

壳聚糖固定化果胶酶在枇杷果汁澄清中的应用*

林建城, 朱丽华, 苏渊红, 黄志明, 曾志红, 梁 杰

(莆田学院环境与生命科学系, 福建 莆田, 351100)

摘 要 以戊二醛为交联剂, 壳聚糖为载体固定化果胶酶, 对其在枇杷果汁澄清中的应用进行研究。结果表明: 固定化果胶酶澄清枇杷果汁的工艺条件为: 固定化酶浓度为 50 g/L(果汁), 果汁 pH 值为 3.8, 果汁体积分数为 60%, 酶解温度和时间分别是 50℃和 2 h。固定化果胶酶比游离酶处理枇杷果汁的澄清效果好, 固定化酶酶解后果汁的糖度没有变化, 酸度略有下降, 渣汁分层速度加快, 果汁色泽由褐色转变为黄色, 冷热稳定性也提高了。

关键词 壳聚糖, 固定化酶, 果胶酶, 枇杷果汁, 澄清

果胶酶制剂在果汁与果酒生产中的运用已越来越受重视^[1~3]。但是由于游离果胶酶成本较高, 保存期短, 难以回收, 从而影响了其在果汁澄清中的应用。与游离酶相比, 固定化酶不仅具有重复利用、实现连续化生产、降低生产成本等优点, 也可避免使用游离酶而给产品带来异物, 提高产品质量。固定化酶已成为当前酶工程领域的研究热点^[4~6]。有关固定化果胶酶在果汁澄清中应用的报道较少^[7, 8], 本文以壳聚糖为载体制备固定化果胶酶, 对枇杷果汁进行澄清作用, 对固定化酶在澄清过程中的影响因子进行深入探讨, 确定其酶解的工艺条件, 为固定化酶法生产枇杷果汁饮料提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

“早钟 6 号”枇杷, 福建省莆田市常太镇枇杷基地; 果胶酶和果胶, Sigma 公司产品, 黑曲霉(*Aspergillus niger*, 瑞士产), 戊二醛等化学试剂均为国产分析纯(A. R.)。

1.2 壳聚糖固定化果胶酶的制备

方法参照文献^[7], 并加以改进: 壳聚糖按 1g: 100mL 溶于 1%冰醋酸中, 磁力搅拌均匀, 逐滴滴入 0.25 mol/L NaOH 至 pH7.0, 加入 5%戊二醛, 磁力搅拌 8 h 后再静置 2 h, 4 000 r/min 离心 20 min, 蒸馏水洗至中性, 在抽干后的载体中加入果胶酶液, 缓慢振荡混合 30 min 后, 4℃下固定 12 h, 用蒸馏水洗掉未固定的酶, 抽干制得固定化果胶酶。

1.3 枇杷果汁的制备

第一作者: 硕士, 教授。

* 莆田市科技计划项目(项目编号: 2005N12)资助课题

收稿日期: 2008-04-25, 改回日期: 2008-05-12

1.3.1 选果与处理

挑选 9 成熟以上的新鲜枇杷果实, 剔除烂果及病虫果, 在 0.3 g/L 的高锰酸钾溶液中浸泡 2~3 min, 用流动水冲洗干净。

1.3.2 果汁的制备

摘除果蒂、捅去果核后的枇杷果肉浸在 0.5 g/L 的 NaHSO₃ 溶液中护色 15 min, 取出沥干, 捣碎, 用 120 目 4 层纱布过滤取汁, 冰储备用。

1.4 枇杷果汁主要指标的测定

1.4.1 果汁透光率的测定

取一定量的固定化酶与果汁在 50℃下反应 2 h, 测定澄清液在 560 nm 波长下的透光率(%), 以蒸馏水为空白对照。

1.4.2 果汁糖度的测定

用 RHB-32ATC 型手持糖度计测定。

1.4.3 果汁酸度的测定

用 0.1 mol/L NaOH 滴定法测定, 以苹果酸计(%).

1.4.4 乙醇试验

参考叶兴乾等人的方法^[9], 取 2 mL 果汁于试管内, 加入 4 mL 的酸化乙醇, 混合后观察果汁的状态。

1.4.5 冷热稳定性的测定

将果汁沸水浴加热 10 min 之后, 在 -18℃下冷冻 15 h, 解冻之后再测定其透光率, 比较处理前后果汁透光率的变化及其是否发生沉淀。

2 结果与分析

2.1 固定化酶浓度对枇杷果汁透光率的影响

改变固定化果胶酶浓度, 研究其对枇杷果汁透光率的影响。结果表明(见图 1): 当固定化酶浓度 < 50 g/L(果汁)时, 随着酶浓度的增加果汁透光率呈上升趋势; 当酶浓度为 50 g/L 时, 果汁透光率达最大, 表

明该酶浓度下对果汁有较好的澄清效果;而当酶浓度 $>50\text{ g/L}$ 时,果汁透光率渐趋稳定还略有下降,过量的固定化酶表面的细小颗粒引起的混浊现象可能是导致其透光率有所下降的一个原因。因此,在使用固定化果胶酶澄清枇杷果汁时, 50 g/L 的酶浓度较为适宜。

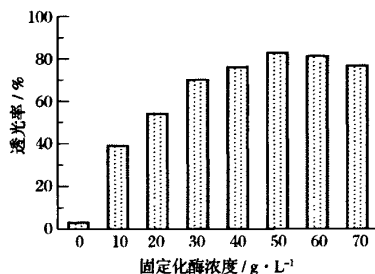


图1 固定化酶浓度对枇杷果汁透光率的影响

2.2 果汁 pH 值对枇杷果汁透光率的影响

研究了枇杷果汁在不同 pH 值下,固定化果胶酶对果汁的澄清效果。由图 2 可见,在 pH 3.0~4.5 范围内,固定化酶均能有效地发挥其澄清果汁的作用。枇杷因成熟度或品种的不同,其自然 pH 一般在 3.0~4.5 范围内变化,几乎在酶的有效作用范围内。本实验结果表明: pH 值为 3.8 时,果汁的澄清效果最好,果汁酶解澄清所需的最佳酸度并不是固定化果胶酶的最适 pH3.4;当果汁 pH 值 >4.5 时,果汁透光率迅速下降。因此,以固定化果胶酶澄清枇杷果汁时,果汁 pH3.8 为较适宜。

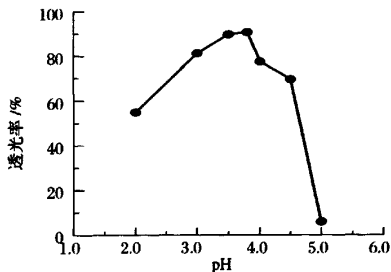


图2 果汁 pH 值对枇杷果汁透光率的影响

2.3 固定化酶反应时间对枇杷果汁透光率的影响

研究了固定化果胶酶处理时间对枇杷果汁透光率的影响。结果表明:果汁的透光率随固定化酶催化反应时间的延长而提高(见图 3),反应 2 h,果汁透光率达到最大;而后随着反应时间延长果汁透光率渐趋稳定,由于反应时间延长可能会影响果汁的口感、色泽、营养价值等,所以固定化酶催化反应时间以 2 h 为宜。

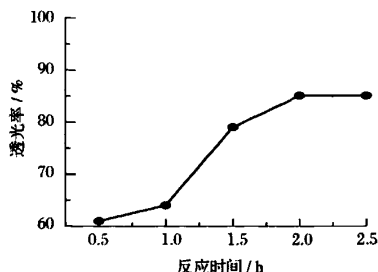


图3 固定化酶反应时间对枇杷果汁透光率的影响

2.4 反应温度对枇杷果汁透光率的影响

研究固定化果胶酶在 20~80℃ 不同的反应温度下作用对枇杷果汁透光率的影响。由图 4 可看出,当酶解温度低于 50℃ 时,果汁透光率随温度的升高而增大,温度为 50℃ 时透光率达到最大,澄清效果最好,随着温度的升高果汁透光率反而迅速下降。所以固定化果胶酶处理枇杷果汁的温度一般以 50℃ 为宜,与固定化酶的最适温度(55℃)有偏离。

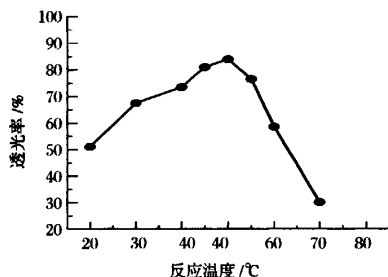


图4 固定化酶反应温度对枇杷果汁透光度的影响

2.5 果汁含量对透光率的影响

研究不同枇杷果汁含量对固定化果胶酶澄清效果的影响。结果表明(见图 5):果汁透光率随着果汁含量的增大而下降,除了果汁含量的影响外,果汁中的单宁酸与蛋白质作用生成一种络合物从而降低了酶的活性^[10],导致澄清度下降。但考虑到在实际生产应用中,为提高产品质量,果汁浓度也不能偏低,因此,果汁含量以 60%(体积分数)为宜。

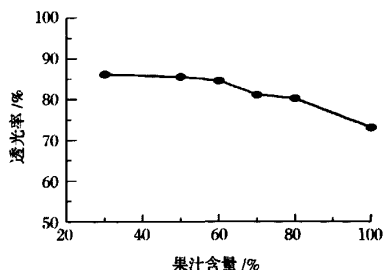


图5 果汁含量对枇杷果汁透光率的影响

2.6 固定化酶的操作稳定性

以原果汁透光率做对照,研究固定化酶连续使用多次后,枇杷果汁透光率的变化。由图 6 可以看出,随着固定化酶重复使用次数的增加,枇杷果汁透光率提高幅度逐渐下降,这除了因为固定化酶本身的失活外,在回收过程中,固定化酶量的损失也是一个重要原因。连续使用 10 次还可使果汁透光率提高 16.3%,说明固定化果胶酶具有一定的操作稳定性。

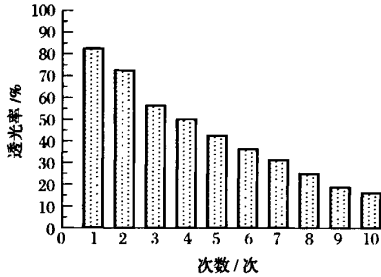


图 6 固定化果胶酶在枇杷果汁中的操作稳定性

2.7 固定化酶与游离酶对枇杷果汁澄清效果的比较

固定化酶处理的枇杷果汁比游离酶作用的果汁澄清效果好(见表 1),澄清度高。固定化酶处理后的枇杷果汁颜色较浅,透明度较高,果汁静置 5 h 后渣

汁分层明显。壳聚糖是天然的阳离子絮凝剂,它可使酚类化合物、可溶性蛋白和果胶被絮凝除去或减少,已被 FDA 批准为食品添加剂,对果汁起到澄清作用。壳聚糖固定化果胶酶综合利用了壳聚糖与果胶酶的作用协同去除果汁中的果胶,是一种新型澄清剂。

表 1 固定化酶与游离酶对枇杷果汁澄清效果的比较

项目	透光率/%	色泽	渣汁分层所需时间/h
游离酶	69.9±1.6	深黄色	6.0
固定化酶	84.1±1.4	浅黄色	5.0

2.8 固定化酶处理对枇杷果汁主要指标的影响

研究了固定化酶处理对枇杷果汁的糖度、色泽、酸度和分层速度的影响,结果表明(表 2):固定化酶使果胶降解为半乳糖醛酸,破坏了果胶的黏着性及稳定悬浮微粒的特性,使果汁透光率大幅度提高,与对照组相差极为显著($P < 0.01$),同时,渣汁分层速度快。固定化酶处理后对枇杷果汁糖度几乎没有影响,果汁酸度略有下降,果汁色泽由褐色变为黄色。通过乙醇试验,无酶处理的对照组有较多沉淀,固定化酶处理的果汁则无明显的沉淀,有利于果汁的澄清,在一定程度上提高了果汁的质量。

表 2 固定化酶处理对枇杷果汁主要技术指标的影响

项目	透光率/%	糖度/%	色泽	酸度/%	渣汁分层情况(果汁静置 5.0 h 后)
对照组	3.0±0.6	11.0±0.5	褐色	0.48±0.03	没有明显分层
处理组*	84.1±1.4	10.9±0.8	黄色	0.43±0.02	明显分层

注:1)固定化果胶酶处理后的枇杷果汁。

2.9 固定化酶处理对枇杷果汁稳定性的影响

将枇杷原果汁浓度稀释 5 倍,经固定化酶处理后再进行加热-冷冻-解冻,未经酶处理的为对照组,对果汁的稳定性进行比较研究。结果表明(表 3):固定化酶处理组与对照组间果汁透光率相差极为显著($P < 0.01$)。对照组经加热冷冻再解冻之后,透光率明显下降($P < 0.01$),同时出现絮状沉淀;固定化酶处理组果汁解冻后透光率变化不显著($P > 0.05$),没有沉淀产生,具有较好的冷热稳定性。

表 3 枇杷果汁经冷冻处理后稳定性的变化

项目	澄清处理后 透光率/%	加热解冻后 透光率/%	解冻后的状态
对照组	22.2±1.1	11.1±1.2	絮状沉淀
处理组 ¹⁾	92.9±1.5	91.1±1.3	无沉淀

注:1)固定化果胶酶处理后的枇杷果汁。

3 结 论

壳聚糖固定化果胶酶澄清枇杷果汁的工艺条件

为:固定化酶浓度为 50 g/L(果汁),果汁 pH 值为 3.8,果汁含量为 60%(体积分数),酶解温度和时间分别是 50℃和 2 h。

固定化酶比游离酶处理枇杷果汁的澄清效果好,固定化酶酶解后果汁的糖度没有变化,酸度略有下降,渣汁分层速度加快,果汁色泽由褐色转变为黄色,对冷热稳定性提高了,进而改善了商品质量。

参 考 文 献

- 杨 辉,陈 合,石振梅. 果胶酶在苹果酒生产中的运用[J]. 食品与发酵工业, 2004, 29(12): 110~112
- 何志刚,李维新,林晓姿. 枇杷果汁加工的酶处理技术研究[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 72~75
- 郭敏辰,王 瑾,刘 月,等. 果胶酶生产及其在苹果汁澄清中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(12): 134~137
- Sartoğlu K, Demir N, Acar J, et al. The use of commercial pectinase in fruit juice industry, part2: determination

- of the kinetic behavior of immobilized commercial pectinase [J]. J Food Engineering, 2001, 47, 271~274
- 5 Alkorta I, Garbisu C, Llama M J, et al. Immobilization of pectin lyase from *penicillium italicum* by covalent binding to nylon[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1996, 18, 141~146
 - 6 林建城, 朱丽华, 王志鹏, 等. 明胶固定化果胶酶的制备及酶学性质研究[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 315~318
 - 7 王陆玲. 壳聚糖固定果胶酶法澄清白兰瓜汁效果的研究[J]. 江西食品工业, 2004, (1): 32~34
 - 8 陈松河, 林耀辉, 刘新民, 等. 固定化果胶酶澄清果汁的条件及效果[J]. 亚热带植物通讯, 1996, 25(2): 6~12
 - 9 叶兴乾, 苏平, 陈健初. 果胶酶 ROHAPECT VR-C 对猕猴桃取汁和澄清的影响[J]. 科技通报, 2001, 17(3): 27~30
 - 10 晋艳曦, 许时婴, 王璋. 澄清工艺对红葡萄汁品质的影响[J]. 食品工业, 1999, (2): 12~14

The Application of Pectinase from *Aspergillus niger* Immobilized to Chitosan in Clarification of Loquat Juice

Lin Jiancheng, Zhu Lihua, Su Yuanhong

Huang Zhiming, Zeng Zhihong, Liang Jie

(Department of Environment & Life Sciences, Putian University, Putian 351100, China)

ABSTRACT Pectinase from *Aspergillus niger* was immobilized with chitosan and crosslinked with glutaraldehyde. The process conditions of loquat juice clarification treated with the immobilized pectinase were investigated. The results showed the process conditions: amount of immobilized enzyme given for 50 g/L juice, pH value for 3.8, concentration of loquat juice for 60%, and 50°C for 2 hour. The clarification effects of immobilized enzyme were better than free enzyme. Using immobilized enzyme to hydrolyze the pectin in juice, the sugar content had no change, when the titratable acidity had a slight decrease. The separation between sediment and juice became easier. Meanwhile, the color of loquat juice turned into yellow, and showed higher stability to cold and heat.

Key words chitosan, immobilized enzyme, pectinase, loquat juice, clarification

会讯

2008 中国国际生化分析仪器及实验室装备(广州)展会将举行

2008 中国国际生化分析仪器及实验室装备(广州)展会将于 2008 年 9 月 5~7 日在广州国际会议展览中心(中国进出口商品交易会琶洲馆)举行。

随着中国经济飞速发展,中国生化分析仪器及实验室装备行业取得长足发展,特别是国家在“十一五规划”中明确提出大力发展生物产业,建设健全公共卫生体系,优先发展教育,建立创新型国家,为中国生化分析仪器及实验室设备行业发展提供巨大市场空间。为了展示我国分析仪器及实验室装备新产品、新成果、新设备,加强国际交流,在广州举办 2008 中国国际生化分析仪器及实验室装备(广州)展览会。广州地处珠三角经济圈的核心地带,是全国重要的经济中心,濒临港澳台和东南亚,具有极强的地理优势和经济辐射能力;同时广州是中国重要分析仪器及实验室装备的研发生产基地和国际贸易中心,具有坚强产业后盾。组织单位将多渠道媒体宣传,系统的专业观众组织,细致周到的参展服务,把展会办成集技术交流、贸易合作、投资洽谈的行业盛会。

展览内容:(1)生化分析仪器:生物工程、生化/分子生物、化学制品、化学试剂、药剂和诊断、氨基酸测序仪、DNA 合成仪、SARS 测温仪、生物培养和发酵设备、提取设备、分离设备、液体处理设备、洁净设备等;生命分子生物学、细胞生物学、微生物学、植物生理和生态学、食品安全、等仪器等。(2)生化试剂:生化和分子生物学用试剂、药剂诊断试剂和疫苗、临床医学检验用试剂、专用化学品和其他试剂、医药仪器设备等;体外临床免疫诊断试剂、体外临床化学诊断试剂、核酸诊断试剂、基因工程药物及体外诊断试剂相配套的自动化检验诊断仪器等;(3)基础分析仪器:色谱仪、气体与液体分析仪器、图像、频谱、质谱分析仪器、光学、光谱分析仪器、表面分析仪、分光镜、显微镜和光学图像处理仪器等;(4)实验室技术仪器设备:专业仪器设备、实验室技术、仪器、设备、器械、实验室数据文档管理系统、洁净技术、液体处理设备、实验室家具、玻璃制品及相关耗材等;(5)软技术领域:实验室新技术、新方法、相关软件、图书、刊物、媒体、培训和咨询。

组委会办公室地址:广州市天河区燕岭路 25~27 号银燕大厦 2405~2406 室(邮编:510507);电话:020-62206189, 62206188;传真:020-62206191, 62206192;E-mail:167x@163.com;网址 www.167x.cn。