

苹果酸对黑加仑果汁中花色苷稳定性的影响

赵玉红^{1,2}, 贾琳娜¹, 包怡红¹, 张立钢³

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040) (2. 林下经济资源研发与利用协同创新中心, 黑龙江哈尔滨 150040) (3. 东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要: 花色苷是黑加仑果汁的主要色素物质, 也是黑加仑果汁中主要生物活性成分, 其稳定性受果汁可溶性固形物浓度、贮藏温度、pH 以及辅色剂的影响。本文以黑加仑果汁为原料, 研究苹果酸对不同可溶性固形物浓度黑加仑果汁中花色苷在不同 pH、不同贮藏温度条件下的化学稳定性和降解的影响。花色苷含量测定采用 pH 示差法, 降解变化规律研究采用 Arrhenius 方程进行拟合。实验结果表明: 0.08% 苹果酸在可溶性固形物浓度为 10 °Brix, pH 3.0、4 °C 条件下, 延缓降解反应速率; 提高了果汁中花色苷的残留率, 此条件下加入苹果酸使半衰期 $t_{1/2}$ 由 51 d 提高到 141 d, 活化能由 51 kJ/mol 提高到 61 kJ/mol。添加苹果酸的黑加仑果汁花色苷在贮藏中的降解变化符合一级反应动力学。将苹果酸应用于低可溶性固形物浓度、低 pH 和低温条件下的黑加仑果汁可起到一定辅色作用, 提高花色苷的稳定性。

关键词: 黑加仑; 花色苷; 苹果酸; 稳定性; 降解动力学

文章编号: 1673-9078(2016)9-127-134

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.9.019

Effect of Malic Acid on the Stability of Anthocyanins in Blackcurrant Juice

ZHAO Yu-hong^{1,2}, JIA Lin-na¹, BAO Yi-hong¹, ZHANG Li-gang³

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China) (2. Forest economy resource development and utilization of Collaborative Innovation Center, Harbin 150040, China) (3. Food Science College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Anthocyanins are the main pigments and are very important bioactive components in blackcurrant juice. The stability of anthocyanins was affected by soluble solid concentration, storage temperature, pH, and copigments. Blackcurrant juice was used as the raw material in this study, and the effects of malic acid on the chemical stability and degradation kinetics of the anthocyanins in blackcurrant juice samples with various soluble solid concentrations were investigated under different storage temperatures and pH values. The total anthocyanin contents of samples were determined using the pH-differential method, and the Arrhenius equation was used to fit the pattern of the degradation. The results indicated that the degradation rate constant (k) and the residual rate of anthocyanins in juice with 0.08% malic acid were decreased and increased, respectively, at a temperature of 4 °C, pH of 3.0, and a solid concentration of 10 °Brix. Under the above conditions, the degradation half-life ($t_{1/2}$) of anthocyanins increased from 51 d to 141 d, and the thermal degradation activation energy (E_a) increased from 51 kJ/mol to 61 kJ/mol with the addition of malic acid. Degradation of anthocyanins in blackcurrant juice during storage followed first-order reaction kinetics. Malic acid has certain copigmentation effects on blackcurrant juice under the conditions of low temperature, low pH, and low soluble solid concentration, and can enhance the stability of anthocyanins.

Key words: blackcurrant juice; anthocyanins; malic acid; stability; degradation kinetics

鲜榨黑加仑果汁中含有丰富的花色苷和其他酚类物质, 花色苷含量是决定果汁品质的重要因素之一。黑加仑果汁中的花色苷包括矢车菊素-3-芸香糖苷、飞燕草素-3-芸香糖苷等四类, 其中矢车菊素-3-葡萄糖苷是自然界中分布最广的一类^[1]。花色苷不仅可以用作天然色素使产品具有红色、紫色和蓝色, 而且具有抗氧化、抗癌、抗炎、抑制脂质过氧化和血小板凝集等功能^[2]。但是花色苷高度不稳定, 易降解, 其稳定性受自身化学结构、浓度、温度、pH、光、氧气、金属离子和酶等多种因素影响^[3]。因此, 提高花色苷类色素的稳定

收稿日期: 2015-11-10

基金项目: 黑龙江省卓越农林人才培养计划改革试点项目 (41110211)
作者简介: 赵玉红 (1968-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物化学
通讯作者: 张立钢 (1973-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品精深加工

鲜榨黑加仑果汁中含有丰富的花色苷和其他酚类物质, 花色苷含量是决定果汁品质的重要因素之一。黑加仑果汁中的花色苷包括矢车菊素-3-芸香糖苷、飞燕草素-3-芸香糖苷等四类, 其中矢车菊素-3-葡萄糖苷是自然界中分布最广的一类^[1]。花色苷不仅可以用作天然色素使产品具有红色、紫色和蓝色, 而且具有抗氧化、抗癌、抗炎、抑制脂质过氧化和血小板凝集等功能^[2]。但是花色苷高度不稳定, 易降解, 其稳定性受自身化学结构、浓度、温度、pH、光、氧气、金属离子和酶等多种因素影响^[3]。因此, 提高花色苷类色素的稳定

性, 就可以减少花色苷的损失, 保证产品质量。

辅色作用对于提高富含花色苷的食品的色泽强度和稳定性具有重要作用。通常, 在花色苷溶液中添加氨基酸、有机酸、生物碱、类黄酮、多糖等辅色剂来提高花色苷的稳定性^[4]。以苹果酸 (Malic acid, MA) 作为辅色剂的研究已有报道, 王宇滨等^[5]报道苹果酸等有机酸通过辅色作用有效提高紫玉米花青素的热稳定性; 李颖畅等^[6]证明苹果酸对蓝莓花色苷具有辅色作用; 周剑忠等^[7]发现 0.06% 苹果酸具有提高蓝莓汁色泽稳定性和抗氧化活性的作用; 苹果酸对提高黑莓花色苷纯化物在水体系中的色泽稳定性及热稳定性具有作用^[8]。但苹果酸对花色苷在不同贮藏条件下的影响未见报道。

浓缩果汁中可溶性固形物浓度、贮藏温度、pH 值以及辅色剂可影响花色苷的稳定性。本文研究苹果酸对黑加仑果汁中花色苷在不同浓度、不同 pH、不同贮藏温度条件下的化学稳定性和降解动力学的影响, 探讨苹果酸作为辅色剂在黑加仑果汁贮藏过程中的较优条件, 为黑加仑及其他种类浆果果汁的贮藏和应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 原料及试剂

黑加仑鲜果, 来自哈尔滨市本色集团。

盐酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钾、氢氧化钠、醋酸钠、冰乙酸、苹果酸均为分析纯。

1.2 仪器

HR1832/02 榨汁机 (Philips 有限公司), TDL-5W 台式低速离心机 (湖南星科科学仪器有限公司), Sz-4 旋转蒸发仪 (沈阳莱柏利德有限公司), 722S 可见分光光度计 (沈阳精密科学仪器有限公司), MQK-92 折光仪 (上海米青科实业有限公司), PB-10 pH 计 (北京 Sartorius 仪器有限公司), BCD-215KS 电冰箱 (Haier 有限公司), GHP9270 恒温培养箱 (上海一恒科学仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 原料预处理

(1) 以黑加仑鲜果为原料, 除去腐烂的果实, 清洗, 破碎处理, 榨取果汁, 用折光仪测得果汁的初始可溶性固形物浓度约为 10° Brix, pH 约为 3.0。

(2) 将果汁用离心机离心 (4000 r/min, 5 min), 抽滤, 用旋转蒸发仪 45 °C 条件下将果汁浓缩到可溶性固形物分别为 20、30 和 40° Brix。

1.3.2 浓缩果汁贮藏条件的设定

(1) 贮藏过程中果汁浓度、pH、温度对花色苷稳定性的影响

将可溶性固形物浓度为 10、20、30 和 40° Brix 的浓缩汁用缓冲溶液调 pH 至 3.0、4.0 和 5.0, 取 5 mL 黑加仑浓缩汁分装于 20 mL 旋盖玻璃瓶中密封, 杀菌 (80 °C, 10 min), 分别在 4 °C 冰箱中, 25 °C 和 40 °C 的恒温培养箱中贮藏 60 d。每 6 d 取样测定花色苷含量, 每组重复三次。

(2) 苹果酸 (MA) 对果汁中花色苷稳定性的影响

将黑加仑果汁浓缩到可溶性固形物浓度分别为 20、30 和 40° Brix。取苹果酸与不同浓度黑加仑浓缩汁互溶, 用缓冲液将浓缩汁 pH 调至 3.0、4.0 和 5.0, 分装于 20 mL 旋盖玻璃瓶中密封, 杀菌 (80 °C, 10 min), 在 4 °C 冰箱中, 25 °C 和 40 °C 的恒温培养箱中条件下贮藏 60 d。测定花色苷含量, 每组重复三次。

1.3.3 苹果酸用量的预选

配制不同浓度的苹果酸溶液, 分别取 1 mL 于 25 mL 刻度试管中, 加相同浓度花色苷溶液 (黑加仑花色苷提取液) 15 mL, 再加水至刻度, 使混合液中苹果酸含量分别为 0.02%、0.04%、0.06%、0.08% 和 0.10%。在 80 °C 下^[9]保温 1.5 h, 每隔 30 min 取样 1 次, 在最大吸收波长 520 nm 处测其吸光度。以空白为对照, 测花色苷含量。

1.3.4 花色苷含量的测定

pH 示差法测定花色苷含量^[10]:

(1) 吸光值的测定

分别移取 2.5 mL 样液 2 份, 分别用 pH 1.0 和 pH 4.5 的缓冲液定容至 25 mL。置于暗处平衡 2 h, 以空白样 (取 2.5 mL 蒸馏水, 分别用 pH 1.0 和 pH 4.5 的缓冲液定容至 25 mL) 作对照, 用分光光度计分别在 520 nm 和 700 nm 下测定吸光值。每个样品处理重复三次, 取平均值。

(2) 计算花色苷含量采用如下公式:

$$C(\text{mg}/100\text{g}) = \frac{A \times MW \times DF \times V \times 100}{\epsilon * l * m}$$

式中: A , 吸光度; ϵ , 矢车菊素-3-葡萄糖苷的消光系数, 26900; DF , 稀释因子; MW , 矢车菊素-3-葡萄糖苷的分子量, 449.2 g/mol; V , 最终体积, mL; m , 产品重量, mg; L , 光程, 1 cm; $A = (A_{520\text{nm}} \text{ pH } 1.0 - A_{700\text{nm}} \text{ pH } 1.0) - (A_{520\text{nm}} \text{ pH } 4.5 - A_{700\text{nm}} \text{ pH } 4.5)$; 用 $A_{700\text{nm}}$ 来消除样液混浊的影响。

1.3.5 反应动力学研究

反应动力学研究根据 Arrhenius 方程^[11], 采用公式:

$$\ln \frac{x}{x_0} = -kt$$

式中, x_0 为初始含量; x 为经过 t 时刻后黑加仑果汁中花色苷的含量。

计算出黑加仑花色苷的降解动力学常数 k 。根据不同温度下的 k 值, 以 $\ln k$ 对 $1/T$ 作线性回归, 由公式:

$$\ln k = \ln A - \left(\frac{Ea}{R} \right) \left(\frac{1}{T} \right)$$

式中 R 为气体常数, 为 8.314 kJ/(mol·K); T 为绝对温度(K)。

直线的斜率为 $-Ea/R$, 由直线的斜率即可求出活化能 Ea 。采用公式

$$t_{1/2} = -\ln(1/2k)$$

式中, k 为反应速率常数, 可求出半衰期 $t_{1/2}$ ^[9]。

1.3.6 数据处理

采用 Excel 2003 对数据进行分析, 所有实验重复测定 3 次, 所得结果为平均值±标准差($\bar{x} \pm s$, $n=3$)。

表 1 苹果酸作用下花色苷残留率的变化

Table 1 Effect of MA on changes in the residual rate of anthocyanins

辅色剂	添加量/%	时间/min			
		0	30	60	90
空白	0	100	47.20±1.35	39.16±1.87	35.22±2.54
	0.02	100	58.62±3.16	51.08±3.80	47.05±2.79
	0.04	100	66.29±2.78	56.16±1.47	49.24±2.83
MA	0.06	100	87.82±3.85	73.73±4.01	68.61±3.17
	0.08	100	97.26±3.09	83.02±2.96	73.84±3.82
	0.1	100	94.92±2.57	83.99±3.21	71.64±3.36

2.2 苹果酸对黑加仑果汁中花色苷稳定性的影响

影响

取黑加仑果汁, 加入 0.08% 苹果酸混合均匀, 分别置于不同温度和 pH 条件下贮藏 60 d, 每 6 d 测量一次吸光值 A , 利用 pH 示差法计算出花色苷的含量及残留率, 并与未添加辅色剂的果汁中花色苷残留率作对比, 结果如图 1 (a~c) 所示。

从图 1 可以看出, 可溶性固形物浓度为 10 °Brix 的黑加仑果汁中花色苷经过 60 d 贮藏试验, pH 3.0 时, 加入苹果酸可以提高黑加仑果汁中花色苷的残留率, 4 °C 时花色苷的残留率提高 25%~29%, 25 °C 和 40 °C 时加入苹果酸仅提高 1%~3%, pH 5.0 时, 加入苹果酸无法起到提高花色苷稳定性的作用, 反而加快了花色苷的降解, 使残留率下降了 12%~15%。

2 结果与讨论

2.1 苹果酸添加量的确定

苹果酸在 80 °C 条件下与花色苷反应所得到的花色苷残留率变化如表 1 所示。

由表 1 看出, 加入苹果酸作为辅色剂可以提高花色苷的残留率, 加入 0.08% 苹果酸时与未加入苹果酸比残留率提高近 50%, 因此加入辅色剂苹果酸的量确定为 0.08%。加入苹果酸能提高花色苷的残留率可能是由于苹果酸与黑加仑花色苷形成了氢键, 提高了花色苷中酰基化花青素比例, 从而对花色苷产生了稳定效应^[8]。苹果酸加入量增加到 0.1% 没有进一步提高残留率可能是因为辅色剂分子中通常含有丰富电子, 这些电子可与 2-苯基苯并吡喃阳离子相互作用, 避免水分子的亲核攻击^[12], 当 2-苯基苯并吡喃阳离子减少时, 苹果酸不能与其相互作用, 因而过高苹果酸浓度未能起到提高花色苷稳定性的作用。

从图 2 可以看出, 可溶性固形物浓度为 20 °Brix 的黑加仑果汁中花色苷经过 60 d 贮藏试验, pH 3.0, 40 °C 时加入苹果酸并未提高花色苷残留率, 4 °C 和 25 °C 时加入苹果酸降低了花色苷的稳定性, 残留率降低 29%~48%; pH 4.0, 在三个温度环境下加入苹果酸后花色苷残留率大约降低 14%; pH 5.0 时, 加入苹果酸无法起到提高花色苷稳定性的作用, 反而加快了花色苷的降解, 使残留率下降 14%~16%。

从图 3 可以看出, 可溶性固形物浓度为 30 °Brix 的黑加仑果汁中花色苷经过 60 d 贮藏试验, pH 3.0, 25 °C 时加入苹果酸可提高黑加仑果汁中花色苷的残留率, 加入苹果酸提高 5%, 4 °C 和 40 °C 时加入苹果酸降低了花色苷的稳定性, 残留率降低 17%~28%; pH 4.0, 在三个温度环境下加入苹果酸后花色苷残留率大约降低 12%; pH 5.0 时, 加入苹果酸无法起到提高花

色苷稳定性的作用, 反而加快了花色苷的降解, 使残留率下降 10%~13%。

从图 4 可以看出, 可溶性固形物浓度为 40° Brix 的黑加仑果汁中花色苷经过 60 d 贮藏试验, pH 3.0, 25 °C 时加入苹果酸可提高黑加仑果汁中花色苷的残留率, 苹果酸提高 2%, 4 °C 和 40 °C 时加入苹果酸降低了花色苷的稳定性, 残留率降低 17%~29%; pH 4.0, 在三个温度环境下加入苹果酸后花色苷残留率降低 4% 左右; pH 5.0 时, 加入苹果酸无法起到提高花色苷稳定性的作用, 反而加快了花色苷的降解, 使花色苷残留率下降 7% 左右。

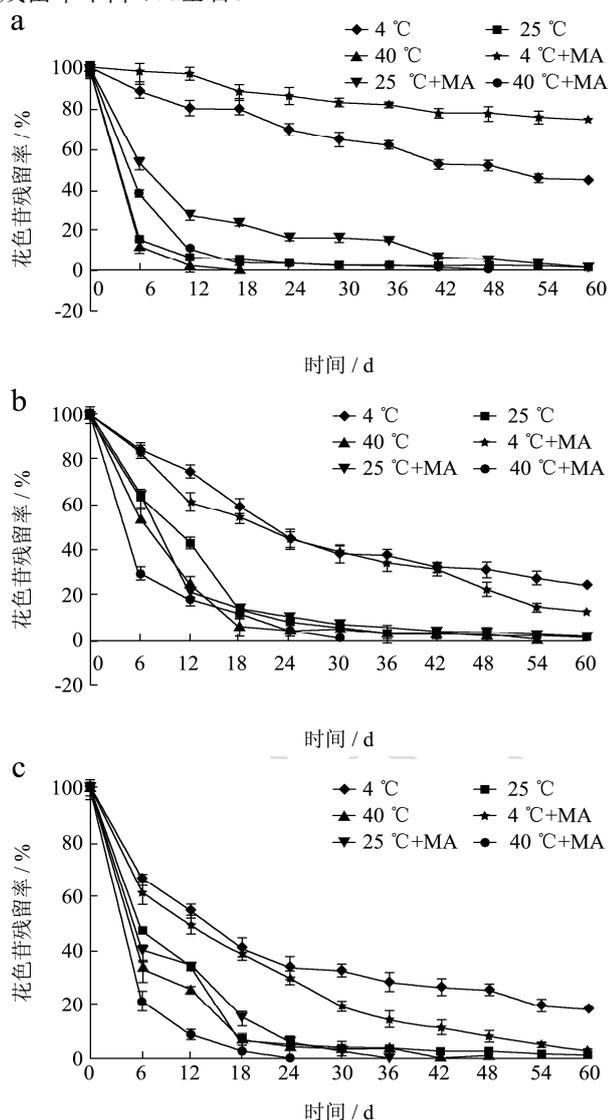


图 1 可溶性固形物浓度为 10° Brix 条件下花色苷残留率随时间的变化

Fig.1 Changes in the residual rate of anthocyanins over time with a soluble solid concentration of 10°Brix

注: a 为 pH 3.0 与 pH 3.0+MA 比较, b 为 pH 4.0 与 pH 4.0+MA 比较, c 为 pH 5.0 与 pH 5.0+MA 比较。

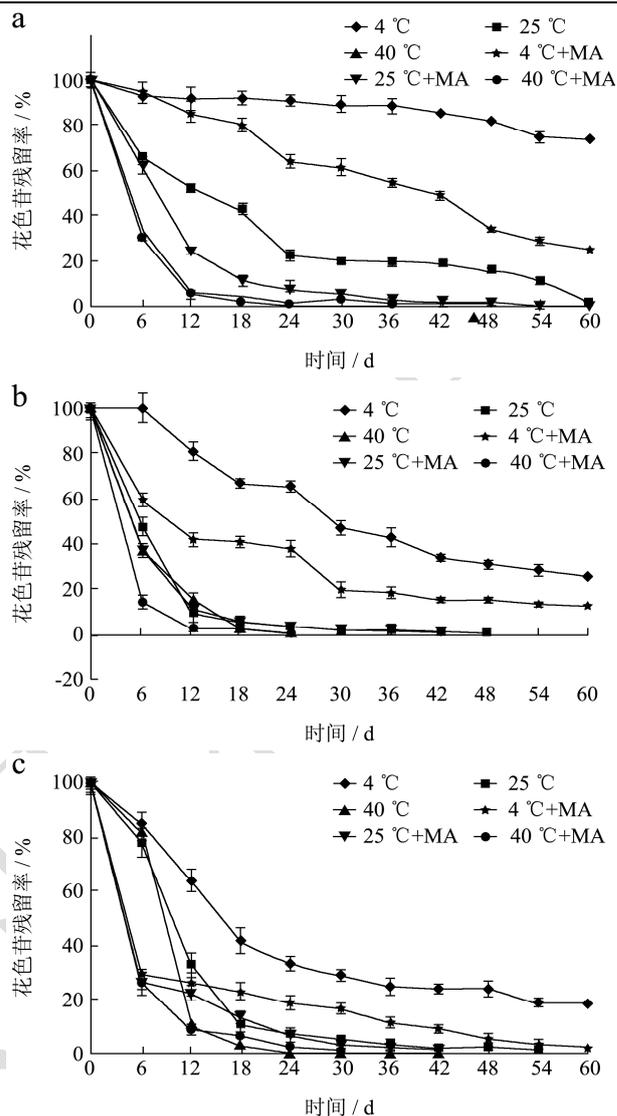
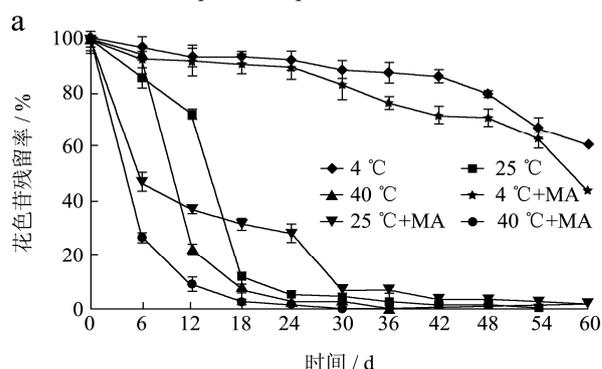


图 2 可溶性固形物浓度为 20° Brix 条件下花色苷残留率随时间的变化

Fig.2 Changes in the residual rate of anthocyanins over time with a soluble solid concentration of 20°Brix

注: a 为 pH 3.0 与 pH 3.0+MA 比较, b 为 pH 4.0 与 pH 4.0+MA 比较, c 为 pH 5.0 与 pH 5.0+MA 比较。



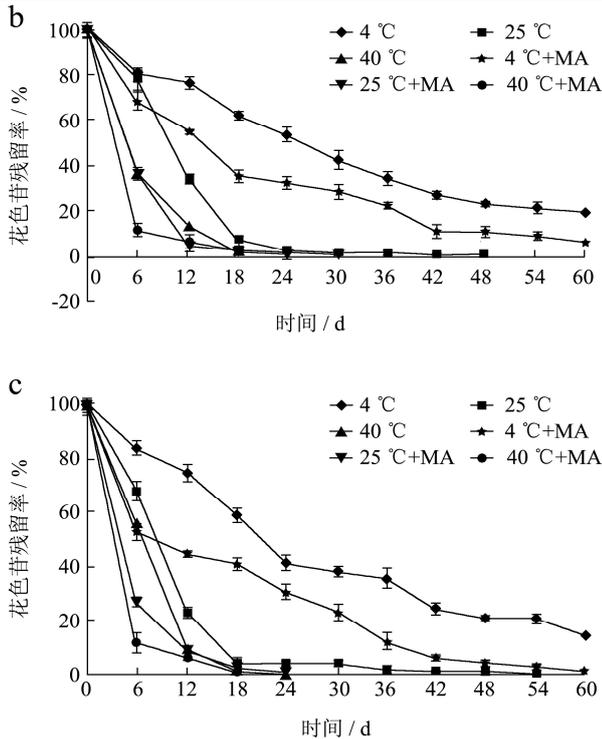


图3 可溶性固形物浓度为30° Brix条件下花色苷残留率随时间的变化

Fig.3 Changes in the residual rate of anthocyanins over time with a soluble solid concentration of 30°Brix

注: a为pH 3.0与pH 3.0+MA比较, b为pH 4.0与pH 4.0+MA比较, c为pH 5.0与pH 5.0+MA比较。

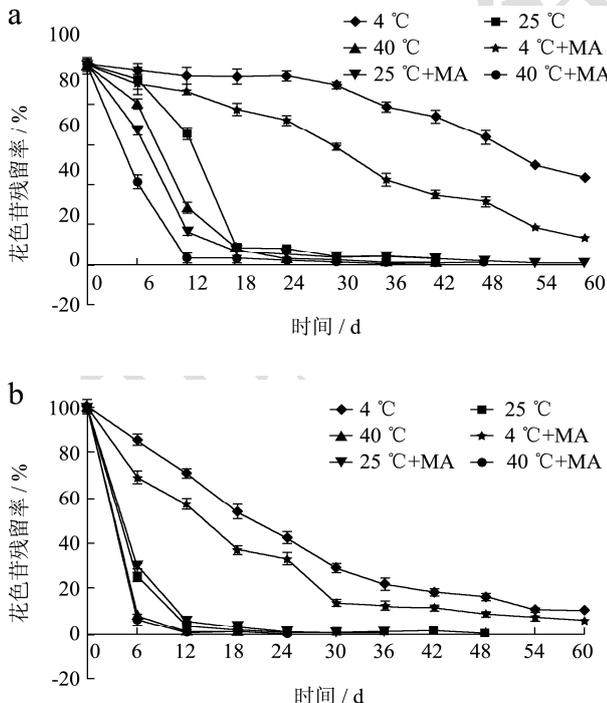


图4 可溶性固形物浓度为40° Brix条件下花色苷残留率随时间的变化

Fig.4 Changes in the residual rate of anthocyanins over time with a soluble solid concentration of 40°Brix

注: a为pH 3.0与pH 3.0+MA比较, b为pH 4.0与pH 4.0+MA比较, c为pH 5.0与pH 5.0+MA比较。

2.3 苹果酸对黑加仑果汁中花色苷降解动力学的影

根据阿伦尼乌斯 (Arrhenius) 方程两边同时取对数, 并利用花色苷一级反应速率常数的对数 $\ln k$ 与贮藏温度的倒数 $1/T$ 之间的关系, 求出花色苷热降解半衰期 $t_{1/2}$ 和活化能 E_a (kJ/mol), 如表 2 所示。

贮藏过程中花色苷含量逐渐下降, 发现果汁中花色苷的残留率 $-\ln(C_t/C_0)$ 与时间 t 之间呈现线性关系, 相关线性回归系数均大于 0.84。说明黑加仑原果汁中花色苷的降解反应符合一级反应动力学规律。由表 2 可知, 黑加仑果汁中花色苷降解速率常数 k 、半衰期 $t_{1/2}$ 及活化能 E_a 的变化受果汁中可溶性固形物浓度、pH 和温度的影响。具体表现为: 相同可溶性固形物浓度和 pH 条件下, k 值随温度的升高而增大, 而半衰期 $t_{1/2}$ 则随之减小, 4 °C 时半衰期天数较大, pH 3.0, 20° Brix 和 30° Brix 时, 半衰期值可达 154~177 d, 25 和 40 °C 时半衰期 d 数相近, 大概为 2~10 d。

相同可溶性固形物浓度条件下, 活化能 E_a 随 pH 的增大而减小, pH 为 4.0 和 5.0 时降解反应所需的活化能值相近, 通常认为化学反应的活化能 E_a 为 0~400 kJ/mol, 活化能 E_a 越小, 反应越容易进行, 当 $E_a < 42$ kJ/mol, 反应速率非常大, $E_a > 400$ kJ/mol, 反应速率非常小, 本试验测得黑加仑果汁中花色苷在 pH 4.0、pH 5.0 时降解的活化能 E_a 值均小于 42 kJ/mol, 可说明此条件下的反应速率非常大, 极易发生降解反应, pH 3.0 时活化能 E_a 值介于 42~76 kJ/mol, 反应较易进行; 相同 pH 条件下, 可溶性固形物浓度为 20° Brix、30° Brix 时的活化能 E_a 值相近, pH 3.0 时活化能 E_a

为 64~76 kJ/mol, 高于 10° Brix 和 40° Brix 时的活化能, 降解反应所需的活化能越小, 反应越易进行, 降解速率越快。综上实验结果, 黑加仑果汁适宜在

20~30° Brix, pH 3.0, 4 °C 条件下, 有利于果汁中花色苷的贮藏稳定性。

表 2 黑加仑果汁中花色苷降解动力学参数

Table 2 Degradation kinetic parameters of anthocyanins in blackcurrant juice

可溶性固形物浓度/°Brix	pH	温度/°C	决定系数 R ²	速率常数 k/d ⁻¹	半衰期 t _{1/2} /d	活化能 Ea/(kJ/mol)	
10	3	4	0.9515	0.0049	141.4490	61.1403	
		25	0.9323	0.0635	10.9150		
		40	0.8694	0.0928	7.4688		
	4	4	0.9758	0.0328	21.1311	26.6223	
		25	0.9576	0.0680	10.1926		
		40	0.9637	0.1257	5.5139		
	5	4	0.9894	0.0545	12.7174	27.5310	
		25	0.9350	0.1477	4.6926		
		40	0.9814	0.2102	3.2973		
	20	3	4	0.9581	0.0232	29.8750	39.7584
			25	0.9575	0.0763	9.0839	
			40	0.9175	0.1697	4.0843	
4		4	0.9252	0.0330	21.0030	35.9032	
		25	0.9498	0.0998	6.9449		
		40	0.9261	0.1980	3.5005		
5		4	0.9416	0.0513	13.5107	22.2707	
		25	0.9808	0.1039	6.6708		
		40	0.9804	0.1554	4.4601		
30		3	4	0.9299	0.0080	86.6375	64.0045
			25	0.9663	0.0721	9.6130	
			40	0.9862	0.1881	3.6847	
	4	4	0.9785	0.0454	15.2665	28.4563	
		25	0.8859	0.0930	7.4527		
		40	0.9109	0.1928	3.5949		
	5	4	0.9687	0.0669	10.3602	28.1271	
		25	0.9977	0.2131	3.2525		
		40	0.9660	0.2597	2.6688		
	40	3	4	0.9273	0.0327	21.1957	26.0062
			25	0.9072	0.0749	9.2537	
			40	0.9283	0.1192	5.8146	
4		4	0.9597	0.0478	14.5000	33.2469	
		25	0.9769	0.1881	3.6847		
		40	0.9346	0.2375	2.9183		
5		4	0.9713	0.0689	10.0595	29.2852	
		25	0.9602	0.2108	3.2880		
		40	0.9547	0.2869	2.4158		

加入辅色剂 0.08%苹果酸后, 贮藏过程中花色苷含量随时间的增加而降低, 呈明显下降趋势, 果汁中花色苷的残留率-ln(C_t/C₀)与时间 t 之间呈现线性关系,

相关线性回归系数均大于 0.86。说明加入苹果酸后黑加仑果汁中花色苷的降解反应符合一级反应动力学规律。根据阿伦尼乌斯 (Arrhenius) 方程两边同时取对

数, 并利用花色苷一级反应速率常数的对数 $\ln k$ 与贮藏温度的倒数 $1/T$ 之间的关系, 求出花色苷热降解半衰期 $t_{1/2}$ 和活化能 E_a (kJ/mol), 如表 3 所示。

表 3 加入苹果酸黑加仑果汁中花色苷降解动力学参数

Table 3 Degradation kinetic parameters of anthocyanins in blackcurrant juice after addition of malic acid

可溶性固形物浓度/°Brix	pH	温度/°C	决定系数 R^2	速率常数 k/d^{-1}	半衰期 $t_{1/2}/d$	活化能 $E_a/(kJ/mol)$
10	3	4	0.9515	0.0049	141.4490	61.1403
		25	0.9323	0.0635	10.9150	
		40	0.8694	0.0928	7.4688	
	4	4	0.9758	0.0328	21.1311	26.6223
		25	0.9576	0.0680	10.1926	
		40	0.9637	0.1257	5.5139	
20	5	4	0.9894	0.0545	12.7174	27.5310
		25	0.9350	0.1477	4.6926	
		40	0.9814	0.2102	3.2973	
	4	4	0.9581	0.0232	29.8750	39.7584
		25	0.9575	0.0763	9.0839	
		40	0.9175	0.1697	4.0843	
30	4	4	0.9252	0.0330	21.0030	35.9032
		25	0.9498	0.0998	6.9449	
		40	0.9261	0.1980	3.5005	
	5	4	0.9416	0.0513	13.5107	22.2707
		25	0.9808	0.1039	6.6708	
		40	0.9804	0.1554	4.4601	
40	3	4	0.9299	0.0080	86.6375	64.0045
		25	0.9663	0.0721	9.6130	
		40	0.9862	0.1881	3.6847	
	4	4	0.9785	0.0454	15.2665	28.4563
		25	0.8859	0.0930	7.4527	
		40	0.9109	0.1928	3.5949	
40	5	4	0.9687	0.0669	10.3602	28.1271
		25	0.9977	0.2131	3.2525	
		40	0.9660	0.2597	2.6688	
	3	4	0.9273	0.0327	21.1957	26.0062
		25	0.9072	0.0749	9.2537	
		40	0.9283	0.1192	5.8146	
40	4	4	0.9597	0.0478	14.5000	33.2469
		25	0.9769	0.1881	3.6847	
		40	0.9346	0.2375	2.9183	
	5	4	0.9713	0.0689	10.0595	29.2852
		25	0.9602	0.2108	3.2880	
		40	0.9547	0.2869	2.4158	

由表 3 可知, 加入 0.08%苹果酸之后, 在可溶性固形物浓度为 10 °Brix, pH 3.0, 4 °C时贮藏 60 d, 半衰期 $t_{1/2}$ 提高约 90 d, pH 3.0, 4 °C条件下, 20 °Brix 和 30 °Brix 时的半衰期下降约 90~120 d, 其他条件下

的半衰期天数略有下降, 变化并不明显。10° Brix 时, 不同温度条件下反应所需的活化能 E_a 升高 1%~3%, 反应速率减小, 稳定性略有增加。20~40 °Brix 时反应所需的活化能 E_a 均减小, 反应速率增大, 稳定性降

低。因此黑加仑果汁中的花色苷适宜在低可溶性固形物浓度(10 °Brix)条件下添加辅色剂苹果酸,可起到提高黑加仑果汁中花色苷在贮藏过程中稳定性的作用。

本试验添加苹果酸前后,黑加仑果汁中的花色苷降解都符合一级反应动力学,这与文献报道花色苷的降解反应符合一级反应动力学是一致的^[10]。从半衰期和活化能变化可以看出,添加苹果酸的花色苷溶液在10 °Brix, pH 3.0, 4 °C条件下对花色苷具有稳定性,其他条件下,添加辅色剂苹果酸与未添加辅色剂的花色苷溶液随温度升高,花色苷的热稳定性都降低。原因在于苹果酸提高了花色苷中酰基化花青素比例,又提高了花色苷的活化能^[8],通过辅色作用有效提高花色苷的稳定性。而添加苹果酸的黑加仑果汁中花色苷在可溶性固形物浓度>20 °Brix, 温度>25 °C, pH>4.0条件下辅色效果不显著,甚至降低,这可能是由于花色苷受糖浓度、温度和pH影响后,其结构优先向查耳酮转变,导致结构2-苯并吡喃盐和醌式假碱减少。辅色剂分子中通常含有丰富电子,这些电子可与2-苯基苯并吡喃阳离子相互作用,避免水分子的亲核攻击^[12],当2-苯基苯并吡喃阳离子减少时,苹果酸不能与其相互作用,因而未能起到提高花色苷稳定性的作用。辅助成色作用的关键在于pH,在低pH环境下所有的花色苷都能变为花色焯阳离子形式,而pH值越高越不利于向花色焯阳离子生成的方向转化,辅色效果越不显著。Asen等^[13]通过对众多有效辅色剂的研究发现,可以和花色苷发生辅色反应的分子结构中都有一个显著的特征,即这些物质的分子中均有一个富含电子的 π 平面结构。加入苹果酸之后,可能由于苹果酸与花色苷形成了氢键,从而对花色苷产生了稳定效应^[14],随着温度的升高,辅色反应平衡向花色苷-有机酸复合物浓度降低的方向移动,辅色强度降低^[15]。

3 结论

苹果酸作为辅色剂能提高黑加仑果汁中花色苷的稳定性。加入0.08%苹果酸,在可溶性固形物浓度为10 °Brix、pH 3.0、4 °C条件下可起到延缓果汁中花色苷的降解反应速率,提高黑加仑果汁中花色苷残留率的作用。将苹果酸应用于低可溶性固形物浓度的黑加仑果汁,在低pH和低温条件下可起到一定辅色作用,提高花色苷的稳定性。添加苹果酸前后的黑加仑果汁中花色苷在贮藏过程中的降解都符合一级反应动力学。

参考文献

- [1] Salud V, Pedro M, Nuria M, et al. Approaches to understanding the contribution of anthocyanins to the antioxidant capacity of pasteurized pomegranate juices [J]. Food Chemistry, 2013, 141 (3): 1630-1636
- [2] Pirjo H M, Hellström J, McDougall G, et al. Polyphenol and vitamin C contents in European commercial blackcurrant juice products [J]. Food Chemistry, 2011, 127 (3): 1216-1223
- [3] Hellstrom J, Mattila P, Karjalainen R. Stability of anthocyanins in berry juices stored at different temperatures [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2013, 31(1): 12-19
- [4] YAN Qiu-li, ZHANG Lin-han, ZHANG Xiao-fei, et al. Stabilization of grape skin anthocyanins by copigmentation with enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) as a copigment [J]. Food Research International, 2013, 50(2): 603-609
- [5] 王宇滨,张超,马越,等.几种有机酸对紫玉米花青素热稳定性的影响[J].食品科学,2010,31(7):164-167
WANG Yu-bin, ZHANG Chao, MA Yue, et al. Effects of organic acids on thermal stability of anthocyanins from purple corn [J]. Food Science, 2010, 31(7): 164-167
- [6] 李颖畅,吕春茂,孟宪军,等.辅色剂对蓝莓花色苷的辅色作用及其稳定性的影响[J].食品工业科技,2010,31(9):301-309
LI Ying-chang, LV Chun-mao, MENG Xian-jun, et al. Copigmentation and Stability of Copigment on Blueberry Anthocyanins [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(9): 301-309
- [7] 周剑忠,陆卿卿,刘小莉,等.辅色处理对蓝莓汁色泽稳定性及抗氧化活性的影响[J].江西农业学报,2014,26(10):97-99
ZHOU Jian-zhong, LU Qing-qing, LIU Xiao-li, et al. Influences of copigment treatment on color stability and antioxidant activity of blueberry juice [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2014, 26(10): 97-99
- [8] 张丽霞,周剑忠,顾振新,等.不同有机酸对黑莓花色苷辅色效果的影响[J].食品发酵与工业,2013,39(6):105-110
ZHANG Li-xia, ZHOU Jian-zhong, GU Zhen-xin, et al. Different organic acids on copigmentation effects of blackberry anthocyanins [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(6): 105-110
- [9] LI Na, Taylor L S, Ferruzzi M G, et al. Color and chemical stability of tea polyphenol-epigallocatechin-3-gallate in solution and solid states [J]. Food Research International, 2013, 53 (2): 909-921
- [10] Mirsaeedghazi H, Emam-Djomeh Z, Ahmadvaniha R. Effect of frozen storage on the anthocyanins and phenolic

- components of pomegranate juice [J]. J. Food Sci. Technol., 2014, 51(2): 382-386
- [11] Buchweitz M, Speth M, Kammerer D R Carle. Impact of pectin type on the storage stability of black currant (*Ribes nigrum L.*) anthocyanins in pectic model solutions [J]. Food Chemistry, 2013, 139 (1): 1168-1178
- [12] Ducamp-Collin M N, Ramarson H, Lebrun M, et al. Effect of citric acid and chitosan on maintaining red colouration of litchi fruit pericarp [J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 49(2): 241-246
- [13] Asen S, Stewart R N, Norris K H. Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color [J]. Phytochemistry, 1972, 11(3): 1139-1144
- [14] Baranac J M, Petranovi, N A Dimitri, et al. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions malvin and the nonglycosidized flavone quercetin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(5): 1694-1697
- [15] Monagas M, Gómez-Cordovés C, Bartolomé B. Monomeric oligomeric and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera L.* Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(22): 6475-6481