

苹果浓缩汁褐变、后混浊诱因及控制研究

郭善广

摘要 苹果浓缩汁褐变、后混浊一直是困扰着我国乃至世界果汁加工业的重大技术难题,目前尚无成熟可靠的控制方法^[45,71]。褐变、后混浊严重影响果汁的品质,增加了我国果汁出口的难度。因此,如何安全、无污染地减缓、降低和控制苹果浓缩汁褐变、后混浊而又最大限度地保存果汁中的营养成分,是提高果汁质量、增加附加值的关键。

本文研究了苹果浓缩汁贮存对褐变、后混浊的影响,确定了引起褐变、后混浊的主要诱因;检测了苹果浓缩汁生产加工过程对褐变、后混浊及其诱因的影响;分析了榨季不同时期苹果浓缩汁色值和浊度的变化;探讨了 LSA—800B 吸附树脂对果汁中色素及色素前体(诱因)吸附的动力学特征;尝试了使用金属微滤膜控制、减轻褐变、后混浊的方法。希望通过研究能为生产高品质苹果浓缩汁提供理论及数据支持。试验研究结果表明:

1. 苹果浓缩汁加工单元操作中前巴氏杀菌处理能够钝化 PPO 的活性,在前巴氏杀菌后的加工单元操作及贮存过程中引起果汁褐变的主要原因是美拉德反应。

2. 苹果浓缩汁贮存过程中温度对后混浊影响很大,在较高温度下更易于形成后混浊,而在较低温度下后混浊形成缓慢。贮存过程中浊度变化经历三个典型的阶段:迟滞期、增长期和稳定期。以浊度(NTU)计算三个不同贮存温度 5℃、20℃和 37℃条件下果汁形成后混浊的速率基本符合一级反应动力学。

3. 不同贮存温度条件下果汁褐变变化速率符合一级动力学。温度对褐变的影响随着温度的提高褐变速率明显加快,5℃、20℃和 37℃贮存条件下果汁褐变度分别增加了 12.45%、46.86%和 415.28%。以色值和吸光值计算三个不同贮存温度条件下果汁褐变速率基本符合一级反应动力学。

4. 苹果浓缩汁中的蛋白质(Pro)、总酚(PP)及单宁(Tan)含量随贮存时间延长而下降,且在 37℃贮存时下降速率明显大于 5℃和 20℃时的下降速率。

5. 5-羟甲基糠醛(HMF)含量与果汁的褐变速率成指数关系,方程相关系数达到 0.90 以上。说明果汁在贮存时的褐变主要由美拉德反应引起且初期 HMF 微量的增加,就能产生很大程度的褐变,控温可以减缓果汁的褐变。苹果浓缩汁中的

氨基态氮 (AAN) 含量随贮存时间增加而下降、随贮存温度升高下降速率加快。果汁中氨基态氮含量变化与果汁褐变速率呈线性相关, 同样说明褐变是由美拉德反应引起。

6. 在加工过程前期低温条件及高温短时杀菌情况下, 美拉德反应速率缓慢, 对果汁褐变的影响不显著。在后巴氏杀菌较长时间高温处理时, 美拉德反应速率很快。加工过程中除了超滤对氨基态氮 (AAN) 几乎没有影响外, 其它单元操作都可降低果汁中 AAN 的含量, 特别是吸附、浓缩和后巴氏杀菌对其均有明显的影响。果汁中总酚 (PP) 和单宁 (Tan) 的含量在酶解后的各加工单元操作中呈明显下降趋势。加工过程中的酶解能显著降低可溶性蛋白质 (Pro) 含量, 超滤和吸附对其影响也比较显著, 而浓缩和后巴氏杀菌工艺对其影响较弱。

7. 正常苹果浓缩汁和后混浊苹果汁的初始浊度有显著差异。产生后混浊果汁的初始浊度要高于正常果汁的初始浊度, 在生产中控制果汁的初始浊度非常必要, 可以降低果汁在贮存过程中发生后混浊的几率。

8. LSA-800 树脂吸附果汁中色素为吸热过程, 主要是物理吸附。不同树脂浓度 25℃ 吸附初始平衡时间平均为 9.73h, 而且随着温度提高初始平衡时间有所减少。在 2—4g/L 果汁的树脂浓度范围内, 吸附效果比较明显, 超过此范围则单位质量树脂吸附效果有所下降。在试验温度范围内较高温度的吸附平衡常数 (K_{ad}) 值较大。

9. 金属膜过滤前后果汁的色值变化差异不大, 三次试验中平均色值仅降低了 0.43%; 经纸板过滤的果汁色值则差异很大, 三次试验中平均色值降低幅度达 10.11%。金属微滤膜与纸板过滤对浊度的影响都很显著, 处理后果汁的浊度分别下降了 73.50% 和 47.50%。

10. 选择成熟度合适的苹果能控制, 减缓褐变、后混浊的发生。苹果贮存时间与色值的关系不明显, 但随贮存时间延长浊度有下降趋势。

关键词: 苹果浓缩汁 褐变 后混浊 诱因 控制

Study on Inducements and Control of Browning, haze for AJC

Guo Shan-guang

Abstract: Browning and haze in apple juice concentrate (AJC) have been long-standing problems in processing and there is no reliable solution to them. So, how to safely better cope with these problems and to protect the nutrition of juice is important to produce high quality AJC.

Effect of storage on browning and haze of AJC is investigated and some inducements are determined in the paper; effect of processing on browning and haze is researched; the change of color and turbidity during producing season is carefully observed; kinetics on the adsorption of dark colored compounds from apple juice using LSA-800B adsorbent resin is studied; also micro-filtration is attempted to retard browning and haze development by using metal membrane. Theories and data are supplied to resolve the problems in AJC processing. The results of the work are listed as follows:

1. First pasteurization of the raw juice may inactivate or denature polyphenoloxidase (PPO), so in the following processing and storage, accumulation of brown color is mainly due to Maillard reaction.

2. During storage time, haze is liable to form at high temperature but low temperature. Haze development during storage reveals three distinct phases which may be labeled as follows: a lag phase, a growth phase, and a stable phase. The rate of haze formation at all three temperatures 5°C, 20°C, and 37°C, as measured by the increase in turbidity, can be described by first-order reaction kinetics.

3. The rate of browning at all three temperatures fit first-order kinetic model. The Maillard reaction occurs preferably at high temperature, for the rate of this reaction at high temperature is faster than that at low temperature. The browning increases of juice samples which are stored at 5°C, 20°C, and 37°C are 12.45%, 46.86%, and 415.28%, respectively. According to colour value (T440) and browning index (A420) changing, the rates of browning at all three temperatures can be described by first-order reaction kinetics.

4. The contents of soluble protein (Pro), amino acid nitrogen (AAN), polyphenol (PP), and Tannin (Tan) in AJC decrease by increasing storage time and the decreasing rate at 37 °C is evidently greater than that at 5°C and 20°C.

5. The relation between 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and browning of juice can be described as exponential and the regression coefficient is larger than 0.90. So, the reason why AJC becomes browning during storage is Maillard reaction; browning changes greatly by little change of HMF. At the beginning of storage, lower temperature can prevent browning of juice. AAN contents of the AJC samples decrease as a function of storage and temperature. The linear relation between AAN and browning is also indicated that the cause of browning is Maillard reaction.

6. At initial processing stage, low temperature and instant high temperature sterilization, Maillard reacts slowly, which has no obvious effect on the browning. The rate of Maillard reaction is increase at second pasteurization for the sake of high temperature and long-playing. Ultrafiltration (UF) has hardly effect on AAN, however, other unit operations can reduce the content of ANN especially in concentration, adsorption and second pasteurization. The tendency of PP and Tan changing is declining after enzymolysis during processing. Solubled protein can be reduced markedly by enzymolysis as well as by UF and adsorption, but concentration and second pasteurization.

7. The initial turbidity of hazed AJC is remarkably higher than that of normal AJC, thereby, controlling the initial turbidity of juice is important.

8. The adsorption of color compounds on LSA-800B adsorbent resin was an endothermic process, and controlled by physical mechanisms only. The initial equilibrium time of adsorption is average 9.73h at 25°C for all concentrations of adsorbent resin, and may tend to decrease as the adsorption temperature increases. Within the adsorbent resin concentration of 2-4g/L juice, the effect of adsorption is distinct; exceeding the scope, the efficiency per unit adsorbent decreases. At relative high temperature, k_{ad} is high.

9. Color values of juice, filtrated by metal membrane MF, are not different from that of pre-filtrated; the colors of all three juice samples decrease only 0.43%. On the other hand, filtrated by plate-filtration, the colors reduce 10.11%. Both metal and paper can influence the turbidity of juice; the decrements are 73.50 %and 47.50%, respectively.

10. Selecting ripe apple can reduce or retard browning and haze formation. Turbidity of juice decreases as the function of apple storage time increasing, but color value does not change obviously.

Keywords: AJC browning haze inducement control

文献综述

1. 我国苹果浓缩汁行业发展概况及面临主要质量问题

1.1 我国苹果浓缩汁行业发展概况

苹果浓缩汁(Apple Juice Concentrate, AJC)行业在我国经过二十多年的发展历程,从无到有,从小到大,已成为受国外关注的农产品加工行业。目前我国苹果浓缩汁行业已经进入比较健康和成熟的时期^[1]。

据统计,我国苹果种植总面积近3000万亩,年产苹果2200万吨,占世界总产量的近50%,是世界第一生产大国^[2]。我国已形成渤海湾苹果产区(以胶东、辽南、辽西为主)、西北苹果产区(包括山西中北部、陕西中北部、甘肃河西走廊)、中部苹果产区(洛阳以东黄河故道地区为主体的黄淮流域和秦岭北麓)三大苹果主产区^[2]。由于我国特有的资源优势,果汁加工业近年来发展迅速,苹果浓缩汁年产量由上世纪80年代中期的不足千吨猛增至现在的40多万吨,成为世界苹果浓缩汁生产的第一大国。据海关最新统计数字显示,2003年我国浓缩苹果汁出口再创历史新高,一举突破40万吨,达到41.7万吨,同比增长41%;出口创汇2.54亿美元,同比增长47%^[3]。随着产品出口近年来的大幅增加,行业内投资规模也不断增加,特别是2001年以后,行业内较大的企业纷纷扩产,行业外的企业也趁机进入该行业,仅2002年,行业投资总额就达到5亿元,与此同时,国内行业间的竞争也越来越激烈。目前我国苹果浓缩汁行业的规范程度和产品质量正在不断提高,设备水平已达到世界一流,中国作为全球浓缩苹果汁行业主导国的地位将进一步巩固。

质量好、价格低的中国苹果浓缩汁已经越来越受到美国、欧洲、日本、澳大利亚等国家和地区客户的青睐,显现出中国果汁的品牌效应。可口可乐等国际大公司多次来我国考察并订购苹果浓缩汁。2003年,中国苹果汁出口市场已遍布世界五大洲,仅出口美国、德国、日本、澳大利亚等主要国家市场的果汁就达30多万吨。

2004年2月10日,美国商务部根据美国国际贸易法院的终裁,签署了新的反倾销修正令。这不仅意味着持续四年多、耗资数千万的反倾销官司尘埃落定,更意味着我国苹果浓缩汁的出口将跃上一个新的高度。赢得了美国这个占中国果汁总出口量40%的大市场,这就为我国苹果浓缩汁行业争取了更好的国际发展空间,为整个行业的健康发展打下了很好的基础。

1.2 我国苹果浓缩汁行业所面临主要质量问题

随着世界经济全球化、国际市场一体化、企业竞争国际化进程的明显加快，发达国家基于保护本国社会经济利益的需要，以环保安全为理由，以质量标准为盾牌，正在实现由关税壁垒向技术壁垒的过渡。随着WTO贸易相关知识产权协议的实施，发达国家正在世界范围内将其技术领先优势转化为市场垄断优势，以专利申请为先导，以知识产权保护为手段，提高技术门槛，巩固竞争优势。国际贸易保护主义新形势的出现以及知识产权保护的日益加强，使中国苹果加工业面临更加严峻的技术、市场和产业挑战。因此，提高果品加工技术科技含量、增强国际竞争能力、增加整体效益显得更加迫在眉睫。

我国是世界第一大苹果生产国，苹果深加工作为苹果产业化发展的重要方向将对我国乃至世界果业起举足轻重的影响。但我国苹果的加工量仅占总产量的7%左右，这与世界苹果平均加工水平23%相比有不小差距，与主要苹果生产国相比相距更远。

目前我国苹果浓缩汁主要出口国际市场，拥有世界一流的生产设备，但我国苹果加工业整体加工能力还较薄弱，企业生产规模、市场影响力有待进一步提高，企业研发能力不强；苹果加工专用品种缺乏，原料基地建设不足，精深加工关键技术尚需解决，关键易损零部件依赖进口，质量标准与控制体系有待进一步完善，综合利用效率不高。基于上述原因，产品出口时常遇到诸如褐变、后混浊、农药残留、棒曲霉素、耐热菌超标等问题，影响了出口产品的品质。这些问题的存在严重制约着我国苹果加工业的发展。若不能及时解决上述问题，将使我国的苹果浓缩汁产品在国际市场竞争中处于被动地位，从而阻碍我国果汁工业的持续健康发展。

(1) 农药残留

苹果浓缩汁农残超标源于原料果中农残超标。要控制农残超标，一是严把原料关，对于违规使用农药的原料果一律拒收；二是采取工艺措施，主要是加强清洗，以及采用吸附技术脱除苹果浓缩汁中的农药残留^[4]。目前果汁厂中已较多地使用吸附树脂脱降农残，有较好的效果。

(2) 棒曲霉素^[5]

棒曲霉素是青霉属、曲霉属、裸囊菌属等多种真菌的次生代谢产物。由于棒曲霉素能引起动物的致畸性、致突变性和致癌性，因此对其限量有严格规定，国际食品法典委员会(CAC)拟将果汁中棒曲霉素的最高限量由50 μg/L降低至25 μg/L。研究发现，霉烂果、黑心果中棒曲霉素含量极高。因此，控制棒曲霉素含量，首先要抓好苹果原料拣选关，严格控制进入生产线的烂果率。另外，

采用吸附技术脱除果汁中的棒曲霉素，在实践中也应用很广，效果也很好。

(3) 耐热菌

耐热菌，即酸土环脂芽孢杆菌 (*Alicyclobacillus acidoterrestris*)，其在果汁中的生长繁殖，可使果汁的感官品质劣变，如产生令人不适的气味，有时还使果汁形成白色沉淀或雾状浑浊，从而影响了产品的感官质量。研究发现，每 10 克果汁中一个耐热菌的存在即可导致上述的品质劣变^[6~8]。因此，国际贸易中一般要求每 10 克苹果浓缩汁中耐热菌含量小于 1。目前实际生产中多采用纸板滤除耐热菌。

在苹果浓缩汁生产中，对农药残留、棒曲霉素、耐热菌控制已研究的比较清楚，并且都有相应切实可行的工艺控制措施，这些质量问题目前已得到较好的控制。与此不同的是，对苹果浓缩汁褐变、后混浊的控制，目前仍无成熟可靠的方法，仍是果汁加工过程中存在的技术难题，直接严重影响果汁的品质，增加了我国果汁出口的难度，已经成为我国果汁生产企业产品出口的主要障碍^[9]。因此，如何安全、无污染地减缓、降低和控制苹果浓缩汁褐变、后混浊而又最大限度地保存果汁中的营养成分，是提高果汁产品质量、增加产品附加值的关键。

2. 苹果浓缩汁褐变、后混浊机理研究进展概述

2.1 苹果浓缩汁加工中褐变机理研究进展

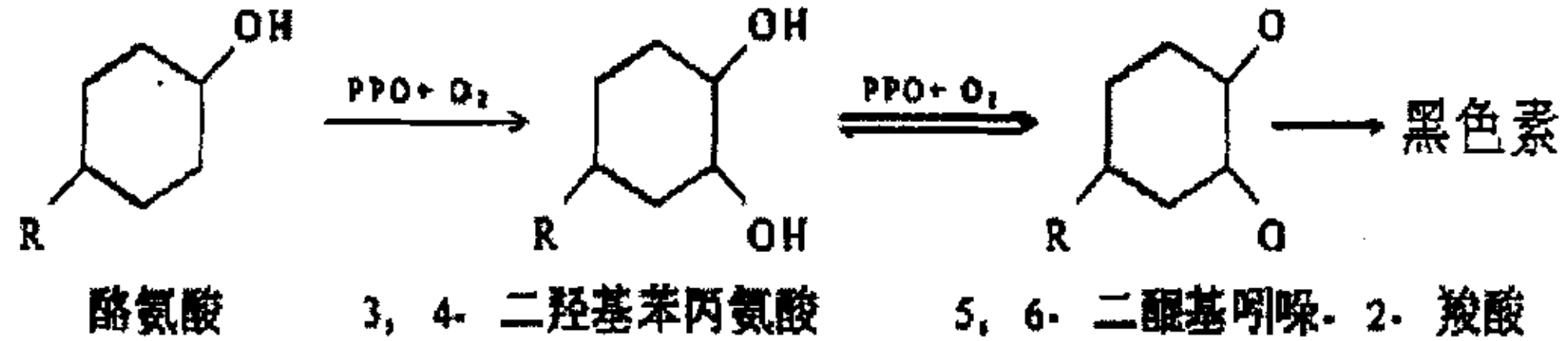
在苹果浓缩汁生产中影响果汁褐变的主要机理是酶促褐变和非酶褐变。目前对酶促褐变的研究较为广泛和深入，而对非酶褐变的研究相对薄弱，以下分别对二者的研究进展加以论述。

2.1.1 苹果浓缩汁加工中酶促褐变机理研究进展

酶促褐变是果汁及其它有关食品中普遍存在的一种现象，它不仅影响产品外观，而且使产品的风味和营养也发生变化，尤其是发生在肉质颜色较浅的苹果上的酶促褐变，影响更为显著。当苹果受到机械损伤或处于不良环境，如受冻、受热时，尤其是在加工过程中，苹果中的多酚类物质在多酚氧化酶 (polyphenoloxidase, PPO) 的作用下氧化，而呈现褐色。苹果中的酚类物质主要包括邻苯二酚 (儿茶酚)、肉桂酸、咖啡酸、绿原酸、表儿茶酚及其聚合物、酯化物等，这些酚类物质一般在苹果生长发育中合成，但若在采收期间或采收后处理不当而造成机械损伤，或在胁迫环境中也能诱导酚类物质的合成。

上述多酚类物质在完整的细胞中作为呼吸传递物质，在酚—醌之间保持着动态平衡，当新鲜的果实组织被损伤，氧大量侵入，酶原被激活，邻苯二酚类物质

经酶的催化作用氧化为邻苯醌类化合物，其中以酪氨酸酶为代表的多酚氧化酶(PPO)起着关键性的作用，亦即酚类化合物在多酚氧化酶的作用下形成多巴(dopa: L-β-(3,4-dihydroxy-phenine)-alanine)，多巴醌(dopaquinone)进而生成复杂聚合物—黑色素(melanin)，其反应式为^[10]：



由此可见，酶促褐变必须具备三个条件：多酚类物质、PPO、氧^[11, 12]。

控制酶促褐变的方法从传统的加热钝化、调节 pH 值等到目前生物技术的应用，其效果越来越好，但研究还在不断地发展。总的来讲，对酶促褐变的抑制可从三方面入手：(1) 减少酚类物质含量。通过培育抗褐变的新品种，改善栽培管理技术，减少采收、贮运、加工过程中的机械损伤，延缓褐变；(2) 控制 PPO 活性。利用 PPO 活性可被热、有机酸、酚类物质、硫、螯合剂、醌偶联剂等物质抑制的特性，对褐变加以控制，或者通过基因工程的方法降低 PPO 活性；(3) 降低氧浓度。可利用抽气、惰性气体保护等方法降低环境中的氧浓度，从而控制褐变的发生。具体的控制酶褐变的方法可以分成三大类：物理控制、化学控制和生物技术。

2.1.1.1 物理控制方法

(1) 热处理

热处理导致 PPO 失活是传统的抑制产品褐变的有效方法之一。热处理包括热水处理、热蒸汽处理、热空气处理等。采用瞬时高温处理原料，使多酚氧化酶及其它的酶类全部失活，达到控制酶褐变的目的。因此，加热是最彻底的抑制褐变的方法，被广泛地使用。巴氏杀菌处理属于这一类方法，其处理的关键是要在最短的时间内达到钝化酶的目的，否则，易因加热过度而影响产品的质量，使产品具有蒸煮味；相反，如果热处理不彻底，破坏了细胞的结构，但未钝化酶类，反而会增加酶与底物的接触机会进而促进了酶褐变。一般来说，在 75~95℃ 之间热处理 5~7s，可使大部分酶失活^[13~15]。加热处理也可使用热的柠檬酸和抗坏血酸溶液进行处理，效果更加理想，目前已有人在土豆护色中采用^[16]。

热处理有时也可与抽真空的方法相结合去除果实自身的溶解氧^[14, 17, 18]。苹果是果肉组织间隙中气体较多的水果适宜采用抽真空的方法，即在 93KPa 真空度下保持 5~15min，突然破除真空，可将汤汁强行渗入组织内部从而去除细胞间隙的

气体，而达到控制酶褐变的目的。也可利用维生素 C 形成无氧条件，即采用高浓度的抗坏血酸等溶液浸泡，形成阻氧扩散层，以防止褐变的发生^[16]。

(2) 避免金属离子的干扰^[13]

金属(如铁、铜、锡、铝等)离子是酚酶的激活剂，也是非酶褐变中花青苷变色的催化剂。在果汁加工中采用必要的吸附剂和螯合剂减少或避免金属离子的催化作用从而就可以抑制褐变的发生。

(3) 高压处理

高压处理近年来在食品加工中除了作为灭菌措施外，对苹果原料还有良好的护色效果，而且高压处理最大限度地减少了加工材料的营养成分损失，保持原有风味，因而具有广阔的应用前景^[19, 20]。

2.1.1.2 化学控制方法

目前，控制产品褐变最有效的亚硫酸及其盐类等化学药剂，由于其残毒性和对环境的污染，已被美国 FDA 禁止在鲜切果蔬上使用^[21]。因此，寻找卫生、安全、有效的褐变控制方法已成为研究的热点之一。

(1) 有机酸处理

常用的有柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸^[13~16]、P-对羟基苯丙烯酸^[22]、L-半胱氨酸、曲酸、肉桂酸、苯甲酸^[15, 16]，它们的作用是降低 pH 值以控制 PPO 的活力。PPO 的最适 pH 值在 6~7 之间，如控制 pH 值在 4~5 以下，则可以降低 PPO 的活性，减少偶联褐变过程。柠檬酸是使用最多的食用酸，有降低 pH 值和螯合 PPO 的铜辅基的作用，但作为褐变抑制剂来说，通常与抗坏血酸或亚硫酸以 3:1 的比例联用，效果更好。也有研究发现 100mmol/L 的柠檬酸与 10mmol/L 的谷胱甘肽混合应用在荔枝上能抑制 PPO 活性的 85%^[23]。另外 0.30% 的柠檬酸与 0.07%~0.11% 的六偏磷酸盐配合使用取得了很好的抗褐变的效果^[10, 24]。

苹果酸在果汁中对酚酶的抑制作用比柠檬酸强^[14]，但其价格昂贵。抗坏血酸是更加有效的酚酶抑制剂，即使浓度极大也无异味，对金属无腐蚀作用，抗坏血酸是最理想的抗褐变剂^[10, 25]。原因是抗坏血酸在果汁中的抗褐变作用是作为抗坏血酸氧化酶的底物在酶的催化作用下可把溶解在果汁中的氧消耗掉。据试验证明，在每千克水果制品中加入 660 毫克抗坏血酸，即可有效控制褐变并减少苹果罐头顶隙中的含氧量。抗坏血酸和食盐的混合溶液浸泡切块后的果实，也可抑制 PPO 的活性，一般以 15%~20% 的食盐和 0.50% 的抗坏血酸的溶液浸泡为宜。

(2) 使用新型抗氧化剂^[10, 26, 27]

目前国际上使用 4-己基间苯二酚(4HR)，作为抑制褐变的新型抗氧化剂。4HR 学名 4-己基-1, 3-苯二酚(4-Hexyl-1, 3-benzenediol)，为白色粉末，主要用作

抗氧化剂、色素稳定剂和护色剂。4HR 是酪氨酸酶的有效抑制剂，可安全取代亚硫酸盐，而且抑制力强，安全性高。在 5~50mg /kg 极低浓度下即可达到预防褐变的目的。中国食品添加剂标准化技术委员会已于 1993 年讨论通过将 4HR 纳入中国食品添加剂使用卫生标准(GB2760)。联合国 FAO/WHO 下属的 JECFA 于 1995 年第 44 次会议上已将 4HR 列入准用名单，并列入 C 类可接受范围，考虑到其用量往往非常有限，故未作具体限制性规定^[28]。

(3) 植物提取液

某些植物汁液中含有活性成分如蛋白酶、小分子多肽等，具有抑制褐变的功能，因此，可用来控制鲜切苹果褐变发生。Lozano 等报道菠萝汁具有良好的抑制褐变效应，可替代硫化物防止苹果切片的褐变发生，并能增进果实风味^[29]。

番木瓜汁能抑制菊苣 PPO 活性，其有效成分是对热稳定的非酶抑制因子，该抑制因子作用于 PPO 的铜离子结合位点^[30]。

(4) 蜂蜜

蜂蜜能抑制鲜切苹果的 PPO 活性和褐变，其有效成分是分子量为 600Da 的多肽，这种多肽能抑制 PPO 活性^[31]。也有人认为蜂蜜中含有如生育酚、抗坏血酸、类黄酮、酚类物质及一些酶等抗氧化成分而抑制褐变。不同花粉来源的蜂蜜抗氧化物质含量差异很大，因此，抑制酶促褐变的能力也有所不同。其中大豆花蜜比苜蓿花蜜抑制褐变更为有效。另外，蜂蜜还能增强亚硫酸和抗坏血酸对褐变的抑制效果^[32]。

(5) 乳酸菌代谢产物

乳酸菌产生许多小分子代谢物质，包括乳酸、乙醇、丁二酮、H₂O₂ 和其它代谢产物，具有较强的络合金属离子能力和较高的抗氧化性，能有效抑制酶促褐变。乳酸菌代谢产物容易为消费者接受，因此具有潜在的应用价值^[33]。

(6) 酶法

已经发现蛋白酶是苹果的有效褐变抑制剂，这是由于蛋白酶可导致与促进褐变相关的酶系失活，从而抑制褐变的发生^[34]。目前发现能有效抑制褐变的蛋白酶主要是木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶。木瓜蛋白酶对苹果褐变抑制效果与 SO₂ 处理相似。此外，从黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 中提取纯化的多酚酯酶具有类酯酶的活性，可通过与酚类物质反应抑制 PPO 活性，阻止褐色素的形成^[35]。

2.1.1.3 基因工程改良法

目前有人利用基因工程方法，如反义 RNA 或正义共抑制的手段控制 PPO 的表达，从而培育出抗褐变品种。苹果中 PPO 的 cDNA 已获得克隆，并发现 PPO 的 mRNA 在未成熟果实中和受伤组织中累积；将 PPO 反义基因转进苹果中，所

得转基因枝条褐变进程明显得到抑制^[36]。基因遗传工程技术在马铃薯抗褐变品种改良上的成功，证明基因工程可以运用到苹果抗褐变中来^[37]。

2.1.2 苹果浓缩汁加工中非酶褐变机理研究进展

非酶褐变是果汁在加工和贮存过程中常发生的化学反应，生成的黑褐色物质影响果汁的外观、颜色，降低果汁的营养价值，已成为苹果汁品质劣变和贮存寿命缩短的主要原因。在果汁的加工与贮存过程中则必须小心控制，以防止非酶褐变对果汁色、香、味、营养等方面的不良影响。有关抑制和降低非酶褐变方法的研究具有重要的现实意义。

非酶褐变反应的机制一般可分成4种类型：焦糖化反应；美拉德反应；抗坏血酸氧化分解；多元酚氧化缩合反应^[38~40]。现已探明，浓缩苹果汁非酶褐变的主要机制是美拉德反应^[41]。

在果汁加工及贮存过程中，糖类除部分与氨基化合物进行美拉德反应外，也会发生焦糖化反应。焦糖化反应是指糖类经直接加热所产生的脱水及热分解反应。一般而言，焦糖化反应易发生在高温、碱性及高糖浓度情况下。在酸性条件下，由于加热作用使得糖分解形成糠醛（furfural）及HMF，虽然它们不会直接影响果汁的风味，但是它们会与果汁中氨基化合物继续反应，而参与美拉德反应后阶段的缩合反应形成类黑精色素，因此可把糠醛（furfural）及HMF含量作为非酶褐变的评价指标。美拉德反应是还原糖类与氨基化合物，如游离氨基酸、肽、蛋白质、胺等化合物，先进行反应形成糖胺，经过非酶糖基化反应（Amadori）形成酮胺化合物，此类化合物在不同pH值及温度条件下，以3种路径进行反应，在酸性下进行1,2-烯醇化反应，形成furfural及HMF；在碱性条件下进行2,3-烯醇化反应形成还原酮及脱氢还原酮，其中后者通过斯特雷克氨基酸反应（Strecker reaction）生成醛类，或继续裂解产生羰基（carbonyls）及二羰基（dicarbonyls）化合物；高温下，Amadori进行裂解产生carbonyls及dicarbonyls化合物，这些中间阶段产物会继续与氨基化合物进行反应形成类黑精色素。其反应图解见图1^[42]。

抗坏血酸是果汁中主要营养成分之一，因其兼具酸性及还原性，故极易氧化分解，可与游离氨基酸反应，生成红色素及黄色素^[42]。其氧化可有2种途径：有氧及无氧分解。有氧反应形成脱氢抗坏血酸，再脱水形成2,3-二酮古洛糖酸（DKG）后，脱羧产生酮木糖（xylosone），最终产生还原酮，还原酮会参与美拉德反应的中间及最终阶段，此时抗坏血酸主要是受果汁中的溶氧及上部气体的影响，分解反应相当迅速。无氧分解其主要产物为furfural，当氧气完全消耗或低至某一浓度时便开始进行无氧分解。果汁在贮存过程中，抗坏血酸含量的降低主要是因为进行无氧分解所致。

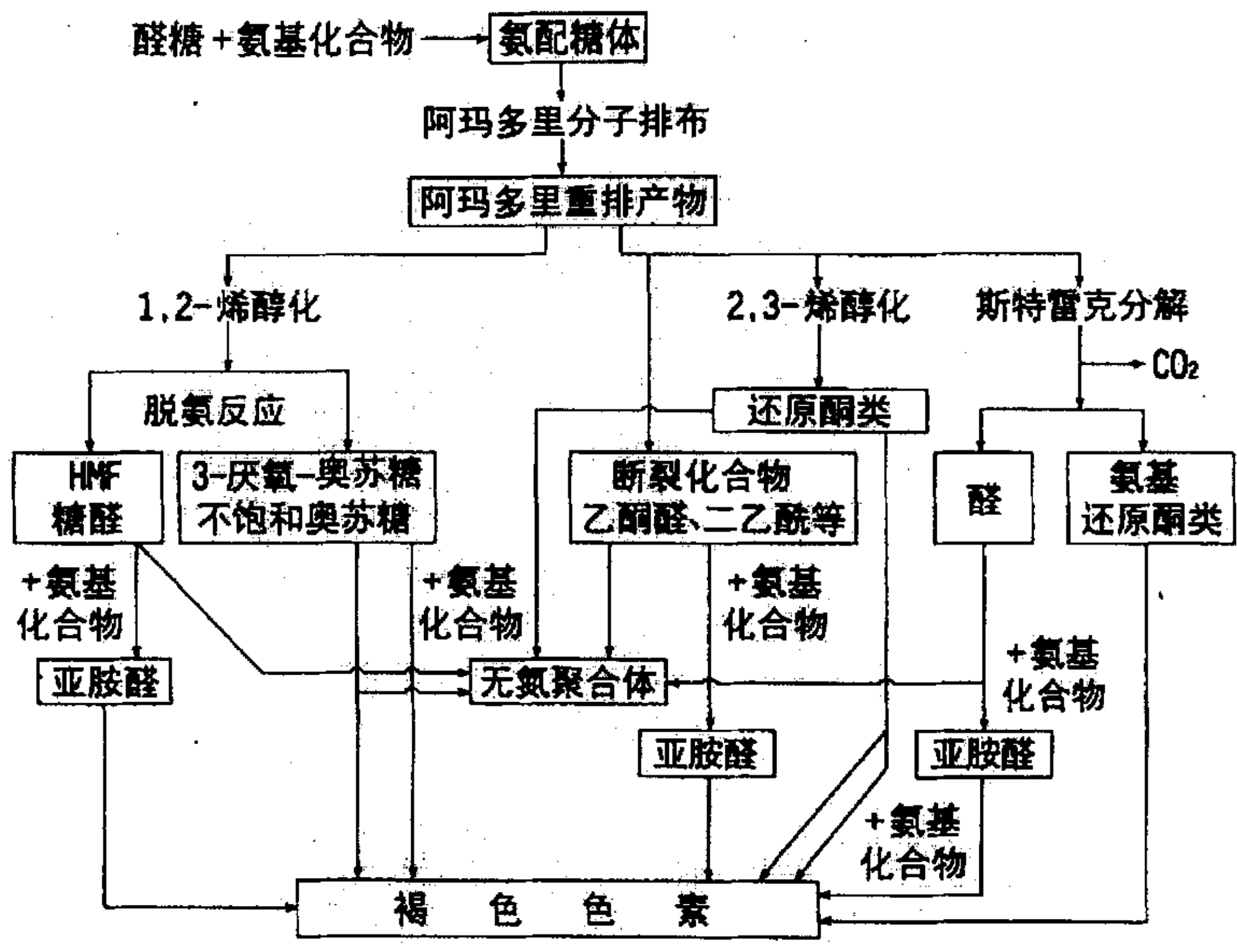


图 1

多酚属于酚类化合物，化学性质相当活泼，很易氧化成为苯醌(quinone)，而苯醌是非常强烈的亲电子基团，极易与亲核基进行许多不同的反应^[40]。在果汁系统中，多酚能与蛋白质结合而使含量下降，或进行多酚本身氧化缩合反应或与果汁系统中其他化合物进行共呈色作用，果汁中其他的成分也可能直接或间接地受到多酚氧化的影响。非酶褐变诸历程有共同的中间产物。

2.2 苹果浓缩汁中后混浊机理研究进展

果汁后混浊现象是指澄清了的浓缩果汁在贮存或商品流通期间发生成分的变化，经稀释到原汁浓度后又出现了混浊和沉淀。这不仅影响果汁商品的感官品质，而且会影响消费者对果汁营养素的吸收利用，从而降低其商品品质，是浓缩果汁加工生产中的一大技术难题。世界许多国家都展开了控制果汁后混浊技术的研究，但迄今为止，并没有完全克服果汁后混浊的技术难题。在大量试验基础上，经过学者的共同努力，现已证实酚类物质、蛋白质、高价阳离子、微生物、果胶、淀粉、阿拉伯聚糖等是造成果汁后混浊的主要因素，其中蛋白质与酚类物质形成的蛋白质-酚类大分子聚合物，是目前最难控制的产生果汁后混浊的因素^[43]。

酚类物质引起果汁混浊可能是其本身发生了凝聚反应。在完整的植物细胞中，多酚类氧化酶（PPO）与酚类基质被隔离在不同的空间中，在榨汁前，苹果细胞遭到破碎，在氧气存在的情况下，多酚氧化酶氧化酚类，使绿原酸、儿茶素、儿茶酚等形成一种复杂的褐色聚合物。这类酶促反应的发生需要一定时间，聚合同样需要时间，因此有些酚类物质在制汁加工过程中没有形成聚合物发生沉淀，而在贮存过程中继续反应产生了混浊。此外酚类还可能与蛋白质、果胶类物质发生聚合形成混合物从而导致沉淀的发生。加拿大科学家Beveridge^[44]推测缩合单宁是形成后混浊的主要酚类物质。未被氧化的原花青素能与蛋白质形成氢键，进而形成不溶复合物。原花青素在酸溶液中部分水解，并且发生再聚合，形成一些大的、不稳定的聚合物。所以，无论有没有蛋白质的参与，原花青素最终都会产生混浊和沉淀物。果汁中原花青素的氧化会产生反应活性很高的中间产物，这些中间产物可以相互间或与蛋白质形成即使加热也不溶解的复合物。因此，含有大量原花青素的果汁的氧化有促进混浊物形成的趋势，但是含果肉果汁的早期氧化可防止果汁成品中混浊物的形成。Beveridge^[45]等在研究果汁混浊的成分时，发现其中蛋白质占很大比例，约为11.4%~29.0%，同时蛋白质与酚类物质形成的复合体也是产生混浊的原因之一。

混浊的形成还与pH及果汁中酒精的含量有关。较高温度可以使有形成蛋白质-酚类化合物能力的蛋白质暴露更多可以与多酚化合物结合的位点，从而形成更多的蛋白质-酚类聚合物。同时能够形成蛋白质-酚类聚合物的蛋白质与酚类化合物的比率也影响后混浊的量。1997年，Siebert通过比浊法^[47]，采用加入单宁酸初步确定了苹果汁中能够形成蛋白质-酚类化合物的酚类化合物的量。此后，Beveridge对此做了大量研究工作^[44-46]，他的研究表明，蛋白质-酚类化合物的聚合物是果汁后沉淀的最主要的成分。在蛋白质-酚类化合物的聚合物中，酚类物质主要为单宁及矢车菊苷配质。1998年他利用2-巯基乙醇还原盐酸胍分离了后混浊中的蛋白质-酚类聚合物，通过SDS-PAGE的蛋白质电泳分析，得到了分子量从29Kda到205Kda的连续谱带；通过乙酸负氧铀负染色电子显微镜检发现，蛋白质-酚类聚合物含有两种结构，其中球形体可能是蛋白质，附着于多酚类化合物上。他还通过光学显微镜检技术、阴影投射法等分析手段，观察到了蛋白质-酚类聚合物的链形结构，提出了蛋白质-酚类聚合物的扩散限制聚集模型，他认为氧化催化是形成蛋白质-酚类聚合物的关键因素，这种微粒的大小呈指数增长，表明蛋白质-酚类化合物微粒的形成可能有酶的参与^[45]。在商业苹果汁中存在的微粒直径为470~2500nm，而大于10000~15000nm的微粒就会发生沉降，形成沉淀。然而，并不是果汁中所有蛋白质和所有酚类化合物都能形成蛋白质-

酚类聚合物。大分子酚类化合物如矢车菊苷配质、单宁是形成蛋白质-酚类化聚合物的主要酚类化合物。能够形成蛋白质-酚类聚合物的蛋白质只占蛋白总量的很小一部分。Siebert 和Lynn^[47]则较深入地研究了苹果品种、成熟度对浓缩苹果汁中引起二次混浊蛋白质和多酚含量的影响

2.3 苹果浓缩汁中褐变、后混浊控制研究进展

国内有的苹果浓缩汁生产厂家采用活性炭吸附和聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP) 处理两种方法来控制苹果浓缩汁褐变、后混浊。但前者劳动强度大, 生产过程中的产生的废渣容易对环境造成污染。此外, 由于活性炭颗粒比较坚硬, 表面锋利的棱角容易造成超滤膜表面的损坏; 后者为一次性使用, 处理费用很高, 使生产成本大大增加, 绝大部分企业难以承受^[48]。

近年来, 国内苹果浓缩汁生产厂家已有采用吸附树脂来解决果汁生产中普遍存在的色值超标、后混浊、棒曲霉素等技术难题^[48], 吸附树脂具有物理化学性质稳定、吸附选择性独特、不受无机物存在的影响、解吸条件温和、再生简便、使用周期长、节省费用等诸多优点, 在其它行业已获得了广泛的应用。吸附树脂与离子交换树脂的界限有时很难划分。一般观点认为^[49], 依靠物理界面力作用引起溶液中溶质浓度的减少称为吸附, 因化学作用引起溶液中溶质变化的称为离子交换。树脂随制备条件及原料性质的不同, 性能差异很大。目前市售的吸附树脂按链节分子结构可分为非极性、中等极性和极性三种。其名称尚未统一, 往往由各单位自行命名, 如西安蓝深公司研制的 LSA-800 系列、南开大学试制的 D, DM, DA 及 NKA 等系列; 国外常见的有美国 Rohm-Hass 公司的 Amberlite XAD 系列、日本 Organo (三菱化成) 的 Diaion HP 系列等。

国内对色素吸附分离的研究大致分两个方面: 第一是吸附/解吸条件、工艺和材料^[50-52]的研究, 第二则是对吸附的机制、吸附过程动力学的研究。值得注意的是, 各种色素在不同树脂上的吸附机理并不相同, 如红豆皮色素在 AB-8 型树脂的吸附为多分子层吸附^[53]。目前国内研究吸附树脂对果汁进行脱色、控制褐变、后混浊的相关文献很少。

正文

1. 引言

在苹果浓缩汁加工过程中，苹果破碎、榨汁阶段的褐变主要由酶促褐变引起。在经过前巴氏杀菌工艺后的酶解、超滤（UF）、吸附、浓缩及后巴氏杀菌加工过程中褐变的主要原因是非酶褐变。在贮存期间的引起褐变的主要原因是美拉德反应，亦属于非酶褐变。褐变对果汁色、香、味、营养等方面产生不良影响，是困扰果汁生产加工的一个重要技术难题，因此研究果汁生产和贮存中非酶褐变非常重要。本文希望通过研究确定加工过程中影响非酶褐变的主要因素；研究非酶褐变在贮存时的反应速率及温度对其的影响，确定在一定的温度条件下无明显质量变化的保存时间。

后混浊是果汁尤其是澄清苹果汁加工中的又一个棘手问题。苹果汁中的后混浊现象比较常见，其随苹果品种、加工阶段、成熟度和加工工艺不同而有所不同，这增大了后混浊控制的难度。因此研究后混浊形成的诱因以及不同条件下后混浊形成的速率对生产高品质的苹果浓缩汁是非常重要的。

在苹果浓缩汁生产中使用吸附树脂可降低发生褐变、后混浊的几率，并保持果汁稳定。研究吸附树脂吸附果汁中色素及色素前体（诱因）的动态过程。确定不同温度下的吸附等温线，计算吸附热力学参数值、吸附和解吸速率值，测定吸附和解吸活化能，优化吸附单元操作工艺参数是必要的。

2. 研究材料与试验方法

2.1 研究材料与试剂

苹果浓缩汁：陕西恒兴果汁饮料公司眉县分公司

LSA—800B 吸附树脂：西安蓝深吸附交换材料有限公司生产

儿茶素标准品：购自中国药品与生物制品检定所

羟甲基糠醛（HMF）标准品：购自中国药品与生物制品检定所

香草醛：西安中信精细化工有限责任公司 分析纯

单宁酸：上海三浦化工有限公司 分析纯

考马斯亮蓝（G250）：北京化学试剂公司

牛血清蛋白：北京化学试剂公司

铁氰化钾：成都市联合化工世纪研究所 分析纯

其余试剂均为分析纯

2.2 主要仪器及设备

离心机: MISRAL 1000 型 英国 MSE 公司
分光光度计: UNICO 2000 型 尤尼柯(上海)有限公司
浊度仪: HACH 2100N 型 美国 HACH 公司
电子天平: A&DHR-200 型 德国 A&D 设备公司
HPLC(紫外检测器): 美国 Thermo Separation products 公司
pH 计: ORION818 型 美国 ORION 公司
手持糖量计: 上海光学仪器五厂
糖度计: ATAGO PR301 型 日本 ATAGO 公司
0.45 μm 针筒滤膜: 上海新亚净化器件厂
旋转蒸发器: RE-52AA 型 上海亚荣升华仪器(公司)
电热恒温培养箱: HH . BII . 420 型 上海跃进医疗器械厂
金属膜微滤设备: 南京凯米公司
恒温水浴锅: 上海福玛试验设备有限公司

2.3 试验方法

糖度(以可溶性固形物计): 按 GB/T 12143.1 规定方法检测

吸光值(A_{420nm}): UNICO 2000 型分光光度计法

色值(T₄₄₀): 按 GB/T 18963-2003 规定方法检测

透光率(T₆₂₅): 按 GB/T 18963-2003 规定方法检测

浊度(NTU): 按 GB/T 18963-2003 规定方法检测

可滴定酸(以苹果酸计): 按 GB/T 12456 规定方法检测

果胶: 按 GB/T 18963-2003 规定方法检测

淀粉: 按 GB/T 18963-2003 规定方法检测

总酚: 普鲁士蓝(PB)法检测^[64], 取 10mL 果汁进行离心(3000rpm)10 min 后取上清液 5mL, 依次加入 0.1mol/LFeCl₃0.5mL、0.08mol/LK₃Fe(CN)₆ 0.5 mL、0.1mol/LHCl 0.5mL 定容到 25mL, 在波长 695nm 处测定吸光值, 空白用蒸馏水替代果汁, 每样做五次平行。用单宁酸做标准物, 做标准曲线。

单宁(黄烷醇类酚): 香草醛-盐酸法检测^[64], 取 10mL 果汁进行离心(3000rpm)10 min 后取上清液 2mL, 加入含香草醛 4% (W/V) 的甲醇溶液 3mL, 加 1.5mL 浓盐酸, 20℃左右避光反应 15h, 500nm 测定吸光值, 每样做五次平行, 空白用蒸馏水替代果汁, 用儿茶素做基准物, 做标准曲线。

可溶性蛋白: Bradford 法检测^[65], 称取 100mg 考马斯亮蓝溶于 95%乙醇中,

加入 100mL85% (W/V) 磷酸, 将溶液用水稀释到 1000mL 作为染色液。取不同浓度的标准蛋白液 1mL, 加入 5mL 染色液; 1mL 蒸馏水加 5mL 染色液作为空白, 在 595nm 下测定吸光值, 作标准曲线 (测定前静置 2min)。苹果浓缩汁适当稀释后, 同样取 1mL 加染色液, 测定 595nm 下的吸光值, 对照标准曲线求出其浓度。

HMF: HPLC 法^[56], 称取苹果浓缩汁 5.0g 置于 125mL 分液漏斗, 加入 20.0mL 水和 25.0mL 乙酸乙酯, 振摇 1min, 静置分层, 将水层放入另一分液漏斗, 再用乙酸乙酯重复提取 2 次 (每次用量 25.0mL), 弃去水层, 合并 3 次乙酸乙酯提取液于原分液漏斗, 并加入 10.0mLNa₂CO₃水溶液立即振摇、静置分层 (尽可能 2min 内完成, 再加 10.0mL 乙酸乙酯提取 Na₂CO₃水溶液一次, 弃去 Na₂CO₃水层, 合并乙酸乙酯提取液, 并加 5 滴冰乙酸, 全部转移至旋转蒸发器, 在 40~45℃蒸发浓缩至 1~2mL, 用乙酸乙酯将此溶液转移至 5mL 棕色小瓶内并用氮气吹干, 加 1.0mL 乙酸盐溶液溶解残余物, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 供 HPLC 检测用。测定条件: tsp HPLC 配紫外检测器, 276nm 检测; 色谱柱: ODS 反相 C18 柱子, 250*4.6mm; 流动相: 乙腈: 水=10: 90; 流速 1.0mL/min; 进样量 5 μl; 保留时间: 7~8min。空白: 除不加样品外, 按上述步骤进行平行操作。

3. 研究内容

- 3.1 苹果浓缩汁褐变、后混浊诱因的确定及贮存条件对其影响
- 3.2 苹果浓缩汁加工过程中不同单元操作对褐变、后混浊及其诱因的影响
- 3.3 LSA—800B 吸附树脂对果汁中色素及色素前体 (诱因) 吸附动力学研究
- 3.4 微滤金属膜控制、减轻褐变、后混浊的研究
- 3.5 榨季不同阶段苹果浓缩汁色值和浊度的变化规律研究

4. 研究方法

4.1 前巴氏杀菌对 PPO 活力影响的测定

取经巴氏杀菌后的果汁, 测定其色值, 然后在室温条件下存放 24h 后测定色值, 观察有无变化, 重复 5 次, 取同批次未经前巴氏杀菌处理果汁作对照。

4.2 苹果浓缩汁贮存时间、温度对褐变、后混浊的影响

选择生产日期间隔 10 天的 3 个不同生产批次号苹果浓缩汁, 每批次 2 个重复, 分别灌装至玻璃瓶, 封盖, 并置于 5℃、25℃、37℃贮存, 在第 0、10、20、30、40、50、60、70、80、90 天时测定浊度、色值和吸光值, 测定重复三次。研究苹果浓缩汁褐变、后混浊随时间和温度变化的规律。

4.3 苹果浓缩汁贮存过程中总酚、单宁及蛋白质含量检测及后混浊诱因分析

在 4.2 试验方案中同时测定总酚、单宁及蛋白质含量变化，进行数据处理，分析它们与苹果浓缩汁褐变、后混浊的相关性，确定褐变、后混浊的诱因。

4.4 苹果浓缩汁贮存过程氨基态氮和 5-羟甲基糠醛 (HMF) 含量检测及褐变诱因分析

在 4.2 试验方案中同时检测氨基态氮和 HMF 含量变化，进行数据处理，分析其与褐变的相关性，确定褐变的类型。

4.5 苹果浓缩汁加工中不同单元操作对褐变、后混浊及其诱因的影响

按照苹果浓缩汁生产工艺流程顺序：榨汁、前巴氏杀菌、酶解、超滤、吸附、浓缩和后巴氏杀菌各单元操作，计算不同环节所需时间并按时取样分别测定氨基态氮、HMF、多酚、单宁和蛋白质含量变化。每隔 15 天测定一次各单元操作中上述指标变化，重复 5 次。研究苹果浓缩汁生产加工过程中氨基态氮、HMF、多酚、单宁和蛋白质的动态变化规律，确定各单元操作对褐变、后混浊及其诱因的影响。

4.6 苹果浓缩汁初始浊度对其后混浊影响的分析

根据质检记录对苹果浓缩汁厂贮存的正常浓缩汁与产生后混浊浓缩汁的初始浊度进行统计学分析，检验有无显著差异。

4.7 LSA—800B 吸附树脂对果汁中色素及色素前体 (诱因) 吸附研究

将苹果浓缩汁 (70.5Brix 左右) 用蒸馏水稀释到 10Brix，并经滤纸过滤。吸光值测定用可见分光光度计测定。最初的吸光值 (A_0) 在 420nm 处约为 1.2。将 1, 2, 4, 8g 树脂分别加入到含 1L 果汁的三角瓶中，从而分别得到树脂浓度为 1, 2, 4, 8g 树脂/L 果汁的样品。放入固定温度水浴中，每隔 30min 振摇一次，24h 达到吸附平衡状态。用只含有 1L 果汁的三角瓶同时处理作空白对照来检测在这一过程中吸光值因其它因素产生的变化。在吸附过程中，分别在 0、15、30、45、60、180、360、540、720、1260 和 1440min 时刻测定 A_{420} 。在测定时样品要经 0.45 μ m 针筒滤膜过滤，测所有样品吸光值并用对照样品进行校正以排除其它因素对吸光值的影响。

在 25、40、55、70℃ 四个温度下进行同样处理，24h 达到平衡。根据预试验，24h 足以使苹果汁 (液相) 和树脂 (固相) 之间的吸附达到平衡。

通过试验研究 LSA—800B 吸附树脂吸附果汁中色素及色素前体 (诱因) 的动力学特性，表征 LSA—800B 吸附树脂的吸附参数，确定不同温度下的吸附等温线，计算吸附热力学参数值、吸附和解吸速率值，测定吸附和解吸活化能。为优化吸附单元操作工艺参数提供基础数据。

4.8 微滤金属膜过滤对果汁褐变、后混浊的影响研究

用微滤金属膜设备过滤生产车间后巴氏杀菌前苹果浓缩汁 (70.5 Brix)，连

续工作 4h。期间每隔 30min 取样检测浊度、色值、吸光值及 HMF。共作 3 次平行试验，操作温度 50~53℃，进口压力 0.65MPa，出口压力 0.58MPa。与同批次的经后巴氏杀菌、纸板过滤成品苹果浓缩汁的相应质量指标加以比较，研究金属膜微滤膜抑制、减轻褐变、后混浊的效应。

4.9 苹果汁色值和浊度随榨季延续的变化规律研究

测定榨季中不同阶段果汁浊度和色值，研究整个榨季中苹果浓缩汁色值和浊度的变化规律及走势，作为调整生产工艺控制果汁褐变、后混浊的依据。

5. 结果与分析

5.1 苹果浓缩汁总酚测定（PB 法）工作曲线

确定了苹果浓缩汁总酚测定工作曲线：

$$y=0.0966x+0.0908 \quad R^2=0.9980$$

其中：y—吸光值； x—浓度（mg/11.5 Brix 果汁）； R^2 —相关系数

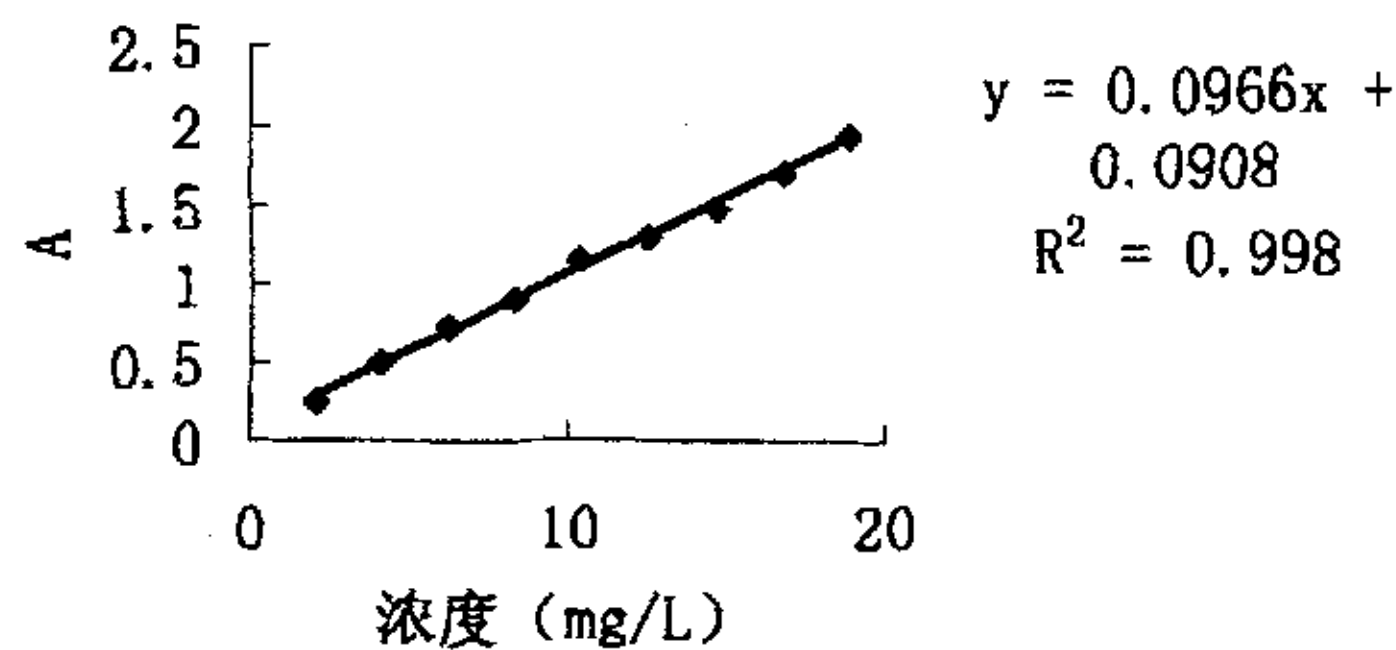


图 1. 总酚测定（PB 法）工作曲线

5.2 苹果浓缩汁单宁（黄烷醇酚类）测定（Vanillin—HCL 法）工作曲线

确定了苹果浓缩汁单宁（黄烷醇酚类）测定工作曲线：

$$y=0.0023x-0.002 \quad R^2=0.9985$$

其中：y—吸光值； x—浓度（mg/11.5 Brix 果汁）； R^2 —相关系数

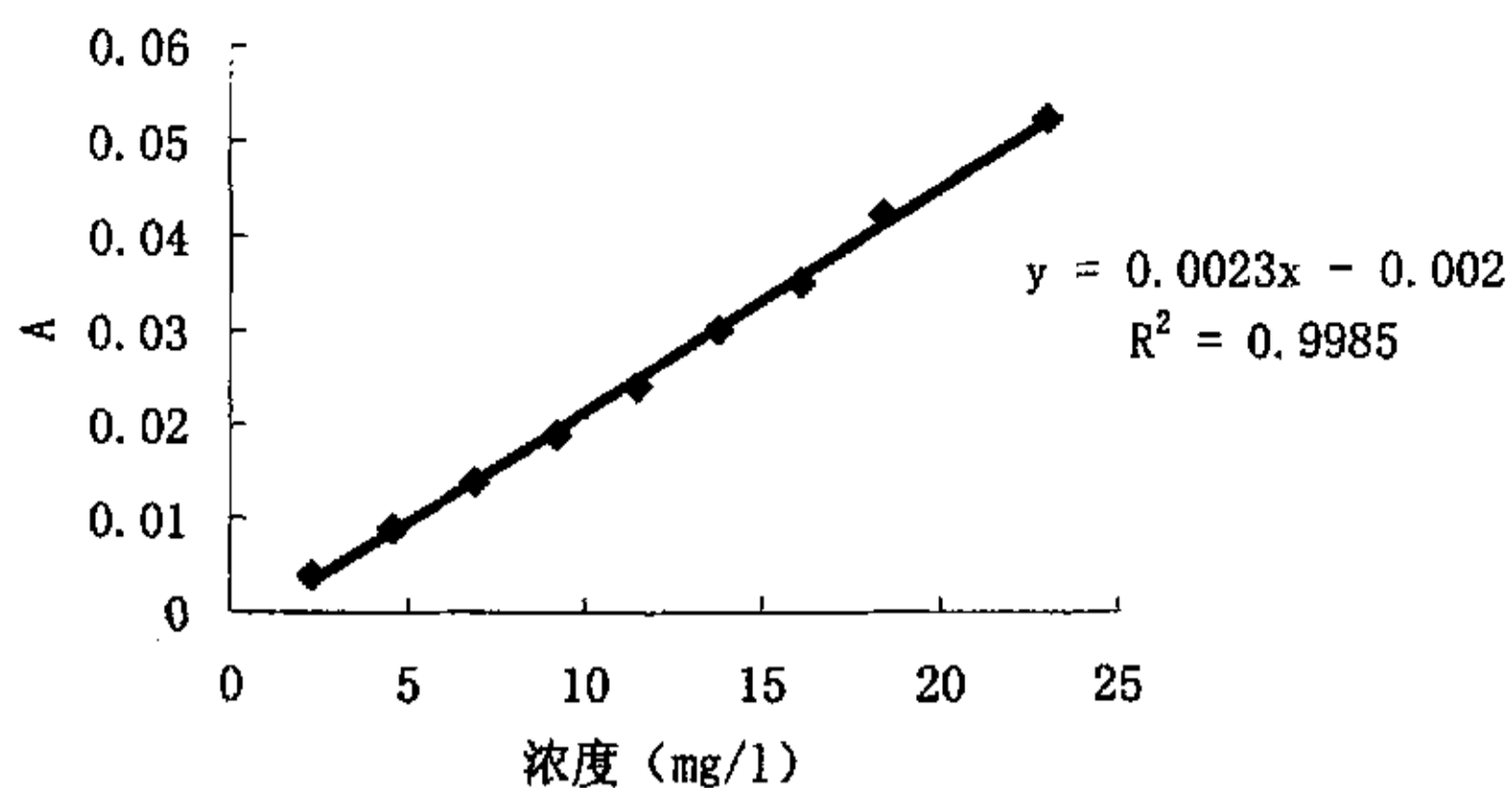


图 2. 单宁（黄烷醇酚类）测定工作曲线

5.3 苹果浓缩汁蛋白质测定（Bradford 法）工作曲线

确定了工作曲线： $y=0.0099x-0.009$ $R^2=0.9993$

其中： y —吸光值； x —浓度（mg/11.5 Brix 果汁）

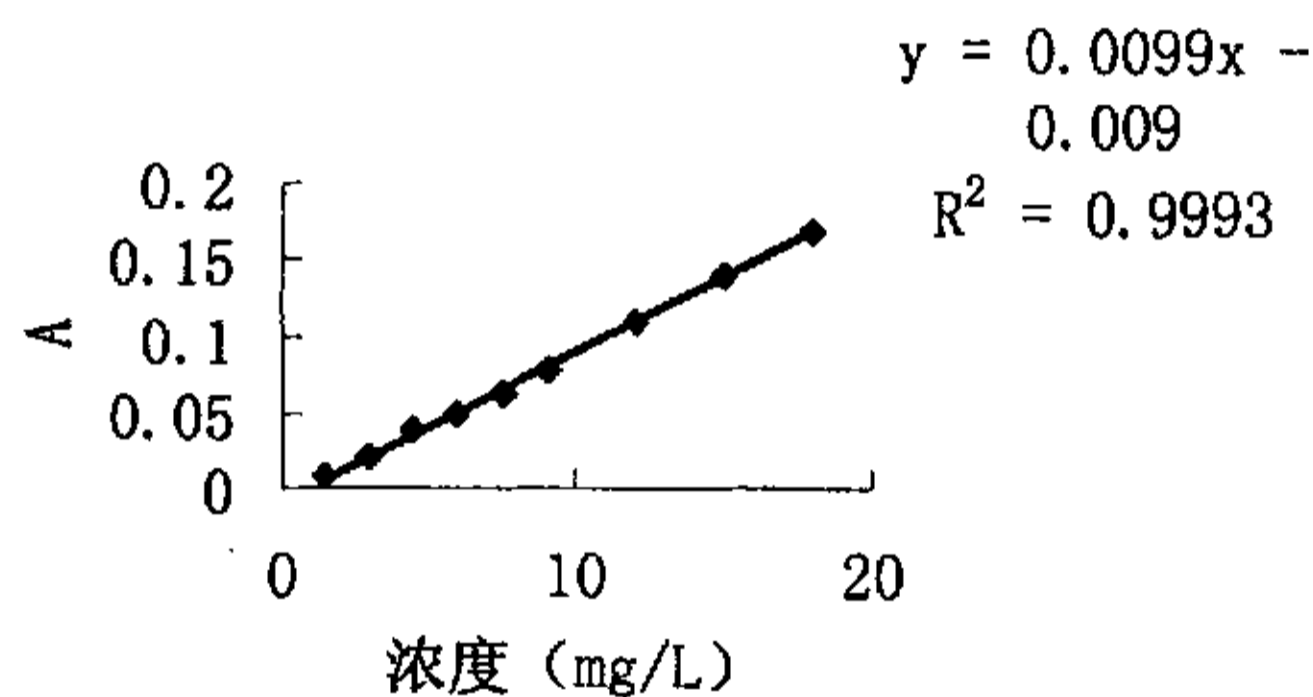


图 3. 蛋白质测定（Bradford 法）工作曲线

5.4 5--羟甲基糠醛（HMF）测定（HPLC 法）图谱及工作曲线

图 4、5 分别为 HMF 标样图谱和果汁中 HMF 的图谱，由此确定了 HMF 工作曲线：

$$y = 39.717x + 0.6608 \quad R^2 = 0.9994$$

其中： y —电压； x —浓度（ $\mu\text{g}/11.5$ Brix 果汁）

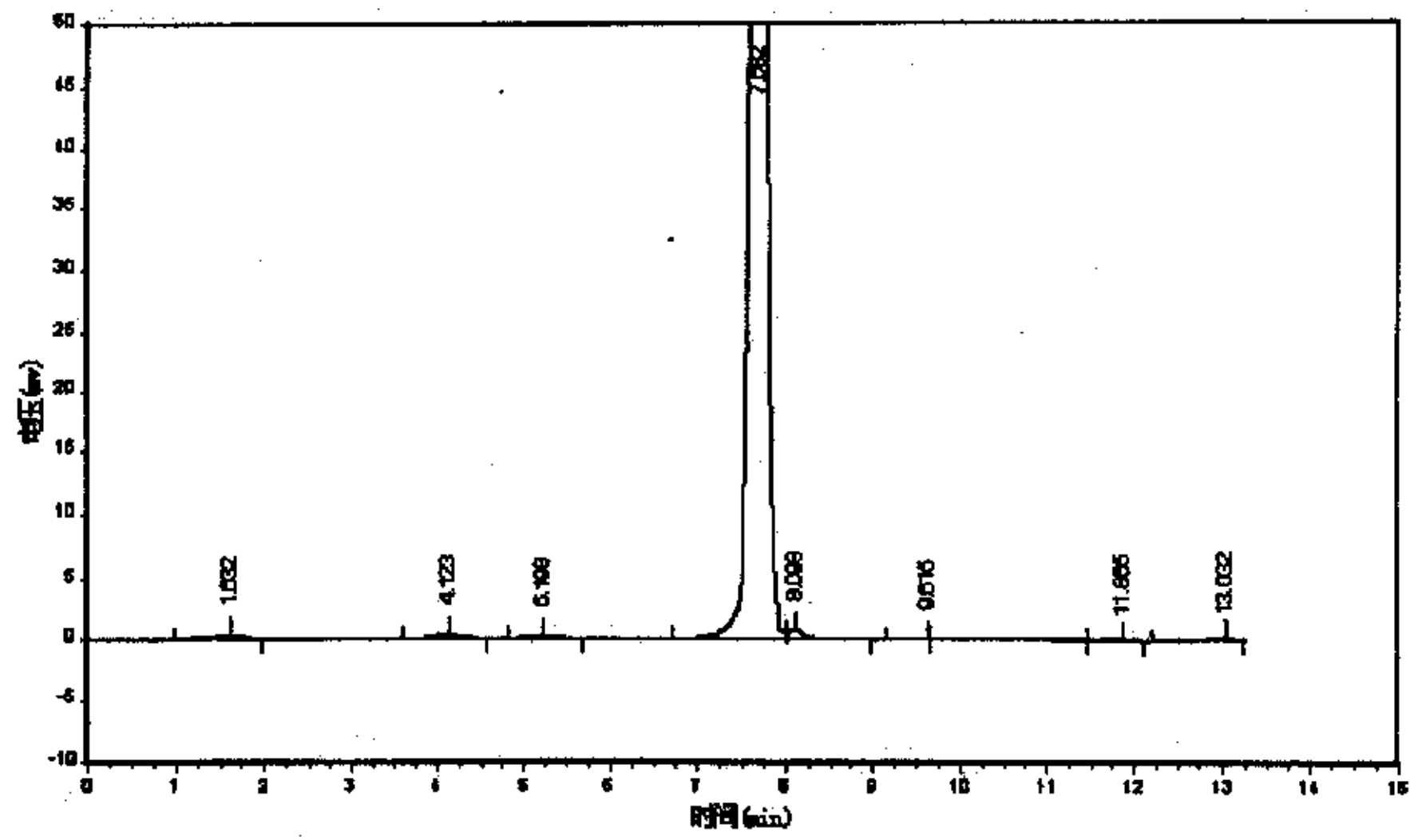


图 4. HMF 标样图谱

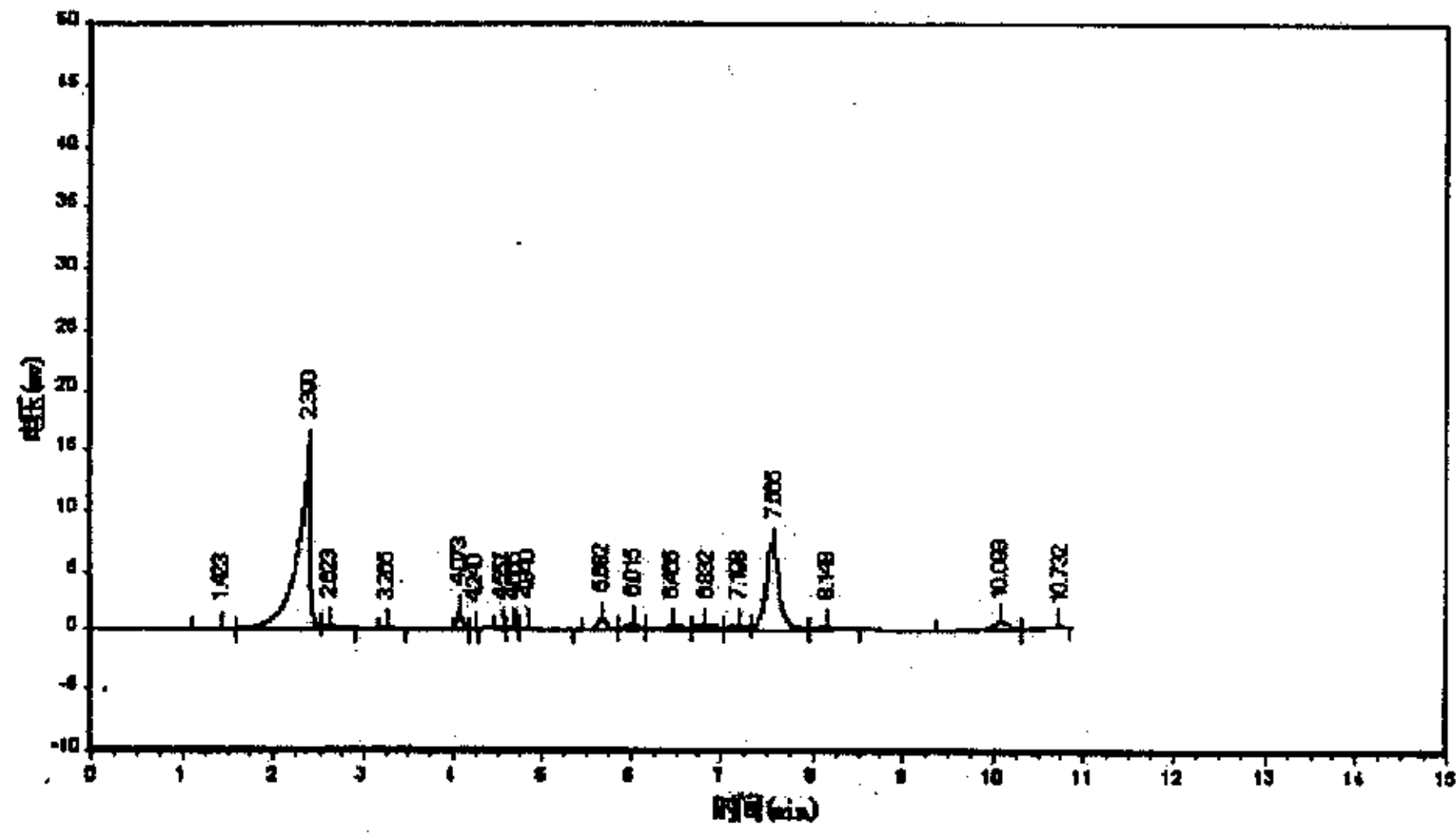


图 5. 果汁中 HMF 图谱

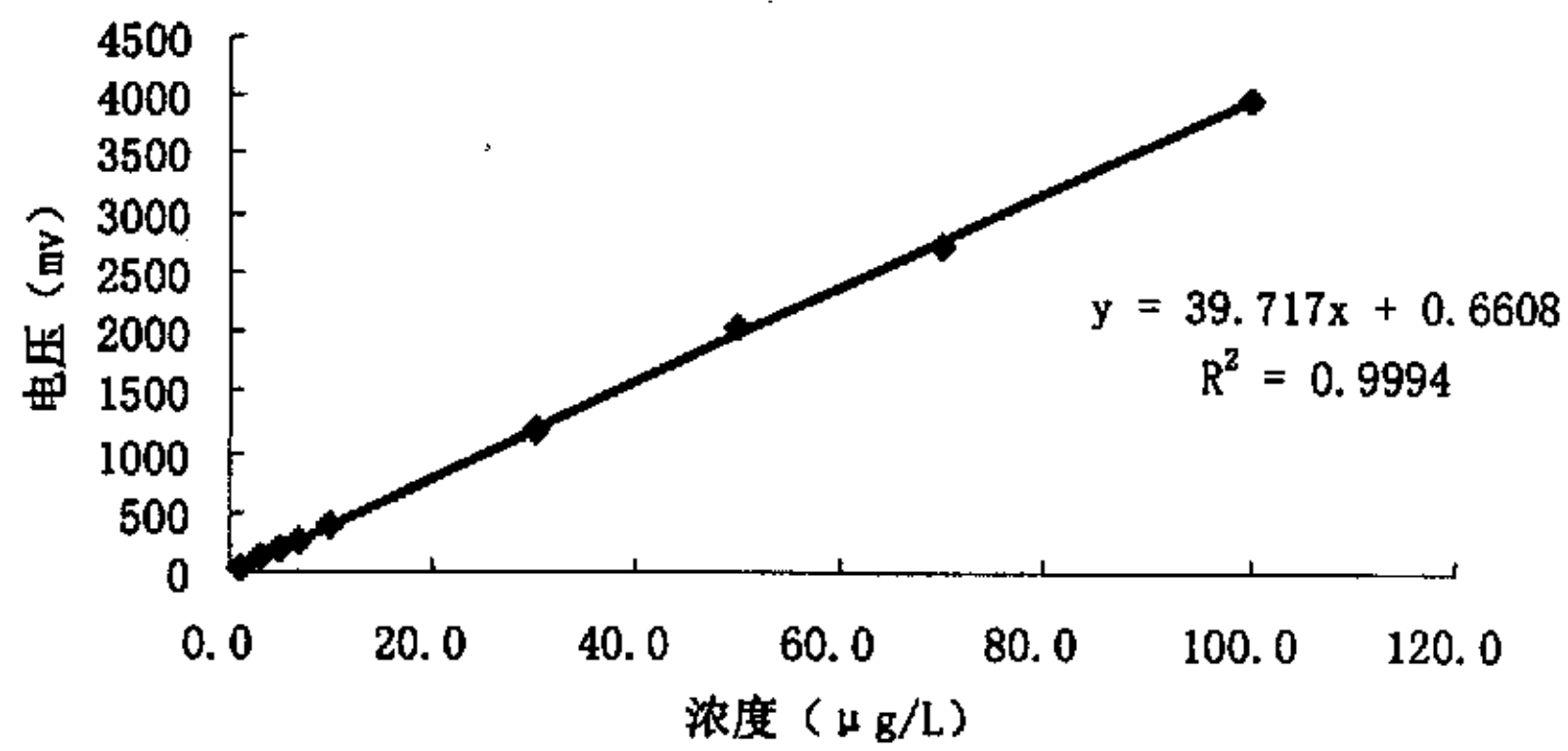


图 6. 5-羟甲基糠醛 (HMF) 测定工作曲线

5.5 前巴氏杀菌对 PPO 活力影响的结果与分析

由表 1 可以明显地看到经过前巴氏杀菌处理的果汁其色值 24h 内平均变化范围仅为 4.04%，而对照组色值的平均变化范围高达 71.69%。这一结果表明前巴氏杀菌处理能够钝化 PPO 的活性^[67]，在以后的加工单元操作及贮存过程中引起果汁褐变的主要原因是非酶褐变。

表 1. 前巴氏杀菌对 PPO 活力的影响

试验号	1	2	3	4	5	平均
前巴氏杀菌	3.41%	4.23%	3.75%	3.84%	4.96%	4.04%
对照	76.42%	71.37%	69.72%	70.64%	70.32%	71.69%

5.6 苹果浓缩汁贮存时间、温度对褐变、后混浊的影响结果与分析

图 7 显示了在 5℃、20℃ 和 37℃ 在 90 天贮存过程中苹果浓缩汁的浊度变化。试验中样品的初始浊度是 1.29NTU，经过 90 天贮存，35℃、20℃ 和 37℃ 贮存条件下果汁的浊度分别增加了 0.28、0.45 和 1.40NTU，37℃ 贮存条件下的果汁已经发生了明显的后混浊。浊度变化结果显示，温度对后混浊影响很大，尤其是在较高温度下更易于形成后混浊，而在较低温度下后混浊形成缓慢。曲线显示浊度变化大致经历了三个典型的时期：迟滞期、增长期和稳定期。

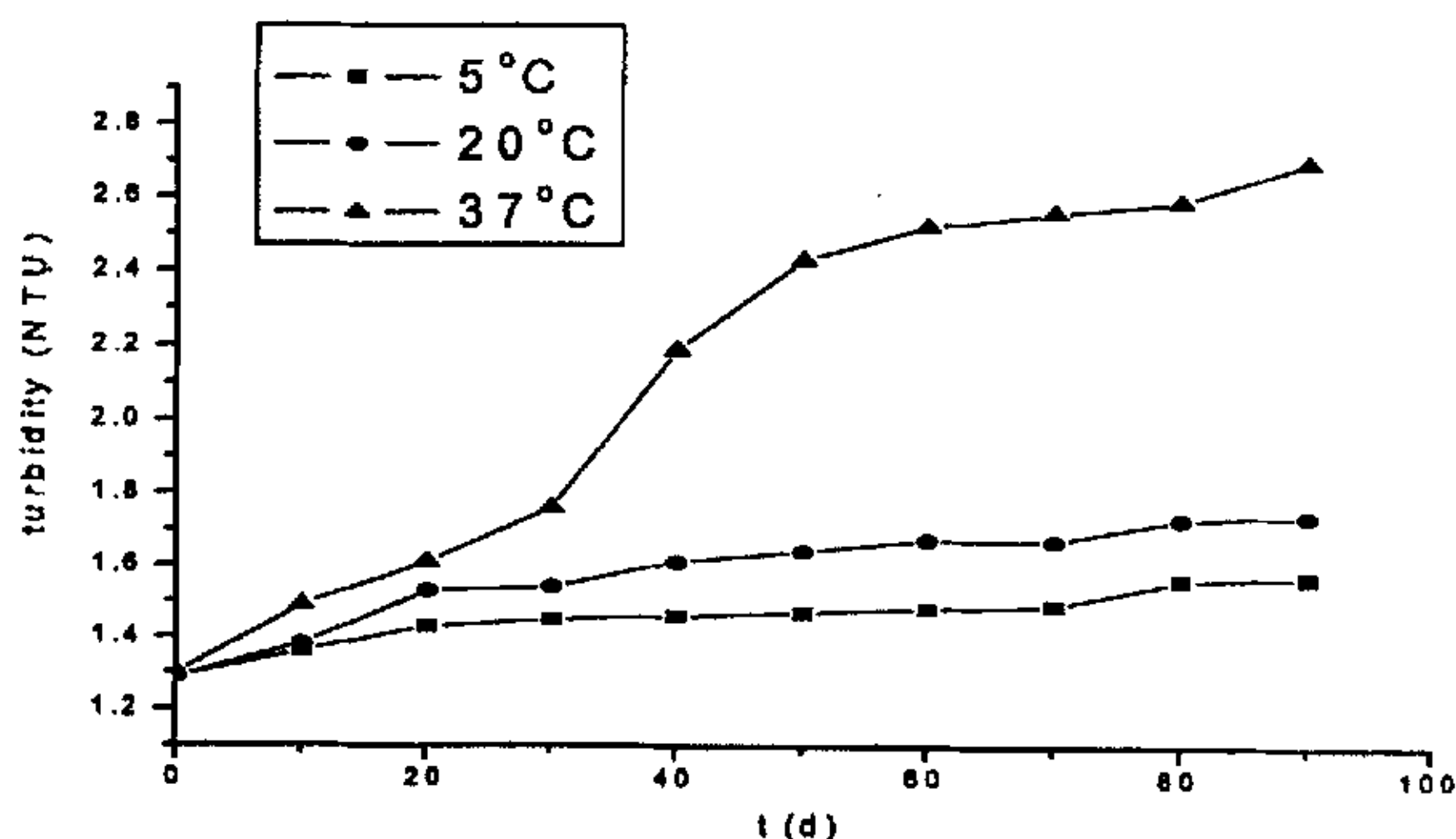


图 7. 浊度随时间变化图

从三个温度下的样品来看，37℃ 的样品三个阶段明显，而 5、20℃ 样品的阶段性并不明显，在贮存 90 天后仍有继续上升的势头。McMurrough, Kelly 和 Byrne 曾作过类似的在听装啤酒贮存过程中形成后混浊的两个阶段的报道^[68]。迟滞期的形成可能由于此时蛋白质和多酚的结合体仍可以溶解不形成沉淀或者需要催化剂如氧化剂或多酚聚合剂才能使它们形成沉淀^[69]。混浊的活性前体一旦形成就会导致

快速混浊形成即增长期。而在稳定期活性混浊前体则基本消耗完毕或已无交联结合位点^[60~62]。

以浊度 (NTU) 计算三个不同贮存温度下果汁形成的速率基本符合一级反应动力学 (图8), 方程如下:

$$5^{\circ}\text{C时}: \ln (\text{NTU} / \text{NTU}_0) = 0.0018t + 0.0374 \quad r^2 = 0.89 \quad (1)$$

$$20^{\circ}\text{C时}: \ln (\text{NTU} / \text{NTU}_0) = 0.003t + 0.063 \quad r^2 = 0.867 \quad (2)$$

$$37^{\circ}\text{C时}: \ln (\text{NTU} / \text{NTU}_0) = 0.0084t + 0.0758 \quad r^2 = 0.9109 \quad (3)$$

这里 NTU 是指任一时刻的浊度, NTU_0 指初始浊度, t 是保存时间。 r^2 值的不同显示了后混浊形成随温度的不同而有所不同。37°C 时贮存条件下 r^2 值最高显示此条件混浊形成速率符合一级反应动力学的程度最高。由方程的斜率也可看出高温环境混浊形成速率大于低温环境。贮存更长的时间有助于观察低温贮存果汁稳定期的变化。

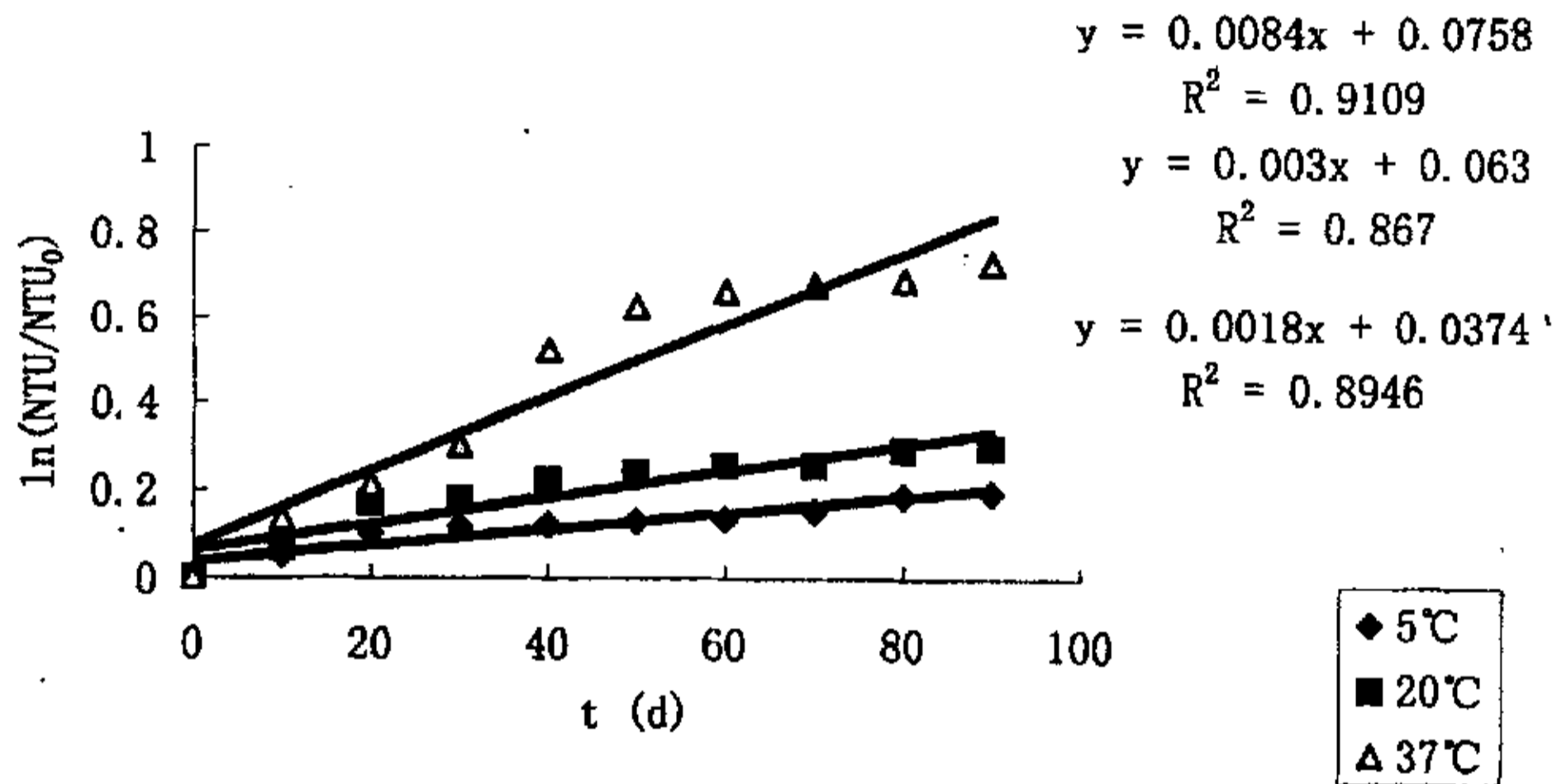


图 8. 混浊形成速率图

图9与图10是苹果浓缩汁在不同贮存温度条件下发生褐变的情况。褐变无论是以色值或以吸光值来表征, 对贮存时间作图均可观察到非酶褐变的变化速率符合一级动力学。这与前人文献^[63, 64]报道的一致。但也有报道称该反应符合零级^[65, 66]动力学或抛物线动力学^[65]。从图9与图10可以看出温度对褐变的影响。随着温度的提高褐变速率明显加快, 在相同贮存时间内褐变更加严重。5、20和37°C贮存条件下果汁褐变程度分别增加了12.45%、46.86%和415.28%。以色值和吸光值计算三个不同贮存温度条件下果汁褐变速率基本符合一级反应动力学, 方程如下:

5°C时:

$$\ln (T440 / T440_0) = -0.0009t + 0.0036 \quad R^2 = 0.9672$$

$$\ln (A420 / A420_0) = 0.0019t - 0.0253 \quad R^2 = 0.9833$$

20°C时:

$$\ln (T_{440}/T_{440_0}) = -0.0111t - 0.0514 \quad R^2 = 0.9397$$

$$\ln (A_{420}/A_{420_0}) = 0.0062t - 0.0186 \quad R^2 = 0.987$$

37°C时:

$$\ln (T_{440}/T_{440_0}) = -0.0214t - 0.1799 \quad R^2 = 0.9515$$

$$\ln (A_{420}/A_{420_0}) = 0.0138t + 0.562 \quad R^2 = 0.9061$$

不同贮存温度色值变化图

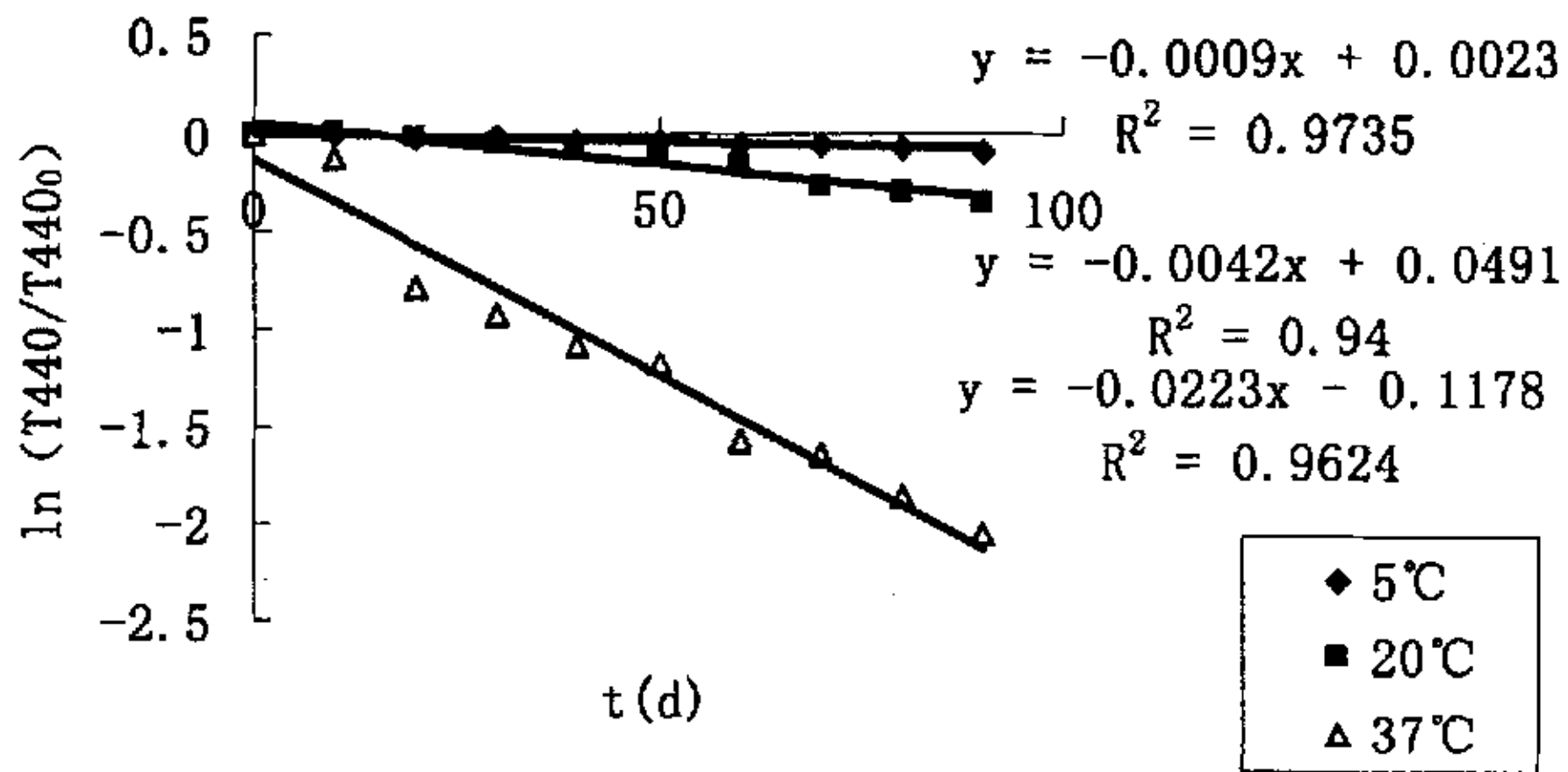


图 9. 褐变 (色值) 速率图

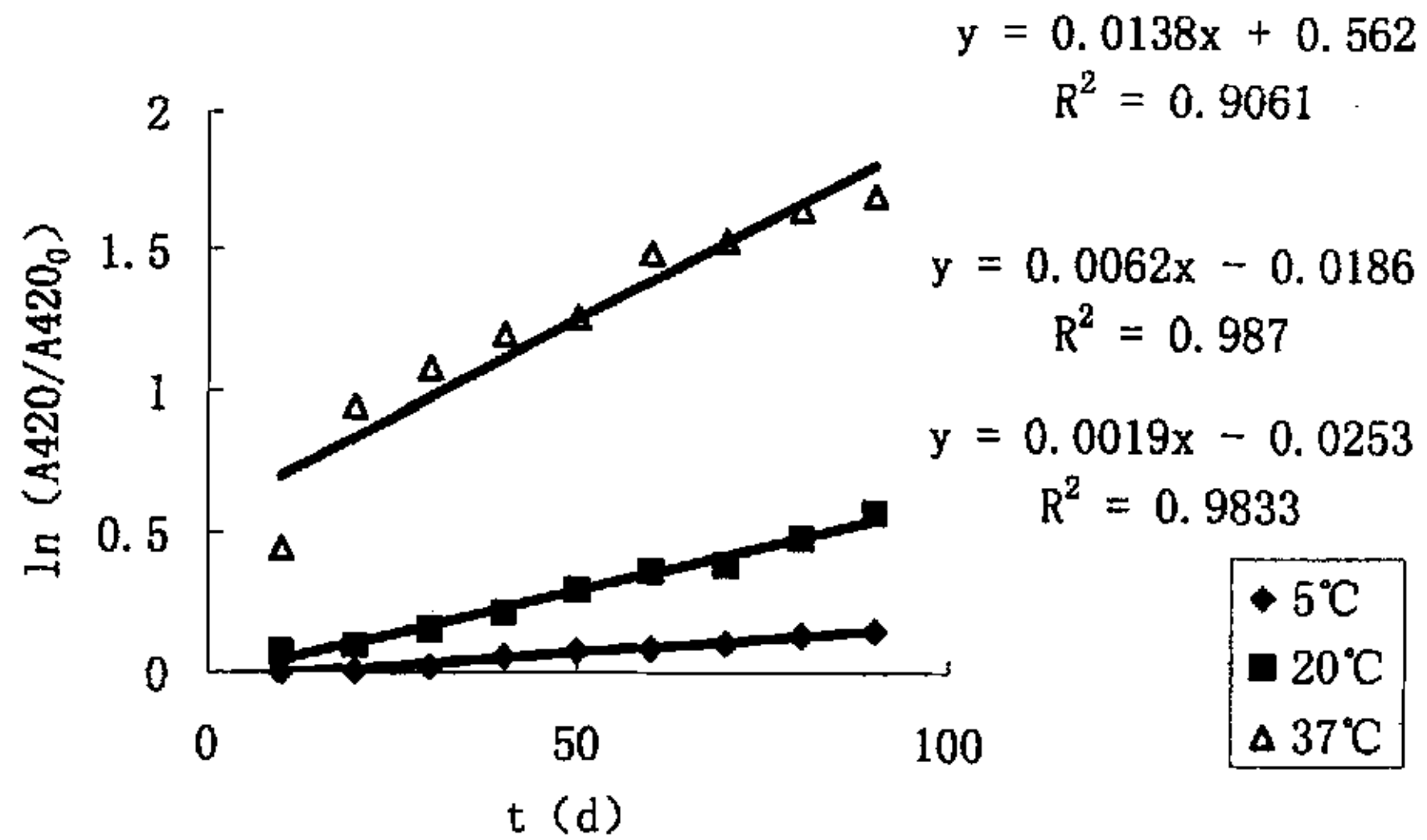


图 10. 褐变 (吸光值) 速率图

5.7 苹果浓缩汁中总酚、单宁及蛋白质诱发后混浊的确定

图 11、图 12 和图 13 分别显示了不同贮存温度下果汁中可溶性蛋白质、总酚及单宁含量速率变化状况。果汁中的可溶性蛋白质、总酚及单宁含量由于榨汁苹果品种、成熟度和加工工艺不同而有所变化。由图中可知，果汁中的蛋白质、总酚及单宁含量随贮存时间增加而下降，在 37°C 时下降速率明显大于 5°C 和 20°C 时的下降速率。这一结果与图 8 中浊度变化结果吻合。苹果中的单宁主要是原花青素 B2 聚体，原花青素单体主要是 (-)-表儿茶素，在苹果中含量也很高且有报道称在后混浊形成中起主要作用^[67]。正是这些多酚通过氧化作用和聚合作用机制与蛋白质结合形成大分子聚合体析出形成沉淀导致后混浊的发生^[69, 68]。

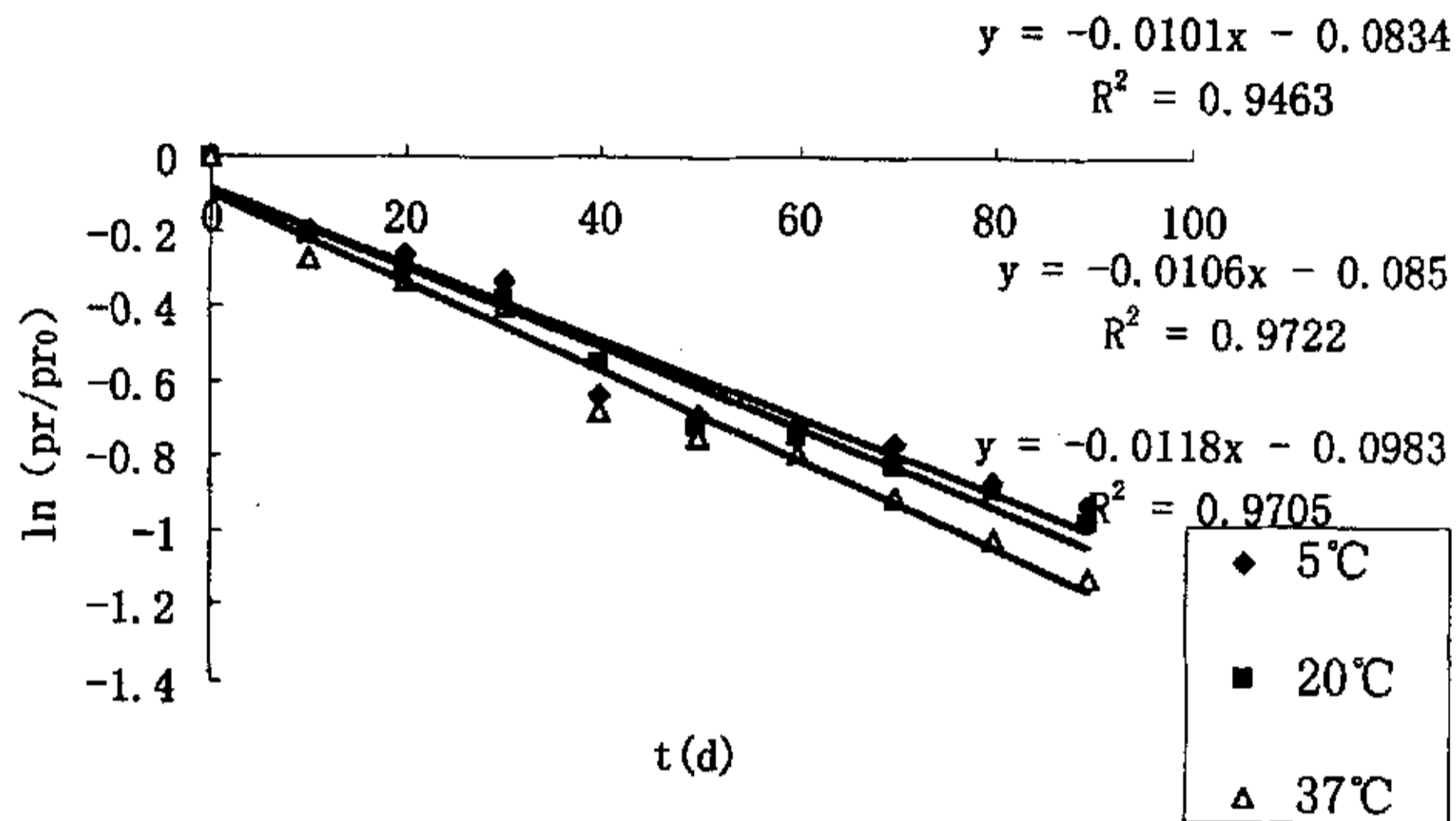


图 11. 可溶性蛋白质速率变化图

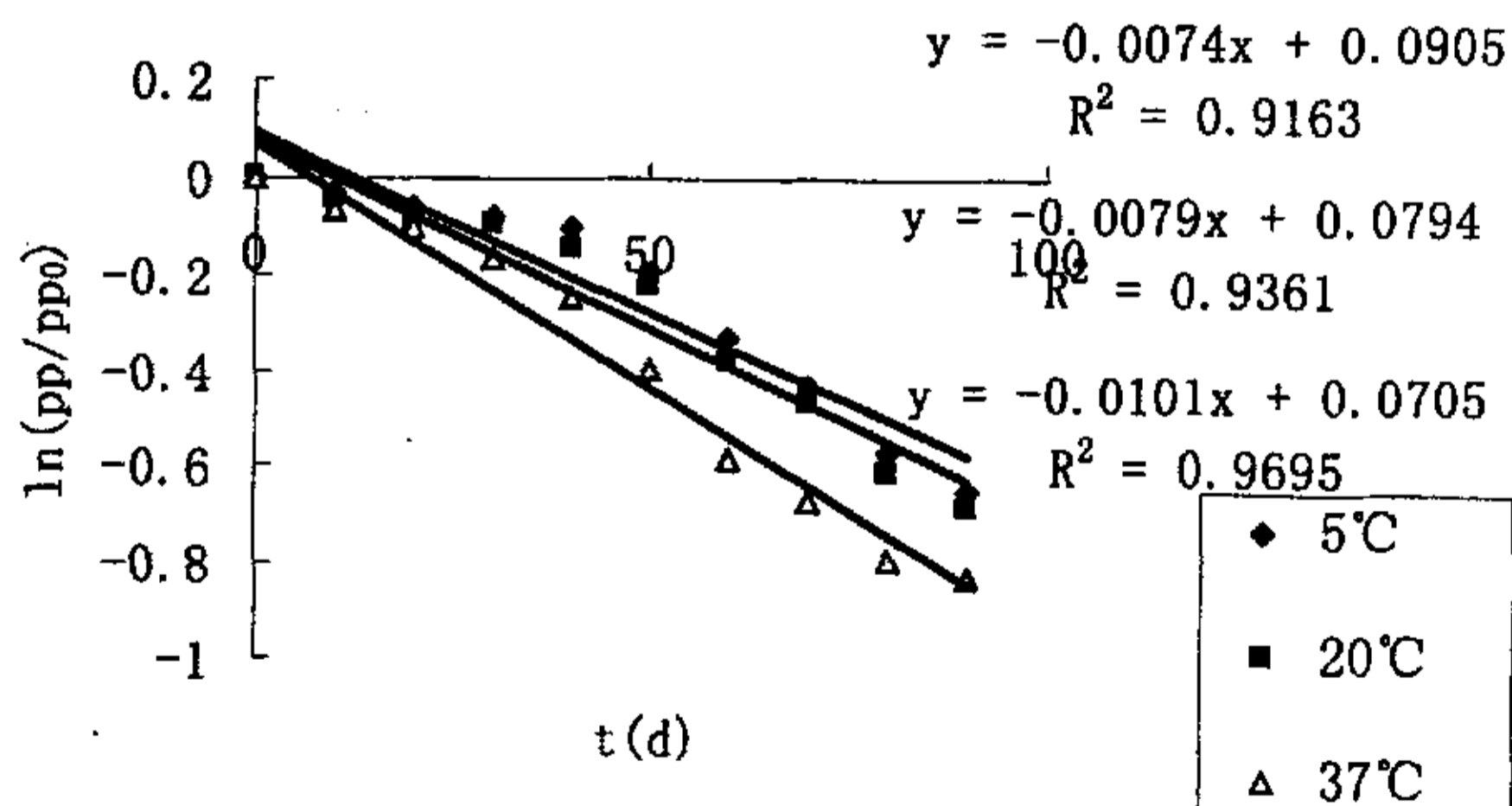


图 12. 总酚速率变化图

在没有蛋白质的参与下，多酚自身也会发生聚合形成沉淀^[67]。在试验中显示

高温贮存会导致强烈的蛋白质-多酚结合形成大量混浊，可能是由于高温导致蛋白质链结构疏松，暴露出结合位点易于与多酚结合。也可能是在高温情况下分子活性增强，更易于发生聚合作用。Calderon^[69]曾撰文指出蛋白质-多酚的交联度由蛋白质分子肽链上的可结合羰基和多酚的结合位点的数目直接决定，当然与蛋白质和多酚的浓度也有关系。因此在 37℃ 时蛋白质与多酚结合速率就高于 5、20℃ 时的结合速率，其果汁中的可溶性蛋白质、总酚及单宁含量就下降的多。有报道^[70]在高温条件下，多酚更易于发生氧化作用，这也同样说明了高温下多酚含量大为降低的原因。

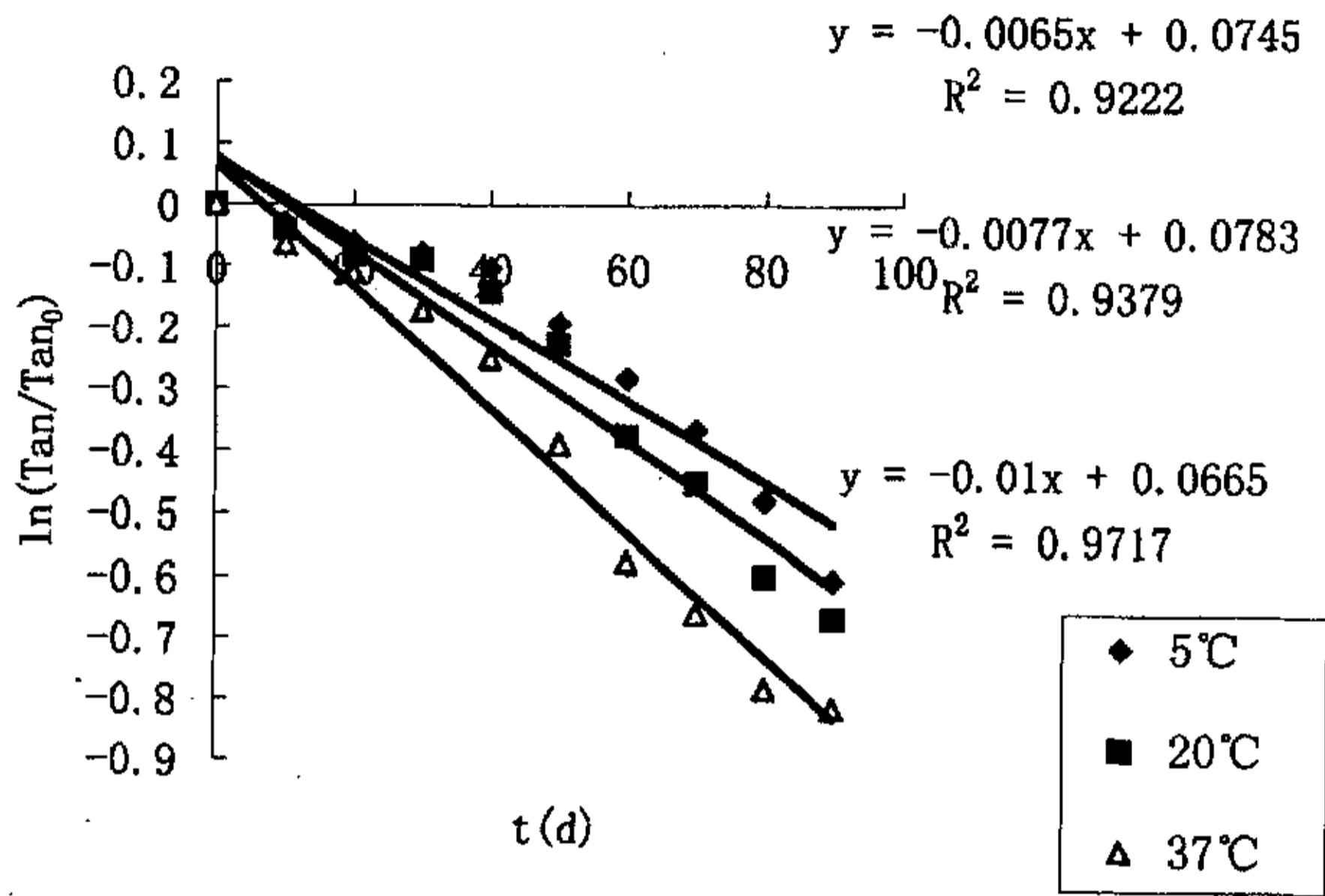


图 13. 单宁速率变化图

果汁中的可溶性蛋白质、总酚及单宁的反应速率符合一级反应动力学，方程如下：

5℃时，

$$\ln (pr/pr_0) = -0.0101t - 0.0834 \quad R^2 = 0.9463$$

$$\ln (pp/pp_0) = -0.0074t + 0.0905 \quad R^2 = 0.9163$$

$$\ln (Tan/Tan_0) = -0.0065t + 0.0745 \quad R^2 = 0.9222$$

20℃时，

$$\ln (pr/pr_0) = -0.0106t - 0.085 \quad R^2 = 0.9722$$

$$\ln (pp/pp_0) = -0.0079t + 0.0794 \quad R^2 = 0.9361$$

$$\ln (Tan/Tan_0) = -0.0077t + 0.0783 \quad R^2 = 0.9379$$

37℃时，

$$\ln (pr/pr_0) = -0.0118t - 0.0983 \quad R^2 = 0.9705$$

$$\ln (pp/pp_0) = -0.0101t + 0.0705 \quad R^2 = 0.9695$$

$$\ln(Tan/Tan_0) = -0.01t + 0.0665 \quad R^2 = 0.9717$$

5.8 苹果浓缩汁 HMF 和氨基态氮诱发褐变的确定

由图14、图15可以看出HMF的含量与果汁的褐变程度（以色值、吸光值度量）有很密切的关系，相关系数达到了0.9以上。这说明果汁在贮存时的褐变主要由非酶褐变引起，而且主要由非酶褐变中的美拉德反应引起。这与Hande Selen Burdurlu^[71]的报道一致。在本试验中发现，HMF含量与果汁的褐变度成指数关系，无论是用色值或是吸光值来表征褐变度，这一关系都得到了很好的验证，曲线拟合方程分别为：

$$T_{440}/T_{440_0} = 0.226 + 0.879e^{(-HMF/HMF_0/9.306)} \quad R^2 = 0.978$$

$$A_{420}/A_{420_0} = 1.008 \ln (HMF/HMF_0) + 0.310 \quad R^2 = 0.945$$

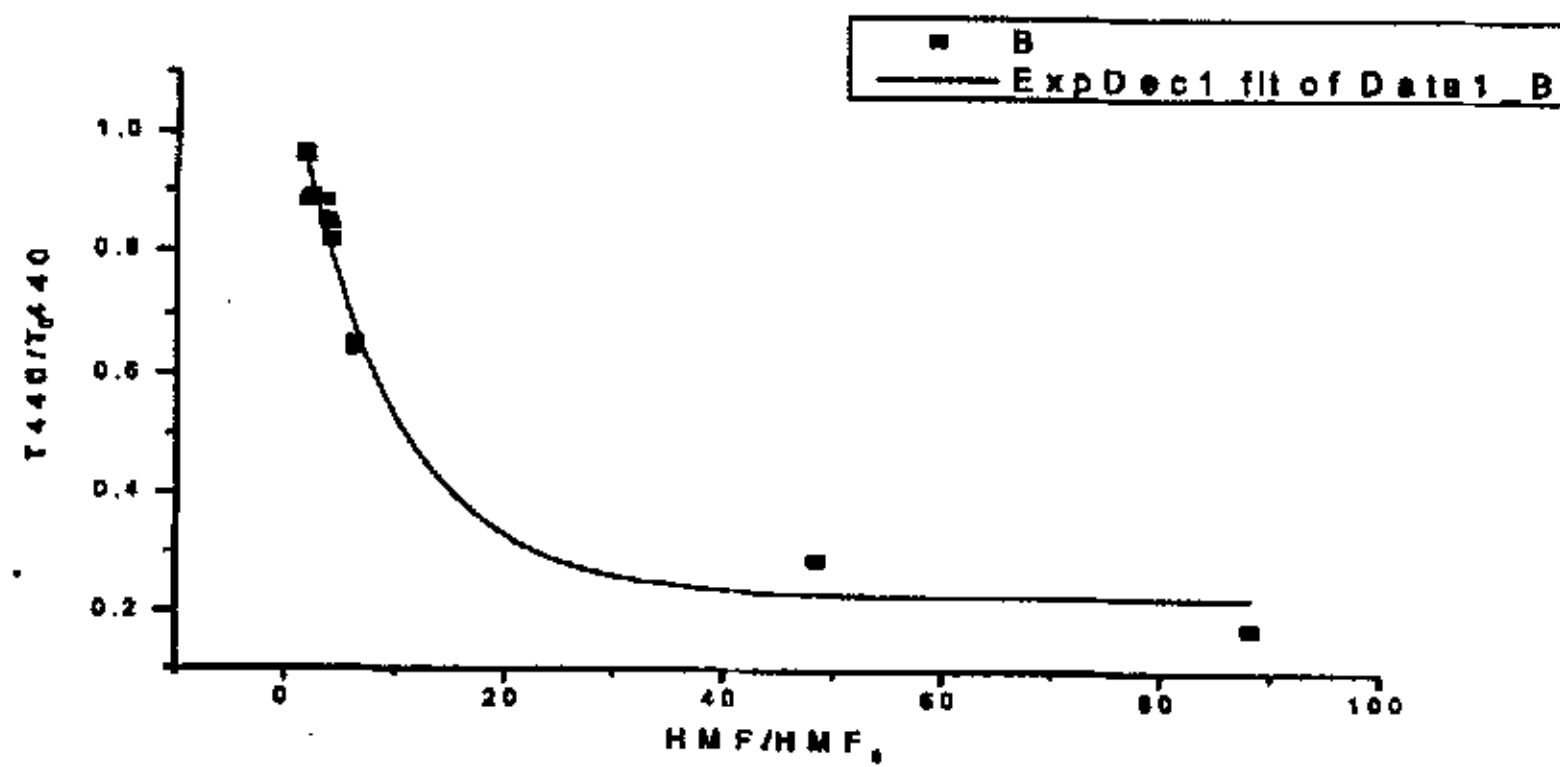


图 14. HMF 含量与色值关系图

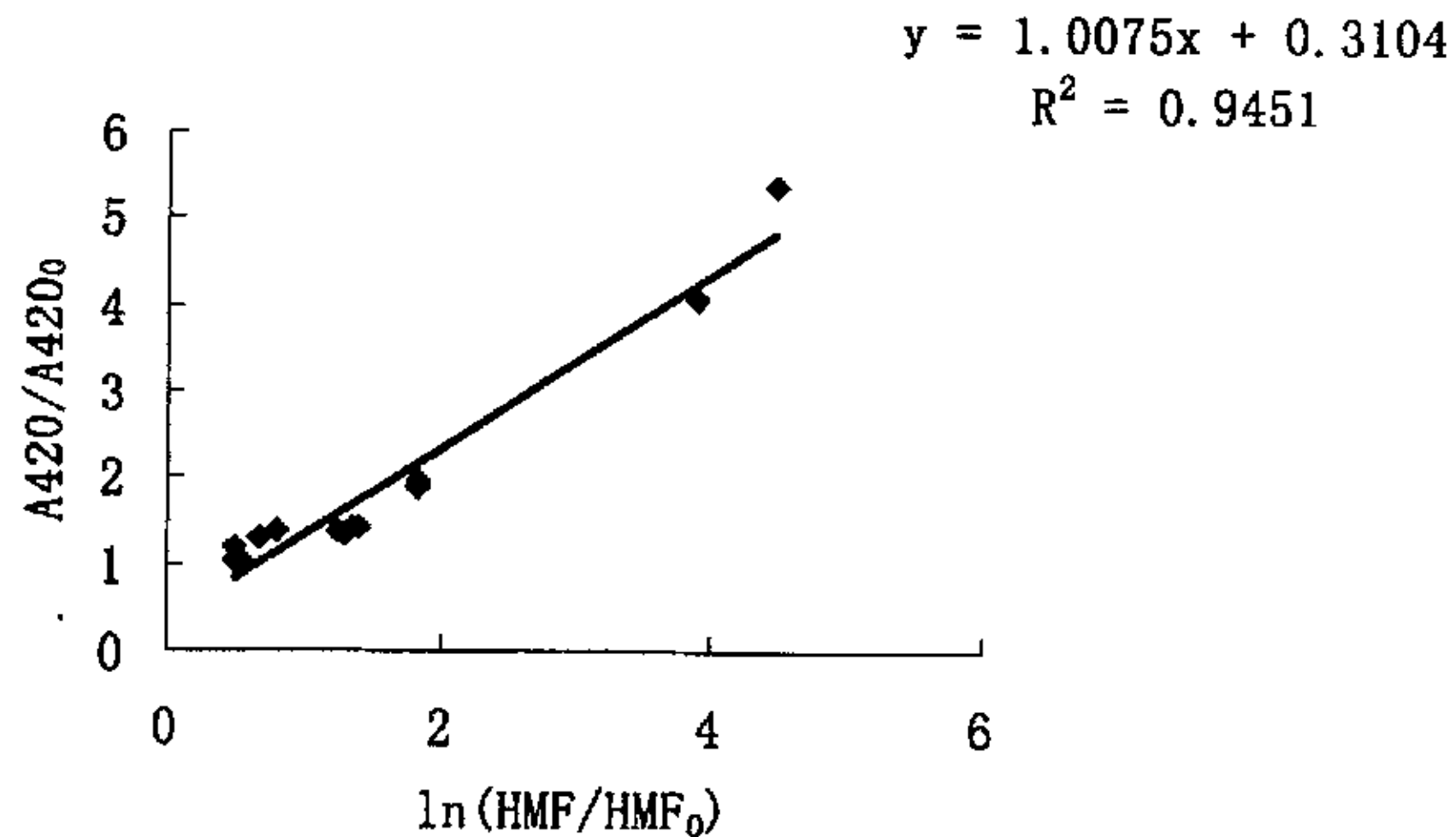


图 15. HMF 含量与吸光值关系图

方程说明在HMF含量增长的初期对褐变的影响程度很高，即HMF很少量的增加，就能产生很大程度的褐变，由图14曲线图初期的斜率能很好地观察到这一结果。因此，在生产中控制产品的初始HMF含量就显得非常重要，本文将在后面论述苹果浓缩汁加工过程中HMF含量的动态变化，寻找关键控制点，以期能最大限度降低成品果汁中HMF初始含量，达到提高果汁色值的目的。

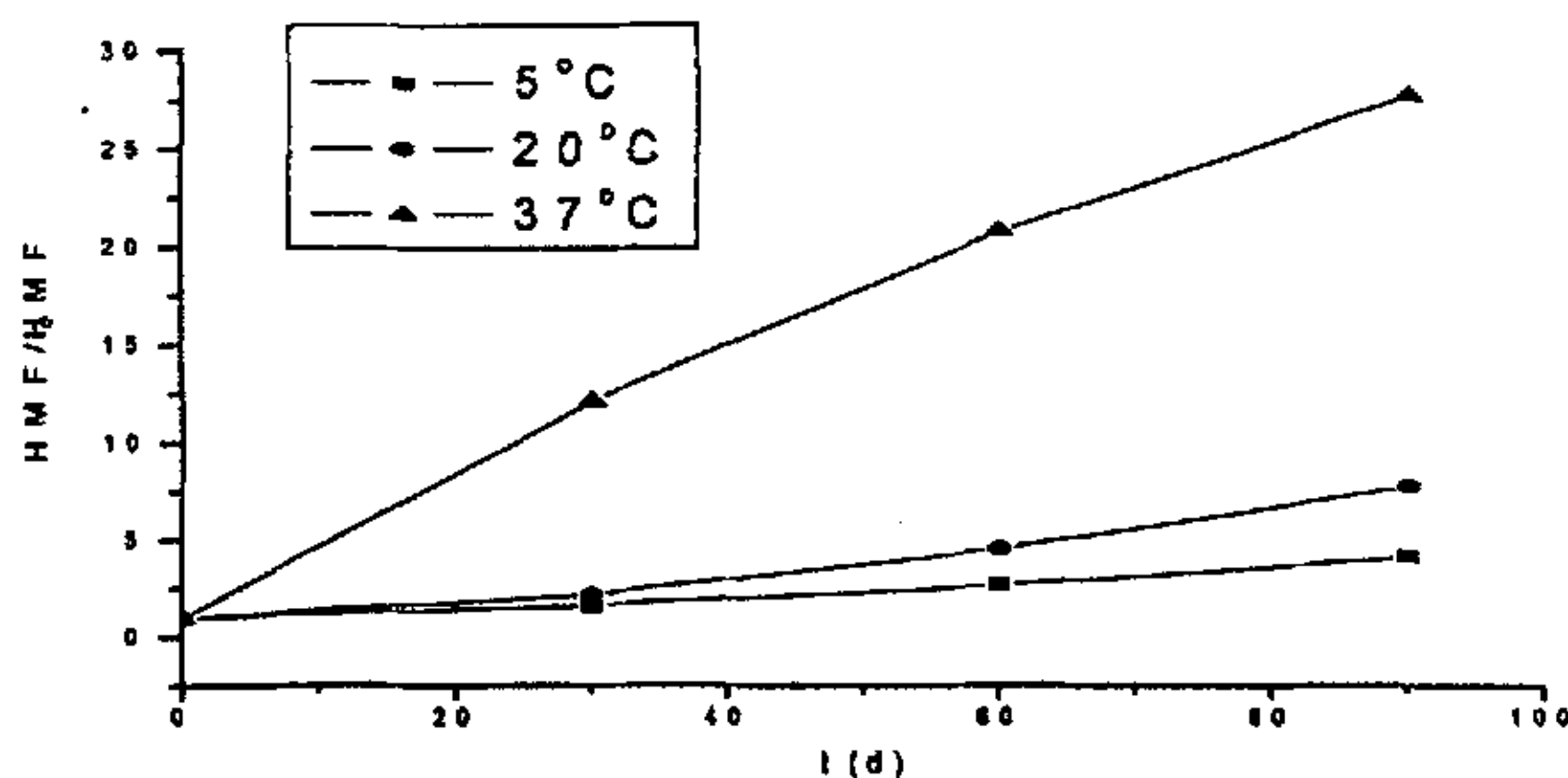


图 16. 不同贮存温度 HMF 含量变化图

由图16可观察不同贮存温度下HMF含量随时间的变化。37°C时果汁中HMF的含量增加幅度最大，经过90天贮存，HMF含量增加到其初始含量的27.58倍；而在20和5°C贮存时HMF含量增加缓慢，HMF含量分别增加到初始含量的7.70和4.09倍，Lee和Nagy^[72]作过类似报道。这一结果与图9、10中果汁的褐变曲线图结果吻合。但从曲线亦可观察到高温时HMF在初期增加很快，后期增速趋缓，在低温时，HMF基本处于一个平缓的增加态势。由此说明，贮存温度对HMF的影响很大，低温可以减缓果汁的褐变。

图 17 显示了不同贮存温度下果汁中氨基态氮含量速率变化状况。果汁中的氨基态氮含量因榨汁品种、成熟度和加工工艺不同而有所变化。由图中可知，果汁中的氨基态氮含量随贮存时间增加而下降，在 37°C 时下降速率明显大于 5 和 20°C 时的下降速率。这一结果也与图 3、4 中果汁的褐变曲线图结果吻合，同样证实了成品苹果浓缩汁褐变的主要原因是美拉德反应。其中 5°C 和 37°C 贮存时氨基态氮含量变化与果汁褐变度的关系分别如图 18、19 所示呈线性相关，这说明褐变是由果汁中的糖与氨基酸发生反应，并经过一系列的中间反应最后产生色素物质，HMF 是其中间产物^[71, 73, 74]。不同贮存温度苹果浓缩汁氨基态氮含量变化与果汁褐变度的关系方程及相关系数 (R^2) 如下：

5°C 时，

$$A_{420}/A_{420_0} = -3.7669 \text{ AAN}/\text{AAN}_0 + 4.7355 \quad R^2 = 0.9205$$

$$T440/T440_0 = 1.4724 AAN/AAN_0 - 0.4671 \quad R^2 = 0.9722$$

20°C

$$A420/A420_0 = -4.0698 AAN/AAN_0 + 5.0139 \quad R^2 = 0.9298$$

$$T440/T440_0 = 1.7281 AAN/AAN_0 - 0.6925 \quad R^2 = 0.9049$$

37°C

$$A420/A420_0 = -12.063 AAN/AAN_0 + 13.167 \quad R^2 = 0.9102$$

$$T440/T440_0 = 2.5954 AAN/AAN_0 - 1.6543 \quad R^2 = 0.9165$$

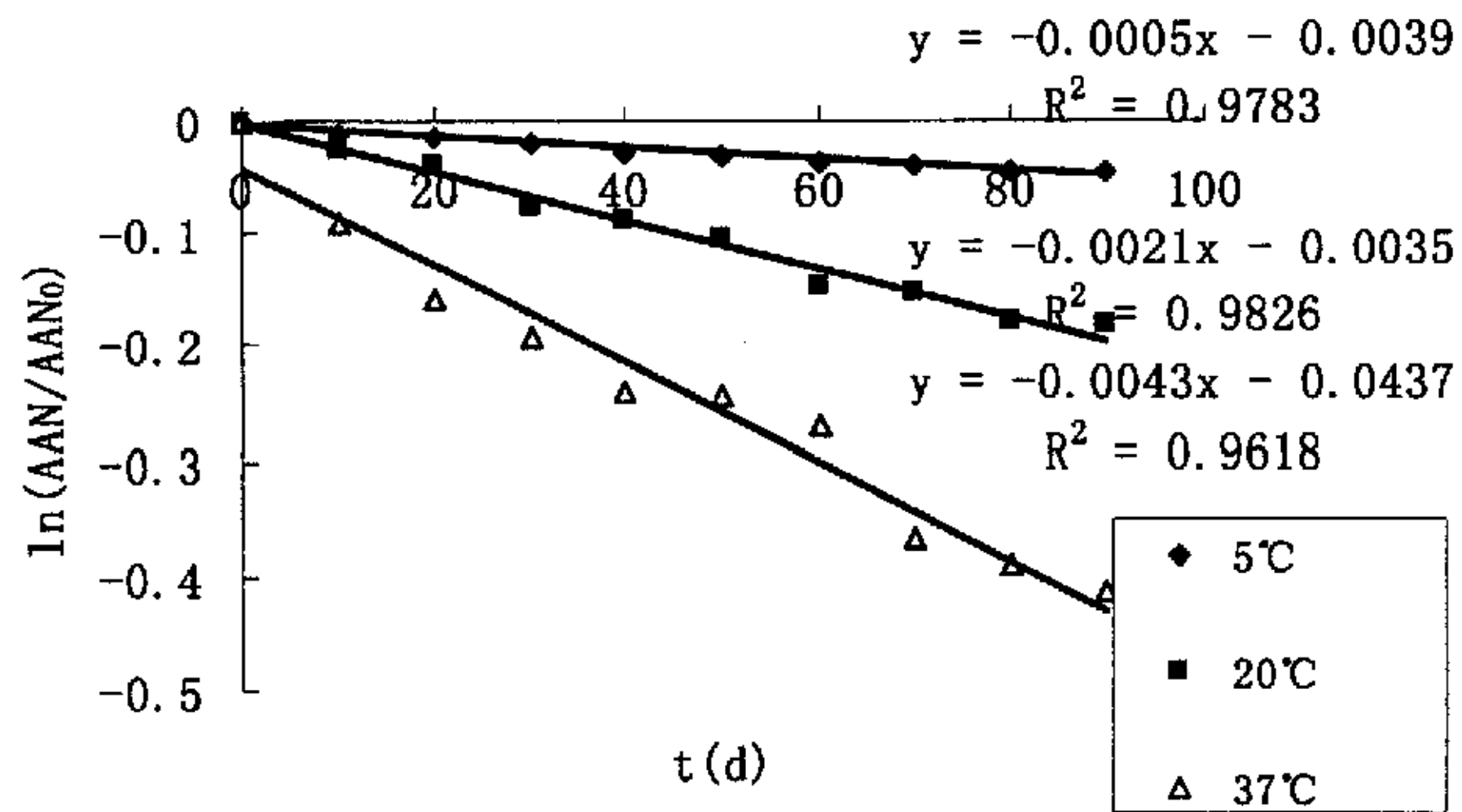


图 17. 不同贮存温度氨基态氮含量变化图

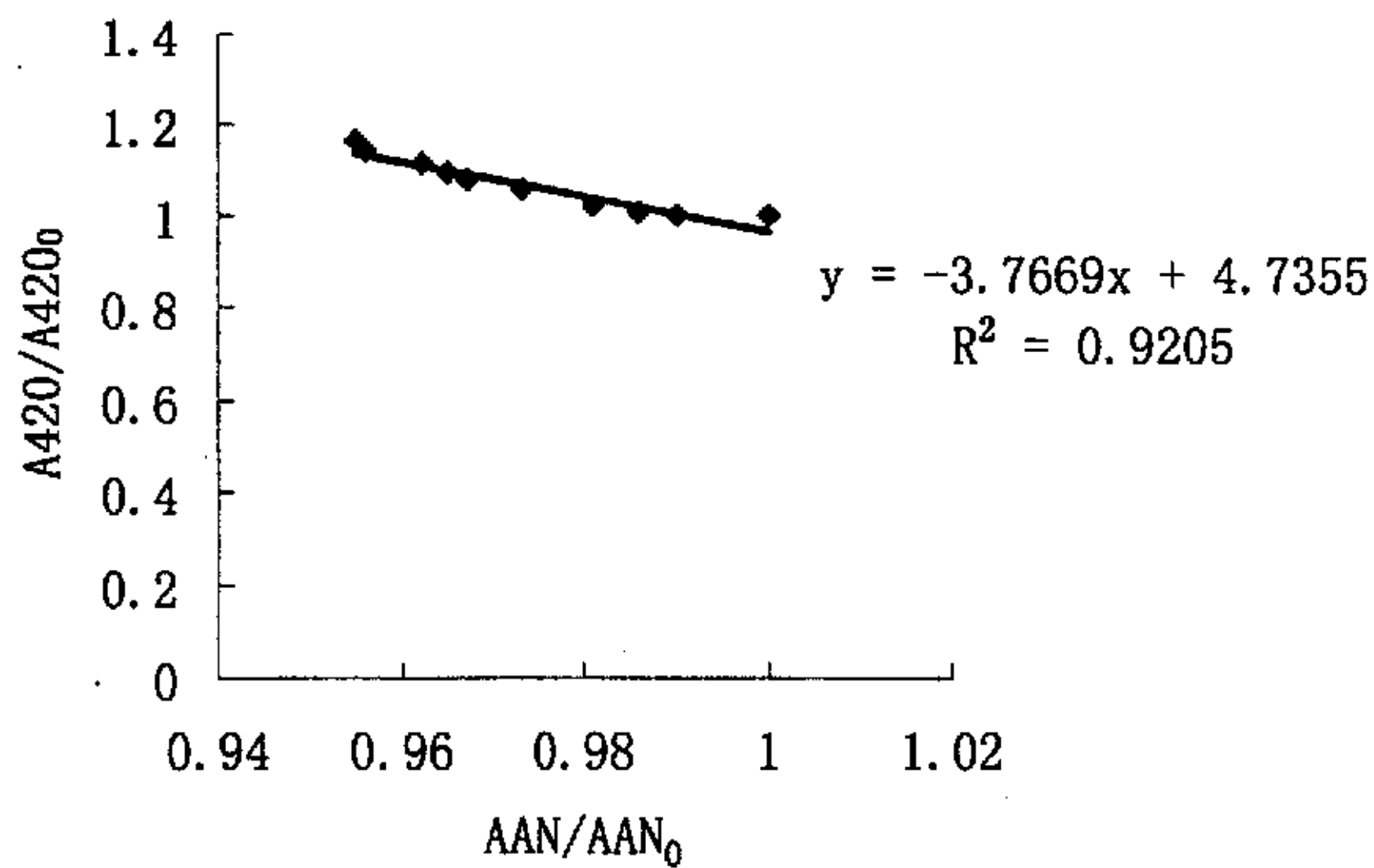


图 18. 5°C贮存氨基态氮与褐变度关系图

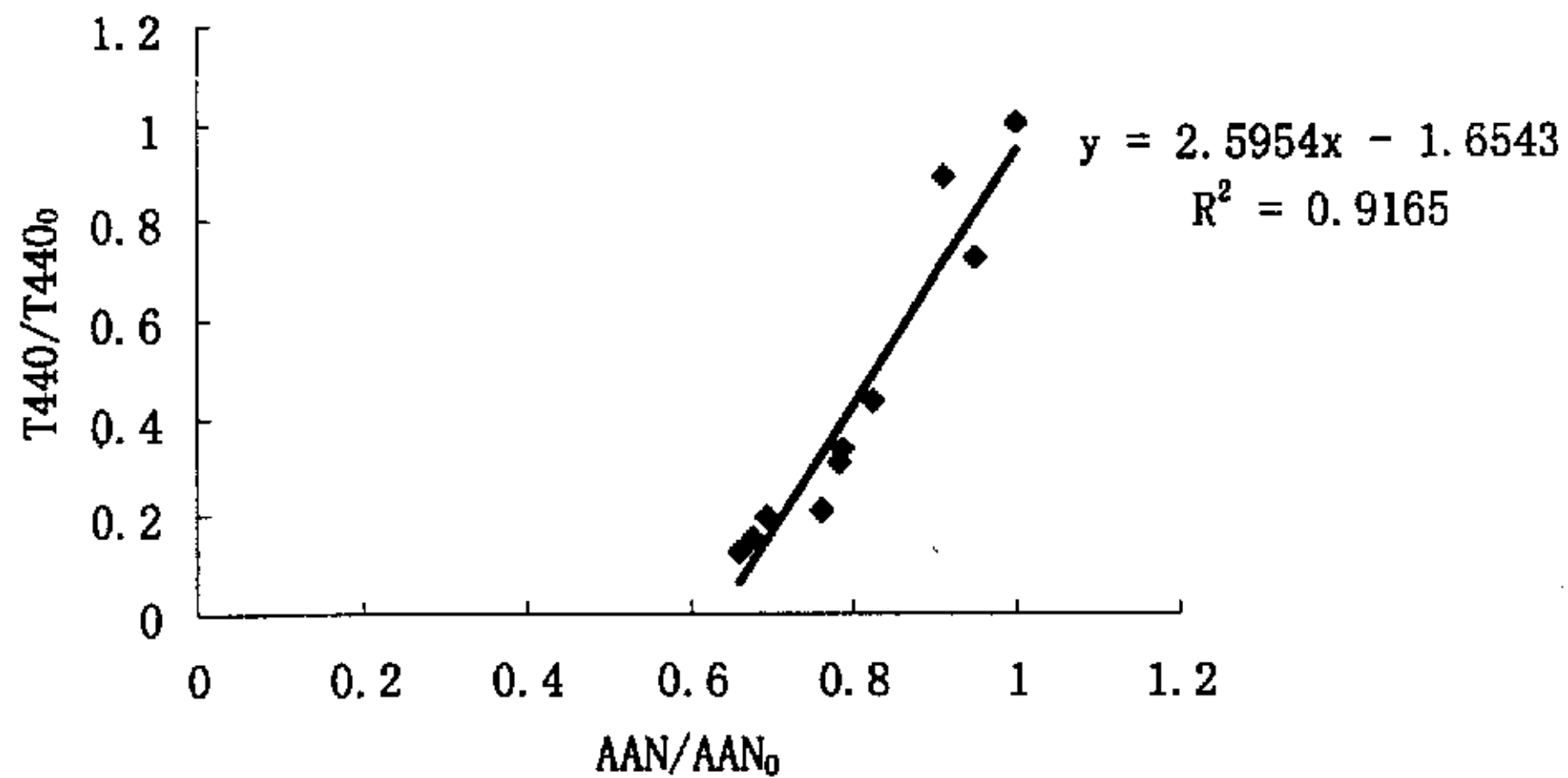


图 19. 37℃贮存氨基态氮与褐变度关系图

5.9 不同单元操作对苹果浓缩汁褐变、后混浊的影响

为了保证取样的一致性，经过对生产工艺参数的测算，设定在 0 分钟时，取榨汁后样品，则应分别在 17, 200, 230, 240, 250, 265 分钟时取前巴氏杀菌后，酶解后，超滤后，吸附后，浓缩后，后巴氏杀菌后的样品。苹果浓缩汁加工过程中，HMF 含量变化如图 20 所示（试验重复 5 次），在加工过程的前段，HMF 含量没有明显的增长，即使在长达 180 多分钟的酶解过程中，其变化也不明显。这说明低温条件可抑制 HMF 的生成，抑制果汁的褐变。另外，在前巴氏杀菌单元操作中，HMF 的变化也很小，说明高温短时杀菌对果汁褐变的影响亦不显著。在超滤、吸附和浓缩三个加工单元操作中 HMF 的含量略有上升，但根据此时果汁的色值和吸光值来看，这三个单元操作果汁褐变的影响也不是十分显著。

值得注意的是最后一个加工单元操作后巴氏杀菌对 HMF 的影响十分显著，经过后巴氏杀菌果汁中的 HMF 平均含量比杀菌前增加了 5.12 倍，其平均色值也下降了 6.0 左右。根据果汁前巴氏杀菌的经验，后巴氏杀菌对果汁褐变的影响似不应如此显著。在对工厂整个生产线作了细致的研究后发现，生产上为了控制耐热菌，过了热交换杀菌装置的苹果浓缩汁为保持其低黏度并没有被马上降温，而是经过纸板过滤去除耐热菌及其芽孢后才降温包装，这一过程持续了约 15 分钟。这种条件下，美拉德反应速率很快，导致色值下降幅度较大。另外，此时的果汁已被浓缩，其水分活度更接近美拉德反应的最适水分活度 0.6~0.7^[76]，再加上高温环境，果汁褐变度增加也就不足为奇了。

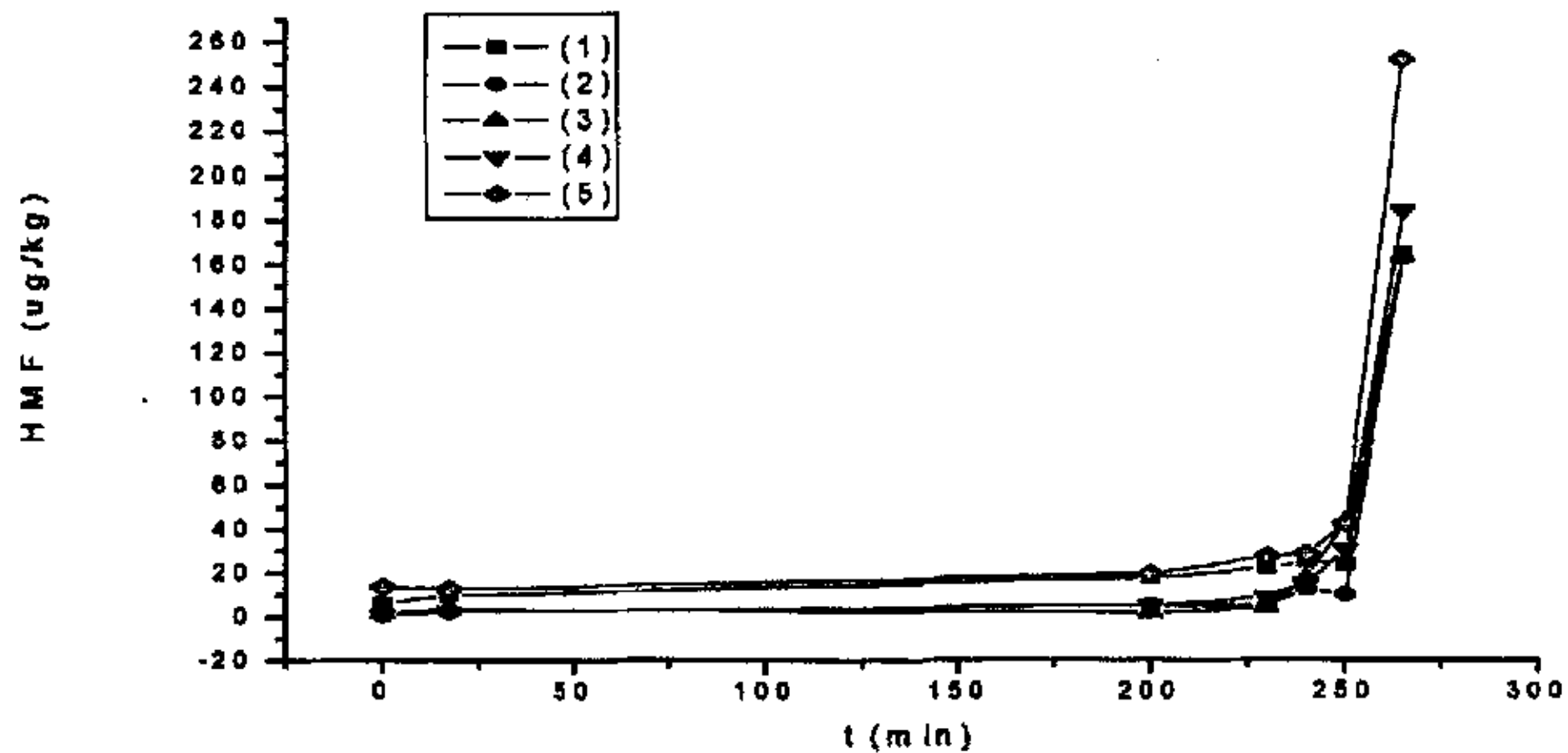


图 20. 苹果浓缩汁加工过程中 HMF 含量变化图

在苹果浓缩汁加工过程中，AAN、PP、Tan 和 Pro 含量变化如图 21 所示。其中 AAN、PP 和 Tan 的变化趋势较为一致。但可以发现，超滤工艺对 AAN 几乎没有影响，对 PP 和 TAN 却有明显的滤除作用，将三者超滤前后浓度进行 T 检验可证实这一结果，经 T 检验证实超滤以后的吸附、浓缩和后巴氏杀菌工艺尤其是吸附对三者均有明显的影响。AAN 作为褐变的诱因其浓度在加工过程中处于下降态势，与图 20 中褐变中间产物 HMF 的上升态势吻合，说明在果汁加工过程中经过前巴氏杀菌钝化 PPO 的活性以后，影响褐变的主要原因就是非酶褐变，而且以美拉德反应为主。

与前三者不同的是可溶性蛋白质(Pro)的变化，酶解对其影响非常显著。经过酶解其平均含量下降了 52.41%，这说明了酶解处理对生产澄清果汁的重要性，而且它也直接决定了超滤的效果。引起这一结果的原因可能是由于在生产中添加的酶制剂实际上是一种复合酶，除了果胶酶外还含有少量的蛋白酶，此外，在酶解时添加的助滤剂如明胶等对蛋白质也有一定的吸附作用。其他后续工艺对可溶性蛋白质也有一定的影响，尤其是超滤和吸附对其影响比较显著。而浓缩和后巴氏杀菌单元操作对其影响较弱，尤其是后巴氏杀菌，也许是高糖度的果汁对蛋白质有保护作用可避免其热变性。

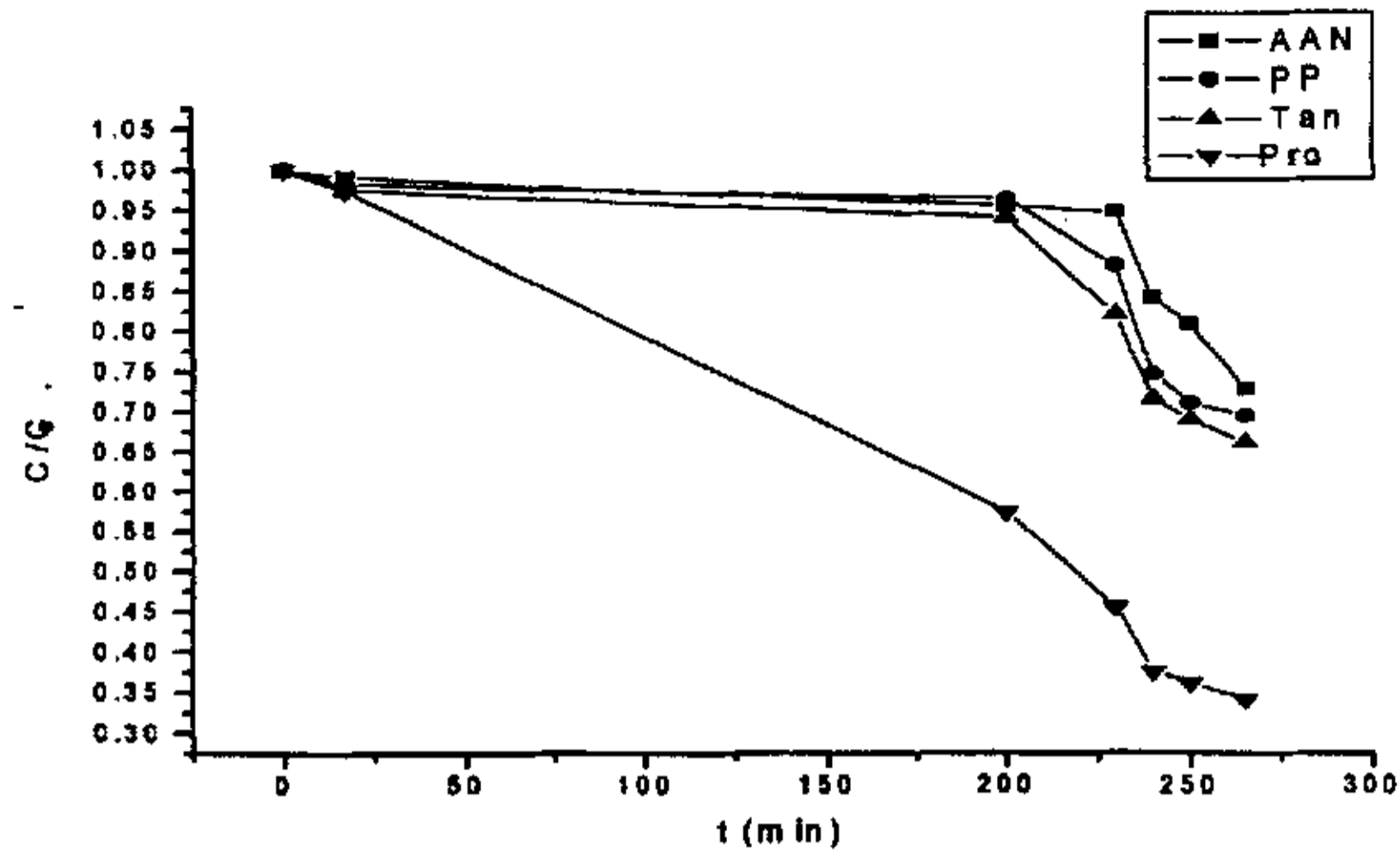


图 21. 苹果浓缩汁加工过程中 AAN、PP、Tan 和 Pro 含量变化图

图 22 是苹果浓缩汁生产加工过程中浊度和吸光值的动态变化图。由于果汁在超滤之前属于固液混合物，浊度和吸光值并不能真正代表果汁的澄清度和褐变度，经过超滤后的浊度和色值才能真正显示果汁的质量状况，所以图 22 中的浊度和色值是超滤后加工过程中的动态变化值。超滤后的果汁浊度经吸附后有一明显下降趋势，经浓缩以后却有一个非常明显的跃升，浊度值较之超滤后增加了 2.03 倍。这说明浓缩工艺对果汁浊度的影响非常巨大，根据同期的可溶性蛋白质、总酚和单宁下降幅度来讲似乎浊度不应上升这么快。但如果可溶性蛋白质、总酚和单宁与浊度成指数关系，这一结果也是可能的；亦或是此时果汁中还含有其它影响果汁澄清度的因素，在浓缩时产生混浊。最后经后巴氏杀菌、纸板过滤后果汁的浊度又有一大幅度下降，这主要是纸板对果汁在浓缩和后巴氏杀菌期间产生的混浊有滤除作用，但可以看出这一滤除作用也是有限的，这时果汁的浊度值比超滤后明显高出 94.8%，因此降低加工过程中浓缩单元操作过程果汁浊度是非常关键的，还有待进一步深入细致研究。

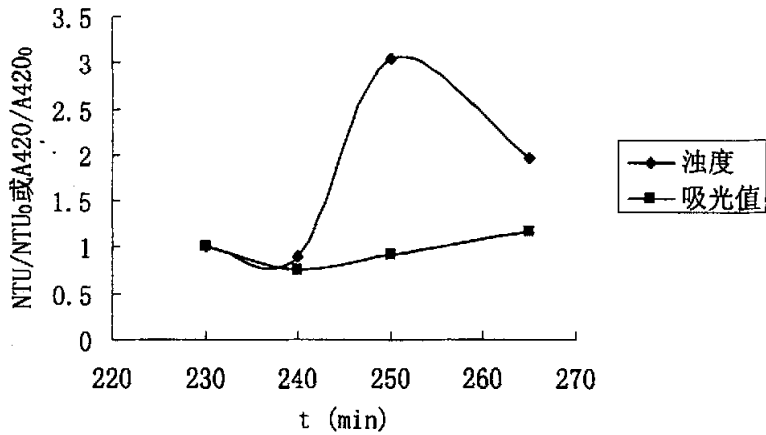


图 22. 加工过程中浊度和吸光值变化图

图 22 中的吸光值的变化相对于浊度比较平缓，但也有明显的变化，在吸附后略有下降，在浓缩特别是后巴氏杀菌阶段又直线上升，最后果汁的吸光值比超滤后高出了 16.0%。但要说明的是，图中后巴氏杀菌后果汁的吸光值是经过纸板过滤的吸光值，实际经过后巴氏杀菌后，果汁的吸光值要高一些。以上变化说明，在苹果浓缩汁生产加工过程的中后期影响其褐变的主要原因是非酶褐变。因为后巴氏杀菌阶段果汁褐变非常明显，众所周知，即使这时有 PPO，其活性也会受到抑制，不可能导致果汁褐变，这时导致果汁褐变的只能是美拉德反应。这一结果与图 20 苹果浓缩汁加工过程中 HMF 含量的变化是一致的。

5.10 苹果浓缩汁后混浊与其初始浊度的关系

选取正常苹果浓缩汁和后混浊苹果汁分别稀释到 11.5Brix 测定其浊度，与其初始浊度进行对照。如其浊度的增加值=1 或 >1，则视为后混浊发生。图 23 是正常苹果浓缩汁与后混浊苹果浓缩汁的初始浊度比较图，根据其不同生产日期分为两组。将两组数据进行数据处理，T 检验结果显示，两组果汁的初始浊度有显著差异。试验结果说明产生后混浊果汁的初始浊度要高于正常果汁的初始浊度，因此生产中控制成品浓缩汁的浊度显得非常必要。

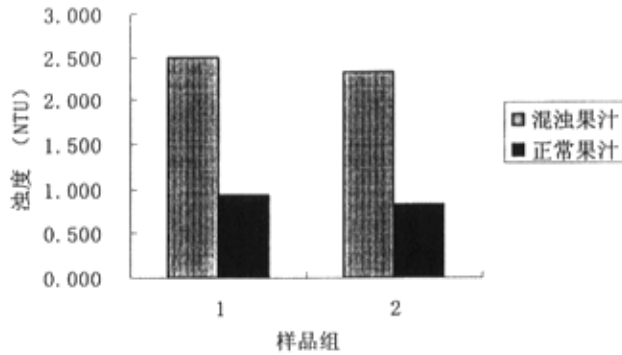


图 23. 正常苹果浓缩汁与后混浊苹果浓缩汁的初始浊度比较图

5.11 LSA—800B 吸附树脂对果汁中色素及色素前体（诱因）的吸附过程。

5.11.1. 模型

将吸附数据处理并与吸附模型拟和可以进一步表征吸附树脂的特性，研究影响吸附的因素，从而优化吸附工艺条件。

5.11.1.1 平衡模型

吸附可以被描述为某一相中一种物质被吸着浓缩到吸附剂的表面，这个过程一直持续到平衡态为止，吸附平衡时液相的浓度保持恒定。在平衡时液相中溶质的浓度为 C ，而在固相中溶质的浓度是 Q /单位吸附剂。吸附等温线描述的是一定温度条件下平衡态中吸附剂中溶质的浓度 Q 与液相中溶质浓度 C 的关系。

Langmuir 模型是一种普遍采用的等温吸附模型。在这种模型中，一种吸附剂在表面吸附形成一层分子膜。Langmuir 等温吸附模型可用下式表述

$$Q/Q_0 = K_{ad}C / (1 + K_{ad}C), \quad (1)$$

这里 Q_0 是吸附剂表面的最大吸收浓度。 K_{ad} 是吸附平衡常数。这两个数值在一定的温度下和固定的吸附剂—吸附质系统中是常数，方程 (1) 的线性形式可被表述为

$$1/Q = 1/Q_0 + 1/(K_{ad}Q_0C), \quad (2)$$

另一常用吸附等温模型是 Freundlich 模型，可用下式表述

$$Q = K_f (C)^n, \quad (3)$$

这里 K_f 和 n 是吸附常数，它们同样由温度和吸附剂—吸附质而定。

5.11.1.2 动力学模型

吸附和解吸反应大多可描述为



这里 k_a 和 k_d 分别是吸附速率系数和解吸速率系数, A代表吸附剂, C代表吸附质, A—C代表吸附质被吸附到吸附剂上。

Langmuir^[76]把吸附和解吸的动力学公式表述为

$$r_a = k_a C(1 - \theta) \quad (5)$$

$$r_d = k_d \theta, \quad (6)$$

这里 θ (Q/Q_0)是覆盖系数 ($0 \leq \theta \leq 1$), C是溶质的平衡浓度, r_a 和 r_d 分别是吸附和解吸速率。因为计算平衡常数必需测定动力常数, 而吸附和解吸速率又不能独立测定, 所以这里需用到Kuan, Lo, Chang和Wang^[77]等人采用的曲线逼近法分别确定吸附和解吸速率。

θ 对时间(t)作图后可分为两个阶段: 初始阶段和后期缓慢阶段(图 29)。初始阶段的回归分析曲线会产生一个斜率 k_0 (曲线在 $t=0$ 时的导数), 可作为初始阶段的吸附速率; 最后阶段的截距即是平衡覆盖系数(θ_0)

$$\theta = k_0 t, \quad (7)$$

$$\theta = \theta_0, \quad (8)$$

联立方程(7)和(8)可导出

$$t_{i_0} = \theta_0 / k_0, \quad (9)$$

这里 t_{i_0} 指初始平衡时间。

用方程(7)替换方程(5)和(6)中的 θ 可导出

$$r_a = k_a C(1 - k_0 t), \quad (10)$$

$$r_d = k_d k_0 t, \quad (11)$$

在平衡态时 r_a 等于 r_d 即

$$k_a C(1 - k_0 t) = k_d k_0 t, \quad (12)$$

平衡时覆盖系数(θ_0)可用下述数学式表示

$$\theta_0 = \int_0^{t_{i_0}} (r_a - r_d) dt, \quad (13)$$

由方程(10)和(11)分别替换 r_a 和 r_d 得

$$\theta_0 = \int_0^{t_{i_0}} [k_a C(1 - k_0 t) - k_d k_0 t] dt, \quad (14)$$

积分上式并由方程(12)整理得

$$\theta_0 = (1/2) C k_a t_{i_0}, \quad (15)$$

$$\theta_0 = (1/2) k_d k_0 (t_{i_0})^2 / (1 - k_0 t_{i_0}), \quad (16)$$

考虑到方程(9), 方程(15)、(16)可整理为

$$k_a = 2k_0 / C, \quad (17)$$

$$k_d = 2(1 - k_0 t_{10}) / t_{10} \quad (18)$$

现在吸附和解吸活化能可分别由 Arrhenius 方程计算得出

$$k_a = A e^{(-E_a/RT)} \quad (19)$$

$$k_d = A e^{(-E_d/RT)} \quad (20)$$

这里 E_a 和 E_d 分别是吸附和解吸活化能, A 是频率系数, R 是气体常数, T 是绝对温度。

5.11.2. 吸附过程

5.11.2.1 吸附效率

树脂吸附果汁中的色素物质的效果由公式 (21) 测得的吸光值下降的比率^[78]来确定:

$$\text{吸附率 (\%)} = [(A_0 - A) / A_0] 100 \quad (21)$$

这里 A_0 是最初的吸光值, A 是最终的吸光值, 均是在 420nm 处苹果汁的吸光值。

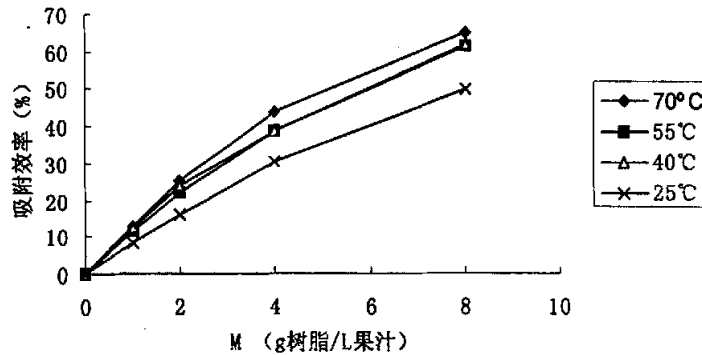


图 24. 树脂浓度 (M) 和温度对吸附效率 (%) 的影响

图 24 表示的是吸附率在不同的树脂浓度和不同温度下的变化。很容易看出吸附率随着温度的升高而升高。这个结果是因为提高温度降低了黏度, 这加快了溶质即色素物质的运动, 从而促进了其在树脂表面的吸附。吸附率随着树脂浓度的提高也有预期的提高, 这是因为增大了吸附面积。Carabasa^[78]曾作过类似报道, 在桃汁中用活性炭吸附色素。但是也有学者认为增加温度会降低吸附能力^[79]。

5.11.2.2 吸附等温线

吸附等温线是液相中溶质的浓度和固相颗粒吸附溶质浓度的平衡关系图, 把等温线数据放入不同的等温线模型中进行分析是发现合适吸附模型的重要步骤, 合适的模型可以用来进一步进行数据分析。

色素物质被树脂吸附这一问题中, 吸附等温线与固相吸附的色素浓度 (Q) 和液相中残留的溶质浓度有关, 它们都可用 A_{420} 来表示。在本研究中等温线以无量纲

形式给出。这里 C 代表 (A/A_0) ， Q 即 $[(A_0-A)/A_0]/m$ ，这里 m 是树脂的质量。

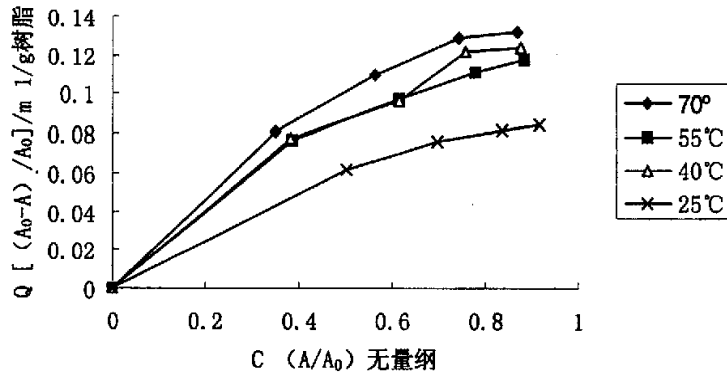


图 25. 不同温度下树脂吸附色素等温线

图25是由 Q (色素在吸附剂上的浓度)对 C (溶液中色素的浓度,无量纲)作图。根据McCabe^[80]等的分类,这种上凸曲线属于一种典型等温曲线图,这种图表示吸附剂在较低溶质浓度的液相中可吸附、富集到较高浓度的溶质。

5. 11. 2. 3 吸附模型

吸附数据根据 Langmuir 模型和 Freundlich 模型进行分析,采用 EXCEL 进行数据处理,考察吸附数据与这两个模型的符合程度。吸附数据符合 Langmuir 模型的方程 (2)。

$1/Q$ 对 $1/C$ 作图得图 (26)。直线在 $1/Q$ 轴上的截距得到 Q_0 , Q_0 是树脂最大吸收能力。其斜率即 $1/K_a Q_0$, K_a (吸附平衡常数) 和 r^2 (相关系数) 由表 2 给出。

表 2 Langmuir 参数

温度 (°C)	Q_0 (1/g 树脂)	K_a	r^2
25	0.1465	1.2741	0.9934
40	0.1935	1.4722	0.9616
55	0.2325	1.5262	0.9987
70	0.2347	1.6784	0.9941

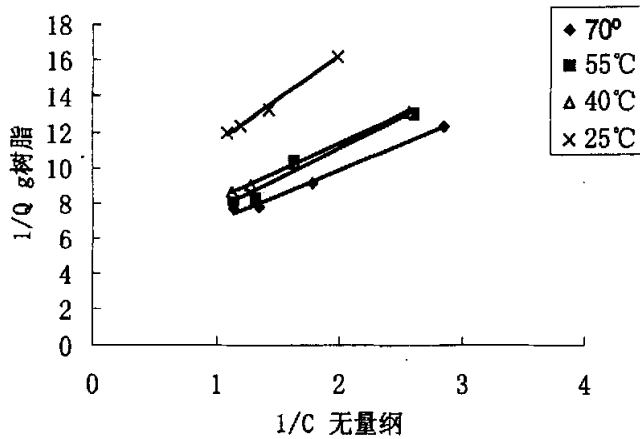


图 26 Langmuir 等温线 (1/Q vs. 1/C 图)

相关系数 r^2 显示吸附过程符合 Langmuir 模型。 Q_0 随温度提高而增高显示此过程是吸热反应。平衡常数 K_{ad} 随着温度升高而升高同样证明随温度升高吸附能力提高。 $K_{ad} > 1$ 证明这一过程是一个良好的吸附过程^[80]。

试验数据也同样符合 Freundlich 模型的方程 (22)。

$$\ln Q = \ln K_r + n \ln C \quad (22)$$

依据 $\ln C$ 描绘 $\ln Q$ 即图 27, 这里 K_r 和 n 分别是直线的截距和斜率 (见表 3)。

表 3 Freundlich 参数

温度 (°C)	K_r (1/g 树脂)	n	r^2
25	11.3487	0.4957	0.9846
40	7.4294	0.5916	0.9599
55	8.0386	0.511	0.991
70	6.8729	0.5381	0.98

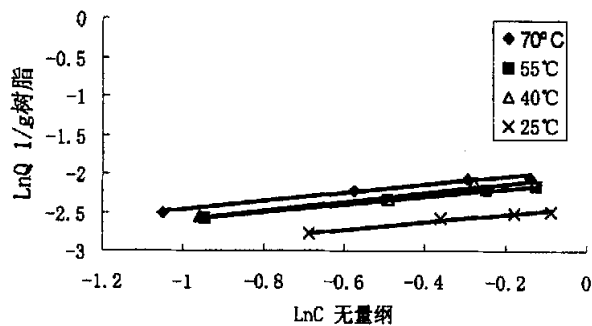


图 27. Freundlich 等温线 ($\ln Q$ vs. $\ln C$)

结果清楚显示，树脂吸附果汁中的数据能很好地符合 Langmuir 模型和 Freundlich 模型，在不同温度下相关系数均超过 0.90。

5.11.2.4 热力学参数

表(4)给出了热力学参数 Gibbs 自由能 (ΔG)，焓变化 (ΔH) 和熵变化 (ΔS) 在树脂吸附果汁色素试验中的值。

表 4 树脂吸附色素过程热力学参数

温度 (°C)	K_{ad}	ΔG (KJ/mol)	ΔH (KJ/mol)	ΔS (KJ/mol K)	R^2
25	1.2741	-0.9587			
40	1.4722	-0.6305	4.1557	0.0162	0.9393
55	1.5262	-1.4128			
70	1.6784	-1.2063			

ΔG 由下式计算

$$\Delta G = -RT \ln K_{ad} \quad (23)$$

这里 $\ln K_{ad}$ 是吸附平衡常数 (由 Langmuir 模型得出), T 是绝对温度, R 是气体常数。 K_{ad} 和热力学参数 ΔH 和 ΔS 的关系可由 Van't Hoff 公式 (24) 描述

$$\ln K_{ad} = \Delta S/R - \Delta H/RT \quad (24)$$

这样 ΔH 和 ΔS 可分别由图 28 中 Van't Hoff 直线的斜率和截距得到。

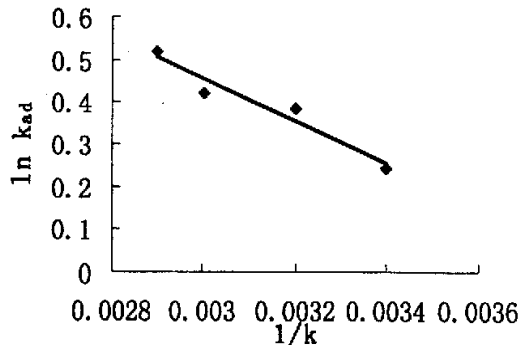


图 28 Van't Hoff 直线

ΔH 为正值证明树脂吸附果汁的色素这一过程为吸热反应。此外 $\Delta H=4.1557\text{KJ/mol}$ 表明上述过程是以物理吸附过程为主, 化学吸附则属于不显著的效应。 ΔG 是负值且总趋势呈现负增长, 证明上述过程是一自发过程。 ΔS 为正值显示这一过程是熵增过程^[61]

5.11.2.5 吸附动力学

图 29 是一个典型的覆盖率 (θ) 依时间 (t) 的变化曲线, 数据取自前面系列动力学试验。数据 (θ vs. t) 适合增长数学模式 $\theta = a (b - e^{-ct})$, 这里 a 、 b 和

c 是常数，依据统计软件 ORIGIN 6.1 处理得出。曲线在 $t=0$ 时的导数即初始吸附速率。初始平衡时间即可按公式 (9) 算出。平衡覆盖率 (θ_e) 可依后期直线的截距算出，根据曲线逼近法计算的 k_0 、 t_{ie} 、 θ_e 、 k_a 和 k_d 值在表 4 中给出。

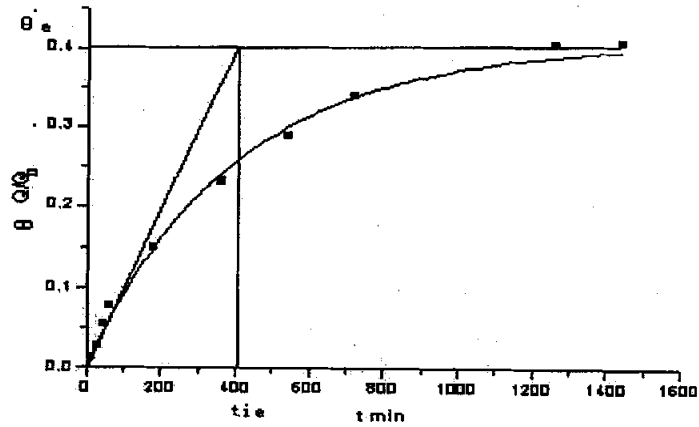


图 29. 曲线逼近法测定动力学数据 (70°C 4g 树脂/L 果汁)

5.11.2.6 吸附与解吸的活化能计算

由表 (5) 的数据进一步可计算温度与吸附、解吸之间的依赖关系。公式 (19)，(20) 可用来计算吸附和解吸活化能。

1、2、4 和 8g 树脂/L 果汁吸附和解吸曲线分别为图 30 和图 31。每一不同树脂含量的吸附、解吸活化能分别是图 30 和图 31 中回归直线的斜率。吸附和解吸速率对温度和树脂浓度有依赖关系。然而不同树脂浓度的吸附和解吸活化能应该是相等的，试验中吸附活化能的平均值为 8.4014 ± 2.4055 KJ/mol，解吸的活化能为 10.2790 ± 2.9805 KJ/mol。

表 5 树脂吸附色素动力学参数

温度 (°C)	25	40	55	70
m(g 树脂) [1g]				
θ_0	0.561	0.569	0.638	0.486
$k_0(\text{min}^{-1})$	0.0011	0.0011	0.0011	0.0011
$t_{1e}(\text{min})$	509.09	516.36	580	441.82
$k_a(\text{min}^{-1})$	0.0024	0.0025	0.0025	0.0025
$k_d(\text{min}^{-1})$	0.0012	0.0017	0.0017	0.0023
r^2	0.98569	0.9878	0.97486	0.99219
m(g 树脂) [2g]				
θ_0	0.55	0.501	0.586	0.453
$k_0(\text{min}^{-1})$	0.00088	0.00091	0.0011	0.001
$t_{1e}(\text{min})$	625	549.45	532.73	453
$k_a(\text{min}^{-1})$	0.0021	0.0024	0.002	0.0027
$k_d(\text{min}^{-1})$	0.0014	0.0018	0.0016	0.0024
r^2	0.96886	0.98815	0.98235	0.98509
m(g 树脂) [4g]				
θ_0	0.48	0.389	0.499	0.405
$k_0(\text{min}^{-1})$	0.00081	0.00074	0.001	0.00099
$t_{1e}(\text{min})$	592.59	525.68	499	408.08
$k_a(\text{min}^{-1})$	0.0023	0.0024	0.0033	0.0035
$k_d(\text{min}^{-1})$	0.0018	0.0023	0.002	0.0029
r^2	0.97471	0.9888	0.99087	0.9959
m(g 树脂) [8g]				
θ_0	0.42	0.311	0.515	0.319
$k_0(\text{min}^{-1})$	0.00069	0.00061	0.00088	0.0008
$t_{1e}(\text{min})$	608.7	508.2	585.23	398.75
$k_a(\text{min}^{-1})$	0.0027	0.0032	0.0045	0.0046
$k_d(\text{min}^{-1})$	0.0017	0.0019	0.0027	0.0034
r^2	0.9727	0.9894	0.97928	0.99627

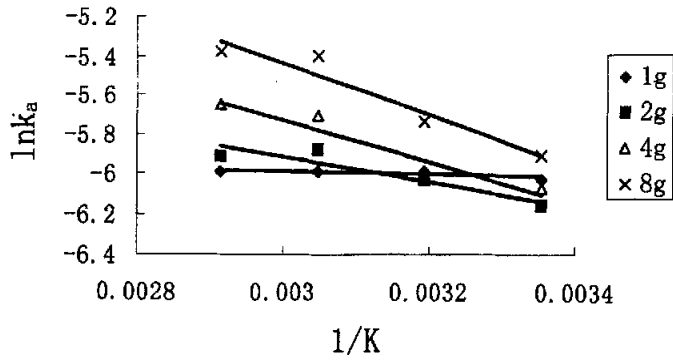


图 30. $\ln k_a$ vs. $1/K$ 图 (1, 2, 4 和 8g 树脂/L 果汁)

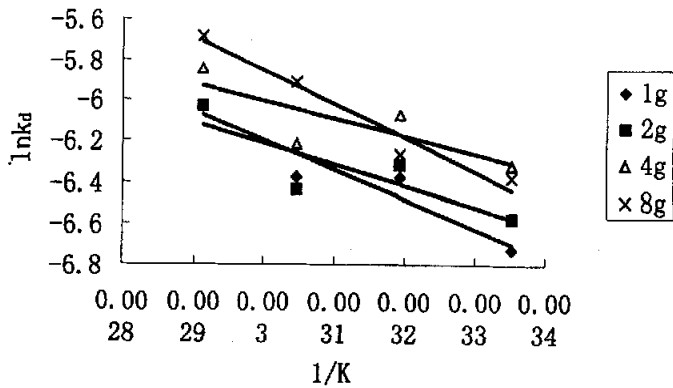


图 31. $L_n k_d$ vs. $1/K$ 图 (1, 2, 4 和 8g 树脂/L 果汁)

研究表明, 树脂吸附果汁中色素为吸热过程, 主要是物理吸附, 通过曲线逼近法计算分别得出了吸附和解吸速率值。不同树脂浓度 25℃ 吸附初始平衡时间平均为 9.73h, 而且随着温度提高初始平衡时间有所减少。在 2—4g/L 果汁的树脂浓度范围内, 吸附效果比较明显, 超过此范围则单位质量树脂吸附效果有所下降。在试验条件下较高温度的 K_{ad} 值较大, 但考虑到温度过高会影响果汁质量且增加能耗, 温度以 40—55℃ 为宜。上述条件可考虑在实际生产中应用。

5.12 微滤金属膜过滤对果汁褐变、后混浊的抑制

金属微滤膜与纸板过滤前后苹果浓缩汁的平均色值的比较如图 32a、b 所示。经金属膜过滤果汁的平均色值变化差异不大, 三次试验中平均色值仅降低了 0.43%; 经纸板过滤果汁的色值则差异很大, 三次试验中平均色值降低幅度达 10.11%。其中的主要原因就是温度的差异, 微滤的操作温度是 50—53℃, 而纸

板过滤的操作温度则在90℃左右，美拉德反应速度相当快，褐变程度就较大，虽经纸板过滤，但其色值的下降幅度仍比较大。在金属膜操作条件下，对果汁的色值影响很小，在试验中还发现经微滤后果汁的色值有时比微滤前的色值还要略高一点，这主要出现在色值较低的果汁中，可能是由于色素物质浓度较高，形成了较大分子，更易于被微滤膜除去，从而大幅度提高了果汁的色值。上述结果说明微滤对果汁有一定的脱色作用，可以滤除果汁中的色素，提高色值。

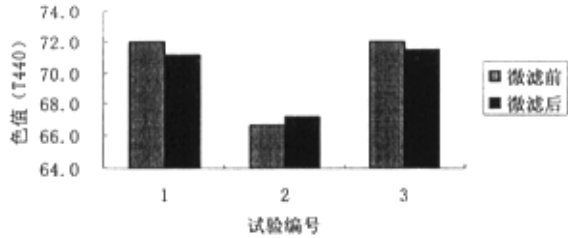


图 32a. 金属膜微滤前后果汁色值的变化图

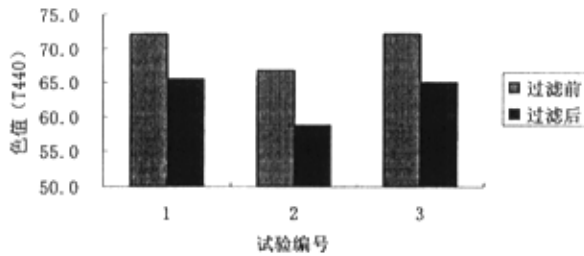


图 32b. 纸板过滤前后果汁色值的变化图

图 33a、b 是金属微滤膜与纸板过滤前后苹果浓缩汁平均浊度的比较图。二者对浊度的影响都很显著，处理前后果汁的浊度分别下降了 73.50%和 47.50%。由于金属微滤膜的孔径小于纸板，其对混浊体截留率就高，导致浊度下降幅度大于纸板过滤后果汁。

总之，无论是金属微滤膜或是纸板对果汁都有澄清作用，能大幅度降低果汁浊度。由于纸板过滤需要温度较高以降低果汁黏度，因此在处理过程中色值下降幅度稍大，而金属膜这方面的优势就比较明显。顺便要说明的是经金属膜过滤的果汁微生物指标合格，但其工艺条件还需进一步优化，以提高其通量。

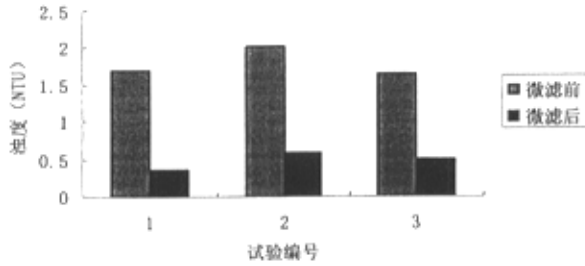


图 33a. 金属膜微滤前后果汁的浊度变化图

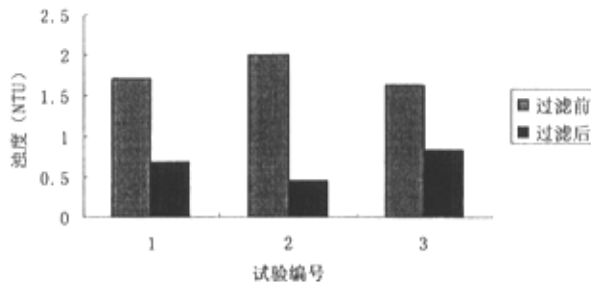


图 33b. 纸板过滤前后果汁的浊度变化图

5.13 苹果汁色值和浊度随榨季延续的变化规律

由图 34 可以观察到，在榨季初期果汁的色值很低，最初甚至低于国家标准要求的最低限值 45.0 仅为 43.8，这是由于未成熟苹果中美拉德反应底物之一 AAN 的含量远远高于成熟苹果(见图 35)，用其生产的果汁更易于发生美拉德反应所致。随着果实成熟度增加，AAN 含量逐渐下降，果汁色值呈增加态势。到每年的 10 月份左右，苹果成熟，果汁的色值达到最大值，以后基本稳定在 60.0~70.0 之间，期间略有波动。浊度的变化如图 36 所示，榨季之初浊度很高，接近 4.50，至 10 月份左右迅速降至 1.00~1.50 之间，直至第二年 1 月份，基本维持在这一范围。以后随着苹果贮存期的进一步延长，浊度下降到 0.50 以下，这可能是由于贮存时间过长，苹果糖化，混浊诱发因素含量下降所致。当然，此时苹果出汁率较低。综合图 34、35 和 36 可以看出，苹果成熟度与果汁的褐变、后混浊有密切的关系，选择成熟度合适的苹果能抑制，减缓褐变、后混浊的发生。苹果贮存时间与色值的关系不明显，但与浊度关系很密切，随贮存时间延长浊度有明显下降趋势。

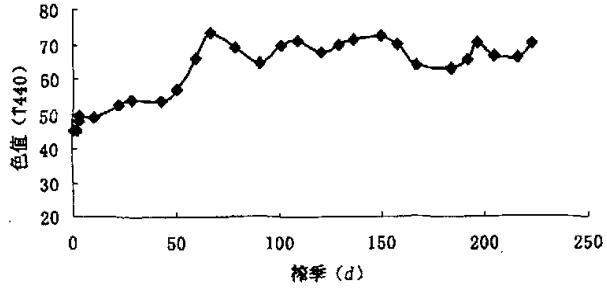


图 34. 榨季不同时期苹果浓缩汁色值的变化

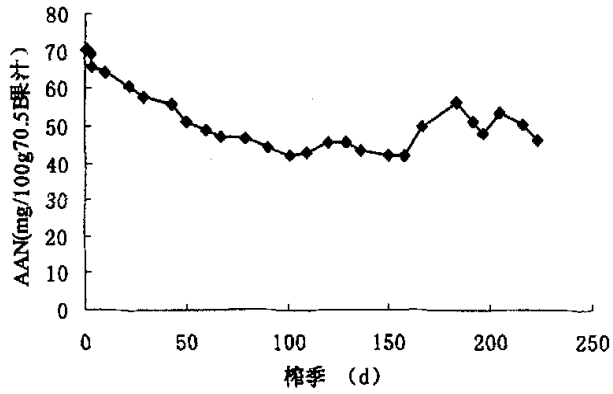


图 35. 榨季不同时期苹果 AAN 含量的变化

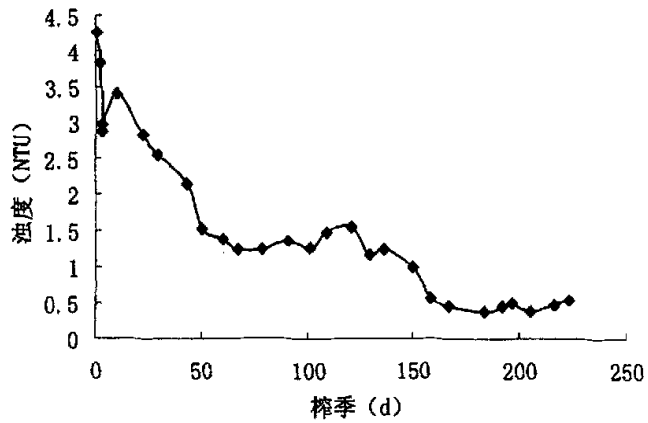


图 36. 榨季不同时期苹果浓缩汁浊度的变化

6. 讨论

(1) 试验结果表明, 前巴氏杀菌处理能够钝化PPO的活性, 所以在前巴氏杀菌后的加工单元操作中及贮存过程中引起果汁褐变的主要原因是非酶褐变。但在实际生产中, 在前巴氏杀菌前由PPO引起的酶促褐变对果汁的影响也不能忽视, 超滤和吸附只能除去部分黑色酶促褐变产物。因此, 如何控制生产前期的酶促褐变也是一个值得探讨的课题, 尤其是在混浊型苹果汁生产中。

(2) 苹果浓缩汁贮存过程中浊度变化结果显示, 温度对后混浊影响很大, 在较高温度下更易于形成后混浊, 而在较低温度下后混浊形成缓慢。贮存过程中浊度变化经历三个典型的阶段: 迟滞期、增长期和稳定期, 其中37℃样品的三个阶段明显, 而5、20℃的样品的阶段性并不明显, 在保存90天后仍有持续上升的势头。贮存更长的时间有助于观察低温贮存时浊度的变化规律, 但因试验条件所限, 未能做更长时间的观察。

(3) HMF 的含量与果汁的褐变程度(以色值、吸光值度量)有很密切的关系, 相关系数达到了 0.9 以上。这说明果汁在加工后期及贮存阶段的褐变主要由美拉德反应引起。试验中发现, HMF 含量与果汁的褐变速率成指数关系, 这说明在 HMF 含量处于低浓度时其变化对褐变的影响很大, 即 HMF 微量的增加, 就能产生很大程度的褐变。因此, 在生产中控制产品的初始 HMF 含量就显得非常重要。另外在贮存时发现, 较高温度 37℃贮存(如图 37a)的果汁中美拉德反应的中间产物与室温 20℃或低温 5℃贮存(如图 37b)果汁中美拉德反应的中间产物似乎略有不同, 后者的中间产物要复杂些, 但这还有待于进一步验证。

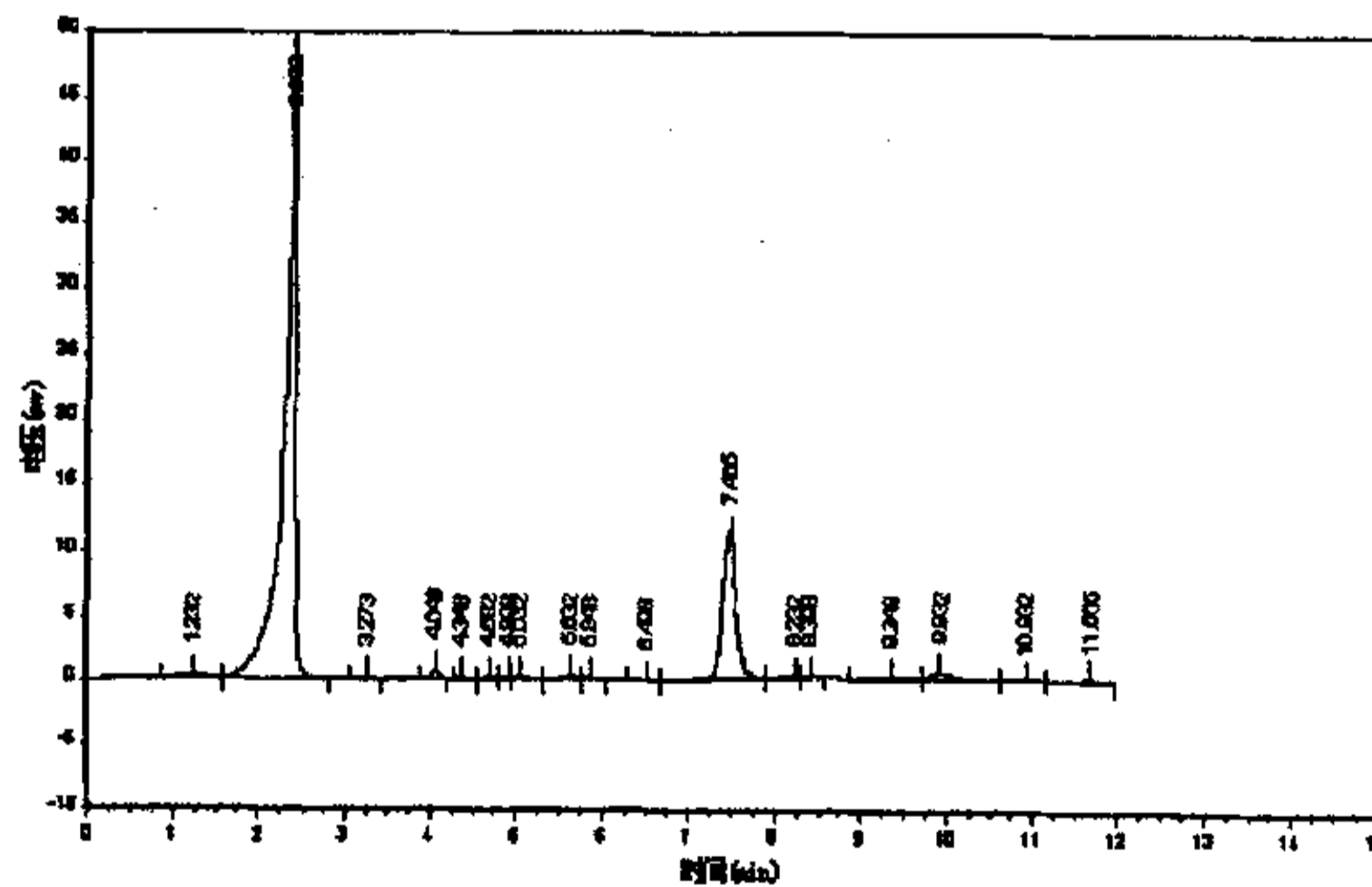


图 37a 37℃贮存时 HMF 谱图

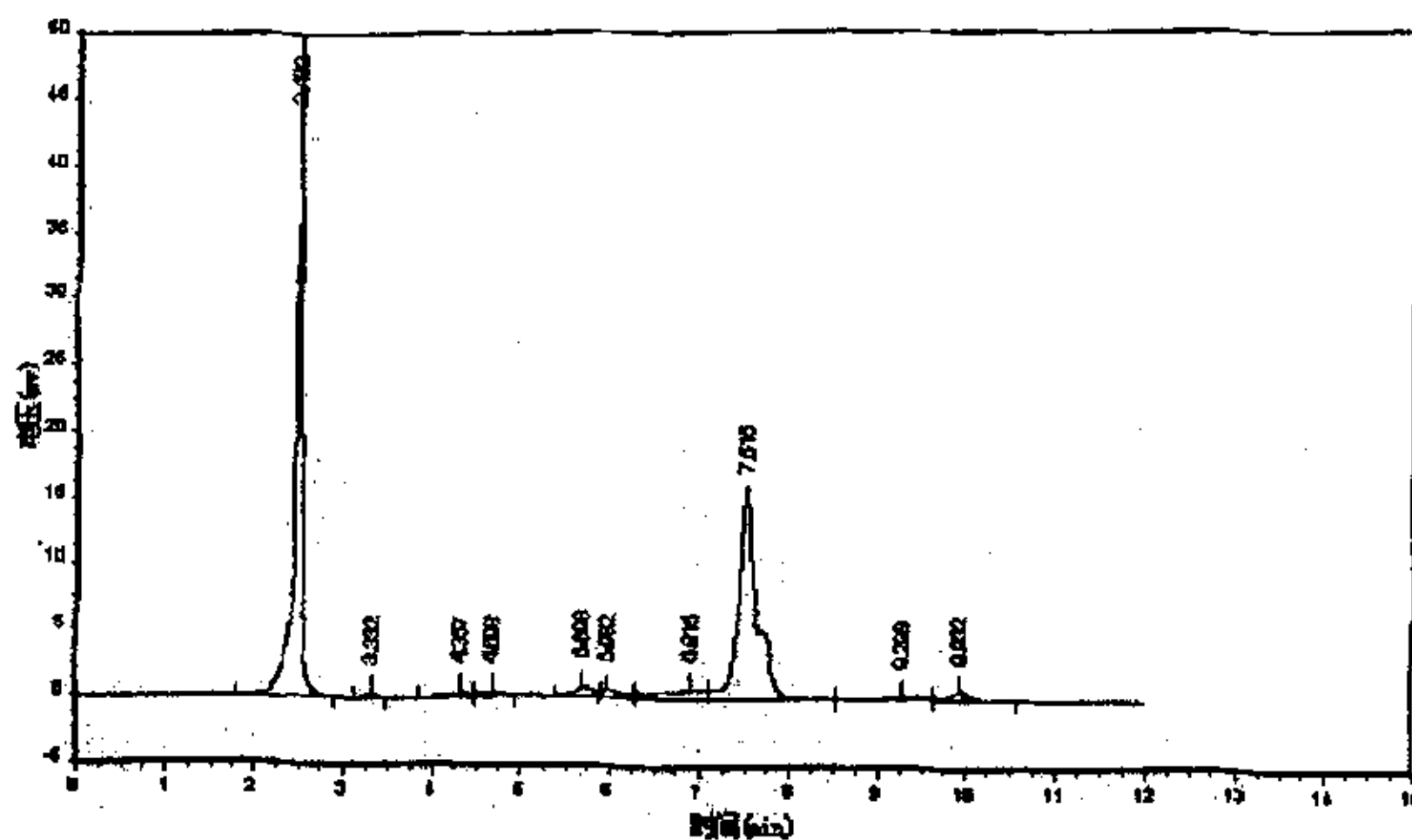


图 37b 20℃贮存时 HMF 谱图

(4) 超滤后的果汁浊度经吸附后有一明显下降，经浓缩以后却有一个非常明显的跃升，浊度值较之超滤后增加了 2.03 倍。目前尚不清楚浊度在浓缩过程当中为何有如此大的变化，还有待进一步深入细致研究。

(5) 正常苹果浓缩汁和后混浊苹果汁初始浊度有显著差异。产生后混浊果汁的初始浊度要高于正常果汁的初始浊度，由于影响果汁产生后混浊的不确定因素很多，根据目前所掌握的试验数据还不能完全确定果汁的初始浊度处于哪一具体范围之内才能够避免后混浊的发生。

(6) 浊度在榨季之初很高接近 4.50，至 10 月份左右降至 1.00~1.50 之间，直至第二年 1 月份，基本维持在这一范围。随着苹果贮存期的进一步延长，浊度下降到 0.50 以下，这可能是由于贮存时间过长苹果糖化，果实品质发生变化，混浊诱发因素减少所致。阐明其确切原因需要进一步试验及查阅相关文献资料。

7. 结论

(1) 苹果浓缩汁加工单元操作中前巴氏杀菌处理能够钝化 PPO 的活性，在前巴氏杀菌后的加工单元操作及贮存过程中引起果汁褐变的主要原因是美拉德反应。

(2) 苹果浓缩汁贮存过程中温度对后混浊影响很大，在较高温度下更易于形成后混浊，而在较低温度下后混浊形成缓慢。贮存过程中浊度变化经历三个典型的阶段：迟滞期、增长期和稳定期。以浊度 (NTU) 计算三个不同贮存温度条件下果汁形成后混浊的速率基本符合一级反应动力学。

(3) 不同贮存温度条件下果汁褐变变化速率符合一级动力学。温度对褐变的影响随着温度的提高褐变速率明显加快，5℃、20℃和 37℃贮存条件下果汁褐变度分别增加了 12.45%、46.86%和 415.28%。以色值和吸光值计算三个不同贮存温度条件下果汁褐变速率基本符合一级反应动力学。

(4) 苹果浓缩汁中的蛋白质、总酚及单宁的含量随贮存时间延长而下降，且在 37℃贮存时下降速率明显大于 5℃和 20℃时的下降速率。

(5) 5-羟甲基糠醛 (HMF) 含量与果汁的褐变速率成指数关系，方程相关系数达到了 0.90 以上。说明果汁在贮存时的褐变主要由美拉德反应引起且初期 HMF 微量的增加，就能产生很大程度的褐变，控温可以减缓果汁的褐变。苹果浓缩汁中的氨基态氮 (AAN) 含量随贮存时间增加而下降、随贮存温度升高下降速率加快。果汁中氨基态氮含量变化与果汁褐变速率呈线性相关，同样说明褐变是由主要由美拉德反应引起。

(6) 在加工过程前期低温条件及高温短时美拉德反应速率缓慢，对果汁褐变的影响不显著。后巴氏杀菌较长时间高温处理时美拉德反应速率很快，果汁尤其是接近美拉德反应的最适水分活度 0.6~0.7 的浓缩果汁更容易褐变。加工过程中氨基态氮 (AAN)、总酚 (PP) 和单宁 (Tan) 的变化趋势较为一致，但超滤工艺对 AAN 几乎没有影响，对 PP 和 TAN 却有明显的滤除作用，吸附、浓缩和后巴氏杀菌工艺尤其是吸附对三者均有明显的影响。加工过程中的酶解对可溶性蛋白质 (Pro) 影响非常显著。超滤和吸附对其影响也比较显著，而浓缩和后巴氏杀菌工艺对其影响较弱。

(7) 正常苹果浓缩汁和后混浊苹果汁初始浊度有显著差异。产生后混浊果汁的初始浊度要高于正常果汁的初始浊度，在生产中控制成品浓缩汁的浊度非常必要，可以降低果汁在贮存过程中后混浊的几率。

(8) LSA-800 树脂吸附果汁中色素为吸热过程，主要是物理吸附。不同树脂浓度 25℃吸附初始平衡时间平均为 9.73h，而且随着温度提高初始平衡时间有所

减少。在 2—4g/L 果汁的树脂浓度范围内，吸附效果比较明显，超过此范围则单位质量树脂吸附效果有所下降。在试验温度范围内较高温度的吸附平衡常数 (K_{ad}) 值较大。

(9) 金属膜过滤前后果汁的色值变化差异不大，三次试验中平均色值仅降低了 0.43%；经纸板过滤的果汁色值则差异很大，三次试验中平均色值降低幅度达 10.11%。金属微滤膜与纸板过滤对浊度的影响都很显著，处理前后果汁的浊度分别下降了 73.50%和 47.50%。

(10) 选择成熟度合适的苹果能控制，减缓褐变、后混浊的发生。苹果贮存时间与色值的关系不明显，但贮存时间延长浊度有下降趋势。

参考文献

- [1] 我国浓缩苹果汁行业进入成熟期. 中国食品报 2004. 2. 3
- [2] 束怀瑞. 苹果学[M] 1 北京, 中国农业出版社, 1999 年.
- [3] 2003 年我国浓缩苹果汁出口再创历史新高. 中国食品报 2004. 2. 25
- [4] 蔡静, 浓缩苹果汁中甲胺磷农药残留规律及去除方法研究, 西北农业大学 1999 届硕士学位毕业论文.
- [5] 丁辰, 苹果浓缩汁加工季节中棒曲霉素含量变化, 中国果菜, 2000, 4, 22.
- [6] Jensen, N., *Alicyclobacillus* - a new challenge for the food industry, Food Australia, 1999, 51(1,2), 33-36.
- [7] Borlinghaus, A.&Engle,R., *Alicyclobacillus* incidene in commercial apple jiuce concentrate(AJC) supplies — Method devolopment and validation, Fruit Processing, 1997, 7(7), 262-266.
- [8] Baumgart, J., Menje, S., the impact of *Alicyclobacillus acidoterrstris* on the quality of juices and soft drinks, Fruit Processing, 2000, 10 (7), 251-254.
- [9] 邓勇, 章融. 中国农业大学学报, 1999,4 : 103~107
- [10] GeraldM. Sapers, Browning of Food: Control by Sulfitcs, Antioxidants, and Other Means, Food Technology [J].1993, 47 (10): 75~84.
- [11] [美]王璋等译, O.R.菲尼马著, 食品化学[M].中国轻工业出版社, 1991.
- [12] 无锡轻工业学院, 食品酶学[M]. 中国轻工业出版社, 1996.
- [13] 村田容常.Recent Progress in Polyphenol Oxidase and Control of Enzymatic Browning[J].日本食品科学工学会志, 1998, (45)3, 177.
- [14] 贺正芳.食品的酶促褐变与控制, 广州食品工业科技[J].1986,4,16~20.
- [15] 章钰.食品的褐变及其防止, 食品科技[J].1995, 1, 10~11.
- [16] Sapers. G. M, Structure change Related to Texture of Pre-peeled Potatoes [J]. J. Food Sci, 1997, 62 (4): 798~803.
- [17] Gunes, G., Color of Minimally Processed Potatoas Affected by Modified atmosphere Packing and Antibrowning agents [J]. J. Food Sci, 1997,62 (3): 572~575.
- [18] MariTano. S.A. Biological Antioxidant rotection system for Food Preservation [J]. Italian Journal of Food Science, 1997, 9 (2):179~153.
- [19] Boynton B B, et al. Quality and stability of precut mangos and carambolas subjected to high-pressure processing [J]. J Food Sci., 2002, 67: 409-415.
- [20] Weemaes C, et al. High pressure inactivation of polyphenol oxidases [J]. J Food

- Sci., 1998, 63:878-881.
- [21] FDA. Sulfiting agents; revocation of GRAS status for use on fruits and vegetables intended to be served or sold raw to consumers [M]. Fed Regist., 1986. 51: 25021-25026.
- [22] AjajKI.Intro Enzymatic Oxidation of Apple Phenols, Journal of Food and Technology[J].India, 1997, 34(4):296~302.
- [23] Jiang Yue ming. Inhibition of Polyphenol Oxidase and Browning Control of Litchi Fruit by Glutathion and Citricacid [J]. Food Chemistry, 1997, 62 (1): 49~52.
- [24] Liu, L.techniques for Preventing Edible Burdock from Browning [J]. Food and Machinery, 1997, 1, 27~28.
- [25] MariTanoS.A Biological Antioxidant Protection System for Food Preservation, Italian Food & Beverage Technology [J].1997, 10, 21~23.
- [26] Dawley.RM.4-Hexylresorcinol, apotentinhibitor of Mushroom Tyrosinase [J]. Food Sci[J].1993, 58, 609~610.
- [27] 凌关庭.4-己基间苯二酚(4HR)—一种能抑制的新型抗氧化抗色剂, 食品工业 [J].1997, 3:19.
- [28] McEvily A J, et al. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages [J]. Criti Rev Food Sci Nutr 1992 32: 253-273.
- [29] Lozano-de-Gonzale P G., et al. Enzymatic browning inhibited in fresh and dried apple rings by pineapple juice [J]. J Food Sci., 1993,58: 399-404.
- [30] De Rigal D, et al. Inhibition of endive (*Cichorium endivia* L.) polyphenoloxidase by a *Carica papaya* latex preparation. [J]. Inter J Food Sci Technol., 2001,36: 677-684.
- [31] Oszmianski J, et al. Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey [J]. J Agric Food Chem., 1990,38: 1892-1895.
- [32] Chen L, et al. Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates.[J]. J Agric Food Chem., 2000, 48: 4997-5000.
- [33] Lin M Y, et al. Antioxidative ability of lactic acid bacteria [J]. J Agric Food Chem., 1999, 47: 1460-1466.
- [34] Labuza T P, et al. Inhibition of enzymatic polyphenol oxidase by proteolytic enzymes [J]. Fruit Proc., 1992, 2: 9-13.
- [35] Madani W, et al. Characterization of Tryrosinase and polyphenol; esterase-catelased end products using selected Phenolic substrates [J]. J Agric Food

Chem., 1999, 47: 2486-2491.

- [36] Brothaerts W, et al. Fast apple (*Malus domestica*) and tobacco (*Nicotiana tobacum*) leaf polyphenol oxidase activity assay for screening transgenic plants [J]. *J Agric Food Chem.*, 2000, 48: 5924-5928.
- [37] 程建军, 任运宏, 杨咏丽等, 果蔬酶褐变控制的研究进展. *东北农业大学学报*. 2000, 12. 31(4): 406~410
- [38] B.Kacem, J A Cornell, M R Marshall, R B Shireman, R F Matthews. Nonenzymatic browning in aseptically packaged orange drinks. effect of ascorbic acid ,amino acids and oxygen. *J of Food Sci*, 1987 (6) :1668 – 1672
- [39] H. S. Lee, S Nagy. Quality changes and nonenzymatic browning intermediates in grapefruit juice during storage. *J of Food Sci*, 1988 (1): 168 – 172
- [40] 刘邻渭, 季瑞溶, 马成林等, 食品化学, 陕西科学技术出版社, 1996, 43~48.
- [41] 尤新辉. 苹果汁加工与品质变化之探讨. *食品工业*, 1992, (5):18—29
- [42] 马霞, 王瑞明, 关凤梅等. 果汁非酶褐变的反应机制及其影响因素. *粮油加工与食品机械*. 2002, 9:46~48
- [43] Carrasco A. Human Visual Perception of Relationships with Instruments Measurements of Turbidity: Effects of Polyphenol Adsorbents and Fining agents in Grape Juice Wine, Ph. D thesis of Cornell University. 1997
- [44] Beveridge T et al., *Lebensm. - Procyandin contributions to haze formation in anaerobically produced apple juice. Wiss. U. - technol. , 1997, 30: 594~601*
- [45] Beveridge T. Haze and cloud in apple juices. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* ,1997 ,37(1) :75~91
- [46] Beveridge T et al. *Lebensm. Formation of chain-like structures in apple juice haze. -Wiss. U. -technol, 1998,31:74~77*
- [47] Siebert, K.J. and Lynn, P.Y. Apple cultivar and maturity affect haze-active protein and haze-active polyphenol concentrations in juice. *J. Food Sci.* 65 (8): 1386-1390, 2000.
- [48] 寇晓康. 吸附技术在果汁行业中的应用 . *饮料工业*, 1999 4:32~35.
- [49] 徐家毅, 郭贤权. 大孔树脂孔结构的测定[J]. *高分子通报*, 1999, (6): 52
- [50] 张晴, 陈勇. AB - 8大孔吸附树脂对紫苏色素的吸附性能的研究: pH = 3.0 时吸附等温线和吸附流出曲线的测定[J]. *食品与发酵工业*, 1998, 25 (3) : 16
- [51] 陈效兰, 周方钦. 大孔吸附树脂浓缩分离紫菜藻色素的研究[J]. *食品科学*, 2001, 22 (9): 27.

- [52] 徐忠, 张亚丽. DA101 大孔树脂对胡萝卜红色素的吸附特性研究[J]. 食品科学, 2002, 23 (1): 59~60.
- [53] 徐忠, 张亚丽. 大孔树脂对红豆皮色素的吸附性能研究[J]. 研究与探讨, 2002, 23 (7): 35~36.
- [54] 石碧, 狄莹. 植物多酚. 北京: 科学技术出版社, 2001, 19—21
- [55] 董晓燕. 生物化学试验. 北京: 化学工业出版社, 2003
- [56] Vural Gokmen, Jale Acar. Simultaneous determination of 5-hydroxy ethylfurfural and patulin in apple juice by reversed-phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 847 (1999) 69–74
- [57] 吴卫华. 苹果加工技术[M]. 北京: 轻工业出版社, 2001: 79
- [58] McMurrough, I., Kelly., & Byrne, J. (1992). Effect of the removal of sensitive proteins and proanthocyanidins on the colloidal stability of lager beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 50, 58-62.
- [59] Boye, J.I. (1999). Protein-polyphenol interactions in fruit juices. In S.G. Pandalai, *Recent research developments in agriculture & food chemistry*. (vol 3, part 1) (pp.85-107). India: Research Signpost.
- [60] Siebert, K.J. Protein-polyphenol haze in beverage. *Food Technology*, 53(1), 54-57.
- [61] Siebert, K. J. Effect of protein-polyphenol interactions on beverage haze Stabilization and analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 353-362.
- [62] Siebert, K.J. & Lynn, p.y. Mechanisms of adsorbent action in beverage stabilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4275-4280.
- [63] Toribio and Lozano (1984) Toribio, J. L., & Lozano, J. E. (1984). Nonenzymatic browning in apple juice concentrate during storage. *Journal of Food Science*, 49, 889–892
- [64] Cerrutti, Resnik, Seldes, and FonTan (1985) Cerrutti, P., Resnik, S. L., Seldes, A., & FonTan, C. F. (1985). Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity: glucose loss, 5-Hydroxymethylfurfural accumulation and fluorescence development due to nonenzymatic browning. *Journal of Food Science*, 50, 627–630.
- [65] Buedo, A. P., Elustondo, M. P., & Urbicain, M. J. (2001). Non-enzymatic browning of peach juice concentrate during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1, 255–260.
- [66] Stamp, J. A., & Labuza, T. P. (1983). Kinetics of the Maillard reaction between

- aspartame and glucose in solution at high temperatures. *Journal of Food Science*, 48, 543–547
- [67] Beveridge 1997 Beveridge, T., Harrison, J, E., & Weintraub, S, E.(1997). Procyanidin contribution to haze formation in anaerobically produced apple juice. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 30, 594-601.
- [68] Beveridge, T., & Tait, V. (1993). Structure and composition of apple juice haze. *Food Structure*, 12, 195-198
- [69] Calderon, P., Van Buren, J.p., & Robinson,w.B.(1968).factors influencing the formation of precipitates and hazes by gelatin and condensed Tannins.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,16(3).479-482.
- [70] Spanos, G.A., Wrolstad, R.E., & Heatherbell,D.A.(1990).Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice.*Journal of Agritural and Chemistry*, 38, 1572-1579.
- [71] Hande. Selen. Burdurlu, Feryal Karadeniz. (2003) Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. *Food Chemistry* 80, 91–97.
- [72] Lee, H. S., & Nagy, S. (1988). Quality changes and nonenzymic browning intermediates in grape fruit juice during storage. *Journal of Food Science*, 53 (1), 168–172.
- [73] Yaylayan, V. (1990). In search of alternative mechanisms for the Maillard reaction. *Trends in Food Science and Technology*, 1(7), 20–22.
- [74] Resnik, Š., & Chirife, J. (1979). Effect of moisture content and temperature on some aspects of nonenzymatic browning in dehydrated apple. *Journal of Food Science*, 44 (2), 601–605.
- [75] Eskin, N. A. M. (1990). Biochemistry of food processing: Browning reactions in foods. In *Biochemistry of foods*, (2nd ed. pp. 240–295). London: Academic Press.
- [76] Vural Gokmen, Arda Serpen. Equilibrium and kinetic studies on the adsorption of dark colored compounds from apple juice using adsorbent resin. *Journal of Food Engineering* 53 (2002) 221–227
- [77] Kuan, W. H., Lo, S. L., Chang,C. M.,& Wang, M. K. (2000). A geometric approach to determine adsorption and desorption kinetic constants. *Chemosphere*, 41, 1741–1747.
- [78] Carabasa, M., Ibarz, A., Garza, S., & Barbosa-C_ anovas, G. V. (1998). Removal of dark compounds from clarified fruit juices by adsorption processes. *Journal of Food Engineering*, 37, 25–41.

- [79] Fischer, K. P., & Hofsommer, H. J. (1992). Application of the adsorption technique in the fruit juice industry. *Confructa Studien*, 36(3–4), 101–107.
- [80] McCabe, W. L., Smith, J. C., & Harriott, P. (1993). *Unit operations of chemical engineering* (5th ed., pp. 810–837). Singapore: McGraw-Hill
- [81] Ajmal, M., Rao, R. A. K., Ahmad, R., & Ahmad, J. (2000). Adsorption studies on *Citrus reticula* fruit peel of orange: removal and recovery of Ni (II) from electroplating waste water. *Journal of Hazardous Materials*, B79, 117–131s.

致 谢

由衷地感谢我的导师仇农学教授。三年来，先生言传身教，教诲至深。其严谨的治学态度、孜孜不倦追求科学真理的精神、敏锐的科研洞察力、渊博的学识，乃我终身追求之境界。先生在学业上精心指导、严格要求，生活上关爱有加，我每一点每一滴的进步和成长，都浸透着先生的心血，谨向恩师致以深深的敬意和谢意！同时，衷心感谢师母张清浦老师在学习和生活中给予的关心和鼓励。

由衷地感谢本系陈锦屏教授、田呈瑞教授、李建科教授、段玉峰教授、张有林副教授、张宝善副教授、张富新副教授、肖旭霖副教授等三年来在学业上的精心指导和热情帮助。感谢李庆云、张晓琦、张清安、常玉华、刘晓静、张静、于月英等老师在学习和工作中给予的热情帮助。试验中张峰、陈颖、李佩艳、耿建暖、王宏等同学也提供了诸多帮助，在此一并表示感谢！

论文实施过程中，陕西恒兴果汁饮料有限公司总经理汶有仓、陕西恒兴果汁饮料有限公司眉县分公司总经理杜宏强、质检部经理王平、化验室主任时云娜等给予了大力协助，特致谢意。衷心感谢我的爱人武琳及家人的支持和帮助。

郭善广

2004年4月

攻读学位期间研究成果

1. 参与导师科研项目

(1) 国家高技术研究发展计划 (863 计划)

浓缩果汁质量控制技术研究 (2002AA245091)

(2) 国家“十五”重大专项

“优质鲜榨果汁和混浊果汁加工关键技术研究” (2001BA501A)

2. 研究成果

膜分离技术及其在果汁加工中的应用. 河南职业技术师范学院学报, 2003(2)