

仙人掌多酚氧化酶的特性及抑制研究

秦卫东, 钱寿凤, 周 瑞

(徐州工程学院食品工程系, 江苏 徐州 221008)

摘 要: 本文研究了仙人掌中多酚氧化酶(PP0)的特性以及一些抑制剂对其活性的影响。结果表明: 仙人掌中 PP0 的最适温度为 50℃, 最适 pH 有两个, 分别为 pH4.0 和 pH7.0, 因而在仙人掌中的 PP0 存在同工酶。柠檬酸、抗坏血酸及 EDTA 对仙人掌 PP0 均有一定的抑制效果, 抑制能力顺序为: 柠檬酸>抗坏血酸>EDTA。对各种抑制剂的作用机理进行了探讨。EDTA 主要是通过螯合 PP0 中的辅酶因子 Cu^{2+} 而起作用, 抗坏血酸螯合 Cu^{2+} 的能力比 EDTA 弱, 但抗坏血酸的还原能力较强, 而柠檬酸则是通过降低 pH 和螯合作用抑制 PP0。

关键词: 仙人掌; 多酚氧化酶; 特性; 抑制机理

Studies on Characteristics and Inhibition of Polyphenoloxidase(PP0) in *Opuntia dillenii*.

QIN Wei-dong QIAN Shou-feng ZHOU Rui

(Department of Food Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221008, China)

Abstract: This paper studied the characteristics and inhibition of polyphenoloxidase(PP0) in *Opuntia dillenii*. The results showed: the optimum temperature of PP0 was 50℃ and the optimum pHs were 4.0 and 7.0 respectively, so as to display that there were two isoenzymes. All citric acid, ascorbic acid and ethylene diamine tetraacetic acid(EDTA) had certain inhibitory effects. Their inhibiting capability to the PP0 was in the order as follows: citric acid>ascorbic acid>EDTA. It had inhibitory effect on the PP0 that EDTA mainly chelated the Cu^{2+} as co-enzyme factory of PP0. The chelating ability of ascorbic acid to Cu^{2+} was weaker than EDTA, but the reducing ability of ascorbic acid was stronger than EDTA, while citric acid inhibited the PP0 through both reducing pH and chelating Cu^{2+} .

Key words: *Opuntia dillenii*; polyphenoloxidase characteristics; inhibiting mechanism

中图分类号 TS202.1

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2004)09-0064-03

果蔬原料及其制品的褐变通常是由多酚氧化酶(polyphenoloxidase, PP0)催化的一种反应, 该反应称作“酶促褐变”^[1]。食品科学家们对酶促褐变现象, 特别是对多酚氧化酶的特性一直十分关注。在以往的报道中, 人们广泛地研究了多种果蔬中多酚氧化酶的特性。仲飞^[2]及郝慧英等人^[3]研究了苹果的特性, 蔡金星和李秀锦^[4]研究了多种梨中 PP0 的性质及抑制情况, 田呈瑞和张京芳^[5]研究了杏 PP0 的动力学特性, Siddiq 等人^[6]报道了李的 PP0 特性, 林向东和李冀新^[7]研究了葡萄 PP0 的性质, Wesche-Ebeling 和 Montgomery^[8]及孔繁东和姬德衡^[9]分别报道了草莓的 PP0 性质, Park 和 Luh^[10]则研究了猕猴桃的 PP0 特性。对于蔬菜, 也研究了莲藕^[11, 12]、甘薯^[13]、牛蒡^[14, 15]、芋头和马铃薯^[16]、茼蒿^[17]中 PP0 的特性。

仙人掌是我国近年来引种的一种特种蔬菜, 它不仅

含有蛋白质、维生素、矿物质如钙、磷、铁等, 还具有降血糖、降血压和降血脂的功效^[18], 因此, 仙人掌制品的加工制品正在受到人们的关注。然而, 在仙人掌的加工过程中常常会出现褐变现象, 对产品的质量带来严重的影响。

本研究的目的是: ①研究仙人掌中 PP0 的性质; ②探讨抑制仙人掌 PP0 活性的方法及机理。

1 材料与方法

1.1 原料

仙人掌原料从江苏省邳州市草桥镇种植园购买。使用前贮藏在 4℃ 环境下。

1.2 酶的提取

将仙人掌原料去刺, 洗净后去皮、切块, 放入高

收稿日期: 2003-10-28

作者简介: 秦卫东(1961-), 男, 副教授, 学士, 主要从事食品科学与工程的教学与科研。

速匀浆机中,加入仙人掌二倍(V/W)量的丙酮,快速制成浆状。用布氏漏斗抽滤两次。收取滤饼,于 -30°C 冰箱预冷后,放入冷冻干燥机(LGJ-5型,中国医学)中干燥。得到的丙酮粉固体放入冰箱中冷冻贮存。整个过程控制在 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 范围内进行。

将丙酮粉按1:100(W/V)的比例溶于 0.05 mol/L 的 KH_2PO_4 溶液,在冰浴条件下搅拌10min,用冷冻离心机以4000r/min离心20min。得到的上清液即为粗酶液。放入冰箱中冷藏备用。

1.3 酶活力的测定

以 0.04 mol/L 邻苯二酚为底物,取1ml底物与1ml酶液混合,用蒸馏水定容至50ml。反应5min后,用分光光度计(7230G型,上海分析仪器厂)于420nm下测定吸光度值。以吸光度值的大小表示酶活力的高低。

1.4 pH值对酶活力的影响

以 0.04 mol/L 邻苯二酚为底物,取1ml底物与1ml酶液混合,用 0.1mol/L HCl或 0.1mol/L NaOH调节pH至规定值,并定容至50ml。按1.3的方法测定 $A_{420\text{nm}}$ 。

1.5 温度对酶活力的影响

以 0.04 mol/L 邻苯二酚为底物,取1ml底物与1ml酶液混合,定容至50ml。在恒温水浴锅(HH-4型,常州国华电器公司)中恒温5min后,测定 $A_{420\text{nm}}$ 。

1.6 抑制剂对酶活力的影响

以 0.04mol/L 邻苯二酚为底物,取1ml底物与1ml酶液混合,分别加入不同各类的抑制剂(柠檬酸、抗坏血酸和EDTA,化学纯),使其浓度分别为0.01、0.02、0.03、0.04和 0.05g/ml ,定容至50ml。按1.3的方法测定 $A_{420\text{nm}}$ 。

另取1ml酶液,分别加入抗坏血酸和EDTA,其浓度分别为 0.02g/ml ,定容至50ml。反应1~15min后,再加入1ml底物反应5min。测定 $A_{420\text{nm}}$ 。

2 结果与讨论

2.1 pH值对仙人掌多酚氧化酶的影响

在pH3~11范围内测得的仙人掌PP0活性如图1所示。

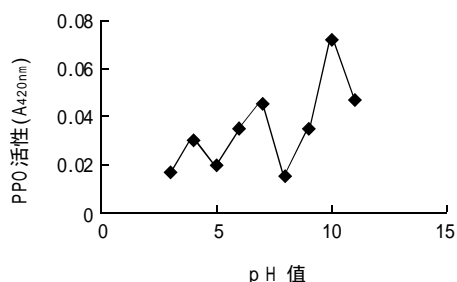


图1 pH值对仙人掌多酚氧化酶活性的影响

从图1中可知,仙人掌PP0存在着三个活性pH峰,分别在pH4、7和10。这表明仙人掌的PP0中存在着三个同工酶。尽管多数报道的果蔬中PP0存在两个同工酶,但Okta等人^[19]曾在苹果中发现了PP0有三个同工酶。

2.2 温度对仙人掌多酚氧化酶的影响

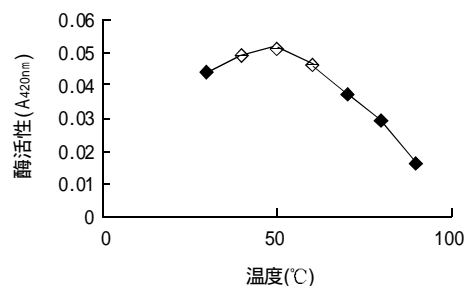


图2 温度对仙人掌多酚氧化酶活性的影响

在 $30\sim 90^{\circ}\text{C}$ 范围内测得的多酚氧化酶活性见图2。由图2可知,仙人掌多酚氧化酶的最适温度在中温范围,为 50°C 。这一结果与一些蔬菜中多酚氧化酶的报道一致。

2.3 抑制剂对仙人掌多酚氧化酶的影响

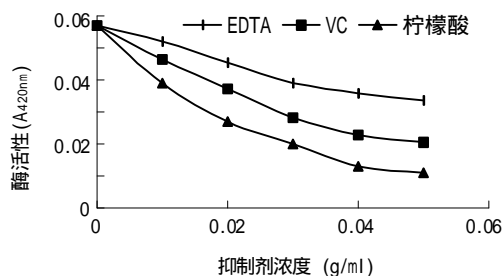


图3 不同抑制剂对仙人掌多酚氧化酶活性的影响

以柠檬酸、抗坏血酸和EDTA为抑制剂对仙人掌多酚氧化酶活性影响的结果见图3。如图3所示,各种抑制剂对仙人掌PP0均有一定的抑制能力,且随抑制剂浓度的增大,抑制能力增强。在所研究的三种抑制剂中,柠檬酸的抑制效果最好,在 0.05g/ml 用量时的抑制率可达到80%以上,而同浓度下的EDTA的抑制率仅为41%左右。

为探讨抑制剂对仙人掌多酚氧化酶影响的机理,预先将抑制剂与酶液反应一定时间,再与反应底物接触,观察酶活性的变化,结果见图4。

从图4中可以看到,随着与酶液反应时间的延长,EDTA对酶活的抑制作用增强,这种作用至第5min基本达到最强。其后,随作用时间的延长,其抑制作用几乎不变。而抗坏血酸则表现出随反应时间的延长,酶活性几乎直线下降。根据村田和本间^[20]的分类,EDTA和抗坏血酸分别属于不同类型的PP0抑制剂,EDTA作

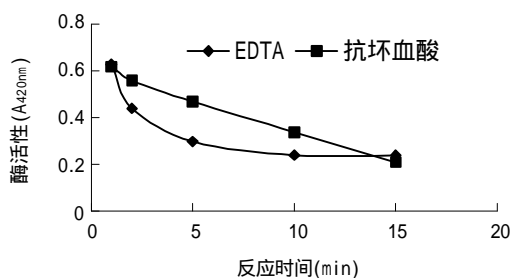


图4 抑制剂与酶液反应时间对多酚氧化酶活的影响

为一种强的金属离子螯合剂,可以与PPO中的辅酶因子 Cu^{2+} 作用,从而使PPO丧失活性。因此,EDTA与酶作用的时间决定了其螯合辅酶因子 Cu^{2+} 的能力。而抗坏血酸则是通过其还原能力,将酶促褐变反应的中间产物醌还原成酚而抑制酶促褐变的,其与酶本身的作用较弱。

3 结 论

仙人掌中的多酚氧化酶是由三个同工酶构成,其最佳pH分别为4、7和10;最适温度为 50°C 。柠檬酸、抗坏血酸及EDTA对仙人掌PPO均有一定的抑制效果,抑制能力顺序为:柠檬酸>抗坏血酸>EDTA。EDTA主要是通过螯合PPO中的辅酶因子 Cu^{2+} 而起作用,抗坏血酸螯合 Cu^{2+} 的能力比EDTA弱,但抗坏血酸的还原能力较强,而柠檬酸则是通过降低pH和螯合作用抑制PPO。

参考文献:

- [1] 王璋. 食品酶学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1990.
- [2] 仲飞. 红星苹果多酚氧化酶某些特性及抑制剂的研究[J]. 园艺学报,1998,25(2):184-186.
- [3] 郝慧英,赵光登,徐岩,等. 苹果中多酚氧化酶的性质[J]. 无锡轻工大学学报,2003,22(1):7-11.
- [4] 蔡金星,李秀锦. 不同品种梨多酚氧化酶特性及抑制剂的研究[J]. 河北农业技术师范学院学报,1999,13(1):55-58.
- [5] 田呈瑞,张京芳. 杏多酚氧化酶动力学研究[J]. 西北农业学报,1997,6(3):78-81.
- [6] Siddiq M, Sinha N K, Cash J N. Characterization of polyphenoloxidase from stanley plums[J]. Journal of Food Science,1992,57(5):1177-1179.
- [7] 林向东,李冀新. 无核白葡萄多酚氧化酶特性研究[J]. 食品科学,2000,21(12):43-45.
- [8] P Wesche-Ebeling, M W Montgomery. Strawberry polyphenoloxidase: extraction and partial characterization [J]. Journal of Food Science,1990,55(5):1320-1324.
- [9] 孔繁东,姬德衡. 草莓中多酚氧化酶的研究[J]. 大连轻工业学院学报,2000,19(1):48-50.
- [10] Park EY, Luh BS. Polyphenol oxidase of kiwifruit[J]. Journal of Food Science,1985,50(3):678-682.
- [11] 胡军. 莲藕中多酚氧化酶特性及莲藕的护色[J]. 食品与发酵工业,1989,(3):47-51.
- [12] 李宁,郁志芳. 莲藕多酚氧化酶的酶学特性[J]. 江苏农业学报,2002,18(1):63-64.
- [13] 金玉来,肖冬青. 甘薯中多酚氧化酶的研究[J]. 食品科学,1991,(9):4-9.
- [14] 乔旭光,张步志. 牛蒡多酚氧化酶酶学性质的研究[J]. 山东农业大学学报,1997,28(3):327-330.
- [15] 周志才,王美兰. 牛蒡中多酚氧化酶的活性及其影响因素研究[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版),1998,11(1):62-65.
- [16] Duangmal K, Apenten R K O. A Comparative Study of Polyphenoloxidase from Taro (*Colocasia esculenta*) and Potato (*Solanum var. Romano*) [J]. Food Chemistry, 1999, 64(3): 351-359.
- [17] 陈学红,秦卫东,高卉,等. 茼蒿中多酚氧化酶特性的研究[J]. 食品科学,2003,24(3):29-32.
- [18] 吕心泉,甘洪,朱国建,等. 米邦塔仙人掌风味罐头的生产工艺[J]. 食品与机械,2003,(1):41-42.
- [19] M Oktay, I Kufrevioglu, I Kocacaliskan, et al. Polyphenoloxidase from Amasya Apple[J]. Journal of Food Science, 1995, 60(3): 494-496.
- [20] 村田容常,本間清一. ポリフェノールオキシダーゼと褐変制禦[J]. 日本食品科学工学会志. 1998,45(3):177-185.

启 事

本刊原E-mail: chnfood@public.fhnet.cn.net因故停用,现E-mail为 chnfood@chnfood.cn, 请大家相互转告。