

超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酚类物质的影响研究

张盼盼¹, 张丽芬^{1,2}, 潘润森¹, 陈复生^{1*}, 赖少娟¹

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 河南 郑州 450052;

2. 河南省南街村(集团)有限公司, 河南 漯河 462600)

摘要: 研究超声协同钙浸渍处理对樱桃番茄贮藏过程中酚类物质的含量、结构和抗氧化能力以及相关酶活性的影响。结果表明: 超声协同钙浸渍处理有效抑制贮藏期间樱桃番茄果实中多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、过氧化物酶(peroxidase, POD)活性和苯丙氨酸转氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)活性, 维持总酚含量, 延缓后熟。质谱结果表明, 超声协同钙浸渍技术有效抑制贮藏期间樱桃番茄果实主要酚酸的消耗, 更好的维持酚类物质的结构特性和抗氧化活性。综上所述, 超声协同钙浸渍技术能够有效维持樱桃番茄贮藏期间品质特性, 增加果实耐贮藏性。

关键词: 樱桃番茄; 超声; 钙浸渍; 酚类物质; 酶活

Effect of Ultrasound Combined with Calcium Impregnation on Phenolic Compounds of Cherry Tomatoes during Postharvest Storage

ZHANG Pan-pan¹, ZHANG Li-fen^{1,2}, PAN Run-sen¹, CHEN Fu-sheng^{1*}, LAI Shao-juan¹

(1. College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450052, Henan, China; 2. Henan Nanjiecun (Group) Co., Ltd., Luohe 462600, Henan, China)

Abstract: The impact of ultrasound combined with calcium impregnation on the phenolics (content, structure, and antioxidant capacity) and the activity of enzymes related to phenolics metabolism during the postharvest storage of cherry tomato was investigated. The combined treatment with ultrasound and calcium impregnation effectively inhibited the activities of polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase in cherry tomatoes during the postharvest storage but maintained the phenolics content, thus resulting in delayed ripening. Mass spectrometry further revealed that the combined treatment effectively inhibited the depletion of the main phenolic acids in cherry tomatoes during the postharvest storage, thereby protecting their structural properties and antioxidant capacity. Altogether, combined treatment with ultrasound and calcium impregnation can effectively maintain the quality and delay the ripening of cherry tomatoes during postharvest storage.

Key words: cherry tomato; ultrasound; calcium impregnation; phenolics; enzyme activity

引文格式:

张盼盼, 张丽芬, 潘润森, 等. 超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酚类物质的影响研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(7): 7-12, 49.

ZHANG Panpan, ZHANG Lifan, PAN Runsen, et al. Effect of Ultrasound Combined with Calcium Impregnation on Phenolic Compounds of Cherry Tomatoes during Postharvest Storage[J]. Food Research and Development, 2021, 42(7): 7-12, 49.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31501535, 21676073); 河南工业大学青年骨干教师培育计划项目(21420051); 河南省高等学校青年骨干培养计划

作者简介: 张盼盼(1994—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 食品资源开发与利用。

* 通信作者: 陈复生(1963—), 男(汉), 教授, 博导, 博士, 研究方向: 食品资源开发与利用。

樱桃番茄又称圣女果、小番茄,因果实口味酸甜可口,营养丰富,深受消费者青睐。樱桃番茄富含维生素C和酚类化合物等活性成分,具有良好的抗氧化、抗肿瘤、抗癌和减缓心血管病的作用。樱桃番茄采摘后,果实的呼吸作用产生活性氧,激活苯丙氨酸解氨酶基因,促进了果实中酚类化合物生物合成。但是,随着贮藏时间延长,在氧化酶与活性氧作用下,维生素C和酚类化合物被消耗,含量下降^[1-2]。因此,采用贮藏保鲜技术保持樱桃番茄果蔬营养品质和商业价值具有重要意义。

超声具有高效、快速、安全等优点,已经广泛应用于采后果蔬保鲜中。研究发现,由于水的超声分解而形成的自由基对植物细胞系统施加氧化应激,并诱导更高的苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)活性以保护细胞免受氧化损伤,苯丙烷代谢增强,使果蔬中酚类物质含量增加^[3]。此外,超声处理能够抑制果蔬中维生素C含量的降低,并提高果实抗氧化能力^[4]。超声与浸渍保鲜联合使用,在维持果蔬品质特性方面具有独特优势。常用的浸渍液有钙溶液,钙(Ca^{2+})在调节果蔬采后生理功能过程中起着关键作用。研究表明,钙作为分子间结合剂,有助于维持果蔬硬度以及细胞膜稳定性^[5]。

因此,本文以樱桃番茄为原料,研究超声协同钙浸渍处理对樱桃番茄贮藏过程中酚类物质和抗氧化能力的影响,通过对酚类物质结构特性分析,揭示超声协同钙浸渍提高樱桃番茄品质机理。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

樱桃番茄,品种“圣女 1416”,采摘于河南省安阳市种植园。

乳酸钙(食品级):洛阳昊华化学试剂有限公司;福林酚(分析纯):北京索莱宝科技有限公司;甲酸、乙醇、乙腈(色谱级):美国 CBS 公司;没食子酸、绿原酸、芦丁、咖啡酸、对羟基苯甲酸、丁香酸、对香豆酸、阿魏酸(色谱级):上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

恒温超声波清洗机(SBL-10DT):宁波新芝生物科技股份有限公司;高速冷冻离心机(GL-10000C):上海安亭科学仪器厂;高效液相色谱仪(Waters 1525 Binary Pump):美国 Waters 公司;高效液相色谱-质谱联用仪(Esquire LC):德国 Bruker 公司。

1.3 样品处理

樱桃番茄采摘后立即送往实验室,挑选大小均匀、

成熟度相似的果实分组进行试验。试验共分为4组:对照组(CK组,未处理的新鲜果实);超声组(U组,20 W/L、15 °C、15 min);钙浸渍组(Ca组,2%乳酸钙、15 °C、15 min)和超声协同钙浸渍组(U+Ca组,20 W/L、2%乳酸钙、15 °C、15 min)。处理后的样品装入带孔保鲜盒,置于4 °C环境中贮藏。

1.4 总酚

总酚测定参照 Toor R K 等^[6]方法。

1.5 高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)分析

取20 mg 冷冻干燥后的总酚样品,溶于1 mL 流动相中(甲酸:水=0.8:99.2,体积比),样品过0.22 μm 滤膜,进样量为20 μL。

色谱条件:Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 色谱柱,柱温30 °C,流速1 mL/min,流动相A(甲酸-水,0.8:99.2,体积比),流动相B(乙腈,100%),紫外检测器在280 nm 和330 nm 处进行检测。梯度洗脱程序:0~10 min,5%B;10.01 min~25 min,15%B;25.01 min~40 min,20%B;40.01 min~42 min,40%B;42.01 min~50 min,0%B。

1.6 抗氧化能力

1,1-二苯基-2-吡啶并胍基自由基清除能力(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, DPPH)测定参照 Pataro G 等^[7]方法。

1.7 酶活测定

多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)活性测定参照 Luh B S 等^[8]方法。

过氧化物酶(peroxidase, POD)活性测定参照 Zhao R 等^[9]方法。

苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)活性测定参照 Yingsanga P 等^[10]方法。

1.8 液质联用(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)分析

酚类提取液经 AB-8 大孔吸附树脂纯化后进行浓缩,冻干。冻干后的酚类样品过0.22 μm 滤膜,进样量为20 μL。

色谱条件:同1.5(色谱柱 Zorbax SB-C18)。

质谱条件:电喷雾离子化(electrospray ionization, ESI),离子源喷雾电压为4.5 kV,毛细管温度200 °C,雾化器氮气8 psi(1 psi=6.895 kPa),干燥氮气流速20 L/min,扫描范围为m/z 50~1 000,负离子模式扫描。

1.9 数据处理

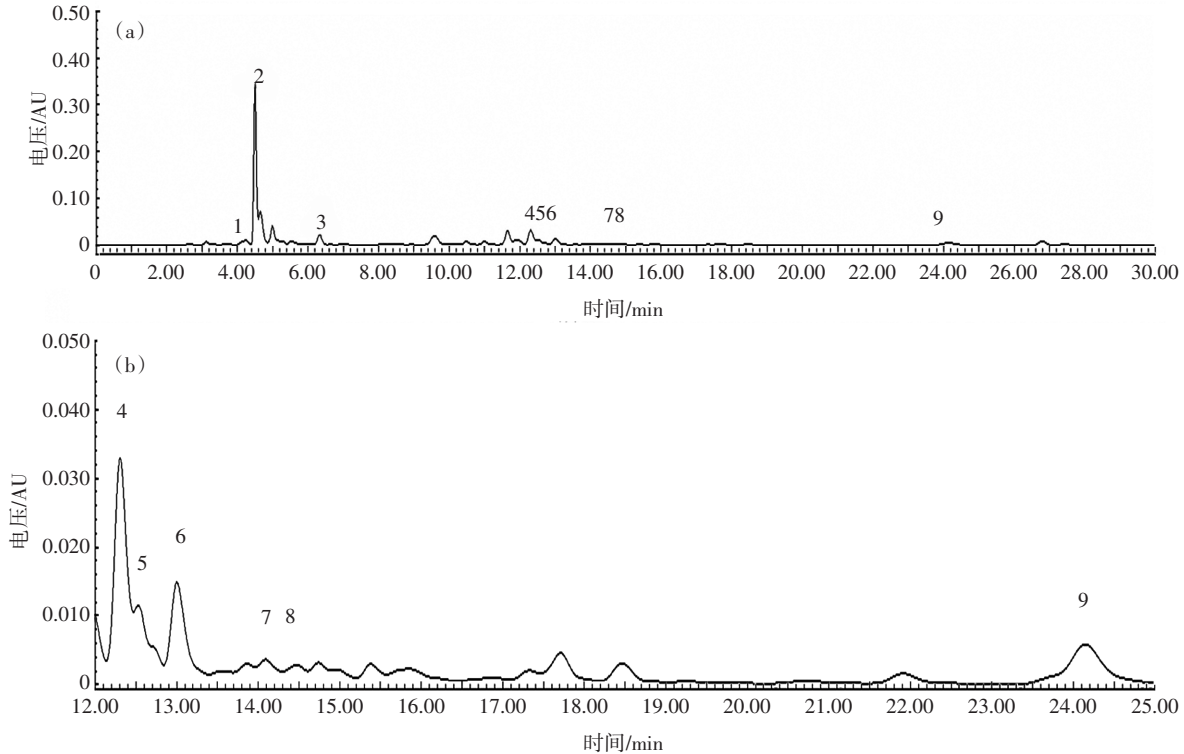
试验数据用 Excel 2010, SPSS 20 和 GraphPad Prism 5 进行处理,结果表示为平均值±标准偏差。

2 结果与分析

2.1 超声协同钙浸渍对樱桃番茄中酚类含量的影响

樱桃番茄酚酸高效液相色谱(HPLC)结果见图1。
酚类物质是果蔬组织重要的次生代谢产物,HPLC

分析结果显示樱桃番茄中含有没食子酸、槲皮素、绿原酸、对羟基苯甲酸、儿茶素、咖啡酸、丁香酸和阿魏酸,其中没食子酸、绿原酸、对羟基苯甲酸和阿魏酸为主要酚酸。



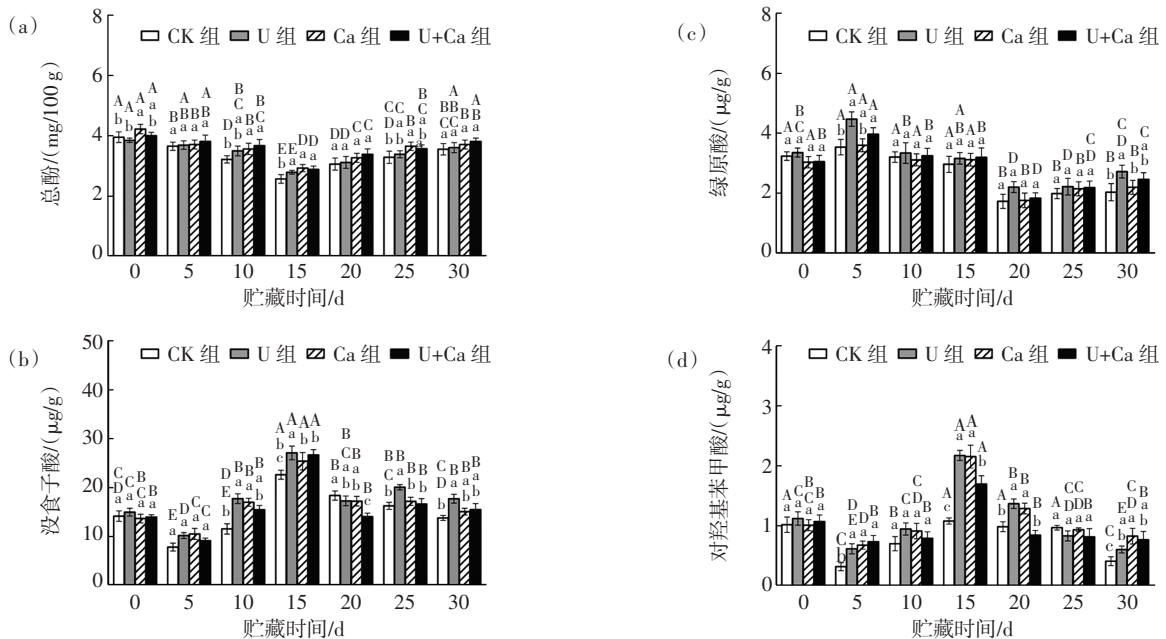
(a).0~30 min 色谱图;(b).12 min~25 min 色谱图;1.没食子酸;2.槲皮素;3.没食子酸;4.绿原酸;5.对羟基苯甲酸;6.儿茶素;7.咖啡酸;8.丁香酸;9.阿魏酸。

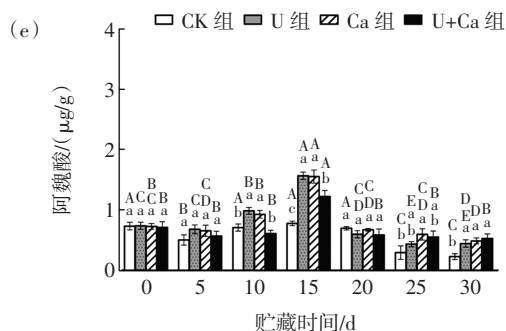
图1 樱桃番茄酚酸色谱图

Fig.1 The chromatogram of phenolic acid in cherry tomatoes

超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酚类含量的影响见图2。

如图2(a)所示,贮藏过程中,樱桃番茄中总酚含量呈现先降低后升高的趋势,并在第15天达到最低





(a).总酚;(b).没食子酸;(c).绿原酸;(d).对羟基苯甲酸;(e).阿魏酸;不同大写字母表示同一处理组在不同贮藏时间下存在显著差异($P<0.05$);不同小写字母表示同一贮藏时间不同处理组之间存在显著差异($P<0.05$)。

图2 超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酚类物质含量的影响
Fig.2 The effect of ultrasonic combined with calcium impregnation on phenolics content of cherry tomatoes during storage

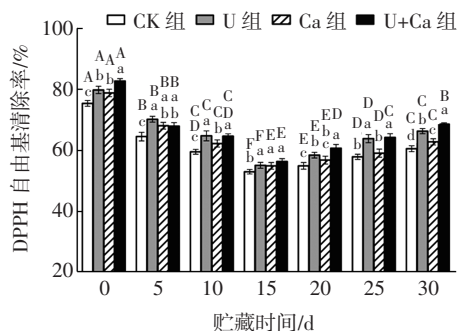
值。贮藏10 d~15 d, Ca组和U+Ca组的总酚含量显著高于CK组,超声作用增强苯丙烷代谢,促进酚类物质的增加,同时钙浸渍延缓了酚类物质的消耗^[3]。因此,超声协同钙浸渍技术具备维持较高总酚含量的作用。

超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中没食子酸、绿原酸、对羟基苯甲酸和阿魏酸含量的影响如图2(b~e)所示,没食子酸、对羟基苯甲酸和阿魏酸含量总体呈现先升高后降低趋势,且在15 d达到最高值,此时U+Ca组各酚酸含量(26.64、1.70、1.22 $\mu\text{g/g}$)均显著高于CK组(22.59、1.08、0.78 $\mu\text{g/g}$)组。没食子酸和对羟基苯甲酸含量在贮藏第0天~第5天呈下降趋势,可能与果实消耗对羟基苯甲酸以抵御低温逆境有关。绿原酸含量在贮藏第5天达到最高值,此时U+Ca组(3.97 $\mu\text{g/g}$)含量显著高于CK组(3.53 $\mu\text{g/g}$)。贮藏末期(30 d),U+Ca组对羟基苯甲酸和阿魏酸含量(0.77 $\mu\text{g/g}$ 和0.53 $\mu\text{g/g}$)显著高于CK组(0.41 $\mu\text{g/g}$ 和0.23 $\mu\text{g/g}$)。结果表明,超声协同钙浸渍处理能够有效延缓酚酸含量的降低。

2.2 超声波协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酚类抗氧化能力的影响

超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酚类抗氧化能力的影响如图3所示。

由图3可知,樱桃番茄贮藏期间抗氧化能力呈现先降低后升高的趋势,与总酚含量变化相一致。果实中较高的酚类物质含量能够提供更多的基团参与到与自由基的反应中,提供更高的抗氧化能力^[11-12]。整个贮藏期间,U+Ca组DPPH自由基清除率均显著高于CK组,且在贮藏15 d以后,U+Ca组DPPH自由基清除率显著高于Ca组,表明超声协同钙浸渍处理能够有效保持樱桃番茄贮藏期间较高的抗氧化能力。



不同大写字母表示同一处理组在不同贮藏时间下存在显著差异($P<0.05$);不同小写字母表示同一贮藏时间不同处理组之间存在显著差异($P<0.05$)。

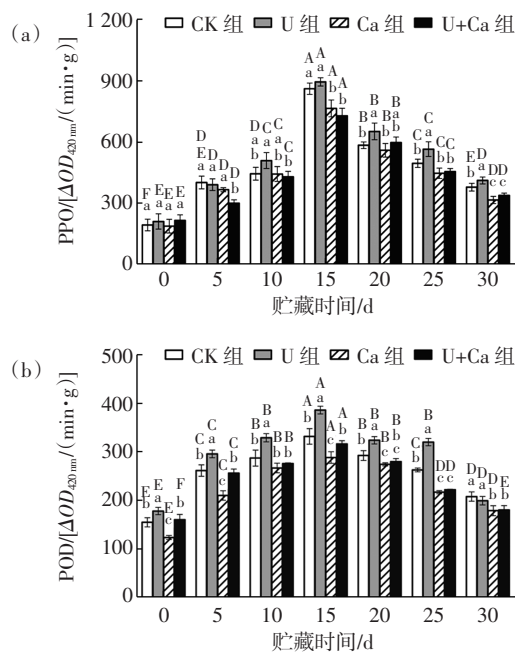
图3 超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酚类抗氧化能力的影响

Fig.3 The effect of ultrasonic combined with calcium impregnation on the antioxidant capacity of phenols of cherry tomatoes during storage

2.3 超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酶活的影响

超声协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酶活的影响研究见图4。

由图4可知,贮藏过程中,樱桃番茄PPO和POD活性呈现先升高后降低的趋势,并在贮藏第15天达到最大值,与总酚含量变化趋势一致。贮藏末期(30 d),U+Ca组的PPO和POD活性[338.33 $\Delta\text{OD}_{420\text{nm}}/(\text{min}\cdot\text{g})$ 和180.00 $\Delta\text{OD}_{470\text{nm}}/(\text{min}\cdot\text{g})$]显著低于CK组[(379.00 $\Delta\text{OD}_{420\text{nm}}/(\text{min}\cdot\text{g})$ 和207.73 $\Delta\text{OD}_{470\text{nm}}/(\text{min}\cdot\text{g})$]。较低的PPO和POD活性可减少酚类物质的消耗,延缓酚类物质含量的下降^[12-13]。因此,U+Ca处理能够显著抑制贮藏



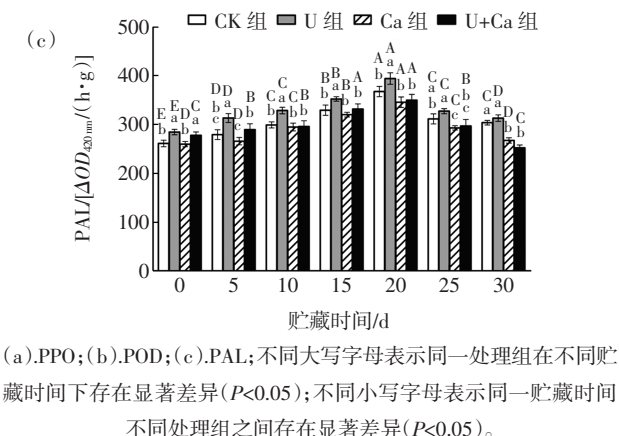


图4 超声波协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酶活性的影响
Fig.4 The effect of ultrasonic combined with calcium impregnation on the enzyme activity of cherry tomatoes during storage

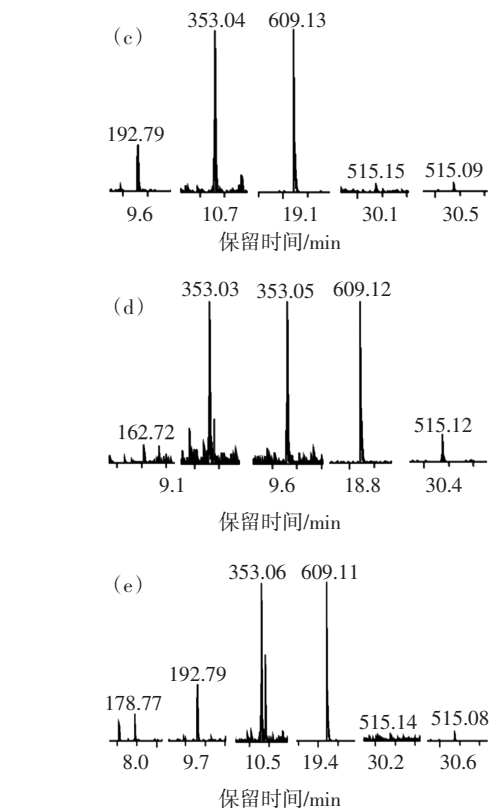
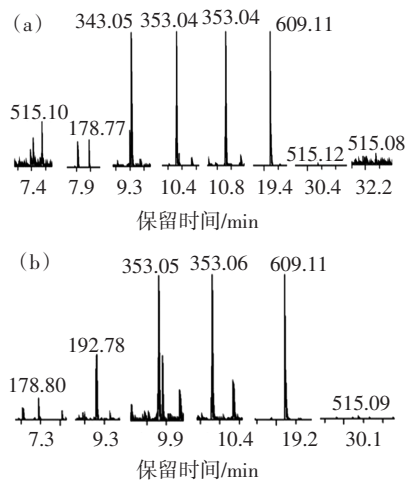
藏期间 PPO 和 POD 活性。

樱桃番茄 PAL 酶活随着贮藏时间的延长呈现先上升后下降的趋势，并在贮藏第 20 天达到最大值，这可能与次级代谢产物如酚类物质的积累不相同有关。贮藏末期(30 d)，U+Ca 组的 PAL 活性 $[252.40 \Delta OD_{290 \text{ nm}} / (h \cdot g)]$ 显著低于 CK 组和 U 组 $[303.87, 313.20 \Delta OD_{290 \text{ nm}} / (h \cdot g)]$ ，表明 U+Ca 处理有效抑制苯丙烷类代谢系统，减少次级代谢产物(酚类物质)的生产，延缓果实成熟与衰老^[14-15]。

2.4 超声波协同钙浸渍对樱桃番茄贮藏过程中酚酸结构特性的影响

以贮藏 30 d 的樱桃番茄进行 HPLC-MS 分析，根据樱桃番茄负离子模式下主要化合物的质谱数据，结合文献对照，已鉴别的化合物的质荷比(m/z)以及保留时间结果见图 5，酚酸保留时间及质谱特征见表 1^[16-18]。

新鲜樱桃番茄中共鉴别出 8 种化合物，分别为 5-没食子酸奎宁酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、芦丁、异绿原酸 A、异绿原酸 B 和异绿原酸 C，但仍有大量化合



(a)新鲜样品;(b)CK 组;(c)U 组;(d)Ca 组;(e)U+Ca 组。

图5 樱桃番茄酚酸质谱图

Fig.5 The mass spectrum of phenolic acids of cherry tomato

表1 樱桃番茄酚酸保留时间及质谱特征

Table 1 Cherry tomato phenolic acids retention time and mass spectrum characteristics

样品	编号	保留时间/min	质荷比(m/z)	化合物	相对分子质量
新鲜样品	1	7.4	515.10[M-H] ⁻	异绿原酸 B	516
	2	7.9	178.77[M-H] ⁻	咖啡酸	180
	3	9.3	343.05[M-H] ⁻	5-没食子酸奎宁酸	344
	4	10.4	353.04[M-H] ⁻	绿原酸	354
	5	10.8	353.04[M-H] ⁻	隐绿原酸	354
	6	19.4	609.11[M-H] ⁻	芦丁	610
	7	30.4	515.08[M-H] ⁻	异绿原酸 A	516
	8	32.2	515.12[M-H] ⁻	异绿原酸 C	516
CK 组	1	7.3	178.80[M-H] ⁻	咖啡酸	180
	2	9.3	192.78[M-H] ⁻	阿魏酸	194
	3	9.9	353.05[M-H] ⁻	绿原酸	354
	4	10.4	353.06[M-H] ⁻	隐绿原酸	354
	5	19.2	609.11[M-H] ⁻	芦丁	610
U 组	6	30.1	515.09[M-H] ⁻	异绿原酸 A	516
	1	9.6	192.79[M-H] ⁻	阿魏酸	194
	2	10.7	353.04[M-H] ⁻	绿原酸	354
	3	19.1	609.13[M-H] ⁻	芦丁	610
	4	30.1	515.15[M-H] ⁻	异绿原酸 A	516
	5	30.5	515.09[M-H] ⁻	异绿原酸 C	516

续表1 樱桃番茄酚酸保留时间及质谱特征

Continue table 1 Cherry tomato phenolic acids retention time and mass spectrum characteristics

样品组	编号	保留时间/min	质荷比(m/z)	化合物	相对分子质量
Ca组	1	9.1	162.66/353.03 [M-H] ⁻	对香豆酸/绿原酸	164/354
	2	9.6	304.8[M-H] ⁻	表没食子酸儿茶素	306
	3	18.8	609.12[M-H] ⁻	芦丁	610
	4	30.4	515.12[M-H] ⁻	异绿原酸 A	516
U+Ca组	1	8.0	178.77[M-H] ⁻	咖啡酸	180
	2	9.7	192.79[M-H] ⁻	阿魏酸	194
	3	10.5	353.06[M-H] ⁻	绿原酸	354
	4	19.4	609.11[M-H] ⁻	芦丁	610
	5	30.2	515.15	异绿原酸 A	516
	6	30.6	515.08[M-H] ⁻	异绿原酸 C	516

物未鉴别出。其中,绿原酸、隐绿原酸为同分异构体,异绿原酸 A、异绿原酸 B 和异绿原酸 C 为同分异构体。樱桃番茄中出现隐绿原酸是由于绿原酸类成分结构母核相同,在一定条件下可以通过分子内酯基迁移发生异构化^[16]。贮藏第 30 天,CK 组樱桃番茄主要酚酸是咖啡酸、阿魏酸、绿原酸、隐绿原酸、芦丁和异绿原酸 A;U 组樱桃番茄主要酚酸是阿魏酸、绿原酸、芦丁、异绿原酸 A 和异绿原酸 C;Ca 组樱桃番茄主要酚酸是对香豆酸/绿原酸、表没食子酸儿茶素、芦丁和异绿原酸 A;U+Ca 组樱桃番茄主要酚酸是咖啡酸、阿魏酸、绿原酸、芦丁、异绿原酸 A 和异绿原酸 C。现有结果发现,隐绿原酸存在于 CK 组樱桃番茄中,可能是由于贮藏第 30 天 CK 组果实的 pH 值更接近中性,使得绿原酸更易转化为隐绿原酸^[17-18]。结果表明,超声协同钙浸渍能够有效抑制贮藏期间樱桃番茄主要酚酸的消耗,维持酚类物质结构特性。

3 结论

与对照组相比,超声协同钙浸渍处理有效延缓了樱桃番茄贮藏过程中总酚含量下降。此外,贮藏末期 PPO、POD、PAL 活性 $[338.33 \Delta OD_{420\text{nm}}/(\text{min} \cdot \text{g})$ 、 $180.00 \Delta OD_{470\text{nm}}/(\text{min} \cdot \text{g})$ 和 $252.40 \Delta OD_{290\text{nm}}/(\text{h} \cdot \text{g})]$ 显著低于 CK 组 $[379.00 \Delta OD_{420\text{nm}}/(\text{min} \cdot \text{g})$ 、 $207.73 \Delta OD_{470\text{nm}}/(\text{min} \cdot \text{g})$ 和 $303.87 \Delta OD_{290\text{nm}}/(\text{h} \cdot \text{g})]$,表明超声协同钙浸渍技术显著抑制贮藏过程中 PPO、POD 和 PAL 酶活性。质谱结果表明,超声协同钙浸渍处理有效延缓樱桃番茄酚酸消耗,维持樱桃番茄酚类物质的结构特性与抗氧化活性。试验结果表明,超声协同钙浸渍处理有效抑制樱桃番茄贮藏期间多酚氧化酶、过氧化物酶和苯丙氨酸解

氨酶活性,维持较高抗氧化活性和酚类物质含量,延缓果实衰老。

参考文献:

- [1] JACOBO VELAZQUEZ D A, DEL ROSARIO CUELLAR VILLAR-REAL M, WELTI CHANES J, et al. Nonthermal processing technologies as elicitors to induce the biosynthesis and accumulation of nutraceuticals in plant foods[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 60: 80-87.
- [2] MAKROO H A, SAXENA J, RASTOGI N K, et al. Ohmic heating assisted polyphenol oxidase inactivation of watermelon juice: Effects of the treatment on pH, lycopene, total phenolic content, and color of the juice [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41 (6): e13271.
- [3] YEOH W K, ALI A. Ultrasound treatment on phenolic metabolism and antioxidant capacity of fresh-cut pineapple during cold storage [J]. Food Chemistry, 2017, 216: 247-253.
- [4] LU C, DING J, PARK H K, et al. High intensity ultrasound as a physical elicitor affects secondary metabolites and antioxidant capacity of tomato fruits [J]. Food Control, 2020, 113: 107176.
- [5] ELENA AYON REYNA L, ANGEL LOPEZ VALENZUELA J, DELGADO VARGAS F, et al. Effect of the combination hot water-calcium chloride on the *in vitro* growth of colletotrichum gloeosporioides and the postharvest quality of infected papaya [J]. Plant Pathology Journal, 2017, 33(6): 572-581.
- [6] TOOR R K, SAVAGE G P. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes [J]. Food Research International, 2005, 38(5): 487-494.
- [7] PATARO G, SINIK M, CAPITOLI M M, et al. The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2015, 30(1): 103-111.
- [8] LUH B S, PHITHAKPOL B. Characteristics of polyphenoloxidase related to browning in cling peaches[J]. Journal of Food Science, 2010, 37(2): 264-268.
- [9] ZHAO R, SHENG J, LV S, et al. Nitric oxide participates in the regulation of LeCBF1 gene expression and improves cold tolerance in harvested tomato fruit[J]. Postharvest Biology & Technology, 2011, 62(2): 121-126.
- [10] YINGSANGA P, SRILAONG V, KANLAYANARAT S, et al. Relationship between browning and related enzymes (PAL, PPO and POD) in rambutan fruit (*Nephelium lappaceum* Linn.) cvs. Rongrien and See-Chompoo[J]. Postharvest Biology & Technology, 2008, 49 (2): 164-168.
- [11] 孙坤坤,卢奕霏,侯泽豪,等.苦荞芽菜游离酚、结合酚及抗氧化活性研究[J].西北农业学报,2020,29(7): 1035-1044.
- [12] MERCADO-MERCADO G, DE LA ROSA L A, ALVAREZ-PARRILLA E. Effect of pectin on the interactions among phenolic compounds determined by antioxidant capacity[J]. Journal of Molecular Structure, 2019, 1199: 126967.

(下转第 49 页)