# 苹果渣酶促糖化效应的研究*

马惠玲[1], 岳田利[2], 肖 龙[3], 马艳萍[1], 杜宏强[4]

(1 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100; 2 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100;
3 西安现代农业综合开发总公司水产园林开发公司, 陕西 西安 710021;
4 陕西恒兴果汁有限公司, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 以不同的酶及酶组合处理苹果渣, 研究了苹果渣中多糖物质转化为可溶性糖的条件与规律。结果表明, 淀粉酶单独作用时, 60 ℃下苹果渣中淀粉分解最快, 只需 2.75 h。酶用量在 10 g/kg 以下时, 复合果胶酶对苹果渣的糖化能力最强, 总糖生成量达到相同用量纯果胶酶的 2 倍以上; 对不同酶组合处理, 在 50 ℃条件下, 以复合果胶酶取代纤维素酶和果胶酶作用 2 h, 再加淀粉酶作用 4 h 的双酶 2 步法为糖生成量高、又省酶的最优酶促糖化工艺, 并且糖生成量随双酶用量的增大而增高, 至酶用量 3~4 g/kg 苹果渣的含糖量提高 3~4 倍, 之后升幅趋于平缓。

[关键词] 苹果渣; 酶解; 碳水化合物; 糖化
[中图分类号] TS261.4+3 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2004)11-0076-05

苹果渣是苹果加工企业废弃的残渣, 近年来我国每年产生的苹果渣数量日渐增多, 由于其极易变质污染环境, 同时又含有多种有效成分[1], 因此, 苹果渣的合理利用已成为有关部门广泛关注的问题。国内外许多学者对苹果渣开发利用进行了诸多研究, 如Walter 等[2]用苹果渣制备水溶性纤维(果胶)和非水溶性纤维, 得率分别为 16.5%, 17.8%; 陈雪峰等[3]用苹果渣制备高甲氧基(HM)果胶, 得率达 11.1%。马惠玲等[4]用苹果渣同时制备低甲氧基(LM)果胶和膳食纤维, 合计产率达到 45% 左右。作为果胶、纤维素等多糖开发, 苹果渣显示了广阔的应用前景, 但作为饲料或酒精发酵原料时, 由于其富含难以消化的多糖, 苹果渣内碳水化合物的利用率将保持较低水平。除李文哲等[5]在研究苹果渣发酵制备柠檬酸时用纤维素酶促进了原料糖化以增加柠檬酸产量外, 国内外对苹果渣中多糖物质转化为易于直接利用的可溶性糖方面少有研究。本研究采用淀粉酶、果胶酶和纤维素酶对苹果渣进行全面糖化, 旨在确定苹果渣在酶促条件下的糖化增益率及其优化工艺参数, 为苹果渣进一步合理开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

苹果渣: 由陕西恒兴果汁有限公司眉县分公司提供的榨汁后自然风干的苹果渣(含水量控制在 100 g/kg 左右), 将其粉碎后过 0.12 mm 土壤筛, 装入玻璃广口瓶内于室温下保存。试验中用到同一榨季中不同时间采样的 2 种苹果渣, 分别命名为Ⅰ, Ⅱ, 碳水化合物含量见表 1。

表 1 苹果渣样品各碳水化合物含量

Table 1 The content of each carbohydrate in tested pomace sample g/kg

| 采样批次(时间) Batches of sample (collection time) | 还原糖 Reducing sugar | 总糖 Total sugar | 淀粉 Starch | 果胶 Pectin | 纤维素 Cellulose | 半纤维素 Hemicellulose | 木质素 Lignin |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ⅰ(2003-09) | 19.8 | 46.7 | 222.2 | 194.9 | 91.5 | 78.6 | 95.7 |
| Ⅱ(2004-01) | 59.3 | 76.0 | 119.1 | 57.2 | 107.0 | 74.0 | 107.0 |

酶制剂: AG300l 淀粉酶(液态), 活性 300 μmol/(mL·min); 5XL 纯果胶酶(液态), 活性 5 000 μmol/mL (45~55 ℃); 复合果胶酶(粉状), 均由丹麦NOVA 公司生产。纤维素酶(固态)活性 15 000 μmol/(g·min) (50 ℃), 由上海丽珠东风生物技术有限公司生产。

* [收稿日期] 2004-05-11
[基金项目] 国家科技攻关项目"陕西特色果品深加工技术与开发"(2001BA901A19)子课题
[作者简介] 马惠玲(1965- ), 女, 甘肃民勤人, 副教授, 博士, 主要从事植物资源开发利用研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2　苹果渣的酶解方法

每处理称取干渣 10 g, 按下列各试验要求加入相应量的酶粉或酶液, 补充蒸馏水至总体积达到 100 mL, 保温酶解。每处理重复 3 次。

1.2.1 不同温度与时间下淀粉酶的糖化效果　每份干渣中加 1.0 g/kg 淀粉酶, 分别置于 40, 50, 60 和 70 ℃水浴中酶解, 1.5 h 后每隔 15 min 以碘液指示剂检验各酶解液 1 次, 随时取出不再显蓝的处理, 留待测定。

1.2.2　各酶在不同浓度下的糖化效果　设淀粉酶加入量为 0.1, 1.0, 10.0 g/kg 3 个水平, 60 ℃下保温 2.75 h; 设纯果胶酶加入量为 0.1, 1.0, 10.0 g/kg, 复合果胶酶加入量为 1.0 g/kg 4 个处理, 于 (50±1) ℃下保温 2 h; 设纤维素酶加入量为 0.1, 1.0, 10.0 g/kg 3 个水平, (50±1) ℃下保温 6 h。以上处理采用第Ⅰ批果渣, 均在反应中止后从水浴中取出, 迅速冷却, 测定总糖和还原糖含量, 以未酶解的原渣测定值为对照。

1.2.3　复合酶作用时各酶添加顺序试验　(1) 三步法: ① 1 g/kg 纤维素酶, 保温 2 h→加入 1 g/kg 复合果胶酶, 保温 2 h→加入 1 g/kg 淀粉酶, 保温 2 h; ② 1 g/kg 复合果胶酶, 保温 2 h→加入 1 g/kg 纤维素酶, 保温 2 h→加入 1 g/kg 淀粉酶, 保温 2 h。(2) 二步法: ③同时加入 1 g/kg 纤维素酶、复合果胶酶, 保温 2 h→加入 1 g/kg 淀粉酶, 保温 2 h; ④同时加入 1 g/kg 纤维素酶、复合果胶酶, 保温 2 h→加入 1 g/kg 淀粉酶, 保温 4 h; ⑤复合果胶酶 1 g/kg, 保温 2 h→加入 1 g/kg 淀粉酶, 保温 4 h。(3) 一步法: ⑥同时各加入 1 g/kg 纤维素酶、复合果胶酶和淀粉酶, 保温 2 h; ⑦同时各加入 1 g/kg 纤维素酶、复合果胶酶和淀粉酶, 保温 6 h。

以上处理分别采用第Ⅰ批和第Ⅱ批果渣, 均在 50 ℃下保温酶解。另设⑧(在 60 ℃下, 同时各加入 1 g/kg 纤维素酶、复合果胶酶和淀粉酶, 保温 2 h), 与⑥比较以得出 3 种酶共同作用的适宜温度。

1.3　碳水化合物含量的测定

纤维素、半纤维素、木质素和淀粉采用植物物质化学组分近似系统分析法[6]测定; 总糖采用蒽酮比色法[7]测定; 还原糖采用菲林试剂定量法测定; 果胶采用重量法[7]测定。

1.4　结果计算

各种多糖的糖化率以其相应的酶作用后可溶性糖的净增量换算:

$$\text{淀粉糖化率}/\% = \frac{162X_1}{180\times S_0}\times 100,$$

$$\text{纤维素糖化率}/\% = \frac{162X_2}{180\times C_0}\times 100,$$

式中, $X_1$, $X_2$ 分别为淀粉酶和纤维素酶作用后苹果渣总糖的增加量 (g/kg); $S_0$ 为原渣淀粉含量 (g/kg); $C_0$ 为原渣纤维素含量 (g/kg)。

## 2　结果与分析

2.1　不同温度与时间下淀粉酶对苹果渣的糖化效果

图 1 显示, 不同温度下淀粉酶酶解所需的时间差异很大, 以 60 ℃下最短, 仅需 2.75 h, 其他温度下需 4.75 h 以上; 淀粉糖化率以 40 ℃下最高, 70, 60, 50 ℃下依次降低。

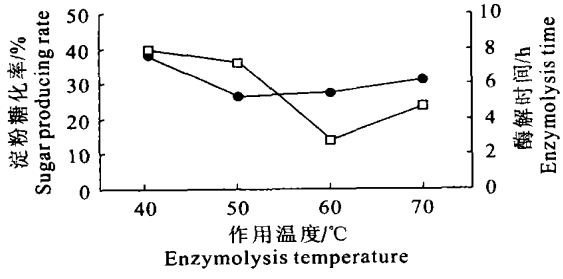


图 1　不同温度下淀粉酶的作用时间及淀粉糖化率
—□—. 酶解时间; —●—. 淀粉糖化率

Fig. 1　The enzymolysis time and sugar producing rate from starch with amylase under different temperatures
—□—. Enzymolysis time;
—●—. Percent of sugar producing from starch

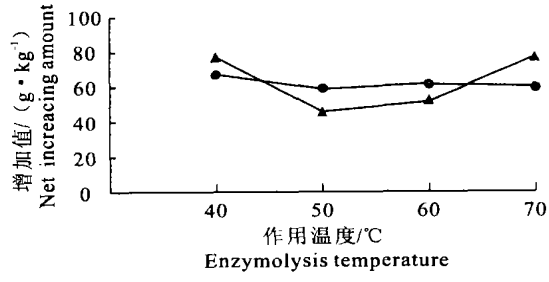


图 2　不同温度下淀粉酶对苹果渣还原糖、总糖含量的影响
—●—. 还原糖; —▲—. 总糖

Fig. 2　The influence of amylase on the content of reducing sugar and total sugar of apple pomace under different temperature
—●—. Reducing sugar; —▲—. Total sugar

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

图 2 显示, 各温度下淀粉酶作用后, 还原糖增加量水平接近, 而 50 和 60 ℃下总糖增加量小于还原糖增加量, 说明原渣所含的一部分非还原糖亦转化成了还原糖; 40 和 70 ℃下, 由于酶解时间过长或温度过高, 有利于淀粉随机降解, 生成的非还原糖比例较高, 导致总糖含量在 40, 50, 60 和 70 ℃下呈现两头高中间低的趋势。

因此, 出于不同糖化目的时, 可采用不同的作用温度。若生成还原糖则以 60 ℃酶解的综合效率较高。

### 2.2 不同浓度淀粉酶、果胶酶、纤维素酶对苹果渣的糖化效果

由图 3 和图 4 可见, 单独用淀粉酶或纯果胶酶作用时, 苹果渣的还原糖、总糖含量均随酶用量的增加而增加; 用复合果胶酶时, 相同浓度下产生的还原糖、总糖含量比用纯果胶酶时高 1 倍以上, 是经济而有效的酶解糖化途径; 纤维素酶用量增大到 1.0 g/kg时, 总糖净增加 41.3 g/kg, 以后糖化作用不再随酶用量增大而增强, 根据表 1 中原渣纤维素含量算出此时纤维素糖化率达 40.6%。

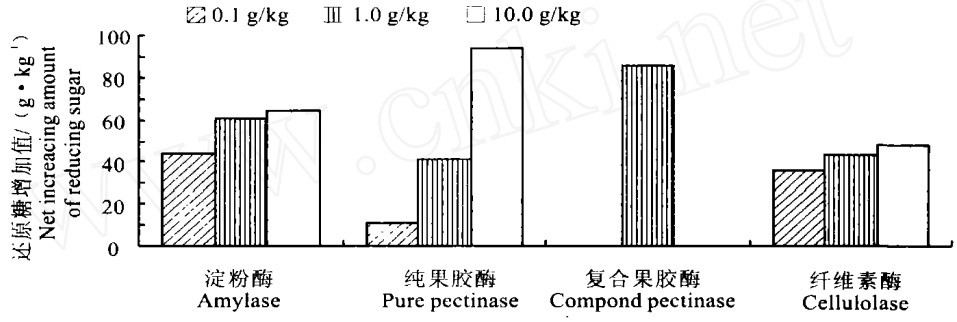


图 3 不同浓度下各种酶对苹果渣还原糖增加值的影响

Fig. 3 The net increasing amount of reducing sugar in apple pomace after the enzymolysis of different enzymes with different dosage

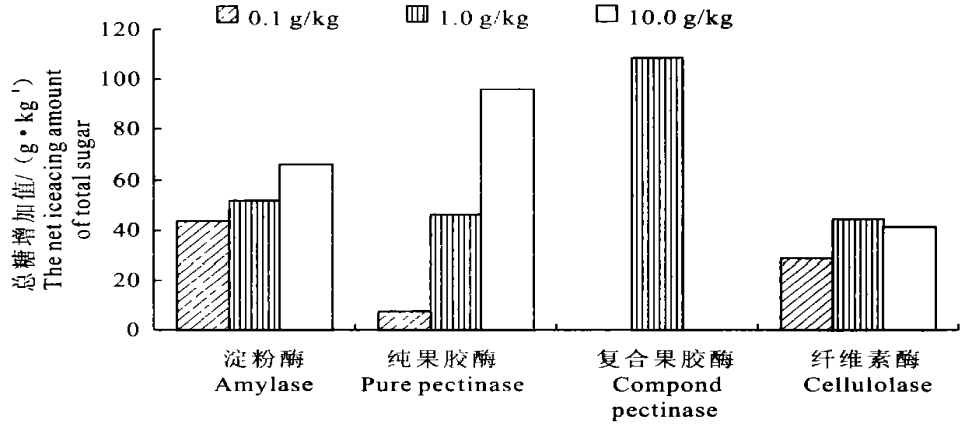


图 4 不同浓度下各种酶对苹果渣总糖增加值的影响

Fig. 4 Effect of enzymes with different concentration on the increase of total sugar in apple pomance

### 2.3 淀粉酶、复合果胶酶、纤维素酶添加顺序的选定

表 2 显示, 2 种或 3 种酶同时使用后, 苹果渣还原糖或总糖的含量普遍高于各种酶单独使用时的值。不同酶组合及不同加酶顺序作用效果也不同。两批苹果渣的试验均表明, 先加复合果胶酶和纤维素酶作用 2 h, 再加淀粉酶作用 4 h 的二步法转化生成的糖最多(④, ④ 处理), 在二步法中以复合果胶酶取代处理④中的双酶(处理⑤), 对糖的增加值达到与处理④同样的水平, 表明复合果胶酶用量为 1 g/kg时, 其中的纤维素酶量足以达到纤维素分解的最大比率, 再加纤维素酶已不再表现增效, 再次显示了纤维素可分解率的有限性。一步法中, 60 ℃下(处理⑧)各糖增加量一律低于 50 ℃(处理⑥), 说明 3 种酶综合作用的适宜温度为 50 ℃左右。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　不同酶组合对苹果渣含糖量的影响

Table 2　The influence of different enzyme combinations on sugar content of apple pomace　　g/kg

| 酶组合 Enzyme combination | 批次 Batch | 处理号 Number | 还原糖 Reducing sugar | 总糖 Total sugar |
|---|---|---|---|---|
| 三步法 3 steps | Ⅰ | ① | 116.2 E | 129.7 E |
| | Ⅰ | ② | 134.6 B | 142.3 CD |
| 二步法 2 steps | Ⅰ | ③ | 139.3 B | 159.6 B |
| | Ⅰ | ④ | 164.9 A | 199.9 A |
| | Ⅱ | ④′ | 123.8 C | 150.4 BC |
| | Ⅰ | ⑤ | 165.5 A | 191.1 A |
| 一步法 1 step | Ⅰ | ⑥ | 117.9 DE | 135.4 DE |
| | Ⅰ | ⑦ | 121.9 CD | 150.9 BC |
| | Ⅱ | ⑦′ | 113.8 E | 146.9 CD |
| | Ⅰ | ⑧ | 98.9 F | 106.1 F |
| | *F* | | $F=125.83 \gg F_{0.01}=3.60$ | $F=42.21 \gg F_{0.01}=3.60$ |

注: 同列数据后标不同字母表示差异极显著。

Note: Different capital letters in the same column represent significant differences($\alpha=0.01$).

### 2.4　双酶二步法加酶量的确定

以 2.3 中选出的双酶二步法对第Ⅱ批果渣进行加酶量试验, 由图 5 可见, 随着酶添加量的增加, 苹果渣可溶性糖含量增加, 当酶添加量增至 3～4 g/kg时, 可溶性糖含量达到酶处理前的 3 倍左右, 以后增加趋于缓慢。因此, 3～4 g/kg 可作为生产上使用的有效酶用量。

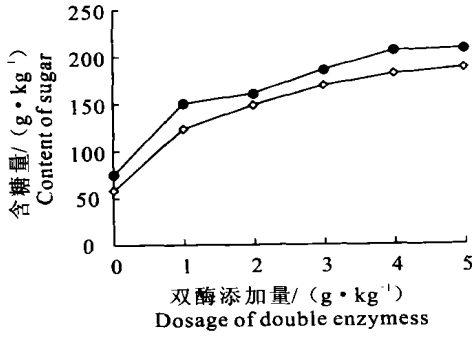


图 5　苹果渣含糖量与加酶量的变化曲线

-◇-. 还原糖; -●-. 总糖

Fig. 5　The changes of sugar content of apple pomace according to dosage of enzymes

-◇-. Reducing sugar; -●-. Total sugar

## 3　结论与讨论

1) 以复合果胶酶取代纯果胶酶和纤维素酶作用 2 h, 再加淀粉酶作用 4 h, 全程 50 ℃保温的双酶二步法是苹果渣糖化的最优工艺, 两种酶用量各为 1 g/kg时, 2003-09 和 2004-01 的苹果渣总糖含量分别达到 199.99, 150.4 g/kg, 分别是处理前含量的 4.28 和 1.98 倍, 双酶用量继续增加时, 糖的增加减缓, 增至 3～4 g/kg 后, 糖增量趋于最大值。

2) 碘试剂检验显示, 各温度下苹果渣淀粉均可被淀粉酶全部分解, 4 g/kg 接近淀粉酶的有效最大用量, 1 g/kg 是纤维素酶的有效最大用量。但这两种酶在 10 g/kg 时, 原料淀粉(222.2 g/kg)的糖化率只有 26.8%, 原料纤维素(91.5 g/kg)的糖化率只有 40.6%, 说明苹果渣淀粉和纤维素的糖化率是有限的, 酶解转化为可溶性糖的只是一小部分, 大部分转化生成了其他多聚糖或低聚糖等非可溶性糖。这展示了由苹果渣开发低聚糖食品或制备此类基料方面的应用前景。

3) 苹果渣多糖物质的糖化率(酶解效率)与加酶的顺序有关。在三步法处理中, 先加复合果胶酶比先加纤维素酶得到苹果渣的含糖量高; 在二步法处理中, 先同时加复合果胶酶和纤维素酶, 再用淀粉酶作用, 含糖量高于 3 种酶同时加入的一步法。用兼有纤维素酶活性的复合果胶酶单独作用可以取代纯果胶酶和纤维素酶的双酶作用, 这些现象都说明了纤维素酶和果胶酶第一步的共同作用对提高总体糖化效果的重要性。根据细胞壁结构的"经纬学说"[8], 果胶与纤维素交织形成复合物排布于细胞表面, 推测多糖高效酶解的过程为: 果胶和纤维素先同步分解, 破坏了细胞壁表面的屏障才有利于下一步淀粉酶充分与底物接触, 达到 3 种多糖的总体分解率均高的效果。

[参考文献]

[1]　马惠玲, 岳田利, 盛义保, 等. 不同类型苹果渣有效成份的变化及其利用对策[J]. 西北林学院学报, 2003, 18(4): 120-122

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[2] Walter R H, Rao M A, Sherman R M, et al. Edible fibers from apple pomace[J]. Journal of Food Science, 1985, 50(3): 747- 749.
[3] 陈雪峰, 詹雪英, 杨大庆. 苹果渣中提取果胶工艺研究[J]. 食品工业科技, 2000, 21(3): 19- 21.
[4] 马惠玲, 岳田利, 张存莉, 等. 由苹果渣制备LM 果胶、膳食纤维的工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(8): 95- 97.
[5] 李文哲, 宋纪蓉, 张小里. 苹果渣酶解制备柠檬酸[J]. 应用化学, 2000, 17(5): 547- 549.
[6] 文启孝. 土壤有机质研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1984. 250- 272.
[7] 李锡香. 新鲜果蔬的品质及其分析法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994. 250- 325.
[8] 宋纯鹏. 植物衰老生物学[M]. 北京: 北京大学出版社, 1998. 119- 120.

# Study on the saccharifying effect by enzymolysis with apple pomace

**MA Hui-ling[1], YUE Tian-li[2], XIAO Long[3], MA Yan-ping[1], DU Hong-qiang[4]**

(1 *College of Forest, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*;
2 *College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*;
3 *Aquatic Product and Arthitecture Department of Xi'an Mordern Agriculture Intergral Development Company, Xi'an, Shaanxi* 710021, *China*;
4 *Hengxing Fruit Juice Company Ltd.*, *Yangling, Shaanxi* 712100, *China*)

**Abstract**: In order to utilize the carbohydrate in apple pomace (AP) effectively and use AP as the valuable raw material of sugar production, ethanol fermentation etc, amylase, pectinase and cellulolase were applied in apple pomace respectively or with different combination of each to find out the necessary condition and law of its polysaccharide turning into soluble sugar. The results showed that 60 ℃ is the optimum temperature of enzymolysis with amylase, under which enzymolysis took only 2. 75 h. It was found from experiments of different dosage of different enzymes that compound pectinase might possess more stronger saccharifying ability to AP than other enzymes. The net increasing value of both reducing sugar and total sugar with compound pectinase would be twice that of pure pectinase of same dosage. Among all the treatments in which 3 enzymes were all employed, two steps with double enzymes were selected to be the best effective and lest costly enzymolysis method, that is to compond pectinase/2 h · 50 ℃, followed by amylase/4 h · 50 ℃, which reducing sugar and total sugar yield would increase with the increase of double enzyme dosage till 3- 4 g/kg dosages were arrived, and sugars content were increased by 3- 4 times that of untreated pomace.

**Key words**: apple pomace; enzymolysis; carbohydrate; saccharification

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net