

香蕉汁储藏过程中非酶褐变的研究

王素雅¹, 王 璋²

(1. 南京财经大学食品学院, 江苏 南京 210003 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 本文探讨了香蕉汁储藏中非酶褐变的原因与动力学。结果表明还原糖与氨基化合物发生的Maillard反应是造成香蕉汁储藏期间非酶褐变的主要原因。经与一级动力学和零级动力学模型拟合, 推测香蕉汁储藏期间的非酶褐变符合零级动力学方程, 其发生非酶褐变的活化能为80.46kJ/mol。

关键词: 香蕉汁; 非酶褐变; Maillard 反应; 动力学模型

Research on Nonenzymatic Browning of Banana Juice during Storage

WANG Su-ya¹, WANG Zhang²

(1. School of Food Science and Technology, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210003, China 2. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The paper discussed causes and kinetics of nonenzymatic browning during banana juice storage. The results showed that Maillard Reaction between amide and reducing sugar was the main nonenzymatic browning cause of banana juice. Zero and first order kinetics was applied to describe evolution of relative absorbance at 420nm. Nonenzymatic browning was successfully adjusted to zero order kinetic model, and the activation energy found for the nonenzymatic browning was 80.46kJ/mol.

Key words: banana juice; nonenzymatic browning; Maillard Reaction; kinetic model

中图分类号: S668.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0081-05

许多食品在储藏过程中因非酶褐变严重影响产品的风味与色泽, 使果汁品质下降。造成非酶褐变的原因很多, 反应亦十分复杂, 研究果蔬汁储藏期间某些物质含量的变化, 对于揭示果汁非酶褐变的物质基础十分有意义。

为了研究非酶褐变, 建立产品褐变速率常数的动力学模型, 掌握果汁储藏温度对非酶褐变反应动力学的影响十分重要。研究认为非酶褐变随时间呈线性增加(零级动力学)或以指数增加(一级动力学)^[1,2]。

零级动力学方程 $C = C_0 + kt$ (1)

收稿日期: 2004-12-02

作者简介: 王素雅(1969-), 女, 讲师, 博士, 研究方向为食品科学。

-
- [3] 于守洋, 崔洪斌. 中国保健食品的进展[M]. 人民卫生出版社, 2000.
- [4] Idolo Tedesco, Gian Luigi Russo, Filomena Nazzaro, et al. Antioxidant effect of red wine anthocyanins in normal and catalase-inactive human erythrocytes[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2001, 12: 505-511.
- [5] Yasuko Noda, Takao Kneyuki, Kiharu Igarashi, et al. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels[J]. Toxicology, 2000, 148: 119-123.
- [6] R Lo Scalzoa, T Iannocari, C Summaa, et al. Effect of thermal treatments on antioxidant and anti-radical activity of blood orange juice[J]. Food Chemistry, 2004, 85: 41-47.
- [7] 王威. 常用天然色素抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(6): 96-100.
- [8] 杨洋, 韦小英, 阮征. 国内外天然食品抗氧化剂的研究进展[J]. 食品科学, 2002, 23(10): 137-140.
- [9] 范晓, 严小军, 房国明, 等. 高分子量褐藻多酚抗氧化性质研究[J]. 水生生物学报, 1999, 23(5): 494-499.
- [10] 贾之慎, 邬建敏, 唐孟成. 比色法测定Fenton反应产生的羟自由基[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(2): 184-187.
- [11] S T Chow, W W Chao, Y C Chung. Antioxidative activity and safety of 50% ethaolic red extract[J]. Journal of Food Science, 2003, 68(1): 21-25.

一级动力学方程 $C = C_0 \exp(k_1 t)$ (2)

其中 C 代表测定指标在任意时间的值, C_0 是该指标的起始值, t 为时间, k_0 与 k_1 分别是零级动力学和一级动力学反应速率常数。

但有时相对简单的模型不能描述非酶褐变反应, 因此, 有人提出了联合动力学模型。在这种模型中, 非酶褐变过程被分为两个阶段, 第一个阶段色素物质形成遵循零级反应动力学, 第二个阶段由于色素物质的降解, 非酶褐变遵循一级反应动力学。非酶褐变的联合动力学表达式为^[3]:

$$C = k_0/k_1 - [k_0/k_1 - C_0] \exp(-k_1 t) \quad (3)$$

本节通过监测香蕉汁储藏期间色泽的变化与果汁中可能引起褐变的化合物含量的变化, 探讨造成香蕉汁储藏期间发生褐变的主要原因。用数学拟合法, 研究香蕉汁非酶褐变的动力学。

1 材料与方法

1.1 实验材料

香蕉汁(11°Brix) 自制。

1.2 实验方法

1.2.1 香蕉汁储藏实验

将同一批次的香蕉汁 (11°Brix) 分别置于4、30和40℃储藏, 在不同储藏时间分别随机取样, 测定香蕉汁的褐变指数及基本成分变化。

1.2.2 褐变指数的测定^[4]

以水作对照, 420nm 处测定香蕉汁的吸光值。

1.2.3 香蕉汁成分分析

游离氨基酸含量测定 茚三酮比色法;

还原糖含量测定 斐林试剂法

总糖含量测定 苯酚-硫酸法;

总酚含量测定 福林-肖卡法^[5]。

1.2.4 HPLC 测定 5-羟甲基糠醛(HMF)

取 50ml 香蕉汁, 用 100ml 乙酸乙酯分 4 次萃取, 有机相合并后用无水硫酸钠脱水 30min, 滤纸过滤后在 35℃ 以下水浴中旋转蒸发至干, 剩余物用 2ml 甲醇/水(50:50, V/V)溶解, 经微孔过滤(0.45μm)后进样, 进样量为 10μl。

色谱条件: Phenomenex Jupiter C₁₈ 柱(100 × 4.6mm);

洗脱条件: 0~40min 0.2%(V/V)乙酸溶液, 40~60min 80% 0.2%乙酸(V/V)和 20% 乙腈梯度洗脱;

紫外检测器: 检测波长 280nm。

2 结果与讨论

2.1 不同储藏温度对香蕉汁色泽的影响

由图 1 可知香蕉汁在三种储藏温度下色泽稳定性差

异很大。果汁低温(4℃)储藏 60d 后色泽变化很小, 褐变速率常数为 0.0002A₄₂₀/d。随着储藏温度升高, 香蕉汁色泽变化加剧, 40℃时褐变速率常数达 0.0127A₄₂₀/d, 比 4℃储藏果汁高 60 多倍, 由此说明储藏温度是影响香蕉汁褐变速率的重要因素。在相同温度下, 香蕉汁褐变程度随着储藏时间延长而加重, 果汁褐变程度与时间基本呈线性关系。由此可知, 储藏温度升高或储藏时间延长均会促使香蕉汁色泽劣变。

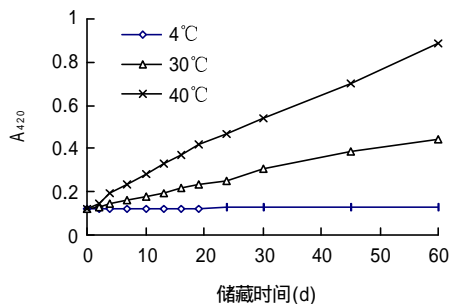


图 1 不同储藏温度香蕉汁的褐变曲线

Fig.1 Browning curve of banana juice at different storage temperature

2.2 香蕉汁储藏期间化学成分的变化

造成果蔬汁储藏期间褐变的主要原因是非酶褐变, 而引起非酶褐变的主要反应有四种类型, 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, 这些反应均有可能造成果汁的色泽劣变^[6]。分析果汁中与非酶褐变相关的反应物浓度变化, 对于揭示香蕉汁储藏期间色泽劣变的原因具有重要意义。

2.2.1 储藏期间香蕉汁游离氨基酸含量的变化

虽然 Maillard 反应十分复杂, 但反应物是确定的, 它主要发生在还原糖与含游离氨基的化合物之间, 因此研究测定了香蕉汁储藏期间游离氨基酸与还原糖含量的变化。图 2 揭示了储藏期间香蕉汁游离氨基酸含量的变化趋势。由图可知, 三个储藏温度下香蕉汁游离氨基酸含量均随储藏时间的延长而减少, 其中 40℃时游离氨

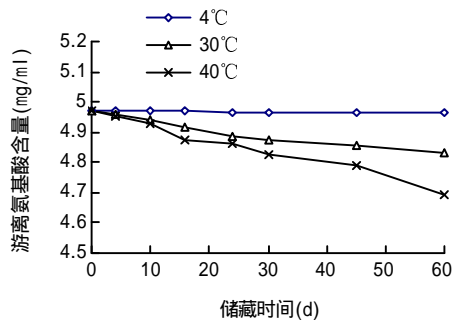


图 2 储藏过程中香蕉汁游离氨基酸含量的变化

Fig.2 Changes in free amino acids content in banana juice during storage

基酸含量损失最多,表明香蕉汁的 Maillard 反应速率随温度升高而增大。

2.2.2 储藏期间香蕉汁还原糖含量的变化

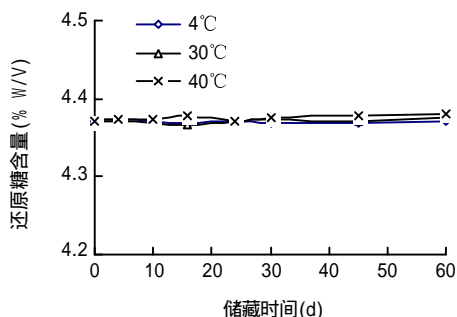


图3 储藏过程中香蕉汁还原糖含量的变化

Fig.3 Changes in reducing sugar content in banana juice during storage

图3显示了不同储藏温度下香蕉汁还原糖含量随时间的变化。三个温度条件下香蕉汁还原糖含量均无明显变化趋势,该结果似乎说明香蕉汁的非酶褐变与 Maillard 反应无关。Babsky 等人在研究中发现,果汁储藏期间还原糖变化十分复杂,一方面还原糖因与游离氨基发生 Maillard 反应而减少,另一方面果汁中的一些双糖因受热而发生酸水解,导致葡萄糖、果糖等还原糖含量增加^[7]。因此,还原糖含量的变化不能明确反映香蕉汁储藏过程中 Maillard 反应的程度。

2.2.3 储藏期间香蕉汁总糖含量的变化

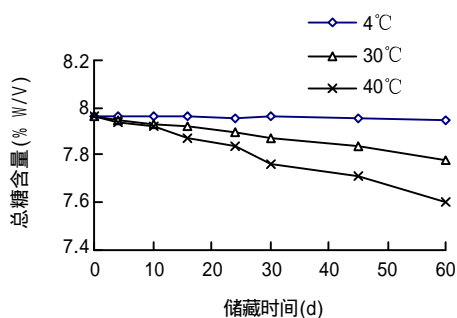


图4 储藏过程中香蕉汁总糖含量的变化

Fig.4 Changes in total sugar content in banana juice during storage

制备澄清型果汁时选用的黄熟香蕉中可溶性总糖含量高,经酶法液化(果胶酶、纤维素酶和淀粉酶)后果汁中低聚糖含量亦增加。据前人的研究表明,酸性条件下储藏与热处理会导致蔗糖的水解,蔗糖水解产生葡萄糖和果糖,使果汁中还原糖含量增加^[8]。由于香蕉汁储藏期间还原糖含量变化不明显,因此需要研究果汁储藏期间可溶性总糖含量的变化,间接反映果汁中低聚糖含量变化与非酶褐变的关系。由图4可知,储藏期间香蕉

汁可溶性总糖含量随储藏时间的延长而减少,40°C时总糖含量减少最多。有两种原因能造成香蕉汁总糖含量变化:即蔗糖化反应与低聚糖酸水解后参与 Maillard 反应。焦糖化反应主要在高温、低水分活度下进行^[6],而香蕉汁浓度(11°Brix)和储藏温度(4、30、和40°C)均较低,因此,香蕉汁不会发生强烈的焦糖化反应。酸性条件下低聚糖因水解造成果汁中还原糖含量增加,而 Maillard 反应消耗还原糖使之减少,在储藏期间两种反应同时进行,使果汁中还原糖含量变化不明显。因此,香蕉汁可溶性总糖含量的变化表明果汁储藏中发生了 Maillard 反应。

2.2.4 储藏期间香蕉汁总酚含量的变化

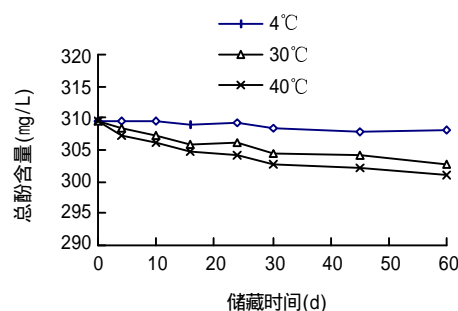


图5 储藏过程中香蕉汁总酚含量的变化

Fig.5 Changes in total phenols content in banana juice during storage

酚类化合物的化学性质相当活泼,很容易氧化形成醌,而醌具有强烈的亲电子性,极易与亲核基团反应,从而促进其他分子氧化及其自身快速聚合。由于香蕉汁加工过程中经历了热烫与高温杀菌,多酚氧化酶催化的酶促褐变在果汁储藏期间不会出现。酚类化合物的非酶褐变反应机理尚不清楚,可能是酚类化合物先氧化成醌,然后再与其它酚类物质聚合而形成呈色高分子聚合物^[9]。由图5可知,储藏期间果汁中总酚含量有所减少,但变化幅度很小,如40°C储藏60d,总酚含量仅由309.6mg/L减少至295.3mg/L。究其原因,可能是杀菌前的脱气处理使果汁溶氧量降低,酚类不易发生氧化聚合,因此在整个储藏过程中,酚类化合物含量变化不大。该结果表明酚类物质不是引起香蕉汁色泽变化的主要因素。

由于香蕉中抗坏血酸含量少,在酶法液化时与空气接触而易被氧化,用常规实验方法(2,6-二氯酚滴定法)没有检测出香蕉汁中还原型抗坏血酸的含量。因此,抗坏血酸的氧化不是促成香蕉汁储藏期间发生褐变的主要原因。综上所述,认为造成香蕉汁储藏期间色泽劣变的原因主要是还原糖与氨基化合物间发生的 Maillard 反应。

2.2.5 储藏期间香蕉汁中HMF含量的变化

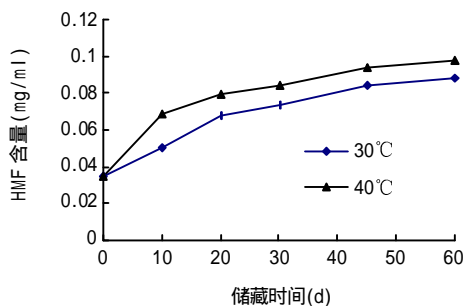


图6 储藏期间香蕉汁中HMF含量的变化

Fig.6 Changes in HMF content in banana juice during storage

Maillard 反应是一种十分复杂的糖胺反应, 首先由游离氨基与还原糖生成糖胺, 经 Amadori 重排形成 Amadori 中间产物, 该中间产物继续反应最终形成呋喃和 5-羟甲基糠醛(HMF)。HMF 是 Maillard 反应重要的中间产物, 不仅是体系形成色素沉积的潜在条件, 也是 Maillard 反应和非酶褐变的重要指示因子^[10]。由图 6 可知, 储藏期间香蕉汁中 HMF 含量在不断增加, 该结果亦表明香蕉汁储藏期间发生非酶褐变的重要因素之一是还原糖与游离氨基之间发生的 Maillard 反应。

2.3 香蕉汁储藏期间的酸度变化

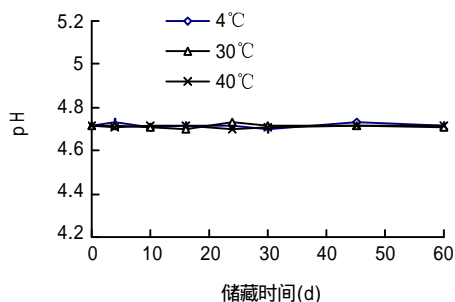


图7 储藏过程中香蕉汁 pH 值的变化

Fig.7 Changes in pH value of banana juice during storage

因为香蕉汁储藏期间褐变的主要原因 Maillard 反应受环境酸碱度的影响, 实验检测了不同储藏温度香蕉汁的 pH 值变化, 结果见图 7。由不同储藏温度下香蕉汁的 pH 值变化曲线可知, 在储藏期间香蕉汁的 pH 值基本没有发生变化。对 Maillard 反应的研究表明, 当糖类与氨基态化合物反应形成糖胺时, 会导致体系 pH 下降而抑制反应的进行^[6]。在不同储藏温度条件下, 香蕉汁会发生不同程度的非酶褐变, 但由于香蕉汁是一个复杂体系, 果汁具有相当的缓冲能力, 因此果汁 pH 值在储藏期间基本保持不变。缓冲能力使得香蕉汁在储藏期间不能因为环境 pH 值降低而降低非酶褐变的速率。

2.4 香蕉汁储藏期间非酶褐变动力学

将香蕉汁褐变指数与储藏时间的关系与非酶褐变动力学方程拟合, 不同储藏温度下褐变动力学参数见表 1。

由表可知, 不同储藏温度下香蕉汁非酶褐变指数与零级动力学方程拟合的相关系数 R^2 明显比其与一级动力学方程拟合的相关系数高, 如 40°C 时 R_0^2 与 R_1^2 分别为 0.9827 与 0.8605, 由此认为香蕉汁储藏期间色泽变化与零级反应动力学相吻合。关于果汁与果浆储藏期间非酶褐变的动力学研究已有很多, 但分析结果相差较大甚至结论相反。有的研究者认为果汁的非酶褐变遵循零级动力学方程^[11], 而有的研究者认为果汁非酶褐变遵循一级动力学方程, 但他们认为当果汁或果浆可溶性固形物含量增加时, 非酶褐变与一级动力学方程拟合更好^[11]。也有研究者将果汁的非酶褐变描述为两个阶段, 即先是零级反应, 然后是一级动力学反应^[12]。储藏实验所用香蕉汁 (11°Brix) 浓度较低, 并且香蕉汁褐变指数 (A_{420}) 的变化与时间基本呈线性关系, 分析认为香蕉汁储藏期间色泽变化遵循零级反应动力学。

表1 不同储藏温度香蕉汁颜色变化动力学参数

Table 1 Kinetic parameters for color changes of banana juice at different storage temperature

动力学模型	温度(°C)	$k_0 \times 10^{-2} (d^{-1})$	$k_1 \times 10^{-2} (d^{-1})$	R^2
零级动力学 $n=0$	4	0.02		0.9147
	30	0.56		0.9839
	40	1.27		0.9827
一级动力学 $n=1$	4		0.19	0.9084
	30		2.25	0.940
	40		3.13	0.8605

注: 储藏时间 60 d。

$k=k_0 \exp(-E_A/RT)$ 是 Arrhenius 方程其表达式, 它可用于估计温度对食品腐败速率的影响^[9]。香蕉汁褐变速率常数与 Arrhenius 方程拟合结果表明, 香蕉汁发生非酶褐变的活化能为 80.46 kJ/mol ($R^2=0.9576$), 与苹果汁在 5~37°C 储藏期间褐变的活化能大小接近, 比苹果汁在 37~130°C 范围内储藏期间褐变的活化能低^[13], 也较浓缩桃汁的褐变活化能低^[8], 远低于柳橙汁褐变的活化能^[14]。不同果汁非酶褐变的活化能不同可归因于各种果汁的化学组成及 pH 值不同, 柳橙汁储藏期间非酶褐变的主要原因是还原型 VC 的氧化裂解^[14], 与香蕉汁发生褐变的主要反应物不同。即便引起苹果汁与桃汁非酶褐变的主要反应物也是糖与游离氨基酸, 但还原糖与氨基酸的种类不同, 果汁的褐变速率也不同, 如碱性氨基酸比酸性氨基酸更易发生 Maillard 反应^[15]。同样, pH 值对 Maillard 反应影响也很显著, 一般体系 pH 值越高反应速率越高^[12]。香蕉汁的 pH 值为 4.7 左右, 比大多数果汁如桃汁 (pH 3.8)^[8]、苹果汁 (pH 4.0) 等酸度低, 这些原因均可造成香蕉汁储藏期间非酶褐变的活化能与其它果汁不同。由于香蕉汁储藏期间非酶褐变的活化能较低, 果汁在较低温度下储藏就可能发生较严重的色泽劣变。

3 结 论

香蕉汁在储藏过程中色泽劣变的程度与储藏时间和储藏温度正相关,随着储藏温度升高与储藏时间延长,香蕉汁的非酶褐变程度越来越严重。分析发现香蕉汁中总糖含量与游离氨基酸含量均随储藏温度升高或储藏时间延长而减少,同时 Maillard 反应中间产物 HMF 含量增加,表明还原糖与氨基化合物间发生的 Maillard 反应是造成香蕉汁储藏期间非酶褐变的主要原因。经动力学分析,推测香蕉汁储藏期间的非酶褐变符合零级动力学方程,其发生非酶褐变的活化能为 80.46kJ/mol 。

参考文献:

- [1] Saguy J, Kopelman I J, Mizrahi S. Extent of nonenzymatic browning in grapefruit juice during thermal and concentration processes: kinetics and prediction[J]. J Food Protection, 1978, (2): 175-184.
- [2] Toribio J L, Lozano J E. Nonenzymatic browning in apple juice concentration during storage[J]. J Food Sci, 1984, 49(3): 889-892.
- [3] Garza S, Ibarz A, Pagan J, et al. Non-enzymatic browning in peach puree during heating[J]. Food Research International, 1999, 32(5): 335-343.
- [4] Meydavi S, Saguy I, Kopelman I. Browning determination in citrus products[J]. J Agric Food Chem, 1977, 25(3): 620-604.
- [5] Dugh C S, Amerine M A. Methods for analysis of musts and wines (Second Edition) [M]. New York: A Wiley-Inercience Publication John Wiley & Sons, 1998.
- [6] 陈清泉. 果汁非酶素性褐变及其抑制方法(上)[J]. 食品工业(台湾), 1992, 24(1): 45-53.
- [7] Babsky NE, Toribio J L, Lozano J E. Influence of storage on composition of clarified apple juice concentrate[J]. J Food Sci, 1986, 51 (2): 564-567.
- [8] Buedo A P, Elustondo M P, Urbicain M J. Non-enzymatic browning of peach juice concentrated during storage[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2001, (1): 255-260.
- [9] Fennema O R 著. 食品化学(第三版)[M]. 王璋, 许时婴, 江波, 等译. 北京: 中国轻工业出版社, 2003.
- [10] Lee H S, Nagy S. Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus in citrus juice quality[J]. Food Technol, 1988, 42: 91-97.
- [11] Jhonson J R, Braddock R J, Chen C S. Kinetics of ascorbic acid loss and nonenzymatic browning in orange juice serum: experimental rate constants[J]. J Food Sci, 1995, 60: 502-505.
- [12] Petriella C, Resnik S L, Lozano R D, et al. Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity color changes due to non enzymatic browning[J]. J Food Sci, 1985, 50(3): 622-626.
- [13] Burdurlu H S, Karadeniz F. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates[J]. Food Chem, 2003, 80 (1): 91-97.
- [14] Kaanane A, Kane D, Labuza T P. Time and temperature effect on the stability of Moroccan processed orange juice during storage[J]. J Food Sci, 1988, 53(5): 1470-1473.
- [15] Namiki M. Chemistry of Maillard reaction: Recent studies on the browning reaction mechanism and the development of antioxidants and mutagens[J]. Advances in Food Research, 1988, 32: 116-184.

信 息

美国 FDA 不承认番茄红素抗癌

11 月初,美国食品和药品管理局(FDA)发布公告称,由于番茄红素的作用目前并不肯定,因此番茄、番茄酱等产品的生产者及番茄红素营养补充剂的生产商,不能在其产品上标注“具有预防癌症”等字样。

番茄红素是一种胡萝卜素类的天然色素,除了番茄之外,西瓜、葡萄柚、胡萝卜、南瓜、红薯等蔬菜、水果中都含有这种成分。其中,红番茄所含的番茄红素比例最高。

近年来,不少学者热衷于进行番茄红素与抗癌作用的研究。有研究发现,番茄红素作为一种抗氧化剂,具有预防前列腺癌的作用。因此,很多生产番茄酱、番茄调味品的厂商为了促销,都强调其产品中含有番茄红素。例如,美国市场上广泛销售的亨氏番茄酱,其包装上就明确写有“富含具有抗氧化作用的番茄红素”,并以此作为宣传重点。但 FDA 认为,目前掌握的证据并无法证明番茄红素具有抗癌效果。

日前,这些番茄类产品的生产者提出,要将番茄红素的抗癌作用用于其产品宣传和包装之上。因此, FDA 发布公告并对这些公司提出警告,其中还包括生产各种营养制品和营养补充剂的公司,此外还有“番茄红素健康联盟”,该联盟包括生产番茄酱产品的亨氏集团。这些公司对 FDA 的决定均表示强烈的不满。亨氏集团表示,还将寻找更多的证据,以证明番茄红素具有肯定的抗癌作用。