

鲜切果蔬酶促褐变关键酶研究进展

谭谊谈¹, 曾凯芳^{1,2,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715)

摘要: 机械伤使得鲜切果蔬在生理生化方面出现各种变化, 导致果蔬贮藏期间品质下降, 其中酶促褐变是导致鲜切果蔬贮藏品质下降的重要原因之一。本文主要介绍了鲜切果蔬酶促褐变过程中4个关键酶, 即多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、脂肪氧合酶(LOX)和过氧化物酶(POD)的特性、作用机理以及影响酶活性的因素, 以期为进一步研究鲜切果蔬酶促褐变的机理及酶促褐变的控制方法提供理论基础。

关键词: 鲜切果蔬; 酶促褐变; 关键酶; 贮藏

Research Progress in Key Enzymes for Enzymatic Browning of Fresh-cut Fruits and Vegetables

TAN Yi-tan¹, ZENG Kai-fang^{1,2,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Special Food Programme and Technology Research Center, Chongqing 400715, China)

Abstract: Mechanical injury brings some changes in physiological and biochemical characteristics of fresh-cut fruits and vegetables. Enzymatic browning is one of the major causes of quality deterioration of fresh-cut fruits and vegetables. In this paper, we introduce four key enzymes participating in enzymatic browning of fresh-cut fruits and vegetables, such as polyphenol oxidase, phenylalanine ammonia lyase, lipoxygenase and peroxidase, together with their mechanism, characteristics and factors affecting their activities. It can provide a theoretical basis for studying enzymatic browning mechanism and control methods of fresh-cut fruits and vegetables.

Key words: fresh-cut fruits and vegetables; enzymatic browning; key enzyme; storage

中图分类号: S609.3; S667.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)17-0376-04

鲜切果蔬(fresh-cut fruits and vegetables)亦所谓的半加工果蔬(partially processed)、轻度加工果蔬(lightly processed)、最少加工处理果蔬(minimally processed)或微加工果蔬(minimally processed fruits and vegetables)^[1-2]。是一种以新鲜果蔬为原料, 经清洗、去皮、切割或切分、包装等工序而制成的即食果蔬加工制品。鲜切果蔬不同于完整的植物组织, 在切分的过程中由于机械伤导致的逆境迫使鲜切果蔬生理生化特性发生了改变, 表现为乙烯合成速率的提高, 膜脂过氧化的加剧, 呼吸速率的上升等, 而上述变化会导致鲜切果蔬在贮藏过程中腐烂速度加快, 营养价值下降, 品质劣变和褐变等^[3]。鲜切果蔬的褐变主要表现为酶促褐变, 在苹果、梨、山药和莲藕等鲜切果蔬贮藏过程中尤为明显^[4]。酶促褐变是指在有氧的条件下, 酚酶催化酚类物质形成醌及其

聚合物的反应过程。酶促褐变有3个条件, 即氧气、底物和酶。促使果蔬在切分后酶促褐变的关键酶包括多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、过氧化物酶(phenylalanine ammonia lyase, POD)、苯丙氨酸解氨酶(lipoxygenase, PAL)和脂肪氧合酶(peroxidase LOX)。本文就褐变过程中几个关键酶进行了综述。

1 多酚氧化酶(PPO)

根据酚-酚酶区域化分布学说的理论, 在正常的植物细胞内, 多酚氧化酶存在于质体和细胞质中, 而酚类物质则大多存在于细胞液泡中。这种区域化分布使得正常的植物细胞在有氧气存在的情况下也不会发生酶促褐变。然而, 当果蔬被切分后, 机械伤所导致的细胞结构破坏使得液泡中的大量酚类物质外溢从而造成了底

收稿日期: 2011-06-23

基金项目: 重庆市自然科学基金项目(CSTC, 2011BB1014)

作者简介: 谭谊谈(1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工及贮藏工程。E-mail: tytkeivn@163.com

*通信作者: 曾凯芳(1972—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品贮藏工程。E-mail: zengkaifang@163.com

物和酶的结合,最终形成酶促褐变^[5]。

1.1 PPO 的特性

PPO 几乎存在于所有的植物细胞中,从结构上看,PPO 是一种含铜金属的酶类,在催化过程中,活性中心的铜离子能改变价态变成亚铜离子,且处于氧化状态的铜离子和氧分子能够形成复合物^[6]。在有氧气存在的情况下,PPO 与底物酚类物质接触,能催化其形成 α -醌,此后 α -醌再通过非酶促褐变形成褐色复合物^[7]。

PPO 具有同源性,不同种植物细胞中 PPO 结构相似度较高,如马铃薯和番茄的 PPO 相似性甚至大于种内的相似性^[8]。但不同植物中 PPO 活性却不一致。如苹果在切分后 PPO 的活性较高,这是苹果迅速发生酶促褐变的原因^[9]。而相关荸荠褐变的研究发现荸荠在切分后 PPO 活性较低且变化很小,用化学方法护色后对 PPO 的活性影响也不大^[10]。就机械伤而言,受伤程度越大越有利于激活基因使其表达,从而增加了褐变的速度,有时机械伤能够促使 PPO 在亚细胞结构重新分配^[11]。植物细胞失水会伴随着质壁分离,当失水程度加剧时,质膜会遭到破坏,细胞完整性受损,从而加速了 PPO 催化产生褐变。

1.2 PPO 与鲜切果蔬褐变

果蔬在切分后由于机械伤的作用,会导致植物细胞的完整性被破坏,原本存在于细胞液泡中的酚类物质外溢;且伤口附近的细胞会合成大量的物质愈伤,如愈创木酚。与此同时,处于质体和细胞质中的结合态 PPO (BPPO)迅速转化为可溶态 PPO (FPPO),当 PPO 与酚类物质相结合后,生成了褐色聚合物^[12]。

切分可作为伤信号对 PPO 活性造成影响,且机械伤导致的乙烯合成速率的提高也同样影响着 PPO 的活性。庞学群^[13]用 1ml/L 的乙烯熏蒸荔枝发现其 PPO 活性显著高于对照,McManus^[14]的实验也同样证明了这一观点。此外,PAL 和 LOX 与 PPO 共同的作用也会导致褐变的加剧。

2 苯丙氨酸解氨酶(PAL)

在植物体中有一条重要的次级代谢途径,即由 PAL 参与催化的苯丙烷途径,它与植物体中合成含苯丙烷骨架的物质有关。苯丙氨酸代谢途径,在 PAL 的催化下生成了桂皮酸及其衍生物,此后这些羧酸代谢合成对-香豆酰 COA、木质素前体等,经查耳酮酶转化为查耳酮,再进一步转化为黄酮、异黄酮、黄酮醇类和花色苷等。而 PAL 则是该途径中的第一个酶。据报道,PAL 广泛存在于绿色植物中,在真菌、细菌和藻类中也有发现^[15]。

2.1 PAL 特性

果实中的 PAL 主要附着于细胞质^[16]和一些膜细胞器^[17]上,如线粒体、叶绿体等。在鲜切果蔬中 PAL 活性升高的位置包括受到机械伤的细胞及其周边细胞^[18],但是,升高的 PAL 和总酚的含量并不会通过蒸汽或水的信号来影响周围非受伤的细胞^[19]。不同植物中 PAL 活性不同,如水稻叶中的 PAL 活性就高于小麦中的 PAL 活性。且同种植物不同组织中 PAL 活性也不尽相同^[20]。PAL 酶的活性还受到反应底物和代谢过程中某些产物,如反式肉桂酸的影响。江力等^[21]通过实验提出山药的 PAL 活性在底物质量浓度为 200mg/L 时最高,而反式肉桂酸对 PAL 的活性有钝化作用,于 120mg/L 抑制能力最强,而末端产物阿魏酸对 PAL 活性抑制的最强质量浓度为 40mg/L,最弱质量浓度为 100mg/L。温度同样与 PAL 活性有关,用 45℃ 处理 90s 可以抑制莴苣 PAL 的活性^[22]。而 1-甲基环丙烯(1-MCP)的应用阻断了乙烯信号的传递,抑制了 PAL 活性、查耳酮合成酶(CHS)和乙烯受体 ERS1 的 mRNA 转录,从而降低酚类物质的生成与积累,在一定程度上抑制了褐变的发生^[23]。

2.2 PAL 与鲜切果蔬褐变

机械伤使得果实中 PAL 的 mRNA 大量积累从而导致 PAL 的活性迅速提高,同时机械伤也提高了乙烯合成速率,从而加速苯丙氨酸的分解,大量的酚类物质被合成。此时酚类物质与因机械伤而被激活的 PPO 相结合导致了褐变的发生。庞坤^[24]的实验表明鲜切苹果中酚类物质的含量和 PAL 活性变化趋势相一致,即 PAL 能够分解产生酚类物质。通过线性回归分析可知机械伤(鲜切)导致果实 PAL 活性的上升与酚类物质的累积高度相关^[25]。另外还存在一些信号物质,如乙烯、水杨酸和脱落酸等,作为一种信号物质来影响 PAL 的活性^[26]。Ke 等^[27]的实验表明,乙烯能够提高 PAL 活性,并能够促使植物组织合成 PAL,且乙烯的浓度和 PAL 酶活性呈正相关^[28]。

3 脂肪氧合酶(LOX)

LOX 广泛存在于植物细胞中,是维持植物正常生长和代谢以及抵御机械伤害和病虫害感染所必需的一种酶^[29],它参与植物衰老进程中乙烯的合成和自由基的产生。LOX 能专一催化含顺,顺-1,4-戊二烯结构的不饱和脂肪酸,其主要的底物为亚麻酸和亚油酸,在 LOX 碳链上第 9 或 12 位点由于氧气的参与而反应生成具有共轭双键的氢过氧化物,与植物体的衰老密切相关。但是,对于不同来源的 LOX 以及其碳链上不同位点所经行的催化对产物的特异性具有重大影响。此外,LOX 的活性和植物组织的防御系统有关,在植物体中提供了氢过氧化物的模板^[30]。

首先,果蔬经切分,LOX 活性上升,并加速细胞质膜的破坏,使得细胞结构受损,钙离子和钾离子流

失,造成电解质渗漏^[31]并且破坏了酚类与酚酶的区域化分布,为PPO氧化多酚类物质提供了空间条件;其次,切分加剧LOX催化形成氧化自由基的进程,可能伴随着O₂转化为活性氧O₂[•]^[32],对植物细胞膜系统,DNA等有毒害作用。LOX还能够催化形成黄质醛,作为合成脱落酸(ABA)的中间物,使ABA的合成量上升并由此诱发了乙烯合成量增加^[17, 28],而活性氧的积累也能促使LOX的自我活化以及乙烯合成速率的提高,从而加速褐变。

4 过氧化物酶(POD)

果实中的活性氧包括超氧阴离子自由基(O₂^{•-})、过氧化氢(H₂O₂)、和羟自由基(•OH)等。正常情况下,植物体代谢过程中,电子传递到分子氧上随即产生了具有毒性的活性氧,其能攻击蛋白质的氨基酸残基,尤其是酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、蛋氨酸等,同时活性氧能使得二硫键的形成和蛋白质的断裂,产生的羟自由基能使得磷脂过氧化^[33]。果蔬在切分后,机械损伤导致的逆境破坏了植物体中活性氧的代谢平衡,大量活性氧积累,造成细胞膜脂的过氧化,破坏细胞结构的完整性,从而引起细胞的衰老和褐变等。POD是植物逆境环境下体内酶促防御系统中一个重要的酶。在植物体中,O₂^{•-}被超氧化物歧化酶(SOD)歧化生成了H₂O₂和O₂,而POD和过氧化氢酶(CAT)再将H₂O₂转化成H₂O,防止细胞质膜的破坏。

4.1 POD与鲜切果蔬褐变

在H₂O₂存在的情况下,POD能将酚类和类黄酮催化氧化、聚合而形成褐色物质不仅能引起褐变,还能够造成果蔬组织中谷胱甘肽和抗坏血酸的氧化,促进乙烯的合成,加速衰老影响果实的风味和营养。Aquino-Bolanos^[34]提出PPO的存在对于POD的褐变作用有促进。他的观点可归纳为:PPO氧化产生的H₂O₂和醌类物质为POD反应提供了底物。POD又分为BPOD和FPOD,植物细胞经切分后,膜系统完整性丧失,细胞壁开始发生降解使得与细胞膜细胞壁结合的BPOD转化为FPOD。

4.2 影响POD的因素

POD活性受到环境因素的影响,如氧气和过氧化氢增加导致酶所处的环境氧化压力增加,以此提高酶活性;而不同温度和植物组织不同位置对酶活性也有影响。张福平^[35]的实验表明10~12℃时POD活性较之4~6℃高。而靠近外部的植物组织中POD活性较大^[36]。乙烯也是提高POD活性的一个因素。庞学群^[13]利用乙烯诱导使得荔枝果实中POD的活性大幅上升,但其作用机理尚未研究透彻,用1-MCP处理猕猴桃发现POD活性高于对照^[37],推测是由于1-MCP提高了保护酶活性,防止活性氧对细胞结构的破坏而非直接降低POD活性防止褐变。

5 展望

随着鲜切果蔬市场的拓展,对于其酶促褐变的研究也越来越多,酶促褐变相关酶的研究已具有相当的深度,但是对于各种酶的协同作用以及各种同工酶作用所导致的褐变研究还相对较少,故可能成为后续研究的重点。机械伤产生的信号物质如乙烯和活性氧加速了果蔬呼吸速率以及提高了褐变酶的活性,同时也破坏了植物细胞的完整性,为酶促褐变提供了基础。但当前研究,主要集中在信号物质对一种或多种酶活性的影响,对于其作用机理的研究还相对较少,此外,对于褐变酶之间的相互作用与信号物质关系的研究尚不透彻,还有待于进一步探讨。鲜切果蔬受到机械伤后,植物通过整体的协调机制,对于紊乱的生理活动进行调节,以后的研究方向也可以集中于这种协调机制与酶促褐变的关系,为保证鲜切果蔬品质提供理论基础。

参考文献:

- [1] RICO D, MART N-DIANA A B, BARAT J M, et al. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2007, 18(7): 373-386.
- [2] 陈言楷, 陆东和. 切剖果蔬保鲜研究现状及发展趋势[J]. 福建果树, 2003(1): 24-27.
- [3] BRECHT J K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables [M]. Hort Science: a publication of the American Society for Horticultural Science (USA), 1995: 18-22.
- [4] LUNADEI L, GALLEGUILLOS P, DIEZMA B, et al. A multispectral vision system to evaluate enzymatic browning in fresh-cut apple slices [J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 60(3): 225-234.
- [5] MAYER A M, HAREL E. Polyphenol oxidases in plants[J]. Phytochemistry, 1979, 18(2): 193-215.
- [6] ARIAS E, GONZALEZ J, ORIA R, et al. Ascorbic acid and 4-hexylresorcinol effects on pear PPO and PPO catalyzed browning reaction[J]. Journal of Food Science, 2007, 72(8): C422-C429.
- [7] LAMIKANNA O. Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology and market[M]. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2002.
- [8] 王曼玲, 胡中立, 周明全, 等. 植物多酚氧化酶的研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 22(2): 215-222.
- [9] ROCHA A. Polyphenoloxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed 'Jonagored' apple[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002, 82(1): 120-126.
- [10] 潘永贵, 陈维信. 鲜切荸荠组织中与褐变相关酶活性研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(31): 9856-9857.
- [11] PARTINGTON J C, SMITH C, BOLWELL G P. Changes in the location of polyphenol oxidase in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber during cell death in response to impact injury: comparison with wound tissue[J]. Planta, 1999, 207(3): 449-460.
- [12] 郁志芳. 鲜切芦蒿的品质和酶促褐变机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2005.
- [13] 庞学群. 乙烯与1-甲基环丙烯对荔枝采后果皮褐变的影响[J]. 华南农业大学学报: 自然科学版, 2001, 22(4): 11-14.
- [14] McMANUS M T. Peroxidases in the separation zone during ethylene-induced bean leaf abscission[J]. Phytochemistry, 1994, 35(3): 567-572.

- [15] 欧阳光察, 薛应龙. 植物苯丙烷类代谢的生理意义及其调控[J]. 植物生理学通讯, 1988, 24(3): 9-16.
- [16] JONES D H. Phenylalanine ammonia-lyase: regulation of its induction, and its role in plant development[J]. Phytochemistry, 1984, 23(7): 1349-1359.
- [17] CAMM E L, TOWERS G. Phenylalanine ammonia lyase[J]. Phytochemistry, 1973, 12(5): 961-973.
- [18] CAMPOS R, NONOGAKI H, SUSLOW T, et al. Isolation and characterization of a wound inducible phenylalanine ammonia-lyase gene (LsPAL1) from Romaine lettuce leaves[J]. Physiologia Plantarum, 2004, 121(3): 429-438.
- [19] KANG H M, SALTVEIT M E. Wound-induced increases in phenolic content of fresh-cut lettuce is reduced by a short immersion in aqueous hypertonic solutions[J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 29(3): 271-277.
- [20] SUBRAMANIAM R, REINOLD S, MOLITOR E K, et al. Structure, inheritance, and expression of hybrid poplar (*Populus trichocarpa* × *Populus deltoides*) phenylalanine ammonia-lyase genes[J]. Plant Physiology, 1993, 102(1): 71-83.
- [21] 江力, 袁怀波, 周强, 等. 底物和产物对鲜切山药苯丙氨酸解氨酶活性的影响[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 35-38.
- [22] LOAIZA-VELARDE J G, MANGRICH M E, CAMPOS-VARGAS R, et al. Heat shock reduces browning of fresh-cut celery petioles[J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 27(3): 305-311.
- [23] MACLEAN D D, MURR D P, DEELL J R, et al. Inhibition of PAL, CHS, and ERS1 in Red d'Anjou Pear (*Pyrus communis* L.) by 1-MCP[J]. Postharvest Biology and Technology, 2007, 45(1): 46-55.
- [24] 庞坤. 鲜切苹果贮藏期间生理生化变化的影响[J]. 食品与机械, 2008, 24(1): 50-54.
- [25] CHEN Jianye, HE Lihong, JIANG Yuerming, et al. Expression of PAL and HSPs in fresh-cut banana fruit[J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 66(1): 31-37.
- [26] 樊会芬, 胡文忠, 庞坤. 鲜切果蔬乙烯生物合成与酶促褐变的研究进展[J]. 食品与机械, 2008(4): 128-132.
- [27] KE D, SALTVEIT M E, Jr. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce [J]. Physiologia Plantarum, 1989, 76(3): 412-418.
- [28] CHALUTZ E. Ethylene-induced phenylalanine ammonia-lyase activity in carrot roots[J]. Plant Physiology, 1973, 51(6): 1033-1036.
- [29] HEITZ T, BERGEY D R, RYAN C A. A gene encoding a chloroplast-targeted lipoxygenase in tomato leaves is transiently induced by wounding, systemin, and methyl jasmonate[J]. Plant Physiology, 1997, 114(3): 1085-1093.
- [30] BAYSAL T, DEMIRDÖVEN A. Lipoxygenase in fruits and vegetables: a review[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 40(4): 491-496.
- [31] LARA I, VENDRELL M. Relationships between ethylene, abscisic acid and quality during postharvest storage of 'Granny Smith' apples[J]. Postharvest Biology and Technology, 1998, 13(1): 11-18.
- [32] 何婷, 赵谋明, 崔春. 脂肪氧合酶的酶学特性及其活性抑制机理的研究进展[J]. 食品工业科技, 2008(2): 291-293.
- [33] ASADA K, TAKAHASHI S. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis[J]. Photoinhibition, 1987, 9: 227-287.
- [34] AQUINO-BOLANOS E N, MERCADO-SILVA E. Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama[J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 33(3): 275-283.
- [35] 张福平. 温度对黄皮果实 PAL、POD 和 PPO 活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(11): 69-71.
- [36] GONZLEZ-AGUILAR G, AYALA-ZAVALA J, RUIZ-CRUZ S, et al. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on overall quality of fresh-cut bell peppers[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 2004, 37(8): 817-826.
- [37] 樊秀彩. 1-甲基环丙烯对采后猕猴桃果实生理效应的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(5): 399-402.