

酿酒葡萄皮水溶性膳食纤维的化学组成和 乳化稳定性

权娣红^{1,2}, 杨华峰^{2*}, 邹积赞², 刘小花², 王玉涛^{1*}, 于淑娟^{1,2,3}

(1. 喀什大学生命与地理科学学院, 新疆帕米尔高原生物资源与生态重点实验室, 新疆喀什 844000) (2. 新疆海瑞盛生物工程股份有限公司, 新疆库尔勒 843000) (3. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 该文以酿酒葡萄皮为原料, 采用热酸法和酶法提取水溶性膳食纤维 (Soluble Dietary fiber, SDF), 测定其组分及含量, 并利用两种水溶性膳食纤维 SDF1 (热酸法提取)、SDF2 (酶法提取) 制备水包油型乳液, 以粒径分布跨度 *Span* 值表示乳液均一度, 体积平均粒径大小 $D_{4.3}$ 值为指标, 研究其乳化稳定性。结果显示: SDF2 的蛋白质含量、半乳糖醛酸、中性糖、甲酯化度和乙酰化度以及分子量大小都低于 SDF1; 将乳液在 4 °C、20 °C 和 60 °C 条件下分别储存 15 d 后, 发现 SDF1 样品乳液的 $D_{4.3}$ 从初始值 1.10 μm 分别增加到 4.29 μm (4 °C)、5.72 μm (20 °C) 以及 7.57 μm (60 °C), 表明低温条件下 SDF1 乳液的稳定性最好; SDF2 样品乳液 $D_{4.3}$ 从 3.73 μm 增加到 17.7 μm (4 °C)、15.30 μm (20 °C) 以及 12.47 μm (60 °C), 最后 $D_{4.3}$ 均达到 12 μm 以上, 表明 SDF2 样品乳液整体稳定性差; SDF1 的 *Span* 值为 (3.37~4.18), 显著大于 SDF2 (2.84~3.52), 故 SDF2 样品乳液的均一性优于 SDF1。研究表明, 酶处理后的 SDF 乳化活性显著下降。因此保证 SDF 中蛋白质和中性糖含量等各种组分的完整性能显著提高 SDF 的乳化稳定性。

关键词: 酿酒葡萄皮; 水溶性膳食纤维; 化学成分; 乳化稳定性

文章编号: 1673-9078(2021)09-93-101

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.0861

Study on the Chemical Compositions and Emulsification Stability of Water-soluble Dietary Fibers from Wine Grape Skin

QUAN Di-hong^{1,2}, YANG Hua-feng^{2*}, ZOU Ji-yun², LIU Xiao-hua², WANG Yu-tao^{1*}, YU Shu-juan^{1,2,3}

(1. College of Life and Geographic Sciences, Kashi University, Key Laboratory of Biological Resources and Ecology of Pamirs Plateau in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Kashgar 844000, China)

(2. Xinjiang Hai Rui Sheng Biological Engineering Limited by Share Ltd., Korla 843000, China)

(3. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Soluble dietary fiber (SDF) was obtained from wine grape skin by two different methods, viz. hot acid and enzymatic methods, and the chemical compositions of the two types of water-soluble dietary fiber, viz. SDF1 (extracted via hot acid method) and SDF2 (obtained using enzyme method), were determined. Subsequently, SDF1 and SDF2 were used to prepare oil-in-water emulsions. The emulsion uniformity was examined using the particle size distribution, while the emulsifying stability was determined using the volume-weighted mean diameter ($D_{4.3}$). The protein, galacturonic acid, and neutral sugar contents, degrees of methylation and acetylation, and molecular weight of SDF2 are lower than those of SDF1. The emulsions were stored separately for 15 d at 4, 20, and 60 °C. After storage, the $D_{4.3}$ value of SDF1 emulsion increases from 1.10 μm to 4.29 μm (4 °C), 5.72 μm

引文格式:

权娣红, 杨华峰, 邹积赞, 等. 酿酒葡萄皮水溶性膳食纤维的化学组成和乳化稳定性[J]. 现代食品科技, 2021, 37(9): 93-101

QUAN Di-hong, YANG Hua-feng, ZOU Ji-yun, et al. Study on the chemical compositions and emulsification stability of water-soluble dietary fibers from wine grape skin [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 93-101

收稿日期: 2020-09-14

基金项目: 新疆维吾尔自治区重大科技专项 (2017A01001-4)

作者简介: 权娣红 (1992-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 酿酒葡萄皮膳食纤维结构、功能性质及应用, E-mail: 1539180497@qq.com

通讯作者: 杨华峰 (1970-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 生物与葡萄酒酿造, E-mail: yanghuafeng@xiangdu.com; 共同通讯作者: 王玉涛 (1979-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 遗传学, E-mail: 408007357@qq.com

(20 °C), and 7.57 μm (60 °C), indicating the higher stability of SDF1 emulsion at low temperatures. After storage, the $D_{4.3}$ value of SDF2 emulsion increases from 3.73 μm to 17.7 μm (4 °C), 15.30 μm (20 °C), and 12.47 μm (60 °C). Eventually, the values of SDF2 emulsions stored at different temperatures reach $\geq 12 \mu\text{m}$, indicating an unsatisfactory overall stability of SDF2 emulsions. The *span* of SDF1 ranges from 3.37 to 4.18, which is significantly higher than that of SDF2 (2.84~3.52); therefore, SDF2 is more homogeneous than SDF1. After enzyme treatment, the emulsifying activity of SDF decreases significantly. Hence, the emulsifying stability of SDF can be considerably improved by ensuring the integrity of components such as proteins and neutral sugars in SDF.

Key words: wine grape skin; water soluble dietary fiber; chemical composition; emulsifying stability

葡萄在世界各地的种植面积和产量都非常高,主要是用于鲜食,还有用于酿酒、加工成饮品、制成葡萄干等加工产品。它在中医学上,也具有一定的药用效果,《神农本草经》中记载其果实有“益气倍力,强志,令人肥健耐饥,忍风寒”的功效^[1]。新疆的葡萄栽培面积占我国总栽培面积的 25%左右。葡萄酒的产量大约占到全国葡萄酒总产量的 34%^[2]。在葡萄酒的酿制过程中,经过榨汁处理或发酵后的葡萄皮渣大约占原果总质量的 20%~30%,其中主要有葡萄籽 4%,梗 6%,皮 8%^[3]。这些废弃物常被当作肥料或者饲料处理,这样资源的利用率极低,不仅造成了浪费,还污染了环境。因此,合理开发利用葡萄皮渣,对促进葡萄产业的可持续发展具有重要的意义。

水溶性膳食纤维结构中有部分羧基被酯化及含有少量蛋白质^[4],使其具有一定的乳化性。许多学者^[4,5]利用蛋白质和多糖之间的相互作用来促进极端条件下蛋白质的乳化性能,发现蛋白质和多糖形成的复合物比单独的蛋白质具有更好的表面活性。因此,本研究以酿酒葡萄皮渣为原料,采用热酸法及酶解法制备葡萄皮水溶性膳食纤维,测定其常规营养成分、中性糖组成、半乳糖醛酸含量、酯化度和重均分子量;探究两种膳食纤维的组成和乳化特性,比较两者稳定水包油型乳液的能力,以期酿酒葡萄皮渣膳食纤维的开发和应用提供数据参考,也为葡萄酒酿酒下脚料的创新开发利用提供一个新的研究思路。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

葡萄皮,新疆乡都酒业有限公司;葡萄糖(Glc)、阿拉伯糖(Ara)、半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)、半乳糖醛酸(GalA),美国Sigma公司;Rapidase C80果胶酶,荷兰DSM公司;3-苯基苯酚,上海TCI公司;中链脂肪酸(MCT),上海厚满生物科技有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 设备

VER TEX-70 傅里叶变换红外光谱仪,德国Bruker公司;ICS-5000 阴离子交换色谱(HPAEC)系统,美国Dionex公司;Waters-1525 高效液相色谱,美国Waters公司;Mastersizer-3000 粒度仪,英国马尔文公司;JY98-IIIDN 超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技公司;TU-1901 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器公司。

1.3 方法

1.3.1 葡萄皮膳食纤维预处理

将酿酒葡萄皮渣分离去除籽、梗,清洗干净,45 °C烘干,粉碎过 60 目筛,备用。

1.3.2 未脱脂脱蛋白葡萄皮水溶性膳食纤维

取预处理好的葡萄皮粉末,按料液比 1:20 加入蒸馏水,用盐酸调节 pH 至 1.5,于 85 °C 水浴中搅拌提取 1.5 h,过滤后对滤液离心,取上清液用 3 倍体积 95% (V/V) 乙醇醇沉 6 h,离心倾去乙醇,用 75% (V/V) 乙醇洗涤两次,再用 95% (V/V) 乙醇洗涤一次,分别离心,分离沉淀,在 45 °C 烘箱中烘干,即得未脱脂脱蛋白葡萄皮水溶性膳食纤维,记为 SDF1。

1.3.3 脱脂脱蛋白葡萄皮水溶性膳食纤维^[6]

取预处理好的葡萄皮粉末,按料液比 1:2.5 加入正己烷,55 °C 水浴震荡器中反应 2 h 后弃上清,重复 3 次,放到通风处挥去正己烷,得到脱脂葡萄皮原料粉末。取脱脂葡萄皮粉末 10 g 按料液比 1:10 加水搅拌,于 95~100 °C 水浴糊化 15 min 后置于水浴振荡器中,于 50 °C 条件下震荡 30 min,调 pH 至 5.5,加耐高温 α -淀粉酶 0.5 g,于 95 °C 条件下震荡 1 h;调 pH 至 4.2,加 0.03 g 糖化酶于 60 °C 酶解 1 h;调 pH 至 7.0,加 0.36 g 中性蛋白酶,于 55 °C 条件下酶解 2 h,沸水浴灭酶 15 min,冷却,离心分离残渣,上清液用 3 倍体积 95% (V/V) 乙醇醇沉 6 h,其余洗涤程序同 1.3.2,得脱脂脱蛋白葡萄皮水溶性膳食纤维,记为 SDF2。

1.4 化学组成及结构分析

1.4.1 葡萄皮 SDF 基本成分测定

水分、灰分,蛋白质含量分别按国标《GB 5009.3-2016 食品中灰分的测定》、《GB 5009.4-2016 食品中总灰分的测定》、《GB 5009.5-2016 食品中蛋白质的测定》进行测定。

1.4.2 中性糖含量测定

使用高效阴离子色谱(HPAEC)测定葡萄皮 SDF 中中性糖的含量^[7,8]。

样品预处理:准确称取 5 mg 葡萄皮 SDF 样品于消化管,加入 1 mL Rapidase C80 果胶酶(乙酸钠缓冲液稀释 250 倍),45 °C 水浴下酶解 12 h,然后加入 1 mL 4 mol/L 三氟乙酸(TFA),120 °C 油浴 2 h 使样品完全酸解,在 75 °C 下水浴蒸干,加蒸馏水震荡洗出消化管内物质,加氨水定容至 100 mL。

色谱条件:采用 Carbowpac PA-1 保护柱(4 mm×50 mm)和 Carbowpac PA-1 分析柱(4 mm×250 mm);采用 10 mmol/L NaOH 进行中性糖洗脱;利用 ED40 电化学检测器对样品进行检测;pH 参比电极为 P/N:067819;柱温箱温度为 30 °C;进样量为 25 μL。

1.4.3 分子量测定

采用高效液相体积排阻色谱(HPSEC)法测定葡萄皮 SDF 的重均分子量^[7]。

样品预处理:葡萄皮 SDF 样品用流动相配制成 1 mg/mL 溶液,过 0.45 μm 滤膜后测定。

色谱条件:Ultrasphere Guard (40 mm×6 mm), Ultrasphere 2000 (300 mm×7.5 mm) 和 Ultrasphere 1000 (300 mm×7.5 mm) 凝胶色谱柱串联;流动相:100 mmol/L NaNO₃ 加 0.04% NaN₃;流速 0.6 mL/min;采用 2414 示差折光检测器(美国 Waters 公司)以及 2487 双波长紫外检测器(美国 Waters 公司)检测;柱温 35 °C,进样量 100 μL。

1.4.4 甲酯化度(DM),乙酰化度(DA)含量测定

采用高效液相色谱法(HPLC)测定葡萄皮 SDF 的甲酯化度和乙酰化度^[9]。

样品预处理:准确称量 30 mg 葡萄皮 SDF 样品于 2 mL 离心管,加入 1 mL 由异丙醇和 0.4 mol/L NaOH 按 1:1 配置的皂化液皂化 2 h,离心(10000 r/min) 5 min,后取上清液于 1 mL 进样瓶中(经 0.45 μm 滤头过滤)。色谱条件:采用 Aminex HPX-87H 分析柱;流动相:5 mmol/L H₂SO₄ 溶液;流速为 0.5 mL/min;采用 Waters 2414 示差折光检测器进行检测;柱温 30 °C;进样量为 20 μL。

1.4.5 半乳糖醛酸(GalA)含量测定

采用紫外可见分光光度法测定半乳糖醛酸的含量^[10,11]。

半乳糖醛酸标准曲线的绘制:称取半乳糖醛酸样品 5 mg 溶于去离子水,定容至 100 mL,分别取不同体积半乳糖醛酸标准溶液到 10 mL 带塞消化管中,加水至 400 μL,冰水浴条件下加入 2.5 mL 浓硫酸,混合均匀后置于沸水浴中 5 min 使其多糖完全水解,随后加入 50 μL 显色剂,空白样加入 50 μL 0.5% NaOH 溶液,混合均匀后,静置 20 min,以两个空白样品校零,520 nm 波长下测定吸光度。

样品中 GalA 的测定:称取 5 mg 葡萄皮 SDF 样品,溶解并定容至 100 mL。取 400 μL 样品于 10 mL 具塞试管中,其余步骤同标准曲线绘制方法进行,测定 520 nm 处的吸光度,样品做三个平行。

1.4.6 红外光谱分析

取干燥葡萄皮 SDF 粉末 2 mg 于玛瑙研钵中加入 100 mg 干燥 KBr 粉末,完全研细混匀,压片处理,红外光谱分析,扫描波长为 500 cm⁻¹~4000 cm⁻¹。

1.4.7 乳液制备及粒径测定

葡萄皮 SDF 和 SDF 水包油乳液制备^[12]:0.5 g 样品溶于 44.5 g 去离子水中,以盐酸和氨水调节 pH 至 3.5,加入 5 g MCT 样品在 20000 r/min 下高速剪切预均质 2 min 后,置于超声波细胞破碎仪中以 700 W 功率超声均质 2 min,获得均匀细腻乳液,超声持续 2 s,间隔 2 s,同时施以循环冰浴防止乳液过热。

乳液粒径分布及平均粒径测定:乳液样品制备完成后,测定鲜乳液的乳液粒径,以体积平均粒径 $D_{4,3}$ 值表示各果胶乳化活性,采用激光粒度仪测定乳液的 $D_{4,3}$ ^[12],蒸馏水与中链脂肪酸的折射率分别为 1.33 和 1.45。 $D_{4,3}$ 的计算公式如下:

$$D_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

乳化稳定性的测定:将乳液放置在 10 mL 血清瓶中分别于冰箱中低温 4 °C,室温(约 20 °C),烘箱中高温 60 °C 保存,每隔 3 d 测定乳液粒径 $D_{4,3}$ 值,连续测定 5 次(15 d),以粒径的变化表示乳液的稳定性。为更好地表示乳液粒径分布,用粒径分布跨度 $Span$ ^[12] 表示, $Span$ 的计算公式如下:

$$Span = (d_{90} - d_{10}) / d_{50}$$

其中 d_{10} 、 d_{50} 、 d_{90} 表示 10%、50%、90% 的油滴粒径小于或等于某一特定值的粒径值。

1.5 数据处理

本文采用 Origin 9.1 绘制数据图,统计软件为 SPSS 25 软件。

2 结果分析

2.1 基本成分分析

葡萄皮 SDF 的主要成分是果胶,而果胶最具代表的物质是半乳糖醛酸,如表 1 中,其 SDF1 的半乳糖醛酸含量是 71.18%, SDF2 中半乳糖醛酸的含量为 64.61%。由于酶的分解作用以及提取时间和提取温度的影响, SDF 提取时间和提取温度都较小, SDF1 的蛋白质含量(5.66%)大于 SDF2(1.93%)。SDF2 的提取过程中,时间长,且提取温度更为剧烈。而温度的升高同样破坏蛋白质的结构,使其变形流失。

表 1 葡萄皮水溶性膳食纤维的基本成分

Table 1 Basic ingredients of water-soluble dietary fiber from

grape skin		
成分	SDF1	SDF2
得率/%	9.09±0.06 ^a	5.54±0.10 ^a
水分/%	9.71±0.80 ^a	7.37±0.87 ^a
灰分/%	4.33±0.01 ^a	2.17±0.03 ^a
蛋白质/%	5.66±0.00 ^a	1.93±0.01 ^a
半乳糖醛酸/mol%	76.18±0.07 ^a	67.01±0.00 ^a
阿拉伯糖/mol%	0.24±1.01 ^a	0.24±0.01 ^b
鼠李糖/mol%	0.47±0.02 ^a	0.66±0.01 ^a
半乳糖/mol%	1.61±0.01 ^a	0.9±0.21 ^a
葡萄糖/mol%	1.29±0.00 ^a	0.46±0.03 ^a
木糖/mol%	0.38±0.05 ^a	0.12±0.00 ^a
中性糖/mol%	3.99±0.11 ^a	2.38±0.07 ^a
甲酯化度/%	31.85±0.08 ^a	24.44±0.11 ^a
乙酯化度/%	5.51±0.03 ^a	2.45±0.01 ^a
重均分子量/u	3.12×10 ⁵ ±0.00 ^a	1.07×10 ⁵ ±0.00 ^a

注:同行不同字母表示差异显著($p<0.05$)。

SDF1 的中性糖含量(3.99%)大于 SDF2(2.38%),表明 SDF1 分子中存在更多的中性糖侧链。说明酶的降解作用使得到的 SDF2 侧链结构断裂,变成结构较简单的膳食纤维及部分低聚糖和小分子物质,因此中性糖含量减少。其 SDF1 中的半乳糖,葡萄糖,木糖含量均大于 SDF2,半乳糖在酸性体系中相对稳定,不易发生降解;阿拉伯糖含量均为 0.24%,说明阿拉伯糖受酶的影响较小,但在酸性条件下不稳定,强酸性条件下长时间处理会使阿拉伯糖降解;SDF1 的鼠李糖含量为 0.47%, SDF2 为 0.66%,鼠李糖是水溶性膳食纤维(果胶)鼠李半乳糖醛酸聚糖 I 型结构区域的组成单元之一,通过 α -1,4-糖苷键与 GalA 交替相连^[13]。SDF1 的 Rha 含量低于 SDF2,可能是因为 SDF1 样品的制备时间较短,未能充分溶出,且含有部分非膳食纤维物质,而 Rha 含量也受到其他非膳食纤维的干扰。SDF1 的 DM 含量(31.85%)大于 SDF2(24.44%),

两者虽有差异,但均为低脂果胶,与文献报导的葡萄皮酯化度平均值(14.17%)^[14]相比要大。同其他商品水溶性膳食纤维相比,葡萄皮 SDF 的重均分子量相对较小,约为 317 ku 和 107 ku(橘皮为 485 ku,甜菜为 562 ku,苹果为 963 ku)^[15]。

分子量计算采用葡聚糖标品($M_w=11.6-608$ ku)建立分子量回归曲线,根据葡聚糖的标准品,按照多分散多糖的组分质量占比所积分出来的数值,计算过程使用 Empower 软件(美国 Waters 公司)计算出重均分子量的大小。

2.2 分子量分布

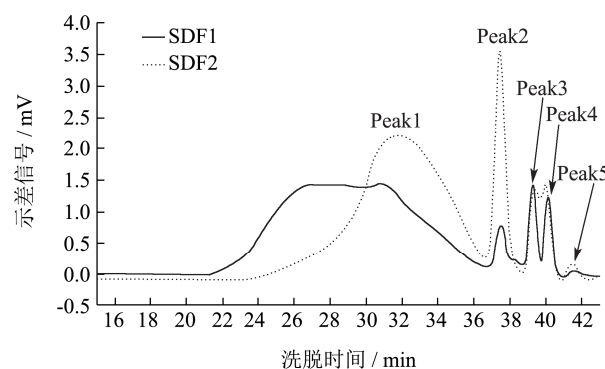


图 1 葡萄皮 SDF 相对分子量分布图

Fig.1 Molecular weight distribution of SDF1 and SDF2

文章中的分子量分布曲线采用体积排阻色谱法测定,该方法主要根据被测组分的分子尺寸大小的差异进行分离测定,主要考察的是葡萄皮水溶性膳食纤维线状、团状尺寸的大小。分子尺寸越大,在色谱柱中的保留时间越短,越早被洗脱出来,分子尺寸越小,则洗脱时间越长。由图 1 可知,葡萄皮 SDF 的分子量分布曲线为典型的宽分布曲线,由 5 个洗脱峰组成:峰 1 (21.3~36.5 min),峰 2 (36.5~38.7 min),峰 3 (38.7~39.7 min),峰 4 (39.7~40.9 min) 以及峰 5 (41.0~42.4 min)。其中,峰 1 为宽峰,主要是 SDF 分子的分布曲线,其余的都是尖而窄的峰,峰 2 可能是葡萄皮水溶性膳食纤维溶液中游离的蛋白,而峰 3,峰 4 及峰 5 则有可能是一些游离于葡萄皮水溶性膳食纤维中的低聚糖,无机盐小分子物质,也可能是样品溶剂中的硝酸钠等低分子添加剂的洗脱峰。而峰 3,峰 4 及峰 5 具体代表的成分,目前尚不清楚,还需进一步研究。本文章主要研究葡萄皮水溶性膳食纤维分子的特性,因此峰 3,峰 4 及峰 5 在此不做深入研究,将峰 1 作为本研究讨论的重点。

图 1 可看出, SDF1 和 SDF2 的最早出峰时间分别是 21.3 min 与 23.1 min,与 SDF1 相比较,经过酶处理制备的 SDF2,其峰 1 有明显后移的趋势,说明 SDF2

中的大分子组分的相对含量减少,这是因为 SDF2 的制备中酶将大部分大分子物质降解,使得 SDF 的聚合度下降,大分子组分含量随之减少。但是这两种 SDF 的分子量与文献中以分子量作为指标研究最佳工艺时的最佳分子量 (20790 u)^[14]相比要大很多。

2.3 红外图谱分析

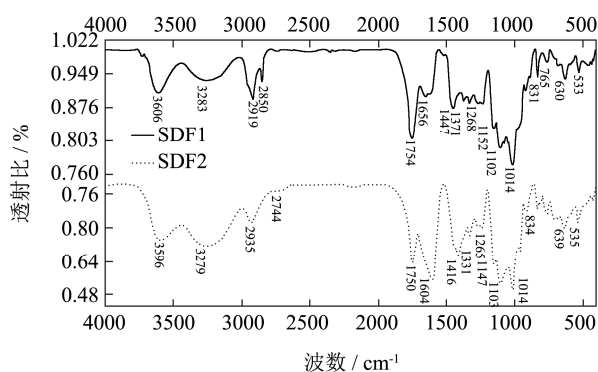


图2 葡萄皮 SDF 的 FT-IR 图谱

Fig.2 FT-IR map of grape skin SDF

葡萄皮 SDF 主要成分为多糖,多糖的红外光谱有一些共同的特征吸收峰,如图 2 所示,葡萄皮水溶性膳食纤维在 3700~3000 cm⁻¹ 内主要为 O-H, N-H 伸缩振动区,是多分子缔合的膳食纤维主要成分,在此区域内 SDF1 与 SDF2 光谱图极为相似,表明两种制备方式的不同工艺参数对葡萄皮水溶性膳食纤维的主要官能团没有显著的影响^[16]。

SDF1 和 SDF2 样品在 1750~1350 cm⁻¹ 的吸收峰主要反映羧基的状态^[17], 1735 cm⁻¹ 处的吸收带对应非电离的(甲酯化或质子化)羧基分子中的 C=O, 1650~1600 cm⁻¹ 和 1450~1400 cm⁻¹ 之间的吸收带主要对应电离羧基的-COO⁻¹ 反对称和对称拉伸模式,这两

个吸收带的相对强度大小可以反映果胶分子的 DM 值高低^[18,19]。SDF1 样品中 1735 cm⁻¹ 的 C=O 带强度相对较高, 1608 cm⁻¹ 的-COO⁻¹ 强度相对较低,所以该样品的 DM 值比 SDF2 略高,样品中含有大量酯化羧基。说明 SDF1 的糖醛酸含量及酯化度均大于 SDF2,这与表 1 中所显示数据结果相符。SDF1 在 1700~1310 cm⁻¹ 处的吸收峰出现多个不同程度的吸收峰,峰型结构复杂,数量多; SDF2 在此范围内峰结构单一,数量少,这是因为 SDF1 中含有各类游离或缔合的蛋白质,且其中的酰胺在 1700~1310 cm⁻¹ 处有弱到中等程度的吸收,它与自由羧基的吸收峰几乎重叠所导致^[20],而 SDF2 中的多数蛋白质被脱去,因此峰较单一。

整体而言, SDF1 的红外图谱具有部分杂乱的小峰,相比 SDF2 的红外图谱结构更复杂,再一次说明 SDF1 的成分结构更复杂。

2.4 SDF 的乳化特性分析

2.4.1 乳化活性分析

将两种 SDF 用于制备水包油型乳液,并分别在低温(4 ℃)、室温(约 20 ℃)和高温(60 ℃)条件下储存 15 d,以粒径大小为指标,用粒径分布跨度 Span 值表示乳液粒径均一度,分别测定其粒径变化。比较分析了两种乳液在不同温度条件下的乳化稳定性。表 2 为 SDF1 和 SDF2 制备的乳液粒度分析数据(为方便记录,将 SDF1 制备的乳液分别编号为新鲜乳液 FSDF1,低温储存 15 d LSDF1,室温储存 15 d MSDF1,高温储存 15 d HSDF1;同理, SDF2 编号新鲜乳液 FSDF2,低温条件储存 15 d LSDF2,室温储存 15 d MSDF2,高温储存 15 d 乳液 HSDF2)。

表 2 葡萄皮水溶性膳食纤维制备的乳液的粒径分析

Table 2 Particle statistics (d_{10} , d_{50} , d_{90} and distribution span) of the prepared emulsions made of different water-soluble dietary fiber

编号	体积分布粒径			Span	$D_{4,3}/\mu\text{m}$
	$d_{10}/\mu\text{m}$	$d_{50}/\mu\text{m}$	$d_{90}/\mu\text{m}$		
FSDF1	0.03±0.31 ^a	0.68±0.00 ^a	2.38±0.00 ^a	3.46±0.01 ^b	1.10±0.00 ^a
FSDF2	0.73±0.20 ^b	2.68±0.94 ^a	8.34±0.00 ^a	2.84±0.00 ^c	3.73±0.20 ^c
LSDF1	0.42±0.01 ^a	1.22±0.04 ^b	5.52±0.78 ^a	4.18±0.03 ^a	4.29±0.41 ^c
LSDF2	0.69±0.09 ^b	11.90±0.00 ^c	42.60±0.45 ^a	3.52±0.01 ^b	17.70±0.10 ^a
MSDF1	0.14±0.11 ^a	1.10±0.33 ^b	3.85±0.01 ^a	3.37±0.00 ^b	5.72±0.41 ^a
MSDF2	0.70±0.07 ^b	11.70±0.04 ^c	34.80±1.22 ^a	2.91±0.71 ^c	15.30±0.26 ^a
HSDF1	3.68±0.71 ^a	10.30±0.25 ^a	20.10±0.83 ^a	1.59±0.66 ^a	7.57±0.27 ^a
HSDF2	0.82±0.14 ^a	8.38±0.01 ^a	23.00±0.03 ^a	2.65±0.01 ^c	12.47±0.02 ^a

注: 同列不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

其中 SDF1 样品乳液在不同条件下的粒径变化是低温 (1.10~4.29 μm) > 室温 (1.10~5.72 μm) > 高温 (1.10~7.57 μm) ; SDF2 样品乳液的粒径变化为低温 (3.73~17.7 μm) < 室温 (3.73~15.30 μm) < 高温 (3.73~12.47 μm) ; SDF1 样品乳液的 Span 值为 (3.37~4.18 μm) > SDF2 (2.84~3.52 μm) , 说明热酸法提取的 SDF 相对而言, 具有更好的乳化稳定性, 但其均一性不如酶法提取的 SDF 好。这是因为热酸法会造成多糖、纤维素等物质的降解, 但其降解的多糖分子量宽, 均一性差, 因此 SDF1 样品分子量较大, 且蛋白质含量比较高, 可以很好的保护乳液不被外界环境破坏, 保持乳液的稳定性, 又因为乳液体系粘度较大, 采用超声均质时能量扩散受阻, 使乳液均质扩散不均一。而酶能够特异性、专一性的切断 β -1,4 糖苷键, 降解均一性好, 分子量分布窄, 采用超声均质时扩散均匀, 乳液均一性好。有研究表明分子量对果胶的乳化性质有显著影响, 在解聚过程改变果胶的平均分子量大小, 同时也就改变了亲水/疏水平衡, 进而影响果胶与油滴表面的吸附^[21]。测试样品 SDF1 乳液的 d_{10} 、 d_{50} 、 d_{90} 均小于相同条件下的 SDF2 样品乳液。但在高温条件下 HSDF1 的 d_{10} (3.68 μm)、 d_{50} (10.30 μm) 大于 HSDF2 的 d_{10} (0.82 μm)、 d_{50} (8.38 μm) , 其原因是乳液长时间处于高温条件下时, SDF1 样品中的蛋白质等结构发生改变, 导致乳液的结构发生急剧变化, 出现破乳现象。SDF2 所含蛋白质成分较少, 在高温条件下储存, 随着时间的增加同样发生破乳, 与 SDF1 样品乳液不同的是变化速度较为和缓, 因此在此条件下 SDF1 的粒径分布与均一性没有 SDF2 好, 故 HSDF1 的 Span 值 (1.59) 小于 HSDF2 的 Span 值 (2.65)。

2.4.2 乳化稳定性

2.4.2.1 乳液外观

图 3 为新鲜乳液和不同环境下贮藏 15 d 的乳液外观图。SDF2 乳液在三种环境条件下储存后都出现了

不同程度的分层现象, 测试样品 SDF1 样品制备乳液只在高温环境下储存后才出现分层现象。同样, 图 4 光学显微镜观察图像中可看到 SDF2 样品乳液在不同条件下储藏后均出现明显的聚集和破乳现象, SDF1 在高温条件下储存后也出现相似现象。表明 SDF2 的乳化稳定性较差。其原因可根据表 1 中基本成分含量数据结果判断, 可能是因为 SDF2 中的蛋白质等组分在提取过程中被降解, 所得含量少, 使 SDF2 降低油水界面的能力下降, 乳化稳定性降低。在乳液体系中, 中性糖侧链能够在油滴界面形成一层水化膜, 通过水化膜之间的空间位阻与静电斥力, 可以有效阻止或减缓油滴的聚集和絮凝, 增强乳液的乳化稳定性^[22], SDF2 样品的中性糖侧链较少, 因此稳定性差。而 SDF1 乳液在高温下储藏后出现的分层现象, 则是因为 SDF1 中的蛋白质在高温环境下的变性, 使 SDF1 结构发生改变, 无法继续保持原乳液的稳定状态, 发生聚集和破乳。



图 3 葡萄皮水溶性膳食纤维的乳液外观形态

Fig.3 The emulsion appearance of water soluble dietary fiber in grape skin

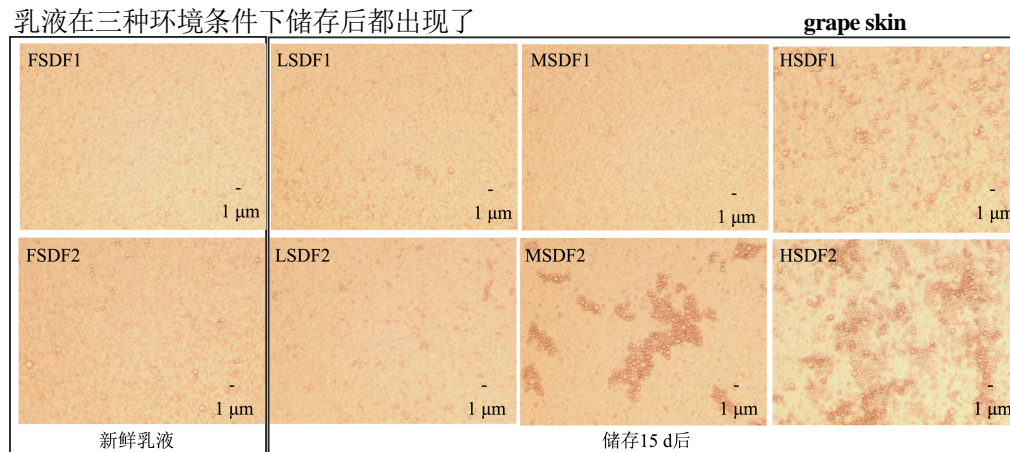


图 4 葡萄皮 SDF 乳液在不同储存条件下的乳液光学显微观察

Fig.4 Optical microscopic observation of grape skin SDF emulsion under different storage conditions

2.4.2.2 粒径变化

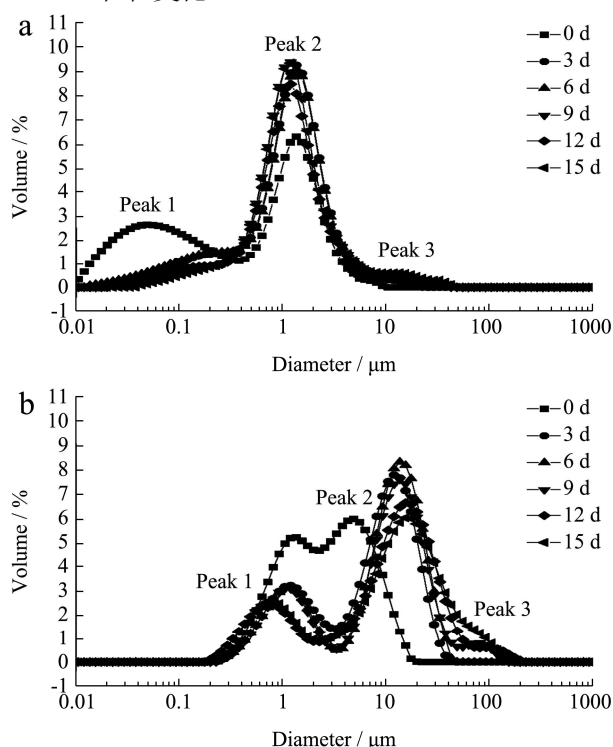


图5 低温(4 °C)储藏乳液粒径分布曲线

Fig.5 Particle size distribution curve of low temperature (4 °C)

storage emulsion

注: a.SDF1 样品乳液; b.SDF2 样品乳液。下图同。

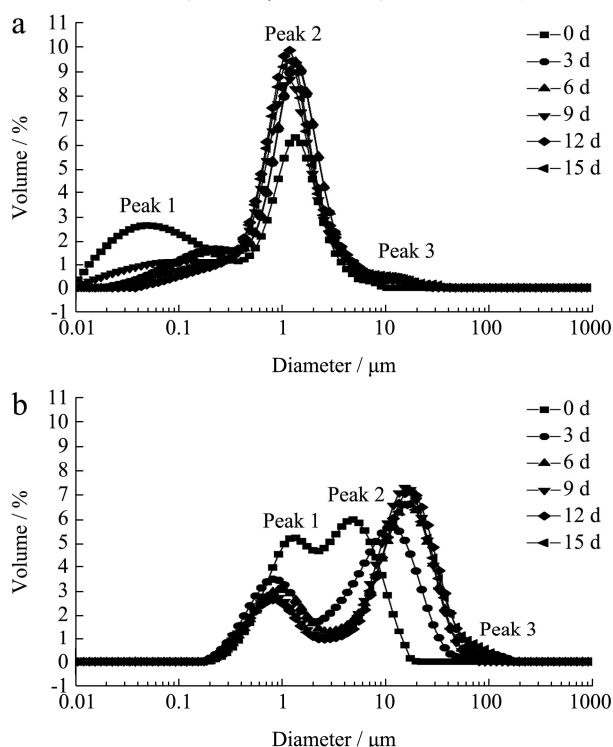


图6 室温(15~20 °C)储藏乳液粒径分布曲线

Fig.6 Particle size distribution curve of storage emulsion at room temperature (15~20 °C)

如图5所示, a 为 SDF1 样品乳液粒径分布曲线,

其峰1在0.01~0.3 μm之间, 峰2在0.3~10 μm之间; b为SDF2样品乳液粒径分布曲线, 其峰1在0.2~2 μm之间, 峰2在2~11 μm之间.SDF2样品乳液的粒度明显大于SDF1样品乳液.在低温条件下储存后, 随着储存时间的增加, SDF1峰1的体积分布开始变小甚至消失, 峰2体积分布变大, 粒径大小范围不变, 储存后期在10~14 μm处出现了新的峰3, 说明乳液的粒径变大. SDF2峰1体积分布也逐渐变小, 并且有右移现象, 峰2体积分布变大且明显向右侧移动, 后期也在大约13~250 μm处出现一个大粒径小峰峰3, 此时乳液粒径过大, 已出现破乳. 因此, 在低温储藏条件下, SDF1乳液的稳定性要优于SDF2样品乳液. 这是因为SDF1中含有更多的蛋白质以及部分乙酰基团, 更有利于膳食纤维在油滴表面的吸附, 从而保持乳液的稳定性. 而SDF2则因为蛋白质等含量较少, 在油滴周围形成的水化层太薄甚至不能形成水化层^[23], 不能阻止油滴聚集和破裂, 因此稳定性比较差.

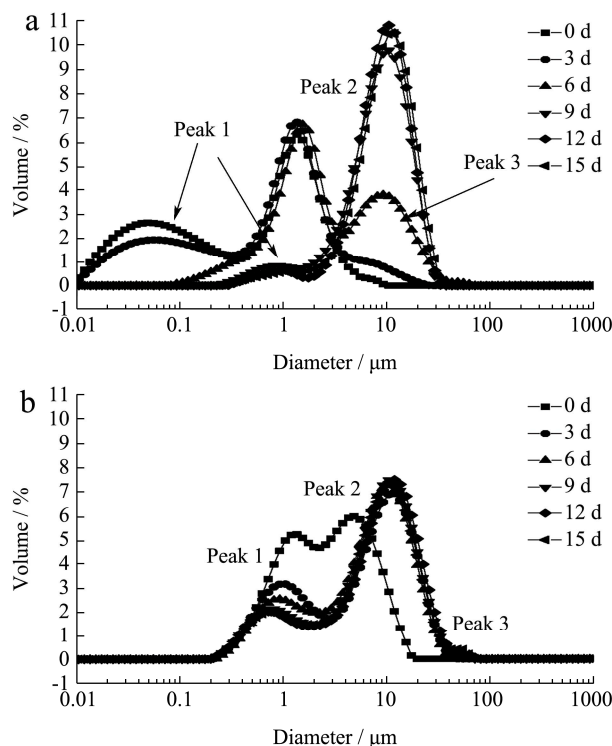


图7 高温(60 °C)储藏乳液粒径分布曲线

Fig.7 Particle size distribution curve of high temperature (60 °C)

storage emulsion

如图6所示为 a 表示 SDF1 样品乳液和 b 表示 SDF2 样品乳液在常温下储藏 15 天的粒度分布图. 图示结果和趋势变化与图5低温条件结果相似, 其变化原因也相同, 但在常温同一时间条件下粒径增大的程度要比低温时的变化程度大, 只因温度相对较低, 因此变化相对较小. 如图5a、b中的峰2分别对应图6a、b中的峰2相比要高, 室温下小粒径乳液的体积小于

低温条件下的,因此室温条件下乳液粒径变大的程度要比低温条件下大。

图7为高温条件下储存乳液粒径分布曲线,随着储存时间的增加,图a所示SDF1样品乳液的峰1在储藏第6d后已完全消失,且在3~30 μm处出现了一个新的大粒径峰峰3。此峰随时间的增加其体积分布进一步增大,说明该乳液在高温条件下存放后期粒径急剧增大。图b所示SDF2乳液在高温下存放的粒度变化趋势与低温和常温条件下的变化趋势均相似。

上述现象表明:SDF1样品乳液和SDF2样品乳液在高温环境下储存会使乳液快速失稳,这主要是因为蛋白质等疏水性成分发生改变,从而使得水化层被破坏,油滴吸附体系损坏,因而不能够保持原来稳定的乳液状态。

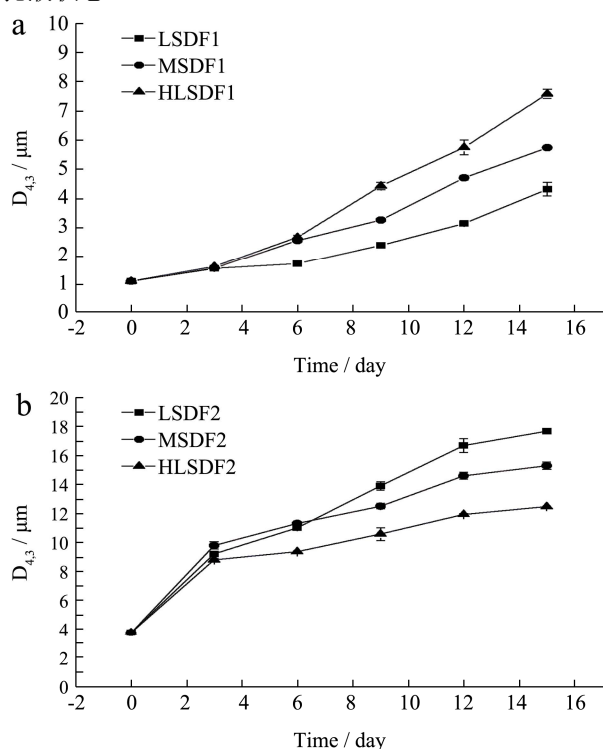


图8 乳液 $D_{4,3}$ 值随储存时间的变化趋势

Fig.8 Trends of average particle size $D_{4,3}$ of emulsion with storage time

图8为两种SDF样品乳液在不同温度条件下储存的平均粒径变化趋势图。其中图a为SDF1样品乳液在低温,室温和高温储存条件下的变化曲线,变化趋势是从1.10 μm分别增加到4.29 μm、5.72 μm和7.57 μm。图b为SDF2样品乳液的平均粒径变化曲线,在低温,室温,高温条件下储存后的乳液粒径从3.73 μm分别增加到17.7 μm、15.30 μm和12.47 μm。结果表明,温度升高能加速乳液的破乳失稳,而SDF1样品乳液的稳定性显著高于SDF2,说明SDF上连接的蛋白组分及更多的中性糖侧链结构对其乳化能力有着重

要贡献。因为水溶性膳食纤维作为一种亲水性胶体,其含有的少量疏水性结构如蛋白质、酚酸、甲氧基和乙酰基等能促进乳化性质^[24,25]。而SDF2样品中所含有的这些物质都低于SDF1样品。

3 结论

以酿酒葡萄皮渣为原料,分别采用热酸法和酶顺序提取法制备水溶性膳食纤维。对比两种水溶性膳食纤维的理化成分含量,以及甲酯化度、乙酰化度和分子量大小,并利用红外光谱辅助分析判断理化成分的差异。结果显示SDF1的理化成分含量相对较高,成分结构相对复杂,是一种乳化特性较好的多糖基乳化剂。将两种SDF用于制备水包油型乳液,并分别在三种温度条件下储存,对比两种乳液在不同条件下的乳化稳定性。结果说明SDF1具有较好的乳化稳定性;SDF2乳液的均一性较好,但乳液整体的稳定性较差,证明了蛋白质等理化组分的含量和分子量的大小对SDF的乳化特性具有重要影响。本研究可为进一步开发利用酿酒葡萄皮渣水溶性膳食纤维资源提供参考。

参考文献

- [1] 孙星衍,孙冯翼.神农本草经[M].北京人民卫生出版社,1963: 52
SUN Xing-yan, SUN Feng-yi. Editor-in-Chief of Shennong Herbal Classic [M]. Beijing People's Health Publishing House, 1963: 52
- [2] 樊柳,黄文书,张永忠.多酶法提取葡萄皮渣中可溶性膳食纤维的研究[J].农产品加工,2017,1:23-28
FAN Liu, HUANG Wen-shu, ZHANG Yong-zhong. Extraction of soluble dietary fiber from grape skin residue by multiple enzymes [J]. Agricultural Products Processing, 2017, 1: 23-28
- [3] 王犁焯,武运,杨华峰,等.酿酒葡萄皮渣主要物质提取与利用的研究进展[J].中外葡萄与葡萄酒,2018,6:82-86
WANG Li-ye, WU Yun, YANG Hua-feng, et al. Advances in extraction and utilization of main substances from grapevine slag [J]. Chinese and Foreign Grapes and Wines, 2018, 6: 82-86
- [4] Karnik D, Jung J, Hawking S, et al. Sugar beet pectin fractionated using isopropanol differs in galacturonic acid, protein, ferulic acid and surface hydrophobicity [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 31(60): 179-185
- [5] Hwang Y J, Yoon K Y. Enzymatic hydrolysis of perilla seed meal yields water-soluble dietary fiber as a potential functional carbohydrate source [J]. Food Science and

- Biotechnology, 2020, 29(7): 987-996
- [6] 樊柳. 葡萄皮渣中水溶性膳食纤维的提取工艺及在酸奶制品中的应用研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2016
FAN Liu. Extraction technology and application of water-soluble dietary fiber from grape skin slag [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2016
- [7] 王智明. 甜菜果胶干热聚集行为及其对乳化特性的影响[D]. 广州: 华南理工大学, 2018
WANG Zhi-ming. Dry heat aggregation behavior of beet pectin and its effect on emulsifying property [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018
- [8] Gama H, Mabon N, Wathelet B, et al. New method for a two-step hydrolysis and chromatographic analysis of pectin neutral sugar chains [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2004, 52: 4652-4659
- [9] Voragen A G J, Schols H A, Pilnik W. Determination of the degree of methylation and acetylation of pectins by HPLC [J]. *Food Hydrocolloids*, 1986, 1(1): 65-70
- [10] 皮芳. 菊苣果胶的结构表征及乳化特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019
PI fang. Characterization and emulsification of pectin from chichorium [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019
- [11] Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. New method for quantitative determination of uranic acids [J]. *Analytical Biochemistry*, 1973, 54(2): 484-489
- [12] 刘战朋. 甜菜果胶结构-乳化性关系及油水界面吸附行为的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019
LIU Zhan-peng. A study on structure-emulsification relationship and adsorption behavior of sugar beet pectin at oil-water interface [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019
- [13] Thibault J F, Renard C M G C, Axelos M a V, et al. Studies of the length of homogalacturonic regions in pectins by acid hydrolysis [J]. *Carbohydrate Research*, 1993, 238(93): 271-286
- [14] 孙彦妮. 葡萄皮果胶的提取及在制剂中的应用[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2018
SUN Yan-ni. Extraction of pectin from grape skin and its application in preparation [D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2018
- [15] 吴克刚, 魏浩, 柴向华, 等. 八角水溶性膳食纤维对油脂乳液消化特性的影响 [J/OL]. *食品科学*: 1-13[2020-07-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20190917.1659.094.html>
- WU Ke-gang, WEI Hao, CHAI Xiang-hua, et al. Effect of octagonal water-soluble dietary fiber on digestion of oil emulsion [J/OL]. *Food Science*: 1-13[2020-07-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20190917.1659.094.html>
- [16] 皮芳, 郭晓明, 刘战朋, 等. 菊苣粕果胶的微波辅助提取工艺研究[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(2): 197-204, 231
PI Fang, GUO Xiao-ming, LIU Zhan-peng, et al. Study on the microwave-assisted extraction of pectin from chicory root pulp [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(2): 197-204, 231
- [17] Kamnev A A, Colina M, Rodriguez J, et al. Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources [J]. *Food Hydrocolloids*, 1998, 12(3): 263-271
- [18] Filippov M P. Practical infrared spectroscopy of pectic substances [J]. *Food Hydrocolloids*, 1992, 6(1): 115-142
- [19] Gnanasambandam R, Proctor A. Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Food Chemistry*, 2000, 68(3): 327-332
- [20] Demirp, Onde S, Severcanf. Phylogeny of cultivated and wild wheat species using ATR-FTIR spectroscopy [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, 135: 757-763
- [21] Akhtar M, Dickinson E, Mazoyer J, et al. Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin [J]. *Food Hydrocolloids*, 2002, 16(3): 249-256
- [22] Funami T, Nakauma M, Ishihara S, et al. Structural modifications of sugar beet pectin and the relationship of structure to functionality [J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(2): 221-229
- [23] Karnik D, Wicker L. Emulsion stability of sugar beet pectin fractions obtained by isopropanol fractionation [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 74: 249-254
- [24] Long B, Huan S, Li Z, et al. Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: gum Arabic, beet pectin, and corn fiber gum [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 66: 144-153
- [25] Schmidt U S, Koch L, Rentschler C, et al. Effect of molecular weight reduction, acetylation and esterification on the emulsification properties of citrus pectin [J]. *Food Biophysics*, 2015, 10(2): 217-227