

臭氧处理对猕猴桃汁酶活性的影响

李子龙, 罗安伟*, 桂海龙, 夏冉秋, 谌凯, 赵能

西北农林科技大学食品科学与工程学院 (杨凌 712100)

摘要 为探究臭氧处理对猕猴桃汁酶活性的影响, 对不同条件臭氧处理后猕猴桃汁中的主要酶活进行了比较研究。试验结果表明, 随着臭氧质量浓度和猕猴桃汁温度的升高, POD、PPO、CAT、SOD酶的活性都受到了显著抑制。高于或低于猕猴桃汁自然pH都会使果汁中这4种酶的活性受到较大抑制。在臭氧质量浓度为0.6 g/L, 果汁温度为35 °C, 猕猴桃汁自然pH时, 臭氧处理可抑制果汁中PPO酶的活性, 防止氧化褐变。

关键词 猕猴桃汁; 臭氧处理; 酶活性

Effect of Ozone Treatments on the Enzymatic Activities of Kiwi-fruit Juice

Li Zi-long, Luo An-wei*, Gui Hai-long, Xia Ran-qiu, Shen Kai, Zhao Neng

College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University (Yangling 712100)

Abstract In order to study the effect of ozone treatment on the enzymatic activities of kiwi-fruit juice, the enzymatic activities of kiwifruit juice treated by ozone were compared. The results showed that, as the ascending of ozone concentration and kiwi-fruit juice temperature, the enzymatic activities of PPO, POD, CAT and SOD was inhibited remarkably. Higher or lower the original pH value of kiwifruit juice being, the enzymatic activities would be inhibited greatly. In consideration of all the factors, the optimal conditions of ozone treatment were as follows: ozone concentration was 0.6 g/L, juice temperature was 35 °C, the original pH. Under the conditions, ozone treatment could inhibit the activity of PPO enzyme and prevent the kiwifruit juice oxidation and browning.

Keywords kiwi-fruit juice; ozone treatment; enzymatic activity

臭氧 (ozone, O_3) 是氧气的同素异形体, 常温下呈气态, 较易溶于水, 低质量浓度下无色, 有特殊臭味; 其化学性质活泼, 氧化能力极强, 具有广谱杀菌作用^[1]。臭氧的灭菌、消毒作用几乎是瞬时发生的, 在水中臭氧质量浓度在0.3 mg/L~2 mg/L时, 0.5 min~1 min内就可以致死细菌; 其杀菌速度较氯快300~600倍, 达到相同灭菌效果 (如使大肠杆菌杀灭率达99%) 所需臭氧水的剂量仅是氯的0.004 8%^[2]。同时, 臭氧又极不稳定, 常温下的半衰期约30 min~40 min, 因此消毒灭菌后无残留, 是可以对食品饮料直接消毒的一种杀菌剂^[3-4]。

到目前为止, 臭氧杀菌在食品工业中的应用主要还是纯净水的灭菌, 在果汁等其他液体饮料中的应用效果还有待研究^[5-10]。研究发现, 臭氧质量浓度达到0.6 g/L时, 可以全部杀灭猕猴桃汁中的细菌、霉菌、酵母和大肠杆菌, 杀菌效果明显。但其为非热杀菌, 是否能同时钝化果汁中的酶, 防止由酶引起的果汁的变色与氧化等品质劣变, 还不清楚。鉴于此, 对不同臭氧处理条件下猕猴桃果汁中的多酚氧化酶 (PPO)、过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD) 及过氧化氢酶 (CAT) 的活性变化进行了研究, 以期臭氧这一非热杀菌在猕猴桃汁加工中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猕猴桃: 秦美品种, 采收于陕西杨凌一盛果果园, 挑选大小匀称, 无机械伤、无病虫害果实, 预冷后贮藏于0 °C±1 °C冷库备用。

邻苯二酚, 愈创木酚, EDTA- Na_2 : 西安化学试剂厂; PVPP, Met: 上海盈元化工有限公司; NBT, 核黄素: 天津市化学试剂六厂; 盐酸, 氢氧化钠, 磷酸二氢钠, 磷酸氢二钠, 过氧化氢, 氯化钠: 西安化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

MP511 型榨汁机; pH计: 上海三信仪表厂; HQHT-0.Y 型臭氧发生器: 北京尚世华元环保科技有限公司; T-203 型电子天平: 北京赛多利仪器系统有限公司; UV2550 型分光光度计: 日本岛津; PK121R 型冷冻离心机: 意大利AIC公司。

1.3 试验方法

1.3.1 猕猴桃汁的制备

将猕猴桃鲜果清洗后, 榨汁, 分别用40目、60目、100目、200目的滤布过滤, 得到猕猴桃浑汁, 即为猕猴桃果汁样品。为了保证试验不受猕猴桃储藏时间的影响, 且所有试样中酶活性指标一致, 全部猕猴桃汁均一次制作完成。制备完成之后放置在0 °C条件

*通讯作者; 基金项目: 陕西省农业科技攻关项目 (2010K01-29-2), 西北农林科技大学大学生创新训练计划项目 (1210712139; 1310712073)

下保存备用。取适量猕猴桃汁作为对照样品,测定初始果汁POD、PPO、CAT、SOD酶的活性。

1.3.2 臭氧处理操作方法

取猕猴桃汁加入锥形瓶中,然后将带有爆气石的橡胶管通过锥形瓶塞中孔插入猕猴桃汁的底部,橡胶管另一头连接臭氧发生器。开启臭氧发生器,通入臭氧至要求质量浓度或要求处理时间后关闭臭氧发生器。臭氧发生器的臭氧产生能力为3 g/h。

1.3.3 臭氧质量浓度对猕猴桃汁酶活性的影响

分别在6个250 mL的锥形瓶中各加入250 mL猕猴桃汁,室温下开启臭氧发生器1 min, 2 min, 3 min, 4 min, 5 min, 10 min, 使其果汁中臭氧质量浓度分别达到0.2 g/L, 0.4 g/L, 0.6 g/L, 0.8 g/L, 1.0 g/L, 2.0 g/L, 关闭臭氧发生器后维持处理5 min再打开瓶塞,分别测定果汁的POD、PPO、CAT、SOD酶活性,确定不同臭氧质量浓度对猕猴桃汁酶活性的影响。

1.3.4 猕猴桃汁温度对臭氧处理后酶活性的影响^[11]

在6个250 mL的锥形瓶中分别加入温度为20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C, 50 °C的猕猴桃汁各250 mL, 每个样品均开启臭氧发生器5 min, 使果汁中臭氧质量浓度均达到1.0 g/L, 关闭臭氧发生器后维持处理5 min再打开瓶塞, 分别测定果汁的POD、PPO、CAT、SOD酶活性, 确定果汁不同温度下臭氧处理对酶活性的影响。

1.3.5 猕猴桃汁pH对臭氧处理后酶活性的影响

在6个250 mL的锥形瓶中各加入250 mL猕猴桃汁, 分别用柠檬酸或NaHCO₃将其pH调节至2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 于室温下开启臭氧发生器5 min, 使果汁中臭氧质量浓度均达到1.0 g/L, 关闭臭氧发生器后维持处理5 min再打开瓶塞, 分别测定果汁的POD、PPO、CAT、SOD酶活性, 确定臭氧处理对果汁酶活性的作用效果是否受果汁pH的影响。

1.3.6 测试指标与方法

PPO活性: 邻苯二酚法; POD活性: 愈创木酚法; SOD活性: 氮蓝四唑(NBT)比色法; CAT活性: 紫外吸收法^[12-13]。

1.3.7 数据处理

试验数据通过Excel软件进行处理, 分析。

2 结果与分析

2.1 臭氧质量浓度对猕猴桃汁酶活性的影响

不同质量浓度臭氧处理猕猴桃汁后, 其PPO, CAT, SOD, POD酶活性的变化见图1、图2。

从图1和图2中可以看出, 臭氧处理可以显著抑制猕猴桃汁中PPO、CAT及SOD酶的活性, 随着臭氧质量浓度的增大, PPO、CAT及SOD酶的活性均显著下降。未处理猕猴桃汁中PPO活性为0.001 27 U, 当臭氧质量浓度为0.2 g/L时, PPO的活性下降了34.65%, 臭

氧质量浓度达到1.0 g/L时, PPO活性下降了88.98%。质量浓度为1.2 g/L时, PPO的活性下降了92.13%, 与1.0 g/L时的活性相比, 只下降了3.15个百分点, 变化趋于平缓。从变化曲线看, CAT活性的变化稍缓于PPO, 未处理猕猴桃汁中CAT活性为0.001 05 U, 臭氧质量浓度为0.2 g/L时, CAT的活性为0.000 81 U, 下降了22.86%; 当臭氧质量浓度为1.0 g/L时, CAT的活性为0.000 22 U, 下降了79.05%。继续提高臭氧质量浓度到1.2 g/L时, CAT的活性下降不明显。臭氧处理也可以显著抑制猕猴桃汁中SOD的活性, 未处理猕猴桃汁中SOD活性为0.452 1 U, 臭氧质量浓度为0.2 g/L时, SOD的活性下降了24.46%, 臭氧质量浓度达到1.0 g/L时, SOD的活性下降了65.78%。当臭氧质量浓度为1.2 g/L时, SOD活性仍高达0.135 5 U。从图2可以看出, POD活性随臭氧质量浓度的增大而显著升高。未处理猕猴桃汁中POD活性为0.035 8 U, 当臭氧质量浓度为1.0 g/L时, POD的活性升高了138.55%, 达到0.085 4 U。当臭氧质量浓度为1.2 g/L时, POD的活性为0.087 U, 与1.0 g/L时的活性相比只上升了4.5个百分点, 活性上升趋于平缓。

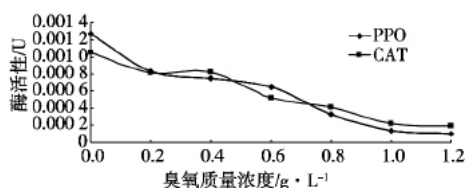


图1 臭氧质量浓度对PPO、CAT酶活性的影响

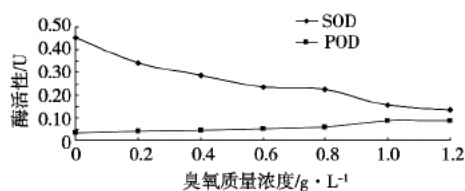


图2 臭氧质量浓度对SOD、POD酶活性的影响

臭氧处理在有效的对猕猴桃汁进行非热杀菌的同时, 还可以显著钝化果汁中的PPO、SOD及CAT酶, 可使PPO活性降低92%, CAT活性下降80%, SOD活性下降65%, 但在试验质量浓度范围内不能完全钝化这三种酶, 由PPO引起的少量氧化褐变仍会发生。与这三种酶相反的是, POD活性随臭氧质量浓度增加而显著升高, 这又有利于保护作用的加强, 防止氧化和过氧化物的积累。

2.2 猕猴桃汁温度对臭氧处理后酶活性的影响

不同温度的猕猴桃汁经臭氧处理后, POD、PPO、CAT、SOD酶活性的变化分别见图3、图4。

从图3可以看出, 随着温度的升高, PPO的活性逐渐下降。在30 °C时, 其活性由20 °C时的0.010 4 U降低到0.00 482 U, 下降了50.7%, 但在35 °C之后,

变化趋于平缓；在试验温度范围内，PPO不能被灭活。随着温度的升高，CAT的活性缓慢升高，但变化不显著。从图4可看出，随着温度的升高，POD酶的活性先升高后降低，由初始的0.259 4 U升高到35 °C时0.308 5 U，提高了18.9%，说明在35 °C之前，温度对POD活性有促进提升作用，达到40 °C就开始抑制其活性了。同样，SOD的活性随着温度的升高而升高，35 °C时达最高，之后变化趋于平稳而略有下降。

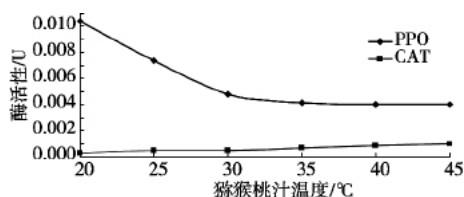


图3 猕猴桃汁温度对PPO、CAT酶活性的影响

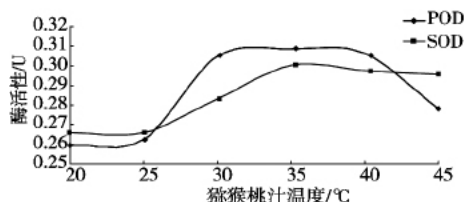


图4 猕猴桃汁温度对SOD、POD酶活性的影响

在试验温度范围内，臭氧处理后猕猴桃汁中CAT、SOD、POD三种保护性酶的活性均随着温度的升高而表现出活性增强的变化趋势；而PPO酶的活性则受到较好的抑制，因此对于猕猴桃汁的酶促氧化褐变等不良变化有一定的抑制作用。从酶活性的大小而言，以35 °C的猕猴桃汁进行臭氧处理效果较好。

2.3 猕猴桃汁pH对臭氧处理后酶活性的影响

对不同pH的猕猴桃汁臭氧处理后，其POD、PPO、CAT、SOD酶活性的变化见图5、图6。

从图5和图6可知，随着猕猴桃汁pH的升高，POD、PPO、CAT、SOD的活性均呈先升高后下降的趋势，其中变化显著的是POD和CAT酶，SOD和PPO酶活性变化相对较小。在猕猴桃汁自然pH时（pH 3.77），PPO、POD和SOD酶活性最大，低于或高于该pH，酶活性都会受到抑制，且pH越低，酶失活越剧烈；高于自然pH，臭氧处理对这三种酶活的抑制效果不显著。果汁CAT酶在pH 4.0时活性最大，此后活性急剧降低，到pH 6时，酶活性与pH 2时的活性基本相当。

果汁pH的变化对PPO、POD和CAT的活性影响比较大，可使其活性分别提高22.4倍，2.1倍和增加31.85%；对SOD酶的活性影响不显著。由此可见，在臭氧处理时，低pH的果汁对酶活性的抑制更有利。因猕猴桃汁的氧化主要由PPO酶引起，而POD、SOD和CAT是保护性酶，对氧化产物的分解和自由基清除有利，因此，就果汁pH对酶活的影响而言，臭氧处理

时，选择果汁自然pH更为简便且有效。

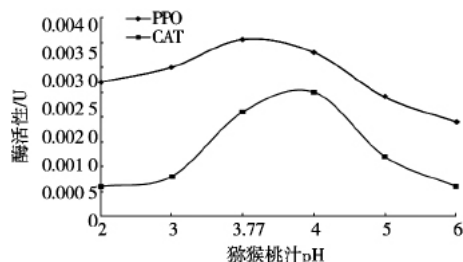


图5 猕猴桃汁pH对PPO、CAT酶活性的影响

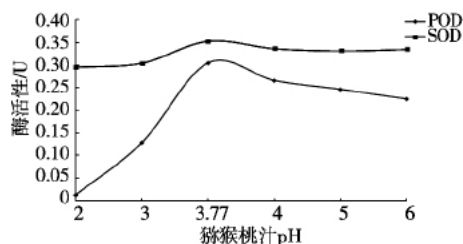


图6 猕猴桃汁pH对POD、SOD活性的影响

3 结论

臭氧处理猕猴桃汁对POD、PPO、CAT、SOD酶的活性均有显著影响。结合臭氧处理时的杀菌效果和PPO酶活性的变化，在臭氧质量浓度为0.6 g/L，果汁温度为35 °C，维持猕猴桃汁自然pH时，臭氧处理的效果最好，可较好的抑制PPO酶的活性，防止果汁氧化褐变。

参考文献：

- [1] 沈群, 王群. 臭氧的特性及其应用[J]. 食品科技, 2002(6): 70-71.
- [2] 邱静, 方艳. 两种方法评价臭氧水杀菌效果[J]. 中国消毒学杂志, 2007, 24(6): 99-102.
- [3] 陈颖, 仇农学. 臭氧对耐酸耐热菌作用的研究[J]. 食品工业科技, 2004(1): 28-32.
- [4] 宿秀艳. 臭氧对微生物杀菌作用的初步研究[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(2): 29-33.
- [5] 杨家蕾, 董全. 臭氧杀菌技术在食品工业中的应用[J]. 食品工业科技, 2009, 30(5): 116-120.
- [6] 王玉军. 食品加工中的非热杀菌技术[J]. 粮油科技, 2009(6): 77-80.
- [7] 林向阳, 阮裕生, 白松, 等. 非热杀菌在食品中的应用[J]. 农产品加工, 2005(32): 66-69.
- [8] 张志国. 应用在食品工业中的臭氧消毒灭菌技术[J]. 食品科技, 2000(30): 57-58.
- [9] 李翠莲, 黄中培, 方北曙. 臭氧杀菌消毒技术在食品工业中的应用[J]. 湖南农业科学, 2008(4): 119-121.
- [10] 王启军, 何国庆. 臭氧技术及其在食品加工中的应用[J]. 粮油加工与食品机械, 2002(01): 45-49.

酶法制备甘薯抗性淀粉工艺优化研究

朱木林, 叶成宇, 陆国权

浙江农林大学农业与食品科学学院 (临安 311300)

摘 要 采用普鲁兰酶对甘薯淀粉进行脱支处理, 制备甘薯抗性淀粉, 并在单因素试验基础上进行了正交试验, 结果得出最佳制备工艺条件为: 普鲁兰酶用量240 ASPU/g、淀粉乳含量10 g/100 g、脱支时间72 h、反应温度55 °C、-20 °C下凝沉48 h, 并在该条件下甘薯抗性淀粉的含量为35.23%, 与国内甘薯抗性淀粉制备得率相比有较大提高。

关键词 甘薯淀粉; 抗性淀粉; 普鲁兰酶; 工艺

Research on Enzymatic Production of Sweet Potato Resistant Starch Process Parameters Optimization

Zhu Mu-lin, Ye Cheng-yu, Lu Guo-quan

Agricultural and Food Science Institute of Zhejiang A & F University (Lin'an 311300)

Abstract The pullulan enzyme was used for sweet potato starch debranching in order to make resistant starch. The orthogonal experiment was performed on the basis of single factor experiment. The results showed that best technological condition as follows: pullulan enzyme adding amount 240 ASPU/g, dry starch quality score 10 g/100 g, debranching processing time 72 h, pullulan enzyme action temperature 55 °C, at the temperature of -20 °C retrogradation 48 h. Under the condition, the content reached 35.23% and improved greatly compared with sweet potato preparation of resistant starch yield in our country.

Keywords sweet potato starch; resistant starch; pullulan enzyme; process

抗性淀粉(RS)是指在健康小肠内不能被消化, 但在大肠中能部分发酵或完全发酵的淀粉或淀粉降解物^[1]。根据抗性淀粉的加工方式, 改性淀粉又可以分为物理改性、化学改性、酶改性淀粉、基因或生物技术改性淀粉^[2]。在功能特性方面, 已有研究表明抗性淀粉具有促进肠道蠕动、防止便秘、增加有益菌群数量、促进维生素和矿质元素的吸收及降低心血管疾病发病率等作用^[3-8]。

甘薯在我国有悠久的栽培历史, 且我国甘薯种植面积和产量位居世界第一, 2011年甘薯淀粉产量高达1亿 t, 占据世界总量的80%^[9], 但对其产后加工和潜在价值的开发方面仍然处于初级水平。因而, 需要寻求新途径来提高甘薯淀粉资源利用率和经济效益。目前, 国内对与甘薯抗性淀粉的制备研究还较少, 且抗性淀粉得率较低。

因此, 为提高甘薯抗性淀粉的得率, 以优良甘薯品种淀粉为原料, 进行酶法制备甘薯抗性淀粉工艺研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设备

甘薯淀粉: 食品级, 实验室自制; 冰乙酸、乙酸、乙醇等: 分析纯, 天津市永大化学试剂有限公司; 氢氧化钾、氢氧化钠、氯化钙: 分析纯, 西陇化工股份有限公司; 叠氮化钠、顺丁烯二酸: 阿拉丁试剂(上海)有限公司; 普鲁兰酶(1 000 ASPU/mL, 食品级): 江苏锐阳生物科技有限公司; 抗性淀粉试剂盒: 分析纯, 爱尔兰Megazyme公司。

数显水浴恒温振荡器: 常州普天仪器制造有限公司; 电子恒温不锈钢水浴锅: 上海宜昌仪器纱筛厂; 涡旋混合器: VOSHIN-无锡沃信仪器有限公司; PHS-3C 型pH计: 上海精密科学仪器有限公司; 电子分析天平: 丹佛仪器(北京)有限公司; C-MAG HS4 恒温磁力搅拌器: 德国IKA集团公司; 752PC 型紫外可见分光光度计: 上海光谱仪器有限公司。

1.2 试验方法

[11] 王芳, 刘育京. 有机物, 酸碱度, 温度对臭氧水杀菌效果影响的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2000(05): 118-122.

[12] 高春燕, 田呈瑞, 陈颖. 臭氧处理对苹果汁某些理化性质的影响[J]. 食品工业科技, 2004(12): 35-40.

[13] SMILANICK J L, MARGOSAN D M, MLIKOTA F, et al. Impact of ozonated water on the quality and shelf-life of fresh citrus fruit, stone fruit and table grapes[J]. Ozone Science and Engineering, 2002(24): 343-356.