

文章编号:1673-1689(2006)01-0079-10

酶法浸提枸杞的研究

王登良, 严玉琴*, 王盈峰, 张灵枝

(华南农业大学 茶叶科学系, 广东 广州 510642)

摘要: 通过对外源酶酶解枸杞效果的研究, 结果表明: 外源酶能显著提高枸杞浸提液中可溶性固形物和营养成分的含量, 其单一纤维素酶和木瓜蛋白酶浸提枸杞的适宜 pH 值分别是 5.0~5.5 和 pH 值 6.0, 适宜的酶质量浓度分别为 0.20 g/dL 和 0.40~0.60 g/dL, 温度分别为 55 °C 和 65 °C, 适宜时间都为 50~60 min; 两种酶组合浸提枸杞的较适 pH 值、温度、时间和酶组合分别为 pH 值 5.5~6.0, 55~60 °C, 50 min 和 0.20 g/dL 纤维素酶+0.40 g/dL 木瓜蛋白酶。

关键词: 纤维素酶; 木瓜蛋白酶; 枸杞; 浸提

中图分类号: Q 55

文献标识码: A

Studying on Enzymatic Extraction of Lycium Chinense

WANG Deng-liang, YAN Yu-qin*, WANG Ying-feng, ZHANG Ling-zhi

(Department of Tea Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The effects of exogenous enzymes on lycium chinense extract were studied. The results showed that the exogenous enzymes could remarkably increase the content of soluble solid and nutritive substances in lycium chinense extract. The suitable extraction conditions of cellulase were pH 5.0-5.5, 0.20% cellulase, 55 °C and 50~60 min; the suitable extraction conditions of papain were pH 6.0, 0.40~0.60% papain, 65 °C and 50~60 min; the suitable extraction conditions of the combination of cellulase and papain were pH 5.5~6.0, 55~60 °C, 50 min and 20% cellulase plus 0.40% papain.

Key words: cellulase; papain; lycium chinense; extraction

枸杞 (*Lycium Chinense*), 俗称苟起子、甜枸杞子、血枸杞子、红果子、西枸杞等, 属茄科枸杞属植物, 是驰名中外的名贵药材。枸杞子中富含蛋白质、脂肪、碳水化合物、粗纤维、胡萝卜素、核黄素、尼克酸、VC、VB 族、Ca、Fe、Se、Ge、Li 等人类所需的微量矿质元素以及 18 种氨基酸, 还含有含量较高的枸杞多糖, 甜菜碱、黄酮等具有保健药效的物质。

枸杞性平、味甘, 传统医学认为枸杞具有滋补肝肾、益精明目的功能。现代医学表明: 枸杞子具

有调节机体免疫力、抑制肿瘤生长、延缓衰老、降血脂、保肝与抗脂肪肝作用等方面的药理作用。对于枸杞子的上述功能起重要作用的因子, 一般认为与枸杞子中存在的枸杞多糖、 β -胡萝卜素、甜菜碱等化学成分有关。

枸杞因其具有独特的药理价值和丰富的营养价值, 而被认为是开发功能性食品的最佳原料。近年来, 以枸杞子作为原料制成的枸杞饮料种类繁多, 对其加工工艺已有不少研究, 但都是采用纯水

收稿日期: 2005-03-15; 修回日期: 2005-06-20.

作者简介: 王登良 (1954-), 男, 教授, 茶学专业硕士点首席专家。* 通讯作者。

高温或低温长时间浸提。由于枸杞中含有丰富的水溶性色素和生物活性物质天然胡萝卜素,它们的稳定性会受到加工中温度、pH 值等的影响。若直接纯水高温浸提,当温度高于 70 ℃、pH \leq 1.1 或 pH 值偏碱性时,枸杞中的水溶性色素中的不饱和键因稳定性差,在较高的温度下,易发生结合和分解反应,导致浸提液色泽的变化;当温度超过 80 ℃时,浸提液色泽变暗,影响了产品品质;另一方面,枸杞中的有效成分如枸杞多糖、枸杞蛋白在高温下稳定性差,在加工过程中易发生变性,形成大量絮状物和沉淀物,造成有效成分的大量损失,并且枸杞多糖的活性也降低;而低温浸提,则浸提时间长,而且也会影响枸杞汁的风味和色泽。酶技术具有快速、高效、反应时间温和、反应过程明确、易于控制等诸多优点,已越来越广泛用于食品、果蔬和饮料加工。采用酶法浸提枸杞,至今都未见这方面的报道。作者采用酶解法浸提枸杞,与生产上所采用的浸提法相比,确定酶解法的优越性,得出一套浸提工艺的优选参数,为生产枸杞汁饮料提供理论依据和方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

宁夏枸杞:当地市场购买,剔除非枸杞类杂质;纤维素酶(Ce Cellulase):上海丽珠东风生物技术有限公司生产,活力 15 000 u/g,产生绿色木酶(*Trichoderma viride*);木瓜蛋白酶(Pa Papain):上海伯奥科技公司生产,酶活力 USP16 000/mg, E merck (1.07147)进口分装;果胶酶(Pe Pectinase):美国 SERVA 公司生产,酶活力 0.2 u/mg,产生菌为黑曲霉(*Aspergillus niger*)。

1.2 试验方法

1.2.1 制备滤液方法 枸杞 \rightarrow 磨碎 \rightarrow 浸泡 \rightarrow 酶解 \rightarrow 灭酶 \rightarrow 过滤 \rightarrow 滤液。

1.2.2 测定方法

- 1)水分:80 ℃烘箱法。
- 2)水浸出物:80 ℃全量法。
- 3)氨基酸总量:茚三酮比色法。
- 3)多糖含量的测定:蒽酮比色法。
- 4)粗纤维的测定:去灰分量法。
- 5)蛋白质的测定:重金属沉淀法。

1.2.3 酶法浸提试验

1) 纤维素酶浸提试验:在枸杞水比 1(g):8 (mL)、浸提时间为 40 min,温度 55 ℃的条件下,设酶浓度和 pH 两因素、四水平的正交试验,测定水浸

出物、氨基酸、多糖和粗纤维质量分数。

2) 木瓜蛋白酶浸提试验:在枸杞水比 1(g):8 (mL)、浸提时间为 40 min、温度 65 ℃的条件下,设酶浓度和 pH 两因素、四水平的正交试验,测定水浸出物、氨基酸、多糖、水溶蛋白和水不溶蛋白质量分数。

3) 时间对浸提效果的影响:据(1)和(2)试验结果,对纤维素酶和木瓜蛋白酶设时间的单因素试验。

4) 酶组合试验:根据(1),(2)和(3)的试验结果,确定酶的组合,设 pH 和温度两因素的酶组合试验,测定水浸出物、氨基酸和多糖质量分数。

2 结果与分析

2.1 生产条件下枸杞浸提液中主要成分的质量分数

现在生产上多采用在 95~100 ℃(本试验选择 95 ℃)、1(g):8(mL)枸杞水比、两次浸提共 15 min 的条件下浸提枸杞,其浸提液中水浸出物、氨基酸、多糖、粗纤维、水溶蛋白和水不溶蛋白等主要成分的质量分数见表 1。

表 1 生产条件下枸杞浸提液中主要成分的质量分数
Tab. 1 Contents of major components in lycium chinense extracts under production scale

成分	质量分数/%
氨基酸	6.04
多糖	2.46
水浸出物	63.39
粗纤维	6.74
水溶蛋白	0.103
水不溶蛋白	3.294

2.2 纤维素酶对枸杞浸提效果的影响

在枸杞水比 1(g):8(mL)、浸提时间为 40 min、温度 55 ℃的条件下,设酶质量浓度 Ce1、Ce2、Ce3、Ce4 分别代表 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 g/dL。pH 值 P1、P2、P3、P4 分别代表 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 两因素四水平的正交试验 $L_{16}(4^2)$ 。将酶解液中主要成分的质量分数与 2.1 生产条件下枸杞浸提液(以下都简称为生产浸提法)中相应成分的质量分数相比较,看其增量的变化,结果见图 1。

本试验所采用的枸杞子中粗纤维质量分数为 7.47%,含量较高,直接纯水浸提,不能很好的溶解出来。纤维素酶属多糖水解酶类,在催化纤维素水

解形成可溶性糖的基础上,使细胞壁变形或破损,细胞膜透性增加,促进细胞内物质的溶出。试验结果表明,氨基酸、多糖、水浸出物质量分数与 pH 值和酶浓度呈增量关系,而粗纤维质量分数与 pH 值和酶浓度则呈减量关系。从图 1 可看出,各处理所测指标的含量增量都为正值。对同一 pH 值,氨基酸、多糖、水浸出物质量分数的增量和粗纤维质量分数的减量随酶浓度的增大而先增后减,在酶浓度为 0.20% 时,增量最大;对同一酶浓度,氨基酸、多糖、水浸出物含量的增量和粗纤维质量分数的减量随 pH 值的升高而先增后减,在 pH5.5 时,增量最

大。从图中可知,P3Ce3 处理的氨基酸、多糖和水浸出物质量分数最高,粗纤维质量分数最低,经多重比较,P3Ce3 与 P3Ce2、P3Ce4 处理各指标的质量分数差异都显著。与生产浸提法相比,P3Ce3 处理的氨基酸、多糖和水浸出物质量分数分别增加了 56.11%、130.19% 和 13.67%,粗纤维质量分数则减少了 39.76%;P3Ce3 处理的纤维素分解率为 45.40%,比生产浸提法的纤维素分解率 10.03% 相对提高了 352.43%。因此,添加外源纤维素酶浸提枸杞对提高浸提液中可溶性固形物和营养成分质量分数有显著效果。

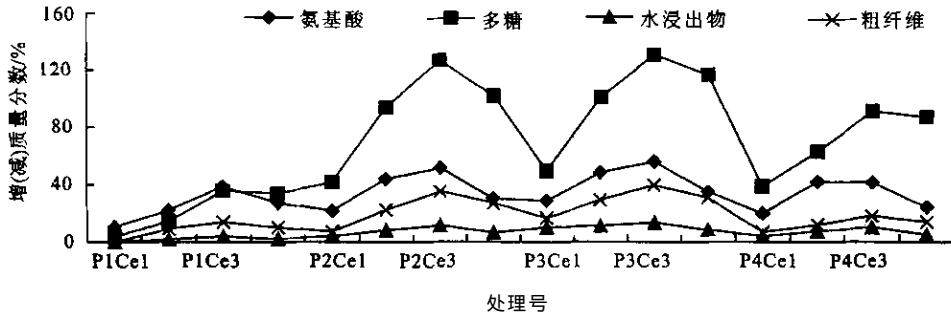


图 1 纤维素酶酶解液中氨基酸、多糖、水浸出物和粗纤维质量分数增量的变化

Fig. 1 Contents increasing chages of amino acids, polysaccharide, extracts, and crude cellulose in the enzymatic degradation solution by cellulase

用极差进行因素的作用分析如下表:

表 2 pH 值和酶浓度对枸杞浸提效果的影响

Tab. 2 Effects of pH and enzyme concentration on lycium chinense extraction

成分	R	
	pH 值	浓度
氨基酸	0.93	2.99
多糖	1.55	2.75
水浸出物	4.77	6.86
粗纤维	1.17	1.98

从表 2 可知,pH 值和酶浓度对枸杞浸提效果的影响大小顺序为:酶质量浓度>pH 值。

采用模糊综合评价对外源纤维素酶酶解枸杞效果进行综合评分。

该试验中氨基酸(a)、多糖(b)、水浸出物(c)、粗纤维(d)的权重系数分别为 0.28, 0.25, 0.25, 0.22,对各项指标进行加权求和,通过公式 $z = 0.28a + 0.25b + 0.25c + 0.22d$,即得到综合评分(z)。

从表 3 知,各处理得分从大到小的顺序为: P3Ce3 > P2Ce3 > P3Ce2 > P4Ce3 > P2Ce2 > P3Ce1,根据多重比较,P3Ce3 与 P2Ce3 除氨基酸含量差异不显著外,其余指标的含量差异显著,并且与 P3Ce2 和 P4Ce3 各项指标的含量差异显著。综

合以上各成分的分析,加外源纤维素酶酶解枸杞试验中,P3Ce3 处理相对较好,所以,纤维素酶酶解枸杞的较优条件为 pH5.5,酶质量浓度 0.20 g/dL。

表 3 纤维素酶酶解枸杞效果综合评分

Tab. 3 Comprehensive evaluation scores of enzymatic degradation of lycium chinense by cellulase

处理号	综合评分
P1Ce1	19.82
P1Ce2	20.20
P1Ce3	20.85
P1Ce4	20.45
P2Ce1	20.74
P2Ce2	21.87
P2Ce3	22.51
P2Ce4	21.35
P3Ce1	21.71
P3Ce2	22.35
P3Ce3	22.88
P3Ce4	21.80
P4Ce1	20.67
P4Ce2	21.71
P4Ce3	22.17
P4Ce4	21.13
生产浸提法	19.57

2.2.1 pH值对纤维素酶浸提枸杞效果的影响

为了确定 pH 值对枸杞浸提效果的影响,对所有同一 pH 值的处理综合得其平均含量。从图 2 和图 3 可看出,氨基酸、多糖和水浸出物质量分数随 pH 值的升高先增后减,在 pH 5.5 时,质量分数达到最大值;而粗纤维质量分数则呈相反的变化规律,在 pH 5.5 时,质量分数达到最小值,并且所测指标的质量分数在 pH 5.0~5.5 范围变化趋缓,而在 pH 5.5~6.0 范围,质量分数变化较明显。经多重比较,酶解液中除水浸出物外,氨基酸、多糖和粗纤维的质量分数在 pH 5.0~5.5 范围内差异都不显著。因此,添加纤维素酶浸提枸杞适宜 pH 值为 5.0~5.5。

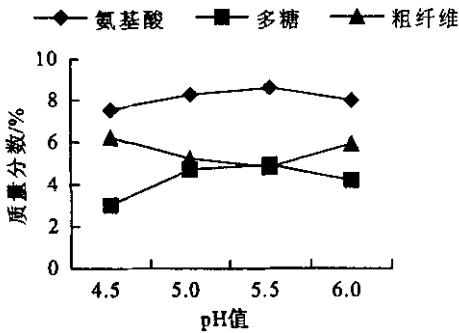


图 2 pH 值对纤维素酶酶解液中氨基酸、多糖和粗纤维质量分数的影响

Fig. 2 Effect of pH on amino acids, polysaccharides, crude cellulose contents in the cellulase enzymatic solution

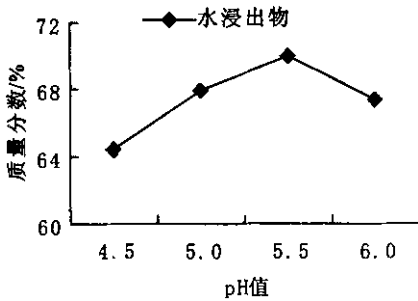


图 3 pH 值对纤维素酶酶解液中水浸出物含量的影响

Fig. 3 Effect of pH and extracts in cellulase enzymatic solution

2.2.2 酶浓度对纤维素酶浸提枸杞效果的影响

为了确定酶浓度对枸杞浸提效果的影响,对所有同一酶浓度的处理综合得其平均质量分数。从图 4 和图 5 可看出,氨基酸、多糖和水浸出物质量分数随酶浓度的增大而先增后减,在酶浓度为 0.20% 时,质量分数达到最大值;粗纤维质量分数则呈相反的变化规律,在酶浓度为 0.20% 时,质量分数达到最小值,在整个酶浓度范围,质量分数变化都较明显。经多重比较,在浓度 0.20~0.30% 范围,多糖和粗纤维的含量差异不显著,而氨基酸和水浸出物的含量差异显著。因此,添加纤维素酶浸提枸杞

的适宜酶质量浓度为 0.20 g/dL。

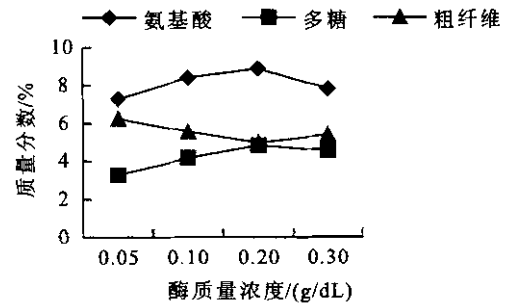


图 4 酶质量浓度对酶解液中氨基酸、多糖和粗纤维含量的影响

Fig. 4 Effect of enzyme concentration on amino acid, polysaccharides, and crude cellulose contents in the enzymatic solution

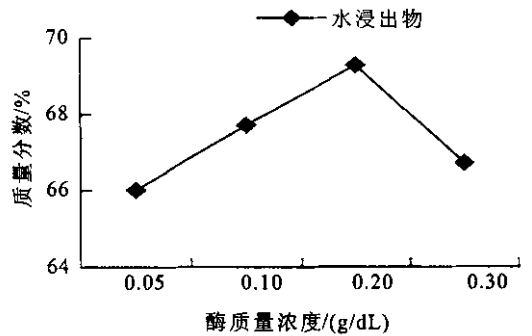


图 5 酶质量浓度对酶解液中水浸出物含量的影响

Fig. 5 Effect of enzyme concentration on extracts in the enzymatic solution

2.3 木瓜蛋白酶对枸杞浸提效果的影响

在枸杞水比 1 g : 8 mL、浸提时间为 40 min、温度 65 °C 的条件下,设酶质量浓度 (0.05, 0.20, 0.40, 0.60 g/dL)、pH (5.0, 5.5, 6.0, 6.5) 两因素四水平的正交试验 $L_{16}(4^2)$ 。为了确定添加外源木瓜蛋白酶浸提枸杞的效果,将酶解液中主要成分的质量分数与生产条件下枸杞浸提液中相应成分的质量分数相比较,看其增量的变化,如图 6,图中的 P1、P2、P3、P4 分别代表 pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5; Pa1、Pa2、Pa3、Pa4 分别代表酶质量浓度 (g/dL) 0.05, 0.20, 0.40, 0.60。

试验所采用的枸杞子中蛋白质质量分数为 13.64%,质量分数较高。由于木瓜蛋白酶属水解酶,能催化蛋白质水解成多种氨基酸,增加枸杞浸提液中的功能性成分物质如人体必需的氨基酸和一些具有生理活性的寡肽,提高枸杞浸提液的香气和鲜爽度;同时由于细胞壁中除了纤维素、半纤维素、木质素和果胶质外,还有蛋白质和脂类等组分,蛋白质的水解可能造成细胞膜透性一定程度的增加,在一定程度上增加了细胞内含物的浸出率。试验结果表明,氨基酸、多糖、水浸出物质量分数与

pH 值和酶浓度呈增量关系,而水溶蛋白和水不溶蛋白质量分数与 pH 值和酶质量浓度则呈减量关系。从图 6 可看出,对同一 pH 值,氨基酸、多糖、水浸出物质量分数的增量和水溶蛋白、水不溶蛋白质量分数的减量随酶浓度的增大而增大,在酶质量浓度为 0.60 g/dL 时,增量达到最大值,且在酶质量浓度 0.40~0.60 g/dL 范围,质量分数的增(减)量变化平缓;对同一酶浓度,氨基酸、多糖、水浸出物质量分数的增量和水溶蛋白、水不溶蛋白质量分数的减量随 pH 值的升高而先增后减,在 pH 6.0 时,质量

分数增(减)量达到最大值。从图中可知,P3Pa4 处理的氨基酸、多糖和水浸出物质量分数最高,水溶蛋白和水不溶蛋白质量分数最低。与生产浸提法相比,P3Pa3 处理的氨基酸、多糖和水浸出物质量分数分别增加了 44.10%、93.48%和 9.01%,而水溶蛋白和水不溶蛋白质量分数则分别减少了 60.58%和 20.73%;P3Pa3 处理对总蛋白的分解率为 80.56%,与生产浸提法相比,蛋白质分解率提高了 7.28%。因此,加木瓜蛋白酶浸提枸杞对提高浸提液中可溶性固形物和营养成分质量分数有显著效果。

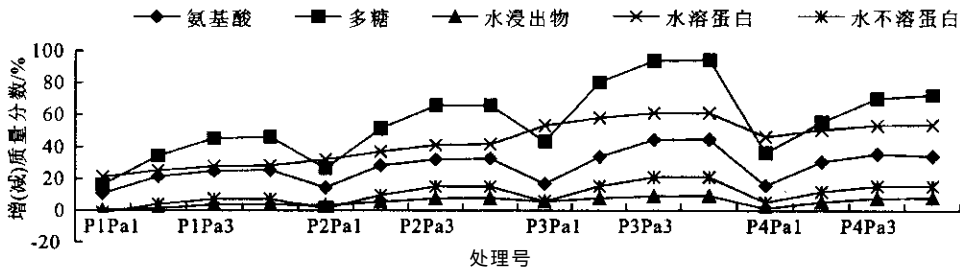


图 6 木瓜蛋白酶酶解液中主要成分质量分数增量的变化

Fig. 6 Major contents increasing changes in enzymatic degradation solution by papain

从极差做因素作用分析表 4 可见,pH 值和酶浓度对枸杞浸提效果的影响大小,除水溶蛋白外,其余指标都是受酶浓度影响最大,综合各指标试验结果可知,酶浓度对枸杞浸提影响最大。

表 4 pH 值和酶质量浓度对枸杞浸提的影响

Tab. 4 Effect of pH and enzyme concentration on lycium chinense extraction

成分	R	
	pH 值	质量浓度/(g/dL)
氨基酸	0.78	1.95
多糖	0.97	1.58
水浸出物	3.07	5.40
水溶蛋白	0.033	0.017
水不溶蛋白	0.320	0.550

采用模糊综合评价对外源木瓜蛋白酶酶解枸杞效果进行综合评分。

该试验中氨基酸(a)、多糖(b)、水浸出物(c)、水溶蛋白(d)、水不溶蛋白(e)的权重系数分别为 0.19,0.19,0.21,0.24,0.17,对两项指标进行加权求和,综合评分 $z=0.19a+0.19b+0.21c+0.24d+0.17e$ 。

从表 5 知,P3Pa4 的综合得分最高,其次是 P3Pa3,根据多重比较可知,P3Pa3 与 P3Pa4 差异不显著。从节约成本考虑,P3Pa3 处理相对较好,木瓜蛋白酶酶解枸杞的较适条件为 pH 6.0,酶质量浓度 0.40 g/dL。

2.3.1 pH 值对木瓜蛋白酶浸提枸杞效果的影响

为了确定 pH 值对枸杞浸提效果的影响,对所有同一 pH 值的处理综合得其平均质量分数。从图 7

~9 可看出,氨基酸、多糖和水浸出物质量分数随 pH 值的增大而先增后减,在 pH 6.0 时,质量分数达到最大值;水溶蛋白和水不溶蛋白质量分数则呈相反的变化规律,在 pH 6.0 时,质量分数达到最小值。经多重比较,所测指标各处理的质量分数在 pH 5.0~6.5 值范围差异都显著。因此,添加木瓜蛋白酶浸提枸杞的适宜 pH 值为 6.0。

表 5 木瓜蛋白酶酶解枸杞效果综合评分

Tab. 5 Comprehensive evaluation scores of enzymatic degradation of lycium chinense by papain

处理号	综合评分
P1Pa1	15.72
P1Pa2	16.08
P1Pa3	16.47
P1Pa4	16.49
P2Pa1	16.19
P2Pa2	16.75
P2Pa3	17.09
P2Pa4	17.11
P3Pa1	16.61
P3Pa2	17.21
P3Pa3	17.52
P3Pa4	17.54
P4Pa1	16.00
P4Pa2	16.78
P4Pa3	17.18
P4Pa4	17.21
生产浸提法	15.51

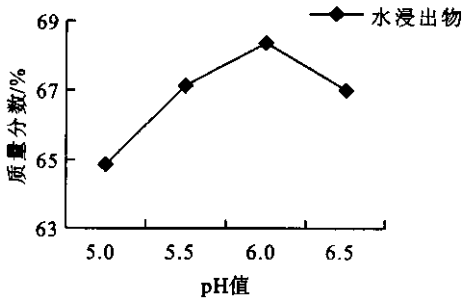


图7 pH值对木瓜蛋白酶酶解液中水浸出物质量分数的影响

Fig. 7 Effect of pH on extract content in the enzymatic solution by papain

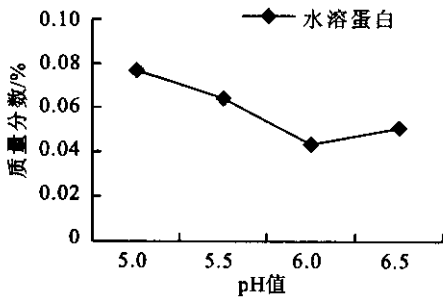


图8 pH值对木瓜蛋白酶酶解液中水溶蛋白质质量分数的影响

Fig. 8 Effect of pH on soluble protein contents in the enzymatic solution by papain

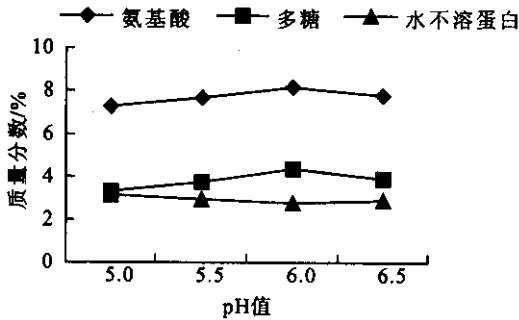


图9 pH值对木瓜蛋白酶酶解液中氨基酸、多糖和水不溶蛋白质质量分数的影响

Fig. 9 Effect of pH on amino acid, polysaccharides, insoluble protein contents in the enzymatic solution by papain

2.3.2 酶质量浓度对添加木瓜蛋白酶浸提枸杞效果的影响 为了确定酶质量浓度对枸杞浸提效果的影响,对所有同一酶质量浓度的处理综合得其平均质量分数。从图 10、图 11 和图 12 可看出,氨基酸、多糖和水浸出物质量分数随酶质量浓度的增大而先增后减,在酶质量浓度 0.60 g/dL 时,质量浓度达到最大值;水溶蛋白和水不溶蛋白质量分数则呈相反的变化规律,在酶质量浓度 0.6 g/dL 时,质量浓度达到最小值,且在酶质量浓度 0.40~0.60 g/dL 范围,质量浓度变化趋于平缓。经多重比较,所测指标各处理的质量浓度 0.40~0.60 g/dL 范围内差异都不显著。因此,添加木瓜蛋白酶浸提枸杞的

适宜酶质量浓度范围为 0.40~0.60 g/dL。

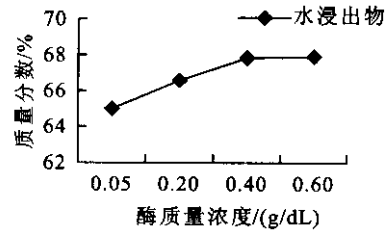


图10 酶质量浓度对酶解液中水浸出物质量分数的影响

Fig. 10 Effect of enzyme concentration on extracts in the enzymatic solution

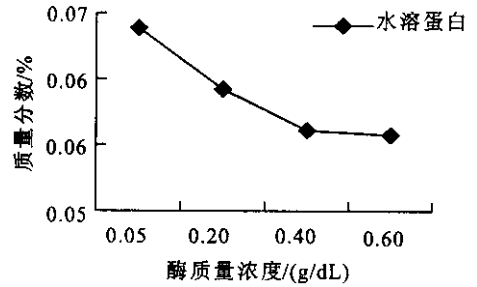


图11 酶质量浓度对酶解液中水溶蛋白质质量分数的影响

Fig. 11 Effect of enzyme concentration on soluble protein content in the enzymatic solution

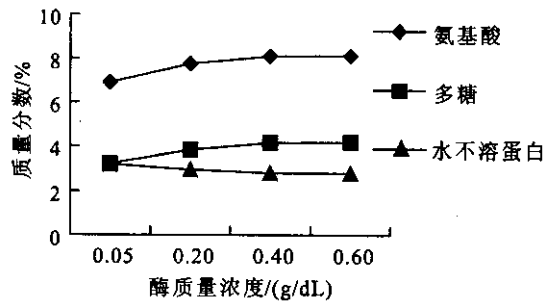


图12 酶质量浓度对酶解液中氨基酸、多糖和水不溶蛋白质质量分数的影响

Fig. 12 Effect of enzyme concentration on amino acids polysaccharides, and insoluble proteins contents in the enzymatic solutions

2.4 时间对添加单一纤维素酶和单一木瓜蛋白酶浸提枸杞效果的影响

为了确定时间对枸杞浸提效果的影响,根据 2.2 和 2.3 试验结果,对纤维素酶在 pH5.5、酶质量浓度 0.20 g/dL 和木瓜蛋白酶在 pH6.0、酶质量浓度 0.40 g/dL 的条件下设 30,40,50,60 min 的单因素时间试验,试验结果如图 13、图 14 和图 15,图中的 Ce 和 Pa 分别代表添加纤维素酶的处理和添加木瓜蛋白酶的处理。

从图 13~15 可看出,两种酶的酶解液中氨基酸、多糖和水浸出物质量分数随时间的延长而逐渐增加,纤维素酶酶解液中粗纤维质量分数和木瓜蛋白酶酶解液中水溶蛋白和水不溶蛋白质量分数则随时间的延长而逐渐减少,且在 50~60 min 范围内,所

测指标的含量变化趋于平缓。由图可知,在较短时间内,酶解的速率比较快,质量分数变化较明显;随着反应时间的延长,质量分数变化趋于平缓。其原因一方面是因为随着反应时间的延长,溶液中产物的增加对酶产生抑制作用,导致酶活性降低,酶解速率减缓;另一方面可能是这时枸杞中的内含物已基本溶出。经多重比较,各处理所测指标的质量分数在 50~60 min 范围内差异都不显著。因此,添加两种单一酶浸提枸杞的适宜时间范围都为 50~60 min。

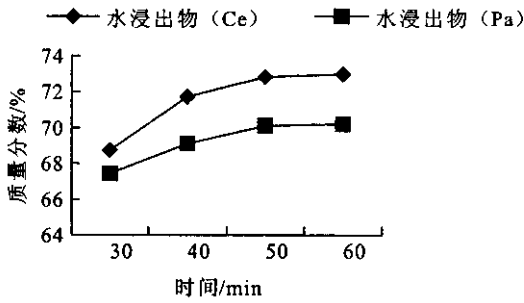


图 13 时间对酶解液中浸出物质量分数的影响

Fig. 13 Effect of temperature on extract content in the enzymatic solution

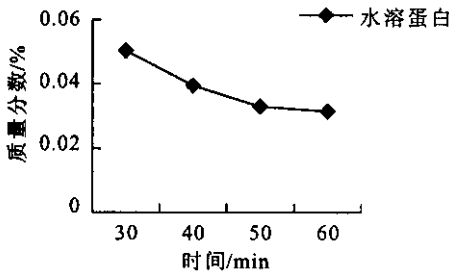


图 14 时间对酶解液中水溶蛋白质质量分数的影响

Fig. 14 Effect of time on soluble protein content in the enzymatic

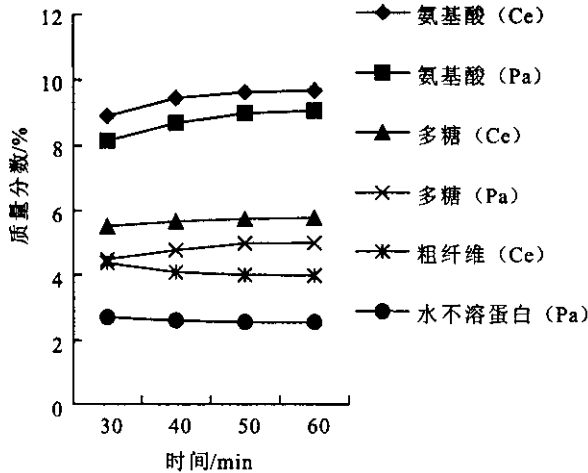


图 15 时间对酶解液中氨基酸、多糖、粗纤维和水不溶蛋白质量分数的影响

Fig. 15 Effect of time on amino acids, polysaccharides, and insoluble protein contents in the enzymatic solution

综合以上分析,添加外源纤维素酶浸提枸杞的较适条件为 pH 5.0~5.5,酶质量浓度 0.20 g/dL, 50~60 min;添加外源木瓜蛋白酶浸提枸杞的较适条件为 pH 6.0,酶质量浓度 0.40~0.60 g/dL, 50~60 min。

2.5 酶组合试验

根据 2.2、2.3 的试验结果,选择 0.20 g/dL 纤维素酶+0.40 g/dL 木瓜蛋白酶的酶组合,在枸杞水比1(g):8(mL)、时间 50 min 的条件下,设 pH (5.5,6.0,6.5)、温度(55℃、60℃、65℃)两因素三水平的正交试验 $L_9(3^2)$ 。为了确定酶组合浸提枸杞的效果,将酶解液中主要成分的质量分数与生产条件下枸杞浸提液中相应成分的质量分数相比较,看其增量的变化,试验结果如图 12。图中 P1、P2、P3 分别为 pH 5.5, 6.0, 6.5; T1、T2、T3 分别为 55,60,65℃。

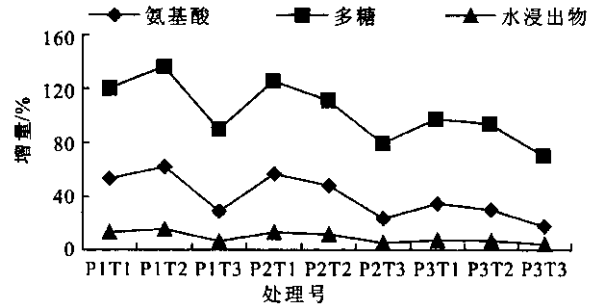


图 16 酶组合试验枸杞浸提液中主要成分质量分数增量的变化

Fig. 16 Major contents increasing changes in lycium chinense extraction by combinational utilization of enzymes

从图 16 可看出,酶组合试验中各处理所测指标的含量比生产浸提法浸提液中相应成分的质量分数都高,其中处理 P1T2 各指标的含量都最大,其次是处理 P2T1。经多重比较可知,P1T2 和 P2T1 差异显著。P1T2 处理浸提液中氨基酸、多糖和水浸出物的质量分数比生产浸提法浸提液中相应成分的质量分数分别增加了 62.12%、136.28% 和 15.24%,说明酶组合浸提枸杞能增加浸提液中主要成分的质量分数。

为对外源酶组合酶解枸杞效果作出较全面的评价,采用模糊综合评价对其进行综合评分。

该试验中氨基酸(a)、多糖(b)、水浸出物(c)的权重系数分别为 0.34,0.34,0.32,对各项指标进行加权求和,通过公式 $z = 0.34a + 0.34b + 0.32c$,即得到综合评分(z)。

从表 6 可知,各处理得分从大到小的顺序排列为:P1T2>P2T1>P1T1>P2T2>P3T1>P3T2>P1T3>P2T3>P3T3,综合以上图 16 对各成分

的分析, P1T2 处理相对较好。所以, 酶组合浸提枸杞的较优条件为: 枸杞水比 1(g): 8(mL)、pH 5.5、温度 60 °C、时间 50 min、酶组合(0.20 g/dL 纤维素酶+0.40 g/dL 木瓜蛋白酶)。

表 6 酶组合酶解枸杞效果综合评分

Tab. 6 Comprehensive evaluation scores of lycium chinense degradation by combinational utilization of enzymes

处理号	综合得分
P1T1	27.89
P1T2	28.68
P1T3	25.81
P2T1	28.01
P2T2	27.42
P2T3	25.42
P3T1	26.20
P3T2	25.95
P3T3	24.99

2.5.1 pH 值对酶组合浸提枸杞效果的影响 为了确定 pH 值对枸杞浸提效果的影响, 对所有同一 pH 值的处理综合得其平均含量。从图 17 和图 18 可看出, 氨基酸、多糖和水浸出物含量随 pH 值的增大而减小, 在 pH 6.5 时, 含量达到最小值, 且在 pH 5.5~6.5 范围, 含量变化较小。经多重比较, 所测指标各处理的含量在 pH 5.5~6.5 值范围差异都不显著。因此, 酶组合浸提枸杞的适宜 pH 值范围为 pH 5.5~6.0。

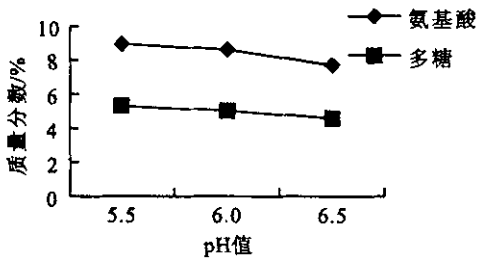


图 17 pH 值对酶组合浸提液中氨基酸和多糖质量分数的影响

Fig. 17 Effect of pH on amino acids and polysaccharides contents in the mixed enzymatic solution

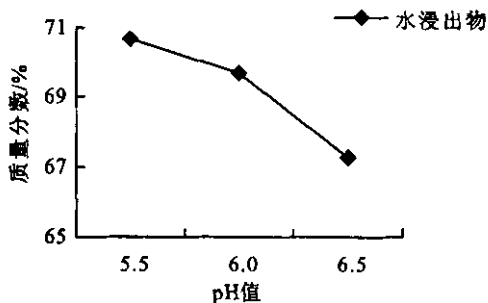


图 18 pH 值对酶组合浸提液中水浸出物质量分数的影响

Fig. 18 Effect of pH on extract content in the mixed enzymatic solution
万方数据

2.5.2 温度对酶组合浸提枸杞效果的影响 为了确定温度对酶解效果的影响, 对所有同一温度的处理综合得其平均含量。从图 19 和图 20 可看出, 氨基酸、多糖和水浸出物含量随温度的升高而减小, 在 55 °C 时, 含量最大, 在 65 °C 时, 含量最小, 且在 55~60 °C 范围, 含量变化趋于平缓。经多重比较, 各处理所测指标的含量在 55~60 °C 范围差异都不显著。因此, 酶组合浸提枸杞的适宜温度范围为 55~60 °C。

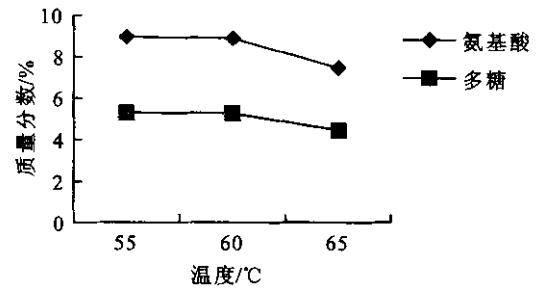


图 19 温度对酶组合浸提液中氨基酸和多糖质量分数的影响

Fig. 19 Effect of temperature on amino acids and polysaccharides contents in the mixed enzymatic solution

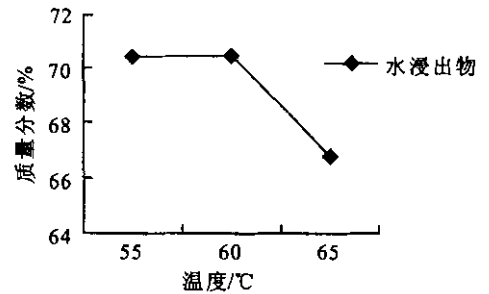


图 20 温度对酶组合浸提液中水浸出物质量分数的影响

Fig. 20 Effect of temperature on extracts contents in the mixed enzymatic solution

综合以上分析, 酶组合浸提枸杞的较适条件为 0.20 g/dL 纤维素酶+0.40 g/dL 木瓜蛋白酶, pH 5.5~6.0, 55~60 °C, 50 min。

对酶组合和单一酶在较适浸提条件下酶解液中主要成分的含量进行比较, 从图 21 可以看出, 酶组合浸提枸杞的效果最好。酶组合试验与单一纤维素酶浸提枸杞效果相比, 其氨基酸、多糖和水浸出物质量分数相对增加了 1.68%, 1.11% 和 0.31%, 与单一木瓜蛋白酶浸提枸杞效果相比, 其氨基酸、多糖和水浸出物质量分数相对增加了 12.67%, 21.76% 和 5.71%。说明, 酶组合对枸杞浸提有协同作用, 其氨基酸和多糖质量分数变化都较明显。可能是两种酶的共同作用, 造成细胞膜透

性较大程度增加,纤维素酶使细胞内含物大量释放出来,提高了蛋白质的溶出率,相对增加了木瓜蛋白酶的底物浓度,提高了木瓜蛋白酶的水解活性,蛋白质水解形成氨基酸或较小分子量的肽类,从而提高了浸提液中氨基酸的含量。经多重比较,酶组合与木瓜蛋白酶酶解效果显著,与纤维素酶酶解效果不显著,因酶组合浸提枸杞的温度比单一纤维素酶浸提温度相对较高,对枸杞浸提过程中对温度敏感的内含成分有一定的影响;而且,同时应用两种酶,会增加生产成本,在生产上是不可取的。因此,综合考虑枸杞浸提各项指标、枸杞汁的品质和成本问题,生产上以选择加单一纤维素酶浸提枸杞为较优方案。

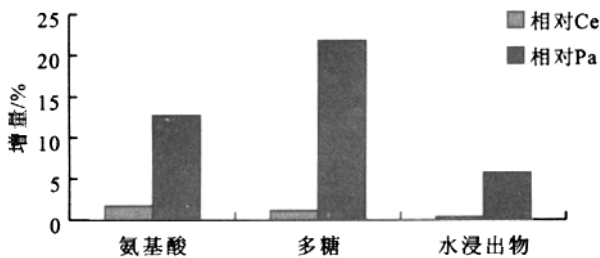


图 21 酶组合相对于单一纤维素酶和单一木瓜蛋白酶酶解液中氨基酸、多糖和水浸出物质量分数的增量

Fig. 21 The contents increases of amino acid, polysaccharides, and extracts using mixed enzymes, compared with those of solely using cellulase and papain

3 结 论

1) 外源酶能显著提高枸杞浸提液中可溶性固形物和营养成分的含量。通过添加纤维素酶和木瓜蛋白酶浸提枸杞,其氨基酸、多糖、水浸出物的含量在一定程度上都有所增加;而粗纤维、水溶蛋白和水不溶蛋白含量则减少,作用效果与 pH 值、酶浓度、温度和时间有关。

2) 添加单一纤维素酶浸提枸杞的适宜 pH 值为 pH 5.0~5.5,适宜的酶质量浓度为 0.20 g/dL,适宜时间为 50~60 min。

3) 添加单一木瓜蛋白酶浸提枸杞的适宜 pH 值为 pH 6.0,适宜的酶质量浓度为 0.40~0.60 g/dL,适宜时间为 50~60 min。

4) 纤维素酶和木瓜蛋白酶两者组合效果最好,其浸提的较适 pH 值、温度、时间和酶组合分别为 pH 5.5~6.0,55~60 °C 和 0.20 g/dL 纤维素酶+0.40 g/dL 木瓜蛋白酶。

参考资料:

- [1] 万日余,顾岱芳,张健,等. 纤维素酶在草莓汁生产中的应用[J]. 中国果品研究, 1996,(4):15-16.
- [2] 毛清黎,彭继光,贾海元,等. 外源多糖水解酶提高红碎茶品质技术研究. I. 红碎茶初制中外源多糖水解酶的增质效应研究[J]. 茶叶通讯, 1991,(2):9-12,23.
- [3] 王建华,王汉中,张民,等. 枸杞多糖延缓衰老的作用[J]. 营养学报,2002,24(2):189-194.
- [4] 王鸿飞,李和生,马海乐,等. 果胶酶对草莓果汁澄清效果的研究[J]. 农业工程学报, 2003,19(3):161-164.
- [5] 王德山. 枸杞子老年性高血脂症降脂作用的临床研究[J]. 辽宁中医杂志, 1996,23(10):475.
- [6] 包先进,唐晓峰,陈宗道,等. 纤维素酶提高砖茶品质的研究[J]. 西南农业大学学报,1995,17(6):541-544.
- [7] 甘璐,张声华. 枸杞多糖的抗肿瘤活性和对免疫功能的影响[J]. 营养学,2003,25(1):200-203.
- [8] 任彬彬,马永萍,沈泳,等. 宁夏枸杞及甜菜碱对 H₂O₂ 诱发 RBC 膜脂质过氧化的影响[J]. 中国中药杂志,1995,(5):303.
- [9] 刘魁英主编. 食品研究与数据分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998,41-43.
- [10] 衣艳君. 枸杞降血脂作用的实验研究[J]. 首都师范大学学报(自然版), 2000,21(4):68-70.
- [11] 何进,严淳泰,梁运祥. 枸杞果实化学成分研究概况[J]. 中国野生植物资源,1997,(1):8-11.
- [12] 何剑峰,周伟平,仇宜解,等. 枸杞对糖尿病视网膜病变患者抗氧化反应作用的临床研究[J]. 中国中医眼科杂志,1998,8(2):74-76.
- [13] 宋炳生,杨玉龙. 枸杞多糖的免疫调节作用[J]. 药用实践杂志,1997,15(2):69.
- [14] 张国栋,马力,刘洪,等. 绿茶饮料的制备及品质控制[J]. 食品与机械,2002,(1):22-23,29.
- [15] 李兴祥. 枸杞原汁饮料的生产工艺的研究[J]. 食品工业科技,1995,(3):32-34.
- [16] 李宗山,邱世翠,郭毅. 枸杞抗 γ 射线作用的研究[J]. 滨州医学院学报,1996,19(6):551.
- [17] 杨志祥. 枸杞子色素的研究[J]. 中国野生植物资源,1999,(2):6-8.

- [18] 赵谋明,平燕超,邱慧霞,等. 草菇抽提物最佳提取工艺条件的研究[J]. 搭配工业科技,1997,(2):35-39.
- [19] 袁昌齐主编. 天然药物资源开发利用[M]. 南京:江苏科学技术出版社,2000. 0241-0247.
- [20] 黄惠华,何铁剑,徐南燕. 木瓜蛋白酶对大豆分离蛋白的水解作用研究[J]. 食品工业,1999,(3):29-31.
- [21] 彭光华,李忠,唐威,等. 枸杞子中酸浆果红素的鉴定及其稳定性研究[J]. 食品科学,2003,24(4):59-62.
- [22] 彭程,雷永汉. 宁夏枸杞子色素稳定性研究[J]. 西北民族大学学报(自然科学版),2003,24(4):26-28,40.
- [23] 蒲彬,刘娅,李先义,等. 枸杞浓缩清汁加工工艺的研究[J]. 食品工艺科技,2002,23(11):67-69.
- [24] 谭军,陈波,张育英. 枸杞水浸提条件的探讨[J]. 华中农业大学学报,1997,16(5):413-415.
- [25] 谭淑宜,曾晓雄,罗泽民. 提高速溶茶品质的研究. I. 酶法提取[J]. 湖南农学院学报,1991,17(4):708-712.
- [26] 阚健全,黄家勇. 枸杞汁生产技术[J]. 食品工业科技,1998,(1):39-41.
- [27] Hsu Hsue-Yin, Yang Jeng-Jer, Ho Yan-Hui, et al. Difference in the effects of radioprotection between aerial and root parts of *Lycium chinense*[J]. **Journal of Ethnopharmacology**, 1999, 64(2): 101-108.
- [28] Lu Gana, Sheng-Hua Zhangb, Qiong Liua, et al. A polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* upregulates cytokine expression in human peripheral blood mononuclear cells[J]. **European Journal of Pharmacology**, 2003, 471(3): 217-222.
- [29] Petersean B R, Denmark C. Enzymatic method for production of instant tea[J]. **Agr Food Chem**, 1984,(21): 456-458.
- [30] Wang HQ, Jiang BJ, Ma ZJ. Experimental study on the antiaging effect of abstracted juice of *Lycium Chinense*[J]. **J Cap Univ Med Sci**. (in chinese), 1992,12(2): 83-86.
- [31] Zhang X, Xiang SL, Cui XY, et al. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide(LBP) on the lymphocyte signal transduction system in mice[J]. **Chin J Immunol**(in chinese), 1997,13(5):289-292.

(责任编辑:杨萌)

欢迎订阅 2005 年《冷饮与速冻食品工业》

《冷饮与速冻食品工业》杂志 是经国家新闻出版总署批准出版,教育部主管,江南大学(原无锡轻工大学)等单位主办,面向国内外公开发行的国家级专业性技术指导类刊物,是冷饮与速冻食品行业广大基层决策者、科研人员、生产者、经营者研发新品、寻求商机、开拓市场的良师益友。

《冷饮与速冻食品工业》杂志 及时报道国内外冷饮与速冻食品领域及其相关行业的科研成果、生产技术及市场动态,通过邮局在全国各地发行,影响广泛,同时竭诚为我国冷饮与速冻食品行业的广大企业提供广告服务。广告内容涉及冷饮与速冻食品行业的新产品,各种速冻、冷藏机械设备,食品添加剂及原辅料等。

地址:江苏省 无锡市蠡湖大道 1800 号,江南大学 蠡湖校区 31 号信箱《冷饮与速冻食品工业》杂志编辑部; 电话:0510-85913523; 传真:0510-85913523; 邮编:214122; 电子邮件地址:csbfj@sytu.edu.cn。 联系人:周佩琴,秦和平。