

# 多酚和蛋白质对苹果浓缩汁二次混浊的影响

綦菁华<sup>1</sup>, 蔡同一<sup>2</sup>, 于同泉<sup>1</sup>

(1. 北京市农业应用新技术重点实验室, 北京

102206 2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京

100083)

**摘要:** 采用 18000r/min 冷冻(-4℃)离心 20min 的方法处理经二次混浊处理了 3 个批次的果汁, 测定上清液的相应指标, 与未处理的果汁做空白对比, 由相应的成分的变化, 确定混浊物的成分。结果表明: 和二次混浊有关的多酚主要是原花青素的聚合物; 表儿茶素、儿茶素小分子的酚类不直接参与二次混浊, 却是形成二次混浊的前体物质; 和二次混浊有关的蛋白质疏水性氨基酸含量高, 其中脯氨酸含量大。

**关键词:** 多酚; 蛋白质; 苹果汁; 混浊

## Effects on Apple Juice Concentrate Re-haze with Polyphenols and Proteins

QI Jing-hua<sup>1</sup>, CAI Tong-yi<sup>2</sup>, YU Tong-quan<sup>1</sup>

(1. Beijing Key Laboratory of New Technology in Agricultural Application, Beijing 102206, China;

2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Three batches of apple juice concentrate were treated by the second haze, method and then centrifuged for 20 min (-4℃, 18000r/min) with the superior clear solution collected at last. Determined the solution indexes of polyphenol and protein and compared them with the juices without being treated. The re-haze compounds were ascertained through the change of the indexes. The results showed that: the main phenolic compounds in the re-haze substances are polymers of procyanidin. Catechin and epicatechin are the precursors of formation of haze. The amino acids of protein in haze juice are hydrophobic and the contents of proline are higher in haze juice than in normal juice.

**Key words:** polyphenol; protein; apple juice; haze

中图分类号: TS255.44

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)11-0106-04

形成苹果浓缩汁后混浊的化学因素有很多, 最难以控制和控制的是酚类氧化聚合的大分子物质, 或与蛋白质形成的聚合物<sup>[1]</sup>。Siebert K J 和 Penelope Y L 指出和苹果汁混浊有关的酚只是酚类的极少部分, 通过分析苹果汁的后混浊沉淀物, 发现含有儿茶素和原花青素的聚合物, 假设认为其通过自身聚合或氧化然后再和蛋白质相互作用形成混浊<sup>[2]</sup>。Johnson 等人实验表明: 绿原酸和苹果汁的后混浊的关系不大<sup>[3]</sup>, 但 Tada-aki 却指出绿原酸加入到蜂蜜蛋白和单宁酸组成的系统中阻止蛋白质和单宁酸形成混浊<sup>[4]</sup>。有资料表明: 绿原酸是促使儿茶素和表儿茶素氧化的催化剂, 在反应过程中含量不变, 因此是促进混浊的<sup>[5]</sup>。所以在酚类对苹果汁后混浊的关系上, 一直没有一个统一和明确的结论。对于和二次混浊有关酚类更缺乏认识。关于和混浊有关的蛋白质的研究方面, 主要是在啤酒酿造上研究较多。Asano 等的研究表明: 啤酒中和混浊有关的蛋白质是富含脯氨酸的醇溶谷蛋白并且从沉淀中分离出集中不同分子量的

醇溶谷蛋白, 说明形成混浊的蛋白质或是醇溶谷蛋白或是其不同水解的产物<sup>[6]</sup>。但对果汁和果酒的混浊蛋白质还不清楚。2002 年, Wu L C 和 Siebert K J 的最新研究表明: 苹果汁中的和后混浊有关的蛋白质是分子量在 28、15、和 12 kDa 的蛋白<sup>[7]</sup>。二次混浊和蛋白质的关系更需要进一步研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

苹果浓缩汁 山东烟台北方安德利果汁股份有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 果汁的二次混浊处理方法

从无菌灌装袋取出适量的苹果浓缩汁, 置于锥形瓶中, 盖紧瓶塞, 放入冰箱-18℃冻藏 10 h, 取出后, 恢复到室温, 加重蒸馏水稀释到 11.5 Brix, 加热煮沸,

收稿日期: 2006-08-30

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划项目(2001BA501A)

作者简介: 綦菁华(1966-), 女, 副教授, 博士, 研究方向为果蔬加工。

然后冷却到室温,若出现混浊,则称果汁有二次混浊现象;若无混浊发生,称果汁为正常果汁。

### 1.2.2 测定样品的处理方法

经二次混浊处理的果汁-4℃冷冻离心20min(18000r/min),取上清液测定相应指标。空白对照采用未经二次混浊处理的稀释果汁(11.5Brix)测定。

### 1.2.3 活性蛋白测定

取100ml样品加入0.167g单宁酸,在25℃下反应30min,混匀后,测浊度。

### 1.2.4 分析方法

总酚含量的测定(PB)<sup>[8]</sup>;黄烷醇类多酚的测定(香草醛-盐酸法)<sup>[8]</sup>;缩合单宁的测定(正丁醇-盐酸法)<sup>[8]</sup>;HPLC法测定酚类<sup>[9]</sup>;可溶性蛋白质的测定(Bradford法)<sup>[10]</sup>;氨基酸分析仪测定氨基酸。

## 2 结果与分析

### 2.1 多酚对苹果浓缩汁二次混浊的影响

一般研究混浊或沉淀的方法是采用离心的方法,收集混浊物或沉淀,再进行分离、提纯和进一步分析。但二次混浊从感官观测是如烟雾样的混浊,无法收集混

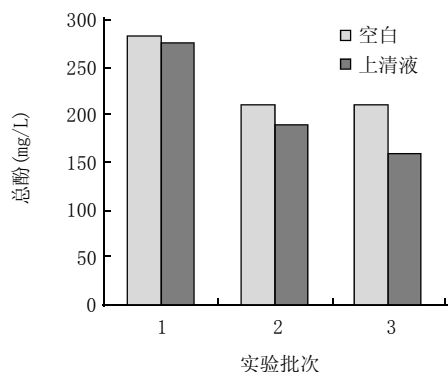


图1 和二次混浊有关的总酚含量(PB)

Fig.1 Total phenolics contents in second haze substances

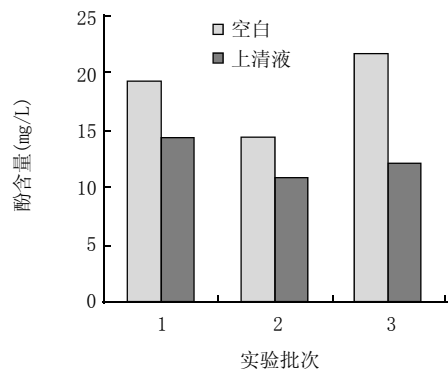


图2 和二次混浊有关的黄烷醇类多酚含量(Vanillin-HCl)

Fig.2 Phenolics contents related to flavanols in second haze substances

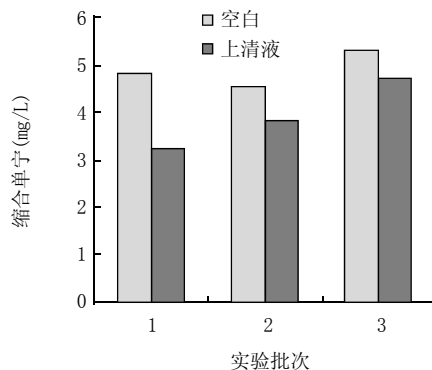


图3 和二次混浊有关的缩合单宁(Butanol-HCl)

Fig.3 Condensed tannins contents in second haze substances

浊物,所以本实验采用18000r/min冷冻离心20min的方法处理经二次混浊处理了3个批次的果汁,测定上清液的相应指标,与未处理的果汁做空白对比,由相应的成分的变化,预测混浊物的成分。

表1 二次混浊处理苹果汁小分子的酚类浓度变化(mg/L)  
Table 1 Small molecular phenolics contents in second haze substance (mg/L)

mg/L	表儿茶素	儿茶素	绿原酸	原花青定B <sub>2</sub>	根皮苷	咖啡酸	未知峰
空白	13.65	0.4	112.76	13.1	9.63	8.67	4.58
上清液	13.6	0.4	112.35	7.68	9.62	8.6	1.11

由图1可见,3个批次的二次混浊果汁经二次混浊处理后,果汁离心,上清液的总酚含量均减少,且差异显著( $t_1=79.857>0.008$ 、 $t_2=19.000>0.033$ 、 $t_3=7.490>0.084$ );图2的数据分析显示,上清液的黄烷醇类多酚含量减少且显著( $t_1=4.608>0.136$ 、 $t_2=4.251>0.147$ 、 $t_3=2.449>0.247$ );图3的数据分析显示,上清液的缩合单宁含量减少且显著( $t_1=5>0.126$ 、 $t_2=11.857>0.054$ 、 $t_3=16.667>0.038$ )。

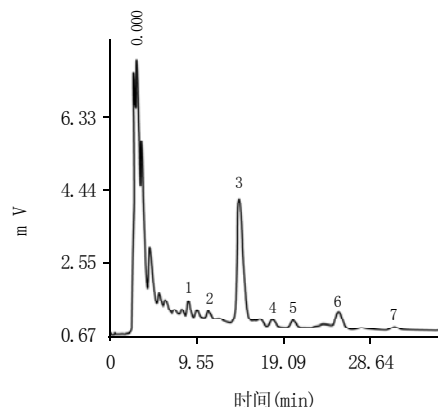


图4 二次混浊果汁上清液中酚类液谱图

Fig.4 HPLC chromatogram of phenolics in haze juice supernatant

上述的数据分析结果证实:二次混浊物中含有酚

类, 其中的酚类物质和黄烷醇类酚有关, 黄烷醇类酚的多聚体即缩合单宁。Vanillin-HCl法测定的是黄烷醇类酚的单体和聚合体的总量, 无法确定单体是否也参与混浊。又采用了HPLC法, 利用乙酸乙酯萃取果汁中的小分子酚类。离心后果汁的谱图如图4。由图4可见, 二次混浊果汁中主要含有表儿茶素(1)、儿茶素(2)、绿原酸(3)、原花青定B<sub>2</sub>(4)、根皮素(5)、咖啡酸(6)和未确定的产物(7); 二次混浊处理后, 通过浓度计算(表1)得知, 处理后离心的上清液, 原花青定B<sub>2</sub>和未确定的产物降低明显。未确定的产物出峰时间在28min左右, 说明极性较弱, 分子量较大, 紫外吸收波长在280nm, 说明其应具有原花色素的性质, 同时原花青定B<sub>2</sub>后出现, 说明聚合度大于2。结合图3可知, 二次混浊物中含有缩合单宁, 可初步断定是原花青定的多聚体, 所以混浊物主要是原花青定二聚体和多聚体。验证了混浊的形成是颗粒生长的结果, 证实了前面Vanillin-HCl法测定的酚类主要是聚合体。原花青定的聚合体主要是表儿茶素和儿茶素的多聚体。表儿茶素和儿茶素的单体对二次混浊无直接影响, 不直接参与二次混浊的形成, 但其是形成二次混浊的前体物质。其聚合后形成大的颗粒, 或自身聚合或与蛋白质形成混浊。因此表儿茶素和儿茶素在果汁中的存在状态和变化规律, 是直接关系二次混浊形成的前提因素。

## 2.2 蛋白质对苹果浓缩汁二次混浊的影响

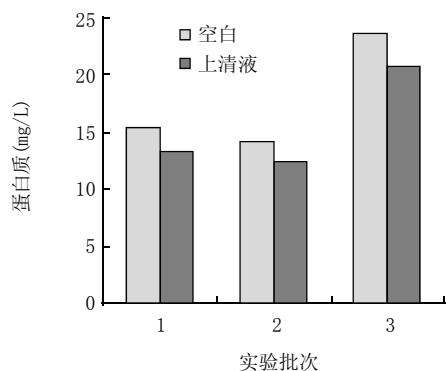


图5 果汁中和二次混浊有关的可溶性蛋白质含量(Bradford)  
Fig.5 Soluble protein contents in second haze substances in apple juice

由图5可知, 经Bradford法测定, 二次混浊处理后的3个批次的果汁上清液可溶性蛋白含量减少, 差异显著( $t_1=2.367 > 0.254$ ,  $t_2=2.464 > 0.245$ ,  $t_3=2.164 > 0.276$ )。说明二次混浊物中含有蛋白。二次混浊处理后, 加速了蛋白质的变性和聚合, 促使产生大的颗粒, 形成混浊, 或同缩合单宁聚集, 形成混浊, 导致上清液的可溶性蛋白量减少。

活性蛋白质是指和混浊有关的蛋白质, 采用蛋白质

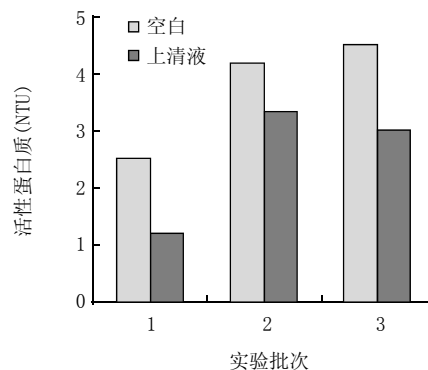


图6 果汁中活性蛋白质含量  
Fig.6 Haze active protein contents in second haze substances in apple juice

和单宁酸形成混浊的机理, 利用混浊物浊度测定, 表示和混浊有关的蛋白质的含量多少, 因此只是一种比浊的方法, 比较果汁中和混浊有关的蛋白质的变化, 并不能准确地表示蛋白质的含量, 通过二次混浊处理有二次混浊的果汁, 离心后, 上清液活性蛋白比二次混浊果汁的活性蛋白减少, 也进一步表明, 二次混浊物中含有蛋白质。

表2 正常果汁和二次混浊果汁的氨基酸含量  
Table 2 Amino acid contents in normal juice and haze juice

mg/100g	丙氨酸	缬氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	苯丙氨酸	脯氨酸	疏水性氨基酸
正常	13.003	1.652	1.862	0.861	10.29	1.341	29.009
混浊	20.707	2.947	2.373	2.099	5.133	8.008	41.267

苹果中的蛋白质含量很少, 主要是以游离氨基酸的形式存在的。对正常浓缩果汁和有二次混浊现象的果汁水解蛋白质, 分析氨基酸组成发现正常浓缩果汁的疏水性氨基酸含量(29.009mg/100g)低于有二次混浊现象的果汁(41.267mg/100g)。

蛋白质和多酚主要是借助疏水键连接的, 因此疏水性氨基酸的含量一方面也反映了其疏水性的强弱, 说明有二次混浊现象的果汁易于和多酚聚集, 形成混浊。蛋白质疏水性的增加, 也说明其自身易于聚集, 形成混浊。

由表2可见, 有混浊的浓缩果汁脯氨酸的含量为8.008mg/100g, 而正常浓缩果汁脯氨酸的含量为1.341mg/100g。Asno等研究发现啤酒中和混浊有关的蛋白质是麦醇溶蛋白质, 富含脯氨酸和羟脯氨酸<sup>[6]</sup>。这一结果证实了富含脯氨酸的苹果汁也易于混浊。这和前人的结论是一致的<sup>[3]</sup>。

## 3 讨论

关于酚类物质的确定, 由于缺乏相应的酚类标准,

# 改性菊糖的制备及表面特性

胡娟, 金征宇, 王静

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 菊糖与十八烷基异氰酸酯在有机溶剂中发生甲氨酰化反应, 生成的氨甲基菊糖具有表面活性。氨甲基菊糖能明显降低界面张力且在电解质介质中有较高的浊点。实验表明当 NaCl 浓度达到 4 mol/L、MgSO<sub>4</sub> 浓度达到 1 mol/L, 温度升至 100℃ 时溶液仍然未混浊。聚乙二醇 (PEG) 系列表面活性剂在电解质溶液中没有这么高的浊点, 从而显示了氨甲基菊糖作为表面活性剂比聚乙二醇的优越。

**关键词:** 菊糖; 甲氨酰化; 十八烷基异氰酸酯; 表面活性

## Synthesis of Modified Inulin and Its Interfacial Properties

HU Juan, JIN Zheng-yu, WANG Jing

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** Inulin has been modified by carbamylation in organic solvents. The reaction of inulin with octadecyl isocyanates resulted in carbamoylated inulins from which the interfacial properties were determined. The carbamoylated inulins showed a very good reduction of the interfacial tension and very high cloud points in electrolyte media. The cloud point measurements show absence of any cloudiness up to 100 °C when NaCl concentrations reaching 4 mol/L and MgSO<sub>4</sub> reaching 1 mol/L. These

收稿日期: 2006-09-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20376029)

作者简介: 胡娟 (1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向为粮食油脂与植物蛋白。

所以有一些酚类无法确定, 增加了实验结果的不准确性, 因此在获取大量酚类标准的同时, 有利于对本实验的结论进一步验证。

苹果汁中含有的蛋白质量很少, 因此增加了对蛋白质研究的难度。本实验曾经做了正常果汁和二次混浊果汁的蛋白质电泳谱图, 但是均未成功。因此在今后的工作中能对和二次混浊有关的蛋白质分子量方面做深入的工作, 从而进一步确定蛋白质的来源, 合理地控制混浊。

## 4 结 论

4.1 和二次混浊有关的多酚主要是原花青定的聚合体。

4.2 表儿茶素、儿茶素小分子的酚类不直接参与二次混浊, 却是形成二次混浊的前体物质。

4.3 和二次混浊有关的蛋白质疏水性氨基酸含量高, 其中脯氨酸含量大。

参考文献:

- [1] Van BUREN J P. Avoiding haze in clarified apple juice[M]//DOWNING D L. Processed apple workshop: Special Report 65, New York State Agricultural Experiment Station, Ithaca, NY, 1992.
- [2] SIEBERT K J, PENELOPE Y L. Haze-active protein and polyphenolics in apple juice assessed by turbidity[J]. J of Food Science, 1997, 62: 79-84.
- [3] JOHNSON G, DONNELLY B J, JOHNSON D K. The chemical nature and precursors of clarified apple juice sediment[J]. J of Food Science, 1968, 33: 254-257.
- [4] TADA AKI W, CHANG Y L. The influence of simple and condensed phenolics on the clarification of apple juice by honey[J]. J Sci Food Agric, 1987, 40: 275-281.
- [5] CHEYNIER V, OSSE C, RIGAUD J. Oxidation of grape juice phenolic compounds in model solutions[J]. J Food Sci, 1988, 53: 1729-1731, 1760.
- [6] ASANO K, SHINAGAWA K, HASHIMOTO N. Characterization of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation[J]. J Am Soc Brew Chem, 1982, 40: 147-154.
- [7] WU L C, SIEBERT K J. Characterization of haze-active proteins in apple juice[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 828-834.
- [8] 石碧, 狄莹. 植物多酚[M]. 北京: 科学技术出版社, 2001.
- [9] 蔡菁华, 蔡同一, 倪元颖, 等. 酶解对苹果汁混浊的影响[J]. 食品科学, 2003, 24(9): 69-72.
- [10] 汪家政. 蛋白质技术手册[M]. 北京: 科学技术出版社, 2000.