

崔升,张娜,许建,等. 热处理对枣果肉中纤维素酶、多聚半乳糖醛酸酶活性及底物含量的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(3):279-283. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.03.080

# 热处理对枣果肉中纤维素酶、多聚半乳糖醛酸酶活性及底物含量的影响

崔升,张娜,许建,于宁,韦玉龙,黄雪娇,李焕荣

(新疆农业大学食品科学与药学院,新疆乌鲁木齐 830052)

**摘要:**为获得枣最佳的工艺参数,以山东冬枣为原料,通过热处理研究冬枣中纤维素酶(Cx)、多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性的变化及纤维素、果胶的保留量,利用响应面分析法设计3因素3水平的优化试验,结果表明,热处理时间4 min、处理温度93 ℃、投料量27 g/L为最佳的热处理条件,此条件下纤维素酶(Cx)和多聚半乳糖醛酸酶(PG)被灭活,纤维素和果胶保留量分别为0.647 0  $D_{620\text{ nm}}$ /g和0.085 9%。

**关键词:**冬枣;热处理;酶活;果胶;纤维素酶;多聚半乳糖醛酸酶

**中图分类号:** S665.101;TS201.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)03-0279-05

冬枣别称苹果枣,含有丰富的维生素A、维生素E及钾、钠、铁、铜等多种矿物质元素。鲜冬枣皮薄、肉脆、质优、味甘的特异品质,在古代被钦定为“贡品”<sup>[1]</sup>。果实质地是构成果实品质的重要因素,而采后冬枣很容易软化、腐烂,致使各种营养成分大量丧失。目前研究认为,果实的软化是由构成细胞间层及细胞壁的果胶降解所致,而果胶的分解与多聚半乳糖醛酸酶(PG)的活性有密切的关系<sup>[2-4]</sup>。与此同时,纤维素的降解也会促进果实的软化,而调节纤维素降解的水解酶主要是纤维素酶(Cx)<sup>[4]</sup>,鳄梨的软化就是纤维素酶在起作用<sup>[5]</sup>。本试验通过对冬枣进行热处理,分析其多聚半乳糖醛酸酶、纤维素酶活性及果胶、纤维素含量的变化,以寻求最佳的热处理条件,使PG和Cx这2种酶被灭活的同时果胶和纤维素保留量最高,为果蔬热处理技术进一步提供理论依据。

## 1 材料与与方法

### 1.1 材料

冬枣,产自山东沾化。选择着色度为20%~60%的半红枣,手工采摘以防造成机械损伤;0~4 ℃保藏,待用。

0.15% 吡唑、100 μg/mL 半乳糖醛酸标准液、浓硫酸(分析纯)、50 mmol/L pH 值为5.5的醋酸钠缓冲液、1.8 mol/L NaCl、1% 多聚半乳糖醛酸溶液、3,5-二硝基水杨酸(DNS)试剂、50 mmol/L pH 值为5.0的柠檬酸缓冲液、1% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液。

TU-1810型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司生产;HH-S<sub>4</sub>型数显恒温水浴锅,金坛市医疗仪器厂生产;SHB-Ⅲ型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸

有限公司生产;TGL-16aR型冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂生产;含研钵组织捣碎机;FE20K Plus型pH计,梅特勒-托利仪器有限公司生产。

### 1.2 试验方法

1.2.1 工艺流程 原料选择→拣选→清洗→切片→热处理→热风干燥→打粉→包装。

1.2.2 操作要点 拣选无机械损伤、无病虫害、着色度为20%~60%且大小均匀的红枣,用去孔器将红枣的核去掉;顺着核孔垂直切片,枣片厚度为3 mm左右;将定量的枣片装入纱布网中,确保网内空间足够大,避免枣片上浮于水面;将纱布网放入设定并达到温度的水浴锅中,水浴锅中水量按液料比设定;达到处理时间后迅速取出,并用液氮冷冻,低温存放备用。

#### 1.2.3 热处理单因素试验设计

1.2.3.1 料液比的选择 以Cx、PG酶活性和纤维素、果胶保留量为指标,处理温度为85 ℃、时间为4 min,液料比(mL:g)分别为20:1、40:1、60:1、80:1、100:1。

1.2.3.2 处理时间的选择 以Cx、PG酶活性和纤维素、果胶保留量为指标,处理温度为85 ℃、液料比为40 mL:1 g,处理时间分别为1、2、3、4、5 min。

1.2.3.3 处理温度的选择 以Cx、PG酶活性和纤维素、果胶保留量为指标,处理时间为4 min、液料比为40 mL:1 g,处理温度分别为75、80、85、90、95 ℃。

1.2.4 响应面试验设计 在单因素试验基础上,选取处理温度、处理时间、液料比3因素为自变量(表1),分别以Cx活性、PG活性、纤维素含量、果胶含量为响应值,根据Design-Expert 8.0.5b软件Box-Behnken的试验设计方法,设计3因素3水平共17个试验点的响应面分析试验,其中12组是析因试验,5组是中心试验。

1.2.5 测定指标及方法 果胶含量、Cx酶活性和PG酶活性的测定参照曹建康等的方法<sup>[6]</sup>;纤维素含量测定参照李合生等的方法<sup>[7-8]</sup>,并进行部分修改。准确称量2 g枣果置于冰水浴的烧杯中,用60 mL 60%硫酸溶液消化30 min;转入

收稿日期:2015-02-10

基金项目:国家自然科学基金(编号:31360401)。

作者简介:崔升(1990—),男,山西大同人,硕士,从事农产品深加工与综合利用研究。E-mail:995832319@qq.com。

通信作者:李焕荣,教授,从事农产品深加工与综合利用研究。

E-mail:lhrgjw@sina.com。

表1 响应面试验因素水平

水平	因素		
	A:热处理时间 (min)	B:热处理温度 (°C)	C:料液比 (g:L)
-1	3	85	1:20
0	4	90	1:40
1	5	95	1:60

100 mL的容量瓶中,用同一浓度硫酸定容至刻度线;用布氏漏斗过滤,取溶液5 mL用蒸馏水定容至100 mL,摇匀;取溶液2 mL于比色管中,加0.5 mL 2% 萘酚试剂,再缓慢加入5 mL 浓硫酸,摇匀;静置12 min,波长620 nm下测吸光度。

1.2.6 数据统计分析 采用 Design - Expert 8.0.5b 数据处理软件进行响应面分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对冬枣片热处理的效果 由图1可见,随料液比的增大,纤维素酶(Cx)、多聚半乳糖醛酸酶(PG)的活性越高;液料比为20 mL:1 g和40 mL:1 g时,2种酶的活性变化不大,说明此时枣片的添加量基本不会影响酶活性的变化;随料液比的增大,纤维素和果胶保留量下降明显,这可能是因为料液比增加使水温下降,致使酶能够长时间保持较高的活性,促进了纤维素和果胶的分解,而液料比为20 mL:1 g和40 mL:1 g时,酶的活性降低很快,故而纤维素和果胶保留量较高。考虑实际操作和人力、物力消耗,选择液料比为40 mL:1 g较合适。

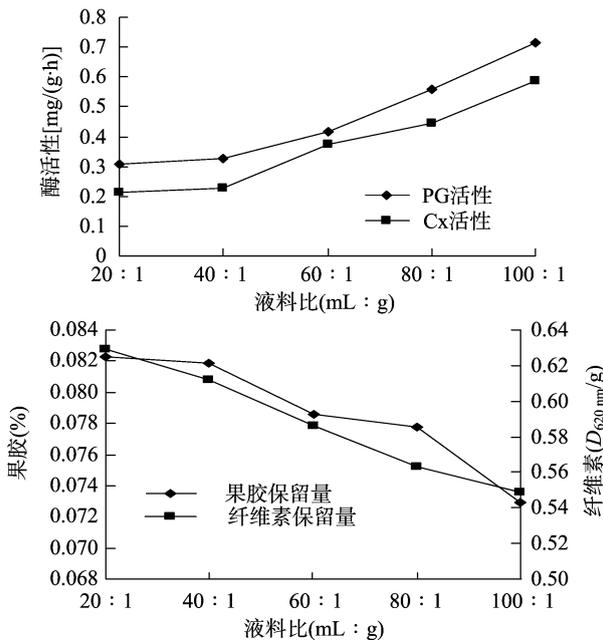


图1 料液比对热处理冬枣片酶活、果胶和纤维素保留量的影响

2.1.2 热处理时间对冬枣片的影响效果 由图2可见,随热处理时间的延长,酶活性总体呈下降趋势,相应的纤维素和果胶的保留量也逐渐减少,5 min时保留量下降明显,这可能是纤维素和果胶溶解到热水中的缘故。因此,选择热处理时间为4 min较合适。

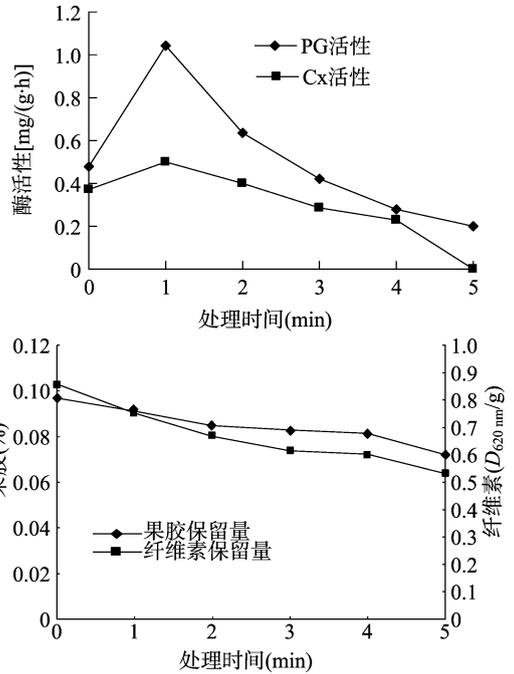


图2 热处理时间对冬枣片酶活、果胶和纤维素保留量的影响

2.1.3 热处理温度对冬枣片的影响效果 由图3可见,热处理温度越高,酶的活性越低,75~90 °C酶活性急剧下降,90~95 °C酶活变化趋于平缓;90 °C处理时纤维素和果胶的保留量最高,95 °C时有所降低,这可能是因为高温促进纤维素和果胶热分解的发生<sup>[9]</sup>。因此,选择处理温度为90 °C较合适。

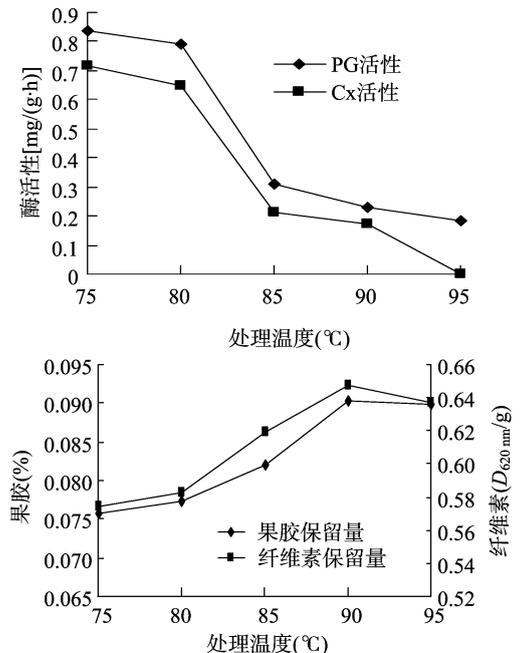


图3 处理温度对冬枣片酶活、果胶和纤维素保留量的影响

### 2.2 响应面分析

2.2.1 模型建立及显著性检验 利用软件对试验结果(表2)进行拟合,得到热处理时间(A)、热处理温度(B)、料液比(C)分别与纤维素酶活性、果胶酶活性、纤维素含量、果胶含量的二次多项回归方程为: Cx 酶活 = 0.037 - 0.039A - 0.22B +

0.032C - 0.097AB + 0.039AC - 0.018BC + 0.072A<sup>2</sup> + 0.19B<sup>2</sup> + 0.001 5AB + 0.013AC + 0.005 25BC - 0.008 45A<sup>2</sup> - 0.024B<sup>2</sup> - 0.037C<sup>2</sup>; PG 酶活 = 0.037 - 0.033A - 0.24B + 0.085C - 0.013C<sup>2</sup>; 果胶保留量 = 0.085 + 0.000 0625A + 0.003 125B - 0.11AB + 0.05AC - 0.074AB + 0.082A<sup>2</sup> + 0.21B<sup>2</sup> - 0.032C<sup>2</sup>; 0.001 888C + 0.000 375AB + 0.001 35AC + 0.001 075BC - 纤维素保留量 = 0.64 - 0.000 125A + 0.022B - 0.017C - 0.001 785A<sup>2</sup> - 0.002 71B<sup>2</sup> - 0.001 085C<sup>2</sup>。

表2 响应面试验设计与试验结果

试验号	A:热处理时间	B:热处理温度	C:料液比	Cx 酶活 [mg/(g·h)]	PG 酶活 [mg/(g·h)]	纤维素保留量 (D <sub>620 nm</sub> /g)	果胶保留量 (%)
1	0	0	0	0	0	0.649	0.085 7
2	1	0	1	0.171 1	0.184 8	0.614	0.081 9
3	0	1	-1	0	0	0.636	0.085 4
4	-1	1	0	0.228 6	0.231 4	0.634	0.083 2
5	0	1	1	0	0	0.623	0.084 5
6	1	1	0	0	0	0.630	0.082 9
7	-1	0	-1	0.199 9	0.215 9	0.657	0.085 1
8	0	-1	1	0.559 6	0.697 6	0.567	0.074 9
9	0	0	0	0	0	0.642	0.085 4
10	-1	0	1	0.214 3	0.200 3	0.587	0.077 9
11	1	0	-1	0	0	0.631	0.083 7
12	0	0	0	0	0.184 8	0.645	0.085 4
13	1	-1	0	0.559 6	0.635 4	0.591	0.077 1
14	0	0	0	0	0	0.642	0.083 9
15	0	0	0	0.185 5	0	0.639	0.084 7
16	0	-1	-1	0.487 7	0.402 3	0.601	0.080 1
17	-1	-1	0	0.401 3	0.433 4	0.589	0.078 9

统计分析表明,回归模型均显著( $P < 0.05$ ),失拟项不显著( $P > 0.05$ ),这说明方程拟合性较好,可用回归方程来预测实际的试验结果(表3至表6);纤维素酶活性、果胶酶活性、纤维素含量、果胶含量的二次多项回归方程决定系数 $R^2$ 分别为0.934 8、0.949 5、0.975 7、0.951 7,不良适配度仅分别为0.065 2、0.050 5、0.024 3、0.048 3,这说明响应值与自变量之间的回归系数呈现较高比例,回归线与回归数据之间适配度较好;信噪比分别为10.349、11.760、18.986、11.846,均大于4,这说明4个模型均可以准确反映试验结果。由表3可见,处理温度、处理时间和处理温度的交互项、处理温度的二次项对Cx酶活性的影响显著, $P$ 值分别为0.000 1、0.047 1、0.002 0,均小于0.05;由表4可见,处理温度、处理时间和处理温度的交互项、处理温度的二次项对PG酶活性的影响显著, $P$ 值分别为 $< 0.000 1$ 、0.027 9、0.001 0,均小于0.05;由表5可见,处理温度、处理时间和料液比的交互项、处理温度的二次项对纤维素保留量影响显著, $P$ 值分别为 $< 0.000 1$ 、0.003 5、 $< 0.000 1$ ,均小于0.05;由表6可见,处理温度、料液比、处理时间和料液比的交互项、处理时间的二次项、处理温度的二次项对果胶保留量影响显著, $P$ 值分别为0.000 1、0.002 1、0.046 9、0.013 7、0.001 6,均小于0.05。

2.2.2 各因素交互作用的影响 采用 Design Expert 8.0.5 b 软件,按照回归方程式绘制等高线图和响应面图(图4至图7)。从等高线可以观察交互影响效应的强弱,圆形表示2个因素交互影响作用不显著,而椭圆形则表示2个因素交互影响作用显著。响应面图是依照响应值对各试验因子构成的三围空间曲面图形,可以形象地看出各参数间的相互作用及最佳参数,当特征值均为正值时,响应面图表现为山谷形曲面,存在最小值,当特征值均为负值时,响应面图表现为山丘形曲面,存在最大值,当特征值有正值、有负值时,响应面图表现为

表3 Cx 酶活的试验结果方差分析

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
模型	9	0.65	0.072	11.16	0.002 2
A	1	0.012	0.012	1.90	0.210 7
B	1	0.40	0.40	61.20	0.000 1
C	1	0.008 282	0.008 282	1.28	0.295 1
AB	1	0.037	0.037	5.79	0.047 1
AC	1	0.006 139	0.006 139	0.95	0.362 4
BC	1	1 292	0.001 292	0.20	0.668 4
A <sup>2</sup>	1	0.022	0.022	3.14	0.107 3
B <sup>2</sup>	1	0.150	0.150	22.98	0.002 0
C <sup>2</sup>	1	0.005 714	0.005 714	0.88	0.378 6
残差	7	0.045	0.006 468		
失拟项	3	0.018	0.005 916	0.86	0.530 7
纯误差	4	0.028	0.006 882		
总离差	16	0.69			

表4 PG 酶活的试验结果方差分析

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
模型	9	0.81	0.090	14.62	0.000 9
A	1	0.008 502	0.008 502	1.38	0.278 0
B	1	0.470	0.470	76.33	$< 0.000 1$
C	1	0.027	0.027	4.39	0.074 4
AB	1	0.047	0.047	7.64	0.027 9
AC	1	0.010	0.010	1.63	0.242 0
BC	1	0.022	0.022	3.55	0.101 7
A <sup>2</sup>	1	0.028	0.028	4.57	0.069 8
B <sup>2</sup>	1	0.180	0.180	29.19	0.001 0
C <sup>2</sup>	1	0.004 206	0.004 206	0.68	0.435 4
残差	7	0.043	0.006 146		
失拟项	3	0.016	0.005 234	0.77	0.569 5
纯误差	4	0.027	0.006 830		
总离差	16	0.85			

表5 纤维素保留量试验结果方差分析

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
模型	9	0.011	$1.178 \times 10^{-3}$	31.17	<0.000 1
A	1	$1.250 \times 10^{-7}$	$1.250 \times 10^{-7}$	$3.309 \times 10^{-3}$	0.955 7
B	1	$3.828 \times 10^{-3}$	$3.828 \times 10^{-3}$	101.33	<0.000 1
C	1	$2.245 \times 10^{-3}$	$2.245 \times 10^{-3}$	59.41	0.000 1
AB	1	$9.000 \times 10^{-6}$	$9.000 \times 10^{-6}$	0.24	0.640 6
AC	1	$7.023 \times 10^{-4}$	$7.023 \times 10^{-4}$	18.59	0.003 5
BC	1	$1.103 \times 10^{-4}$	$1.103 \times 10^{-4}$	2.92	0.131 3
A <sup>2</sup>	1	$3.006 \times 10^{-4}$	$3.006 \times 10^{-4}$	7.96	0.025 7
B <sup>2</sup>	1	$2.415 \times 10^{-3}$	$2.415 \times 10^{-3}$	63.93	<0.000 1
C <sup>2</sup>	1	$6.791 \times 10^{-4}$	$6.691 \times 10^{-4}$	17.98	0.003 8
残差	7	$2.644 \times 10^{-4}$	$3.778 \times 10^{-5}$		
失拟项	3	$2.072 \times 10^{-5}$	$6.908 \times 10^{-5}$	4.83	0.081 1
纯误差	4	$5.720 \times 10^{-4}$	$1.430 \times 10^{-5}$		
总离差	16	0.011			

表6 果胶保留量的试验结果方差分析

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
模型	9	$1.733 \times 10^{-4}$	$1.925 \times 10^{-6}$	15.32	0.000 8
A	1	$3.125 \times 10^{-8}$	$3.125 \times 10^{-6}$	0.025	0.879 2
B	1	$7.813 \times 10^{-5}$	$7.813 \times 10^{-5}$	62.14	0.000 1
C	1	$2.850 \times 10^{-5}$	$2.850 \times 10^{-6}$	22.67	0.002 1
AB	1	$5.625 \times 10^{-7}$	$5.625 \times 10^{-7}$	0.45	0.525 0
AC	1	$7.290 \times 10^{-6}$	$7.290 \times 10^{-7}$	5.80	0.046 9
BC	1	$4.622 \times 10^{-6}$	$4.622 \times 10^{-7}$	3.68	0.096 7
A <sup>2</sup>	1	$1.342 \times 10^{-5}$	$1.342 \times 10^{-6}$	10.67	0.013 7
B <sup>2</sup>	1	$3.092 \times 10^{-5}$	$3.092 \times 10^{-5}$	24.60	0.001 6
C <sup>2</sup>	1	$4.957 \times 10^{-6}$	$4.957 \times 10^{-8}$	3.94	0.087 5
残差	7	$8.800 \times 10^{-6}$	$1.257 \times 10^{-7}$		
失拟项	3	$6.692 \times 10^{-6}$	$2.231 \times 10^{-7}$	4.23	0.0986
纯误差	4	$2.108 \times 10^{-6}$	$5.270 \times 10^{-8}$		
总离差	16	$1.821 \times 10^{-4}$			

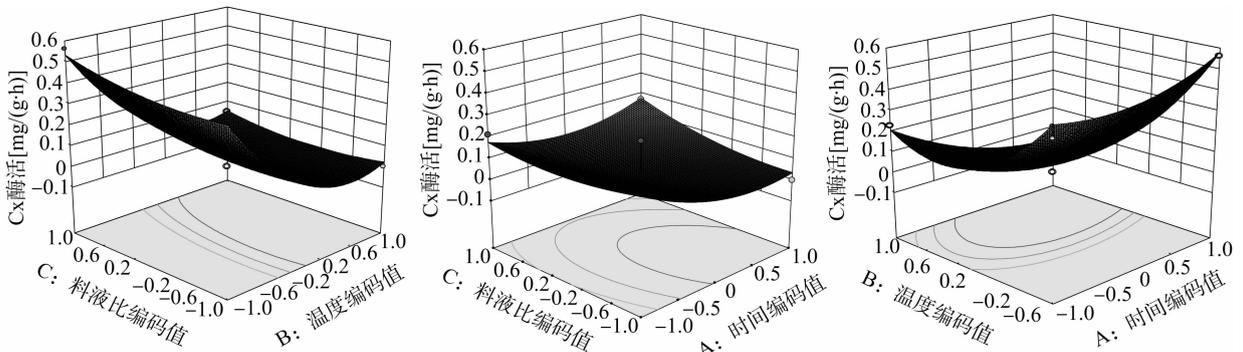


图4 交互作用对Cx活性的影响

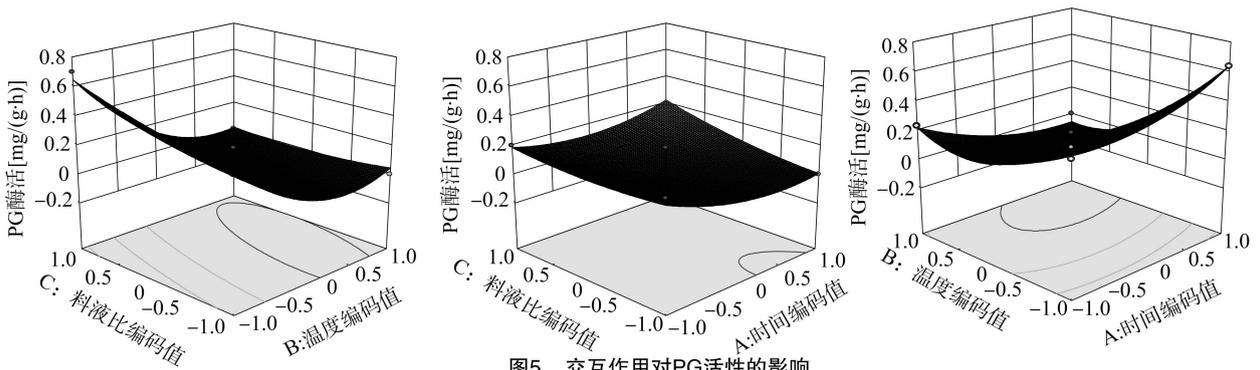


图5 交互作用对PG活性的影响

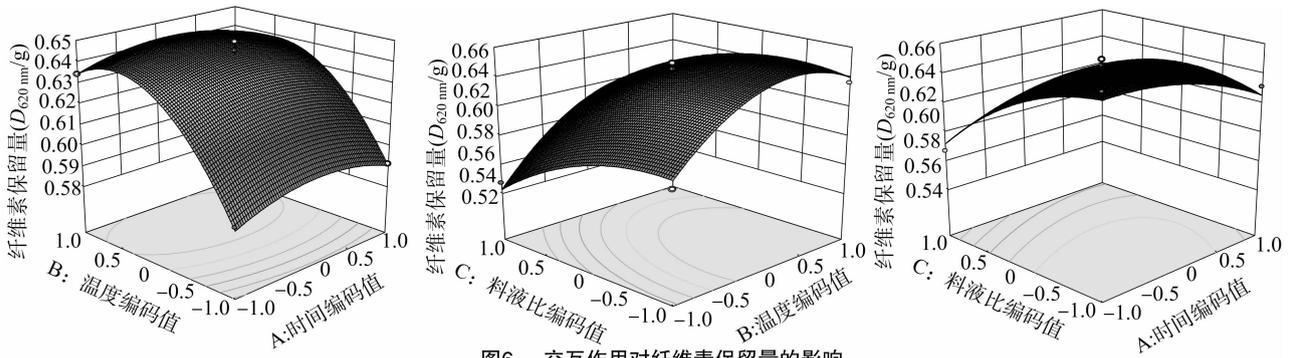


图6 交互作用对纤维素保留量的影响

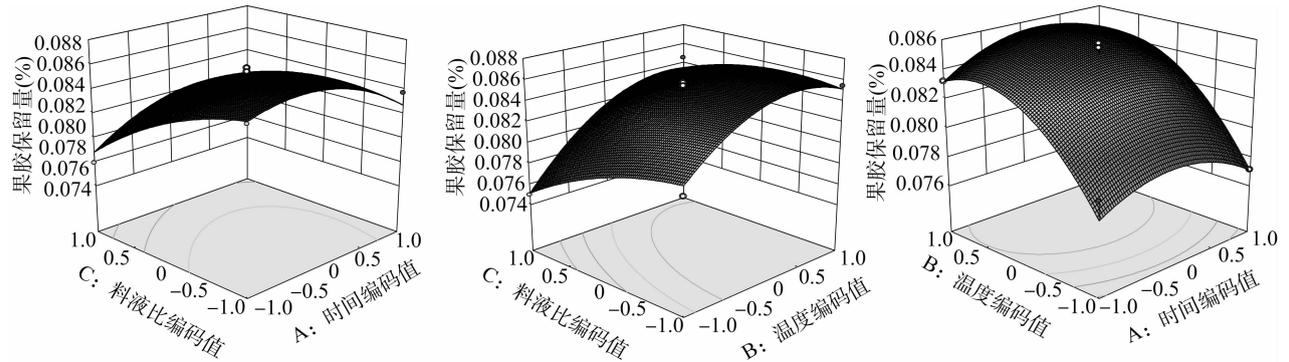


图7 交互作用对果胶保留量的影响

鞍马形曲面,无极值存在,从经济角度考虑,响应面0点水平的处理条件较为合适。

通过等高线图可见,热处理时间和热处理温度2个因素的交互作用对Cx酶和PG酶活性影响显著,热处理时间和料液比2个因素的交互作用对纤维素和果胶保留量影响显著;从响应面图可见,各因素水平过高或过低,对考察指标均有不利影响,处理温度高、处理时间长能够很好地将酶灭活,但处理温度升到95℃,其果胶和纤维素保留量有下降的趋势(图4至图7),这可能是高温使果胶和纤维素发生热分解,而时间越长溶出量越大,从而导致保留量下降。

**2.2.3 反应条件优化及模型验证** 通过数学模型及响应面分析得出,枣热处理的最佳工艺条件为:处理时间3.80 min、处理温度92.12℃、料液比27.42 g/L,此条件下PG酶和Cx酶被灭活,纤维素和果胶保留量分别为0.654  $D_{620\text{ nm/g}}$ 、0.086 4%。为实际操作方便,将热处理条件调整为:处理时间4 min、处理温度93℃、料液比27 g/L,经5次平行试验发现,此条件下Cx酶和PG酶被完全灭活,纤维素和果胶保留量分别为0.647  $D_{620\text{ nm/g}}$ 、0.085 9%,与预测值相差较小。

### 3 结论

试验利用Design-Expert 8.0.5 b软件设计响应面,优化热激处理工艺条件,并进行试验验证,得到枣最佳提取工艺条件为:处理时间4 min、处理温度93℃、料液比27 g/L,此条件下Cx酶和PG酶被完全灭活,纤维素和果胶保留量分别为

0.647  $D_{620\text{ nm/g}}$ 、0.085 9%,这可为相关生产加工提供理论参考和借鉴。

### 参考文献:

- [1]王军,张宝善,陈锦屏. 红枣营养成分及其功能的研究[J]. 食品研究与开发,2003,24(2):68-72.
- [2]郭时印,谭兴和,李清明,等. 热激处理对柰李抗冷性及其内源激素含量的影响[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2006(5):508-512.
- [3]傅茂润,陈庆敏,杜金华. 二氧化氯气体( $\text{ClO}_2$ )处理对葡萄内源激素含量的影响[J]. 食品科学,2006(6):227-230.
- [4]寇莉萍. 热处理对轻度加工葡萄保鲜效应及机理的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2007.
- [5]Pesis E, Marinansky R, Zauberman G, et al. Reduction of chilling injury symptoms of stored avocado fruit by prestorage treatment with high nitrogen atmosphere[J]. Acta Horticulturae, 1993, 343: 251-255.
- [6]曹建康,姜微波,赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007:79-80.
- [7]于宁,韦玉龙,许铭强,等. 哈密大枣在干制过程中几种酶及果胶和纤维素变化的研究[J]. 新疆农业科学,2014(5):846-854.
- [8]李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [9]田辉. 连续逆流法提取橙皮果胶及其动力学研究[D]. 成都:西华大学,2007.