

冬枣采后果皮成分及氧化酶活性变化与乙醇积累机理的研究

李红卫, 冯双庆

(中国农业大学食品学院, 北京 100094)

摘 要: 乙醇积累是冬枣果实贮藏期间导致变质的主要原因之一。该文研究了不同成熟度的冬枣果肉和果皮成分及氧化酶活性变化与乙醇积累的关系。试验结果表明, 冬枣果实由点红转至半红, 进而全红到酒软的过程中, 随着成熟度的增加, 果肉的多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性逐渐上升, 酒化后活性都下降, 并且都显著低于果皮的; 而冬枣果肉的抗坏血酸氧化酶活性却显著高于果皮, 并也呈逐渐增加趋势; 果皮木质素和纤维素含量逐渐增加, 并且显著高于果肉的, 而果肉的木质素和纤维素含量变化不大。随着成熟度的增加, 果肉乙醇积累增高, 酒化时达最高; 乙醛含量在全红时达到最高, 酒化时下降。该文对果实乙醇积累与果皮木质素含量及氧化酶活性变化的相关性进行了讨论。

关键词: 冬枣; 贮藏; 乙醇积累; 氧化酶活性; 木质素

中图分类号: S379; S665.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2003)03-0165-04

1 引言

枣果贮藏过程中, 果实易发生乙醇积累并伴有果肉褐变和软化, 即称为“酒软”^[1,2], 而且一旦酒软, 品质迅速下降, 失去了鲜销价值。冬枣是鲜食枣果中的极品, 采后也极易发生乙醇积累导致果实酒软, 因此乙醇积累是冬枣贮藏中难以解决的问题之一。曲泽洲等^[1]研究表明, 耐贮品种的乙醇含量基数低, 经长期贮存后, 二者间绝对含量仍有很大差异, 不耐贮的品种的乙醇含量仍然高; 枣果变软时褐变组织中乙醇含量为 0.28% ~ 0.29%, 而鲜脆组织中仅为 0.09%^[2]; 这些研究主要探讨了乙醇含量与枣果耐藏性问题。同时有关枣果软化也有一些报道, 鲜枣采后贮藏过程中, 软化与淀粉降解, 淀粉酶活性上升, 细胞膨压减少有关^[3]; 而 PG 活性在枣果软化中的作用不明显^[3,4], 但枣果的软化与 PE 酶的活性呈一定负相关性, 随着枣果硬度下降, PE 酶相对呈缓慢上升趋势^[5]。而有关乙醇积累机理的研究报道却较少, 任小林^[6]的研究认为枣果乙醇积累是由于呼吸代谢途径的改变; 因此有关乙醇积累机理方面的研究仍需做大量工作。本文主要以不同成熟度冬枣果肉与果皮为试材, 探讨了果实呼吸末端氧化酶—抗坏血酸氧化酶和多酚氧化酶与乙醇积累的关系, 以及与木质素积累相关酶苯丙氨酸解氨酶和过氧化物酶的变化, 并对木质素与乙醇积累的关系进行了讨论。

2 材料与方法

试材采自山东滨州裕华冬枣有限公司试验基地, 傍晚采摘不同成熟度的冬枣, 次日凌晨运到中国农业大学食品学院, 0℃预冷 24 h 后, 选不同成熟度的冬枣薄膜打孔包装, 0℃贮藏一个月后, 根据着色度选出点红果(30%左右)、半红果(大于 50%)、全红果(100%)和酒化果, 全红果手感仍保持很好的硬度, 口感无酒味与异

味, 酒化果为果肉褐变并带有酒味和异味的枣果。每个成熟度各取果 30 个, 每个果都用刀片将果皮削下, 果肉和果皮分离后, 分别迅速切碎用液氮速冻。

抗坏血酸氧化酶活性的测定参照汤章成主编的《现代植物生理学实验指南》。过氧化物酶和多酚氧化酶活性的测定参照朱广廉的方法, 略有修改。乙醇和乙醛含量的测定分别采用重铬酸钾氧化法和比色法, 参见冯双庆编《果蔬贮运实验指导》。果实硬度的测定采用相对硬度法。木质素含量的测定参照(Morrison IM, 1972)并有修改^[7]。苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定参照 Koukol J and Conn E. E (1961)^[8]。

3 试验结果

3.1 采后不同成熟度果实的硬度、可溶性固型物含量的变化

随着成熟度的增加, 冬枣的可溶性固型物含量呈上升趋势。由图 1、2 可见, 由点红转向半红时, TSS 略有积累, 硬度略有下降; 但由半红向全红转化时, TSS 增加和硬度下降都较明显; 这时的全红果外观完好, 品尝时并没有酒化味, 仍保持着很好的风味, 说明此时并未发生酒化, 虽然已有乙醇的积累(图 8), 推测酒化发生有一乙醇阈值, 可能在全红之后。这与梁小娥的研究结果相一致, 即枣果的软化褐变发生在全红之后^[3]。酒化果 TSS 高达 30%, 相对硬度显著下降。

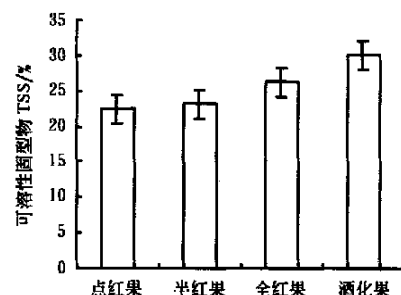


图 1 不同成熟度冬枣可溶性固型物的变化

Fig 1 Changes of TSS in different maturity of 'brum al jujube'

收稿日期: 2002-09-16

作者简介: 李红卫, 女, 博士生, 北京市海淀区圆明园西路 2 号 中国农业大学食品学院, 100094. Email: lhwLY@163.com

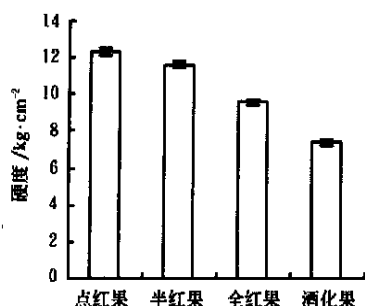


图2 不同成熟度冬枣硬度的变化

Fig 2 Changes of firmness in different maturity of "brumal jube"

3.2 冬枣的苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性与木质素、纤维素含量的变化

由图3可见,不同成熟度的冬枣,随着成熟度的增加,果皮的PAL活性迅速增加,并在全红果时出现峰值,随后下降,相应的果皮的木质素含量也随着成熟度的增加急剧增高,由点红果时的0.15增加到酒化时的2.37;而果肉的PAL活性一直趋于平稳变化状态,而且值很低,同时果肉的木质素含量也很低,仅为0.028。由于PAL是植物木质素合成的关键酶之一^[9],显然果皮木质素含量的增加与PAL活性的提高有关。

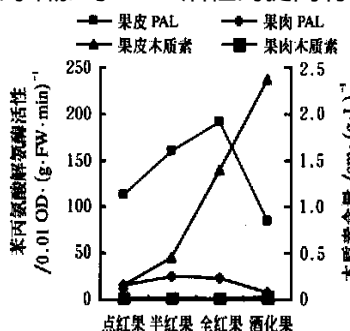


图3 不同成熟度冬枣果皮和果肉苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性与木质素含量的变化

Fig 3 Changes of PAL activity and lignin content in flesh and pericarp of different maturity of "brumal jube"

随着成熟度的增加,果皮和果肉的纤维素含量逐渐增加,而果皮的纤维素含量显著高于果肉(由图4可见)。果皮的纤维素含量由点红果向全红果转化时,增加缓慢,而由半红向全红转化时急剧增加,达0.18%之后下降,其下降的原因可能是测定的误差。果肉的纤维素含量一直很低,最高达0.06%。可见枣果衰老时,果皮纤维素含量也快速积累。

3.3 冬枣果实中氧化酶活性的变化

3.3.1 PPO 和 POD 活性的变化

随着成熟度的增加,果肉和果皮的PPO活性均呈逐渐上升趋势(见图5、6),在全红时同时达到高峰,之后下降,但果皮的PPO活性显著高于果肉,推测果皮较高的PPO活性对冬枣果皮木质化有一定作用。PPO参与酚类物质的氧化,催化香豆酸向咖啡酸转化,为木质素的合成提供前体^[9]。

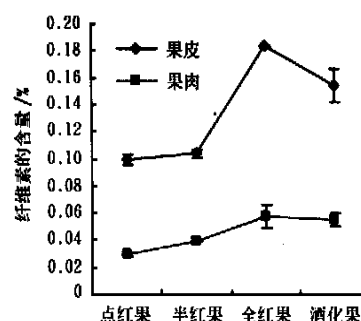


图4 不同成熟度冬枣果皮和果肉纤维素含量的变化

Fig 4 Changes of fibre content in flesh and pericarp of different maturity of "brumal jube"

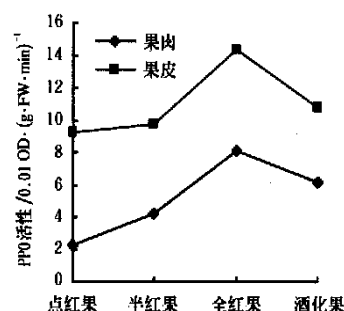


图5 不同成熟度的冬枣果肉和果皮PPO活性的变化

Fig 5 Changes of polyphenol oxidase in flesh and pericarp of different maturity of "brumal jube"

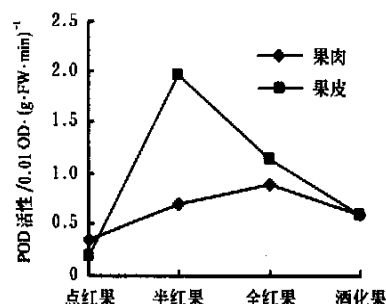


图6 不同成熟度的冬枣果肉和果皮POD活性的变化

Fig 6 Changes of peroxidase in flesh and pericarp of different maturity of "brumal jube"

果皮的POD活性在半红时显著上升,达到峰值后下降,但仍显著高于果肉组织的POD活性,果肉的POD活性在全红时达到最高,酒化时果肉和果皮的POD活性都下降。POD是参与木质素合成的关键酶之一^[9],可见果皮较高的POD活性对于促进果皮木质素的合成有一定作用。

3.3.2 冬枣AAO活性和抗坏血酸含量的变化

不同成熟度的冬枣果实,其抗坏血酸含量呈缓慢下降趋势,由点红向全红转化时,抗坏血酸含量下降平缓,到酒化果时其维生素C含量降为47.1 mg/100 g,此时果肉的AAO活性由点红向全红转化过程中,呈上升趋势,这与别人在枣中的研究结果一致^[10,11]。此时不仅抗坏血酸含量降为极低水平,并且果肉的AAO活性几乎为零。另外果肉的AAO活性明显高于果皮组织,两者

相差5倍以上(如图8)。随着成熟度的增加,果肉与果皮AAO活性全红时达高峰,而果皮的AAO活性总体变化幅度较小。果皮的抗坏血酸含量变化一直不大,与AAO活性变化相一致。

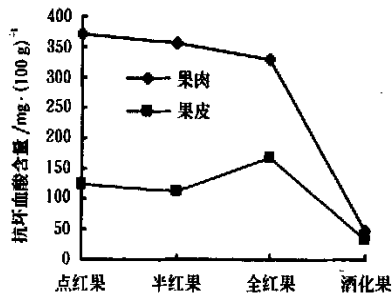


图7 不同成熟度的冬枣果肉、果皮维生素C含量的变化

Fig. 7 Changes of Vitamin C content in flesh and pericarp of different maturity of "brumal jujube"

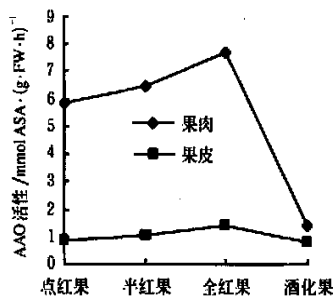


图8 不同成熟度的冬枣果肉、果皮抗坏血酸氧化酶活性的变化

Fig. 8 Changes of ascorbic acid oxidase in flesh and pericarp of different maturity of "brumal jujube"

3.5 不同成熟度冬枣乙醇、乙醛含量的变化

不同成熟度的冬枣,随着成熟度的增加,果肉的乙醇积累逐渐增高;由点红转向全红时,乙醇积累增加缓慢,这时的全红果并无酒味,而且有很好的口感,推测酒化是由全红果开始的。这与梁小娥^[3]报道的软化是从全红果开始的相一致。由图9可见,乙醇积累在全红后显著增加,说明全红向酒化转化时,可能有一乙醇阈值导致果实最后酒软。乙醛的变化由点红向全红转化时,乙醛含量呈逐渐增加趋势,酒化果乙醛含量极度下降,可

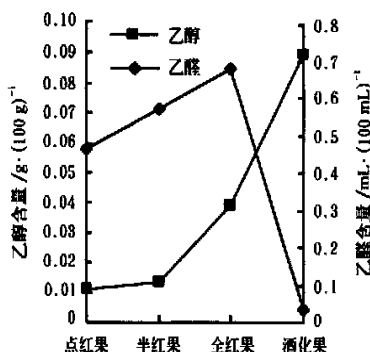


图9 不同成熟度的冬枣乙醇和乙醛含量的变化

Fig. 9 Changes of ethanol and acetaldehyde content in different maturity of "brumal jujube"

能是在乙醇脱氢酶的催化下,由乙醛向乙醇转化,导致了乙醇的增加,减少了乙醛的含量。

4 结论与讨论

1) 随着成熟度的增加,果皮的PPO、POD和PAL活性呈逐渐增加趋势,而且显著高于果肉,并伴随着果皮木质素和纤维素含量的增加。PAL是木质素合成的关键酶之一;POD参与木质素最后的聚合反应;PPO参与酚类物质的氧化,催化香豆酸向咖啡酸转化,为木质素的合成提供前体^[9]。本试验通过对果皮PPO、POD、PAL活性的研究表明,随着成熟度的增加,果皮的PPO、POD和PAL活性的增加伴随着果皮木质素和纤维素含量的增加,木质素主要在细胞壁次生加厚沉积^[12],因此推测果皮厚度增加导致果皮结构变的致密,堵塞了果实呼吸的通道而导致果肉发生乙醇积累,这可能是冬枣乙醇积累的原因之一。

2) 随着成熟度的增加,果肉抗坏血酸含量明显下降,AAO活性逐渐增加,同时果肉的抗坏血酸含量和AAO活性显著高于果皮。吕忠恕^[13]曾报道抗坏血酸氧化酶与贮藏寿命有特殊的关系,不耐贮品种的酶活性较高。本实验结果表明,果肉AAO活性显著高于果皮,推测果肉发生衰老先于果皮。

3) 随着成熟度的增加,果肉乙醇急剧积累,乙醛在全红时达最高,之后下降。果实乙醇积累可能与AAO和PPO活性变化有关。AAO和PPO是植物呼吸作用电子传递链中的重要末端氧化酶。由于AAO和PPO对氧的亲合力弱(对缺氧敏感),只有在高浓度氧环境下才能顺利发挥其电子传递的作用,推动有氧呼吸顺利进行;而枣果肉衰老时,呼吸的电子传递链发生了改变,即细胞色素途径的比例减少,而含铜氧化酶的比例增高^[6],转向末端氧化途径,此时AAO和PPO活性由点红转向全红时增加,由于AAO和PPO对氧的亲合力低,并且随着果实的成熟,果实本身呼吸对氧的要求较高,而此时果实的果皮木质素、纤维素的大量增加,导致组成成分与结构发生了变化,透气性下降,推测这两方面原因导致果肉乙醇积累迅速增加;同时AAO和PPO活性在乙醇快速积累时下降,说明果肉可能已完全转入乙醇发酵;因此推测冬枣果实的酒化是由于果皮成分与结构和末端氧化酶AAO及PPO活性的变化相结合而导致的。

[参考文献]

- [1] 曲泽洲,等. 枣贮藏保鲜试验技术研究[J]. 中国农业科学, 1987, 20(2): 86~91.
- [2] 陈祖钺. 枣的贮藏与加工[M]. 太原: 山西科学教育出版社, 1986.
- [3] 梁小娥,等. 枣采后果肉软化的生长和细胞超微结构变化[J]. 园艺学报, 1998, 25(4): 333~337.
- [4] 吴彩娥,王文生,等. CaCl₂和6-BA溶液处理对枣果软化褐变与相关酶活性研究[J]. 农业工程学报, 2001, 17(5): 127~130.
- [5] 寇晓虹,阎师杰,等. 脂氧和酶与果实成熟软化的关系[J].

- 农业工程学报, 2002, 18(2): 127~ 130
- [6] 任小林, 李嘉瑞 枣果实的呼吸和乙烯代谢[J]. 果树科学, 1994, 11(3): 103~ 110
- [7] Morrison IM. A semimicro method from the determination of lignin and its use in predicting the digestibility of forage crops[J]. Journal of Science Food and Agriculture, 1972, 23: 455~ 463
- [8] Koukol J, Conn E E. The metabolism of aromatic and properties of the phenylalanine decarboxylase of *Hordenum Vulgare*[J]. J Biol Chem, 1961, 236(10): 2692~ 2698
- [9] 卢善发, 宋艳茹 维管组织分化的分子生物学研究[J]. 植物学通报, 1999, 16(3): 219~ 227
- [10] 寇晓红, 王文生 鲜枣果实衰老与膜脂过氧化作用关系的研究[J]. 园艺学报, 2000, 27(4): 287~ 289
- [11] 余红英 枣果 Vc 含量与氧化酶活性关系的研究[J]. 特产研究, 1997, 4: 5~ 7
- [12] 郑永华, 李三玉, 席屿芳 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] 吕忠恕, 赵述文 贮藏期中梨的抗坏血酸氧化酶、多酚氧化酶及过氧化氢酶活性的改变与呼吸作用的关系[J]. 兰州大学学报, 1959, (1): 23
- [14] 张有林, 陈锦屏 鲜枣贮藏期脱落酸与品质变化关系的研究[J]. 农业工程学报, 2000, 16(5): 106~ 108

Changes of composition and activity of oxidative enzymes in the pericarp and mechanism of ethanol accumulation in 'brumal jujube'

Li Hongwei, Feng Shuangqing

(Food College, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Ethanol accumulation was one of the primary deteriorated factor of fruit during storage of 'brumal jujube'. The relationship between changes of composition and activity of oxidative enzymes in the flesh and pericarp and ethanol accumulation in different maturity of 'brumal jujube' were investigated. The results show that ascorbic acid oxidase activity in the flesh of 'brumal jujube' is significantly higher than that in pericarp with the development of maturity; but these activities of peroxidase, polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia-lyase in flesh are lower than those in pericarp. During the development from green to half-red then to red, the lignin and fibre content in pericarp gradually increase, higher than those in flesh; ethanol content also increases, acetaldehyde content reaches a peak during the red maturity stage and then declines. The relationships between ethanol accumulation, lignin content and the activity of oxidase during the ripening of 'brumal jujube' are discussed.

Key words: brumal jujube; storage; ethanol accumulation; activity of oxidase; lignin content