

苹果浓缩汁美拉德反应有关影响因素的研究

周亚平, 王成荣, 于士梅, 祝 军, 王 然, 王彩虹, 戴洪义*

(莱阳农学院园艺系, 山东 莱阳 265200)

摘 要: 以苹果制汁新品种鲁加1号和鲁加3号[特拉蒙(Telemon)×富士(Fuji)]的浓缩果汁为试材, 研究了苹果浓缩汁贮藏过程中氨基酸、还原糖和5-羟甲基糠醛(5-HMF)含量的变化, 并利用几种氨基酸和还原糖分别在柠檬酸-磷酸缓冲液(pH3.20)与苹果浓缩汁中进行美拉德模拟试验。实验结果表明: 贮藏过程中, 苹果浓缩汁中的赖氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸的含量呈下降趋势; 还原糖含量成波浪式变化, 即先上升后下降, 然后上升再下降; 5-HMF含量先上升后下降; 在柠檬酸-磷酸缓冲液中进行美拉德模拟试验其氨基酸与还原糖的反应活性分别与苹果浓缩汁中的反应活性存在较大差异, 在两个实验中赖氨酸都具有较大的反应活性。

关键词: 苹果浓缩汁; 氨基酸; 还原糖; 5-HMF; 美拉德反应

Study on Factors Influencing Maillard Reaction in Apple Juice Concentrate

ZHOU Ya-ping, WANG Cheng-rong, YU Shi-mei, ZHU Jun, WANG Ran, WANG Cai-hong, DAI Hong-yi*
(Department of Horticulture, Laiyang Agricultural College, Laiyang 265200, China)

Abstract: Studies were carried out on changes of amino acids, reduce sugar and 5-HMF contents in apple juice concentrate of Lujial1 and Lujia3 (Lu for Shandong province, China; Jia for processing) derived from the cross between Telamon and Fuji. Maillard reaction had been simulated with amino acids (lysine, phenylalanine, leucine, isoleucine, methionine, threonine) and reduce sugars (fructose, glucose, arabinose, galactose, xylose) respectively in citric acid-phosphate buffer (pH3.20) and in apple juice concentrate. The results showed that lysine, phenylalanine, leucine, isoleucine, methionine and threonine contents in apple juice concentrate decline during storage. Reduced sugar content increases first, then decreases, while rises and descends again. 5-HMF content increases first, then decreases. Amino acids activities in Maillard reaction show great differences between in citric acid-phosphate buffer (pH3.20) and in apple juice concentrate, and also in reduce sugars activities. Lysine activity is high in both experiments.

Key words apple juice concentrate; amino acids; reduce sugar; 5-HMF (5-hydroxymethyl furfuraldehyde); Maillard reaction

中图分类号: S661.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0039-05

收稿日期: 2006-04-21

*通讯作者

基金项目: 山东省农业良种工程课题

作者简介: 周亚平(1980-), 女, 硕士研究生, 研究方向为果蔬育种。

Agents Chemist, 2000, 44(1): 88.

③ 郑建仙. 功能性食品: 第二卷[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 280-282.

④ 章克昌, 吴佩琮, 陆文清, 等. 从发酵液中分离提取核黄素[J]. 无锡轻工大学学报, 1998, 17(3): 26-30.

⑤ 张国胜. 利用枯草芽孢杆菌发酵制核黄素及其提取工艺的研究[D]. 天津: 天津轻工业学院, 2000.

⑥ MULLIN J W. Crystallization[M]. 3rd. London: Butterworths-Heinemann, 2000.

⑦ 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:

化学工业出版社, 2000: 549-550.

⑧ 丁绪淮, 谈遵. 工业结晶[M]. 北京: 化学工业出版社, 1985.

⑨ ZHU Ming. Solubility and density of the disodium salt hemiheptahydrate of ceftriaxone in water+ethanol mixtures[J]. J Chem Eng, 2001, 46: 175-176.

⑩ 斯坦利 瓦拉斯. 化工相平衡[M]. 韩世钧, 译. 北京: 中国石化出版社, 1991.

⑪ BUCHOWSKI H, DSIAZCZAK A, PIETRZYK S. Solvent activity along a saturation line and solubility of hydrogen bonding solids[J]. J Phys Chem, 1980, 84: 975-979.

苹果浓缩汁在贮藏过程中会发生非酶褐变,生成的黑褐色物质影响浓缩汁的感官,降低其营养价值,成为影响苹果浓缩汁品质和贮存寿命的主要原因。美拉德反应(Maillard reaction)是非酶褐变的主要机制之一^[1],美拉德反应为还原糖与氨基化合物如游离氨基酸、肽和蛋白质上的氨基之间发生的反应。一般认为5-HMF(5-hydroxymethyl furfuraldehyde)是葡萄糖或果糖在酸性溶液中的脱水分解产物^[2],是美拉德反应、焦糖化反应及抗坏血酸氧化分解反应的共同中间产物。另外,5-HMF可参与美拉德反应的后阶段生成褐色物质。一般贮存70d后浓缩汁中的5-HMF含量开始出现缓慢增长趋势。Kwak和Lim以大豆为材料,利用美拉德模拟实验研究了氨基酸、还原糖等对美拉德反应的影响^[3]。Wolfson以橘汁为试材,研究了氨基酸与糖比值、果汁含水量、柠檬酸与抗坏血酸等对美拉德反应的影响^[4]。

本实验以苹果制汁新品种鲁加1号和鲁加3号的浓缩果汁为试材,研究苹果浓缩汁贮藏过程中氨基酸、还原糖和5-HMF含量的变化,分析氨基酸、还原糖和5-HMF对苹果浓缩汁贮藏过程中美拉德反应的影响,并进行了美拉德反应的模拟实验,研究影响美拉德反应的主要氨基酸,为加工制汁专用型苹果育种提供参考。

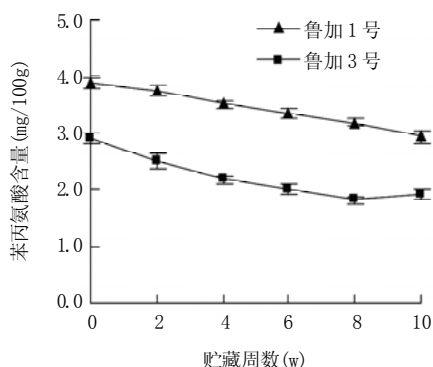
1 材料与方法

1.1 材料

以苹果制汁新品种鲁加1号和鲁加3号的果实为材料,制成糖度为70°Brix的浓缩汁。果实于2004年9月8号采收(成熟时采收),采收后立即制成浓缩汁,贮藏于25℃的恒温箱内。鲁加1号和鲁加3号苹果浓缩汁的pH值分别为3.12、3.30。亮氨酸、蛋氨酸、阿拉伯糖购自Sigma公司,赖氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、苏氨酸、半乳糖、木糖均为进口分装,其它试剂均为分析纯级。

1.2 方法

1.2.1 苹果浓缩汁中氨基酸种类和含量的测定



精确称取苹果浓缩汁 1 ± 0.1 g,置20ml水解管中,加15ml,6mol/L HCl溶液,充氮气抽真空后,封口,于110℃条件下水解24h。水解后,用6 mol/L HCl溶液定容到50ml容量瓶中,取1ml溶液蒸干,然后用1ml蒸馏水稀释,再蒸干,反复几次,最后用1ml蒸馏水稀释后上机。利用日立835-50型氨基酸自动分析仪对果汁中氨基酸进行定性、定量分析。每两周测一次,共测6次。

1.2.2 苹果浓缩汁中还原糖含量的测定

参考郝再彬的斐林试剂比色法^[5]。每两周测1次,共测9次。

1.2.3 苹果浓缩汁中5-HMF含量的测定

参考颜贻明的方法^[5]。每两周测1次,共测9次。

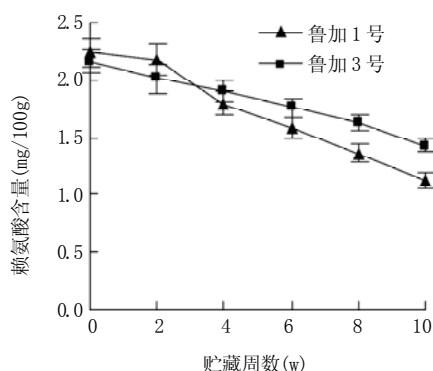
1.2.4 氨基酸和还原糖分别在柠檬酸-磷酸缓冲液(pH3.20)与苹果浓缩汁中进行美拉德模拟试验

参考Kwak和Lim的方法^[3],稍作改动。氨基酸(赖氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸)分别与还原糖(果糖、葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖)两两组合,以相同浓度(0.03mol/L)溶解于0.10mol/L的柠檬酸-磷酸缓冲液(pH3.20,根据试验中两种苹果浓缩汁pH值的平均值来确定的),并定容到100ml容量瓶中。取各种混合液15ml于试管(带螺丝旋钮中),放入干燥箱,100℃条件下加热3h,取出后立即用自来水冷却,冷却后用SP-2102UV型紫外分光光度计420nm下测定吸光值,以0.10mol/L的柠檬酸-磷酸缓冲液(不添加任何氨基酸和还原糖)为对照。苹果浓缩汁中的模拟试验,将0.10mol/L的柠檬酸-磷酸缓冲液(pH3.20)改为苹果浓缩汁(70°Brix),以苹果浓缩汁(不添加任何氨基酸和还原糖)为对照,其它同上。以 A_{420} 值作为衡量氨基酸与还原糖反应活性指标。

2 结果与分析

2.1 苹果浓缩汁贮藏过程中几种氨基酸含量的变化

由图1可以看出,在10周的贮藏过程中,鲁加1号、鲁加3号苹果浓缩汁中的苯丙氨酸、异亮氨酸、



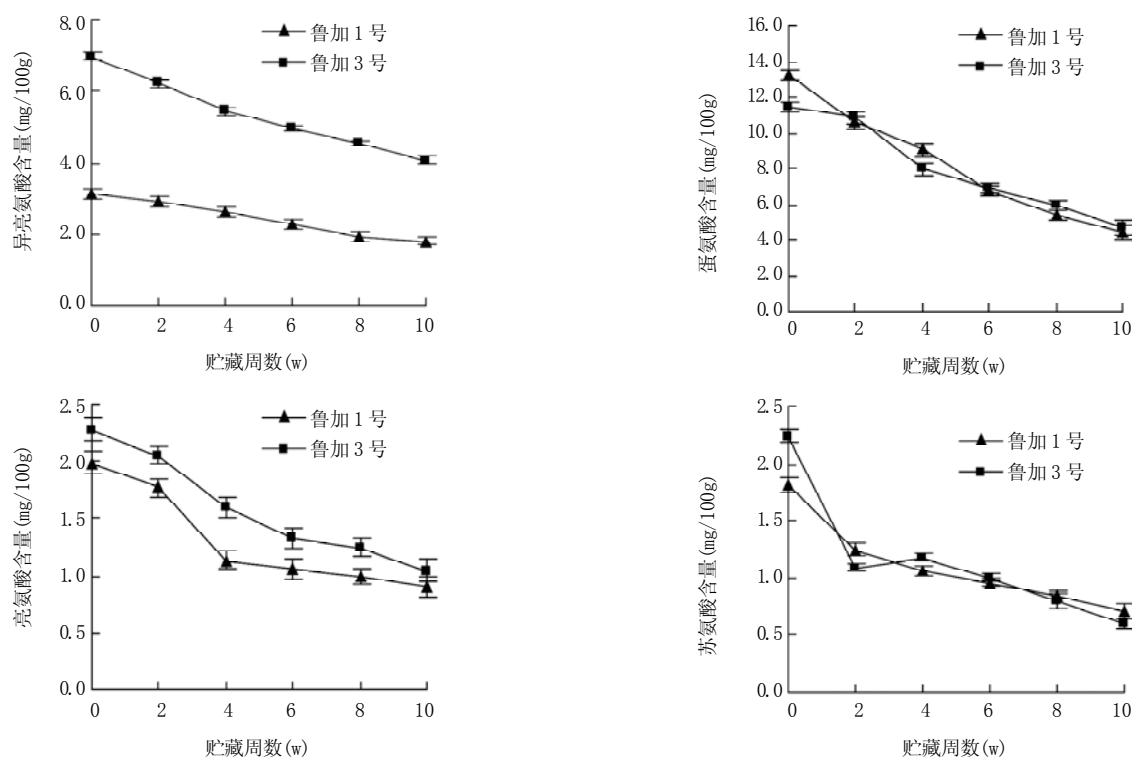


图1 苹果浓缩汁贮藏过程中苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸含量的变化

Fig.1 Changes of phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, and threonine contents in apple juice concentrate during storage

亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸含量呈下降趋势。这6种氨基酸中蛋氨酸含量的初始值较高(12.0~14.0mg/100g),亮氨酸、赖氨酸、苏氨酸含量的初始值较低(2.0~2.5mg/100g)。在整个贮藏过程中,除了鲁加1号苹果浓缩汁中苯丙氨酸和异亮氨酸含量明显低于鲁加3号,其它氨基酸含量差异不明显。

2.2 苹果浓缩汁贮藏过程中还原糖含量的变化

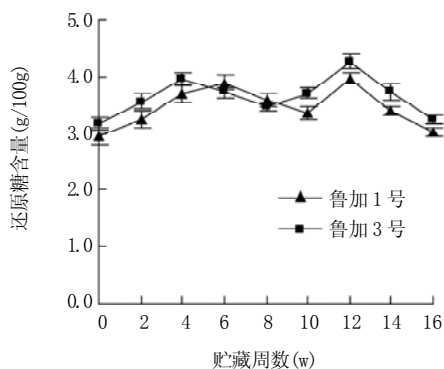


图2 苹果浓缩汁贮藏过程中还原糖含量的变化

Fig.2 Changes of reduce sugar content in apple juice concentrate during storage

如图2所示,在16w的贮藏过程中,两种苹果浓缩汁中还原糖含量变化趋势基本一致,即先上升后下降,然后再上升再下降,出现两个峰。第一个峰在贮

藏第4~6w,第二个峰在贮藏第12w。由此可见,在贮藏过程中,苹果浓缩汁中还原糖含量呈波浪式变化。

2.3 苹果浓缩汁贮藏过程中5-HMF含量的变化

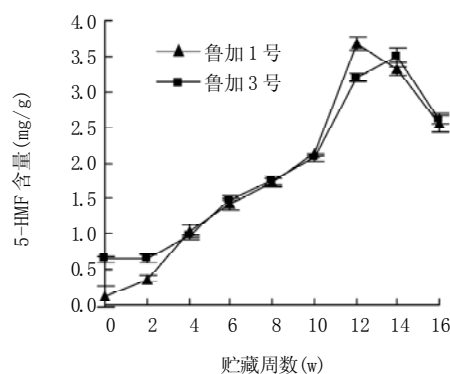


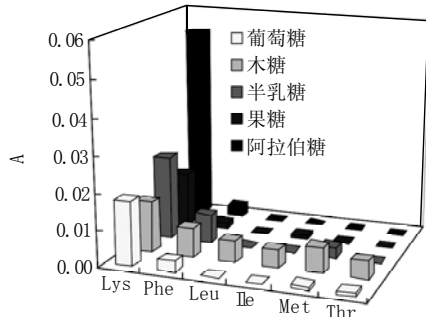
图3 苹果浓缩汁贮藏过程中5-HMF含量的变化

Fig.3 Changes of 5-HMF content in apple juice concentrate during storage

由图3可见,在16w的贮藏过程中,两种苹果浓缩汁中5-HMF含量变化趋势较为相似,贮藏0~10w,5-HMF含量不断上升,10~12w,5-HMF含量迅速上升。鲁加1号苹果浓缩汁中5-HMF含量在贮藏12w时出现峰值,而鲁加3号在贮藏14w时出现峰值,两者峰值差异不明显。出现峰值后,两种苹果浓缩汁中5-HMF含量又迅速下降,这可能与5-HMF参与美拉德反应的后

阶段生成褐色物质有关。

2.4 氨基酸和还原糖分别在柠檬酸-磷酸缓冲液(pH3.20)与苹果浓缩汁中进行美拉德模拟试验

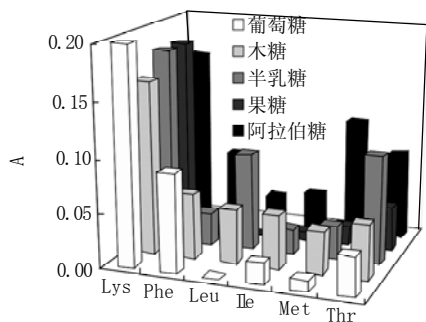


Lys. 赖氨酸; Phe. 苯丙氨酸; Leu. 亮氨酸; Ile. 异亮氨酸; Met. 蛋氨酸; Thr. 苏氨酸。

图4 氨基酸与还原糖在柠檬酸-磷酸缓冲液(pH3.20)中美拉德模拟试验

Fig.4 Simulating Maillard reaction between amino acids and reduce sugars in citric acid-phosphate buffer

由图4可见,在柠檬酸-磷酸缓冲液(pH3.20)中进行的美拉德模拟试验其氨基酸与还原糖反应活性大小顺序分别为:赖氨酸>苯丙氨酸>蛋氨酸>苏氨酸>亮氨酸>异亮氨酸,阿拉伯糖>木糖>半乳糖>葡萄糖>果糖。赖氨酸反应活性明显高于其它氨基酸,且其它氨基酸反应活性彼此差异不明显。赖氨酸和阿拉伯糖反应生成物的吸光率($A_{420}=0.05$)明显高于其它组合氨基酸和还原糖。



Lys. 赖氨酸; Phe. 苯丙氨酸; Leu. 亮氨酸; Ile. 异亮氨酸; Met. 蛋氨酸; Thr. 苏氨酸。

图5 氨基酸与还原糖在苹果浓缩汁中美拉德模拟试验

Fig.5 Simulating Maillard reaction between amino acids and reduce sugars in apple juice concentrate

如图5所示,在苹果浓缩汁中进行的美拉德模拟试验其氨基酸与还原糖反应活性大小顺序分别为:赖氨酸>苏氨酸>苯丙氨酸>蛋氨酸>亮氨酸>异亮氨酸,阿拉伯糖>半乳糖>木糖>葡萄糖>果糖,这与图4中氨基酸和还原糖反应活性大小顺序存在一定的差异。赖氨酸反应活性明显高于其它氨基酸。赖氨酸与各种还原糖

的反应活性均较高,与葡萄糖反应生成物的吸光率($A_{420}=0.20$)高于其它组合氨基酸与还原糖。

图4和图5相比,其中氨基酸与还原糖反应活性差异较大,图4中氨基酸与还原糖各组合生成物的吸光率明显低于图5中各组合(亮氨酸与葡萄糖的组合除外);图4中氨基酸反应活性明显低于图5中相应氨基酸反应活性,还原糖也具有相同趋势。从图4和图5可以看出,木糖与各种氨基酸都发生反应。

3 讨论

有研究指出,美拉德反应受多种因素的影响,主要有:温度、pH值、水分活度、氧气、金属离子等^[6]。美拉德反应随着还原糖浓度的增加、温度的升高、超过氨基酸等电点的pH值的增大而加强^[7],酸性介质中,美拉德反应受抑制,碱性介质中则反应加速,以碱性氨基酸较易进行美拉德反应^[8]。

本实验主要研究了氨基酸、还原糖和5-HMF对苹果浓缩汁贮藏过程中美拉德反应的影响。氨基酸是参加美拉德反应的重要反应物之一,但并不是所有氨基酸都可以参加美拉德反应。实验结果表明:随着贮藏时间的延长,苹果浓缩汁中的赖氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苏氨酸含量呈下降趋势,这说明这几种氨基酸可能参加了美拉德反应或其它成色反应。

一些矿物质(K、Ca、Mg)及氨基酸会提高糖类转化为5-HMF的速率。浓缩汁中的还原糖除了部分转化为5-HMF,还有一部分与氨基化合物发生美拉德反应生成有色物质。实验结果表明:随着贮藏时间的延长,苹果浓缩汁中的还原糖含量呈波浪式变化,即先上升后下降,再上升又下降。贮藏过程中还原糖含量的下降可能是由于还原糖部分转化为5-HMF,部分参与美拉德反应,及有机酸会与还原糖作用产生褐色色素^[1],但此反应机制仍有待于进一步研究,而还原糖含量的升高是二糖及多糖在酸性条件下不断水解所引起的,例如蔗糖水解生成果糖和葡萄糖。贮藏过程中,还原糖的生成与消耗是同时发生的,它们处于一个动态平衡过程中,贮藏初期,还原糖含量较低,还原糖的生成量大于消耗量而使还原糖含量升高,当还原糖达到一定量后,有利于还原糖的消耗,此时还原糖含量又逐渐下降。

有研究指出,5-HMF的积累与褐变速度有很强的相关性,5-HMF积累后不久就可发生褐变,因此测定5-HMF的积累可作为预测浓缩汁褐变速度的指标^[7]。5-HMF含量可被用来评估果汁品质的变化^[8]。实验结果表明:随着贮藏时间的延长,苹果浓缩汁中的5-HMF含量逐渐上升,到10~12w出现峰,然后又迅速下降,这与5-HMF积累到一定量时,会参与美拉德反应的后阶段生成褐色物质的结论一致^[2]。因此,刚加工的苹果浓

缩汁中 5-HMF 含量不能过高, 否则浓缩汁很快会发生褐变。5-HMF 的生成与很多因素有关, 例如, 苹果上的菌类、浓缩汁的蒸馏温度、贮藏温度、苹果品种等, 可以通过彻底清洗果实上的菌类, 降低蒸馏温度、贮藏温度来减少 5-HMF 的生成量, 而最后一个因素是降低 5-HMF 含量的根本途径, 这就是通过杂交育种来选育低 5-HMF 含量的品种。

由氨基酸和还原糖分别在柠檬酸-磷酸缓冲液 (pH3.20) 与苹果浓缩汁中进行美拉德模拟试验可知, 柠檬酸-磷酸缓冲液 (pH3.20) 条件下模拟试验中氨基酸反应活性大小顺序为: 赖氨酸>苯丙氨酸>蛋氨酸>苏氨酸>亮氨酸>异亮氨酸, 这支持了 Kwak 和 Lim 的结论, 还原糖反应活性大小顺序为: 阿拉伯糖>木糖>半乳糖>葡萄糖>果糖, 这也支持了 Kwak 和 Lim 的结论。而苹果浓缩汁条件下模拟试验中氨基酸反应活性大小顺序为: 赖氨酸>苏氨酸>苯丙氨酸>蛋氨酸>亮氨酸>异亮氨酸, 还原糖反应活性大小顺序为: 阿拉伯糖>半乳糖>木糖>葡萄糖>果糖, 这与柠檬酸-磷酸缓冲液 (pH3.20) 条件下模拟试验存在一定的差异。苹果浓缩汁条件下模拟试验中氨基酸与还原糖的反应活性分别比柠檬酸-磷酸缓冲液 (pH3.20) 条件下的高, 这可能是因为两个试验的反应体系不同, 苹果浓缩汁中的某些物质更有利于美拉德反应的发生, 例如浓缩汁中大量的还原糖在酸性条件下有利于转化成 5-HMF, 而 5-HMF 可以促进美拉德反应的发生, 因此利用苹果浓缩汁体系的模拟试验能更好的推测苹果浓缩汁中氨基酸与还原糖的实际反应活性。而 Kwak 和 Lim 是在柠檬酸-磷酸缓冲液体系下进行模拟试验的, 这可能是由于大豆中有较高含量的蛋白质, 而蛋白质可能干扰反应的发生。模拟试验中的氨基酸与还原糖的含量是相同的, 并且氨基酸含量与浓缩汁中氨基酸的实际含量较为相近, 这更有利于反映出实际情况。由于苹果浓缩汁中的氨基酸的含量较低, 而还原糖含量较高, 这足以与氨基酸反应, 所以模拟试验中不需要模拟浓缩汁中还原糖含量而加入过多的还原糖。这两个实验也存在相同之处: 葡萄糖反应活性大于

果糖的, 这与葡萄糖产生褐变反应比果糖快的结论相一致^[7]; 氨基酸中赖氨酸反应活性都是最大的, 这与赖氨酸的 ϵ -氨基是蛋白质的伯胺的主要来源, 因此它经常参与羰胺反应的结论相一致^[8], 同时也支持了李林的结论^[10], 这表明了赖氨酸是参加美拉德反应的主要反应物之一。因此在加工专用型苹果育种中, 可以选择果实中赖氨酸含量较低的杂种品系, 以降低苹果浓缩汁贮藏过程中美拉德反应的发生。

综上所述, 苹果浓缩汁中的氨基酸和还原糖的种类和含量及 5-HMF 含量直接影响着贮藏过程中美拉德反应速率, 因此在苹果育种中, 以浓缩汁中低赖氨酸含量, 低 5-HMF 初始值为选择指标, 对杂种进行选择, 以选择无褐变或轻度褐变的苹果制汁新品种, 这一点在苹果育种实践中已得到了证实。

参考文献:

- [1] BABSKY N E, TORIBIO J L, LOSANO J E. Influence of storage on the composition of clarified apple juice on concentrate[J]. J of Food Sci, 1986(3): 564-567.
- [2] 马霞, 陈建文, 关凤梅. 苹果汁贮存过程中非酶褐变因素及其控制[J]. 山东轻工业学院学报, 2002(4): 52-55.
- [3] KWAK E J, LIM S I. The effect of sugar, amino acid, metal ion, and NaCl on model Maillard reaction under pH control[J]. Amino Acids, 2004, 27(1): 85-90.
- [4] WOLFROM M L, KASHIMURA N, HORTON D. Factors affecting the Maillard browning reaction between sugars and amino acids studies on the nonenzymic browning of dehydrated orange juice[J]. J of Agr Food Chem, 1974, 22(5): 796-800.
- [5] 郝再彬, 苍晶, 徐仲. 植物生理实验技术[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 2002: 115-116.
- [6] 李林, 卢家岷. 美拉德反应的抑制及消除方法[J]. 广西轻工业, 2000(4): 16-18.
- [7] 菲尼马. 食品化学[M]. 2版. 王璋, 等译. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [8] 天津轻工业学院, 无锡轻工业学院合编. 食品生物化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001: 369-376.
- [9] HILL V M, LEDWARD D A, AMES J M. Influence of high hydrostatic pressure and pH on the rate of Maillard browning in a glucose-lysine system[J]. J Agric Food Chem, 1996: 594-598.
- [10] 李林. 蔗汁美拉德反应及其抑制的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2001.

中国科学引文数据库核心库收录期刊