

苹果酒中模拟体系下非酶氧化与酶促氧化对聚合度影响的研究

刘伟伟,赵光整,徐岩,张影陆

(江南大学生物工程学院,江苏 无锡 214036)

摘要: 以苹果酒中单酚含量较多的4种酚(儿茶素、表儿茶素、绿原酸和咖啡酸)为研究对象,在模拟苹果酒pH体系环境下,对其在非酶氧化和酶促氧化下聚合度的变化进行了研究。结果表明,在非酶氧化过程中,以儿茶素和表儿茶素的聚合反应为主,而在酶促氧化过程中,则是以绿原酸和咖啡酸的聚合反应为主。

关键词: 苹果酒; 非酶氧化; 酶促氧化

中图分类号: TS262.7; TS261.4; TQ920.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2006)03-0042-03

Investigation on the Effects of Non-enzymatic Oxidation & Enzymatic Oxidation on the Polymerization Degree of Cider under Simulation System

LIU Wei-wei, ZHAO Guang-ao, XU Yan and ZHANG Ying-lu

(Bioengineering College of Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214036, China)

Abstract: The polymerization degree changes of four kinds of phenols (catechin, epicatechin, chlorogenic acid and caffeic acid) in cider by non-enzymatic oxidation or by enzymatic oxidation under simulated cider pH system environment were studied. The results suggested that the polymerization of catechin and epicatechin occurred mainly in non-enzymatic oxidation and the polymerization of chlorogenic acid and caffeic acid occurred mainly in enzymatic oxidation. (Tran. by YUE Yang)

Key words: cider; non-enzymatic oxidation; enzymatic oxidation

苹果酒是以苹果发酵而成的含酒精饮料,发展苹果酒与我国现阶段逐步调整农业产业结构,鼓励开发丰富的果业资源,发展果酒产业战略一致。但是,目前市场上苹果酒在口味和稳定性上还不尽如人意。主要是口味中的湿度控制和易发生褐变和浑浊沉淀等。这与苹果酒中的酚类物质的聚合有很大关系^[1,2]。在国内,这方面的研究报告不多,尤其是对其聚合度形成及其产生机理的研究就更少了。

本研究是在模拟苹果酒pH环境体系下对4种单酚在非酶氧化条件下和酶促氧化条件下其聚合度的变化进行试验,希望通过聚合度的测定为苹果酒酿造及贮存过程中聚合度变化提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器

PLUS384型酶标仪,UV-754型分光光度计,DG-

2C多功能恒温箱。

1.2 试剂

1.2.1 材料

儿茶素、表儿茶素、绿原酸、咖啡酸和酪氨酸酶(EC1.14.18.1;PPO),从Sigma公司购买的标准纯品。配制pH3,pH3.5,pH4,pH7和pH8的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液和一定浓度的儿茶素、表儿茶素、绿原酸和咖啡酸标准溶液。

1.2.2 试剂

Folin-Denis试剂:在750 mL水中,加入100 g钨酸钠($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、20 g磷钼酸($\text{H}_3\text{PO}_3\text{MoO}_4$)、50 mL磷酸,回流2 h,冷却,稀释至1000 mL。

饱和碳酸钠溶液:①单宁酸标准溶液:称取1 g单宁酸,溶解于水中,稀释至100 mL,备用;②儿茶素标准溶液:在配制好的2.50 mg/mL的儿茶素乙醇溶液中取10 mL儿茶素标准溶液于100 mL容量瓶中,用乙醇稀释

收稿日期:2005-10-24; 修回日期:2005-11-02

作者简介:刘伟伟(1980-),男,山东人,硕士研究生,主要从事生物工程研究。

至刻度。此溶液含儿茶素 0.25 mg/mL;③1%香草醛乙醇溶液。

1.2.3 样品处理

非酶氧化:取酚溶液 4 mL 加入 96 mL 的缓冲溶液中,充分混合,反应在 15 °C 下进行。分别在 0, 5 d, 10 d, 15 d, 20 d, 25 d 和 30 d 取样进行测定。

酶促氧化:取酚溶液 2 mL 加入 14 mL 的缓冲溶液中,加入 4 mL 的 50 u/mL 的酶液,反应在室温(20 °C)下进行,每 2 min 取样一次进行测定。测定过程中,取样时间要迅速。

1.3 相对聚合度(FD/V)^[9]

方法:①FD 值:取 2 mL 样品于 100 mL 容量瓶中,加入 2 mL 的 FD 试剂,4 mL 20% 的 Na₂CO₃, 定容至 100 mL,1 h 后于 760 nm 处测吸光值;②V 值:取 2 mL 样品于 10 mL 容量瓶中,加 3 mL 1% 的香草醛乙醇溶液,加入 4 mL 浓盐酸,定容,30 min 后于 500 nm 处测吸光值。

FD/V 能大致估计出酚类物质的聚合程度。FD/V 值越大,说明酚类物质聚合程度越大,聚合后所形成的分子量就越大。

2 结果与分析

2.1 非酶氧化条件下,不同 pH 对儿茶素标准溶液的相对聚合度的影响

采用 pH3, pH3.5, pH4 和 pH7 下的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液对儿茶素标准溶液进行非酶氧化试验。其相对聚合度变化情况见图 1。

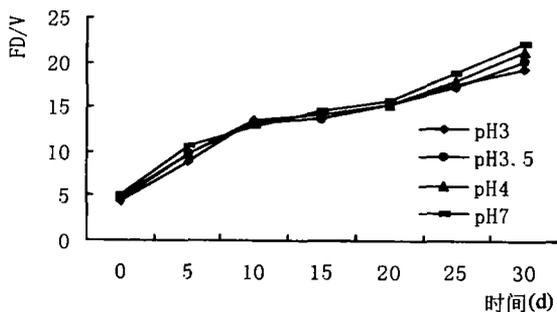


图 1 模拟体系中儿茶素标准溶液在不同 pH 条件下的聚合度变化曲线

此实验设计的目的是观察一种单酚在不同 pH 条件下不同时间内其聚合度的变化情况。这里以儿茶素为研究对象。由图 1 可以看出,儿茶素在不同的 pH 值下的聚合度的变化趋势基本相同,都是随着时间的延长,其聚合度也逐渐增加。而且还有随着时间的延长,不同 pH 所产生的聚合度的大小也似乎存在着差异。pH 越大,所产生的聚合度也就越大。由此看出,儿茶素这一单酚溶液

随着放置时间的延长,会缓慢聚合,并且 pH 对非酶氧化下的单酚聚合度也稍有影响,此结果与文献报道一致^[9]。

2.2 非酶氧化条件下,各种主要单酚及其混合液的相对聚合度的变化

把 12 种单酚分成两类:一类是以儿茶素和表儿茶素为代表的酚类物质,主要是属于黄酮类物质,称之为中性酚;另一类是以绿原酸和咖啡酸为代表的酚类物质,主要是属于酚酸及其衍生物类物质,称为酸性酚^[9]。下面将分开对这两类酚类物质进行试验,其聚合度结果见图 2 和图 3。

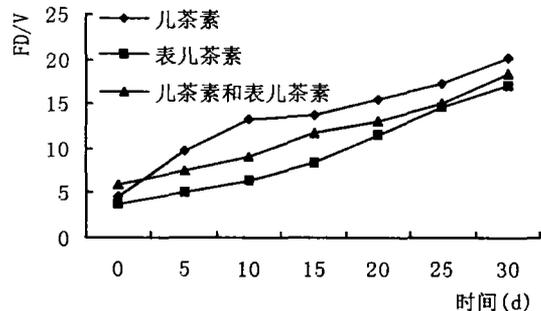


图 2 儿茶素、表儿茶素和其混合液在 pH3.5 下的相对聚合度的变化

从图 2 可以看出,儿茶素标准溶液随着时间的增加,聚合度是逐渐增加的,并且增加了 4 倍多。表儿茶素标准溶液以及其混合液的聚合度增加趋势与儿茶素的变化趋势相一致,都具有不同程度的增加。并且,混合液的聚合度的大小介于儿茶素和表儿茶素两者之间。从图 2 也可以看出,表儿茶素和儿茶素由于具有相类似的结构^[9],所以他们的聚合度存在大致相同的变化趋势,大致都是随着时间的延长而不断增加。

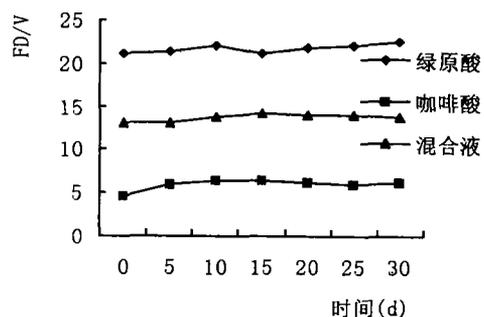


图 3 绿原酸、咖啡酸和其混合液的相对聚合度的变化

从图 3 可以看出,绿原酸的相对聚合度在 30 d 内都维持在 21 左右,咖啡酸的相对聚合度都维持在 5 左右,而他们的混合液的相对聚合度则在 13 左右,基本上保持稳定。并且混合液的相对聚合度值介于绿原酸和咖啡酸之间。这说明绿原酸和咖啡酸等酚酸类物质在此条

件下不易发生聚合反应,所以其聚合度保持不变^[7]。

2.3 酶促氧化条件下,各种主要单酚及其混合液的相对聚合度的变化

酶促氧化过程中,影响氧化程度的因素^[8]有:可氧化的底物的存在,主要是酚类物质;氧气的存在;酪氨酸酶等氧化酶的存在。所以,在酪氨酸酶和氧的存在下,酚类物质是促使苹果酒褐变的主要因素。酶促氧化过程较多发生在苹果的压榨和苹果酒的前期酿造过程中。酶促氧化的底物十分广泛,反应速度也比非酶促氧化要迅速得多,氧化聚合的程度也大得多^[9]。模拟体系下的酶促氧化过程的聚合度变化结果见图4和图5。

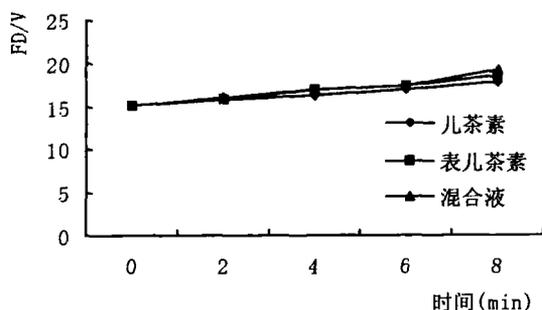


图4 儿茶素、表儿茶素和其混合液的相对聚合度的变化

从图4可以看出,在几分钟的反应时间内,儿茶素、表儿茶素和其混合液的相对聚合度的变化趋势基本上是一致的,都有较小幅度的增加。反应出酪氨酸酶对儿茶素等中性酚在较短的反应时间里,其聚合反应的程度较小。

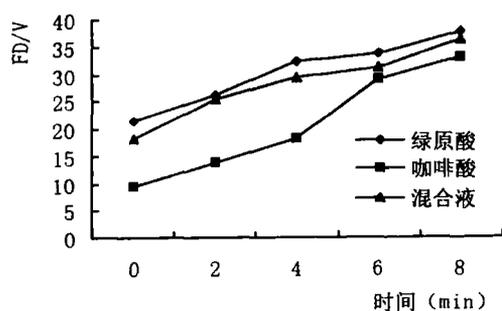


图5 绿原酸、咖啡酸和其混合液的相对聚合度的变化

从图5可以看到,绿原酸和咖啡酸的聚合度在短时间内有较大程度的增加,尤其是咖啡酸溶液的聚合度增加了3倍之多。同时也可以发现色度上呈现不

断加深的变化趋势,由无色逐渐变成最终的深褐色。说明小分子的酸性酚类物质在有酪氨酸酶的作用下易于聚合氧化,形成分子较大的多酚类物质,从而聚合度增加,色泽加深^[10]。由于绿原酸和咖啡酸在苹果酒中的含量相对较高,所以在酪氨酸酶的存在下,易发生明显的色泽上的加深、聚合度上的增加的变化。

3 结论

聚合度在非酶氧化和酶促氧化过程中形成机理有所不同。在一定条件下,表现在非酶氧化过程中,主要是儿茶素和表儿茶素为主进行聚合反应。而在酶促氧化过程中,主要是酚酸(如绿原酸和咖啡酸)的聚合反应为主,并且由于苹果酒中酚酸的含量相当高,使得引起色泽和稳定性上的变化更为明显。这将对苹果酒的口感及色泽变化起重要影响(另行研究)。

参考文献:

- [1] 朱传合,夏秀梅,杜金华.影响苹果酒的品质因素及控制措施[J].酿酒,2003,(1):24-26.
- [2] 姜慧,籍保平,李博,等.影响苹果多酚分离提纯的因素[J].食品科学,2004,(6):74-78.
- [3] 翁幼敏.白葡萄酒中酚类物质的研究[R].无锡:无锡轻工业学院,1987.
- [4] 石碧,狄莹.植物多酚[M].北京:科学出版社,2000.
- [5] George A. Spanos and Ronald E. Wrolstad. Phenolics of Apple, Pear, and White Grape Juices and Their Changes with Processing and Storage-A Review[J]. J. Agric. Food Chem. 1992:40, 1478-1487.
- [6] 朱宝镛,赵光鳌.葡萄酒科学与工艺[M].北京:中国轻工业出版社,1992.
- [7] Cilliers, J. J. L. Singleton, V. L. Nonenzymic Autoxidative Phenolic Browning Reactions in a Caffeic Model System [J]. J. Agric. Food Chem. 1989:37, 890-896.
- [8] C. Satjawatcharapong, K. S. Rymal, W. A. Dozier JR., and R. C. Smith. Polyphenol Oxidase System in Red Delicious Apples [J]. J. Food Sci. 1983,48(10).
- [9] Jan Oszmianski and Chang Y. Lee. Enzymatic Oxidative Reaction of Catechin and Chlorogenic Acid in a Model System [J]. J. Agric. Food Chem. 1990,38(5).
- [10] M. Y. Coseteng and C. Y. Lee. Changes in Apple Polyphenoloxidase and Polyphenol Concentrations in Relation to Degree of Browning [J]. J. Food Sci. 1987,52(4):987-989.

五粮液 2005 年销售收入过 156 亿

本刊讯:2005年五粮液集团公司业绩再创历史新高。销售收入156.65亿元,利税41.8亿元,品牌价值达到338.03亿元,职工平均收入增加30.14%。其品牌价值继续稳居中国最有价值品牌第四位。连续11年居食品饮料行业第一位,实现了环保效益和社会效益协调发展。五粮液集团公司“十一五”期间的目标是年销售收入达400亿元。公司将在调整结构、做大做强产业、吸引优秀人才、发展多元化产业上取得新的突破。(陶陶)