

# 软儿梨冷冻贮藏过程生理指标的变化研究

蒋钦任<sup>1</sup>, 马雅美<sup>1</sup>, 马永强<sup>1</sup>, 熊辉岩<sup>2</sup>, 段瑞君<sup>1</sup>

(1. 青海大学 生物科学系, 青海 西宁 810016; 2. 青海大学 农牧学院, 青海 西宁 810016)

**摘 要:**通过对新鲜、冷冻以及解冻后褐变 3 个时期软儿梨果肉脯氨酸含量、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、丙二醛含量以及相对电导率的测定, 初步探讨了软儿梨果实采后冷冻贮藏过程中生理生化指标变化趋势。结果表明: 脯氨酸含量呈上升趋势, 由新鲜期  $0.88 \mu\text{g/g}$  到褐变后  $1.58 \mu\text{g/g}$ ; 冷冻时期超氧化物歧化酶活性和过氧化氢酶活性相对新鲜时期呈大幅度增长, 但在褐变后活性降至最低; 丙二醛含量随着贮藏时期的变化呈上升趋势, 褐变后达到  $1.03 \times 10^{-3} \mu\text{mol/g}$ ; 相对电导率呈上升趋势, 由新鲜期  $82.73\%$  上升到褐变期  $98.14\%$ 。

**关键词:**软儿梨; 冷冻贮藏; 褐变; 生理指标

**中图分类号:**S 661.209<sup>+</sup>.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)03-0139-03

软儿梨(*Pyrus ussuriensis* Maxim)属秋子梨系统, 主要分布于青海的河湟两岸和甘肃的河西、兰州、靖远、临洮、平凉等地区<sup>[1]</sup>。软儿梨不仅丰产性强, 且营养价值极高, 富含大量果酸(苹果酸、柠檬酸、葡萄糖酸)及蔗糖等成分。软儿梨的平均果重在 125 g 左右, 每 100 g 中含有蛋白质 0.4 g、脂肪 0.2 g、碳水化合物 2.6 g、膳食纤维 9.1 g、维生素 A 3 mg、胡萝卜素 0.3 mg、钾 105 mg、钙 25 mg、镁 12 mg 以及其它微量元素, 同时软儿梨还具有很高的药用价值, 有润肺、消痰、降火、解疮毒、酒毒等功效<sup>[2]</sup>。目前限制软儿梨开发的重要因素之一是不清楚贮藏时所发生的生理生化变化。现通过对 3 个时期软儿梨中脯氨酸含量、CAT 和 SOD 的活性以及电导率的测定, 探究软儿梨采后冷冻贮藏过程的生理变化规律, 以为软儿梨的采后生理研究及开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试软儿梨采自贵德县河阴镇。

### 1.2 试验方法

随机取新鲜果实, 分 3 组处理进行测定, 第 1 组为新鲜组; 第 2 组-20℃冰箱冷冻 1 周后测定; 第 3 组是将冷冻后的梨放置阴凉处自然褐变 7 d。

### 1.3 项目测定

游离脯氨酸含量采用酸性茚三酮染色法<sup>[3-4]</sup>测定; 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 光化还原法<sup>[5-6]</sup>测定; 过氧化氢酶(CAT)活性测定参照文献<sup>[7]</sup>的方法; 相对电导率的测定参照文献<sup>[6]</sup>、<sup>[8]</sup>的方法; 丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法<sup>[3]</sup>。

### 1.4 数据分析

试验所得数据使用 Excel 2007 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 脯氨酸含量测定

由图 1 可知, 新鲜期脯氨酸含量最低为  $0.88 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ , 褐变后含量最高为  $1.58 \pm 0.04 \mu\text{g/g}$ , 其中从冷冻前至冷冻后的增幅达到 24.45%, 新鲜到褐变后增幅更是达到 80.55%。

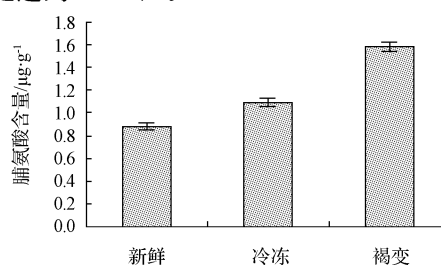


图 1 不同时期软儿梨中脯氨酸含量比较

Fig. 1 Comparison of proline content in Ruaner pear at different periods

### 2.2 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性测定

由图 2~3 可知, 软儿梨新鲜到冷冻后 SOD 增幅 101.38%, 褐变后 SOD 活性为 0; CAT 增幅 140.14%, 褐变后 CAT 活性为 0。这是因为褐变后的软儿梨中的保护酶系统受到了严重的破坏, 造成 SOD、CAT 活性降至

**第一作者简介:**蒋钦任(1991-), 男, 安徽阜阳人, 本科, 研究方向为植物生理学。E-mail: 790216728@qq.com.

**责任作者:**段瑞君(1974-), 男, 河南修武人, 硕士, 教授, 现主要从事植物生理与分子生物学研究工作。E-mail: ruijunduan@yahoo.com.cn.

**基金项目:**国家大学生创新基金资助项目(101074303)。

**收稿日期:**2012-09-17

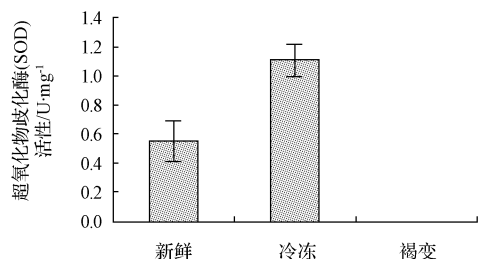


图2 不同时期软儿梨中 SOD 活性比较

Fig. 2 Comparison of SOD activity in Ruaner pear at different periods

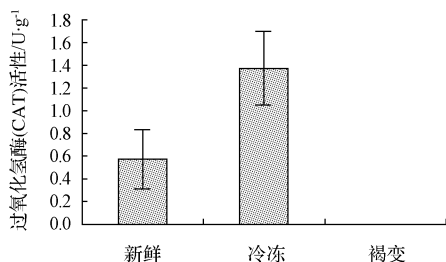


图3 不同时期软儿梨中 CAT 活性比较

Fig. 3 Comparison of CAT activity in Ruaner pear at different periods

很低,甚至失活。

### 2.3 相对电导率的测定

由图4可知,软儿梨的相对电导率在3个时期的变化总体是呈上升趋势。其中,最高值是在褐变期间为  $98.14\% \pm 1.33\%$ ,最低值是在新鲜期为  $82.73\% \pm 1.89\%$ 。从新鲜期到冷冻后增幅为  $12.37\%$ ,褐变后的增幅达到  $18.63\%$ 。

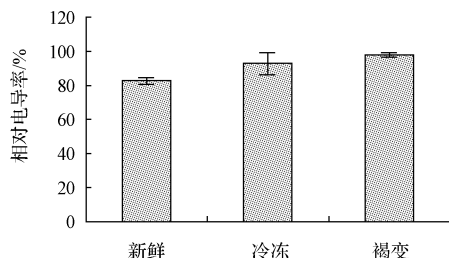


图4 不同时期软儿梨中相对电导率比较

Fig. 4 Comparison of relative conductivity in Ruaner pear at different periods

### 2.4 丙二醛(MDA)含量的测定

由图5可知,软儿梨的丙二醛含量在3个时期总体呈上升趋势。其中,最高值是在褐变后为  $1.03 \times 10^{-3} \pm 0.11 \times 10^{-3} \mu\text{mol/g}$ ,最低值是在新鲜期为  $0.39 \times 10^{-3} \pm 0.07 \times 10^{-3} \mu\text{mol/g}$ (图5)。从新鲜期到冷冻期增幅为  $110.26\%$ ,而到褐变后的增幅更是达到了  $164.10\%$ 。

## 3 讨论

游离脯氨酸可调节和维持结冻前融冻后原生质的渗透平衡,防止水分散失,促进蛋白质与水的结合,增加蛋白质的可溶性。Bornman等<sup>[9]</sup>指出脯氨酸含量的增加可提高烟草的抗冷性,而郭确等<sup>[10]</sup>认为低温对脯氨酸

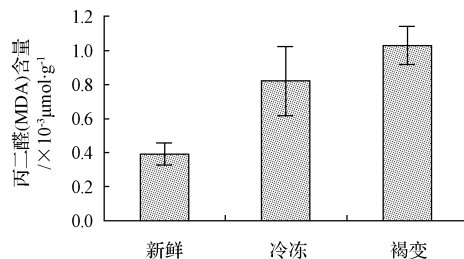


图5 不同时期软儿梨中 MDA 含量比较

Fig. 5 Comparison of MDA content in Ruaner pear at different periods

含量影响不大,美国学者 Yelenosky<sup>[11]</sup>指出,柑桔枝叶阻止游离脯氨酸含量随环境温度下降而升高,但游离脯氨酸含量变化与不同品种的抗寒性相关较小。该试验中脯氨酸含量随着不同处理的进行总体呈上升趋势,证明软儿梨受到外境胁迫的程度逐步加重。脯氨酸的含量增加使得梨抗寒能力增强,减少了细胞内水分丧失,从而保证了解冻后梨细胞的含水量程度,保证了冷冻后梨的品质。脂质过氧化是组织衰老过程膜降解的主要机制,该过程有自由基的介入<sup>[6]</sup>。细胞膜衰老过程包括了膜磷脂水解生成游离脂肪酸,脂肪酸组分中的不饱和脂肪酸发生过氧化作用,产生氢过氧化和自由基<sup>[12-15]</sup>。这些脂质氢过氧化物和自由基进一步毒害细胞膜系统、蛋白质和DNA,导致了细胞膜功能的丧失和细胞的降解死亡<sup>[6,16-17]</sup>,促使了果实成熟衰老和品质的下降<sup>[18]</sup>。植物对膜脂过氧化有2类防御系统:酶促防御系统和非酶促防御系统。酶促防御系统主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等。该试验中,冷冻后SOD以及CAT活性都有大幅增加,说明软儿梨细胞在受到低温胁迫后,酶促防御系统启动,引起酶活性增加,清除自由基能力增强,保持了软儿梨的品质;软儿梨褐变后细胞稳定的内环境受到严重的破坏,保护酶没有适宜的条件保持活性,从而导致果肉细胞中SOD以及CAT的活性降至很低,乃至失活。这证明在冷冻后,软儿梨细胞的正常生理活性仍然正常,但在褐变后细胞正常生理已破坏,其独特风味的产生可能是褐变后的梨细胞遭到严重破坏从而释放出某些物质而形成的。丙二醛(MDA)是膜脂氧化的主要产物之一,大量研究表明,低温<sup>[19]</sup>、盐碱<sup>[20]</sup>、衰老<sup>[5]</sup>等均能引发脂质过氧化反应并存在MDA的积累。该试验中,软儿梨MDA含量在3个阶段的变化是呈上升趋势的。MDA含量的增加,证明膜脂过氧化作用增强,膜结构及功能受到破坏程度加重,加速了果实褐变,使果实品质下降。相对电导率是表示植物细胞膜透性变化的基本指标。植物遭受低温胁迫后,体内渗透调节物质会产生主动积累,以适应逆境胁迫<sup>[21]</sup>。Lyons<sup>[22]</sup>认为植物受低温影响后,细胞膜透性发生不同程度的增大,电解质大量外渗,细胞间的物质浓度增大,使电导率值变大。该试验中,冷冻贮藏软儿梨相对电导率呈上升趋势,说

明梨细胞质膜的受损程度不断加深。软儿梨从新鲜期至冷冻期,相对电导率增幅很高。软儿梨冷冻后迅速解冻,引起细胞膜进一步受损,梨细胞受到严重破坏,细胞内物质大量外渗,引起梨内物质呈水样变化。褐变后,细胞相对电导率接近 1,证明细胞基本丧失生理活性,膜结构基本完全损害。冷冻后,软儿梨中脯氨酸含量升高,这与 Bornman 等<sup>[9]</sup>的研究相一致。SOD 和 CAT 活性升高,这与和红云等<sup>[23]</sup>的研究结果一致。MDA 含量增加,这与陈少裕<sup>[24]</sup>的研究结果基本一致。相对电导率升高,这与 Lyons<sup>[22]</sup>研究结果一致。证明冷冻后膜脂过氧化程度增强,果实细胞正常生理功能与结构均存在一定程度的破坏。褐变后,脯氨酸含量、MDA 含量以及相对电导率均有不同程度的增加,但是 CAT 以及 SOD 活性基本丧失,说明褐变后膜脂过氧化程度很严重,细胞正常生理功能基本丧失,结构破坏较完全。

### 参考文献

- [1] 马姝雯. 软儿梨汁饮料的研制[J]. 饮料工业, 2002(6): 21-24.
- [2] 郑淑霞. 青海软儿梨主产区资源调查[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2008, 26(2): 68-73.
- [3] 王君. 鸭梨、黄金梨采后褐变生理及抗褐变研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2006: 4-5, 10-11.
- [4] 龙春跃. 库尔勒香梨抗冻力与抗冻生理生化特性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2009: 3-4, 14.
- [5] 林植芳, 李双顺. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系[J]. 植物学报, 1984, 26: 605.
- [6] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: correlated with increased leaves of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. J Exp Bot, 1981, 32 (126): 93-101.
- [7] 王菊. 库尔勒香梨采后衰老与褐变关系的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2002: 5-6.
- [8] 蔡惠. 安梨果实抗褐变机理的研究[D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2010: 5-6.
- [9] Bornman H C, Jansson E V A. *Nicotiana tabacum* callus studies. X. ABA increase resistance to cold damage[J]. Plant Physiol, 1980, 48: 491-493.
- [10] 郭确, 潘瑞焱. ABA 对水稻幼苗抗冷性的影响[J]. 植物生理学报, 1984, 10(4): 295-302.
- [11] Yelenosky G. Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young tree in controlled temperature regimes[J]. Plant Physiol, 1979, 64(3): 425-427.
- [12] Paliyath G, Droillard M J. The mechanism of membrane deterioration and disassembly during senescence[J]. Plant Physiol Biochem, 1992, 30: 789-812.
- [13] Thompson J E. The molecular basis of membrane deterioration during senescence. In: Nooden LD, Leopold AC(eds), Senescence and Aging in Plants[M]. San Diego: Academic Press, 1988: 51-53.
- [14] Lynch D V, Sridhara S, Thompson J E. Lipoxygenase-generated hydroperoxides account for the nonphysiological features of ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid by microsomal membranes of carnations[J]. Planta, 1985, 164: 121-125.
- [15] Pauls K P, Thompson J E. Evidence for the accumulation of peroxidized lipids in membranes of senescing cotyledons[J]. Plant Physiol, 1984, 75: 1152-1157.
- [16] Todd J F, Paliyath G A, Thompson J E. Characteristics of membrane-associated lipoxygenase in tomato fruit[J]. Plant Physiol, 1990, 94: 1225-1232.
- [17] Vixk B A, Zimmerman D C. Oxidative systems for modification of fatty acids: the lipoxygenase pathway[M]. In: Stumpf P K, Conn E E(eds). Academic Press: The Biochemistry of Plants, 1989: 53-90.
- [18] Ferrie B J, Beaudoin N, Burkhardt B, et al. The cloning of two tomato lipoxygenase genes and their differential expression during fruit ripening[J]. Plant Physiol, 1994, 106: 109-118.
- [19] 曾韶西, 王以柔, 刘鸿先. 低温下黄瓜子叶疏基含量变化与膜脂过氧化[J]. 植物学报, 1991, 3(2): 1-9.
- [20] 汪宗立. 盐逆境下叶片质膜透性的变化及其脂质过氧化作用的关系[J]. 江苏农业学报, 1987, 3(2): 1-9.
- [21] 和红云, 薛琳, 田丽萍, 等. 低温胁迫对甜瓜幼苗根系活力及渗透调节物质的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2008, 26(5): 583-586.
- [22] Lyons J M. Chilling injury in plants[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1973, 24: 415-44.
- [23] 和红云, 薛琳, 田丽萍, 等. 低温胁迫对甜瓜幼苗膜透性及膜脂过氧化物的影响[J]. 北方园艺, 2008(6): 4-7.
- [24] 陈少裕. 甘蔗低温胁迫与膜脂过氧化[J]. 福建农学院学报, 1992, 21 (1): 22-26.

## Study on Changes of Related Physiological Index of Ruaner Pear at Frozen Storage Process

JIANG Qin-ren<sup>1</sup>, MA Ya-mei<sup>1</sup>, MA Yong-qiang<sup>1</sup>, XIONG Hui-yan<sup>2</sup>, DUAN Rui-jun<sup>1</sup>

(1. Department of Biological Sciences, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016; 2. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

**Abstract:** The proline content, SOD, CAT, MDA content and relative conductivity of Ruaner pear were measured during the fresh, frozen and browning stage, in order to a preliminary discussion about physiological indexes changes at postharvest frozen storage process. The results showed that the proline content was increased from 0.88  $\mu\text{g/g}$  in fresh stage to 1.58  $\mu\text{g/g}$  in browning stage. The SOD and CAT activity was greatly increased from fresh stage to frozen stage, but this two protective enzyme activity became reduced to a minimum in browning stage. MDA content was rising along with the change of different periods. The data in browning became  $1.03 \times 10^{-3} \mu\text{mol/g}$ . Relative conductivity was increased from 82.73% in fresh stage to 98.14% in browning stage.

**Key words:** Ruaner pear; frozen; browning; physiology index