

图2 剪切力变化对刺槐豆胶溶液粘度的影响

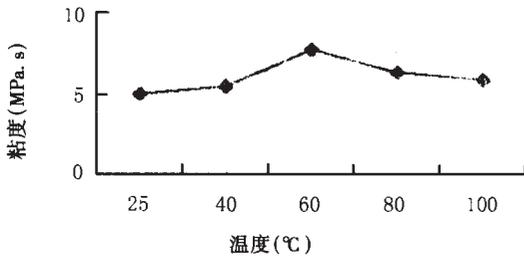


图3 温度对刺槐豆胶溶液粘度的影响

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)

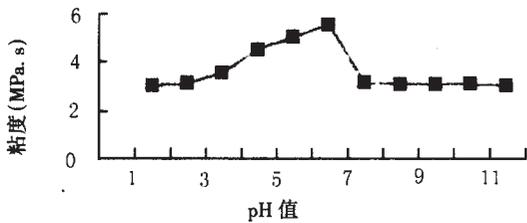


图4 pH对刺槐豆胶溶液粘度的影响

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。

2.5 冻融变化对刺槐豆胶溶液粘度的影响

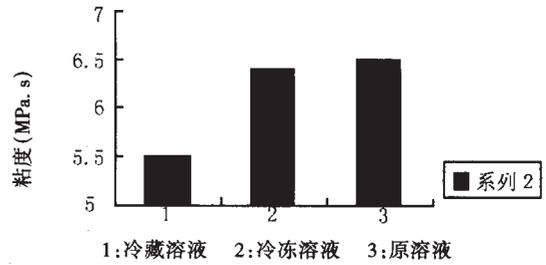


图5 冷冻、冷藏对刺槐豆胶溶液粘度的影响

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

- 孔宪武. 兰州植物志. 甘肃人民出版社, 1960: 365.
- 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]。虽然前人已对巴黎^[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 层纱布过滤。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)。该结果与前人在巴黎^[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適底物, 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黎^[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

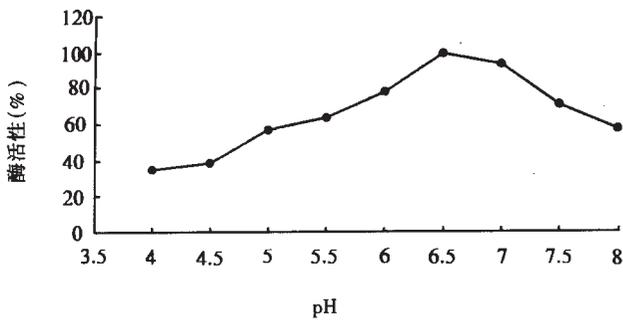


图1 苹果梨 PPO 的最适 pH(以儿茶酚为底物, pH = 6.8)

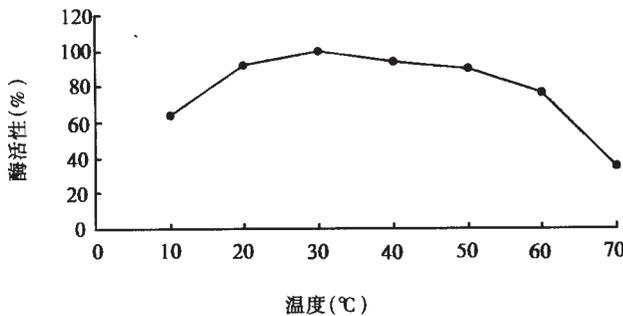


图2 苹果梨 PPO 的最适反应温度(以儿茶酚为底物, pH = 6.8, 保温 10min)

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

- 1 Wang, C. Y. and Mellethin, W. M. Relationship of friction discoloration to phenolic compounds in d' Anjou pears. Hortsci. 1973, 8: 321 ~ 323.
- 2 Rivas, N. J. and Whitaker, J. R. Purification and some properties of two polyphenol oxidases from Bartlett pears. Plant Physiol. 1973, 52: 501 ~ 507.
- 3 Tale, J. N., Lum, B. S. and York, G. K. Polyphenoloxidase in Bartlett pears. J. Food Sci. 1964, 29: 829 ~ 836.
- 4 Halim, P. H. and Montgomery, M. W., Polyphenoloxidase of d' Anjou pears. J. Food Sci. 1978, 43: 603 ~ 606.
- 5 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.
- 6 Zhou, Hong-wei and Xen Feng. Polyphenol oxidase from Yali Pear. J. Sci. Food Agric. 1991, 57: 307 ~ 313.
- 7 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.
- 8 Mayer, A. M. and Harel, E. Polyphenoloxidases in plants. Phytochemistry 1979, 18: 193 ~ 215.
- 9 Embs, R. J. and Markakis, P. The mechanism of sulfite inhibition of browning caused by polyphenol oxidase. J. Food Sci. 1965, 30: 753 ~ 758.
- 10 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.