

GABA处理延缓荔枝果皮褐变及与酚类物质变化的关系

黄世鑫, 郑斯文, 周颖钿, 王凯, 赵雷, 刘旭伟, 胡卓炎*

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要: 荔枝采后极易发生果皮褐变, 为研究外源 γ -氨基丁酸 (GABA) 处理对荔枝果皮褐变及酚类物质变化的影响, 采用 5 mmol/L 的 GABA 溶液浸泡处理荔枝 15 min, 于 (20 ± 1) °C 下贮藏 6 d, 定期取样进行果皮褐变及酚类物质相关生理指标测定。结果表明: GABA 处理可以有效延缓荔枝果皮褐变, 5 mmol/L GABA 处理的荔枝在 20 °C 下贮藏 6 d 后褐变指数为 2.80, 显著低于对照组 (3.60), 同时好果率达 36.67%, 失重率仅为 3.82%。在贮藏期间, GABA 处理显著减少荔枝果皮中丙二醛 (MDA) 积累, 抑制多酚氧化酶 (PPO), 过氧化物酶 (POD) 和漆酶 (LAC) 活力, 激活苯丙氨酸解氨酶 (PAL), 贮藏 6 d 时 GABA 处理的荔枝果皮具有较高的总酚 (525.93 mg GA/g)、黄酮 (14.06 mg rutin/g) 和花色苷 (0.54 Δ A/g) 物质积累, 果皮 DPPH 自由基清除能力提高。实验结果说明, 5 mmol/L GABA 处理能抑制酶促褐变的发生, 改变酚类物质代谢进程, 从而延缓荔枝果皮褐变, 改善荔枝采后贮藏品质。

关键词: 荔枝; 果皮; 褐变; γ -氨基丁酸; 酚类物质

文章编号: 1673-9078(2024)02-196-204

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.0065

Delay in Litchi Pericarp Browning after GABA Treatment and Its Relationship with Phenolic Compounds

HUANG Shixin, ZHENG Siwen, ZHOU Yingtian, WANG Kai, ZHAO Lei, LIU Xuwei, HU Zhuoyan*

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Litchi fruit is prone to browning after harvest. To investigate the effects of exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) on litchi pericarp browning and changes in phenolic compounds, litchi fruit was immersed in 5 mmol/L of GABA solution for 15 min and then stored at (20 ± 1) °C for 6 days. Samples were collected at regular intervals to measure the physiological indices related to pericarp browning and phenolic compounds. The results demonstrate that GABA treatment can significantly delay litchi pericarp browning. The browning index of litchi treated with 5 mmol/L of GABA was 2.80 after storage at 20 °C for 6 days, which was significantly lower than that of the control group (3.60). Meanwhile, the good fruit rate was 36.67%, and the weight loss rate was only 3.82%. During storage, GABA treatment significantly reduced the accumulation of MDA in the litchi pericarp and inhibited PPO, POD, and LAC activities while activating PAL. In addition, GABA-treated litchi pericarp showed higher total phenol (525.93 mg GA/g), flavonoid (14.06 mg rutin/g), and anthocyanin (0.54 Δ A/g) content after 6 days of storage. The DPPH free radical scavenging ability of the pericarp was also improved. In summary, 5 mmol/L GABA

引文格式:

黄世鑫, 郑斯文, 周颖钿, 等. GABA处理延缓荔枝果皮褐变及与酚类物质变化的关系 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 196-204.

HUANG Shixin, ZHENG Siwen, ZHOU Yingtian, et al. Delay in litchi pericarp browning after GABA treatment and its relationship with phenolic compounds [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 196-204.

收稿日期: 2023-01-18

基金项目: 国家荔枝龙眼产业技术体系项目 (CARS-32); 广州市科技计划重点项目 (202103000054)

作者简介: 黄世鑫 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与保藏, E-mail: 984235442@qq.com

通讯作者: 胡卓炎 (1961-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工与保藏, E-mail: zyhu@scau.edu.cn

treatment can effectively delay litchi pericarp browning by inhibiting enzymatic browning and affecting phenolic metabolic processes, which is an effective method of improving litchi storage quality after harvest.

Key words: litchi; pericarp; browning; γ -aminobutyric acid; phenolic compounds

荔枝 (*Litchi chinesis* Sonn.) 是无患子科的一种非过渡、亚热带和热带水果, 我国南方及东南亚广泛种植^[1]。荔枝本身采后极其不易贮运, 极易出现荔枝果皮褐变等现象, 直接影响其商业价值, 主要原因是采后的褐变及腐烂, 这直接关系到荔枝产业的发展问题^[2]。因此, 采后对荔枝进行一定的处理措施以延缓褐变和保持品质是极其有必要的。

荔枝果皮褐变主要原因是酚类物质发生酶促氧化形成醌进而聚合成褐色物质, 褐变与荔枝果皮中的酚类物质含量及相关代谢酶等密切相关^[3]。苯丙氨酸解氨酶 (Phenylalanine Ammonia-lyase, PAL) 为苯丙烷代谢的关键酶, 是许多植物次生代谢产物合成途径的第一限速酶, 对合成酚类, 黄酮类及花色苷类物质都起到重要作用, 有研究报道 PAL 与荔枝果皮褐变具有显著相关性^[4]。乔沛等^[5]报道, 多酚氧化酶 (Polyphenol Oxidase, PPO) 和氧化物酶 (Peroxidase, POD) 能够将酚类物质氧化为醌进而引起荔枝果皮褐变, 是导致荔枝果皮褐变的主要相关酶。Zhang 等^[6] 研究报道, 漆酶 (Laccase, LAC) 在荔枝果皮中的酶促褐变同样扮演着重要角色, 参与酚类物质的降解, 调控褐变的过程。

γ -氨基丁酸 (γ -Aminobutyric Acid, GABA) 是一种非蛋白质氨基酸, 植物在逆境条件下发生 GABA 累积, 是应对胁迫环境的代谢产物。在 1998 年 GABA 已被美国环境保护署 (EPA) 登记, 确认在水果上的应用对人体健康或环境无任何毒副作用, 并且在 2009 年 GABA 被中国卫生部正式批准为新资源食品, GABA 的外源应用研究逐渐备受关注。前期研究发现, 荔枝在低温贮藏下 GABA 含量显著增加并有利于果实品质的保持^[7]。近年又有研究报道, 外源 GABA 处理可促进桃果实中内源 GABA 积累, 增强果实的抗逆境能力, 减少病害发生^[8]。此外, 有研究报道 GABA 和酚类物质代谢之间可能存在一定关系, GABA 处理可调控双孢菇酚类物质代谢, 维持较高水平总酚含量, 延缓菇帽褐变^[9]。南果梨在冷藏下会发生果皮褐变, 而外源 5 mmol/L GABA 处理梨果实 15 min 可促进内源 GABA 积累, 显著改善果皮抗氧化能力和褐变情

况^[10]。目前有关外源 GABA 处理对荔枝果皮褐变和酚类物质变化的影响未见报道。本研究拟采用 5 mmol/L 的 GABA 溶液处理荔枝, 对荔枝果皮的外观颜色指标以及酚类物质相关指标进行评价, 试图探讨荔枝采后逆境下对褐变相关的物质及其影响规律, 揭示 GABA 处理对荔枝果皮褐变及酚类物质变化的影响规律, 为丰富荔枝保鲜领域的数据和研发绿色保鲜剂的提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

荔枝鲜果, 品种为‘桂味’, 产地为广东省广州市, 于 2021 年 6 月 16 日采收, 2 h 内运回实验室进行试验处理; GABA, 上海麦克林生化技术有限公司; 没食子酸 (标准品)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl, DPPH) 分析纯, Sigma-Aldrich 中国; 芦丁 (Rutin, 标准品)、福林酚 (分析纯), 上海源叶生物科技有限公司; 甲醇、乙醇、盐酸、氢氧化钠、碳酸钠、亚硝酸铝、硫代巴比妥酸、三氯乙酸、愈创木酚等其他试剂均为国产分析纯。

Uvmini-1240 紫外可见扫描分光光度计, 日本 SHIMADZU 公司; NR60CP 色差仪, 深圳市三恩时科技有限公司; SpectraMaxi3x 连续波长多功能微孔板检测平台, 美国 Molecular Devices 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计

选取果实大小及颜色一致, 无机械损伤, 表面无病菌虫害的果实作为试验原料。试验设置两个处理组, 清水对照组 (CK) 和 GABA 处理组, 每个处理组别荔枝果实 5.0 kg。根据 Shekari 等^[9] 的研究工作, 经预备试验, 选择 5 mmol/L 的 GABA 溶液, 浸泡处理时间 15 min, 自然晾干后, 按实验设计随机取样品按 20 颗/袋分装于 0.025 mm PE 保鲜袋, 封口。另外, 两个处理组分别随机取 10 颗荔枝果实装于保鲜袋中, 用于拍照, 以观察贮藏过程中荔枝果皮褐变的进程。各样品在恒温箱内避光贮

藏 [(20±1) °C, 相对湿度为 85%~90%]。在 0、1、2、4、6 d 中抽取样品, 每次取样随机取荔枝 (20 颗) 用于测定相关指标, 取样后先测定色差, 褐变率和好果率, 随后将果皮用液氮研磨成粉, 用于测定总酚、MDA 含量和不同酶活力等指标, 实验重复三次, 取平均值。

1.2.2 测定指标

1.2.2.1 褐变指数 (Browning Index, BI) 和好果率 (Good Fruit Rate, GFR) 测定

参考 Zhang 等^[3]的方法, 按照果皮外表面褐变面积占整个果实外表的面积的大小, 把果皮褐变程度分为 4 级:

无褐变或褐变面积与果实外表面积之比小于 1/4 为 1 级果;

褐变面积占果实外表面积的 1/4~1/2 为 2 级果;

褐变面积占果实外表面积的 1/2~3/4 为 3 级果;

褐变面积占果实外表面积大于 3/4 或果实已经腐烂为 4 级果;

$$B = \frac{\sum(L \times n)}{N} \quad (1)$$

$$F = \frac{L_1}{N} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

B ——褐变指数 (BI);

F ——好果率 (GFR), %;

L ——褐变等级;

L_1 ——一级果数目;

n ——该级果数;

N ——总果数。

1.2.2.2 失重率 (Weight Loss, WL) 测定

采用天平分别称量贮藏前荔枝果实的初始质量和贮藏后荔枝的质量, 通过贮藏前后荔枝果实的重量变化率来计算荔枝果实失重率。

$$L = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

L ——果实失重率 (WL), %;

W_0 ——果实初始质量, g;

W_1 ——测定果实质量, g。

1.2.2.3 果皮色差测定

使用色差仪对每个果的赤道面取 3 个三角对称的点测定 L^* (明度 / 暗度)、 a^* (红色 / 绿色)、 b^* (黄色 / 蓝色) 值。

1.2.2.4 丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量测定

取 0.25 g 荔枝果皮粉, 加入 10% (m/V) 三氯乙酸 5 mL 均质后离心。将 1 mL 上清液加入 4 mL 10% (m/V) 三氯乙酸 [含 0.5% (m/V) 硫代巴比妥酸] 中。混合溶液在 95 °C 下加热 15 min, 然后在冰浴中冷却, 离心得澄清溶液分别在 450、532 和 600 nm 处测量吸光度。计算如下:

$$D = \frac{[6.45 \times (OD_{532} - OD_{600}) - 0.56 \times OD_{450}] \times 5}{0.25 \times 2} \quad (4)$$

式中:

D ——丙二醛 (MDA) 含量, nmol/g。

1.2.2.5 总酚 (Total Phenols) 含量、DPPH 自由基清除率测定

总酚含量测定: 采用福林酚法。取 0.5 g 果皮加入预冷的 1% (V/V) 盐酸甲醇 2.5 mL, 冰磨, 4 °C 暗提取 30 min, 离心收集上清液。取 0.05 mL 提取液加入 0.5 mL 福林酚溶液, 混匀, 在室温下静置 3~4 min, 加入 1.5 mL、20% (m/V) 的碳酸钠溶液, 以蒸馏水定容至 10 mL 后混匀, 在室温下避光静置 2 h, 在 765 nm 下测定其吸光值。以 0.05 mL 水按同样操作为空白, 以没食子酸标准品绘制标准曲线: $Y = 0.6189x + 0.0225$, $R^2 = 0.9982$

DPPH 自由基清除率测定: 参考 Ali 等^[11]的方法, 将 50 μ L 的果皮甲醇提取物与 3 mL DPPH 溶液混合, 25 °C 避光保存 30 min, 在 517 nm 测定吸光度。

1.2.2.6 总类黄酮 (Total Flavonoids) 和花色苷 (Total Anthocyanin) 含量测定

总类黄酮含量测定: 参考韩冬梅等^[12]的方法稍作修改。取荔枝果皮粉 0.5 g, 加入 5 mL 80% (V/V) 冷乙醇, 离心后用冷乙醇稀释, 稀释液 0.5 mL 加入 0.3 mL 的 5% (m/V) NaNO_2 , 静置 5 min 后再加 0.3 mL 的 10% (m/V) 硝酸铝, 静置 6 min, 最后加 2 mL 1 mol/L NaOH, 定容至 10 mL 测 510 nm 的吸光值, 以芦丁标准品绘制标准曲线: $Y = 0.0433x + 0.0008$, $R^2 = 0.9966$ 。

花色苷含量测定: 参考 Zheng 等^[13]的方法稍作修改。取 1 g 荔枝果皮粉, 加入 1% (V/V) 盐酸甲醇溶液提取 4 h, 收集提取液, 在 530、620、650 nm 测定吸光值。最终换算以 $\Delta A/g$ 表示花色苷含量。

1.2.2.7 PPO 和 POD 活力测定

参照 Tang 等^[14]的方法并做修改进行酶提取液

制备。取 1 g 荔枝果皮粉，加入 0.5 g PVP 和 10 mL 0.1 mol/L pH 值为 7.0 的磷酸缓冲液，4 °C，10 000 r/min 离心 20 min，收集上清液，即为粗制酶液。

PPO：1 mL 0.1 mol/L 邻苯二酚、1.9 mL 缓冲液、0.1 mL 酶液，410 nm 下检测，3 min 内的 OD 值，每 30 s 测一次，以吸光值增加 0.001 为 1 个活力单位 (U)。

POD：2.4 mL 缓冲液、0.1 mL 1% (V/V) 过氧化氢、0.4 mL 1% (V/V) 愈创木酚、0.1 mL 酶液，470 nm 下检测，3 min 内 OD 值，每 30 s 测一次，以吸光值增加 0.01 为 1 个活力单位 (U)。

1.2.2.8 PAL 活力测定

参考 Yun 等^[15]的方法并稍作修改。取 0.5 g 荔枝果皮粉末，加入 3 mL 预冷的硼酸缓冲液，10 000 r/min 冷冻离心 30 min，收集上清液为酶提取液，分别取 1 mL 缓冲溶液和 2 mL 20 mmol/L 苯丙氨酸溶液于 40 °C 预热 10 min，然后样品管加入 0.5 mL 粗提物，摇匀后于 40 °C 反应 1 h，加入 0.1 mL 6 mol/L 盐酸终止反应，290 nm 处检测。以吸光值增加 0.01 为 1 个活力单位 (U)。

1.2.2.9 LAC 活力测定

参考 Fang 等^[16]的方法并稍作修改。取 1 g 荔枝果皮粉末，加入 5 mL 预冷的磷酸缓冲溶液，摇匀，4 °C，10 000 r/min 离心 20 min，取 0.1 mL 酶提取液，加入到 3 mL 表儿茶素溶液中 (2 mmol/L) 于 45 °C 下反应 30 min，在 380 nm 处检测。以吸光值增加 0.001 为 1 个活力单位 (U)。

1.3 数据处理

使用 Excel 2016 软件整理试验数据；使用 IBM SPSS Statistics 26 软件检验试验数据之间的显著性和相关性分析 (* 为 $P < 0.05$, ** 为 $P < 0.01$)；使用 Origin 2019 处理数据并作图；使用 TBtools v1.09867 进行相关性热图制作。

2 结果与讨论

2.1 GABA 处理对荔枝果皮外观褐变及色泽的影响

GABA 处理对荔枝果皮外观及色泽的影响结果见图 1 和表 1。采后果实的外观色泽变化是直接反映果实商品价值及贮藏品质的一个重要参数，色泽、褐变指数和好果率是可以简单且直观地评价果实价值的指标。从图 1 可观察到，0 d 荔枝整体外观色泽均一，红色饱满鲜艳，无褐变现象。在贮藏 6 d 时，与对照 CK 组比较，GABA 处理的荔枝果皮维持红色色泽，无大面积褐变。如表 1 所示，随着贮藏时间的延长 L^* 、 a^* 和 b^* 值都呈下降的趋势，在贮藏 2 d 后，与 CK 组相比，GABA 处理组的下降幅度更小，GABA 处理组的 L^* 、 a^* 、 b^* 值均显著高于 CK 组，说明 GABA 处理保持更好的色泽，这一结果与图 1 结果基本一致。

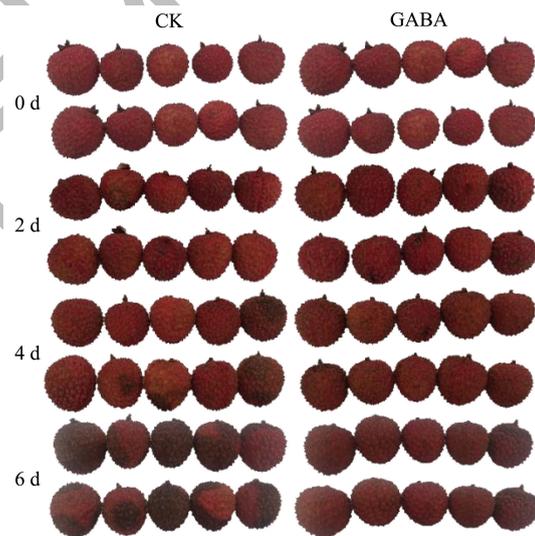


图 1 GABA 处理对荔枝果皮外观色泽的影响
Fig.1 Effects of GABA treatment on appearance and color of litchi pericarp

表 1 GABA 处理对荔枝果皮的 L^* 、 a^* 、 b^* 值的影响

Table 1 Effects of GABA treatment on L^* , a^* and b^* values of litchi pericarp

贮藏时间/d	L^* 值		a^* 值		b^* 值	
	对照组	处理组	对照组	处理组	对照组	处理组
0	43.02±1.02	43.06±1.06	26.34±1.73	26.35±1.51	19.23±1.79	19.42±1.51
1	41.09±1.58	42.79±1.82	23.71±1.40	25.64±1.72	17.60±1.60	19.06±1.60
2	39.61±1.42	42.12±1.53**	22.71±1.43	24.61±1.71	16.46±1.02	18.98±1.06*
4	37.44±1.24	41.27±0.80**	19.29±1.28	23.40±1.65**	14.83±1.71	17.88±1.60**
6	34.43±1.27	40.31±1.38**	15.31±1.47	21.38±1.46**	12.63±1.79	16.99±1.59**

注：同一颜色值同一行肩标 * 为显著性 $P < 0.05$ ；** 为极显著性 $P < 0.01$ 。

GABA 处理对荔枝果皮的褐变指数及好果率的影响结果见图 2。随着贮藏时间延长荔枝果皮褐变指数上升(图 2a),好果率下降(图 2b),6 d 时 GABA 组褐变指数(2.80)显著低于 CK 组(3.60),GABA 组保持 36.67% 好果率,而 CK 组好果率为 0。在外源 GABA 处理梨和鲜切苹果中也观察到类似的结果^[10,17],GABA 处理的梨果皮褐变度低于对照组 24%,GABA 处理的鲜切苹果具有最高的 L^* 值。由此可见,GABA 在延缓荔枝果皮褐变和保持贮藏品质上同样具有积极的作用。

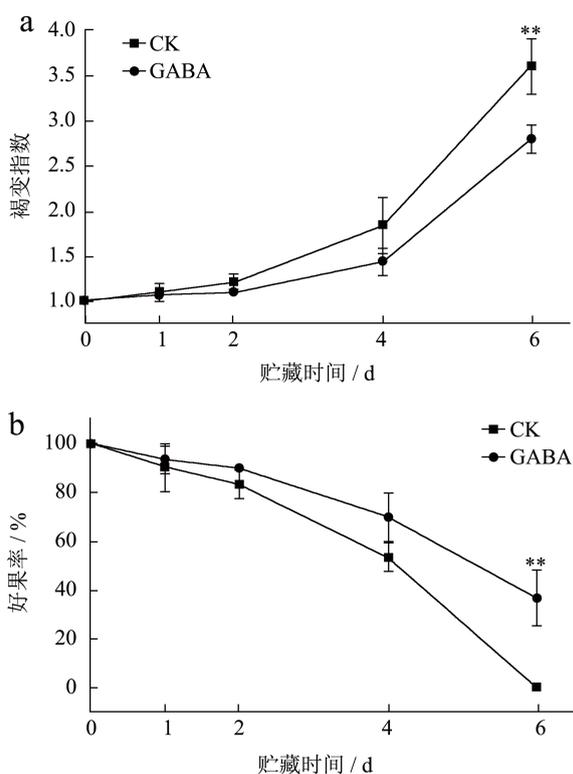


图 2 GABA 处理对荔枝果皮的褐变指数 (a) 及好果率 (b) 的影响

Fig.2 Effect of GABA treatment on Browning index (a) and good fruit rate (b) of litchi pericarp

注: * 代表 $P < 0.05$ 水平显著, ** 代表 $P < 0.01$ 水平显著,下同。

2.2 GABA 处理对荔枝果皮失重率的影响

果实失重率与果实水分含量、营养成分等降解流失相关,失重率的变化可以反映出果实的生理代谢损耗情况,降低失重率是保持荔枝含水量及果实品质的关键,同时也是延缓荔枝果皮褐变的关键^[2]。因此对荔枝失重率的监控有助于了解 GABA 延缓果皮褐变的进程。如图 3 所示,随着贮藏时间的延长,果实失重率上升,6 d 时 GABA 组失重率(3.82%)显著低于 CK 组(5.76%)。这可能是外源 GABA 处

理能够增强果实的抗逆境能力,保持果实中的水分含量,从而有效降低果实失重率^[8,18]。在对西葫芦研究中发现外源 GABA 处理可有效减缓西葫芦贮藏后期质量损失,帮助其长期应对冷藏环境^[19]。以上结果说明,GABA 处理能够有效维持荔枝果实质量,有利于延缓荔枝果皮褐变。

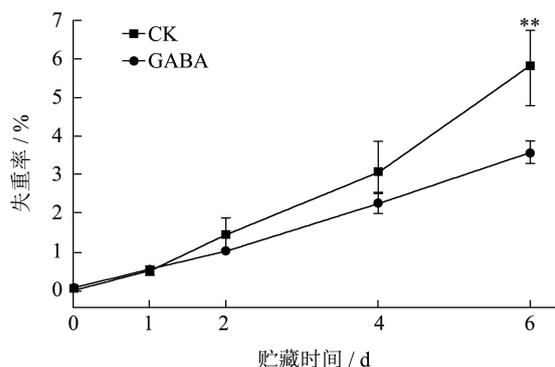


图 3 GABA 处理对荔枝果实失重率的影响

Fig.3 Effect of GABA treatment on weight loss rate of litchi

2.3 GABA 处理对荔枝果皮丙二醛 (MDA) 含量的影响

MDA 是膜脂氧化的主要产物之一,有研究报道称荔枝果皮 MDA 含量与衰老及褐变有关,抑制 MDA 的积累有助于保持荔枝果实品质,减少 MDA 对荔枝的伤害^[20]。已有研究证明,GABA 能够抑制脂质过氧化过程中 MDA 形成^[21]。在外源 GABA 处理黄瓜及小麦的研究中发现^[22,23],经 GABA 处理的黄瓜和小麦中 MDA 含量比对照组低约 35%。本研究测定荔枝果皮 MDA 含量如图 4 所示,随着贮藏时间的增加,荔枝果皮中 MDA 不断积累,GABA 处理显著 ($P < 0.01$) 抑制果皮 MDA 的积累,在贮藏 6 d 后 GABA 组果皮 MDA 含量比 CK 组低 44.13%,这一结果与前人的研究结果较为一致^[22,23],说明 GABA 在延缓荔枝果皮 MDA 积累中起到重要作用。

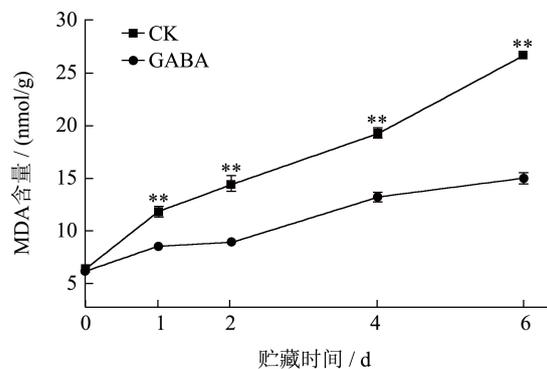


图 4 GABA 处理对荔枝果皮中 MDA 含量的影响

Fig.4 Effect of GABA treatment on the content of malondialdehyde in litchi pericarp

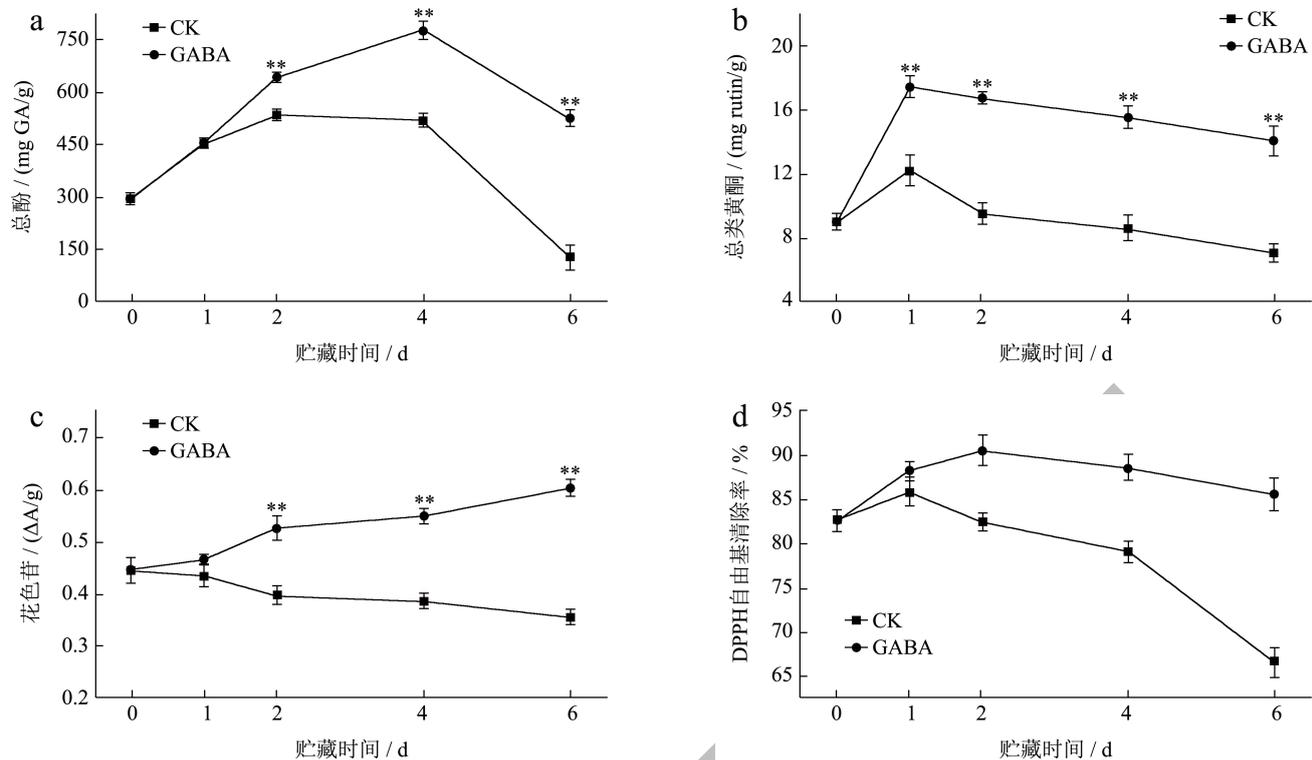


图5 GABA处理对荔枝果皮中总酚(a)、黄酮(b)、花色苷(c)及DPPH(d)的影响

Fig.5 Effect of GABA treatment on total phenols (a), flavonoids (b), anthocyanins (c) and DPPH (d) in litchi pericarp

2.4 GABA处理对荔枝果皮总酚、类黄酮、花色苷及DPPH的影响

荔枝果皮富含酚类、黄酮类及花色苷等非酶抗氧化类物质，其含量直接与荔枝果皮的抗氧化活性相关，可直接反映果皮抗逆境能力，同时作为植物次生代谢产物，这些物质又直接与果蔬的色泽、品质、抗逆性及组织褐变等密切相关^[24,25]。随着贮藏时间的延长，荔枝果皮中总酚、类黄酮含量和DPPH自由基清除率都呈现先上升后下降的趋势，如图5a~d所示。

在蓝莓的研究中发现GABA处理后的果实在贮藏8d后，总酚含量和黄酮类物质含量分别是对照组的1.31倍和1.18倍^[26]，这一结果与本研究在荔枝中观察到的结果相似。荔枝在贮藏前期存在一个酚类物质积累的过程(图5a、b)，CK组在2d时达到峰值(534.01 mg GA/g)，GABA组则在4d时达到峰值(776.38 mg GA/g)，GABA组中类黄酮在贮藏1d后显著积累至最高值(17.37 mg rutin/g)之后一直下降，在GABA处理6d后，荔枝果皮总酚(525.93 mg GA/g)和类黄酮(14.06 mg rutin/g)含量分别是CK组的4.2倍和1.99倍。在GABA处理樱桃中也观察到相似总酚和黄酮积累的规律^[27]。此外，在贮藏6d后观察到

总酚含量的下降，可能是贮藏后期因为细胞膜完整性破坏，酚类和黄酮类物质大量流出细胞发生酶促褐变反应，导致酚类物质大量降解^[27]。如图5c、d所示，对比CK组，GABA组花色苷含量在整个贮藏期一直上升，并在6d达到最高值(0.54 ΔA/g)，GABA处理的荔枝果皮DPPH自由基清除率在整个贮藏期间均保持在80%以上，在2~4d显著高于CK组($P < 0.01$)。Aghdam等^[27]认为，GABA处理可能通过引发苯丙氨酸途径，增加酚类，黄酮类和花青素的积累并维持较高的DPPH自由基清除率，从而延缓了樱桃果实的褐变和保持了果实品质。综上所述说明，GABA处理促进荔枝果皮酚类、黄酮类、花色苷物质的积累，保持荔枝果皮具有较高的DPPH自由基清除率。

2.5 GABA处理对荔枝果皮PPO、POD、PAL和LAC酶活的影响

如图6a、b所示，GABA处理显著延缓了荔枝PPO和POD酶活力的增加，在6d时，CK组的PPO和POD酶活分别为GABA组的1.27倍和1.48倍。这表明，GABA处理能有效降低荔枝PPO和POD酶活。类似地，有研究证实外源褪黑素通过降低荔枝果皮中PPO和POD酶活力，维持高水平的

总酚, 黄酮和花色苷含量来延缓褐变^[3]。在 GABA 的应用中同样也有报道, GABA 通过抑制芒果中 PPO 酶活力, 提高采后芒果品质^[28]。

Aghdam 等^[29]报道 GABA 诱导激活 PAL 酶活力, 促进苯丙烷途径合成次生代谢物质抵抗衰老及褐变。图 6c 所示, 荔枝果皮中 PAL 酶活力随着贮藏时间而上升, GABA 处理组的 PAL 活性在贮藏前中期 (1~4 d) 显著高于 CK 组, 在 6 d 低于 CK 组。推测可能是在贮藏后期酚类等次生代谢物质含量较高反馈抑制了 PAL 酶活力。结果表明 GABA 处理在贮藏前期通过激活 PAL 酶活力, 从而增加酚类等物质的积累和 DPPH 清除能力^[27] (见图 5)。

研究报道 LAC 参与荔枝果皮花色苷降解, 促进褐变物质积累, 加速荔枝褐变, 抑制 LAC 酶活性可以有效防止荔枝果皮失红^[14]。如图 6d 所示, CK 组的 LAC 酶活力在整个贮藏期间一直上升并在 6 d 达到 GABA 组的 2.54 倍, 而经 GABA 处理后的荔枝果皮中观察到 LAC 酶活力在贮藏期间被显著抑制, LAC 酶活力较为稳定, 未发生明显的上升或下降。这一结果与 Fang 等^[16]的研究结果相似, LAC 酶的激活是引起荔枝果皮褐变的主要原因, 通过抑制 LAC 酶活力可有效防止褐变发生。因此可以推测, GABA 在荔枝果皮的花色苷代谢上可能起到重要作用, 通过抑制 LAC 酶活进而影响花色苷代谢可能是延缓荔枝果皮褐变的途径。

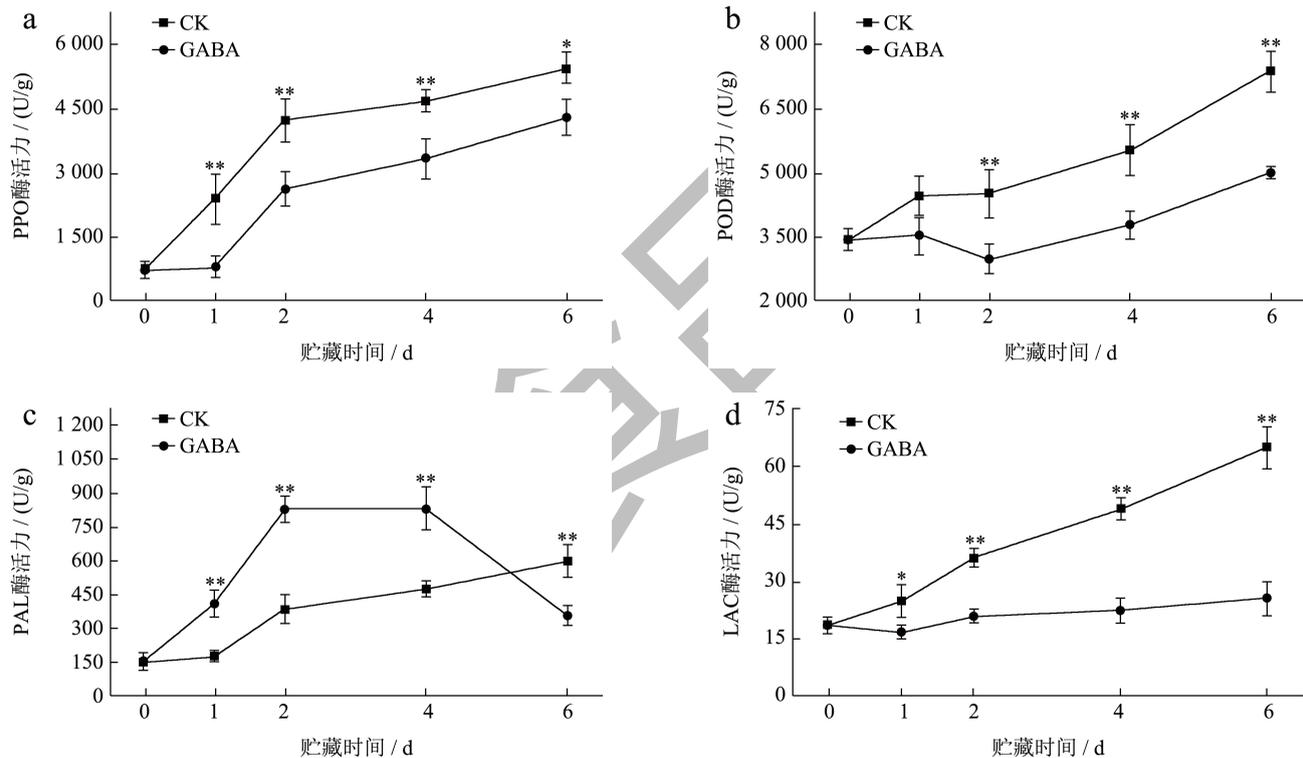


图 6 GABA 处理对荔枝果皮中 PPO (a)、POD (b)、PAL (c)、LAC (d) 酶活的影响

Fig.6 Effect of GABA treatment on PPO (a), POD (b), PAL (c), LAC (d) enzyme activity in litchi pericarp

2.6 相关性分析

为了建立 GABA 处理后荔枝果皮酚类物质变化与褐变性状之间的关系, 进行了相关性分析。如图 7a 所示, 果皮褐变指数 (BI) 与失重率 (WL) 呈现正相关, 而好果率 (GFR) 和颜色值 L^* 、 a^* 、 b^* 呈现负相关, 以此将荔枝的正相关生理指标分为褐变 (Browning), 负相关生理指标分为抗褐变 (Anti-browning) 指标。比较 CK 组中的实验数据, 对酚类物质相关指标 (PAL、LAC、POD、

MDA、PPO、Total Phenols、Total Flavonoids、Total Anthocyanin、DPPH) 与 Browning 及 Anti-browning 进行相关性分析, 可将酚类物质代谢相关指标分为三个聚类 (图 7b 中的 1、2、3)。

CK 组中, 图 7b 聚类 1 与 Browning 呈正相关, 与 Anti-browning 呈负相关, 这一结果与 Sun 等^[4]对荔枝果实发育过程中果皮褐变的研究结果一致。随着贮藏时间延长, MDA 积累, 激活 PPO、POD、PAL 及 LAC 酶活, 促进酶促褐变的发生。GABA

处理后减弱了聚类1与 Browning 及 Anti-browning 的相关性,说明 GABA 处理通过聚类1指标延缓褐变可能是起到一个作用。图7b 聚类2和3所示,CK组与 Browning 呈现显著负相关,与 Anti-browning 显著正相关,GABA处理后,聚类2无显著相关性,聚类3结果则与CK组相反,说明GABA处理显著影响了聚类2和3,总酚,黄酮,花色苷含量及 DPPH 清除率在延缓褐变的过程中可能是起到关键作用。

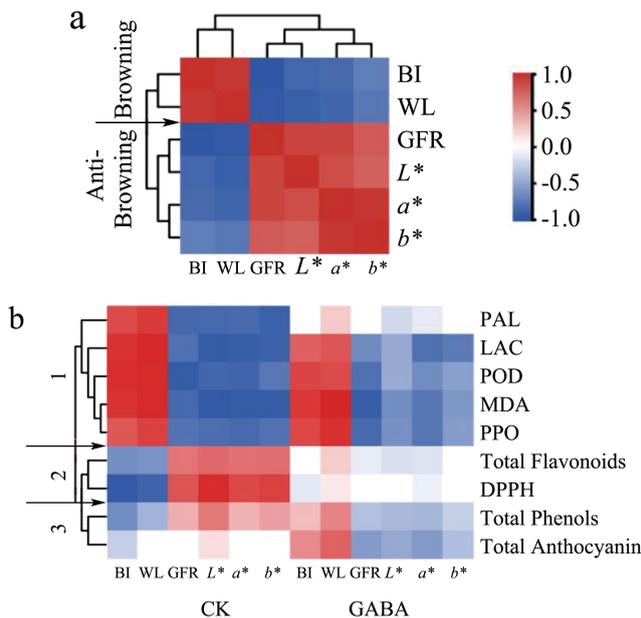


图7 GABA处理后荔枝果皮褐变和酚类物质相关性质的相关性分析

Fig.7 Correlation analysis between litchi peel browning and traits related to phenolic after GABA treatment

注:相关系数(正或负)由颜色键中显示的虚拟颜色表示。红色箭头表示聚类的边界。

综上,GABA处理通过显著诱导总酚、黄酮、花色苷合成,抑制酶促褐变反应,减少MDA物质积累,保留较高的酚类物质水平和DPPH自由基清除率,从而实现延缓果皮褐变。

3 结论

研究结果发现外源GABA处理可以维持荔枝贮藏质量和果实色泽,抑制荔枝果皮中MDA含量的积累,并且通过激活PAL酶活力,抑制PPO,POD和LAC酶活力,减少过氧化反应的发生,贮藏6d时GABA处理的荔枝果皮具有较高的总酚、黄酮和花色苷物质积累,DPPH自由基清除能力提高。LAC酶及花色苷的代谢可能起到关键作用。对于

GABA延缓荔枝果皮褐变的生理生化机制、GABA对漆酶和花色苷代谢的具体作用机制以及不同GABA浓度和处理时间等因素对荔枝果皮褐变的影响,还有待进一步探讨。

参考文献

- [1] HOLCROFT DEIRDRE M, MITCHAM ELIZABETH J. Postharvest physiology and handling of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) [J]. Postharvest Biology and Technology, 1996, 9(3): 265-281.
- [2] 陈厚彬,欧良喜,李建国,等.新中国果树科学研究70年——荔枝[J].果树学报,2019,36(10):1399-1413.
- [3] ZHANG Y Y, HUBER D J., HU M J, et al. Delay of postharvest browning in litchi fruit by melatonin via the enhancing of antioxidative processes and oxidation repair [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(28): 7475-7484.
- [4] SUN J, XIANG X, YU C Y, et al. Variations in contents of browning substrates and activities of some related enzymes during litchi fruit development [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 120(4): 555-559.
- [5] 乔沛,殷菲彤,雨萱,等.外源褪黑素处理对采后荔枝褐变及活性氧代谢的影响[J].食品工业科技,2021,42(6):282-287.
- [6] ZHANG Z Q, PANG X Q, DUAN X W, et al. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp [J]. Food Chemistry, 2005, 90(1): 47-52.
- [7] 周沫霖,胡卓炎,赵雷,等.不同低温贮藏对荔枝 γ -氨基丁酸富集及贮藏品质的影响[J].现代食品科技,2016, 32(3): 189-196.
- [8] SHANG H T, CAO S F, YANG Z F, et al. Effect of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(4): 1264-1268.
- [9] AYDIN S, RAHIM N H, MORTEZA-SOLEIMANI A. Exogenous application of GABA retards cap browning in *Agaricusbisporus* and its possible mechanism [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 174: 111434.
- [10] LI J X, ZHOU X, WEI B D, et al. GABA application improves the mitochondrial antioxidant system and reduces peel browning in 'Nanguo' pears after removal from cold storage [J]. Food Chemistry, 2019, 297: 124903.
- [11] ALI S, SATTAR K A, ULLAH M A, et al. Modified atmosphere packaging delays enzymatic browning and maintains quality of harvested litchi fruit during low temperature storage [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 254: 14-20.
- [12] 韩冬梅,杨武,吴振先,等.龙眼果实贮藏品质理化指标评

- 估体系的构建[J].华南农业大学学报,2015,36(6):39-46.
- [13] ZHENG X L, TIAN S P. Effect of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit [J]. Food Chemistry, 2006, 96(4): 519-523.
- [14] TANG R F, ZHOU Y J, CHEN Z S Z, et al. Regulation of browning and senescence of litchi fruit mediated by phenolics and energy status: A postharvest comparison on three different cultivars [J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 168: 111280.
- [15] YUN Z, GAO H J, CHEN X, et al. Effects of hydrogen water treatment on antioxidant system of litchi fruit during the pericarp browning [J]. Food Chemistry, 2021, 336: 127618.
- [16] 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 Physiol, 2015, 169(4): 2391-2408.
- [17] GAO H Y, WU S Y, ZENG Q, et al. Effects of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on browning and food-borne pathogens in fresh-cut apples [J]. Postharvest Biology and Technology, 2018, 146: 1-8.
- [18] 周桐,任心如,黄秋婷,等.外源GABA对龙眼果实采后品质的影响[J/OL].食品与发酵工业:1-11[2023-04-03].<https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033675>.
- [19] PALMA F, CARVAJAL F, JIMÉNEZ-MUÑOZ R, et al. Exogenous γ -aminobutyric acid treatment improves the cold tolerance of zucchini fruit during postharvest storage [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 136: 188-195.
- [20] LI T T, SHI D D, WU Q X, et al. Sodium para-amino salicylate delays pericarp browning of litchi fruit by inhibiting ROS-mediated senescence during postharvest storage [J]. Food Chemistry, 2019, 278: 552-559.
- [21] DENG Y, XU L J, ZENG X, et al. New perspective of GABA as an inhibitor of formation of advanced lipoxidation end-products: it's interaction with malondialdehyde [J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2010, 6(4): 318-324.
- [22] MALEKZADEH P, KHOSRAVI-NEJAD F, HATAMNIA A A, et al. Impact of postharvest exogenous γ -aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2017, 23(4): 827-836.
- [23] LI M F, GUO S J, YANG X H, et al. Exogenous gamma-aminobutyric acid increases salt tolerance of wheat by improving photosynthesis and enhancing activities of antioxidant enzymes [J]. Biologia Plantarum, 2016, 60(1): 123-131.
- [24] Brenda W. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2002, 5(3): 218-223.
- [25] 牛改改,覃媚,游刚,等.龙眼/荔枝组织中活性成分含量与抗氧化性的相关性分析[J].食品工业,2020,41(2):344-348.
- [26] GE Y H, DUAN B, LI C Y, et al. γ -Aminobutyric acid delays senescence of blueberry fruit by regulation of reactive oxygen species metabolism and phenylpropanoid pathway [J]. Scientia Horticulturae, 2018, 240: 303-309.
- [27] AGHDAM M S, KAKAVAND F, RABIEI V, et al. γ -Aminobutyric acid and nitric oxide treatments preserve sensory and nutritional quality of cornelian cherry fruits during postharvest cold storage by delaying softening and enhancing phenols accumulation [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 246: 812-817.
- [28] RASTEGAR S, KHANKAHDANI H H, RAHIMZADEH M. Effect of γ -aminobutyric acid on the antioxidant system and biochemical changes of mango fruit during storage [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2020, 14(2): 778-789.
- [29] AGHDAM M S, NADERI R, SARCHESHMEH M A A, et al. Amelioration of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by γ -aminobutyric acid (GABA) treatments [J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 110: 70-76.