

# 银条果胶提取工艺及其理化性质研究

马丽苹, 孙军杰, 汪伦记, 纠敏, 邱智军

(河南科技大学 食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023)

**摘要:**以银条为原料,采用超声波辅助法提取果胶,在单因素试验的基础上,通过正交实验研究了超声功率、超声时间和液料比对果胶得率的影响,同时对该法提取果胶的理化性质进行了初步分析。结果表明:银条果胶的最佳提取工艺为超声功率 300 W,液料比 40:1 (V:W),超声时间 20 min,在此条件下银条果胶得率为 20.46%;所得银条果胶的半乳糖醛酸含量为 43.80%,果胶酯化度为 55.56%,果胶的蛋白含量为 3.63%。

**关键词:**银条;果胶;超声波;理化性质

**中图分类号:**S 632.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0132-04

银条(*Stachys floridana* Schuttl. ex Benth)属唇形科水苏属多年生草本植物,别名银白条、银苗、地灵、一串紫等,学名为草石蚕,是我国的传统蔬菜,其中以洛阳偃师银条最为有名<sup>[1]</sup>。研究表明,银条含有多种营养物质,如碳水化合物、多酚、维生素 C、蛋白质和有机酸,具有降血脂、软化血管和改善血液循环的作用<sup>[2]</sup>。而目前对银条的研究主要限于贮藏保鲜<sup>[3-4]</sup>、栽培<sup>[5-6]</sup>和组织培养<sup>[7-9]</sup>等方面,而对其中生物活性物质的研究较少,而对银条中生物活性物质的研究将有利于银条资源的进一步开发和利用。

果胶是一种天然高分子多糖聚合物,具有良好的胶凝、增稠、乳化和稳定作用,临床试验表明,果胶还具有良好的抗腹泻、抗癌、治疗糖尿病和减肥等功效。此外,果胶还可用于化妆品中,具有保护皮肤,防紫外线辐射,

治疗创口,美容养颜等作用。目前,商品果胶的原料主要为柑橘皮、柚子皮和苹果皮等,此外,在一些蔬菜中,例如甜菜、洋葱等都含有丰富的果胶,都可充当提取果胶的原料<sup>[11]</sup>,而对银条中果胶的提取工艺及其理化性质少见报道,因此该研究拟利用超声波辅助传统酸提取方法提取银条中的果胶,对银条果胶提取工艺进行优化,并对银条果胶理化性质进行初步分析,以期对银条资源的综合开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试银条于 2009 年 12 月购自偃师市农贸市场,用去离子水清洗干净,50℃烘干后,粉碎过 60 目筛,保存在自封袋中备用。牛血清蛋白(BSA)、间羟联苯和半乳糖醛酸,均为 Sigma 公司产品;其它试剂为国产分析纯。

TG16-W 型离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);7200 型紫外-可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司);KQ-500DE 型超声波细胞破碎仪(昆山市超声仪器有限公司);Nicolet 傅里叶红外光谱仪(上海仪先仪器有限公司);直立式 HB-50 型制冰机(上海弘昌制冷设

**第一作者简介:**马丽苹(1979-),女,博士,讲师,研究方向为食品生物技术。E-mail:maliping226@163.com.

**基金项目:**河南科技大学博士启动基金资助项目(09001724)。

**收稿日期:**2013-09-16

**Abstract:** Taking cherry fruits of 'Black Pearl' as test materials, the changes of sensory quality, physiology indexes and enzymatic activity of postharvest cherry were studied. Postharvest cherry were fumigated with chlorine dioxide of three concentrations (20, 40, 60 mg/L) and stored under 2~5℃ respectively, packaged with cartons and plastic baskets in polythene film wrappers. The results showed that with chlorine dioxide treated, the cherry fruits respiration intensity and decay were controlled, fruit colour was maintained, the reduction of total soluble solid (TSS), reducing sugar (RS), titratable acid (TA) and vitamin C were slowed down, the activity of polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD) and the increase of malondialdehyde (MDA) content were inhibited. Among them, the group of cherry fruits fumigated with 20 mg/L chlorine dioxide and packaged with carton had the best preservation effect. After normal storage for 18 days, the rotting rate was 17.34% and most quality and physiology indexes were better than other treated groups.

**Key words:** cherry; chlorine dioxide; storage; physiology

备有限公司);RE5299 型旋转蒸发仪(济宁天华超声电子仪器有限公司);HH-S 型电热恒温水浴锅(江苏金坛市亿通电子有限公司);PTX-FA110 型万分之一电子天平(常州市亨托电子衡器有限公司)。

## 1.2 试验方法

1.2.1 单因素试验 液料比对果胶得率的影响:分别称取样品 2.0 g 于 5 个 100 mL 烧杯中,将 0.8% 的草酸铵溶液按液料比 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1 mL/g 分别加入烧杯中。用玻璃棒搅拌均匀后,置于超声波细胞粉碎仪中 300 W 下提取 20 min。取出后过滤,滤渣进行二次提取,合并 2 次所有液体(包括滤渣),置于 70℃ 恒温水浴锅中加热 30 min 取出,冷却至室温,测定滤液中果胶的含量,计算提取率,重复 3 次。超声时间对果胶得率的影响:分别称取样品 2.0 g 于 5 个 100 mL 烧杯中,将 0.8% 的草酸铵溶液按液料比 30:1 mL/g 加入烧杯中。用玻璃棒搅拌均匀后,置于超声波细胞粉碎仪中 300 W 下分别提取 10、15、20、25、30 min。取出后过滤,滤渣进行二次提取,合并 2 次所有液体(包括滤渣),置于 70℃ 恒温水浴锅中加热 30 min 取出,冷却至室温,测定滤液中果胶的含量,计算提取率,重复 3 次。超声功率对果胶得率的影响:分别称取样品 2.0 g 于 5 个 100 mL 烧杯中,将 0.8% 的草酸铵溶液按液料比 30:1 mL/g 加入烧杯中。用玻璃棒搅拌均匀后,分别置于超声波细胞粉碎仪中 200、250、300、350、400 W 下提取 20 min。取出后过滤,滤渣进行二次提取,合并 2 次所有液体(包括滤渣),置于 70℃ 恒温水浴锅中加热 30 min 取出,冷却至室温,测定滤液中果胶的含量,计算提取率,重复 3 次。

1.2.2 超声波辅助酸提法正交实验 以果胶得率为指标,参照单因素试验的结果,按  $L_9(3^4)$  设计 3 因素 3 水平试验,以确定超声功率、超声时间和液料比 3 个因素的最佳组合。实验因素及水平见表 1。

表 1 超声波辅助酸提法提取果胶  
正交实验因素及水平

Table 1 Factors and levels of the orthogonal test by ultrasonic assisted acid extraction process to extract pectin

水平	因素			
	A 超声功率/W	B 超声时间/min	C 液料比/mL·g <sup>-1</sup>	D 空列
1	250	15	20:1	1
2	300	20	30:1	2
3	350	25	40:1	3

## 1.3 项目测定

1.3.1 果胶中半乳糖醛酸含量及果胶得率测定 采用 Blumenkrantz 等<sup>[12]</sup>报道的间羟联苯法测定果胶样品中半乳糖醛酸含量。具体操作如下:吸取半乳糖醛酸标准溶液 0.00、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mL 于 5 mL 离心管中,用去离子水补加至 0.25 mL。在冰浴中预冷后加入 1.5 mL 四硼酸钠-硫酸溶液。振荡混合,在沸水浴中

加热 5 min。随后冰浴冷至室温后,加入 25  $\mu$ L 间羟联苯溶液。摇匀后在 520 nm 处测定吸光值,以“0”管作空白对照,绘制标准曲线。提取液中半乳糖醛酸含量测定:吸取果胶提取液 100  $\mu$ L,加去离子水补至 250  $\mu$ L,随后同以上标准曲线操作。测得的吸光值代入标准曲线  $y=16.26x+0.2806$  计算半乳糖醛酸含量,即  $y$  值,而果胶得率根据以下公式计算<sup>[13]</sup>:果胶得率= $M_p/M_m \times 100\%$ ,其中  $M_p$  为果胶质量(以半乳糖醛酸含量计), $M_m$  为原料质量。

1.3.2 理化性质的测定 按照最优提取条件提取银条果胶,然后加入 3 倍体积无水乙醇沉淀果胶,沉淀物分别用体积分数 70%、80%、90% 的乙醇溶液洗涤,将沉淀置于 50℃ 烘箱中烘干后粉碎的果胶粉,然后测定以下理化性质。半乳糖醛酸含量测定:配制 0.5 mg/mL 的果胶溶液,参照 1.3.1 中方法测定半乳糖醛酸含量。酯化度的测定:参照陆胜民等<sup>[14]</sup>报道的滴定法略改后进行。具体步骤如下:称取 0.2 g 果胶,移入 250 mL 锥形瓶中,用乙醇润湿,加入 20 mL 40℃ 不含二氧化碳的蒸馏水,用瓶塞塞紧并振摇,使样品全部溶解。加入 5 滴酚酞,用 0.1 mol/L 的氢氧化钠标准溶液进行标定,记录所消耗的氢氧化钠的体积( $V_1$ )即为初滴定量。继续加入 10 mL 0.1 mol/L 的氢氧化钠标准溶液,加塞后强烈振摇 2 h,加入 10 mL 0.1 mol/L 的盐酸溶液,振摇至粉红色消失为止。然后加入 3 滴酚酞指示剂,用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液滴定至呈微红色。记录所消耗的氢氧化钠的体积( $V_2$ ),即为皂化滴定量。酯化度(DE)计算公式为: $DE(\%)=V_2/(V_1+V_2) \times 100\%$ 。蛋白质含量的测定:采用 Bradford<sup>[15]</sup>报道的考马斯亮蓝法测定果胶中蛋白质的含量。红外光谱分析:将 1 mg 干燥的果胶样品与 100 mg 溴化钾混合研磨压片,在 4 000~400  $\text{cm}^{-1}$  区间进行红外光谱扫描,观察谱峰情况,测定透光率曲线。

## 2 结果与分析

### 2.1 液料比对果胶得率的影响

由图 1 可知,液料比从 10:1 mL/g 变化到 30:1 mL/g 时,果胶提取率不断上升,但随着液料比的

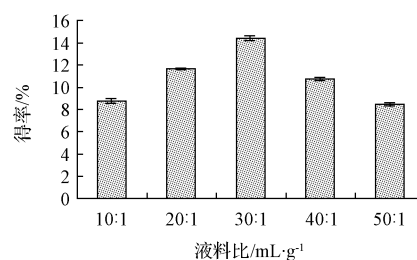


图 1 液料比对果胶得率的影响

Fig. 1 Effect of liquid-material ratio on the yield of pectin

进一步增加,果胶的提取率出现了下降。液料比太小,会造成浸取不完全,而液料比太大,浸取时间延长,也会影响得率,因此最佳液料比为 30:1 mL/g。

## 2.2 超声时间对果胶得率的影响

由图 2 可知,超声时间从 10 min 增至 20 min 时,果胶提取率不断上升,但随着超声时间的进一步增加,果胶的提取率出现了下降。浸提时间过长或过短都会影响果胶产量,因为酸对果胶分子的酯键具有破坏作用,因此最佳超声时间为 20 min。

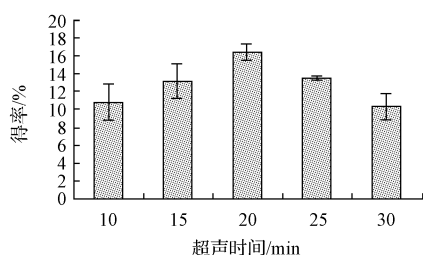


图 2 超声时间对果胶得率的影响

Fig. 2 Effect of ultrasonic time on the yield of pectin

## 2.3 超声功率对果胶得率的影响

由图 3 可知,超声波功率从 200 W 增至 300 W 时,果胶的提取率也增加,但进一步增加超声波功率,果胶的提取率却出现了缓慢下降。超声波功率过大或过小都会影响果胶得率,过小不能完全破碎细胞壁,过大会使一些大分子物质被破坏,因此,最佳超声功率为 300 W。

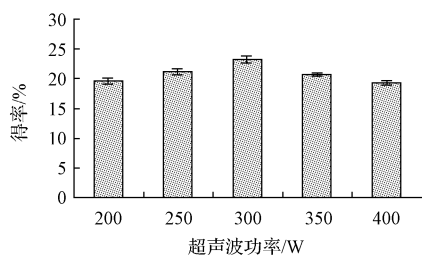


图 3 超声功率对果胶得率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic power on the yield of pectin

## 2.4 正交实验结果

由表 2 极差分析可知,超声波功率、超声时间和液料比 3 个因素对果胶提取的影响程度为 A(超声波功率)>B(超声时间)>C(液料比)。由 K 值得知,其最佳工艺条件为  $A_2B_2C_2$ ,即超声波功率 300 W,超声时间 20 min,液料比为 30:1 mL/g。由于该组合不在试验组,故需做  $A_2B_2C_2$  和  $A_2B_2C_3$  的验证试验。分别在  $A_2B_2C_2$  和  $A_2B_2C_3$  工艺条件下浸提银条果胶,其提取率分别为 18.97% 和 20.64%,可见银条果胶最佳提取工艺为  $A_2B_2C_3$ ,即超声波功率 300 W,液料比 40:1,超声时间 20 min。在此工艺条件下,超声波辅助酸提取法提取

表 2 超声波辅助酸提法提取果胶的

$L_9(3^4)$  正交实验结果

Table 2 The  $L_9(3^4)$  orthogonal experimental result of ultrasonic assisted acid extraction process to extract pectin

试验号	因素				果胶得率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	17.93
2	1	2	2	2	19.69
3	1	3	3	3	17.96
4	2	1	2	3	20.15
5	2	2	3	1	21.55
6	2	3	1	2	20.07
7	3	1	3	2	17.13
8	3	2	1	3	18.54
9	3	3	2	1	17.72
$K_1$	18.52	18.40	18.85		
$K_2$	20.59	19.93	19.18		
$K_3$	17.80	18.58	18.88		
R	2.79	1.53	0.33		

银条果胶产率高且重复性好,验证所选工艺的合理性和科学性。

表 3 的方差分析结果表明,超声波功率对果胶的提取过程影响极为显著,超声时间对果胶提取的影响显著,液料比影响不显著。

表 3 正交实验方差分析

Table 3 Variance analysis for precipitation recovery of pectin with various process conditions

变异来源	df	SS	MS	F 值	F
因素 A	2	0.001256	0.000628	230.048 **	$F_{0.05}(2,2)=19.00$
因素 B	2	0.000420	0.0002098	76.846 *	$F_{0.01}(2,2)=99.00$
因素 C	2	0.000021	0.0000106	3.894	
因素 D	2	0.0000054	0.0000027		
总和	8	0.001702	0.000851		

## 2.5 理化性质分析

2.5.1 半乳糖醛酸含量 利用间羟联苯法来测定银条果胶的半乳糖醛酸含量,以半乳糖醛酸的含量为纵坐标,以 520 nm 处的吸光度值为横坐标,绘制半乳糖醛酸标准曲线,得到标准曲线线性回归方程为  $y=16.26x+0.2806$ ,  $R^2=0.9979$ 。果胶样品(0.5 mg/mL)吸光度为 0.656,结合半乳糖醛酸含量标准曲线,通过计算可知银条果胶半乳糖醛酸含量为 43.80%。通过查阅文献可知,所测结果偏低,可能原因是由于采用了间羟联苯法测半乳糖醛酸的含量,基本排除了中性糖的干扰,因此比国家标准中的硫酸咔唑法测得值偏低。

2.5.2 酯化度 经测定,酯化度  $DE=V_1/(V_1+V_2) \times 100\%=1.5/(1.2+1.5) \times 100\%=55.56\%$ 。因此,该法提取的银条果胶为高甲氧基果胶。

2.5.3 蛋白质含量 利用考马斯亮蓝法来测定银条果胶样品中的蛋白质含量,以牛血清蛋白的含量为纵坐标,以 595 nm 处的吸光度值为横坐标,绘制考马斯亮蓝测定标准曲线,并对其进行线性回归,线性回归方程

为  $y=97.802x-0.8443$ ,  $R^2=0.9977$ , 其中  $y$  表示反应体系的吸光度值,  $x$  表示蛋白质浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )。通过计算银条果胶的蛋白质含量为 3.63%。

2.5.4 红外光谱分析 由图 4 可知,  $3\,423.27\text{ cm}^{-1}$  左右处出现的宽而强的吸收峰是由羟基的 O-H 伸缩振动引起,  $2\,933.51\text{ cm}^{-1}$  左右处出现的强吸收峰是由烷基的 C-H 伸缩振动引起, 羟基和烷基都为多糖类物质的特征基团, 以上 2 组特征峰也就说明银条果胶是多糖类物质。在  $1\,748.83\text{ cm}^{-1}$  和  $1\,631.88\text{ cm}^{-1}$  处出现的吸收峰, 是由 -COOH 的伸缩振动引起的<sup>[16]</sup>, 说明银条果胶中有 -COOH 存在, 这一点与前面的糖醛酸含量的测定结果一致。

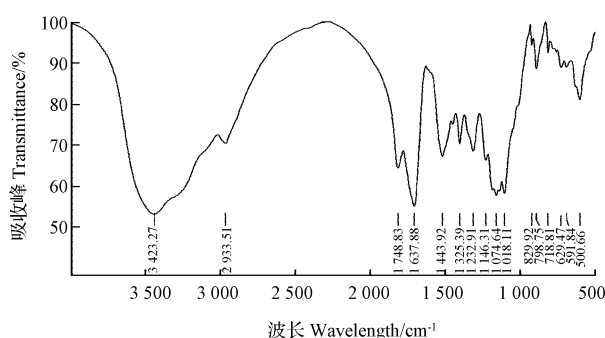


图 4 银条果胶红外图谱

Fig. 4 Infrared spectroscopy of pectin from *Stachys floridana* Schuttl. ex Benth

### 3 结论

超声波辅助酸提法提取银条果胶工艺参数为液料比 40:1(V:W), 超声功率 300 W, 超声时间 20 min, 超声后 70℃ 热水再浸提 30 min, 在此条件下, 果胶的最大提取率为 20.46%。该法提取的银条果胶半乳糖醛酸含量为 43.80%, 果胶酯化度为 55.56%, 果胶的蛋白含量为 3.63%。

## Study on Extraction Technology of Pectin From *Stachys floridana* Schuttl. ex Benth and Its Physicochemical Properties

MA Li-Ping, SUN Jun-jie, WANG Lun-ji, JIU Min, QIU Zhi-jun

(College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023)

**Abstract:** Taking *Stachys floridana* Schuttl. ex Benth as material, pectin was extracted by ultrasonic-assisted extraction. The effect of ultrasonic power, ultrasonic time and ratio of water to material on the yield of pectin were investigated by orthogonal tests based on single factor experiment, and then physicochemical properties of pectin were further studied. The results showed that the optimum extraction conditions were determined as ultrasonic power 300 W, ultrasonic time 20 min, ratio of liquid to material 40:1 (V:W); under these extraction conditions, the yield of pectin was 20.46%. Galacturonic acid content, the protein content and esterification degree in pectin gained under the optimal conditions were 43.80%, 3.63% and 55.56% respectively.

**Key words:** *Stachys floridana* Schuttl. ex Benth; pectin; ultrasonic; physicochemical properties

### 参考文献

- [1] 张晓伟, 王淑敏, 王德国, 等. 银条多糖的提取工艺及其抑菌性研究[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(7): 25-28.
- [2] 马丽苹, 秦翠丽, 邱智军, 等. 银条  $\alpha$ -低聚半乳糖的免疫调节作用研究[J]. 食品工业科技, 2013(9): 356-358, 363.
- [3] 郭香凤, 史国安. 低温和气调小包装处理对银条净菜保鲜品质的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 612-616.
- [4] 易军鹏, 李欣, 周卫利, 等. 羧甲基壳聚糖复合涂膜的银条保鲜效果研究[J]. 食品与药品, 2005, 7(12): 51-53.
- [5] 郑军伟, 别志伟. 河南偃师银条无公害优质高产栽培技术[J]. 现代农业科技, 2006, 34(9): 31.
- [6] 韩高修. 珍贵蔬菜品种-银条及栽培要点[J]. 中国农技推广, 2005, 21(7): 34-35.
- [7] 郭月霞, 郭东伟, 李春莲, 等. 不同激素配比对离体地灵 (*Stachys floridana* Schuttl. ex Benth) 芽增殖的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(8): 53-56.
- [8] 郭东伟, 李春莲, 郭月霞, 等. 不同支持物对地灵 (*Stachys floridana* Schuttl. ex Benth) 试管苗生根的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(10): 25-28.
- [9] 郭东伟, 陈耀锋, 张俊文. 地灵的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(1): 68.
- [10] 蔡文, 谭兴和, 张喻, 等. 超声波辅助提取柚子皮果胶的工艺优化[J]. 农产品加工(学刊), 2013(8): 17-21.
- [11] 张露, 王芳芳, 钱梦瑶, 等. 西瓜皮中果胶的提取工艺研究[J]. 饮料工业, 2013, 16(1): 22-24.
- [12] Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. New method for quantitative determination of uronic acids[J]. Analytical Biochemistry, 1973, 54(2): 484-489.
- [13] 张颜, 张京芳, 许加, 等. 短枝六道木叶果胶提取工艺优化及理化性质研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013(2): 33.
- [14] 陆胜民, 尹颖, 陈剑兵, 等. 低分子柑橘果胶抗前列腺癌细胞活性的评价[J]. 食品科技, 2012, 37(8): 208-211, 215.
- [15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [16] Mao W J, Li B F, Gu Q Q, et al. Preliminary studies on the chemical characterization and antihyperlipidemic activity of polysaccharide from the brown alga *Sargassum fusiforme*[J]. Hydrobiologia, 2004, 512(1-3): 263-266.