

不同储藏条件对绿竹笋酶活性与纤维化的影响

余学军¹, 裘贤龙²

(1. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300; 2. 浙江省奉化市尚田镇林业工作站, 浙江 奉化 315511)

摘要: 对采收后绿竹 *Bambusa oldhami* 笋经不同的处理后, 研究不同温度的储藏条件下, 对绿竹笋中苯丙氨酸解氨酶(PAL)和过氧化物酶(POD)活性变化与纤维素和木质素质量分数变化规律的影响。结果表明: 绿竹笋采收后, 在低温储藏条件下, 各处理 PAL 活性呈先升后下降趋势, 2~3 d 后 PAL 活性快速下降, 4 d 开始 PAL 活性变化趋缓; 而常温条件下竹笋 PAL 活性上升得快, 下降速度也快, 常温条件下竹笋 PAL 酶的失活早于低温储藏的竹笋。储藏过程中各组 POD 活性迅速增加后降低, 经保鲜处理后的各组竹笋 POD 活性增加和降低均迟于未处理的对照组; 常温储藏的对照组 POD 采收后 4 d 就完全失活, 常温储藏过程中竹笋纤维素和木质素质量分数增加速率比低温储藏的快。通过保鲜处理和低温条件储藏, 能有效保持酶活性, 延长竹笋保鲜时间, 降低竹笋老化速度。图 6 表 1 参 14

关键词: 绿竹; 竹笋; 苯丙氨酸解氨酶; 过氧化物酶; 保鲜处理; 木质素; 纤维素

中图分类号: S781.41 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2011)03-0380-06

POD, PAL activities and fibrosis of *Bambusa oldhami* bamboo shoots with different storage conditions

YU Xue-jun¹, QIU Xian-long²

(1. The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. Shantian Forest Station of Fenghua City, Fenghua 315511, Zhijiang, China)

Abstract: After gathering the *Bambusa oldhami* bamboo shoots, we designed different treatments to storage bamboo shoots, including two storage temperatures (5 °C and 25 °C), removing or remaining bamboo shell, coating 10.0 g·kg⁻¹ chitosan or not, and coating antistaling agent BYC or not. After different treatments, peroxidase (POD), phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, the change of cellulose, and lignin content of bamboo shoots were measured. The results showed that under the low-temperature (5 °C) storage condition, PAL activity increased first then decreased (drop fast in 2 – 3 d, decline slowly after 4 d); The PAL activity increased fast under 25 °C, and decreased also fast, and inactivation of bamboo shoot's PAL under 25 °C is earlier than preserving under 5 °C; The POD activity increasing and decreasing time with fresh keeping pretreatment were later than the control; The POD completely inactivated after 4 d under 25 °C storage temperature; The content of shoot cellulose and lignin in 25 °C increased faster than preserved in 5 °C temperature. Pretreatment and low storage temperature can keep the enzyme activity effectively and reduce the aging pace of the bamboo shoot. [Ch, 6 fig. 1 tab. 14 ref.]

Key words: *Bambusa oldhami*; bamboo shoot; phenylalanine ammonia-lyase (PAL); peroxidase (POD); fresh pretreatment; cellulose; lignin

绿竹 *Bambusa oldhami* 属于合轴丛生型优良笋用竹种。绿竹笋出土后生长快速, 到高生长结束大约

收稿日期: 2010-10-19; 修回日期: 2011-01-16

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006AB19-B02); 浙江省科学技术重点项目(2008C12039)

作者简介: 余学军, 副研究员, 从事竹子栽培与利用研究。E-mail: yuxj@zafu.edu.cn

历经 50 d, 而绿竹笋期长短及起止时间, 不同地区和年份随着气温和水湿条件的不同而表现出明显差异。在温州瑞安一带绿竹发笋期一般从 5 月下旬到 10 月上旬, 7 - 8 月是绿竹出笋旺盛期。由于笋期环境温度高, 竹笋采后老化速度很快, 在竹笋老化过程中, 苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonialyase, PAL) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD) 起着重要作用。PAL 是苯丙烷途径的限速酶, 它的活性高低制约着木质素 3 种芳香醇的产量, PAL 可能通过多酚→多酚氧化酶 (PPO)→肉桂醇脱氢酶 (CAD)→POD→纤维素单体参与纤维素的合成途径^[1]; POD 则把这 3 种芳香醇聚合成木质素。PAL 和 POD 活性变化可以反映植物组织木质化速率^[2-4]。本研究对绿竹笋 6 种保鲜及包装储藏处理方法进行了比较, 研究储藏期竹笋老化过程中 PAL 和 POD 活性变化与纤维素和木质素质量分数变化的关系, 为调节和控制竹笋储藏过程, 进行竹笋生产上的保鲜和储藏提供参考。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

绿竹笋采于浙江瑞安浙江省马蹄笋特色基地内。于 6 月下旬田间挖笋, 选取长度和基径大体一致的绿竹笋, 在冷藏条件下迅速送回基地实验室待用。BCY 保鲜剂: 一种自制的竹炭保鲜剂。

1.2 试验方法

1.2.1 保鲜处理方案 竹笋采收后经冰水预冷 2 h 后, 根据多年竹笋保鲜生产实际情况, 试验分 5 ℃ (A), 25 ℃ (B) 2 组储藏温度, 包装处理采用有无笋体包装 (a1, a2), 10.0 g·kg⁻¹ 壳聚糖涂膜 (b1, b2), BCY 保鲜剂 (c1, c2) 三因素两水平按完全随机区组设计处理对竹笋进行保鲜试验。试验方案见表 1。按照设计方案在储藏后分别抽取这 16 种笋样做酶活性测定及其纤维素和木质素质量分数测定。

1.2.2 酶液制备 各取笋样 3 株·处理⁻¹, 剥去笋壳, 从基部向顶部分别切取 5.0 g 左右的笋组织, 切碎, 再将 3 株笋样混合后取 5.0 g, 然后分别加入 10.000 mL 含有 5.00 mmol·L⁻¹ 巯基乙醇的三羟甲基氨基甲烷盐酸 (Tris-HCL) 缓冲液 (pH 8.0) 和加 0.5 g 左右的聚乙烯吡咯烷酮 (PVP), 再加少量石英砂冰浴研磨, 匀浆后在 1 万 r·min⁻¹ 的低温离心机中离心 15 min, 上清液为酶粗提制备液, 冰浴待测。

1.2.3 PAL 活性测定^[5-7] 酶反应液组成: 1.000 mL 酶液, 1.000 mL 0.02 mol·L⁻¹ L-苯丙氨酸, 2.000 mL 蒸馏水, 总体积 4.000 mL, 对照不加 L-苯丙氨酸, 加 3.000 mL 蒸馏水。酶反应液在恒温水浴中 35 ℃ 保温 30 min, 水浴后各取出 1.000 mL 试剂, 并稀释成 10.000 mL 的溶液, 于 290 nm 测吸光度 [$D(\lambda)_{290}$] 值。以 0.01 [$D(\lambda)_{290}$]·h⁻¹ 为 1 个酶活性单位。

1.2.4 POD 活性测定^[7-8] 反应混合液: 100.000 mL 磷酸缓冲液+ 0.028 mL 过氧化氢+ 0.019 mL 2-甲氧基酚。取出 3.000 mL 反应混合液加 1.000 mL 磷酸缓冲液作空白液。冰浴酶液在恒温水浴中 25 ℃ 保温 5 min, 水浴后各取出 1.000 mL 上清液稀释 20 倍, 取其中的 1.000 mL 酶液加入 3.000 mL 反应混合液于 470 nm 测吸光度 [$D(\lambda)_{470}$] 值。以 0.01 [$D(\lambda)_{290}$]·min⁻¹ 为 1 个酶活性单位。

1.2.5 纤维素测定^[7-8] 参照 GB/T 2677.10-1995。

1.2.6 木质素测定^[7-8] 参照 GB/T 2677.8-1994, 测定时不用滤纸过滤而采用 1G3 砂芯漏斗过滤。

2 结果与分析

2.1 竹笋储藏过程中苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性变化

2.1.1 低温 5 ℃ 储藏条件下的 PAL 活性变化 测定 5 ℃ 低温储藏绿竹笋的 PAL 活性, 结果见图 1。绿竹笋采收后, 在低温储藏条件下, 各处理 PAL 活性呈先升后下降趋势, 2 ~ 3 d 后 PAL 活性快速下降,

表 1 不同温度储藏条件试验方案

Table 1 Experiments under 5 ℃ and 25 ℃

处理类型	5 ℃ 储藏处理号	25 ℃ 储藏处理号
a1 b1 c1	A1	B1
a1 b1 c2	A2	B2
a1 b2 c1	A3	B3
a1 b2 c2	A4	B4
a2 b1 c1	A5	B5
a2 b1 c2	A6	B6
a2 b2 c1	A7	B7
a2 b2 c2	A8(ck)	B8(ck)

4 d开始 PAL 活性变化趋缓, 经各处理多重比较, 前 3 d A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 处理的 PAL 活性比 A8 低, A8 在 4 d 开始 PAL 活性快速下降, 而其他各处理 PAL 活性仍保持一定的增加, A1 在 5 d 达最大值 $208.60 \times 16.67 \mu\text{kat} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, A3, A4, A5, A6, A7 各组在 4 d 时达最大值。A1 在储藏期 10 d 还能保持一定的活性, 而 A8 已接近于 0。方差分析显示各处理间差异显著 ($P < 0.05$)。从竹笋老化角度来看, A8 处理优于其他各处理, 但在储藏后期 (10 ~ 20 d), A8 处理的绿竹笋明显失活。综合比较, 以竹笋能保持一定活性的处理为较理想的方法。A1 处理的绿竹笋在 20 d 时, PAL 酶活性仍能维持较低的活性。

2.1.2 常温 25 °C 储藏条件下绿竹笋 PAL 活性变化 测定 25 °C 常温储藏绿竹笋的 PAL 活性, 结果见图 2。常温储藏的绿竹笋, PAL 活性总体呈下降趋势, 下降速度比较均匀, B8 组在前期下降速度高于其他 7 个处理。各处理后期的 PAL 活性变化率基本相同, 但 B8 组 PAL 活性处于最低, 酶的失去活性早于其他 3 个处理。第 8 天只有 B1, B3, B5, B6 和 B7 处理的绿竹笋酶保持一定的活性, 其余各处理因笋体明显老化变质, PAL 酶基本失活。方差分析显示, 各处理间差异显著 ($P < 0.05$)。经多重比较, 保鲜效果以 B1 最佳, B5 次之, 然后依次为 B3, B7, B6, B2, B4 和 B8。与低温储藏相比, 常温条件下竹笋 PAL 活性上升得快, 下降速度也快, 下降幅度大; 常温条件下竹笋 PAL 酶的失活早于低温储藏的竹笋。在常温条件下, B5 和 B1 处理在 10 d 时仍能维持竹笋的酶的活性, 保持竹笋的生命力, 是较为理想的处理。多重比较表明: BCY 保鲜剂、涂膜和低温均能抑制 PAL 酶的活性, 能有效减缓组织细胞新陈代谢的速率, 延迟组织代谢分解, 延长竹笋的保鲜期。

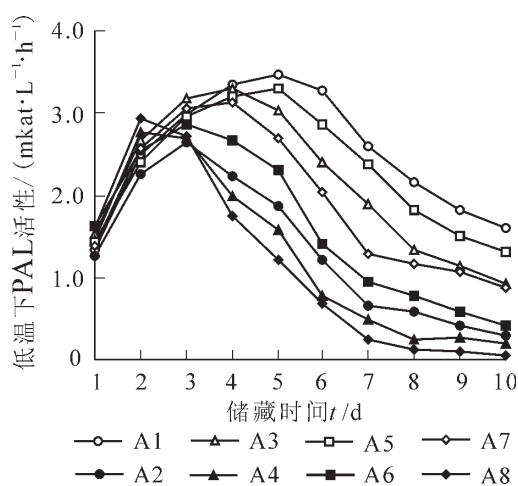


图 1 5 °C 低温储藏绿竹笋的 PAL 活性变化

Figure 1 PAL activity of bamboo shoots of *Bambusa oldhami* at 5 °C with different treatments

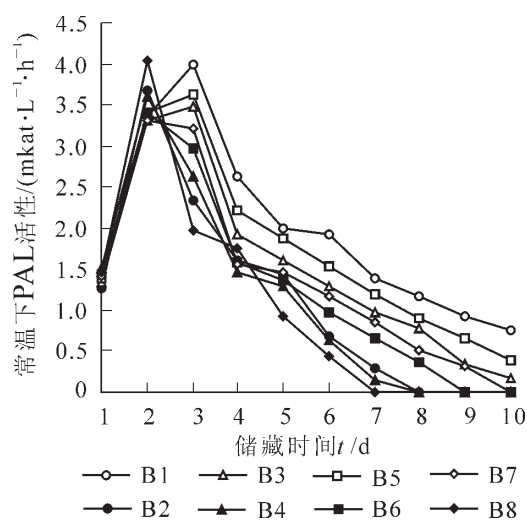


图 2 25 °C 常温储藏绿竹笋的 PAL 活性变化

Figure 2 PAL activity of bamboo shoots of *Bambusa oldhami* at 25 °C with different treatments

2.2 竹笋储藏过程过氧化物酶(POD)活性变化

2.2.1 竹笋低温储藏过程过氧化物酶(POD)活性变化 测定竹笋低温储藏过程中 POD 的活性变化, 结果见图 3。竹笋采收后低温储藏过程中各组 POD 活性迅速增加, 经保鲜处理后的 A1, A2, A3, A4, A5, A6 和 A7 各组竹笋 POD 活性增加慢于未处理的 A8 组, A8 和 A7 组在 3 d POD 活性达最高, 在有保鲜处理的 A1, A2, A3, A4, A5 和 A6 各组 POD 活性在 4 d 达最高。

2.2.2 竹笋常温储藏过程过氧化物酶(POD)活性变化 测定竹笋常温储藏过程中 POD 的活性变化, 结果见图 4。竹笋采收后常温储藏过程中对照组 POD 活性迅速增加, B1 处理后的竹笋 POD 活性增加较慢, 3 d 达最高, B6 组在 2 d POD 活性达最高, B8 组在 4 d POD 活性接近于 0, 酶基本失活。B1, B3 和 B5 各处理在 10 d 时还能保持一定的活性, 各处理间差异显著 ($P < 0.05$)。结合与低温储藏分析, 说明壳聚糖涂膜、BCY 保鲜处理和低温储藏能有效降低过氧化物酶的活性, 减缓竹笋老化。

2.3 竹笋储藏过程中木质素变化

2.3.1 绿竹笋低温储藏过程中木质素变化 测定绿竹笋低温和常温储藏过程中木质素质量分数, 结果见

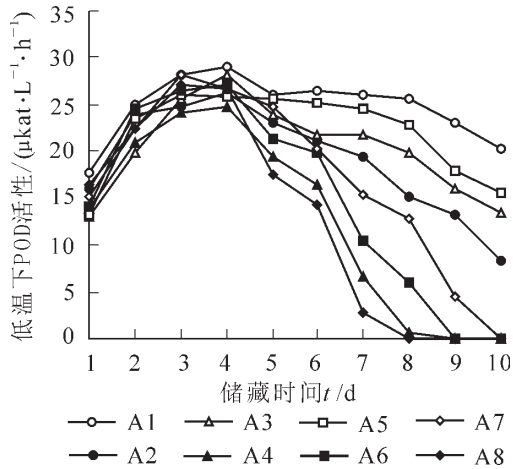


图 3 5 °C 低温储藏过程绿竹笋过氧化物酶活性变化

Figure 3 Comparison on POD activity of bamboo shoots of *Bambusa oldhami* at 5 °C with different treatments

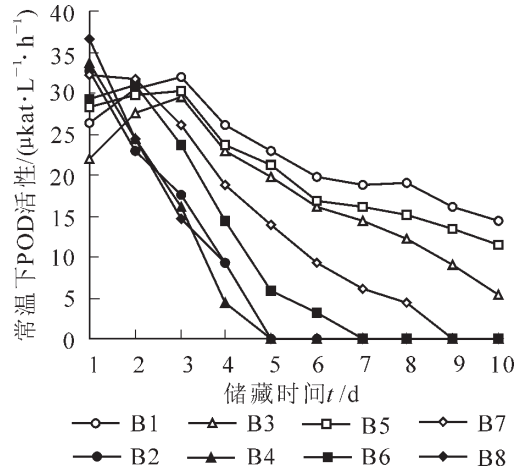


图 4 25 °C 常温储藏过程绿竹笋过氧化物酶活性变化

Figure 4 POD activity of bamboo shoots of *Bambusa oldhami* at 25 °C with different treatments

图 5。从图 5 可看出 A8 组木质素增加最快，均高于其他处理；8 个处理的木质素相比，各处理在储藏前期木质素变化速率高于后期，A3 处理的木质素增加速率最慢。木质素增加速率与 PAL 和 POD 酶活性呈正相关。

2.3.2 绿竹笋常温储藏过程中木质素变化 测定绿竹笋常温储藏过程中木质素质量分数，绿竹笋常温储藏 10 d 条件下，随着时间的延长，各处理木质素逐渐增加，后期由于酶的失活，笋体变质，B2, B4, B6, B8 各组已无法取样测定分析。与低温储藏比较，经 *F* 检验方差分析， $P < 0.05$ ，2 种储藏条件差异显著，经多重比较，A1 处理木质素含量最低，保鲜效果好。

2.4 竹笋储藏过程中纤维素变化

纤维素质量分数变化是竹笋老化的指标之一。采用一定的保鲜剂协同温度控制的处理，对抑制纤维素的生成具有明显的作用。测定各保鲜处理竹笋在不同温度储藏期间纤维素质量分数，结果见图 6。如图 6 所示，低温各处理的纤维素均在缓慢上升，其中前 3 d 低温处理 A1 的上升程度小于其他 15 组，A8 组上升最快。比 A1 高出 24.62%。各处理在储藏期末，纤维素质量分数由少到多按 $A1 < A5 < A3 < A7 < A6 < A2 < A4 < A8$ 排列。对各组数据进行方差分析表明，差异显著，经多重比较分析，A1 处理效

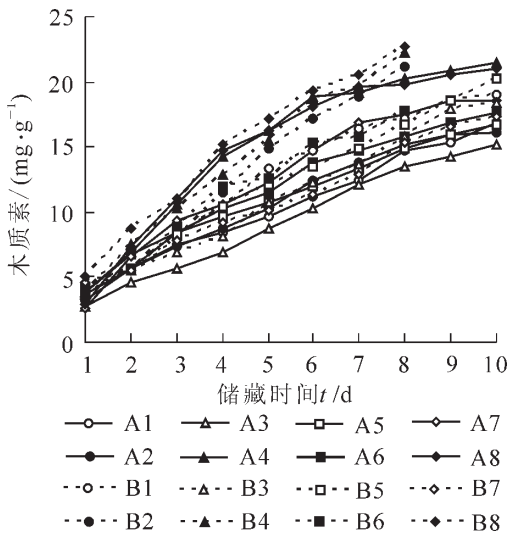


图 5 绿竹笋储藏过程中木质素变化
Figure 5 Lignin of bamboo shoots of *Bambusa oldhami* with different treatments

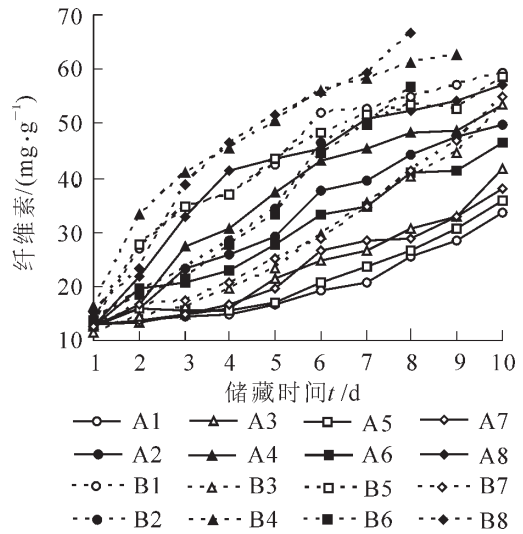


图 6 绿竹笋储藏过程中纤维素变化
Figure 6 Cellulose of bamboo shoots of *Bambusa oldhami* with different treatments

果最佳, A5次之, 以A8(ck)最差。

常温储藏竹笋纤维素增加速率比低温储藏的快, 常温条件储藏各处理在3 d内纤维素增加呈现一个快速增长期, 但随着时间的延长, 到第8天, B2, B4, B6和B8各处理笋体已开始变质, 无法正常取样进行分析测定。对各组8 d内数据进行方差分析表明, 差异显著($P < 0.05$), 经多重比较分析, B3处理效果最佳, B1次之, 都是较为理想的保鲜处理方法。

3 结论与讨论

在绿竹笋保鲜试验中, 以经冰水预处理后的绿竹笋, 通过 $10.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 壳聚糖涂膜, 笋体包装, BCY保鲜剂并在 $5 \text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏的A1处理, 苯丙氨酸解氨酶(PAL)和过氧化物酶(POD)活性在保鲜试验期内变化幅度最小, 木质素、纤维素的增加量最小, 感官评价得分最高, 是较为理想的保鲜处理方法。 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 常温储藏条件下, $10.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 壳聚糖涂膜、笋体包装和BCY保鲜剂的B1保鲜处理和笋体包装、BCY保鲜剂的B3处理, 能在保鲜期内保持一定的竹笋鲜度, PAL和POD活性在保鲜试验期内变化幅度最小, 木质素和纤维素的增加量最小, 感官评价得分较高, 是常温储藏的较好的处理方法。

竹笋在正常生长发育过程中就进行着旺盛的代谢, 随着细胞延长和次生壁的加厚, 纤维素大量合成并形成纤维束, 随之也进行着木质素合成并沉积于纤维束网格中, 发生木质化, 细胞和组织机械强度大大增加。随着竹笋-竹子的生长过程, 竹材内部纤维素与木质素也不断增加, 材性变好; 竹笋储藏过程中也是这样, 相关代谢酶还能维持一定时间的活性, 继续参与木质素与纤维素的合成, 导致竹笋发生木质化, 笋体变硬。在竹笋老化过程中, PAL和POD起着关键作用^[9]。

绿竹笋在储藏过程中, 各处理的PAL活性和POD活性变化趋势是一致的, 在储藏前期活性不断增大, 后期由于酶的逐渐失活, PAL活性和POD活性逐渐降低, 与王敬文^[9]研究结果吻合。木质素和纤维素质量分数持续增加, 变化规律与PAL和POD活性的变化规律具有较强的相关性, 木质素为植物次生代谢的产物, 属酚类化合物, 是构成细胞壁次生结构的主要成分^[10]。PAL是木质素生物合成中的关键酶, 能催化苯丙氨酸转化为肉桂酸^[11]; 而POD则在木质素生物合成的最后一步中通过催化 H_2O_2 分解而使木质素单体发生聚合反应形成木质素^[11-13]。因此, PAL和POD这2种酶活性都能促进木质素的合成, 提高组织的木质化程度, 从而促进竹笋组织的衰老败坏^[11-13]。研究PAL和POD在竹笋中的活性和在竹笋老化过程中活性变化的动态, 就可以了解竹笋老化的基本生理过程。竹笋发生木质化过程中PAL活性和POD活性的变化是植物基因表达和激素控制的^[14]。其调控机制还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 席琦芳, 罗自生, 程度, 等. 竹笋采后木质化与多酚氧化酶、过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶活性的关系[J]. 植物生理学通讯, 2001, **37** (4): 294 - 295.
XI Yufang, LUO Zisheng, CHENG Du, *et al.* Relationship between lignification of excised bamboo shoot and activities of polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammonialyase [J]. *Plant Physiol Commun*, 2001, **37** (4): 294 - 295.
- [2] 席琦芳, 罗自生, 程度, 等. 竹笋采后活性氧代谢对木质化的影响[J]. 中国农业科学, 2001, **34** (2): 197 - 199.
XI Yufang, LUO Zisheng, CHENG Du, *et al.* Effect of active oxygen metabolism on excised bamboo shoot lignification [J]. *Sci Agric Sin*, 2001, **34** (2): 197 - 199.
- [3] KAMATA S, TERADA T. The activities of phenylalanine ammonia-lyase and peroxidase, rate of growth and rate of lignifications [J]. *Jpn Wood Res Soc*, 1969, **15** (4): 182 - 187.
- [4] 张芝芬, 杨文鸽, 韩素珍, 等. 不同储藏条件下竹笋苯丙氨酸解氨酶的活性变化[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2000, **13** (4): 35 - 38.
ZHANG Zhifen, YANG Wen'ge, HAN Suzhen, *et al.* variation in phenylalanine ammonialyase activity of bamboo shoots under different storage conditions [J]. *J Ningbo Univ Nat Sci & Eng Ed*, 2000, **13** (4): 35 - 38.
- [5] KAR M, SMITH E H. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence [J]. *Plant Physiol*, 1976, **57**: 315 - 319.
- [6] 余学军. 绿竹笋采后生理及鲜笋保鲜技术研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2004.

YU Xuejun. *A Study on Postharvest Physiology and Storage Techniques of Dendrocalamopsis oldhami* [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2004.

- [7] 国家技术监督局. GB/T 2677.10-1995 造纸原料综纤维素含量的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- [8] 国家技术监督局. GB/T 2677.8-1994 造纸原料酸不溶木素含量的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.
- [9] 王敬文. 采后竹笋老化生理研究[J]. 林业科学研究, 2002, **15** (6): 687 - 692.
- WANG Jingwen. Study on ageing physiology of postharvest bamboo shoots [J]. *For Res*, 2002, **15** (6): 687 - 692.
- [10] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [11] 陈晓亚. 植物次生代谢及调控[G]//余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学. 2 版. 北京: 科学出版社, 1998: 390 - 401.
- [12] 吴晓丽, 顾小平, 苏梦云, 等. 离体毛竹笋纤维素和木质素含量及 POD 和 PAL 活性研究[J]. 林业科学研究, 2008, **21** (5): 697 - 701.
- WU Xiaoli, GU Xiaoping, SU Mengyun, *et al.* Study on contents of cellulose, lignin and activities of POD, PAL in excised bamboo shoots of *Phyllostachys edulis* [J]. *For Res*, 2008, **21** (5): 697 - 701.
- [13] ANDREA P, TTILMAN O, FRIEDERIKE S. A poplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce [J]. *Plant Physiol*, 1994, **106**: 53 - 60.
- [14] 罗自生. 采后竹笋木质化与内源激素的关系[J]. 中国农业科学, 2006, **39** (4): 792 - 797.
- LUO Zisheng. The relationship between lignification and endogenous hormone content of excised bamboo shoots [J]. *Sci Agric Sin*, 2006, **39** (4): 792 - 797.