

# 血橙果汁贮藏过程中品质变化研究

曹少谦<sup>1</sup>, 刘亮<sup>2</sup>, 潘思轶<sup>3,\*</sup>

(1. 浙江万里学院生物与环境学院, 浙江 宁波 315100; 2. 浙江医药高等专科学校应用生物系, 浙江 宁波 315100;

3. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

**摘 要:** 通过血橙原汁成分分析, 对血橙原汁低温贮藏过程中与品质相关的几项指标的变化进行监测, 以探讨低温贮藏对血橙果汁品质的影响。结果表明: 血橙汁富含花色苷(68.84mg/L)、黄酮类物质(0.18mg/mL)、抗坏血酸(0.63mg/mL)、氨基酸(43.012mg/mL)、糖类(128.3mg/mL)等物质, 还含有 Ca、Mg、Zn、Fe、Cu 等丰富的人体必需微量元素; 同时 HPLC 分析显示血橙汁含有的可溶性糖主要是蔗糖(7.4g/100mL)、果糖(2.2g/100mL)、葡萄糖(2.1g/100mL)。在血橙汁贮藏过程中, 随着花色苷含量的下降橙汁鲜艳的红色也逐渐褪色成浅黄褐色, 抗坏血酸含量明显下降, 贮藏 40d 后含量下降约 52%; 而还原糖含量变化缓慢, 总酸含量平缓增加。

**关键词:** 血橙; 果汁; 贮藏; 品质变化

## Quality Changes of Blood Orange Juice during Storage

CAO Shao-qian<sup>1</sup>, LIU Liang<sup>2</sup>, PAN Si-yi<sup>3,\*</sup>

(1. College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China;

2. Department of Applied Biology, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China;

3. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Quality-related physico-chemical indexes of blood orange juice were determined during storage at different temperatures, and the effect of low temperature on the quality of blood orange juice was investigated. Results indicated that blood orange juice was abundant in anthocyanins (68.84 mg/L), flavonoids (0.18 mg/mL), ascorbic acid (0.63 mg/mL), amino acids (43.012 mg/mL) and sugars (128.3 mg/mL). Meanwhile, the juice contained essential trace elements such as Ca, Mg, Zn, Fe and Cu. HPLC analysis showed that soluble sugars in the juice were mainly glucose (2.1 g/100 mL), sucrose (7.4 g/100 mL) and fructose (2.2 g/100 mL). During the storage of blood orange juice, the attractive red color was lost along with the decrease in anthocyanin content, the content of ascorbic acid decreased significantly, by around 52% after 40 days, reducing sugar content changed slowly, and total acid content increased smoothly.

**Key words:** blood orange; juice; storage; quality change

中图分类号: TS264.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)02-0297-05

血橙色泽鲜艳、风味浓郁、汁液充足且营养丰富, 具有高营养价值、高商业价值, 深受消费者喜爱, 用于加工果汁具有广阔发展前景。但是, 血橙汁加工及贮藏过程中由于所含花色苷的降解导致其品质很不稳定, 色泽劣变, 营养流失严重, 因此, 血橙无法工业化生产成果汁商业出售<sup>[1]</sup>。国内外的学者们对血橙加工特性进行了大量的研究<sup>[2-7]</sup>, 围绕血橙汁花色苷降解及褐变的原因做了许多的工作, 但对血橙花色苷降解机制及其引起的血橙汁褐变机理至今尚未完全弄清楚, 加工中防褐变技术还不能满足实际生产的需要。

虽然国内外学者对血橙汁成分做了一些研究<sup>[8-9]</sup>, 但到目前为止, 几乎没有系统报道过血橙汁各成分在贮藏过程中的变化, 大多集中在研究血橙汁贮藏过程中花色苷及果汁色泽的变化上<sup>[2-4]</sup>, 对其他成分如糖、酸等理化指标的变化少见报道。而柑橘风味品质在很大程度上取决于糖和酸, 糖和酸也是最便于进行定性定量分析的组成成分; 同时, 糖、VC 等组分也会影响血橙花色苷稳定性。本实验通过对血橙汁理化指标的分析, 研究其组成成分及在贮藏中的变化, 作为探讨血橙汁褐变机制的第一步, 以期为血橙果汁加工贮藏提供理论参考。

收稿日期: 2010-03-15

基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2006ABA168); 国家公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-023)

作者简介: 曹少谦(1980—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为农产品贮藏加工及天然产物化学。E-mail: shaoqiancao@yahoo.com.cn

\* 通信作者: 潘思轶(1965—), 男, 教授, 博士, 研究方向为农产品加工化学。E-mail: pansiyi@mail.hzau.edu.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

血橙为商业成熟度的 Tarocco, 购于湖北省秭归县。

芦丁(标准品) Sigma公司; 乙腈(色谱纯) Fisher公司; 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

Anke TDL-5-A 离心机 上海安亭科学仪器厂; Orion 410A pH计 Thermo公司; WYT-4 手持式糖度计泉州中友光学仪器设备有限公司; 1800 分光光度计 日本岛津公司; PROSTAR 210 高效液相色谱仪、ICPVISTA-MPX 等离子发射光谱仪 美国 Varian 公司; UitraScan XE 色度仪 美国 HunterLab 公司; 榨汁机。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 血橙果汁制备

血橙去皮后榨汁, 然后 4500r/min 离心 10min, 得到的澄清橙汁灌装后密封置于一 18℃ 保存备用。该血橙出汁率为 310mL/kg。

#### 1.3.2 可溶性固形物的测定

手持糖度计法。

#### 1.3.3 pH 值的测定

取一定量的橙汁, 4500r/min 离心 10min, 取上清液, 用 pH 计直接测定果汁的 pH 值。

#### 1.3.4 总酸的测定

酸碱滴定法<sup>[10]</sup>。

#### 1.3.5 糖的测定

总糖含量: 采用蒽酮比色法测定; 还原糖含量: 采用 DNS 法测定<sup>[10]</sup>。

HPLC 法确定果汁中糖的组成及每组分含量, 具体方法如下: 准确称取 10.00g 果汁样品, 加入 30mL 蒸馏水, 水浴超声波提取 10min, 4500r/min 离心 5min 后过滤, 滤渣用 10mL 蒸馏水洗涤过滤, 合并滤液, 定容到 50mL。Sep-pak C<sub>18</sub> 固相萃取小柱先用 4mL 甲醇活化, 再用 10mL 蒸馏水冲洗。取 5mL 试液, 以 1mL/min 流速通过预活化好的 Sep-pak C<sub>18</sub> 固相萃取小柱, 弃去初始的 2mL 滤液, 收集后续 3mL 滤液, 用 0.45 μm 滤膜抽滤, 取 10 μL 滤液进样分析。

色谱条件: 色谱柱, Agilent Zorbax carbohydrate 分析柱(4.6mm × 250mm, 5 μm); 柱温, (25 ± 2)℃; 检测器: 示差折光检测器; 检测池温度: 35℃; 流动相: 乙腈-水(80:20, V/V); 真空泵脱气; 经过 0.45 μm 滤膜过滤; 流速: 1mL/min; 进样体积: 10 μL。

配制葡萄糖、果糖、蔗糖的单标溶液, 使各自的质量浓度均为 5mg/mL; 配制葡萄糖、果糖、蔗糖的混标溶液, 使葡萄糖、果糖、蔗糖的质量浓度均为 5mg/mL。

HPLC 制作标准曲线。根据保留时间确定果汁中糖的组成, 并用标曲计算果汁中各种糖的含量。

#### 1.3.6 抗坏血酸的测定

采用 HPLC 法, 具体方法如下: 取 10.0g 过滤后的果汁, 用 0.1g/100mL 草酸溶液定容至 50mL。分析前需用 0.45 μm 的滤膜过滤。

色谱条件: 色谱柱, sinochrom ODS-BP(4.6mm × 250mm, 5 μm); 柱温: (26 ± 2)℃; 流动相: 0.1g/100mL 草酸溶液, 使用前用真空泵脱气, 经过 0.45 μm 滤膜过滤; 流速: 0.8mL/min; 进样体积: 10 μL。

用 0.1g/100mL 草酸配制抗坏血酸标准溶液, 使其质量浓度分别为 0.02、0.04、0.06、0.08mg/mL 和 0.10mg/mL。采用 HPLC 法制作抗坏血酸标准曲线, 再根据标准曲线计算果汁中抗坏血酸含量。

#### 1.3.7 氨基酸总量的测定

采用茚三酮比色法<sup>[10]</sup>。

#### 1.3.8 金属离子的测定

移取 5mL 橙汁样品于小三角瓶中, 加混合酸消化液(硝酸-高氯酸, 4:1, V/V)20~30mL, 放置过夜。在三角瓶瓶口加一个小三角漏斗, 置电炉上加热消化, 直至无色透明为止。再加几毫升去离子水, 加热以除去多余的硝酸。待三角瓶中的液体接近 2~3mL 时, 取下冷却。用去离子水洗并转移于 10mL 容量瓶中定容。然后用等离子发射光谱仪测定。

#### 1.3.9 花色苷含量的测定

采用 pH 差示法<sup>[11-12]</sup>, 具体操作如下:

2mL 澄清待测液用 pH1.0 的缓冲液(125mL 0.2mol/L KCl 与 375mL 0.2 mol/L HCl 混匀)稀释至 25mL, 另取 2mL 澄清待测液用 pH 4.5 的缓冲液(400mL 1mol/L CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Na、240mL 1mol/L HCl 与 360mL H<sub>2</sub>O 混匀)稀释至 25mL, 510nm 处测定吸光度(A), 并计算花色苷含量(C)。

$$C/(\text{mg/L}) = \frac{(A_{\text{pH}1.0} - A_{\text{pH}4.5}) \times 484.82 \times 1000}{28425} \times \text{DF}$$

式中: 484.82 为矢车菊-3-葡萄糖苷的相对分子质量; 28425 为矢车菊-3-葡萄糖苷在 pH1.0 缓冲液中波长 510nm 处的摩尔吸光系数; DF 为稀释度。

#### 1.3.10 总酚及黄酮的测定

用福林法测总酚含量<sup>[13]</sup>: 准确移取 0.1mL 稀释后的橙汁样品, 加入 0.5mL 的福林试剂, 混匀, 稍置片刻后加入 1.5mL 1mol/L 的碳酸钠溶液, 用蒸馏水定容至 10mL, 混合均匀, 在室温避光放置 2h, 波长 760nm 处测吸光度。采用没食子酸制作标准曲线。

AlCl<sub>3</sub>- 甲醇法测黄酮含量<sup>[14]</sup>: 取 1mL 稀释后橙汁样品, 加入 4mL 0.1mol/L AlCl<sub>3</sub>- 甲醇溶液, 放置 3min 后

表1 血橙汁主要成分含量分析

Table 1 Contents of main constituents in blood orange juice

可溶性固形物 /°Brix	pH	总酸(以柠檬酸计)/%	总糖/(mg/mL)	还原糖/(mg/mL)	VC/(mg/mL)	游离氨基酸总量/(mg/mL)
12.5	3.45	0.85	128.3	46.2	0.63	43.012

波长410nm处比色。采用芦丁制作标准曲线。

### 1.3.11 色度的测定

色度采用色度仪测定。记录样品 $L$ 、 $a$ 和 $b$ 值。 $L$ 表示的是亮度, $a$ 值在色相环中表示红色( $-a$ 值表示绿色),而 $b$ 值在色相环中表示黄色( $-b$ 值表示蓝色)。

### 1.3.12 贮藏过程中橙汁部分理化指标的变化

橙汁于4℃和-18℃低温贮藏,在贮藏过程中每隔1周测定橙汁理化指标的变化,根据实验室前期工作积累,对影响果汁褐变的主要因素进行监测。监测理化指标如下:花色苷、色泽、还原糖、总酸、VC以及pH值。

## 2 结果与分析

### 2.1 血橙汁成分分析

结果表明,血橙中含有丰富的还原糖、氨基酸、抗坏血酸等物质成分,如表1所示。其中,血橙中可溶性糖经HPLC分析(表2),主要含有果糖、葡萄糖和蔗糖,其中果糖和葡萄糖含量相当,而蔗糖含量最高,约为果糖和葡萄糖的3.5倍左右。

表2 血橙汁中各种可溶性糖HPLC分析

Table 2 Content of soluble sugars in blood orange juice

果糖/(g/100mL)	葡萄糖/(g/100mL)	蔗糖/(g/100mL)
2.2	2.1	7.4

血橙汁呈鲜艳的红色,经色度仪测定,代表红色的 $a$ 值高达54.17(表3)。血橙汁的红色归因于其中含有丰富的花色苷。血橙中酚类物质除花色苷外还含有其他黄酮类物质,含量如表3所示。

表3 血橙汁色度及酚类物质含量

Table 3 Color parameters and phenolic content in blood orange juice

色度			花色苷/(mg/L)	总酚/(mg/L)	总黄酮/(mg/L)
$L$	$a$	$b$			
35.83	54.17	24.25	68.84	0.325	0.18

血橙汁中金属离子含量如表4所示。可以看出,血橙汁样品中Ca离子和Mg离子含量最高,其次为Fe、Al、Zn离子。钙离子对褐变有抑制作用,与氨基酸结

合成为不溶性化合物,因此钙盐有协同SO<sub>2</sub>控制褐变的作用<sup>[15]</sup>,但同时钙离子的存在会产生沉淀,不利于产品的品质;Al和Mg离子的大量存在也会促进沉淀的产生,这都会影响橙汁稳定性。另据报道,金属离子能促进抗坏血酸的氧化褐变,其中铜、铁离子影响较大<sup>[16]</sup>;同时金属离子对血橙汁中含有的花色苷也有较大影响。

表4 血橙汁中金属离子含量

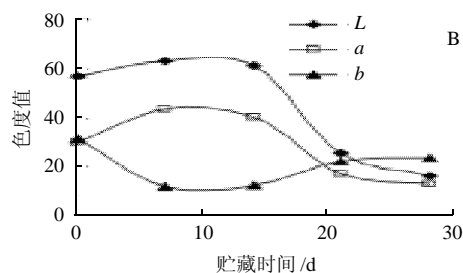
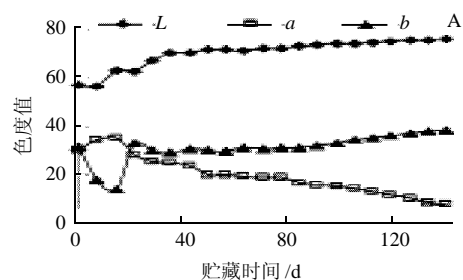
Table 4 Contents of metal ions in blood orange juice

金属元素	Cu	Fe	Zn	Mg	Ca	Mn	Al
含量/(mg/L)	0.1967	2.6826	1.3149	47.6256	54.05	0.4585	1.6457

### 2.2 血橙汁贮藏过程中理化指标变化

#### 2.2.1 贮藏过程中血橙汁花色苷与色泽的变化

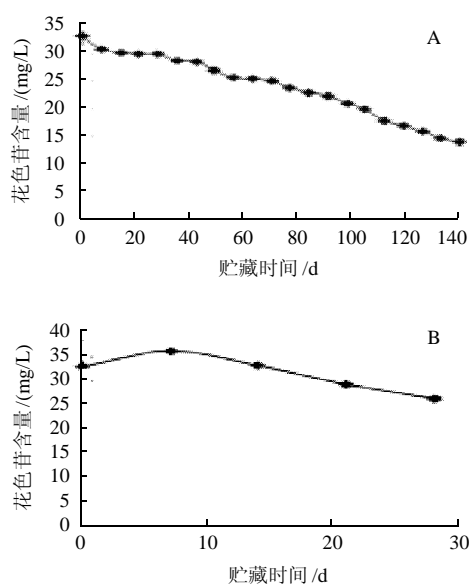
血橙汁贮藏过程中花色苷及色泽的变化趋势如图1、2所示(A, -18℃; B, 4℃)。4℃贮藏的初期,橙汁透明度较为稳定, $L$ 值略有增加,但从14d左右开始,橙汁变浑浊, $L$ 值下降明显; $a$ 值与 $L$ 值变化趋势相同; $b$ 值则相反。-18℃贮藏时, $L$ 值在贮藏初期逐渐变大,然后趋于平缓。可能是果汁缓冲体系被破坏导致部分物质沉淀,因此离心后果汁 $L$ 值增加。



A. -18℃; B. 4℃。

图1 血橙汁贮藏过程中色泽的变化

Fig.1 Color change of blood orange juice during storage



A. -18℃; B. 4℃。

图2 血橙汁贮藏过程中花色苷含量的变化

Fig.2 Change in anthocyanins content in blood orange juice during storage

贮藏过程中血橙汁花色苷含量随着时间增加而降低,如图2所示。4℃贮藏至28d时花色苷损失约20%;而-18℃贮藏50d花色苷损失约达20%,至120d左右花色苷损失约一半。从图1、2可以看出,橙汁中花色苷的含量变化与其红色色泽变化具有相关性,随着花色苷含量的降低 $a$ 值亦降低。

### 2.2.2 贮藏过程中血橙汁中VC含量的变化

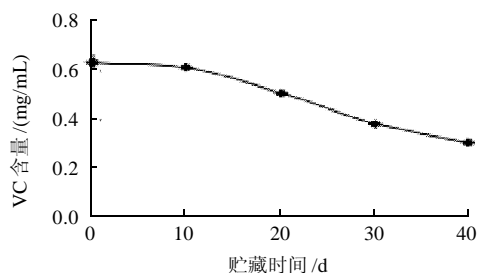


图3 血橙汁贮藏过程中VC含量的变化

Fig.3 Change in vitamin C content in blood orange juice during storage

从图3可以看出,抗坏血酸的含量在血橙汁4℃贮藏过程中逐渐减少,由贮藏初期的63.4mg/100mL,40d后下降到30.7mg/100mL,下降了约52%。这是由于抗坏血酸氧化分解的原因。血橙汁在贮藏过程中抗坏血酸很容易损失,是极不稳定的因素。

### 2.2.3 贮藏过程中血橙汁还原糖含量的变化

血橙汁4℃贮藏过程中,还原糖含量的变化趋势如

图4所示。还原糖含量先上升,在贮藏的10d时到峰值,达50%,而后下降,变化趋于平缓。开始还原糖含量的上升可能是由于蔗糖或花色苷等裂解生成了一些还原糖。

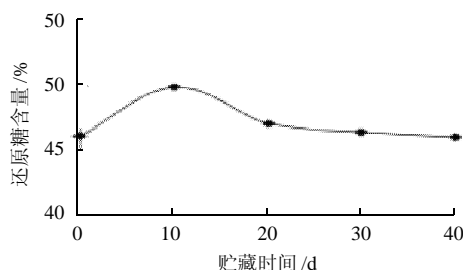


图4 血橙汁贮藏过程中还原糖含量的变化

Fig.4 Change in reducing sugar content in blood orange juice during storage

### 2.2.4 贮藏过程中血橙汁总酸含量及pH值的变化

由图5可知,血橙汁4℃贮藏过程中,总酸含量缓慢增加,pH值略有下降。这可能是由于血橙汁中糖,尤其是还原糖含量高,与氨基态化合物发生美拉德反应而形成还原醛酮,它们极易氧化成酸性物质。

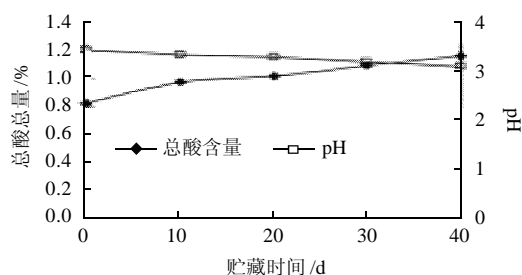


图5 血橙汁贮藏过程中总酸含量及pH值的变化

Fig.5 Changes in total acid content and pH value in blood orange juice during storage

## 3 讨论

本研究表明,血橙中含有丰富的花色苷、其他酚类物质、抗坏血酸、氨基酸及微量元素,HPLC分析显示血橙汁含有的可溶性糖主要是蔗糖、果糖和葡萄糖。与实验室前期实验相比<sup>[17]</sup>,血橙抗坏血酸含量、总糖含量均高于普通甜橙,而总酸含量略低于其他普通甜橙,所以与普通甜橙汁相比,血橙糖酸比偏高,橙汁口感较好。

血橙汁贮藏过程中随着花色苷含量的下降其鲜艳的红色也逐渐褪色,并且果汁中明显有沉淀生成,VC含量明显下降,还原糖含量变化缓慢,总酸含量平缓增加。血橙汁成分分析及在贮藏中的变化研究结果,为

进一步研究血橙汁贮藏加工中褐变及沉淀打下基础。

#### 参考文献:

- [1] MACCARONE E, MACCARONE A, RAPISARDA P. Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice[J]. *Journal of Food Science*, 1985, 50(4): 901-904.
- [2] KRIFI B, CHOUTEAU F, BOUDRANT J, et al. Degradation of anthocyanins from blood orange juices[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2000, 35: 275-283.
- [3] CHOI M H, KIM G H, LEE H S. Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage[J]. *Food Research International*, 2002, 35: 753-759.
- [4] KIRCA A, CEMEROGLU B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate[J]. *Food Chemistry*, 2003, 81: 583-587.
- [5] KIRCA A, ÖZKAN M, CEMEROLU B. Thermal stability of black carrot anthocyanins in blood orange juice[J]. *Journal of Food Quality*, 2003, 26: 361-366.
- [6] INGALLINERA B, BARBAGALLO R N, SPAGNA G, et al. Effects of thermal treatments on pectinesterase activity determined in blood orange juices[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2005, 36: 258-263.
- [7] KIRCA A, ÖZKAN M, CEMEROLU B. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars[J]. *Food Chemistry*, 2006, 97: 598-605.
- [8] MOUFIDA S, MARZOUK B. Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange[J]. *Phytochemistry*, 2003, 62: 1283-1289.
- [9] 陈大茜, 杨小凤, 艾常春. 血橙中微量元素的测定[J]. *广东微量元素科学*, 2006, 13(2): 64-66.
- [10] 大连轻工业学院, 华南理工大学, 西北轻工业学院, 等. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.
- [11] RAPISARDA P, FALLICO B, IZZO R, et al. A simple and reliable method for determining anthocyanins in blood orange juices[J]. *Agrochimica*, 1994, 38: 157-164.
- [12] RAPISARDA P, FANELLA F, MACCARONE E. Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juice[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48: 2249-2252.
- [13] SURVESWARAN S, CAI Y Z, CORKE H, et al. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants[J]. *Food Chemistry*, 2007, 102: 938-953.
- [14] ALINE M, CHARLES E L, MARCO R, et al. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity[J]. *Food Chemistry*, 2005, 91: 571-577.
- [15] 李鹏, 彭辉, 张天箴. 不同抑制条件对梨汁褐变影响的研究[J]. *河北农业大学学报*, 1994, 17(1): 53-56.
- [16] 黎蕙兰, 方新文. 果蔬制品色泽的褐变及其控制[J]. *江西食品工业*, 2004(1): 35-36.
- [17] 李云康. 柑橘特征糖酸组成及其与果汁褐变关系研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.