

浓缩苹果汁多糖对浊度的影响

李全宏, 李 娜

(中国农业大学食品科学与营养工程学院 北京 100083)

摘 要: 采用醇沉法从浓缩苹果汁中提取多糖, HPLC 测得苹果汁多糖由葡萄糖、果糖、阿拉伯糖组成, 阿拉伯糖和葡萄糖聚合参与混浊的形成。建立多糖-蛋白质模拟体系(pH3.7 的磷酸钠缓冲溶液)发现, 浊度随着多糖和蛋白质浓度的增加呈上升趋势, 多糖能降低蛋白质-单宁酸聚合产生的浊度。

关键词: 浓缩苹果汁; 多糖; 蛋白质

Effect of Polysaccharide on Concentrated Apple Juice Haze

LI Quan-hong, LI Na

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

Abstract: Polysaccharide from concentrated apple juice were extracted by ethanol. The polysaccharide of apple juice which was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) is composed of glucose, fructose and arabinose. Arabinose and glucose involved in post-haze. Polysaccharide-protein were combined in a model system of pH3.7 sodium phosphate buffer. The results suggested that the amount of haze formed increased with the increase of polysaccharide and protein concentration. Polysaccharide could decrease the amount of haze formed by protein-tannic acid.

Key words: concentrated apple juice; polysaccharide; protein

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)10-0089-03

引起浓缩苹果汁后混浊的原因主要是一些大分子物质如淀粉^[1]、多酚、蛋白质^[2]、果胶以及其他的无机组分如铜^[3]和铁^[4]。其中研究较多的是多酚^[5]和蛋白质^[6], 二者的自身作用和相互作用是苹果汁中最难去除和控制的因素^[7]。但是最近研究采用肽质量指纹谱鉴定的苹果汁中的蛋白质在N端具有糖基化位点^[8,9], 很容易结合多糖, 因此怀疑多糖参与蛋白质-多酚的反应而影响混浊的形成。有研究表明, 多糖同胶体相互作用, 保护胶体, 减缓混浊或沉淀形成, 原因是多糖竞争性占据和蛋白质或多酚结合的部位, 阻碍了蛋白质和多酚的相互作用^[10], Siebert 建立了阿拉伯葡聚糖(AG)-儿茶素-明胶模拟体系, 发现加入AG后的浊度要比单独的儿茶素-明胶模拟体系浊度高, 说明AG能与蛋白质和多酚反应参与混浊的形成。

本实验从浓缩苹果汁中提取蛋白和多糖, 建立多种模拟体系, 研究多糖和蛋白质产生的浊度, 以及多糖对蛋白质-单宁酸浊度的影响。

1 材料与仪器

1.1 材料

小国光苹果 中国农业大学农贸市场。
DEAE-Sepharose Fast Flow Pharmacia公司。
果胶酶、淀粉酶 山东烟台北方安德利果汁股份有限公司。

1.2 设备

高速冷冻离心机(GL-20G-) 上海安亭科学仪器厂; 分光光度计(T6) 北京普析通用仪器有限责任公司; 旋转蒸发器(R-201) 上海申顺生物科技有限公司; 真空冷冻干燥机(LGJ-18) 军事医学科学院实验仪器厂; 散射式光电浊度仪(WGZ-100型) 上海珊科光学仪器; 精密pH计(pHS-3C型) 上海雷磁仪器厂; 电子天平(BP2110型) 上海天平仪器厂。

1.3 苹果汁中蛋白质的提取

采用山东烟台北方安德利果汁股份有限公司的生产工艺制得浓缩苹果汁, 将浓缩苹果汁加水稀释至11.5Brix, 加入80%的饱和硫酸铵沉淀, 静置过夜后离心(12000r/min, 20min), 所得沉淀透析并冻干。将冻干燥后的样品上DEAE-Sepharose Fast Flow柱层析

收稿日期: 2006-08-17

基金项目: 国家863项目(2002AA245091)

作者简介: 李全宏(1966-), 男, 副教授, 研究方向为农产品加工与贮藏。

(26 × 16), 以 0.2mol/L 的 NaCl (醋酸钠缓冲溶液, pH5.8) 进行阶段洗脱, 流速 2ml/min, 得到单一的蛋白组分, 将收集到的蛋白充分透析后冷冻干燥备用。

1.4 苹果汁中多糖的提取

将浓缩苹果汁稀释至 11.5Brix, 加入 80% 的乙醇, 静置过夜, 离心(4800r/min, 20min), 将沉淀中的乙醇挥干, 冷冻干燥备用。

1.5 单糖种类和含量测定

1.5.1 材料与设备

标准品 葡萄糖、果糖、阿拉伯糖; 高效液相色谱设备 Waters(北京林业科学研究院); 柱 Sugar-pak-1 (0.65cm × 30cm); 流动相 H₂O; 流速 0.7ml/min; 检测器 RI: 4x; 柱温 90。

1.5.2 方法(HPLC)

标准溶液配制: 精密称取葡萄糖、阿拉伯糖、果糖标样 50mg 于 25ml 容量瓶中, 加水溶解并定容, 摇匀备用。

样品溶液处理: 精密称取果汁多糖 200mg 于 50ml 容量瓶中, 加 1mol/L HCl 溶解并定容, 100℃ 水解 2h, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 清液待测定。

取 25 μl 溶液进行色谱分析, 采用面积归一法计算各单糖含量。

外标法定量:

$$C = \frac{C_1 \times A_2 \times V_2 \times 100}{C_2 \times A_1 \times V_1 \times 1000}$$

式中, C 为 100g 样品中各糖含量(g); C₁ 为标样进样何中各糖含量(μg); C₂ 为样品称样量(g); V₁ 为样品定容体积(μl); V₂ 为样品定容体积(μl); A₁ 为标样中各组分峰面积; A₂ 为样品中各相应峰面积。

1.6 多糖和蛋白质聚合的反应

将不同浓度的蛋白质和多糖原液(用 pH3.7 的 0.02mol/L 的磷酸钠缓冲液溶解)混合后, 在振荡器上混合 1min, 室温下静置 30min, 测浊度, 每组平行测三次。

1.7 多糖、单宁酸和蛋白质的聚合对浊度的影响

将不同浓度的蛋白质、单宁酸、多糖原液(用 pH3.7 的 0.02mol/L 的磷酸钠缓冲液溶解)混合后, 在振荡器上混合 1min, 室温下静置 30min, 测浊度, 每组平行测三次。

2 结果与分析

2.1 苹果汁多糖的单糖组成及含量分析

采用 HPLC 法测定鲜榨浓缩苹果汁和同一批次放置 6 个月的浓缩苹果汁的多糖组成, 因为 6 个月后果汁有沉淀出现, 所以将此果汁高速离心(12000r/min, 20min),

取上清液醇沉多糖。由表 1 可以看出, 鲜榨苹果汁多糖除了含有葡萄糖、果糖外, 还有阿拉伯糖, 而放置 6 个月后的果汁多糖则不含有阿拉伯糖, 并且葡萄糖含量下降, 说明阿拉伯糖和部分葡萄糖已经聚合形成大分子物质, 参与混浊的形成而被离心除去。

表 1 果汁多糖的单糖组成及含量(mg/g)

Table 1 Monosaccharide composition and content of apple juice polysaccharide (mg/g)

	葡萄糖	阿拉伯糖	果糖
鲜榨果汁	235.3	12.7	43.2
放置 6 个月后的果汁	197.5	-	40.8

2.2 多糖和蛋白质的聚合与其浓度的关系

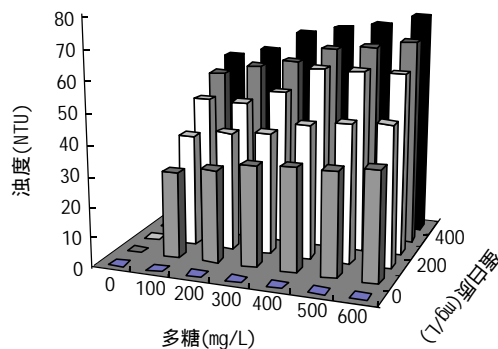


图 1 不同浓度的多糖和蛋白质聚合后产物的浊度

Fig.1 Haze produced in high concentration of tannic acid and high concentration of protein

图 1 是不同浓度的多糖和蛋白质的聚合与其浓度的关系, 所用多糖由浓缩苹果汁醇沉而得。可以看到, 浊度随着多糖和蛋白质浓度的增加呈上升趋势。

2.3 多糖对蛋白质 - 单宁酸的影响

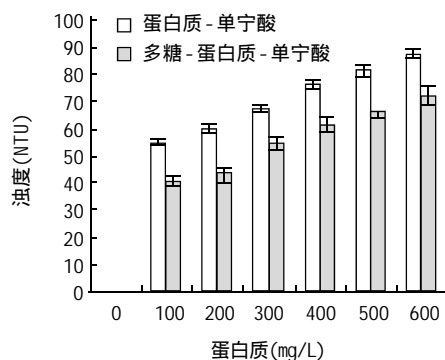


图 2 多糖对蛋白 - 单宁酸聚合的影响

Fig.2 Effect of polysaccharide on protein-tannic acid haze formation

图 2 是多糖对蛋白质 - 单宁酸聚合的影响, 单宁酸浓度为 300mg/L, 多糖浓度为 300mg/L, 可以看到多糖

能降低蛋白质-单宁酸聚合产生的浊度。慕菁华研究了淀粉对澄清果汁混浊的影响,发现淀粉参与混浊的形成,但去除蛋白质和多酚后,淀粉引起的混浊也消失^[10],说明多糖是靠与蛋白质或多酚的相互作用形成混浊。Waters 等人研究了葡萄酒中多糖对蛋白形成混浊的影响,发现多糖能降低蛋白质引起的浊度^[12~15]。Jackson(1994)研究表明:多糖同胶体相互作用,保护胶体,减缓混浊形成或阻止混浊或沉淀形成。原因是多糖竞争性占据和蛋白质或多酚结合的部位,阻碍了蛋白质和多酚的相互作用^[10]。

3 结 论

3.1 HPLC 测得苹果汁多糖由葡萄糖、果糖、阿拉伯糖组成,阿拉伯糖和葡萄糖聚合参与混浊的形成。

3.2 通过建立多糖-蛋白质模拟体系发现,浊度随着多糖和蛋白质浓度的增加呈上升趋势,多糖能降低蛋白质-单宁酸聚合产生的浊度。

参考文献:

- [1] Heatherbell D A. Haze and sediment formation from starch degradation products in apple wine and clarified apple juice[J]. *Confructa*, 1976, 21(3): 36-42.
- [2] Heatherbell D A. Haze and sediment formation in clarified apple juice and apple wine[J]. *Alimenta*, 1976, 15: 151-154.
- [3] Keiser M E, Pollard A, Timberlake C F. Metallic components of fruit juices[J]. *J Sci Food Agric*, 1957, (8): 151-153.
- [4] Bruuner H R, Anner H. Analysis of beverage-enzymatic procedure, beverage turbidities[J]. *Confructa Stud*, 1986, 30: 183-187.
- [5] 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.
- [6] Van Buren J P. Avoiding haze in clarified apple juice[R]. Special Report 67, Juice Technology Workshop, Geneva and New York, New York State Agricultural Experiment Station, 1984. 18-24.
- [7] 慕菁华,蔡同一,倪元颖,等.活性炭对苹果汁中多酚和混浊物的吸附研究[J]. *食品与发酵工业*, 2003, 29(4): 11-14.
- [8] 李娜,李全宏,蔡同一.与浓缩苹果汁后混浊有关的蛋白质组成分析与性质研究[J]. *食品科学*, 2005, 26(8): 106-110.
- [9] Oh H I, Hoff J E, Armstrong G S, et al. Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes[J]. *J Agric Food Chem*, 1980, 28: 394-398.
- [10] 慕菁华.苹果浓缩汁二次混浊形成机理及控制技术研究[D].北京:中国农业大学,2003.
- [11] Siebert K J, Carrasco A, Lynn P Y. Formation of protein-polypheol haze in beverages[J]. *J Agric Food Chem*, 1996, 44: 1997-2005.
- [12] Waters E J, Dupin I V S, Stockdale V J. A review of current knowledge on polysaccharides which protect against protein haze in white wine[J]. *Aust Grap Winemaker*, 2000, 438(13): 15-16.
- [13] Dupin I V S, Stockdale V J, Williams P J, et al. Saccharomyces cerevisiae mannoproteins that protect wine from protein haze: evaluation of extraction methods and immunolocalization[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(4): 1086-1095.
- [14] Waters E J, Pellerin P, Brillouet J M. A saccharomyces mannoprotein that protects wine from protein haze[J]. *Carbohydrate Polymers*, 1994, 23(3): 185-191.
- [15] Waters E J, Pellerin P, Brillouet J M. A wine arabinoxylan-protein that reduces heat-induced wine protein haze[J]. *Bios Biotech*, 1994, 58(1): 43-48.

欢迎订阅《酿酒》杂志

邮发代号:14-62

《酿酒》杂志是我国酿酒行业创办的专业性期刊。出版时间早,发行量大,反映讯息快。深受企业、科研、大中专院校、广大管理干部和科技人员欢迎。

《酿酒》杂志1974年创刊,原名《黑龙江发酵》,为季刊,1982年改名为《酿酒》,1985年改为双月刊。国内外公开发行的专业技术性刊物。

酿酒杂志2000年获“全国中文核心期刊”,中国学术期刊综合评价数据库来源期刊,《中国期刊网》、《中国学术期刊光盘版》全文收录期刊。为美国化学文摘摘选为来源期刊,为全国统计源期刊。

《酿酒》杂志由中国标准化协会、黑龙江省轻工科学研究所和黑龙江省酒业协会主办,国内外公开发行。国内统一连续出版物号CN23-1256,国际标准连续出版物号ISSN1002-8110,国外代号BM6776。

本刊为双月刊,可在当地邮局订阅,也可直接汇款至编辑部,我部常年订阅。

双月刊,大16开本,58.80元/年

地址:哈尔滨市道里区端街43号

电话:0451-84677504

传真:0451-84677504

邮编:150010

Email:zhntnj@263.net