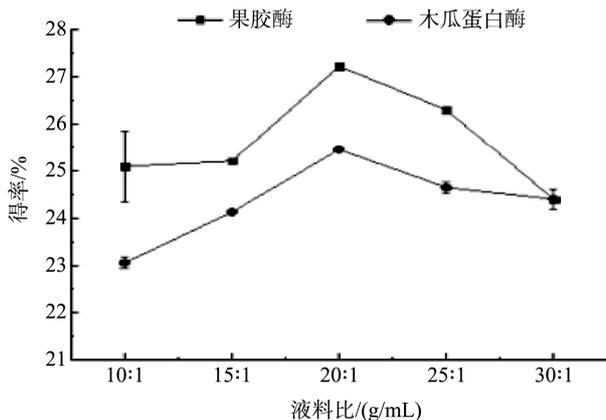


图 1 液料比对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响( $n=3$ )  
Fig.1 The effect of solid-liquid ratio on the yield of pomegranate peel insoluble dietary fiber ( $n=3$ )

##### 3.1.2 酶添加量对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响

由图 2 可以得知,随着酶添加量的增加,石榴皮不溶性膳食纤维的得率呈先增加后降低的趋势,当果胶酶和木瓜蛋白酶的添加量分别为 0.8%和 0.6%时,石榴皮不溶性膳食纤维得率最高,分别为 30.63%和 26.82%。原因如下:随着酶添加量的增加,原料中果胶和蛋白质组分的水解度增加,而酶添加量过高时,会使石榴皮不溶性膳食纤维中半纤维素等组分溶解导致其得率降低<sup>[13]</sup>。因此,提取石榴皮不溶性膳食纤维时果胶酶和木瓜蛋白酶的最佳添加量分别为 0.8%和 0.6%。

##### 3.1.3 酶解反应温度对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响

由图 3 可以得知,随着酶解温度的增加,石榴皮不溶

性膳食纤维的得率增加,当温度升高到 50 °C时,果胶酶和木瓜蛋白酶水解后得到的石榴皮不溶性膳食纤维得率最高。而当温度继续升高,果胶酶和木瓜蛋白酶活性降低甚至失活<sup>[14]</sup>,对原料中果胶和蛋白质组分的水解程度降低,加大了杂质组分与石榴皮不溶性膳食纤维之间的相互作用,从而使石榴皮不溶性膳食纤维得率降低。并且,膳食纤维耐热性较差,温度过高会对其结构造成一定程度的破坏<sup>[15,16]</sup>,从而降低其得率。因此,提取石榴皮不溶性膳食纤维时最佳酶解温度为 50 °C。

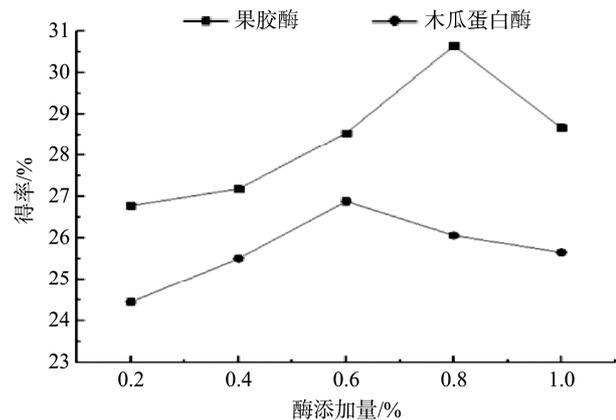


图 2 酶添加量对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响( $n=3$ )  
Fig.2 The effect of enzyme addition amount on the yield of pomegranate peel insoluble dietary fiber ( $n=3$ )

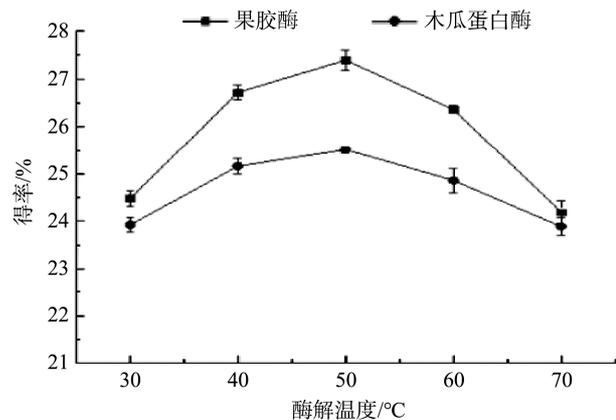


图 3 酶解温度对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响( $n=3$ )  
Fig.3 The effect of enzymatic temperature on the yield of pomegranate peel insoluble dietary fiber ( $n=3$ )

##### 3.1.4 酶解反应时间对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响

由图 4 可以得知,随着酶解反应时间的增加,石榴皮不溶性膳食纤维的得率呈先增加后降低的趋势,当果胶酶和木瓜蛋白酶分别在水解 60、50 min 后,石榴皮不溶性膳食纤维的得率达到最高,继续水解,得率反而降低。其原因如下:随着水解时间的增加,原料中的果胶、蛋白质等组分被降解,有利于石榴皮不溶性膳食纤维的提取,而当

提取时间过长时, 石榴皮不溶性膳食纤维也会因为受热而降解<sup>[17,18]</sup>。因此, 提取石榴皮不溶性膳食纤维时果胶酶和木瓜蛋白酶最佳水解时间分别为 60、50 min。

### 3.2 正交优化试验结果

由单因素试验结果可知, 果胶酶酶解温度, 果胶酶添加量, 果胶酶酶解时间和蛋白酶酶解时间这 4 个因素对石榴皮不溶性膳食纤维得率变化影响较大。因此, 为了进一步优化石榴皮不溶性膳食纤维的提取工艺, 选择石榴皮不溶性膳食纤维得率为试验指标, 果胶酶酶解温度(A)、果胶酶添加量(B)、果胶酶酶解时间(C)、蛋白酶酶解时间(D)4 个因素为考察因素, 其它酶解指标选择单因素最佳工艺条件, 按照 2.3.1 提取工艺流程进行  $L_9(3^4)$ 的正交优化试验, 获得双酶法提取石榴皮中不溶性膳食纤维的最佳提取条件。石榴皮不溶性膳食纤维提取的正交试验设计见表 1, 正交试验结果见表 2。

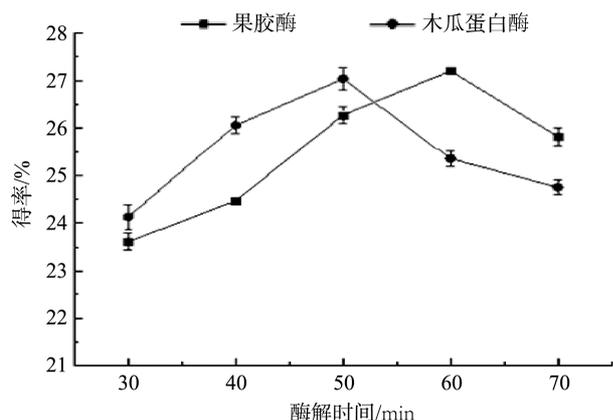


图 4 酶解时间对石榴皮不溶性膳食纤维得率的影响(n=3)  
Fig.4 The effect of enzymatic hydrolysis time on the yield of pomegranate peel insoluble dietary fiber (n=3)

表 1 正交试验设计表  
Table 1 Orthogonal test design table

水平	因素			
	A 果胶酶酶解温度/°C	B 果胶酶添加量/%	C 果胶酶酶解时间/min	D 蛋白酶酶解时间/min
1	45	0.7	55	45
2	50	0.8	60	50
3	55	0.9	65	55

由表 2 的结果, 进行极差分析, 可以得到  $R_C > R_B > R_D > R_A$ , 则 4 个试验因素对酶法提取石榴皮不溶性膳食纤维的影响程度为: C(果胶酶酶解时间)>B(果胶酶添加量)>D(蛋白酶酶解时间)>A(果胶酶酶解温度)。也就是说, 果胶酶酶解时间是酶法提取石榴皮不溶性膳食纤维最关键的控

其影响最小。从  $k$  值可以得出, 酶法提取石榴皮不溶性膳食纤维最佳工艺组合是:  $A_3B_3C_3D_1$ , 即果胶酶酶解温度为 55 °C, 果胶酶添加量为 0.9%, 果胶酶酶解时间 65 min, 蛋白酶酶解时间为 45 min。因为该条件并不在正交组合的 9 组试验中, 因此对该条件进行单独验证试验操作。

表 2 正交试验结果表  
Table 2 Orthogonal test results table

序号	A 果胶酶酶解温度/°C	B 果胶酶添加量/%	C 果胶酶酶解时间/min	D 蛋白酶酶解时间/min	得率/%
1	1	1	1	1	29.03
2	1	2	2	2	29.51
3	1	3	3	3	30.81
4	2	1	2	3	28.17
5	2	2	3	1	31.74
6	2	3	1	2	30.35
7	3	1	3	2	30.60
8	3	2	1	3	29.93
9	3	3	2	1	30.09
$k_1$	29.78	29.27	29.77	30.29	
$k_2$	30.09	30.39	29.26	30.15	
$k_3$	30.21	30.42	31.05	29.64	
R	0.43	1.15	1.79	0.65	

### 3.3 最优工艺组合验证试验结果

由正交优化试验结果得知, 酶法提取石榴皮不溶性膳食纤维最佳工艺条件为: 液料比 20:1(mV), 果胶酶添加量 0.9%, 果胶酶酶解温度 55 °C, 果胶酶酶解时间 65 min, 蛋白酶添加量 0.6%, 蛋白酶酶解温度 50 °C, 蛋白酶酶解时间 45 min。在该条件下进行试验, 石榴皮不溶性膳食纤维得率可达 31.87%±0.27%, 产品呈棕黄色。此前, 段振<sup>[10]</sup>采用碱法提取石榴皮不溶性膳食纤维得率为 30.42%±0.32%, 产品呈黑褐色, 还需要进一步脱色, 这说明采用酶法提取石榴皮不溶性膳食纤维, 其产品得率稍高于碱法提取, 不会破坏膳食纤维结构, 产品颜色不变黑, 同时还避免了产生大量的废水污染环境, 更适合工业化大生产。

## 4 结 论

本试验以石榴皮为原料, 使用果胶酶和木瓜蛋白酶来提取石榴皮中不溶性膳食纤维, 有效提高了石榴皮不溶性膳食纤维的得率, 改善了产品色泽。通过单因素试验和正交优化试验, 得到了双酶法提取石榴皮中不溶性膳食纤维的最优工艺条件。与碱法相比, 酶法提取石榴皮不溶性

膳食纤维条件温和、安全性高、利于环保,可为农业副产物石榴皮的综合利用提供参考。

### 参考文献

- [1] Fazaeli M, Yousefi S, Emam-Djomeh Z. Investigation on the effects of microwave and conventional heating methods on the phytochemicals of pomegranate (*Punica granatum* L.) and black mulberry juices [J]. Food Res Int, 2013, 50(2): 568–573.
- [2] Li Y, Guo C, Yang J, et al. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract [J]. Food Chem, 2006, 96(2): 254–260.
- [3] Çam M, Hışıl Y. Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels [J]. Food Chem, 2010, 123(3): 878–885.
- [4] 邓红梅, 徐国强, 丘慧萍, 等. 石榴皮多糖的提取、纯化和结构分析[J]. 化学与生物工程, 2018, 35(11): 38–43.  
Deng HM, Xu GQ, Qiu HP, et al. Extraction, purification, and structure analysis of polysaccharides from *Punica granatum* peel [J]. Chem Bio Eng, 2018, 35(11): 38–43.
- [5] 郭海茹, 朱芳娟, 李龙根, 等. 石榴皮化学成分研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2019, 34(2): 362–369.  
Guo HR, Zhu FJ, Li LG, et al. The chemical constituents from *Punica granatum* peels [J]. J Yunnan Agric Univ (Nat Sci), 2019, 34(2): 362–369.
- [6] 朱毓芬, 吴保锋, 田庆生. 膳食纤维的性质与作用[J]. 内蒙古科技与经济, 2007, (19): 110–112.  
Zhu YF, Wu BF, Tian QS. The nature and function of dietary fiber [J]. Inner Mongolia Sci Technol Econ, 2007, (19): 110–112.
- [7] Stephen AM, Champ MJ, Cloran SJ, et al. Dietary fibre in Europe: Current state of knowledge on definitions, sources, recommendations, intakes and relationships to health [J]. Nutr Res Rev, 2017, 30(2): 149–190.
- [8] 黄素雅, 钱炳俊, 邓云. 膳食纤维功能的研究进展[J]. 食品工业, 2016, 37(1): 273–277.  
Huang SY, Qian BJ, Deng Y. Research advances in dietary fiber function [J]. Food Ind, 2016, 37(1): 273–277.
- [9] 曲鹏宇, 李丹, 李志江, 等. 膳食纤维功能、提取工艺及应用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(19): 218–224.  
Qu PY, Li D, Li ZJ, et al. Research progress on function, extraction process and application of dietary fiber [J]. Food Res Dev, 2018, 39(19): 218–224.
- [10] 段振. 石榴皮不溶性膳食纤维的提取、体外降血脂活性研究及咀嚼片制备[D]. 西安: 陕西师范大学, 2018.  
Duan Z. Extraction of insoluble dietary fiber from pomegranate peel, study on lipid-lowering activity in vitro and preparation of chewing tablets [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2018.
- [11] 刘林林, 吴茂玉, 葛邦国, 等. 采用响应面法对酶法提取香蕉皮可溶性膳食纤维工艺的优化[J]. 农产品加工, 2011, 3(5): 5–9.  
Liu LL, Wu MY, Ge BG, et al. Optimization of enzymatic extraction of soluble dietary fiber from banana peel by response surface methodology [J]. Agric Prod Proc, 2013, (5): 5–9.
- [12] 王崇队, 张明, 杨立风, 等. 复合酶法提取西兰花老茎不溶性膳食纤维[J]. 中国果菜, 2018, 38(6): 10–14.  
Wang CD, Zhang M, Yang LF, et al. Extraction of insoluble dietary fiber from old stem of broccoli by compound enzyme method [J]. Chin Fruit Veg, 2018, 38(6): 10–14.
- [13] 李刚凤, 王锡念, 闫莉莉, 等. 酶法提取薇菜不溶性膳食纤维工艺研究[J]. 食品工业, 2018, 39(7): 67–71.  
Li GF, Wang XN, Yan LL, et al. Process optimization on enzyme extraction of insoluble dietary fiber in *Osmunda japonica* [J]. Food Ind, 2018, 39(7): 67–71.
- [14] 曹晟, 黄雪, 邓天祥, 等. 超声波酶法提取茭白不溶性膳食纤维的工艺研究[J]. 轻工科技, 2018, 34(4): 6–8.  
Cao S, Huang X, Deng TX, et al. Study on the technology of extracting white insoluble dietary fiber by ultrasonic enzymatic method [J]. Light Ind Sci Technol, 2018, 34(4): 6–8.
- [15] 薛山. 天宝香蕉皮不溶性膳食纤维提取工艺优化及理化性质测定[J]. 食品工业, 2018, 39(8): 30–35.  
Xue S. Extraction process optimization and physicochemical property of insoluble dietary fiber from Tianbao banana peel [J]. Food Ind, 2018, 39(8): 30–35.
- [16] 赖爱萍, 陆国权, 王颖, 等. 超声波辅助酶法制备甘薯渣膳食纤维工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(8): 100–102.  
Lai AP, Lu GQ, Wang Y, et al. Study on preparation of dietary fiber from sweet potato dregs by ultrasonic-assisted enzymatic method [J]. J Chin Cereal Oil Assoc, 2015, 30(8): 100–102.
- [17] 来庆华, 王晓琳, 王朝瑾, 等. 水果果皮的加工利用现状及研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(3): 876–881.  
Lai QH, Wang XL, Wang ZJ, et al. Current status and research progress of fruit peel processing and utilization [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(3): 876–881.
- [18] Champ M. Structural and physical properties of dietary fibers, and consequences of processing on human physiology [J]. Food Res Int, 2000, 33(3): 233–245.

(责任编辑: 陈雨薇)

### 作者简介



杜艳, 主要研究方向为农副产品加工及利用。

E-mail: 1352523445@qq.com



朱彩平, 副教授, 主要研究方向为农副产品加工及利用。

E-mail: zcaiping@snnu.edu.cn