

加工用马铃薯“低温糖化”机制的研究

陈芳 北京市蜂产品研究所 100073

胡小松 中国农业大学 100094

摘 要 以克新1号马铃薯品种为材料,对贮藏期间块茎的碳水化合物、相关酶活性及造粉体膜结构的变化进行研究。结果发现:与10℃贮藏相比,4℃贮藏条件下,还原糖和总糖的含量显著增加,造成“低温糖化”现象,引起马铃薯炸片色泽变深;碳水化合物代谢过程中有关的淀粉酶、淀粉磷酸化酶及转化酶活性更高,更有利于淀粉向还原糖的转化;造粉体膜结构的完整性在贮藏过程中发生变化,电导率更高,膜的破坏更为明显。

关键词 马铃薯 糖化 还原糖 造粉体

Abstract The changes in carbohydrate enzyme activity and amyloplast membrane structure in potato tubers during storage were studied by taking the species. Kexin No. 1 as example. The significant increase of level of total sugar and reducing sugar. Which caused the low temperature sweetening and the colour darkening of fried-chip. was observed in the tubers stored at 4℃. The activities of amylase Starch-phosphorylase and invertase were different during storage at 4℃ and 10℃, with the catalytic reaction much favorable to the conversion from starch to reducing sugar at 4℃. Changes in integrity of amyloplast membrane were observed during storage. The injury to the amyloplast membrane was significant and the electrolyte leakage was higher in the tubers stored at 4℃

Key words Potato Sweetening Reducing sugar Amyloplast

色泽是马铃薯加工品(法式油炸和炸片)重要的视觉特征,由于在油炸过程中,块茎中的还原糖和 α -氨基酸发生Maillard反应,产生棕色苦味的物质,严重降低了加工产品的品质^[1,2]。研究表明^[2],由于块茎中氨基酸含量有限,还原糖的含量成为色泽形成的主要限制因素,一般要求加工用马铃薯块茎还原糖含量应有0.25%以下。影响还原糖含量的因素很多,如生长期干旱、施氮肥过多、要收期温度上升、贮藏期间管理、衰老等等。其中,低温贮藏被公认为诱导还原糖积累的主要因素,即所谓“低温糖化”。科学家提出

很多理论来解释“低温糖化”现象的形成,便至今仍未有明确的结论。

中国是世界马铃薯主产国之一,总产量居世界前列,但马铃薯的研究开发工作却很薄弱,缺乏自己培育的加工专用品种,仅靠种植引入品种提供加工原料;国内的马铃薯加工企业很少,国外企业和产品占据市场;此外,马铃薯贮藏过程中的“低温糖化”机制的系统研究尚属空白。因此,进行这方面的研究具有深远的意义。

1 材料与方法

neutral protease (calpain) system: structure, function, and regulation. *Physiol. Reviews*, 1991, 71: 813~847.

5 David, J. D., See, W. M. and Higginbotham, C. A. Fusion of chick embryo skeletal myoblasts role of calcium influx preceding membrane union. *Developmental Biology*, 1981, 82: 297~307.

6 Goll, D. E., Thompson, V. F., Taylor, R. G. and Zalewska, T. Is calpain activity regulated by membranes and autolysis or by calcium and calpastatin? *Bioessays*, 1992, 14: 549~556.

7 Hruska, R. L. Role of Ca^{2+} and Ca^{2+} -activated protease in myoblast fusion. *Experimental Cell Research*, 1986, 162: 411~422.

8 Saido, T. C., Sorimachi, H. and Suzuki, K. Calpain: new perspectives in molecular diversity and physiological-pathological involvement. *FASEB J.*, 1994, 8: 814~822.

9 Suzuki, K., Imajoh, S., Emori, Y., Kawaski, H., Minami, Y. and Ohno, S. Regulation of activity of calcium activated neutral protease. *Adv. Enzyme Regul.*, 1988, 27: 153~169.

1.1 试验材料

供试马铃薯品种为克新1号。品种特点：薯块中等，表面有纹理，芽眼偏深，肉色白，休眠期2~3个月，采收期9~10月份。

1.2 试验设计与采后处理

1997年9月19日采收于河北省沽源，次日汽运至北京。挑选无病虫害，无机械伤的马铃薯，于室温下愈伤1周后，进行试验。根据有关文献，温度太高，会加速马铃薯的衰老进程，温度太低，冷害的影响加剧。因此选择4℃和10℃两个点作实验。

供试马铃薯分别于4℃和10℃下贮藏4个月，定期测定油炸色泽、还原糖及总糖含量^[4, 5]、淀粉含量^[5]、淀粉酶活性^[5]、淀粉磷酸化酶活性^[5, 6]、蔗糖酶活性^[7]、电导率^[8]、丙二醛含量^[8]。每个处理3次重复，每次测定选取10个马铃薯。

炸片的加工及色泽的测定：马铃薯清洗去皮后，取中部块茎，切片2mm厚，漂洗，沸水煮3min，吸干表面水分，于MC-300万用电锅中炸3min，温度 $197 \pm 2^\circ\text{C}$ 。沥干表面油，用一层保鲜膜包裹，于TC-PIIG型色差计测定炸片色泽L值，该值为色差计标准白板与炸片色泽亮度的差值。

电镜制片：

2.5%戊二醛前固定→1%锇酸后固定→丙酮系列脱水→Epon812包埋→LKB-V型超薄切片机切片→醋酸双氧铀、柠檬酸铅双染色→100cx投射电镜观察照相。

本试验采用完全随机试验设计，对结果进行方差分析， $\alpha = 0.05$ 为显著差异， $\alpha = 0.01$ 为极显著差异。

2 结果与分析

2.1 贮藏温度对马铃薯碳水化合物及炸片色泽的影响

由表1可以看出，随着贮藏时间的延长，马铃薯

块茎的还原糖、总糖含量逐渐上升，淀粉含量逐渐下降，炸片色泽逐渐变深。4℃贮藏下，还原糖和总糖含量分别于115d和95d时达到最大值0.55g/100gFw和1.06g/100gFw；10℃贮藏下，分别到75d和115d达到最大值0.25g/100gFw和0.76g/100gFw。4℃贮藏显著高于10℃贮藏（ $p=0.01$ ）。在贮藏期115d时，4℃和10℃贮藏的淀粉含量均达到最低值，分别为14.0g/100gFw和15.6g/100gFw，比初始值降低15.61%和11.36%。说明10℃贮藏淀粉的降解速度极显著（ $p=0.01$ ）低于4℃贮藏。

炸片色泽L值越大，表明炸片色泽越深，加工品质越差。由试验得知，当L值大于24.0时，产生的色泽即不适合加工。在贮藏的第75d，4℃贮藏达到最大的L值26.78，超出加工的要求值，而10℃贮藏为24.42，到第115d L降为20.92，仍适合加工。所以，与4℃相比，10℃贮藏更适合作为加工马铃薯的贮藏温度。

2.2 贮藏期间相关酶活性的变化

贮藏温度对碳水化合物代谢过程中的淀粉酶、淀粉磷酸化酶及转化酶活性的影响见表2。4℃贮藏下，淀粉酶活性在35d时出现高峰，峰值为31.53mg麦芽糖/gFw.h，经过一段波折后继续上升；10℃贮藏的淀粉酶活性从第10d开始缓慢增加，无明显高峰，贮藏期115d时，两者酶活分别是初始值的2.38倍和1.61倍，说明块茎在贮藏期间，淀粉酶活性升高，影响了碳水化合物代谢系统。因此，“低温糖化”不可排除淀粉酶的作用。

淀粉磷酸化酶活性在4℃与10℃贮藏期间变化趋势相近。分别从10d和20d起酶活急剧上升，35d时达到顶峰，其峰值分别为初始值的3.56倍和2.23倍，之后迅速下降，第50d时又开始缓慢上升。4℃贮藏对淀粉磷酸化酶活性的影响较大，加速淀粉分

表1 贮藏期间马铃薯还原糖、总糖、淀粉的含量及炸片色泽的变化

采后时间 (d)	0	10	20	35	50	60	75	95	115
还原糖 (4℃) (g/100g)	0.18	0.22	0.24	0.30	0.35	0.38	0.40	0.52	0.55
还原糖 (10℃) (g/100g)	0.18	0.16	0.18	0.19	0.20	0.23	0.25	0.19	0.22
总糖 (4℃) (g/100g)	0.47	0.48	0.53	0.67	0.62	0.89	1.00	1.06	0.96
总糖 (10℃) (g/100g)	0.47	0.46	0.50	0.52	0.60	0.67	0.69	0.72	0.76
淀粉 (4℃) (g/100g)	17.60	17.30	17.20	16.70	16.40	15.90	15.30	14.60	14.00
淀粉 (10℃) (g/100g)	17.60	17.80	17.50	17.00	16.70	16.60	16.10	15.80	15.60
色泽 (4℃) (g/100g)	20.09	20.25	19.72	20.16	21.77	22.37	24.42	19.63	20.92
色泽 (10℃) (g/100g)	17.60	17.80	17.50	17.00	16.70	16.60	15.90	15.80	15.60

解为糖类,促进了能源释放反应的磷酸化过程。由于产生(还原糖)的积累,淀粉磷酸化酶活性被抑制。

转化酶活性在4℃贮藏期间变化较大,在95d时出现高峰,峰值为初始值的2.45倍,10℃贮藏则变化平缓,35d时出现高峰,峰值为初始值的1.51倍,之后迅速下降。4℃贮藏的转化酶活性仍然高于10℃贮藏。

转化酶催化蔗糖产生葡萄糖和果糖等还原糖仍然是“低温糖化”现象的可能原因。

由以上结果可以得出:淀粉酶、磷酸化酶和转化酶三者的活性均受到贮藏温度的影响。在淀粉转化为还原糖的过程中具有不可忽视的作用。且4℃贮藏与10℃贮藏之间有显著差异。

表2 贮藏期间淀粉酶活性、淀粉磷酸化酶活性、转化酶活性的变化

采后时间(d)	0	10	20	35	50	60	75	95	110
淀粉酶(4℃)(mg/gFw.h)	16.30	14.45	17.51	31.53	28.81	28.07	31.20	34.77	39.26
淀粉酶(10℃)(mg/gFw.h)	16.30	11.59	13.60	14.90	19.30	22.80	24.30	24.90	26.60
淀粉磷酸化酶(4℃)(μg/gFw.min)	5.64	5.26	18.99	20.01	2.85	2.61	6.80	4.52	9.31
淀粉磷酸化酶(10℃)(μg/gFw.min)	5.64	0.80	2.09	12.55	1.62	2.64	7.63	5.31	8.94
转化酶(4℃)(μg/gFw.h)	/	/	52.20	51.45	53.85	46.80	83.09	105.40	72.87
转化酶(10℃)(μg/gFw.h)	/	/	36.90	65.10	48.48	48.15	44.73	49.59	49.02

2.3 贮藏期间膜结构的变化

丙二醛作为膜脂过氧化产物,其含量随着块茎的衰老和环境胁迫而增加。由表3看出,贮藏期间块茎的丙二醛含量成曲折增加的趋势。115d是时,4℃贮藏为29.85nmol/gFw,10℃贮藏为28.85nmol/gFw,差异极显著($p=0.01$)。这说明低温导致膜结构发生更显著的改变。

同时,电导率作为膜结构变化的指标,也在贮藏期间表现为逐渐增加的趋势。从贮藏期10d起,4℃贮藏的电导率值开始高于10℃贮藏。到115d时,4℃贮藏和10℃贮藏的马铃薯块茎的电导率与新鲜块茎相比,分别为2.59倍和1.50倍。4℃贮藏与10℃贮藏差异显著($P=0.05$)。表明贮藏温度对膜结构的影响不可忽略。由于冷伤害造成了膜透性的增加,离子渗漏量增大,导致电导率上升。

在贮藏到95d时,对马铃薯块茎造粉体膜结构进行电镜观察。结果显示,4℃贮藏下,造粉体双层膜的部分区域结构松散,膜内陷,膜间距增大。10℃贮藏

下,造粉体膜结构完整,包裹紧密。说明低温贮藏对造粉体双层膜的影响确实存在。

3 讨论与结论

马铃薯贮藏期间“低温糖化”现象是多因素作用的结果。低温是引起这种反应的外因。一方面,低温胁迫引起马铃薯细胞内活性氧代谢平衡被打破,活性氧积累,导致膜脂发生过氧化,造粉体双层膜作为淀粉粒与细胞质之间的分界,膜的内层被认为是转运蛋白的位点,在无机磷的交换过程中,能够调节中间产物糖-磷酸的双向运转,从而控制反应方向。而且由实验结果看出,低温使造粉体膜透性增加,会破坏酶与底物的空间分隔,促进淀粉的降解;另一方面,刘愚等^[9]认为,植物在逆境条件下会改变基因表达,编码原有蛋白质的基因会减弱或停止表达,而某些新的蛋白质的基因被诱导表达。从这种意义上看,低温下酶活性的改变,如淀粉酶、淀粉磷酸化酶和转化酶的活性被促进,可能是低温胁迫下基因表达发生改变的

表3 贮藏期间块茎的电导率和丙二醛含量的变化

采后时间(d)	0	10	20	35	50	60	75	95	115
电导率(4℃)(%)	27.16	/	26.7	27.12	28.65	28.39	29.14	29.45	29.85
电导率(10℃)(%)	27.16	/	25.69	26.37	27.02	26.59	27.79	27.51	28.85
丙二醛(4℃)(nmol/gFw)	5.56	6.03	/	6.25	6.35	7.12	7.85	12.92	14.40
丙二醛(10℃)(nmol/gFw)	5.56	4.89	/	5.00	5.11	6.25	6.52	7.19	8.36

结果。这二者均可引起碳水化合物代谢的方向和速率改变,原有的碳水化合物代谢平衡被打破,向着还原糖积累的方向进行。

此外,贮藏过程中,淀粉、蔗糖和还原糖之间不断地发生着相互转化。淀粉可以转化为蔗糖和还原糖,使块茎“糖化”,“糖化”后的块茎中蔗糖和还原糖又可以转变为淀粉,这些变化的方向和速率取决于品种、块茎的生理状态和贮藏条件。本试验所选品种克新1号在10”贮藏期间马铃薯适于加工。也有学者发现采收时成熟度不同,块茎内的酶系统的初始数量不同,导致低温贮藏下的不同反应^[3]。

因此,“低温糖化”的机理在于,低温促进或抑制了碳水化合物代谢过程中一些酶的活性,增加了造粉体双层膜的透性,从而使碳水化合物代谢向还原糖积累的方向进行。

参考文献

- 1 陈芳,胡小松.马铃薯“低温糖化”机理的研究及进展.马铃薯杂志,1998,12(1):52~55.

- 2 龚国强.黄瓜果实冷害与活性氧代谢的研究(博士论文).北京:北京农业大学,1993.
- 3 韩亚珊.食品化学实验指导.北京:北京农业大学出版社,1991,18.
- 4 刘愚.果蔬贮藏中的逆境效应.中国农业科学,1992,25(5):1~5.
- 5 门福义,刘梦芸编著.马铃薯栽培生理.中国农业出版社,1994,300~345.
- 6 殷宏章,余志新,李嫔娥,沈允钢.水稻籽粒成熟过程中淀粉合成及水解酶活力的变化.实验生物学报,1956,5(1):34~36.
- 7 朱俭,曹凯鸣,周润琦,蔡武城,袁厚积编著.生物化学实验.上海科学技术出版社,1981.
- 8 Eileen.P.O'Donoghue, Rickey Y.Yada,Alejandro G.Marangoni.Low temperature sweetening in potato tubers:the Role of the amyloplast membrane.Plant Physiol,1995,145:335~341.
- 9 Hertog,M.L.A.,Tijsskens,L.M.M.,Hark,P.S.The effect of temperature and senescence on the accumulation of reducing sugar during storage of potato (*Solanum Tuberosum* L.) tubers:a mathematical model Postharvest Biology and Technology,1997,10(1):67~69.

啤酒废酵母提取SOD研究

吴思方 方尚玲 童振球 湖北工学院生物工程系 武汉 430064

摘要 研究了从啤酒废酵母中提取、纯化超氧化物歧化酶(SOD)的方法和条件。所得SOD酶比活3048 μ /mg,对粗酶液的收率73%,纯化倍数96倍。

关键词 啤酒废酵母 超氧化物歧化酶(SOD) 提取 纯化

Abstract This paper studied the method and relevant conditions of extraction and purification of SOD from spent beer yeast. The specific enzymatic activity of resultant SOD was 3048 μ /mg. The yield from crude enzyme liquor was 73%. The purification multiple was 96-fold as such.

Key words Beer yeast waste SOD Extract

超氧化物歧化酶(EC1.15.1.1 Superoxide dismutase,简称SOD)是一种重要的氧自由基清除剂,对人体的超氧负离子自由基(Superoxide anionadical O_2^-)的氧化性损伤发挥着有效的清除作用和生理效用,因此能延缓衰老,提高人体免疫力,预防和治疗一些疾病。目前,SOD已较多地应用于医药、化妆品和保健食品的生产中,而且随着研究的深入,

它的应用范围还在不断扩大。目前我国SOD产品主要从牲畜血液中提取^[1],这个方法所用原料有限,SOD质量不稳定。八十年代后,美国和日本先后开发了用发酵法生产SOD,大大地降低了生产成本^[2]。SOD广泛分布于动、植物和微生物体内^[3]。酵母细胞中含有较多的SOD^[4]。我国已是世界第二啤酒生产大国,按啤酒年产量1800万吨,啤酒废酵母(酵母泥)占啤酒