

芦荟制品的酶促褐变及其控制措施

(江南大学食品学院, 无锡 214036) 钱和 刘长虹 张添

摘要 分析了芦荟制品酶促褐变机理,研究了加工过程、pH、温度、贮存时间等因素对芦荟制品酶促褐变的影响,总结了控制芦荟制品酶促褐变的主要方法,如热处理、酸处理、亚硫酸盐或其它化学试剂处理、隔绝或除去氧气等。

关键词 芦荟 酶促褐变 温度 pH 贮存时间 控制措施

Abstract The mechanism of enzymatic browning of Aloe product was analyzed. The factors which affect enzymatic browning, for example, process, pH, temperature, stockpile time, and so on, were studied. The mostly methods, which include heat treatment, acid treatment, sulphite and other chemicals treatments, isolation or removing oxygen methods, were discussed.

Key words Aloe; enzymatic browning; temperature; pH; stockpile time; controlling measure

中图分类号: TS207.7 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2002)10-0036-04

芦荟制品褐变问题一直是芦荟研究者和加工者极为关注的焦点。芦荟作为一种特殊的保健食品,要求加工过程中尽量避免热处理,这就为防止酶促褐变带来了一定困难。另一方面,由于不了解酶促褐变对整个芦荟制品褐变影响的大小,在防止褐变过程中很难对症下药,采取有效措施。本文通过对芦荟制品酶促褐变机理的探讨,找出影响芦荟制品酶促褐变的主要因素,分析酶促褐变对总褐变指数的贡献,研究控制芦荟制品酶促褐变的有效措施。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

芦荟鲜叶 由无锡荟皇生物科技有限公司提供;其它试剂 均为食品级。

721 分光光度计,组织捣碎机,FA1104 电子天平,DC82 型隔水式电热恒温培养箱,pHS-3C 型精密 pH 计等。

收稿日期: 2002-04-18

作者简介: 钱和(1962-),女,教研室主任,研究方向:食品品质控制,保健食品资源开发。

1.2 实验方法

1.2.1 褐变指数的测量方法^[1] 用芦荟凝胶汁在 420nm 下的吸光度表示产品的褐变指数,其值越大,说明褐变越严重。测量时用蒸馏水作为空白。

1.2.2 芦荟凝胶汁的防腐处理 在芦荟凝胶汁中加入 0.08% 苯甲酸钠以防止其在贮存过程中腐败变质。

1.2.3 多酚氧化酶的钝化 将芦荟凝胶原汁于 100℃ 下热处理 5min^[2],即可使其中多酚氧化酶钝化。

2 结果与讨论

2.1 芦荟的酶促褐变

芦荟中含有二十多种多酚类化合物、包括铜在内的十多种矿物质以及多酚氧化酶,为芦荟加工及贮存过程中的酶促褐变提供了物质基础。但是在完整的芦荟组织中,酚类物质与酚酶呈隔离分布状态,同时,酚类物质作为呼吸传递物质参与呼吸代谢作用,酚与醌之间的氧化与还原处于动态平衡状态,因此,完整的芦荟组织不会发生酶促褐变。但是,当芦荟细胞组织受到机械损伤(如削皮、碰压、切开等)或处于异常环境变化(冷或热)时,正常的呼吸链被打破,其组织内氧化与还原反应失去平衡,再加上氧气大量入侵,结果导致原料中的酚类化合物在酚酶的作用下迅速氧化成邻醌,进而又快速聚合,形成褐色素或黑色素,导致褐变。

2.2 影响酶促褐变的因素

2.2.1 去皮、切块或打浆时间对酶促褐变的影响 去皮、切块或打浆是一个彻底破坏芦荟植物组织的过程,在这一过程中,一方面使相互分离的酚类底物(葱醌类物质)与酚酶接触,为酶促褐变创造了条件;另一方面,由于芦荟叶片中芦荟凝胶的粘度很高,在长时间搅打过程中极易产生大量泡沫,从而使体系的通氧量大大增加,促进氧化褐变;同时,如果打浆时间太长,打浆机的机械能将部分转化成热能,其结果导致芦荟凝胶汁升温,酶促褐变反应速度加快。

去皮、切块对芦荟植物的破坏程度没有打浆过

程那样严重,因此,在一定时间内,其酶促褐变现象一般不十分明显,但是,实践证明,要得到高质量芦荟凝胶制品,打浆过程中的酶促褐变不容忽视。为了研究打浆时间对褐变的影响,测定了芦荟凝胶褐变指数随打浆时间的变化情况,实验结果见表1。由表1可知,打浆时间越长,褐变指数越高,说明打浆过程中确实发生了酶促褐变,且该反应随着打浆时间的延长而加剧。

表1 打浆时间对酶促褐变的影响

打浆时间(min)	5	10	15
褐变指数	0.084	0.090	0.117

2.2.2 pH对褐变的影响 为了研究pH对芦荟酶促褐变反应的实际影响,设计了以下两组实验。A组由12只无菌瓶组成,每只无菌瓶中含有50ml经过防腐处理的芦荟凝胶汁,根据pH的不同将其均分为四小组,用于研究pH对总褐变(酶促褐变和非酶褐变结果之和)指数的影响;B组也由12只无菌瓶组成,每只无菌瓶中含有50ml经过防腐处理和灭酶处理的芦荟凝胶汁,根据pH的不同将其均分为四小组,用于测定不同pH对非酶褐变的影响。A、B两组实验结果之差为酶促褐变产生的褐变指数,其占总褐变指数的百分率 $[(A-B)/A(\%)]$ 表示酶促褐变对总褐变指数贡献的大小。

四小组样品的pH分别为3.0、3.5、4.0、4.8(自然

pH),用柠檬酸调pH。两组样品均置于37℃恒温培养箱中,期间每隔一定时间测定样品的褐变指数,取平均值,实验结果总结于表2。

由表2可知,pH是影响酶促褐变的重要因素,在pH3.0~4.8范围内,酶促褐变对总褐变指数的贡献显然低于非酶褐变,pH越高 $(A-B)/A(\%)$ 之值越高,酶促褐变对总褐变指数的贡献越大;体系pH>3.5,酶促褐变对总褐变指数的贡献变化幅度不大;体系pH3.0时,酶促褐变对总褐变指数的贡献随着时间的延长而大幅度下降,这一现象可能是体系中酚酶逐渐失活所致。因为植物中多酚氧化酶的最适pH一般在5.0~7.0左右,随着pH的下降,多酚氧化酶的活性直线下降,特别在pH在3.0以下时,高酸性环境会使酶蛋白上的铜离子解离下来,导致PPO逐渐失活,酶活性趋于最低^[3]。

2.2.3 温度对酶促褐变的影响 不论是酶促褐变,还是非酶褐变,温度都是影响反应速度的重要因素,因此,有必要研究温度对芦荟凝胶汁酶促褐变反应的影响。取18个无菌瓶并将其均分为两组。A组无菌瓶中加入50ml经过防腐处理的芦荟凝胶汁(自然pH),用于研究温度对总褐变(酶促褐变和非酶褐变结果之和)指数的影响;B组无菌瓶中加入50ml经过防腐处理和灭酶处理的芦荟凝胶汁(自然pH),用于测定温度对非酶褐变的影响。每组实验中各有三瓶样品置于室温下(25℃)贮藏,三瓶置于37℃恒温培

表2 pH对酶促褐变的影响

pH	褐变指数	贮存时间(周)					
		0	1	2	3	4	5
3.0	A	0.078	0.109	0.115	0.140	0.160	0.173
	B	0.078	0.095	0.110	0.137	0.157	0.170
	$(A-B)/A(\%)$	—	12.8	4.35	2.14	1.88	1.73
3.5	A	0.078	0.127	0.168	0.197	0.219	0.230
	B	0.078	0.110	0.145	0.171	0.190	0.201
	$(A-B)/A(\%)$	—	13.8	13.7	13.2	13.2	12.6
4.0	A	0.078	0.168	0.237	0.263	0.288	0.308
	B	0.078	0.125	0.175	0.197	0.226	0.240
	$(A-B)/A(\%)$	—	25.6	26.2	25.1	21.5	22.1
4.8	A	0.078	0.200	0.273	0.326	0.365	0.383
	B	0.078	0.127	0.177	0.221	0.259	0.276
	$(A-B)/A(\%)$	—	36.5	35.2	32.2	29.0	27.9

表3 温度对酶促褐变的影响

温度(℃)	褐变指数	贮存时间(周)					
		0	1	2	3	4	5
4	A	0.094	0.116	0.127	0.132	0.143	0.149
	B	0.094	0.107	0.118	0.124	0.135	0.141
	$(A-B)/A(\%)$	—	7.76	7.09	6.06	5.59	5.37
25	A	0.094	0.190	0.237	0.264	0.298	0.312
	B	0.094	0.135	0.176	0.200	0.248	0.260
	$(A-B)/A(\%)$	—	28.9	25.7	24.2	20.1	16.7
37	A	0.094	0.257	0.312	0.358	0.412	0.440
	B	0.094	0.149	0.179	0.210	0.258	0.292
	$(A-B)/A(\%)$	—	42.0	42.6	40.0	37.4	33.6

养箱中贮藏,三瓶放在4℃冰箱中贮藏,期间每隔一定时间测定样品的褐变指数,取平均值,实验结果总结于表3。

由表3可知,温度是影响酶促褐变的重要因素,温度越高,酶促褐变对总褐变指数的贡献越大;在所研究的温度范围内,酶促褐变对总褐变指数的贡献显然低于非酶褐变;低温贮存(4℃)产品褐变现象不甚明显,酶促褐变对总褐变指数的贡献不大,变化幅度也较小。这一现象可能是低温抑制了酚酶活力所致。

2.2.4 时间对酶促褐变的影响 为了研究时间对芦荟制品酶促褐变的影响,设计了二组实验。A组以经过防腐处理的芦荟凝胶汁为研究对象,B组以经过防腐和灭酶处理的芦荟凝胶汁为研究对象。两组样品均置于37℃恒温箱中,定期测量并比较其褐变指数随着时间的变化。实验结果见表4。

表4 时间对酶促褐变的影响

贮存时间(周)	1	2	3	4	5
褐变指数 A	0.211	0.301	0.360	0.397	0.405
褐变指数 B	0.107	0.213	0.294	0.346	0.369
A-B	0.104	0.088	0.066	0.051	0.036
(A-B)/A(%)	49.3	29.3	18.3	12.8	8.9

由表4可知,A组的褐变指数是酶促褐变和非酶褐变共同作用的结果,因此其变化相当明显,37℃恒温箱中放置1周后,褐变指数有较大幅度增加,虽然4~5周后褐变指数增加的幅度开始趋于平缓,但此时肉眼就能观察到样品发生非常明显的色变(棕黄色),420nm处褐变指数高达0.405;B组数据是非酶褐变的贡献(A-B)组数据是酶促褐变的贡献(A-B)/B(%)组数据分析了酶促褐变对整个褐变反应的贡献情况,说明在贮存实验的第一周,酶促褐变反应较为活跃,但随着贮存时间的延长,酶促褐变对整个褐变反应的贡献逐渐减小,这一现象可能与酚酶在贮存过程中逐渐失活有关。

2.3 控制酶促褐变的措施

根据酶促褐变机理可知,芦荟制品酶促褐变的程度取决于芦荟组织中多酚氧化酶(PPO)的活性、酚类化合物(主要是葱醌类物质)的含量、氧气的含量等因素,因此,抑制其加工和贮存期间酶促褐变的主要方法就是控制或消除上述因素以达到防止酶促褐变的目的。

2.3.1 热处理 从理论上讲,热处理是抑制酶促褐变最有效的措施,因为酶具有蛋白质组成,高温可以使蛋白质分子结构发生变化,如:分子链被破坏、分子环开裂等,组织结构的解体将使酶失去活性。在植物体系中,大多数酶在加热到79℃时会彻底破坏。酚酶较耐热,100℃下需要2~8min才能钝化该酶。热处理灭酶最彻底的方法是热烫,包括热水处理和蒸汽处理两种方式。热烫的温度和时间与原料种类、块形

大小、工艺要求等条件有关,加热过度将使产品肉质过软,并产生异味,不像新鲜食品那样饱满,导致水溶性维生素和无机盐的损失,但是,如果加热不彻底,只起到破坏细胞结构而并未钝化酚酶之作用,反而会强化底物与酶的接触,促进褐变反应。因此,必须小心把握好热处理的温度和时间。

芦荟制品是一类特殊的保健/功能食品或原料,要求其能最大限度地保留新鲜叶片中的各种生物活性物质,所以不宜高温处理,因为频繁的热处理(灭酶、杀菌)将严重影响芦荟中有效成分的含量,降低终产品的保健功效,因此,一般都采用低温生产工艺,避免长时间热处理。所以,热烫灭酶在芦荟制品加工中很少使用。

2.3.2 酸处理 利用酸也可以有效控制酶促褐变,其作用是降低体系pH以减弱酚酶活力。因为酚酶的活性在pH4.5以上开始增强,在5~7时逐渐达最高,低于2.5时几乎完全失活。pH对芦荟中酚酶的影响见表2。从有效抑制酶促褐变反应的角度,将芦荟制品的pH控制在2.0~3.0较好。不过,作者建议将芦荟制品的pH控制在3.5~4.0之间,因为这样可使产品拥有较好的口感。

用于调节芦荟制品pH的酸化剂有葡萄糖酸、柠檬酸、苹果酸、酒石酸等,其中最常用的是柠檬酸^[3]。事实上,柠檬酸在抑制酶促褐变方面具有双重作用,不但可以作为酸味剂降低体系pH,而且还可以作为络合剂,与从多酚氧化酶上解离下来的铜离子作用,形成络合物,降低酚酶的活性。因此,柠檬酸在抑制芦荟制品酶促褐变方面具有较为显著的功效,其用量一般在0.50%~1.00%之间。

此外,抗坏血酸也可用于防止芦荟制品酶促褐变,它不但能降低体系pH,而且具有还原剂的作用,可将体系中的醌类及其衍生物还原成酚,并通过自身氧化来减少体系的含氧量。但是,如果体系内含氧量过高或添加的抗坏血酸过少,会使抗坏血酸完全氧化并与氨基酸反应导致非酶褐变。同时,抗坏血酸氧化产物中的二酮古罗糖酸是腐蚀促进剂,能加速马口铁溶锡,使内容物发苦。作者在实践中发现,抗坏血酸在芦荟叶肉产品中的用量以0.05%~0.10%为佳,在芦荟凝胶类产品中的用量以0.50%~1.00%为佳。

近年来,科学家发现曲酸在抑制酶促褐变方面也具有较好的效果^[4]。曲酸的结构与酚类化合物类似,因而二者间存在竞争性抑制作用;其次,曲酸具有络合金属离子的作用,可以络合多酚氧化酶活性必须的铜离子;此外,曲酸具有去除氧自由基的作用,因而能够干扰多酚氧化酶对氧的吸收;最后,曲酸能将黑色素的底物醌类化合物还原为联醌而防止黑色素的形成。研究证明,在芦荟凝胶中加入150mg/L曲酸,可以有效抑制酶促褐变的发生。

2.3.3 亚硫酸盐或其它化学试剂处理 亚硫酸盐是一种广泛使用的多功能抑制剂:阻止酶促褐变和非酶褐变^[6],控制微生物生长,作为漂白剂、抗氧化剂或还原剂,并执行其它不同技术功能。常用的亚硫酸盐有亚硫酸钠(Na_2SO_3)、亚硫酸氢钠(NaHSO_3)、焦亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)、低亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)等。对亚硫酸盐控制褐变的机理目前还颇有争论,有人认为它具有抑制酚酶活性的作用,也有人认为它能将醌还原为酚,还有人认为它可与醌起加成反应从而防止了醌的聚合。

用亚硫酸盐抑制褐变操作简便,经济有效,有利于保存体系中的抗坏血酸。但是,自从1993年美国发生亚硫酸盐中毒事件后,FDA便将亚硫酸盐从一般安全物质目录中除名。亚硫酸盐可能有致癌作用,可能会导致某些消费者发生呕吐、下痢、过敏休克、急性哮喘、失神等不良反应,也会加速罐壁腐蚀,破坏维生素,产生不愉快的嗅感和恶臭味,成品中残留量如果超过 $0.01\text{mg}/\text{kg}$ 即可感知,因此,在使用时必须注意用量。我国有关食品法规规定, SO_2 残留量不得超过 $10\text{mg}/\text{kg}$ 。

由于亚硫酸盐对健康不利,科学家开始寻找其替代品^[7,8]。除了本文中已经提到的抗坏血酸和曲酸外,其它亚硫酸盐替代品包括硫氢化物(如谷胱甘肽)含硫氨基酸(如半胱氨酸、胱氨酸、蛋氨酸等)各种络合剂(如聚磷酸盐、偏磷酸盐等)多酚氧化酶抑制剂等。找到多功能亚硫酸盐替代品不是一件易事,上述各类替代品通常只能有效替代亚硫酸盐的一项或两项功能,因此,常常需要结合几种化合物,配制符合特定产品需要的复合抑制剂来防止酶促褐变。

2.3.4 隔绝或除去氧气 目前常用的方法为利用护色液隔离氧气或采用机械或生物学手段。

在芦荟叶肉制品加工中可使用护色液护色法。例如,将去皮后的叶肉立即投入 0.1% 氯化钠溶液中,不但可以隔离氧气,同时也抑制了酚酶活性。若要进

一步提高防止酶促褐变的效果,可以将氯化钠与柠檬酸或者与抗坏血酸结合使用。

除去或减少体系中氧气含量常用的机械方法是真空脱气法,但是,由于设备投资等方面的问题,国内绝大多数企业不具备这样的生产条件。因此,较为可行的脱氧方法是酶法脱氧。例如,在产品中加入适量葡萄糖氧化酶或过氧化氢酶,不但可以去除或减少产品中的氧气,达到抑制褐变的目的,而且还能防止好气菌的生长繁殖,同时由于产生过氧化氢,因此还能起到杀菌作用^[5]。目前,由于这类酶制剂价格较贵,在成本上不允许使用,但是,随着生物技术的发展,这类方法必定会有很好的发展前景。

参考文献

- 1 E laurila, Kervinen, R. Ahvenainen. 果汁非酶素性褐变及其抑制方法(上).食品工业,1992,24 (1):45~46
- 2 [美]O.R.菲尼马著.王璋等译.食品化学.北京:中国轻工业出版社,1991.360~362
- 3 陈清泉.果汁非酶素性褐变及其抑制方法(上).食品工业,1992,24(2)45~53
- 4 陶文沂,孙微,许正宏,等.曲酸在食品中的应用.中国食品添加剂,2000(2):26~31
- 5 王树庆,刘秀华,刘新华.葡萄糖氧化酶及其在食品工业上的应用.山东食品发酵,2000,116(1):36~38
- 6 L. A. Sayavedra-soto, M. W. Montgomery. Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. Food Science, 1986, 51(6):1513~1536
- 7 Yueming Jiang, Jiarui Fu, Giora Zauberman et al. Purification of polyphenol oxidase and the browning Control of Litchi fruit by glutathione and citric acid. Sci. Food Agric., 1999, 79:950~954
- 8 Florence C.Richard Forget, Pascale M. Goupy et al. Cysteine as an inhibitor of Enzymatic Browning. Agric. Food Chem.,1992,40:2108~2113

(上接第41页)

活菌数最大,酸度为 108°T ,确定发酵时间为9h。

3 结论

3.1 通过对酶解醪液还原糖的测定,得出糖化的最佳条件为:先用 α -淀粉酶处理,再用糖化酶处理,酶解醪液还原糖量从0提高到8.8%。

3.2 由正交试验得出发酵的最佳条件为:醪液:脱脂粉=100:8,接种量为4%,培养方式:厌氧培养,温度为 35°C 。

3.3 在最佳发酵工艺条件下,经过仅9h发酵,成品中 β -葡聚糖量为 $236\text{mg}/\text{L}$,酸度为 108°T ,鼠李糖乳杆菌活菌数高约 10^{10} 个/ml。

参考文献

- 1 黄艾祥,肖蓉,吴存三.粮食与饲料工业,2000(9):49~50
- 2 郑建仙.功能性食品(第二卷).北京:中国轻工业出版社,1999,9.81
- 3 HoskiasL.C.,Dig.Dis.,1981,26:769
- 4 Goubach,Sl.etalAnn.Med.1990,27:37~41
- 5 陈天寿.微生物培养基制造与应用.北京:中国农业出版社,1995
- 6 金世琳.乳品工业手册.北京:中国轻工业出版社,1980
- 7 张龙翔主编.生物实验方法和技术.北京:人民教育出版社,1981
- 8 M.Bekers, M et.Food.Bio,2001,15:4~5
- 9 R.E布坎南,N.E吉本斯等编.伯杰细菌鉴定手册.北京:科学出版社,1994