

食品科學技術

專題討論彙編

第六號



食品工業發展研究所編印

臺灣省新竹市

中華民國六十二年四月

食品科學技術

專題討論彙編

第六號

發行人 曾 桐

編輯委員 (以姓氏筆劃爲序)

吳 碧 鏗

食品工業發展研究所食品加工組組長

林 景 明

食品工業發展研究所副所長

陳 尚 球

食品工業發展研究所顧問、國防醫學院副院長

陸 伯 勛

食品工業發展研究所顧問、美國加州大學教授

陳 化 治

食品工業發展研究所食品工程組組長

陳 懋 良

食品工業發展研究所顧問、國防醫學院生化系主任

陳 敏 捷

食品工業發展研究所食品微生物組技師

黃 中 平

食品工業發展研究所推廣訓練組組長

張 爲 憲

食品工業發展研究所食品化學組組長

鄧 滋 璋

食品工業發展研究所食品工業月刊主編

出版者 食品工業發展研究所

新竹市西大路光復里十號之一

電話：二三一九一

內政部登記內版台誌字第二九〇五號

印刷者 長歌印刷有限公司

台北市承德路81號三樓

電話五二〇五八二

中華民國六十二年四月初版

本所自民國六十一年六月至十二月半年期間內，共舉行學術討論會十五次，主持討論之學者專家達十餘位。所有專題討論的文稿，均曾印發與會人員，部份並曾摘要登於本所發行之“食品工業”月刊。

茲為便於讀者參考，並促進對食品工業科學研究之興趣，特蒐集上述稿件，商請原主持人重加整理，存菁去蕪，精益求精，以期內容更為完整。其中部份稿件，因時間關係，未曾舉行討論會，而頗具參考價值者，仍收入本彙編中，一併刊印。至於尚有已討論或未討論之稿，因篇幅所限，未能列入，遺珠之憾，特致歉意，並希見諒。

編者謹誌

食品科學技術

專題討論彙編

第六號

總目錄

馬鈴薯的酶催化色變.....	王立鈞.....	1
玻璃容器及其在食品工業上之用途.....	王一凱.....	17
黃豆蛋白質之理化性質及其應用(黃豆蛋白質之凝膠現象).....	陳文亮.....	37
食品中之重金屬.....	曾秀月.....	61
罐頭食品香味之官能評價法.....	李榮輝.....	77
食品味道與化學結構.....	陳春興.....	87
鍍錫鐵皮腐蝕性與電化學之關係.....	林江珍.....	105
食品中的天然毒素.....	劉德明.....	119
食用油脂之氧化.....	李敏雄.....	129
微波加熱的基本原理與食品加工應用.....	許川平.....	147
不溶性酵素及其應用.....	張炳揚.....	163
胡蘿蔔素在加工過程中之變化及其防止法.....	邱克明.....	179
非酵素褐變所產生的香氣.....	張瑞郎.....	195
食品中的抗生素及其檢出法.....	陳敏捷.....	211
水份活性和乾燥食品中水之性質與儲藏安定性之關係.....	許勳猷.....	235

Food Industry Research and Development Institute

Literature Review on Special Topics

No.6

Contents.

Enzymatic Discoloration of Potatoes	L. C. Wang	1
Glass Containers and Its Usage in Food Industry	I. K. Wang	17
The Chemical Properties and Utilization of Soybean Proteins (Gelation Phenomena of Soybean Globulins)	W. L. Chen	37
Heavy Metals in Food	S. Y. Tseng	61
Evaluating Flavor Difference in Canned Foods	Y. H. Lee	77
Food Taste and Chemical Structure	C. S. Chen	87
The Relationship Between the Corrosion of Tin-plate Can and Electrochemistry	J. J. Lin	105
Natural Toxic Background in the Food	D. M. Liu	119
Hydrogenation of Edible Oils and Fats	M. H. Lee	129
Fundamental Principles of Microwave Heating and Its Applications in Food Processing	C. P. Shu	147
Insolubilized Enzymes and Their Applications	P. Y. Chang	163
The Retention of Carotenoid and Its Change During Processing and Storage	K. M. Chiou	179
Flavours From Nonenzymic Browning Reaction	R. L. Chang	195
Contamination and Examination of Antibiotics in Foods	M. J. Chen	211
Water Activity and Storage Stability	H. Y. Hsu	235

馬鈴薯的酶催化色變

Enzymatic Discoloration of Potatoes

王立鈞

L. C. Wang

目錄

一、緒言.....	2
褐變與黑變	
酶催化色變與非酶催化色變	
酪胺酸黑變的過程	
色變的防止	
二、多酚氧化酶：.....	4
製備	
酶活性的測定	
討論	
三、咖啡鞣酸：.....	6
製備	
(一) 粹液	
(二) 提取	
(三) 測定	
四生物綜合	
四、亞硫酸氫鹽的抑制色變作用.....	7
亞硫酸氫鹽對酪胺酸氧化的抑制	
亞硫酸氫鹽對酪胺酸及多巴的抑制	
亞硫酸氫鹽對酪胺酸及咖啡鞣酸的抑制	
亞硫酸氫鹽對多巴及咖啡鞣酸的抑制	
五、ATP 誘導的抑制馬鈴薯色變.....	11
在馬鈴薯中ATP 與維生素丙及其他還原劑的關係	
先質和維生素丙氧化酶對於馬鈴薯色變的影響	
對馬鈴薯色變有影響的幾種還原物質	
六、馬鈴薯內核苷酸對於酶催化色變的影響.....	12
實驗方法	
核苷酸的影響	
AMP, ADP, 安密妥和抗黴素 A 的影響	
七、參考資料.....	16

馬鈴薯的酶催化色變

一、緒 言

褐變與黑變

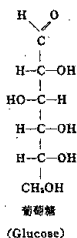
有許多蔬菜或水果被切傷、搗碎，或生理上受傷時；就變為褐色或黑色，這種現象叫做褐變（browning）及黑變（blackening），和這種色變有關的酵素系統是多氧化酶（polyphenol oxidase），也叫做酪胺酸酶（tyrosinase），酚酶（phenolase），酚氧化酶（phenol oxidase）或多酚酶（polyphenolase）。在此變色過程中，最重要的兩種基質（substrate）是酪胺酸（tyrosine）和咖啡鞣酸（chlorogenic acid），酪胺酸酶可催化使水果褐變，茶發酵後及可可乾燥後變為褐色。植物體中有多種基質可和酪胺酸酶作用。例如：蘋果、梨、咖啡和甘薯中咖啡鞣酸，馬鈴薯、洋菇及萵苣中的酪胺酸，茶中的兒茶素（catechin），蠶豆中的二羥苯丙胺酸（dihydroxyphenylalanine），香蕉中的3，4—二羥苯乙基胺（3，4—dihydroxyphenyl ethylamine）以及栗子中的咖啡莽草酸（Caffeoyl-shikimic acid）等都是。

食物經變色後，影響外觀及營養價值，不受消費者歡迎，又須減低售價，所以食品的變色問題，給生產者、製造者及消費者都帶來極大的困擾！

酶催化色變及非酶催化色變

蔬菜、水果及其他食品等由酵素催化而發生的褐變或黑變，稱為酶催化色變；若色變的發生並無酵素催化時，則稱為非酶催化色變。上述的例子中，如酪胺酸酶的使水果褐變及馬鈴薯黑變等，都是屬於酶催化色變。非酶催化色變的例子也很多，最普通的一個就是梅納反應（Maillard reaction），即含胺基（amino group）物質與含羰基（carbonyl group）物質互相化合而生成褐色物質，此反應用圖解表示如後：

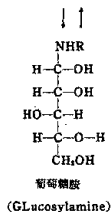
食品加工時的發青（blanching）即使酵素失去活性，即無酶催化色變的問題，但仍有許多食物進行非酶催化色變，馬鈴薯就是一個最好的例子，生的或煮熟的馬鈴薯在空氣中都發生黑變的。



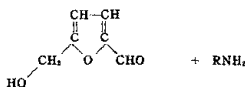
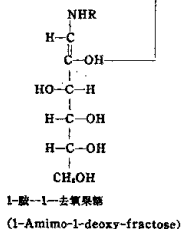
RNH₂

酰胺
(Amide)

褐色物質等

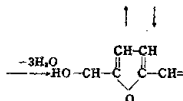


-H₂O



5-羥甲基糠醛

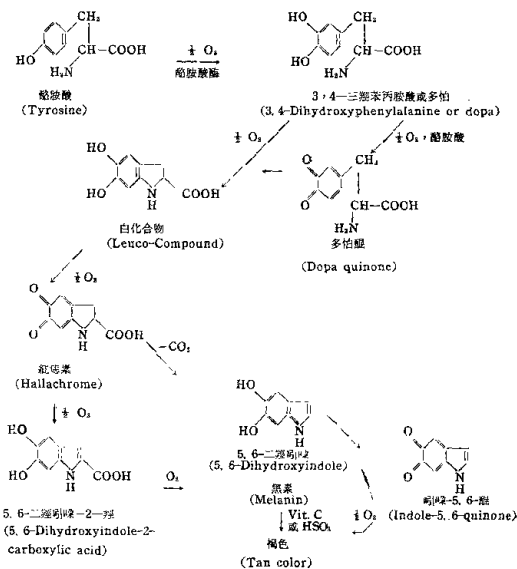
(5-Hydroxymethylfurfural, HMF)



HMF 的 Schiff base

酪氨酸黑變的過程

藉酪氨酸酶的催化作用，酪氨酸與氧化合而生成 3, 4-二羥苯丙氨酸 (3, 4-dihydroxy phenyl alanine)，亦名多巴 (dopa)。此步驟的作用是起初很慢，後來就變快起來，多巴再繼續被氧化而成為多巴醌 (dopa quinone)。在這兩個步驟中，酵素和氧都是需要的，多巴醌則經非酶催化的環化作用 (cyclation) 而生成各種的吲哚衍生物 (indole derivatives)，再進一步的氧化而生成黑素 (melanin) 其全部過程圖示如下：



色變的防止

食品色變的防止方法有多種；例如，使食品與空氣隔絕，或加入抗氧化劑 (antioxidant)，以免食物與氧起作用；將食品加高熱以破壞酵素，調節 pH 值或加入某些金屬離子或酵素抑制劑 (inhibitor) 以抑制酵素的活性。防止馬鈴薯黑變的抑制劑有很多種，最普通的如二氧化硫 (SO_2)，亞硫酸氫塩 (bisulfites) 等。亞硫酸氫塩可用為酵素抑制劑，與下面五個因素有關：

- (一) 亞硫酸氫塩的自氧化 (auto-oxidation) 速率。
- (二) 馬鈴薯中所含多酚氧化酶的活性。
- (三) 對酵素催化的最初氧化作用的抑制。
- (四) 生成的醌對亞硫酸氫塩的作用。
- (五) 由於亞硫酸氫塩與醌的化合，而生成不易氧化的物質。

二、多酚氧化酶

製備

多酚氧化酶是從馬鈴薯的內組織提得，如此製法是因為咖啡鞣酸多集中存於外層組織中，而咖啡鞣酸是最易被多酚氧化酶氧化的。將馬鈴薯的內組織切碎，取 250 g 置於打碎機 (blender) 中，加入 25 ml 水，175 g 冰，和 0.5 g 維生素丙 (Ascorbic acid)，打碎 5 分鐘。維生素丙的加入是為防止溶液的變色，同時也是為了防止由於黑變得到的氧化生成物而致多酚氧化酶活性的減低。此混合液經數層紗布過濾，濾液在低溫離心機中以 12000 rpm 速率離析之。將上層清液傾出，加入相當此體積二倍之丙酮 (acetone)，此混合液放置冰櫃中至少五小時，然後再於 2000 rpm 速率離析之。將沉澱物用 30 ml 冷丙酮—水 (2:1) 溶液洗滌之，再於 10000 rpm 速率離析 10 分鐘而取得沉澱物，將沉澱物混入水中使成 25 ml，此混合液用蒸餾水透析過夜後，加入 10 ml 的 0.5 M 氫氧化鈉—順丁烯二酸鈉緩衝劑 (pH 6.5) 於酵素中，均勻混合後，將體積調節到 50 ml 並使緩衝劑的濃度為 0.1 M，此即為粗酵素 (crude enzyme) 製備液。

酶活性的測定

多酚氧化酶的活性，曾有人用比色法 (Colorimetric method) 測過，但結果不太好。因色素之生成速率並不完全和氧化速率成正比，生成色素的顏色及程度頗受 pH 值、溫度、酸、還原劑及金屬正離子等的影響。另有一測氣壓法 (Manometric method) 比較實用，此法為測定酚基質氧化時氧的吸取速率，多酚氧化酶的活性也可用維生素丙中間產物鄰位酚的誘導氧化作用而測定之。

Ponting 和 Joslyn (1948)，Smith 和 Stotz (1949) 等曾用下法測定兒茶酚氧化酶 (catecholoxidase) 及其他多酚氧化酶的催化作用：將 20 ml 的 0.01 M 醋酸塩緩衝溶液 (pH 5.0) 於 25°C 放入 Evelyn 比色計試管中，加入 2 ml 新配成的 0.5 M 兒茶酚，然後將 1 ml 酶溶液或濾過的植物組織粹液加入，此試管用橡皮木塞蓋緊，搖動混勻，放置 Evelyn 比色計中，每隔一定時間讀出紀錄，然後將此紀錄與時間相對的關係做一圖表，多酚氧化酶的活性可用每秒 $\log T$ 單位表示之。

Meyer 等 (1966) 提倡用極譜儀法 (Polarographic method) 測多酚氧化酶的活性，此法是用氧電極去測溶解氧減少的量，這種方法的優點是簡單、省時而結果可靠。

討論

Nelson 和 Dawson (1944) 曾討論過關於催化酚類氧化的酵素。Hayaishi (1962)，Brooks，Dawson，Mason，和 Levine (1966) 對多酚氧化酶複合物 (phenolase complex) 曾做過研究，Mason (1955) 曾提出下列各點：

- (一) 多酚氧化酶複合物的純製品為含銅蛋白質，其含銅量為 0.2~0.3%。
- (二) 由於酶催化氧化作用把羥基 ($-OH$) 代入苯環，這種氧是從分子氧中取得，不是從水分子中得到的。
- (三) 多酚氧化酶中之銅為 Cu^+ 狀態，與分子氧先結合，俟與單酚 (monophenol) 作用後，則酶中之銅從 Cu^+ 變為 Cu^{++} 狀態，而酚也由單酚變為二酚 (diphenol)，故此反應中需要一種還

原劑，再把酶中的 Cu^{++} 還原為 Cu^{+} 狀態，這種還原作用可能氧化鄰位二酚 (o-diphenol) 使成為鄰位醌 (o-quinone) 時發生，因此可知多酚氧化酶複合物是一種傳遞氧的催化劑。但此種說法為 Kertesz (1957, 1966) 所反對，他表示在浮菇中的多酚氧化酶於催化作用時，永保持其中之銅為 Cu^{++} 狀態，而無 Cu^{+} 和 Cu^{++} 兩種狀態互變的現象。

Muneta (1966) 表示亞硫酸氫塩 (bisulfite) 對酪胺酸氧化的初步抑制作用是當酪胺酸被氧化成為多伯時，如用低濃度的亞硫酸氫塩 ($1.9 \times 10^{-3} \text{ M}$)，則只能抑制酪胺酸的氧化作用，但不能抑制多伯的氧化，若用高濃度亞硫酸氫塩時，則可漸漸的抑制多伯的氧化作用。

多伯和其他鄰位二酚對酪胺酸的氧化作用是有催化效能的，雖然在未損傷的新鮮馬鈴薯中，多伯尚未發現，但已知有兩種鄰位二酚—咖啡鞣酸和少量的咖啡酸 (caffeic acid) 的存在。

三、咖啡鞣酸

設備

材料：

採 100 g 的馬鈴薯碎塊置於打碎機中，加入 300 ml 的 95 % 酒精，打碎 5 分鐘，然後於低壓過濾，將沉渣再懸浮於 300 ml 的 95 % 酒精內，打碎 5 分鐘後過濾之，濾渣用 200 ml 的 95 % 酒精洗滌，最後將所有的粹液倒在一起。

提取：

將製得的粹液加入裝有矽酸的玻璃柱管 (glass column) 內行分溶層析 (partition chromatography) 而提出咖啡鞣酸。常用的柱管有兩種：一種 $2.8 \text{ cm} \times 22 \text{ cm}$ 是用來從馬鈴薯的酒精粹液中分出酚化合物 (phenol compounds)，另一種 $1.2 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$ 是用來進一步做精密分析的，此兩種柱管都是用矽酸和 0.5N 濃度的硫酸裝備而成，分析用的溶液如下：

系統 A：2—甲基—2—丙醇——氯仿 (2 : 3)

系統 B：環己烷——氯仿 (1 : 9)

系統 C：2—甲基—2—丙醇——氯仿 (3 : 7)

每一系統都用 0.5N H_2SO_4 飽和之。

測定：

將提取出的咖啡鞣酸，再經紙層析 (Paper chromatography)，紫外線和紅外線光譜分析而測定咖啡鞣酸含量。

藥物綜合：

將 40 g 馬鈴薯切片用光照射 16 小時，與 L—苯丙氨酸 $\sim 3 \mu\text{g}$ 500 cpm/mg 一起放於 10 ml 的 0.5M 錫鉀酸鉀 (potassium quinate) 溶液中，再行曝光 8 小時，然後

將此切片在酒精中磨碎，其中所含放射性咖啡鞣酸，可用薄層層析法（thin layer chromatography）提取出來。此法是用醋酸或丁酸—醋酸之溶劑將咖啡鞣酸在層析板上分出來，測出咖啡鞣酸的特別活動力並無改變，如經加鹼水解，用層析法分析水解生成物時，可測知 99% 的放射性都在咖啡酸根（caffeoyl）部份上，此種生物綜合法所製成的咖啡鞣酸 ^{14}C （chlorogenic acid- ^{14}C ）量是 $2 \mu\text{m}$ / 每克鮮組織，特別活動力為 36,000 cpm/ μM 。

馬鈴薯切片中最初含少量的咖啡鞣酸，如曝於日光中 16 到 24 小時後，則可積聚多量的綜合產物，如將放射性的 L- 苯丙氨酸- ^{14}H 放入馬鈴薯鮮切片中，短時間後即去掉，可測知咖啡鞣酸中放射性的總量經 24 小時即增加，大約和儲存於組織中的咖啡鞣酸量成正比。

討論

咖啡鞣酸又名 3-咖啡鵝納酸（3-caffeoyl quinic acid），是一種最普遍的可溶性酚衍生物，很多植物組織中積聚酚酯的能力非常大，令人以為咖啡鞣酸可能是酚經生物綜合的最後產物。但此酸在同一植物中濃度的差異很大，故知不可能是最後生成物質。

咖啡鞣酸是馬鈴薯組織中的主要酚化合物，也是唯一儲存馬鈴薯於 40°F 時而含量顯著增加的物質，如於 60°F 儲藏之，則咖啡鞣酸的含量並不增多，可假想馬鈴薯在冷藏期間咖啡鞣酸之增加乃因糖類之累積。

四、亞硫酸氫鹽的抑制色變作用

亞硫酸氫鹽對酪胺酸氧化的抑制

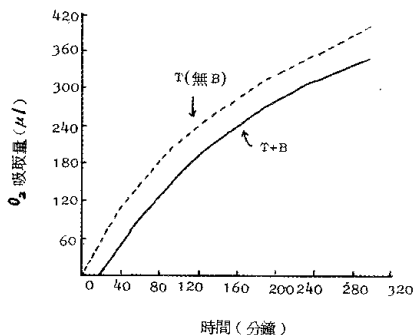


圖 1. 亞硫酸氫鹽(B)對酪胺酸(T)酶催化氧化的抑制作用。

圖1表示酶催化氧化無或有亞硫酸氫塩(bisulfite)存在時,對氧的吸取量如無亞硫酸氫塩存在,酪胺酸氧化時的氧吸取在基質和酵素混合後2到4分鐘開始,並在此誘導期間後,很快的增加;多巴的氧化表示無誘導期間的存在,氧吸取在基質和酵素混合後,即很快發生。當加入亞硫酸氫塩後,則此氧吸取的誘導期間即延長,較大量的亞硫酸氫塩可減低氧吸取的速率,也可能使酪胺酸酶失去活力。

濃度 $1.9 \times 10^{-4} M$ 之亞硫酸氫塩可抑制酪胺酸的氧化,但不能對多巴的氧化有較大的抑制作用。如大量增加亞硫酸氫塩時,則多巴氧化的抑制亦增加。當亞硫酸氫塩存在是,酪胺酸氧化誘導期間的增加,表示亞硫酸氫塩抑制酶催化黑變的主要原因,為抑制酪胺酸被氧化而成為多巴,並非亞硫酸氫塩與反應中生成的多巴醌(dopa-quinone)作用。如果此最初抑制作用是由於亞硫酸氫塩和醌的作用,則不應有誘導期間的延長現象,這是因為氧用於酪胺酸氧化生成多巴和多巴生成多巴醌。酪胺酸氧化時,最初氧吸取量甚低,這表示最初黑變的抑制,並非由於亞硫酸氫塩對多巴醌的還原作用。當多巴醌或更進一步的氧化生成物產生時,亞硫酸氫塩無疑的會與之化合而生成加合生成物,但此無色的加合生成物並不被酪胺酸酶催化而氧化,儘管可能由於自氧化作用(auto oxidation)而生成黑素(melanin)。

由於亞硫酸氫塩是一種還原劑,有些醌被還原而生成二酚和硫酸塩(SO_4^{2-})此種作用亦有可能, Dodgson 發現二氧化硫(SO_2)對對位醌(p-quinone)的還原能力和溶液的 pH 有關,當酪胺酸的氧化作用發生後,這些醌可能和亞硫酸氫塩作用而減低亞硫酸氫塩的濃度,減少酵素活力及亞硫酸氫塩的可能與醌作用,都會減低色素的生成速率和生成量。

亞硫酸氫塩對酪胺酸及多巴的抑制:

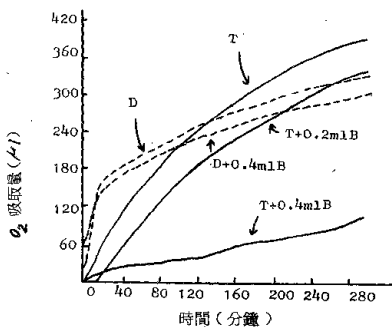


圖2 亞硫酸氫塩(B)對酪胺酸(T)及多巴(D)的酶催化氧化作用。

圖 2 表示亞硫酸氫塩對誘導期間的效應，可能由於其先與粗酵素之化合而有所不同，一種酵素在粗酵素混合液中，它可能氧化或還原亞硫酸氫塩或蛋白質中的活動性基與亞硫酸氫塩化合，亞硫酸氫塩可與某些蛋白質中的雙硫基（disulfide）化合，此亞硫酸氫塩—雙硫基反應將會降低亞硫酸氫塩的濃度，結果縮短了誘導期間。

在實驗中，抑制期間的末期可看到紅色素（dopa chrome）訊號的出現，此酪胺酸酶催化氧化為最初步驟，此紅色素表示多巴是由酪胺酸生成及多巴進一步的氧化作用。由於多巴對酪胺酸的氧化有催化效能，於是增加了氧的吸取量，抑制期間愈短，則紅色素出現後的氧吸取率愈大。

圖 3 表示當酪胺酸和咖啡鞣酸酶催化氧化時，亞硫酸氫塩對氧吸取的影響，在缺少亞硫酸氫塩的情況下，酪胺酸吸取氧以前，有一短的誘導期間，以後氧的吸取很快增加，並於整個實驗時間保持這種高速進行；但咖啡鞣酸的氧吸取則無此誘導期間，當基質與酵素混合後，馬上就有氧的吸取作用，因為立刻就可看到黃色的咖啡鞣酸氧化生成物，最初咖啡鞣酸的氧化速率較酪胺酸高的多，但經一段時間後遂停止，這種咖啡鞣酸的最初氧化速率高於酪胺酸，表示鄰位二酚（*o*-hydroxy phenol）較單酚（monophenol）易氧化。

酪胺酸的氧吸取時間較長，是由於多巴醌的形成，因而產生各種的吡喃衍生物，此種生成物質可繼續行酶催化氧化或自氧化作用。咖啡鞣酸不能循環或形成他種物質而繼續氧化作用，酪胺酸和咖啡鞣酸在一起時，比酪胺酸單獨存在時的氧吸取量要更高的多。此種結果是可想像到的，因為此種基質都可被酪胺酸酶催化而起氧化作用的。

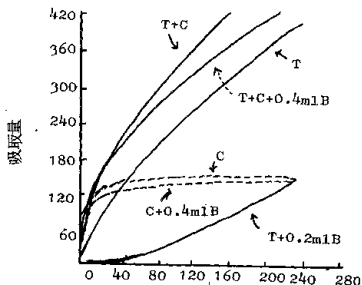


圖 3 亞硫酸氫塩(B)對酪胺酸(T)，咖啡鞣酸(C)和它們相互作用的酶催化氧化之抑制。

在上圖中也表示在酪胺酸氧化之前，亞硫酸鹽對延長誘導期間有很大的效應。又從氧吸取曲線的斜率上，可看出因亞硫酸鹽濃度的增加而引起氧化速率的減小。濃度 5.4×10^{-4} M 的亞硫酸鹽於 30~40 分鐘可抑制酪胺酸的氧化作用，但對咖啡鞣酸的氧化則無抑制作用，如用多巴醌為基質，則此濃度的亞硫酸鹽可生很小的作用或根本無作用。當酪胺酸、咖啡鞣酸和亞硫酸鹽在一起時，並不能延長氧吸取的抑制作用。在無亞硫酸鹽時，則雖達到咖啡鞣酸氧化的高原線，酪胺酸的氧化仍以正常速率進行。增加咖啡鞣酸可減少有效抑制亞硫酸鹽的濃度，因而促進酪胺酸氧化的進行，咖啡鞣酸的氧化作用也可促進酪胺酸的氧化。

有兩個因素可降低亞硫酸鹽的濃度至無抑制作用的程度，第一是咖啡鞣酸所生成的醌可氧化亞硫酸鹽為硫酸鹽 (HSO_4^-)；第二是亞硫酸鹽與醌的加合作用。Ponting 和 Johnson 發現新鮮或冷凍的水果對二氧化硫 (SO_2) 有很快的氧化作用。Bouchilloux 從多巴醌氧化作用中提取亞硫酸鹽的加合生成物，此種產物可能為咖啡鞣酸形成的醌和亞硫酸鹽加合而成的。這種咖啡鞣酸、酪胺酸和亞硫酸鹽的相互作用，可能為抑制馬鈴薯黑變需要高濃度亞硫酸鹽的主要原因。

在新鮮馬鈴薯的塊莖中，酪胺酸和咖啡鞣酸的含量因馬鈴薯的種類，塊莖的部份及儲藏的情形而有不同。咖啡鞣酸的濃度可能為酶催化黑變的最重要原因之一，因為它對抑制黑變的亞硫酸鹽的量可做有效的控制。

亞硫酸鹽對多巴及咖啡鞣酸的抑制

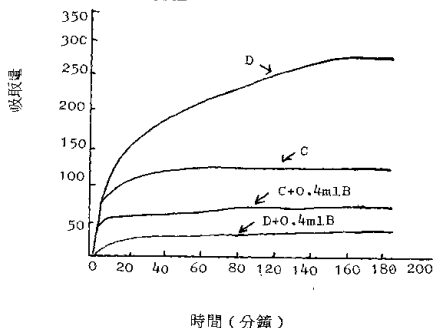


圖 4. 亞硫酸鹽(B)對多巴(D)及咖啡鞣酸(C)的酶催化氧化之抑制

圖 4 表示亞硫酸鹽的濃度增到 1.8×10^{-3} M 時，對咖啡鞣酸和多巴氧化的影響。咖啡鞣酸的氧化作用，最初增加很快，進行到相當於無亞硫酸鹽存在時的一半氧吸取量時，便趨於正常。於亞硫酸鹽濃度為 1.8×10^{-3} M 時，多巴的初期氧吸取不像咖啡鞣酸的那樣，最初

吸取氧很少，慢慢的增加，如將多伯加酵素和無抑制劑時相比較，可看出亞硫酸氫鹽的抑制氧吸取作用甚大！

當用 1.0M 亞硫酸氫鹽做實驗時，因亞硫酸氫鹽的自氧化作用太大，以致它的抑制效能都不能清楚的研究，但可注意的是咖啡鞣酸氫鹽的自氧化作用有如抑制劑。

當咖啡鞣酸用咖啡酸 (caffeic acid) 代替時，所有的實驗仍得相同的結果，這是因為咖啡酸和鵝納酸 (quinic acid) 都是組織咖啡鞣酸分子的成份。

五、ATP 誘導的抑制馬鈴薯色變

在馬鈴薯中 ATP 與維生素丙及其他還原劑的關係

多酚氧化酶可催化馬鈴薯或其他植物樣品中酚的氧化作用而生成深色的聚合物。許多還原物質，如維生素丙等，可還原由二酚氧化而生成的醌，因而防止了色變。這樣就要等全部的維生素丙都被氧化後，才有色變發生。

由實驗知植物樣品如被 ATP 溶液處理過，比未經處理的變色要淡的多，此種由 ATP 抑制酶催化色變的現象，是和代謝中活動的細胞微粒系統有關。用純的多酚氧化酶或不含細胞微粒的提取液，ATP 對多酚氧化酶的作用和生成物都沒有影響。雖然 ATP 本身並不是一種還原劑，但它對馬鈴薯的作用和維生素丙或其他還原劑相同。對此種現象，可解釋為 ATP 對馬鈴薯的作用是加強去氫維生素丙 (dehydroascorbic acid) 或氧化態的穀胱硫 (glutathione) 或二者的活性。此種還原作用和酶催化還原去氫維生素丙時的需要數硫有關。

如果氧化態的維生素丙或穀胱硫的被還原，與 ATP 抑制馬鈴薯色變有關，則此抑制作用將因這些氧化態物質加入 ATP 處理過的馬鈴薯中而增大，同時，ATP 的抑制色變亦不因維生素丙氧化酶 (ascorbic acid oxidase) 的加入而減少。在加入 ATP 後，可知維生素丙並不是生成還原物質，在馬鈴薯的酶催化色變中，有幾種其他還原物質是參與其作用的。

先質和維生素丙氧化酶對於馬鈴薯色變的影響

如無 ATP 存在，則還原物質的先質 (precursor)，如氧化態穀胱硫、胱胺酸 (cysteine) 和去氫維生素丙等對色變的生成無大影響。這些先質沒有直接被還原的，也沒有一個是對正常的色變有阻礙作用的。但如果氧化態穀胱硫和 ATP 同時加入，其色變程度較只有 ATP 單獨存在時低，但這種差異是很小的，用去氫維生素丙或胱胺酸試驗可得相似的結果。

圖 5 是用三種維生素丙氧化酶配液做實驗所得的結果，也表示出在此系統中各成份單獨的影響。馬鈴薯切片用此氧化酶處理與未經處理者色變的程度是相同的，單獨加維生素丙即可完全抑制褐變，曲線上註明有 AAO + AA (ascorbic acid oxidase + ascorbic acid) 的，表示維生素丙氧化酶催化的最大效力是當有多酚氧化酶系統存在時。由於所加維生素丙的濃度大 (0.05 M)，氧化酶催化的氧化速率應比由酚生成的醌氧化維生素丙的速率大。由實驗知氧化酶和 ATP 單獨對色變的影響一樣。用 ATP 處理過的馬鈴薯混液中，測不出維生素丙的存在，此結果證明馬鈴薯切片中，由 ATP 誘導的醌之還原，並非由於維生素丙或穀胱硫，而是另外的還原物質。

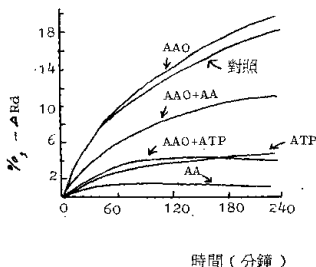


圖5. 維生素丙氧化酶 (AAO) 單獨存在, 和 0.05 M 維生素丙 (AA) 或 0.05 M ATP 共存時對馬鈴薯變色的影響。

對馬鈴薯色變有影響的幾種還原物質

有些物質如硫醇 (thiol), 含羰基化合物 (Carbonyl compounds), 及二氫氧反丁烯二酸 (dihydroxy fumaric acid) 等都有抑制色變的效用。硫醇的效能甚至於比維生素丙還要好, 含羰基化合物便差的多, 二氫氧反丁烯二酸則介乎二者之間。葡萄糖 (glucose), 果糖 (fructose) 和甘油醛 (glyceraldehyde) 對催化褐變無影響。二氫氧反丁烯二酸能強烈抑制多酚氧化酶造成的褐變, 可用分光光度計測定之 (見圖7)。

六、馬鈴薯內核苷酸對於酶催化色變的效應

實用方法

用 Gardner 自動比色計測知馬鈴薯切片的酶催化褐變是時間的函數, 測定中包括反射度 ($-\Delta R_d$), 紅度 (Δa) 和藍度 (Δb) 的變化, 最初值 (0 時間) 要從所有後來的測定值中減掉, b 的變化 (Δb) 甚小可忽略, 結果是用圖表示隨時間的增大所呈的反射百分率的減低。

馬鈴薯切片用 0.05 — 0.1M 的吡啶和腺嘌呤核苷酸 (pyridine and adenine nucleotides) 溶液 (在 pH 6.8 — 7.4 的緩衝劑中) 處理之。再加入濃度 0.001M 的多巴, 所用的抑制劑為 0.0003 M 的安密妥 (amytal) 和 10^{-5} M 的抗黴素 A (antimycin A)。

在試管中實驗是於 25°C 用純淨的洋菇酪胺酸粉, 所用的 ATP, NAD 和 NADP 是存於