

鲜切茄子酶促褐变的过氧化物酶的特性研究

刘春丽¹, 陈欲云²

(1. 四川理工学院生物工程学院, 四川 自贡 643000; 2. 四川理工学院化学与制药工程学院, 四川 自贡 643000)

摘要:鲜切茄子在切片、贮藏和货架销售过程中易发生酶促褐变,从而降低其品质。文章对鲜切茄子褐变的过氧化物酶的酶学特性进行了深入研究。结果表明:茄子皮的过氧化物酶活性略高于茄子肉,过氧化物酶的最适 pH 为 6 左右,在 pH6~8 范围内较稳定;该酶的最适反应温度为 40℃左右,对热稳定性较差,90℃加热 4 min,过氧化物酶完全失去活性。考察了抗坏血酸、L-半胱氨酸、亚硫酸氢钠对茄子过氧化物酶的抑制作用,其抑制效果依次是抗坏血酸>L-半胱氨酸>亚硫酸氢钠。

关键词:鲜切茄子;酶学特性;过氧化物酶

中图分类号:S667

文献标识码:A

净菜是近年来兴起的一种蔬菜加工形式,净菜经过预处理,确保了蔬菜的新鲜、方便、营养、深受消费者的喜爱。茄子经过挑选、清洗、切分、调味、保鲜生产切片,是一种新鲜的净菜生产方式。然而,鲜切茄片在贮藏和货架销售过程中容易发生酶促褐变、营养物质损失,从而缩短产品的货架期。过氧化物酶是引起果蔬褐变的关键酶类,它能催化过氧化物对酚类物质的氧化,导致组织褐变。目前认为过氧化物酶是参与果蔬褐变的重要酶类^[1]。本试验主要研究了鲜切茄子的过氧化物酶的酶学特性、影响过氧化物酶活性的因素,分析了抑制剂对其褐变的影响,为防止鲜切茄子在加工、贮藏过程中的酶促褐变提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

茄子为市场选购的新鲜肥嫩,肉质致密、无病虫害和机械损伤的长条紫皮茄子。

1.2 仪器与设备

721 型分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);电子天平(北京泽祥恒达科技发展公司);酸度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 茄子过氧化物酶粗酶液的提取

称取一定量的茄子,去皮,切成小块,添加重量 2% 的 PVPP,在低温条件下用不同料液比、不同浓度、不同 pH 的磷酸缓冲液匀浆提取,纱布过滤后,用 4 000 r/min 离心 30 min,上清液即为 POD 粗酶液^[2]。

1.3.2 过氧化物酶活测定方法

参照张志良的方法,进行一定修改^[3]。测定反应体系(含有 1 mL 0.1 mol/L 愈创木酚,0.1 mL 过氧化氢,1.8 mL 0.1 mol/L pH 为 6.5 的磷酸缓冲液和 0.1 mL 酶液)在 470 nm 条件下吸光度的增加值。从酶液加入开始计时,每 30 s 记录一次 OD 值,以最初直线段的斜率计算酶活。以吸光度的变化来表示 PPO 酶活的大小,即 OD₄₇₀ 表示。

1.3.3 pH 对茄子 POD 活力的影响

1.3.3.1 POD 的最适 pH

配制不同 pH 值的缓冲溶液,建立反应体系,测定不同 pH 下 POD 酶活大小。

1.3.3.2 pH 稳定性

将酶液加入到配制好的不同 pH 值的缓冲液中,于 4℃ 下放置 24 h,然后按酶活测定方法测定残余的 POD 活性。

1.3.4 温度对茄子 POD 活力的影响

1.3.4.1 最适反应温度

收稿日期:2012-02-10

作者简介:刘春丽(1981-),女,重庆合川人,助理实验师,硕士,主要从事食品化学与营养方面的研究,(E-mail)56007549@qq.com

按 POD 活性测定方法建立反应体系,分别于 30 ℃、40 ℃、50 ℃、60 ℃、70 ℃ 热水中预先保温 5 min,再加入酶液测定酶活。

1.3.4.2 热稳定性

将酶液在 60 ℃、70 ℃、80 ℃、90 ℃ 下不同温度条件下保温 10 min,且每隔 2 min 测定其 POD 活力,以最适宜条件下所检测的酶活力为基数计算各个温度条件下的相对酶活力。

1.3.5 抑制剂对茄子 POD 活力的影响

分别向酶液中加入不同剂量的抗坏血酸,谷胱甘肽、亚硫酸氢钠,建立反应体系,测定酶活,考察不同抑制剂的作用。

2 结果与分析

2.1 茄子 POD 反应进程曲线

在 1 mL 0.1 mol/L 底物中加入 1.7 mL pH 为 6.5 的磷酸缓冲液,0.1 mL 过氧化氢和 0.2 mL POD 粗酶液,立即测定 0.5 min 至第 9 min 的吸光度,时间间隔为 30 s,结果如图 1 所示。

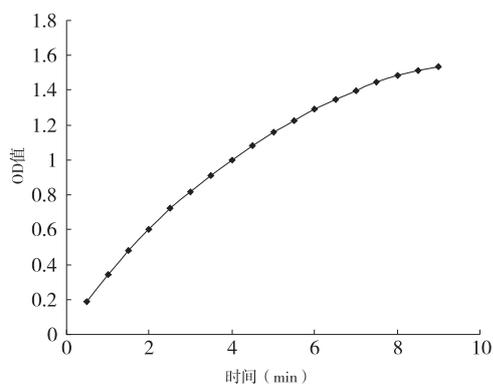


图 1 茄子 POD 反应进程曲线

从图 1 可知,反应在最初 2 min 左右内 OD 值变化很快,呈线性关系,随着反应进程的进行,反应速度降低,呈缓慢上升趋势,这表明反应的初始直线阶段为 2 min 左右。

2.2 茄子不同部位 POD 活力比较

分别测定了茄子肉和表皮的 POD 活力,结果如图 2 所示,茄子表皮 OD 值为 0.392,而茄子肉的 OD 值为 0.351,可见茄子肉的 POD 活性略低于茄子表皮。

2.3 pH 对茄子 POD 活力的影响

由图 3 可知,不同 pH 下 POD 活性差别很大。当 pH 在 3.0 以下时,随 pH 升高,POD 活性增加缓慢;当 pH 大于 3 时,POD 活性快速增加,当 pH 为 6 左右时,POD

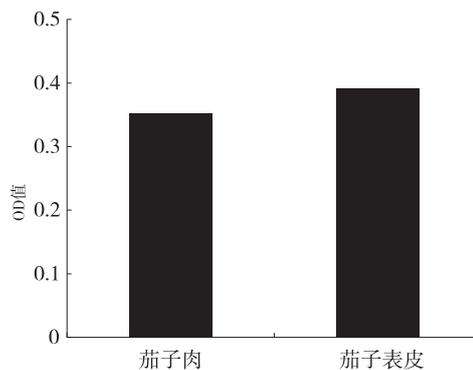


图 2 茄子肉和表皮的 POD 活力比较

活力最高,即最适 pH。而当 pH 值继续上升,POD 则呈直线下降趋势。这说明偏酸和偏碱环境可以使酶变形而降低其活力,调节 pH 值偏离 6 较远时,可有效抑制 POD 酶活。已有研究表明,藕 POD 最适 pH 值为 5.0^[4],雪莲为 6.0^[5],石榴果皮为 6.5^[6],这表明虽然 pH 值对不同植物来源的 POD 影响不同,但可以看出植物中 POD 的最适 pH 基本都在 6 附近的弱酸环境下。茄子 POD 的 pH 稳定性如图 4 所示,在 pH 为 6~8 之间该酶比较稳定,而 pH 为 3~4 时几乎不能检测到残余酶活性。POD 在低 pH 条件下完全失去活性是由于低 pH 条件使 POD 失去了亚铁原卟啉组分,该组分是构成 POD 结构及活性中心的必须组分。

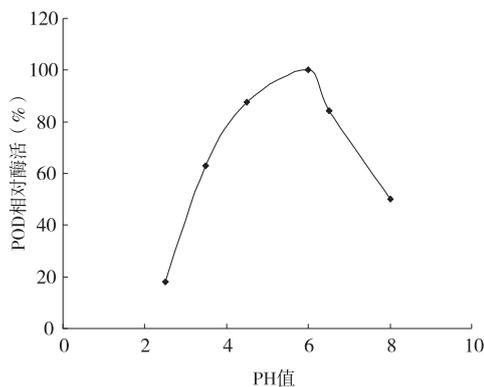


图 3 茄子 POD 的最适 pH

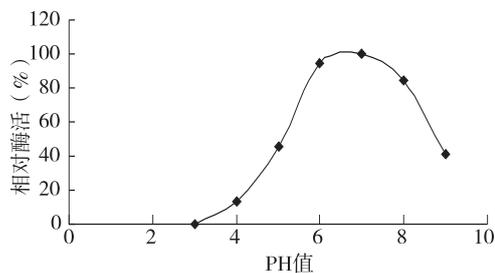


图 4 茄子 POD 的 pH 稳定性

2.4 温度对茄子 POD 活力的影响

结果如图5所示,温度对茄子过氧化物酶活力影响显著,该酶的最适温度为40℃,在40℃~50℃之间保持了较高的活力。当温度超过50℃,酶活力迅速下降。热稳定性实验结果如图6所示,POD酶在温度50℃~60℃中保温10min时,酶活保持稳定,基本变化不大。当温度在70℃以上时,POD酶在保温4min后,酶活下降了60%以上;90℃处理4min后,POD酶失活,反应液放置一段时间后,无颜色变化,这表明对茄子进行高温短时处理可使酶完全钝化。

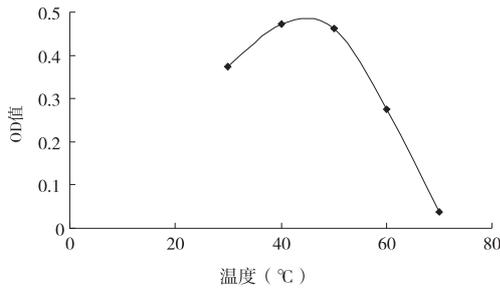


图5 温度对茄子 POD 活力的影响

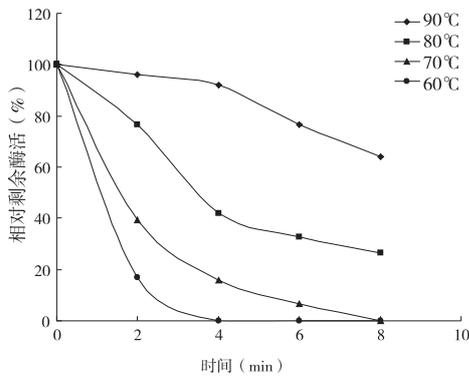


图6 茄子 POD 热稳定性

2.5 抑制剂对茄子果肉 POD 活力的影响

由图7和图8可知,抑制剂作用由强到弱依次为:抗坏血酸,L-半胱氨酸,亚硫酸氢钠。当抗坏血酸浓度为3mmol/L时,测得POD酶活为0,但在试验中发现在观察3分钟后,POD酶又启动反应。随着抗坏血酸浓度的提高,POD酶延迟反应时间加长,当抗坏血酸浓度达到20mmol/L,观察24h后,POD酶不反应。这表明,抗坏血酸本身不能使POD酶失活,而是使POD氧化生成的有色物质醌类立即还原成酚类,而当抗坏血酸消耗完后,POD酶仍继续反应,生成黑色素。另一方面,当抗坏血酸浓度增大到一定的量后,能够完全抑制POD酶活,这与蒲彪的研究一致^[7]。L-半胱氨酸作为一种还原剂,既能消耗蔬菜组织中的氧,又可与酶促褐变底物反

应生成的醌类化合物进行加成,使其不再进一步形成黑色素。亚硫酸氢钠虽有较好的抑制作用,但在完全抑制时所需浓度较大,为0.5mol/L,而其在食品的添加中有严格的限量。

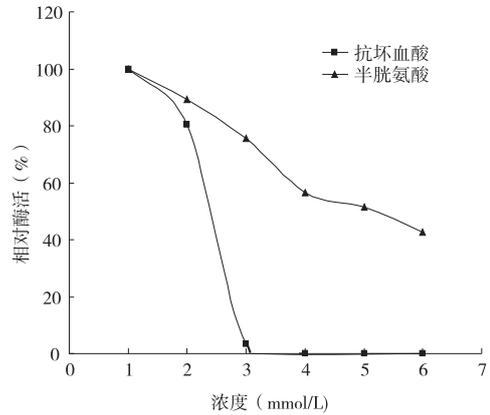


图7 抗坏血酸、L-半胱氨酸对酶活的影响

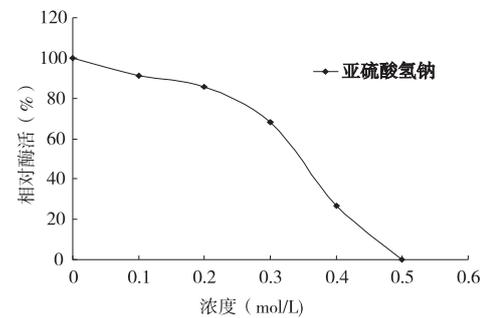


图8 亚硫酸氢钠对酶活的影响

3 结论

(1)以愈创木酚为底物测定茄子POD活性时,茄子表皮OD值为0.392,而茄子肉OD值为0.351,可见茄子肉的POD活性略低于茄子表皮。

(2)茄子POD的最适反应pH值为6,在pH值6~8之间该酶活力较稳定,而当pH值3~4时几乎不能检测到酶活力,这表明在偏酸条件下,可有效抑制POD酶活。

(3)茄子POD的最适反应温度为40℃,在热稳定性实验中,当温度在70℃以上时,POD酶保温4min,酶活下降60%以上;而90℃处理4min后,POD酶完全失活,这说明对茄子进行高温短时处理可使酶完全钝化。

(4)抑制剂对茄子POD酶的抑制作用由强到弱依次为:抗坏血酸,L-半胱氨酸,亚硫酸氢钠;而抗坏血酸在低浓度3mmol/L时,具有抑制暂时性,只有当浓度达到20mmol/L时,POD酶才完全失活;亚硫酸氢钠在低浓度时,抑制效果较差,只有当浓度为0.5mol/L时,才能完全抑制POD酶活。

参 考 文 献:

- [1] Tian S P, Xu, Jiang A L, et al. Changes in enzymatic activity and quality attributes of late-mature peaches in response to controlled atmosphere conduction[J]. *Agric Sci in China*, 2001, 1(2): 207-212.
- [2] 陈欲云, 杨跃寰, 刘春丽, 等. 蚓激酶提取条件的优化与酶活性测定[J]. *四川理工学院学报: 自然科学版*, 2011, 24(6): 643-645.
- [3] 张志良, 翟伟菁. *植物生理学实验指导*[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [4] 阙瑞琦, 张丽丽, 郭小路, 等. 莲藕过氧化物酶的分离纯化及性质研究[J]. *西南大学学报*, 2007, 29(12): 63-67.
- [5] 周向军, 高义霞, 张生财. 雪莲果过氧化物酶的特性和抑制研究[J]. *中国酿造*, 2011(1): 109-111.
- [6] 冯晓霞, 张有林. 石榴果皮过氧化物酶动力学特性的研究[J]. *试验研究*, 2009(6): 77-80.
- [7] 蒲彪, 李庆. 几种柑橘果实白皮层中过氧化物酶特性的比较研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(6): 123-126.

Study on the Characteristics of Enzyme Browning of Peroxidase in Fresh-cut Eggplant

LIU Chun-li¹, CHEN Yu-yun²

(1. School of Bioengineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China;

2. School of Chemistry and Pharmaceutial Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract: Enzyme browning is likely to occur in the process of cut, storage and sell of fresh-cut eggplant, which lower the quality of eggplant. The enzymology properties of peroxidase in the browning of fresh-cut eggplant is lucubrated. The results showed the activity of peroxidase of the skin is slightly higher than the flesh and the optimum pH of peroxidase was 6. Peroxidase is stable when the pH ranges from 6 to 8. the The optimum temperature of peroxidase was 40℃ and it is not stable in the heat. Peroxidase lost its activity completely when it was heated at 90℃ for 4 minutes. This paper studied the inhibiting effect of Vc, citric acid and NaHSO₃ on the activity of peroxidase of eggplant, and the result was Vccitric acid NaHSO₃.

Key words: fresh-cut eggplant; enzymology properties; peroxidase