

# 响应面法优化表面活性剂/ 微波辅助提取海红果渣中果胶的工艺

刘慧瑾, 杜芳艳\*, 高立国, 代 帅

(榆林学院化学与化工学院, 陕西榆林 719000)

**摘要:**以表面活性剂十二烷基硫酸钠(SDS)水溶液为萃取剂,采用微波辅助提取海红果渣中的果胶,系统考察了SDS浓度、pH、微波时间、料液比、提取温度等因素的影响,并通过响应面法对提取工艺进行了优化,得出最佳工艺条件为表面活性剂浓度为0.8%,提取温度为50℃,料液比为1:15,微波时间为14min, pH为2.0,重复提取两次,在该条件下,海红果渣中果胶得率为16.1%。与拟合的二次回归模型预测值基本相符。

**关键词:**表面活性剂,响应面法,微波辅助萃取,提取果胶,海红果渣

## Response surface methodology for optimizing process of surfactant/ microwave-assisted extraction pectin of *Malus micromalus* Makino

LIU Hui-jin, DU Fang-yan\*, GAO Li-guo, DAI Shuai

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Yulin University, Yulin 719000, China)

**Abstract:** The effect of Sodium dodecyl sulfate (SDS) concentration, extraction temperature, extraction time and extraction solvent volume on the extraction process of Pectin Sodium dodecyl sulfate (SDS) as the extractant from *Malus micromalus* Makino with the microwave-assisted extraction technology were investigated systematically in this paper. The extraction parameters were optimized by the response surface methodology. The optimum conditions were as follows: SDS concentration was 0.8%, extraction temperature was 50℃, the volume of extraction solvent used per gram dried *Malus micromalus* Makino was 15mL, extraction time was 14min, extraction pH value was 2.0. Repeated extraction for two times and the extraction rate was up to 16.1%. The prediction values of the fitted quadratic regression model well agreed with the experimental values.

**Key words:** surfactant; response surface methodology; microwave-assisted extraction; extraction pectin; *Malus micromalus* Makino

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2014)21-0215-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.21.038

果胶是人体七大营养素中膳食纤维的主要成分,具有良好的抗腹泻、抗癌、治疗糖尿病降血脂、止血、消肿、解毒和减肥等功效,是公认安全的食品添加剂。果胶的需求量呈高速增长态势<sup>[1]</sup>。果胶的提取方法有微波法<sup>[2-3]</sup>、超声波法<sup>[4]</sup>、酶法<sup>[5]</sup>、离子交换法<sup>[6]</sup>、膜分离法<sup>[7]</sup>、盐析法<sup>[8]</sup>、微生物法<sup>[9]</sup>等。表面活性剂具有特殊的两亲结构,可形成分子液膜萃取,增加液固接触面积,增强溶剂对物料的润湿性和渗透性;另外,表面活性剂具有显著的降低表面张力的能力,它的许多应用都与此特性有关,例如分散、润湿、

渗透和铺展作用;由于表面活性剂降低了细胞膜与水溶液间的界面张力,有利于水溶液通过毛细管渗透进入细胞壁内,溶解更多有效成分,且物料更易被溶剂分散、润湿和铺展开来,增加了有效成分的溶出几率;当表面活性剂存在于界面时还表现出一定的吸附作用;表面活性剂的这种特性,使得其在提取分离中能增加浸出效能和萃取率,在天然产物提取中得到应用。利用微波加热能破坏原料的薄壁组织细胞,提高组织细胞的多孔渗透性和吸水能力。将微波和表面活性剂两者的功能结合起来,起到协同作用,可降低成本,提高萃取效率。表面活性剂增效提取果胶的研究已有报道<sup>[10]</sup>,但应用表面活性剂增效与微波辅助技术提取果胶的研究未见报道。海红果为蔷薇科植物海红子(*Malus micromalus*)的果实,学名西府海棠<sup>[11]</sup>,是我国稀有果树资源。我们采用表面活性剂/微波辅助技术提取海红果渣中的果胶,通过响应面法对提取工艺进行优化,以求为海红果的开发利用提供技术支撑和理论依据。

收稿日期: 2014-03-18

作者简介: 刘慧瑾(1981-),女,硕士,讲师,主要从事天然产物的开发研究。

\* 通讯作者: 杜芳艳(1960-),女,本科,教授,主要从事天然产物的开发应用研究。

基金项目: 榆林市科技局2010年农业攻关项目;陕西省教育厅2012年产业化培育项目(2012JC26)。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

海红果 采自陕西省府谷县。

十二烷基硫酸钠(SDS) 西安化学试剂公司;无水乙醇;D-半乳糖醛酸对照品 中国药品及生物制品鉴定所;吡啶 阿拉丁试剂网;所用试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

MDS-8 型多通量密闭微波化学工作站 上海新仪微波化学科技有限公司;电子分析天平沈阳龙腾电子有限公司;722S 型可见分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司;80-2 型电动离心机 江苏环宇科学仪器厂;pHS-3C 型酸度计 上海理连仪器厂;101-1 型数显电热鼓风干燥箱 上海恒一科学仪器有限公司;FZ102 型粉碎机 北京中兴伟业仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 原料预处理 海红果去除果肉部分,果核放入烘箱内于 60℃ 下烘干,粉碎,过 60 目筛得果渣粉,果渣粉用 90℃ 水(料液比为 1:20)煮 10min,使果胶酶失去活性,冷却过滤,滤渣用 35℃ 的温水冲洗,至滤液为无色,以除去滤渣中的糖类、色素等杂质,60℃ 下干燥,保存备用。

1.2.2 果胶提取工艺 称取 2.000g 果渣粉,按照 1:15(g/mL)的料液比,加入 0.8% 的十二烷基硫酸钠(SDS)溶液,用 0.05mol/L 的盐酸调节 pH2.0,在 50℃ 下,于 MDS-8 型多通量密闭微波化学工作站中提取 14min,过滤,重复提取两次,合并滤液,滤液定容至 100mL 得样品储备液。

1.2.3 标准曲线与果胶含量的测定 以 D-半乳糖醛酸为标准品绘制标准曲线,采用吡啶-硫酸分光光度法测定<sup>[12]</sup>。准确量取样品储备液 10.0mL 于 50mL 烧杯中,加入 1.0mol/L 硫酸溶液 6.0mL,在 70℃ 水浴中加热 20min 进行水解,水解物冷却至室温后移入 50mL 容量瓶,水稀释定容,得到样品溶液。准确移取样品溶液 10.0mL 并定容到 50mL,移取稀释后的样品溶液 1.0mL 于试管中,加入浓硫酸 6.0mL,边加边流水冷却,冷至室温后加入 0.15% 的吡啶无水乙醇溶液 0.50mL,摇匀,在室温下暗处放置 30min 后,以试剂空白为参比,在 530nm 处测定其吸光度。样品中的果胶物质总含量以半乳糖醛酸表示:

$$\text{果胶得率}(\%) = c \times 50 \times 50 \times 10^{-6} / W \times 100$$

式中:c 为从标准曲线查得的所测果胶液中的半乳糖醛酸的浓度(mg/L);W 为样品的质量,g。取 8 支 50mL 比色管,依次加入浓度为 0、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 $\mu\text{g/mL}$  的半乳糖醛酸标准溶液 1.0mL,按实验方法进行测定,以吸光度为纵坐标,半乳糖醛酸浓度为横坐标绘制标准曲线。

1.2.4 单因素实验 按照 1.2.2 方法,采用单因素轮换实验分别考察 pH、提取时间、料液比、表面活性剂用量、提取温度对果胶得率的影响,确定各因素的最佳范围。

1.2.5 响应面法组合设计工艺优化实验 在单因素实验结果的基础上,确定采用质量分数为 0.8% 的

SDS 为溶剂,微波提取功率为 700W,温度为 50℃,同法提取两次,选取溶剂的 pH A、微波提取时间 B 及料液比 C 三个对海红果渣中果胶得率影响较大的主要因素进行优化实验。以海红果渣中果胶得率  $R_1$  为目标,使用中心组合实验设计和响应面分析法,在三因子三水平上对提取工艺进行优化。实验因子和水平见表 1。通过 Design Expert 8.0.6 软件分析对实验进行回归分析,预测提取果胶的最优工艺参数。

表 1 响应面实验因素水平编码

Table 1 Levels and factors of the Box-Behnken design

水平	因素		
	A 溶剂的 pH	B 时间 (min)	C 料液比 (g/mL)
-1	1.8	12	1:10
0	2.0	14	1:15
1	2.2	16	1:20

## 2 结果与分析

### 2.1 半乳糖醛酸标准曲线

在 0~100.0mg/L 范围内,吸光度和半乳糖醛酸的浓度呈良好的线性关系(误差量  $< \pm 0.05$ ),见图 1。回归方程为:  $A = 0.0115c + 0.0204$  ( $R^2 = 0.9993$ )。式中:A 为波长 530nm 处的吸光度;c 为 D-半乳糖醛酸的含量(mg/L)。

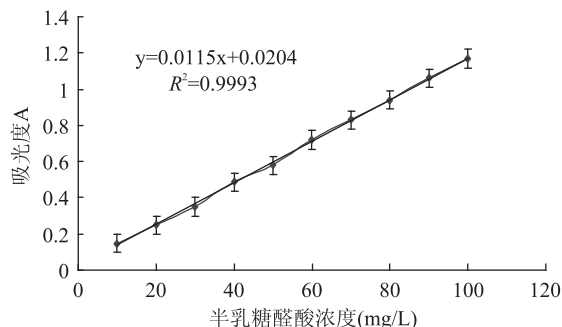


图 1 半乳糖醛酸标准曲线

Fig.1 Egression curve of galaturonic acid

### 2.2 单因素实验

pH 对果胶得率的影响:固定提取温度 50℃、SDS 浓度为 0.8%,选用料液比 1:20,微波辅助提取 10min,微波功率 700W,考察不同 pH 对果胶得率的影响,结果如图 2 所示,当  $\text{pH} < 2.0$  时,果胶得率随 pH 增大而增加,在 pH 为 2.0 时果胶的得率达到最大,pH 继续增大时果胶得率下降,这是因为酸性过低,果胶不稳定,逐步水解成单糖,而酸度过大对果胶分子甙键及酯键破坏大,果胶发生脱酯裂解,导致果胶得率下降。所以 pH 为 2.0 较合适。

微波时间对果胶得率的影响:固定提取温度 50℃、SDS 浓度为 0.8%,选用料液比 1:20,pH 为 2.0,微波功率 700W,考察不同微波辅助提取时间对果胶得率的影响,结果如图 3 所示,在微波提取时间低于 12min 时,果胶得率随着提取时间的增加而增大,在 12min 时果胶得率最大,时间大于 12min 时,再增加提取时间,果胶的得率反而下降。这一方面是因为

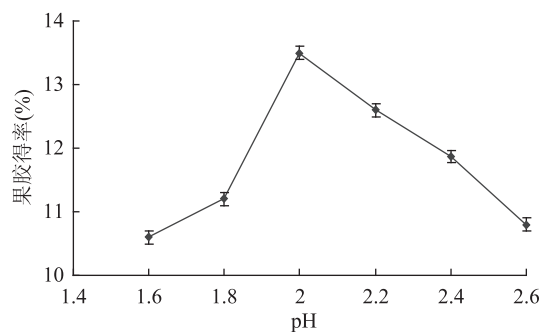


图2 pH对果胶得率的影响

Fig.2 Effect of pH value on the yield of pectin

微波作用于细胞壁,破坏原料的薄壁组织细胞,促进细胞间果胶的释放,另一方面是由于表面活性剂的吸附量在吸附初期,随时间平方根成正比,且随浓度增大而增加,吸附量增大,表面张力降低,有利于果胶的溶出。但处理时间过长,表面吸附经过一定时间达到了饱和吸附量,表面张力基本不变<sup>[13]</sup>,而微波产生的高温又会使果胶中的半乳糖醛酸分解,从而使果胶得率下降。

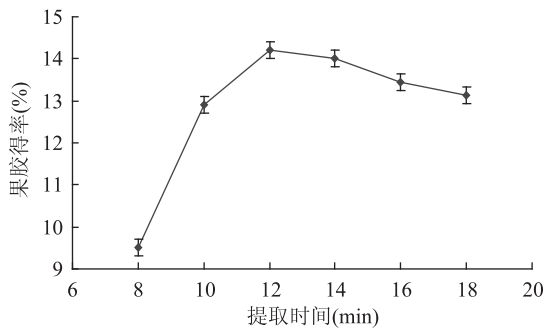


图3 提取时间对果胶得率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the yield of pectin

料液比对果胶得率的影响:固定提取温度 50℃、SDS 浓度为 0.8%, pH 为 2.0,微波功率 700W,微波辅助提取时间 12min,考察不同料液比对果胶得率的影响,结果如图 4 所示,当料液比为 1:15 时果胶得率最大,料液比过小时,不利于果胶质水解成果胶,溶液中含有的果胶浓度低。料液比过大时,稀释了提取物的浓度,提取量反而下降,并且由于其他物质的溶出,造成过滤困难。

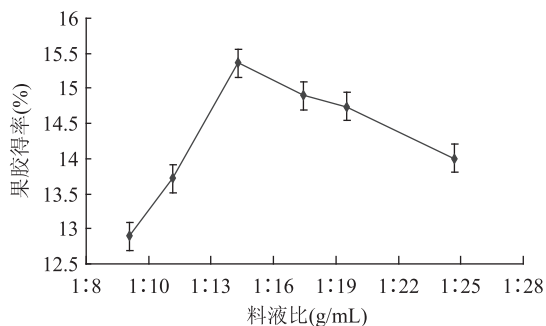


图4 料液比对果胶提取率的影响

Fig.4 Effect of solid to liquid ratio on the yield of pectin

SDS 浓度对果胶得率的影响:固定提取温度 50℃、料液比 1:15 (g/mL), pH 为 2.0,微波功率

700W,微波辅助提取时间 14min,考察 SDS 浓度对果胶得率的影响,结果如图 5 所示,当 SDS 浓度小于 0.4% 时得率随浓度增加而增大,在 0.8% 时,果胶得率最大。果胶得率提高的原因其一是表面活性剂形成分子液膜萃取,增加液固接触面积,其二是因为表面活性剂特定的双亲结构,具有分散、渗透、润湿等作用,可降低细胞膜与水溶液间的界面张力,有利于水溶液通过毛细管渗透进入细胞壁内,溶解更多的果胶,且在小于临界胶束浓度时,表面张力随着表面活性剂浓度的增加而降低,因此果胶得率随着 SDS 浓度的增加而增大。当 SDS 浓度大于 0.4% 时,增大 SDS 的浓度,果胶得率总体变化不是很大。这是因为当表面活性剂浓度达到临界胶束浓度后,表面张力随表面活性剂浓度的增加变化很小甚至不变<sup>[13]</sup>。因此果胶得率没有太大的增加。实验选择 SDS 浓度为 0.8%。

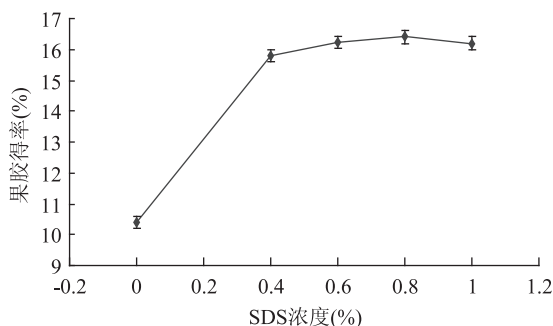


图5 SDS浓度对果胶得率的影响

Fig.5 Effect of SDS concentration on the yield of pectin

微波提取温度对果胶得率的影响:固定 SDS 浓度为 0.8%, 选用料液比 1:15, pH 为 2.0,微波辅助提取时间 12min,考察提取温度对果胶得率的影响,结果如图 6 所示,当温度低于 45℃ 时,随着温度的升高,果胶迅速溶解,果胶得率随之而增大,温度在 45℃~65℃ 果胶溶解速率达到最大,果胶得率达到最高且随温度变化不大,当温度高于 70℃ 时,由于果胶耐热性较差,发生水解成单糖,导致果胶得率随温度升高而降低。

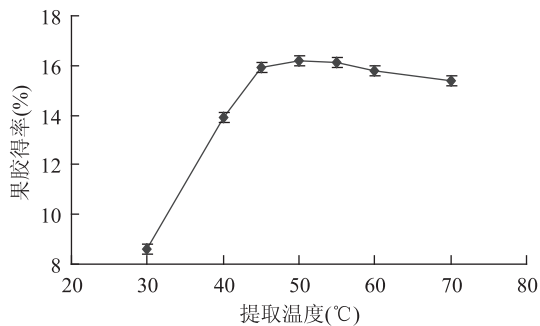


图6 提取温度对果胶提取率的影响

Fig.6 Effect of extraction temperature on the yield of pectin

### 2.3 响应面实验结果及分析

以果胶得率  $R_1$  为响应值,以溶剂的 pH A、提取时间 B、料液比 C 为主要影响因素,根据 Box - Behnken 的原理,由实验水平因素编码进行实验设计,实验结果见表 2。对表 2 中实验数据进行二次多

项式逐步回归拟合,得到的回归方程为: $R_1 = 16.16 + 0.39A + 0.29B - 0.075C - 0.050A \cdot B - 0.18A \cdot C + 0.42B \cdot C - 0.96A^2 - 0.86B^2 - 0.68C^2$ 。

表2 响应面分析方案及实验结果

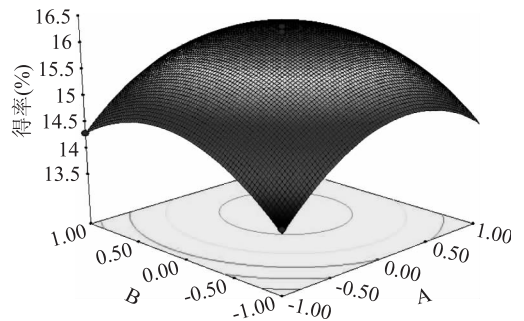
Table 2 Program and test results of response surface analysis

实验号	A pH	B 时间	C 料液比	果胶得率 (%)
1	0	0	0	16.3
2	0	-1	1	13.9
3	0	-1	-1	14.7
4	0	0	0	16.2
5	1	1	0	14.9
6	0	1	-1	14.5
7	0	0	0	16.2
8	0	0	0	16
9	0	0	0	16.1
10	1	-1	0	14.5
11	-1	1	0	14.3
12	-1	-1	0	13.7
13	-1	0	-1	14.1
14	1	0	1	14.6
15	-1	0	1	14.1
16	1	0	-1	15.3
17	0	1	1	15.4

回归统计分析结果见表3。拟合方程的每个变量对响应值影响的显著程度,可以通过  $p$  值来判断<sup>[14]</sup>。 $p$  值越小则表示对应变量的影响显著性越高,当  $p \leq 0.05$  时为显著水平,当  $p \leq 0.01$  时为水平极显著。由表3可知,二次回归模型的  $F = 63.65$ ,其 ( $p > F$ ) 值小于 0.0001 则表示二次回归模型具有显著性。失拟项  $F = 263$ ,  $p = 0.1868 > 0.05$ ,说明实验设计拟合效果好,实验设计合理。模型二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  与影响因素 A、B 以及交互项 BC 均具有极显著性 ( $p < 0.01$ ),其他因素不显著。说明 pH、提取时间在

本实验中的影响是极其重要的。BC 两个因素的交互作用对果胶得率有较大的影响。由此可以看出,回归模型不是简单的线性关系。各因素对提取海红果渣果胶得率的影响大小顺序为:溶剂 pH > 提取时间 > 料液比。模型调整确定系数  $R^2 = 0.9573$ ,说明该模型能较好的解释响应值的变化。

由二次回归模型得出以下三个响应曲面图,见图7~图9,分析图可以了解以下因素对响应目标(海红果渣果胶得率)的影响和各个因素间的交互作用。由图可以看出,响应曲面均是开口向下的凸面,且其中心位于所考察区域内,说明在考察的区域范围内存在响应值的最大值,通过软件分析,表面活性剂 SDS/微波辅助提取海红果渣中果胶的最佳条件为:表面活性剂 SDS 的浓度为 0.8% 的条件下,控制溶剂的 pH 为 2.04,提取时间 14.3min,料液比为 1:14.8 (g/mL),海红果渣中果胶的得率为 16.22%。

图7  $R_1 = (A, B)$  的响应面图Fig.7 Response surface plot of  $R_1$  between A and B

## 2.4 验证实验

对优化所得实验方案进行验证,即采用 0.500g 海红果渣,按照 1:15 (g/mL) 的料液比,加入 0.8% SDS 溶液,用 0.05mol/L 的盐酸调节 pH2.0,控制微波温度 50℃,微波提取时间为 14min,重复提取两次。进行 5 次平行实验求平均值。结果海红果渣中果胶得率为 16.1%。与模型预测值之间的误差为 -0.12%。

表3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for regression Model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	$p > F$
Model	12.64	9	1.40	63.65	<0.0001
A	1.20	1	1.20	54.43	0.0002
B	0.66	1	0.66	29.36	0.0009
C	0.045	1	0.045	2.04	0.1964
AB	1.000E-002	1	1.000E-002	0.45	0.5225
AC	0.12	1	0.12	5.55	0.0506
BC	0.72	1	0.72	32.73	0.0007
$A^2$	3.84	1	3.84	173.99	<0.0001
$B^2$	3.08	1	3.08	139.46	<0.0001
$C^2$	1.95	1	1.95	88.21	<0.0001
残差	0.15	7	0.022		
失拟项	0.10	3	0.034	2.63	0.1868
纯误差	0.052	4	0.013		
总误差	12.8	16			

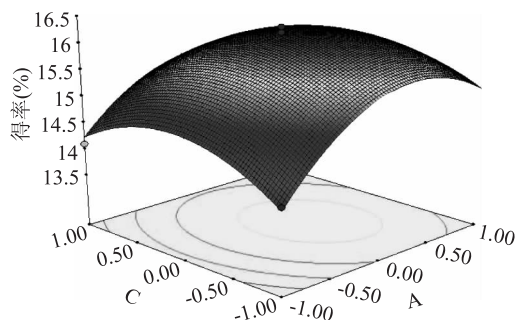


图8  $R_1 = (A, C)$  的响应面图

Fig.8 Response surface plot of  $R_1$  between A and C

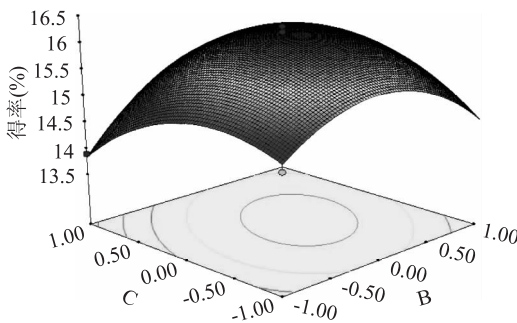


图9  $R_1 = (B, C)$  的响应面图

Fig.9 Response surface plot of  $R_1$  between B and C

### 3 结论与讨论

一定浓度的表面活性剂 SDS 具有分散、渗透、润湿等作用,增加液固接触面积,有效降低界面张力,从而促进果胶的充分溶出。

海红果渣中含有一定量的果胶,采用响应面法所得到的实验模型可靠,具有一定实用价值,其优化的提取工艺条件是:按照 1:15 (g/mL) 的料液比,加入 0.8% SDS 溶液,用 0.05mol/L 的盐酸调节 pH2.0,控制微波温度 50℃,微波提取时间为 14min,重复提取两次。进行 5 次平行实验求平均值。结果海红果渣中果胶得率为 16.1%。

采用表面活性剂 SDS/微波辅助法提取果胶,将微波和表面活性剂两者的功能结合起来,起到协同

作用,可以显著提高海红果渣中果胶得率,而且提取时间短,温度低,可降低成本。

### 参考文献

[1]潘虹.从不同原料中提取果胶工艺的研究综述[J].安徽农学报,2009,30(15):73-79.

[2]M.Kratchanova,E.pvalova,I Panchev.The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extraction pectin [J].Carbohydrate polymers, 2004, (56): 181-185.

[3]张帅,董基,黄志明,等.微波辅助提取黄皮果肉果胶工艺参数优化[J].农业工程学报,2012,28(15):264-268.

[4]岳贤天.超声波辅助提取苹果皮中果胶的工艺研究[J].安徽农业科学,2011,39(5):32-35.

[5]韩冬梅,廖小军,李淑艳,等.酶法制取橙皮果胶的研究[J].食品工业科技,2011,3(2):183-186.

[6]顾焰波,陈冬年,倪秋萍,等.离子交换法提取香蕉皮果胶工艺研究[J].广东农业科学,2013,14:111-113.

[7]郑领英.膜技术[M].北京:化学工业出版社,2000:15-17.

[8]孔瑾,李新铮,常景玲,等.盐析法从干南瓜皮中提取果胶的技术研究[J].食品研究与开发,2005,26(1):69-71.

[9]Takuo S M,Masaru N.Reach on protopectinase:A new aspect of research on pectolytic enzymes [J].Mere.Fac.Agric.Kinki. Univ,1999,19(1):32

[10]岳贤天.表面活性剂增效超声波辅助提取香蕉皮中果胶的研究[J].农业机械,2011,12:145-147.

[11]王菱.晋陕蒙三角区特有果树——海红子[J].自然资源,1990,3(1):48.

[12]丁建东,张雪红,姚先超,等.咔唑比色法测定剑麻果胶含量[J].食品研究与开发,2010,31(11):138-140.

[13]刘程.表面活性剂应用大全[M].北京:北京工业大学出版社,1994:59-64.

[14]Shengli Y, Hui Z.Optimization of cholesterol oxidase production by Brevibacterium sp - employing response surface methodology [J].African Journal of Biotechnology,2012,24(1): 90-94.

fucogalactans from *Agaricus bisporus* and *Lactarius rufus* [J]. Carbohydrate Polymers,2012,87(2):1620-1627.

[8]Jeong S C, Koyyalamudi S R, Pang G. Dietary intake of *Agaricus bisporus* white button mushroom accelerates salivary immunoglobulin A secretion in healthy volunteers [J]. Nutrition, 2012,28(5):527-531.

[9]卞生珍,杨清香.双孢菇采后的生理生化变化[J].新疆师范大学学报:自然科学版,2007,26(2):80-83.

[10]毛勇,毛健,李华钟,等.双孢菇深层发酵培养基的响应面优化[J].食品工业科技,2013,4:193-197.

[11]王敏,刘爱民.不同碳氮源对双孢蘑菇 2796 深层发酵的影响[J].资源开发与市场,2009,25(2):100-103.

[12]周德庆.微生物学教程[M].北京:高等教育出版社,2011:88-89.

[13]刘晓鹏,姜宁,魏璐,等.白灵菇深层发酵培养基的优化研究[J].中国酿造,2009,3:65-68.

(上接第 214 页)

2004:120-121.

[2]吴素玲,孙晓明,王波,等.双孢菇子实体营养成分分析[J].中国野生植物资源,2006,2(2):47-52.

[3]高宏伟,吴华.双孢菇子实体氨基酸和不饱和脂肪酸分析[J].检验检疫科,2003,13(2):15-16.

[4]张强,宫璐婵,孟凡荣,等.双孢菇多糖抗氧化活性的研究[J].中国林副特产,2010,104(1):16-19.

[5]常海兰,殷凤.双孢菇的抗氧化作用及对免疫功能影响的研究[J].山西医科大学学报,2003,34(2):122-123.

[6]Kozarski M, Klaus A, Niksic M, et al. Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus* [J]. Food Chemistry, 2011,129(4):1667-1675.

[7]Ruthes A C, Rattmann Y D, Carbonero E R, et al. Structural characterization and protective effect against murine sepsis of