

毛酸浆发酵过程中非酶褐变动力学研究

朱丹¹, 李世燕², 牛广财², 王赢², 魏文毅²

(1. 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江大庆 163319)

(2. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319)

摘要: 以毛酸浆为原料, 同时接入酵母菌和植物乳杆菌, 在 25 °C、30 °C 和 37 °C 条件下对其进行发酵, 研究毛酸浆发酵过程中与非酶褐变有关的指标总多酚、还原糖、维生素 C (Vc)、褐变度 (BD)、5-羟甲基糠醛 (5-HMF)、氨基酸态氮和色度 (L*, a*, b*, ΔE) 值的变化, 分别用零级、一级和联合动力学模型分别对其进行拟合分析。结果表明, 在 25 °C、30 °C 和 37 °C 发酵条件下, 用联合模型能更好解释 5-HMF、褐变度、还原糖、Vc、总多酚、氨基酸态氮和 ΔE 的动态变化, 联合模型拟合程度均优于一级模型和零级模型。同时, 对发酵过程中 5-HMF 和 BD 这两项重要品质指标的回归分析表明, 二者呈现良好的线性函数关系, 说明 5-HMF 含量的变化可以预测其对应温度下的褐变程度。5-HMF 积累反应活化能为 36.299 kJ/mol, 非酶褐变色素物质的积累反应活化能为 12.287 kJ/mol, 表明非酶褐变反应速率非常大, 毛酸浆发酵中很容易发生非酶褐变反应。

关键词: 毛酸浆; 发酵; 非酶褐变; 动力学

文章编号: 1673-9078(2017)2-115-122

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.2.018

Kinetic Study of Non-enzymatic Browning of *Physalis pubescens* L. during Fermentation

ZHU Dan¹, LI Shi-yan², NIU Guang-cai², WANG Ying², WEI Wen-yi²

(1. College of Life Science and technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

(2. Food College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: *Physalis pubescens* L. was used as the raw material and fermentations were carried out at 25 °C, 30 °C, and 37 °C with inoculation of both yeast and *Lactobacillus plantarum*. The changes in the non-enzymatic browning indices, -the content of total polyphenols, reducing sugar, vitamin C (Vc), 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), and amino acid nitrogen, browning degree (BD), and the color difference (L*, a*, b*, ΔE)-during the fermentation were studied. The zero-order, first-order, and combined kinetic models were employed to fit the data. The results indicated that for the fermentations at 25 °C, 30 °C, and 37 °C, the combined kinetic model was better for describing the dynamic changes of all indices, including the content of 5-HMF, reducing sugar, Vc, total polyphenols, and amino acid nitrogen, BD, and ΔE, than the other two models. Furthermore, regression analysis showed that 5-HMF content and BD-the two important quality indices-had a very good linear relationship during the fermentation, which indicated that BD could be predicted by the 5-HMF content at the corresponding temperature. Meanwhile, the activation energies of 5-HMF and non-enzymatic browning material were 36.299 kJ/mol and 12.287 kJ/mol, respectively, which showed that the reaction rate of non-enzymatic browning was very fast and could easily occur during the fermentation of *Physalis pubescens* L.

Key words: *Physalis pubescens* L.; fermentation; non-enzymatic browning; kinetics

毛酸浆 (*Physalis pubescens* L.) 别名洋姑娘、黄姑娘等, 酸浆属, 一年生草本植物, 在我国主要产地为内蒙古呼伦贝尔盟和黑龙江省。成熟后的毛酸浆果实, 口味酸甜, 色泽橙黄鲜艳, 是一种食用与药用为一体的新型特色营养型水果, 营养丰富, 不仅可以鲜

收稿日期: 2015-12-30

基金项目: 黑龙江八一农垦大学出国留学基金资助项目 (BYND2014-X5); 黑龙江八一农垦大学研究生创新科研项目 (YJSCX2015-Y49)

作者简介: 朱丹 (1972-), 女, 在读博士, 副教授, 主要从事植物资源利用方面的研究

食, 还可以用于精深加工。利用微生物发酵生产乳酸饮料以及果酒等产品, 是毛酸浆的一种较常见深加工方式。但是, 在对其进行乳酸发酵和酒精发酵过程中发现非酶褐变现象严重, 降低了产品的营养品质和商品价值, 成为制约毛酸浆深加工的技术难题。

非酶褐变 (Non-enzymatic browning) 的反应机制一般包括 4 种类型, 即美拉德 Maillard 反应、焦糖化反应、维生素 C 氧化分解和多酚氧化缩合反应^[1]。近年来国内外关于非酶褐变的动力学研究较多^[2-5], 特别是通过研究与非酶褐变有关的主要致褐因子指标的动

力学模型,可以跳过繁琐的中间过程对非酶褐变反应有直观的描述。Hariklia Vaikousi 等认为果汁等非酶褐变反应动力学模型有零级、一级、抛物线、威布尔和罗吉斯特模型等多种模型^[6,7]。例如, Burduriu 和 Karadeniz 发现浓缩苹果汁在储藏过程中的非酶褐变动力学符合零级动力学反应^[3],联合动力学模型可以更好地表示热破碎番茄浆贮藏和桃汁在热处理过程中的非酶褐变动态变化^[1,4],而香蕉全果原汁的非酶褐变则符合零级动力学模型,其非酶褐变反应活化能为 75.752 kJ/mol^[5]。但是,关于毛酸浆发酵过程中非酶褐变反应以及动力学研究均未见报道。本试验拟在 25、30 和 37 °C 发酵条件下,研究毛酸浆发酵过程中 Vc、5-羟甲基糠醛(5-HMF)、总多酚、还原糖、氨基酸态氮、褐变度(BD)以及色差(L*、a*、b*和ΔE)含量的变化,根据其非酶褐变相关指标变化以及对反应动力学相关模型进行拟合,分析毛酸浆发酵过程中的非酶褐变原因,从而对控制其褐变工艺,提高毛酸浆发酵产品的品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

毛酸浆,购于黑龙江省大庆市农贸市场;酵母菌:安琪牌葡萄酒用高活性干酵母,安琪酵母股份有限公司;植物乳杆菌(1.557):中科院微生物研究所;蔗糖:白砂糖,黑龙江北方糖业股份有限公司;没食子酸、5-羟甲基糠醛(5-HMF),分析纯, sigma 公司出品;福林酚试剂,3,5-二硝基水杨酸,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;无水碳酸钠、抗坏血酸、三氯乙酸、氢氧化钠,分析纯,天津市大茂化学试剂厂;2,6-二氯酚靛酚,分析纯,Alfa Aesar 公司出品;草酸,优级纯,国药集团化学试剂有限公司;硫代巴比妥酸,生化试剂,国药集团化学试剂有限公司;CM187 MRS 肉汤培养基,北京陆桥技术股份有限公司。

1.2 仪器与设备

HR7633 型打浆机,珠海经济特区飞利浦家庭电器有限公司;DRP-9052 型电热恒温培养箱,上海森信实验仪器有限公司产品;UV-1100 型紫外可见分光光度计,上海美谱达仪器;Exploer 分析天平,奥豪斯仪器上海有限公司制造;HWS24 型恒温水浴锅,上海一恒科技有限公司;WS113 手持糖度仪,上海测维光电技术有限责任公司;BCN-1360 型超净工作台,北京东联哈尔仪器有限公司;SPH-250 型生化培养箱,上海森信实验仪器有限公司;PHS-3C 型精密 pH 计,

上海雷诺仪器厂产品;湘仪 L420 台式低速自动平衡离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;美能达 CR-410 型色差仪,广州市统富机电设备有限公司。

1.3 毛酸浆发酵工艺的操作要点

选取成熟度好、粒大饱满、无病虫害及无霉变的毛酸浆鲜果,去除萼片,清水洗涤后热烫 30 s,冷却沥干后将其破碎,得到毛酸浆果浆。将毛酸浆原浆与白砂糖按质量比 1:1 加入到已灭菌的玻璃瓶中,在无菌操作台上同时接入已活化好的 0.2%的酵母菌和 1%的乳酸菌,分别置于 25 °C、30 °C 和 37 °C 条件下进行发酵。每隔 1 d 取样,在 3600 r/min 离心 15 min 后,取上清液用于测定发酵液的各项指标。

酵母菌活化:将高活性葡萄酒酿酒干酵母用 10 倍水在 30~32 °C 水浴锅中活化半小时备用。

植物乳杆菌活化:将试管斜面保存的植物乳杆菌(1.557)接种于 100 mL 的 MRS 肉汤培养基中,在 37 °C 下培养 48 h,活化植物乳杆菌。将活化好的发酵剂放于 4 °C 冰箱保存备用。

1.4 指标测定方法

1.4.1 总多酚含量测定

标准曲线的制作:精确称取没食子酸标准品 50 mg,用蒸馏水配成 100 μg/mL 的没食子酸标准液。分别吸取 100 μg/mL 的没食子酸溶液 0、0.25、0.5、1.0、1.5 和 2.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,各加入 1 mL Folin-Ciocalteu 试剂,3 mL、7.5% (质量百分数)的 Na₂CO₃ 溶液,充分混匀后,分别用蒸馏水定容至 10 mL,在 30 °C 下避光反应 1 h 后,于 760 nm 波长处测定吸光度值^[8]。以没食子酸的浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线,得到线性回归方程为: $y=0.1006x+0.0405$, $R^2=0.999$ 。

样品的测定:准确移取 0.2 mL 的发酵液,按照制作标准曲线方法测定样品中的总多酚含量,计算结果。

1.4.2 Vc 含量测定

采用 2,6-二氯酚靛酚法^[9]。

1.4.3 还原糖含量测定

采用 3,5-二硝基水杨酸法^[10]。

1.4.4 可滴定酸含量测定

用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液进行酸碱滴定,可滴定酸含量以乳酸计。

1.4.5 5-HMF 含量测定

参考 Cohenetal^[11]的测定方法。

标准曲线制作:准确称取 50 mg 5-HMF 标准品,配成浓度为 0、1.6、3.2、4.8、6.4 和 8.0 μg/mL 的标

准溶液。取 6 支具塞试管，分别加入 2 mL 上述标准溶液，再加入 2 mL、120 g/kg 的三氯乙酸溶液 (TCA) 和 2 mL、0.025 mol/mL 的硫代巴比妥酸溶液 (TBA)，混匀后在 40±0.5 °C 的水浴中加热 50 min，取出用流水冷却至 25 °C，立即在 443 nm 下测定吸光度值。以 5-HMF 的浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程为：

$$y=0.0608x-0.004, R^2=0.9988。$$

样品测定：取 2 mL 发酵液于具塞试管中，按照标准曲线制作方法进行测定。

1.4.6 褐变度的测定

取 5 mL 发酵液，以蒸馏水为对照，测定 420 nm 波长处的吸光度值。

1.4.7 色差的测定

采用美能达 CR-410 型色差仪测定各发酵液的 L*、a* 和 b* 值，色差值 (1) 如下：

$$\Delta E^*=[(L^*-L_0^*)^2+(a^*-a_0^*)^2+(b^*-b_0^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

式中，L₀*、a₀* 和 b₀* 表示标准白板的读数；L* 值表示亮度，L* 值越高表明样品表面越白；a* > 0 表示红值、a* < 0 表示绿值；b* > 0 表示黄值、b* < 0 表示蓝值。

1.4.8 氨基酸态氮含量测定

采用 GB/T 12143-2008，饮料通用分析方法（甲醛法测氨基酸态氮）测定。

1.5 动力学模型拟合分析

对毛酸浆发酵过程中的 Vc、5-HMF、多酚、还原糖、氨基酸态氮、褐变度、色差值的变化用零级 (2)、一级 (3) 和联合反应动力学 (4) 模型进行拟合分析 [4]。

$$C=C_0+k_0t \quad (2)$$

$$C=C_0 \exp(k_1t) \quad (3)$$

$$C=k_0/k_1-(k_0/k_1-C_0)\exp(-k_1t) \quad (4)$$

式中，C 为任意时间指标的测定值；C₀ 为该指标的起始值；t 表示时间/min；k₀ 和 k₁ 分别表示零级动力学和一级动力学的反应常数。

1.6 反应活化能 Ea 的计算

根据温度对各指标的影响符合 Arrhenius 方程 (5)，即：

$$k=k_0 \exp(-E_a/RT) \quad (5)$$

式中，k 为平衡常数；k₀ 为指数系数；E_a 为活化能/(kJ/mol)；R 为摩尔气体常数，8.314×10⁻³ kJ/(mol·K)；T 为绝对温度/K。

对 Arrhenius 方程两边同时取对数可得 (6)：

$$-\ln k=\ln k_0+E_a/RT \quad (6)$$

取 298、303 和 310 K 时模型的反应常数 k 值，以

-lnk 为纵坐标，1/T 为横坐标，则斜率为 E_a/R，即可计算出反应的活化能 E_a 值。

1.7 数据处理

所有实验数据采用 SPSS 20 软件进行统计分析，采用 Excel 2010 进行绘图、相关动力学分析与回归分析。

2 结果与分析

2.1 毛酸浆发酵过程中总多酚含量变化

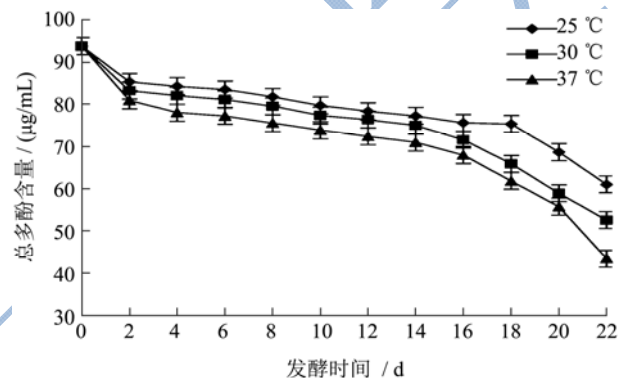


图1 毛酸浆发酵过程中总多酚含量变化

Fig.1 Changes in total polyphenolic content during *Physalis pubescens* L. fermentation

酚类物质的化学性质十分活泼，很容易氧化成苯醌。苯醌具有非常强烈的亲电子基团，极易与亲核基团反应，从而促进其他分子氧化及其自身快速聚合^[6]。由于毛酸浆发酵前经历了热烫处理，多酚氧化酶催化的酶促褐变在发酵过程中不会出现。酚类化合物的非酶褐变反应机理尚不清楚，可能是酚类化合物先氧化成醌，然后再与其它酚类物质聚合而形成呈色高分子聚合物^[12]。由图 1 所示，在各个发酵温度下，发酵液中总多酚含量均呈下降趋势。由于在高温条件下，多酚更容易发生氧化和聚合作用，导致 37 °C 发酵条件下的发酵液中总多酚含量最低。

2.2 毛酸浆发酵过程中 Vc 含量变化

Vc 不稳定，易被氧化分解，可与氨基酸反应生成红色素及黄色素，致使褐变。Vc 氧化分解有 2 种途径：有氧条件分解反应最终生成还原酮；在无氧条件下，分解的主要产物为糠醛。毛酸浆发酵期间 Vc 含量变化如图 2 所示，在发酵过程中，各发酵条件下的 Vc 含量都随着发酵时间的延长而减少。发酵 0~18 d 时，发酵液中的 Vc 含量急剧下降，一是发酵过程中由于光和热导致其氧化损失，二是发酵过程中 Vc 进行无氧分解损失。在 37 °C 发酵 12 d 时，Vc 损失量已达到

97.6%，而 25 °C 和 30 °C 发酵 18 d 后，Vc 损失量也分别达到 94.69% 和 98.83%，几乎全部损失。说明发酵过程中 Vc 遭到严重破坏，且温度越高破坏越严重。伴随着 Vc 的减少，发酵液褐变，色泽加深，因此，Vc 的降解是发酵液发生非酶褐变的主要原因之一。

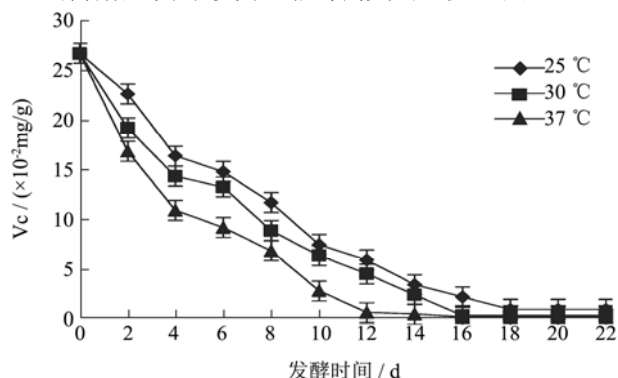


图 2 毛酸浆发酵过程中 Vc 含量变化

Fig.2 Changes in Vc content during *Physalis pubescens* L. fermentation

2.3 毛酸浆发酵过程中还原糖含量变化

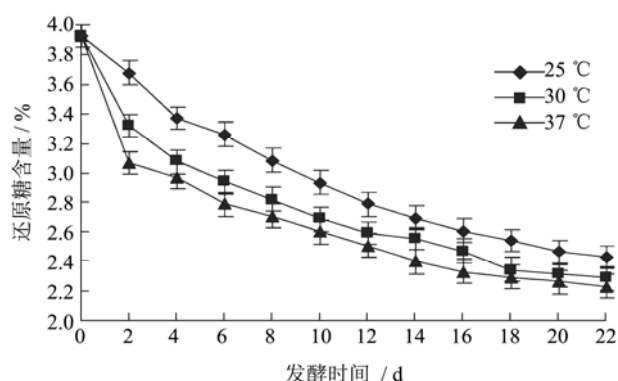


图 3 毛酸浆发酵过程中还原糖含量变化

Fig.3 Changes in reducing sugar content during *Physalis pubescens* L. fermentation

Maillard 反应是以还原糖和氨基化合物为底物，生成一系列深色物质的复杂反应，是造成许多食品非酶褐变的重要因素。由图 3 可知，发酵过程中还原糖含量随着发酵时间的延长而减少，37 °C 发酵条件下还原糖含量损失最多。发酵 0~18 d，随着发酵温度的升高，25 °C、30 °C 和 37 °C 下还原糖含量分别下降了 38.17%、41.71% 和 43.18%，18 d 之后还原糖含量下降缓慢，趋于稳定。毛酸浆发酵过程中还原糖的变化与三方面有关：一是在发酵过程中，还原糖作为能源物质被发酵菌消耗利用而使其减少；二是因与游离氨基发生 Maillard 反应而减少；三是由于双糖发生酸水解，导致葡萄糖、果糖等还原糖含量增加。所以，体系中还原糖的变化取决于三个变化的平衡，因此，仅由还原糖含量的变化无法准确判定是否发生了 Maillard 反

应。

2.4 毛酸浆发酵过程中可滴定酸含量变化

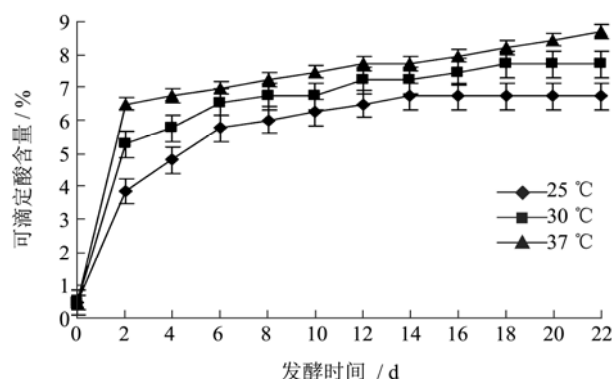


图 4 毛酸浆发酵过程中可滴定酸含量变化

Fig.4 Changes in titratable acid content during *Physalis pubescens* L. fermentation

图 4 是毛酸浆发酵过程中可滴定酸含量的变化。由图 4 可以看到，随着发酵时间的延长，体系中的可滴定酸含量在不断上升，说明随着发酵的进行，乳酸菌不断利用营养物质而大量繁殖，致使发酵液酸度也不断上升。在 25 °C 下发酵 14 d 时，体系内酸度较高，抑制了乳酸菌的生长，而 30 °C 下发酵 18 d 时发酵液的酸度也几乎不再上升。所以，从图 4 可知，整个体系是处于酸性环境中。

2.5 毛酸浆发酵过程中 5-HMF 含量变化

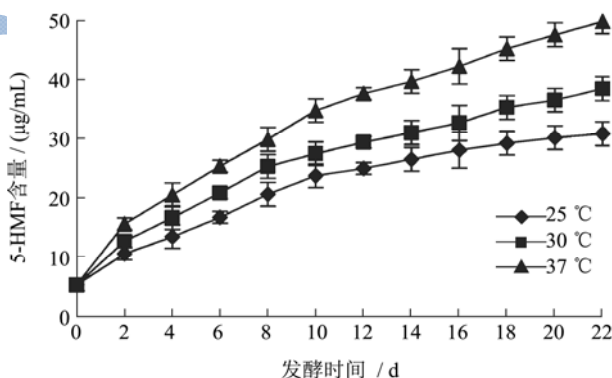


图 5 毛酸浆发酵过程中 5-HMF 含量变化

Fig.5 Changes in 5-HMF content during *Physalis pubescens* L. fermentation

在酸性或弱酸性条件下，5-HMF 是 Maillard 反应、抗坏血酸降解和焦糖化反应的重要中间产物之一，其生成量的大小决定了整个褐变的反应速度。因此，常将其作为 Maillard 反应和非酶褐变程度的评价指标。毛酸浆不同发酵温度下的 5-HMF 的变化见图 5。由图 5 可以看出，毛酸浆发酵过程中，随发酵时间的延长，发酵液中 5-HMF 的含量不断增加，这与 Ajandouz 等人的研究结果一致^[13]。在 37 °C 发酵条件下，前 10 d

内 5-HMF 含量迅速增加, 而 25 °C 和 30 °C 条件下 5-HMF 含量增加相对较缓, 说明较高发酵温度下, 5-HMF 生成的较快。在 25 °C、30 °C 和 37 °C 发酵条件下, 发酵 22 d 时 5-HMF 含量分别增加了 25.47 μg/mL、33.14 μg/mL 和 44.45 μg/mL。

2.6 毛酸浆发酵过程中褐变度变化

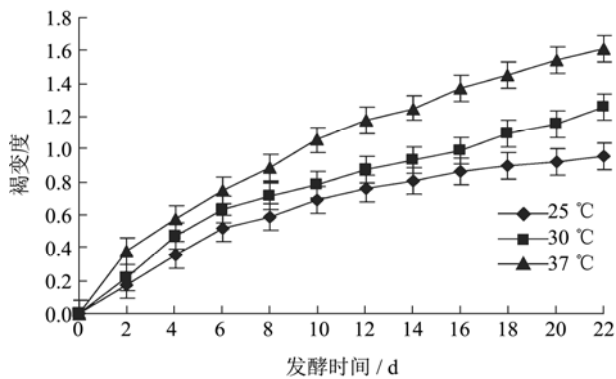


图 6 毛酸浆发酵过程中褐变度变化

Fig.6 Changes in BD during *Physalis pubescens* L. fermentation

非酶褐变反应产生的色素在 420 nm 波长处有很强的吸光度, 此波长下的吸光度大小可反映褐变的严重程度^[4]。毛酸浆发酵期间的褐变度变化如图 6 所示, 随着发酵时间的延长, 发酵液的褐变度呈增长趋势, 而且, 发酵温度越高, 发酵液的褐变程度越大。25 °C 条件下发酵 22 d 后, 褐变度升至 0.958, 30 °C 发酵 22 d 后, 褐变度上升至 1.255, 而 37 °C 发酵 22 d 后, 褐变度上升至 1.618。由此可见, 在较高的发酵温度下, 毛酸浆发酵液的褐变非常严重。

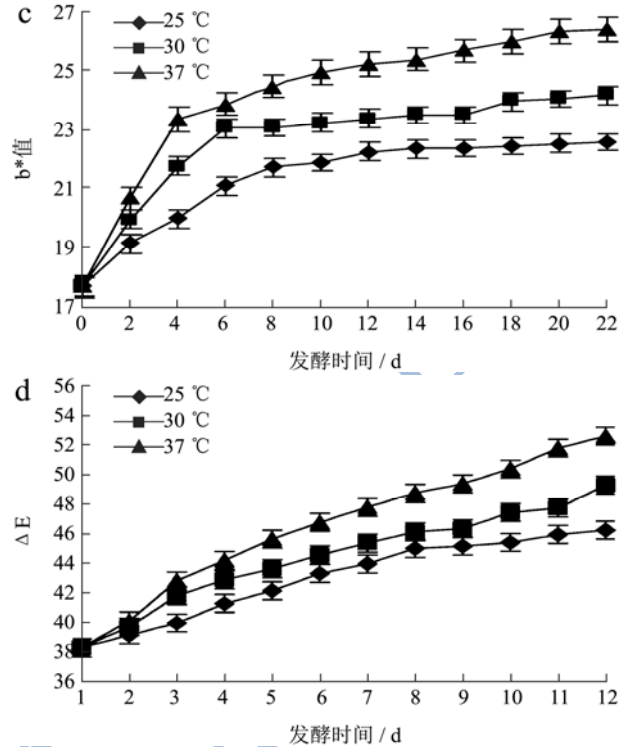
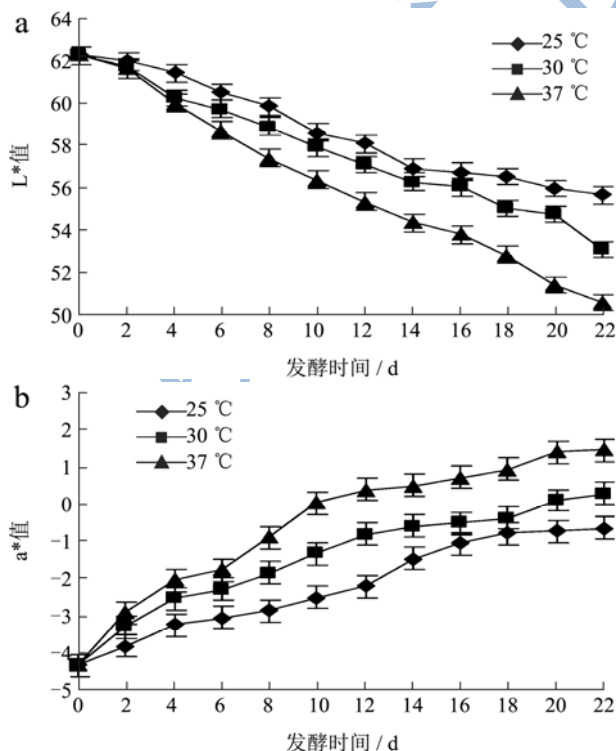


图 7 毛酸浆发酵过程中 L* (a)、a* (b)、b* (s) 和 ΔE (d) 值的变化

Fig.7 Changes in L* (a), a* (b), b* (c) and ΔE (d) during *Physalis pubescens* L. fermentation

2.7 毛酸浆发酵过程中色差值的变化

颜色是果蔬制品的重要品质指标, 它直接影响消费者对产品的可接受性。亮度 L*、红值 a* 和黄值 b* 是观测果蔬制品颜色变化的常用参数。毛酸浆在发酵过程中的颜色变化如图 7 所示, L* 表示亮度与白度的综合值, 该值越大表示发酵液的颜色越亮。从图 7a 可以看出, 随着发酵时间的延长和温度的升高, L* 值呈下降趋势。在 37 °C 条件下, L* 值下降趋势表现更明显。a* 值表示红绿, a* 值越大, 表示发酵液颜色越趋于红色。图 7b 中可以看出, a* 值也随着发酵时间的延长和温度的升高而不断增大, 说明发酵过程中发酵液逐渐由绿变红。b* 正值代表黄度, 负值代表蓝度, 由图 7c 可知, b* 值随着发酵时间的延长而增加, 且在 25 °C、30 °C 和 37 °C 温度条件下, b* 值分别增加至 22.555、24.130 和 26.385, 说明 b* 值随温度的变化很明显。ΔE 可以衡量色泽的总体变化, 从图 7d 中可以看出, 毛酸浆发酵过程中各个温度条件下的色泽均产生了改变, 呈递增的趋势, 说明发酵液的色泽变化在不断加大, 到发酵 22 d 结束时, ΔE 值从发酵初始值的 38.25 分别递增至 46.18、49.21 和 52.55。说明发酵过程中, 毛酸浆发酵液的红值、黄值以及总色差值均呈上升趋势, 发酵过程中随发酵时间的延长而颜色变

暗,并逐渐变红变黄,而且温度越高,颜色褐变越严重,这与褐变度的变化趋势是一致的。

2.8 毛酸浆发酵过程中氨基酸态氮含量变化

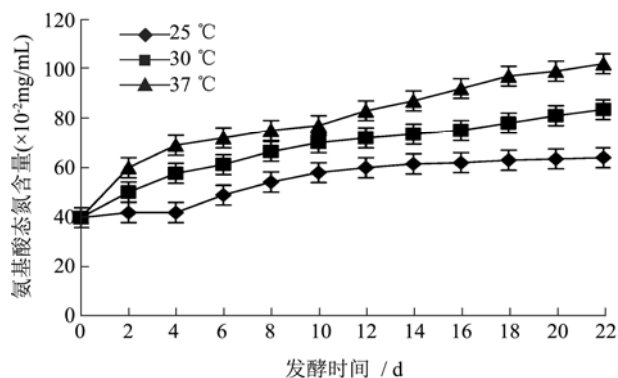


图8 毛酸浆发酵过程中氨基酸态氮含量变化

Fig.8 Changes in amino acid nitrogen content during *Physalis pubescens* L. fermentation

由图8可以看到,发酵过程中氨基酸态氮的含量呈上升趋势。在相同的发酵时间下,随着发酵温度的升高,发酵液中的氨基酸态氮含量都呈上升趋势。该体系中氨基酸态氮的变化复杂,氨基酸会与Vc降解形成的氧化型Vc以及二羰基化合物一起参与Strecker降解,氨基酸还与酚类氧化产生的醌反应而参与酚类的氧化降解,而且,它还与还原糖发生Maillard反应,致使体系中氨基酸态氮的含量下降;但是在发酵过程

中,乳酸菌和酵母菌在发酵过程中也会产生氨基酸,使氨基酸含量在不断增加。所以,该发酵体系中氨基酸态氮的变化取决于两个变化的平衡。因此,氨基酸态氮的变化不足以说明它是非酶褐变的致变因子,还需要进一步考察。

2.9 毛酸浆发酵过程中非酶褐变动力学分析

2.9.1 毛酸浆发酵过程中非酶褐变的动力学方程

毛酸浆发酵过程中的5-HMF、褐变度、还原糖、Vc、多酚、氨基酸态氮和 ΔE 的变化可以用零级或一级以及联合模型进行拟合,模型拟合参数见表1。由表1可以看出,各指标在各发酵条件下的 R_2^2 均大于 R_0^2 和 R_1^2 ,说明联合模型拟合程度均优于一级模型和零级模型,用联合模型能更好解释毛酸浆发酵过程中非酶褐变的动态变化。其中, ΔE 、褐变度BD和5-HMF的变化用联合动力学模型拟合分析的决定系数 R_2^2 在0.994~0.999之间,而用零级模型拟合分析的决定系数 R_0^2 在0.908~0.970之间,而用一级模型拟合分析的决定系数 R_1^2 在0.789~0.956之间,表明联合动力学模型可以更好解释毛酸浆发酵过程中的 ΔE 、褐变度和5-HMF的变化。这与阮卫红等研究的桃汁热处理过程中的 ΔE 、褐变度BD和5-HMF的变化都符合联合动力学模型一致^[4]。

表1 毛酸浆发酵过程中各指标变化的动力学参数

Table 1 Kinetic parameters of different indices during *Physalis pubescens* L. fermentation

指标	温度/°C	零级模型		一级模型		联合动力学模型		
		k	R_0^2	k	R_1^2	k_0	k_1	R_2^2
5-HMF	25	1.121	0.931	-0.047	0.843	59.911	-0.087	0.997
	30	1.376	0.940	-0.048	0.858	71.885	-0.084	0.996
	37	1.863	0.951	-0.052	0.868	89.652	-0.074	0.996
褐变度	25	0.041	0.908	-0.056	0.789	0.088	-0.106	0.999
	30	0.051	0.938	-0.059	0.841	0.374	-0.083	0.988
	37	0.068	0.951	-0.060	0.851	0.764	-0.074	0.996
还原糖	25	0.066	0.945	-0.023	0.971	26.592	-0.079	0.998
	30	0.062	0.860	-0.023	0.898	16.130	-0.140	0.981
	37	0.059	0.788	-0.023	0.830	12.237	-0.186	0.956
Vc	25	-1.182	0.913	0.130	0.980	-44.405	-0.093	0.991
	30	-1.126	0.880	-0.151	0.981	-23.512	-0.117	0.990
	37	-1.021	0.758	-0.208	0.986	-4.120	-0.190	0.988
多酚	25	-1.093	0.890	-0.013	0.880	-7196.414	-0.012	0.890
	30	-1.480	0.902	-0.019	0.881	-2744.643	-0.073	0.902
	37	-1.670	0.876	-0.023	0.852	-2229.424	-0.086	0.875

转下页

接上页

	25	1.212	0.892	-0.021	0.855	-14434.1	-0.091	0.899
氨基酸态氮	30	1.729	0.921	-0.025	0.882	-14772.9	-0.108	0.924
	37	2.397	0.925	-0.029	0.890	-15446.5	-0.124	0.926
ΔE	25	0.375	0.958	-0.009	0.947	641.841	-0.059	0.991
	30	0.450	0.964	-0.010	0.954	690.250	-0.056	0.988
	37	0.614	0.970	-0.013	0.956	689.944	-0.055	0.994

2.9.2 毛酸浆发酵过程中褐变度 BD 与 5-HMF 的线性关系

表 2 毛酸浆发酵过程中 5-HMF 和褐变度 BD 的相关性

Table 2 Correlation between 5-HMF and BD during *Physalis pubescens* L. fermentation

温度/℃	回归方程	R ²
25	BD=0.037[5-HMF]-0.174	0.991
30	BD=0.037[5-HMF]-0.195	0.992
37	BD=0.036[5-HMF]-0.184	0.998

5-HMF 和褐变度 BD 是食品品质的两项重要指标,同时 5-HMF 的含量变化可反映产品加工过程中的褐变度。毛酸浆在 25℃、30℃和 37℃条件下发酵过程中,5-HMF 和 BD 的变化存在线性关系,结果见表 2。由表 2 可以看出,毛酸浆发酵过程中 5-HMF 含量和褐变度 BD 的变化呈现良好的线性关系,决定系数分别为 0.991、0.992 和 0.998,即在 25℃、30℃和 37℃发酵过程中,5-HMF 和 BD 存在线性关系,可以根据 5-HMF 含量的变化预测其对应温度下的褐变度。

2.9.3 毛酸浆发酵期间 5-HMF 和 BD 变化的 Arrhenius 参数

表 3 毛酸浆发酵期间 5-HMF 和 BD 变化的 Arrhenius 参数

Table 3 Arrhenius parameters of 5-HMF and BD during *Physalis pubescens* L. fermentation

参数	5-HMF	BD
Ea/(kJ/mol)	36.299	12.287
A/d ⁻¹	21.179	43.859
R ²	0.997	0.982

一般认为,温度对 HMF 的累积和褐变度 (BD) 的变化符合 Arrhenius 方程,由表 1 计算得到的联合动力学模型反应速率常数带入 Arrhenius 方程,得到毛酸浆发酵期间 5-HMF 和 BD 变化的 Arrhenius 参数,结果见表 3。由表 3 可知,5-HMF 的积累反应活化能为 36.299 kJ/mol, BD 积累的反应活化能为 12.287 kJ/mol。通常认为反应活化能在 40~400 kJ/mol 范围内,而小于 40 kJ/mol 时则认为反应速率非常大^[4]。因此,毛酸浆发酵期间很易发生非酶褐变反应。

3 结论

3.1 毛酸浆在 25℃、30℃和 37℃条件下发酵过程中,总酚、还原糖、亮度 L*值以及 Vc 含量呈下降趋势,氨基酸态氮、5-HMF、褐变度 BD、红度 a*值、黄度 b*值以及 ΔE 值呈增加趋势。

3.2 用动力学反应模型对各指标进行拟合分析发现,各指标的变化用联合动力学模型拟合的决定系数均较高,优于零级和一级动力学模型,联合动力学模型可以更好解释毛酸浆发酵过程中的 ΔE、褐变度和 5-HMF 的变化。

3.3 发酵过程中 5-HMF 和 BD 二者呈现良好的线性函数关系,表明可通过抑制 5-HMF 的形成来控制毛酸浆发酵过程中的褐变程度。

3.4 5-HMF 积累反应活化能为 36.299 kJ/mol,非酶褐变色素物质的积累反应活化能为 12.287 kJ/mol,表明毛酸浆发酵过程中非酶褐变反应的速率非常大。

参考文献

- [1] 刘凤霞,张燕,汪厚银,等.热破碎番茄浆贮藏期间非酶褐变动力学分析[J].食品科学,2011,32(10):260-265
LIU Feng-xia, ZHANG Yan, WANG Hou-yin, et al. Kinetic analysis of non-enzymatic browning in hot break tomato paste during storage [J]. Food Science, 2011, 32(10): 260-265
- [2] Jayeeta Mitra, Shanker L Shrivastava, Pavuluri S Rao. Non-enzymatic browning and flavour kinetics of vacuum dried onion slices [J]. International Agrophysics, 2015, 29(1): 91-100
- [3] Hande Selen Burdurlu, Feryal Karadeniz. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates [J]. Food Chemistry, 2003, 80(1): 91-97
- [4] 阮卫红,邓放明,毕金峰,等.桃汁热处理过程中非酶褐变动力学研究[J].食品科学,2014,35(4):50-55
RUAN Wei-hong, DENG Fang-ming, BI Jin-feng, et al. Kinetic study of non-enzymatic browning of peach juice during thermal treatments [J]. Food Science, 2014, 35(4): 50-55
- [5] 刘小玲,张文灿,姜元欣,等.香蕉全果原汁贮藏期间的非酶褐变分析[J].食品科学,2010,31(18):411-415
LIU Xiao-ling, ZHANG Wen-can, JIANG Yuan-xin, et al.

- Non-enzymatic browning of banana whole fruit juice during storage [J]. *Food Science*, 2010, 31(18): 411-415
- [6] Hariklia Vaikousi, Kostas Koutsoumanis, Costas G Biliaderis. Kinetic modelling of non-enzymatic browning of apple juice concentrates differing in water activity under isothermal and dynamic heating conditions [J]. *Food Chemistry*, 2008, 107(2): 785-796
- [7] 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
- [8] 杜丹丹,李建科.Folin-Ciocalt 比色法测定石榴皮多酚含量条件的优化[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2011, 39(5):190-196
- DU Dan-dan, LI Jian-ke. Determination optimization of polyphenols content in pomegranate peel extracts by Folin-Ciocalteu colorimetry [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2011, 39(5): 190-196
- [9] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2009
- CAO Jian-kang, JIANG Wei-bo, ZHAO Yu-mei. Post harvest physiological and biochemical experiment instruction of fruits and vegetables [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2009
- [10] 徐娟娣,刘东红.雪里蕻腌菜腌制过程中主要成分的动态变化研究[J].中国食品学报,2013,13(7):215-221
- XU Juan-di, LIU Dong-hong. Dynamic change of essential components of pickled potherb mustard during fermentation [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2013, 13(7): 215-221
- [11] Cohen E, Birk Y, Mannheim C H, et al. A rapid method to monitor quality of apple juice during thermal processing [J]. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologies*, 1998, 31(7, 8): 612-616
- [12] George A Spanos, Ronald E Wrolstad D A. Heatherbell. Influence of processing and storage on phenolic composition of apple juice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1990, 38(7): 1572-1579
- [13] Ajandouz E H, Desseaux V, Tazi S, et al. Effects of temperature and pH on the kinetics of caramelisation, protein cross-linking and Maillard reactions in aqueous model systems [J]. *Food Chemistry*, 2008, 107(3): 1244-1252