

孔祥佳,连至楠. 杨梅清汁加工中的酶解工艺研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(12):131-134.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.12.034

杨梅清汁加工中的酶解工艺研究

孔祥佳,连至楠

(福建中医药大学药学院,福建福州 350122)

摘要:通过单因素和正交试验研究杨梅清汁加工中的酶解工艺,并探讨最优酶解工艺条件对杨梅清汁澄清效果的影响。结果表明,当果胶酶用量为 0.007%、pH 值为 3.5、酶解温度为 55℃、酶解时间为 150 min 时,杨梅出汁率为 81.66%、透光率为 77.09%,与相同 pH 值、温度和时间但未经过酶解工艺相比,其出汁率、透光率分别增加 20.23%、32.55%。

关键词:杨梅;酶解工艺;果胶酶;出汁率;澄清

中图分类号: TS275.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)12-0131-04

杨梅(*Myrica rubra* Sieb. & Zucc.) 属于杨梅科杨梅属亚热带常绿果树,是中国南方著名的特色水果之一。福建是我国杨梅的主产地,据统计,2010 年福建省杨梅种植面积为 17 542 hm²,总产量为 99 003 t,至 2014 年福建省杨梅种植面积为 18 992 hm²,总产量为 119 332 t^[1]。杨梅果实甜酸适口、风味浓郁、香气独特、营养价值丰富,除富含糖、有机酸、维生素 C、钙、铁、钾、花青素等营养成分外^[2-3],还具有较高的保健作用和药用价值,鲜食有抗氧化、抗肿瘤、抗过敏、抗菌消炎、降血糖、护肝、护胰岛等功效^[4-12],深受消费者喜爱。但杨梅果实成熟于梅雨季节,果实无外皮保护,肉柱突起易受伤害,鲜果货架期短,在贮藏、运输、销售过程中其营养价值和食用价值快速降低,故合理开发及加工杨梅产品成为充分利用资源、减少果实浪费的关键。杨梅的加工产品主要有果脯蜜饯、饮料和果酒酿制等^[13-14]。其中,杨梅果汁饮料能保留其原有的色泽、风味、营养成分和药理活性,具有良好的发展前景和市场潜力。

出汁率是果汁加工中首要考虑的因素。若采用传统的压榨工艺,很难破坏杨梅果实细胞壁组成中的果胶、纤维素、半

纤维素和糖蛋白等大分子物质的结构,使压榨后的果浆黏稠、取汁困难、出汁率低。而在果实细胞壁组成中,果胶物质含量相对较高,蛋白质含量相对较低^[15]。因此,破坏果胶分子结构、降低果胶物质含量是提高果实出汁率最为有效的加工方式。果胶酶是催化降解果胶物质的酶类,可破坏果胶分子结构、降低果胶物质含量,导致果实细胞壁结构的解体,从而降低果浆黏度、改善压榨性能、提高果汁可滤性和澄清度,更有利于后续过滤、澄清和浓缩工艺的进行^[16-17]。目前,果胶酶酶解澄清汁技术在蓝莓^[17]、哈密瓜^[18]、黑莓^[19]、欧李^[20]等果实中均有报道,但有关果胶酶对杨梅清汁的酶解工艺研究未见报道。本试验以“东魁”杨梅果实为材料,研究不同酶解条件对杨梅出汁率的影响及其最优酶解工艺条件下的澄清效果,确定果胶酶提高杨梅出汁率的最优工艺条件,并探讨最优酶解工艺条件对杨梅清汁澄清效果的影响,为工业化生产杨梅果汁饮料提供技术参数和理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验材料:“东魁”杨梅果实,采摘于福建省漳州市杨梅果园。

试验试剂:果胶酶(40 U/mg,生物试剂),上海索莱宝生物科技有限公司;柠檬酸(分析纯),国药集团化学试剂有限

收稿日期:2016-05-01

作者简介:孔祥佳(1983—),女,博士,讲师,主要从事农产品加工及贮藏工程研究。E-mail:nihaojia2005@126.com。

[6] Vander Werf M J, de Bont J A M, Leak D J. Opportunities in microbial biotransformation of monoterpenes [M]. Berlin: Springer, 1996: 15-27.

[7] Dionísio A P, Carvalho D S D, Pastore G M. Biotransformation of carotenoids into aroma compounds: screening using solid phase microextraction [J]. New Biotechnology, 2009, 25(6): 237.

[8] Sánchez-Contreras A, Jiménez M, Sánchez S. Bioconversion of lutein to products with aroma [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2000, 54(4): 528-534.

[9] Zorn H, Langhoff S, Scheibner M, et al. A peroxidase from *Lepista irina* cleaves β, β -carotene to flavor compounds [J]. Biological Chemistry, 2003, 384(7): 1049-1056.

[10] Zorn H, Langhoff S, Scheibner M, et al. Cleavage of β, β -carotene to

flavor compounds by fungi [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 62(4): 331-336.

[11] 王树林, 朱明明, 李婧, 等. 影响 β -胡萝卜素降解菌酶活性因素的研究 [J]. 食品科学, 2013, 34(13): 157-161.

[12] 麻俊侠, 樊明涛, 王树林, 等. β -胡萝卜素降解葡萄球菌化学合成培养基营养素的研究 [J]. 食品科学, 2013, 34(5): 137-141.

[13] 刘维涓. β -胡萝卜素氧化降解产物的 GC-MS 研究及形成机理探讨 [J]. 林产化学与工业, 2008, 28(6): 20-24.

[14] Eduardo R B, Gabriela M R, Marco A O, et al. Bioconversion of lutein using a microbial mixture - maximizing the production of tobacco aroma compounds by manipulation of culture medium [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2005, 68(2): 174-182.

公司。

1.2 仪器与设备

JYL-A062 型榨汁机,九阳股份有限公司;HH-S 型恒温水浴锅,河南郑州长城科工贸有限公司;雷磁 PHSJ-4A 型实验室 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司;T6 新世纪紫

外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;MP3101 电子天平,上海舜宇科学仪器有限公司;AB204-N 电子分析天平,梅特勒托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 杨梅清汁的酶解工艺流程(图 1)

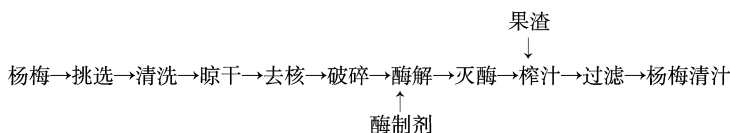


图1 杨梅清汁的酶解工艺流程

1.3.2 单因素试验 (1)果胶酶用量:取 6 份杨梅果浆(1 000 g/份),用柠檬酸调节 pH 值至 3.5,控制酶解温度 50 ℃,固定酶解时间 120 min,添加果胶酶,其用量分别为杨梅果浆的 0%、0.002%、0.004%、0.006%、0.008%、0.010%,探讨果胶酶用量对杨梅出汁率的影响。

出汁率 = 杨梅果汁的质量/杨梅果浆的质量 × 100%。

(2)pH 值:取 6 份杨梅果浆(1 000 g/份),添加 0.006% 果胶酶,控制酶解温度 50 ℃,固定酶解时间 120 min,分别将 pH 值调至 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5,探讨 pH 值对杨梅出汁率的影响。

(3)酶解温度:取 6 份杨梅果浆(1 000 g/份),添加 0.006% 果胶酶,调节 pH 值至 3.5,固定酶解时间 120 min,分别将酶解温度控制在 30、35、40、45、50、55 ℃,探讨酶解温度对杨梅出汁率的影响。

(4)酶解时间:取 6 份杨梅果浆(1 000 g/份),添加 0.006% 果胶酶,调节 pH 值至 3.5,控制酶解温度 50 ℃,分别将酶解时间固定在 30、60、90、120、150、180 min,探讨酶解时间对杨梅出汁率的影响。

1.3.3 正交试验 根据单因素试验结果设计正交试验,进一步优化杨梅清汁加工中的酶解工艺条件。

1.3.4 杨梅清汁透光率的测定 根据正交试验结果,按照张丽霞等^[17]和周剑忠等^[19]的分光光度计法测定最优酶解工艺条件下的杨梅清汁透光率,用 $T(\%)$ 表示杨梅清汁的澄清度。

1.3.5 数据处理 以上各指标测定均重复 3 次,分别采用 Microsoft Office Excel 和 IBM SPSS Statistics 19 对试验数据进行统计分析和差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 果胶酶用量对杨梅出汁率的影响

在 pH 值、温度和底物浓度一定时,酶促催化反应速率与酶的浓度呈正比;但随着酶促催化反应的进行,底物浓度不断降低,反应速率下降;当底物完全被酶分解时,酶促催化反应终止^[16,21]。因此,添加一定用量的酶可加速酶促催化反应的进行,使底物有效分解,但若持续增加酶用量,会限制酶促催化反应速率,使酶解效果不明显。由图 2 可知,果胶酶用量影响杨梅的出汁率。不添加果胶酶时,杨梅出汁率仅为 66.68%。而随着果胶酶用量的增加,杨梅出汁率不断增加,但其上升幅度因酶用量不同而各有差异。其中,果胶酶用量在 0.002%~0.006% 时,杨梅出汁率快速升高;果胶酶用量在 0.006%~0.010% 时,杨梅出汁率增加不明显。统计分析表明,添加果胶酶的杨梅出汁率显著高于不添加果胶酶的杨

梅出汁率($P < 0.05$),而果胶酶用量在 0.006%~0.010% 时杨梅出汁率差异不显著($P > 0.05$)。因此,为了节约酶的使用量和生产成本,选择果胶酶用量为 0.006%。

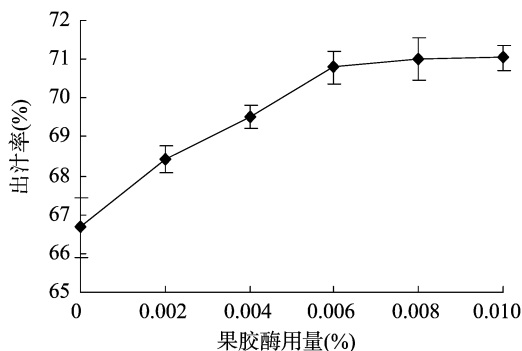


图2 果胶酶用量对杨梅出汁率的影响

2.2 pH 值对杨梅出汁率的影响

每一种酶只能在一定 pH 值范围内表现它的活性,而且在最适 pH 值条件下其活性最高,且偏离最适 pH 值越远,酶活性越低^[16,21]。由图 3 可知,随着 pH 值的增加,杨梅出汁率呈先升高后降低的变化趋势,且在 pH 值为 3.5 时,出汁率达到最大值,为 72.78%。这是由于底物分子的解离状态和酶分子的解离状态均受 pH 值的影响,当 pH 值改变不剧烈时,酶虽然不变性,但是其活性受到影响,而过高或过低(极端) pH 值会影响蛋白质的构象,甚至使酶变性或失活,从而影响杨梅的出汁率。因此,选取果胶酶酶解的较适 pH 值为 3.5。

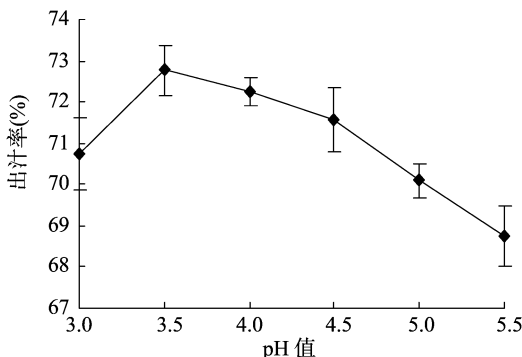


图3 pH 值对杨梅出汁率的影响

2.3 酶解温度对杨梅出汁率的影响

温度对酶促催化反应速率的影响有双重效应:一方面是当温度升高,酶促催化反应速率加快;另一方面,随着温度升高,酶逐渐变性,从而降低酶促催化反应速率。而酶最适反应温度是这 2 种效应平衡的净结果^[16,21]。由图 4 可知,酶解温度对杨梅出汁率有较大影响。当酶解温度控制在 30~50 ℃

时,随着温度升高,杨梅出汁率快速增加,即酶解温度控制在 50 ℃ 时,出汁率达到最大值,为 78.53%;但随着酶解温度继续升高至 55 ℃,杨梅出汁率下降。这说明酶解温度过高或过低时,极易引起果胶酶活性的降低,甚至丧失其催化活性,降低酶解效果,从而影响杨梅的出汁率。因此,选取果胶酶酶解的较适温度为 50 ℃。

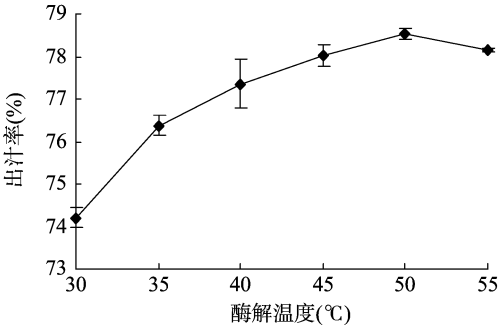


图4 酶解温度对杨梅出汁率的影响

2.4 酶解时间对杨梅出汁率的影响

酶解时间可影响酶促催化反应进程。由图 5 可知,随着酶解时间的增加,杨梅出汁率呈先升高后降低的变化趋势,但其变化幅度因酶解时间不同而各有差异。其中,酶解 30 ~ 90 min 时,杨梅出汁率快速增加;酶解 90 ~ 150 min 时,杨梅出汁率缓慢上升;当酶解时间固定在 150 min 时,杨梅出汁率达到最高,为 78.86%;但随着酶解时间继续延长至 180 min,杨梅出汁率降低。这说明适宜的酶解时间可促进果胶酶与底物有效结合,酶解充分;但酶解时间过长,会导致酶活性降低,并造成部分营养成分的氧化和微生物的污染,从而影响杨梅的出汁率与品质。因此,选取果胶酶酶解杨梅的适宜时间为 150 min。

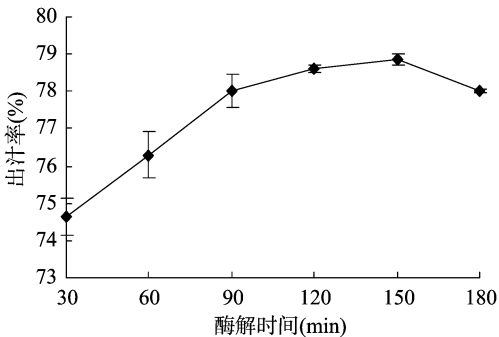


图5 酶解时间对杨梅出汁率的影响

2.5 正交试验与分析

根据单因素试验结果,选取果胶酶用量(A)、pH 值(B)、酶解温度(C)、酶解时间(D) 4 因素,进行 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验。正交试验因素水平见表 1,正交试验结果及极差分析见表 2,正交试验方差分析见表 3。

由表 2 可知,杨梅清汁加工中酶解的最优工艺条件组合为 $A_2B_2C_3D_3$,即添加 0.007% 果胶酶,调节 pH 值至 3.5,控制酶解温度 55 ℃,固定酶解时间 150 min。利用此最优工艺条件组合进行杨梅出汁率的验证性重复试验,测得杨梅出汁率为 $(81.66 \pm 0.28)\%$ 。若将杨梅果实按相同 pH 值、温度和时间但未经过酶解工艺处理,杨梅出汁率仅为 $(67.92 \pm$

表 1 杨梅清汁酶解工艺正交试验因素水平

水平	因素			
	A:果胶酶用量(%)	B:pH 值	C:酶解温度(℃)	D:酶解时间(min)
1	0.006	3.0	45	120
2	0.007	3.5	50	135
3	0.008	4.0	55	150

1.24)%。进一步比较发现,最优酶解工艺条件下的杨梅出汁率极显著高于不加酶工艺($P < 0.01$)。

同时,通过极差 R 值可以得出,各影响因素的主次关系为 $R_D > R_C > R_B > R_A$,即酶解时间对杨梅出汁率的影响最为明显,果胶酶用量最不明显。

表 2 杨梅清汁酶解工艺正交试验结果及极差分析

试验号	因素水平				出汁率(%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	74.98 ± 0.51
2	1	2	2	2	77.10 ± 1.12
3	1	3	3	3	78.49 ± 0.21
4	2	1	2	3	76.68 ± 0.50
5	2	2	3	1	78.00 ± 0.37
6	2	3	1	2	78.39 ± 0.79
7	3	1	3	2	78.01 ± 0.51
8	3	2	1	3	79.41 ± 0.33
9	3	3	2	1	75.19 ± 0.18
K_1	230.57	229.67	232.78	228.17	
K_2	233.07	234.51	228.97	233.50	
K_3	232.61	232.07	234.50	234.58	
k_1	76.86	76.56	77.59	76.06	
k_2	77.69	78.17	76.32	77.83	
k_3	77.54	77.36	78.17	78.19	
R	0.83	1.61	1.85	2.13	
最优组合					$A_2B_2C_3D_3$

由表 3 可知,pH 值、酶解温度、酶解时间这 3 个因素对杨梅出汁率的影响极显著($P < 0.01$),但果胶酶用量的影响差异不显著($P > 0.05$)。

表 3 杨梅清汁酶解工艺正交试验方差分析

因素	Ⅲ型平方和	自由度	均方	F 值	P 值
校正模型	36.551	8	4.569	13.899	0.000
截距	107 725.347	1	107 725.347	327 698.278	0.000
果胶酶用量	2.361	2	1.180	3.591	0.071
pH 值	7.809	2	3.904	11.877	0.003
酶解温度	10.679	2	5.339	16.243	0.001
酶解时间	15.703	2	7.851	23.884	0.000
误差	2.959	9	0.329		
总计	107 764.857	18			
校正的总计	39.510	17			

2.6 杨梅清汁澄清效果的评价

由表 4 可知,在最优酶解工艺条件下,杨梅清汁的透光率为 77.09%;若将杨梅果实按相同 pH 值、温度和时间但未经过酶解工艺处理,杨梅清汁的透光率仅为 58.16%。相关分析表明,最优酶解工艺条件下的杨梅清汁透光率极显著高于不加酶工艺($P < 0.01$)。这说明果胶酶可水解杨梅果汁中的果胶质,破坏果汁的胶体系统,从而降低杨梅果汁的黏度、提

表 4 酶解前后杨梅清汁透光率的比较

组别	透光率(%)
不加酶工艺	58.16 ± 2.61
最优酶解工艺	77.09 ± 1.34

高其澄清度。

3 讨论与结论

果胶酶提高果蔬出汁率的酶解效果受到酶用量、pH 值、温度和时间等因素的影响,是各反应条件综合作用的结果。陈艺晖等使用固体果胶酶对金柑果浆进行酶解,其最佳工艺条件是调节 pH 值至 4.0,添加 0.04% 果胶酶,于 40℃ 下酶解 4 h,此条件下金柑出汁率高达 83.2%^[16];倪文兵等利用果胶酶处理红枣浆,其最佳工艺条件是酶解温度为 40℃、pH 值为 5.5、果胶酶用量为 0.03%、酶解时间为 60 min,此条件下红枣浆出汁率为 87.5%,与未经果胶酶处理的红枣相比,出汁率提高了 19%^[22]。本试验通过 L₉(3⁴) 正交试验对酶解工艺中的果胶酶用量、pH 值、酶解温度和酶解时间进行优化,得出最优酶解工艺参数:果胶酶用量为 0.007%、pH 值为 3.5、酶解温度为 55℃、酶解时间为 150 min;在此最优酶解工艺条件下,杨梅出汁率高达 81.66%,与相同 pH 值、温度和时间但未经过酶解工艺相比,其出汁率增加了 20.23%,极显著提高了杨梅的出汁率($P < 0.01$)。且各因素的主次顺序为酶解时间 > 酶解温度 > pH 值 > 果胶酶用量;其中,酶解时间、酶解温度、pH 值这 3 个因素对杨梅出汁率的影响极显著($P < 0.01$),但果胶酶用量的影响差异不显著($P > 0.05$)。

史亚萍等对比了果胶酶、膨润土、壳聚糖 3 种澄清方式对石榴果汁澄清效果的影响,结果表明,果胶酶澄清效果最好,壳聚糖次之,膨润土最差^[23]。当果胶酶用量为 0.1 μg/g、酶解时间为 120 min、酶解温度为 45℃ 时,芦荟汁的透光率最高,为 91.1%^[24]。这说明果胶酶可催化降解果汁中引起浑浊的果胶物质,使果汁变得清澈透亮。本试验在果胶酶提高杨梅出汁率的最优酶解工艺条件基础上,探讨其对杨梅清汁澄清效果的影响,结果表明,在最优酶解工艺条件下,杨梅清汁的透光率高达 77.09%,与相同 pH 值、温度和时间但未经过酶解工艺相比,其透光率增加了 32.55%,极显著提高了杨梅果汁的澄清度($P < 0.01$)。

本研究表明,合理的酶解 pH 值、温度和时间组合可显著增强果胶酶的活性,即可节约果胶酶的使用量、节省生产成本,又能辅助提高杨梅果汁的澄清度。

参考文献:

[1] 福建省统计局. 福建统计年鉴:2015[DB/OL]. (2015-08-26)[2016-03-10]. <http://www.stats-fi.gov.cn/tongjiniangian/dz2015/index-cn.ntm>.
[2] 狄华涛. 杨梅果实采后腐烂指数及货架期预测模型研究[D]. 南京:南京农业大学,2010:1-3.
[3] 张 洁. 不同处理对杨梅果实保鲜效果的研究[D]. 杭州:浙江

农林大学,2012:4-5.
[4] Zhang W S, Li X, Zheng J T, et al. Bioactive components and antioxidant capacity of Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. and Zucc.) fruit in relation to fruit maturity and postharvest storage[J]. European Food Research and Technology, 2008, 227(4): 1091-1097.
[5] Zhou S H, Fanf Z X, Lue Y, et al. Phenolics and antioxidant properties of bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) pomace[J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 394-399.
[6] Akazawa H, Fujita Y, Banno N, et al. Three new cyclic diarylheptanoids and other phenolic compounds from the bark of *Myrica rubra* and their melanogenesis inhibitory and radical scavenging activities[J]. Journal of Oleo Science, 2010, 59(4): 213-221.
[7] Xu L Z, Gao J, Wang Y C, et al. *Myrica rubra* extracts protect the liver from CCl₄ - induced damage [J]. Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine, 2011: 518302.
[8] Sun C D, Huang H Z, Xu C J, et al. Biological activities of extracts from Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.): a review[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2013, 68(2): 97-106.
[9] Zhang X A, Huang H Z, Zhao X Y, et al. Effects of flavonoids - rich Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) pulp extracts on glucose consumption in human HepG2 cells [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 14: 144-153.
[10] 陈健初, 夏其乐, 潘向荣, 等. 杨梅果汁的抗氧化特性研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2004, 30(6): 657-661.
[11] 张 波. 杨梅花色苷对胰岛细胞氧化应激损伤的保护作用及其机制探讨[D]. 杭州: 浙江大学, 2010: 58-89.
[12] 李培培. 杨梅黄酮对酒精性肝氧化损伤的保护作用及其机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010: 64-89.
[13] 史婷婷, 孙志栋. 杨梅蜜饯加工技术[J]. 宁波农业科技, 2015(3): 30-32.
[14] 朱正军, 李世杰, 陈茂彬. 杨梅深加工技术研究进展[J]. 亚热带农业研究, 2006, 2(1): 69-71.
[15] 茅林春, 张上隆. 果胶酶和纤维素酶在桃果实成熟和繁殖中的作用[J]. 园艺学报, 2001, 28(2): 107-111.
[16] 陈艺晖, 林河通, 赵 峰, 等. 金柑果汁加工中的酶解工艺研究[J]. 热带作物学报, 2011, 32(4): 756-760.
[17] 张丽霞, 周剑忠, 黄开红. 蓝莓澄清汁酶法制备工艺优化[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(12): 263-265.
[18] 崔伟荣, 逢焕明, 杨 静, 等. 果胶酶澄清哈密瓜汁工艺研究[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(4): 698-704.
[19] 周剑忠, 张丽霞, 单成俊. 黑莓清汁生产中酶解工艺优化[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(6): 233-235.
[20] 周家华, 常 虹, 姚砚武, 等. 欧李果汁澄清工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(25): 12161-12162, 12184.
[21] 迟玉杰. 食品化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2012.
[22] 倪文兵, 童军茂. 果胶酶酶解红枣浆工艺研究[J]. 食品工业, 2012, 33(3): 33-35.
[23] 史亚萍, 张永刚, 安广池, 等. 不同澄清方式对石榴果汁澄清效果的比较[J]. 食品工业, 2015, 36(9): 42-46.
[24] 许玉慧, 许喜林. 果胶酶对芦荟汁的澄清作用及性质的影响[J]. 中国酿造, 2015, 34(7): 89-92.