

羊栖菜速溶粉的制备工艺优化 及其理化特性分析

甘爱园¹,汪卓^{1,2*},邹文韬¹,庄丽扬¹,宋兵兵^{1,2},赵巧丽^{1,2},钟赛意^{1,2*}

(1. 广东海洋大学 食品科技学院 广东省水产品加工与安全重点实验室,广东省海洋生物制品工程实验室,广东省海洋食品工程技术研究中心,广东省亚热带果蔬加工科技创新中心,广东 湛江 524088;2. 广东海洋大学深圳研究院,广东 深圳 518108)

摘要: 为丰富羊栖菜食品种类,提高其开发利用价值,以羊栖菜为原料,采用果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶处理羊栖菜浆,并利用乳酸菌发酵制备羊栖菜速溶粉。以还原糖含量、可溶性固形物含量为指标,通过正交试验优化羊栖菜酶解工艺;筛选出最适发酵菌株,以出粉率为指标,通过响应面试验优化羊栖菜的发酵工艺,并进一步分析羊栖菜速溶粉的理化特性。结果表明,最佳酶解条件为复合酶添加量 16%,复合酶(果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶)质量比为 5:4:1,pH4.5,酶解时间 4 h,料液比 1:25 (g/mL);最适菌株为植物乳杆菌,其最佳发酵条件为发酵温度 40 °C、菌种接种量 3%、发酵时间 3.5 d。与普通粉相比,速溶粉的溶胀力、溶解度、冲调稳定性、松密度、休止角、滑动角等理化性质均得到显著改善。

关键词: 羊栖菜;速溶粉;酶解;发酵;工艺优化;理化特性

Preparation Process Optimization and Physicochemical Properties of *Sargassum fusiforme* Instant Powder

GAN Aiyuan¹, WANG Zhuo^{1,2*}, ZOU Wentao¹, ZHUANG Liyang¹, SONG Bingbing^{1,2}, ZHAO Qiaoli^{1,2}, ZHONG Saiyi^{1,2*}

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Guangdong Province Engineering Laboratory for Marine Biological Products, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Marine Food, Guangdong Sub-tropical Fruit and Vegetable Processing Technology Innovation Center, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China; 2. Shenzhen Institute of Guangdong Ocean University, Shenzhen 518108, Guangdong, China)

Abstract: The pulp of *Sargassum fusiforme* was treated with pectinase, cellulase, and xylanase and then fermented with lactic acid bacteria to prepare the instant powder of *S. fusiforme*, which was expected to enrich the food products and improve the utilization value of *S. fusiforme*. The enzymatic hydrolysis process of *S. fusiforme* was optimized by an orthogonal design with reducing sugar content and soluble solid content as indicators. The optimum fermentation strain was screened out, and the fermentation process of *S. fusiforme* was optimized by response surface methodology with the powder yield as the indicator. Furthermore, the physicochemical properties of instant powder were analyzed. The results showed that the optimum enzymatic hydrolysis conditions were enzymatic hydrolysis with 16% (compound enzyme agent composed of pectinase, cellulase, and xylanase at a mass ratio of 5:4:1) at pH4.5 and a solid-to-liquid ratio of 1:25 (g/mL) for 4 h. The optimum strain was *Lactobacillus plantarum*, and the optimum fermentation conditions were fermentation with an inoculum amount of 3% at 40 °C for 3.5 d. Compared with ordinary powder, the instant powder demonstrated improved physicochemical properties such as swelling property, solubility, blending stability, bulk density, angle of repose, and angle of slide.

基金项目:国家重点研发计划项目(2020YFD0901101);广东海洋大学大学生创新团队项目(CXTD2023005);广东省高校科技创新团队项目(2021KCXTD021)

作者简介:甘爱园(1998—),女(壮),硕士研究生,研究方向:海藻产品研发。

*通信作者:汪卓(1993—),男(汉),讲师,博士,研究方向:功能食品开发与应用;钟赛意(1979—),男(汉),教授,博士,研究方向:食品功能因子开发与功效评价。

Key words: *Sargassum fusiforme*; instant powder; enzymolysis; fermentation; process optimization; physico-chemical properties

引文格式:

甘爱园,汪卓,邹文韬,等.羊栖菜速溶粉的制备工艺优化及其理化特性分析[J].食品研究与开发,2025,46(2):90-98.

GAN Aiyuan, WANG Zhuo, ZOU Wentao, et al. Preparation Process Optimization and Physicochemical Properties of *Sargassum fusiforme* Instant Powder[J]. Food Research and Development, 2025, 46(2): 90-98.

羊栖菜(*Sargassum fusiforme*)隶属于褐藻门,墨角藻目,马尾藻属,别名鹿角尖、海菜芽、海大麦等,是我国一种重要的经济型藻类,主要分布于浙江、福建、广东等沿海省份,此外在日本、韩国等国家也有分布^[1]。羊栖菜在我国具有悠久的药用史,在《本草纲目》、《神农本草经》等药典中均有记载,可用于治疗瘰疬、结核、水肿、甲状腺肿等。羊栖菜的主要营养成分为碳水化合物(45.84%~50.03%)、灰分(20.4%~26.86%)、脂质(5.10%~5.77%)、蛋白质(6.65%~15.64%)、氨基酸(6.18%~12.01%),其中必需氨基酸占总氨基酸的40.00%~41.64%^[1-2]。羊栖菜中还含有多种生物活性物质,如多糖、多酚化合物、甾醇和萜类化合物、膳食纤维等,由于这些丰富的活性物质,使得羊栖菜具有抗氧化、抗肿瘤、抑菌消炎、降血脂、降血糖、抗凝血、抗衰老、调节免疫等功能活性^[3-4]。目前,国内外羊栖菜的产品形式主要有羊栖菜干品、羊栖菜精粉、即食羊栖菜等^[5-6],产品形式较为单一,且均以粗加工为主,加工技术匮乏,难以拉动羊栖菜产品的市场,因此羊栖菜的深加工产品在未来食用海藻市场上具有广阔的开发前景。

褐藻的细胞壁主要由褐藻胶、纤维素和半纤维素等组成,若要制备成速溶粉,改善藻粉的溶解性,就必须释放出可溶性成分或降解不溶性成分。海藻的降解方法主要有物理法、化学法、生物法。物理法包括粉碎研磨、高温高压破解、高压均质、超声破碎等,其操作简单,但效率低且成本高,常被用作辅助手段^[7-8]。化学法即利用强酸强碱降解,该方法技术成熟,成本低,但对设备要求高,耗能大且易造成环境污染。生物法包含酶解和发酵两种方式,生物法可以较好保留海藻的活性物质,并实现与物理、化学法相当的降解效果^[9]。酶解法对设备要求低,耗时短,具有高效性;发酵法反应条件温和,较为环保,但发酵法相较于其他降解方式来说耗时较长,通常采用酶解发酵联用技术提高降解效率^[10]。本研究基于羊栖菜的结构特点,以挤压膨化作为前处理,利用结合酶解与发酵处理羊栖菜浆,制备出羊栖菜速溶粉,并对速溶粉的理化特性进行分析,以期解决羊栖菜产品加工和食用方式单一、综合利用价值低等问题。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

羊栖菜:产自浙江洞头;纤维素酶(50 U/mg)、果胶酶(500 U/mg)、木聚糖酶(6 000 U/mg)、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS):上海源叶生物科技有限公司;乳酸菌株(短乳杆菌 ATCC14869、植物乳杆菌 ATCC14917、干酪乳杆菌、长双歧杆菌、嗜热链球菌):云南农业大学提供;MRS 固体培养基:北京陆桥生物有限责任公司;氢氧化钠缓冲液、盐酸缓冲液:深圳市博林达科技有限公司;无水葡萄糖:西陇科学股份有限公司。以上化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

HH-8CJ 恒温磁力搅拌水浴锅:常州市金坛友联仪器研究所;Varioskan Flash 多功能酶标仪:美国 Thermo Scientific 公司;Universal 320R 高速冷冻离心机:德国 Hettich 公司;THZ-702A 组合式恒温摇床:常州金坛精达仪器制造公司;DSE32 双螺杆实验机:济南盛润机械有限公司;VD-650 超净工作台:苏州净化设备有限公司;DZX-50KBS 型立式蒸汽灭菌器:上海申安医疗器械厂;FD8508 真空冷冻干燥机:韩国 ilShin 公司;PHS-3E pH 计:上海雷磁仪器厂;ZG-1011 数显式糖度计:深圳市流数科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 速溶粉制备工艺流程

鲜羊栖菜→烘干→粉碎过 40 目筛→挤压膨化→粉碎过 100 目筛→酶解→发酵→上清液冻干→粉碎过 100 目筛→速溶粉。

操作要点:新鲜羊栖菜用自来水清洗干净后,在 60 °C 条件下烘干,干羊栖菜用粉碎机粉碎过 40 目筛得到干羊栖菜粉。干羊栖菜粉加入蒸馏水,调节水分含量至 24%,在主机频率 28 Hz、喂料转速 8 Hz、挤压温度 135 °C 条件下进行挤压膨化,挤出物于 50 °C 烘箱中干燥 24 h,粉碎过 100 目筛,装入密封袋保存。称取 1 g 挤压膨化后的羊栖菜粉,加入 25 mL 蒸馏水,搅拌均匀后调节 pH 值至 4.5,加入复合酶(果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶)酶解 4 h。将酶解液置于高压蒸汽灭菌锅内进行灭菌(121 °C, 15 min),分别接入发酵菌种,放置于恒温培养箱进行发酵。发酵完成后再次灭菌

(121 °C, 15 min), 在 5 000 r/min、4 °C 条件下离心 10 min, 取上清液冻干得速溶粉。

1.3.2 酶解单因素试验

考察单酶(果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶)添加量(2%、4%、6%、8%、10%)、复合酶(果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶)质量比(5:4:1、5:3:2、4:4:2、4:5:1、3:5:2)、料液比[1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 (g/mL)]、复合酶添加量(6%、8%、10%、12%、14%、16%)、酶解时间(1、2、3、4、5 h)、酶解 pH 值(3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5)对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响。由于商品酶已给出酶的最适反应温度均为 50 °C, 因此不再对酶解温度进行优化。

1.3.3 酶解正交试验

在单因素试验的基础上选取对还原糖含量及可溶性固形物含量影响较大的 3 个因素进行三因素三水平酶解正交试验, 选用 $L_9(3^4)$ 设计正交试验见表 1。

表 1 羊栖菜浆酶解条件正交因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal design of enzymatic hydrolysis conditions of *Sargassum fusiforme* pulp

水平	因素		
	A 酶解 pH 值	B 复合酶添加量/%	C 酶解时间/h
1	3.5	12	2
2	4.0	14	3
3	4.5	16	4

1.3.4 发酵菌种筛选

将短乳杆菌、植物乳杆菌、干酪乳杆菌、长双歧杆菌、嗜热链球菌活化后接种到液体培养基中进行扩大培养, 调整菌液的 OD 值至 0.7 备用。将酶解阶段得到的酶解液 pH 值调至中性后灭菌, 活化后的 5 株菌以 3% 接种量分别接种至羊栖菜酶解液中, 置于组合式恒温摇床内(37 °C, 120 r/min)培养 48 h。通过测定发酵液 pH 值、总酸含量、菌落总数、还原糖含量以确定最优菌种。

1.3.5 发酵单因素试验

将筛选出的发酵菌种接入灭菌后的酶解液, 以 pH 值、出粉率为指标, 考察发酵时间(0、1、2、3、4、5、6 d)、发酵温度(28、31、34、37、40、43 °C)、菌种接种量(0%、2%、3%、4%、5%、6%、7%)对羊栖菜浆的影响, 固定因素水平为发酵时间 48 h、发酵温度 37 °C、菌种接种量 3%。

1.3.6 发酵响应面优化

在发酵单因素试验结果的基础上, 以出粉率为响应值, 进行三因素三水平的响应面优化试验, 确定最佳发酵条件组合。响应面因素与水平见表 2。

1.3.7 还原糖含量测定

配制葡萄糖标准溶液 1 mg/mL, 梯度稀释后, 采用 DNS 比色法测定^[11], 以葡萄糖含量为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。羊栖菜酶解液 5 000 r/min、4 °C 离心 10 min 后取上清液, 按 DNS 比色法测定其还

表 2 Box-Behnken 试验因素和水平设计

Table 2 Factors and levels of Box-Behnken design

水平	因素		
	A 发酵时间/d	B 菌种接种量/%	C 发酵温度/°C
-1	2	2	34
0	3	3	37
1	4	4	40

原糖含量, 计算公式如下。

$$X = \frac{m}{v} \times n$$

式中: X 为还原糖含量, mg/mL; m 为根据回归方程得到的葡萄糖质量, mg; v 为加入样品体积, mL; n 为稀释倍数。

1.3.8 可溶性固形物含量测定

将酶解液灭酶后, 于 5 000 r/min、4 °C 条件下离心 10 min, 取上清液, 用数显式糖度计测定可溶性固形物含量。

1.3.9 速溶粉出粉率测定

发酵液灭菌(121 °C, 15 min)后在 5 000 r/min、4 °C 条件下离心 10 min, 取上清液冻干得速溶粉, 出粉率参照以下公式计算。

$$N = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

式中: N 为速溶粉出粉率, %; m_1 为原羊栖菜粉的干重, g; m_2 为速溶羊栖菜粉干重, g。

1.3.10 总酸含量的测定

参照 GB 12456—2021《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》中的第一法进行总酸含量的测定。

1.3.11 乳酸菌菌落总数的测定

用无菌水将发酵液进行梯度稀释至适宜浓度, 采用 MRS 固体培养基平板计数, 每种菌进行 3 次平行试验, 结果取平均值, 单位为 CFU/mL。

1.3.12 速溶粉理化特性测定

参照 Lu 等^[12]的方法测定持水力; 参照 Chan 等^[13]的方法测定持油力、溶胀力; 参照孙维宇等^[14]的方法测定分散性、湿润性、冲调稳定性; 参照陈坤林等^[15]的方法测定溶解度、松密度、休止角、滑动角。

1.4 数据分析

试验中所有指标的数据均为各测定 3 次的平均值, 使用 Design-Expert V8.0.6.1 响应面设计软件、Origin 2022 和 IBM SPSS Statistics 25 进行数据处理。

2 结果与分析

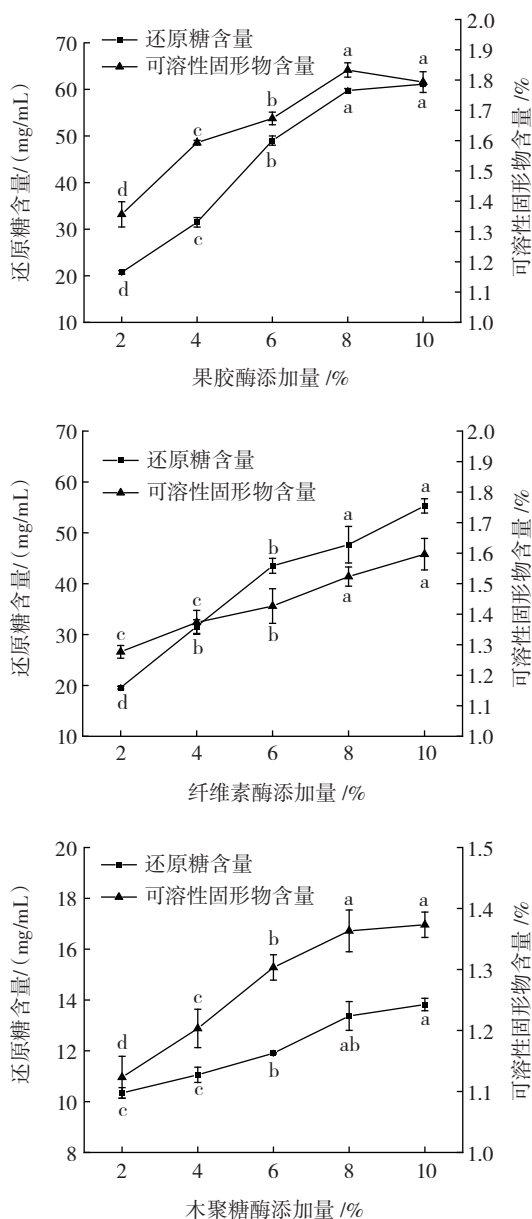
2.1 羊栖菜酶解工艺优化

2.1.1 单因素试验

2.1.1.1 单酶添加量对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响

果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶添加量对还原糖含量

和可溶性固形物含量的影响如图1所示。



同一指标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图1 果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶添加量对还原糖和可溶性固形物含量的影响

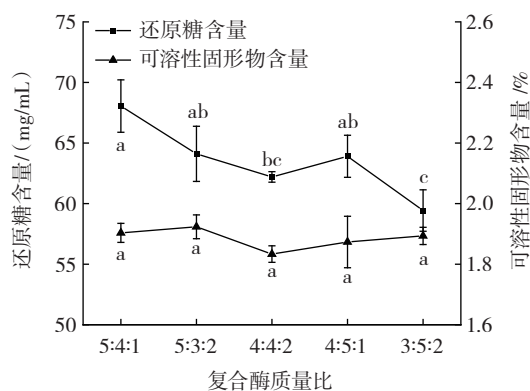
Fig.1 Effects of pectinase, cellulase, and xylanase addition on reducing sugar and soluble solid content

由图1可知,3种酶单独作用对酶解体系中还原糖含量及可溶性固形物含量的影响效果不同,果胶酶解得到的还原糖含量和可溶性固形物含量最高,纤维素酶次之,木聚糖酶最低。结果表明,3种酶的酶解能力强弱依次为果胶酶>纤维素酶>木聚糖酶,酶解能力的强弱可为后续确定复合酶的比例提供参考。

2.1.1.2 复合酶质量比对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响

复合酶质量比对还原糖含量和可溶性固形物含量

的影响如图2所示。



同一指标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

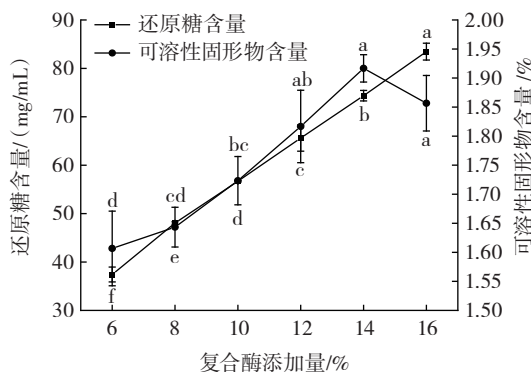
图2 复合酶质量比对还原糖和可溶性固形物含量的影响

Fig.2 Effects of compound enzyme ratio on reducing sugar and soluble solid content

由图2可知,当复合酶(果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶)质量比为5:4:1时,还原糖含量达到最大值,但复合酶质量比的改变对羊栖菜浆可溶性固形物含量无明显影响。综合考虑,选择果胶酶:纤维素酶:木聚糖酶=5:4:1(质量比)进行后续试验。

2.1.1.3 复合酶添加量对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响

复合酶添加量对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响如图3所示。



同一指标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图3 复合酶添加量对还原糖和可溶性固形物含量的影响

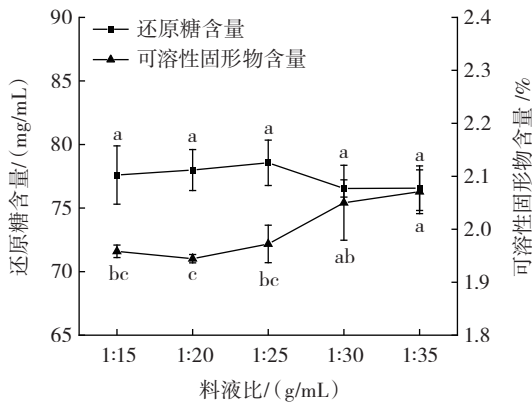
Fig.3 Effects of compound enzyme addition on reducing sugar and soluble solid content

由图3可知,还原糖含量随复合酶添加量的增大而增大,在16%处达到最大值;可溶性固形物含量在复合酶添加量14%处达到峰值,且与添加量12%、16%无显著差异。因此,选取复合酶添加量为12%、14%、16%进行后续正交试验。

2.1.1.4 料液比对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响

料液比对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响

如图4所示。



同一指标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

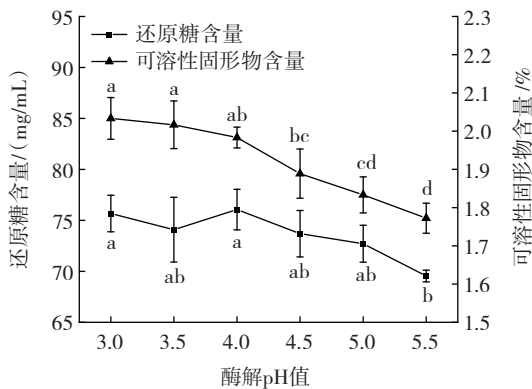
图4 料液比对还原糖和可溶性固形物含量的影响

Fig.4 Effects of solid-to-liquid ratio on reducing sugar and soluble solid content

由图4可知,在料液比为1:25(g/mL)时,酶解液中的还原糖含量达到最高,但料液比的改变对还原糖含量的影响并无显著差异。可溶性固形物含量随加液量的增加而缓慢升高,最后趋于平缓,综合分析显著性差异,选择料液比为1:25(g/mL)进行后续试验。

2.1.1.5 酶解 pH 值对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响

酶解 pH 值对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响如图5所示。



同一指标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图5 酶解 pH 值对还原糖和可溶性固形物含量的影响

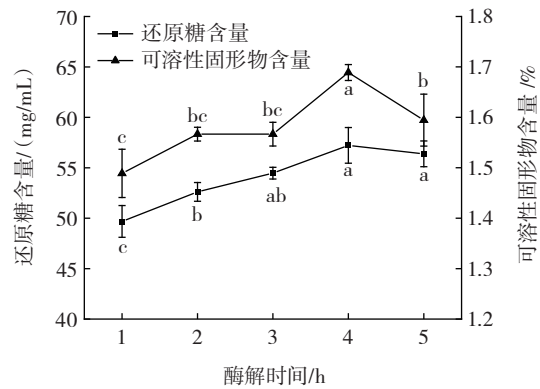
Fig.5 Effects of pH on reducing sugar and soluble solid content

由图5可知,还原糖含量随酶解 pH 值的增大呈缓慢减小趋势,但酶解 pH 值范围为3.0~5.0时差异不显著;可溶性固形物含量随酶解 pH 值的增大而减小,且酶解 pH 值为3.0~4.0时无显著差异。因此,选择酶解 pH 值为3.5、4.0、4.5进行后续正交试验。

2.1.1.6 酶解时间对还原糖含量和可溶性固形物含量的影响

酶解时间对还原糖含量和可溶性固形物含量的影

响如图6所示。



同一指标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图6 酶解时间对还原糖和可溶性固形物含量的影响

Fig.6 Effects of enzymolysis time on reducing sugar and soluble solid content

由图6可知,还原糖含量和可溶性固形物含量均随酶解时间的延长而增加,在4h处达到最大值后呈下降趋势,但酶解时间在3h之后,还原糖含量的变化不显著。结果说明,酶解4h后,酶解底物已被充分酶解,继续延长酶解时间不会再增加还原糖含量和可溶性固形物含量,因此固定酶解时间为2、3、4h进行后续正交试验。

2.1.2 酶解正交试验

正交试验结果与分析如表3所示。

表3 羊栖菜浆酶解正交试验结果

Table 3 Orthogonal test results of enzymatic hydrolysis of *Sargassum fusiforme* pulp

编号	A 酶解 pH 值	B 复合酶 添加量/%	C 酶解 时间/h	还原糖 含量/(mg/mL)	可溶性固形物 含量/%
1	1(3.5)	1(12)	1(2)	50.02	1.61
2	1	2(14)	3(4)	52.91	1.61
3	1	3(16)	2(3)	51.22	1.33
4	2(4.0)	1	3	59.59	1.68
5	2	2	2	58.45	1.55
6	2	3	1	59.04	1.45
7	3(4.5)	1	2	67.57	1.73
8	3	2	1	67.50	1.54
9	3	3	3	70.24	1.60
还原糖 含量	k ₁	51.39	59.06	58.85	
	k ₂	59.03	59.62	59.08	
	k ₃	68.44	60.17	60.92	
	R	17.05	1.11	2.06	
	主次顺序		A>C>B		
可溶性 固形物 含量	k ₁	1.52	1.67	1.54	
	k ₂	1.56	1.57	1.54	
	k ₃	1.63	1.46	1.63	
	R	0.11	0.22	0.09	
	主次顺序		B>A>C		

由表3可知,影响还原糖含量的主次关系为酶解 pH 值>酶解时间>复合酶添加量;影响可溶性固形物含

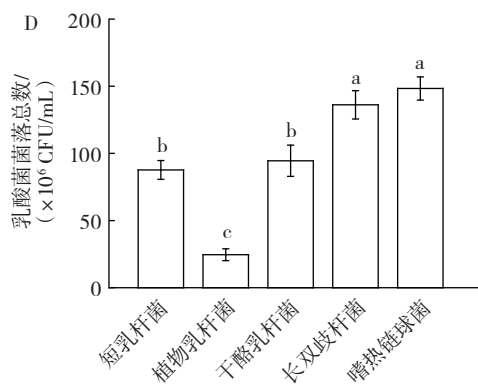
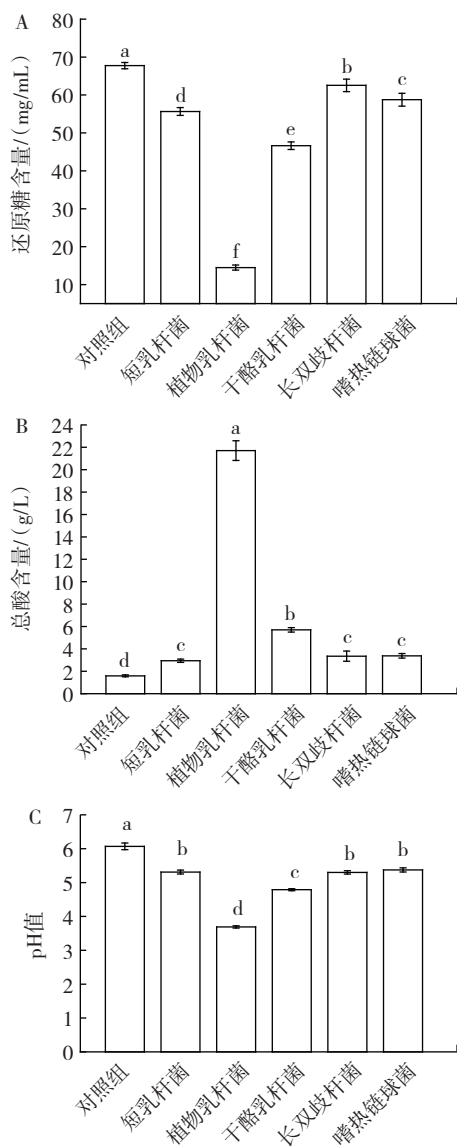
量的主次关系为复合酶添加量>酶解 pH 值>酶解时间。根据极差分析可知,以还原糖含量为指标,最佳的酶解条件为 A₃B₃C₃;以可溶性固形物含量为指标,最佳的酶解条件为 A₃B₁C₃。由于酶解可促进后续发酵菌种生长所需碳源的生成和转化,因此以还原糖含量作为主要指标,综合分析并确定 A₃B₃C₃ 为最优酶解条件,其他酶解条件则按单因素试验结果确定。经验证采用此方案,羊栖菜酶解液中还原糖含量和可溶性固形物含量得到提升,分别为(70.62±0.28)mg/mL 和(1.62±0.02)%。因此,羊栖菜酶解的最佳工艺为复合酶添加量 16%、pH4.5、酶解时间 4 h、复合酶质量比 5:4:1、料液 1:25 (g/mL)、酶解温度 50℃。

2.2 羊栖菜发酵工艺优化

2.2.1 发酵菌种筛选

羊栖菜浆液接种不同菌种发酵 48 h 后,还原糖含量、总酸含量、pH 值和乳酸菌菌落总数变化如图 7 所示。

由图 7 可知,植物乳杆菌发酵的羊栖菜浆液中还



A. 还原糖含量;B. 总酸含量;C. pH 值;D. 乳酸菌菌落总数。不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

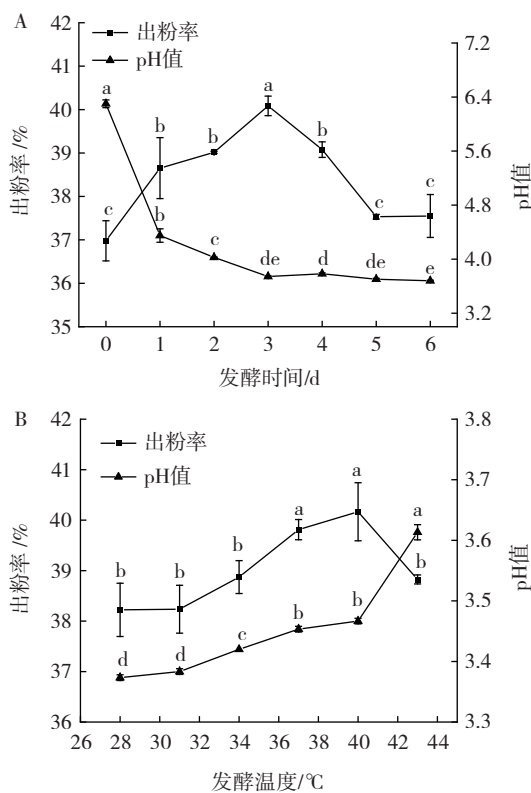
图 7 不同乳酸菌发酵对羊栖菜浆还原糖含量、总酸含量、pH 值的影响

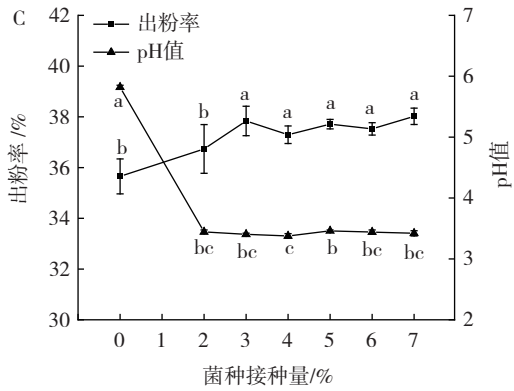
Fig.7 Effects of fermentation with different lactic acid bacteria on reducing sugar content, total acid content, and pH value of *Sargassum fusiforme* pulp

原糖含量最低(14.50 mg/mL),表明其可能具有较强的还原糖利用能力,结合该菌种发酵后的 pH 值最低,酸度最高,表明其在羊栖菜浆液体系中具有较好的发酵性能,尽管该菌种的菌落总数不及其他菌种,但也达到了 2.46×10^7 CFU/mL。综合以上各项指标结果,最终选择植物乳杆菌作为羊栖菜浆发酵菌种。

2.2.2 发酵单因素试验

以出粉率和 pH 值为指标,分别探究不同发酵时间、发酵温度、菌种接种量对羊栖菜发酵的影响,结果如图 8 所示。





A. 发酵时间; B. 发酵温度; C. 菌种接种量。同一指标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图8 发酵时间、发酵温度、菌种接种量对出粉率和 pH 值的影响
Fig.8 Effects of fermentation time, temperature, and inoculum amount on the powder yield and pH value

由图8可知,羊栖菜速溶粉出粉率在菌种接种量为3%、发酵时间为3d、发酵温度为40℃时具有最大值,说明在此条件下发酵羊栖菜可增加其可溶性物质的溶出。乳酸菌降解海藻主要是通过产酸、产酶的方式破坏海藻细胞壁的木质素、纤维素、木聚糖等长分子链多糖,进而导致海藻细胞壁结构降解,使细胞内溶物流出。乳酸菌发酵过程会产生大量乳酸、乙酸等有机酸,降低发酵体系的pH值,从而达到酸解海藻的目的,因此pH值越低说明发酵的效果越好。综合分析图8中不同因素对发酵液pH值的影响结果,可以确定菌种接种量为3%、发酵时间为3d、发酵温度为40℃的条件更有利于发酵体系的进行。

2.2.3 发酵响应面试验

基于单因素试验结果,进一步以出粉率为响应值,发酵时间(A)、菌种接种量(B)、发酵温度(C)为自变量进行三因素三水平试验,响应面设计及结果见表4。

表4 响应面试验设计方案及结果
Table 4 Response surface test design and results

序号	A 发酵时间	B 菌种接种量	C 发酵温度	出粉率/%
1	-1	-1	0	40.09
2	1	-1	0	40.18
3	-1	1	0	40.39
4	1	1	0	40.36
5	-1	0	-1	40.70
6	1	0	-1	41.34
7	-1	0	1	41.76
8	1	0	1	41.43
9	0	-1	-1	41.24
10	0	1	-1	41.84
11	0	-1	1	41.66
12	0	1	1	42.16
13	0	0	0	41.43
14	0	0	0	40.98
15	0	0	0	41.13
16	0	0	0	40.97
17	0	0	0	41.13

通过 Design-Expert V8.0.6.1 软件进行响应面分析,得到回归拟合方程 $Y=41.13+0.046A+0.20B+0.23C-0.032AB-0.24AC-0.024BC-0.64A^2-0.23B^2+0.83C^2$ 。对此回归方程的方差分析结果如表5所示。

表5 回归模型方差分析
Table 5 Analysis of variance of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	5.61	9	0.62	20.25	0.000 3***
A 发酵时间	0.017	1	0.017	0.56	0.479 7
B 菌种接种量	0.32	1	0.32	10.29	0.014 9*
C 发酵温度	0.44	1	0.44	14.31	0.006 9**
AB	4.032×10^{-3}	1	4.032×10^{-3}	0.13	0.721 8
AC	0.24	1	0.24	7.76	0.027 1*
BC	2.256×10^{-3}	1	2.256×10^{-3}	0.073	0.794 4
A ²	1.75	1	1.75	56.79	0.000 1***
B ²	0.22	1	0.22	7.08	0.032 4*
C ²	2.87	1	2.87	93.09	<0.000 1***
残差	0.22	7	0.031		
失拟项	0.076	3	0.025	0.73	0.587 5
误差项	0.14	4	0.035		
总和	5.83	16			

注:*表示影响显著($P < 0.05$);**表示影响极显著($P < 0.01$);***表示影响高度显著($P < 0.001$)。

由表5可知,该模型的F值为20.25,P值=0.000 3<0.001,表明该模型高度显著,回归系数 $R^2=0.963 0$,失拟项为0.587 5,失拟项不显著,表明该模型可以较好地拟合试验的实际情况,结果具有可靠性。由P值可知,菌种接种量对出粉率有显著影响,发酵温度对出粉率有极显著影响,发酵时间对速溶粉出粉率影响不显著;由F值可知,各因素对速溶粉出粉率影响的顺序为C>B>A。

根据响应面模型确定羊栖菜发酵的最佳工艺为发酵时间3.65d、菌种接种量3.32%、温度40℃,此条件下出粉率的预测值为41.81%。基于试验操作的可行性,确定最佳羊栖菜发酵最佳条件为发酵时间3.5d、菌种接种量3%、发酵温度40℃,在此条件下出粉率达到41.63%,与预测值相似,证明响应面模型具有可行性。

2.3 不同处理方式对羊栖菜速溶粉出粉率的影响

不同处理方式对羊栖菜速溶粉出粉率的影响如表6所示。

由表6可知,单独进行挤压膨化处理可使速溶粉出粉率增加5.83%;单独酶解处理可使速溶粉出粉率增加9.4%;挤压膨化联合酶解处理可使速溶粉出粉率增加14.75%;而结合挤压膨化、酶解和发酵3种处理可使羊栖菜出粉率增加24.98%。挤压膨化主要是通过高温高压以及高剪切力作用,破坏植物细胞壁,促进细胞内可溶性成分溶出,提高速溶粉出粉率^[6]。酶解法通过改变细胞壁和细胞膜的渗透性,将大分子多糖

表6 不同处理方式组合对出粉率的影响

Table 6 Effects of different treatment combinations on powder yield

不同处理方式	出粉率/%
未处理	16.65±0.75 ^c
挤压膨化处理	20.48±0.17 ^d
酶解处理	26.22±1.25 ^c
挤压膨化+酶解处理	31.40±0.18 ^b
挤压膨化+酶解+发酵处理	41.63±0.16 ^a

注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

降解成单糖、低聚糖等,加快可溶性物质的溶出,增加速溶粉的得率^[17]。乳酸菌发酵海藻的过程可直接利用酶解得到的单糖促进发酵,通过产生多种水解酶降解海藻,以及发酵产酸降解大分子物质,进而使出粉率增加^[18]。因此,本研究以挤压膨化作为前处理,结合酶解与发酵法制备速溶粉,并对加工工艺进行优化,使出粉率显著提高,达到了41.63%。

表7 羊栖菜速溶粉的理化特性分析

Table 7 Physicochemical properties of *Sargassum fusiforme* powder

样品	持水力/(g/g)	持油力/(g/g)	溶胀力/(mL/g)	溶解度/%	分散性/s	湿润性/min	冲调稳定性/%	松密度/(g/mL)	休止角/°	滑动角/°
普通粉	12.09±0.26 ^a	1.11±0.01 ^a	1.12±0.00 ^b	11.09±0.10 ^b	3.00±0.00 ^b	4.42±0.18 ^b	24.35±0.73 ^b	0.68±0.01 ^b	22.29±0.40 ^b	37.12±0.90 ^b
速溶粉	1.03±0.01 ^b	1.21±0.05 ^a	16.18±0.26 ^a	93.47±0.44 ^a	218.33±6.24 ^a	21.23±0.14 ^a	92.73±0.42 ^a	0.74±0.01 ^a	30.68±0.20 ^a	52.51±0.88 ^a

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.4.1 持水力、持油力、溶胀力

持水力、持油力是样品受到外部离心力或压力时吸附水分、油脂的能力。由表7可知,与普通粉相比,速溶粉的持水力显著降低,而持油力没有显著变化。这可能是因为羊栖菜粉在加工过程中细胞结构被破坏,使其对水分的束缚力减小从而导致持水力下降,这与夏晓霞等^[19]的研究结果相似。此外,由于纤维的网状结构可吸附水分子,而加工过程破坏了纤维素的网状结构,进而导致速溶粉的持水力降低。溶胀力表示的是粉体与水结合能力的大小,溶胀力越大,说明粉体分散于水中的稳定性越好。与普通粉相比,速溶粉的溶胀力大幅增加,可能原因为加工过程中增加了可溶性膳食纤维含量,粉体的长链大分子减少,短链分子增加,暴露出更多结合位点,溶胀力也随之增加^[20]。

2.4.2 速溶特性分析

由表7可知,与普通粉相比速溶粉的溶解度、分散性、湿润性、冲调稳定性均显著增加($P<0.05$)。速溶粉溶解度和冲调稳定性分别增加了82.38%、68.38%,粉体速溶性较好,冲调后溶液稳定。分散性指的是已润湿的粉末颗粒凝块在与水接触时自发均匀分散的能力^[21]。速溶粉的分散性较大,分散能力较差,可能是因为速溶粉粉末粒度小,颗粒之间的空隙小,粉末之间容易发生黏着,阻碍水向粉体内部渗透^[22]。湿润性指的

联合挤压膨化、酶解与发酵处理得到的速溶粉与普通粉如图9所示。

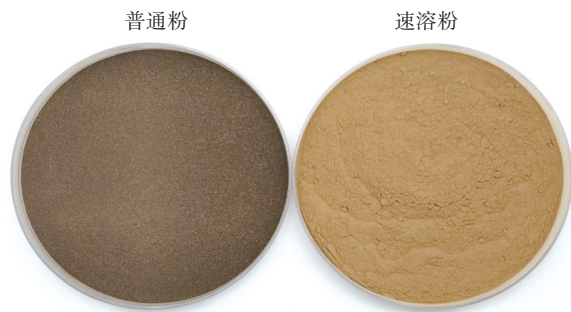


图9 普通粉与速溶粉

Fig.9 Ordinary powder and instant powder

由图9可知,最优工艺制备的速溶粉颜色更鲜亮,粉体更细腻。

2.4 速溶粉的理化特性分析

羊栖菜速溶粉的理化特性分析见表7。

是粉末均匀分布在液体表面后吸收水分的能力^[21],速溶粉颗粒较轻,溶解时会浮于表面,因此速溶粉的湿润性要劣于普通粉。

2.4.3 粉体特性分析

松密度反映的是粉体的填充性能,与粉体颗粒大小及其分布、形状等密切相关,羊栖菜速溶粉松密度大于普通粉,更利于粉体的充填。滑动角和休止角反映粉体的流动性,其值越小的粉体流动性越好,休止角越大溶解性越好^[19]。如表7所示,与普通粉相比,速溶粉的休止角和滑动角均增大,表明速溶粉的流动性较差,但溶解性好。原因是速溶粉的粉体粒径小,颗粒的比表面积增大,表面聚合能力变大,粉体会更紧密地聚集,不会轻易分散,粉体和玻璃板之间的摩擦力随之减小,使得休止角和滑动角增大,速溶粉的流动性则变差^[23]。

3 结论

本研究通过单因素和正交试验优化羊栖菜酶解工艺,确定了复合酶酶解条件的最佳组合:复合酶添加量16%,果胶酶:纤维素酶:木聚糖酶为5:4:1(质量比),pH4.5,酶解时间4h。进一步筛选出最适发酵羊栖菜浆液的植物乳杆菌,并优化得到其最佳发酵条件:发酵温度40℃、菌种接种量3%、发酵时间3.5d,在此条件下得到速溶粉出粉率为41.63%。研究加工过程中不

同处理方式对羊栖菜速溶粉出粉率的影响,发现结合挤压膨化、酶解和发酵处理得到的出粉率最高。对速溶粉的理化特性进行分析可知,以上复合加工工艺可以改善羊栖菜粉的溶胀力、溶解度、冲调稳定性、流动性和松密度。本研究表明结合挤压膨化、酶解和发酵工艺制备羊栖菜速溶粉具有较好的可行性,可为新型健康海藻产品开发提供理论参考,具有广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] 刘宇璇,汪芷茵,林振士,等. 洞头羊栖菜不同部位的营养成分和物化性质分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(1): 216-223, 133.
LIU Yuxuan, WANG Zhiyin, LIN Zhenshi, et al. Analysis of nutritional components and physicochemical properties of different parts of *Sargassum fusiforme*[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(1): 216-223, 133.
- [2] TAKEI M, KUDA T, EDA M, et al. Antioxidant and fermentation properties of aqueous solutions of dried algal products from the Boso Peninsula, Japan[J]. Food Bioscience, 2017, 19: 85-91.
- [3] LIU J, LUTHULI S, YANG Y, et al. Therapeutic and nutraceutical potentials of a brown seaweed *Sargassum fusiforme*[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(10): 5195-5205.
- [4] LI Y J, FU X T, DUAN D L, et al. Comparison study of bioactive substances and nutritional components of brown algae *Sargassum fusiforme* strains with different vesicle shapes[J]. Journal of Applied Phycology, 2018, 30(6): 3271-3283.
- [5] 马正然. 羊栖菜在加工过程中的色泽变化及产品开发生态研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
MA Zhengran. Study on color change and product development of *Sargassum fusiforme* during processing[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015.
- [6] GAN L J, CHEN S T, CHEN W L, et al. Effect of particle size of *Sargassum fusiforme* residue powder on sugar-free cookies properties[J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 182: 114826.
- [7] KAZEMI M, FATHI M, JAHANBIN K, et al. Optimization of ultrasonic-assisted hot acidic solvent extraction of ulvan from *Ulva intestinalis* of the Persian Gulf: Evaluation of structural, techno-functional, and bioactivity properties[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 142: 108837.
- [8] 胡婷,辛萌,周晓琳,等. 微波法制备甘露糖醛酸寡糖及其体外抗氧化活性研究[J]. 中国海洋药物, 2014, 33(3): 27-33.
HU Ting, XIN Meng, ZHOU Xiaolin, et al. Preparation of mannuronic acid oligosaccharides by microwave-assistant method and study of their *in vitro* antioxidant activities[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2014, 33(3): 27-33.
- [9] 李娟娟,刘艺欢,陈东方,等. 谷物制品的生物加工研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13): 358-363.
LI Juanjuan, LIU Yihuan, CHEN Dongfang, et al. Research progress of bio-processing of cereal products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(13): 358-363.
- [10] HUANG W X, WU C L, CHEN Z P, et al. Microbial degradation of kelp waste by cooperation of alginate and cellulose hydrolyzing bacteria: A potential solution for kelp waste reutilization[J]. Journal of Applied Phycology, 2023, 35(4): 1865-1877.
- [11] 牟佳红,梁安雯,覃超琳,等. 酶解与发酵联合处理对黑木耳还原糖含量及抗氧化性能的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(7): 139-147.
MOU Jiahong, LIANG Anwen, QIN Chaolin, et al. Effect of enzymatic hydrolysis combined with fermentation treatment on reducing sugar content and antioxidant performance of *Auricularia auricula* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(7): 139-147.
- [12] LU Y F, KOKJE T, SCHUTYSER M A I, et al. The effect of colloid milling on the microstructure and functional properties of asparagus dietary fibre concentrates[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 169: 114013.
- [13] CHAN P T, MATANJUN P. Chemical composition and physicochemical properties of tropical red seaweed, *Gracilaria changii*[J]. Food Chemistry, 2017, 221: 302-310.
- [14] 孙维宇,王章桃,伍金娥. 挤压膨化联合发酵技术对速食米粉食用品质的影响[J]. 武汉轻工大学学报, 2022, 41(1): 1-8.
SUN Weiyu, WANG Zhangtao, WU Jine. Effect of extrusion combined fermentation technology on edible quality of instant rice flour [J]. Journal of Wuhan Polytechnic University, 2022, 41(1): 1-8.
- [15] 陈坤林,黄明珠,李祥,等. 挤压膨化处理对芡实速溶粉理化特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(17): 259-266.
CHEN Kunlin, HUANG Mingzhu, LI Xiang, et al. Effect of extrusion treatment on physical and chemical properties of *Euryale ferox* instant powder[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(17): 259-266.
- [16] 张雨. 双螺杆挤压操作参数对红景天膨化及抗氧化特性的影响研究[D]. 延吉: 延边大学, 2021.
ZHANG Yu. Effect of operating parameters of twin-screw extrusion on expansion and antioxidant properties of *Rhodiola sachalinensis* [D]. Yanji: Yanbian University, 2021.
- [17] SUN C X, ZHOU J L, DUAN G L, et al. Hydrolyzing *Laminaria japonica* with a combination of microbial alginate lyase and cellulase [J]. Bioresource Technology, 2020, 311: 123548.
- [18] 时瑞,柯范生,吴曼铃,等. 海藻乳酸菌发酵的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(16): 381-387.
SHI Rui, KE Fansheng, WU Manling, et al. Research progress of seaweed fermentation with lactic acid bacteria[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(16): 381-387.
- [19] 夏晓霞,寇福兵,薛艾莲,等. 超微粉碎对枣粉理化性质、功能特性及结构特征的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(12): 37-45.
XIA Xiaoxia, KOU Fubing, XUE Ailian, et al. Effect of superfine grinding on physicochemical properties, functional and structure characteristics of jujube powder[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(12): 37-45.
- [20] JACOBS P J, HEMDANE S, DORNEZ E, et al. Study of hydration properties of wheat bran as a function of particle size[J]. Food Chemistry, 2015, 179: 296-304.
- [21] BUDNIMATH S H, G B, GANIGER V M, et al. Physical, reconstitution and phenolic properties of instant drink mix prepared with *Moringa oleifera* leaf, raw banana and whey protein concentrate[J]. Measurement: Food, 2023, 11: 100108.
- [22] ZHANG T, XIAO S Y, DING Z H, et al. Effects of superfine grinding on physicochemical properties and morphological structure of coix seed powders[J]. Journal of Cereal Science, 2021, 102: 103361.
- [23] 胡晗. 莲子速溶粉加工工艺的研究及代餐粉的开发[D]. 福州: 福建农林大学, 2020.
HU Han. Study on processing technology of lotus seed instant powder and development of meal replacement powder[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020.