

杭瑜瑜,王玉杰,齐丹,等.菠萝皮渣果胶的提取及理化性质[J].江苏农业科学,2016,44(8):379-382.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.110

菠萝皮渣果胶的提取及理化性质

杭瑜瑜,王玉杰,齐丹,公维洁

(海南热带海洋学院食品学院,海南三亚 572022)

摘要:以干菠萝皮渣为原料,运用超声波辅助纤维素酶法提取菠萝皮渣中的果胶,通过单因素和响应曲面试验,确定最优的提取工艺:超声波功率 507 W、10 mL 提取液中酶添加量为 0.51 g,在此条件下果胶的提取率为 2.584 3%。经过红外光谱分析,通过与标准样品图谱的比较证明,所提取的样品是果胶,其总半乳糖醛酸含量为 68.57%,酯化度为 47.99%,属于低酯果胶。

关键词:菠萝皮渣;果胶;提取;理化性质

中图分类号: S814;TS255 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0379-04

果胶是从植物组织中提取的一类酸性多糖物质,为植物细胞壁的重要组分。果胶的主要成分是半乳糖醛酸,以 α -D-(1-4)-糖苷键聚合成聚半乳糖醛酸聚糖^[1-2]。相关研究表明,果胶具有抑制肿瘤^[3]、降血糖^[4]、降血脂^[5]、吸附重金属^[6]、抑制微生物生长^[7]、抑制炎症^[8]等作用。

目前国内外研究较多的果胶种类包括柑橘果胶、橙皮果胶、苹果果胶、向日葵果胶、甜菜果胶、马铃薯果胶、大豆果胶等^[9]。关于果胶提取研究,报道的方法有酸提取法、草酸铵提取法、酶提取法、微波提取法、超声波提取法、微生物提取法等。Hromadkova 等对比了传统碱法、超声辅助提取荞麦中半纤维素的产率,证明经过短时超声波处理后,与传统方法相比产率提高了 1.2~1.5 倍^[10]。Seshadri 等发现,超声波提取的果胶体系更清澈,色泽更好^[11]。Panouille 等发现,用纤维素酶、蛋白酶提取的果胶比用传统酸法提取的得率更高,单分子量更低^[12]。

从自然界植物组织中提取的果胶以高酯果胶为主,低酯果胶主要通过高酯果胶脱酯而获得。低酯果胶即使不加糖、酸,只要存在高价态金属离子(如 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 等)也可生成凝胶,广泛用于低糖产品,可生产低热低糖的功能性保健食品^[13]。鉴于低酯果胶的性质和用途,从植物组织中提取低酯果胶具有广泛的研究意义。

菠萝在我国广泛种植,菠萝加工中产生大量的菠萝皮渣,然而这些果皮渣多作为废物丢弃,在造成环境污染的同时又是对资源的极大浪费^[14]。菠萝皮渣中含有丰富的果胶物质,并且为低酯果胶。本研究以菠萝废弃物为对象提取果胶,并对所制备的果胶进行理化性质的研究,以为其在商业生产中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 菠萝皮渣:收集市场上新鲜的菠萝皮,处理后作为试验原料。

1.1.2 试剂 主要试剂:无水乙醇、氢氧化钠、盐酸、硫酸、纤维素酶(酶活性 1 800 U/g)。

1.1.3 主要仪器和设备 TDI-80-2B 离心机(金坛市盛蓝仪器制造有限公司);HN-12P 酸度计(上海越磁电子有限公司);HWS-26 恒温水浴锅(金坛市盛蓝仪器制造有限公司);JU-6224 调节型超声发生器(上海杰恩超声设备有限公司)。

收稿日期:2015-12-09

基金项目:海南省高等学校科学研究项目(编号:Hnky2015-44);海南热带海洋学院青年科研基金(编号:QYQN201513)。

作者简介:杭瑜瑜(1984—),女,河南灵宝人,硕士,实验师,主要从事天然产物及功能食品的研究。E-mail:hangyu1001@163.com。

通信作者:王玉杰,硕士,讲师,主要从事植物生态环境研究。E-mail:13876678196@126.com。

高的拟合精度。通过验证相对误差在 $\pm 15\%$ 内,该模型可以大致预测在 4~25 °C 温度之间的水芹货架寿命。

参考文献:

- [1] 庄言,张婷,韩永斌,等.冰水预冷及贮藏温度对水芹贮藏品质的影响[J].食品科学,2013,34(24):279-284.
- [2] 郭肖,孔德章,曹玉洪,等.不同产地水芹黄酮含量及 PAL 酶活性的差异研究[J].长江蔬菜,2014(2):32-34.
- [3] 王旭明,匡晶.水芹菜对污水净化的研究[J].农业环境保护,1999,18(1):34.
- [4] 李延清,张艳芬,王宇鹏,等.溧阳白芹贮藏期间品质及生理生化特性的变化[J].食品科学,2007,28(11):570-575.

- [5] 王炜,李鹏霞,黄开红,等.溧阳白芹产业发展与贮藏研究现状[J].保鲜与加工,2009,9(1):20-23.
- [6] 王继胜,周刚,徐国友,等.采前喷施赤霉素对溧阳白芹保鲜效果的影响[J].中国蔬菜,2007(增刊1):41-43.
- [7] 张炬.水芹菜的硅窗袋保鲜研究[D].无锡:江南大学,2006:23-33.
- [8] 徐国友,王继胜,周刚,等.不同的追肥种类对溧阳白芹产品冷藏保鲜效果的影响[J].上海蔬菜,2008(1):108-109.
- [9] 周刚,郁志芳,王继胜,等.使用不同材质刀具对溧阳白芹保鲜贮藏效果的影响[J].上海蔬菜,2007(6):115-116.
- [10] 佟懿,谢晶.鲜带鱼不同贮藏温度的货架期预测模型[J].农业工程学报,2009,25(6):301-305.

司);IRTracer-100 傅里叶红外光谱仪(日本岛津公司)等。

1.2 试验方法

1.2.1 菠萝皮渣果胶的提取工艺流程 主要流程:菠萝皮渣→清洗→沸水热烫灭酶 10 min→60 ℃烘干→粉碎→过筛(100 目)→菠萝皮渣粉末→酸解→纤维素酶酶解→过滤→滤液浓缩→沉淀→离心→沉淀洗涤→干燥→果胶。

↑
超声波处理

1.2.2 提取工艺要点 称取 5.0 g 干燥菠萝皮粉,加入 10 mL 蒸馏水作为溶剂,用 0.5 mol/L 盐酸调节 pH 值至 2.0,于 80 ℃ 超声波处理 20 min。待酸解液冷却至室温后,调节 pH 值至 4.0,再加入一定量活性为 1 800 U/g 的纤维素酶,置于 70 ℃ 恒温水浴锅中 40 min。将所得到的提取液于 90 ℃ 灭酶 5~10 min,趁热抽滤。滤液用旋转蒸发仪蒸发浓缩至原体积的 1/4,向浓缩液中加入 1.5 倍体积的无水乙醇,静置沉淀 1 h 后,于 5 000 r/min 离心 10 min,分离出沉淀。用 95% 乙醇清洗 2 次,以除去其他杂质,最后将果胶置于 60 ℃ 真空干燥箱中干燥。

1.2.3 果胶提取率的计算 相关公式:

果胶提取率 = 果胶质量/菠萝皮渣原料质量 × 100%。

1.2.4 单因素试验 选择超声波功率、纤维素酶添加量 2 个因素,分别考察这 2 个因素对果胶提取率的影响。其中超声波功率设置 360、480、600、720、840 W 5 个梯度,10 mL 提取液中纤维素酶添加量设置 0.25、0.35、0.45、0.55、0.65 g 5 个梯度。

1.2.5 响应曲面优化试验 根据单因素试验结果,对超声波功率、纤维素酶添加量组合进行 2 因素 3 水平的响应面试验,确定最佳提取工艺,并做验证试验。

1.2.6 菠萝皮渣果胶红外光谱分析 称取 0.100 g 溴化钾、0.001 g 果胶粉末,将其混合,在红外灯下用玛瑙研钵研磨 5 min。将研磨好的样品放进 60 ℃ 干燥箱中干燥 1 h,而后制成透明压片,采用傅里叶变换红外光谱仪进行 400~4 000 cm⁻¹ 范围的光谱扫描。

1.2.7 菠萝皮渣果胶理化性质测定

1.2.7.1 果胶酯化度的测定 采用滴定法测定酯化度^[9],称取 0.2 g 果胶样品,加入 100 mL 纯水。搅拌溶解后,加入 3 滴 1% 酚酞试剂,用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定至溶液呈粉红色且保持 0.5 min 以上不褪色。然后加入 20 mL 0.5 mol/L NaOH 溶液,放置皂化 2.5 h,用 1 mol/L 硫酸标准溶液滴定,相关公式:

$$\text{甲氧基含量} = \frac{(C_2 V_2 - C_1 V_1) \times 0.031}{m} \times 100\%;$$

酯化度 = 甲氧基含量/16.3 × 100%。

式中:V₂ 为皂化时加入的标准碱溶液的体积,mL;C₂ 为皂化时加入的标准碱溶液的浓度,mol/L;V₁ 为滴定皂化过量的碱消耗的硫酸体积,mL;C₁ 为硫酸标准溶液浓度,mol/L;m 为试样质量,g;0.031 为甲氧基质量(g)当量数。

1.2.7.2 果胶总半乳糖醛酸含量、灰分、酸不溶灰分测定的测定 参照 GB 25533—2010《食品添加剂 果胶》测定果胶样品的总半乳糖醛酸、灰分、酸不溶灰分含量。

1.2.7.3 果胶干燥质量损失的测定 按照 GB 5009.3—

2010《食品中水分的测定》中的直接干燥法进行测定。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 超声波功率对果胶提取率的影响 在纤维素酶添加量为 0.45 g 的条件下,考察不同超声波功率对果胶提取率的影响,试验结果见图 1。

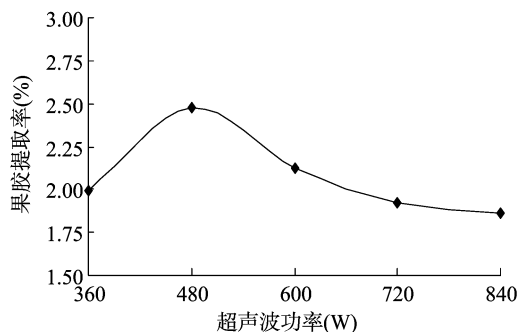


图1 超声波功率对果胶提取率的影响

由图 1 可见,在超声功率为 360~480 W 的范围内,随着超声功率的增大,果胶提取率呈上升趋势;超声功率为 480 W 时,果胶提取率达到最大值;随着超声功率继续增大,果胶提取率则开始下降,最终趋于平缓。这可能是因为超声功率较低时,菠萝皮渣的细胞壁破裂得少,果胶质不能完全溶解,果胶产率较低^[15];而当超声功率过高时,超声波的空化作用、机械作用、热学作用造成部分果胶分解,使得果胶提取率有所下降。因此可知,适宜的超声波功率为 480 W。

2.1.2 纤维素酶添加量对果胶提取率的影响 当超声波功率为 480 W 时,考察不同纤维素酶添加量对菠萝皮渣果胶提取率的影响,结果见图 2。

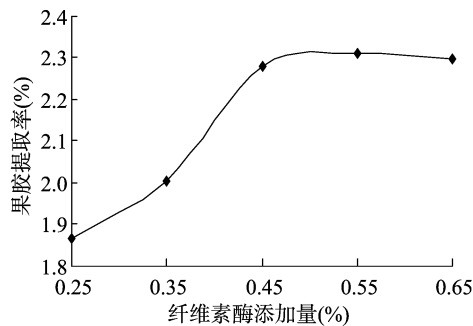


图2 纤维素酶添加量对果胶提取率的影响

由图 2 可知,果胶提取率随着纤维素酶添加量的增加而呈上升趋势;当 10 mL 提取液中纤维素酶添加量为 0.45 g 时,果胶的提取率趋于平缓趋势;继续增加酶用量,对果胶提取率的影响不大。这是由于纤维素酶的酶解作用能够破坏原料中纤维素的糖苷键,使部分纤维素降解而提高果胶的得率。在底物浓度一定的情况下,继续增加酶用量,产物反而会对酶有反馈抑制作用,从而出现果胶提取率不再升高的现象^[16]。因此可知,适宜的纤维素酶添加量为 10 mL 提取液中 0.45 g。

2.2 响应面试验结果与分析

利用软件 Design Expert 8.0.6 中的 Box-Behnken 模式对超声功率、超声时间和料液比设计响应面试验,依据表 1 中的因素水平,每个试验组均进行平行试验以减少操作误差,试

验结果见表 2。

表 1 响应面试验的因素水平

| 水平 | 因素 | |
|----|---------------|----------------------------|
| | A:超声功率 (W) | B:10 mL 提取液中纤维 素酶添加量(g) |
| -1 | 360 | 0.35 |
| 0 | 480 | 0.45 |
| 1 | 600 | 0.55 |

利用 Design Expert 8. 0. 6 软件对超声功率、纤维素酶添加量进行试验优化设计及数据多元拟合分析,得到相应的二次多项回归方程模型:

$Y=2.53+0.055A+0.2B+0.046AB-0.18A^2-0.19B^2。$

对表 3 的方差分析结果可知:该回归模型差异极显著 ($P<0.0001$)。失拟项 $P=0.0802>0.05$,不显著,说明该回归模型与试验数据的拟合度较高,试验误差小,可用该模型分析和预测超声波辅助纤维素酶法提取菠萝皮中果胶的工艺

结果。回归模型中的一次项、交互项、二次项差异均极显著。

表 2 响应面法试验结果

| 编号 | A:超声波功率 | B:纤维素酶添加量 | 果胶提取率 (%) |
|----|---------|-----------|--------------|
| 1 | 1 | 0 | 2.380 |
| 2 | -1 | -1 | 1.959 |
| 3 | 0 | 0 | 2.540 |
| 4 | -1 | 1 | 2.278 |
| 5 | 0 | 0 | 2.520 |
| 6 | 1 | 1 | 2.486 |
| 7 | 0 | 0 | 2.540 |
| 8 | 0 | 0 | 2.560 |
| 9 | 1 | -1 | 1.984 |
| 10 | 0 | 1 | 2.520 |
| 11 | 0 | 0 | 2.540 |
| 12 | -1 | 0 | 2.282 |
| 13 | 0 | -1 | 2.126 |

表 3 响应面试验结果的方差分析结果

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | P 值 | 显著性 |
|----------------|------------------------|-----|------------------------|--------|-----------|-----|
| 模型 | 0.57 | 5 | 0.11 | 214.72 | < 0.000 1 | ** |
| A | 0.018 | 1 | 0.018 | 34.36 | 0.000 6 | ** |
| B | 0.25 | 1 | 0.025 | 462.92 | < 0.000 1 | ** |
| AB | 8.372×10^{-3} | 1 | 8.372×10^{-3} | 15.75 | 0.005 4 | ** |
| A ² | 0.088 | 1 | 0.088 | 165.96 | <0.000 1 | ** |
| B ² | 0.096 | 1 | 0.009 6 | 181.15 | <0.000 1 | ** |
| 残差 | 3.720×10^{-3} | 7 | 5.315×10^{-4} | | | |
| 失拟项 | 12.92×10^{-3} | 3 | 9.735×10^{-4} | 4.87 | 0.080 2 | 不显著 |
| 纯误差 | 8×10^{-4} | 4 | 2×10^{-4} | | | |
| 总离差 | 0.57 | 12 | | | | |

注:“**”“*”分别表示差异极显著($P<0.01$)、显著($P<0.05$)。

响应曲面三维图比较直观地反映出各因素间相互作用的强弱^[17-18],而响应曲面三维图在平面上的投影即为等高线图。等高线的形状可以反映因素相互影响的强弱:等高线的形状为椭圆形时,2 个因素的相互作用相对较强;等高线趋于

圆形时,2 个因素的相互作用相对较弱^[19]。从图 3 可以看出,超声波功率和纤维素酶添加量相互作用较大,与方差分析的结果一致。

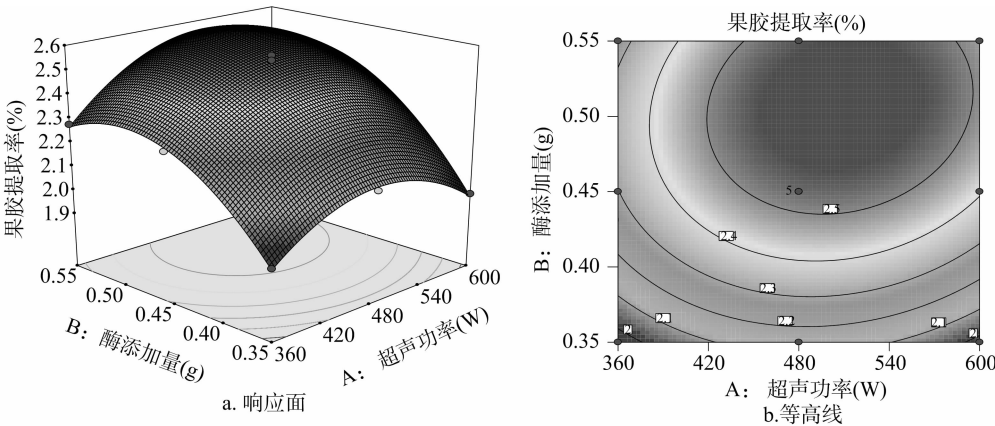


图3 超声波功率与纤维素酶添加量相互作用的响应曲面与等高线

根据响应面法试验结果及其回归方程模型分析可知,超声波辅助纤维素酶法提取菠萝皮渣中果胶的最优工艺:超声功率为 507.36 W、10 mL 提取液中纤维素酶添加量为 0.51 g,预测果胶提取率为 2.595 3%。考虑到实际操作的便利,将最佳工艺条件修正为超声功率为 507 W、10 mL 提取液中纤维

素酶添加量为 0.51 g,在此条件下进行 3 次重复验证试验,果胶提取率的平均值为 2.584 3%。该试验值与模型方程的预测值仅相差 0.42%,说明经响应面法优化的提取工艺组合条件较为准确,利用超声辅助纤维素酶法提取菠萝皮渣中的果胶具有一定的实际意义。

2.3 菠萝皮渣果胶红外光谱分析

由图 4 可以看出,提取的果胶与果胶标准品的红外图谱相似。3 600~2 500 cm⁻¹ 处的吸收峰是 O—H 的伸缩振动引起的,样品在 3 417 cm⁻¹ 有吸收峰,说明果胶分子中有很多—OH;3 000~2 800 cm⁻¹ 处的特征峰是 C—H 的反对称、对称伸缩振动引起的,样品在 2 942 cm⁻¹ 有吸收峰;1 760~1 720 cm⁻¹ 处的特征吸收峰是半乳糖醛酸羧基形成的酯键(—COOR)中羰基的伸缩振动引起的,样品在 1 740 cm⁻¹ 有吸收峰;1 680~1 600 cm⁻¹ 处的吸收峰为游离的羧酸(—COOH)中羰基的不对称伸缩振动引起的,样品在 1 673 cm⁻¹ 有吸收峰;1 462 cm⁻¹ 处的峰是 C—O—H 的平面弯曲振动峰;1 300~1 000 cm⁻¹ 间的吸收峰是由 C=O 伸缩振动所引起的;在 1 253 cm⁻¹ 的特征峰是 C—O—C 键的伸缩振动峰,表明有甲氧基存在;在 1 300~800 cm⁻¹ 之间中强吸收峰是果胶分子的指纹区。经比较可知,菠萝皮提取物与标准品果胶的红外图谱相似,证明其为果胶。

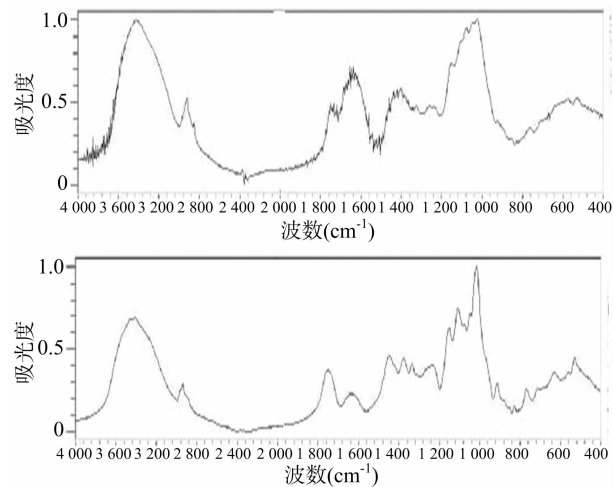


图4 提取的果胶(上)和果胶标准品(下)的红外光谱结果

2.4 菠萝皮渣果胶理化性质测定结果

由表 4 可以看出,所制备的菠萝皮渣果胶的各项理化指标均符合 GB 25533—2010《食品添加剂 果胶》的规定,从酯化度可知产品为低酯果胶。

表 4 菠萝皮渣果胶的理化指标

| 类别 | 酯化度 (%) | 总半乳 糖醛酸 含量(%) | 干燥失 质量 (%) | 灰分 (%) | 酸不溶 灰分 (%) |
|-----------------------------|------------|---------------------|------------------|-----------|------------------|
| 菠萝皮渣果胶 | 47.99 | 68.57 | 7.38 | 3.96 | 0.67 |
| GB 25533—2010 《食品添加剂 果胶》 | | ≥65 | ≤12 | ≤5 | ≤1 |

3 结论

通过响应曲面试验优化超声波辅助纤维素酶法提取菠萝皮渣果胶的工艺,结果表明:功率为 507 W、10 mL 提取液中纤维素酶添加量为 0.51 g 时,提取率为 2.584 3%。用红外光谱分析验证提取的样品为果胶,其总半乳糖醛酸含量为 68.57%,酯化度为 47.99%,属于低酯果胶。低酯果胶在高价金属离子存在下即可形成凝胶,可用作低糖、无糖食品的增

稠剂。本研究结果表明,菠萝皮渣果胶的各项理化指标符合 GB 25533—2010《食品添加剂 果胶》的规定,可作为一种低酯果胶用于商业生产,在充分提高菠萝附加值的同时也丰富了低酯果胶的来源。

参考文献:

[1] Lutz R, Aserin A, Wicker L, et al. Structure and physical properties of pectins with block - wise distribution of carboxylic acid groups[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 786 - 794.

[2] 仇农学, 田玉霞, 邓 红, 等. 超滤法分离苹果果胶及其理化性质[J]. 中国农业科学, 2009, 42(10): 3609 - 3616.

[3] 徐厚巍. 低分子柑橘果胶杀伤结肠癌细胞过程中关键凋亡蛋白的活化[D]. 广州: 广州医学院, 2010: 12.

[4] 邹晓婧, 张爱珍, 陈建国, 等. 低分子柑橘果胶粉对糖尿病小鼠血糖血脂调节作用研究[J]. 中国全科医学, 2006, 9(20): 1685 - 1686.

[5] Nilsson A, Ostman E, Preston T, et al. Effects of GI vs content of cereal fibre of the evening meal on glucose tolerance at a subsequent standardized breakfast[J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2008, 62(6): 712 - 720.

[6] 王晓波, 车海萍, 陈海珍, 等. 榴莲壳内皮果胶多糖和黄酮对重金属吸附作用的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(12): 129 - 131.

[7] Fan L H, Cao M, Gao S, et al. Preparation and characterization of a quaternary ammonium derivative of pectin[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(2): 707 - 712.

[8] 陈颖珊. 紫果西番莲果胶提取及预防溃疡性结肠炎活性[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.

[9] 冯 静. 菠萝皮果胶的提取, 理化性质及其多糖组成的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.

[10] Hromadkova Z, Ebringerova A. Ultrasonic extraction of plant materials - investigation of hemicellulose release from buckwheat hulls[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2003, 10(3): 127 - 133.

[11] Seshadri R, Weiss J, Hulbert G J, et al. Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high - methoxyl pectin dispersions[J]. Food Hydrocolloids, 2003, 17(2): 191 - 197.

[12] Panouille M, Thibault J - F, Bonnin E. Cellulase and protease preparations can extract pectins from various plant by products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(23): 8926 - 8935.

[13] 叶 华, 秦加兴. 利用果胶酯酶制备低酯果胶工艺研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 25 - 27.

[14] 刘明绶. 菠萝皮中色素, 果胶的提取纯化及性质研究[D]. 厦门: 集美大学, 2010.

[15] 薛美香, 张玉燕. 超声波辅助提取芦柑皮中果胶的研究[J]. 宜春学院学报, 2014, 36(3): 98 - 101.

[16] 刘鹏超, 汤英春, 朱丽莉, 等. 酶法提取胡萝卜皮渣可溶性膳食纤维的工艺研究[J]. 食品工业, 2012, 33(4): 44 - 46.

[17] 刘鹏超, 汤英春, 朱丽莉, 等. 酶法提取胡萝卜皮渣可溶性膳食纤维的工艺研究[J]. 食品工业, 2012, 33(4): 44 - 46.

[18] 姚秋萍, 罗明高, 潘大托. 响应面法优化超声辅助提取鱼腥草多糖的工艺[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(10): 252 - 255.

[19] 嵇 豪, 蒋冬花, 杨 叶, 等. 响应面法优化超声波辅助提取红曲米中水溶性色素[J]. 浙江师范大学学报: 自然科学版, 2011, 34(1): 91 - 96.