

文章编号: 1674-5566(2017)02-0307-07

DOI:10.12024/jsou.20160601815

纤维素酶酶解工艺对香芹制汁效果的研究

乔勇进¹, 王凯晨¹, 王新其¹, 王 晓¹, 刘树泽², 钟敏增³

(1. 上海市农业科学院 农产品保鲜加工研究中心, 上海 201403; 2. 滨州市农业科学院, 山东 滨州 256600; 3. 上海塞翁福农业发展有限公司, 上海 201403)

摘 要: 四季香芹是伞形科欧芹属的一种高营养保健蔬菜, 其营养丰富, 香气浓郁, 保健价值突出, 是进行蔬菜汁加工的优质原料, 但四季香芹出汁率不高是制约蔬菜汁加工的主要技术瓶颈之一。通过单因素试验分别研究纤维素酶添加量、酶解时间、酶解温度对香芹出汁率的影响, 并通过 Box-Behnken 试验设计进行响应面分析试验优化, 建立回归方程预测模型。研究表明纤维素酶在香芹制汁最佳应用条件为纤维素酶(15 000 U/g)添加量 0.06%、酶解时间 1.56 h、酶解温度 40.14 °C, 香芹出汁率预测值为 78.38%, 与实际出汁率(78.72% ± 0.25%)符合度高。

关键词: 四季香芹; 出汁率; 纤维素酶; 响应面分析
中图分类号: TS 201.1 **文献标志码:** A

四季香芹 (*Petroselinum crispum*) 是伞形科欧芹属的一种高营养保健蔬菜, 其营养丰富, 香气浓郁, 保健价值突出^[1-2], 是上海地区主要香芹栽培品种之一, 富含碳水化合物、维生素 C 等营养物质和钙、磷、铁等微量元素, 具有降血脂、预防动脉硬化、治疗便秘、增强免疫功能等功效^[3-5], 深受消费者喜爱。近年来芹菜汁作为营养健康的保健饮品而受到消费者喜爱, 但其出汁率不高是影响制汁业发展的技术瓶颈。

香芹是膳食纤维, 以纤维素、半纤维素含量较高的蔬菜^[6], 其中粗纤维含量可达 2.3%^[7], 通过酶解提高其出汁率是研究的重点方向之一。王新惠等^[8]通过果胶酶、蛋白酶和纤维素酶协调酶解, 能够使草莓出汁率提高 30.4%。陈学红等^[9]通过纤维素酶酶解, 能显著提高芦笋可溶性固形物、总糖及抗氧化活性。陆健康等^[10]则利用果胶酶酶解优化红枣制汁工艺取得理想效果。纤维素酶等在酶解樱桃^[11]、山楂^[12]、胡萝卜^[13]等出汁率方面也取得了一系列进展。由于四季香芹中果胶含量很低, 纤维素酶对于提高其出汁效果研究方面具有十分关键的作用, 通过降解纤

维素, 促进内容物溶出扩散, 进而提高出汁率^[14]。

本研究通过纤维素酶添加量、酶解温度和酶解时间的单因素试验, 确定四季香芹酶解的单因素最佳的条件。通过响应面试验设计与优化, 研究确定纤维素酶酶解工艺参数。以期对香芹出汁率提高提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

香芹品种为四季香芹 (*Petroselinum crispum*), 2015 年 10 月 6 日采自上海市农业科学院实验基地, 采收后立即运回上海市农业科学院农产品保鲜加工研究中心实验室, 放置于 4 °C 冷库预冷后贮藏备用。纤维素酶(15 000 U/g), BR(沪试), 购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

主要仪器与设备: HWS24 型恒温水浴锅(上海益恒实验仪器有限公司); BP301S 型电子天平(德国); 1000JP 型离心果汁机(江苏南通金橙机械有限公司); SPX-250B-Z 型生化培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); JYL-C020 打浆

收稿日期: 2016-06-20 修回日期: 2016-09-17

基金项目: 上海市农产品保鲜加工服务平台项目(14DZ2293900); 上海市科技兴农推广项目(沪农科推字[2015]第 5-1 号)

作者简介: 乔勇进(1967—), 男, 研究员, 博士后, 研究方向为农产品保鲜加工。E-mail: yjqiao2002@126.com

通信作者: 王新其, E-mail: wxqsaas@163.com

机(杭州九阳电器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 工艺流程及操作要点

工艺流程:试材挑选→去根去叶→清洗干净→热烫→沥干水分→切段打浆→浆液酶解→过滤→香芹汁。

操作要点:选择颜色鲜绿的四季香芹(株高 50~60 cm,开展度 21~23 cm),在清洁冷水中浸泡 5 min 后,通过自来水流水冲洗,洗净表面泥沙。将洗净的香芹置于 95 ℃ 水浴中热烫 5 min。捞出后迅速冷却到 20 ℃,沥干表面水分后置于打浆机中打浆 20 s 左右,取 50 g 浆液置于 100 mL 烧杯中,添加纤维素酶,酶加入后需搅拌均匀,并用保鲜膜封口。使用 200 目滤布过滤,得到香芹汁。测定香芹汁的 pH 为 5.9。

$$\text{出汁率}/\% = \frac{\text{芹菜汁质量}/\text{g}}{\text{芹菜质量}/\text{g}} \times 100$$

1.3.2 纤维素酶添加量对香芹出汁率的影响

在预实验基础上,选取酶解时间 1.5 h,酶解温度 40 ℃,纤维素酶添加量分别为 0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、0.10%,分别测定四季香芹出汁率,确定纤维素酶最佳添加量,3 次重复。

1.3.3 酶解时间对香芹出汁率的影响

选取纤维素酶添加量为 0.06%,酶解温度为 40 ℃,分别将四季香芹浆液放置水浴锅中,0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h 时间内酶解,分别测定其出汁率,确定最佳酶解时间,3 次重复。

1.3.4 酶解温度对香芹出汁率的影响

选取纤维素酶添加量为 0.06%,酶解时间为 1.5 h,分别将四季香芹浆液放置 30、35、40、45、50 ℃ 水浴酶解,分别测定其出汁率,确定最适酶解温度,3 次重复。

1.3.5 响应面试验优化

在上述单因素试验的基础上,以纤维素酶添加量(%)、酶解时间(h)、酶解温度(℃)为自变量因素,以出汁率为响应值进行三因素三水平的响应面试验优化,确定纤维素酶添加量、酶解时间、酶解温度对出汁率的影响,确定香芹制汁最佳条件。

1.4 数据处理

试验数据通过 Excel 2013 整理分析并作图。使用 Design-Expert8.0.6 进行响应面试验数据分析与作图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 纤维素酶添加量对香芹出汁率的影响

由图 1 可知,香芹出汁率随纤维素酶添加量的增加而升高,反应初期香芹出汁率显著增加,当纤维素酶添加到 0.04% 时,出汁率达到 75.8%。虽然纤维素酶添加量不断增加,但出汁率增加缓慢。当纤维素酶添加量超过 0.06% 时,达到峰值($P < 0.05$),之后出汁率随着纤维素酶添加量的增加而无明显升高($P > 0.05$)。因此选取 0.06% 作为纤维素酶添加量试验的零水平。

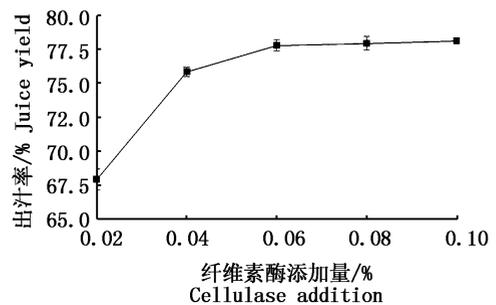


图 1 纤维素酶添加量对出汁率的影响

Fig. 1 Effect of cellulase addition on the yield of celery juice

2.1.2 酶解时间对香芹出汁率的影响

由图 2 可知,在酶解的初期酶解反应迅速,出汁率随着酶解时间的增加而增加。酶解 2.0 h 后,出汁率基本无明显升高,但由于 1.5 h 与 2.0 h 出汁率的变化不显著($P > 0.05$),总体考虑,故选取 1.5 h 作为酶解时间试验的零水平。

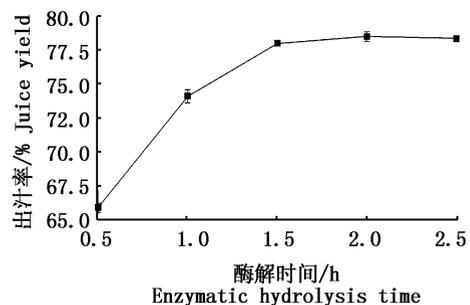


图 2 酶解时间对出汁率的影响

Fig. 2 Effect of enzymatic hydrolysis time on the yield of celery juice

2.1.3 酶解温度对香芹出汁率的影响

由图 3 可知,随着酶解温度的升高,出汁率呈先升后降的趋势,在 40 ℃ 时出汁率达到最大值。因此,40 ℃ 为最佳的酶解温度,故选取 40 ℃ 为酶解温度的零水平。

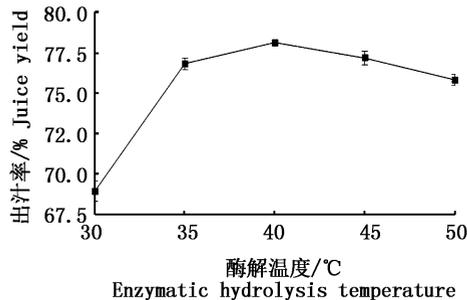


图 3 酶解温度对出汁率的影响

Fig. 3 Effect of enzymatic hydrolysis temperature on the yield of celery juice

2.2 响应面试验设计与分析

2.2.1 响应面试验因素设计

以纤维素酶添加量(%)、酶解时间(h)、酶解温度(℃)为自变量因素,以出汁率为响应值进行三因素三水平的响应面试验优化,具体编码水平见表 1。

表 1 响应面优化试验因素水平表

Tab. 1 Factors and levels used in response surface optimization test

水平 Level	A 纤维素酶添加量/% A Cellulase adding quantity	B 酶解时间/h B Enzymatic hydrolysis time	C 酶解温度/℃ C Enzymatic hydrolysis temperature
-1	0.04	1.0	35
0	0.06	1.5	40
1	0.08	2.0	45

2.2.2 响应面试验结果

通过纤维素酶添加量、酶解时间、酶解温度进行三因素三水平的响应面试验,利用 Design-Expert 8.0.6 进行 Box-Behnken 响应面设计,以香芹出汁率为响应值,中心点重复 5 次,共 17 次试验。试验结果见表 2。

表 2 响应面试验设计与结果

Tab. 2 Design and results for response experiment

试验号 Test number	A	B	C	R
1	1	0	-1	59.71
2	1	-1	0	59.22
3	0	-1	1	70.55
4	0	0	0	78.32
5	-1	0	-1	66.86
6	-1	0	1	66.43
7	-1	-1	0	65.52
8	0	0	0	78.25
9	0	1	-1	72.28
10	0	0	0	77.93
11	1	0	1	61.46
12	0	0	0	78.24
13	0	1	1	73.26
14	0	-1	-1	71.42
15	-1	1	0	67.41
16	1	1	0	60.24
17	0	0	0	77.78

利用 Design-Expert 8.0.6 软件对试验数据分析得知,香芹出汁率响应面回归方程为

$$R = 78.10 - 3.20A + 0.81B + 0.18C - 11.63A^2 - 3.37B^2 - 2.85C^2 - 0.22AB + 0.54AC + 0.46BC$$

2.2.3 响应面方差分析

从表 3 可以看出,模型 F 值为 641.57, $P < 0.0001$,表明模型达到极显著水平。失拟项 F 值为 2.80, $P = 0.1728 > 0.05$,说明差异不显著。判定系数 $R^2 = 0.9991$,表明模型预测值与实测值相关性很好;校正决定系数 (R_{Adj}^2) = 0.9880,表明 98.80% 试验的变异性可以用该回归方程解释^[15]。精密度 (AdeqPrecision) = 有效信号/噪音,本试验其值 = 78.235 > 4.0,说明本试验设计合理^[16]。综合分析可知,该回归方程能预测香芹出汁率的最佳优化。

表 3 显著性水平发现,A、B、 A^2 、 B^2 、 C^2 的 $P < 0.01$,表明影响极显著。AC、BC 的 $P < 0.05$,表明影响显著。C、AB 的 $P > 0.05$,表明影响不显著。F 值大小说明因素的主次影响^[17],本试验因素的贡献率:纤维素酶添加量 > 酶解时间 > 酶解温度。

表 3 响应面试验结果方差分析
Tab.3 Analysis of variance for response experiment

方差来源 Source of variation	平方和 Sum of squares	自由度 DOF	均方 Mean square	F 值 F-value	P	显著性 Significance
模型/Model	784.18	9	87.13	641.57	<0.000 1	**
A	81.86	1	81.86	599.89	<0.000 1	**
B	5.25	1	5.25	38.47	0.000 2	**
C	0.26	1	0.26	1.87	0.150 6	
AB	0.19	1	0.19	1.39	0.207 5	
AC	1.19	1	1.19	8.71	0.010 3	*
BC	0.86	1	0.86	6.27	0.021 3	*
A ²	569.94	1	569.94	419 2.73	<0.000 1	**
B ²	47.88	1	47.88	355.45	<0.000 1	**
C ²	34.31	1	34.31	255.32	<0.000 1	**
残差 Residual error	0.69	7	0.098			
失拟项 Lack of fit	0.47	3	0.16	2.80	0.172 8	
纯误差 Pure error	0.22	4	0.055			
总和 Sum total	784.86	16				
R ²	0.999 1					
R _{Adj} ²	0.988 0					
AdeqPrecision	78.235					

注: ** 差异极显著($P < 0.01$); * 差异显著($P < 0.05$)

Note: ** the extremely significant difference ($P < 0.01$); * the significant difference ($P < 0.05$)

2.2.4 响应面因素分析

通过软件对响应面试验结果进行统计分析,绘制响应面曲面图和等高线图,分析纤维素酶添加量、酶解时间、酶解温度两两因素交互作用^[18](图4)。

从图4a可以看出,设定试验酶解温度40℃,固定酶解时间,香芹出汁率随着纤维素酶添加量的增加呈现先增加后减少的趋势;固定纤维素酶添加量,香芹出汁率随着酶解时间的增加而增加。

从图4b可知,设定试验酶解时间1.5h,固定纤维素酶添加量,香芹出汁率随着酶解温度的增加出现先增加后略微减少的趋势,但不明显;固定酶解温度,香芹出汁率随着纤维素酶添加量的增加呈现先增加后降低的趋势。

从图4c可知,设定试验纤维素酶添加0.06%,固定酶解时间,香芹出汁率随着酶解温度的升高呈现先增加后略微较少的趋势;固定酶解温度,香芹出汁率随着酶解时间的延长也表现出先增加后略微较少的趋势。

2.2.5 响应面最优条件预测与验证试验

通过 Design-Expert 8.0.6 对回归方程进行极大值求解,得到最佳优化条件。软件预测的最佳因素组合为:A 纤维素酶添加0.06%,B 酶解时间1.56 h,C 酶解温度40.14℃,R 出汁率预测值为78.38%。根据此优化组合进行验证实验,结合实际实验操作方便,选取纤维素酶添加0.06%、酶解温度40.1℃、酶解时间1.5h条件下进行三次重复实验,香芹出汁率可达78.72%±0.25%,与预测值拟合性较好,可以作为实际香芹制汁工艺的参考。

3 结论与讨论

出汁率是影响制汁加工产量与质量的关键指标之一,也是蔬菜汁产业发展的技术瓶颈之一,为研究四季香芹制汁效果,通过单因素试验分别研究纤维素酶添加量、酶解时间、酶解温度对香芹出汁率的影响,并通过 Box-Behnken 试验设计进行响应面分析试验优化,建立回归方程预测模型。响应面分析确定影响出汁率的主次关系为:纤维素酶添加量 > 酶解时间 > 酶解温度。

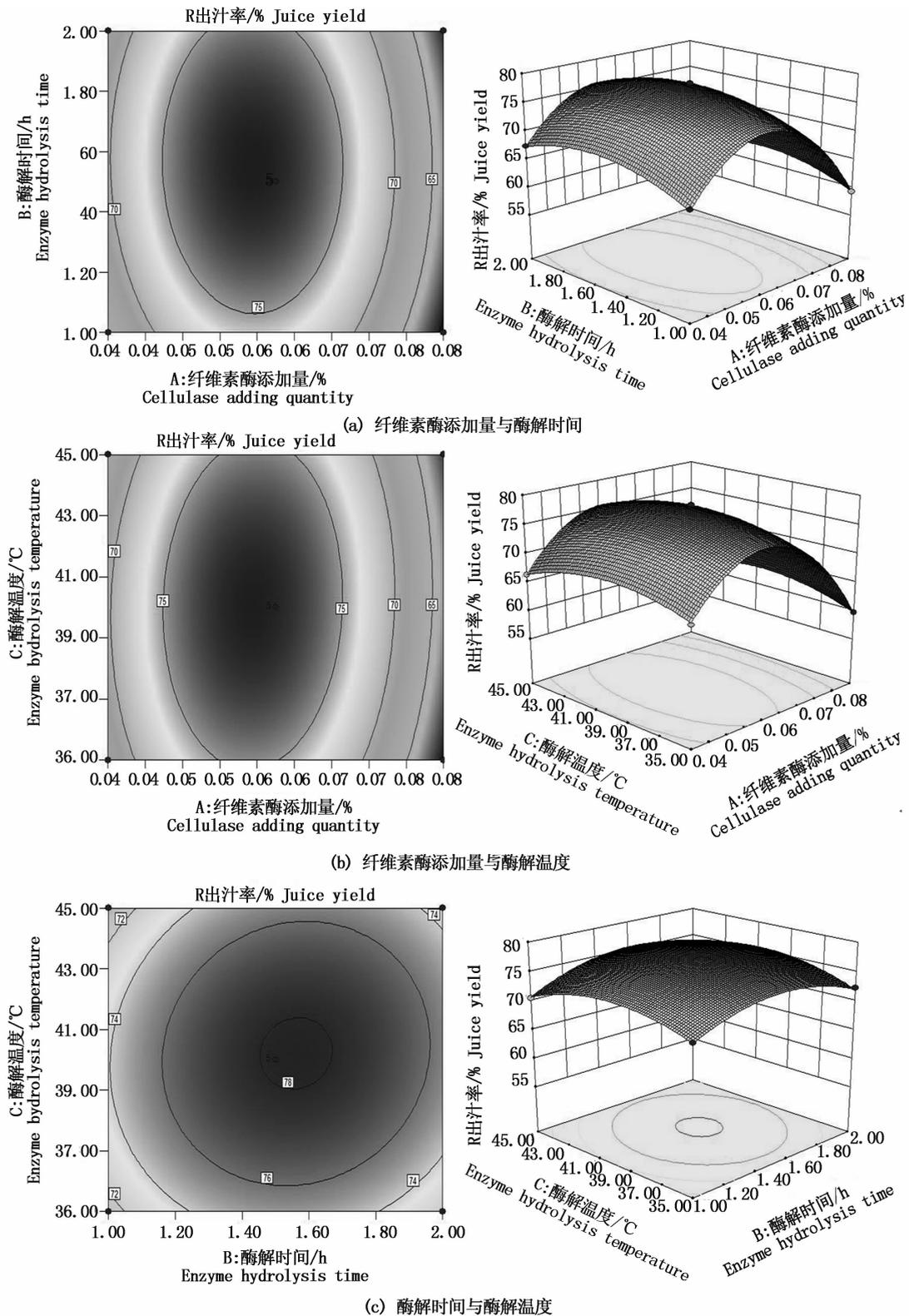


图 4 出汁率响应面图及等高线图

Fig. 4 The response surface and contour plots of juice yield

陈学红等^[19]发现酶解温度 43 ℃、纤维素酶添加量 0.07% ,可显著降解纤维素酶提高芦笋出

汁率。阿依古丽·外力等^[20]报道纤维素酶添加 2.5 g/kg、酶解温度 40 ℃、酶解时间 78.77 min,

杏子出汁率可达 88.19%。由此可以发现,虽然不同材料中纤维素酶最佳酶解温度有所差异,但纤维素酶最佳酶解温度大致在 40~45℃左右,但不同果蔬出汁率的纤维素酶添加量和酶解时间差异显著。这与不同果蔬组织构成及结构有关,因此在实际工艺生产过程中,还需考虑物料的破碎程度对酶解工艺的影响,以进一步优化制汁工艺,提高出汁率。

参考文献:

- [1] 周辉,卢向阳,田云,等. 芹菜化学成分及药理活性研究进展[J]. 氨基酸和生物资源, 2006, 28(1): 6-9, 15.
ZHOU H, LU X Y, TIAN Y, et al. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of Apium L. [J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2006, 28(1): 6-9, 15.
- [2] 郑毅,刘新风,赵国臣,等. 野生水芹菜的营养价值及高产栽培技术[J]. 北方园艺, 2013, (15): 62-63.
ZHENG Y, LIU X F, ZHAO G C, et al. Wild water parsley nutritional value and high yield cultivation techniques [J]. Northern Horticulture, 2013, (15): 62-63.
- [3] NAJLA S, SANOUBAR R, MURSHED R. Morphological and biochemical changes in two parsley varieties upon water stress [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2012, 18(2): 133-139.
- [4] 王克勤,陈亮,刘仲华,等. 芹菜综合加工及其功能成分研究进展[J]. 食品与机械, 2006, 22(3): 57-61.
WANG K Q, CHEN L, LIU Z H, et al. Advance on celery syntheses processing and its functional component [J]. Food and Machinery, 2006, 22(3): 57-61.
- [5] LINDENMEYER F, LI H, MENASHI S, et al. Apigenin acts on the tumor cell invasion process and regulates protease production [J]. Nutrition and Cancer, 2001, 39(1): 139-147.
- [6] 李欣,刘玥,姜猛,等. 膳食纤维提取方法及发展趋势概述[J]. 食品工业, 2013, 34(6): 181-185.
LI X, LIU Y, JIANG M, et al. The overview on the extraction methods and trend of dietary fiber [J]. The Food Industry, 2013, 34(6): 181-185.
- [7] 李琰,申晓琳,王斌,等. 芹菜梨甘草果蔬复合饮料的研究[J]. 食品与机械, 2002, (2): 35-36.
LI Y, SHEN X L, WANG B, et al. Development of celery-pear-liquorice compound beverage [J]. Food and Machinery, 2002, (2): 35-36.
- [8] 王新惠,白婷,梁琴,等. 酶法提高草莓出汁率的研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(20): 1-4.
WANG X H, BAI T, LIANG Q, et al. Technology for high extraction rate of juice from strawberry by enzyme method [J]. Food Research and Development, 2015, 36(20): 1-4.
- [9] 陈学红,秦卫东,马利华,等. 不同制汁工艺对绿芦笋汁理化成分和抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(13): 224-227.
CHEN X H, QIN W D, MA L H, et al. Effect of different extracting juice technologies on physicochemical characteristics and antioxidant activity of green asparagus juice [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(13): 224-227.
- [10] 陆健康,郑晓冬,李述刚,等. 果胶酶酶解红枣制汁工艺的研究[J]. 中国果菜, 2015, 35(2): 15-19.
LU J K, ZHENG X D, LI S G, et al. Study on preparation process of jujube juice with pectinase enzymolysis [J]. China Fruit Vegetable, 2015, 35(2): 15-19.
- [11] 张圆圆,王宝刚,李文生,等. 不同樱桃品种制汁及抗氧化性能比较研究[J]. 果树学报, 2014, 31(1): 146-152.
ZHANG Y Y, WANG B G, LI W S, et al. Comparative studies of juice processing and antioxidant properties of cherries [J]. Journal of Fruit Science, 2014, 31(1): 146-152.
- [12] 张春岭,刘慧,陈大磊,等. 响应面优化冻融软化-酶法制备山楂汁工艺[J]. 食品科学, 2015, 36(22): 63-68.
ZHANG C L, LIU H, CHEN D L, et al. Optimization of freeze-thawing softening-enzymatic preparation of flavonoids-rich hawthorn fruit juice by response surface methodology [J]. Food Science, 2015, 36(22): 63-68.
- [13] SHARMA K D, KARKI S, THAKUR N S, et al. Chemical composition, functional properties and processing of carrot—a review [J]. Journal of Food Science and Technology, 2012, 49(1): 22-32.
- [14] SAGU S T, NSO E J, KARMAKAR S, et al. Optimisation of low temperature extraction of banana juice using commercial pectinase [J]. Food Chemistry, 2014, 151: 182-190.
- [15] ENGMANN F N, MA Y K, ZHANG H N, et al. The application of response surface methodology in studying the effect of heat and high hydrostatic pressure on anthocyanins, polyphenol oxidase, and peroxidase of mulberry (*Morus nigra*) juice [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 94(11): 2345-2356.
- [16] 李莉,张赛,何强,等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(8): 41-45.
LI L, ZHANG S, HE Q, et al. Application of response surface methodology in experiment design and optimization [J]. Research and Exploration in Laboratory, 2015, 34(8): 41-45.
- [17] 徐伟,李迎楠,高雪清,等. 复合酶对红菇娘果浆酶解条件的优化[J]. 食品科学, 2013, 34(18): 114-117.
XU W, LI Y N, GAO X Q, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for the production of Chinese Lantern (*Physalis alkekengi*) juice [J]. Food Science, 2013, 34(18): 114-117.
- [18] 杨艳,任亚梅,马婷,等. 响应面优化超声波提取猕猴桃

- 根熊果酸工艺[J]. 食品科学, 2014, 35(4): 44-49.
- YANG Y, REN Y M, MA T, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of ursolic acid from roots of actinidia chinensis using response surface analysis[J]. Food Science, 2014, 35(4): 44-49.
- [19] 陈学红, 秦卫东, 马利华, 等. 纤维素酶对绿芦笋出汁率及品质的影响[J]. 徐州工程学院学报(自然科学版), 2013, 28(2): 73-78.
- CHEN X H, QIN W D, MA L H, et al. Optimization on cellulase treatment conditions for improving green asparagus juice yield[J]. Journal of Xuzhou Institute of Technology (Natural Sciences Edition), 2013, 28(2): 73-78.
- [20] 阿依古丽·外力, 米丽班·霍加艾合买提, 热合满·艾拉. 响应面法优化双酶解杏浆提高出汁率研究[J]. 食品科技, 2015, 40(3): 78-83.
- AYIGULI W, MILIBAN H, REHEMAN A, et al. Optimization of dual enzymatic hydrolysis of apricot pulp for enhancing juice yield using response surface methodology[J]. Food Science and Technology, 2015, 40(3): 78-83.
- [21] 刘新, 李新生, 吴三桥, 等. 响应面法优化柑橘果渣酶解工艺[J]. 食品科学, 2012, 33(4): 86-90.
- LIU X, LI X S, WU S Q, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of orange pomace by response surface methodology[J]. Food Science, 2012, 33(4): 86-90.

Research on the optimization of the juice yield of *Petroselinum crispum* by technical enzymolysis of enzymatic hydrolysis

QIAO Yongjin¹, WANG Kaichen¹, WANG Xinqi¹, WANG Xiao¹, LIU Shuze², ZHONG Minzeng³
(1. Agri-food Storage and Processing Research Center, Shanghai Academy of Agriculture Sciences, Shanghai 201403, China;
2. Binzhou Academy of Agriculture Sciences, Binzhou 256600, Shandong, China; 3. Shanghai Saiwengfu Agricultural Development Co., Ltd, Shanghai 201403, China)

Abstract: Four-season celery (*Petroselinum crispum*) is one of high value nutrient and healthy vegetables, with rich nutrition, strong perfume and health care value and is high quality raw material for vegetable juice processing. but low yield of celery juice was one of the main technical bottlenecks restricting the vegetable juice processing. The effects of cellulase adding quantity, enzyme hydrolysis time and enzyme hydrolysis temperature on celery juice yield were studied separately, and response surface analysis was optimized by Box-Behnken design, and interaction of single factor on celery juice yield was analyzed. The regression equation prediction model was established in the paper. The optimum conditions for the application of cellulase in celery juice were as follows: cellulase addition quantity 0.06%, enzymatic hydrolysis time 1.56 h, enzymatic hydrolysis temperature 40.14 °C, and the yield of celery juice was 78.38%. The actual yield of celery juice (78.72% ± 0.25%) was better fitting of the predictive value.

Key words: four-season celery (*Petroselinum crispum*); juice yield; cellulase; response surface analysis