

红树莓果汁和桑椹果汁花色苷结构的鉴定及杀菌方式对果汁品质的影响

李梦丽¹, 马建勇¹, 李春美^{1,2,*}

(1. 华中农业大学食品科技学院, 湖北 武汉 430070;

2. 华中农业大学 教育部环境食品学重点实验室, 湖北 武汉 430070)

摘 要: 采用高效液相色谱-电喷雾质谱法和紫外-可见光谱法鉴定了红树莓及桑椹中主要花色苷及黄酮的组成, 并以红树莓果汁及桑椹果汁为原料, 对比分析了经巴氏杀菌 (pasteurization, PS)、煮沸杀菌 (boiling sterilization, BS)、微波杀菌 (microwave sterilization, MS) 3 种杀菌方式处理前后其总花色苷、单个花色苷、总酚、主要黄酮、H₂O₂ 的相对含量及其他理化性质 (pH 值、可溶性固形物含量、吸光度、褐变度、透光率) 的变化。结果表明: 红树莓中的主要花色苷为矢车菊素-3-槐糖苷和矢车菊素-3-葡萄糖苷, 桑椹中主要花色苷为矢车菊素-3-葡萄糖苷和矢车菊素-3-芸香糖苷; 与对照组相比, 红树莓果汁和桑椹果汁总花色苷、单个花色苷及总酚的相对含量经 3 种杀菌方式处理后都有不同程度的降低, MS 处理对其影响最小; 3 种杀菌方式处理后的果汁中 H₂O₂ 相对含量没有显著性差别 ($P > 0.05$)。MS 处理可以较好地保持红树莓果汁和桑椹果汁的营养品质。

关键词: 高效液相色谱-电喷雾-质谱法; 花色苷; 红树莓果汁和桑椹果汁; 巴氏杀菌; 煮沸杀菌; 微波杀菌

Identification of Anthocyanins in Red Raspberry and Mulberry Juices and Effects of Different Sterilization Treatments on the Quality of Juices

LI Mengli¹, MA Jianyong¹, LI Chunmei^{1,2,*}

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The major anthocyanins and flavonoids in red raspberry and mulberry were identified by ultraviolet-visible spectrophotometry and highperformance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. The effects of three different sterilization methods, including pasteurization (PS), boiling sterilization (BS) and microwave sterilization (MS), on the contents of total and individual anthocyanins, total phenols, major flavonoids and H₂O₂, and other physicochemical properties (pH, total soluble solid, absorbance, browning degree and transmittance) of red raspberry and mulberry juices were compared in the present study. The results indicated that major anthocyanins were cyanidin 3-sophoroside and cyanidin 3-glucoside in red raspberry, and cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-rutinoside in mulberry. Compared with the untreated juice, three sterilization methods reduced the contents of total and individual anthocyanins and total phenols, and MS treatment showed the weakest effect. No significant difference in the H₂O₂ level ($P > 0.05$) of sterilized juice was observed among different sterilization methods. Taken together, MS treatment could maintain the nutritional quality of red raspberry and mulberry juices.

Keywords: highperformance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry; anthocyanin; red raspberry and mulberry juices; pasteurization; boiling sterilization; microwave sterilization

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201811012

中图分类号: TS255.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 11-0075-08

引文格式:

李梦丽, 马建勇, 李春美. 红树莓果汁和桑椹果汁花色苷结构的鉴定及杀菌方式对果汁品质的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(11): 75-82. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201811012. <http://www.spkx.net.cn>

LI Mengli, MA Jianyong, LI Chunmei. Identification of anthocyanins in red raspberry and mulberry juices and effects of different sterilization treatments on the quality of juices[J]. Food Science, 2018, 39(11): 75-82. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201811012. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2017-04-12

第一作者简介: 李梦丽 (1992—), 女, 硕士, 研究方向为植物多酚化学。E-mail: limengli@webmail.hzau.edu.cn

*通信作者简介: 李春美 (1973—), 女, 教授, 博士, 研究方向为植物多酚化学。E-mail: lichmyl@126.com

红树莓和桑椹均属于浆果,完全成熟后柔软多汁,但难以贮运,极易腐败变质。红树莓和桑椹不仅富含糖、有机酸、VC等多种营养成分,而且富含花色苷、黄酮类功能成分,具有抗氧化^[1-2]、预防糖尿病^[3-4]、抗炎^[5-6]、保护视力^[7-8]、保护肝脏^[9]、减肥^[10]等多种功效。此外,树莓和桑椹汁液丰富、颜色鲜艳、风味独特,非常适合果汁加工。然而,花色苷很不稳定,易受光、温度、pH值、氧、酶、金属离子、有机酸、糖及其降解产物等多种因素影响,而发生降解退色现象^[11],严重影响了富含花色苷果汁的品质。所以研究花色苷在果汁加工过程中的变化显得尤为重要。

杀菌处理作为果汁生产过程中的关键环节,对果汁品质和贮藏期的延长具有重要作用。目前用于果汁的杀菌方法有巴氏杀菌(pasteurization, PS)、煮沸杀菌(boiling sterilization, BS)、微波杀菌(microwave sterilization, MS)、静态超高压杀菌、超高温瞬时杀菌等,都有较好的杀菌效果,但对于果汁品质的影响却不同。吴琼等^[12]采用95℃加热2 min的PS处理桑椹原汁,使其花色苷损失率达43.2%;翟金亮^[13]采用100℃处理15 min的BS使花色苷含量损失了13.8%,63℃处理30 min的PS使花色苷含量损失了6.1%,600 W处理150 s的MS使花色苷损失率仅有2.3%。果汁加工过程中花色苷的稳定性受花色苷本身的结构、果汁种类、共存成分组成、杀菌条件等的共同影响;而目前对于红树莓果汁的不同杀菌方法对其品质的研究鲜见报道。另外,对花色苷降解途径的研究集中于贮藏过程中的,而对于杀菌方法对花色苷降解的影响也鲜见报道。本研究同时选用富含花色苷的红树莓和桑椹为试材,在对其主要花色苷结构进行分析的基础上,对比分析了不同杀菌方式(PS、BS、MS)对红树莓果汁和桑椹果汁总花色苷、单个花色苷、总酚、主要黄酮及H₂O₂含量等的影响,探究杀菌处理过程中果汁营养品质的变化及花色苷的降解途径,旨在为富含花色苷类浆果果汁加工提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红树莓品种为‘小悟红’,采摘于湖北省孝昌小悟乡,于-20℃贮藏备用;桑椹原汁由宝桑园健康食品有限公司提供,于-20℃贮藏备用;PCA培养基、孟加拉红培养基 青岛高科园海博生物技术有限公司;矢车菊素3-葡萄糖苷(纯度≥95%)、芦丁(纯度≥98%) 上海源叶生物科技有限公司;H₂O₂试剂盒 南京建成科技有限公司;色谱级甲醇、乙腈 美国Thermo Fisher公司;无水甲酸(色谱级)、冰乙酸 天津市光夏精细化工研究所;超纯水由贝徕美生物科技有限公司的超纯水系统制备;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SunFire® C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、e2695高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)仪 美国沃特斯公司;1100 Series LC/MSD Trap液相色谱-质谱联用仪 美国Agilent公司;电热恒温培养箱 天津市泰斯特仪器有限公司;SW-CJ-1FD型单人单面净化工作台 苏州净化设备有限公司;UV-1800紫外-可见分光光度计 上海精密仪器仪表有限公司;SKG榨汁机 广东艾诗凯奇智能科技有限公司;实验室pH计、电子分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;D3024R小型台式高速离心机 美国赛洛捷公司;数显恒温水浴锅 江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;PJ21C-BF微波炉 广东美的微波炉制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 果汁的制备

桑椹果汁的制备:按V(桑椹原汁):V(蒸馏水)=1:3及质量分数9%的糖、质量分数0.65%柠檬酸进行调配得桑椹果汁。

红树莓果汁的制备:冷冻状态的红树莓果实室温下自然解冻后榨汁,加果胶酶(质量分数0.05%)50℃恒温水浴1 h,用纱布初滤后再用装有硅藻土的3号砂芯漏斗抽滤得红树莓原汁,按V(红树莓原汁):V(蒸馏水)=1:3及质量分数10%糖的比例进行调配制得红树莓果汁。

1.3.2 红树莓果汁及桑椹果汁花色苷结构的鉴定

果汁处理:两种果汁分别用体积分数0.1% HCl-甲醇溶液稀释后,室温下8 000 r/min离心8 min,取上层液体,0.45 μm有机滤膜过滤,用于HPLC分析。

色谱条件:SunFire® C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相A为体积分数5%甲酸水溶液,流动相B为甲醇;洗脱程序为:0~10 min, 5%~20%流动相B,保持5 min;15~30 min, 20%~25%流动相B,保持5 min;35~40 min, 25%~30%流动相B;40~42 min, 33%~5%流动相B,保持5 min;流速:1 mL/min;柱温30℃;进样量25 μL;检测波长:520 nm。

质谱条件:离子源为电喷雾离子(electron spray ionization, ESI)源,采用正离子模式,离子扫描范围为m/z 50~800;雾化器压力为45 psi;干燥气流速为12 L/min;干燥器温度为350℃。

1.3.3 红树莓果汁及桑椹果汁主要黄酮的鉴定

果汁处理同1.3.2节方法。

色谱条件:SunFire® C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相A为体积分数0.1%冰乙酸,流动相B为乙腈;梯度洗脱:0~10 min, 0~39% B;10~15 min, 39%~45% B;15~20 min, 45%~48% B;20~21 min, 0% B,保持4 min;流速1 mL/min;柱温30℃;进样量20 μL;检测波长368 nm。

质谱条件：离子源为ESI源，采用负离子模式，粒子扫描范围为 m/z 100~900；毛细管电压3.0 kV，锥孔电压30 V，离子源温度150 ℃，脱溶温度350 ℃。

1.3.4 杀菌处理

为保证实验结果的科学性，经不同杀菌处理的样品均来自同一批果汁，且每种杀菌方式处理果汁的实验重复3次。PS：取40 mL果汁置于45 mL玻璃瓶中，保证至少0.5 cm的顶隙。将玻璃瓶置于恒温水浴锅，待果汁中心温度达80 ℃开始计时，20 min后迅速取出，快速冷却至室温。BS：取40 mL果汁置于45 mL玻璃瓶中，保证至少0.5 cm的顶隙。将玻璃瓶置于有冷水的锅中，加热处理，自水沸腾起计时5 min，取出后用慢流速水降温至室温。MS：将装有100 mL果汁的锥形瓶置于微波炉内，使用高火700 W的功率加热2 min进行灭菌处理后迅速冷却至室温，在无菌操作台内灌装至无菌小瓶内。不经杀菌处理的果汁为对照组（CK）。

1.3.5 微生物检测

选择pH值较高的红树莓果汁作为检测所选3种杀菌方法效果的原料。菌落总数：按GB 4789.2—2010《食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定》进行菌落总数测定；霉菌和酵母菌：按GB 4789.15—2010《食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 霉菌和酵母菌计数》进行霉菌和酵母计数。

1.3.6 理化指标测定

总花色苷相对含量：pH示差法^[14]；单个花色苷的相对含量：HPLC法^[15]测定，以矢车菊素-3-葡萄糖苷为对照品，通过外标法计算得出各色谱峰含量；主要黄酮的相对含量：HPLC法^[16]测定，以芦丁为对照品，通过外标法计算得出各色谱峰含量；总酚相对含量：Folin-Denis比色法^[17]测定； H_2O_2 相对含量：试剂盒测定；pH值：使用pH计测定；可溶性固性物含量：手持式折光仪测定；吸光度：使用分光光度计测其最大吸收波长处的吸光度；褐变度：采用分光光度法测定，在420 nm波长处测得的吸光度作为褐变度；透光率：采用分光光度法测定，以蒸馏水作参比测定625 nm波长处的吸光度，再根据公式 $A=\lg(1/T)$ 将其转换为透光率^[18]。

1.4 数据处理

实验数据均采用Excel 2013软件处理以 $\bar{x} \pm s$ 表示，且均采用Origin 8.5软件做图及SPSS 17.0软件单因素方差分析进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 3种杀菌方式处理对红树莓果汁的杀菌效果

表1 3种杀菌方式处理对红树莓果汁的杀菌效果
Table 1 Effect of three sterilization methods on microflora in red raspberry juice

微生物指标	CK	PS	BS	MS	CFU/mL
菌落总数	261.4±48.2	ND	ND	ND	
霉菌数	0.5±0.0	ND	ND	ND	
酵母菌数	185.0±56.6	ND	ND	ND	

注：ND.未检出。

由表1可知，未经灭菌处理的红树莓果汁，菌落总数多达261.4 CFU/mL，霉菌数为0.5 CFU/mL，酵母数多达185.0 CFU/mL。分别经PS、BS和MS处理后，菌落总数、霉菌和酵母数均未检出。由此可见，3种杀菌方式均有较好的杀菌效果。

2.2 红树莓及桑椹花色苷结构的鉴定

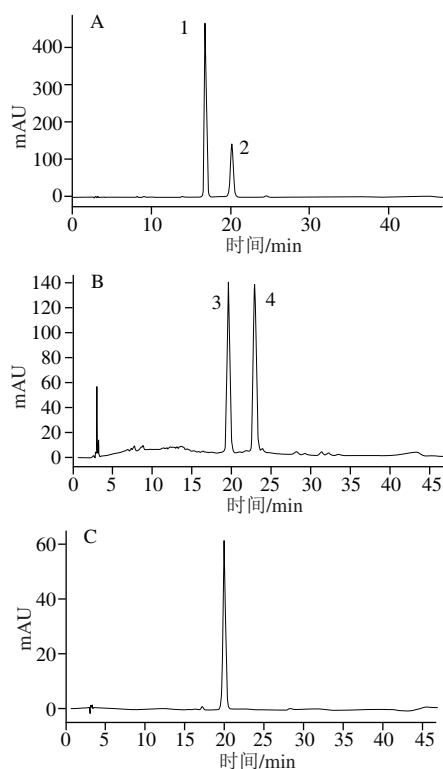
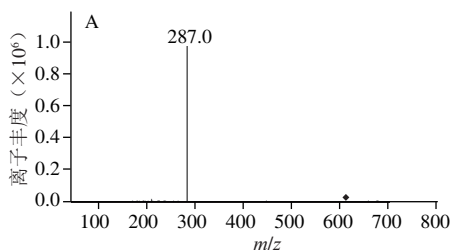


图1 红树莓(A)、桑椹(B)花色苷和矢车菊素-3-葡萄糖苷标准品(C)高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC of red raspberry anthocyanins (A), mulberry anthocyanins (B) and standard cyanidin 3-O-glucoside (C)

2.2.1 花色苷的HPLC-MS分析



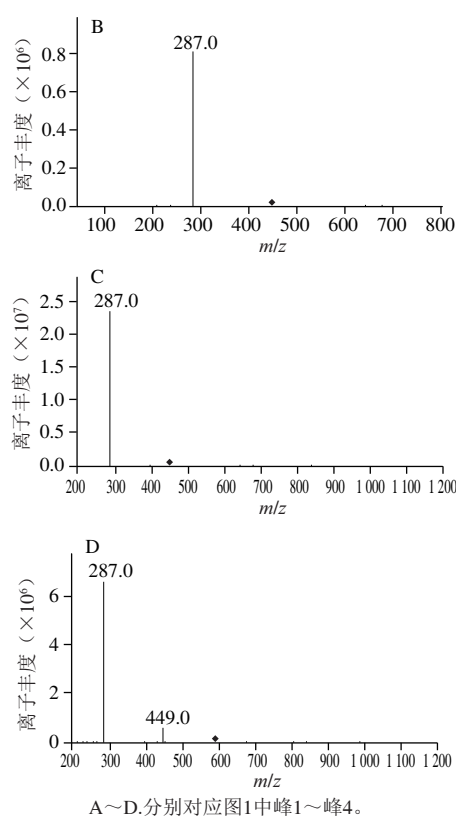


图2 红树莓和桑椹花色苷的ESI正离子二级质谱图

Fig. 2 MS² spectra of red raspberry and mulberry anthocyanins under ESI-MS in positive mode

结合其他学者对不同浆果花色苷进行的相关研究分析成果^[19-24]对图2质谱图进行分析,图2A中, m/z 611.1为 $[M+H]^+$ 峰,碎片离子 m/z 287.0表明峰1为矢车菊花色苷,由 m/z 611.1失去一分子槐糖 $[M-2\times 162]^+$ 中性碎片所得,所以可初步推测峰1为矢车菊素-槐糖苷。图2B、C中, $[M+H]^+$ 峰均为 m/z 449.1,碎片离子均为 m/z 287.0,表明峰2及峰3均为矢车菊花色苷,由 m/z 449.1失去一分子己糖 $[M-162]^+$ 中性碎片所得,推测峰2和峰3均为矢车菊素-己糖苷,根据峰2和峰3的保留时间与图1中矢车菊素-3-葡萄糖苷标准品的一致,可确定峰2和峰3均为矢车菊素-3-葡萄糖苷。图2D中, m/z 595.3为 $[M+H]^+$ 峰,分子离子峰失去一分子的鼠李糖 $[M-146]^+$ 中性碎片得碎片离子 m/z 449,继而失去一分子的己糖 $[M-146-162]^+$ 得到 m/z 为287的碎片离子,可推测峰4为矢车菊素-芸香糖苷。

2.2.2 花色苷紫外-可见吸收光谱分析

表2 树莓和桑椹花色苷的高效液相色谱和光谱特性
Table 2 Liquid chromatographic and spectral characteristics of red raspberry and mulberry anthocyanins

峰号	保留时间/min	$\lambda_{\text{Vis-max}}/\text{nm}$	$A_{440\text{ nm}}/A_{\lambda_{\text{Vis-max}}}/\%$	相对含量/%
1	16.785	280.1, 516.0	32.41	70.71
2	20.154	280.1, 516.0	31.92	29.29
3	19.622	280.1, 517.2	32.56	47.91
4	22.939	280.1, 519.7	31.79	52.09

注: $\lambda_{\text{Vis-max}}$ 表示最大吸收峰波长。

紫外-可见光谱法早就应用于花色苷结构的初步鉴定,通过花色苷的紫外-可见光谱特性可判断花色苷元类型及花色苷的羟基、取代基、糖苷键的位置和数量。由表2可知,4种物质都在280 nm及520 nm左右波长处有最大吸收峰,所以可以确定它们是花色苷类物质^[25];而且4个峰在300~330 nm(酰基化花色苷的特征吸收)无明显吸收峰,说明花色苷分子没有发生酰化^[26];花色苷分子的糖基化总发生在C3位羟基,进一步可发生在C5位羟基,或者发生于C7、C3'、C5'位。根据Harborne^[27]和Hong^[28]等的研究,由 $A_{440\text{ nm}}/A_{\lambda_{\text{Vis-max}}}$ 值可以推测糖苷的取代位置,C3取代单糖花色苷的 $A_{440\text{ nm}}/A_{\lambda_{\text{Vis-max}}}$ 值是C3、C5取代双糖花色苷的2倍,且C3取代单糖花色苷的 $A_{440\text{ nm}}/A_{\lambda_{\text{Vis-max}}}$ 值范围为29%~35%,由表2可知,树莓及桑椹花色苷的 $A_{440\text{ nm}}/A_{\lambda_{\text{Vis-max}}}$ 值在31%~33%之间,可判断图1中4种花色苷糖基化都发生在C3位。

所以结合2.2.1节的HPLC-MS分析可知,红树莓中的花色苷峰1为矢车菊素-3-槐糖苷,峰2为矢车菊素-3-葡萄糖苷,与文献报道的红树莓中主要的花色苷为矢车菊素-3-槐糖苷和矢车菊素-3-葡萄糖苷结果一致^[29-30]。桑椹中的花色苷峰3为矢车菊素-3-葡萄糖苷,峰4为矢车菊素-3-芸香糖苷,与文献[22]中矢车菊素-3-葡萄糖苷和矢车菊素-3-芸香糖苷是桑椹中含有的最普遍、含量最高的花色苷的报道结果一致。另外,也有文献报道红树莓含有天竺葵素-3-槐糖苷、矢车菊素-3-(2'-葡萄糖芸香糖苷)等花色苷^[19],桑椹中含有天竺葵素-3-葡萄糖苷、矢车菊素-3-半乳糖苷等花色苷^[31],而本实验未检测出,由此说明不同品种、不同产地的红树莓和桑椹含有的花色苷种类及含量是有所差异的。

2.3 红树莓果汁及桑椹果汁主要黄酮结构的鉴定

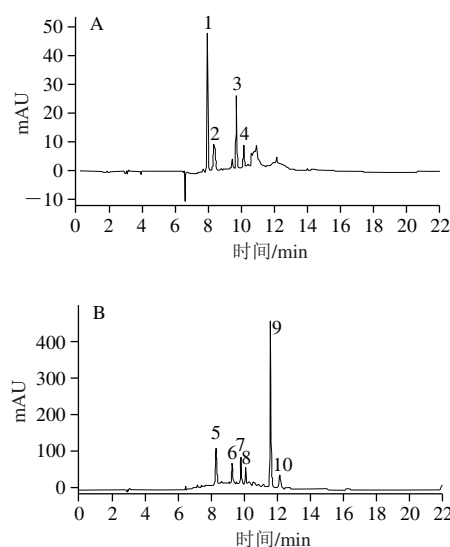


图3 红树莓(A)、桑椹(B)花色苷高效液相色谱图

Fig. 3 HPLC of red raspberry (A) and mulberry (B) anthocyanins

图3中, 1、3号峰的分子离子峰 $[M-H]^-$ 都为627, 产生 m/z 285的碎片离子, 即 $[M-H-H_2O-162\times 2]^-$, 由失去一分子 H_2O 和两分子的己糖配基所得, 表明其为山奈酚类黄酮, 可推测1、3峰为山奈酚-己糖苷-己糖苷, 由两者的液相色谱保留时间不同可知1、3号为同分异构体。同理, 可推测5号峰也为山奈酚-己糖苷-己糖苷。2号峰的分子离子峰 $[M-H]^-$ 为465, 产生 m/z 285的碎片离子, 即 $[M-H-H_2O-162]^-$, 由失去一分子 H_2O 和一分子的己糖配基所得, 表明其为山奈酚类黄酮, 推测2号峰为山奈酚-己糖苷。对于8号峰, 其分子离子峰 $[M-H]^-$ 也为465, 产生303和285的碎片离子, 与Zhang等^[33]研究桑椹中黄酮结构时得到的离子碎片一样, 可推测8号峰为二氢槲皮素-己糖苷。4号峰分子离子峰 $[M-H]^-$ 为708, 碎片离子 m/z 为262、202, 其结构未知。6号峰的分子离子峰 $[M-H]^-$ 为771, 产生的碎片离子 m/z 609, 即 $[M-H-162]^-$, 由失去一分子己糖配基所得; 产生的另一碎片离子 m/z 301, 即 $[M-H-162-308]^-$, 由失去一分子芸香糖苷配基所得, 所以可推测6号峰为槲皮素-芸香糖苷-己糖苷^[32]。7号峰的分子离子峰 $[M-H]^-$ 为755, 产生的碎片离子 m/z 593, 即 $[M-H-162]^-$, 由失去一分子己糖配基所得; 产生的另一碎片离子 m/z 285, 即 $[M-H-162-308]^-$, 由失去一分子芸香糖苷配基所得, 所以可推测7号峰为山奈酚-芸香糖苷-己糖苷^[32]。9号峰分子离子峰 $[M-H]^-$ 为609, 产生的碎片离子 m/z 301, 即 $[M-H-308]^-$, 由失去一分子芸香糖苷配基所得, 可推测9号峰为芦丁^[32,34]。10号峰的分子离子峰 $[M-H]^-$ 为463, 产生的碎片离子 m/z 301, 即 $[M-H-162]^-$, 由失去一分子己糖配基所得, 可推测10号峰为槲皮素-己糖苷^[32,35]。

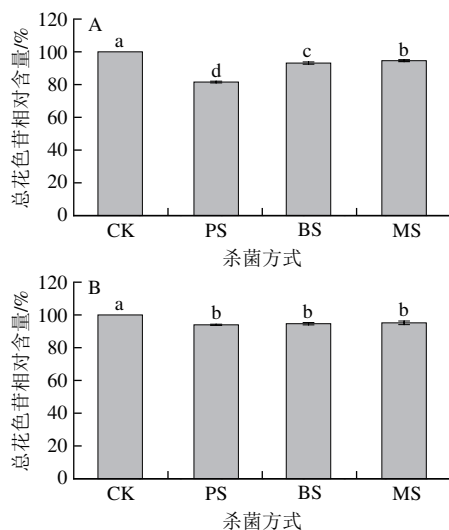
由以上分析总结为表3, 可知红树莓中主要为山奈酚类黄酮, 占52.31%; 桑椹中主要为槲皮素和山奈酚类黄酮, 各占45.24%、19.53%。

表3 树莓和桑椹主要黄酮类化合物HPLC-ESI-MS定性分析结果
Table 3 Qualitative analysis of major flavonoids in red raspberry and mulberry by HPLC-ESI-MS

峰号	保留时间/min	分子离子峰 $[M-H]^-$	碎片离子 m/z	黄酮结构推测	相对含量/%
1	7.515	627	285	山奈酚-己糖苷-己糖苷	27.15
2	7.899	465	285	山奈酚-己糖苷	10.60
3	9.202	627	285	山奈酚-己糖苷-己糖苷	14.56
4	9.615	708	262, 202	未知	5.29
5	7.860	611	285	山奈酚-己糖苷-己糖苷	12.77
6	8.789	771	609, 301	槲皮素-芸香糖苷-己糖苷 ^[32]	10.05
7	9.315	755	593, 285	山奈酚-芸香糖苷-己糖苷 ^[32]	6.76
8	9.583	465	303, 285	二氢槲皮素-己糖苷 ^[33]	4.23
9	11.025	609	301	芦丁 ^[32,34]	27.64
10	11.571	463	301	槲皮素-己糖苷 ^[32,35]	3.32

2.4 杀菌方式对红树莓果汁及桑椹果汁品质的影响

2.4.1 杀菌方式对红树莓果汁和桑椹果汁总花色苷相对含量的影响



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

图4 杀菌方式对红树莓果汁 (A) 和桑椹果汁 (B) 总花色苷相对含量的影响

Fig. 4 Effects of different sterilization treatments on total anthocyanins relative contents of red raspberry (A) and mulberry juices (B)

红树莓果汁和桑椹果汁中花色苷质量浓度较丰富, 总花色苷质量浓度分别为101.35、417.92 mg/L。由图4可知, 与CK相比, 红树莓果汁经不同杀菌方式处理后, 都对红树莓果汁总花色苷的相对含量有极显著的影响 ($P < 0.01$), 其中PS处理使红树莓果汁总花色苷相对含量减少了18.5%, BS处理使之减少了6.9%, 而MS处理使之减少了5.4%, 说明长时间较高温度杀菌对花色苷有很大破坏作用, 而高温短时杀菌对花色苷的破坏作用较小; 另外, 与加热杀菌方法比较, 微波处理对花色苷的破坏作用最小, 能更好地保存果汁中的花色苷, 这与翟金亮^[13]的研究结果相一致。桑椹果汁总花色苷的相对含量经3种杀菌方式处理后都极显著地降低 ($P < 0.01$), 而实验组之间没有显著性差异 ($P > 0.05$)。经过相同杀菌方式处理的红树莓果汁和桑椹果汁总花色苷相对含量呈不同的变化趋势, 可能与两种果汁花色苷的种类、共存组成及有关花色苷降解的酶种类和其酶含量不同有关。

2.4.2 杀菌方式对红树莓果汁和桑椹果汁单个花色苷相对含量的影响

由图5可知, 在红树莓果汁中, 经BS处理使矢车菊素-3-槐糖苷和矢车菊素-3-葡萄糖苷相对含量显著性降低 ($P < 0.05$), 经PS处理使矢车菊素-3-葡萄糖苷相对含量极显著降低20.3% ($P < 0.01$), 说明红树莓果汁中的矢车菊素-3-葡萄糖苷比矢车菊素-3-槐糖苷更容易受到破坏, 与二糖苷比单糖苷稳定的说法一致。在桑椹果汁

中, 两种花色苷相对含量经PS和BS处理后都显著性降低 ($P < 0.05$), 但是经MS处理后无显著性变化 ($P > 0.05$)。HPLC结果与2.4.1节中的总花色苷相对含量的变化趋势不一致, 可能是因为pH示差法以矢车菊素葡萄糖苷来衡量总花色苷的相对含量, 只能粗略地定量总花色苷, 与HPLC结果会产生一定的误差。

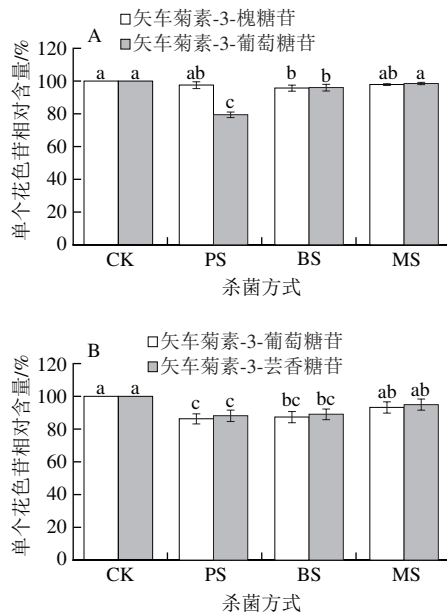


图5 杀菌方式对红树莓果汁 (A) 和桑椹果汁单个花色苷相对含量的影响 (B)

Fig. 5 Effects of different sterilization treatments on individual anthocyanin relative contents of red raspberry (A) and mulberry juices (B)

2.4.3 杀菌方式对红树莓果汁和桑椹果汁总酚相对含量的影响

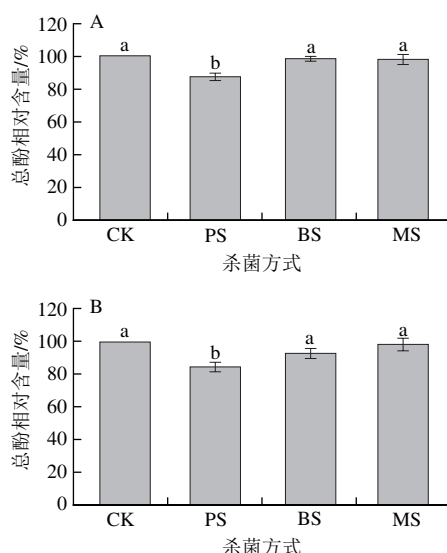


图6 杀菌方式对红树莓果汁 (A) 和桑椹果汁 (B) 总酚相对含量的影响

Fig. 6 Effects of different sterilization treatments on total phenol relative contents of red raspberry (A) and mulberry juices (B)

由图6可知, 与CK相比, PS处理对两种果汁总酚含量有极显著的破坏作用 ($P < 0.01$), 红树莓果汁总酚相对含量减少了12.72%, 桑椹果汁总酚相对含量减少了15.09%, 而吴琼等^[12]研究发现经95 °C 2 min的PS处理后使桑椹果汁总酚损失高达50.86%, 远高于本实验的12.72%和15.09%, 这可能是由于本实验所选的PS温度80 °C较95 °C温和, 对总酚的破坏作用较弱。而另外两种杀菌方法处理后两种果汁的总酚相对含量未显著降低 ($P > 0.05$), 这与2.4.1节和2.4.2节中红树莓果汁中花色苷经不同杀菌方式处理后的变化趋势一致。有研究发现多酚是花色苷的辅色素^[36], 因此推测多酚的损失不利于花色苷的在果汁系统中的稳定性。

2.4.4 杀菌方式对红树莓果汁和桑椹果汁主要黄酮相对含量的影响

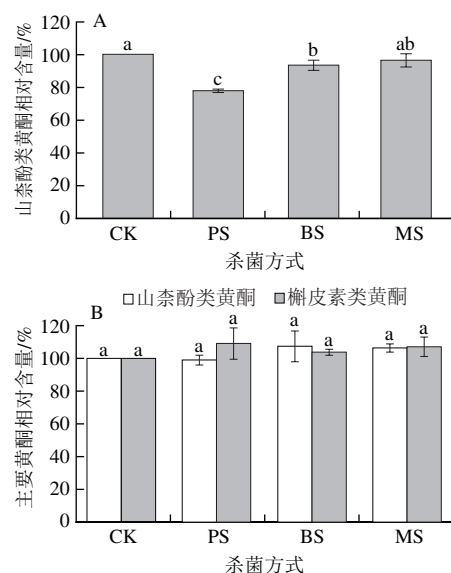


图7 杀菌方式对红树莓果汁 (A) 和桑椹果汁 (B) 主要黄酮相对含量的影响

Fig. 7 Effects of different sterilization treatments on major flavonoids relative contents of red raspberry (A) and mulberry juices (B)

由图7可知, 在红树莓果汁中, 与CK相比, 经PS处理后使山柰酚类黄酮相对含量极显著降低21.6% ($P < 0.01$), 经BS处理使其显著降低6.4% ($P < 0.05$), 而MS处理对其没有显著影响 ($P > 0.05$), 这与2.4.1节和2.4.2节中花色苷经不同杀菌方式处理后的变化趋势一致, 推测黄酮类物质的损失不利于花色苷的稳定性。这与Cao Shaoqian等^[37]研究发现黄酮类物质能增强花色苷的热稳定性、减少氨基酸或糖类物质对花色苷的降解, 对花色苷有保护作用的结果相一致。在桑椹果汁中, 3种杀菌方式对山柰酚及槲皮素类黄酮都没有显著的影响 ($P > 0.05$)。

2.4.5 杀菌方式对红树莓果汁和桑椹果汁H₂O₂相对含量的影响

孙建霞等^[38]认为Beattie和Pedersoon观察到果汁贮藏过程中氧和VC同时减少, 是由于VC被氧化后产生的

H₂O₂直接亲核进攻花色苷的C2位,使花色苷开环生成查耳酮引起花色苷的降解。Özkan^[39]也发现VC本身并不会使花色苷降解,而是VC的降解产物H₂O₂、糠醛等可使花色苷发生降解。所以H₂O₂相对含量的变化可作为探究花色苷降解机理的指标之一。由图8可知,红树莓果汁及桑椹果汁不同杀菌方式处理前后的H₂O₂相对含量没有显著性变化($P>0.05$),可见在杀菌过程中由VC降解产生的H₂O₂对果汁花色苷稳定性影响的作用甚微。

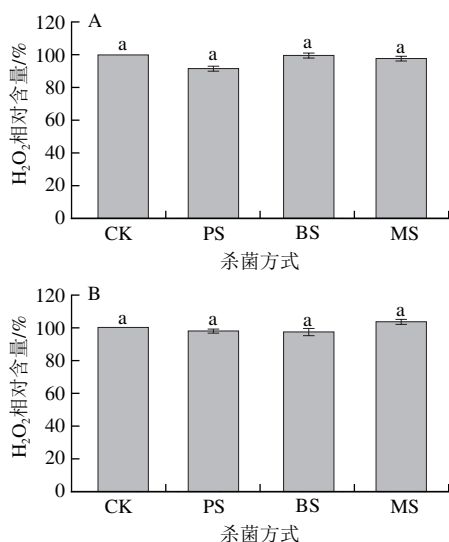


图8 杀菌方式对红树莓果汁(A)和桑椹果汁(B) H₂O₂相对含量的影响
Fig. 8 Effects of different sterilization treatments on H₂O₂ content of red raspberry (A) and mulberry juices (B)

2.4.6 杀菌方式对红树莓果汁和桑椹果汁其他理化指标的影响

表4 杀菌方式对红树莓果汁和桑椹果汁其他品质的影响
Table 4 Effects of different sterilization treatments on physicochemical properties of red raspberry and mulberry juices

果汁种类	杀菌方式	pH	可溶性固形物含量/Brix	吸光度	褐变度	透光率/%
红树莓果汁	CK	3.10±0.02 ^a	11.00 ^b	0.555±0.007 ^a	0.234±0.001 ^{ab}	77.150±0.369 ^a
	PS	3.11±0.00 ^a	11.00 ^b	0.467±0.008 ^c	0.225±0.003 ^c	73.059±0.590 ^c
	BS	3.10±0.01 ^a	11.00 ^b	0.525±0.009 ^b	0.232±0.003 ^b	74.302±0.000 ^b
	MS	3.09±0.01 ^a	11.03 ^a	0.547±0.005 ^a	0.238±0.003 ^a	74.131±0.171 ^b
桑椹果汁	CK	2.75±0.00 ^a	11.00 ^b	0.624±0.008 ^b	0.364±0.004 ^b	30.620±0.071 ^d
	PS	2.75±0.00 ^a	11.00 ^b	0.606±0.003 ^c	0.370±0.004 ^b	33.858±0.045 ^d
	BS	2.75±0.00 ^a	11.00 ^b	0.619±0.002 ^b	0.368±0.002 ^b	32.810±0.151 ^b
	MS	2.75±0.00 ^a	11.03 ^a	0.648±0.008 ^a	0.379±0.005 ^a	31.240±0.509 ^c

注: 同列肩标小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

由表4可知,红树莓果汁及桑椹果汁经3种杀菌方式处理后,pH值没有显著性变化($P>0.05$);经PS、BS处理后可溶性固形物含量没有显著性变化($P>0.05$),MS处理使其显著性增加($P<0.05$),与冀晓龙等^[40]研究的梨枣汁经MS处理后可溶性固形物含量有显著性增加结果一致。

吸光度可反映色素的稳定性^[41]。与CK相比,红树莓果汁的吸光度经过PS和BS处理后有极显著下降($P<0.01$),

而MS处理对其无显著性影响($P>0.05$),这与不同杀菌方式处理后的总花色苷含量的变化趋势大体一致。PS和MS处理对桑椹果汁的吸光度有极其显著的影响($P<0.01$),而BS处理对其无显著影响($P>0.05$)。

因为花色苷的降解可生成褐色物质^[42],所以褐变度可以有效评价花色苷的降解程度。另外,褐变是果汁在加工及贮藏过程中颜色变化的现象,其褐变的程度直接影响到果蔬的色泽和品质,不仅会改变果汁的风味和外观,而且会导致营养物质的流失,甚至变质。与CK相比,经PS处理的红树莓果汁褐变度有极显著的下降($P<0.01$),而BS和MS对其无显著影响($P>0.05$)。经MS处理后桑椹果汁的褐变度有极显著的增加($P<0.01$),而PS和BS处理对其无显著性影响($P>0.05$)。

果蔬汁中的多酚类化合物、果胶、淀粉、蛋白质、氨基酸等在一定条件下会发生美拉德反应、酶促反应及蛋白质的变性反应等,产生沉淀而使果蔬汁混浊。透光率(T 值)是反映果蔬汁澄清度的重要指标, T 值越高,果蔬汁澄清度越高。与CK相比,经PS、BS和MS分别处理后红树莓果汁的 T 值有极显著的下降($P<0.01$),表明红树莓果汁经过杀菌处理后果汁澄清度降低;而经3种杀菌方式处理后桑椹果汁的 T 值有极显著的增加($P<0.01$),表明桑椹果汁经杀菌处理后其澄清度升高。两种果汁截然相反的结果可能是不同原料果汁所含成分种类及量的差异所致。

3 结论

本实验通过高效液相色谱-电喷雾质谱法和紫外-可见光谱法分析了红树莓和桑椹中主要花色苷的结构及其含量,红树莓果汁中总花色苷的质量浓度为101.35 mg/L,含有两种主要的花色苷分别为矢车菊素-3-槐糖苷和矢车菊素-3-葡萄糖苷,其相对含量为70.71%和29.29%;桑椹果汁中总花色苷质量浓度为417.92 mg/L,含有两种主要的花色苷分别为矢车菊素-3-葡萄糖苷和矢车菊素-3-芸香糖苷,其相对含量分别为47.91%和52.09%。

PS、BS、MS 3种杀菌方式均有较好的杀菌效果,对红树莓果汁及桑椹果汁花色苷、黄酮类物质及果汁品质有不同程度的影响。红树莓果汁经不同杀菌方式处理后,总花色苷、单个花色苷、总酚及主要黄酮相对含量有不同程度的降低,MS处理影响最小,BS处理次之;桑椹果汁经不同杀菌方式处理后,总花色苷、单个花色苷及总酚相对含量有不同程度的减少,MS处理影响最小,主要黄酮和H₂O₂相对含量与CK相比没有显著性的变化($P>0.05$)。以上表明,MS处理能更好地保持红树莓果汁及桑椹果汁花色苷、总酚、主要黄酮等营养品质,是较优的杀菌技术。

参考文献:

- [1] JAROMÍR L, KAREL H, MILOSLAV S, et al. Cultivar differences of total anthocyanins and anthocyanidins in red and purple-fleshed potatoes and their relation to antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2009, 114(3): 836-843. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.10.029.
- [2] MIGUEL M G. Anthocyanins: antioxidant and/or anti-inflammatory activities[J]. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2011, 1(6): 7-15.
- [3] GHOSH D, KONISHI T. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function[J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2007, 16(2): 200-208.
- [4] SANCHÓ R A S, PASTORE G M. Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes[J]. Food Research International, 2012, 46(1): 378-386.
- [5] SZYMANOWSKA U, ZŁOTEK U, KARAŚ M, et al. Anti-inflammatory and antioxidative activity of anthocyanins from purple basil leaves induced by selected abiotic elicitors[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 71-77. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.09.043.
- [6] ZHU Y, LING W, GUO H, et al. Anti-inflammatory effect of purified dietary anthocyanin in adults with hypercholesterolemia: a randomized controlled trial[J]. Nutrition Metabolism & Cardiovascular Diseases, 2012, 23(9): 843-849. DOI:10.1016/j.numecd.2012.06.005.
- [7] NAKAISHI H, MATSUMOTO H, TOMINAGA S, et al. Effects of black current anthocyanoside intake on dark adaptation and VDT work-induced transient refractive alteration in healthy humans[J]. Alternative Medicine Review A Journal of Clinical Therapeutic, 2000, 5(6): 553-562.
- [8] CANTER P H, ERNST E. Anthocyanosides of *Vaccinium myrtillus* (bilberry) for night vision: a systematic review of placebo-controlled trials[J]. Survey of Ophthalmology, 2004, 49(1): 38-50. DOI:10.1016/j.survophthal.2004.08.009.
- [9] TSUDA T, HORIO F, KITOH J, et al. Protective effects of dietary cyanidin 3-*O*-beta-*D*-glucoside on liver ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Archives of Biochemistry & Biophysics, 1999, 368(2): 361-366. DOI:10.1006/abbi.1999.1311.
- [10] TSUDA T, HORIO F, UCHIDA K, et al. Dietary cyanidin 3-*O*-beta-*D*-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice[J]. Journal of Nutrition, 2003, 133(7): 2125-2130.
- [11] REIN M. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins[C]// International Symposium on Physical Design. Helsinki: University of Helsinki, 2005.
- [12] 吴琼, 冯卫敏, 蒋和体. 不同杀菌方式对桑葚原汁品质的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(9): 144-149. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201609027.
- [13] 翟金亮. 桑葚果汁微波杀菌工艺及花色苷稳定性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008: 35; 45.
- [14] GIUSTI M M, WROLSTAD R E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy[M]// WROLSTAD R E. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2001: 63-69. DOI:10.1002/0471142913.faf0102s00.
- [15] 陈亮, 辛秀兰, 袁其朋. 野生桑葚中花色苷成分分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(15): 307-310. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2012.15.091.
- [16] 王慧, 黄聪, 刘思源, 等. HPLC测定刺梨中杨梅素和鞣花素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 109-111. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.2013.01.034.
- [17] GAHLER S, OTTO K, BÖHM V. Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(27): 7962-7968. DOI:10.1021/jf034743q.
- [18] 马晓玉, 冯作山. 杀菌方式对哈密瓜汁贮藏中品质变化的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 35(17): 332-336. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2014.17.066.
- [19] MULLEN W, LEAN M E J, CROZIER A. Rapid characterization of anthocyanins in red raspberry fruit by high-performance liquid chromatography coupled to single quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 966(1/2): 63-70.
- [20] TIAN Q, GIUSTI M M, STONER G D, et al. Characterization of a new anthocyanin in black raspberries (*Rubus occidentalis*) by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2006, 94(3): 465-468. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.01.020.
- [21] LOPES-DA-SILVA F, DE PASCUAL-TERESA S, RIVAS-GONZALO J, et al. Identification of anthocyanin pigments in strawberry (cv Camarosa) by LC using DAD and ESI-MS detection[J]. European Food Research and Technology, 2002, 214(3): 248-253. DOI:10.1007/s00217-001-0434-5.
- [22] HASSIMOTTO N M A, GENOVESE M I, LAJOLO F M. Identification and characterisation of anthocyanins from wild mulberry ("Morus nigra" L.) growing in Brazil[J]. Food Science & Technology International, 2007, 13(1): 17-26. DOI:10.1177/1082013207075602.
- [23] ENGMANN N F, MA Y K, XU Y, et al. Investigating the effect of high hydrostatic pressure processing on anthocyanins composition of mulberry (*Morus moraceae*) juice[J]. Czech Journal of Food Sciences, 2013, 31: 72-80.
- [24] ZHANG W N, HE J J, PAN Q H, et al. Separation and character analysis of anthocyanins from mulberry (*Morus alba* L.) pomace[J]. Czech Journal of Food Sciences, 2011, 29(3): 268-276.
- [25] 王卫东, 李超, 许时婴. 高效液相色谱-串联质谱法分离鉴定黑莓花色苷[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 230-234. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2009.14.049.
- [26] 马义虔, 彭黔荣, 冯贵涛, 等. 桑椹花色苷分离及结构鉴定研究进展[J]. 食品工业, 2016, 37(4): 214-218.
- [27] HARBORNE J B. Spectral methods of characterizing anthocyanins[J]. Biochemical Journal, 1958, 70(1): 22-28.
- [28] HONG V, WROLSTAD R E. Use of HPLC separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990, 38(3): 708-715.
- [29] YAN Z, LIAO X J, FANG C, et al. Isolation, identification, and color characterization of cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-sophoroside from red raspberry[J]. European Food Research and Technology, 2008, 226(3): 395-403. DOI:10.1007/s00217-006-0550-3.
- [30] ANCOS B D, GONZALEZ E, CANO M P. Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition[J]. European Food Research and Technology, 1999, 208(1): 33-38. DOI:10.1007/s002170050371.
- [31] DU Q, ZHENG J, XU Y. Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2008, 21(5): 390-395. DOI:10.1016/j.jfca.2008.02.007.
- [32] MENA P, SÁNCHEZ-SALCEDO E M, TASSOTTI M, et al. Phytochemical evaluation of eight white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry clones grown in Spain based on UHPLC-ESI-MSⁿ, metabolomic profiles[J]. Food Research International, 2016, 89: 1116-1122. DOI:10.1016/j.foodres.2016.06.012.
- [33] ZHANG W, HAN F, HE J, et al. HPLC-DAD-ESI-MS/MS Analysis and antioxidant activities of nonanthocyanin phenolics in mulberry (*Morus alba* L.)[J]. Journal of Food Science, 2008, 73(6): 512-518. DOI:10.1111/j.1750-3841.2008.00854.x.
- [34] NATIĆ M M, DABIĆ D Č, PAPETTI A, et al. Analysis and characterisation of phytochemicals in mulberry (*Morus alba* L.) fruits grown in Vojvodina, North Serbia[J]. Food Chemistry, 2015, 171: 128-136. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.08.101.
- [35] BARROS L, DUEÑAS M, ALVES C T, et al. Antifungal activity and detailed chemical characterization of *Cistus ladanifer* phenolic extracts[J]. Industrial Crops & Products, 2013, 41(1): 41-45. DOI:10.1016/j.indcrop.2012.03.038.
- [36] 李云, 赵昶灵, 杨晓娜, 等. 花色苷分子结构与其稳定性以及呈色关系的研究进展[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2010, 25(5): 712-720. DOI:10.16211/j.issn.1004-390x(n).2010.05.004.
- [37] CAO Shaoqian, LIU Liang, LU Qi, et al. Integrated effects of ascorbic acid, flavonoids and sugars on thermal degradation of anthocyanins in blood orange juice[J]. European Food Research and Technology, 2009, 228(6): 975-983. DOI:10.1007/s00217-009-1015-2.
- [38] 孙建霞, 张燕, 胡小松, 等. 花色苷的结构稳定性与降解机制研究进展[J]. 中国农业科学, 2009, 42(3): 996-1008. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2009.03.031.
- [39] ÖZKAN M. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid[J]. Food Chemistry, 2002, 78(4): 499-504.
- [40] 冀晓龙, 王猛, 李环宇, 等. 不同杀菌方式对梨枣汁杀菌效果及理化性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(4): 91-95. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2013.04.033.
- [41] 董彩军, 李锋, 邵元建. 红树莓色素提取方法比较及稳定性研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(4): 69-71. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2014.04.018.
- [42] SEERAM N P, BOURQUIN L D, NAIR M G. Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(10): 4924-4929. DOI:10.1021/jf0107508.