

# 柚苷酶固体发酵及消除桔子汁苦味的研究

汪 钊 毛富根 浙江工业大学轻工系 310014

**摘 要** 用黑曲霉变异株 ZG86 进行柚苷酶固体发酵, 发酵酶活力达到 15000u/g 豆饼粉。利用此酶对桔子汁脱苦, 柚皮苷含量大幅度下降, 脱除率达 90% 以上, 苦味基本消失。

**关键词** 柚皮苷 柚苷酶 苦味

**Abstracts** In this paper, the solid state fermentation of naringinase were investigated with *Aspergillus niger* ZG86. The experiment results showed that the naringinase activity could be 15000u/g bean cake. After this enzyme was used in orange juice, naringin contain were decreased obviously, the rate of reduction was more than 90%, bitterness of orange juice was decreased.

**Key words** Naringin Naringinase Bitterness

我国是世界柑桔原产中心之一, 是柑桔资源的宝库, 种类和品种极为丰富, 因此开展柑桔加工和综合利用, 很有必要。但是柑桔加工过程中会出现明显苦味, 这就限制了在食品工业中的广泛应用, 使许多消费者难以接受。柑桔中苦味物质主要是柚皮苷和柠檬苦素, 其中柚皮苷含量较大, 如无核桔汁柚皮苷含量达到 30ppm 左右。柚皮苷苦味阈值较低, 在 10% 蔗糖溶液中为 35ppm, 在蒸馏水中为 20ppm, 成为柑桔苦味的主要成分。

消除桔子汁的苦味, 目前主要应用的有酶法、吸附法和屏蔽法等, 其中酶法脱苦具有专一性强, 对桔子汁风味和营养成分无破坏, 效果好, 成本低等优点, 是目前较为理想的方法。柚苷酶用于桔子汁、桔子罐头等国内外都有许多报导<sup>[1~3]</sup>, 国外已有商品酶出售, 国内还没有商品酶。因此, 我们用从 150 多株曲霉中选育出的黑曲霉变异株 ZG86 为对象<sup>[4]</sup>对此菌株固体发酵产柚苷酶进行了研究, 酶活力大幅度提高, 成本降低, 将此酶用于桔子汁的脱苦, 取得较好效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

浙江工业大学轻工系保存的黑曲霉变异株 ZG86

### 1.2 材料

黄豆饼粉: 冷榨豆饼粉, 黄岩果酒厂提供。

热榨豆饼粉, 群力化工厂提供。

豆渣: 杭州豆制品厂提供, 含水量 35%~37%。

无核桔; 本地早桔, 浙江黄岩产。

### 1.3 固体发酵方法

以豆饼粉为主要原材料, 豆渣和适量无机盐为辅料, 稻壳为通气材料, 加入一定量的水, 分装于 500ml 三角瓶中, 装料厚度为 2.5~3.0cm, 0.1Mpa 蒸汽压力灭菌 30min, 冷却后每瓶接入 2% 种曲, 于 32℃ 培养 4 天, 培养物加水浸泡 4h, 过滤, 测定滤液酶活力, 折算成活力 u/g 豆饼粉。

### 1.4 桔子汁脱苦方法

将桔子榨汁后, 加入一定量的柚苷酶, 在不同条件下反应, 测定反应前后柚皮苷含量, 计算脱除率, 即 Davis 值降低百分率。

### 1.5 分析方法

柚皮苷含量的测定: 采用中林改良 Davis 法和萃取中林改良 Davis 法<sup>[5,6]</sup>。

柚苷酶活力的测定, 参见文献<sup>[4]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 固体发酵培养基的选择

根据液体发酵培养基的基本组成<sup>[4]</sup>, 试验以冷榨豆饼粉为主要原料, 豆渣为辅助材料。固体培养产柚苷酶情况表明, 冷榨豆饼粉与豆渣

掺合后,手感发粘,结团,不易分散,虽经加入稻壳,结团情况依然严重,菌丝仅在表面生长,不易穿入基质内部,在生长过程中呈夹生现象,产酶活力显然受到很大影响,酶活力仅为6000u/g 豆饼粉。

为了确定豆饼粉质量对产酶的影响,又选用热榨豆饼粉为原料,按表1配比进行发酵,从表1可见,产柚苷酶活力有显著提高。

表1 以热榨豆饼为主要原料的固体培养基产酶情况

| 试号 | 豆饼粉(g) | 豆渣(g) | 稻壳(g) | 水(ml) | 含水量(%) |      | 酶活力(u/g 豆饼粉) |
|----|--------|-------|-------|-------|--------|------|--------------|
|    |        |       |       |       | 发酵前    | 发酵后  |              |
| 1  | 100    | 150   | 0     | 0     | 53.1   | 38.7 | 14652        |
| 2  | 100    | 150   | 30    | 30    | 52.5   | 35.5 | 13500        |
| 3  | 100    | 0     | 40    | 100   | 41.7   | 26.5 | 8400         |
| 4  | 100    | 0     | 50    | 250   | 62.5   | 41.5 | 13472        |
| 5  | 100    | 200   | 0     | 0     | 59.0   | 42.9 | 15735        |
| 6  | 100    | 200   | 100   | 250   | 65.7   | 42.5 | 13640        |
| 7  | 100    | 100   | 80    | 250   | 63.9   | 41.8 | 12607        |
| 8  | 150    | 50    | 280   | 250   | 55.5   | 37.5 | 9865         |

根据传统固体发酵经验和有关报导,固体发酵中底物含水量是发酵成败的关键之一,高含水量减少固态颗粒之间空隙,降低氧的扩散和交换,使产酶大幅度降低,特别是在工业规模时由于操作与发酵均在半无菌状态下进行,高含水量常增加细菌污染的机会。然而在低含水量时,由于基质水活度的降低,致使生长达不到最佳状态,特别是在发酵后期,酶活力难于上升。从实验室结果分析,柚苷酶发酵培养基水份控制在52%~65%为宜。从试号3和4的比较可见,41.7%含水量已明显地影响酶的形成。实验还发现,过高比例的黄豆饼粉并不能促进更多酶的形成,比较7和8试样可见,按发酵培养基总酶活计算,8号要比7号产酶活力略高,前者为147.9万单位,后者为126.1万单位,但按每克豆饼粉计算,8号大大低于7号,前者仅为9865u/g 豆饼粉,后者为12607u/g 豆饼粉,说明更多的氮源并不能转化为酶蛋白。至于稻壳在发酵中的作用,尚难确定。从经验推测,稻壳能改善固体发酵时的通气性质,有利于酶的产生,然而从试号1和2以及5和6结果分析,稻壳的加入有降低酶活趋势,从稻壳表面(已经

浸透了豆饼粉的渗出液,并粘附有一定量的豆饼粉)菌丝生长及孢子形成均很差的情况来看,是否稻壳会有抑制本菌生长和产酶的某些因子存在,还有待进一步探索。

综合以上结果,较佳的固体发酵配方为黄豆饼粉1:豆渣1.5~2.0,不加稻壳,培养基初始水量控制在52%~65%。

## 2.2 发酵过程的观察

固体培养基为豆饼粉1:豆渣1.6,含水量60.2%,0.1MPa 压力蒸汽灭菌50min,冷却至35℃,分装于曲盘中,接入三角瓶种曲2.5%,曲盘铺料厚度3cm,发酵过程产酶变化见图1。

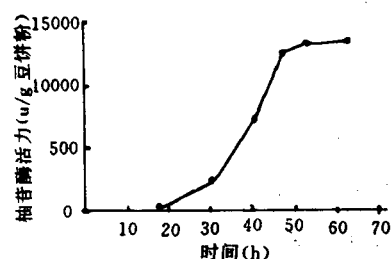


图1 ZG86菌株固体发酵产酶曲线

采用固体发酵法生产的柚苷酶,菌丝生长旺盛。孢子大量形成时,柚苷酶活力直线上升,发酵周期从液体深层发酵法的115h<sup>[4]</sup>缩短到60h左右,单位发酵培养基产酶量由1124u增加到13000u,提高10倍以上。这样不仅可以省去一整套昂贵的深层发酵设备,而且酶的提取方便,酶的生产成本降低,可以工业化生产。

## 2.3 柚苷酶脱苦试验

### 2.3.1 不同取汁方法对桔子汁中柚皮苷含量的影响

不同取汁方法对桔子汁的风味、苦味都有直接影响。用本地早桔制取带皮全果汁(A法),去皮混浊果汁(B法)和去皮离心清汁(C法)比较结果表明,柑桔果实的不同部位柚皮苷含量不同,外皮和囊衣中含量较高,因此A法和B法取汁较C法高。从桔子汁苦味和风味来看,带外皮破碎榨汁得到的全果汁苦味最重,风味最差;去外皮榨汁则苦味较轻,离心后的清汁则苦味很小,风味好。为了减少脱苦负担,可以采用去外皮榨汁方法,使初始柚皮苷

等苦味物含量尽可能降低。

### 2.3.2 桔汁中柚皮苷含量的测定

试验中发现用中林改良 Davis 法测定脱苦后桔汁的柚皮苷含量,随着酶反应时间的增加,降低率达到一定值时(无核桔约60%,本地早桔约为20%),降低率不再改变,苦味基本消失,此时用淬取中林改良 Davis 法测定桔子汁中柚皮苷含量已经降至30ppm ( $10^{-6}$ )左右的苦味阈值,降低率达90%左右。这主要是由于 Davis 法是基于在碱性条件下,黄酮甙能产生稳定的黄色,桔子汁中除柚皮苷外,还有其它黄酮甙,也可以发生显色反应,因此中林改良 Davis 法测定结果是偏高的,但此法操作简单,所以本实验中全部采用中林改良 Davis 法测定柚皮苷含量,以 Davis 值表示。

### 2.3.3 不同加酶量对桔子汁脱苦的影响

取无核桔汁过滤清液,分别加入不同量的柚皮酶,在50℃下反应1.0和2.0h,测定 Davis 值,结果见表2。

表2 不同加酶量对桔汁脱苦的影响

| 加酶量 (u/100ppm 柚皮苷) |     | 0             | 4   | 8    | 16   | 32   |
|--------------------|-----|---------------|-----|------|------|------|
| 反应时间 (h)           | 0   | Davis 值 (ppm) | 320 | 320  | 320  | 320  |
|                    |     | 苦味            | +++ | +++  | +++  | +++  |
|                    | 1.0 | Davis 值 (ppm) | 320 | 268  | 193  | 148  |
|                    |     | Davis 值降低 (%) | /   | 16.3 | 39.7 | 53.8 |
|                    |     | 苦味            | +++ | +++  | ++   | +    |
|                    | 2.0 | Davis 值 (ppm) | 320 | 200  | 155  | 145  |
|                    |     | Davis 值降低 (%) | /   | 37.5 | 51.6 | 54.7 |
|                    |     | 苦味            | +++ | ++   | +    | +    |

+++：苦，++：稍苦，+：基本不苦

从表2可以看出随着加酶量的增加,桔汁中 Davis 值降低,苦味减轻,但是加酶量超过16u/100ppm 柚皮苷时, Davis 值变化则不明显,这时酶浓度已经达到脱苦要求。

### 2.3.4 不同反应时间对桔汁脱苦的影响

分别取无核桔汁上清液和原汁,加入柚皮酶,50℃下反应,间隔一定时间取样,测定残留柚皮苷含量。结果无核桔上清液50℃反应2h苦味基本消失,而无核桔原汁要3h才消失,这是由于原汁中悬浮有较多的细渣,渣中柚皮苷含量较多的原故。实验观察到,随着反应时间的延长, Davis 值降低到60%左右时,基本上不再降低。

### 2.3.5 不同 pH 对桔汁脱苦的影响

取无核桔汁上清液,分别用柠檬酸,  $\text{CaCO}_3$  调节 pH 为3.0, 3.6, 4.6和5.3, 40℃反应1.5h,测定残留柚皮苷含量,结果表明, pH 值在3.6~4.6脱苦效果较好。一般桔汁的自然 pH 值为3.6左右,因此脱苦时可以不调节 pH。

## 参考文献

- 1 Dunlap, W. J et al. J. Food sci., 1962, 27, 597.
- 2 Ting, S. V. J. Agric. Food, Chem. 1958, 6, 546.
- 3 相沢孝亮等著, 黄文涛、胡学智译. 酶应用手册. 上海科学技术出版社, 1989, 326.
- 4 汪钊, 毛富根. 微生物学通报, 1995, 1, 18.
- 5 中林敏郎. 日本食品工业学会志, 1962, 9 (1), 24.
- 6 脱苦科研组. 浙江工学院学报, 1987, 3, 26.

# 电离辐射在食品保藏中的应用

颜栋美 广西大学轻工系 530004

姚艾东 郑州粮食学院食工系

**摘 要** 论述了辐照食品所产生的生物学效应、生理学效应、化学效应。介绍了辐照食品的优点和辐照在食品保藏中的应用以及国内外辐照在食品中的发展状况,探讨了我国食品辐照的发展方向。

**关键词** 辐照 食品保藏