

文章编号 :1009-038X(2001)04-0440-05

# 绿色蔬菜加工中叶绿素金属离子 络合物的研究进展

张 敏 , 陈德慰

(江南大学食品学院, 江苏无锡 214036)

**摘 要 :**概述了绿色蔬菜在加工、储藏过程中叶绿素降解的可能机理和途径,探讨了叶绿素及其降解产物本身、金属离子及其浓度、叶绿素酶、pH值、加热温度和时间、表面活性剂等因素,对形成叶绿素金属离子络合物的影响。

**关键词 :**蔬菜 ;叶绿素 ;叶绿素金属络合物 ;降解

中图分类号 :TS225.5

文献标识码 :A

## The Study Progress of Metallo-Chlorophyll Complexes in the Processed Green Vegetables

ZHANG Min , CHEN De-wei

(school of food science & technology , Southern Yangze university , Wuxi 214036 ,China)

**Abstract :** The possible mechanism and process of chlorophyll degradation in green vegetable during the processing and storage were summarized. The factors (chlorophyll derivatives , metal ions and concentration , chlorophyllase , pH value , heated temperature and time , detergents ) which affect the formation of metallo-chlorophyll complexes were discussed in the paper.

**Key words :** vegetable ; chlorophyll ; metallo-chlorophyll complex ; derivative

色泽、风味和质构是食品的三个主要感官指标,其中色泽具有特别重要的作用,因为对于绝大多数消费者,如果他们对某食品的色泽不满意,就失去了进一步了解的欲望,不会再进一步评价其它指标。绿色蔬菜的色泽是消费者判断其新鲜度、营养和卫生的最重要指标,因此,绿色蔬菜色泽的保护具有重要的意义。

绿色蔬菜的绿色来自叶绿素,而叶绿素对酸、热、光和氧化等很敏感,在加工和储藏过程中极易褪色或变色,导致绿色蔬菜制品由鲜绿色变成橄榄

色、黄褐色、甚至无色,严重影响绿色蔬菜制品的质量。绿色蔬菜的保绿、护绿一直是食品科学家的研究重点。自从20世纪40年代发现金属离子对绿色蔬菜护绿有重要作用后,叶绿素金属离子络合物的研究就一直是绿色蔬菜类食品加工研究中的热点之一。

本文较详细地介绍了叶绿素降解的可能机理和途径,以及酶、金属离子及其浓度、pH值、加热温度和时间、表面活性剂等因素,对形成叶绿素金属离子络合物的影响。

收稿日期 2001-05-22; 修订日期 2001-06-22.

作者简介:张敏(1962-),男,浙江平湖人,工学博士,教授,博士生导师。

万方数据

# 1 绿色蔬菜在加工、储藏过程中叶绿素降解的可能机理和途径

绿色蔬菜在加工、储藏过程中,叶绿素在酶、

酸、加热等条件下,经脱植醇、脱镁和脱甲氧甲酰基等,生成焦脱镁脱植醇叶绿素,最后其分子中的卟啉环在光、氧化等条件下,降解成各种无色分子物质,其可能的降解途径<sup>[1]</sup>如图1所示:

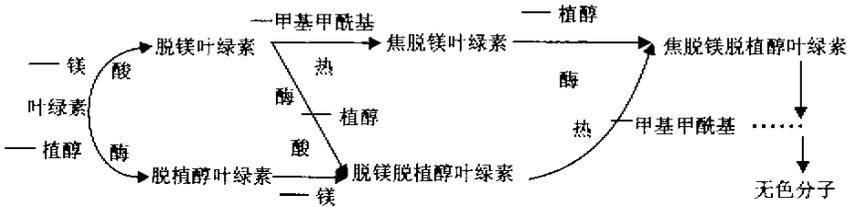


图1 绿色蔬菜在加工、储藏过程中叶绿素降解的可能途径

Fig.1 The possible mechanism of chlorophyll degradation in green vegetables processing & storage

叶绿素及脱镁叶绿素溶于苯、醚和丙酮,不溶于水,而叶绿素分子在叶绿素酶的作用下,水解脱去疏水性植醇侧链后,亲水性增加,溶于水而不溶于油。

在叶绿素的降解产物中,脱植醇叶绿素和焦脱植醇叶绿素的光谱性质与叶绿素的基本相同,颜色也为绿色,而脱镁脱植醇叶绿素和焦脱镁脱植醇叶绿素的光谱性质与脱镁叶绿素的基本相同,颜色也为黄褐色<sup>[2]</sup>。但如果叶绿素降解产物分子中的卟啉环中的氢离子被锌或铜离子取代后,色泽可以从黄褐色恢复到绿色。

在黄瓜腌制过程中<sup>[2]</sup>,当发酵液的pH达6时,叶绿素分子开始脱镁;当pH达5.1时,叶绿素几乎完全损失。同时叶绿素分子在叶绿素酶的作用下<sup>[3]</sup>,水解脱去植醇,最后当黄瓜腌制成熟后,叶绿素主要降解为脱镁脱植醇叶绿素(质量分数79%)和脱镁叶绿素(质量分数21%),未能检测出叶绿素的存在。在盐水腌制橄榄的实验中<sup>[4]</sup>,也得出类似的结论:在绿色蔬菜腌制过程中,叶绿素在酸和酶的作用下,主要降解为脱镁脱植醇叶绿素和脱镁叶绿素,而且其总量基本保持不变,没有降解成其它无色物质。

在绿色蔬菜的加热杀菌过程中<sup>[5]</sup>,随着加热温度和时间的增加,pH不断下降,叶绿素脱镁生成脱镁叶绿素,而脱镁叶绿素由于受热脱去甲氧甲酰基生成焦脱镁叶绿素,脱镁叶绿素含量先增加后下降,而焦脱镁叶绿素的含量不断上升。

## 2 影响叶绿素金属离子络合物形成的因素

影响叶绿素金属离子络合物形成的主要有叶绿素及其衍生物、金属离子及其浓度、叶绿素酶、pH值、表面活性剂、加热温度和时间、蔬菜本身的叶绿

素含量及其它组分(如蛋白质、果胶酸等)。以下分别介绍各因素对叶绿素金属离子络合物形成的影响。

### 2.1 叶绿素及其降解产物

在普通的绿色高等植物中,叶绿素a与叶绿素b的比例约为3:1。尽管叶绿素a、b的结构很相似,仅是在卟啉环的3号位上有所不同,叶绿素a为甲基,而叶绿素b为醛基,但此差异却导致两者分子中的卟啉环的电负性有较大的差异,由于醛基的吸电子作用,叶绿素b分子中的卟啉环的电负性比叶绿素a的低,其吸附金属离子的能力差。在Linda的实验中<sup>[6]</sup>,形成的叶绿素a金属络合物的量是叶绿素b金属络合物量的20倍。

叶绿素金属离子络合物的形成不仅与叶绿素分子的电负性有关,而且与叶绿素分子的空间立体结构有关。叶绿素分子中的植醇侧链具有很强的空间阻碍作用,当叶绿素在叶绿素酶的作用下,水解脱去植醇生成脱植醇叶绿素,其与铜离子反应生成脱植醇叶绿素铜络合物的速度是生成叶绿素铜络合物的4倍<sup>[6]</sup>。

### 2.2 金属离子及其浓度

在酸性条件下,叶绿素分子卟啉环中的镁离子被氢离子取代,生成黄褐色的脱镁叶绿素,但脱镁叶绿素分子中的氢离子被铜、锌等金属离子取代生成相应的叶绿素金属离子络合物后,能恢复为绿色,而且对酸、热、光和氧化等的稳定性也提高。

尽管叶绿素铜络合物的色泽及其稳定性比锌络合物的好,但由于铜离子的毒害性较大,各国都对其含量严格控制。如我国GB15199—94规定:蔬菜中铜离子质量分数不得高于10 mg/kg; GB11671—89规定果蔬类罐头食品的铜离子质量分数不得高于5 mg/kg,而FDA不允许采用铜离子对蔬菜护色。因此其应用有较大的局限性,通常只

是用于制备叶绿素铜钠盐色素后,再将色素添加到食品体系中。而锌是人体必需的微量元素,其强化食品中锌质量分数的允许量较高。如 GB13106—91 规定,蔬菜中锌质量分数不高于 20 mg/kg,豆类及制品中则不高于 100 mg/kg;FDA 于 1986 年准许蔬菜类罐头成品中锌质量分数不超过 75 mg/kg。因此,在绿色蔬菜加工过程中,采用锌离子取代叶绿素分子中的镁离子,形成较稳定的叶绿素锌络合物,以保持产品原有的色泽,具有重要的意义。

铜离子和锌离子都可以取代叶绿素分子中的镁离子,但两者所要求的最低金属离子浓度和取代反应速度差别较大。在 Schanderl 的回流加热豌豆泥实验中<sup>[7]</sup>,铜离子质量分数为 1~2 mg/kg 时就可以发生取代反应,而锌离子则需要质量分数为 25 mg/kg 才能生成叶绿素锌络合物。在 Jones 的报道中<sup>[8]</sup>,铜离子取代叶绿素分子中的镁离子的速度是锌离子取代的 30 倍。如果反应体系同时存在铜离子和锌离子,则生成的叶绿素铜络合物占绝对优势。

在 Luke 的实验研究中<sup>[8]</sup>,分别在豌豆泥中添加 75、150、300 mg/kg 的锌离子,然后在 pH 6.0、121 °C 下加热 60 min,生成的叶绿素锌络合物分别为 3.0、10.4 和 27.8 nmol/g。由此可见,随着体系锌离子浓度的加倍,叶绿素锌络合物的生成量约增加 3 倍。

保持反应体系锌离子浓度不变,而提高植物细胞组织内的锌离子浓度,生成的叶绿素锌络合物量将上升。如在 Canjura 的研究中<sup>[5]</sup>,作者采用先将豌豆泥在 83 °C 下漂烫 5 min 再超高温短时加热,其生成的叶绿素锌络合物量比未经漂烫处理的多。

### 2.3 叶绿素酶

绿色蔬菜中的叶绿素酶在 65~82 °C 的热水漂烫作用下会被激活,它将叶绿素或脱镁叶绿素分子中的植醇水解,产生植醇和相应的脱植醇叶绿素、脱镁脱植醇叶绿素。由于脱植醇叶绿素是水溶性的,所以绿色蔬菜在微碱性条件下经低温热烫处理后,色泽会变得更鲜绿。但由于脱植醇叶绿素失去了细胞膜的保护作用,其卟啉环中的镁离子更容易被氢离子取代,生成黄褐色的脱镁脱植醇叶绿素。

在 Jones 的研究中<sup>[3]</sup>新鲜黄瓜未经热烫处理,其叶绿素质量分数占 81%,脱镁叶绿素质量分数占 19%,经 82 °C、4 min 热烫后,叶绿素质量分数仅占 26%,脱镁叶绿素质量分数占 9%,而脱植醇叶绿素质量分数占 40%,脱镁脱植醇叶绿素质量分数占 25%。在绿色蔬菜腌制过程中,尽管叶绿素酶的活

性不高,但经过长时间的作用后,经低温热烫处理的与未经低温漂烫处理的黄瓜的叶绿素降解产物的含量基本相同。

叶绿素经叶绿素酶的作用后,消除了植醇侧链的空间阻碍作用,有利于形成相应的叶绿素金属络合物。

### 2.4 pH 值

在 Luke 的研究中<sup>[9]</sup>,作者采用锌离子质量分数为 75 mg/kg,121 °C 下加热 90 min,得出不同 pH (4.0、5.5、7.0、8.5、10.0)下豌豆泥中叶绿素锌络合物的含量,分别为 31、140、335、372、350 nmol/g。可以看出,在偏碱性条件下,叶绿素锌络合物的生成量明显高于偏酸性条件下的生成量,这是由于在偏酸性条件下,叶绿素分子的电负性减小,吸附带正电荷的锌离子比较困难;而在偏碱性条件下,叶绿素分子的电负性增大,更容易吸附带正电荷的锌离子;但在较强的碱性条件下,由于产生锌离子沉淀,其有效浓度减小,叶绿素锌络合物的生成量反而下降。

### 2.5 加热温度和时间

焦脱镁叶绿素的耐热性较好,在 pH 6、121 °C 条件下加热 60 min,其含量基本保持不变<sup>[9]</sup>。在含锌离子 300 mg/kg 的豌豆泥罐头加热杀菌过程中,叶绿素质量分数急剧下降,20 min 后就检测不到其存在;脱镁叶绿素含量急剧上升,但 10 min 到最大值(约 85%)后开始缓慢下降;焦脱镁叶绿素质量分数则缓慢上升,30 min 到达最大值(约 45%)后开始缓慢下降,而脱镁叶绿素锌络合物的质量分数先上升再缓慢下降,但一直不高(低于 10%),而焦脱镁叶绿素锌络合物随时间的延长而不断上升,加热 150 min 后其质量分数占总量的 90%。由此可见,随着加热时间的延长,叶绿素先降解成脱镁叶绿素,再降解成焦脱镁叶绿素,最终降解产物主要是焦脱镁叶绿素。如果有锌离子存在,则主要生成焦脱镁叶绿素锌络合物。

在不同的加热温度下,随着温度的升高,叶绿素降解产物的含量变化与加热时间延长时的相似,最终降解产物主要也是焦脱镁叶绿素<sup>[5]</sup>。

### 2.6 表面活性剂

叶绿素的稳定性及其形成金属离子络合物不仅与叶绿素分子的空间立体结构有关,而且与叶绿素分子的电负性有关。同样,改变细胞膜的电负性也将影响叶绿素的稳定性和其金属离子络合物的形成。当细胞膜的电负性降低,即正电性上升,它将阻止氢离子扩散到叶绿素分子中,可增加叶绿素分

子的稳定性,当细胞膜的电负性上升,可吸附铜、锌等带正电的金属离子到细胞膜,从而提高了取代反应的速度.如在 Luke 的研究中<sup>[10]</sup>,作者发现苯甲酸盐、油酸盐和辛酸盐等带负电的表面活性剂可促进叶绿素锌络合物的生成;而己胺、十四烷胺和十六烷三甲胺等带正电的表面活性剂在热烫过程中可防止叶绿素分子脱镁,从而提高叶绿素的稳定性<sup>[11]</sup>.

### 2.7 植物组织中叶绿素含量及其它成分的影响

很明显,植物组织中的叶绿素含量对生成叶绿素锌络合物有重要的影响,叶绿素含量高,即反应体系中底物浓度较高,而在绝大多数采用锌离子护色的实验中,锌离子浓度远远高于叶绿素分子含量.因此叶绿素含量高也就意味着叶绿素锌离子络合物含量的提高.

植物组织中由于含有如蛋白质、氨基酸、草酸、果胶等带负电荷的组分,能与锌离子反应形成络合物,降低反应体系中锌离子的浓度,进而影响叶绿素锌离子络合物的形成<sup>[12]</sup>.在研究铜离子染色橄榄变绿的实验中<sup>[13]</sup>,作者发现橄榄中存在的铜离子仅有一小部分(质量分数低于总量的20%)与叶绿素及其降解产物络合形成叶绿素金属离子络合物.

能防止或减少叶绿素降解的基因突变型蔬菜,可提高细胞膜和叶绿素-蛋白质复合体的稳定性;叶绿素含量高的蔬菜品种,亦可以提高绿色蔬菜制品的品质<sup>[14]</sup>.

## 3 抗氧化剂的保护作用

叶绿素及其降解产物在光氧化、自由基氧化条件下会进一步降解成各种无色的小分子物质. Beatriz<sup>[15]</sup>证实菠菜在冷藏、冻藏、罐头加工储藏过程中,脂肪过氧化水平与叶绿素含量密切相关.在作者先前的研究工作中,证实了绿色蔬菜在干燥过程中的褪色主要是由于自由基引起的<sup>[16]</sup>.在 P. Baardseth

的实验中<sup>[17]</sup>,研究了菠菜在漂烫过程中添加抗氧化剂抗坏血酸基棕榈酸酯,能在菠菜储藏过程中降低脂肪氧化,从而提高叶绿素的保持率.

## 4 展 望

在绿色蔬菜加工中保持蔬菜原有的绿色,对于提高加工蔬菜的品质具有重要的作用.而采用金属离子护色处理形成叶绿素金属离子络合物,可保持或恢复其原有的绿色色泽,但目前采用金属离子护色处理时碰到的最困难的问题是如何解决重金属离子的超标问题.尽管国内已有大量的文献报道采用高浓度的铜或锌离子处理可获得较好的色泽,但很多文献都回避了重金属离子含量超标问题.国外许多文献报道,采用常规的锌离子护色方法,当产品中的锌离子质量分数低于20 mg/kg时,基本无效果;当达到令人满意的绿色效果时,锌离子质量分数都已达到或超过FDA规定的75 mg/kg的限制<sup>[18]</sup>.如:在 Donato<sup>[19]</sup>等人的研究中,采用了较高质量分数的锌离子(高于500 mg/kg),短时间(少于3 min)漂烫处理.绿色蔬菜经罐装杀菌或干燥后,可长期保持其原有色泽,但蔬菜中锌离子质量分数远高于75 mg/kg.因此在国内标准仍允许铜离子护色的情况下,铜锌联合护色应该是解决此问题的一条可行的途径.

另一条可行的途径是采用表面活性剂与锌联合护色,即在形成叶绿素金属离子络合物时,采用适当的表面活性剂以促进叶绿素金属离子络合物的形成,降低蔬菜中残留的金属离子含量,这方面的研究也有一定潜力.如 Theuer 等人<sup>[20]</sup>采用难溶性的硬脂酸等脂肪酸锌盐,以及加强剂脂肪酸等处理绿色蔬菜时,其绿色保护效果远比采用相同浓度的氯化锌处理的效果好,在锌离子质量分数低于75 mg/kg时就可达到较理想的护色效果.

## 参考文献:

- [1] MARTINUS AJS VAN BOEKEL. Kinetic modeling in food science: a case study on chlorophyll degradation in olives[J]. *J Sci Food Agric* 2000, 80: 3~9.
- [2] WHITE R C, JONES I D, ELEANNOR GIBBS. Determination of chlorophylls, chlorophyllides, pheophytins, and pheophorbides in plant material[J]. *J Food Sci*, 1963, 28: 431~436.
- [3] JONES I D, WHITE R C, ELEABBIR GIBBS. Influence of blanching or brining treatments on the formation of chlorophyllides, pheophytins, and pheophorbides in plant material[J]. *J Food Sci*, 1963, 28: 4337~439.
- [4] ISABEL M MINGUES-MOSQUERA, JUAN GARRIDO-FERNANDEZ, BEATRIZ GANDUL-ROJAS. Pigment changes in olives during fermentation and brine storage[J]. *J Agric Food Chem*, 1989, 37: 8~11.
- [5] CANJURA F L, WATKINS R H, SCHWARTZ S J. color improvement and metallo-chlorophyll complexes in continuous flow aseptically processed peas[J]. *J Food Science*, 1999, 64: 987~990.

- [ 6 ] LINDA H TONUCCI , JOACHIM H VON ELBE. Kinetics of the formation of zinc complexes of chlorophyll derivatives[ J ]. **J Agric Food Chem** , 1992 40 :2341~2344.
- [ 7 ] SCHANDERL S H , MARSH G L , Chicherster C O. Color reversion in processed vegetables. I. studies on regreen pea puree [ J ]. **J Food Sci** , 1965 30 :312~3166.
- [ 8 ] JONES I D , WHITE R C , ELEANNOR GIBBS. Experimental formation of zinc and copper complexes of chlorophyll derivatives in vegetable tissue by thermal processing[ J ]. **J Agric Food Chem** , 1977 25 :149~153.
- [ 9 ] LUKE F LABORDE , JOACHIM H VON ELBE. Zinc complex formation in heated vegetable purees[ J ]. **J Agric Food Chem** , 1990 38 :484~487.
- [ 10 ] LUKE F LABORDE , JOACHIM H VON ELBE. Effect of solutes on zinc complex formation in heated green vegetables[ J ]. **J Agric Food Chem** , 1994 42 :1096~1099.
- [ 11 ] DEREK R HAISMAN , MICHAEL W CLARKE. The interfacial factor in the heat-induced conversion of chlorophyll to pheophytin in green leaves[ J ]. **J Sci Food Agric** , 1975 26 :1111~1126.
- [ 12 ] LUKE F LABORDE , JOACHIM H VON ELBE. Chlorophyll degradation and Zinc complex formation with chlorophyll derivatives in heated vegetable[ J ]. **J Agric Food Chem** , 1994 42 :1100~1103.
- [ 13 ] LOURDES GALLARDO-GUERRERO , BEATRIZ GANDUL-ROJAS , ISABEL M Minguez-MOSQUERA. Chlorophyll pigment composition in table olives with green staining alteration[ J ]. **J food protection** , 1999 62 :1167~1171.
- [ 14 ] 蔡同一. 绿色蔬菜在贮藏、加工过程中绿色损失的机理、途径及其控制[ J ]. **食品工业科技** , 1999( 5 ) :19~21.
- [ 15 ] BEATRIZ LOPEZ-AYERRA , M ANTONIA MURCIA , FRANCISCO GARCIA-CARMONA. Lipid peroxidation and chlorophyll level in spinach during refrigerated storage and after industrial processing[ J ]. **J food Chem** , 1998 61 :113~118.
- [ 16 ] ZHANG MIN , DING XIAO-LIN. Pigmental improvement of green vegetables by controlling free radicals during heat dehydration[ J ]. **Drying Technology** , 1998 16 :333~339.
- [ 17 ] BAARDSETH P , VON ELBE J H. Effect of ethylene , free fatty acid , and some enzyme systems on chlorophyll degradation[ J ]. **J Food Sci** , 1989 54 :1361~1363.
- [ 18 ] LABORDE. Method for improving the color of containerized green vegetables[ P ]. United States Patent : 5482727 , 1996-01-09.
- [ 19 ] DONATO. High-concentration-short-time zinc bleach for color and texture improvement of thermally processed green vegetables [ P ]. United States Patent : 6004601 , 1999-12-21.
- [ 20 ] THEUER , RICHARD C. Green color of processed vegetables containing a water-insoluble zinc salt of a fatty acid and methods therefor [ P ]. United States Patent : 6210729 , 2001-04-03.