

酸解法从三叶木通果皮中提取果胶的研究

张孟琴^{1,2}, 田爱琴, 刘占朝^{*}, 孔繁伦, 张丽娜 (1. 河南科技大学林业职业学院, 河南洛阳471002; 2. 湖南农业大学生物科技学院, 湖南长沙410128; 3. 河南省林业科学研究所, 河南郑州450008; 4. 河南省舞阳县职业高级中学, 河南舞阳462415)

摘要 通过单因素和正交实验设计研究并确定了用酸解法在三叶木通这种经济价值较高野生生物中提取果胶的最佳工艺, 结果表明, 酸解法提取果胶的最佳工艺参数为: 温度95℃, pH值1.2, 时间120 min, 固液比1:25, 在该条件下果胶的提取率为11.45%。为生产上从三叶木通果皮中大量提取果胶提供了技术支持。

关键词 三叶木通果皮; 果胶; 酸解法; 提取

中图分类号 Q946 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)16-04757-03

Studies on Extracting Pectins from *Akebia trifoliata koi az* peels by Acid Hydrolyzation

ZHANG Meng-qin et al (College of Forestry Vocation, Henan Sci-Tech University, Luoyang, Henan 471002)

Abstract The optimal technology of extracting pectin from peels of *Akebia trifoliata koi az*, a kind of wild plants with high economy, was confirmed by acid hydrolyzation through single factor and correctitude test design. The optimal parameters of extracting technology were temperature of 95℃, pH of 1.2, time of 120 min, the ratio of peel materials and water of 1:25. With this way, the rate of extracted pectin was up to 11.45%.

Key words *Akebia trifoliata koi az* peel; Pectin; Acid hydrolyzation; Extracting

三叶木通(*Akebia trifoliata koi az*)属于木通属落叶木质藤本植物^[1], 果实皮厚、种子多, 可食用率低, 鲜果皮占总果重的69.1%^[2]。已有研究表明, 桔皮、芒果皮和苹果渣等含有丰富的果胶。笔者推测三叶木通果皮内也含有较多的果胶。但有关从三叶木通果皮中提取果胶的工艺尚未见报道。笔者探讨了酸解法从三叶木通果皮中提取果胶的工艺流程, 旨在提高三叶木通的经济效益, 解决三叶木通果皮丢弃带来的环境污染问题。

1 材料与方 法

1.1 植物材料、试剂与仪器

1.1.1 植物材料。三叶木通果皮。

1.1.2 主要试剂。盐酸和硫酸均为分析纯; 吡啶, CP Sigma公司; 半乳糖醛酸, BR Sigma公司; 2,6-二羧基酚, 上海试剂三厂。

1.1.3 仪器设备。pHS-3C型pH计; 万分之一电子天平; 电热鼓风干燥箱; SHZ-D多功能循环水式真空泵; 高速冷冻离心沉淀机; 722N可见分光光度计。

1.2 方 法

1.2.1 果胶的测定原理。果胶的结合单元为D-吡半乳糖醛酸(D-galacturonic acid), 以-1,4糖苷键连接成长链状, 通常以甲酯化状态存在, 其主链上还有L-阿拉伯糖、D-半乳糖、D-山梨糖、L-鼠李糖等, 分子量为1万~40万kD^[4]。吡啶硫酸法是利用果胶的水解产物半乳糖醛酸在浓硫酸介质中与吡啶形成稳定的紫红色络合物, 然后在最大吸收波长下建立吸光度与浓度的标准工作曲线, 进而计算样品中果胶的含量^[4]。

1.2.2 标准溶液的配制。精确称取半乳糖醛酸100.00 ng, 用双蒸水溶解, 在容量瓶内定容至100 ml, 形成浓度为1.0 ng/ml的半乳糖醛酸溶液, 置冰箱中低温保存备用。从浓度为1.0 ng/ml的半乳糖醛酸溶液中分别取1、2、3、4、5、6 ml, 在100 ml容量瓶中定容至刻度, 形成浓度为10、20、30、40、50和60 μg/ml的半乳糖醛酸标准溶液。

在7支50 ml比色管中, 分别加入分析纯浓硫酸12 ml, 置于冰水中冷却, 边冷却边缓缓加入浓度为10、20、30、40、50、60 μg/ml的半乳糖醛酸各2 ml, 在第7支比色管中加入2 ml的双蒸水作空白对照, 充分混合后再置于冰水中冷却, 然后于沸水浴中加热10 min, 冷却至室温后, 再加入0.15%吡啶1 ml, 充分混合, 室温放置30 min。在波长530 nm下以试剂空白作参比, 测定吸光度A^[4], 并建立果胶含量的标准曲线。

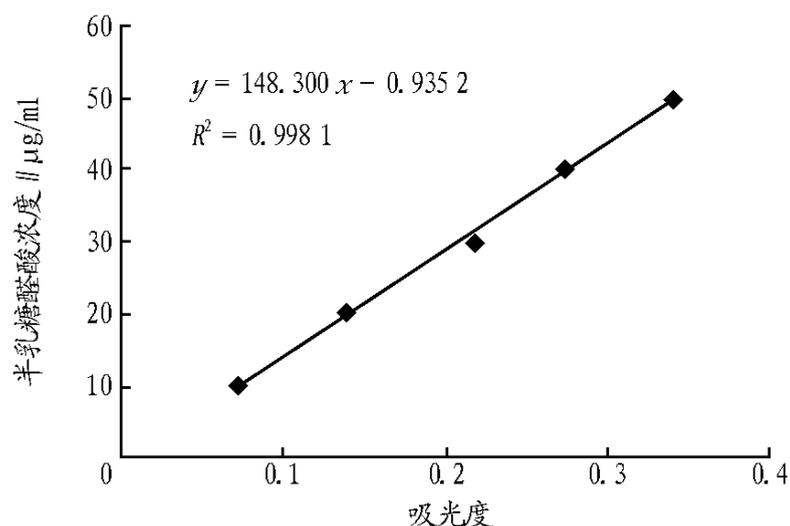


图1 果胶的标准曲线

根据不同含量半乳糖醛酸所测定的吸光度, 建立了果胶浓度的标准曲线(图1), 回归方程为 $y = 1483.3000x - 0.9352$, $R^2 = 0.9981$ 。因此, 该方程式在吸光度为0.072~0.341范围内具有良好的线性关系和较高的可信度。

1.2.3 三叶木通果皮中果胶的测定。准确称取三叶木通果皮10.0 g, 置于500 ml烧杯中, 加10倍去离子水浸泡40 min, 再用去离子水洗涤3~4次, 以去除色素和可溶性糖, 直至滤液用穆立虚反应检验至无糖分为止^[4]。然后, 按固液比1:15加水后, 用硫酸调pH值至1.2左右, 放入500 ml烧杯中于沸水浴恒温加热90 min。趁热用200目滤布过滤, 洗涤滤渣数次至不粘稠, 合并滤液并置200 ml容量瓶中过夜静置。吸取上清液5 ml于100 ml容量瓶, 定容。吸取稀释液2 ml, 按半乳糖醛酸标准曲线制作方法测其吸光度A。由标准曲线查出半乳糖醛酸的浓度后, 计算出果胶物质的总量。样品中果胶物质的总量以半乳糖醛酸表示。

$$\text{果胶物质总量} = \frac{\text{半乳糖醛酸浓度 } C \times 100}{\text{样品质量 } m \times 10^6} \times \frac{100}{5} \times 250$$

基金项目 河南省省属科研院所研究专项资金项目(0441100102)。

作者简介 张孟琴(1969-), 女, 河南洛阳人, 硕士, 讲师, 从事植物化学研究。* 通讯作者。

收稿日期 2007-01-26

1.2.4 三叶木通果胶的提取工艺流程及操作要点。

(1) 提取工艺流程。干燥的木通果皮 粉碎 漂洗 酸解 脱色 乙醇沉淀 洗涤 干燥。

(2) 操作方法及要点。干燥粉碎。木通果皮要置于气流烘干箱内80 左右烘干(温度不可过高),也可晾晒,然后粉碎过40 目筛网。漂洗。酸提取前将粉碎的果皮用8~10 倍的水浸泡1 h,然后挤去水分,再用去离子水洗涤数次,以去除果皮中的可溶性糖、色素和其他杂质,用穆立虚反应检验至无糖分为止。酸解。按固液比(三叶木通质量与水的质量比例)1 25~1 30 用稀硫酸调溶液pH 值至1.2 左右,在90~100 条件下恒温水解约2 h。趁热过滤,并用去离子水洗涤滤渣3 次,然后合并滤液。脱色。100 ml 浸提液中加入0.7~0.9 g 的活性炭,在65 下脱色35 min。沉淀。用无水乙醇进行沉淀,减压抽滤。洗涤干燥。沉淀先用95% 的乙醇洗涤,然后用无水乙醇洗涤,置于烘箱内40 干燥至恒重。

1.2.5 萃取剂的选择。该试验选用酸性较强的盐酸、硫酸、硝酸、磷酸进行萃取效果比较,以确定最佳萃取剂。取10.0 g 已粉碎至40 目的三叶木通果皮,漂洗后,加入250 ml 的去离子水充分混合浸泡,而后分别用20% 的HCl、H₂SO₄、HNO₃ 和H₃PO₄ 作萃取剂,调溶液的pH 值至1.2 左右,在95 下保温120 min,过滤并收集滤液,测定果胶溶液中果胶的含量,依次比较不同萃取剂的提取效果。

1.2.6 果胶酸提工艺参数的研究^[5-6]。

1.2.6.1 单因素影响试验。分别研究了提取温度、酸度(pH 值)、提取时间、液固比等单因素对果胶得率的影响。

1.2.6.2 正交试验法选取最佳提取工艺。对上述4 个因素设4 个水平,做4 因素4 水平L₁₆(4⁵) 的正交试验,以得到果胶酸解的最佳工艺条件。试验指标为果胶得率。

2 结果与分析

2.1 萃取剂的选择 果胶提取可使用酸的种类很多,并且不同种酸用于不同材料时提取的效果也有差异,一般有机酸的酸性弱于无机酸,且提取果胶的效率也较低^[1]。目前多用无机酸提取果胶,无机酸可以软化植物组织,使原果胶易于转化成可溶性果胶。比较HCl、H₂SO₄、HNO₃ 和H₃PO₄ 等几种强酸在三叶木通果皮中萃取果胶的效果与质量,可以发现使用H₂SO₄ 作萃取剂提取果胶,得率高于其他强酸(图2),且所得果胶的色泽和性质符合国家相关标准。因此,选取H₂SO₄ 作萃取剂。

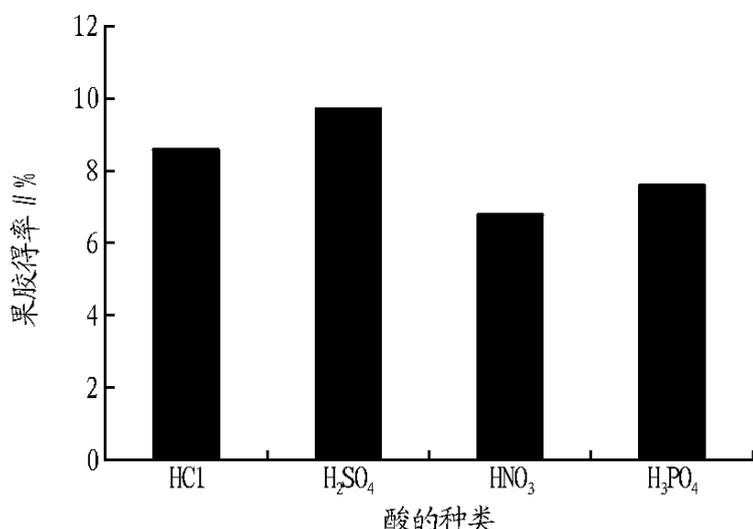


图2 不同酸对三叶木通果胶提取效果的影响

2.2 酸解工艺参数的确定 温度、溶液的pH 值、提取时间、液固比等是影响果胶得率的主要因素。笔者对这4 个因素分别作单因素和正交试验。

2.2.1 单因素影响试验。

2.2.1.1 温度对果胶提取的影响。由图3a 可看出,温度对果胶提取的影响显著。随着温度升高,果胶液的浓度增高,果胶的提取率增加。当温度较低时,果胶水解不充分,使果胶得率偏低;但温度过高,达到沸腾时,虽得率最高,但长时间使果胶处于高温状态,易引起果胶降解。故笔者认为,最佳提取温度为95 。

2.2.1.2 酸度对果胶提取的影响。由图3b 可看出,酸度对果胶提取的影响较大。酸解过程中,当pH 值低于1.0 时,会很快引起果胶降解,导致部分纤维素和半纤维素水解,从而使果胶质量降低(如果胶中酸不溶物含量增多及灰分高等);但pH 值过高时,不能完全分离果胶,导致果胶水解不完全,果胶得率降低。由图3b 可看出,当pH 值为1.2~1.5 时提取效果较好。

表1 正交试验方案及结果

| 编号 | 温度 | 时间 h | pH 值 | 固液比 | 空白 | 果胶得率 % |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 1 | 65 | 1.0 | 1.0 | 1 15 | 1 | 2.16 |
| 2 | 65 | 1.5 | 1.5 | 1 20 | 2 | 1.36 |
| 3 | 65 | 2.0 | 2.0 | 1 25 | 3 | 1.38 |
| 4 | 65 | 2.5 | 2.5 | 1 30 | 4 | 1.41 |
| 5 | 75 | 1.0 | 1.5 | 1 25 | 4 | 2.30 |
| 6 | 75 | 1.5 | 1.0 | 1 30 | 3 | 3.40 |
| 7 | 75 | 2.0 | 2.5 | 1 15 | 2 | 2.06 |
| 8 | 75 | 2.5 | 2.0 | 1 20 | 1 | 2.88 |
| 9 | 85 | 1.0 | 2.0 | 1 30 | 2 | 4.58 |
| 10 | 85 | 1.5 | 2.5 | 1 25 | 1 | 5.55 |
| 11 | 85 | 2.0 | 1.0 | 1 20 | 4 | 6.89 |
| 12 | 85 | 2.5 | 1.5 | 1 15 | 3 | 6.35 |
| 13 | 95 | 1.0 | 2.5 | 1 20 | 3 | 5.01 |
| 14 | 95 | 1.5 | 2.0 | 1 15 | 4 | 6.63 |
| 15 | 95 | 2.0 | 1.5 | 1 30 | 1 | 9.24 |
| 16 | 95 | 2.5 | 1.0 | 1 25 | 2 | 11.72 |
| \bar{K}_{1j} | 1.578 | 3.512 | 6.043 | 4.300 | 4.957 | |
| \bar{K}_{2j} | 2.660 | 4.235 | 4.813 | 4.035 | 4.930 | |
| \bar{K}_{3j} | 5.842 | 4.893 | 3.867 | 5.238 | 4.035 | |
| \bar{K}_{4j} | 8.150 | 5.590 | 3.507 | 4.658 | 4.308 | |
| 极差 R | 6.572 | 2.078 | 2.536 | 1.203 | 0.922 | |

表2 正交试验方差分析

| 因素 | 偏差平方和 | 自由度 | F 比 | F 临界值 | 显著性 |
|------|---------|-----|--------|-------|-----|
| 温度 | 108.153 | 3 | 33.309 | 9.280 | * |
| 时间 | 9.497 | 3 | 2.925 | 9.280 | |
| pH 值 | 15.395 | 3 | 4.741 | 9.280 | |
| 固液比 | 3.247 | 3 | 1.000 | 9.280 | |
| 误差 | 3.250 | 3 | | | |

2.2.1.3 提取时间对果胶得率的影响。由图3c 可知,加热时间对果胶提取效果也有很大影响。在120 min 内,随着加热时间延长,果胶提取率越来越高;但当加热时间超过120 min 后,随着时间的延长果胶得率反而下降,可能是提取时间过长引起果胶过度水解的缘故,从而影响果胶得率。试验结果

表明,提取时间以120 min 较好。

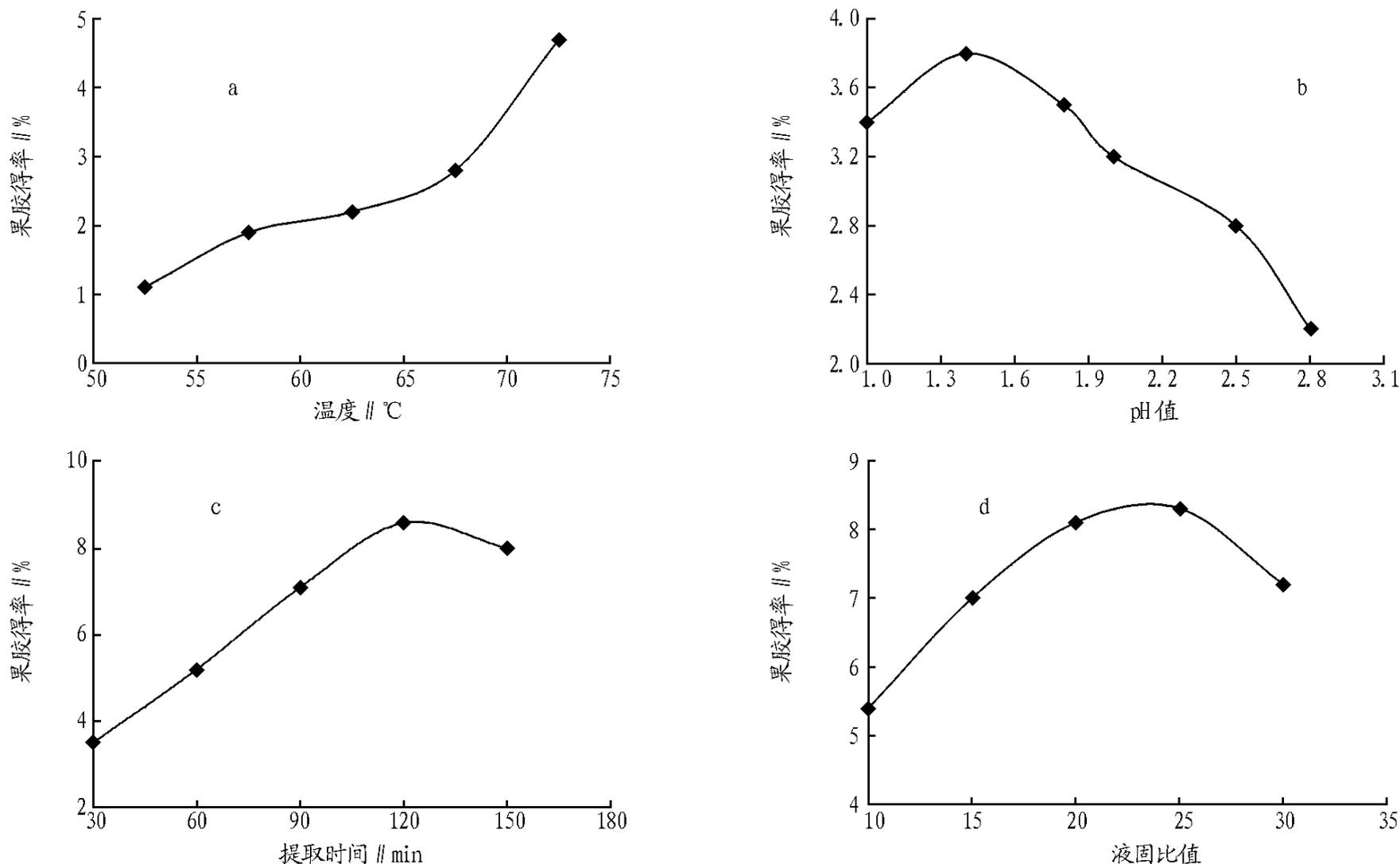


图3 温度、pH 值、提取时间和液固比对果胶提取的影响

2.2.1.4 液固比对果胶提取的影响。由图3d 可知,液固比对果胶提取的影响不大。当液固比较小时,果胶不易析出,果胶的损失较大;当液固比较大时,果胶容易析出,但提取液果胶浓度较低,给后续工艺增加了困难。综合考虑,以液固比为1.25~1.30 为宜。

2.2.2 正交试验法选取最佳提取工艺。试验对温度(A)、提取时间(B)、pH 值(C)、液固比(D) 等进行 $L_{16}(4^5)$ 全面正交试验,以得到果胶酸解的最佳工艺条件(表1)。

由表1.2 可看出,各因素作用的主次顺序为 $A > C > B > D$ 。通过比较 \bar{K}_j 值,可确定各因素的最优水平为 $A_4C_1B_4D_4$,即酸解的工艺参数为温度95 °C、pH 值1.0、提取时间150 min、固液比1.25。

在正交试验中,所筛选的最佳pH 值(1.0)和提取时间(150 min)与单因素试验中所得最佳pH 值(1.2)和提取时间(120 min)有一定差异。分析认为,当pH 值为1.0、提取时间为150 min 时,易引起果胶过度水解,造成果胶质量低下。因此,综合考虑后认为,以pH 值1.2、水解时间120 min 为宜。

综上所述,确定以硫酸作为从三叶木通果皮中提取果胶

最适宜的酸,酸解的最佳工艺条件为提取温度95 °C、pH 值1.2、提取时间120 min、固液比1.25。在上述最佳工艺条件下进行试验验证,得出果胶得率为11.45%。

3 结论

(1) H_2SO_4 是一种从三叶木通果皮中提取果胶调整溶液pH 值的很好萃取剂,所得果胶产率较高,品质较好。

(2) 酸浸提的最佳工艺参数为温度95 °C、pH 值1.2、时间120 min、固液比1.25,在该条件下测得果胶的提取率为11.45%。

参考文献

- [1] 刘孟军. 中国野生果树[M]. 北京: 中国农业出版社,1999.
- [2] 熊大胜, 牟子平. 三叶木通资源的开发与利用[J]. 湖南林业科技,1993, 20(1): 38-43.
- [3] 田三德, 任红涛. 果胶生产技术工艺现状及发展前景[J]. 食品科技, 2003(1): 53-55.
- [4] 马莺, 王静, 牛天娇. 功能性食品活性成分测定[M]. 北京: 化学工业出版社,2005.
- [5] 邓红, 张宝善. 从苹果渣中提取食用纤维和果胶的研究[J]. 食品科技, 2002(5): 61-63.
- [6] 赵华, 陈晓媛. 仙人掌果胶提取工艺的研究[J]. 食品工业, 2006(3): 31-33.