

无硫复合护色剂抑制干制苹果片褐变机理研究

李 新 明, 张 永 茂, 张 俊

(甘肃省农业科学院 农产品贮藏加工所, 甘肃 兰州 730070)

摘 要:以“红富士”苹果片为试材,研究了氯化钠(0.7%)、氯化钙(0.6%)、柠檬酸(0.7%)、EDTA-2Na(0.16%)、异抗坏血酸钠(1.3%)和无硫复合护色液(氯化钠 1.0%、氯化钙 0.6%、柠檬酸 0.9%、EDTA-2Na 0.16%、异抗坏血酸钠 1.6%)6种无硫护色剂对干制苹果片抗坏血酸(维生素C)含量、还原性谷胱甘肽(GSH)、总酚含量及抗坏血酸氧化酶(AAO)活力的动态变化趋势影响。结果表明:无硫复合护色液对干制苹果片褐变的抑止是通过遏止果片中抗坏血酸(维生素C)、还原性谷胱甘肽(GSH)、总酚含量的降低及抗坏血酸氧化酶(AAO)活力增加而实现的。经不同无硫护色剂处理后,抗坏血酸(维生素C)、还原性谷胱甘肽(GSH)、总酚含量随干制时间的延长而降低,其中以非处理对照组降低最显著,复合护色剂对干制果片中上述生化指标含量下降的抑制作用最强,异维生素钠作用其次,接着是氯化钠和柠檬酸,效果较差的是氯化钙和EDTA-2Na护色液。抗坏血酸氧化酶活力则随干制时间的延长而增加。与对照相比,各处理组差异显著。

关键词:“红富士”苹果;干制;无硫护色;抗坏血酸;褐变

中图分类号:TS 255.42 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)05-0138-04

苹果干制过程中,果肉褐变是最常见的问题之一。这常常会造成产品的质量下降,影响产品的市场销售。许多研究表明,苹果中含有丰富的酚类物质^[1-2]。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。影响褐变的因素有多种,包括SOD(超氧化物歧化酶)、CAT(过氧化氢酶)、PPO(多酚氧化酶)、POD(过氧化物酶)等。抗氧化剂类主要有AsA(抗坏血酸)、GSH(还原型谷胱甘肽)等,它们在抗氧化系统中对清除活性氧有相当重要的作用^[3-4]。GSH和维生素C能有效地保护酶结构蛋白上的

第一作者简介:李新明(1970-),男,博士,助理研究员,研究方向为农产品贮藏与加工。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20962001/B020902)。

收稿日期:2012-11-08

Effect of Low-temperature on Preservation and Variation of Endogenous Hormones in Embryo of Fresh Walnut

MA Yan-ping, LV Xin-gang, MA Hui-ling, FEI Zhao-xue

(College of Forestry, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Taking ‘Liaoning 4’ fresh walnut as material, the preservation effect of walnut at $(20 \pm 3)^{\circ}\text{C}$ and $(0 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ were studied, and endogenous hormones of ABA, GA_3 , IAA and ZR content in embryo were detected, and variation with ABA. The results showed that the embryo sprouted on 20 d and mildew at 5 d at $(20 \pm 3)^{\circ}\text{C}$, but there was no germination in the 120 d storage period at the temperature of $(0 \pm 1)^{\circ}\text{C}$; at the same time, the low temperature maintained the high content of ABA and restrained highly significantly the content of GA_3 , IAA, ZR and the ratios of $w(\text{IAA})/w(\text{ABA})$, $w(\text{ZR})/w(\text{ABA})$, and the ratio of $w(\text{GA}_3)/w(\text{ABA})$ was not significantly affected. The results indicated that low temperature mainly kept inhibitory substances high and decreased the content of the growth-promoting substance. Therefore, low temperature produced significant preservation effect on the fresh walnut.

Key words: low temperature; preservation effect; endogenous hormones; fresh walnut

硫氢基,抵抗过氧化作用,充当氧自由基的清除剂^[5]。

目前通用的方法是用硫护色,这又会引来食品健康的问题,因此采用无硫护色剂进行护色已成为目前急需解决的问题。在以前的研究中,课题组已经研究了干制过程中经各种无硫护色剂处理过的苹果片中的相关酶的动态变化规律。该试验以前期研究工作中配制的无硫复合护色剂和“红富士”苹果为原料,研究干制过程中果肉中维生素 C、GSH、总酚含量及 AAO(抗坏血酸氧化酶)活性的动态变化规律,以期进一步揭示无硫复合护色剂对干制苹果片褐变的抑止机理,为实际生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试苹果为甘肃省静宁县产的“红富士”。护色剂为氯化钠(0.7%)、氯化钙(0.6%)、柠檬酸(0.7%)、EDTA-2Na(0.16%)、异抗坏血酸钠(1.3%);复合护色剂(氯化钠 1.0%+氯化钙 0.6%+柠檬酸 0.9%+EDTA-2Na 0.16%+异抗坏血酸钠 1.6%)。

1.2 试验方法

鲜切苹果片分别用一定浓度的氯化钠(0.7%)、氯化钙(0.6%)、柠檬酸(0.7%)、EDTA-2Na(0.16%)、异抗坏血酸钠(1.3%)和复合护色液(氯化钠 1.0%、氯化钙 0.6%、柠檬酸 0.9%、EDTA-2Na 0.16%、异抗坏血酸钠 1.6%)浸泡 2 h,取出,沥干,放入恒温干燥箱中干制(60℃),每 2 h 取 1 次样。每次随机取 7 片果片,称重,加反应液研磨,取上清液待用。

1.3 项目测定

1.3.1 还原型谷胱甘肽(GSH)的测定 参照 Guri^[6]法并做相应修改。称取 7 片干制果片,加入 3 mL 冰预冷的 5 mmol/L EDTA-5% TCA 溶液低温研磨提取 12 000 r/min 4℃下离心 10 min,收集上清液立即用于 GSH 测定。GSH 反应体系包括 1 mL 上清液,0.2 M pH 8.0 的磷酸缓冲液 1 mL,2 mL DTNB 反应液于 25℃下恒温水浴 20 min 后,于 395 nm 处测定样品吸光度。参比用磷酸缓冲液代替,用标准 GSH 制作标准曲线,样品重复测 7 次,GSH 含量 GSH $\mu\text{g/g}$ FW 表示。

1.3.2 总酚含量测定 依照 Naczek 等^[7]所述 Folin-Ciocalteu 法进行,略有改动。取一定浓度的样品液于 10 mL 试管中,用水补足 4 mL。然后再分别加 0.25 mL Folin-Ciocalteu 试剂,充分混合,1 min 后加入 0.75 mL 20% NaCO_3 溶液,充分混合。将此混合液在 20℃下放置 30 min,然后用 1 cm 比色皿测定各自在 710 nm 波长下的吸光值(以不含酚液试剂为空白调零)。配制没食子酸作为标准样品,绘制标准曲线。干制苹果片提取液干燥物的甲醇溶液 0.2 mL,稀释 20 倍,进行总酚含量测定。

1.3.3 维生素 C 含量测定 每次取 7 个干制果片,用 2%草酸冰浴研磨(研钵提前预冷)定容至 100 mL,参照韩雅珊^[8]方法用 2,6-二氯酚靛酚法测定,重复 7 次。维生素 C 含量以 $\text{mg}/100\text{g}$ FW 表示。

1.3.4 抗坏血酸氧化酶(AAO)测定 参照 Venisse 等^[9]和汤章城^[10]方法并修改。取 7 个干制果片,液氮研磨后转移到 10 mL 离心管中,加入 6 mL 预冷的 pH 7.0 的 0.05 M 的磷酸缓冲液(内含 0.1 M 的 EDTA)充分震荡摇匀,然后于 4℃下提取 30 min,后在 10 000 r/min,0~4℃下离心 20 min,收集上清液立即用于 AAO 酶活测定。AAO 酶活反应体系包括 0.5 mL 粗酶液,1.8 mL pH 7.8 0.05 M 磷酸缓冲液,0.5 mL 0.3 mM AsA 和 0.2 mL 0.06 mM H_2O_2 溶液。加入 H_2O_2 后,立即在 20℃下测定 2 min 内 290 nm 下的 OD 值的变化,样品重复测定 7 次。AAO 活性用维生素 C $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ pro 表示。

2 结果与分析

2.1 不同护色剂对干制苹果片还原型谷胱甘肽(GSH)含量的影响

由图 1 可知,与对照相比,不同护色剂对干制苹果片中 GSH 含量影响不同。在干制过程中,各处理的 GSH 含量随干制时间延长均有所下降,但对照下降速度最快,在 6 种护色剂处理的果片中,复合护色剂对干制果片中 GSH 含量下降的抑制作用最强,其次是异维生素钠作用,接着是氯化钠和柠檬酸,效果较差的是氯化钙和 EDTA-2Na 护色液。从干制时间来看,当干制时间为 8~10 h 时,果片中的 GSH 含量下降趋势基本减缓。在各干制时间点,6 种护色液处理的果片中 GSH 含量与对照组相比,有显著的差异($P < 0.05$; $P < 0.01$)。在干制时间为 16 h 时,各组果片中的 GSH 含量分别为 31.4 ± 2.53 (对照组)、 72.1 ± 9.46 (氯化钠)、 52.4 ± 7.03 (氯

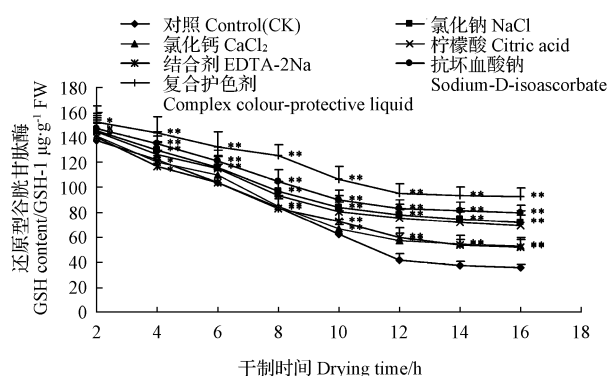


图 1 不同护色剂对干制苹果片还原型谷胱甘肽酶(GSH)含量的影响

Fig. 1 The effect of different color-protecting agents on GSH content of drying apple slice

化钙)、 69.6 ± 8.24 (柠檬酸)、 51.9 ± 6.33 (EDTA-2Na)、 79.7 ± 6.04 (异抗坏血酸钠)、 92.5 ± 7.05 (复合护色液) $\text{GSH-1 } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ 。

2.2 不同护色剂对干制苹果片总酚含量的影响

由图2可知,与对照相比,不同护色剂对干制苹果片中总酚含量影响不同。在干制过程中,各处理的总酚含量随干制时间延长均有所下降,但对照下降速度最快,在6种护色剂处理的果片中,复合护色剂对干制果片中总酚含量下降的抑制作用最强,异维生素钠作用其次,接着是氯化钠和柠檬酸,效果较差的是氯化钙和EDTA-2Na护色液。从干制时间来看,当干制时间为8~10 h时,果片中的总酚含量下降趋势基本减缓。在各干制时间点,6种护色液处理的果片中总酚含量与对照组相比,有显著的差异($P < 0.05$; $P < 0.01$)。在干制时间为16 h时,各组果片中的总酚含量分别为 117.3 ± 8.4 (对照组)、 261.7 ± 28.7 (氯化钠)、 184.3 ± 16.7 (氯化钙)、 256.3 ± 29.4 (柠檬酸)、 177.8 ± 23.6 (EDTA-2Na)、 295.1 ± 22.9 (异抗坏血酸钠)、 399.7 ± 32.6 (复合护色液) $\mu\text{g/gFW}$ 。

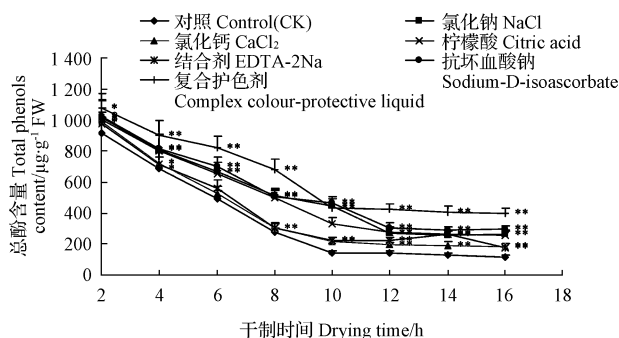


图2 不同护色剂对干制苹果片总酚含量的影响

Fig. 2 The effect of different color-protecting agents on total phenols content of drying apple slice

2.3 不同护色剂对干制苹果片维生素C含量的影响

由图3可知,与对照相比,不同护色剂对干制苹果片中维生素C含量影响不同。在干制过程中,各处理的维生素C含量随干制时间均有所下降,但对照下降速度最快,在6种护色剂处理的果片中,复合护色剂对干制果片中维生素C含量下降的抑制作用最强,异维生素钠作用其次,接着是氯化钠和柠檬酸,效果较差的是氯化钙和EDTA-2Na护色液。从干制时间来看,当干制时间为8~10 h时,果片中的维生素C含量下降趋势基本减缓。在各干制时间点,6种护色液处理的果片中维生素C含量与对照组相比,有显著的差异($P < 0.05$; $P < 0.01$)。在干制时间为16 h时,各组果片中的维生素C含量分别为 0.52 ± 0.06 (对照组)、 1.32 ± 0.15 (氯化钠)、 0.85 ± 0.09 (氯化钙)、 1.18 ± 0.11 (柠檬酸)、

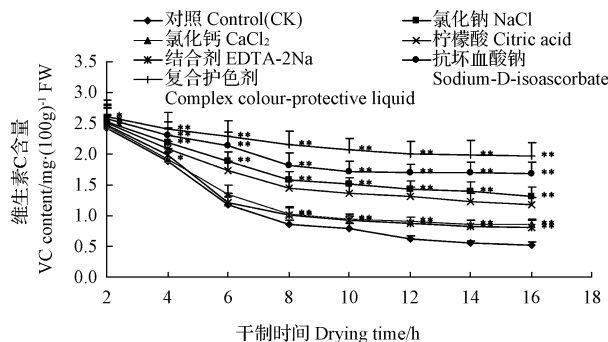


图3 不同护色剂对干制苹果片维生素C含量的影响

Fig. 3 The effect of different color-protecting agents on VC content of drying apple slice

0.81 ± 0.12 (EDTA-2Na)、 1.68 ± 0.18 (异抗坏血酸钠)、 1.97 ± 0.21 $\text{mg}/100\text{gFW}$ (复合护色液)。

2.4 不同护色剂对干制苹果片抗坏血酸酶活性的影响

由图4可知,与对照相比,不同护色剂对干制苹果片中抗坏血酸氧化酶活性影响不同。在干制过程中,各处理的抗坏血酸氧化酶活性随干制时间均有所变化,从干制时间来看,当干制时间为2~10 h时,果片中的抗坏血酸氧化酶活性急剧上升,在8~10 h时酶活性达到峰值,之后酶活性开始下降。各组果片中的抗坏血酸氧化酶活性最高值分别为 VC 7.18 ± 0.83 (对照组)、 5.33 ± 0.36 (氯化钠)、 6.55 ± 0.81 (氯化钙)、 6.37 ± 0.66 (柠檬酸)、 6.63 ± 0.82 (EDTA-2Na)、 5.06 ± 0.69 (异抗坏血酸钠)、 4.58 ± 0.22 (复合护色液) $\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ protein。之后,酶活性随干制时间延长而下降,在各干制时间点,6种护色液处理的果片中抗坏血酸氧化酶活性与对照组相比,有显著的差异($P < 0.05$; $P < 0.01$)。在干制时间为16 h时,各组果片中的抗坏血酸氧化酶活性分别为 6.04 ± 0.33 (对照组)、 4.45 ± 0.28 (氯化钠)、 5.21 ± 0.22 (氯化钙)、 4.49 ± 0.26 (柠檬酸)、 5.14 ± 0.22 (EDTA-2Na)、 4.23 ± 0.31 (异抗坏血酸钠)、 3.12 ± 0.18 (复合护

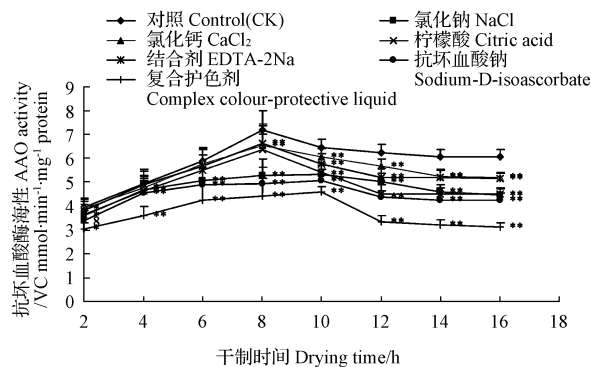


图4 不同护色剂对干制苹果片AAO酶活性的影响

Fig. 4 The effect of different color-protecting agents on AAO activity of drying apple slice

色液) $\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein}$ 。在 6 种护色剂处理的果片中,复合护色剂对干制果片中抗坏血酸氧化酶活性增长的抑制作用最强,异维生素钠作用其次,接着是氯化钠和柠檬酸,效果较差的是氯化钙和 EDTA-2Na 护色液。

3 结论

该试验结果表明,不同无硫护色剂均能有效抑止干制苹果片中维生素 C、GSH 和总酚含量的下降及 AAO 活力的上升。在 6 种护色剂处理的果片中,复合护色剂对干制果片中维生素 C、GSH 和总酚含量的下降及 AAO 活力的上升抑制作用最强。说明无硫复合护色液对干制苹果片褐变的抑止作用与它能有效遏止果片中的抗坏血酸(维生素 C)、还原性谷胱甘肽(GSH)、总酚含量的降低及抗坏血酸氧化酶(AAO)活力增加紧密相关。

参考文献

[1] Borneman Z, Gökmen V, Nijhuis H H. Selective removal of polyphenols and brown colour in apple juices using PES/PVP membranes in a single ultra-filtration process[J]. Separation and Purification Technology, 2001, 22(2): 53-61.

- [2] Vega-Gálvez A, Ah-Hen K, Chacana M, et al. Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices[J]. Food Chemistry, 2012, 132(1): 51-59.
- [3] 孙学成, 谭启玲, 胡承孝, 等. 低温胁迫下铜对冬小麦抗氧化酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2006, 39(5): 952-959.
- [4] 刘家忠, 龚明. 植物抗氧化系统研究进展[J]. 云南师范大学学报, 1999, 19(6): 1-9.
- [5] Wang Y R(王以柔), Liu H X(刘鸿先), Li P(李平), et al. The effect of low temperature on glutathione content and glutathione reductase activity in rice seedling[C]//Acta Bot Austro-Sin(中国科学院华南植物研究所集刊), 1989: 153-159. (in Chinese)
- [6] Guri A. Ozone effect on glutathione and ascorbic acid in beans[J]. Can J Plant Sci, 1983, 63(3): 733-736.
- [7] Nacz M, Shaidi F. The effect of methanol-ammonia-water treatment on the content of phenolic acids of canola [J]. Food chemistry, 1999, 31: 159-164.
- [8] 韩雅珊. 食品化学实验指导[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1996.
- [9] Venisse J S, Gullner G, Brisset M N. Evidence for the involvement of an oxidative stress in the initiation of infection of Pear by *Erwinia amylovora* [J]. Plant Physiol, 2001, 125: 2164-2172.
- [10] 汤章城. 植物磷脂及其作用[J]. 植物生理学通讯, 1981, 17(3): 8-14.

Inhibitory Mechanism of Sulfur-free Complex Color-protective Reagents Against Drying ‘Fuji’ Apple Slices Brown

LI Xin-ming, ZHANG Yong-mao, ZHANG Jun

(Institute of Agricultural Product Storage and Processing, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070)

Abstract: The effect of different color-protective reagents on dynamic change trend of VC, GSH, total phenols content and AAO activity in drying ‘Fuji’ apple slices were studied. The results showed that after different sulfur-free color-protecting agents (NaCl (0.7%), CaCl_2 (0.6%), citric acid (0.7%), EDTA-2Na (0.16%), sodium-D-isoascorbate (1.3%) and complex color-protective liquid (NaCl (1.0%), CaCl_2 (0.6%), citric acid (0.9%), EDTA-2Na (0.16%), sodium-D-isoascorbate (1.6%) treatment, VC, GSH, total phenols contents decreased with extended drying time. The decrease was most significant in untreated control group. The decrease orders were in turn complex colour-protective liquid treatment group, sodium-D-isoascorbate treatment group, NaCl treatment group, citric acid treatment group, CaCl_2 treatment group and EDTA-2Na treatment group. AAO activity in apple slices of groups increased with extended drying time. Compared with control, the change in treatment groups was significant. And color-protective action of complex color-protective liquid was achieved by inhibiting the decreased VC, GSH, total phenols contents and increased AAO activity in drying apple slices.

Key words: ‘Fuji’ apple; drying; sulfur-free color protecting; VC; browning