

柑桔果汁中苦味物质的去除方法

夏 辉 田呈瑞

(陕西师范大学食品工程系 陕西 西安 710062)

摘要:类柠檬苦素和柚皮苷是柑桔果汁中的主要苦味成分,会明显的降低柑桔果汁的品质。本文综述了柑桔果汁的苦味机理,苦味物质的去除方法。

关键词:类柠檬苦素;柚皮苷;柑桔果汁;脱苦方法

中图分类号: S666 文献标识码: A

Methods of Removing Bitter in Citrus Juice

XIA Hui, TIANG Cheng-rui

(Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

ABSTRACT: Limonin and Naringin are the main bitters in citrus juice. They can decrease the quality of citrus juice. This paper has introduced the bitter mechanisms of citrus juice and some debitterizing methods.

Key words: Limonin; Naringin; Citrus juice; Debitterizing methods

1 前言

柑桔类水果包括柠檬、脐橙、甜橙、柚、葡萄柚、蜜柑、红桔、金桔等,是世界上最主要的亚热带水果之一,世界年产量已达 1.03 亿吨,我国的柑桔年产量为 1100 万吨左右,仍呈进一步快速增长态势,随着我国经济和人们生活水平的提高,对柑桔汁的需求量成倍增长,根据农业部柑桔产业发展规划,2010 年前后我国橙汁需求量为 180 多万吨,而目前我国橙汁产量仅 1 万吨左右,差距极大^[1]。迄今为止,柑桔产品的开发和利用已涉及制汁、罐藏、酿酒、糖渍以及芳香油、果胶的提取等方面。然而许多柑桔果实带苦味,其制品加热后变苦等问题严重限制着柑桔加工业的发展,柑桔果汁中含有一定苦味是保持产品特有风味必不可少的,但苦味过强就会影响产品的质量和销售,因此柑桔果汁必须进行脱苦处理。

2 柑桔果汁中的苦味物质

柑桔果汁的苦味来自两方面,其一是柚皮苷的作用;其二是类柠檬苦素的作用。柚皮苷是一类黄酮类化合物,带有强烈的苦味,在水中的苦味阈值为 20×10^{-6} 。据报道,柚皮苷的溶解度随含糖量的增加而升高,如糖酸比为 6:1,其糖度为 32 度时,柚皮苷溶解度为 0.2%;糖度为 56 度时,柚皮苷溶解度为 0.55%。但柚皮苷溶解度又随 pH 值的升高而降低,在 pH 值为 1 时其溶解度为 0.25%;在 pH 值为 5.75 时,其溶解度则为 0.026%,柚皮苷只存在于柚子、温州蜜柑等柑桔品种中,并且在果实各个部位的含量有差别,以白皮层中柚皮苷的含量为最高(2%~3%),果心中柚皮苷的含量次之,果汁中柚皮苷的含量为最少(0.019%~0.039%),没有成熟的柑桔果实中的柚皮苷含量最多。

具有强烈苦味的类柠檬苦素有柠碱、诺米林、宜昌素和诺米林酸四种。引起橙汁和桔汁苦味的主要成分是柠碱。柠碱主要存在于芸香科和谏科植物中,它是三萜烯化合物,已分离鉴定出 37 种,另一种为类柠檬苦素葡萄糖苷化合物,已分离鉴定出 21 种^[2]。据报道,柠碱在水溶液中的苦味阈值约为

1×10^{-6} ,比柚皮苷要苦 20 倍。据研究,虽然在柑桔果实中柠碱的含量极少,但由于柑桔果实中存在柠碱的前体柠檬苦素 A-环内酯(简称 LARL),榨汁时, LARL 从果实中溶出,在酸性条件下, LARL 转化为类柠檬苦素,这就是榨汁前不苦的柑桔果汁榨汁后慢慢变苦的原因,这种现象被称为“后苦味”(delayed bitterness)。

据研究,类柠檬苦素的后苦味现象会由于柑桔中存在的柠檬苦素 D-环内酯水解酶而得以加强,这一现象在冬季收获的脐橙等柑桔中尤其突出,在收获期的早期和中期收获的果实榨汁时经常会发生后苦味现象,而在成熟果实中没有此现象^[2]。

3 柑桔果汁中的苦味物质的去除方法

虽然近十几年来,人们发现柚皮苷、类柠檬苦素具有许多生理功能,但柑桔果汁中含有过量的此类物质,则会产生苦味,严重影响柑桔果汁的特有风味脱除柑桔果汁中苦味物质引起的苦味,这方面的研究至今已陆续报道了一些脱除、遮盖或延迟柑桔制品中的苦味方法。现简述如下。

3.1 吸附法脱苦

利用各种吸附剂吸附苦味物质进行脱苦,采用的吸附剂包括活性炭、活化硅酸镁、硅胶、胶型纤维素酯、离子交换树脂、木质吸附剂等。用吸附法脱除柑桔果汁中的苦味,具有三方面的优点:①处理过程带人到果汁中的杂质少,对果汁原有的维生素、糖分以及其它成分不产生干扰。②处理温度低,可在常温下进行脱苦③处理时间短、设备简单、成本低,可以再生。如活化硅酸镁采用水洗或加热方法可使之活化,活化后能继续去除柠檬苦素和柚皮苷^[2]。

在国外自 70 年代起,相继开展了用树脂脱去柑桔果汁中柠碱和柚皮苷等苦味物质的研究。近年来,欧洲开发出新工艺,采用苯乙烯/二乙烯基苯共聚体、酚/福尔马林浓缩物的颗粒状或球状粒子。这种吸附剂开始广泛地应用于柑桔汁脱苦^[3]。树脂吸附脱苦发展至今,各国相继研制出的大孔树脂脱苦性能日益优异。2000 年 Adami 和 Carlini 等人采用 Amberlite XAD-16 树脂去除柑桔汁中的苦味物质,发现效果非常明显。经 HPLC 检测,树脂对柠檬苦素的吸附率大于 90%^[4],对柚皮苷的吸附率经 2003 年 Lee 和 Kim 研究检测为 78%^[5];

2002年 Maria 等人采用 Amberlite XAD-4, XAD-7 和 XAD-16 三种苯乙烯二乙烯基苯的共聚物(SVDB)对柑桔汁进行吸附脱苦,研究根据树脂对柠檬苦素选择吸附的亲因子和分离因子分析,发现三种树脂对柑桔汁中各成分吸附能力顺序依次为:柠檬苦素>>柚皮苷>类胡萝卜素=还原糖。树脂吸附柠檬苦素的能力远远超过柚皮苷,主要因为前者比后者具有更强的疏水性。研究还发现仅 XAD-7 对柠檬苦素的脱除率最高,并且对其他营养成分影响最少^[2]。

在国内,利用吸附法去除柑桔汁中苦味物质进行的研究旨在挑选优良的国产树脂。1997年吴厚玖等人对国内大批树脂进行脱苦研究,筛选出三种国产树脂对柚皮苷都具有很好的吸附和解吸性能,可用于柚苷的回收和纯化,以及柚和葡萄柚汁的脱苦^[6];2001年孙志高等人研究发现选用的大孔吸附树脂对柠檬苦素的脱除率均大于70%,对柚苷的脱除率均大于80%。大孔吸附树脂对柠檬碱和柚苷这两种苦味成分的脱除效率均明显优于离子交换树脂^[7]。

但是,吸附法脱苦也存在一些缺陷,如活性炭等吸附剂会降低柑桔果汁的品质,McCullch 发现活性炭对脐橙汁中的柠檬和有机酸有一定的吸附作用,处理后的果汁由于 pH 的上升,引起了一些化学反应,因此使产品产生了硫化物的气味;程绍南等人以国产 HB801 树脂作为吸附脱苦剂,发现其对供试各品种果肉原汁的柚皮苷和柠檬碱的脱除率分别达到100%和98.8%,对供试各品种的全果原汁的柚皮苷和柠檬碱的脱除率分别达90.9%和100%,但同时对 Vc 的吸附量也高达50%^[2]。

3.2 酶法脱苦

酶法脱苦用于柑桔果汁脱苦的酶按作用对象可分为黄烷酮糖苷类化合物脱苦酶和柠檬苦素类化合物脱苦酶。

作用于黄烷酮糖苷类化合物的脱苦酶和脱苦机理:这类酶主要是柚皮苷酶,它是由 α -L-鼠李糖苷酶和 β -D-葡萄糖苷酶组成。 α -L-鼠李糖苷酶可将柚皮苷水解成樱桃苷和鼠李糖,樱桃苷的苦味约为柚皮苷的1/3,因此苦味有所减轻。樱桃苷可在 β -D-葡萄糖苷酶的继续作用下生成无苦味的柚皮素和葡萄糖。2001年 Chien 等用高效液相色谱法证实这一水解顺序,并指出仅有 β -D-葡萄糖苷酶存在时,柚皮苷不能被水解^[8]。

作用于柠檬苦素类化合物的脱苦酶和脱苦机理:这类酶主要有柠檬 A-环内酯脱氢酶,柠檬苦素环氧酶,柠檬苦素醇脱氢酶,反式消除酶,乙酰基裂解酶等。据研究,在柑桔汁加工中出现的“苦味滞后”(Delayed Bitterness)现象,是由于柑桔榨汁后,在酸以及柠檬苦素 D-环水解酶的作用下,柠檬苦素的前体柠檬 A-环内酯转化为柠檬苦素^[2]。因此,若能将柠檬 A-环内酯或柠檬苦素转化为其它物质就有可能减轻柑桔汁中的苦味。

固定化酶有柠檬苦素类脱苦酶,其最适 pH 值都偏向碱性,如果直接固定化用于脱苦,必须先调节柑桔汁的 pH 值,这就会使柑桔汁的品质变劣。而柚皮苷酶则不同,其最适 pH 值与柑桔汁的自然 pH 相接近,因此,在用固定化酶对柑桔汁其行脱苦时使用最多的是柚皮苷酶。1998年 Soares 将酶固定在醋酸纤维上。其实验结果都表明,用固定化酶处理后的果汁苦味明显降低^[9,10]。

固定化细胞柠檬苦素类脱苦酶可以将产生这些酶的细菌细胞固定化,以用于柑桔果汁的脱苦。球形节杆菌含有柠檬苦素 D-环水解酶和柠檬 A-环内酯脱氢酶,可将柠檬苦素转化成 17-脱氢柠檬酸 A-环内酯,球形节杆菌 II 含有柠檬苦素醇脱氢酶,可将柠檬苦素转化成柠檬苦素醇,束红球菌含有

柠檬苦素醇脱氢酶和乙酰基裂解酶,在柠檬苦素醇脱氢酶的作用下可将柠檬苦素转化成柠檬苦素醇,在乙酰基裂解酶的作用下将诺米林转化成黄柏酮。1985年 Hasegawa 等先后将球形节杆菌、球形节杆菌 II、束红球菌固定于丙烯酰胺上用柑桔汁的脱苦,其结果显示,在室温下,30 ml 的果汁以 1 ml/min 的速度通过 1.5 g 固定后的球形节杆菌,使用 19 次后仍可将柠檬苦素、诺米林分别由 22.0 ppm、20.0 ppm 降至 11.1 ppm 和 9.1 ppm,同样的 1.84 g 固定后的球形节杆菌 II 使用 21 次后,仍可将柠檬苦素由 23.0 ppm 降至 10.1 ppm。用 4.0 g 固定后的束红球菌处理 50 ml 的柑桔汁,使用 10 次后仍可将柠檬苦素、诺米林分别由 15.8 ppm、23.0 ppm 降至 7.2 ppm 和 0 ppm,束红球菌对于脱除诺米林似乎更为有效,使用 24 次后仍可果汁中的诺米林由 23.0 ppm 降至 6.0 ppm^[11,12]。

从目前的发展趋势来看,酶法脱苦具有专一性强、对柑桔果汁风味和营养成分无破坏、效果好、成本低等特点,是目前较为理想的脱苦方法。柚皮酶用于柑桔果汁的脱苦已有许多报道。汪钊等人用黑曲霉变异株 ZG86 进行柚皮酶固体发酵,利用此酶对柑桔果汁脱苦,可使柚皮苷含量大幅下降,苦味脱除率达90%。同时发现 pH 为 3.6~4.6 时脱苦效果较好,而一般柑桔果汁的自然 pH 为 3.6 左右,因此脱苦时可以不调节 pH^[2]。2004年王鸿飞等实验研究发现,在 pH 值为 4、温度为 60℃、柚皮酶用量 0.5g/L、作用 90min 对柑桔果汁进行脱苦,脱苦率为 90.55%^[13]。徐仲伟等人采用 150u 和 180u 的固定化柚皮酶水解柚皮苷,苦味脱除率分别为 41.0% 和 49.7%,并且该固定化酶比自然酶具有更广泛的 pH 和温度适应范围,以及较高的热稳定性,同时他们发现,柑桔果汁用固定化酶脱苦处理后,未产生任何异味^[14]。

3.3 改善榨汁方法脱苦

葡萄柚生产时会有微量(0.003%~0.007%)柚皮苷进入葡萄柚原汁中,而一旦葡萄柚原汁的柚皮苷含量大于0.01%,就会苦不堪食。所以在制造葡萄柚原汁时不允许采用过高的榨汁压力,同时要严格控制原汁果肉含量,在可能条件下采用离心分离作业去除果肉颗粒。应采取适宜的榨汁方法,避免榨汁时苦味物质的流出和混入^[15]。

3.4 加热脱苦法

柚皮苷极能溶于热水,因此通过加热处理,使柚皮苷溶出,并洗脱即可。但这一方法不适用于果汁,即果汁加热后会增加苦味。因此在加工苦味少的果汁时尽量控制加热温度,而且尽可能避免果浆的混入。对柑桔进行脱苦时,首先要将不溶性柚皮苷转化成可溶性柚皮苷。将刺碎的果肉在 60~65℃处理 8min,使 90% 的柚皮苷转化成可溶性。同样将果皮在稀盐液中加热,重复 2~3 次,苦味就明显减少了^[16]。

3.5 β -环糊精脱苦法

β -环糊精能与不同的化学成分形成包含络合物,在食品工业上作为增溶剂、乳化剂,具有较大的应用潜力。据 Miaki 研究报道, β -环糊精能具有选择性地包埋柑桔类果汁的柠檬碱和柚苷,从而降低柑桔果汁的苦味,而对糖类、Vc 及其它营养成分并无太大影响^[17]。

美国专利报道,采用 β -环糊精对柑桔汁脱苦时,其添加量为 0.05%~0.8% 时效果最好,但浓度不能超过 1%,以免重新析出。徐仲伟等研究表明,添加 0.5% β -环糊精时柠檬碱、柚苷的脱除效率分别为 49.1% 和 47.8%,采用 β -CD 法处理,3d 后测定汁内总可溶性固形物(TSS),总可滴定酸(TAA),Vc 以及游离氨基酸含量与对照组无显著差异^[18]。

3.6 添加苦味抑制剂法

新地奥明是一种与脱氧新陈皮苷结构相似的有效的柠檬苦味抑制剂,它能提高柑桔果汁的柠檬苦味阈值,而且对柚苷同样有效,能极大程度地降低果汁中的柠檬苦味。果汁中加入 50~150mg/kg 新地奥明,即可降低苦味,改善果汁风味^[19]。

3.7 乙烯利代谢脱苦法

Maier 发展了代谢脱苦法,它与柑桔柠檬碱的代谢密切相关。方法是将整果置于 20mg/kg 的乙烯气体中处理 3h,然后再于室温下在空气中存放 5d,分析测得果实的汁液中柠檬苦味可降低 44.9%,但此法对柚苷苦味的影响很小^[18]。

3.8 超临界 CO₂ 脱苦

1987 年, Kimall 等人尝试了使用超临界 CO₂ 来脱除柑桔汁中的柠檬苦素。其研究表明,操作压力对柠檬苦素的脱除具有显著影响,而温度对柠檬苦素的脱除影响不大。在 400℃ 和 37.9 MPa 时,可将果汁中的柠檬苦素由 17.5 mg/L 降至 1mg/L,而对果汁中的其它营养成分没有影响^[20]。

3.9 膜技术脱苦

膜技术脱苦合成膜按照分离原理的不同可分为:滤膜和溶解-扩散膜。滤膜分离物质的原理是根据分子量的大小,小于膜孔径的分子则能通过,而大于膜孔径的分子则被截流。而溶解-扩散膜则不同,它的膜表面没有孔,它对物质的分离是根据溶质分子在膜中的溶解性和扩散性。利用溶解-扩散膜脱苦时,膜的一侧流动的是果汁,另一侧则流动的是 pH 为 12~13 的 NaOH 溶液。柠檬苦素是非极性分子呈电中性,因此它可以溶解在液膜中,然后再通过扩散作用进入溶液中。在果汁中除了存在柠檬苦素外,还存在其水解产物柠檬酸,但在果汁正常 pH 3.2 时,其羧基被质子化,此时柠檬酸呈电中性也能溶解在非极性疏水膜中,然后再通过扩散作用进入 NaOH 溶液中。通过膜的柠檬苦素和柠檬酸在 NaOH 溶液中迅速发生解离,生成带有负电荷的柠檬酸。而带有负电荷的柠檬酸则不能溶解于疏水性液膜中,因此也就不能重新返回果汁中去。据研究,在 25℃ 时,溶解-扩散膜能将溶液中的柠檬苦素的 55ppm 降至 11ppm 或从 40ppm 降至 8ppm,营养成分的损失不超过 5%^[21]。

3.10 基因工程脱苦

在生产中所使用的柑皮苷酶是由 α -L-鼠李糖苷酶和 β -D-葡萄糖苷酶组成的混合酶制剂,这就有可能因为某一种酶活动的下降或丧失而造成整个酶制剂活力的下降或丧失。据研究, α -L-鼠李糖苷酶和 β -D-葡萄糖苷酶对底物的水解速度并不相同,前者比后者具有更高的水解速度。因此,若能将两种酶加以分离分别使用,将会更经济更有效的使用酶制剂和便于工业化生产。2000 年 Lvorlov 等人将编码 α -L-鼠李糖苷酶的基因进行克隆并导入埃希氏大肠杆菌中,该基因在埃希氏大肠杆菌中成功的进行了表达^[22]。1988 年, Hasegawa 等人发现在某些种类的柑桔树中存在一种柠檬类苦素-UDP-葡萄糖转移酶,它能在柠檬类苦素上连接一个葡萄糖而将柠檬苦素转化为不苦的柠檬类苦素葡萄糖苷。1995 年 Hasegawa 等人又找到了编码该酶的基因,他们准备利用基因工程将该基因引入柑桔细胞中,以希望达到自然脱苦^[23]。

4 展望

研究人员已经设计了许多柑桔类果汁中苦味物质的脱除方法,但目前尚没有完全令人满意的方法。当前较为普遍使用的是吸附法和添加苦味抑制剂法,然后是酶(固定化酶)脱苦法。固定化酶脱苦法具有其它方法所没有的高效、快速及高选择性,将是今后柑桔类果汁脱苦的主要方法。但考虑到

生产的实用性和脱苦效率,采用乙烯利浸果和 β -环糊精处理果汁相结合的综合脱苦方法将会很好地发挥两种甚至多种脱苦方法的协作效应,提高脱苦效率,同时又可以避免酶法脱苦操作上的复杂性,也具有一定的发展前景。

参考文献

- [1] 孙志高. 柑桔果实主要苦味成分的分布及橙汁脱苦技术研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 146~148
- [2] 吴长庆. 柑桔果汁中的苦味物质及其去除方法[J]. 中国商办工业, 2000, (2): 53~54
- [3] RIBEIROMHL, SILVEIRAD, FERREIRADIASS. Selective adsorption of limonin and naringin from orange juice to natural and synthetic adsorbents [J]. European Food Research and Technology, 2002, 215(6): 462~471
- [4] P. Mishra and R. kar. Treatment of grapefruit juice for bitterness removal by amberlite IR120 and amberlite IR400 and alginate entrapped naringinase enzyme [J]. Journal of Food Science, 2003, 68(4): 1229~1235
- [5] LEEH S and KIM. Effects of debittering on red grapefruit juice concentrate [J]. Food Chemistry, 2003, 82(2): 177~180
- [6] 吴厚玖, 焦必林, 王华, 等. 几种树脂对柚苷的吸附作用研究[J]. 食品与发酵工业, 1997, (4): 37~39
- [7] 孙志高, 黄学根, 焦必宁, 等. 柑桔果实主要苦味成分的分布及橙汁脱苦技术研究. 三峡库区特色产业生态经济系统建设关键技术研究示范(2001BA604A04)
- [8] 罗自生. 柑桔类果汁中柠檬碱的脱苦方法[J]. 饮料工业, 1998, 1(4): 2~3
- [9] Soares N F. et al. Naringinase immobilization in packaging films form reduction naringin concentration in grapefruit juices [J]. Food Science, 1998, (1): 63~65
- [10] Hasegawa S. et al. Reduction of nomilin bitterness in citrus juice and juice serum with Arthrobacter globiformis cells immobilized in acrylamide gel [J]. Food Chemistry, 1983, 31: 178~180
- [11] Hasegawa S. et al. Solutions to limonin bitterness problem of citrus juices [J]. Food Technology, 1983, 37(6): 73~77
- [12] Hasegawa S. et al. Limonoid debittering of citrus juice by immobilized cell of coyne bacterium fascians [J]. Food Science, 1985, 50: 330~332
- [13] 王鸿飞. 柚皮苷酶对柑桔类果汁脱苦效果的研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(6): 174~177
- [14] Chien Po, Shen Fu. Monitoring enzymatic debittering in grapefruit juice by high performance liquid chromatograph [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2001, 9(2): 115~120
- [15] 倪元颖, 张欣, 葛毅强, 等主编. 温带、亚热带果蔬汁原料及饮料制造[M]. 中国轻工业出版社, 1999: 24~25
- [16] 胡小松. 现代果汁加工工艺学[M]. 中国轻工业出版社, 1995: 62~63
- [17] 孙兰萍. 柑桔类果汁苦味物质的脱除研究[J]. 食品工业科技, 2003, (1): 97~100
- [18] LENGGEHAGERT. Ultra filtration and adsorb technologies combined produce top-grade concentrates and juice[J]. Food and Machinery, 2000, (5): 33~34
- [19] 乔海鸥. 柑桔类果汁的脱苦技术[J]. 包装与食品机械, 2003, 21(5): 27~30
- [20] Anon. Membrane-based process for debittering citrus juice [J]. USDA sample proposal. 2001: 1~4
- [21] Anon. Gene found for keeping citrus juice sweet. Florida Grower [J]. 1999, 92(1): 13
- [22] Woos. et al. Citrus bitterness be gone. Agriculture research [J]. 1995, 43(8): 22~23
- [23] 高彦祥. 吸附树脂在柑桔汁脱苦中的应用[J]. 饮料工业, 2005, 8(3): 1~4