第4卷 第4期 无锡轻工业学院学报 JOURNAL OF THE WUXI INSTITUTE OF LIGHT INDUSTRY Vol. 4 No. 4 1985

带肉梨汁护色及加工工艺的研究(I)

—子母梨中多酚氧化酶特性的研究

杨方琪 费 健 杨 健 张燕萍

(食 工 系)

一、前 言

生梨柔嫩、多汁、可口、具有清热、润肺和止咳等功效，因而深受广大消费者的喜爱。我国生梨资源非常丰富，尤以山东、四川为多，品种以本地种为主。但生梨不耐贮藏和运输，损耗相当严重。因此，开展梨制品的加工研究，有非常现实的意义。过去由于生梨在加工过程中的褐变和风味不佳等问题未解决，致使目前国内仍未有商业化的梨汁生产。本研究采用新工艺生产的带肉梨汁，产品色泽正常，风味好，原料利用率高，经济效益显著。由于篇幅关系，本文先行介绍梨汁的护色问题，加工工艺问题将另文叙述。

梨汁的护色问题是防止褐变的问题。梨汁的褐变主要是梨组织中多酚氧化酶作用而引起的。关于果蔬中多酚氧化酶特性的研究已有不少文献报道，如Samisch(1935)[1]、Tate等(1964)[2]、Pifferl等(1974)[3]、Haisman(1974)[4]、Montogomery 等 (1980)[5]、Reyes等(1960)[6]Rivas等(1973)[7]、Sioud等(1966)[8]、Bedrosian等(1960)[9]、Halim等(1978)[10]曾分别就从苹果、桃子、巴梨等组织中的多酚氧化酶特性进行过研究，Vamos—Vigyazo (1981)[11]曾非常详细地综述了多酚氧化酶的各种特性、制取、提纯、分析方法以及这方面研究工作的进展。江西食品发酵工业研究所 (1977)[12]、袁振远等人 (1985)[13] 也曾分别报道了蘑菇、马铃薯组织中多酚氧化酶的特性，但有关对梨组织中(特别是子母梨)多酚氧化酶特性的研究国内至今尚无报道。为此，作者在梨汁加工研究中，先对山东子母梨组织中多酚氧化酶的各项特性进行了研究。

二、材 料 和 方 法

1. 材 料

1) 子母梨 山东临沂地区

2) 底 物 邻苯二酚(A R)

3) 缓冲液 磷酸氢二钠——柠檬酸缓冲液

2. 方 法

1) 丙酮粉的制备 为使操作方便和实验数据稳定可靠，首先按表1中的操作步骤制取粗丙酮粉

本文1985年9月17日收到。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2) 酶液的萃取 参照Halim方法[10]，并作了一些改动，具体操作步骤如下：

表1 丙酮粉的制备

梨
↓
去皮、去核
↓
切块
↓
加四倍丙酮捣碎
↓
过滤→滤液→回收丙酮
↓
残渣
↓
冷风吹干
↓
真空干燥(常温、750mmHg)
↓
研碎混匀
↓
粗丙酮粉(装瓶密封，置于冰箱中备用)

取0.5克粗丙酮粉，加40毫升0.05M醋酸缓冲液(pH5.6)在SI-2型磁力恒温搅拌器中搅拌10分钟，然后用FL-20高速冷冻离心机离心分离(8000转/分，10分钟，0℃)，取清液抽滤，所得滤液即为多酚氧化酶萃取液，置冰水浴中待测。整个操作在0℃进行。

3) 多酚氧化酶活力测定 分别用分光光度法和量压法进行测定。具体操作步骤如下：

分光光度法：参照Panting方法[15]。在比色皿中先加入一定量的底物和缓冲液混合后，在一定温度下恒温10分钟，然后加入一定量的酶液使总体积为3.0毫升，立即混匀，并用分光光度计在420nm波长下测量吸光度随时间改变值。从所得曲线的最初直线部分的斜率计算酶活力，以吸光度每分钟增加0.1作为一个酶活力单位。

量压法：参照Samisch法[1]，并作了一些改动。选用上海科技大学产SKW-2型微量呼吸测压仪，在反应瓶主室中加入一定量的底物和缓冲液，反应瓶侧室中加入一定量的酶液，反应总体积为3.0毫升，另用煮沸5分钟的失活酶代替上述酶液作为空白。待整个系统达到平衡后，迅速混合主室和侧室中的液体，分别记录1、2、3、4、5、6、7、10分钟时开端液柱下降的高度，并换算成相应的耗氧量，以每分钟消耗1微升氧量作为一个酶活力单位。

4) 酶浓度与反应速度 取0.5毫升120mM的儿茶酚，分别加入0.1～0.8毫升的酶液，用pH4.4的碳酸盐——柠檬酸缓冲液补充至3.0毫升，用量压法测定在不同酶浓度情况下的反应速度。

5) pH与酶活力 在pH3.0～7.9的系列柠檬酸—碳酸盐缓冲液内(2.4毫升)各加入0.5毫升120mM儿茶酚，保温10分钟，迅速加入0.1毫升酶液，用分光光度法分别测量不同pH下的酶活力。

6) 温度与酶活力 方法同上。在pH7.0条件下，用分光光度法测定10℃～55℃范围内的酶活力。

7) 底物浓度与酶活力 在30℃，pH4.4条件下，分别用分光光度法和量压法测定反应液最

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

终底物浓度0.001～0.160M时的酶活力，并根据Linewea ver Burk方程式$\frac{1}{V}=\frac{K_m}{[S]}\times\frac{1}{V_{max}}+\frac{1}{V_{max}}$作$\frac{1}{V}$与$\frac{1}{[S]}$图，从直线斜率和截距计算$V_{max}$和$K_m$值。

8) 多酚氧化酶的热稳定性　在毛细管中加入一定量的酶液(溶于0.05M醋酸缓冲液，pH 4.4)分别插入70℃、85℃、100℃水中，取出后迅速冷却，用分光光度法分别测量在上述温度中加热一定时间后酶的相对残余活力。

9) SO_2对多酚氧化酶的抑制作用　在反应体系中添加偏重亚硫酸钠，使最终SO_2浓度分别为0.1～0.5mM，用分光光度法在pH4.4、pH7.0条件下分别测定酶在不同SO_2浓度下的反应速度。反应液成分为：0.1毫升酶液；0.5毫升120mM儿茶酚；2.05～2.40毫升缓冲液；0.05～0.25毫升偏重亚硫酸钠。

10) vit C与多酚氧化酶活力　步骤同上。但用vit C代替SO_2，最终vitC浓度为0.125～1.000mM，用分光光度法测定在pH4.4和pH7.0时不同vitC浓度下多酚氧化酶反应速度。

三、结　果　与　讨　论

1. 酶浓度对酶活力的影响

不同酶浓度和酶活力的关系如图1。从图1可看出，在酶浓度较低的情况下，随着酶浓度的增加，酶活力成比例地增加，但酶浓度增加到一定值时，酶活力的增加速度便逐渐减缓，最后停止增加。据文献[11]这主要是由于酶作用的产物对酶有抑制作用的缘故。

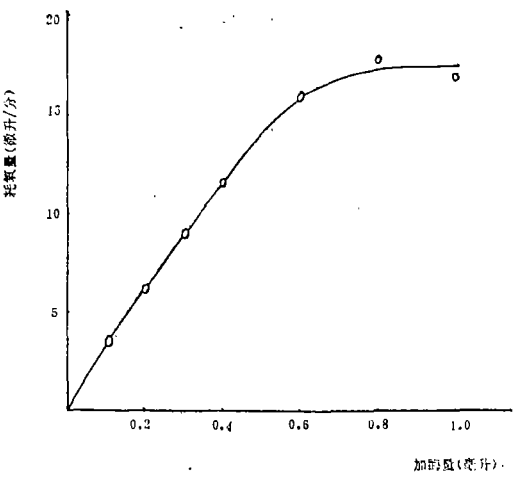


图1　浓度与反应速度的关系(pH4.4，30℃)

2. pH对酶活力的影响

在不同pH环境下酶的活力见图2。

从图2可知，在pH4.4和pH7.0处有两个峰，即两个最适pH。由此可见子母梨中至少存在两种同功酶。关于多酚氧化酶有同功酶的存在，已有许多文献报道，如Pifferi对欧洲樱桃中多酚氧化酶特性进行研究时，发现在pH4.0和pH7.0处各出现一个峰；Rivas[7]曾报道在阳梨中也有两种多酚氧化酶同功酶的存在。此外从图2可知，当pH低于3.0时，酶活力接近于零。因此，加工梨汁时控制适当的pH值，就能显著减少褐变的发生。

3. 温度对酶活力的影响

在pH7.0条件下，温度与酶活力的关系曲线如图3。

从图3可知，该酶最适温度为30℃左右。这对确定新工艺有直接关系。

4. 底物浓度对酶的影响

图4、图5分别为量压法和分光光度法所测量的底物浓度与酶活力关系曲线。

在底物浓度很低的情况下，随底物浓度反应速度成比例增加；底物浓度进一步增加时，

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

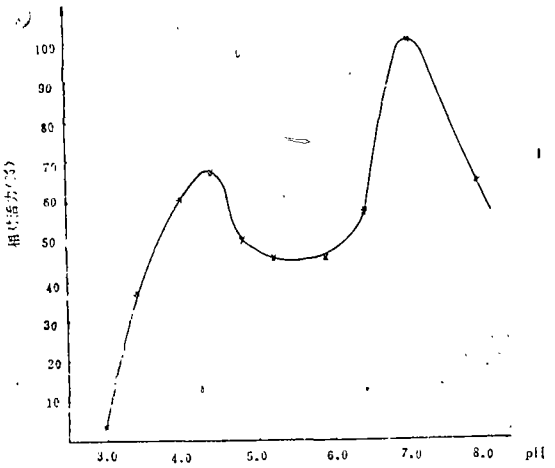


图2 pH值与酶活力的关系(22℃)

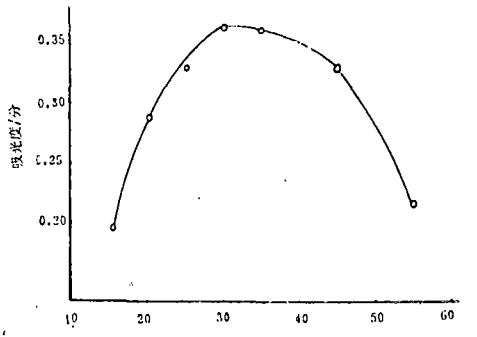


图3 温度与酶活力的关系

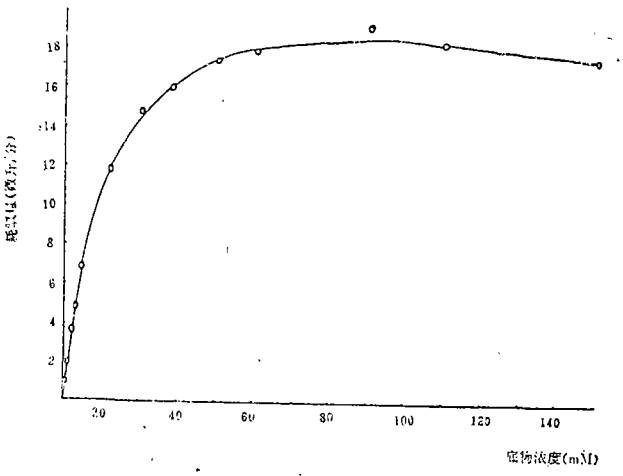


图4 底物浓度与酶活力的关系(量压法)

酶活力增加速度逐渐减慢，继而不再增加。仔细观察图4和图5中曲线的后半部分，可发现存在明显的差异。据Samisch报道[11]：多酚氧化酶不同于其他酶类，当底物浓度增加到一定量时，酶活力不仅不增加，反而逐渐下降，这是因为过量的底物对多酚氧化酶产生抑制作用而造成的。图4的曲线与此报道相接近。但图5中的曲线未有该现象发生，这可能是分光光度计灵敏度非常高，在极短的时间内，当底物尚未充分表现出对酶有抑制作用时就读取了测定数据的缘故。我们根据酶反应初速度去计算酶活力时，证明在极短时间内，底物还来不及对酶起抑制作用。

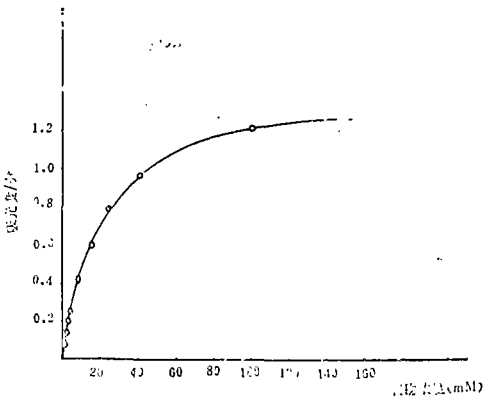


图5 底物浓度与酶活力的关系(分光光度法)

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

用底物浓度和反应速度的倒数作图，结果见图6及图7。求出V_{max}和K_m值分别为25微升/分、12.2mM(量压法)和1.35吸光度/分和14.7mM。这两种方法所测定的结果基本上一致。由此可证明两种方法所测得的结果都是正确的。

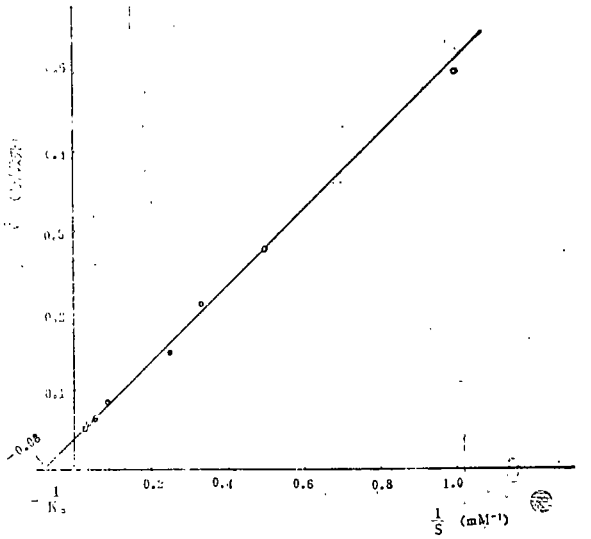


图6　用量压法时的V_{max}和K_m值

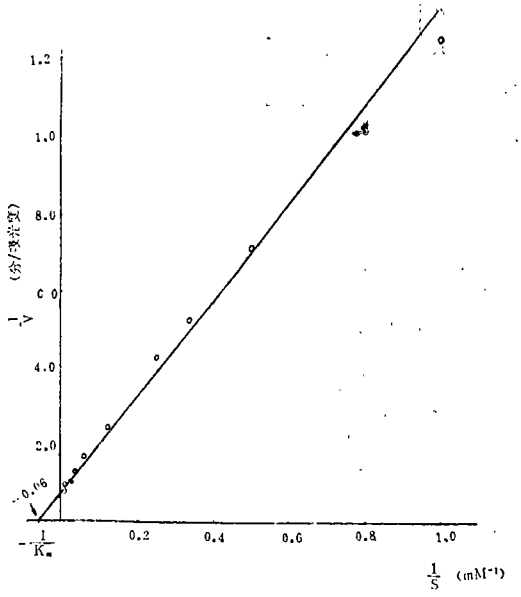


图7　用分光光度法时的V_{max}和K_m值

根据Rivas报道[15]，从巴梨中分离出两种同功酶并进行了研究，在pH4.0时，它们的K_m值分别为11.7和8.0mM，Luh[16]也报道了从桃子中分离出的多酚氧化酶在pH6.2时的K_m值为15mM，与本研究结果相近似。

5．多酚氧化酶的热稳定性

在70℃、85℃和100℃条件下将多酚氧化酶的热处理，酶的失活速度结果见图8、9、10。从这些图中可看出，在70℃条件下，酶的失活速度缓慢，热处理90分钟后，还有19.4%的残

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

余酶活力。当温度升高时，酶失活速度急剧增加，到85℃和100℃时，分别只需120秒和15秒就能使酶完全钝化。因此，控制一定的温度和时间就成为制定新工艺路线的关键之一。

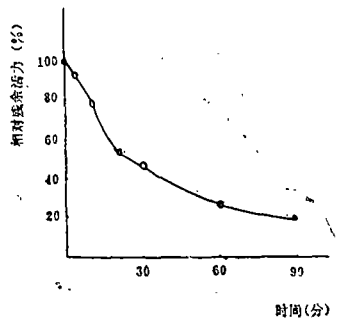


图 8 70℃ 时多酚氧化酶热稳定性

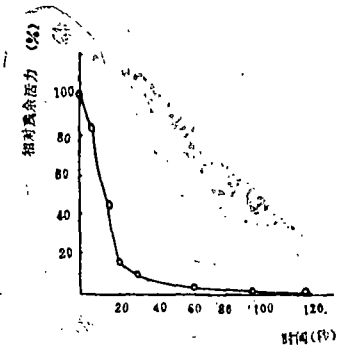


图 9 85℃ 时多酚氧化酶热稳定性

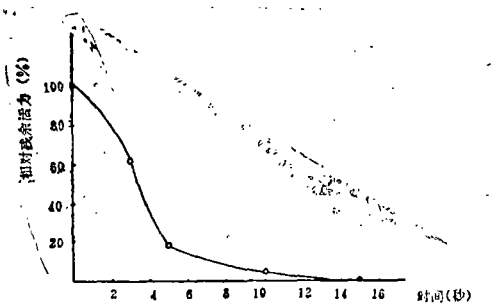
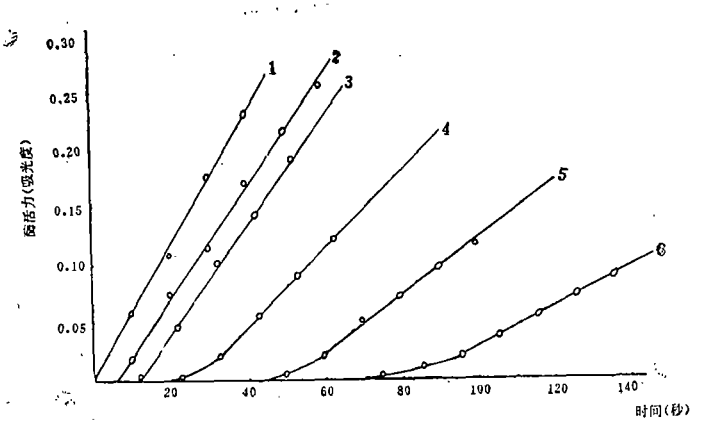


图10 100℃时多酚氧化酶热稳定性

6. SO_2对酶活力的影响

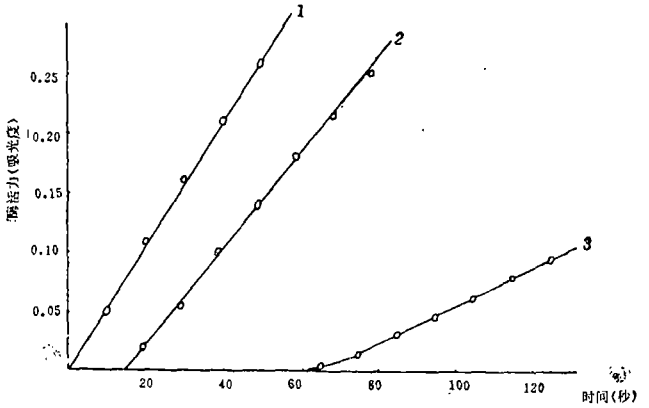
图11和图12分别为不同浓度SO_2的对酶活力的影响情况。由于SO_2的存在，对酶活力产生两种作用：一种是推迟褐变时间，即存在滞后期，这是SO_2的还原作用，将生成的产物还原成底物；另一种是对酶有抑制作用，使经过滞后期的酶活力下降。这两种效应均随SO_2浓度增高而加强，这与一些文献报道的结果一致[13][15-16]。



SO_2最终浓度 1：0.0，
2：0.1mM，3：0.2mM，
4：0.3mM，5：0.4mM，
6：0.5mM。

图11 pH7.0时SO_2对酶的抑制作用

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



SO_2最终浓度 1：0.00，
2：0.25mM，3：0.30mM。

图12　pH4.4时SO_2对酶的抑制作用

7. vitC对多酚氧化酶活力的影响

可见表2。从表2可看出，vitC效应与SO_2效应相仿，即同样存在反应滞后期和降低酶活力，且随着vitC的浓度增加而增加，这是vitC有还原作用的结果。因此，在梨汁加工中添加适量的citC可以防止或减少褐变的发生。

表2　V_c对酶活力的影响

pH / vitC浓度(mM)	4.4		7.0	
	滞后期时间(秒)	相对残余活力(%)	滞后期时间(秒)	相对残余活力(%)
0.000	0.0	100	0.0	100
0.125	8.5	98.2	9	84.3
0.250	14	96.6	19	66.0
0.375	27	82.6	24	63.1
0.500	29	66.2	58.5	43.0
0.750	714	20.1	>1200	0.0
1.000	>1200	0.0		

(加工工艺部分待续)

本课题研究过程中曾得到王璋老师的帮助，在此深表谢意。

参　考　文　献

[1] Samisch. R, "Plant Physiol", 643～654, 1935,
[2] Tate. J. N、Luh. B. S、York. G.K, "J. Food Sci.", 29, 829～836, 1946
[3] Pifferl. P.G、Cultre.R, "J.Food Sci.", 39, 786～791, 1974
[4] Haisman. D. R, "J. Sci. Food Agric.", 25, 803～810, 1974
[5] Montogomery. M.W、Petropakis. H. J, "J. Food Sci.", 45, 1090～1091, 1980
[6] Reyes. P、Luh. B. S, "Food Tech", 14(11), 570～575, 1960

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[7] Rivas. N. J、Whttaker. J. R,"Plant Physiol",52, 501～507, 1973
[8] Sioud, F. B、Luh.B.S,"Food Tech.", 20(4), 182～186, 1966
[9] Bedrosin. K、Sternberg. M. P、Nelson. A. I, "Food Tech.", 14(10), 480～483, 1960
[10] Halim. D. H、Montgomery. M. W, "J. Food Sci.", 43, 603～605, 608, 1978
[11] Vamos—Vigyazo. L, "CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition", 13(9), 49～127, 1981
[12] 江西食品发酵工业科学研究所,《食品与发酵工业》, 1977(5),30～34
[13] 袁振远、杨李益,《食品科学》, 1985(1),4～9, 12
[14] 张龙翔、张庭芳、李令媛,《生化实验方法和技术》,人民教育出版社, 1981
[15] Pouting. J. D、Joslyn. M. A, "Arch Biochem.", 19, 47～62, 1948
[16] Luh, B. S、Phithakpol. B, "J. Food Sci.", 37, 264～268, 1972

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

85029

THE ELEMENTARY BALANCE in the PRODUCTION of ERYTHROMYCIN 《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》, Vol.4, No.4, 1985

KEYWORDS Erythromycin, The elementary balance.

In this paper, the mass flow in the process of erythromycin production can be elemented using the elementary balance method, and the mathematical model of quantitative analisis of mass flow is established. The method for quantitative studing of mass flow is the fermeutation factories has been tested. The system for quantitative measurment of the relationships between elements, mass flow, organic substances and COD was introduced. Both of the drainage coefficient of various losted substance and the ratio of carbon and nitrogen utilization, which will provide the sound basis for the technological reform and improvment of the economic and eviromental avaibilities, have been established.

Author: An Qinghau, Yu Hang, Lu Tunjia et al.

85027

RESEARCH of PROTECTING COLOUR and PROCESSING TECHNOLOGY In PLUP PEAR JUICE ——CHARACTERISTICS of POLYPHENOLASE in ZIMU PEAR were STUDIED. 《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》, Vol.4, No.4, 1985

KEYWORDS Zimu Pear, Polyphenoloxidas, Acetone power.

This report describes the polyphenoloxidas made of acetone powder from ZiMu pears and extracted by buffer in return. Employing the wazbwry respirometer or spectrophometer, the pH, the temrerature, the enzyre concentrate and the substrat concentration were investigated with polyphenoloxidase activety for the optimun pH. the optimun temperature. the Vman and the Km respectivly, The thermodynamic stability of the enzyme sytems was studied. Fmally, the properties of inhibitor of SO_2, Vit C to the polyphenolas were introduced in the paper.

Author: Yang Fangqi, Fei Jian, Yang Jian et al

85030

OPTIMIZATION of SYNTHETIC DETERGENT FORMULATIONS and THEIR MATHEMATICAL MODEL《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》, Vol.4, No.4, 1985

KEYWORDS Optimization, Liquid detergent composition, Experimental design, Regression analysis, Mathematical model, Variance analysis.

The optimum conditions of liquid detergent composition are obtained by employing experimental design and variance analysis in this paper. A mathematical model for the forecasting and condrolling of the mutual correlation between major washing efficiency (detergency performance) and their individual constituents has been established through mathematical regression analysis treatment.

Author: Zhou Zhenjiang

85028

STUDIES of KEEPING RICE FRESH 《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》, Vol.4, No.4, 1985

KEYWORDS Rice storage, Freshness, Activestaling, Hydrogen sulfide content.

This paper discussed the soundness of substituting the fatty acid content with H_2S content of rice as an indicator for rice freshness. According to similar experiments, that the pearly clean rice has a batter rice freshness storage property than St. I rice on the market have been proved.

Author: Zhu Binxin, Lu Jizhang

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

85027

带肉梨汁护色及加工工艺的研究(Ⅰ)—子母梨中多酚氧化酶特性的研究《无锡轻工业学院学报》1985年，第四卷，第四期

关键词 子母梨，多酚氧化酶，丙酮粉。

摘 要 本文用丙酮粉法从子母梨组织中提取多酚氧化酶，经萃取后，分别用量压法或分光光度法测定了pH、温度，酶浓度、底物浓度对多酚氧化酶酶活力的关系，分别求出最适pH值、最适温度、V_{max}和K_m；测定了该酶体系的热稳定性情况；初步研究了SO_2和$Vit\,C$对多酚氧化酶的抑制作用。

作者：杨方琪，赏健，杨健等

85028

大米保鲜的研究《无锡轻工业学院学报》1985年，第四卷，第四期

关键词 大米贮藏，新鲜度，强制陈化，硫化氢含量。

摘 要 本研究以实验论证了用大米硫化氢含量代替脂肪酸含量作为大米新鲜度指标的合理性。通过对比试验证实珠光精洁米比市售标一粳具有较好的保鲜性能。

作者：朱斌昕 吕季璋

85029

红霉素生产中的元素衡算《无锡轻工业学院学报》1985年，第四卷，第四期

关键词 红霉素 元素衡算

摘 要 本文通过红霉素生产中“元素衡算”，将物质流元素化，建立了物质流定量分析的数学模型，解决了物质流在发酵工业环境中定量化研究的方法；找出了元素、物质流、有机物、COD等相互之间的定量化系列体系；导出了各种流失物质的排放系数和碳、氮源利用率，为工艺改革，提高红霉素生产的经济效益和环境效益提供了依据。

作者：安强华 俞杭 卢君佳等

85030

合成洗涤剂配方最佳化及其数学模型《无锡轻工业学院学报》1985年，第四卷，第四期

关键词 最佳化，液体洗涤剂组成，试验设计，回归分析，数学模型，方差分析

摘 要 本文运用试验设计法和方差分析得到液体洗涤剂配方最佳化的条件，并由此通过数学回归分析处理，建立能应用于预测和控制液体洗涤剂主要洗涤效果(去污力)与其各组分之间相互关系的数学模型。

作者：周镇江

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net