

图3 表观粘度和掺水量、加工时间的关系

肉糜大,稠度系数的变化范围为61.32~12.42Pa·sⁿ,流变特性指数0.28~0.63。这是由于猪肉的纤维性较强,其微结构聚集体不易破坏,所以流变特性较鱼糜稳定。

图2(c)、(d)是加工时间对流变特性参数K、n的影响。加工时间增加,使糜状物料的颗粒尺寸减小,表面积增大,导致猪肉糜、鱼糜更致密,颗粒之间的相互作用力增强,因而其非牛顿特性增强。即稠度系数增大,而流变特性指数减小,从微结构的形成角度来说,颗粒小,聚集体破坏、重组较容易,和水的相溶性好,糜状物料就较多地体现非牛顿特性。另外从图中可以看出,鱼糜显示了更强非牛顿特性。

猪肉糜和鱼糜的表观粘度和掺水量、加工时间的关系(如图3(a)、(b))也反映出上述类似的变化趋势。猪肉糜、鱼糜的粘度是由蛋白质分子之间,蛋白质分子与水分子之间的内聚力和分子的扩散而产生的、阻滞其流动或变形的性质。由于组成糜状食品物料主要是水分和蛋白质,因此,水分和蛋白质成为影响其粘度的主要因素。掺水量的多少,加工时间的长短,直接影响着由蛋白质分子间的相互缠绕而形成的聚集体形态,因此产生不同的微结构,进而影响流变特性及表观粘度。

3 结论

3.1 一般的猪肉糜、鱼糜等糜状食品物料符合幂律模型,且属于假塑性流体。

3.2 糜状食品物料流变特性随掺水量和颗粒变化,其本质是由微结构聚集体形状的改变引起的;所以,微结构形态是决定其流变特性的关键因素。

3.3 在一定的剪切速率下,微结构形态也是导致糜状食品物料表观粘度变化根本因素。

因此,分析糜状食品物料微结构形态特征对流变特性的影响,探讨微结构和流变特性之间的定量描述,是本课题研究要进一步解决的问题。

参考文献

- 1 TADASHI NACAI and TOSHIMASA YANO. Fractal structure of deformed potato starch and its sorption characteristics. *J. Food Sci*, 1990, 55(5): 1334~1337.
- 2 赵杰文, 柴春祥. 鱼糜流变特性的研究. *农业工程学报*, 1996, 4: 75~79.
- 3 赵杰文, 黄勇强. 猪肉糜流变特性的研究. *江苏理工大学学报*, 1997, 5: 1~6.
- 4 天野庆之著. 金辅建译. 肉制品加工手册. 北京: 中国轻工业出版社, 1992, 6: 172~269, 438~501.
- 5 陈克复, 庐晓江, 金醇哲. 食品流变学及其测量. 北京: 轻工业出版社, 1989, 12: 199~266.

甘薯中多酚氧化酶活性的测定及褐变控制

姜绍通 罗志刚 潘丽军 合肥工业大学生物与食品工程系 合肥 230069

摘要 甘薯加工过程中极易产生酶促褐变。本文采用分光光度法,研究了甘薯组织中不同部位多酚氧化酶(PPO)的活性,以及PPO的最适pH值、最适温度、热稳定性等特性。确定其最适pH值范围为3.0~3.5和6.0~7.0,最适温度为15℃。在此基础上,考察了抗坏血酸、柠檬酸、亚硫酸钠对PPO的褐变抑制效果。

关键词 甘薯 多酚氧化酶 褐变

Abstract Browning formed easily in sweet potato production. This article made a research on the activities of Polyphenol Oxidase of sweet potato on different tissue by spectrophotometry,

including its optimum pH, temperature, stability to heat, and so on. The results indicated its optimum pH range was 3.0~3.5 and 6.0~7.0, and the optimum temperature 15°C. At the same time, the browning inhibitory effect where the Ascorbic Acid, Citric Acid and Sodium Sulfite showed on Polyphenol Oxidase was also studied.

Key words Sweet potato Polyphenol Oxidase Browning

我国是甘薯栽培面积最多的国家,产量达一亿多吨,居世界首位^[1]。甘薯中淀粉含量高,其淀粉可作为粉丝、变性淀粉、淀粉糖和柠檬酸等产品的工业原料。但由于甘薯组织中含有多酚氧化酶(PPO)^[2],在甘薯淀粉生产过程中,PPO与多酚类物质接触,催化多酚类物质氧化成邻醌,再进一步氧化聚合成黑色素,吸附在淀粉颗粒上,使淀粉的色泽变劣,品质下降,制约了它的进一步深加工。因此,深入研究甘薯褐变机理,控制甘薯在加工过程中的褐变,对提高甘薯淀粉的工业应用价值,充分利用我国丰富的甘薯资源具有重要的意义。本文通过测定多酚氧化酶的活性,研究了甘薯中的PPO最适温度、最适pH值、热稳定性以及底物浓度、酶液浓度与PPO活性的关系,并考察分析了儿种抗褐变剂对多酚氧化酶的抗褐变效果,以期甘薯加工过程防止褐变提供参考。

1 实验部分

1.1 实验材料

甘薯购于安徽省界首市,品种为脱毒徐薯18号。

邻苯二酚、甘氨酸、盐酸、乙酸、乙酸钠、磷酸二氢钾、氢氧化钠等均为分析纯,购于合肥大药房。

1.2 实验仪器

可控硅恒温水浴锅、pHS-3B精密pH计、721分光光度计、高速组织捣碎机、FA1104电子天平。

1.3 实验方法

1.3.1 酶液的提取和褐变强度的测定^[3]

新鲜样品按1:10(w/w)加蒸馏水,低温下匀浆2min,过滤,取滤液于25°C保温5min,测定褐变强度,结果以A416表示。未保温的粗酶液供其它项目的测定。

1.3.2 PPO活性的测定

将2ml的粗酶液、2ml pH6.84磷酸缓冲液和8ml 0.2%的邻苯二酚于25°C下保温10min,然后于416nm处比色测定吸光度A值来表示PPO的相对活性。

1.3.2.1 最适温度的测定

按PPO活性测定方法取试样,在4~60°C范围内的不同温度梯度下保温10min,然后分别于416nm处比色测定PPO活性。

1.3.2.2 热稳定性的测定

将粗酶液与pH6.84的磷酸缓冲液的反应体系,分别在50~80°C范围内的不同梯度下保温一定时间,然后冷却至室温,分别测PPO残留活性。

1.3.2.3 最适pH的测定

用甘氨酸-盐酸、乙酸-乙酸钠、磷酸二氢钾-氢氧化钠、及甘氨酸-氢氧化钠缓冲液调整反应体系,在不同pH水平、15°C下分别测PPO活性。

1.3.2.4 底物浓度与PPO活性的关系

在20°C,取2ml粗酶液,2ml pH6.84的磷酸缓冲液,浓度为0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%的邻苯二酚8ml,保温10min,测定PPO活性。

1.3.2.5 酶液浓度与PPO活性的关系

在25°C下,取8ml 0.2%邻苯二酚,2ml pH6.84的磷酸缓冲液,分别取2ml、4ml、6ml、8ml、10ml、12ml粗酶液,用蒸馏水保持总体积不变,保温10min,测定PPO活性。

2 结果与讨论

2.1 甘薯不同部位的褐变强度及PPO活性

切取甘薯2mm厚的皮层作为皮部,而去皮后剩余的甘薯组织作为心部,按1.3.1和1.3.2的方法制备粗酶液进行褐变强度、PPO活性的测定。测定结果如表1所示

表1 甘薯不同部位的褐变强度及PPO活性

部位	褐变强度	PPO活性
皮部	0.51	1.17
整块	0.38	0.93
心部	0.28	0.54

表1数字表明,皮部的褐变强度大于整块和心部,是心部褐变强度的1.82倍,是整块1.34倍;皮部组织中PPO活性也高于整块和心部,是心部PPO活性的2.17倍,整块的1.26倍。甘薯组织中褐变强度与PPO活性呈正相关,经计算相关系数 $r=0.98$,这说明甘薯褐变主要是由多酚氧化酶引起的。皮部的褐变强度大于心部的褐变强度,这是由于皮部组织中所含的多酚氧化酶的活性比心部的强。因此,在加工甘薯淀粉时,可考虑在生产过程中采用去皮工艺。

2.2 温度对PPO活性的影响及热稳定性的测定

由于多酚氧化酶是蛋白质,不适宜的温度会破坏

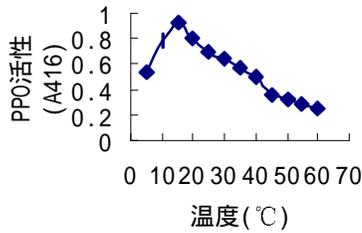


图1 温度对PPO活性的影响

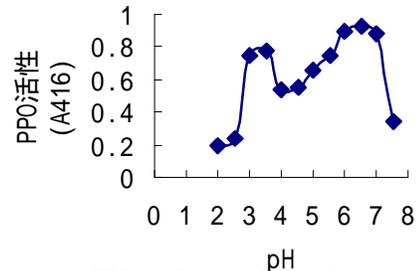


图3 pH对PPO活性的影响

活性部位三维结构的完整性，而它又是保持酶活力的关键。由图1可见，在10~20℃条件下PPO活性较高，15℃时其活性最高。随着温度的上升，PPO活性逐步下降。这主要是因为温度的升高会破坏多酚氧化酶活性结构的稳定性，从而使PPO失活。

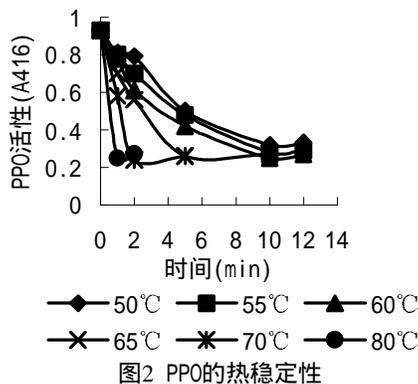


图2 PPO的热稳定性

甘薯中PPO热稳定性实验结果见图2。图示表明甘薯PPO在50—60℃处理10min，酶活性基本稳定，在60℃处理5min，65℃处理4min，70℃处理2min，80℃处理1min，酶活力基本消失。这也说明较高的温度可有效地抑制甘薯中的PPO褐变，但由于甘薯淀粉在较高的温度易糊化，故工业生产中不宜采用热处理的方法防褐。

2.3 pH对PPO活性的影响

由图3可见，甘薯中PPO反应的最适pH为6.0-7.0，在pH3.0-3.5之间有一个小峰，这可能是由于同工酶的存在。由于PPO活性部位含有His残基，其催

化基团咪唑基的 $pK=6.00$ ，所以中强酸条件下，表现出较高的酶活性。此外，PPO是含铜蛋白质，在pH低于2的酸性环境中，酶中的铜被解离出来，使酶失活；而在碱性条件下铜会解离成氢氧化铜，使酶活性显著降低。所以，通过调节pH值可以有效防止褐变。工业生产中可采用pH4.5左右来生产甘薯淀粉。

2.4 底物浓度、酶液浓度与PPO活性的关系

由表2可知，在底物浓度较低时，随着底物浓度的增加，酶活力增加，但当底物浓度达到0.4%时，即使增加底物浓度，酶活力也增加很少。这是由于在底物浓度低时，并非所有的酶分子能与底物相结合。随着底物浓度增加，越来越多的酶分子与底物相结合，最后，在达到一定浓度后，所有的酶分子都与底物结合，此时，酶被底物饱和，进一步提高底物浓度也不能提高酶活性。在保持反应体系中其它成分不变的情况下，改变酶液浓度，则发现在酶液浓度较低时，随着酶液浓度的上升，酶活力也增加。但当酶液添加量为10ml后，随着酶液添加量的增加，酶活力下降。这是由于反应产物抑制了酶的活力。

2.5 不同添加剂对PPO的影响

在10℃下，取2ml粗酶液，8ml 0.2%邻苯二酚，保温10min，分别加入抗坏血酸、柠檬酸、亚硫酸钠，调节这些添加剂在反应液中的浓度，然后测定PPO活性。试验结果见表3。

由表3可见，抗坏血酸的添加量在0.05‰时酶活性受到一定抑制，当添加到0.2‰时，酶活性得到最佳

表2 底物浓度、酶液浓度与PPO活性的关系

PPO活性	底物浓度(%)					酶液添加量(ml)					
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	2	4	6	8	10	12
	0.51	0.75	0.90	1.11	1.12	0.70	0.95	1.07	1.12	1.24	1.11

表3 不同添加剂对PPO活性的影响

PPO活性	抗坏血酸(‰)					柠檬酸(‰)					亚硫酸钠(‰)				
	0.0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.0	0.05	0.1	0.3	0.6	0.0	0.05	0.1	0.25	0.4
	0.93	0.42	0.06	0.17	0.07	0.93	0.90	0.88	0.85	0.25	0.93	0.76	0.56	0.17	0.16

抑制,但当抗坏血酸添加量为0.4%,酶活性又相对偏高。在添加量为0.6%,酶活性降低且保持稳定。抗坏血酸抑制褐变的机理为^[4]:

邻二酚+1/2O₂ → 邻二醌+水 邻二醌+抗坏血酸 → 邻二醌+脱氢抗坏血酸

这样,就防止了醌进一步聚合成黑色素。另外,抗坏血酸容易发生非酶褐变,在甘薯淀粉加工过程中添加量太大,起不到增白效果。

柠檬酸对甘薯 PPO 活性的抑制效果也比较明显。随着浓度的增加,抑制作用越来越强。这是因为柠檬酸的三个羧基对 PPO 的铜有较强的螯合作用,

另外,柠檬酸对反应体系的 pH 值有调节作用,使之远离 PPO 最适 pH 而降低其活性。由表 3 可知,当反应液中柠檬酸的浓度为 0.6% 时可有效地防止褐变。

亚硫酸钠对 PPO 反应体系的作用较复杂。一方面,不可逆地与醌加成生成无色的产物;另一方面,还有漂白和防止微生物污染的作用。由表可知,亚硫酸钠在反应液中的浓度为 0.25% 时,对 PPO 抑制就有明显的效果。如果把抗坏血酸和亚硫酸钠混合在一起使用,则由于抗坏血酸被氧化所产生的 H₂O₂ 可被 SO₂ 清除,只要恰当地调整两者的比例,就可以在降低抗坏血酸损失的同时使亚硫酸钠直接抑制酶的作用。此外,亚硫酸钠和柠檬酸同时使用也能增强防褐效果。

3 结论

3.1 甘薯皮部所含的多酚氧化酶活性比其它各部位强,因此,用甘薯加工淀粉时应尽可能地去皮。

3.2 甘薯中多酚氧化酶的最佳作用温度为 15℃,在 60℃ 处理 5min、65℃ 处理 4min、70℃ 处理 2min、80℃ 处理 1min, PPO 活性基本失去。考虑甘薯淀粉加热可能变性的特点,在甘薯加工中不宜使用热处理方法防褐。

3.3 甘薯中多酚氧化酶的最适 pH 值为 6.0—7.0,在 pH3.0—3.5 时有一个小峰。在加工中应尽量避免其最适作用范围。可采用 pH4.5 左右来加工。

3.4 0.2% 的抗坏血酸、0.6% 的柠檬酸、0.25% 的亚硫酸钠可有效地抑制多酚氧化酶的活性,防止褐变。

参考文献

- 1 秦波涛,李和平,王小曦编著.薯类的综合加工及利用.中国轻工业出版社.1996.
- 2 蒋和体,钟耕.甘薯淀粉白度的研究.西南农业大学学报.1994,(4):325-26.
- 3 V.Sciancale and V.Zongne: J.Agric.Food Chem, 1984,(32):320~21.
- 4 黄丽梅等.食品色、香、味化学.轻工出版社.1984.

异黄酮类化合物 在不同氧化体系中的作用研究

孙克杰 上海光明乳业技术中心 上海 200072

汤坚 无锡轻工大学食品学院 无锡 214036

摘要 本文采用 Rancimat 法、过氧化氢诱导法、黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶法研究了异黄酮类化合物在不同体系中对过氧化作用的抑制。研究发现不同异黄酮化合物在不同体系发挥不同作用,同其结构关系密切,并对作用机理进行讨论,提出异黄酮化合物作用的有效酚羟基的概念。

关键词 异黄酮类化合物 抗氧化 溶血 有效酚羟基

Abstract The Rancimat method, Hydrogen Peroxide-Inducement method and Xanthine-Xanthine Oxidase method were applied in our experiment to study the functional activities of Isoflavones. The *in vitro* test indicated that Isoflavones had very strong bioactivities. The Daidzein, Genistein and their β -glycoside conjugates possessed different functional activities in different oxidation reaction systems, such as antioxidant reaction, antihemolysis reaction and free radical clearing away effect. The reaction mechanism was also studied and proved that the corresponding relationship existed between their structures and activities. We hope that these conclusions would be applicable to the clinic research.

Key words Isoflavones Daidzein Antioxidant Antihemolysis Free radical

异黄酮类化合物主要是指以图 1 所示结构为母核的一类化合物。

此类化合物在自然界中广泛分布于豆科植物中,大部分以 β -葡萄糖苷的形式存在。对其研究始于