

不同预处理对苹果渣还原糖含量的影响^{*}

杨保伟^a, 盛敏^b, 来航线^c, 岳田利^a, 乔正良^c

(西北农林科技大学 a 食品科学与工程学院, b 生命科学学院, c 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 研究了高温、酸解、酶解和菌解等不同预处理方法对苹果渣中还原糖含量的影响。结果表明, 高温对苹果渣中还原糖含量的影响不大, 且对其有很好的灭菌作用; 酸解、酶解和菌解后的苹果渣中, 还原糖含量均显著增加; 酸解时, 当 pH = 1, T = 121 °C, 20~60 min 时, 还原糖含量随酸解时间的延长变化不明显; 3 种供试纤维素酶中, 3[#] 酶的降解效果最好; 21 株供试菌中, FG03 的降解效果最好, FG07, FG10 和 FG11 的降解效果次之。

[关键词] 苹果渣; 高温处理; 酸解; 酶解; 菌解; 还原糖

[中图分类号] TS261.2⁺3; TS255.36 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2006)01-0067-04

我国是苹果生产大国, 苹果产量的逐年增加促进了果汁加工业的迅速发展, 同时也产生了越来越多的苹果渣^[1-3]。目前, 苹果渣主要用于生产果渣饲料、酒精及酒精饮料、柠檬酸、酶、低聚糖、膳食纤维、果胶、香精、色素和食用菌栽培等, 虽有一定程度的综合利用, 但总体而言, 其利用率仍非常低(约 10%~25%), 大部分(约 70%)被当作垃圾处理, 既浪费了资源, 又污染了环境^[3-4]。

在以苹果渣为主要原料直接进行发酵生产时, 因其还原糖含量较低, 且由于来源、批次不同, 其中的营养物质, 特别是在微生物生长时被作为碳源和能量来源的还原糖含量不同, 给实际生产带来极大不便。为了给微生物提供足够的碳源, 苹果渣一般在使用前必须经过预处理, 使其还原糖含量升高。预处理的方法因生产目的不同而异。马艳萍等^[5]先将苹果渣酶解后, 再用其生产酒精; 宋安东等^[6]向灭菌苹果渣中添加蔗糖, 使其糖达到一定含量后, 再接种发酵; 李文哲等^[7]采用酶解苹果渣的方法生产柠檬酸。在苹果渣综合利用的研究中, 现有资料报道的苹果渣预处理的方法和结论均各不相同, 且对各种常用的预处理方法也没有一个系统的研究。为此, 本试验对苹果渣的高温、酸解、酶解和菌解等预处理方法进行了系统研究, 并分析了预处理后苹果渣中还原糖含量的变化, 为苹果渣综合利用, 特别是将苹果渣中的还原糖成分作为底物进行生物转化, 提供了理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 苹果渣 由陕西海升果业发展股份有限公司提供鲜渣, 常温晾晒后粉碎过筛(60 目), 干渣还原糖含量为 10.72 g/kg, 水分含量为 3.9 g/kg。

1.1.2 菌种 产绿青霉(FG01)、黑曲霉(FG02)、毛霉(FG03)、白地霉(FG04)、根霉(FG05)、未鉴定(FG06)、曲霉(FG07)、产紫青霉(FG08)、未鉴定(FG09)、黑曲霉(FG10)和毛霉(FG11)等从发酵后的猪粪、牛粪中分离得到; 木霉(FG12)、未鉴定(FG13)、未鉴定(FG14)、黑曲霉(FG15)、黑曲霉(FG16)、黑曲霉(FG17)和黄绿青霉(FG18)等为从林地土壤中分离得到; 根霉(FG19)由西北农林科技大学资源环境学院微生物教研组菌种室提供; 烟曲霉(FG20)和黑曲霉 UA8(FG21)由西北农林科技大学资源环境学院微生物教研组薛泉宏教授提供。

1.1.3 纤维素酶^[8] 共 3 种, 分别为: 1[#] 纤维素酶, 滤纸酶活($\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{g})$)为 351, 最适作用 pH 4.8, 购自山东正元畜牧有限公司; 2[#] 纤维素酶, 滤纸酶活为 628, 最适作用 pH 4.8, 购自辽宁星河生物技术有限公司; 3[#] 纤维素酶, 滤纸酶活为 351, 最适作用 pH 4.8, 购自江门市生物技术研究中心。

1.1.4 营养液组成 营养液组成及各成分含量参见文献[9]。

* [收稿日期] 2005-05-09

[基金项目] 国家科技攻关计划项目(2001BA901A-19-5.1)

[作者简介] 杨保伟(1974-), 男, 陕西商洛人, 在读博士, 主要从事食品微生物研究。

[通讯作者] 来航线(1964-), 男, 陕西礼泉人, 副教授, 主要从事农业微生物及发酵工程研究。E-mail: laihangxian@163.com

1 2 方 法

1 2 1 孢子悬液的制备^[10] 向斜面培养成熟的菌种中加入适量的无菌吐温水(吐温含量 0.5 mL/L),用接种环轻轻刮取斜面孢子后,将孢子悬液倒入另一无菌试管中,振荡,使孢子充分分散,调整孢子浓度为 3×10^6 /L 备用。

1 2 2 苹果渣的高温处理 称取干苹果渣 10 g 装入三角瓶后,加入 30 mL 蒸馏水搅拌均匀,封口,放置一段时间使苹果渣充分吸水润胀,然后将苹果渣进行高温预处理,处理温度()和时间(m in)分别为: 100, 40; 100, 60; 100, 80; 114, 40; 114, 60; 114, 80; 121, 40; 121, 60 和 121, 80。称取处理后苹果渣各 1 g,加蒸馏水浸提,浸提液定容到 100 mL 备用。

1 2 3 苹果渣的酸解 称取干苹果渣 10 g 装入三角瓶中,加入足量的蒸馏水,使果渣充分吸水后用 6 mol/L HCl 调整 pH 值为 1,121 分别酸解 20, 40, 60 m in,称取酸解后苹果渣各 1 g 加蒸馏水浸提,浸提液定容到 100 mL 备用。

1 2 4 苹果渣酶解 称取苹果值 10 g,加入适量蒸馏水,搅拌均匀后调整苹果渣的 pH 为 4.8。分别称取 1[#], 2[#], 3[#] 纤维素酶各 0.25 g 和 0.5 g,加入上述苹果渣中,搅拌均匀,在 45 酶解 12 h 后,称取酶

解物各 1 g 用蒸馏水浸提过滤,滤液(即酶解液)定容至 100 mL 备用。

1 2 5 苹果渣菌解^[10] 称取苹果渣 20 g 装入罐头瓶中,加入 40 mL 营养液搅匀,121 灭菌 60 m in 后,分别接入 FG01~ FG21 号菌株(共 21 株菌)的孢子悬液,孢子浓度为 3×10^6 /mL,每瓶接种 2 mL,搅拌均匀。28 分别培养 72, 96 h,培养后取样。样品烘干粉碎后,称取 1 g 进行浸提,过滤,滤液定容至 100 mL 备用。

1 2 6 对照试验 称取苹果渣 10 g,装入三角瓶中,加蒸馏水适量,使其充分吸水润胀。称取润胀后的苹果渣 1 g,加蒸馏水浸提,过滤,滤液定容至 100 mL,测还原糖含量,测 2 次,分别为 CK₁ 和 CK₂。

1 2 7 还原糖含量的测定^[11] 采用 3,5-二硝基水杨酸比色定糖法测定各预处理样品中还原糖的含量。

还原糖含量变化率= (处理还原糖含量- CK 还原糖含量)/CK 还原糖含量 $\times$ 100%

2 结果与分析

2 1 高温处理对苹果渣还原糖含量的影响

高温处理后苹果渣中还原糖的含量见表 1。

表 1 高温处理对苹果渣还原糖含量的影响

Table 1 Effects of high temperature on the content of reducing sugar in apple pomace				%			
处理 Treatment		还原糖含量 Content of reducing sugar	还原糖含量 变化率 Variation of reducing sugar	处理 Treatment		还原糖含量 Content of reducing sugar	还原糖含量 变化率 Variation of reducing sugar
温度/ Temperature	时间/m in Time			温度/ Temperature	时间/m in Time		
100	CK ₁	10.72		121	60	10.72	0
	40	10.10	- 5.78		80	10.94	2.05
	60	10.25	- 4.38		40	10.58	- 1.31
	80	11.46	+ 6.90		60	10.28	- 4.10
114	40	10.69	- 4.10		80	9.44	- 11.94

由表 1 可知,不同高温处理对苹果渣中还原糖含量影响不大。与 CK 相比,当处理温度()和时间(m in)分别为 100, 40; 100, 60; 114, 40; 121, 40; 121, 60; 121, 80 时,样品中还原糖含量均有不同程度的下降,其中除 121 , 80 m in 处理样品中的还原糖含量下降幅度比较大外(11.97%),其余处理还原糖含量下降的幅度并不明显。当处理为 100 , 80 m in 和 114 , 80 m in 时,样品中还原糖含量略有上升;当处理为 114 , 60 m in 时,样品还原糖含量没有变化。综上可知,不同的温度和时间处理后,苹果渣中还原糖含量变化幅度不大。

与此同时,将高温处理后的苹果渣(未开瓶)自

然培养 7 d 并未发现有微生物生长。以上结果表明,在实际生产中如果使用高温处理苹果渣,不但不会影响其中还原糖含量,而且能有效消除苹果渣中微生物给发酵过程带来的潜在影响。

2 2 酸解处理对苹果渣还原糖含量的影响

由表 2 可以看出,当 pH = 1, T = 121 时,与 CK 相比,酸解后苹果渣中还原糖含量均显著增加,20, 40 和 60 m in 处理的增加率分别为 167.1%, 177.6% 和 185.6%。由表 2 还可看出,随着酸解时间的延长,还原糖含量增加,但增加幅度不明显(60 m in 比 20 m in 增加了 6.91%)。如果继续延长酸解的时间,则有可能造成苹果渣中其他成分的水解和

一些营养成分的破坏。根据以上结果,并考虑到工业化生产时的成本和周期问题,作者认为在对苹果渣进行酸解处理时,时间不宜太长,以 20 m in 为宜。

表 2 酸解处理对苹果渣还原糖含量的影响

Table 2 Effects of degradation by acid on the reducing sugar content in apple pomace %

处理 Treatment			还原糖 含量	还原糖含量 变化率
pH	温度/ Temperature	时间/m in Time	Reducing sugar content	Variation of reducing sugar
1	121	CK ₁	10 72	
		20	28 64	167. 1
		40	29 76	177. 6
		60	30 62	185. 6

2 3 酶解处理对苹果渣还原糖含量的影响

酶解处理后苹果渣中还原糖含量见表 3。

表 3 酶解对苹果渣还原糖含量的影响

Table 3 Effects of degradation by cellulase on the reducing sugar content in apple pomace %

处理 Treatment				还原糖 含量	还原糖含量 变化率
pH	时间/h Time	酶类 Type of cellulase	用量/g Quantity	Reducing sugar content	Variation of reducing sugar
4 8	12	CK ₁		10 72	
		1#	0 25	21 98	105
			0 5	21 01	96
		2#	0 25	24 01	124
			0 5	23 49	119
		3#	0 25	28 72	168
			0 5	28 16	163

从表 3 可以看出,与 CK 相比,酶解后苹果渣中还原糖含量均明显上升。对于同一种类纤维素酶来讲,不同的酶添加量,酶解后苹果渣中还原糖含量差异不大;而不同种类酶的酶解物中,还原糖含量有较

大差异,其中 1[#] 酶酶解物中还原糖含量最低(平均含量约 21%),与 CK 相比,其含量上升了约 100%; 2[#] 酶酶解物还原糖含量较高(平均含量约 24%),与 CK 相比上升了约 121%; 3[#] 酶酶解物还原糖含量最高(平均含量约 28%),与 CK 相比上升了约 165%。说明 3[#] 酶虽然滤纸酶活不是最高,但以苹果渣为底物时,其酶解效果最好。

2 4 菌解处理对苹果渣还原糖含量的影响

苹果渣中接入供试菌孢子悬液培养后,有 11 株菌在纯苹果渣基质上不能生长或生长状况很差,有 10 株生长良好,生长良好者分别于 72, 96 h 取样,其浸出液中还原糖含量测定结果见表 4。从表 4 可以看出,与对照相比,FG03, FG07, FG10 和 FG11 等 4 株菌 72 和 96 h 的降解物中,还原糖含量均显著升高。FG03 72 h 降解物中还原糖含量增加了 109. 9%, 高于 96 h 降解物(106%)。FG16 的降解物中,虽然还原糖含量在 96 h 降解物中有所升高,但还原糖含量变化不大。另外,在苹果渣中生长良好的 10 株菌中,FG02, FG09, FG15, FG17 和 FG21 等 5 株菌的苹果渣降解物中还原糖含量明显降低。

由此可知,FG03, FG07, FG10 和 FG11 等 4 株菌在以纯苹果渣为基质的培养基上生长时,其产纤维素酶的能力及降解苹果渣的能力均较强,且 FG03 降解苹果渣,在 72 h 时其纤维素酶活性可能最高。而 FG02, FG09, FG15, FG17 和 FG21 等 5 株菌在苹果渣基质上产纤维素酶的能力较弱,不能很好的降解苹果渣产生还原糖,细菌在生长过程中还可能将果渣中原有的部分还原糖作为碳源利用。FG16 虽然能够在苹果渣上良好地生长,但其产纤维素酶的能力一般,对苹果渣中还原糖含量的影响不大。

表 4 菌解对苹果渣还原糖含量的影响

Table 4 Effects of degrading by fungi on the reducing sugar content in apple pomace %

菌号 Sign	72 h		96 h	
	还原糖含量 Reducing sugar content	还原糖含量变化率 Variation of reducing sugar	还原糖含量 Reducing sugar content	还原糖含量变化率 Variation of reducing sugar
CK ₂	10 67		10 67	
FG02	5 59	- 47. 6	6 2	- 41. 9
FG03	22 4	109. 9	21 98	106
FG07	14 35	34. 5	16 65	56
FG09	8 72	- 18. 3	9 97	- 6. 6
FG10	13 49	26. 4	14 76	38. 3
FG11	13 25	24. 2	15 06	41. 1
FG15	6 72	- 37	6 43	- 39. 7
FG16	10 55	- 1. 1	11 84	10. 9
FG17	8 31	- 22. 1	5 40	- 49. 4
FG21	7. 09	- 33. 6	8 79	- 17. 6

3 结论与讨论

本研究结果表明, 高温处理对苹果渣中还原糖含量的影响不大, 且能有效杀灭苹果渣中微生物。据资料报道^[8], 湿热灭菌时, 不同温度和时间对还原糖的影响非常大。对于 10% 葡萄糖溶液而言, 121 °C 保温 15 min 后, 葡萄糖破坏率为 24%; 116~118 °C 保温 20 min 后, 其破坏率为 18.2%; 100 °C 保温 30 min 破坏率为 8.0%。与此不同的是, 苹果渣采用不同的高温和时间处理后, 其还原糖含量变化幅度不大。由此可见, 与单纯的葡萄糖溶液相比, 苹果渣混合体系具有类似缓冲的功能, 用于实际生产时, 一般高温及相对较短时间处理既能起到杀菌作用, 又不会对其中还原糖造成较大破坏而影响生产。

当 pH = 1、T = 121 °C、处理时间分别为 20、

40 和 60 min 时, 苹果渣酸解物中还原糖含量均显著增加, 但还原糖含量随酸解时间的延长而增加的幅度不明显。

苹果渣的 3 种酶解物中还原糖含量较对照均明显升高, 这与李文哲等^[7]的研究结果一致。3 种供试纤维素酶中, 3[#] 酶效果最好。

在本试验所选用的 21 株菌中, 有 10 株能在纯苹果渣基质上良好生长, FG03 降解效果最好, FG07、FG10 和 FG11 的降解效果次之。

综上所述, 除高温外, 其余 3 种预处理方法均可显著提高苹果渣中还原糖的含量。但综合考虑实际生产的能耗、设备、成本、工艺等因素, 作者认为, 将苹果渣酸解后再做他用是比较经济的方法, 同时, 也可采用将纤维素酶高产菌与其他对苹果渣降解能力差的生产菌种混合使用的措施。

[参考文献]

- [1] 傅 斌, 林祥斌. 苹果渣的综合利用[J]. 中国果品研究, 1989(2): 19-20
- [2] 王晋杰, 尚文博. 苹果渣的综合开发与利用[J]. 饲料研究, 2000(3): 13-16
- [3] 李彩凤, 杨福有. 苹果渣的营养成分及利用[J]. 饲料博览, 2001(2): 38
- [4] 杨福有, 祁周约, 李彩凤, 等. 陕西苹果渣生产利用现状调查[J]. 陕西农业科学, 1999(4): 29-30
- [5] 马艳萍, 马惠玲, 陈长友, 等. 苹果渣固态酒精发酵工艺研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(11): 81-84
- [6] 宋安东, 张世敏, 马向东, 等. 利用苹果渣生产酒精的试验研究[J]. 中国沼气, 2003, 21(2): 45-47
- [7] 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
- [8] 薛泉宏, 程丽娟. 微生物学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000
- [9] 汤 莉. 纤维素酶产生菌选育、固态发酵条件及性质研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2001
- [10] 司美茹, 薛泉宏, 蔡 艳. 混合发酵对纤维素酶和淀粉酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2002, 30(5): 69-73
- [11] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛, 等. 生化实验方法和技术[M]. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 1981

Effect of different treatments on reducing sugar content in apple pomace

YANG Bao-wei^a, SHENG Min^b, LAI Hang-xian^c, YUE Tian-li^a, QIAO Zheng-liang^b

(a College of Food Science and Engineering, b College of Life Science, c College of Resource and Environment,

Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The effect of different treatments including high temperature, acid, cellulase and fungi on reducing sugar content in apple pomace were studied. The results showed that: high temperature killed all microorganisms in apple pomace, but did not affect the content of reducing sugar; The degradation by acid, cellulase and fungi significantly increased the content of reducing sugar; When apple pomace were degraded at pH = 1 and T = 121 °C by acid, the content of reducing sugar in apple pomace did not increase significantly with time (the range of time from 20 to 60 min); Among three kinds of cellulase, 3[#] was the best; Among 21 treated fungi, FG03 was the best, three fungi (FG07, FG10, FG11) were next.

Key words: apple pomace; high temperature treatment; acid degradation; cellulase degradation; fungi degradation; reducing sugar