

柠檬皮高酯果胶的分步提取及表征

黄莹星, 齐军茹

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 本研究采用草酸对柠檬皮进行分步提取, 得到两种不同性能的高酯果胶(HMP-1、HMP-2), 系统地探究了提取条件 HMP-1 和 HMP-2 得率和黏度的影响, 对 HMP-1、HMP-2 进行物化性质表征, 并通过原子力显微镜(AFM)进行微观结构观察。实验结果表明, 在料液比 1:20, pH 1.7, 70 °C 1.5 h 的反应条件下, HMP-1 得率为 19.22%, 1%溶液的黏度为 104.55 mPa·s, 分子量为 550.4 ku, 酯化度为 75.22%, 胶凝度为 218.24 °SAG, 在酪蛋白等电点附近具有较高的电位绝对值; 在料液比 1:10, pH 1.7, 80 °C 1.5 h 的反应条件下, HMP-2 的得率为 9.74%, 1%溶液的黏度为 49.23 mPa·s, 分子量为 424.7 ku, 酯化度为 64.34%, 胶凝度为 171.12 °SAG。AFM 结果表明, HMP-1 呈现较长的线性形态, HMP-2 则呈现较为分散、细碎的状态。本研究实现了柠檬皮果胶的分步提取, 得到不同类型的果胶, 有助于果胶的多元化发展及精准应用。

关键词: 高酯果胶; 分步提取; 物化性质

文章编号: 1673-9078(2020)04-54-62

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.008

Stepwise Extraction and Characterization of High Methoxyl Pectin from Lemon Peel

HUANG Ying-xing, QI Jun-ru

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

Abstract: In this study, two high methoxyl pectins (HMP-1 and HMP-2) with different properties were extracted from lemon peel with organic acid using a stepwise method. The effects of extraction conditions on the yield and viscosity of HMP-1 and HMP-2 were systematically studied. The physicochemical properties of HMP-1 and HMP-2 were investigated, and the microstructure was examined by atomic force microscopy (AFM). Under the conditions of material to liquid ratio 1:20, pH 1.7, 70 °C and 1.5 h, the yield of HMP-1 was 19.22%, viscosity of 1% HMP-1 solution was 104.5 mPa·s, molecular weight of HMP-1 was 550.4 ku, degree of esterification (DE) of HMP-1 was 75.2%, and HMP-1 gel strength was 218.24 °SAG, with the absolute value of solution potential being relatively high near the isoelectric point of casein. In terms of HMP-2, under the conditions of material to liquid ratio 1:10, pH 1.7, 80 °C and 1.5 h, the yield was 9.74%, viscosity of 1% solution was 49.3 mPa·s, molecular weight was 424.7 ku, degree of esterification was 64.3%, and gel strength was 171.12 °SAG. The examinations with AFM showed that HMP-1 exhibited a relatively long linear shape, whilst HMP-2 was relatively dispersed and finely fragmented. In this study, the stepwise extraction of pectins was realized to obtain different types of pectins, which helps the diversification and precise application of pectins.

Key words: high methoxyl pectin; stepwise extraction; physicochemical properties

引文格式:

黄莹星, 齐军茹. 柠檬皮高酯果胶的分步提取及表征[J]. 现代食品科技, 2020, 36(4): 54-62

HUANG Ying-xing, QI Jun-ru. Stepwise extraction and characterization of high methoxyl pectin from lemon peel [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 54-62

柠檬是一种常见的热带水果, 其产量占世界柑橘类作物总产量 9%, 是世界上第三大柑橘品种^[1,2]。中国是柠檬的生产大国, 柠檬总产量呈现逐年递增的趋

收稿日期: 2019-07-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31370036)

作者简介: 黄莹星 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性多糖

通讯作者: 齐军茹 (1977-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 蛋白物性修饰、

功能性多糖制备及应用

势^[3,4]。在柠檬的加工过程中, 会有大量的皮渣产生。而柠檬皮中含有 20%至 30%的果胶, 是生产果胶的优质原料^[5]。如果能够充分利用加工中产生的皮渣、有效提取柠檬皮中的果胶, 可以减少我国柠檬产品加工过程中所产生的环境负荷, 促进精益生产^[6]。也有数据表明, 我国每年消耗果胶中有 80%依靠进口, 而柠檬果胶约有 2000 t, 可见柠檬果胶的开发研究在国内市场依然具有较大的发展需求。

果胶是一种亲水性天然高分子化合物,是由 α -1,4糖苷键连接半乳糖醛酸(GalA)组成的多糖物质^[7]。从结构上看,果胶由半乳糖醛酸聚糖(HGA)、鼠李半乳糖醛酸聚糖 I(RG-I)和鼠李半乳糖醛酸聚糖 II(RG-II)组成^[8,9]。根据酯化程度,果胶通常可分为高酯果胶(HMP)和低酯果胶(LMP)。果胶是一种常用的食品添加剂,具有较好的稳定、凝胶、增稠、乳化等特性,广泛用于乳制品、果酱、糖果、果汁饮料等产品。不同的果胶在物化和功能性质上有一定的差异,应用领域也有所不同。比如,有研究表明,结构更为完整、分子量较高且黏度较大的果胶在酸性乳饮料(AMD)中具有较好的分散稳定性,起到稳定蛋白的作用^[10];而酯化度相对较低、分子量相对偏低的果胶则更适于软糖、果酱等产品的加工。因此,通过改变提取条件得到不同物化性质、功能特性的柠檬果胶,实现其不同领域的应用,有助于推动果胶的多元化发展,促进其功能上的精准应用。

果胶的提取方法较多,其中酸法提取是食品工业中应用较广泛的方法。商品果胶通常是在强酸、高温等较剧烈的反应条件下提取得到的^[11],得率较高,但伴随着果胶大分子的降解,一般表现为分子量、黏度等的下降。利用草酸等有机酸处理柠檬皮,可将原料组织中不溶性果胶转化为可溶性果胶,并发挥螯合剂的作用,从“蛋箱连接区”截留离子(主要是 Ca^{2+})进而解构果胶网络^[12]。该提取方法较温和,结合了酸法提取、螯合剂提取的特点,减少果胶降解的同时也保证了较高的得率。本实验以柠檬皮为原料,采用草酸进行分步提取,探究不同提取条件对一次果胶(HMP-1)、二次果胶(HMP-2)的影响,并进行物化性质表征,为HMP-1、HMP-2的工业化应用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

柠檬皮干品由广州市莱檬生物科技有限公司提供,样品呈浅黄色,含水量为 8.43%,已进行粉碎并过 30 目筛。

高酯果胶 HMP-3(柑橘果胶, AM888),美国杜邦公司;草酸、氢氧化钠、盐酸,国药集团化学试剂有限公司;半乳糖醛酸标准品,广州化学试剂厂; NaNO_3 (色谱纯),上海 Aladdin 生化科技股份有限公司;其他试剂非特殊说明均为分析纯。

1.2 仪器和设备

哈克流变仪,德国 Haake 公司;Zetasizer 纳米粒度仪,英国 Malvern 公司;高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;Multimode 8 型原子力显微镜,美国 Bruker 公司;pH 计,美国梅特勒-托利多公司。

1.3 实验方法

1.3.1 柠檬果胶的一次提取

取 40 g 干柠檬皮,按料液比加入去离子水后,于室温条件下搅拌 30 min,用草酸溶液调节体系的 pH,在一定温度的水浴条件下搅拌提取,提取后将混合液冷却至室温,在 6000 r/min 的条件下离心 15 min,沉淀的废渣用于二次提取,上清液收集后用旋转蒸发器于 60 °C 的条件下浓缩 30 min。浓缩液收集后冷却至室温,与 1.5 倍体积的无水乙醇混合后离心(6000 r/min, 20 min),收集沉淀并在相同条件下进行二次醇沉、离心分离,之后将沉淀物于 60 °C 烘箱中干燥 1.0 h。最后,在研磨机中充分研磨,并过 100 目筛(150 μm),得到 HMP-1。

1.3.1.1 料液比对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

设定试验的料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:25 和 1:30,并将体系 pH 调为 1.7,于 70 °C 水浴条件下搅拌提取 1.5 h。考察料液比对 HMP-1 提取得率和黏度的影响。

1.3.1.2 pH 对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

分别选取 pH 1.5、1.7、1.9、2.1 和 2.3,料液比为 1:20,于 70 °C 水浴条件下搅拌提取 1.5 h。考察 pH 对 HMP-1 提取得率和黏度的影响。

1.3.1.3 提取温度对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

提取水浴温度分别为 70 °C 和 80 °C,料液比为 1:20,体系 pH 调为 1.7,水浴搅拌提取 1.5 h。考察提取温度对 HMP-1 提取得率和黏度的影响。

1.3.1.4 提取时间对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

提取时间分别为 0.5 h、1.0 h、1.5 h、2.0 h 和 2.5 h,料液比为 1:20,体系 pH 调为 1.7,水浴提取温度为 70 °C。考察提取时间对 HMP-1 提取得率和黏度的影响。

1.3.2 柠檬果胶的二次提取

将 1.3.1 提取后的废渣,按照 1:10 的料液比加入去离子水,充分搅拌后,将体系的 pH 调至 1.7,并分别于 70 °C、80 °C 水浴条件下分别搅拌提取 0.5 h、1.0 h、1.5 h、2.0 h 和 2.5 h。同样地,将混合液冷却后 6000 r/min 离心 15 min,收集上清液后 60 °C 旋蒸浓缩 30 min,经二次醇沉、干燥后充分研磨,并过 100 目筛(150 μm),得到 HMP-2。

1.3.3 果胶得率的计算

$$\text{得率}(\%) = \frac{\text{HMP 的质量 (g)}}{\text{柠檬皮干品质量 (g)}} \times 100\%$$

1.3.4 黏度的测定

将 HMP 样品配制质量浓度为 1.0% 的溶液, 采用哈克流变仪测定不同提取条件下 HMP 溶液的黏度, 自动调零后将 HMP 溶液分别滴于平板测量台上, 设置间隙为 1 mm, 设定剪切速率为 100 s^{-1} , 测定 HMP 的黏度值。

1.3.5 果胶基本性质的测定

HMP 的蛋白含量采用凯氏定氮法测定, 换算系数为 6.25; 水分和灰分采用重量分析法测定, 参照的标准分别为 GB 5009.3-2016 和 GB 5009.4-2010; 总半乳糖醛酸的测定、酯化度的测定参照 GB 25533-2010; 果胶胶凝度的测定参照 USA-SAG 测定方法^[13]; 果胶溶液的 pH 采用 pH 计测定, 于室温条件下测定质量浓度为 1% 的果胶溶液。

1.3.6 分子量的测定

采用高效液相色谱联用多角度激光散射法 (HPSEC-MALLS) 测定 HMP 的分子量, 参考皮芳等^[14]的方法。用 0.05% 的 Na_3N 配制 100 mM 的 NaNO_3 溶液作为流动相, 用流动相配制 1 mg/mL 的样品, 并用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤。采用 Waters Ultrahydrogel 2000 和 Waters Ultrahydrogel 1000 (300 mm $\times$ 7.5 mm) 串联排阻, 样品进样量为 100 μL , 流速为 0.6 mL/min, 用 Waters 2414 示差检测器检测, 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.7 动态光散射 (DSL) 粒度测定

HMP 的粒度采用纳米粒度仪在 173° 散射角的条件下测定, 将 HMP 样品溶液稀释至 1 mg/mL, 于室温下测定, 每个样品重复测定 3 次后取平均值。

1.3.8 Zeta 电位的测定

Zeta 电位采用粒度 Zeta 电位分析仪测定, 缓冲液调节 HMP 溶液 pH 为 2.0~10.0 后, 将溶液稀释至 1 mg/mL, 放入电位样品池中, 于室温条件下测定, 每个样品重复测定 3 次后取平均值。

1.3.9 流变学性质分析

采用哈克流变仪测定 HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的流变学性质, 自动调零后将浓度为 1.5% 的 HMP 样品滴于平板测量台上, 剪切速率为 0.01 s^{-1} 至 100 s^{-1} , 测定样品黏度随剪切速率的变化情况, 数据采用 RheoWin 3 Data Manager 进行处理。

1.3.10 原子力显微镜 (AFM) 的测定

通过原子力显微镜的观察测定可以获得 HMP 的分子形态信息。配制 1 mg/mL 的 HMP 溶液, 再稀释成 3 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 取 2 μL 样品滴于新鲜剥离的云母

片上, 室温自然风干 24 h 后用原子力显微镜观察, 并使用 Digital Nanoscope Analysis 软件对图片进行处理、分析。

1.3.11 数据统计与分析

每次实验均至少重复三次, 采用 ANOVA 进行误差分析, 并用 Excel 2010 和 Origin 8.0 软件分别进行数据处理以及图像的绘制。

2 结果与讨论

2.1 不同提取条件对一次果胶 (HMP-1) 提取得率和黏度的影响

2.1.1 料液比对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

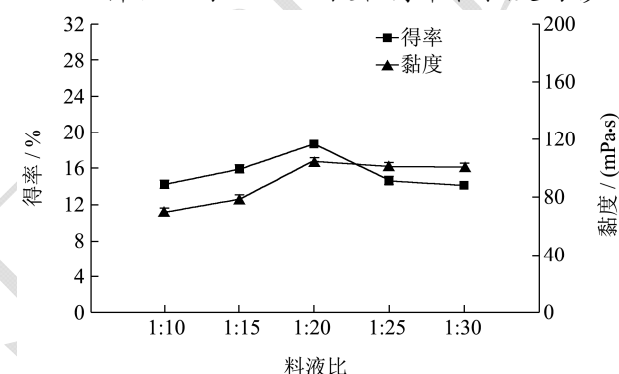


图1 料液比对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

Fig.1 Effect of solid-liquid ratio on yield and viscosity of HMP-1

HMP 的得率可以较为直观地反映柠檬皮在提取过程中 HMP 的产率。HMP 的黏度则在一定程度上可以反映其分子量的情况。相关研究^[15]表明, 果胶分子量越大, 其黏度可能也越高, 因此通过 HMP 的黏度变化可以间接反映提取条件对 HMP 结构的影响。此外, 黏度也可以在一定程度上反映 HMP 在凝胶、增稠等方面的功能性质。

由图 1 可以看出, 当提取的料液比在 1:10 至 1:20 这个范围时, 随着加水量的增加, HMP-1 的得率和黏度均有所提升, 该规律与毕双同^[16]的研究结论相符; 而当料液比在 1:20 至 1:30 时, HMP-1 的得率随加水量的增加而略有下降, 黏度则趋于稳定。可能的原因是, 提取过程加水量过低, 不利于柠檬皮中果胶在体系中的溶出, 且果胶提取液过于黏稠, 搅拌难度较大, 所以 HMP-1 得率较低, 而此时柠檬皮中果胶的提取尚不充分, 部分大分子果胶尚未溶出, 所以 HMP-1 黏度随加水量的增加而略有上升; 当料液比大于 1:20 时, 提取的加水量相对过大, 提取液的果胶浓度相对较低, 直接影响 HMP-1 的醇沉效果, 进而影响 HMP-1 的得率, 而此范围 HMP-1 的溶出已较为充分, 黏度

性能趋于稳定,不再发生变化。

2.1.2 pH 对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

pH 是影响 HMP 提取的一个重要因素,适当的酸性条件可促进柠檬皮中不溶性的原果胶转化成可溶性的果胶,有助于果胶的溶出^[9]。由图 2 可以看出,当 pH 在 1.5 至 1.7 范围时, HMP-1 的得率无明显变化;而当 pH 大于 1.7 时,随着 pH 的增加, HMP-1 的得率呈现逐渐下降的趋势。这可能是因为当 pH 在 1.5 至 1.7 的范围时,体系 H^+ 浓度较高, HMP-1 的溶出已较为充分,所以得率几乎不受 pH 的变化而变化,这与任秋慧等^[17]的研究结论相符;而当 pH 在 1.7 到 2.3 这个范围时, pH 越大,体系的酸性越弱,柠檬皮中原果胶的溶出率越低,所以 HMP-1 的得率也越低。

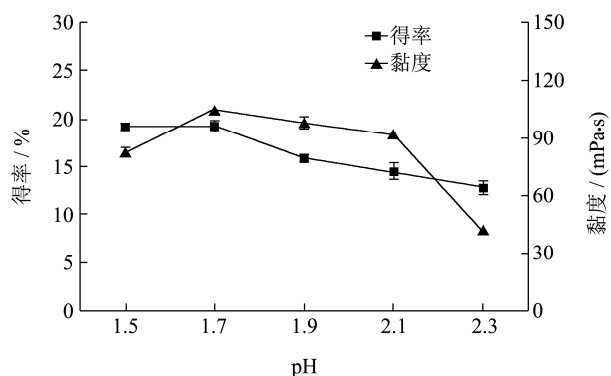


图2 pH 对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

Fig.2 Effect of pH on yield and viscosity of HMP-1

由图 2 也可以看出,当 pH 在 1.5 到 1.7 这个范围时, HMP-1 的黏度随着 pH 的增大,呈现上升的趋势;而当 pH 在 1.7 到 2.1 范围时, HMP-1 的黏度变化不大;当 pH 达到 2.3 时, HMP-1 黏度下降明显。可能的原因是:提取 pH 过低,体系酸性较强, HMP-1 受到较大程度的降解,可能分子量也有所下降,进而表现为 HMP-1 黏度上的降低;当 pH 在 1.7 到 2.1 的范围时,此条件下体系 H^+ 浓度较为适中, HMP-1 溶出的同时没有受到较大程度的降解,所以黏度较为稳定;而当 pH 大于 2.1 时,此时体系的 H^+ 浓度较低,酸性较弱,柠檬皮中部分大分子果胶未能较好溶出,得到的是较易溶解出来的、分子量相对较小的果胶,所以 HMP-1 的黏度也有所降低。

2.1.3 提取温度和提取时间对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

提取过程中,提取的温度和时间条件均会影响 HMP-1 的提取效果。由图 3 可以看出,提取温度对 HMP-1 的得率和黏度均有显著的影响。大体上看, 80 °C 条件下 HMP-1 的得率高于 70 °C 的得率。该规律与有关研究报道相符,在一定范围内,升高温度可以有助于组织中的果胶在体系中的水化溶出,提高果胶

的提取得率。当提取时间在 0.5 h 至 1.5 h 时, 80 °C 提取条件下的 HMP-1 得率均明显高于 70 °C 条件下的得率;当提取时间大于 1.5 h 时, 70 °C 和 80 °C 温度条件下 HMP-1 的得率比较接近,可见此时 HMP-1 的溶出已经比较充分,提取温度对 HMP-1 得率的影响较不明显。80 °C 条件下提取的 HMP-1 黏度均明显低于 70 °C 条件下所得的 HMP-1,这可能的原因是,提取温度较高,果胶在溶出的同时伴随着明显的分子裂解, HMP-1 结构受到较大程度的破坏,分子量下降,黏度也有明显下降。

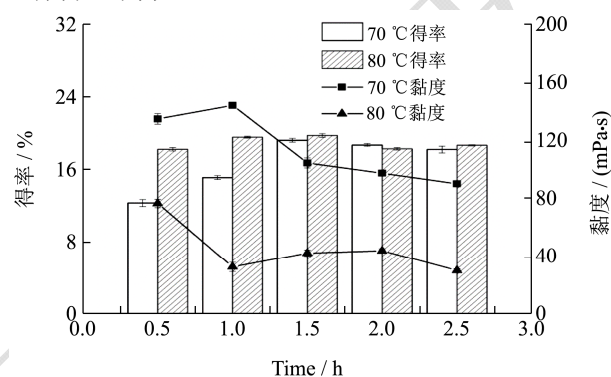


图3 提取时间和提取温度对 HMP-1 提取得率和黏度的影响

Fig.3 Effect of extraction time and temperature on yield and viscosity of HMP-1

由图 3 可以看出,在 70 °C 和 80 °C 温度条件下,随着提取时间的增加, HMP-1 的得率均呈现先上升后逐渐趋于平缓的趋势,且该规律在 70 °C 条件下更为明显。可以看出,当提取时间为 1.5 h 时,此时 HMP-1 的提取已经较为充分,得率也不再随着提取时间的增加而上升。从黏度上看,随着提取时间的增加, HMP-1 的黏度大体上呈现下降的趋势。这可能是因为随着提取时间的增加, HMP-1 在体系中积累受到的热力作用也越大,果胶裂解程度增大,进而表现为黏度的下降。

结合各单因素对 HMP-1 提取得率和黏度的影响,并综合考虑得率、黏度的变化情况,选取在料液比 1:20、pH 为 1.7、提取温度 70 °C、提取时间 1.5 h 条件下所得的 HMP-1 进行物化性质表征,此条件下 HMP-1 的得率为 19.22%, 1% 溶液的黏度为 104.55 mPa·s。

2.2 提取温度和提取时间对二次果胶 (HMP-2) 得率和黏度的影响

从图 4 可以看出,相比 70 °C, 80 °C 条件下 HMP-2 的得率较高、黏度较低,这个规律与 HMP-1 提取过程中所体现的规律相似,且 HMP-2 的黏度明显低于 HMP-1 的黏度。可能的主要原因是,二次提取的原料

是柠檬皮经过一次提取后剩下的皮渣,此过程溶出的果胶是存在于皮渣纤维间较难溶出的果胶,且在经过一次提取后已受到一定程度的降解、破坏,可能分子量较低,所以 HMP-2 的黏度总体低于 HMP-1 的黏度。

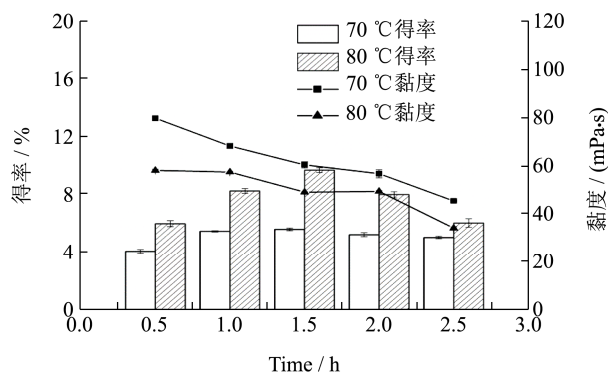


图4 提取时间和提取温度对 HMP-2 提取得率和黏度的影响

Fig.4 Effect of extraction time and temperature on yield and viscosity of HMP-2

随着提取时间的增加,70 °C 条件下 HMP-2 的得率变化较平缓,80 °C 条件下 HMP-2 的得率呈现先上升后缓慢下降的趋势。70 °C 温度条件比较温和,该条件下 HMP-2 的总体溶出效果较差,因此在 0.5 h 到 2.5 h 这个范围内提取时间对其得率的影响也较不明显;而 80 °C 温度条件相对较剧烈,能够较好地溶解出经一次提取后柠檬皮渣中尚未溶出的果胶,提取时间也

会明显影响其得率,当提取时间大于 1.5 h 时, HMP-2 受到较大程度的水解,其得率反而呈现一定的下降趋势。70 °C 和 80 °C 条件下, HMP-2 的黏度均随着提取时间的增加呈现逐渐下降的趋势,可能是在二次提取过程中, HMP-2 在溶出的同时也表现出较为持续的降解。

从提取温度对 HMP-2 的得率和黏度的影响来看,80 °C 条件下 HMP-2 的得率明显高于 70 °C 条件下的得率。这可能是因为体系需要相对剧烈的反应条件来辅助 HMP-2 的提取,80 °C 的提取温度较为剧烈,更有利于 HMP-2 的溶出。80 °C 条件下 HMP-2 的黏度总体上低于 70 °C 的黏度,主要原因是:与 70 °C 相比,80 °C 的温度条件对 HMP-2 分子的裂解较为明显,进而表现为黏度上的一定差别。但由于在经过一次提取后, HMP-2 分子已受到一定的降解,本身黏度较低,因此总体上看,相比 HMP-1,温度条件对 HMP-2 黏度的影响较小。

综合考虑 HMP-2 的提取得率和黏度,选取在提取温度 80 °C、提取时间为 1.5 h 条件下所得的 HMP-2 进行物化性质表征,此条件下 HMP-2 的得率为 9.74%,1%溶液的黏度为 49.23 mPa·s。

2.3 基本理化指标

表 1 HMP 基本理化指标的测定

Table 1 Determination of basic physicochemical properties of HMP

指标	HMP-1	HMP-2	HMP-3
蛋白含量/%	2.24±0.42	3.11±0.63	2.85±0.26
水分含量/%	5.51±0.14	5.97±0.30	5.15±0.23
灰分/%	2.47±0.13	2.12±0.27	2.91±0.29
酯化度/%	75.22±3.19	64.34±2.02	68.82±3.70
半乳糖醛酸含量/%	92.01±1.85	84.16±4.83	84.80±2.19
胶凝度/°SAG	218.24	171.12	131.04
1%溶液的 pH	1.90±0.05	2.01±0.07	2.04±0.04
1%溶液的黏度/(mPa·s)	104.55	49.23	20.49

HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的基本理化性质如表 1 所示。其中, HMP-3 是丹尼斯克的 AM888 商品果胶。从表中可以看出, HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的酯化度分别为: 75.22%、64.34%、68.82%, 均为高酯果胶。HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的半乳糖醛酸含量分别为 92.01%、84.16%和 84.80%, 可见 HMP-2 的半乳糖醛酸含量和 HMP-3 的较为接近, 而 HMP-1 半乳糖醛酸含量较高, 高于 85%, 已达到制药果胶半乳糖醛酸的标准。采用 USA-SAG 的方法测定 HMP 的胶凝度, HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的胶凝度分别为 218.24 °SAG、171.12 °SAG 和 131.04 °SAG, 可见

HMP-1 和 HMP-2 的胶凝度均高于商品果胶 HMP-3, 且 HMP-1 胶凝度最高, 可以初步说明 HMP-1 具有明显优越的凝胶性能, HMP-2 则具有较优的凝胶性能。对比 1%溶液的黏度, HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的黏度分别为 104.55 mPa·s、49.23 mPa·s 和 20.49 mPa·s, 可见 HMP-1 和 HMP-2 的黏度均高于商品果胶 HMP-3, 具有较明显的黏度优势。高建华等^[18]采用盐酸提取得到柑橘皮果胶, 测得 1%果胶溶液的黏度在 25.00 mPa·s 以内, 这与 HMP-3 的黏度较为接近, 相比之下由有机酸提取得到的 HMP-1 和 HMP-2 黏度均明显较高, 可见有机酸提取方法较为温和, 提取过程

黏度下降的程度较小。

2.4 分子量分析

HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的分子量分布曲线如图 5 所示。由图可知, HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 均呈现典型的宽峰分布, 这也反映了一定的多分散性。分子量越大, 其在色谱柱中的保留时间也会越短, 即所需要的洗脱时间也越短, 越早出峰。重均分子量(M_w)由大到小依次为: HMP-1 (550.4 ku)>HMP-3 (431.7 ku)>HMP-2 (424.7 ku)。相比之下可以看出, HMP-1 的分子量最大, 这可能是因为有有机酸的提取条件较为温和, 对果胶的破坏性较弱, 较好地保留了果胶的分子结构。另外, 有报道表明, 具有较大分子量的果胶可能具有较好的分散稳定性, 能够预防体系中蛋白质的沉淀分离^[19]。从中也可以初步推测, HMP-1 可能具有一些优越的功能特性。HMP-2 的分子量大小与商品果胶 HMP-3 比较接近, 也与 Nerea 等^[20]报道的柑橘高酯果胶分子量(434 ± 16 ku)接近, 从分子量的层面分析, HMP-2 可能和 HMP-3 具有较为相同的功能特性。

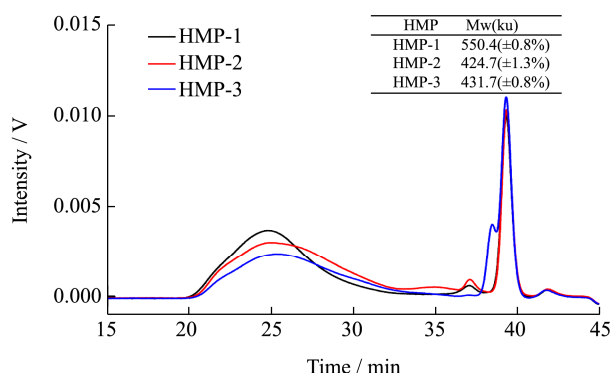


图 5 HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 分子量分布

Fig.5 Distribution of molecular weight of HMP-1, HMP-2 and HMP-3

2.5 粒度分析

粒度分析可以反映物质在溶液中的分散状态, 测试结果也较为直观、真实^[21]。采用纳米粒度仪进行粒度分析, 粒径分布结果如图 6 所示。HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 这三个样品的主峰均比较接近, 分布情况比较接近, 但也有一定的区别, 由数值上看, 粒度从大到小依次为: HMP-3 (1075.0 nm)>HMP-2 (939.6 nm)>HMP-1 (876.2 nm)。有关研究报道表明, HMP 粒径分布上的差别可能与本身酯化度的不同有关^[22]。一次果胶 HMP-1 粒径最小, 二次果胶 HMP-2 次之, 商品果胶 HMP-3 粒径最大。可以初步推断, HMP-1 粒径较小, 可能在溶液体系中较不容易聚沉, 而 HMP-2 在溶液中的稳定性则可能与 HMP-3 接近。

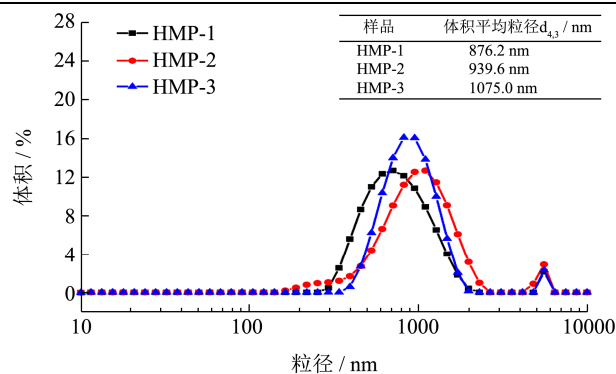


图 6 HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 粒径分布

Fig.6 Particle size distribution of HMP-1, HMP-2 and HMP-3

2.6 Zeta 电位分析

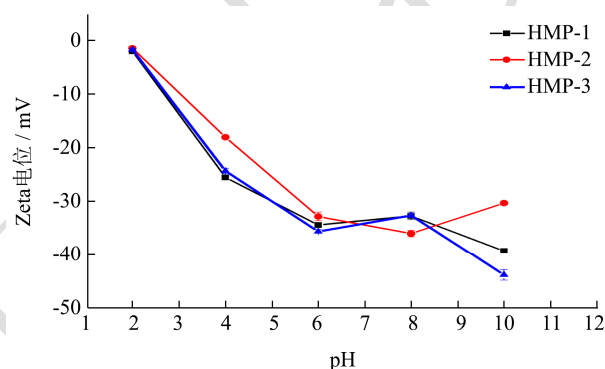


图 7 HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 ζ -电位

Fig.7 ζ -potential of HMP-1, HMP-2 and HMP-3 aqueous solution

Zeta 电位是表征体系稳定性的重要参数。由图 7 可以看出, 在 pH 2.0 到 pH 10.0 的范围内, HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 均带负电荷, 这也验证了果胶作为一种阳离子多糖所具有的特性。HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 电位的变化趋势大体接近, 随着 pH 的增加, 电位绝对值也呈现上升的趋势, 该规律与有关报道的研究结果相符^[23]。而且 HMP-1 的电位绝对值和 HMP-3 的电位绝对值十分接近, 且均高于 HMP-2 的电位绝对值。一般地, Zeta 电位绝对值越大, 分子间的排斥力也就越大, 粒子在体系中也越不容易发生聚集沉淀^[24,25]。因此可以初步看出, HMP-1 的稳定性较好, 和商品果胶 HMP-3 的较为接近。

果胶被认为是一种良好的稳定剂, 具有较好的稳定蛋白的作用, 在酸性乳饮料中具有广泛的应用^[26]。酸性乳饮料体系的 pH 一般在 3.6 到 4.5 这个范围^[27], 即低于酪蛋白的等电点($PI=4.6$), 此时, 酪蛋白在体系中带正电, 可以被 HMP 所带的负电荷吸引, 进而防止酪蛋白的聚集沉淀, 有利于形成稳定的体系。由图 7 可知, 在 pH 4.0 的条件下, 电位绝对值由大到小依次为: HMP-1 (25.54 mV)>HMP-3 (24.32 mV)>HMP-2

(18.07 mV), 此时 HMP-1 的电位绝对值最大, 带有较多的负电荷, 其稳定酪蛋白的能力可能也会较好。

2.7 流变学性质分析

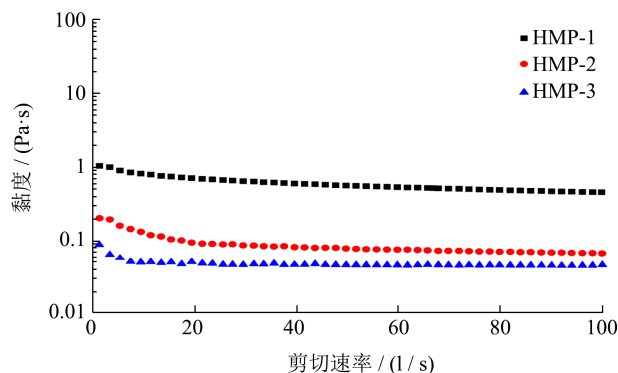


图8 HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 黏度变化曲线

Fig.8 Viscosity curves of HMP-1, HMP-2 and HMP-3

图8反映了在浓度1.5%的条件下, 随着剪切速率的变化, HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的黏度变化情况。由图可以看出, 当剪切速率在 0 s^{-1} 到 20 s^{-1} 这个范围时, 随着剪切速率的增大, HMP 溶液均具有明显的剪切稀化特性; 而当剪切速率大于 20 s^{-1} 时, HMP 的黏度趋于稳定, 几乎不再受剪切速率的影响, 表现出理想的牛顿流体性质。该黏度变化曲线的变化趋势与相

关报道的实验结果相近^[28,29]。图8也可以看出, 在同等条件下, HMP-1 的黏度最大, HMP-2 次之, HMP-3 的黏度最小, 与之前的实验规律相符。

2.8 形貌分析

原子力显微镜 (AFM) 通过探针感知与样品表面间的相互作用, 进而根据样品原子力的变化来反映样品的表面情况, 可以观察到样品的分子尺寸以及表面形貌^[30,31]。HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 的 AFM 观察结果如图9所示。可以看出, HMP 的表面结构大体上呈现链状结构, 这与 Nakamura^[32]等的微观实验观察结果相似, 主要原因是 HMP 是由糖单元连接的糖链构成, 分子呈现链状结构。实验结果表明, 相比之下, HMP-1 呈现较长的线性形态, HMP-3 则呈现较分散的短链结构, 而 HMP-2 则较呈现分散、细碎的状态, 这可能与 HMP 降解情况的差异有关^[33]。可以表明, 一次提取的条件较为温和, 果胶的结构破坏程度较小, 分子链较长, 形态更为完整, 二次提取由于提取条件更加严苛、剧烈, 所以分子链较短, 形态上更加细碎。HMP 结构中分子链的完整程度也可能决定功能性质上的差异以及应用领域上的区别。

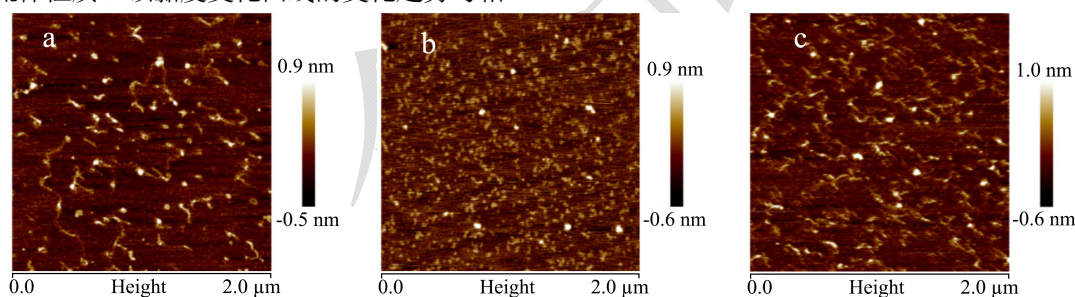


图9 HMP-1、HMP-2 和 HMP-3 原子力显微镜图

Fig.9 AFM images of HMP-1, HMP-2 and HMP-3

3 结论

采用草酸法这种较为温和的提取方法, 分步提取柠檬皮中的 HMP, 探究不同提取条件对 HMP-1、HMP-2 得率及黏度的影响, 并进行物化性质表征。实验研究结果表明, HMP-1 和 HMP-2 在性质上有一定的区别: HMP-1 分子量较大 (550.4 ku, 有着明显的黏度优势, 其1%溶液的黏度为 $104.55\text{ mPa}\cdot\text{s}$, 胶凝度为 $218.24\text{ }^{\circ}\text{SAG}$, 在酪蛋白等电点附近具有较高的电位绝对值, 表面形态呈长链状, 较为完整, 可能适用于酸性乳饮料中作为稳定酪蛋白的分散稳定剂; 相比之下, HMP-2 分子量较小, 为 424.7 ku , 与商品果胶 HMP-3 (431.7 ku) 较为接近, 黏度较高, 1%溶液黏度为 $49.23\text{ mPa}\cdot\text{s}$, 胶凝度为 $171.12\text{ }^{\circ}\text{SAG}$, 微观形态

较为细碎, 易形成合适的凝胶结构, 可能适用于软糖及果酱等产品。本研究采用草酸法处理柠檬皮, 实现了柠檬果皮胶的分步提取, 为 HMP-1、HMP-2 在食品加工中的应用提供一定的理论基础。

参考文献

- [1] 陈晓梅, 曾晓房, 韩珍, 等. 柠檬渣综合利用研究进展[J]. 食品工程, 2018, 2: 1-4
CHEN Xiao-mei, ZENG Xiao-fang, HAN Zhen, et al. Progress in the comprehensive utilization of lemon residue [J]. Food Engineering, 2018, 2: 1-4
- [2] 姚斌, 张绪坤, 温祥东, 等. 国内外农产品变温干燥研究进展[J]. 食品科技, 2015, 40(7): 94-98
YAO Bin, ZHANG Xu-kun, WEN Xiang-dong, et al.

- Research progress of variable temperature drying of agricultural products at home and abroad [J]. Food Science and Technology, 2015, 40 (7): 94-98
- [3] Sebaoui O, Moussaoui R, Kadi H, et al. Kinetic modeling of pectin extraction from wasted *Citrus Lemon* L [J]. Waste & Biomass Valorization, 2017: 1-9
- [4] 肖凯,赵良忠,尹乐斌,等.柑橘类皮渣综合利用研究进展[J].邵阳学院学报(自然科学版),2013,10(3):73-78
XIAO Kai, ZHAO Liang-zhong, YIN Le-bin, et al. Advances in comprehensive utilization of citrus peel residue [J]. Journal of Shaoyang University (Natural Science Edition), 2013, 10 (3): 73-78
- [5] 关海宁,刁小琴,张润光.柑橘功能性成分研究现状与发展前景[J].食品研究与开发,2008,29(9):169-174
GUAN Hai-ning, DIAO Xiao-qin, ZHANG Run-guang. Research status and development prospects of citrus functional components [J]. Food Research and Development, 2008, 29 (9): 169-174
- [6] 苏东林,单杨,李高阳.柑橘皮里功能性物质种类及其提取工艺的研究进展[J].现代食品科技,2007,3:90-94
SU Dong-lin, SHAN Yang, LI Gao-yang. Research progress of functional substances in citrus peel and their extraction process [J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 3: 90-94
- [7] Hoff J E, Castro M D. Chemical composition of potato cell wall [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1969, 17(6): 1328-1331
- [8] Willats W G T, Knox J P, Mikkelsen J D. Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel [J]. Trends in Food Science & Technology, 2006, 17(3):97-104
- [9] 杨金妹,木泰华,马梦梅.果胶结构、提取方法及乳化特性研究进展[J].食品工业科技,2018,39(14):315-322
YANG Jin-shu, MU Tai-hua, MA Meng-mei. Progress in pectin structure, extraction methods and emulsification properties [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(14): 315-322
- [10] Deckers H A, Olieman C, Rombouts F M, et al. Calibration and application of high-performance size exclusion columns for molecular weight distribution of pectins [J]. Carbohydrate Polymers, 1986, 6(5): 361-378
- [11] Bonnin E, Dolo E, Angélique Le Goff, et al. Characterisation of pectin subunits released by an optimised combination of enzymes [J]. Carbohydrate Research, 2002, 337(18): 1687-1696
- [12] Theander O, Westerlund E, P Åman, et al. Plant cell walls and monogastric diets [J]. Animal Feed Science & Technology, 1989, 23(1): 205-225
- [13] Nielsen H, Marr B U, Hvidt S. Correlation between sagging and shear elasticity in pectin, gelatin and polyacrylamide gels [J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 45(4): 395-401
- [14] 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. Microwave-assisted extraction of pectin from chicory meal [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(2): 197-204, 231
- [15] Kar F, Arslan N. Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship [J]. Carbohydrate Polymers, 2000, 40(4): 277-284
- [16] 毕双同.赣南脐橙皮果胶的提取工艺及其性质研究[D].南昌:南昌大学,2008
BI Shuang-tong. Study on the extraction technology and properties of pectin from navel orange peel in South Jiangxi [D]. Nanchang: Nanchang University, 2008
- [17] 任秋慧,卢韵朵,廖鲜艳,等.酸法提取苹果渣中的果胶及其性质分析[J].中国酿造,2018,37(1):86-91
REN Qiu-hui, LU Yun-duo, LIAO Xian-yan, et al. Extraction of pectin from apple pomace by acid method and analysis of its properties [J]. China Brewing, 2018, 37(1): 86-91
- [18] 高建华,戴思齐,刘家明,等.六种果皮原料果胶的理化及凝胶特性比较[J].农业工程学报,2012,28(16):288-292
GAO Jian-hua, DAI Si-qi, LIU Jia-ming, et al. Comparison of physicochemical and gelatinous properties of six pectin materials [J]. Acta Agri Engineering, 2012, 28(16): 288-292
- [19] Deckers H A, Olieman C, Rombouts F M, et al. Calibration and application of high-performance size exclusion columns for molecular weight distribution of pectins [J]. Carbohydrate Polymers, 1986, 6(5): 361-378
- [20] Nerea Muñoz-Almagro, Fabián Rico-Rodríguez, Villamiel M, et al. Pectin characterisation using size exclusion chromatography: A comparison of ELS and RI detection [J]. Food Chemistry, 2018, 252: 271
- [21] McClements D J. Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques [M] CRC Press, 1998
- [22] Laura G, Adrien S, Patrick P, et al. Pectins structure and particle size modify the carotenoid bioaccessibility and uptake by caco-2 cells in citrus juices vs. concentrates [J]. Food & Function, 2018, 9(6): 3523-3531

- [23] 程萌.水溶性豌豆多糖的提取及其性能研究[D].广州:华南理工大学,2018
CHENG Meng. Extraction and properties of water-soluble pea polysaccharide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018
- [24] 曾伟奇,廖劲松,齐军茹.不同处理方式对柑橘纤维形态结构的影响研究[J].现代食品科技,2019,35(2):163-170,140
ZENG Wei-qi, LIAO Jin-song, QI Jun-ru. Effects of different treatments on morphological structure of citrus fiber [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(2): 163-170, 140
- [25] Yildiz E, Demirkesen I, Mert B, et al. High pressure microfluidization of agro by-product to functionalized dietary fiber and evaluation as a novel bakery ingredient [J]. Journal of Food Quality, 2016, 39(6): 599-610
- [26] 姚晶,孟祥晨,张筠.果胶对酸性乳饮料稳定作用的研究[J].食品工业科技,2011,32(12):162-164
YAO Jing, MENG Xiang-chen, ZHANG Yun. Study on the stability of pectin on acid dairy beverage [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(12): 162-164
- [27] 张燕.果胶在发酵型酸性乳饮料中的应用[J].食品与发酵工业,2002,12:45-47
ZHANG Yan. Application of pectin in fermented acidic milk beverage [J]. Food and Fermentation Industries, 2002, 12: 45-47
- [28] 托尔坤·买买提,张梦莹,李春美,柿单宁对果胶流变特性的影响[J].现代食品科技,2018,34(4):88-93,38
Tolkun Maimaiti, ZHANG Meng-ying, LI Chun-mei. Effects of persimmon tannins on the rheological properties of pectin [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(4): 88-93, 38
- [29] 封红梅.柑橘果胶的提取及其流变性质研究[D].南昌:南昌大学,2011
FENG Hong-mei. Extraction and rheological properties of citrus pectin [D]. Nanchang: Nanchang University, 2011
- [30] 程萌,齐军茹,曹静.水溶性豌豆多糖的提取及性能研究[J].中国粮油学报,2017,32(10):54-59,89
CHENG Meng, QI Jun-ru, CAO Jing. Extraction and properties of water-soluble pea polysaccharides [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(10): 54-59, 89
- [31] 张丽芬,刘东红,叶兴乾.原子力显微镜在食品组分研究中的应用进展[J].食品工业科技,2011,32(1):355-359
ZHANG Li-fen, LIU Dong-hong, YE Xing-qian. Progress in the application of atomic force microscopy in the study of food components [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32 (1): 355-359
- [32] Nakamura A, Fujii N, Tobe J, et al. Characterization and functional properties of soybean high-molecular-mass polysaccharide complex[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 29(1): 75-84
- [33] Round A N, McMaster T J, Miles M J, et al. The isolated MUC5AC gene product from human ocular mucin displays intramolecular conformational heterogeneity [J]. Glycobiology, 2007, 17(6): 578-585

(上接第 178 页)

- [19] Sheen S, Hwang C-A, Juneja V K. Modeling the impact of chlorine on the behavior of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat meats [J]. Food Microbiology, 2011, 28(5): 1095-1100
- [20] 王殿夫.熟肉制品中李斯特氏菌污染情况定性定量及血清型分析[J].中国兽医杂志,2007,7:71
WANG Dian-fu. Qualitative quantification and serotype analysis of *Listeria* contamination in cooked meat products [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2007, 7: 71
- [21] Wang G, Qian W, Zhang X, et al. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat meat products in Nanjing, China [J]. Food Control, 2015, 50: 202-208
- [22] Bigot B, Lee W J, McIntyre L, et al. Control of *Listeria monocytogenes* growth in a ready-to-eat poultry product using a bacteriophage [J]. Food Microbiology, 2011, 28(8): 1448-1452