

富硒大果山楂果实中有关酶活性及贮藏品质的研究

何忠伟¹, 何彩梅^{1*}, 吴魏成¹, 吴桂容², 陈春岚¹

(1. 贺州学院食品与生物工程学院, 广西贺州 542899; 2. 贺州学院教务处, 广西贺州 542899)

摘要 [目的]探索硒在大果山楂贮藏保鲜中的应用,并为开发富硒大果山楂提供理论依据。[方法]以富硒大果山楂为原料,对其果实中有关酶活性及贮藏品质进行研究。[结果]富硒大果山楂果实中过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的活性比对照组分别降低了49.2%和37.5%,超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性比对照组分别增加了16.7%和33.5%。大果山楂果实硬度为25.29 N/cm²,维生素C的含量为1 186.50 mg/kg,可溶性总糖的含量为144.00 g/kg,可溶性固形物的含量为16.60%,较对照组分别增加了13.2%、9.5%、29.0%、3.7%。[结论]硒能延缓大果山楂果实的成熟衰老,改善其品质。

关键词 富硒;大果山楂;酶活性;贮藏品质

中图分类号 S609+.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)19-0073-02

Study on Associated Enzyme Activity and Storage Quality of Selenium-enriched *M. domeri* (Bois) Chev.

HE Zhong-wei, HE Cai-mei*, WU Wei-cheng et al (School of Food and Bioengineering, Hezhou University, Hezhou, Guangxi 542899)

Abstract [Objective] To explore application of selenium in storage and preservation of *M. domeri*, and provide theoretical basis for development of selenium-enriched *M. domeri*. [Method] The activity of associated enzyme and storage quality were studied with selenium-enriched *M. domeri* as raw material. [Result] The results indicated that the POD and PPO activity reduced by 49.2% and 37.5% compared with ordinary *M. domeri*, the SOD and CAT activity increased by 16.7% and 33.5% compared with ordinary *M. domeri*. The hardness, Vc, total soluble sugar, soluble solids were 25.29 N/cm², 1 186.50 mg/kg, 144.00 g/kg, 16.60%, respectively, increased by 13.2%, 9.5%, 29.0%, 3.7% compared with ordinary *M. domeri*. [Conclusion] Selenium could delay senescence and improve the quality of *M. domeri*.

Key words Selenium-enriched; *M. domeri* (Bois) Chev.; Enzyme activity; Storage quality

硒是动物和人体必需的微量营养元素,对延缓衰老、防治疾病、增进健康等具有重要意义^[1-4]。大果山楂[*M. domeri*(Bois)Chev.],又叫山楂(广西),属于蔷薇科苹果属台湾林檎的成熟果实。大果山楂因其风味独特、营养丰富且具有很好的药用价值^[5-6],而倍受人们喜爱。富硒食品是目前食品研究的热点,有研究表明,将果蔬与硒相结合可以延缓果蔬的成熟衰老^[4]。笔者以富硒大果山楂为原料,对其果实中有关酶活性及贮藏品质进行研究,以期探索硒在大果山楂贮藏保鲜中的应用及开发富硒大果山楂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 富硒大果山楂采摘自某公司果园,果实体积大小相近,无损伤、无病虫害。主要试剂:福林酚试剂、单宁酸、EDTA-2Na试剂、磷酸缓冲液、0.026 mol/L 蛋氨酸磷酸钠缓冲液、10%氯化钠溶液、核黄素溶液、NBT溶液、过氧化氢溶液、0.02%维生素C溶液、乙醇、三氯乙酸、甲醇甲酸、愈创木酚、0.1 mol/邻苯二酚等。主要仪器设备:722型分光光度计,TGL-16M台式高速冷冻离心机,STARTER300便携式pH计,调温型电热套,GY-2型水果硬度计,TD-45型数字折光仪,手持式糖度计,JJ500电子天平,LP512恒温水浴锅等。

1.2 方法

1.2.1 样品处理。将富硒和普通大果山楂放入聚乙烯保鲜

袋中,冷库保藏。

1.2.2 酶的测定。

1.2.2.1 多酚氧化酶(PPO)的活性测定。取样品5 g,加入0.2 mol/L pH 6.8的磷酸缓冲液20 mL,研磨成匀浆,4 000 r/min离心15 min,取上清液,即为粗酶液。取1 mL的粗酶液,加入2 mL 0.2 mol/L pH 6.8磷酸缓冲液,2 mL 0.1 mol/L邻苯二酚,37℃水浴保温5 min,摇匀,加20%三氯乙酸2 mL,冰浴后,在波长410 nm处测吸光值。计算公式如下:

$$U = A \cdot n / 0.01t$$

式中A为吸光值;n为稀释倍数;t为酶反应时间。

1.2.2.2 超氧化物歧化酶(SOD)的活性测定。粗酶液制备:取样品5 g,加入15 mL 0.05 mol/L pH 7.8磷酸钠缓冲液,在冰浴中研磨成浆,8 500 r/min冷冻离心30 min,取上清液即为SOD酶粗液。

邻苯三酚自氧化速率的测定:5 mL 50 mmol/L pH 8.2 Tris-HCl缓冲液,5 μL 50 mmol/L邻苯三酚,以pH 8.2 Tris-HCl缓冲液为空白,在波长325 nm处测吸光值。

活力测定:5 mL 50 mmol/L pH 8.2 Tris-HCl缓冲液,加1.5 μL待测样品溶液,5.0 μL 50 mmol/L邻苯三酚,在波长325 nm处测吸光值。计算公式如下:

$$U = [(A_0 - A_1) V \cdot n] / A_0 V_1 \times 50\%$$

式中,A₀为自氧化速率吸光度;A₁为样液速率吸光度;n为稀释倍数;V为反应液总体积;V₁为样液的体积。

1.2.2.3 过氧化氢酶(CAT)的活性测定。酶液制备:5 g样品加入20~30 mL 4℃下预冷的pH 7.0磷酸缓冲液研磨,转移至50 mL容量瓶,5℃冰箱中静置10 min,4 000 r/min下离心15 min,上清液即为CAT粗提液,5℃下保存备用。

活性测定:取3支10 mL试管,其中2支为样品管,1支

基金项目 2013年贺州市科学研究与技术开发项目(贺科转1304009);广西壮族自治区中青年教师基础能力提升项目(KY2016LX377);富硒脐橙标准化种植技术课题研究(合同编号 FCCG2016 服字 90 号)。

作者简介 何忠伟(1972—),男,广西昭平人,讲师,硕士,从事生物工程专业的教学与科研工作。*通讯作者,讲师,硕士,从事生物工程专业的教学与科研工作。

收稿日期 2017-04-28

为空白管,按表 1 顺序加入试剂。25 ℃ 预热后,逐管加入 0.6 mL 0.1mol/L 的 H₂O₂,在波长 240 nm 处迅速测定吸光值,每隔 1 min 读数 1 次,测 4 次。计算公式如下:

$$U = AV_i / 0.1V_0t W$$

式中,A=A₀-(A₁+A₂)/2,其中 A₀ 为加入失活酶液的对照管吸光值,A₁、A₂ 为样品管吸光值;V₀ 为测定所用的粗酶液体积(mL);V_i 为粗酶提取液总体积(mL);W 为样品鲜重(g);t 为加过氧化氢到最后一次读数时间(min);0.1 为 A 每下降 0.1 为 1 个酶活单位(U)。

表 1 CAT 活性测定试验组

Table 1 Experimental group for the determination of CAT activity

管号 Tube No.	粗酶液 Crude enzyme fluid	pH 7.8 磷酸缓冲液 Phosphate buffer with pH 7.8	蒸馏水 Distilled water
1	0.2(失活酶液)	1.5	1.0
2	0.2	1.5	1.0
3	0.2	1.5	1.0

1.2.2.4 过氧化物酶(POD)的活性测定。酶液制备:10 g 样品,加入 20 mL 预冷的磷酸缓冲液(0.1 mol/L pH 6.0),在冰浴中研磨成匀浆,4 000 r/min 离心 15 min,取上清液(粗酶液)。

活力测定:3 mL 反应液加 50 mL pH 6.0 磷酸缓冲液,28 μL愈创木酚,19 μL 30% 过氧化氢,100 μL 酶液,摇匀,加入比色皿中反应 2 min,在波长 470 nm 处测吸光值。计算公式如下:

$$U = AVN / tw$$

式中,A 为吸光值;V 为酶液量;N 为稀释倍数;t 为反应时间;w 为样品鲜重。

1.2.3 品质成分的测定。可溶性总糖含量采用蒽酮法测

定;维生素 C 含量采用 2,6-二氯酚靛酚滴定法测定。硬度的测定:取 5 个富硒大果山楂果实,用 GY-2 型水果硬度计测定其果实硬度,取平均值。可溶性固形物的测定:富硒大果山楂果实研磨成汁,用 TD-45 型数字折光仪测定每个果实的可溶性固形物含量,取平均值。

2 结果与分析

2.1 富硒山楂果实中相关酶活性的分析 POD 能使果实中所含的某些碳水化合物转化成木质素,增加木质化程度,因此 POD 可作为组织老化的一种生理指标。由表 2 可知,富硒大果山楂果实中 POD 的活性为 0.479 (U·mL)/(g·min),比对照组降低了 49.2%。试验结果表明,富硒大果山楂抑制了 POD 的活性,有利于缓解大果山楂果实组织老化。

SOD 是抗氧化酶,是生物体内清除自由基的首要物质,其活性越强具有的抗氧化能力就越高。由表 2 可知,富硒大果山楂 SOD 的活性为 430.76 U/(g·min),比对照组增加了 16.7%。富硒大果山楂果实中 SOD 活性比普通大果山楂高,抗氧化性较高,能起到延缓果实衰老的作用,更利于贮藏。

CAT 是一种酶类清除剂,它可清除体内的过氧化氢,从而使细胞免于遭受过氧化氢的毒害,是生物防御体系的关键酶之一。由表 2 可知,富硒大果山楂果实中 CAT 活性为 0.259 U/mg,比对照组增加了 33.5%。表明富硒大果山楂果实有较高的 CAT 活性,更利于贮藏。

PPO 是引起果蔬酶促褐变的主要酶类,PPO 催化果蔬原料中的内源性多酚物质氧化生成黑色素,严重影响果实的营养、风味及外观品质。由表 2 可知,富硒大果山楂果实中 PPO 活性为 5.54 u/(g·min),与对照组相比降低了 37.5%。因此,富硒的大果山楂抑制了 PPO 活性,使 PPO 处于较低活力,从而达到了延缓果实软化,推迟果实成熟与衰老的目的。

表 2 大果山楂果实中 4 种酶活性的测定结果

Table 2 Determination results of four kinds of enzyme activity in *M. domeri* fruit

处理 Treatment	过氧化物酶 POD//U·mL/(g·min)	超氧化物歧化酶 SOD//U/(g·min)	过氧化氢酶 CAT//U/mg	多酚氧化酶 PPO//U/(g·min)
富硒大果山楂 Selenium-enriched <i>M. domeri</i>	0.479	430.76	0.259	5.54
对照组 Control group	0.942	369.14	0.194	8.87
差值 D-value(±%)	-49.2	+16.7	+33.5	-37.5

2.2 富硒大果山楂果实存储品质分析 由表 3 可知,富硒大果山楂果实中硬度为 25.29 N/cm²,维生素 C 的含量为 1 186.50 mg/kg,可溶性总糖的含量为 144.0 g/kg,可溶性固

形物的含量为 16.67%,较对照组分别增加了 13.2%、9.5%、29.0%、3.7%,表明富硒处理能够改善大果山楂果实的品质。

表 3 富硒大果山楂果实中品质成分的含量

Table 3 Content of quality components in *M. domeri* fruit

处理 Treatment	硬度 Hardness//N/cm ²	可溶性固形物 Soluble solids//%	可溶性总糖 Total soluble sugar//g/kg	维生素 C Vitamin C//mg/kg
富硒大果山楂 Selenium-enriched <i>M. domeri</i>	25.29	16.67	144.00	1 186.50
对照组 Control group	22.34	16.07	111.60	1 083.70
相对于对照组 Relative to the control group(±%)	+13.2	+3.7	+29.0	+9.5

2.4 甘草渣薄片纸基感官评吸 由图 1 可知,胀果甘草薄片纸基的感官评吸得分为 86 分,要略高于乌拉尔甘草薄片纸基的 81 分,说明胀果甘草纤维比乌拉尔甘草纤维更适宜用来抄造烟草薄片纸基。

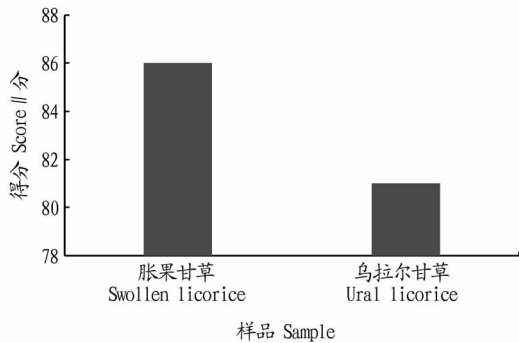


图 1 甘草渣薄片纸基感官评吸综合得分

Fig. 1 Comprehensive score of sensory evaluation of licorice residue slice paper base

3 结论

通过 2 种甘草渣与烟梗烟末的理化分析对比试验可知,2 种甘草渣纤维的果胶含量很低,可以提升烟草的内在品质;其中胀果甘草渣中纤维素含量为 37.39%,稍微大于乌拉尔甘草渣的纤维素含量 37.31%。2 种甘草渣纤维含量较高,且结构形态更接近于烟梗烟末,说明甘草渣是一种良好的纤维材料。

通过检测 2 种甘草渣薄片纸基的物理性能,可知乌拉尔甘草渣薄片纸基的松厚度优于胀果甘草渣薄片纸基;且胀果甘草渣薄片纸基的细小纤维流失量小,紧度和抗张强度也均优于乌拉尔甘草薄片纸基,故具有良好纤维特性的胀果甘草渣纤维较适合在烟草薄片中进行适度添加。

2 种甘草渣薄片的感官评吸试验表明,胀果甘草渣薄片纸基的综合评分比乌拉尔甘草渣评分高,因胀果甘草渣纤维抄造的甘草渣薄片纸基有感官吸味较好、舒适度佳、烟气质和香气好等优点,说明胀果甘草渣纤维更适合应用于甘草渣薄片的研究。

(上接第 74 页)

3 结论

(1) 根据测定大果山楂果实中 CAT、SOD、POD、PPO 的酶活力,表明富硒大果山楂果实中 SOD、CAT 活性处于较高水平,也很好抑制了其 POD、PPO 活性,因而延缓了果实的成熟衰老,使得其保鲜效果较好,延长贮藏期。

(2) 从大果山楂果实中硬度、维生素 C、可溶性固形物、可溶性总糖数据分析可知,富硒处理改善了大果山楂果实的品质。

(3) 根据大果山楂果实中酶活性变化,可以较灵敏地判断果实内部系列生化反应的状况。若利用硒元素与酶的相关关系,将大果山楂果实的品质指标与酶活性建立定量关

甘草具有可食用植物的优越性,是一种创新的烟草薄片资源,甘草渣化学组分和纤维结构均优于烟梗烟末,可以提高烟草的内在品质;胀果甘草渣的化学组分、纤维结构、物理性能检测结果与感官评吸得分均优于乌拉尔甘草渣,所以阿克苏的胀果甘草渣在烟草薄片纸基中适度添加是非常可行的。但是胀果甘草渣薄片纸基在成品烟丝中的配伍仍有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:第 3 部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010.
- [2] 吴宗耀,牛李义,梁喜爱. 甘草化学成分及药理作用分析[J]. 河南中医,2010,30(12):1235-1236.
- [3] 李英和,陈迪华. 甘草属植物化学和药理学研究进展[J]. 天然产物研究与开发,1995(1):61-69.
- [4] 刘丽萍,任翠爱,赵宏艳. 甘草酸的免疫调节作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(6):272-276.
- [5] 马彩梅. 甘草及甘草渣的综合利用研究进展[J]. 现代农业科技,2015(1):121-122.
- [6] 韩维成,王明辉,许金木. 甘草中甘草酸的提取研究[J]. 郑州大学学报(理学版),1998(1):75-77.
- [7] 陈树伟,王秀兰,冯福盛,等. 甘草浸膏制备新工艺的研究[J]. 天然产物研究与开发,1999,11(6):40-43.
- [8] 王芸芸,刘利军,王丹,等. 甘草废渣的综合利用[J]. 饲料工业,2009,30(3):44-46.
- [9] 黄明进,王文全,魏胜利. 我国甘草药用植物资源调查及质量评价研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(8):947-952.
- [10] 邵干辉,饶国华,徐曼,等. 甘草纤维与烟末配抄在烟草薄片纸基中的应用研究[J]. 现代食品科技,2013(3):605-608.
- [11] WANG W S, WANG Y, YANG L J, et al. Studies on thermal behavior of reconstituted tobacco sheet [J]. Thermochimica acta, 2005, 437(1): 7-11.
- [12] 陈超,田英姿. 造纸法抄造甘草渣纤维烟草薄片的工艺探讨[J]. 造纸科学与技术,2011(6):50-54.
- [13] 高发奎,张树蔚,杨晓辉,等. 甘草废渣的开发利用技术[J]. 甘肃环境研究与监测,2002,15(1):27-28.
- [14] 王晴晴,田英姿,马千里,等. 不同甘草渣薄片理化性质的对比分析[J]. 现代食品科技,2014(3):177-181.
- [15] 陶红,沈光林,赵谋明,等. 酶技术改善烟叶品质的研究进展[J]. 现代食品科技,2008,24(7):737-740.
- [16] 石淑兰,何福望. 制浆造纸分析与检测[M]. 北京:中国轻工业出版社,2003:1-60.
- [17] 徐曼,田英姿,邵干辉,等. 甘草纤维在烟草薄片纸基中的应用研究[J]. 现代食品科技,2012(12):1747-1750.
- [18] 陈超,田英姿. 甘草渣在造纸法烟草薄片纸基中的应用研究[J]. 现代食品科技,2011,27(9):1130-1133.
- [19] 陈超. 甘草废渣在造纸法烟草薄片纸基中的应用研究[D]. 广州:华南理工大学,2012.

系,通过调控酶活性的变化,来调节大果山楂的代谢作用,从而达到有目的地调控贮藏条件,则贮藏期可相应延长。

参考文献

- [1] 林文业,邓卫利,黄文琦,等. 食物中硒的生物功能及测定分析研究[J]. 大众科技,2011(4):125-127.
- [2] DAVIS C D, TSUJI P A, MILNER J A. Selenoproteins and cancer prevention[J]. Ann Rev Nutrition, 2012, 32: 73-95.
- [3] SORDILLO L M. Selenium-dependent regulation of oxidative stress and immunity in periparturient dairy cattle[J]. Veter Med Int, 2013, 4: 1-8.
- [4] 吴洁,王倩,高丽朴,等. 硒延缓果蔬成熟衰老与抗逆机理研究进展[J]. 北方园艺,2015(19):174-179.
- [5] 谢敏,张宏力. 山楂果汁的加工工艺研究[J]. 安徽农业科学,2012, 40(18):9878-9879.
- [6] 潘莹,张林丽. 大果山楂的研究进展[J]. 时珍国医国药,2007, 18(12): 2972-2972.