

# 檬果汁低溫殺菌加工 I. 果膠酯酶不活化條件之探討<sup>1</sup>

## Mango Juice Pasteurizing Processing. I. Study on the Inactivation of Pectinesterase<sup>1</sup>

林靜宜<sup>2</sup> 王子慶<sup>3</sup> 吳明昌<sup>2</sup> 張鴻民<sup>4</sup> 廖俊旺<sup>5</sup>

by

Chin-Yi Lin<sup>2</sup>, Tzu-Ching Wang<sup>3</sup>, Ming-Chang Wu<sup>2</sup>, Hung-Ming Chang<sup>4</sup> and Jiunn-Wang Liao<sup>5</sup>

關鍵字：低溫殺菌、果膠酯酶、D 值、Z 值、兩成分系統一次動力學模式

**Key words:** Pasteurization, pectinesterase, D value, Z value, first-order kinetic model of two-component system

**摘要:**本實驗以本地種檬果為原料，應用兩成分系統的一次動力學模式來探討以果膠酯酶(pectinesterase, PE)為指標之檬果汁巴斯德殺菌的殺菌條件，將實驗結果的數據以 Mathcad 軟體計算出該模式中必須的參數，可以得到檬果汁中熱穩定及熱不穩定 PE 含量分別為 41% 及 59%，當殺菌溫度範圍在 80~85°C 時熱穩定及熱不穩定果膠酯酶耐熱性曲線的 Zs 及 Zl 平均值分別為 14.65°C 及 15.94°C。經由模式計算和實驗的檬果汁線性巴斯德耐熱曲線在 80 至 90°C 有良好的一致性。

### 前 言

在食品加工上，常以加熱處理來使食品中之有害微生物死滅或至少達到不危害人體的標準，另一目的則為使食品本身或微生物酵素不活化，以維持產品品質。因此，熱處理條件的選擇適當與否，對產品品質、製成率及安全性影響甚巨。由於果汁多屬高酸性食品，故在熱加工上常採用低於 100°C 下之商業低溫殺菌處理(pasteurization)。

果膠酯酶(pectinesterase, PE)屬於果膠酶之一種，廣泛存在於高等植物之根、莖、葉和果實等組織中(Forgarty and Kelly, 1983)，其作用是將果膠質單元分子的半乳糖醛酸 C-6 羧基上的甲基酯水解，產生游離羧基和甲醇，降低果膠質的酯化度。一般而言，高等植物 PE 之反應最適 pH 值約在 6-9 之間，以柑橘為例，當 PE 在 pH5-8 間較穩定，而在 pH 低於 3 或高於 10 時，在 10 分鐘內就完全失去活性(Manabe, 1973)。而 PE 的最高活性溫度約在 60°C 左右，屬於中溫或較耐高溫的酵素。

前人曾應用對數線性模式來決定柑橘果汁的殺菌條件，以防止因 PE 作用而造成的黏度下降，並

- 
1. 本研究承國科會補助(NSC 89-2214-E-020-001)，謹此致謝。This project was supported by National Science Council, R.O.C.
  2. 國立屏東科技大學食品科學系前研究生、教授(通訊作者)。Former Graduate Student and Professor (Corresponding author), respectively. Dept. of Food Science and Technology, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan, ROC.
  3. 鳳山熱帶園藝試驗分所助理研究員。Assistant Researcher, Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI, Fengshan, Kaohsiung, Taiwan, ROC.
  4. 國立台灣大學食品科技研究所教授。Professor, Graduate Institute of Food Science and Technology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC.
  5. 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所副研究員。Associate Researcher, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute Council of Agriculture (TACTRI/COA).
  6. 本文於民國 91 年 7 月 17 日收到。Date received for publication: July 17, 2002.

使腐敗微生物不活化，藉以提高貯藏之安定性(Eagerman and Rouse, 1976)。Versteeg (1979)證實在 Navel 柑橘果汁中有 PE1、PE2 及高分子量之三種類型的 PE 存在，且分別可在不同之溫度下被不活化，此結果顯示 PE 具有不同之熱穩定特性，其中高分子量之 PE 被歸類為熱穩定性 PE (Versteeg et al., 1980)。由於柑橘中含有多種型態之 PE，故可預期不同品種柑橘果汁間的殺菌條件可能互異，此推測應也可能發生於其他之果汁熱加工上。檸檬果(*Mangifera indica* L.)屬於漆樹科(Anacardiaceae)，原產於東南亞及南亞地區，台灣最早於西元 1561 年首次引進，栽培品種以柴檳為主，即一般所稱的「土檸檬」(劉, 1995)。成熟的檸檬果顏色鮮豔，風味獨特，營養價值高，富含 Vitamin A, B, C 等(行政院衛生署, 1998)，其所製得之果汁甚受國人喜愛，但其產品之品質卻會因黏度下降等因素而有降低之現象，主要之原因係殺菌時未能將果汁中之 PE 完全不活化之故。此外，在許多果汁巴斯德殺菌製程中之條件主要是針對 PE，此乃因為使 PE 不活化之條件，足以使摻雜於果汁中之大部分腐敗性微生物不活化。已往之研究常常只將 PE 當成一因子之特性來探討，可是在許多水果中之 PE 包括熱穩定(thermostable)與熱不穩定(thermolabile)兩型，故其熱加工特性不能以單一之 D 值或 Z 值來探討，必須將熱穩定與熱不穩定之 D 值和 Z 值一併來探討，即以兩成分系統的一次動力學模式(First-order kinetic model of a two-component system)來探討檸檬果汁之巴斯德殺菌中 PE 活性。本研究目的即要利用此兩成分系統的一次動力學模式配合檸檬果汁品質特性分析，找出更適當的處理條件，希望能對檸檬果汁製程及品質改進有所助益。

## 材料與方法

### 一、檸檬果汁製備

成熟檸檬果原材料係購自屏東縣內埔鄉當地市場之本地種檸檬果，經過清洗、去皮後壓榨並篩濾，並加入蒸餾水稀釋至 30%，再以蔗糖及檸檬酸調整糖酸比為 40，殺菌條件為 80°C、50sec，85°C、40sec 或 90°C、30sec，並經無菌充填包裝，封袋，此即為檸檬果汁樣品。

### 二、果膠來源

果膠(代號：P-9436)購自美國 Sigama 公司。

### 三、果膠分解酵素活性測定

#### (一)pectin-salt 溶液的配製

取 5.85g 氫氧化鈉，加入 5g 之 citrus pectin，以蒸餾水溶解定量至 1 公升，用保鮮膜蓋上，放入 4°C 冰箱保存備用，使用時，從冰箱取出，回溫至室溫並調整 pH 為 7.5。

#### (二)酸鹼滴定

採用 Lee 和 MacMillan(1968)之方法，並加以修正，步驟如下：取檸檬果汁 2g 並加 5mL 的蒸餾水後將 pH 調至 7.5，再取上述 pectin-salt 溶液 15mL 混合，靜置 1 小時後以酸鹼自動滴定裝置(PHM290 pH-Stat Controller Meter Lab)，用 pH-stat 之方式，滴定反應所產生之羧基(-OH)，將反應液維持在滴定終點 pH 7.5，紀錄所消耗的 0.01N 氫氧化鈉溶液毫升數。而 PE 活性殘存率(%)=(1-某溫度殺菌時間之 NaOH 滴定毫升數/未殺菌時之 NaOH 滴定毫升數)。

### 四、動力模式中溫度與時間之關係

兩成分系統的一次動力學模式是由作者提出(Chen and Wu, 1998)，方程式及參數代表之意義如下：

$$A/A_0 = \alpha \times 10^{-\theta/D_s} + (1-\alpha) \times 10^{-\theta/D_l} \dots\dots\dots(1)$$

A:在  $\theta$  時間的酵素活性

$A_0$ :最初的酵素活性

$\alpha$ :熱穩定酵素的含量

$1-\alpha$ :熱不穩定酵素的含量

$\theta$ : 巴斯德殺菌的時間

Ds: 在特定的溫度下降低 90% 熱穩定酵素活性所需的時間

Dl: 在特定的溫度下降低 90% 熱不穩定酵素活性所需的時間

並以下述 Arrhenius-type 的 D 值被應用來決定巴斯德殺菌的溫度與時間

$$D_s = D_{sr} \times 10^{-(T-Tr)/Z_s} \dots\dots\dots(2)$$

$$D_l = D_{lr} \times 10^{-(T-Tr)/Z_l} \dots\dots\dots(3)$$

Tr: 參考溫度

Dsr: 在 Tr 時，降低 90% 熱穩定酵素活性所需的時間

Dsl: 在 Tr 時，降低 90% 熱不穩定酵素活性所需的時間

Z: 表示某細菌的 D 值變化 10 倍或 1/10 倍時之溫度差距。

五、計算方法

在方程式(1)、(2)、(3)中需解出 5 個參數，從實驗數據並應用 Mathcad 程式(Mathsoft Inc., 1986) 決定了參數  $\alpha$ 、Ds、Zs、Dl 及 Zl，然後最適當的  $\alpha$ 、Ds、Zs、Dl 及 Zl 值被使用來預測耐熱性曲線。

結果與討論

一、運用 Mathcad 軟體求取兩成分系統的一次動力學模式中參數

(一) 每一組溫度 D 值之計算

$$\text{因 } 10^{-\theta/D_s} = S \quad 10^{-\theta/D_l} = L$$

$$\text{所以 } D_s = -\theta / \log S$$

$$D_l = -\theta / \log L$$

(二) 每一組溫度 Z 值之計算(與 90°C 比較)

$$\text{由 } D_s = D_{sr} \times 10^{-(T-Tr)/Z_s} \text{ 求 } Z_s$$

$$\text{令 } -(T-Tr)/Z_s = C$$

$$\text{假設 } C = 1$$

條件 因 Ds 已知，Dsr 為 90°C 之 Ds

$$T: \text{ 已知溫度 } \quad Tr \text{ 為 } 90^\circ\text{C 之溫度 } \quad C > 0$$

$$C_s = \text{Find}(C)$$

結果  $C_s = C =$  電腦求出之值

$$Z_s = -(T - Tr) / C$$

因 T、Tr 已知且 C 也已求出如此即可求出 Zs

(三) 電腦程式運算

$$A/A_0 = \alpha \cdot 10^{-\theta/D_s} + (1-\alpha) \cdot 10^{-\theta/D_l}$$

$$\text{且 } 10^{-\theta/D_s} = S \quad 10^{-\theta/D_l} = L$$

則最短加熱時間之程度為

$$A/A_0 = \alpha S + (1-\alpha) L$$

每更改一次加熱時間則計算程式變為

$$A/A_0 = \alpha \cdot S t / \theta + (1-\alpha) \cdot L t / \theta$$

其中 A、A0、t、 $\theta$  均為已知

$$\text{假設 } S = 1 \quad L = 1 \quad \alpha = 1$$

帶入已知各組數據進行運算

$$S > 0 \quad L > 0 \quad \alpha > 0$$

$$\begin{pmatrix} S1 \\ L1 \\ \alpha 1 \end{pmatrix} = \text{Find}(S, L, \alpha)$$

結果  $S1 = S =$ 電腦程式所求出之值  
 $L1 = L =$ 電腦程式所求出之值  
 $\alpha 1 = \alpha =$ 電腦程式所求出之值

## 二、動力模式中溫度與時間之關係

在食品殺菌理論中，D 值的定義為某細菌懸浮液暴露在某溫度下，加熱處理使其菌數減少 90% 所需之時間；Z 值的定義為某細菌的 D 值與溫度變化 10 或 1/10 倍時之溫度差距；耐熱曲線(Thermal destruction curve)的定義為以某一細菌孢子之 D 值的對數值為縱軸，加熱處理溫度為橫軸，所畫成之 D 值與溫度之關係的曲線，此三者均屬於構成食品熱加工之殺菌條件。本研究室曾報導對數線性模式不適用在柑橘果汁中 PE 耐熱性曲線之試驗中，並進一步發展出比傳統對數線性模式準確而可靠的兩成分系統的動力學模式來探討較適當的殺菌條件(Chen 及 Wu, 1998)。表 1 為檸檬汁不同的溫度與時間處理之 PE 殘存活性，將不同的殺菌時間及 0.01N NaOH 消耗掉的毫升數代入公式(1)中，即可求出  $\alpha$ 、 $(1-\alpha)$ 、Ds 及 DI 值，再將 Ds 及 DI 代入公式(2)及(3)中，即可求出 Zs 及 Zl。由表中可知，在一定加熱溫度下隨時間之增加，PE 殘存活性會隨之減少。

表 2 為利用在溫度 80°C、85°C 及 90°C 並配合不同的殺菌時間處理後的實驗數據所求出動力模式的參數，由此可推知檸檬汁中熱穩定型 PE 約佔 41% 及熱不穩定型 PE 約佔 59%；熱穩定型 PE 之 D 值(Ds)於 80、85 或 90°C 時分別為 187.835、91.464 或 44.311 秒，而熱不穩定型 PE 之 D 值(DI)於 80、85 或 90°C 時則分別為 24.526、11.079 或 5.098 秒；在 80~85°C，熱穩定型 PE 之平均 Z 值(Zs)為 14.65°C，而熱不穩定型 PE 之平均 Z 值為 15.94°C。Labib 等(1995)發現經由試驗結果計算檸檬 PE 的 Z 值為 18.5°C，與其他蔬果相較是屬於耐熱性較高之 PE，利用電泳分析得知檸檬中存在有多種型態之 PE，且在較低溫度時，PE 熱不活化特性呈非線性趨勢，學者因此推測乃是因為檸檬汁中含有多種型態 PE 所造成的。本研究除了可計算出土檸檬汁之 Ds 與 DI 外，更可精確計算出 Zs 與 Zl 值。

本研究利用商用 Mathcad 軟體迅速解出方程式(1)，並協助解出方程式(2)及(3)，因此，將實驗的數據應用 Mathcad 軟體代入兩成分系統的一次動力學模式即可決定  $\alpha$ 、Ds、DI 及 Zs、Zl 值。在 80~90°C 的溫度範圍內，利用 D 值對溫度作對數圖可分別產生熱穩定型(Ds)及熱不穩定型(DI)PE 的直線(圖 1)，由圖中可知 PE 活性呈線性減少且 Ds 大於 DI，當溫度愈低，則 D 值愈大，而 80°C-50sec、85°C-40sec 或 90°C-30sec 之加熱條件均可達到商業殺菌的目的，且以計算所得數據之曲線和實驗所得數據之曲線間有良好的一致性，這些結果與食品殺菌理論相符合。因此可知，兩成分系統的一次動力學模式可適用於檸檬果汁的殺菌處理，並且比傳統的對數線性模式只將水果中的 PE 當作單一成分探討更為適當。以此種技術應用在商業果汁殺菌上，可依我們販售商品之所需不同的貯藏時間，來求得殺菌時更適當的溫度及時間。

## 三、結論

本試驗由稀釋 30% 檸檬汁 PE 之耐熱性曲線的圖形中可知 PE 活性在熱加工過程中呈線性減少，熱穩定型 PE 之 D 值(Ds)大於熱不穩定型 PE 之 D 值(DI)，當溫度愈低，則 D 值愈大，這些結果與殺菌理論相符合，因此兩成分系統的一次動力學模式可適用於檸檬果汁的殺菌處理上。兩成分系統的一次動力學模式將 PE 分成熱穩定性及熱不穩定性兩型，經由實驗證實此模式成立，並且比過去傳統的對數線性模式之只將果汁中 PE 視為單一因子來探討更為恰當。檸檬汁中熱穩定型及熱不穩定型 PE 含量

分別為 41% 及 59%，當殺菌溫度範圍在 80~85°C 時，耐熱性曲線中熱穩定型 PE 的平均 Z 值(Zs)為 14.65°C，而熱不穩定型 PE 的平均 Z 值(Zl)為 15.94°C，這些結果不但符合殺菌理論更具有實用上的價值。

表 1. 不同之溫度及時間處理對檬果汁果膠酯酶殘存活性的影響

Table 1. Effects of temperature-time treatments on the pectinesterase residual activity of in mango juice.

Temp. (°C)	Time (sec)	NaOH (mL)	Residual activity (%)
90	0	0.890z	100
	10	0.315	35.39
	20	0.185	20.78
	30	0.110	12.35
85	0	0.890	100
	20	0.320	35.95
	30	0.245	27.52
	40	0.190	21.34
80	0	0.890	100
	30	0.382	42.92
	40	0.327	36.85
	50	0.285	32.02

<sup>z</sup> An average of five replicated samples.

表 2. 檬果汁中熱穩定性與熱不穩定性果膠酯酶的比例、D 值及 Z 值

Table 2. Thermostable and thermolabile pectinesterase (PE) distribution, D value and Z value of pectinesterase in mango juice.

Temp. (°C)	PE component		D value (sec)		Z value (sec)	
	$\alpha^z$	1- $\alpha^z$	Ds	Dl	Zs	Zl
90	0.412	0.588	44.311	5.098	—	—
85	0.416	0.584	91.464	11.079	14.832	15.886
80	0.416	0.584	187.835	24.526	14.487	15.999

$\alpha$  : thermostable pectinesterase content. 1- $\alpha$  : thermolabile pectinesterase content.

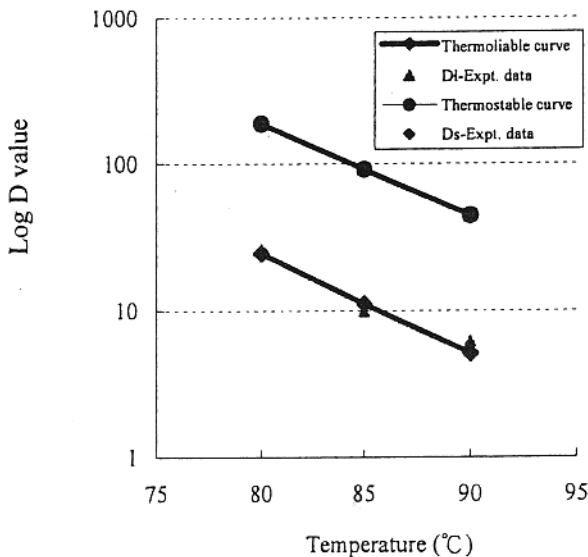


圖 1. 檬果汁中果膠酯酶之耐熱性巴斯德曲線

Fig. 1. The thermal pasteurization curve of pectinesterase in mango juice.

### 參考文獻

1. 行政院衛生署. 1998. 台灣地區食品營養成分資料庫. 行政院衛生署消費合作社編印. 台北. p.94-95.
2. 劉銘峰. 1995. 芒果. 台灣農家要覽. 財團法人豐年社編印. 台北 p.101-108.
3. Chen, C. S. and M. C. Wu. 1998 Kinetic models for thermal inactivation of multiple pectinesterases in citrus juices. *J. Food Sci.* 63(5): 747-750.
4. Eagerman, B. A. and A. H. Rouse, 1976 Heat inactivation temperature-time relationships for pectinesterase inactivation in citrus. *J. Food Sci.* 41: 1396-1937.
5. Fogarty, W. M. and C. T. Kelly. 1983. Pectin enzymes. P.131. In Fogarty, W. M. (ed.) *Microbial enzymes and biotechnology*. Applied science publisher. London.
6. Labib, A. A. S., F. A. El-Ashwah, H. T. Omran, and A. Askar. 1995. Heat-inactivation of mango pectinesterase and polygalacturase. *Food Chem.* 53:137-142.
7. Lee, M. and J. D. MacMillan. 1968. Mode of action of pectin enzymes. I. Purification and certain properties of tomato pectinesterase. *Biochem.* 7:4025-4030.
8. Manabe, M. 1973. Purification and properties of *Citrus natsudaidai* pectinesterase. *Agric. Biol. Chem.* 37:1487.
9. Mathsoft. Inc. 1986 Mathcad. U.S. Pat. No.5469538.
10. Versteeg, C. 1979. Pectinesterases from the orange fruit-their purification, general characteristics and juice cloud destabilizing properties. Ph. D. thesis. Agricultural Univ., Wagenikngen, The Netherlands.
11. Versteeg, C., F. M. Rombouts, C. H. Spaansen, and W. Pilnik. 1980. Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *J. Food Sci.* 45: 969-973.

### Abstract

The local natural ripe mango fruits were chosen as experimental material in this study. Whereas the first-order kinetic model of two-component system was applied to investigate the thermal pasteurization of mango juice and the commercial Mathcad program package was also used to calculate the necessary parameters from the experimental data for the model. Results indicated that the thermostable and thermolabile pectinesterase (PE) components containing in the juice were 41% and 59%, respectively. The Z value of thermostable (Zs) and thermolabile (Zl) of thermal destruction curves for the average thermostable PE and thermolabile PE were 14.65°C and 15.94°C for the temperature range of 80~85°C, respectively. The calculated and experimental linear thermal pasteurization curves for mango juice were in good agreement at a wide range temperature of 80~90°C.