

超高压加工过程中花色苷降解动力学研究

张海宁, 王亚超, 马永昆*, William Tchabo, 叶华

(江苏大学 食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013)

摘要: 为了了解超高压加工过程中花色苷的稳定性,以蓝莓汁和模拟果汁为对象,研究两种体系在 200、400 和 600 MPa 超高压处理过程中花色苷降解动力学,并探讨花色苷在超高压加工过程中的降解机理。结果表明:在 200 MPa 和 600 MPa 超高压处理过程中蓝莓果汁花色苷含量呈现下降趋势,在 600 MPa 超高压处理过程中模拟果汁花色苷含量也有所减少;蓝莓果汁和模拟果汁花色苷在超高压加工中的降解符合一级反应动力学。在超高压处理过程中花色苷会发生降解,这种降解不止是酶和热造成的,压力本身也会引起花色苷降解,花色苷在超高压处理过程中的降解机理需要进一步研究。

关键词: 超高压;蓝莓;花色苷;降解;动力学

中图分类号: TS 255.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2016)01—0072—05

Degradation Kinetics Study of Anthocyanins under High Hydrostatic Pressure Processing

ZHANG Haining, WANG Yachao, MA Yongkun*, William Tchabo, YE Hua

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: The degradation kinetics of anthocyanins under 200, 400 and 600 MPa treatment was studied using blueberry juice and a simulated juice to understand the anthocyanins stability during high hydrostatic pressure processing and the mechanism of anthocyanins degradation was discussed. A decrease of anthocyanins content in blueberry juice was observed with 200MPa and 600 MPa treatment, and the anthocyanins content in the simulated juice also decreased under 600MPa processing. The degradation of anthocyanins in blueberry juice and the simulated juice followed the first-order kinetics. The degradation of anthocyanins under high hydrostatic pressure treatment was not only caused by the enzyme and heat, but also caused by the pressure. The mechanism of anthocyanins degradation calls for further investigation.

Keyword: high hydrostatic pressure, blueberry, anthocyanins, degradation, kinetics

收稿日期: 2014-12-09

基金项目: 江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(CXZZ13_0696)。

作者简介: 张海宁(1986—),男,河南柘城人,食品科学与工程博士研究生,主要从事非热加工技术研究。E-mail: zhn19862006@163.com

* 通信作者: 马永昆(1963—),男,江苏镇江人,工学博士,教授,主要从事食品风味化学及非热加工研究。E-mail: mayongkun@ujs.edu.cn

蓝莓、桑葚等小浆果中富含花色苷,它不仅赋予水果呈现多彩颜色,还具有抗氧化和抗肿瘤^[1-2]、抗炎、改善心血管、降低肥胖等^[3]多种生物活性。但是这些小浆果不易储藏,除了鲜食外进一步加工成果汁或者果酒等产品能够更好的延长其货架期。但花色苷很不稳定,在加工储藏过程中会因为 pH、金属离子、氧气、光、温度^[4]等因素而发生降解,尤其是热加工会导致花色苷快速降解,Kechinski 等^[5]研究蓝莓中花色苷热降解动力学时发现在随着处理温度的升高,蓝莓花色苷降解半衰期快速减少。

超高压作为一种非热加工技术越来越多的应用于果蔬加工储藏过程中,由于其不涉及热加工,与食品品质相关的感官和营养成分在超高压过程中几乎不受影响,因此超高压加工产品比传统方法加工产品能更好的保持原有品质^[6]。有研究表明果汁中花色苷含量在超高压处理过程中会出现降低现象^[7],但超高压对花色苷影响的研究主要集中在超高压处理后花色苷在储藏过程中的变化^[8-9],超高压加工过程中花色苷降解动力学的研究仍不全面。

作者以蓝莓果汁和模拟果汁为对象,研究花色苷在不同超高压处理条件下的含量变化,建立花色苷在超高压处理下的降解动力学方程,并通过比较不同处理条件花色苷降解差异探讨花色苷在超高压处理过程中的降解机理,为利用超高压技术加工高品质蓝莓果汁提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

兔眼蓝莓:购于南京溧水白马镇,-20℃冰箱冷藏;蓝莓果汁:蓝莓榨汁,经 5 000 r/min 离心 20 min 后取上清冷藏备用;蓝莓花色苷:蓝莓榨汁后残渣 40℃干燥后粉碎,过 80 目筛,使用酸性甲醇提取花色苷,大孔树脂 AB-8 进行初步纯化去除糖和蛋白质,40℃旋转蒸发去除提取溶剂后冷冻干燥得花色苷粉末冷藏备用。果汁模拟体系^[10]:1.0 g 柠檬酸三钠,1.35 g 柠檬酸,92.68 g 蔗糖使用无二氧化碳水定容至 1 L,2.0 mol/L HCl 调整 pH 至 3.0,加入蓝莓花色苷使其终浓度为 100.2 mg/L。

1.2 主要仪器设备

HR-1843 榨汁机:飞利浦公司产品;PHS-TC 数显酸度计:上海天达仪器有限公司产品;UV-1600

紫外可见分光光度计:北京瑞利分析仪器公司产品;UHPF/3L/800MPa 超高压设备:包头科发高压科技有限责任公司产品。

1.3 试验方法

1.3.1 花色苷含量测定 采用 pH 示差法^[11]测定粗提物中花色苷含量:提取后于高速离心机中 5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,取 1 mL 上清液分别用 pH 1.0 和 pH 4.5 缓冲液定容至 10 mL,摇匀,平衡 20 min,以蒸馏水做空白,分别于最大吸收波长(520 nm)和 700 nm 处测定吸光度,并按照公式(1)计算吸光值 A 。

$$A=(A_{\max}-A_{700})_{\text{pH } 1.0}-(A_{\max}-A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad (1)$$

按照公式(2)计算粗提液中花色苷质量浓度 C 。

$$C=(A \times MW \times DF \times 1\ 000)/(\varepsilon \times l) \quad (2)$$

其中, C :待测样品中花色苷质量浓度,(mg/L); MW :样品中花色苷的相对分子质量(以矢车菊-3-葡萄糖苷计), $MW=449.2$ g/mol; DF :稀释倍数,此处为 10; l 指 1 cm 的比色杯; ε :花色苷的摩尔吸收率, $\varepsilon=26\ 900$ L/(mol·cm)

1.3.2 蓝莓汁超高压处理 超高压设备有效体积为 3 L,最高压力为 700 MPa,传压介质为癸二酸二辛酯,油温 20~23℃,升压速率为 100 MPa/min,解压时间为 10 s,保压过程中压差不超过 10 MPa。将 20 mL 蓝莓果汁和模拟果汁分别装在耐高压聚乙烯袋中热封口,超高压处理条件为 200、400、600 MPa 分别保压 5、10、15、20、25、30 min,处理后样品迅速置于 4℃冰浴保存,12 h 内完成检测。每个样品重复处理 3 次。未处理样品为空白对照。

1.3.3 蓝莓汁热处理 超高压处理过程中温度随着压力增加而升高,一般认为每增加 100 MPa 压力温度升高 3℃,以最高处理压力 600 MPa 计算,升温 18℃,因此以 40℃热处理作为对照,研究超高压过程中由于升温引起的花色苷降解作用。

1.3.4 花色苷降解动力学 大量研究表明花色苷的热降解动力学符合一级动力学反应^[5,11],反应速率常数(κ)可用公式 3 计算,花色苷降解半衰期($t_{1/2}$)可用公式(4)计算。采用一级反应动力学模型分析超高压处理过程中花色苷的降解。

$$\ln(C/C_0)=-\kappa \times t \quad (3)$$

$$t_{1/2}=-\ln 0.5/\kappa \quad (4)$$

式中 κ 表示降解速率常数, t 表示处理时间, C_t 、 C_0 分别表示 t 时刻和 0 时刻时花色苷质量浓度,其

中花色苷残留率 $= (C/C_0) = (A_t/A_0)$, A_t 、 A_0 分别表示不同处理时间时公式(1)中吸光值。

1.3.5 统计分析方法

采用 origin8.0 和 Excel2010 对数据进行了统计分析。

2 结果与分析

2.1 超高压加工过程中花色苷残留率变化

蓝莓果汁及模拟果汁花色苷在超高压处理过程中含量变化分别见图 1 与图 2。

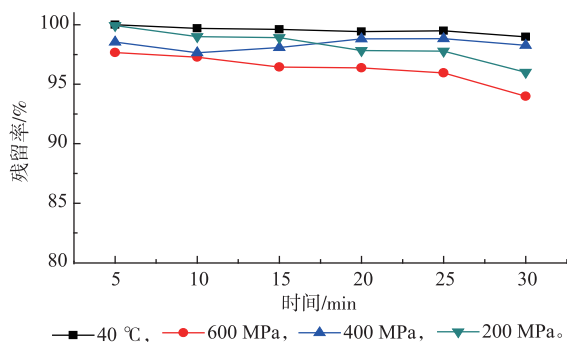


图 1 超高压加工过程中蓝莓汁中花色苷残留率变化

Fig. 1 Change of anthocyanins content during high hydrostatic pressure processing in blueberry juice

如图 1 所示, 蓝莓果汁在 40 °C 热处理、200 MPa 和 600 MPa 超高压处理过程中随着处理时间延长花色苷含量呈现下降趋势, 随着时间延长, 蓝莓果汁花色苷减少速率加快。这与 Patras 等研究类似, 他们发现果蔬中花色苷在超高压加工过程中会发生降解, 这种降解作用可能是由于多酚氧化酶和过氧化物酶将花色苷氧化成为酚醌类物质引起的^[12]。但是在模拟果汁体系中, 200 MPa 和 400 MPa 超高压处理过程中花色苷含量基本无变化, 热处理和 600 MPa 超高压处理过程中随着处理时间延长花色苷含量也呈现下降趋势(见图 2), 在 600 MPa 处理开始阶段(0~10 min)模拟果汁花色苷含量基本处于稳定, 随着保压时间延长(20~30 min)花色苷含量减少加速。模拟果汁体系较为简单, 没有蛋白质(酶类), 花色苷的降解主要是由非酶因素引起的, 压力和温度可能是引起模拟果汁中花色苷降解的原因。

2.2 超高压加工过程中花色苷降解动力学

不同压力处理后蓝莓汁花色苷降解动力学曲线见图 3, 模拟果汁花色苷降解动力学曲线见图 4。由于模拟果汁中 200 MPa 和 400 MPa 处理过程中

花色苷质量浓度基本没有发生变化, 因此未进行动力学研究。

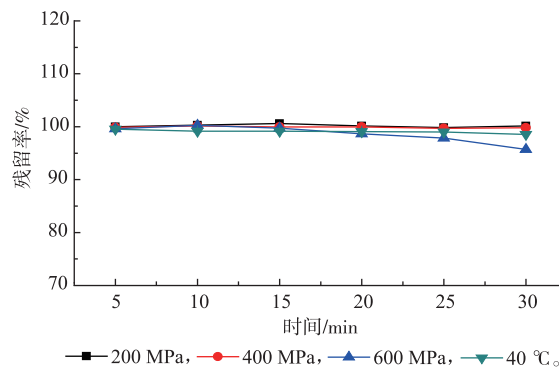


图 2 超高压加工过程中模拟果汁中花色苷残留率变化

Fig. 2 Change of anthocyanins content during high hydrostatic pressure processing in the simulated juice

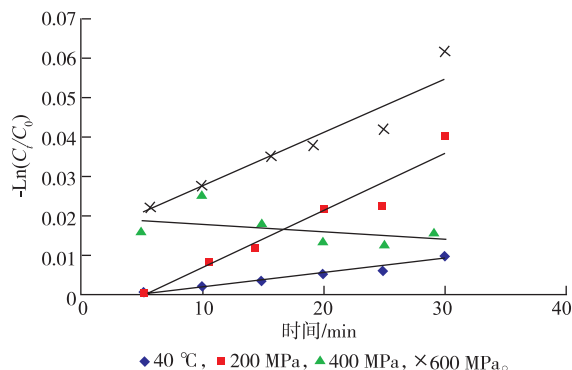


图 3 超高压加工过程中蓝莓果汁花色苷降解动力学曲线

Fig. 3 Degradation kinetics of anthocyanins during high hydrostatic pressure in blueberry juice

图 3 和图 4 分别为花色苷含量和处理时间之间的做 $-\ln(C_t/C_0)-t$ 图。如图 3 所示, 在 40 °C 热处理、200 MPa 和 600 MPa 超高压处理过程中蓝莓果汁花色苷的降解基本符合一级反应动力学, 相关系数大于 85%。如图 4 所示, 40 °C 热处理和 600 MPa 超高压处理过程中模拟果汁花色苷降解也基本符合一级反应动力学, 相关系数大于 85%。蓝莓果汁和模拟果汁花色苷在超高压加工过程中均符合一级降解动力学, 与花色苷在热处理过程中降解动力学类似, 蓝莓果汁和模拟果汁在超高压加工过程中降解动力学参数见表 1。

如表 1 所示, 在蓝莓果汁中降解反应速率常数 k 大小依次为 200 MPa、600 MPa、40 °C, 这说明 200 MPa 和 600 MPa 超高压处理过程中花色苷降解速率高于 40 °C, 同理可知在模拟果汁中 600 MPa 超

压处理时花色苷降解反应速率常数大于 40 °C 热处理时花色苷降解反应速率常数,这表明无论在蓝莓果汁中还是在模拟果汁中,温度引起的花色苷降解作用都没有超高压引起的降解作用明显。

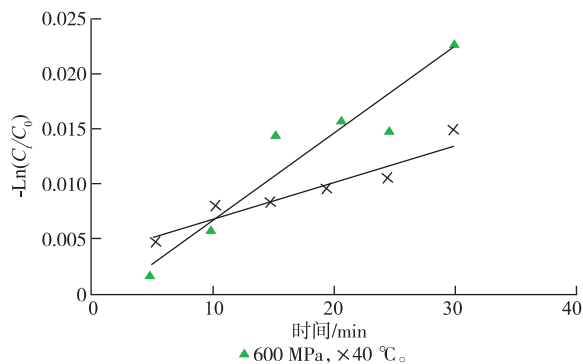


图 4 超高压加工过程中模拟果汁花色苷降解动力学曲线
Fig. 4 Degradation kinetics of anthocyanins during high hydrostatic pressure in the simulated juice

表 1 蓝莓果汁和模拟果汁中花色苷超高压处理过程中降解参数

Table 1 Degradation parameter of anthocyanins during high hydrostatic pressure in blueberry juice and the simulated juice

处理条件	方程	R ²	κ
蓝莓果汁 40 °C	Y=0.000 3x-0.001 2	0.873 7	0.000 3
蓝莓果汁 200 MPa	Y=0.001 4x-0.007 1	0.913 7	0.001 4
蓝莓果汁 400 MPa	Y=-0.000 2x+0.019 5	0.122 1	—
蓝莓果汁 600 MPa	Y=0.001 3x+0.014 5	0.862 9	0.001 3
模拟果汁 40 °C	Y=0.000 3x+0.003 5	0.857 7	0.000 3
模拟果汁 600 MPa	Y=0.000 8x-0.001 2	0.878 1	0.000 8

2.3 超高压处理过程中花色苷降解机理初步探讨

超高压作为一种非热加工技术能够提高花色苷的储藏稳定性,但是有研究报道超高压处理能够影响花色苷种类^[13]和含量^[9]。但是影响花色苷稳定性因素很多,花色苷的结构、浓度,溶液的温度、pH、光照、氧气、酶、糖、抗坏血酸等都会导致花色苷的降解,其中温度和酶是影响花色苷降解的主要因素^[14]。

蓝莓果汁在 200 MPa 和 600 MPa 下随着处理时间延长花色苷质量浓度降低,但是由表 1 可以看出,在蓝莓果汁中 200 MPa 超高压处理时花色苷降解速率常数大于 600 MPa 处理时花色苷降解速率常数,即与 600 MPa 相比 200 MPa 压力能更快的降解果汁中花色苷,而 600 MPa 所引起的升温效应(18 °C)高于 200 MPa 引起的升温效应(6 °C),因此可推断超高压处理下花色苷降解不只是由升温效

应引起的。这可能因为蓝莓果汁是一个复杂的多元体系,存在其他可能引起花色苷降解的其他因素。 β -葡糖苷酶、过氧化物酶和多酚氧化酶是引起花色苷降解主要酶类, β -葡糖苷酶是引起花色苷降解的一个重要酶类,它能够水解花色苷的糖配基,从而使失去糖配基的花色苷更容易受到过氧化物酶的氧化作用。不同果蔬中氧化酶耐压性不同,有研究表明在草莓汁中当处理压力达到 300 MPa 以上时过氧化物酶和多酚氧化酶活性开始降低,当处理压力在 250 MPa 以下时鳄梨中多酚氧化酶活性增加。因此 200 MPa 处理比 600 MPa 处理过程中花色苷降解速率快的原因可能是 200 MPa 超高压处理下可能促进了酶的活性,从而加快了花色苷的降解,当压力达到 400 MPa 时由于酶活性降低而表现出果汁中花色苷含量的稳定,当压力达到 600 MPa 时,花色苷的降解可能更多由压力本身引起。

蓝莓果汁和模拟果汁在 600 MPa 超高压处理过程中花色苷减少量都多于 40 °C 热处理时花色苷减少量。因此推断在 600 MPa 超高压处理过程中花色苷的降解不只是由升温效应(40 °C)引起的,600 MPa 压力会加快花色苷的降解。这一点从模拟果汁中花色苷含量在 200 MPa 和 400 MPa 下较为稳定而在 600 MPa 时含量减少得到验证。模拟果汁体系较为简单,只有糖、柠檬酸和花色苷提取物,没有酶、有机酸等可能引起花色苷降解的因素,超高压处理过程中会产生高压物理能,并使反应体积缩小,从而会加快各种物理化学反应速度。Srivastava 等^[14]发现在储藏过程中花色苷发生降解作用是因为其和原花青素会发生缩合反应形成花色苷—原花青素聚合物,从而表现出花色苷含量减少,这种聚合反应可以直接形成,也可以通过乙醛或者糠醛催化形成。花色苷在超高压加工过程中的降解可能是由于较高的压力促进了花色苷—原花青素聚合物的形成,从而表现出花色苷在 600 MPa 处理过程中含量减少。但是本课题组前期通过高效液相色谱对不同压力处理后花色苷进行分离发现 600 MPa 超高压处理后花色苷种类发生变化,这说明 600 MPa 超高压处理引起的花色苷降解还可能包括压力导致的花色苷结构的变化,具体机理需要进一步研究。

超高压在果汁方面的应用主要集中在杀菌灭酶方面,这样既可以保持果汁的营养不被破坏,又不会引起不良风味产生。根据作者研究,在低压长

时间和高压长时间都会导致果汁中花色苷的降解,因此在果汁的超高压加工过程中应该使用中压长时间或者高压短时进行。

由于超高压处理果汁一般不超过 30 min,因此作者没有延长超高压处理时间,进一步延长保压时间会不会加快或者减缓花色苷降解有待继续研究。

3 结 语

1) 花色苷在超高压加工过程中存在少量降解

情况。

2) 超高压加工过程中花色苷的降解基本符合一级反应动力学。

3) 超高压对花色苷的降解具有促进作用,花色苷在超高压加工过程中的降解不只是由于热效应或者高压直接作用,可能某些间接作用影响了花色苷的降解。

参考文献:

- [1] YANG X, YANG Y, SHI M, et al. Optimisation of anthocyanin extraction from purple pitaya and verification of antioxidant properties, antiproliferative activity and macrophage proliferation activity [J]. **International Journal of Biology**, 2013, 5(3): 19-29.
- [2] 郑影, 何玉龙, 郑洪亮, 等. 蓝莓花色苷体外及模拟人体胃肠环境的抗氧化活性研究 [J]. **食品与生物技术学报**, 2014, 33: 736-742.
ZHENG Ying, HE Yulong, ZHENG Hongliang, et al. Antioxidant activity of anthocyanins extracted from blueberry in vitro and simulated gastrointestinal environments[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2014, 33: 736-742. (in Chinese)
- [3] HE J, GIUSTI M M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties [J]. **Annual Review of Food Science and Technology**, 2010, 1: 163-187.
- [4] Fracassetti D, Del Bo C, Simonetti P, et al. Effect of Time and storage temperature on anthocyanin decay and antioxidant activity in wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) powder [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2013, 61(12): 2999-3005.
- [5] Kechinski C P, Guimar ES P V R, Nore A C P Z, et al. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment[J]. **Journal of Food Science**, 2010, 75(2): C173-C176.
- [6] M. F. SAN MARTIN G V B-C, B. G. SWANSON. Food processing by high hydrostatic pressure [J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2002, 42(6): 627-645.
- [7] Ferrari G, Maresca P, Ciccarone R. The application of high hydrostatic pressure for the stabilization of functional foods: Pomegranate juice[J]. **Journal of Food Engineering**, 2010, 100(2): 245-253.
- [8] Verbeyst L, Crombruggen K V, Van Der Plancken I, et al. Anthocyanin degradation kinetics during thermal and high pressure treatments of raspberries[J]. **Journal of Food Engineering**, 2011, 105(3): 513-521.
- [9] YU Y, LIN Y, ZHAN Y, et al. Effect of high pressure processing on the stability of anthocyanin, ascorbic acid and color of Chinese bayberry juice during storage[J]. **Journal of Food Engineering**, 2013, 119(3): 701-706.
- [10] SHAH N P, DING W K, FALLOURD M J, et al. Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidants[J]. **J Food Sci**, 2010, 75(5): M278-282.
- [11] Moldovan B, David L, Chisbora C, et al. Degradation kinetics of anthocyanins from European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent[J]. **Molecules**, 2012, 17(10): 11655-11666.
- [12] Patras A, Brunton N P, Da Pieve S, et al. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées[J]. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 2009, 10(3): 308-313.
- [13] NARKU FELIX ENGMANN Y-K M, XU YING AND YE QING. Investigating the effect of high hydrostatic pressure on anthocyanins composition of mulberry juice[J]. **Czech J Food Sci**, 2013, 31: 72-80.
- [14] ANITA SRIVASTAVA C C A, WEIGUANG YI, JOAN FISCHER, AND, KREWER G. Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles [J]. **J Agric Food Chem**, 2007, 55: 2705-2713.