

酸提工艺对果胶品质的影响

林晓锋¹, 许 晨², 许建中^{2,*}, 夏金梅²

(1. 厦门大学化学化工学院化学工程与生物工程系, 福建 厦门 361005;

2. 国家海洋局第三海洋研究所海洋生物遗传资源重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘 要: 选用福建特产琯溪蜜柚果皮为原料, 考察酸提工艺条件对果胶的酯化度、黏均分子质量和半乳糖醛酸含量的影响, 设计正交试验 $L_9(3^4)$ 考察各因素的影响。结果表明: 在试验范围内, 酸提工艺条件对果胶的酯化度基本无影响, 对半乳糖醛酸的含量有明显的影 响, 对果胶的分子质量影响最显著。9 个不同试验条件下, 酸提果胶的酯化度 63.5% ~ 63.8%, 半乳糖醛酸含量 74.2% ~ 88.5%, 果胶的黏均分子质量 101 ~ 202ku。

关键词: 果胶; 酯化度; 分子质量; 半乳糖醛酸含量

Effects of Acid Extraction Parameters on Properties of Pectin from Pomelo Peel

LIN Xiao-feng¹, XU Chen², XU Jian-zhong^{2,*}, XIA Jin-mei²

(1. Department of Chemical and Biochemical Engineering, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Key Laboratory of Marine Biogenetic Resources, Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China)

Abstract: The effects of process parameters such as temperature, solid/liquid ratio, extraction time and pH for pectin extraction from Guanxi honey pomelo peel with dilute hydrochloric acid on degree of esterification (DE), viscosity-average molecular mass and galacturonic acid content of pectin were investigated using an $L_9(3^4)$ orthogonal array design. The results showed that the process parameters had little effect on pectin DH, remarkable effect on galacturonic acid content, and the largest effect on viscosity-average molecular mass. The 9 orthogonal array runs resulted in a DH of 63.5% - 63.8%, a galacturonic acid content of 74.2% - 88.5% and a viscosity-average molecular weight of 101 - 202 ku.

Key words: pectin; degree of esterification; molecular weight; galacturonic acid content

中图分类号: TQ041

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)24-0078-05

1825 年, 法国人 Bracennot 首次从胡萝卜中提取出一种能够形成凝胶的物质, 命名为“pectin”, 中文译为“果胶”^[1]。果胶是一类以半乳糖醛酸或甲酯化半乳糖醛酸为主的六碳糖经 -1,4 糖苷键连接而成的酸性多糖^[2](基本结构如图 1 所示)。果胶普遍存在于植物生物体中, 柑橘类、苹果、向日葵加工的皮渣下脚料^[3]是提取果胶的主要原料。果胶在食品、药品、保健品行业有着广泛用途, 根据其不同的物理化学性质, 可用作胶凝剂、增稠剂、稳定剂、悬浮剂、乳化剂、增香增效剂等等^[4], 且添加量不受限制。酯化度、胶凝度和半乳糖醛酸含量是评价果胶品质的重要参数, 决定着果胶的应用范围和经济价值^[5]。实际应用中, 低酯果胶

主要用于生产果酱、果冻^[6], 还可作为金属铅的解毒剂^[7]; 高酯果胶作为酸性饮料、乳制品的添加剂, 但低酯化度的果胶价格明显高于高酯化度果胶。胶凝度与果胶分子质量成正相关^[8], 高胶凝度的果胶更经济。果胶中半乳糖醛酸含量在国家标准^[9]中有明确规定, 作为食品添加剂的果胶, 其半乳糖醛酸含量必须高于 65%, 而作为制药果胶, 其半乳糖醛酸含量必须大于 85%。

本实验选用福建特产琯溪蜜柚果皮为原料, 考察酸提法提取果胶的工艺条件对其酯化度、黏均分子质量和半乳糖醛酸含量的影响, 以期对琯溪蜜柚果皮的精深加工建立技术依据。

收稿日期: 2011-06-27

基金项目: 福建省科技计划重点项目(2010Y0035)

作者简介: 林晓锋(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为化学工程。E-mail: 491468278@qq.com

* 通信作者: 许建中(1953—), 男, 高级工程师, 研究方向为生物化工。E-mail: hyss.xjz@163.com

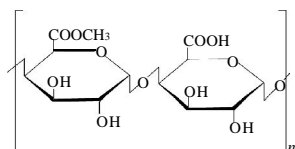


图1 果胶的基本结构
Fig.1 Structure of pectin

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

福建琯溪蜜柚(*Citrus grandis* (L.) Sbeck. cv.“guanxi miyou”) 厦门市购。

食用酒精(95%) 厦门市绿茵试剂玻仪有限公司；盐酸、氢氧化钠、乙酸钠、冰醋酸、硫酸(均为分析纯) 西陇化工股份有限公司；Milli-Q 纯水 美国 Millipore 公司。

1.2 仪器与设备

AL104 型电子天平 梅特勒-托利多仪器有限公司；乌氏毛细管黏度计(0.7mm) 上海市青浦区前明玻璃仪器厂；pH 计 意大利 Hanna Instruments 公司；数控水浴锅 上海申胜生物技术有限公司；UV-1700 型紫外可见分光光度计 日本岛津公司。

1.3 方 法

1.3.1 酸提取法制备果胶

酸提取法制备果胶工艺条件的主要影响因素有提取液的 pH 值、液料比(mL/g)、提取温度和时间^[10]。设计 L₉(3⁴) 正交试验，以考察这些因素对果胶酯化度、分子质量和半乳糖醛酸含量的影响。具体试验条件见表 1。具体过程为：取柚子皮粉末 10.0g，在试验号 1 的条件下提取果胶一次(用盐酸调至 pH1.0)，经浓缩、醇沉、干燥得到果胶样品。改变提取条件，以同样方法制备 2~9 号果胶样品，保存待用。

表 1 果胶提取的正交试验方案
Table 1 Orthogonal array design layout

试验号	温度/	液料比(mL/g)	时间/min	pH
1	85	25	45	1.0
2	85	30	60	1.5
3	85	35	75	2.0
4	90	25	60	2.0
5	90	30	75	1.0
6	90	35	45	1.5
7	95	25	75	1.5
8	95	30	45	2.0
9	95	35	60	1.0

1.3.2 酯化度(degree of esterification, DE)的测定^[11]

准确称取 1~9 号果胶样品各 0.500g，分别置 250mL 锥形瓶中，加入 100mL 不含二氧化碳的蒸馏水充分溶解；以酚酞为指示剂，用 0.1mol/L(C₁)氢氧化钠标准溶液滴定至终点，所消耗体积为 V₁(mL)；然后加入 20mL 0.5mol/L 氢氧化钠标准溶液皂化 2.0h；再加入 20mL 0.5mol/L 盐酸标准溶液进行酸化，最后用 0.1mol/L(C₂)氢氧化钠标准溶液滴定至终点，所消耗体积为 V₂(mL)。果胶的酯化度按公式(1)计算。

$$DE/\% = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100 \quad (1)$$

1.3.3 乌氏黏度法测定果胶的相对黏度

称取 5.85g 氯化钠溶于 1L 0.1mol/L 乙酸钠溶液中，再用冰乙酸调 pH 值至 4.0，以该溶液为溶剂分别配制质量浓度为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5g/L 的果胶溶液，在(25 ± 0.2) 条件下，分别测定果胶溶液和溶剂流过乌氏黏度计 a、b 刻度的时间 t、t₀，相对黏度 用公式(2)^[12]计算。

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad (2)$$

式中：t 为果胶溶液流过乌氏黏度计两刻度的时间，t₀ 为溶剂流过乌氏黏度计两刻度的时间，η_{rel} 为果胶溶液的相对黏度。

1.3.4 半乳糖醛酸含量的测定

采用硫酸咔唑法，测定果胶样品半乳糖醛酸含量。其含量计算见公式(3)。

$$\text{半乳糖醛酸含量}/\% = \frac{\text{果胶样品测得的半乳糖醛酸对应的质量浓度}}{100\text{mg/L}} \times 100 \quad (3)$$

1.3.4.1 半乳糖醛酸标准工作曲线的绘制^[13]

以半乳糖醛酸的质量浓度为横坐标，以吸光度为纵坐标，绘制半乳糖醛酸标准工作曲线。

1.3.4.2 果胶样品中半乳糖醛酸含量测定^[14]

配制 1~9 号果胶样品的水溶液，质量浓度为 100mg/L。取 9 根比色管，分别加入上述溶液 0.50mL，再缓慢加入 3.00mL 浓硫酸，混合均匀后 85 °C 水浴 10min，取出比色管用自来水冷却，再加入 1g/L 咔唑乙醇溶液 0.30mL，摇匀，95 °C 水浴显色 15min，自来水冷却至 25 °C，1h 内测定吸光度。将吸光度代入上述标准工作曲线计算半乳糖醛酸含量。

2 结果与分析

2.1 酯化度测定结果

表 2 1~9号样品果胶的酯化度

Table 2 DE values of the 9 orthogonal array runs

果胶样品	1	2	3	4	5	6	7	8	9	平均值
DE/%	63.6	63.6	63.7	63.8	63.5	63.7	63.7	63.8	63.5	63.7

由表2可知,果胶产品的酯化度不受酸提工艺的影响,细微的差别可能由实验滴定误差(约0.2%)引起。果胶产品的平均酯化度为63.7%,9个样品的酯化度均大于50%。该果胶产品为高酯果胶,适合作为酸性饮料的添加剂。

2.2 果胶黏均分子质量的计算与分析

果胶溶液为线性高分子溶液,其黏度与果胶分子质量有关,可以利用这一性质测定其分子质量。根据Market-Houwink方程^[12],果胶溶液的特性黏度 $[\eta]$ 与其黏均分子质量(M)存在以下关系:

$$[\eta] = M^a \quad (4)$$

参考赵长文等^[15]的黏度法测定柚皮果胶分子质量的方法, $a = 3.23 \times 10^{-7}$, $a = 1.75$ 。 $[\eta]$ 通过以下方法计算^[12]:

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}/c - 1}{c} \quad (5)$$

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\ln \eta_{sp}}{c} \quad (6)$$

式中: η_{sp}/c 为果胶溶液的相对黏度, $[\eta]$ 为果胶溶液的特性黏度, c 为果胶质量浓度。

如图2所示,以2号果胶样品为例,计算果胶样品的黏均分子质量。以 $\frac{\eta_{sp}}{c}$ 和 $\frac{\ln \eta_{sp}}{c}$ 分别对果胶的质量浓度(c)作图,并进行线性拟合,分别得到Huggins方程和Kraemer方程,分别外推至 $c = 0$,得到2号果胶样品的特性黏度 $[\eta]$ 为542mL/g和577mL/g,取均值 $[\eta] = 560$ mL/g。根据Market-Houwink方程(公式4),计算得该果胶样品的黏均分子质量为187ku。

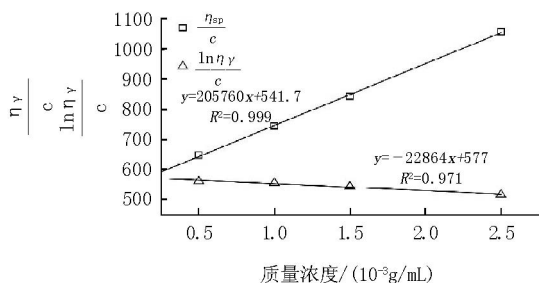


图 2 2号果胶样品的 Huggins 方程和 Kraemer 方程

Fig.2 Huggins and Kraemer curves of the second orthogonal array run

同样方法测定其他果胶样品的黏均分子质量,其结果见表3。

使用表3中的数据绘制果胶黏均分子质量的效应曲线见图3,横坐标为因素的水平,纵坐标为该因素同水平果胶分子质量的平均值。实验结果表明,酸提取的工艺因素中,提取液的pH值对果胶分子质量影响最大,pH值为2.0条件下所得的果胶的黏均分子质量明显高于pH值为1.0条件下所得果胶的黏均分子质量;提取温度和提取时间对果胶黏均分子质量也有一定影响,提取时间越长、温度越高,所得果胶黏均分子质量越低;液料比对果胶黏均分子质量影响最小。黏均分子质量大小一定意义上表明果胶的胶凝度高^[8],也影响添加果胶后饮料的口感。为了保证果胶的品质,得到高胶凝度的果胶,酸提果胶时,要严格控制提取液的pH值,适当减短提取时间,提取温度也不宜太高。

表 3 果胶黏均分子质量测定结果

Table 3 Orthogonal array design experimental results for viscosity-average molecular mass

果胶样品	温度/	液料比(mL/g)	时间/min	pH	黏均分子质量/ku
1	85	25	45	1.0	164
2	85	30	60	1.5	186
3	85	35	75	2.0	179
4	90	25	60	2.0	200
5	90	30	75	1.0	124
6	90	35	45	1.5	183
7	95	25	75	1.5	158
8	95	30	45	2.0	202
9	95	35	60	1.0	101
k ₁	176	174	183	130	
k ₂	169	170	162	176	
k ₃	153	154	153	194	
R	23	20	29	64	

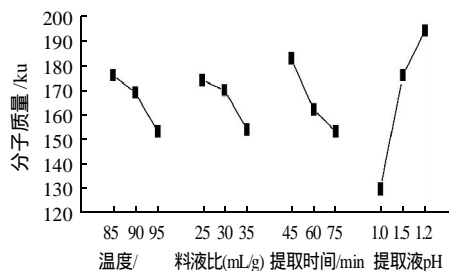


图 3 果胶黏均分子质量的效应曲线

Fig.3 Single-factor effects of various process parameters on viscosity-average molecular mass

2.3 半乳糖醛酸含量测定

图4为半乳糖醛酸含量标准工作曲线图,吸光度(Y)与半乳糖醛酸含量(X)之间的关系满足: $Y = 0.01167X + 0.152$,

表 4 半乳糖醛酸含量测定结果
Table 4 Orthogonal array design experimental results for galacturonic acid content

试验号	温度/	液料比(mL/g)	时间/min	pH	重复 1/%	重复 2/%	重复 3/%	均值 /%
1	85	25	45	1.0	86.6	87.1	83.1	85.6
2	85	30	60	1.5	86.0	85.6	88.3	86.6
3	85	35	75	2.0	75.0	77.3	78.2	76.8
4	90	25	60	2.0	74.5	75.2	76.7	75.5
5	90	30	75	1.0	89.1	87.8	88.7	88.5
6	90	35	45	1.5	83.2	83.5	81.4	82.7
7	95	25	75	1.5	86.7	84.4	87.4	86.2
8	95	30	45	2.0	75.4	4.2	72.9	74.2
9	95	35	60	1.0	87.7	87.4	85.6	86.9
K_1	747.2	741.7	727.4	783.1	$N = 27$ $T = \sum_{i=1}^N x_i = 2228.9$ $\bar{x} = T/N = 82.6$ $C = T^2/N = 183999.82$ $S_T = \sum_{i=1}^N x_i^2 - C = 776.97$			
K_2	740.0	747.9	746.9	766.5				
K_3	741.6	739.3	754.7	679.4				
$K_1^2/9$	62038.4	61118.7	5758786.98	68133.99	$S_e = S_T - S_A - S_B - S_C - S_D = 36.148$			
$K_2^2/9$	60850.7	62156.952	61978.94	65272.1				
$K_3^2/9$	61113.9	60728.5	4663277.76	51283.11				
$Q = (K_1^2+K_2^2+K_3^2)/9$	184003	184004.256	184043.7	184689.2				
$S = Q - C$	3.164	4.433	43.854	689.372				

在质量浓度范围 0 ~ 200mg/L 内, 相关系数为 $R^2 = 0.9998$, 线性良好。

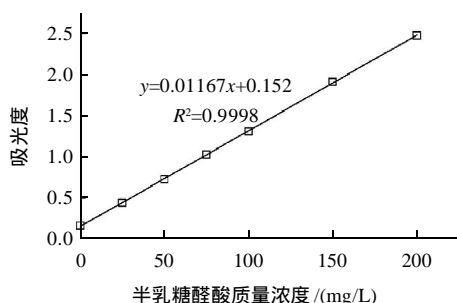


图 4 半乳糖醛酸含量标准工作曲线
Fig.4 Galacturonic acid standard curve

将果胶样品吸光度代入半乳糖醛酸含量标准工作曲线, 得到 1 ~ 9 号果胶样品的半乳糖醛酸含量, 并对四个因素作方差分析^[16]。其结果见表 4 和表 5。

表 5 果胶样品中半乳糖醛酸含量方差分析
Table 5 Variance analysis for galacturonic acid content with various process parameters

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	显著性
温度	3.16425	2	1.58	0.79	
液料比	4.432895	2	2.22	1.10	
时间	43.85375	2	21.93	10.92	**
pH	689.3715	2	344.69	171.64	**
误差	36.14773	18	2.01		

注: $F_{0.20(2,18)} = 1.50$; $F_{0.01(2,18)} = 6.01$ 。**表示差异极显著, $P < 0.01$ 。

从表 4 可以看出, 当温度和液料比改变时, 果胶样品的半乳糖醛酸含量基本没有变化; 随着提取时间的

延长, 果胶样品的半乳糖醛酸含量有一定提高; 提取液的 pH 值从 2.0 降到 1.5 或 1.0, 果胶样品的半乳糖醛酸含量有明显提高。表 5 结果表明, 4 个因素对果胶样品的半乳糖醛酸含量的影响程度不尽相同($F_{\text{温度}} < F_{\text{液料比}} < F_{0.20} < F_{0.01} < F_{\text{时间}} < F_{\text{pH}}$), 温度和液料比对果胶样品的半乳糖醛酸含量基本没影响, 而提取时间对果胶样品的半乳糖醛酸含量有显著影响, 提取液的 pH 值是果胶样品的半乳糖醛酸含量变化的主要影响因素。

3 结论

本实验以涪溪蜜柚果皮为原料, 采用四因素三水平正交试验, 考察酸提工艺因素(提取温度 85 ~ 95、液料比 25 ~ 35mL/g、提取时间 45 ~ 75min 和提取液的 pH 1 ~ 2)对果胶品质(DE、黏均分子质量和半乳糖醛酸含量)的影响。在本实验范围内, 得出以下结论:

3.1 所制得的柚子皮果胶的酯化度在 63.5% ~ 63.8% 之间, 为高酯果胶, 酯化度不受酸提条件影响。

3.2 乌氏黏度法测得柚子皮果胶的黏均分子质量在 100 ~ 200ku 之间, 提取液的 pH 值是最大的影响因素。为了保证果胶产品的质量, 酸提工艺应严格控制提取液的 pH 值, 防止提取液的 pH 值过低, 并适当减短提取时间、降低提取温度。

3.3 酸提所得到的柚子皮果胶的半乳糖醛酸含量在 74.2% ~ 88.5% 之间, 提取液的 pH 值是影响试验结果的最主要的因素, 提取时间对试验结果也有显著影响; 以柚子皮为原料生产药用果胶时, 可降低提取液的 pH 值并适当延长提取时间以提高果胶产品的半乳糖醛酸含量。

参考文献：

- [1] 任建辉, 徐雅琴. 低甲氧基果胶的研究概况[J]. 食品工程, 2006(2): 19-26.
- [2] RIDLEY B L, O'NEILL M A, MOHNEN D. Pectins: structure, biosynthesis and oligogalacturonide-related signaling[J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(6): 929-967.
- [3] 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.
- [4] 于惠生. 果胶在食品工业中的应用[J]. 食品科学, 1983, 9(11): 29-32.
- [5] 焦云鹏, 徐伟, 朱秀灵, 等. 低酯果胶的制备、应用和研究进展[J]. 四川工业学院学报, 2004(4): 57-62.
- [6] 詹晓北. 食用胶的生产、性能与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004: 60-113.
- [7] RIAZ A. Polysaccharide components of sunflower heads[J]. *The Pectins Pak J Sci Ind Res*, 1972(15): 167-170.
- [8] 邱志新, 王寿祥, 蒋萍初, 等. 果胶的甲氧基含量相对粘度与胶凝强度的关系[J]. 食品与发酵工业, 1986(2): 62-65.
- [9] 中华人民共和国国家标准. GB 25533—2010 食品添加剂-果胶[S]. 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会, 2010.
- [10] 陈发河, 吴光斌, 陈旭, 等. 琯溪蜜柚果皮中果胶提取工艺优化研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 387-391.
- [11] MONSOOR M A. Effect of drying methods on the functional properties of soyhull pectin[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2005, 61(3): 362-367.
- [12] 何曼君. 高分子物理[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1990: 29-32.
- [13] 徐汶, 王光辉, 王存文, 等. 咪唑比色法测定豆腐柴叶果胶含量的研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(3): 133-135.
- [14] 张小玲. 果胶的咪唑硫酸分光光度测定法研究[J]. 甘肃农业大学学报, 1999(1): 75-78.
- [15] 赵长文, 张丽莎, 林锦明, 等. 粘度法测定柚皮果胶分子量[J]. 第二军医大学学报, 1984, 5(2): 91-95.
- [16] 沈邦兴. 实验设计及工程应用[M]. 北京: 中国计量出版社, 2005: 126-138.