

超声辅助提取佛手废渣果胶的工艺优化

邓 刚, 焦聪聪, 许杭琳, 徐双双
(浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004)

摘 要: 目的: 对佛手废渣果胶提取工艺进行优化。方法: 分别通过响应面试验和正交试验对果胶的超声辅助酸提和乙醇沉析工艺进行优化。结果: 响应面试验优化后的超声辅助酸提工艺条件为浸提时间 37 min、浸提温度 63℃、超声功率 395 W、pH 1.6。正交试验优化后的醇析条件为浓缩比 1:4、醇析温度 15℃、醇析时间 1.5 h、醇析液 pH 2.0、醇析液乙醇体积分数 70%。结论: 经验证在最佳工艺条件下, 果胶提取率 22.1%, 果胶醇析率 85.7%。

关键词: 果胶; 提取; 超声波; 工艺

Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction for Pectin from Bergamot Residue

DENG Gang, JIAO Cong-cong, XU Hang-lin, XU Shuang-shuang
(College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China)

Abstract: Objective: To optimize pectin extraction from bergamot residue left after juice squeezing. Methods: Pectin extraction was achieved by ultrasonic-assisted acid extraction followed by ethanol precipitation. Response surface methodology and orthogonal array design were used to optimize the process conditions of ultrasonic-assisted acid extraction and ethanol precipitation. Results: The optimal ultrasonic-assisted acid extraction conditions were extraction at 63 °C and pH 1.6 for 37 min with an ultrasonic power of 395 W. The optimal ethanol precipitation conditions were precipitation at 15 °C and pH 2.0 for 1.5 h with a concentration ratio of 1:4. Conclusion: Under the optimal conditions, the extraction yield and precipitation recovery of pectin were 22.1% and 85.7%, respectively.

Key words: pectin; extraction; ultrasonic; process

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)14-0103-05

佛手(Bergamot), 学名 *Citrus medica* L. Var. *Sarcodactylis* (Noot) Swingle, 是芸香科植物香橼的变种。因产地的不同分为广佛手、川佛手、金佛手、建佛手^[1]。其中金佛手以其优良的品质成为佛手中的上品。作为传统的名贵中药, 佛手中的多种生物活性成分使其具有疏肝理气, 和胃止痛之功效。

佛手废渣是佛手饮料业主要的废弃物, 由于它的可发酵性, 造成很多经济和环境问题。然而, 佛手废渣中仍含有一些潜在的高附加值的化合物, 像精油、果胶、黄酮类物质等^[2]。果胶是复杂的多聚糖, 是双子叶植物细胞壁一种主要成分。由部分甲基化或乙酰基酯化的半乳糖醛酸残基通过 α -1,4 糖苷键连接形成骨架, 一些具有代表性的中性糖类如阿拉伯聚糖、半乳聚糖和阿拉伯半乳聚糖附在上面形成侧链^[3]。由于果胶具有流变学特性和凝胶化作用, 可以作为天然的增稠剂和乳化剂

应用于食品行业^[4-5], 也用做酸奶产品和脂肪替代品的稳定剂^[6]。

目前果胶的提取方法主要有酸提取法、微生物提取法、微波提取法、超声波提取法和酶法等^[7-11]。本实验采用超声波辅助酸提和乙醇沉析的方法从佛手废渣中提取果胶, 并利用响应面试验和正交试验分别对果胶的提取和醇析工艺进行优化。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

佛手饮料废渣 浙江省金华市金佛手农业开发有限公司。

咔唑 国药集团化学试剂有限公司; 半乳糖醛酸标准品 瑞士 Fluka 公司; 其他药品均为分析纯。

UV-7504 型紫外-可见分光光度计 上海欣茂仪器有

收稿日期: 2010-09-21

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(Y407016); 2009 年度浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划)项目(2009R404063)

作者简介: 邓刚(1975—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为生物资源再利用。E-mail: denggang@zjnu.cn

限公司; SB25-12YDTD 型超声波清洗机 宁波新芝生物科技股份有限公司; HWS-28 电热恒温水浴锅 上海一恒科技有限公司; DZF-6050B 型真空干燥箱、RE-52B 型旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 果胶提取

原料的预处理: 121℃处理 5min^[12], 真空烘干备用, 并测定其水分含量。

超声辅助酸提: 精确称取预处理后的佛手废渣 5g, 加水, 并用 HCl 调 pH 值。在特定的超声功率和温度条件下浸提一定时间。冷却后过滤, 滤液为果胶浸提液。

乙醇沉析: 取在最佳酸提条件下得到的果胶浸提液 200mL 旋转蒸发进行浓缩, 然后向浓缩后的果胶浸提液中柱状注入 95% 的工业乙醇, 在一定的温度、pH 值条件下静置一定时间。离心, 沉淀用无水乙醇洗涤, 60℃真空干燥后称量。

1.2.2 果胶酸提的单因素试验

在其他因素不变的条件下, 考察料液比和浸提次数对果胶醇析得率的影响。

1.2.3 果胶酸提的响应面试验

通过预试验所确定的因素水平, 采用 4 因素 5 水平设计响应面试验, 按 1.2.1 节超声辅助酸提方法进行试验, 因素水平见表 1。

表 1 果胶酸提响应面试验因素水平表
Table 1 Coded values and corresponding actual values of the optimization parameters used in the response surface analysis

水平	因素			
	X ₁ 浸提时间/min	X ₂ 浸提温度/℃	X ₃ 超声功率/W	X ₄ 浸提 pH
-2	10	40	100	0.5
-1	20	50	200	1
0	30	60	300	1.5
1	40	70	400	2
2	50	80	500	2.5

1.2.4 果胶醇析的正交试验

取响应面试验优化后试验条件所得果胶浸提液, 按 1.2.1 节乙醇沉析方法进行试验。设计 5 因素 4 水平 L₁₆(4⁵) 正交试验, 试验设计的因素水平见表 2。

表 2 果胶醇析正交试验因素水平表
Table 2 Coded values and corresponding actual values of the optimization parameters used in the orthogonal array design

水平	因素				
	A 浓缩比	B 醇析温度/℃	C 醇析时间/h	D 醇析液 pH	E 醇析液(乙醇)体积分数/%
1	1:2	5	0.5	1	50
2	1:4	15	1.5	2	60
3	1:6	25	2.5	3	70
4	1:8	35	3.5	4	80

1.2.5 果胶含量的测定及果胶得率的计算

利用咔唑比色法^[13], 制作半乳糖醛酸标准曲线^[14], 果胶含量以半乳糖醛酸的含量计。

$$\text{果胶提取得率}^{[15]}/\% = \frac{C \times V \times K}{m_a \times 10^6} \times 100$$

式中: C 为浸提液半乳糖醛酸质量浓度 /($\mu\text{g/mL}$); V 为浸提液体积 /mL; K 为待测样品稀释倍数; m_a 为原料干质量 /g。

$$\text{果胶醇析得率}^{[15]}/\% = \frac{m \times 10^6}{C_0 \times V_0} \times 100$$

式中: m 为果胶成品的干质量 /g; C_0 为浸提液半乳糖醛酸质量浓度 /($\mu\text{g/mL}$); V_0 为浸提液体积 /mL。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对果胶得率的影响

浸提 pH2.0、浸提温度 70℃、超声功率 400W、浸提时间 30min、浸提次数为 1 的条件下按料液比 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:80(g/mL) 进行超声辅助酸提试验, 考察料液比对果胶提取得率的影响。

料液比对果胶提取得率的影响如图 1 所示, 随着料液比从 1:10 变化到 1:50, 果胶提取得率由 11.1% 增加到 17.5%, 但随着提取溶剂的进一步增加, 果胶提取得率变化趋于平缓, 果胶提取得率增加不明显。因此最佳的料液比为 1:50。

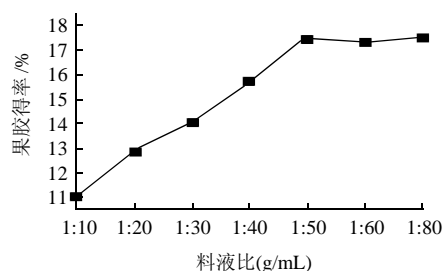


图 1 料液比对果胶提取得率的影响

Fig.1 Effect of material/liquid ratio on extraction rate of pectin

2.1.2 浸提次数对果胶得率的影响

在浸提液 pH2.0、浸提温度 70℃、超声功率 400W、浸提时间 30min、料液比 1:50 的条件下分别浸提 1、2、3、4 次进行超声辅助酸提试验, 考察浸提次数对果胶提取得率的影响。

浸提次数对果胶提取得率的影响如图 2 所示, 浸提一次的得率为 16.6%、浸提两次的得率为 22.0%, 但随着浸提次数的增加果胶提取得率增加不再明显, 说明浸提两次后材料中果胶已经基本溶出, 因此最佳的浸提次数为 2 次。

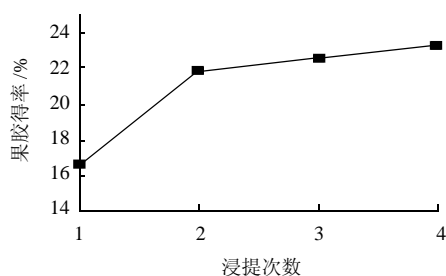


图2 浸提次数对果胶提取率的影响

Fig.2 Effect of number of repeated extractions on extraction rate of pectin

2.2 果胶酸提的响应面试验

2.2.1 响应面试验设计及结果

按 1.2.3 节进行响应面试验, 结果见表 3, 对试验结果进行分析得到二次回归方程:

$$Y = -15.55469 + 0.14602X_1 + 0.71327X_2 - 0.043431X_3 + 19.24708X_4 + 0.00635625X_1X_2 + 0.00195813X_1X_3 + 0.001625X_1X_4 + 0.0014681X_2X_3 + 0.029125X_2X_4 - 0.00113750X_3X_4 - 0.016589X_1^2 - 0.011139X_2^2 - 0.000154635X_3^2 - 6.76042X_4^2$$

表3 响应面试验设计及果胶提取率

Table 3 Experimental design for response surface analysis and corresponding results

试验号	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	果胶提取率/%
1	-1	-1	-1	-1	17.8
2	-1	-1	-1	1	17.5
3	-1	-1	1	-1	10.2
4	-1	-1	1	1	10.2
5	-1	1	-1	-1	13.8
6	-1	1	-1	1	14.9
7	-1	1	1	-1	12.6
8	1	1	1	1	12.7
9	1	-1	-1	-1	14.4
10	1	-1	-1	1	15.3
11	1	-1	1	-1	15.6
12	1	-1	1	1	14.7
13	1	1	-1	-1	14.2
14	1	1	-1	1	13.8
15	1	1	1	-1	19.6
16	1	1	1	1	20.9
17	-2	0	0	0	11.9
18	2	0	0	0	17.2
19	0	-2	0	0	15.3
20	0	2	0	0	18.1
21	0	0	-2	0	8.4
22	0	0	2	0	21.6
23	0	0	0	-2	13.6
24	0	0	0	2	15.2
25	0	0	0	0	22.3
26	0	0	0	0	18.7
27	0	0	0	0	21.8
28	0	0	0	0	20.6
29	0	0	0	0	20.7
30	0	0	0	0	21.7

表4 响应面试验方差分析表

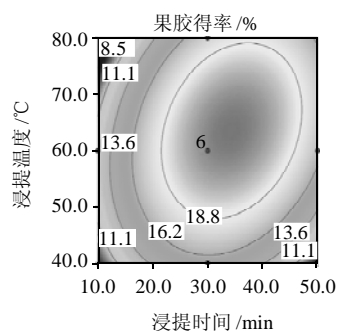
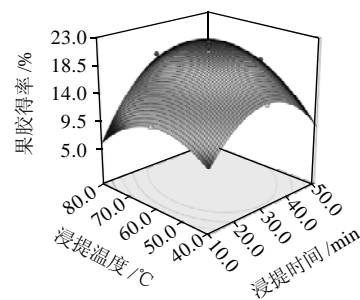
Table 4 Variance analysis for the fitted regression equation

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	345.00	14	24.64	4.51	0.0032
X ₁	35.70	1	35.70	6.53	0.0219
X ₂	6.36	1	6.36	1.16	0.2978
X ₃	19.06	1	19.06	3.49	0.0814
X ₄	1.06	1	1.06	0.19	0.6655
X ₁ X ₂	6.46	1	6.46	1.18	0.2938
X ₁ X ₃	61.35	1	61.35	11.23	0.0044
X ₁ X ₄	0.00	1	0.00	0.00	0.9891
X ₂ X ₃	34.49	1	34.49	6.31	0.0239
X ₂ X ₄	0.34	1	0.34	0.06	0.8066
X ₃ X ₄	0.05	1	0.05	0.01	0.9237
X ₁ ²	75.48	1	75.48	13.82	0.0021
X ₂ ²	34.03	1	34.03	6.23	0.0247
X ₃ ²	65.59	1	65.59	12.01	0.0035
X ₄ ²	78.35	1	78.35	14.34	0.0018
残差	81.94	15	5.46		
失拟项	73.48	10	7.35	4.35	0.0593
纯误差	8.45	5	1.69		
总变异	426.94	29			

由表 4 可知, X₁、X₁X₃、X₂X₃、X₁²、X₂²、X₃²、X₄² 为显著性影响因素, 并且该二次回归方程模型项显著, 失拟项不显著, 因此该回归模型能较好地与实测值拟合。

2.2.2 响应面分析

用 Design Expert 7.0 软件对试验数据进行二元多次拟合, 所得到的二次回归方程的相应面及等高线图见图 3。



固定水平: 超声功率 300W; 浸提 pH1.5。

a. 浸提时间与浸提温度

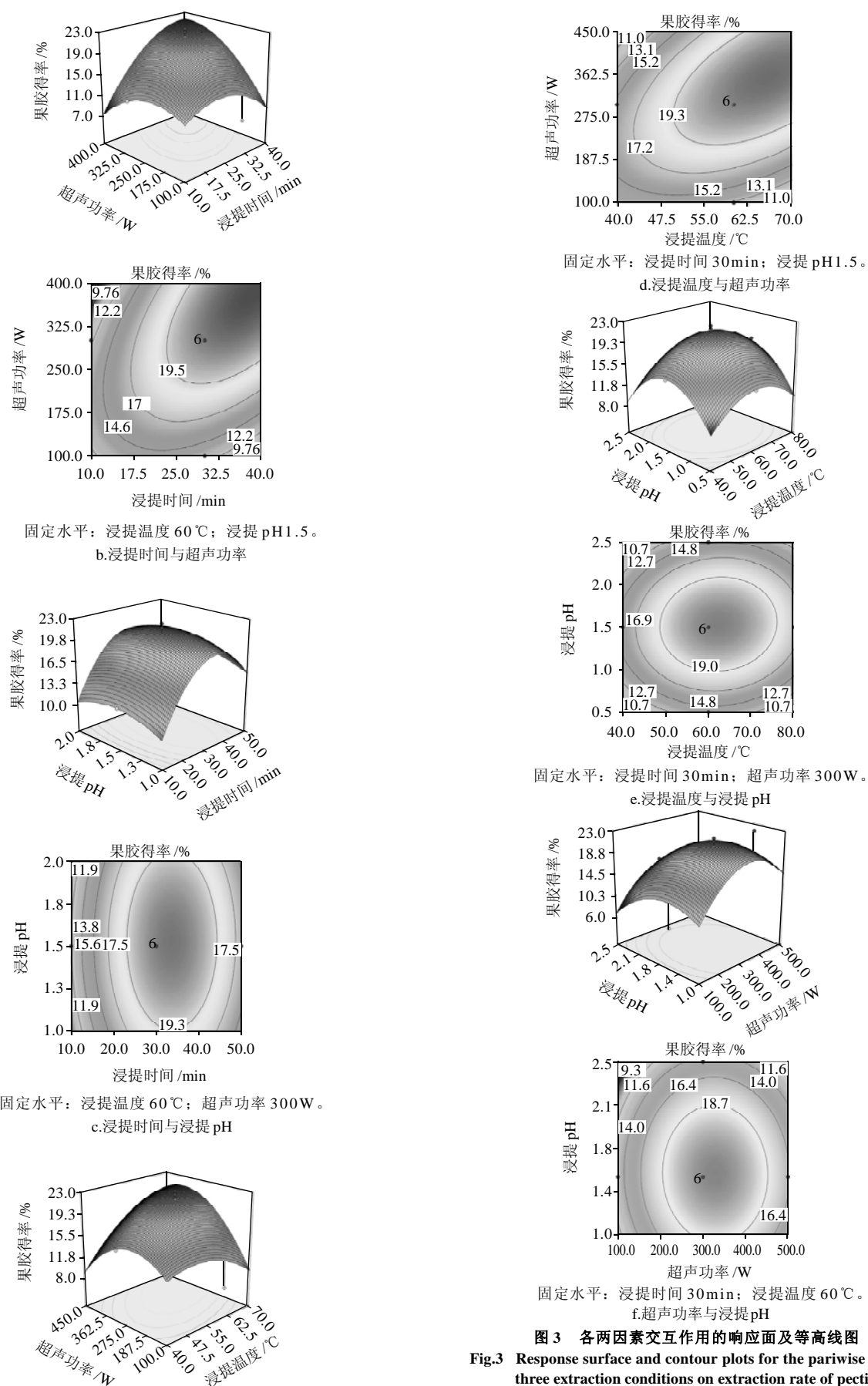


图3 各两因素交互作用的响应面及等高线图

Fig.3 Response surface and contour plots for the pairwise effect of three extraction conditions on extraction rate of pectin

由图 3a 可知, 当温度由 40℃ 上升至 65℃, 果胶提取得率随时间逐渐增加, 但是当温度高于 65℃ 后, 随着时间的增加, 果胶提取得率下降。由图 3b 可知, 当超声功率在 100~350W 时, 随着浸提时间的增加果胶提取得率先增加后减少, 当超声功率大于 350W 时, 果胶提取得率随浸提时间的增加而增加。当浸提时间在 10~35min 时, 随超声功率的增加果胶提取得率先增加后减少, 当浸提时间大于 35min 时, 果胶提取得率随超声功率的增加而增加。由图 3c 可知, 时间对果胶提取得率的影响比较显著, 浸提时间在 35min 左右时, 果胶提取得率最大。由图 3d 可知, 随着功率和温度的增加, 果胶提取得率先增加后减少, 在 400W、65℃ 左右时果胶提取得率最大。由图 3e 可知, 随着 pH 值和温度的增加, 果胶提取得率先增加后减少, 在 pH1.5、65℃ 左右时果胶提取得率最大。由图 3f 可知, 随着功率和 pH 值的增加, 果胶提取得率先增加后减少, 在 400W、pH1.5 左右时果胶提取得率最大。

利用 Design Expert 7.0 软件, 根据响应面实验数据得出最佳的工艺条件: 浸提时间 36.8min, 浸提温度 63.1℃、超声功率 396.2W、pH1.6。在此条件下从佛手废渣中提取果胶, 果胶提取得率的理论值为 22.4%。考虑到实际可操作性, 最佳的工艺条件定为浸提时间 37min、浸提温度 63℃、超声功率 395W、pH1.6。经验证从佛手废渣中提取果胶的得率为 22.1%, 与理论值比较相近。

2.3 果胶醇析正交试验结果

表 5 正交试验设计及结果

Table 5 Orthogonal array design and corresponding results

试验号	A	B	C	D	E	果胶醇析得率/%
1	1	1	1	1	1	51.9
2	1	2	2	2	2	75.6
3	1	3	3	3	3	73.5
4	1	4	4	4	4	65.3
5	2	1	2	3	4	78.2
6	2	2	1	4	3	86.0
7	2	3	4	1	2	80.2
8	2	4	3	2	1	79.4
9	3	1	3	4	2	62.1
10	3	2	4	3	1	73.4
11	3	3	1	2	4	65.0
12	3	4	2	1	3	67.2
13	4	1	4	2	3	69.4
14	4	2	3	1	4	69.3
15	4	3	2	4	1	70.1
16	4	4	1	3	2	59.0
k ₁	66.57	65.39	65.49	67.15	68.70	
k ₂	80.97	76.10	72.77	72.37	69.22	
k ₃	66.91	72.19	71.07	71.01	74.02	
k ₄	66.94	67.72	72.06	70.86	69.46	
R	14.40	10.71	7.29	5.22	5.32	

由表 5 极差分析可知 5 因素对果胶醇析得率的影响为 A(浓缩比) > B(醇析温度) > C(醇析时间) > E(醇析液乙醇体积分数) > D(醇析液 pH)。表 6 的方差分析结果表明, 浓缩比对果胶醇析过程的影响显著, 醇析温度、醇析时间、醇析液 pH 值和醇析液乙醇体积分数为不显著因素。

表 6 正交试验结果方差分析表

Table 6 Variance analysis for precipitation recovery of pectin with various process conditions

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	602.06	3	200.69	10.04	显著
B	271.81	3	90.61	4.53	
C	131.85	3	43.95	2.20	
空列	60.00	3	20.00	1.00	
E	73.03	3	24.34	1.22	
误差	60	3	20.00		

果胶的醇析受浓缩比的影响比较显著, 醇析温度、醇析时间、醇析液 pH 和醇析液乙醇体积分数也对果胶醇析得率有一定的影响, 并且醇析液 pH 值对果胶的品质有影响, pH1.0 时果胶的样色为黑褐色, 当 pH > 1.0 时果胶的颜色趋于正常。由正交试验得出的最佳醇析工艺条件为 A₂B₂C₂D₂E₃, 即浓缩比 1:4、醇析温度 15℃、醇析时间 1.5h、醇析液 pH2.0、醇析液乙醇体积分数 70%。在此条件下果胶醇析最大得率 85.7%。

3 结 论

采用响应面试验, 以浸提时间、浸提温度、超声频率、浸提 pH 值为试验因素, 以果胶提取得率为响应值, 得到从金佛手废渣中提取果胶的四元二次数学回归模型。并对模型进行分析, 得到超声辅助酸提取金佛手废渣果胶的最佳工艺条件为浸提时间 37min、浸提温度 63℃、超声功率 395W、pH1.6, 果胶的超声辅助提酸得率 22.1%。

对果胶醇析的主要影响因素浓缩比、醇析温度、醇析时间、醇析液 pH 值、醇析液乙醇体积分数 5 个因素, 采用 L₁₆(4⁵) 正交试验对果胶的醇析工艺进行优化。最佳的工艺条件为浓缩比 1:4、醇析温度 15℃、醇析时间 1.5h、醇析液 pH2.0、醇析液乙醇体积分数 70%, 果胶醇析得率 85.7%。

参考文献:

- [1] 梁永枢, 许楚炜, 段启. 佛手研究进展[J]. 中国现代中药, 2006, 8(5): 23-27.
- [2] MANDALARI G, BENNETT R N, BISIGNANO G, et al. Characterization of flavonoids and pectins from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a major by-product of essential oil extraction[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(1): 197-203.
- [3] CARPITA N C, GIBEAUT D M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth[J]. J Plant, 1993, 3(1): 1-30.
- [4] THAKUR B R, RAKESH K S, HANADA A K. Chemistry and uses of pectin[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1997, 37(1): 47-73.
- [5] MAY C D. Industrial pectins: Sources, production and applications[J]. Carbohydr Polym, 1990, 12(1): 79-99.
- [6] 余映慧, 高雪. 果胶生产工艺及其在食品中的应用[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 351-352.
- [7] 王鸿飞, 李和生, 谢果凰, 等. 桔皮中果胶提取技术的实验分析[J]. 农业机械学报, 2005, 36(3): 82-85.
- [8] WANG Sijin, CHEN Fang, WU Jihong, et al. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(2): 693-700.
- [9] 王健, 黄国林. 果胶生产工艺研究进展[J]. 化工时刊, 2007, 21(2): 70-73.
- [10] 邸铮, 付才力, 李娜, 等. 酶法提取苹果皮渣果胶的特性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(4): 133-137.
- [11] 徐雅琴, 任建辉, 崔崇士. 南瓜果胶不同提取方法的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 91-93.
- [12] 毕双同. 赣南脐橙皮果胶提取工艺及其性质研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2008.
- [13] 大连轻工业学院, 华南理工大学, 无锡轻工业学院, 等. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994: 213.
- [14] ZHOU Jinhua, ZHOU Chunshan, XIE Lianwu, et al. Study on extraction conditions of pectin from shaddock peel[J]. Nat Prod Res Dev, 2006, 18(3): 483-486.
- [15] 储君. 涪溪蜜柚中果胶的提取工艺研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.