

# 不同工艺条件对桔皮果胶钙产量的影响

郭秀君,黄雪松\*

(暨南大学理工学院食品科学与工程系,广东广州 510632)

**摘要:**为提高桔皮果胶钙的产量,以桔皮为原料,用钙盐析法沉淀果胶,利用单因素和正交分析法,探讨pH、盐析时间、盐析温度、氯化钙添加量等因素对果胶钙产量的影响。结果表明,pH、盐析时间和温度对果胶钙产量影响显著,氯化钙添加量对果胶钙产量的影响不显著。生产果胶钙的最适宜条件为:pH10.00,温度40℃,时间6h,CaCl<sub>2</sub>用量为7.2g CaCl<sub>2</sub>/100g干桔皮,此条件下的桔皮果胶钙产量为19.67%。本研究为生产果胶钙提供了一定的参考。

**关键词:**桔皮,果胶钙,果胶

## Effect of some technological factors on yield of calcium pectinate from orange peel

GUO Xiu-jun, HUANG Xue-song\*

(Department of Food Science and Engineering, College of Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:**To increase yield of calcium pectinate from orange peel,pH,time,temperature,calcium chloride dosage were investigated through single factor and orthogonal method. Results showed that pH,time,temperature had significant effect on the yield of calcium pectinate, followed by the effects of calcium chloride concentration. The highest yield of calcium pectinate of 19.67% was achieved under the optimal extraction conditions of pH10.00,temperature 40℃,time 6h,7.2g calcium chloride per 100g orange peel. These results provided a basis to improve the yield of calcium pectinate.

**Key words:**orange peel;calcium pectinate;pectin

中图分类号:TS209

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2013)16-0258-04

果胶是重要的食品、药品、化工原料,被广泛地应用于各类食品中。桔皮中果胶的含量较高,约为其干重的30%<sup>[1]</sup>,是生产果胶的主要原料。目前,生产果胶的主要方法为乙醇沉淀法和盐析法。乙醇沉淀法需要消耗大量的酒精,成本高。盐析法能耗和成本均较低<sup>[1-2]</sup>,该法主要使用铁盐和铝盐沉淀果胶,但所获产品中有铁元素和铝元素残留<sup>[3]</sup>,在食品应用中有潜在的安全危害。

钙盐也可以与果胶结合生成的果胶钙沉淀,果胶钙经过脱钙后得到果胶,但该法未见文献报道。虽然有低甲氧基果胶与钙离子反应用于固定酶和细胞<sup>[4-7]</sup>、药物载体<sup>[8-9]</sup>、减少油炸食品含油量等<sup>[9-10]</sup>方面的报道,这些研究结果表明了(低甲氧基)果胶钙在食品中应用的安全性<sup>[10]</sup>,但对于钙盐能否应用于富含高甲氧基果胶的桔皮生产果胶钙的研究尚未见报道。果胶钙是生产果胶等产品的中间产物或半成品,为了提高桔皮果胶钙的产量,本论文研究酸度、温度、时间、钙化合物添加量等因素对桔皮果胶钙产量的影响,从而为桔皮资源的开发、果胶钙的生产和

应用、桔皮果胶的提取等方面提供理论基础和技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

桔皮 新鲜柑橘购于广州石牌东农贸市场,桔皮烘干后粉碎,过20目筛、密封备用;浓氨水、盐酸、氯化钙、氢氧化钙、乙醇 均为分析纯。

内径8cm,长度100cm的玻璃柱 广州精科化玻仪器有限公司;FC204型电子天平 上海精科天平厂;PL602-S型电子天平 梅利勒-托利多中国地区;DHG-9070电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司;KDC-1044低速离心机 科大创新股份有限公司;精密pH计 上海安亭雷磁仪器厂;冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司。

### 1.2 操作流程

1.2.1 工艺流程 桔皮过筛(20目)→渗漉脱色→晾干→酸法提取→过滤→调节滤液pH→盐析沉淀→离心→冷冻干燥→果胶钙成品。

#### 1.2.2 操作要点

1.2.2.1 渗漉 将桔皮粉装入玻璃柱中,以60%乙醇渗漉,直至渗出液为淡黄色,将桔皮粉取出晾干后备用。此过程用以除去桔皮中的色素、橙皮苷等物质。

1.2.2.2 提取 称取一定量经过渗漉的干燥桔皮粉,

收稿日期:2013-03-13 \* 通讯联系人

作者简介:郭秀君(1988-),女,在读硕士生,研究方向:功能性食品。

基金项目:公益性行业(农业)科研专项经费资助(201303077)。

按质量体积比加入20倍蒸馏水,用浓盐酸调节pH=2,加热煮沸1h,趁热用纱布过滤。提取两次,合并滤液,得到果胶提取液。

1.2.2.3 盐析沉淀 浓氨水调节果胶提取液的pH,以0.013mol Ca/100g干桔皮的比例加入一定量氯化钙,不同温度水浴一定时间。选择盐析pH、水浴时间、水浴温度、氯化钙用量为研究对象,通过单因素实验,观察不同因素对果胶钙产量的影响。

1.2.2.4 离心 3500r/min离心15min后,分别收集上清液和沉淀,测上清液的可溶性固形物含量并记下体积。

1.2.2.5 冷冻干燥 将沉淀于-70℃冻结后进行冷冻干燥。

1.3 实验方法

1.3.1 单因素实验设计

1.3.1.1 pH对果胶钙产量的影响 将由25g桔皮提取得到的果胶提取液均分为8等份,分别调节提取液的pH为8.25、8.50、8.75、9.00、9.25、9.50、9.75、10.00,固定其余各因素为:60℃水浴3h,每份加入4.0mL 1.0mol/L CaCl<sub>2</sub>,考察pH对果胶钙产量的影响。

1.3.1.2 温度对果胶钙产量的影响 将由25g桔皮提取得到的果胶提取液调节pH后,均分为6等份,分别于20、30、40、50、60、70℃水浴,固定其余各因素为:pH=9.0,水浴3h,每份加入4.5mL 1.0mol/L CaCl<sub>2</sub>,考察温度对果胶钙产量的影响。

1.3.1.3 时间对果胶钙产量的影响 由25g桔皮提取得到的果胶提取液调节pH后,均分为5等份,分别水浴2、4、6、8、10h,固定其余各因素为:pH=9.0,60℃水浴,每份加入6.5mL 1.0mol/L CaCl<sub>2</sub>,考察时间对果胶钙产量的影响。

1.3.1.4 CaCl<sub>2</sub>用量对果胶钙产量的影响 将由25g桔皮提取得到的果胶提取液调节pH后,均分为6等份,分别按照2.4、4.8、7.2、9.6、12.0、14.4g/100g桔皮的量加入氯化钙,固定其余各因素为:pH=9.0,60℃水浴3h,考察CaCl<sub>2</sub>用量对果胶钙产量的影响。

1.3.2 正交实验设计 根据单因素实验结果,以pH、温度、时间、CaCl<sub>2</sub>用量为实验因素,果胶钙产量为实验指标,进行正交实验,其因素水平见表1。

表1 影响果胶钙产量的L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels in orthogonal array design L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)

水平	因素			
	A pH	B 盐析温度 (°C)	C 盐析时间 (h)	D 氯化钙用量 (g/100g桔皮)
1	9.50	40	6	7.2
2	9.75	50	8	9.6
3	10.00	60	10	12.0

1.4 果胶钙产量

果胶钙产量的计算公式如下:

$$\text{果胶钙产量}(\%) = \frac{m_1 - (V_0 - V_1)\rho}{m_0} \times 100$$

式中:m<sub>1</sub>为冻干果胶钙的质量,g;V<sub>0</sub>为离心前提取液体积,mL;V<sub>1</sub>为离心后上清液体积,mL;ρ为离

心上清液的可溶性固形物含量,%;m<sub>0</sub>为干燥桔皮的重量,g。

1.5 数据处理

本实验数据均为3个平行样的平均值,采用Excel软件作图,利用SPSS 17.0对实验数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 盐析pH对果胶钙产量的影响

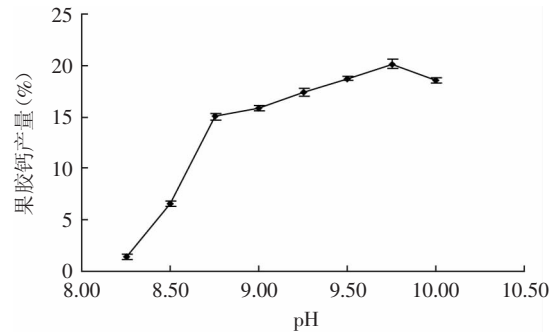


图1 盐析pH对果胶钙产量的影响

Fig.1 Effect of pH on yield of calcium pectinate

盐析pH对桔皮果胶钙产量得影响如图1所示。图1表明,当pH为8.25~8.75时,果胶钙产量迅速增加;pH8.75~9.75时,随着pH的升高,果胶钙产量增加趋势变缓,在pH=9.75达到最高;继续提高pH,产量下降。

在一定范围内pH越高,越有利于果胶钙形成。其原因应当是在碱性条件下,桔皮中的高甲氧基果胶能够脱去甲氧基,暴露出更多的羧基阴离子而与阳离子钙结合,最大限度地使所有半乳糖醛酸链的游离羧基与钙离子络合形成“蛋箱结构”(图2),进而形成凝胶<sup>[11]</sup>。有研究表明,在中性或微酸性条件下,高甲氧基果胶容易发生β-消除反应,糖苷键断裂、果胶分子量变小,不利于分子间交联<sup>[12-13]</sup>。因此,碱性条件下形成果胶钙与有关理论是一致的。但是pH过高,果胶脱酯反应更迅速,果胶酯化度降低<sup>[14]</sup>,这虽然有助于果胶钙形成,但是得到的果胶的胶凝力降低。所以,初步选定盐析pH为9.75。

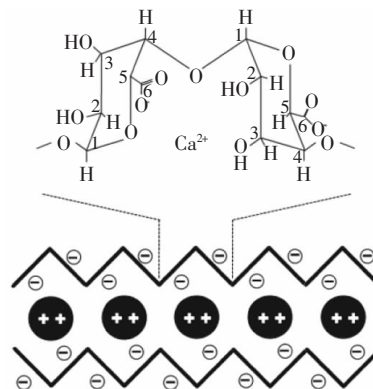


图2 果胶钙凝胶蛋箱模型

Fig.2 Schematic representation of the "egg-box" model for junction zone formation in calcium pectinate

注:~代表半乳糖醛酸链,⊖⊕分别代表钙离子和羧基。

## 2.2 盐析温度对果胶钙产量的影响

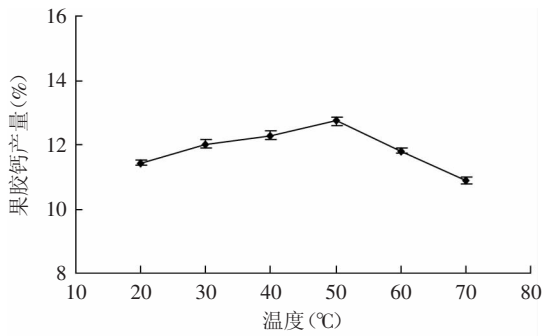


图3 盐析温度对果胶钙产量的影响

Fig.3 Effect of saltout temperature on yield of calcium pectinate

盐析温度对桔皮果胶钙产量的影响如图3所示。由图3可知,随温度升高,果胶钙产量先升后降,温度过高不利于果胶的盐析,因此,初步选取盐析温度为50℃。该现象不符合温度越高、分子运动越快而提高提取率的一般规律。这是因为在低温和碱性介质中,果胶发生皂化反应被脱酯,加钙离子容易凝胶;温度较高的碱性条件下,半乳糖醛酸链的 $\alpha$ -1,4糖苷键的断裂更容易发生。这点与Catherine Garnier等<sup>[11]</sup>的研究结果一致。为了减少这一情况的发生,盐析温度不宜过高。

## 2.3 盐析时间对果胶钙产量的影响

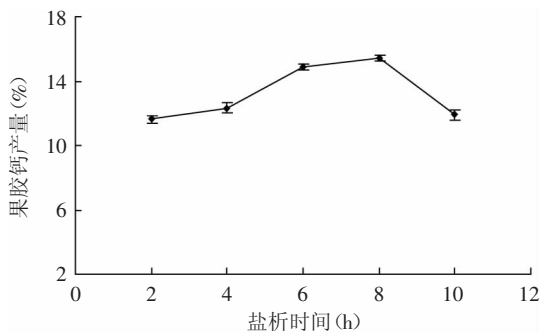


图4 盐析时间对果胶钙产量的影响

Fig.4 Effect of saltout time on yield of calcium pectinate

盐析时间关系到果胶与钙离子是否能充分结合,该因素对桔皮果胶钙产量的影响如图4所示。图4表明,盐析时间在2~10h内,随着时间的延长,果胶钙产量呈增长后下降的趋势,8h时产量最高,因此初步选定盐析时间为8h。

## 2.4 CaCl<sub>2</sub>用量的影响

氯化钙用量对果胶钙产量的影响如图5所示,图5表明,果胶钙产量随氯化钙添加量的增加而提高。在果胶溶液中,随着体系钙离子浓度的提高,果胶与钙离子形成越来越多的“蛋箱”结合区,易构成凝胶的三维结构。同时,钙离子结合两条果胶分子链上的羧基离子,这样疏水的甲酯基暴露在凝胶体外表面,协助果胶分子间脱水,更有助于果胶钙结合区的稳定<sup>[13,15]</sup>,这两方面的作用使更多的果胶被分离出

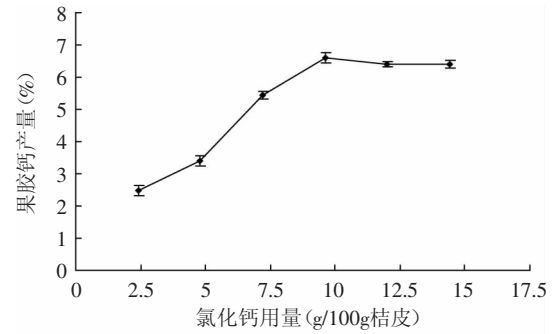


图5 氯化钙用量对果胶钙产量的影响

Fig.5 Effect of calcium chloride dosage on yield of calcium pectinate

来。但是,当果胶链上与钙离子的结合区饱和后,再添加钙离子只是增加了一些微弱的静电力,对果胶钙凝胶的贡献非常小<sup>[16]</sup>。所以,初步选定氯化钙用量为9.6g/100g桔皮。

## 2.5 正交实验分析

根据以上单因素实验得出的条件,设计L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交实验以优化提取条件。由于正交设计中没有空白列,因此实验误差只能通过重复实验获得<sup>[17-18]</sup>。实验结果见表2,方差分析见表3。

表2 正交实验方案及结果

Table 2 Design and results of orthogonal test

实验号	A	B	C	D	果胶钙产量 (%)
1	1	1	1	1	16.84
2	1	2	2	2	11.48
3	1	3	3	3	10.68
4	2	1	2	3	15.11
5	2	2	3	1	11.91
6	2	3	1	2	17.70
7	3	1	3	2	14.07
8	3	2	1	3	15.71
9	3	3	2	1	17.30
k <sub>1</sub>	13.00	15.34	16.75	15.35	
k <sub>2</sub>	14.90	13.03	14.63	14.41	
k <sub>3</sub>	15.69	15.22	12.22	13.83	
R	2.69	2.31	4.53	1.52	

表3 果胶钙产量方差分析结果

Table 3 Variance analysis of the orthogonal test results

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	p值
A	22.99	2	11.493	13.752	0.002
B	20.21	2	10.106	12.093	0.003
C	61.60	2	30.800	36.854	0.0001
D	7.01	2	3.505	4.194	0.052

根据表2,各因素水平的优劣顺序为A<sub>3</sub>>A<sub>2</sub>>A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>>B<sub>3</sub>>B<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>>C<sub>2</sub>>C<sub>3</sub>, D<sub>1</sub>>D<sub>2</sub>>D<sub>3</sub>,影响因素主次顺序为C>A>B>D,确定的最佳组合为A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>,即pH为10,盐析温度40℃,盐析时间为6h,氯化钙用量7.2g/100g桔皮。由表3的方差分析结果可知,pH、温度、时间三

个因素对实验结果的影响均达到极显著水平 ( $p < 0.01$ ),  $\text{CaCl}_2$ 对实验结果影响不显著 ( $p > 0.05$ )。验证实验得果胶钙的产量为19.67%, 优于正交实验中的9组实验最高值(17.70%), 说明优化后的组合为最佳组合。

### 3 结论

本研究通过单因素和正交实验得出生产果胶钙的最佳工艺: pH10.00, 盐析温度40℃, 盐析时间6h, 氯化钙用量为7.2g  $\text{CaCl}_2/100\text{g}$ 干桔皮, 其中盐析pH、温度、时间对果胶钙产量影响显著, 氯化钙用量影响不显著, 果胶钙的产量高达19.67%。本研究为桔皮的再利用、果胶钙在食品药品中的应用提供了参考。

### 参考文献

[1] 张雪, 王斌. 柑橘皮果胶的提取工艺[J]. 现代食品科技, 2006(3):144-145.  
 [2] 董朝青. 柚子中果胶和生物黄酮提取分离工艺及测定研究[D]. 长沙: 中南大学, 2004.  
 [3] 周尽花, 周春山. 柚皮果胶的盐析研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2009(3):95-99.  
 [4] Panesar P S, Kennedy J F, Knill L C J, et al. Applicability of pectate-entrapped *Lactobacillus casei* cells for L(+) lactic acid production from whey[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2007, 74(1):35-42.  
 [5] Gemeiner P, Kurillova L, Malovikova A, et al. Properties of spherical calcium pectate and alginate gels and their use in diffusion chromatography, solids separations and immobilization of enzymes and cells[J]. Folia Microbiologica, 1989, 34:214-227.  
 [6] Jozef N, Ziyee L, Peter G, et al. Nucleoside triphosphates production using recombinant *Escherichia coli* entrapped in calcium pectate gel[J]. Biotechnology Letters, 2002, 24(11):925-930.  
 [7] Toth D, Tomasovicova D, Gemeiner P, et al. Metabolic characteristics of bacterial cells entrapped in beaded calcium

alginate and/or pectate gels[J]. Folia Microbiologica, 1989, 34(6):515-524.  
 [8] 奚苗苗, 张筱芳, 张三奇. 果胶及果胶钙在结肠靶向给药系统中的应用[J]. 西北药学杂志, 2005, 20(4):183-184.  
 [9] Timoyht G, Camille H. Method of making battered and breaded food composition using calcium pectins:US,6261618[P].2001-07-17.  
 [10] Borzelleca J F, Filer L J, Kinoshita F K, et al. Evaluation of the safety of sodium pectate as a food ingredient[J]. Food and Chemical Toxicology, 1996, 34(1):21-25.  
 [11] Caehrine G, Moniue A V, Axelos, et al. Phase diagrams of pectin-calcium systems: Influence of pH, ionic strength, and temperature on the gelation of pectins with different degrees of methylation[J]. Carbohydrate Research, 1993, 240:219-232.  
 [12] Peter A, Hans N, Hans D. Splitting of pectin chain molecules in neutral solutions[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1960, 90(1):46-51.  
 [13] Bernhard W J, Menzies N W, Blamey F. Alkali hydroxide-induced gelation of pectin[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18:375-378.  
 [14] Catherine C M, Thibault J F. Degradation of pectins in alkaline conditions: kinetics of demethylation[J]. Carbohydrate Research, 1996, 286:139-150.  
 [15] Powell D A, Morris E R, Gidley M J, et al. Conformations and interactions of pectins. II. Influence of residue sequence on chain association in calcium pectate gels[J]. Journal of Molecular Biology, 1982, 155:517-531.  
 [16] Fraeye I, Colle I, Vandevonne E, et al. Influence of pectin structure on texture of pectin-calcium gels[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2010, 11(2):410-409.  
 [17] 何秋月. SPSS在 $L_9(3^4)$ 正交实验数据处理中的应用[J]. 中医药现代远程教育, 2005, 3(12):27-29.  
 [18] 王钦德, 杨坚. 食品实验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003:73.

(上接第257页)

提取时间4min, 此时花生蛋白质提取率为85.43%。

### 参考文献

[1] 王章存, 康艳玲. 花生蛋白研究进展[J]. 粮食与油脂, 2007(7):12-13.  
 [2] Ramachandran S, Singh S K, Larroche C, et al. Oil cakes and their biotechnological applications: a review[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(10):2000-2009.  
 [3] 林坤耀. 我国花生蛋白质的研究概况[J]. 广东农业科学, 2004, 36(2):15-16.  
 [4] 刘传富, 张兆静. 花生蛋白及其在食品中的应用[J]. 中国食物与营养, 2005(1):24-25.  
 [5] 周瑞宝. 花生加工技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003:58-62.  
 [6] 张维农, 刘大川, 胡小泓. 花生蛋白产品功能特性的研究[J]. 中国油脂, 2002, 27(5):60-65.  
 [7] 裴剑慧, 王强, 周素梅. 我国花生蛋白资源的开发与利用[J].

粮油加工与食品机械, 2005(12):53-55.  
 [8] 张伟, 孙智达, 徐志宏. 花生多肽的制备及生理功能评价的研究进展[J]. 中国油脂, 2007, 32(1):74-76.  
 [9] 章宝, 单杨, 李高阳. 响应面优化花生分离蛋白提取工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2012(11):270-274.  
 [10] 李明妹, 姚开, 贾冬英. 碱提酸沉法制备花生分离蛋白的优化条件[J]. 中国油脂, 2004, 29(11):21-23.  
 [11] 刘大川, 杨国燕, 翁利荣. 超滤膜法制备大豆分离蛋白工艺研究[J]. 中国油脂, 2003, 28(11):30-31.  
 [12] 杨波, 杨光, 张静. 水酶法提取花生蛋白工艺的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11):253-256.  
 [13] 王瑛瑶, 王璋. 水酶法从花生中提取蛋白质与油: 碱提工艺研究[J]. 食品科技, 2002(7):6-8.  
 [14] 杨伟强, 李鹏, 张吉民, 等. 冷榨花生饼粕中分离蛋白的制备[J]. 食品科技, 2008, 33(12):166-168  
 [15] 矫丽媛, 吕敬军, 陆丰升, 等. 花生分离蛋白提取工艺优化研究[J]. 食品科学, 2010, 31(20):196-201.