

微波辐射对甘蔗氧化酶活性抑制作用的研究^{*}刘慧霞¹ 李 青¹ 李 琳² 郭祀远²

1(广西大学生物技术与糖业工程学院, 南宁, 530004)

2(华南理工大学轻化工研究所, 广州, 510640)

摘 要 采用微波辐射方法抑制或破坏甘蔗中氧化酶的活性。通过检测甘蔗在微波处理前后的氧化酶活性变化情况, 证实中等强度或中高强度微波处理 4 min, 或高强度微波处理 2 min, 即可取得抑制甘蔗中多酚氧化酶的最佳效果, 从而降低蔗糖汁的色值。

关键词 微波 氧化酶 蔗汁 OD 值

蔗汁中的酚类物质被氧化时会生成醌类化合物, 在加热或有铁离子存在等条件下将进一步聚合成大分子深色物质——黑素(melanin)。而蔗汁中的酪氨酸则易被多酚氧化酶催化氧化为邻苯二酚丙氨酸(dihydroxyphenylalanine), 即 DOPA, 它会与高价铁反应生成深色物质。因此, 黑素和 DOPA 的存在是造成制糖工业糖汁和白砂糖着色的主要因素^[1,2]。

蔗汁中的氧化酶对酚类物质、酪氨酸和低价铁均具有极强的催化氧化作用, 其催化效率比无机催化剂高 $10^7 \sim 10^{13}$ 倍, 比 Fe^{3+} 高 10^9 倍, 故蔗汁中氧化酶的存在能使蔗汁在压榨过程中快速致色, 并在后续的加热处理时使糖汁的颜色更快速加深^[3], 增加了工业运行成本。因此, 在蔗糖生产过程中抑制氧化酶的活性是非常重要的。

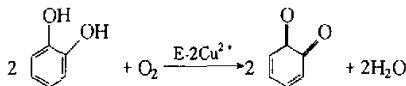
本论文采用微波新技术处理甘蔗原料, 使其中的氧化酶钝化或失活, 从而减缓酚类物质和酪氨酸的氧化作用, 减少黑素和 DOPA 的生成等, 使蔗糖生产过程能获得色值较低的清汁。


1 实验过程与方法

1.1 多酚氧化酶测定原理^[4,5]

^{*} 第一作者: 学士, 副教授。
国家自然科学基金资助项目(No. 29870001)
收稿时间: 2001-02-17, 改回时间: 2001-07-09

多酚氧化酶含铜离子, 能直接利用氧分子为受氢体, 反应产物是 H_2O 。多酚氧化酶可发生 Cu^+ 与 Cu^{2+} 的互变, 起传递电子作用。将邻苯二酚加入磷酸缓冲液中溶解, 作为与蔗汁氧化酶反应的底物, 发生如下反应:



反应产物邻醌  经过相互作用生成高分子聚合物, 同时与氨基酸或蛋白质作用生成高分子络合物而生成褐色素。通过分光光度计测定初级代谢产物褐色素的光吸收值(OD 值)而确定褐色素的相对含量。

1.2 实验原料

本论文采用微波加热法对甘蔗原料进行处理。通过测定不同微波强度下不同辐射时间的甘蔗原料的 OD 值, 与空白样比较, 获取氧化酶的剩余活力值, 最终得到破坏多酚氧化酶的最佳条件。

实验过程所使用的新鲜甘蔗在广西大学农学院实验田砍收, 而蔗料则由南宁市金光糖厂提供(蔗料在第 2 座蔗刀机出口处采集), 所有甘蔗和蔗料均冰冻待用。

1.3 实验方法

甘蔗和蔗料各自随机分为2组:第1组为空白样品,未经任何处理,直接压榨得蔗汁作为对照测定;第2组则经过微波辐射处理,压榨取蔗汁进行多酚氧化酶活性测定。

1.3.1 微波辐射处理条件

(1)分别取3批样品在中等强度微波条件下(微波辐射时均功率为320 W)处理2~5 min。

(2)取4批样品在中高强度微波条件下(微波辐射时均功率为450 W)处理2~4 min。

(3)取4批样品在高强度微波条件下(微波辐射时均功率为650 W)处理2~4 min。

1.3.2 多酚氧化酶活性的测定^[3]

准确称取220 mg的邻苯二酚,溶解在pH6.8、浓度为0.05 mol/L的磷酸缓冲液中,配制成0.02 mol/L邻苯二酚溶液作为多酚氧化酶的底物,保存备用。

分别取一定量空白样品和经微波处理后的样品,压榨取蔗汁按编号依次过滤备用。

用精密进样器吸取不同编号的蔗汁0.2 mL加入3 mL邻苯二酚溶液中,快速摇匀,进行酶促反应,然后在751G型紫外分光光度计 λ 为398 nm处比色测量OD值,每隔30 s记录一次读数,每个样液记录3 min。

1.4 确定最适底物量和蔗汁反应量

量取2、3、4 mL底物量,分别加入0.15、0.20、0.30、0.40、0.50 mL的蔗汁,按1.3.2的方法测OD值,作出不同的曲线,寻找出反应最佳蔗汁量和反应底物量。实验结果如表1和表2所示。

表1 选择酶促反应最适蔗汁量的实验结果(OD值)

反应持续 时间/s	0.15 mL 蔗汁	0.20 mL 蔗汁	0.30 mL 蔗汁	0.40 mL 蔗汁	0.50 mL 蔗汁
0	0.610	0.620	1.00	1.15	1.35
30	0.660	0.700	1.08	1.19	1.40
60	0.685	0.730	1.10	1.20	1.42
90	0.700	0.750	1.12	1.24	1.45
120	0.720	0.770	1.15	1.25	1.47
150	0.740	0.785	1.18	1.27	1.48
180	0.750	0.785	1.19	1.29	1.49

表2 选择酶促反应最适底物量的实验结果(OD值)

反应持续时间/s	2 mL 底物	3 mL 底物	4 mL 底物
0	0.500	0.590	0.560
30	0.530	0.650	0.620
60	0.549	0.680	0.660
90	0.565	0.700	0.680
120	0.580	0.715	0.700
150	0.590	0.730	0.710
180	0.600	0.745	0.720

根据表1和表2的实验结果可知,3 mL底物量和0.1~0.2 mL蔗汁量是本研究进行酶促反应的最佳量。

2 结果与分析

通过测定不同微波强度、不同处理时间的甘蔗或蔗料的压榨蔗汁酶促反应处理后的OD值,与空白样品的OD值比较分析,以得到抑制多酚氧化酶活性的最佳条件。

2.1 微波抑制多酚氧化酶活性的实验结果

2.1.1 中等强度微波辐射的抑制实验

图1给出以320 W的微波时均功率对甘蔗原料进行处理后对蔗汁中多酚氧化酶活性的抑制效果。

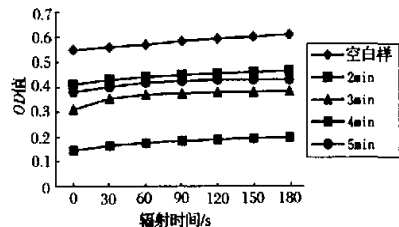


图1 320 W微波时均功率辐射抑制多酚氧化酶活性的效果

从图1可以看出,甘蔗经过中等强度的微波辐射处理2~5 min后,不论处理时间的长短,其多酚氧化酶的量与空白样相比较都有所减少。这就说明微波辐射可有效地抑制多酚氧化酶的活性。

对不同的微波辐射处理时间,几组蔗汁的氧化酶活性的排列顺序为:空白>2 min>5 min>3 min>4 min,可以看出,经微波处理

后多酚氧化酶活性随微波辐射处理时间的加长而下降,氧化酶量降得最低的是 4 min 试样。5 min 辐射所得的蔗汁 OD 值曲线反而在 3 min 曲线之上,说明长时间微波辐射产生的高温会导致糖汁发生某些化学反应而可能生成新的色素^[1],因此,在一定的微波处理功率下必须选择合适的处理时间。

2.1.2 中高强度微波辐射的抑制实验

450 W 的微波时均功率对甘蔗原料进行处理后对蔗汁中多酚氧化酶活性的抑制效果如图 2 所示。

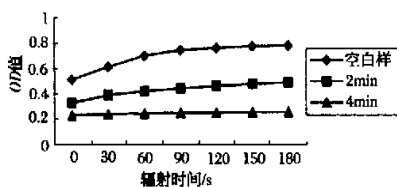


图 2 450 W 微波时均功率辐射抑制多酚氧化酶活性的效果

图 2 的曲线表明,经过中高强度的微波辐射处理的各个甘蔗样与空白样对比,多酚氧化酶量都有所减少,说明中高强度的微波加热能有效地抑制或破坏酶的活性。而且,实验组蔗汁的多酚氧化酶量随辐射时间的变化顺序为:空白样>2 min>4 min。由于辐射 4 min 的曲线呈平缓状态,说明经 4 min 处理后的甘蔗中的多酚酶活性已遭较彻底的抑制。

2.1.3 高强度微波辐射的抑制实验

以 650 W 的高强度微波时均功率对甘蔗原料进行处理后对于蔗汁中多酚氧化酶活性的抑制效果如图 3 所示。

从图 3 的曲线可以看出,高强度的微波辐射处理 2 min 后的 OD 值最低,且曲线平缓,说明高强度微波只需 2 min 就已经有效地抑制了多酚氧化酶。而 4 min 试样的 OD 值曲线在 2 min 试样的曲线上方,说明高强度的微波辐射处理时间稍长就会导致高温而易导致蔗汁生成了另类色素。

2.2 结果讨论

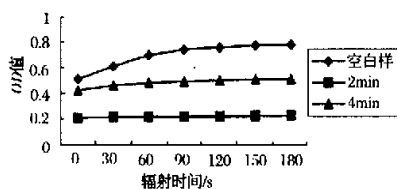


图 3 650 W 微波时均功率辐射抑制多酚氧化酶活性的效果

(1)上述实验证明,不论微波辐射强度大小多少,2~4 min 的微波辐射加热对抑制或破坏甘蔗中多酚氧化酶的活性有较显著的效果。

(2)从图 1、图 3 可看出,长时间(5 min)微波处理和高强度微波辐射处理所导致的蔗汁高温作用结果,一方面会破坏和抑制酶的活性,阻止氧化酶发生酶褐变作用(enzymatic browning reaction),减少黑素的生成^[4],但另一方面却又可能造成蔗糖的转化、还原糖分解和 pH 值变化等,说明高温对蔗汁的其他非酶反应致色有较强烈的作用^[1],同时也说明微波处理法的关键是控制好微波辐射强度和处理时间。

(3)本次实验分别采用冰冻过的甘蔗、蔗料和新鲜的甘蔗作实验原料。有关文献资料报道,酶具有在低温(4℃以下)条件下保持活性的能力。而冰冻后再解冻,由于溶剂分子冰晶化过程的机械破坏,会不同程度地影响氧化酶的活性,破坏的程度因酶类而异。有关的文献资料已证明,经冰冻再解冻的蔗料中的多酚氧化酶量变化并不明显。

3 结 论

(1)用微波辐射加热法抑制或破坏多酚氧化酶,可达到减缓蔗汁致色的目的。本研究的实验结果将为抑制甘蔗中多酚氧化酶活性找到一条有效途径。

(2)不同强度、不同时间的微波辐射处理对蔗汁氧化酶活性的抑制程度不一样,关键是控制好微波辐射强度和处理时间,过高强度或过长时间的微波处理反而会导致蔗汁变

色。在中等强度和中高强度的微波中处理 4 min 可取得最佳抑制多酚氧化酶活性的效果,而高强度微波处理 2 min 即可。

参 考 文 献

- 1 沈参秋. 糖品物色香味化学. 广州:华南理工大学出版社, 1994. 45~77
- 2 Shore M et al. Sugar Tech. Reviews, 1984

(12):1~99

- 3 [奥]Hpaton N, Mecowogee R J. 甘蔗糖业. 1988, (2):40~48
- 4 [日]清水祥-小林猛, 奥田润, 杉本悦郎. 酶分析法原理和应用. 上海:上海科学技术文献出版社, 1985. 1~85
- 5 郭勇. 酶工程. 北京:中国轻工业出版社, 1999. 190~267, 325~380

Influence of Microwave Irradiation on the Activity of Oxidase in Cane Juice

Liu Huixia¹ Li Qing¹ Li Lin² Guo Siyuan²

1(College of Biotechnology and Sugar Industry, Guangxi Univ., Nanning, 530004)

2(Light and Chemical Industry Institute, South China University of Technology, Guangzhou, 510640)

ABSTRACT The microwave irradiation was used to inhibit the activity of the oxidase in sugar cane. The activities of the oxidase in the sugar cane juice were measured with and without microwave irradiation. It was verified that the best result of inhibiting polyphenol oxidase can be made with medium or higher medium microwave irradiation for 4 min or with high microwave irradiation for 2 min, and then the color of the cane juice can be lowered.

Key words microwave, oxidase, cane juice, OD value

富 利 达



张家港市捷达化工机械制造有限公司



产品型号:

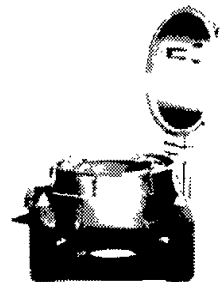
SS(300~1500) 三足式人工上卸料
SG(800~1250) 三足式调速刮刀下卸料
SX(800~1250) 三足式人工下卸料
SGZ(800~1250) 三足式全自动下卸料
SSC(600~1200) 三足式沉降上卸料
SS(300~1500) 三足式无基础离心机
SD(800~1250) 三足式吊袋离心机
液压式板框压滤机

产品材质:

不锈钢、碳钢、衬胶、衬塑、钛材、铜二钛
通讯地址:江苏张家港市乐余镇牡丹新村五幢 204 室
总 经 理:孙永达 联系人:陈丽娟
电 话:0520-8966098 传真:0520-8966099
手 机:013906242732 013616246997
值班电话:0520-8660652 邮编:215621
电子邮件:Sund@sinochemicals.com



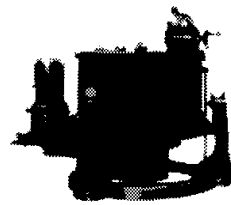
SS300-SS1500型
抗震无基础离心机



SD800-SD1250型吊袋离心机



SGZ800-SGZ1250型全自动离心机



SG800-SG1250型
调速手动刮刀离心机