

壳聚糖澄清芦柑果汁工艺条件的优化

许 键¹, 蔡慧农^{1,2,3}, 倪 辉^{1,2,3}, 杜希萍^{1,2,3}, 黄高凌^{1,2,3*}

(1. 集美大学生物工程学院, 厦门 361021; 2. 福建省高校食品微生物与酶工程技术研究中心, 厦门 361021; 3. 厦门市食品与生物工程技术研究中心, 厦门 361021)

摘 要: 为了制备稳定的澄清芦柑果汁, 该文基于 Box-Behnken 试验设计, 探讨了壳聚糖浓度、澄清温度、澄清时间对果汁澄清度的影响; 建立了二次多项式回归模型, 分析模型的有效性因子间的交互作用, 并对壳聚糖澄清芦柑果汁的工艺参数进行了优化。结果表明: 壳聚糖澄清芦柑果汁的最佳工艺参数为: 壳聚糖浓度 0.80 g/L、温度 59℃和时间 71 min。在此最佳工艺条件下果汁透光率达到 97.8%, 且试验结果与模型预测值 (98.3%) 相吻合, 所得回归模型拟合情况良好 ($R^2=0.9886$), 达到设计要求。进一步对经壳聚糖澄清后的芦柑果汁的相关指标进行测定, 发现果汁中可溶性固形物、维生素 C 及总酸含量依次从 $11.30\pm0.15\%$ 、 31.33 ± 3.25 mg/100mL、 0.71 ± 0.00 g/100mL 略降为 $9.50\pm0.25\%$ 、 21.8 ± 5.28 mg/100mL、 0.51 ± 0 g/100mL, 而总酚、果胶、蛋白质质量浓度依次从 990.3 ± 8.02 mg/L、 366 ± 4.70 μ g/mL、 595.53 ± 20.62 μ g/mL 减少为 557.87 ± 4.67 mg/L、 186.24 ± 44.32 μ g/mL、 26.42 ± 0.30 μ g/mL 有较明显下降, 但澄清后的果汁非生物稳定性很好。该试验用响应面法优选出的澄清工艺合理可行, 为芦柑果汁深加工及果汁产品开发提供了理论依据。

关键词: 优化, 加工, 品质调控, 壳聚糖, 澄清, 芦柑汁, 响应面

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2013.23.037

中图分类号: TS255.44

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2013)-23-0268-08

许 键, 蔡慧农, 倪 辉, 等. 壳聚糖澄清芦柑果汁工艺条件的优化[J]. 农业工程学报, 2013, 29(23): 268—275.
Xu Jian, Cai Huinong, Ni Hui, et al. Optimized conditions for clarification of chitosan on ponkan juice[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2013, 29(23): 268—275. (in Chinese with English abstract)

0 引 言

芦柑属芸香科柑橘属的优良品种, 也是福建省永春县最具地域特色的水果。芦柑汁酸甜适度, 风味浓郁, 含有丰富的营养成分如糖、多种维生素和微量元素等, 尤其是钙、铁、磷; 芦柑汁对亚硝酸盐有较好的清除能力, 且对预防癌症具有重要的价值^[1-2]。随着市场需求的多元化以及先进生产技术和设备的引进和应用, 澄清果汁在果汁及其饮料产品中占有越来越重要的一席之地。澄清汁在保持果汁原有风味的基础上, 可使产品的稳定性、色泽、外观大大改善, 制成浓缩汁后还可便于贮藏和运输^[3]。

果汁澄清方法主要有澄清剂澄清^[4]、酶法澄清^[5]、膜法澄清^[6]等。作为安全无毒的澄清剂壳聚糖能和果汁中带负电荷的胶体相互作用, 具有优良的絮凝

性能, 对蛋白质、果胶、多酚都有一定的作用, 用于果汁澄清, 具有快速、简便、易操作等特点, 且风味、营养成分基本不受影响, 且生物稳定性良好, 已被美国食品药品监督管理局 (food and drug administration) 批准为食品添加剂^[7-10]。此外, 壳聚糖能除去果汁中多酚氧化酶, 降低果汁酶促褐变速度和程度^[11]; 同时壳聚糖还具有天然抗菌抗氧化活性, 已成为食品保鲜与防腐研究的热点^[12-13]。因此, 壳聚糖是一种值得研究利用的新型食品澄清剂, 应用前景广阔。澄清是芦柑制汁过程中的关键步骤, 而采用壳聚糖对于芦柑果汁的澄清研究, 国内外文献尚未见报道。本文通过 Box-Behnken 中心组合试验设计, 利用 Design-Expert 8.0.5b 软件对壳聚糖澄清芦柑果汁工艺条件进行响应面^[14]分析优化, 以期得到澄清度高的芦柑果汁, 且保持芦柑特有的营养成分, 为芦柑的深加工及果汁产品开发提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

芦柑: 无病虫害果。市购, 产于泉州市永春县。
壳聚糖: 济南海得贝海洋生物工程有限公司, DAC

收稿日期: 2013-07-03 修订日期: 2013-10-22

基金项目: 国家自然科学基金 (31271914); 福建省基金项目 (2011J01225); 福建省教育厅项目 (JA12188); 厦门市杰出青年人才基金 (3502220126008); 集美大学科研创新团队基金 (2010A006)。

作者简介: 许 键 (1988—), 男, 主要从事食品化学的研究。厦门 集美大学生物工程学院, 361021。Email: 670885039@qq.com

*通信作者: 黄高凌 (1966—), 女, 副教授, 研究方向为食品化学。厦门 集美大学生物工程学院, 361021。Email: hgaol@jmu.edu.cn

≥85%，黏度：230 cps。

壳聚糖溶液的配制^[15]：称取 1 g 壳聚糖，加 50 mL 水及 2 mL 冰醋酸搅拌均匀，加热至 80~90℃，加水至 100 mL，保温 45 min，配成 1%壳聚糖溶液备用。

1.2 主要仪器

WNB22 型精密数显恒温水浴锅（德国 Memmert 公司）；HH-4 型电热恒温水浴锅（常山国华电器有限公司）；Unic7200 型紫外可见分光光度计（上海尤尼柯仪器有限公司）；D2012 台式小型高速离心机（德国大龙兴创实验仪器（北京）有限公司）；Sartorius BS223S 电子天平（德国赛多利斯股份有限公司）。

1.3 试验方法

1.3.1 芦柑果汁的制备

原料挑选→清洗→去皮→捣碎→压榨挤汁→离心过滤→原汁（冷冻贮存，室温解冻后使用）→1%壳聚糖溶液澄清→离心→澄清汁

1.3.2 澄清工艺流程的优化

在制备得到芦柑原汁之后，以果汁透光率作为指标，进行影响其澄清效果的因素试验。分别选取壳聚糖浓度、壳聚糖处理液温度、壳聚糖处理时间 3 个因素做单因素试验，其中当温度为 40℃、时间为 30 min 时，壳聚糖浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 g/L；当壳聚糖浓度为 0.8 g/L、时间为 30 min 时，处理液温度分别为 20、30、40、50、60℃；当壳聚糖浓度为 0.8 g/L、温度为 60℃时，处理时间分别为 30、40、50、60、70、80 min。

在单因素试验的基础上，采用 Box-Behnken 试验设计建立模型，选取壳聚糖浓度（A）、壳聚糖处理液温度（B）及壳聚糖处理时间（C）3 个因素，用 Design expert 8.0.5b 软件设计 3 因素 3 水平响应面分析试验，以透光率（%）作为考察指标，以优化壳聚糖澄清芦柑果汁的最佳条件。影响因子水平及编码见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验因素和编码水平表

Table1 Factors and levels of Box-Behnken experiment design

因素 Factor	编码水平 Level		
	-1	0	+1
A 浓度 Concentration/(g L ⁻¹)	0.75	0.8	0.85
B 温度 Temperature/℃	55	60	65
C 时间 Time/min	65	70	75

1.3.3 果汁主要营养成分的测定方法

对果汁进行澄清度测定^[16]：果汁经 4 000 r/min 离心 10 min，取上清液以蒸馏水作参比，比色杯厚 1 cm，在 660 nm 处测定果汁的透光率 T （%）。对澄清前后的果汁分别进行可溶性固形物、总糖、维

生素 C、总酸、总酚、果胶、蛋白质和总黄酮含量的测定，测定方法分别参照：标准手持糖度计测定、苯酚-硫酸法^[17]、2,4-二硝基苯肼法^[18]、GB/T 12293-90《水果、蔬菜制品可滴定酸度的测定》^[19]、Folin-Ciocalteu 比色法^[20]、半乳糖醛酸法^[21]、考马斯亮蓝法^[22]和硝酸铝络合分光光度法^[23]。

1.3.4 果汁非生物稳定性试验

参考文献[24]、[25]的方法：

1) 酒石酸氢钾稳定性：取澄清的果汁 100 mL 在-20℃保持 7 d，若有酒石结晶析出，则为酒石酸不稳定。

2) 蛋白质稳定性试验：取澄清果汁液 200 mL，加入 2 mL 10%单宁液，在 80℃水浴中加热 20 min，冷却后观察，若出现絮凝沉淀，则表明尚有易引起蛋白破败的过量蛋白。

3) 铁稳定性：将澄清的果汁 100 mL 暴露在空气中 7 d，若有沉淀生产，则为铁性破坏。

4) 铜稳定性：将 100 mL 三角瓶装满澄清果汁，用软木塞封口，让瓶子平放，并接受阳光照射，放置 7d，若出现浑浊，则为铜性破坏。

5) 氧化稳定性：取澄清的果汁 100 mL 在空气中放置 24 h，若果汁液变浑浊，且出现过氧化味，则为氧化性不稳定。

1.4 数据分析

根据试验所得芦柑果汁透光率变化数据采用 Microsoft Excel 2010、SPSSV17.0 统计软件进行统计分析并绘图；采用设计专家 Design-Expert 8.0.5b 软件中的 Response Surface 程序进行试验设计，应用 ANOVA 程序进行方差分析，应用 Model Graph 程序作响应曲面图和等高线图，应用 Optimization 程序中 Numerical 分析得预测最优值。

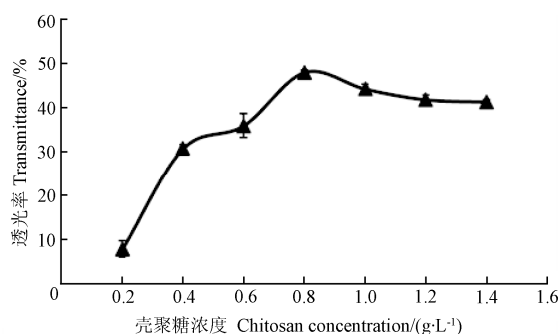
2 结果与分析

2.1 壳聚糖浓度对芦柑果汁澄清效果的影响

在芦柑果汁自然 pH 值条件下分别加入浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 g/L 壳聚糖，轻摇匀后在 40℃恒温水浴锅中静置 30 min，离心过滤后在 660 nm 波长处测定其透光率，结果如图 1 所示。

由图 1 可看出，壳聚糖浓度对芦柑果汁澄清效果有显著影响。壳聚糖浓度在 0.2~0.8 g/L 范围内，果汁透光率随着壳聚糖浓度的增加其透光率逐渐增加，当浓度为 0.8 g/L 时，果汁透光率最高达到 48%，以后逐渐下降，表明壳聚糖浓度过高或过低均不利于果汁的澄清。这可能是因为太少的壳聚糖添加量不能使果汁中的不稳定成分完全被凝聚沉淀，澄清效果不明显；而过高的壳聚糖添加量则导致壳聚糖本身形成一种胶体溶解悬浮在果汁中使

透光率下降^[26]。因此较佳的壳聚糖浓度为 0.8 g/L, 此时果汁达到了良好的澄清效果。



注: 温度为 40℃、时间为 30 min。

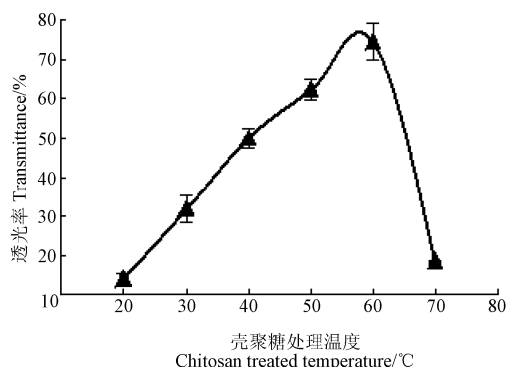
Note: Temperature is 40℃, time is 30 min.

图 1 壳聚糖浓度对芦柑果汁澄清度的影响

Fig.1 Effect of chitosan concentration on clarity of ponkan juice

2.2 壳聚糖处理温度对芦柑果汁澄清效果的影响

在芦柑果汁自然 pH 值条件下加入壳聚糖 0.8 g/L, 轻摇匀后分别在 20、30、40、50、60、70℃ 恒温水浴锅中静置 30 min, 离心过滤后在波长 660 nm 处测定其透光率, 结果如图 2 所示。



注: 壳聚糖浓度为 0.8 g/L、时间为 30 min。

Note: Chitosan concentration is 0.8 g/L, time is 30 min.

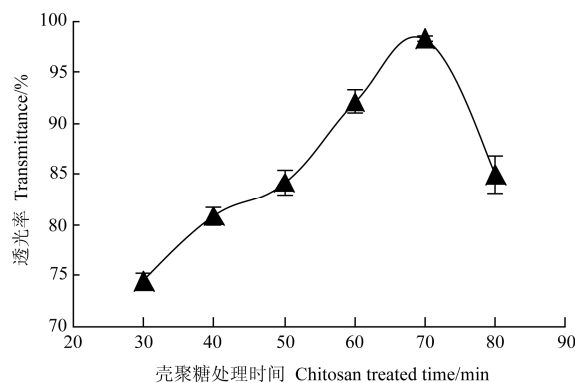
图 2 壳聚糖处理温度对芦柑果汁澄清度的影响

Fig.2 Effect of chitosan treated temperature on clarity of ponkan juice

由图 2 可以看出, 温度对壳聚糖的澄清的效果有显著性影响, 在温度区间 20~60℃ 内, 随着温度的上升, 芦柑汁的透光率逐渐增大; 在 60℃ 时, 澄清汁的透光率达到最大, 此后随温度的上升, 透光率却有急剧下降。这是因为壳聚糖为直链多糖, 高温可能导致壳聚糖分解, 降低了壳聚糖溶液的絮凝效果, 从而影响到壳聚糖澄清果汁^[27]。因此, 壳聚糖澄清芦柑汁的较适温度为 60℃。

2.3 壳聚糖处理时间对芦柑果汁澄清效果的影响

在芦柑果汁自然 pH 值条件下加入壳聚糖 0.8 g/L, 轻摇匀后在 60℃ 恒温水浴锅中分别静置 30、40、50、60、70 min, 过滤后在波长 660 nm 处测定其透光率, 试验结果参见图 3。



注: 壳聚糖浓度为 0.8 g/L、温度为 60℃。

Note: Chitosan concentration is 0.8 g/L, temperature is 60℃.

图 3 壳聚糖处理时间对芦柑汁澄清度的影响

Fig.3 Effect of chitosan treated time on clarity of ponkan juice

由图 3 可以看出, 壳聚糖处理时间对芦柑汁透光率影响显著。在 30~80 min 的澄清时间内, 芦柑汁透光率随时间的延长而明显提高; 当澄清时间达到 70 min 时, 透光率达到最大, 随后开始下降。这是因为壳聚糖与果汁中果胶等带负电荷物质相互作用, 产生絮凝沉淀物的沉降速度有限, 沉降需要一定的时间。若絮凝沉淀物在果汁中停留时间过长, 会造成沉淀物的部分重新溶解, 导致果汁再次产生轻微浑浊^[28]。而且考虑澄清时间过长特别是在高温条件下进行澄清, 还会影响到果汁品质。因此, 壳聚糖较佳澄清时间为 70 min。

2.4 壳聚糖对芦柑果汁澄清工艺优化结果与分析

2.4.1 响应面试验分析和回归方程的建立

采用 Design-Expert.8.05 软件进行试验设计, 试验设计方案与结果见表 2。利用表 2 数据进行多元回归拟合, 获得响应值——果汁透光率 (Y) 对影响透光率的关键因子——浓度 (A)、温度 (B) 和时间 (C) 的二次多项式回归模型为 $Y=98.22+0.18A-0.17B+0.21C-0.31AB+0.38AC+0.100BC-0.65A^2+0.24B^2+0.14C^2$, 方程中变量为编码值。对模型进行方差分析及回归系数显著性检验, 结果见表 3 和表 4。

由表 3、表 4 可知, 回归方程为: $Y=98.22+0.18A-0.17B+0.21C-0.31AB+0.38AC+0.100BC-1.65A^2-0.76B^2-0.86C^2$ 及模型 P 值 < 0.0001, 表明模型极显著; 失拟项 $P=0.1307$, 大于 0.05, 差异不显著, 说明残差由随机误差引起; 模型的确定系数 R^2 为 0.9886, 模型调整确定系数 $R^2_{Adj}=0.9740$, 表明拟合度较好, 说明模型能够反应响应值变化, 试验误差小, 可以用此模型对透光率进行分析和预测。用方程拟合的 3 个因素与透光率之间的关系是可行的; 故可用该回归模型代替试验真实点对试验结果进行分析。

表 2 Box-Behnken 试验设计方案及结果
Table 2 Experimental design and results of Box-Behnken

试验编号 Test No.	浓度 <i>A</i> Concentration	温度 <i>B</i> Temperature	时间 <i>C</i> Time	透光率 <i>Y</i> Transmittance /%
1	-1	-1	0	95.3
2	1	-1	0	96.3
3	-1	1	0	95.9
4	1	1	0	95.7
5	-1	0	-1	95.7
6	1	0	-1	95.3
7	-1	0	1	95.4
8	1	0	1	96.5
9	0	-1	-1	96.8
10	0	1	-1	96.0
11	0	-1	1	97.0
12	0	1	1	96.6
13	0	0	0	98.3
14	0	0	0	98.1
15	0	0	0	98.3
16	0	0	0	98.3
17	0	0	0	98.1

表 3 回归模型方差分析
Table 3 Analysis of variance (ANOVA) for model

变异来源 Source of variation	平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean square	<i>F</i> 值 <i>F</i> value	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
模型 Model	20.55	9	2.28	67.54	< 0.0001
残差 Residuals	0.24	7	0.034		
失拟 Lack of fit	0.17	3	0.057	3.46	0.1307
误差 Error	0.066	4	0.016		
总和 Sum	20.78	16			
$R^2_{Adj}=0.9740$				$R^2=0.9886$	

表 4 回归模型系数的显著性检验
Table 4 Regression coefficients and their significance

因素 Factor	系数 Coefficient	自由度 Degrees of freedom	标准误差 Standard error	<i>F</i> 值 <i>F</i> value	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
截距 Intercept	98.22	1	0.082	-	-
<i>A</i>	0.18	1	0.065	7.95	0.0258
<i>B</i>	-0.17	1	0.065	6.91	0.0340
<i>C</i>	0.21	1	0.065	10.69	0.0137
<i>AA</i>	-1.65	1	0.090	339.82	<0.0001
<i>AB</i>	-0.31	1	0.092	11.25	0.0122
<i>AC</i>	0.38	1	0.092	16.64	0.0047
<i>BB</i>	-0.76	1	0.090	71.95	<0.0001
<i>BC</i>	0.100	1	0.092	1.18	0.3127
<i>CC</i>	-0.86	1	0.090	92.13	<0.0001

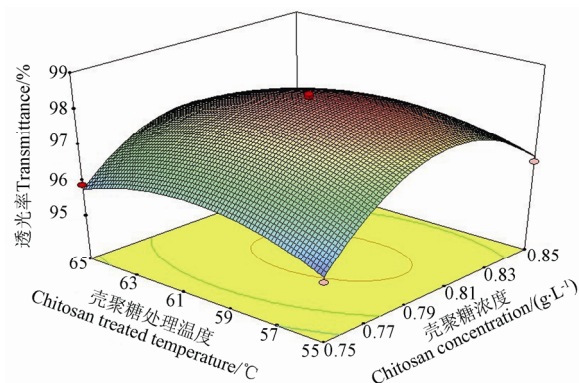
由表 4 还可以看出, 模型的一次项 *A* (浓度) ($P < 0.05$)、*B* (温度) ($P < 0.05$)、*C* (时间) ($P < 0.05$) 影响显著; 二次项 *AA*、*BB*、*CC* ($P < 0.0001$) 影响极显著; 交互项中 *AB* ($P < 0.05$) 影响显著, *AC* ($P < 0.01$) 影响极显著。此结果表明响应值的

变化比较复杂, 各个具体的试验因素对响应值的影响不是简单的线性关系, 而是呈二次关系, 且 3 因素之间存在交互作用。方程中各项系数绝对值大小直接反映各因素对响应值的影响程度, 系数的正、负反映影响的方向。依据系数估计值 $A=0.18$ 、 $B=-0.17$ 、 $C=0.21$, 可知影响因子的主效应顺序为: $C > A > B$ 。

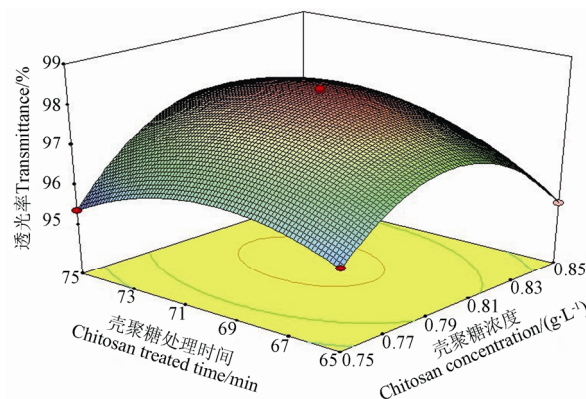
2.4.2 响应面交互作用分析与优化

从回归系数的显著性检验 (表 4) 可以看出, 壳聚糖浓度 (*A*) 和壳聚糖处理温度 (*B*) 的交互效应, 以及壳聚糖浓度 (*A*) 和壳聚糖处理时间 (*C*) 的交互效应对芦柑果汁透光率影响明显 ($P < 0.05$), 通过 Design-Expert 8.0.5 b 软件对其作响应曲面图和等高线图, 结果分别如图 4 所示。

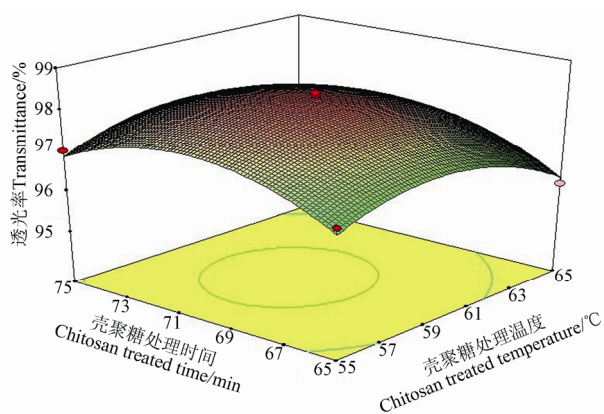
从图 4a 可知, 在所设计的试验条件范围内, 随着壳聚糖浓度与壳聚糖处理温度的不断增大, 芦柑果汁透光率呈现出先上升后下降的趋势, 当壳聚糖浓度在 0.8 g/L、壳聚糖处理温度在 60℃ 附近时, 芦柑果汁透光率有最大值; 从图 4b 可知, 在所设计的试验条件范围内, 随着壳聚糖浓度与壳聚糖处理时间的不断增大, 芦柑果汁透光率呈现出先上



a. 澄清时间为 70 min 时壳聚糖浓度与壳聚糖处理温度对芦柑果汁透光率的影响
a. Effects of chitosan concentration and chitosan treated temperature on transmittance of ponkan juice with chitosan treated time of 70 min



b. 澄清温度为 60℃ 时壳聚糖浓度与壳聚糖处理时间对芦柑果汁透光率的影响
b. Effects of chitosan concentration and chitosan treated time on transmittance of ponkan juice with chitosan treated temperature of 60℃



c. 壳聚糖浓度 0.8 g/L 时壳聚糖处理时间与壳聚糖处理温度对芦柑果汁透光率的影响
c. Effects of chitosan treated time and chitosan treated temperature on transmittance of ponkan juice with chitosan concentration of 0.8 g/L

图 4 各因素之间的响应面图

Fig.4 Response surface graph between factors

升后下降的趋势,当壳聚糖浓度在 0.8 g/L、壳聚糖处理时间在 70 min 附近时,芦柑果汁透光率有最大值。等高线的形状可以反映交互效应的强弱,若两个因素之间交互作用不显著则为圆形,若 2 个因素交互作用显著则为椭圆形^[29],通过观察图 4c 可知壳聚糖处理时间与壳聚糖处理温度之间交互作用不明显。

表 5 壳聚糖澄清处理对芦柑汁主要成分的影响

Table 5 Effect of clarifying agents on biochemical parameters of ponkan juice

参数 Parameters	处理前 Before treatment	处理后 After treatment	保存率 Preserving rate/%
可溶性固形物 Soluble solids/%	11.30±0.15 A	9.50±0.25 B	84.07
总酸 Titratable acidity/(g·100mL ⁻¹)	0.71±0.00 A	0.51±0.00 B	71.83
维生素 C Vitamin C/(mg·100mL ⁻¹)	31.33±3.25 A	21.8±5.28 A	69.58
总酚 Total phenolics/(mg·L ⁻¹)	990.3±8.02 A	557.87±4.67 B	56.33
总黄酮 Total flavone/(mg·L ⁻¹)	614.67±24.79 A	429.67±53.11 B	70.49
果胶 Pectin/(μg·mL ⁻¹)	366±4.70 A	186.24±44.32 B	50.88
总糖 Total sugars/(g·100mL ⁻¹)	11.45±0.35 A	9.18±0.19 B	80.17
蛋白质 Protein content/(μg·mL ⁻¹)	595.53±20.62 A	26.42±0.30 B	4.44

注:大写字母 A 和 B 为 $\alpha=0.01$ 的显著性。

Note: Capital letters A and B mean significant at 1% level.

应用 SPSSV17.0 统计软件中 Duncan 多重比较试验进行显著性分析 ($\alpha<0.01$) 可知芦柑汁经壳聚糖澄清处理后,果汁中主要营养成分除维生素 C 以外都有显著性差异。其可溶性固形物含量减少 15.93%,这是因为澄清过程中糖、酸、维生素等物质受到不同程度的破坏所导致;同时果汁中的总酚、果胶、蛋白质成分因与壳聚糖澄清剂发生絮凝沉淀作用分别减少了 43.67%、49.12%、95.56%而有减少,其中某些酚类物质会引起果汁的褐变和后浑浊,适当除去反而有利于果汁的稳定。

2.6 芦柑汁澄清前后非生物稳定性对比

果汁的非生物稳定性是指果汁中的果胶、淀粉、蛋白质、多酚类物质,使果汁产品在储藏和流

2.4.3 最佳工艺条件确定与验证

根据 Design-Expert 8.0.5 b 软件的 Optimization 程序中 Numerical 分析,可得到最大响应值所对应的因素条件为:浓度 0.80 g/L、温度 59.4℃、70.67 min,模型预测果汁透光率值为 98.3%。为了方便操作调整因素条件为:浓度 0.80 g/L、温度 59℃、71 min 进行 6 组澄清工艺试验来验证模型的有效性,试验结果分别为 97.4%、98.3%、97.8%、97.9%、98.2%、97.6%,则平均试验值 $97.8\%\pm 0.3\%$ 与预测值 98.3%相近,相对误差在 2%以下^[30],证明应用响应面法优化壳聚糖澄清芦柑果汁的关键因子是可行的,优化模型有较好可靠性。在此工艺条件下生产 1 L 澄清果汁需要 1%壳聚糖溶液 0.4 mL,即只需 1g 壳聚糖。而每克壳聚糖 0.15 元,所以生产 1 L 果汁所需费用为 0.15 元,成本低。

2.5 芦柑汁澄清前后营养成分对比

采用优化后的壳聚糖澄清工艺制备芦柑澄清果汁,然后对澄清前后芦柑汁的主要营养成分进行测定,结果如表 5 所示。从表 5 的数据可看出,澄清后果汁相比原果汁,可溶性固形物、总酸、维生素 C、总黄酮、总糖有微量减少的趋势,而总酚、果胶、蛋白质有显著性降低。

通过过程中产生浑浊和沉淀现象。澄清处理后的果汁仍然可能会有少量果胶、淀粉、蛋白质、多酚类物质残存,使果汁产品存在非生物稳定性问题。非生物稳定性问题直接影响商品的货架寿命和感官效果。因此,本试验对澄清处理后的芦柑果汁进行非生物稳定性测定,包括蛋白质稳定性、酒石酸氢钾稳定性、铁稳定性、铜稳定性和氧化稳定性,结果如表 6 所示。

从表 6 可以看出,壳聚糖澄清处理后的芦柑果汁显示的各项非生物稳定性检验均为稳定,表明经壳聚糖澄清处理后的芦柑汁非生物稳定性良好,有利于工业化生产中成本的降低和质量的改善。蛋白质稳定,是因为壳聚糖澄清后除去芦柑果汁中大部

份蛋白质；酒石酸氢钾稳定，可能因为芦柑果汁含有的主要是柠檬酸，酒石酸含量不多，果汁澄清后酒石酸含量更低；无铁性破败和铜性破败，可能是因为澄清过程中壳聚糖对果汁中的带电粒子如 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 有吸附作用，也可从侧面说明在试验中没

有带入过多的金属离子如 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} ；氧化性稳定，说明澄清工艺保留了芦柑果汁中丰富的抗氧化性物质，壳聚糖还提高了果汁的抗氧化性。但为了确保其稳定性更持久，建议在实际工艺流程中适量添加天然抗氧化剂，更加全面有效的防止其氧化性破败。

表 6 壳聚糖澄清对芦柑果汁稳定性的影响

Table 6 Effects of stability on clarification of ponkan juice with chitosan

处理 Treatment	非生物稳定性 Non-biological stability					色泽 Color
	蛋白质稳定性 Stability of protein	酒石酸氢钾稳定性 Stability of potassium hydrogen tartaric acid	铁稳定性 Stability of iron	铜稳定性 Stability of copper	氧化稳定性 Stability of oxidation	
原果汁 Original juice	+	+	+	+	+	浑浊，橘黄色，久置颜色变深， 有沉淀出现
澄清果汁 Clear juice	—	—	—	—	—	清亮透明，金黄色， 久置颜色变化很小有微量沉淀

注：“+”表示不稳定；“-”表示稳定。

Note: “+” means instability; “-” means stability.

3 结 论

1) 壳聚糖澄清芦柑汁的 3 个工艺参数对澄清度的影响效应为：壳聚糖处理时间 > 壳聚糖浓度 > 壳聚糖处理温度。利用软件进行优化分析得到各因素的最佳工艺参数组合为：壳聚糖浓度为 0.8 g/L、处理温度 59℃、处理时间 71 min。在此条件下，芦柑果汁的澄清度预测值为 98.3%，实测值为 97.8%，与预测值相比误差为 0.5%，小于 2%。

2) 通过对壳聚糖澄清芦柑果汁中 6 种营养成分的测定，结果表明：可溶性固形物、总酸、维生素 C、总黄酮及总糖含量均稍有降低，下降率分别为 15.93%、28.17%、30.42%、29.51% 和 19.83%。而总酚、果胶、蛋白质含量则明显降低，下降率分别为 43.67%、49.12%、95.56%。但各项非生物稳定性检验均为稳定，表明壳聚糖的加入在一定程度上增强了芦柑果汁非生物稳定性。

3) 按壳聚糖市场价计，本最佳工艺条件下处理 1 L 果汁所需费用为 0.15 元，成本低，可操作性强。该技术的推广应用，将为企业带来很大的经济效益。

[参 考 文 献]

- [1] 刘谋泉, 孔美兰. 芦柑-苦瓜复合果蔬饮料的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(6): 2713—2714.
Liu Mouquan, Kong Meilan. Research on the technology of beverage-preparation combined with ponkan and balsam pear[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(6): 2713—2714. (in Chinese with English abstract)
- [2] 冯翠萍, 洪建华, 张弋凡. 果汁对亚硝酸盐清除作用的研究[J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2009, 29(3): 261—264.
Feng Cuiping, Hong Jianhua, Zhang Yifan. Scavenging activity of fruit juice on sodium nitrite[J]. Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2009, 29(3): 261—264. (in Chinese with English abstract)

- [3] 王桐. 红枣澄清汁的研制及其副产物综合利用[D]. 无锡: 江南大学, 2005.
Wang Tong. Study on Clear Jujube Juice and Comprehensive Utilization of Byproducts[D]. Wu Xi: Jiang Nan University, 2005. (in Chinese with English abstract)
- [4] 何志刚, 李维新, 林晓姿, 等. 壳聚糖澄清杨梅果酒的影响因素与效果评价[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 199—202.
He Zhigang, Li Weixin, Lin Xiaozhi, et al. Factor analyses and effect evaluation of the clarification of waxberry wine with chitosan[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2006, 22(8): 199—202. (in Chinese with English abstract)
- [5] 张丽霞, 周剑忠, 刘红锦, 等. 双酶水解制备黑莓澄清汁的工艺优化[J]. 农业工程学报, 2010, 26(10): 372—376.
Zhang Lixi, Zhou Jianzhong, Liu Hongjin, et al. Process optimization of preparation of clarified blackberry juice using two commercial enzymes[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(10): 372—376. (in Chinese with English abstract)
- [6] 李景明, 吴军, 王树生, 等. 微孔膜在红葡萄酒过滤澄清中的应用研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(1): 222—225.
Li Jingming, Wu Jun, Wang Shusheng, et al. Clarification of red wine by cross micro flow filtration[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2004, 20(1): 222—225. (in Chinese with English abstract)
- [7] 张晓娟, 吴昊, 王成荣. 壳聚糖金属配合物对冬枣保鲜作用及降解有机磷农药[J]. 农业工程学报, 2013, 29(7): 267—276.
Zhang Xiaojuan, Wu Hao, Wang Chengrong. Effect of metal complex with chitosan on preservation quality and degradation of organophosphorus pesticides in Chinese jujube(*zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao)[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2013, 29(7): 267—276. (in Chinese with English abstract)
- [8] Marguerite Rinaudo. Chitin and chitosan: Properties and applications[J]. Progress in Polymer Science, 2006, 31(7): 603—632.
- [9] Vilai Rungsardthong, Nijarin Wongvuttanakul, Nilada Kongpien, et al. Application of fungal chitosan for

- clarification of apple juice[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41(3): 589—593.
- [10] Jan Oszmiański, Aneta Wojdyło. Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and color of apple juice[J]. *European Food Research and Technology*, 2007, 224(6): 755—762.
- [11] Sapers G M. Chitosan enhance control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration[J]. *Journal of Food Science*, 1992, 57(5): 1192—1193.
- [12] 任建敏. 壳聚糖抗菌抗氧化活性及在食品保鲜中应用壳 [J/OL]. 食品工业科技, <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20120331.1355.040.html>
- Ren Jianmin. The natural antimicrobial and antioxidative activities of chitosans and its application on food fresh-keeping[J/OL]. *Science and Tchnology of Food Industry*, <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20120331.1355.040.html>
- [13] 钟宇, 李云飞. 酸溶剂对葛根淀粉/壳聚糖复合可食膜性能的影响[J]. *农业工程学报*, 2012, 28(13): 263—268.
- Zhong Yu, Li Yunfei. Effects of acid solvents on properties of kudzu starch/chitosan composite edible films[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (Transactions of the CSAE), 2012, 28(13): 263—268. (in Chinese with English abstract)
- [14] 任天宝, 马孝琴, 徐桂转, 等. 响应面法优化玉米秸秆蒸汽爆破预处理条件[J]. *农业工程学报*, 2011, 27(9): 282—286.
- Ren Tianbao, Ma Xiaoqin, Xu Guizhuan, et al. Optimizing steam explosion pretreatment conditions of corn stalk by response surface methodology[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (Transactions of the CSAE), 2011, 27(9): 282—286. (in Chinese with English abstract)
- [15] 邓勇, 章融. 苹果汁复合澄清法和壳聚糖澄清法的优化研究[J]. *中国食品学报*, 1999, 3(2): 46—51.
- Deng Yong, Zhang Rong. College of Food Science, China Agricultural university. study on optimization of compound and chitosan clarifying methods of apple juice[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 1999, 3(2): 46—51. (in Chinese with English abstract)
- [16] 何平, 陈茂彬, 陈柯. 果胶酶对柑橘汁的澄清效果研究[J]. *化学与生物工程*, 2006, 23(11): 39—41.
- He Ping, Chen Maobin, Chen Ke. Study on clarification effects of orange juice by pectinase[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2006, 23(11): 39—41. (in Chinese with English abstract)
- [17] 马兰, 夏俊芳, 张战锋, 等. 基于小波变换的番茄总糖近红外无损检测[J]. *农业工程学报*, 2009, 25(10): 350—354.
- Ma Lan, Xia Junfang, Zhang Zhanfeng, et al. Nondestructive examination of total sugar in tomatoes with near infrared spectroscopy based on wavelet transform[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (Transactions of the CSAE), 2009, 25(10): 350—354. (in Chinese with English abstract)
- [18] 王梦泽, 薛少平, 王佳, 等. 草莓浑浊汁维生素 C 降解动力学模型[J]. *农业工程学报*, 2010, 26(3): 353—357.
- Wang Mengze, Xue Shaoping, Wang Jia, et al. Thermal degradation dynamic model of vitamin C in cloudy strawberry juice during storage[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (Transactions of the CSAE), 2010, 26(3): 353—357. (in Chinese with English abstract)
- [19] 洪涯, 洪添胜, 代芬, 等. 连续投影算法在砂糖橘总酸无损检测中的应用[J]. *农业工程学报*, 2010, 26(14): 380—384.
- Hong Ya, Hong Tiansheng, Dai Fen, et al. Successive projections algorithm for variable selection in nondestructive measurement of citrus total acidity[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (Transactions of the CSAE), 2010, 26(14): 380—384. (in Chinese with English abstract)
- [20] 曹霞敏, 周林燕, 吴继红, 等. 微波辅助提取中 pH 值与脱色对苹果果胶的影响[J]. *农业工程学报*, 2010, 26(14): 410—415.
- Cao Xiamin, Zhou Linyan, Wu Jihong, et al. Effect of pH and decoloring on apple pectin extraction with microwave-assisted[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (Transactions of the CSAE), 2010, 26(14): 410—415. (in Chinese with English abstract)
- [21] 彭凯, 张燕, 王似锦, 等. 微波干燥预处理对苹果渣提取果胶的影响[J]. *农业工程学报*, 2008, 24(7): 222—226.
- Peng Kai, Zhang Yan, Wang Sijin, et al. Effect of microwave drying pretreatment on extraction of pectin from apple pomace[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (Transactions of the CSAE), 2008, 24(7): 222—226. (in Chinese with English abstract)
- [22] 黄婉玉, 曹炜, 李菁, 等. 考马斯亮蓝法测定果汁中蛋白质的含量[J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(5): 160—162.
- Huang Wanyu, Cao Wei, Li Jing, et al. Determination of protein content in juice by coomassie brilliant blue[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2009, 35(5): 160—162. (in Chinese with English abstract)
- [23] 王鸿飞, 刘飞, 徐超, 等. 费莱总黄酮碱法提取工艺及抗氧化活性[J]. *农业工程学报*, 2012, 28(25): 317—321.
- Wang Hongfei, Liu Fei, Xu Chao, et al. Alkali-extraction and antioxidant activity of total flavonoid from *sedum aizoon* L[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* (Transactions of the CSAE), 2012, 28(25): 317—321. (in Chinese with English abstract)
- [24] 范严厉, 陈彦霖. 不同澄清剂对枸杞酒的澄清效果及非生物稳定性的影响[J]. *中国酿造*, 2008(18): 27—29.
- Fan Yanli, Chen Yanlin. Study on the clarification effects of different clarifiers and the influence to the non-biological stability of medlar wine[J]. *China Brewing*, 2008(18): 27—29. (in Chinese with English abstract)
- [25] 丁彦鹏, 李安平, 陈建华, 等. 不同处理措施对红枣酒澄清效果的影响[J]. *食品科技*, 2011, 36(12): 72—76.
- Ding Yanpeng, Li Anping, Chen Jianhua, et al. Effects of different methods to clarify on clarification of jujube wine[J]. *Food Science and Technology*, 2011, 36(12): 72—76. (in Chinese with English abstract)
- [26] 夏文水, 王璋. 壳聚糖澄清果汁作用的研究[J]. *无锡轻工业学院学报*, 1993, 12(2): 111—117.
- Xia Wenshui, Wang Zhang. Chitosan as fining agent for clarification of apple juice[J]. *Chinese Journal of Spine and Spinal Cord*, 1993, 12(2): 111—117. (in Chinese with English abstract)
- [27] 刘崑, 高婷婷, 杨柳. 壳聚糖对葡萄汁的澄清作用[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(3): 18—121.

- Liu Kun, Gao Tingting, Yang Liu. Effects of chitosan on clarification of grape fruit juice[J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(3): 18—121. (in Chinese with English abstract)
- [28] 赵丽, 王萍. 壳聚糖溶液稳定性的研究[J]. 化工时刊, 2006, 20(6): 34—36.
- Zhao Li, Wang Ping. Studies on stability of chitosan solution[J]. Chemical Industry Times, 2006, 20(6): 34—36. (in Chinese with English abstract)
- [29] 张军伟, 傅大放, 彭奇均, 等. 响应面法优化酸水解稻秆制木糖的工艺参数[J]. 农业工程学报, 2009, 25(11): 253—257.
- Zhang Junwei, Fu Dafang, Peng Qijun, et al. Optimized conditions for production of xylose by acid-hydrolysis of rice straw based on response surface methodology[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2009, 25(11): 253—257. (in Chinese with English abstract)
- [30] 陈源, 杨道富, 范丽华, 等. 响应面法优化微波提取茂谷橘橙皮总黄酮工艺[J]. 中国食品学报, 2013, 13(4): 80—86.
- Chen Yuan, Yang Daofu, Fan Lihua, et al. Studies on optimization of the technology for extracting total flavonoids from murcott peel by response surface methodology[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(4): 80—86. (in Chinese with English abstract)

Optimized conditions for clarification of chitosan on ponkan juice

Xu Jian¹, Cai Huinong^{1,2,3}, Ni Hui^{1,2,3}, Du Xiping^{1,2,3}, Huang Gaoling^{1,2,3*}

(1. College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Research Center of Food Microbiology and Enzyme Engineering Technology, Fujian Province University, Xiamen, 361021, China; 3. Research Center of Food Biotechnology of Xiamen City, Xiamen 361021, China)

Abstract: Clarity of juice is an important factor regarding the quality of the juice as it fetches consumer attention for the product in the market. Clarification is a key step in the processing of fruit juice and is most often achieved through micro filtration, enzymatic treatment, or by using common clarifying aids like chitosan, gelatin, bentonite, silica sol, polyvinyl pyrrolidine, or a combination of these compounds. Chitosan (poly-b(1—4)N-acetyl-glucosamine) being poly-cationic in nature, nontoxic, and biodegradable, has been found to be an effective coagulating agent in aiding the removing pectin and other carbohydrates which are present in the juice. The clarification of ponkan juice by means of chitosan was studied in this paper. In order to obtain the optimal reaction conditions of clarification of ponkan juice by commercially inexpensive chitosan, the process conditions of clarification with chitosan on ponkan juice were optimized by a Box-Behnken center-joined experiment design. Taking juice clarification as a dependent variable, the models were obtained by using a response surface analysis of the three factors of chitosan concentration, chitosan treated temperature, and the chitosan treated time based on a single factor experiments. The results indicated that the interaction effect of chitosan concentration and chitosan treated temperature, chitosan concentration, and chitosan treated time on the juice clarification achieved a very significant level. The influencing factors had a complicated relationship with each other. Among these factors, chitosan treated time, chitosan concentration, and the chitosan treated temperature ranked in order. The results from the Box-Behnken center-joined experiment showed that the optimum technological condition for clarification of ponkan juice was adding 0.8 g/L chitosan at 59°C for 71 min and its clarification of the ponkan juice was up to 97.8%. The experiment indicated that there was a good fit between the predicted and the experimental values. The mathematical model was also very accurate. Comparing with the original ponkan juice, the contents of soluble solids, vitamin C, and titratable acidity were almost the same after clarification. Removing the pectin, total phenolics, and proteins improved the non-biological stability of the ponkan juice, because of the phenomenon of flocculating with chitosan. According to the non-biological stability tests, the results of stability tests of protein, potassium hydrogen tartaric acid, iron, copper, and oxidation showed negative, and indicated that the non-biological stability of ponkan juice were strengthened by chitosan to a certain extent.

This article could provide a theoretical basis for clarifying ponkan juice in manufacture. According to the optimal technological condition of the experiment, clarification of 1 L juice only costs 0.15 yuan. The popularization and application of this technology will bring great economic benefits for the industrial production of juice.

Key words: optimization, processing, quality control, chitosan, clarification, ponkan juice, response surface methodology

(责任编辑: 刘丽英)