

贮藏温度对茄子果实活性氧代谢及细胞壁降解的影响

解越, 张敏, 朱赛赛

(上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 为研究贮藏温度对茄子活性氧代谢及细胞壁降解影响, 试验将“上新”茄子在 2℃、12℃、20℃下贮藏 12 d, 每 2 d 测定其硬度、超氧阴离子产生速率(O_2^-)、过氧化氢含量(H_2O_2)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、脂氧合酶(LOX)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)等酶活性及果胶质、纤维素、木质素含量变化。结果表明, 2℃时, 随着贮藏时间延长, 果实 SOD、POD、CAT、APX、GR 活性不断降低, O_2^- 产生速率及 H_2O_2 含量增加, LOX 活性上升, 加剧膜脂过氧化反应。同时, 2℃贮藏仅 6 d, 果实发生木质化现象, 硬度升高。贮藏期间细胞壁结构变化与细胞壁物质降解程度有关。12℃时, 果实硬度下降较慢, 抗氧化酶活性逐渐下降。而 20℃时, 果实硬度下降明显, 出现腐烂变质, 细胞壁降解酶活性增强, 细胞壁物质发生降解。综合比较, 12℃可作为茄子果实短期适宜的贮藏温度。

关键词: 贮藏温度; 茄子; 活性氧代谢; 细胞壁降解

文章编号: 1673-9078(2016)2-142-151

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.2.022

Effects of Storage Temperature on Active Oxygen Metabolism and Cell Wall Degradation of Postharvest Eggplant Fruits

XIE Yue, ZHANG Min, ZHU Sai-sai

(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: To investigate the impact of storage temperature on active oxygen metabolism and cell wall degradation of eggplant fruits, “Shangxin” eggplant fruits were stored at 2℃, 12℃, and 20℃ for 12 days. Firmness, superoxide anion (O_2^-) production rate, peroxide (H_2O_2) content, and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), lipoxygenase (LOX), ascorbate peroxidase (APX), and glutathione reductase (GR), and pectin, cellulose, and lignin content were measured every two days. The results showed that at 2℃, over the storage period, SOD, POD, CAT, APX, and GR activities decreased continuously; the O_2^- production rate and H_2O_2 content increased; and LOX activity increased, which accelerated peroxidation of membrane lipids. At the same time, after storage for six days at 2℃, the eggplant fruits showed signs of lignification, with increased firmness. During the storage period, changes in the cell wall structure were closely related to the degradation of cell wall materials. At 12℃, fruit firmness decreased slowly and antioxidant enzyme activity declined gradually. At 20℃, fruit firmness decreased significantly, fruits rotted, the activity of cell wall-degrading enzymes increased, and cell wall degradation occurred. In conclusion, 12℃ appears to be an optimal temperature for short-term storage of eggplant fruits.

Key words: storage temperature; eggplant; active oxygen metabolism; cell wall degradation

茄子 (*Solanum melongena* L.) 又称茄, 别称落苏、矮瓜等, 是茄科茄属一年生草本植物, 原产于热带, 颜色通常为紫色。茄子是我国广泛种植的瓜果蔬菜之一, 由于其丰富的营养以及美味的口感, 深受广大人民群众喜爱^[1]。茄子作为冷敏性果蔬的代表, 在不

收稿日期: 2015-06-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31371526)

作者简介: 解越 (1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬低温贮藏保鲜
通讯作者: 张敏 (1969-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 果蔬贮藏保鲜及食品热物性

适的低温下贮藏, 果实极易发生冷害, 严重影响果实贮藏品质和商品价值^[2]。在低温胁迫初期, 细胞膜首先响应, 活性氧清除系统通过调节活性氧清除酶的活性以适应新的活性氧产生和清除的平衡体系, 随着持续时间的延长, 抗氧化酶活性受到抑制, 清除活性氧自由基的能力减弱, 从而引起活性氧自由基不断积累, 膜脂过氧化程度的加剧, 最终导致冷害的发生^[3]。

目前, 国内外的研究主要集中在对于冷害机理的研究^[4], 而对贮藏温度对茄子果实活性氧代谢及细胞壁降解的影响研究较少。Yang^[5]等研究表明, 梨子果

实遭受低温逆境胁迫时, SOD 活性增长缓慢, APX 活性降低, 这表明抗氧化酶发挥清除活性氧自由基的作用, 尽可能缓解低温逆境对梨子果实的伤害。Nukuntomprakit^[6]等通过研究发现, H₂O₂ 含量的上升可以提高菠萝的抗病性, 但过量的 H₂O₂ 就会对其果实细胞产生伤害。李海杰^[7]等通过测定不同温度下厚皮甜瓜抗氧活酶活性的变化后发现, 较低的 SOD、POD、CAT 活性是导致冷害发生的主要原因。赵云峰^[8]等通过试验后发现, 茄子果实冷害的发生与活性氧自由基的积累和细胞壁果胶质和纤维素降解都有密切的关系。芮怀瑾^[9]经过长期研究后发现, 枇杷果实 2 °C 贮藏下发生了明显的木质化现象, 木质化发生的机理与木质素合成和果胶质降解有关。

本文以冷敏性果蔬茄子为试材, 通过测定抗氧化酶类如超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、脂氧合酶、抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶活性的变化规律, 同时从细胞壁物质降解的角度出发, 结合测定果胶质、纤维素、木质素含量的变化规律, 探讨不同贮藏温度对茄子果实活性氧代谢及细胞壁降解的综合影响, 揭示冷害发生的机理, 并确定茄子果实适宜的采后贮藏温度, 旨在为冷敏性果蔬采后货架期贮藏保鲜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

“上新”茄子, 果实平均长度为 25~30 cm, 平均质量为 250~300 g, 于 2015 年 5 月 13 日购自上海市南汇区书院镇蔬菜大棚种植园。选取大小基本一致、无病虫害、无明显机械损伤的果实, 洗净后拭干, 每 3 根为一组分别装入聚乙烯薄膜塑料袋中, 贮藏于温度预先设定为 2 °C、12 °C、20 °C 的恒湿恒温箱 (BPS-100CA, 上海一恒科学仪器有限公司) 内, 设定 12 °C 为对照组, 温度控制精度为 ±0.5 °C, 湿度控制在 80%~85% 内, 每隔 2 d 测定其抗氧化酶活性及细胞壁降解等指标的变化。

1.2 试验方法

1.2.1 硬度的测定

参考汤元睿^[10]的方法。用 TA-XT2i 质构仪 (英国 Stable Micro System 公司) 测定果实硬度, 将样品组织切成 2.5 cm×2.5 cm×1.5 cm 的方块, 使用平板底柱形探头 (SMS/6) 进行测定, 探头直径为 10 mm, 下压距离为 10 mm, 下压速度为 2 mm/s。每组测定 6 个样品, 重复 3 次取平均值, 并计算标准偏差。

1.2.2 超氧阴离子 (O₂⁻) 产生速率、过氧化氢 (H₂O₂) 含量的测定

参照芮怀瑾^[9]的方法。O₂⁻ 产生速率结果以 μmol/(min·g) 表示, H₂O₂ 含量结果以 μmol/g 表示, 重复 3 次取平均值, 并计算标准偏差。

1.2.3 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、脂氧合酶 (LOX)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性的测定

抗氧化酶活性参照曹建康^[11]的方法。SOD 活性采用 NBT 还原法测定。POD 活性采用愈创木酚法测定。CAT 活性采用过氧化氢法测定。APX 活性以每克果肉在连续 1 min 内 290 nm 处的吸光度值为一个酶活单位 (U)。GR 活性以每克果肉在连续 1 min 内 340 nm 处的吸光度值为一个酶活单位 (U)。LOX 活性参照 Ma^[12]等方法, 以每克果肉在连续 1 min 内 234 nm 处的吸光度值为一个酶活单位 (U)。酶活性的测定结果都以 U/mg 表示, 重复 3 次取平均值, 并计算标准偏差。

1.2.4 果胶甲酯酶 (PE) 活性及多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性测定

果胶甲酯酶 (PE) 活性参照芮怀瑾^[9]的方法进行测定。以反应液每小时消耗 1 μmol NaOH 的用量为一个酶活力单位 (U)。多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性参照赵云峰^[8]的方法进行测定。以每小时生成半乳糖醛酸所消耗的酶用量为一个酶活力单位 (U)。酶活性的测定结果都以 U/mg 表示, 重复 3 次取平均值, 并计算标准偏差。

1.2.5 原果胶含量及水溶性果胶含量的测定

果胶含量参照曹建康^[11]的方法进行测定。用咔唑比色法测定提取液中半乳糖醛酸含量, 结果以 % 表示, 重复 3 次取平均值, 并计算标准偏差。

1.2.6 纤维素酶 (CX) 活性及纤维素含量测定

CX 活性参照 Zaharah^[13]的方法进行测定。以每小时消耗葡萄糖的酶用量为一个酶活力单位 (U)。酶活性的测定结果都以 U/mg 表示。纤维素含量运用重量法^[11]进行测定, 结果以 mg/g 表示, 重复 3 次取平均值, 并计算标准偏差。

1.2.7 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性及木质素含量的测定

PAL 活性参照宋秀香^[14]的方法进行测定。以每小时反应液在 290 nm 处吸光值的变化 0.001 为 1 个酶活力单位 (U)。酶活性的测定结果以 U/mg 表示。木质素含量参照曹建康^[11]的方法进行测定, 结果以 % 表示, 重复 3 次取平均值, 并计算标准偏差。

1.3 数据处理

运用 SPSS 软件对试验数据进行处理,同时使用邓肯多重比较进行方差分析,最后采用 Origin Pro 8.0 软件绘制曲线。

2 结果与分析

2.1 不同贮藏温度下茄子果实硬度的变化

表 1 不同贮藏温度下茄子果实硬度的变化

Table 1 Change in the firmness of eggplant fruit at different storage temperatures

贮藏时间/d	对照组 CK	2℃	20℃
0	4.771±0.076 ^a	4.771±0.076 ^a	4.771±0.076 ^a
2	4.662±0.069 ^a	4.642±0.077 ^a	4.697±0.089 ^a
4	4.557±0.084 ^a	4.670±0.066 ^a	4.415±0.066 ^b
6	4.483±0.085 ^a	4.801±0.062 ^a	4.343±0.078 ^b
8	4.101±0.046 ^b	4.933±0.068 ^b	4.209±0.049 ^b
10	3.988±0.075 ^b	4.991±0.108 ^b	3.621±0.037 ^c
12	3.612±0.038 ^c	5.064±0.057 ^b	3.380±0.080 ^c

注:表中数据为各组样品“平均值±标准差”(n≥6);行的不同字母表示差异性显著(p<0.05)。

不同贮藏温度下茄子果实硬度的变化如表 1 所示。硬度是反映茄子果实口感及新鲜度的重要指标。结果表明,随着贮藏时间的延长,茄子果实的硬度变化总体呈下降趋势,与贮藏温度呈显著负相关(p<0.05),这与周任佳^[15]等人对新疆哈密瓜硬度的研究结论相符。当贮藏温度为 20℃时,茄子果实硬度随贮藏时间的延长而不断下降,至 12 d 时,硬度为 3.380 kg/cm²,相比于 0d 时的 4.771 kg/cm²,下降了 41.15%,果实在 20℃组及对照组贮藏过程中并没有发生明显的木质化现象。当贮藏温度为 2℃时,贮藏初期(0~4 d),茄子果实的硬度下降缓慢,到了贮藏末期(6~12 d),茄子果实硬度逐渐上升,至 12 d 时,硬度为 5.064 kg/cm²,相比于 0 d 时的 4.771 kg/cm²,反而上升了 5.79%。贮藏仅 6 d 后果实就出现了明显的木质化症状,果皮难剥离、果肉粗糙汁少等,严重影响果实的感官评价和食用品质。这可能与低温提高了苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性,从而引起木质素含量快速上升,最终导致果实木质化现象发生有关。

2.2 不同贮藏温度下茄子果实 O₂⁻产生速率及 H₂O₂ 含量的变化

不同贮藏温度下茄子果实 O₂⁻产生速率的变化如图 1a 所示。O₂⁻是活性氧代谢的主要产物,如积累过多的 O₂⁻会引起膜脂过氧化,从而导致细胞受到不可逆的损伤^[16]。结果表明,O₂⁻产生速率随着贮藏时间的延长而不断增大,与贮藏时间有显著的正相关性(p<0.05)。贮藏初期,2℃组 O₂⁻产生速率增长的并不明显,但是到了贮藏末期,从 4 d 开始,O₂⁻产生速率迅速提高,由 4 d 时的 15.50 μmol/(min·g)上升到了 12 d 时的 25.00 μmol/(min·g),增长幅度为 38.00%。在整个贮藏期间,2℃组的 O₂⁻产生速率显著高于 20℃组及对照组(p<0.05)。这与王云飞^[16]等人对厚皮甜瓜冷藏后 O₂⁻产生速率明显上升的结论相似。

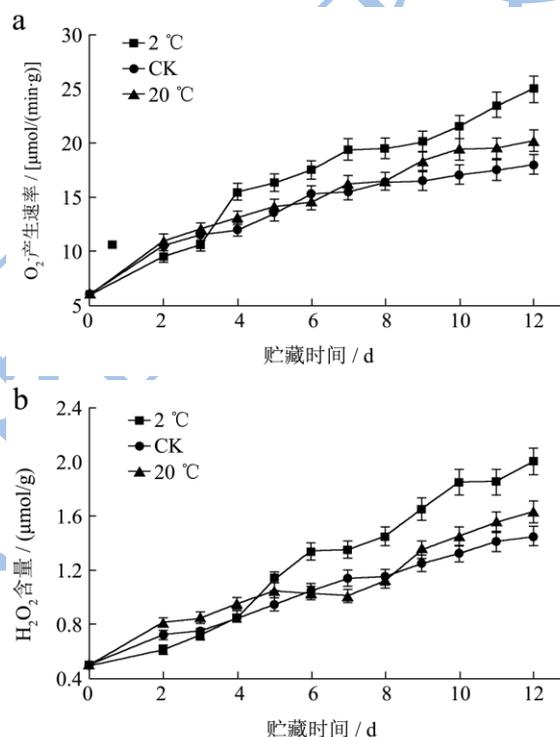


图 1 不同贮藏温度下 O₂⁻产生速率(a)和 H₂O₂ 含量(b)的变化

Fig.1 Change in the O₂⁻ production rate (a) and H₂O₂ content (b) of eggplant fruits stored at different temperatures

不同贮藏温度下茄子果实 H₂O₂ 含量的变化如图 1b 所示。H₂O₂是类似于 O₂⁻的活性氧代谢产物,如得不到及时的清除,会对细胞造成伤害^[17]。结果表明,H₂O₂含量随着贮藏时间的延长而不断增大,与贮藏时间有显著的正相关性(p<0.05)。这可能是因为低温逆境胁迫下,SOD等抗氧化酶活性不断降低,清除活性氧自由基的能力下降,直观表现为 O₂⁻产生速率的提高和 H₂O₂含量的增加。2℃组的 O₂⁻产生速率显著高于 20℃组及对照组(p<0.05)。这与王清^[17]等对于西葫芦果实 O₂⁻产生速率和 H₂O₂含量的试验结果相一致。

2.3 不同贮藏温度下茄子果实超氧化物歧化

酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、脂氧合酶 (LOX)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性的变化

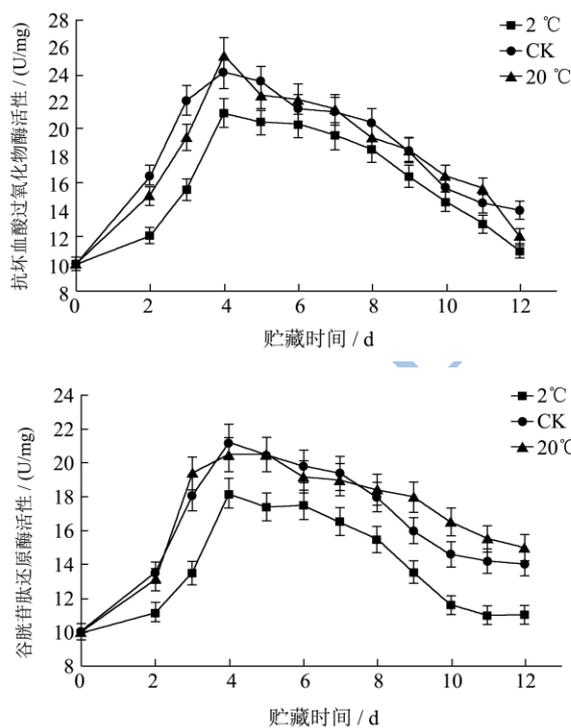
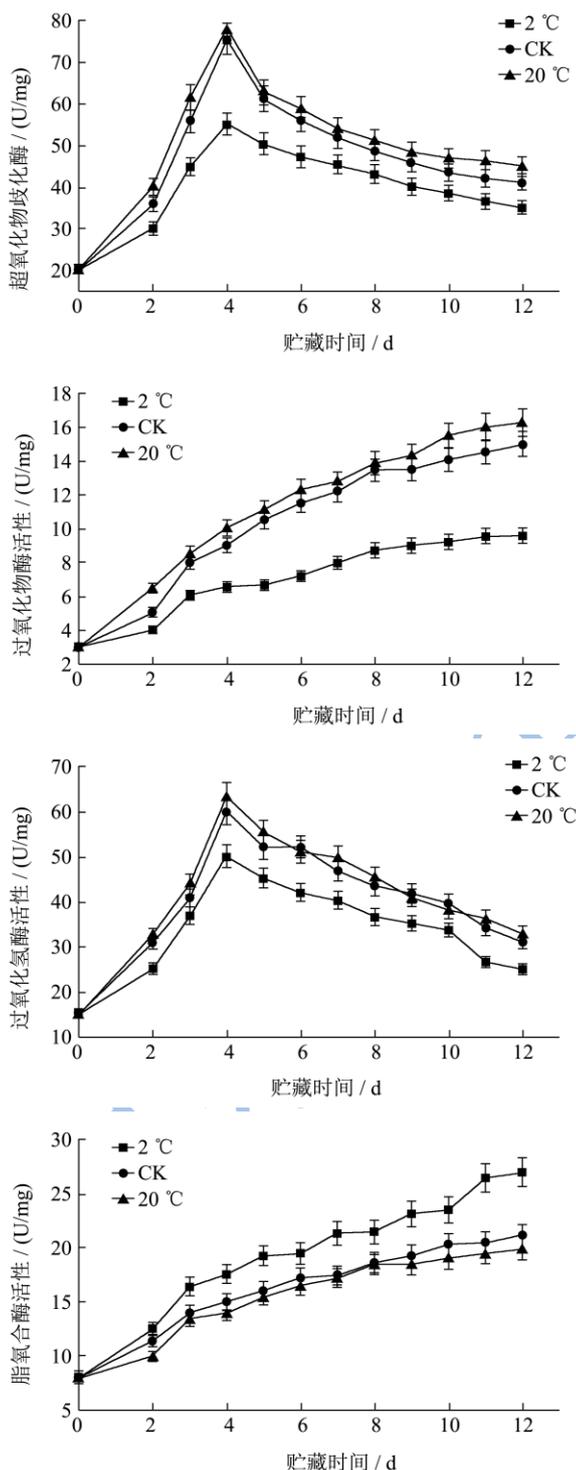


图2 不同贮藏温度下茄子果实 SOD (a)、POD (b)、CAT (c)、LOX (d)、APX (e)、GR (f) 活性的变化

Fig.2 Change in the activities of SOD (a), POD (b), CAT (c), LOX (d), APX (e), and GR (f) in eggplant fruits stored at different temperatures

不同贮藏温度下茄子果实超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的变化如图 2a 所示。SOD 能够将 O_2^- 歧化生成 H_2O_2 ，使 H_2O_2 维持在较低的水平^[18]。结果表明，SOD 活性呈现出先增大后减小的变化趋势。20 °C 组及对照组的 SOD 活性显著高于 2 °C 组 ($p < 0.05$)。当贮藏温度为 20 °C 时，贮藏初期 (0~4 d)，SOD 活性缓慢增大，至 4 d 时达到峰值，为 78.40 U/mg，随后开始迅速下降，至 12 d 时达到 45.00 U/mg，相比于 4 d 下降了 36.22%。这可能是由于低温贮藏降低了 SOD 活性所造成的。这与刘日林^[18]等对于不同抗冷性菜豆品种 POD 活性的变化规律相似。

不同贮藏温度下茄子果实过氧化物酶 (POD) 活性的变化如图 2b 所示。POD 是植物体内清除 H_2O_2 的主要酶，可以减轻 H_2O_2 对组织的损伤，维持细胞膜结构完整^[19]。结果表明，POD 活性随着贮藏时间的延长而不断增加，与贮藏时间呈显著正相关 ($p < 0.05$)。20 °C 组及对照组的 POD 活性显著高于 2 °C 组 ($p < 0.05$)。当贮藏温度为 20 °C 时，POD 活性由 0 d 时的 3.00 U/mg 增长到 12 d 时的 16.27 U/mg，增长幅度高达 81.56%。20 °C 组 POD 活性略微高于对照组，但差异不明显。这表明低温逆境胁迫下，POD 活性受

到抑制且一直处于较低的水平。这与蔡欢^[19]等对黄瓜果实低温贮藏下抗氧化酶活性的研究结果相符。

不同贮藏温度下茄子果实过氧化氢酶 (CAT) 活性的变化如图 2c 所示。CAT 分解 H_2O_2 生成水和氧气分子, 能有效地清除自由基^[20]。结果表明, CAT 活性呈现出先增大后减小的趋势。20 °C 组及对照组的 SOD 活性显著高于 2 °C 组 ($p < 0.05$)。当贮藏温度为 20 °C 时, 贮藏初期 (0~4 d), SOD 活性缓慢增大, 至 4 d 时达到峰值, 为 63.40 U/mg, 随后开始迅速下降, 至 12 d 时达到 33.00 U/mg, 相比于 4 d 下降了 47.95%。当贮藏温度为 2 °C 时, CAT 活性的变化与 SOD 活性变化相类似。低温胁迫致使 CAT 无法正常发挥清除活性氧自由基的功能。这与高元惠^[20]等测定西葫芦果实 CAT 活性变化的结论相一致。

不同贮藏温度下茄子果实脂氧合酶 (LOX) 活性的变化如图 2d 所示。LOX 是膜脂过氧化反应的关键酶^[21]。结果表明, LOX 活性随着贮藏时间的延长而不断升高, 与贮藏时间呈显著正相关 ($p < 0.05$)。2 °C 组 LOX 活性显著高于 20 °C 组及对照组 ($p < 0.05$)。当贮藏温度为 2 °C 时, LOX 活性由 0 d 时的 8.00 U/mg 增长到 12 d 时的 27.00 U/mg, 增长幅度高达 70.37%。这说明 LOX 活性上升, 造成膜脂过氧化程度的加剧, 细胞发生不可逆的伤害。这与刘璐^[21]等对于低温贮藏桃果实 LOX 活性升高加速膜脂过氧化反应的结果相类似。

不同贮藏温度下茄子果实抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性、谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性的变化如图 2e 和图 2f 所示。APX 在植物体内直接参与清除活性氧自由基的反应, 使抗坏血酸与 H_2O_2 发生氧化还原反应, 被认为是分解 H_2O_2 最为有效的酶类之一^[22]。结果表明, APX 活性和 GR 活性都随着贮藏时间的延长呈现先增大后减小的趋势, 两者的变化趋势相似。当贮藏温度为 2 °C 时, 贮藏初期 (0~4 d), APX 活性逐渐增大, 至 4 d 时达到峰值, 为 21.20 U/mg, 相比于 0 d 时提高了 52.83%, GR 活性也逐渐增大, 至 4 d 时达到峰值, 为 18.20 U/mg, 相比于 0 d 时提高了 45.05%, 随后都开始迅速下降。在整个贮藏期间, 20 °C 组及对照组的 APX 和 GR 活性显著高于 2 °C 组 ($p < 0.05$), 这说明 APX 和 GR 活性在低温逆境胁迫下受到了明显的抑制。这与王洪涛^[22]等的对于采后辣椒 APX 和 GR 活性的试验结论十分接近。

2.4 不同贮藏温度下茄子果实果胶甲酯酶

(PE) 活性及多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性的

变化

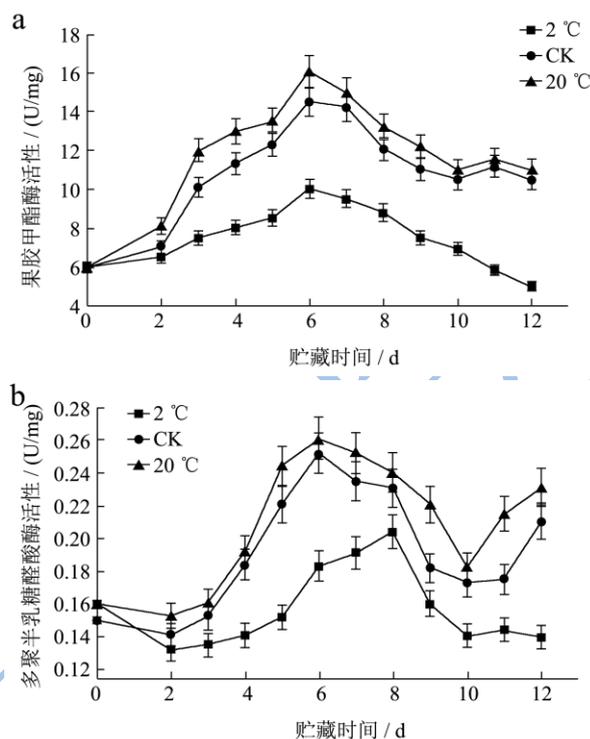


图3 不同贮藏温度下茄子果实 PE (a) 和 PG (b) 活性的变化

Fig.3 Change in PE (a) and PG (b) activities in eggplant fruits stored at different temperatures

不同贮藏温度下茄子果实果胶甲酯酶活性的变化如图 3a 所示。采后果蔬在成熟衰老过程中, PE 和 PG 等细胞壁降解酶活性的增强, 使果实硬度下降, 质地发生软化^[23]。结果表明, 贮藏初期 (0~6 d), PE 活性上升较快, 随着贮藏时间的延长, PE 活性开始下降 (6~10 d), 到了贮藏末期 (10~12 d), PE 活性下降趋势最终趋于稳定。在整个贮藏期间, 2 °C 组、20 °C 组及对照组的 PE 活性不断上升, 至 6 d 时达到峰值, 分别为 10.05 U/mg、14.54 U/mg 及 16.10 U/mg, 相比于 0 d 时的 6.00 U/mg, 增长幅度分别为 40.30%、58.73% 及 62.73%, 此后 PE 活性开始下降, 至 12 d 时, 分别为 5.00 U/mg、10.51 U/mg 及 11.02 U/mg。20 °C 及对照组的 PE 活性始终高于 2 °C 组。这与 Khademi^[23]等发现柿子软化过程中 PE 活性先升后降的研究结论一致。

不同贮藏温度下茄子多聚半乳糖醛酸酶活性的变化如图 3b 所示。多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 在细胞壁降解过程中为重要的酶类之一, 也是导致果实硬度下降的关键酶^[24]。结果表明, 在整个贮藏期间, PG 活性经历了先上升后下降再上升的过程, 总体呈现上升的趋势, PG 活性的变化与硬度呈显著负相关 ($p < 0.05$)。20 °C 组茄子果实 PG 活性在贮藏前 6 d 缓

慢上升, 至 6 d 时到达峰值 0.261 U/mg, 随后开始下降, 至 10 d 时, 下降到 0.182 U/mg, 接着 PG 活性又再次上升, 最后达到 0.231 U/mg。2 °C 组茄子果实 PG 活性始终处于较低的水平, 这与周任佳^[15]等人对于鲜切哈密瓜 PG 活性的研究结果相符。20 °C 组及对照组的 PE 和 PG 活性显著高于 2 °C 组 ($p < 0.05$)。PE 活性与 PG 活性相比, PG 活性的下降速度和幅度总是大于 PE 活性下降的速度和幅度。这说明低温贮藏抑制了 PE、PG 活性的上升, 延缓茄子果实硬度的下降, 使细胞壁尽可能保持完整状态。

2.5 不同贮藏温度下茄子果实原果胶含量及水溶性果胶含量的变化

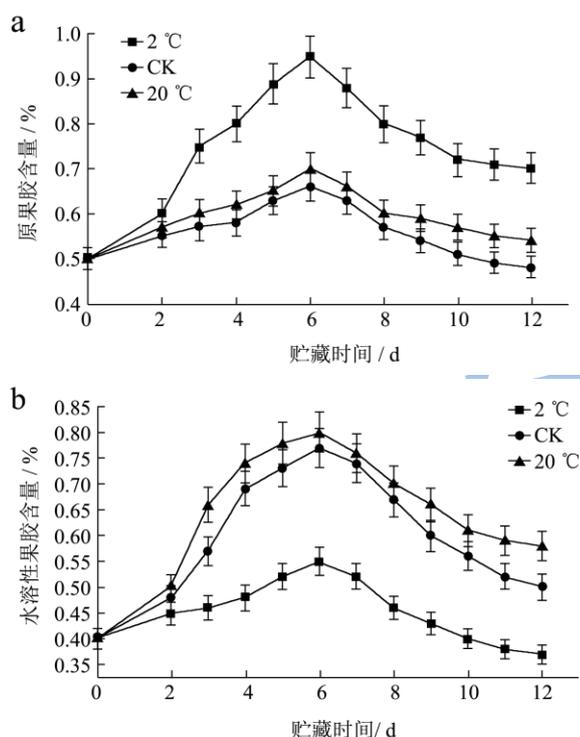


图 4 不同贮藏温度下茄子原果胶含量 (a) 和水溶性果胶含量 (b) 的变化

Fig.4 Change in the protopectin content (a) and water soluble pectin content (b) of eggplant fruits stored at different temperatures

不同贮藏温度下茄子果实原果胶含量和水溶性果胶含量的变化如图 4a 和图 4b 所示。果胶质是构成细胞壁的主要物质。果实在成熟前, 其内部的果胶质大多为不溶于水的原果胶, 果实在成熟过程中, 原果胶在 PE 的作用下, 逐步降解为水溶性果胶^[25]。如前所述, 低温抑制了 PE 和 PG 的活性, 降低了原果胶转化为水溶性果胶的速率, 使细胞壁内果胶降解过程受到阻碍。因此, 2 °C 组茄子果实的原果胶含量显著高

于 20 °C 组及对照组 ($p < 0.05$), 原果胶含量的变化与硬度的变化相一致, 呈显著正相关性 ($p < 0.05$)。同样, 2 °C 组茄子果实的水溶性果胶含量显著低于 20 °C 组及对照组 ($p < 0.05$)。当贮藏温度为 20 °C 时, 原果胶源源不断的向水溶性果胶转化, 这可能与保持较高的 PE 和 PG 活性有关^[26]。其中 2 °C 组和 20 °C 组之间差异达到显著水平 ($p < 0.05$), 20 °C 组和对照组之间差异不明显。当原果胶向水溶性果胶发生转化时, 细胞壁内的中胶层和初生壁结构发生松散, 果肉硬度下降^[8]。因此, 果实硬度变化与果胶质的降解程度密切相关。

2.6 不同贮藏温度下茄子果实纤维素酶 (CX) 活性及纤维素含量的变化

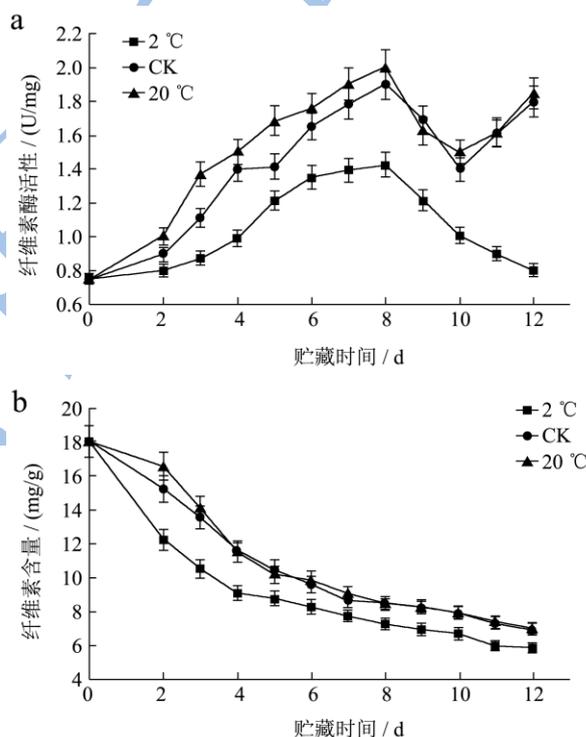


图 5 不同贮藏温度下茄子纤维素酶活性 (a) 和纤维素含量 (b) 的变化

Fig.5 Change in cellulase activity (a) and cellulose content (b) of eggplant fruits stored at different temperatures

不同贮藏温度下茄子果实纤维素酶 (CX) 活性的变化如图 5a 所示。纤维素酶在果实后熟过程中参与了纤维素的降解, 是果实软化的关键酶^[27]。结果表明, 在整个贮藏期间, CX 活性经历了先上升后下降再上升的过程。贮藏前期 (0~8 d), CX 活性呈现上升的趋势, 8 d 时达到峰值, 贮藏中期 (8~10 d), CX 活性开始下降, 贮藏末期 (10~12 d), 20 °C 组及对照组茄子果实的 CX 活性再次缓慢上升, 20 °C 时 CX 活性由

10 d 时的 1.500 U/mg 增长到 12 d 时的 1.850 U/mg, 增长幅度为 18.92%, 而 2 °C 时 CX 活性则开始不断下降, 由 10 d 时的 1.008 U/mg 减小到 12 d 时的 0.800 U/mg, 下降幅度为 20.63%, 最终趋于稳定。这与 Fruk^[27] 对于油桃果实采后软化过程中 CX 活性的变化结果相似。20 °C 组及对照组的 CX 活性显著高于 2 °C 组 ($p < 0.05$)。与 PE、PG 活性相类似, 低温同样抑制了纤维素酶的活性, 2 °C 组茄子果实 CX 活性一直保持在较低的状态, 较好的维持了果实细胞壁的完整性。

不同贮藏温度下茄子果实纤维素含量的变化如图 5b 所示。结果表明, 在整个贮藏期间, 茄子果实纤维素含量总体呈现下降的趋势, 与贮藏时间呈显著负相关 ($p < 0.05$)。贮藏至 8 d 时, 2 °C 组、20 °C 组及对照组茄子果实纤维素含量分别为 7.30 mg/g、8.53 mg/g 及 8.51 mg/g, 相比于 0 d 时的 18.00 mg/g, 分别降低了 59.44%、52.61% 及 52.72%。这与 Aghdam^[28] 等研究采后果蔬细胞壁降解过程中纤维素含量不断下降的结论相符。20 °C 组及对照组的纤维素含量显著高于 2 °C 组 ($p < 0.05$), 这说明温度越高, 细胞壁降解的程度越大。如前所述, 果实在成熟过程中, 纤维素酶活性的提高, 使纤维素不断降解, 而低温却恰恰抑制了纤维素酶活性的上升, 并将纤维素含量的变化维持在一个较低的水平, 不至于被纤维素酶过度降解, 以达到保持细胞壁结构完整的目的。

2.7 不同贮藏温度下茄子果实苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性及木质素含量的变化

不同贮藏温度下茄子果实苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性的变化如图 6a 所示。苯丙氨酸解氨酶是苯丙烷类代谢的关键酶和限速酶, 而苯丙烷类代谢的最终产物为木质素, 木质素含量的积累会直接导致果实木质化现象的发生, 影响果实硬度^[29]。结果表明, 在整个贮藏期间, 茄子果实的 PAL 活性随着贮藏时间的延长而增加, 与贮藏时间呈显著正相关 ($p < 0.05$)。当贮藏温度为 2 °C 时, 茄子果实 PAL 活性由 0 d 时的 1.10 U/mg 增长到 8 d 时的 2.25 U/mg, 增长幅度高达 51.11%, 超过 50%, 而当贮藏温度为 20 °C 时, PAL 活性由 0 d 时的 1.10 U/mg 增长到了 8 d 时 1.56 U/mg, 增长幅度仅为 29.49%, 还不到 30%, 差异明显。Chidtragool^[29] 等发现, 低温可以诱导芒果果实 PAL 活性的增加, 进而导致木质化现象的发生。

不同贮藏温度下茄子果实木质素含量的变化如图 b 所示。结果表明, 由于 PAL 是木质素合成的关键酶。因此, 茄子果实的木质素含量同样随着贮藏时间

的延长而增加, 与贮藏时间呈显著正相关 ($p < 0.05$), 这与 PAL 活性的变化趋势相一致。贮藏前期 (0~4 d), 木质素含量无明显变化, 至 4 d 时, 木质素含量仅仅增长了 40%, 但到了贮藏末期 (6~12 d), 当贮藏温度为 2 °C 时, 至 12 d 时, 木质素含量达到 1.84%, 增长幅度达到 67.39%, 木质素含量增长速度快并且增长幅度大, 木质素含量的增加显然与 PAL 活性的提高有关。2 °C 组 PAL 活性和木质素含量显著高于 20 °C 组及对照组 ($p < 0.05$)。这与 Xu^[30] 等对于枇杷果实在低温贮藏下木质素含量提高的结论相一致。

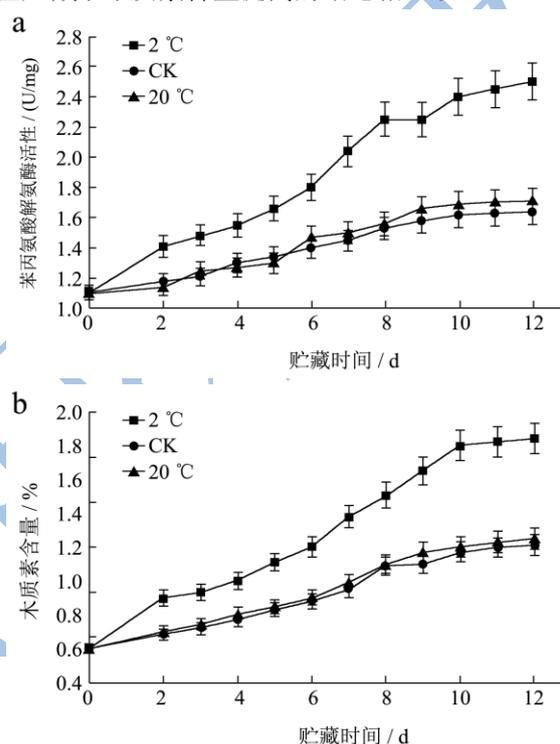


图 6 不同贮藏温度下 PAL 活性 (a) 和木质素含量 (b) 的变化
Fig.6 Changes in PAL activity (a) and lignin content (b) of eggplant fruits stored at different temperatures

3 结论

3.1 硬度是衡量果蔬贮藏品质的重要指标, 其下降速度和幅度与贮藏时间 (0 d、2 d、4 d、6 d、8 d、10 d、12 d) 及温度 (2 °C、12 °C、20 °C) 密切相关。果实在成熟过程中, PE、PG 和 CX 等细胞降解酶活性增强, 引起果胶质、纤维素等细胞壁物质发生降解, 从而导致硬度下降。先前学者研究发现, 低温胁迫与硬度有显著的相关性, 但是不同品种间的差异明显, 如黄瓜果实随着低温胁迫程度的加剧, 果实硬度不断下降^[31]。本研究结果表明, 当贮藏温度为 2 °C 时, 贮藏初期, 茄子果实的硬度下降缓慢, 到了贮藏末期, 硬度逐渐上升。贮藏仅 6 d 后茄子果实就出现了典型的木质化症状, 如果肉生硬、粗糙汁少等, 严重影响果实贮

藏品质。

3.2 本研究结果表明,当茄子果实遭受低温逆境胁迫时,随着贮藏时间的延长,胁迫程度加剧,果实组织细胞内 SOD、POD、CAT、APX、GR 等抗氧化酶活性不断降低,清除活性氧自由基的能力较弱, O_2 产生速率增加, H_2O_2 含量提高, LOX 活性上升,加速膜脂过氧化反应,最终导致细胞受到不可逆的损伤,果实发生冷害。因此,采后果蔬冷害的发生与活性氧代谢异常以及膜脂过氧化程度密切相关。而贮藏后期酶活性快速下降,这可能与低温贮藏导致蛋白质合成效率降低有关^[32]。20 °C 组及对照组的 SOD、POD、CAT、APX、GR 活性显著高于 2 °C 组 ($p<0.05$),而 O_2 产生速率、 H_2O_2 含量、LOX 活性显著低于 2 °C 组 ($p<0.05$),20 °C 组及对照组之间差异不明显。

3.3 果实细胞壁结构变化主要受到果胶甲酯酶、多聚半乳糖醛酸酶等细胞壁降解酶的影响。PE 的作用主要是果胶去甲酯化,促进果胶酯酸进一步转化为果胶酸,导致细胞分离,同时生成低甲氧基果胶和果胶酸。低温贮藏下,PE 活性增加,果胶不能正常降解,造成低甲氧基果胶的积累。这种低甲氧基果胶很容易与 Ca^{+} 结合而形成凝胶,进而导致果实絮败的产生。PG 的作用机理是通过随机水解果胶分子多聚半乳糖醛酸链,生成半乳糖醛酸和低聚半乳糖醛酸,使细胞壁解体^[8]。本研究结论表明,在整个贮藏期间,2 °C 组、20 °C 组及对照组的 PE、PG 活性在贮藏初期缓慢上升,至 6 d 时达到峰值,此后 PE 活性开始下降,2 °C 组的 PE、PG 活性始终维持在较低的水平,20 °C 及对照组的 PE、PG 活性始终高于 2 °C 组。这说明低温贮藏抑制了 PE、PG 活性上升,延缓茄子果实硬度的下降,使细胞壁尽可能保持完整。相关性分析表明,茄子果实 PE、PG 活性与硬度有显著的负相关性 ($p<0.05$)。

3.4 果胶质是细胞壁中胶层和初生壁的主要成分。果实在成熟衰老过程中,果胶质在 PE 和 PG 的作用下发生降解,原果胶含量下降,水溶性果胶含量上升,细胞壁组分大量降解会造成细胞壁结构被破坏,中胶层部分溶解,细胞间相互作用力变小,引起硬度下降、果实软化^[25-26]。低温抑制了 PE 和 PG 的活性,降低了原果胶转化为水溶性果胶的速率,使细胞壁内果胶降解过程受到阻碍。本研究结论表明,2 °C 组茄子果实的原果胶含量显著高于 20 °C 组及对照组 ($p<0.05$),同样,2 °C 组茄子果实的水溶性果胶含量显著低于 20 °C 组及对照组。相关性分析表明,PE、PG 活性与原果胶含量有显著负相关性,而与水溶性果胶含量有显著的正相关性 ($p<0.05$)。此外,原果胶含量的变化与硬度的变化相一致,呈显著正相关性 ($p<0.05$)。果

实细胞壁结构的变化与细胞壁物质的降解程度密切相关。

3.5 纤维素是细胞壁的骨架,细胞壁结构的变化不仅与果胶质的降解有关,也与纤维素酶活性的改变有关。茄子果实在成熟过程中,纤维素酶活性的提高,使纤维素不断降解,引起细胞壁结构发生变化。本研究结论表明,当贮藏温度为 2 °C 时,纤维素酶活性先升后降,这说明低温在一定程度上降低了纤维素酶活性,有利于维持细胞壁结构的完整。相关性分析表明,茄子果实纤维素酶活性、纤维素含量与硬度有显著的负相关性 ($p<0.05$),这表明纤维素酶在茄子果实后熟软化过程中降解纤维素起到关键作用。

3.6 果实质地主要受到果胶质、纤维素等细胞壁物质的影响,它是评价果实贮藏品质的重要指标。苯丙氨酸解氨酶是木质素合成的关键酶。本研究结论表明,在整个贮藏期间,茄子果实 PAL 活性、木质素含量随着贮藏时间的延长而增加,与贮藏时间呈显著正相关 ($p<0.05$),同时,木质素含量与 PAL 活性之间又有显著的正相关性 ($p<0.05$)。当贮藏温度为 2 °C 时, PAL 活性上升,木质素含量提高,果实变得生硬,口感粗糙变差。而当贮藏温度为 20 °C 时, PAL 活性增长缓慢,木质素含量始终维持在一个较低的水平,果实并没有发生明显的木质化败坏。虽然茄子果实在 20 °C 下贮藏没有发生明显的木质化败坏,但是由于较高的贮藏温度,导致果实腐烂迅速,同时伴随着旺盛的呼吸作用,果实极易丧失其原有的风味,严重影响其商品价值。因此,茄子果实适宜的采后贮藏期应控制在 12 天内。

参考文献

- [1] 袁蒙蒙,高丽朴,王清,等.壳聚糖涂膜处理对西葫芦冷害的影响[J].河南农业科学,2012,41(10):114-117
YUAN Meng-meng, GAO Li-pu, WANG Qing, et al. Effect of chitosan coating on chilling injury in summer squash [J]. Journal of Henan Agricultural Science, 2012, 41(10): 114-117
- [2] Zhao Y, Chen J, Tao X, et al. The possible role of BAX and BI-1 genes in chilling-induced cell death in cucumber fruit [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36(6): 1345-1351
- [3] Guan N, Blomsma S A, Fahy G M, et al. Analysis of gene expression changes to elucidate the mechanism of chilling injury in precision-cut liver slices [J]. Toxicology in Vitro, 2013, 27(2): 890-899
- [4] 许英,陈建华,朱爱国,等.低温胁迫下植物响应机理的研究进展[J].中国麻业科学,2015,37(1):40-49
XU Ying, CHEN Jian-hua, ZHU Ai-guo, et al. Research

- progress on response mechanism of plant under low temperature stress [J]. *Plant Fiber Sciences in China*, 2015, 37(1):40-49
- [5] Yang Z, Cao S, Zheng Y, et al. Combined salicylic acid and ultrasound treatments for reducing the chilling injury on peach fruit [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(5): 1209-1212
- [6] Nukuntornprakit O, Chanjirakul K, van Doorn W G, et al. Chilling injury in pineapple fruit: Fatty acid composition and antioxidant metabolism [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2015, 99: 20-26
- [7] 李海杰,葛永红,董柏余,等.三种贮藏低温对厚皮甜瓜果实活性氧产生和清除的比较[J].*食品工业科技*,2015, 36(5): 325-328+342
- LI Hai-jie, GE Yong-hong, DONG Bo-yu, et al. A comparison of reactive oxygen species production and scavenging in muskmelon fruits during storage under three low temperatures [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(5): 325-328+342
- [8] 赵云峰,林瑜,林河通,等.热处理对冷藏茄子果实细胞壁代谢的影响[J].*扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2012, 33(4): 97-102
- ZHAO Yun-feng, LIN Yu, LIN Tong-he, et al. Effects of heat treatment on cell wall metabolism in cold-stored eggplant fruits [J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2012, 33(4): 97-102
- [9] 芮怀瑾,汪开拓,尚海涛,等.热处理对冷藏枇杷木质化及相关酶活性的影响[J].*农业工程学报*,2009,25(7): 294-298
- RUI Huai-jin, WANG Kai-tuo, SHANG Hai-tao, et al. Effects of heat treatment on flesh leatheriness and related enzyme activities of loquat fruits during cold storage[J]. *Transactions of the CSAE*, 2009, 25(7): 294-298. (in Chinese with English abstract)
- [10] 汤元睿,谢晶,李念文,等.不同冷链物流过程对金枪鱼品质及组织形态的影响[J].*农业工程学报*, 2014, 30(5): 285-292.
- TANG Yuan-wei, XIE Jing, LI Nian-wen, et al. Effects of different cold chain logistics situation on quality and microstructure of tuna (*Thunnus obesus*) fillets [J]. *Transactions of the CSAE*, 2014, 30(5): 285-292
- [11] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].中国轻工业出版社,2011
- CAO Jian-kang, JIANG Wei-bo, ZHAO Yu-mei. *Experiment guidance of postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables* [M]. China Light Industry Press, 2011
- [12] Ma Q, Suo J, Huber D J, et al. Effect of hot water treatments on chilling injury and expression of a new C-repeat binding factor (CBF) in 'Hongyang' kiwifruit during low temperature storage [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2014, 97: 102-110
- [13] Zaharah S S, Singh Z. Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored 'Kensington Pride' mango [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 60(3): 202-210
- [14] 宋秀香,鲁晓翔,陈绍慧,等.不同变温方式对绿芦笋贮藏品质的影响[J].*食品与发酵工业*,2012,38(9):174-178
- SONG Xiu-xiang, LU Xiao-xiang, CHEN Shao-hui, et al. Effect of different variable temperature ways on storage quality of green *Asparagus* [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2012, 38(9): 174-178
- [15] 周任佳,乔勇进,王海宏,等.不同保鲜膜包装对鲜切哈密瓜品质的影响[J].*华东师范大学学报(自然科学版)*,2012, 6: 131-138
- ZHOU Ren-jia, QIAO Yong-jin, WANG Hai-hong, et al. Effect of different preservative film package on the quality of fresh-cut Hami melon [J]. *Journal of East China Normal University (Natural Science)*, 2012, 6: 131-138
- [16] 王云飞,毕阳,任亚琳,等.硅酸钠处理对厚皮甜瓜果实采后病害的控制及活性氧代谢的作用[J].*中国农业科学*, 2012, 45(11): 2242-2248
- WANG Yun-fei, BI Yang, REN Ya-lin, et al. Control of postharvest diseases and potentiation of reactive oxygen species metabolism in Muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits treated by sodium silicate [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(11): 2242-2248
- [17] 王清,杨娜,刘凤娟,等.不同温度对西葫芦果实冷害及生理变化的影响[J].*湖北农业科学*,2012,51(18):4027-4030
- WANG Qing, YANG Na, LIU Feng-juan, et al. Effects of different temperature on chilling injury and physiological changes during storage of *cucurbita pepo* [J]. *Hebei Agricultural Sciences*, 2012, 51(18): 4027-4030
- [18] 刘日林,章玉婷,潘凌洁,等.低温对不同抗冷性菜豆品种生理机制的影响[J].*浙江农业学报*,2015,27(2):189-193
- LIU Ri-lin, ZHANG Yu-ting, PAN Ling-jie, et al. Effect of low temperature stress on the physiological mechanism of kidney bean varieties with different chilling tolerance [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2015, 27(2): 189-193
- [19] 蔡欢,朱帅,宁宇,等.缺钼对黄瓜幼苗耐冷性的影响及其与抗氧化系统的关系[J].*中国蔬菜*,2015,4: 30-35
- CAI Huan, ZHU Shuai, NING Yu, et al. Effects of Molybdenum deficiency on cold resistance and its

- relationship with antioxidant system in cucumber seedlings[J]. China Vegetables, 2015, 4: 30-35
- [20] 高元惠,刘凤娟,高丽朴,等.1-MCP 处理对西葫芦采后生理及品质的影响[J].食品科技,2012,37(6):44-47
GAO Yuan-hui, LIU Feng-juan, GAO Li-pu, et al. Effect of 1-MCP on post-harvest physiology and quality of summer squash [J]. Food Science and Technology, 2012, 37(6): 44-47
- [21] 刘璐,鲁晓翔,陈绍慧,等.低温驯化对冰温贮藏樱桃品质的影响[J].食品工业科技,2015, 36(5): 301-305
LIU Lu, LU Xiao-xiang, CHEN Shao-hui, et al. Effect of cold acclimation combined with ice-temperature storage on the quality of cherry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(5): 301-305
- [22] 王洪涛,艾希珍,郑楠,等.嫁接对低温弱光下辣椒幼苗膜脂过氧化及抗氧化酶活性的影响[J].应用生态学报,2010, 21(5): 1289-1294
WANG Hong-tao, AI Xi-zhen, ZHENG Nan, et al. Effects of graft on lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities of *Capsicum annuum* seedlings under low temperature and weak light intensity [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21(5): 1289-1294
- [23] Khademi O, Besada C, Mostofi Y, et al. Changes in pectin methylesterase, polygalacturonase, catalase and peroxidase activities associated with alleviation of chilling injury in persimmon by hot water and 1-MCP treatments [J]. Scientia Horticulturae, 2014, 179: 191-197.
- [24] Busatto N, Rahim M A, Trainotti L. Peach ripening transcriptomics unveils new and unexpected targets for the improvement of drupe quality [J]. From Plant Genomics to Plant Biotechnology, 2013: 165
- [25] Jin P, Duan Y, Wang L, et al. Reducing chilling injury of loquat fruit by combined treatment with hot air and methyl jasmonate [J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7(8): 2259-2266
- [26] Holland N, Nunes F L, de Medeiros I U D, et al. High - temperature conditioning induces chilling tolerance in mandarin fruit: a cell wall approach [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 92(15): 3039-3045
- [27] Fruk G, Cmelik Z, Jemric T, et al. Pectin role in woolliness development in peaches and nectarines: A review [J]. Scientia Horticulturae, 2014, 180: 1-5
- [28] Aghdam M S. Role of alternative oxidase in postharvest stress of fruit and vegetables: Chilling injury [J]. African Journal of Biotechnology, 2013, 12(51): 7009-7016
- [29] Chidtragool S, Ketsa S, Bowen J, et al. Chilling injury in mango fruit peel: Cultivar differences are related to the activity of phenylalanine ammonia lyase [J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 62(1): 59-63
- [30] Xu Q, Yin X, Zeng J, et al. Activator-and repressor-type MYB transcription factors are involved in chilling injury induced flesh lignification in loquat via their interactions with the phenylpropanoid pathway [J]. Journal of experimental botany, 2014, 65(15): 4349-4359
- [31] 阎世江,刘洁,张继宁,等.低温对黄瓜若干生理指标的影响[J].河北科技师范学院学报,2013,27(2):12-17
YAN Shi-jiang, LIU Jie, ZHANG Ji-ning, et al. Effects of low temperature and poor light on physiological index in cucumber [J]. Journal of Hebei Normal University of Science and Technology, 2013, 27(2): 12-17
- [32] Puig C P, Dagar A, Ibanez C M, et al. Pre-symptomatic transcriptome changes during cold storage of chilling sensitive and resistant peach cultivars to elucidate chilling injury mechanisms [J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 245