

热处理对核桃仁脂氧化酶类活性的影响

Effects of different heat treatment on oxidordeuctase activity of walnut kernel

吴秋昊¹ 贾利蓉¹ 陈安特¹ 张 羲¹
WU Qiu-hao¹ JIA Li-rong¹ CHEN An-te¹ ZHANG Xi¹
黄蓉蓉¹ 刘学彬² 汪 平²
HUANG Rong-rong¹ LIU Xue-bin² WANG Ping²

(1. 四川大学轻纺与食品学院, 四川 成都 610065; 2. 四川茂华食品有限公司, 四川 眉山 620038)

(1. College of Light Industry, Textile and Food Engineering, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610065, China;
2. Shigeru Sichuan Food co., Ltd., Meishan, Sichuan 620038, China)

摘要:为研究微波、远红外和热风 3 种处理对核桃仁脂氧化酶类活性的影响,以核桃仁为原料,采用不同强度的微波、远红外和热风对核桃仁进行热处理,测定核桃仁脂氧合酶(LOX)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性变化。结果表明:微波、远红外和热风 3 种处理均能够有效地降低核桃仁 LOX、POD 和 CAT 活性。3 种热处理最优条件分别为:微波 385 W 处理 3 min,远红外 90 ℃处理 30 min 和热风 90 ℃处理 90 min,其中微波灭酶效果最好。

关键词:核桃仁;热处理;酶活;脂质氧化

Abstract: Effects of microwave, far-infrared heating and hot-air treatment on enzyme activity of walnut kernels were investigated. After undergoing different strength of microwave, far-infrared ray and hot-air, the activity of lipoyxygenase activity (LOX), peroxidase (POD) and hydrogenperoxidase (CAT) in walnut kernels were determined. The results showed that microwave, far-infrared heating and hot-air treatment could inhibit the activity of LOX, POD and CAT effectively. The conditions of three heat processing were optimized as follows, i. e. treated at 385 W microwave for 3 min, 90 ℃ far-infrared heating for 30 min, or 90 ℃ hot-air treatment for 90 min, respectively.

Keywords: walnut kernel; heat treatment; enzyme activity; lipid oxidation

核桃(*Juglans regia* L.)又名胡桃,羌桃。核桃仁是一种优质的健脑食品,能够改善大脑的代谢平衡以及神经细胞的生物膜功能^[1],降低血液黏稠度,有清除自由基,抑制机体脂

质过氧化反应^[2-3],起到美容养颜、抗衰老等功效^[4]。核桃仁的油脂含量高达 60% 以上,其中不饱和脂肪酸(油酸、亚油酸和亚麻酸)一般占总量的 90% 以上,特别是亚麻酸含量显著高于其他植物。这些不饱和脂肪酸在采后及加工贮藏中,容易发生脂质氧化反应,生成醛、酮等氧化产物,产生哈喇味,影响核桃品质和风味^[5]。参与油脂酶促氧化的酶主要包括脂氧合酶(LOX)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)^[6-7]。其中 LOX 是关键酶,能催化多元不饱和脂肪酸,通过分子加氧,形成共扼双键的氢过氧化衍生物,进一步氧化产生有害的氧化产物^[8]。

张继刚等^[9]研究表明,适宜微波处理,可减少核桃总酚、蛋白质、脂肪酸等营养物质的损失,能够很好保持核桃贮藏期的品质。Senter 等^[10]试验结果表明,90~100 ℃热风处理美国山核桃后,山核桃保藏期品质最佳。目前研究^[9-10]主要集中在热处理对核桃仁保藏期品质变化的影响,尚未有文献报道不同热处理对核桃仁 LOX、POD、CAT 3 种酶活的影响。微波、远红外、热风均是食品工业中广泛应用的加热方法,所产生的热效应能引起蛋白质变性,使得酶活性降低,甚至丧失。因此,本试验拟着重研究微波、远红外和热风 3 种热处理对核桃仁 LOX、POD、CAT 活性的影响,比较不同强度处理对 3 种酶活性的抑制效果,旨在延缓核桃仁脂质氧化,为核桃的精深加工提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器设备

1.1.1 试验材料

新疆阿克苏 185 薄纸核桃:成都市农贸市场。

1.1.2 仪器和设备

远红外恒温干燥箱:766-0A 型,南通嘉城仪器有限公司;

作者简介:吴秋昊,男,四川大学在读硕士研究生。
通信作者:贾利蓉(1972-),女,四川大学教授,博士。
E-mail:771441479@qq.com
收稿日期:2016-11-25

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-9145A 型,上海一恒科学仪器有限公司;

微波炉:MM721NH1-PW 型,广东美的厨房电器制造有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-1240 型,北京华运安特科技有限责任公司;

高速冷冻离心机:Scanspeed1736R 型,丹麦 LaboGene 公司。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理 薄纸核桃去壳,挑选乳白色、大小基本一致的核桃仁,分别进行以下灭酶处理:在频率 2 455 MHz 微波 231,385 W 条件下,分别处理 2,3,4,5 min;在 0.5~3.5 μm 远红外 60,90 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,分别处理 15,30,45,60 min;在 60,90 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,热风分别处理 60,90,120,180 min。以上各处理载物量均为 60 g,物料厚度 10 mm。

1.2.2 粗酶液制备 称取处理后样品 2 g,液氮研磨,加入 0.05 mol/L 磷酸缓冲溶液(pH 7.0)10 mL 及 4 g/100 mL 聚乙烯吡咯烷酮(PVP),混匀后,4 $^{\circ}\text{C}$ 下 14 000 r/min 离心 20 min,取中间层上清液并用微孔滤膜过滤后得粗酶液。

1.2.3 酶活性测定

- (1) LOX 活性:参照 Buranasompob 等^[11]的方法。
- (2) POD 活性:采用愈创木酚法^{[12]86-87}。
- (3) CAT 活性:采用过氧化氢还原法^{[12]110-112}。

1.2.4 数据处理 所有试验均重复 3 次,采用 SPSS 21 对试验数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 微波处理对核桃仁酶活的影响

由图 1 可知,经微波加热处理后,核桃仁 LOX、POD 和 CAT 活性均比未处理样品的酶活性显著降低($P<0.05$),且随着加热时间延长而逐渐减弱;微波功率越大,酶活性降低越快。当微波功率为 231 W,加热 2 min 时,LOX、POD 和 CAT 酶活性分别降低了 58%,42%,34%;加热 5 min 时,LOX、POD、CAT 活性分别降低了 85%,92%,94%,表明延长微波处理时间有利于抑制 POD 和 CAT 活性;当微波功率为 385 W,加热 2 min 时,LOX、POD、CAT 活性分别下降了 61%,77%,50%;加热 5 min 时,LOX、POD、CAT 活性分别下降了 90%,97%,94%,相比于 LOX、CAT,增大功率对 POD 活性抑制效果更好。统计结果表明,不同功率微波加热对核桃仁 LOX、POD 和 CAT 活性影响均呈现差异显著($P<0.05$)。这可能是微波功率增大,产生的热效应和电磁效应更加剧烈,水分子在微波场中的旋转加速,物料温度升高更快,对蛋白质的变性作用加强^[13],这与 Ramesh 等^[14]研究结果相同。

2.2 远红外处理对核桃仁酶活的影响

远红外电磁波的频率与食品分子中原子振动频率接近时,就会产生共振现象,伴随产生大量热量,致使酶蛋白的空间结构遭到破坏,使酶失活^[15]。由图 2 可知,远红外在 90 $^{\circ}\text{C}$ 处理15 min时,LOX活性降低了69%,之后下降较缓慢;而

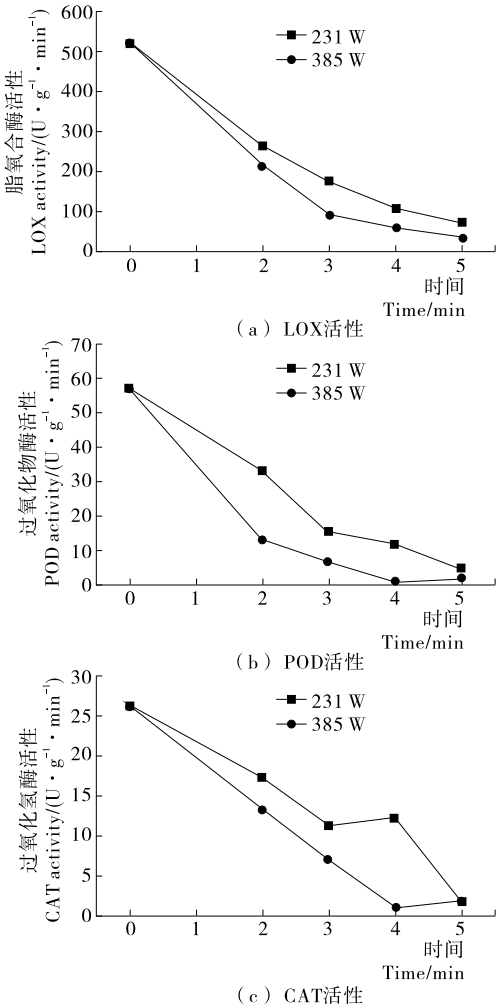


图 1 微波处理对核桃仁酶活性的影响

Figure 1 Effect of microwave treatment on enzyme activities of walnut kernel

60 $^{\circ}\text{C}$ 处理 15 min 后,酶活性仅下降了 33%,之后继续下降,60 min 后酶活降低了 78%。90 $^{\circ}\text{C}$ 远红外处理下核桃仁 LOX 残存活性明显低于 60 $^{\circ}\text{C}$ 组($P<0.05$),45 min 除外($P>0.05$)。表明红外温度越高,灭酶效果越好,但处理时间达到 45 min 后,LOX 活性变化不再明显。

随着远红外处理时间的延长,POD 活性逐渐降低。90 $^{\circ}\text{C}$ 远红外处理下核桃仁 POD 残存活性明显低于 60 $^{\circ}\text{C}$ 组($P<0.01$),说明温度升高,致使 POD 活性快速下降;对于 CAT,当处理时间为 15 min 时,60 $^{\circ}\text{C}$ 与 90 $^{\circ}\text{C}$ 组 CAT 活性均急剧下降,分别减少了 78%和 85%,下降幅度均比 LOX 大,这可能是因为 CAT 分子在 0.5~3.5 μm 波长下吸收带更大,对远红外吸收更多,蛋白质分子运动量增加,产生更多的热量,致使酶更快失活;也可能是核桃仁中含有某些成分提高了 LOX 的热稳定性^[16],还需进一步研究。随着处理时间的延长,CAT 活性下降变缓。统计分析表明,60 $^{\circ}\text{C}$ 与 90 $^{\circ}\text{C}$ 远红外加热对 CAT 酶活性的抑制效果差异不显著($P>0.05$)。综合比较,远红外对 3 种酶活性的抑制效果依次为 CAT>POD>LOX,90 $^{\circ}\text{C}$ 远红外比 60 $^{\circ}\text{C}$ 处理有更好的灭酶效果,但加热达 45 min 时,核桃仁部分呈褐色,故 90 $^{\circ}\text{C}$ 远红外加

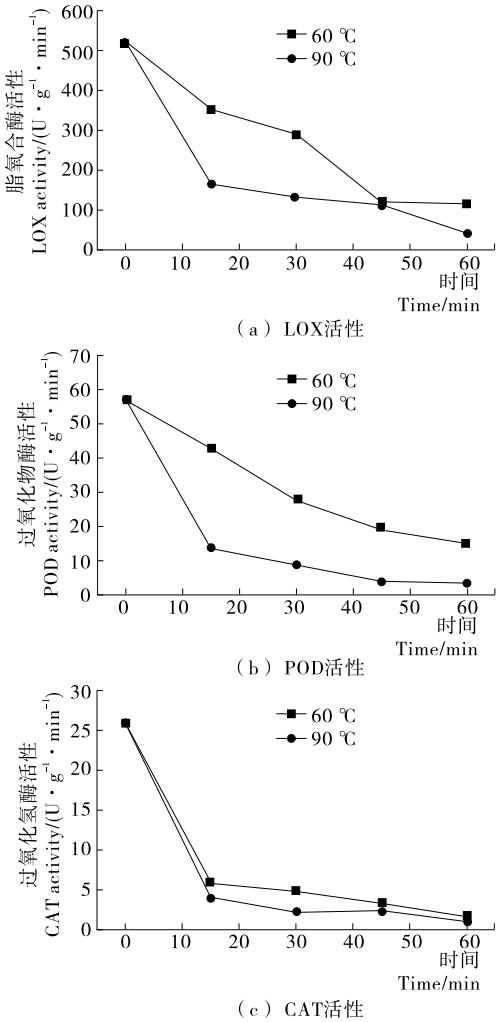


图 2 远红外处理对核桃仁酶活性的影响

Figure 2 Effect of far infrared treatment on enzyme activity of walnut kernel

热 30 min, 灭酶效果较佳。

2.3 热风处理对核桃仁酶活的影响

由图 3 可知, 处理 60 min 时, 3 种酶活均大幅下降, 60 min 后下降幅度减小。这与 Buranasompob^[11] 及 Zacheo^[17] 等对 LOX 的研究结果一致。对于 LOX, 60 °C 和 90 °C 两组处理残存活性差异不显著($P>0.05$), 表明热风处理温度对 LOX 活性的抑制效果无显著性差异。对于 POD, 90 °C 热风加热 60 min 后, POD 活性下降速度略高于 60 °C ($P<0.05$), 当加热时间超过 60 min, 60 °C 与 90 °C 热风加热对 POD 酶活性的抑制效果差异不显著($P>0.05$)。对于 CAT, 当处理 60, 90 min 时, 60 °C 与 90 °C 组的 CAT 活性分别减小了 40%, 61% 与 73%, 84%。90 °C 热风处理后核桃仁 CAT 残存活性明显低于 60 °C 试验组($P<0.01$), 说明 90 °C 热风对 CAT 活性抑制效果明显好于 60 °C。

综上可知, 较高温度热风处理能更快速地抑制 CAT 的活性, 但对 LOX、POD 活性影响不大; 当加热时间超过 90 min 时, 核桃样品品质变差, 90 °C 热风处理 90 min, 对 LOX、POD、CAT 3 种酶活性抑制效果较好。

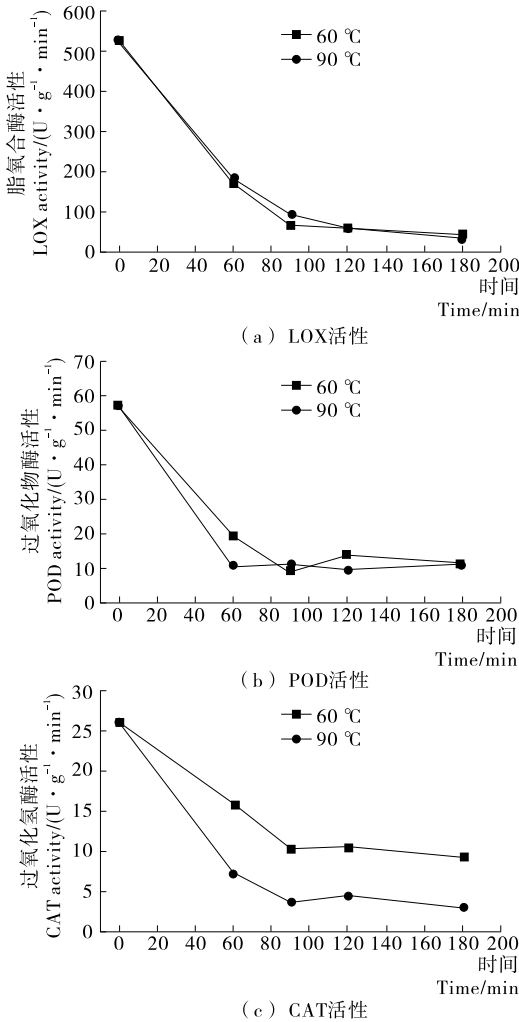


图 3 热风处理对核桃仁酶活性的影响

Figure 3 Effect of heat treatment on enzyme activity of walnut kernel

3 结论

从试验结果可以看出: ① 微波、红外和热风处理均能有效抑制核桃仁 LOX、POD 和 CAT 活性。其中, 微波灭酶所需时间最短, 功率越高, 灭酶效果越显著; 远红外加热温度越高, 对 LOX 和 POD 活性抑制效果越好, 但对 CAT 活性影响不大; 较高温度热风加热能更快速地抑制 CAT 的活性, 但对 LOX、POD 活性影响不大; ② 综合比较 3 种加热方式, 其中微波加热时间最短, 且能较好地保持核桃仁品质, 与远红外和热风比较能更好地抑制 LOX、POD 和 CAT 活性, 灭酶效果最佳。关于核桃仁经 3 种加热处理后贮藏期内品质的变化, 本研究尚未涉及, 还待进一步研究。

参考文献

[1] 冯春艳, 荣瑞芬, 刘雪峥. 核桃仁及内种皮营养与功能成分分析研究进展[J]. 食品工业科技, 2011(2): 408-411.
[2] 陆俊, 赵安琪, 成策, 等. 核桃营养成分与生理活性及开发利用[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 238-242.

(下转第 204 页)

genes (Shiva A and Cecropin B) via a novel Agrobacterium - mediated transformation of mature axillary buds[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 128(2): 99-107.

[45] OSUSKY M, ZHOU Guo-qing, OSUSKA L, et al. Transgenic plants expressing cationic peptide chimeras exhibit broad-spectrum resistance to phytopathogens[J]. Nature Biotechnology, 2000, 18(11): 1 162-1 166.

[46] OSUSKY M, OSUSKA L, KAY W, et al. Genetic modification of potato against microbial diseases; in vitro and in planta activity of a dermaseptin B1 derivative, MsrA2[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(4): 711-722.

[47] OSUSKY M, OSUSKA L, HANCOCK R E, et al. Transgenic potatoes expressing a novel cationic peptide are resistant to late blight and pink rot[J]. Transgenic Research, 2004, 13(2): 181-190.

[48] SCHAEFER S C, GASIC K, CAMMUE B, et al. Enhanced resistance to early blight in transgenic tomato lines expressing heterologous plant defense genes[J]. Planta, 2005, 222(5): 858-866.

[49] JONES R W, OSPINA-GIRALDO M, CLEMENTE T. Prosytemin-antimicrobial-peptide fusion reduces tomato late blight lesion expansion[J]. Molecular Breeding, 2004, 14(1): 83-89.

[50] CHAKRABARTI A, GANAPATHI T R, MUKHERJEE P K, et al. MSI-99, a magainin analogue, imparts enhanced disease resistance in transgenic tobacco and banana[J]. Planta, 2003, 216(4): 587-596.

[51] SHARMA A, SHARMA R, IMAMURA M, et al. Transgenic expression of cecropin B, an antibacterial peptide from Bombyxmori, confers enhanced resistance to bacterial leaf blight in rice[J]. FEBS letters, 2000, 484(1): 7-11.

[52] RAHNAMAEIAN M, VILCINSKAS A. Defense gene expression is potentiated in transgenic barley expressing antifungal peptide metchnikowin throughout powdery mildew challenge [J]. Journal of Plant Research, 2012, 125(1): 115-124.

[53] SCHIRRA M, D’ AQUINO S, CABRAS P, et al. Control of postharvest diseases of fruit by heat and fungicides; efficacy, residue levels, and residue persistence: A review[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(16): 8 531-8 542.

[54] LIU Zun-ying, ZENG Ming-yong, DONG Shi-yuan, et al. Effect of an antifungal peptide from oyster enzymatic hydrolysates for control of gray mold (Botrytis cinerea) on harvested strawberries[J]. Postharvest Biology & Technology, 2007, 46(1): 95-98.

[55] MUÑOZ A, LÓPEZ GARCÍA B, MARCOS J F. Comparative Study of Antimicrobial Peptides To Control Citrus Postharvest Decay Caused by Penicillium digitatum [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2007, 55(20): 8 170-8 176.

[56] LÓPEZ-GARCI B, VEYRAT A, PÉREZ-PAYÁ E, et al. Comparison of the activity of antifungal hexapeptides and the fungicides thiabendazole and imazalil against postharvest fungal pathogens [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 89(2): 163-170.

[57] BADOSA E, FERRÉ R, FRANCÈS J, et al. Sporocidal activity of synthetic antifungal undecapeptides and control of Penicillium rot of apples[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2009, 75(17): 5 563-5 569.

[58] JONES R W, PRUSKY D. Expression of an antifungal peptide in Saccharomyces; a new approach for biological control of the postharvest disease caused by Colletotrichum coccodes[J]. Phytopathology, 2002, 92(1): 33-37.

[59] WISNIEWSKI M, BASSETT C, ARTLIP T, et al. Overexpression of a peach defensin gene can enhance the activity of postharvest biocontrol agents[J]. Acta Horticulturae, 2005, 682: 1 999-2 006.

[60] 康苏, 夏丽洁, 马纪, 等. 新疆家蚕抗菌肽对鲜榨果汁防腐效果的影响[J]. 食品科技, 2014(6): 247-251.

(上接第 147 页)

[3] 吕海宁, 折改梅, 吕扬. 核桃和核桃楸的化学成分及生物活性的研究进展[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(4): 489-493.

[4] 毕敏, 尹政. 核桃仁提取物抗脑衰老作用的实验研究[J]. 现代中药研究与实践, 2006, 20(3): 35-37.

[5] SAYES C M, GOBIN A M, AUSMAN K D, et al. Nano-C₆₀ cytotoxicity is due to lipid peroxidation [J]. Biomaterials, 2005, 26(36): 7 587-7 595.

[6] 孙丽芹, 董新伟, 刘玉鹏, 等. 脂类的自动氧化机理[J]. 中国油脂, 1998, 23(5): 56-57.

[7] PIFFAUT B, METCHE M. Properties of peroxidase and polyphenol oxidase innatural complexes from walnuts (*Juglans regia*) and in active DL-DOPA copolymers [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1991, 57(4): 493-506.

[8] 蔡琨, 方云, 夏咏梅, 等. 植物脂氧合酶的研究进展[J]. 现代化工, 2003(23): 23-27.

[9] 张继刚, 丁之恩, 梁进, 等. 适宜微波处理保持山核桃贮藏品质 [J]. 农业工程学报, 2016, 32(14): 284-292.

[10] SENTER S, FORBUS W, NELSON S, et al. Effects of dielectric and steam heating treatments on the storage stability of pecan kernels[J]. Journal of Food Science, 1984, 49(3): 893-895.

[11] BURANASOMPOB A, TANG J, POWERS J R, et al. Lipxygenase activity in walnuts and almonds[J]. LWT-Food Food Science and Technol, 2007, 40(5): 893-899.

[12] 朱广廉. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990.

[13] 王绍林. 微波钝化酶的机理及其设备开发[J]. 农业工程学报, 1996, 12(13): 168-171.

[14] RAMESH M, RAO P H, RAMADOSS C S. Microwave treatment of groundnut: extractability and quality of oil and its relation to lipase and lipxygenase activity [J]. LWT-Food Science and Technology, 1995, 28(1): 96-99.

[15] 李云飞, 殷涌光, 徐树来, 等. 食品物性学[M]. 上海: 中国轻工业出版社, 2015: 220-221.

[16] 蔡琨, 方云, 夏咏梅, 等. 大豆脂肪氧合酶的提取及影响酶活因素的研究[J]. 林产化学与工业, 2004, 24(2): 52-56.

[17] ZACHEO G, CAPPELLO M, GALLO A, et al. Changes associated with post-harvest ageing in almond seeds [J]. LWT-Food Science and Technology, 2000, 33(6): 415-423.