

马铃薯酶褐变机理及其控制途径

张学杰, 屈冬玉, 金黎平

(中国农科院蔬菜花卉研究所 北京 100081)

摘 要: 本文简述了马铃薯酶褐变机理, 着重探讨了控制马铃薯酶褐变的途径, 涉及采前 PPO 酶的遗传修饰、采中及采后加工三大环节, 并概括了控制 PPO 酶褐变的最新研究进展。

关键词: 马铃薯; PPO 酶; 褐变; 控制

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2000) 03-0158-04

1 前 言

众所周知, 马铃薯是一种重要的经济作物, 其营养价值较全面。随着社会的发展及人们生活水平的提高, 马铃薯加工产品越来越受到人们的喜爱, 如马铃薯切割产品、炸薯条、炸薯片及马铃薯淀粉制品等。然而, 在马铃薯产品加工过程中, 存在着酶褐变问题, 处理不当, 则会严重影响马铃薯产品的加工生产与销售。本文简述了马铃薯酶褐变机理, 着重探讨了控制马铃薯酶褐变的途径, 以期

能对马铃薯产品研究开发工作起到一定借鉴作用。

2 马铃薯酶褐变机理

马铃薯与其它一些水果蔬菜如花椰菜、梨等相似, 其褐变主要由多酚氧化酶 (PPO) 酶引起的。其机理在于 PPO 酶是一种氧化酶, 在有氧存在的情况下, 它能催化酚类物质形成醌, 醌类物质聚合的结果, 导致褐变 (见图 1)^[1]。褐变损害了产品的感官性质, 引起变色、变味等。

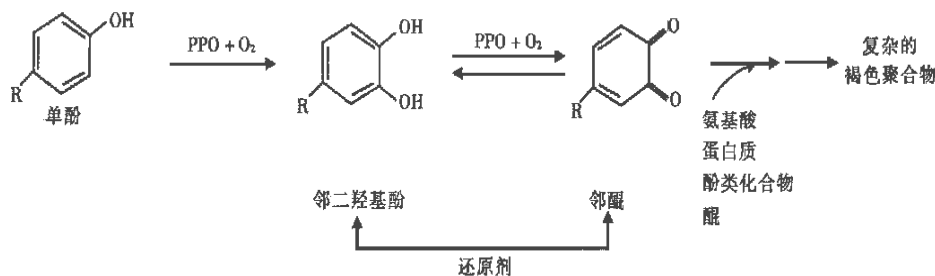


图 1 马铃薯酶褐变机理

决定酶褐变率的最重要的因素有 PPO 及 PPO 底物—酚类化合物的浓度、O₂, 此外还有 pH、温度等。为了控制酶褐变及获得满意的产品, 我们首先应了解一下 PPO 酶及其作用底物的性质。

2.1 PPO 酶

PPO 的系统命名是邻二酚: 氧-氧化还原酶, 该酶以铜为辅基, 必需以氧气为受氢体, 是一种末端氧化酶。有人认为 PPO 酶是兼能作用于一元酚及二元酚的一种酶, 但有人则认为是两种 PPO 酶

的复合体,一种是酚羟化酶,又叫甲酚酶(cresolase),另一种是多元酚氧化酶,又叫儿茶酚酶(catecholase)^[2]。PPO存在于一些细菌、真菌、大多数植物中、一些节肢动物及所有的哺乳动物中。几乎所有的高等植物中都含有PPO酶,如马铃薯。组织化学技术揭示PPO位于叶绿体中。PPO基因在细胞核中编码,在细胞质中翻译,形成的原PPO酶被运输至叶绿体中^[3],在蛋白质酶的作用下形成活性形式。目前,通过采用不同的突变株在活体中研究PPO的功能是可行的,重组PPO已经在突变型微生物中及在微生物的白化系中得到表达^[4]。

迄今为止,所有发现的PPO酶在有氧存在的情况下,都有能力将邻苯二酚转化成苯醌。但不是所有的PPO酶都能羟基化单酚。

2.2 PPO底物

高等植物中广泛分布的PPO底物为二羟基酚,由于存在可氧化的-OH,因而具有褐变的潜势。一般来说,PPO酶对邻基型结构的作用快于一元酚,对位二酚也可被利用,但邻二酚的取代衍生物也不能为酚酶所催化,如愈创木酚及阿魏酸,间位二酚则不能作为底物,甚至还对PPO酶有抑制作用。马铃薯褐变的主要底物是酪氨酸(一种单羟基酚)。

3 马铃薯酶褐变的理论控制方法

针对马铃薯加工过程中的褐变问题,国内外学者均开展了一些研究工作,研究认为PPO酶对热不稳定,可被酸、卤化物、酚酸、亚硫酸盐、螯合剂、还原剂及各种底物结合化合物所抑制。采取的方法主要如下:

3.1 抑制PPO酶的活性

(1) 降低pH值: PPO酶最适pH值为6.0左右,pH低于4.0时,PPO由于失去活性中心的铜而使活性下降。

(2) 热烫: 热烫使PPO酶失活,PPO酶在75℃45s情况下才能大部分失活。

(3) 亚硫酸盐处理,亚硫酸盐能抑制PPO的活性,其机理尚有不同观点^[5]: 有人认为它能抑制酶活性,有人认为SO₂能把醌还原成酚,还有人认为SO₂和醌结合从而阻止了醌的聚合作用。近年来人们出于对含亚硫化物食品安全性所引发的突出问题的考虑,对亚硫化物的公认安全性重新进行了评价。1988年,美国食品与药物管理局(FDA)要

求当亚硫化物具有功能性作用或达到可检测水平(≥ 10 mg/L)时,要在含亚硫酸盐的标准食品的标签上加以说明。亚硫酸盐用于生食或鲜售的蔬菜中时不具有公认安全性^[6]。目前,食品工业界已经开发了一些亚硫酸盐替代物,其中使用最广泛的亚硫酸盐替代物是抗坏血酸。

(4) 抗坏血酸(AA)处理: AA抑制酶褐变的作用机理亦有不同观点: 有人认为高浓度的AA能直接抑制PPO^[7]; 有人认为它能与酶中金属离子作用,或者由于它降低酶反应液的pH,改变酶的作用条件,也可能它消耗了促使PPO酶反应的O₂。然而一旦添加的AA被彻底氧化成脱氢抗坏血酸,醌就会积累而形成褐变。以AA为基础的褐变抑制剂通常没有亚硫酸盐有效。

(5) 使用PPO酶中铜辅基络合物如苯基硫脲、二巯氨基酸酯等抑制PPO酶活性^[8],虽然效果较好,但由于为有毒物质,在生产上得不到应用。

3.2 添加PPO酶底物类似物

添加PPO酶底物类似物如肉桂酸、对位香豆酸及阿魏酸等竞争性酚酸,使酚酶不能再与其褐变底物结合,或即使结合也不能起作用,从而使酶褐变得到控制。

3.3 驱除氧气

在完整的细胞中,在酚-醌之间保持着动态平衡,当细胞被破坏后,氧大量渗入,造成氧化还原之间的不平衡,醌积累导致褐变。因此,排除氧气是阻止酶褐变的重要一环。

总之,从抑制PPO酶活性方法来看,大体可分为三种类型: 一是通过改变酶的结构(如修饰酶蛋白或络合铜辅基)或作用条件使酶失活; 二是添加PPO酶底物类似物,产生竞争性抑制作用; 三是减少或消除O₂。

4 马铃薯酶褐变的控制途径

4.1 实际生产中控制马铃薯酶褐变的途径

在实际生产及加工过程中,应依据以上三个抑制酶褐变的条件,综合考虑采前、采后因素对马铃薯制品褐变的影响,采取不同方法抑制PPO酶,最大程度地避免或减轻褐变。

首先在马铃薯加工之前,应注意:

(1) 品种选择为第一位因素。不同品种抗褐变能力不同,有的差别很大,如夏波蒂较耐褐变^[9]

尽量选择 PPO 活性低、还原糖含量低的品种加工, 这是保证制品良好色泽的首要条件, 也是控制马铃薯加工过程中褐变的关键环节之一。

(2) 一定的栽培方法也能影响褐变反应, 多施钾肥会增加马铃薯 PPO 酶的活性。

(3) 合理的采后处理。一方面注意减少机械伤, 阻止底物与酚酶接触; 另一方面采用适宜的贮藏方法减轻褐变发生, 国外多采用 5~7 °C 恒温库, 并使用发芽抑制剂, 如 CIPC。

其次, 加工时采用物理和化学方法抑制 PPO 酶活性。

(1) 加工机械应为不锈钢产品, 避免产品与铜、铁等金属接触。马铃薯加工过程中, 切开或去皮表面上酶褐变的严重程度部分取决于表面组织损坏的程度, 锋利的刀子去皮的马铃薯与磨擦或蒸汽去皮的马铃薯相比, 前者的表面组织受伤害的程度小^[10]。

(2) 物理方法如微波、烫漂、蒸汽处理及驱逐或隔绝氧。热处理使酶变性的同时, 也会导致质地软化, 风味降低而且易为微生物感染, 如马铃薯微波处理便会发生上述现象^[11]。采用蒸汽短时处理, 可能增进产品的风味和质地。马铃薯去皮及切割后用 2% 盐水或 0.1% 柠檬酸溶液浸泡以减少 O₂ 的接触, 此外, 产品采用 MAP 可降低包装中的 O₂ 浓度, 延迟褐变。

(3) 化学方法是采用不同抑制剂抑制酚酶活性, 如亚硫酸盐、柠檬酸、Vc 等; 用柠檬酸调 pH 至 4.0 以下可控制马铃薯产品的褐变。也有采用能抑制酚酶中参与褐变反应所必需的铜辅基的化学试剂, 如 EDTA 等, EDTA 与焦磷酸钠被用于控制马铃薯煮后变黑现象^[12]。有人建议使用 CO 作为褐变抑制剂^[13]。加工中通常运用复合抗褐变剂控制酶褐变。本人在研究马铃薯切丝护色过程中, 采用抗褐变剂处理可延长货架期 4~5 d^[14]。柠檬酸 + 0.05% NaSO₃ + 0.15% CaCl₂ 浸泡 20 min 效果亦较好^[9]。

4.2 控制酶褐变的新途径

(1) 基因工程。基因工程有助于培育出低褐变性的马铃薯品种。目前基因工程方法的研究如反义 RNA 和基因静默, 将有助于增加我们对 PPO 的功能作用及如何控制 PPO, 以改善马铃薯质量的理

解。在马铃薯 cDNA 文库中发现有 5 种不同 PPO cDNAs^[15], 表明至少有 5 种不同 PPO 基因或 PPO 区域中, 5 个保守组氨酸位于所有确定的 PPO 序列的 2 个区域内, 这两个区域似乎相当于酶的活性位点, 与被接受的酶的作用机制及早先的物理化学数据有很好的相关性^[16]。

通过使用携带反义 PPO cDNAs 载体可降低马铃薯中 PPO 的表达^[15]。与对照相比, 转基因植物中约 70% 具有较低的 PPO 活性。感官评价表明变色程度明显降低。转基因株系与正常植物一样生长旺盛, 产生相同程度的叶绿素, 产生正常的块茎。

(2) 4-己基间苯二酚, 4-己基间苯二酚商业上已被成功地用作虾的褐变抑制剂^[17], 在马铃薯酶褐变抑制上可能具有一定潜力。

(3) 曲酸 (kojic acid, 一种真菌代谢产物) 已被证明是一种 PPO 抑制剂, 通过干扰 O₂ 的摄取及还原醌至二酚来防止色素的形成^[18], 这种化合物能否被作为一种可应用的褐变抑制剂尚不清楚, 特别是它的致突变性质。

(4) 用蜂蜜处理可抑制酶褐变, 这可能是由于蜂蜜中存在的一种分子量为 600Da 左右的多肽的作用。对这种天然抑制剂特性的研究及其实际应用正在进行之中^[10]。

(5) 在实验性的配方中, 稳定的 AA 衍生物已被用来替代 AA, 如抗坏血酸-2-磷酸盐能显著提高马铃薯的感官质量^[19]。

参 考 文 献

- [1] McEvily, A. J., Iyengar, R., and Ottwell, W. S. Inhibitor of enzymatic browning in foods and beverages. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1992, 32: 253~273
- [2] 天津轻工业学院与无锡轻工业学院合编. 食品生物化学. 轻工业出版社, 1988, 3: 61
- [3] Vaughn, K. C., Lax, A. R. and Duke, S. O. *Physiol. Plant.* 1988, 72: 659~665
- [4] Kawamoto, S., Nakamura, M. and Yashima, S. J. *Ferment. Bioeng.* 1993, 76: 345~355
- [5] 顾敏芬. 枇杷果肉中多酚氧化酶的分离、纯化及理化性质的研究. 浙江农业大学硕士论文, 1988
- [6] FDA. Sulfiting agents: Affirmation of GRAS status. *Food and Drug Admin., Fed. Reg.* 1998b, 53: 51065~51084
- [7] Vamos-Vigazo, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1981, 15: 49~127

马铃薯植株受病毒侵染后生化指标漂移与抗病性关系的研究进展

王新伟

(黑龙江省农业科学院马铃薯研究所 克山 161606)

摘 要: 分析了马铃薯植株受病毒侵染后过氧化物酶等防御酶、碳水化合物、可溶蛋白和游离氨基酸及核酸、激素等生化指标漂移与抗病性关系研究进展, 提出马铃薯病毒测定的新技术, 同时, 阐明了影响马铃薯生产的新问题, 提出今后马铃薯病毒汰除中生化测定的新动向。为马铃薯抗病育种提供更为可靠的理论依据。

关键词: 马铃薯; 病毒; 生化指标; 漂移; 抗病性

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2000) 03-0161-04

1 前 言

多年来, 病毒病一直是困扰马铃薯生产的主要因素, 其中马铃薯 X 病毒 (PVX)、马铃薯 Y 病毒 (PVY)、马铃薯卷叶病毒 (PLRV)、马铃薯 S 病毒 (PVS) 及马铃薯块茎类病毒 (PSTV) 是危害马铃薯生产的 5 种主要病毒及类病毒^[1]。而且, 某些病毒株系分化明显, 所以, 培育抗病品种至关重要。过去, 人们仅凭田间经验对抗病品种进行选择, 然而这种方面复杂, 育种年限长。为此, 诸多学者利

收稿日期: 2000-03-20

用 PAGE 法、氨基酸测定法等对被病毒侵染后植株同工酶、氨基酸等各种生理生化指标进行测定, 以期探索各指标漂移规律及其与抗病性的关系, 从而达到快速筛选抗病植株, 为马铃薯抗病育种的早代选择提供理论依据。

2 国内外研究现状

2.1 过氧化物酶同工酶等防御酶与植物抗病性的关系

同工酶 (Isozyme) 是指来源相同、催化同一反应, 但分子组成和理化性质不同的酶组分类型。

- [8] 谭兴杰. 荔枝果皮多酚氧化酶酶促褐变的研究. 植物生理学报, 1987, 13 (2): 197~203
- [9] 胡小松等. 马铃薯丝加工中的褐变因素及其控制. 食品科学, 1994, 5: 35~42
- [10] Sapers, G. M., Douglas, F. W. Jr., Bilyk, A., Hsu, A. F., Dower, H. W., Garzarella, L., and Kozempel, M. Enzymatic browning in Atlantic potatoes and related cultivars. J. Food Sci. 1998a, 54: 362~365
- [11] Mapson and Tomalin. Preservation of peeled potatoes III. Inactivation of phenylase by heat. J. Sci. Fd. Agri. 1961, 13: 54~58
- [12] Feinburg, B., Olson, r. L., and Mullins, W. r. Prepeeled potatoes. In "Potato Processing," 4th ed., 1987, 687~762. AVI-Van Nostrand Reinhold, New York.
- [13] Albus, I. King, R. D. and Kozlow, I. A. Inhibition of the catecholase activity of mushroom tyrosinase by carbon monoxide. J. Agric. Food Chem. 1989, 37: 775~776

- [14] 张学杰等. 马铃薯丝加工中抗褐变保鲜的筛选. 食品科学, 1999, 6: 33~35
- [15] Bachem, C., Speckmann, G., Vanderlinde, P., Verheggen, F., Hunt, M., Steffens, J. and Zabeau, M. Bio/Technology. 1994, 12: 1101~1105
- [16] Whitaker, J. R. Food enzyme: structure and function, pp. 1995, 284~320, Chapman & Hall
- [17] MeEvily, A. J. Iyengar, R., and Gross, A. Compositions and methods for inhibiting browning in foods using resorcinol derivatives. U. S. patent. 1991a, 5: 59438
- [18] Chen, J. S., Wei, C-I., and Marshall, M. R. Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase. J. Agric. Food Chem. 1991, 39: 1897~1901
- [19] Sapers G. M. and Miller, R. L. Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphates. J. Food Sci. 1992, 57: 1132~1135