维普资讯 http://www.cqvip.com

云 南 植 物 研 究 2005, 27 (3): 310~314
Acta Botanica Yunnanica

不同加工处理条件下香荚兰荚果中二种内源酶的活性变化

江 明[2], 刘 涛[1], 杨祖武[2], 周 斌[2], 胡运乾[1*]
(1 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; 2 云南省香料研究中心, 云南 昆明 650030)

摘要: 香荚兰 (*Vanilla planifolia* Andr.) 成熟荚果经过不同的杀青与烘烤条件处理后, 分析其内部的β-葡萄糖甙酶与过氧化物酶的活性的变化, 结果表明: 经不同的杀青温度与时间处理后, β-葡萄糖甙酶活性都比对照高, 而过氧化物酶的活性较对照低; 经过不同的烘烤时间与温度处理后, β-葡萄糖甙酶活性与过氧化物酶的活性都比未经任何处理的有显著性地增高。

关键词: 香荚兰; β-葡萄糖甙酶; 过氧化物酶
中图分类号: Q 946.5 **文献标识码**: A **文章编号**: 0253-2700(2005)03-0310-05

The Changes Activity of Two Endogenous Enzymes in Differently Processed *Vanilla planifolia* Capsule

JIANG Ming[2], LIU Tao[1], YANG Zu-Wu[2], ZHOU Bin[2], HU Yun-Qian[1*]
(1 *Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650204, China;
2 *Yunnan Flavor and Fragrance Reserch & Development Center*, Kunming 650051, China)

Abstract: The changes of β-glucosidase and peroxidase activity in *Vanilla planifolia* capsule have been analyzed under different processed conditions, which include different deactivation of enzyme and roasting process. The results showed that β-glucosidase activity is higher than that of contrast after capsules is treated by different temperature and times of deactivating enzyme, peroxidase activity is lower; Through the processes of different roasting temperature and time, the activities of the two enzymes are both higher than that of contrast.

Key words: *Vanilla planifolia*; β-glucosidase; Peroxidase

香荚兰 (*Vanilla planifolia* Andr.) 是一种传统的天然植物香料, 可用于多种食品的添加剂。其丰富的香气源于豆荚中所含的挥发性成分。在天然豆荚的香气成分中, 已鉴定出与香气相关的挥发性成分 170 种 (Klimes and Lamparsky, 1976)。虽然有很多关于香荚兰香气的组成成分的报道, 但有关这些成分在采后的加工过程中的转化机制仍了解甚少。温度处理、酶促反应以及微生物的参与被认为在香兰素的形成过程中有着重要的作用 (Ranadive, 1994)。早在 1924 年, 研究人员就发现香荚兰经加工后所产生的重要香气成分香兰素 (vanillin) 在刚采收的青豆荚中是以 β-葡糖甙 (glucovanillin) 的形式存在。香兰素是由其前体 β-葡糖甙香兰素 (glucovanillin) 经 β-葡萄糖甙酶在加工过程中水解而来 (Arana,

* 通讯作者: Author for correspondence. E-mail: yqhu@public.km.ym.cn
收稿日期: 2004-07-16, 2005-03-29 接受发表
作者简介: 江明 (1961-) 女, 副研究员, 主要从事香料植物研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1943)，江明等（2000）曾测过不同级别的成熟香荚兰荚果中β-葡萄糖甙酶，过氧化物酶及多酚氧化酶的活性。对于香兰素前体的活性转化过程来说，β-葡萄糖甙酶是参与该过程的所有酶中最重要的（Arana，1943)。当对杀青后的豆荚进行施以外源的β-葡萄糖甙酶处理时，香兰素的含量有所增加（金丽等，2002)。香荚兰中的内源多酚氧化酶和过氧化物酶参与了香气的形成（Ranadive，1994)，适当浓度的SA处理，可提高过氧化物酶和多酚氧化酶的活性（蔡传杰等，2003)。

香荚兰的传统生香方法是通过杀青、干燥、陈化等一系列处理过程让荚果的内源酶得以活化并释放出来，在一定的条件下由其自身的内源酶和外界微生物的共同作用，释放香气成分。在香荚兰的传统生香而在加工中杀青、烘烤和干燥是促进内源酶释放的关键过程。因此，研究不同的杀青、烘烤和干燥条件下与香荚兰香气成分转化相关的各种内源酶活性的变化规律，对于了解香荚兰采后的加工过程中香气成分的转化机制，提高香荚兰香气成分转化的效率，提升产品的品质均具有重要的意义。本文对不同的杀青温度和时间处理，结合不同的烘烤温度与时间处理条件下的香荚兰中的β-葡萄糖甙酶与过氧化物酶的活性进行了分析与比较，以期待进一步了解香荚兰采后的加工过程中香气成分的转化机制，找出较佳的采后的加工条件。

1　材料与方法

1.1　材料

采用云南香荚兰公司景洪种植场种植的优等新鲜荚果，经不同的杀青条件和烘烤条件处理后用于β-葡萄糖甙酶和过氧化物酶的活性测定。样品的加工处理条件如表1所示。

表1　样品的加工处理条件

Table 1　The different processes condition of the samples

样品编号	杀青温度（℃）	杀青时间（s）	烘烤温度（℃）	烘烤时间（h）
CK	—	—	—	—
01	50	60	—	—
02	70	60	—	—
03	80	60	—	—
04	90	60	—	—
05	75	30	—	—
06	75	60	—	—
07	75	90	—	—
08	75	120	—	—
09	75	90	40	24
10	75	90	40	48
11	75	90	40	72
12	75	90	50	24
13	75	90	50	48
14	75	90	50	72
15	75	90	60	24
16	75	90	60	48
17	75	90	60	72

1.2　粗酶液的提取

CK：1号、2号、3号、4号、5号、6号、7号、8号样品加入1:2（重量/体积）的磷酸缓冲液（0.1 mol/L，1% MSH，pH 6.5）于匀浆器中匀浆，9号、10号、11号、12号、13号、14号、15号、16号、17号样品根据样品含水量按重量:体积加入1:10、1:8、1:3、1:2、1:2、1:5、1:4、1:3、1:4的磷酸缓冲液，于匀浆器中匀浆，在1 5000 r/min，4℃下离心20 min，取上清液为粗酶提取液保存于冰浴中备用。

1.3　β-葡萄糖甙酶的活性测定

1.3.1　标准曲线　以NPGP（Nitrophengl-β-D-glucopyranoside）为底物，50 mmol/L柠檬酸－磷酸缓冲液，pH 6.0，杏仁β-葡萄糖苷酶（sigma）为标准酶，60℃反映30 min，加入1 mol/L的Na_2CO_3终止反应，测定A_{400}的消光值，绘制标准曲线（图1）（Malik and Singh，1980)。

1.3.2　β-葡萄糖甙酶的活性测定　底物浓度为NPGP（Nitrophengl-β-D-glucopyranoside）200 μmol/L（柠檬酸－磷酸缓冲液0.1 mol/L，pH 6.0)，对照杯为不加酶提取液的底物溶液，β-葡萄糖甙酶提取液100 μl，60℃反应30 min，加入1 mol/L的Na_2CO_3终止反应，测

维普资讯 http://www.cqvip.com

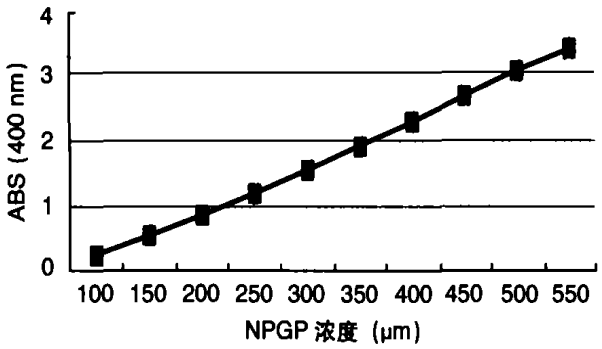

图1 NPGP标准曲线

Fig. 1 Standard cure of NPGP

定 A_{400} 的消光值（Malik and Singh，1980）。

1.4 过氧化物酶的测定

在1 cm的石英比色杯中加入28℃～30℃温浴的磷酸缓冲液（0.1 mol/L，pH 6.5）1.75 ml，粗酶提取液0.1 ml，邻联（二）茴香胺溶液（1 mg/ml的甲醛溶液）0.1 ml，加入过氧化氢0.2 ml，在28℃～30℃的反应条件下，测定 A_{430} 的吸光值，对照杯中除了不加粗酶提取液，其余组份相同，每隔30 s记录一次变化值，记录210 s（Malik and Singh，1980）。

2 结果与讨论

香荚兰的加工处理工艺各地虽有所不同，根据其功能可分为杀青、干燥和陈化3个阶段。其中杀青和干燥过程是活化和释放与香荚兰生香相关内源酶的关键过程。适合的杀青条件，可有效的防止豆荚在干燥过程中榨裂。活化香荚兰果荚中的β-葡萄糖甙酶等与香荚兰生香相关的内源酶。杀青后的豆荚经过干燥过程达到适当的含水量。干燥后的豆荚真空包装后进入陈化生香。

不同杀青过程中香荚兰豆荚中β-葡萄糖甙酶的活性分析结果如图2所示，杀青条件为75℃，30 s时β-葡萄糖甙酶的活性达到最高。

不同干燥过程中香荚兰豆荚中β-葡萄糖甙酶的活性分析结果如图3所示，干燥条件为50℃，48 h及72 h时β-葡萄糖甙酶的活性达到最高。

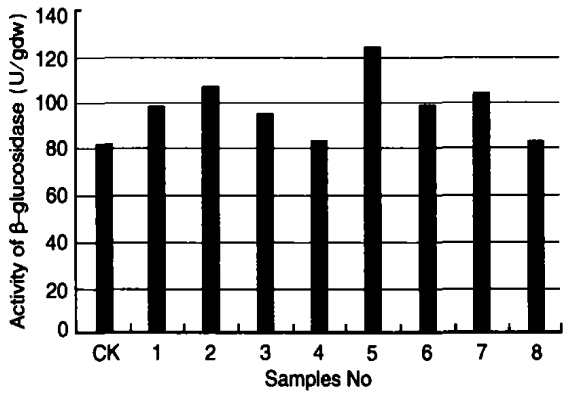

图2 不同杀青条件下β-葡萄糖甙酶的活性

Fig. 2 The β-glucosidase activity under different condition of deactivated enzyme (dw: dry weight)

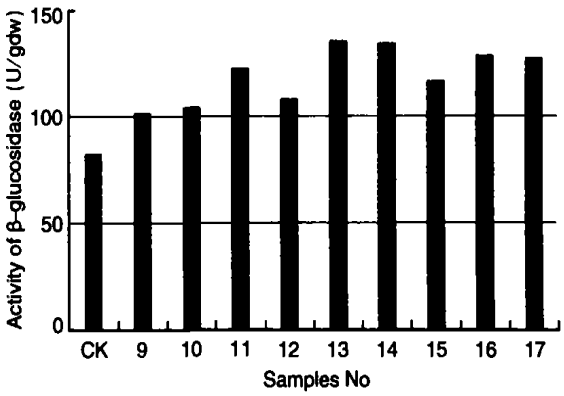

图3 不同干燥条件下β-葡萄糖甙酶的活性

Fig. 3 The β-glucosidase activity under different drying condition (dw: dry weight)

不同杀青过程中香荚兰豆荚中过氧化物酶的活性如图4所示，杀青后香荚兰豆荚中过氧化物酶的活性与对照相比明显降低。

不同干燥过程中香荚兰豆荚中过氧化物酶的活性如图5所示，干燥后香荚兰豆荚中（60℃，24 h及72 h处理的除外）过氧化物酶的活性与对照相比明显升高。

为优化香荚兰的采后加工工艺，我们对杀青和干燥的工艺条件进行了系统的分析。比

维普资讯 http://www.cqvip.com

较了香荚兰豆荚中β-葡萄糖甙酶和过氧化物酶在不同的工艺条件下的活性和变化规律。研究结果表明，β-葡萄糖甙酶在经过杀青和干燥处理后，其酶的活性变化显著，较空白对照明显升高，杀青后过氧化物酶的活性与对照相比明显降低，干燥处理后过氧化物酶的活性与对照相比明显升高。在实验室条件下最适宜的杀青条件为75℃，30 s，干燥条件为50℃，48 h及72 h。通过含水量的测定结果显示，干燥后的最适含水量为30%至35%，与传统的加工工艺相似。

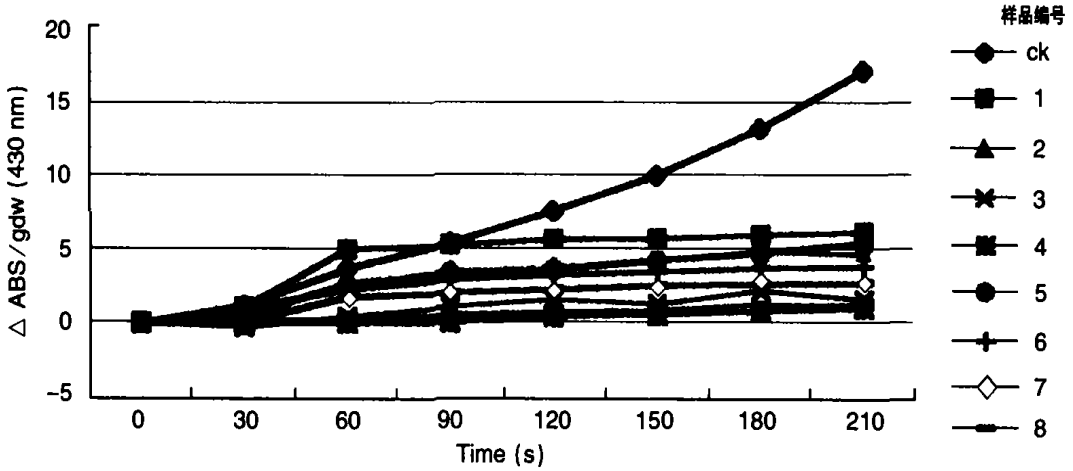

图4　不同杀青条件下香荚兰豆荚中过氧化物酶的活性

Fig. 4　The peroidase activity under different conditions of the deactivated enzyme (dw: dry weight)

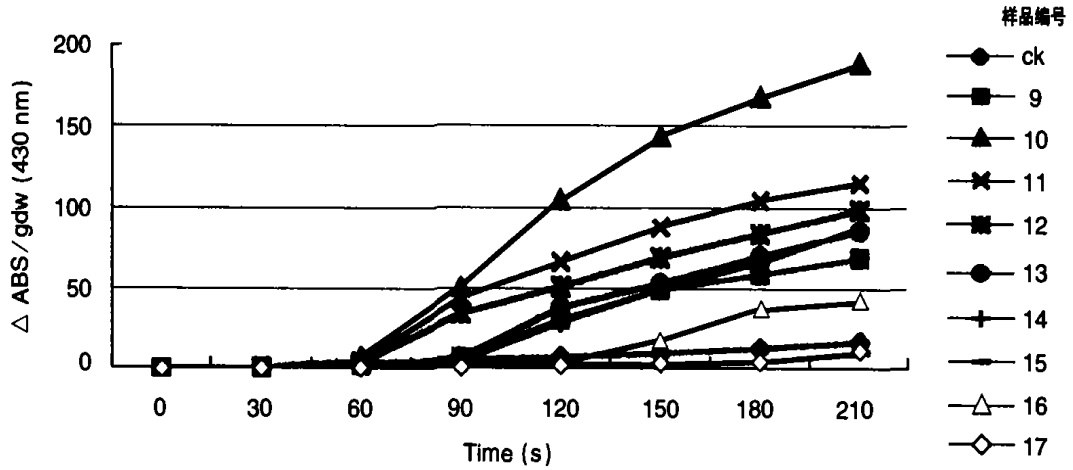

图5　不同干燥条件下香荚兰豆荚中过氧化物酶的活性

Fig. 5　The peroidase activity under different drying condition (dw: dry weight)

在传统生香过程中，香气成分的形成主要依赖豆荚中内源酶的作用，但作用并不完全。以香兰素β-葡萄糖甙为例，经过6个月的陈化过程后香兰素β-葡萄糖甙的转化率约为40%（Eric，2000）。为提高香兰素β-葡萄糖甙的转化率，在外源β-葡萄糖甙酶的作用下，香兰素分解趋于完全，4个糖甙水解成分较空白对照都至少提高了一倍，显然，β-葡萄糖甙酶对香荚兰中香兰素及相关成分的形成起了重要的作用（浦帆等，1998a,b）。

维普资讯 http://www.cqvip.com

在香荚兰的加工中，处于包装后陈化过程的豆荚容易发生霉变。但相比之下香气浓重的豆荚在此过程中较不易霉变。当施加外源β-葡萄糖甙酶时，香荚兰的香气会有大幅度的提高，在储藏中其表面会有大量香兰素结晶出现，且不易霉变。推测可能是因为β-葡萄糖甙酶具有降解菌壁的作用，同时香兰素对真菌的生长也有抑制作用（Daniel等，2003）。加工处理后过氧化物酶活性高的香荚兰，其在储藏中褐变程度就很低，β-葡萄糖甙酶与过氧化物酶活性都高的香荚兰，无论从其外观或香气质量来说，都对其市场交易提供了很好的保障。因此，适合的杀青和干燥加工条件，可有效地释放与香荚兰生香相关的内源酶，提升香气成分的转化效率，在加工过程早期快速富积香兰素等香气成分，抑制真菌的滋生。

〔参 考 文 献〕

金丽，陈德新等，2002. 香荚兰酶促生香及超临界 CO_2 萃取香气成分的研究［J］. 香料香精化妆品，**1**：21—25

Arana FG，1943. Action of a β-glucosidse in the curing of *Vanilla*［J］. *Food Res*，**8**：343

Cai CJ（蔡传杰），Chen SN（陈善娜），Yin M（尹梅），*et al*，2003. Effects of salicylic acid on some enzyme activities related to stress resistance and content of MDA in *Vanilla planifolia*［J］. *Acta Bot Yunnan*（云南植物研究），**25**（6）：700—704

Daniel J，Fitzgerald，Malcolm Stratford，*et al*，2003. Analysis of the inhibition of food spoilage yeasts by vanillin［J］. *International Journal of Food Microbiology*，**86**：113—122

Eric Odoux，2000. Changes in vanillin and glucovanillin concentrations during the various stages of the process traditionally used for curing *Vanilla fragrans* beans in Reunion［J］. *Fruits*，**55**：119—125

Jiang M（江明），Pu F（浦帆），Xie WS（谢文申），*et al*，2000. Activity of three enzymes in *Vanilla* capsule［J］. *Acta Bot Yunnan*（云南植物研究），**22**（2）：187—190

Klimes I，Lamparsky D，1976. Vanilla volatiles a comprehensive analysis Int［J］. *Flavor Food Additive*，**7**：272—273，291

Malik CP，Singh MB，1980. Plant Enzynoligy and Histoenzynology［M］. New Delhi Kalyani Publishers，53—57

Pu F（浦帆），Jiang M（江明），Zhang ZJ（张正居），*et al*，1998a. Study on *Vanilla* curing by enzyme treatment method［J］. *Acta Bot Yunnan*（云南植物研究），**20**：355—361

Pu F（浦帆），Zhang JS（张劲松），Zhang ZJ（张正居），*et al*，1998b. Study on the components released from glucoside in *Vanilla* been of different curing stages［J］. *Natural Product Research and Development*（天然产物研究与开发），**10**（3）：29—33

Ranadive AS，1994. Vanillacultivation，curing，chemistry，technology and commercial products［J］. *Developments in Food Science*，**34**：517—577