

我国冬小麦品种多酚氧化酶活性的遗传变异及其与品质性状的相关分析

葛秀秀¹ 何中虎^{1,2,*} 杨金¹ 张歧军^{1*}

(¹中国农业科学院作物育种栽培研究所,国家小麦改良中心; ²CIMMYT 中国办事处,北京 100081)

摘要 PPO 及其相应底物是面条贮存期间(或挂面干燥过程中)颜色褐变的主要原因。本试验对我国 164 份冬小麦品种的籽粒 PPO 以及 83 份主栽品种的面粉 PPO 进行了筛选,研究了基因型、环境及其互作对籽粒及面粉 PPO 活性的影响,同时探讨了 PPO 活性与其他品质性状的关系。结果表明,我国冬小麦品种间 PPO 活性变异较大,籽粒 PPO 变化范围 1.93 ~ 12.00 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$,面粉 PPO 变化范围 0.22 ~ 3.74 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 。基因型、环境及其互作对 PPO 活性的影响都达到极显著水平,除软麦面粉外,基因型对小麦 PPO 活性的影响大于环境。面粉 PPO 活性与面粉白度及 24 h 面团颜色呈显著负相关, r 值分别为 -0.50 和 -0.59;容重、千粒重、籽粒硬度、出粉率通过改变面粉中麸皮含量(主要影响 PPO 含量)而影响面团颜色,而蛋白质及淀粉特性则通过影响 PPO 活性的表达导致品种间面团颜色变化的差异。

关键词 普通小麦;多酚氧化酶(PPO);颜色褐变;加工品质

中图分类号: S512 文献标识码: A

Polyphenol Oxidase Activities of Chinese Winter Wheat Cultivars and Correlations with Quality Characteristics

GE Xiu-Xiu¹ HE Zhong-Hu^{1,2} YANG Jin¹ ZHANG Qi-Jun¹

(¹Institute of Crop Breeding and Cultivation, National Wheat Improvement Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences; ²CIMMYT China Office, CAAS, Beijing 100081, China)

Abstract The enzyme polyphenol oxidase (PPO) has been related to undesirable brown discoloration of wheat-based end products such as noodles. 164 cultivars from winter wheat region in China were used to screen grain PPO activity, and 83 cultivars were used to determine flour PPO activity and other quality characteristics. Two sets of wheat samples were used to investigate the effects of genotype, environment and their interaction on grain and flour PPO activity. Significant differences in grain and flour PPO activity were observed in the China winter wheat populations. Grain PPO activity among China winter wheats ranged from 1.93 to 12.00 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$, and flour PPO activity ranged from 0.22 to 3.74 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$. The variability in grain and flour PPO activities was influenced by growing location and genotype for the winter wheat samples. The variation in grain and flour PPO activities among growing locations appeared smaller than variation produced by genotypes for the winter wheat samples except for soft wheat flour PPO. Flour PPO activities were related to L^* of flour and 24 h fresh noodle sheets, correlation coefficients were -0.50 and -0.59 respectively. Quality parameters, such as grain hardness, milling yield, flour protein, water absorption and falling number significantly correlated with flour PPO activities. Test weight, TKW, grain hardness and flour yield affected PPO content through changing bran content, while protein and starch affected PPO activities.

Key words *T. aestivum*; Polyphenol oxidase; Brown discoloration; Processing quality

基金项目:国家自然科学基金(30270822,39930110)、863 计划(2001AA241031,2002AA207003)、973 国家重点研究规划(2002CB111300)、948 重大农业国际科技合作项目的资助。

作者简介:葛秀秀(1974-),女,中国农业科学院作物所博士后,主要从事小麦品质育种的研究。

* 通讯作者:何中虎, Tel: 010-68918556; Fax: 010-68918547; E-mail: zhhe@public3.bta.net.cn

Received (收稿日期): 2002-08-05, Accepted (接受日期): 2003-01-25.

国内对小麦的蛋白质数量和质量、面团流变学特性和淀粉品质与面条加工品质的关系进行了较多研究^[1,2],但却忽视了面条颜色的相关研究,导致多数品种制作的鲜切面在贮存过程中颜色变暗(褐)或干挂面的颜色偏暗(褐)。PPO 是引起面条(团)颜色褐变的主要原因,通过遗传途径降低 PPO 活性有助于改善面条的颜色^[3-5]。

多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)包括单酚单氧化酶[酪氨酸酶(tyrosinase), EC1.10.3.1]、双酚氧化酶[儿茶酚氧化酶(catechol oxidase), EC1.10.3.2]、漆酶(laccase, EC1.10.3.1)。PPO 催化内源苯酸(如阿魏酸、芥子酸、香草酸等)的氧化,导致短链聚合物的产生,进而引起面团失色褐变^[6]。酚类氧化产物如醌能够和胱氨酸的巯基、赖氨酸的-氨基、氨基酸的-氨基发生反应生成其他物质^[7],因此褐变反应在影响面制品表观色泽的同时,还直接影响到食品的特性和蛋白质的营养品质。

国内有关小麦 PPO 的遗传研究未见报道,为此,本试验对我国冬播麦区主栽品种的 PPO 活性进行测定,筛选 PPO 活性低的品种,研究基因型、环境及其互作对 PPO 活性的影响,同时探讨 PPO 活性与其他品质性状的相关性,为 PPO 引起的面团褐变进行遗传改良提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料(如需详细清单请与作者联系)

2000~2001 年度,164 份北方冬麦区品种(系)种植于河南安阳中国农科院棉花所小麦试验地,用于籽粒 PPO 活性差异筛选;83 份冬小麦品种种植于河南郑州进行 PPO 活性与磨粉品质、面粉理化特性、面团流变学特性及淀粉特性的关系分析;13 个硬质冬小麦分别种植在山东济南、河南郑州和安阳,13 个软质冬小麦品种同时种植在江苏大丰、四川成都、安徽合肥。随机区组设计,2 次重复。

1.2 品质性状测定方法

各试验点 2 次重复的种子进行以下品质指标的测定。

1.2.1 容重 用 HGF-1000 型容重仪测定,按国家粮食标准 GB1351-78 进行。

1.2.2 蛋白含量 用近红外(NIR)分析仪(Instalab 600, Newport Scientific Scales and Services Pty Ltd, Australia)测定 14%湿基的蛋白含量。

1.2.3 籽粒硬度和千粒重 用单粒谷物硬度测

定位(SKCS 4100, Single Kernel Characteristic System)测定,硬度值大于 60 为硬质,小于 40 为软质,40~60 之间为混合麦。

1.2.4 出粉率 参照 AACC 26-20 方法,用瑞典 BUHLER 实验磨磨粉。

1.2.5 灰分 按 AACC 方法 08-01 测定,测定结果换算成 14%湿基条件下的灰分含量。

1.2.6 降落值 按 AACC 方法 56-81B 测定。

1.2.7 粉质仪参数 用德国 Brabender 公司的 810104 型粉质仪(Farinograph)测定,按 AACC54-21 方法测定吸水率等面团流变学特性参数。

1.2.8 面粉、新鲜面片或干面片的颜色 用 Minolta CR-310 色度仪检测(Minolta Camera Co., Ltd., Japan),使用 D65 灯的 1976 CIE-L* a* b* 色度系统。鲜面片贮存在塑料袋中,25℃恒温,0 h、2 h、24 h 时分别检测。干面片悬挂在 40%、60%相对湿度的恒温、恒湿箱中,在 0 h、2 h、4 h、24 h、48 h 时检测。6 次重复(面片中心附近正反面各 3 次)。L 值表示亮度和白度,越大则越白(亮);b 值表示蓝-黄度,越大则越黄。

1.2.9 PPO 活性的测量 参照华盛顿州立大学小麦品质实验室方法^[8]。

2 结果与分析

2.1 中国冬小麦品种 PPO 活性的遗传变异

将供试品种 PPO 活性的平均数等参数列于表 1。

表 1 我国冬小麦品种 PPO 活性的平均值、变异系数和变化范围

Table 1 Mean, coefficient of variance (CV%) and range of PPO activities of Chinese winter wheat					
PPO 活性 ($A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$)	个数	平均值	范围	标准差	变异系数
PPO activity	Number	Mean	Range	SD	CV%
籽粒 Grain	164	6.98	1.93~12.00	2.36	33.8
面粉 Flour	83	1.62	0.22~3.74	0.81	48.0
硬质籽粒 Hard wheat grain	13	7.39	2.67~11.63	2.37	32.2
硬质面粉 Hard wheat flour	13	1.99	0.75~3.73	0.68	34.4
软质籽粒 Soft wheat grain	13	7.07	2.33~10.85	2.62	37.0
软质面粉 Soft wheat flour	13	0.89	0.20~1.62	0.38	42.7

由表 1 可知,164 份冬小麦籽粒 PPO 活性变化范围为 1.93~12.00 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$,最大值是最小值的 6 倍,多数品种 PPO 活性分布在 6~10 之间

(图 1)。10 个籽粒 PPO 活性最低的品种(系)是农大 3395(1.93)、扬麦 5 号(2.33)、农大 3291(2.35)、农大 3214(2.59)、绵阳 940112(2.59)、中育 5 号(2.67)、山东 956161(2.73)、山东 924402-6(2.77)、京 9428(2.90)和川 89-114(2.96)。

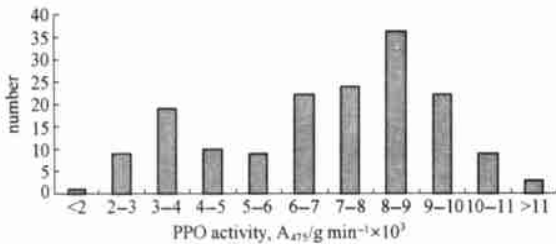


图 1 164 个中国主栽冬小麦品种籽粒 PPO 活性的分布

Fig. 1 Distribution of PPO activity in 164 Chinese winter wheats

83 个冬小麦主栽品种面粉 PPO 活性变化范围为 0.22 ~ 3.74 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$, 最大值是最小值的 17 倍。10 个面粉 PPO 活性最低的品种(系)是扬麦 5 号(0.20)、关封 2 号(0.23)、绵阳 11(0.30)、京 9428(0.52)、丰优 6 号(0.65)、郑优 6 号(0.67)、百农 64(0.68)、烟农 15(0.68)、藁城 8901(0.75)和鲁麦 22(0.80)。

硬质冬小麦籽粒 PPO 活性是面粉 PPO 活性的 4 倍左右, 而软质冬小麦籽粒 PPO 活性是面粉 PPO 活性的 7 倍还多; 同时, 无论籽粒还是面粉, 硬质冬小麦 PPO 活性平均值都大于软质冬小麦 PPO 活性平均值, 表明 PPO 主要存在于麸皮中且受硬度的影响。

以上结果表明, 我国冬小麦品种(系)间籽粒和面粉 PPO 活性存在很大差异, 变异范围广, 选择潜力大, 通过育种途径改善小麦制品颜色褐变现象是可能的。

2.2 基因、环境及其互作对品种 PPO 活性的影响

种植在济南、郑州和安阳的硬质小麦籽粒和面粉 PPO 活性分别为 8.24 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 、7.39 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 、5.62 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 和 2.56 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 、1.99 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 、1.64 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 。种植在合肥、大丰和成都的软质小麦籽粒和面粉 PPO 活性分别为 8.39 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 、7.07 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 、6.07 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 和 1.33 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 、0.89 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 、0.87 $A_{475}/g \text{ min}^{-1} \times 10^3$ 。

由表 2 方差分析可知, 环境、基因型及其互作对

小麦的籽粒 PPO 活性有极显著影响, 而且, 基因型均方大于环境均方, 二者也都大于基因 \times 环境互作均方, 表明籽粒 PPO 活性主要受基因型影响。Baik 等^[9]也发现种植在澳大利亚和美国的同一品种籽粒 PPO 活性之间存在显著差异, 但对同一地点的不同品种进行比较, 基因型则是影响 PPO 活性的主要因素。

表 2 冬小麦 PPO 活性变异的方差分析

Table 2 Analysis of variance(ANOVA) of polyphenol oxidase activity in grain and flour

来源 Source	自由度 df	平均方差 MS	F 值 $F \text{ ratio}$
硬质籽粒 Hard grain PPO			
环境 Location	2	2.80	7.37 **
基因型 Genotype	12	34.23	90.00 **
环境 \times 基因型 Location \times Genotype	24	1.68	4.41 **
误差 Error	39	0.38	
硬质面粉 Hard flour PPO			
环境 Location	2	1.34	6.38 **
基因型 Genotype	12	1.49	7.10 **
环境 \times 基因型 Location \times Genotype	24	0.36	1.71 **
误差 Error	39	0.21	
软质籽粒 Soft grain PPO			
环境 Location	2	32.24	22.26 **
基因型 Genotype	12	62.90	43.43 **
环境 \times 基因型 Location \times Genotype	24	2.98	2.06 **
误差 Error	39	1.45	
软质面粉 Soft flour PPO			
环境 Location	2	3.71	5.58 **
基因型 Genotype	12	2.47	3.73 **
环境 \times 基因型 Location \times Genotype	24	0.94	1.42
误差 Error	39	0.66	

** 显著水平 $P=0.01$. ** Significant at $P=0.01$.

环境和基因型对小麦的面粉 PPO 活性有极显著影响, 只是硬质小麦基因型均方略高于环境均方, 而软质小麦则是环境均方略高于基因型均方; 软质小麦面粉 PPO 活性基因 \times 环境互作差异不显著, 而硬质小麦面粉 PPO 活性基因 \times 环境互作差异极显著。

2.3 PPO 活性与面粉和面片颜色的关系

将 83 份鲜切面和挂面颜色随时间的变化列于表 3。可以看出, 鲜切面在贮存过程中和挂面在干燥过程中都表现为 L^* 值降低和 b^* 值增大的趋势。24 h 内鲜切面的颜色变化幅度比挂面大, 而且, 鲜切

面在贮存过程中的颜色变化是持续的,而挂面干燥2 h后颜色变化幅度很小,表明水分可能与颜色褐变有关。

表3 鲜切面和挂面的L*,b*值

Table 3 CIE L* and b* values of fresh and dry noodle sheets

颜色 Color	鲜切面 Fresh noodle sheets			挂面 Dry noodle sheets				
	0 h	2 h	24 h	0 h	2 h	4 h	8 h	24 h
L*	84.06	78.18	73.33	86.78	83.93	83.77	83.56	83.22
b*	12.21	14.41	15.38	12.88	13.47	13.46	13.53	13.46

表4 PPO活性与面粉和面片颜色的关系

Table 4 Correlation coefficients between PPO activities and color of flour and noodle sheet

PPO 活性 PPO activity	面粉颜色 Flour color		鲜面片颜色 Fresh noodle sheet color					
	L*	b*	L*(0 h)	b*(0 h)	L*(2 h)	b*(2 h)	L*(24 h)	b*(24 h)
籽粒 Grain	-0.24*	0.09	-0.23*	-0.08	-0.33**	0.12	-0.40**	-0.10
面粉 Flour	-0.50**	0.38**	-0.29**	0.27*	-0.38**	0.22*	-0.59**	0.17
PPO 活性 PPO activity	挂面颜色 Dry noodle sheet color							
	L*(2 h)	b*(2 h)	L*(4 h)	b*(4 h)	L*(24 h)	b*(24 h)	L*(48 h)	b*(48 h)
籽粒 Grain	0.01	-0.06	0.03	-0.10	-0.11	0.01	-0.16	-0.02
面粉 Flour	-0.28*	0.29**	-0.24*	0.22*	-0.37**	0.24**	-0.27*	0.25*
PPO 活性 PPO activity	鲜面片颜色变化 Change of fresh noodle sheet color			挂面颜色变化 Change of dry noodle sheet color				
	L*(0-2 h)	L*(0-24 h)	L*(2-24 h)	L*(0-2 h)	L*(0-24 h)	L*(2-24 h)		
籽粒 Grain	0.07	0.28*	0.27*	0.05	0.18	0.17		
面粉 Flour	0.29**	0.34**	0.40**	0.22*	0.30**	0.16		

** 显著水平 $P=0.05, 0.01$. *** Significant at $P=0.05, 0.01$ level, respectively.

2.4 PPO活性与品质特性的相关性

表5为PPO活性与品质性状的相关系数,除灰分外,相关系数不显著的性状没有列出。从表5可以看出,容重和干粒重与籽粒PPO活性呈显著负相关,但r值较小。面粉PPO活性与籽粒硬度和出粉率呈极显著正相关,r值分别为0.58和0.46。由此可见,PPO活性与品种的磨粉特性密切相关,影响面粉麸皮含量的因素都会影响PPO活性。这一结果与Hatcher等^[10]、Baik等^[9]、Park^[11]的结论相同。Hatcher等认为,灰分含量高的PPO活性也高(灰分含量变化范围为0.42~1.0,平均值为0.65),但本试验中面粉灰分含量与PPO活性相关并不显著,可能是由于我国冬小麦主栽品种灰分含量较低、品种间灰分含量差异不大(灰分含量变化范围为0.4~0.7,

表4为籽粒、面粉PPO活性与面粉和面片L*(亮度)和b*(黄度)值及其变化的相关系数。可以看出,PPO活性和面粉、面片的L*、b*值及其变化显著相关,PPO活性和L*值及其变化为负相关,PPO活性和b*值间为正相关,相关程度尤以24 h明显,籽粒和面粉PPO活性与鲜面片24 h的L*值的相关系数分别为-0.40和-0.59,面粉PPO活性与挂面24 h的L*值的相关系数为-0.37。由此可见,PPO对酚底物的氧化是面粉及面片颜色褐变的重要原因,氧化过程需要水分的参与,氧化程度在24 h时达最大。

平均值为0.49)的缘故。

表5 PPO与其他品质性状的相关系数

Table 5 Correlation coefficients between PPO and quality characteristics

PPO 活性 PPO activity	容重(g/L) Test weight	干粒重(g) 1000*kernel weight	籽粒硬度 Hardness	出粉率(%) Flour yield
籽粒 Grain	-0.26**	-0.30**	0.046	0.074
面粉 Flour	-0.13	-0.12	0.58**	0.46**
PPO 活性 PPO activity	面粉蛋白质 含量(%) Flour protein content	面粉灰分 含量(%) Flour ash content	吸水率 (%) Water absorption	降落值 (S) Falling number
籽粒 Grain	0.19	0.05	-0.05	0.02
面粉 Flour	0.23*	0.12	0.42**	0.44**

PPO活性是通过其与存在于水溶部分的酚底物



反应产生黑色素来表达的^[12]。吸水率增大, 面团水分活度增加^[11], 可以使面粉中 PPO 更容易与酚底物反应, 使活性更好的表达, 因此表现为 PPO 活性与吸水率密切正相关 ($r = 0.42$)。面粉 PPO 活性与蛋白含量和降落值呈显著正相关, r 值分别为 0.23 和 0.44。由于蛋白含量与吸水率呈正相关^[13], 蛋白质及淀粉特性有可能通过影响 PPO 活性的表达导致品种间面粉及面团颜色的差异。

面粉 PPO 活性与籽粒 PPO 活性的相关系数为 0.64, 通过选择籽粒 PPO 活性可较好地判断面粉 PPO 活性。

3 结论

国外研究表明, 小麦品种中高水平的 PPO 活性与小麦制品面包、馒头和面条^[14~16]的褐变密切相关。本研究结果也表明, 籽粒和面粉 PPO 活性与鲜面片和挂面 24 h L^{*} 的变化值显著相关, 相关系数分别为 -0.40 和 -0.59。因此, PPO 活性应作为面制品品质改良的重要指标, 育种过程中应注意选择 PPO 活性较低的品种。环境和基因型都影响 PPO 的活性, 但 PPO 活性主要受基因型影响; 不同品种间 PPO 活性相差很大, 因此, 通过遗传育种途径改良面制品颜色的褐变是可行的。本试验筛选出 PPO 活性低的品种可供育种中利用。

PPO 活性决定于 PPO 含量及其表达两个因素。PPO 主要分布在小麦籽粒的糊粉层 (Marsh 等, 1986), 面粉中观测到的 PPO 活性主要归咎于麸皮的污染^[17], 因此, 容重、千粒重、籽粒硬度、出粉率通过改变麸皮含量而影响籽粒及面粉 PPO 含量; 而蛋白质及淀粉特性则可以通过影响 PPO 活性的表达导致品种间面粉及面团颜色的差异, 这与淀粉组分带影响馒头的白度相一致^[18]。

References

- [1] Liu J-J (刘建军), He Z-H (何中虎), Zhao Z-D (赵振东). Review of noodle industrial quality of wheat. *Journal of Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2001, 21(2): 81—84
- [2] Yao D-N (姚大年), Li B-Y (李保云), Zhu J-B (朱金宝). Study on main starch properties and predictive indexes of noodle quality in common wheat. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1999, 32(6): 84—88
- [3] Miskelly D M. Flour components affecting paste and noodle colour. *J Sci Food Agric*, 1984, 35: 463—471
- [4] Baik B K, Czuchajowska Z, Pomeranz Y. Discoloration of dough for oriental noodles. *Cereal Chem*, 1995, 72: 198—205
- [5] Demek T, and Morris C F. Wheat polyphenol oxidase: distribution and genetic mapping in three inbred line populations. *Crop Sci*, 2001, 41: 1750—1757
- [6] Jimenez M, Dubcovsky J. Chromosome location of genes affecting polyphenol oxidase activity in seeds of common and durum wheat. *Plant Breed*, 1999, 118: 395—398
- [7] Pierpoint W S. Quinones found in plant extracts and their reaction with amino acids and peptides. *Biochem J*, 1969, 12: 609—610
- [8] Anderson J V, Morris C F. An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity. *Crop Sci*, 2001, 41: 1697—1705
- [9] Baik B K, Czuchajowska Z, Pomeranz Y. Comparison of polyphenol oxidase in wheats and flours from Australian and U. S. cultivars. *J Cereal Sci*, 1994, 19: 291—296
- [10] Hatcher D W, Kruger J E. Distribution of PPO in flour millstreams of Canadian common wheat classes milled to three extraction rates. *Cereal Chem*, 1993, 70: 51—55
- [11] Park W J, Shelton D R. Variation in polyphenol oxidase activity and quality characteristics among hard white wheat and hard red winter wheat samples. *Cereal Chem*, 1997, 74: 7—11
- [12] Marsh D R, Galliard T. Measurement of polyphenol oxidase activity in wheat-milling fractions. *J of Cereal Sci*, 1986, 4: 241—248
- [13] Liu J-J (刘建军), He Z-H (何中虎), Zhao Z-D (赵振东), Liu A-F (刘爱峰), Song J-M (宋建民), Pena R J. Investigation on relationship between wheat quality traits and quality parameters of dry white Chinese noodle. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2002, 28(6): 738—742
- [14] Kruger J E. A comparison of methods for the prediction of Cantonese noodle colour. *Can J Plant Sci*, 1992, 72: 1021—1029
- [15] Hatcher D W, Kruger J E. Measurement of time-dependent appearance of discolored spots in alkaline noodles by image analysis. *Cereal Chem*, 1999, 76: 189—194
- [16] Morris C F, Jeffers H C, Engle D E. Effect of processing, formula and measurement variables on alkaline noodle color-toward an optimized laboratory system. *Cereal Chem*, 2000, 77: 77—85
- [17] Kotber M O. Activity and inhibition of polyphenol oxidase in extracts of bran and other milling fractions from a variety of wheat cultivars. *Cereal Chem*, 2001, 78(5): 514—520
- [18] Zhang C-Q (张春庆), Li J-Q (李晴祺). Major quality traits affecting steamed bread qualities. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1993, 26(2): 39—46