

果胶酶澄清西洋参果酒的影响因素与效果评价*

蔡荟梅,侯如燕,宛志沪

(安徽农业大学茶与食品科技学院,安徽 合肥,230036)

摘 要 通过四因素二次旋转正交试验设计,考察了果胶酶的水解温度、时间、酶的用量和 pH 值对西洋参果酒澄清度的影响,得出西洋参果酒澄清度的回归模型。结果表明,水解温度对果酒澄清度的影响显著($P<0.05$),pH 值对果酒澄清度的影响极为显著($P<0.01$);主因子效应为 pH 值>酶解温度>酶的用量>酶解时间;西洋参果酒澄清的优化工艺参数为:酶解温度为 60℃,酶的用量 1 mL,酶解时间 180 min 和 pH 值为 3.5;果胶酶对果酒的感官、色泽和稳定性有改善作用。

关键词 西洋参果酒,果胶酶,澄清,数学模型

西洋参果是五加科(Araliaceae)人参属(*Panax*)植物西洋参(*Panax quinquefolium* L.)的果实,鲜果是红色核状浆果。西洋参果含有皂苷类、氨基酸、无机物、糖类、蛋白质、肽类、类脂、有机酸和酚类成分等,其中皂苷类成分含量较高^[1]。同时,药理研究发现,西洋参果总皂苷具有抗肿瘤、降糖、抗心肌缺血等显著作用^[2~4]。我们开发的西洋参果酒是采用新鲜西洋参果实为原料,经过破碎、榨汁、发酵等工艺酿造的一种果香幽雅、营养丰富的饮料酒。虽然西洋参果酒已投入工业化生产,但在酿造和陈酿过程中,常常会出现浑浊或沉淀的现象,严重影响了西洋参果酒的感官质量和品质。通过多年的试验发现造成果酒混浊的主要原因是西洋参果实中含有大量的果胶。

果胶酶是能分解果胶质的多种酶的总称,包括果胶聚半乳糖醛酸酶、聚甲基半乳糖醛酸酶、果胶甲酯水解酶、原果胶酶^[5]。果胶酶作用于果胶中 D-半乳糖醛酸残基之间的糖苷键,可以打破果胶分子,软化果肉组织中的果胶质,使高分子的半乳糖醛酸降解为半乳糖醛酸和果胶酸小分子物质,并且果胶的多糖链也被降解,果胶分子的这种连续降解使果酒的黏性下降,原来存在果酒中的固形物失去依托而沉降下来,增强澄清效果,提高和加快了果酒的可滤性和过滤速度。因此果胶酶是应用于果酒生产的重要酶制剂之一,它被广泛用于果酒的澄清^[6,7]。文中针对造成西洋参果酒混浊的主要原因,研究了果胶酶应用于西洋参果酒生产的澄清工艺,通过二次旋转正交实验对

工艺条件进行了优化,目的在于提高果酒的澄清度,保持西洋参果酒的特有的营养成分,为西洋参果酒的研制、开发提供可靠的数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 西洋参果酒

安徽农业大学自制。

1.1.2 果胶酶

酶活 20 000 U/g,使用前用 4~5 倍 40~50℃的温水溶解后,再加入 40~50℃的温水稀释,配制成 1% 的溶液,放置 1~2 h 后备用。天津酶制剂厂。

1.2 仪器

U-3010 紫外分光光度计,日本日立公司;TG328 型分析天平,上海精科天平厂;PHS-3c 型精密 pH 计,上海理达仪器厂。RE-52AA 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂。

1.3 实验方法

1.3.1 果胶酶的澄清方法

取 25mL 原酒于 50 mL 比色管中,加入果胶酶,在不同温度和 pH 值条件下,搅拌均匀后静置不同的时间后,70℃酶灭活,用 120 目滤布进行过滤,取滤液进行澄清度的测定,以确定果胶酶的合理用量。

1.3.2 澄清度波长的选择^[8]

西洋参发酵酒澄清度测定的波长选择用 U-3010 紫外分光光度计,以蒸馏水为参比,在 200~800 nm 对果酒进行吸光度扫描,并据此确定西洋参发酵酒澄清度的测定波长。在 690 nm 处,果酒有最大透过率。

1.3.3 澄清剂对果酒成分的影响

第一作者:硕士,高级工程师。

* 国家林业局科技成果推广项目:(2005)-19-1

收稿日期:2008-04-14,改回日期:2008-09-03

选择实验最佳澄清条件处理酒样,测定果酒的总糖、总酸、总皂苷、果胶、蛋白质、乙醇体积分数等主要理化指标,以未下胶的酒样作对照,分析澄清剂对果酒品质的影响。

1.4 测定方法

总糖和还原糖:3,5-二硝基水杨酸比色法,以葡萄糖计^[9]。

滴定酸:电位滴定法,以柠檬酸计^[10]。

酒精度:酒精计法^[9]。

蛋白质:考马斯亮蓝 G-250 法^[11]。

总皂苷:保健食品中总皂苷的测定法^[12]。

果胶:呋唑法^[9]。

1.5 试验设计

采用二次回归正交旋转组合设计方法,试验因子的水平及编码见表 1。各参数的水平值,根据预先单

因子试验与观察后确定。

表 1 二次回归正交旋转组合设计因素水平表

X_y	(Z_1)酶解温度 /℃	(Z_2)酶用量 /mL	(Z_3)酶解时间 /min	(Z_4) pH 值
-2	30	1	180	5
-1	37.5	0.8	142.5	4.5
0	45	0.6	105	4
1	52.5	0.4	67.5	3.5
2	60	0.2	30	3
Δ_j	7.5	0.2	37.5	0.5

2 结果与讨论

2.1 数学模型的建立及其显著性检验

采用四因素二次回归正交旋转组合试验设计方案对果胶酶澄清西洋参果酒的工艺条件进行了优化。

表 2 实验方案与结果

处理	(X_1)酶解温度 /℃	(X_2)酶用量 /mL	(X_3)酶解时间 /min	(X_4) pH 值	澄清度 /%
1	1	1	1	1	85.5
2	1	1	1	-1	74.4
3	1	1	-1	1	87.6
4	1	1	-1	-1	79.3
5	1	-1	1	1	88.7
6	1	-1	1	-1	77.5
7	1	-1	-1	1	85
8	1	-1	-1	-1	79.7
9	-1	1	1	1	81.7
10	-1	1	1	-1	69
11	-1	1	-1	1	82.3
12	-1	1	-1	-1	69.3
13	-1	-1	1	1	82.3
14	-1	-1	1	-1	74.4
15	-1	-1	-1	1	83
16	-1	-1	-1	-1	70
17	-2.0000	0	0	0	76.3
18	2.0000	0	0	0	78
19	0	-2.0000	0	0	79
20	0	2.0000	0	0	76
21	0	0	-2.0000	0	78
22	0	0	2.0000	0	75.7
23	0	0	0	-2.0000	59.1
24	0	0	0	2.0000	72
25	0	0	0	0	72.9
26	0	0	0	0	78.3
27	0	0	0	0	73.6
28	0	0	0	0	69
29	0	0	0	0	79
30	0	0	0	0	72.1
31	0	0	0	0	77
32	0	0	0	0	75.3
33	0	0	0	0	72.7
34	0	0	0	0	80
35	0	0	0	0	75.6
36	0	0	0	0	74.3

对试验结果进行统计分析,得到影响透光率与酶解温度、酶用量、酶解时间、pH 值 4 因素在编码空间的多元回归模型如下:

$$Y = 74.98333 + 2.04583X_1 - 0.72917X_2 - 0.30417X_3 + 4.51250X_4 + 1.39062X_1^2 +$$

$$1.47812X_2^2 + 1.31562X_3^2 - 1.50937X_4^2 + 0.20625X_1X_2 - 0.51875X_1X_3 - 0.66875X_1X_4 - 0.81875X_2X_3 + 0.48125X_2X_4 + 0.20625X_3X_4$$

表 3 试验结果方差分析表

变异来源	平方和	自由度	均方	偏相关	比值 F	P-值
X_1	100.450 4	1	100.450 4	0.488 1	6.566 2	0.018 1
X_2	12.760 4	1	12.760 4	-0.195 5	0.834 1	0.371 5
X_3	2.220 4	1	2.220 4	-0.082 8	0.145 1	0.707 0
X_4	488.703 7	1	488.703 7	0.776 8	31.945 1	0.000 1
X_1^2	61.882 8	1	61.882 8	0.401 9	4.045 1	0.057 3
X_2^2	69.915 3	1	69.915 3	0.422 8	4.570 2	0.044 5
X_3^2	55.387 8	1	55.387 8	0.383 5	3.620 5	0.070 9
X_4^2	72.902 8	1	72.902 8	-0.430 1	4.765 4	0.040 5
X_1X_2	0.680 6	1	0.680 6	0.046 0	0.044 5	0.835 0
X_1X_3	4.305 6	1	4.305 6	-0.115 0	0.281 4	0.601 3
X_1X_4	7.155 6	1	7.155 6	-0.147 6	0.467 7	0.501 5
X_2X_3	10.725 6	1	10.725 6	-0.179 7	0.701 1	0.411 8
X_2X_4	3.705 6	1	3.705 6	0.106 8	0.242 2	0.627 7
X_3X_4	0.680 6	1	0.680 6	0.046 0	0.044 5	0.835 0
回归	891.477 5	14	63.677 0	$F_2 = 4.162 38$		0.004 3
剩余	321.262 5	21	15.298 2	$F_1 = 2.030 20$		0.082 5
失拟	208.365 8	10	20.836 6			
误差	112.896 7	11	10.263 3			
总和	1 212.74	35				

由表 3 可知, $F_2 = 4.162 38 > F_{0.01}(14, 21) = 3.03$, 方程回归极显著; $F_1 = 2.03020 < F_{0.05}(10, 11) = 2.85$, 失拟不显著, 故可用于设计范围内的预测。水解温度对果酒澄清度的影响显著 ($P < 0.05$), pH 值对果酒澄清度的影响极为显著 ($P < 0.01$); 平方项的回归系数均极显著, 说明各因素与透光率之间存在明显的二次关系; 方程的一次项中 X_2 和 X_3 不显著。直接剔除不显著, 回归方程变为:

$$Y = 74.983 33 + 2.045 83X_1 + 4.512 50X_4 + 1.390 62X_1^2 + 1.478 12X_2^2 + 1.315 62X_3^2 - 1.509 37X_4^2$$

2.2 回归方程的齐性检验

由简化后的回归模型预测试验方案中的因变量, 然后与试验观察值进行 t 检验。预测值与观测值的相关图见图 1。显著性检验为: $t = 0.056 9$, $P = 0.955 1$, 实测值与理论值之间差异不显著, 回归方程通过齐性检验, 具有较好的重现性。

2.3 单因素效应分析

固定其它 3 因素于 0 水平, 求第 4 个因素与透光率得率的回归方程, 根据这些方程得到 4 个因子对透

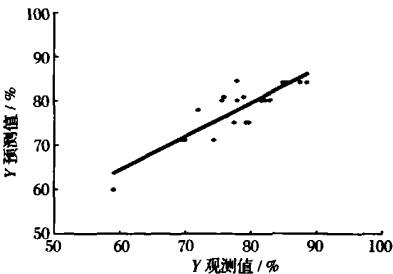


图 1 预测值与观测值的相关图

光率影响的关系曲线, 如图 2。由图 2 可以看出, 随着 pH 值的增加, 透光率呈先升后降趋势, 上升幅度比下降幅度大; 当编码水平为 1.5, 实际 pH 值为 4.7 时, 透光率达到最大值。所以在实验过程中, 要控制 pH 值在最佳范围, 能有效提高透光率。随着酶解温度的增加, 透光率呈上升趋势, 果胶酶的最适反应温度为 60℃。酶的用量和酶解时间对透光率影响不大。

2.4 主因子效应分析

由方差分析表, 可以看出酶解温度对透光率有显著影响 ($P < 0.05$) 和 pH 值对透光率有极显著影响

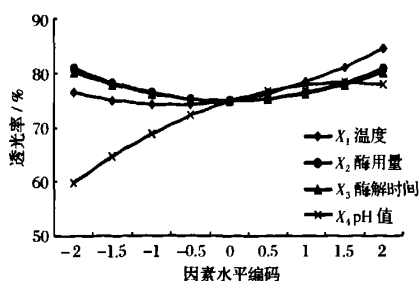


图2 单因素与透光率关系图

($P < 0.01$)，酶的用量和酶解时间对透光率影响不显著。回归方程的一次项系数表明主因素的效应大小为 $X_4 > X_1 > X_2 > X_3$ ，即 pH 值 > 酶解温度 > 酶的用量 > 酶解时间。

2.5 因素水平的优化组合及结果验证

由简化后回归方程预测可得，最优水平各因素组合为 X_1 的编码水平为 2.000， X_2 的编码水平为 -2.000， X_3 的编码水平为 -2.000， X_4 的编码水平为 1.000 时，将各因素带入简化后的回归方程(见 2.1)计算得， $Y_{\max} = 98.80$ 。将各因素的编码水平换算成自然变量数字，即酶解温度为 60°C ，酶的用量 1 mL，酶解时间 180 min 和 pH 值为 3.5，此条件下果酒的透光率最高。利用相同的原料和工艺在最优水平下澄清果酒，经验证实际值为 97.7，与理论值基本一致，可以用于指导生产。商品果胶酶的最适 pH 值为 3.5，这与实验所得的澄清效果最好时 pH 值为 3.5 是一致的^[8]。

2.6 果胶酶澄清对理化成分的影响

经果胶酶澄清处理后，总糖、还原糖、滴定酸、蛋白质和酒精度的含量没有明显的变化。但影响果酒稳定性的果胶含量有明显的减少。西洋参果酒是一种保健酒，其中最主要的活性成分是人参皂苷，在本试验条件下总皂苷的含量有所降低，但总体来说并不影响果酒的保健功效。因此用果胶酶来进行西洋参果酒的澄清是可行的。

表4 果胶酶澄清对理化成分的影响

处理	果酒原酒	果胶酶处理
总糖/%	2.55	2.65
还原糖/%	1.08	1.12
滴定酸/%	0.73	0.72
乙醇体积分数	9.4	9.2
蛋白质/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	0.496	0.501
总皂苷/ $\text{mg} \cdot (100\text{g})^{-1}$	18	15
果胶/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.41	0.15

2.7 果胶酶对西洋参果酒非生物稳定性和风味的影响

实验中比较了加酶和不加酶 2 种情况下所得西洋参果酒在放置过程中颜色变化和沉淀形成能力的差异(存放 1 月)，实验结果见表 5。从表 5 可以看出，经果胶酶处理的果酒颜色改变小，非生物稳定性好。这主要因为果胶酶破坏了胶状物质而产生大量的微小絮凝物，该絮凝物具有很大的表面积、吸附能力强，它将已发生褐变的多酚性物质吸附并沉淀下来，去除了褐色物质的原因。

表5 存放的西洋参果酒非生物稳定性

项目	酶处理的西洋参果酒	未用酶处理的西洋参果酒
颜色	宝石红色，放置中颜色变化很小	红棕色，放置中颜色变成深
沉淀量	有微量的沉淀	有沉淀，量大(约为前者的 10 几倍)

2.8 果胶酶对西洋参果酒汁风味的影响

原果酒和酶处理果酒相比较有许多优点，有关数据列于表 6。果胶酶处理能改善西洋参果酒的风味，原因可能是上述讨论中的絮凝过程去除了酒中的具有苦味的物质如单宁和多酚性物质。其次 pH 值

3.5 与果酒的天然 pH 值基本一致，这在大生产中就不用对大批量物料进行均一的 pH 调节，同时不会对果酒的口感产生非常大的影响。这更有利于工业化生产中成本的降低和质量的改善。

表6 果胶酶对西洋参果酒风味的影响

处理	pH 值	酶用量/mL	时间/min	温度/ $^{\circ}\text{C}$	口感
原果酒	3.6	0	0	26	有苦涩味
加酶果酒	3.5	1	180	60	口感醇厚，无苦涩味

3 结 论

(1)工艺条件的优化水平组合为：酶解温度为

60°C ，酶的用量 1 mL，酶解时间 180 min 和 pH 值为 3.5，此条件下果酒的透光率最高。经验证后的实测值与理论值基本一致，可以用于指导生产。

(2)单因素效应分析表明,pH 值对果酒的透光率的影响最为显著,其次是酶解温度、酶的用量和酶解时间。

(3)果酒的澄清度和稳定性是果酒的 2 个重要质量指标,它们是影响果酒感官质量的主要因素。果酒中所含的果胶、蛋白质、纤维素和单宁等的不稳定析出是果酒不稳定的主要原因^[6,8]。经果胶酶澄清处理后,总糖、还原糖、滴定酸、蛋白质和酒精度的含量没有明显的变化。而影响果酒稳定性的果胶含量有明显的减少。

(4)经果胶酶处理的果酒在贮存过程中颜色改变小,非生物稳定性好。果胶酶处理能改善西洋参果酒的风味,去除了酒中的具有苦味的物质如单宁和多酚性物质。

参 考 文 献

- 1 王 蕾,王英平,许世泉,等. 西洋参化学成分及药理活性研究进展[J]. 特产研究,2007,(3):73~77
- 2 Laura L Murphy. American Ginseng in the Prevention and Treatment of Human Breast Cancer[J]. ANSI Std,2001,39(18):298~102
- 3 Wang C Z, Zhang B. Steamed American Ginseng Berry: Ginsenoside Analyses and Anticancer Activities[J]. J Agric Food Chem,2006,54:9 936~9 942
- 4 Xie J T, Aung H H, Wu J A, et al. Effects of American ginseng berry extract on blood glucose levels in ob/ob mice [J]. Am J Chin Med,2002,30(2~3):87~194
- 5 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
- 6 王泓飞,李和生. 果胶酶对草莓汁澄清效果的研究[J]. 农业工程学报,2003,19(3):161~164
- 7 杨 辉,陈 合,石振海. 果胶酶在苹果酒生产中的应用[J]. 食品与发酵工业,2003,29(12):110~112
- 8 陈 娟,阚健全,杜木英,等. 果胶酶制剂及其在果浆出汁和果汁澄清方面的应用[J]. 中国食品添加剂,2006,(3):119~124
- 9 吴谋成. 食品分析与感官评定[M]. 北京:中国农业出版社,2006
- 10 蔡定域. 酿酒工业分析手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,1988
- 11 Bradford M M. Rapid and Sensitive Method for the Quantization of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248~254
- 12 陈 宇. 保健食品中西洋参总皂苷的测定[J]. 中国科技信息,2005,(12):178

Factor Analyses and Effect Evaluation for the Clarification of *Panax quinquefolium* L. Wine with Pectinase

Cai Huimei, Hou Ruyan, Wan Zhihu

(School of Tea and Food Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

ABSTRACT Through four-factor two times Orthogonal rotational regressive tests, the effect of the enzyme hydrolysis volume, temperature, time and pH value on the *Panax quinquefolium* L. wine clarification were studied. Results indicated enzyme hydrolysis temperature and the pH value are the most significant impact factors. The influence index of the major factors in descending order is pH value, enzyme hydrdysis temperature, volume and time. The optimized processing parameters are 60℃ of enzyme hydrolysis temperature, 30 min of hydrolysis time, 3.5 of pH value and 1mL of volume.

Key words *Panax quinquefolium* L. wine, pectinase, clarification, mathematical model

政策 法规 标准

酿造调味品工业水污染物排放将制定新标准

2008年11月13日,由国家环境保护部科技标准司组织的酿造调味品工业水污染物排放标准项目开题论证会在北京召开。国家环监总站、环境保护研究院、清华大学环境科学与工程系、中国调味品协会、青岛科技大学、佛山海天调味食品有限公司的专家和代表出席了会议。

会上,项目主要承担单位青岛科技大学和海天公司的代表介绍了初期调研情况和新标准的基本框架结构及内容,到会专家进行了论证。并提出了具体的意见。论证意见认为,该项目应及时开题,尽快提出征求意见稿。

新标准将根据酿造调味品(酱、酱油、食醋等)工业的实际,提出各项水污染物排放浓度限值和水质污染物监测要求,按照企业不同情况将对现有企业、新建企业和特别排放规定不同的排放限值。