

温度对黄皮果实 PAL、POD 和 PPO 活性的影响*

张福平, 李秋红

(韩山师范学院生物系, 广东 潮州, 521041)

摘 要 为探究贮藏过程中温度对黄皮果实采后保鲜的效果, 研究了 2~4℃、6~8℃ 和 10~12℃ 等不同贮藏温度对黄皮果实几种酶活性的影响。结果表明, 贮藏温度在 2~12℃ 时, 贮藏温度越低, 保鲜效果越好, 适宜的贮藏温度为 2~4℃。2~4℃ 贮藏的黄皮果实苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性高于 6~8℃ 和 10~12℃ 贮藏的果实, 而过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性低于 6~8℃ 和 10~12℃ 贮藏的果实。2~4℃ 贮藏能增强黄皮果实的防伤害能力, 明显抑制黄皮的酶促反应, 有利于贮藏期限的延长。

关键词 黄皮, 贮藏温度, 苯丙氨酸解氨酶(PAL), 过氧化物酶(POD), 多酚氧化酶(PPO), 活性

黄皮 [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels] 俗称“黄弹”, 属芸香科黄皮属, 是原产我国南方的热带亚热带常绿果树。其中, 广东、广西、台湾和福建种植较多, 四川、云南也有分布, 在美国、澳大利亚及东南亚也有栽培。黄皮以鲜食果销售为主, 其果实皮薄, 易破损, 其成熟期又恰逢高温季节, 果实采后生理变化剧烈, 贮藏性差, 在自然条件下极易变软腐烂。因此, 控制黄皮采后腐烂成为生产上亟待解决的问题。目前, 对果蔬的 PAL、POD 和 PPO 等酶特性的报道比较多^[1~6], 也有“黄皮耐贮性与果皮超微结构的研究”报道^[7]。本文以黄皮为材料, 探讨了不同贮藏温度对黄皮中这几种酶的影响, 分析其变化规律, 同时为寻找黄皮贮藏保鲜的最适温度提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与处理

供试材料黄皮(鸡心黄皮品种), 采自广东省潮州市意溪果园, 采后立即运回韩山师范学院生物技术基础实验室进行处理。挑选无机械损伤、大小均匀、成熟度较一致的黄皮果实, 用自来水清洗、晾干。然后分为 4 组进行处理, 每组 2.5 kg, 分别放置在常温(25~31℃)、2~4℃、6~8℃、10~12℃ 下贮藏。

1.2 相关酶活性测定

酶活性的测定均参考文献[8]的方法进行, 作适当修改, 每 2 d 测定 1 次果实中的 PAL、POD 和 PPO 等酶的活性。

1.2.1 PAL 活性的测定

称取黄皮果肉 5 g, 加 0.5 g 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、少许石英砂、适量冰块, 研磨成匀浆。加入 15 mL pH 8.8 硼酸缓冲液, 4℃, 6 000 r/min 离心 10 min, 上清液为酶粗提取液。取 1 mL 上清液, 加 4 mL 0.02 mol/L 苯丙氨酸溶液, 加入 5 mL pH 8.8 硼酸缓冲液, 40℃ 水浴 30 min, 加入 1 mL 6 mol/L HCl 终止反应。测定 1 min 内 290 nm 处吸光值变化, 以吸光值变化 0.001 为 1 个酶活力单位 U, 酶活力表示为 U/(min·g)。

1.2.2 POD 活性的测定

称取黄皮果肉 5 g, 加 0.5 g PVP、少许石英砂、适量冰块, 研磨成匀浆。加入 15 mL pH 6.0 磷酸缓冲液, 4℃, 6 000 r/min 离心 10 min, 上清液为酶粗提取液。1 mL 酶粗提取液加入 4 mL 反应液(pH 6.0 磷酸缓冲液 50 mL, 体积分数 30% 过氧化氢 0.028 mL, 愈创木酚 0.019 mL), 40℃ 水浴 30 min。测定 1 min 内 470 nm 处吸光值变化, 以吸光值变化 0.001 为 1 个酶活力单位 U, 酶活力表示为 U/(min·g)。

1.2.3 PPO 活性的测定

称取黄皮果肉各 5 g, 加入少许石英砂、适量冰块, 研磨成匀浆。加入 15 mL pH 7.2 磷酸缓冲液, 4℃, 6 000 r/min 离心 10 min, 上清液即为酶粗提取液。取 1.5 mL pH 7.2 磷酸缓冲液 1.5 mL 的 0.10 mol/L 儿茶酚溶液、2 mL 酶粗提液, 40℃ 水浴 30 min, 用 50 μL 浓盐酸终止反应。测定 1 min 内 450 nm 处吸光值变化, 以吸光值变化 0.001 为 1 个酶活力单位 U, 酶活力表示为 U/(min·g)。

试验重复 3 次, 最后求出平均值。

第一作者: 本科, 高级实验师。

* 广东省科技计划项目资助(2006B70301043)

收稿日期: 2008-09-16, 改回日期: 2008-10-22

2 结果与分析

2.1 温度对 PAL 活性的影响

如图 1 所示,低温贮藏的黄皮果实的 PAL 活性先下降随后上升,接着又下降后迅速上升;常温对照组在第 2 天时果实的 PAL 活性迅速下降,然后持续上升,在贮藏期前 4 d,其果实的 PAL 活性与 6~8℃ 处理组的较为接近,第 6 天时,其活性比所有处理组的要高;低温处理组黄皮果实的 PAL 活性为:PAL(2~4℃) > PAL(6~8℃) > PAL(10~12℃)。这表明,低温贮藏的果实抗病能力比常温对照组强,其中,在 2~4℃ 下贮藏的黄皮果实防伤害能力最强。

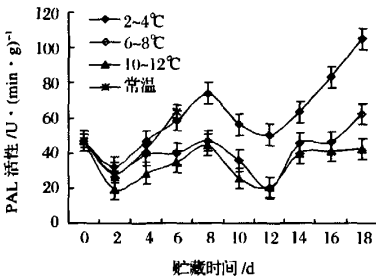


图 1 不同贮藏温度对黄皮 PAL 活性的影响

2.2 温度对 POD 活性的影响

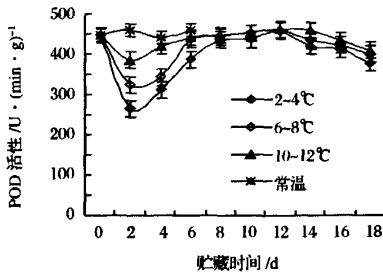


图 2 不同贮藏温度对黄皮 POD 活性的影响

如图 2 所示,在低温贮藏过程中,各处理组 POD 活性呈现先下降后升高又小幅度下降的变化;而且始终保持一定的趋势,即 POD(2~4℃) < POD(6~8℃) < POD(10~12℃)。常温对照组的黄皮果实在 1 w 内的变化是稍上升后下降,随后又稍微升高;其 POD 活性始终高于低温贮藏的黄皮果实。这表明,低温贮藏能较好的降低黄皮果实 POD 活性,减轻黄皮果实膜脂过氧化程度,明显延缓黄皮果实采后褐变和衰老速度,延长其贮藏时间;其中,2~4℃ 对黄皮果实 POD 活性的抑制效果最好。

2.3 温度对 PPO 活性的影响

如图 3 所示,在贮藏过程中,黄皮果实的 PPO 活性均呈现先急剧降低后迅速升高的变化趋势。黄皮

果实 PPO 活性高低的顺序为:PPO(2~4℃) < PPO(6~8℃) < PPO(10~12℃),在贮藏前 6 d,常温贮藏的黄皮果实 PPO 活性比低温贮藏的高。这表明,低温能有效抑制黄皮果实 PPO 活性,很好地控制了酶促褐变,使黄皮果实保持较好的品质,尤其是在 2~4℃ 下贮藏的黄皮果实的 PPO 活性的钝化效果最佳。

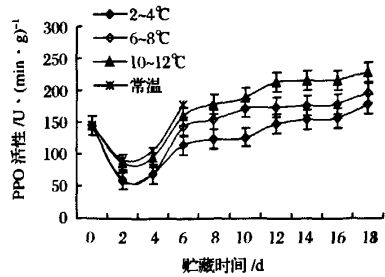


图 3 不同贮藏温度对黄皮 PPO 活性的影响

3 讨论

PAL 是催化苯丙烷类代谢第一步反应的酶,是苯丙烷类代谢的关键酶和限速酶^[9]。它与酚类物质、木质素以及植保素等植物抗病物质的合成密切相关。木质素的形成,可以增加细胞壁的厚度,增加组织木质化程度,形成病原菌入侵的机械屏障。伴随着 PAL 活性升高有木质素的积累及酚类物质和植保素的合成,果实的抗病能力越强。植物在遭遇逆境时,其防御系统特别是苯丙烷类代谢被激活,促使 PAL 活性上升以产生较多植保素、木质素等来减轻伤害。朱海英^[13]等人先后对不同植物研究后认为,在木质化开始时 PAL 活性就迅速上升到一个很高的水平, PAL 可以作为木质化开始的标志酶。刘尊英^[11]等人对绿芦笋采后木质化研究中证实 PAL 促进木质素的生物合成;郑永华^[12]等人研究认为低温可诱导枇杷 PAL 活性的上升而促进木质素的合成。本试验发现,2~4℃ 贮藏的果肉 PAL 活性较高,其次是 6~8℃ 的贮藏,而 10~12℃ 下贮藏的果肉 PAL 活性保持较低的水平,常温下的 PAL 活性最低。可见,在一定温度范围内,低温可诱导 PAL 活性上升,这与郑永华的结论相一致。从感官方面来看,2~4℃ 贮藏果实相对充盈,其次是 6~8℃ 的果实,10~12℃ 果实硬度相对较低,而常温下贮藏的果实在 1 w 后基本上干瘪褐变。在相对温度较高下贮藏降低了果肉 PAL 的活性,降低果实的抗病能力,加速果实褐变腐烂。在 2~12℃ 间,贮藏温度越低,果肉 PAL 的活性越高,其防伤害的能力越强,果实的保鲜效果越好;其中,适宜

的低温贮藏温度为 2~4℃。

POD 是植物活性氧代谢中活性氧清除系统的一种重要酶类,同时也是木质素生物合成中最后一步的关键酶^[9]。木质素的积累及酚类物质和植保素的合成增强果实的抗病机制,减少果实的褐变。在 3 种酶活性中,POD 活性相对较高,这在一定程度上延缓了果实的衰老,过成熟化。但是,POD 活性的上升参与酚类物质的氧化和聚合而导致果皮褐变,所以,POD 的活性并不是越高越好。本试验中黄皮果实于 2~4℃ 贮藏的果肉 POD 活性比其他组低,这说明低温贮藏能较好的降低黄皮果实的 POD 活性,减轻黄皮果实膜脂过氧化程度,明显延缓黄皮果实采后褐变和衰老速度,延长其贮藏时间。

PPO 为广泛存在于植物体内的多功能酶类,它能催化多酚类氧化成醌类化合物而引起果蔬褐变^[9,10],要控制酶促褐变,主要是要采取措施抑制 PPO 活性。一般认为,植物器官或组织的酚类物质在酶的作用下氧化为醌和水,醌再经非酶促聚合,形成褐色物质,而产生褐变,即酶促褐变。在本试验中,PPO 活性高低顺序为:PPO(2~4℃) < PPO(6~8℃) < PPO(10~12℃);从外观来看,2~4℃ 的褐变果最少,其次是 6~8℃ 的贮果,10~12℃ 的褐变果较多,而常温的黄皮在 1 w 后几乎完全褐变腐烂。这说明 PPO 活性的上升与果蔬褐变呈正相关的规律变化;在 2~12℃ 间,贮藏温度越低,果肉 PPO 的活性越低,其褐变速度越慢;其中,适宜的低温贮藏温度为 2~4℃。

4 结 论

黄皮果实的褐变是多因素综合作用的结果,温度与黄皮果肉的 PPO, PAL 和 POD 活性变化密切相

关。不同的贮藏温度对黄皮的耐藏性影响不同,低温贮藏的黄皮 PAL 活性诱导激活,POD、PPO 活性抑制钝化效果明显,低温贮藏黄皮对延缓其组织衰老有重要的作用。尤其是 2~4℃ 贮藏能增强黄皮果实的防伤害能力,明显抑制黄皮果的酶促反应,有利于贮藏期限的延长,达到较佳的保鲜效果。

参 考 文 献

- 1 李艳华,王庆国. 芦笋过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶特性及抑制条件的研究[J]. 食品与发酵工业,2007,33(11):55~59
- 2 王 峰,车淑红,李小娟,等. 油菜中过氧化物酶及相关生化指标的研究[J]. 河南师范大学学报,2007,35(1):167~169
- 3 杨大伟,夏延斌,谭兴和,等. 黄花菜中过氧化物酶活性的测定及褐变控制[J]. 湖南农业大学学报,2003,29(3):258~261
- 4 马俊彦,杨汝德,敖利刚. 植物苯丙氨酸解氨酶的生物学研究进展[J]. 现代食品科技,2007,23(27):71~74
- 5 刘开华,邢淑婕. 速冻对蕨菜品质的影响及酶活性变化的试验研究[J]. 食品科技,2004,33(4):33~36
- 6 王燕,刘卫红,杜何为,等. 底物、末端产物对离体银杏叶苯丙氨酸解氨酶活性的影响[J]. 果树学报,2004,21(5):443~446
- 7 屈红霞,蒋跃明,李月标,等. 黄皮耐贮性与果皮超微结构的研究[J]. 果树学报,2004,21(2):153~157
- 8 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社,1999. 314~318
- 9 余叔文,汤章诚主编. 植物生理与分子生物学(第 2 版)[M]. 北京:科学出版社,1998
- 10 吴振先,韩冬梅,李作梁,等. SO₂ 对贮藏龙眼果皮酶促褐变的影响[J]. 园艺学报,1999,26(2):91~95
- 11 刘尊英,姜微波. 常温下 GA₃ 处理对绿芦笋采后木质化的影响[J]. 中国农业科学,2005,38(2):383~387
- 12 郑永华,李二玉,席均芳. 枇杷冷藏过程中果肉木质化与细胞壁物质变化的关系[J]. 植物生理学报,2000,26(4):306~310
- 13 朱海英,李人圭,王隆华,等. 丝瓜果实发育中木质素代谢及有关导管分化的生理生化研究[J]. 华东师范大学学报,1997,(1):87~94

Effects of Different Storage Temperatures on PAL, POD and PPO Activity of Wampee Fruit

Zhang Fuping, Li Qihong

(Department of Biology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China)

ABSTRACT Effect of different storage temperatures on related enzyme activity of wampee fruit was studied in order to explore the preservation conditions at 2~4℃, 6~8℃ and 10~12℃. The results showed that within 2~12℃ the lower temperature gave a better preservation. The best storage temperature was 2~4℃. Phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity of wampee fruit stored at 2~4℃ was higher than those stored at 6~8℃ and 10~12℃, while peroxidase (POD) activity and polyphenol oxidase (PPO) activity were lower. Therefore, it implied that wampee fruit stored at 2~4℃ enhanced the induced disease resistance of the fruits and the storage limit of the fruits was prolonged effectively.

Key words wampee fruit, storage temperature, phenylalanine ammonia lyase (PAL), peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), activity