

纳米银和硫代硫酸银预处理对减轻蜡花切花乙烯伤害的研究

刘季平^{1,2}, 张昭其², 李红梅¹, 冼锡金¹, 黎洪波¹, 何生根¹

(1. 仲恺农业工程学院 生命科学学院, 广东 广州 510225; 2. 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要:以乙烯敏感型切花蜡花为试材,用 10、20 mg/L 纳米银(nano-silver, NS)溶液及 0.5 mmol/L 硫代硫酸银(silver thiosulfate, STS)溶液分别预处理蜡花切花茎基端 24 h,以去离子水为对照,随后移至去离子水中瓶插,并用 5 μ L/L 外源乙烯处理 24 h,观测瓶插期间的观赏品质、瓶插寿命和花朵脱落率。结果表明:乙烯处理可加快蜡花切花失水凋萎及花朵脱落,并抑制花朵开放,而 NS 和 STS 预处理可显著减轻乙烯处理对蜡花切花的不利影响,其中以 0.5 mmol/L STS 处理效果最佳,10 mg/L NS 处理次之;另外,采用电感耦合等离子体-原子发射光谱(ICP-AES)法测定 10 mg/L NS 和 0.5 mmol/L STS 溶液预处理后银(Ag)在蜡花切花体内分布发现,2 种处理的茎末端、茎上部、花瓣和叶片均有 Ag 分布,但 NS 处理的茎末端 Ag 含量明显高于 STS 处理,而前者花瓣 Ag 含量则显著低于后者。

关键词:蜡花切花;纳米银;硫代硫酸银(STS);乙烯;花朵脱落

中图分类号:S 681.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)12-0112-04

蜡花(*Chamelaucium uncinatum*)属桃金娘科(Myrtaceae)蜡花属(*Chamelaucium*)植物^[1-2]。蜡花切花是典

型的乙烯敏感型切花,采后贮运过程中的水分缺失、病菌感染等都会促使蜡花内源乙烯释放量增加而导致其小花脱落^[3-4]。Ag⁺可通过竞争性地结合到乙烯作用位点而有效抑制乙烯的作用,而硫代硫酸银(silver thiosulfate, STS)作为一种含 Ag 的阴离子复合物,可有效防止由乙烯引起的蜡花脱落^[5-6],目前在蜡花切花贮运保鲜上广泛应用。但是 STS 溶液性质不稳定,见光易有沉淀产生、需要现配现用,且使用浓度较高,废液进入环境中会造成对土壤和水体的污染,因此其应用受到关注和限制^[7-8]。

第一作者简介:刘季平(1982-),女,博士,实验员,研究方向为切花采后生物学。E-mail:liujipingpipi@163.com.

责任作者:何生根(1965-),男,博士,教授,研究方向为观赏植物生物学。E-mail:howtoroot@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31071829,31272193);广东省自然科学基金资助项目(10151022501000035, S2012010010418);广东省高校优秀青年创新人才培养计划资助项目(2012LYM0079)。

收稿日期:2014-01-17

Study on Kinetics of Acid Hydrolysis and Extraction of Polysaccharide From Aloe

CHEN Ping, MIAO Xiao-yan, HE Fu-qiang

(Department of Biochemistry, Baoding University, Baoding, Hebei 071000)

Abstract: Taking fresh Curacao aloe as material, polysaccharide was extracted by the optimized ultrasound alcohol sedimentation method, the polysaccharides was determined in different concentration of HCl conditions with the optical method. The results showed that the hydrolysis reactions was coincidence with first grade equation. The optimized traditional alcohol sedimentation method was suitable for the industrial production because of simplified procedure and low energy consumption; these results would lay a theoretical foundation for the development application of aloe polysaccharide, especially in the preparation of active oligosaccharide with certain molecular under the acid-controllable conditions.

Key words: aloe polysaccharide; extraction; acid hydrolysis kinetics

纳米银(nano-silver, NS)是一种粒径达到纳米级的特殊形态银(Ag)单质,目前主要作为一种新型抗菌剂在医疗、纺织及建材等领域得到广泛研究和应用^[9-11]。近年来,课题组经一系列研究表明,NS处理对香石竹、百合、月季等切花具有突出的保鲜效果,其作用机制除了具有良好的抗菌作用外,还可能与其拮抗乙烯的作用有关^[12-15]。该试验以蜡花‘Cascade Mist’为试材,比较NS和STS预处理对减轻外源乙烯对蜡花观赏品质、瓶插寿命以及花朵脱落等不良影响的效果,同时采用电感耦合等离子体-原子发射光谱(Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry, ICP-AES)法测定NS和ST处理后Ag在蜡花切花体内分布特点,旨在研究证实NS对蜡花切花乙烯作用的拮抗效应,进而为NS在蜡花及其它切花采后处理和保鲜应用方面提供更多的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

蜡花(*Chamelaucium cinatum* ‘Cascade Mist’)切花采于澳大利亚昆士兰大学 Catton 校区花场,采后立即置于装有去离子水的塑料桶中,用PE袋包裹材料外露桶的部分,避免水分过多散失和花朵受污染,于1 h内运至采后实验室。选用大小基本一致的健康花枝用枝剪平切至25 cm长,然后置于500 mL烧杯中备用。

试验所用NS为上海沪正纳米科技有限公司研发生产的无色透明水溶液,原液浓度为3 000 mg/L,银单质纳米颗粒直径为(9.4±2.5)nm, pH(7.0±0.5)^[16]。

1.2 试验方法

1.2.1 NS、STS及乙烯处理对蜡花切花瓶插寿命的影响 分别用10、20 mg/L NS及0.5 mmol/L STS溶液预处理上述切花茎基端24 h,随后移至去离子水中瓶插并分别置于不含乙烯的调控室中和含10 μL/L乙烯的处理箱(45 cm×45 cm×45 cm)处理24 h,以去离子水中放置24 h作为对照,观测瓶插期间的观赏品质、瓶插寿命和花朵脱落率。

1.2.2 NS和STS处理后Ag在蜡花切花体内分布 分别取10 mg/L NS和0.5 mmol/L STS预处理24 h的蜡花切花茎末端(0~4 cm)、茎上部(约16~20 cm)、叶片和花瓣若干,利用电感耦合等离子体-原子发射光谱(ICP-AES)法测定各处理后Ag在蜡花切花体内的分布情况。

1.3 项目测定

1.3.1 外观品质瓶插寿命的判定 参照Joyce^[3]的方法,瓶插期间每天记录蜡花切花花瓣及叶片的外观变化,当50%花瓣向内闭合45°视为花朵寿命的终结。

1.3.2 蜡花切花花朵脱落率的测定 参照Macnish等^[4]的方法并略作修改,称取蜡花切花瓶插当天的鲜重及乙烯处理后第1天脱落花朵的鲜重,按公式求算花朵

脱落率:花朵脱落率(%)=脱落花朵的重量/瓶插当天切花的鲜重×100%。

1.3.3 Ag在蜡花切花中分布的测定 参照Liu等^[16]的方法进行。分别取NS和STS预处理24 h的蜡花切花茎末端、茎上部、叶片及花瓣置于80℃恒温干燥箱烘至恒重,然后称取上述材料干样各0.3000±0.0005 g,经过硝酸-高氯酸灰化和硝酸消化处理后,冷却至室温,用硝酸定容至20 mL,用ICP-AES仪(Spectroflame Modula E, Spectro 233 Analytical Instruments, GmbH, Kleve, Germany)测定样品中的银含量。

1.4 数据分析

蜡花切花的瓶插寿命及其各部分Ag含量均用平均值±SE表示,并用Duncan’s新复极差法($P<0.05$)进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 NS、STS及乙烯处理对蜡花切花瓶插寿命的影响

由表1可知,在无外源乙烯的情况下,0.5 mmol/L STS和10 mg/L NS预处理均可显著延长蜡花切花的瓶插寿命且二者无显著性差异,20 mg/L NS预处理也能延长蜡花切花的瓶插寿命但是效果并不显著。另外,乙烯处理的蜡花切花瓶插当天即失去观赏价值(瓶插寿命为0 d),而STS和NS预处理则可显著延长乙烯环境下的蜡花切花瓶插寿命,且0.5 mmol/L STS和10 mg/L NS预处理后再处于乙烯环境下的瓶插寿命之间无显著性差异。

表1 NS、STS及乙烯处理对蜡花切花瓶插寿命的影响

Table 1 Effect of treatments with NS, STS and exogenous ethylene on the vase life of cut waxflowers

处理 Treatments	瓶插寿命 Vase life/d
对照 Control	4.2 ± 0.31 c
STS(0.5 mmol/L, 24 h)	6.3 ± 0.49 a
NS(10 mg/L, 24 h)	5.8 ± 0.31 ab
NS(20 mg/L, 24 h)	5.2 ± 0.31 bc
C ₂ H ₄ (5 μL/L, 24 h)	0 ± 0 e
STS(0.5 mmol/L, 24 h)+C ₂ H ₄ (5 μL/L, 24 h)	4.7 ± 0.42 c
NS(10 mg/L, 24 h)+C ₂ H ₄ (5 μL/L, 24 h)	4.0 ± 0.37 c
NS(20 mg/L, 24 h)+C ₂ H ₄ (5 μL/L, 24 h)	2.3 ± 0.56 d

注:每个处理6次重复,不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平不同处理间存在显著差异。

Notes: Six replicates for each treatment. Different small letters mean significant difference among the treatments ($P<0.05$).

2.2 乙烯及NS、STS处理对蜡花切花观赏品质和花朵脱落的影响

由图1及表2可知,乙烯处理会导致蜡花切花叶片和花瓣失水萎蔫及花朵脱落严重且花朵开放程度明显偏小(图1A),0.5 mmol/L STS预处理可明显减轻乙烯对蜡花切花品质的不利影响,并几乎完全阻止了因乙烯处理引起的小花脱落(图1B);10、20 mg/L NS预处理也

可不同程度地减轻乙烯对蜡花的不良作用,且 NS 处理浓度越高,小花脱落率越低(图 1C、D)。

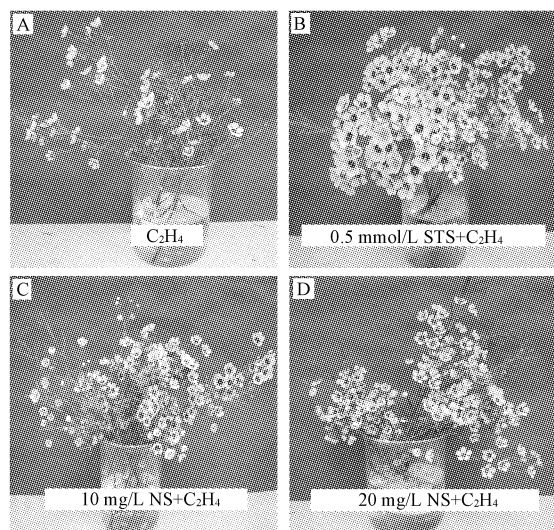


图 1 乙烯及 NS、STS 处理对蜡花切花观赏品质的影响(瓶插第 1 天)

Fig. 1 Effects of ethylene, NS and STS treatments on the ornamental quality of cut waxflowers (at the first day of vasing period)

表 2 乙烯处理对蜡花切花花朵脱落的影响及 NS 和 STS 的拮抗作用

Table 2 Effect of exogenous ethylene on flower abscission of cut waxflowers and alleviation of NS and STS

处理 Treatments	花朵脱落率 Flower abscission rate/%
对照 Control	0
C ₂ H ₄ (5 μL/L, 24 h)	42.5
STS(0.5 mmol/L, 24 h)+C ₂ H ₄ (5 μL/L, 24 h)	0
NS(10 mg/L, 24 h)+C ₂ H ₄ (5 μL/L, 24 h)	16.7
NS(20 mg/L, 24 h)+C ₂ H ₄ (10 μL/L, 24 h)	14.3

2.3 NS 和 STS 处理后 Ag 在蜡花切花体内分布

由图 2 可知,蜡花切花经 0.5 mmol/L STS 处理后 Ag 含量主要分布在叶片,为 65.5 μg/g DW,其次是茎末端和茎上部,分别为 31.6、35.1 μg/g DW,花瓣中含量最低,为 21.6 μg/g DW;10 mg/L NS 处理后 Ag 含量分布大致与 STS 处理相似,Ag 含量主要分布在叶片和茎末端,分别为 55.0、51.5 μg/g DW,其次是茎上部,为 40.6 μg/g DW,花瓣中含量最低,为 3.6 μg/g DW,且明显低于 STS 处理。

3 讨论

蜡花作为典型的乙烯敏感型切花,易受到乙烯伤害并表现出花朵失水凋萎及快速脱落等突出症状,进而严重影响其采后品质和寿命^[3,6]。健康的蜡花乙烯产量低,对蜡花的影响较小,但当遭遇水分缺失、病菌感染等胁迫时,会促使蜡花切花内源乙烯释放量增加而导致其小花脱落和瓶插寿命缩短^[2-3]。此外,外源乙烯也可加

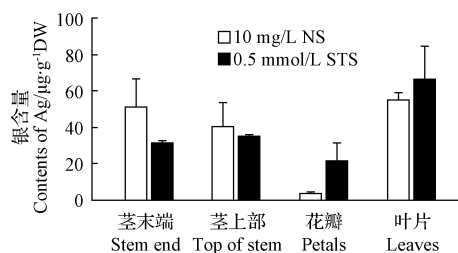


图 2 NS 和 STS 预处理后蜡花切花各部分的 Ag 含量

Fig. 2 Ag content in different parts of cut waxflowers pretreated with NS and STS

速蜡花切花的小花脱落和衰老^[3-4]。该试验中,蜡花切花‘Cascade Mist’经 5 μL/L 外源乙烯处理 24 h 后,叶片和花瓣快速失水萎蔫,花朵脱落严重且花朵开放度明显降低,严重影响其瓶插寿命和观赏品质,表明蜡花切花‘Cascade Mist’品种对乙烯敏感。

Ag⁺可通过竞争性地结合到乙烯的作用位点而具有良好的乙烯拮抗效应^[5-6]。该试验中,使用目前常用的含银乙烯抑制剂 STS 预处理可有效防止外源乙烯处理引起的对蜡花切花‘Cascade Mist’的不良作用,并显著延长其瓶插寿命。NS 是一种银单质,可在生物细胞中发生氧化反应,逐渐释放出 Ag⁺^[17-18]。Kim 等^[12]曾报道用含 NS 的保鲜液浸渍百合切花茎可延长其瓶插寿命,并推测其作用机理可能与 NS 对乙烯作用的抑制有关。黄新敏等^[14]进一步证实 NS 处理可显著减轻外源乙烯对月季切花衰老的促进作用。该试验中,适宜浓度的 NS 预处理 24 h 可延长蜡花切花‘Cascade Mist’的瓶插寿命,其中 10 mg/L NS 预处理的瓶插寿命与 STS 处理相近且明显长于对照。另外,NS 预处理还可显著减轻外源乙烯处理对蜡花切花瓶插寿命的不良影响,且经 10 mg/L NS 预处理后置于乙烯环境的瓶插寿命与 0.5 mmol/L STS 差异不显著。不过,在减轻乙烯对蜡花切花花朵脱落方面,NS 预处理的效果稍次于 0.5 mmol/L STS。进一步采用 ICP-AES 法测定 10 mg/L NS 和 0.5 mmol/L STS 溶液预处理后 Ag 在蜡花切花体内分布发现,2 种处理的茎末端、茎上部、花瓣和叶片均有 Ag 分布,但 NS 处理的花瓣 Ag 含量明显低于 STS 处理,这可能是 NS 处理在减轻乙烯对蜡花切花小花脱落的作用效果不及 STS 处理的原因。值得指出的是,NS 处理的茎末端 Ag 含量要明显高于 STS 处理,而该课题组相关研究已证实 NS 可有效抑制非洲菊、香石竹和百合等切花茎末端细菌的繁衍,并改善花茎的水分吸收与运输^[13,15,19]。换言之,10 mg/L NS 处理虽然在减轻乙烯对蜡花切花小花脱落的作用方面不及 0.5 mmol/L STS 突出,但 NS 处理后 Ag 较多地集聚在蜡花切花茎末端,从而有助于其持续地发挥抗菌作用,最终表现出 NS 和 STS 预处理对蜡花切花的瓶插寿命并无显著性

差异。

综上所述,与 STS 处理相似,NS 预处理后其既可在蜡花切花茎末端切口部位起到抗菌作用,又可运输到花朵部位起着拮抗乙烯的作用,进而有效延长瓶插寿命和减轻花朵脱落。虽然 NS 拮抗乙烯的作用稍逊于 STS 处理,但其对延长蜡花切花瓶插寿命的最终效果与 STS 相近,加之 NS 具有性质稳定、安全性高、效力持久等优点^[10,16],因此它在蜡花及其它切花的采后处理和贮运保鲜上具有良好的应用前景。

参考文献

- [1] 熊友华,寇亚平. 澳大利亚花卉银桦、蜡花的引种栽培研究[J]. 农业科技与信息,2011(6):15.
- [2] Dinh S Q, Joyce D C, Irving D E, et al. Histology of waxflower (*Chamaelium spp.*) flower infection by *Botrytis cinerea* [J]. Plant Pathol, 2011, 60:278-287.
- [3] Joyce D C. Postharvest floral organ fall in Geraldton waxflowers (*Chamaelium uncinatum* Schauer)[J]. Aust J Exp Agr, 1993, 33:481-487.
- [4] Macnish A J, Irving D E, Joyce D C, et al. Sensitivity of Geraldton waxflower to ethylene-induced flower abscission is reduced at low temperature [J]. J Horti Sci Biotech, 2004, 79:293-297.
- [5] Joyce D C. Treatments to prevent flower abscission in Geraldton waxflowers [J]. Hort Science, 1989, 24:391.
- [6] Beasley D R, Joyce D C. A review of the flower characteristics of Geraldton waxflower and factors influencing their abscission from harvested stems [J]. Aust J Exp Agr, 2002, 42:519-525.
- [7] Nell T A. Taking silver safely out of the longevity picture [J]. Grower Talks, 1992(6):35-42.
- [8] Cameron A C, Reid M S. 1-MCP blocks ethylene-induced petal abscis-

sion of *Pelargonium peltatum* but the effect is transient [J]. Postharvest Biol Technol, 2001, 22:167-177.

- [9] Kim J S, Kuk E, Yu K N, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles [J]. Nanomedicine, 2007(3):95-101.
- [10] Lok C N, Ho C M, Chen R, et al. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities [J]. J Biol Inorg Chem, 2007, 12:527-534.
- [11] Maramba-Jones C, Hoek E M V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment [J]. J Nanopart Res, 2010, 12:1531-1551.
- [12] Kim J H, Lee A K, Suh J K. Effect of certain pre-treatment substances on vase life and physiological character in *Lilium* spp [J]. Acta Hort, 2005, 673:307-314.
- [13] 李红梅, 林燕飞, 刘昌镇, 等. 纳米银预处理对麝香百合切花的保鲜效应研究[J]. 北方园艺, 2012(8):166-169.
- [14] 黄新敏, 林启灵, 洗锡金, 等. 纳米银对瓶插月季切花乙烯作用的拮抗效应[J]. 园艺学报, 2012, 39(4):735-742.
- [15] 刘季平, 谢立贤, 李红梅, 等. 不同纳米银处理方式对香石竹切花瓶插寿命的影响[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2012, 25(4):1-4.
- [16] Liu J, Ratnayake K, Joyce D C, et al. Effects of three different nano-silver formulations on cut *Acacia holosericea* vase life[J]. Postharvest Biol Technol, 2012, 66:8-15.
- [17] Choi O, Deng K, Kim N, et al. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth [J]. Water Res, 2008, 42(12):3066-3074.
- [18] Asharani P V, Mun G L K, Hande M P, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells [J]. J Am Chem Soc, 2009, 3(2):279-290.
- [19] Liu J, He S, Zhang Z, et al. Nano-silver pulse treatments inhibit stem-end bacteria on cut gerbera cv. Ruikou flowers [J]. Postharvest Biol Technol, 2009, 54:59-62.

Pretreatments With Nano-silver and STS Alleviated the Harmful Effect of Exogenous Ethylene on Cut Waxflowers

LIU Ji-ping^{1,2}, ZHANG Zhao-qi², LI Hong-mei¹, XIAN Xi-jin¹, LI Hong-bo¹, HE Sheng-gen¹

(1. College of Life Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225; 2. College of Horticulture, South China Agricultural University of Horticulture, Guangzhou, Guangdong 510642)

Abstract: Taking cut waxflowers which was highly sensitive to ethylene as material, they were pretreated for 24 h with 10 and 20 mg/L nano-silver (NS) or 0.5 mmol/L silver thiosulfate (STS) solution and using de-ioned (DI) water as control, then immediately placed in vases containing DI water, and exposed to 5 μ L/L ethylene for 24 h. The changes in ornamental quality, vase life and flower abscission rate of cut waxflowers during their vase period were investigated. The results showed that exogenous ethylene treatments caused quick wilting and abscission of flowers and obvious inhibition in flower opening of cut waxflowers. Both NS and STS pretreatments could significantly alleviate above harmful effects of exogenous ethylene on cut waxflowers, and the STS treatment was the best and 10 mg/L NS treatment was in second place. Additionally, the distribution of Ag in cut waxflowers after pretreated with 10 mg/L NS and 0.5 mmol/L STS, determined by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES), demonstrated that Ag could be found in stem end, top of stem, petals and leaves of cut waxflowers pretreated with both STS and NS. However, Ag content in stem end of cut waxflowers pretreated with NS was significantly higher than with STS, while Ag content in their petals of the former was significantly lower than that of the latter.

Key words: cut waxflower; nano-silver; silver thiosulfate; ethylene; flower abscission