

张秀梅. X 射线对黑花生多酚氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(7): 74–75.

X 射线对黑花生多酚氧化酶活性的影响

张秀梅

(德州学院物理系/山东省功能大分子生物物理重点实验室, 山东德州 253023)

摘要:通过对黑花生种子进行 X 射线辐照处理, 研究其对黑花生多酚氧化酶(PPO)活性的影响。结果表明, 在 X 射线激励电压为 60 kV、辐照时间为 5 min 时, 黑花生 PPO 活性最大(559.8 U)。在 X 射线激励电压为 65 kV、辐照时间为 3 min 时, 黑花生 PPO 活性最低(145.8 U)。X 射线对黑花生 PPO 活性影响最小的处理条件为 X 射线激励电压为 55 kV、处理时间 4 min。总体上说随着 X 射线激励电压的增大, 黑花生 PPO 活性先增大后减小; 随着辐照时间的延长, PPO 活性先增大后减小。

关键词: X 射线; 辐照; PPO 活性; 黑花生

中图分类号: S565.201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0074-01

多酚氧化酶(Polyphenol oxidase, PPO)属核编码含铜金属酶, 广泛存在于植物、真菌、昆虫等机体中。由于其能有效催化多酚类化合物氧化形成相应的醌类物质, 因此被认为是导致酶促褐变反应的主要因素^[1]。多酚氧化酶(PPO)与植物的抗逆性有关, 可以增强植物对病原体的抗性^[2-3], 如烟草对炭疽病菌、黄瓜对黑星病菌、苹果对轮纹病菌、棉苗对枯萎病菌、水稻对白叶枯病菌和细菌性条斑病以及番茄对小昆虫的抗性^[4]。目前对多酚氧化酶活性的影响因素的研究成为热点, Billaud 等^[4]研究了各种 pH 值和温度条件下美拉德反应产物对苹果 PPO 的抑制作用; Kanade 等^[5]发现苯甲酸能对 PPO 起到抑制作用; Pintom 等^[6]报道采用 EDTA 处理豇豆可导致其 PPO 活性下降; Garcia-Palazon 等^[7]报道了静高压处理对 PPO 活性的影响; Riener 等^[8]报道了脉冲电场结合加热方式处理对 PPO 失活的影响。花生是我国重要的经济作物, 提高花生植株的抗逆性及花生的产量、质量等是一个重要的课题, 因此, 研究经处理后的黑花生种子萌发生成幼苗的真叶 PPO 活性。

1 材料与方法

1.1 仪器及材料

紫外分光光度计, 高速离心机, 手提式 X 射线透射仪。供试材料为黑花生。

1.2 种子的处理

把种子分为 30 组, 分别放在激励电压为 45、50、55、60、65 kV 的 X 射线下, 种子胚部朝向束流方向且单层排列, 处理 1、2、3、4、5、6 min 之后种植, 长出真叶备用。

1.3 PPO 提取

新鲜的黑花生真叶放入 4 ℃ 冰箱中预冷 10 min。取 0.1 g 叶片, 加入 1.5 mL 磷酸缓冲液(0.2 mol/L, pH 值 6.5)冰浴研磨后低温离心 30 min(12 000 r/min, 4 ℃), 离心完成

后取出上清液即为粗酶液。

1.4 PPO 活性测定

反应体系中加入 2.9 mL 磷酸缓冲液和 1.0 mL 0.1 mol/L 的邻苯二酚溶液, 在 30 ℃ 下保温 10 min 后, 倒入 1 cm 比色皿中, 迅速加入 0.1 mL 酶液, 放入分光光度计中, 记录 410 nm 下的吸光度变化(每 1 s 记录 1 次吸光度 D , 共记录 3 min)。以反应直线部分计算酶活力, 以每 1 min 吸光度 D 变化 0.001 为 1 个酶活力单位, 即 $1 \text{ U} = 0.001 \Delta D/\text{min}$ 。

2 结果与分析

从表 1 可以看出各处理组的 PPO 活性相对于对照组变化很大。说明 X 射线对花生种子作用明显。当 X 射线的激励电压为 65 kV 时, PPO 活性在任何辐照时间处理下均小于对照组。各处理组相对于对照组 PPO 活性的变化的大小没有明显的线性关系。当 X 射线激励电压为 60 kV, 处理时间为 5 min 时, X 射线对 PPO 活性促进作用最大。X 射线激励电压为 65 kV, 处理时间为 3 min 时, X 射线对 PPO 活性的抑制作用最强。X 射线激励电压为 55 kV, 处理时间为 4 min 时, X 射线对 PPO 活性影响最小。出现上述现象的原因可能是 X 射线会引起分子的极化, 使电子跃迁至高能级, 可能引起电离, 从而促使发生化学反应, 从而损害了 DNA 的结构, 影响了 PPO 的表达。

表 1 X 射线处理对黑花生多酚氧化酶(PPO)活性的影响

电压 (kV)	PPO 活性(U)					
	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min	6 min
0(对照)	393.6	393.6	393.6	393.6	393.6	393.6
45	352.2	378.6	377.4	370.8	453.0	379.2
50	267.6	460.8	382.2	503.4	346.8	255.6
55	258.6	384.6	442.2	388.2	348.0	422.4
60	415.2	151.2	415.2	250.8	559.8	193.8
65	166.2	192.6	145.8	194.4	300.0	244.8

3 结论

研究结果表明, 在 X 射线激励电压为 60 kV、辐照时间为 5 min 时黑花生真叶 PPO 活性最大, 其值为 559.8 U。在 X 射

收稿日期: 2012-12-28

基金项目: 山东省自然科学基金(编号: 2009ZRA14027)。

作者简介: 张秀梅(1976—), 女, 山东省德州人, 硕士, 主要从事生物物理技术研究。Email: zhangxiumei@dzu.edu.cn。

郝佳,王春艳,张敏敏,等. α -萘乙酸/ β -环糊精包合物的溶出度及生理活性[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):75-77.

α -萘乙酸/ β -环糊精包合物的溶出度及生理活性

郝佳,王春艳,张敏敏,丁丽莺,袁放,高茜,任勇

(南京师范大学/江苏省医药超分子材料及应用重点实验室,江苏南京 210023)

摘要:为研究 α -萘乙酸/ β -环糊精的包合物对 α -萘乙酸的溶解度及溶出度的影响,并探究 α -萘乙酸/ β -环糊精的包合物对植物生理活性的影响,以紫外分光光度法测定 α -萘乙酸/ β -环糊精包合常数,研磨法制备包合物,差示热分析法验证包合物,紫外分光光度法测定 β -环糊精对 α -萘乙酸溶出度的影响,以玉米为材料,通过对其根的影响,探究包合物对植物生理活性的作用。结果表明: α -萘乙酸/ β -环糊精包合物的包合常数为 710 M^{-1} ;当包合质量比为 1:7 时, α -萘乙酸的溶出效果较好;包合物对玉米的根长、根重皆有较明显的提高作用。说明环糊精包合技术能提高 α -萘乙酸的溶出度,也能提高其对植物的生理活性的作用。

关键词: α -萘乙酸; β -环糊精;包合物;溶出度;生理活性

中图分类号: TQ452 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0075-03

萘乙酸(naphthalene acetic acid)别称萘醋酸,通常所说的萘乙酸是指作为广谱型植物生长调节剂的 α -萘乙酸(α -naphthalene acetic acid, NAA)^[1],分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_2$,相对分子质量为 186.2。NAA 具有促进细胞分裂与扩大,诱导形成不定根,促进新陈代谢和光合作用,加速生长发育,增加坐果,防止落果,增强抗性,改变雌、雄花比率等特点^[1-2]。NAA 在农业上的应用浓度为 20~200 mg/L,虽然 NAA 在水中的溶解度为 420 mg/L,但其溶出度较低,溶解需较长时间才可达

到相应的浓度,为使用带来了一定的麻烦。

β -环糊精(β -cyclodextrin, β -CD)是一种“内疏水,外亲水”的环状低聚糖,能够将各种疏水性底物包合在其疏水空腔里,形成所谓的包合物^[3],且 β -CD 价廉易得,能显著改善物质的理化性质,如增加物质水溶性,提高物质溶出度等^[3-4]。 β -CD 包合物被广泛应用于植物生长调节剂的研究中,可增强其对植物生理活性的作用^[5]。彭敏等用核磁共振方法验证了 β -CD 与 α -NAA 的包合^[6]。但关于 α -NAA/ β -CD 包合物的溶解度、溶出度研究还没有明确的报导。

本试验着重研究了植物生长调节剂 NAA/ β -CD 的包合物对 NAA 溶解度及溶出度的影响,证明了 NAA 经过 β -CD 的包合,溶解度和溶出度均得到了一定的提高,这为农业生产提供了一定的方便。后期,以玉米为材料,通过 NAA 原料与 NAA/ β -CD 包合物同比例浸种后得到的植株的根长和根重

收稿日期:2013-01-09

作者简介:郝佳(1988—),女,江苏南京人,硕士研究生,研究方向为环糊精对植物生长调节剂的包合作用。E-mail: hjrainy@sina.com。

通信作者:任勇,副教授。Tel: (025)85891591; E-mail: renyongphd@126.com。

线激励电压为 65 kV、辐照时间为 3 min 时 PPO 活性最低,其值为 145.8 U。X 射线对黑花生真叶 PPO 活性影响最小的处理条件为:X 射线激励电压为 55 kV、处理时间为 4 min。从总体上来说随着 X 射线激励电压的增大 PPO 活性先增大后减小,随着辐照时间的增加 PPO 活性先增大后减小。当 X 射线激励电压较大时,PPO 活性较低,这可能是因为 X 射线能量过高会引起分子的极化,使电子跃迁至高能级,可能引起电离,从而促使发生化学反应。从而损害了 DNA 的结构,影响了 PPO 的表达^[9],从而使得 PPO 的活性降低。

参考文献:

- [1] Bhattacharya M, Luo Q, Corke H. Time-dependent changes in dough color in hexaploid wheat landraces differing in polyphenol oxidase activity[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47: 3579-3585.
- [2] 谢春艳, 宾金华, 陈兆平. 多酚氧化酶及其生理功能[J]. 生物学通报, 1999, 34(6): 15-17.
- [3] Whitaker J R, Lee C Y. Recent advances in chemistry of enzymatic browning: an overview [M]//Lee C Y, Whitaker J R. Enzymatic browning and its prevention. Washington DC: ACS, 1995.

- [4] Billaud C, Maraschin C, Nicolas J. Inhibition of polyphenoloxidase from apple by Maillard reaction products prepared from glucose or fructose with L-cysteine under various conditions of pH and temperature [J]. LWT - Food Science and Technology, 2004, 37(1): 69-78.
- [5] Kanade S R, Suhas V L, Chandra N, et al. Functional interaction of di-phenols with polyphenol oxidase: Molecular determinants of substrate/inhibitor specificity [J]. FEBS J, 2007, 274(16): 4177-4187.
- [6] Pintom S, Siqueiraf P, Oliveiraa E, et al. A wounding induced PPO from cowpea (*Vigna unguiculata*) seedlings [J]. Phytochemistry, 2008, 69(12): 2297-2302.
- [7] Garcia - PalazonaA, Suthanthangjai W, Kajda P, et al. The effects of high hydrostatic pressure on β -glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria x ananassa*) [J]. Food Chemistry, 2004, 88(1): 7-10.
- [8] Riener J, Noci F, Cronind A, et al. Combined effect of temperature and pulsed electric fields on apple juice peroxidase and polyphenoloxidase inactivation [J]. Food Chemistry, 2008, 109(2): 402-407.
- [9] 肖厚荣, 徐小龙, 解永树, 等. pH 诱导烟草多酚氧化酶二级结构变化的光谱学研究 [J]. 化学物理学报, 2004(2): 196-200.