第13卷 无锡轻工业学院学报 Vol. 13
第2期 JOURNAL OF THE WUXI INSTITUTE OF LIGHT INDUSTRY 1994 No. 2

广东芝麻香蕉加工中的酶褐变研究(Ⅱ)
——不同添加剂对多酚氧化酶褐变的影响

塔卡基* 杨方琪 高福成

(食品科学与工程系)

摘要 由于香蕉加工中的酶褐变问题主要是多酚氧化酶(PPO)所引起的,本文针对它进行了一些添加剂对褐变的影响。VC、$NaHSO_3$的漂白作用、柠檬酸的螯合作用、蔗糖的排氧作用等引起了酶的抑制。

关键词 香蕉;酶褐变;抑制剂

1 实验仪器、主要材料、试剂及实验条件

分析天平、冰箱、恒温水浴、721型分光光度计。

$NaHSO_3$、抗坏血酸、蔗糖、柠檬酸均为食用级,磷二酚AR,Na_2HPO_3 AR,NaH_2PO_3 AR酶液PPOα,PPOβ(见无锡轻工业学院学报1994年第1期本研究(Ⅰ)). 试验固定在酶的最适温度及pH条件下进行。按上篇介绍的研究结果,定义一个PPO活力单位如下:在最适温度(33℃)和最适pH(pH6.6)的条件下,每分钟,每毫升PPO,每mmol/L底物浓度,λ=414nm下的吸光度。

2 维生素C(VC)对褐变的影响

2.1 实验方法

先配制含不同浓度VC的底物(VC浓度分别为0、0.025、0.050、0.075、0.100、0.125、0.150、0.175、0.200、0.225、0.250mmol/L)后将它与酶进行反应,测定酶活力。

2.2 结果与讨论

由图1可以发现随着VC浓度的提高,褐变反应推迟。在反应开始以前这段时间内,有时透光度大于100%的现象,表明VC不但抑制PPO促褐变而且也起漂白作用。通过对反应

收稿日期:1993-12-01

* 多哥研究生

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

推迟时间与VC浓度的关系作测定而得图2.

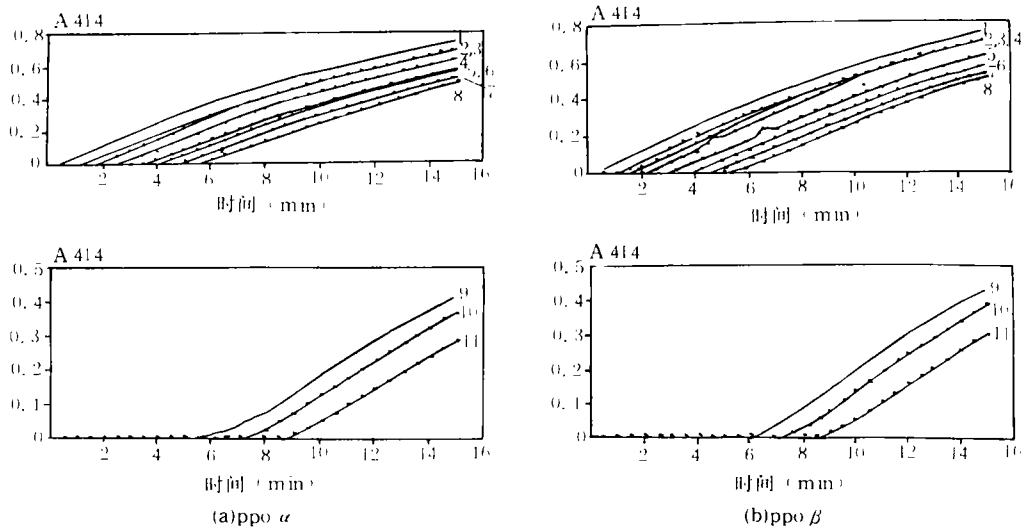


图1 VC浓度对褐变的影响

注：1～11VC浓度分别为0、0.025、0.050、0.075、0.100、0.125、0.150、0.175、0.200、0.225、0.250mmol/L.

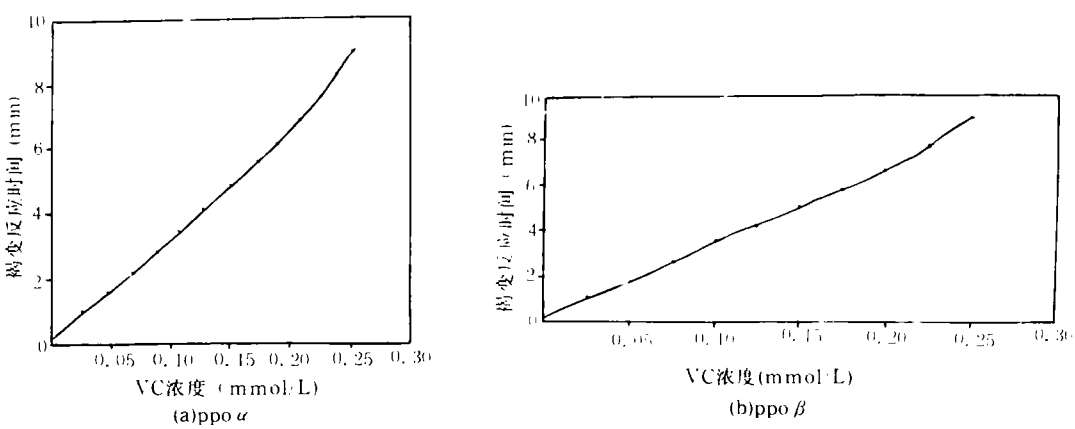


图2 VC浓度与反应推迟时间的关系

由图2可见反应推迟时间随着VC浓度的增加而增加。

设 x 为VC浓度(mmol/L)，Y 为反应推迟时间，计算它们之间的函数关系而得到：

$$Y_\alpha = 34.527288x - 0.071364$$

$$Y_\beta = 33.796380x + 0.020907$$

这两方程在0.001水平上都显著，表明反应推迟时间与VC浓度成线性关系。

反应开始后反应速度测定的结果如图3. 图3表明当反应已经开始时，反应速度随着VC浓度的增加而有下降的趋势，但它们之间的差别不大，说明VC的作用主要是漂白作

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

用,而其作用也是暂时的。这是因为VC易于氧化,而优先与体系中的氧结合。另外VC很可能通过—OH与PPO的辅基(Cu离子)进行螯合作用。

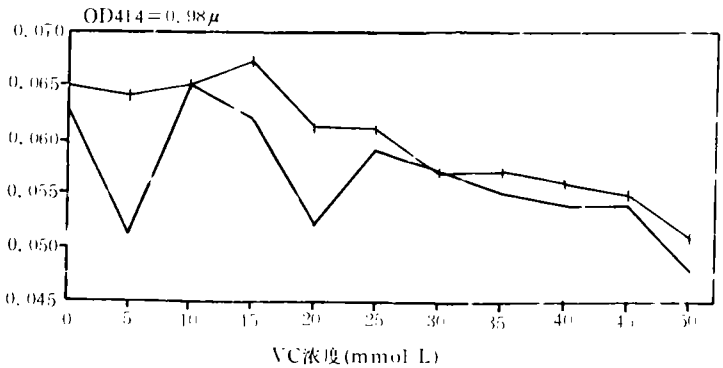


图3 反应开始后VC浓度与反应速度的关系

—— PPOα —+— PPOβ

事实上,VC在反应中对PPO反应体系的作用是相当复杂的,它既作为醌的还原剂,又作为酶分子中铜离子的螯合剂,它甚至可以被PPO直接氧化,这样它又起到竞争性抑制剂的作用。它作醌偶合剂时与邻-二酚氧化后生成的醌作用,生成稳定的无色化合物,这是VC起漂白作用的一个原因。

3 柠檬酸对褐变的影响

3.1 实验方法

先配制54.11mg/ml(0.257mol/L)的柠檬酸溶液后按表1进行实验。

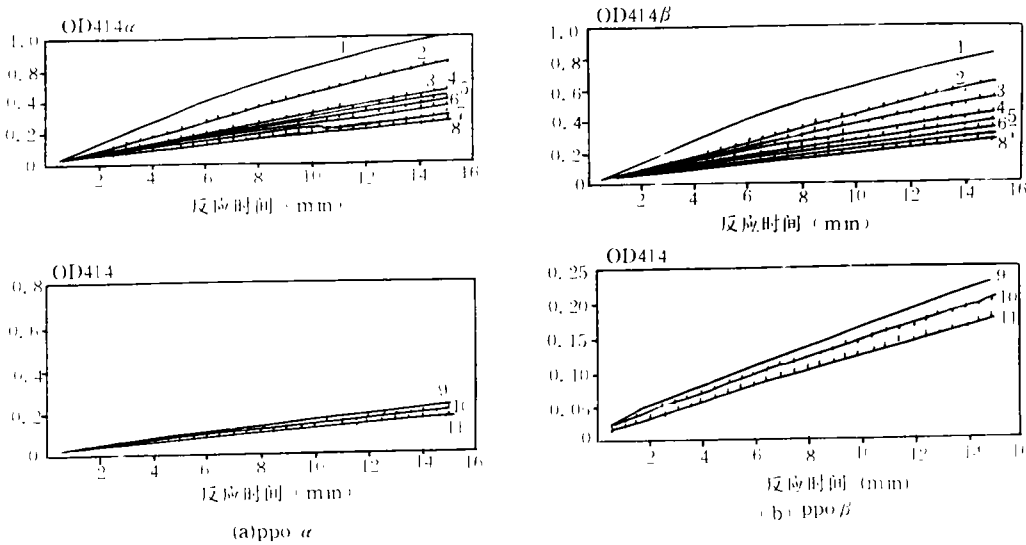
表1 柠檬酸对褐变影响的实验设计

实验次数		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
PPOα或PPOβ (ml)		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
底物	0.1mol/L Catechol (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	0.2mmol/L pH 6.6 buffer (ml)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	Cit-acid (ml)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
	H_2O (ml)	80	78	76	74	72	70	68	66	64	62	60
柠檬酸浓度	(ppm)	0	1051	2101	3152	4203	5253	6304	7355	8405	9456	1050
	(mmol/L)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50

3.2 结果与讨论

按以上方案作实验,结果如图4.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



(a)ppo α (b) ppo β

图 4 柠檬酸浓度对 PPO 的影响

由图 4 可见，随着柠檬酸浓度的提高，反应曲线斜率下降，表明柠檬酸对 PPOα 和 PPOβ 都起抑制作用。

令 $Y_\alpha = \triangle OD414\alpha/\triangle t(min) = 0.98u_\alpha$

$Y_\beta = \triangle OD414\beta/\triangle t(min) = 0.98u_\beta$

$Z_\alpha = 100Y_\alpha = 98u_\alpha$

$Z_\beta = 100Y_\beta = 98u_\beta$

x ——柠檬酸浓度(mol/L)

u ——多酚氧化酶的活力单位

则可得图 5.

由图 5 可见，当浓度小于 5mmol/L 时反应速度下降得很快，而当柠檬酸浓度大于 5mmol/L 时反应速度下降得较慢，图 5a1 和图 5b1 的"$\log Z_\alpha$"和"$\log Z_\beta$"的线性比较好。计算它们的回归方程后得到以下关系式：

当柠檬酸浓度小于5mmol/L 时

$$\log Z_{\alpha 1} = 0.839 - 0.0392x, 0 \leqslant x < 5$$

$$\log Z_{\beta 1} = 0.839 - 0.392x, 0 \leqslant x < 5$$

当柠檬酸浓度大于5mmol/L 时

$$\log Z_{\alpha 2} = 0.693800 - 0.011633x, x \geqslant 5$$

$$\log Z_{\beta 2} = 0.700731 - 0.011241x, x \geqslant 5$$

这些方程有以下形式：

$$\log Z = A + Bx \qquad Z = 10^{A+Bx}$$

$$令\ a = 10^A, b^x = 10^{Bx}$$

则 $Z = a \cdot b^x$

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

由此可得柠檬酸浓度 x(mmol/L) 与 $Y_\alpha = \triangle OD414\alpha/\triangle t(min) = 0.98u_\alpha$，或 $Y_\beta = \triangle OD414\beta/\triangle t(min) = 0.98u_\beta$ 之间的函数关系如下：

$$100Y_\alpha = \begin{cases} 6.9 \times 0.914x, & 0 \leqslant x < 5 \\ 4.9408 \times 0.9736x, & x \geqslant 5 \end{cases}$$

$$100Y_\beta = \begin{cases} 6.9 \times 0.914x, & 0 \leqslant x < 5 \\ 4.9408 \times 0.9736x, & x \geqslant 5 \end{cases}$$

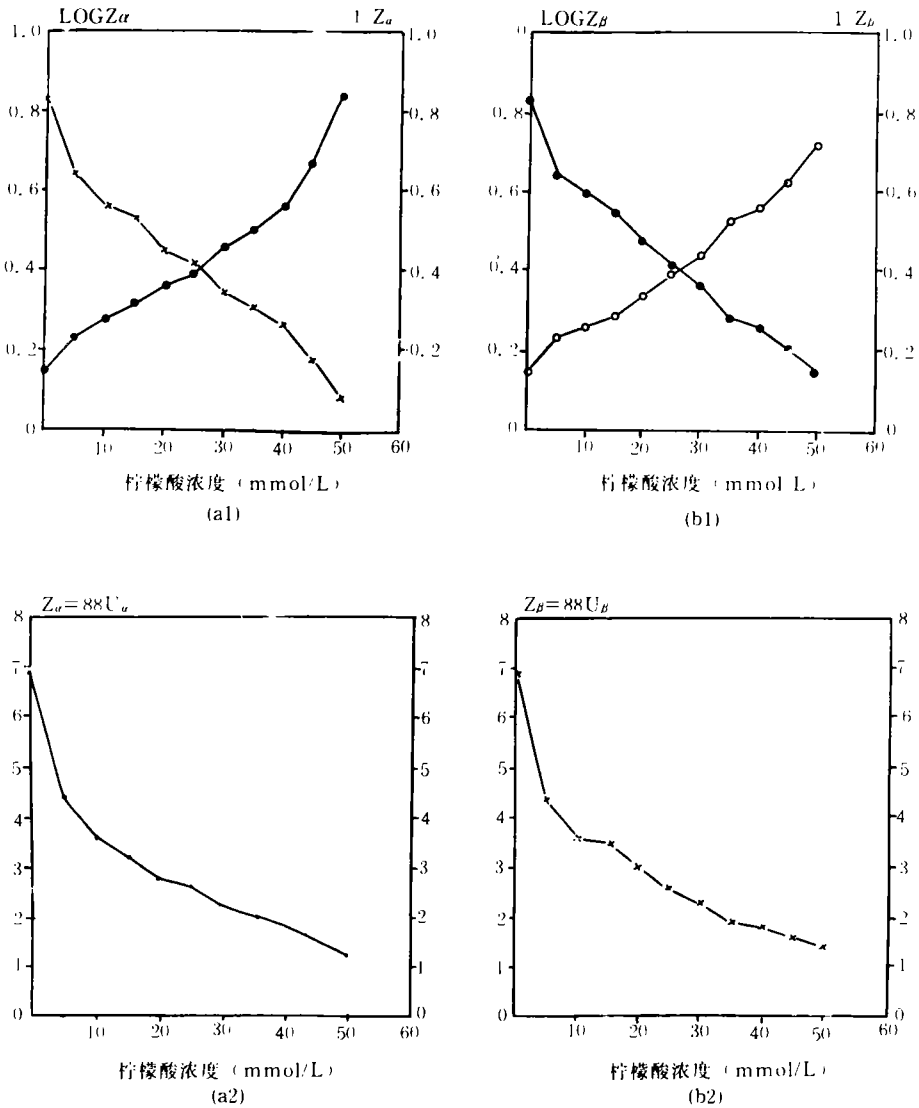


图5　反应速度与柠檬酸浓度的关系

柠檬酸对多酚氧化酶起抑制作用，是因为它通过三个羧基－COOH 对 PPO 中的铜离子起着较强的螯合作用。不过从图4中可以发现它不起漂白作用，而只是使反应速度减慢，由此可得出柠檬酸不起醌偶合作用的结论，这是它与 VC 不同之处。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

4 $NaHSO_3$对褐变的影响

4.1 实验方法

先配制0.2146mg/ml(即0.02146%)的 $NaHSO_3$溶液，然后按表2进行实验：

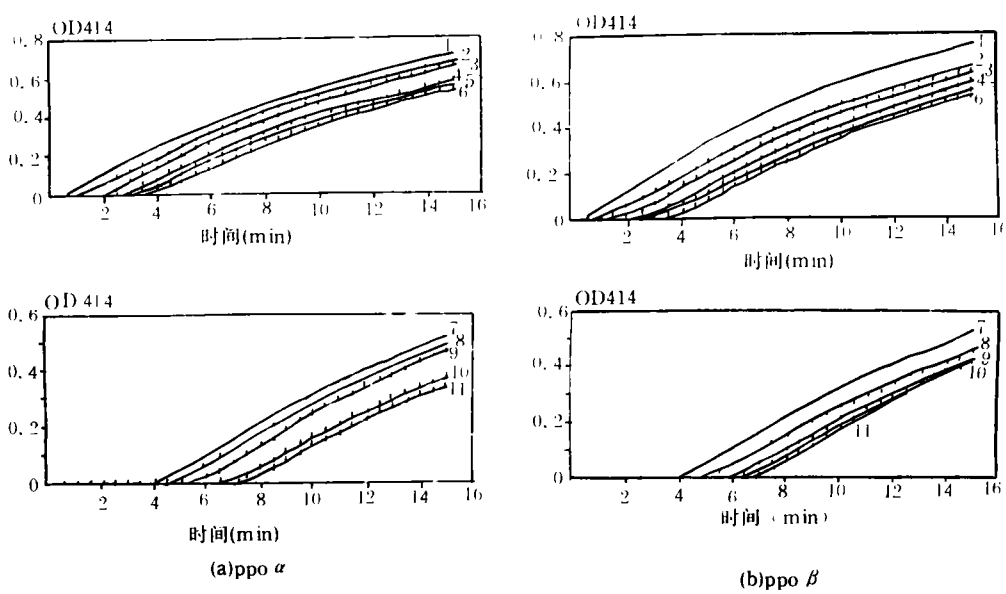
表2 $NaHSO_3$溶液对酶褐变影响的实验设计

次数		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
PPOα或PPOβ(ml)		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
底物	0.1mol/L Catechol (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	pH 6.6 buffer (ml)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	$NaHSO_3$ (ml)	0	2	1	6	8	10	12	14	16	18	20
	H_2O (ml)	80	78	76	71	72	70	68	66	64	62	60
$NaHSO_3$ (ppm)		0	4.17	8.33	12.50	16.67	20.83	25.00	29.17	33.34	37.50	41.6(
浓度 (mmol/L)		0	0.04	0.08	0.12	0.16	0.20	0.24	0.28	0.32	0.36	0.40

注：各样品在 $\lambda=411nm$ 下测吸光度

4.2 结果与讨论

测定的结果如图6.



(a)ppo α (b)ppo β

图6 $NaHSO_3$对PPO活力的影响

注：1～11 $NaHSO_3$浓度分别为0、0.04、0.08、0.12、0.16、0.20、0.24、0.28、0.32、0.36、0.40mmol/L.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

由图6可以发现,随着 $NaHSO_3$ 浓度的提高,反应推迟的时间越来越长,还可发现图6和图1非常相似。由图6也可以得表3.

表3 $NaHSO_3$的浓度与反应推迟时间、反应速度的关系

次数		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
$x=NaHSO_3$ 浓度 (mmol/L)		0	0.04	0.08	0.12	0.16	0.20	0.24	0.28	0.32	0.36	0.40
反应开始时的时间 (min)	Y_β (ml)	0.28	1.00	2.00	2.50	3.00	3.50	1.20	4.90	5.60	7.00	7.50
	Y_β (min)	0.30	1.05	1.70	2.50	3.00	3.55	4.00	5.08	6.00	6.50	7.00
反应速度	Z_α	0.065	0.063	0.045	0.060	0.058	0.056	0.055	0.055	0.056	0.053	0
OD414/t	Z_β	0.070	0.063	0.061	0.056	0.060	0.058	0.055	0.055	0.053	0.053	0

据表 3 可得出 $NaHSO_3$ 浓度和反应推迟时间之间的函数关系如图 7. 由图 7 可见,

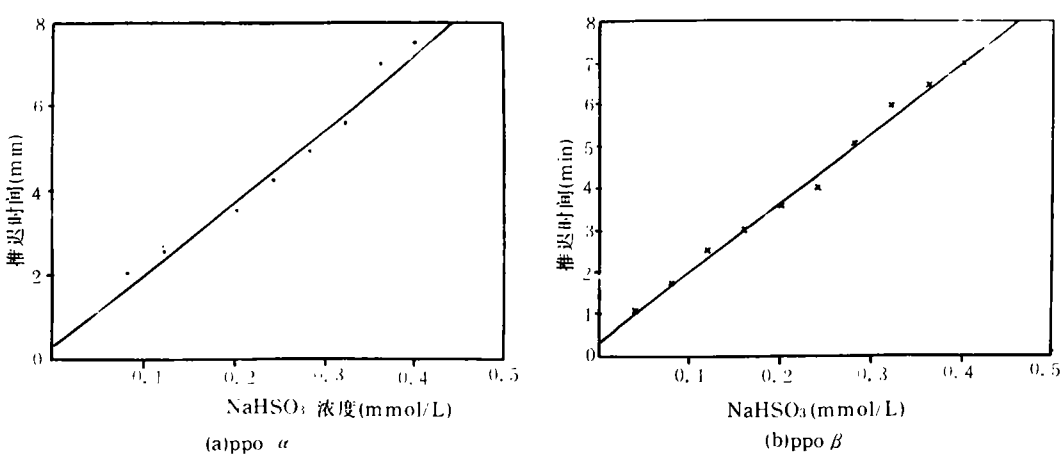


图 7 $NaHSO_3$ 浓度与反应推迟时间的关系

$NaHSO_3$ 浓度和反应推迟时间成线性关系,计算回归方程可得:

$$Y_\alpha = 0.275455 + 17.477270x$$

$$Y_\beta = 0.318182 + 16.900000x$$

这两个回归方程在 0.001 水平上都显著。因此,对 PPOα 和 PPOβ,$NaHSO_3$ 浓度(SO_2)和反应推迟时间的关系分别为:

$$t_\alpha = 0.275455 + 17.477270\ (SO_2)$$

$$t_\beta = 0.318182 + 16.900000\ (SO_2)$$

在推迟时间中,与 VC 一样,有时也出现透光度大于 100%的现象。当反应开始后,由图 8 可以发现反应速度随着浓度的变化而有些不规则,但是总的来看,有下降的趋势。这些结

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

果表明 $NaHSO_3$ 的作用与 VC 一样，也是暂时的，但最重要的是所起的漂白作用及反应的推迟。

$NaHSO_3$ 对 PPO 反应体系的作用比较复杂，它在有限时间内抑制褐变主要是通过不可逆地与醌生成无色的产物，与此同时降低醌作用于一元酚和二-羟基酚的活力。$NaHSO_3$ 也消耗在酶的还原过程中，这就是它的抑制效果主要取决于它的浓度的原因。另一方面，我们所用的底物是邻-二酚，这使得 $NaHSO_3$ 在 PPO 没有完全失活之前就被耗尽，因此褐变虽然能被推迟和减轻，但是不能完全消除。

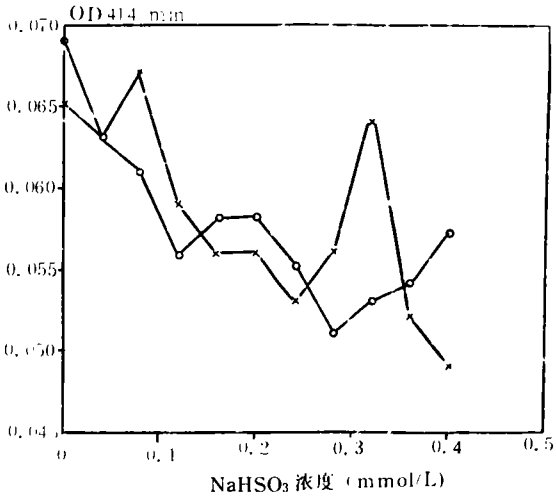


图 8 反应开始后 $NaHSO_3$ 浓度与反应速度的关系

5 蔗糖对褐变的影响

5.1 实验方法

先配制 176.3mg/ml(17.63%)的蔗糖溶液然后按表 4 进行实验：

表 4 蔗糖对褐变影响的实验设计

次数		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
PPOα 或 PPOβ (ml)		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
底物	0.1mol/L Catechol (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	pH6.6 buffer (ml)	10	10	10	0	10	10	10	10	10	10	10
	蔗糖溶液 (ml)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	H_2O (ml)	40	39	38	37	36	35	34	33	32	31	30
蔗糖浓度 (mmol/L)		0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100

5.2 结果与讨论

由以上方案作实验可得图 9 和图 10. 可以发现当第一次加入蔗糖时，反应速度降得很快而后面加的糖对抑制酶褐变的作用不大，但仍然使反应速度有下降的趋势，说明蔗糖只能在一定程度上抑制酶，糖的作用主要是将介质中的部分氧气排除。

6 热烫对褐变的影响

6.1 实验方法

0.5ml PPOα(或 PPOβ)——→ 放在试管中——→ 100℃沸水中——→ 每 30s 取出一支试管，

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

立即放入冰水中。另在烧杯中取 1ml 邻-二酚,10ml pH6.6 缓冲液及 40mol/L 去离子水与试管中的 PPO 反应,在 $\lambda=414nm$ 下测定 OD414.

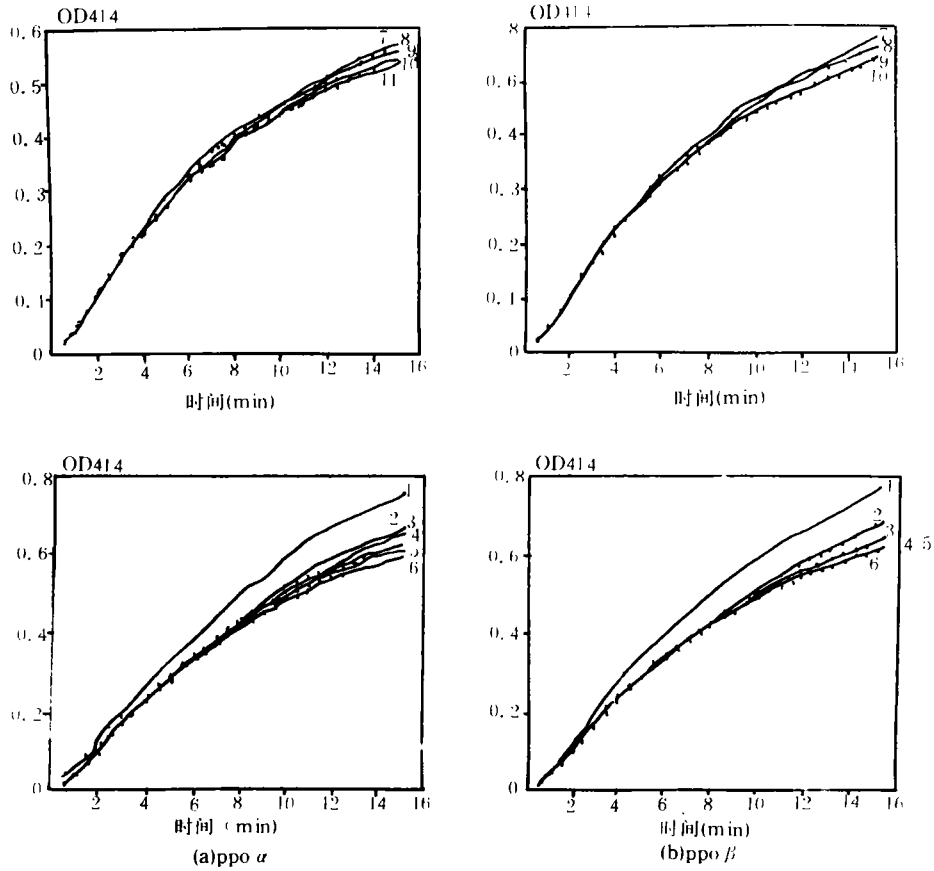


图 9 蔗糖对褐变的影响

注:1~11 蔗糖浓度分别为 0、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 mmol/L

6.2 结果与讨论

由图 11 可见,PPOβ 加热 1min 后就基本上失活,而 PPOα 加热 1.5min 后才失活。PPOβ 加热 1min 后的活力只有原来的 3%,而 PPOα 加热 1.5min 后活力还有原来的 4%,表明 PPOα 耐热性比 PPOβ 强,但总的来说,加热 2min 后 PPOα 和 PPOβ 都失活了。当然这与试管的厚薄也有关。

PPO 不是属于非常耐热的酶,在组织中或在溶液中的酶,在 90℃下热处理短时间,已足以使它部分或全部地不可逆失活。PPO 的热稳定性类似于它的底物特异性,最适 pH 和最适温度,在很大程度上取决于它的来源。当酶存在于组织中,那么颗粒大小将影响热穿透到中心部位的速度,从而影响处理方法使酶失活的效率。在温度低于 33℃下,PPOα 和 PPOβ 的 Q10 分别为 1.20 和 1.43. 在热处理时,PPO 的失活可能是通过下面几种方式实现的,PPO 的二级结构和三级结构的变化,多肽链酶中亚基的解离和铜离子的解离。当温度提高时,较多的酶转变成可逆和不可逆状态,处在可逆变性状态的酶量是温度和时间的函数,若温度比

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

较高，则所有的酶转变成不可逆性形式，即便再将酶液保藏在较低温度，酶也不会再生。

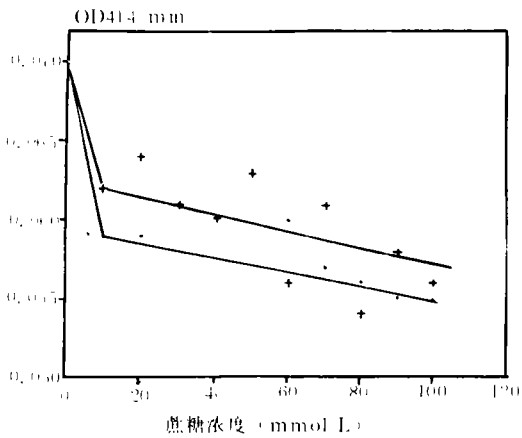


图10 蔗糖浓度与反应速度的关系

—·—PPOα —+— PPOβ

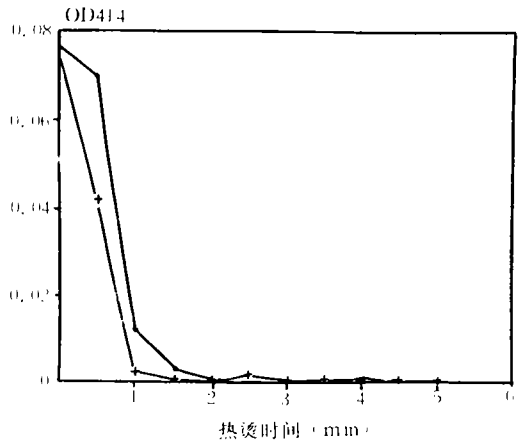


图11 热烫时间与反应速度的关系

—·— PPOα —+— PPOβ

7 结 论

VC与$NaHSO_3$所起的作用是相似的，但由于VC价格较高，所以许多人用SO_2护色，但食品中的SO_2允许量是有限制的。使用低浓度的抗坏血酸（价格合理）与柠檬酸配合使用，再适当加蔗糖则可得较好的护色效果。热烫时也可以用浓度较合适的柠檬酸溶液。

致 谢

感谢DAGAGZI Yao David，AVEDZI Aku Helene，项建琳，张旭华和安颖等的帮助和密切合作。

参 考 文 献

1 Elisabeth Garcia and Franco M. Lajolo Journal of Food Science，1988，53(4)：181～186

2 Hong Wei Zhou and Xen Feng J Sci Food Agric，1991，5：307～313

3 Coseleng Y，Lee C Y. Changesin Apple Polyhenoloxidase in Polyphenol concentrations，and relation to degree of browning，J Food Sci，1987，52：985～989

4 KAHN R. Polyphenoloxidase Activity and Browning of three Avogado varieties. J SC Agric，1975. 26：1319

5 王璋. 食品酶学. 1990

6 O R 菲尼马编著（美），王璋等译. 食品化学实验.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Recheachs on Guangdong Zhima Banana Browning(Ⅱ)
—— Effect of Some Additives on polyphenoloxidases

Alex Koku M. Yang Fangqi Gao Fuchen
(Dept. of Food Science and Eng.)

Abstract Polyphenoloxidases (PPO) are more responsible of enzymatic browning during banana processing. The effects of Vc, $NaHSO_3$, Citric acid and sucrose as inhibitors on preventing enzymiatic browning were discussed.

Key-words Banana; Enzymiatic browning; Inhibitor

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net