

## 蜂蜜对苹果酶促褐变的抑制及有效成分分析

黄欣莹, 姚卫蓉\*

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 作者以防止新鲜苹果切口的褐变为目标, 比对不同食品配料组成的复配成分, 发现蜂蜜作为涂膜材料可以有效延缓鲜切苹果片的褐变。将鲜切苹果片浸泡在质量分数 0.1 g/g 的椴树蜂蜜水溶液中, 8 d 后其仍能维持新鲜的色泽; 探究了蜂蜜对苹果多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 抑制的动力学, 发现蜂蜜对苹果 PPO 起非竞争性抑制作用, 酶活抑制能力来自蜂蜜的抗氧化、清除自由基 (相关系数  $r>0.6$ ) 能力; 进一步分析蜂蜜成分与酶活抑制率的关系, 发现蜂蜜中蛋白质与多酚 ( $r$  值分别为 0.79、0.63) 是蜂蜜发挥抗褐变作用的重要成分。

**关键词:** 蜂蜜; 鲜切苹果片; 多酚氧化酶; 抗褐变

中图分类号: TS 255.36 文章编号: 1673-1689(2024)02-0055-08 DOI: 10.12441/spyswjs.20220214002

## Inhibition on Apple Enzymatic Browning by Honey and Analysis of Its Effective Components

HUANG Xinying, YAO Weirong\*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** In order to prevent the browning of fresh-cut apple, the authors compared the compound components composed of different food additives, and found that honey could be used as coating material to effectively delay the browning of fresh-cut apple slices. The fresh-cut apple slices were soaked in 0.1 g/g basswood honey solution, and the fresh color can be maintained after 8 d; the inhibitory kinetics of honey on apple polyphenol oxidase (polyphenol oxidase, PPO) was studied. It was found that honey had a non-competitive inhibitory kinetics on apple PPO, and the inhibition ability of enzyme activity came from the antioxidant and free radical scavenging ability of honey (correlation coefficient  $r>0.6$ ); after further analyzation of the relationship between honey components and enzyme activity inhibition rate, it was found that protein and polyphenols in honey ( $r$  values were 0.79 and 0.63 respectively) were important for honey anti-browning.

**Keywords:** honey, fresh-cut apple, polyphenol oxidase, anti-browning

收稿日期: 2022-02-14 修回日期: 2022-03-18

基金项目: 江苏省现代农业-重点及面上项目 (BE2019362)。

\* 通信作者: 姚卫蓉 (1970—), 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品安全与质量控制研究。E-mail: yaoweirongcn@jiangnan.edu.cn

随着中央厨房的发展,鲜切果蔬类初加工产品品种越来越多,但是有些初加工果蔬很容易发生褐变。切口处天然存在的酚类化合物和多酚氧化酶(polyphenol oxidase,PPO)直接暴露在空气中,引发酚氧化为醌,再聚合形成黑色素,使果蔬褐变,继而导致风味、质地、营养等品质下降,给新兴食品工业的发展造成很大困扰<sup>[1]</sup>。因此,如何控制该类褐变反应进程就显得十分重要。

酶促褐变反应速率取决于 PPO 活性高低<sup>[2]</sup>。目前,业界在探讨基于物理、化学以及生物手段的抑制措施,例如采用超高压处理( $5 \times 10^8$  Pa, 10 min)鲜切马铃薯片,能有效降低马铃薯中的 PPO、过氧化物酶(peroxidase,POD)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase,PAL)3种酶的活性<sup>[3]</sup>;另外,在马铃薯育种中,引入 miRNA 调节因子,抑制马铃薯中 PPO 基因的表达,可降低马铃薯中 PPO 的原始含量<sup>[4]</sup>;半胱氨酸<sup>[5]</sup>、曲酸<sup>[6]</sup>、抗坏血酸<sup>[7]</sup>等化学抑制剂由于其方便、高效的特点,在抗褐变应用中最为常见。但《食品添加剂使用标准》(GB2760—2017)中允许在鲜切水果中使用的抗褐变添加剂种类与添加量有限,例如半胱氨酸等巯基化合物与曲酸等酚酸不允许在鲜切果蔬上使用,抗坏血酸在预切的鲜水果中的最大使用量为 0.5 g/kg,因此需要开发天然、经济的褐变抑制剂。

蜂蜜富含维生素、多酚、酶等具有防腐保鲜功效的活性物质<sup>[8]</sup>,极具营养价值,具有解酒、促进创伤愈合等功效,深受消费者喜爱。研究表明,蜂蜜还能够缓解鲜切苹果片的褐变,褐变抑制率达 62%<sup>[9]</sup>。除此之外,蜂蜜的抗褐变作用在鲜切木瓜保鲜<sup>[10]</sup>、板栗变色<sup>[11]</sup>中也曾有报道。水杨酸、蜂蜜和乳酸钙联合处理可以有效诱导鲜切桃中抗坏血酸和酚类物质的累积,但对果实的软化没有明显改善<sup>[12]</sup>。有研究证明富含黄酮的蜂蜜提取物对 PPO 表现为经典的非竞争性抑制<sup>[13]</sup>,为蜂蜜的抗褐变机理奠定了基础。然而,目前的研究缺乏对不同食品配料及不同花源蜂蜜对苹果抗褐变效果的比较,且蜂蜜抑制酶促褐变反应的活力来源以及其中的抗褐变物质基础也缺乏全面分析。

因此,作者确认鲜切苹果片在蜂蜜溶液中浸泡后对其表面褐变程度有明显改善后,研究了蜂蜜对 PPO 活性的影响,分析了蜂蜜的抗氧化活性、成分与 PPO 活性抑制作用的相关性,探究蜂蜜中有效抗

褐变成分,为蜂蜜在鲜切农产品保鲜方面的应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

苹果:江南大学华联超市;带孔聚丙烯(polypropylene,PP)保鲜盒:诚宇包装旗舰店;椴树蜂蜜、紫云英蜂蜜、洋槐蜂蜜、枣花蜂蜜、野山花蜂蜜、枸杞蜂蜜:颐寿园蜂产品有限公司;交联聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone,PVPP)、L-抗坏血酸(99%):北京伊诺凯科技有限公司;邻苯二酚、3,5-二硝基水杨酸、福林酚试剂、没食子酸、牛白蛋白、无水甲醇:国药集团化学试剂有限公司;Amberlite XAD®-2 树脂:默克西格玛生物公司;DPPH、ABTS:日本 TCI 公司。

### 1.2 仪器与设备

家用多功能切片器:墅乐旗舰店;UltraScan Pro1166 型高精度分光测色仪:美国 Hunterlab 公司;ST 40R 离心机:美国 Thermo Fisher Scientific 公司;P7 紫外分光光度计:上海美谱达仪器有限公司;FE20 型 pH 计:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;RVDV-II+P 型黏度计:美国 BROOKFIELD 公司;DR-A1-Plus 阿贝折光仪:日本 ATAGO 公司;Waters e2695 高效液相色谱仪:美国 Waters 公司;HB basic 型旋转蒸发仪、T25 型均质机:德国 IKA 公司;FreeZone 冷冻干燥机:美国 LABCONCO 公司。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 鲜切苹果保鲜处理** 挑选出成熟度一致、无明显损伤、疾病或感染的苹果。将挑选后的苹果用清水冲洗,去除表面水渍,去核,纵向切割成约 0.2 mm 厚的鲜切苹果片。将苹果切片分别浸泡在质量分数为 10% 椴树蜂蜜水溶液、10% 蔗糖水溶液、1.5% 海藻酸钠与混合溶液(1% 柠檬酸混合溶液、1% 抗坏血酸与 1% 氯化钙混合)中 10 min,取出沥干,装入带孔 PP 保鲜盒,4℃冷藏保存。鲜切苹果在去离子水中浸泡作为对照组。

**1.3.2 表面褐变程度测定** 使用高精度分光测色仪测定各处理组鲜切苹果的  $L$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 。鲜切苹果表面褐变程度用  $\Delta E$  表示,见式(1)。

$$\Delta E = \sqrt{(L_t - L_0)^2 + (a_t^* - a_0^*)^2 + (b_t^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

式中: $L_t$ 、 $a_t^*$ 、 $b_t^*$  为鲜切苹果贮藏期间的色度值; $L_0$ 、 $a_0^*$ 、 $b_0^*$  为鲜切苹果第 0 天的色度值。

**1.3.3 苹果 PPO 粗酶液的制备与酶活测定** 参考刘箕箕等的方法<sup>[14]</sup>,并稍作修改。取一定量的苹果丁于烧杯中,同时加入质量比 1:20 的 PVPP 和 2 倍体积的 4 ℃去离子水,均质机以 8 000 r/min 匀浆 30 s 并始终保持冰浴。40 目滤网过滤后,12 000 r/min、4 ℃离心 20 min,收集上清液,得到苹果 PPO 粗酶液。

取 0.5 mL 粗酶液于试管中 30 ℃水浴预热,加入 3 mL 的 0.05 mmol/L 邻苯二酚 (0.1 mol/L 乙酸-乙酸钠缓冲液配制,pH 5.5)充分混合反应 2 min,于 420 nm 处测定吸光度。以 0 min 为对照,计算酶活,见式(2)。

$$U = \frac{(A_t - A_0) \times V}{V_s \times m \times 2 \times 0.01} \quad (2)$$

式中: $U$  为酶活,U/g; $A_t$  为 2 min 混合液吸光度; $A_0$  为 0 min 混合液吸光度; $V$  为粗酶液总体积,mL; $V_s$  为测定时所取粗酶液体积,mL; $m$  为苹果质量,g。

**1.3.4 酶活抑制率的测定** 取 0.5 mL 粗酶液与 0.5 mL 椴树蜂蜜溶液进行充分混合,于 30 ℃水浴预热 30 min,再加入 3 mL 的 0.05 mmol/L 邻苯二酚溶液,反应 2 min,于 420 nm 处测定吸光度,计算酶活,以去离子水代替椴树蜂蜜溶液作为对照组,见式(3)。

$$I = \left(1 - \frac{U_1}{U_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中: $I$  为酶活抑制率,%; $U_1$  为实验组酶活,U/g; $U_0$  为对照组酶活,U/g。

**1.3.5 抑制动力学曲线与抑制常数的测定** 0.5 mL 苹果 PPO 粗酶液与 0.5 mL 椴树蜂蜜溶液在试管中进行充分混合,置于 30 ℃水浴预热后,再加入 3 mL 不同浓度的邻苯二酚,反应 2 min,于 420 nm 处测定吸光度,以每分钟吸光度变化的倒数为纵坐标,邻苯二酚溶液浓度的倒数为横坐标,拟合可得到 Lineweaver-Burk 双倒数直线。改变椴树蜂蜜溶液的质量分数,重复上述操作,得到多条不同蜂蜜质量分数下的双倒数直线。双倒数曲线的纵坐标截距的倒数为表观最大反应速率( $k_{\text{mapp}}$ ),横坐标截距的负倒数为米氏常数( $K_m$ )。

以蜂蜜质量分数 $[I]$ 为横坐标,对应表观最大反应速率的倒数  $1/k_{\text{mapp}}$  为纵坐标,拟合所得直线的横坐标截距相反数即为抑制常数( $K_I$ )。

**1.3.6 褐变反应不同时间添加蜂蜜后的吸光度测定** 取 3 mL 0.05 mol/L 邻苯二酚溶液与 0.5 mL 苹

果 PPO 粗酶液充分混合并开始计时,在反应 3、5、7 min 后立即加入 0.5 mL 椴树蜂蜜溶液,每分钟记录 420 nm 吸光度变化。由于蜂蜜溶液在 420 nm 存在一定吸光度,加入蜂蜜溶液后扣除蜂蜜本身吸光度。

**1.3.7 蜂蜜理化性质的测定** 黏度使用旋转黏度计测定,当 2 号转子以 100 r/min 的转速在液体中旋转 20 圈以上时读数;颜色深浅程度参考 Karabagias 等的方法<sup>[15]</sup>,以 420 nm 波长下的吸收值代表蜂蜜的颜色深浅程度;

抗氧化能力参考 Hatano 等的方法测定蜂蜜对 DPPH 自由基的清除能力<sup>[16]</sup>、参考 Re 等的方法测定蜂蜜对 ABTS 自由基的清除能力<sup>[17]</sup>。

**1.3.8 蜂蜜物质质量分数的测定** 可溶性固形物质量分数使用阿贝折光仪测定;还原糖质量分数采用 3,5-二硝基水杨酸比色法<sup>[18]</sup>测定;总酚质量分数采用 Folin-Phenol 法<sup>[19]</sup>测定;蛋白质质量分数采用考马斯亮蓝法<sup>[20]</sup>测定;抗坏血酸质量分数参考[21]测定。

**1.3.9 蜂蜜蛋白质提取物水溶液的制备** 参考 Chua 等的方法对椴树蜂蜜中蛋白质进行分离<sup>[20]</sup>,并稍作修改。将蜂蜜溶液置于截留相对分子质量 3 500 透析袋中 4 ℃透析 72 h,不断更换透析液。将截留液冻干后置于-20 ℃保存备用。称取一定量的蜂蜜蛋白质提取物,配制与 0.05、0.10、0.20 g/g 蜂蜜溶液中蛋白质质量分数相同的水溶液。蛋白质提取物水溶液的 PPO 活性抑制率测定方法与 1.3.3 相同。

**1.3.10 蜂蜜酚类提取物水溶液的制备** 参考 Silva 等的方法对椴树蜂蜜中多酚类化合物进行提取<sup>[22]</sup>,并稍作修改。用 1 mol/L 的 HCl 水溶液将蜂蜜溶液酸化至 pH 2.0 后与 45 g Amberlite XAD® -2 树脂搅拌 15 min,并装入玻璃柱(40 cm×2 cm)。用 300 mL 酸化水(pH 2.0)和 300 mL 中性去离子水洗涤以去除糖和极性化合物。吸附在树脂中的酚类化合物用 300 mL 甲醇洗脱。在 50 ℃浓缩该甲醇提取物,冻干后置于-20 ℃保存备用。称取一定量的蜂蜜酚类提取物,配制与 0.05、0.10、0.20 g/g 蜂蜜溶液中总酚质量分数相同的水溶液。酚类提取物水溶液的 PPO 活性抑制率测定方法同 1.3.3。

## 1.4 数据统计分析

所有实验均重复 3 次,实验结果表示为平均值±标准偏差。实验数据采用 Origin 绘图,采用 SPSS 统计软件进行单因素 ANOVA 判断, $P < 0.05$  表示具



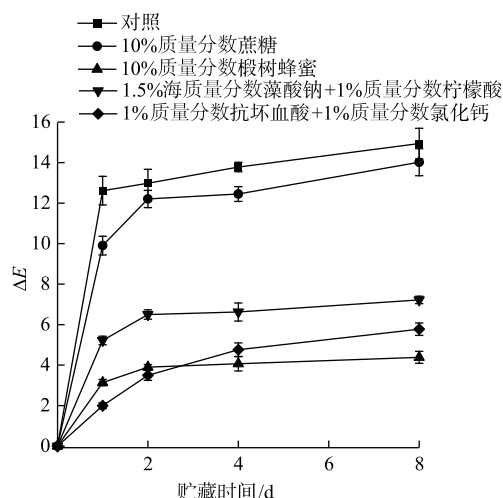
有显著性差异。

## 2 结果与分析

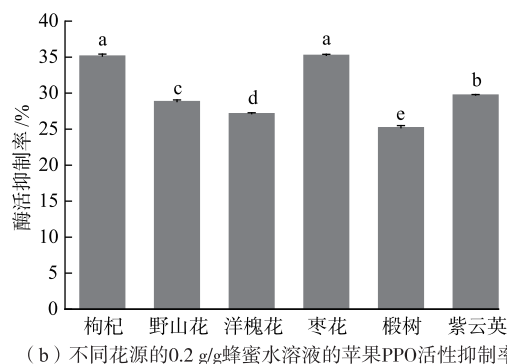
### 2.1 鲜切苹果片表面抗褐变材料及质量分数的筛选

**2.1.1 鲜切苹果片抗褐变效果材料的筛选** 由图 1(a)可知,抗褐变材料浸泡鲜切苹果片后,贮藏 2 d 内褐变颜色加深,2~8 d 内逐渐平稳。苹果片经质量分数 10%蔗糖溶液处理后的色差值与对照组相近,质量分数 1.5%海藻酸钠与质量分数 1%柠檬酸、1%抗坏血酸与 1%氯化钙作用于鲜切苹果片,表明它们具有较强的抗褐变能力。与其他食品配料复配组合相比,蜂蜜的抗褐变优势最大,在长时间贮藏后仍可保持鲜切苹果片的亮度。蜂蜜作为一种天然食品,能够保证其使用的安全性,更为大众所接受,在水果店、鲜果茶饮店等具有广泛的应用前景。因此,作者后续研究将重点针对蜂蜜的抗褐变效果进行展开。

作者以苹果 PPO 活性抑制能力作为指标,筛选不同来源蜂蜜的抗褐变效果,结果见图 1(b)。由图可见不同蜂蜜对苹果 PPO 活性都有较好的抑制,抑制率在 25.11%~35.39%,不同品种的抑制效果差异较大,其中枣花、枸杞蜂蜜对 PPO 酶活抑制率最强。说明蜂蜜的主要成分果糖及葡萄糖并不是其抗褐变能力来源,可能是其他成分。本研究所用的蜂蜜花蜜来源不同,可能抗褐变能力与蜜蜂所采花蜜的花的品种有关。



(a) 鲜切苹果在不同溶液浸泡处理后的表面褐变程度变化



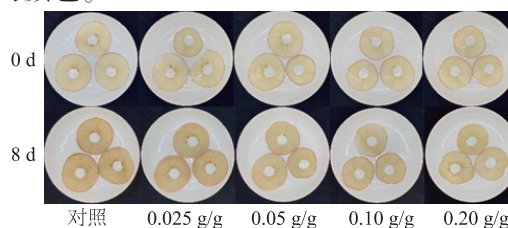
(b) 不同花源的0.2 g/g蜂蜜水溶液的苹果PPO活性抑制率

不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

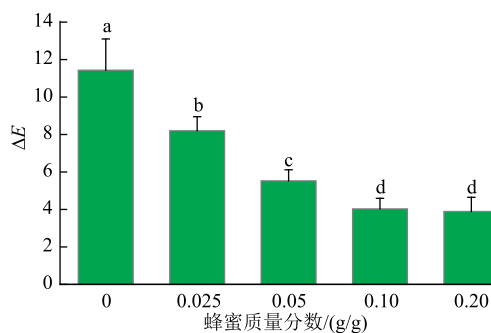
图 1 鲜切苹果片抗褐变材料的筛选

Fig. 1 Screening of anti-browning materials for fresh-cut apple slices

**2.1.2 不同质量分数的蜂蜜溶液浸泡处理对鲜切苹果片褐变的影响** 使用不同质量浓度的椴树蜂蜜对鲜切苹果进行浸泡处理,在 4 °C 下贮藏 8 d,与在水中浸泡的鲜切苹果片对比表面颜色的差别。图 2 显示,贮藏 8 d 后,对鲜切苹果片表面褐变严重,色差  $\Delta E$  超过 10。0.025、0.05、0.10、0.20 g/g 的蜂蜜溶液浸泡处理对其褐变均具有明显改善作用,0.10、0.20 g/g 处理可在 8 d 后使苹果片仍维持较亮的颜色。



(a) 鲜切苹果第0天、第8天的图片



(b) 鲜切苹果第8天表面褐变程度

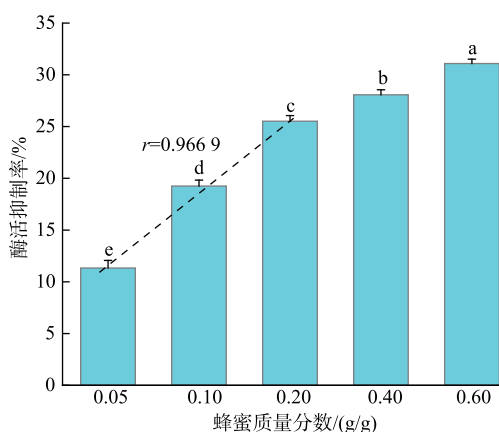
不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 2 不同质量分数的椴树蜂蜜溶液浸泡处理对鲜切苹果片褐变的改善

Fig. 2 Improvement of browning degree of fresh-cut apple surface by soaking in different concentrations of tilia tree honey solution

## 2.2 蜂蜜对酶促褐变反应的抑制

**2.2.1 蜂蜜对苹果 PPO 活性的影响** 将椴树蜂蜜溶液作用于苹果 PPO 粗提液,研究蜂蜜的酶活抑制能力。不同质量分数椴树蜂蜜对苹果 PPO 的抑制情况见图 3。蜂蜜溶液能够有效地降低 PPO 的活性,质量分数 0.20 g/g 的蜂蜜对 PPO 的抑制率达 25% 以上。并且质量分数 0.05、0.10、0.20 g/g 蜂蜜溶液的酶活抑制率具有剂量效应关系( $r=0.966\ 9$ ),但随后抑制率的增加呈现逐渐变缓的趋势。与亚氯酸钠抑制多酚氧化酶活性的趋势一致<sup>[22]</sup>,抑制率都是先随着抑制物质量分数的升高而升高,随后趋于稳定。



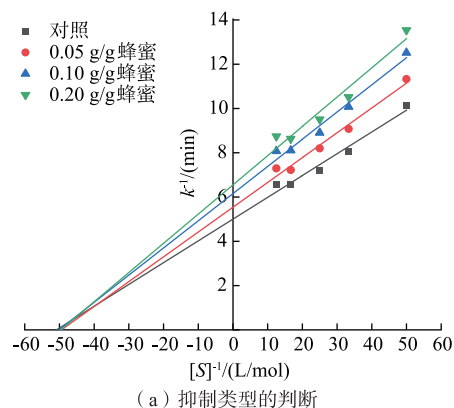
不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

图 3 椴树蜂蜜对苹果 PPO 活性的影响

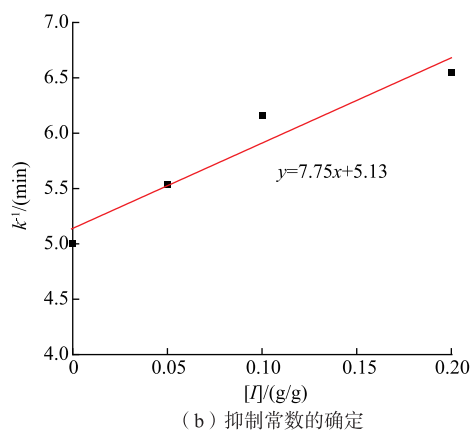
Fig. 3 Effect of tilia tree honey on apple PPO activity

**2.2.2 蜂蜜对苹果 PPO 抑制类型与抑制常数** 根据 Lineweaver-Burk 双倒数图中横纵轴截距的变化趋势判断蜂蜜的抑制类型。Lineweaver-Burk 双倒数作图后,得到一组横轴截距不变、纵坐标截距随蜂蜜质量分数升高而变大的直线,即米氏常数( $K_m$ )不变,表观最大反应速率( $k_{app}$ )变小,见图 4(a)。这说明椴树蜂蜜对苹果 PPO 抑制类型为非竞争性抑制,邻苯二酚与蜂蜜中的物质可以同时与 PPO 结合,两者不存在竞争作用。

以不同质量分数蜂蜜得到的直线的纵坐标截距( $1/k_{app}$ )对蜂蜜质量分数作图,拟合出的直线的横坐标截距的倒数即为蜂蜜对苹果 PPO 的抑制常数( $K_i$ ),见图 4(b)。椴树蜂蜜溶液对苹果 PPO 的抑制常数  $K_i$  为 0.66 g/g。 $K_i$  值反映了抑制剂对 PPO 的亲合能力,表明 50% 的多酚氧化酶被蜂蜜结合时对应的蜂蜜质量分数为 0.66 g/g。



(a) 抑制类型的判断



(b) 抑制常数的确定

图 4 椴树蜂蜜对苹果 PPO 抑制类型与抑制常数

Fig. 4 Determination of the inhibitory type and inhibition constant of tilia tree honey on apple PPO

**2.2.3 不同时间添加蜂蜜对褐变程度的影响** 还原酶促褐变反应中产生的醌/有色物质或与醌形成无色产物是一种有效的抑制褐变程度的方式<sup>[2]</sup>。从图 5 可以看出,在反应后期在 3、5、7 min 时加入蜂蜜能够一定程度上降低体系的吸光度,即降低反应的褐变程度,这说明蜂蜜能够还原褐色产物形成醌以及还原醌重新形成底物,与抗坏血酸的实验结果相似。用高碘酸钠氧化酚类底物左旋多巴后,再加入 10 mmol/L 和 40 mmol/L 的抗坏血酸,发现混合体系在 250~550 nm 的吸光度略微降低,验证了抗坏血酸能与邻醌类物质发生还原反应<sup>[24]</sup>。

## 2.3 蜂蜜抗褐变能力物质基础的探讨

**2.3.1 蜂蜜抗褐变能力与其理化特性、成分的关系** 蜂蜜中富含多种活性成分,其中某些多酚类物质、蛋白质类物质和抗坏血酸都对抑制褐变有明显作用<sup>[2]</sup>,糖类物质尤其是还原糖可能对酶活也有影响。因此,为了寻找蜂蜜 PPO 抑制效果的物质基础,进一步分析了颐寿园 6 种蜂蜜的理化指标、成分和自

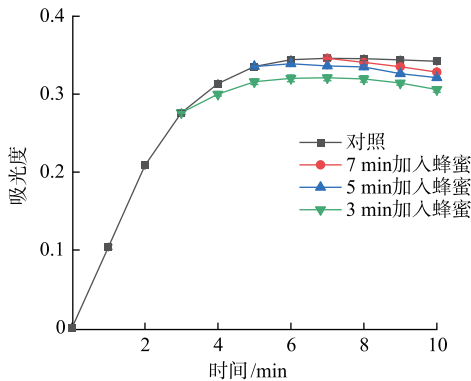


图 5 不同时间添加椴树蜂蜜对褐变程度的影响

Fig. 5 Effect of adding honey at different time on browning degree

由基清除率,见表1。发现不同来源蜂蜜在 pH、黏度、色泽、组分质量分数和自由基清除能力上有显著差异。

蜂蜜中糖类物质占总物质质量分数 70%~80%,而还原性单糖(葡萄糖与果糖)占总糖质量的 85%~95%<sup>[8]</sup>。由表 1 可知,不同花源蜂蜜的可溶性固形物质量分数无显著差异,在还原糖质量分数方面存在一定差异。不同花源蜂蜜的蛋白质、总酚质量分数差异很大。在以上 6 种蜂蜜中,枣花蜂蜜组 2 种物质质量分数最高,洋槐花组最低。

作者全面分析了与 PPO 活性抑制率的相关性,见图 6。由图可知,PPO 活性抑制率与 ABTS 自由基清除率、DPPH 自由基清除率密切相关(相关系数  $r$  均大于 0.6);蜂蜜 PPO 活性抑制率与蛋白质、总酚质量分数呈强正相关( $r$  值分别为 0.79、0.63)。抗坏血酸的存在可以保护酚类物质不被氧化,并将褐变反应的中间产物醌类物质迅速转化为酚类物质,避免醌及其衍生物的积累。蜂蜜 PPO 活性抑制率与抗

坏血酸含量呈中等程度相关性( $r=0.45$ ),相关系数低于抑制率与蛋白质、总酚质量分数之间的相关系数。此外,蜂蜜的颜色深浅程度与 PPO 活性抑制率的相关程度较高( $r=0.58$ ),与其抗氧化性能也呈现显著正相关( $r>0.6$ ),与希腊蜂蜜的研究结果相符(颜色越深的蜂蜜,抗氧化物质的质量分数也越高)<sup>[15]</sup>,再次说明蜂蜜的抗褐变能力与其抗氧化物质/能力密切相关。与 PPO 活性抑制率呈弱相关的依次为蜂蜜的固形物质量分数、还原糖质量分数、pH、黏度。这说明蜂蜜中糖类物质以及 pH 并未发挥重要作用,此质量分数下的蜂蜜溶液无法通过增加体系黏度,降低溶液中溶解氧气扩散速度的方式来抑制变色。

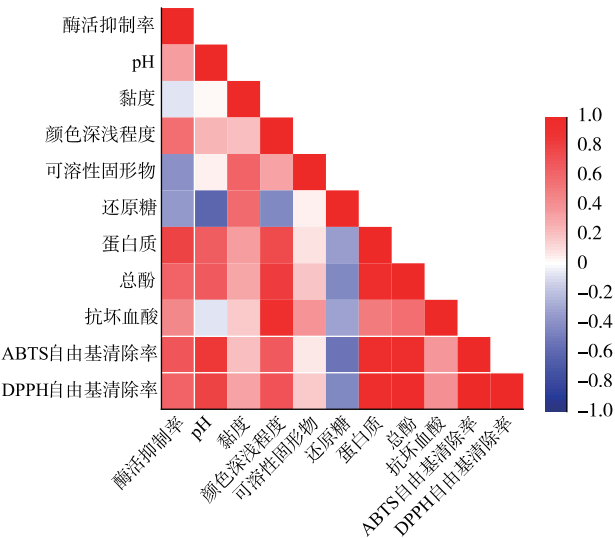


图 6 蜂蜜的 PPO 活性抑制率与其理化特性、成分之间的关系

Fig. 6 Relationship between PPO activity inhibition rate of honey and its physicochemical properties and components

表 1 蜂蜜的理化特性与成分

Table 1 Physicochemical properties and components of honey

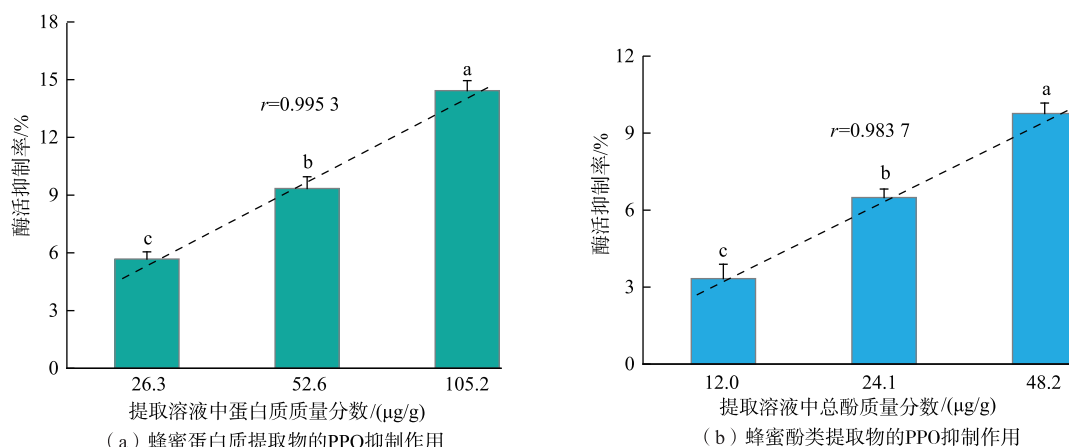
蜂蜜花源	pH	黏度/(mPa·s)	色泽	可溶性固形物质量分数/%	还原糖质量分数/%	蛋白质质量分数/(μg/g)	总酚质量分数/(μg/g)	抗坏血酸质量分数/(μg/g)	ABTS 自由基清除率/%	DPPH 自由基清除率/%
枸杞	3.93±0.00 <sup>c</sup>	13.6±0.1 <sup>b</sup>	0.292±0.008 <sup>c</sup>	16.5±0.2 <sup>a</sup>	83.44±0.50 <sup>b</sup>	646.29±8.25 <sup>b</sup>	282.42±3.37 <sup>c</sup>	5.74±0.41 <sup>b</sup>	42.56±1.04 <sup>b</sup>	24.08±0.20 <sup>c</sup>
野山花	3.76±0.01 <sup>c</sup>	13.9±0.1 <sup>a</sup>	0.414±0.003 <sup>a</sup>	16.7±0.1 <sup>a</sup>	83.93±1.52 <sup>b</sup>	626.18±5.00 <sup>c</sup>	360.35±3.42 <sup>b</sup>	8.24±0.37 <sup>a</sup>	37.75±0.17 <sup>c</sup>	27.77±0.73 <sup>b</sup>
洋槐花	3.75±0.01 <sup>c</sup>	13.6±0.1 <sup>b</sup>	0.162±0.010 <sup>c</sup>	16.5±0.1 <sup>a</sup>	86.16±0.81 <sup>a</sup>	497.69±5.99 <sup>c</sup>	196.28±4.99 <sup>c</sup>	2.68±0.53 <sup>c</sup>	18.60±0.30 <sup>c</sup>	12.64±0.51 <sup>c</sup>
枣花	4.47±0.00 <sup>a</sup>	13.5±0.1 <sup>b</sup>	0.399±0.009 <sup>b</sup>	16.5±0.2 <sup>a</sup>	80.89±0.41 <sup>c</sup>	790.59±10.93 <sup>a</sup>	510.84±6.58 <sup>a</sup>	5.99±0.29 <sup>b</sup>	78.82±0.31 <sup>a</sup>	51.51±1.07 <sup>a</sup>
椴树	4.21±0.01 <sup>b</sup>	13.6±0.2 <sup>b</sup>	0.204±0.003 <sup>d</sup>	16.6±0.1 <sup>a</sup>	82.24±1.81 <sup>bc</sup>	526.05±7.58 <sup>d</sup>	241.10±4.90 <sup>d</sup>	3.41±0.42 <sup>c</sup>	35.71±1.17 <sup>d</sup>	21.73±1.12 <sup>d</sup>
紫云英	3.82±0.01 <sup>d</sup>	13.0±0.2 <sup>c</sup>	0.290±0.005 <sup>c</sup>	16.5±0.1 <sup>a</sup>	80.77±1.47 <sup>c</sup>	496.58±6.75 <sup>c</sup>	224.17±1.34 <sup>c</sup>	5.71±0.42 <sup>b</sup>	24.50±0.09 <sup>c</sup>	12.97±1.40 <sup>c</sup>

注:pH、黏度、色泽、可溶性固形物质量分数、自由基清除率为 0.2 g/g 蜂蜜溶液测量的数值;表中不同字母表示同一指标不同样品之间的差异显著( $P<0.05$ )。

### 2.3.2 蜂蜜中蛋白质与多酚抗褐变能力的验证

由于蜂蜜蛋白质、总酚质量分数与苹果 PPO 抑制率相关系数  $r$  最高,为了验证强正相关性组分蛋白质与多酚对 PPO 的抑制效果,将提取得到的蛋白质、酚类这 2 类物质分别进行冻干、溶解后,再还原得到与 0.05、0.10、0.20 g/g 蜂蜜溶液中蛋白质和多酚

质量分数相同的提取物,结果见图 7。蛋白质、总酚提取物溶液对 PPO 活性具有较好的抑制效果,且存在剂量效应关系,线性相关系数分别为 0.995 3、0.983 7。证明蜂蜜中的蛋白质与多酚是其发挥抗褐变作用的重要物质基础。



不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 7 椴树蜂蜜蛋白质提取物、酚类提取物的 PPO 抑制作用

Fig. 7 PPO inhibition of tilia tree honey protein extract and phenolic extract

## 3 结 语

作者通过比对不同食品配料组成的复配成分,发现蜂蜜可以作为涂膜材料有效延缓鲜切苹果片的褐变。将鲜切苹果片浸泡在 0.1 g/g 椴树蜂蜜溶液中,8 d 后仍能维持新鲜的色泽。酶的动力学分析说明蜂蜜对苹果 PPO 的抑制是非竞争性的,且酶活

抑制率来自蜂蜜的抗氧化、清除自由基能力;蜂蜜中蛋白质与多酚是蜂蜜发挥抗褐变作用的重要物质基础,确认具体某种蛋白质和多酚物质的抗褐变能力将是后续的研究重点。总之,蜂蜜作为一种有效的天然抗褐变材料,值得在鲜切果蔬的加工过程中推广应用。

## 参考文献:

- [1] 周享乐,王富海,易俊洁,等. 化学抑制剂对果蔬食品多酚氧化酶性质影响的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(4): 253-260.  
ZHOU H L, WANG F H, YI J J, et al. Research progress on the effect of chemical inhibitors on the properties of polyphenol oxidase in fruits and vegetables[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2021, 47(4): 253-260. (in Chinese)
- [2] MOON K M, KWON E B, LEE B, et al. Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products[J]. **Molecules**, 2020, 25(12): 2754.
- [3] 韩文娥. 超高压处理对鲜切马铃薯品质影响的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- [4] CHI M, BHAGWAT B, TANG G L, et al. Knockdown of polyphenol oxidase gene expression in potato (*Solanum tuberosum* L.) with artificial microRNAs[J]. **Methods in Molecular Biology**, 2016, 1405: 163-178.
- [5] 陈晨, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 半胱氨酸控制鲜切苹果褐变的生理机制[J]. 食品科学, 2018, 39(3): 282-288.  
CHEN C, HU W Z, JIANG A L, et al. Physiological mechanism for browning inhibition in fresh-cut apple by cysteine[J]. **Food Science**, 2018, 39(3): 282-288. (in Chinese)
- [6] 张婷婷, 蒲云峰, 王雷, 等. 曲酸、抗坏血酸及柠檬酸对鲜切苹果褐变的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(3): 188-194.  
ZHANG T T, PU Y F, WANG L, et al. Effect of kojic acid, ascorbic acid and citric acid on the browning of fresh cut apple[J].



- Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2020, 20(3): 188-194. (in Chinese)
- [7] KUMAR P, SETHI S, SHARMA R R, et al. Improving the shelf life of fresh-cut 'Royal Delicious' apple with edible coatings and anti-browning agents[J]. **Journal of Food Science and Technology**, 2018, 55(9): 3767-3778.
- [8] 郭娜娜, 赵亚周, 王凯, 等. 蜂蜜对创伤愈合的作用及机理研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(2): 123-133.  
GUO N N, ZHAO Y Z, WANG K, et al. Research progress on the effects of honey on wound healing and its mechanism[J]. **Journal of Agricultural Science and Technology**, 2021, 23(2): 123-133. (in Chinese)
- [9] OSZMIANSKI J, LEE C Y. Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1990, 38(10): 1892-1895.
- [10] KUWAR U, SHARMA S, TADAPANENI V R R. Aloe vera gel and honey-based edible coatings combined with chemical dip as a safe means for quality maintenance and shelf life extension of fresh-cut Papaya[J]. **Journal of Food Quality**, 2015, 38(5): 347-358.
- [11] 耿建暖, 苗利军, 于建军. 蜂蜜对板栗褐变的抑制作用[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(18): 19-21.  
GENG J N, MIAO L J, YU J J. Application of honey in antibrowning of Chinese chestnut[J]. **Food Research and Development**, 2015, 36(18): 19-21. (in Chinese)
- [12] Yaowapa Boon-Ek, 王亚兰, 荆浩, 等, 2017. 蜂蜜、水杨酸、乳酸钙浸泡处理对鲜切桃品质的影响[C]// 中国园艺学会. 中国园艺学会 2017 年论文摘要集. 昆明, 中国园艺学会: 28.
- [13] DE LA ROSA L A, ALVAREZ-PARRILLA E, MOYERS-MONTOYA E, et al. Mechanism for the inhibition of apple juice enzymatic browning by Palo Fierro (desert ironweed) honey extract and other natural compounds[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2011, 44(1): 269-276.
- [14] 刘箕箕. 天冬氨酸抑制鲜切马铃薯褐变的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2019.
- [15] KARABAGIAS V K, KARABAGIAS I K, GATZIAS I. The impact of different heating temperatures on physicochemical, color attributes, and antioxidant activity parameters of Greek honeys[J]. **Journal of Food Process Engineering**, 2018, 41(3): e12668.
- [16] HATANO T, KAGAWA H, YASUHARA T, et al. Two new flavonoids and other constituents in licorice root; their relative astringency and radical scavenging effects[J]. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 1988, 36(6): 2090-2097.
- [17] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. **Free Radical Biology & Medicine**, 1999, 26(9): 1231-1237.
- [18] 赵凯, 许鹏举, 谷广辉. 3, 5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 534-536.  
ZHAO Kai, XUE Pengju, GU Guangye, GU G Y. Study on determination of reducing sugar content using 3, 5-dinitrosalicylic acid method[J]. **Food Science**, 2008, 29(8): 534-536. (in Chinese)
- [19] GUO P L, DENG Q X, LU Q. Anti-alcoholic effects of honeys from different floral origins and their correlation with honey chemical compositions[J]. **Food Chemistry**, 2019, 286: 608-615.
- [20] CHUA L S, LEE J Y, CHAN G F. Characterization of the proteins in honey[J]. **Analytical Letters**, 2015, 48(4): 697-709.
- [21] 杨光, 陈远娇, 杨波, 等. L-抗坏血酸处理新糯米的工艺研究及应用[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(3): 103-111.  
YANG G, CHEN Y J, YANG B, et al. Study on technological process and application of L-ascorbic acid in fresh glutinous rice treatment[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2022, 41(3): 103-111. (in Chinese)
- [22] SILVA C F, ROSALEN P L, SOARES J C, et al. Polyphenols in Brazilian organic honey and their scavenging capacity against reactive oxygen and nitrogen species[J]. **Journal of Apicultural Research**, 2020, 59(2): 136-145.
- [23] LU S M, LUO Y G, FENG H. Inhibition of apple polyphenol oxidase activity by sodium chlorite[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2006, 54(10): 3693-3696.
- [24] WEN Y T, LIANG Y Q, CHAI W M, et al. Effect of ascorbic acid on tyrosinase and its anti-browning activity in fresh-cut Fuji apple[J]. **Journal of Food Biochemistry**, 2021, 45(12): 13995.