

# 热协同超高压加工鲜榨苹果汁贮藏过程中色泽稳定性研究\*

赵光远,张 勇,邹青松,孙 鹏,杨公明

(郑州轻工业学院食品与生物工程学院,河南郑州,450002)

**摘 要** 通过 HPLC 等方法,分析用热协同超高压加工的鲜榨苹果汁中酚类和 Vc 等物质在贮藏中的变化,发现果汁在贮藏中发生的非酶褐变主要是由酚类的氧化聚合引起的,可通过低温贮藏加以控制。聚原花色素、表儿茶素、绿原酸和 Vc 的损失以及果汁的褐变随贮藏时间的延长和温度的升高而加剧。果汁颜色变化先快后慢,  $L^*$  值降低,  $a^*$  值升高,  $b^*$  值变化较小。氨基酸也参与了褐变反应,但 Maillard 反应不显著。缩合单宁的平均聚合度随贮藏时间的延长和温度的升高而变大。粒径分析表明贮藏过程中有新的颗粒产生。

**关键词** 鲜榨苹果汁,热协同超高压,非酶褐变,多酚, Vc

鲜榨苹果汁属于混浊苹果汁,目前混浊苹果汁加工过程中存在 3 大技术难题:色泽稳定性的保持、混浊稳定性的保持、营养素的损耗。果汁的褐变主要包括发生在加工过程中的酶促褐变及在随后贮藏过程中的非酶褐变。能引起非酶褐变的主要反应有 4 种类型,即 Maillard 反应、焦糖化反应、抗坏血酸降解及酚类化合物的氧化聚合<sup>[1]</sup>。由于不同果蔬汁所用原料、加工工艺及成分不同,故 4 种非酶褐变在不同果汁中存在的种类与程度各不相同<sup>[1,2]</sup>。

苹果清汁在生产过程中的澄清和防止后混浊、二次混浊等的工艺,除去了苹果中大量的原花青素、绿原酸、表儿茶素等酚类,而苹果混汁却富含这些营养成分。所以,苹果混汁在化学成分特别是酚类物质方面与苹果清汁存在较大的差别,而酚类是很活泼的物质,故苹果混汁中的非酶褐变与清汁有区别。苹果清汁及其浓缩汁在贮藏过程中的色泽稳定性的研究已有较多报道,笔者虽然研究了混浊苹果汁贮藏过程中色泽稳定性<sup>[3]</sup>,但用热协同超高压加工的鲜榨苹果汁贮藏过程中色泽稳定性的研究却未见报道。

本文采用不同的贮藏条件,在分析与非酶褐变相关的反应物浓度变化的基础上,揭示苹果混汁贮藏期间色泽劣变的原因和机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料和设备

鲜榨苹果汁:自加工;儿茶素、表儿茶素、Vc 和 5-羟甲基糠醛(HMF)为 Sigma 公司产品;芦丁、根皮

苷、绿原酸为 Carl Roth KG.D 75 Karlsruhe 21 产品。

UHP900×2-Z 食品高压处理装置(包头文天有限责任公司),由 2 个 2 L900MPa 超高压容器、低压泵、增压器、超高压输出系统、电控系统和温控装置等部件组成,该系统为双向增压结构形式,具有升压速度快、压力稳定等特点,装置可在室温~100℃内自动控温;Mastersizer 2000 型激光粒径分析仪(英国 MALVERN 公司);Agilent 1100 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);WSC-S 色差仪(上海精密科学仪器有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 鲜榨苹果汁的生产及贮藏实验

加组合防腐变剂(含 0.066%的 Vc 等)

↓

苹果在 45℃热水中处理 45 min(前热处理器)→凉至 30℃左右→破碎 40s(破碎机)→制成汁(压榨机)→将果汁装入塑料袋子(每袋装 40 mL)真空封口→50℃协同 320M 高压处理→产品

将同一批次的果汁放置于 4℃冰箱、22℃和 40℃恒温培养箱中贮藏。在不同贮藏时间分别随机取样,测定苹果汁的颜色、褐变指数及基本成分。

#### 1.2.2 果汁颜色的测定<sup>[4]</sup>

果汁颜色变化( $\Delta E$ )计算公式见参考文献[1],  

$$(\Delta E) = \{(L_t^* - L_0^*)^2 + (a_t^* - a_0^*)^2 + (b_t^* - b_0^*)^2\}^{1/2}$$
 式中  $t$  为 120 d。 $\Delta E$  越大则表示果汁颜色变化越大。式中:  $L^*$  表示亮度,  $L^*$  值越大果汁越亮,反之越暗;  $a^*$  值越大果汁颜色越红,反之越绿;  $b^*$  值越大果汁颜色越黄,反之越蓝。

#### 1.2.3 果汁褐变指数的测定<sup>[5]</sup>

第一作者:博士,副教授。

\* 河南省教育厅自然科学研究项目(No. 2007210038)

收稿日期:2008-01-25, 改回日期:2008-03-18

## 1.2.4 果汁成分分析

(1) 酚类的 HPLC 分析, 见参考文献[3]。

(2) 原花青素及单体的测定: HCl-香草醛法<sup>[6]</sup>, 样品制备同(1)。

(3) 原花青素的测定: 正丁醇-HCl 法<sup>[6]</sup>, 样品制备(1)。

(4) 缩合单宁的平均聚合度的测定<sup>[7]</sup>, 样品制备(1)。

(5) 绿原酸的测定: HPLC 法, 样品制备(1), 上样前经 0.45  $\mu\text{m}$  膜过滤, 取 20  $\mu\text{L}$  滤液进样。紫外检测器; 检测波长 325 nm。其他条件同上。

(6) 总糖、蔗糖、还原糖的测定<sup>[8]</sup>。

(7) 总 Vc 和还原型 Vc 的测定<sup>[5]</sup>。

(8) 氨基态氮的测定<sup>[8]</sup>。

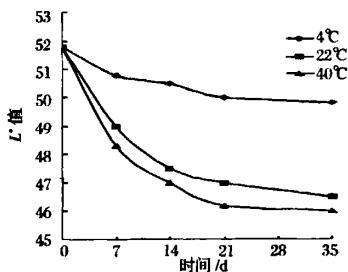
## 1.2.5 果汁中悬浮颗粒的粒径分析

取袋子顶部果汁, 用 Mastersizer 2000 型激光粒径分析仪测定, 结果由机带软件自动分析。

## 2 结果与讨论

## 2.1 果汁颜色的变化

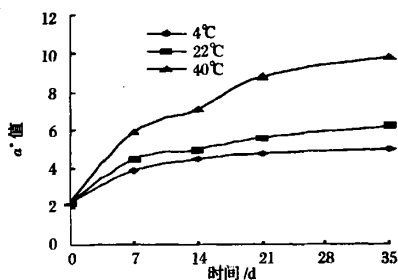
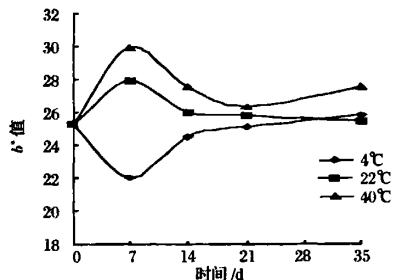
随着贮藏时间的延长, 在所有贮藏温度下, 果汁的  $L^*$  值下降, 颜色变暗;  $a^*$  值增大, 颜色变红, 且贮藏初期的减小速率快。在每一相同时间点, 随着贮藏温度的升高, 果汁的  $L^*$  值下降, 颜色变暗;  $a^*$  值增大, 颜色变红, 且贮藏初期的增加速率大(见图 1、图 2)。 $b^*$  值变化较复杂, 但变化幅度较小。40℃下和 22℃的果汁  $b^*$  值总趋势上升, 4℃下的果汁  $b^*$  值逐渐降低(见图 3)。果汁颜色的总体变化可用  $\Delta E$  和褐变指数来衡量。果汁经 120 d 的贮藏, 颜色变化( $\Delta E$ )随贮藏温度的升高而增大, 表明温度升高加速了果汁的褐变。

图 1 果汁  $L^*$  值随时间的变化

## 2.2 果汁成分的变化及非酶褐变的类型

## 2.2.1 Vc 的氧化降解

抗坏血酸(Vc)的天然存在形式基本为还原态的 L-抗坏血酸(即 AA), 它的还原性归结于它所含的 2,

图 2 果汁  $a^*$  值随贮藏时间的变化图 3 果汁  $b^*$  值随贮藏时间的变化

3-烯醇式结构。双电子氧化和脱氢可将 L-抗坏血酸转化为 L-脱氢抗坏血酸(DHAA)。DHAA 所显示的维生素活性几乎与 AA(L-抗坏血酸)相同。AA 的降解可分为 2 种<sup>[1,9]</sup>:(1) 有氧降解, 果汁在贮藏初期, 果汁中及上部顶隙含有  $\text{O}_2$ , 故其 AA 的降解主要途径是有氧降解;(2) 无氧降解, 当果汁中的氧气完全消耗或低至某一浓度时, 此类降解占主导。酸可催化此类降解。AA 降解总伴随着变色反应, 故 Vc 的降解被列为非酶褐变的一种<sup>[1,9]</sup>。

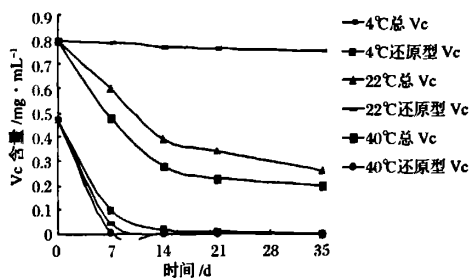
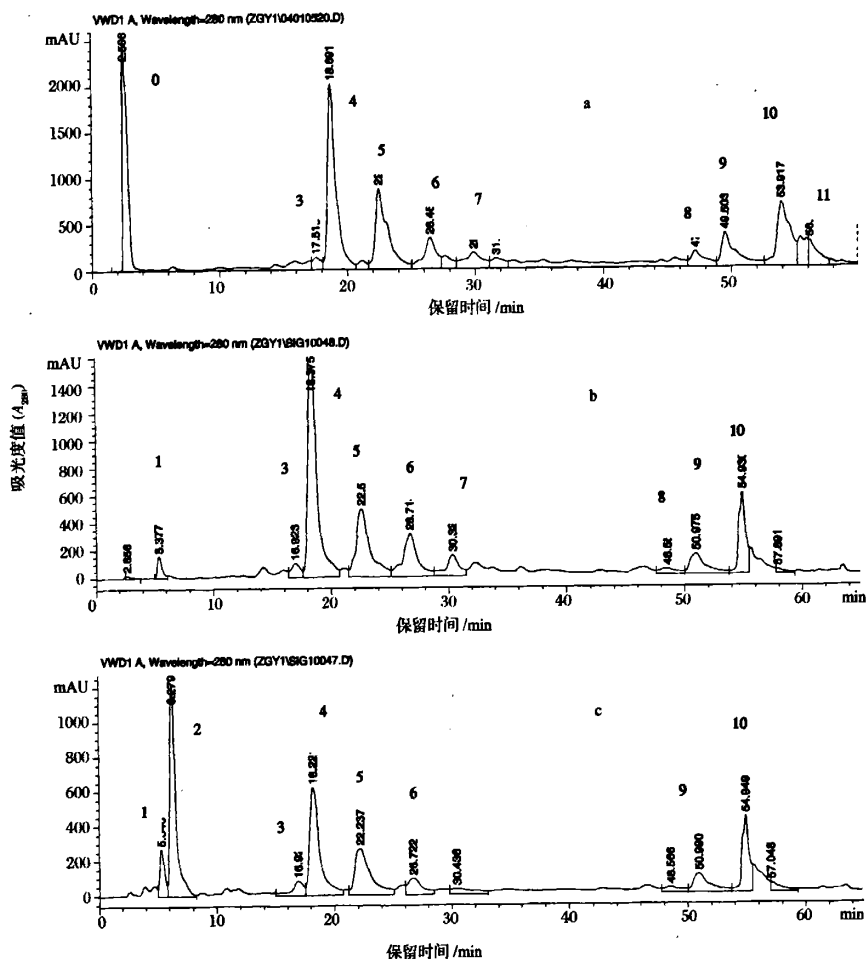


图 4 果汁中 Vc 含量随贮藏时间的变化

由图 4 知, 不管是还原态的 L-抗坏血酸还是总 Vc, 它们在贮藏初期的损失速率都高于在后期的损失速率。这是因为贮藏初期 AA 主要进行有氧降解, 贮藏后期无氧降解占主导, 而无氧降解的速度常数要比氧化反应小 2~3 个数量级<sup>[9]</sup>。Vc 降解的产物很复杂, 在中性和酸性条件下, 主要分解产物包括 L-木酮糖、草酸、L-苏氨酸、酒石酸、5-羟甲基糠醛(HMF)

等<sup>[9]</sup>。其中 5-羟甲基糠醛(HMF)被公认为是 Vc 引起非酶褐变的检测指标<sup>[1]</sup>。图 5 中峰 0 为还原型 Vc,峰 1 和峰 2 均为 Vc 降解的产物。还原型 Vc 随

着贮藏时间延长而降低,5-羟甲基糠醛(HMF)和峰 1 物质的含量明显随着贮藏时间的延长和贮藏温度的升高而增大。



(a)贮藏 0 d 的果汁,(b)22℃贮藏 35 d 的果汁,(c)40℃贮藏 35 d 的果汁  
0—还原型 Vc,1—Vc 的降解物,2—HMF,3—儿茶素,4—绿原酸,5—B2(儿茶素二聚体)  
6—表儿茶素,7—未知,8—芦丁,9—未知,10—根皮苷,11—槲皮素

图 5 鲜榨苹果汁乙酸乙酯萃取物的 HPLC 图谱

## 2.2.2 果汁中多酚的变化

苹果中的多酚有肉桂酸类如绿原酸、黄酮醇类如五羟黄酮与葡萄糖形成的糖苷、二氢查尔酮类如根皮苷、原花青素(缩合单宁)及其单体表儿茶素和儿茶素。多酚的重要特征是有苦味和涩味,在饮料和果汁中可形成黄色和棕红色色素及混浊物。苹果种类、加工工艺和贮藏条件会影响果汁中酚类的含量<sup>[10]</sup>。近年来有关苹果中的多酚的生物活性的研究逐渐增多。

与酚类有关的褐变反应有:(1)酚类的氧化聚合

(已被列为非酶褐变的一种)。多酚的氧化聚合机制目前并不十分清楚,多酚很易氧化为醌,而醌是强烈的亲电子基,极易与亲核基反应而进行不同的反应,例如自身或与其他多酚进行缩合及聚合反应,形成呈深色的高分子聚合物。酚类的氧化聚合在碱性条件下极易进行,在酸性条件下也能进行,特别是有金属离子存在的情况下<sup>[1]</sup>。(2)缩合单宁在酸或氧的作用下生成不溶于水的红褐色沉淀,称为“红粉”(phlobaphene)<sup>[11]</sup>。(3)无色的原花色素在酸性条件

下受热转化为花色苷,然后再与金属形成有色的络合物<sup>[9]</sup>。

表1 果汁中氨基态氮及多酚含量随贮藏时间的变化

时间/d	温度/℃	游离氨基酸 /mg·L <sup>-1</sup>	总酚 <sup>a</sup> (福林-酚法) //mg·L <sup>-1</sup>	原花色素及单体 <sup>b</sup> (HCl-香草醛法) /mg·L <sup>-1</sup>	原花色素 (正丁醇-HCl法) /mg·L <sup>-1</sup>	绿原酸 (HPLC法) /mg·L <sup>-1</sup>	表儿茶素 (HPLC法) <sup>b</sup> /mg·L <sup>-1</sup>	缩合单宁 的平均 聚合度
0		84.3	654.1	377.4	129.4	130.0	120.9	1.4
7	4	82.9	635.9	365.3	127.6	129.4	117.1	1.4
	22	82.1	629.7	347.8	102.4	120.9	109.2	1.4
	40	81.7	587.0	284.0	99.1	110.8	95.3	1.5
14	4	83.7	602.9	348.9	119.1	128.9	115.6	1.4
	22	81.6	626.9	310.3	107.7	119.6	100.2	1.6
	40	80.4	561.1	245.6	93.1	107.9	90.5	1.7
21	4	83.5	621.1	347.1	117.9	128.7	114.0	1.4
	22	81.4	598.7	272.1	101.2	119.1	95.4	1.7
	40	80.3	535.6	200.6	91.5	104.4	84.2	1.8
35	4	83.6	617.9	346.4	116.6	128.6	113.5	1.5
	22	81.2	573.2	259.1	93.8	115.8	87.2	1.8
	40	80.1	522.0	191.7	88.1	99.1	80.8	1.9
保留率	4℃	99.2%	94.5%	91.8%	90.1%	98.9%	93.9%	
	22℃	96.3%	87.6%	68.7%	73.1%	89.1%	72.1%	
	40℃	95.0%	79.8%	50.8%	68.1%	76.2%	66.8%	

注:a 以末食子酸计,b 以儿茶素计,以上数据均为3个数据的平均值。

表1表明,所测定的酚类含量都随贮藏时间的延长而减少。在每一相同时间段,随着贮藏温度的升高,果汁的酚类含量都下降(见表1、图5)。除绿原酸外,表儿茶素、聚原花色素(缩合单宁)的损失先快后慢,与果汁颜色的变化速率一致,而绿原酸的损失,与果汁颜色的变化速率不一致(见图5、表1),这表明鲜榨苹果汁的非酶褐变与绿原酸降解相关性较小。另外,缩合单宁的聚合度随贮藏时间的延长和温度的升高而变大(见表1)。

### 2.2.3 果汁中中氨基态氮的变化

果汁中氨基态氮的含量随贮藏时间的延长而减少。在每一相同时间段,随着贮藏温度的升高,果汁的氨基态氮含量都下降(见表1)。由于果汁中总糖变化不显著(结果未列出),可能美拉德反应比较微弱。另外,氨基酸会与Vc降解形成的DHAA以及二羰基化合物一起参与Strecker降解<sup>[9]</sup>。氨基酸还与酚类氧化产生的醌反应而参与酚类的氧化降解<sup>[1]</sup>。由于Maillard反应不显著,果汁中游离氨基酸主要由于参与了Vc及酚类的降解而损失。

### 2.2.4 果汁中新颗粒的产生

由表2发现,随着贮藏时间的延长,果汁中逐渐产生了原来并不存在的更小的新颗粒如果汁中开始并不存在0.138 μm和0.158 μm的颗粒,贮藏结束时0.138 μm和0.158 μm颗粒的含量分别为1.37%和4.20%。这些颗粒的产生可能是由酚类物质氧化

聚合和原花青素聚合度增大所产生。由表1也可发现缩合单宁的平均聚合度随贮藏时间延长而增大。

表2 贮藏时间对果汁悬浮颗粒粒度分布的影响<sup>1)</sup>

粒度/μm	颗粒体积/%	
	0 d	35 d
0.138	0.00	1.37
0.158	0.00	4.20
0.209	0.19	7.59
0.240	0.80	8.71
0.138~0.240	1.09	21.45
0.275~0.479	21.00	40.65
0.550~2.188	52.47	37.73
2.512~19.953	25.37	0.00
22.909	0.05	0.00
平均粒径/μm	1.923	0.832

注:1)贮藏温度为22℃。

## 3 结 论

鲜榨苹果汁在贮藏中发生的非酶褐变是由酚类的氧化降解引起,可通过低温贮藏加以控制。果汁贮藏中颜色变化先快后慢,逐渐变红和变暗。果汁的褐变主要由酚类氧化聚合和Vc的降解所引起,氨基酸也参与了褐变反应,但Maillard反应不显著。果汁的褐变以及表儿茶素、聚原花色素、绿原酸、Vc的降解随贮藏时间的延长和温度的升高而加剧。缩合单宁的平均聚合度随贮藏时间的延长和温度的升高而变大,粒径分析表明贮藏过程中有新的颗粒产生。

# 参考文献

- 1 陈清泉. 果汁非酶性褐变及其抑制方法(下)[J]. 食品工业, 1992, 24(1): 45~53
- 2 Roig M G, Bello J F, Rivera Z S, et al. Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice[J]. Food Research International, 1999, 32: 609~619
- 3 赵光远, 纵伟, 姚二民. 混浊苹果汁储藏过程中色泽稳定性的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(8): 93~97
- 4 赵光远, 王璋, 许时婴. 混浊苹果汁加工过程中的酶促褐变及其防止的研究[J]. 食品工业科技, 2003, (10): 57~61
- 5 赵光远, 王璋, 许时婴. 混浊苹果汁生产工艺改进的研究[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(5): 42~49
- 6 萧菁华, 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, 2000, 29(4): 11~14
- 7 Larry G B, Martin L P, Jeffery E B. Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins): modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization[J]. J Agric Food Chem, 1982, 30: 1 087~1 089
- 8 大连轻工业学院等合编. 食品分析[M]. 北京: 轻工业出版社, 1999. 173, 174~178, 232~234
- 9 Owen R Fennema 著[美国], 王璋, 许时婴, 江波, 等译. 食品化学(第三版)[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003. 47~48, 469, 467, 472, 471~472, 575, 472
- 10 George A S, Ronald E W, David A H. Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice[J]. J Agric Food Chem, 1990, 38: 1 572~1 578
- 11 石碧, 狄莹著. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000. 18, 21~23

## Studies on the Color Stability of Fresh Apple Juice During Storage

Zhao Guangyuan, Zhang Yong, Zou Qingsong, Sun Juan, Yang Gongming

(School of Food and Biology Engineering, Zhengzhou Light Industry College, Zhengzhou 450002, China)

**ABSTRACT** Polyphenols,  $V_c$  and other composition of fresh apple juice made by heating combined high pressure during 120 days storage were analyzed using High Performance Liquid Chromatography(HPLC) and other analysis techniques. It showed that non-enzymatic browning during the storage was caused by the oxidation and polymerization of polyphenols and could be avoided by storing at lower temperature. The degree of non-enzymatic browning and the loss of polymeric proanthocyanidin, epicatechin, chlorogenic acid and  $V_c$  increased by the time and temperature of storage. The color of juice changed rapidly at the initial period of storage and then became slow down.  $L^*$  value decreased,  $a$  value increased and  $b$  value changed little. Free amino acids also contributed to the browning but Maillard reaction did not. The mean degree of polymerization for polymeric proanthocyanidin also increased by the time and increased temperature of storage. The result of size distribution of suspending particles analysis showed that some new particles formed during the storage.

**Key words** fresh apple juice, heating combined high pressure, non-enzymatic browning, polyphenol,  $V_c$

### 信息窗

### 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 全基因组图谱已绘制完成

由内蒙古农业大学“乳品生物技术与工程”教育部重点实验室主持进行的益生菌 *L. casei* Zhang 的全基因组序列测定于 2008 年 5 月 18 日全部完成。这是我国第一个完成的乳酸菌基因全序列测定。

*L. casei* Zhang 基因组由 1 条染色体和 1 个质粒组成, 均为环状分子。其中, 染色体长度为 2 861 849 bp, GC 含量为 46.5%, 共编码 2 843 个开放阅读框; RNA 基因序列占染色体的 2.29%, 包括 5 个 rRNA 基因簇和 60 个 tRNA 基因; 44 个插入序列, 占染色体的 1.5%, 属于 4 个不同家族。质粒长度为 36 487 bp, 共编码 44 个开放阅读框。

*L. casei* Zhang 是内蒙古农业大学经过 6 年多分离、筛选, 并进行系统研究开发的具有完全自主知识产权的益生菌, 该项目受到国家 863、国家自然科学基金、教育部科学研究重点项目及内蒙古自治区虚拟乳业研究院等多个项目资助。

*L. casei* Zhang 全基因组序列的完成, 能够准确的将该菌株的益生功能基因进行定位, 为其益生机理进一步深入研究和相关产品的开发应用从基因水平上奠定了基础。该项目的完成使我国益生乳酸菌的研究进入了一个新的发展高度, 可以极大的带动我国益生乳酸菌研究和开发。同时, 该项目的完成标志着我国在乳酸菌基因组学方面的研究达到国际水平。