

文章编号:1673-1689(2006)03-0046-06

# 美拉德反应产物抑制冷冻甘薯片的褐变

李淑媛, 张 敏

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

**摘 要:** 氨基酸与葡萄糖形成的美拉德反应产物(MRPs)对甘薯中的多酚氧化酶(PPO)以及冷冻甘薯片的褐变均具有一定的抑制作用。氨基酸与葡萄糖在不同的反应条件下(氨基酸的种类、pH 值、反应时间以及氨基酸与葡萄糖之比)所形成的美拉德反应产物对甘薯中多酚氧化酶的抑制作用不同。其最佳的美拉德反应条件是反应 pH 值为 3.0, L-半胱氨酸, 氨基酸与葡萄糖的质量比为 1:2, 反应时间为 5 h。

**关键词:** 美拉德反应产物; 多酚氧化酶; 冷冻甘薯片; 褐变

中图分类号: S 531

文献标识码: A

## Maillard Reaction Products (MRPs) Inhibit Browning of Frozen Sweet Potato Slices

LI Shu-yuan, ZHANG Min

(School of Food Science and Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** Maillard reaction products(MRPs) have effect on the polyphenol oxidase(PPO) and the browning of frozen sweet potato slices. MRPs, synthesized under different conditions including heating time, type of amino acids, pH, amino acid and glucose concentrations various, showed different effects on PPO and on browning of frozen sweet potato slices. The optimum condition is pH 3.0, L-cysteine, 1/2 and 5 hours.

**Key words:** maillard reaction products; polyphenol oxidase; frozen sweet potato slices; browning

甘薯 (*Ipomoea batatas*) 是中国重要的粮食作物, 随着食品科技的不断发展, 相应地开发出了许多甘薯食品。但是, 在甘薯食品的加工过程中, 由于甘薯的褐变作用而导致其加工的食品色泽差、质量低, 从而降低了产品的实际开发应用价值。甘薯的褐变主要是由其所含的多酚氧化酶(PPO)所引起的。多酚氧化酶能催化甘薯中的内源性多酚物质氧化生成黑色素, 从而影响加工品的色泽<sup>[1]</sup>。

目前, 控制甘薯褐变的方法主要是利用护色剂

如抗坏血酸、柠檬酸、亚硫酸盐、L-半胱氨酸等来抑制甘薯中的多酚氧化酶或是分解由多酚氧化酶形成黑色物质, 从而防止甘薯在加工过程中发生褐变。众多护色剂中, L-半胱氨酸的护色效果最好, 但用 L-半胱氨酸护色成本较高, 为了降低成本还需寻找更实用的护色方法。

美拉德反应(Maillard Reaction)是食品中的氨基化合物(胺、氨基酸、肽和蛋白质)和羰基化合物(糖类)在食品加工和贮藏过程中自然发生的反应。

收稿日期: 2005-01-14; 修回日期: 2005-03-12.

基金项目: 江苏省农业科技攻关项目(BE2002320).

作者简介: 李淑媛(1979-), 女, 江西万载人, 农产品加工与贮藏硕士研究生。

从营养角度考虑,由于发生使食品中的有效成分如氨基酸类和糖类有所损失以及引起食品的褐变等,使食品的营养价值部分降低。但是,在生产类黑精——美拉德反应产物(MRPs)的同时,有一系列的美拉德反应中间体——还原酮类物质及杂环类化合物生成,这类物质具有抗氧化的功能<sup>[2]</sup>。

美拉德反应产物也是一类很好的抑制多酚氧化酶防止果蔬褐变的抑制剂。一般认为,抑制作用与MRPs的性质及结构有关,主要的MRPs是美拉德反应的中间体Amadori重排产物,这类氨基还原酮物质具有螯合、还原和消除氧的特性,还可以螯合Fe、Zn和Cu,具有很好的抗氧化特性,可抑制酶褐变,但来源不同表现不同。来自缬氨酸、谷氨酸与糖反应的MRPs不能抑制多酚氧化酶(PPO)的活性,反而能加剧PPO的作用,但精氨酸、半胱氨酸、组氨酸、赖氨酸与糖的MRPs具有很强的抑制作用。

作者主要讨论利用精氨酸、半胱氨酸、组氨酸、赖氨酸与葡萄糖发生的美拉德反应产物来抑制冷冻甘薯片的褐变。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和仪器

甘薯:产地为江苏徐州,新鲜、表皮无霉、粗细均匀、无病虫害、个体完整,品种为脱毒徐薯18号。

丙酮:分析纯;精氨酸:生化试剂;组氨酸:生化试剂;L-半胱氨酸:生化试剂;赖氨酸:生化试剂;葡萄糖:分析纯;邻苯二酚:分析纯。

组织捣碎机:DS-1,上海标本模型厂制造,冰箱:BCD-205UT,青岛海尔股份有限公司产品;WSC-S测色色差计:上海精密科学仪器有限公司产品。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 甘薯中多酚氧化酶的提取(丙酮粉法)** 称取预先冷冻好的红薯100g与-26℃的丙酮400mL混合,置于高速组织捣碎机中捣碎,然后迅速进行抽滤,离心,得到的上清液即为多酚氧化酶的粗酶液<sup>[3]</sup>。制得的粗酶液保存在4℃冰箱中冷藏待用。

**1.2.2 不同美拉德反应产物的制备** 利用不同的氨基酸(精氨酸、组氨酸、L-半胱氨酸和赖氨酸)与葡萄糖,在不同的pH值(3.0、5.0、7.0、9.0、11.0),不同的反应时间(1、3、5、7h),不同的氨基酸与葡萄糖质量比值(1:2,1:1,2:1),相同的温度(90℃)下进行反应,从而得到不同的美拉德反应产物<sup>[4]</sup>。

**1.2.3 美拉德反应产物对甘薯中多酚氧化酶的抑制作用** 吸取0.5mL不同反应条件的美拉德反应产物,0.5mL的粗酶液和0.5mL底物(0.015mol/L的邻苯二酚溶液)于预先装有4.5mL pH值为6.5的磷酸二氢钠和磷酸氢二钠缓冲液的试管中,充分反应(约10h)后,用测色色差仪进行色差的测定。因为美拉德反应产物本身具有颜色,因此本试验结果以 $\Delta E$ 表示,色差 $\Delta E$ 是样品与对照样之间色差值的差异,其计算公式为:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$$

式中: $L$ 、 $a$ 和 $b$ 是处理样品的色差 $L$ 、 $a$ 和 $b$ 值, $L_0$ 、 $a_0$ 和 $b_0$ 值分别为对照样的色差 $L$ 、 $a$ 和 $b$ 值。

此处的对照样指不加粗酶液只加美拉德反应产物以及底物的酶反应液,此处 $\Delta E$ 越小,处理样品与对照样色泽的差异越小,由多酚氧化酶引起的褐变就越少,说明美拉德反应产物的抑制效果越好。

**1.2.4 美拉德反应产物对冷冻甘薯片褐变的抑制作用** 冷冻甘薯片的工艺流程:鲜甘薯切片(3mm左右)→漂烫(沸水漂烫15s)→冷却护色→装盘→冷冻。浸泡护色方法:先将美拉德反应液稀释一定的倍数后配制成美拉德反应产物稀释液,将漂烫好的甘薯片放入美拉德反应产物稀释液中进行浸泡(常温,时间为30min)。浸泡后再装入塑料盒中进行冷冻贮藏,14d后进行指标测试。

**1.2.5 冷冻甘薯片指标的测定方法** 采用WSC-S测色色差计来进行冷冻甘薯片颜色的测定,色差 $L$ 值是用来表示亮度的一个指标, $L$ 值越大,表示样品越亮,也即褐变越小;相反, $L$ 值越小,表示样品颜色越暗,也即褐变越严重。冷冻甘薯片中维生素C的测定采用2,6-二氯靛酚法<sup>[5]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同制备时间的美拉德反应产物对多酚氧化酶的影响

美拉德反应产物的制备条件:加热温度为90℃,pH值为5.0,时间为1、3、5、6、7h。氨基酸的浓度为0.5mol/L,葡萄糖的浓度为0.5mol/L。

操作步骤:分别吸取等体积氨基酸溶液和葡萄糖溶液置于试管中,用质量分数1%的磷酸溶液调节pH值,然后将试管放入温度为90℃左右的恒温水浴锅中进行恒温。每隔一定的时间拿出相应的试管,用冰水冷却至室温,然后测定其褐变强度。

美拉德反应产物褐变强度的测定方法:将美拉德反应液稀释100倍后在420nm处测定其吸光值。

**2.1.1 不同制备时间的美拉德反应产物的褐变强度** 图1是4种不同的氨基酸与葡萄糖反应不同的时间所得到的美拉德反应产物的褐变强度。从图中可以看出,同一时间赖氨酸的褐变程度最大,其次是组氨酸和精氨酸,褐变程度最小的L-半胱氨酸,且随着时间的延长,褐变程度有所加剧。

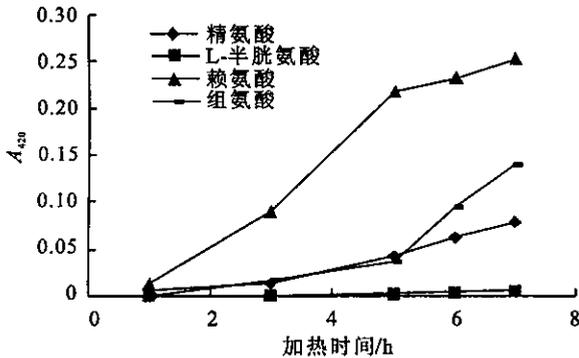


图1 不同制备时间的美拉德反应产物的褐变强度

Fig. 1 The color intensity of MRP synthesized from various solution of amino acid and glucose heated for different hours

**2.1.2 不同制备时间的美拉德反应产物对甘薯中多酚氧化酶的影响** 样品组成: 4.5 mL pH 值为6.5的0.05 mol/L磷酸盐缓冲液, 0.5 mL酶提取液, 0.5 mL美拉德反应产物以及0.5 mL底物(0.015 mol/L的邻苯二酚溶液)。溶液在25℃下进行反应, 大约10 h后进行其色差的测定。

图2是4种氨基酸与葡萄糖反应不同的时间得到的美拉德反应产物对甘薯中多酚氧化酶的抑制作用。图中的色差 $\Delta E$ 是指加入美拉德反应产物抑制剂后,粗酶液与底物邻苯二酚反应液的色差与对照即不加酶液的色差 $\Delta E$ 。以此值的大小来反映美拉德反应产物对多酚氧化酶的抑制作用。从图2中可以看出,各种氨基酸对应的样品其 $\Delta E$ 值均是随着加热时间的延长而降低,这说明,加热时间越长,美拉德反应产物对多酚氧化酶的抑制作用越强,但由图1可知,加热时间越长美拉德反应产物本身的颜色加深,因此也不能无限延长。另外从图2中还可以看出,4种氨基酸中属L-半胱氨酸效果最好,其次是赖氨酸,精氨酸和组氨酸效果差不多。

**2.2 不同制备 pH 值的美拉德反应产物对多酚氧化酶的影响**

美拉德反应产物的制备条件: 反应温度90℃, 时间5 h, 反应物的浓度同上, pH 值分别为: 3.0、5.0、7.0、9.0、11.0。

操作方法: 分别吸取等体积的氨基酸溶液和葡

萄糖溶液, 混合后用1 mol/L的磷酸溶液和0.1 mol/L氢氧化钠溶液调节到不同的pH值, 然后分别吸取一定量的溶液放入试管中进行反应。

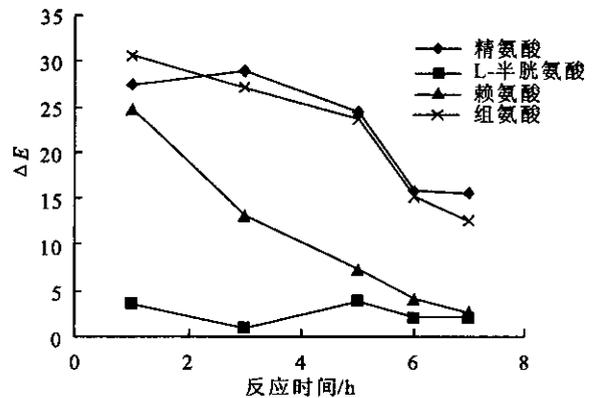


图2 不同制备时间的美拉德反应产物对多酚氧化酶的影响

Fig. 2 The effect of MRPs synthesized from various solution heated for different hours on PPO activity

**2.2.1 氨基酸在不同制备 pH 值的美拉德反应产物的褐变强度** 图3是4种氨基酸在不同制备pH值的美拉德反应产物的褐变强度。从图中可以看出,美拉德反应产物的吸光度随着制备pH值的增加而迅速增大,尤其是在pH 7.0以上,说明用来抑制多酚氧化酶褐变的美拉德反应产物其反应pH值应在酸性条件下比较好。另外,从图中还可以看出,L-半胱氨酸和组氨酸的褐变强度普遍比精氨酸和赖氨酸低。

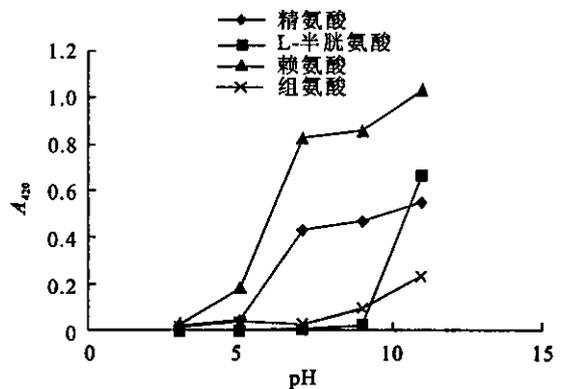


图3 不同制备 pH 值的美拉德反应产物的褐变强度

Fig. 3 The color intensity of MRP synthesized from various solutions at different pH

**2.2.2 不同反应 pH 值的美拉德反应产物对甘薯中多酚氧化酶的影响** 操作条件同2.1.2。结果如图4所示。

从图中可以看出,随着制备pH值的不断增加,样品与对照样的色差 $\Delta E$ 值迅速降低,说明美拉德

反应产物的抗氧化能力增加,即抑制多酚氧化酶的能力加强,当  $pH > 7.0$  时,  $\Delta E$  值变化就不明显,由图 3 可知,当  $pH > 5.0$  时,美拉德反应产物的褐变强度迅速增加,因此反应  $pH$  值应选择在 5.0 以下。

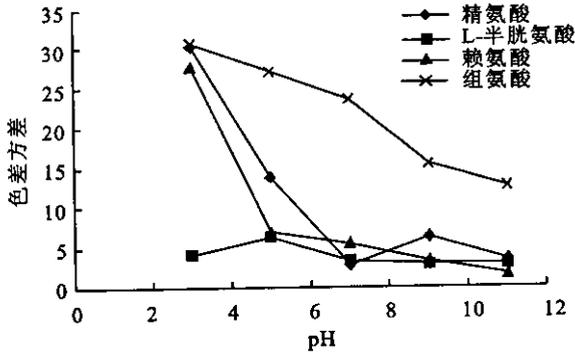


图 4 不同制备 pH 值的美拉德反应产物对多酚氧化酶的影响

Fig. 4 The effect of MRPs synthesized from various solutions at different pH on PPO activity

2.3 美拉德反应产物制备条件优化

2.3.1 正交试验设计 根据前面结果确定进行正交试验的因素和各因素的水平。虽然赖氨酸对多酚氧化酶的抑制作用较强,但由于其颜色太深,使用受到限制,所以氨基酸的种类就选择 L-半胱氨酸、精氨酸和组氨酸 3 种。

表 1 正交试验因素水平表<sup>[6]</sup>

Tab. 1 Factors and levers of orthogonal experiment

水平	因素			
	反应 pH 值	氨基酸种类	$m(\text{氨基酸}) : m(\text{葡萄糖})$	反应时间/h
1	3.0	L-半胱氨酸	1 : 2	1
2	5.0	精氨酸	1 : 1	3
3	7.0	组氨酸	2 : 1	5

表 2 正交表  $L_9(3^4)$

Tab. 2 Orthogonal table  $L_9(3^4)$

实验号	1	2	3	4
1	1(3.0)	1(L-半胱氨酸)	1(1 : 2)	1(1 h)
2	1	2(精氨酸)	2(1 : 1)	2(3 h)
3	1	3(组氨酸)	3(2 : 1)	3(5 h)
4	2(5.0)	1	2	3
5	2	2	3	1

续表 2 万方数据

实验号	1	2	3	4
6	2	3	1	2
7	3(7.0)	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

2.3.2 正交试验美拉德反应产物褐变强度的直观分析 图 5 是正交试验 9 个样品的美拉德反应产物的褐变强度的直观分析。从图中可以看出,前面 7 个样品的褐变强度都差不多,而 8 号和 9 号的褐变强度远高于其他样品。

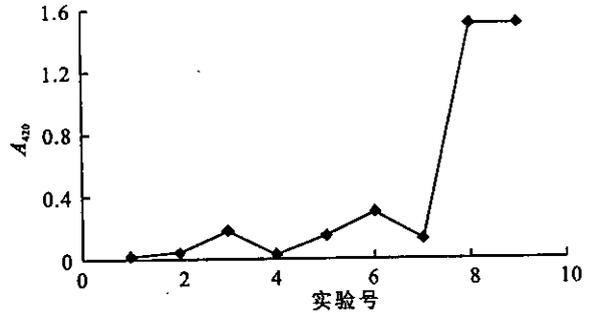


图 5 美拉德反应产物的褐变强度

Fig. 5 The color intensity of MRP

2.3.3 正交试验美拉德反应产物对多酚氧化酶的影响 图 6 是正交试验 9 个样品的美拉德反应产物对甘薯多酚氧化酶的抑制作用。从图中可以看出,1 号、4 号和 7 号的色差  $\Delta E$  最小,且 7 号  $\Delta E$  值略比 1 号和 4 号的小,说明 7 号对多酚氧化酶的抑制作用最强。2 号  $\Delta E$  值最大,说明其对多酚氧化酶的抑制作用最弱。

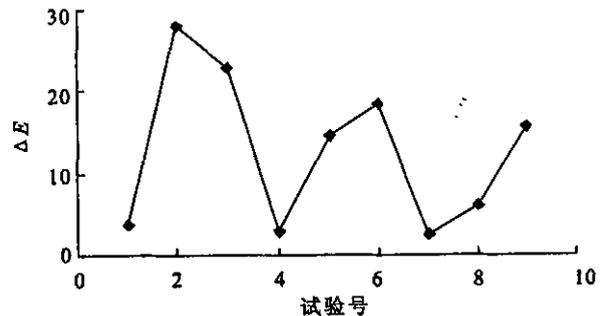


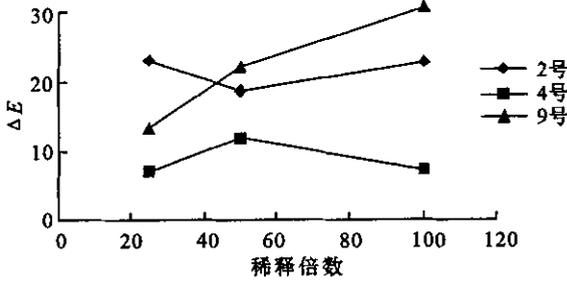
图 6 美拉德反应产物对多酚氧化酶的影响

Fig. 6 The effect of MRPs on PPO activity

2.4 正交试验美拉德反应产物对甘薯褐变的影响

2.4.1 护色液组成的确定 以正交实验的 2 号、4 号和 9 号进行试验。把美拉德反应产物稀释成 100 倍、50 倍和 25 倍进行护色。不同稀释倍数的美拉德反应产物对冷冻甘薯片褐变的抑制效果如图 7 所示。从图中可以看出,稀释倍数越低,即护色液浓度越高,护色效果越好,但 2 号精氨酸与葡萄糖

的美拉德反应产物在稀释倍数为 50 时效果最好。根据总体效果,选择稀释 25 倍作为进一步实验的依据。



图中的  $\Delta E$  值是指用美拉德反应产物护色后的冷冻甘薯片的色差与没经过护色、冷冻只经过热烫的新鲜甘薯片色差的方差,  $\Delta E$  值越小说明样品越接近于新鲜甘薯片, 护色效果越明显。

图 7 不同稀释倍数的护色液对甘薯褐变的抑制作用

Fig. 7 The effect of MRPs of different diluted times on PPO activity

2.4.2 美拉德反应产物对冷冻甘薯褐变的抑制 把样品从冷冻柜中取出,然后在 25 °C 下进行解冻。解冻 30 min 后各样品的色差与鲜样的  $\Delta E$  值如图 8 所示,解冻 150 min 后各样品的色差与鲜样的  $\Delta E$  值如图 9 所示,图中的  $\Delta E$  值的定义与图 7 相同。

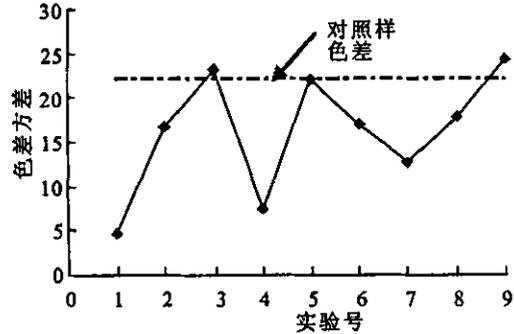


图 8 解冻 30 min 后样品与鲜样的色差方差

Fig. 8 Color variance of samples after thawing 30 mins

从图 8 中可以看出,1 号、4 号和 7 号样品的  $\Delta E$  值明显低于其他样品的  $\Delta E$  值,说明其护色效果明显好于其它样品。另外 3 号、5 号和 9 号其  $\Delta E$  值接近甚至还高于对照样的  $\Delta E$  值,说明其效果还不如不进行护色的样品颜色好。

从图 9 中可看出,解冻 150 min 后,1 号、4 号和 7 号样品的  $\Delta E$  值明显小于其他样品的  $\Delta E$  值,再次说明 1 号、4 号和 7 号样品所用的护色液的效果最好,另外 9 号样品的  $\Delta E$  值还与对照样的  $\Delta E$  值相似,说明 9 号样品的护色液的护色效果最差,其次是 5 号样品。而 2 号、3 号、6 号和 8 号效果差不多。结合图 8 和图 9,还可以得出:解冻时间长,更能体现出美拉德反应产物的护色效果。

万方数据

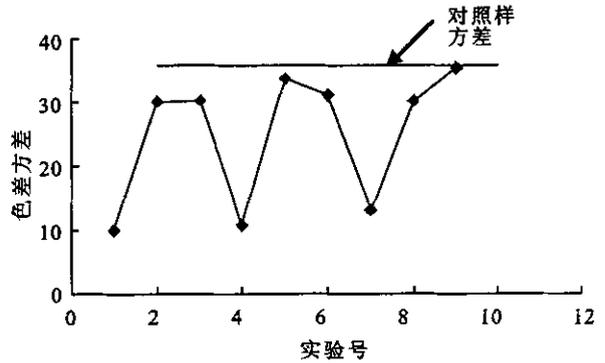


图 9 解冻 150 min 后样品与鲜样的色差方差

Fig. 9 Color variance of samples after thawing 150 mins

2.4.3 正交实验美拉德反应产物对冷冻甘薯片维生素 C 的影响 维生素 C 是甘薯中最不稳定的营养成分,因此选择维生素 C 来确定美拉德反应产物对甘薯营养成分的影响。图 10 是美拉德反应产物对冷冻甘薯片维生素 C 质量分数的影响。图中对照样 1 是指经过热处理而不进行护色和冷冻的甘薯片的维生素 C 质量分数,对照样 2 是指不经过护色液处理,其他操作跟样品相同的甘薯片。从图中可以看出,所有样品的维生素 C 质量分数都高于对照样 2,这说明美拉德反应产物对维生素 C 都有保护作用,只是作用大小不一样。其中 1 号、4 号和 7 号的维生素 C 质量分数较高,而 5 号维生素 C 质量分数最低,接近于对照样 2 的维生素 C 质量分数,这说明 1 号、4 号和 7 号美拉德反应产物对维生素 C 的保护作用最好。

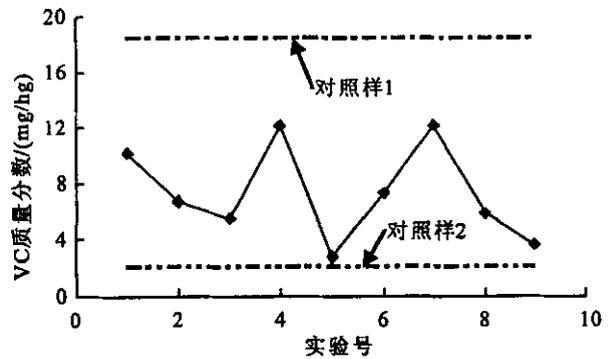


图 10 美拉德反应产物对甘薯中维生素 C 的影响

Fig. 10 The effect of MRPs on the ascorbic acid content of frozen sweet potato

2.4.4 正交试验结果的极差分析 表 3 是不同制备条件的美拉德反应产物对冷冻甘薯片护色效果及对维生素 C 质量分数影响的极差分析表。从表中可以看出,影响冷冻甘薯片护色效果的主要因素是氨基酸的种类( $R_1$ ),其次是制备 pH 值和制备温度,而氨基酸与葡萄糖之比对护色效果的影响不是很大。另外从均值可以看出( $K_{11}$ ,  $K_{12}$  和  $K_{13}$ ),就护色效果而言, pH 值为 3.0,氨基酸的种类为 L-半胱

氨酸,氨基酸与葡萄糖质量比值为1:2,时间为5 h是护色效果最好的美拉德反应产物制备条件。

从表中还可以看出,影响维生素C质量分数的主要因素是氨基酸的种类( $R_2$ ),其次是制备温度,而氨基酸与葡萄糖的质量比值和制备pH值对维生

素C的影响不是很大。另外从均值( $K_{21}$ ,  $K_{22}$ 和 $K_{23}$ )可以看出,就保护维生素C而言,pH值为3.0,L-半胱氨酸,氨基酸与葡萄糖的质量比为1:2,时间为3 h是保护维生素C的最佳的美拉德反应产物的制备条件。

表3 美拉德的反应产物对冷冻甘薯片护色效果极差分析表

Tab. 3 Range analysis of the effect of MRPs on color of the frozen sweet potato

试验号	反应 pH 值 A	氨基酸种类 B	氨基酸与葡萄糖的质量比 C	反应时间 D	$\Delta E$	VC 质量分数/ (mg/hg)
1	1(3.0)	1(L-半胱氨酸)	1(1:2)	1(1 h)	9.92	10.19
2	1	2(精氨酸)	2(1:1)	2(3 h)	30.12	6.79
3	1	3(组氨酸)	3(2:1)	3(5 h)	30.22	5.52
4	2(5.0)	1	2	3	10.76	12.12
5	2	2	3	1	33.67	2.88
6	2	3	1	2	31.18	7.32
7	3(7.0)	1	3	2	13.24	12.16
8	3	2	1	3	30.29	5.88
9	3	3	2	1	35.22	3.67
$K_{11}$	23.420	11.307	23.797	26.270		
$K_{12}$	25.203	31.360	25.367	24.847		
$K_{13}$	26.250	32.207	25.710	23.757		
极差 $R_1$	2.830	20.900	1.913	2.513		
$K_{21}$	7.500	11.490	7.797	5.580		
$K_{22}$	7.44	5.183	7.527	8.757		
$K_{23}$	7.237	5.503	6.853	7.840		
极差 $R_2$	0.263	6.307	0.944	3.177		

### 3 结论

美拉德反应产物对甘薯中对多酚氧化酶及冷冻甘薯片都具有抑制作用。氨基酸与葡萄糖在不同的反应条件下(氨基酸的种类、反应pH值、反应时间以及氨基酸与葡萄糖质量比)所形成的美拉德反应产物对甘薯中多酚氧化酶的抑制作用不同,其中L-半胱氨酸对甘薯中多酚氧化酶的抑制作用最

强,对抑制甘薯片在冷冻过程中的褐变效果也最明显。除此之外,L-半胱氨酸与葡萄糖进行的美拉德反应产物对冷冻甘薯片中维生素C具有很强的保护作用。虽然其他氨基酸(如精氨酸和赖氨酸)与葡萄糖形成的美拉德反应产物对多酚氧化酶以及维生素C的降解也具有一定的抑制作用,但由于其本身存在着很深的颜色,因而其对冷冻甘薯片褐变的抑制效果就受到限制。

### 参考文献:

- [1] 杜连起. 甘薯加工中控制褐变方法的研究[J]. 河北职业技术师范学院学报, 2000, 14(3): 21-22.
- [2] 王延平, 赵谋明, 马志玲. 美拉德反应产物研究进展[J]. 食品科学, 1999, (2): 15-19.
- [3] 王璋. 食品酶学试验讲义[M]. 无锡: 无锡轻工大学, 2000.
- [4] Tan B K, Harris N D. Maillard reaction products inhibit apple polyphenoloxidase [J]. *Food Chemistry*, 1995, 53: 267-273.
- [5] 黄晓钰, 刘郊涓. 食品化学综合实验[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2001.
- [6] 吴有炜. 试验设计与数据处理[M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2002.

(责任编辑: 朱明)