

高压脉冲电场对苹果多酚氧化酶的钝化效果

马理姣, 钱建亚*, 王丽娟

(扬州大学 食品科学与工程学院, 江苏 扬州 225127)

摘要: 多酚氧化酶 (PPO) 促褐变影响苹果鲜果和果汁的品质。探讨高压脉冲电场 (PEF) 钝化苹果鲜果 PPO 的可行性。在电压、停留时间、频率、脉冲宽度等单因素试验的基础上,采用响应曲面分析法优化钝酶工艺。结果表明,PEF 对红富士多酚氧化酶活性抑制的最佳条件为: 电压 25 kV, 频率 530 Hz, 停留时间 45 s 和脉冲宽度 8 μ s, 此条件下多酚氧化酶的抑制率达 51.86%。鲜榨果汁的色值和褐变指数与 PPO 的相对活力直接相关。PEF 处理能够抑制果汁的酶促褐变, 与对照组相比, 由最优钝化条件下处理的果块制备的果汁 (4 h 时) 的色值极显著大于对照组 ($P<0.01$), 总可溶性固体物, pH 值没有发生显著改变 ($P>0.05$), 还原型维生素 C 呈下降趋势, 但下降不显著 ($P>0.05$)。

关键词: 高压脉冲电场; 苹果多酚氧化酶; 活性; 响应面分析

中图分类号:TS 255 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2016)010—1066—08

Effect of Pulsed Electric Field on the Activity of Apple Polyphenol Oxidase

MA Lijiao, QIAN Jianya*, WANG Lijuan

(School of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract: The product quality of fresh apple and apple juice could be deteriorated by the enzymatic browning of polyphenol oxidase (PPO). The possibility to deactivate of PPO through the pulsed electric field (PEF) was discussed. The condition to deactivate PPO enzymatic activity was optimized by the response surface analysis based on the results of single-factor experiments, such as voltage, residence time, frequency, and pulse width. The optimal condition was achieved with 25 kV of voltage, 530 Hz of frequency, 8 μ s of pulse width, and 45 s of residence time, under which the inhibition rate of PPO activity reached to 51.86%. The color value and browning index of fresh prepared apple juice were directly related to the relative activity of PPO. PEF could inhibit the enzymatic browning of apple juice. For the apple juice prepared from the fruit treated under the optimal deactivation condition, the color value was significantly larger than that of the control group ($P<0.01$). The content of total soluble solids and solution pH did not show significant change ($P>0.05$), while the content of ascorbic acid decreased insignificantly ($P>0.05$).

Keywords: pulsed electric field (PEF), *Malus pumila* polyphenol oxidase (PPO), activity, response surface analysis

收稿日期: 2015-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31571765); 江苏省研究生科研创新计划项目(CXLX13_912)。

* 通信作者: 钱建亚(1964—), 男, 江苏泰州人, 工学博士, 教授, 主要从事食品科学与工程的教学和研究。E-mail:jyqian@yzu.edu.cn

苹果中含大量的多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase, PPO),会引起苹果褐变,进而影响其品质。热处理是最常见的抑制酶促褐变的传统方法,但热处理后产品风味、营养成分受到很大程度的破坏。非热食品加工技术应运而生,高压脉冲电场技术 (Pulsed electric fields, PEF)便是其中之一。PEF 不仅能杀死致病和腐败微生物及不利的酶类,而且加工温度低,停留时间短和能耗低,最大限度地保存食品的营养成分、风味和新鲜度,被认为是目前效果最好,最有工业前景的技术之一^[1-3]。近年来,PEF 技术在钝酶方面有应用研究。Giner 等发现,PEF 可使苹果和梨中的多酚氧化酶 (PPO) 活性下降^[4]。Aguiló-Aguayo 等发现,PEF 技术可钝化番茄汁^[5]、草莓汁^[6],以及西瓜汁^[7]等果蔬汁中过氧化物酶、果胶甲酯酶和多聚半乳糖醛酸酶的活性。研究还表明,PEF 技术可以改变木瓜蛋白酶^[8-9]、胃蛋白酶^[10]、多酚氧化酶^[11]、脂肪氧化酶^[11-13]的活性及二级结构。目前,文献报道的 PEF 应用主要针对流态食品,在非连续相食品中的应用只有本课题组的前期工作——用 PEF 钝化糙米中的脂肪酶^[14]。本文作者将 PEF 应用于苹果鲜果,考察 PEF 对苹果 PPO 的钝化效果。

1 试验器材

1.1 试验材料

苹果,山东烟台红富士品种(果径 80~85 mm),购自扬州欧尚超市。

1.2 试验仪器

DS-1 型高速组织捣碎机,上海标本模型厂制造;Sorvall ST 16R 台式高速冷冻离心机, Thermo Fisher 公司制造;AR3130 型电子天秤, 奥豪斯国际贸易(上海)有限公司经销;SHZ-DⅢ循环水真空泵, 巩义市予华仪器有限责任公司制造;HH-2 型数显恒温水浴锅, 常州国华电器有限公司制造;PHS-3C pH 计, 上海仪电科学仪器有限公司制造;UV-7504C 紫外-可见分光光度计, 上海茂欣仪器有限公司制造;HD35-5 型高压脉冲电源, 天津市慧达电子元件厂制造;全自动色差计, 北京康光光学仪器有限公司制造;WYT-4 型手持式糖度计, 泉州中友光学仪器有限公司制造。

1.3 试验试剂

邻苯二酚,国产化学纯;丙酮,磷酸氢二钠,柠檬酸,交联聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP), 吐温 80

(Tween-80) 等,均为国产分析纯。

2 试验方法

2.1 多酚氧化酶丙酮干粉的制备

参考彭益强等^[5]的方法略作修改。将苹果于 4 ℃ 贮藏 12 h, 取出, 洗净, 去皮, 去核, 称取一定量果肉, 与冷丙酮 (-18 ℃) 以 1:2 (g/mL) 混合, 用高速组织捣碎机匀浆 4 min 后抽滤, 用冷丙酮洗涤滤饼, 抽滤, 重复此步骤直至果肉呈白色, 得苹果 PPO 丙酮粉, 于 4 ℃ 使残留丙酮挥发并保存, 备用。

2.2 粗酶液的制取

称取一定质量的 PPO 丙酮粉, 以 1:100 (g/mL) 的比率溶于预冷至 4 ℃ 的含 2 g/dL PVPP 和 1 g/dL Tween-80 的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液 (0.1 mol/L, pH 6.0) 中, 在 4 ℃ 浸提 2 h 后离心 20 min (10 000 r/min, 4 ℃), 取上清液, 经 8 层纱布过滤, 得粗酶液。

2.3 PPO 活性的测定

结合付聿成^[16]和曲留柱^[17]的方法。具体步骤为: 将 2.5 mL 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液 (0.1 mol/L, pH 6.0) 与 0.3 mL 邻苯二酚 (0.1 mol/L) 在试管中混合均匀, 于 30 ℃ 保温 5 min 后加入 0.2 mL 粗酶液, 自酶液加入时开始计时, 测定 420 nm 处吸光值 (A)。在预实验检测到的线性时间区域 (0~4 min), 每 30 s 记录一次吸收值。对照组用缓冲溶液代替酶液。1 酶活力单位 (U) 定义为 1 mL 酶液反应 1 min 吸光值增加 0.01。酶活力

$$E = \Delta A_{420} \times 100 \times 15 / 0.2 \quad (1)$$

式(1)中: ΔA_{420} 指以反应时间为横坐标、吸光值为纵坐标所得趋势线的斜率; 15 为稀释倍数; 0.2 为粗酶液的体积。

2.4 PPO 抑制剂的测定

PPO 活力抑制率的计算公式为

$$Y = \frac{E_{A0} - E_A}{E_{A0}} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: E_{A0} 为对照样(未经 PEF 处理)中 PPO 的酶活力; E_A 为 PEF 处理后苹果 PPO 残留的酶活力。

2.5 PEF 酶钝单因素试验

固定极板间距 45 mm, 将苹果平放于处理室, 测定处理前后 PPO 的活力, 考察以下因素的影响。

2.5.1 电压 设定频率为 500 Hz, 停留时间为 45 s, 脉冲宽度为 6 μs, 分别以 5、10、15、20、25 kV 和 30 kV 处理。

2.5.2 停留时间 设定电压 20 kV, 频率 500 Hz, 脉冲宽度 6 μs, 分别以 15、30、45、60 s 和 75 s 处理。

2.5.3 脉冲频率 设定电压为 20 kV, 脉冲宽度为 6 μs, 停留时间为 45 s, 分别以 100、300、500、700 Hz 和 900 Hz 处理。

2.5.4 脉冲宽度 设定电压 20 kV, 频率 500 Hz, 停留时间为 45 s, 分别以 2、4、6、8 μs 和 10 μs 处理。

2.6 响应面试验

采用软件 Design-Expert 8.0.6 Trial 中 Box-Behnken 设计, 在单因素试验的基础上, 选取 4 因素 3 水平, 以电压 (*A*), 频率 (*B*), 时间 (*C*) 和脉冲宽度 (*D*) 为考察因子, 以 +1, 0 和 -1 分别代表自变量的高, 中, 低水平, 编码及水平如表 1 所示。

表 1 试验因素水平及编码

Table 1 Code and level of factors chosen for the trials

因子	编码	水平		
		-1	0	1
电压/kV	<i>A</i>	15	20	25
频率/Hz	<i>B</i>	300	500	700
时间/s	<i>C</i>	30	45	60
脉冲宽度/μs	<i>D</i>	6	8	10

2.7 PPO 抑制率对苹果汁褐变的影响

2.7.1 苹果汁的制备 将新鲜苹果洗净, 去皮, 切成长×宽×高为 2 cm×2 cm×1 cm 的块状。根据单因素和优化试验, 制备 PPO 抑制率为 13.92%、26.61%、46.53% 和 51.86% 的苹果块, 分别记为 PEF-1, PEF-2, PEF-3 和 PEF-优。按料液比 1:2(g/mL)加入蒸馏水, 用高速组织捣碎机榨取汁液, 经 6 层纱布过滤, 滤液分装于洁净的无菌瓶, 4 ℃冰箱中贮藏。对照组为未经 PEF 处理的苹果块制备的果汁。

2.7.2 品质指标测定

1) 色值: 以蒸馏水为参比, 测定 440 nm 波长处苹果汁的透光率 T_{440} , 以 T_{440} 表示色值。

2) 可溶性固形物 (TSS): 用手持糖度计测定, 单位以°Brix 表示。

3) pH 值: 采用 pH 计测定。

4) 色泽: 室温下测定鲜果汁色泽, 记录 L^* 、 a^* 、 b^* 值, 测定 3 次, 取平均值。

5) 褐变指数 (BI): 将苹果汁稀释 2 倍, 取 5 mL

苹果汁与 5 mL 预冷至 4 ℃的乙醇混合均匀, 离心 (4 ℃, 8 000 r/min, 10 min)。以上清液在 420 nm 处的吸光值 ($A_{420\text{nm}}$) 表示。

6) 维生素 C: 采用 2,6-二氯靛酚法测定还原型维生素 C。

2.8 统计与分析

运用软件 Design-Expert 8.0.6 Trial, Origin7.5 及 SPSS 17.0 对试验结果进行统计分析。组间平均数比较采用 Tukey 法。

3 结果与讨论

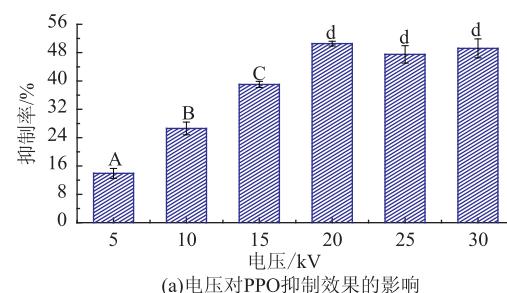
3.1 PEF 处理参数对苹果 PPO 抑制效果的影响

脉冲电场强度是酶失活的主要因素。由图 1(a)可知, 电压在 5~20 kV, PPO 抑制率随着电压的增大显著增大 ($P<0.01$); 当电压达到 20 kV 时, PPO 抑制率达到最大并趋稳。电压大小反映 PEF 的场强大小, 高电压破坏 PPO 的结构, 提高抑制率^[11]。选择电场电压 20 kV 作为下一步响应面试验的中心点。

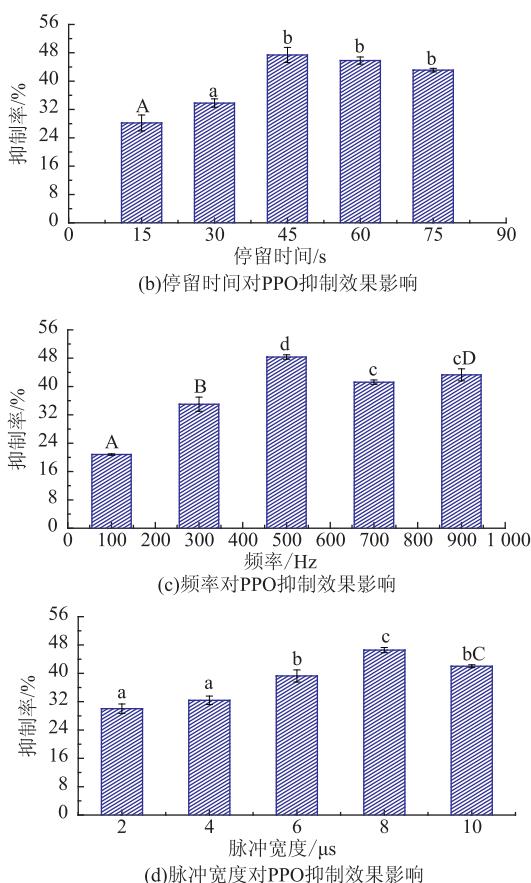
苹果在电场中的停留时间对 PPO 活力抑制率有显著影响 ($P<0.05$)。由图 1(b)可知, 在 15~45 s, PPO 抑制率由 28.19% 增加至 47.38%。此后 PPO 抑制率略有下降但不显著。选择停留时间 45 s 作为下一步响应面试验的中心点。

PEF 频率对 PPO 抑制率的影响显著 ($P<0.05$)。由图 1(c)可知, 固定场强, 停留时间和脉宽保持不变, 频率由 100 增加至 500 Hz 时, PPO 抑制率显著提高 ($P<0.01$)。此后, 频率变化对 PPO 抑制率的影响略有减小并有波动, 原因不明。选择 PEF 频率 500 Hz 作为下一步响应面试验的中心点较为合适。

PEF 脉冲宽度对 PPO 活力抑制率的影响程度没有前 3 个因素明显。由图 1(d)可见, 脉冲宽度并非越宽越好。当脉冲宽度为 8 μs 时抑制率达到最大, 后续响应面试验的中心点脉冲宽度选择 8 μs。



(a) 电压对 PPO 抑制效果的影响



不同字母表示差异极显著 $P<0.01$,大小写的相同字母表示差异显著 $P<0.05$,相同小写字母表示差异不显著 $P>0.05$ 。

图 1 PEF 各处理参数对苹果 PPO 抑制效果的影响

Fig. 1 Factorial effects of pulsed electric field on PPO activity

处理时间 (t) 与频率 (f , Hz), 脉冲宽度 (τ , μs) 和停留时间 (t_r , s) 的关系为 $t=f\times\tau\times t_r^{[14]}$ 。频率, 停留时间和脉冲宽度任何一个因素改变都将导致处理时间变化。在电场强度一定时, 处理时间变化将导致电场输出能量改变, 从而使 PPO 抑制率发生变化, 但各因素间的定量关系需进一步研究。

3.2 响应面优化试验

用软件 Design-Expert 8.0.6 Trial 的 Box-Behnken 设计试验, 安排及结果如表 2 所示。其中第 25—29 组为 5 次重复的中心点试验, 用于考察模型的误差^[18]。

3.2.1 模型的建立与分析 抑制率 (Y) 与电压 (A), 频率 (B), 停留时间 (C) 和脉冲宽度 (D) 的四元二次回归模拟方程如下:

$$Y=49.53+5.84A+253B-2.92C+0.89D+0.47AB-3.34AC-0.64AD-0.65BC-0.42BD+0.63CD-2.21A^2-3.59B^2-7.94C^2-3.19D^2 \quad (3)$$

$$9.59B^2-7.94C^2-3.19D^2 \quad (3)$$

回归模型方差分析与回归方程系数显著性检验的结果, 包括回归检验与岭脊分析, 检验所建模型是否合适和分析影响物性的主次因素等, 如表 3 和表 4 所示。

表 2 试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results

试验序号	自变量				响应值	
	A/kV	B/Hz	C/s	$D/\mu\text{s}$	Y	YY
1	-1	-1	0	0	28.84	29.82
2	1	-1	0	0	38.75	40.58
3	-1	1	0	0	34.78	33.95
4	1	1	0	0	46.55	46.57
5	0	0	-1	-1	34.89	35.21
6	0	0	1	-1	40.03	39.79
7	0	0	-1	1	34.5	35.74
8	0	0	1	1	42.17	42.85
9	-1	0	0	-1	35.24	36.76
10	1	0	0	-1	47.05	49.72
11	-1	0	0	1	40.24	39.82
12	1	0	0	1	49.5	50.23
13	0	-1	-1	0	25.45	25.89
14	0	1	-1	0	30.25	32.25
15	0	-1	1	0	32.78	33.03
16	0	1	1	0	34.99	36.80
17	-1	0	-1	0	28.28	27.28
18	1	0	-1	0	48.64	45.64
19	-1	0	1	0	40.05	39.80
20	1	0	1	0	47.05	44.80
21	0	-1	0	-1	35.16	32.90
22	0	1	0	-1	40.82	38.81
23	0	-1	0	1	36.77	35.53
24	0	1	0	1	40.74	39.75
25	0	0	0	0	51.09	49.53
26	0	0	0	0	49.10	49.53
27	0	0	0	0	50.72	49.53
28	0	0	0	0	49.4	49.53
29	0	0	0	0	47.32	49.53

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for regression equation

变异源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1502.87	14	107.35	24.83	<0.000 1**
残差	60.53	14	4.32		
失拟项	51.59	10	5.16	2.31	0.2179
纯误差	8.94	4	2.23		
总和	1 563.40	28			

$R^2=0.961\ 3$, Adj $R^2=0.922\ 6$

注: ** 表示 $P<0.01$; * 表示 $P<0.05$ 。

表 4 回归方程系数显著性检验

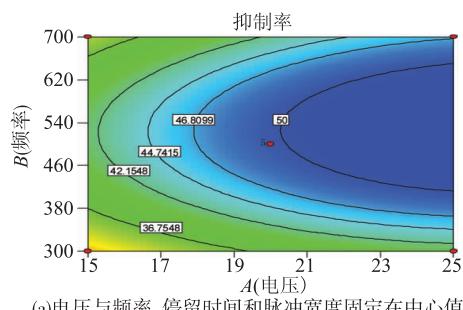
Table 4 Test of significance for regression coefficient

系数项	回归系数	自由度	标准误差	置信下限	置信上限	P 值
	49.53	1	0.93	47.53	51.52	<0.000 1**
A(电压)	5.84	1	0.60	4.56	7.13	<0.000 1**
B(频率)	2.53	1	0.60	1.24	3.82	0.000 9**
C(时间)	2.92	1	0.60	1.63	4.21	0.000 2**
D(脉冲宽度)	0.89	1	0.60	-0.39	2.18	0.158 5
AB	0.47	1	1.04	-1.76	2.69	0.661 5
AC	-3.34	1	1.04	-5.57	-1.11	0.006 3**
AD	-0.64	1	1.04	-2.87	1.59	0.549 6
BC	-0.65	1	1.04	-2.88	1.58	0.543 4
BD	-0.42	1	1.04	-2.65	1.81	0.690 6
CD	0.63	1	1.04	-1.60	2.86	0.552 7
A^2	-2.21	1	0.82	-3.96	-0.45	0.017 2*
B^2	-9.59	1	0.82	-11.34	-7.84	<0.000 1**
C^2	-7.94	1	0.82	-9.69	-6.19	<0.000 1**
D^2	-3.19	1	0.82	-4.94	-1.44	0.001 6**

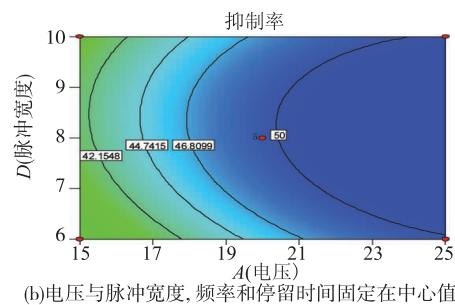
注: ** 表示 $P<0.01$; * 表示 $P<0.05$ 。

由表 3 可知, 对于响应值抑制率, 模型的 $F=24.83, P<0.000 1$, 失拟项检验 $F=2.31, P=0.217 9>0.05$, 模型的校正系数 Adj $R^2=0.922\ 6$, 说明选用该模型预测 PEF 对苹果多酚氧化酶钝化的结果可行。由表 4 可知, 模型一次项中除 D(脉冲宽度)对响应值 Y 无显著影响外, 其余均有极显著影响; 二次项中 A^2 对 Y 有显著影响, B^2, C^2 和 D^2 对 Y 有极显著影响; 交互项中仅 AC 对 Y 有显著影响。

3.2.2 等高线 等高线形状若近乎圆形, 表明两个自变量间的交互作用较弱; 等高线形状若呈椭圆形, 表明两个自变量间交互效应显著^[19]。比较图 2(a)–(f)可知, 在优化区域中各因素对苹果 PPO 抑制率的影响程度是: 电压>频率>时间>脉冲宽度; 电压与时间的交互效应较显著, 二者的等高线图接近椭圆。



(a) 电压与频率, 停留时间和脉冲宽度固定在中心值



(b) 电压与脉冲宽度, 频率和停留时间固定在中心值

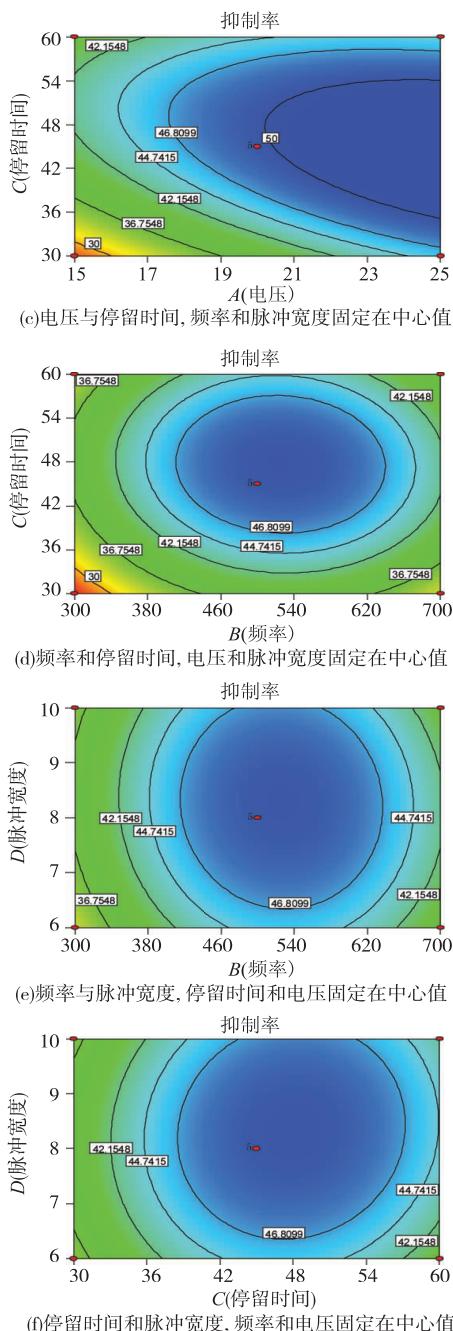


图 2 高压脉冲电场对苹果 PPO 活性抑制率的等高线

Fig. 2 Contour plots of the effects of pulsed electric field on PPO activity

最优参数为:电压 25 kV, 频率 531.36 Hz, 停留时间 44.52 s, 脉冲宽度 8.06 μ s。最大抑制率预测值为 53.41%。将最优钝酶条件修正为电压 25 kV, 频率 530 Hz, 停留时间 45 s, 脉冲宽度 8 μ s, 得到 PPO 的抑制率平均值为 51.86%。与理论预测值比较接近, 相对误差为 2.90%, 证实模型可靠, 实用。

3.3 PEF 对苹果汁品质的影响

3.3.1 苹果汁色值与褐变指数的变化 褐变使得产品感官品质下降, 甚至导致风味和营养成分流失。鲜榨苹果汁的褐变以酶促褐变为主。新鲜果汁通常在短时间内饮用。选择 4 h, 模拟人们两餐主食间的时间间隔。图 3 为 PEF 处理苹果块的鲜榨汁 4℃贮藏时的色值(图 3(a))和 BI(图 3(b))变化。由图可见, 存放时间增加, 苹果汁的色值和 BI 分别呈现下降和上升趋势, 下降和上升的速率随着 PEF 强度增加而减少。在 PEF 对 PPO 最优钝化工艺条件下 4 h 时果汁色值和 BI 都极显著区别于对照组($P<0.01$), 说明 PPO 相对活力与色值和 BI 相关。

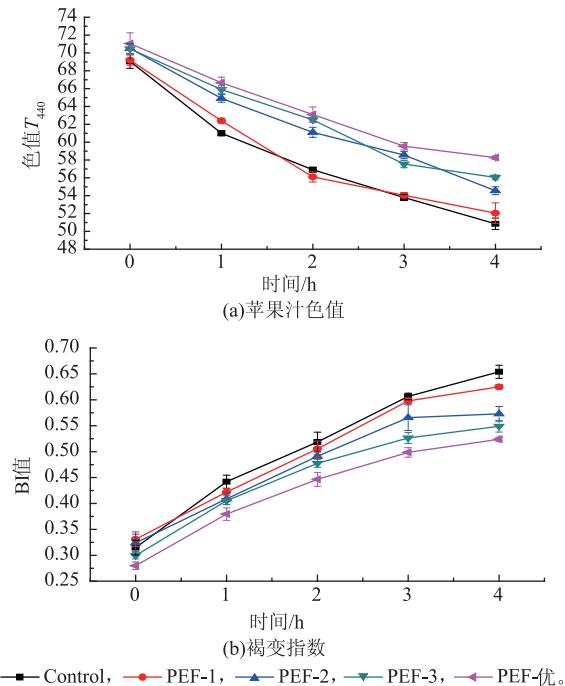


图 3 PEF 处理对鲜榨苹果汁色值和褐变指数的影响

Fig. 3 Effect of PEF on color value and browning index of fresh apple juice

3.3.2 苹果汁 TSS, pH 及还原型维生素 C 的变化 表 5 为 PEF 处理对鲜榨苹果汁的 TSS ($^{\circ}$ Brix)、pH 值和还原型 VC 的影响。可以看出, 与对照相比, PEF 对现榨苹果汁的 TSS、pH 值没有显著影响($P>0.05$), 而 VC 含量呈下降趋势, 原因可能是脉冲电场使还原型 VC 发生氧化, 但方差分析发现, PEF 处理对还原型 VC 下降影响不显著($P>0.05$)。

表 5 PEF 对苹果汁 TSS、pH 值和 VC 的影响 (n=3)

Table 5 Effects of PEF on TSS, pH and vitamin C of apple juice

样品	指标		
	TSS/(°Brix)	pH	维生素C质量浓度/(mg/dL)
Control	4.04±0.08	3.84±0.04	0.67±0.04
PEF-1	4.15±0.06	3.87±0.04	0.62±0.03
PEF-2	4.06±0.08	3.86±0.03	0.58±0.06
PEF-3	4.10±0.04	3.89±0.04	0.50±0.07
PEF-优	4.02±0.07	3.85±0.01	0.51±0.03

3.3.3 苹果汁色泽的变化 CIE Lab 的色彩空间值 $L^*a^*b^*$ 是测定色泽的最常用的指标,尤其是 L^* 值。

表 6 PEF 对苹果汁色泽的影响 (n=3)

Table 6 Effects of PEF on color of apple juice

样品	色泽	时间/h				
		0	1	2	3	4
Control	L^*	45.38±0.30	43.21±0.13	42.49±0.33	41.51±0.54	40.59±0.62
	a^*	-1.05±0.22	-0.36±0.13	-0.44±0.13	-0.22±-0.09	-0.28±0.04
	b^*	17.00±0.28	20.90±0.94	20.60±0.39	23.02±0.54	20.42±0.37
PEF-1	L^*	45.32±0.35	43.79±0.08	43.25±0.09	42.65±0.27	41.79±0.35
	a^*	-1.49±0.43	-0.74±0.08	-0.63±0.17	-0.87±0.07	-0.48±0.10
	b^*	16.72±0.77	18.29±0.52	19.47±0.57	17.77±0.68	21.58±0.65
PEF-2	L^*	45.43±0.30	43.78±0.15	42.97±0.11	42.31±0.12	42.23±0.15
	a^*	-1.235±0.37	-0.88±0.08	-0.56±0.13	-0.39±0.19	-0.48±0.10
	b^*	16.54±0.44	18.77±0.53	20.56±0.58	20.48±0.56	22.33±0.72
PEF-3	L^*	46.47±0.40	45.10±0.11	44.53±0.14	44.01±0.07	43.68±0.13
	a^*	-0.905±0.02	-0.855±0.05	-0.35±0.13	-0.53±0.21	-0.43±0.06
	b^*	17.42±0.11	19.33±0.50	21.49±0.47	21.92±0.90	24.58±0.98
PEF-优	L^*	46.33±0.34	45.21±0.09	44.10±0.07	44.05±0.10	43.74±0.16
	a^*	-1.29±0.16	-1.26±0.33	-0.78±0.16	-0.55±0.11	-0.58±0.04
	b^*	15.16±0.95	17.87±0.40	19.95±0.25	23.08±0.65	23.48±0.47

4 结语

单因素试验结果显示,脉冲电场(PEF)对红富士苹果多酚氧化酶(PPO)活力具有钝化效果。低电场强度范围内,脉冲电场的钝化效果不大;随着电场处理强度的增大,酶的抑制率显著增加($P<0.01$),PEF对苹果PPO抑制率影响最大的水平为电压20 kV,停留时间45 s,频率500 Hz,脉冲宽度8 μ s。

利用响应面分析法建立了PPO抑制率与PEF电压、停留时间、频率、脉冲宽度4个处理参数的二次多项式回归模型,经验证该模型合理。PEF对苹

参考文献:

[1] 焦中高,刘杰超,王思新.果蔬汁非热加工技术及其安全性评析[J].食品科学,2004,25(11):340-345.

JIAO Zhonggao, LIU Jiechao, WANG Sixin. Evaluation and analysis of the microbiological safety of non-thermal technologies for fruit and vegetable juice processing[J]. Food Science, 2004, 25(11): 340-345. (in Chinese)

L^* 代表明度/白度,其范围为0~100,值越大代表明度越大; a^* 为红绿指示值,正值偏红,负值偏绿; b^* 为黄蓝指示值,正值偏黄,负值偏蓝。就苹果的感官品质本身而言, L^* 值宜大, a^* 宜小, b^* 宜大。由表6可见,随着时间延长,各组果汁的颜色由浅黄色向浅褐色转变,并趋于稳定。 L^* 值下降, a^* 和 b^* 值上升。 L^* 值的变化趋势是对照样变化较快,PEF处理组变化较慢。在存放的最初1 h内,对照组的 L^* 值变化幅度最大,PEF-优的 L^* 值变化幅度最小。与对照组相比,PEF处理的果块制备的果汁的色泽较均匀,说明PEF处理能够抑制酶促褐变速率,利于鲜果汁品质保证。

Table 6 Effects of PEF on color of apple juice

果PPO的最佳钝化条件为:电压25 kV,频率530 Hz,停留时间45 s和脉冲宽度8 μ s。在此条件下,苹果PPO抑制率可达51.86%。

鲜榨果汁的色值和褐变指数与PPO的相对活力直接相关。PEF处理能够抑制果汁的酶促褐变。与对照组相比,由最优钝化工艺条件下处理的果块制备的果汁(4 h时)的色值极显著大于对照组($P<0.01$),PEF处理的果块鲜榨的果汁的TSS、pH值没有发生显著改变($P>0.05$),而还原型维生素C呈下降趋势,但下降不显著($P>0.05$)。

- [2] 钟葵,廖小军,梁楚霖,等.脉冲电场和热处理对鲜榨苹果汁贮藏期品质的影响[J].食品与发酵工业,2004,30(8):49-54.
- ZHONG Kui, LIAO Xiaojun, LIANG Chulin, et al. Effects of pulsed electric fields on the quality of apple juice and comparison with heat treatments[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2004, 30(8):49-54. (in Chinese)
- [3] BARSOTTI L, MERLE P, CCHEFTEL J C, et al. Food processing by pulsed electric fields[J]. **Physical Aspects, Food Reviews, International**, 1999, 15(2):163-180.
- [4] GINER J, GIMENO V, MARTIN O. Effects of pulsed electric field processing on apple and pear polyphenol oxidases [J]. **Food Science and Technology International**, 2001, 7(4):339-345.
- [5] Aguiló -Aguayo I, Odriozola-Serrano I, Quintao-Teixeira L J, et al. Inactivation of tomato juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as affected by process conditions[J]. **Food Chemistry**, 2008, 107(2):949-955.
- [6] Aguiló -Aguayo I, Oms-Oliu G, Soliva-Fortuny R, et al. Changes in quality attributes throughout storage of strawberry juice processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments[J]. **Food Science and Technology**, 2009, 42(4):813-818.
- [7] Aguiló -Aguayo I, Soliva-Fortuny R, Martí n-Belloso O. Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat[J]. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2010, 11(2):299-305.
- [8] 曾新安,于淑娟,徐娅莉.脉冲电场对木瓜蛋白酶影响的荧光光谱分析[J].光谱学与光谱分析,2007,27(12):2558-2256.
- ZENG Xinan, YU Shujuan, XU Yali. Fluorescence spectra analysis of papain treated by pulsed electric field [J]. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, 2007, 27(12):2558-2256. (in Chinese)
- [9] YEOM H W, ZHANG Q H, DUNNE C P. Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system [J]. **Food Chemistry**, 1999(67):53-59.
- [10] YANG R, LI S, ZHANG Q. Effects of pulsed electric fields on the activity and structure of pepsin [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2004, 52(24):7400-7406.
- [11] 罗炜,张若兵,陈杰,等.脉冲电场对脂肪氧化酶及多酚氧化酶构象影响的光谱分析[J].光谱学与光谱分析,2009,29(8):2122-2125.
- LUO Wei, ZHANG Ruobing, CHEN Jie, et al. Spectral analysis of polyphenol oxidase (PPO) and lipoxygenase (LOX) treated by pulsed electric field[J]. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, 2009, 29(8):2122-2125. (in Chinese)
- [12] 钟葵,胡小松,陈芳,等.高压脉冲电场对脂肪氧化酶二级和三级构象的影响效果 [J].光谱学与光谱分析,2009,29(3):765-768.
- ZHONG Kui, HU Xiaosong, WU Jihong, et al. Effects of high pulsed electric field on the secondary and tertiary structure of lipoxygenase[J]. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, 2009, 29(3):765-768. (in Chinese)
- [13] 张若兵,罗炜,程伦,等.脉冲电场对脂肪氧化酶活性及构象的影响[J].高电压技术,2007,33(2):94-96.
- ZHANG Ruobing, LUO Wei, CHENG Lun, et al. Effects of pulsed electric field (PEF) on activity and conformation changes of lipoxygenase (LOX)[J]. **High Voltage Engineering**, 2007, 33(2):94-96. (in Chinese)
- [14] QIAN J Y, GU Y P, JIANG W, et al. Inactivating effect of pulsed electric field on lipase in brown rice [J]. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2014, 22:89-94.
- [15] 彭益强,邓峰,刘宇,等.富士苹果中多酚氧化酶活性的中心必需基团与抑制动力学[J].华侨大学学报(自然科学版),2012(1):50-52.
- PENG Yiqiang, DENG Feng, LIU Yu, et al. Researches on essential groups of enzyme active site on kinetics of polyphenol oxidase from Fuji apple[J]. **Journal of Huaqiao University (Natural Science Edition)**, 2012(1):50-52. (in Chinese)
- [16] 付聿成,王妮娅,杜金华.金帅苹果多酚氧化酶提取及部分酶学特性研究[J].食品工业科技,2006,27(2):59-62.
- FU Yucheng, WNG Niya, DU Jinhua. Extraction and partial enzymatic properties of polyphenol oxidase from Golden Delicious apple fruits[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2006, 27(2):59-62. (in Chinese)
- [17] 曲留柱,金世昌,崔洁,等.响应面优化闪式提取香蕉多酚氧化酶[J].食品科学,2013,34(2):136-142.
- QU Liuzhu, JIN Shichang, CUI Jie, et al. Response surface methodology for the optimization of extraction process for polyphenol oxidase from banana (*Musa nana* L.) using herbal blitzkrieg extractor[J]. **Food Science**, 2013, 34(2):136-142. (in Chinese)
- [18] NGUYEN N K, BORKOWSKI J J. New 3-level response surface designs constructed from incomplete block designs[J]. **Journal of Statistical Planning Inference**, 2008, 138:294-305.
- [19] 王燕,罗文谦,张志琪.响应表面优化法及其在天然产物成分提取中的应用[J].安康学院学报,2009,21(1):77-81.
- WANG Yan, LUO Wenqian, ZHANG Zhiqi. Response surface method and its application in natural product component extraction[J]. **Journal of Ankang University**, 2009, 21(1):77-81. (in Chinese)