

黑醋栗汁的酶法提取和澄清

崔福绵 韩 辉

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 用含纤维素酶和半纤维素酶的果胶酶制剂提取和澄清黑醋栗汁。在果汁自然 pH(2.6)条件下, 酶可在广泛的温度范围内起作用。100g 水果破碎物, 加 103u 酶制剂, 50℃ 处理 120 分钟, 出汁 75g。出汁率提高 33%。过滤速度提高 14 倍。经酶澄清处理的果汁不含果胶, 澄清度 68%。稳定性试验中未出现雾样混浊。

关键词 黑醋栗; 黑曲霉; 果胶酶; 纤维素酶; 半纤维素酶; 果汁提取和澄清

在许多深受欢迎的天然果汁饮料当中, 黑醋栗汁无论是在感官上, 还是在风味和营养上, 均属上乘佳品。但是, 黑醋栗含果胶量较高, 因此果汁提取以及澄清和过滤较为困难。我们用一种含纤维素酶和半纤维素酶的果胶酶(主要是多聚半乳糖醛酸酶和果胶裂合酶)制剂, 对黑醋栗汁的提取和澄清条件进行了研究, 结果报道如下。

材料和方法

(一) 黑醋栗

东北农学院园艺系提供。果汁 pH2.6。

(二) 果胶酶

由黑曲霉(*Aspergillus niger*) CP-85211-18 麦麸固体培养物(综合果胶酶活力 864u/g)经水抽提, 部分提纯而制成的一种液体酶制剂, 其综合果胶酶活力 687u/ml。

(三) 酶活力测定

1. 综合果胶酶活力测定: 取 0.25% 果胶(美国 Sigma 公司产品, 由桔子制备, 含半乳糖醛酸 77.4%, 甲氧基 7.7%)溶液(以 pH3.5、0.05 mol/L 磷酸氢二钠-0.025 mol/L 柠檬酸缓冲

液为溶剂配制)0.5ml 于试管中,50℃ 水浴中平衡后,加入适当稀释的酶液 0.2ml,保温 30 分钟。采用 Somogyi^[1] 方法测定产生的还原糖。每分钟由底物产 1 μ mol 还原糖(以半乳糖醛酸计)所需酶量定义为一个酶活力单位。

2. 果胶酯酶活力测定^[2]: 取 1% 果胶溶液(pH5.0) 10ml 于三角瓶中,40℃ 水浴中平衡后,加入适当稀释的酶液 1ml,保温 30 分钟,立即于沸水中煮 5 分钟,冷却后用 0.02mol/L 氢氧化钠滴定至 pH8.0(用美国 Cole Parmer 仪器公司 Digi-Sense LcDpH 计)。0.02mol/L 氢氧化钠 1ml 相当于 20 μ mol 羧基。每分钟由底物产生 1 μ mol 羧基所需酶量定义为一个酶活力单位。

3. 多聚半乳糖醛酸酶活力测定: 取 0.25% 多聚半乳糖醛酸(美国 Sigma 公司产品,由桔子制备,含半乳糖醛酸 98%)溶液(以 pH4.8 上述缓冲液为溶剂配制)0.5ml 于试管中,如综合果胶酶活力测定方法保温,测定产生的还原糖及定义酶活力单位。

4. 果胶裂合酶活力测定^[3-5]: 取 1% 果胶溶液(以 pH5.0 上述缓冲液为溶剂配制)1ml 于试管中,40℃ 水浴中平衡后,加入适当稀释的酶液 0.5ml,保温 10 分钟,立即于沸水中煮 5 分钟,加蒸馏水 2ml,在 235nm 波长测定吸光度。每分钟吸光度增加 1.0 时所需酶量定义为一个酶活力单位。

5. 纤维素酶活力测定: 除底物为 0.5% 羧甲基纤维素钠(上海长红塑料厂产品,粘度 300—600 厘泊)溶液(pH3.5)外,其它测定步骤同综合果胶酶活力测定。每分钟由底物产生 1 μ mol 还原糖(以葡萄糖计)所需酶量定义为一个酶活力单位。

6. 半纤维素酶活力测定: 除底物为 0.5% 木聚糖(本实验室由稻草制备)溶液(pH4.5)外,其它测定步骤同纤维素酶活力测定。每分钟由底物产生 1 μ mol 还原糖(以木糖计)所需酶量定义为一个酶活力单位。

(四) 果汁提取

称取黑醋栗 100g 于三角瓶中,捣碎,50℃

水浴中平衡后,加入酶液 0.15ml (103u),充分混合后保温 120 分钟(隔 15 分钟搅拌一次)。测量自流汁和压榨汁的数量。

(五) 果汁澄清

取非酶法提取的黑醋栗汁 10ml 于试管中,50℃ 水浴中平衡后,加入稀释 25 倍的酶液 0.15ml (4u),保温 120 分钟,3000r/min 离心 10 分钟。取上清液,在 660nm 波长测定透光度,以透光度(%)表示澄清度(%)。另取上清液 5ml (于试管中,加入 5ml 含 1% 盐酸的乙醇,立即观察两液界面处有无果胶沉淀出现,然后以上下颠倒方式轻轻混合四次,于室温下静置。如果果胶未分解或分解较少,则混合物将出现气泡和胶样沉淀;如果果胶绝大部分分解,则混合物在 20 分钟内仅出现一薄层沉淀和轻度混浊^[6]。

(六) 果汁稳定性试验^[6]

经酶澄清处理的果汁盛于试管中,煮沸,立即冷至近于结冰温度。在 24 小时内观察有无雾样混浊出现。

结 果

(一) 果胶酶制剂中各有关酶的活力

测定所用酶制剂中各有关酶的活力,由表 1 可以看出,除果胶酶以外,酶制剂中还含有较多量的纤维素酶和半纤维素酶。

表 1 酶制剂中各有关酶的活力

酶名称	综合果胶酶	果胶酯酶	多聚半乳糖醛酸酶	果胶裂合酶	纤维素酶	半纤维素酶
酶活力(u/ml)	687	5	1478	101	34	178

(二) 果汁提取

1. 温度对果汁酶法提取的影响: 100g 黑醋栗果破碎物与 0.15ml (103u) 果胶酶制剂混合,在不同温度下进行果汁提取试验。结果表明(表 2),果汁提取适宜温度范围为 45—55℃,最适温度为 50℃;提高温度不利于酶作用,尤其在果汁偏酸的条件下更加速了酶在高温下钝化。

表2 温度对果汁酶法提取的影响*

提取温度(°C)	40	45	50	55	60
果汁自流量(g)	29(10)	32(10)	33(10)	30(10)	21(11)
果汁压榨量(g)	42(31)	42(32)	42(32)	43(32)	45(33)
出汁率(%)	71(41)	74(42)	75(42)	73(42)	66(44)
出汁率提高(%)	30	32	33	31	22

* 括号内为加热失活酶试验数据。

表3 加酶量对果汁酶法提取的影响

酶量(u)	0	34	41	52	69	86	103	120
出汁率(%)	42	70	74	74	74	75	75	75
果汁过滤速度提高(倍)	0	8	9	10	12	14	14	14
果汁澄清度(%)	61	64	65	65	65	67	68	68
果胶乙醇试验*	+++	++	++	++	+	+-	-	-

*+++果胶未分解; ++果胶少量分解; +果胶大量分解; -果胶完全分解。

表4 温度对果汁酶法澄清的影响

澄清温度(°C)	30	40	45	50	55	60	70
果汁澄清度*(%)	61(58)	65(60)	67(62)	68(62)	66(62)	65(63)	64(64)
果汁乙醇试验**	+++	+	-	-	-	+	+++
稳定性试验*** (雾样混浊)	+	+	-	-	-	+	+

* 括号内为加热失活酶试验数据; **同表3说明; *** +出现雾样混浊, -未出现雾样混浊。

2. 加酶量对果汁酶法提取的影响: 于100g黑醋栗破碎物中加入不同量的酶, 进行果汁提取试验。结果表明(表3), 如果仅以果汁提取为目的用酶, 则最适用酶量为41u/100g。在该用酶量, 出汁率提高33%, 过滤速度提高9倍。如果以果汁提取和果汁澄清二项为目的用酶, 则最适用酶量为103u/100g, 用酶量增加151%。在该用酶量下, 出汁率提高33%, 果汁不含果胶, 过滤速度提高14倍。澄清度为68%。

(三) 果汁澄清

1. 温度对果汁酶法澄清的影响: 试验表明(表4)温度显著影响澄清效果。适宜温度范围为45—55°C, 最适温度为50°C。在最适温度条

表5 加酶量对果汁酶法澄清的影响

酶量(u)	0	2	3	4	5
果汁澄清度(%)	61	66	68	68	68
果胶乙醇试验*	+	+	+-	-	-

表6 各种金属离子对果汁酶法澄清的影响

金属化合物	果汁澄清度(%)	果胶乙醇试验*
KCl	68	-
NaCl	68	-
CaCl ₂	65	+
MgCl ₂ · 6H ₂ O	68	-
MnCl ₂ · 4H ₂ O	68	-
ZnCl ₂	63	+++
CoCl ₂ · 6H ₂ O	66	+
SnCl ₄ · 5H ₂ O	61	+++
FeCl ₃ · 6H ₂ O	60	+++
AlCl ₃	66	+
空白	68	-

* 同表3说明。

件下澄清, 果汁不含果胶, 澄清度达68%, 稳定性试验中未出现雾样混浊。

2. 加酶量对果汁澄清的影响: 于10ml黑醋栗汁中加入不同量的酶, 进行果汁澄清试验。结果表明(表5), 果汁澄清的最适用酶量为4u/10ml, 果汁不含果胶, 澄清度达68%。

3. 金属离子对果汁酶法澄清的影响: 于黑

醋栗汁中加入 0.01 mol/L 浓度各种金属化合物,在 50℃ 120 分钟条件下进行酶法澄清试验表明,铁、锌、锡离子对澄清产生强烈抑制作用,铝、钴、钙离子也产生一定的抑制作用(表 6)。

讨 论

所用酶制剂中含有纤维素酶和半纤维素酶,这有助于达到提高果汁提取率的目的。另外,该酶制剂中仅含少量果胶脂酶,使经酶处理的果汁中不会形成多量的甲醇。

本研究中,果汁提取和果汁澄清二项是分开试验的。这是为了证明该含有纤维素酶和半纤维素酶的果胶酶制剂既具有提取果汁能力,又具有澄清果汁能力。在果汁生产实践中,如果仅以果汁提取为目的,则 41u/100g 的用酶量就可以达到满意的提取效果;如果需要提取并澄清则提取和澄清可以同步进行,在这种情况下,用酶量增加 151%。同步进行比分步进行用酶量大。这是因为,在同步进行中,水果破碎物中有更多的果胶要分解。很显然,从经济观点考虑,分步进行(二次酶解)工艺是可取的。

果汁酶法提取和澄清可以在低温(15—20℃)和高温(45—50℃)二种范围温度条件下进行。目前国内果汁生产厂家多采用高温工艺加工黑醋栗汁,所以本研究的着眼点在高温。

由于水果种类、品质不同,果汁提取和澄清条件不同,以及对提取和澄清的要求不同,所以难以固定统一的条件。这就要求在进行大量果汁提取和澄清之前,在给定的条件下,进行最适用酶量试验。

经酶澄清处理的果汁在稳定性试验中未出现雾样混浊,可以预示果汁将来在灭菌、浓缩贮藏、重新稀释时是稳定的,即不会出现混浊和沉淀^[9]。

参 考 文 献

1. Somogyi M: *J. Biol. Chem.*, 195(1): 19—23, 1952.
2. 相沢孝亮共著: 酵素利用ハンドブック, 地人書館, p. 340, 東京, 1980.
3. 相沢孝亮共著: 酵素利用ハンドブック, 地人書館, p. 345, 東京, 1980.
4. 石井茂孝譯化, 44: 299, 1970.
5. 石井茂孝: 化学と生物, 11: 376, 1973.
6. Baumann J W: *Enzymes and Food Processing*(ed. G. G. Firch et al.), p. 129—146. London, 1981.