

分类号

密级

士 学 位 论 文

题 目：牛蒡的褐变研究及开发应用

英文并列题目：Browning Research and Application of
Burdock

研 究 生：刘 玲 专业：食 品 工 程

研 究 方 向：食 品 加 工 与 保 藏

导 师：高 维 道 副 教 授

学位授予日期：95 年 12 月

无锡轻工业学院

地址：无锡市青山湾

年 月 日

摘 要

本文着重于研究牛蒡褐变的产生原因及与其抗诱变作用之间的关系, 找出了抑制褐变产生的工艺条件。

多酚氧化酶(PPO)是致使牛蒡发生褐变的主要原因, 对其酶学特性进行了研究, 以及各类因素对酶活性的影响。

通过Ames试验揭示了牛蒡的功能特性——抗诱变作用, 这种作用与其中的多酚物含量之间具有一定的相关性。

在保持牛蒡良好质地的条件下, 用响应面分析法找出了抑制牛蒡褐变出现的最佳工艺条件, 得到了色泽、质地较佳的白色牛蒡条。

把已护色后的牛蒡条进一步加工成符合大众口味的香辣牛蒡丝。根据前面的护色条件, 改进了清水牛蒡罐头的工艺, 解决了牛蒡片的灰变问题。

关键词:

牛蒡

多酚氧化酶

褐变

抗诱变作用

ABSTRACT

This paper concentrated on solving the problem that edible burdock easily becomes browning when it is broken, peeled or cut in the processing and the optimum processing condition preventing burdock from browning was founded.

As the polyphenoloxidase is an important factor that makes the burdock become browning, the enzyme properties and many kinds of factors that affected the activity were studied.

The desmutagenic action of burdock which was seem to be relevant to the content of polyphenol in burdock was showed by Ames Test.

The optimum processing condition of stopping browning as well as remaining good texture was obtained by Response Surface Analysis. White burdock which color and texture were both good was produced through the optimum processing condition.

A delicious flavour burdock slice was further made from the white burdock section. The process of non-seasoning burdock slice can was improved to solve the problem of coloring after the can was unclosed, according to the previous processing condition.

KEY WORDS:

Burdock

Desmutagenic Action

Browning

Polyphenoloxidase

目 录

前 言	1
第一章 牛蒡多酚氧化酶酶学特性的研究	5
绪论	5
第一节 多酚氧化酶的提取及性质研究	8
1.1.1 材料、试剂与设备	8
1.1.2 实验方法	8
1.1.3 结果与讨论	9
1.1.3.1 底物特异性比较	9
1.1.3.2 PH对酶活力的影响	10
1.1.3.3 底物浓度对酶活力的影响	11
1.1.3.4 温度对酶活力的影响	11
1.1.3.5 多酚氧化酶的耐温性	12
1.1.3.6 多酚氧化酶的耐酸性	13
1.1.3.7 某些化学物质对酶的影响	14
1.1.3.8 抗坏血酸对酶的影响	15
第二节 对多酚氧化酶的进一步纯化	16
引言	16
1.2.1 材料、试剂与设备	16
1.2.2 实验方法	16
1.2.3 结果与讨论	17
第二章 牛蒡抗突变作用的研究	19
绪论	19
第一节 样品制备	20
第二节 抗突变作用的检验	21
引言	21
2.2.1 材料、试剂与设备	21
2.2.2 实验方法	21
2.2.3 结果与讨论	23

第二节	多酚含量的测定	26
2.3.1	材料与设备	26
2.3.2	测定方法	26
2.3.3	结果与讨论	27
小结		27
第三章	抑制牛蒡褐变工艺参数的确定	28
绪论		28
第一节	抑制牛蒡褐变工艺参数的选择	29
3.1.1	材料、试剂与设备	29
3.1.2	实验方法	29
3.1.3	结果与讨论	30
3.1.3.1	酸化剂的选择	30
3.1.3.2	酸含量的影响	31
3.1.3.3	PH对质地和色泽的影响	33
3.1.3.4	盐溶液的影响	34
3.1.3.5	优化实验	36
第二节	牛蒡的护色工艺	40
3.2.1	护色工艺流程的确定	40
3.2.2	产品品质评定	40
3.2.3	主要理化指标分析	41
第四章	牛蒡的进一步加工	42
绪论		42
第一节	香辣牛蒡丝	42
4.1.1	原辅材料	42
4.1.2	实验方法	42
4.1.3	产品感官评定	43
4.1.4	成本估算	46
第二节	清水牛蒡罐头的工艺改进	46
引言		46

4.2.1	原工艺流程·····	46
4.2.2	改进后工艺流程·····	47
4.2.3	预煮工艺条件的确定·····	47
原料及产品照片·····		50
结论·····		51
存在的问题与展望·····		52
致谢·····		53
参考文献		

前 言

随着人民生活水平的改善和提高,对食品的要求越来越高,对食品的营养价值和保健功能更加重视。目前,消费者日渐崇尚和追求的是健康的、天然的绿色食品即不受外界环境污染、有过多农药残留量的健康食品。^{〔1〕}

目前日本有些学者正努力扩大人类的食物来源,以满足全球人口不断生长的要求,以减轻传统食品的压力。

素食是我国传统饮食的一大流派,因为我国蔬菜原料丰富,品种多达到17,000多个。我国人民饮食结构中蔬菜量占很大的比例。近年来医学家和营养学家愈来愈主张多吃植物性食物,因为不少蔬菜品种不仅具有相当高的营养价值,而且具有很多特殊功能。植物生物化学表明,蔬果中存在着具有特殊化学结构的干扰素诱生剂成分,可以刺激人体细胞产生干扰素,有助于人体增强抗病毒感染的能力,增加体内抗氧化物质和抗氧化酶活性的有效成分。蔬果中还有某些成份具有天然抑制细胞异态变化、直接抗菌或抗病毒的功能。^{〔2〕}

反映在食疗效果上便是抗癌、降低过多胆固醇、清除胆盐、减少血脂、净化血液、清热解毒、防止便秘、痔疮等作用。有些蔬果甚至被美誉为“强壮食品”、“皮肤食品”、“头发食品”等。^{〔3〕}

自古以来我国便有“药食同源”之说。中药上就有很多把蔬菜作为中药材、补品之类。这首先是人们对于蔬果中的营养功能不是很了解,其次是由于产地、产量、口味的限制,把它们神奇化了。随着植物生物化学的研究,水果、蔬菜的育种,许多野生的蔬菜种质被发现驯化成人们日益喜爱的蔬菜新品种,丰富了食品来源。牛蒡就是蔬菜、水果家族中的一个新成员。

牛蒡，英文名Great Burdock，学名为Actium Lapple。属菊科，别名又叫恶实（“其实状恶而名刺沟，故名”），大力子，老母猪耳朵，牛菜，疙瘩菜，鼠黏（“实壳多刺，鼠过之则缀惹而不脱，故谓之鼠黏子”）^{〔4〕}。原产亚洲，在我国从东北到西南各省都有野生的牛蒡分布。它是二年生大形草本，茎高1--2米，直生，带紫色，有微毛，多分歧，根生、叶丛生，阔心脏卵形。长40--50米，其花期在7--10月份，9月起牛蒡果渐次成熟，呈长椭圆形或倒卵形。^{〔5〕}

在我国主要用牛蒡子作中药，瘦果可作发散热药，功能疏散风热，宣肺透疹，解毒，用治外感表症，麻疹未透，风疹、咽喉肿痛、痛肿等症。亦可作缓下药，用于便秘。根可入药，也可食用，在《本草纲目》中有“可常作食用，令人身轻。切根如豆，拌作面饭食，消肿壅”。^{〔4〕}



牛蒡

在公元940年前后牛蒡传入日本，自四十年代起驯化出栽培种，广为种植。牛蒡因含有特殊成份，能使人体筋肉发达，在日本被视为强壮剂食物。^{〔6〕}其食用部分主要为肉质根。根呈圆柱形，长达60--100厘米，直径3--4厘米，根皮粗糙，暗褐色，肉色白嫩。牛蒡适宜于温暖、湿润的气候，耐寒耐热能力强。植株生长适宜温度为20--25℃，夏天在40℃

的高温下也能正常生长。入冬在20℃时，地上部分叶子枯死，但主根伸长20厘米时仍能在-15℃严寒下安全越冬，春季萌发新芽。牛蒡喜阳光，生长期间要求较强的光照条件，宜在中性土壤或沙质土壤栽培，要求表土深厚，排水良好，地下水位低于1.5米以下，PH值6.5--7.5之间。过粘偏碱、土壤板结、低洼积水的田地均不宜种植。牛蒡较耐干旱，不耐涝，两天以上的积水田块，肉质根就要坏烂。我国的徐州和连云港地区土壤性质很适于牛蒡的栽培生长。自八十年代开始从日本引进试种，93年种植面积发展到近一万亩。牛蒡在适宜的土壤条件下易于种植生长，生存能力强，其根深及土壤以下生长，受外界环境污染较少，为卫生安全的绿色食品之一。

我国传统以来一直把牛蒡作为中药材，虽然知道其根可食用，但由于其性味苦、寒，为人们所不喜。“根需蒸熟暴干用，不尔，令人欲吐”。^{〔4〕}一直未推广作为日常食用蔬菜。

其实，牛蒡根具有很丰富的营养价值，就以100克可食部分的牛蒡根和胡萝卜营养成分比较可看出，在糖、蛋白质、钙含量上明显高于胡萝卜。^{〔8〕}

食部	能量	水分	蛋白质	脂质	糖质	纤维	Ca	P	Fe	B1	B2
	100g	Kal		g					mg		
牛蒡	76	78.6	2.8	0.1	16.2	1.4	49	60	0.8	0.04	0.07
胡萝卜	32	90.4	1.2	0.2	6.1	1.0	39	36	0.8	0.07	0.05

尤其在总糖含量上，牛蒡根含有大量的菊糖，占总干基的33.5%左右。菊糖是由D-果糖组成的同元多糖类，是直线聚果糖，果糖单位以 β (2→1)葡萄糖甙键连接。菊糖不易被肠胃道的酶所水解，适于糖尿病患者使用，但易被酸水解。^{〔9〕}

牛蒡中含有其特殊的物质--牛蒡酸(Arctic Acid),是一种含硫的炔酸,还含挥发酸如乙酸、丙酸、丁酸及脂肪酸如硬脂酸、棕榈酸、油酸、亚油酸、亚麻酸等,还含多种醛类如甲醛、乙醛、丙醛、异丙醛等。

牛蒡根尚含多炔物质0.001-0.002%,含多种多酚类物质3.65%,其中有咖啡酸、绿原酸、异绿原酸、一咖啡酰等,还含有多酚氧化酶等。^[10、11]当牛蒡在空气中去皮或遇到损伤时,受损伤部位的组织便发生褐变。这是因为多酚氧化酶在游离氧的存在下,能催化这些多酚类物质氧化成醌,再经聚合成黑色素所致。牛蒡的褐变作用,在同样的条件下,较其它蔬菜类要严重、明显的多。

本论文的研究目的就是把牛蒡这一蔬菜新型成员介绍于众,使人们了解它的特殊功能性。为了控制加工过程中发生的褐变,破坏产品的品质。本文研究了其多酚氧化酶的酶学特性。并依此找出控制褐变的工艺条件。通过此工艺处理后的牛蒡成为半成品,还可进一步加工成为符合人们口味的香辣牛蒡丝产品。

第一章 牛蒡多酚氧化酶酶学特性的研究

绪论:

某些新鲜蔬菜、水果在发生切割、去皮或碰撞后等方式、使细胞受到损伤时,在短时间内会发生褐变,使这类食品的外观及风味发生令人不喜欢的变化,降低食品品质。多酚氧化酶(ppo)是造成这些蔬果切片褐变的主要原因^[12、13、14]。ppo属于氧化还原酶类。普遍存在于自然界的植物体内。不同植物ppo之含量随品种而不同,其在植物细胞中的位置亦随品种、年龄及蔬果的成熟度而不同。在绿叶中,大部分的ppo是位于叶绿体里面。在马铃薯块茎中则几乎细胞中所有部分皆含有ppo,其量与蛋白质含量成正比。新采收的苹果其ppo几乎只存在于叶绿体中,成熟的绿橄榄的ppo与叶绿体紧密连接在一起。而黑橄榄的ppo则以水溶性形式存在。

ppo在蔬果不同部位的分布极为不同。ppo在苹果皮中的活性高于果肉及汁液,其值随着果实成熟而降低。苹果则整个部分都含有ppo。

植物体中的ppo在自然界中抵抗微生物或滤过性病毒侵袭以及恶劣环境时扮演重要角色。许多研究表明,较易抵抗恶劣环境的植物的ppo显较高活性,例如耐霜的果树或葡萄树其ppo活性都比易受霜害的品种为高。

在食品工业上,ppo作用所引起的褐变起着两个相反的影响。在红茶及咖啡的制造上ppo的酶褐变是理想的过程。然而某些蔬果在处理或储存过程中碰伤、切片或去皮后暴露于空气中,迅速发生的ppo的褐变则需防止。牛蒡中的褐变就属防止之列。

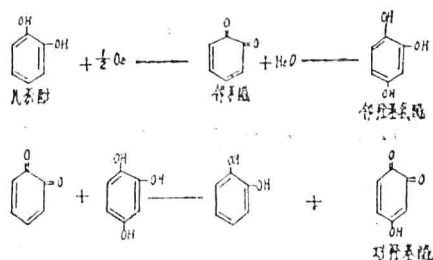
ppo在氧的存在下催化双酚类物质氧化成醌,亦可与单酚类作用将其转变为双酚类再氧化成醌。然后醌会(a)彼此作用形成大分子的高分子物,(b)与氨基酸或蛋白质形成大分子复合物,(c)将氧化/还原电位低的物质氧化。其中(a)(b)为非酶反应,产生褐色色素。分子量愈大,颜色愈深。(c)反应之产物为无色。

ppo对于酚类化合物的作用机制是非常复杂的。因为铜是ppo的辅基,有一假说提及,ppo的活性是由于其中的铜离子状态转变为亚铜离子所引

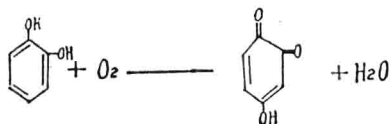
起的，当酶被纯化出来时，其中铜离子为亚铜状态，邻双羟基酚的存在又将其氧化为二价铜状态。

蔬果中含有许多不同的酚类化合物。但只有一小部分可作为ppo的底物，ppo在蔬果中的重要天然底物为儿茶酚、表儿茶素、桂皮酸酯、酪氨酸等，桂皮酸酯类中的绿原酸是最普遍存在于自然界的ppo底物。

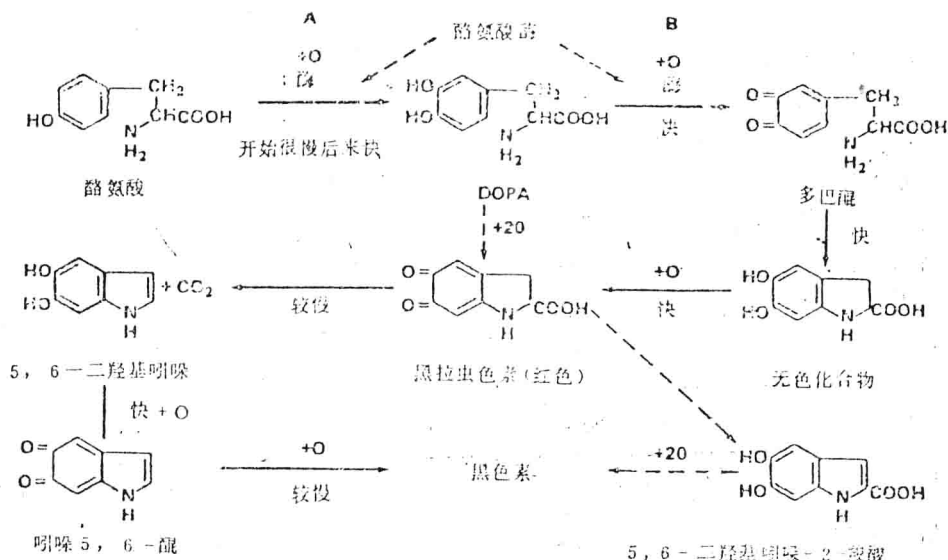
如ppo作用于儿茶酚时,反应过程如下:^[15]

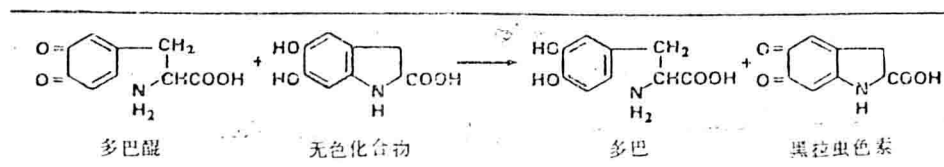


所产生的儿茶酚有重复第一步反应，最后羟基醌很容易聚合生成有色的黑色素。总反应方程式如下：



当PPO以酪氨酸为底物时, 是以下的反应过程:^[48]





酪氨酸被酶氧化生成黑色素的过程

摘自 Lerner, A.B. and Fitzpatrick, T.B., *Physiol. Rev.*, 30, 95, 1950.

如前所述,国内外对苹果、马铃薯、橄榄、茄子、莲藕、梨、枣等中的ppo进行了大量的研究^[24、25、26、27],与这些蔬果类相比,牛蒡的酶促褐变要严重得多,但对其ppo的酶性质报道得却不多。

1.1.1 材料、试剂与设备:

1.1.1.1 材料与试剂:

冷藏的牛蒡: 徐州罐头厂提供
丙酮、聚乙二醇(6000): 分析纯
儿茶酚、绿原酸、酪氨酸、邻苯三酚、抗坏血酸: 生化试剂
磷酸盐缓冲液
氯化钙、氯化钠、亚硫酸钠、EDTA: 分析纯
六偏磷酸钠: 化学纯 浙江湖州食品化工厂

1.1.1.2 仪器设备:

冰箱: 上菱
电光分析天平: 上海天平仪器厂
PHS-2型精密酸度计: 上海雷磁仪器厂
79-1磁力搅拌器: 国华仪器厂
721分光光度计: 上海第三分析仪器厂
高速组织捣碎机: 江苏国华仪器厂
电热恒温水浴锅: 江苏医疗器械厂
800型离心沉淀器: 上海手术器械厂

1.1.2 实验方法:

1.1.2.1 ppo的提取:^[21、22]

把50克的牛蒡切片,加入100毫升冰冻丙酮和2.5克聚乙二醇,在组织捣碎机中捣碎4分钟左右,把匀浆液用布氏漏斗抽滤,抽滤后的残渣再以50毫升冰冻丙酮浸提三次,最后得到残渣,用冷风吹干残留丙酮得到白色丙酮粉。称取2克丙酮粉溶于100毫升0.05MPH6.8的磷酸盐缓冲液中,此悬浮液在4℃下离心20分钟,转速4000转/分钟,大约得到95毫升上清液,测酶活。

1.1.2.2 酶活测定:

0.01M儿茶酚溶液(底物)0.5毫升和0.5毫升酶提取液,加3毫升磷酸盐缓冲液,混匀。在30℃恒温5分钟后,在420nm处测定其吸光度。

1.1.2.3 底物特异性比较:

以0.01M左右的酪氨酸、绿原酸、儿茶酚、邻苯三酚为底物,测定吸光度。

1.1.2.4 PH值对酶活性的影响:

以儿茶酚为底物,测定在PH3.0-8.0的缓冲液体系中的吸光度。

1.1.2.5 底物浓度对酶活性的影响:

以不同浓度的儿茶酚为底物,缓冲液PH6.5,测定吸光度。

1.1.2.6 温度对酶活力的影响:

以0.01M儿茶酚为底物, PH6.5, 在各温度下恒温5分钟后测定吸光度。

1.1.2.7 ppo的耐温性:

把10毫升酶液置于试管中,于水浴60℃、70℃、80℃下恒温,经一定的时间间隔5分钟后,取出0.5毫升迅速置于冰浴上冷却,然后测定吸光度。

1.1.2.8 ppo的耐酸性:

0.5毫升酶液在PH3-PH8的缓冲液中恒温20小时后,以儿茶酚为底物,测定吸光度。以未恒温过的酶液作为对照。

1.1.2.8 各种化学物质对ppo的影响:

0.5毫升0.01M的化学物质与0.5毫升酶液在30℃恒温10分钟后,在PH6.5下测定吸光度。

1.1.2.9 抗坏血酸对ppo的影响:

不同摩尔浓度的抗坏血酸和酶在30℃恒温10分钟后,测定吸光度。

1.1.3 结果与讨论:

1.1.3.1 底物特异性比较:

表1 酶的底物特异性

底 物	OD ₄₂₀
酪氨酸	0.060
绿原酸	0.093
儿茶酚	0.136
邻苯三酚	0.166

由上表可看出, ppo对邻苯三酚作用很强, 而且酶对底物的氧化作用, 似乎依苯环上羟基官能团数目的增加而增强。虽然绿原酸、儿茶酚被ppo作用不是最强, 而它们是果蔬中的天然酚类化合物。多酚氧化酶的最佳底物并非总是和酶同时存在于同一植物中的那些酚类化合物。苹果中的PPO作用的底物主要是绿原酸。^[23] 鉴于多酚氧化酶对天然酚类化合物作用是引起酶促褐变的主要原因。本文以下酶性质研究中一律以儿茶酚作为底物。

1.1.3.2 PH对酶活力的影响:

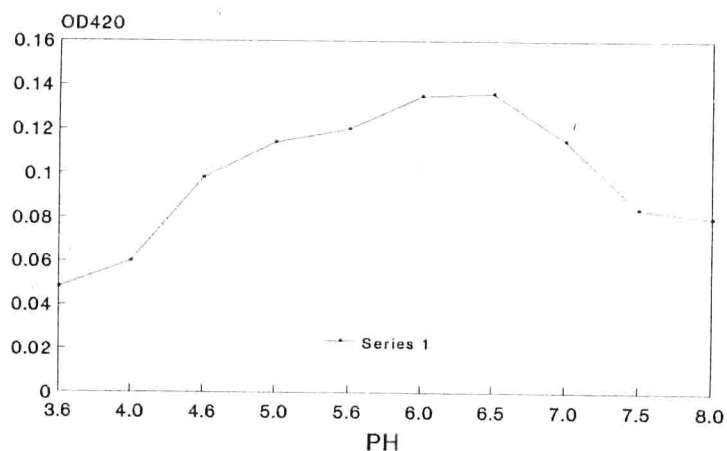


图1 不同PH值下的酶活力

PPO的最适PH与酶的来源、提取方法及所选用的底物有很大关系。由图[1]可明显看出，PPO在儿茶酚底物作用下，最适PH值为6.0-6.5。

1.1.3.2 底物浓度对酶活力的影响：

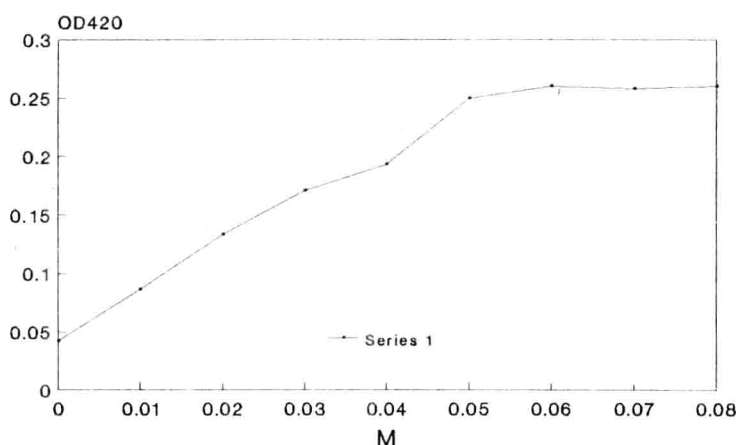


图2 底物浓度对酶活力的影响

按动力学规律，在酶浓度和其它条件一定下，较低底物浓度范围内，增加底物浓度，反应速度随着增加。但底物浓度升高到一定程度后，反应速度几乎不变。对于牛蒡的PPO以儿茶酚为底物，当浓度达到0.05M时，酶反应速度才不再有显著提高。因为在低底物浓度时，底物只能结合部分酶分子，当底物浓度增大时，结合的酶分子越来越多，催化作用增强，反应速度增大，一旦酶被底物完全饱和，则进一步增加底物浓度也不能增大反应速度。

1.1.3.4 温度对酶活力的影响：

由图[3]可见，当温度在0-10℃时，酶活力并不随温度而变化。在10-40℃之间时，酶活力迅速上升，以近乎线性的方式增加。当温度在40℃时，酶活力达到最高值，然后下降。在测定酶活时选择30℃左右。