

# 葡萄果實蘋果酸的合成與調節

劉惠菱

## 摘 要

果實中有機酸含量是決定果實品質的重要因素之一，雖然在葡萄中有機酸以酒石酸為主，但在味覺上同量的蘋果酸較酒石酸具有酸感，因此蘋果酸含量的多寡為影響葡萄品質之重要有機酸。蘋果酸主要生合成路徑為：1.細胞質中糖解路徑(glycolysis)中磷酸烯醇丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)與蘋果酸脫氫酶(malate dehydrogenase, MDH)調節草酸與蘋果酸含量，使得糖解作用可順利進行；2.葉綠體中光合作用中蘋果酸相關酵素；3.粒線體中檸檬酸循環中蘋果酸相關酵素；4.乙醛酸循環中蘋果酸相關酵素。在葡萄果實中影響蘋果酸含量主要因素為發育階段的不同，在果實著果後轉色期前蘋果酸大量生合成，並於果實成熟期時減少。並且在此過程中受到溫度的影響，於葡萄果實成熟時溫度越高，果實內蘋果酸含量越低；除此之外果實上方葉片數的數量也是影響蘋果酸含量的重要因子之一。

## 前 言

果實中有機酸是決定果實風味及品質的重要因素之一。雖然葡萄果實中有機酸以酒石酸為主，但在味覺上同量的蘋果酸較酒石酸具有酸感，因此蘋果酸含量的多寡為影響葡萄品質的重要因素之一。除此之外蘋果酸含量也會影響釀酒品質，廣保正等人(1981)以不同日期採收之 Cabernet Franc 品種釀製酒液，並探討各種有機酸對酒液品質的影響，其中以 10 月 15 日採收之果實蘋果酸含量較低，因此釀造出之酒液具有適當的澀味及品種香氣，而蘋果酸較高的 9 月 26 日及 10 月 7 日果實品種香氣較不足。因此蘋果酸不論在鮮食葡萄或釀酒葡萄皆具有影響品質之重要性。

## 內 容

### 一、蘋果酸合成與調控路徑：

爲了瞭解蘋果酸在葡萄果實中的合成與代謝相關酵素，由 Paraskevi 等人(2000)以 4 年生種植於溫室中的 cabernet sauvignon 與 gora chirine 作爲試驗材料，磷酸烯醇丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)活性的變化中可以得知，gora chirine 品種 PEPC 活性由花後 4 周的 650 nmol min<sup>-1</sup> Gfw<sup>-1</sup> 隨著時間的增加而降解，一直到花後 10 周才穩定，並且一直到果實成熟時 PEPC 活性維持穩定；而 cabernet sauvignon 品種 PEPC 活性在果實發育期間活性變化不大。並以 PEPC 西方墨點分析時，PEPC 的 polyclonal antibodies 在 cabernet sauvignon 品種花後第 10 周有最大值，gora chirine 品種則是在花後第五周有最大值，並且以 gora chirine 品種 PEPC 含量較高。此外由 PEPC 的 IC<sub>50</sub> 可以得知，隨著花後時間增加 PEPC 含量降低，蘋果酸含量也從原本花後 4 周的 1.3~1.9 mM，到了硬核期時只剩下 0.65 mM，而接近成熟期時開此降解，含量只有 0.2~0.3 mM。因此 PEPC 酵素活性爲影響葡萄蘋果酸含量變化之因子。

除了 PEPC 活性會影響蘋果酸含量以外，蘋果酸脫氫酶(malate dehydrogenase, MDH)也是另外一個與蘋果酸合成及代謝相關之酵素，由 Claire 等人(1995)調查葡萄果實發育期間蘋果酸含量與 MDH 活性相互關係中，可以得知葡萄果實中蘋果酸含量在硬核期前達到最高，但之後隨著 MDH 活性增加，蘋果酸含量開始下降。

此外 NADPH 與 NADP 的比例也會影響蘋果酸含量的變化，由 Possner 等人(1983)試驗中可以得知蘋果酸降解酶活性在 NADPH 與 NADP 比例爲 4:1 時有 50% 活性，隨著比例增加而有降低的表現，因此當細胞中 NADPH 濃度高時蘋果酸分解速度較快。

### 二、蘋果酸分布：

藉由 Franco 等人(2000)研究的解剖圖中可以得知葡萄果實中蘋果酸相關酵素所在位置，花後 28 天的幼果期 PEPC 含量主要在維管束、果皮、發育中的種子，但到了花後 80 天時，PEPC 分布在維管束組織及果皮外層。並且 NADP-ME 的分布與 PEPC 相似。

這樣的結果更進一步由葡萄果肉與果皮蘋果酸含量的變化，可以得知在果實硬核期前蘋果酸含量在果肉較高，並於成熟時下降，而在果皮結果則相反，成熟時有增加的趨勢，這與蘋果酸相關酵素分布解剖圖結果相同。

### 三、影響蘋果酸含量變化的因子：

葡萄果實著果後果實內植物生長激素會隨著果實發育而有不同的變化，同樣的果實中所含之酒石酸、單寧、Methoxypyrazine、蘋果酸等也會有不同的變化，一般而言蘋果酸含量在果實發育第 2 階段，也就是硬核階段時開始升高，並於成熟前降解。

由 Wada 等人(2008)以 2 年生種植於溫室中，5 L 大小盆子中 Chardonnay 葡萄為試驗材料，並經過精準控制生長條件，調查果實不同發育階段表皮與組織中成分變化所作之研究得知，蘋果酸含量在發育階段 2 為最高值，並於果實開始成熟的發育階段 3 含量降低()。在 Cabernet Sauvignon 品種葡萄具有相同的結果，硬核期前蘋果酸含量較硬核期後高出約 2 倍。

並藉由 PCR 技術調查果實不同發育時期與蘋果酸含量相關酵素之間的關係，可以得知葡萄開花授粉後光合作用及呼吸作用相關酵素基因表現隨著時間增加而降解，並且與有機酸合成相關酵素 PEPC、NADP-ME 也是隨著果實發育時間增加而降解，但在其他胺基酸相關的酵素基因卻是隨著時間增加而增加，因此主要與蘋果酸合成相關之酵素為 PEPC、NADP-ME。

除了發育階段會影響蘋果酸含量之外，由 Hans 等人(1976)調查葡萄果實在 2 種日夜溫下栽培，果實發育階段與蘋果酸含量關係中得知，日夜溫為 20/15°C 蘋果酸含量較高，這是由於 PEP-carboxylase 活性在此溫度下較低所造成，因此溫度也是一個影響蘋果酸含量的重要因子。並且溫度除了影響 PEP-carboxylase 活性之外，對 MDH 活性也是有影響，由結果可以得知不論是在細胞質或是粒線體中 MDH 活性隨著溫度升高而增加，結果顯示葡萄細胞中蘋果酸含量在溫度較高的生長環境下較快代謝，這也是為什麼夏季的葡萄比冬季的葡萄吃起來感覺較不酸的原因。

此外果穗上方葉片數也會影響蘋果酸含量，松井弘之等人(1979)以 5 年葡萄為材料，於第一期果作試驗調查，在果實授粉後發育至第一期果時以第一果穗進行疏果，每穗留 50 粒果實，等待果實生長至第三期果實分別於果穗上方保留 0、2、

4、6、8、12、16片葉片，由結果可知果穗上方葉片數會影響果實成熟後期蘋果酸降減，當果穗上方葉片數越少將延遲蘋果酸降解。

## 結 語

葡萄蘋果酸合成和代謝調節與磷酸烯醇丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)與蘋果酸脫氫酶(malate dehydrogenase, MDH)活性相關。並且影響葡萄蘋果酸含量的主要因子為：發育階段不同、溫度影響、果穗上方葉片數。

## 參考文獻

1. 何妙齡 1985 臺灣夏季與冬季葡萄果實發育期間有機酸與糖分含量變化之比較 菸試彙報 22: 57-69。
2. 松井弘之、湯田英二、中川昌一 1979 ブドウデラウェア果実の成熟生理に関する研究(第1報) J. Japan. Soc. Hort. Sci. 48(1): 9-18。
3. 廣保正、石井弘、真行寺孝、大井一郎、中堂進、湯目英郎 1981 ブドウの收穫時期とワイシ品質について 千葉大園學報 29: 9-15。
4. Claire T. S., G. R. Charls, J. P. Robin, and F. Claude. 1995. Grape (*Vitis vinifera* L.) malate dehydrogenase. II. Characterization of the major mitochondrial and cytosolic isoforms and their role in ripening. Am. J. Enol. Vitic. 46(1): 29-36.
5. Crystal, S., G. D. Laurent, R. C. Grant, M. F. Christopher, and L. S. Kathleen. 2009. Regulation of malate metabolism in grape berry and other developing fruits. Phytochemistry 70: 1329-1344.
6. Franco, F., P. W. Robert, T. László, Z. H. Chen, P. Primo, and C. L. Richard. 2000. An immunohistochemical study of the compartmentation of metabolism during the development of grape (*Vitis vinifera* L.) berries. Journal of Experimental Botany 51(345): 675-683.
7. Hans, P., J. S. Hawker, and C. R. Hale. 1976. Temperature and enzymic control of malate metabolism in berry of *Vitis Vinifera* A. Phytochemistry 15: 1877-1880.

8. Iland, P. G. and B. G. Coombe. 1988. Malate, tartrate, potassium, and sodium in flesh and skin of Shiraz grapes during ripening: concentration and compartmentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 39(1): 71-76.
9. Paraskevi, D., L. Svanella, P. Raymond, A. J. P. Gaudillère, and A. Moing. 2000. Phosphoenolpyruvate carboxylase during grape berry development: protein level, enzyme activity and regulation. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 221-229.
10. Possner, D., H. P. Ruffner, and D. M. Rast. 1983. Regulation of malate acid metabolism in berries of *Vitis Vinifera*. *Acta Hort.* 139: 117-122.
11. Wada, H., K. A. Shackel, and M. A. Matthews. 2008. Fruit ripening in *Vitis vinifera*: apoplastic solute accumulation accounts for pre-veraison turgor loss in berries. *Planta* 227:1351-1361.