

# 贮藏荔枝果皮多酚氧化酶及过氧化物酶与褐变的研究<sup>\*</sup>

吴振先 苏美霞 陈维信 胡桂兵

(华南农业大学园艺系, 广州, 510642)

**摘要** 以“淮枝”的材料, 着重研究分析了荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.) 贮藏过程中果皮多酚氧化酶及过氧化物酶的活性及其同工酶谱的变化, 结果发现, 荔枝果皮多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)均具有游离态和结合态两种形式, 它们在果皮褐变过程中活性的变化规律有所差别, 随着果皮的褐变, PPO 和 POD 均有新的同工酶带出现, 新酶带与酶活性的变化和果皮褐变程度有关。

**关键词** 荔枝; 褐变; 多酚氧化酶; 过氧化物酶; 同工酶

**中图分类号** S667.209.3

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.) 是原产我国南方的亚热带名果, 素有“中华之珍果”的美称, 是我国在国际市场上最有竞争力的果品之一。荔枝味佳、色美、营养丰富, 深受人们的喜爱。但由于它在盛夏高温季节采收, 加上其结构特殊, 代谢旺盛, 采后极易褐变和腐烂变质, 难于贮藏, 特别是在常温下, 它“一日而色变, 二日而味变, 三四日外, 色、香、味尽去矣”, 大大限制了它的流通贸易。现在采用低温冷藏、药物处理、气调贮藏, 包装及熏硫浸酸等方法, 对控制荔枝采后褐变和腐烂有一定效果, 但仍未能完全满足生产上的要求。

对于荔枝果实的采后生理及褐变机理, 前人已开展了多方面的研究(Underhill, 1992)。一般认为, 荔枝采后褐变是由于多酚氧化酶的作用、失水、病原菌侵染等因素引起, 但这些因素如何导致褐变仍不清楚, 尤其对荔枝果皮的褐变机理, 现在仍知之甚少。了解荔枝的采后褐变机理, 对控制荔枝采后褐变, 以提高荔枝商品价值, 延长供销期, 调剂市场, 具有重要意义。本试验采用广东省栽培面积最大, 产量最多的荔枝品种淮枝(cv. Huaizhi)为材料, 着重研究与荔枝果皮褐变有关的酶, 为弄清荔枝的褐变机理和研究新的荔枝保鲜技术提供更多的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

所用材料“淮枝”采自广州市郊从化。采收当天进行处理, 剔除病虫害及褐变果, 浸药( $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 特克多+ $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙磷铝)防腐, 晾干, 用0.03 mm厚聚乙烯薄膜袋(PE袋)包装(每袋40个), 置于 $(4\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱(日本IL-82型低温环境箱)中贮藏, 作试验全过程的分析测定。

### 1.2 方法

1.2.1 褐变程度分级 0级果—果全红; 1级果—龟裂片尖变褐; 2级果—果皮1/3以下变褐; 3级果—果皮1/3~1/2变褐; 4级果—1/2以上果皮变褐; 5级果—果全部变褐。褐变指

1996-11-20 收稿 吴振先, 男, 26岁, 助教, 硕士

<sup>\*</sup>广东省“八五”重点课题的部分内容

©1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www>

数 =  $\sum$ (褐变级数 × 该级果数) / 总果数

1.2.2 多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)活性的测定 酶样的提取制备基本参考蒋跃明等(1991)方法, 测定参照中国农业科学院茶叶研究所(1983)方法, 先将样品制成丙酮粉, 游离酶以 pH 6.8 磷酸-柠檬酸缓冲液(内含质量分数为 1%聚乙烯吡咯烷酮, PVP)提取, 总酶以 pH 6.8 磷酸-柠檬酸缓冲液(内含质量分数为 1%PVP, 体积分数为 0.1% Triton X-100)提取, 两者活性之差为结合酶活性。

F 酶活性以每小时每克丙酮粉消耗抗坏血酸的微克数表示。

1.2.3 多酚氧化酶、过氧化物酶同工酶的测定 参照中国农业科学院茶叶研究所(1983)和陆士伟等(1987)的方法, 用聚丙烯酰胺凝胶电泳法分离荔枝果皮 PPO 和 POD 同工酶, 浓缩胶质量分数为 3.5%, 分离胶质量分数为 7.5%。PPO 同工酶的染色以质量分数 0.06%对苯二胺:质量分数 1%邻苯二酚:pH 6.8 磷酸-柠檬酸缓冲液=1:1:3 的混合液进行染色。POD 同工酶的染色参照沈德绪(1992)方法, 用联苯胺:质量分数 4%氯化铵溶液:质量分数 5% EDTA-Na<sub>2</sub> 溶液:体积分数 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:蒸馏水=1:1:1:8 的混合液进行染色。

## 2 结果与分析

### 2.1 荔枝果实在贮藏过程中褐变指数变化

在荔枝采后低温贮藏的最初几天, 果实褐变很少, 但果皮一旦开始褐变, 则逐渐加重, 呈直线上升趋势, 一直到果皮完全褐变(图 1)。

### 2.2 荔枝采后褐变过程中果皮多酚氧化酶活性和同工酶的变化

试验结果表明, 荔枝果皮的 PPO 具有游离态和结合态两种形式。在贮藏过程中, 游离态 PPO 活性逐渐降低, 而结合态 PPO 和总 PPO 活性均随着贮藏期延长而逐渐增加, 直至果皮完全褐变(表 1)。可见, 导致果皮褐变的 PPO 主要可能是结合型 PPO 引起。

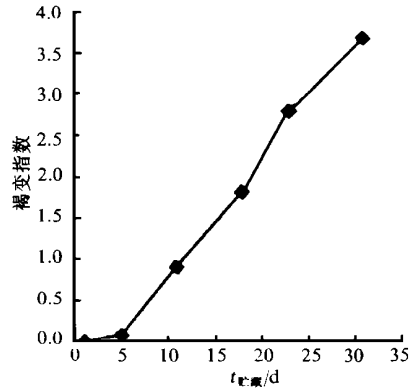


图 1 荔枝果实在贮藏过程中褐变指数的变化(cv. 淮枝, 1994)

表 1 在贮藏过程中荔枝果皮多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)活性的变化

t <sub>贮藏</sub> / d	POD 活性/[μg·(g·h) <sup>-1</sup> ]				PPO 活性/[μg·(g·h) <sup>-1</sup> ]			
	游离态	结合态	总活性	游/结	游离态	结合态	总活性	游/结
1	8.36	3.08	11.44	2.71	165.44	12.17	177.61	13.59
7	7.04	7.92	14.96	0.89	208.12	87.12	295.24	2.39
13	5.72	10.12	15.84	0.57	228.80	51.92	280.72	4.41
21	4.84	9.68	14.52	0.50	125.84	16.72	142.56	7.53
28	1.32				111.76	26.40	138.16	4.23
33					81.84	35.64	117.48	2.30

鲜红的荔枝果皮中有两条 PPO 同工酶带, 迁移率分别为 0.308 和 0.446, 随着果皮褐变

加重,新增加两条酶带,迁移率分别为 0.673 和 0.719.贮藏 13 d 新增的两条酶带最强,此后随着果皮褐变的加重,它们逐渐减弱,贮藏后期消失(图 2).新酶带的出现和强度变化呈正态分布,且与结合型 PPO 活性的变化相似.

### 2.3 荔枝采后褐变过程中果皮 POD 活性和同工酶的变化

荔枝果皮中的 POD 活性较 PPO 大得多.荔枝果皮中的 POD 也具有游离态 POD 和结合态 POD 两种形式.贮藏初期,两种形式的酶活性均增大,7 d 后开始下降(表 1).由表 1 可见,荔枝果皮中游离态 POD 活性较高,而结合态 POD 的活性较低.

在整个贮藏过程中荔枝果皮均有迁移率为 0.311 和 0.417 的两条酶带.随着贮藏时间的延长,新增加了迁移率为 0.651 和 0.686 两条新酶带,并逐渐加强,贮藏 13 d 时新酶带活性最强,以后这两条酶带又开始减弱,最终消失.在迁移率为 0.141 的慢带区,贮藏后期此酶带增强,并新增一条迁移率为 0.170 的新带.在种性带附近还有 3 条弱带,迁移率分别为 0.330、0.363、0.445,前两条在贮藏过程中消失,迁移率为 0.445 的酶带在贮藏后期重新出现(图 3).

可见,荔枝果皮的 POD 结构比较复杂,在荔枝贮藏褐变过程中的变化也较大,它在荔枝果皮褐变过程中起什么作用,有待进一步研究.

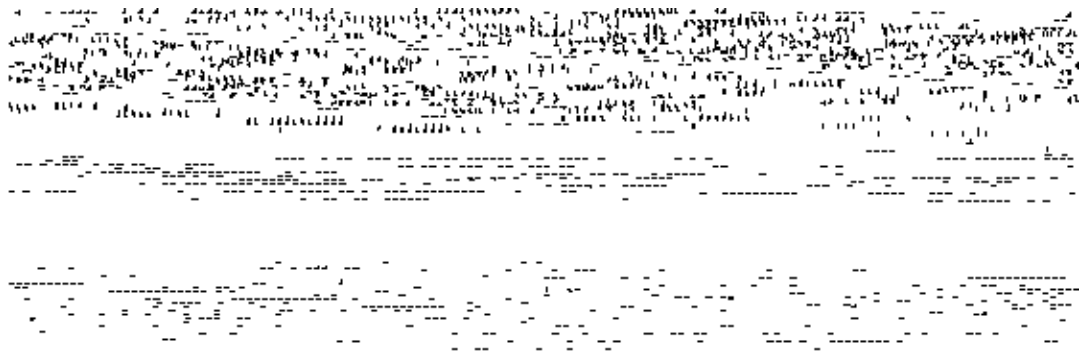


图2 荔枝贮藏过程中果皮多酚氧化酶同工酶的变化

图3 荔枝贮藏过程中果皮过氧化物酶同工酶的变化

## 3 讨论

多酚氧化酶(EC. 1.10.3.2; PPO)是植物体内普遍存在的一种末端氧化酶,在植物体中具有多种功能.一般认为,PPO 的存在是导致荔枝果皮褐变的主要原因.从 1960 年 Akamine 发现荔枝果皮含有 PPO 开始,人们已对荔枝果皮 PPO 的性质等作了较多的研究(李明启等,1963).但对荔枝贮藏和褐变过程中 PPO 活性的变化,不同的研究者所得的结果不同(广东荔枝科技协作组,1975;陈维信等,1982; Underhill, 1992),这可能与所用的荔枝品种、产地、采收时间、成熟度及贮藏技术、贮藏环境等不同有关.

本试验结合研究 PPO 及其同工酶在荔枝贮藏和褐变过程中的变化,并将 PPO 分为两种形式.结果发现,荔枝果皮中的 PPO 具有游离态和结合态两种形式,跟香蕉一样(蒋跃明等,1991).贮藏初期结合态的 PPO 活性增加,同时有新的同工酶带出现,这与淮枝在贮藏初期褐变指数增加的结果一致(图 1),而游离态 PPO 在贮藏过程中一直减少.(表 1).随着果皮

的褐变, PPO 总活性也增加. 而游离态 PPO 与结合态 PPO 活性的比值随着贮藏时间延长而逐渐减少, 到贮藏末期, 果皮大部分褐变, 结合态 PPO 活性下降, 同时新的同工酶带逐渐减弱, 最终消失. 可见, PPO 是引起荔枝果皮褐变的主要酶类. 对其它果蔬的研究也发现, 贮藏过程中有 PPO 同工酶的变化 (Kumar, 1986; 郑海歌等, 1990). 荔枝果皮中, PPO 同工酶新酶带的出现伴随着果皮褐变的迅速发展, 但随着褐变的加重它们却逐渐减弱直至消失, 是否能说明它们是导致荔枝果皮褐变的关键因素, 而且它与结合态 PPO 的变化有关, 这还有待进一步的研究.

过氧化物酶 (POD) 是果蔬成熟和衰老的指标, 在植物的生命活动中具有重要功能. 对 POD 在荔枝果皮褐变中所起的作用, 现在仍有争议. 从本试验结果看, 荔枝果皮中含有很高的 POD 活性, 同陈贻竹等 (1989) 的结果一致. 其中大部分以可溶态 (游离态) 形式存在, 少量以结合态形式存在. 在进入低温贮藏的初期, 荔枝果皮的游离态 POD、结合态 POD 和总 POD 活性有一定程度的增加, 随着果皮褐变的开始, 三者均开始减少, 贮藏后期, 果皮大部分褐变时, 结合态 POD 活性又有所增加. 有人认为, 果皮 POD 活性的变化可能是褐变的早期标志 (Huang et al, 1990), 它可以参与催化酚类物质、谷胱甘肽和抗坏血酸的氧化而使果皮变色 (林植芳等, 1988; 陈贻竹等, 1989). 表明 POD 很可能也参与荔枝果皮的褐变, 并参与了酚类和抗坏血酸的氧化.

50 多年前已发现, 植物 POD 具有非均一性的特点. 人们已经发现, 植物的 POD 同工酶酶谱与植物的种类、产地、发育过程 (Prabha et al, 1986) 等因素有关. 本试验发现, 在荔枝果皮的褐变过程中, POD 同工酶的酶谱也发生了变化 (图 3). 随着果皮的褐变, POD 同工酶除两条种性带未变外, 有新的同工酶带出现, 也有酶带的消失. 可见, 荔枝果皮中 POD 酶的结构较复杂, 它在荔枝果皮的褐变中可能起着多方面的作用.

总之, 荔枝果皮的褐变是由多种因素共同作用的结果, PPO 和 POD 是导致果皮褐变的关键酶, 在贮藏过程中其同工酶和活性发生改变, 表明它们与果皮的褐变有关.

### 参 考 文 献

- 广东荔枝科技协作组. 1975. 防止速冻荔枝果皮变褐的研究. 植物学报, 17(4): 303~308
- 中国农业科学院茶叶研究所编. 1983. 茶树生理及茶叶生化实验手册. 北京: 农业出版社, 109~114
- 李明启, 严君灵. 1963. 荔枝果皮多酚氧化酶的研究. 植物学报, 11(4): 329~337
- 陆士伟, 赖天斌编著. 1987. 同工酶在农业上的应用. 广州: 广东科技出版社, 64~81
- 陈贻竹, 王以柔. 1989. 荔枝果实过氧化物酶的研究. 中国科学院华南植物研究所集刊, (5): 47~52
- 陈维信, 苏美霞, 李沛文. 1982. 荔枝气调贮藏的研究. 华南农学院学报, 3(3): 54~61
- 沈德绪主编. 1992. 果树育种实验技术. 北京: 农业出版社, 94~96
- 林植芳, 李双顺, 张东林, 等. 1988. 采后荔枝果皮色素、总酚及有关酶活性的变化. 植物学报, 30(1): 40~45
- 郑海歌, 顾向红. 1990. 蘑菇中的多酚氧化酶及其同工酶. 食用菌, (6): 92~99
- 蒋跃明, 陈绵达, 林植芳, 等. 1991. 香蕉低温酶促褐变. 植物生理学报, 17(2): 157~163
- Huang S, Hart H, Wicker L. 1990. Enzymatic and colour changes during post-harvest storage of lychee fruit. J Food Sci. 55(6): 1762~1763
- Kumar S. 1986. Polyphenol oxidase system in peaches. Indian J Horticulture, 43(1~2): 13~17

(下转第 39 页)

of South China, seed production of hybrid rice is divided into first-crop (early) season and second-crop (late) season. This speciality may prevent a sterile line from transformation of male sterility caused by cold current (low temperature) at the booting stage, and therefore success the seed production. The practical use of this germplasm may develop a change in two-line hybrid rice breeding in South China.

**Key words** short photoperiod low temperature induced genic male sterile; rice germplasm; two-line hybrid rice breeding

(上接第 15 页)

Prabha T N, Patwardham M V. 1986. Polyphenol oxidase (PPO) and Peroxidase (POD) enzyme activities and their isoenzyme patterns in ripening fruits. *Acta Aliment*, 15(3): 199~207

Underhill S J R. 1992. Review: Lychee pericarp browning. *Tropical Science*, 32: 305~312

## STUDIES ON POLYPHENOL OXIDASE AND PEROXIDASE AND LITCHI PERICARP BROWNING DURING STORAGE

Wu Zhenxian Su Meixia Chen Weixin Hu Guibing

(Dept. of Hort. South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

### Abstracts

With litchi (*Litchi chinensis* Sonn. cv. Huaizhi) as material, changes of polyphenol oxidase and peroxidase activities and their isozymes and the relation of these to the litchi pericarp browning during storage were studied. The results indicated that, the polyphenol oxidase and peroxidase in litchi pericarp had two forms, free form and bound form. Their activities all changed during cold storage, and some new isozymes bands of polyphenol oxidase and peroxidase appeared along with litchi pericarp browning. There is some relation between these two enzymes and the litchi pericarp browning.

**Key words** litchi (*Litchi chinensis* Sonn.); browning; polyphenol oxidase (PPO); peroxidase (POD); isozymes