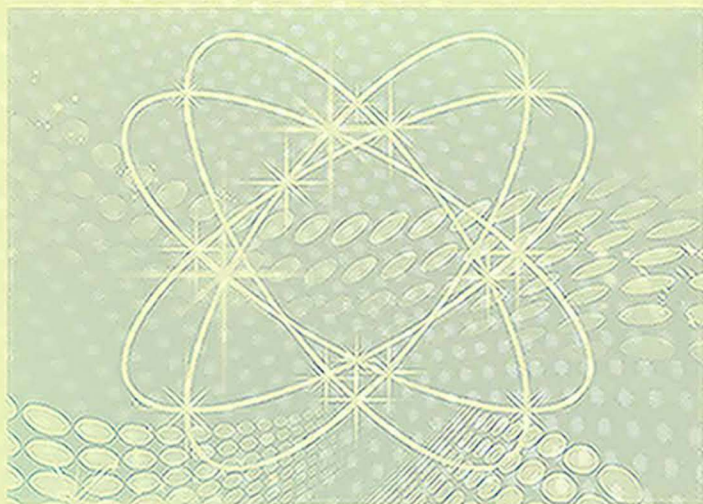


甜菜粕果胶的结构鉴定及构效关系分析

陈海明 蒋志国 沈雁 著



电子科技大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

甜菜粕果胶的结构鉴定及构效关系分析 / 陈海明,
蒋志国, 沈雁著. — 成都: 电子科技大学出版社,
2017.7

ISBN 978-7-5647-4760-2

I. ①甜… II. ①陈… ②蒋… ③沈… III. ①甜菜—
果胶—研究 IV. ①TS245.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 154043 号

甜菜粕果胶的结构鉴定及构效关系分析

陈海明 蒋志国 沈雁 著

出 版: 电子科技大学出版社 (成都市一环路东一段 159 号电子信息产业大厦 邮编: 610051)

策划编辑: 罗 雅

责任编辑: 罗 雅

主 页: www.uestcp.com.cn

电子邮箱: uestcp@uestcp.com.cn

发 行: 新华书店经销

印 刷: 成都市火炬印务有限公司

成品尺寸: 185mm×260mm 印张 11.25 字数 288 千字

版 次: 2017 年 7 月第 1 版

印 次: 2017 年 7 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5647-4760-2

定 价: 38.00 元

■ 版权所有 侵权必究 ■

- ◆ 本社发行部电话: 028-83202463; 本社邮购电话: 028-83201495。
- ◆ 本书如有缺页、破损、装订错误, 请寄回印刷厂调换。

前 言

目前,商品果胶的提取原料主要是苹果渣和柑橘皮。但是,由于受到原料和提取工艺的限制,寻求果胶新资源、新工艺以及果胶的性质改善一直是食品研究领域的热点问题。甜菜粕是甜菜制糖工业中产生的工业废料,主要用作动物饲料,其利用率很低,甜菜粕中含有大量的果胶(20%~23%),但是,在食品领域中对甜菜粕果胶的研究较少,尤其是对甜菜粕果胶结构与功能的关系的系统研究更是空白。本书系统研究了超声辅助亚临界水提取甜菜粕果胶(SBPP)的提取工艺,深入探讨了甜菜粕果胶结构与其乳化性之间的关系,并分别通过辛烯基琥珀酸酐和阿魏酸对甜菜粕果胶进行改性,提高乳液的物理稳定性和抗氧化稳定性。主要研究结果如下。

(1)本书系统研究了超声辅助亚临界水提取法,成功从甜菜粕中提取得到 SBPP(半乳糖醛酸含量最高达 61.53%)。并采用 Plackett-Burman 实验设计,从 19 种影响 SBPP 得率和结构的因素进行筛选,得到相应的主要影响因素以及每种因素的正/负效应。结果显示当置信区间设定为 90% 时,影响果胶得率的关键因素为(按照重要性顺序)固液比>水的纯度>提取温度。影响半乳糖醛酸得率的关键因素和果胶得率相同,但重要性的顺序不同,即:水的纯度>提取温度>固液比。中性糖总量和阿魏酸含量的主要影响因素为提取温度。

(2)本书针对影响 SBPP 得率的四种关键因素(提取时间,提取温度,提取压力,液固比),建立了 4 因素 3 水平响应面设计,并得到回归方程、最优提取条件以及最大得率值。此外,对最优条件下所得 SBPP 的组成进行了分析。

结果显示 SBPP 得率的最优实验条件为:提取温度 120.72℃,提取时间 30.49 min,液固比 44.03,提取压力 10.70MPa。在最优提取条件下,SBPP 的最大得率为 24.63%。成分组成为,半乳糖醛酸其含量 59.12%,阿拉伯糖 21.66%,半乳糖 5.32%,鼠李糖 4.48% 以及阿魏酸含量 0.90%。

(3)甜菜粕果胶的脱色工艺的研究:本书以脱色率和回收率为指标,选取 D101 树脂进行脱色研究,同时研究了脱色前后甜菜粕果胶的性质变化。结果表明静态时,在 pH 为 1.8、树脂用量为 1g/25mL、脱色温度为 35℃、脱色时间为 60min 时,脱色率和回收率分别达 74.36% 和 75.76%;动态时,流速为 2BV/h,果胶液锤度为 2.5Bx,处理量达到 10BV 时,脱色率仍达到 80.99%。解吸条件是 70% 乙醇、流速 2BV/h、解吸温度为 25℃。解吸四次时,处理量为 10BV,脱色率也到达 68.08%。通过比较脱色工艺对原果胶、原果胶悬浮层及沉淀层性

质的影响,表明脱色后果胶的酯化度、半乳糖醛酸含量、分子量升高,阿魏酸含量、中性糖含量降低,结构未发生变化。悬浮层果胶比沉淀层果胶性质好,脱色后,果胶色泽浅,性质更佳。

(4)本书研究了超滤分离对甜菜粕脱色果胶及其结构特性的影响。结果显示超滤分级甜菜粕果胶的最佳条件为,果胶液浓度为 1g/L、操作压力为 0.025MPa,料液温度为 40℃。四种级分果胶的实际分子量与理论分子量接近,纯度较高。说明超滤分级甜菜果胶效果好。以理论分子量大于 100 000Da 的组分为主要成分,含量达到 64.86%,相对分子质量在 20 000Da 以下的仅占 3.89%。对不同分子量的果胶进行结构和性质分析,结果表明:随着果胶分子量的减小,其半乳糖醛酸含量、酯化度和阿魏酸含量逐渐降低,其单糖的种类随分子量的降低而减少,单糖的总含量随分子量的降低而增加。

(5)本书研究了超声辅助亚临界水提取法所得 SBPP 的流变性、乳化性以及果胶对玉米淀粉糊黏度和热稳定的影响。结果显示果胶溶液属于非牛顿型流体。另外,不同浓度的 SBPP 溶液均表现出剪切变稀的特性并且曲线符合 Cross 模型。半乳糖醛酸、中性糖、阿魏酸含量以及乙酰化度均能影响 SBPP 的乳化稳定性。与阿拉伯胶相比,甜菜粕果胶的乳化能力较好,但乳化稳定性较差。SBPP 可以降低玉米淀粉黏度参数(除糊化温度外),并可以增加淀粉的起始糊化温度和热焓值。

(6)利用酶的专一性,本书系统研究了 SBPP 分子中各官能团(半乳糖醛酸、蛋白质、阿魏酸、半乳糖、阿拉伯糖、甲酯基、乙酰基)对果胶乳化能力及乳化稳定性的影响。表面张力、粒度以及显微镜照片结果显示侧链中的蛋白质和阿魏酸基团对甜菜粕果胶的乳化能力和乳化稳定性影响最大,侧链中的半乳糖和阿拉伯糖基团对果胶的乳化性影响较小,主链中的甲酯基和乙酰基主要影响果胶的乳化稳定性,半乳糖醛酸基团根据其含量的不同,其对果胶乳化性的影响也不同。红外光谱结果显示脱甲基酶、脱乙酰基酶、阿魏酸酯酶对甲酯基团有明显影响,内切半乳糖醛酸酶对羧基有明显的影响,半乳聚糖酶和阿拉伯聚糖酶对果胶结构的影响不明显。但是,SBPP 组分分析显示,每一种酶均能专一地剪切相应的基团,并能够将相应的基团含量降低到较低程度。

(7)在上述研究结果的基础上,本书系统研究了辛烯基琥珀酸-甜菜粕果胶酯(OS-SBPP)的合成、结构鉴定以及乳化性变化。通过化学改性的方法催化(碳酸钾)合成 OSA-SBPP。采用红外光谱(FT-IR),拉曼(Raman)和核磁共振(¹H NMR)对 OS-SBPP 的结构进行鉴定。发现 OSA 主要取代半乳糖醛酸分子 C-3 位置的羟基。另外,采用表面张力、粒度分布以及分层指数评估产品的乳化性能,结果显示 OS-SBPP 的乳化稳定性明显提升。

(8)本书研究了不同分子量 SBPP 的物理稳定性和抗氧化稳定性。结果表明,随着 SBPP 分子量增大、浓度升高、盐浓度增大和蔗糖添加量的增加,脱色果胶的表现黏度增高;随着剪切速率增大、温度升高,果胶液表现黏度下降;随着 pH 值变化,果胶黏度先增大后减小,在 pH 为 3.5 时,表现黏度最大;表现为典型的剪切稀化型非牛顿流体。分子量为 4.64×10^4 Da 的甜菜果胶的乳化性能最好。DPPH 法表征理论分子量 > 100 000Da 的果胶抗氧化能力最

强;ORAC 法测定结果表明理论分子量为 50 000 ~100 000Da 的果胶抗氧化能力最强。可能是由于两种方法中自由基、反应物的特性差异及两者之间抗氧化机制不同所致。

(9)在上述研究结果的基础上,本书系统研究了阿魏酸-甜菜粕果胶复合物(FA-SB-PP)的合成、结构鉴定、抗氧化活性以及以乳液的物理稳定性和抗氧化稳定性。通过酶改性方法合成了 FA-SBPP。采用 FT-IR、¹H NMR、¹³C NMR 对 FA-SBPP 的结构进行了深入研究,发现阿魏酸分子上的羟基和羧基均参与反应。对乳液进行粒度、分层指数、过氧化值以及 TBARS 分析,发现阿魏酸既能提高 SBPP 乳液的物理稳定性,又可以改善乳液的抗氧化稳定性。

编 者

目 录

第 1 章	绪论	1
1.1	甜菜粕简介	1
1.2	膳食纤维概述	2
1.3	甜菜粕果胶(Sugar Beet Pulp Pectin,SBPP)的研究现状	3
1.4	结构与性能的关系	8
1.5	膜分离技术简介	10
1.6	本课题研究的立论依据和主要研究内容	11
1.5	本课题研究的特色与创新之处	16
第 2 章	甜菜粕果胶的提取工艺研究	24
2.1	引言	24
2.2	材料和设备	24
2.3	实验方法	25
2.4	结果与讨论	29
2.5	本章小结	43
第 3 章	提取条件优化	46
3.1	引言	46
3.2	材料和设备	47
3.3	实验方法	48
3.4	结果与讨论	50
3.5	本章小结	56
第 4 章	树脂法对甜菜粕果胶进行脱色的工艺研究	60
4.1	材料和设备	61
4.2	实验方法	62
4.3	结果与讨论	64
4.4	树脂重复脱色试验	71
4.5	脱色效果的表征及评价	72
4.6	本章小结	74
第 5 章	脱色工艺对甜菜粕果胶特性的影响	76
5.1	材料和设备	76
5.2	实验方法	77

5.3	结果与讨论	80
5.4	本章小结	83
第 6 章	甜菜粕果胶的理化性质研究	85
6.1	引言	85
6.2	材料和设备	86
6.3	实验方法	87
6.4	结果与讨论	89
6.5	本章小结	92
第 7 章	甜菜粕果胶各功能基团对其乳化性影响	95
7.1	引言	95
7.2	材料和设备	96
7.3	实验方法	97
7.4	结果与讨论	100
7.5	本章小结	116
第 8 章	甜菜粕果胶超滤分级及其性质研究	119
8.1	材料和设备	120
8.2	实验方法	121
8.3	结果与讨论	124
8.4	本章小结	135
第 9 章	辛烯基琥珀酸 – 甜菜粕果胶复合物的制备	138
9.1	引言	138
9.2	材料和设备	139
9.3	实验方法	140
9.4	结果与讨论	142
9.5	本章小结	149
第 10 章	不同分子量 SBPP 以及阿魏酸 – 甜菜粕果胶酯 (FA – SBPP) 在鱼油 – 水体 系中抗氧化活性研究	152
10.1	引言	152
10.2	材料和设备	153
10.3	实验方法	154
10.4	结果与讨论	155
10.5	本章小结	164
第 11 章	结论与展望	168
11.1	结论	168
11.2	主要创新点	169
11.3	展望	169
致 谢		170

第1章 绪 论

1.1 甜菜粕简介

甜菜(Sugar Beet)是重要的糖料作物,别名糖菜,甜萝卜、饲料甜菜等,是两年生植物,属藜科(Familia Chenopodiaceae)甜菜属(Genus Beta)^[1]。甜菜种植始于18世纪,距今仅有200年历史。甜菜主要种植在较寒冷的地区,其中种植最多的国家为俄罗斯、美国、波兰、德国及中国。在我国,甜菜主要种植在东北、西北和华北地区,其中以新疆最为盛产^[2-3]。

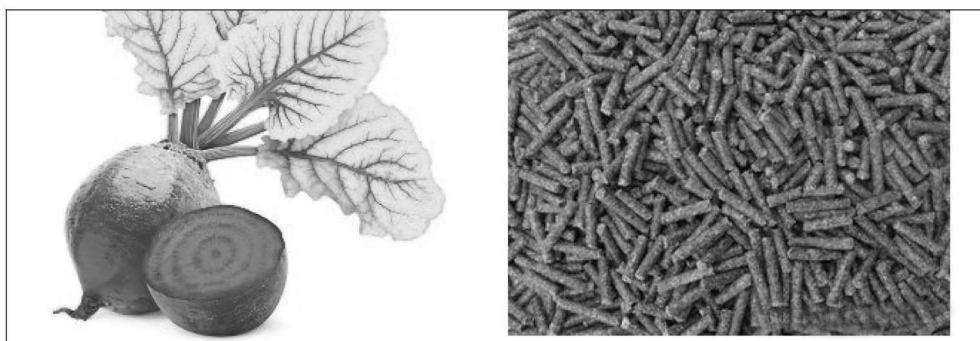


图1-1 甜菜及甜菜粕

Fig.1-1 Sugar beet and sugar beet pulp

在制糖过程中,糖用甜菜块根经浸提制糖后的残渣,通常被称为甜菜粕(Sugar Beet Pulp),也称甜菜废丝、废粕,俗称甜菜渣子。甜菜粕是糖厂最大的副产品,每100吨甜菜可生产颗粒粕6吨。我国年产甜菜粕约1000万吨,如2002年全国甜菜产量1282.0万顿(中华人民共和国国家统计局,2003)^[4]。目前除少量作为青饲料外,大部分经干燥、压粒制成硬度大、吸湿性强的甜菜颗粒粕。甜菜颗粒粕富含纤维素、半纤维素、各类氨基酸、维生素和微量元素,还含有蛋白质、果醣质、脂肪等,具体含量见表1-1^[4]。

甜菜颗粒粕中的蛋白质有87%为旁路性蛋白质,其含量居各种饲料之首,对提高产奶量有重要作用。甜菜渣中有较多游离酸,如草酸。甜菜粕含有很高的可消化纤维、果胶和糖分,具有在动物胃肠道内流过速度慢和在盲肠内存留时间长的消化特性,其粗纤维易被动物胃肠道中的微生物降解,可作为反刍动物饲料营养中的一种能量饲料资源^[5]。另外,根据市场需求,利用先进的生物化工技术开发附加值高的甜菜粕深加工产品,如果胶、阿魏酸多聚

糖、丙二醇、膳食纤维、单细胞蛋白、草酸、食用菌培养基、重金属吸附剂等,变传统利用为深加工利用,

表 1-1 甜菜粕干物质组成^[4]

Table 1-1 Substance composition of dried sugar beet pulp^[4]

干物资成分	纤维素	木质素	果胶	半纤维素	蛋白质	不溶性成分	糖分
含量范围(%)	16~40	2~7	21~41	16~40	2~7	2~7	3
平均值(%)	26	3	28	28	5	5	3

它具有原料来源丰富,成本低廉,有效节约粮食的特点,可以说是一种综合利用甜菜粕资源的有效途径,产品市场前景十分广阔^[6-10]。

1.2 膳食纤维概述

1.2.1 膳食纤维的定义与分类

在前人的研究基础上,美国谷物化学师协会对膳食纤维(Dietary Fiber)进行如下概括:DF 是一类至少有部分能在大肠中发酵、不能被消化吸收但具有特定生理功能的碳水化合物^[6-7]。它主要包括纤维素、半纤维素、果胶类物质、多糖、寡聚糖、木质素、蛋白质、植物物质(蜡质、角质、木栓脂)等^[8]和包括抗性淀粉、美拉德反应产物和氨基多糖等非细胞壁化合物。膳食纤维根据其溶解性、来源不同,分类如表 1-1 所示^[9]。

表 1-2 膳食纤维的分类

Table1-2 The classification of dietary fiber

分类依据	分类	DF 名称
溶解性	不溶性膳食纤维	纤维素、半纤维素、原果胶、木质素、甲壳素、壳聚糖等
	可溶性膳食纤维	果胶、黄原胶、植物黏液等
来源	植物性膳食纤维	纤维素、半纤维素、木质素、阿拉伯胶、果胶、半乳甘露聚糖
	动物膳食纤维	甲壳素、壳聚糖、胶原等
	海藻类膳食纤维	海藻酸钠、卡拉胶、琼脂等
	微生物来源膳食纤维	黄原胶等
	人工合成膳食纤维	葡聚糖、羧甲基纤维素、海藻酸钠

1.2.2 膳食纤维组成

膳食纤维的基本组成成分(主要是非淀粉类多糖)基本一致,由于来源不同,膳食纤维化学本质差异显著,差异主要体现在各成分的相对含量、单糖组成、糖苷键的连接方式及支链含量及结构等方面^[10]。

在植物细胞中,膳食纤维组成包括纤维状碳水化合物(纤维素)、基质碳水化合物(果胶

类物质、半纤维素等)、填充类碳水化合物(木质素)三大类,作为细胞的初级成分,纤维状化合物和基质碳水化合物随着细胞的生长而生长,作为细胞壁的次级成分,填充类碳水化合物一般没有生理活性。膳食纤维的化学组成如表1-3所示。

表1-3 膳食纤维的化学组成

Table1-3 The chemical composition of dietary fibre

纤维组成	化学组成	
	主链	侧链
纤维素(1,4- β -连接)	葡萄糖	—
半纤维素-聚木糖类	木糖、甘露糖、葡萄糖醛酸、半乳糖	阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖醛酸
果胶	葡萄糖醛酸	半乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖、果糖
树胶	半乳糖、葡萄糖醛酸、甘露糖	木糖、果糖
木质素	芥子醇、 <i>P</i> -香豆醇、松柏醇	—
胶浆	半乳糖、甘露糖、葡萄糖、阿拉伯糖	半乳糖

1.3 甜菜粕果胶(Sugar Beet Pulp Pectin, SBPP)的研究现状

1.3.1 结构和性质

果胶发现于植物细胞壁以及细胞壁之间的中间层^[11],其主链(光滑区)是以 α -D-半乳糖醛酸为单位,以1 $\rightarrow$ 4糖苷键链接^[12-14],偶尔也会有极少量鼠李糖出现在主链中,部分羟基与甲醇发生酯化,部分羟基发生乙酰化;侧链(毛发区)一般是由各种中性糖组成,包括半乳糖、葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖和木糖,不同的种类果胶侧链上多糖种类和空间排列有所不同,半乳糖和阿拉伯糖上还有部分阿魏酸与其酯化相连,半乳糖是以C-6,阿拉伯糖是以C-2形势结合^[15-16],并且侧链之间可以通过阿魏酸相连^[16]。侧链所占比例一般在5%~10%。根据酯化度(Degree of Esterification, DE)的不同,果胶可以分为高甲氧基果胶(HMP, DE > 50%)和低甲氧基果胶(LMP, DE < 50%)^[13]。HMP在酸性或者一定浓度的蔗糖存在条件下发生凝胶,LMP在碱土金属元素离子,特别是Ca²⁺存在条件下凝胶。Ralet等用聚半乳糖醛酸内切酶和甲基酯化酶水解甜菜果胶溶液,并对水解释放的低聚半乳糖醛酸进行量化分析(HP-SEC)和质谱分析,推测甜菜果胶上聚半乳糖醛酸的乙酰基按顺时针重新分布^[17]。

SBPP中根据提取方法和纯化工艺的不同,所含蛋白质含量约为2%^[18]、3.7%^[19]、10.4%^[20],苹果果胶中约为1.6%^[21],柑橘果胶中含有3%~3.3%。蛋白质主要存在于果胶的侧链中,在侧链中的存在形式,是否是以共价键形式结合现在还属未知^[22],有人认为伸展蛋白可以与果胶之间形成链接,可能是阿拉伯-3,6-半乳糖或者阿魏酸与氨基酸交联形成酚醛树脂^[23]。因此,SBPP的乳化性以及乳化稳定性和蛋白质有没有关系、蛋白质在果胶

中的存在形式都是由此衍生出来的研究内容。

目前,商业果胶主要是从柑橘皮和苹果渣中提取获得,在甜菜粕中含有 15% ~ 30% 的果胶(干基)^[24],而且甜菜粕量大易得,因此受到科学家的广泛关注。但是与柑橘果胶和苹果果胶相比,甜菜果胶所展现的凝胶性非常差,前人所做的研究中认为 SBPP 凝胶性不好主要归因于其含有大量乙酰基、分子小^[25]、中性糖含量高^[26-27]、平均分子量低^[27-29],也有人认为甲基酯化度以及甲基在主链上的分布决定了凝胶性以及凝胶的功能性^[30]。但到目前为止,科学家还没有找到导致 SBPP 凝胶性差的确切原因,这严重限制了甜菜果胶的应用范围,影响了甜菜果胶应用推广,这也是本课题拟解决的核心问题之一。

与其在凝胶性上的表现相反,SBPP 表现出非常良好的乳化性和乳化稳定性。曾有多篇文章报道 SBPP 在油-水混合物中表现出良好的乳化性^[31-33],虽然有很多学者对其进行过研究,但看法不一,乳化性良好的原因到目前为止仍然不详。Endreb 和 Rentschler 认为 SBP 乳化性主要取决于乙酰基的存在^[32],因为有报道称乙酰化的果胶比脱乙酰基的果胶乳化稳定性好^[33]。与其相反,Leroux 等认为 SBP 的乳化性以及乳化稳定性与乙酰基之间没有绝对关系^[33],而是和高比例的蛋白质的存在有关^[19],Funami 等分别用胃蛋白酶和酸性蛋白酶处理 SBP,去除果胶分子中的大部分蛋白质而基本不改变果胶的原有结构。结果发现果胶对水油乳剂的乳化能力明显下降^[34]。Funami 等采用蛋白酶、阿拉伯糖酶、半乳糖酶、聚半乳糖醛酸酶作用于甜菜果胶,蛋白得到不同程度降解而影响了乳剂的稳定性,说明了蛋白质对甜菜果胶的乳化稳定性方面起着重要作用^[35]。蛋白质、FA、乙酰基所占比例三个主要因素影响 SBP 乳化性及稳定性^[36]。同时还有很多因素会影响乳化稳定性,像乳化剂、稳定剂、环境压力(pH、温度、离子强度)、均质条件(压力和加热)^[37-40]。

1.3.2 提取分离工艺

SBPP 的提取方法主要有酸提法、草酸铵提取法、EDTA 提取法、碱提法、沸水抽提法、微波法、离子交换树脂法、微生物法等。酸提法是最常用的方法,一般在 80 °C ~ 90 °C 提取得率最高,可达到 24% (HCl, pH 1, 4 h, 90 °C)^[41], 23%^[42], 27.6% (H₂SO₄, pH1, 80 °C, 1 h)^[43], 由于酸提法具有工艺简单、操作简便、果胶提取率高、成本低等优点,被广泛应用于商品果胶的提取中,但果胶分子在热酸条件下会遭到一定程度的破坏,分子量变小;室温下用酸提法提取的果胶,结构保持相对比较完整,分子量大。Phatak 等对比三种溶剂(盐酸,草酸铵,EDTA)在甜菜果胶提取中的不同结果,发现草酸铵提取得率最高,但 DE 值较低^[28]。Kirby 等目的在于研究甜菜果胶的结构,选择在室温下用盐酸提取果胶,得率 6%,但结构保持比较完善,蛋白质含量高达 9%^[44]。碱提取法过程中果胶分子容易发生皂化反应,导致结构破坏最严重,但是该方法可以用来分析果胶分子的侧链结构^[45]。酶法提取主要依靠酶的特异性剪切达到果胶从甜菜组织结构中脱离,用到酶主要有纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶(原果胶酶 A、原果胶酶 B)、多聚半乳糖醛酸酶(内切多聚半乳糖醛酸酶、外切多聚半乳糖醛酸酶 I、外切多聚半乳糖醛酸酶 II)、裂解酶(内切聚半乳糖醛酸裂解酶、外切聚半乳糖醛酸裂解酶、

内切聚甲基半乳糖醛酸裂解酶、外切聚甲基半乳糖醛酸裂解酶)。Spagnuolo 等用纤维素酶和果胶酶协同作用从甜菜粕中提取果胶,相对于酸提取更加有效^[46]。Spagnuolo 等用内切阿拉伯糖酶和 α -L-阿拉伯呋喃糖酶作用于甜菜粕得到的果胶质量和数量比传统化学提取方法得到的果胶更好^[47]。Buchholt 等分别用酶法和化学提取法得到了甜菜果胶并对所得产品进行了比较^[48]。Concha Olmos 等用两种果胶类酶(RohapectDA6L 和 Macer8 FJ)处理甜菜粕,结果两种酶都得到了大量的半纤维素,RohapectDA6L 酶得到的果胶用滴定法测定 DM = 56%^[49]。

果胶的分离最常用的方法是醇沉,超滤曾用于果胶醇沉前的浓缩和提纯^[33,50],反渗透、微滤和超滤等膜技术也常被用在果汁的纯化浓缩上^[51-53];另一种膜技术也可以应用到果胶的分离操作中,但并不常用。超滤-透析法(UF-DF)可以在常温下不破坏蛋白质的结构而与果胶分离^[54]。Yapo 等用酒精沉淀洗涤法和 10KD 截留分子量膜超滤-透析法对果胶进行了提取纯化,结果显示酒精法得率高,果胶中含有较多的中性糖和蛋白质,灰分也较多,但所含半乳糖醛酸较少,乳化性也有一定的提升^[43]。

1.3.3 果胶的脱色

鉴于酸提法较易操作,果胶的提取大部分采用酸提法,果胶大多从植物或其加工物中提取,如甜菜粕、苹果渣、葡萄渣等,其含有少量的糖类、蛋白质、酚类物质,在高温及酸性的提取条件下,糖类会发生美拉德反应、焦糖化反应,酚类物质会发生酶促褐变和非酶促褐变两种反应(其中,酶促褐变是主要反应)等^[32-33],使果胶色泽较深。目前制约国内果胶质量的主要问题是色泽较深的问题。对果胶进行脱色处理是改善其颜色品质的一个重要工艺^[34-36]。

大量人员对不同果胶脱色工艺及效果进行了研究,先采用高温漂洗法对原料进行预处理,使氧化酶失活,尽量降低原料本身带入的色素,再针对提取果胶过程中,酸和高温的存在产生的色素进行脱色。目前,用于果胶脱色的方法主要有四种:醇氨溶液脱色、活性炭吸附脱色、化学法脱色(双氧水氧化)及树脂吸附法脱色。

孙俊良等^[37]比较了采用树脂和活性炭对甘薯果胶进行脱色的效果,发现树脂吸附色素效果更好,且与活性炭脱色后果胶产品色泽暗、灰分高的结果相比,树脂吸附脱色后的果胶质量更好,且操作简单,易过滤,产品质量高。张建新等^[38]比较了不同种类的树脂对苹果清汁色值的控制,发现用 LSA-900B: LSA-900C = 1:1 进行吸附脱色,既可提高浓缩苹果清汁初始色值,又可在贮藏过程中更好地保持其色值。石启田等^[39]用 D900 大孔树脂对银杏外种皮的水提多糖进行脱色,获得的多糖结构未产生变化,多糖质量得到明显提高。

树脂的脱色效果不仅与原料有关,还与其自身的参数及单体结构紧密相关,比如对 AB-8、聚酰胺、S-8、NKA-II、X-5、NPD-600 六种树脂,周尽花等^[40]比较了其对于柚皮果胶的脱色效果,发现 AB-8 型大孔吸附树脂脱色效果最好,其中在 20℃,pH = 4~6,处理量为 5 BV,流速为 3 BV/h 时,脱色效果较好,且果胶回收率较高,并证明了采用适宜浓度的乙醇

对树脂进行再生的可行性。同样张磊等^[41]考察了六种不同树脂(D900、D201、X-5、AB-8、D301、HPD-600)对向日葵盘果胶液进行脱色的效果,实验表明,D900型吸附树脂效果较好,在25℃,流速为3.6 BV/h,pH为4时,吸附色素率可达84.3%。游新侠等^[42]同样比较了极性大孔吸附树脂(NKA-9和NKA-II)、非极性大孔吸附树脂(X-5和D3520)、D201GF阴离子交换树脂和D152阳离子交换树脂对苹果渣果胶提取液的脱色效果,结果显示,在温度为25℃,果胶液pH值为2.0,流速为0.059 mL/min时,X-5树脂的脱色效果最好。

对于不同的果胶提取液,由于其原料不同,原料中所含色素及提取过程中所产生的色素类型也有所差异。徐金瑞等^[43]采用XDA-5树脂对苹果果胶进行脱色,结果显示,在柱子规格为600 mm×50 mm,装柱量为2/3,温度60℃,流速200 mL/h,脱色效果最好。金山等^[44]采用D3520树脂对山楂果胶的脱色工艺进行了研究,结果表明动态脱色效果明显优于静态吸附效果,最佳脱色条件为,温度30℃,处理量为4 BV,流速为350 mL/h。经此过程处理过的果胶溶液的颜色近于无色,纯度较高。万国福等^[45]分别比较了阴离子树脂201×7和D900树脂及两种树脂交叉使用时,对南瓜果胶水解液进行脱色的效果,发现两种树脂交叉使用比单独使用时,脱色效果好,其最佳工艺条件为,摆幅7 r/min,温度20℃,脱色时间为14 h,得到的果胶符合果胶质量标准。曹霞敏^[46]等采用XDA-16HP对苹果果胶液进行脱色,并通过比较脱色前后果胶液的色值、半乳糖醛酸含量、酯化度、褐变度、金属离子含量、固有黏度、黏均分子量的测定及总酚含量的变化情况,发现脱色前后果胶半乳糖醛酸含量和酯化度都没有明显的变化,表明脱色对果胶的结构未产生影响。韩瑞等^[47]以XDA-7大孔树脂作为吸附剂,研究了苹果渣果胶的脱色工艺,并做了静态吸附和动态吸附比较,在流速4.5 BV/h,处理量2.5 BV,料液pH值为1.0,温度为35℃时,脱色率可达61.66%,损失率为3.05%。

综上所述:活性炭孔径较小,难过滤,灰分含量高,经活性炭吸附脱色后的果胶,其各项指标很难达到国标要求;化学法脱色过程不易控制,易发生部分碳化,进一步加深果胶色泽,而且双氧水(过氧化氢)脱色成本较高、脱色时间较长,对设备要求较高。醇氨溶液法脱色效果较好,但氨水刺激性较强,乙醇价格较高,易挥发,存在不安全因素,脱色时需要多次洗涤转移,果胶损失率较高;树脂脱色效果好,能脱去不同类型的离子和色素,脱色容量高,处理能力大,可多次反复使用。

1.3.4 改性和应用

果胶在食品、制药、化妆品工业方面都有着广泛的应用^[13,55-58],在食品工业中主要用在果酱和果冻中作为凝胶剂和增稠剂,它在饮料、调味品、调浆以及其他食品中也有应用^[57,59-60]。

有报道称SBPP可以非常有效地稳定油菜籽油和橙油^[18],Leroux等^[18]和Ahktar等^[61]发现解聚的柑橘果胶,分子量在70 KD的部分乳化性最好,用动态表面张力测量法对柑橘果

胶、苹果果胶和甜菜果胶稳定柑橘油乳剂能力进行分析,结果表明三种果胶都能降低表面张力,但甜菜果胶效果最突出。相对另外两种果胶(柑橘果胶和苹果果胶),甜菜果胶中所含的蛋白质明显较多,蛋白质吸附在油滴表面,多糖从中心向外延伸,在油滴表面形成保护墙^[18,62],它在均质过程中可以吸附在乳滴表面阻止乳滴聚集,另外,蛋白可以降低乳滴表面张力,促进乳滴进一步破坏^[63]。同时,SBPP 由于高乙酰化以及聚半乳糖醛酸含量相对较少,所以相对其他果胶凝胶性不好。阿魏酸的存在(在 RGI 中与阿拉伯糖酯化),可以借助氧化酶催化氧化交联改善凝胶性^[64-67]。交联度和凝胶稳定性受 SBP 提取方法、果胶类型、酶的种类的影响^[64],改善凝胶可以通过加长孵化时间及提高酶浓度,但酶浓度过高也会对凝胶性产生负面影响^[66]。同时,酶催化 FA 凝胶是一种非可逆的热过程^[68],先前的一些报道中也有提到 HRP 和漆酶可以催化 FAs 交联,促进凝胶^[65-66],但两种酶的催化机理有所不同,HRP 发挥作用需要有 H_2O_2 做氧化剂,而漆酶和 Ca^{2+} 直接对底物进行氧化反应^[69]。也有科学家对两种氧化酶催化所得的凝胶的流变性^[65]和凝胶动力学^[67]进行了对比分析。用漆酶氧化甜菜果胶上的阿魏酸使其交联,可以增加大豆蛋白水油体系和鱼肝油乳剂体系的稳定性^[70-72]。当系统组成为 WPI(6 g/100ml)和 SBPP(1 g/100ml),pH 3.5 时,复合物最稳定^[71]。Xu 等研究了乳清蛋白(WPI)和 SBP 的结合物改善 β -胡萝卜素乳剂的理化稳定性^[73]。

Li 等采用辣根过氧化酶(HRP)促进果胶交联改进乳清蛋白乳剂的稳定性,使其在 pH 变化、离子环境变化、热冻处理等条件下更加稳定^[74]。Takei 等用辣根过氧化酶(HRP)在 H_2O_2 条件下交联 SBP 促进凝胶应用于生物医学和生物制药,证明是可行的^[75]。并且,HRP 的氧化速率和甜菜果胶侧链中阿拉伯糖链长有关,链越长交联速度越慢,原因可能是长链的阿拉伯糖移动缓慢^[76]。

Zaidel 等采用两种氧化酶(漆酶和 HRP)研究了酶氧化交联 SBPP 酶动力学的影响和对乳清蛋白-水油体系稳定性的影响^[67,77]。在相同酶剂量下,两种酶表现出不同的凝胶动力学,而且产品胶也表现出不同的流变属性。HRP 催化凝胶速率快,而漆酶催化所得产品凝胶性更强。

阿拉伯胶被认为是制作微胶囊壁材性质最为完美的标准物质^[78-79],但阿拉伯胶蛋白含量低,所以需要较高的浓度(15%~25%)才能达到预期效果^[18],因此可以尝试用果胶替代阿拉伯胶用作微胶囊壁材。Drusch 等采用甜菜果胶和葡萄糖浆为壁材制成微胶囊,用喷雾干燥法成功包埋不饱和脂肪酸鱼肝油^[80]。Chen 等采用漆酶对甜菜果胶催化交联增加大豆油乳剂的乳化稳定性^[81]。

随着人们对环境质量的要求日益增加,废水污染作为三废之一,对其处理广受关注。传统处理回收废水中重金属的方法包括化学沉淀法、过滤、氧化还原法、电化学处理法、反渗透法、离子交换法、吸附法、蒸发法,投资非常高,回收也不完全。生物吸附可以有效地净化低金属离子浓度废水,同时又可以除去污染物中的染料或有机化合物^[82],生物物质的类型决定了吸附和选择性回收的过程。死生物质的应用可以使吸附交换过程独立,更快地增加金属

吸附^[83]。近期,大规模工业操作产生的副产品以及农业废料所体现出的可用性、高效能、价格低廉且容易处理等优点引起了科学家们的广泛关注^[84]。甜菜干果胶可以应用于固定柱床作为生物吸附剂来吸附并回收废水中的 Cu^{2+} ^[85], Y. N. Mata 等研究出了湿果胶和干果胶吸附废水中重金属离子 (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+}) 的作用机理,凝胶的甜菜果胶中含有大量的 Ca^{2+} , 可以与废水中的金属阳离子发生离子交换,同时,果胶中的羟基可以同金属离子发生螯合作用和络合作用^[86]。SBPP 上的功能基团有羟基、氨基、甲氧基,其中羧基在吸附重金属中的作用十分明显^[82]。现存的 SBPP 的 DE 值大部分大于 50%,它在低 pH 和高浓度糖条件下凝胶,易溶于水并且质地柔软,所以不适合用于吸附金属和固定生物物质,因此必须通过去甲基化得到低甲基 SBPP,这样它在阳离子条件下凝胶且在水溶液中稳定存在,可以像藻酸盐一样吸附重金属离子,固定生物物质^[87]。

1.4 结构与性能的关系

1.4.1 果胶结构对乳化性的影响

果胶的乳化性是其重要应用之一。但是果胶本身拥有乳化能力的原理并没有得到明确的证明。1986 年,Dea 等研究了甜菜果胶的化学结构与乳化性能之间的关系,遗憾的是他们并没有找到可以证明甜菜果胶的乳化性与其化学组成有关系的证据^[31]。1999 年 Endress 等发现高乙酰度的甜菜果胶乳化性明显优于低乙酰度的果胶,因此,较高的乙酰化度被认为是甜菜果胶乳化性优良的内在因素^[32]。目前普遍认为其原理为,水、油和果胶混合后,经过高压均质过程,油被分散成多个小油滴,果胶中的蛋白质作为亲脂部分插入油滴内部,将剩下的糖链部分留到油滴之外,糖链中的半乳糖醛酸中含有大量羧基,在酸性条件下,羧基带负电荷,因此,电荷之间的排斥作用阻止相邻的油滴相互靠近,从而达到稳定乳液的效果。目前,商品化的柑橘果胶和苹果果胶已广泛应用到各种乳化体系中,但有大量学者证明甜菜粕果胶的乳化性能明显优于前面所述两种商品果胶。可能性原因主要包括高比例的中性糖侧链^[19],主链中较高的乙酰基含量^[6],侧链中较高含量的阿魏酸含量^[6,88-90],较高的蛋白质含量^[19]。

评价胶体乳化性能好坏的关键主要包括两个方面:乳化能力 (Emulsifying Activity) 和乳化稳定性 (Emulsifying Stability)。果胶的乳化能力主要取决于蛋白质含量^[34];乳化稳定性则主要取决于碳水化合物部分的黏度效应、位阻效应和电荷效应^[37]。由于甜菜粕果胶分子的侧链较长,因此,侧链之间的相互作用更明显,乳化稳定性相对于其他果胶更好。

Endress 等认为 SBPP 乳化性主要取决于乙酰基的存在^[32],因为有报道称乙酰化的果胶比脱乙酰基的果胶乳化稳定性好^[33]。与其相反,Leroux 等认为 SBPP 的乳化性以及乳化稳定性与乙酰基之间没有绝对关系^[33],而是和高比例的蛋白质的存在有关^[19],Funami 等分别用胃蛋白酶和酸性蛋白酶处理 SBP,去除果胶分子中的大部分蛋白质而基本不改变果胶的

原有结构。结果发现果胶对水油乳剂的乳化能力明显下降^[34]。Funami 等采用蛋白酶、阿拉伯糖酶、半乳糖酶、聚半乳糖醛酸酶作用于甜菜果胶,蛋白得到不同程度降解而影响了乳剂的稳定性,说明了蛋白质对甜菜果胶的乳化稳定性方面起着重要作用^[35]。蛋白质、FA、乙酰基所占比例三个主要因素影响 SBP 乳化性及稳定性^[35-36]。同时还有很多因素会影响乳化稳定性,像乳化剂、稳定剂、环境压力(pH、温度、离子强度)、均质条件(压力和加热)^[38-40,91]。Li 等先采用乳清蛋白做乳化剂将油-水体系乳化,然后加入甜菜粕果胶,将 pH 值调到 4,果胶在静电作用下结合到蛋白质上并覆盖到油滴表面,形成第二乳化层,为了增加乳液的稳定性,添加一定量的辣根氧化酶,将不同果胶分子上的阿魏酸基团氧化交联,从而避免因 pH 值或者离子强度的变化而引起的乳液分层,增强了乳液的稳定性^[74]。Zeeb 等和 Littoz 等用漆酶代替辣根氧化酶,同样可以交联甜菜果胶,从而达到提高乳液稳定性的效果^[70-72]。Williams 等采用疏水亲和色谱法,采用不同的洗脱液将甜菜果胶溶液分离成不同片段,不同分馏段的果胶蛋白含量、阿魏酸含量,分子量均不相同,因此乳化性也各不相同^[19]。作者最后得出果胶的乳化性与蛋白含量、阿魏酸含量,分子量之间有着重要的关系。这种方法并不能准确地确定每一种因素单独对果胶乳化性的影响。Funami 等研究了蛋白质含量对甜菜果胶乳化性的影响。采用酸性蛋白酶将果胶中的蛋白质含量由 1.56% 降低到 0.13%,酶解前后阿魏酸和中性糖含量均无明显变化,乳液的粒径大小从 0.56 增加到 3.00 μm ,说明蛋白质含量的降低导致甜菜果胶乳化能力的降低,同时,乳液的稳定性也有明显的降低^[34]。

Akhtar 等将果胶降解得到不同分子量,经分析,分子量为 70 kg mol^{-1} 片段的果胶制备的乳液粒径最小,乳化稳定性也最优^[50]。Leroux 等通过化学改性方法将柑橘果胶的乙酰化度升高,发现柑橘果胶的乳化性能增强,推测原因可能是乙酰基降低了钙离子的絮凝作用;但是将甜菜果胶的乙酰化度降低后,甜菜果胶的乳化特性并没有明细变化,但是发现吸附在油滴表面的果胶含有较高含量的蛋白质^[18]。Xu 等采用干热法将甜菜果胶和乳清蛋白共价结合,所得的产物乳清蛋白-甜菜果胶化合物表现出较好的乳化稳定性^[73]。

1.4.2 果胶结构对凝胶性的影响

果胶的凝胶性在其工业应用中起到非常重要的作用。通常,果胶凝胶分为两大类,主要取决于果胶的酯化度。

高脂果胶(DM > 50%)形成凝胶的条件是酸性介质($\text{pH} < 3.5$),同时蔗糖作为共溶体的质量浓度大于 55%,这种凝胶通常叫作“酸凝胶”^[13]。其中溶液中高浓度的蔗糖的作用是降低水的活性,并促进甲基之间的疏水作用。低 pH 值的作用是降低羧基的释放量,从而减少静电斥力。并且这种未完全释放的羧基与二级醇基团之间可以形成氢键。

低脂果胶(DM < 50%)形成凝胶的条件是钙离子或者其他二价金属离子。二价离子的作用是和果胶分子上的羧基形成离子键桥,从而形成凝胶,通常这种低脂果胶形成的凝胶也被称作“钙胶”。对其原理最典型的解释是“蛋盒型”(如图 1-2),最早是由 Grant 等提出

的^[92]。一个钙离子同相邻两个半乳糖醛酸基上的羧基相互吸引,按照果胶分子链延伸下去形成类似“蛋盒”的结构。

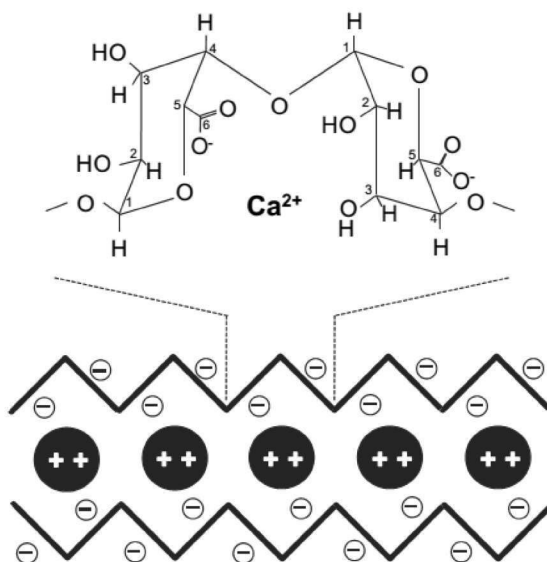


图 1-2 钙胶模拟图

除了以上两种最为常见的凝胶类型之外,有一些特殊类型的果胶是通过共价交联形成凝胶的。最典型的例子就是甜菜粕果胶。甜菜粕果胶大多属于高酯果胶,但它在高浓度蔗糖的酸性条件下不能生成凝胶。甜菜粕果胶的凝胶需要借助其分子支链上的阿魏酸,因为阿魏酸在一些氧化酶(如漆酶、辣根氧化酶等)条件下容易交联形成共价连接的网络结构。这种通过化学方法形成的胶体和前面两种物理方法形成的凝胶有很大区别^[64-66]。

1.5 膜分离技术简介

1.5.1 膜分离技术

膜分离技术是借助外界能量或化学位的推动,以选择性透过膜为分离介质,对多于两种组分的气体或液体进行分离、分级和富集的一种技术^[87]。目前已研制出了截留分子量从 1 000 ~ 100 000 的一系列产品。膜分离技术大致可分为微滤、超滤、纳滤和反渗透等四种。其中超滤的发展较为迅速。超滤能够截留分子量为 500 以上的诸如蛋白质、淀粉、核酸聚合物等大分子物质和胶体分散液及乳液,实现小分子的分离、浓缩与净化的目的。