

壳聚糖没食子酸衍生物制备及其对 鲜切苹果的保鲜作用

吴昊¹, 朱俊向¹, 王成荣¹, 汪东风²

(1. 青岛农业大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266109)

(2. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要: 为拓宽壳聚糖在鲜切果蔬保鲜方面的应用, 该文针对鲜切果蔬腐败特点以及壳聚糖(CTS)和没食子酸(GA)的结构特征, 制备出一种新的壳聚糖没食子酸衍生物(CTS-GA), 并对其鲜切苹果保鲜效果进行了研究。通过紫外光谱、红外光谱、X射线衍射和HPLC等检测手段对衍生物进行了初步表征, 表明新生成的壳聚糖没食子酸衍生物是由没食子酸的羧基与壳聚糖分子上的氨基和羟基反应连接而成。研究了不同处理鲜切苹果在4℃贮藏4d期间Vc含量、多酚含量、多酚氧化酶(PPO)活性和微生物总数的变化, 结果表明贮藏第4d时, CTS-GA处理组的多酚含量为 1.29 ± 0.067 mg/g, 显著高于空白处理; Vc含量为 $(1.36 \pm 0.03) \times 10^{-2}$ mg/g, 均显著高于空白、CTS处理和GA处理; PPO活性为 141.78 ± 4.31 U/g m_d , 显著低于空白和CTS处理; 微生物总数大约在 5.406 ± 0.012 (lg CFU/g), 显著低于CTS、GA浸泡处理组以及空白对照组的微生物数量。

关键词: 壳聚糖; 没食子酸; 表征; 鲜切苹果; 保鲜

文章编号: 1673-9078(2014)5-251-257

Preparation of Chitosan Gallic Acid Derivatives and Its Effect on Preservation of Fresh-cut Apple

WU Hao¹, ZHU Jun-xiang¹, WANG Cheng-rong¹, WANG Dong-feng²

(1. College of Food Science and Engineering, Qingdao Agriculture University, Qingdao 266109, China)

(2. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: According to the spoilage characteristics of the fresh-cut fruits and vegetables as well as structural features of chitosan (CTS) and gallic acid (GA), a kind of water-soluble CTS-GA was prepared by conjugating GA onto CTS and the effect of CTS-GA on preservation quality of fresh-cut apples was studied. The preliminary characterization of derivatives was studied through a series of testing methods, such as UV spectrum, FTIR spectrum, X-ray diffraction and HPLC, which shown that CTS-GA was formed by connecting amine groups from GA and hydroxyl groups from CTS. Some biochemical changes of fresh-cut apples coated with CTS, GA and CTS-GA were investigated. The results showed that after 4 d storage, polyphenols content of CTS-GA group was 1.29 ± 0.067 mg/g, which was significant higher than that of the blank group. Vc content of CTS-GA group was $(1.36 \pm 0.03) \times 10^{-2}$ mg/g, higher than those of blank, CTS group and GA group, while PPO activity by CTS-GA treatment was 141.78 ± 4.31 U/g m_d , lower than the blank and CTS treatments. And the amount of microorganism in CTS-GA group was 5.406 ± 0.012 (lg CFU/g), obviously lower than the blank, CTS group and GA group.

Key words: chitosan; gallic acid; characterization; fresh-cut apple; preservation

在全球倡导健康饮食的驱动力下, 新鲜、健康、方便的果蔬产品及其加工市场已经形成并将深入发展^[1]。苹果是一种非常适合于切割果蔬工业化生产的水果, 鲜切苹果也被称为最少加工苹果、轻度加工苹果, 可供消费者直接食用或餐饮业使用^[2]。虽然鲜切苹果

收稿日期: 2013-11-06

基金项目: 青岛农业大学高层次人才科研基金(631207); 山东省现代蔬菜产业技术体系(SDSXDSGCCYJSTX)

作者简介: 吴昊(1981-), 女, 博士, 研究方向: 农产品贮藏及深加工

方便食用, 但在加工过程中去皮、切分等处理工序使苹果组织失去了果实整体和代谢协调性, 产生不可修复的、失去自身保护的周身伤害^[3], 且细胞组织与空气完全接触, 表面微生物数量在短期内快速上升、氧化作用加快, 果品极易变质, 缩短了货架期, 大大影响了鲜切果蔬的市场前景。

作为可食性涂膜材料, 壳聚糖应用于鲜切果蔬保鲜近年来已有较多报道^[4], 通过在果蔬切面形成薄膜减小果蔬水分蒸发、呼吸消耗和酶促褐变, 然而, 壳

聚糖作为一种实际应用的果蔬保鲜涂膜剂还具有很大的局限性,特别是由于壳聚糖分子间和分子内的氢键网状结构导致的水溶性较差,以及H原子供体缺乏导致的抗氧化能力较差^[5]。因此考虑将壳聚糖分子进行适当改性,增强它的抗氧化能力,以及提高水溶性。没食子酸是一种从植物,特别是绿茶中提取的天然酚类抗氧化剂^[6],广泛应用于食品、药物和化妆品中,用于阻止由于脂质过氧化等引起的老化。从结构上来看,没食子酸易于与壳聚糖结合形成一种新型的绿色抗氧化剂。首先,没食子酸苯环上三羟基基团具有较高的还原能力和较低的O-H键断裂焓^[7];其次,没食子酸分子中苯环作为氢键受体^[8]干扰了壳聚糖分子内和分子间的氢键网状结构;第三,羟基和羧基的存在使得没食子酸具有功能化的亲水性;第四,没食子酸分子结构中的羧酸基团可以和壳聚糖的羟基和氨基基团发生亲核反应。由此,可以推断新结构的壳聚糖没食子酸衍生物具有良好的水溶性、抗氧化能力以及壳聚糖本身所具有的金属离子络合能力、生物降解能力^[9]以及生物相容性^[10]等优点。

鲜切果蔬失去营养和商品价值的主要原因是切面褐变和微生物侵染。该文针对鲜切果蔬腐败特点以及壳聚糖和没食子酸的结构特征,设想将壳聚糖与没食子酸结合,制备出一种水溶性壳聚糖没食子酸衍生物,研究其对与鲜切苹果食用品质、氧化和微生物相关的品质指标的影响,为拓宽壳聚糖在鲜切果蔬保鲜方面的应用范围提供一定的理论指导,同时,期望能够为延长鲜切苹果的货架期提供一定的技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红富士苹果,果形整齐、大小均匀、无病虫害及损伤,色泽、成熟度一致(实验时间:2012年10月);保鲜膜,购于青岛沃尔玛超市;壳聚糖:相对分子量 7.2×10^5 ,脱乙酰度(DD%)为84%,青岛海普生物技术有限公司;EDC·HCl(1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐),NHS(N-羟基琥珀酰亚胺),购自上海共价化学试剂公司;没食子酸,购自上海国药集团化学试剂有限公司;冰乙酸,乙腈均为色谱纯,购自美国sigma公司;其他均为国产分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

88-1型磁力搅拌器,常州国华电器有限公司;紫外可见分光光度计,UV-2102PC,尤尼柯上海仪器有限公司;傅立叶变换红外光谱仪,Nicolet Nexus 470,

美国尼高力仪器公司;D8 Advance X射线粉末衍射仪,德国Bruker公司;A1100高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;旋转蒸发仪,上海申光仪器仪表有限公司;电热恒温鼓风干燥箱,DHG-9070A,上海精宏实验设备有限公司;电子天平,BS224 S,上海天平仪器总厂;超净工作台,VS-1300,常州诺基仪器有限公司。生化培养箱,SPX-250B-Z,上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

1.3 试验方法

1.3.1 壳聚糖没食子酸衍生物的制备

参考吴昊^[11]合成方法,做稍微修改,取1g壳聚糖(CTS)溶解于100 mL醋酸溶液(0.5%)中,搅拌过夜得到壳聚糖酸性溶液。将1g的NaOH加入上述壳聚糖溶液中,使壳聚糖沉淀,得到较纯净颗粒。用蒸馏水反复清洗得到的颗粒,直至呈中性,保存在甲醇溶液中,为壳聚糖甲醇悬浊液。将3倍于壳聚糖摩尔质量的没食子酸(GA)溶于20 mL甲醇中,与等摩尔质量EDC发生反应,在得到的溶液中,继续加入等摩尔质量的NHS,冰水浴搅拌1 h,得到反应液。将反应液逐渐加入壳聚糖乙醇悬浊液中,冰水浴搅拌0.5 h,转移至室温下继续搅拌24 h。将最终得到的反应液7500 r/min离心10 min,甲醇溶液反复洗涤,干燥得到壳聚糖没食子酸衍生物(CTS-GA)。

1.3.2 壳聚糖没食子酸衍生物结构的初步表征

1.3.2.1 紫外光谱分析

取适量GA、CTS和CTS-GA溶解于醋酸溶液(0.5%)中,以醋酸溶液(0.5%)为参比建立基线,在200~800 nm波长下进行扫描,观察衍生物的最大吸收峰位置,获取结构中相关基团的信息。

1.3.2.2 红外光谱分析

将完全干燥的CTS、GA和CTS-GA与溴化钾研细均匀,置于模具中压片,用傅立叶变换红外光谱仪分别测定红外光谱,确定衍生物中没食子酸与壳聚糖的结合情况。

1.3.2.3 X-射线衍射分析

X-射线衍射仪测定CTS、GA和CTS-GA,通过X射线衍射强度曲线,分析壳聚糖和没食子酸在结合过程中晶体结构的变化情况。测定以Cu为靶标,扫描 2θ 角度范围为 $5.0 \sim 50.0^\circ$,以 $K\alpha$ 射线 $2^\circ/\text{min}$ 的速度扫描,绘制XRD图谱。

1.3.2.4 HPLC分析

将GA及与CTS-GA溶于超纯水中,采用高效液相色谱仪进行分析。液相色谱条件如下^[12]:

色谱仪:安捷伦A1100高效液相色谱仪;

检测器: VWD 检测器;

色谱柱: 20RBA×SB-C18, 5 μm , 4.6×250 mm;

流动相: A: 冰乙酸(2%), B: 乙腈, 流速 1 mL/min, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 280 nm, 进样量 10 μL ;

梯度洗脱, 流动相 B 在 16 min 内由 6.5% 线性梯度变化到 25%, 25 min 回到初始状态, 平衡 10 min。

1.3.3 壳聚糖没食子酸衍生物对鲜切苹果的保鲜作用

1.3.3.1 样品处理

将完整苹果用蒸馏水多次洗涤, 晾干后在经消毒的菜板上用无菌锋利小刀切割, 将苹果去皮、去核、切成 1 cm 宽的苹果条。将切割好的苹果条迅速置于壳聚糖没食子酸衍生物、壳聚糖和没食子酸溶液中浸泡 3 min, 沥干、称重、保鲜膜包装后置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏, 每隔一天测定各项与鲜切苹果表面氧化及微生物生长相关的生理指标, 测定时重复三次。以蒸馏水浸泡 3 min 的苹果条为空白对照组。

1.3.3.2 CTS-GA 对鲜切苹果中 Vc 含量的影响

采用 2,6-二氯酚酚滴定法测定鲜切苹果中 Vc 的含量^[13]。

1.3.3.3 CTS-GA 对鲜切苹果中多酚含量的影响

鲜切苹果中多酚含量的测定采用酒石酸铁比色法^[14]。

1.3.3.4 CTS-GA 对鲜切苹果中多酚氧化酶含量的影响

鲜切苹果中多酚氧化酶含量的测定采用邻苯二酚比色法^[14]。

1.3.3.5 CTS-GA 对鲜切苹果表面微生物生长的影响

将不同处理组的鲜切苹果匀浆后分别取 5 g 放在 100 mL 含有质量分数 0.2% 的 Tween-80 的生理盐水中浸泡 5 min, 将浸泡液进行系列稀释 (1:10), 然后采用平板计数法, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 24 h, 测定细菌总数^[15], 并采用对数 lg 方式进行统计。

2 结果与讨论

2.1 壳聚糖没食子酸衍生物结构分析

2.1.1 紫外光谱分析

壳聚糖、没食子酸和二者反应后生成衍生物的紫外光谱如图 1 所示, 壳聚糖在 200~500 nm 波长范围内没有明显吸收峰, 而衍生物与没食子酸的吸收光谱相似, 说明衍生物与没食子酸具有类似的发色基团。没食子酸在 211 nm 和 260 nm 处有较强吸收峰, 其中 211 nm 是没食子酸中 -COOH 基团的最大吸收波长, 260 nm 为苯环 B 带的最大吸收波长, 由于苯环上 4

个取代基的存在, 使得 B 带的精细结构消失; CTS-GA 的吸收峰也是 2 个, 最大吸收波长分别在 215 nm 和 270 nm。紫外光谱在 260~270 nm 附近有较强吸收带, 推测衍生物中有 3 个共轭系, 并且可能存在芳香环。其中 215 nm 可能为酰胺基 (-CONH-) 的最大吸收波长, 形成衍生物后, 没食子酸苯环的最大吸收波长红移至 270 nm, 可能是由于没食子酸苯环上 1 位连接的官能团 (-COOH) 发生变化, 导致苯环的 B 吸收带向波长较大方向移动, 使最大吸收峰发生红移。红移一般是由于共轭体系延长或增加了助色基引起的, 所以红移现象表明壳聚糖与没食子酸之间的确发生了化学反应, 并可以推测是没食子酸分子结构中的羧基与壳聚糖发生了结合作用。

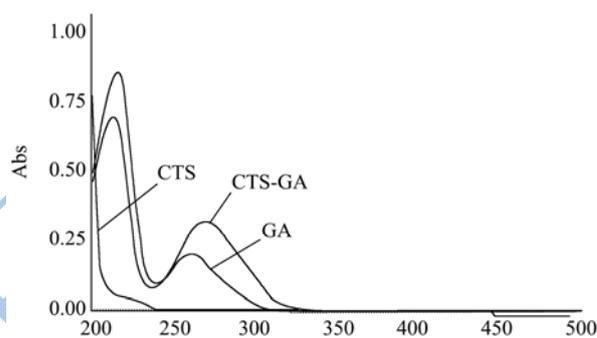


图 1 壳聚糖、没食子酸及壳聚糖没食子酸衍生物紫外光谱图

Fig.1 UV spectrum of CTS, GA and CTS-GA

2.1.2 红外光谱分析

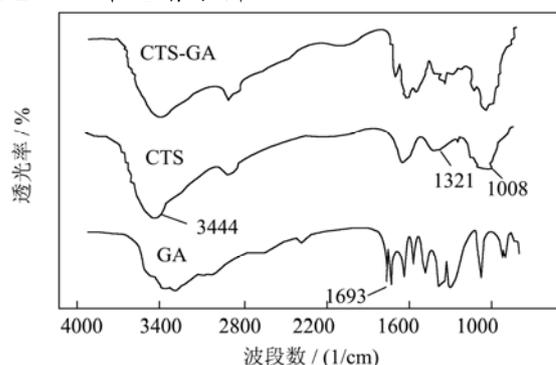


图 2 壳聚糖、没食子酸及壳聚糖没食子酸衍生物红外光谱图

Fig.2 FTIR spectra of CTS, GA and CTS-GA

参考有机合成有关机理, 没食子酸与壳聚糖的合成反应, 可能会发生在壳聚糖的 C-2 位和 C-3、C-6 位, 能够分别形成新的酰胺键 (-NHCO-) 和酯键 (-OCO-) ^[16]。如图 2 所示, 壳聚糖与壳聚糖没食子酸衍生物的谱图基本相似, 但在某些波数处的吸收峰又显示出显著不同。壳聚糖位于 3444 cm^{-1} 处宽且强的吸收峰是形成氢键缔合的 O-H 伸缩振动吸收峰与 N-H 的伸缩振动吸收峰重叠而增宽的多重吸收峰。与没食子酸形成衍生物后, 该吸收峰移位至 3392 cm^{-1} 处, 红

移了约 56 cm^{-1} 。壳聚糖位于 1008 cm^{-1} 处 C-OH 的吸收峰在形成衍生物后移至 923 cm^{-1} 处, 说明壳聚糖上羟基可能参与了配位; 壳聚糖位于 1321.55 cm^{-1} 处的 C-N 伸缩振动形成的吸收峰在与没食子酸发生反应后消失, 说明壳聚糖中-NH₂ 上的 N 原子可能参与了反应。同时, 没食子酸与壳聚糖结合后, 位于 1693.09 cm^{-1} 处的羧基 C=O 吸收峰消失。综上可以推测, 壳聚糖上的羟基和氨基都有可能和没食子酸分子中的羧基发生了反应, 分别以酯键和酰胺键结合, 这与紫外光谱的推测结果一致。

2.1.3 X 射线衍射分析

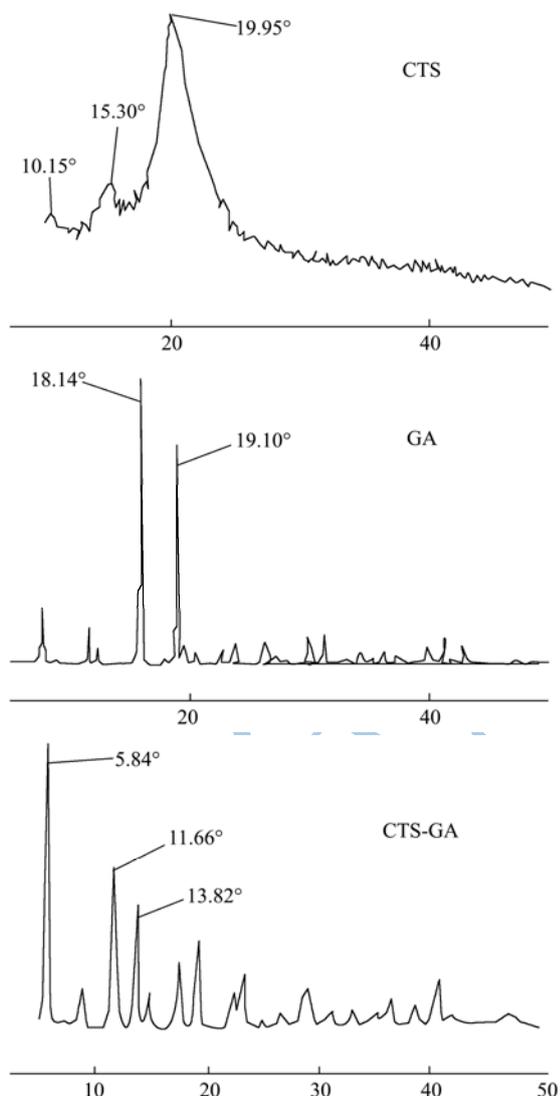


图3 壳聚糖、没食子酸及壳聚糖没食子酸衍生物 X 射线衍射光谱图

Fig.3 X-ray spectra of CTS, GA and CTS-GA

由图3中的 X 射线衍射光谱图可知, 壳聚糖是低结晶性高分子, 主要的结晶峰在 10.15° 、 15.3° 和 19.95° 等处; 没食子酸的主要衍射峰出现在 18.14° 和 19.10° ; 而生成衍生物 CTS-GA 的主要衍射峰出现在 5.84° 、

11.66° 和 13.82° 。对比发现, CTS-GA 衍射峰的 2θ 角度与壳聚糖和没食子酸完全不同, 也未发现没食子酸的特征衍射峰, 由此推测壳聚糖与没食子酸形成了新的衍生物, 该衍生物并不是壳聚糖与没食子酸的简单加合。另外, 没食子酸衍射图谱峰形尖锐, 结晶度很好; 而与壳聚糖形成衍生物后, 衍生物的衍射峰强度稍弱, 有轻微的宽化现象出现。这可能是因为在合成衍生物 CTS-GA 的过程中, 壳聚糖和没食子酸要经历一系列的化学反应, 分子链的规整性受到了破坏, 同时衍生物作用会限制分子的活动能力, 从而导致衍生物 CTS-GA 结晶能力降低。

2.1.4 HPLC 分析

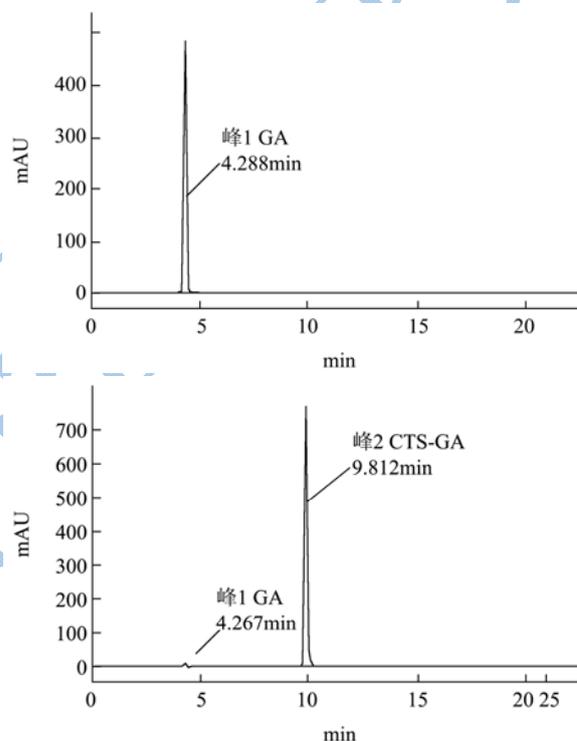


图4 没食子酸与壳聚糖反应前后液相色谱图

Fig.4 HPLC spectra of GA and CTS-GA

表1 没食子酸和壳聚糖没食子酸衍生物液相色谱吸收峰信息

Table 1 HPLC peak information of GA and CTS-GA

样品	峰	保留时间/min	峰面积	面积百分比/%
GA	1	4.288	3074.59	100
	1	4.267	78.3	1.54
CTS-GA	2	9.812	6745.5	98.46

通过比较没食子酸与壳聚糖反应前后的高效液相色谱图, 可以进一步确认新物质的生成; 并且还能够计算此新物质的得率, 以液相色谱图上所有峰面积归一化后, 新出峰面积的相对百分含量表示。由图4可以看出, 没食子酸的液相色谱出峰时间为 4.288 min , 当没食子酸与壳聚糖反应后, 同样色谱条件下, 原本

的没食子酸特征吸收峰几乎完全消失,而在 9.812 min 附件出现一新吸收峰,推测应该为生成的壳聚糖没食子酸衍生物,反应得率为 98.46% (表 1)。

2.1.5 壳聚糖没食子酸衍生物生成途径

综合以上对壳聚糖与没食子酸反应后生成的衍生物结构的初步研究,推测壳聚糖与没食子酸的反应机理如图 5 所示。由于没食子酸、EDC 和 NHS 都可以溶解在甲醇中,并且经过纯化的壳聚糖也可以很好的分散在甲醇溶液内,所以整个反应过程可以在室温下的甲醇体系中进行。没食子酸与 EDC 和 NHS 反应得到活性酯基后,可能与壳聚糖的 C-2、C-6 和 C-3 键发生了亲核反应,生成壳聚糖没食子酸衍生物,以及 NHS 和一个新的副产物。这些反应的副产物可以通过甲醇溶液反复清洗除去。

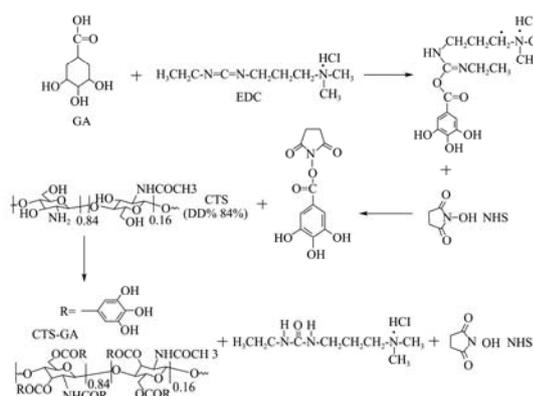


图 5 壳聚糖没食子酸衍生物生成途径

Fig.5 Reaction pathway of chitosan conjugated with gallic acid

2.2 壳聚糖没食子酸衍生物对鲜切苹果的保鲜作用

2.2.1 CTS-GA 对鲜切苹果中 Vc 和多酚含量的影响

Vc 是一种普遍存在于植物组织中的高丰度小分子抗氧化物质,是衡量鲜切果蔬营养品质和贮藏效果的重要指标之一。鲜切果蔬生产时在清洗、切分等环节造成的机械伤和伤口都会造成组织中 Vc 的损失,致使产品营养品质下降。多酚类物质与 Vc 都属于抗氧化性物质,作为多酚氧化酶 (PPO) 的作用底物,多酚类物质与新鲜果实及其加工制品的颜色和风味的形成密切相关^[17]。

整个贮藏期间,各处理组鲜切苹果的 Vc 含量 (图 6a) 和多酚含量 (图 6b) 都不断下降。相对于空白组来说,CTS、GA 和 CTS-GA 浸泡处理后的鲜切苹果的 Vc 和多酚含量下降趋势较为缓慢,尤其是 CTS-GA 处理组始终保持了较高的 Vc 和多酚含量。贮藏 4 d

后,CTS-GA 处理的多酚含量为 1.29 ± 0.067 mg/g、显著高于空白组,但显著低于 GA 组,与 CTS 组差异不明显 ($p < 0.05$); Vc 含量为 $(1.36 \pm 0.03) \times 10^{-2}$ mg/g,均显著高于空白、CTS 处理和 GA 处理 ($p < 0.05$)。多酚含量在贮藏第一天下降幅度最大,空白组下降了 47.76%,说明苹果果实切分后酚类物质极易被氧化。Vc 和多酚含量的下降影响果实的营养品质,同时作为内源主要强抗氧化物质,其含量下降也会影响果实内部生理变化过程。CTS-GA 可以较好的维持鲜切苹果体内 Vc 和多酚含量,意味着其对鲜切果蔬的保鲜应该具有良好的效果。

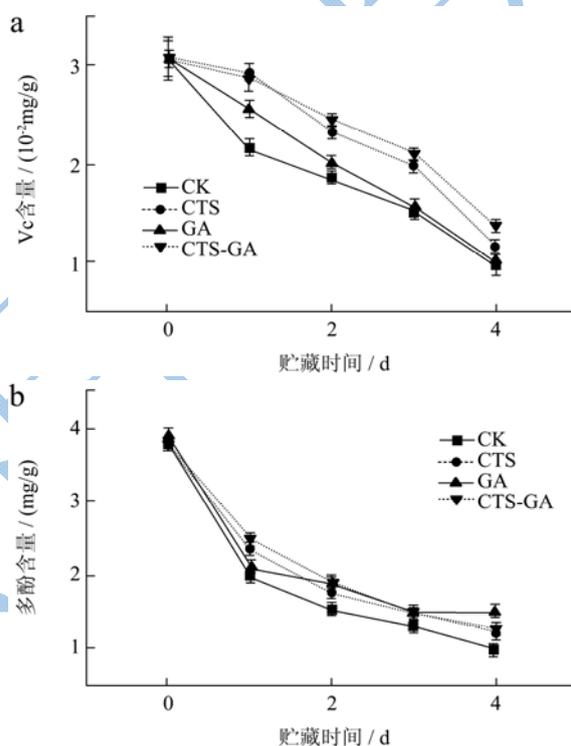


图 6 鲜切苹果在贮藏过程中 Vc (a) 和多酚 (b) 含量的变化

Fig.6 The Vc (a) and phenolics (b) content of fresh-cut apple during storage

2.2.2 CTS-GA 对鲜切苹果中多酚氧化酶 (PPO) 活性的影响

由图 7 可以看出,总体上鲜切苹果的 PPO 活性较强,大于大多数果蔬小于 100 U/g m_d 的酶活性^[17],表明鲜切苹果组织具有很强的褐变潜力。贮藏期间,鲜切苹果 PPO 活性呈峰型变化,总体上呈上升趋势,并且在贮藏前期上升较快,贮藏后期由于鲜切果肉的衰老,各种代谢减缓引起 PPO 活性下降,所以 PPO 活性峰值的来临,可以作为鲜切果蔬衰老的标志。贮藏 4 d 时 CTS-GA 处理的 PPO 活性为 $141.78 \pm 4.31 \text{ U/g m}_d$ 显著低于空白和 CTS 处理的 PPO 活性;与 GA 处理相比,差异不明显 ($p < 0.05$),但 PPO 活性变化峰较 GA 处理组来临较晚。衍生物表现出的 PPO 抑制作用

可能是因为CTS-GA的分子结构中含有大量的-OH基团,在一定条件下对充当PPO活性中心的铜离子有很强的螯合作用,抑制与褐变有关的酶的活性;或者可被PPO直接氧化起到竞争性抑制作用。

Mayén等人^[18]曾经提出,在正常发育的植物组织中,酚类物质、氧气、PPO同时存在并不发生褐变,这可能与细胞内酚类物质和PPO的区域性有关,也可能因为在正常的组织细胞内由于酚类物质分布在细胞的胞液内,而PPO则分布在各种质体或细胞质内,这种区域性分布使酚类物质与PPO不能接触。而当细胞膜的结构发生变化和破坏时,为酶创造了与酚类物质接触的条件,在氧存在的情况下使酚类物质氧化成醌,进行一系列的脱水,聚合反应,最后形成黑褐色物质,从而引起褐变。该文中将苹果切分后置于相对开放的环境中,满足褐变反应发生需要氧、酶和酶反应底物的基本条件。在整个贮藏期间,鲜切苹果中酚类物质下降较快,而同期多酚氧化酶保持较高活性水平,这进一步说明,鲜切苹果褐变属于酶促褐变生理机制,并且验证了以上Mayén等人的“酚类物质及PPO的区域化分布”假说。从以上试验结果可以看出,CTS-GA抑制鲜切苹果褐变的机理可以概括为,CTS-GA既可抑制褐变底物酚类物质氧化,又可抑制引起酚类物质氧化的酶活性。

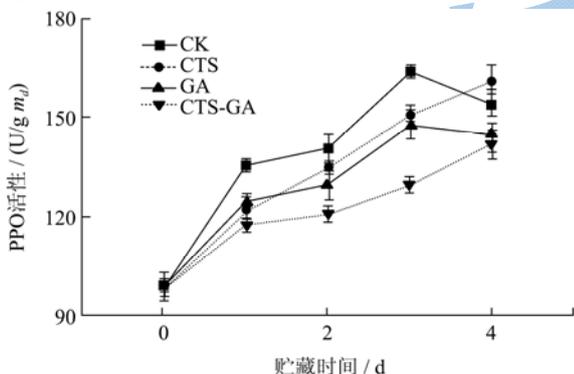


图7 鲜切苹果在贮藏过程中PPO活性的变化

Fig.7 The PPO activity of fresh-cut apple during storage

2.2.3 CTS-GA对鲜切苹果微生物生长的影响

鲜切果蔬的褐变主要是酶促褐变,但是随着贮藏期的延长,微生物对组织的破坏成为引起组织腐烂最重要的因素。鲜切果蔬在加工过程中容易受到加工者和加工工具所携带的大肠杆菌感染,同时鲜切果蔬所处的贮藏环境也不可能完全无菌,随着果蔬在贮藏期间逐渐衰老,抗病性下降,易发生病菌的二次侵染,造成果蔬大量腐烂变质^[19]。尤其是切割果蔬的机械伤口为病菌孢子的入侵提供了良好的通道和滋生繁殖的营养、生理条件^[20]。

不同处理组鲜切苹果在4℃下贮藏4d的细菌生

长情况见图8。鲜切苹果的微生物总数均随贮藏时间的延长呈先减少后增大的趋势,这是由于鲜切苹果中的一些嗜温菌不能耐受低温而被抑制甚至死亡,同时一些嗜冷菌要经历一个适应期。随着贮藏期的延长,鲜切苹果中的嗜冷菌利用其营养成分开始生长、繁殖,从而使微生物总数又呈现增加的趋势。

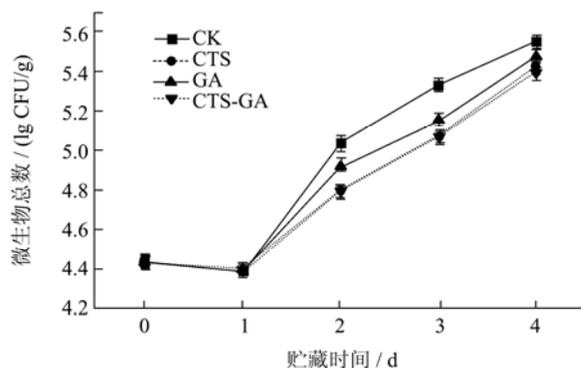


图8 鲜切苹果在贮藏过程微生物总数的变化

Fig.8 The number of microorganism of fresh-cut apple during storage

由图8可以看出,CTS-GA浸泡处理过的鲜切苹果贮藏4d后微生物数量大约在 5.406 ± 0.012 (lg CFU/g),显著低于CTS、GA浸泡处理组以及空白对照组的微生物数量 5.428 ± 0.008 (lg CFU/g)、 5.484 ± 0.017 (lg CFU/g)和 5.555 ± 0.006 (lg CFU/g) ($p < 0.05$)。以上试验结果表明,GA、CTS和CTS-GA对鲜切苹果微生物的繁殖有一定的抑制作用,且CTS-GA抑制作用强于其它组。GA组表现出的抑菌性,可能得益于没食子酸对一些致病菌的抑制作用。CTS组表现出的抑菌作用,可能是因为壳聚糖的成膜性和杀菌性,壳聚糖涂膜能够在一定程度上阻隔苹果切割表面和空气的接触^[21],使一部分好氧菌无法正常生长,微生物总数小于空白组;壳聚糖也能够与微生物磷脂膜发生强烈迅速的反应而致使微生物失活^[22],壳聚糖上的氨基正离子(-NH³⁺)与磷脂膜上的磷酸根通过静电作用生成复合物。CTS-GA组抑菌性较CTS组稍好,可能是由于本身具有良好成膜性和杀菌性的壳聚糖经衍生后结合了具有抑菌作用的没食子酸基团,使得抑菌能力比壳聚糖本身更强。鲜切苹果在贮藏过程中生长的微生物种类复杂,壳聚糖没食子酸衍生物表现出良好的抑菌作用,使得它对延长鲜切苹果货架期具有重要的意义。

3 结论

3.1 该文制备了一种新的壳聚糖没食子酸衍生物(CTS-GA),通过紫外光谱、红外光谱、X射线衍射和HPLC等检测手段对该衍生物的基本结构和生成途

径进行了推测。结果表明该壳聚糖没食子酸衍生物由没食子酸的羧基与壳聚糖分子上的氨基和羟基反应连接而成。

3.2 将 CTS-GA 应用于鲜切苹果的保鲜试验中, 结果表明, 贮藏 4 d 时, CTS-GA 处理组的多酚含量为 1.29 ± 0.067 mg/g, 显著高于空白处理; Vc 含量为 $(1.36 \pm 0.03) \times 10^{-2}$ mg/g, 均显著高于空白、CTS 处理和 GA 处理; PPO 活性为 141.78 ± 4.31 U/g m_d , 显著低于空白和 CTS 处理; 微生物总数大约在 5.406 ± 0.012 (lg CFU/g), 显著低于 CTS、GA 浸泡处理组以及空白对照组的微生物数量。综上所述, CTS-GA 组能有效抑制鲜切苹果 Vc 损失、酚类物质氧化, PPO 的活性和表面的微生物生长, 对鲜切果蔬具有良好的保鲜效果。该文为拓宽壳聚糖在鲜切果蔬方面的应用提供了一定的理论指导, 并为延长鲜切苹果的货架期提供一定的技术支持。

参考文献

- [1] Caleb O J, Mahajan P V, Al-Said F A-J, et al. Modified atmosphere packaging technology of fresh and fresh-cut produce and the microbial consequences-a review [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(2): 303-329
- [2] Rocha A M C N, Morais A M M B. Shelf life of minimally processed apple (cv Jonagored) determined by color changes [J]. Food Control, 2003, 14(1): 13-20
- [3] Lee J Y, Park H J, Lee C Y, et al. Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents [J]. LWT-Food Science and Technology, 2003, 36(3): 323-329
- [4] Saxena A, Saxena T M, Raju P S, et al. Effect of controlled atmosphere storage and chitosan coating on quality of fresh-cut jackfruit bulbs [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(8): 2182-2189
- [5] Pasanphan W, Buettner G R, Chirachanchai S. Chitosan gallate as a novel potential polysaccharide antioxidant: an EPR study [J]. Carbohydrate Research, 2010, 345(1): 132-140
- [6] Lu Z, Nie G, Belton P S, et al. Structure activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives [J]. Neurochemistry International, 2006, 48(4): 263-274
- [7] Ji H F, Zhang H Y, Shen L. Proton dissociation is important to understanding structure-activity relationships of gallic acid antioxidants [J]. Bioorganic and Medical Chemistry Letters, 2006, 16(5): 4095-4098
- [8] Levitt M, Perutz M F. Aromatic rings act as hydrogen bond acceptors [J]. Journal of molecular biology, 1988, 201(4): 751-754
- [9] Yamamoto H, Amaike M. Biodegradation of cross-linked chitosan gels by a microorganism [J]. Macromolecules, 1997, 30(13), 3936-3937
- [10] Richardson S C W, Kolbe, H V J, Duncan R. Potential of low molecular mass chitosan as a DNA delivery system: Biocompatibility, body distribution and ability to complex and protect DNA [J]. International Journal of Pharmacology, 1999, 178(2): 231-243
- [11] 吴昊.壳聚糖衍生物的制备及对果蔬保鲜作用研究[D].青岛:中国海洋大学,2011
- [12] 吕海鹏,林智,谷记平,等.普洱茶中的没食子酸研究[J].茶叶科学,2007,27(2):104-110
- [13] 宁正祥.食品成分分析手册[M].北京:中国轻工业出版社,1998
- [14] 汪东风.食品科学技术实验[M].北京:中国轻工业出版社,2006
- [15] Zhang L K, Lu Z X, Wang H X. Effect of gamma irradiation on microbial growth and sensory quality of fresh-cut lettuce [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 106(3): 348-351
- [16] Paquette L A. Encyclopedia of reagents for organic synthesis [M]. New York: John Wiley & Sons, 1995: 2430-3432
- [17] Oms-Oliu G, Rojas-Grati M A, González L A, et al. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: a review [J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 57(3): 139-148
- [18] Mayén M, Barón R, Mérida J, et al. Change in phenolic compounds during accelerated browning in white wines from cv pedro ximenez and cv. baladi grapes [J]. Food Chemistry, 1997, 58(1-2): 89-95
- [19] Srinivasa P, Baskaran R, Ramesh M, et al. Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan film [J]. European Food Research and Technology, 2002, 215(6): 504-508
- [20] Shahidi F, Arachchi J K V, Jeon Y J. Food applications of chitin and chitosans [J]. Trends in Food Science and Technology, 1999, 10(2): 37-51
- [21] 陈志周,牟建楼,臧蕊,等.壳聚糖的成膜性及其在食品保鲜、包装上的应用[J].纤维素科学与技术,2004,12(3):43-47
- [22] 李小芳.壳聚糖抑菌活性及机理研究[D].兰州:兰州大学,2009

现代食品科技