

# 响应面优化枸杞浊汁酶解工艺研究

王梦泽<sup>1,2</sup>, 王佳<sup>1,2</sup>, 赵小锋<sup>1,2</sup>

(1. 宁夏林业研究所股份有限公司, 宁夏银川 750002; 2. 西北特色经济林栽培与利用国家地方联合工程研究中心, 宁夏银川 750002)

**摘要** [目的]为提高枸杞浊汁出汁率,用响应面法优化枸杞浊汁酶解工艺。[方法]用果胶酶、纤维素酶处理枸杞果浆,在酶解条件单因素试验的基础上,采用响应面法研究了果胶酶加量、纤维素酶加量、酶解温度、酶解时间对枸杞浊汁出汁率的影响。[结果]试验表明,当果胶酶加量为 77.59  $\mu\text{L}/\text{kg}$ 、纤维素酶加量为 12.89  $\mu\text{L}/\text{kg}$ 、酶解时间为 68.14 min、酶解温度为 46.92  $^{\circ}\text{C}$  时,枸杞浊汁出汁率可达 88.34%。[结论]研究得出的酶解条件可靠,可为枸杞果汁生产提供参考依据。

**关键词** 枸杞; 浊汁; 出汁率; 响应面法

**中图分类号** S567.1<sup>+</sup>9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)07-03121-04

## Using Response Surface Methodology for Optimizing Pectinase Hydrolysis of Chinese Wolfberry Cloudy Juice

WANG Meng-ze et al (Ningxia Forestry Institute Shares Limited Company, Yinchuan, Ningxia 750002)

**Abstract** [Objective] To increase juice yield of Chinese wolfberry cloudy juice, and using response surface methodology to optimize Chinese wolfberry cloudy juice enzymatic hydrolysis process. [Method] Chinese wolfberry pulp was treated by pectinase and cellulase. Based on zymohydrolysis condition single-factor experiment, response surface methodology was adopted to research influences of pectinase addition, cellulose addition, zymohydrolysis temperature and zymohydrolysis duration on juice yield. [Result] The results showed that with pectinase addition of 77.59  $\mu\text{L}/\text{kg}$ , cellulose addition of 12.89  $\mu\text{L}/\text{kg}$ , zymohydrolysis duration of 68.14 min and zymohydrolysis temperature of 46.92  $^{\circ}\text{C}$ , the output ratio reach 88.34%. [Conclusion] This zymohydrolysis condition is proved real and reliable, which can provide reference basis for Chinese wolfberry juice.

**Key words** Chinese wolfberry; Cloudy juice; Juice yield; Response surface methodology (RSM)

枸杞为茄科植物枸杞属 (*Lycium Chinese*) 的浆果。主要分布在宁夏、甘肃、新疆、内蒙等省区,以宁夏的枸杞为最优<sup>[1]</sup>。枸杞中的化学成分比较复杂,主要包括糖类、脂肪、脂肪酸、蛋白质、维生素、氨基酸、微量元素、萜类、甾醇类、色素类、生物碱类<sup>[2]</sup>。枸杞果鲜果因含有较多的果胶、多糖等胶体物质而使制汁过程存在出汁率低等问题,通过添加酶制剂来提高原料出汁率和利用率,已在果汁加工中得到了广泛的应用<sup>[3-5]</sup>。对于枸杞鲜果的酶解工艺,国内的研究主要是通过果胶酶作用的单因素试验或正交试验进行的。但是,这些试验难以确定因素之间的交互作用,因而影响结果的准确性。笔者用果胶酶、纤维素酶处理枸杞果浆,运用响应面法优化酶解工艺参数,为枸杞果汁生产提供理论依据。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** 供试枸杞品种为宁杞 6 号,采摘于银川市植物园。主要试剂:果胶酶 (novozymes PECEINEX XXL),淀粉酶 (novozymes CELLULAST)。仪器与设备: JYL-DO51 料理机,九阳;数显恒温水浴锅,上海树立仪器仪表有限公司;电子天平,上海第二天平厂;电子秤、移液器枪、压榨机 (自制)。

## 1.2 方法

**1.2.1 枸杞浊汁加工工艺流程。**枸杞→前处理→破碎→酶解→榨汁→过滤→调配→均质→脱气→灭菌→冷却→成品。

**1.2.2 响应面法优化酶解工艺。**

**1.2.2.1 酶解单因素试验。**果浆中加入 10  $\mu\text{L}/\text{kg}$  纤维素酶,在酶解温度为 50  $^{\circ}\text{C}$ ,酶解时间为 60 min 的条件下,分别加入 20、40、60、80 和 100  $\mu\text{L}/\text{kg}$  的果胶酶进行酶解,酶解后分别测定出汁率。

果浆中加入 60  $\mu\text{L}/\text{kg}$  果胶酶,在酶解温度为 50  $^{\circ}\text{C}$ ,酶解时间为 60 min 的条件下,分别加入 0、5、10、15、20 和 25  $\mu\text{L}/\text{kg}$  的纤维素酶进行酶解,酶解后分别测定出汁率。

在果胶酶加量为 60  $\mu\text{L}/\text{kg}$ ,纤维素酶加量为 10  $\mu\text{L}/\text{kg}$ ,酶解时间为 60 min 的条件下,分别在 30、40、50、60 和 70  $^{\circ}\text{C}$  下进行酶解,酶解后分别测定出汁率。

在果胶酶加量为 60  $\mu\text{L}/\text{kg}$ ,纤维素酶加量为 10  $\mu\text{L}/\text{kg}$ ,酶解温度为 50  $^{\circ}\text{C}$  的条件下,分别酶解 0、30、60、90、120 和 150 min 后测定出汁率。

**1.2.2.2 响应面优化酶解试验因素与水平设计。**果胶酶、纤维素酶作用于枸杞果浆时,主要受到各酶用量、酶解温度、酶解时间的影响。因此根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理<sup>[7-8]</sup>,综合单因素试验结果,选取果胶酶加量、纤维素酶加量、酶解温度、酶解时间 4 个因素,采用 4 因素 3 水平的响应面分析方法,试验因素与水平设计见表 1。

表 1 响应面分析因素与水平设计

编码水平	因素			
	果胶酶加量 ( $X_1$ )// $\mu\text{L}/\text{kg}$	纤维素加量 ( $X_2$ )// $\mu\text{L}/\text{kg}$	酶解时间 ( $X_3$ )//min	酶解温度 ( $X_4$ )// $^{\circ}\text{C}$
-1	40	5	30	40
0	60	10	60	50
1	80	15	90	60

## 2 结果与分析

### 2.1 酶解条件单因素试验

**2.1.1 果胶酶加量对枸杞浊汁出汁率的影响。**在纤维素酶加量为 10  $\mu\text{L}/\text{kg}$ ,酶解温度为 50  $^{\circ}\text{C}$ ,酶解时间为 60 min 的条件下,考察果胶酶加量对枸杞浊汁出汁率影响。

由图 1 可知,随果胶酶加量的增大,枸杞浊汁的出汁率相应增大。酶加量小于 60  $\mu\text{L}/\text{kg}$  时,出汁率的变化幅度大;

**基金项目** 国家 973 项目 (2012CB723703)。

**作者简介** 王梦泽 (1981-),男,山西繁峙人,研究实习员,硕士,从事特色经济林果品加工及保鲜研究, E-mail: Wang\_Mengze@yeah.net。

**收稿日期** 2013-03-07

而酶加量大于 60  $\mu\text{l}/\text{kg}$  时,变化幅度变小。这是由于果胶酶酶解枸杞细胞壁,有效地破坏细胞组织,提高了出汁率,当酶加量达到 60  $\mu\text{l}/\text{kg}$  时,酶用量趋于饱和,进一步加大酶用量对提高出汁率的影响不明显。

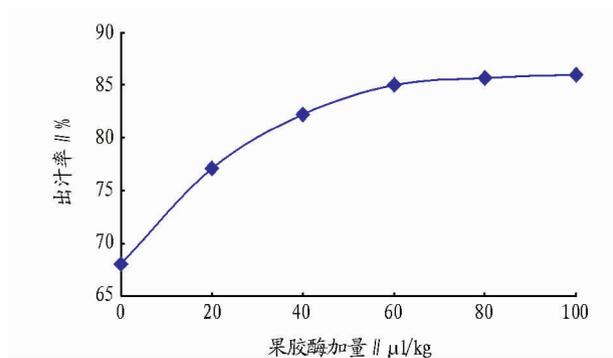


图1 果胶酶加量对枸杞浊汁出汁率的影响

**2.1.2 纤维素酶加量对枸杞浊汁出汁率的影响。**在果胶酶加量为 60  $\mu\text{l}/\text{kg}$ ,酶解温度为 50  $^{\circ}\text{C}$ ,酶解时间为 60 min 的条件下,考察纤维素酶加量对枸杞浊汁出汁率影响。

由图 2 可知,随纤维素酶加量的增大,枸杞浊汁的出汁率相应增大。酶加量小于 10  $\mu\text{l}/\text{kg}$  时,出汁率的变化幅度较大,而酶加量大于 10  $\mu\text{l}/\text{kg}$  时,基本无变化。这是由于纤维素酶酶解植物细胞壁破裂,使细胞内液流出,从而提高了出汁率,当酶加量达到 10  $\mu\text{l}/\text{kg}$  时,酶用量趋于饱和,进一步加大酶用量对提高出汁率的影响不明显。

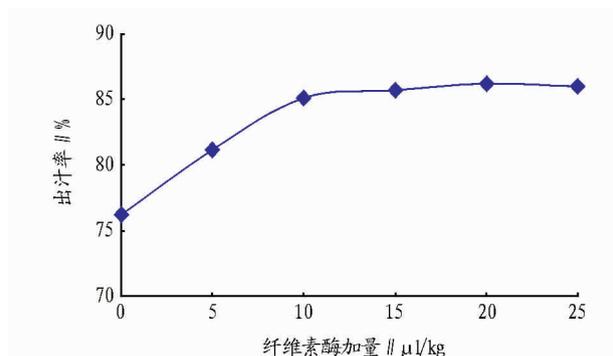


图2 纤维素酶加量对枸杞浊汁出汁率的影响

**2.1.3 酶解温度对枸杞浊汁出汁率的影响。**在果胶酶加量为 60  $\mu\text{l}/\text{kg}$ ,纤维素酶加量为 10  $\mu\text{l}/\text{kg}$ ,酶解时间为 60 min 的条件下,考察酶解温度对枸杞浊汁出汁率的影响。

由图 3 可知,随着酶解温度的升高,枸杞浊汁的出汁率先增大后减少,酶解温度达到 50  $^{\circ}\text{C}$  时,出汁率达到最大。这是由于果胶酶在 30  $^{\circ}\text{C}$  酶活力较低,果胶酶酶解枸杞细胞壁没酶解完全;在 50  $^{\circ}\text{C}$  左右时,果胶酶酶活力达到最大,枸杞细胞壁大部分酶解破裂,从而提高了出汁率,随着温度的进一步升高,酶活力下降,从而出汁率下降。

**2.1.4 酶解时间对枸杞浊汁出汁率的影响。**在果胶酶加量为 60  $\mu\text{l}/\text{kg}$ ,纤维素酶加量为 10  $\mu\text{l}/\text{kg}$ ,酶解温度为 50  $^{\circ}\text{C}$  的条件下,考察酶解时间对枸杞浊汁出汁率的影响。

由图 4 可知,随着酶解时间的延长,枸杞浊汁的出汁率逐渐提高,酶解时间 60 min 后,提高趋势趋于平缓。这由于

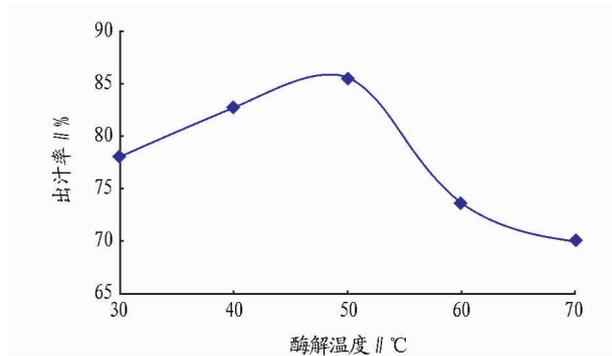


图3 酶解温度对枸杞浊汁出汁率的影响

在酶解开始时间内,枸杞果肉细胞裂解迅速,大量细胞内物溶出,而后随着酶解时间的延长,细胞内物溶出量逐渐减少,从而出汁率的提高也趋于平缓。

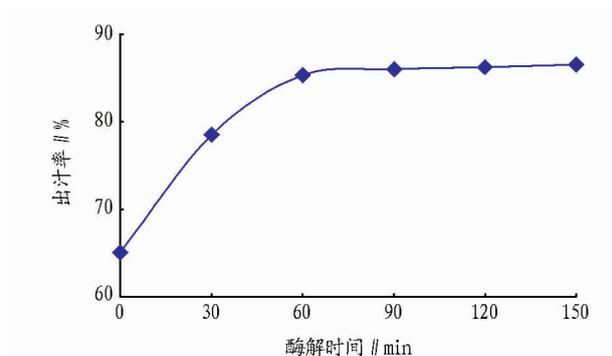


图4 酶解时间对枸杞浊汁出汁率的影响

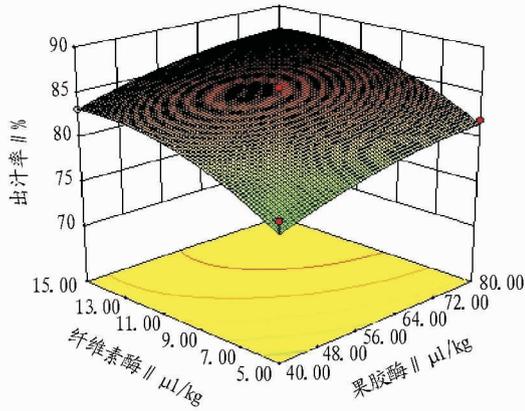
表2 响应面正交试验设计及结果

试验号	因素				出汁率 / %
	果胶酶加量 ( $X_1$ ) / $\mu\text{l}/\text{kg}$	淀粉酶加量 ( $X_2$ ) / $\mu\text{l}/\text{kg}$	酶解温度 ( $X_3$ ) / $^{\circ}\text{C}$	酶解时间 ( $X_4$ ) / min	
1	80.00	10.00	50.00	90.00	86.1
2	60.00	10.00	50.00	60.00	85.2
3	60.00	5.00	40.00	60.00	78.5
4	40.00	10.00	50.00	30.00	74.1
5	60.00	5.00	50.00	30.00	69.8
6	60.00	10.00	50.00	60.00	84.9
7	40.00	15.00	50.00	60.00	83.2
8	80.00	10.00	60.00	60.00	73.8
9	60.00	10.00	60.00	90.00	74.1
10	60.00	15.00	50.00	30.00	80.2
11	60.00	15.00	60.00	60.00	74.3
12	60.00	10.00	50.00	60.00	85.6
13	60.00	5.00	50.00	90.00	82.7
14	80.00	5.00	50.00	60.00	82.0
15	40.00	10.00	60.00	60.00	69.5
16	60.00	15.00	50.00	90.00	86.5
17	80.00	10.00	40.00	60.00	83.6
18	80.00	15.00	50.00	60.00	86.0
19	60.00	10.00	60.00	30.00	68.0
20	60.00	15.00	40.00	60.00	83.4
21	40.00	10.00	40.00	60.00	79.1
22	60.00	10.00	40.00	90.00	83.0
23	60.00	5.00	60.00	60.00	70.7
24	40.00	5.00	50.00	60.00	78.2
25	40.00	10.00	50.00	90.00	84.0
26	60.00	10.00	50.00	60.00	85.3
27	60.00	10.00	40.00	30.00	75.8
28	80.00	10.00	50.00	30.00	81.5
29	80.00	10.00	50.00	90.00	86.1

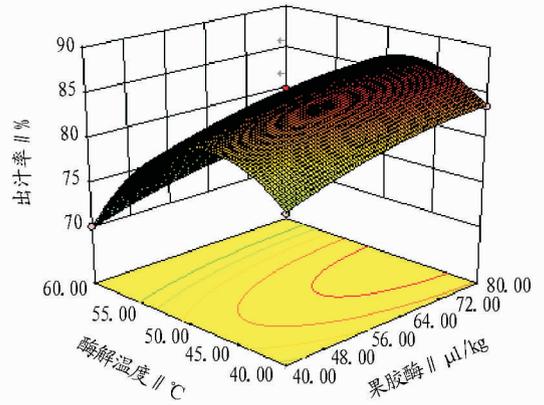
**2.2 响应面法优化酶解试验** 以果胶酶用量、纤维素酶用量、酶解温度和酶解时间为 4 个影响酶解效果的因素,分析枸杞浊汁的出汁率响应值,响应面试验设计及试验结果如表 2 所示。

利用 Design-Expert 8 软件对试验数据进行多元回归拟合,经回归拟合后,试验因子对响应值的影响可用回归方程

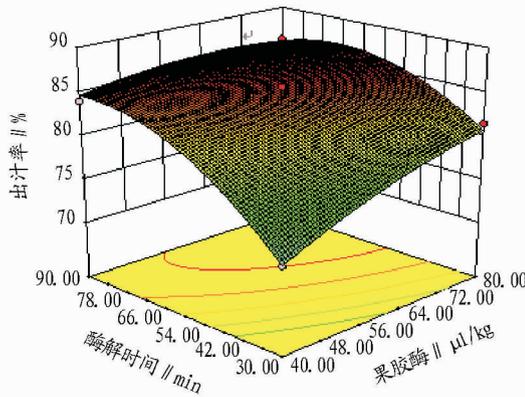
表示为: $y = -142.80 + 0.58X_1 + 2.80X_2 + 6.98X_3 + 0.79X_4 - 1.75 \times 10^{-3}X_1X_2 - 2.5 \times 10^{-4}X_1X_3 - 2.6 \times 10^{-3}X_1X_4 + 3.5 \times 10^{-3}X_2X_3 - 0.01X_2X_4 + 7.5 \times 10^{-4}X_3X_4 - 2.35 \times 10^{-3}X_1^2 - 0.08X_2^2 - 0.08X_3^2 - 3.49 \times 10^{-3}X_4^2$ 。



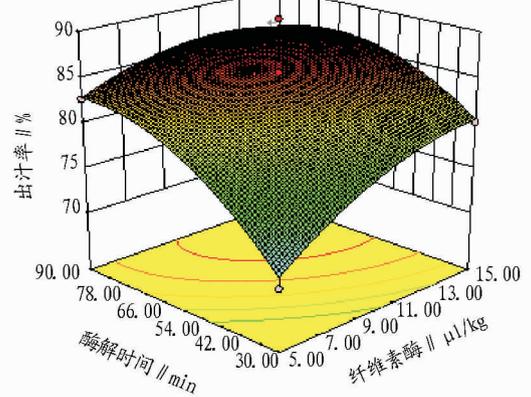
a. 出汁率与果胶酶、纤维素酶响应曲面



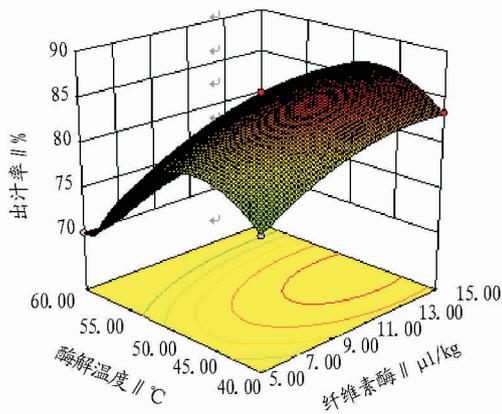
b. 出汁率与果胶酶、酶解温度响应曲面



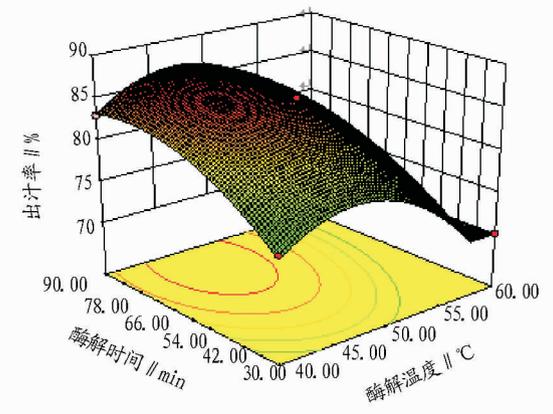
c. 出汁率与果胶酶、酶解时间响应曲面



d. 出汁率与纤维素酶、酶解时间响应曲面



e. 出汁率与纤维素酶、酶解温度响应曲面



f. 出汁率与酶解时间、酶解温度响应曲面

图 5 枸杞浊汁出汁率的响应曲面

对枸杞浊汁出汁率的回归方程进行方差分析,结果得出, $F_{模型} = 124.42$ ,  $F_{X_1} = 94.25$ ,  $F_{X_2} = 177.95$ ,  $F_{X_3} = 446.12$ ,  $F_{X_4} = 343.27$ ,  $F_{X_1X_2} = 0.20$ ,  $F_{X_1X_3} = 0.016$ ,  $F_{X_1X_4} = 16.35$ ,  $F_{X_2X_3} = 0.20$ ,  $F_{X_2X_4} = 17.94$ ,  $F_{X_3X_4} = 0.33$ ,  $F_{X_1^2} = 9.48$ ,  $F_{X_2^2} = 43.47$ ,  $F_{X_3^2} = 603.86$ ,  $F_{X_4^2} = 105.49$ ,  $F_{失拟} = 5.89$ ;  $P_{模型} < 0.0001^{**}$ ,  $P_{X_1} < 0.0001^{**}$ ,  $P_{X_2} < 0.0001^{**}$ ,  $P_{X_3} < 0.0001^{**}$ ,  $P_{X_4} < 0.0001^{**}$ ,

$P_{X_1X_2} = 0.6601$ ,  $P_{X_1X_3} = 0.8997$ ,  $P_{X_1X_4} = 0.0012^*$ ,  $P_{X_2X_3} = 0.6601$ ,  $P_{X_2X_4} = 0.0008^*$ ,  $P_{X_3X_4} = 0.5727$ ,  $P_{X_1^2} = 0.0082^*$ ,  $P_{X_2^2} < 0.0001^{**}$ ,  $P_{X_3^2} < 0.0001^{**}$ ,  $P_{X_4^2} < 0.0001^{**}$ ,  $P_{失拟} = 0.0510$ 。

由此可以看出,用枸杞浊汁出汁率回归方程描述各因素与响应值的关系时,模型的显著水平( $P > F$ )小于 0.0001,所

以该回归模型是高度显著的,该试验方法可靠,并且方程的失拟误差不显著,所以可用该回归方程代替试验真实点对试验结果进行分析。回归模型各项的方差分析结果还表明,各因数的一次项、交互项、二次项都有较显著影响,所以响应值的变化较复杂,各因素对响应值的影响不是简单的线性关系,对响应值作用显著的是  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_1X_4$ 、 $X_2X_4$ 、 $X_1^2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_3^2$ 、 $X_4^2$ 。

为了考察交互项对出汁率的影响,在其他因素条件固定不变的情况下,对模型进行降维分析。经 Design-Expert 8 软件分析,所得枸杞浊汁出汁率响应面如图 5 所示。

图 5 直观地反映了各因素对响应值的影响。比较 6 组图可知,在交互项对出汁率的影响中,果胶加量与酶解时间( $X_1X_4$ )、纤维素酶加量与酶解时间( $X_2X_4$ )对出汁率的影响较显著,这与回归模型方差分析得出的结论一致。另外,由图 5 可知,该模型在试验范围内存在稳定点,且稳定点是最大值。由等值线图可以看出,存在极值的条件应该在圆心处。

以出汁率为响应值,经通用 Design-Expert 8 软件分析结果后,确定了酶解的最优果胶酶加量为 77.59  $\mu\text{L}/\text{kg}$ 、纤维素酶加量为 12.89  $\mu\text{L}/\text{kg}$ 、酶解温度为 46.92  $^\circ\text{C}$  和酶解时间为 68.14 min。

由此可见,在枸杞果浆中加入 77.59  $\mu\text{L}/\text{kg}$  果胶酶、12.89  $\mu\text{L}/\text{kg}$  纤维素酶,在 46.92  $^\circ\text{C}$  酶解 68.14 min,枸杞果浆的出汁率可达 88.34%。此为枸杞浊汁酶解榨汁的最优酶解条件。

**2.3 最优酶解条件验证** 为了检验所得最优酶解条件的真实性,以出汁率为验证指标,考虑到实际操作和生产的便利,以果胶酶加量为 77  $\mu\text{L}/\text{kg}$ ,纤维素酶加量为 13  $\mu\text{L}/\text{kg}$ ,酶解时间为 68 min,酶解温度为 47  $^\circ\text{C}$  的条件下,做 3 次平行试验所

得平均值进行验证试验,结果得 3 次试验出汁率分别为 86.80%、86.59%、87.10%,平均值 86.83%,预测理论值 88.34%。枸杞果浆出汁率的实测值与预测值的相对误差都在 2% 以内,说明所得枸杞浊汁酶解最优条件可靠,通过响应面优化后得出的回归方程具有一定的实践指导意义。

### 3 结论

在枸杞浊汁酶解条件单因素试验的基础上,利用响应面法优化试验得到枸杞浊汁出汁率的响应值回归方程。经对回归方程进行方差分析可知,响应值回归模型显著,回归方程拟失误差不显著,可用各回归方程代替试验真实点对试验结果进行分析。通过影响面优化试验,枸杞浊汁酶解工艺最优条件为,果胶酶加量为 77.59  $\mu\text{L}/\text{kg}$ 、纤维素酶加量为 12.89  $\mu\text{L}/\text{kg}$ 、酶解时间为 68.14 min,酶解温度为 46.92  $^\circ\text{C}$ 。此时,枸杞浊汁的出汁率为 88.34%。经验证试验表明,枸杞浊汁酶解最优条件可靠。

### 参考文献

- [1] 王振平, 黎云萍. 枸杞复合果汁的稳定性和配方优选试验[J]. 食品科学, 1994(6): 24-27.
- [2] 朱蔚. 近年来枸杞的化学研究概况[J]. 中药材, 1996, 19(5): 260-262.
- [3] RAI P, MAJUMDAR G C. Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambij juice for clarification by response surface methodology[J]. Journal of Food Engineering, 2004, 64: 397-403.
- [4] 张瑶, 蒲彪, 刘云, 等. 枇杷果浆酶解工艺的响应面法优化[J]. 食品科学, 2010(14): 105-110.
- [5] SARIOGLU K, DEMIR N, ACAR J. The use of commercial pectinase in the fruit juice industry, part 2: Determination of the kinetic behavior of immobilized commercial pectinase [J]. Journal of Food Engineering, 2001, 47: 271-274.
- [6] 杨文雄, 高彦祥. 响应面法及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2005(2): 68-71.
- [7] 王钦德, 杨坚. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 384-486.
- [8] 李红良, 赵翊, 邓晋惟. 响应面法优化柿子果汁的酶解工艺研究[J]. 粮油加工, 2010(10): 1108-1111.

(上接第 3120 页)

差异;如丙二酸、苹果酸、柠檬酸含量,大理地区烟叶与昆明、曲靖、红河等地区存在显著性差异。不同品种烟叶部分有机酸含量差异明显,苹果酸、丙二酸、柠檬酸等含量红大烟叶低于 K326 和云 87,异戊酸、2-甲基-丁酸、3-甲基-戊酸、苯乙酸等含量 K326 烟叶低于红大和云 87。有显著差异的有机酸有丁二酸、苹果酸、柠檬酸、亚油酸及非挥发酸总量、十六酸、异戊酸、2-甲基-丁酸、戊酸、挥发酸总量,其他有机酸均无显著性差异。生态环境对烟叶有机酸含量影响大于品种。

### 参考文献

- [1] 彭艳, 周冀衡, 张建平, 等. 不同品种烤烟有机酸组成含量分析[J]. 云南农业大学学报, 2011, 26(5): 652-655.
- [2] 周冀衡, 朱晓平, 王彦亭, 等. 烟草生理与生物化学[M]. 合肥: 中国科学

技术大学出版社, 1996.

- [3] LAYTEN D D, NIELSEN MARK T. 烟草—生产, 化学和技术[M]. 国家烟草专卖局科技教育司, 中国烟草科技信息中心, 译. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [4] WEEKS W W. Chemistry of tobacco constituent's influencing flavor and aroma[J]. Rec Adv Tob Sci, 1985, 11: 175-200.
- [5] 周冀衡, 杨虹琦, 杨述元, 等. 不同烤烟产区烟叶中主要挥发性香气物质的研究[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2004, 30(1): 20-23.
- [6] 周冀衡, 王勇, 邵岩, 等. 国内外部分烟区烤烟质体色素及挥发性香气物质含量的比较[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2005, 31(2): 128-132.
- [7] 杨虹琦, 周冀衡, 郭黎明, 等. 湖南不同烟区中非挥发性有机酸含量的差异[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2006, 12(4): 44-47.
- [8] DAVIS D L. Waxes and lipids in leaf and their relationship to smoking quality and aroma[J]. Rec Adv Tob Sci, 1976, 2: 80-106.
- [9] 杨式华, 王保兴, 许国旺, 等. 烟草中挥发性和非挥发性有机酸的快速测定[J]. 分析科学学报, 2008, 24(2): 167-172.