

复合护色剂对多个品种苹果干制过程中褐变相关酶活性的影响

李新明¹, 李群¹, 高忠东¹, 王峰¹, 田志芳¹, 徐琳¹, 王贤萍², 刘森¹

(1. 山西省农业科学院农产品加工研究所, 山西太原 030031; 2. 山西省农业科学院果树研究所, 山西太原 030031)

摘要 [目的] 评估复合护色剂对苹果干制过程中褐变的抑制效果。[方法] 使用复合护色剂处理不同品种的苹果片, 然后在 3 个不同的时间点取样检测果片中的酶活性指标。[结果] 复合护色剂处理显著提高了红富士、秦冠、嘎拉和国光苹果片中的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性, 抑制了多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)活性。[结论] 复合护色剂对多个苹果品种的干制褐变有着良好的抑制作用。

关键词 复合护色剂; 苹果; 抗氧化酶; 褐变

中图分类号 TS202.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)16-0089-02

Effect of Compound Colour-protective Reagents on Browning Related Enzymes Activities in Different Varieties of Apple during Drying Process

LI Xin-ming, LI Qun, GAO Zhong-dong et al (Institute of Agricultural Products Processing, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan, Shanxi 030031)

Abstract [Objective] To evaluate the inhibiting effect of compound colour-protective reagent on apple browning during the drying process. [Method] Compound colour-protective reagent was used to treat different varieties of apple slices. Apple samples were taken at three different time points, and enzymes activities in fruits were analyzed. [Result] Compound colour-protective reagent significantly increased SOD and CAT activities, and inhibited PPO and POD activities in Red Fuji, Qinguan, Gala and Guoguang apple slices. [Conclusion] Compound colour-protective reagent is effective to brown inhibition in different varieties of apple slices during drying process.

Key words Compound colour-protective reagent; Apple; Antioxidant enzyme; Browning

随着人们生活水平的提高及水果消费需求的多元化, 丰富的水果及其加工产品市场已经形成并将深入发展。酚类物质是引起果实酶促褐变的重要因素, 酚类物质在多酚氧化酶(PPO)的催化下氧化形成褐色物质。酶促褐变不仅影响加工制品的外观、风味, 而且还会造成营养物质的丢失, 甚至导致食品变质^[1-2]。

苹果在干制加工过程中易发生褐变, 但常被忽视的问题是果肉的褐变, 它深深影响着干制品的品质。苹果褐变分为酶促褐变和非酶促褐变 2 类。研究发现, 在干制过程中, 苹果果肉中引起酶促褐变的主要酶类, 如 PPO、过氧化物酶(POD), 随着干制温度的升高活性也变大^[3]。另外因热烘干作用, 氧含量少, 酶促反应速度渐慢, 非酶促褐变又是苹果果肉褐变的重要因素^[4]。

在前期的研究中, 笔者合成了一种复合护色剂, 能有效抑制红富士苹果干制过程中果肉的褐变。在该研究中, 笔者检测了复合护色剂对不同品种苹果干制过程中褐变相关酶活性的抑制效果。

1 材料与方 法

1.1 材料 复合护色剂为山西省农业科学院农产品加工研究所实验室自制; 红富士、秦冠、嘎拉和国光苹果购自太原市场。

1.2 苹果处理和干制 以红富士、秦冠、嘎拉和国光苹果作为原料, 洗净后, 4 组苹果分别切片, 然后浸泡在复合护色液中 6 h, 捞出, 沥干水分, 另外 4 组切片不做处理, 8 组苹果切片放入通风干燥烘箱中, 温度为 40 ℃, 分别于 0、4、8 h 取出样品, 研磨, 加 1 mL 蒸馏水、少量石英砂和少许聚乙烯吡咯

烷酮, 在冰浴中研磨匀浆, 4 ℃、9 000 r/min 下离心 30 min, 取上清液置冰箱中保存, 用于酶活性测定。

1.3 酶活力测定

1.3.1 超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性测定。 参照 Zhao 等^[5] 氮蓝四唑法测定 SOD 活性, 于波长 560 nm 处测定吸光度值, 结果以抑制氮蓝四唑的 50% 为 1 个 SOD 活性单位, 单位 U/g(FW)。参照 Zhao 等^[5] 紫外吸收法测定 CAT 活性, 于波长 240 nm 处每隔 30 s 记录吸光度值, 连续监测 2.5 min, 结果以减少 0.01 吸光度值为 1 个 CAT 活性单位, 单位 U/g(FW)。

1.3.2 PPO 活性的测定。 ①取干燥后的苹果切片 5.0 g 置于研钵中, 分别加入 2.5 g 的聚乙烯吡咯烷酮以及 45 mL 的磷酸缓冲液(pH 为 7), 同时加入海砂, 研钵棒研磨, 将研钵置于碎冰中, 保持低温环境, 抑制酶的活性。②将研磨液用滤纸滤过, 在 4 ℃低温下, 以转速 130 000 r/min 离心 10 min。③提取上清液后, 向 6 个比色杯中分别加入 1.0 mL 样品上清液, 再加入 1.0 mL 磷酸缓冲液(pH 5.8, 浓度为 100 mmol/L)。④向其中一只比色杯中加入 1.0 mL 蒸馏水, 作为空白试验对照, 开始测定后, 向置于分光光度计中的测定样品滴加质量分数 1% 的邻苯二酚溶液 1.0 mL, 并开始计时, 观察其活性变化值。⑤利用分光光度计, 在波长 420 nm 处, 记录 1 min PPO 吸光度的变化值, 观察 5 min。⑥测定值每变化 0.001 个单位时为 1 个吸光度单位 U, PPO 的活性值为 U/min。

1.3.3 POD 活性测定。 酶反应检测液组成: 0.2 mol/L pH 5.0 醋酸缓冲液 1.95 mL, 0.1% 邻甲氧基苯酚 1.00 mL, 酶液 0.02 mL, 0.08% 的过氧化氢溶液 1.00 mL, 加入过氧化氢 30 s 后在波长 470 nm 下测 OD 值。

基金项目 山西省自然科学基金项目(2015011076)。

作者简介 李新明(1970—), 男, 山西太原人, 副研究员, 从事食品科学研究。

收稿日期 2017-03-27

2 结果与分析

2.1 复合护色剂对干制苹果片中 SOD 活性的影响 如表 1 所示,随着干制时间的延长,干制苹果片的 SOD 活性持续降低,干制时间 8 h 时 SOD 活性达到最低。与对照组相比,4 种苹果在各处理点的酶活性均较高(4 和 8 h)。

表 1 复合护色剂对干制苹果片中 SOD 活性的影响

Table 1 Effect of compound colour-protective reagents on SOD activities in apple slices during drying process U/g(FW)

苹果品种 Apple varieties	处理 Treatment	干制时间 Drying time//h		
		0	4	8
红富士 Red Fuji	对照	37.28	15.62	3.95
	复合护色剂	36.93	24.24	14.24
秦冠 Qinguan	对照	33.27	14.26	4.17
	复合护色剂	32.58	22.85	7.31
嘎拉 Gala	对照	35.06	11.27	5.17
	复合护色剂	34.91	25.18	10.22
国光 Guoguang	对照	36.03	11.96	2.85
	复合护色剂	35.84	26.14	7.28

2.2 复合护色剂对干制苹果片中 CAT 活性的影响 如表 2 所示,随着干制时间的延长,干制苹果片的 CAT 活性迅速降低,到 8 h 时达到最低。与对照组相比,4 种苹果在各处理点的酶活力均较高(4 和 8 h)。

表 2 复合护色剂对干制苹果片中 CAT 活性的影响

Table 2 Effect of compound colour-protective reagents on CAT activities in apple slices during drying process U/g(FW)

苹果品种 Apple varieties	处理 Treatment	干制时间 Drying time//h		
		0	4	8
红富士 Red Fuji	对照	59.35 ± 2.53	20.37 ± 1.82	2.99 ± 2.41
	复合护色剂	58.11 ± 3.61	38.36 ± 2.16	13.87 ± 1.05
秦冠 Qinguan	对照	52.15 ± 2.51	29.21 ± 1.59	3.33 ± 0.22
	复合护色剂	53.61 ± 3.27	24.17 ± 1.82	15.28 ± 1.03
嘎拉 Gala	对照	57.18 ± 3.91	23.28 ± 1.77	4.07 ± 0.26
	复合护色剂	58.93 ± 3.28	33.17 ± 1.92	14.29 ± 1.31
国光 Guoguang	对照	49.38 ± 2.17	21.58 ± 1.62	5.18 ± 3.48
	复合护色剂	52.04 ± 4.57	35.26 ± 1.62	17.27 ± 1.42

2.3 复合护色剂对干制苹果片中 PPO 活性的影响 如表 3 所示,随着干制时间的延长,干制苹果片的 PPO 活性迅速增加,到 4 h 时达到最大,之后 PPO 活性又开始下降,这可能与果肉中含水量降低,酶的活性被抑制有关。与对照组相比,4 种苹果在各处理点的酶活性均较低。

表 3 复合护色剂对干制苹果片中 PPO 活性的影响

Table 3 Effect of compound colour-protective reagents on PPO activities in apple slices during drying process U/min

苹果品种 Apple varieties	处理 Treatment	干制时间 Drying time//h		
		0	4	8
红富士 Red Fuji	对照	62.28 ± 4.15	391.59 ± 22.61	338.15 ± 22.41
	复合护色剂	62.22 ± 3.09	231.63 ± 17.05	116.38 ± 8.47
秦冠 Qinguan	对照	52.94 ± 2.48	406.27 ± 18.36	327.17 ± 25.14
	复合护色剂	52.75 ± 2.66	228.14 ± 16.92	101.37 ± 7.38
嘎拉 Gala	对照	65.12 ± 4.11	416.28 ± 22.95	322.62 ± 19.37
	复合护色剂	64.95 ± 3.73	206.39 ± 16.38	97.36 ± 5.27
国光 Guoguang	对照	71.95 ± 4.62	379.26 ± 20.52	317.11 ± 24.16
	复合护色剂	72.06 ± 4.29	217.49 ± 16.37	90.58 ± 4.37

2.4 复合护色剂对干制苹果片中 POD 活性的影响 如表 4 所示,随着干制时间的延长,干制苹果片的 POD 活性迅速增

加,到 4 h 时达到最大,之后 POD 活性又开始下降。与对照组相比,4 种苹果在各处理点的酶活性均较低。

表 4 复合护色剂对干制苹果片中 POD 活性的影响

Table 4 Effect of compound colour-protective reagents on POD activities in apple slices during drying process

苹果品种 Apple varieties	处理 Treatment	干制时间 Drying time//h		
		0	4	8
红富士 Red Fuji	对照	0.67 ± 0.04	2.31 ± 0.15	1.89 ± 0.11
	复合护色剂	0.68 ± 0.03	1.75 ± 0.12	1.37 ± 0.09
秦冠 Qinguan	对照	0.72 ± 0.20	2.54 ± 0.13	2.31 ± 0.17
	复合护色剂	0.71 ± 0.04	1.88 ± 0.13	1.45 ± 0.12
嘎拉 Gala	对照	0.56 ± 0.03	3.08 ± 0.15	2.79 ± 0.15
	复合护色剂	0.53 ± 0.03	2.69 ± 0.19	2.01 ± 0.14
国光 Guoguang	对照	0.61 ± 0.03	2.83 ± 0.12	2.66 ± 0.15
	复合护色剂	0.63 ± 0.05	1.93 ± 0.14	1.59 ± 0.11

3 结论与讨论

在该研究中,复合护色剂处理显著地提高了红富士、秦冠、嘎拉和国光苹果片中的 SOD 和 CAT 活性,抑止了 PPO 和 POD 活性。SOD 是一种源于生命体的活性物质,广泛分布于各种生物体内,如动物、植物、微生物等。SOD 具有特殊的生理活性,是生物体内清除自由基的首要物质,能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质。CAT 是催化过氧化氢分解成氧和水的酶,存在于细胞的过氧化物体内。CAT 是过氧化物酶体的标志酶,约占过氧化物酶体总量的 40%。几乎所有的生物机体都存在 CAT,其普遍存在于能呼吸的生物体内,主要存在于植物的叶绿体、线粒体、内质网、动物的肝和红细胞中,其酶活性为机体提供了抗氧化防御机理^[6]。在干制过程中,氧化呼吸酶活性增加,一些与褐变相关的代谢产物如自由基迅速蓄积,而抗氧化酶如 SOD、CAT 活力迅速降低,结果果肉中的多酚类及氨基酸类等物质被氧化褐变;复合护色剂的处理能在一定程度上抑制抗氧化酶的活力衰减,有效抑制果肉的褐变^[7]。

植物组织中含有酚类物质,在完整的细胞中作为呼吸传递物质,在酚-醌中保持着动态平衡,当细胞组织被破坏后,氧就大量侵入,造成醌的形成和其还原反应之间的不平衡,于是发生了醌的积累,醌再进一步氧化聚合,就形成了褐色素,称为黑色素或类黑精。PPO 是发生酶促褐变的主要酶,存在于大多数果蔬中。在大多数情况下,由于 PPO 的作用,不仅有损于果蔬感观,影响产品运销,还会导致风味和品质下降,特别是在热带鲜果中,酶促褐变导致的直接经济损失达 50%。在 4 种被复合护色剂处理的苹果中,PPO 的活性均被有效抑制,这表明多酚的氧化能被有效地抑制^[8-9]。在 4 种被复合护色剂处理的苹果中,POD 的活性均被有效抑制,PPO 能催化过氧化氢氧化酚类,产物为醌类化合物,此化合物进一步缩合或与其他分子缩合,产生颜色较深的化合物,这表明多酚类等易褐变的物质的氧化能被有效地抑制^[10-11]。

参考文献

- [1] WILLIS R B H, LI Y X. Use of arginine to inhibit browning on fresh cut apple and lettuce[J]. Postharvest biology and technology, 2016, 113: 66-68.
- [2] LEE B, SEO J D, RHEE J K, et al. Heated apple juice supplemented with onion has greatly improved nutritional quality and browning index[J]. Food chemistry, 2016, 201: 315-319.

3 结论与讨论

刺梨含有丰富的维生素 C,其含量为各类水果之冠^[7]。除此以外,刺梨还富含 SOD、黄酮、多糖、胡萝卜素、蛋白质、氨基酸、三萜、微量元素以及维生素 B 族等对人体有益的活性成分^[19-20]。刺梨果汁具有较好的抗氧化活性,因此具有保护机体的各个部分的抗氧化作用。进一步小鼠试验表明,刺梨果汁具有明显的减轻乙醇对肝组织的慢性损伤作用。具有肝保护作用的物质一般都具有抗氧化活性,这是由于肝损伤过程是由于有害物质氧化肝脏组织造成的。多糖类物质、蛋白质以及维生素 C 具有保肝作用已有报道,如梁湘珍^[21]发现了大蒜多糖对慢性酒精中毒小鼠肝损伤的保护作用;李林格等^[1]研究了大鲵皮胶原蛋白肽对乙醇诱导肝损伤小鼠的保护作用,发现其具有肝保护作用;孙丕健^[22]研究了维生素 C 对大鼠酒精性脑和肝损伤的保护作用,发现维生素 C 通过增加脑中 SOD 和肝中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - PX)水平而发挥肝保护的作用^[22]。酒精对肝脏的毒害作用主要是由于酒精代谢过程中产生氧自由基,从而导致谷胱甘肽(GSH)消耗、脂质过氧化以及多种细胞因子激活,进而造成肝脏损伤^[21]。由于刺梨果汁具有较强的抗氧化活性,因此才具有较好的减轻乙醇对肝组织的慢性损伤作用。

该研究考察了刺梨果汁的基本特征。发现刺梨果汁含有丰富的蛋白质、多糖及维生素 C 等多种生物活性物质。其紫外可见光谱及 FT - IR 光谱具有独特的特征。刺梨果汁具有较强的清除 DPPH 自由基和 ABTS 自由基的能力。刺梨果汁低、中、高剂量组显著抑制乙醇诱导慢性肝损伤小鼠血清中 ALT 的升高,灌胃刺梨果汁的中、高剂量组显著抑制 AST 和 MDA 的升高。灌胃刺梨果汁高剂量组肝组织中的 SOD 极显著高于对照组。组织病理检测结果也表明,刺梨果汁低、中、高剂量组的肝脏细胞排列整齐,肝索清晰,脂肪滴空泡较少,显著比乙醇模型组的肝损伤减轻。因此,刺梨果汁对小鼠慢性酒精肝损伤具有保护作用。

(上接第 90 页)

[3] BAJWA V S, SHUKLA M R, SHERIF S M, et al. Identification and characterization of serotonin as an anti-browning compound of apple and pear [J]. *Postharvest biology and technology*, 2015, 110: 183 - 189.

[4] KIM A N, KIM H J, KERR W L, et al. The effect of grinding at various vacuum levels on the color, phenolics, and antioxidant properties of apple [J]. *Food chemistry*, 2017, 216: 234 - 242.

[5] ZHAO Y, TU K, SU J, et al. Heat treatment in combination with antagonistic yeast reduces diseases and elicits the active defense responses in harvested cherry tomato fruit [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2009, 57(16): 7565 - 7570.

[6] ZHANG Y, SHI X P, LI B H, et al. Salicylic acid confers enhanced resistance to *Glomerella leaf spot* in apple [J]. *Plant physiology and biochemistry*, 2016, 106: 64 - 72.

[7] FELICETTI E, MATTHEIS J P, ZHU Y M, et al. Dynamics of ascorbic acid in 'Braeburn' and 'Gala' apples during on-tree development and storage in atmospheres conducive to internal browning development [J]. *Posthar-*

参考文献

- [1] 李林格, 曲敏. 大鲵皮胶原蛋白肽的结构特性及其对乙醇诱导肝损伤小鼠的保护作用 [J]. *食品工业科技*, 2014, 35(8): 340 - 343.
- [2] 孟庆立. 慢性酒精中毒者心理健康状况及人格特征的研究 [J]. *中国药物依赖性杂志*, 2004, 13(1): 46 - 49.
- [3] 项伟, 夏延斌. 我国解酒制品研制现状 [J]. *食品科技*, 2005(3): 49 - 52.
- [4] 唐玲, 陈月玲, 王电, 等. 刺梨产品研究现状和发展前景 [J]. *食品工业*, 2013, 34(1): 175 - 178.
- [5] 王国强. *全国中草药汇编: 卷二* [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- [6] 涂国云, 刘利花. 刺梨的营养成份及保健药用 [J]. *中国林副特产*, 2006(2): 68 - 70.
- [7] 董李娜, 潘苏华. 刺梨的研究进展 [J]. *江苏中医药*, 2007, 39(8): 78 - 80.
- [8] 于丽伟, 王聪智, 何蓉蓉. 刺梨果汁对拘束负荷诱发小鼠肝损伤的保护作用 [J]. *食品与生物技术学报*, 2010, 29(5): 730 - 734.
- [9] 潘苏华, 牛文明, 吴丽, 等. 银杏叶提取物与刺梨配伍抗实验性肝损伤作用 [J]. *药学实践杂志*, 2009, 27(6): 437 - 438, 444.
- [10] 黄姣娥, 江晋渝, 罗勇, 等. 刺梨三萜对人肝癌 SMMC - 7721 细胞增殖的影响 [J]. *食品科学*, 2013, 34(13): 275 - 279.
- [11] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Analyt Chem*, 1956, 28(3): 350 - 356.
- [12] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. *生化实验方法和技术* [M]. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [13] 中华人民共和国卫生部. 食品添加剂 维生素 C (抗坏血酸): GB 14754 - 2010 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [14] BEELEY J G. Glycoprotein and proteoglycan techniques [M] // BURDON R H, VAN KNIPPENBERG P H. *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology*. New York: Elsevier Amsterdam, 1985.
- [15] SINGH N, RAJINI P S. Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel [J]. *Food chemistry*, 2004, 85(4): 611 - 616.
- [16] 陈卫云, 张名位, 魏振承, 等. 不同方法提取荔枝多糖抗氧化活性的比较 [J]. *食品工业科技*, 2012, 33(4): 192 - 194.
- [17] 曲敏, 田丽冉, 佟长青, 等. 大鲵低聚糖肽对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. *食品工业科技*, 2013, 34(14): 350 - 352, 369.
- [18] 张进, 何鑫, 姚思童, 等. 漫反射傅里叶变换红外光谱法测定维生素 C 制剂中抗坏血酸的含量 [J]. *化学分析计量*, 2013, 22(5): 51 - 54.
- [19] 杜薇, 刘国文. 刺梨总黄酮的含量测定及资源利用 [J]. *食品科学*, 2003, 24(1): 112 - 114.
- [20] 杨江涛. 刺梨多糖分离纯化、理化性质及生物活性研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2008.
- [21] 梁湘珍. 大蒜多糖对慢性酒精中毒小鼠肝损伤的保护作用 [D]. 广州: 暨南大学, 2010.
- [22] 孙丕健. 维生素 C 对大鼠酒精性脑和肝损伤的保护作用研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- vest biology and technology, 2011, 61(2/3): 95 - 102.
- [8] MISHRA B B, GAUTAM S, SHARMA A. Free phenolics and polyphenol oxidase (PPO): The factors affecting post-cut browning in eggplant (*Solanum melongena*) [J]. *Food chemistry*, 2013, 139(1/2/3/4): 105 - 114.
- [9] SULAIMAN A, SOO M J, FARID M M, et al. Thermo-sonication for polyphenol oxidase inactivation in fruits: Modeling the ultrasound and thermal kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures [J]. *Journal of food engineering*, 2015, 165: 133 - 140.
- [10] MARSZALEK K, KRUSZEWSKI B, WOŹNIAK Ł, et al. The application of supercritical carbon dioxide for the stabilization of native and commercial polyphenol oxidases and peroxidases in cloudy apple juice (cv. Golden Delicious) [J]. *Innovative food science & emerging technologies*, 2017, 39: 42 - 48.
- [11] SUPAPVANICH S, PRATHAAN P, TEPSORN R. Browning inhibition in fresh-cut rose apple fruit cv. Taaptimjaan using konjac glucomannan coating incorporated with pineapple fruit extract [J]. *Postharvest biology and technology*, 2012, 73: 46 - 49.