

香蕉後熟的研究

高中組生物科第三名

台北市立第一女子高級中學

作 者：黃珮婷、洪華霜、張子宜

指導教師：林英子、張金珠

一、研究動機

一般水果在後熟之後才可食用，而高中生物課本第一冊中提到，乙烯（一種植物荷爾蒙）可促進水果的成熟，因此我們想對水果在後熟過程中的變化做深入探討。而香蕉是臺灣本土盛產的水果，在實驗材料的取得方面非常方便，且一串香蕉有二十多根，可減少其個別差異，再加上其果肉細胞內含有澱粉粒，十分易於觀察，因此我們就以香蕉為主，展開了我們的研究。

二、研究目的

- (一)探討香蕉在後熟期間，其呼吸速率、乙烯釋放量、糖度、硬度、果皮顏色、葉綠素含量的變化。
- (二)觀察香蕉在後熟期間其果肉細胞內澱粉粒的變化。
- (三)測量香蕉在後熟期間其果肉細胞所含蛋白質及澱粉酶的變化。

三、研究原理

- (一)有某些果實在後熟時會大量釋出乙烯而形成高峰。
- (二)利用氣體色層分析儀 (GC) 定 CO_2 及 C_2H_4 的量。
- (三)利用顯微照相技術及滲透作用原理觀察香蕉果肉細胞內澱粉粒數目及其大小之變化。
- (四)利用膠體電泳 (SDS PAGE) 對香蕉蛋白質加以定性及定量分析。
- (五)利用膠體電泳技術及酵素作用分析澱粉酶之活性。

四、研究器材及步驟

- (一)以GC測定 CO_2 及 C_2H_4 的釋放量。
- (二)葉綠素、硬度、糖度、級數、pH值測定。
- (三)膠體電泳法 (Polyacrylamide gel electro-phoresis)

五、研究結果

(一)香蕉後熟作用中，乙烯、二氧化碳、級數、硬度及葉綠素含量之分析。

1. 乙烯曲線圖

在第18天（1級）之前，乙烯釋放量相當少（約 $0.2\mu l / Kg / hr$ 以下），從第19天（2.5級）開始，乙烯的量緩緩增高，到第21天（3.5級），乙烯量最高，而後漸下降，到第24天（5級）乙烯量為 $(0.9\mu l / Kg / hr)$ ，此後維持這個量，曲線呈現平緩的走向（圖一）。

2. 二氧化碳曲線圖

第19天（2.5級）之前， CO_2 釋放量幾乎沒變化，20天後速增，到第23天（4級）量最高，而後 CO_2 釋出量逐漸減少（圖三）。

3. 級數曲線圖

第1天至第17天皆為1級，顏色深綠，第19天後速增，到第29天達最高級數，顏色變黃，而且有褐斑（圖五、圖八～十三）。

4. 香蕉果肉硬度曲線圖

第19天開始，曲線急速下降，代表香蕉變軟，到第25天（5級）硬度最低，最為好吃，至第27天（6級）不再降低（圖六）。

5. 葉綠素總含量曲線圖

第1天至第17天曲線較為平緩，此時香蕉為1級，顏色深綠（圖八）第19天後，葉綠素含量快速下降，級數也逐漸增加，至第25天，曲線又趨平緩，到第27～29日時（6～7級），曲線滑落至最低點，不再減少（圖七）。

(二)香蕉、芭蕉果肉細胞徒手切片及香蕉澱粉粒之觀察

1. 香蕉果肉細胞之觀察

- (1)1級—果肉細胞內，澱粉粒數目多且小，一個細胞約有56顆澱粉粒，細胞體積小，做切片時易破裂，使許多澱粉粒滾出。
- (2)2.5級—果肉細胞及澱粉粒明顯變大，一個細胞內約有33顆澱粉粒，細胞周圍有少數散落的澱粉粒（圖十五）。
- (3)3級—細胞較2.5級為大，澱粉粒較少，一個細胞內約有15顆澱粉粒，細胞膜有彈性，幾乎沒有散落的澱粉粒（圖十六）。
- (4)4級—細胞明顯變大，澱粉粒變小且外形不光滑，數目約為15顆，細胞內出現澱粉粒被分解後所剩下的黃色的膜（圖十七）。
- (5)5級—一個細胞約有10顆澱粉粒，澱粉粒體積較4級的小且不完整，細胞內出現許多黃色的膜（圖十八）。
- (6)7級—一個細胞約有4顆很小的澱粉粒，黃色的膜較5級的多，細胞明顯是最大，約為1級的3倍大（圖十九）。

2. 各種級數香蕉澱粉粒之觀察

- (1) 1級—澱粉粒大而飽滿，數目多，呈深藍紫色（圖二十）。
- (2) 2.5級—澱粉粒變為不規則，外圍不再光滑，顏色較第1級淺，有許多破碎的澱粉粒（圖二十一）。
- (3) 3.5級—澱粉粒形狀更不規則，破碎的澱粉粒更多（圖二十二）。
- (4) 5級—無完整之澱粉粒，有很多殘留的膜（圖二十三）。
- (5) 7級—澱粉粒極小且不完整，約99%被分解（圖二十四）。

3. 芭蕉果肉細胞之觀察

- (1) 2級—果肉細胞小，且細胞內澱粉粒很多，一個細胞內約有26顆澱粉粒，細胞外也有一些滾出的澱粉粒（圖三十二）。
- (2) 5級—果肉細胞較2級的大，細胞內澱粉粒略減少，一個細胞內約有20顆澱粉粒。細胞膜已有彈性，周圍已無散落的澱粉粒，細胞內出現一些澱粉粒被分解後剩下的膜（圖三十三）。
- (3) 6級—果肉細胞較5級大，一個細胞內約有17顆澱粉粒，黃色的膜也增多，澱粉粒的外形變得不規則（圖三十四）。
- (4) 7級—果肉細胞最大，一個細胞內約有10顆澱粉粒，細胞內澱粉粒明顯變少，且都不完整（圖三十五）。

(三)各種級數香蕉果肉細胞內糖度之分析

前17天（1級）變化不大，19天之後，級數增加，糖度也急遽上升，第25~29天（5~7級）維持在最高峰（圖二十五）。

(四)電泳膠體分析香蕉果肉細胞內的澱粉酶及蛋白質

1. 澱粉酶的分析

香蕉在後熟之前（1級、2級時），澱粉酶幾乎沒有活性（圖二十六），從2.5級開始有活性，到5級時，澱粉酶量最多，到7級時，稍微降低（圖二十七）。

2. 總蛋白質的種類及含量分析

由圖二十八（SDS PAGE）可看出不同等級之香蕉所含總蛋白質含量及種類不太相同，1級之香蕉，在分子量30000之位置有一很大之band，其位置與Carbonic anhydrase相當。

3. 水溶性蛋白質的分析

由圖二十九（SDS PAGE）可看出1級時水溶性蛋白質量少且種類也少，至4級時種類增多，7級時蛋白質種類更多。

(五)香蕉果肉pH值曲線圖之分析

1級的香蕉果肉pH值為7，其後逐漸下降，到了7級時，降至4.7，為最低點（圖三十一）。

六、討論

(一)香蕉乙烯、二氧化碳、級數、硬度與葉綠素含量曲線圖之關係

實驗開始後第19天，乙烯釋放量開始增加（圖一），呼吸速率加快（圖三），香蕉級數增為2.5級（圖五），果皮顏色轉黃（圖九），果肉硬度降低（圖六），葉綠素含量減少許多（圖七）。由此推測，香蕉後熟開始時，釋放乙烯而引發果肉內部種種變化，使香蕉變得鬆軟香甜有彈性，不再青澀而利於食用。

(二)香蕉果肉細胞內澱粉粒與糖度之分析

實驗開始第19天（2.5級）果肉細胞內澱粉粒明顯減少（圖十五）但糖度則明顯上升（圖二十五），而乙烯釋放量也是從第19天開始增加（圖一），由此可推測，乙烯可能會促進基因的作用，促進澱粉酶合成或活化，將細胞內澱粉粒分解為糖，使糖度上升。

(三)果肉細胞及澱粉粒脹大之分析

1. 實驗開始第19天（2.5級），果肉細胞及其內澱粉粒明顯脹大（圖十五），為糖度明顯開始上升之時（圖二十五），隨糖度逐漸上升，果肉細胞及澱粉粒逐漸脹大（圖十六～十九）。由此推測，其脹大之原因，應是由於澱粉被澱粉酶分解為糖，使細胞內糖份濃度增加，故細胞外水分子進入，因而脹大。這可能是果肉硬度逐漸降低的原因之一（圖六）。
2. 一般植物細胞因具有細胞壁，故在低張時只略為膨脹。但香蕉果肉細胞在低張情況下，7級細胞的體積約為1級之三倍大（圖十九、十四）。故推測香蕉在成熟時，細胞壁的成份可能產生變化，使細胞壁變得極有彈性。

(四)香蕉果肉細胞pH值實驗之分析

1. 香蕉果肉的pH值從1級時pH 7降至7級時pH 4.7（圖三十），由圖二十八中可看出，1級香蕉含有大量碳酸酐酶，由此推測，可能因碳酸酐酶作用，促使氫離子釋放，使得香蕉酸度上升。
2. 在測香蕉果肉pH值時，發現3級的在離心後仍有一團膠狀物質無法沉澱，難取得上清液。做電泳樣品液時，3級香蕉也有此情形。由此推測，3級香蕉果肉細胞內除有 α 澱粉酶外，可能也有 β 澱粉酶參與作用，將澱粉粒分解為麥芽糖，所以3級香蕉離心後才會有透明而黏黏的物質出現。

(五)芭蕉實驗之分析

1. 芭蕉後熟時，細胞漸脹大，其內澱粉粒數目漸減少（圖三十二～三十五）。當其達7級時，細胞內仍約有10顆澱粉粒（圖三十五），不像7級香蕉果肉細胞澱粉粒幾乎完全被分解。7級芭蕉果肉細胞不會脹到像7級香蕉果肉細胞那麼大（圖三十五～十九），可能因芭蕉果肉細胞內澱粉未分解完全，故糖度較7級香蕉低。芭蕉吃起來較不甜但較Q且有彈性，可能因此因素所致。
2. 香蕉由2級至7級後熟約需八天，而芭蕉只需2天，可能因芭蕉後熟時間短，澱粉酶作用不完全，使7級芭蕉果肉細胞內尚留有一些未被分解完全的澱粉粒。

七、結論

- (一)自然情況下，果實內部產生的乙烯擔任誘發自然後熟的任務。
- (二)由圖一知，香蕉後熟過程中產生微量乙烯，越成熟時所產生之乙烯濃度漸增，呼吸速率也上升，開始一連串後熟反應，可印證高中生物第一冊p.147「乙烯為果實成熟的產物，…在生理功能上，乙烯可促進果實的成熟」。
- (三)香蕉後熟時果皮轉黃（圖五、八～十三），果肉軟化，葉綠素含量降低，糖份增加（圖六、七、二十五）。使果實由生硬轉為香甜可口的食用狀態。
- (四)由本實驗可看出，乙烯的產生可能促進香蕉葉綠素加速分解，而減低其含量（圖七）。故可推測乙烯是一種促進植物老化的荷爾蒙。
- (五)由圖二十～二十四可看出，澱粉粒表面由光滑變粗糙，至香蕉完全轉黃後（7級），澱粉粒幾乎完全消失，僅剩其膜。乙烯產生後，後熟開始，可能促進澱粉酶將澱粉分解為糖（圖十五）。故果肉內澱粉粒數目才會越來越少。
- (六)因澱粉粒由光滑變粗糙（圖二十～二十四），符合Zhuotao Sun和Cynthia A Heuson提出的結果（附圖）：澱粉酶鑽入澱粉粒中將澱粉分解為糖，使澱粉粒表面佈滿小洞而變得不完整。因此香蕉在後熟後期變得香甜可口，此作用應扮演一重要角色。
- (七)香蕉漸漸轉黃時（級數漸增），其細胞變大，澱粉粒數目變少，應是由於澱粉粒被分解為糖，使細胞內糖度增加，細胞外水份滲透進來使細胞脹大。這可能也是使香蕉在後熟時期變得香鬆柔軟的原因之一。
- (八)澱粉粒在香蕉後熟時（2.5～4級）隨香蕉細胞脹大而變大。其原因應與香蕉細胞脹大之原因相同。
- (九)香蕉綠色時（1～2級）因硬度大（圖六）故不易做徒手切片，細胞內澱粉粒多，切片時細胞易破，澱粉粒易滾出（圖十四、十五）。轉黃時（3級以後）則容易切片，細胞完整，澱粉粒很少，甚至沒有滾到細胞外。

- (十一)動物細胞在低張溶液中體積膨大，而植物細胞有細胞壁，在低張下只略為膨脹。7級細胞可脹至1級時的3倍大，故推測香蕉成熟時，細胞壁成份可能發生變化，使細胞壁變得鬆軟有彈性，亦即可塑性增加。
- (十二)香蕉後熟時， CO_2 升高緊跟在 C_2H_4 上升後，故推測乙烯可能促進糖解作用，使呼吸速率上升，此結果與高景輝之見解相同。
- (十三)圖十四、三十可看出1、2級時果肉細胞較小，且被多而小的澱粉粒填滿，2.5和5級的果肉細胞較大（圖十五、十八）細胞中澱粉粒少。此與圖二十六、二十七相符。1、2級時澱粉酶無活性，故細胞內澱粉粒多。2.5級起，澱粉酶開始有活性，使澱粉粒數目變少。5級時澱粉酶活性最高，所以澱粉粒較少且小。
- (十四)不同等級的香蕉所含總蛋白質量及種類不同（圖二十八），級數越高，所含水溶性蛋白質種類越多（圖二十九）。
- (十五)香蕉果肉pH值漸下降（圖三十一）可能因碳酸酐酶作用所致。高中生物第二冊p.137提到： $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{酵素}} \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ 此方程式中的酵素正是碳酸酐酶。因其會促成氫離子的釋放，而導致pH值下降，這與我們的想法相符。
- (十六)離心時3級香蕉不易離心，常餘大量膠狀物質。故推測3級時 β 澱粉酶將部份澱粉分解為麥芽糖而導致離心上的困難。
- (十七)芭蕉後熟從2級到7級約需2天（香蕉約需11天），故我們認為在芭蕉後熟期間中，酵素作用時間應該比較短。
- (十八)芭蕉後熟時細胞變大，澱粉粒減少，但並不像香蕉那般劇烈。芭蕉果肉細胞脹得較香蕉果肉細胞小，澱粉粒也較多，應是因酵素作用時間短或澱粉酶量少，使芭蕉澱粉粒殘留較多，以致於糖份較少。芭蕉較香蕉不甜且Q，可能是此因素所致。
- (十九)芭蕉徒手切片時，情形與香蕉類似。

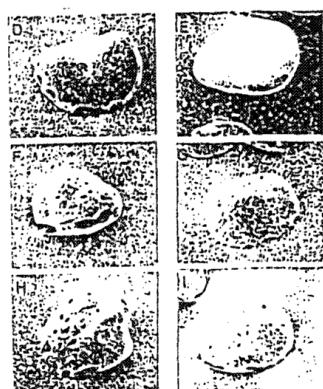
八、參考資料

- (一)王孟亮 乙烯—結構最簡單的植物激素 科學月刊8卷8期p.58~61。
- (二)高景輝 植物荷爾蒙 p.281~326 中華民國76年11月二版。
- (三)徐堯輝、廖芳明 蛋白質電泳、電泳分離技術—研討會論文集 1987。
- (四)Sun, Z & Henson, C.A (1990) Degradation of Native Starck Granules by Barley α -Glucosidases. Plant Physiol. 94 : 320~327 (承指導老師說明)。

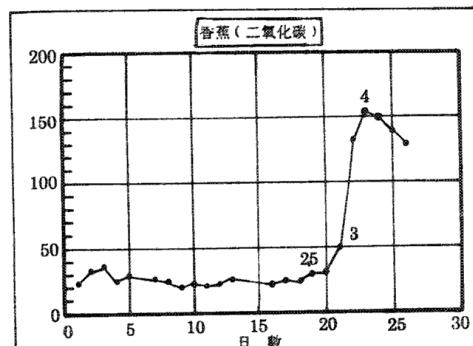
(五)Inskeep, W.P & Bloom, P.R (1985) Extinction Coefficients of Chlorophyll a & b in N, N-Dimethyl Hormamide & 80% Acetone. Plant Physiol 77 : 483~485.

九、感謝

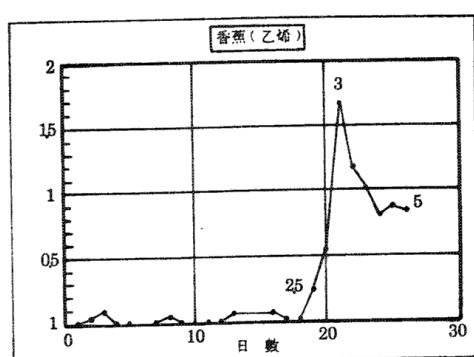
- (一)感謝台大園藝系王自存教授提供實驗室、設備及蔡嘉祐學長的協助。
- (二)感謝中研院植物所周德源教授提供電泳顯微照相等設備。
- (三)感謝張仁昌老師電腦方面的協助。
- (四)特別感謝林英子老師電泳技術、理論、結果分析指導，英文文獻解說，顯微照相支援。及張金珠老師GC原理指導，及精神鼓勵與支持。



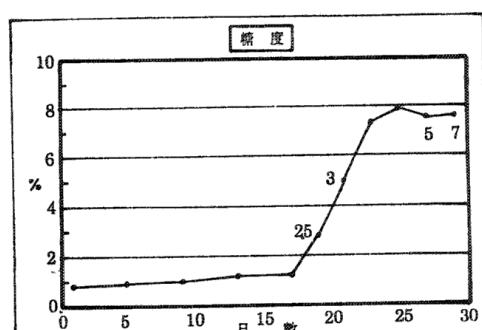
附圖：澱粉粒被澱粉酶作用後的電子顯微鏡掃描圖（ $2500\times$ ）
(Zhuotao Sun & Cynthia A Heuson)



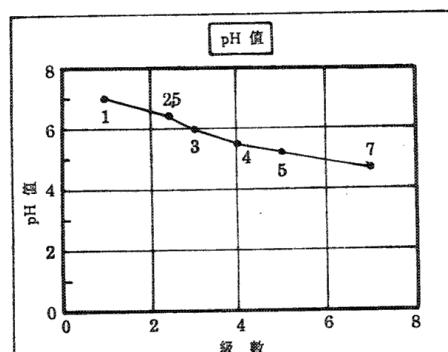
圖三：香蕉後熟時期二氣化碳的釋放量



圖一：香蕉後熟時期乙烯的釋放量



圖二十五：香蕉後熟時期的糖度曲線圖



圖三十一：香蕉後熟時期的果肉pH值變化曲線圖，(pH7 → pH4.7)



圖九：第十九天（2.5級）
香蕉外形圖



圖十二：第二十七天（5級）
香蕉外形圖



圖十三：滿二十九天（7級）
香蕉外形圖



圖十九之一：7級香蕉果肉細胞顯
微切片圖（350倍）
澱粉粒幾乎都被分解
，剩下殘留的膜。



圖十四之一：1級香
蕉果肉細胞顯微
切片圖（350倍）細
胞易
破裂，有許多澱粉粒散
布在細胞周圍。



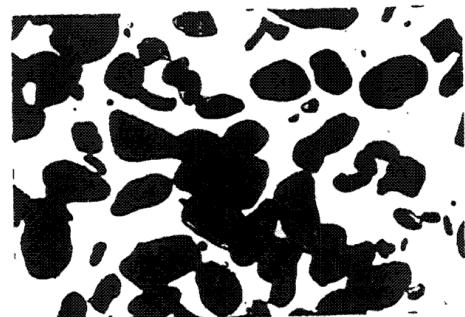
圖十五之一：2.5級香
蕉果肉細胞顯
微切片圖（350倍）細
胞及澱粉粒均較1級為
大，細胞周圍散落少
數澱粉粒。



圖十七之一：4級香
蕉果肉細胞顯微
切片圖（350倍）細胞明
顯較前幾級大，細胞內
出現一些黃色物質，是
澱粉粒被分解後剩下的
膜。



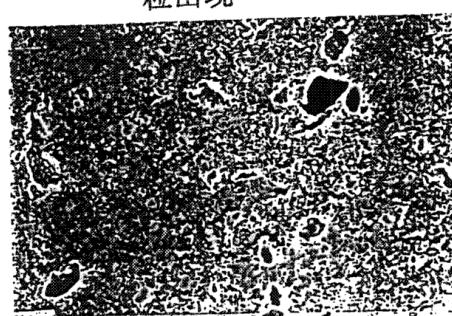
圖十八之一：5級香蕉果肉細胞顯微
切片圖(350倍)細胞內
澱粉粒剩下沒有幾個。



圖二十：1級香蕉澱粉粒外形圖
(350倍)澱粉粒大而飽
滿。



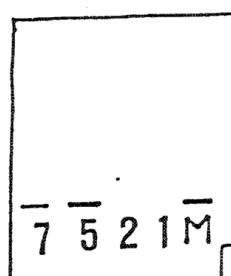
圖二十一：2.5級香蕉澱粉粒外形圖
(350倍)有少數破碎澱粉
粒出現。



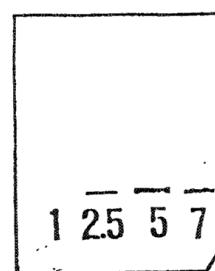
圖二十三：5級香蕉澱粉粒外形圖
(350倍)幾乎沒有完整的
澱粉粒。



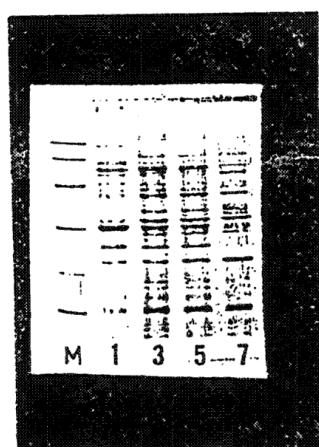
圖二十四：7級香蕉澱粉粒外形圖
(350倍)僅餘極小而少
且不完整的澱粉粒。



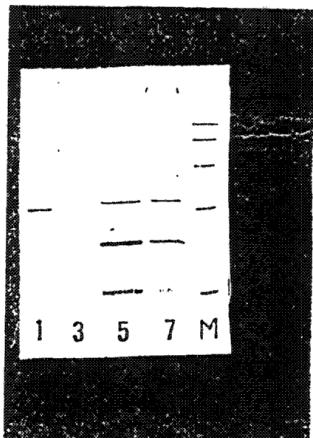
圖二十六：香蕉果肉細胞內的澱
粉酶分析圖



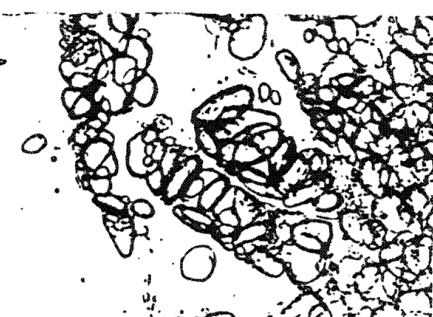
圖二十七：香蕉果肉細胞內的澱
粉酶分析圖



圖二十八：香蕉果肉細胞內總蛋
白質含量及種類分析
圖



圖二十九：香蕉果肉細胞內水溶性蛋白質分析圖



圖三十二：2級芭蕉果肉細胞顯微切片圖(350倍)細胞內澱粉粒很多，一個細胞內約有26顆澱粉粒，細胞外也有一些滾出的澱粉粒。



圖三十三：5級芭蕉果肉細胞顯微切片圖(350倍)果肉細胞較2級的大，澱粉粒略為減少，一個細胞內約有20顆澱粉粒，周圍已沒有散落的澱粉粒，細胞內出現一些黃色的膜



圖三十五：7級芭蕉果肉細胞顯微切片圖(350倍)果肉細胞最大，細胞內澱粉粒明顯減少，1個細胞內約有10顆澱粉粒，且都不完整。

評 語

本著作為研究香蕉成熟過程之化學、物理及生物化學之變化，包括乙烯產生的增加、果皮葉綠素含量降低、糖分增加、澱粉粒漸消失、澱粉酶使用電泳法證明其含量增加。本研究所使用之方法正確，成果豐碩。本研究成果將可供控制香蕉成熟之研究，作重要參考資料。