

真空预冷调控桑叶菜采后木质化的机理初探

杨腾达^{1,2}, 陈于陇¹, 曾凡坤², 叶明强¹, 王玲¹, 罗政¹, 陈飞平¹

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610) (2. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

摘要: 为了探讨真空预冷处理对桑叶菜在货架温度贮藏条件(20 ℃、70% RH)下木质化的调控作用及机理, 本文通过对桑叶菜真空预冷后进行贮藏, 分析其呼吸强度、色泽、维生素C、木质素、过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性、漆酶(Laccase, LAC)活性、相对电导率、丙二醛等变化情况, 结果发现真空预冷可有效延缓桑叶菜黄化、减少维生素C的降解, 降低呼吸速率, 并且, 贮藏6 d后, 预冷组桑叶菜的木质素积累显著低于对照组(6.59 g/100 g vs 7.42 g/100 g), POD和LAC活性显著低于对照(36.33 U/g vs 46.93 U/g; 131.60 U/g vs 146.40 U/g), 相对电导率和丙二醛积累分别比对照低34.98%和12.86%, 因此可推断真空预冷可能通过延缓细胞膜损伤及抑制聚合酶活性等途径调控木质素生物合成来延缓桑叶菜的采后木质化。本研究结果不仅深化了桑叶菜采后品质劣变的科学认知, 也为桑叶菜采后产业化提供理论支撑。

关键词: 桑叶菜; 真空预冷; 木质化; 调控; 机理

文章编号: 1673-9078(2021)04-131-138

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.4.0839

A Preliminary Study on the Regulating Mechanism of Vacuum Precooling on the Lignification of Mulberry Leaf Vegetables after Harvest

YANG Teng-da^{1,2}, CHEN Yu-long¹, ZENG Fan-kun², YE Ming-qiang¹, WANG Ling¹, LUO Zheng¹,
CHEN Fei-ping¹

(1. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

(2. College of Food Science of Southwestern University, Chongqing 4007151, China)

Abstract: To investigate the regulating effects and mechanism of vacuum precooling on the lignifying of mulberry leaf vegetables stored under shelf temperature, the changes of respiration intensity, vitamin C, lignin content, POD activity, LAC activity, relative conductivity and malondialdehyde (MDA) of mulberry leaf vegetables were studied in the present work. The results showed that the etiolation, vitamin C degradation and respiration rate of mulberry leaf vegetables were reduced by vacuum precooling treatment. Moreover, after storage for 6 days, the lignin content, POD activity and LAC activity of vacuum precooling treated samples were significantly lower than those of control, namely, 6.59 g/100 g vs 7.42 g/100 g, 36.33 U/g vs 46.93 U/g and 131.60 vs 146.40 U/g respectively. And the relative conductivity and MDA of vacuum precooling treated samples was 34.98% and 12.86% lower than those of control respectively. Based on these results, it can be reasonably deduced that the mechanism of vacuum precooling treatment on the lignification delay of mulberry leaf vegetables might be related to cell membrane damage reduction and polymerase activity inhibition. In conclusion, the results will be great important not only to deepen the

引文格式:

杨腾达,陈于陇,曾凡坤,等.真空预冷调控桑叶菜采后木质化的机理初探[J].现代食品科技,2021,37(4):131-138

YANG Teng-da, CHEN Yu-long, ZENG Fan-kun, et al. A preliminary study on the regulating mechanism of vacuum precooling on the lignification of mulberry leaf vegetables after harvest [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(4): 131-138

收稿日期: 2020-09-04

基金项目: 广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队建设项目(2020KJ117); 广东省重点领域研发计划项目(2020B0202080003); 科技创新战略专项资金(高水平农科院建设)项目(R2018QD-087; R2017YJ-YB3010); 广东省农业科学院新兴学科团队建设项目(201805XX)

作者简介: 杨腾达(1994-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 农产品采后保鲜

通讯作者: 陈飞平(1985-), 女, 博士研究生, 助理研究员, 研究方向: 生物材料与果蔬保鲜

scientific knowledge of quality deterioration of mulberry leaf vegetables after harvest, but also to provide technology theory for mulberry leaf vegetables industrialization.

Key words: mulberry leaf vegetable; vacuum precooling; lignification; regulating; mechanism

桑叶是原国家卫生部认定的药食同源原料。作为一种健康美味的菜肴,桑叶菜以其特殊的口感及保健功能大受欢迎。Wen 等^[1]报道桑叶和桑枝富含多糖、酚类、花青素、非花青素类黄酮、生物碱类等生物活性物质,具有抗氧化、消炎、抑制肥胖等作用。据最新报道,目前广东省已经推广桑叶菜种植生产面积超 46 hm²,每近 500 m²产值超万元,在当前脱贫攻坚关键阶段下,桑叶菜的扶贫能力可见一斑。新鲜桑叶菜是一种新型蔬菜,极受消费者喜爱,然而桑叶菜叶片薄而脆嫩,采后极易发生品质劣变,全程冷链是减少损失的有效手段,然而目前国内冷链系统建设尚未完善、成本较高,因此常温流通在很长一段时间仍然是新鲜桑叶菜产业的常态,非冷链物流导致的品质劣变是其产业化亟需解决的问题。

本团队前期研究发现木质化是影响桑叶菜采后品质的重要因素,木质素含量与桑叶菜茎部的硬度成正相关关系^[2]。木质素是一种酚类聚合物,由多种单体在过氧化物酶和漆酶等的作用下聚合而成,是植物细胞次生壁的主要成分,对植物抗病毒、抗侵染等具有重要意义^[3]。然而木质素的积累会提升植物细胞壁的机械性能,导致果蔬产品出现口感粗糙的现象^[4]。例如,芦笋采后贮藏过程中,口感粗糙程度会伴随着木质素含量上升而增加^[5]。因此,对桑叶菜采后木质化的控制是其品质和经济价值的重要保障。

真空预冷技术是目前农产品采后应用较广的一种保鲜技术^[6],主要通过对预冷室抽真空使农产品表面水分蒸发吸热,从而排除田间热,降低农产品的温度。我们前期研究发现 15 ℃真空预冷可以有效延缓桑叶菜采后品质劣变,那么真空预冷对桑叶菜木质素积累是否有延缓作用及其调控途径是什么?这些问题的探索对桑叶菜采后品质保持及其产业化具有重要意义。

基于此,本文拟通过对比真空预冷组桑叶菜和对照组桑叶菜(没有经过预冷)采后贮藏过程中外观、呼吸、色度、维生素 C、木质素、过氧化物酶(POD)、漆酶(LAC)、相对电导率、丙二醛等的变化情况,探讨真空预冷对桑叶菜木质素单体聚合过程中的抑制作用,以期对桑叶菜采后标准化处理提供理论与实践支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

桑叶菜(粤桑 11 号、桑枝顶端的一芽两叶)采自广东省广州市白云区江高镇周家庄村;气调保鲜袋(主要材质为改性低密度聚乙烯,厚度 20 μm,20 ℃条件下氧气透过率为 8000 cm³/m²·24 h·0.1 MPa、水蒸气透过率 23.19 g/m²·24 h)。乙酸钠(分析纯)、硼酸(分析纯)、邻苯二胺(分析纯),国药集团化学试剂有限公司;愈创木酚(分析纯)、苯酚(分析纯),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;过氧化氢(分析纯),福林酚源叶生物科技有限公司;液氮,佛山市普雷克斯公司。

1.2 仪器设备

Cary Eclipse 荧光分光光度计,美国 Agilent 公司;Checkpoint 手持气体分析仪,丹麦 PBI-Dansensor 公司;UV-2450 型紫外/可见光分光光度计,日本 Shimadzu 公司;Millipore Elix 纯水仪,德国 Merck Millipore 公司;ZSLG-0.3 真空冷却机,上海炬钢机械制造有限公司;UltraScan VIS 色差仪,美国 Hunter Lab 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品处理

将 12.5 kg 桑叶菜采摘后迅速运至广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所实验楼,将所有桑叶随机分成 2 份,一份用于预冷,另一份用于对照。将桑叶菜放入真空冷却机进行预冷(预冷终温为 15 ℃),待真空预冷结束后,立刻用气调保鲜袋包装,作为预冷组。将桑叶菜直接用气调保鲜袋包装,作为对照组。所有样品放入恒温箱(20 ℃、70% RH)中进行贮藏(每包 2.4 kg),每个处理重复 2 次。剩余的桑叶菜作为 0 d 的样品进行指标测定。当桑叶菜贮藏至第 1、2、4、6 d 时,取样品(每个处理随机、均匀取三份)直接测定色度、呼吸速率等指标或用液氮磨粉后测定维生素 C、木质素、过氧化物酶、漆酶、相对电导率、丙二醛积累量等指标。

1.3.2 色度

将待测桑叶菜的二位叶(从芽开始向下数第 2 片叶子)正面放在色度仪的检测孔上,运行程序,测定桑叶菜的 L*值、a*值。每袋桑叶菜至少随机测 15 次色度值并取平均,作为该处理桑叶菜的色度。

1.3.3 呼吸速率

取 100 g 桑叶菜放入 3.2 L 玻璃罐内,再放入一个二氧化碳检测仪后迅速密封玻璃罐,当二氧化碳检测仪指数开始上升时读取 0 min 的数据,然后每隔 1 min 读取一次数据,直至第 6 min。每个样品重复三次,呼吸速率以 mg CO₂/(kg·h)为单位。

1.3.4 维生素 C 含量

采用分子荧光分光光度法测定桑叶菜的维生素 C 含量^[7]。称取 0.5 g 桑叶菜粉,加入 5 mL 纯水中震荡混匀后,5000 r/min 离心 5 min,收集上清液。对照反应:取 1 mL 上清液,加入 1 mL 硼酸乙酸钠溶液(硼酸 30 g/L,乙酸钠 250 g/L),暗室反应 20 min 后加入 1 mL 0.2 g/L 邻苯二酚溶液反应 40 min,设置荧光分光光度计的激发波长 355 nm,发射波长 425 nm,测定反应液的荧光强度。样品反应:将对照反应的硼酸乙酸钠换成 250 g/L 乙酸钠溶液。样品反应的荧光强度减去对照反应的荧光强度就是上清液的荧光强度,再根据标准曲线计算桑叶菜的维生素 C 含量,以 mg/g FW 为单位(FW 表示鲜物质重量)。

1.3.5 木质素含量

桑叶菜木质素含量的测定参考 Huang 等的方法并加以修改^[8]。称取桑叶菜粉 0.5 g 放入 15 mL 离心管中,迅速加入 10 mL 95% (V/V) 乙醇溶液混合均匀,再放置于沸水中水浴加热 30 min。取出冷却至室温后,离心,弃去上清液,沉淀中再次加入 95%乙醇,按照上述工艺重复处理 3~4 次,收集沉淀并干燥。将干燥物溶于 1 mL 25% (V/V) 溴化乙酰-冰醋酸溶液中,恒温水浴 30 min 后加入 1 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液终止反应,再加入 1 mL 冰醋酸和 0.1 mL 7.5 mol/L 盐酸羟胺,并用冰醋酸定容至 5 mL,最后用冰醋酸稀释 100 倍得到样品反应液,在 280 nm 处测定样品反应液吸光值。称取 10 mg~50 mg 碱性木素作为干燥物,进行上述实验得标准曲线 ($y=0.0084x+0.2162$; y 表示吸光值, x 表示碱性木素含量 mg) 计算木质素含量,用 g/100 g FW 表示。

1.3.6 过氧化物酶和漆酶活性测定

称取 0.5 g 桑叶菜液氮粉于 5 mL 离心管中,再迅速向离心管中加入 0.2 g 聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP) 和 2.3 mL 磷酸钠缓冲液 (pH=7.0、0.1 mol/L),震荡、混匀后用 12000 r/min 离心 20 min 后取上清液并于保存。上清液就是酶提液用于测定 POD 和 LAC 活性。

过氧化物酶 (POD) 活性测定参考 Fang 等的方法并加以修改^[9]:在比色皿中先后加入 0.1 mL 酶粗提液、0.2 mL 愈创木酚溶液 (0.2 mol/L)、0.2 mL 过氧化氢溶液 (0.3% V/V) 和 2.4 mL 磷酸钠缓冲液 (pH=7.0),迅速清理比色皿外壁后,放入紫外分光光度计中进行吸光度测定 ($\lambda=470$ nm),以每分钟每

毫克液氮粉引起 A₄₇₀ 变化 0.001 表示 1 个酶活单位。

漆酶 (LAC) 活性测定参考 Fang 等的方法并加以修改^[10]:在比色皿中先后加入 0.2 mL 粗酶液、2.8 mL MUB 缓冲液 (pH=4.0,包含 5 mmol/L ABTS,注意现配现用)。然后迅速放入紫外分光光度计中,将紫外分光光度计设置为动力学模式记录 $\lambda=420$ nm 时吸光度的变化。以每分钟每毫克液氮粉引起 A₄₂₀ 变化 0.001 表示 1 个酶活单位。

1.3.7 相对电导率和丙二醛含量测定

相对电导率测定参考 Yao 等^[11]的方法并加以修改。取 20 片桑叶菜二位叶中心的圆片 (直径 1 cm,共 0.3 g),加入 20 mL 超纯水,静置 30 min 后测其离子强度 (L₀,单位 $\mu\text{S}/\text{cm}^3$),再于沸水中加热 15 min 后冷却至室温测其离子强度 (L₁,单位 $\mu\text{S}/\text{cm}^3$),样品的相对电导率按照公式 1 计算:

$$\text{相对电导率}/\% = \frac{L_0}{L_1} \times 100 \quad (1)$$

丙二醛 (MDA) 含量测定参考 Hayat 等^[12]的方法并加以修改。准确称取 0.5 g 桑叶菜粉,加入 3 mL 三氯乙酸,冰浴提取 10 min 后 12000 r/min 离心,取 1 mL 上清液,加入 2.4 mL 的硫代巴比妥酸溶液,95 °C 水浴 20 min 后快速冷却至室温,12000 r/min 离心 10 min,取上清液在 450、532、600 nm 条件下测定吸光值 A₄₅₀、A₅₃₂、A₆₀₀,根据公式 2 计算 MDA 含量,用 10⁻³ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ FW 样品表示。

$$\text{MDA 含量} = \frac{[6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450}] \times V/\text{mL}}{\text{m/g} \times 1000} \quad (2)$$

1.3.8 数据处理

所有实验都设置 3 次平行实验和至少 2 次重复实验,利用 Excel 2013 对数据进行整理、OriginPro 8.5.1 制图,采用 SPSS 20.0 数据处理软件对测定的数据进行单因素方差分析 (ANOVA),利用 Duncan 式多重比较对差异显著性进行分析 ($p < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 真空预冷对桑叶菜外观品质的影响

如图 1a 所示,贮藏至第 6 d,对照组桑叶菜出现了明显的褐变、黄化和萎蔫,叶片几乎全部变成了老叶,失去了可食性。预冷组桑叶菜尽管也出现了轻微的黄化现象,但程度较轻,且还存在可食性嫩叶。可见,真空预冷可有效延缓桑叶菜采后外观品质劣变。

桑叶菜作为一种绿色蔬菜,贮藏过程中色差的变化与其外观品质直接相关,其中色差 L* 值是亮度参

数,其大小往往用来表征果蔬的新鲜度。如图 1b 所示,贮藏前期,对照组桑叶菜 L*值高于真空预冷桑叶菜,相似报道也见于真空预冷导致嫩菠菜感官品质下降,作者推测这可能与真空预冷对蔬菜叶片产生了机械损伤从而导致细胞损伤有关^[13]。但在贮藏后期预冷处理桑叶菜的亮度保持更佳,到第 6 d 时,桑叶菜 L*值显著高于对照组 ($p<0.05$)。可见,真空预冷可有效延缓桑叶菜新鲜度下降。

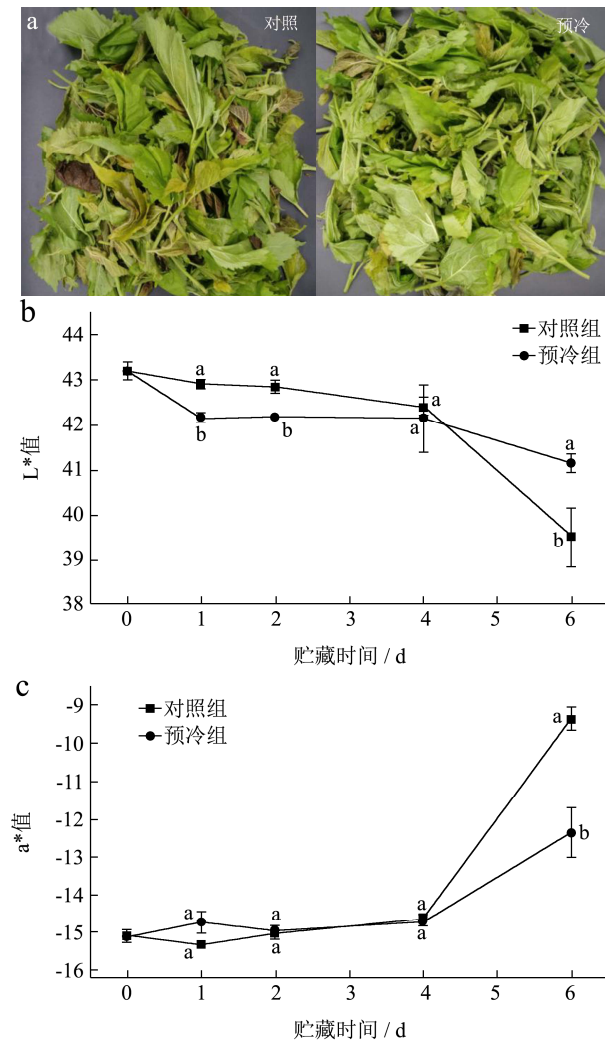


图 1 桑叶菜在货架温度下贮藏 6 d 后的外观品质及色泽变化

Fig.1 The visual quality and color changes of mulberry leaf vegetables after storage at shelf temperature for 6 days

注: 图中字母 a、b 表示 $p<0.05$ 时同一指标下不同处理间的显著性差异,下同。

桑叶菜采后极易出现黄化现象。色度 a*值的变化可反映果蔬褪绿或转黄程度, a*值为正值表示偏红,负值表示偏绿,当 a*值为负值时,其绝对值越大说明果蔬色泽越绿^[14]。如图 1c 所示,在贮藏前 4 d,两组处理桑叶菜的 a*值均无显著变化,且两者之间没有显著差异,但到了第 6 d 预冷组桑叶菜 a*值显著低于对照组 (-12.35 vs -9.31) ($p<0.05$),说明真空预冷延缓

了桑叶菜的黄化现象,这将有利于减少桑叶菜商品价值流失。

2.2 真空预冷对桑叶菜呼吸强度的影响

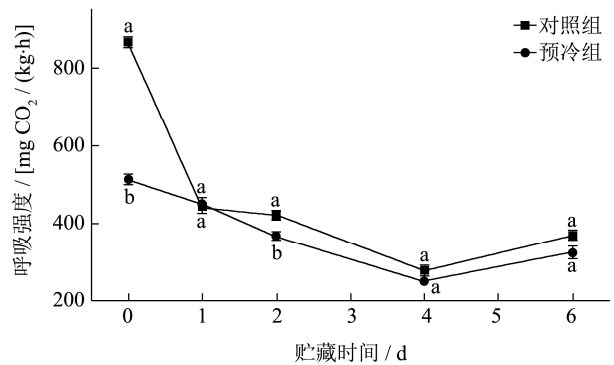


图 2 真空预冷对桑叶菜在货架温度贮藏条件下呼吸强度的影响

Fig.2 Effect of vacuum precooling on respiration rate of mulberry leaf vegetable storage at shelf temperature

呼吸作用是果蔬采后产生营养损耗的主要生理代谢反应,呼吸强度越高,果蔬越容易发生品质劣变^[15]。桑树是热敏性植物,其呼吸速率对温度的变化很敏感。如图 2 所示,桑叶菜预冷后呼吸强度由 865 mg CO₂/(kg·h)下降至 512.63 mg CO₂/(kg·h),可见,真空预冷在降低桑叶菜温度的同时也降低了桑叶菜的呼吸速率。从第 2 d 开始,对照组桑叶菜呼吸强度均高于预冷组,可见,真空预冷可以有效地抑制桑叶菜采后呼吸作用,这与前人报道的结果是相符的,例如真空预冷可以抑制小青菜和西兰花的采后呼吸强度^[16,17]。

2.3 真空预冷对桑叶菜维生素 C 含量的影响

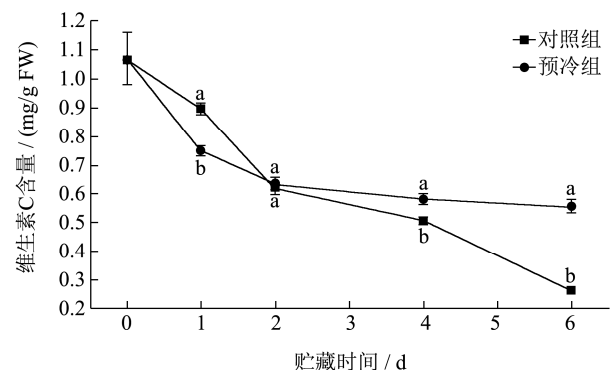


图 3 真空预冷对桑叶菜在货架温度贮藏条件下维生素 C 含量的影响

Fig.3 Effect of vacuum precooling on vitamin C content of mulberry leaf vegetable storage at shelf temperature

维生素 C 是果蔬重要的营养成分,在采后极易发生降解或被消耗。如图 3 所示,在贮藏过程中,维生素 C 含量呈整体下降的趋势,预冷组桑叶菜的维生素

C 降解速率明显低于对照组, 在贮藏后期, 预冷组桑叶菜的维生素 C 含量显著高于对照组, 到第 6 d 时其维生素含量为 0.56 mg/g, 而对照组只有 0.26 mg/g, 表明真空快速预冷可延缓桑叶菜维生素 C 降解, 这与 Kongwong 等人的研究结果相一致, 他们发现真空快速预冷对莴笋贮藏过程中维生素 C 含量的保留作用显著优于通风预冷与冷气预冷等慢速预冷处理以及无预冷处理^[6]。

2.4 真空预冷对桑叶菜采后木质化的影响

2.4.1 木质素含量

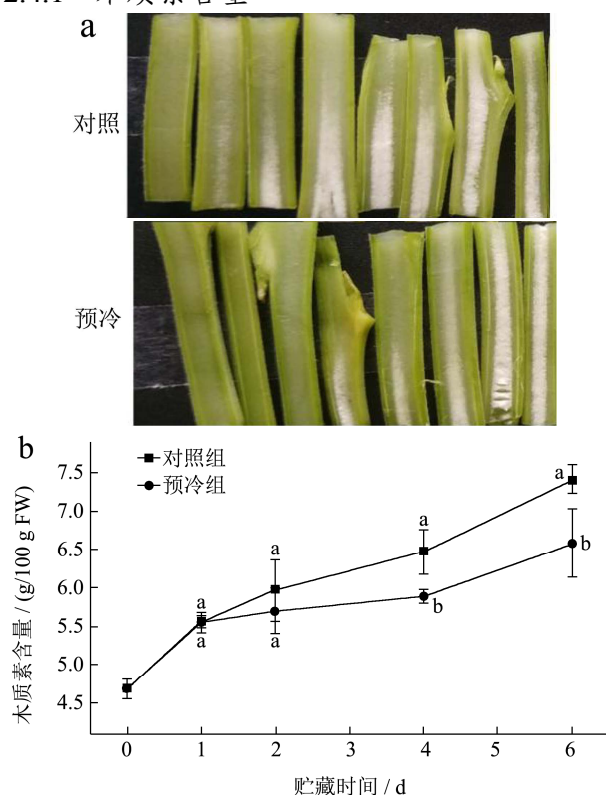


图4 真空预冷对桑叶菜在货架温度贮藏条件下木质化的影响

Fig.4 Effect of vacuum precooling on lignification of mulberry leaf vegetable storage at shelf temperature

注: a: 贮藏 6 d 后茎部剖面图; b: 贮藏过程中木质素含量变化。

桑叶菜采摘后, 切口容易木质化, 并沿着茎部迅速向上延伸, 使茎基等部位发生空心老化现象, 这与菜心等蔬菜采后木质化导致硬度增加的报道是相符的^[18], 表明桑叶菜采后木质化会影响其商品价值。预冷处理对桑叶菜木质化有一定抑制作用, 在第 6 d 时预冷组桑叶菜茎部空心化程度明显低于对照组 (图 4a)。

果蔬采后木质化主要表现为木质素等生物合成增加, 木质素合成途径的调节 (上调或下调) 与环境温度的关系与植物品种息息相关^[19]。如图 4b 所示, 贮藏过程中桑叶菜木质素含量出现了明显的上升趋势。

第 6 d 时对照组桑叶菜的木质素含量达到了 7.42 g/100 g, 相比 0 d 含量上升了 58.85%, 而预冷组仅为 6.59 g/100 g, 比对照组低了 11.19%。可见, 桑叶菜采后在较高温度贮藏时木质素积累速度极快, 属于高温刺激木质素合成途径上调植物, 因此真空预冷等冷处理可下调桑叶菜的木质素合成途径, 从而延缓其采后衰老和品质劣变。

2.4.2 过氧化物酶和漆酶

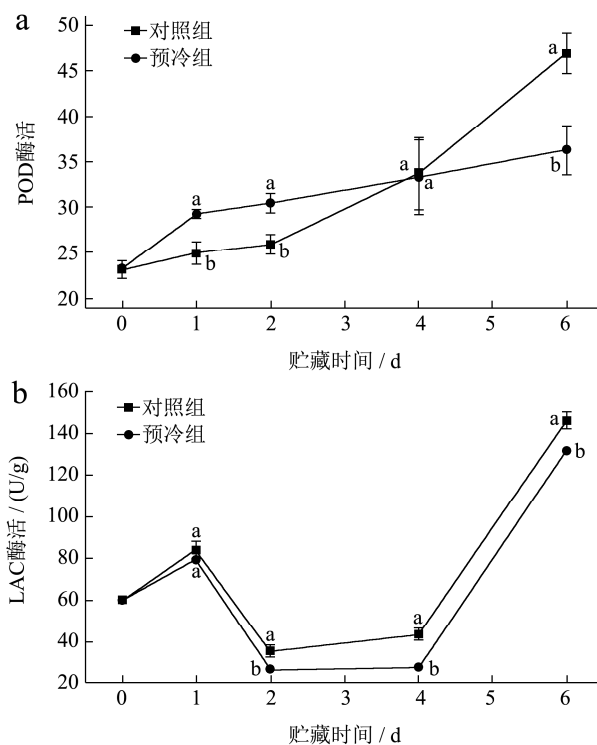


图5 真空预冷对桑叶菜在货架温度贮藏条件下 POD (a) 和 LAC (b) 活性的影响

Fig.5 Effect of vacuum precooling on POD (a) and LAC (b) activity of mulberry leaf vegetable storage at shelf temperature

过氧化物酶 (POD) 和漆酶 (LAC) 是木质素单体聚合成木质素的关键酶, 对植物木质素的形成具有重要调节作用^[20,21]。Herrero 等证实过氧化物酶的 *AtPrx4*、*AtPrx52*、*AtPrx49* 和 *AtPrx72* 等基因与拟南芥木质素生物合成相关显著^[22], 并且 POD 酶能在 H_2O_2 的作用下将木质素单体催化成酚自由基, 并聚合成木质素^[23]。如图 5a 所示, 在贮藏过程中, 预冷组桑叶菜的 POD 酶活性变化较为平稳, 对照组桑叶菜从贮藏第 2 d 开始 POD 活性迅速上升, 到第 6 d 时, 对照组桑叶菜过氧化物酶活性为 46.93 U/g, 而预冷组仅为 36.33 U/g。可见, 真空预冷可以通过抑制贮藏后期 POD 活性上升来延缓桑叶菜木质素生物合成, 这与 UV-B 处理抑制 POD、CAD 等活性从而调控竹笋采后木质化效果相类似^[24], 表明真空预冷是一种有效地调控桑叶菜采后木质化的产地初加工技术手段。

漆酶可以在氧气存在的条件下将木质素单体转换成酚自由基,从而合成木质素^[25]。Berthet 等敲除了拟南芥漆酶 *LAC4* 基因和 *LAC17* 基因后,发现木质素积累量明显下降^[26]。Zhao 等敲除拟南芥漆酶 *LAC4*、*LAC11* 和 *LAC17* 基因后,发现在植株中无法检测到木质素^[27],可见漆酶在木质素生物合成中必不可少。如图 5b 所示,从第 2 d 开始,预冷组桑叶菜的 LAC 活性显著低于对照组 ($p < 0.05$),到第 6 d 时,预冷组桑叶菜 LAC 活性 (131.60 U/g) 比对照组 (146.40 U/g) 低 11.25%,说明真空预冷有利于抑制桑叶菜 LAC 活性从而减少桑叶菜木质素的积累。

2.5 预冷对桑叶菜细胞膜损伤程度的影响

果蔬采后衰老与品质劣变与其细胞膜损伤息息相关,细胞膜损伤主要由细胞膜透性和膜脂过氧化程度来表征。细胞膜透性可通过相对电导率变化表征,相对电导率越高表示细胞膜透性和细胞膜损伤程度越高。由图 6a 可知,桑叶菜在贮藏过程中相对电导率逐渐增加,在贮藏前期,两个处理之间无显著性差异,但在第 6 d 时,预冷组桑叶菜的相对电导率比对照低 34.98%。有研究表明低温条件可诱导与激素合成、转录因子等相关的基因表达从而提高果蔬对环境的耐受性^[28],真空预冷可迅速降低桑叶菜的田间热并在贮藏过程前期保持相对低温,这可能诱导了桑叶菜的抗性,从而使细胞膜氧化损伤较低,延缓了其采后衰老进程,有利于其贮藏品质保持。

丙二醛 (MDA) 积累是评价膜脂过氧化程度的一个指标,MDA 含量越高表示植物细胞膜损伤越严重。如图 6b 所示,在贮藏前期,真空预冷桑叶菜的丙二醛积累量略高于对照组,说明真空预冷会在一定程度加剧了桑叶菜细胞的氧化,但是在第 2 d 以后,预冷组桑叶菜的丙二醛积累量开始小于对照组,到第 6 d,预冷组桑叶菜丙二醛积累比对照低 12.86%,这可能与维生素 C 的保留率更高有关 (图 3)。较高浓度的维生素 C 具有更好的自由基清除能力,从而降低膜脂过氧化反应,减少丙二醛积累。

综上所述,桑叶菜采后贮藏过程中极易发生木质化,其木质化程度与 POD、LAC 酶活力呈正相关。王玲等人研究表明^[18],高氧气调包装通过抑制 POD 和 LAC 活性来调控菜心采后木质化,可见,真空预冷也可通过抑制 POD 和 LAC 活性来延缓桑叶菜贮藏过程中木质素合成。另外,在贮藏后期,随着相对电导率和丙二醛积累增加,木质素合成量也逐渐增加。周琦等人研究发现,MDA 可能参与鲜切雷竹笋的木质化进程,这与鲜切造成的机械损伤和组织衰老引起

细胞膜透性上升、MDA 大量积累,最终导致木质化症状发生有关^[29]。有研究表明木质素单体在细胞质中完成生物合成,而其聚合过程在细胞壁中完成^[30],木质素单体的聚合涉及了跨膜运输^[31],可见桑叶菜采后贮藏过程中木质素积累与其细胞膜损伤程度存在一定正相关关系,真空预冷可能通过抑制桑叶菜细胞膜损伤来阻碍木质素单体跨膜运输,从而降低木质素合成。

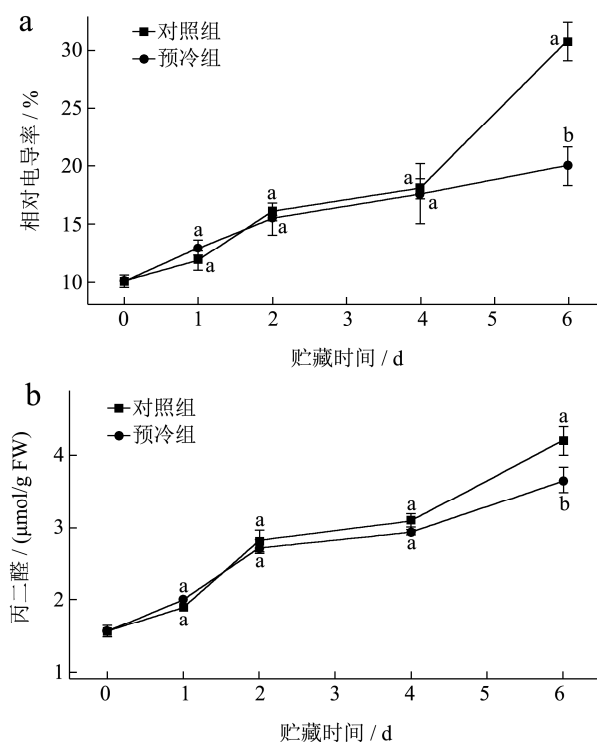


图 6 真空预冷对桑叶菜在货架温度贮藏条件下细胞膜损伤的影响

Fig.6 Effect of vacuum precooling on cell membrane damage of mulberry leaf vegetable storage at shelf temperature

3 结论

本研究结果发现,真空预冷可延缓桑叶菜采后黄化、抑制过氧化物酶、漆酶活性和木质素积累、减轻桑叶菜细胞膜损伤程度,从而减少桑叶菜在 20 °C、70% RH 条件下贮藏过程中的品质劣变。木质化是导致桑叶菜采后品质劣变的重要因素,通过本实验结果,我们可推断真空预冷调控桑叶菜木质化途径可能有:(1)通过降低桑叶菜细胞膜损伤程度阻止桑叶菜木质素单体跨膜运输,从而减少木质素生物合成;(2)通过抑制聚合酶 (POD、LAC 等) 活性使桑叶菜木质素合成量下降。本文初步探索了真空预冷对桑叶菜木质化的调控作用,填补了国内外关于桑叶菜采后品质劣变的研究空白,可为桑叶菜的产业化发展提供理论支撑。

参考文献

- [1] Wen P, Hu T, Linhardt J, et al. Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 83: 138-158
- [2] 杨腾达,陈飞平,陈于陇,等.桑叶菜采后商品化处理前的品质变化规律[J].食品与发酵工业,2019,45(22):124-129
YANG Teng-da, CHEN Fei-ping, CHEN Yu-long, et al. The quality deterioration pattern of postharvest mulberry leaf vegetables before commercial processing [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(22): 124-129
- [3] Zheng M, Chen J, Shi Y, et al. Manipulation of lignin metabolism by plant densities and its relationship with lodging resistance in wheat [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 1-12
- [4] Luo Z, Xu X, Yan B. Accumulation of lignin and involvement of enzymes in bamboo shoot during storage [J]. European Food Research and Technology, 2008, 226(4): 635-640
- [5] Schafer J, Wagner S, Trierweiler B, et al. Characterization of cell wall components and their modifications during postharvest storage of *Asparagus officinalis* L.: storage-related changes in dietary fiber composition [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(2): 478-486
- [6] Kongwong P, Boonyakiat D, Poonlarp P. Extending the shelf life and qualities of baby cos lettuce using commercial precooling systems [J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 150: 60-70
- [7] 王惠惠,陈于陇,徐玉娟,等.高氧气调包装对鲜切菜心品质的影响[J].中国食品学报,2012,2:161-170
WANG Hui-hui, CHEN Yu-long, XU Yu-juan, et al. Effect of super atmospheric oxygen packaging on the quality of fresh-cut flowering cabbages [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 2: 161-170
- [8] Huang W N, Liu H K, Zhang H H, et al. Ethylene-induced changes in lignification and cell wall-degrading enzymes in the roots of mungbean (*Vigna radiata*) sprouts [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 73: 412-419
- [9] Fang W, Kao C H. Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper and zinc [J]. Plant Science, 2000, 158(1-2): 71-76
- [10] Fang F, Zhang X. L, Luo H H, et al. An intracellular laccase is responsible for epicatechin-mediated anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp [J]. Plant Physiology, 2015, 169: 2391-2408
- [11] Yao D, Zhang X, Zhao X, et al. Transcriptome analysis reveals salt-stress-regulated biological processes and key pathways in roots of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Genomics, 2011, 98(1): 47-55
- [12] Hayat S, Ahamd H, Ali M, et al. Aqueous garlic extract stimulates growth and antioxidant enzymes activity of tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. Scientia Horticulturae, 2018, 240: 139-146
- [13] Garrido Y, Tudela J A, Gil M I. Comparison of industrial precooling systems for minimally processed baby spinach [J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 102: 1-8
- [14] Pola W, Sugaya S, Photchanachai S. Color development and phytochemical changes in mature green chili (*Capsicum annuum* L.) exposed to red and blue light-emitting diodes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(1): 59-66
- [15] 朱赛赛,张敏.温度激化处理对采后果蔬贮藏品质影响的研究进展[J].食品科学,2016,37(5):230-238
ZHU Sai-sai, ZHANG Min. Advances in the study of the effects of temperature shock treatments on storage quality of postharvest fruits and vegetables [J]. Food Science, 2016, 37(5): 230-238
- [16] 吴允才,李保国,石茂占.真空预冷处理对小青菜品质影响的实验研究[J].食品科技,2011,36(8):36-39
WU Yun-cai, LI Bao-guo, SHI Mao-zhan. Effect of vacuum pre-cooling treatment on the quality of greengrocery [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(8): 36-39
- [17] 赵维琦,孟赞,董斌,等.采用真空预冷处理提升西兰花贮藏品质[J].食品与发酵工业,2019,45(19):213-218
ZHAO Wei-qi, MENG Zan, DONG Bin, et al. Effects of vacuum pre-cooling treatment on preservative quality of broccoli [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(19): 213-218
- [18] Wang L, Wen M, Chen F, et al. High oxygen atmospheric packaging (HOAP) reduces H₂O₂ production by regulating the accumulation of oxidative stress-related proteins in Chinese flowering cabbage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 165: 111183
- [19] Costa M G S, Mazzafera P, Balbuena T S. Insights into temperature modulation of the *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus grandis* antioxidant and lignification subproteomes [J]. Phytochemistry, 2017, 137: 15-23
- [20] Ralph J, Lundquist K, Brunow G, et al. Lignins: natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenyl-propanoids [J]. Phytochemistry Reviews, 2004, 3(1-2): 29-60
- [21] Bao W, O'malley D M, Whetten R, et al. A laccase associated with lignification in loblolly pine xylem [J]. Science, 1993, 260(5108): 672-674

- [22] Herrero J, Esteban-carrasco A, Zapata J M. Looking for *Arabidopsis thaliana* peroxidases involved in lignin biosynthesis [J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2013, 67: 77-86
- [23] Chou E Y, Schuetz M, Hoffmann N, et al. Distribution, mobility and anchoring of lignin-related oxidative enzymes in *Arabidopsis* secondary cell walls [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(8): 1849-1859
- [24] Zhang J, Li S, Maratab A, et al. Effects of UV-B treatment on controlling lignification and quality of bamboo (*Phyllostachys prominens*) shoots without sheaths during cold storage [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(5): 1387-1395
- [25] Zheng Y, Wu L, Wang X, et al. The cotton laccase gene GhLAC15 enhances verticillium wilt resistance via an increase in defence-induced lignification and lignin components in the cell walls of plants [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2019, 20(3): 309-322
- [26] Berthet S, Demont-caulet N, Pollet B, et al. Disruption of LACCASE4 and 17 results in tissue-specific alterations to lignification of *Arabidopsis thaliana* stems [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(3): 1124-1137
- [27] Zhao Q, Nakashima J, Chen F, et al. LACCASEs necessary and nonredundant with peroxidase for lignin polymerization during vascular development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2013, 25(10): 3976-3987
- [28] He Y, Fan G J, Wu C E, et al. Influence of packaging material on postharvest physiology and texture of garlic cloves during refrigeration storage [J]. *Food Chemistry*, 2019, 298: 125019
- [29] 周琦,陈季旺,高俊,等.鲜切雷竹笋冷藏过程中木质化机理的研究[J].食品科学,2012,33(14):307-311
ZHOU Qi, CHEN Ji-wang, GAO Jun, et al. Lignification mechanism of fresh-cut bamboo shoots during cold storage [J]. *Food Science*, 2012, 33(14): 307-311
- [30] Tobimastu Y, Schuetz M. Lignin polymerization: how do plants manage the chemistry so well? [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 56: 75-81
- [31] Miao Y, Sederoff C L A R. ATP-binding cassette-like transporters are involved in the transport of lignin precursors across plasma and vacuolar membranes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(52): 22728-22733

(上接第 123 页)

- [39] 蓝蔚青,胡潇予,阮东娜,等.流化冰处理对南美白对虾冰藏期间品质与水分迁移变化的影响[J].食品科学,2019,40(9): 248-255
LAN Wei-qing, HU Xiao-yu, RUAN Dong-na, et al. Effect of slurry ice on the quality and water mobility of Pacific white shrimps (*Litopenaeus vannamei*) during storage [J]. *Food Science*, 2019, 40(9): 248-255
- [40] 任翠荣,刘金光,王世清,等.常压低温等离子体处理对草莓保鲜效果的影响[J].青岛农业大学学报(自然科学版),2017, 34(3):228-234
REN Cui-rong, LIU Jin-guang, WANG Shi-qing, et al. Effect of strawberry preservation by atmospheric pressure low temperature plasma [J]. *Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science)*, 2017, 34(3): 228-234
- [41] Zouelm F, Abhari K, Hossenini H & Khani M, et al. The effects of cold plasma application on quality and chemical spoilage of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during refrigerated storage [J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2019, 28(6): 624-636
- [42] De Angelis De Souza Silva, Maria Carla Da Silva Campelo, Lucas De Oliveira Soares Rebouças, et al. Use of cold atmospheric plasma to preserve the quality of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Journal of Food Protection*, 2019, 82(7): 1217-1223
- [43] 管彬彬,陈彬,程晓宏.水产品新鲜度表征和评价方法研究综述[J].福建分析测试,2019,28(3):15-21
GUAN Bin-bin, CHEN Bin, CHENG Xiao-hong. A review of freshness characterization and evaluation for aquatic product [J]. *Fujian Analysis & Testing*, 2019, 28(3): 15-21