

响应面法优化百香果的酶解工艺

康 超^{1,2}, 杨玉霞², 刘俐俐², 谢有强², 伍淑婕^{1,2}, 段振华^{1,2}

(1. 贺州学院食品科学与工程技术研究院, 广西贺州 542899;

2. 贺州学院食品与生物工程学院, 广西贺州 542899)

摘 要:以百香果为原料, 响应面法优化果胶酶、纤维素酶酶解百香果全果的最佳酶解工艺。单因素实验研究料液比、pH、酶解时间、酶解温度、酶添加量对百香果出汁率的影响, 利用 Box-Behnken 设计实验响应面法优化三个因素对酶解全果百香果果汁工艺。响应面法优化结果表明, 百香果酶解最佳工艺参数为温度 38.8 ℃, 果胶酶添加量 0.06‰, 纤维素酶添加量 0.09‰, 在此条件下酶解百香果全果果汁 60 min, 出汁率为 94.21%, 和理论值 94.237% 模拟较好。本研究建立百香果酶解工艺二次线性回归模型准确有效, 优化百香果酶解工艺参数是可行的, 有一定的实用价值, 可为百香果果汁、果酒及果醋等进一步研究提供理论依据。

关键词:百香果, 酶解工艺, 出汁率, 响应面法

Optimization of enzymolysis technology of passifloraceae by response surface methodology

KANG Chao^{1,2}, YANG Yu-xia², LIU Li-li², XIE You-qiang², WU Shu-Jie^{1,2}, DUAN Zhen-hua^{1,2}

(1. Research Institute of Food Science & Engineering Technology, Hezhou University, Hezhou 542899, China;

2. College of Food and Biological Engineering, Hezhou University, Hezhou 542899, China)

Abstract: Passifloraceae was utilized as raw material to brew fruit juice via enzymatic hydrolysis of passifloraceae with pectinase and cellulose by response surface methodology (RSM). The one-factor-at-a-time method was adopted to investigate the effect of the ratio of material, cellulase to pectinase ratio, pH, hydrolysis temperature and time on juice yield. The interactions of the three independent variables were analyzed using Box-Behnken design and response surface analysis. The optimal hydrolysis conditions for producing passifloraceae juice were found to be enzymatic hydrolysis with a mixture of pectinase (0.06‰) and cellulase (0.09‰) for 60 min at 38.8 ℃. Under these conditions, juice yield of 94.21% was agreeing with the predicted value (94.237%). Response surface methodology to optimize enzymatic hydrolysis of passifloraceae with pectinase and cellulase for increasing juice yield was viable, which would provide the theoretical basis for the further research of passifloraceae juice, wine and vinegar.

Key words: passifloraceae; enzymolysis technology; juice yield; response surface methodology

中图分类号: TS255

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306 (2017) 21-0157-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.21.032

百香果 (passifloraceae), 学名西番莲, 又称巴西果、鸡蛋果, 是西番莲科多年生木质藤本植物果实的通称, 因其香气浓郁, 可散发出菠萝、香蕉等多种水果香味, 故得名百香果^[1-2]。它是世界上已知最香的水果之一, 被国内外誉为“果汁之王”^[3-4]。研究表明, 百香果富含天然活性成分黄酮是减除烦躁和缓减压力的基本元素, 能生津止渴, 提神醒脑, 食用后能增进食欲, 促进消化腺分泌, 有助消化。果实中含有多种维生素, 能降低血脂, 防治动脉硬化, 降低血压, 其果汁需

求量在国际市场上呈供不应求的趋势^[5-7]。

百香果细胞壁是由果胶、纤维素、半纤维素等物质组成的网状结构, 其阻止细胞内容物流出, 使百香果打浆后的果浆粘稠, 果渣含量高, 出汁率低, 生产效率低^[8-9]。目前百香果酶解工艺研究中多以单一的果胶酶酶解工艺优化为主, 然而, 仅使用果胶酶无法彻底水解细胞壁的网状结构, 为进一步提高出汁率, 彻底水解果胶、纤维素等物质, 采用混合酶是关键^[10-11], 杨峰、张佳艳等发现采用酶解技术可以降低

收稿日期: 2017-05-08

作者简介: 康超 (1985-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 酶工程与发酵工程, E-mail: kangchao8529@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金 (21365011); 广西特色果蔬深加工与保鲜技术研究 (YS201601); 贺州学院博士启动基金 (HZUBS201515); 广西特聘专家专项经费 (厅发 [2016] 21 号); 广西大学生创新创业项目 (201711838021)。

百香果鲜榨果汁不溶性固形物含量,提高西番莲果渣的出汁率^[12-13];黄国清等^[14]采用正交实验得到果胶酶提高西番莲出汁率的酶解工艺:果胶酶 0.25%,温度 45℃,时间 2.5 h;MugwizaTelesphore^[15]利用果胶酶与淀粉酶提高西番莲出汁率。目前,常规方法制备的百香果果汁普遍存在出汁率低、浑浊的缺点,即使采用酶解工艺,也是果皮与果汁分离后再混合进行酶解,不仅工艺繁琐,费时费力,酶解效果不能达到最佳,且饮用时口感黏滞,不够清爽,直接影响了果汁的品质和外观。因此,本研究以百香果全果为原料,采用双酶解技术及响应面法优化百香果果汁的酶解工艺,旨在为我国及省市百香果资源的综合利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜百香果 贺州本地市售紫果种;白砂糖 市售;氢氧化钠、柠檬酸等 均为食品级;果胶酶、纤维素酶 诺维信生物技术有限公司(果胶酶 10000 u/g,纤维素酶 100 FBG/g)。

HU-600WN 多功能榨汁机 韩国 Hurom;ZQZY-VC 恒温振荡培养箱 上海知楚分析仪器制造有限公司;BSA124S 电子天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;HH-8 数显恒温水浴锅 江苏金坛市环宇科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程与操作要点 工艺流程:原料选择→清洗→打浆→酶解→过滤→百香果汁。

挑选清洗:选择颜色均匀、大小差异不大的新鲜百香果。流动水冲洗,将表面泥沙、虫卵、微生物、农药残留等杂质洗净;将清洗好的鲜果称量,切块,置于打浆机中,按照预实验结果,综合考虑可溶性固形物、果汁含量、口感等因素,确定料液比为 1:3 加水混合打浆 1 min 左右,得百香果浆;酶解:取 100 g 浆汁置于 250 mL 三角瓶中,酶制剂加入后要搅拌均匀,并用保鲜膜封口,分别进行单因素及响应面实验;过滤:使用抽滤装置进行过滤,得到百香果汁及滤渣,称量计算出汁率,每次实验平行测定 3 次。

1.2.2 酶解技术对百香果出汁率的影响

1.2.2.1 单一果胶酶添加量对百香果出汁率的影响 设定果胶酶添加量分别为 0、0.02‰、0.03‰、0.04‰、0.05‰、0.06‰,料液比 1:3,酶解时间 60 min,酶解温度 40℃进行实验,测定百香果出汁率,以确定最适果胶酶添加量。

1.2.2.2 单一纤维素酶添加量对百香果出汁率的影响 设定纤维素酶添加量分别为 0、0.05‰、0.06‰、0.07‰、0.08‰、0.09‰,料液比 1:3,酶解时间 60 min,酶解温度 40℃进行实验,测定百香果出汁率,以确定最优纤维素酶添加量。

1.2.2.3 酶解时间对百香果出汁率的影响 设定酶解时间分别为 15、30、45、60、75 min,果胶酶添加量为 0.05‰(或纤维素酶 0.08‰),料液比 1:3,酶解温度 40℃进行实验,测定百香果出汁率,考察酶解时间对百香果出汁率的影响。

1.2.2.4 酶解温度对百香果出汁率的影响 设定酶解温度分别为 30、35、40、45、50、55℃,料液比 1:3,酶解时间 60 min,果胶酶添加量为 0.05‰(或纤维素酶 0.08‰),测定百香果出汁率,考察温度对百香果出汁率的影响。

1.2.2.5 pH 对百香果出汁率的影响 设定 pH 分别为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0,酶解时间 60 min,料液比 1:3,果胶酶添加量为 0.05‰(或纤维素酶 0.08‰),测定百香果出汁率,考察 pH 对百香果出汁率的影响。

1.2.2.6 酶解工艺的响应面实验优化 综合单因素实验结果,以果胶酶添加量、纤维素酶添加量、酶解温度 3 个因素为自变量,以出汁率为响应值设计实验,根据 Box-Behnken 实验设计原理,在单因素实验的基础上,采用 3 因素 3 水平的响应面分析方法,实验因素与水平设计见表 1。

表 1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and levels table of response surface analysis

因素	水平		
	-1	0	1
A 果胶酶添加量(‰)	0.04	0.05	0.06
B 纤维素酶添加量(‰)	0.07	0.08	0.09
C 温度(℃)	35	40	45

1.2.3 出汁率的计算 将酶解后的百香果浆至于最后获得滤汁。每次实验取汁操作相同,按式(1)计算出汁率:

$$\text{出汁率}(\%) = m_1/m_2 \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: m_1 为百香果汁质量,g; m_2 为百香果原料质量,g。

1.3 数据统计分析

所有数据均为 3 次重复实验的平均值,并表示为平均值±标准差,单因素实验数据运用 Origin 9.0 软件绘制趋势曲线图;响应面实验采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行方差分析,以显著性为研究指标($p < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 单因素酶解工艺确定

2.1.1 果胶酶添加量对百香果出汁率的影响 不同果胶酶添加量对百香果出汁率的影响见图 1,添加果胶酶可以提高百香果出汁率,并且随着酶添加量的增加(0.04‰~0.06‰),出汁率增大速度变得缓慢,综合考虑,后期优化实验选择果胶酶添加量 0.04‰~0.06‰作为响应面实验水平。

2.1.2 纤维素酶添加量对百香果出汁率的影响 纤维素酶添加量对百香果出汁率的影响见图 2,添加纤维素酶可以提高百香果出汁率,并且随着酶添加量的增加(0.07‰~0.09‰),出汁率增加不大,综合考虑,后期优化实验选择纤维素酶添加量为 0.07‰~0.09‰。

2.1.3 酶解时间对百香果出汁率的影响 由图 3 可知,百香果出汁率随酶解时间延长而提高,当酶解 0~45 min 区间内出汁率增加迅速,差异较显著,45 min 后增加速率相对放缓,酶解至 60 min 以后出汁率基本不再变化。

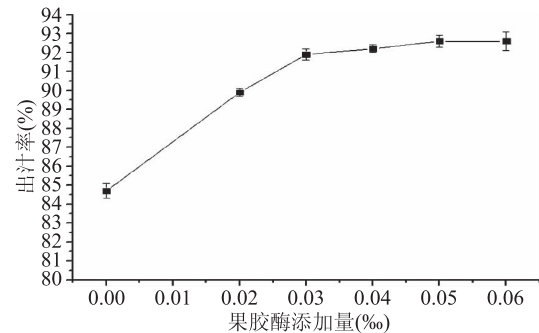


图1 果胶酶添加量对出汁率的影响
Fig.1 Effect of pectinase in different dosage on the yield of passifloraceae juice

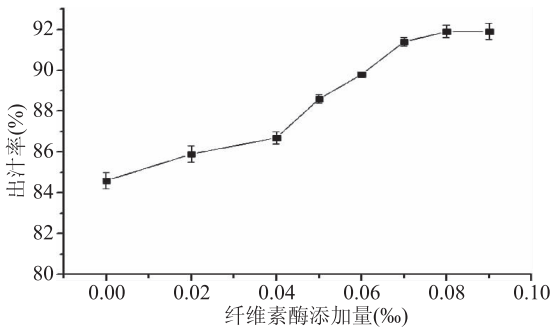


图2 纤维素酶添加量对出汁率的影响
Fig.2 Effect of cellulase in different dosage on the yield of passifloraceae juice

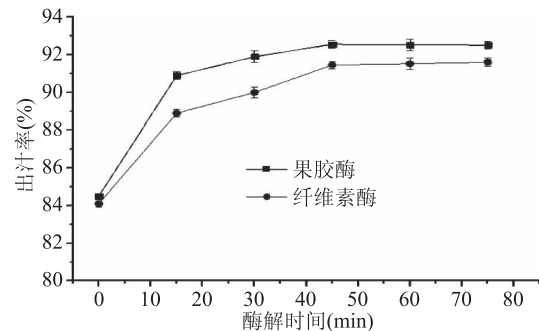


图3 酶解时间对出汁率的影响
Fig.3 Effect of enzymatic hydrolysis time on the yield of passifloraceae juice

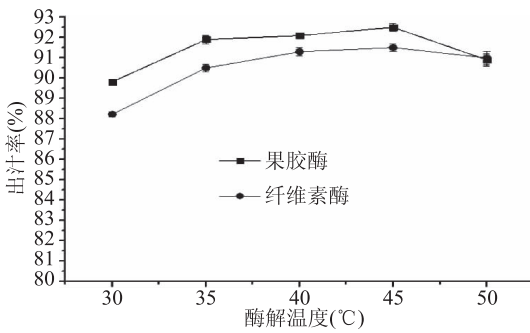


图4 酶解温度对出汁率的影响
Fig.4 Effect of enzymatic hydrolysis temperature on the yield of passifloraceae juice

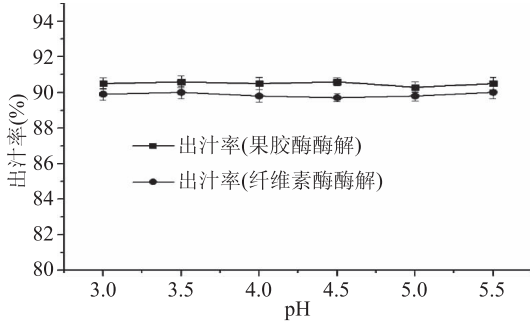


图5 pH对出汁率的影响
Fig.5 Effect of enzymatic hydrolysis pH on the yield of passifloraceae juice

进行回归分析,以酶解后百香果出汁率(%)为Y值(响应值),获得出汁率对果胶酶添加量、纤维素酶添加量和酶解温度3个因素的二次多项回归模型:

$$\text{出汁率}(\%) = 92.38 + 0.80A + 0.27B + 0.086C + 0.25AB + 0.10AC - 0.44BC + 0.44A^2 + 0.054B^2 - 0.014C^2$$

对该模型进行方差分析,结果见表3。由表3可知,该模型具有显著性($p < 0.05$),模型失拟项 $0.1487 > 0.05$ 不显著,模型的调整确定系数(R^2_{adj})为0.9890,可解释98.90%响应值的变化,相关系数(R^2)为0.9952,与 R^2_{adj} 较接近,表明此模型拟合程度好,误差不大,故可用此模型对百香果酶解工艺条件结果进行分析与预测。在总的作用因素中,除去 B^2 所有项均对结果有显著影响,其中,A、B、BC、AB、 A^2 差异极显著。

2.2.2 响应面结果分析与优化 根据回归方程做响应面图及其等高线图,考察所拟合的响应面的形状,分析果胶酶添加量、纤维素酶添加量及酶解温度对出汁率的影响,相应的响应面见图6~图8。由图可知,该结果与之前的单因素实验结果一致,并且单因素值增加,响应值随之增加,但是当响应值达到某一定程度后,会出现下降趋势。综合表3与图6~图8,并进行二次多项回归模型线性拟合后可知,百香果酶解工艺的最佳条件是:果胶酶添加量0.06‰,纤维素酶添加量0.09‰,酶解温度38.75℃,在此工艺条件下,百香果出汁率的理论值为94.237%。为验证响应面实验法获得结果的可信度,根据工艺(果胶酶添加量0.06‰,纤维素酶添加量0.09‰,酶解温度38.8℃)进行实验,重复3次,平均出汁率为94.21%,所得实验

2.1.4 酶解温度对百香果出汁率的影响 由图4可知,35~45℃温度区间内,百香果出汁率均较30℃有所提高,出汁率随着温度升高呈先增加后减小的趋势,酶解温度在35~45℃时,出汁率相对较高,因此,最佳酶解温度应在40℃附近。

2.1.5 pH对百香果出汁率的影响 实验表明,pH分别为3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5,酶解时间60 min、果胶酶添加量0.05‰(或纤维素酶0.08‰),百香果出汁率变化均不大(见图5),分析原因可能是所用商品酶果胶酶和纤维素酶的pH均在pH3.0~7.0范围内,故pH不作为后续优化因素。

2.2 百香果酶解工艺响应面实验优化

2.2.1 响应面优化模型建立分析 应用Box-Behnken对百香果酶解工艺进行响应面分析实验,用Design-Expert V8.0.6软件对响应面实验结果(表2)

表2 响应面实验设计及结果

Table 2 Experimental design and corresponding results for response surface analysis

实验号	A	B	C	出汁率(%)	实验号	A	B	C	出汁率(%)
1	1	-1	0	93.23	10	1	0	1	93.74
2	1	1	0	94.21	11	-1	0	0	92.39
3	-1	-1	0	92.04	12	-1	0	0	92.4
4	-1	0	-1	92.07	13	-1	0	1	92.02
5	1	0	-1	93.39	14	-1	1	0	92.01
6	0	1	-1	93.07	15	0	0	0	92.41
7	0	-1	1	92.65	16	0	0	0	92.42
8	0	1	1	92.39	17	0	0	0	92.29
9	0	-1	-1	91.58					

表3 响应面二次回归方程模型方差分析结果

Table 3 ANOVA results of quadratic regression model for response surface

方差来源	平方和	自由度	均方	F	p	显著性
模型	7.71	9.00	0.86	161.19	<0.0001	**
A	5.17	1.00	5.17	972.36	<0.0001	**
B	0.59	1.00	0.59	111.77	<0.0001	**
C	0.06	1.00	0.06	11.20	0.0123	*
AB	0.26	1.00	0.26	47.98	0.0002	**
AC	0.04	1.00	0.04	7.53	0.0288	*
BC	0.77	1.00	0.77	144.05	<0.0001	**
A ²	0.80	1.00	0.80	150.94	<0.0001	**
B ²	0.01	1.00	0.01	2.31	0.1723	
C ²	0.00	1.00	0.00	0.14	0.7152	*
残差	0.037	7.00	0.00			
失拟项	0.026	3.00	0.00	3.14	0.1487	
纯误差	0.011	4.00	0.00			
总和	7.75	16.00				

$R^2 = 0.9952$

$R^2_{adj} = 0.9890$

注：* 表示差异显著($p < 0.05$)，** 表示差异极显著($p < 0.01$)。

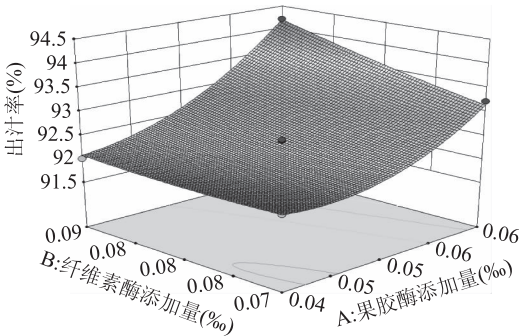


图6 果胶酶添加量与纤维素酶添加量交互影响出汁率的响应面图

Fig.6 Response surface and contour of effects of pectinase and cellulase in different dosage amount on the yield of passifloraceae juice

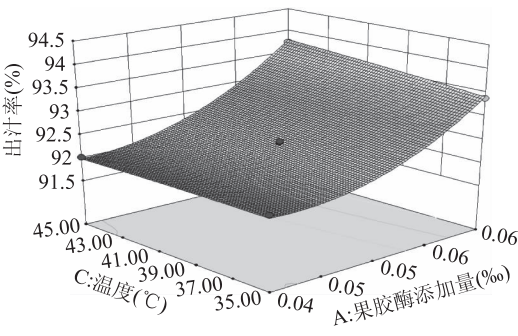


图7 果胶酶添加量与酶解温度交互影响出汁率的响应面图

Fig.7 Response surface and contour of effects pectinase in different dosage and temperature amount on the yield of passifloraceae juice

值与理论值相对误差小,说明经响应面分析方法优化获得的工艺参数是可信的,具有较好的实用价值。

3 结论与讨论

本研究通过单因素实验和 Box-Behnken 设计实验,利用实验设计系统 Design-Expert,通过响应面分析法对复合酶酶解百香果 3 个关键参数及其相互作

用进行了探讨,建立了果胶酶添加量、纤维素酶添加量、酶解温度与百香果出汁率间的二次多项式模型,模型校正决定系数 R^2_{adj} 为 0.9890,拟合性较好,可用于复合酶提高百香果出汁率的工艺操作。采用响应面分析法优化酶解百香果工艺条件,得出最佳的酶解工艺参数:果胶酶添加量 0.06%,纤维素酶添加量

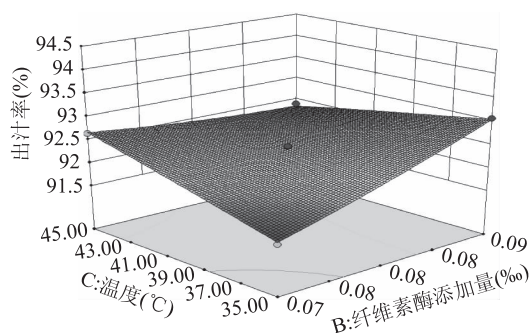


图8 纤维素酶添加量与酶解温度交互影响出汁率的响应面图

Fig.8 Response surface and contour of effects cellulase in different dosage and temperature amount on the yield of passifloraceae juice

0.09%,酶解温度 38.8℃,在此条件下,重复3次,平均出汁率为 94.21%,所得实验值与理论值相对误差小,说明经响应面分析方法优化获得的工艺参数是可信的,具有较好的实用价值。

参考文献

[1]陈孝英.台湾新兴作物——百香果[J].台湾农业情况,1985(3):18-20.

[2]果汁之王——百香果[J].农村百事通,2005(1):40.

[3]刘坤,刘炳仁.“果汁之王”——百香果[J].科学种养,2007(9):53.

[4]紫星百香果——果汁之王[J].农业新技术,2004(4):32.

[5]霍丹群,蒋兰,马璐璐,等.百香果功能研究及其开发进展[J].食品工业科技,2012(19):391-395.

[6]张爱玉.西番莲果汁加工及其原汁含量检测方法的研究[D].长沙:湖南农业大学,2005.

[7]赵玲艳,李罗明,蒋立文,等.西番莲饮料的加工工艺研究[J].中国食物与营养,2013,19(5):53-57.

[8]黄国清,肖仔君,梁小颖,等.西番莲果汁加工工艺研究[J].食品科学,2006,27(8):187-190.

[9]张佳艳,任仙娥.西番莲果汁的研究进展[J].食品研究与开发,2016(11):219-224.

[10]秦星,张华方,张伟,等.酶制剂在果汁生产中的应用研究进展[J].中国农业科技导报,2013,15(5):39-45.

[11]李莉萍.西番莲综合开发利用研究进展[J].安徽农业科学,2012,40(28):13840-13843,13846.

[12]杨锋,黄永春,何仁,等.酶处理对降低百香果鲜榨汁中不溶性固形物含量的影响[J].食品科技,2008(4):42-45.

[13]张佳艳,林欢,秦战军.西番莲果渣酶解工艺的研究[J].食品研究与开发,2016(19):95-99.

[14]黄国清,肖仔君,梁小颖,等.西番莲果汁加工工艺研究[J].食品科学,2006,27(8):187-190.

[15]Mugwiza Telesphore.利用酶与亲水胶体制备混浊西番莲汁的配料及其稳定性的研究[D].无锡:江南大学,2010.

[16]李雯,邵远志,陈维信.淀粉酶活性测定方法的改进[J].植物生理学通讯,2005,41(5):655-656.

[17]朱梦,孙海彦,彭明.普鲁兰酶产生菌的筛选鉴定与发酵条件的研究[J].食品研究与开发,2011,32(7):136-140.

[18]叶红玲,杜先锋.全酶法制备超高麦芽糖浆工艺[J].食品科学,2010(20):15-19.

[19]Grzeskowiak-Przywecka A, Słomińska L. Saccharification of potato starch in an ultrafiltration reactor [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79(2): 539-545.

[20]Ramesh M V, Lonsane B K. Critical importance of moisture content of the medium in alpha-amylase production by Bacillus licheniformis M27 in a solid-state fermentation system [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1990, 33(5): 501-505.

[21]Marchal L M, Jonkers J, Franke G T, et al. The Effect of Process Conditions on the a-Amylolytic Hydrolysis of Amylopectin Potato Starch An Experimental Design Approach [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1999, 62(3): 348-357.

[22]Stevenson D G, Jane J, Inglett G E. Physicochemical properties of pin oak (Quercus palustris Muenchh.) acorn starch [J]. Starch Stärke, 2006, 58(11): 553-560.

[23]周春海.小麦β-淀粉酶生产啤酒用糖浆糖化工艺条件的优化[J].现代食品科技,2012(3):15.

[24]Zhang L, Jiang Y, Jiang Z, et al. Immobilized transglucosidase in biomimetic polymer-inorganic hybrid capsules for efficient conversion of maltose to isomaltulose oligosaccharides [J]. Biochemical Engineering Journal, 2009, 46(2): 186-192.

[25]符琼.大米淀粉酶法制备低聚异麦芽糖的研究[D].长沙:中南林业科技大学,2011.

[26]鲍元兴,杨维亚,孙蔚榕.低聚异麦芽糖的质量与工艺设备[J].食品工业,1999(3):8-9.

(上接第156页)

503-509.

[7]高立琼,陈丽冰,杨倩,等.橡子淀粉制备及其理化性质研究[J].食品科技,2015(4):215-218.

[8]李樊.橡实淀粉凝沉特性与晶体特性研究[D].长沙:中南林业科技大学,2013.

[9]赵凯,张守文,方桂珍.低聚异麦芽糖的特性及其在低糖冰淇淋中的应用研究[J].食品科学,2003,24(1):73-75.

[10]Patel S, Goyal A. Functional oligosaccharides: production, properties and applications [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(5): 1119-1128.

[11]赵晋,王娇,阙健全.低聚异麦芽糖生理功能及应用的研究进展[J].食品研究与开发,2007,28(2):166-170.

[12]田康明,乔舰,李普均,等.快速酶法制备低聚异麦芽糖工艺建立与优化[J].食品工业科技,2016(16):41.

[13]黎跃红,万全玉,钟卫兵.利用碎米生产低聚异麦芽糖新工艺研究[J].粮食加工,2010(6):42-43.

[14]万洋灵,郭顺堂.橡子全粉与淀粉糊化性质和消化性的研究[J].食品科技,2013,38(12):204-208.

[15]Huang Z L, Liang Z Y, Li G J, et al. Response surface methodology to extraction of dioscoreae polysaccharides and the effects on rat's bone quality [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(1): 32-37.