

УДК 664.8:602.014

**А. Н. Никитенко**, ассистент (БГТУ);**З. Е. Егорова**, кандидат технических наук, доцент (БГТУ)**ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ,  
АСКОРБИНОКСИДАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ ЯБЛОК**

Для производства готовых пищевых продуктов длительного хранения необходимо учитывать характер протекающих в исходном сырье биологических процессов, существенная роль в которых принадлежит ферментам. Целью данной работы было исследование изменения активности ферментов яблочного сырья белорусской зоны произрастания в процессе хранения яблок. Установлено, что на изменение активности аскорбиноксидазы, полифенолоксидазы и пероксидазы яблочного сырья в процессе хранения существенное влияние оказывают сортовые особенности плодов. Определены сроки оптимальной переработки отдельных сортов яблок для производства чипсов из них. Активность аскорбиноксидазы, полифенолоксидазы и пероксидазы предложена в качестве дополнительного параметра, характеризующего качество плодов яблок различных сортов.

For manufacture of ready foodstuff of long storage it is necessary to consider character of proceeding biological processes in the initial raw materials, the essential role in which belongs to enzymes. Research of change of activity of enzymes of apple raw materials of the Belarus zone of growth in the course of storage of apples was the purpose of the given work. It is established, that on change activity polyphenoloxidase, askorbinoxidase and peroxidase apple raw materials in the course of storage essential influence render high-quality features of fruits. Terms of optimum processing for manufacture of chips from apples for separate suitable grades are defined. Activity polyphenoloxidase, askorbinoxidase and peroxidase is offered as additional parameter characterising quality of fruits of apples of various grades.

**Введение.** Пищевой рацион современного человека включает разнообразные продукты, среди которых существенная роль принадлежит сухим завтракам. Индустрия этих продуктов развита за рубежом, в нашей стране данная группа продукции ограничена зерновыми хлопьями, крекерами, сухофруктами и мюсли. Яблочные чипсы, технология производства которых разработана в Белорусском государственном технологическом университете, также относятся к данной группе.

Для изготовления яблочных чипсов с хорошими органолептическими свойствами, высокой пищевой ценностью, безопасных в течение срока годности, необходимо учитывать характер протекающих биологических процессов в исходном сырье.

Большинство исследований в данной области посвящено изучению витаминной ценности, минерального и углеводного состава, антиоксидантных свойств полифенольных соединений фруктового сырья и продуктов из него. Однако известно, что немаловажную роль в формировании вкуса, аромата и цвета готовых пищевых продуктов играют ферменты.

Среди разнообразия ферментов, присутствующих в растительной клетке, наиболее значимыми для технологической переработки являются окислительно-восстановительные (ред-ок) и гидролитические ферменты, приводящие к потере пищевой ценности и ухудшению потребительских свойств свежих фруктов [1].

Особый интерес представляют 3 группы ферментов: аскорбиноксидаза, пероксидазы и фенолоксидазы.

Распространенный в растительном мире медь-содержащий фермент аскорбиноксидаза, катализирует окисление аскорбиновой кислоты в ее дегидроформу, не обладающую витаминной активностью. Пероксидазы играют важную роль в процессе дыхания растений и окисляют полифенолы и некоторые ароматические амины с изменением природных свойств фруктов. Фенолоксидазы (*o*-полифенолоксидазы, фенолазы, тирозиназа) содержатся во всех фруктах, но значительную активность они проявляют в семечковых и косточковых плодах европейского региона. Так, полифенолоксидаза катализирует реакцию окисления *o*-дифенолов и полифенолов с образованием промежуточных семихинонов и *o*-хинонов, которые при конденсации образуют темноокрашенные продукты. Функционирование данных ферментов приводит к нежелательному потемнению консервированной продукции, особенно сушеных плодов и овощей [2].

Анализ литературных данных [3–5] показал, что активность ред-ок ферментов не изучена для яблок сортов, районированных на территории Республики Беларусь. Изменение активности аскорбиноксидазы, пероксидазы и полифенолоксидазы в процессе хранения рассмотрено для яблок сортов Golden Delishies, Jonagored, Golden Smoothee, Red Spur Delicious, распространенных в странах Западной Европы и США [6–8].

Учитывая вышеизложенное, целью нашей работы было исследование изменения активности окислительных ферментов в процессе хранения яблочного сырья белорусской зоны произрастания.

**Основная часть.** Объектами исследований были плоды яблوك белорусских сортов урожая 2010 г., хранившиеся в холодильных камерах в течение 6 месяцев при температуре 0...+1°C и относительной влажности окружающей среды 90–95%.

Для изучения использовали яблоки осеннего (Лучезарное), зимнего (Антоновка обыкновенная, Минское), позднелимнего (Алеся, Вербное, Весялина, Имант) а также позднелимнего-позднеливесеннего (Банановое, Белорусское малиновое, Антей) сроков созревания [9] в технической степени зрелости, т. е. спустя месяц после снятия плодов (Спелость яблук устанавливали по йод-крахмальной пробе [10]).

О характере протекающих в плодах биологических процессов судили по изменению активности аскорбиноксидазы, пероксидазы и полифенолоксидазы.

Активность ферментов исследовали с использованием фотоколориметрического метода. Для определения активности пероксидазы применяли методику, основанную на нахождении скорости ферментативной реакции окисления бензидина с образованием продукта синего цвета [11]. Активность аскорбиноксидазы определяли по изменению остатка неокисленной аскорбиновой кислоты при титровании [12]. Активность полифенолоксидазы находили путем измерения оптической плотности продуктов реакции, образовавшихся при окислении пирокатехина в присутствии диэтилпарафенилендиамина [13].

За единицу активности фермента принимали такое его количество, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в единицу времени при заданных стандартных условиях [11].

Отбор образцов яблук для исследований осуществлялся через 3 и 6 месяцев хранения. Результаты измерений активности ферментов яблук различных сортов в начале эксперимента представлены в табл. 1.

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что наиболее низкая активность аскорбиноксидазы в рассматриваемых нами сортах яблук была выявлена в яблоках сорта Алеся ( $1,2 \cdot 10^{-2}$  ед./г), а самая высокая – в яблоках сорта Антей ( $8,3 \cdot 10^{-2}$  ед./г). При этом активность аскорбиноксидазы для всех сортов яблук зимнего срока созревания практически была одинаковой, а яблук позднелимнего и позднелимнего-позднеливесеннего сроков созревания различалась между собой внутри каждой группы в 2–3,5 раза.

Самая низкая активность пероксидазы установлена в яблоках сорта Лучезарное ( $3,8 \cdot 10^{-4}$  ед./г), самая высокая – в Весялине ( $3,13 \cdot 10^{-2}$  ед./г) и

Белорусском малиновом ( $3,69 \cdot 10^{-2}$  ед./г). Активность пероксидазы сортов яблук зимнего срока созревания отличалась между собой внутри группы более чем в 14 раз, позднелимнего и позднелимнего-позднеливесеннего сроков созревания – в 40 и более раз (см. табл. 1).

Таблица 1

**Активность ферментов яблук белорусской зоны произрастания после месяца хранения**

Сорт яблук	Активность ферментов, ед./г		
	Аскорбиноксидазы	Пероксидазы	Полифенолоксидазы
<i>осеннего срока созревания</i>			
Лучезарное	$2,5 \cdot 10^{-2} \pm \pm 2,0 \cdot 10^{-3}$	$3,8 \cdot 10^{-4} \pm \pm 2,92 \cdot 10^{-4}$	$1,31 \cdot 10^{-1} \pm \pm 3,76 \cdot 10^{-4}$
<i>зимнего срока созревания</i>			
Антоновка	$3,0 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,8 \cdot 10^{-3}$	$2,79 \cdot 10^{-3} \pm \pm 1,68 \cdot 10^{-4}$	$1,86 \cdot 10^{-2} \pm \pm 6,40 \cdot 10^{-4}$
Минское	$3,4 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,5 \cdot 10^{-3}$	$1,90 \cdot 10^{-2} \pm \pm 7,11 \cdot 10^{-4}$	$3,3 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,12 \cdot 10^{-4}$
<i>позднелимнего срока созревания</i>			
Вербное	$3,1 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,3 \cdot 10^{-3}$	$3,59 \cdot 10^{-3} \pm \pm 2,23 \cdot 10^{-4}$	$2,97 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,01 \cdot 10^{-4}$
Весялина	$2,8 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,9 \cdot 10^{-3}$	$3,13 \cdot 10^{-2} \pm \pm 3,53 \cdot 10^{-4}$	$2,74 \cdot 10^{-2} \pm \pm 2,23 \cdot 10^{-4}$
Алеся	$1,2 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,7 \cdot 10^{-3}$	$5,8 \cdot 10^{-3} \pm \pm 8,71 \cdot 10^{-4}$	$5,31 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,54 \cdot 10^{-4}$
Имант	$4,3 \cdot 10^{-2} \pm \pm 2,1 \cdot 10^{-3}$	$1,43 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,05 \cdot 10^{-4}$	$2,92 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,31 \cdot 10^{-4}$
<i>позднелимнего-позднеливесеннего срока созревания</i>			
Банановое	$3,9 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1 \cdot 10^{-3}$	$7,59 \cdot 10^{-3} \pm \pm 1,08 \cdot 10^{-4}$	$2,03 \cdot 10^{-3} \pm \pm 2,08 \cdot 10^{-4}$
Антей	$8,3 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,9 \cdot 10^{-3}$	$1,81 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,21 \cdot 10^{-4}$	$1,87 \cdot 10^{-2} \pm \pm 4,38 \cdot 10^{-4}$
Бел. малиновое	$5,4 \cdot 10^{-2} \pm \pm 1,2 \cdot 10^{-3}$	$3,69 \cdot 10^{-2} \pm \pm 2,03 \cdot 10^{-4}$	$1,93 \cdot 10^{-2} \pm \pm 7,37 \cdot 10^{-4}$

Как видно из представленных в табл. 1 данных, наиболее низкая активность полифенолоксидазы установлена в яблоках сорта Банановое ( $2,03 \cdot 10^{-3}$  ед./г), самая высокая – в яблоках сортов Лучезарное ( $1,31 \cdot 10^{-1}$  ед./г) и Алеся ( $5,31 \cdot 10^{-2}$  ед./г). Активность полифенолоксидазы сортов яблук зимнего и позднелимнего сроков созревания различалась между собой незначительно, а позднелимнего-позднеливесеннего срока – приблизительно в 10 раз.

Необходимо отметить, что активность аскорбиноксидазы, пероксидазы и полифенолоксидазы в яблоках сортов Минское, Вesyялина, Имант, Антей и Белорусское малиновое практически была одинаковой, а в яблоках сортов Антоновка обыкновенная, Вербное, Алеся и Банановое колебалась в пределах одного порядка. Ни одна из указанных особенностей не была характерна для яблок сорта Лучезарное (табл. 1), что может быть объяснено коротким периодом потребления яблок данного сорта по сравнению с другими исследуемыми нами сортами.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что на активность ферментов влияют как сортовые особенности, так и сроки созревания рассматриваемых нами сортов яблок.

Результаты измерения активности ферментов яблочного сырья по отношению к исходной в течение 6 месяцев хранения приведены на рис. 1–3.

Изменение активности аскорбиноксидазы яблок при хранении приведено на рис. 1.

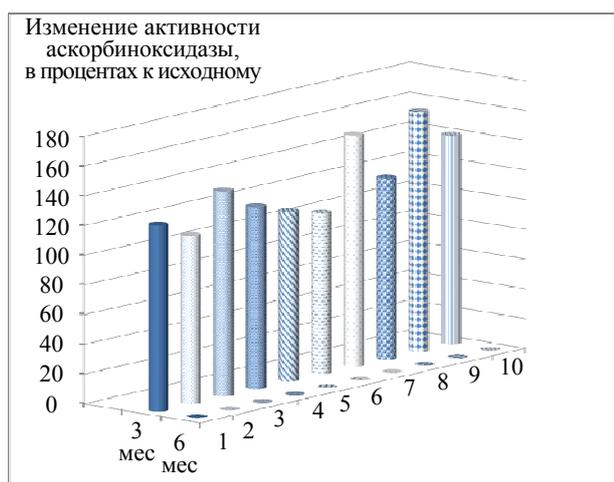


Рис. 1. Влияние продолжительности хранения на изменение активности аскорбиноксидазы яблок сортов:

1 – Лучезарное; 2 – Антоновка; 3 – Минское; 4 – Вербное; 5 – Вesyялина; 6 – Алеся; 7 – Имант; 8 – Антей; 9 – Банановое; 10 – Белорусское малиновое

Из полученных данных видно, что через 3 месяца хранения наблюдалось увеличение активности аскорбиноксидазы в яблоках всех рассматриваемых сортов на 8,3–61,5% по отношению к исходному. Однако через 6 месяцев хранения этих же сортов яблок активность аскорбиноксидазы в них снизилась до значений порога чувствительности методики.

Из данных, приведенных на рис. 2, видно, что после 3 месяцев хранения яблок сорта Вербное активность пероксидазы в них практически не изменилась.

Иная картина наблюдалась с динамикой активности данного фермента в яблоках других

сорт. Так, в яблоках сортов Алеся и Банановое заметно увеличение активности пероксидазы на 13–14% по сравнению с исходной, а для яблок сортов Антоновка, Антей, Белорусское малиновое и Минское активность пероксидазы уменьшилась до 10–43% от исходной.

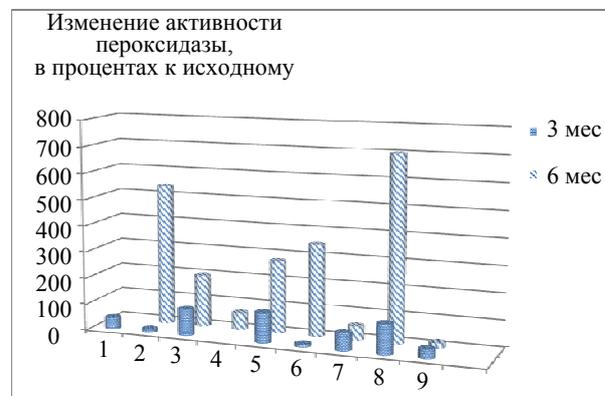


Рис. 2. Влияние продолжительности хранения на изменение активности пероксидазы яблок сортов:

1 – Антоновка; 2 – Минское; 3 – Вербное; 4 – Вesyялина; 5 – Алеся; 6 – Имант; 7 – Антей; 8 – Банановое; 9 – Белорусское малиновое

Хранение в течение 6 месяцев привело к увеличению активности пероксидазы в яблоках сортов Вербное, Алеся и Имант в 2–3 раза, в Банановом и Минском – более чем в 7 раз по сравнению с исходной. Вместе с тем в яблоках сортов Белорусское малиновое и Вesyялина активность данного фермента уменьшилась до 20 и 64% от исходной соответственно, а в яблоках сорта Антей практически не изменилась.

Изменение активности полифенолоксидазы исследуемых сортов яблок при хранении приведено на рис. 3. Через 3 месяца хранения во всех объектах исследования, кроме яблок сорта Алеся, наблюдалось увеличение активности полифенолоксидазы на 10,2–72,7%. При этом наибольшая активность полифенолоксидазы нами обнаружена в яблоках сорта Минское (72,7%). После 6 месяцев хранения активность данного фермента снизилась и составила 23–45% от исходной для всех рассматриваемых сортов.

Сравнивая полученные значения активности ферментов аскорбиноксидазы, пероксидазы и полифенолоксидазы яблок разных сроков созревания (рис. 1–3), можно отметить, что в процессе хранения яблок поздних сроков созревания в течение 3 месяцев происходило увеличение активности аскорбиноксидазы и полифенолоксидазы, за исключением яблок сорта Алеся (рис. 3), а при хранении в течение 6 месяцев активность этих же ферментов существенно снижалась.

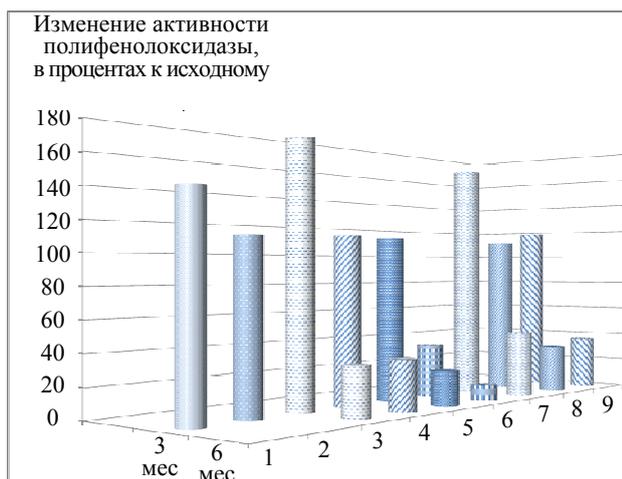


Рис. 3. Влияние продолжительности хранения на изменение активности полифенолоксидазы яблок сортов: 1 – Лучезарное; 2 – Антоновка; 3 – Минское; 4 – Вербное; 5 – Весялина; 6 – Алеся; 7 – Имант; 8 – Антей; 9 – Белорусское малиновое

**Заключение.** В процессе хранения яблок рассматриваемых нами сортов изменение активности аскорбиноксидазы, пероксидазы и полифенолоксидазы носило неоднозначный характер.

Учитывая динамику активности пероксидазы и полифенолоксидазы яблок и степень ее влияния на цветочные характеристики и качество готовых яблочных чипсов, можно рекомендовать следующие оптимальные сроки переработки яблок (табл. 2).

Таблица 2

**Оптимальные сроки переработки яблок различных сортов (+ переработка целесообразна; – нецелесообразна)**

Сорт яблок	Техническая степень зрелости	Продолжительность хранения, мес.	
		3	6
<i>осеннего срока созревания</i>			
Лучезарное	+	–	–
<i>зимнего срока созревания</i>			
Антоновка	+	+	–
Минское	–	+	–
<i>поздnezимнего срока созревания</i>			
Вербное	+	+	–
Весялина	–	+	+
Алеся	+	+	–
Имант	–	+	–
<i>поздnezимнего-поздневесеннего срока созревания</i>			
Банановое	+	+	–
Антей	+	+	+
Бел. малиновое	+	+	+

**Литература**

1. Кретович, В. Л. Основы биохимии растений / В. Л. Кретович. – М.: Высшая школа, 1971. – 464 с.
2. Марх, А. Т. Биохимия консервирования плодов и овощей / А. Т. Марх. – М.: Пищевая промышленность, 1973. – 371 с.
3. Guan, J. Relationship between senescence and active oxygen metabolism in apple fruits / J. Guan, H. Shu // Acta hort. sinica. – 1996. – Vol. 23, No. 4. – P. 326–328.
4. Rocha, A. M. Characterisation of "Starking" apple polyphenoloxidase / A. M. Rocha [et al.] // J. Sc. Food Agr. – 1998. – Vol. 77, No. 4. – P. 527–534.
5. Grigelmo-Miguel, N. Browning evaluation of apples as affected by modified atmosphere / N. Grigelmo-Miguel // J. Sc. Food Agr. – 2001. – Vol. 49, No. 8. – P. 2227–2233.
6. Lata, B. Changes of antioxidant content in fruit peel and flesh of selected apple cultivars during storage / B. Lata, M. Przeradzka // J. Fruit ornamental Plant Res. – 2002. – Vol. 10, No. 10. – P. 5–13.
7. Rocha, A. M. Influence of controlled atmosphere storage on polyphenoloxidase activity in relation to colour changes of minimally processed "Jonagored" apple / A. M. Rocha, A. M. Morais // J. Sc. Food Technol. – 2001. – Vol. 36, No. 4. – P. 425–432.
8. Abbasi, N. A. The Activities of SOD, POD, and CAT in "Red Spur Delicious" Apple Fruit Are Affected by DPA / N. A. Abbasi, M. M. Kushad // Journal of the American Pomological Society. – 2006. – Vol. 60, No. 2. – P. 84–89.
9. Солонец, Г. К. Яблоня: биохимический состав плодов / Г. К. Солонец. – Минск: Белорусский дом печати, 1992. – 48 с.
10. Мельник, О. В. Определение сроков сбора урожая / О. В. Мельник, О. О. Дрозд // Новини садівництва. – № 3. – 2008. – 24–27 с.
11. Польшалина, Г. В. Определение активности ферментов: справочник / Г. В. Польшалина, В. С. Чередниченко, Л. В. Римарёва. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 375 с.
12. Ермаков, А. И. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
13. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines / V. Fogliano [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 1999. – Vol. 47, No. 3. – P. 1035–1040.

Поступила 25.02.2011