

不同提取方法对黄秋葵果胶含量和结构特性的影响

刘生¹, 郑添妍¹, 高晗¹, 惠爱玲¹, 张文成¹, 张化伟², 都标²

(1. 农产品生物化工教育部工程研究中心, 合肥工业大学, 安徽合肥 230009)

(2. 安徽阳光药业有限公司, 安徽亳州 236700)

摘要: 本研究探讨了酸水热提、酶解、超声及酶解-超声四种提取方法对黄秋葵果胶含量及其结构特性的影响。酸水热提及酶解-超声联合法对黄秋葵果胶提取效果优于酶解和超声法; 当干秋葵加入 20 倍 pH 3 HCl 水溶液, 以 70 °C 浸提 1 h (酸水热提法) 或添加 3‰果胶酶、50 °C 酶解 90 min 后置于 200 W 超声波处理 10 min (酶解-超声法) 时, 其果胶平均含量 (以半乳糖醛酸质量分数计) 达到 43.61 g/kg 及 32.59 g/kg。四种提取方法所制果胶均为吡喃糖构型, 但酸水热提及酶解法制备果胶的酯键易发生降解, 其在 1725 cm⁻¹ 红外吸收峰有变弱甚至消失趋势; 而超声或酶解-超声法处理则促进了果胶分子链断裂, 其平均分子量由酸水热提法下 533 ku 分别降至 420~467 ku、319 ku。研究结果表明: 采用酸水热提法(pH 3、70 °C)制备黄秋葵果胶, 其果胶得率高、分子量分布集中、外观呈片状且排列致密。本研究结果为高品质秋葵果胶的制备奠定基础。

关键词: 黄秋葵果胶; 酸水热提; 酶解; 超声; 分子量

文章编号: 1673-9078(2019)03-161-168

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.3.025

Effects of Different Extraction Methods on the Content and Structural Properties of Pectin from Okra

LIU Sheng¹, ZHENG Tian-yan¹, GAO Han¹, HUI Ai-ling¹, ZHANG Wen-cheng¹, ZHANG Hua-wei², DU Biao²

(1.Engineering Research Center of Bio-process, Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China) (2.Anhui Sunshine Pharmaceutical Co. Ltd., Bozhou 236700, China)

Abstract: The effects of four extraction methods such as hot acid-water extraction, enzymolysis, ultrasound, and enzymolysis-ultrasound treatment on the content and structural characteristics of the pectins from okra were studied, and the hot acid-water extraction and enzymolysis-ultrasound methods were found more effective. At the ratio of dried okra to the HCl aqueous solution (pH 3) of 1:20, the extraction at 70 °C for 1 h (the hot acid-water extraction method) or with addition of 3‰ of pectinase, and the digestion at 50 °C for 90 min followed by an ultrasound treatment at 200 W for 10 min (the enzymolysis-ultrasound method), led to a pectin content (as the galacturonic acid mass in okra) of 43.61 and 32.59 g/kg, respectively. All the pectins produced by the four extraction methods was in the pyranose configuration, but the ester bond in the pectins prepared via the hot acid-water extraction or the enzymolysis method tended to degrade, causing the infra-red adsorption peak at 1725 cm⁻¹ to be weakened or even disappear. Whereas, the ultrasound methods or enzymolysis-ultrasound treatment promoted the breakage of the pectin molecular chain, making its average molecular weight decrease from 533 ku (by the hot acid-water method) to 420~467 ku and 319 ku. The results showed that the okra pectin prepared via the hot acid-water extraction method had a higher extraction yield and narrow molecular weight distribution with a flake-like and densely arranged appearance. The results of this research has laid the foundation for the preparation of high quality okra pectin.

Key words: okra pectin; hot acid-water extraction; enzymolysis; ultrasound; molecular weight

黄秋葵是一种具有较高营养价值和显著保健功能的蔬菜, 其保健作用被证实主要来自嫩果中的粘性物

收稿日期: 2018-09-29

基金项目: 安徽省科技重大专项 (16030701072)

作者简介: 刘生(1993-), 男, 硕士在读, 研究方向: 农产品加工;

共同第一作者: 郑添妍(1996-), 女, 硕士在读, 研究方向: 农产品加工

通讯作者: 惠爱玲(1980-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 保健食品研

究与开发

质, 该粘性物质主要为果胶和粘性蛋白等^[1,2]。黄秋葵嫩果中含 24.80%果胶, 其具有乳化、增稠、胶凝作用, 以及促消化、降血脂、增强人体耐受力等功效, 被应用于食品、药品等领域^[3,4]。据不完全统计, 我国每年消耗果胶超过 1500 t, 其中 80%为国外进口^[5]。因此, 研究果胶的生产工艺、提高果胶产量、开发优质果胶资源已迫在眉睫。

果胶是由 α -1,4 糖苷键联接的半乳糖醛酸与阿拉伯

糖、鼠李糖等中性糖聚合而成的杂多糖^[6,7]；以原果胶、果胶和果胶酸三种形态存在，其中以原果胶为主；工业生产中常利用酸解法或原果胶酶等帮助原果胶转化为水溶性果胶^[8-10]。黄秋葵果胶提取以酸水热提^[11-13]、酶法^[13,14]居多，此外还有微波^[15,16]及超声波^[17,18]辅助提取的报道。已经有研究显示提取过程涉及到的温度、pH、酶和超声等条件以及外源性施以高压均质、亚临界水^[19]、动态高压微射流^[20]等处理均会对果胶结构特性产生影响^[21]，甚至引起果胶分子链降解^[22-25]，如：苹果果胶在 80~110 °C 及不同 pH 下会发生不同程度水解、 β -消除及去甲基化反应^[22]；柚皮果胶在 pH 3.7 下经 85 °C 热处理 0~100 min，其分子质量分布无显著变化 ($p>0.05$)，但空间立体结构发生改变，最终其增稠效果得以减弱^[23]。因此，探索不同提取工艺对黄秋葵果胶结构特性影响对于获得高品质果胶产品很重要。

本研究考查了酸水热提、酶解、超声以及酶解-超声四种提取方法对黄秋葵果胶含量（以半乳糖醛酸质量分数计）的影响，初步获得果胶含量高的制备工艺；通过红外光谱、凝胶色谱测定果胶样品官能团和分子质量分布等特征，并结合扫描电镜对其微观结构分析，揭示不同提取方法对果胶结构特性影响规律，为黄秋葵果胶品质控制提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜黄秋葵嫩果（产地：海南海口采收期采摘，储存于 7 °C~10 °C 的环境中，采摘后经货车当天运输过来）购自合肥市周谷堆农产品批发市场；浓硫酸（优级纯）、无水乙醇、盐酸、氢氧化钠、溴化钾、氯仿、正丁醇，国药集团化学试剂有限公司；D-半乳糖醛酸、透析袋（44 mm， M_w 7000）、咔唑、 α -萘酚，上海源叶生物科技有限公司；果胶酶（40 U/mg），西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司。

FA1004 电子天平，上海精科公司；UV2100 紫外分光光度计，上海光谱公司；DHG9070A 电热恒温干燥箱，上海精宏公司；FD-1 冷冻干燥机，北京博医康公司；Nicolet5700 傅里叶变换红外光谱仪，Thermo Electron Corporation；Agilent 1260 液相色谱仪（配蒸发光散射检测器），美国安捷伦；SU8020 场发射扫描电镜，日立公司；JY98-IIIDN 超声波细胞粉碎机，宁波新芝公司；TDZ5-WS 离心机，湖南湘仪公司；R205 旋转蒸发仪，上海申胜公司。

1.2 方法

1.2.1 黄秋葵嫩果预处理及果胶提取

黄秋葵嫩果→清洗、去蒂晾干、剪成小节→匀浆后直接提取或干燥预处理后提取（酸水热提、酶解提取、超声波提取）→提取液离心，取上清液→95%乙醇醇沉→离心，取沉淀→67%乙醇洗涤沉淀→咔唑-硫酸比色法测定果胶含量

嫩果干燥预处理：剪成小节后的嫩果放入冷冻干燥机（D1：冻干处理）或热风干燥箱中（D2：70 °C，D3：100 °C）烘干至恒重，磨粉备用，以酸水热提法进行果胶提取。称取 2.000 g 干秋葵（D1、D2、D3）或嫩果 17.182 g（通过测定秋葵含水量 88.36%折算），加入 40 mL pH 3 的 HCl 水溶液，搅拌或匀浆。70 °C 水浴热提 1 h，离心（4000 r/min，20 min）取上清液；加入等体积 95%乙醇，室温下醇沉 12 h，离心（4000 r/min，20 min）取沉淀或粘稠物；用 67%乙醇溶液充分洗涤，直至无糖的穆立虚反应为止^[11]，待测果胶含量。

1.2.2 咔唑-硫酸比色法测定果胶中半乳糖醛酸含量^[26]

上述洗涤后的果胶运用咔唑比色法^[26]在 525 nm 检测吸光度，通过标准曲线计算得到半乳糖醛酸质量浓度（mg/L），再计算得到干秋葵提取得到半乳糖醛酸质量分数（g/kg）：

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m \times 1000}$$

其中： ρ 为半乳糖醛酸质量浓度（mg/L）； V 为定容体积（mL）； m 为试样质量（g，以干秋葵计）。吸光度（ Y ）与半乳糖醛酸含量（ X ）之间关系满足： $Y = 0.01X + 0.0003$ ，线性范围 0~100 mg/L，相关系数 $R^2 = 0.9998$ 。

1.2.3 酸水热提法提取黄秋葵果胶

酸水热提法提取秋葵果胶预实验发现提取时间（>1 h）及次数（>1 次）对果胶含量增加不明显，故仅考查料液比、浸提温度及 pH 影响。

料液比：秋葵粉（嫩果 70 °C 烘干、磨粉，以下同）2.000 g，按照 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 料液比分别加入 pH 3 酸水，70 °C 浸提 1 h；

浸提温度：秋葵粉 2.000 g，按照 1:20 料液比加入 pH 3 酸水，分别在 25 °C、40 °C、55 °C、70 °C、85 °C 浸提 1 h；

浸提 pH：秋葵粉 2.000 g，按照 1:20 料液比加入酸水，其 pH 分别为 2、2.5、3、3.5、4，70 °C 浸提 1 h。

正交试验：结合单因素试验，选取料液比(A)、浸提温度(B)、浸提 pH(C)三个因素，设计 $L_9(3^3)$ 正交试验对果胶酸水热提工艺进行优化，正交试验因素水平设计如表 1。

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

因素	水平		
	1	2	3
A 料液比	1:15	1:20	1:25
B 浸提温度/℃	55	65	75
C 浸提 pH	2.5	3.0	3.5

1.2.4 酶解、超声及酶解-超声法提取黄秋葵果胶

首先,以酸水热提法下较优料液比 1:20 及 pH 3 酸水为基础,分别采取酶法(秋葵 2.000 g, 3‰果胶酶, 50 ℃酶解 30 min 或 60 min, 标为 E1, E2)、超声法(干秋葵 2.000 g, 200 W 超声波处理 15 min 或 30 min, 标为 U1、U2)及酶解-超声联合法(E1+U1)提取果胶。其次,对酶解-超声联合提取工艺进行优化,预实验发现酶解时以 pH 3、50 ℃为宜;超声时间以 10~15 min 为宜,时间延长会导致果胶含量降低,故后续仅考察加酶量、酶作用时间及超声功率对果胶含量影响,此时其它固定因素为:秋葵粉 2.000 g、料液比 1:20、酶解温度 50 ℃、pH 3、超声处理 10 min。

加酶量:分别加入 1‰、3‰、5‰、7‰、9‰果胶酶(m/m),酶解 30 min 后置于 200 W 超声处理;

酶作用时间:加入 3‰果胶酶,分别酶解 30、60、90、120、150 min 后置于 200 W 超声处理;

超声波功率:加入 3‰果胶酶,酶解 30 min 后分别置于 200、300、400、500、600 W 超声处理。

1.2.5 黄秋葵果胶制备及精制

称取 4 份约 10~20 g 秋葵粉,按照 1:20 料液比加入 pH 3 HCl 水溶液,之后分别采用四种方式提取:(1)酸水热提:70 ℃浸提 1 h;(2)酶法提取:添加 3‰果胶酶、50 ℃酶解 60 min;(3)超声提取:200 W 超声处理 15 min;(4)酶解-超声联合:添加 3‰果胶酶、50 ℃酶解 90 min 后置于 200 W 超声处理 10 min。上述提取液经离心、醇沉、洗涤得果胶粗品。

果胶精制^[27]:(1)脱蛋白:将上述洗涤后的果胶粗品用纯净水溶解,每 10 mL 果胶水溶液加入 2 mL Sevage 试剂(氯仿与正丁醇 5:1 比例),充分震荡后 4000 r/min 离心 20min 取上清液,重复三次以上操作。

(2)透析:将脱蛋白后的果胶水溶液装入透析袋(截留分子量 7000),放入纯净水中,4 ℃下透析 72 h,平均每 3~4 h 换一次水。(3)浓缩、干燥:取透析后的果胶水溶液,减压浓缩至原体积 1/5,冷冻干燥备用。

1.2.6 果胶红外光谱分析

称取 1~2 mg 果胶样品与 100~200 mg 纯 KBr 研磨混匀后压片,采用 Nicolet 5700 FT-IR 进行扫描,扫描

范围 400~4000 cm^{-1} , 分辨率 4。

1.2.7 果胶分子质量分布测定

采用高效液相色谱法测定果胶样品分子量^[28]。将已知相对分子量(3000、10000、40000、70000、100000)的葡聚糖标准样品溶解于去离子水中配制成 2 mg/mL 溶液,分别吸取 20 μL ,按照色谱条件进样,测定保留时间。依据它们的保留时间(t),绘制出相对分子量(Mw)标准曲线: $1 \lg \text{Mw} = -0.5539 t + 9.474$ 。

色谱检测条件:Agilent 1260 液相色谱仪配蒸发光散射检测器;TSK-GEL G4000PW_xL 色谱柱(300 mm×7.8 mm, 10 μm , 500A);纯水洗脱:0.5 mL/min;柱温 30 ℃,进样 20 μL 。

上述精制的果胶样品配制成浓度为 1~2 mg/mL 溶液,0.45 μm 微孔滤膜过滤后检测。

1.2.8 果胶微观形态分析

场发射扫描电镜(SEM)参考 Jiang 等^[29]方法。样品制备方法如上 1.2.5,取冷冻干燥后的固体样品微量,采用 SU8020 场发射扫描电镜进行观察。

1.2.9 数据分析

试验数据来自三组平行试验,结果表示为平均数±标准差。采用 SPSS 19.0 软件进行分析,显著性以 $p < 0.05$ 为差异显著, $p > 0.05$ 为差异不显著。

2 结果与讨论

2.1 嫩果干燥预处理对果胶提取效果影响

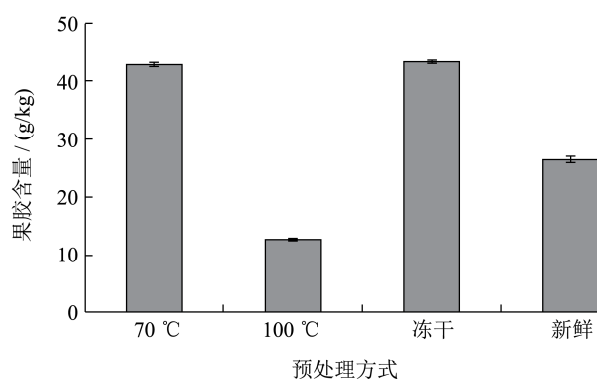


图1 秋葵嫩果干燥预处理对果胶提取效果影响

Fig.1 Effect of drying pretreatment of fresh Okra on the pectin content

图1是新鲜秋葵直接匀浆或经干燥预处理后的提取果胶效果图。由图可知,利用 70 ℃烘干或冻干秋葵提取的果胶含量明显高于 100 ℃烘干($p < 0.01$)或新鲜秋葵($p < 0.05$)的结果,这可能与秋葵嫩果匀浆后非常粘稠,提取溶剂不易浸润或渗透,且在后续过滤及醇沉操作时也易造成粘附损失等有关;干燥预处理则可避免上述情况发生。然而,采用 100 ℃烘干对

秋葵果胶含量损失明显 (70 °C vs 100 °C, $p<0.01$), 这一结果与李加兴^[15]等采用低温干燥预处理秋葵的结论基本一致。此外, 冻干预处理相对 70 °C 热风烘干对果胶提取效果的影响不显著 (43.03 ± 0.45 vs 42.73 ± 0.47 , $p>0.05$), 故后续果胶提取试验均选择 70 °C 烘干秋葵进行。

2.2 酸水热提法提取黄秋葵果胶

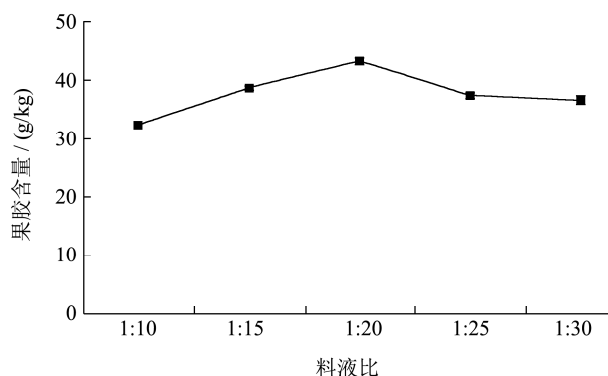


图2 料液比对果胶提取影响

Fig.2 Effects of solvent ratio on pectin extraction

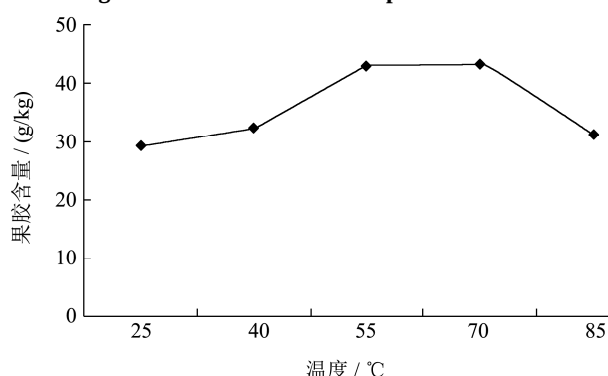


图3 温度对果胶提取影响

Fig.3 Effect of temperature on pectin extraction

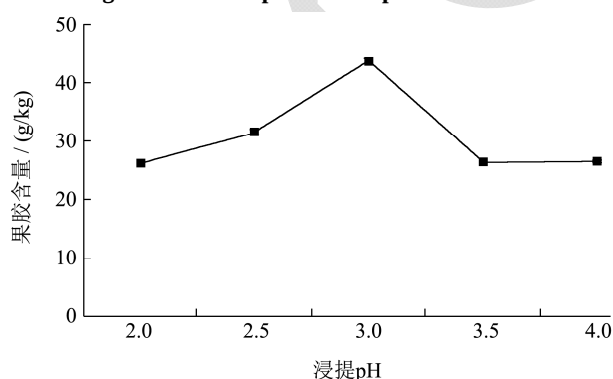


图4 浸提 pH 对果胶提取影响

Fig.4 Effect of pH on the pectin extraction

料液比、浸提温度及 pH 对果胶提取效果影响列于图 2、3、4 中。由图 2 可知, 当料液比从 1:10 增加至 1:15、1:20 时, 黄秋葵中原果胶逐步酸解, 以半乳糖醛酸计的果胶含量由 32.40 g/kg 增至 43.13 g/kg; 继

续增大料液比, 醇沉过程中果胶不易析出, 最终导致其含量相对 1:20 时分别降低了 13.30% 及 15.14%。因此, 后续浸提温度及 pH 考查时选定料液比 1:20 进行。

在浸提温度考察中, 我们发现当温度低于 70 °C 时, 随浸提温度增加, 其果胶含量迅速提高并逐步趋于平稳, 这可能与较低温度下原果胶不易转化为水溶性果胶有关; 此外果胶在较低温度下粘性增大, 溶剂浸润困难而导致提取效果变差。然而, 当温度由 70 °C 增至 85 °C 时, 其果胶含量则降低 28.32%, 这与前述黄秋葵嫩果采用 100 °C 干燥预处理后提取的果胶含量较 70 °C 干燥处理者降低 70% (图 1) 的现象一致, 同时也与苹果果胶在 80~110 °C 降解速率加快^[22]的结论相似, 这充分说明果胶结构具有热不稳定性。

浸提 pH 研究表明: 秋葵果胶以 pH 3 酸水提取为宜 (图 4), 这与果胶为酸性多糖有关, 酸性增强有利于果胶提取。然而, 酸性过强 (pH 2) 或可引发酯键降解, 从而使果胶含量得以降低 (43.40 ± 0.08 vs 26.06 ± 0.26 , $p<0.05$)。

单因素试验结果表明, 料液比、浸提温度及 pH 对秋葵果胶提取效果均有较大影响。为此, 在单因素试验基础上设计正交试验, 试验结果及极差分析如表 2 所示。

表2 正交试验结果及极差分析

Table 2 Results and range analysis of orthogonal experiment

试验号	A	B	C	果胶含量/(g/kg)
1	1	1	1	30.95
2	1	2	2	37.72
3	1	3	3	26.39
4	2	1	2	42.98
5	2	2	3	29.57
6	2	3	1	31.50
7	3	1	3	27.73
8	3	2	1	33.02
9	3	3	2	39.54
K_1	95.06	101.66	95.47	
K_2	104.05	100.31	120.24	
K_3	100.29	97.43	83.69	
R	8.99	4.23	36.55	

由表 2 可以看出, 极差 $R_C>R_A>R_B$, 即影响果胶提取主要因素依次为浸提 pH (C)、料液比 (A)、浸提温度 (B), 并得出果胶最佳提取工艺为 $A_2B_1C_2$, 即料液比为 1:20, 浸提温度为 55 °C, 浸提 pH 为 3, 此时果胶含量达 42.98 g/kg, 这一数值略低于单因素实验的最高值 43.13 g/kg。故此, 分别在两个提取条件下做验证实验, 证实了料液比 1:20、pH 3、70 °C 浸提 1 h

的提取结果更优。

2.3 酶解、超声及酶解-超声法提取黄秋葵果胶

除酸水热提法外，酶解^[13,14]及超声波法^[17,18]也常用于秋葵果胶辅助提取。然而，在单独酶解（图 5，E1/E2）或超声波作用（图 5，U1/U2）下，其果胶含量仅为酸水热提法 50%左右（E1/E2/U1/U2 vs 70 °C 热提， $p<0.01$ ），而酶解-超声联用则可明显增强提取效果（ 28.97 ± 0.43 g/kg vs 16.85 ± 0.67 / 19.18 ± 0.73 g/kg， $p<0.05$ ）。现有文献也表明超声空化作用有助于多糖提取^[30]，周晓敏等人比较了微波辅助酸法、水浴硫酸法和纤维素酶法提取黄秋葵果实的果胶，发现微波辅助酸法提取效果比水浴硫酸法提取效果好，故决定先对酶解-超声联合法的影响因素进行考查，结果列于表 3。

由表 3 可知，加酶量（1‰~5‰）及酶作用时间（30~150 min）对果胶含量影响并不明显（30.58~33.11 g/kg），果胶酶加入过多（>7‰）或导致过度降解（ 26.79 ± 1.05 vs 31.84 ± 0.79 ）。超声波功率在 200~300 W 时，果胶含量仍可保持在 31 g/kg 附近；超声强度继续增大则可能引发了多糖结构降解^[28,31]，600 W 提取的果胶含量与 200 W 相比已降低 39.75%。考虑到加

酶量及超声波功率对果胶含量呈现逐步下降趋势，而酶作用时间的影响并不显著，故酶解-超声的提取工艺不再优化，仅选择表 3 中果胶含量最高值（33.13 g/kg）的提取条件进行后续果胶制备；与此同时，超声法或酶法提取果胶的单因素实验也不再深入，仅以图 5 预实验所示的提取条件（E2、U2）进行果胶制备。

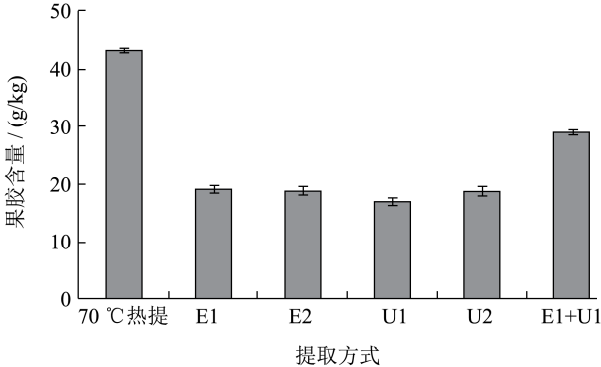


图 5 酶、超声波作用对果胶提取影响

Fig.5 Effect of enzyme or ultrasonication on the pectin extraction

至此，我们采用酸水热提、酶解-超声联合及酶解（E2）、超声（U2）四种提取方法制备黄秋葵果胶，其果胶平均含量达 43.61 g/kg、32.59 g/kg、20.03 g/kg 及 18.41 g/kg。接下去，我们对四种提取方法所得果胶样品的结构特性进行研究。

表 3 酶解-超声法中各因素水平对果胶提取影响

Table 3 Effect of various factors in enzymolysis-ultrasonic method on pectin extraction

加酶量/‰	果胶含量/(g/kg)	酶作用时间/min	果胶含量/(g/kg)	超声波功率/W	果胶含量/(g/kg)
1	31.48±1.02	30	31.61±0.62	200	31.50±1.01
3	31.84±0.79	60	30.97±0.89	300	30.92±0.73
5	30.58±1.17	90	33.11±1.20	400	28.79±1.03
7	29.79±0.91	120	32.50±0.97	500	23.61±0.48
9	26.79±1.05	150	32.36±1.03	600	18.92±0.86

2.4 四种提取方法对果胶结构特性的影响

2.4.1 红外光谱分析

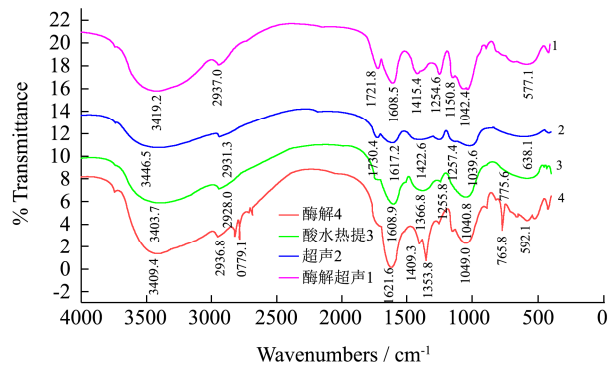


图 6 提取工艺对果胶红外光谱的影响

Fig.6 Effect of extraction methods on the IR spectra of pectin

图 6 为四种提取方法所得果胶样品 FT-IR 图谱。3600~3000 cm^{-1} 出现宽峰为分子内或分子间 O-H 伸缩振动的结果，对果胶来说 O-H 的振动主要是半乳糖醛酸聚合物的分子内及分子间氢键引起的。2950~2750 cm^{-1} 之间产生弱吸收峰主要是由半乳糖醛酸甲酯残基 O-CH₃ 伸缩振动引起。1725 cm^{-1} 附近吸收峰为果胶中甲酯基（-COOCH₃）C=O 伸缩振动；1610 cm^{-1} 附近吸收峰为羧基中 C=O 非对称伸缩振动，这两个吸收峰为果胶类多糖特征峰，分别对应果胶分子中的酯化基团和非酯化基团^[32]，这一特点也被用于果胶酯化度测定^[33]。酸水热提法及酶解法制备的果胶，其在 1725 cm^{-1} 酯化吸收峰相对 1610 cm^{-1} 吸收峰有明显变弱甚至消失趋势，相应地，其羧酸酯结构中 C-O 对称伸缩振动（1415 cm^{-1} 附近）吸收峰也非常弱，这初步说明 70 °C

加热 1 h 及 50 °C 酶解 60 min 提取易导致果胶酯化度降低。1010~1150 cm^{-1} 三个吸收峰相似,表明四种提取方法所得果胶构型为吡喃型糖苷键链接^[31]。

2.4.2 分子量分布

果胶分子质量分布为评价果胶分子结构的重要指标^[34]。由图 7 知,四种提取方法下果胶分子质量分布曲线并不重合,酶解或超声法制备果胶有相对较宽的分子量分布区间。根据凝胶色谱测定分子质量的标准曲线计算酶解法所制果胶主要分子量为 654 ku 及 51 ku,超声法所制果胶分子量为 420~467 ku,此结果说明超声波作用易导致果胶分子链断裂,但断裂方式不一,最终使分子量分布呈现区间性(420~467 ku),这与苹果果胶在超声处理下易发生降解现象类似^[18];酶解超声法所制果胶平均分子量为 319 ku,这说明酶解作用可加剧超声波对果胶分子链的降解作用。酸水热提法所制果胶分子量分布相对集中(平均分子量 533 ku),结合前述该提取方法下果胶含量也很高,这说明传统酸水热提法有望获得高品质秋葵果胶。

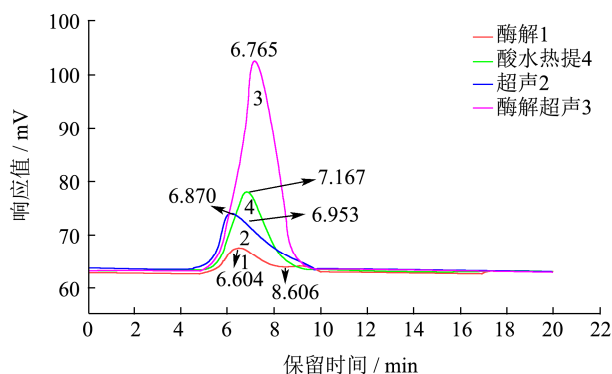


图 7 提取工艺对果胶分子量分布的影响

Fig.7 Effect of extraction method on the molecular mass distribution of pectin

2.4.3 微观结构分析

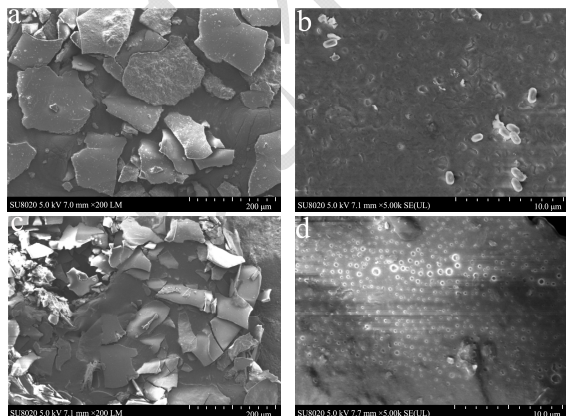


图 8 酸水热提及酶解-超声法所制果胶样品扫描电镜图

Fig.8 SEM images of pectin from acid-water heating and enzymolysis-ultrasound extraction

注: a、b: 酸水热提法; c、d: 酶解超声法。

以上研究表明酸水热提法及酶解-超声法制备果胶分子量分布均相对集中(533 ku 或 319 ku),但两者酯化度不一(图 6),这种区别在外观形貌上应该有所呈现。图 8a, 8b 为酸水热提法果胶的扫描电镜图,其片状结构呈现分散和舒展状态,排列也较为致密;而酶解超声法制备的果胶(图 8c, 8d)出现较多碎片,间或呈现出一定的聚集形态,空泡现象也较为明显,这些形貌特征也表明酶解-超声果胶分子链可能发生某种程度降解,这与分子量分布结果相互补充。

3 结论

3.1 黄秋葵嫩果经 70 °C 干燥预处理后提取果胶,其果胶含量比嫩果直接提取者提高 62.04%(42.73±0.47 g/kg vs. 26.37±0.79),与冻千秋葵的提取效果相当(43.03±0.45 g/kg)。

3.2 酸水热提及酶解-超声联合法提取果胶效果远高于酶解或超声法。当千秋葵与 pH 3 酸水比例为 1:20,以 70 °C 浸提 1 h (酸水热提)或添加 3‰果胶酶、酶解 90 min 后 200 W 超声波处理 10 min (酶解-超声)提取时,其秋葵果胶平均含量达 43.61 g/kg 及 32.59 g/kg。

3.3 四种提取方法所得果胶均为吡喃糖苷键连接构型,但酸水热提及酶法提取易使果胶中酯键降解;而超声或酶解-超声处理则促进了果胶分子链断裂,其平均分子量由酸水热提法 533 ku 降为 420~467 ku 及 319 ku。

3.4 酸水热提法(pH 3、70 °C)所得秋葵果胶得率高、分子量分布集中、外观呈片状且排列致密,该方法有望成为高品质秋葵果胶的制备方法。

参考文献

- [1] 薛志忠,刘思雨,杨雅华.黄秋葵的应用价值与开发利用研究进展 [J].保鲜与加工,2013,13(2):58-60
XUE Zhi-zhong, LIU Si-yu, YANG Ya-hua. Research progress on application value and development of Okra [J]. Storage & Process, 2013, 13(2): 58-60
- [2] 高玲,刘迪发,徐丽.黄秋葵研究进展与前景[J].热带农业科学,2014,34(11):22-29
GAO Ling, LIU Di-fa, XU Li. Research progress and prospects of Okra [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2014, 34(11): 22-29
- [3] 韩菊兰,李臻,胡韬,等.黄秋葵的功能特性及综合[J].现代农业科技,2013,3:105-106
HAN Ju-lan, LI Zhen, HU Tao, et al. Functional characteristics and comprehensive application of Okra [J].

- Modern Agricultural Technology, 2013, 3: 105-106
- [4] Caffall K H, Mohnen D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides [J]. Carbohydrate Research, 2009, 344(14): 1879-1900
- [5] 周倩,何小维,罗志刚.果胶的制备及其应用[J].食品工业科技,2007,28(9):240-243
ZHOU Qian, HE Xiao-wei, LUO Zhi-gang. Research on preparation and application of pectin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2007, 28(9): 240-243
- [6] Schols H A, Bakx E J, Schipper D, et al. A xylogalacturonan subunit present in the modified hairy regions of apple pectin [J]. Carbohydrate Research, 1995, 279(1): 265-279
- [7] 谢明勇,李精,聂少平.果胶研究与应用进展[J].中国食品学报,2013,13(8):1-14
XIE Ming-yong, LI Jing, NIE Shao-ping. A Review about the research and applications of pectin [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(8): 1-14
- [8] Munarin F, Tanzi M C, Petrini P. Advances in biomedical applications of pectin gels [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(4): 681-689
- [9] GUO X, HAN D, XI H, et al. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: A comparison [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(2): 441-448
- [10] 王慧,罗翀,王征.酶法提取植物果胶研究进展[J].生物技术世界,2013,5:65-65
WANG Hui, LUO Chong, WANG Zheng. Advances in enzymatic extraction of plant pectin [J]. Biotechnology World, 2013, 5: 65-65
- [11] 刘海霞.黄秋葵花果胶类多糖的提取工艺及其性质的研究[D].杭州:浙江大学,2014
LIU Hai-xia. Study on extraction process and properties of pectin polysaccharides from Okra [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014
- [12] 黄剑波,孙哲浩,张英慧,等.黄秋葵果胶提取工艺的初步研究[J].现代食品科技,2007,23(2):57-59
HUANG Jian-bo, SUN Ze-hao, ZHANG Ying-hui, et al. Study on extraction of pectin from Okra [J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(2): 57-59
- [13] 周小敏,许鑫,郭天立,等.不同提取方法对黄秋葵果胶理化性质影响[J].食品工业,2018,39(2):54-57
ZHOU Xiao-min, XU Xin, GUO Tian-li, et al. Effects of different extraction methods on physical and chemical properties of okra pectin [J]. The Food Industry, 2018, 39(2): 54-57
- [14] 吴建花,尹红,黄诚.黄秋葵中果胶提取工艺研究[J].现代农业科技,2017,11:246-248
WU Jian-hua, YIN Hong, HUANG Cheng. Research on extraction technology of pectin from *Abelmoschus esculentus* (Linn.) Moench [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2017, 11: 246-248
- [15] 李加兴,覃敏杰,吴越,等.响应面法优化黄秋葵果胶微波辅助提取工艺[J].食品科学,2013,34(14):12-16
LI Jia-xing, QIN Min-jie, WU Yue, et al. Optimization of microwave-assisted extraction conditions for pectin from Okra by response surface methodology [J]. Food Science, 2013, 34(14): 12-16
- [16] 黄梓琪,吴湛霞,林宏图,等.微波辅助草酸铵提取黄秋葵果胶的工艺研究[J].广州化工,2015,17:77-79
HUANG Zi-qi, WU Zhan-xia, LIN Hong-tu, et al. Study on the process of extracting pectin from Okra with microwave-assisted ammonium oxalate [J]. Guangzhou Chemical Industry and Technology, 2015, 17: 77-79
- [17] 王炜强,李本刚,罗振扬,等.黄秋葵多糖提取及其絮凝性能[J].食品工业科技,2017,21:76-79
WANG Wei-qiang, LI Ben-gang, LUO Zhen-yang, et al. Extraction and flocculation properties of okra polysaccharide [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 21: 76-79
- [18] 于梅,单凌越,井瑞洁,等.黄秋葵超微粉多糖提取工艺的优化及其抗氧化活性测定[J].食品工业科技,2018,7:175-180
YU Mei, DAN Ling-yue, JING Rui-jie, et al. Optimization of extraction technology and determination of antioxidant activity of polysaccharides from superfine powder of okra [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 7: 175-180
- [19] 陈剑兵,尹颖,陆胜民,等.亚临界水制备低分子柑橘果胶及其性质研究[J].现代食品科技,2014,30(6):186-190
CHEN Jian-bing, YIN Ying, LU Sheng-min, et al. Subcritical water preparation and properties of low molecular citrus pectin [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(6): 186-190
- [20] 梁瑞红,王玲华,帅希祥,等.动态高压微射流处理对低酯果胶物化性质及其结构的影响[J].现代食品科技,2015,31(1):115-119
LIANG Rui-hong, WANG Ling-hua, SHUAI Xi-xiang, et al. Effects of dynamic high-pressure microfluidization on the physicochemical properties and structure of low-methoxyl Pectin [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(1): 115-119
- [21] 刘战朋,郭晓明,皮芳,等.果胶提取工艺对甜菜粕物化性质

- 的修饰作用研究[J].现代食品科技,2018,34(1):68-74
- LIU Zhan-peng, GUO Xiao-ming, PI Fang, et al. Modification of pectin extraction conditions on physiochemical properties of sugar beet pulp [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(1): 68-74
- [22] Fraeye I, Ade R, Duvetter T, et al. Influence of pectin properties and processing conditions on thermal pectin degradation [J]. Food Chemistry, 2007, 105(2): 555-563
- [23] 郭兴峰,赵文婷,廖小军,等.酸性条件下热处理对果胶流变和结构特性的影响[J].食品科学,2018,39(12):40-46
- GUO Xing-feng, ZHAO Wen-ting, LIAO Xiao-jun, et al. Effect of heat treatment under acidic condition on the rheological and structural characteristics of pectin [J]. Food Science, 2018, 39(12): 40-46
- [24] De R A, Sila D N, Duvetter T, et al. Effect of high pressure/high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue [J]. Food Chemistry, 2008, 107(3): 1225-1235
- [25] CHEN J, LIANG R H, LIU W, et al. Degradation of high-methoxyl pectin by dynamic high pressure microfluidization and its mechanism [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28(1): 121-129
- [26] NY/T 2016-2011,水果及其制品中果胶含量的测定,分光光度法[S]
- NY/T 2016-2011, Fruit and its Products-determination of Pectin Content, Spectrophotometry [S]
- [27] 陈忆.黄秋葵果胶和超微粉的制备及性质研究[D].合肥:合肥工业大学,2015
- CHEN Yi. Preparation and properties of Okra pectin and ultrafine powder [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2015
- [28] ZHANG L, YE X, DING T, et al. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20(1): 222-231
- [29] JIANG C M, LAIY J, LEE B H, et al. Changes in physico-chemical properties of pectin from jelly fig (*Ficus awkeotsang* Makino) seeds during extraction and gelling [J]. Food Research International, 2002, 35(1): 31-35
- [30] Ebringerova A, Hromadkova Z. An overview on the application of ultrasound in extraction, separation and purification of plant polysaccharides [J]. Central European Journal of Chemistry, 2010, 8(2): 243-257
- [31] 张丽芬.果胶多糖超声波定向降解途径及机理研究[D].杭州:浙江大学,2013
- ZHANG Li-fen. Study on the pathway and mechanism of ultrasonic directed degradation of pectin polysaccharide [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013
- [32] Manrique G D, Lajolo F M. FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methylesterification in pectins isolated from ripening papaya fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2002, 25(1): 99-107
- [33] 孙元琳,崔武惟,顾小红,等.傅里叶变换红外光谱法测定当归果胶多糖的酯化度[J].光谱学与光谱分析,2009,29(3): 682-685
- SUN Yuan-lin, CUI Wu-wei, GU Xiao-hong, et al. Determination of degree of esterification in pectic polysaccharides from *Angelica sinensis* Diels by fourier transform infrared spectroscopy [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009, 29(3): 682-685
- [34] Thakur B R, Singh R K, Handa A K. Chemistry and uses of pectin: a review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1997, 37(1): 47-73

(上接第 211 页)

- [6] 国务院标准委员会,食品安全国家标准,GB 5009:139-2014 [S]
- The standards committee of the state council, National standards for food safety, GB 5009: 139-2014 [S]
- [7] 牟世芬,刘勇建.加速溶剂萃取的原理及应用[J].现代科学仪器,2001,45(3):18-20
- MOU Shi-fen, LIU Yong-jian. The principle and application of accelerated solvent extraction [J]. Modern Scientific Instruments, 2001, 45(3): 18-20
- [8] 韩亭亭,祁玥,王立宁.从茶叶中提取咖啡因的实验研究进展[J].广州化工,2017,45(1):28-31
- HAN Ting-ting, QI Yue, WANG Li-ning. Experimental research on extracting caffeine from tea [J]. Guangzhou Chemicals, 2017, 45(1): 28-31
- [9] 刘亚红.茶叶中咖啡因的提取[J].化工时刊,2016,30(2):29-32
- LIU Ya-hong. The extraction of caffeine from tea [J]. Chemical Industry Times, 2016, 30(2): 29-32