

外源乙烯对 CA 贮藏桃果实 MDA 含量、PPO 和 LOX 活性变化的影响

胡花丽¹, 梁丽松², 王贵禧^{2*}, 李艳菊³

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 中国林业科学研究院 林业研究所 国家林业局林木培育实验室, 北京 100091; 3. 北京理工大学 生命科学与技术学院, 北京 100081)

摘要:以‘八月脆’桃果实为材料,研究了常温条件下,不同浓度外源乙烯($10\sim 20\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $50\sim 80\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$)处理对气调贮藏($9\%\sim 11\%\ \text{CO}_2+9\%\sim 11\%\ \text{O}_2$)期间以及在 20°C 回温 3 d 后桃果实 MDA(丙二醛)含量、PPO(多酚氧化酶)和 LOX(脂氧合酶)活性的影响。结果表明:常温贮藏条件下,桃果实 MDA 含量随着果实的成熟而升高,PPO 和 LOX 活性在第 4 d 出现高峰。外源乙烯提高了气调贮藏果实 MDA 含量,贮藏 60 d 时,高浓度外源乙烯处理果实 MDA 含量明显升高。回温后,冷藏对照果实 MDA 含量随着贮藏时间的延长而增加,且在贮藏 60 d 时,MDA 含量高于常温贮藏果实的 MDA 含量。外源乙烯对 LOX 的作用与其对 MDA 的作用一致。高浓度的外源乙烯可抑制贮藏前期桃果实 PPO 活性,低浓度外源乙烯则降低了贮藏后期桃果实 PPO 活性,但回温后,低浓度外源乙烯处理果实 PPO 活性明显升高。综合考虑不同处理对 CA 贮藏桃果实 MDA 含量、PPO、LOX 活性的作用特点,认为 $50\sim 80\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源乙烯处理对减轻桃果实的低温冷害、抑制果实褐变有一定的作用。

关键词:桃果实;外源乙烯;CA 贮藏;MDA;PPO;LOX

中图分类号:S718.43

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2007)03-0038-05

万方数据

Effect of Exogenous Ethylene on MDA Content, PPO and LOX Activities of Peach Fruit during CA Storage

HU Hua-li¹, LIANG Li-song², WANG Gui-xi², LI Yan-ju³

(1. College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Research Institute of Forestry, China Academy of Forestry, Key Laboratory of Forestry Silviculture of State Forestry Administration, Beijing 100091, China;

3. College of Life Science, Beijing Institute of Science and Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: Influence of ambient temperature, exogenous ethylene of different concentrations ($10\sim 20\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, $50\sim 80\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$) on MDA content, PPO and LOX activities of ‘Bayuecui’ peach fruit (*Prunus persica*) during CA storage ($9\%\sim 11\%\ \text{CO}_2+9\%\sim 11\%\ \text{O}_2$) and then 3 days shelf-life at 20°C was studied. The results showed that the content of peach fruit increased with the days of storage at ambient temperature, the peaks of PPO and LOX activities were at 4 days of storage. The MDA content of peach fruit during CA storage increased when treated with exogenous ethylene. A higher MDA content appeared at the 60 days of storage when treated with $50\sim 80\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ exogenous ethylene. The MDA content of peach fruit in cold storage increased gradually with the time of storage, and its MDA content at the 60 days of storage was higher than that at the ambient temperature. The effects of exogenous ethylene on LOX and MDA were similar. The treatment of exogenous ethylene with $50\sim 80\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ concentration could suppress the PPO activity in the early storage period, while exogenous ethylene with $10\sim 20\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ concentration could reduce the PPO activity in the late period, however, the PPO activity with $10\sim 20\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ concentration ap-

收稿日期:2006-06-14 修回日期:2006-12-25

基金项目:北京市自然科学基金项目(6062027);北京市农业科技项目(20020101);“十一五”国家科技支持计划重点项目(2006BAD22B04)

作者简介:胡花丽(1980-),女,陕西渭南人,硕士研究生,主要从事经济林产品利用研究。

* 通讯作者:王贵禧(1962-),男,研究员,博士生导师。

peared rise obviously after peach fruit was ripen at 20℃ for 3 days. Considering the comprehensive effects of different ethylene concentrations on MDA content, PPO and LOX activities of peach fruit during CA storage and shelf-life, treatment with 50~80 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ exogenous ethylene was more effective in alleviating the cooling injury and controlling the browning of peach fruit in low temperature storage.

Key words: peach fruit; exogenous ethylene; controlled atmosphere storage; shelf-life; MDA; PPO; LOX

鲜桃的生产具有明显的季节性,多数品种的成熟期在7~9月份,正值高温季节,采后常温条件下极易软化腐烂变质,不耐贮藏。低温贮藏可有效延长桃果实的市场供应期,解决生产上时间和地域限制问题。但是低温贮藏桃果实易发生冷害,冷害的桃果实风味和质地劣变,贮藏后期失去商品价值或食用价值^[1]。因此,国内外在减缓桃果实冷害方面进行了大量的研究,如间歇升温、延期贮藏、气调贮藏等^[2~4],但这些大多是研究性报道,生产上难以推广,桃果实的产业化贮藏保鲜技术问题仍然没有解决。桃果实因其本身的特点,在其贮藏过程中应当有控制地维持其后熟能力^[5]。乙烯具有明显的催熟作用,这在生产上已广泛应用,乙烯能够促进果实成熟,引起膜透性的加大,促进呼吸作用,加速有机物质的转化^[6]。(丙二醛)MDA、(脂氧合酶)LOX均与果实成熟衰老过程中细胞膜结构的变化有关。

植物在逆境条件下或成熟过程中,会发生膜的氧化作用。MDA是膜脂过氧化产物之一,其浓度表示脂质过氧化强度和膜系统伤害程度,故为逆境生理指标^[7]。植物组织膜脂过氧化的启动需要LOX,LOX及其过氧化产物直接参与组织的衰老进程^[8]。此外,乙烯的许多生理作用都伴随着有关酶活性的增加,如乙烯促进香蕉果实成熟时,果肉的多酚氧化酶活性比成熟前期高6~7倍^[9]。多酚氧化酶通常被认为是引起果蔬产品采后褐变的重要酶^[10]。Palou等对外源乙烯在冷藏桃果实中的作用进行了研究^[11],但关于外源乙烯对CA贮藏桃果实及其回温后果实MDA含量、PPO、LOX活性的作用特点未见报道。本研究为进一步研究外源乙烯在CA贮藏桃果实生理变化中的作用机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料‘八月脆’桃(*Amygdalus persica*)果实于2005年9月采自北京平谷区,果实采后当天运至中国林业科学研究院林业研究所林果保鲜实验室,选用成熟度一致、无病虫害的八成熟果实为材料。

1.2 方法

1.2.1 处理方法 将部分桃果实装入塑料带内,放置在20~25℃的室温环境下,研究正常后熟过程中各种生理指标的变化,每2d取样测定1次;另一部分桃经0~1℃预冷3d后装入气调试验箱,进行4种处理:(1)CA1:9%~11%CO₂+9%~11%O₂,控制外源乙烯浓度10~20 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$;(2)CA2:9%~11%CO₂+9%~11%O₂,控制外源乙烯浓度为50~80 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$;(3)CA3:9%~11%CO₂+9%~11%O₂;(4)冷藏对照(装入打孔塑料袋内)。贮藏温度0~1℃,每15d取样1次,一部分果实立即取样,另一部分果实在20℃回温3d后取样。样品用液氮速冻,-80℃保存。

1.2.2 测定方法 (1)丙二醛含量。参照李合生等^[12]的方法,略有改进。取10g去皮果肉,加0.5g PVPP于20mL 0.2mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH 6.4)中冰浴研磨,1300×g 4℃离心20min,取上清液测定MDA含量。

将1.0mL上清液加入3.0mL 0.5%的硫代巴比妥酸(TBA,用20%的三氯乙酸配成)溶液中,混匀后在沸水域中煮沸20min,迅速用自来水冷却并在10000×g下离心10min。取上清液分别在450、532、600nm波长下测定光密度值,并按下式计算MDA含量:

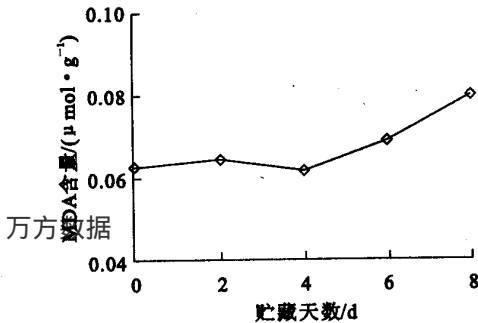
$$\text{MDA 含量}(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}) = [6.45(OD_{532} - OD_{600}) - 0.56OD_{450}] \times V \times (A/a) / W$$

式中:A为反应液总量(4mL);V为提取液总量;a为测定提取液量(1.0mL);W为材料重(g)。回温3d后的MDA变化量等于回温3d后的MDA含量与刚出库时MDA含量的差。

(2)PPO活性。参考汤章城^[13]的方法。将0.1mol·L⁻¹的邻苯二酚溶液在30℃保温,取该溶液3mL,迅速加入粗酶提取液0.2mL,反应温度为30℃,加酶液后5s开始扫描,记录20s内398nm处吸光值变化,酶活性以 $\Delta OD_{398} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 表示,其中每0.01个变化表示1个酶活性单位,重复3次。回温3d后PPO活性变化量为回温3d后PPO活性与刚出库时的PPO活性之差。

(3) LOX 活性。参照 Axelrod^[14]的方法,有改进。取果肉组织 10 g 于冰冻过的研钵内,加入 0.5 g PVP 和 20 mL 经 4℃ 预冷的 50 mmol · L⁻¹ 磷酸缓冲液 (pH7.0), 冰浴匀浆, 15 000 × g 4℃ 离心 15 min, 上清液即为 LOX 提取液。

磷酸缓冲液 30℃ 保温 30 min 后, 取 2.7 mL 磷酸缓冲液和 25 μL 反应底物 (0.1 mol · L⁻¹ 亚油酸钠) 于比色皿中; 取酶液 0.1 mL 加入反应混合液中, 立即开启秒表记录时间, 用紫外分光光度计于 234 nm 处在 15 s 后记录 1 min 内 OD 值变化, 以磷酸缓冲液为空白对照液。酶活性以 $\Delta OD_{234} \text{ min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ 表示, 其中每 0.001 个变化表示 1 个酶活性单位, 重复 3 次。回温 3 d 后 LOX 活性变化量为回温 3 d 后 LOX 活性与刚出库时 LOX 活性之差。



1.2.3 数据差异性分析 所有数据用 Spss 软件进行统计处理。采用 ANOVA 进行邓肯式多重差异分析。

2 结果与分析

2.1 常温贮藏条件下桃果实 MDA 含量、PPO 和 LOX 活性的变化

由图 1 可看出, 在常温条件下, 前 4 d MDA 含量变化较小, 4 d 后则快速上升, 第 8 d, 果实基本软烂, MDA 含量仍然保持在很高的水平。PPO 活性在贮藏 2 d 时降低, 随着果实的软化其活性升高, 并在 4 d 时活性达到峰值。LOX 活性变化类似于 PPO, 且 LOX 活性高于 PPO 活性。

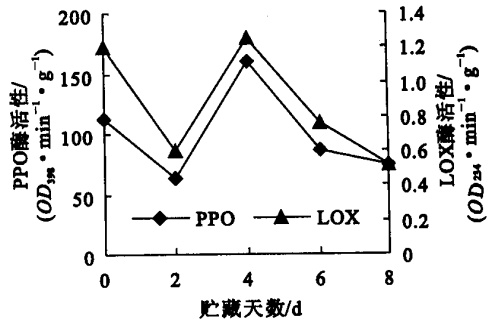


图 1 常温条件下桃果实 MDA 含量、PPO 和 LOX 活性的变化

Fig. 1 Changes of the content of MDA, activities of polyphenoloxidase and lipoxygenase of peach fruit at ambient temperature

2.2 外源乙烯处理对 CA 贮藏桃果实 MDA 含量的影响

研究表明 (图 2A), 各处理果实 MDA 含量随贮藏时间的延长均表现出不同程度的增加。贮藏的前 15 d, 各处理果实 MDA 含量差异不显著。贮藏过程中, CA3、CK 处理果实 MDA 含量变化相似, 二者差异不显著。贮藏 30 d 时, CA1 处理果实 MDA 含量显著高于其他处理, 而贮藏后期, CA1 处理果实 MDA 含量与 CA3、CK 处理之间差异不显著。CA2 处理果实在贮藏后期 MDA 含量急剧上升, 且在贮藏 60 d 时, CA2 处理果实 MDA 含量甚至高于常温贮藏果实的含量 (图 1)。

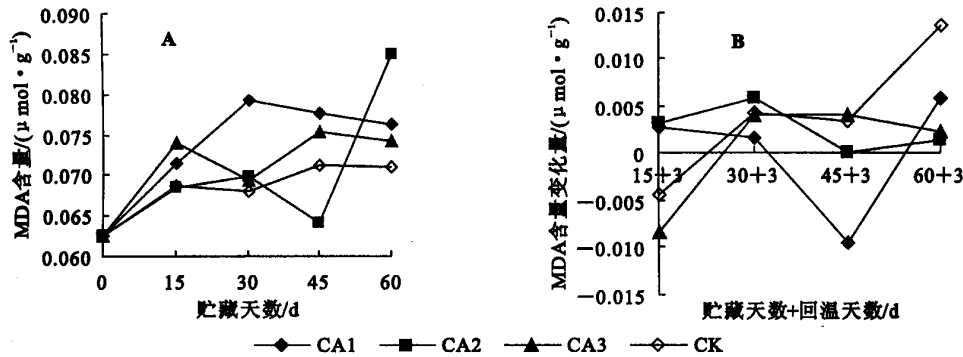
图 2B 是不同贮藏时期出库的果实在 20℃ 回温 3 d 后的 MDA 含量的变化情况。CA1 处理除 45 d 出库时 MDA 含量明显下降外, 其余时间基本保持稳定; CA2 处理桃果实的 MDA 含量在出库后变化基本稳定; CA3 处理果实贮藏 15 d 出库时 MDA 含量较低, 其余时间出库时略有增加; 对照桃果实出库

后 MDA 含量逐渐增大, 尤其是贮藏 60 d 时, 果实 MDA 含量剧烈升高, 且高于常温贮藏果实 MDA 含量。因为低温贮藏桃果实的冷害症状主要表现在出库后的回温过程中, 而非出库时立即表现出来^[15], 所以认为出库时 CA2 处理果实 MDA 含量的升高并非是果实受到冷害, 而是乙烯促进果实后熟的表现。对照果实在回温后其 MDA 含量出现急剧升高则是果实受到冷害的表现。

2.3 外源乙烯处理对 CA 贮藏桃果实 PPO 活性的影响

由图 1 和图 3A 可看出, 低温贮藏条件下, 桃果实 PPO 活性高于常温果实 PPO 活性。图 3A 表明, 在整个贮藏期间, CA3 处理果实的 PPO 活性较高, 贮藏 15 d 时, CA3 处理果实中 PPO 活性显著高于其他处理; 贮藏 30 d 时, 各处理果实 PPO 活性之间差异均不显著; 贮藏后期, CA3、CK 处理果实 PPO 活性显著高于 CA1 处理, 但与 CA2 处理之间未达到显著水平。说明适宜浓度的乙烯处理有利于降低

冷藏和气调贮藏桃果实的 PPO 活性。

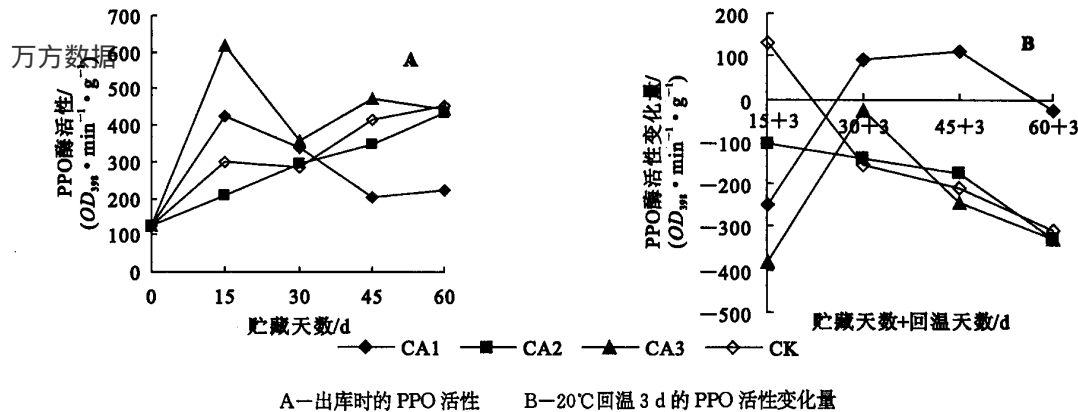


A—出库时的 MDA 含量 B—20℃回温 3d 的 MDA 含量变化量
图 2 外源乙烯处理对桃果实 MDA 含量的影响

Fig. 2 Changes in concentration of MDA of peach fruit under exogenous ethylene treatments

图 3B 是不同贮藏时期出库的果实在 20℃回温 3d 后的 PPO 活性变化情况。贮藏 15 d 时,冷藏对照 PPO 活性在出库后增加并显著高于其他各处理,处理的 PPO 活性在出库后下降而且之间差异不显著。贮藏中后期,除 CA1 处理回温果实 PPO 活性表现

出不同程度的波动,其他处理果实 PPO 活性均降低。CA1 处理虽然可降低刚出库时桃果实 PPO 活性(图 3A),但在贮藏中后期回温后其果实 PPO 活性增加量显著高于其他 3 个处理,且 3 个处理之间差异不显著。



A—出库时的 PPO 活性 B—20℃回温 3 d 的 PPO 活性变化量
图 3 外源乙烯处理对桃果实 PPO 活性的影响

Fig. 3 Changes in activity of polyphenoloxidase of peach fruit under exogenous ethylene treatments

2.4 外源乙烯处理对 CA 贮藏桃果实 LOX 活性的影响

由图 4A 可看出,在整个贮藏期间,CA1、CA2 处理果实 LOX 活性较高。在贮藏的前一个月,CA1 处理果实 LOX 活性显著高于其他处理,CA2、CA3 处理果实 LOX 活性之间差异不显著,但显著高于冷藏对照。在贮藏的后一个月,CA2 处理果实 LOX 活性升高,CA1、CA2 之间差异不显著,但均显著高于 CA3。可见外源乙烯的加入提高了果实 LOX 活性。说明外源乙烯通过提高刚出库果实 LOX 的活性,进而影响桃果实的后熟进程,与外源乙烯处理提高了果实 MDA 含量的结果一致(图 2A)。

不同贮藏时期出库的果实在 20℃回温 3 d 后的

LOX 活性变化表明(图 4B),CA3 处理果实 LOX 活性在 30 d 前呈下降趋势,CA2 处理果实 LOX 活性在贮藏后期呈负增加,其他时期各处理果实 LOX 活性表现出不同程度的增加。在贮藏前期出库后,各处理桃果实 LOX 活性均明显升高;而在贮藏后期出库后,各处理果实 LOX 活性增加量减少甚至降低,但在贮藏 45 ~ 60 d,冷藏对照果实 LOX 活性明显升高,与 CA1、CA3 处理之间差异不显著,但显著高于 CA2 处理,可能与贮藏后期果实膜脂过氧化作用加剧有关,此时冷藏对照果实 MDA 含量亦明显升高。可见,桃果实 LOX 活性的变化与 MDA 含量的变化存在相关性。

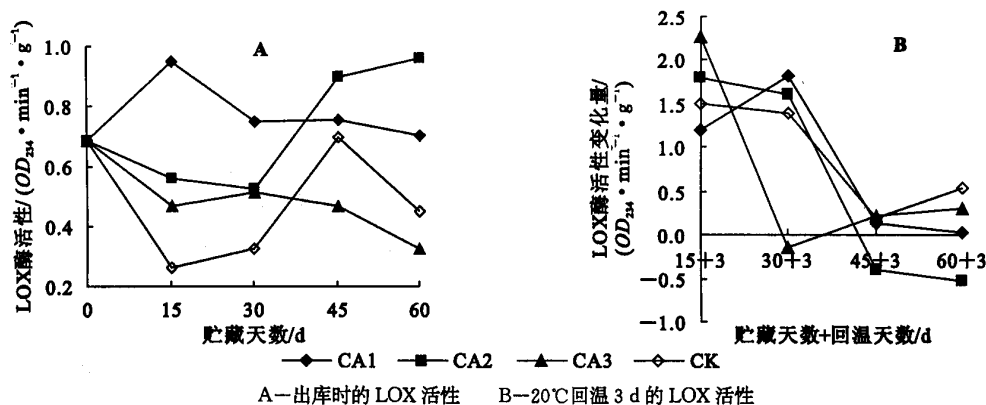


图 4 外源乙烯处理对桃果实 LOX 活性的影响

Fig. 4 Changes in activity of lipoxygenase of peach fruit under exogenous ethylene treatments

3 结论与讨论

桃果实在冷藏条件下的主要伤害是果肉糠化(木渣化)、褐变和丧失风味。桃果实的贮藏不同于仁果、浆果等其他果品,贮藏措施不能单纯抑制采后生理活动,而应当有控制地维持其生命活动和后熟能力^[5]。研究表明,外源乙烯参与了 CA 贮藏桃果实的生理代谢,进而影响桃果实 MDA 含量、PPO、LOX 活性。外源乙烯处理在一定程度上使低温贮藏桃果实的 MDA 含量、LOX 活性升高。许多研究表明,LOX 的代谢产物含有活性氧和氧自由基,对细胞膜有破坏作用,因而与植物的衰老有关^[16,17]。由此看来,外源乙烯可能是通过提高 LOX 活性而促进果实的后熟进程。但在贮藏后期的回温果实中,冷藏对照果实 MDA 含量急剧增加,且此时其果实 LOX 活性亦升高,可能是冷藏对照果实受到了冷害,其膜脂过氧化作用加剧,此时 CA3、CA1 处理果实 LOX 活性也显著高于 CA2 处理,但其 MDA 含量变化不明显。

果实的褐变易出现在采后阶段,从而影响了产品的商品质量和贮藏时间,果实受到冷害等逆境胁迫时,细胞的分室被打破,局域化分布的酶和底物发生反应,多酚物质在 PPO 的催化下氧化聚合,产生醌类物质,从而导致组织褐变^[18]。本研究中,CA2 处理对抑制贮藏前期桃果实 PPO 活性有一定作用。而 CA1 处理降低了贮藏后期桃果实 PPO 活性,但其回温果实 PPO 活性显著高于其他处理,其他 3 种处理对贮藏后期桃果实及其回温果实 PPO 活性的作用相同。因为在贮藏后期的回温果实中,CA1、CA3 和冷藏对照果实 LOX 活性较高,可导致细胞结构的破坏,加剧了酶促褐变反应的发生。由此看来,CA2 处理对抑制果实褐变有一定的作用。

参考文献:

[1] 王友升,王贵禧. 冷害桃果实品质劣变及其控制措施[J]. 林业科学研究,2003,16(4):465-472.

[2] Susan L, Carlos H C. Chilling injury in peach and nectarine [J]. Postharvest Biology and Technology, 2005, 37:195-208.

[3] Zhou H W, Lurie S, Ben A R, et al. Intermittent warming of peaches reduces chilling injury by enhancing ethylene and enzymes mediated by ethylene [J]. J. Hort. Sci. Biotech, 2001a, 76:620-628.

[4] Streif J, Retamales J, Cooper T. Preventing cold storage disorders in nectarines [J]. J. Hort. Sci., 1992, 67:619-626.

[5] 吕昌文,齐灵,修德仁,等. 桃波动温度贮藏及其机理研究[J]. 华北农学报,1994,9(1):75-80.

[6] 潘瑞炽,王小菁,李娘辉. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2001. 191-192.

[7] 李日大,赵风云,刘京贞. 中华猕猴桃果实成熟过程中膜脂过氧化变化研究[J]. 临沂师范学院学报,2001,23(4):65-67.

[8] 吴敏,陈昆松,张上隆,等. 桃果实采后脂氧合酶活性和膜脂脂肪酸组成的变化[J]. 园艺学报,2001,28(3):218-222.

[9] 陈润政,黄上志,宋松泉,等. 植物生理学[M]. 广州:中山大学出版社,2005. 178-179.

[10] Whitaker J R, Lee C Y. Recent advances in chemistry of Enzymatic Browning [A]. In. Lee C Y, Whitaker J R. Enzymatic browning and its prevention [C]. Washington D C, USA, ACS Symposium Series 600, 800 1995. 2-7.

[11] Palou L, Carlos H, David G, et al. Effect of continuous exposure to exogenous ethylene during cold storage on postharvest decay development and quality attributes of fruits and table grapes [J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 27:243-254.

[12] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理与技术 [M]. 北京:高等教育出版社,2000. 260-261.

[13] 汤章城. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京:科学出版社,1999. 317-318.

[14] Axelrod B, Cheesbrough T M, Leakso S. Lipoxygenase from soybeans [J]. Methods in Enzymology, 1980, 7:443-451.

[15] 王贵禧,王友升,梁丽松. 不同贮藏温度模式下大久保桃果实冷害及其品质劣变研究[J]. 林业科学研究,2005,18(2):114-119.

[16] Hildebrand D F. Lipoxygenase [J]. Plant Physiology, 1989, 76:249-253.

[17] 陈昆松,张上隆. 脂氧合酶与果实的成熟衰老 [J]. 园艺学报,1998,25(4):338-344.

[18] 田世平,徐勇,姜爱丽. 冬雪蜜桃在气调冷藏期间品质及相关酶活性的变化 [J]. 中国农业科学,2001,34(6):656-661.