

苹果汁的前褐变及苹果 PPO 的部分特性研究

范明辉 王 森 尹少谦 顾国元

(江南大学食品学院,无锡,214036)

摘 要 苹果汁贮藏过程中色泽加深、色值和透光率不稳定是苹果汁生产中普遍存在的问题,文中尝试采用苹果自身的 PPO 进行前褐变反应,以减少果汁中的酚类化合物,防止后期褐变。研究表明,果汁经 30℃ 前褐变反应 40 min 后,总酚质量含量可下降约 30%,可溶性固形物质量分数提高了 2.8%,常温下贮藏 3 个月后,色值和透光率基本保持不变,明显地改善了苹果汁的质量指标。同时,文中还探讨了 PPO 的最适 pH 值、最适反应温度及其 pH 稳定性、热稳定性等性质。

关键词 多酚,多酚氧化酶,前褐变,色值,透光率,可溶性固形物

PPO(polyphenol oxidase, EC 1.14.18.1)是一种广泛分布在植物体中含二价铜的氧化还原酶,催化单元酚脱氢生成邻-二元酚和邻-醌,反应性强的醌再进一步相互之间或与氨基酸、蛋白质反应,生成有色物质^[1]。PPO 易导致果蔬加工、运输过程中的有害褐变,关于 PPO 的研究多集中在同分异构体、分子量、催化特性、等电点、专一性和疏水性^[2,3]。本文则主要探讨与果汁生产密切相关的苹果 PPO 的性质研究。

果汁色泽是判断果汁质量重要的常规指标之一,色值和透光率作为衡量苹果浓缩清汁产品质量高低的 2 项最重要的理化指标^[4,5],所以控制褐变显得尤为重要。在我国现行的苹果汁的生产中常常出现随着果汁存放时间的延长,果汁色泽加深的现象,这使产品的稳定性受到了一定影响。多酚氧化酶和酚类物质是引起苹果汁褐变的主要因素,如何控制褐变以提高果汁的色值、透光率等指标是目前果汁行业亟待解决的问题。另有研究表明,酚类物质还与果汁的后混浊及二次混浊有很大关系^[6,7]。所以,适当的除去果汁中的一些酚类物质对于提高苹果汁品质很有必要。苹果榨汁后剩余的苹果渣仍含有大量的 PPO,苹果渣可看作 PPO 的天然固定化载体。本文通过在果汁的澄清以前,利用 PPO 对果汁进行前褐变反应,将其中的酚类物质适当的转化除去,拟从根本上解决果汁色泽的稳定问题。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设备

精品红富士(市售)、果胶酶(3 万 u/g,无锡酶制

剂厂),其他所用试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 PPO 的提取及酶活的测定

苹果去核后按固液比(g:mL)1:4 与 -18℃ 冷冻丙酮混合打浆并快速抽滤,冷风吹干。将制得的丙酮粉溶于 0.01 mol/L、pH 6.5 磷酸盐缓冲液,用干酪布粗滤,静置过滤,所得滤液即为粗酶液, -4℃ 保存。酶活测定以 0.03 mol/L 邻苯二酚为底物,反应体系包括 1 mL 底物与 2 mL pH 6.5、0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液,30℃ 预热,加入 0.3 mL 粗酶液,反应 3 min,420 nm 波长下测定体系吸光值。

酶活定义:在测定条件下,反应体系吸光值每分钟变化 0.001 为一个酶活单位。

1.2.2 最适 pH 及 pH 稳定性的测定

测定 pH 4.0~8.0 之间粗酶液的活性,绘制 PPO 活性-pH 曲线。酶液 1:3(体积比)混合于不同 pH 值的缓冲液中,不同时间测定各 pH 条件下的残余 PPO 活性。

1.2.3 最适反应温度及热稳定性的测定

选择不同温度下测定粗酶液活性,绘出 PPO 活性-温度曲线,考察 PPO 的最适反应温度。将酶液置于某一温度的水浴中,每隔一段时间取出测其残余 PPO 活性。

1.2.4 苹果汁的制备

苹果去核、称重后按质量比 1:1 加水快速打浆,干酪布粗滤,所得原始果汁平均分为若干份,苹果渣以每份果汁质量的 1:10 量添加(对照组不添加)。空白对照加果胶酶,放入恒温水浴反应 2 h。试验组在适当的温度下进行前褐变反应若干时间后再酶解澄清,方法同空白对照。经酶解后再抽滤得到澄清的果汁,常温贮藏。

第一作者:硕士研究生(王森为责任作者)。

收稿日期:2004-10-08,改回日期:2005-03-23

1.2.5 前褐变反应

果汁澄清之前添加质量比 1/10 的苹果渣或提取的粗酶液,恒温水浴一段时间。选择不同温度试验苹果渣中 PPO 的前褐变效果。同一温度组内,控制前褐变的反应时间,考察时间对前褐变效果的影响。

1.2.6 澄清

添加 0.1% 的果胶酶, 50℃ 酶解 2h 后抽滤。所得澄清苹果汁常温贮藏。

1.2.7 总酚含量的测定

总酚含量标准曲线的制作参照 Folin-Ciocalten 比色法^[8]。

1.2.8 可溶性固形物含量

按 GB/T 12143.1—1989 的方法测定。

1.2.9 色值和透光率^[9]

分光光度法,用 1cm 比色皿,以蒸馏水为参比,分别在 440、625 nm 波长下测定其透光率。

2 结果与讨论

2.1 pH 对 PPO 活性和稳定性的影响

为了选择酶作用的最适条件,本文对 PPO 的部分性质进行了研究。pH 是影响酶活力的重要因素,酶的来源、苹果的品种、酶的提取分离方法、测定时所采用的底物和缓冲液等因素都会影响酶作用的最适 pH。从图 1 可以看出,该苹果的多酚氧化酶对温度比较敏感的,pH 值从 4.5 变化至 6.0 的过程中,PPO 的活性呈逐渐增加的趋势,在 pH 5.0 左右变化较慢,造成这种现象的原因可能是存在同功酶。Rocha 和 Morais^[10]在研究“Jonagored”苹果中的多酚氧化酶时,发现其存在 2 个最适 pH,一个在 pH 5.0 左右,另一个在 pH 7.5。研究表明,苹果中不同部位和细胞器中的 PPO 的最适 pH 是不同的^[11]。

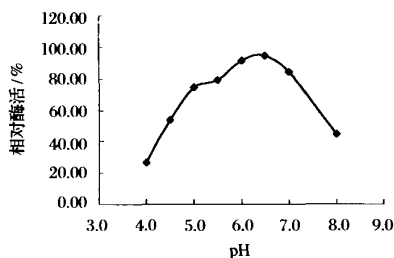


图 1 pH 对 PPO 的活性影响

PPO 的 pH 稳定性研究表明,它在其最适 pH 附近显示出较高的稳定性,在 pH 6.5 的条件下,于冰浴中放置 5 h 后,PPO 相对原始活性仍保留 89.29%,

在偏离最适 pH 较远的极端条件下,即使是在冰浴中多酚氧化酶也比较容易失活(见图 2-a)。比如,在 pH 2.0 的缓冲液中于冰浴中放置 5 h 后,PPO 相对原始活性仅剩 11.96%。同时图 2-b 研究结果显示,在冰浴中,体系 pH 值为 4 左右时,苹果多酚氧化酶不但稳定而且有被激活的现象。

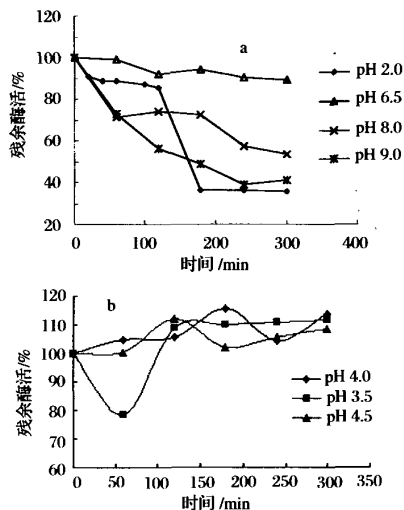


图 3 PPO 的 pH 稳定性

2.2 温度对 PPO 活性和稳定性的影响

对于一个酶反应来讲,温度的影响至关重要的。从图 4 的试验结果可以看出,以邻苯二酚为底物时,在温度为 20℃ 时,酶提取液的 PPO 活性达到最高值,当温度达到 40℃ 时,酶活仅为最高值的 75.92%。底物和品种来源不同会对 PPO 的最适温度产生较大影响,根据有关报道^[12],以绿原酸为底物时,多酚氧化酶活性在 25℃~30℃ 之间达到最高值。

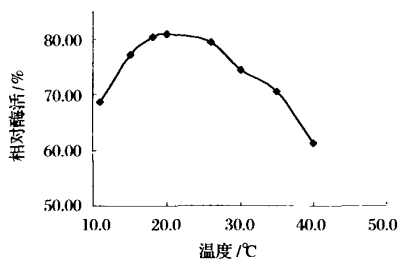


图 4 温度对 PPO 的活性影响

图 5 和图 6 是 PPO 热稳定性试验结果,从中可以看出,多酚氧化酶耐热性不强,在 90℃ 处理 1 min,残余酶活仅为 4.66%,在 70℃ 在处理 9 min,可使酶活损失近 50%。热处理最初一段时间内,PPO 活性呈现出上升趋势,存在酶被高温瞬时激活的现象。

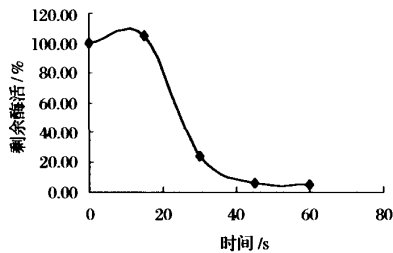


图5 90℃时 PPO 的热稳定性

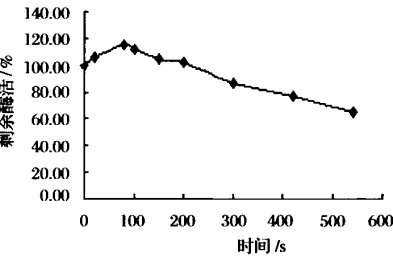


图6 70℃时 PPO 的热稳定性

2.3 前褐变对总酚含量的影响

PPO和酚类物质是引起苹果汁褐变的主要因素,通过 PPO 与多酚类物质的前褐变反应,适当的去除特定的多酚类物质是一条控制褐变的有效途径。由图 7 可以看出,苹果汁经过前褐变其中的总酚含量趋于下降,在反应的前 20 min 内,总酚含量下降的幅度很大,下降速率较快。25℃ 和 30℃ 的减少最为明显,总酚质量百分含量分别减少了 20.6% 和 22.5%; 40℃ 和 45℃ 组的总酚质量含量减少的最少,分别为 17.3% 和 14.5%。从 40 min 开始,曲线趋于平缓,前褐变反应的速率较小。对于 40℃ 组的曲线略微上升现象,则可能是添加的苹果渣中的酚类在长时间的与果汁混合过程中溶解其中的缘故。但总体上看,不管在哪个温度下反应,总酚含量均在经过一段时间后趋于稳定,说明在此反应条件下苹果汁中特定的酚类物质已反应完全。

苹果渣中的 PPO 含量固然丰富,但其重复使用

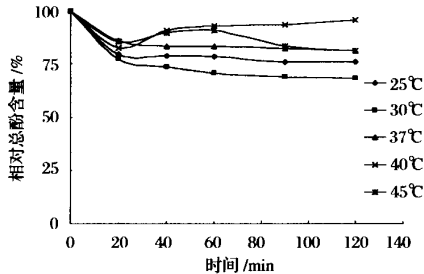


图7 苹果渣前褐变反应时间-总酚含量趋势图

性较差,长期反复进行前褐变反应易腐易霉,微生物滋生影响产品质量。将苹果或果渣中的 PPO 提取出来,再添加到果汁中进行前褐变反应,则可以解决这个问题。图 8 是 PPO 粗酶液 30℃ 前褐变总酚含量随时间的变化趋势图。与图 7 相比,总酚含量下降明显加快,且下降幅度很大,当反应进行至 40 min,总酚质量含量已降至对照的 66.7%,变化了 33.3%。反应 90 min 时,总酚质量减少了 44.2%,除酚的效果明显。

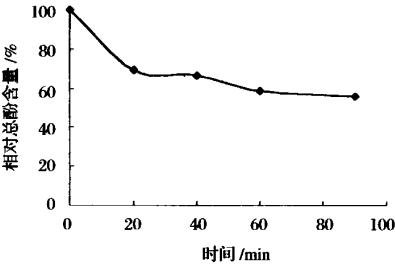


图8 粗酶液前褐变反应时间-总酚含量趋势图

2.4 前褐变对可溶性固形物含量的影响

苹果汁的其中一个质量指标是可溶性固形物的含量,结果如表 1 所示。表 1 可以看出,经果渣前褐变反应后的苹果汁中的可溶性固形物含量上升。前褐变过程中苹果渣较长时间与果汁接触,苹果渣中的果胶等成分在果渣中相应酶的作用下水解成可溶性的物质,从而提高了果汁中的固形物含量。

表 1 前褐变反应对苹果汁可溶性固形物含量的影响

前褐变 时间 /min	前褐变温度/℃				
	25	30	37	40	45
	可溶性固形物(°Brix)				
0	7.0	7.2	7.4	6.2	6.9
20	7.2	7.4	7.6	6.5	7.3
40	7.3	7.4	7.6	6.6	7.3
60	7.3	7.6	7.6	6.6	7.4
90	7.3	7.6	7.6	6.6	7.4
120	7.4	7.6	7.6	6.6	7.4

2.5 前褐变反应对色值和透光率的影响

从前褐变反应与总酚含量的关系中选择出总酚去除效果较好的一组,综合考虑到试验时间、可溶性固形物含量,选择 30℃、40 min 的前褐变进行试验。前褐变反应对苹果汁色值和透光率的影响数据如表 2 所示。试验表明,对照组 3 个月后色值从 53.0 增加到 69.6,经前褐变反应的苹果汁,其色值和透光率较稳定,基本上没有变化。

表 2 30℃、40 min 前褐变反应对苹果汁色值和透光率的影响

	0 个月		2 个月		3 个月	
	色值	透光率	色值	透光率	色值	透光率
	(440 nm)	(625 nm)	(440 nm)	(625 nm)	(440 nm)	(625 nm)
对照组	53.0	98.2	69.2	98.4	69.6	99.1
前褐变组	73.2	100	75.9	100	74.7	100

3 结 论

从富士苹果中提取的 PPO 最适 pH 为 6.5 左右, PPO 最适温度为 20℃。PPO 耐热性不强,在 90℃ 下处理 1 min 左右即可使 95% 以上的酶失活。pH 4.0 左右的环境对该酶有激活作用。苹果汁经 30℃ 前褐变反应 40 min 后,总酚质量含量可下降约 30%,可溶性固形物质量分数提高了 2.8%,常温下贮藏 2 个月后,色值和透光率基本保持不变,明显地改善了苹果汁的质量指标,褐变、色值和透光率不稳定等问题得到了较好的解决。

参 考 文 献

- 1 Nagai T, Suzuki N. Polyphenol oxidase from bean sprouts (*Glycine max.* L) [J]. J of Food Sci, 2003, 68(1): 16~20
- 2 De Fátima Pereira Goulart, Patricia. Purification of polyphenoloxidase from coffee fruits [J]. Food Chem, 2003, 83: 7~

11

- 3 Nagai T, Suzuki N. Partial purification of polyphenol oxidase from Chinese cabbage *Brassica rapa* L. [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 3 922~3 926
- 4 Beveridge T. Clarified natural apple juice: Production and storage stability of juice and concentrate [J]. J of Food Sci, 51(2): 411~433
- 5 Constenla D. Effect of ultrafiltration on concentrated apple juice color and turbidity [J]. J Food Sci Tech, 1995, 30 (1): 23~26
- 6 Spanos G A. Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage—A review [J]. J Agric Food Chem, 1992, 40: 1 478~1 487
- 7 Brigida Femendez de Simon. Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices [J]. J Agric Food Chem, 1992, 40: 1 531~1 535
- 8 罗平编著. 饮料分析与检验[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1992.603~604
- 9 陕西省地方标准·浓缩苹果清汁.DB61-293—2001
- 10 Rocha A M C N, Morais A M M B. Characterization of polyphenoloxidase(PPO) extracted from 'Jonagored' apple [J]. Food Control, 2001, 12(2): 85~90
- 11 无锡轻工业学院编. 食品酶学[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1990
- 12 Pedro Wesche-Ebeling, Morris W. Montgomery. Strawberry Polyphenoloxidase: Extraction and Partial Characterization [J]. Journal of Food Science, 1990, 55(5): 1 320~1 324

Study on Artificial Browning Reaction of Apple Juice Properties of Apple PPO

Fan Minghui Wang Miao Yin Shaoqian Gu Guoyuan

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi, 214036, China)

ABSTRACT Phenomena of color growing, color value and clarity instability are the common problems in the apple juice processing and the storage. The artificial browning reaction related with apple PPO was attempted to reduce the content of phenolic compounds and to prevent juice subsequent browning. Results showed that the content of total phenol was reduced about 30% and the content of soluble solid was increased 2.8% in apple juice after artificial browning. The properties of apple juice were improved obviously with almost no changes on the color value and clarity. The properties on the optimal pH and temperature as well as pH stability and thermobility of apple PPO were also studied.

Key words polyphenol, polyphenol oxidase, artificial browning, color value, clarity, soluble solid

行业
动态

德国海思亚包装设备加工中心在南京启动

德国海思亚公司日前宣布,该公司在中国南京的生产基地建设已经启动,预计由德国设计,中国制造的热成型塑杯包装机将于 2006 年初投放中国内地及海外市场。在过去的几年中,伴随中国乳品工业的飞速发展,海思亚的塑杯包装机在中国市场取得了很大成功。目前已有近 30 台大型设备在国内运转,占全国同类进口设备约 90% 的市场份额。海思亚在中国投资建厂可以使设备价格大幅降低,售后服务及技术支持更加快捷有效,大幅提高企业竞争力。生产的本地化将为海思亚与中国乳品工业的密切合作开创更加广阔的前景。