

# 西番莲果皮中果胶的 复合酶法提取工艺研究

刘运花<sup>1</sup>, 黄 苇<sup>1,\*</sup>, 郭美媛<sup>2</sup>, 黄妙云<sup>2</sup>

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642;

2. 潮州市正一品生物科技有限公司, 广东潮州 521000)

**摘要:** 实验以西番莲果皮为原料, 以酶解 pH、酶解时间、酶解温度、酶浓度与液料比为单因素, 分别研究了四种酶(纤维素酶、半纤维素酶、木质素酶、淀粉酶)对西番莲果皮中果胶提取的影响, 并确定将纤维素酶、半纤维素酶与木质素酶三者进行复配, 然后以酶解 pH、酶解时间、酶解温度和液料比为因子进行四因素三水平正交实验, 以优化复合酶酶解工艺, 最后通过响应面实验, 确定了复合酶的添加量。实验优选得复合酶最适配比和最适酶解提取条件为: 将纤维素酶 0.8 g/100 g、半纤维素酶 1.2 g/100 g、木质素酶 0.2 g/100 g 进行复配, 液料比为 6:1 mL/g, pH 为 4, 提取温度 40 ℃, 提取 3.5 h, 此时西番莲果皮的果胶提取得率可以达到 2.63% ± 0.021%。

**关键词:** 西番莲, 果胶, 酶, 提取

## Research on the compound enzymatic extraction process of pectin from passionflower peel

LIU Yun-hua<sup>1</sup>, HUANG Wei<sup>1,\*</sup>, GUO Mei-yuan<sup>2</sup>, HUANG Miao-yun<sup>2</sup>

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China;

2. ZhengYiPin Biological Technology Co., Ltd. of Chaozhou City, Chaozhou 521000, China)

**Abstract:** Passionflower peel was used as raw materials in the reseach. With enzyme solution pH, hydrolysis time, hydrolysis temperature, enzyme concentration and ratio of liquid to material as single factors, the effects of four kinds of enzyme (cellulase, hemicellulase and lignin enzymes, amylase) on pectin extraction from the passionflower peel were studied. And the enzyme combination consists cellulose, hemicellulase and lignin enzymes were determined. Through  $L_9(3^4)$  orthogonal experiment and response surface test, the enzymatic hydrolysis and enzyme concentration were optimized. the optimal enzymatic hydrolysis conditions were as follows: cellulose enzymes 0.8 g/100 g, hemicellulase 1.2 g/100 g, and lignin 0.2 g/100 g, ratio of liquid to material (mL/g) 6:1, pH value 4, extraction lasts for 3.5 h under the temperature of 40 ℃, the pectin gain rate can reach 2.63% ± 0.021%.

**Key words:** Passionflower; pectin; enzyme; extraction

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)18-0117-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.18.023

果胶(pectin)是以 D-吡喃半乳糖醛酸为基本单位, 由  $\alpha$ -1,4-糖苷键链接而成的聚合高分子亲水性胶状杂多糖, 其结构中还含有部分中性糖, 如木糖、葡萄糖、甘露糖、鼠李糖、阿拉伯糖等以及少量非糖成分<sup>[1]</sup>, 如甲醇、乙酸、阿魏酸。果胶具有稳定、凝胶、增稠、乳化等作用, 被广泛应用于食品工业中<sup>[2]</sup>; 果胶还具有杀菌、止血、解毒、抗辐射等功能, 可作为一种天然的药物制剂<sup>[3]</sup>, 在医学工业上也广有应用<sup>[4]</sup>; 此外, 果胶优良的成膜性能也被应用到了制膜工业<sup>[5]</sup>和日用品工业中<sup>[6]</sup>。果胶的安全性及利用价值促成果

胶资源的开发成为近年来的研究热点<sup>[7]</sup>。

果胶在高等植物的根、茎、叶、果中广泛存在, 如柑橘、柠檬、柚子等果皮中约含 30% 果胶, 是果胶的丰富来源, 其中西番莲果皮作为一种新型果胶资源, 有待进一步开发<sup>[8-9]</sup>。西番莲果皮果胶含量丰富, 果皮重占整个果实鲜重的 53%~71%<sup>[10]</sup>, 加工过程中, 果皮常以废物的形式被丢弃, 既浪费了资源又增加了排污成本<sup>[11]</sup>。郑荣珍等<sup>[12]</sup>探究了酸法提取紫果西番莲果皮中果胶的提取工艺, 其鲜皮提取得率达到了 2.5%、干皮提取得率可达 12.0%。酸法、草酸铵逆流

收稿日期: 2017-01-09

作者简介: 刘运花(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产加工与贮藏工程, E-mail: jlaufefe10109@163.com。

\* 通讯作者: 黄苇(1967-), 女, 硕士, 教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: weih007@scau.edu.cn。

基金项目: 广东省级科技计划项目(2014B010102002)。

表 2 酶浓度的单因素实验参数

Table 2 Parameters for enzyme concentration single factor experiment

| 酶类    | pH | 温度(℃) | 时间(h) | 液料比(mL/g) | 酶浓度(g/100 g)  |
|-------|----|-------|-------|-----------|---------------|
| 纤维素酶  | 6  | 40    | 3     | 4:1       | 0~0.6(梯度为0.1) |
| 半纤维素酶 | 6  | 40    | 3     | 4:1       | 0~1.2(梯度为0.2) |
| 木质素酶  | 4  | 40    | 3     | 4:1       | 0~0.6(梯度为0.1) |
| 淀粉酶   | 4  | 40    | 3     | 4:1       | 0~0.6(梯度为0.1) |

法<sup>[13]</sup>等果胶提取工艺常常导致工业污染,且提取得率较低,而离子交换法<sup>[14]</sup>、微波法<sup>[15]</sup>等温和型提取方法对工艺操作与设备要求高,相比而言生物酶法具有设备成本低、绿色环保<sup>[16]</sup>的优点。苏东林<sup>[17-18]</sup>等以酶法提取橘皮果胶,不仅提高了果胶提取得率,且由于提取条件更温和,得到的果胶性质也明显高于酸法。

本研究以单因素实验为基础,结合正交优化实验探究西番莲果皮中果胶的酶法的提取工艺,并以响应面优化设计<sup>[19]</sup>确定复合酶添加比例,以得出一种温和高效的西番莲果皮果胶提取方法,为进一步开发果胶资源充分利用西番莲果皮提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜紫果西番莲 产自广西荣棠;纤维素酶(酶活 20 万 U/g) 上海博奥生物科技有限公司;半纤维素酶酶(酶活 20 U/g) 河南锐阳生物科技有限公司;木质素酶(酶活 40 万 U/g) 河南盛泰源化工厂;淀粉酶(酶活 3700 U/g) 广州齐云生物技术有限公司;无水乙醇(Ar) 国药集团化学试剂有限公司。

12-ND 型冷冻干燥机 购自宁波新芝生物科技股份有限公司;pHS-3C 型数显 pH 计 购自上海雷磁创益仪器仪表有限公司;TU-1800 紫外可见分光光度计 购自北京普析通用仪器有限公司;RE-5203 型旋转蒸发仪 购自上海亚荣生化仪器厂;SHZ-Ⅲ型循环水真空泵 上海锦华层析设备厂。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程 果皮→灭酶(沸水浴处理 5 min)→破碎加酶→酶解→灭酶(沸水浴处理 10 min)→胶渣分离(真空泵抽滤)→滤液(果胶提取液)→无水乙醇沉淀→过滤、脱色、烘干→粉碎→果胶

1.2.2 果胶的测定 采用硫酸咔唑分光光度法<sup>[20]</sup>。

1.2.2.1 果胶标准曲线的绘制 取 D-半乳糖醛酸标准品 100 mg,溶解于水中,加入 0.5 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液,定容至 100 mL,混匀移取上述原液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mL,分别注入 100 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度。分别取各浓度稀释液进行比色测定并绘制曲线,即取 1 mL 标准品稀释液于 25 mL 比色管,加入 0.5 mL 0.1% 的咔唑-乙醇溶液,摇匀后立刻加入浓硫酸溶液 6 mL,于 85 ℃ 水浴反应 5 min 后冷却至室温,立刻用分光光度计在 525 nm 波长处用 1 cm 比色皿测量吸光值,得到标准曲线: $y = 0.0067x + 0.0295$  ( $R^2 = 0.9997$ ),其中 y 为吸光值;x 为果胶含量(μg/mL)。

1.2.2.2 样品果胶的测定 取果胶提取液 25 mL,加 25 mL 水,活性炭 1 g/100 mL,60 ℃ 搅拌 15 min,抽

滤,取 1 mL 样液加入 0.5 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液水解消化 2 h 以上,定容至 250 mL,得到提取样品稀释液。取 1 mL 样品稀释液进行比色测定。

1.2.3 西番莲果皮果胶的酶提取工艺

1.2.4 单因素实验设计

1.2.4.1 pH 对果胶提取得率的影响 酶的添加量(g/100 g)以果皮重量(100 g)计(下文同),按照表 1 所示的参数设计 pH 的单因素实验。

表 1 pH 单因素实验参数

Table 1 Parameters for pH single factor experiment

| 酶类    | pH                  | 温度(℃) | 时间(h) | 液料比(mL/g) | 酶浓度(g/100 g) |
|-------|---------------------|-------|-------|-----------|--------------|
| 纤维素酶  | 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 | 40    | 3     | 4:1       | 0.6          |
| 半纤维素酶 |                     | 40    | 3     | 4:1       | 0.2          |
| 木质素酶  |                     | 40    | 3     | 4:1       | 0.1          |
| 淀粉酶   |                     | 40    | 3     | 4:1       | 0.5          |

1.2.4.2 酶浓度对果胶提取得率的影响 按照表 2 所示的参数条件设计酶浓度的单因素实验。

1.2.4.3 温度对果胶提取得率的影响 按照表 3 所示的参数条件设计酶解温度的单因素实验。

表 3 酶解温度的单因素实验参数

Table 3 Parameters for temperature single factor experiment

| 酶类    | pH | 温度(℃)          | 时间(h) | 液料比(mL/g) | 酶浓度(g/100 g) |
|-------|----|----------------|-------|-----------|--------------|
| 纤维素酶  | 6  | 30、40、50、60、70 | 3     | 4:1       | 0.4          |
| 半纤维素酶 | 6  |                | 3     | 4:1       | 0.6          |
| 木质素酶  | 4  |                | 3     | 4:1       | 0.1          |
| 淀粉酶   | 4  |                | 3     | 4:1       | 0.3          |

1.2.4.4 时间对果胶提取得率的影响 按照表 4 所示的参数条件设计酶解时间的单因素实验。

表 4 酶解时间单因素实验参数

Table 4 Parameters for temperature single factor experiment

| 酶类    | pH | 温度(℃) | 时间(h)               | 液料比(mL/g) | 酶浓度(g/100 g) |
|-------|----|-------|---------------------|-----------|--------------|
| 纤维素酶  | 6  | 30    | 2、2.5、3、3.5、4、4.5、5 | 4:1       | 0.4          |
| 半纤维素酶 | 6  | 40    |                     | 4:1       | 0.6          |
| 木质素酶  | 4  | 50    |                     | 4:1       | 0.1          |
| 淀粉酶   | 4  | 60    |                     | 4:1       | 0.3          |

1.2.4.5 液料比对果胶提取得率的影响 按照表 5 所示的参数条件设计酶解温度的单因素实验。

1.2.5 复合酶酶解条件的正交优化 基于单因素实验结果,选取纤维素酶 0.4 g/100 g、半纤维素酶 0.6 g/100 g、木质素酶 0.1 g/100 g 复合添加进行酶

解,以液料比、提取时间、pH、温度为因子,提取得率为指标进行正交实验,因素水平见表6。

表5 液料比单因素实验参数

| 酶类    | pH | 温度<br>(℃) | 时间<br>(h) | 液料比      | 酶浓度<br>(g/100 g) |
|-------|----|-----------|-----------|----------|------------------|
| 纤维素酶  | 6  | 30        | 3         | 2:1、3:1、 | 0.4              |
| 半纤维素酶 | 6  | 40        | 4         | 4:1、5:1、 | 0.6              |
| 木质素酶  | 4  | 50        | 4         | 6:1、7:1、 | 0.1              |
| 淀粉酶   | 4  | 60        | 3         | 8:1      | 0.3              |

表6 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交实验因素水平表

| 水平 | A 液料比<br>(mL/g) | B 时间<br>(h) | C pH | D 温度<br>(℃) |
|----|-----------------|-------------|------|-------------|
| 1  | 4:1             | 3.0         | 4    | 40          |
| 2  | 5:1             | 3.5         | 5    | 45          |
| 3  | 6:1             | 4.0         | 6    | 50          |

1.2.6 复合酶添加比例的响应面优化 以纤维素酶、半纤维素酶、木质素酶三种的酶浓度为因子,提取得率为指标设计响应面优化实验,因素水平见表7。

表7 响应面实验因素水平

| 因素                            | 水平   |      |      |
|-------------------------------|------|------|------|
|                               | -1   | 0    | 1    |
| X <sub>1</sub> 纤维素酶(g/100 g)  | 0.30 | 0.40 | 0.50 |
| X <sub>2</sub> 半纤维素酶(g/100 g) | 0.50 | 0.60 | 0.70 |
| X <sub>3</sub> 木质素酶(g/100 g)  | 0.05 | 0.10 | 0.15 |

1.2.7 果胶提取得率的计算 公式如下:

果胶提取得率(%) = (A-0.0295) ×  $\frac{12500}{0.0067M}$

其中:A-吸光值,12500-稀释倍数,M-果皮重量(g);0.0295、0.0067 分别为标准曲线的截距和斜率。

1.3 数据处理

每次实验均进行3次平行实验,以 Origin、Design-expert、SPSS 处理分析数据。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果与分析

2.1.1 pH 对果胶提取得率的影响 从图1 可以看到,不同 pH 对四种酶提取果胶的提取得率均有影响。其中淀粉酶较为敏感,在 pH 为4 时提取得率较高,之后随着 pH 增大呈急剧下降趋势。纤维素酶与半纤维素酶均在 pH6 处提取得率较高。木质素酶的提取能力与 pH 呈抛物线关系,并在 pH4 处表现较好。由此得出纤维素酶与半纤维素酶的较适提取 pH 为6,木质素酶与淀粉酶的较适 pH 为4。

2.1.2 酶浓度对果胶提取得率的影响 由图2 知,酶浓度对四种酶的果胶提取得率均有影响,果胶提取得率随着酶的添加量增大呈现先增后减的趋势。在供试浓度水平下,酶浓度对淀粉酶、纤维素酶、半纤

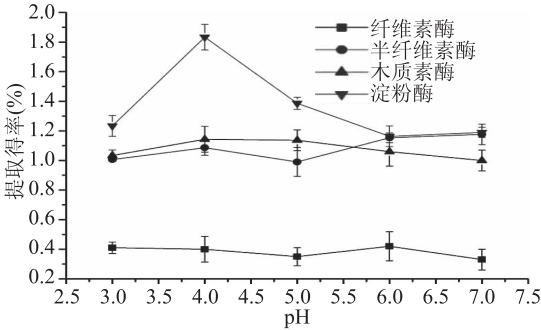


图1 pH 对各单一酶提取果胶能力的影响  
Fig.1 Effect of pH on extraction of pectin by single enzyme

维素酶的果胶提取得率影响较大,木质素酶作用受酶浓度影响较小。纤维素酶提取西番莲果皮果胶的最适浓度为0.4 g/100 g,木质素酶为0.1 g/100 g,淀粉酶为0.3 g/100 g,半纤维素酶的较适添加浓度为0.6 g/100 g。

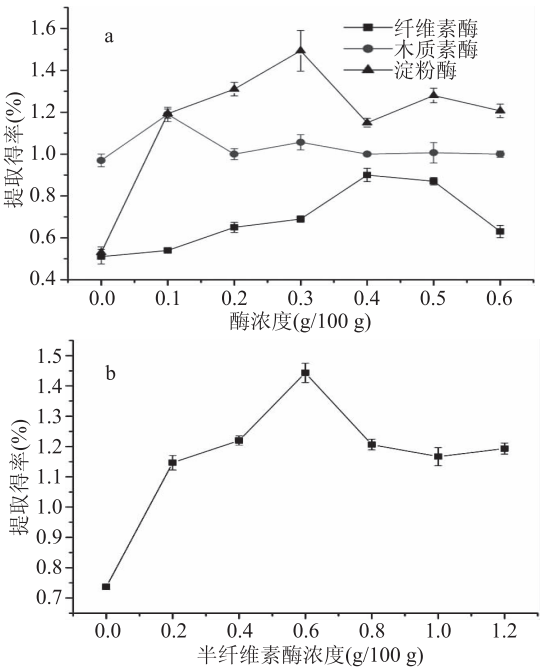


图2 酶浓度对果胶提取得率的影响  
Fig.2 Effect of enzyme concentration on extraction rate of pectin

2.1.3 温度对果胶提取得率的影响 从图3 可以看出,温度对四种酶的果胶提取得率均有显著影响,在供试的温度范围内,果胶提取得率随温度升高呈现先上升再下降的趋势。其中纤维素酶和半纤维素酶均在温度40℃ 时,果胶的提取得率达到最大,但在温度70℃ 时,提取得率略有提升,这是因为一方面,热效应能增加果胶溶出的传质动力<sup>[21]</sup>;另一方面,果胶黏度随温度上升而下降的流变性质导致提取液黏度降低<sup>[22]</sup>,果胶的溶出阻力进一步减小。纤维素酶、半纤维素酶的较适提取温度均为40℃,木质素酶为50℃,淀粉酶为60℃。

2.1.4 提取时间对果胶提取得率的影响 由图4 可以看出,提取时间对酶提取果胶提取得率有影响,果



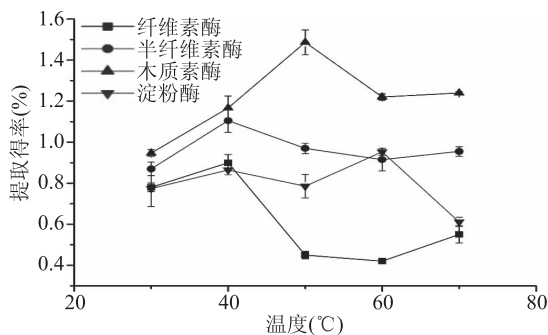


图3 温度对果胶提取得率的影响

Fig.3 Effect of temperature on extraction rate of pectin

胶提取得率随着时间的增加而逐渐增大,然后趋于平稳。纤维素酶和淀粉酶在提取时间小于3 h,果胶的提取得率均随着时间的增加而上升;之后基本稳定。对于木质素和半纤维素酶,当处理时间达4 h后,果胶的提取得率逐渐趋于平稳,但有略微下降,这是因为,一方面,随着果胶浓度增大,提取液的黏度增大,果胶的溶出受到一定程度的阻碍;另一方面,果胶提取充分后,在过度酶解作用下,果胶可能会发生裂解、酯解,酶制剂中存在的杂酶也可能对果胶的降解产生影响<sup>[23]</sup>。由此得出,纤维素酶和淀粉酶的较适酶解时间为3 h,半纤维素酶和木质素酶的较适酶解时间为4 h。

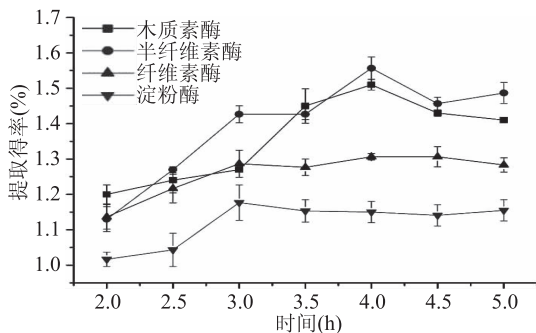


图4 提取时间对果胶提取得率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on extraction rate of pectin

2.1.5 液料比对果胶提取得率的影响 由图5可以看出,不同液料比对酶提取果胶的提取得率有一定影响,其中对半纤维素酶及木质素酶的影响较大,对淀粉酶及纤维素酶的影响较小,不同的酶的最适液料比略有不同。当液料比较小时,由于溶剂过少,高粘度的果胶质阻止了纤维组织中果胶的进一步溶出;当液料比适当时果胶和酶分子充分接触,果胶的提取效果好,果胶的提取得率达到最大;当液料比过大,酶分子由于稀释作用,不能与底物充分接触,导致果胶的提取效果逐渐降低<sup>[18]</sup>。在供试液料比范围内,半纤维素酶最适液料比是4:1,纤维素酶最适液料比为3:1,木质素酶最适液料比为6:1,淀粉酶最适液料比为5:1。

## 2.2 酶解能力的比较分析

如图6所示,通过比较,得出纤维素酶、半纤维素酶、木质素酶、淀粉酶在较优条件下的提取能力大小依次为:木质素酶(2.27%)>纤维素酶(1.83%)>

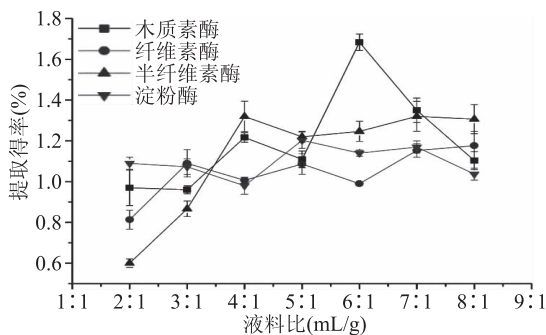


图5 液料比对果胶提取得率的影响

Fig.5 Effect of liquid ratio on pectin extraction rate

淀粉酶(1.81%)>半纤维素酶(1.63%)。鉴于淀粉酶的最适作用温度与其他酶相差甚远,不利于多种酶复配后酶解条件的协调,实验选择木质素酶、纤维素酶、半纤维素酶三种酶组成复合酶系。

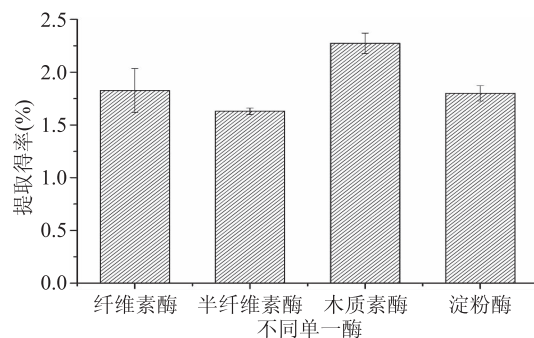


图6 单一酶果胶提取能力的对比

Fig.6 Comparison of pectin extraction capacity of single enzyme

## 2.3 复合酶酶解条件的正交优化实验结果分析

优选的三种酶进行复配,其酶解条件的 $L_9(3^4)$ 正交实验结果如表8所示。由K值可得最优组合为

表8  $L_9(3^4)$ 正交实验结果Table 8 The results of orthogonal experiment  $L_9(3^4)$ 

| 实验号   | 因素    |        |        |        | 提取得率<br>(%) |
|-------|-------|--------|--------|--------|-------------|
|       | A 液料比 | B 时间   | C pH   | D 温度   |             |
| 1     | 1     | 3      | 2      | 3      | 2.173       |
| 2     | 2     | 1      | 3      | 3      | 1.507       |
| 3     | 2     | 3      | 1      | 2      | 1.380       |
| 4     | 1     | 2      | 3      | 2      | 1.373       |
| 5     | 3     | 1      | 2      | 2      | 1.293       |
| 6     | 3     | 3      | 3      | 1      | 2.073       |
| 7     | 1     | 1      | 1      | 1      | 2.060       |
| 8     | 3     | 2      | 1      | 3      | 2.600       |
| 9     | 2     | 2      | 2      | 1      | 2.293       |
| $K_1$ | 5.607 | 4.861  | 6.039  | 6.426  |             |
| $K_2$ | 5.169 | 6.267  | 5.757  | 4.052  |             |
| $K_3$ | 5.967 | 5.625  | 4.953  | 6.279  |             |
| $k_1$ | 1.869 | 1.620  | 2.013  | 2.142  |             |
| $k_2$ | 1.723 | 2.089  | 1.919  | 1.350  |             |
| $k_3$ | 1.989 | 1.875  | 1.651  | 2.093  |             |
| R     | 0.262 | 0.4687 | 0.3623 | 0.7933 |             |

表9 正交实验方差分析结果  
Table 9 Variance analysis results of orthogonal experiment

| 总变异 | SS         | Df | MS        | F         | Sig      |
|-----|------------|----|-----------|-----------|----------|
| A   | 0.22066864 | 2  | 0.1103343 | 12.656813 | 0.001 ** |
| B   | 0.96940303 | 2  | 0.4847015 | 55.601706 | 0.000 ** |
| C   | 0.72773998 | 2  | 0.36387   | 41.740725 | 0.000 ** |
| D   | 3.36987473 | 2  | 1.6849374 | 193.28471 | 0.000 ** |
| 误差  | 0.15691294 | 18 | 0.0087174 |           |          |
| 总变异 | 97.2761695 | 27 |           |           |          |

注:α=0.01 的显著性水平标注为 \*\*, 表 11 同。

A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>, 即液料比为 6: 1 mL/g, 提取时间为 3.5 h, pH 为 4, 提取温度为 40 ℃。

由方差分析结果表 9 可知四种因素对果胶提取得率的影响均极显著, 其影响大小依次为 D > B > C > A, 即温度 > 提取时间 > pH > 液料比。经三次平行验证实验表明, 提取得率可达到 2.61%。

2.4 酶浓度的响应面优化结果及分析

在复合酶最优提取条件下对三种酶的添加量进行优化, 结果如表 10 所示。

运用 Design-Expert 8.5 对实验数据进行二次多元回归分析, 得到回归方程:  $Y = 2.304 + 0.14625X_1 + 0.07375X_2 + 0.15X_3 + 0.0475X_1X_2 + 0.105X_1X_3 + 0.06X_2X_3 - 0.18825X_1^2 - 0.16825X_2^2 - 0.13575X_3^2$ , 由表 11 响应面回归模型与方差分析表可知, 实验模型  $p < 0.001$ , 失拟项不显著  $p = 0.0681$ , 决定系数  $R^2 = 0.855$ , 说明所建模型比较理想, 回归方程预测性良好, 能够较准确地预测各酶的添加量对果胶提取得率的影响。

由方差分析显著性结果可见, 一次项和二次项  $p < 0.01$ , 说明各因素对果胶的提取效果影响均为极显著, 三种酶浓度对结果的影响并非单一的线性关系, 存在交互作用 ( $p < 0.01$ ), 且三因素间交互响应面 (图 7) 呈现椭圆, 均有最值, 表明因素间交互作用影响极为显著。

通过响应面软件预测得到最佳的复合酶浓度

表 10 酶浓度的响应面优化结果

Table 10 Box- Behnken optimization results for enzyme additions

| 实验号 | X <sub>1</sub> 纤维素酶 | X <sub>2</sub> 半纤维素酶 | X <sub>3</sub> 木质素酶 | Y 提取得率 (%) |
|-----|---------------------|----------------------|---------------------|------------|
| 1   | 0                   | 1                    | 1                   | 2.29       |
| 2   | -1                  | 0                    | 1                   | 1.89       |
| 3   | 0                   | 0                    | 0                   | 2.29       |
| 4   | 0                   | 0                    | 0                   | 2.31       |
| 5   | -1                  | 1                    | 0                   | 1.81       |
| 6   | 1                   | 0                    | -1                  | 1.86       |
| 7   | 1                   | 1                    | 0                   | 2.2        |
| 8   | 0                   | -1                   | 1                   | 1.99       |
| 9   | 0                   | 0                    | 0                   | 2.31       |
| 10  | 0                   | -1                   | -1                  | 1.83       |
| 11  | -1                  | -1                   | 0                   | 1.79       |
| 12  | 0                   | 1                    | -1                  | 1.89       |
| 13  | 0                   | 0                    | 0                   | 2.32       |
| 14  | 1                   | -1                   | 0                   | 1.99       |
| 15  | 0                   | 0                    | 0                   | 2.29       |
| 16  | 1                   | 0                    | 1                   | 2.39       |
| 17  | -1                  | 0                    | -1                  | 1.78       |

为: 纤维素酶 0.8 g/100 g, 半纤维素酶 1.2 g/100 g, 木质素酶浓度为 0.2 g/100 g, 此时果胶提取得率可达

表 11 响应面实验结果方差分析表

Table 11 Variance analysis response surface test results

| 变异来源                          | 平方和      | 自由度 | 均方       | F 值      | Prob > F | 显著性 |
|-------------------------------|----------|-----|----------|----------|----------|-----|
| 模型                            | 0.847861 | 9   | 0.094207 | 180.9183 | <0.0001  | **  |
| X <sub>1</sub>                | 0.171113 | 1   | 0.171113 | 328.6111 | <0.0001  | **  |
| X <sub>2</sub>                | 0.043513 | 1   | 0.043513 | 83.5631  | <0.0001  | **  |
| X <sub>3</sub>                | 0.18     | 1   | 0.18     | 345.679  | <0.0001  | **  |
| X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> | 0.009025 | 1   | 0.009025 | 17.33196 | 0.0042   | **  |
| X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> | 0.0441   | 1   | 0.0441   | 84.69136 | <0.0001  | **  |
| X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> | 0.0144   | 1   | 0.0144   | 27.65432 | 0.0012   | **  |
| X <sub>1</sub> <sup>2</sup>   | 0.149213 | 1   | 0.149213 | 286.5543 | <0.0001  | **  |
| X <sub>2</sub> <sup>2</sup>   | 0.119192 | 1   | 0.119192 | 228.9007 | <0.0001  | **  |
| X <sub>3</sub> <sup>2</sup>   | 0.077592 | 1   | 0.077592 | 149.0104 | <0.0001  | **  |
| 残差                            | 0.003645 | 7   | 0.000521 |          |          |     |
| 失拟项                           | 0.002925 | 3   | 0.000975 | 5.416667 | 0.0681   | 不显著 |
| 纯误差                           | 0.00072  | 4   | 0.00018  |          |          |     |
| 总变异                           | 0.851506 | 16  |          |          |          |     |

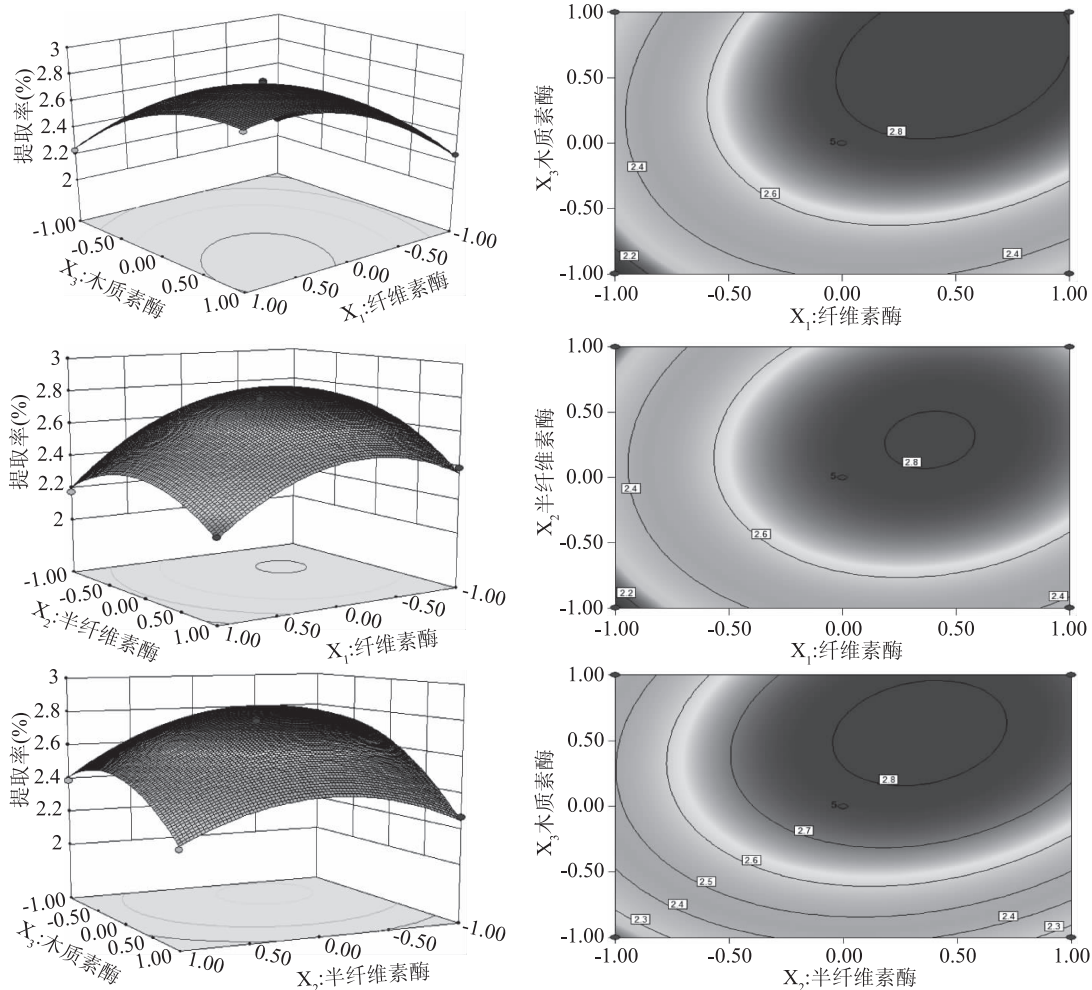


图7 各因素交互影响果胶提取得率的响应面图

Fig.7 Response surface of pectin extraction rate affected by each factor

2.81%,验证实验表明果胶实际提取得率可达  $2.63\% \pm 0.021\%$ 。

### 3 结论

综合考虑复合酶作用条件的协调性,通过正交实验得出优选酶类复合酶解条件为:液料比为 6:1 mL/g,提取时间为 3.5 h, pH 为 4,提取温度为 40℃。在该条件下,通过响应面实验获得复合酶各组分最佳添加量为:纤维素酶 0.8 g/100 g,半纤维素酶 1.2 g/100 g,木质素酶浓度为 0.2 g/100 g。在上述条件下,果胶提取得率可达到  $2.63\% \pm 0.021\%$ 。

### 参考文献

- [1] Dam S M, Nguyen D V. Optimization of pectin extraction from fruit peel of purple passion fruit (*passiflora edulis sims*) in Vietnam[J]. *Acta Horticulturae*, 2013(989): 279-284.
- [2] 赵革, 焦懿, 赵虹. 西番莲的研究现状及在中国的利用前景[J]. *资源科学*, 1999, 21(3): 77-80.
- [3] 陈靖, 陈孔荣. 果胶——一种有开发前途的药物制剂基质[J]. *现代应用药学*, 1997(3): 22-23.
- [4] Vorwerk S, Somerville S, Somerville C. The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance[J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(4): 203-209.
- [4] 段红, 曹稳根. 果胶及其应用研究进展[J]. *宿州学院学报*,

2006(6): 80-83.

- [5] Endress H U. Nonfood Uses of Pectin[M]. *The Chemistry and Technology of Pectin*, 1991: 251-268.
- [6] Gholamreza Mesbahi, Jalal Jamalian, Asgar Farahnaky. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems[J]. *Food Hydrocolloids*, 2005, 19(4): 731-738.
- [7] 冯洪建, 黄国林. 果胶提取的研究进展[J]. *广东化工*, 2013, 40(21): 84-85.
- [8] 黄永春, 马月飞, 谢清若, 等. 超声波辅助提取西番莲果皮中果胶的研究[J]. *食品科学*, 2006, 27(10): 341-344.
- [9] 刘艳梅. 超声波辅助提取西番莲果皮中果胶的研究[J]. *企业科技与发展*, 2009(16): 7-10.
- [10] Kulkarni S G, Vijayanand P. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa* L.) [J]. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 2010, 43(7): 1026-1031.
- [11] 陈智毅, 李升峰, 吴继军, 等. 西番莲的加工利用研究[J]. *现代食品科技*, 2006(1): 186-189.
- [12] 郑荣珍, 钟永聪, 叶海辉. 从西番莲果皮中提取果胶[J]. *热带农业科学*, 1998(2): 32-35.
- [13] 赵利, 王杉. 果胶的制备及其在食品工业的应用综述

(下转第 128 页)

- [5] Reis J A, Paula A T, Casarotti S N, et al. Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications [J]. Food Engineering Reviews, 2012, 4(2): 124-140.
- [6] 卢晓黎, 尼海峰. 发酵蔬菜功能菌研究与应用进展[J]. 中国食品学报, 2012, 12(2): 1-6.
- [7] Altuntas E G, Cosansu S, Ayhan K. Some growth parameters and antimicrobial activity of a bacteriocin - producing strain *Pediococcus acidilactici* 13 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 141(1): 28-31.
- [8] 胡美忠, 党丽娟, 陆兆新. *Lactobacillus plantarum* 163 产细菌素食品级培养基筛选及发酵条件优化[J]. 食品科学, 2016(15): 165-170.
- [9] 王娜娜, 李婉, 杜金城, 等. 乳酸乳球菌 KLDS4.0325 产细菌素最佳培养条件的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(14): 187-190.
- [10] 徐顾榕, 陈志伟, 钟小廷, 等. 响应面法优化蜡样芽孢杆菌产类细菌素培养基[J]. 食品工业科技, 2016(19): 212-217.
- [11] 佟世生, 解洛香, 徐乐, 等. 植物乳杆菌代谢产细菌素的培养基优化[J]. 现代食品科技, 2012, 28(2): 152-155.
- [12] 王娜娜, 李婉, 于上富, 等. *L.lactis* KLDS4.0325 产细菌素发酵培养基的响应面优化[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 137-142.
- [13] 于微, 高学军, 马春丽, 等. 干酪乳杆菌产细菌素的生物学特性分析[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(32): 11542-11543.
- [14] 胡彦新, 刘小莉, 王英, 等. 香肠乳杆菌 (*Lactobacillus*

- farcimini*) FM-MM4 产细菌素发酵条件和培养基优化[J]. 食品工业科技, 2016, 37(10): 255-259.
- [15] Zhu X, Zhao Y, Sun Y, et al. Purification and characterisation of plantaricin ZJ008, a novel bacteriocin against *Staphylococcus*, spp. from *Lactobacillus plantarum*, ZJ008 [J]. Food Chemistry, 2014, 165(3): 216-223.
- [16] 申乃坤, 王青艳, 秦艳, 等. 木薯粉同步糖化发酵 (SSF) 产丁二酸[J]. 微生物学通报, 2014, 41(8): 1507-1515.
- [17] 李亚玲. 乳酸片球菌细菌素的分离纯化及理化性质研究[D]. 天津: 天津大学, 2007.
- [18] 滕志利. 产广谱细菌素乳酸菌的筛选及其细菌素特性、发酵条件的研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2013.
- [19] 满丽莉, 孟祥晨, 王辉, 等. 群体感应系统在乳酸菌产细菌素中的作用[J]. 食品科学, 2011, 32(13): 360-364.
- [20] 刘国荣, 张郡莹, 王成涛, 等. 响应面法优化弯曲乳杆菌 RX-6 代谢产细菌素的发酵培养基组成[J]. 食品科技, 2013(3): 2-8.
- [21] Liu J Z, Weng L P, Zhang Q L, et al. Optimization of glucose oxidase production by *Aspergillus niger* in a benchtop bioreactor using response surface methodology [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2003, 19(3): 317-323.
- [22] Sharma S, Malik A, Satya S. Application of response surface methodology (RSM) for optimization of nutrient supplementation for Cr(VI) removal by *Aspergillus lentulus* AML05 [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 164(2): 1198-1204.

(上接第 122 页)

- [J]. 食品科技, 1999(5): 32-34.
- [14] 张燕, 毛桂枝, 刘蕴哲. 离子交换树脂法提取桔皮中果胶[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(4): 52-54.
- [15] Fishman M L, Chau H K, Hoagland P, et al. Characterization of pectin, flash - extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure [J]. Carbohydrate Research, 2000, 323(1-4): 126-138.
- [16] 赵广河, 沈育林, 陈振林. 酸法与酶法提取香蕉皮果胶工艺比较[J]. 广东农业科学, 2013(12): 104-106.
- [17] 苏东林, 李高阳, 陈亮, 等. 橘皮果胶生产工艺优化及品质分析[J]. 食品科学, 2011, 32(18): 95-101.
- [18] 王卉, 黄朝晖, 徐云升, 等. 香蕉皮果胶纤维素酶法提取工艺[J]. 农业工程, 2013, 4(3): 74-76.

- [19] Zhang Q A, Zhang Z Q, Yue X F, et al. Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder [J]. Food Chemistry, 2009, 116(2): 513-518.
- [20] 张小玲. 果胶的吡啶硫酸分光光度测定法研究[J]. 甘肃农业大学学报, 1999(1): 75-78.
- [21] 刘义武, 孔昭华, 王碧, 等. 酶法提取血橙皮果胶[J]. 食品研究与发, 2013(24): 81-84.
- [22] Chou T D, Kokini J L. Rheological Properties and Conformation of Tomato Paste Pectins, Citrus and Apple Pectins [J]. Journal of Food Science, 2006, 52(6): 1658-1664.
- [23] 张娜, 陈锦屏, 严静, 等. 柿皮果胶纤维素酶法提取工艺[J]. 食品科学, 2011(12): 160-163.

全国中文核心期刊  
轻工行业优秀期刊