

陶希芹,王明力,谯顺彬.壳聚糖/纳米 TiO₂ 复合涂膜保鲜金秋梨过程中酶活性变化[J].江苏农业科学,2014,42(1):225-226.

壳聚糖/纳米 TiO₂ 复合涂膜保鲜金秋梨过程中酶活性变化

陶希芹¹,王明力²,谯顺彬¹

(1. 贵州工业职业技术学院,贵州贵阳 550008;2. 贵州大学发酵工程与生物制药重点实验室,贵州贵阳 550003)

摘要:以壳聚糖为主要成膜材料,辅以月桂酸钠改性过的纳米 TiO₂,制备了新型安全无毒的涂膜剂壳聚糖/纳米 TiO₂ 复合涂膜,比较了用壳聚糖单膜处理及壳聚糖/纳米 TiO₂ 复合涂膜处理后金秋梨采后 POD、SOD、PPO 活性变化,结果表明:将壳聚糖/纳米 TiO₂ 复合膜涂于金秋梨表面,复合涂膜内部形成高 CO₂ 低 O₂ 的环境,降低了金秋梨的呼吸作用,有利于果实的贮藏,说明壳聚糖/纳米 TiO₂ 复合涂膜可以显著降低金秋梨的呼吸作用。

关键词:壳聚糖/纳米 TiO₂;金秋梨;酶活性

中图分类号: TS255.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)01-0225-02

金秋梨果实较大、皮薄肉厚、汁多味甜,具有清痰止咳、润肺凉心、清热解毒、开胸理气等功能,但金秋梨不耐贮藏,室温条件下贮藏期只有 20 d^[1]。因此,采用有效的保鲜措施,对于减少金秋梨采后贮藏损失、提高经济效益有重要意义。壳聚糖别称脱乙酰甲壳素,易在物体表面形成半透膜,能有效阻碍病菌入侵并抑制其生长,且该膜对 O₂、CO₂、C₂H₄ 具有一定的选择渗透作用。壳聚糖无毒、无污染、来源丰富^[2-3],是一种天然保鲜剂,近年来被广泛应用于果蔬贮藏保鲜^[4-6]。纳米 TiO₂ 具有无毒、抗菌、防紫外线、超亲水、超亲油等特性,被广泛应用于化妆品^[6]、抗菌纤维等领域。本研究利用纳米 TiO₂ 对壳聚糖进行改性,旨在为金秋梨贮藏提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

壳聚糖脱乙酰度为 95% (浙江省澳兴生物科技有限公司),纳米 TiO₂ (浙江省舟山市明日纳米材料技术有限公司),月桂酸钠(天津市河北区大陆化学试剂厂)。

1.2 仪器与设备

UV-2550 型紫外分光光度计(日本岛津)、HS10260D 型超声波清洗器(天津市恒奥科技发展有限公司)、AG135 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)、PHB-3 数字式酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司)、81-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司)、DKS-12 型电热恒温水浴锅(上海经济区沈荡中新电器厂)。

1.3 壳聚糖的涂膜处理

1.3.1 壳聚糖单膜及复合膜的制备 称取 2.0 g 壳聚糖溶解在体积分数为 0.6% 的 100 mL 冰乙酸溶液中,置于磁力搅

拌器上搅拌,使其充分溶解,超声脱气 15 min,再搅拌脱气,重复 3 次,制得壳聚糖溶液,将此溶液记为 CTS 单膜溶液。称取月桂酸钠改性过的纳米 TiO₂ 0.03 g 溶于 1.5 g 甘油中,加入体积分数为 0.6% 的冰乙酸溶液 100 mL,再加入 2.0 g 壳聚糖,磁力搅拌器搅拌,使其充分溶解,超声脱气 15 min,再搅拌脱气,重复 3 次,制得壳聚糖/纳米 TiO₂ 复合涂膜溶液,记为 CTS-TiO₂ 复合膜溶液^[5]。

1.3.2 涂膜处理 采收当日,分别用配制好的质量分数为 2.00% 的壳聚糖及 2.00% 壳聚糖/纳米 TiO₂ 溶液对金秋梨进行涂膜处理,同时,为了使金秋梨涂膜更加均匀,在涂膜液中加入 1% 安全无毒的食品添加剂油酸钠,将金秋梨分别浸泡于配制好的溶液中 2 min 后捞出,即可在金秋梨表面形成一层透明、光亮、均匀、完整的薄膜,自然晾干后室温下放置。

1.4 测定指标及方法

选择成熟,无机械损伤,病虫害,大小均匀的金秋梨,随机分为 3 组,每组 40 个,于采收当日对金秋梨进行涂膜处理。将金秋梨分别浸泡于配制好的溶液中 2 min 后捞出,自然晾干后室温下对金秋梨分别进行 CTS-TiO₂、CTS 涂膜保鲜试验,并设空白组对照。贮藏期间每 4 d 测定 1 次各项指标,每次每组随机抽取 3 个金秋梨用于测定,重复 3 次。

1.5 金秋梨酶活性测定

1.5.1 POD 活性测定 取 4 支试管,编号 1、2、3、4。1、2 号试管各加 0.1 mL 酶液,在沸水中加热 5 min 冷却,再加入 2.4 mL 反应混合液,作用 10 min。3、4 号试管各加 2.4 mL 反应混合液,最后加入 0.1 mL 酶液,记时。4 支试管立即于 37 ℃ 水浴中保温 15 min,然后迅速转入冰浴,各加入 2.0 mL 20% 三氯乙酸终止反应,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液,适当稀释。以空白为对照,用分光光度计测定其在 420 nm 波长下的 D 值。以 1 min $D_{420\text{ nm}}$ 变化 0.01 为 1 个活性单位(U),酶的比活力计算公式如下:

$$\text{POD 活性} [\text{U}/(\text{mg} \cdot \text{min})] = \frac{\Delta D_{420\text{ nm}} \times V_{\text{T}}}{m \times V_{\text{s}} \times 0.01 \times t} \quad (1)$$

式中: $\Delta D_{420\text{ nm}}$ 代表反应时间内吸光度变化; m 代表果实鲜重(mg); t 代表反应时间(min); V_{T} 代表提取酶液总体积(mL);

收稿日期:2013-06-05

基金项目:贵州省科学技术基金(编号:黔科合 J 字[2012]2179)。

作者简介:陶希芹(1982—),女,山东莱芜人,硕士,讲师,从事生物技术研究。E-mail:332437382@qq.com。

通信作者:王明力,博士,教授,从事生物技术研究。Tel:(0851)4732861。

V_s 代表酶液体积(mL)。

1.5.2 PPO 活性测定 取4支试管,编号1、2、3、4。1、2号试管各加0.1 mL 酶液,在沸水中加热5 min 冷却,再加入3.9 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液和1 mL 儿茶酚溶液。3、4号试管各加3.9 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液中1 mL 儿茶酚溶液,最后加入0.1 mL 酶液,记时。4支试管立即于37℃水浴中保温10 min,然后迅速转入冰浴,各加入2.0 mL 20%三氯乙酸终止反应,4 000 r/min 离心5 min,取上清液,适当稀释。以空白为对照,用分光光度计测定其在525 nm 波长下的 D 值。以1 min 光吸收值改变0.01所需的酶量为1个活力单位,酶的活力计算公式如下:

$$\text{PPO 活性} [0.01 \Delta D / (g \cdot \min)] = \frac{\Delta D}{0.01 \times m \times t} \times D \quad (2)$$

式中: ΔD 代表反应时间内吸光度变化; m 代表果实鲜重(g); t 代表反应时间(min); D 代表稀释倍数。

1.5.3 SOD 活性测定 在盛有3 mL 反应混合液的试管中加入适量SOD粗酶液,混合后放在透明的试管架上,光照10 min 后迅速测定 $D_{560 \text{ nm}}$ 值,以不加酶液的试管为对照,如酶液浓度大、活性强时,适当减少酶用量。定义:1 mL 反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD为1个活力单位(U),酶活力计算公式如下:

$$\text{SOD 活性} (\text{U}/\text{mg}) = \frac{(D_1 - D_2) \times V_T}{D_1 \times m \times 50\%} \quad (3)$$

式中: D_1 、 D_2 分别代表对照管、测定管吸光度; m 代表果实鲜重(mg); V_T 代表反应液总体积(mL)。

2 结果与分析

2.1 金秋梨 POD 活性

POD活性可作为果实成熟、衰老的指标之一,其与果蔬的风味流失有直接关系^[7]。由图1可以看出,贮藏初期,各处理组果实POD酶活性较低且变化趋势基本一致,随着贮藏时间的延长,各处理组果实POD活性逐渐上升,贮藏后期,各处理组果实POD活性增加速度变缓,但对照组酶活性始终高于涂膜组,表明壳聚糖涂膜对金秋梨POD活性上升有抑制作用,从而延长了果实的贮藏保鲜期。

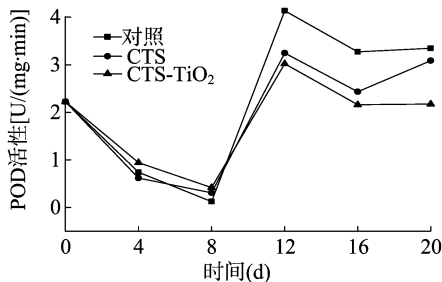


图1 壳聚糖及壳聚糖复合涂膜对金秋梨POD活性的影响

2.2 金秋梨 PPO 活性

由图2可以看出,各处理组果实PPO活性均呈现增加趋势,且涂膜组果实PPO活性始终较空白组低。PPO活性由大到小依次为对照组、CTS处理组、壳聚糖/纳米TiO₂复合涂膜处理组。涂膜处理明显减少了果实对O₂的吸收。通过纳米TiO₂改良膜性能后,复合膜内部形成高CO₂低O₂的环境,降低了酶活性。壳聚糖涂膜对金秋梨PPO活性的上升有抑制

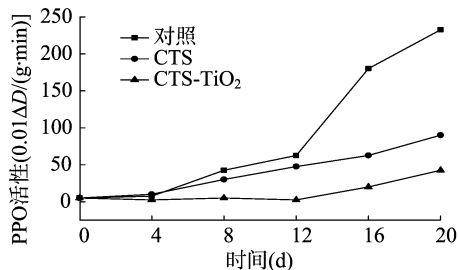


图2 壳聚糖及壳聚糖复合涂膜对金秋梨PPO活性的影响

作用,从而延长了果实的贮藏保鲜期。

2.3 金秋梨 SOD 酶活性

SOD对植物细胞有保护作用^[8]。SOD能在植物衰老过程中清除组织中的活性氧,维持活性氧代谢平衡,保护膜结构,延缓植物衰老。由图3可知,贮藏期间,各处理组金秋梨SOD活性呈现不规则变化,涂膜果实SOD活性高于空白组,其中复合涂膜组果实SOD活性远远高于空白组,说明壳聚糖涂膜能抑制果实与外界的气体交换。纳米TiO₂改良了膜的力学性能,复合膜内部形成高CO₂低O₂的环境,从而抑制了果实氧化,提高了金秋梨SOD活性。

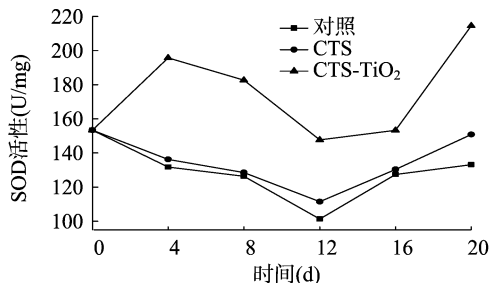


图3 壳聚糖及壳聚糖复合涂膜对金秋梨SOD活性的影响

3 结论与讨论

本研究将壳聚糖/纳米TiO₂复合膜涂于金秋梨表面,复合涂膜内部形成高CO₂低O₂的环境,降低了金秋梨的呼吸作用,有利于果实贮藏,说明壳聚糖/纳米TiO₂复合涂膜可以显著降低金秋梨的呼吸作用,保持金秋梨营养成分,对金秋梨保鲜起到了较好的作用。

参考文献:

- [1] 谢培荣,许桂芳,欧阳菊英. 金秋梨的采收期和贮藏方法研究[J]. 中国南方果树,2003,32(4):72-73.
- [2] 郭开宇,赵谋明. 甲壳素/壳聚糖的研究进展及其在食品工业中的应用[J]. 食品与发酵工业,2000,26(1):59-64.
- [3] 王益,黄文. 壳聚糖对鸡蛋涂膜保鲜的研究[J]. 食品科学,1999(10):68-70.
- [4] 陶希芹,王明力. 壳聚糖的改性及其在农业上的应用研究[J]. 贵州农业科学,2007,35(5):157-159.
- [5] 郑学勤,宫明波,位绍文,等. 壳聚糖衍生物对苹果和梨的贮藏保鲜效果[J]. 中国果树,1996(2):16-19.
- [6] Gasparro F P, Mitchnick M, Nash J F. A review of sunscreen safety and efficacy[J]. Photochemistry and Photobiology,1998,68(3):243-256.
- [7] 王璋. 食品酶学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1994:51-56.
- [8] 韩冬梅,吴振先,陈维信,等. 龙眼采后果肉生理生化变化研究[J]. 华南农业大学学报:自然科学版,2002,23(1):20-23.