

护色处理

对冷藏香蕉片多酚氧化酶活性的影响

庄远红¹, 刘静娜¹, 林娇芬¹, 庄小河², 吴艳辉¹, 黄 捷¹

(1.漳州师范学院生物科学与技术系,福建漳州 363000;

2.福建农林大学食品科学学院,福建福州 350002)

摘要:通过设计单一护色剂、不同浓度L-半胱氨酸、不同热处理时间及多因子护色处理四个实验研究其对冷藏香蕉片多酚氧化酶(PPO)活性的影响,结果表明,5种护色剂均能有效地抑制冷藏香蕉片PPO活性,但L-半胱氨酸对其抑制效果更佳;随着护色液中Cys浓度的增加,残余PPO活力呈下降趋势,表现为CK>0.05% Cys>0.1% Cys>0.2% Cys;热处理能有效地抑制冷藏香蕉片PPO活性,PPO活性随着热处理时间的增加而降低,但热处理却大大降低了冷藏香蕉片的品质;0.1% L-半胱氨酸、0.05%异抗坏血酸、0.1%蔗糖和0.1%氯化钙构成的护色剂组合能有效地抑制PPO活性,并起到良好的保质增脆效果。

关键词:冷藏,香蕉片,酶促褐变,护色,多酚氧化酶

Effect of color retention treatments on the polyphenol oxidase activity in freezing-stored banana slices

ZHUANG Yuan-hong¹, LIU Jing-na¹, LIN Jiao-fen¹, ZHUANG Xiao-he², WU Yan-hui¹, HUANG Jie¹

(1. Department of Biology Science and Technology, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou 363000, China;

2. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Four experiments included different single color-protecting solutions, different concentration of L-cysteine, different heat treatment time and multi-factor color retention treatments were designed to study the polyphenol oxidase(PPO) activity in freezing-stored banana slices. The results showed that five color-protecting solutions could inhibit the activity of PPO effectively in freezing-stored banana slices, and L-cysteine was best of them; the activity of PPO decreased with the concentration of L-cysteine increased, the order was: CK > 0.05% Cys > 0.1% Cys > 0.2% Cys. Heat treatment could inhibit PPO activity effectively in freezing-stored banana slices, the activity of PPO decreased with the heat treatment time increased, but the heat treatment had greatly reduced the quality of the freezing-stored banana slices. The color-protecting solution compounded with 0.1% L-cysteine, 0.05% erythorbic acid, 0.1% sucrose and 0.1% calcium chloride could inhibit PPO activity effectively and play an important role in improving quality and increasing brittleness of banana slices.

Key words: freezing-stored; banana slices; enzymatic browning; color-protecting; polyphenol oxidase

中图分类号:TS255.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2012)03-0077-04

香蕉(*Musa nana*)是世界“四大水果”之一,富含有糖类、果胶、K、Ca、Mg、维生素C、维生素E和β-胡萝卜素等营养成分以及黄酮类化合物、多酚氧化酶、挥发油等多种活性成分,具有较高的营养价值和保健作用。但香蕉是一种典型的呼吸跃变型水果,不耐贮藏,极易变质,运输比较困难,稍遇旺产滞销,损

失便十分严重,解决这一问题最好办法就是大力发展香蕉产后加工。然而,在香蕉加工过程中,褐变一直是制约香蕉加工业发展的一个重要因素。前人研究表明,香蕉加工过程中的褐变主要是由多酚氧化酶(Polyphenol Oxidase, PPO)引起的酶促褐变^[1],酶促褐变是香蕉受到损伤时,其组织暴露在空气中,所含的酚类化合物在PPO的催化条件下进行氧化还原反应而醌式化,再通过一系列的反应而聚合成黑色素^[2],这给香蕉的贮藏与加工带来十分不利的影响。本文设计单一护色剂、不同浓度L-半胱氨酸、不同热处理时间及多因子正交护色处理研究冻藏香蕉片的PPO活性,以期为防止香蕉褐变和保鲜提供理论依据。

收稿日期:2010-12-22

作者简介:庄远红(1981-),女,硕士,讲师,研究方向:食品加工与质量安全。

基金项目:福建省教学质量与教学改革工程项目(闽教高[2011]69号);
漳州师范学院院级教改资助项目(JG200835)。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

香蕉(品种为“天宝香蕉”,福建漳州天宝产) 市售,新鲜、九成熟,果皮金黄、无黑斑,外形饱满,无机械损伤。

756PC型紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司;TGL-20M-B型台式高速冻藏离心机 湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 工艺流程

香蕉→去皮、去络等→切片(厚度为5~7mm)→浸泡护色(护色剂浸渍3min→85℃热水浴浸渍)→沥水→装袋→冷藏

选用大小、成熟度基本一致,外表无任何缺陷的香蕉果实,去皮及丝络后用不锈钢刀纵切成5~7mm厚的香蕉片,在护色液(液料比5:1)中浸渍3min,沥水后装于自封袋中,密封,标记,在-18℃下贮藏。

1.3 实验设计

本文设以下四个实验研究护色处理对冻藏香蕉片PPO活性的影响。

1.3.1 单一护色剂对冻藏香蕉片PPO活性的影响 实验设6个处理,以去离子水为对照,分别配制质量分数均为0.1%的柠檬酸($L_{0.1}$)、抗坏血酸($V_{0.1}$)、异抗坏血酸($SV_{0.1}$)、 $NaHSO_3$ ($NaHSO_3_{0.1}$)、L-半胱氨酸($Cys_{0.1}$)溶液为护色液。

1.3.2 不同浓度L-半胱氨酸对冻藏香蕉片PPO活性的影响 实验设4个处理,以去离子水为对照,分别配制浓度为0.05%、0.1%、0.2%的L-半胱氨酸溶液为护色液,用CK、 $Cys_{0.05}$ 、 $Cys_{0.1}$ 、 $Cys_{0.2}$ 表示。

1.3.3 不同热处理时间对冻藏香蕉片PPO活性的影响 实验设3个处理,香蕉片经0.1% L-半胱氨酸浸渍3min后,分别在85℃热水中浸泡0、1、2min后,迅速沥水,于-18℃下贮藏。用 $Cys_{0.1}H_0$ 、 $Cys_{0.1}H_1$ 、 $Cys_{0.1}H_2$ 表示。

1.3.4 多因子护色处理对冻藏香蕉片PPO活性的影响 选取L-半胱氨酸、异抗坏血酸、蔗糖、氯化钙组成复合护色剂,设置3个浓度水平,采用 $L_9(3^4)$ 进行正交实验(如表1),选出最佳护色剂组合。

表1 正交实验因素水平设计表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiments

水平	因素			
	A L-半胱氨酸 (%)	B 异抗坏血酸 (%)	C 蔗糖 (%)	D 氯化钙 (%)
1	0.05	0.05	0.1	0.1
2	0.1	0.1	0.2	0.2
3	0.2	0.2	0.5	0.5

1.4 实验方法^[3]

1.4.1 PPO酶的提取 取样品3g,加入0.2mol/L pH6.5磷酸盐缓冲液9mL,快速冰浴匀浆,将匀浆液全部转入离心管,在0℃,12000r/min下冻藏离心10min,上清液转入25mL刻度试管,用0.2mol/L pH6.5磷酸盐缓冲液定容,4℃保存至PPO活性测定。

1.4.2 PPO酶活力测定 在比色杯中迅速加入2.8mL 0.05mol/L儿茶酚(用0.05mol/L pH6.5磷酸盐缓冲液配制)和0.2mL酶液,摇匀后,以0.05mol/L pH6.5磷酸盐缓冲液为对照,在420nm波长下比色测定,酶液加入后开始计时,记录反应5min内的吸光值A,每1min

记录一次,酶活力以1min增加吸光值0.01为一个酶活力单位U,计算公式如下:

$$\text{PPO活力} = \frac{\Delta A_{420} \times V_t}{W \times V_s \times 0.01 \times t} [\text{u}/(\text{g} \cdot \text{min})]$$

式中: ΔA_{420} 为反应时间内吸光度的变化;W为鲜重,g;t为反应时间,min; V_t 为提取酶液总体积,mL; V_s 为测定时取用酶液体积,mL。

1.4.3 品质测定 V_c 用2,6-二氯靛酚滴定法^[4];可溶性固形物用折光法^[4];可溶性总糖用苯酚-硫酸法^[5];酸度用酸碱滴定法^[4]。

2 结果与分析

2.1 单一护色剂对冻藏香蕉片PPO活性的影响

经单一护色剂浸渍处理后,冻藏香蕉片PPO残余活力如图1所示。从图中可以看出,冻藏香蕉片PPO残余活力随酶体系反应时间的延长呈不同程度的下降趋势,酶体系反应过程中,冻藏香蕉片PPO活性大致趋势为CK> $NaHSO_3_{0.1}$ > $L_{0.1}$ > $V_{0.1}$ > $SV_{0.1}$ > $Cys_{0.1}$,说明与对照相比,5种护色剂均能有效地抑制冻藏香蕉片PPO活性,从PPO残余活力值大小来看,Cys对PPO活性抑制效果更佳。

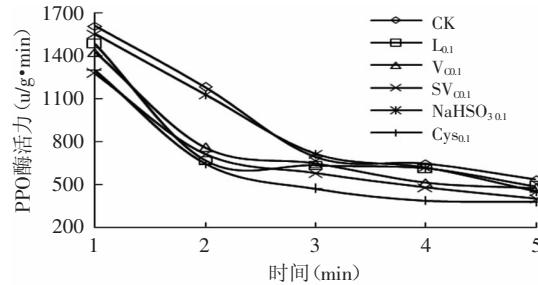


图1 单一护色剂对冻藏香蕉PPO酶活性的影响

Fig.1 Effect of single color-protecting solution on frozen banana PPO enzyme activity

2.2 不同浓度L-半胱氨酸对冻藏香蕉片PPO活性及品质的影响

由图2可知,经不同浓度的Cys处理后,冻藏香蕉片PPO活性随酶体系反应时间的延长呈下降趋势,且变化趋势逐渐减弱。随着护色液中Cys浓度的增加,残余PPO活力逐渐减小,表现为CK> $Cys_{0.05}$ > $Cys_{0.1}$ > $Cys_{0.2}$,说明Cys浓度越高,越能有效地抑制PPO活性。由表2可以看出,护色处理后 V_c 含量和可溶性固形物两项指标表现出CK< $Cys_{0.05}$ < $Cys_{0.2}$ < $Cys_{0.1}$,而CK的可溶性糖含量最大,说明Cys降低了果实的甜度,酸度则表现出 $Cys_{0.2} \geq CK > Cys_{0.05} > Cys_{0.1}$,虽然Cys降低了果实的甜度,但是从另外3个指标来看,Cys在一定程度上可以提高冻藏香蕉片的品质,但并非Cys浓度越高,对提

表2 不同浓度L-Cys护色处理后冻藏香蕉片的品质状况

Table 2 Quality status of different concentration of L-cysteine on frozen banana slices

处理	V_c 含量 (mg/100g)	可溶性固形物 (%)	可溶性糖含量 (%)	酸度 (%)
CK	4.70	12.2	8.87	0.31
$Cys_{0.05}$	6.20	14.2	8.33	0.29
$Cys_{0.1}$	8.30	14.9	8.19	0.28
$Cys_{0.2}$	7.07	14.6	7.87	0.31

高冻藏香蕉片的品质越好。因此,在实际生产应用上必须综合考虑增大Cys添加量带来的生产成本提高、产品品质下降等因素,所以并不是Cys添加量越多越好。

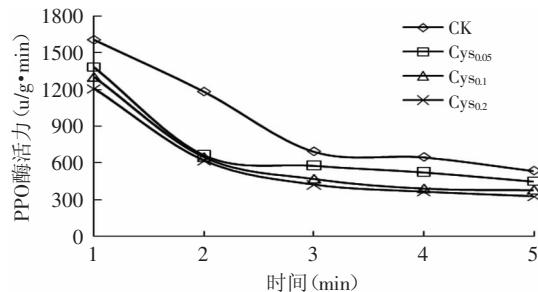


图2 不同浓度L-半胱氨酸对冻藏香蕉片PPO活性的影响
Fig.2 Effect of different concentration of L-cysteine on frozen banana PPO enzyme activity

2.3 不同热处理时间对冻藏香蕉片PPO活性及品质的影响

表3 不同热处理时间冻藏香蕉片的品质状况
Table 3 Quality status of different heat treatment time on frozen banana slices

处理	V _c 含量 (mg/100g)	可溶性固形物 (%)	可溶性糖含量 (%)	酸度 (%)
Cys _{0.1} :H ₀	8.30	14.9	8.19	0.28
Cys _{0.1} :H ₁	7.37	14.0	7.81	0.27
Cys _{0.1} :H ₂	5.47	13.0	7.50	0.27

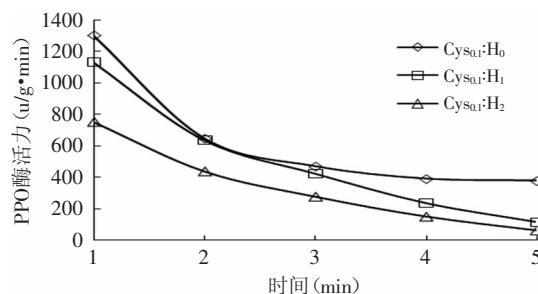


图3 不同热处理时间对冻藏香蕉PPO酶活性的影响
Fig.3 Effect of different heat treatment time on frozen banana PPO enzyme activity

从图3可以看出,与未经热烫的处理相比,热处理能有效地抑制冻藏香蕉片PPO活性,其活力大小随着热处理时间的增加而降低,表现为Cys_{0.1}:H₀>Cys_{0.1}:H₁>Cys_{0.1}:H₂,说明热处理可以使PPO失活,并且热烫时间越长,PPO失活越明显。虽然热处理可以钝化PPO活性,但从表3可以看出,热处理大大降低了冻藏香蕉片的品质。V_c含量、可溶性固形物、可溶性糖含量、酸度四项指标都表现为Cys_{0.1}:H₂<Cys_{0.1}:H₁<Cys_{0.1}:H₀,说明热处理时间越长,冻藏香蕉片的品质越差。

2.4 多因子护色处理对冻藏香蕉片PPO活性的影响

由于半胱氨酸和异抗坏血酸是良好的酶抑制剂,对PPO活性具有较好的抑制作用,并有效地降低香蕉片褐变程度;蔗糖和氯化钙能有效提高香蕉片的品质和风味,而且钙可同香蕉中的氨基酸结合,生成的不溶性化合物可以控制非酶褐变^[6],因此护色处理中添加氯化钙在一定程度上可以抑制产品褐变,且氯化钙可明显降低果实的膜脂过氧化水平,保持果

肉细胞膜的相对稳定性,从而减轻腐烂,延长保鲜时间^[7]。以控制褐变,保质增脆为目的,选取L-半胱氨酸、异抗坏血酸、蔗糖和氯化钙组成复合护色剂,采用正交实验对冻藏香蕉片进行护色处理,研究其对PPO活性的影响,PPO活性越低,说明抑制效果越好,酶活性降低越多。由表4中的R值大小及表5方差分析可以看出,L-半胱氨酸对冻藏香蕉片PPO活性具有极显著影响($F=99.45^{**}$),而异抗坏血酸、蔗糖和氯化钙对冻藏香蕉片PPO活性的影响不明显,4个因子对冻藏香蕉片PPO活性的影响大小为:L-半胱氨酸(A)>氯化钙(D)>异抗坏血酸(B)>蔗糖(C)。对因素A,通过比较k₁、k₂、k₃的大小,确定最优水平A₂,因素B、C、D对实验结果影响较小,从经济角度考虑选择B₁、C₁和D₁,故本实验的最优化组合为:A₂B₁C₁D₁,即0.1% L-半胱氨酸,0.05%异抗坏血酸,0.1%蔗糖和0.1%氯化钙。

表4 正交实验方案与结果

Table 4 Results of orthogonal experiments

实验号	A	B	C	D	PPO活力(u/g·min)
1	1	1	1	1	445.5
2	1	2	2	2	442.5
3	1	3	3	3	478.0
4	2	1	2	3	389.5
5	2	2	3	1	365.5
6	2	3	1	2	392.0
7	3	1	3	2	419.5
8	3	2	1	3	426.5
9	3	3	2	1	412.5
k ₁	455.33	418.17	421.33	407.83	
k ₂	382.33	411.50	414.83	418.00	
k ₃	419.50	427.50	421.00	431.33	
R	73.0	16.0	6.5	23.5	

表5 正交实验方差分析

Table 5 Analysis results of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
A	7994.39	2	3997.19	99.45 ^{**}	0.01
B	387.56	2	193.78	4.82	0.17
C	80.39	2	40.19		
D	833.39	2	416.69	10.37	0.09
误差	80.39	2	40.19		
总方差	9295.72				

注:设置C为空闲因子; $F_{0.05}(2,2)=19.0$, $F_{0.01}(2,2)=99.0$ 。

2.5 最优组合的品质验证

对正交实验所确定的最优组合进行品质测定,结果如表6所示,与未护色处理相比,最优组合护色处理的冻藏香蕉片V_c和可溶性固形物含量均有较大提高,可溶性糖和酸度变化不大,而脆性也有较大提高,这可能是氯化钙作用的结果。品质分析表明,最优护色剂组合既能够保持香蕉片原有的风味和品

表6 最优化组合与未经处理的冻藏香蕉片品质对照

Table 6 Comparison of optimization combination and untreated freezing-stored banana slice quality

处理	V _c 含量 (mg/100g)	可溶性固形物 (%)	可溶性糖含量 (%)	酸度 (%)	脆度
CK	4.70	12.2	8.87	0.31	较好
最优组合	7.50	15.2	8.63	0.32	好

质，并且能起到增加冻藏品脆度的作用。

3 结论与讨论

研究表明，L-半胱氨酸对冻藏香蕉片具有很好的抑制效果，这可能是因为L-半胱氨酸是一种具有生理功能的含硫氨基酸，其侧链上含有一个巯基(-SH)的缘故^[8]，而且L-半胱氨酸是组成蛋白质的20种氨基酸之一，是一种高效安全的PPO抑制剂，其在食品保鲜中的应用已有一些研究^[9-11]。L-半胱氨酸对PPO活性的抑制作用表现为与酶促褐变反应的中间产物醌生成稳定的无色物质，抑制了次级氧化和聚合反应，阻止了黑色素的生成^[12]。有关半胱氨酸对PPO的抑制作用机理的研究仍存在争论，目前有以下两种解释：第一种是硫醇类化合物可以结合酶活性中心的铜离子从而抑制酶的活力；第二种是硫醇类化合物可以在酶促反应过程中与生成的产物醌发生快速的非酶催化反应而结合形成一种稳定的无色化合物。通常认为起主要作用的是第二种可能^[13]。Richard等^[14]认为，L-半胱氨酸与酶促反应生成的产物结合生成的无色物质是PPO的竞争性抑制剂；Christine等^[13]的研究也肯定了L-Cys与酶蛋白发生结合的可能。

实验表明，热处理能够降低酶活性，处理时间越长，PPO失活越明显。陈乃富^[15]、田金辉^[16]研究也得到了相同结果。前人研究表明，PPO属非耐热酶，通常在60~70℃下很短时间内就会发生不可逆失活^[16]。李胜等^[17]研究表明，香蕉酱在80℃加热10s后，PPO活性损失50%，在90℃下加热10s后，PPO所剩活性不到1%，张勇等^[12]采用了沸水浴钝化处理对香蕉PPO褐变性质进行研究，发现热处理前5s及10~15s酶钝化较缓，5~10s较快，15~20s又减缓，过了20s基本没有PPO。由此可见，不同的热处理温度钝化PPO活性的所需的时间不同，即使是在100℃下也需要一段时间才能将PPO活性完全钝化。热处理温度和热处理时间的选择对钝化PPO活性起着至关重要的作用，本实验设置85℃热烫，发现热处理时间越长，冻藏香蕉片的品质越差。因此，在运用热处理方法钝化PPO活性时应根据保持果品原有风味和品质的要求对热处理温度和时间进行筛选，使热处理后的冻藏香蕉片在加工、冻藏及解冻过程的较长一段时间内不褐变，并保持理想的产品色泽、外观和口味。

正交实验结果表明，半胱氨酸对PPO活性的抑制效果具有极显著影响，其次是氯化钙。有研究表明，果实组织中维持较高的钙水平可以更长保持果实硬度，降低呼吸速率，抑制乙烯产生，促进蛋白质合成，减少冷害发生，从而延长果实贮藏寿命，提高果实商品价值。钙也影响果实的其他性质，如Vc含量、香味物质的产生等^[18]。通过正交实验最终选取能

够控制冻藏香蕉片褐变，并且能够保质增脆的最优组合为：0.1% L-半胱氨酸，0.05%异抗坏血酸，0.1%蔗糖和0.1%氯化钙。

参考文献

- [1] Mowlah G, Takono K, Kamoi I. Browning phenomenon by banana polyphenoloxidases[J]. Journal of Japanese Society of Food Science and Technology, 1983, 30(4): 245-251.
- [2] Montgomery M, WSgarbieri V C. Isoenzymes of banana polyphenoloxidase[J]. Phytochemistry, 1975, 14(4): 1245-1249.
- [3] 包海蓉,王华博.草莓冻藏过程中多酚氧化酶、过氧化物酶及维生素C的变化研究[J].食品科学,2005,26(8):434-436.
- [4] 张水华.食品分析实验[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [5] 李合生,孙群,赵世杰,等.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [6] 宁正祥,赵谋明.食品生物化学[M].广州:华南理工大学出版社,1995.
- [7] 匡银近.氯化钙浸果对草莓保鲜的生理效应[J].江西园艺,2001(1):17-18.
- [8] 陈敏元. L-半胱氨酸市场浅析[J].现代化工,1994(11):40-41.
- [9] Iyidogan N F, Bayindir A. Effect of L-cysteine, kojic acid and 4-hexylresorcinol combination on inhibition of enzymatic browning in Amasya apple juice[J]. J Food Engineering, 2004, 62: 299-304.
- [10] 石小琼,邓金星,钟清泉,等. L-半胱氨酸和琥珀酸2,2-二甲基酰肼在蘑菇保鲜上的应用[J].食用菌学报,2001,8(2):29-33.
- [11] 邱龙新,黄浩,陈清西.半胱氨酸对马铃薯多酚氧化酶的抑制作用[J].食品科学,2006,27(4):37-40.
- [12] 张勇,池建伟,温其标,等.香蕉多酚氧化酶褐变性质的研究[J].食品与发酵工业,2004,30(5):53-57.
- [13] Christine R, Florence R, Claude R, et al. A kinetic study of the inhibition of palmito polyphenol oxidase by L-Cysteine [J]. Int J Biochem Cell Biol, 1996, 28(4): 457-463.
- [14] Richard-Forget F C, Goupy G M, Nicolas J J. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning Kinetic studies[J]. J Agric Food Chem, 1992, 40: 2108-2113.
- [15] 陈乃富.热处理法钝化蕨菜多酚氧化酶活性的工艺条件研究[J].食品工业科技,2005,26(10):49-54.
- [16] 田金辉,许时婴,王璋.热烫处理对黑莓果汁营养成分和多酚氧化酶活力的影响[J].食品与发酵工业,2006,32(4):133-137.
- [17] 李胜,李枚秋.香蕉酱抗褐变的工艺研究[J].华南热带农业大学学报,2006,12(2):14-17.
- [18] 张承林.果品质与钙素营养[J].果树科学,1996,13(2):119-123.
- [12] Panagiotou N M, Krokida M K, Maroulis Z B, et al. Moisture diffusivity:Literature data compilation for foodstuffs[J]. International Journal of Food Properties, 2004, 7(2): 273-299.
- [13] Chirife J. Fundamentals of the drying mechanism during the air dehydration of foods[J]. Hemisphere Publishing Corp, 1983(2).

(上接第76页)

- 海参品质的改善[J].农业工程学报,2010(5):342-346.
[10] Babalis S J, Papanicolaou E, Kyriakis N, et al. Evaluation of thin-layer drying models for describing drying kinetics of figs (*Ficus carica*)[J]. Journal of Food Engineering, 2006, 75: 205-214.
[11] SC/3207-2000, 中华人民共和国水产行业标准—干贝[S].