

牡蛎蛋白饮料色泽形成机理初探

尤久勇¹, 林华娟^{1,2}, 秦小明², 章超桦^{1,2*}, 侯清娥¹

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524025;

2. 广东省水产品深加工广东普通高校重点实验室, 广东 湛江 524088)

摘要: 通过比较不同贮藏温度(4、20和37℃)条件下不同pH值(pH 4.9组和pH 6.7组)的牡蛎蛋白饮料在杀菌及贮藏期间褐变指数、游离氨基酸、总糖和还原糖浓度以及pH值的变化,初步探讨饮料中色泽形成的机理,为牡蛎蛋白饮料加工提供科学理论依据。试验结果显示,两组饮料的褐变指数在杀菌及贮藏过程中均有明显的上升趋势,但是pH 6.7组的褐变指数总体明显高于pH 4.9组,另外褐变指数总体与贮藏温度呈正相关。成分分析结果显示,两组饮料在贮藏过程中成分变化的规律基本一致,但是pH 6.7组各成分变化的幅度较pH 4.9组大。其中,天门冬氨酸等部分氨基酸呈明显上升趋势,而精氨酸、苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、酪氨酸等氨基酸以及还原糖呈明显下降趋势。从以上结果可以推测,精氨酸、苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸和酪氨酸等氨基酸以及还原糖是牡蛎饮料非酶褐变反应的主要因子,温度和pH是牡蛎饮料发生褐变反应的重要条件,高温和高pH值可以促进牡蛎饮料褐变反应的发生。

关键词: 牡蛎蛋白饮料; 美拉德反应; 色泽; 褐变指数

中图分类号: TS 275.4

文献标志码: A

牡蛎肉味鲜美,营养丰富,有“海中牛奶”之称,是我国四大养殖贝类之一,年产量约400万t^[1]。目前,国内牡蛎以鲜食为主,牡蛎加工比例仅占10%左右,加工品中以制成干肉制品为主,少量加工成蚝油或其它调味品。随着牡蛎养殖业的快速发展,牡蛎已出现供过于求和价格下跌的趋势,开发牡蛎加工利用新途径已成为牡蛎产业健康发展的必然趋势。另一方面,饮料是消费人群最为广泛,也最受欢迎的饮品之一,年销售量已达8000多万t^[2],如果能将牡蛎加工成消费者喜欢的饮料,将可大大促进牡蛎产业良性发展。但是牡蛎在酶解、杀菌以及贮藏过程中色泽容易变暗导致饮料感官品质不理想。因此,控制色泽变化是牡蛎蛋白饮料加工的关键技术之一。

饮料色泽变化的原因一般有酶促褐变和非酶褐变两种。酶促褐变主要是由多酚氧化酶氧化酚类物质生成醌,然后醌聚合形成褐色产物。这类褐变的特点是反应中有多酚氧化酶等参与条件下

发生褐变。相反,非酶褐变则不需要酶的作用,是成分之间的化学变化导致的褐变。比较典型的非酶褐变有抗坏血酸氧化分解反应^[3]、焦糖化反应^[4]、多元酚氧化缩合反应^[5]和美拉德反应^[6]等。其中美拉德反应是由羰基化合物(尤其是还原糖)和氨基化合物(胺、氨基酸、肽和蛋白质等)参与,经过复杂的反应最终形成棕色甚至是黑色物质,因此又称羰胺反应^[7]。目前,对饮料色泽的研究多集中于新鲜水果蔬菜及其饮料加工过程^[8-10]。新鲜水果蔬菜中由于含有较多的多酚氧化酶和多酚类物质,因此组织受损后很容易发生非酶褐变反应,但是水果蔬菜经过高温灭菌加工成饮料后,美拉德反应等非酶褐变成为饮料色泽变化的主要机制^[8-10]。牡蛎等动物中的化学成分完全不同于水果蔬菜,因此推测牡蛎等动物蛋白类饮料的色泽变化机制与果蔬饮料有差异。但是目前仅有少量关于奶粉以及以奶粉为基料的

收稿日期:2010-12-30 修回日期:2011-03-04

资助项目:现代农业产业技术体系建设专项(贝类,47);2010年广东省高等学校高层次人才项目(2009-1)

通讯作者:章超桦,E-mail:zhangch@gdou.edu.cn

婴儿米粉在贮藏过程色泽变化方面的研究^[11-12],尚未见有包括牡蛎等液体动物蛋白饮料色泽方面的研究报道。

褐变反应除了与体系中的化学成分相关外,还与其 pH 值(即酸碱条件)和温度有密切相关^[13-14],因此本研究以牡蛎肉为原料,将其酶解液调配成不同 pH 值(pH 4.9 和 pH 6.7),在同等条件下加工得到两种 pH 值的饮料,然后分析饮料在不同贮藏温度条件下色泽、氨基酸、总糖以及还原糖等成分的浓度变化,初步探讨牡蛎蛋白饮料色泽形成机理,为牡蛎蛋白饮料加工过程中色泽的控制提供科学理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

新鲜牡蛎肉,购于湛江东风市场。

1.2 仪器与设备

TDS 低速自动平衡离心机(长沙平凡仪器仪表有限公司);5PB-10 pH 计(德国赛多利斯科学仪器公司);THZ-82 恒温振荡器(上海天呈科技有限公司);UV-2102 PC 型紫外分光光度计(尤尼柯仪器有限公司);日立 835-50 型高速氨基酸分析仪(日本日立公司)。

1.3 试验方法

牡蛎蛋白饮料的制备 将新鲜牡蛎肉洗净、去除黑边和内脏、匀浆,然后按料水比 1:3 配成牡蛎匀浆液,加入复合蛋白酶(1 000 U/g)在 53 ℃下酶解 5.7 h,灭酶,离心(4 000 r/min, 10 min)去除不溶物,得到牡蛎酶解原液。牡蛎酶解原液经过酵母和活性炭联合脱腥,得到脱腥牡蛎蛋白酶解液。将脱腥牡蛎酶解液分成两组,一组 pH 4.9(以下简称 pH 4.9 组,为牡蛎蛋白酶解液的固有 pH 值),另一组 pH 6.7(以下简称 pH 6.7 组,与市售牛奶的 pH 值相当),然后在同等条件下均质、超高温瞬时杀菌(121 ℃, 10 s),灌装,得到两组不同 pH 值饮料。每组饮料又分成 3 个温度组,分别置于 4、20 和 37 ℃条件下避光贮藏,然后跟踪检测各饮料色泽和成分的变化。

一般成分含量分析 总游离氨基酸、还原糖以及总糖含量的测定分别采用中性甲醛滴定电位滴定法、3,5-二硝基水杨酸比色法和苯酚-硫酸法进行测定。所有的测定均进行 3 个平行,然后计算其标准偏差。

游离氨基酸种类及含量的测定 饮料样液经过针式过滤头(0.45 μm)过滤后直接上样至日立 835-50 型高速氨基酸分析仪进行氨基酸的分析。氨基酸分析条件:离子交换柱规格 2.6 mm × 150 mm;柱温 53 ℃;泵流速 0.225 mL/min;泵压力 90 kg/cm²;洗脱液 IPH-1、2、3、4;进样量 50 μL。

褐变指数 饮料离心(4 000 r/min, 10 min)取上清液,以水作对照,在 420 nm 处测定吸光度值,吸光值乘上 100 即为褐变指数。

数学分析 采用 Excel 软件进行平均数和标准差分析。

2 结果

2.1 不同贮藏条件下,牡蛎蛋白饮料褐变指数的变化

为了比较灭菌前后 pH 4.9 组和 pH 6.7 两组饮料褐变指数的变化,首先对其灭菌前后进行了褐变指数检测。检测结果,pH 4.9 组和 pH 6.7 组饮料的褐变指数均为 5.0,灭菌后 pH 4.9 组和 pH 6.7 组的褐变指数(即灭菌后初始褐变指数)分别为 5.4 和 7.0。两组饮料的褐变指数分别上升 108% 和 140%,表明两组饮料在高温灭菌过程中均发生了褐变反应,但是 pH 6.7 组的褐变反应明显较 pH 4.9 组激烈。图 1 为两组饮料在贮藏过程中褐变指数的变化情况。虽然 pH 6.7 组灭菌后其初始褐变指数明显高于 pH 4.9 组,但是在贮藏过程中褐变指数的变化趋势基本一致,贮藏前期(前 4 周)褐变指数上升较快,随后趋于平缓。pH 4.9 组的褐变指数与温度呈正相关,贮藏温度越高,褐变指数上升速率越快。贮藏至第 4 周时,贮藏于 4、20 和 37 ℃饮料的褐变指数分别上升至 6.0、8.7 和 9.4,分别上升了 11.1%、61.1% 和 74.1%。相比之下,pH 6.7 组的褐变指数上升速率与贮藏温度不成比例关系。贮藏至第 4 周时,贮藏于 4、20 和 37 ℃的褐变指数分别上升至 10.9、13.4 和 12.6,分别上升了 55.7%、91.4% 和 80.0%。贮藏于 4 ℃时饮料褐变指数上升最缓慢,其次是 37 ℃,最后是 20 ℃。以上结果表明,饮料的色泽变化主要发生在高温灭菌和贮藏过程两个阶段。由于饮料经过超高温处理,由酶导致的酶促褐变可以忽略不计,因此,虽然两组 pH 值饮料在灭菌和贮藏过程中发生褐变反应的激烈程度有明显差异,但均属于非酶褐变反应。

另外,相对于 pH 6.7 组,pH 4.9 组在贮藏过程中的褐变上升速率总体较低,表明低 pH 值不利于

褐变反应的发生。

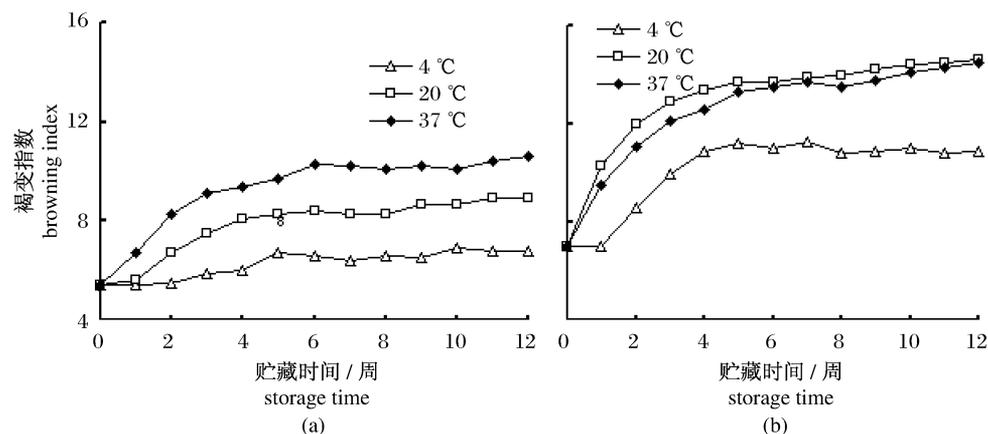


图1 pH 4.9 饮料组和 pH 6.7 饮料组在贮藏过程中褐变指数的变化

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7。

Fig.1 Changes of browning index for oyster protein beverage during storage

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7.

2.2 不同贮藏条件下,牡蛎蛋白饮料 pH 值的变化

图2为 pH 4.9 组(图 2-a)和 pH 6.7 组(图 2-b)饮料在贮藏过程中 pH 值的变化。从总体上看,贮藏过程中 pH 6.7 组饮料的 pH 值较 pH 4.9 组稳定。pH 4.9 组饮料在 4 °C 条件下基本保持

稳定的 pH 值,随贮藏温度的升高(20 和 37 °C),在贮藏后期(第 7 周后)略呈上升趋势。相比之下,pH 6.7 组饮料在三个贮藏温度下均保持稳定的 pH 值。这个结果表明,pH 值对饮料的 pH 稳定性有一定的影响,pH 4.9 组饮料的 pH 稳定性较 pH 6.7 组饮料差。

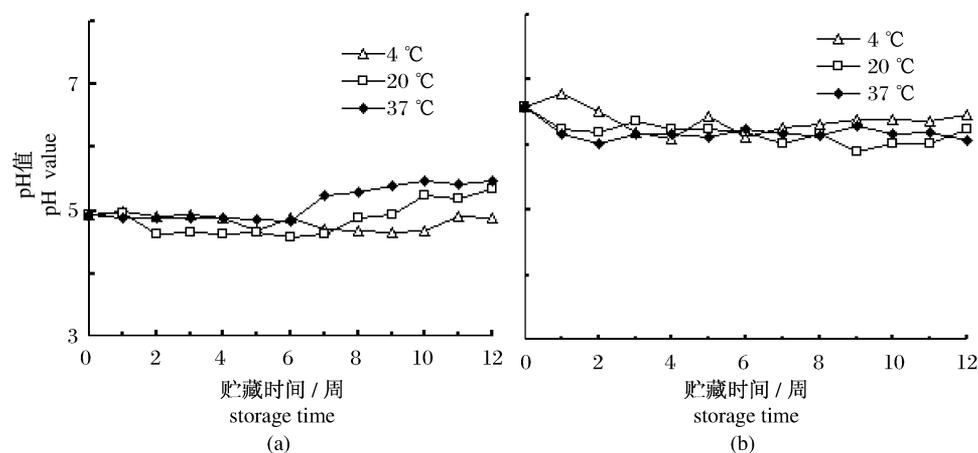


图2 pH 4.9 饮料组和 pH 6.7 饮料组在贮藏过程中 pH 值的变化

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7。

Fig.2 Changes of pH for oyster protein beverage during storage

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7.

2.3 不同贮藏条件下,牡蛎蛋白饮料中总游离氨基酸浓度的变化

图3是两组饮料在贮藏过程中总游离氨基酸浓度的变化。从总体上看,图3的变化趋势和图2 pH 值曲线的变化趋势基本相似。pH 6.7 组的

总游离氨基酸浓度基本保持稳定水平(2.0~2.15 mg/mL)。而 pH 4.9 组的总游离氨基酸浓度在贮藏过程中有较大波动。4 °C 贮藏条件下,总游离氨基酸浓度总体保持稳定,但是较高温贮藏条件下(20 和 37 °C)波动较为明显。随贮藏温度

升高,总游离氨基酸浓度在贮藏中期(6~9周)略呈上升趋势,随后又缓慢下降(10~12周)。37℃贮藏至第9周时,总游离氨基酸浓度上升至1.9 mg/mL,比贮藏初期升高了58%。表明在较高温度下pH 4.9组饮料中氨基酸类物质可能发生了较大变化。从这个结果可以推测在较高温度下

贮藏,低pH可能有利于促进蛋白质分解并游离出氨基酸,从而导致总游离氨基酸浓度的升高。随着总游离氨基酸浓度升高,饮料的pH值也发生了相应的变化,这个结果可以较好解释图2-a中pH值变化的原因。

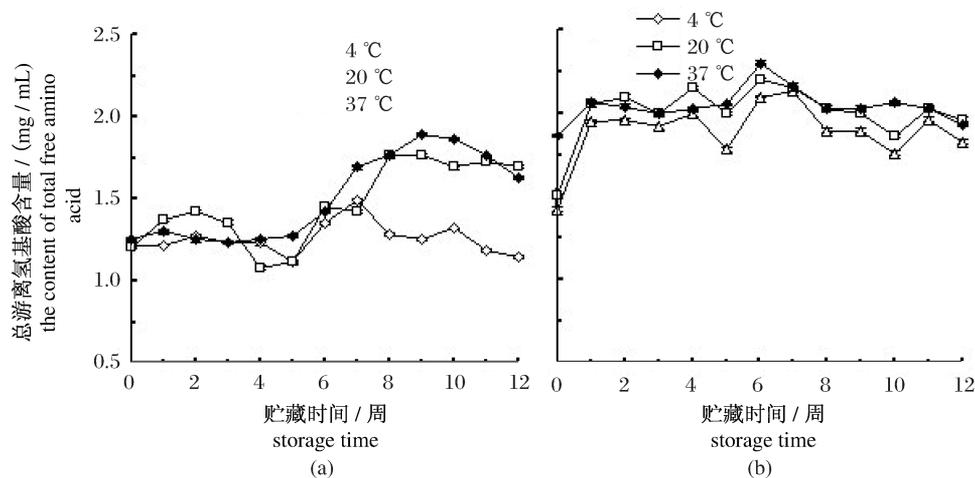


图3 pH 4.9 饮料组和 pH 6.7 饮料组中总游离氨基酸浓度在贮藏过程中的变化

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7.

Fig. 3 Changes of concentrations of total free amino acid in oyster protein beverage during storage

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7.

2.4 不同贮藏条件下,牡蛎蛋白饮料中游离氨基酸种类及其浓度的变化

总游离氨基酸浓度的变化可以总体了解饮料在理化性质方面发生的变化,但是由于氨基酸种类多达20种,化学稳定性有明显差异,仅通过总游离氨基酸浓度变化不能反映各氨基酸的变化特点,并解释褐变的原因,因此有必要对牡蛎饮料中的游离氨基酸种类和浓度进行进一步分析。表1为pH 4.9组饮料在不同贮藏温度不同贮藏时间(0、4和8周)游离氨基酸种类和浓度的变化。从表1可以看出,不同氨基酸其浓度变化有明显差异,有些氨基酸如天门冬氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸的浓度呈明显上升趋势,而有些氨基酸,如苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、酪氨酸和精氨酸的浓度则呈明显下降趋势。从总体上来看,温度越高,贮藏时间越长氨基酸浓度变化的幅度就大一些。从这个结果可以推测,饮料在贮藏过程中,部分蛋白质可能发生水解并游离出各种氨基酸,从而导致部分氨基酸浓度上升。另一方面,pH 4.9组饮料在20℃条件下贮藏8周后,苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、酪氨酸和精氨酸的浓

度分别下降至0周饮料的87.0%、83.7%、78.6%、70.3%和0%。精氨酸下降最明显,其次是酪氨酸、半胱氨酸、丝氨酸和苏氨酸。从这个结果可以推测,虽然部分蛋白质的水解游离出氨基酸,但是其中有部分氨基酸可能参与了褐变反应,从而导致其浓度下降。浓度下降比较显著的氨基酸(精氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、丝氨酸和苏氨酸)很可能是参与褐变反应的主要氨基酸。

表2为pH 6.7组饮料在不同贮藏温度不同贮藏时间(0、4和8周)游离氨基酸种类和浓度的变化。从总体上看,表2和表1中各氨基酸浓度的变化趋势基本一致,其中浓度下降较明显的氨基酸同样是苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、酪氨酸和精氨酸等5种氨基酸,但是下降的速率有明显差异。精氨酸在高温杀菌后(0周)以及在贮藏过程中均未检出,显示pH 6.7组饮料在高温杀菌过程中,精氨酸由于褐变反应激烈而被耗尽,表明精氨酸是参与高温褐变反应最主要的氨基酸之一。20℃贮藏条件下贮藏8周后,苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、酪氨酸分别下降至0周饮料的65.8%、14.0%、57.1%和80.5%。下降最明显的氨基酸

表 1 pH 4.9 组饮料在贮藏过程中游离氨基酸种类及其浓度的变化

Tab.1 Changes of free amino acid compositions and its concentrations for oyster protein beverage (pH 4.9) during storage

氨基酸种类 amino acid type	氨基酸浓度百分比/% ^a percentage of amino acid concentration						
	0 周 0 week	4 °C		20 °C		37 °C	
		4 周 4 week	8 周 8 week	4 周 4 week	8 周 8 week	4 周 4 week	8 周 8 week
天冬氨酸 ASP	100(0.062) ^b	98.4	102	118	210	110	226
苏氨酸 THR	100(0.077)	85.7	80.5	92.2	87.0	81.8	67.5
丝氨酸 SER	100(0.049)	93.9	102	87.8	83.7	91.8	77.6
谷氨酸 GLU	100(0.16)	100.0	93.8	106	125	106	11.9
脯氨酸 PRO	100(0.034)	94.1	106	103	153	109	144
甘氨酸 GLY	100(0.033)	97.0	97.0	106	212	112	149
丙氨酸 ALA	100(0.084)	98.8	95.2	111	131	108	131
半胱氨酸 CYS	100(0.014)	92.9	57.1	85.7	78.6	100	107
缬氨酸 VAL	100(0.067)	98.5	110	107.5	137	109	137
甲硫氨酸 MET	100(0.05)	96.0	118	102	122	104	126
异亮氨酸 ILE	100(0.057)	98.2	100	126	154	105	149
亮氨酸 LEU	100(0.13)	92.3	92.3	108	108	100	100
酪氨酸 TYR	100(0.037)	97.3	103	83.8	70.3	78.4	78.4
苯丙氨酸 PHE	100(0.052)	98.1	125	104	104	106	115
赖氨酸 LYS	100(0.11)	100	100	109	127	109	127
组氨酸 HIS	100(0.022)	95.4	95.4	105	132	100	105
精氨酸 ARG	100(0.13)	92.3	92.3	100	N. D.	100	N. D.
牛磺酸 TAU	100(0.039)	97.4	84.6	103	94.9	103	103
总量 totle	100(1.17)	95.7	98.3	106	114	103	109

注:a. 设定0周(贮藏前)饮料中氨基酸浓度为100,各贮藏期氨基酸浓度的百分比;b. 括号中的数据为0周饮料中氨基酸的实际浓度(g/100 L);N. D.,未检出。

Notes:a. the percentage of amino acid concentrations during storage, set amino acid concentrations of beverage as 100 at 0 week (before storage), b. the data in parentheses is actual concentrations of the amino acid for beverage at 0 week (g/100 L); ND, not detected.

表 2 pH 6.7 组饮料在贮藏过程中游离氨基酸种类及其浓度的变化

Tab.2 Changes of free amino acid compositions and its concentrations for oyster protein beverage (pH 6.7) during storage

氨基酸种类 amino acid type	氨基酸浓度百分比/% ^a percentage of amino acid concentration						
	0 周 0 week	4 °C		20 °C		37 °C	
		4 周 4 week	8 周 8 week	4 周 4 week	8 周 8 week	4 周 4 week	8 周 8 week
天冬氨酸 ASP	100(0.086) ^b	116	140	198	233	128	60.5
苏氨酸 THR	100(0.038)	60.5	184	94.7	65.8	47.4	18.4
丝氨酸 SER	100(0.057)	42.1	35.1	15.8	14.0	21.0	70.2
谷氨酸 GLU	100(0.19)	100.0	111	111	126	126	132
脯氨酸 PRO	100(0.04)	140.0	147	160	190	180	180
甘氨酸 GLY	100(0.071)	134	115	141	169	169	183
丙氨酸 ALA	100(0.12)	117	100	117	125	117	125
半胱氨酸 CYS	100(0.056)	69.6	51.8	76.8	57.1	89.3	89.3
缬氨酸 VAL	100(0.08)	104	121	109	120	112	120
甲硫氨酸 MET	100(0.045)	91.1	147	124	127	120	138
异亮氨酸 ILE	100(0.08)	100	110	107	109	105	109
亮氨酸 LEU	100(0.13)	108	108	108	108	108	108
酪氨酸 TYR	100(0.041)	92.7	2.44	2.44	80.5	95.1	70.7
苯丙氨酸 PHE	100(0.045)	100	118	97.8	111	97.8	102
赖氨酸 LYS	100(0.13)	108	115	108	115	108	115
组氨酸 HIS	100(0.023)	122	117	117	135	126	130
精氨酸 ARG	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
牛磺酸 TAU	100(0.039)	103	92.3	94.9	94.9	103	94.9
总量 totle	100(1.23)	102.4	108	110	120	112	114

注:a. 设定0周(贮藏前)饮料中氨基酸浓度为100,各贮藏期氨基酸浓度的百分比;b. 括号中的数据为0周饮料中氨基酸的实际浓度(g/100 L);N. D.,未检出。

Notes:a. the percentage of amino acid concentrations during storage, set amino acid concentrations of beverage as 100 at 0 week (before storage), b. the data in parentheses is actual concentrations of the amino acid for beverage at 0 week (g/100 L); ND, not detected.

依次为丝氨酸、半胱氨酸、苏氨酸和酪氨酸,各氨基酸的下降趋势明显高于 pH 4.9 组饮料,另外各氨基酸下降的速率也有明显差异,推测 pH 6.7 组饮料在贮藏过程中的褐变反应途径可能与 pH 4.9 组有较大差异。以上结果表明,两组饮料中苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、酪氨酸和精氨酸等 5 种氨基酸是参与非酶褐变反应的主要氨基酸,但是不同 pH 条件下非酶褐变的反应途径可能有些差异。以上结果支持前面总氨基酸浓度变化的实验结果。

2.5 不同贮藏条件下,牡蛎蛋白饮料中总糖浓度的变化

牡蛎肉中糖原的含量高达 22.14% (以干基计)^[15],推测在饮料加工过程中这些糖有可能参与了非酶褐变反应,因此有必要对饮料中的总糖浓度变化进行分析。图 4 是 pH 4.9 组饮料和 pH 6.7 组饮料在贮藏过程中总糖浓度的变化。从图中可以看出,虽然 pH 4.9 组饮料的初始总糖浓度

高于 pH 6.7 组,但是在贮藏过程中均呈明显的下降趋势,并且贮藏温度与曲线下下降速率有密切相关。pH 4.9 组和 pH 6.7 组的初始总糖浓度分别为 2.04 和 1.76 mg/mL, pH 4.9 组的初始总糖浓度高于 pH 6.7 组,说明 pH 4.9 组饮料在由高温杀菌导致的褐变反应中消耗的糖较 pH 6.7 组饮料少,这个结果可以很好解释 pH 4.9 组的初始褐变指数低于 pH 6.7 组的原因。两组饮料在 20 和 37 °C 贮藏条件下的总糖下降速率没有明显差异,但是 4 °C 贮藏的总糖下降速率明显较 20 和 37 °C 缓慢。37 °C 贮藏至第 12 周时, pH 4.9 组和 pH 6.7 组的总糖浓度分别下降至 0.63 和 0.4 mg/mL,总糖浓度分别下降了 69.1% 和 77.3%。表明在贮藏过程中 pH 6.7 组总糖消耗量高于 pH 4.9 组,这个结果与 pH 6.7 组的褐变速率较 pH 4.9 组大的结果相一致。

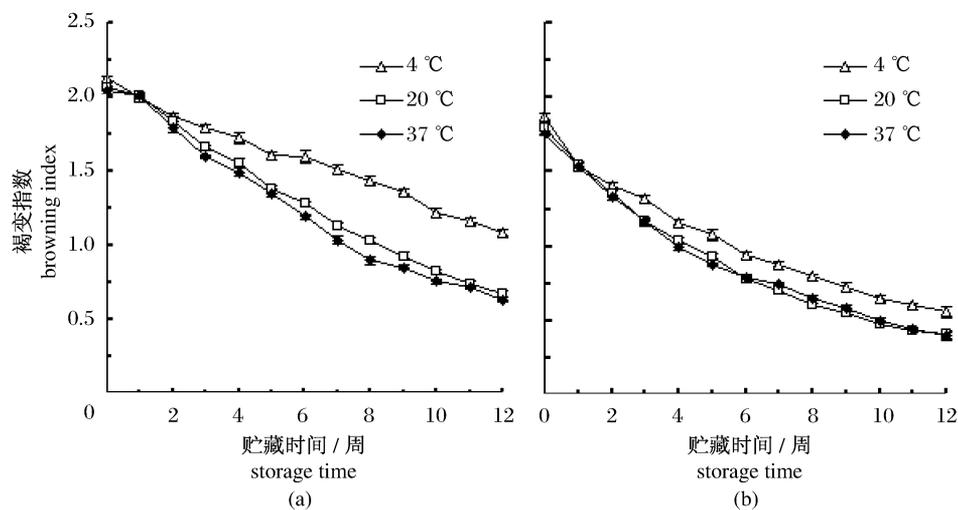


图 4 pH 4.9 饮料组和 pH 6.7 饮料组中在贮藏过程中总糖浓度的变化

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7。

Fig. 4 Changes of concentrations of total sugar in oyster protein beverage during storage

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7.

2.6 不同贮藏条件下,牡蛎蛋白饮料中还原糖浓度的变化

总糖包括还原糖和非还原糖(糖原),由于还原糖的反应性明显较非还原糖活跃,在非酶褐变反应中参与的糖以还原糖为主,非还原糖一般经过水解游离出还原糖后才直接参与褐变反应,因此除了观察总糖浓度变化外,需要对还原糖浓度的变化进行进一步分析。图 5 为 pH 4.9 组和 pH 6.7 组饮料在贮藏过程中还原糖浓度的变化。从图中可以看出, pH 4.9 组和 pH 6.7 组饮料中还

原糖初始浓度变化均有较大差异。pH 4.9 组和 pH 6.7 组饮料的初始还原糖浓度分别为 0.113 和 0.056 ~ 0.108 mg/mL。pH 6.7 组的初始还原糖明显较 pH 4.9 组低,说明 pH 6.7 组饮料中相当一部分还原糖在高温杀菌过程中被消耗。这个结果表明 pH 值越高,还原糖参与的褐变反应越激烈。另外,两组饮料中的还原糖在贮藏过程中同样存在明显差异。对于 pH 6.7 组饮料,贮藏于 37 °C 的还原糖最先消失(第 3 周),随后贮藏于 20 和 4 °C 的还原糖依次消失(分别第 4 和第 5

周);对于 pH 4.9 组饮料,贮藏于 20 和 37 °C 的还原糖均在第 4 周完全消失,贮藏于 4 °C 的还原糖在第 5 周时完全消失。以上结果表明,在贮藏过程中,两组饮料中还原糖参与的褐变反应均在继续进行,而且还原糖的损耗随温度升高而加快。这个结果与贮藏过程中 pH 6.7 组的褐变速率较 pH 4.9 组大的结果一致。另外,与图 4 比较可以发现,图 5 中第 4、第 5 周时还原糖已经消耗完毕,但是图 4 中的总糖浓度仍然随贮藏时间的延

长而呈缓慢下降趋势,暗示 pH 4.9 组和 pH 6.7 组饮料在贮藏过程中,糖原很可能还在不断降解,这些降解游离出来的还原糖成为饮料褐变反应的新底物。另一方面,与图 1 饮料的褐变指数变化比较可以发现,褐变指数上升速率与还原糖有密切相关。贮藏前 4 周可以检测出还原糖阶段,褐变指数上升速率较快,第 4 周后褐变指数上升速率趋于平缓。还原糖的变化可以较好地解释饮料褐变变化规律。

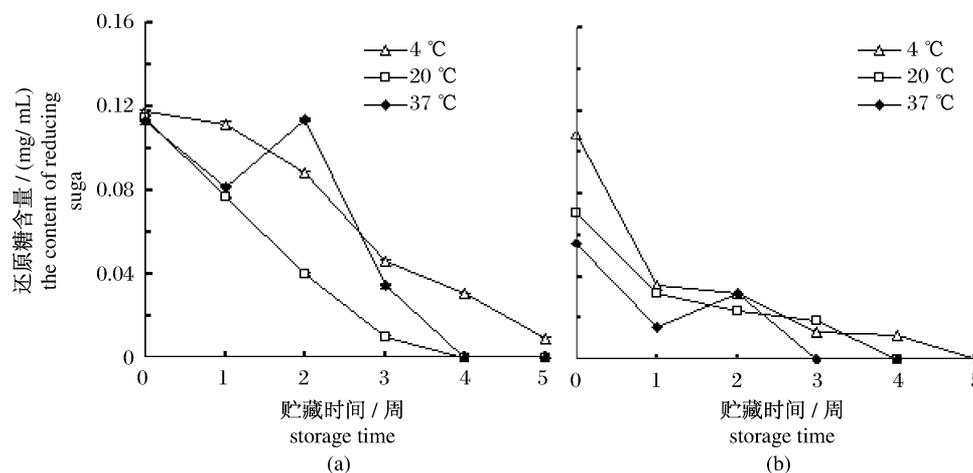


图 5 pH 4.9 饮料组和 pH 6.7 饮料组中还原糖浓度在贮藏过程中的变化

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7。

Fig. 5 Changes of concentrations of reducing sugar in oyster protein beverage during storage

(a) pH 4.9; (b) pH 6.7.

3 讨论

从以上结果可以看出,两组 pH 值饮料在杀菌工序和贮藏过程中均发生了酶褐变反应,但是 pH 6.7 组的褐变反应明显较 pH 4.9 组激烈,另外贮藏温度与褐变反应速率有密切相关。杀菌前,两组饮料的褐变指数相同,但是杀菌后 pH 6.7 组的褐变指数明显高于 pH 4.9 组,表明杀菌过程中 pH 6.7 组的褐变反应较 pH 4.9 组激烈。同样,pH 6.7 组在贮藏过程中的褐变速率明显高于 pH 4.9 组,表明在贮藏过程中 pH 6.7 组的褐变反应比较激烈。这个结果与梨汁等果蔬饮料的低 pH 值更有利于褐变反应的结果不一致^[16-18],推测牡蛎蛋白饮料中的非酶褐变反应机理可能与果蔬饮料的褐变反应机理有较大差异。另一方面,贮藏温度对褐变反应有显著影响。对于 pH 4.9 组饮料,贮藏温度与褐变反应呈正相关,即温度越高褐变反应越激烈。对于 pH 6.7 组饮料,贮藏温度与褐变反应不成比例关系,4 °C 条件下褐变反应最缓和,其次是 20 和

37 °C。从这个结果可以推测不同 pH 条件下牡蛎饮料褐变反应的机制可能有些差异。

从两组饮料成分(游离氨基酸、游离氨基酸组成、总糖和还原糖)总体的变化趋势来看,温度越低(4 °C)成分变化的幅度就越小,温度越高(20 和 37 °C)成分变化的幅度就越大。另外,pH 6.7 组的成分变化幅度明显较 pH 4.9 组大。对于 pH 4.9 组饮料,20 和 37 °C 条件下贮藏至中期(6~9 周)总氨基酸浓度和 pH 值均略呈上升趋势,氨基酸组成分析结果显示,部分氨基酸(天门冬氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)明显上升,而部分氨基酸(苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、酪氨酸和精氨酸)下降明显。从这些结果可以推测,pH 4.9 组饮料中的蛋白质在贮藏过程中发生了水解反应并游离出氨基酸,未参与褐变反应的氨基酸的浓度因此明显上升,而参与褐变反应的氨基酸由于被消耗而不同程度的下降,同时饮料 pH 值也随之发生变化。对于 pH 6.7 组饮料,总游离氨基酸和 pH 值在贮藏过程中基本稳定,但

是同样存在类似的部分氨基酸浓度上升而部分氨基酸(精氨酸、苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸和酪氨酸)浓度明显下降的特点,而且浓度上升和下降的主要氨基酸种类基本一致。另一方面,pH 4.9 组和 pH 6.7 组饮料在贮藏过程中总糖和还原糖浓度均呈显著下降趋势,但是 pH 6.7 组中总糖和还原糖的下降速率较 pH 4.9 组快。这个结果表明两组饮料在贮藏过程中糖原和蛋白质一样被水解并游离出还原糖,成为褐变反应的底物。从以上结果可以推测,贮藏过程中两组饮料参与褐变反应的氨基酸种类和还原糖基本一致,但是两个 pH 条件下褐变反应的激烈程度不一样,pH 6.7 更有利于褐变反应的发生。从参与褐变反应的氨基酸种类可以看出,这类氨基酸除了胺基官能团外基本上都含有一个羟基或巯基,精氨酸虽然不含有羟基和巯基,但它含有一个反应活性更强的胍基,而且为碱性氨基酸^[19],因此精氨酸在饮料杀菌工序中首先被消耗。综合以上结果,牡蛎饮料在杀菌及贮藏过程中,精氨酸、苏氨酸、丝氨酸、半胱氨酸和酪氨酸等氨基酸和还原糖是牡蛎饮料非酶褐变反应的主要因子,此类褐变反属于一类美拉德反应。温度和 pH 是牡蛎饮料发生褐变反应的重要条件,高温和高 pH 值可以促进褐变反应。

参考文献:

- [1] 吴信忠. 牡蛎养殖的可持续发展与人类健康[J]. 国际学术动态,2008,3:24-25.
- [2] 魏天飞. 饮料行业带动全产业链飞速发展 2010 年我国饮料产量将达亿吨[J]. 中国包装工业,2010,9:60-61.
- [3] VALDRAMIDIS V P, CULLEN P J, *et al.* Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during ultrasound processing [J]. *Journal of Food Engineering*,2010,96(3):449-454.
- [4] QUINTAS M, BAYLINA J, *et al.* Modelling colour changes during the caramelisation reaction [J]. *Journal of Food Engineering*, 2007, 83 (4): 483-491.
- [5] JOKIC A, WANG M C, LIU C, *et al.* Integration of the polyphenol and Maillard reactions into a unified abiotic pathway for humification in nature: the role of δ -MnO₂ [J]. *Organic Geochemistry*, 2004, 35 (6): 747-762.
- [6] MATIACEVICH S B, BUERA M P. A critical evaluation of fluorescence as a potential marker for the Maillard reaction [J]. *Food Chemistry*,2006,95(3):423-430.
- [7] JALVBOUT A F. Formation of pyrazines in hydroxyacetaldehyde and glycinenonenzymatic browning Maillard reaction; A computational study [J]. *Food Chemisrty*,2007,(8):1-9.
- [8] 杨毅,谢慧明,王海翔,等. 浓缩砾山酥梨汁非酶促褐变中氨基酸变化的研究[J]. *食品科学*,2008,29(2):116-119.
- [9] BURDURLU H S, KARADENIZ F. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates [J]. *Food Chemistry*, 2003, 80 (1): 91-97.
- [10] 李欣,滕建文,等. 菠萝浓缩汁在储藏过程中美拉德褐变及其反应动力学研究[J]. *食品科技*,2007,9:178-181.
- [11] PEREYRA GONZALES A S, NARANJO G B, LEIVA G E, *et al.* Maillard reaction kinetics in milk powder; Effect of water activity at mild temperatures [J]. *International Dairy Journal*, 2010, 20 (1): 40-45.
- [12] BOSCH L, ALEGRIA A. Fluorescence and color as markers for the Maillard reaction in milk-cereal based infant foods during storage [J]. *Food Chemistry*, 2007,105(3):1135-1143.
- [13] 潘丽红,姚林宏,吴菊清等. 简述美拉德(Maillard)反应[J]. *中国调味品*,2008,4:25-32.
- [14] AJANDOUZ E H, DESSEAUX V, *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.
- [15] 汪何雅,杨瑞金,王璋. 牡蛎的营养成分及蛋白质的酶法水解[J]. *水产学报*,2003,27(2):163-168.
- [16] 乔勇进,徐芹,方强. 温度、pH 值对梨汁非酶褐变影响的研究[J]. *上海农业学报*,2008,24(3):6-9.
- [17] DATTATREYA A, RANKIN S A. Moderately acidic pH potentiates browning of sweet whey powder [J]. *International Dairy Journal*,2006,16(7):822-828.
- [18] 马霞,陈建文,关凤梅. 苹果汁贮存过程中非酶褐变因素及其控制[J]. *山东轻工业学院学报*,2001,15(4):52-54.
- [19] 汪东风,孙丽平,张莉. 非酶褐变反应的研究进展[J]. *农产品加工*,2006,10:9-18.

Preliminary study on mechanism of color formation for oyster protein beverage

YOU Jiu-yong¹, LIN Hua-juan^{1,2}, QIN Xiao-ming², ZHANG Chao-hua^{1,2*}, HOU Qing-e¹

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China;

2. Key Laboratory of Aquatic Product Advanced Processing of Guangdong Higher Education Institutes, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: In this investigation, beverages were prepared in two pH conditions (pH 4.9 and pH 6.7) and stored in three temperature conditions (4, 20 and 37 °C), and the mechanism of color formation was preliminarily discussed, by determination of browning index, pH value, free amino acids, total sugar and reducing sugar content, in the step of sterilization and during storage. The results showed the browning index in pH 6.7 groups was higher than that of pH 4.9 groups not only during the sterilization but during the storage, in which temperature promoted the browning action as a whole. Composition analysis showed that both groups of beverage were similar in change of compositions, but the pH 6.7 group was more violent than that of pH 4.9 group. The kinds of amino acids and their concentrations became fluctuant during storage, in which, some amino acids such as aspartic acid increased remarkably, while some amino acids such as threonine, serine, cysteine, tyrosine and arginine decreased evidently. On the other hand, the concentrations of total sugar and reducing sugar were decreased obviously during storage. These results imply amino acids such as threonine, serine, cysteine, tyrosine, arginine, and reducing sugar involved the browning reaction whose distribution to be a Maillard reaction, and consequently causing the beverage color down during processing and storage, where both pH value and storage temperature were the major influencing conditions.

Key words: oyster protein beverage; Maillard reaction; color; browning index

Corresponding author: ZHANG Chao-hua. E-mail: zhangch@gdou.edu.cn