

葡萄采后果梗抗氧化系统与褐变的关系

张琼琼¹, 魏佳², 李杰³, 张健², 温春¹, 马先花¹, 吴斌^{2*}

(1. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830052) (2. 新疆农业科学院农产品贮藏加工研究所, 新疆乌鲁木齐 830091) (3. 新疆农业大学林学与园艺学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要:以新疆红提、木纳格葡萄为试材,在 10±0.5 °C 的温度条件下,分析贮藏期间果梗之间的差异,研究果梗褐变与抗氧化系统变化的相关性。结果表明:贮藏至第 6 d,红提和木纳格葡萄果梗的总酚含量分别为 5.37、5.41 A_{280 nm}/g; PPO 和 POD 的活性分别为 0.21、1.09 和 0.82、0.11 U/g。红提葡萄果梗的 SOD 活性是 26.98 U/g、CAT 活性是 64.44 U/g、APX 活性是 30.89 U/g,分别是木纳格葡萄的 1.03 倍、2.19 倍和 1.85 倍。红提葡萄果梗的褐变指数、超氧阴离子(O₂^{·-})、H₂O₂ 含量、相对电导率、MDA 含量及类黄酮含量显著低于木纳格葡萄(*p*<0.05),分别低 4.04%、43.17%、11.55%、43.32%、13.78%和 30.94%。红提和木纳格葡萄果梗褐变指数均与相对电导率、丙二醛含量、总酚、类黄酮及 H₂O₂ 含量呈现显著正相关(*p*<0.05),与 PPO 活性呈正相关(*p*>0.05);红提葡萄果梗褐变指数与 POD 活性、CAT 活性有良好的相关性(*p*<0.05);木纳格葡萄果梗褐变指数与 PAL 活性及 SOD 活性有较好的相关性(*p*<0.05)。因此,葡萄品种与抗氧化系统密切相关,导致果梗褐变进程有所不同。

关键词:葡萄;采后;抗氧化系统;果梗褐变

文章编号: 1673-9078(2021)09-128-137

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.0061

Relationship between Antioxidant System and Browning of Postharvest Grape Rachis

ZHANG Qiong-qiong¹, WEI Jia², LI Jie³, ZHANG Jian², WEN Chun¹, MA Xian-hua¹, WU Bin^{2*}

(1.College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China) (2.Institute of Agro-products Storage and Processing, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Urumqi 830091, China) (3.College of Forestry and Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: Xinjiang Red Globe grape and Munage grape were used as test materials, which stored at a temperature of 10±0.5 °C. The differences between fruit rachis were analyzed in storage. The correlation between the browning of fruit rachis and the changes of antioxidant systems were studied. The results showed that after storage to the 6th day, the total phenol content of Red Globe grape rachis and Munage grape rachis were respectively 5.37 and 5.41 A_{280 nm}/g. The activities of PPO and POD were respectively 0.21, 1.09 and 0.82, 0.11 U/g. The activity of SOD, CAT and APX in Red Globe grape rachis were respectively 26.98 U/g, 64.44 U/g, 30.89 U/g, which were respectively 1.03 times, 2.19 times and 1.85 times of those in Munage grape rachis. The browning index, superoxide anion(O₂^{·-}), relative conductivity of H₂O₂ content, MDA content and flavonoid content of Red Globe Grape rachis were significantly lower than those of Munage grape rachis (*p*<0.05), which were 4.04%, 43.17%, 11.55%, 43.32%, 13.78% and 30.94% lower respectively. Through correlation analysis, the browning index of the Red Globe grape and the Munage grape rachis were significantly positively correlated with the relative conductivity, malondialdehyde content, total phenols, flavonoids and H₂O₂ content (*p*<0.05), and PPO activity is positively correlated (*p*>0.05). Red Globe grape rachis browning index has a good correlation with POD activity and CAT activity

引文格式:

张琼琼,魏佳,李杰,等.葡萄采后果梗抗氧化系统与褐变的关系[J].现代食品科技,2021,37(9):128-137,+206

ZHANG Qiong-qiong, WEI Jia, LI Jie, et al. Relationship between antioxidant system and browning of postharvest grape rachis [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 128-137, +206

收稿日期: 2021-01-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860460); 国家自然科学基金联合基金重点支持项目(U2003213)

作者简介: 张琼琼(1995-),女,硕士研究生,研究方向: 果蔬采后生理及贮藏技术, E-mail: 2538852568@qq.com

通讯作者: 吴斌(1973-),男,研究员,研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: 42042615@qq.com

($p < 0.05$). However, Munage grape rachis browning index has a good correlation with PAL activity and SOD activity ($p < 0.05$). Therefore, grape varieties are closely related to the antioxidant system, leading to different browning process of fruit rachis.

Key words: grape; postharvest; antioxidant system; fruit rachis browning

新疆作为中国最大的葡萄产区, 2019年葡萄产量达到 3.13×10^6 t, 位居全国第一^[1]。红提和木纳格葡萄是新疆主栽的晚熟鲜食葡萄品种。在贮运过程中, 果实易发生脱粒、褐变及腐烂等现象; 果梗易失水和褐变, 导致葡萄新鲜度下降, 严重影响葡萄的感官品质和外运销售^[2,3]。果梗是连接果粒的部分, 是果实的生理活跃部位, 也是采后营养物质消耗、水分大量散失的主要部位^[4]。在贮藏过程中, 果梗易受交链孢霉、根霉、黑霉及芽枝霉的侵染, 导致果梗干缩。葡萄贮藏中发生的一系列生理变化, 首先从果梗开始, 引起葡萄萎蔫、褐变和腐烂等现象的发生, 直接影响葡萄的商品性和耐贮性。果梗颜色的变化可以判断果实新鲜度^[5], 通常消费者认为果梗褐变代表葡萄不新鲜, 往往会选择果梗新鲜的葡萄, 这可能导致葡萄浪费, 给种植户造成经济损失。因此, 研究果梗褐变的原因, 对于减少葡萄浪费和种植户经济损失非常关键。近年来, 葡萄采后保鲜的研究多集中在果实品质劣变方面, 但对果梗褐变进程与抗氧化系统相关性的研究报道较少。

鲜食葡萄采后果梗褐变主要与生物及非生物胁迫引起的酶促褐变有关^[6]。酚类、类黄酮类等植物次生代谢产物, 与褐变关系密切。多酚类化合物作为酶促褐变的底物, 具有较强的抗氧化性以及清除自由基的能力, 是影响果实采后褐变的主要因素之一^[7]。植物组织中含有大量的多酚类化合物, 多分布在细胞液泡中, 催化多酚类物质氧化的酶则分布在细胞壁、细胞质、细胞膜中, 正常情况下, 不发生反应; 当细胞区域化分布被打破, 这些多酚类化合物在酶的催化作用下, 发生氧化作用, 引起酶促反应, 导致组织褐变, 降低商品价值^[8]。苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia lyase, PAL) 是苯丙烷途径多种酚类化合物合成的关键酶^[9]。过氧化物酶 (peroxidase, POD) 作为褐变相关酶, 参与酚类物质的合成。多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 能催化多种简单酚类物质氧化形成醌类化合物, 醌类化合物进一步聚合形成呈现褐色、棕色或黑色的聚合物。研究表明, 果梗褐变与多酚氧化酶相关^[3]。贮藏过程中, 往往伴随着活性氧的积累。活性氧的积累可能破坏细胞膜结构完整性, 导致脂质的氧化损伤, 形成有毒的产物, 如MDA, 加速褐变^[10]。采后清除活性氧的积累尤为重要。活性氧的清除与抗氧化系统密切相关^[11]。因此, 抗氧

化系统可能参与了葡萄果梗褐变过程。

因此, 本试验以新疆红提、木纳格葡萄为研究试材, 通过测定抗氧化相关指标, 研究活性氧及酚类物质代谢与不同品种葡萄果梗褐变差异的关系, 旨在阐明抗氧化系统在采后葡萄品种果梗褐变发生中的作用机制, 为葡萄采后保鲜技术的研究提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

红提葡萄 (可溶性固形物 $TSS \geq 18\%$) 于2019年9月8日采自于新疆乌鲁木齐市昌吉三工镇葡萄种植园; 木纳格葡萄 ($TSS \geq 18\%$) 于2019年10月10日在新疆阿图什市阿扎克乡采收。挑选无机械损伤, 无病害, 果梗新鲜的两种葡萄, 采后均用冷链车立即运往新疆农业科学院农产品贮藏加工研究所冷库, 在 0 ± 0.5 °C 预冷 24 h。

三氯乙酸、硫代巴比妥酸、冰醋酸、聚乙烯吡咯烷酮、Triton X-100、愈创木酚、30% H_2O_2 溶液、盐酸羟胺、对氨基苯磺酸、 α -萘胺、亚硝酸钾、丙酮、四氯化钛、氮蓝四唑、核黄素、乙二胺四乙酸 (EDTA)、抗坏血酸, 天津市北联精细化学品开发有限公司。以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

DELTA320 型分析天平, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; SIM-F140ADL 型制冰机, 日本松下电器; DW-86L626 型超低温冰箱, 青岛海尔特种电器有限公司; DK-8D 型电热恒温水浴锅, 北京市永光明医疗仪器厂; UV-2600 型紫外分光光度计, 岛津仪器苏州有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 原料处理

将预冷后的两种葡萄分别随机分成 42 份, 每份约重 0.50 kg, 放入带有 6 个直径 1 cm 孔的 PE 包装盒 ($175 \times 135 \times 76$ mm 石家庄市鑫亿达塑料制品有限公司) 内, 盒内上下衬有吸水纸。6 份一组, 再放进 PE 保鲜袋 (厚 0.03 mm) 后扎紧袋口, 模拟冷链物流温度, 于冷库 10 ± 0.5 °C、相对湿度 (RH) 95% 条件下贮藏 7 d, 每天测定果梗的褐变指数、相对电导率等,

需鲜样测定的相关指标；同时把整个果梗剪碎混匀，每个取样点取 100 g 样品，用液氮速冻并置于 -80 °C 保存，待测其它指标。每组重复 3 次。

1.3.2 指标测定

1.3.2.1 果梗褐变指数的测定

参考李志文等^[12]人的方法。将穗轴褐变面积分为 5 级，无褐变的为 0 级；褐变面积 0~1/4 为 1 级；褐变 1/4~1/2 为 2 级；褐变 1/2~3/4 为 3 级；褐变 3/4 以上为 4 级。

$$\text{果梗褐变指数}/\% = \frac{\text{各级果穗数} \times \text{褐变级数}}{\text{总果穗数} \times \text{最高级数}} \times 100\%$$

1.3.2.2 超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 产生速率和过氧化氢 (H_2O_2) 含量的测定

超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 产生速率的测定，参考曹建康的方法^[13]。结果以每分钟每克鲜重 (FW) 果蔬组织产生的超氧阴离子的纳摩尔数作为 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的产生速率表示，即 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot \text{g})$ 。过氧化氢 (H_2O_2) 含量的测定，参考袁梦麒等^[14]的方法。结果以 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FW 表示。

1.3.2.3 相对电导率、丙二醛含量的测定

相对电导率的测定参照集贤等^[15]的方法，略有改动。称取 0.25 g 葡萄果梗，剪成长度为 0.10 cm 左右的细段，放入 100 mL 烧杯中，向其加入 50 mL 蒸馏水，震荡 1 min，立即测定此时电导率，记为 P_0 ；测完后，用保鲜膜盖上烧杯，静止 30 min 后，测定电导率，记为 P_1 ，然后放入沸水浴中 15 min，待冷却后，测电导率，记为 P_2 。

$$\text{相对电导率}/\% = \frac{P_1 - P_0}{P_2 - P_1} \times 100\%$$

丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量的测定参考 Endo^[16]的方法，略作修改。称取 1.0 g 果梗，加入 5.0 mL 预冷的 10% 三氯乙酸 (TCA)，研磨匀浆后，于 4 °C、10000×g 离心 20 min，收集上清液。取 2.0 mL 上清液，加入 2.0 mL 0.67% 硫代巴比妥酸 (TBA)，混合后在沸水浴中煮沸 20 min，冷却后再离心一次。分别测定上清液在 450、532 和 600 nm 波长处的吸光度值。重复三次。结果以 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FW 表示。

1.3.2.4 总酚、类黄酮含量的测定

参照李灿婴等^[17]的方法。总酚含量用 $A_{280 \text{ nm}}/\text{g}$ 表示；类黄酮含量用 $A_{325 \text{ nm}}/\text{g}$ 表示。

1.3.2.5 PPO、POD、PAL 的测定

PPO 的测定采用邻苯二酚法^[13]。以每克鲜重 (FW) 果蔬样品每分钟在 420 nm 处的吸光度变化值增加 1 时为 1 个 PPO 活性单位 (U)，结果以 U/g 表示。

POD 的测定采用愈创木酚法^[13]；以每克鲜重 (FW) 果蔬样品每分钟在 470 nm 处的吸光度变化值增加 1 时为 1 个过氧化物酶活性单位 (U)，结果以 U/g 表示。

PAL 的测定参考曹建康^[13]的方法。结果以每小时每克鲜重 (FW) 果蔬组织反应体系吸光度值增加 0.01 时为 1 个 PAL 活性单位 (U)，结果以 U/g 表示。

1.3.2.6 SOD、CAT、APX 活性的测定

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 的测定参考 Lo'ay 等^[18]的方法，略作修改。以每分钟每克鲜重 (FW) 果蔬组织的反应体系对氮蓝四唑 (NBT) 光化还原的抑制为 50% 时为一个 SOD 活性单位 (U)，结果以 U/g 表示。

过氧化氢酶 (catalase, CAT) 的测定参考 Zhang 等^[19]的方法。以每克鲜重 (FW) 果蔬样品每分钟在 240 nm 处的吸光度变化值增加 0.01 时为 1 个过氧化物酶活性单位 (U) 表示，结果以 U/g 表示。

抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX) 的测定参考 Wang 等^[20]的方法。以每克鲜重 (FW) 果蔬样品每分钟吸光度变化值增加 0.01 时为 1 个过氧化物酶活性单位 (U)，结果以 U/g 表示。

1.4 数据处理

使用 Sigma Plot 12.0 软件作图，SPSS 19.5 进行数据方差分析并利用 Duncan 法进行均值比较。 $p < 0.05$ 表示差异显著， $p < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 葡萄果梗褐变指数的变化

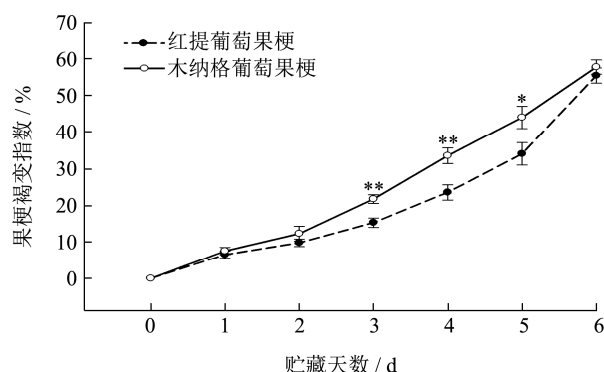


图1 葡萄果梗褐变指数的变化

Fig.1 Changes in browning index of grape rachis

注：“*”表示相关性显著 ($p < 0.05$)；“***”表示相关性极显著 ($p < 0.01$)。下图同。

果梗褐变是影响葡萄果实品质和商品价值的主要因素之一^[21]。由图 1 可知，葡萄果梗褐变指数随

着贮藏时间的延长, 逐渐增加。这与邓冰等^[22]对木纳格葡萄中的研究结果相同。木纳格葡萄果梗褐变指数高于红提葡萄。在贮藏至第 3、4 d 时, 木纳格葡萄果梗褐变指数极显著 ($p<0.01$) 高于红提葡萄, 分别高 42.13%和 29.41%。可能是由于木纳格葡萄果梗比红提葡萄果梗细, 气孔较多, 失水速率快, 导致木纳格葡萄果梗褐变速度比红提葡萄果梗褐变快。

2.2 葡萄果梗超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$) 产生

速率、 H_2O_2 含量的变化

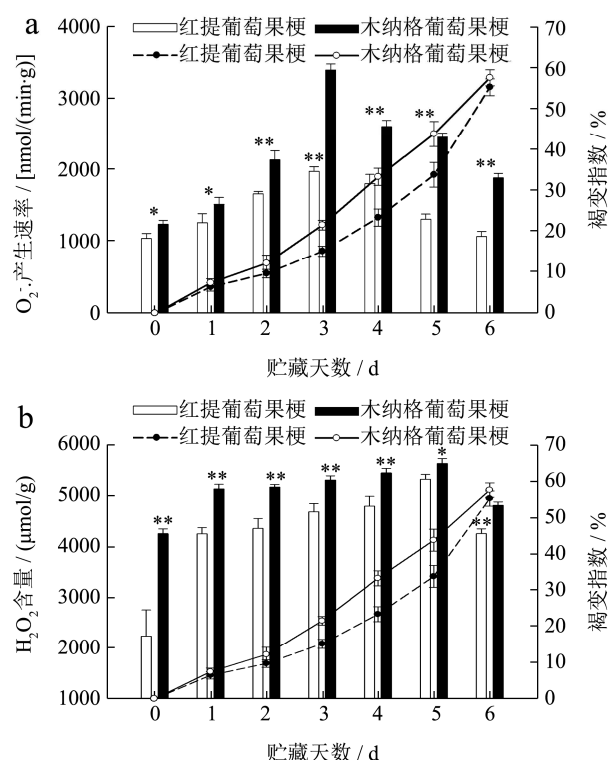


图 2 葡萄果梗超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$) 产生速率 (a)、 H_2O_2 含量 (b) 的变化

Fig.2 Changes between the rate of generation of superoxide anion radicals ($O_2^{\cdot-}$)、hydrogen peroxide of grape rachis

如图 2a 所示, 贮藏期间, 随着果梗褐变指数的增加, 葡萄果梗的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率呈现先上升后下降的趋势。贮藏期间, 红提葡萄果梗的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率显著低于木纳格葡萄果梗 ($p<0.05$)。贮藏至第 6 d, 红提葡萄果梗的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率是 1078.70 $nmol/(min \cdot g)$, 木纳格葡萄果梗的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率是 1898.15 $nmol/(min \cdot g)$, 红提葡萄果梗的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率比木纳格葡萄果梗低 43.17%。说明木纳格葡萄果梗对氧化损伤的抗性低于红提葡萄果梗, 致使细胞结构严重受损。

在图 2b 中, 当果梗褐变指数增加时, 红提葡萄果梗 H_2O_2 的含量呈现先上升后下降的趋势, 木纳格

葡萄果梗 H_2O_2 含量始终高于红提葡萄果梗。贮藏结束, 木纳格葡萄果梗的 H_2O_2 含量比红提葡萄高 13.06%。可能是由于木纳格葡萄果梗过氧化氢积累的过多, 导致其积累位点的代谢功能被破坏, 细胞完整性丧失, 加重植物组织的氧化损伤, 造成木纳格葡萄果梗比红提葡萄果梗褐变快^[23]。

2.3 葡萄果梗相对电导率、丙二醛含量的变化

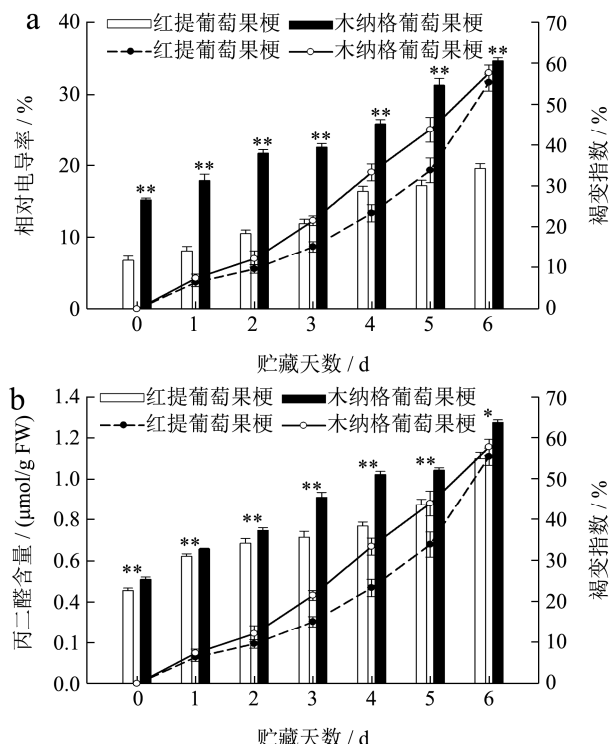


图 3 葡萄果梗相对电导率 (a)、丙二醛 (b) 含量的变化
Fig.3 Changes of relative conductivity of grape rachis, malondialdehyde content

褐变与膜脂过氧化程度的加强及膜结构的破坏程度密切相关^[24]。如图 3a 所示, 在贮藏期间, 葡萄果梗的相对电导率呈现逐渐上升的趋势, 此趋势与巨峰葡萄果梗保鲜的研究结果类似^[17]。本研究发现, 木纳格葡萄果梗的相对电导率始终极显著高于红提葡萄 ($p<0.01$)。贮藏至结束, 红提葡萄果梗的相对电导率是 19.69%, 木纳格葡萄果梗的相对电导率是 34.73%, 红提葡萄果梗的相对电导率比木纳格葡萄低 43.32%。细胞壁主要由果胶和纤维素组成。贮藏期间, 木纳格葡萄果梗的相对电导率始终极显著高于红提葡萄果梗, 可能是由于红提葡萄果梗细胞壁的纤维素含量较多, 纤维素自身的微纤丝结构与其他组分相互结合, 构成的细胞壁结构更加牢固和完整, 不易受到破坏, 对细胞膜损伤较小^[25]; 细胞组织间隙相对较小, 导致细胞渗透率较低, 延缓相对电导率的增加, 减慢褐变速度。

如图 3b 所示, 葡萄果梗中 MDA 含量随着贮藏时间的延长, 呈逐渐上升趋势, 且褐变指数随着 MDA 含量的增加而增加。与孙杨杨^[26]在基于膜脂代谢的常温贮藏南果梨果心褐变机理及调控研究的结果相类似。贮藏期间, 木纳格葡萄果梗 MDA 含量显著高于红提葡萄 ($p<0.05$)。贮藏至第 6 d, 红提葡萄果梗的 MDA 含量是 $1.10 \mu\text{mol/g}$, 木纳格葡萄果梗的 MDA 含量是 $1.28 \mu\text{mol/g}$, 木纳格葡萄果梗的 MDA 含量比红提葡萄高 15.99%。由于木纳格葡萄果梗中较高的活性氧积累, 促进膜脂过氧化进程, 从而破坏细胞膜的结构和完整性, 导致 MDA 含量的增加, 引起褐变^[27]。通过以上数据分析可知, 相对电导率和 MDA 的含量越高, 果梗褐变速度越快。

2.4 葡萄果梗总酚、类黄酮含量的变化

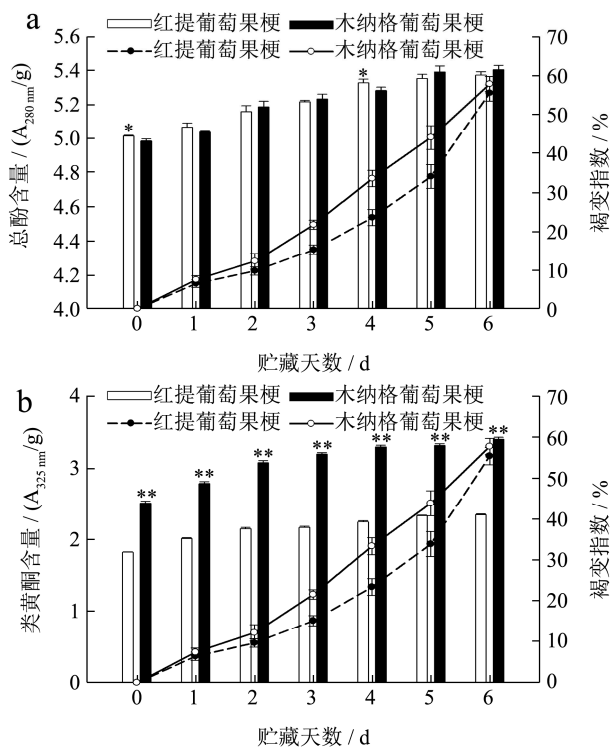


图 4 葡萄果梗总酚 (a)、类黄酮 (b) 含量与褐变指数的变化

Fig.4 Changes between the content of total phenols and flavonoids in grape rachis

总酚作为酶促褐变的底物, 其含量的高低可以反应抗褐变的能力^[28]。由图 4a 可知, 仅在第 0 d 和第 4 d 时, 红提葡萄果梗的总酚含量显著高于木纳格葡萄 ($p<0.05$), 分别高 0.60% 和 0.87%, 但木纳格葡萄果梗褐变程度高于红提葡萄。通过相关性分析发现, 红提和木纳格葡萄果梗的总酚含量与果梗褐变指数呈极显著相关, 相关系数分别为 0.875、0.932。多酚类物质一般分布细胞液泡内, 由于木纳格葡萄果梗的

相对电导率和 MDA 含量高于红提葡萄, 细胞膜的破坏程度较高, 加快细胞质流动、细胞水分流失、多酚类物质流出, 褐变进程加快; 由于葡萄品种间褐变的作用底物不同, 与 PPO 的结合能力差异, 导致褐变进程的不同^[29]。

类黄酮是存在于果蔬中的天然色素, 也是植物组织内抗氧化物质之一。贮藏期间, 随着褐变指数的增加, 类黄酮含量呈上升趋势。在对鲜切慈姑褐变的研究中也发现, 鲜切慈姑的褐变度随着类黄酮含量的增加而增加^[30], 与本试验结果一致。由于品种差异, 木纳格葡萄果梗类黄酮含量极显著高于红提葡萄 ($p<0.01$), 但褐变指数高于红提葡萄果梗。贮藏至第 6 d, 木纳格葡萄果梗类黄酮含量比红提葡萄高 44.79%。通过以上数据说明, 葡萄果梗褐变指数随着总酚、类黄酮含量的上升而增加。

2.5 葡萄果梗 PPO、POD、PAL 活性的变化

在贮藏期间, 随着果梗褐变指数的增加, PPO、POD、PAL 活性呈现先上升, 后下降的趋势。可能是在贮藏期间, 葡萄果皮和果梗裸露在外, PPO、POD、PAL 活性被激活, 启动了葡萄的自我保护机制, 造成褐变相关酶活性的上升; 随着防御机制启动的完毕, 已经适应了贮藏环境, 造成褐变相关酶活性的下降^[31]。由图 5a 可知, 葡萄果梗的 PPO 活性均呈现先上升后下降的趋势, 与李江阔等^[32]研究葡萄果实中的趋势相同。贮藏期间, 红提葡萄果梗的 PPO 活性显著低于木纳格葡萄 ($p<0.05$)。贮藏至第 5 d, 红提葡萄果梗的 PPO 活性出现峰值, 为 0.95 U/g 。贮藏至第 6 d, 木纳格葡萄果梗的 PPO 活性出现峰值, 为 2.36 U/g 。酚类物质存在于细胞液泡中, PPO 存在于细胞膜、细胞壁及细胞质中, 正常植物细胞中不会发生褐变。由于木纳格葡萄果梗的相对电导率高于红提葡萄果梗, 表明木纳格葡萄果梗细胞结构受到的破坏程度较高; 细胞区域分布被打破, 加快 PPO 与酚类底物、醌类化合物的氧化反应, 醌类化合物进一步聚合成呈现褐色、棕色或黑色的聚合物, 促进褐变进程。

在不同品种葡萄果实的研究中发现, 克瑞森葡萄的 POD 活性较高, O_2^- 和 H_2O_2 含量较低, 表现出优良的贮藏品质^[33]。由图 5b 可知, 葡萄果梗的 POD 活性均呈现先上升后下降的趋势, 红提葡萄果梗的 POD 活性始终显著高于木纳格果梗 ($p<0.01$)。贮藏至第 3 d, 两种葡萄品种果梗的 POD 活性, 均出现峰值。红提果梗 POD 的峰值, 为 3.22 U/g 。木纳格葡萄果梗 POD 峰值, 为 0.20 U/g , 是红提葡萄果梗

的 6.12%。木纳格葡萄果梗中 H₂O₂ 含量较高, POD 在 H₂O₂ 含量高的条件下, 催化果梗中酚类底物和类黄酮化合物的氧化聚合, 加速果梗中酚类物质的代谢, 造成膜脂过氧化程度高, 从而加速褐变^[34]。

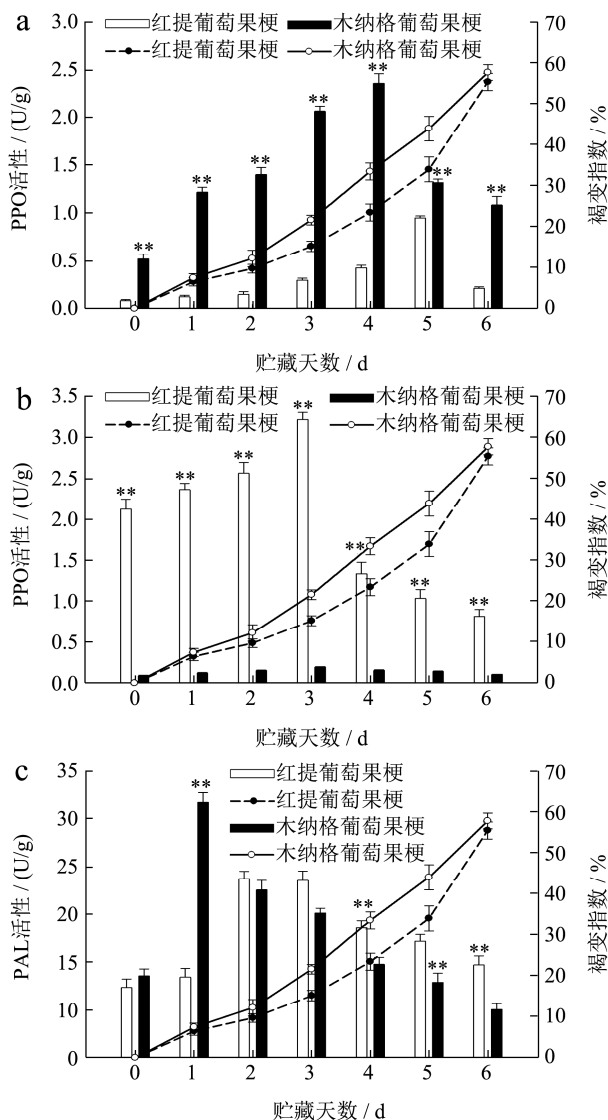


图5 葡萄果梗 PPO (a)、POD (b)、PAL (c) 活性的变化

Fig.5 Changes of PPO, POD, PAL activity of grape rachis

PAL 可以影响酚类物质的合成, 能够作为褐变的重要指标。由图 5c 可知, 葡萄果梗的 PAL 活性均呈现先上升后下降的趋势。在贮藏前期, 木纳格葡萄果梗的 PAL 活性高于红提葡萄果梗。在第 1 d, 差异极显著 ($p < 0.01$), 木纳格葡萄果梗的 PAL 活性比红提葡萄果梗高 57.56%。贮藏至第 4~6 d, 红提葡萄果梗的 PAL 活性分别比木纳格葡萄果梗高 29.38%, 42.38%, 46.36%。但在贮藏期间, 木纳格葡萄果梗的褐变指数高于红提葡萄果梗。木纳格葡萄果梗中苯丙氨酸的含量较高, 在 PAL 催化作用下生成肉桂酸, 并进一步转化为各种酚类化合物, 为褐变提供反应底物, 加速褐变。

2.6 葡萄果梗 SOD、CAT、APX 活性的变化

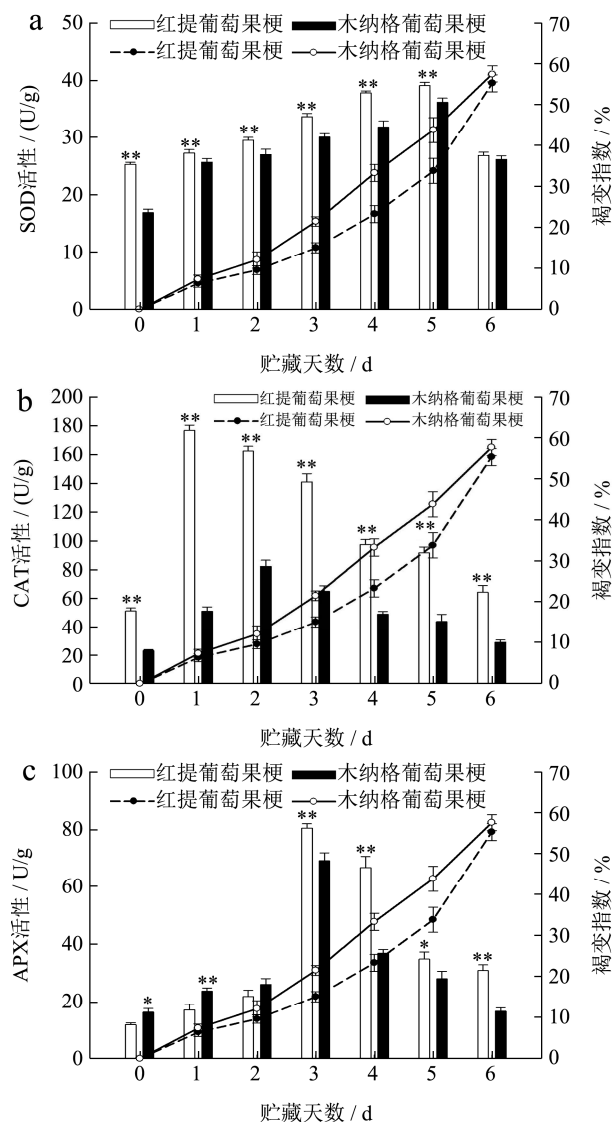


图6 葡萄果梗 SOD、CAT、APX 活性变化

Fig.6 Changes analysis of the activity of SOD, CAT, APX of grape rachis

由图 6 可知, 贮藏期间, SOD、CAT、APX 活性呈先上升, 后下降的趋势, 与 Lo'ay 等^[18]在不同砧木对无核白葡萄簇的影响中的研究结果相类似。贮藏至第 6 d, 红提葡萄果梗 SOD、CAT 活性分别是木纳格葡萄的 1.02 倍、2.19 倍。除第 2 d 外, 红提葡萄果梗的 APX 活性显著高于木纳格葡萄 ($p < 0.05$); 贮藏第 3 d 时, 红提和木纳格葡萄果梗的 APX 活性均出现峰值, 分别是 80.67 U/g, 69.22 U/g。红提葡萄果梗的 APX 活性比木纳格葡萄果梗高 16.33%。活性氧主要由叶绿体和线粒体等具有高氧化代谢活力或者维持电子传递的细胞器产生。SOD 是酶促清除系统中的第一道屏障, 不仅可以将 O₂⁻歧化为 H₂O₂ 和 O₂, 而且能阻止氧化的 Fe³⁺重新受 O₂⁻作用还原成

Fe^{2+} , 而催化形成毒性更强的羟基($\cdot\text{OH}$)。CAT 可以清除高浓度 H_2O_2 , 减少 H_2O_2 对组织造成的氧化伤害^[35]。APX 可以通过氧化抗坏血酸清除 H_2O_2 , 在一定程度上, 减少氧自由基对果蔬的破坏^[36]。本研究发 现, 木纳格葡萄果梗褐变指数高于红提葡萄, 可能是木纳格葡萄果梗 SOD、CAT、APX 活性低于红提葡萄, 增加活性氧的积累, 加快膜脂过氧化程度, 破坏细胞膜结构完整性; 导致细胞区室化的丧失, 使位于质体和其他细胞器中的多酚氧化酶和过氧化物酶与位于液泡中的酚类底物接触, 形成棕色聚合物, 加快褐变的发生。

2.7 相关性分析

由表 1 可知: 红提葡萄果梗 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率与 MDA 含量($r=0.772^{**}$)、总酚($r=0.835^{**}$)呈极显著正相关; PPO 与 MDA 含量($r=0.548^{**}$)呈极显著正相关; POD 与 H_2O_2 含量($r=-0.639^{**}$)、相对电导率($r=-0.748^{**}$)、总酚($r=-0.664^{**}$)、类黄酮含量($r=-0.543^*$)及 PPO 活性($r=-0.466^*$)呈显著负相关, PAL 与果梗褐变指数($r=0.062$)、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率($r=0.862^{**}$)、 H_2O_2 含量($r=0.503^*$)、相对电导率($r=0.108$)、MDA 含量($r=0.304$)、总酚($r=0.229$)及类黄酮($r=0.347$)呈正相关; SOD 与 POD($r=-0.207$)呈负相关, 与 PAL($r=0.454^*$)呈显著正相关; CAT 与类黄酮含量($r=-0.172$)呈负相关, 与 SOD($r=-0.163$)呈负相关; APX 与相对电导率($r=0.384$)、MDA 含量($r=0.457^*$)呈正相关, 与 CAT($r=-0.110$)呈负相关。

木纳格葡萄果梗 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率与 MDA 含量($r=-0.397$)呈负相关, 与总酚($r=-0.525^*$)呈显著负相关, PPO 与 MDA 含量($r=-0.086$)呈负相关; POD 与 H_2O_2 含量($r=0.711^{**}$)、相对电导率($r=0.090$)、总酚($r=0.305$)、类黄酮含量($r=0.485^*$)及 PPO 活性($r=0.818^{**}$)呈正相关, PAL 与果梗褐变指数($r=-0.605^{**}$)、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率($r=-0.319$)、 H_2O_2 含

量($r=-0.658^{**}$)、相对电导率($r=-0.591^{**}$)、MDA 含量($r=-0.623^{**}$)、总酚($r=-0.583^{**}$)及类黄酮含量($r=-0.392$)呈负相关; SOD 与 POD($r=0.639^{**}$)呈极显著正相关, 与 PAL($r=-0.100$)呈负相关; CAT 与类黄酮含量($r=0.206$)、及 SOD($r=0.559^{**}$)呈正相关; APX 与相对电导率($r=-0.043$)、MDA 含量($r=-0.268$)呈负相关, CAT 活性($r=0.497^*$)呈正相关。

葡萄果梗褐变指数与 H_2O_2 含量、相对电导率、MDA 含量、总酚及类黄酮呈显著正相关($p<0.05$); 红提、木纳格葡萄果梗褐变指数与 PPO 的相关系数分别为 0.385, 0.228。红提葡萄果梗褐变指数与 POD 活性、CAT 活性呈显著负相关($p<0.05$), 相关系数分别为-0.739, -0.448。木纳格葡萄的果梗褐变指数与 PAL 活性呈极显著负相关($p<0.01$), 相关系数为-0.605; 与 SOD 活性呈显著正相关($p<0.05$), 相关系数为 0.614; 可能是由于葡萄果梗之间生理结构的不同、酶的活力及作用条件存在差异性, 导致各指标间不同的相关性, 同一种酶对果梗褐变的影响程度也不同。

3 结论

在 10 ± 0.5 °C 条件下, 由于红提葡萄果梗具有较高的总酚、SOD、CAT、POD、APX、PAL 活性, 可以延缓果梗相对电导率、MDA 含量的上升及活性氧的积累, 减少细胞膜损伤, 使 PPO 活性、 H_2O_2 含量保持在较低水平, 减慢果梗褐变速度, 葡萄果梗褐变进程与抗氧化酶密切相关。因品种之间果梗生理结构的差异, 引起果梗褐变的抗氧化酶有所不同。通过相关性分析发现, POD 和 CAT 可能是影响红提葡萄果梗褐变主要因素, SOD 和 PAL 可能是影响木纳格葡萄果梗褐变的主要因素。抗氧化酶基因调控对不同葡萄品种果梗褐变的影响仍需进一步深入研究。

表 1 指标间相关性分析

Table 1 Correlation analysis among indicators

项目	品种	果梗褐变指数	O ₂ ⁻ 产生速率	H ₂ O ₂ 含量	相对电导率	MDA含量	总酚	类黄酮含量	PPO活性	POD活性	PAL活性	SOD活性	CAT活性	APX活性
果梗褐变指数	红提葡萄果梗	1												
	木纳格葡萄果梗	1												
O ₂ ⁻ 产生速率	红提葡萄果梗	0.517*	1											
	木纳格葡萄果梗	0.238	1											
H ₂ O ₂ 含量	红提葡萄果梗	0.472*	0.781**	1										
	木纳格葡萄果梗	0.887**	0.567**	1										
相对电导率	红提葡萄果梗	0.927**	0.762**	0.626**	1									
	木纳格葡萄果梗	0.985**	0.338	0.870**	1									
MDA含量	红提葡萄果梗	0.881**	0.772**	0.762**	0.952**	1								
	木纳格葡萄果梗	0.873**	-0.397	0.646**	0.830**	1								
总酚	红提葡萄果梗	0.875**	0.835**	0.704**	0.972**	0.966**	1							
	木纳格葡萄果梗	0.932**	-0.525*	0.533*	0.947**	0.700**	1							
类黄酮含量	红提葡萄果梗	0.849**	0.789**	0.818**	0.921**	0.983**	0.951**	1						
	木纳格葡萄果梗	0.882**	0.655**	0.852**	0.895**	0.618**	0.935**	1						
PPO活性	红提葡萄果梗	0.385	0.773**	0.642**	0.565**	0.548**	0.625**	0.598**	1					
	木纳格葡萄果梗	0.228	0.817**	0.731**	0.224	-0.086	0.368	0.589**	1					
POD活性	红提葡萄果梗	-0.739**	0.471*	-0.639**	-0.748**	-0.579**	-0.664**	-0.543*	-0.466*	1				
	木纳格葡萄果梗	-0.069	0.918**	0.711**	0.090	-0.271	0.305	0.485*	0.818**	1				
PAL活性	红提葡萄果梗	0.062	0.862**	0.503*	0.108	0.304	0.229	0.347	0.117	0.484*	1			
	木纳格葡萄果梗	-0.605**	-0.319	-0.658**	-0.591**	-0.623**	-0.583**	-0.392	0.097	0.222	1			
SOD活性	红提葡萄果梗	0.188	0.900*	0.735**	0.481*	0.521*	0.600**	0.570**	0.846**	-0.207	0.454*	1		
	木纳格葡萄果梗	0.614**	0.712**	0.730**	0.655**	0.174	0.748**	0.817**	0.663**	0.639**	-0.100	1		
CAT活性	红提葡萄果梗	-0.448*	0.295	0.216	-0.475*	-0.256	-0.415	-0.172	-0.361	0.645**	0.363	-0.163	1	
	木纳格葡萄果梗	-0.237	0.506*	0.908**	-0.154	-0.154	-0.014	0.206	-0.226	0.523*	0.729**	0.559**	1	
APX活性	红提葡萄果梗	-0.186	0.653**	0.517*	0.384	0.457*	0.489*	0.442*	0.300	0.173	0.634**	0.641**	-0.110	1
	木纳格葡萄果梗	-0.036	0.889**	0.484*	-0.043	-0.268	0.139	0.303	0.735**	0.884**	0.163	0.419	0.497*	1

注：表中“*”表示相关性显著 ($p < 0.05$)，“**”表示相关性极显著 ($p < 0.01$)。

参考文献

- [1] 中华人民共和国.中国统计年鉴[M].北京:人民出版社, 2020
People's Republic of China. China Statistical Yearbook [M]. Beijing: China People's Publishing House, 2020
- [2] 李志文,张平,王罡,等.冰温贮藏条件下短时高浓度 CO₂ 处理对巨峰葡萄的保鲜效果[J].食品科技,2011,36(12):20-26
LI Zhi-wen, ZHANG Ping, WANG Gang, et al. Effect of controlled freezing-point temperature storage combined with exogenous CO₂ on fresh-keeping of Kyoho grape [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(12): 20-26
- [3] Carvajal-Millán E, Carvallo T, Orozco J A, et al. Polyphenol oxidase activity, color changes, and dehydration in table grape rachis during development and storage as affected by N-(2-Chloro-4-pyridyl)-N-phenylurea [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(2): 946-951
- [4] 张军,秦培鹏.“红地球”葡萄贮藏过程中果梗新鲜度影响因子研究[J].北方园艺,2012,8:171-173
ZHANG Jun, QIN Pei-peng. Study on the influence factors of fruit stem freshness during storage of 'Red globe' grape [J]. Northern Horticulture, 2012, 8: 171-173
- [5] Linke M, Herppich W B, Geyer M. Green peduncles may indicate postharvest freshness of sweet cherries [J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 58(2): 135-141
- [6] 韩文凤,郭红英,贾娟,等.果蔬多酚及其抗氧化性研究进展[J].保鲜与加工,2019,19(4):191-194
HAN Wen-feng, GUO Hong-ying, JIA Juan, et al. Research progression polyphenols and antioxygenic property of fruits and vegetables [J]. Fresh-keeping and Processing, 2019, 19(4): 191-194
- [7] 齐会楠.CO₂ 诱导库尔勒香梨果心褐变发生机理的研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2014
QI Hui-nan. Mechanism study on carbon dioxide induced core browning of postharvest fruit Korla fragrant pear [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2014
- [8] Lin Y, Lin H, Zhang S, 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: 42-48
- [9] Rosales R, Fernandez-Caballero C, Romero I, et al. Molecular analysis of the improvement in rachis quality by high CO₂ levels in table grapes stored at low temperature [J]. Postharvest Biology and Technology, 2013, 77: 50-58
- [10] Ruenroengklin N, Yang B, Lin H, et al. Degradation of anthocyanin from litchi fruit pericarp by H₂O₂ and hydroxyl radical [J]. Food Chemistry, 2009, 116(4): 995-998
- [11] Ayala-zavala J F, Wang S Y, Wang C Y, et al. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit [J]. LWT - Food Science and Technology, 2004, 37(7): 687-695
- [12] 李志文,张平,王罡,等.1-MCP 处理对乍娜葡萄常温货架期保鲜效果的研究[J].保鲜与加工,2012,12(3):6-10
LI Zhi-wen, ZHANG Ping, WANG Gang, et al. Study on the effect of 1-MCP treatment on shelf life of Zana grape at room temperature [J]. Fresh-keeping and Processing, 2012, 12(3): 6-10
- [13] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2007
CAO Jian-kang, JIANG Wei-bo, ZHAO Yu-mei. Guidance on Postharvest Physiological and Biochemical Experiments of Fruits and Vegetables [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007
- [14] 袁梦麒,潘永贵.贮藏温度对番木瓜果实冷害及其抗氧化系统的影响[J].现代食品科技,2016,32(5):213-218
YUAN Meng-qi, PAN Yong-gui. Effect of storage temperature on chilling injury and antioxidant system of papaya fruit [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(5): 213-218
- [15] 集贤,张平,朱志强,等.不同温度及套袋处理对采后“巨峰”葡萄果梗的保鲜效果[J].北方园艺,2018,7:121-128
JI Xian, ZHANG Ping, ZHU Zhi-qiang, et al. Preservation effects of different temperature and bagging treatments on postharvest 'Kyoho' grape stems [J]. Northern Horticulture, 2018, 7: 121-128
- [16] Endoa H, Miyazakib K, Osec K, et al. Hot water treatment to alleviate chilling injury and enhance ascorbate-glutathione cycle in sweet pepper fruit during postharvest cold storage [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 257: 108715
- [17] 李灿婴,葛永红,吕静祎,等.核黄素对厚皮甜瓜果实粉霉病和黑斑病的影响[J].食品科学,2016,37(12):243-247
LI Can-ying, GE Yong-hong, LYU Jing-yi, et al. Effects of riboflavin on pink mold and black spot of muskmelon fruits [J]. Food Science, 2016, 37(12): 243-247
- [18] Lo'ay A A, Doaa M H. The potential of vine rootstocks impacts on 'Flame seedless' bunches behavior under cold storage and antioxidant enzyme activity performance [J]. Scientia Horticulturae, 2020, 260: 108844
- [19] Zhang Z, Xu J, Chen Y, et al. Nitric oxide treatment maintains postharvest quality of table grapes by mitigation of

- oxidative damage [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 152: 9-18
- [20] Wang X L, Lu Z M, Su J L, et al. 2,4-Epibrassinolide delays senescence in harvested kiwifruit through effects on mitochondrial membrane and antioxidant activity [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 118: 108833
- [21] 李杰,魏佳,张政,等.二氧化硫(SO₂)熏蒸改善木纳格葡萄的采后品质[J].现代食品科技,2020,36(2):114-121,151
LI Jie, WEI Jia, ZHANG Zheng, et al. Improving on postharvest quality of Munage grape berries fumigated by sulfur dioxide (SO₂) [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(2): 114-121, 151
- [22] 邓冰,韩云云,张玉凤,等.1-MCP 结合 CT 复合保鲜剂对木纳格葡萄保鲜效果的研究[J].保鲜与加工,2018,18(1):8-13
DENG Bing, HAN Yun-yun, ZHANG Yu-feng, et al. Effect of 1-MCP fumigation combined with CT compound preservatives on storage of Munage grape [J]. *Fresh-keeping and Processing*, 2018, 18(1): 8-13
- [23] Imahori, Yoshihiro, Naitoh, et al. The seasonal variation of redox status in komatsuna (*Brassica rapa* var. *perviridis*) leaves [J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 210: 49-56
- [24] 林河通,席琦芳,陈绍军.龙眼果实采后失果皮褐变与活性氧及酚类代谢的关系[J].植物生理与分子生物学学报, 2005,13(3):287-297
LIN He-tong, XI Yu-fang, CHEN Shao-jun. The relationship between postharvest longan fruit peel browning and active oxygen and phenol metabolism [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 13(3): 287-297
- [25] Cheng J, Wen S, Bie Z. Overexpression of hexose transporter *CsHT3* increases cellulose content in cucumber fruit peduncle [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 145: 107-113
- [26] 孙扬扬.基于膜脂代谢的常温贮藏南果梨果心褐变机理及调控研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2020
SUN Yang-yang. Study on the mechanism and regulation of core browning of 'Nanguo' pears at ambient temperature based on membrane lipid metabolism [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020
- [27] Ali S, Khan A S, Anjum M A, et al. Aloe vera gel coating delays post-cut surface browning and maintains quality of cold stored lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) root slices [J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 256: 108612
- [28] 赵强,张平,朱志强,等.不同品种无核葡萄采后活性氧代谢的比较研究[J].北方园艺,2013,17:20-22
ZHAO Qiang, ZHANG Ping, ZHU Zhi-qiang, et al. Research on comparison of active oxygen metabolism of postharvest seedless grape varieties [J]. *Northern Horticulture*, 2013, 17: 20-22
- [29] 魏敏.鲜切苹果酶促褐变底物研究[J].现代园艺,2015,8:5-6, 31
WEI Min. Study on enzymatic browning substrate of fresh-cut apple [J]. *Modern Horticulture*, 2015, 8: 5-6, 31
- [30] 廖玲燕,凌月霜,刘云芬,等.不同抗褐变剂处理对鲜切慈姑褐变的影响[J].食品工业,2020,41(5):195-199
LIAO Ling-yan, LING Yue-shuang, LIU Yun-fen, et al. Effects of different anti-browning agents treatments on browning of fresh-cut arrowhead during cold storage [J]. *Food Industry*, 2020, 41(5): 195-199
- [31] 张翔宇,王妍丹,李志文,等.不同保鲜处理对鲜食葡萄贮藏期间褐变的影响[J].保鲜与加工,2016,16(6):8-15
ZHANG Xiang-yu, WANG Yan-dan, LI Zhi-wen, et al. Effects of different preservation treatments on browning of table grapes during storage [J]. *Storage and Process*, 2016, 16(6): 8-15
- [32] 李江阔,曹森,张鹏,等.1-MCP 采前处理对葡萄采后相关酶活性与品质的影响[J].食品科学,2014,35(22):270-275
LI Jiang-kuo, CAO Sen, ZHANG Peng, et al. Effects of preharvest 1-MCP treatments on postharvest quality and related enzyme activities of grapes [J]. *Food Science*, 2014, 35(22): 270-275
- [33] Tomás-Barberán F A, Espín J C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, 81(9): 853-876
- [34] 李栋,占智豪,周心悦,等.高浓度二氧化碳气调抑制鲜切莲藕酶促褐变的机制[J].浙江大学学报(农业与生命科学版), 2020,46(1):101-110,118
LI Dong, ZHAN Zhi-hao, ZHOU Xin-yue, et al. Mechanism of the inhibition of elevated CO₂ atmosphere on enzymatic browning of fresh-cut lotus roots [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2020, 46(1): 101-110, 118
- [35] 董栓泉,许凤,王春幸,等.不同糖处理对离体青花菜抗氧化酶以及品质的影响[J].现代食品科技,2016,32(5):199-204
DONG Shuan-quan, XU Feng, WANG Chun-xing, et al. Effects of different sugar treatments on the activity of in vitro antioxidant enzymes and quality of broccoli [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(5): 199-204