

茭白中多酚氧化酶活性的测定及护色效果研究

马文锦<sup>1</sup>,刘树兴<sup>1</sup>,凌建刚<sup>2</sup>,潘巨忠<sup>2</sup>

1(陕西科技大学生命科学与工程学院,陕西 西安,710021)

2(宁波市农科院,浙江 宁波,315040)

**摘 要** 茭白在加工过程中会发生酶褐变,影响茭白的质量。文中研究了温度、pH 值对茭白中 PPO(多酚氧化酶)活性的影响,设计了不同的护色方案,以确定茭白的无硫护色条件。结果表明,茭白中多酚氧化酶活性最适温度 36℃,最适 pH 值为 5.6。用质量分数为 0.1% L-半胱氨酸、0.7% 柠檬酸、0.07% 抗坏血酸、0.02% CaCl<sub>2</sub> 配成的复合护色液护色 20 min 后,茭白在整个实验期间内,色白,无褐变现象产生。

**关键词** 茭白,多酚氧化酶,护色

茭白(Wild rice stem),又名茭草,为禾本科多年生宿根生沼泽草本植物,是我国特有的水生蔬菜之一,栽培面积仅次于莲藕。目前,世界上只有我国对茭白进行了大面积栽培<sup>[1]</sup>。茭白在加工过程中,由于去皮和切片会导致组织细胞破裂,使细胞内的化学成分在酶的作用下发生反应,迅速褐变<sup>[2]</sup>,引起外观色泽的变化,降低了茭白的商品价值。

国内外对茭白多酚氧化酶活性的研究较少,对茭白采用无硫护色处理也少有报道。本文研究了引起茭白褐变的多酚氧化酶的活性,并对采用无害试剂抑制酶促褐变进行了探讨,为提高我国茭白的加工产品安全品质提供理论基础和实际可行方法。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

茭白:新鲜市售,含水量 92%。

磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、邻苯二酚、L-半胱氨酸、抗坏血酸、柠檬酸、氯化钙等。除注明外,均为分析纯试剂。

1.2 仪 器

XT-4200C 型精确天平,上海济成分析仪器有限公司;DU-800 型紫外可见分光光度计,上海慧杰科技发展有限公司;5810R 型冷冻离心机,湖南凯达科学仪器有限公司;PB-10 型 PH 测定仪,浙江赛因科学仪器有限公司;DK-S24 型电热恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司;DC-P3 型全自动测色色差计,上海华岩仪器设备有限公司;DZQ400/2S 型真空充气包装机,上海阿凡佬机械有限公司;BCD-237BSC 型电冰箱,宁波惠康集团有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 茭白 PPO 活性测定

1.3.1.1 茭白粗酶液的提取

新鲜茭白放入 4℃ 冰箱中预冷 30 min,取出洗净,取 10 g 加入 15g 冰,研磨后低温(12 000 r/min, 4℃)离心 20 min,取上清液,即为粗酶液。

1.3.1.2 PPO 活性的测定

反应体系中加入 1.9 mL 磷酸缓冲液和 1 mL 质量分数为 0.1% 的邻苯二酚溶液,在 37℃ 下保温 10 min 后,倒入 1 mL 比色皿中,迅速加入 0.1 mL 酶液,记录 410 nm 下的吸光度变化(每 30 s 记录 1 次吸光度,共记录 3 min),重复测 3 次,以每分钟吸光度改变 0.001 所需酶量为 1 个活力单位(0.001△A/min)。

1.3.2 温度对 PPO 活性的影响

以 0.1% 邻苯二酚 1.0 mL 为底物,分别在 10~100℃ 内的温度梯度下保温 10 min,然后按 1.3.1.1 方法分别于 410 nm 处比色测定 PPO 活性。

1.3.3 pH 对 PPO 活性的影响

配制 pH 值 2.0~9.0 的系列缓冲液,按 1.3.1.2 方法分别测定不同 pH 值的缓冲液与酶液及底物混匀后的吸光度。

1.3.4 护色剂对茭白色泽度的影响

1.3.4.1 单因素护色试验

表 1 护色液的种类和浓度对茭白护色效果的影响

试剂	质量分数/%				
抗坏血酸	0.05	0.10	0.15	0.2	0.25
氯化钙	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
柠檬酸	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0
L-半胱氨酸	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12

1.3.4.2 试验参数的优化

在单因素试验的基础上不断完善试验方案,优化

第一作者:硕士研究生。

收稿日期:2008-09-18,改回日期:2008-10-21

试验参数。选择抗坏血酸(A)、氯化钙(B)、柠檬酸(C)、L-半胱氨酸(D)和处理时间(E)为参试因子,采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验方案,将处理好的茭白用PVC薄膜袋在真空机上进行包装,操作参数:温度为中温,抽气时间20 s,热封时间1.9 s。包装完于6℃冰箱中放置15 d,用全自动测色色差计测其色泽度,以色泽度L值为评价指标,对护色效果进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 温度与PPO活性的关系

图1表明,茭白中PPO活性随温度升高而增强,36℃时活力最高,当温度继续上升时其活力开始下降。同时可以看出,温度的变化影响了酶的活力,酶的活力随温度下降到20℃后显著降低,80℃时茭白基本丧失酶活力,100℃时茭白丧失100%的活力。

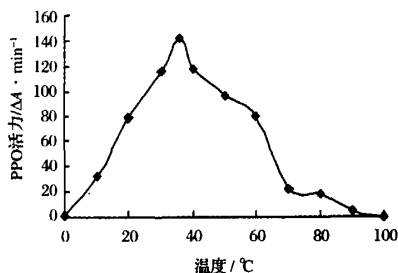


图1 温度与PPO活性的关系

### 2.2 pH值与PPO活性的关系

由图2可知,茭白中多酚氧化酶活力随pH值升高而增强,到pH 5.6时活力最高,继续升高到pH 7后活力下降。由图2可以看出,其酶活力最高时pH值为5.6,pH值对PPO活性影响显著,通过调节pH值能有效抑制PPO活力。在对茭白进行护色时必须考虑到pH值对护色效果的影响,以pH值2.0

~3.0时较为适宜。

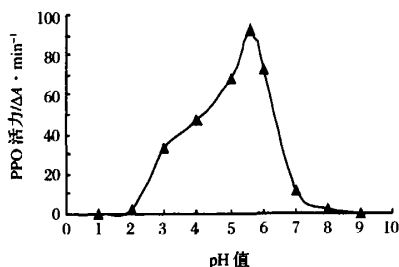


图2 pH值与PPO活性的关系

### 2.3 单一护色液对茭白色泽的影响

从图3可知,对茭白护色效果最好的是L-半胱氨酸,其次是柠檬酸,而抗坏血酸和 $\text{CaCl}_2$ 护色效果不理想,可能是因植物体内含有抗坏血酸氧化酶所致。而钙可同氨基酸结合为不溶性化合物,可以控制非酶褐变<sup>[3]</sup>。正由于二者抑制褐变的机理不同,因此单独护色后,产品的色泽有差异。L-半胱氨酸浓度为0.1%,茭白的色泽度达到87以上,柠檬酸浓度为0.8%,或抗坏血酸浓度为0.05%时,对茭白护色均能达到一定的效果。所以,在茭白加工过程中可以使用单因子抑制剂来处理抑制它的褐变。

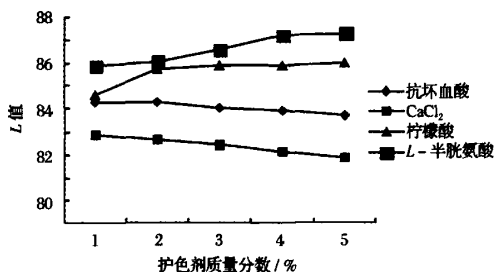


图3 单一护色剂对茭白护色效果的比较

### 2.4 复合护色液对茭白色泽的影响

表2 正交试验方案及结果

实验号	因 素					L(色差)值
	抗坏血酸/% (A)	$\text{CaCl}_2$ /% (B)	柠檬酸/% (C)	L-半胱氨酸/% (D)	时间/min (E)	
1	1(0.03)	1(0.02)	1(0.5)	1(0.04)	1(10)	84.18
2	1	2(0.04)	2(0.6)	2(0.06)	2(20)	82.61
3	1	3(0.06)	3(0.7)	3(0.08)	3(30)	84.16
4	1	4(0.08)	4(0.8)	4(0.10)	4(40)	84.76
5	2(0.05)	1	2	3	4	84.12
6	2	2	1	4	3	83.97
7	2	3	4	1	2	84.43
8	2	4	3	2	1	82.97

续表 2

实验号	因 素					L(色差)值
	抗坏血酸/%	CaCl <sub>2</sub> /%	柠檬酸/%	L-半胱氨酸/%	时间/min	
	A	B	C	D	E	
9	3(0.07)	1	3	4	2	88.69
10	3	2	4	3	1	86.57
11	3	3	1	2	4	82.83
12	3	4	2	1	3	85.42
13	4(0.09)	1	4	2	3	83.22
14	4	2	3	1	4	87.02
15	4	3	2	4	1	83.96
16	4	4	1	3	2	83.54
K <sub>1</sub>	335.71	340.21	334.52	341.05	337.68	
K <sub>2</sub>	335.49	340.17	336.11	331.63	339.27	
K <sub>3</sub>	343.51	335.38	342.84	338.39	336.77	
K <sub>4</sub>	337.74	336.69	338.98	341.38	338.73	
k <sub>1</sub>	83.93	85.05	83.63	85.26	84.42	
k <sub>2</sub>	83.87	85.04	84.03	82.91	84.82	
k <sub>3</sub>	85.88	83.85	85.71	84.6	84.19	
k <sub>4</sub>	84.44	84.17	84.75	85.35	84.68	
R	2.01	1.2	2.08	2.44	0.63	

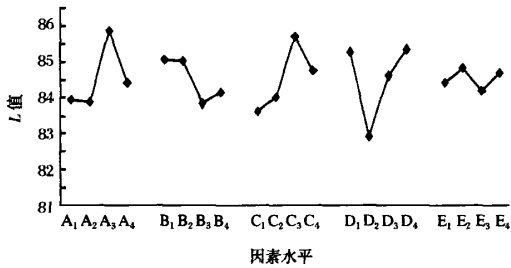


图 4 正交试验趋势图

采用正交试验对护色效果进行分析得出(表 2 和图 4),在所选择的因素水平中,对茭白褐变抑制的主要因素为 D>C>A>B>E,即对抑制茭白褐变起主导作用的是 L-半胱氨酸,其次为柠檬酸,再次为抗坏血酸,作用最小的为 CaCl<sub>2</sub>。最佳护色因子组合为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>4</sub>E<sub>2</sub>,即 L-半胱氨酸浓度为 0.1%、柠檬酸浓度为 0.7%、抗坏血酸浓度为 0.07%、CaCl<sub>2</sub> 浓度为 0.02%、处理时间 20min。经过该复合护色液处理的茭白,在整个实验期间内色白,无褐变现象产生。进一步通过方差分析确定最佳护色效果(表 3)。

表 3 护色正交试验方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	临界值
A	10.48	3	3.49	9.43	F <sub>0.05</sub> (3,3)=9.28
B	4.53	3	1.51	4.08	F <sub>0.01</sub> (3,3)=29.46
C	10.00	3	3.33	9.00	
D	15.35	3	5.17	13.97	
误差	1.1	3	0.37		
总和	41.46	15	2.76		

从表 3 可见,D 为高度显著因素,A、C 为显著因素,B 为次要因素,E 为最次因素。通过分析可知,浸泡时间对茭白护色的效果的影响不很显著,所以在茭白护色过程中采用 20 min 处理即可。因此,本试验确定茭白护色处理条件为:L-半胱氨酸浓度为 0.1%、柠檬酸浓度为 0.7%、抗坏血酸浓度为 0.07%、CaCl<sub>2</sub> 浓度为 0.02%、处理时间 20 min。

3 结 论

研究表明,以邻苯二酚为底物,茭白 PPO 最适温度为 36℃,最适 pH 值为 5.6。茭白护色研究所选择的 pH 值以 2.0~3.0 为宜。最佳的护色处理组合为 L-半胱氨酸浓度为 0.1%、柠檬酸浓度为 0.7%、抗坏血酸浓度为 0.07%、CaCl<sub>2</sub> 浓度为 0.02%、处理时间 20 min。经过该复合护色液处理的茭白,在整个实验期间内色白,无褐变现象产生。

参 考 文 献

- 冯双庆,赵玉梅. 水果蔬菜保鲜实用技术[M]. 北京:化学工业出版社,2004.248~249
- 李共国,陆胜民,马子骏. 脱水茭白加工工艺研究[J]. 食品工业科技,2001,22(3):37~39
- 宁正祥,赵谋明编著. 食品生物化学[M]. 广州:华南理工大学出版社,1995.293~298

## PPO Activity Determination and Anti-browning Measure for Wild Rice Stem

Ma Wenjin<sup>1,2</sup>, Liu Shuxing<sup>1</sup>, LingJiangang<sup>2</sup>, Pan Juzhong<sup>2</sup>

1(Shanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

2(Ningbo Academy of Agricultural Sciences Research, Ningbo 315040, China)

**ABSTRACT** Enzymatic browning normally occurs during procession of Wild rice stem and its quality was affected. In this study, the effect of temperature, PH on PPO(Polyphenol oxidase) activity were investigated. The results showed that PPO activity in wild rice stem was highest at 36°C and pH 5.6. When Wild Rice Stem soaked in mixed solution of L-Cys 0.1%, Citric acid 0.7%, Vc 0.07%, CaCl<sub>2</sub> 0.02% for 20min, no browning was found during the storage period.

**Key words** wild rice stem, polyphenol oxidase, anti-browning

(上接第 186 页)

## Separation of Linoleoyl Trehalose by HPLC Combined With Silica Gel Column Chromatography

Sun Yuee, Xia Wenshui

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**ABSTRACT** Linoleoyl trehalose was synthesized by enzymatic esterification in tert-butanol solvent system. Reverse High performance liquid chromatography (rHPLC) combined with silica gel column chromatography was developed for the separation of the linoleoyl trehalose. The eluted solution was evaporated and vacuum freeze-dried to obtain linoleoyl trehalose. Electrospray ionization mass spectrometry (MS), <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H NMR) and <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance (<sup>13</sup>C NMR) were applied for structure conformation. The results showed that the sample identical to linoleoyl trehalose. The method was of high in capacity and efficiency in separation.

**Key words** linoleoyl trehalose, immobilized lipase, high performance liquid chromatography (HPLC), silica gel column chromatography, nuclear magnetic resonance

市场动态

### 中国多项食品产量列世界第一 产值比 1978 年增加 68.3 倍

改革开放 30 年,中国已从一个食品供应短缺的国家发展成为世界食品工业生产大国。在武汉举行的第十七届中国食品博览暨交易会上,中国食品工业协会会长王文哲表示,2007 年中国食品工业实现产值 32 665.80 亿元,比 1978 年的 471.70 亿元增长 68.3 倍,取得了每 10 年双倍增长的可喜成就。

在过去的 30 年中,中国食品工业成就辉煌,从供应短缺到世界食品工业生产大国,从半封闭状态到全方位多层次宽领域的对外开放,中国食品工业整体面貌发生了历史性巨变。到 2007 年,中国大米、小麦粉、食用植物油、鲜冷藏冻肉、饼干、果汁及果汁饮料、啤酒、方便面等产品产量已位居世界第一或世界前列。

全国食品工业去年的销售收入同比增长 30.11%,2008 年前 3 季度,同比增长 32.51%,2008 年全年全国食品工业销售总收入总量有望达到 40 000 亿元。

改革开放 30 年,中国食品行业的生产力得到了极大的解放和发展,已形成门类齐全的生产体系和较为完整的产业链,竞争力和综合实力显著增强。2007 年全国食品行业实现利税 5 482 亿元,其中利润 2 355 亿元,分别比效益较好的 1983 年增长 34 倍和 45 倍。