

三联法制备猕猴桃果肉中果胶的工艺研究

赵莎莎¹,金邦荃¹,顾晓俊¹,冯璇¹,沈丽叶¹,
韩燕妮¹,刘春泉²,李大婧²

(1. 南京师范大学金陵女子学院,江苏 南京 210097)
(2. 江苏省农业科学院农产品加工所,江苏 南京 210014)

[摘要] 分别研究了盐酸-微波法和纤维素酶(Cellulase,Case)-微波法制备猕猴桃果肉中可溶性膳食纤维-果胶(SDF-P),在此基础上,用Box-Behnken响应曲面优化酶解程序,进行三联工艺的整合,试图有效提高SDF-P得率和含量.结果表明,经0.2%盐酸预处理(500 W/40 s微波)后的果肉粉,进入酶解环节并优化,得到的最佳酶解工艺条件为体积浓度0.2% Case、15:1(V:W)、500 W和30 s微波处理.采用优化后的三联工艺,极大提高猕猴桃果肉中SDF-P含量至(48.8±0.03)% ($p<0.01$),纯度提高2.8倍;同时其得率也达到11%左右,分别是酸解或酶解工艺的1.7倍和2.1倍.由此可见,采用酸-酶-微波的三联工艺,可高效制备猕猴桃果肉SDF-P,降低工业成本.

[关键词] SDF-P,纤维素酶,微波,三联工艺,猕猴桃果肉

[中图分类号]TS2 [文献标志码]A [文章编号]1672-1292(2013)02-0081-06

Extraction of Pectin from *Actinidia* Pomace by Triple Technology in Box-Behnken Model

Zhao Shasha¹, Jin Bangquan¹, Gu Xiaojun¹, Feng Xuan¹,
Shen Liye¹, Han Yanni¹, Liu Chunquan², Li Dajing²

(1. Ginling College, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)
(2. Institute of Agro-product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: This paper studies the preparation of soluble dietary fiber-pectin (SDF-P) from *actinidia* pomace, in which HCl-microwave is contained, and cellulase-microwave treatments respectively. On this basis, cellulase hydrolysis procedures are optimized by the Box-Behnken response surface for effectively increasing the yield and content of SDF-P. The results show that *actinidia* pomace with 0.2% HCl (500 W/40 s microwave) initially comes into cellulase hydrolysis. The optimal conditions for extraction are achieved by treating 0.2% cellulase, 15:1 V:W, 500 W and 30s microwave. The triple technology increases the content of SDF-P to (48.8±0.03)% very significantly ($p<0.01$), 2.8 times as HCl-microwave or cellulase-microwave treatment. Its yield is also over 11%, which increases by 1.7 and 2.1 times. In summary, SDF-P can be extracted by triple technology efficiently by HCl-cellulase-microwave with lower industry cost.

Key words: SDF-P, cellulase, microwave, triple technology of HCl-cellulase-microwave, *actinidia* pomace

随着现代加工业的发展和食品科学的进步,多种方法已被应用于农产品加工副产物及下脚料的再利用中,研究者试图从常见的加工废弃物—果皮果渣及秸秆中获得具有增进胃肠蠕动功能的生物学材料,如可溶性膳食纤维-果胶(SDF-P),用于制备膳食营养补充剂或开发新型功能食品,改善中老年人胃肠健康状况,造福人类^[1-4].

纵观国内外学者对制备果蔬中可溶性膳食纤维-果胶(SDF-P)的技术和方法的研究,酸解^[5]或酶解^[6-9]成为大多数研究者的首选,但这两种方法所消耗的时间较长,往往需要数小时的浸泡才能获取少量目标物质.随着微波技术的发展,有学者将这两种方法辅以微波处理,二联制备工艺可获得一定量的SDF-P,但其纯

收稿日期:2012-12-11.
基金项目:2010 江苏省大学生创新项目、2011 江苏省现代农业技术创新项目(CX(11)2067-1).
通讯联系人:金邦荃,教授,博士,研究方向:食品科学. E-mail:jinbangquan@njnu.edu.cn

度和得率较低,工业化进程依然有待解决^[6,10-12]. 本研究联合运用酸-酶-微波三联技术,试图建立高效工艺流程,以期改进和提高猕猴桃 SDF-P 制备工艺,使其适用于工业化生产.

1 材料与方法

1.1 果肉粉制备

市场购新鲜完整的猕猴桃(猕猴桃科,猕猴桃属,*Actinidia chinensis Planch*),清洗去皮后,果肉榨汁离心(5 000 r/min,10 min),离心后取沉淀物,经 50 ~ 65 ℃ 烘箱烘干,粉碎,制备出风干果肉粉^[6].

1.2 D-半乳糖醛酸-咔唑标准溶液制备

精确称量 D-半乳糖醛酸(*d*-galacturonic acid,D-GA),配制成 0、10、20 ~ 60 μg/mL 7 点标准溶液,经 Spectrumlab54 紫外可见分光光度计扫描,确定最大吸收波长并建立标准曲线. 经过计算,确定猕猴桃皮 SDF-P 提取物含量和纯度^[6]:

果胶含量(%)= $\frac{C \times 0.025}{W \times 10^3} \times 100\%$.

式中,*C* 为标准曲线中 D-GA 浓度/(mg/L),*W* 为样品质量/g.

1.3 单因素筛选与 Box-Behnken 优化

分别研究 HCl-微波或纤维素酶(Case)-微波的作用效果,对影响猕猴桃果肉中果胶提取的主要因素进行梯度筛选,即 4 因素×5 水平(如表 1 所示). 选择 HCl 对 SDF-P 提取的最优条件后,对酶解条件进行响应曲面优化,建立 Box-Behnken 数学模型,经二组合分别优化工艺条件. 组合一包括酶浓度 *A*、微波时间 *B* 和功率 *C*,组合二设液料比 *D*、微波时间 *E* 和功率 *F*(如表 2 所示). 运用先酸解后酶解的三联法工艺措施,提高可溶性膳食纤维-果胶(SDF-P)的制备效率^[5,6,8].

表 1 4×5 HCl 和纤维素酶辅助微波处理
Table 1 4×5 design of HCl and cellulase treatment with microwave

水平	HCl/%	纤维素酶/%	液料比/(mL/g)	微波功率/W	微波时间/s
1	0.05	0.1	10.0	350	10
2	0.10	0.2	12.5	500	20
3	0.15	0.3	15.0	650	30
4	0.20	0.4	17.5	750	40
5	0.25	0.5	20.0	850	50

注:pH 4.8 ~ 5.5 范围内,一定反应体积下的微波功率和微波时间;*n* = 75, *N* = 3.

表 2 Box-Behnken 中心组设计和水平编码
Table 2 Coded factors and levels in Box-Behnken design

组合 1	水平			组合 2	水平		
	-1	0	1		-1	0	1
<i>A</i> 酶浓度/%	0.1	0.2	0.3	<i>D</i> 液料比(<i>V</i> : <i>W</i>)	12.5	15	17.5
<i>B</i> 微波时间/s	20	30	40	<i>E</i> 微波时间/s	20	30	40
<i>C</i> 微波功率/w	350	500	650	<i>F</i> 微波功率/W	350	500	650

注:pH 4.8 ~ 5.5 范围内,一定反应体积下的组合;*n* = 81, *N* = 3.

1.4 数据处理与统计学分析

本文数据均以 $\bar{x} \pm SD$ 表示,运用 Design Expert 7.1.3 和 SPASS13.0(IS-BN7-980009-06-1) 软件进行试验设计和统计学分析. 若差异显著,则进行组间多重比较^[13,14].

2 结果与分析

2.1 D-GA 标准曲线

采用 Spectrumlab54 紫外可见分光光度计,从 360 ~ 600 nm 对 D-GA 的标准溶液扫描,在 525 nm 处得到 D-GA 最大吸收波长,如图 1 所示. 以此建立标准曲线,其直线回归方程为 $y = 0.0068x + 0.1048 (R^2 = 0.9913, p < 0.01)$, (见图 2). 在 0 ~ 60 μg/mL 范围内,所测得的样品中 D-GA 含量是正确可靠的,可用于检测猕猴桃果肉中 SDF-P.

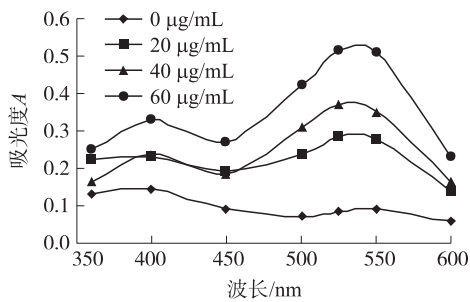


图1 D-GA 吸收光谱
Fig.1 D-GA absorbing spectrum

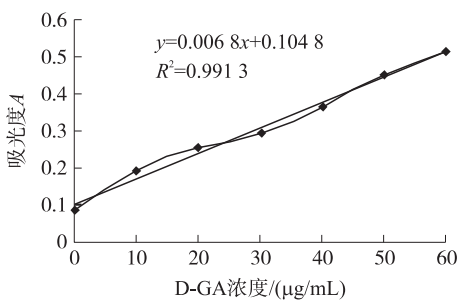


图2 D-GA 标准曲线
Fig.2 D-GA standard curve

2.2 HCl 及纤维素酶制备果肉 SDF-P 的适宜条件

2.2.1 酸解工艺条件

对影响酸提取效果的 4 因素:HCl 浓度、液料比、微波功率和时间进行 5 梯度筛选,得到适宜的酸解条件,分别为 0.2% HCl、15:1 (V:W)、500 W 和 40 s 微波处理,其 SDF-P 得率分别在 5.41%、5.12%、6.67% 和 6.40% (见图 3). 可以此作为制备猕猴桃果肉果胶 (SDF-P) 的预处理条件.

2.2.2 酶解工艺条件

对影响酶提取效果的 4 因素进行 5 梯度筛选,得到适宜的酶解条件,分别为 0.2% 纤维素酶 (Case)、15:1 (V:W)、联合 500 W 和 20 s 微波处理,其 SDF-P 得率在 3.99%、4.52%、5.38% 和 5.1% (见图 3).

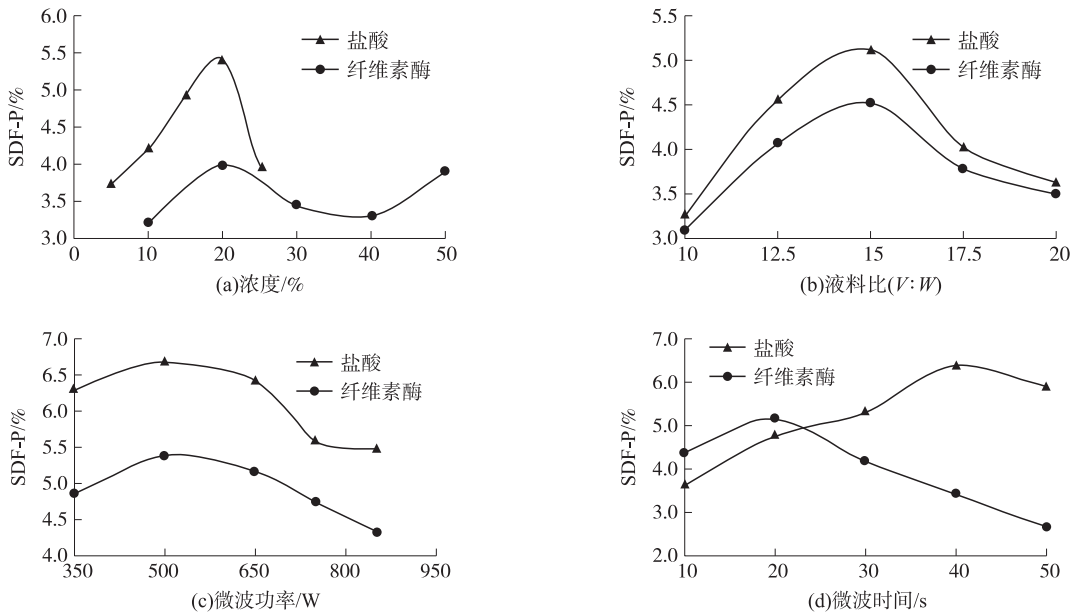


图3 HCl 及纤维素酶二联工艺提取猕猴桃果肉 SDF-P 的影响因素
Fig.3 Dual technology of HCl and cellulase to extract SDF-P in actinidia pomace

2.3 酶解条件优化及三联工艺建立

采用 Box-Behnken 数学模型,对酶浓度与微波功率和时间 (设为 ABC),或液料比与微波功率和时间 (设为 DEF) 进行响应曲面的条件拟合,优化工艺. 建立酶解二次多项回归方程,分别为:

$$Y_{ABC} = 49.65 + 0.035A + 2.74B - 0.45C - 0.067AB + 1.3AC + 2.36BC - 8.79A^2 - 10.30B^2 - 8.68C^2 \quad (R^2 = 0.9254, p < 0.01),$$
$$Y_{DEF} = 47.59 + 3.39D - 0.14E + 1.19F + 1.85DE + 2.74DF - 1.40EF - 7.10D^2 - 9.96E^2 - 4.76F^2 \quad (R^2 = 0.8300, p < 0.05).$$

采用上述酸解的适宜工作条件,预处理猕猴桃果肉样品,酸解产物脱酸后进入酶解工艺流程,并进行 Box-Behnken 数学拟合,分别建立二组合响应曲面. 组合一以酶浓度 (A) 对应微波时间 (B) 和功率 (C),组合二以液料比 (D) 对应微波时间 (E) 和功率 (F). 结果二组合均可显著提高 SDF-P 制备效果 ($p < 0.01, p < 0.05$).

0.05),有效提高了 SDF-P 的纯度和得率(如表 3、表 4 和图 4 所示).

研究发现,组合一中 ABC 因素间的互相作用,可极显著提高制备 SDF-P 的含量,平均达到 $(49.65 \pm 0.029)\%$ ($p<0.01$),优选为 $A_2B_2C_2$ 组合,即 0.2% Case、500 W 和 30 s 微波处理. 而组合二中,液料比和微波时间的幂次数具有显著影响力,且微波时间的贡献率最大($p<0.01$),其次为液料比($p<0.05$),优化的工艺组合为 $D_3E_2F_3$ 和 $D_2E_2F_2$ (15 : 1、500 W 和 30 s), SDF-P 含量分别达到 47.65% 和 $(47.99 \pm 0.025)\%$. 综合评估和节约能效,最佳酶解工艺条件选择 0.2% Case、15 : 1 ($V:W$)、500 W 和 30 s 微波处理. 采用酸-酶-微波联合方法不但明显增进 SDF-P 纯度,且提高其得率至 10.56% 和 11.06% (见表 3、表 4 和图 4).

表 3 Box-Behnken 响应曲面优化酶解工艺
Table 3 Optimized cellulose technology by Box-Behnken response surface

编组	组合 1		组合 2	
	编码	SDF-P ₁ %	编码	SDF-P ₂ %
1	$A_1B_1C_2$	27.21	$D_1E_1F_2$	27.51
2	$A_3B_1C_2$	27.10	$D_3E_1F_2$	27.88
3	$A_1B_3C_2$	34.16	$D_1E_3F_2$	29.46
4	$A_3B_3C_2$	33.78	$D_3E_3F_2$	37.24
5	$A_1B_2C_1$	30.99	$D_1E_2F_1$	29.28
6	$A_3B_2C_1$	28.77	$D_3E_2F_1$	33.28
7	$A_1B_2C_3$	32.98	$D_1E_2F_3$	32.69
8	$A_3B_2C_3$	35.97	$D_3E_2F_3$	47.65
9	$A_2B_1C_1$	34.16	$D_2E_1F_1$	36.64
10	$A_2B_3C_1$	33.56	$D_2E_3F_1$	33.21
11	$A_2B_1C_3$	23.06	$D_2E_1F_3$	35.33
12	$A_2B_3C_3$	31.91	$D_2E_3F_3$	26.30
13	$A_2B_2C_2$	52.84	$D_2E_2F_2$	49.78
14	$A_2B_2C_2$	48.15	$D_2E_2F_2$	45.87
15	$A_2B_2C_2$	52.63	$D_2E_2F_2$	44.25
16	$A_2B_2C_2$	45.18	$D_2E_2F_2$	49.78
17	$A_2B_2C_2$	49.47	$D_2E_2F_2$	50.27
总模型	$P_1=0.003\ 4$		$P_2=0.046\ 2$	
失拟项	$P_1=0.247\ 6$		$P_2=0.031\ 8$	
相关系数	$R_1^2=0.925\ 4$	$R_{1Adj}=0.829\ 6$	$R_2^2=0.830\ 0$	$R_{2Adj}=0.611\ 4$

表 4 Box-Behnken 响应曲面的显著性分析
Table 4 Significance analysis of Box-Behnken response surface

项	组合 1		项	组合 2	
	标准差	p 值		标准差	p 值
常数	1.73	0.003 4	常数	2.37	0.046 2
A	1.37	0.980 4	D	1.87	0.112 9
B	1.37	0.086 3	E	1.87	0.940 9
C	1.37	0.755 0	F	1.87	0.543 2
A^2	1.89	0.973 2	D^2	2.64	0.028 3
B^2	1.89	0.523 4	E^2	2.64	0.006 2
C^2	1.89	0.262 6	F^2	2.64	0.107 5
AB	1.94	0.002 3	DE	2.58	0.506 3
AC	1.94	0.001 0	DF	2.58	0.337 4
BC	1.94	0.002 5	EF	2.58	0.612 9

注:双尾法显著性检验.

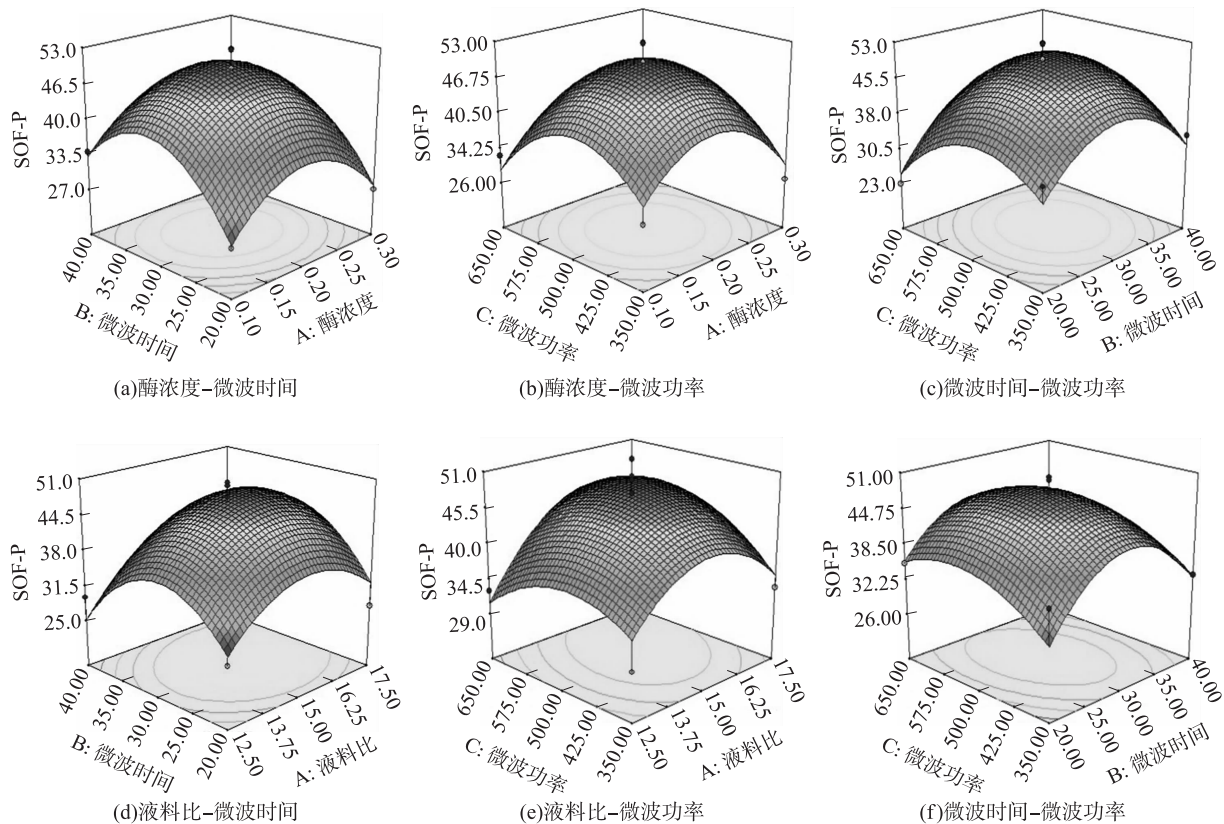


图4 酶-微波的 Box-Behnken 响应曲面

Fig. 4 Box-Behnken response surface for cellulase-microwave

3 结论

本文在研发制备可溶性膳食纤维-果胶(SDF-P)时,将传统酸解或酶解方法,联合微波技术,进行二联工艺的探究,发现其提取效率高于单一的酸法、酶法,但 SDF-P 的得率依然徘徊在 3% ~ 5%,效率不高^[6]. 故本文尝试将酸-酶-微波联合使用,进行三联工艺的创新,建立新的综合提取技术,在可能的最大限度上改进工艺,高效制备出 SDF-P,并有利于其工业化生产.

本研究注意到,酸-酶-微波三联工艺极大地增加了猕猴桃果肉粉中膳食纤维的消化和降解,使酸-微波或酶-微波制备 SDF-P 的得率从原来的(5.9±0.65)%和(4.7±0.53)%上升至 10.56%和 11.06%,分别提高了 1.8 和 2.5 倍. 而 SDF-P 含量从 20%左右提升到 47.65%~49.65%,提高了 2.4~2.5 倍. 因此,酸-酶-微波三联工艺大大改进了猕猴桃果肉中 SDF-P 的制备工艺,其 Box-Behnken 响应曲面从三维建立数学模型,提供了直观可视的描述.

综上所述,本研究建立的三联工艺,以酸解为预处理的先决条件,进而优化酶解-微波工艺,经二组合响应曲面优化,分别得到优化的酶解工艺. 最优条件为 0.2% Case, 15:1 (V:W), 500 W 和 30 s 微波处理,使猕猴桃果肉中 SDF-P 的得率提高至 10.56%和 11.06%,含量提高到 47.65%~49.65%,制备效率分别提高了 1.8~2.5 倍和 2.4~2.5 倍. 表明采用三联工艺可极大改进猕猴桃果胶制备效率且易于工艺化生产.

[参考文献](References)

[1] Parkar S G, Redgate E L, Wibisono R, et al. Gut health benefits of kiwifruit pectins: Comparison with commercial functional polysaccharides[J]. J of Functional Foods, 2010, 2(3): 210-218.

[2] 江国虹, 杨溢, 李静. 膳食纤维干预改善便秘作用的研究[J]. 中华流行病学杂志, 2004, 25(12): 1 073.

Jiang Guohong, Yang Yi, Li Jing. The research of dietary fiber to intervene and improve constipation[J]. Journal of Chinese

- Epidemiology, 2004, 25(12): 1 073. (in Chinese)
- [3] 韩俊娟, 木泰华, 张柏林. 膳食纤维生理功能的研究现状[J]. 食品科技, 2008(6): 243-244.
Han Junjuan, Mu Taihua, Zhang Bailin. Physiological functions and current research progress of dietary fiber[J]. Food Science and Technology, 2008(6): 243-244. (in Chinese)
- [4] 吴旻丹, 陈瑜, 金邦荃. 猕猴桃提取物促进小鼠离体肠段运动的初探[J]. 食品工业科技, 2011, 237(1): 78-80.
Wu Mindan, Chen Yu, Jin Bangquan. Effect of actinidia extract on small intestine movement of mice in vitro[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 237(1): 78-80. (in Chinese)
- [5] 汪海波, 汪芳安, 潘从道. 柑橘皮果胶的改进提取工艺研究[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 136-141.
Wang Haibo, Wang Fangan, Pan Congdao. Study on improved pectin extraction method from orange peel[J]. Food Science, 2007, 28(2): 136-141. (in Chinese)
- [6] 赵莎莎, 姚晓丽, 吴旻丹, 等. 酶法提取猕猴桃皮和渣中果胶的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(12): 7 097-7 100.
Zhao Shasha, Yao Xiaoli, Wu Mindan, et al. Research on the extraction technology of the pectin from kiwifruit skin and slag[J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2011, 39(12): 7 097-7 100. (in Chinese)
- [7] Yin X L, You Q H, Jiang Z H. Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from Tricholoma matsutake by response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(3): 1 358-1 364.
- [8] 贺寅, 王强, 钟葵. 响应面优化酶法提取龙眼多糖工艺[J]. 食品科学, 2011, 32(2): 79-83.
He Yin, Wang Qiang, Zhong Kui. Optimization of enzymatic extraction of polysaccharide from longan (Dimocarpus longan Lour.) pulp using response surface methodology[J]. Food Science, 2011, 32(2): 79-83. (in Chinese)
- [9] Olga G S, Olga A Z, Nikolai Y S. Enzymic extraction of pectin preparations from pumpkin[J]. Food Hydrocolloids, 1998, 12(3): 313-316.
- [10] Kratchanova M, Pavlova E, Panchev I. The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extraction pectin[J]. Carbohydr Polymers, 2004, 56: 181-185.
- [11] 王若兰, 姚玮华. 青稞膳食纤维微波法提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 169-174.
Wang Ruolan, Yao Weihua. Study on microwave extraction of dietary fiber in hull-less barley bran[J]. Food Science, 2005, 26(6): 169-174. (in Chinese)
- [12] Fishman M L, Chau H K, Hoagland P, et al. Characterization of pectin, flash-extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure[J]. Carbohydrate Research, 1999, 323(1-4): 126-138.
- [13] 胡运泉. 试验设计讲座[J]. 质量与可靠性, 1993(1): 43-46.
Hu Yunquan. Experimental design lectures[J]. Quality and Reliability, 1993(1): 43-46. (in Chinese)
- [14] 于立民, 丁国勇. 单因素试验中数据的统计学处理[J]. 电子测量技术, 1992(3): 30-33.
Yu Limin, Ding Guoyong. Statistical processing of the single-factor test data[J]. Electronic Measurement Technology, 1992(3): 30-33. (in Chinese)

[责任编辑: 严海琳]

更正声明

本刊2013年第1期所刊《石油资源纵向流动的环境效应分析——以某大型石油炼化企业为例》一文, 由于作者失误, 所写资助该文的江苏省高校自然科学研究计划项目的批准号有误, 导致本刊的刊出错误, 该项目批准号应为10KJB170006, 特此声明。