

响应曲面法优化香蕉假茎中的果胶提取工艺

殷龙龙, 何忠平, 张玉苍*

海南大学材料与化工学院, 海口 570228

摘要:以香蕉假茎为原料,通过单因素实验及响应曲面法对影响果胶提取率的4个主要因素,包括:提取液pH、料液比、提取温度、提取时间进行优化。实验结果显示:香蕉假茎中果胶的最佳提取工艺参数为:pH 1.9、料液比(g:mL)1:40、提取温度79℃、提取时间131min,该条件下果胶的得率为22.35%,半乳糖醛酸含量符合国家标准。

关键词:果胶;香蕉假茎;单因素实验;响应曲面法;最佳提取工艺参数

中图分类号:TS202.3

文献标识码:A

Optimization of Extraction Conditions of Pectin from Banana Cauloid Using Response Surface Methodology

YIN Long-long, HE Zhong-ping, ZHANG Yu-cang*

College of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China

Abstract: The cauloid of banana was used as material for the extraction of pectin. The extraction conditions, including pH, material-liquid ratio, extraction temperature and extraction time, were optimized through single factor tests and response surface methodology using the extraction yield of pectin as index. The experimental results revealed that the optimal extraction conditions of pectin from the cauloid of banana were: pH 1.9, material-liquid ratio (g:mL) of 1:40, extraction temperature of 79 °C and extraction time of 131 min. Under the optimized conditions, the extraction yield of pectin was 22.35%, the content of galacturonic acid was in accordance with the Chinese national standard.

Key words: pectin; cauloid of banana; single factor tests; response surface methodology; optimal extraction condition

果胶是一种广泛存在于陆生植物初生细胞壁中的杂多糖,具有很高的营养价值和重要的工艺性能。目前果胶已经从多种传统材料中分离出来,例如南瓜果肉、甜菜、桃子果渣、苹果果渣、柑橘皮以及各种蔬菜组织等。果胶分子中除主链的 α -D-(1-4)-半乳糖醛酸残基外,还包括20%的中性多糖侧链:D-半乳糖、L-阿拉伯糖和L-鼠李糖^[1],通常以部分甲酯化状态存在,分子式为 $C_{14n+14}H_{20n+22}O_{12n+13}$ ($n=30\sim 300$)相对分子量在50,000~300,000之间^[2]。根据其酯化程度不同果胶分为高甲氧基果胶(HM-果胶)和低甲氧基果胶(LM-果胶)两类^[3]。

果胶是一种粉末状物质,浅白色或浅黄色,主

要作为添加剂如胶黏剂、增稠剂、稳定剂和悬浮剂等应用于食品工业和香料工业中。最近有报道果胶还可用于作为脂肪的替代品^[4]。在医学行业,果胶和果胶的铝盐可抑制肠道对胆固醇和三酸甘油酯的吸收,还可用作动脉硬化等心血管疾病的辅助治疗^[5]。因此从农副产品中提取果胶具有很大的经济效益和社会效益。

香蕉是一种热带和亚热带水果,是我国南方重要的经济作物之一。据统计,1997年海南省的香蕉种植面积仅有38万亩,2006年达到了69万亩,2011年收获面积达到87.5万亩,年产达到200多万吨^[6]。然而盛产香蕉的同时,也产生了几乎等量的香蕉副产品。长期以来香蕉的假茎和香蕉皮一直被当作废弃物,不仅没有得到合理的利用,而且还造成了环境污染。目前,对香蕉副产品,尤其是香蕉假茎的有效回收利用还鲜见报道。

本文根据国家标准GBT 10742-2008《造纸原料果胶含量的测定》中提供的测定方法对海南省海口

收稿日期:2013-07-23 接受日期:2013-12-12

基金项目:国家自然科学基金项目(51263006);教育部博导类专项基金项目(20134601110004);海南省重点项目(ZDXM20130086);海南省国际科技合作专项项目(KJHZ2014-02);海南省自然科学基金项目(314074);天大-海大协同基金;海南大学服务地方经济社会发展项目(HDSF201311)

* 通讯作者 E-mail: yczhang@hainu.edu.cn

市附近的香蕉假茎进行了果胶含量测定,得出其果胶含量约为 24.41% (干重),测定值与文献中提供的数值十分接近。目前国内外上已经有多种从植物组织中提取分离果胶的方法,如酸提取法、碱提取法、微生物提取法和酶法等。本实验采用酸提取法从香蕉假茎中提取果胶,并采用咔唑比色法对果胶含量进行测定,通过单因素实验对提取液 pH、料液比、提取温度、提取时间 4 个因素进行研究,并进一步采用响应曲面法综合分析各个因素之间的交互作用关系以及它们对果胶得率的影响,最终得到香蕉假茎中果胶的最佳提取工艺^[7]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

本实验采用的香蕉假茎取自海南省海口市附近的野生香蕉。磷酸(≥85,分析纯)、硫酸(95%~98%,分析纯)、乙醇(95%,分析纯)、无水乙醇(分析纯)、无水咔唑(分析纯)、半乳糖醛酸(分析纯)、无水草酸铵(分析纯)、粉末状活性炭(分析纯)。

1.2 主要仪器

HH-S 数显恒温油浴锅(金坛市江南仪器厂),UV2000 型紫外分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),BSA124S 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],DJJ-9140B 型电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司),DZF-6050 型真空干燥箱(上海林频仪器设备有限公司),GS-02 型粉碎机(北京锟捷玉诚机械设备有限公司),RE-3000 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

1.3 果胶提取工艺流程

材料预处理→灭酶→按一定料液比加入蒸馏水并调节 pH 至一定值→在一定温度下加热一段时间→过滤并保留滤液→脱色→浓缩并迅速冷却→加入 95% 的乙醇沉淀果胶→过滤→成品果胶。

1.4 原料预处理

将采集来的香蕉假茎切成小块,置于鼓风干燥箱中,在 105 ℃ 下干燥 10 h。取出来后用粉碎机粉碎至 60 目,然后置于真空干燥箱中,在 80 ℃ 下干燥 2 h。取干燥好的原料 5 g,加入 100 mL 的蒸馏水,在 80 ℃ 的油浴锅中加热 30 min,以使原料中固有的果胶酶失活,然后过滤并弃液,再用 40 ℃ 的蒸馏水冲洗滤渣 2~3 次,以除去原料中的水溶性色素和糖类物质^[8]。

1.5 果胶含量测定

根据国家标准 GBT 10742-2008《造纸原料果胶含量的测定》采用咔唑比色法测定果胶含量。果胶分子中的聚半乳糖醛酸能够与咔唑试剂在浓硫酸溶液中发生反应,生成一种紫色化合物,这种紫色化合物在 530 nm 波长处有最大紫外吸收峰,且其吸光度与果胶含量成正比^[8]。

取 1 mL 脱色后的果胶提取液,并用蒸馏水稀释至 100 mL。取 1 mL 的稀释液于 10 mL 的比色管中,并加入 8 mL 的浓硫酸,摇匀后在 75 ℃ 的水浴中保温 15 min,然后用自来水冷却比色管,冷却至室温后,向比色管中加入 0.2 mL 0.15% 的咔唑无水乙醇溶液,摇匀。将比色管置于暗处室温下显色 2 h,然后采用 1 cm 的比色皿于 530 nm 的波长下,在显色结束后的 30 min 内完成溶液吸光度的测定。原料中果胶的含量则以测定出的半乳糖醛酸的含量表示,计算公式如式(1):

$$X = \frac{c}{1000 \times M} \times 0.1 \times V \times 100\% \quad (1)$$

式中, X :果胶含量(以半乳糖醛酸含量表示),%; c :从标准曲线上得到的半乳糖醛酸的浓度,mg/L; M :干料的质量,g; V :脱色后提取液的体积,mL。

1.6 单因素实验

按照不同的料液比(w/v)向完成预处理的 5 g 原料中加入蒸馏水,再用稀磷酸溶液将 pH 调节到 2.0 左右,然后在油浴锅中恒温加热一段时间,恒温油浴锅温度大约为 80 ℃ 左右。加热结束后将混合物过滤,用 50 mL 的蒸馏水冲洗滤渣 2 次并过滤,合并所有滤液。向滤液中加入 5% (w/v) 的活性炭,然后在 60 ℃ 下脱色 60 min。脱色结束后将提取液过滤 3 次至溶液呈清澈透明状态。将滤液置于旋转蒸发仪中蒸发浓缩至 40 mL 左右,然后用自来水迅速冷却,用氨水将浓缩液的 pH 调节到 3.5 左右。最后加入相当于浓缩液 1.5 倍体积的 95% 的乙醇溶液并静置 30 min。可以看到有乳白色果胶呈絮状沉淀下来,过滤则得到成品果胶^[9]。重复以上流程考察提取液 pH 值、提取时间与提取温度对果胶得率的影响。

1.7 响应曲面法实验

根据单因素实验得出的使果胶得率趋于最大时 pH、料液比、提取温度和提取时间 4 个因素的最佳值,按照 4 因素 3 水平,使用软件 DX8Trial 设计出响应曲面法优化香蕉假茎中果胶提取工艺的实验,各因素和水平见表 1,实验设计表及结果见表 2。

表1 响应曲面法实验设计的因素和水平

Table 1 Factors and levels of response surface experiments

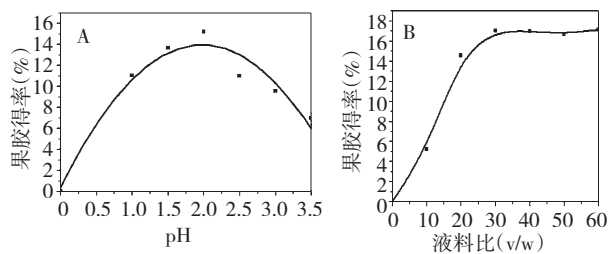
水平 Level	pH	料液比 Material-liquid ratio (w/v)	提取温度 Extraction temperature ($^{\circ}\text{C}$)	提取时间 Extraction time (min)
-1	1.5	0.025	70	90
0	2.0	0.0375	80	120
1	2.5	0.05	90	150

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 提取液 pH 的选择

实验结果表明 pH 对果胶得率的影响很大,改变提取液的 pH,使其分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 和 3.5,保持其他提取条件恒定,所得的实验结果见图 1A。由图 1A 可知,果胶得率在 pH 等于 2.0 时达到峰值,当 pH 小于 2.0 时,果胶得率随 pH 的增加而增大,但当 pH 大于 2.0 时,果胶的得率反而开始下降,这是由于酸度不够不能造成原料中果胶的完全溶解。



2.1.2 料液比的选择

分别按照液料比 (v/w) 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1 和 60:1 向预处理好的 5 g 原料中加入蒸馏水,并保持其他条件恒定,实验结果见图 1B。从图 1B 我们可知液料比对果胶得率的影响也很大,当液料比较小,原料中的果胶不能完全溶于提取剂中,果胶得率随着液料比的增大而增大,增大提取剂的用量,至液料比 (v/w) 达到 30:1 的时候果胶得率达到峰值,继续增大提取剂的用量,果胶得率趋于平衡,这是由于 5 g 干料中所含的果胶已经完全溶解于提取剂中,所以继续增加提取剂也不能提高果胶得率。

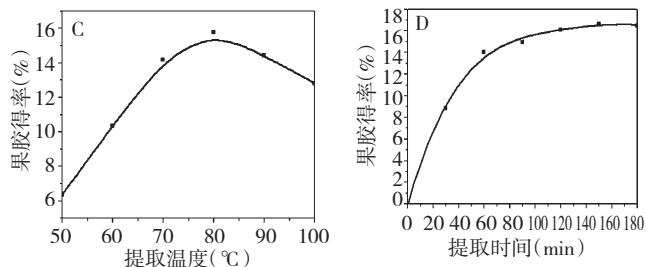


图1 提取液 pH(A)、液料比(B)、提取温度(C)及提取时间(D)对果胶得率的影响

Fig. 1 The influence of pH (A), liquid-material ratio (B), extraction temperature (C) and extraction time (D) to the extraction yield of pectin

2.1.3 提取温度的选择

研究提取温度对果胶得率影响的单因素实验结果见图 1C,在其他条件不变的情况下,提取温度分别取 50、60、70、80、90 和 100 $^{\circ}\text{C}$ 。图 1C 中显示,当提取温度低于 80 $^{\circ}\text{C}$ 时,果胶得率随温度的增加而增大,到 80 $^{\circ}\text{C}$ 左右果胶得率趋于平衡,但是当温度超过 90 $^{\circ}\text{C}$ 后,果胶得率又呈现下降的趋势,这是由于持续的加热造成了果胶分子内部网状结构的分解。

2.1.4 提取时间的选择

实验结果显示提取时间对果胶得率也有一定的影响,保持其他条件恒定,提取时间分别取 30、60、90、120、150 和 180 min,所得单因素实验的结果见

图 1D。由图 1D 我们可知当提取时间不到 120 min 时,原料中的果胶由于时间不够长而不能充分地溶解到提取剂中,在这段时间内果胶的得率会随着提取时间的增长而增大,当提取时间达到 120 min 以后,果胶得率逐渐趋于平衡,这是由于原料中的果胶已经完全溶解于提取剂中。

2.2 响应曲面法实验结果与讨论

根据实验设计表 2 由软件 DX8Trial 得出的描述提取液 pH(A)、料液比(B)、提取温度(C)和提取时间(D)4 个因素与果胶得率之间关系的回归方程可以总结如式(2)所示。

$$\text{果胶得率} = -1.57625 + 0.39650A + 5.36840B +$$

$0.028773C + 3.17717 \times 10^{-3} D + 0.40000AB + 0.10939A^2 - 89.25867B^2 - 1.84592 \times 10^{-4} C^2 - 1.15102 \times 10^{-5} D^2 (2)$
 $1.85000 \times 10^{-4} AC - 7.33333 \times 10^{-5} AD - 2.40000 \times 10^{-3} BC - 5.80000 \times 10^{-3} BD + 1.75000 \times 10^{-6} CD -$

表2 响应曲面法实验设计表及结果

Table 2 Design and results of response surface experiments

Std	实验号 No.	pH	料液比 Material-liquid ratio (w/v)	提取温度 Extraction temperature (°C)	提取时间 Extraction time (min)	果胶得率 Pectin yield
18	1	1	0	-1	0	15.88%
10	2	1	0	0	-1	16.38%
13	3	0	-1	-1	0	19.78%
11	4	-1	0	0	1	19.05%
8	5	0	0	1	1	18.32%
19	6	-1	0	1	0	18.65%
26	7	0	0	0	0	21.63%
27	8	0	0	0	0	22.09%
15	9	0	-1	1	0	19.91%
12	10	1	0	0	1	17.27%
21	11	0	-1	0	-1	20.92%
4	12	1	1	0	0	15.71%
5	13	0	0	-1	-1	19.27%
17	14	-1	0	-1	0	18.82%
25	15	0	0	0	0	21.87%
20	16	1	0	1	0	16.08%
16	17	0	1	1	0	16.43%
22	18	0	1	0	-1	16.54%
28	19	0	0	0	0	21.12%
1	20	-1	-1	0	0	19.78%
29	21	0	0	0	0	21.52%
6	22	0	0	1	-1	17.45%
14	23	0	1	-1	0	16.42%
3	24	-1	1	0	0	16.91%
24	25	0	1	0	1	17.66%
9	26	-1	0	0	-1	17.72%
23	27	0	-1	0	1	22.91%
7	28	0	0	-1	1	19.93%
2	29	1	-1	0	0	17.58%

每个实验因素的方差分析如表3所示,如果模型的 P 值小于0.05,则说明该模型较为显著。从表3中我们可以知道A、B、D、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对果胶的得率有显著地影响,其中料液比的影响是最大的,然

后依次是pH和提取时间。在所有的影响因素中,一次项和二次项对果胶得率的影响是巨大的,交互作用项的影响则很不明显,说明在香蕉假茎的果胶提取实验中,各因素之间不存在显著地交互作用。

表3 各实验因素的方差分析

Table 3 Variance analysis of each experimental factor

方差来源 Source	平方和 Sum of Squares	自由度 df	均方 Mean Square	F值 F-Value	Prob > F
模型	0.011866331	14	0.000847595	14.7440596	< 0.0001
A-pH	0.001206008	1	0.001206008	20.97870396	0.0004
B-料液比 B-Material-liquid Ratio	0.003748868	1	0.003748868	65.21218275	< 0.0001
C-提取温度 C-Extraction temperature	0.0000885633	1	0.0000885633	1.540574128	0.2349
D-提取时间 D-Extraction time	0.000392163	1	0.000392163	6.821747357	0.0205
AB	0.000025	1	0.000025	0.434879219	0.5203
AC	0.0000034225	1	0.0000034225	0.059534965	0.8108
AD	0.00000484	1	0.00000484	0.084192617	0.7759
BC	0.00000036	1	0.00000036	0.006262261	0.9380
BD	0.0000189225	1	0.0000189225	0.32916008	0.5753
CD	0.0000011025	1	0.0000011025	0.019178174	0.8918
A ²	0.004850855	1	0.004850855	84.38144486	< 0.0001
B ²	0.001261683	1	0.001261683	21.94719417	0.0004
C ²	0.002210211	1	0.002210211	38.44699008	< 0.0001
D ²	0.00069608	1	0.00069608	12.10842914	0.0037
残差 Residual	0.000804821	14	0.0000574872		
失拟项比 F值 Lack of Fit	0.000750809	10	0.0000750809	5.560313757	0.0563
绝对误差 Pure Error	0.000054012	4	0.000013503		
总离差 Cor Total	0.012671152	28			

注: $R^2=0.9365$,拟合 $R^2=0.8730$ 。

Note: $R^2=0.9365$,Adj $R^2=0.8730$ 。

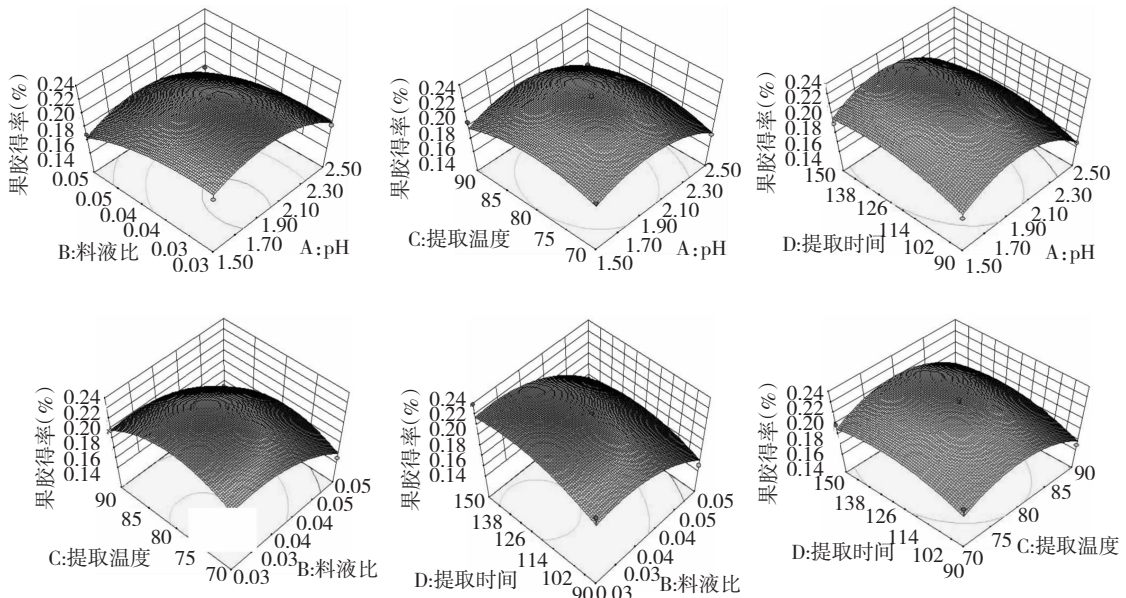


图2 提取液 pH、料液比、提取温度及提取时间对果胶得率影响的响应面图

Fig. 2 Response surface plots showing the effects of pH, material-liquid ratio, extraction temperature and extraction time on the extraction yield of pectin

A: pH 与料液比; B: pH 与提取温度; C: pH 与提取时间; D: 料液比与提取温度; E: 料液比与提取时间; F: 提取温度与提取时间

A: pH and material-liquid ratio; B: pH and extraction temperature; C: pH and extraction time; D: material-liquid ratio and extraction temperature; E: material-liquid ratio and extraction time; F: extraction temperature and extraction time

使用软件 DX8Trial 分析表 3 中的数据,通过进行二次多元拟合,我们可以得到六组二次多元回归方程的响应面,即图 2(A~F)。

从图 2(A)中我们可知,当液料比从 20:1 增加到 40:1 的过程中,随着 pH 的增加,果胶得率首先是缓慢的增加,直到 pH 达到 1.9 左右时果胶得率达到最大,然后随着 pH 的增加果胶得率又开始缓慢下降。从图 2(B)中我们可以看到,当提取温度在 70 °C ~ 90 °C 范围内时,果胶得率首先会随着 pH 的增加而增大,到 pH 增加到 1.91 左右时达到峰值,然后会随着 pH 的增大而迅速下降。类似的,在图 2(C)中,在 90 ~ 150 min 内,果胶得率也是先随着 pH 的增加而增大,到 pH 等于 1.9 左右的时候达到最大值,随后果胶得率会随着 pH 的增加而迅速下降。图 2(D)显示出在液料比为 20:1 ~ 40:1 的范围内,随着温度的升高,果胶得率也会增大,当提取温度达到 80 °C 左右的时候,果胶得率达到最大值,随后则会随温度的升高下降的很快。图 2(E)则说明在液料比为 20:1 ~ 40:1 的范围内,果胶得率会随着提取时间的增长而增大,但当提取时间超过 130 min 后,果胶得率则会随着提取时间而没有明显的变化。图 2(F)则说明了在 90 ~ 150 min 范围内,果胶得率会随着提取温度的升高而增大,到 80 °C 左右时达到最大值,但随后就会随温度的继续升高而下降。

2.3 验证实验

使用软件 DX8Trial 根据上述响应面分析得出的使果胶得率趋于最大时的最佳实验条件,预测了从香蕉假茎中提取果胶的最佳工艺参数如下:pH = 1.89(取 1.9),料液比(w/v) = 1:40,提取温度 = 79.31 °C(取 79 °C),提取时间 = 130.69 min(取 131 min)。用上述四个最佳工艺参数进行验证性实验得到的果胶得率为 22.35%,该数值与软件 DX8Trial 提供的理论值 22.47% 接近。

3 结论

本研究采用响应曲面法对从香蕉假茎中提取果胶的工艺进行了优化,最终的优化结果是:pH 1.9,料液比(w/v)1:40,提取温度 79 °C,提取时间 131 min。同时建立了关于香蕉假茎中果胶得率的二次多项式数学模型,如式(2),且该模型具有显著性(P

<0.001)。实验结果说明各因素与果胶得率之间的关系并不是简单的线性关系,而是二次关系。另外根据四个因素对果胶得率的影响程度排序依次是料液比、pH、提取时间和提取温度。实验结果证明,应用响应曲面法优化香蕉假茎中果胶的提取工艺不仅是科学合理的还是有效的。

致谢:大连工业大学何连芳教授级高级工程师、刘茵高级工程师实验指导,以及海南大学徐静老师给予的帮助表示感谢。

参考文献

- 1 Zhang HY(张火云),Wang Q(王强). Study on the pectin extracted from the apple peel. *Guangzhou Chem Ind*(广州化工),2009,30:106-108.
- 2 Zheng Q(郑琪),Zhang WQ(张文清). Study on the pectin extracted from the banana peel. *Guangxi J Light Ind*(广西轻工业),1998,4:21-26.
- 3 Masmoudi M, Besbes S, Ben I, *et al.* Pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice: rheological properties and microstructure of pure and mixed pectin gels. *Food Sci Technol Int*,2010,16:105-114.
- 4 Kar F, Arslan N. Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship. *Carbohydr Poly*,1999,40:277-284.
- 5 Zang YH(臧玉红). Study on the technique of pectin extraction from apple residue. *Food Sci Technol*(食品科技),2006,9:284-286.
- 6 Li B(李波). Impacted by the ASEAN import banana on sale as 0.2 yuan/catty on Hainan farmer net. *The Southern Rural News*(南方农村报),2012-06-22.
- 7 Qiu LP, Zhao GL, Wu H, *et al.* Investigation of combined effects of independent variables on extraction of pectin from banana peel using response surface methodology. *Carbohydr Poly*,2010,80:326-331.
- 8 Liu ZM(刘智梅),Wu RS(吴荣书),Ji ZY(冀智勇). Pectin-extracting with microwave from banana root. *Stor Proc*(保鲜与加工),2006,1:36-38.
- 9 Guo LP(郭丽萍),Zhu YL(朱英莲). Study on extraction of pectin from banana peel. *Sci Technol Cereals, Oils Foods*(粮油食品科技),2012,20(3):39-45.