

# 多酚和蛋白质对苹果浓缩汁浊度的影响

李娜, 李全宏\*, 赵雅松

(中国农业大学食品科学与营养工程学院 北京 100083)

**摘要:** 用从苹果浓缩汁中提取的蛋白质, 加入单宁酸建立模拟体系, 测定浊度, 并通过响应曲面分析了单宁酸和蛋白质对苹果汁浊度的影响, 结果表明, 苹果汁中单宁酸与浊度的关系是线性增加的, 蛋白质与浊度的关系则是先上升后下降, 蛋白质浓度为 25mg/L 时产生的浊度最大。

**关键词:** 苹果浓缩汁; 浊度; 响应曲面

## Effects of Polyphenol and Protein on Apple Juice Haze

LI Na, LI Quan-hong\*, ZHAO Ya-song

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

**Abstract:** Haze-active protein extracted from apple juice concentrate, tannic acid that would affect haze formation so was added to a systematic study was carried out in a model system. Effects of polyphenol and protein on apple juice haze were investigated in the model system with a response surface method. The results showed that haze increased as the tannic acid concentration increased. While the protein concentration increased, the haze at first increased, then declined. The maximum haze occurred as the protein concentration was 25mg/L.

**Key words:** apple juice concentrate; haze; response surface

中图分类号: TS255.44

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)06-0079-04

形成苹果浓缩汁后混浊的化学因素有很多, 但最难去除和控制的是酚类氧化聚合而成的大分子物质, 或与蛋白质形成的聚合物<sup>[1]</sup>。许多学者对食品体系, 特别是啤酒中蛋白质和多酚的相互作用进行了深入研究<sup>[2~4]</sup>。蛋白质和多酚化合物结合, 初期是形成可溶的复合物, 这些复合物生长, 形成大的胶体颗粒, 散射光, 形成混浊, 若继续生长, 最后形成沉淀。许多因素如蛋白质、多酚的种类及浓度、体系中其它物质的存在如盐、乙醇以及环境条件如温度、氧气等都影响蛋白质和多酚的结合。Siebert 等人利用建立明胶-单宁酸的模拟系统, 研究了蛋白质和多酚浓度之间的配比和形成混浊的关系, 发现混浊形成与蛋白质和多酚的浓度比有很大的关系<sup>[5,6]</sup>。

这些研究多选用含脯氨酸多的蛋白质如血清蛋白、麦醇溶蛋白及明胶来建立模拟体系, 直接从果汁中分离多酚和蛋白质进行研究的则很少。

本文用从浓缩苹果汁中提取的蛋白质, 加入单宁酸建立模拟体系, 同时采用响应曲面分析单宁酸和蛋白质

对苹果汁浊度的影响, 确立蛋白质产生混浊的最高限度, 以期有利于生产上对果汁蛋白质含量的控制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和仪器

苹果浓缩汁 山东烟台北方安德利果汁股份有限公司; 高速冷冻离心机 上海安亭科学仪器厂; 分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; 旋转蒸发器 上海申顺生物科技有限公司; 真空冷冻干燥机 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。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 苹果汁中总酚含量测定(普鲁士兰法)

取果汁 5ml, 依次加 0.1mol/L FeCl<sub>3</sub> 0.5ml、0.08mol/L K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0.5ml、0.1mol/L HCl 0.5ml, 定容到 25ml, 50℃水浴, 反应 30min, 在波长 695nm, 测定吸光值, 空白用蒸馏水代替果汁, 每样做三次平行。用单宁酸

收稿日期: 2005-08-16

\*通讯作者

基金项目: 国家 863 项目(2002AA245091)

作者简介: 李娜(1981-), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工与储藏。

做基准物, 做标准曲线。

### 1.2.2 苹果汁中可溶性蛋白质的测定(Bradford法)

取0.35ml的果汁加入试管中, 然后在其中加入4.5ml的蛋白质反应液和0.5ml缓冲液, 用振荡器快速混匀, 在2min后, 595nm下测定吸光值。蛋白反应液是用100mg G-250与50ml 95%乙醇, 100ml 85%磷酸, 蒸馏水定容到1000ml。缓冲液是0.15mol/L的NaCl溶液。空白用0.35ml的蒸馏水代替果汁, 每样做三次平行。用BSA做标准曲线。

### 1.2.3 苹果汁蛋白质的分离提取

浓缩果汁稀释到11.5Brix, 加入80%的饱和硫酸铵, 静置6~8h后离心(12000r/min, 20min), 将沉淀透析后冷冻干燥。将冷冻干燥后的粗蛋白上DEAE-Sepharose Fast Flow柱层析(26×16), 以0.6mol/L的NaCl(磷酸钠缓冲溶液, pH6.2)进行洗脱, 流速1ml/min。将收集到的蛋白充分透析后冷冻干燥。

### 1.2.4 模拟体系

用去离子水配置pH3.7的0.02mol/L的磷酸钠缓冲液。用此缓冲溶液分别配制不同浓度的蛋白质原液和单宁酸原液。将不同浓度的蛋白质和单宁酸溶液混合后, 在振荡器上混合1min, 室温下静置30min, 测浊度, 每组平行测三次。

### 1.2.5 响应曲面试验

通过模拟体系的建立, 选定2个因素3个水平, 按正交旋转设计试验优化提取方案。自变量 $X_1$ (单宁酸浓度 $C_1$ , mg/L),  $X_2$ (蛋白质浓度 $C_2$ , mg/L)的五个水平(表1)及各变量在提取过程中对因变量的影响见表2。为了充分估计实验误差, 在实验的中心点进行5次重复并进行随机排序。

变量编码根据下述方程(1)进行。

$$x_i = (X_i - \bar{X}_i) / \Delta X_i \quad (1)$$

其中: $x_i$ 为自变量的代码值; $X_i$ 为自变量的真实值; $\bar{X}_i$ 为自变量在中心点的真实值; $\Delta X_i$ 为变化幅度。

表1 自变量值和对应的水平  
Table 1 Code and level factors chosen for the trials

自变量	真实值	编码值	水平		
			-1	0	1
单宁酸浓度(mg/L)	$X_1$	$x_1$	200	400	600
蛋白质浓度(mg/L)	$X_2$	$x_2$	10	25	40

对真实值的特征编码如下:

$$X_1 = (x_1 - 400) / 200$$

$$X_2 = (x_2 - 25) / 15$$

将结果标记为响应值 $Y_i$ 。对应 $Y_i$ 建立如下拟合方程。

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2$$

其中: $Y_i$ 为响应值, $\beta_0$ 为常数; $\beta_1$ 和 $\beta_2$ 为线性影响系数; $\beta_{11}$ ,  $\beta_{22}$ 为平方效果影响系数; $\beta_{12}$ 为交互作用系数。

模式的准确性通过多元回归系数 $R^2$ 检验。试验设计及分析软件采用美国SAS Institute Inc公司的SAS9.0。

## 2 结果与分析

### 2.1 正常苹果汁和混浊苹果汁中总酚和可溶性蛋白含量

本实验选择了无后混浊现象的正常苹果浓缩汁和有后混浊现象的苹果浓缩汁两种, 每一种果汁稀释到11.5Brix后, 分别进行多酚和蛋白质含量的测定, 选择了不同生产日期的6个批次的果汁, 同一生产时期生产的两种果汁作为一组, 共做3组, 每一批次做3次平行。

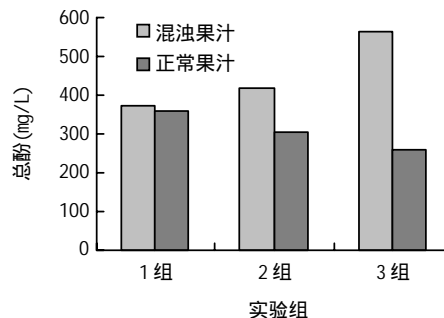


图1 正常果汁和混浊果汁的总酚含量

Fig.1 Total phenolics contents of normal juice and haze juice

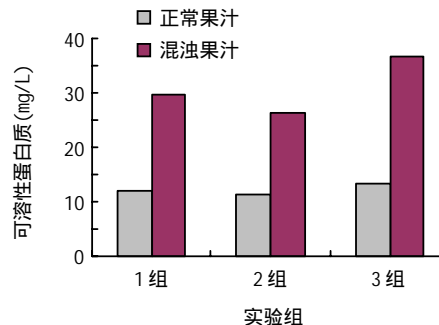


图2 正常果汁和混浊果汁的可溶性蛋白质含量

Fig.2 Soluble protein contents of normal juice and haze juice

由图1和图2可以看到, 有后混浊现象的苹果汁中多酚含量和蛋白质含量都高于正常果汁, 证实了后混浊现象与多酚和蛋白质有关。

### 2.2 单宁酸浓度和蛋白质浓度对果汁浊度的影响

单宁酸是一种公认的和混浊有关的多酚, 由于其易于和蛋白质形成混浊, 常用于啤酒的澄清, 也常用于作为模拟体系的酚类底物<sup>[4]</sup>。蛋白质为直接从浓缩苹果汁中分离提取得到, 对它的研究真实的反映了果汁中蛋白质对后混浊的影响。

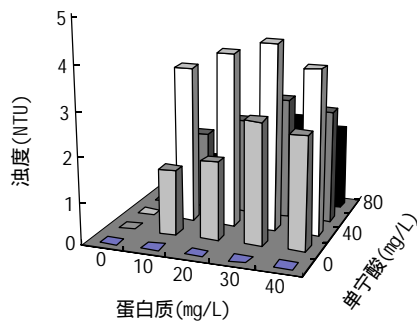


图3 低浓度的单宁酸和蛋白质聚合时浊度的变化

Fig.3 Haze produced in low concentration of tannic acid and protein

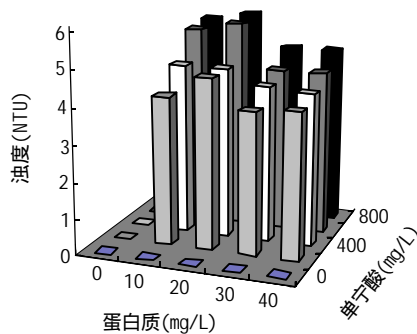


图4 高浓度的单宁酸和蛋白质聚合时浊度的变化

Fig.4 Haze produced in high concentration of tannic acid and protein

图3和图4是不同浓度的单宁酸和蛋白质聚合时浊度的变化,可以看到,当单宁酸浓度固定时,随着蛋白质浓度的增大,浊度值的走向有一个先升后降的过程;但是当蛋白质浓度固定时,对于单宁酸在浓度较小时(20~80mg/L)浊度值是先升后降,单宁酸浓度40mg/L时产生的浊度最大,单宁酸浓度较大时(200~800mg/L)浊度值变化的总趋势是由低到高。

### 2.3 响应曲面确定苹果汁中蛋白质产生混浊的最高值

表2 实验设计与结果  
Table 2 Experimental designs and results

序号	编码值		真实值		浊度
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	
1	-1	-1	200	10	3.85
2	-1	1	200	40	4.84
3	1	-1	600	10	4.49
4	1	1	600	40	6.05
5	-1.41421	0	117.16	25	6.23
6	1.41421	0	682.84	25	7.41
7	0	-1.41421	400	3.787	3.38
8	0	1.41421	400	46.21	4.92
9	0	0	400	25	6.53
10	0	0	400	25	6.57
11	0	0	400	25	6.53
12	0	0	400	25	6.55
13	0	0	400	25	6.57

由试验数据得到拟合方程:

$$Y_1 = 6.460001 + 0.439847 \times X_1 + 0.590989 \times X_2 + 0.010625 \times X_1 \times X_1 + 0.1425 \times X_1 \times X_2 - 1.324378 \times X_2 \times X_2 \quad (R^2 = 0.9456)$$

并得到响应曲面(图5)及单宁酸和蛋白质对浊度影响的走势图(图6)。

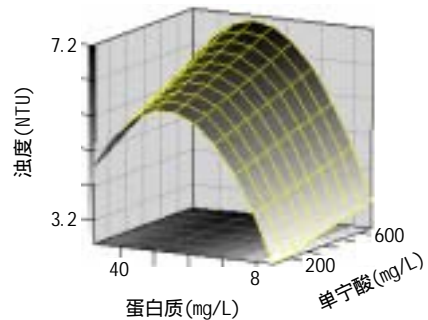


图5 蛋白质浓度和单宁酸浓度对浊度影响的响应曲面图

Fig.5 Response surface of effect of protein concentration and tannic acid concentration on haze

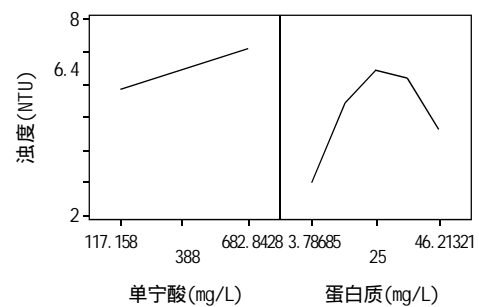


图6 单宁酸和蛋白质对浊度影响的走势图

Fig.6 Haze trend on between tannic acid and protein respectively

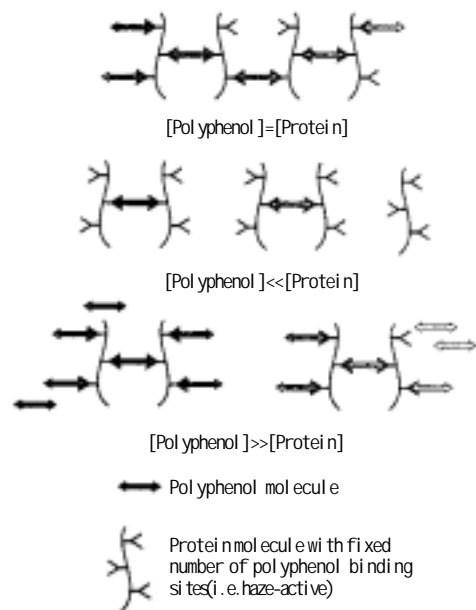


图7 蛋白质和多酚相互作用的理论模式

Fig.7 Model for protein-polyphenol interaction

# 油桃皮红色素的提取及稳定性研究

蒋新龙<sup>1</sup>, 蒋益花<sup>2</sup>

(1. 浙江省丽水学院应用生物系, 浙江 丽水 323000;

2. 浙江省丽水学院医学部, 浙江 丽水 323000)

**摘要:** 研究了油桃皮红色素的提取条件和稳定性, 结果表明, 用料液比 1:30(g:ml)、pH1 的 50% 乙醇作提取剂、在 50℃ 恒温浸提 40min, 提取效率较好。油桃皮红色素属花色苷类色素, 水溶性好, 对光、热(80℃ 以内)的耐受力强。pH 值对色素影响明显。金属离子  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  对色素色泽无影响, 而  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  有不良影响。色素的抗氧化能力较差而耐还原性能较好。蔗糖、葡萄糖和盐等添加剂对色素无影响。

**关键词:** 油桃; 色素; 提取; 稳定性

Study on Red Pigment Extraction and Properties of Peels from *Prunus persica* Var. *nectarina*(*Ait*)*Maxim*

JIANG Xin-long<sup>1</sup>, JIANG Yi-hua<sup>2</sup>

(1. Department of Applied Biological, Lishui College, Lishui 323000, China;

2. Department of Medical, Lishui College, Lishui 323000, China)

**Abstract:** Properties and extractions of the red pigment in the peels of *Prunus persica* Var. *nectarina*(*Ait*)*Maxim* were

收稿日期: 2005-08-27

作者简介: 蒋新龙(1963-), 男, 高级工程师, 研究方向为天然产物开发利用。

可以看出, 单宁酸与浊度的关系是线性增加的, 蛋白质与浊度的关系则是先上升后下降, 与前面的结论相符, 并且在蛋白质浓度为 25mg/L 时产生的浊度最大, 因此在生产上只要控制蛋白质的含量低于 25mg/L, 就能减少苹果汁后混浊的发生。

## 3 讨论

上述图 3 和图 4 产生的结果不相同的原因是如图 7 所示: 每一个多酚分子有固定的可连接蛋白质的部位, 同样每个蛋白质分子也有固定的可连接多酚的部位, 当两者结合部位的数目相等, 则可形成大量的复合物, 使浊度为最大, 如果相对多酚, 蛋白质含量多, 由于溶液中蛋白质的比例增加, 产生了交联, 即蛋白质分子被多酚分子连接成聚集体, 其结果是蛋白质更易沉淀, 但能够供多酚分子结合的表面积降低, 因而随蛋白质一起沉淀的多酚减少, 每个多酚只能结合两个蛋白质分子, 其余的未能结合到多酚的蛋白质自身形成聚集体, 进一步聚集, 形成的颗粒对光散射弱, 所以浊度减少。同样, 若相对蛋白质, 多酚含量多, 当溶液中蛋白质的浓度较低时, 众多的多酚分子在蛋白质表面结合形成单分子的疏水层。当结合的多酚分子达到一定数量, 使

蛋白质表面的疏水性足够大时, 沉淀随之发生。所有的蛋白质结合部位被多酚占据, 多余的多酚自身无法形成连接, 也使浊度降低<sup>[5]</sup>。

图 3 和图 4 还看出高浓度的单宁酸和低浓度的单宁酸在和相同浓度的蛋白质聚合时产生的浊度值并没有太大的变化, 说明单宁酸对浊度的影响是有限的, 只有单宁酸和蛋白质相互作用才能对苹果汁的浊度产生明显的影响, 证实了多酚与蛋白质的相互作用是导致苹果汁后混浊的主要原因。

## 参考文献:

- [1] Van Buren J P. Avoiding haze in clarified apple juice processed apple workshop[M]. New York State Agricultural Experiment Station, Ithaca, NY, 1992.
- [2] 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.
- [3] Van Buren J P, Way R D. Tannin hazes in deproteinized apple juice[J]. J of Food Science, 1978, 43: 1235-1237.
- [4] Siebert K J, Lynn P Y. Mechanisms of adsorbent action in beverage stabilization[J]. J Agric and Food Chem, 1997, 44(5): 4275-4280.
- [5] Siebert K J, Troukhanova N V, Lynn P Y. Nature of polyphenol-protein interactions[J]. J Agric and Food Chem, 1996, 44: 80-85.
- [6] Siebert K J, Carrasco A, Lynn P Y. Formation of protein-polyphenol haze in beverages[J]. J Agric Food Chem, 1996, 44: 1997-2005.