View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Xiamen University Institutional Repository

第 49 卷 第 2 期 厦门大学学报(自然科学版) Vol. 49 No. 2
2010 年 3 月 Journal of Xiamen University (Natural Science) Mar. 2010

# 亚硫酸氢钠在马铃薯切片过程中防褐变作用机理的研究

王 伟,胡泳华,黄 浩,杨美花,潘志针,陈清西*
(厦门大学 生命科学学院,滨海湿地生态系统教育部重点实验室,福建 厦门 361005)

**摘要**:多酚氧化酶(PPO)是蔬果酶促褐变的关键酶,抑制该酶活性是防止蔬果褐变的有效措施.在实验中发现 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 具有显著的抑制作用及在马铃薯切片护色中具有防褐变功能.实验结果表明:马铃薯 PPO 催化 *L*-多巴形成的褐变物质在 475 nm 波长处有特征性的吸收峰,并且该吸收峰随着 $NaHSO_3$ 浓度的增加明显降低. $NaHSO_3$ 的抑制作用表现为不可逆效应,既可以延长酶促反应的迟滞时间,也降低了稳态的酶活力.当 $NaHSO_3$ 浓度增至 0.12 mmol/L 时,酶促反应的迟滞时间从 0 延长至 56 s,稳态的酶活力下降了 35.5 %.在马铃薯切片保鲜实验中,对照组在第 3 天褐变指数达到 2,第 6 天已经完全褐变,而 50 mmol/L $NaHSO_3$ 处理的实验组在第 6 天褐变指数仅为 0.6,有效遏制了马铃薯切片的酶促褐变,实验显示,$NaHSO_3$ 通过抑制马铃薯 PPO 活力实现防褐变的效应.

**关键词**:马铃薯;多酚氧化酶;亚硫酸氢钠;防褐变

**中图分类号**:Q 356.1 **文献标识码**:A **文章编号**:0438-0479(2010)02-0256-04

多酚氧化酶(EC 1.14.18.1,简称 PPO)是生物体色素合成的关键酶,它在蔬果酶促褐变中起着重要作用[1-2].它能将邻位二羟基苯丙氨酸(*L*-多巴)氧化成多巴醌,经过一系列反应生成引起褐变的色素物质,引起果蔬褐变,影响了果蔬的色泽和品质,同时醌类物质会与蛋白质的某些基团(如 —SH, —$NH_3$)结合,使蛋白质发生结构改变而降低营养价值[3].现在生产上通常采用物理或化学方法抑制 PPO 活性解决果蔬褐变的问题.有文献报道苯甲酸衍生物、4-乙基间苯二酚、半胱氨酸及柿叶乙醇提取物等对 PPO 具有抑制作用和防褐变功能[4-8],也有文献报道硼酸、抗坏血酸、氯化钙等对鲜切马铃薯具有抗褐变效果[9-10].我们在本实验中,研究了 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 的抑制作用,通过酶促动力学分析对抑制机理进行探讨,为寻找安全、有效地防止褐变的化学物质奠定基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

马铃薯(无花种)由福建农林大学薯类研究所提供;$NaHSO_3$ 为上海化学试剂公司产品;*L*-多巴(*L*-DOPA)为 Aldrich 产品;马铃薯 PPO 由本实验室参考文献[4]方法提取,酶的比活力为 747 U/mg.其它试剂均为分析纯,所用蒸馏水均为去离子重蒸水.

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 PPO 的酶活力测定

按文献[11]方法,在 3.0 mL 0.05 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 6.8)的测活体系中,以终浓度为 0.5 mmol/L *L*-DOPA 为测定二酚酶活力的底物,加入 100 μL PPO 液体,于 Beckman DU-650 分光光度计,在恒温 30 ℃条件下测定波长为 475 nm 的光密度值随时间的增长直线,从斜率计算酶的活力,消光系数按 3 700 L/(mol·cm)计算[12].酶活力单位(U)定义为每分钟催化 *L*-DOPA 氧化产生 1 μmol 的产物的酶量. $NaHSO_3$ 对酶活力影响实验参考文献[13]的方法,检测产物的生成量随时间的变化.

#### 1.2.2 马铃薯保鲜研究

将新鲜去皮的马铃薯,切成 2 mm 厚的薄片,放入保鲜试剂中浸泡 2 min 后取出沥干,置于纸碟中,每碟放 10 片,用保鲜膜封好后置于 4 ℃条件下保存.每隔 1 d 由 6 人评价小组对马铃薯切片进行观察,对褐变情况进行感官评价并做方差分析,确定褐变等级(表 1),

褐变指数 = $\sum$(切片数 ×褐变等级)/总切片数.

## 2 结果与分析

### 2.1 PPO 催化 L-DOPA 氧化的吸收光谱

收稿日期:2009-07-25
基金项目:国家自然科学基金项目(30570408);国家科技支撑计划专项(2007BAD07B06);福建省重点科技项目(2007N0051)
*通讯作者:chenqx@xmu.edu.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　马铃薯切片护色的感官评价标准

Tab. 1　The standard of visional assessment for anti-browning of potato slices

| 褐变程度 | 感官现象 | 褐变等级 |
|---|---|---|
| 无 | 色泽鲜亮 | 0 |
| 轻 | 微红褐色 | 1 |
| 中等 | 浅红褐色 | 2 |
| 严重 | 红褐色 | 3 |
| 非常严重 | 深红褐色 | 4 |

马铃薯 PPO 在 pH 6.8 的磷酸缓冲液中催化 *L*-DOPA 形成多巴醌,进一步生成褐色的化合物质,此物质在 475 nm 波长处有特征的吸收峰(图 1),其随着反应时间的延长而呈直线上升趋势(图 1 内插图). 因此,在 475 nm 处监测产物的生成量随时间变化的关系,即可分析酶催化反应的活力.

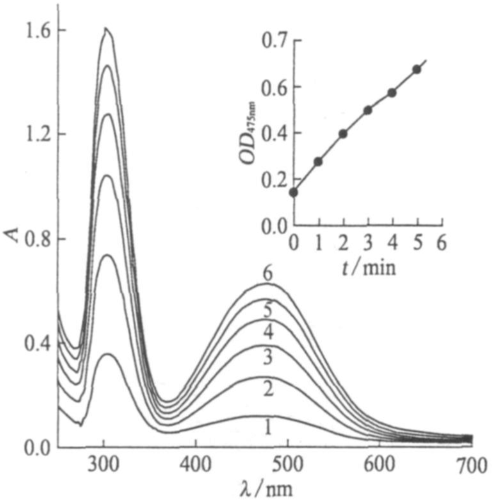



图 1　马铃薯 PPO 催化 *L*-DOPA 氧化过程的吸收光谱

曲线 1～6 反应时间分别为 0,1,2,3,4 和 5 min;内插图为 475 nm 处的吸收峰与反应时间的关系

Fig. 1　Absorbance spectra of potato polyphenol oxidase during the oxidation of *L*-DOPA

## 2.2　$NaHSO_3$ 对产物吸收光谱的影响

研究 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 催化 *L*-DOPA 氧化反应活力的影响,以 0.5 mmol/L *L*-DOPA 为底物,在测活体系中加入不同浓度的 $NaHSO_3$,观察酶催化反应 5 min 后的吸收光谱变化. 结果(图 2)表明,475 nm 产物特征吸收峰随着 $NaHSO_3$ 浓度增大而下降. 说明 $NaHSO_3$ 能阻止产物的生成.

## 2.3　$NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 活力的效应

在含 0.5 mmol/L 的 *L*-DOPA 测活体系中,以各种浓度的 $NaHSO_3$ 为效应剂,研究 $NaHSO_3$ 对马铃薯

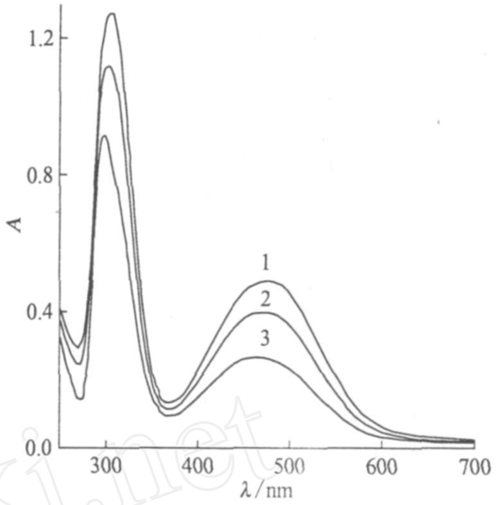



图 2　$NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 催化 *L*-DOPA 氧化的吸收光谱的影响

曲线 1～3 的 $NaHSO_3$ 浓度分别为 0,0.04 和 0.08 μmol/L,反应时间为 5 min

Fig. 2　Effect of $NaHSO_3$ on the absorbance spectra of potato PPO during the oxidation of *L*-DOPA

PPO 活力的影响. 在 475 nm 波长处监测产物的生成量随反应时间的变化,分析酶催化反应的活力. 图 3-I 是酶在不同浓度 $NaHSO_3$ 的测活体系中,测定的酶促反应进程曲线. 曲线 1 为不含 $NaHSO_3$ 的对照实验,得到一条通过原点的直线,说明酶催化反应不存在迟滞的现象,产物的形成量随着反应时间的延长而呈直线上升,其直线的斜率为酶的稳定态活力. 曲线2～7 分别为酶在含 0.02,0.04,0.06,0.08,0.10 和 0.12 mmol/L 的 $NaHSO_3$ 的测活体系中的反应进程曲线,显示出酶催化反应存在迟滞现象,随着 $NaHSO_3$ 浓度增大,酶促反应的迟滞时间延长,稳定的酶活力逐渐降低. 图 3-II 显示 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 催化作用的迟滞时间和稳态活力的影响,当 $NaHSO_3$ 浓度增大到 0.12 mmol/L 时,酶促反应的迟滞时间延至 56 s,而马铃薯 PPO 的稳态酶活力下降了 35.5 %.

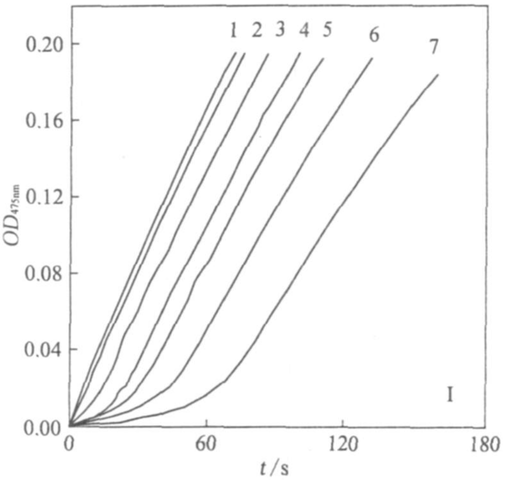
## 2.4　$NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 的抑制作用机制

研究 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 的抑制作用机制,结果见图 4,以酶促反应活力与加入的酶量作图得一组平行直线,随着 $NaHSO_3$ 浓度的增加,在横轴上的截距增大,但其斜率基本不变,这说明 $NaHSO_3$ 对酶的作用属于不可逆抑制,即通过降低有效的酶量导致酶活力的下降.

## 2.5　$NaHSO_3$ 对马铃薯切片的护色作用

经 $NaHSO_3$ 浸泡后的马铃薯切片褐变指数随贮存天数变化如图 5,用蒸馏水浸泡 2 min 的对照组,其褐变最快,第3天时褐变指数为2,第6天时即接近完

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net



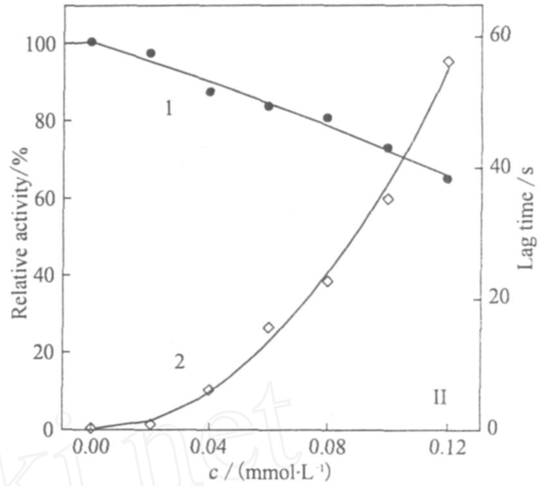




图 3 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 的抑制效应

I) 为作用的进程曲线,曲线 1～7 $NaHSO_3$ 的质量浓度分别为:0,0.02,0.04,0.06,0.08,0.10 和 0.12 mmol/L;II) $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 酶促反应的迟滞时间(1)和稳态活力(2)的影响

Fig. 3 Inhibitory effects of $NaHSO_3$ on the potato PPO activity

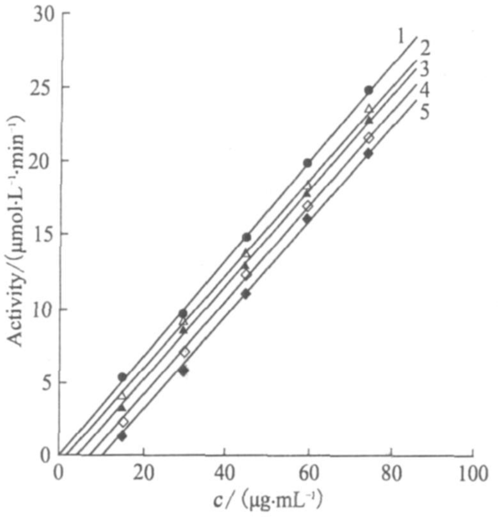



图 4 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 抑制作用机理

直线 1～5 $NaHSO_3$ 浓度分别为 0,0.02,0.04,0.06 和 0.08 mmol/L

Fig. 4 Inhibitory mechanism of $NaHSO_3$ on potato PPO activity

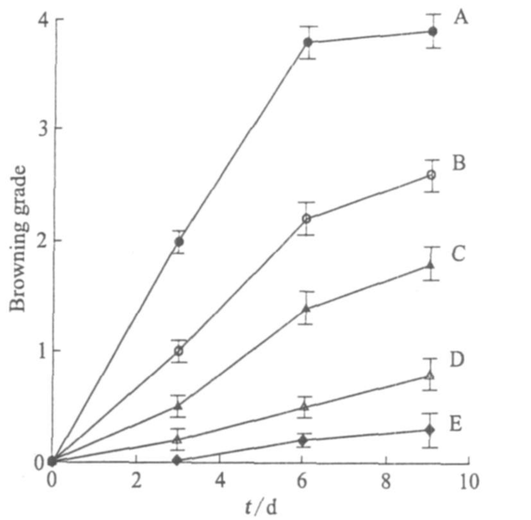



图 5 $NaHSO_3$ 对马铃薯切片的抗褐变能力

A～E 的 $NaHSO_3$ 浓度分别为 0,10,30,50 和 80 mmol/L

Fig. 5 Antibrowning ability of $NaHSO_3$ on the potato slices

全褐变,褐变指数为 3.8.经 $NaHSO_3$ 溶液浸泡的马铃薯切片的褐变指数明显下降,而且随着 $NaHSO_3$ 浓度的增加抑制褐变的效果增强,其中经 50 mmol/L $NaHSO_3$ 浸泡的切片在第 6 天褐变指数仍然保持在 0.6 左右.

## 3 讨 论

$NaHSO_3$ 是蔬果保鲜中常用的化学物质,其对 PPO 作用的机理较复杂,它能够不可逆与醌生成无色的加成产物,又可以不可逆地直接作用于酶,降低其作用于一元酚和二元酚的活力[2],其对 PPO 不可逆作用的直接原因是它能与酶发生键连,修饰酶蛋白.在还原过程中,$NaHSO_3$ 会消耗,使其不利于发挥作用.因此反应体系中酚的性质和浓度与其作用能力有关,如体系中只有一元酚,低浓度的 $NaHSO_3$ 就能有效地抑制酶促褐变,这是因为在酶反应过程中醌形成速度很低,故相当一部分抑制剂能直接作用于酶,当存在二元酚时,$NaHSO_3$ 在酶完全失活之前就消耗殆尽,因此褐变虽然能被推迟和减轻,但不能完全消失.

最近有报道 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 的抑制作用[14],但没有从机理上进行分析,本实验以 *L*-DOPA

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

为底物,研究 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 活力的影响,发现 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 活力具有较强的抑制作用.反应进程曲线显示,$NaHSO_3$ 存在时酶促反应具有迟滞现象,这可能是由于 $NaHSO_3$ 作用于生成的产物,产生无色的物质,从而使酶促反应出现迟滞现象;另一方面,$NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 不可逆抑制作用,说明 $NaHSO_3$ 和酶蛋白的不可逆结合从而抑制其酶促反应. $NaHSO_3$ 以上述两种机制抑制马铃薯 PPO 活力.

通过 $NaHSO_3$ 对马铃薯 PPO 抑制机制的探讨,为马铃薯保鲜提供了理论基础.实验表明,$NaHSO_3$ 可明显降低马铃薯的褐变指数,浸泡时间对护色影响不大,但浓度对褐变影响较大,随着 $NaHSO_3$ 浓度的增加抑制褐变的作用增强.显示了 $NaHSO_3$ 通过抑制马铃薯 PPO 来达到防褐变的效应,为筛选和开发安全、高效的防褐变物质奠定了基础.

## 参考文献:


[1] Sanchez-Ferrer A, Rodriguez-Lopez J N, Garcia-Canovas F, et al. Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism[J]. BBA-protein and Molecular Enzymology, 1995, 1247(1):1-11.

[2] 韩涛,李丽萍.果蔬的多酚氧化酶的抑制及褐变的防治因素[J].北京农学院学报,1999,14(4):88-93.

[3] Matheis G, Whitaker J R. Modification of proteins by polyphenol oxidase and peroxidase and their products[J]. J Food Biochem, 1984, 8:137-162.

[4] 黄浩,林敏,邱龙新,等.苯甲酸衍生物对马铃薯多酚氧化酶的抑制作用[J].厦门大学学报:自然科学版,2006,45(4):563-566.

[5] 吴士云,黄金,孙德坤,等.维生素 C 对苹果多酚氧化酶活力的影响[J].安徽技术师范学院学报,2003,17(2):149-152.

[6] 张京芳.梨片酶褐变抑制方法的研究[J].食品工业科技,2002(2):89-90.

[7] 邱龙新,黄浩,陈清西.半胱氨酸对马铃薯多酚氧化酶的抑制作用[J].食品科学,2006,27(4):37-40.

[8] 乔方,王继栋,黄晓钰,等. 4-乙基间苯二酚复合防褐剂对马铃薯多酚氧化酶活力的影响[J].安徽农业科学,2007,35(23):7095-7099.

[9] 姚晓敏,赵金香,储刘明.马铃薯褐变的控制[J].上海农学院学报,2003(3):40-46.

[10] 李全宏,赵雅松,蔡同一,等.鲜切马铃薯褐变抑制效果研究[J].食品科学,2005,26(9):92-94.

[11] 刘晓丹,黄璜,陈清西.苯甲酸对蘑菇酪氨酸酶抑制作用机理的研究[J].厦门大学学报:自然科学版,2003,42(1):102-106.

[12] Jimenez M, Chazarra S, Escribano J, et al. Competitive inhibition of mushroom Tyrosinase by 4-substituted benzaldehydes[J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(8):4060-4063.

[13] Chen Q X, Song K K, Wang Q, et al. Inhibitory effects of mush-room tyrosinase by some alkylbenzaldehydes[J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2003, 18(6):491-496.

[14] 李敏,刘磊,郭玉蓉,等.马铃薯多酚氧化酶的特性研究[J].甘肃农业大学学报,2005,40(2):189-192.


# The Antibrowning Mechanism of Sodium Bisulfite on Potato During Slicing


WANG Wei, HU Yong-hua, HUANG Hao, YANG Mei-hua, PAN Zhi-zhen, CHEN Qing-xi*

(Key Laboratory of the Ministry of Education for Coastal and Wetland Ecosystems, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)



**Abstract:** Polyphenoloxidase (PPO) is key enzyme of enzymatic browning during vegetables and fruits storage. It is an essential and effective way to inhibit the polyphenol oxidase activity in the fresh-keeping of vegetables and fruits. In this paper, the inhibitory effects on potato PPO and color-preservation effects on potato slice of sodium bisulfite have been studied. The results show that the inhibition of sodium bisulfite on PPO is an irreversible reaction and that sodium bisulfite can result in prolonging the lag time of the enzyme reaction, and decreaseing the steady-state rate of the enzyme activity. When the concentration of sodium bisulfite reached to 0.12 mmol/L, the enzyme activity lost about 35.5% and the lag time increased from 0 to 56 s. The potato slice of the control group was half browned after 3 days, and entirely browned after 6 days. While treated by 50 mmol/L of sodium bisulfite, the browning index of the test group was only 0.6, indicating that sodium bisulfite could stop the enzymatic browning of potato slice efficaciously by inhibiting the potato polyphenol oxidase activity.



**Key words:** potato; polyphenol oxidase; sodium bisulfite; antibrowning


© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net