

NO 熏蒸调控冷藏枸杞鲜果活性氧代谢减轻褐变

王雪¹, 李乾¹, 刘彩红¹, 古丽丹·塔勒达吾¹, 刘凤兰², 龙阳¹, 王静^{1*}

(1. 新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

(2. 新疆林科院经济林研究所, 新疆乌鲁木齐 830063)

摘要: 为探明 NO 熏蒸降低冷藏枸杞鲜果活性氧代谢减轻褐变, 以“宁杞七号”枸杞鲜果为试验材料, 采用 300 $\mu\text{L/L}$ (0 $\mu\text{L/L}$ NO 为对照) 的 NO 气体对“宁杞七号”熏蒸处理 3 h, 贮藏于 3 ± 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 条件。结果表明: NO 熏蒸处理能显著抑制枸杞鲜果褐变度的上升 ($p<0.05$)。在贮藏末期, NO 熏蒸处理组枸杞鲜果还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量、过氧化物酶 (POD) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 活力分别较对照组高 32.65%、0.03%、0.21%; 氧化型谷胱甘肽 (GSSG)、过氧化氢 (H_2O_2) 含量、超氧阴离子 (O_2^-) 生成速率及过氧化物酶 (CAT) 活力分别较对照组低 18.97%、28.21%、42.99%、0.08%; 与贮藏第 0 d 相比, 对照组抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活力上升 5.33%, 处理组下降 29.39%, 对照组谷胱甘肽还原酶 (GR) 活力下降 31.52%, 处理组上升 1.22%。且在整个贮藏过程中, NO 处理组枸杞鲜果中还原型抗坏血酸 (ASA) 含量及 GSH/GSSG 值均显著高于对照组 ($p<0.05$)。综合以上结果说明, 300 $\mu\text{L/L}$ NO 熏蒸处理加快了活性氧自由基清除速率, 维持细胞膜的完整性, 从而延缓了枸杞鲜果的褐变进程。

关键词: 一氧化氮 (NO) 熏蒸; 枸杞鲜果; 褐变; 活性氧代谢

文章编号: 1673-9078(2022)08-183-192

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.8.1024

NO Fumigation Regulates Active Oxygen Metabolism and Mitigates

Browning in Fresh *Lycium barbarum* Fruit during Cold Storage

WANG Xue¹, LI Qian¹, LIU Caihong¹, GULIDAN·Taledawu¹, LIU Fenglan², LONG Yang¹, WANG Jing^{1*}

(1. College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

(2. Institute of Economic Forestry, Xinjiang Academy of Forestry Science, Urumqi 830063, China)

Abstract: In order to explore the effect of NO fumigation on the reduction of active oxygen metabolism and browning during cold storage of fresh *Lycium barbarum* fruits, “Ningqi No.7” *Lycium barbarum* fruits were used as the experimental materials, and fumigation of “Ningqi No.7” was conducted using 300 $\mu\text{L/L}$ NO (0 $\mu\text{L/L}$ as the control) for 3 h followed by storage at 3 ± 0.5 $^{\circ}\text{C}$. The results showed that: NO fumigation treatment could significantly inhibit the increase in browning degree of fresh *Lycium barbarum* fruits ($p<0.05$). At the end of storage, the NO treated fruits had higher glutathione (GSH) content, peroxidase (POD) activity and superoxide dismutase (SOD) activity (increased by 32.65%, 0.03% and 0.21% respectively), and lower L-glutathione oxidized (GSSG) content, hydrogen peroxide (H_2O_2) content, superoxide anion (O_2^-) formation rate and catalase (CAT) activity (decreased by 18.97%, 28.21%, 42.99% and 0.08%, respectively), compared with the control group. Compared with day 0 of the storage, the activity of ascorbate peroxidase (APX) increased by 5.33% in the control group but decreased by 29.39% in the treatment group, whereas, the activity of glutathione reductase (GR) decreased by 31.52% in the control group but increased by 1.22% in the treatment group. Throughout the storage, the ascorbic acid (ASA) content and GSH/GSSG ratio were significantly ($p<0.05$) higher for the fruits treated with NO than for the control group. The above results showed that the 300 $\mu\text{L/L}$ NO fumigation accelerated the scavenging rate of active oxygen species and maintained the integrity of cell membranes, thereby delaying the browning of fresh *Lycium barbarum* fruit.

引文格式:

王雪,李乾,刘彩红,等.NO 熏蒸调控冷藏枸杞鲜果活性氧代谢减轻褐变[J].现代食品科技,2022,38(8):183-192

WANG Xue, LI Qian, LIU Caihong, et al. NO fumigation regulates active oxygen metabolism and mitigates browning in fresh *Lycium barbarum* fruit during cold storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(8): 183-192

收稿日期: 2021-09-13

基金项目: 新疆自治区林业改革与发展补助资金项目 (XJLG201903)

作者简介: 王雪 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬贮藏及物流工程, E-mail: 1791814140@qq.com

通讯作者: 王静 (1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 果蔬采后保鲜加工, E-mail: wxj770903@163.com

Key words: nitric oxide fumigation; *Lycium barbarum*; browning; active oxygen metabolism

枸杞 (*Lycium barbarum* L.) 是茄科枸杞属植物, 主要分布在宁夏、新疆、内蒙古等地。目前, 新疆已成为我国枸杞重点主产区^[1]。枸杞具有降血糖、抗衰老、增强免疫力和保护细胞等作用, 是药食两用的进补佳品^[2,3]。当前干制枸杞在市场上占主要地位, 但是近几年随着大众对不同口味的需求, 加之精河枸杞鲜果色泽饱满、甘甜味美、营养丰富越来越受消费者青睐。然而精河县“宁杞七号”枸杞鲜果属于呼吸跃变型浆果^[4], 在贮藏、运输及销售过程中, 易出现褐变反应和软化的现象导致果实营养成分降低, 甚至完全丧失商品价值, 造成巨大的经济损失^[5]。果蔬贮藏过程中的褐变反应主要是酶促褐变的底物和酶的接触反应^[6]。研究报道, 正常细胞中酚类物质与酚氧化酶成区域化分布。但是当植物细胞受到破坏, 酚类物质则作为底物与酶接触, 发生脱水缩合反应, 逐渐变成黑褐色聚合物, 引起果蔬褐变^[7]。另有研究报道, 活性氧代谢失调、自由基积累, 导致植物细胞膜脂过氧化, 增加有关酶类与酚类底物的接触, 从而加速果实褐变^[8-10]。有研究表明, 冰温贮藏结合塑料盒包装可以抑制“宁杞1号”枸杞鲜果呼吸速率, 提高贮藏品质^[11]; 马丽敏^[12]发现采用酸性氧化电位水清洗、真空预冷并结合气调包装的方式可有效保持枸杞鲜果较高的商品价值, 延长货架期; 赵建华等^[13]采用不同贮藏温度对“宁杞3号”枸杞鲜果进行研究, 发现4±1℃贮藏通过维持枸杞活性氧代谢平衡达到延缓果实褐变的目的。但是采用NO对枸杞采后熏蒸延长其保鲜期的研究尚不多见。

有研究报道, 外源NO熏蒸可以提高果蔬的抗氧化能力, 延缓果蔬褐变^[14]。降低采后龙眼果皮^[15]、竹笋^[16]、鲜切桃片^[17]和鲜切板栗仁^[18]的褐变度, 提高贮藏品质。另有研究表明, 徐福乐等^[19]采用外源NO熏蒸番茄, 通过降低H₂O₂含量和O₂^{·-}生成速率, 提高SOD和CAT等相关活性氧代谢酶活力来减轻膜脂过氧化, 延缓褐变进程; 张政等^[20]选用木纳格葡萄为试验材料, 使用外源NO间歇熏蒸, 提高贮藏过程中SOD、APX、CAT及POD活力, 抑制H₂O₂和O₂^{·-}生成, 维持活性氧代谢平衡, 延缓果实衰老褐变; 刘立芹^[21]使用外源NO熏蒸鸭梨, 减缓鸭梨果心褐变发生。但以枸杞鲜果为试材, 采用外源NO气体熏蒸抑制枸杞鲜果褐变尚不多见。

李乾等^[22]采用0、200、300 μL/L和400 μL/L的NO气体对“宁杞七号”熏蒸处理, 发现300 μL/L的NO熏蒸处理对冷藏枸杞鲜果贮藏品质的保持效果更佳。

因此本试验选用产自新疆博乐市的“宁杞七号”枸杞鲜果为试材, 采用300 μL/L的外源NO气体熏蒸枸杞, 探究经NO熏蒸后枸杞鲜果褐变和活性氧代谢的变化, 以期外源NO熏蒸在枸杞鲜果保鲜方面的应用提供理论参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

“宁杞七号”枸杞鲜果产自新疆维吾尔自治区博乐市精河县托里乡, 于2019年7月3日进行人工采摘, 采摘时保留果柄和萼片。在当地3±0.5℃冷库中预冷24 h后运送至新疆农业大学3±0.5℃冷库, 挑选出无腐烂、发霉和遭受机械损伤的果实。将样品均分为2组, 分别用0、300 μL/L NO气体(浓度为99.99%)熏蒸枸杞3 h, 熏蒸后的鲜果装入带孔黄色塑料框中, 每框枸杞约2 kg, 体积不超过框体三分之一, 置于3±0.5℃低温冷库贮藏, 每6 d取一次样, 共取样7次。

聚乙烯吡咯烷酮、曲拉通X-100、盐酸羟胺、对氨基苯磺酸、丙酮、浓硫酸、四氯化钛、盐酸、浓氨水、L-蛋氨酸、氮蓝四唑、核黄素、三氯乙酸、二硫代苯甲酸、抗坏血酸、氧化性谷胱甘肽、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、乙二胺四乙酸二钠, 均为分析纯, 天津市致远化学试剂有限公司; 愈创木酚, 分析纯, 天津市光复精细化工研究所; Solarbio(货号BC1108)试剂盒, Solarbio公司。

1.2 仪器与设备

PTT-A+200电子天平, 福州华志科学仪器有限公司; 752 N紫外可见分光光度计, 上海仪电分析仪器有限公司; D3024R冷冻离心机, 上海珂淮仪器有限公司; JEA系列电子天平, 上海浦春计量仪器有限公司; 玻璃仪器气流烘干机, 河南省予华仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 褐变度

枸杞鲜果褐变度测定参考周宏胜等^[23]的方法略作改动。将20 g果肉打浆, 从中称取1 g加预冷蒸馏水5 mL, 低温研磨匀浆, 以4000 r/min, 4℃离心15 min, 在波长410 nm处测定上清液的吸光度值A, 褐变度结果以10×A表示。以上步骤重复三次。

以下所有指标测定均先取20 g果肉打浆, 其余步骤按照相应参考文献进行测定。

1.3.2 过氧化氢含量和超氧阴离子生成速率

采用曹建康^[24]的方法测定贮藏过程中过氧化氢(H₂O₂)含量的变化。

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含量} / (\mu\text{mol} / \text{g FW}) = \frac{n \times V}{V_s \times m}$$

式中:

n——由标准曲线查得的溶液中过氧化氢物质的量, μmol;

V——样品提取液总体积, mL;

V_s——吸取样品液体积, mL;

m——样品质量, g。

采用曹建康^[24]的方法测定枸杞贮藏过程中超氧阴离子生成速率。

$$\text{超氧阴离子生成速率} / (\text{nmol} / \text{min} \cdot \text{g FW}) = \frac{n \times V \times 1000}{V_s \times t \times m}$$

式中:

n——由标准曲线查得的溶液中超氧阴离子的物质的量, μmol;

V——样品提取液总体积, mL;

V_s——吸取样品液体积, mL;

t——样品与羟胺反应的时间, min;

m——样品质量, g。

1.3.3 还原型和氧化型谷胱甘肽含量测定

还原型谷胱甘肽含量(GSH)采用曹建康^[24]的方法进行测定, 结果用 μmol/g FW 表示。

$$\text{GSH 含量} / (\mu\text{mol} / \text{g FW}) = \frac{n \times V}{V_s \times m}$$

式中:

n——由标准曲线查得的溶液中还原型 GSH 物质的量, μmol;

V——样品提取液总体积, mL;

V_s——吸取样品液体积, mL;

m——样品质量, g。

氧化型谷胱甘肽含量(GSSG)严格按照 Solarbio (货号 BC1108) 试剂盒说明书步骤测定, 单位 μg/g。

$$\text{GSSG} / (\mu\text{g} / \text{g}) = \frac{Y}{W}$$

式中:

Y——样本浓度, μg/mL;

W——样品质量, g。

1.3.4 还原型和氧化型抗坏血酸含量的测定

还原型(ASA)和氧化型抗坏血酸(DHA)含量均采用分光光度计法^[24]测定。

$$\text{抗坏血酸含量} / (\text{mg} / 100 \text{g FW}) = \frac{V \times m'}{V_s \times m \times 1000}$$

式中:

V——样品提取液总体积, mL;

m'——由标准曲线求得的抗坏血酸的质量, μg;

V_s——滴定时所用样品提取液体积, mL;

m——样品质量, g。

1.3.5 过氧化物酶、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活力测定

采用愈创木酚法^[24]测定过氧化物酶(POD)活力, 单位 U=ΔOD₄₇₀·g⁻¹·min⁻¹ FW。

$$\text{POD 活力} / U = \frac{\Delta\text{OD}_{470} \times V}{\Delta t \times V_s \times m}$$

式中:

ΔOD₄₇₀——每分钟反应混合物吸光度变化值;

V——样品提取液总体积, mL;

Δt——反应时间, min;

V_s——测定时所取样品提取液体积, mL;

m——样品质量, g。

采用曹建康^[24]的方法测定枸杞过氧化氢酶(CAT)活力。

$$\text{CAT 活力} / U = \frac{\Delta\text{OD}_{240} \times V}{0.01 \times \Delta t \times V_s \times m}$$

式中:

ΔOD₂₄₀——每分钟反应混合物吸光度变化值;

V——样品提取液总体积, mL;

Δt——反应时间, min;

V_s——测定时所取样品提取液体积, mL;

m——样品质量, g。

采用曹建康^[24]的方法测定枸杞超氧化物歧化酶(SOD)活力, 内容稍作改动。

SOD 活力测定时把日光灯下反应时间延长至 40 min, 其余步骤与曹建康测定方法相同。

$$\text{SOD 活力} / U = \frac{(\text{OD}_c - \text{OD}_s) \times V}{0.5 \times \text{OD}_c \times V_s \times t \times m}$$

式中:

OD_c——照光对照管反应混合液的吸光度值;

OD_s——样品管反应混合液的吸光度值;

V——样品提取液总体积, mL;

V_s——测定时所取样品提取液体积, mL;

t——光照反应时间, min;

m——样品质量, g。

1.3.6 抗坏血酸过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶活力测定

采用曹建康^[24]的方法测定枸杞鲜果贮藏过程中抗坏血酸过氧化物酶(APX)活力的变化。单位 U=0.01ΔOD₂₉₀·g⁻¹·min⁻¹ FW。

$$\text{APX活力} / U = \frac{\Delta\text{OD}_{290} \times V}{0.01 \times \Delta t \times V_s \times m}$$

式中:

ΔOD_{290} ——每分钟反应混合物吸光度变化值;

V——样品提取液总体积, mL;

Δt ——反应时间, min;

V_s ——测定时所取样品提取液体积, mL;

m——样品质量, g。

采用曹建康^[24]的方法测定枸杞鲜果在贮藏过程中谷胱甘肽还原酶 (GR) 活力的变化。单位 $U=0.01\Delta\text{OD}_{340} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \text{FW}$ 。

$$\text{GR活力} / U = \frac{\Delta\text{OD}_{340} \times V}{0.01 \times \Delta t \times V_s \times m}$$

式中:

ΔOD_{340} ——每分钟反应混合物吸光度变化值;

V——样品提取液总体积, mL;

Δt ——反应时间, min;

V_s ——测定时所取样品提取液体积, mL;

m——样品质量, g。

1.4 数据处理与分析

以上试验均设定 3 个重复, 所得数据使用 SPSS 19 处理并进行相关性分析, 由 Origin 2018 制图。

2 结果分析

2.1 NO 熏蒸对果实褐变症状和褐变度的影响

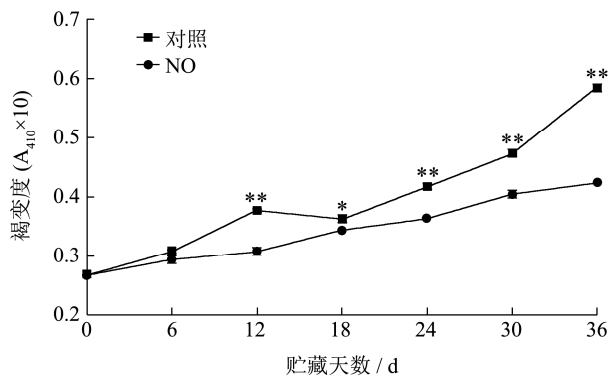


图 1 NO 熏蒸对冷藏枸杞鲜果褐变度的影响

Fig.1 Effects of NO fumigation on the browning degree of fresh *Lycium barbarum* fruits during cold storage

注: *表示两处理间差异显著 $p < 0.05$, **表示两处理间差异极显著 $p < 0.01$; 图 2-6 同。

褐变度是反映枸杞鲜果外观和品质最直观的指标。由图 1 可知, 在整个贮藏过程中, 对照组和 NO 处理组的枸杞鲜果褐变度均随贮藏时间的延长呈上升趋势。和对照组相比较, 处理组枸杞褐变度变化较为

平稳。枸杞的褐变主要表现为果面亮度降低、色泽饱满度下降、由鲜红逐渐转变成暗红色, 导致褐变度增加^[6], 在贮藏末期 (30~36 d) 对照组枸杞褐变度显著高于处理组 ($p < 0.01$), 贮藏至第 36 d, 对照组褐变度比处理组高 27.66%。经方差分析结果表明, 贮藏 6 d 时, 对照组和处理组枸杞褐变度开始出现差异, 且贮藏 6 d 后褐变速率加大, 处理组褐变度始终显著低于对照组 ($p < 0.05$), 对照组褐变速度增加较快, 这与宋康华等^[25]对鲜切粉葛褐变度研究结果相似。说明 NO 熏蒸可以显著抑制枸杞鲜果贮藏期间褐变度的上升, 且在贮藏后期降低枸杞鲜果褐变度的作用更显著。

2.2 NO 熏蒸对果实 H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 生成速率

的影响

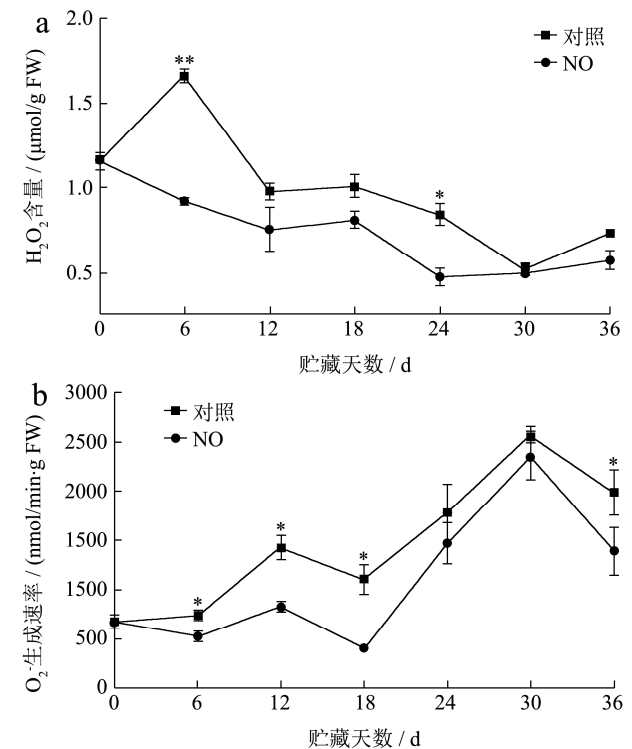


图 2 NO 熏蒸对冷藏枸杞鲜果 H₂O₂ 含量 (a) 和 O₂⁻ 生成速率 (b) 的影响

Fig.2 Effect of NO fumigation on H₂O₂ content (a) and O₂⁻ production rate (b) of fresh *Lycium barbarum* fruits during cold storage

H₂O₂ 是评价采后果蔬活性氧代谢的重要指标, H₂O₂ 含量越高, 表明活性氧代谢越旺盛^[26]。由图 2a 可以看出, 自贮藏开始至结束, 两组枸杞 H₂O₂ 含量均呈现下降趋势, 且处理组 H₂O₂ 含量始终低于对照组。贮藏第 6 d 和第 24 d 时处理组与对照组枸杞鲜果中 H₂O₂ 含量差异显著 ($p < 0.05$)。谢晶等^[26]发现硝普纳处理 (硝普纳可以产生 NO) 对荔枝中 H₂O₂ 含量有

抑制作用,从而更好地保持荔枝的品质,延长其贮藏期。本试验研究表明 NO 熏蒸处理可以抑制冷藏枸杞鲜果贮藏过程中 H₂O₂ 含量,减少活性氧的积累。

超氧阴离子是一种活性氧自由基,加速组织膜脂过氧化,促进果蔬衰老褐变。由图 2b 可以看出,贮藏 0~30 d 内两组枸杞鲜果 O₂⁻生成速率大致呈上升趋势,说明褐变加剧与活性氧的积累密切相关。除贮藏第 24 d 和 30 d 外,处理组枸杞 O₂⁻生成速率显著低于对照组 ($p < 0.05$);贮藏 30~36 d,对照组和 NO 处理组枸杞 O₂⁻生成速率出现快速下降的趋势,这可能是 SOD 歧化反应消耗更多的 O₂⁻,故而减少了枸杞果实内 O₂⁻积累;两组果实 O₂⁻产生速率整体上呈“下降-上升-再下降”的趋势,O₂⁻作为 SOD 的底物,在处理组中 O₂⁻产生速率始终低于对照组,这可能与 NO 能提升枸杞鲜果 SOD 活力有关,与谢晶等^[26]对采后荔枝 O₂⁻产生速率研究结果相似。由此表明,NO 熏蒸可以显著抑制枸杞鲜果贮藏期间 O₂⁻生成速率上升且在贮藏前期效果显著 ($p < 0.05$)。

2.3 NO 熏蒸对果实 GSH、GSSG 含量及其比值的影响

GSH 可直接清除活性氧自由基或通过 ASA-GSH 循环达到间接清除自由基的目的^[27]。由图 3a 可看出整个贮藏过程中两组枸杞中 GSH 含量整体呈现先上升后下降趋势,并且 NO 处理组枸杞 GSH 含量始终高于对照组,至贮藏结束处理组枸杞中 GSH 含量比对照组高 32.65% ($p < 0.05$)。说明 NO 可以直接参与自由基清除的过程,NO 熏蒸处理能延缓 GSH 的氧化消耗,维持 ASA-GSH 循环的稳定性与还原能力,维持枸杞鲜果的抗氧化能力。

贮藏前 24 d 两组枸杞鲜果中 GSSG 含量均呈现下降趋势(除对照组的第 18 d 外);在整个贮藏过程中对照组枸杞中 GSSG 含量均高于处理组。贮藏第 36 d,对照组枸杞 GSSG 含量比处理组高 18.97% (图 3b)。

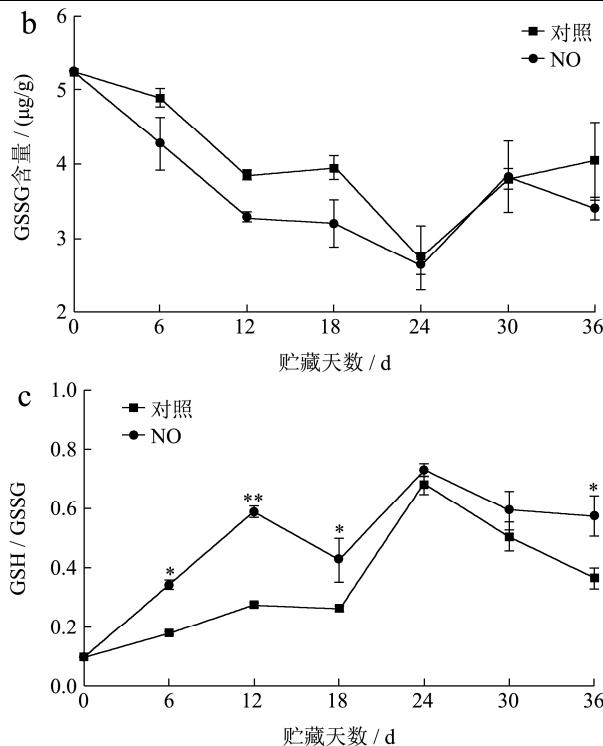
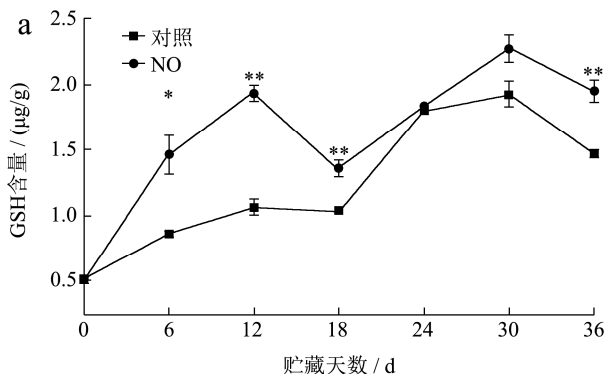


图 3 NO 熏蒸对冷藏枸杞鲜果 GSH (a)、GSSG (b) 和 GSH/GSSG (c) 的影响

Fig.3 Effect of NO fumigation on GSH (a), GSSG content (b) and GSH/GSSG ratio (c) of fresh *Lycium barbarum* fruits during cold storage

GSH/GSSG 可以反映枸杞鲜果氧化还原情况。如图 3c 所示,GSH/GSSG 变化趋势与 GSH 含量趋势相仿,呈现“升-降-升-降”的趋势,且整个贮藏期间处理组枸杞 GSH/GSSG 比值始终大于对照组,贮藏前期(6~18 d)效果显著 ($p < 0.05$)。由此表明 NO 处理可以提高 GSH 含量,维持较低水平 GSSG 含量从而提高 GSH/GSSG 比值,以此达到保护细胞膜,延缓褐变的目的。

2.4 NO 熏蒸对果实 ASA、DHA 含量及其比值的影响

ASA 和 GSH 是非酶促防御系统中的重要抗氧化剂,保障 ASA-GSH 循环系统的正常运作,加速 H₂O₂ 分解,消除 H₂O₂ 对细胞造成的伤害^[28]。如图 4a 所示,随着贮藏时间的延长,两组枸杞 ASA 含量总体呈现上升趋势且处理组 ASA 含量始终高于对照组。除贮藏第 6 d 外,NO 处理组枸杞中 ASA 含量均显著高于对照组 ($p < 0.05$)。表明外源 NO 熏蒸可以提高枸杞 ASA 含量,加快 H₂O₂ 分解速度,防止过量活性氧自由基对果实产生毒害。这与王静^[29]对哈密瓜 ASA 含量研究结果一致。由此表明,NO 处理有助于提高枸

杞贮藏期间 ASA 含量。

APX 以 ASA 为电子供体,可直接清除 H₂O₂,同时 ASA 被氧化形成 DHA,氧化过程中产生的酶可协同作用将 DHA 再生成 ASA^[30],加速 H₂O₂分解。如图 4b 所示,两组枸杞 DHA 含量均呈现“升-降-升-降”动态变化,其中处理组浮动程度较大。在整个贮藏过程中,除第 18 d 外处理组枸杞中 DHA 含量均显著高于对照组 ($p<0.05$)。

贮藏 0~12 d,处理组 ASA/DHA 比值先快速下降出现最低值后快速上升。第 18 d 时处理组枸杞 ASA/DHA 达到峰值,比对照组高 11.77%。由此表明,NO 处理提高枸杞贮藏期间 ASA 含量,保持较高的 ASA/DHA (图 4c)。

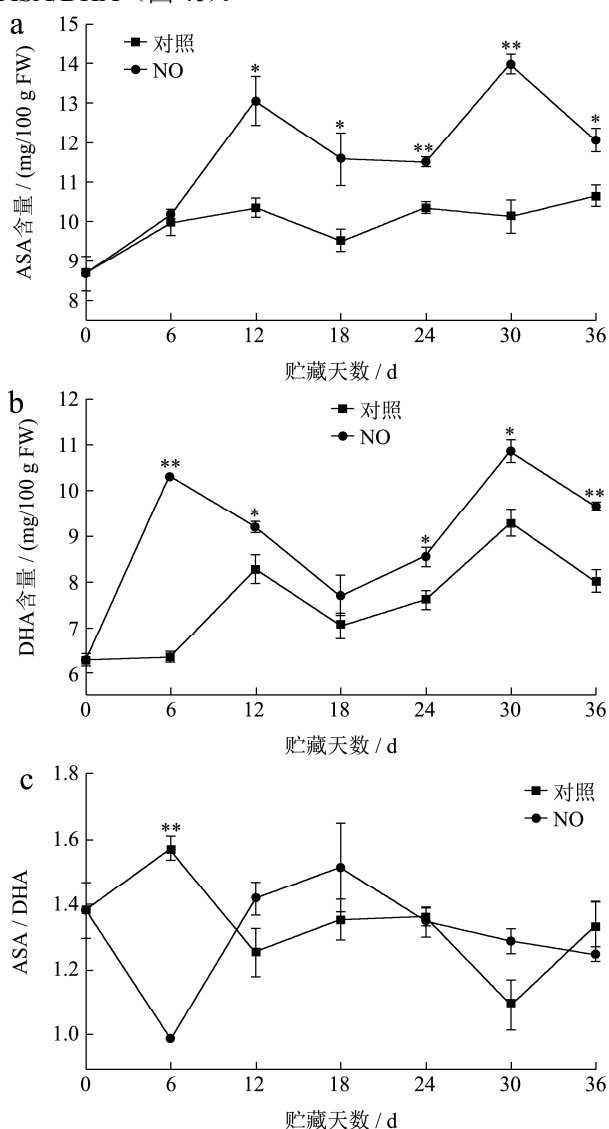


图 4 NO 熏蒸对冷藏枸杞鲜果 ASA (a)、DHA (b) 和 ASA/DHA (c) 的影响

Fig.4 Effect of NO fumigation on ASA (a), DHA content (b) and ASA/DHA ratio (c) of fresh *Lycium barbarum* fruits during cold storage

2.5 NO 熏蒸对果实 POD、CAT 和 SOD 活力的影响

SOD、POD、CAT 和 APX 是清除活性氧自由基重要的酶类^[31],可以协助 CAT 清除 H₂O₂^[30]。由图 5a 可知,处理组和对照组鲜果中 POD 活性在贮藏 0~6 d 快速下降,且贮藏第 6 d 时,处理组枸杞 POD 活力显著高于对照组 ($p<0.05$);贮藏 6~36 d,两组枸杞 POD 活力整体呈上升趋势,处理组 POD 活力始终高于对照,在贮藏 24~30 d,效果显著 ($p<0.05$)。由此表明,NO 熏蒸提高了冷藏枸杞鲜果 POD 活力,有助于 H₂O₂ 的清除。

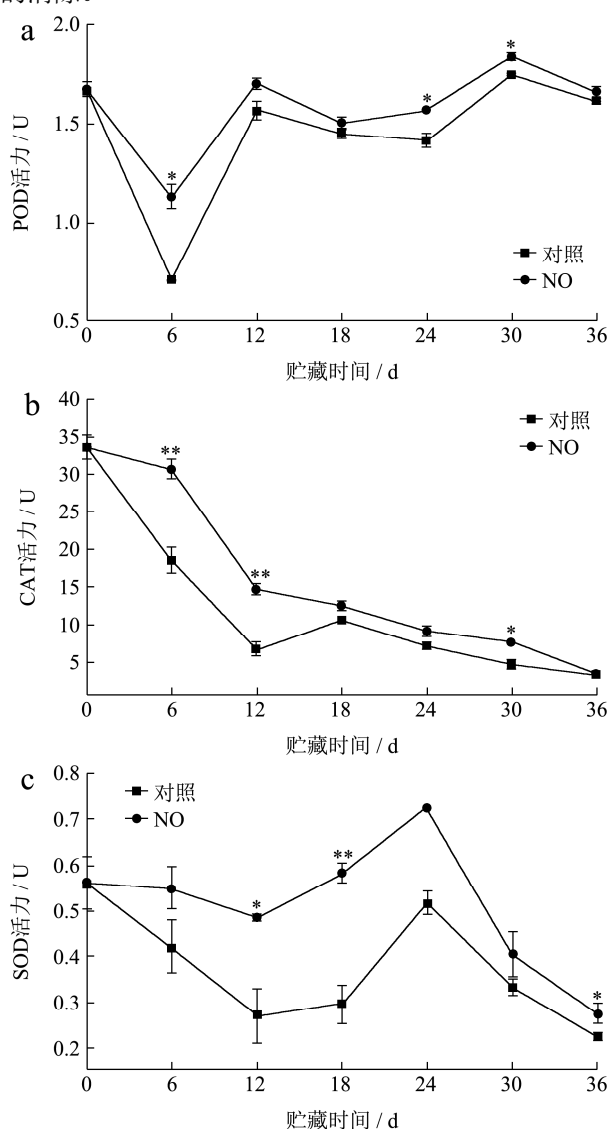


图 5 NO 熏蒸对冷藏枸杞鲜果 POD (a)、CAT (b) 和 SOD (c) 活力的影响

Fig.5 Effect of NO fumigation on POD (a), CAT (b) and SOD (c) activity of fresh *Lycium barbarum* fruits during cold storage

CAT 是清除活性氧自由基的主要酶类,可以将

H_2O_2 分解为 H_2O , 使组织细胞中 H_2O_2 始终维持较低水平^[32]。由图 5b 可知, 处理组枸杞的 CAT 活性变化与对照组相似, 整个贮藏期间均处于下降趋势, 且处理组枸杞一直均保持较高的 CAT 活力。在贮藏第 30 d, CAT 活力出现小幅度的上升, 但随后继续下降。方差分析结果表明, NO 熏蒸可有效抑制枸杞鲜果贮藏期间 CAT 活力下降, 在贮藏前期效果更为显著 ($p < 0.05$)。由此可见, NO 处理可抑制 CAT 活性下降, 促进 H_2O_2 分解 (图 2a), 防止 H_2O_2 积累对细胞产生的破坏^[33], 较好维持相对稳定的细胞形态, 有效抑制枸杞褐变发生, 与外源 NO 熏蒸芥兰结果类似^[34]。

SOD 可以催化 O_2 歧化生成 H_2O_2 和 O_2 , 为植物细胞清除活性氧自由基^[32]。由图 5c 可以看出, 两组枸杞鲜果中 SOD 活性大致呈现先上升后下降的趋势, 但整个贮藏过程中, 处理组枸杞 SOD 活力始终高于对照组, 且贮藏中期 (12~24 d) 效果显著 ($p < 0.05$), 表明 NO 有助于提高 SOD 活力, 从而加快 O_2 降解 (图 2b), 延缓鲜果贮藏前期褐变进程; 结合图 1 发现贮藏第 12 d NO 处理组枸杞褐变度比对照组低 18.41%, 可能是因为 NO 熏蒸诱导 SOD 基因表达上升, 从而加快清除活性氧自由基的速度^[35], 保持了细胞膜结构的完整性, 从而降低褐变度。该现象与 NO 熏蒸猕猴桃的结论相似^[36]。由此可见, NO 熏蒸可有效维持枸杞贮藏过程中 SOD 活力, 加快活性氧自由基清除速率, 保护细胞膜结构, 从而延缓果实褐变。

2.6 NO 熏蒸对果实 APX 和 GR 活力的影响

为尽可能减少甚至消除活性氧自由基的伤害, 植物体内存有 ASA-GSH 循环。APX 是一种辅助抗氧化酶^[37], 通过氧化 ASA 来清除植物体内 H_2O_2 ^[38]。APX 存在于叶绿体基质中, 与 CAT 协同清除 H_2O_2 减轻膜脂过氧化伤害^[39]。由图 6a 可以看出, 对照组与处理组枸杞鲜果在贮藏期间 APX 活性呈现动态变化。贮藏 0~6 d, 对照组枸杞中 APX 高于处理组; 但贮藏 18~36 d, 处理组枸杞 APX 活力始终高于对照组, 与 CAT、POD 协同作用, 加速 H_2O_2 分解, 在图 3a 中得到验证。由此说明, NO 熏蒸在贮藏中后期 (18~36 d) 可以有效提高枸杞鲜果贮藏期间 APX 活性。

GR 是 GSH 和 ASA 重要的再生酶^[38]。由图 6b 可以看出, 贮藏 0~6 d, 处理组枸杞 GR 活力低于对照组; 贮藏 18~36 d, 两组枸杞鲜果中 GR 活力出现不稳定的波动, 但 NO 处理组枸杞 GR 活力始终高于对照组 ($p < 0.05$), 加快贮藏后期 GSSG 还原进程 (图 3b), 维持充足的 GSH 含量 (图 3a)。ASA 和 GSH 是重要的抗氧化物质, 其中 GSH 可通过自身氧化从而还原

ASA 达到清除 H_2O_2 的目的^[38-40]。说明 18~36 d, GR 在催化 GSSG 还原成 GSH 方面起到一定作用。本试验研究表明, 贮藏后期 (24~36 d) 处理组枸杞鲜果中 GR 活力显著高于对照组 ($p < 0.01$)。由此说明, NO 熏蒸可以显著提高枸杞鲜果在贮藏后期的 GR 活力。

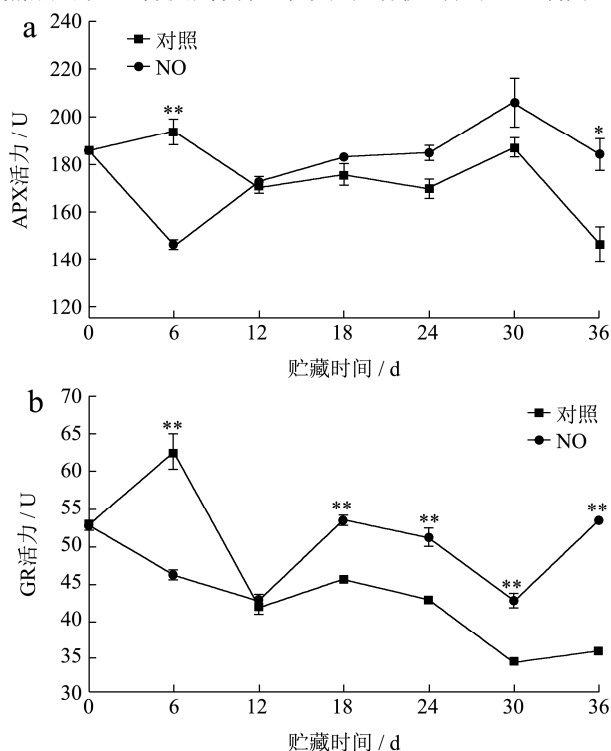


图 6 NO 熏蒸对冷藏枸杞鲜果 APX (a) 和 GR (b) 活力的影响
Fig.6 Effect of NO fumigation on APX (a) and GR (b) activity of fresh *Lycium barbarum* fruits during cold storage

3 结论

在 3 ± 0.5 °C 的贮藏条件下, NO 熏蒸处理可有效抑制冷藏枸杞鲜果的活性氧代谢和褐变衰老, 从而维持果实良好的品质。综上所述, 外源 NO 熏蒸通过提高冷藏枸杞鲜果 POD、贮藏 0~24 d SOD 酶活力以及贮藏 12~36 d APX 和 GR 酶活力, 抑制 CAT 酶及贮藏 24~36 d SOD 酶活力下降, 提高 ASA 和 GSH 抗氧化物质含量, 加快枸杞中活性氧自由基的分解; 同时抑制 O_2 生成速率、 H_2O_2 含量的积累和 GSSG 还原速度, 维持自由基代谢平衡, 保持细胞完整结构从而减缓枸杞鲜果褐变进程。本研究为外源 NO 熏蒸在枸杞鲜果保鲜方面的应用提供理论参考。

参考文献

- [1] 马惠兰, 刘英杰, 孙天罡. 新疆枸杞产业发展现状及其对策建议[J]. 新疆社科论坛, 2012, 1: 15-17, 36
MA Huilan, LIU Yingjie, SUN Tiangang. Development status and countermeasures of wolfberry industry in Xinjiang

- [J]. Xinjiang Social Science Forum, 2012, 1: 15-17, 36
- [2] 刘彤. 枸杞多糖药理作用与临床应用[J]. 人人健康, 2020, 4(6): 210
LIU Tong. Pharmacological action and clinical application of *Lycium barbarum* polysaccharide [J]. Health for Everyone, 2020, 4(6): 210
- [3] Montesano Domenico, Juan-García Ana, Mañes Jordi, et al. Chemoprotective effect of carotenoids from *Lycium barbarum* L. on SH-SY5Y neuroblastoma cells treated with beauvericin [J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 141(5): 111414
- [4] 李乾, 刘凤兰, 吴斌, 等. NO熏蒸对冷藏枸杞鲜果品质影响的研究[J]. 食品科技, 2020, 45(2): 29-35
LI Qian, LIU Fenglan, WU Bin, et al. Effect of NO fumigation on the quality of fresh fruits of *Lycium chinensis* in refrigeration [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(2): 29-35
- [5] 周亨乐, 王富海, 易俊洁, 等. 化学抑制剂对果蔬食品多酚氧化酶性质影响的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(4): 253-260
ZHOU Hengle, WANG Fuhai, YI Junjie, et al. Research progress in the effect of chemical inhibitors on the properties of polyphenol oxidase in fruits and vegetables [J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(4): 253-260
- [6] 胡云峰, 唐裕轩, 李宁宁, 等. 枸杞热风干制过程中非酶促褐变反应研究[J]. 保鲜与加工, 2018, 18(6): 125-129
HU Yunfeng, TANG Yuxuan, LI Ningning, et al. Research on non enzymatic browning reaction in hot air drying processing of *Lycium barbarum* [J]. Preservation and Processing, 2018, 18(6): 125-129
- [7] 李彩云, 李洁, 严守雷, 等. 果蔬酶促褐变机理的研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(9): 283-292
LI Caiyun, LI Jie, YAN Shoulei, et al. Research progress on the mechanism of enzymatic browning of fruits and vegetables [J]. Food Science, 2021, 42(9): 283-292
- [8] 王彬, 陈敏氢, 朱海生, 等. 果蔬酶促褐变研究进展[J]. 中国农学通报, 2016, 32(28): 189-194
WANG Bin, CHEN Mindong, ZHU Haisheng, et al. Research advances in enzymatic browning of fruits and vegetables [J]. Chinese Agricultural Bulletin, 2016, 32(28): 189-194
- [9] Yifen Lin, Hetong Lin, Shen Zhang, et al. The role of active oxygen metabolism in hydrogen peroxide-induced pericarp browning of harvested longan fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 96(5): 42-48
- [10] 王慧, 陈燕华, 林河通, 等. 纸片型 1-MCP 处理对采后安溪油柿果实活性氧代谢和细胞膜透性的影响[J]. 热带作物学报, 2018, 39(11): 2283-2289
WANG Hui, CHEN Yanhua, LIN Hetong, et al. Effects of paper containing 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on reactive oxygen species (ROS) metabolism and cell membrane permeability of harvested Anxi persimmon fruit [J]. Acta Tropical Crops, 2018, 39(11): 2283-2289
- [11] 魏国东, 申江, 贺红霞, 等. 冰温结合塑料盒包装对枸杞鲜果品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(1): 79-84
WEI Guodong, SHEN Jiang, HE Hongxia, et al. Effect of ice temperature combined with plastic box packaging on the quality of *Lycium barbarum* fruit [J]. Food Research and Development, 2020, 41(1): 79-84
- [12] 马丽敏, 王兵, 刘贵珊, 等. 预处理结合气调包装对鲜枸杞贮藏品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(6): 195-200
MA Limin, WANG Bing, LIU Guishan, et al. Effect of pretreatment combined with modified atmosphere packaging on the storage quality of fresh *Lycium barbarums* [J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(6): 195-200
- [13] 赵建华, 李浩霞, 安巍, 等. 采后枸杞鲜果褐变与其活性氧代谢的关系[J]. 西北植物学报, 2008, 4(10): 2023-2027
ZHAO Jianhua, LI Haoxia, AN Wei, et al. Relationship between the browning and the radical oxygenin postharvest wolfberry (*Lycium* L.) fruits [J]. Acta Botanica Sinica, 2008, 4(10): 2023-2027
- [14] Jufang Dong, Ming Zhang, Li Lu, et al. Nitric oxide fumigation stimulates flavonoid and phenolic accumulation and enhances antioxidant activity of mushroom [J]. Food Chemistry, 2012, 135(3): 1220-1225
- [15] Xuewu Duan, Xinguo Su, Yanli You, et al. Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism [J]. Food Chemistry, 2006, 104(2): 571-576
- [16] Yang, Wu, Cheng. Effects of nitric oxide treatment on active oxygen metabolism and flesh lignification in bamboo shoots [J]. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2011, 86(5): 499-504
- [17] Zhu Li-Qin, Zhou Jie, Zhu Shu-Hua, et al. Inhibition of browning on the surface of peach slices by short-term exposure to nitric oxide and ascorbic acid [J]. Food Chemistry, 2009, 114(1): 174-179
- [18] Shi J Y, Li J X, Zhu S H. Browning inhibition on fresh-cut chestnut kernel by exogenous nitric oxide [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2011, 46(5):

- 944-950
- [19] 徐福乐.外源一氧化氮熏蒸处理对番茄采后活性氧代谢的影响[J].食品科技,2010,35(1):66-71
XU Fule. Effect of nitric oxide fumigation on the post harvest active oxygen metabolism of tomato [J]. Food Science and Technology, 2010, 35(1): 66-71
- [20] 张政,王倩,张辉,等.一氧化氮间歇熏蒸对木纳格葡萄活性氧代谢的影响[J].食品科学,2016,37(22):249-254
ZHANG Zheng, WANG Qian, ZHANG Hui, et al. Effect of intermittent fumigation with nitric oxide on reactive oxygen species metabolism of 'Munage' table grapes [J]. Food Science, 2016, 37(22): 249-254
- [21] 刘立芹.采后鸭梨衰老和褐变生理及调控[D].石家庄:河北师范大学,2011
LIU Liqin. Physiological changes and regulation during senescence and browning in postharvest 'Yali' pear [D]. Shijiazhuang: Hebei Normal University, 2011
- [22] 李乾,刘凤兰,吴斌,等.NO熏蒸对冷藏枸杞鲜果品质影响的研究[J].食品科技,2020,45(2):29-35
LI Qian, LIU Fenglan, WU Bin, et al. Effect of NO Fumigation on the quality of fresh fruits of *Lycium chinensis* in refrigeration [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(2): 29-35
- [23] 周宏胜,胡花丽,罗淑芬,等.苏翠1号梨在不同温度下的贮藏特性研究[J].保鲜与加工,2018,18(6):13-19,24
ZHOU Hongsheng, HU Huali, LUO Shufen, et al. The storage characteristics of Sucui 1 pear during storage at different temperatures [J]. Preservation and Processing, 2018, 18(6): 13-19, 24
- [24] 曹建康.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2013:50-53
CAO Jiankang. Experimental Guidance of Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2013: 50-53
- [25] 宋康华,张鲁斌,冯显爵.低温下一氧化氮延缓鲜切粉葛褐化效果研究[J].广东农业科学,2019,46(9):142-148
SONG Kanghua, ZHANG Lubin, FENG Xianjue. Study on the effect of nitric oxide treatment on the inhibition of browning of fresh-cut pueraria at low temperature [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2019, 46(9): 142-148
- [26] 谢晶,覃子倚,潘家丽,等.基于主成分分析的硝普钠处理对采后荔枝活性氧代谢的影响[J].食品科学,2022,43(9):192-198
XIE Jing, QIN Ziyi, PAN Jiali, et al. Effects of sodium nitroprusside treatment on reactive oxygen metabolism of postharvest-litchi based on principal component analysis [J]. Food Science, 2022, 43(9): 192-198
- [27] Noctor Graham, Foyer Christine H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1998, 49(1): 249-279
- [28] 陈艺晖,张华,林河通,等.1-甲基环丙烯处理对杨桃果实活性氧代谢和细胞膜透性的影响[J].热带作物学报,2013,34(12):2403-2407
CHEN Yihui, ZHANG hua, LIN hetong, et al. Effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on active oxygen metabolism and cell membrane permeability of harvested *Averrhoa carambola* fruits [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(12): 2403-2407
- [29] 王静.草酸诱导哈密瓜果实采后耐冷性的作用机理[D].杭州:浙江大学,2018
WANG Jing. Mechanism of action of oxalic acid induced cold resistance of postharvest Hami melon fruit [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018
- [30] Haroldsen V M, Chi-Ham C L, Kulkarni S, et al. Constitutively expressed DHAR and MDHAR influence fruit, but not foliar ascorbate levels in tomato [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49(10): 1244-1249
- [31] 崔席席.转录因子SIMYC2在MeJA介导的番茄果实品质及抗性中的作用及其超表达载体的构建[D].淄博:山东理工大学,2019
CUI Xixi. The role of transcription factor SIMYC2 in MeJA-induced tomato fruit quality and disease resistance and the construction of its overexpression vector [D]. Zibo: Shandong University of Technology, 2019
- [32] 王馨,胡文忠,陈晨,等.活性氧在果蔬采后成熟衰老过程中的作用及几种气体处理对其影响的研究进展[J].食品工业科技,2017,38(5):375-379
WANG Xin, HU Wenzhong, CHEN Chen, et al. The role of reactive oxygen in harvested fruits and vegetables during maturation and senescence and the influences which handled by several gas treatments [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(5): 375-379
- [33] 李亚玲,崔宽波,石玲,等.近冰温贮藏对杏果实冷害及活性氧代谢的影响[J].食品科学,2020,41(7):177-183
LI Yaling, CUI Kuanbo, SHI Ling, et al. Effect of near freezing temperature storage on chilling injury and active oxygen metabolism of apricot fruit [J]. Food Science, 2020, 41(7): 177-183
- [34] 丹阳,吴成勇,林杰,等.外源一氧化氮熏蒸处理对芥兰采后

- 品质及抗氧化酶系的影响[J].食品科学,2009,30(6):250-254
DAN Yang, WU Chengyong, LIN Jie, et al. Effects of nitric oxide fumigation on postharvest quality and antioxidant enzymes of *Brassica alboglabra* bailey [J]. Food Science, 2009, 30(6): 250-254
- [35] 周春丽,钟贤武,苏虎,等.一氧化氮对果蔬采后保鲜机理的研究进展[J].湖北农业科学,2011,50(10):1954-1957
ZHOU Chunli, ZHONG Xianwu, SU Hu, et al. Study on progress of fresh preservation mechanism of nitric oxide on vegetables and fruits [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 50(10): 1954-1957
- [36] 孙丽娜.一氧化氮对冬枣和猕猴桃贮藏期间生理代谢的影响[D].泰安:山东农业大学,2008
SUN Lina. Effects of nitric oxide physiological metabolisms of Chinese winter jujube and kiwifruit during storage [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2008
- [37] 崔文玉.外源硫化氢和一氧化氮处理对采后香蕉果实抗冷性的影响[D].泰安:山东农业大学,2020
CUI Wenyu. Effects of exogenous hydrogen sulfide and nitric oxide treatment on the cold resistance of postharvest banana fruits [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2020
- [38] 殷健东.1-MCP 和乙烯对水蜜桃采后冷害发生的生理调控机制研究[D].扬州:扬州大学,2018
YIN Jiandong. Physiological regulation mechanism of 1-MCP and ethylene on chilling injury of peach [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2018
- [39] 王静,孙广宇,姬俏俏,等.活性氧在果蔬采后衰老过程中的作用及其控制[J].包装与食品机械,2015,33(5):51-54,58
WANG Jing, SUN Guangyu, JI Qiaoqiao, et al. The role of active oxygen in harvested fruits and vegetables during senescence and its control [J]. Packaging and Food Machinery, 2015, 33(5): 51-54, 58
- [40] 薛锡佳.草酸处理缓解冷敏型果实冷害的机制研究[D].杭州:浙江工商大学,2012
XUE Xijia. Oxalic acid treatment alleviates chilling injury in chilling sensitive fruits during cold storage [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2012

(上接第 198 页)

- [21] Kumar R, Kumar A, Sharma N K, et al. Soft and hard textured wheat differ in starch properties as indicated by trimodal distribution, morphology, thermal and crystalline properties [J]. Plos One, 2016, 11(1): e0147622
- [22] Martínez B F, Lopez S M, San M E, et al. Effects of high energy milling on some functional properties of jicama starch and cassava starch [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(4): 1212-1220
- [23] Huang Z Q, Lu J P, Li X H, et al. Effect of mechanical activation on physico-chemical properties and structure of cassava starch [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 68(1): 128-135
- [24] 孙宇.小麦淀粉粒机械损伤特性研究[D].郑州:河南工业大学,2012
SUN Yu. Studies on mechanical damage characterization of wheat starch granules [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2012
- [25] Jiranuntakul W, Puttannlek C, Rungsard-Thong V, et al. Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and normal starches [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(2): 246-258
- [26] Shi M M, Gao Q Y. Physicochemical properties, structure and *in vitro* digestion of resistant starch from waxy rice starch [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(3): 1151-1157
- [27] 郭爱良,周湘寒,姚亚亚,等.不同玉米品种理化特性及淀粉品质的研究[J].中国粮油学报,2022,37(5):39-47
GUO Ailiang, ZHOU Xianghan, YAO Yaya, et al. Physicochemical properties and starch quality of different maize varieties [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2022, 37(5): 39-47
- [28] 吴桂玲.脂类和颗粒结合蛋白对小麦 A、B 淀粉颗粒结构及理化性能的影响[D].咸阳:西北农林科技大学,2015
WU Guiling. Effects of lipids and granule associated proteins on structural and physicochemical properties of A, B-wheat starch [D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2015
- [29] 张华,袁博,赵琼,等.小麦淀粉凝胶冻融稳定性研究[J].食品工业,2015,36(3):35-37
ZHANG Hua, YUAN Bo, ZHAO Qiong, et al. Study on freeze-thaw stability of wheat starch gel [J]. The Food Industry, 2015, 36(3): 35-37
- [30] Ji Y, Ao Z, Han J A, et al. Waxy maize starch subpopulations with different gelatinization temperatures [J]. Carbohydrate Polymers, 2004, 57: 177-190
- [31] Lim S T, Chang E H, Chung H J. Thermal transition characteristics of heat-moisture treated corn and potato starches [J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 46(2): 107-115