

超声辅助酶法提取咖啡果皮果胶工艺的优化及其理化特性分析

李泽林¹, 邬文君¹, 高艳¹, 赵春燕¹, 范江平¹, 沈晓静^{1,2,3*}, 郑婷婷⁴

(1. 云南农业大学, 食品科学技术学院/理学院, 云南昆明 650201)

(2. 云南省天然药物重点实验室, 昆明医科大学, 云南昆明 650500) (3. 云南省有机茶产业智能工程研究中心, 云南省高校智能有机茶园建设重点实验室, 云南昆明 650201) (4. 普洱茶研究院, 云南普洱 665099)

摘要: 为研究咖啡果皮中果胶的提取工艺和理化特性, 以云南小粒咖啡果皮为原材料, 在单因素实验的基础上采用响应面设计优化果胶的超声辅助酶法提取工艺, 采用傅里叶红外光谱 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR) 检测粗果胶的官能团组成; 通过 AB-8 大孔树脂、Sevage 法脱色脱蛋白纯化粗果胶, 并比较纯化前后果胶理化特性的差异。结果表明, 最佳提取条件为: 纤维素酶添加量 1.49%, 酶解时间 45.78 min, 超声时间 19.30 min, 得率为 16.42%。FT-IR 结果显示咖啡粗果胶含有典型的多糖结构。纯化后, 果胶总糖含量增加了 17.51%, 多酚、蛋白质含量、酯化度和乙酰化度分别减少了 72.41%、23.53%、77.43%和 91.16%。与粗果胶相比, 纯化可增加果胶持水性 (20.05 g/g)、持油性 (8.13 g/g)、乳化性 (48.06%) 和乳化稳定性 (45.59%), 分别增加了 470%、52.25%、26.31%和 9.64%, 但是降低了咖啡果胶的起泡性和泡沫稳定性。该研究为云南小粒咖啡果皮果胶的开发利用提供了试验基础。

关键词: 云南小粒咖啡; 果胶; 响应面; 提取工艺; 纯化; 理化特性

文章编号: 1673-9078(2022)12-204-211

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.12.0069

Optimization of Ultrasound-assisted Enzymatic Extraction of Pectin from Coffee Peel and Analysis of Its Physicochemical Properties

LI Zelin¹, WU Wenjun¹, GAO Yan¹, ZHAO Chunyan¹, FAN Jiangping¹, SHEN Xiaojing^{1,2,3*}, ZHENG Tingting⁴

(1. College of Food Science and Technology, College of Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

(2. Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

(3. Yunnan Organic Tea Industry Intelligent Engineering Research Center, Key Laboratory of Intelligent Organic Tea Garden Construction in Universities of Yunnan Province, Kunming 650201, China)

(4. Pu'er Institute of Pu-erh Tea, Pu'er 665099, China)

Abstract: To investigate the extraction process and physicochemical properties of the pectin from coffee peel, the Yunnan arabica coffee peel was used as the raw material. Based on single factor experiments, response surface design was employed to optimize the ultrasound-assisted enzymatic extraction of pectin. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) was used to identify the functional groups of the pectin. Crude pectin was purified through decolorization and deproteinization by the AB-8 macroporous resin and Sevage method. The physicochemical properties of the pectins before and after purification were compared. The results showed that the optimal extraction conditions were as follows: cellulase addition, 1.49%; enzymolysis time, 45.78 min; ultrasonic time, 19.30 min. The resulting extraction yield was 16.42%. FT-IR results

引文格式:

李泽林, 邬文君, 高艳, 等. 超声辅助酶法提取咖啡果皮果胶工艺的优化及其理化特性分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(12): 204-211

LI Zelin, WU Wenjun, GAO Yan, et al. Optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction of pectin from coffee peel and analysis of its physicochemical properties [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(12): 204-211

收稿日期: 2022-01-18

基金项目: 国家自然科学基金-云南联合基金项目 (U1902206); 云南省天然药物药理重点实验室开放研究基金项目 (70120030506); 云南省重大科技专项子课题“云茶”数字化关键技术应用研发与示范 (202002AE09001004)

作者简介: 李泽林 (1995-), 男, 博士研究生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 1054994094@qq.com

通讯作者: 沈晓静 (1988-), 女, 博士研究生, 实验师, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: 690361382@qq.com

showed that the crude pectin had a typical polysaccharide structure. After purification, pectin's total sugar content increased by 17.51%. The polyphenol content, protein content, esterification degree and acetylation degree decreased by 72.41%, 23.53%, 77.43% and 91.16%, respectively. Compared with the crude pectin, the purified pectin had an increased water-holding capacity (20.05 g/g), oil-holding capacity (8.13 g/g), emulsifying capacity (48.06%) and emulsion stability (45.59%) (increased by 470%, 52.25%, 26.31% and 9.64%, respectively), but a decreased foaming ability and foam stability. This study provides an experimental basis for the development and utilization of pectin from the pericarp of Yunnan arabica coffee.

Key words: Yunnan arabica coffee; pectin; response surface; extraction process; purification; physicochemical property

咖啡是世界三大饮料作物之一, 是国际贸易中最重要的农产品^[1]。近年来, 中国的咖啡消费量快速增长, 是潜在的世界咖啡贸易和消费市场。云南种植的咖啡主要为小粒种咖啡, 占全国咖啡豆产量的 98.80%^[2], 因其独特的气候条件, 所产的小粒咖啡品质优异, 以普洱市、保山市、临沧市和德宏州为主要种植区^[3]。咖啡加工过程中会产生大量的咖啡果皮, 这些果皮通常会被直接丢弃, 只有小部分用于堆肥和制作咖啡果皮茶等再利用^[4]; 被直接丢弃的咖啡果皮不仅造成资源浪费, 而且在一定程度上还会对环境造成污染, 因此对咖啡果皮进行无害化处理或者再利用非常有必要^[5]。研究报道显示, 咖啡果皮中含有 25%~30% 的果胶^[6], 从咖啡果皮中提取咖啡果胶, 可达到分解咖啡果皮的效果, 且产物对环境无污染, 提取的果胶可用于开发新产品, 如食品添加剂、制作面膜等, 推动当地农业经济的发展。

果胶是一种普遍存在于高等植物的酸性杂多糖, 大多由 α -1,4-糖苷键连接 D-半乳糖醛酸残基组成^[7], 以多聚半乳糖醛酸链构成主链骨架, 侧链由中性糖连接而成^[8]。果胶具有良好的抗氧化、抗炎症、抗凝血、降脂、抑菌和免疫调节等生理和药理活性作用, 是天然的活性成分^[9,10]。因上述结构和功能特性, 使其在工业生产、天然食品添加剂及功能食品的开发中得到了广泛的应用, 具有较大的研究价值和前景^[11,12]。咖啡果胶已被证明了有较好的抑菌作用^[6], 但是目前还尚未见到相关其起泡性、泡沫稳定性、持水性和持油性等理化特性的研究报道; 对咖啡果胶理化特性的深入研究可有助于其作为一种天然添加剂或者基料应用在食品、工业、材料等领域, 提高其经济和应用价值。

此外, 目前咖啡果胶的提取以热水和酸提取法为主, 比较单一而且还鲜有研究报道超声辅助酶提取咖啡果皮果胶。因此, 本研究拟采用响应面法优化云南小粒咖啡果皮果胶的最佳超声辅助酶提取工艺条件, 采用傅里叶红外光谱 (FT-IR) 表征粗果胶官能团组成; 再经纯化后比较粗果胶和精果胶的理化特性。旨在为云南小粒咖啡果皮果胶的多元化提取、综合利用和开发提供理论依据和试验基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

云南小粒咖啡 (卡蒂姆种) 果皮, 购买自云南省保山市; 纤维素酶 (10 000 U/g), 玛雅试剂有限公司; 透析袋 MD34 (7 000 u), 上海源叶生物有限公司; AB-8 大孔树脂, 河北美凯化工有限公司; 三氯甲烷 (AR), 重庆川东化工有限公司; 正丁醇 (AR), 广东光华科技股份有限公司。

1.2 仪器设备

SCIENTZ-48 高通量组织研磨器, 宁波新芝生物科技股份有限公司; DHG-9070A 电热鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; H3-18K 台式高速离心机, 湖南可成仪器设备有限公司; RE-2000A 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; SCQ-9201B 超声波提取仪, 上海声彦超声波仪器有限公司。

1.3 果胶的提取方法

将咖啡果皮在 45 °C 鼓风干燥箱中干燥至含水率低于 5%, 打粉、过 80 目筛, 备用。准确称取 120 g 咖啡果皮干粉加入 3 000 mL 超纯水中加入纤维素酶, 调节 pH 值至 4.9 后水解 90 min, 沸水灭酶 15 min, 超声 15 min 后过滤得到滤液, 将浸提液旋蒸浓缩至原体积的 1/3。加入等体积的乙醇, 于 4 °C 冰箱中冷藏, 过夜醇沉、离心 15 min (5 000 r/min), 真空冷冻干燥后得到粗果胶, 并按照公式 (1) 计算果胶得率。

$$G = \frac{m}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

G ——果胶得率, %;

m ——果胶质量, g;

m_0 ——咖啡果皮质量, g。

1.4 果胶提取单因素试验

1.4.1 酶添加量对果胶得率的影响

考察酶添加量对咖啡果皮中果胶得率的影响：固定 pH 值 4.9、酶解温度 45 °C、酶解时间 90 min、超声温度 50 °C、超声时间 15 min、超声功率 120 W 和料液比 1:25，设置纤维素酶添加量分别为原材料的 0.1%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%，对果皮果胶进行提取，计算果胶得率。

1.4.2 酶解时间对果胶得率的影响

考察酶解时间对咖啡果皮中果胶得率的影响：固定纤维素酶添加量 1.5%、pH 值 4.9、酶解温度 45 °C、超声温度 50 °C、超声时间 15 min、超声功率 120 W 和料液比 1:25，设置酶解时间分别为 6、30、60、90、120 min，对果皮果胶进行提取，计算果胶得率。

1.4.3 超声时间对果胶得率的影响

考察超声时间对咖啡果皮中果胶得率的影响：固定纤维素酶添加量 1.5%、pH 值 4.9、酶解温度 45 °C、酶解时间 1.0 h、超声温度 50 °C、超声功率 120 W 和料液比 1:25，设置超声时间分别为 5、10、15、20、25 min，对果皮果胶进行提取，计算果胶得率。

1.5 响应面试验

在单因素试验基础上，运用 Box-Behnken 设计三因素三水平响应面试验，并以果胶得率为响应指标（%），详情见表 1。

表 1 响应面分析因素水平表

Table 1 Response surface analysis factor level table

水平	因素		
	A 酶添加量/%	B 酶解时间/min	C 超声时间/min
-1	1.0	30	10
0	1.5	60	15
1	2.0	90	20

1.6 红外光谱表征

准确称取粗果胶样品 1 mg，采用 KBr 压片法进行检测，在 500~4 000 cm⁻¹ 范围内进行扫描。

1.7 纯化

配制为 1.5 mg/mL 的粗果胶溶液 100 mL，添加 7 g AB-8 大孔树脂充分摇匀后，在 55 °C、130 r/min 的恒温振荡箱中振荡 5 h 脱色，过滤，滤液在 50 °C 下减压浓缩至原体积的一半^[13-15]；按 Sevage 溶液（ $V_{\text{氯仿}}:V_{\text{正丁醇}}=4:1$ ）为 1/4 果胶液的比例加入 Sevage 溶液后剧烈振荡 20 min 脱蛋白，4 000 r/min 离心，取上层水层，重复此步操作，直至没有白色蛋白沉淀层产出为止。减压浓缩去除有机溶剂，超纯水透析 48 h，真空冷冻干燥得到精果胶。

1.8 理化指标检测

参照 Catalina 等^[16]的方法，采用苯酚-硫酸法测定果胶的总糖含量。参照 Antonela 等^[17]的方法，采用福林酚比色法测定果胶的多酚含量。参照 Ermias 等^[18]的方法，采用考马斯亮蓝法测定果胶的蛋白质含量和测定果胶的酯化度和乙酰化度。含水量测定参考 GB/T 5009.3-2016。

1.9 理化特性检测

参照冀世敏等^[19]的方法，测定果胶的理化特性。

1.9.1 持水性的测定

称取 0.1 g (m_1) 果胶样品置于离心管中并称重 (m_2)，以 1:20 质量比的比例加入蒸馏水，搅拌 30 min 后于 3 000 r/min 条件下离心 10 min，倒去上清液记录离心管和沉淀物的质量 (m_3)。根据式 (2) 计算果胶的持水性 (H , g/g)。

$$H = \frac{m_3 - m_2}{m_1} \quad (2)$$

1.9.2 持油性的测定

称取 0.5 g (m_1) 果胶样品置于离心管中并称重 (m_2)。加 5 mL 纯芝麻油，用玻璃棒搅均，于 2 200 r/min 条件下离心 25 min，倒去上层液体记录离心管和沉淀物的质量 (m_3)。根据式 (3) 计算果胶的持油性 (I , g/g)。

$$I = \frac{m_3 - m_2}{m_1} \quad (3)$$

1.9.3 起泡性与泡沫稳定性的测定

起泡性 (FC) 的测定：配制 1% (m/V) 的果胶样品溶液 120 mL，10 000 r/min 剪切 2 min，然后立刻将溶液倒入量筒中，并记录泡沫与液体的总体积 (v_0)。按式 (4) 计算 FC 。

$$FC = \frac{v_0 - 120}{120} \times 100\% \quad (4)$$

泡沫稳定性 (FS) 的测定：将上述剪切后的溶液室温静置 30 min 后，记录沫与液体的总体积 (v_{30})，按照式 (5) 计算 FS 。

$$FS = \frac{v_{30} - 120}{v_0 - 120} \times 100\% \quad (5)$$

1.9.4 乳化性与乳化稳定性的测定

乳化性的测定：配制 0.2% (m/V) 的样品溶液 120 mL 于离心管中，加入 60 mL 芝麻油，10 000 r/min 剪切 60 s，于 1 500 r/min 离心 300 s 后静置，记录液体总高度 (h , mm) 和乳化层高度 (h_1 , mm)。按式 (6) 计算乳化性 (J)。

$$J = \frac{h_1}{h} \times 100\% \quad (6)$$

乳化稳定性的测定：将上述离心管置于 85 ℃ 水浴锅中加热 30 min，室温静置 20 min，再次在离心机上用 1 500 r/min 离心 5 min，记录此时的离心管中乳化层高度 (h_2 , mm) 及总高度 (h_3 , mm)。按式 (7) 计算乳化稳定性 (K)。

$$K = \frac{h_2}{h_3} \times 100\% \quad (7)$$

1.10 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010 数据统计软件分析处理试验数据，采用 Design-expert 8.0.6 件进行响应面实验设计与分析；每组试验均重复三次，试验结果求平均值并以均值±标准差 (SD) 表示。

2 结果分析

2.1 单因素试验结果分析

2.1.1 不同酶添加量对果胶得率的影响

酶添加量对果胶得率的影响如图 1a 所示，随着酶添加量的增加果胶得率增加，得率达到最大值 (8.2%) 时，所需酶添加量为 1.5%；当酶添加量大于 1.5% 时，果胶得率降低。当酶添加量少于 1.5% 时，酶活性较小对细胞壁的分解少，使果胶溶出量少；当增加纤维素酶用量时，由于纤维素酶分解破坏了咖啡果皮细胞的细胞壁结构，使得咖啡果胶更易溶出，从而使果胶得率增加，但是随着纤维素酶用量不断增多，部分酶会相互附着在一起反而使酶的活性降低；同时，本研究的纤维素酶由木霉发酵生产，为多组分酶系含有的少量半乳糖醛酸酶和 β -葡聚糖酶等酶，当酶添加量增加时半乳糖醛酸酶积累可能会加速水解果胶链，使果胶得率降低^[20]。所以，选择酶添加量 1.5% 为最优值。

2.1.2 不同酶解时间对咖啡果胶得率的影响

酶解时间对咖啡果胶得率的影响如图 1b 所示，在 0~60 min 内随着酶解时间的增加果胶得率逐渐增大；当酶解 60 min 时，果胶得率最高为 15.45%，但之后随着酶解时间的继续延长，果胶得率又呈现缓慢下降的趋势。当酶解时间过短时，酶解作用不充分果胶未能完全溶出，随着酶解时间延长，纤维素酶作用时间增长反应充分进行，果胶得率达到最大值，但随着酶解时间的增加，果胶长时间在酸性和 45 ℃ 条件下其分子会被破坏导致果胶内部糖醛酸链发生断裂，引起果胶分解从而使得率降低^[21]。所以，选择酶解时间 60 min 时为最优值。

2.1.3 不同的超声时间对咖啡果胶得率的影响

超声时间对咖啡果胶得率的影响如图 1c 所示，超

声时间在 5~15 min 之间果胶的得率随超声时间延长而增大，当超声时间为 15 min 时，果胶得率最高为 18.1%。在超声超过 15 min 后得率下降，这可能是因为超声波具有强力的机械切割作用，长时间的作用可能使果胶被破坏，从而减少得率。所以，选择超声时间 15 min 时为最优值。

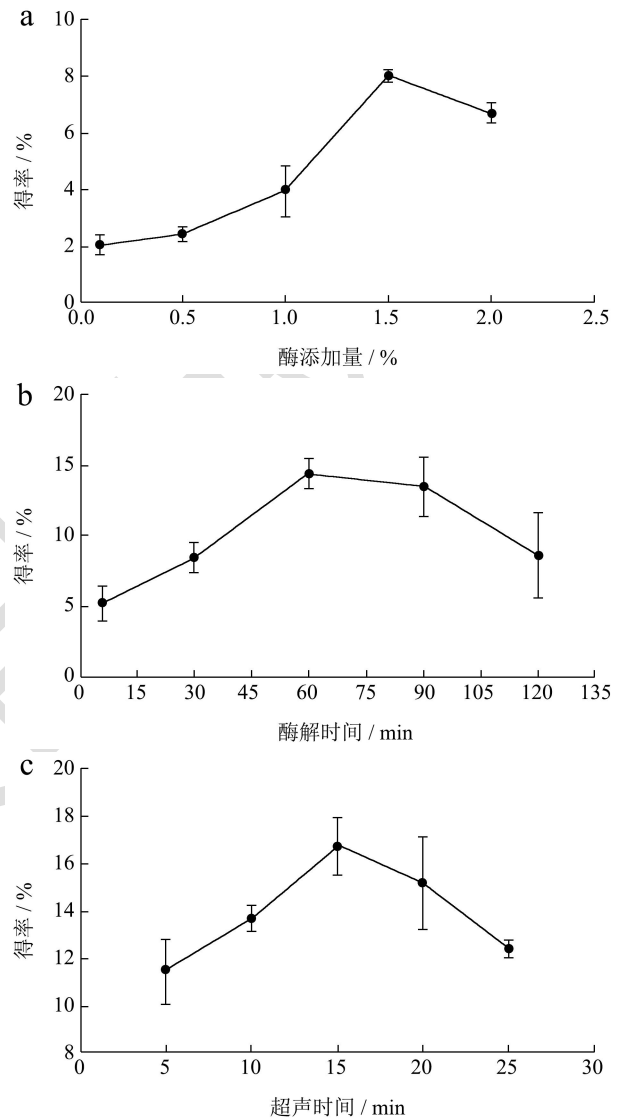


图 1 单因素试验结果

Fig.1 The results of single factor experiments

注：(a)不同酶添加量单因素结果；(b)不同酶解时间单因素结果；(c)不同超声时间单因素结果。

2.2 响应面试验结果分析

2.2.1 模型建立及显著性检验

果胶提取响应面试验设计与结果见表 2。

由表 3 回归分析和方差分析结果可知，该回归模型显著 ($p < 0.05$)；在各响应因素中，二次项 A^2 的 p 值小于 0.01，表明该因素对粗果胶得率有极显著的影响。交互项 BC 、二次项 B^2 、 C^2 的 p 值小于 0.05，表明

B (酶解时间) 和 *C* (超声时间) 的交互作用以及二次项 B^2 、 C^2 对粗果胶得率影响显著。

模型的失拟项不显著 ($p > 0.05$), 说明实际值与预测值之间无过度拟合, 表明方程拟合性好, 实验误差小。根据各因素显著水平, 结合 *F* 值大小可以判断各单因素对粗果胶得率影响程度的主次顺序为 *C* (超声时

间) $> A$ (酶添加量) $> B$ (酶解时间)。以酶添加量 (*A*)、酶解时间 (*B*)、超声时间 (*C*) 为自变量, 咖啡粗果胶得率为因变量, 对各组合处理得到的咖啡粗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: 果胶得率 = $-55.91 + 66.74A + 0.78B - 1.29C - 0.03AB - 0.39AC - 0.02BC - 19.13A^2 - 3.74E - 0.03B^2 + 0.11C^2$ 。

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface test design and results

试验号	<i>A</i> 酶添加量/%	<i>B</i> 酶解时间/min	<i>C</i> 超声时间/min	果胶得率/%
1	1.0	30	15	3.50
2	1.5	90	10	15.00
3	1.0	60	20	11.15
4	2.0	60	20	12.55
5	1.5	60	15	15.35
6	1.5	60	15	11.65
7	2.0	30	15	5.10
8	1.5	60	15	15.30
9	1.0	60	10	6.50
10	1.5	30	10	6.05
11	1.5	90	20	12.45
12	2.0	90	15	4.65
13	2.0	60	10	11.75
14	1.0	90	15	4.55
15	1.5	30	20	14.10
16	1.5	60	15	10.45
17	1.5	60	15	10.25

表 3 回归统计分析结果

Table 3 Regression statistical analysis results

来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>p</i> 值	显著性
回归模型	236.26	9	26.25	5.31	0.0193	*
<i>A</i> -酶添加量	8.72	1	8.72	1.76	0.2257	
<i>B</i> -酶解时间	7.80	1	7.80	1.58	0.2492	
<i>C</i> -超声时间	14.99	1	14.99	3.03	0.1250	
<i>AB</i>	0.56	1	0.56	0.11	0.7457	
<i>AC</i>	3.71	1	3.71	0.75	0.4151	
<i>BC</i>	28.09	1	28.09	5.69	0.0485	*
A^2	96.25	1	96.25	19.49	0.0031	**
B^2	47.78	1	47.78	9.67	0.0171	*
C^2	29.99	1	29.99	6.07	0.0432	*
残差	34.57	7	4.94			
失拟项	8.67	3	2.89	0.45	0.7331	不显著
纯误差	25.90	4	6.47			
总离差	270.83	16				

注: ** $p < 0.01$ 表示差异极显著; * $p < 0.05$ 表示差异显著。

2.2.2 交互作用分析

响应面图的弧度与等高线图的密集程度反映了各因素作用的大小。各个因素的交互作用对响应值的影响可通过等高线图直观的反映出来,等高线图的形状可以反映出各因素交互效应的强弱,椭圆形的等高线图表明两因素的交互作用对果胶得率的影响作用显著,当等高线图呈现圆形时,则表明两因素之间的交互作用不显著^[22,23]。但随着酶解时间的增大果胶得率缓慢增大,在达到最大值后逐渐降低;随着超声时间的增加果胶得率先迅速升高到最大值,之后迅速降低,如图2c所示,酶解时间和超声时间的等高线图更接近椭圆形,说明酶解时间(B)和超声时间(C)的交互作用显著($p < 0.05$),交互作用分析结果与方差分析表中的结果相一致。

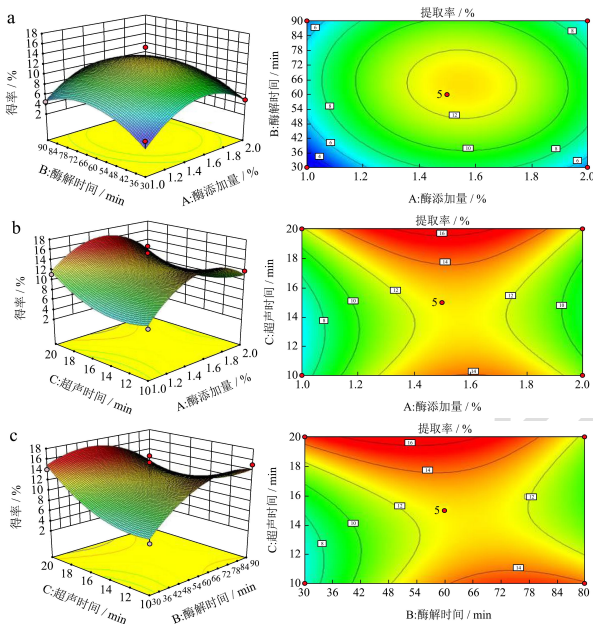


图2 各因素交互作用对果胶得率影响的三维曲面和等高线

Fig.2 Three-dimensional surface plot and contour map of the interactive effects extraction yield of pectin

2.2.3 最佳工艺条件的预测与模型验证

根据以上模型得到最佳咖啡果胶提取工艺条件:纤维酶添加量 1.49%,酶解时间 45.78 min,超声时间 19.30 min,理论上得到咖啡果胶得率为 16.43%。在此条件下进行 3 组平行试验验证,得到实际的咖啡粗果胶得率为 16.42%与模型理论值相接近且无显著差异,证明该数学模型优化的最佳工艺参数具有可行性和重现性。

2.3 红外光谱结果分析

对优化提取的粗果胶进行傅里叶红外光谱测定,结果如图3所示,在 $3\,375\text{ cm}^{-1}$ 处有一个很明显的果胶多糖特吸收峰是由 O-H 键伸缩振动造成^[24,25]; $2\,927\text{ cm}^{-1}$

处的较弱吸收峰是由甲基的 C-H 键的伸缩振动造成^[26];在 $1\,616\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,425\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰则分别由于 C=O 和 C=C 基团的对称伸缩振动造成的,是羧基的特征峰^[27,28];碳水化合物的 C-O、C-C-H、C-C 和 OCH 基团在 $1\,336\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,248\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,149\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,105\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,016\text{ cm}^{-1}$ 附近会有伸缩振动,而且 $1\,010\sim 1\,150\text{ cm}^{-1}$ 范围内是阿拉伯半乳糖的特征峰^[29],本研究结果在 $1\,105\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,016\text{ cm}^{-1}$ 处也检测到了特征吸收峰。结果表明,使用超声辅助酶提取的咖啡粗果胶含有典型的多糖结构。

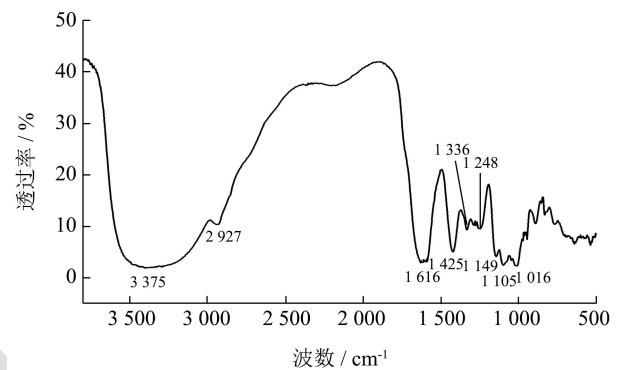


图3 咖啡粗果胶的 FT-IR

Fig.3 FT-IR of crude coffee pectin

2.4 咖啡果胶理化指标检测结果

进一步对咖啡粗果胶和脱色、脱蛋白后精果胶的理化指标进行对比,结果由表4可知,精果胶的得率仅为粗果胶的 22.20%,说明果胶在纯化过程中的损失较大,是因为脱蛋白过程中 *Sevage* 试剂在使蛋白质变性沉淀的同时正丁醇会使部分果胶沉淀造成损失,且脱蛋白次数越多果胶的损失越多^[30,31];精果胶的总糖含量达到了 75.83%,较纯化前增加了 17.51%;粗果胶中多酚和蛋白的含量为 6.09%和 0.17%,纯化后分别下降到 1.68%和 0.13%,下降了 72.41%和 23.53%,其中多酚的减少是因为纯化过程中氧化和受热分解造成的;粗果胶含水量为 6.32%,纯化后增加到了 12.09%,增加了 91.30%,原因可能咖啡果胶属于多糖的一种,多糖具有一定的持水能力,纯化之后精果胶总糖含量增加,所以持水能力增强,含水量也就增大;粗果胶酯化度和乙酰化度分别是 31.77%和 17.43%,纯化后分别下降到 7.17%和 1.54%,下降了 77.43%和 91.16%,一个原因可能是中温提取不能钝化内源酶,在提取过程中引起的,另一个原因可能是粗果胶的检测时伴有杂质干扰造成的,且由于酯化度与果胶甲酯酶活性呈负相关,可能纯化过程中在果胶的内源甲酯酶的作用下,导致的果胶酯化度降低^[30,31];以上结果表明,咖啡果胶是一种低酯果胶,纯化增加了咖啡果胶的纯度,但是

还可以使用其他方法进一步纯化。

表4 咖啡果胶理化指标 (%)

Table 4 Physicochemical characterization of coffee pectin

指标	粗果胶	精果胶
总糖	64.53±1.76	75.83±2.34
多酚	6.09±0.16	1.68±0.22
总蛋白	0.17±0.03	0.13±0.01
水分	6.32±0.17	12.09±0.87
酯化度	31.77±0.84	7.17±0.41
乙酰化度	17.43±0.93	1.54±0.08

2.5 咖啡果胶理化特性测试结果

果胶是水溶性多糖，具有较强的亲水和亲油性；由表5可知，咖啡粗果胶也检测到具有一定程度的持水性、持油性、起泡性、泡沫稳定性和乳化性、乳化稳定性。果胶经纯化后这些理化特性发生了改变，其中持水性增加了4.70倍，原因可能是果胶是亲水性大分子聚合物，经纯化后果胶内部有更多亲水基团暴露使其持水性增大；持油性增加了52.25%，原因可能是果胶中含有一定量的水分，在搅拌过程中形成了乳液造成的；纯化之后果胶的起泡性和泡沫稳定性消失，原因是脱蛋白导致果胶纯度增加，果胶体系的黏度也随着增加，而泡沫结构中薄层液体的排出速度随着其黏度增加而降低，最终导致起泡性消失^[32]；纯化后果胶黏度增加的同时也增加了参与乳化作用的基团数量，使其乳化性和乳化体系稳定性也随着增加^[33]，相比于粗果胶分别增加了26.31%和9.64%。

表5 咖啡果胶中功能特性测试结果

Table 5 Test results of functional characteristics in coffee pectin

功能特性	粗果胶	精果胶
持水性/(g/g)	3.52±0.51	20.05±0.15
持油性/(g/g)	5.34±0.30	8.13±0.48
起泡性/(%)	30.83±0.11	0
泡沫稳定性/%	27.03±0.13	0
乳化性/%	38.05±1.30	48.06±0.13
乳化稳定性/%	41.58±0.30	45.59±0.43

3 结论

采用超声波辅助酶提取咖啡果皮粗果胶得到最佳提取条件为：纤维素酶添加量1.49%，酶解时间45.78 min，超声时间19.30 min，得到咖啡果胶实际得率为16.43%；咖啡粗果胶含有典型的多糖结构；纯化使果胶总糖含量增加了17.51%，多酚和蛋白质含量减少了72.41%和23.53%含水量为增加了91.30%，酯化度和乙酰化度分别下降了77.43%和91.16%；而且，纯

化可以增加咖啡果胶的持水性、持油性、稳定性和乳化性、乳化稳定性，但是会降低果胶的起泡性、泡沫稳定性。本研究可为云南小粒咖啡果皮的综合利用和其果胶结构特性和理化特性研究提供前期基础和理论依据。

参考文献

- [1] Angeloni S, Navarini L, Khamitova G, et al. A new analytical method for the simultaneous quantification of isoflavones and lignans in 25 green coffee samples by HPLC-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2020, 325: 126924
- [2] 李晓娇,付文相,陈建瑞,等.酒石酸法提取咖啡果胶工艺研究[J].广州化工,2019,47(14):98-100,114
- [3] 张明达,王睿芳,李艺,等.云南省小粒咖啡种植生态适宜性区划[J].中国生态农业学报(中英文),2020,28(2):168-178
- [4] Sutanto A, Achyani A, Noor R, et al. Coffee pulp fermentation techniques for the sustainable organic agriculture [J]. Journal of Physics. Conference Series, 2020, 1469(1): 12019
- [5] Hoseini M, Cocco S, Casucci C, et al. Coffee by-products derived resources. A review [J]. Biomass and Bioenergy, 2021, 148: 106009
- [6] 李晓娇,付文相,杨丽华,等.云南小粒咖啡果皮中果胶的提取及其水解物抑菌活性研究[J].食品工业科技,2020,41(11):79-84,110
- [7] Santos E E, Amaro R C, Bustamante C C C, et al. Extraction of pectin from agroindustrial residue with an ecofriendly solvent: use of FTIR and chemometrics to differentiate pectins according to degree of methyl esterification [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 107: 105921
- [8] Ferreira-Lazarte A, Kachrimanidou V, Villamiel M, et al. *In vitro* fermentation properties of pectins and enzymatic-modified pectins obtained from different renewable bioresources [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 199: 482-491
- [9] Li X, Wei Z, Wang X, et al. *Premna microphylla* Turcz leaf pectin exhibited antioxidant and anti-inflammatory activities in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages [J]. Food Chemistry, 2021, 349: 129164
- [10] 廖滔,周磊,刘军平,等.果胶对多酚氧化酶活性及热稳定性的影响[J].中国食品学报,2021,21(5):67-74
- [11] 牟方婷,袁美,石黎琳,等.超声和微波辅助果胶酶处理对果胶结构的影响[J].食品与发酵工业,2021,47(4):215-221,239
- [12] 王文霞,杨悦,张慧君,等.马铃薯果胶流变特性的研究[J].食品与发酵工业,2021,47(2):63-69
- [13] Zhu Y, Li J, Ma J, et al. An effective, green and mild deproteinization method for polysaccharides of *Ruditapes*

- philippinarum* by attapulgate-based silk fibroin composite aerogel [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 182: 343-353
- [14] Lu F, Zhai R, Ruan S, et al. Enhancement of ultrasound on the dynamic decolorization of wolfberry (*Lycium barbarum*) polysaccharides [J]. LWT, 2021, 145: 111384
- [15] 郭志欣.白术多糖的提取纯化及其结构研究[D].长春:东北师范大学,2008
- [16] Duran Garzon C, Habrylo O, Lemaire A, et al. Characterization of a novel strain of *Aspergillus aculeatinus*: from rhamnolacturonan type I pectin degradation to improvement of fruit juice filtration [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 262: 117943
- [17] Ninčević Grassino A, Djaković S, Bosiljkov T, et al. Valorisation of tomato peel waste as a sustainable source for pectin, polyphenols and fatty acids recovery using sequential extraction [J]. Waste and Biomass Valorization, 2020, 11(9): 4593-4611
- [18] Aklilu E G. Modeling and optimization of pectin extraction from banana peel using artificial neural networks (ANNs) and response surface methodology (RSM) [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2021, 15(3): 2759-2773
- [19] 冀世敏,张连富.小麦面筋蛋白-果胶复合物的制备及功能特性研究[J].食品与生物技术学报,2019,38(8):84-90
- [20] 王鑫硕,潘信君,左玉玲.超声波辅助酶法提取豆腐柴中果胶方法的研究[J].现代食品,2019,5(8):107-110
- [21] 王文婷,朱思明,陈志江,等.甜菜压粕中果胶的提取工艺研究[J].现代食品科技,2011,27(11):1328-1331
- [22] Rahmani Z, Khodaiyan F, Kazemi M, et al. Optimization of microwave-assisted extraction and structural characterization of pectin from sweet lemon peel [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 147: 1107-1115
- [23] Encalada A M I, Pérez C D, Flores S K, et al. Antioxidant pectin enriched fractions obtained from discarded carrots (*Daucus carota* L.) by ultrasound-enzyme assisted extraction [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 453-460
- [24] Mao Y, Millett R, Lee C S, et al. Investigating the influence of pectin content and structure on its functionality in bio-flocculant extracted from okra [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 241: 116414
- [25] Liu X, Renard C M G C, Rolland-Sabaté A, et al. Exploring interactions between pectins and procyanidins: Structure-function relationships [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106498
- [26] Muñoz-Almagro N, Prodanov M, Wilde P J, et al. Obtainment and characterisation of pectin from sunflower heads purified by membrane separation techniques [J]. Food Chemistry, 2020, 318: 126476
- [27] Zhong L, Li X, Duan M, et al. Impacts of high hydrostatic pressure processing on the structure and properties of pectin [J]. LWT, 2021, 148: 111793
- [28] Muhidinov Z K, Ikromi K I, Jonmurodov A S, et al. Structural characterization of pectin obtained by different purification methods [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 183: 2227-2237
- [29] 樊莹润,郑婷婷,李泽林,等.黄皮疣柄牛肝菌多糖结构鉴定及对小鼠盲肠与粪便中短链脂肪酸影响[J].食品科学,2021,43(1):13-24
- [30] Da Silva Cerqueira Leite K M, Tadiotti A C, Baldochi D, et al. Partial purification, heat stability and kinetic characterization of the pectinmethylesterase from Brazilian guava, Paluma cultivars [J]. Food Chemistry, 2006, 94(4): 565-572
- [31] Kotnala B, N S M, Vasu P. Purification and characterization of a salt-dependent pectin methylesterase from *Carica papaya* fruit mesocarp-exocarp tissue [J]. Journal of Food Science, 2018, 83(8): 2062-2070
- [32] 张权,洁陈,曾茂茂,等.制造过程对可溶性大豆多糖结构和产物起泡性的影响[J].食品与机械,2020,36(7):33-38
- [33] 张漫莉,王强,陈炳宇,等.多糖乳化性改善方法、构效关系及应用研究进展[J].食品科学,2021,42(1):279-284