

# 响应面法优化提取甜橙皮渣中果胶的工艺

马亚琴<sup>1,2,3</sup>, 孙志高<sup>1,2,\*</sup>, 吴厚玖<sup>1,2</sup>, 周志钦<sup>1,3</sup>

(1.西南大学柑桔研究所, 重庆 400712; 2.国家柑桔工程技术研究中心, 重庆 400712;

3.西南大学园艺园林学院, 重庆 400712)

**摘要:**通过单因素试验研究料液比、提取温度、提取时间和 pH 值 4 因素对甜橙皮渣中果胶得率的影响。在单因素试验的基础上, 采用三因素三水平的 Box-Behnken Design(BBD)中心试验设计研究响应值以及最佳变量的组合。结果表明: 随着 pH 值的降低和温度的增加果胶得率增加; 处理时间和料液比对果胶得率也有积极的影响。通过响应面法综合评价提取甜橙皮渣中果胶的最佳提取条件为温度 90 °C、时间 1.3h、pH1.1, 在此条件下的果胶得率预测值为 0.998%。

**关键词:**甜橙皮渣; 果胶; 提取; 响应面法

## Extraction Optimization of Pectin from Sweet Orange Peels Using Response Surface Methodology

MA Ya-qin<sup>1,2,3</sup>, SUN Zhi-gao<sup>1,2,\*</sup>, WU Hou-jiu<sup>1,2</sup>, ZHOU Zhi-qin<sup>1,3</sup>

(1. Citrus Research Institute, Southwest University, Chongqing 400712, China ;

2. National Citrus Engineering Research Center, Chongqing 400712, China ;

3. College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400712, China)

**Abstract:** To obtain the optimal process conditions for the extraction of pectin from sweet orange peels, the effects of material-to-liquid ratio, extraction temperature, length of extraction and pH on pectin yield were investigated by single factor method and based on this, a 3-factor, 3-level Box-Behnken experimental design coupled with response surface methodology was employed to optimize extraction temperature, length of extraction and pH. The results showed that pectin yield increased with decreasing pH and increasing temperature and length of extraction and material-to-liquid ratio had positive correlation with pectin yield. The optimum values of extraction temperature, length of extraction time and pH were determined to be 90 °C, 1.3 h and 1.1, respectively.

**Key words:** sweet orange peels ; pectin ; extraction ; response surface methodology

中图分类号: TS255.36

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)14-0010-04

柑橘是世界上第一大宗水果。中国是柑橘生产大国, 柑橘产量居世界第一<sup>[1]</sup>。目前, 中国柑橘产业的发展势头迅猛, 而柑橘深加工(果汁、罐头、酱等)必然产生大量的皮渣, 约占柑橘总质量的 50% 左右<sup>[2]</sup>。随着柑橘产业的发展, 柑橘皮渣弃而不用, 必将造成严重的经济负担和环境污染。此外, 柑橘皮渣含有丰富的功能性成分, 对其综合利用将带来可观的经济效益和社会效益<sup>[3]</sup>。因此, 探索柑橘皮渣的综合利用势在必行。

随着人们生活水平的提高, 对保健意识的增强, 以及食品和药物安全性的认识, 消费者更青睐于天然活性物质, 需求量日益增加。柑橘作为天然活性物质的

丰富资源被广泛关注<sup>[4-5]</sup>。柑橘皮中富含果胶, 果胶具有多糖的分子结构, 其主要功能是凝胶特性, 所形成的凝胶在结构、外观、色、香、味等方面均优于其他食品胶制作的凝胶<sup>[6]</sup>。同时, 果胶在食品领域还作为增稠剂、稳定剂、乳化剂而被广泛应用<sup>[7-8]</sup>。由此可见, 果胶是非常有发展前景的功能性食品。此外, 柑橘类水果膳食纤维的最大优点在于柑橘果皮和果肉中可溶性膳食纤维的含量分别在 8.89% ~ 15.39% 和 5.39% ~ 18.22% 之间<sup>[9]</sup>, 比谷类可溶性膳食纤维的含量高几倍甚至几十倍<sup>[10]</sup>。而高可溶性膳食纤维结合低饱和脂肪、低胆固醇膳食, 可以显著降低心脏病的发生率<sup>[11]</sup>, 所以, 柑橘类水果可作为膳食纤维的良好来源。在很多国家, 食

收稿日期: 2009-11-03

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2007BAD47B06); 柑桔学重庆市市级重点实验室开放基金项目(CKLC200805)

作者简介: 马亚琴(1978—), 女, 副研究员, 博士, 研究方向为食品科学。E-mail: myaya211@163.com

\* 通信作者: 孙志高(1964—), 男, 副研究员, 硕士, 研究方向为食品工程。E-mail: cpro@163.com

品立法权威机构认为果胶是一种应用价值高、安全无毒的食品添加剂,可作为食品添加剂添加到任何食品中<sup>[10]</sup>。特别是我国正在大力发展橙汁加工基地,柑橘皮渣来源丰富。因此,开发快速、高效提取柑橘皮渣功能性成分的加工技术刻不容缓。

目前,从柑橘皮渣中提取果胶的报道比较多,但从柑橘湿皮渣中直接提取果胶的研究鲜见报道。由于在工业上烘干皮渣大大提高了生产成本,所以,本实验应用响应面的研究方法,以期为加强柑橘湿皮渣的综合利用寻找有效途径。这对食品行业和食品添加剂行业都具有重要意义<sup>[11-12]</sup>。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

甜橙(北碚 447)皮渣来自中国农业科学院柑桔研究所,中试车间 FMC 榨汁后的皮渣,湿皮渣保存于 - 18 冷库备用;半乳糖醛酸 Sigma 公司;咪唑试剂 上海展云化工有限公司;浓硫酸(95% ~ 98%)、盐酸(36% ~ 38%)。

### 1.2 仪器与设备

391 FMC 全果榨汁机 美国 FMC 公司;TU-190 双光束紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;DZKW-4 电子恒温水浴锅 北京中心伟业仪器有限公司;PHS-3CT 酸度计 上海大普仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 果胶提取工艺路线

工艺流程:柑橘湿皮渣 切碎 高温快速灭酶 过滤 清水漂洗滤渣 酸水解 水浴提取。

操作要点:柑橘湿皮渣解冻后,切成 1cm<sup>2</sup> 大小的碎片,在 95 处理 5min 左右,再用清水快速漂洗数次,除去小分子糖类和部分色素,沥干,加入一定体积的水,用 0.05mol/L 的盐酸调节 pH 值,在一定温度、时间下提取处理,过滤,滤液备用待测。

#### 1.3.2 半乳糖醛酸含量的测定

以 D- 半乳糖醛酸为标准品绘制标准曲线,采用咪唑-硫酸分光光度法测定。测定标准曲线方程为:  $A=3.9164x+0.0121(R^2=0.9991)$ 。式中:  $A$  为波长 531nm 处的吸光度;  $x$  为 D- 半乳糖醛酸的含量/(mg/g)。

#### 1.3.3 单因素试验

称取 2.000g 甜橙湿皮渣,按 1:30(g/mL)加入自来水,用 0.05mol/L 的盐酸调节 pH 值,在恒温水浴箱浸泡提取,离心过滤所得滤液即为果胶提取液。研究料液比、提取时间、温度以及 pH 值 4 个因素对果胶得率的影响,确定各因素的最佳范围。

#### 1.3.4 响应面试验

基于单因素试验结果,以 1:30 为料液比。采用三因素三水平的 Box-Behnken Design(BBD)试验设计以 pH 值( $X_1$ )、提取时间( $X_2$ )、提取温度( $X_3$ )的值为自变量,以果胶得率为因变量,研究响应值以及最佳变量的组合。试验因素水平及编码见表 1。整个试验设计在中心点共有 17 次试验、5 个重复,试验随机完成。

表 1 响应面试验因素水平及编码

Table 1 Factors and levels in the Box-Behnken experimental design

自变量	编号	编码水平		
		- 1	0	1
提取温度/	$X_1$	85	90	95
提取时间/min	$X_2$	1.0	1.5	2.0
pH	$X_3$	1.0	1.5	2.0

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

在 70 、pH2 的条件下浸泡 1h,考察料液比的变化对果胶得率的影响。由图 1 可以看出,随着料液比的减小,果胶得率随之增加。当料液比从 1:15 减小到 1:30 时,果胶得率增加了 78.83%。但是当料液比达到 1:30 之后,其果胶得率变化不大。王鸿飞等<sup>[13]</sup>研究表明当料液比超过 1:15 时蜜橘中的果胶得率显著下降(以重量法计算果胶得率),认为料液比太小,果胶浓度大大降低,使得浓缩时间延长,沉淀剂用量加大,而沉淀效果不理想。该研究在计算方法和研究结果两方面与本实验的结果不一致,而汪海波等<sup>[14]</sup>在提取柑橘皮果胶的研究中其料液比对果胶的影响与本结果相似。

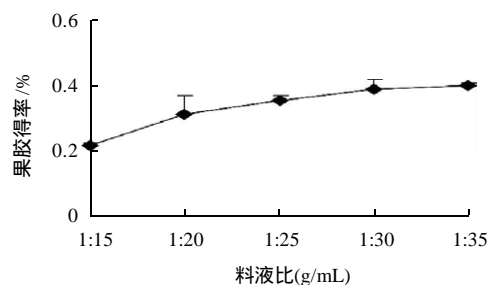


图 1 料液比对果胶得率的影响

Fig.1 Effect of material-to-liquid ratio on pectin yield

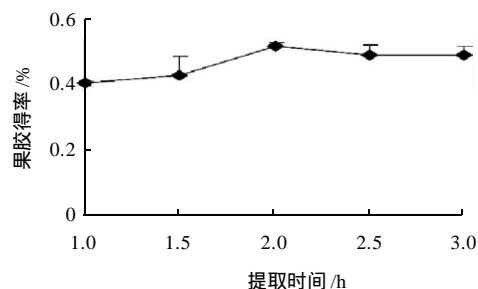


图 2 提取时间对果胶得率的影响

Fig.2 Effect of length of extraction time on pectin yield

由图2可知,在70、pH2、料液比为1:30的条件下,提取液中果胶得率随着时间的延长呈增加趋势,水解2h果胶得率达到最高。图3表明,在pH2、料液比1:30的条件下浸泡1h,随着温度的增加果胶得率显著增加,且在90果胶得率达到最大。同时发现,随着提取温度的升高和处理时间延长,反而造成果胶得率的下降。可能长时间高温导致半乳糖醛酸的降解所引起<sup>[15]</sup>。

酸度的变化对果胶得率的影响十分显著。由图4可知,在90、料液比1:30的条件下水解2h,发现pH1时,果胶得率达到最大,之后迅速下降。在试验中,当pH1时,在经过酸解后的果胶液中加入浓硫酸和咪唑试剂反应后,液料颜色呈暗色,很可能对果胶的品质有一定影响,这一结果与王鸿飞等<sup>[13]</sup>的报道一致。此外,柑橘皮渣的来源对果胶的提取率也有一定程度的影响,Francisco等<sup>[6]</sup>的研究认为食品厂产生的柑橘皮渣比化工厂产生的柑橘皮渣其果胶得率高2~10倍,说明经过化学处理后可能会造成半乳糖醛酸分子结构的破坏,从而导致果胶得率下降。

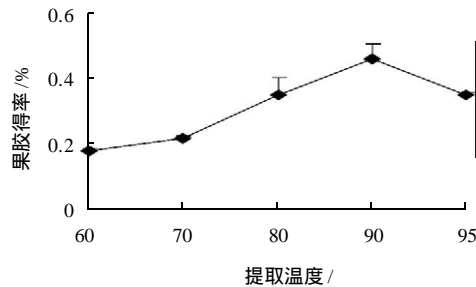


图3 提取温度对果胶得率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on pectin yield

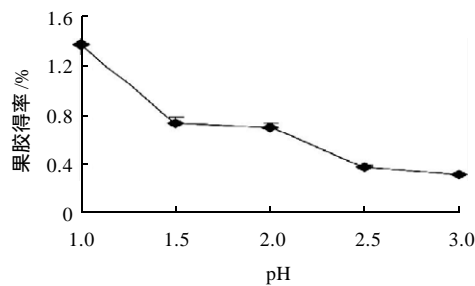


图4 酸度对果胶得率的影响

Fig.4 Effect of pH on pectin yield

## 2.2 响应面实验

在单因素试验的基础上,依据BBD的中心组合试验设计原理,确定了三因素三水平的响应面分析法,以1:30为料液比。果胶的提取结果见表2。

利用Design Expert软件,对试验设计各组合处理得到的果胶得率进行二次回归分析,建立多元二次响应

面回归模型:

$$Y=12.01 - 0.49X_1 + 3.41X_2 + 20.43X_3 - 1.66X_1X_2 + 2.19X_1X_3 - 5.18X_2X_3 - 0.50X_1^2 - 1.80X_2^2 + 17.01X_3^2$$

表2 响应面设计和果胶得率

Table 2 Box-Behnken experimental design matrix and corresponding experimental results of pectin yield

试验号	自变量			果胶得率/%
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	
1	-1	-1	0	0.51
2	-1	1	0	0.46
3	-1	0	-1	0.46
4	-1	0	1	0.56
5	0	-1	-1	0.71
6	0	1	-1	1.14
7	0	-1	1	0.56
8	0	1	1	1.28
9	0	0	0	1.00
10	0	0	0	1.16
11	0	0	0	0.54
12	0	0	0	0.35
13	0	0	0	0.54
14	1	-1	0	0.64
15	1	1	0	0.59
16	1	0	-1	0.49
17	1	0	1	0.36

对上述回归模型进行方差分析,由表3可知,回归模型的失拟项为0.5995,没有显著性差异,说明残差均由随机误差引起; $P$ 值小于0.0001,表明模型处理间差异极显著。其 $R^2$ 值为0.9893,这表明该模型具有良好的相关性,能很好的解释真实值。回归模型各项的方差分析还表明,各因素一次项是极显著的,交互项 $X_1X_3$ 、二次项 $X_1^2$ 和 $X_3^2$ 都表现为极高的显著性,说明各因素对响应值的影响相对复杂,不是简单的线性关系。

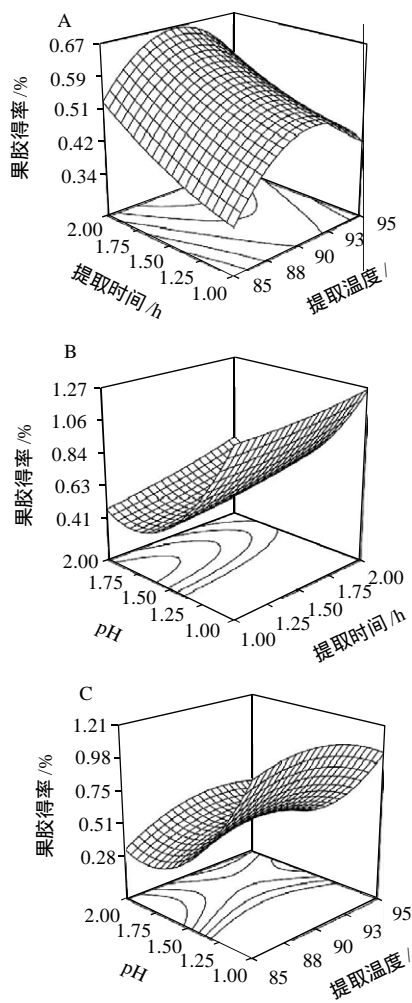
表3 响应值二次模型的方差分析

Table 3 Analysis of variances for the developed response surface quadratic model

变异来源	自由度	平方和	均值	$F$ 值	$P$ 值	显著性
模型	9	1.3447	0.1494	71.8701	< 0.0001	**
$X_1$	1	0.0064	0.0064	3.0441	0.1238	
$X_2$	1	0.0490	0.0490	23.6128	0.0019	**
$X_3$	1	0.7913	0.7913	380.6946	< 0.0001	**
$X_1X_2$	1	0.0005	0.0005	0.2395	0.6448	
$X_1X_3$	1	0.0240	0.0240	11.5450	0.0116	*
$X_2X_3$	1	0.0044	0.0044	2.1055	0.1918	
$X_1^2$	1	0.0625	0.0625	30.0377	0.0009	**
$X_2^2$	1	0.0018	0.0018	0.8693	0.3846	
$X_3^2$	1	0.4182	0.4182	201.0978	< 0.0001	**
失拟项	3	0.0146	0.0021	0.71	0.5995	
误差	4	0.0050	0.0017			
总和	16	0.0096				

注:\*.显著( $P < 0.05$ );\*\*.极显著( $P < 0.01$ )。

响应曲面图 5 直观呈现了各因素对响应值的影响。图 5A 表明, 温度过高、时间过长可能导致半乳糖醛酸分子结构的破坏, 使得果胶得率下降; 由图 5B 和图 5C 可知, 当 pH 值以一定梯度增加时, 时间和温度对果胶得率的影响相对减弱, 表现为曲线较为平滑, 但 pH 值对果胶得率的影响最为显著, 表现为曲线较为陡峭。



A. 提取时间和提取温度; B. pH 值和提取时间; C. pH 值和提取温度。

图 5 提取时间、提取温度和 pH 值对果胶得率影响的响应面图  
Fig.5 Response surface plots showing the pairwise interactive effects between length of extraction time and extraction temperature (A), between pH and length of extraction time (B), and between pH and extraction temperature (C) on pectin yield

根据上述结果, 对测得的响应值优化最佳的提取参数。考虑到成本、提取率, 通过回归模型的预测, 优化得到提取甜橙皮渣中果胶得率的最佳工艺参数为提取温度 90 °C、提取时间 1.3h、pH1.1。在最佳条件下, 果胶得率预测值为 0.998%。此外, 鉴于在低 pH 值的条件下, 试验所得果胶提取液的颜色较暗, 目前正在开展果胶品质的进一步研究。

### 3 结 论

本实验以水为提取溶剂, 研究了提取甜橙湿皮渣中果胶的影响因素和最佳的工艺条件。结果表明: 酸度的变化对果胶得率的影响最为显著, 但是随着酸度的增加, 可能对果胶的品质也造成一定影响; 果胶得率随着时间和温度的增加呈增加趋势, 随着提取温度的升高和处理时间的延长, 反而造成果胶得率的下降。采用响应面的方法优化了甜橙皮渣中果胶的工艺条件, 建立多元回归数学模型, 并利用统计学的方法检验了该模型的显著性, 综合分析了整个区域上因素的最佳组合和响应值的最佳值。优化后最佳的工艺参数为提取温度 90 °C、提取时间 1.3h、pH1.1, 在此条件下, 果胶得率预测值为 0.998%。

### 参 考 文 献 :

- [1] United States Department of Agriculture. World Markets and Trade: Citrus. 2008.[EB/OL]. [2010-04-10]. [http://www.fas.usda.gov/http/2008\\_Citrus\\_World Market Trade.pdf](http://www.fas.usda.gov/http/2008_Citrus_World%20Market%20Trade.pdf).
- [2] 叶兴乾. 柑桔加工与综合利用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [3] 黄来发. 食品增稠剂[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000.
- [4] BOCCO A, CUVELIER M E, RICHARD H, et al. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts[J]. J Agric Food Chem, 1998, 46: 2123-2129.
- [5] ROUSEFF R L, MARTIN S F, YOUTSEY C O. Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin, and neohesperidin in citrus[J]. J Agric Food Chem, 1987, 35, 1027-1030.
- [6] RODRÍGUEZ R, JIMÉNEZ A, FERNÁNDEZ-BOLAÑOS J, et al. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients [J]. Trends in Food Science and Technology, 2006, 17: 3-15.
- [7] LIU Y, SHI J, LANGRISH T A G. Water-based extraction of pectin from flavedo and albedo of orange peels[J]. Chemical Engineering Journal, 2006, 120: 203-209.
- [8] HAWTHORNE S B, GRABANSKI C B, MARTIN E, et al. Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix[J]. J Chromatogr A, 2000, 892: 421-433.
- [9] 祝渊, 陈力耕, 胡西琴. 柑橘果实膳食纤维的研究[J]. 果树学报, 2003, 20(4): 256-260.
- [10] SCHAAFSMA G. Health claims, options for dietary fibre[M]// van der KAMP J M, ASP N G, MILLER J, et al. Dietary fibre. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2004: 27-38.
- [11] 陈燕卉, 陈敏, 张绍英, 等. 膳食纤维在食品加工中的应用与研究进展[J]. 食品科学, 2004, 25(增刊 1): 251-255.
- [12] 吴晖, 侯萍, 李晓凤, 等. 不同原料中膳食纤维的提取及其特性研究进展[J]. 现代食品科技, 2008, 24(1): 91-95.
- [13] 王鸿飞, 李和生, 谢果凰, 等. 桔皮中果胶提取技术的试验分析[J]. 农业机械学报, 2005, 36(3): 82-85.
- [14] 汪海波, 汪芳安, 潘从道. 柑桔皮果胶的改进提取工艺研究[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 136-141.
- [15] 游新侠, 仇农学. 咔哇比色法测定苹果渣提取液果胶含量的研究[J]. 四川食品与发酵, 2007(1): 19-22.
- [16] FRANCISCO R M, CRISTINA S R, OBDULIO B G, et al. By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres[J]. Food Chemistry, 2007, 100: 736-741.