

响应面法优化复合酶解制取赤霞珠葡萄汁工艺

王瑾, 冯作山, 洪梅玲, 高馨雨, 玛尔哈巴·帕尔哈提, 谢元, 白羽嘉*
(新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要:为了优化复合酶制取赤霞珠葡萄汁工艺,以赤霞珠葡萄为原料,利用果胶酶、纤维素酶和 β -葡聚糖酶复合制取赤霞珠葡萄汁。通过单因素实验研究了复合酶添加量、复合酶配比、酶解时间对葡萄汁出汁率和花色苷含量的影响,结合 Box-Behnken 响应面法优化复合酶解葡萄汁工艺,同时用高效液相色谱法(HPLC)比较不同酶处理对葡萄汁中原花青素含量的影响。结果表明,最佳酶解工艺条件为:复合酶添加量 0.66%、复合酶配比 1:1:1、酶解时间 6.3 h,在此工艺条件下,葡萄汁的出汁率为 87.103% \pm 0.471%,花色苷含量为 (254.664 \pm 2.359) mg/L,复合酶处理葡萄汁的原花青素含量显著高于单一酶处理($p < 0.05$)。

关键词:葡萄汁,复合酶,出汁率,花色苷,响应面法

Optimization of Preparation of Cabernet Sauvignon Grape Juice with Compound Enzymatic Hydrolysis by Response Surface Methodology

WANG Jin, FENG Zuo-shan, HONG Mei-ling, GAO Xin-yu, Maerhaba·Paerhati, XIE Yuan, BAI Yu-jia*

(College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: In order to optimize the compound enzyme to prepare grape juice, *Cabernet Sauvignon* was used as raw materials, and pectinase, cellulase and β -glucanase were used to prepare *Cabernet Sauvignon* grape juice. Single factor experiment was conducted to study the effects of compound enzyme addition amount, compound enzyme ratio and the enzymatic hydrolysis time on the juice yield and anthocyanin content of grape juice. Box-Behnken response surface methodology was used to optimize the process of compound enzymatic hydrolysis of grape juice. The effects of different enzyme treatments on the content of proanthocyanidin in grape juice by high performance liquid chromatography (HPLC) was also studied. The result showed that the best technique parameters were: compound enzyme addition amount of 0.66%, compound enzyme ratio of 1:1:1, and enzymatic hydrolysis time of 6.30 h. Under this process condition, the juice yield was 87.103% \pm 0.471%, the anthocyanin content was (254.664 \pm 2.359) mg/L. The proanthocyanidin content of the compound enzyme treated grape juice was significantly higher than that of the single enzyme treatment ($p < 0.05$).

Key words: grape juice; composite enzyme; juice yield; anthocyanin; response surface methodology

中图分类号: TS201.1 文献标识码: B 文章编号: 1002-0306(2019)03-0141-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.03.023

引文格式: 王瑾, 冯作山, 洪梅玲, 等. 响应面法优化复合酶解制取赤霞珠葡萄汁工艺[J]. 食品工业科技, 2019, 40(3): 141-146, 152.

赤霞珠(*Cabernet Sauvignon*)属欧亚种,别名解百纳^[1],为酿酒葡萄,也可用以制汁,其出汁率高、糖度较高、酸度适当,酚类物质含量高,具有典型的滋味和香气为人所知^[2]。

赤霞珠葡萄所含有的抗氧化活性功能成分物质以多酚类化合物(花色苷)为主^[3]。国内外研究表明,在众多的植物多酚中,葡萄多酚抗氧化清除自由基的能力最强,其抗氧化能力为 V_E 的 50 倍、 V_C 的

20 倍。赤霞珠葡萄中存在的多酚类化合物包括花色苷类(花青素)、儿茶素类、原花色苷类以及白藜芦醇等,具有抗氧化、抗动脉硬化、抗变性以及抗癌、抗过敏、预防高血压、皮肤保健及美容等功能^[4]。

赤霞珠葡萄的花色苷等酚类物质含量虽然丰富,但主要存在于皮籽中,受果皮组织和细胞的束缚,传统的处理方式很难将酚类物质活性成分最大程度地促溶到汁中,造成了葡萄皮中的功效成分随

收稿日期: 2018-05-14

作者简介: 王瑾(1994-),女,硕士研究生,研究方向:农产品加工与综合利用, E-mail: 13579930749@126.com。

* 通讯作者: 白羽嘉(1984-),男,博士,副教授,研究方向:农产品贮藏与加工、食品生物技术, E-mail: saintbjy@126.com。

基金项目: 2016 年中国农业大学新疆农业大学科研合作基金项目(2017TC010)。

皮渣排出,形成资源浪费。同时,将葡萄果皮中的花青素等有效物质溶出是制约赤霞珠葡萄汁产业化发展的技术瓶颈。

葡萄皮细胞壁中含有果胶和纤维素等物质,致使细胞壁彻底破碎困难,果胶酶、纤维素酶、 β -葡聚糖酶复合可将果胶类、纤维素类等物质充分降解,较单一酶处理,更有利于细胞壁破碎,提高出汁率^[5],也有利于花色苷、原花青素等多酚类有效成分溶出。

本研究采用复合酶(果胶酶、纤维素酶和 β -葡聚糖酶)对赤霞珠葡萄果浆进行处理,以葡萄汁的花色苷含量和出汁率为指标,研究不同酶解条件对葡萄汁的影响,并优化获得最佳的酶解工艺条件,同时用高效液相色谱法(HPLC)比较单一酶和复合酶分别处理对葡萄汁中原花青素含量的影响,旨在为葡萄汁的酶法处理工艺提供一定的理论基础和依据,同时也为提高葡萄果汁的营养价值提供重要的理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

赤霞珠葡萄 摘自新疆五家渠地区新疆农业科学院葡萄种植基地,无病虫害及腐烂果,果实大小均匀,可溶性固形物含量为24 °Brix。

果胶酶(10000 U/mL)、纤维素酶(700 U/mL)、 β -葡聚糖酶(5000 U/mL) 天津诺维信(中国)生物技术有限公司;原花青素标品(>98%) 上海永叶生物科技有限公司;甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯) 美国Sigma公司;3,5-二硝基水杨酸、结晶酚(分析纯) 天津盛通泰化工有限公司;正丁醇、硫酸高铁铵、氢氧化钠、酚酞、盐酸、氯化钾、葡萄糖、无水乙酸钠、冰乙酸、无水碳酸钠、酒石酸钾钠、亚硫酸钠、无水乙醇(分析纯) 天津光复科技有限公司;没食子酸、福林酚(优级纯) 北京索莱宝科技有限公司。

FA2104N型分析天平 上海民桥精密科学仪器有限公司;YP2002型电子天平 上海越平科学仪器有限公司;FE20型pH计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;TGL-16G型高速冷冻离心机 上海安亭科学仪器厂;DZKW-S-4型电热恒温水浴锅 北京市永光明医疗仪器有限公司;TU-1810型紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;LC-16型高效液相色谱仪 日本岛津公司;MYP11-2型恒温磁力搅拌器 上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;KUDOS型SK台式超声波处理机 上海科导超声仪器有限公司;N-3000E型阿贝折光仪 上海卓鑫科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 葡萄汁加工工艺流程 将新鲜的赤霞珠葡萄洗净后人工除梗、破碎、去籽,称取250 g葡萄果浆于烧杯中,放置于4 °C冰箱,在自然pH条件下,经复合酶酶解处理后,压榨,过滤,得到赤霞珠红葡萄汁。

将上述所得红葡萄汁于8000 r/min的条件下离心20 min,收集上清液备用。

1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 复合酶添加量对葡萄出汁率和花色苷含量的影响 按照1.2.1方法所得葡萄汁,按果胶酶:纤维素酶: β -葡聚糖酶复合体积配比=1:1:1、酶解时间6 h,分别在复合酶添加量0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%条件下进行酶解,离心取上清液,计算葡萄出汁率并测定花色苷含量,确定最适复合酶添加量。

1.2.2.2 复合酶比对葡萄出汁率和花色苷含量的影响 按照1.2.1方法所得葡萄汁,按复合酶添加量0.6%,酶解时间6 h,进行酶解,分别在果胶酶:纤维素酶: β -葡聚糖酶复合体积配比0:1:1、1:1:0、1:0:1、1:1:1条件下,离心取上清液,计算葡萄出汁率并测定花色苷含量,确定最适复合酶配比。

1.2.2.3 酶解时间对葡萄出汁率和花色苷含量的影响 按照1.2.1方法所得葡萄汁,按复合酶添加量0.6%、复合酶体积配比1:1:1,分别在酶解时间2、4、6、8、10 h条件下进行酶解,离心取上清液,计算葡萄的出汁率并测定花色苷含量,确定最适酶解时间。

1.2.3 响应面试验设计 根据复合酶解的单因素试验结果,以复合酶添加量、复合酶配比、酶解时间三个因素作为自变量,葡萄汁的出汁率和花色苷含量为响应值,采用Design-Expert 8.0.6软件中Box-Behnken中心组合试验设计三因素三水平响应面分析试验(见表1),优化葡萄汁的酶解条件。

表1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and levels table of response surface analysis

水平	因素		
	A 复合酶添加量 (%)	B 复合酶配比 ($V_{果}:V_{纤}:V_{\beta}$)	C 酶解时间 (h)
-1	0.4	1:1:0	4
0	0.6	1:0:1	6
1	0.8	1:1:1	8

1.2.4 不同酶解处理对葡萄汁花青素含量的影响 分别称取4份250 g葡萄果浆,置于烧杯中,分别添加0.66% (m/V)的果胶酶、0.66% (m/V)的纤维素酶、0.66% (m/V)的 β -葡聚糖酶、0.66% (m/V)的果胶酶:纤维素酶: β -葡聚糖酶复合体积配比(1:1:1),放置于4 °C冰箱酶解6.3 h制备葡萄汁,经纱布过滤后离心取上清液,测定原花青素含量,比较不同酶处理对葡萄汁中原花青素含量的影响。

1.3 指标的测定

1.3.1 出汁率的计算 取W g葡萄经破碎,酶解,过滤后,称取剩下的葡萄皮渣为 W_1 g,按式(1)计算:

$$\text{出汁率}(\%) = \frac{W - W_1}{W} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中,W为葡萄质量,g; W_1 为葡萄皮质量,g。

1.3.2 总酸含量的测定 电位滴定法,参照《酿酒检测与分析》(第二版)^[6]。

1.3.3 还原糖含量的测定 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法,参照《果蔬采后生理生化实验指导》^[7]。

1.3.4 多酚含量的测定 Folin-Ciocalteus法测定,参照《GB/T15038-2006》^[8]。

1.3.5 花色苷含量的测定 pH示差法测定,参照杨

兆艳^[9]的方法。

取葡萄汁 1.0 mL, 分别用 pH1.0 和 pH4.5 的缓冲溶液定容至 10.0 mL, 置于暗处反应 1 h, 用蒸馏水做空白, 在 520、700 nm 处测定吸光度, 根据 Fuleki 公式求出花色苷含量。

$$\text{花色苷含量}(\text{mg/L}) = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 100}{\varepsilon \times L \times W} \quad \text{式(2)}$$

式中, A 为 $(A_{520 \text{ nm pH1.00}} - A_{700 \text{ nm pH1.00}}) - (A_{520 \text{ nm pH4.50}} - A_{700 \text{ nm pH4.50}})$; MW 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的分子量, 449.2; DF 为稀释因子; ε 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的消光系数, 26900; L 为光程, 1 cm; W 为葡萄质量, g。

1.3.6 原花青素含量的测定 标准溶液配制^[10]: 将 20 mg 原花青素标准品用甲醇定容于 10 mL 棕色容量瓶中, 制成 2 mg/mL 的原花青素储备液。准确吸取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 储备液, 用甲醇定容于 10 mL 棕色容量瓶中。分别取 1 mL 溶液至于具塞试管中, 加入 0.2 mL 硫酸高铁铵溶液(用 2 mol/L 盐酸水溶液溶解)和 8.8 mL 正丁醇, 塞紧盖子, 摇匀, 100 °C 水浴加热 1 h 后取出, 冷却至室温, 正丁醇定容至 10 mL, 得到原花青素标准品溶液, 经 0.45 μm 有机滤膜后, 进行 HPLC 分析。

样品制备: 1 mL 葡萄汁用甲醇定容置 10 mL 棕色容量瓶, 从中取 1 mL 溶液于具塞试管, 其余步骤与标准品溶液相同, 最后经 0.45 μm 有机滤膜后直接上机。

HPLC 条件^[11]: Pgrandsil-STC-C₁₈ 柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 进样量 20 μL , 流速 0.6 mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温: 室温, 流动相: 甲醇: 乙腈: 水 = 75: 20: 5; 以原花青素质量浓度 (0.2~1.0 mg/mL) 为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

1.4 数据处理

实验均为独立重复三次, 实验数据采用 SPSS 19.0 软件进行显著性分析, 用 OriginPro 8.5 及 Excel 97-2003 软件绘制图形。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 酶添加量的影响 由图 1 可以看出, 葡萄汁出汁率和花色苷含量随着复合酶添加量的增加呈先升高后降低的趋势。当复合酶添加量达到 0.6% 时, 葡萄汁出汁率和花色苷含量达到最大, 分别为 81.2% 和 212.275 mg/L, 随后葡萄汁出汁率和花色苷含量开始下降。这是因为随着复合酶添加量的增加, 酶与果肉细胞反应增多, 胞内物质更容易溶出, 葡萄汁出汁率和花色苷含量随之不断增大; 当复合酶添加量超过 0.6% 时, 葡萄果肉细胞过度酶解, 造成多糖复合物解离, 果汁中的糖类物质增多, 果汁黏度增大, 阻碍酶解反应的继续进行, 果汁出汁率随之下降^[12]。因此, 选择复合酶添加量 0.6% 较为合适。

2.1.2 复合酶配比的影响 由图 2 可以看出, 复合酶不同添加比例对葡萄汁出汁率和花色苷的含量影响比较明显, 当复合酶体积配比为 1:1:1 时, 葡萄汁出汁率和花色苷含量达到最大, 分别为 81.4% 和

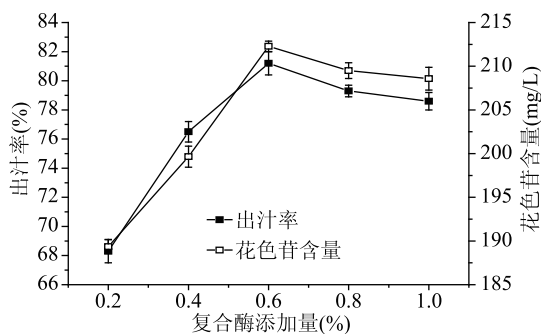


图 1 复合酶添加量对葡萄汁出汁率和花色苷含量的影响
Fig.1 Effect of compound enzyme dosage on yield and anthocyanin content of grape juice

212.905 mg/L。这是因为复合酶体积配比为 1:1:1 时, 水解环境中参与果胶反应和纤维素水解反应的酶分子均达到酶解结合反应体系的稳态, 改变复合酶配比则会打破这种稳态的体系^[13]。因此, 选择复合酶体积配比 1:1:1 较为适宜。

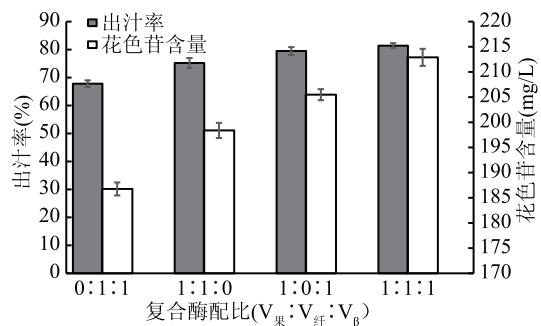


图 2 复合酶比对葡萄汁出汁率和花色苷含量的影响
Fig.2 Effect of compound enzyme proportion on yield and anthocyanin content of grape juice

2.1.3 酶解时间的影响 由图 3 可以看出, 随着酶解时间的延长, 葡萄汁出汁率和花色苷含量增大而后减小。酶解时间为 6 h 时, 葡萄汁出汁率和花色苷含量最大, 分别为 81.6% 和 212.597 mg/L。酶解时间增加可以促进葡萄胞内物的释放, 但是酶解时间超过 6 h 后并不能够增加出汁率和花色苷含量, 原因是随着酶解时间的延长, 葡萄汁与空气接触, 花色苷不稳定易分解, 含量呈先升高后降低趋势, 从果汁营养和口感方面考虑, 酶解时间过长会导致营养物质破坏严重, 口感变差, 同时也增加了果汁生产成本^[14]。因

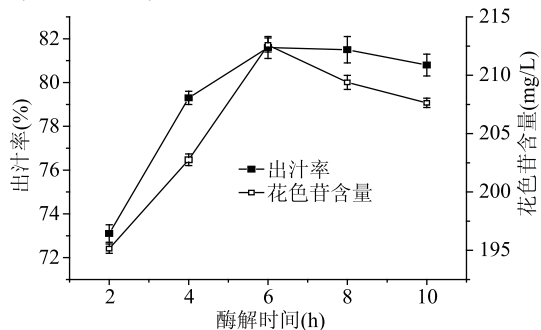


图 3 酶解时间对葡萄汁出汁率和花色苷含量的影响
Fig.3 Effect of enzymatic hydrolysis time on yield and anthocyanin content of grape juice

此,选择酶解时间 6 h 较为适宜。

2.2 响应面试验

2.2.1 响应面设计及其结果 应用 Box-Behnken 对赤霞珠葡萄制汁工艺进行响应面优化,分析具体试验方案及结果如表 2 所示。

表 2 响应面设计及其结果

实验号	A	B	C	Y ₁ 出汁率 (%)	Y ₂ 花色苷含量 (mg/L)
1	1	1	0	85.4	243.143
2	0	1	1	86.2	244.357
3	0	-1	1	73.0	206.414
4	0	-1	-1	69.8	199.914
5	0	1	-1	81.5	232.471
6	0	0	0	84.1	241.771
7	-1	1	0	80.3	237.300
8	0	0	0	83.2	240.857
9	0	0	0	84.7	242.143
10	-1	-1	0	71.8	205.429
11	1	-1	0	76.0	208.543
12	0	0	0	80.6	238.429
13	-1	0	1	72.5	212.800
14	1	0	-1	79.2	215.214
15	0	0	0	83.5	240.171
16	-1	0	-1	74.4	211.843
17	1	0	1	78.0	217.629

2.2.2 回归模型的建立及其显著性检验 通过 Box-Behnken 设计建立葡萄汁的出汁率(Y₁)和花色苷含量(Y₂)与复合酶添加量(A)、复合酶配比(B)、酶解时间(C)之间的回归方程分别为:

$$Y_1 = 83.22 + 2.42A + 5.26B + 0.66C + 0.23AB + 0.23AC + 0.45BC - 3.16A^2 - 1.68B^2 - 4.09C^2 \quad \text{式(1)}$$

$$Y_2 = 240.67 + 2.14A + 17.12B + 2.72C + 0.68AB + 0.36AC + 1.35BC - 11.74A^2 - 5.33B^2 - 14.56C^2 \quad \text{式(2)}$$

采用分析软件回归模型进行方差分析,结果如表 3 所示。由表 3 可以看出,两个回归模型误差 $p < 0.01$,达极显著水平,而两个模型失拟项 $p > 0.05$,模型失拟项不显著,说明本试验所建立的两个多元回归模型具有较好的显著性,能够对试验进行很好地模拟。其决定系数 $R^2_{\text{出汁率}} = 0.9311$, $R^2_{\text{花色苷}} = 0.9908$,说明该模型的拟合度较好,可以对葡萄汁的出汁率和花色苷含量进行准确的分析和预测。

由表 3 可知,在复合酶处理葡萄汁工艺参数中,在所选的各因素水平范围内,影响葡萄汁出汁率各因素按主次顺序排列为: $B > A > C$,模型中 B 和 C^2 的影响极显著 ($p < 0.01$), A 和 A^2 的影响显著 ($p < 0.05$),其他因素的影响均不显著 ($p > 0.05$)。影响葡萄汁出汁率各因素按主次顺序排列为: $B > C > A$,模型中 B、 A^2 、 B^2 和 C^2 的影响极显著 ($p < 0.01$), A 和 C 的影响显著 ($p < 0.05$),其他因素的影响均不显著 ($p > 0.05$)。

2.2.3 响应面交互作用分析 通过多元二次回归模型得到响应面图,响应面图形是响应值对各试验因素 A、B、C 所构成的三维空间的曲面图。在其他试验因素不变的情况下,考察交互项对响应值的影响,响应面分析图可用于评价试验因素对响应值影响的两两交互作用^[15]。响应面坡度越陡峭,表明响应值对于操作条件的改变越敏感,该因素对响应值的影响越大,反之则表明影响越小^[16]。由图 4 可知,交互项对出汁率和花色苷含量的影响中,各因素之间交互作用明显。

2.2.4 最佳条件的预测及验证实验 利用 Design-Expert 8.0 软件进行工艺参数的优化组合,得到预测的复合酶处理的最佳工艺条件为复合酶添加量 0.65%、复合酶配比 1:1:1、酶解时间 6.29 h,响应面有最优值,即出汁率的理论值为 $87.354\% \pm 0.149\%$,

表 3 回归模型及方差分析

Table 3 Variance analysis of regression equation

方差来源	自由度	出汁率				花色苷含量			
		平方和	均方	F 值	p 值	平方和	均方	F 值	p 值
模型	9	410.13	45.57	10.51	0.0026 **	4199.13	466.57	83.82	<0.0001 **
A	1	47.05	47.05	10.85	0.0132 *	36.80	36.80	6.61	0.0370 *
B	1	221.55	221.55	51.10	0.0002 **	2345.13	2345.13	421.29	<0.0001 **
C	1	3.51	3.51	0.81	0.3981	59.18	59.18	10.63	0.0139 *
AB	1	0.20	0.20	0.045	0.8375	1.86	1.86	0.33	0.5812
AC	1	0.12	0.12	0.027	0.8732	0.53	0.53	0.10	0.7663
BC	1	0.81	0.81	0.19	0.6786	7.25	7.25	1.30	0.2912
A ²	1	42.04	42.04	9.70	0.0170 *	580.72	580.72	104.32	<0.0001 **
B ²	1	11.95	11.95	2.76	0.1408	119.46	119.46	21.46	0.0024 **
C ²	1	70.23	70.23	16.21	0.0050 **	892.45	892.45	160.32	<0.0001 **
残差	7	30.35	4.34			38.97	5.57		
失拟	3	20.44	6.81	2.75	0.1765	30.28	10.09	4.65	0.0860
误差	4	9.91	2.48			8.69	2.17		
总和	16	440.48				4238.10			

注:“**”表示差异极显著($p < 0.01$);“*”表示差异显著($p < 0.05$)。

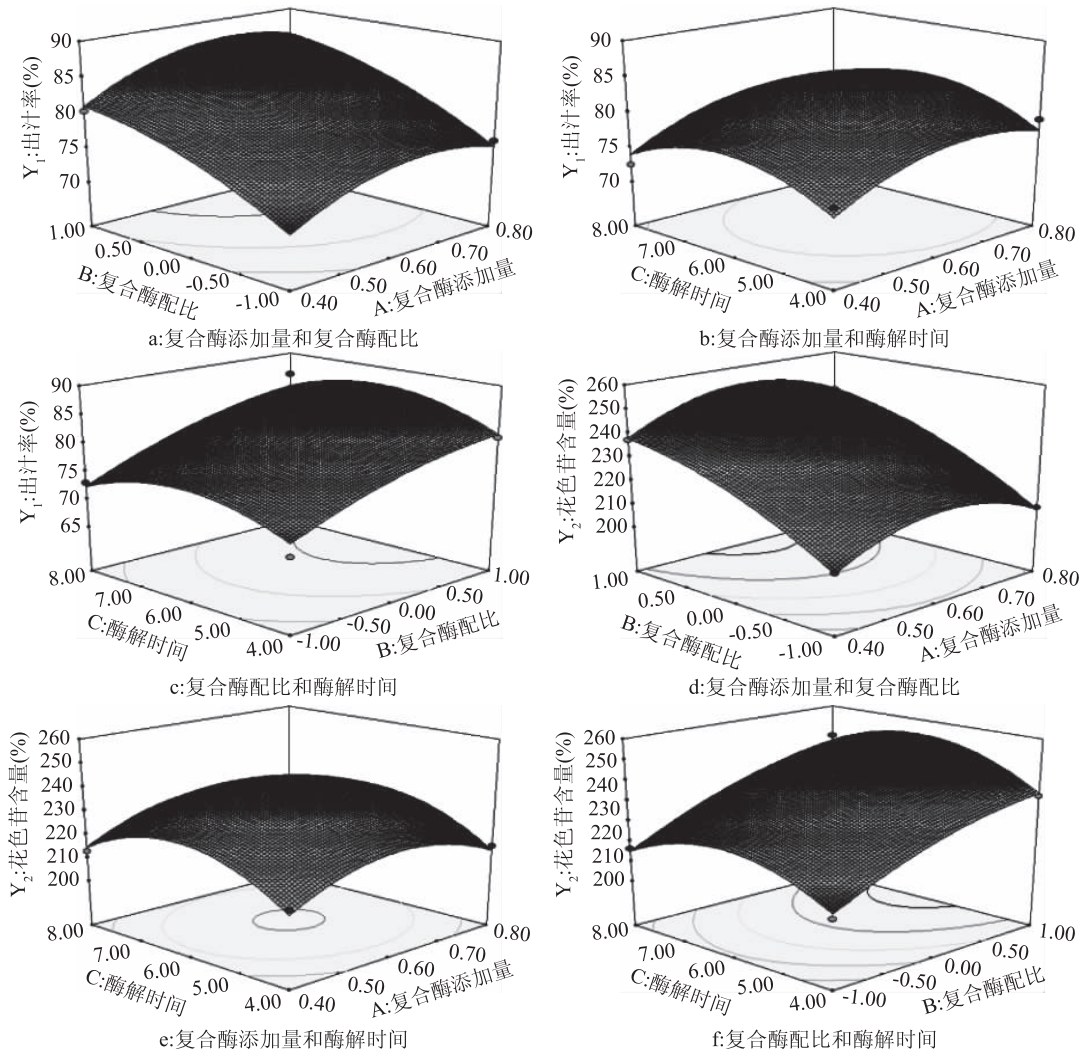


图4 出汁率和花色苷含量的响应曲面图

Fig.4 Response surface graphs for the effects on yield and anthocyanin content of grape juice

花色苷含量的理论值为 (252.716 ± 0.149) mg/L。为验证模型的有效性,考虑到实际情况,将最佳工艺条件修改为复合酶添加量 0.66%、复合酶配比 1:1:1、酶解时间 6.3 h,在此工艺条件下,葡萄汁的出汁率为 $87.103\% \pm 0.471\%$,花色苷含量为 (254.664 ± 2.359) mg/L,说明响应值的实验值与回归方程预测值吻合良好,证实了该模型的可靠性,进一步说明通过响应面设计对复合酶处理葡萄汁的工艺参数进行优化是可行的。

2.3 酶处理对葡萄汁原花青素含量的影响

由图 5 可知,原花青素标准品出峰时间为 3.781 min。根据 1.3.6 原花青素含量的测定方法绘制标准曲线见图 6,得回归方程 $y = 13443.71457x + 135.38191, R^2 = 0.9995$ 。

由图 7 可知,所得不同酶处理葡萄汁中原花青素的色谱峰尖锐,分离效率好,出峰时间都在 3.8 min 左右。根据图 7 中的峰面积,代入回归方程,得到原花青素含量。

由图 8 可知,复合酶处理葡萄汁的原花青素含量显著高于单一酶处理 ($p < 0.05$),果胶酶处理葡萄汁的原花青素含量为 0.172 mg/mL,纤维素酶处理葡

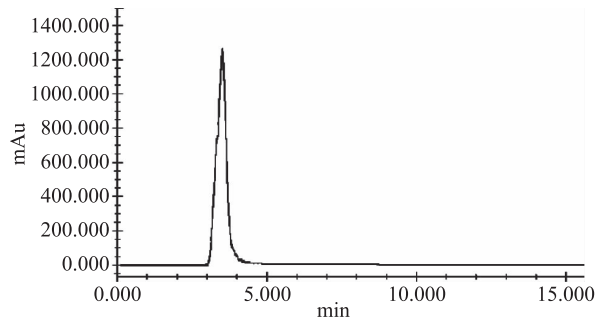


图5 原花青素标准溶液 HPLC 色谱图

Fig.5 HPLC chromatogram of proanthocyanidin standard solution

萄汁的原花青素含量最小为 0.105 mg/mL,且不同酶处理葡萄汁的原花青素含量之间存在显著性差异 ($p < 0.05$)。原花青素是多酚化合物,主要存在于赤霞珠葡萄的果皮中,果胶酶可以水解细胞壁和细胞间隙中的果胶,使细胞破裂,促使活性成分释放,降低果汁粘度,提高出汁率和营养成分^[17], β -葡聚糖酶可以降解糖苷类化合物,同时还可以协助纤维素酶降解纤维素,纤维素酶可以使葡萄细胞壁及细胞间质的纤维素、半纤维素发生降解,将三种酶复合使用可

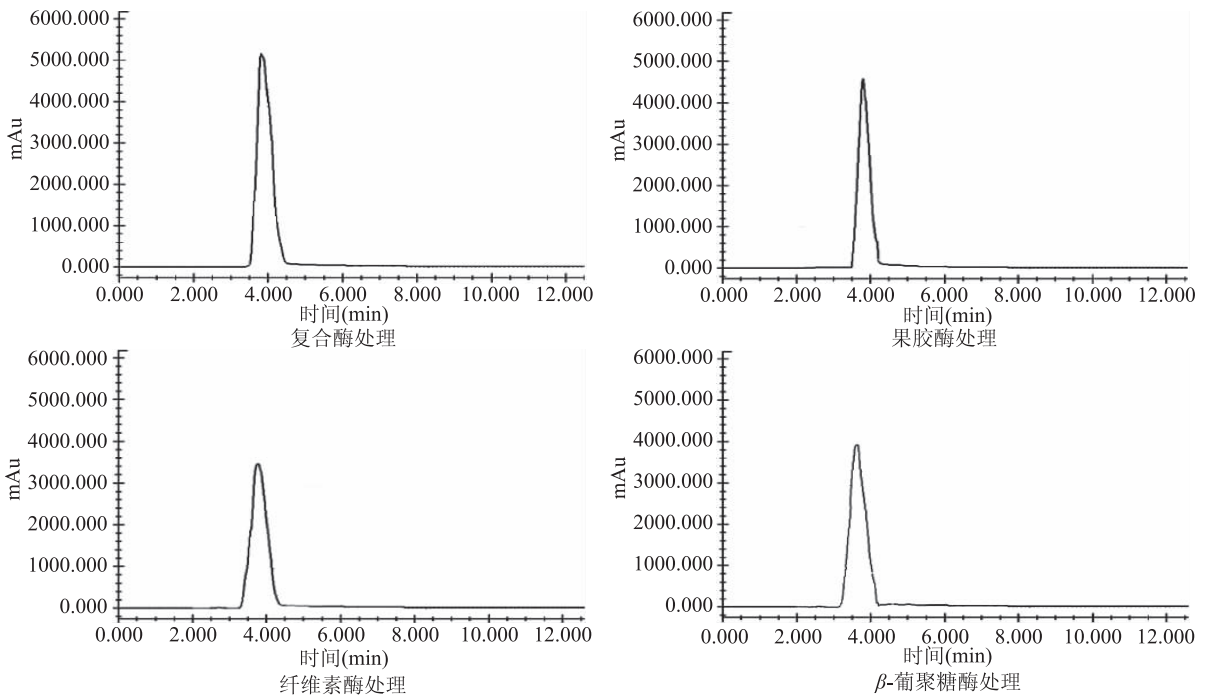


图7 不同酶处理葡萄汁中原花青素色谱图

Fig.7 The chromatographic diagram of origin proanthocyanidin of different enzyme treated grape juice

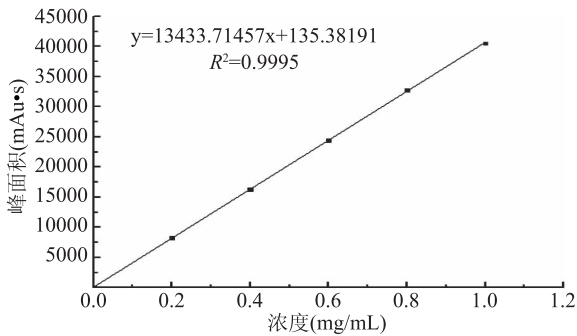


图6 原花青素标准曲线

Fig.6 Standard curve of proanthocyanidins

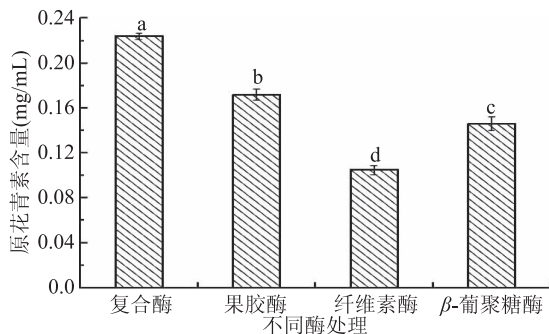


图8 不同酶处理对葡萄汁原花青素含量的影响

Fig.8 Effect of different enzyme treatments on the proanthocyanidin content of grape juice

以促进赤霞珠葡萄有效物质原花青素的溶出^[18]。

3 结论

本研究以赤霞珠葡萄为原料,通过单因素实验和 Box-Behnken 试验优化工艺参数,得到最佳酶解工艺条件为:复合酶添加量 0.66%、复合酶配比 1:1:1、酶解时间 6.3 h,在此工艺条件下,葡萄汁的出汁率为

87.103% ± 0.471%,花色苷含量为 (254.664 ± 2.359) mg/L,表明响应面设计所得结果准确可靠,该模型可用于葡萄汁加工过程中葡萄色素溶出效果的分析与预测。

通过比较单一酶处理和复合酶处理葡萄汁的原花青素含量可知,复合酶处理葡萄汁的原花青素含量最大为 0.224 mg/mL,显著高于单一酶处理 ($p < 0.05$),所得实验值与理论值相对误差小,说明经响应面分析方法优化获得的工艺参数是可信的,具有较好的实用价值。

参考文献

- [1]田智硕.常见葡萄品种别名介绍[J].山西果树,2012(4):58-58.
- [2]邱迪文.赤霞珠——永恒的经典品种[J].中外食品:酒尚,2006(3):100-102.
- [3]李记明.关于葡萄品质的评价指标[J].中外葡萄与葡萄酒,1999(1):54-57.
- [4]Yang X B,Zhao Y.Absorption and metabolism of red wine polyphenols and their potential health benefits in cardiovascular function[J].Am J Clin Nutr,2012,95(6):1496-1497.
- [5]Zhang H,Wang Z,Xu S.Optimization of processing parameters for cloudy ginkgo (*Ginkgo biloba* Linn.) juice [J].Journal of Food Engineering,2007,:1226-1232.
- [6]王福荣.酿酒分析与检测[M].北京:化学工业出版社,2012:111-135.
- [7]曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2007:21-74.
- [8]中国国家标准化管理委员会.GB/T 15038-2006.葡萄酒、果酒通用分析方法[S].北京:中国标准出版社,2008.

(下转第 152 页)

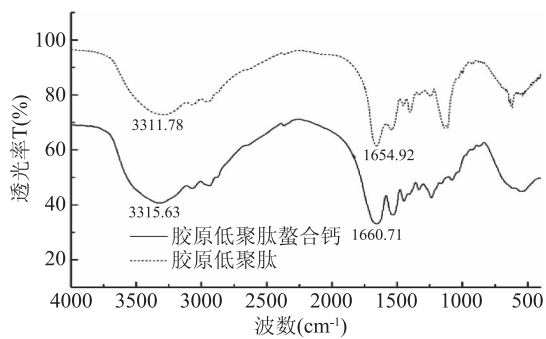


图9 胶原低聚肽和胶原低聚肽螯合钙的红外光谱图对比

Fig.9 Comparison of the infrared spectra of collagen oligopeptide and collagen oligopeptide calcium-chelating calcium. 螯合钙的吸收峰发生了位移, 胶原低聚肽的氨基和羧基与钙发生了螯合反应, 证明胶原低聚肽与钙生成胶原低聚肽螯合钙。

参考文献

[1] 郭洪辉, 洪专, 张怡评, 等. 河豚鱼皮胶原寡肽制备工艺的优化[C]. 2014年学术年会论文集, 343-351.
 [2] Kim S K, Kim Y T, Byun H G, et al. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska pollack skin [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2001, 49(4): 1984-1989.
 [3] Zhang Z, Wang J, Ding Y, et al. Oral administration of marine collagen peptides from Chum Salmon skin enhance cutaneous wound healing and angiogenesis in rats[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(12): 2173-2179.
 [4] Gu R Z, Li C Y, Liu W Y, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of low-molecular-weight peptides from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) skin [J]. Food research International, 2011, 44(5): 1536-1540.
 [5] 吴松青, 荆琛峰, 卢炼钢, 等. 胶原蛋白及复方抗氧化美白补水功效研究[J]. 今日药学, 2012, 12(12): 30-32.
 [6] 任俊凤. 河豚鱼皮胶原蛋白肽的制备及其抗氧化性的研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2008.
 [7] Straub D A. Calcium supplementation in clinical practice: A review of forms, doses, and indications [J]. Nutrition in Clinical Practice, 2007, 22(3): 286-296.
 [8] Bronner F, Pansu D. Nutritional aspects of calcium absorption [J]. Journal of Nutrition, 1999, 129(1): 9-12.

[9] 成静, 陈栋梁, 倪萌, 等. 胶原肽螯合钙的吸收试验研究[J]. 食品科技, 2012, 37(5): 64-67.
 [10] Peng Z, Hou H, Zhang K, et al. Effect of calcium-binding peptide from Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) bone on calcium bioavailability in rats [J]. Food Chemistry, 2017, 221: 373-378.
 [11] Chen J, Qiu X J, Hao G X, et al. Preparation and bioavailability of calcium-chelating peptide complex from tilapia skin hydrolysates [J]. Science of Food and Agriculture, 2017, 97(14): 4898-4903.
 [12] Sun N, Wu X T, Du M, et al. Food protein-derived calcium chelating peptides: A review [J]. Trends in Food Science and Technology, 2016, 56: 140-148.
 [13] Mine Y, Shahidi F. Nutraceutical proteins and peptides in health and disease [J]. CRC Press, 2005, 56(1): 96-108.
 [14] 梁春辉, 管景颖, 张志胜. 胶原多肽螯合钙壮骨作用研究[J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(5): 94-97.
 [15] 蔡冰娜, 陈忻, 潘剑宇, 等. 响应面法优化鳕鱼皮胶原蛋白肽螯合钙工艺[J]. 食品科学, 2012, 33(2): 48-52.
 [16] 刘永, 李夏欣, 刘玲, 等. 鱼鳞胶原蛋白肽钙螯合物制备工艺的优化[J]. 食品工业科技, 2013, 34(20): 235-240.
 [17] 许先猛, 董文宾, 孙皎皎. 猪皮胶原多肽螯合钙的制备及其结构表征[J]. 食品工业科技, 2015, 36(20): 309-314.
 [18] 敖冉, 梁春辉, 陈晨, 等. 胶原多肽螯合钙喷雾干燥工艺研究[J]. 食品科技, 2016, 41(2): 89-92.
 [19] 张蕾, 程润青, 孙媛媛, 等. 河蚬多肽螯合钙的制备和抗氧化活性分析[J]. 食品工业, 2017, 38(8): 94-98.
 [20] 刘闪, 刘良忠, 李小娜, 等. 白鲢鱼骨胶原多肽螯合钙的工艺优化[J]. 食品科学, 2014, 35(10): 76-81.
 [21] 夏光华, 申铨日, 酒志强. 罗非鱼皮胶原蛋白小肽螯合钙的制备、鉴定及抗氧化研究[J]. 食品科技, 2013, 38(4): 242-246.
 [22] 薛荣涛, 李翠芹, 何腊平. 复合氨基酸螯合钙的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 390-394.
 [23] 张蕾, 程润青, 孙媛媛, 王娟, 等. 河蚬多肽螯合钙的制备和抗氧化活性分析[J]. 食品工业, 2017, 38(3): 94-98.
 [24] 肖珊. 乳清蛋白肽螯合钙的制备及其微胶囊化的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
 [25] 汪婧瑜, 刘学铭, 张业辉, 等. 乌鳢酶水解物螯合钙的制备及其结构分析[J]. 食品工业科技, 2016, 37(8): 206-214.
 [26] 刘丽莉. 牛骨降解菌的筛选及其发酵制备胶原多肽螯合钙的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.

(上接第146页)

[9] 杨兆艳. pH示差法测定桑椹红色素中花青素含量的研究[J]. 食品科技, 2007, 32(4): 201-203.
 [10] 刘荣丽, 钟碧萍, 黄宏南, 等. 高效液相色谱法测定缓解视疲劳片中原花青素的含量[J]. 食品与药品, 2014, 16(3): 193-195.
 [11] 严子军, 韦寿莲, 汪洪武, 等. HPLC法测定松针中原花青素的含量[J]. 肇庆学院学报, 2012, 33(5): 26-28.
 [12] 王云洁, 闫治攀, 白福祖. 酶法在中药提取中的应用进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(9): 110-112.
 [13] Pan A D, Zeng H Y, Alain G B F C, et al. Heat-pretreatment and enzymolysis behavior of the lotus seed protein [J]. Food Chemistry, 2016, 201: 230-236.

[14] 汪晓琳, 谷绒, 胡晓涛, 等. 蓝莓汁复合酶法制取工艺的优化研究[J]. 保鲜与加工, 2017(6): 71-77.
 [15] 陈仕学, 郁建平, 杨俊, 等. 响应面法优化阳荷水溶性膳食纤维的微波提取工艺研究[J]. 食品科学, 2014, 35(18): 57-62.
 [16] 张丙云, 孙莉, 黄艳, 等. 响应面法优化竹叶椒总木脂素的超声提取工艺[J]. 食品工业科技, 2014, 35(7): 198-201.
 [17] 李彩霞, 宋海, 焦杨, 等. 果胶酶提取黑果枸杞花青素的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 204-209.
 [18] 陈月英, 王彦平, 孙瑞琳, 等. 葡萄皮渣原花青素酶法提取工艺优化及抗氧化性研究[J]. 北方园艺, 2016(16): 129-132.