

图2 剪切力变化对刺槐豆胶溶液粘度的影响

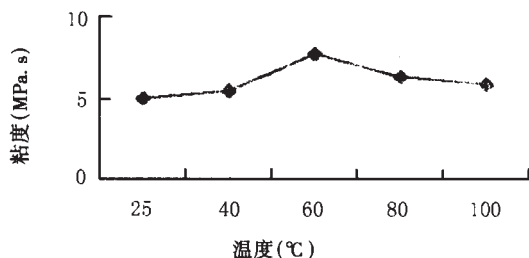


图3 温度对刺槐豆胶溶液粘度的影响

从图3可以看出,小于80℃加热,可使刺槐豆胶溶液的粘度有所增加,60℃为最佳加热温度。

2.4 pH对刺槐豆胶溶液粘度的影响(见图4)

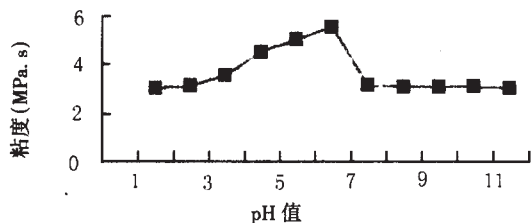


图4 pH对刺槐豆胶溶液粘度的影响

从图4可以看出,pH对刺槐豆胶溶液的粘度影响不大,即刺槐豆胶在酸性溶液和碱性溶液中较为稳定;这一特点使得刺槐豆胶有着广泛的应用前景。

景。

2.5 冻融变化对刺槐豆胶溶液粘度的影响

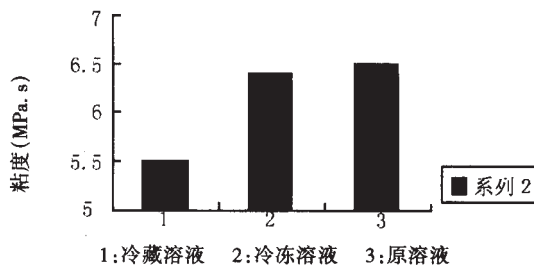


图5 冷冻、冷藏对刺槐豆胶溶液粘度的影响

从图5可以看出,冷冻对刺槐豆胶溶液的粘度浓度没有影响,冷藏可使刺槐豆胶的粘度有所下降。

2.6 刺槐豆胶与黄原胶混合液粘度的变化(见图6)

从图6可以看出,刺槐豆胶与黄原胶的混合液粘度刺槐豆胶单溶液高,而较黄原胶单溶液低,由此可知刺槐豆胶和黄原胶没有协效性。

从以上结论可以得出,刺槐豆胶的粘度随浓度的升高而升高,当浓度为2%时,其粘度为46.4MPa.s;刺槐豆胶为非牛顿流体,其粘度随切变速度的增加而增加;小于80℃加热时可使刺槐豆胶的粘度增加,60℃为刺槐豆胶的粘度有所下降;pH对刺槐豆胶溶液的粘度影响不大,即刺槐豆胶在酸性溶液和碱性溶液中较为稳定,刺槐豆胶可以作为增稠剂应用于不同行业,刺槐豆胶与黄原胶无协效性,因此要拓宽刺槐豆胶的用途必须进行刺槐豆胶的改性研究。

参考文献

- 1 孔宪武. 兰州植物志. 甘肃人民出版社, 1960 365.
- 2 李欣, 范明娟, 冯廉彬等. 24种豆科植物的半乳甘露聚糖胶的分析. 植物学报, 1980 22(3) 302~304.

苹果梨多酚氧化酶(PPO)的部分特性

毕阳 甘肃农业大学食品工程系 兰州 730070

欧阳春光 甘肃省膜科学研究所 兰州 730000

摘要 苹果梨多酚氧化酶仅作用于邻苯酚,与对苯酚、间苯酚和一元酚无作用。以儿茶酚为底物,该酶的最适pH为6.5,在30℃下活性最强。除氯化钠和蔗糖外,供试的其它7种抑制剂均可不同程度地对该酶产生抑制,其中以焦亚硫酸钾效果最好。

关键词 苹果梨 多酚氧化酶 特性

Abstract Polyphenoloxidase in Pinguoli pear (*Pyrus bretschneideri* Rehder: Pinguoli) showed reaction with o-

diphenol, but not with hydroquinone, *m*-diphenol, and mono-phenol. Maximum PPO activities showed pH 6.5, and optimum temperature for maximum PPO activity was 30°C with catechol as a substrate. The enzyme was relatively sensitive to most inhibitors tested with the exception of NaCl and sucrose. Potassium pyrasufite was the most effective inhibitor.

Key words Pinguoli pear Polyphenoloxidase Property

黑皮病是苹果梨贮运期间的常见生理病害,该病主要由果实表皮所遭受的机械损伤引起,受害部位表皮呈黑褐色,明显降低了产品的外观。该病的发生属典型的酶促褐变。由于表皮细胞中多酚氧化酶(PPO)与其底物区域性分隔的破坏。果实体内多酚类物质在 PPO 作用下氧化生成醌,后者进一步聚合为黑色产物^[1]。虽然前人已对巴梨^[2,3],安久梨^[4],荏梨^[5]和鸭梨^[6]的 PPO 特性进行了较为详尽的研究,但有关苹果梨的报道尚非常有限^[7]。为了深入了解苹果梨黑皮病发生的机制,为该病的控制提供理论依据,特进行本项研究。

1 材料和方法

1.1 材料

供试苹果梨 1996 年 10 月采自甘肃省张掖园艺场 12 年生树。果实采后单果包纸入 5kg 纸箱,第 2d 汽车运抵兰州后,在 0°C, RH85%~90% 的冷库中贮藏待用。

1.2 方法

1.2.1 PPO 的提取及活力测定

参照 Halim 和 Montgomery 方法^[4]修改。用削皮机削下 1~1.2mm 厚果皮,取 50g 入含 30ml 0.05mol/L 冰乙酸缓冲液(pH5.6)的研钵中,加入 1.5g 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)及少许石英砂,研磨 15min。匀浆经布氏漏斗 4 层砂布过滤。滤液在 12000×G 下冰冻离心(4°C)10min,上清液即为酶的粗提液。酶活性用 PE Lambda 7 紫外可见分光光度计在 415nm 处(儿茶酚作底物)比色测定。反应温度 30°C。一个酶活力单位用每毫升酶液每分钟所引起的 0.001OD 的变化表示。

1.2.2 底物专一性的测定

表 1 所列 13 种底物按上述酶活性测定方法进行反应,反应产物用分光光度计对 300nm~650nm 进行波长扫描,确定吸收峰是否出现及特征吸收波长。

1.2.3 pH 对酶活性的影响

以儿茶酚为底物,用柠檬酸—磷酸缓冲液配制

pH4.0~8.0 的缓冲液,再用不同 pH 缓冲液分别配制不同的反应液,按上述方法测定酶活。

1.2.4 温度对酶活性的影响

在 10~70°C 范围内测定儿茶酚为底物时的酶活,各温度处理保温 10min。

1.2.5 抑制剂对酶活性的影响

以儿茶酚作底物测定表 2 所列 9 种抑制剂对苹果梨 PPO 活性的影响,每种抑制剂各进行 2 种浓度处理。

以儿茶酚作底物测定表 2 所列 9 种抑制剂对苹果梨 PPO 活性的影响,每种抑制剂各进行 2 种浓度处理。

2 结果与讨论

2.1 底物专一性

分别对苹果梨 PPO 与三元酚、二元酚和一元酚等 13 种底物作用后的产物进行 300nm~650nm 扫描测定时观察到,当以邻苯酚作底物时,反应产物有吸收峰出现,而以对苯酚、间苯酚和一元酚作底物时未见明显吸收峰(表 1)。由此表明,苹果梨 PPO 仅作用于邻位三元酚和邻位二元酚,而对间位三元酚、间位二元酚、对位二元酚及一元酚无作用,故可将该酶定义归纳为邻一二酚氧化酶(EC1,10,3,2)。该结果与前人在巴梨^[2],安久梨^[4],荏梨^[5]和鸭梨^[6]上的研究结果一致。至于邻苯酚中何者为最适底物,尚需进行酶的纯化及研究酶反应的动力学。

2.2 pH 对苹果梨 PPO 活性的影响

以儿茶酚作底物测定了 pH4~8 范围内的苹果梨 PPO 活性,观察到最大酶活的出现范围为 pH6.5(图 1)。该结果与前人报道的巴梨^[3],安久梨^[4]和鸭梨^[6]中的 PPO 在中性或近中性条件下活性最高的结论基本一致。

2.3 温度对苹果梨 PPO 活性的影响

以儿茶酚为底物在 10~70°C 下分别保温 10min 观察到,苹果梨 PPO 在 20~50°C 下均具有良好的活性,其中以在 30°C 下活性最大,低于 20°C 及高于 50°C, PPO 活性均有明显降低(图 2)。由此表明,采

表1 苹果梨 PPO 底物专一性的测定

底物	浓度 (mol/L)	吸收峰波长 (nm)	酶活性 (U/ml 酶液)
没食子酸	10	362	150
焦性没食子酸	10	330	183
间苯三酚	5	—	0
儿茶酚	10	415	427
L-D-3,4-二羟基苯丙氨酸	10	450	392
绿原酸	10	395	375
咖啡酸	10	410	240
4-甲基儿茶酚	10	435	316
对苯酚	5	—	0
间苯二酚	5	—	0
酪氨酸	2.5	—	0
邻甲酚	2.5	—	0
对甲酚	2.51	—	0

表2 不同抑制剂对苹果梨 PPO 的抑制效果

抑制剂	浓度 (mol/L)	抑制率 (%)
二乙基二硫代氨基甲酸	0.05	11
	0.5	9
EDTA	1	2
	10	39
巯基乙醇	0.5	18
	5	82
L-半胱氨酸	0.5	27
	5	90
亚硫酸氢钠	0.1	13
	1	95
焦亚硫酸钾	0.05	21
	0.5	99
抗坏血酸	1	4
	10	27
氯化钠	1	0
	10	4
蔗糖	1	1
	10	0

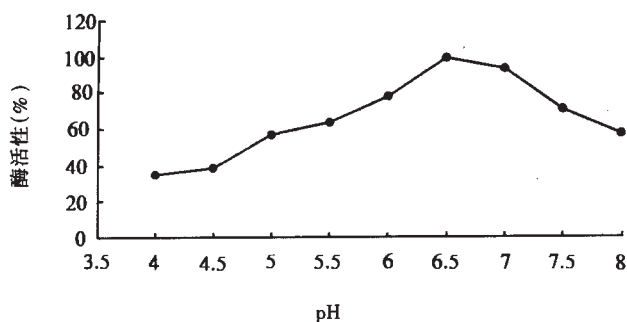


图1 苹果梨 PPO 的最适 pH (以儿茶酚为底物, pH = 6.8)

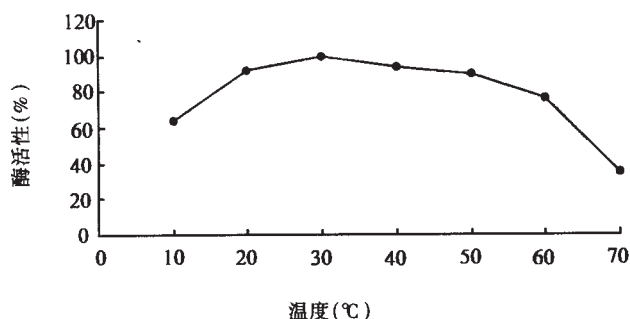


图2 苹果梨 PPO 的最适反应温度 (以儿茶酚为底物, pH = 6.8, 保温 10min)

后低温可在一定程度上降低酶促褐变的发生。

2.4 抑制剂对苹果梨 PPO 活性的影响

除氯化钠和蔗糖外, 苹果梨 PPO 对其它供试抑制剂均很敏感, 其中抑制效果较好者为二乙基二硫代氨基甲酸、亚硫酸氢和焦亚硫酸钠。二乙基二硫代氨基甲酸、EDTA 和巯基乙醇对 PPO 的抑制是由于它们可与该酶活性中心的铜原子键合^[8], 亚硫酸氢钠和焦亚硫酸钾可直接抑制 PPO 与底物酚的反应^[9], L-半胱氨酸易与醌形成复合物, 从而抑制了更

进一步的氧化与聚合^[10]。由于 L-半胱氨酸是一种天然氨基酸, 无毒, 可安全用于控制酶促褐变。

参考文献

- Wang, C. Y. and Mellethin, W. M. Relationship of friction discoloration to phenolic compounds in d'Anjou pears. Hortsci. 1973, 8: 321 ~ 323.
- Rivas, N. J. and Whitaker, J. R. Purification and some properties of two polyphenol oxidases from Bartlett pears. Plant Physiol. 1973, 52: 501 ~ 507.
- Tale, J. N., Lum, B. S. and York, G. K. Polyphenoloxidase in Bartlett pears. J. Food Sci. 1964, 29: 829 ~ 836.
- Halim, P. H. and Montgomery, M. W., Polyphenoloxidase of d'Anjou pears. J. Food Sci. 1978, 43: 603 ~ 606.
- 鞠志国等, 莱阳在梨果实褐变与多酚氧化酶及酚类物质区域化分布的关系. 植物生物学通讯. 1988, 14: 356 ~ 361.
- Zhou, Hong-wei and Xen Feng, Polyphenol oxidase from Yali Pear. J. Sci. Food Agric. 1991, 57: 307 ~ 313.
- 程建军等. 苹果梨和鸭梨酶促褐变机理的研究. 食品科学, 2000, 21: 71 ~ 73.
- Mayer, A. M. and Harel, E. Polyphenoloxidases in plants. Phytochemistry 1979, 18: 193 ~ 215.
- Embs, R. J. and Markakis, P. The mechanism of sulfite inhibition of browning caused by polyphenol oxidase. J. Food Sci. 1965, 30: 753 ~ 758.
- Davies, R. and Pierpoint, W. S. Problems of the reactive species from enzymic and chemical oxidation of o-diphenols. Biochem. Soc. Trans. 1975, 3: 671 ~ 674.