

贮藏过程中溶解氧对荔枝汁非酶褐变的影响

吴敏^{1,2,3}, 胡卓炎¹

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (2. 广西大学轻工与食品工程学院, 广西南宁 530004)

(3. 广西清洁化制浆造纸与污染控制重点实验室 广西南宁 530004)

摘要: 本文研究了荔枝汁在不同初始溶解氧浓度及有顶空氧存在的贮藏条件下的非酶褐变情况, 采用 PLSR 进行分析揭示不同溶解氧浓度对荔枝汁非酶褐变的影响规律。结果表明: 在 0~3 d 的贮藏期内, 随着 DOC 的快速下降, 低溶解氧和中溶解氧荔枝汁的 L-AA 进行有氧降解; 在 3 d~17 w 的贮藏期内, DOC 下降缓慢, 趋于稳定, L-AA 进行有氧降解和无氧降解, 并以无氧降解为主。随着贮藏前期 DOC 和顶空氧浓度的快速下降, 高溶解氧荔枝汁的 L-AA 持续进行有氧降解并在第 4 w 时基本全部降解完毕。三种溶解氧浓度的荔枝汁中的蔗糖均不断降解, 但果糖和葡萄糖含量呈现先快速增加后减少的趋势。5-HMF 和褐变指数不断地增加, 溶解氧浓度越高, 增加的越快。表儿茶素不断的降解, 而芦丁含量比较稳定。在不同溶解氧浓度下, 荔枝汁的非酶褐变是以 L-AA 降解及酚类物质氧化聚合为主, 美拉德反应为辅。

关键词: 荔枝汁; 贮藏; 溶解氧; 非酶褐变; 偏最小二乘法回归

文章编号: 1673-9078(2017)12-145-154

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.12.023

Effects of Dissolved Oxygen on Non-Enzymatic Browning of Litchi Juice during the Storage

WU Min^{1,2,3}, HU Zhuo-yan¹

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China) (2. Light Industry and Food Engineering College, Guangxi University, Nanning 530004, China) (3. Guangxi Key Laboratory of Clean Pulp & Papermaking and Pollution Control, Nanning 530004, China)

Abstract: The non-enzymatic browning of litchi juice during storage was investigated under the storage conditions of different initial dissolved oxygen concentrations (DOC) and headspace oxygen. The effects of DOC on non-enzymatic browning of litchi juice was analyzed by PLSR. Results showed that the changes of L-AA of litchi juice were dominated by aerobic degradation in low and medium DOC with the rapid decrease of DOC during the storage of 0~3d. The DOC decreased slowly and tended to be stable during the storage of 3 d~17 w, and the changes of L-AA were both dominated by aerobic degradation and anaerobic degradation, and mainly by anaerobic degradation. The L-AA of litchi juice in high DOC continued aerobic degradation and almost completely degraded in 4 w with the rapid decrease of DOC and headspace oxygen concentration during the pre-storage. The sucrose of litchi juice degraded constantly under the condition of three DOC whereas the content of fructose and glucose exhibited a trend of rapid increase and then decrease. The 5-HMF and BI increased constantly with the increase of DOC. Epicatechin degraded continuously whereas the content of rutin was relatively stable. The non-enzymatic browning of litchi juice was dominated by L-AA degradation and oxidative polymerization of phenolics with Maillard reaction supplemented in different DOC.

Key words: litchi juice; storage; dissolved oxygen; non-enzymatic browning; partial least squares regression (PLSR)

荔枝汁营养丰富, 含有葡萄糖、果糖和蔗糖; 柠檬酸、酒石酸和苹果酸等有机酸; 含有丰富的维生素,

收稿日期: 2017-07-26

基金项目: 国家荔枝龙眼产业技术体系项目 (CARS-33); 广西高等学校科学研究项目 (KY2015YB007); 广西清洁化制浆造纸与污染控制重点实验室主任基金项目 (ZR201708); 广东省扬帆计划创新团队项目 (2014YT02H013)

作者简介: 吴敏 (1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品与包装相容性研究及功能性包装材料开发

通讯作者: 胡卓炎 (1961-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工与贮藏

抗坏血酸含量高达 35.4 mg/100 g; 氨基酸种类齐全, 富含 γ -氨基丁酸; 含有表儿茶素、芦丁和绿原酸等多酚类物质; 有新鲜的荔枝果香, 适合直接饮用, 深受消费者喜爱^[1-2]。但这些复杂的成分在贮藏过程中易受到温度、光照、金属离子和包装等的影响而发生非酶褐变, 给贮藏带来诸多问题。

非酶褐变的发生, 伴随着果汁颜色的褐变、还原糖和抗坏血酸等营养成分的损失、5-羟甲基糠醛和不良气味的生成, 严重影响着果汁品质^[3], 其反应机制

主要包括美拉德反应、抗坏血酸降解反应、焦糖化反应和多元酚氧化缩合反应^[4-5]。在果汁包装中大量存在着位于包装容器顶空位置的顶空氧、溶解在果汁中的溶解氧、透过包装材料进入到包装容器内部的透过氧和在果汁中以气泡形式存在的气泡氧^[6]。贮藏过程中,溶解氧能引起果汁中的抗坏血酸氧化降解、好氧菌的大量繁殖、香气成分的酸败和颜色的褐变^[7]。目前,溶解氧对果汁品质的影响已经有报道^[8,9],但这些报道主要是以橙汁为研究对象。荔枝汁的营养成分及色泽与橙汁有较大的差别,易受到氧气的影响,研究溶解氧对其品质的影响是十分必要的,且至今鲜有文献报道贮藏过程中溶解氧对荔枝汁品质的影响。

本文用玻璃瓶灌装荔枝汁,采用氮气曝气和灌装时玻璃瓶内预留顶空氧的方法来控制荔枝汁中溶解氧浓度,以荔枝汁的褐变指数、L-抗坏血酸、葡萄糖、果糖、蔗糖、氨基酸、表儿茶素及芦丁等为指标,采用偏最小二乘法进行回归分析,并绘制双标图,以系统和全面地揭示溶解氧对荔枝汁非酶褐变的影响规律,为荔枝汁加工工艺选择及过程控制、包装工艺选择以及荔枝汁品质的改善提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验用荔枝汁购于合浦果香园食品有限公司,荔枝品种为怀枝,荔枝汁用无菌袋灌装后冻藏,并在冻藏状态下运回实验室待用。

蔗糖、葡萄糖、果糖、L-抗坏血酸、5-羟甲基糠醛、(-)-表儿茶素、芦丁(标准品),Sigma-Aldrich 中国;甲醇、乙腈(色谱纯),阿拉丁试剂(上海)有限公司;Bound Elut C18(500 mg, 6 mL)固相萃取柱、Bound Elut ENV(500 mg, 6 mL)固相萃取柱,美国 Agilent 公司。其它试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

三重四极杆液质联用仪 TSQ Quantum Access MAX, 美国 Thermo Fisher 公司;高效液相色谱仪 1260, 美国 Agilent 公司;手入式气袋 690323, 美国 Spilfyter 公司;溶解氧传感器 InPro 6850i(配多参数测试仪 M400 和无纸化记录仪 VX2101R/U), 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;紫外可见分光光度计 8453, 美国 Agilent 公司;氨基酸自动分析仪 L-8900, 日本日立公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备及贮藏

1.3.1.1 样品制备

将荔枝汁解冻,为了防止贮藏过程中因微生物生长繁殖引起荔枝汁腐败变质对实验结果产生干扰,向荔枝汁里面加入浓度为 0.02% (m/m) 的叠氮化钠,将荔枝汁分为三份,第一份荔枝汁放入充满高纯氮气的手入式气袋中曝气 40 min, 氮气流速为 1.5 L/min, 测定溶解氧浓度(257 $\mu\text{g/L}$)后,灌装到已杀菌的容积为 200 mL 的透明玻璃瓶中,无顶空气体存在,制成低溶解氧荔枝汁;第二份荔枝汁测定溶解氧浓度(2034 $\mu\text{g/L}$)后,在无菌操作台上将其缓慢地灌装到已杀菌的容积为 200 mL 的透明玻璃瓶中,灌装时先将氮气管插入到玻璃瓶底部用氮气进行吹瓶,以减少空气在玻璃瓶内的残留,并且无顶空气体存在,制成中溶解氧荔枝汁;第三份荔枝汁测定溶解氧浓度(2034 $\mu\text{g/L}$)后,在无菌操作台上将其(200 mL)缓慢地灌装到已杀菌的容积为 250 mL 的透明玻璃瓶中,玻璃瓶内留有 50 mL 的顶空体积,制成具有顶空氧气存在的高溶解氧荔枝汁。三种溶解氧浓度的荔枝汁均用马口铁材质的螺旋盖(带有内衬垫)进行封口。

1.3.1.2 样品贮藏

将低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁样品放入到(25 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中,避光贮藏。在贮藏第 5 h、10 h、1、2、3 和 5 d 时测定荔枝汁的溶解氧、顶空氧、L-抗坏血酸和褐变指数。在贮藏第 0、1、2、4、6、8、10、13 和 17 w 时测定荔枝汁的溶解氧、顶空氧、L-抗坏血酸、褐变指数、葡萄糖、果糖、蔗糖、5-羟甲基糠醛、pH、可溶性固形物、氨基酸总量、表儿茶素和芦丁,每次每个样品测试三个平行样。

1.3.2 溶解氧浓度(Dissolved Oxygen Concentration, DOC)和顶空氧浓度测定

采用溶解氧传感器进行溶解氧浓度和顶空氧浓度的测定。为了避免测试环境中的氧气影响测定结果的准确性,在手入式气袋中的氮气环境下进行溶解氧和顶空氧浓度测定,测定时先把溶解氧传感器伸入到包装容器顶空部位,测完顶空氧浓度后,再将传感器伸入到荔枝汁中去测定溶解氧浓度,测定过程用磁力搅拌器搅拌荔枝汁。溶解氧传感器连接的无纸化记录仪的信号采集时间设定为 2 秒采集一个数据。

1.3.3 L-抗坏血酸(L-Ascorbic Acid, L-AA)测定

样品处理: 取荔枝汁 5 mL, 4 °C 下 12000 r/min 离心 5 min, 取上层清液 2 mL 过 0.45 μm 滤膜, 转入标记好的样品瓶中, 进行测定。采用 HPLC 进行测定^[10], 色谱柱, Agilent Zorbax StableBond-AQ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相, 0.1% (m/m) 草酸溶液; 流速, 0.8 mL/min; 紫外检测器, 检测波长 254 nm; 进样量, 5 μL; 柱温箱温度, 25 °C。

1.3.4 糖含量测定

样品处理: 参照 GB/T 22221-2008 的方法, 取 10000 r/min 离心 5 min 的荔枝汁上层清液 25 g, 分别加 2.19 g 乙酸锌和 1.06 g 亚铁氰化钾, 用蒸馏水定容至 500 mL, 用磁力搅拌器搅拌 20 min, 用玻璃滤器(G3 型) 过滤, 取 10 mL 滤液过 0.45 μm 滤膜后放入样品瓶中。采用 HPLC 测定果糖、葡萄糖和蔗糖含量^[11], 色谱柱, Agilent Zorbax Carbohydrate (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温, 30 °C; 流动相, 乙腈:超纯水 (V/V) =75:25 的混合液; 流速, 1 mL/min; 进样量, 10 μL; 示光折差检测器, 检测器温度 35 °C。

1.3.5 氨基酸测定

依照 GB/T 5009.124-2003“食品中氨基酸的测定”中的方法, 使用氨基酸自动分析仪进行测定。色谱柱, P/N 855-3506; 柱温 57 °C; 反应室温度, 135 °C; 流速, 0.1 mL/min; 进样量, 20 μL。

1.3.6 褐变指数 (Browning Index, BI) 测定

参照 Zerdin 等^[12]的方法测定, 取 12000 r/min 离心 5 min 的荔枝汁上层清液 10 mL, 按 1:1 (V/V) 加入 95% 的乙醇溶液, 混合震荡 10 min 后再 12000 r/min 离心 5 min, 去除样品中的纤维和颗粒成分。取 10 mL 上层清液, 用紫外可见分光光度计测定其在 420 nm 处的吸光度 A, 以 A₄₂₀ 来表示荔枝汁的褐变指数。以蒸馏水与 95% 的乙醇 1:1 (V/V) 的混合液做空白对照。

1.3.7 5-羟甲基糠醛 (5-Hydroxymethyl Furfural, 5-HMF) 测定

采用固相萃取-高效液相色谱法 (SPE-HPLC) 进行测定^[13], 取在 4 °C 下 12000 r/min 离心 5 min 的荔枝汁上层清液 25 mL 待用。Bound Elut ENV 固相萃取小柱依次用 5 mL 色谱级甲醇和 10 mL 超纯水进行活化, 然后将 25 mL 荔枝汁上层清液缓慢地倒入固相萃取小柱中, 待荔枝汁流完后, 用 5 mL 超纯水淋洗小柱, 弃去全部淋洗液, 最后用 15 mL 甲醇与超纯水 2:8 (V/V) 的混合液分三次进行洗脱, 收集全部洗脱液, 取 2 mL 过 0.45 μm 微孔滤膜, 放入样品瓶中待测。固相萃取全过程控制流速为 2~3 mL/min。色谱柱, Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温, 30 °C; 紫外检测波长, 285 nm; 流动相,

10% 甲醇和 90% 水(含 1% 乙酸)的混合液; 流速, 1 mL/min, 进样量, 10 μL。

1.3.8 表儿茶素和芦丁测定

采用固相萃取-高效液相色谱-质谱法进行测定^[14]。取 4 °C 下, 5000 r/min, 离心 5 min 的荔枝汁上层清液 10 mL, 用浓度为 0.01 mol 的 HCl 调节荔枝汁 pH 为 3.0。用 Bound Elut C18 固相萃取小柱进行萃取, 小柱活化和样品富集的流速均为 1 mL/min。先用 10 mL 色谱级甲醇活化小柱, 待甲醇快流完时再用 10 mL 超纯水冲洗去小柱上残留的甲醇。将调节 pH 后的荔枝汁上层清液以 1 mL/min 的流速通过小柱, 然后先用 5 mL 浓度为 0.01 mol 的 HCl 淋洗小柱, 再用 5 mL 蒸馏水淋洗小柱, 以洗去保留在小柱上的糖、有机酸及其它水溶性成分, 弃去淋洗液。最后用 7 mL 甲醇洗脱小柱, 收集洗脱液, 在 35 °C 下氮吹洗脱液, 剩余体积用甲醇定容至 2 mL, 过 0.45 μm 有机滤膜, 进样测定样品中表儿茶素和芦丁的含量。

色谱柱, Thermo Hypersil GOLD C-18 (150 mm×4.6 mm, 3 μm); 流动相, 乙腈和 0.1% (V/V) 的甲酸溶液; 流速, 0.6 mL/min; 梯度洗脱; 进样量, 3 μL。质谱条件, ESI 电离源、负离子模式、SRM 选择反应监测; 芦丁, 母离子 609.2, 定性离子 271、300, 定量离子 300; 表儿茶素, 母离子 289.1, 定性离子 179、205, 定量离子 205。

1.3.9 可溶性固形物 (Total Soluble Solid, TSS) 和 pH 测定

用数字阿贝折射仪测定荔枝汁的可溶性固形物含量。用 pH 计在 (25±2) °C 环境中测定 pH, 使用前用 pH 为 4.0 和 7.0 的缓冲液对 pH 计进行两点校正。

1.3.10 偏最小二乘法回归 (Partial Least Squares Regression, PLSR) 分析

PLSR 是一种先进的多元分析方法, 可以解决多元回归分析中的变量多重相关性或变量多于样本点等实际问题, 进行 PLSR 分析有助于深入分析各贮藏条件下荔枝汁褐变的规律。PLSR 分析时, pH、DOC、TSS、蔗糖、果糖、葡萄糖、L-AA、5-HMF、氨基酸、表儿茶素、芦丁和顶空氧浓度为自变量 X, 褐变指数 (BI) 为因变量 Y, 进行单因变量的 PLSR 分析, 计算变量标识系数, 绘制双标图 (Biplot) 以直观地观察自变量 X 与因变量 Y 的相互关系。变量标识 (Variable identification, VID) 系数是原始变量 X 与回归得到的模型预测的 Y 变量间的相关系数^[15], 取值范围在 -1~+1 之间, VID 系数绝对值越高, 则该指标对荔枝汁褐变的影响就越严重。

1.3.11 数据处理与统计分析

数据用平均值±SD表示。用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析 (ANOVA), $p < 0.05$ 。用 Origin 8.6 作图。用 SIMCA 14.0 进行 PLSR 分析。

2 结果与讨论

2.1 溶解氧和顶空氧浓度的变化

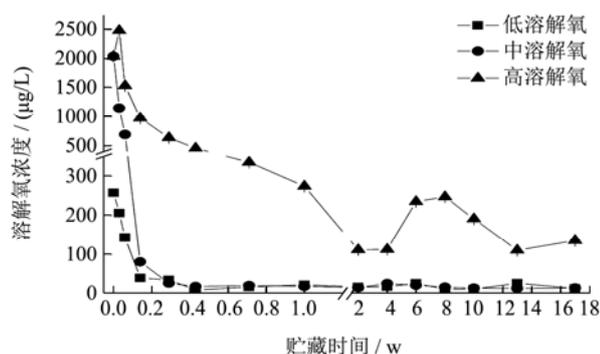


图 1 贮藏过程中荔枝汁溶解氧浓度的变化

Fig.1 Dissolved oxygen concentration of litchi juice during the storage

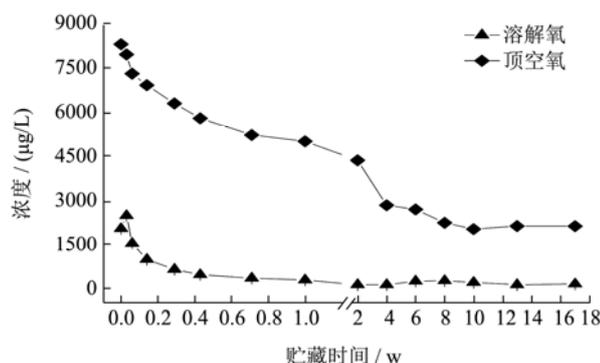


图 2 贮藏过程中高溶解氧荔枝汁中的溶解氧和顶空氧浓度的变化

Fig.2 Dissolved oxygen and headspace oxygen concentration of litchi juice in high DOC during the storage

氧气的存在能够促进好氧菌的生长繁殖, 引起食品颜色褐变、风味劣变和营养成分的损失。贮藏过程中, 荔枝汁中的 DOC 变化情况如图 1 所示, 随着贮藏时间的延长, DOC 均呈下降趋势, 低溶解氧和中溶解氧荔枝汁中的 DOC 在贮藏 0~3 d 时快速下降, 分别下降了 90%和 98%; 在贮藏 3 d~17 w 时, DOC 下降十分缓慢, 趋于稳定。高溶解氧荔枝汁中的 DOC 在贮藏 0~1 w 时快速下降, 下降了 86%; 在贮藏 1~17 w 时, DOC 变化不大, 趋于稳定, 但其值远高于低溶解氧和中溶解氧的。这与 Robertson 等^[16]报道的柠檬汁中的溶解氧在贮藏 7 d 后迅速消失并达到一个较低的值, 后续贮藏期内, DOC 保持相对稳定的结果相似。DOC 的急剧减少可能是由于荔枝汁中的还原性物质

发生了降解反应, 消耗了大量溶解氧, 如 L-AA 的氧化降解、酚类物质氧化聚合等。

贮藏过程中高溶解氧荔枝汁中的 DOC 和顶空氧浓度的变化情况如图 2 所示, 顶空氧浓度在贮藏初期快速下降, 之后下降缓慢, 这是由于贮藏初期荔枝汁中的溶解氧和顶空氧存在着较大的浓度差, 顶空氧浓度伴随着顶空氧气不断地溶解到荔枝汁中, 而持续下降; 贮藏中后期, 随着浓度差的缩小, 顶空氧气的溶解量也逐渐减少, 顶空氧浓度趋于稳定。虽然持续有顶空氧溶解在荔枝汁中, 但由于有更多的还原性物质, 如 L-AA 和酚类物质等的消耗, 使得贮藏前期高溶解氧荔枝汁中的 DOC 仍然呈下降趋势, 在贮藏后期, 当氧的溶解与消耗之间逐渐达到平衡状态, 则 DOC 下降缓慢, 并趋于稳定, 并且只要顶空氧气持续地溶解在果汁中, 使溶解氧持续得到补充, 这个平衡就可以保持^[17]。Wibowo 等^[18]研究 PET 瓶装橙汁在贮藏过程的品质变化时, 同样发现顶空氧溶解到橙汁中形成溶解氧, 溶解氧的消耗与补充之间达到平衡后, 果汁中溶解氧浓度趋于稳定。

2.2 溶解氧对荔枝汁 L-抗坏血酸含量的影响

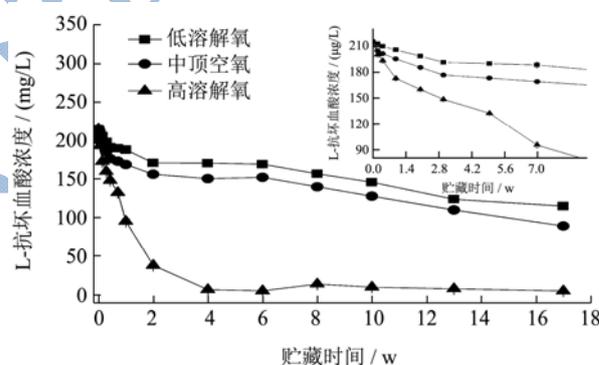


图 3. 贮藏过程中荔枝汁 L-抗坏血酸含量的变化

Fig.3 L-ascorbic acid concentration of litchi juice during the storage

L-AA 的含量与果汁中顶空氧、溶解氧和贮藏温度有关, 其降解途径有有氧降解和无氧降解两种形式^[19]。贮藏过程中, 荔枝汁的 L-AA 含量变化情况如图 3 所示, 随着贮藏时间的延长, 荔枝汁的 L-AA 含量均呈下降趋势。17 周贮藏结束时, 低溶解氧和中溶解氧荔枝汁的 L-AA 含量分别下降了 46.6%和 58.5%; 而高溶解氧荔枝汁的 L-AA 含量在贮藏至第 4 周时下降了 97.6%, 已基本全部降解。低溶解氧和中溶解氧荔枝汁的 L-AA 在 0~3 d 的贮藏期内快速降解, 分别下降了 11.2%和 18.0%, 分别是整个贮藏期内总降解量的 24.0%和 30.8%, 这可能是由于荔枝汁中的初始 DOC 较高, L-AA 发生了快速的有氧降解反应, 生成

脱氢抗坏血酸(DHA)。结合 2.1 中的低溶解氧和中溶解氧荔枝汁中的 DOC 在 0~3 d (0~0.4 w) 贮藏期内迅速降低的情况, 进一步说明 L-AA 发生了有氧降解导致其含量快速下降。Zerdin 等^[12]同样发现 25 °C 避光贮藏, 橙汁的 L-AA 在 0~3 d 的贮藏期快速降解, 是由橙汁中的初始溶解氧和顶空氧共同引起的。贮藏 3 d 后, 低溶解氧和中溶解氧荔枝汁的 L-AA 降解速度趋缓, 结合 2.1 中的贮藏 3 d 后两者中的 DOC 非常低的情况, 说明荔枝汁的 L-AA 进行着缓慢有氧降解的同时也进行无氧降解, 且以无氧降解为主。Lee 等^[20]在研究包装后橙汁的 L-AA 含量变化时, 同样发现先是 L-AA 的有氧降解占主导地位且反应很快, 随后无氧降解占主导地位且反应十分缓慢。高溶解氧荔枝汁的 L-AA 含量在贮藏 0~2 w 时快速下降了 82.3%, L-AA 的快速下降可能是由荔枝汁中的初始溶解氧和存在于玻璃瓶顶空体积内的氧气(顶空氧)共同引起的, 且以顶空氧为主, 顶空氧不断地溶解在荔枝汁中, 持续有氧气的供给导致了 L-AA 快速地降解。这与 Van Bree 等^[21]研究发现的橙汁中的 L-AA 有氧降解速率与顶空氧浓度有关的结果相似。结合 2.1 中的贮藏至第 4 w 时高溶解氧荔枝汁中的 DOC 还较的结果, 说明高溶解氧荔枝汁的 L-AA 在 0~4 w 的贮藏期内持续进行快速的有氧降解, 从而使得荔枝汁中的 L-AA 含量在第 4 w 时下降了 97.6%, 基本被消耗完毕。初始 DOC 的差异对 L-AA 的含量无显著影响 ($p>0.05$), 而顶空氧的存在对 L-AA 影响显著 ($p<0.05$)。

2.3 溶解氧对荔枝汁糖含量的影响

贮藏过程中, 荔枝汁的蔗糖、果糖和葡萄糖含量变化情况如图 4 所示。由图 4a 可知, 随着贮藏时间的延长, 蔗糖含量不断减少, 蔗糖含量的下降是由于在酸性条件下其水解成果糖和葡萄糖所致。由图 4b 和 c 可知, 果糖含量变化呈先增加, 后减少, 又缓慢增加的趋势; 葡萄糖含量变化呈先增加, 然后一直缓慢减少的趋势。17 周贮藏结束时, 低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的果糖和葡萄糖含量均比贮藏初始时略有增加。与徐程等^[11]研究槐枝、双肩玉荷包和禾荔三个品种的荔枝汁在室温贮藏过程中, 发现果糖和葡萄糖含量先增加, 后缓慢减少的结果相似。果糖含量在贮藏 0~4 w 葡萄糖含量在贮藏 0~6 w 时快速增加, 可能是由于蔗糖不断水解成果糖和葡萄糖, 并且贮藏初期美拉德反应消耗的还原糖小于蔗糖水解生成的还原糖, 使得荔枝汁中果糖和葡萄糖的含量快速增加; 随着美拉德反应加剧, 消耗的果糖和葡萄糖含量有所增加, 导致果糖含量从第 4 w 葡萄糖含量从第 6 w 开

始缓慢下降; 贮藏 13 w 后, 低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的果糖含量又开始增加, 可能是由于实验用的荔枝汁中含有一定量果肉悬浮物, 随着贮藏时间的延长, 果肉悬浮物中的可溶性糖溶解出来, 增加了果糖和葡萄糖的含量, 并且增加量大于后期美拉德反应的消耗量, 因此, 出现了果糖浓度的小幅增加。但是, 由于葡萄糖比果糖更容易参与美拉德反应, 葡萄糖的含量在贮藏第 6 w 后则一直处于缓慢下降的趋势。

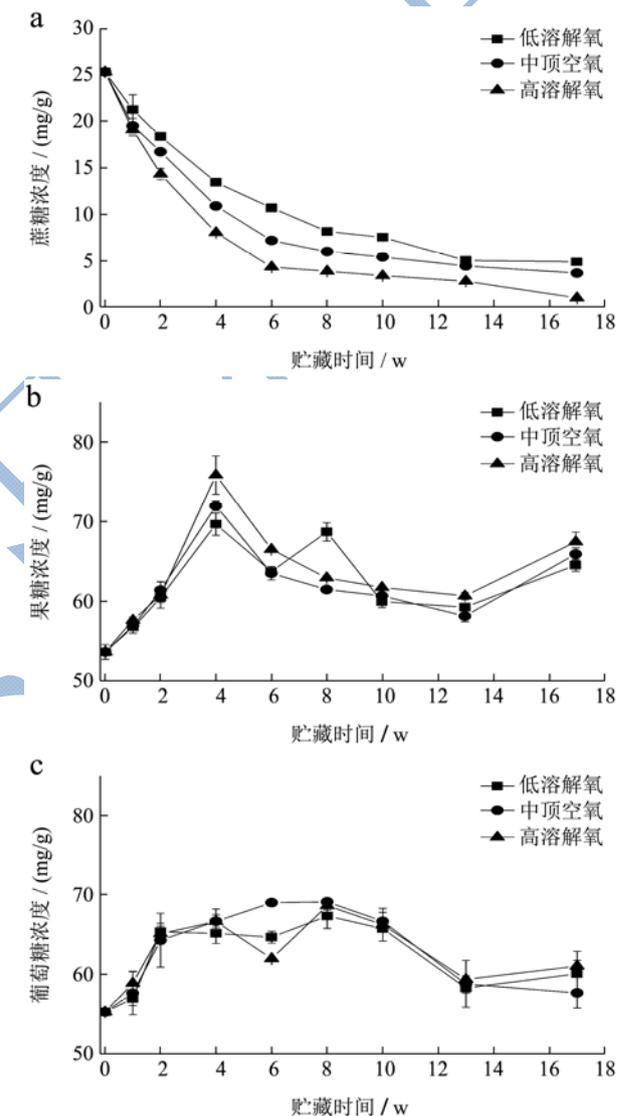


图 4 贮藏过程中荔枝汁蔗糖 (a), 果糖 (b) 和葡萄糖 (c) 含量的变化

Fig.4 Sucrose (a), fructose (b) and glucose (c) concentration of litchi juice during the storage

2.4 溶解氧对荔枝汁 5-HMF 含量的影响

5-HMF 是美拉德反应、焦糖化反应及抗坏血酸氧化分解反应共同的中间产物, 当 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,

被认为是非酶褐变标志物^[22]。贮藏过程中,荔枝汁的5-HMF含量变化情况如图5所示,随着贮藏时间的延长,5-HMF的含量均呈上升趋势,低溶解氧和中溶解氧荔枝汁的5-HMF含量在贮藏期内上升缓慢,贮藏结束时,其浓度为分别是1.58 μg/g和1.71 μg/g;高溶解氧荔枝汁的5-HMF含量上升速度较快,贮藏结束时,其浓度为2.31 μg/g。荔枝汁的L-AA降解及发生的美拉德反应引起了5-HMF含量的不断增加。进行相关性分析发现,低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的5-HMF与L-AA的相关系数*r*分别是-0.90、-0.93和-0.89,都有很强的负相关性,即随着L-AA含量的逐渐减少,5-HMF含量不断地增加。初始DOC的差异对5-HMF含量没有显著影响($p>0.05$),而顶空氧的存在对5-HMF含量影响显著($p<0.05$)。

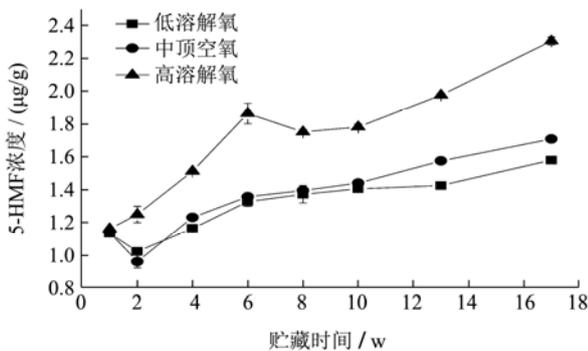


图5 贮藏过程中荔枝汁5-HMF含量的变化

Fig.5 5-HMF concentration of litchi juice during the storage

2.5 溶解氧对荔枝汁褐变指数的影响

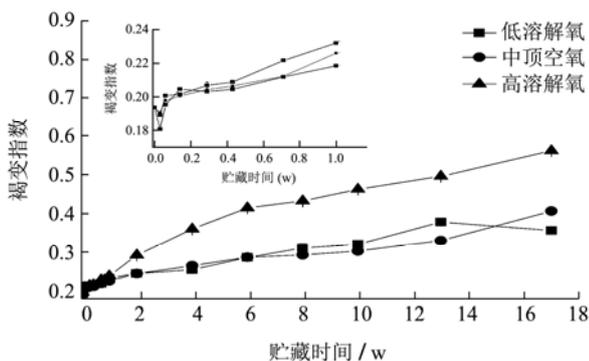


图6 贮藏过程中荔枝汁褐变指数的变化

Fig.6 Browning index of litchi juice during the storage

果汁的味道、香气和颜色等感官品质是其整体品质中重要的一部分,消费者往往通过辨别果汁的感官品质来决定是否购买该产品^[23]。贮藏过程中荔枝汁颜色劣变情况可以用BI来表示,其变化情况如图6所示。随着贮藏时间的延长,BI呈上升趋势,贮藏结束时,低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的褐变指数分别增加了84.2%、110.5%和194.7%,荔枝汁的DOC

越高其褐变越严重。可能是美拉德反应后期生成的类黑色素、L-AA降解生成物及多酚氧化聚合物导致了荔枝汁BI的增加。经相关性分析发现,低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的BI与L-AA的相关系数*r*分别是-0.96、-0.96和-0.79;与表儿茶素的相关系数*r*分别是-0.98、-0.88和-0.98,均都有较强的负相关性,进一步说明L-AA的降解和酚类物质的氧化聚合引起了BI的增加。BI与5-HMF含量也显著正相关,相关系数*r*分别是0.87、0.89和0.96,5-HMF的积累加速了荔枝汁的褐变。初始DOC的差异及顶空氧的存在对荔枝汁的BI没有显著影响($p>0.05$)。

2.6 溶解氧对荔枝汁表儿茶素和芦丁含量的影响

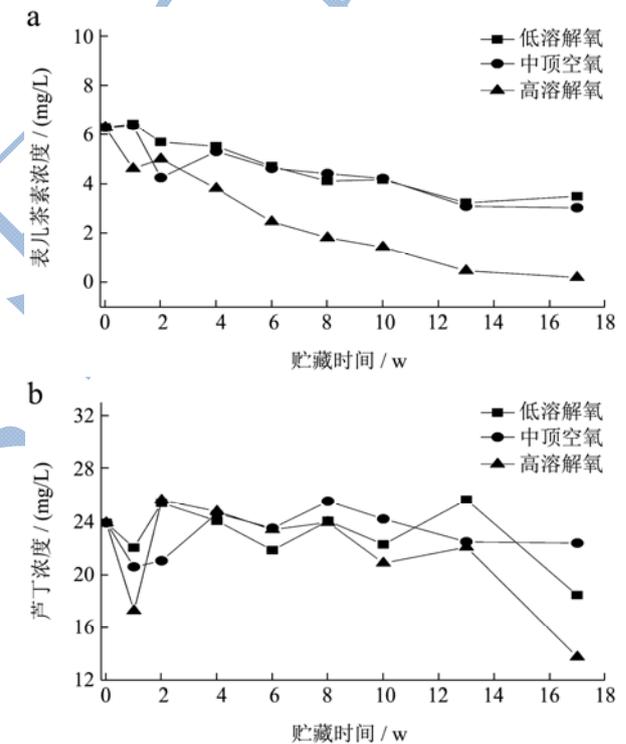


图7 贮藏过程中荔枝汁表儿茶素(a)和芦丁(b)含量的变化

Fig.7 (-) Epicatechin (a) and rutin (b) concentration of litchi juice during the storage

酚类物质是一类存在于蔬菜、水果、谷物和豆类等植物体内的多羟基化合物的总称,对植物的品质、色泽和风味等有一定的影响,并能够清除人体内的自由基,具有抗氧化和抗癌等功能。荔枝果肉中含有大量的单体酚类物质,包括没食子酸、绿原酸、儿茶素、咖啡酸、表儿茶素和芦丁等,其中表儿茶素和芦丁是主要的单体酚类物质^[24]。贮藏过程中,荔枝汁的表儿茶素和芦丁含量变化情况如图7所示。由图7a可知,随着贮藏时间的延长,表儿茶素含量不断下降,贮藏

结束时,低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的表儿茶素含量分别下降了44.5%、51.9%和97.2%。其中,高溶解氧荔枝汁的表儿茶素下降量最大,表儿茶素含量的不断下降可能是其发生了氧化聚合所致。由2.1可知,高溶解氧荔枝汁中的溶解氧浓度比同期的低溶解氧和中溶解氧荔枝汁的要高很多,因此参与表儿茶素氧化聚合反应的溶解氧量最大,导致高溶解氧荔枝汁中的表儿茶素氧化聚合反应速率最快。曾庆帅^[25]研究发现在4℃、25℃和37℃条件下贮藏5周,荔枝汁的表儿茶素含量分别降低了45.7%、54.0%和65.1%,本研究与该结果相似。初始DOC的差异及顶空氧的存在对表儿茶素含量有显著影响($p < 0.05$)。

芦丁,又称芸香苷,是由槲皮素C3位上的羟基和芸香糖结合形成的双糖苷,属于类黄酮系列物质中的葡萄糖苷,是荔枝汁中含量较大的酚类物质。由图7b可知,在贮藏0~13w时,芦丁含量没有明显的变化,比较稳定,贮藏13w后,芦丁含量呈下降趋势。贮藏结束时,低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的芦丁含量分别下降了18%、6.4%和42.6%。杨丹等^[26]研究同样发现氧气对芦丁含量影响不显著。初始DOC的差异和顶空氧对芦丁含量几乎没有影响,相关性分析也发现芦丁与荔枝汁的BI、DOC及顶空氧基本没有相关性,相关系数 r 的绝对值均低于0.4,进一步说明了芦丁贮藏期内比较稳定。

2.7 溶解氧对荔枝汁可溶性固形物含量和pH的影响

贮藏过程中,荔枝汁的TSS含量和pH变化情况如图8所示。由图8a可知,随着贮藏时间的延长,TSS含量缓慢上升。荔枝汁初始TSS含量为14.50°Brix,贮藏结束时,低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的TSS含量分别为15.02°Brix、15.00°Brix和15.13°Brix,最大上升幅度为4.3%,可

能是由于贮藏过程中,荔枝汁中含有的果肉悬浮物中的多糖不断地溶出引起了TSS含量缓慢上升,这与2.3中贮藏结束时葡萄糖和果糖含量均比初始时略有小幅增加的情况相符。由图8b可知,贮藏初期荔枝汁的pH基本保持稳定,贮藏后期pH略有轻微下降。贮藏结束时,低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的pH由初始的5.23,分别下降至5.12、5.10和5.03,可能是随美拉德反应加剧,体系中的游离氨基酸含量逐渐减少导致了pH略有下降。初始DOC的差异和顶空氧的存在对TSS含量和pH均没有显著影响($p > 0.05$)。

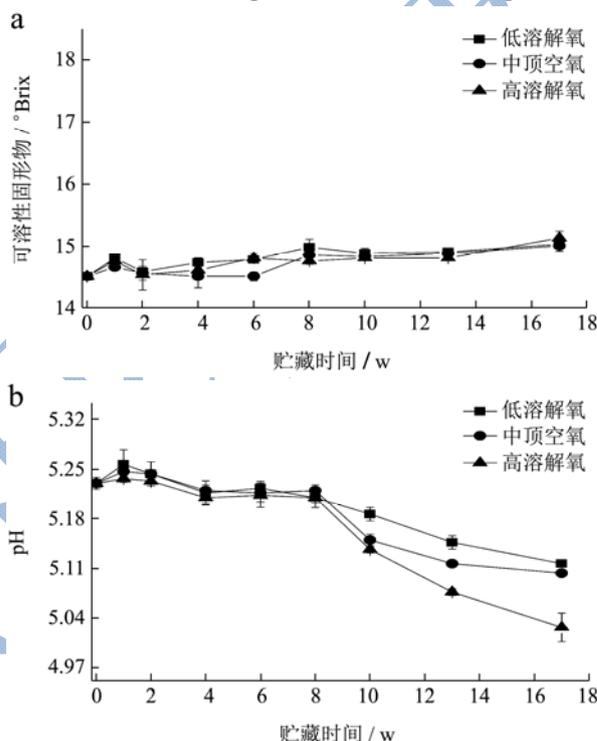


图8 贮藏过程中荔枝汁可溶性固形物含量(a)和pH(b)的变化

Fig.8 Total soluble solids (a) and pH values (b) of litchi juice during the storage

2.8 溶解氧对荔枝汁氨基酸含量的影响

表1 荔枝汁氨基酸含量

Table 1 Amino acids content of litchi juice

氨基酸种类	0周/(mg/100 g)	17周/(mg/100 g)		
		低溶解氧	中溶解氧	高溶解氧
天门冬氨酸 Asp	95	33	32	32
苏氨酸 Thr	31	7	6	7
丝氨酸 Ser	41	14	14	13
谷氨酸 Glu	125	44	44	42
甘氨酸 Gly	33	10	10	10
丙氨酸 Ala	122	79	78	75

转下页

接上页

胱氨酸 Cys	21	10	9	9
缬氨酸 Val	55	17	16	16
异亮氨酸 Ile	24	8	7	7
亮氨酸 Leu	38	6	6	6
苯丙氨酸 Phe	34	14	13	13
赖氨酸 Lys	42	12	11	11
组氨酸 His	18	5	5	5
精氨酸 Arg	30	9	10	9
脯氨酸 Pro	55	44	45	42
氨基酸总量	764	312	306	297

氨基酸是人体需要的重要营养物质，荔枝果实中氨基酸含量丰富，实验用荔枝汁初始共检测出 15 种氨基酸，总量为 764 mg/100 g。随着贮藏时间的延长，低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的氨基酸总量不断地下降，贮藏结束时，氨基酸总量分别下降了 59.2%、59.9%和 61.1%，具体每种氨基酸含量见表 1。贮藏过程中，氨基酸会与 L-AA 降解形成的 DHA 以及二羧基化合物等一起参与斯特勒克降解，从而导致其含量不断降低。此外，氨基酸还参与酚类物质的氧化降解。贮藏过程中，亮氨酸、苏氨酸、组氨酸和赖氨酸损失较多，脯氨酸、丙氨酸、胱氨酸和苯丙氨酸损失较少，相对比较稳定。初始 DOC 的差异和顶空氧的存在对荔枝汁的氨基酸总量没有显著影响 ($p>0.05$)。

2.9 偏最小二乘法回归分析

前期研究发现，随着贮藏时间的延长，荔枝汁色泽逐渐从乳白色向褐色转变，发生了非酶促褐变。为了系统地分析贮藏过程中，荔枝汁品质变化与其颜色褐变的相互关系，进行 PLSR 分析，计算 VID 系数，绘制双标图，以直观地反映荔枝汁各品质指标与其褐变指数间的关系。荔枝汁品质指标与颜色褐变关系的偏最小二乘法回归分析双标图如图 9 所示。

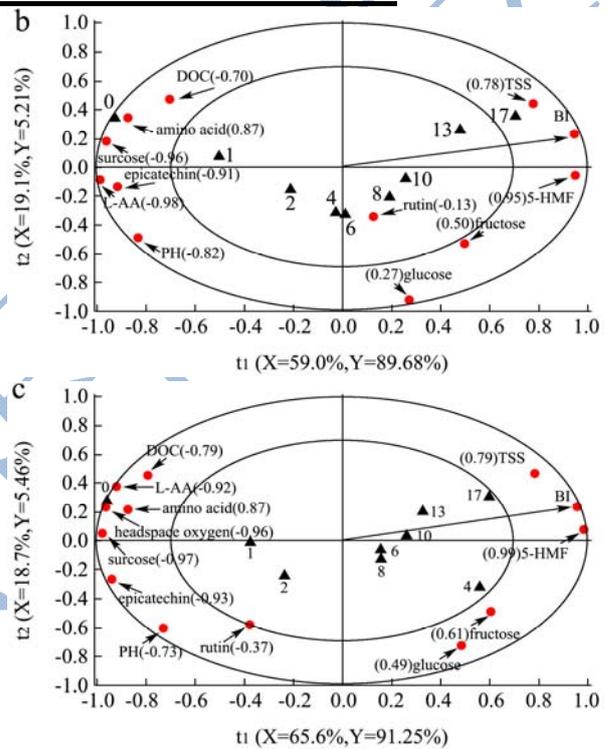
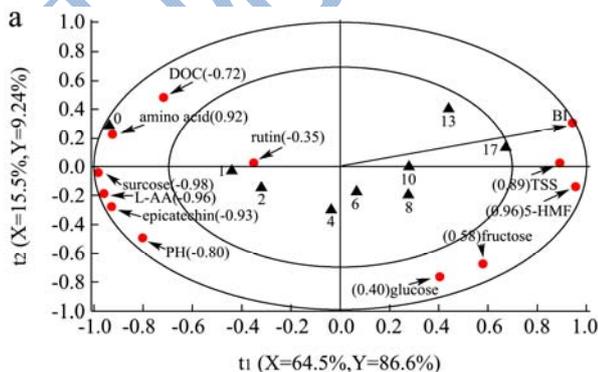


图9 低溶解氧 (a)，中溶解氧 (b) 和高溶解氧 (c) 荔枝汁品质指标与颜色褐变关系的偏最小二乘法回归分析双标图
Fig.9 PLSR biplots of the correlation between colour browning and quality parameters of litchi juice in low dissolved oxygen (a), medium dissolved oxygen (b) and high dissolved oxygen (c)

注：品质指标 (●)，不同贮藏时间的荔枝汁 (▲)。

图9的双标图中内圆和外圆代表的VID系数分别为0.7和1.0，每个自变量旁标注的数值为其VID系数。当自变量X位于Y向量同一方向时，表明该自变量的变化与褐变的变化成正向关系，即Y变量BI随着该自变量X的增加而增加；相反，自变量X位于Y向量相反方向时，则与褐变的变化成反向关系，即Y变量BI随着该自变量X的减少而增加。各品质指标对荔枝汁贮藏过程中颜色褐变影响的重要性，VID系

数可以给出更多定量的认识。本研究以 VID 系数绝对值 >0.90 时,表示该指标对贮藏过程中荔枝汁褐变有重要影响。对低溶解氧荔枝汁的褐变有重要影响的是:蔗糖、5-HMF、L-AA、表儿茶素和氨基酸;对中溶解氧荔枝汁的褐变有重要影响的是:L-AA、5-HMF、蔗糖和表儿茶素;对高溶解氧荔枝汁的褐变有重要影响的是:5-HMF、蔗糖、顶空氧、表儿茶素和 L-AA。通过 PLSR 分析发现,L-AA、表儿茶素和 5-HMF 对低溶解氧、中溶解氧和高溶解氧荔枝汁的褐变都有重要影响,且顶空氧对荔枝汁的褐变也有着重要影响。pH、TSS、溶解氧、果糖、葡萄糖、氨基酸和芦丁对贮藏过程中荔枝汁褐变的影响较小。因此,推测在不同溶解氧浓度下,荔枝汁的褐变是以 L-AA 降解及酚类物质氧化聚合为主,美拉德反应为辅。

3 结论

3.1 在 0~3 d 的贮藏期内,低溶解氧和中溶解氧荔枝汁的 L-AA 进行有氧降解;在 3 d~17 w 的贮藏期内,L-AA 有氧降解和无氧降解同时进行,且以无氧降解为主;贮藏结束时,L-AA 分别下降了 46.6%和 58.5%。高溶解氧荔枝汁的 L-AA 持续进行有氧降解,贮藏第 4 w 时,L-AA 基本全部降解完毕。初始 DOC 的差异对 L-AA 含量无显著影响,而顶空氧的存在对其影响显著。低溶解氧和中溶解氧荔枝汁的 DOC 在贮藏 0~3 d 时快速下降,分别下降了 90%和 98%,之后下降缓慢并趋于稳定。高溶解氧荔枝汁中 DOC 和顶空氧浓度的变化趋势一致,贮藏初期快速下降,之后两者下降缓慢,趋于稳定。

3.2 贮藏期内,荔枝汁的蔗糖含量不断减少,果糖和葡萄糖含量贮藏前期增加,贮藏中后期两者又缓慢下降,贮藏结束时,葡萄糖和果糖含量相比初始值略有增加。氨基酸的含量不断降低,初始 DOC 的差异和顶空氧的存在对糖及氨基酸含量没有显著影响。荔枝汁的 5-HMF 含量和 BI 不断增加,初始 DOC 的差异对 5-HMF 和 BI 没有显著影响,而顶空氧的存在对 5-HMF 影响严重,对 BI 没有显著影响。

3.3 随着贮藏时间的延长,荔枝汁的表儿茶素浓度不断降低,初始 DOC 的差异及顶空氧的存在对表儿茶素的含量有显著影响,而芦丁在贮藏过程中比较稳定,不受溶解氧的影响。

3.4 L-AA、表儿茶素和 5-HMF 对荔枝汁的褐变影响严重。在不同溶解氧浓度下,荔枝汁的褐变是以 L-AA 降解及酚类物质氧化聚合为主,美拉德反应为辅。荔枝汁在灌装时应尽可能地避免有顶空氧的存在。

参考文献

- [1] Su D, Zhang R, Hou F, et al. Comparison of the free and bound phenolic profiles and cellular antioxidant activities of litchi pulp extracts from different solvents [J]. *Bmc Complementary & Alternative Medicine*, 2014, 14(1): 9
- [2] 杨苞梅,姚丽贤,李国良,等.不同品种荔枝果肉游离氨基酸及香气组分分析[J].*热带作物学报*,2014,35(6):1228-1234
YANG Bao-mei, YAO Li-xian, LI Guo-liang, et al. Analysis of amino acids and aromatic components of pulps for different litchi variety [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2014, 35(6): 1228-1234
- [3] Damasceno L F, Fernandes F A N, Magalhães M M A, et al. Non-enzymatic browning in clarified cashew apple juice during thermal treatment: Kinetics and process control [J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(1): 172-179
- [4] Bharate S S, Bharate S B. Non-enzymatic browning in citrus juice: chemical markers, their detection and ways to improve product quality [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, 51(10): 2271-2288
- [5] Bacigalupi C, Lemaistre M H, Boutroy N, et al. Changes in nutritional and sensory properties of orange juice packed in PET bottles: an experimental and modelling approach [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(4): 3827-3836
- [6] D R Johnson, E A Decker. The role of oxygen in lipid oxidation reactions: a review [J]. *Annual Review of Food Science & Technology*, 2015, 6(1): 171-190
- [7] 唐静静,董海祥.果实饮料的脱气及相关设备[J].*包装与食品机械*,2005,23(3):39-41
TANG Jing-jing, DONG Hai-xiang. Introduction on degassing and degasser of fruit nectars [J]. *Package and Food Machine*, 2005, 23(3): 39-41
- [8] Almeida S E P. Micro-oxygen processing and biochemical deteriorative vectors in bananas and orange juice [D]. Athens: University of Georgia, 2006
- [9] Ahrnc L M, Oliyeira F A R. Modelling of dissolved oxygen concentration storage of packaged liquid foods during storage [J]. *Journal of Food Engineering*, 1997, 34(2): 213-224
- [10] Zaroni B, Pagliarini E, Galli A, et al. Shelf-life prediction of fresh blood orange juice [J]. *Journal of Food Engineering*, 2005, 70(4): 512-517
- [11] 徐程,余小林,胡卓炎,等.3 个品种荔枝果汁贮藏过程中的非酶褐变机理研究[J].*食品与发酵工业*,2010,36(9):175-180
XU Cheng, YU Xiao-lin, HU Zhuo-yan, et al. Research of

- the mechanism of non-enzymatic browning by three varieties of litchi juice during storage [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2010, 36(9): 175-180
- [12] Zerdin K, Rooney M L, Vermuë J. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material [J]. *Food Chemistry*, 2003, 82(3): 387-395
- [13] 刘学芝,何强,孔祥虹,等.固相萃取-超高效液相色谱法测定浓缩石榴汁中羟甲基糠醛含量[J].*食品工业科技*,2013, 34(10):62-64
LIU Xue-zhi, HE Qiang, KONG Xiang-hong, et al. Determination of hydroxymethylfurfural in pomegranate juice concentrates by solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(10): 62-64
- [14] M Wu, Z Y Hu, P Zheng. Determination of phenolic compounds in litchi juices by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2013, 25(14): 8157-8159
- [15] Vervoort L, Grauwet T, Kebede B T, et al. Headspace fingerprinting as an untargeted approach to compare novel and traditional processing technologies: a case-study on orange juice pasteurization [J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(4): 2303-2312
- [16] Robertson G L, Samaniego C M L. Effect of initial dissolved oxygen levels on the degradation of ascorbic acid and the browning of lemon juice during storage [J]. *Journal of Food Science*, 2010, 51(1): 184-187
- [17] Garcia-Torres R, Ponagandla N R, Rouseff R L, et al. Effects of dissolved oxygen in fruit juices and methods of removal [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety*, 2009, 8(4): 409-423
- [18] Wibowo S, Grauwet T, Santiago J S, et al. Quality changes of pasteurised orange juice during storage: a kinetic study of specific parameters and their relation to color instability [J]. *Food Chemistry*, 2015, 187: 140-151
- [19] Fustier P, St-Germain F, Lamarche F, et al. Non-enzymatic browning and ascorbic acid degradation of orange juice subjected to electroreduction and electro-oxidation treatments [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2011, 12(4): 491-498
- [20] Lee H, Nagy S. Chemical degradative indicators to monitor the quality of processed and stored citrus products [J]. *AcS Symposium*, 1996, 86: 106-112
- [21] Van Bree I, Baetens J M, Samapundo S, et al. Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration [J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(1): 207-214
- [22] C Queiroz, SA Da, L Mlm, et al. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing [J]. *Food Chemistry*, 2011, 125(1): 128-132
- [23] Kraus A, Popek S. Structural model of fruit juice quality determining factors in product design and development [J]. *British Food Journal*, 2013, 115(6): 865-875
- [24] Zhang R, Zeng Q, Deng Y, et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China [J]. *Food Chemistry*, 2013, 136(34): 1169-1176
- [25] 曾庆帅.荔枝果汁加工和贮藏过程中酚类物质及抗氧化活性的变化[D].武汉:华中农业大学,2011
ZENG Qing-shuai. Changes of phenolics and antioxidant activity of litchi juice during processing [D]. Wuhan: Huazhong Agriculture University, 2011
- [26] 杨丹,郝再彬,胡淑田,等.光照对芦丁稳定性及抑菌活性的影响[J].*应用与环境生物学报*,2011,17(2):223-226
YANG Dan, HAO Zai-bin, HU Shu-tian, et al. Effects of light on stability and bacteriostatic activity of rutin [J]. *Chinese Journal Applied Environmental Biology*, 2011, 17(2): 223-226