

刘恒蔚, 颜 婕, 袁卫明, 等. 白沙枇杷采后果皮与果肉活性氧代谢差异研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(1): 151-153.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.01.040

白沙枇杷采后果皮与果肉活性氧代谢差异研究

刘恒蔚¹, 颜 婕¹, 袁卫明², 蒋 梅¹, 邱 焯¹, 顾 晖², 刘 凯¹, 陈宏伟¹

(1. 苏州科技大学化学生物与材料工程学院, 江苏苏州 215009; 2. 苏州农业职业技术学院, 江苏苏州 215008)

摘要: 枇杷是我国重要的南方水果, 采后易腐导致其鲜食期很短, 限制了其商业价值。为了阐明白沙枇杷果皮与果肉活性氧(ROS)代谢的差别以探究枇杷采后衰老的生理学机制, 以白沙枇杷“白玉”为材料, 在 20 ℃ 条件下储存, 并测定果皮和果肉中 ROS 代谢相关指标的变化规律。结果表明, 随着采后衰老的进行, 前 6 d 果皮和果肉氧自由基产生速率相对稳定, 然后持续升高, 且果皮的产生速率高于果肉。伴随氧自由基的积累, SOD 活性亦表现基本一致的规律; POD、CAT 活性则表现为果肉高于果皮。果皮 POD 活性上升迟缓以及 CAT 活性更早下降说明果皮 ROS 清除能力低于果肉。储存过程中, 果皮和果肉的 MDA 含量均持续增加, 但果皮 MDA 含量增加更快, 说明枇杷果皮膜脂过氧化程度超过果肉, 果皮更容易发生结构化损伤。分析认为, 采后枇杷 ROS 代谢失衡削弱了果皮的保护能力, 导致果实内外环境的恶化, 与枇杷采后衰老变质有关。

关键词: 枇杷; 果皮; 果肉; 活性氧代谢; 采后生理; 果皮 ROS 代谢异常; 采后变质主因

中图分类号: S667.301 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)01-0151-03

枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.), 为蔷薇科枇杷属植物, 原产于我国, 主要分布于亚洲的温带和亚热带地区, 在我国长江流域多有分布。其果肉柔软多汁, 酸甜适度, 味道鲜美, 被誉为“果中之皇”。枇杷上市正值一年中初夏水果淡季, 因此深受消费者欢迎。全球枇杷栽培面积超过 13.1 万 hm^2 , 产量超过 54.9 万 t。其中, 中国枇杷栽培面积约为 12 万 hm^2 , 年产量达 45.4 万 t, 种植面积和产量都占全球的绝大部分^[1]。随着近年来对高端水果的需求日益旺盛, 枇杷种植面积有增加趋势, 其效益也越来越好。

枇杷成熟正值长江中下游高温多雨, 其果实生理代谢旺盛, 皮薄汁多, 在贮运期间极易失水皱缩和受机械伤害、病菌感染导致腐烂变质。由于生产的季节性、地域性和易腐性, 枇杷果实不耐储运, 给采后处理、贮藏保鲜等带来了极大困难, 导致枇杷的流通性远逊于苹果、梨和柑橘等大宗水果品种。根据果肉颜色, 枇杷分为白沙枇杷(亦称白肉枇杷)和红沙枇杷(亦称红肉枇杷)2 类。一般而言, 白沙枇杷肉质细腻, 味甜, 品质高于红沙枇杷。与红沙枇杷相比, 白沙枇杷更不耐储运, 常温条件下, 采后 20 d 腐烂率高达 80% 以上, 储存期不超过 10 d^[1], 在 4~5 d 内能保证风味和口感不变。这导致枇杷果实有效贮藏期和货架期短, 成为制约枇杷产业发展的瓶颈。

近年来枇杷保鲜技术以及采后生理的研究多有报道, 但主要集中于枇杷果肉的研究方面, 对于枇杷果皮的采后生理研究鲜有报道。果皮主要由角质和蜡质构成, 作为保护果实免受环境因子伤害的屏障, 能够阻止水分散失, 抵御各种病原

微生物的入侵, 使得果实具有稳定的内环境, 利于保持良好的风味品质, 预防腐败的发生。因此研究枇杷采后果皮生理变化对探索枇杷采后生理与储运保鲜都有重要的意义。

本研究对“白玉”枇杷果皮和果肉在室温(20 ℃)储存期间氧自由基产生速率、活性氧(reactive oxygen species, ROS)相关酶的活性变化规律, 以及 ROS 对细胞伤害的产物——丙二醛(MDA)含量变化进行了分析, 结果说明白玉枇杷果皮 ROS 清除能力较弱, 更易产生氧自由基和 MDA 的积累, 枇杷果皮细胞膜更易受到果实衰老过程的破坏, 由此推测果皮 ROS 代谢异常是枇杷采后变质的重要原因。

1 材料与方 法

1.1 试材及取样

试验所用枇杷于 2016 年采自江苏苏州东山, 品种为白沙枇杷“白玉”。选择成熟度和大小基本一致, 无伤口和无病虫害的枇杷果实, 采后立即装于 PE 保鲜袋并置于 20 ℃ 储存。

在储存 0 d 开始(采摘当日), 每隔 3 d 取样 1 次, 连续取样 5 次。每次各取 5 粒, 小心撕下果皮, 取出果肉, 果皮和果肉分别经过液氮速冻后研磨成为干粉, -80 ℃ 超低温保存备用。

1.2 ROS 代谢相关指标测定

对果皮与果肉样品分别进行 ROS 代谢相关指标的测定。其中氧自由基产生速率采用羟胺法测定^[2], 以 $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg})$ 表示; 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用邻苯三酚自氧化法测定^[2], 以每分钟邻苯三酚自氧化速率抑制 50% 为 1 个活力单位(U), 以 U/mg 酶蛋白表示其酶活性; 过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定^[2], 以每分钟 $D_{470 \text{ nm}}$ 升高 0.01 为 1 个活力单位(U), 以 U/mg 酶蛋白表示其酶活性; 过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法测定^[3], 以每分钟 $D_{240 \text{ nm}}$ 降低 0.1 为 1 个活力单位(U), 以 U/mg 酶蛋白表示其酶活性; 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[3], 以

收稿日期: 2017-04-11

基金项目: 江苏省苏州市科技计划(编号: SYN201512)。

作者简介: 刘恒蔚(1974—), 男, 湖北竹山人, 博士, 副教授, 主要从事应用生物技术研究。E-mail: liuhw@mail.usts.edu.cn。

通信作者: 袁卫明, 研究员, 主要从事枇杷育种与技术推广。

E-mail: ywm357@163.com。

mmol/g 表示。其中粗酶液蛋白质含量按考马斯亮兰 G-250 法测定^[3],以牛血清蛋白为标准,以 mg/g 表示。每个样品取 3 次生物学重复,以平均值进行统计分析,利用 Excel 软件作图。

2 结果与分析

2.1 白玉枇杷采后氧自由基产生速率的变化

氧自由基产生速率可用于反映植物体内 ROS 含量高低,是衡量组织与细胞代谢状态的关键指标。本研究对白玉枇杷采后果皮与果肉的氧自由基产生速率进行测定,其变化规律如图 1 所示。从图 1 可以看出,在储存期前 6 d,果皮和果肉的氧自由基产生速率相对稳定,从 9 d 开始均表现明显的上升趋势。说明在常温条件储存 6 d 以内,果皮和果肉代谢中并没有产生过多的 ROS 物质,而 9 d 以后氧自由基的积累与枇杷常温储存期基本一致^[1]。

在枇杷采后储存 12 d 内,所测定的果皮氧自由基产生速率均高于果肉,说明枇杷果皮代谢容易积累更多的氧自由基,这可能与果皮更易受到环境因子的刺激和破坏有关。

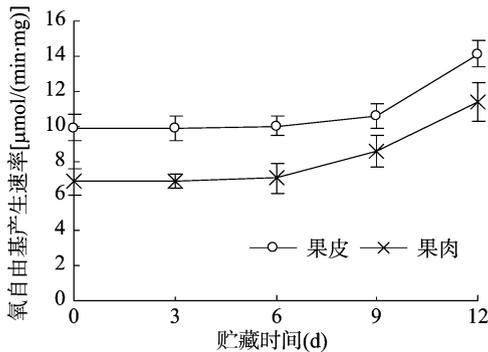


图1 白玉枇杷果实贮藏期间氧自由基产生速率的变化

2.2 白玉枇杷采后 SOD、POD 和 CAT 的活性变化

细胞内的 ROS 代谢相关酶(如 SOD、POD 和 CAT 等)能够清除 ROS 类物质而对细胞有保护作用。白玉枇杷果皮与果肉 SOD、POD 和 CAT 的活性变化规律分别如图 2、图 3 和图 4 所示。可以看出,SOD 活性变化与氧自由基产生速率表现基本一致的规律性,且果皮 SOD 活性高于果肉(图 2);而 POD 活性和 CAT 活性则与 SOD 活性的规律完全不同,表现为测定的多数时间点果肉的 2 种酶活性明显高于果皮(图 3、图 4)。贮藏 9 d 以前果皮和果肉的 POD 活性持续升高,以后增速放缓,果肉在贮藏 12 d 还略有下降。总体而言,果皮 POD 活性的增速低于果肉,而无论是果皮还是果肉,其 CAT 活性持续下降,果皮 CAT 活性在贮藏 6 d 以后下降更快。

POD 和 CAT 主要用于清除 SOD 作用产物 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 等物质,果皮 POD 活性上升迟缓以及 CAT 活性更早下降,说明果皮 ROS 清除能力低于果肉。这种差别可能导致果皮更易积累 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 等 ROS 物质。

2.3 白玉枇杷采后 MDA 含量的变化

MDA 是细胞中膜脂过氧化伤害的产物,其含量可以反映细胞脂质过氧化程度和膜系统的破坏程度,从而判断植物组织衰老代谢情况^[4]。从图 5 可以看出,果肉组织 MDA 含量前期增长缓慢而后期加快,但总体看来,随着采后储存时间的延长,果皮和果肉的 MDA 含量持续增加,且果皮的 MDA 含

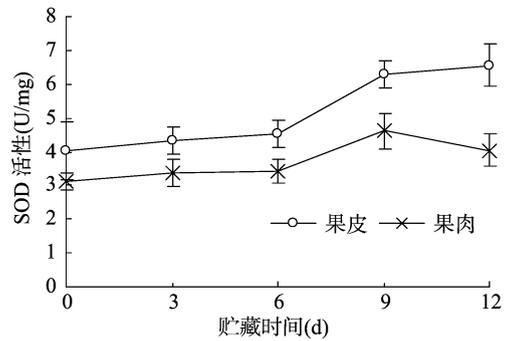


图2 白玉枇杷果实贮藏期间 SOD 活性的变化

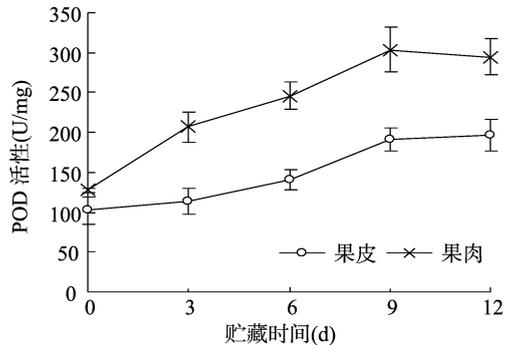


图3 白玉枇杷果实贮藏期间 POD 活性的变化

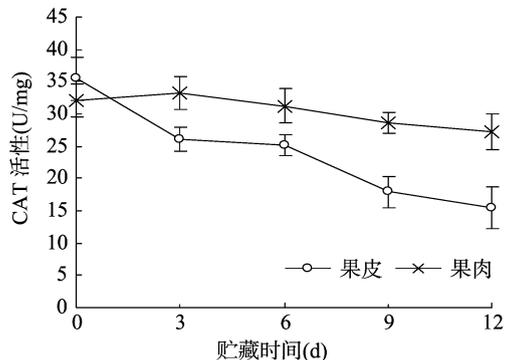


图4 白玉枇杷果实贮藏期间 CAT 活性的变化

量及其增速高于果肉。在贮藏 0 d(采摘当日),枇杷果皮 MDA 含量(平均值,下同)仅为果肉组织的 1.23 倍,而在贮藏 9、12 d 时,果皮 MDA 含量分别是果肉 MDA 含量的 1.88 倍、1.51 倍。从贮藏 0 d 到贮藏 12 d,果皮 MDA 含量增加了 93%,而果肉 MDA 含量增加了 57%,说明枇杷果皮 MDA 的积累远远超过果肉组织。

MDA 含量的持续增加说明其细胞将受到不可逆的伤害,最终果实败坏变质将不可逆发生。白玉枇杷果皮 MDA 含量增速更快,含量更高,说明其膜脂过氧化程度超过果肉组织,更容易发生结构化的损伤。

3 讨论

一般而言,白沙枇杷常温储藏期一般不超过 10 d^[1],此后果实风味变差,腐败发生。本研究 3 种 ROS 清除酶活性变化多在贮藏 9 d 前后出现拐点,而氧自由基产生速率也出现较大增幅,与枇杷常温变质的时期基本一致。

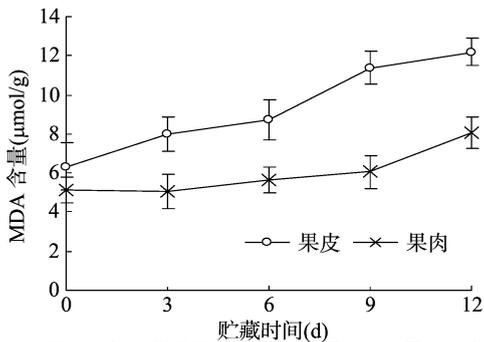


图5 白玉枇杷果实贮藏期间丙二醛含量的变化

本研究对 20 ℃ 储存的枇杷果皮和果肉分别进行了 ROS 代谢相关指标的生理测定。生物细胞代谢中产生的 ROS 物质包括超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot -}$)、羟自由基 ($\cdot OH$)、单线态氧 (1O_2) 和过氧化氢 (H_2O_2) 等,需经过 POD、SOD、CAT 等构成的 ROS 清除系统加以处理。正常情况下,ROS 及其清除系统之间保持平衡而使细胞保持正常的生理状态^[5]。SOD 是一种十分典型的诱导酶^[6-7],它间接反映了氧自由基含量的高低,因此本研究中二者表现基本相同的规律性。其产物 H_2O_2 经 CAT 和 POD 催化,避免细胞毒害反应的发生。可见,在 ROS 代谢过程中,需要各种 ROS 清除因子(包括多种酶)的共同作用。在果实采后衰老过程中,或者是受到逆境胁迫,ROS 及其清除系统之间的平衡被打破,首先导致膜脂氧化的加剧和膜系统的破坏,进而导致细胞膜相变,膜收缩、破裂,细胞透性增大,细胞内离子外渗,细胞区隔化效应遭受破坏^[8],最终出现果实品质变化和病原微生物的入侵。

MDA 是膜脂氧化的产物,直接反映了 ROS 对膜系统的伤害程度^[4]。本研究中白玉枇杷果皮与果肉的 ROS 产生与清除的相关指标变化趋势基本一致,但是果皮 POD、CAT 活性低于而氧自由基产生速率和 MDA 含量高于果肉组织,而且临近变质(贮藏 9 d)时果皮各指标的变化幅度也高于果肉。可见果皮积累了较多的氧自由基,却具有相对较低的 ROS 清除能力,代谢失衡必然导致膜系统更早发生损害。果品保鲜效果依赖稳定适宜的果实内环境与外环境,果皮膜系统的损害必将削弱果皮的保护能力,导致果实内外环境的变化。因此分析认为,白玉枇杷果皮 ROS 代谢失衡使其在果实衰老过程中更易受到伤害,与枇杷采后衰老变质有关。

林建城等的研究表明枇杷果皮多皮孔的超微结构易引起采后枇杷果实失水和病原微生物感染,从而导致果实贮藏性和抗病性下降^[9]。Cao 等的研究表明,1-甲基环丙烯(1-methylcyclopropene, 1-MCP)处理枇杷果皮具有保鲜的效果,通过调节细胞壁多糖组分而增强了细胞壁强度^[10]。1-MCP^[11]和茉莉酸甲酯(MeJA)^[12]处理还能抑制枇杷采后炭疽病的发生。这些研究也说明保鲜措施可通过维持果皮的正常生理功能和结构而起作用,对保持果实品质和抑制微生物入侵具有重要意义。

目前在枇杷的采后生理以及保鲜技术的研究中,对于 ROS 与枇杷果实衰老变质相关性多有报道^[8,13-16]。使用的研究材料多为果肉,对果皮的采后生理却鲜有报道,在其他果实的采后生理研究方面亦是如此。本研究结果表明,枇杷果

皮采后生理学的变化与果实衰老变质相关,这可能是枇杷保鲜与采后生理机制研究中应该考虑的重要方面。

参考文献:

- [1] Lin S Q. World loquat production and research with special reference to China[J]. Acta Horticulturae, 2007, 750(750): 37-43.
- [2] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [3] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [4] Mendes R, Cardoso C, Pestana C. Measurement of malondialdehyde in fish: a comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test[J]. Food Chemistry, 2009, 112(4): 1038-1045.
- [5] Gill S S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(12): 909-930.
- [6] Fridovich I. Superoxide dismutases [J]. Annual Review of Biochemistry, 1975, 44(1): 147-159.
- [7] Imlay J A. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide [J]. Annual Review of Biochemistry, 2008, 77(1): 755-776.
- [8] Cao S F, Zheng Y H, Wang K T, et al. Methyl jasmonate reduces chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit[J]. Food Chemistry, 2009, 115(4): 1458-1463.
- [9] 林建城, 林河通, 郑红, 等. 采后枇杷果皮细胞壁代谢和果实超微结构与贮藏性的关系[J]. 热带作物学报, 2014, 35(1): 166-171.
- [10] Cao S F, Zheng Y H, Wang K T, et al. Effect of 1-methylcyclopropene treatment on chilling injury, fatty acid and cell wall polysaccharide composition in loquat fruit[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(18): 8439-8443.
- [11] Cao S F, Zheng Y H. Effect of 1-methylcyclopropene on anthracnose rot caused by *Colletotrichum acutatum* and disease resistance in loquat fruit[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(13): 2289-2294.
- [12] Cao S F, Zheng Y H, Yang Z F, et al. Effect of methyl jasmonate on the inhibition of *Colletotrichum acutatum* infection in loquat fruit and the possible mechanisms[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 49(2): 301-307.
- [13] Cai C, Chen K S, Xu W P, et al. Effect of 1-MCP on postharvest quality of loquat fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 40(2): 155-162.
- [14] Xu M J, Dong J F, Zhang M, et al. Cold-induced endogenous nitric oxide generation plays a role in chilling tolerance of loquat fruit during postharvest storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 65(3): 5-12.
- [15] Petriccione M, Mastrobuoni F, Pasquariello M S, et al. Effect of chitosan coating on the postharvest quality and antioxidant enzyme system response of strawberry fruit during cold storage[J]. Foods, 2015, 4(4): 501-523.
- [16] Song H W, Yuan W M, Jin P, et al. Effects of chitosan/nano-silica on postharvest quality and antioxidant capacity of loquat fruit during cold storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 119: 41-48.