

毛酸浆发酵过程中的非酶褐变原因解析

朱 丹^{1,2}, 李世燕³, 任跃英^{1,*}, 牛广财³, 魏文毅³, 王 赢³

(1.吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118; 2.黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319;
3.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,同时接入酵母菌和乳酸菌,在25、30℃和37℃条件下对其进行发酵。以褐变度(browning degree, BD)为指标,检测其在发酵过程中引起非酶褐变的抗坏血酸(VC)、5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethyl furfural, 5-HMF)、多酚、还原糖、氨基酸态氮等化学组分的变化。采用通径系数分析方法,解析毛酸浆发酵过程中非酶褐变的主要原因。结果表明,在25、30℃和37℃等不同发酵条件下,毛酸浆发酵液中5-HMF含量、还原糖含量、氨基酸态氮含量等变化与褐变度的变化密切相关。在25℃发酵条件下,5-HMF含量对褐变度起到的直接作用最强,5-HMF含量和还原糖含量的交互作用是决定褐变度的首要因素;在30℃发酵条件下,氨基酸态氮含量对褐变度起到的直接作用最强,5-HMF含量和氨基酸态氮含量的交互作用是决定褐变度的首要因素;在37℃发酵条件下,5-HMF含量对褐变度起到的直接作用最强,同时,也是决定褐变度的首要因素。美拉德反应(Maillard reaction)是毛酸浆发酵过程中非酶褐变的主要原因。

关键词:毛酸浆; 发酵; 非酶褐变; 通径分析

Analysis of Mechanism of Non-Enzymatic Browning of *Physalis pubescens* L. during Fermentation

ZHU Dan^{1,2}, LI Shiyan³, REN Yueying^{1,*}, NIU Guangcai³, WEI Wenyi³, WANG Ying³

(1. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;
2. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;
3. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: The mixed culture fermentation of the fruit juice of *Physalis pubescens* L. with yeast and lactic acid bacteria was carried out at 25, 30 and 37 °C, respectively. Changes in the contents of vitamin C, total phenols, 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF), reducing sugar and amino acid nitrogen, associated with non-enzymatic browning occurring during the fermentation process, were examined in order to explore the mechanism of non-enzymatic browning through path coefficient analysis. The results indicated that the change of browning degree (BD) was closely related to 5-HMF, reducing sugar, and amino acid nitrogen in the fruit juice of *Physalis pubescens* L. fermented at three temperatures. In addition, 5-HMF had the strongest direct impact on BD, while interaction between 5-HMF and reducing sugar was the chief determinant of non-enzymatic browning during fermentation at 25 °C. When fermentation was done at 30 °C, amino acid nitrogen had the strongest direct impact on BD and the major cause of non-enzymatic browning was interaction between 5-HMF and amino acid nitrogen. During fermentation at 37 °C, the non-enzymatic browning of *Physalis pubescens* L. was mainly caused by 5-HMF as the principal determinant of BD. Therefore, Maillard reaction is the major cause of the non-enzymatic browning of *Physalis pubescens* L. during the fermentation process.

Key words: *Physalis pubescens* L.; fermentation; non-enzymatic browning; path coefficient analysis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615034

中图分类号: TS255.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2016) 15-0204-05

引文格式:

朱丹, 李世燕, 任跃英, 等. 毛酸浆发酵过程中的非酶褐变原因解析[J]. 食品科学, 2016, 37(15): 204-208. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615034. <http://www.spkx.net.cn>

ZHU Dan, LI Shiyan, REN Yueying, et al. Analysis of mechanism of non-enzymatic browning of *Physalis pubescens* L. during fermentation[J]. Food Science, 2016, 37(15): 204-208. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615034. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2016-01-19

作者简介: 朱丹(1972—), 女, 副教授, 博士研究生, 研究方向为药用植物。E-mail: 623016878@qq.com

*通信作者: 任跃英(1958—), 女, 教授, 博士, 研究方向为药用植物。E-mail: 381717169@qq.com

毛酸浆 (*Physalis pubescens* L.) 别名洋姑娘、黄姑娘等, 为茄科酸浆属多年生草本植物^[1]。毛酸浆是一种药食两用植物, 具有解除疲劳、消除肌肉疼痛、降低血压、预防动脉硬化和心血管疾病的发生和保护皮肤等作用^[2-4]。利用微生物对其进行发酵, 是毛酸浆的一种较常见的深加工方式。但是, 在其发酵过程中, 非酶褐变现象非常严重, 产品颜色发生改变, 降低了毛酸浆发酵产品的商品价值。目前普遍认为导致非酶褐变 (non-enzymatic browning) 的主要原因有: 美拉德反应 (Maillard reaction)、抗坏血酸 (VC) 氧化分解、多酚类物质氧化缩合反应以及焦糖化反应等^[5-8]。由于焦糖化反应的发生条件约在150 °C以上, 而本研究中毛酸浆发酵的温度较低 (小于40 °C), 在此条件下发生焦糖化反应的概率非常小。因此, 主要研究前3种非酶褐变反应。

近年来, 途径分析在生物科学研究中的应用日益增多, 可以用来阐述生物学科中诸多理论问题。途径分析是建立在途径系数概念基础上的一种多元统计分析方法^[9]。途径系数能够有效地表示相关变量间的原因对结果的直接影响效应, 能够估计出原因因素对效应因素的间接效应, 从而比较各因素的相对重要性^[10]。本研究通过检测毛酸浆发酵过程中引起非酶褐变的VC、5-羟甲基糠醛 (5-hydroxymethyl furfural, 5-HMF)、多酚、还原糖、氨基酸态氮等化学组分的含量变化, 采用途径分析得出各种发酵条件下引起非酶褐变的主要因素, 以及各个因素之间的相互作用程度, 以期有效控制其褐变提供理论依据。

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。

安琪牌葡萄酒用高活性干酵母 安琪酵母股份有限公司; 植物乳酸菌 中国科学院微生物研究所; 白砂糖 黑龙江北方糖业股份有限公司; 没食子酸、5-HMF (分析纯) 美国Sigma公司; 福林-酚试剂、3,5-二硝基水杨酸 (分析纯)、草酸 (优级纯)、硫代巴比妥酸 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、偏重亚硫酸钾 (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 (中国) 化学有限公司; Pectinex XXL果胶酶 诺维信 (中国) 生物技术有限公司。

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、SPH-250型生化培养箱 上海森信实验仪器有限公司; UV-1100型紫外-可见分光光度计 上海美谱达仪器公司; Exploter分析天平 奥豪斯仪器上海有限公司; 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; PHS-3C型精密pH计 上海雷诺仪器厂; 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。

1.3 方法

1.3.1 毛酸浆发酵工艺流程与操作要点

毛酸浆 → 挑选 → 去萼片 → 清洗 → 破碎 → 酶解 → 调糖 → 加SO₂ → 冷却 → 接种 → 发酵 → 发酵液 → 测定

↑
酵母菌、乳酸菌 → 活化 → 扩大培养

操作要点: 选取成熟度好、粒大饱满、无病虫害、无霉变的毛酸浆鲜果, 去除萼片, 清水洗涤后热烫30 s, 沥干后将其破碎, 得到毛酸浆果汁原浆; 按照1.6 mL/kg的比例加入Pectinex XXL果胶酶到毛酸浆原浆中, 于50 °C水浴酶解2 h^[11-12], 用蔗糖调整糖度至22%, 加入80 mg/kg的SO₂后, 搅动30 min。在无菌操作台上按0.2%和1%同时接入已活化好的酵母菌和乳酸菌, 分别置于25、30、37 °C条件下进行发酵。每隔1 d取样一次, 在3 600 r/min离心15 min后, 取上清液用于测定各项指标。

1.3.2 指标测定方法

多酚含量: 采用福林-酚法^[13]; VC含量: 采用2,6-二氯酚靛酚法^[14]; 还原糖含量: 3,5-二硝基水杨酸法^[15]; 5-HMF含量: 参考Cohen等^[16]的测定方法; 褐变度 (browning degree, BD): 参考文献[17]的方法; 氨基酸态氮含量: 参考GB/T 12143—2008《饮料通用分析方法》^[18]进行测定。

1.3.3 数据统计分析

以VC含量 (X_1)、5-HMF含量 (X_2)、多酚含量 (X_3)、还原糖含量 (X_4)、氨基酸态氮含量 (X_5) 为自变量因子, 以BD为应变变量Y, 对引起发酵液非酶褐变的各因子进行途径分析。得到各因子间的相关系数, 并求出直接途径系数 P_1 、 P_2 、 P_3 、 P_4 、 P_5 和各因子间的间接途径系数 P_{ij} 。直接途径系数 P_i 反映各因素对毛酸浆发酵液BD的直接效应, 间接途径系数 P_{ij} 用来表示某一因素对毛酸浆发酵液在发酵过程中BD的影响的间接效应。实验数据参照文献[19-20]进行处理, 运用SPSS 20.0软件, 采用Duncan's极差法对各项指标进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 毛酸浆发酵过程中的各指标检测结果

表1 毛酸浆发酵过程中的各指标检测结果

Table 1 Physicochemical properties of <i>Physalis pubescens</i> L. during fermentation							
发酵温度/℃	发酵时间/d	X_1 VC含量/(mg/100 mL)	X_2 5-HMF含量/(μg/mL)	X_3 多酚含量/(μg/mL)	X_4 还原糖含量/(g/100 mL)	X_5 氨基酸态氮含量/(mg/100 mL)	YBD
25	0	26.676±0.221	5.306±0.082	93.705±0.063	3.924±0.000	40.00±0.00	0.000±0.000
	2	22.620±0.221	10.592±0.087	85.289±0.070	3.675±0.002	42.01±0.00	0.176±0.001
	4	16.380±0.441	13.449±0.087	84.293±0.070	3.372±0.001	42.00±0.00	0.356±0.001
	6	14.820±0.221	16.735±0.058	83.496±0.211	3.260±0.005	49.05±0.49	0.515±0.004
	8	11.701±0.221	20.592±0.029	81.753±0.000	3.087±0.002	54.25±0.25	0.585±0.003
	10	7.488±0.110	23.694±0.202	79.761±0.000	2.937±0.002	58.00±0.28	0.690±0.002
	12	5.928±0.221	24.898±0.058	78.367±0.000	2.790±0.006	60.07±0.00	0.764±0.004
	14	3.432±0.110	26.469±0.029	77.271±0.282	2.695±0.002	61.50±0.70	0.807±0.003
	16	2.184±1.044	28.011±0.115	75.627±0.070	2.607±0.007	62.25±0.00	0.870±0.001
	18	0.936±0.221	29.184±0.058	75.378±0.000	2.542±0.001	63.05±0.00	0.896±0.007
30	20	0.936±0.044	30.102±0.317	68.705±0.000	2.462±0.009	63.50±0.71	0.920±0.001
	22	0.936±0.022	30.775±0.058	61.036±0.126	2.426±0.003	64.00±0.00	0.958±0.000
	0	26.676±0.221	5.306±0.082	93.705±0.063	3.924±0.000	40.00±0.00	0.000±0.000
	2	19.188±0.221	12.694±0.058	83.247±0.070	3.321±0.000	50.25±0.35	0.224±0.001
	4	14.352±0.441	16.653±0.231	82.052±0.070	3.080±0.006	57.75±0.74	0.477±0.013
	6	13.260±0.221	20.796±0.087	81.155±0.000	2.941±0.017	61.25±0.74	0.630±0.001
	8	8.892±0.662	25.265±0.000	79.562±0.000	2.823±0.003	66.50±0.49	0.715±0.009
	10	6.396±0.221	27.408±0.433	77.371±0.070	2.686±0.005	70.00±0.00	0.781±0.004
	12	4.524±0.221	29.347±0.058	76.374±0.000	2.593±0.003	72.05±0.00	0.875±0.001
	14	2.418±0.110	30.980±0.000	74.980±0.423	2.554±0.008	73.50±0.71	0.932±0.001
37	16	0.312±0.044	32.612±0.115	71.643±0.070	2.470±0.003	75.00±0.00	0.997±0.002
	18	0.312±0.044	35.245±0.144	65.916±0.000	2.345±0.007	78.05±0.14	1.099±0.001
	20	0.312±0.000	36.469±0.144	58.944±0.070	2.309±0.000	81.00±0.14	1.152±0.001
	22	0.312±0.000	38.449±0.058	52.570±0.423	2.287±0.017	83.50±0.21	1.255±0.001
	0	26.676±0.221	5.306±0.082	93.705±0.063	3.924±0.000	40.00±0.00	0.000±0.000
	2	16.848±0.221	15.612±0.087	80.956±0.563	3.069±0.009	60.50±0.57	0.384±0.003
	4	10.920±0.110	20.469±0.144	78.068±0.000	2.971±0.005	69.05±0.14	0.579±0.001
	6	9.204±0.221	25.326±0.029	77.271±0.000	2.788±0.000	72.00±0.28	0.748±0.002
	8	6.864±0.441	29.857±0.202	75.578±0.070	2.706±0.005	75.12±0.14	0.890±0.013
	10	2.808±0.441	34.735±0.115	73.884±0.000	2.602±0.002	77.15±0.42	1.056±0.004
	12	0.624±0.110	37.571±0.144	72.445±0.077	2.509±0.008	83.00±0.42	1.180±0.011
	14	0.468±0.221	39.633±0.115	70.996±0.423	2.400±0.001	87.50±0.71	1.252±0.149
	16	0.156±0.000	42.204±0.173	68.008±0.563	2.331±0.006	92.00±0.00	1.374±0.004
	18	0.156±0.000	45.184±0.520	61.833±0.704	2.291±0.005	97.05±0.14	1.457±0.001
	20	0.156±0.000	47.531±0.029	55.757±0.000	2.260±0.002	99.01±0.14	1.548±0.001
	22	0.156±0.000	49.755±0.058	43.406±0.563	2.230±0.006	102.00±0.00	1.618±0.005

2.2 25 ℃发酵条件下非酶褐变途径分析

表2 各因子间相关系数

Table 2 Correlation coefficients among chemical parameters of <i>Physalis pubescens</i> L. fermented at 25 ℃						
因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y
X_1	1	-0.989	0.841	0.989	-0.972	-0.992
X_2	-0.989	1	-0.892	-0.996	0.983	0.996
X_3	0.841	-0.892	1	0.901	-0.840	-0.881
X_4	0.989	-0.996	0.901	1	-0.972	-0.995
X_5	-0.972	0.983	-0.840	-0.972	1	0.974

在25 ℃发酵条件下, 非酶褐变因子 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 和褐变度Y之间的相关系数见表2, 通径分析见表3。25 ℃发酵条件下, 被研究的5个因子对BD的影响由大到小顺序依次是: 5-HMF含量($P_2=0.841$ 0)、还原糖含量($P_4=-0.787$ 0)、VC含量($P_1=0.337$ 0)、氨基酸态氮含量($P_5=-0.166$ 0)和多酚含量($P_3=0.146$ 0)。从表3还可以看出, X_2 与其余4个因素的交互作用十分明显, 而 X_3 和 X_5 与其他成分的交互作用很弱。

表3 通径分析

Table 3 Path analysis of chemical parameters of <i>Physalis pubescens</i> L. fermented at 25 ℃					
因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
X_1	0.337 0*	-0.831 7	0.122 8	-0.778 3	0.161 4
X_2	-0.333 3	0.841 0*	-0.130 2	0.783 9	-0.163 2
X_3	0.283 4	-0.750 2	0.146 0*	-0.709 1	0.139 4
X_4	0.333 3	-0.837 6	0.131 5	-0.787 0*	0.161 4
X_5	-0.327 6	0.826 7	-0.122 6	0.765 0	-0.166 0*

注: *. 直接通径系数 P_i , 其余为间接通径系数 P_{ij} 。下同。

决定系数表示各因素对结果的相对决定程度, 由相关系数和通径系数计算决定系数 d 。

单因素对Y的决定系数: $d_i = P_i^2$ (1)

两因素对Y的决定系数: $d_{ij} = 2r_{ij}P_iP_j$ (2)

根据(1)和(2)计算, 得到的决定系数 d 如下:

$d_1=0.1136$ $d_2=0.7073$ $d_3=0.0213$ $d_4=0.6193$ $d_5=0.0275$
 $d_{12}=-0.5606$ $d_{13}=0.0827$ $d_{14}=-0.5246$ $d_{15}=0.1088$
 $d_{23}=-0.2201$ $d_{24}=1.3184$ $d_{25}=-0.2745$
 $d_{34}=-0.2071$ $d_{35}=0.0407$
 $d_{45}=-0.2539$

$\sum d=0.9985$ $Pe=\sqrt{1-0.9985}=0.0387$

由决定系数可知, 5-HMF含量(X_2)和还原糖含量(X_4)的交互作用是影响25 ℃发酵条件下褐变度的第一决定因素, $d_{24}=1.3184$; 5-HMF含量是影响褐变度的第二决定因素, $d_2=0.7073$; 还原糖含量(X_4)是影响褐变度的第三决定因素, $d_4=0.6193$; 其余以此类推。 $\sum d$ 表示各 X_i 决定的褐变度增加量(Y)的变异平方和占褐变度的总变异平方和之比率。 Pe 为剩余通径系数, 表示未被考虑的一切可能影响Y的因素和试验误差^[21]。本试验中 Pe 较小, 说明已考虑了影响毛酸浆发酵过程中非酶褐变的主要因素。

2.3 30 ℃发酵条件下非酶褐变途径分析

在30 ℃发酵条件下, 非酶褐变因子 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 和褐变度Y之间的相关系数见表4, 通径分析见表5。对30 ℃发酵条件下的褐变度起首要作用的是氨基酸态氮含量(X_5), 其 $P_5=0.646$ 0; 其次是5-HMF含量(X_2)、VC含量(X_1)、多酚含量(X_3), 而还原糖含量(X_4)所起的作用最小。

表4 各因子间相关系数

Table 4 Correlation coefficients among chemical parameters of *Physalis pubescens* L. fermented at 30 °C

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y
X_1	1	-0.987	0.847	0.987	-0.986	-0.980
X_2	-0.987	1	-0.905	-0.986	0.997	0.996
X_3	0.847	-0.905	1	0.876	-0.905	-0.913
X_4	0.987	-0.986	0.876	1	-0.991	-0.984
X_5	-0.986	0.997	-0.905	-0.991	1	0.997

表5 通径分析

Table 5 Table of path analysis at 30 °C

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
X_1	0.117 0*	-0.455 0	-0.019 4	0.014 8	-0.637 0
X_2	-0.115 5	0.461 0*	0.020 8	-0.014 8	0.644 1
X_3	0.099 1	-0.417 2	-0.023 0*	0.013 1	-0.584 6
X_4	0.115 5	-0.454 6	-0.020 2	0.015 0*	-0.640 2
X_5	-0.115 4	0.459 6	0.020 8	-0.014 9	0.646 0*

决定系数计算结果如下（方法同2.2节式（1）、（2））：

$$d_1=0.0137 \quad d_2=0.2126 \quad d_3=0.0005 \quad d_4=0.0002 \quad d_5=0.4173$$

$$d_{12}=-0.1065 \quad d_{13}=-0.0046 \quad d_{14}=0.0034 \quad d_{15}=-0.1490$$

$$d_{23}=0.0192 \quad d_{24}=-0.0136 \quad d_{25}=0.5938$$

$$d_{34}=-0.0006 \quad d_{35}=0.0269$$

$$d_{45}=-0.0192$$

$$\sum d=0.9941 \quad Pe=\sqrt{1-0.9941}=0.0766$$

由决定系数可知，5-HMF含量（ X_2 ）和氨基酸态氮含量（ X_5 ）的交互作用是影响30 °C条件下褐变度的第一决定因素， $d_{25}=0.5938$ ；氨基酸态氮含量（ X_5 ）是影响褐变度的第二决定因素， $d_5=0.4173$ ；5-HMF含量（ X_2 ）是影响褐变度的第三决定因素， $d_2=0.2126$ ；其余以此类推。 $\sum d=0.9941$ ， $Pe=0.0766$ ，说明已考虑了影响毛酸浆发酵过程中非酶褐变的主要因素。

2.4 37 °C发酵条件下非酶褐变通径分析

表6 各因子间相关系数

Table 6 Correlation coefficients among chemical parameters of *Physalis pubescens* L. fermented at 37 °C

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Y
X_1	1	-0.956	0.786	0.978	-0.946	-0.935
X_2	-0.956	1	-0.905	-0.960	0.987	0.995
X_3	0.786	-0.905	1	0.848	-0.924	-0.918
X_4	0.978	-0.960	0.848	1	-0.972	-0.937
X_5	-0.946	0.987	-0.924	-0.972	1	0.982

在37 °C发酵条件下，非酶褐变因子 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 和褐变度 Y 之间的相关系数见表6，通径分析见表7。对37 °C发酵条件下的褐变度起首要作用的是5-HMF含量（ X_2 ），其 $P_2=0.8870$ ；其次是氨基酸态氮含量（ $P_5=0.1910$ ）、还原糖含量（ $P_4=0.0410$ ）、多酚含量（ $P_3=0.0330$ ）、VC含量（ $P_1=-0.0040$ ）。5-HMF含量（ X_2 ）与其他因子的交互作用也比较明显。

表7 通径分析

Table 7 Path analysis of chemical parameters of *Physalis pubescens* L. fermented at 37 °C

因子	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
X_1	-0.004 0*	-0.847 9	0.026 0	0.040 1	-0.180 7
X_2	0.003 8	0.887 0*	-0.029 9	-0.039 4	0.188 5
X_3	-0.003 1	-0.802 7	0.033 0*	0.034 8	-0.176 5
X_4	-0.003 9	-0.851 5	0.028 0	0.041 0*	-0.185 7
X_5	0.003 8	0.875 5	-0.030 5	-0.039 9	0.191 0*

决定系数计算结果如下（方法同2.2节中式（1）、（2））：

$$d_1=0.000016 \quad d_2=0.7867 \quad d_3=0.0011 \quad d_4=0.0017 \quad d_5=0.0365$$

$$d_{12}=0.0068 \quad d_{13}=-0.0002 \quad d_{14}=-0.0003 \quad d_{15}=0.0014$$

$$d_{23}=-0.0530 \quad d_{24}=-0.0698 \quad d_{25}=0.3144$$

$$d_{34}=0.0107 \quad d_{35}=-0.0116$$

$$d_{45}=-0.0152$$

$$\sum d=0.9985 \quad Pe=\sqrt{1-0.9985}=0.0387$$

由决定系数可知，5-HMF含量（ X_2 ）是影响37 °C条件下褐变度的第一决定因素， $d_2=0.7867$ ；5-HMF含量（ X_2 ）和氨基酸态氮含量（ X_5 ）的交互作用是影响褐变度的第二决定因素， $d_{25}=0.3144$ ；5-HMF含量（ X_2 ）和还原糖含量（ X_4 ）的交互作用是影响褐变度的第三决定因素， $d_{24}=-0.0698$ ；其余以此类推。 $\sum d=0.9985$ ， $Pe=0.0387$ ，说明已考虑了影响毛酸浆发酵过程中非酶褐变的主要因素。因此，在37 °C发酵条件下，5-HMF含量（ X_2 ）对褐变度起到的直接作用最强，也是决定褐变度的首要因素。

3 讨论与结论

非酶褐变通常是多种反应共同作用的结果，但在不同的产品中，有不同的主导反应类型。例如，香蕉汁在贮藏过程中则主要发生美拉德反应^[22]；柑橘汁贮藏期间的非酶褐变主要是由VC降解引起^[23]；而Damasceno等^[24]指出在橙汁等抗坏血酸含量高的果汁中抗坏血酸降解才是引起褐变的主要因素。混浊苹果汁在贮藏中发生的非酶褐变主要是由酚类的氧化聚合而引起^[25]。美拉德反应是一种十分复杂的羰氨反应，即羰基化合物（还原糖类）与氨基化合物（氨基酸和蛋白质）经过一系列重排、脱水、缩合及聚合反应生成拟黑素的过程。主要有3种反应途径：在酸性条件下经1,2-烯醇化反应，形成呋喃（fural）及5-HMF；在碱性条件下经2,3-烯醇化反应形成还原酮及脱氧还原酮；在高温条件下，经Amadori裂解最终生成类黑素^[26]。VC是果汁中的一种主要营养成分，其氧化分解主要有两种途径：有氧分解反应最终生

成还原酮；无氧分解的主要产物为糠醛^[27]。近年来的研究表明，多酚的化学性质活泼，易氧化成苯醌，醌类物质能自发与亲核物质结合（如酚类、巯基化合物及某些胺类），反应中生成的二聚体或多聚体可能通过结构重排，产生新的二酚二聚体，而新的二聚体更容易被氧化从而进入下一轮的循环，加快了酚的聚合，结果是形成褐色多聚体和更多的 H_2O_2 ^[28]。

本实验在25、30℃和37℃发酵条件下，将毛酸浆的VC含量、5-HMF含量、多酚含量、还原糖含量、氨基酸态氮含量等成分与褐变度进行通径系数分析，结果表明：1）在25℃发酵条件下，5-HMF含量对褐变度起到的直接作用最强，5-HMF含量和还原糖含量的交互作用是决定褐变度的首要因素。2）在30℃发酵条件下，氨基酸态氮含量对褐变度起到的直接作用最强，5-HMF含量和氨基酸态氮含量的交互作用是决定褐变度的首要因素。3）在37℃发酵条件下，5-HMF含量对褐变度起到的直接作用最强，也是决定褐变度的首要因素。从整个发酵期看，在不同发酵温度下，5-HMF都大量积累，氨基酸和还原糖参与整个发酵过程中，从而说明毛酸浆发酵过程中发生的非酶褐变主要由美拉德反应在酸性途径下产生。综上所述，美拉德反应是毛酸浆发酵过程中非酶褐变的主要原因。

参考文献：

- [1] 许亮, 荣祥, 燕云, 等. 中国酸浆属植物药用资源研究[J]. 中国野生植物资源, 2009, 28(1): 21-23. DOI:10.3969/j.issn.1006-9690.2009.01.006.
- [2] 丰利, 高倩倩. 酸浆和甜姑娘的营养成分分析[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(33): 16113-16114. DOI:10.3969/j.issn.0517-6611.2012.33.032.
- [3] 甄清, 李静, 李勇, 等. 锦灯笼宿萼提取物体外抗菌作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(2): 273-274. DOI:10.3969/j.issn.1001-6880.2006.02.024.
- [4] 张英蕾. 毛酸浆免疫活性物质的精制及评价[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010: 5-9.
- [5] 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.
- [6] FUSTIER P, ST-GERMAIN F, LAMARCHE F, et al. Non-enzymatic browning and ascorbic acid degradation of orange juice subjected to electro reduction and electro-oxidation treatments[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(4): 491-498. DOI:10.1016/j.ifset.2011.07.014.
- [7] BURDURLU H S, KARADENIZ F. Effect of storage on non-enzymatic browning of apple juice concentrates[J]. Food Chemistry, 2003, 80(1): 91-97. DOI:10.1016/S0308-8146(02)00245-5.
- [8] ÖZHAN B, KARADENIZ F, ERGE H S. Effect of storage on non-enzymatic browning reactions in carob pekmez[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2010, 45(4): 751-757. DOI:10.1111/j.1365-2621.2010.02190.x.
- [9] 郑立飞, 范展飞, 冯浩, 等. 小麦产量因素对籽粒容重影响的通径分析[J]. 生物数学学报, 2015, 30(4): 721-727.
- [10] 刘魁英. 食品研究与数据分析[M]. 3版. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 167-168.
- [11] 王陈强, 邢红旗, 崔正涛, 等. 果胶酶酶解库尔勒香梨果汁工艺条件优化[J]. 食品工业, 2012, 33(6): 50-52.
- [12] 梁琳侦, 郭丹, 胡卓炎, 等. 图解法优化荔枝果浆酶解澄清的工艺[J]. 现代食品科技, 2012, 28(6): 655-658. DOI:10.3969/j.issn.1673-9078.2012.06.014.
- [13] 杜丹丹, 李建科. Folin-Ciocalteu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.
- [14] 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: 34-41.
- [15] 徐娟娉, 刘东红. 雪里蕻腌菜腌制过程中主要成分动态变化研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(7): 215-221.
- [16] COHEN E, BIRK Y, MANNHEIM C H, et al. A rapid method to monitor quality of apple juice during thermal processing[J]. Lebensmittel Wissenschaft und Technologies, 1998, 31(7/8): 612-616. DOI:10.1006/food.1998.0385.
- [17] MEYDAY S, SAGUY I, KOPELMAN I J. Browning determination in citrus products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1977, 25(3): 602-604. DOI:10.1021/jf60211a030.
- [18] 全国食品工业标准化技术委员会. GB/T 12143—2008 饮料通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [19] 章银良. 食品与生物试验设计与数据分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2010: 61-72.
- [20] 郭春华. 常用统计软件在生命科学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 59-63.
- [21] 陈坚生, 杨幼慧, 蹇华丽, 等. 荔枝酒贮藏过程中非酶褐变的因子解析[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(6): 20-25.
- [22] 王素雅, 王璋. 香蕉汁储藏过程中非酶褐变的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(12): 81-85. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2005.12.015.
- [23] ROIG M G, BELLO J F, RIVERA Z S, et al. Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice[J]. Food Research International, 1999, 32(9): 609-619. DOI:10.1016/S0963-9969(99)00128-3.
- [24] DAMASCENO L F, FERNANDES F A N, MAGALHÃES M M A, et al. Non-enzymatic browning in clarified cashew apple juice during thermal treatment: kinetics and process control[J]. Food Chemistry, 2008, 106(1): 172-179. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.05.063.
- [25] 赵光远, 纵伟, 姚二民. 混浊苹果汁储藏过程中色泽稳定性的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(8): 93-97. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2006.08.018.
- [26] WALLER G R. The Maillard reaction in foods and nutrition[M]. Washington DC: American Chemical Society, 1983: 7-10.
- [27] 杜克生. 食品生物化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 190-191.
- [28] WATERHOUSE A L, LAURIE V F. Oxidation of wine phenolics: a critical evaluation and hypotheses[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2006, 57(3): 306-313.