

# 气调贮藏对猕猴桃抗坏血酸-谷胱甘肽代谢的影响

胡花丽, 王毓宁, 李鹏霞

(江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014)

**摘要:** 为探讨气调贮藏调控猕猴桃采后衰老的可能机理。以空气比例 (20.9%O<sub>2</sub>+0.04%CO<sub>2</sub>) 为对照, 研究了不同气体成分[CA<sub>1</sub> (2%O<sub>2</sub>+3%CO<sub>2</sub>), CA<sub>2</sub> (2%O<sub>2</sub>+6%CO<sub>2</sub>), CA<sub>3</sub> (5%O<sub>2</sub>+3%CO<sub>2</sub>), CA<sub>4</sub> (5%O<sub>2</sub>+6%CO<sub>2</sub>)]对采后‘红阳’猕猴桃可溶性固形物 (SSC)、可溶性总糖、淀粉、可滴定酸 (TA)、抗坏血酸 (AsA) 和谷胱甘肽 (GSH) 含量, 自由基 (DPPH、超氧阴离子) 清除能力及抗坏血酸-谷胱甘肽循环相关酶活性的影响。结果表明: 较普通冷藏和其它气体成分相比, CA<sub>1</sub> (2%O<sub>2</sub>+3%CO<sub>2</sub>) 处理可抑制果实 SSC、可溶性总糖含量的增加, 减缓淀粉、TA 含量的下降。另外, CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>3</sub> 处理可提高猕猴桃的谷胱甘肽和抗坏血酸含量, 减缓果实自由基清除能力和抗坏血酸-谷胱甘肽循环相关酶活性的下降, 其中 CA<sub>1</sub> 处理的效果最明显。因此, 2%O<sub>2</sub>+3%CO<sub>2</sub> 对‘红阳’猕猴桃衰老的抑制作用与其维持果实中较高的 AsA 和 GSH 有关。

**关键词:** 猕猴桃; 气调贮藏; 谷胱甘肽; 抗坏血酸; 抗坏血酸-谷胱甘肽循环关键酶

文章编号: 1673-9078(2015)7-152-159

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.025

## Effect of Controlled-atmosphere Storage on Ascorbate-glutathione

### Metabolism in Kiwifruit

HU Hua-li, WANG Yu-ning, LI Peng-xia

(Institute of Agricultural Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** Potential mechanisms underlying the effects of controlled-atmosphere (CA) storage on the senescence of the kiwifruit cultivar Hongyang were studied. The effect of different gas compositions [CA<sub>1</sub> (2% oxygen + 3% carbon dioxide), CA<sub>2</sub> (2% oxygen + 6% carbon dioxide), CA<sub>3</sub> (5% oxygen + 3% carbon dioxide), and CA<sub>4</sub> (5% oxygen + 6% carbon dioxide), with CK (20.9% oxygen + 0.04% carbon dioxide) as control] was investigated on soluble solid (SSC), total soluble sugar, starch, titratable acid (TA), ascorbic acid (AsA), and glutathione (GSH) content; scavenging capacities of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and superoxide anions; and the activities of enzymes involved in the ascorbate-glutathione cycle in postharvest kiwifruit. The results showed that treatment with CA<sub>1</sub> inhibited the increase in SSC and total soluble sugar content, as well as alleviated the decrease in starch and TA content compared with CK and the other CA treatments. In addition, treatment with CA<sub>1</sub>, CA<sub>2</sub> and CA<sub>3</sub> increased AsA and GSH content in kiwifruit as compared to that with CA<sub>4</sub> and CK. Moreover, treatment with CA<sub>1</sub>, CA<sub>2</sub> and CA<sub>3</sub> alleviated the decrease in superoxide anion- and DPPH-scavenging rates as well as the activities of enzymes involved in the ascorbate-glutathione cycle in kiwifruit, of which CA<sub>1</sub> treatment showed the strongest effect. Therefore, senescence inhibition in the kiwifruit cultivar Hongyang by CA<sub>1</sub> treatment was associated with higher AsA and GSH content.

**Key words:** kiwifruit; controlled atmosphere storage; glutathione; ascorbic acid; key enzymes involved in ascorbate-glutathione cycle

猕猴桃是呼吸跃变型果实, 因此温度、乙烯和呼吸强度是影响其贮藏寿命的关键因素。通常对温度的调控是果蔬采后保鲜的最基础手段。例如, Yang<sup>[1]</sup>等分析了直接降温处理和梯度降温对‘红阳’猕猴桃保鲜

收稿日期: 2014-09-28

基金项目: 国家自然科学基金 (31401555); “十二五”国家科技计划课题 (2011BAD24B03-5-1); 江苏省研究生培养创新工程项目 (KYZZ\_0180)

作者简介: 胡花丽 (1980-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 果蔬采后生理研究

通讯作者: 李鹏霞 (1976-), 女, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 果蔬采后生理研究

效果的影响。研究发现梯度降温 (15 °C→0 °C) 有助于减轻猕猴桃果实冷害的发生率。另外, 多项研究已证明适宜浓度的气调贮藏可降低采后果蔬的呼吸强度。目前, 气调贮藏也已被用于猕猴桃的采后保鲜, 尤其是对‘海沃德’和‘秦美’猕猴桃, 其适宜的气调贮藏参数分别为 2% O<sub>2</sub>+4.5%~5% CO<sub>2</sub><sup>[2]</sup> 和 3% O<sub>2</sub>+3%~5% CO<sub>2</sub><sup>[3]</sup>。然而, Latocha<sup>[4]</sup>等研究发现 1.5% O<sub>2</sub>+1.5% CO<sub>2</sub> 气调贮藏可延长硬质猕猴桃的贮藏期。可见, 不同品种猕猴桃气调贮藏的适宜气体参数存在一定差异。然而, ‘红阳’猕猴桃采后气调贮藏的参数仍不明确。近几年产区贮藏库盲目的对‘红阳’猕猴桃采用‘海沃德’

和‘秦美’的气调贮藏条件,致使气体伤害导致的腐烂变质问题常有发生。因此,探明‘红阳’猕猴桃采后适宜的气体参数具有重要的意义。

基于此,我们前期研究了不同比例气体成分对‘红阳’猕猴桃贮藏效果的影响,研究表明,较普通冷藏相比(贮藏期<60 d)相比,2% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub>的气调贮藏可使‘红阳’猕猴桃的贮藏期延长至120 d,此时气调贮藏果实的腐烂率仅为3%<sup>[5]</sup>。然而,该气调参数处理通过何种途径调节果实的衰老进程尚不明确。据报道,抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环是维持植物体抗氧化系统的重要调控机制,它在植物抵抗氧化胁迫、清除逆境活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)积累方面具有重要的作用<sup>[6]</sup>。有研究表明采后果实的快速衰老与其氧化还原状态的失衡有关<sup>[7]</sup>,这使得细胞内的活性氧不能被抗氧化系统及时清除而产生氧化胁迫,导致贮藏周期缩短。通常,对果蔬衰老过程中经典抗氧化酶系统的研究较多。除此之外,非酶类抗氧化剂,例如AsA在提高果实抗氧化能力方面具有重要的作用。而且猕猴桃是一种富含AsA的果实。因此,我们进一步分析了不同比例气调贮藏对猕猴桃果实AsA变化及其再生能力的调控,以期揭示气调贮藏调控猕猴桃采后衰老的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验中的‘红阳’猕猴桃采自四川成都猕猴桃基地,经0~2℃预冷24 h后,进行单果包装,然后空运至江苏省农业科学院农产品加工研究所果蔬保鲜与加工实验室。挑选无机械损伤,无病虫害,大小基本一致的果实为试验材料。果实装入21 L乐扣气调试验箱,每箱装果量为60个,每处理5箱,箱子通过三通阀并联连接,待果实中心温度约为1℃(Testo-T1温度计实时监控)时密封气调箱,进行不同气体成分的处理。气体成分由CPYJ-1700/9浮子流量计配置,待气体浓度达到设定值后将气体通入500 mL自来水中进行浸润,然后通入气调保鲜箱的进气口(直径1 cm),箱子的出气孔(直径1 cm)连接大气。混合气体的浓度由天津森林科技发展有限公司生产的分析仪实时监控。

### 1.2 试验气体成分配比

试验设四组气体成分处理:(1) CA<sub>1</sub>-2% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub>; (2) CA<sub>2</sub>-2% O<sub>2</sub>+6% CO<sub>2</sub>; (3) CA<sub>3</sub>-5% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub>; (4) CA<sub>4</sub>-5% O<sub>2</sub>+6% CO<sub>2</sub>。与气调相同流

速的空气作为对照(CK),贮藏温度为(2±0.5)℃、相对湿度为85%~95%。每30 d取样一次,每次每处理从5个箱子中随机取4个果实,共取20个果实用于相关指标的分析。

### 1.3 指标测定

#### 1.3.1 可溶性固形物、可溶性总糖、淀粉和可滴定酸的测定

可溶性固形物含量采用糖量计测定,每次测定10个果实,在果实最大横径处取样测定,去掉最大值和最小值后取平均值;可溶性总糖和淀粉的测定参考文献<sup>[8]</sup>。

可滴定酸的测定:称取样品5 g,充分研磨后用蒸馏水定容至100 mL。过滤,取滤液20 mL,用0.01 mol/L NaOH滴定(邻苯二甲酸氢钾标定NaOH溶液),记录NaOH用量,重复三次,计算可滴定酸含量(按苹果酸计)<sup>[8]</sup>。

#### 1.3.2 超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-·</sup>)和DPPH自由基清除能力测定

取约5 g样品,加入10 mL 95%乙醇匀浆,将匀浆液转入20 mL试管中,用95%乙醇定容,浸提5 h,离心后取上清液待用。O<sub>2</sub><sup>-·</sup>清除能力的测定参考唐巧玉<sup>[9]</sup>的方法。根据下公式计算O<sub>2</sub><sup>-·</sup>清除率(%)。

$$O_2^{\cdot-} \text{清除率}(\%) = \frac{A_2 - A_1}{A_2} \times 100$$

式中,A<sub>2</sub>为不加待测试样时的OD值,A<sub>1</sub>为加待测试样时的OD值。

DPPH自由基清除能力的测定参考唐巧玉<sup>[9]</sup>的方法,根据以下公式计算DPPH清除率(%)。

$$DPPH \text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

式中,A<sub>i</sub>为2.5 mL 6.5×10<sup>-5</sup> mol/L DPPH液+0.5 mL样品反应所得OD值;A<sub>j</sub>为2.5 mL DPPH液溶剂+0.5 mL样品反应所得OD值;A<sub>0</sub>为2.5 mL 6.5×10<sup>-5</sup> mol/L DPPH液+0.5 mL试样溶剂反应所得OD值。

#### 1.3.3 还原型抗坏血酸(AsA)和脱氢抗坏血酸(DHA)测定

称取3 g样品,加10 mL 6%三氯乙酸(TCA, m/V)冰浴研磨成浆,定容至6 mL,于4℃ 15600×g离心10 min,收集上清液。AsA和DHA的测定参考文献<sup>[6]</sup>的方法。反应体系含:0.8 mL 0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.4),0.2 mL上清液,1.0 mL 10% TCA,0.8 mL 42%磷酸,0.8 mL 2% 2,2-双吡啶,0.4 mL 3%三氯化铁。混匀后,42℃水浴1 h,冷却,于525 nm处测定吸光值。总抗坏血酸的测定与AsA不同之处在

于加入上清液后,先加0.2 mL 6 mmol/L 二硫苏糖醇,42 °C水浴 15 min,再加0.2 mL 0.4% N-乙基马来酰亚胺,混匀放置2 min,加入TCA后同AsA的测定。用抗坏血酸以同样的方法作标准曲线,DHA为总抗坏血酸和AsA的差值。

### 1.3.4 还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)测定

GSH和GSSG的测定参考Ma<sup>[10]</sup>的方法略有改动。称取5 g样品,加入15 mL 7% 5-磺基水杨酸冰浴匀浆,于4 °C 12000×g离心15 min,收集上清液待用。总谷胱甘肽测定的反应体系含有:2.0 mL 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.2),0.2 mL 上清液,0.2 mL 0.2 mmol/L NADPH,0.8 mL 1 mmol/L DTNB,0.2 mL 1 U 谷胱甘肽还原酶(GR),27 °C水浴40 min,于412 nm处测定吸光值。GSSG的测定与总GSH的不同之处在于:加入上清液后,加入1 mL 2-乙烯吡啶,摇匀放置2 min后,再加入DTNB,其他同总GSH。GSH作为标准物质按相同的方法制作标线。GSH为总谷胱甘肽与GSSG的差值。

### 1.3.5 抗坏血酸过氧化物酶(APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)测定

酶液提取参考文献<sup>[7]</sup>的方法略有修改。称取3 g样品,加入10 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.5,另含0.1 mmol/L EDTA,0.3% Triton X-100,4% PVP),匀浆,4 °C 13000×g离心20 min,收集上清液待用。

APX活性的测定参考Amako<sup>[18]</sup>的方法略有改动。反应体系含有:1.5 mL 50 mmol/L PBS(pH 7.0),1 mL 2 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,0.6 mL 0.5 mmol/L AsA,0.2 mL 上述酶提取液。于290 nm处测定3 min内吸光值变化。

DHAR活性的测定Shigeoka<sup>[19]</sup>的方法略有改动。反应体系含有:2 mL 50 mmol/L PBS(pH 7.0),1 mL 2.5 mmol/L GSH,0.5 mL 2 mmol/L DHA,0.2 mL 上述酶提取液,3.3 mL 蒸馏水。于265 nm处测定3 min内吸光值变化。

MDHAR活性的测定Ma<sup>[10]</sup>的方法略有改动。反应体系含有:2.0 mL 50 mmol/L PBS(pH 7.0),1.0 mL 0.1 mmol/L NADH,0.8 mL 0.5 mmol/L AsA,0.3 mL 0.3 U 抗坏血酸氧化酶(AO),0.2 mL 上述酶提取液,2.7 mL 蒸馏水。于265 nm处测定2 min内吸光值的变化。

GR活性的测定参考Ma等<sup>[10]</sup>的方法略有改动。反应体系含有:2.0 mL 50 mmol/L PBS(pH 7.0),1.0 mL 1 mmol/L GSSG,1.0 mL 0.3 mmol/L NADPH,0.4 mL 上述酶提取液。于340 nm处测定3 min内吸光值

的变化。

## 1.4 数据处理

数据为重复的平均值±标准误。所有数据用SPSS 20.0软件进行统计分析,采用ANOVA进行邓肯氏多重差异分析( $P<0.05$ )。

## 2 结果分析

### 2.1 不同气体成分对猕猴桃可溶性固形物、可溶性总糖、淀粉和可滴定酸含量的影响

由图1a可看出,整个贮藏过程中,所有果实的SSC含量均增加。值得注意的是,CA<sub>1</sub>和CA<sub>3</sub>处理(尤其是CA<sub>1</sub>)减缓了果实中SSC含量的增加。图2b表明,总体上,较贮藏初期相比,至各处理贮藏结束时,果实中的总糖含量均增加,与SSC的变化趋势类似的是,CA<sub>1</sub>和CA<sub>3</sub>处理亦延缓了果实中总糖含量的增加,其中CA<sub>1</sub>的作用更明显。与这二者不同,随着贮藏时间的延长,果实中的淀粉含量明显下降,其中CA<sub>1</sub>和CA<sub>3</sub>处理抑制了淀粉含量的下降,其中CA<sub>1</sub>的作用最明显。可见,在不同气体成分处理中,CA<sub>1</sub>处理可减缓果实中淀粉向糖的转化速率,说明该处理可延迟果实的后熟进程。由图1d可看出,随着贮藏时间的延长,所有果实中的可滴定酸含量均呈下降趋势,然而CA<sub>1</sub>处理维持了果实中相对高的可滴定酸含量。

### 2.2 不同气体成分对猕猴桃超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)和DPPH清除率的影响

图2a‘红阳’猕猴桃清除超氧阴离子的能力。由图可知,超氧阴离子清除能力随贮藏时间延长而下降。例如,贮藏第60 d后,所有果实的超氧阴离子清除能力均急剧下降,其中CA<sub>1</sub>处理果实清除超氧阴离子的能力高于CA<sub>2</sub>和CA<sub>4</sub>处理( $P<0.05$ ),但与CA<sub>3</sub>处理之间无差异。随着贮藏时间的进一步延长,CA<sub>1</sub>处理果实对超氧阴离子的清除率亦显著高于CA<sub>3</sub>( $P<0.05$ )。这说明CA<sub>1</sub>处理能更好的延缓采后猕猴桃超氧阴离子清除能力的下降。

图2b‘红阳’猕猴桃清除DPPH自由基的情况。整体看来,各处理果实清除DPPH的能力均随贮藏时间的延长呈先增加后下降趋势。图中显示,贮藏30 d时,CA<sub>1</sub>和CA<sub>3</sub>处理诱导了果实DPPH清除能力的增强,且显著高于CK、CA<sub>2</sub>和CA<sub>4</sub>处理( $P<0.05$ )。贮藏至60 d时,CA<sub>4</sub>处理果实的DPPH清除率显著低于CK

和 CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub>、CA<sub>3</sub> ( $P<0.05$ )。贮藏 90-120 d 期间, 较 CA<sub>3</sub> 处理相比, CA<sub>1</sub> 处理维持了果实中较高的 DPPH 清除率。

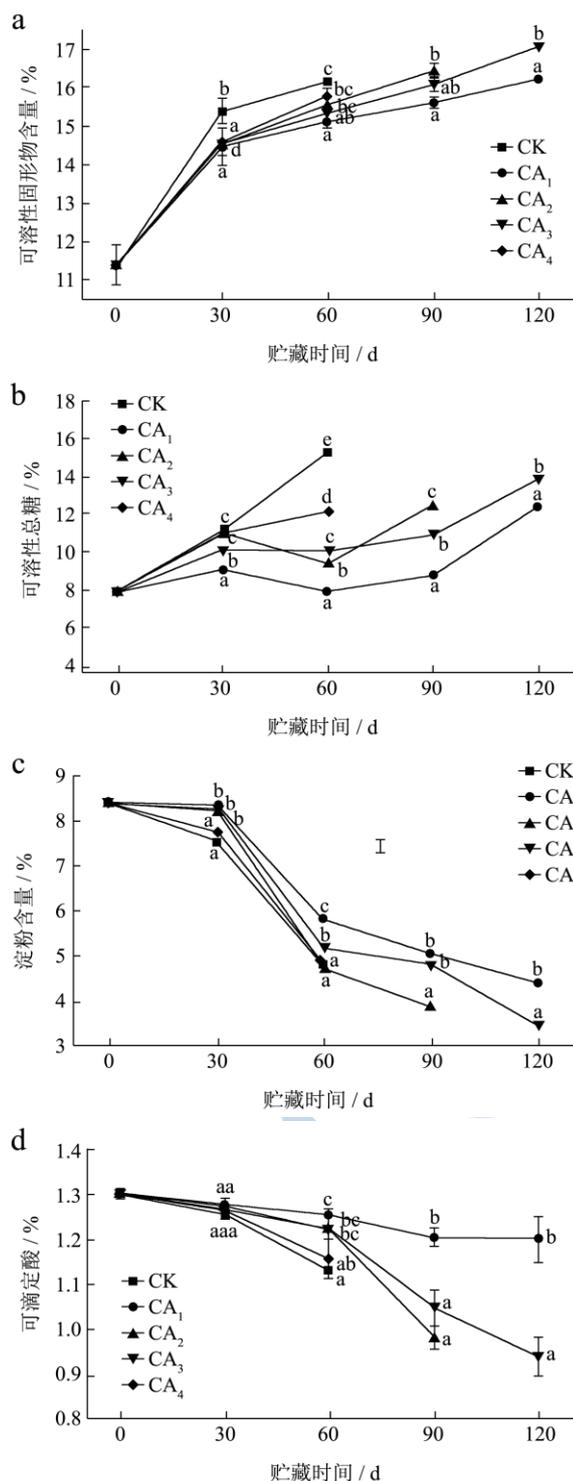


图 1 不同气体成分对猕猴桃可溶性固形物 (a)、可溶性总糖 (b)、淀粉 (c) 和可滴定酸 (d) 含量的影响

Fig.1 Effect of different atmospheres on soluble solid (a), soluble sugar (b), starch (c) and titratable acid (d) content in kiwifruit

注: 不同字母表示同一取样时间点不同处理间数据的差异

显著 ( $P<0.05$ ); CA<sub>1</sub>-2%O<sub>2</sub>+3%CO<sub>2</sub>; CA<sub>2</sub>-2%O<sub>2</sub>+6%CO<sub>2</sub>; CA<sub>3</sub>-5%O<sub>2</sub>+3%CO<sub>2</sub>; CA<sub>4</sub>-5%O<sub>2</sub>+6%CO<sub>2</sub>; 下同。

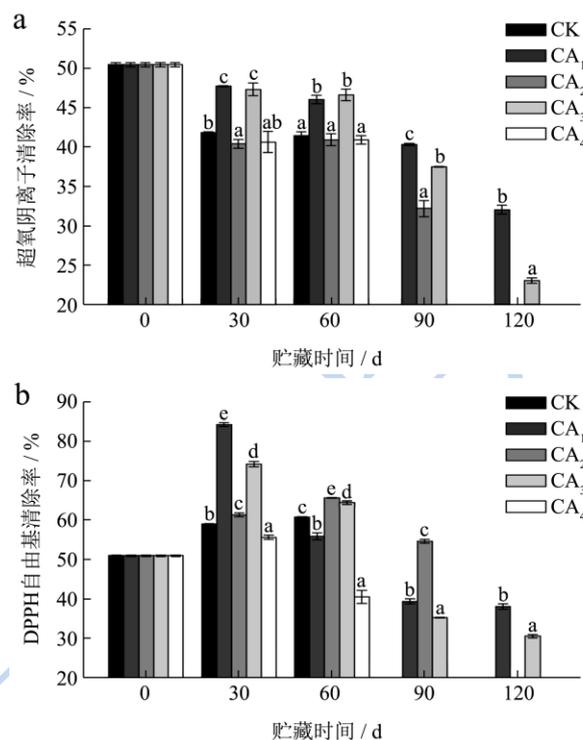


图 2 不同气体成分对猕猴桃超氧阴离子清除率 (a) 和 DPPH 自由基清除率 (b) 的影响

Fig.2 Effect of different atmospheres on superoxide anion- (a) and DPPH- (b) scavenging rate in kiwifruit

### 2.3 不同气体成分对猕猴桃中抗坏血酸含量的影响

由图 3a 可看出, 较贮藏初期相比, 贮藏至 60 d 时, CK、CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>4</sub> 处理果实的总抗坏血酸含量分别下降了 29.4%、10.4% 和 24.1%, 而同期 CA<sub>1</sub> 和 CA<sub>3</sub> 处理果实的总抗坏血酸含量则分别增加了 1.29 和 1.13 倍。贮藏至 120 d 时, CA<sub>3</sub> 处理果实的总抗坏血酸含量低于贮藏 60 d 时的 CK 值, 而 CA<sub>1</sub> 处理果实的总抗坏血酸含量则与 CK 的值相当。

由图 3b 可看出, ‘红阳’ 猕猴桃中还原型 AsA 含量的变化趋势与其总 AsA 的变化大体一致。贮藏 30 d 时, CA<sub>1</sub> 与 CA<sub>3</sub> 处理果实的还原型 AsA 含量显著高于 CK、CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>4</sub> 处理 ( $P<0.05$ ), 其中 CA<sub>2</sub> 处理果实的还原型 AsA 含量最高, 然在之后的贮藏过程中, CA<sub>1</sub> 处理果实的还原型 AsA 含量显著高于 CA<sub>3</sub> 处理 (除贮藏 120 d, 此时未见显著差异)。另外, 在贮藏 60~90 d 期间, CA<sub>1</sub> 处理果实的还原型 AsA 含量亦显著高于 CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>4</sub> 处理 ( $P<0.05$ )。

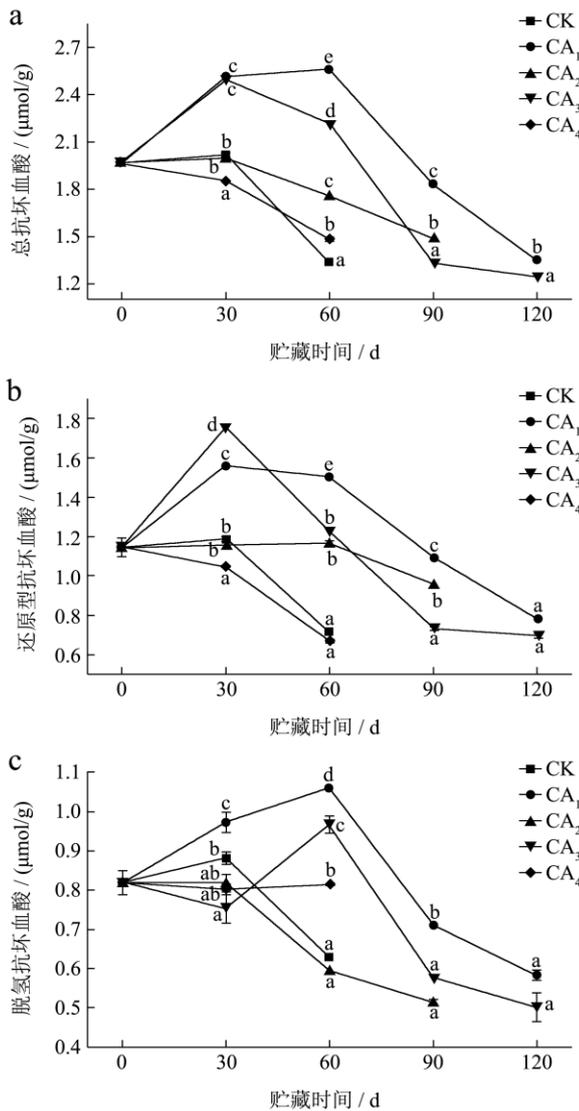


图3 不同气体成分对猕猴桃总抗坏血酸 (a)、还原型抗坏血酸 (b) 和脱氢抗坏血酸 (c) 的影响

Fig.3 Effect of different atmospheres on total AsA (a), AsA (b), and DHA (c) content in kiwifruit

由图3c可看出, CA<sub>1</sub>和CA<sub>3</sub>处理果实的DHA含量在60d时达到峰值,且此时这二处理果实的DHA含量均显著高于CK、CA<sub>2</sub>和CA<sub>4</sub>处理 ( $P < 0.05$ )。贮藏60d之后, CA<sub>1</sub>和CA<sub>3</sub>处理果实的DHA含量均急剧下降,贮藏至90d时, CA<sub>1</sub>处理果实的DHA含量仍较贮藏60d的CK高出12.5%。相比之下此时CA<sub>3</sub>处理果实的DHA含量已较CK下降了14.4%;贮藏至120d时, CA<sub>1</sub>处理果实的DHA含量略低于贮藏60d时CK的值,但差异不显著,而同期CA<sub>3</sub>处理果实的DHA含量已较贮藏60d的CK下降了23.2%。

### 2.4 不同气体成分对猕猴桃中谷胱甘肽含量的影响

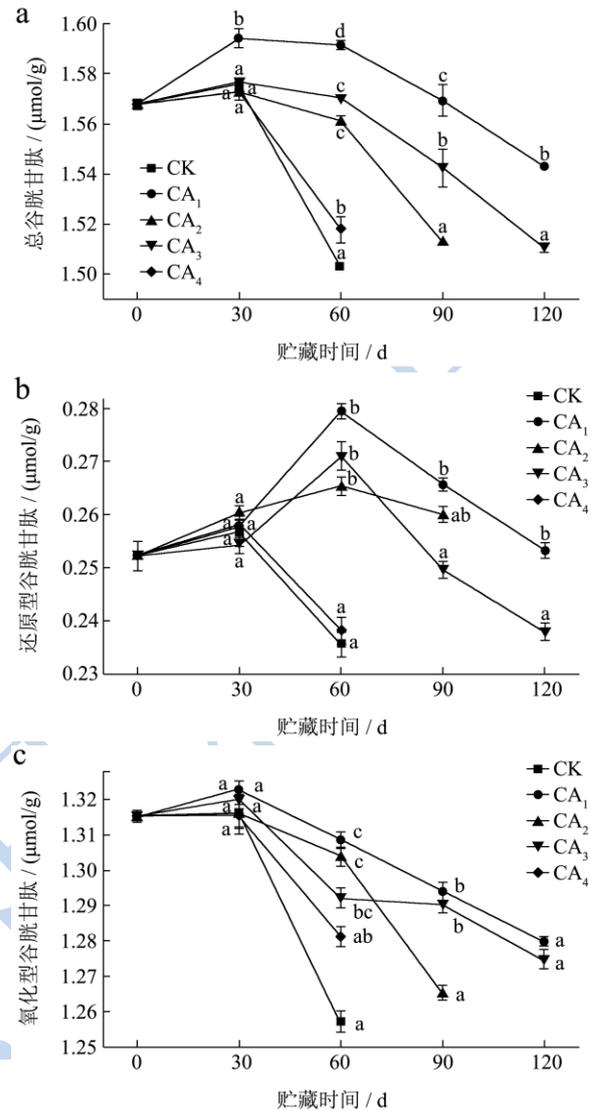


图4 不同气体成分对‘红阳’猕猴桃总谷胱甘肽 (a)、还原型谷胱甘肽 (b) 和氧化型谷胱甘肽 (c) 的影响

Fig.4 Effect of different atmospheres on total GSH (a), GSH (b) and GSSG (c) content in kiwifruit

由图4a可看出,贮藏30d时,除CA<sub>1</sub>外,其他处理果实的总谷胱甘肽含量之间无显著差异。之后各处理果实的总谷胱甘肽含量均表现出不同程度的下降,其中下降最明显的是CK和CA<sub>4</sub>处理,CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub>和CA<sub>3</sub>处理减缓了果实中总谷胱甘肽含量的下降,其中CA<sub>1</sub>处理的效果最显著。

由图4b可看出, CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub>和CA<sub>3</sub>处理果实的GSH在贮藏60d时达到峰值,而CK与CA<sub>4</sub>处理则在贮藏30d时出现峰值。总体看来,除贮藏30d外,在整个贮藏过程中CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub>和CA<sub>3</sub>处理果实的GSH含量显著高于CK和CA<sub>4</sub>处理 ( $P < 0.05$ )。另外,较CA<sub>3</sub>处理相比, CA<sub>1</sub>处理可减缓果实中GSH含量的下降。

由图4c可看出,‘红阳’猕猴桃果实中氧化型谷

胱甘肽含量总体呈下降趋势。贮藏 30 d 时各处理果实的 GSSG 含量之间无显著差异；贮藏 30~60 d 期间，所有处理果实的 GSSG 含量均不同程度的下降，其中 CK 果实中 GSSG 含量的下降最明显，其次为 CA<sub>4</sub> 处理，然而 CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>3</sub> 处理可明显减缓果实中 GSSG 含量的下降。在之后的贮藏中，CA<sub>2</sub> 处理果实的 GSSG 含量明显下降，CA<sub>1</sub> 和 CA<sub>3</sub> 处理缓解了果实中 GSSG 含量的下降，但二者之间无显著差异。

### 2.5 不同气体成分对猕猴桃 AsA/DHA 和

### GSH/GSSG 的影响

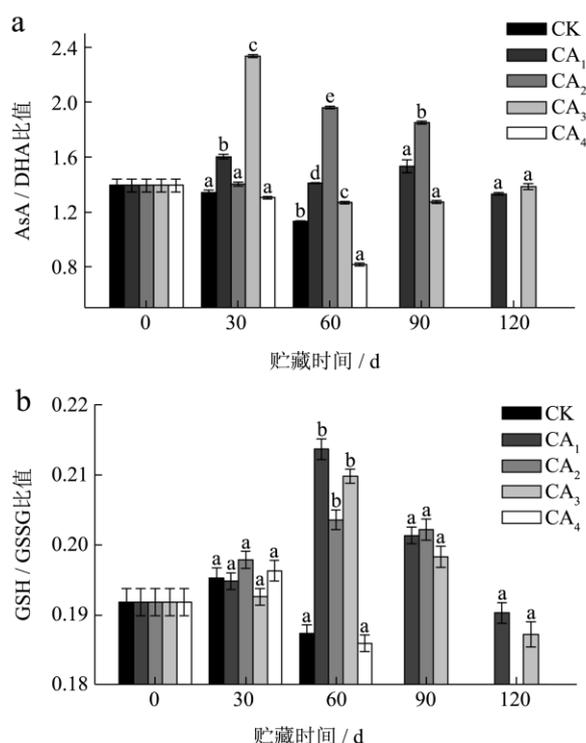


图 5 不同气体成分对‘红阳’猕猴桃 AsA/DHA (a) 和 GSH/GSSG (b) 的影响

Fig.5 Effect of different atmospheres on AsA/DHA (a) and GSH/GSSG (b) content in kiwifruit

图 5a 为还原型抗坏血酸 (AsA)/脱氢抗坏血酸 (DHA) 的比值，该值直接反映了果实的抗氧化能力，研究结果显示贮藏 30 d 和 60 d 时，CK 和 CA<sub>4</sub> 的 AsA/DHA 值均显著低于 CA<sub>1</sub> 和 CA<sub>3</sub> ( $P<0.05$ )；在贮藏 60 d 时 CK 和 CA<sub>4</sub> 的 AsA/DHA 值也低于 CA<sub>2</sub> 处理。贮藏 60 d 之后，CA<sub>1</sub> 和 CA<sub>3</sub> 处理果实的 AsA/DHA 值之间无显著差异，但二者在贮藏 90 d 时显著低于 CA<sub>2</sub> 处理 ( $P<0.05$ )。

图 5b 为还原型谷胱甘肽 (GSH)/氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 的比值，该值同样反映了果实的抗氧化能力，由图可看出，贮藏 30 d 时，各处理果实的

GSH/GSSG 值之间尚无显著差异，而贮藏至 60 d 时 CK 和 CA<sub>4</sub> 的 GSH/GSSG 值显著低于 CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>3</sub> ( $P<0.05$ )。贮藏 60 d 之后，CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>3</sub> 处理果实的 GSH/GSSG 值均明显下降。尽管如此，贮藏至 120 d 时 CA<sub>1</sub> 处理果实的 GSH/GSSG 值仍高于贮藏 60 d 时 CK 的值，说明 CA<sub>1</sub> 处理可维持 GSH/GSSG 的氧化还原势。

### 2.6 不同气体成分对猕猴桃 AsA-GSH 循环系统关键酶活性的影响

目前的研究认为，抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、单脱氢抗坏血酸 (MDHRA)、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 是影响 AsA 再生的重要酶。因此，为了探索 AsA 的再生特点，我们进一步分析了这些关键酶活性的变化规律。由图 6a 可知，在贮藏期间，CK 和 CA<sub>4</sub> 处理果实的 APX 活性不断下降；然而 CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>1</sub>、CA<sub>3</sub> 处理果实的 APX 分别在贮藏前 30 d 和 60 d 出现不同程度的增加后开始下降。总体看来，CA<sub>1</sub> 处理维持了果实较高的 APX 活性。

脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 能够在 GSH 参与下将 DHA 还原为 AsA。由图 6b 可看出，在贮藏期间，CA<sub>4</sub> 与 CK 处理果实的 DHAR 活性之间无显著差异，但均显著低于 CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub> 和 CA<sub>3</sub> 处理 ( $P<0.05$ )，在这三者中 CA<sub>1</sub> 处理的 DHAR 活性显著高于 CA<sub>2</sub> 处理 (60~90 d) ( $P<0.05$ )，在贮藏 90~120 d 期间也显著高于 CA<sub>3</sub> 处理 ( $P<0.05$ )。

单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR) 在 AsA-GSH 循环中，对 AsA 的再生具有重要的作用。由图 6c 可看出，随着贮藏时间的延长，所有果实的 MDHAR 活性均明显下降，其中 CK 和 CA<sub>4</sub> 处理的下降最明显，然而 CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub>、CA<sub>3</sub> 气调贮藏可减缓果实 MDHAR 活性的下降，尤其是 CA<sub>1</sub> 处理维持了果实显著高的 MDHAR 活性 (除贮藏 90 d 外) ( $P<0.05$ )。

谷胱甘肽还原酶 (GR) 是一种与 NADPH 电子传递功能相关的黄素蛋白，可将 GSSG 还原为 GSH。由图 6d 看出，与上述三种关键酶活性的变化类似，CA<sub>4</sub> 和 CK 处理果实的 GR 在贮藏过程中明显下降。然而 CA<sub>1</sub>、CA<sub>2</sub>、CA<sub>3</sub> 处理果实的 GR 活性呈先增后降的趋势。较 CA<sub>4</sub> 和 CK 相比，CA<sub>2</sub> 处理维持了果实较高的 GR 活性，除了贮藏 30 d 外 CA<sub>3</sub> 处理也保持了果实较高的 GR 活性；但总体看来 CA<sub>1</sub> 处理对缓解果实 GR 活性下降的作用更明显。

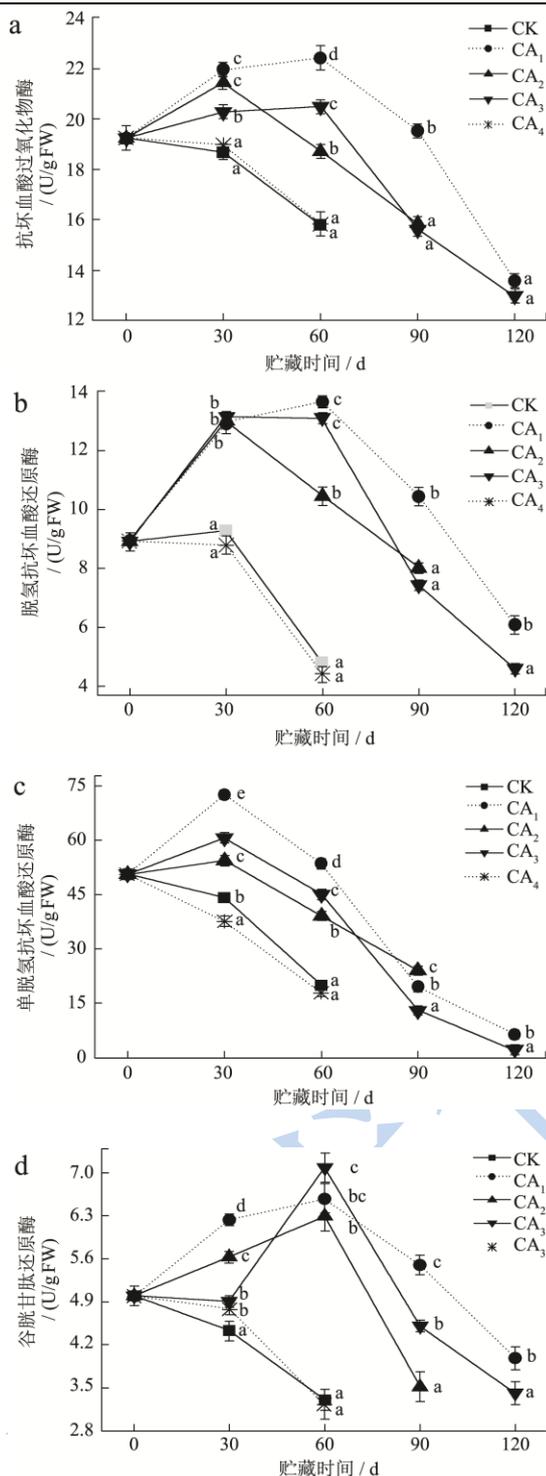


图6 不同气体成分对猕猴桃抗坏血酸过氧化物酶(a)、脱氢抗坏血酸还原酶(b)、单脱氢抗坏血酸还原酶(c)和谷胱甘肽还原酶(d)的影响

Fig.6 Effect of different atmospheres on APX (a), DHAR (b), MDHAR (c), and GR (d) of kiwifruit

### 3 讨论

猕猴桃果实硬度、SSC 和 TA 含量是衡量果实成熟的重要指标。通常气调贮藏中若气体浓度不适,不

仅不能达到保鲜目的,反而会对果实造成生理伤害。例如,前期研究报道,CA<sub>1</sub>(2% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub>)和 CA<sub>3</sub>(5% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub>)处理可使‘红阳’猕猴桃果实贮藏期达到 120 d; CA<sub>2</sub>(2% O<sub>2</sub>+6% CO<sub>2</sub>)次之,达到 90 d; CA<sub>4</sub>(5% O<sub>2</sub>+6% CO<sub>2</sub>)和 CK 处理的果实仅可贮藏至 60 d<sup>[5]</sup>。果实成熟过程是一种氧化作用不断加强的过程,当 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、DPPH 等自由基积累过多,可破坏组织细胞膜完整性及许多大分子结构,而且加剧膜脂过氧化作用,从而加速果实衰老。本研究发现,CA<sub>1</sub>(2% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub>)处理可提高果实清除超氧阴离子(图 2a)和 DPPH 自由基(图 2b)的能力,有利于再建果实贮藏期氧化还原状态的稳态,从而延缓果实的衰老进程<sup>[5]</sup>。此外,研究结果还发现,在相同 O<sub>2</sub> 浓度(2%)的情况下,当气调贮藏中的 CO<sub>2</sub> 浓度由 3%提高至 6%时,果实组织清除自由基的能力减弱,相应衰老进程也加快。这说明‘红阳’猕猴桃很不耐 CO<sub>2</sub>,6% CO<sub>2</sub> 处理可能已对果实产生了潜在的伤害。

通常,果实的抗氧化系统在调控其成熟衰老进程中具有重要作用。果实中 AsA 和 DHA 的比例是组织氧化还原状态的反应。本研究结果显示所有果实的总抗坏血酸和 AsA 随着贮藏时间的延长均不同程度下降,而气调贮藏,尤其是在 CA<sub>1</sub> 气体成分贮藏下,可减缓果实 AsA 及总抗坏血酸含量的下降(图 3a、3b)。这与 Singh<sup>[11]</sup>等在李果实上的结果一致,该研究也显示冷藏果实 AsA 含量的下降快于气调贮藏。另外,该研究还指出果实中 AsA 含量的下降主要是与 APX 活性的增加有关,二者呈显著负相关,与本研究的结果不一致,这可能和组织的特异性有关。此外,我们的研究还发现 CA<sub>1</sub> 和 CA<sub>3</sub> 处理红阳猕猴桃中的 DHA 含量在贮藏中先增加后下降(图 3c)。Galvis-Sánchez<sup>[12]</sup>等也报道在气调贮藏梨果实的后熟过程中 DHA 含量亦出现增加,这与本研究的结果类似。

谷胱甘肽是 AsA-GSH 循环系统中重要的成分,有利于 AsA 的再生。本研究发现,CA<sub>1</sub>(2% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub>)处理可减缓‘红阳’猕猴桃贮藏过程中总谷胱甘肽和 GSH 含量的下降(图 4)。Singh<sup>[11]</sup>等在李果实中也报道了总谷胱甘肽和 GSH 的这种变化趋势。另外,在梨果实中的研究也表明气调贮藏维持了果实较高的谷胱甘肽含量<sup>[13]</sup>,但是在菠菜试验中发现,气调贮藏降低了其谷胱甘肽的含量<sup>[14]</sup>,说明气调贮藏对果蔬谷胱甘肽含量的影响不尽相同。气调贮藏果实中较高的 GSH 含量可能与其提高果实的 GR 活性有关。另外,‘红阳’猕猴桃中 AsA 含量与 AsA-GSH 循环系统关键酶活性的相关分析表明,果实 AsA 含量的变化与 APX、DHAR、MDHAR 和 GR 活性的变化呈显著正

相关性, 相应的相关系数分布为 0.849、0.8760、0.892 和 0.706。

#### 4 结论

综上所述, 不同气体成分的气调贮藏中, 2% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub> 的气调贮藏可有效减缓‘红阳’猕猴桃果实 APX、GR、DHAR 和 MDHAR 活性的下降, 维持 A<sub>5</sub>A 和 GSH 的较高水平和 ASA-GSH 循环系统的稳定性, 从而提高果实对 DPPH 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 自由基的清除能力, 进而减缓‘红阳’猕猴桃果实的衰老进程。

#### 参考文献

- [1] Yang Q, Rao J, Yi S, et al. Antioxidant enzyme activity and chilling injury during low-temperature storage of kiwifruit cv. Hongyang exposed to gradual postharvest cooling [J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 2012, 53(6): 505-512
- [2] Latocha P, Krupa T, Jankowski P, et al. Changes in postharvest physicochemical and sensory characteristics of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* and its hybrid) after cold storage under normal versus controlled atmosphere [J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 88: 21-33
- [3] Vieira M J, Argenia L C, Do-Amarante C V T, et al. Postharvest quality of 'hay ward' kiwifruit treated with 1-MCP and stored under different atmospheres [J]. Revista Brasileira Fruticultura, 2012, 34: 400-408
- [4] Latocha P, Krupa T, Jankowski P, et al. Changes in postharvest physicochemical and sensory characteristics of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* and its hybrid) after cold storage under normal versus controlled atmosphere [J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 88: 21-33
- [5] 王亚楠, 胡花丽, 张璇, 等. 气调贮藏对‘红阳’猕猴桃果胶含量及相关酶活的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(8): 207-211  
WANG Ya-Nan, HU Hua-Li, ZHANG Xuan, et al. Effects of controlled atmosphere on the pectin content and relevant metabolizing enzyme activities of Hongyang kiwifruit [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(8): 207-211
- [6] Meyer A J. The integration of glutathione homeostasis and redox signaling [J]. Journal of Plant Physiology, 2008, 165(13): 1390-1403
- [7] Zheng X L, Tian S P, Gidley M J, et al. Slowing the deterioration of mango fruit during cold storage by pre-storage application of oxalic acid [J]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 2007, 82(5): 707-714
- [8] 艾玉春, 王炜, 李鹏霞, 等. 甘薯在贮藏期间营养与生理变化研究 [J]. 食品科学技术学报, 2013, 31(2): 37-42  
AI Yu-Chun, WANG Wei, LI Peng-Xia, et al. Studies on changes for nutrition and physiology about twobreds of sweet potato in preservation [J]. Journal of Food Science and Technology, 2013, 31(2): 37-42
- [9] 唐巧玉, 周毅峰, 朱玉昌, 等. 金橘皮中黄酮类物质的提取及其体外抗氧化活性研究 [J]. 农业工程学报, 2008, 24(6): 258-261  
TANG Qiao-Yu, ZHOU Yi-Feng, ZHU Yu-Chang, et al. Extraction of flavone compounds from fortunella margarita peel and its antioxidation in vitro [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2008, 24(6): 258-261
- [10] Ma F W, Cheng L L. The sun-exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate-glutathione pathway than the shaded peel [J]. Plant Science, 2003, 165(4): 819-827
- [11] Singh S P, Singh Z. Postharvest oxidative behaviour of 1-methylcyclopropene treated Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell) during storage under controlled and modified atmospheres [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 74: 26-35
- [12] Galvis-sanchez A C, Fonseca S C, Gil-Izquierdo A, et al. Effect of different levels of CO<sub>2</sub> on the antioxidant content and the polyphenol oxidase activity of 'Rocha' pears during cold storage [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86: 509-517
- [13] Larrigaudiere C, Pinto E, Lenthéric I, et al. Involvement of oxidative processes in the development of core browning in controlled-atmosphere stored pears [J]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 2001, 76(2): 157-162
- [14] Hodges D M, Fomey C F. The effects of ethylene, depressed oxygen and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves [J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51(344): 645-655