

“中国科协青少年科技创新人才培养项目” 案例

荔枝采后保鲜温度的研究

林泳许 / 福建师大附中

魏 琳 / 福州一中

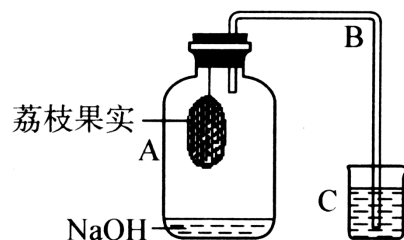


图 1 简易呼吸测定装置

◎ 设计缘由

荔枝是南方的特产。因采收期正值盛夏高温、高湿的季节，采后呼吸作用旺盛，又因果实含水量高、营养丰富，较易被病菌侵染繁殖，故采后极易褐变腐烂。过氧化物酶在植物老化组织中活性较高，幼嫩组织中活性较弱，通常较高的过氧化物酶活性会加速组织老化，促使褐变，而过氧化物酶活性和温度有着密切关系。植物有氧呼吸越强，有机物消耗就越多，而有氧呼吸的强度与温度也有密切关系。日常生活中人们经常使用降低温度的方法来抑制水果、蔬菜有氧呼吸、减少有机物消耗，同样我们也可通过对保鲜温度的控制来延长荔枝的保鲜时间。

本活动与课标的关系：在普通高中生物课程标准《分子与细胞》模块中，第 5 章第 3 节《ATP 的主要来源——呼吸作用》是相当重要的知识点，课标要求学生能“掌握影响细胞呼吸作用的因素及其在生产实践中的应用”。本活动选择与农业生产联系紧密的荔枝保鲜作为研究对象，可帮助学生了解所学的知识在生活实践中的运用。

◎ 活动目标

- 掌握不同温度下过氧化物酶活性测定的原理和方法。
- 掌握不同温度下荔枝呼吸强度测定的原理和方法。
- 理解简易呼吸测定装置的原理并自主完成保鲜温度控制的实验，培养实验能力。

◎ 概念与方法

过氧化物酶：以过氧化氢为电子受体催化底物氧化的酶，能催化很多反应。

呼吸强度：指单位时间内、单位植物材料（鲜重、干重、细胞或组织）所吸收的 O_2 或放出的 CO_2 的量。

愈创木酚比色法：在有过氧化氢存在的条件下，过氧化物酶能使愈创木酚氧化，生成茶褐色物质，可用分光光度计测量生成物的含量，以每分钟吸光度变化值表示酶活性大小。

◎ 材料准备

➤ 用于测定过氧化物酶活性

荔枝、721 型分光光度计、离心机、秒表、天平、研钵、磁力搅拌器、愈创木酚、冰箱、 KH_2PO_4 、过氧化氢。

反应混合液：100mmol/L 磷酸二氢钠缓冲液（pH = 6.0）50mL 于烧杯中，加入愈创木酚 28 μ L，于磁力搅拌器上加热搅拌，直至愈创木酚溶解，待溶液冷却后，加入 30% 过氧化氢 19 μ L，混合均匀，保存于冰箱中。

100mmol/L 磷酸二氢钠缓冲液（pH = 6.0，配方如下）：

贮备液 A： $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 27.8g 配成 1000mL

贮备液 B： $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 53.65g 配成 1000mL

将 87.7mL 贮备液 A + 12.3mL 贮备液 B，稀释至 200mL 即可。

➤ 用于测定呼吸强度

天平、广口瓶、橡皮塞、移液管、玻璃管、石蜡、小烧杯、纱布、10% NaOH。

◎ 活动步骤

➤ 材料与处理

将上午采收的果实迅速运回实验室处理：用 0.03mm 的 PE 袋包装扎口，分别贮藏于 5℃、10℃、15℃、20℃ 和 25℃ 环境中（温度梯度也可自行设计），不同温度的设置可通过多台冰箱来实现。

➤ 过氧化物酶活性的测定

◆ 从 5℃、10℃、15℃、20℃ 和 25℃ 环境中分别随机抽取果实 3 份（即 3 个重复），小心剥下果皮，称取 1g，加 20mmol/L KH_2PO_4 5mL，于研钵中研磨成匀浆，以 4000r/min 离心 15 分钟，倾出上清液保存在冷处，残渣再用 5mL KH_2PO_4 溶液提取一次，合并两次上清液，贮于冷处备用。

◆ 每次取半径 1cm 比色杯 2 只，于 1 只中加入反应混合液 3mL， KH_2PO_4 1mL，作为校零对照，另 1 只中加入反应混合液 3mL，上述酶液 1mL，立即开启秒表记录时间，于分光光度计上测量吸光度值，每隔 1 分钟读数一次，读数于波长 470nm 下进行。

◆ 以每分钟吸光度变化值表示酶活性大小，即以 $\Delta A_{470}/\text{min} \cdot \text{mg}$ 蛋白质（或鲜重 g）表示之。

➤ 呼吸强度的测定

◆ 测定装置

如图 1 所示，包括广口瓶 (A)（于瓶塞上钉一金属小弯钩）、曲管 (B) 和烧杯 (C)。烧杯内装水（可加数滴红墨水），广口瓶内加入 20mL 10% NaOH。

◆ 从 5℃、10℃、15℃、20℃ 和 25℃ 环境中分别随机称取果实 3 份（即 3 个重复），每份 3g，然后用纱布包裹，并用棉线结扎悬挂于广口瓶塞弯钩上。然后盖紧瓶塞，并用熔化的石蜡密封瓶口，记录开始的实验时间。

◆ 经一定时间后，测量水柱上升高度。

◆ 以上升水柱的高度表示相对呼吸强度：cm/h。

◎ 学生评价

- 是否能熟练使用分光光度计；
- 是否掌握不同温度下过氧化物酶活性和荔枝呼吸强度测定的原理和方法；
- 能否很好地理解简易呼吸测定装置的原理及自主完成实验操作；
- 能否设定相应的温度梯度开展实验，对实验数据记录

和分析处理。

◎ 活动建议

- 使用分光光度计时，读数建议由一位操作者完成。
- 读取上升水柱的高度时，必须水平方向读数。
- 简易呼吸测定装置必须严格密闭。
- 如实验中酶活性过高可使各组实验结果趋同（颜色都较深），可以对酶浓度给予相应稀释。

◎ 活动拓展

可以横向探究不同的水果、蔬菜的保鲜条件。也可以通过设计不同的氧气浓度梯度实验，进一步探究荔枝最适宜贮存的氧气浓度。

◎ 学生作业纸

表 1 不同温度下荔枝的过氧化物酶的活性
($\Delta A_{470}/\text{min} \cdot \text{g}$ 鲜重)

温度℃	重复 1	重复 2	重复 3	平均值
5				
10				
15				
20				
25				

结论：_____

表 2 不同温度下荔枝的相对呼吸强度 (cm/h)

温度℃	重复 1	重复 2	重复 3	平均值
5				
10				
15				
20				
25				

结论：_____