

涩柿贮藏过程中 PPO 及褐变控制

占习娟, 陈义伦, 刘宾, 张蕾
(山东农业大学食品学院, 山东 泰安 271018)

摘要: 实验以新鲜的柿子为主要原料, 采用测定吸光值的变化, 研究了柿果中多酚氧化酶(PPO)活性的最适条件和抑制剂、烫漂温度和时间对柿果中多酚氧化酶(PPO)活性及褐变的影响。结果表明: 柿子中的多酚氧化酶的最适温度是 19℃, 最适 pH 为 6.5, 最适底物浓度为 12mmol/L。用 0.1% 亚硫酸钠+0.3% 植酸和 100℃+120s 处理能有效的抑制柿果中 PPO 的活性, 褐变速度明显减慢。

关键词: 柿子; 多酚氧化酶; 褐变

Study on Properties of Persimmon Polyphenol Oxidase and Browning Control

ZHAN Xi-juan, CHEN Yi-lun, LIU Bin, ZHANG Lei
(College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: This paper mainly studied the activity of polyphenol oxidase extracted from persimmon and the inhibition of browning degree. It can be the scientific foundation of inhibiting the browning chain promoted by the enzyme. The results showed that the optimum conditions were: temperature 20℃, pH6.6, the substance consistence 12mmol/L. The inhibitors are 0.1% sodium sulfite and 0.3% phytic aci, which can control the activity of polyphenol oxidase and the persimmon browning. Hold the persimmon in water of 100℃ for 30s or put it into boiled water for 120s, to make the polyphenol oxidase lose activity so as to control the browning effectively.

Key words: persimmon; polyphenol oxidase; browning

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0341-04

柿属柿树科(*Ebenaceae*)柿属(*Diospyros. kaki*.L)植物, 柿树分布以黄河流域的山东、山西、河南、河北和陕西等 5 省较多, 栽培面积占全国的 80%~90%^[1]。柿子中含有丰富的营养物质, 其主要成分为糖、蛋白质、维生素、单宁、有机酸和芳香物质等。柿果及其加工品, 具有保健作用。《本草纲目》记载, 柿乃脾肺血分之果也, 其味甘而气平, 性涩而收, 有健脾、涩肠、止咳、止血等功能^[2]。柿果可加工成系列产品, 如: 制柿饼、制柿子脯饅、制柿醋、制黄酒、制白酒、制柿子罐头、制粉、独特酒柿子、柿子面、柿干、柿酱等。

柿子有很好的营养和保健价值, 但在柿子在贮藏脱涩和深加工过程中, 柿子会经常发生褐变, 不仅影响产品的感观和质地, 而且影响了柿果制品加工行业的发展。很多研究表明果蔬中的褐变主要是由酚类物质引起的。但是关于柿子的 PPO 活性和褐变研究及控制的报道很少, 本文主要是对柿子的 PPO 活性和褐变进行研究, 从而为柿子的贮藏加工过程中的褐变提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 原料

牛心柿 淄博柿种植区。

1.1.2 试剂

磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、石英砂、邻苯二酚、三氯乙酸、亚硫酸钠、柠檬酸、V C、植酸氯化钠、丙酮、醋酸、醋酸钠、甘氨酸、氢氧化钠、盐酸、L-Cys, 以上均为分析纯。

1.1.3 设备

TGL-16G 冷冻离心机 上海精密仪器仪表有限公司; H-S 恒温水浴锅 江苏省金坛市正基仪器有限公司; V-2000 紫外分光光度计 尤尼柯上海仪器有限公司; 夏普冰箱 夏普商贸(中国)有限公司; HL-270 多功能食品粉碎机 上海海菱电器有限公司; T202N 电子天平 上海精天电子仪器有限公司; ELTA320 pH计 Mettler-Toledo 公司。

收稿日期: 2006-03-24

作者简介: 占习娟(1981-), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与微生物。

1.2 方法

1.2.1 PPO 活性的测定^[4-5]

1.2.1.1 提取与测定流程

样品冰浴研磨→浆液冷冻离心→过滤→定容→测定吸光值

1.2.1.2 酶液的提取

称取样品 5g 放于事先冰冻的研钵中, 加预冷的 40ml pH 值 6.8 的磷酸盐缓冲溶液, 2g 石英砂, 冰浴研磨 15min, 然后将研磨好的浆液放入冷冻离心机中 12000r/min, 4℃ 离心 10min。取上清液倒入布氏漏斗中真空抽滤, 用预冷的 40ml pH 值 6.8 的磷酸盐缓冲溶液冲洗滤渣 1 次, 收集滤液, 用 100ml 的容量瓶定容, 即为 PPO 粗酶液, 放入 4℃ 冰箱中保存。

1.2.1.3 PPO 活性的测定

取粗酶液 1ml 和 5ml pH 值为 6.5 的缓冲溶液加入到试管中, 在 20℃ 的水浴中保温 5min。然后在其中加入 1ml 0.5% 的邻苯二酚溶液在水浴中保温 1min 后加入 1ml 10% 的三氯乙酸。然后迅速倒入比色杯中于波长 420nm 下测定混合液的吸光值的变化, 每 1min 读一次数, 共记录 6min。酶活性以 1min 的 OD 值每增加 0.001 为 1 活力单位。空白中用缓冲溶液代替邻苯二酚。

1.2.2 褐变度的测定^[3]

取样品 5g, 加入蒸馏水 50ml, 在 4℃ 下用组织捣碎机搅匀, 过滤后取滤液在 25℃ 的水浴中保温瓶 5min, 然后在 410nm 波长下的紫外分光光度计上测吸光值, 用 $A_{410} \times 10$ 表示。

2 结果与分析

2.1 PPO 活性最适条件^[5]

2.1.1 温度对 PPO 活性的影响

分别取 PPO 粗酶液 1ml, 5ml pH 值 5.7 的磷酸盐缓冲溶液, 1ml 0.5% 的邻苯二酚溶液, 1ml 10% 的三氯乙酸。分别在温度 10、15、20、25、35、45、55、65、75、

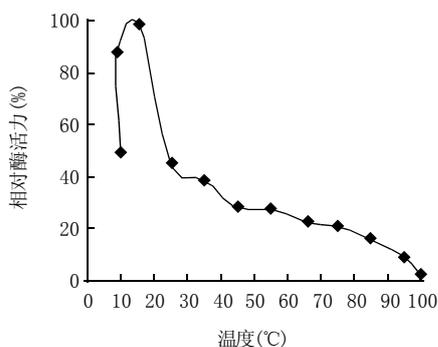


图1 温度对 PPO 活性影响曲线图
Fig.1 Effects of temperature on PPO activity

85、95、100℃测定 PPO 的活性。结果如图 1 所示。

由图 1 可知, 柿子中的多酚氧化酶的活性的最适温度应该在 19℃ 左右。温度在 25℃ 以后多酚氧化酶的活性急剧下降, 在温度 95℃ 以后, 活性几乎完全消失, 到 100℃ 时相对酶活力只有 2.4。要使柿子中的多酚氧化酶的失去活性, 温度要在 95℃ 上。

2.1.2 不同 pH 对 PPO 活性的影响

分别取 PPO 粗酶液 1ml、5ml pH 值分别为 2.2、3.0、3.8、4.7、5.7、6.2、6.6、7.0、7.4、7.8、7.4、7.8 的缓冲溶液, 1ml 0.5% 的邻苯二酚溶液, 1ml 10% 的三氯乙酸。在温度 19℃ 下测定 PPO 的活性。结果如图 2 所示。

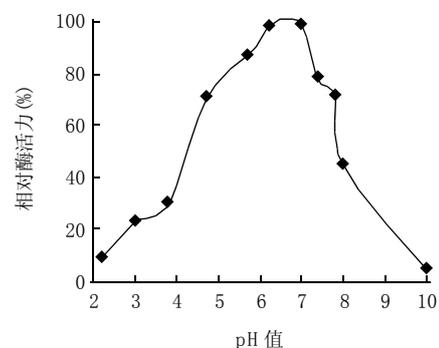


图2 不同 pH 对 PPO 活性影响曲线图
Fig.2 Effects of pH value on PPO activity

由图 2 可看出柿子中的多酚氧化酶活性在 pH 值在 6~7 之间最大。pH 值小于 2 和大于 10 时, 多酚氧化酶的活性几乎完全消失。有效的抑制柿子中的多酚氧化酶的活性, pH 值要小于 2 或大于 10 为宜。

2.1.3 不同底物浓度对 PPO 活性的影响

分别取 PPO 粗酶液 1ml, 4、3、2、1、0ml pH6.5 的磷酸盐缓冲溶液, 1、2、3、4、5ml 0.5% 的邻苯二酚溶液, 1ml 10% 的三氯乙酸。在温度 19℃ 下测定 PPO 的活性。结果如图 3 所示。

由图 3 可以看出柿子中的多酚氧化酶活性与底物浓

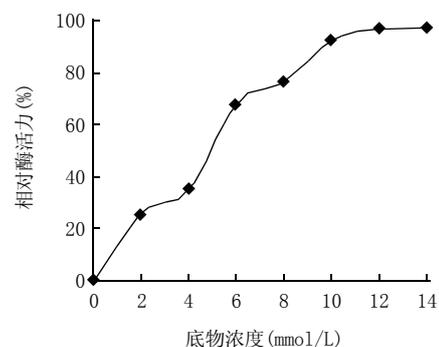


图3 不同底物浓度对 PPO 活性影响曲线图
Fig.3 Effects of concentration of substance on PPO activity

度成正比例关系。当底物浓度大于是12mmol/L时,酶活力增加开始缓慢。这是由于底物分子与酶分子已经结合完全,已经达到了饱和状态,进一步提高底物浓度也不能提高酶活力。

2.2 影响PPO活性的因素

2.2.1 不同抑制剂对PPO活性的影响

将柿子分别放入0.2%柠檬酸+0.2%亚硫酸钠(Y₁)、1.5% NaCl + 0.1%柠檬酸+0.075% VC(Y₂)、0.075% VC + 0.2%亚硫酸钠(Y₃)和0.1%亚硫酸钠+0.3%植酸(Y₄)四种处理液中浸泡30min。然后分别测定多酚氧化酶的活性,其结果如图4所示。

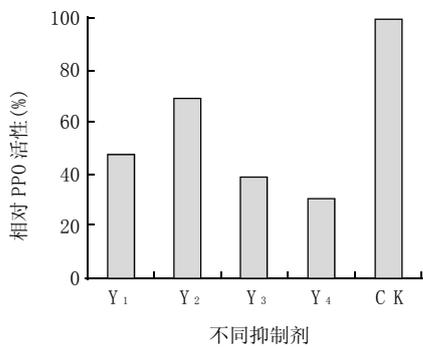


图4 不同抑制剂对PPO活性影响柱形图
Fig.4 Effects of inhibitor on PPO activity

由图4可以看出用Y₄处理的柿子的抑制效果最好,抑制多酚氧化酶的活性可达到74.07%。其它几种处理抑制效果为:Y₃ > Y₁ > Y₂。总体上看抑制剂对PPO活性的影响比较大,都能很好的抑制PPO活性。这个是由于不同抑制剂的协同作用,而且植酸、柠檬酸和VC都可以改变pH值,这样就可以远离PPO的最适pH值6.5。而亚硫酸钠可与PPO作用又能与醌类形成无色的聚合物,且是醌的还原剂,还有漂白作用^[6-8]。

2.2.2 不同烫漂温度对PPO活性的影响

将柿子分别在70、80、90和100℃下进行烫漂30s,然后分别测定不同烫漂温度处理后多酚氧化酶的活性,

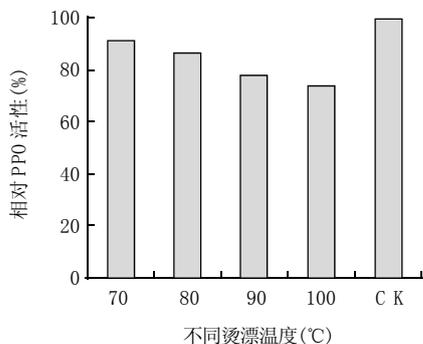


图5 不同烫漂温度对PPO活性影响柱形图
Fig.5 Effects of blanching temperature on PPO activity

其结果见图所示。

由图5可以看出柿子在不同温度下进行烫漂后,选用100℃+30s和90℃+30s处理后抑制多酚氧化酶的活性效果比较好,抑制多酚氧化酶的活性分别可以达到66.67%和59.26%。但总体上看,烫漂抑制多酚氧化酶活性的效果不是很好。可能是由于烫漂的时间太短而不能有效的钝化所有多酚氧化酶的原因。

2.2.3 不同烫漂时间对PPO活性的影响

将柿子在温度100℃下分别烫漂30、60、90和120s,然后分别测定不同烫漂时间处理后多酚氧化酶的活性,结果如图6所示。

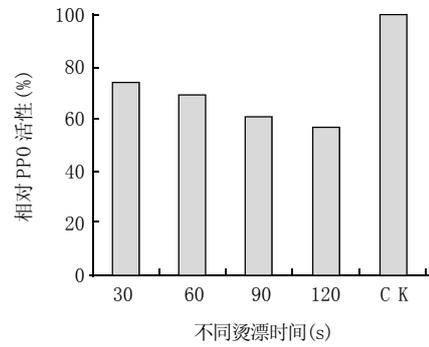


图6 不同烫漂时间对PPO活性影响柱形图
Fig.6 Effects of blanching time on PPO activity

由图6可以看出柿子在温度100℃下进行不同时间烫漂,用100℃+120s处理的抑制多酚氧化酶的活性效果最好,抑制效果可以达到80.48%,其次的是100℃+60s和100℃+90s处理方法,最差的是100℃+30s抑制多酚氧化酶的活性效果只有66.67%。所以要想有效的抑制多酚氧化酶的活性,烫漂时间应该在120s以上才能更好抑制PPO的活性。

2.3 影响贮藏过程中的褐变因素控制

2.3.1 不同抑制剂对褐变的影响^[7]

将柿子分别放入0.2%柠檬酸+0.2%亚硫酸钠(Y₁)、1.5% NaCl + 0.1%柠檬酸+0.075% VC(Y₂)、0.075%

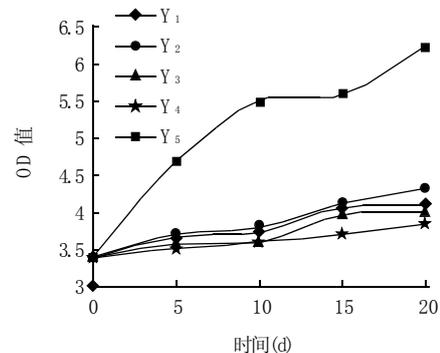


图7 不同抑制剂对褐变影响曲线图
Fig.7 Effects of inhibitor on PPO activity

VC+0.2%亚硫酸钠(Y_3)和0.1%亚硫酸钠+0.3%植酸(Y_4)四种处理液中浸泡30min。然后进行真空包装,每5d分别测定不同处理下的吸光度,其结果见图所示。

由图7可以看出不同抑制剂对柿子的褐变中, Y_4 的处理柿子后抑制褐变效果最明显,褐变度只增加了0.723。其次就是 Y_3 和 Y_1 ,用 Y_2 处理的抑制效果最差。而不用抑制剂处理的柿果的褐变度增加了3.183。这个是由于不同抑制剂的协同作用,植酸,柠檬酸和VC都可以改变pH值,这样就可以远离PPO的最适pH值6.5。而亚硫酸钠又有漂白作用。所以能有效的抑制柿了的褐变^[3-8]。

2.3.2 不同烫漂温度对褐变的影响

将柿子分别在70、80、90和100℃下进行烫漂30s,然后进行真空包装,每5d分别测定不同处理下的吸光度,其结果如图8所示。

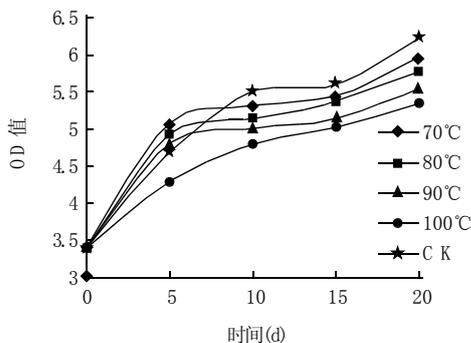


图8 不同烫漂温度对褐变影响曲线图

Fig.8 Effects of blanching temperature on browning

由图8可以看出柿子经过不同温度下烫漂之后的抑制褐变的效果中100℃+30s最好,到第20d,褐变度只增加了1.943,其次就是90℃+30s和80℃+30s。与空白试验相比,抑制褐变的效果虽然不是很明显,但也能使柿果的褐变速度减缓,这可能是由于灭活的时间太短不能使柿子中大多数的多酚氧化酶失活的原因。

2.3.3 不同烫漂时间对褐变的影响

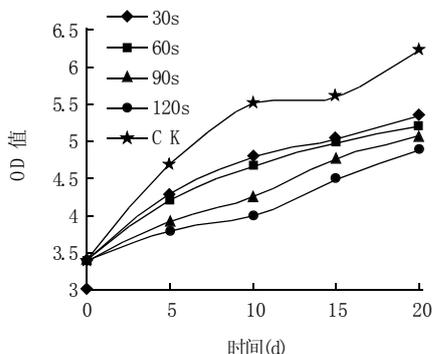


图9 不同烫漂时间对褐变影响曲线图

Fig.9 Effects of blanching time on browning

将柿子在温度100℃下分别烫漂30、60、90和120s,然后进行真空包装,每5d分别测定不同处理下的吸光度,其结果如图9所示。

由图9可以看出经过100℃不同时间的烫漂之后,120s+100℃的抑制褐变的效果最好,到第20d,褐变度只增加了1.843,其它三个处理抑制褐变效果差不多,而CK却增加了2.823。由此可以看出用120s+100℃处理能够使柿果褐变明显减慢。

3 结论

3.1 柿子中的多酚氧化酶活性的最适条件:温度为19℃,最适pH为6.5,最适浓度为12mmol/L。

3.2 在不同抑制剂对多酚氧化酶活性和褐变的影响中,用0.1%亚硫酸钠+0.3%植酸处理后对PPO抑制效果最好,柿子中的多酚氧化酶明显的被抑制,从而有效的抑制了柿果的褐变。

3.3 在不同烫漂温度对多酚氧化酶活性和褐变的影响中,用100℃+30s处理对有PPO抑制,但效果不是很理想。但用100℃+30s处理后的柿子的褐变增加减慢,但还是不能完全抑制柿子褐变,这可能是由于烫漂的时间太短,不能使多酚氧化酶完全失活的缘故。

3.4 在不同烫漂时间对多酚氧化酶活性和褐变的影响中,烫漂时间为120s的效果最好,能使多酚氧化酶大部分失活,柿子的褐变明显减慢。

3.5 实验表明:用0.1%亚硫酸钠+0.3%植酸和温度在100℃下烫漂120s,柿果中PPO的活性能有效的被抑制,贮藏过程中柿果的褐变速度明显减慢。

参考文献:

- [1] 胡玉华,郭志新,黄鹏. 柿果加工关键技术的研究[J]. 河南林业科技, 1995(2):1-4.
- [2] 周坚,万楚筠,沈汪洋. 甜柿的营养及功能特性[J]. 武汉工业学院报, 2004, 4(23): 14-18.
- [3] 王清章,刘怀超,孙颀. 莲藕中褐变度及多酚氧化酶活性的初步研究[J]. 中国蔬菜, 1997(3): 4-6.
- [4] 陈乃富. 若干加工过程中控制酶促褐变的热处理法工艺条件[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(8): 30-34.
- [5] 周坚,万楚筠,沈汪洋. 甜柿多酚氧化酶特性的研究及褐变控制[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 60-63.
- [6] 余华,周洪波,何龙海,等. 茄子多酚氧化酶的酶学特性研究[J]. 食品科学, 2003, 24(12): 44-46.
- [7] 姜绍通,罗志刚,潘丽军. 甘薯中多酚氧化酶活性的测定及褐变控制[J]. 食品科学, 2001, 22(3): 19-22.
- [8] GERALD M S. Browning of food: control by sulfites, antioxidant, and other means[J]. Food Technology, 1993, 47(10): 75-84.
- [9] AHMET Y. Control of polyphenols in potatoes by low temperature blanching[J]. Europ Reserchand Technology, 2002, 214(4): 313-319.