Vol. 21 No. 1 Jan. 2002

文章编号:1009-038X(2002)01-0071-05

# 酶法制取南瓜汁

钱长华, 许时婴(江南大学食品学院 江苏 无锡 214036)

摘 要:对酶法制取南瓜汁工艺进行了研究,确定了最佳的酶解工艺.探讨了酶种和酶量同工艺的 关系,初步研究了酶法加工对南瓜果肉营养成分的影响,着重研究了β-胡萝卜素在加工中的损失.

关键词:酶解 南瓜混汁 沒胡萝卜素

中图分类号: Q 814.9 文献标识码: A

## Application of Enzymatic Hydrolysis Technology for Manufacturing Pumpkin Juice

QIAN Chang-hua , XU Shi-ying

( School of Food Science and Technology , Southern Yangtze University , Wuxi 214036 , China )

**Abstract**: The optimum enzymatic technology was determined through production of pumpkin cloudy juice using enzymatic hydrolysis method in this paper. The relations between the varieties and the amounts of enzyme and the quality of pumpkin juice were discussed. The loss of the  $\beta$ -carotene and nutrition during the process was also analyzed.

Key words: enzymatic hydrolysis; pumpkin cloudy juice β-carotene

南瓜原产于印度和北美洲,属葫芦科一年生草本植物.通常所说的南瓜有 3 个品种,即南瓜( Cu-curbita moschata Duch )、笋瓜( C. maxima Duch )、种西葫芦( C. pepo L.  $\int_{1}^{1}$ .由于南瓜果肉粗糙,风味浓郁,一般不作为家常蔬菜食用 $[^{2}]$ .但近年来,随着人们对其研究的深入,南瓜作为一种天然的果蔬,其丰富的营养成分和一些特殊的保健功能,正日益引起人们的重视。南瓜含有丰富的膳食纤维,对治疗慢性糖尿病有较好的疗效 $[^{3}]$ .同时,它具有黄、橙色蔬菜共有的物质—— $\beta$ -胡萝卜素,能对一些慢性疾病起预防作用 $[^{4}]$ .南瓜中还含有人体造血必需的微量金属元素锌和钴。

南瓜的药用价值已引起食品科学工作者的注意,但目前国内在南瓜食品开发中,产品单一、设备

简陋、产量不高,对南瓜的功能因子的开发利用尚 处试验阶段<sup>[5]</sup>.

用酶法提高果蔬的出汁率已经得到了广泛的运用.但对于南瓜汁的酶法制取,目前仅有对酶解工艺的初步研究,其相关理论研究还未见报道.

作者着重研究稳定性好和出汁率高的南瓜汁饮料的酶法制取工艺.

## 1 材料与方法

#### 1.1 材料

南瓜 *Cucurbita moschata*(Duch.) 江苏常熟 产<sup>[6]</sup> 纤维素酶:酶 [(国产酶),酶 [(进口酶);淀 粉酶:无锡酶制剂厂产品;果胶酶:NOVO公司产品;

收稿日期 2001-09-25; 修订日期 2001-12-28.

作者简介:钱长华(1973-)女 江苏张家港人 食品科学与工程硕士研究生.

实验所用分析试剂均为分析纯.

- 1.2 酶活力测定
- 1.2.1 α-淀粉酶活力测定 参照 QB547-80.
- 1.2.2 木聚糖酶活力测定 采用分光光度法绘制 木糖标准曲线.用 pH 4.8 的缓冲液制备酶液 ,取适量酶液在 50  $^{\circ}$  C 反应 30 min ,用 DNS 作显色剂 ,在 520 nm 处测 OD 值.一个酶活力单位即在 50  $^{\circ}$  C 下 , 反应1 h生成 1  $^{\circ}$   $^{\circ}$  mol  $^{\circ}$   $^{\circ$
- 1.2.3 纤维素酶活力测定 采用分光光度法绘制 葡萄糖标准曲线 .用 pH 4.8 的磷酸盐缓冲液制备酶液 ,取适量酶液在 40 ℃反应 20 min ,用 DNS 显色 ,在 520 nm 处测 OD 值 . 一个酶活力单位即为在  $40 \, ^{\circ}$  、 pH  $4.8 \, ^{\circ}$  ,每小时催化底物生成  $1 \, ^{\circ}$   $\mu$ mol /h ).
- 1.2.4 果胶酶活力测定 采用分光光度法绘制半乳糖醛酸标准曲线.用缓冲液制备酶液,取适量酶液在 40 ℃反应 30 min ,用 DNS 显色,在 520 nm 处测 OD 值.一个酶活力单位即每分钟生成 1  $\mu g$  半乳糖醛酸所需的酶量( $\mu g$ /min )  $^{71}$ .

#### 1.3 南瓜中营养成分的测定

蛋白质:微量凯氏定氮法;淀粉:南瓜果肉经酸水解法处理后,用还原糖滴定法测定;粗纤维:中性洗涤纤维(NDF)法测定[8];果胶:原料碾碎后,经85%乙醇沉淀、洗涤后所得残渣用稀盐酸提取,采用间羟基二苯法测定水解液中的总果胶含量[9,10].

#### 1.4 β-胡萝卜素测定

- 1.4.1 绘制标准曲线 用正己烷制备  $100~\mu g/mL$  的 β-胡萝卜素标准溶液 . 分别吸取  $50~,100~,150~,200~,250~\mu L$  于 10~mL 容量瓶中 ,用正己烷定容至刻度 ,在 451~m 处测定 OD 值 ,作浓度—OD 值标准曲线 $11~^{13}$ ].
- 1.4.2 固体样品 南瓜果肉经碾碎后,称取一定量,用 50~80 mL 85%热乙醇浸泡数分钟,收集上清液,在沉淀物中加入 30 mL 无水乙醚,收集乙醚层.沉淀物中再加入 20~30 mL 混合溶剂(正己烷与丙酮体积比为 4:3),充分振摇,静置收集上清液.在收集的上清液中分两次加入 80 mL 10%的 NaCl 溶液,取带色溶剂层,再加 50 mL 蒸馏水于溶剂层中,振摇后静置,取最终溶剂层.在 40 ℃下真空浓缩,浓缩液用氮气吹扫至干,加入正己烷定容至所需浓度,用紫外分光光度仪于 451 nm 处测 OD 值.
- **1.4.3** 液体样品 称取一定量的南瓜汁 ,加入 80 mL 混合溶剂 重复  $2 \sim 3$  次 其它步骤同上.

#### 1.5 果汁成分测定

蛋白质产料维维与淀粉:样品经过浓缩后,方法

同原料测定 ;果胶 ;取一定量浓缩果汁 ,用 85% 乙醇 沉淀 ,反复洗涤、离心后取沉淀直接定容 ,采用间-羟基二苯法测定 ;浊度 :用浊度仪测定溶液的透光率 (NTU);可溶性固形物含量 :用阿贝折光仪测定 (%);出汁率 :酶解后所得果汁与投入浆料的质量分数(%),得率 :南瓜汁最终固形物含量与南瓜原料的固形物含量的百分比(%).

### 2 结果与讨论

#### 2.1 酶对南瓜汁稳定性的影响

2.1.1 酶解工艺流程 南瓜清洗去柄→去皮、去瓤 →切片→盐水浸泡→漂洗→热烫→打浆→酶解→ 灭酶→离心→ 装瓶→杀菌

#### 2.1.2 酶种对南瓜汁稳定性的影响

选取具不同活力的纤维素酶(见表 1),在相同的加工条件下,对纤维素酶的作用进行了研究。主要是通过南瓜汁饮料的稳定性指标(浊度、出汁率、可溶性固形物含量及开始出现沉淀的时间)来确定合适的酶种.

由表 1.2 可知,酶 I(0010)的木聚糖酶活力低于酶 I(9806),但是它的果胶酶活力相对较高.由于植物细胞壁的降解导致胞液容易释出<sup>[15]</sup>,而植物细胞壁有序结构的降解主要与果胶酶的活力有关而不是与纤维素酶有关<sup>[14]</sup>,因此,酶 I(0010)产品的出汁率和可溶性固形物含量都比较高.

表 1 酶活力测定结果

Tab.1 The results of the enzyme activities

酶的种类*	木聚糖酶活力/ (μmol/h)	纤维素酶活力/ (μmol/h)	果胶酶活力 ( μg/min )
I(9806)	$1.22 \times 10^{5}$	$8.7 \times 10^3$	$5.03 \times 10^{3}$
I(0010)	$7.53\times10^4$	$9.1 \times 10^{3}$	$2.31\times10^4$
[[(0010)	$1.19\times10^6$	$1.18\times10^4$	$1.54\times10^3$
[[(L0010)	$3.6 \times 10^4$	$1.00 \times 10^{4}$	$1.39\times10^3$

注:I(9806),I(0010)指不同批号的国产纤维素酶,II(001),II(10010)指不同批号的进口纤维素酶。

表 2 酶解反应结果比较

Tab.2 The comparisons of the results of the enzymatic hydrolysis

	酶的种类	酶量/ (g/dL)	浊度/ NTU			开始出现 沉淀时间/d
-	I(9806)	0.20	679	49.5	3.3	2
	I(0010)	0.20	597	74.3	3.4	2
	[[(0010)	0.20	642	42.2	2.9	3
	[[(L0010)	0.20	654	45.8	3.0	-

酶 ||(0010)与酶 ||(L0010)制成的南瓜汁的各

项指标虽然相差不大,但酶 [[( L0010 )制成的产品在 杀菌后立即生成絮状沉淀,影响产品外观和品质. 估计酶 [[( L0010 )中还存在其它的酶和酶载体.

#### 2.1.3 酶量对南瓜汁稳定性的影响

对于果蔬组织,其细胞壁结构极为复杂,仅用一种酶是不能使组织软化或溶出的.实际反应时,一般以纤维素酶为主,并辅以半纤维素酶和果胶酶的协同作用[15,16].

作者对 3 种起主要作用的酶——纤维素酶、淀粉酶、果胶酶的配比采用  $L_{\bullet}(3^4)$ 正交表,进行正交试验 见表 3.

表 3 正交试验的因素水平表

Tab.3 The levels and factors of the orthogonal test %

因素	水 平			
	1	2	3	
A 淀粉酶	0.015	0.030	0.045	
B 果胶酶	0.001	0.002	0.003	
C 纤维素酶	0.100	0.150	0.200	

从表 4 可知 ,经酶解后的南瓜汁得率均在 30% 左右 . 综合正交试验极差分析结果(表 5 )和稳定性观察 ,选择  $A_1B_2C_3$  为最佳配比 .

表 4 正交试验方案和结果

Tab.4 The scheme and the results of the orthogonal test

编号	A	В	С	浊度/NTU	得率/%	可溶性固形 物含量/%
1	1	1	1	645	35.3	3.2
2	1	2	2	579	33.3	3.2
3	1	3	3	513	31.0	3.1
4	2	1	2	655	32.17	3.0
5	2	2	3	455	30.2	3.3
6	2	3	1	467	27.6	2.9
7	3	1	3	565	34.1	3.4
8	3	2	1	644	31.6	3.0
9	3	3	2	460	34.6	3.1

表 5 正交试验极差分析

Tab.5 Graded difference of the orthogonal test

k 值 —	浊度/NTU			得率/%			可溶性固形物含量/%		
	A	В	С	A	В	С	$\overline{A}$	В	С
$K_1$	1 737	1 865	1 756	99.60	101.57	94.50	9.50	9.60	9.10
$K_2$	1 577	1 678	1 694	89.97	95.10	100.07	9.20	9.50	9.30
$K_3$	1 669	1 440	1 533	100.30	93.20	95.30	9.50	9.10	9.80
$k_1$	579.0	621.7	585.3	33.20	33.86	31.50	3.17	3.20	3.03
$k_2$	525.7	559.3	564.7	29.99	31.7	33.36	3.07	3.17	3.10
$k_3$	556.3	480.0	511.0	33.40	31.07	31.76	3.17	3.03	3.27
R	53.3	141.7	74.3	3.41	2.79	1.86	0.10	0.16	0.24

#### 2.2 南瓜汁饮料加工中营养成分的变化

南瓜中含有的保健功能成分为南瓜多糖、活性蛋白、特殊氨基酸等,是防治糖尿病、纤维囊肿、前列腺炎等慢性病的保健食品和药品中的重要成分.在南瓜汁的制取中,尽可能保留较多的南瓜的功能成分,同时保证南瓜汁的品质.

#### 2.2.1 南瓜原料的营养成分

南瓜原料中碳水化合物占较大比例(见表 6). 其中果胶和纤维素(包括半纤维素和木质素)为膳食纤维,它能通过简单的机械作用,促进肠胃蠕动,防止便秘,预防肠道疾病;同时也能有效地键合胆汁酸,降低葡萄糖及脂肪的吸收速率,有效地防止胆囊病、糖尿病援动脉粥样硬化;降低肠道 pH 值, 抑制大肠内有害微生物的生长,保护肠粘膜、降低结肠癌发病率;此外还可降低心脏病发病率.因此,采用酶法制得的南瓜汁中应保留一定的膳食纤维.

表 6 南瓜的营养成分

Tab.6 The nutrition compositions in the resh pumpkin

营养组分	质量分数/%
蛋白质	1.28
果胶	0.73
淀粉	3.04
纤维素	1.10
水分	84.9

#### 2.2.2 南瓜汁中的营养成分

比较表 6 和表 7 ,南瓜经酶处理后,淀粉和纤维素在南瓜汁中基本不存在,而果胶和蛋白质的保留率分别为 70%和 32%.据报道,南瓜作为传统的降糖食物,它的主要降糖成分是果胶和铬.酶法制取的南瓜汁中保存了大量起保健功能的营养成分.另外果胶作为稳定剂与南瓜汁中的蛋白质相结合,在一定程度上起到了稳定南瓜汁的作用.

表 7 南瓜汁中的营养成分

Tab.7 The nutrition compositions in the pumpkin juice

营养组分	质量分数/%
蛋白质	0.39
果胶	0.51
淀粉	_
纤维素	微量
水分	93.4

#### 2.3 南瓜汁在加工过程中β-胡萝卜素的损失

南瓜最诱人之处在于它鲜艳的色泽,这是由于它富含 β-胡萝卜素,实际测得南瓜含有  $64 \mu g/g$  的 β-胡萝卜素( 见表 8 ).

表 8 酶法制取南瓜汁各加工步骤中β-胡萝卜素的损失

Tab.8 The loss of the  $\beta$ -carotene during each procedure in the enzymatic production

项目	β-胡萝卜素 的质量分数/ ( mg/kg )	加工步骤中 各物料的 质量/kg	加工步骤中残留 的 β-胡萝卜素 质量/mg
原料	64.6	0.51	33.0
浸泡水	0.62	3.00	1.85
热烫水	0.04	4.00	0.16
渣	116.8	0.216	25.2
南瓜汁	7.63	0.532	4.06

由于  $\beta$ -胡萝卜素是维生素 A 的前体 ,在南瓜汁的加工过程中 浸泡和热烫两个步骤会导致  $\beta$ -胡萝卜素溶出 ,随处理水流失 . 而离心去渣是引起  $\beta$ -胡萝卜素损失最主要的步骤 ,有 76% 左右的  $\beta$ -胡萝卜素残存在渣中 . 从表 8 可知 ,南瓜汁中最终含有约 7  $\mu$ g/g 的  $\beta$ -胡萝卜素 . 南瓜中的  $\beta$ -胡萝卜素经过酶法制成南瓜汁后 ,得率是 12% .

表 8 显示 浸泡水中的 β-胡萝卜素含量约是热烫水中含量的 10 倍. 这是因为 ,浸泡用水是 3.0% 的盐水 ,盐对植物细胞壁有一定的破坏作用 ,会使植物细胞组织中的水溶性物质从胞壁间隙析出. β-胡萝卜素在植物中可与水溶性物质( 如蛋白质、糖类 )结合<sup>[18]</sup>,在浸泡时与水溶性物质一起析出. β-胡萝卜素属于多烯烃类 ,在水分活度较高( > 0.84)时<sup>[19]</sup>,性质稳定 ,耐热.同时 ,热烫可以起到护色的作用 ,减少色素被氧化的可能性 <sup>[11]</sup>.因此热烫工艺对 β-胡萝卜素的损失影响较小.

### 3 结 语

作者对酶法制取南瓜汁工艺进行了初步理论探讨.由酶活分析可知,纤维素酶中果胶酶活力过高,果胶降解过度,因此不利于南瓜汁的稳定性.由于酶解为多种酶的协同作用,选择作用效果最佳的酶种是主要的工作.

南瓜汁提取过程中,渣汁分离使得大量的 β-胡萝卜素残留在渣中.由于 β-胡萝卜素具有保健功能,因此南瓜渣的开发利用前景广阔.

南瓜经过酶法加工后,出汁率高、稳定性好,并且保存了南瓜的色、香、味,可作为保健饮品.

## 参考文献:

- [ 1 ]李锡香 ,张文邦 ,王斌才.皇后南瓜营养成分分析及利用[ J ]. 食品科学 ,1993 ,10 :47 49.
- [ 2 ] MAS YAMAGCHI. World Vegetable Principles , Production & Nutritive Values M ]. New York : AVI Publishing Company , 1983 . 330 336.
- [3]谢宇. 开发南瓜产品的情报研究 []. 食品研究和开发,1992,2,29-30.
- [ 4 ] BARBARA O SCHNEEMAN. Linking agricultural production and human nutrition [ J ]. J Sci Food Agric 2000 81 3 9.
- [5]张芳.南瓜的功能特性及其在食品工业中的应用[J].食品工业科技 2000 6 162 64.
- [6]中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴(第四册]M].北京科学出版社,1975.370.
- [7]B.施特尔马赫. 酶的测定方法 M]. 钱嘉渊译.北京:中国轻工业出版社,1992.8.
- [8]大连轻工业学院,食品分析 M].北京:中国轻工业出版社,1990.
- [ 9 ] PAUL K KINTNER, JEROME P, VAN BUREN. Carbohydrate interference and its correction in pectin analysis using the m-hydroxy-diphenyl method J ]. J Food Sci , 1982 A7 756 764.

- Chem 1994 50 29 32.
- [11] BAO B ,CHANG K C. Carrot pulp chemical composition ,color ,and water-holding capacity as affected by blanching J]. J Food Sci , 1994 59:1159-1161.
- [ 12 ] ANOCHA K T, GWYN P J, MARK L W, et al. Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoids in fruits and vegetables [ J ]. Food Chem, 1998, 63:577 584.
- [ 13 ] MICHAELA M , ANDREAS S , REINHOLD C. Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented ATBC hrinks J ]. Food Chem 2000 70 '403 408.
- [ 14 ] ANASTASAKIS M , LINDAMOOD J B , CHISM G W , et al. Enzymatic hydrolysis of carrot for extraction of a cloud-stable juice[ J ]. Food Hydrocolloids , 1987 ,1 247 261.
- [15]相泽孝亮著.酶应用手册[M].黄文涛 胡学智译.上海:上海科学技术出版社,1989.
- [16] 余东游、冯杰、纤维素酶在动物营养上的研究进展[EB/OL].http://www.agri.ac.cn/afri.
- [17] 蔡敬民 涨洁. 芽孢杆菌木聚糖酶的发酵条件研究 J]. 工业微生物, 1996 2 26 30.
- [18] O.R. 菲尼马著. 食品化学 M]. 王璋译. 北京: 中国轻工业出版社, 1991.
- [ 19 ] GOLDMAN M , HOREV B , SAGUY I. Decolorization of β-carotene in model systems simulating dehydrated foods. Mechanism and Kinetic Principles [ J ]. J Food Sci ,1989 48 .751 754.

(责任编辑:杨萌,朱明)

#### (上接第70页)

- [4] 岛崎敬一 黒田清隆. 限外滤过膜によゐチズホエ中のタンパク质成分の分画について[J]. 酪农科学·食品の研究,1989,
- [5] DUBOLS E. Process for separate from whey or from milk proteins of high molecular mass such as immunoglobulins or lactoferrir[P]. 法国专利:FRP 2605322,1988.
- [6]郭本恒 程玉倩 骆承庠. 乳铁蛋白[J]. 中国乳品工业 ,1995 ,23(3):117 120.
- [7]吴俊生,邓修. 化工分离工程 M]. 北京 科学出版社 2000.
- [8]刘茉娥、陈欢林、新型分离技术基础[M]、杭州、浙江大学出版社、1993、
- [9]刘茉娥. 膜分离技术[M]. 北京:化学工业出版社,1998.
- [10] RAUTENBACH R, ALBRECHT R. 膜分离方法——超滤和反渗透 M]. 黄怡华、董汝秀译. 北京:化学工业出版社,1991.
- [11] ZAHID AMJAD. 反渗透——膜技术·水化学和工业应用[M]. 殷琦、华耀祖译. 北京:化学工业出版社,1999.
- [12] 蒋维钧. 新型传质分离技术[M]. 北京:化学工业出版社,1992.
- [ 13 ] WAKEMAN R. J. Progress in filtration and separation [ M ]. London Elsevier Science Publisher , 1986.
- [14]陈洪钫 刘家祺. 化工分离过程 M].北京 :化学工业出版社 ,1995.
- [ 15 ] REJAMN J J , HURLEY W L , BAHR J M. Enzyme-linked immunosorbent assays of bovine lactoferrin and a 39-kilodalton protein found in mammary secretions during involutior [ J ]. J Dairy Sci , 1989 , 72(2):555-560.
- [16]诸葛健,王正祥. 工业微生物实验技术手册 M].北京:中国轻工业出版社,1997.
- [ 17 ] RAUTENBACH R, ALBRECHT R. Membrane Processes M]. German: John Wiley & Sons Publisher, 1989.
- [ 18 ] ROUSSEAU R W. Handbook of separation process technology M ]. German: Wiley Publisher, 1987.

(责任编辑:李春丽,朱明)