

草莓果实采后衰老过程中活性氧及保护酶活性的变化

南海风¹, 朱冠宇², 樊丽², 刘艳², 刘欢², 郭金丽²

(1. 内蒙古建筑职业技术学院 建筑与规划学院, 内蒙古 呼和浩特 010070; 2. 内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要:以“红颜”草莓果实为试材,以保鲜袋包装,研究不同温度贮藏条件(4、25 ℃)对草莓衰老过程中活性氧水平和保护酶活性变化的影响。结果表明:在草莓果实采后常温 and 低温贮藏条件下,随着贮藏时间的延长,脂氧合酶(LOX)活性和过氧化氢(H₂O₂)含量均先上升后下降、超氧阴离子自由基(O₂⁻)产生速率、相对电导率和丙二醛(MDA)含量整体上升;超声化物歧化酶(SOD)活性整体变化不大,过氧化物酶(POD)活性上升,过氧化氢酶(CAT)活性和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性先上升后下降,整体呈上升趋势。低温贮藏下草莓果实的 LOX 活性、O₂⁻ 产生速率、H₂O₂ 和 MDA 含量、相对电导率均低于常温贮藏,低温贮藏延后了各活性氧物质峰值出现的时间。以上结果表明,活性氧积累和膜脂过氧化加剧了草莓果实的衰老;低温贮藏有利于减弱和延缓自由基积累、膜脂过氧化程度及对细胞膜的损坏,从而延缓草莓果实衰老进程。

关键词:草莓果实;衰老;活性氧;保护酶

中图分类号:S 668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)15-0123-04

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)果实柔软多汁、营养价值高,但草莓果实采后极易衰老腐烂,货架期短、损失大成为制约草莓发展的关键因素。因此,延缓草莓果实衰老、延长果实贮藏期已成为草莓生产中迫切需要解

决的问题。活性氧积累及其引发的膜脂过氧化是诱发和促进果蔬果实衰老的一个重要方面^[1-3],有关草莓果实衰老的活性氧代谢生理研究较少^[4-6]。试验以“红颜”草莓果实为试材,研究不同贮藏温度下草莓果实衰老过程中的活性氧和保护酶活性的变化,了解不同贮藏温度下草莓果实衰老与活性氧的关系,以期草莓果实贮藏保鲜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试“红颜”草莓种植于呼和浩特市新城区农丰果蔬种植农民专业合作社温室。

第一作者简介:南海风(1983-),女,硕士,讲师,现主要从事园林园艺植物栽培与应用等研究工作。E-mail:21062884@qq.com.

责任作者:郭金丽(1972-),女,博士,副教授,现主要从事园艺植物生理和栽培及植物超微弱发光等研究工作。E-mail:guojinli1111@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260455)。

收稿日期:2016-04-21

Shelf-life Prediction of Apple Based on Quality Responses to Temperature

SHI Weina, WANG Ruolin, MA Huling

(College of Life Science, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Taking ‘Fuji’ and ‘Gala’ apple as test materials, in order to develop the prediction methods of apples shelf-life based on Arrhenius equation, through the physicochemical indexes and sensory evaluation of fruit were determined under different temperatures. The results showed that the zero order kinetics could describe the changes of firmness and color parameters during storage of apple at 0–25 ℃. The prediction model was established using b^* which reported more accurate results below 10 ℃ for ‘Gala’ apple, and the relative error was kept less than 15.00%. The ‘Fuji’ model with b^* and ΔE could predict apple shelf-life at 0–10 ℃, then their relative errors were kept 6.79%–16.67%.

Keywords: apple; quality; Arrhenius equation; shelf-life

1.2 试验方法

选择全红期大小一致、无病虫害的“红颜”草莓果实,采摘后立即运回实验室,洗净晾干后以保鲜袋包装,于常温(25 ± 1) °C和低温(4 ± 1) °C贮藏,之后每1 d取1次样,连续取5 d。每次取样后洗净晾干,将果肉剪碎混合均匀,用液氮速冻,于 -80 °C保存,用于各生理指标的测定。

1.3 项目测定

脂氧合酶(LOX)活性测定:取1 g果肉加3 mL提取缓冲液[50 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液,10 g·L⁻¹聚乙烯吡咯烷酮(PVP),5 mmol·L⁻¹二硫苏糖醇(DTT),0.1 mmol·L⁻¹苯甲基磺酰氟(PMSF),pH 7.2],冰浴研磨,4 °C 11 000 r·min⁻¹离心20 min,上清液即为酶提取液。测定时,5 mL磷酸缓冲液加入200 μ L反应底物[0.25 mL Tween-20,加入5 mL 50 mmol·L⁻¹的硼酸缓冲液(pH 9.0)混匀,再加入0.25 mL亚油酸混匀,加1.3 mL 1 mol·L⁻¹的NaOH充分摇匀至澄清,后加入45 mL硼酸缓冲液,用1 mol·L⁻¹ HCl调节pH至6.6,最后定容至100 mL],30 °C保温10 min,以加入200 μ L酶提取液为反应开始,立即计时,用T6新世纪型紫外可见分光光度计在波长234 nm下进行测定。

超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)产生速率的测定参考李玲^[7]、孙群等^[8]的方法;过氧化氢(H_2O_2)含量、抗坏血酸过氧化物酶(APX)的测定参考陈建勋^[9]、张治安等^[10]的方法;丙二醛(MDA)含量、相对电导率、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、过氧化物酶(POD)活性的测定均采用李合生^[11]的方法。

1.4 数据分析

试验数据采用Excel统计软件进行处理,采用SPSS软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 草莓果实采后衰老过程中活性氧的变化

由图1可知,在常温和低温贮藏条件下,随着贮藏时间的延长,草莓果实中LOX活性均表现为先上升后下降,整体呈上升趋势。其中,常温下LOX活性第2天快速上升达295 OD₂₃₄·g⁻¹·min⁻¹,第3天至最大值为

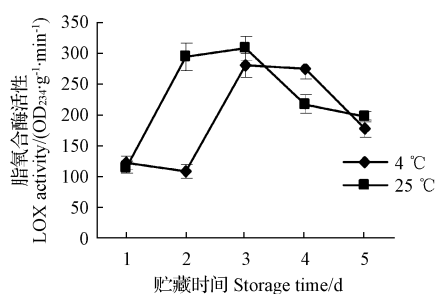


图1 草莓果实衰老过程中脂氧合酶活性的变化

Fig.1 The change of LOX activity during the process of fruit senescence in strawberry

308 OD₂₃₄·g⁻¹·min⁻¹,之后下降;低温下LOX活性在第3天迅速上升达到最大值为281 OD₂₃₄·g⁻¹·min⁻¹,之后下降。

由图2可知,在常温和低温贮藏条件下,随着贮藏时间的延长,草莓果实中 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率整体呈现上升趋势。其中常温下 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的峰值出现在第3天,为84.9 nmol·g⁻¹·min⁻¹;低温下 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率峰值出现在第4天,为33.5 nmol·g⁻¹·min⁻¹。常温贮藏下 $O_2^{\cdot-}$ 的产生速率远高于低温贮藏。说明低温贮藏可以抑制草莓果实中 $O_2^{\cdot-}$ 产生的速率并且延缓峰值的出现。

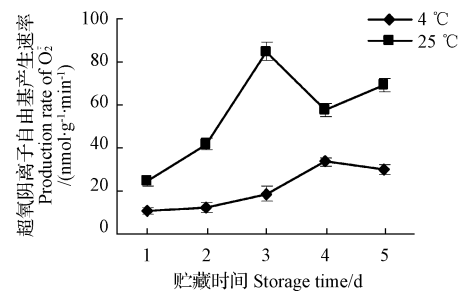


图2 草莓果实衰老过程中 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的变化

Fig.2 The change of production rate of $O_2^{\cdot-}$ during the process of fruit senescence in strawberry

由图3可知,在常温贮藏条件下,草莓果实中 H_2O_2 含量均呈现先上升后下降的趋势,在贮藏第3天达到最高,为0.575 μ mol·g⁻¹,之后下降;在低温贮藏条件下,草莓果实中 H_2O_2 含量整体缓慢上升。常温贮藏下 H_2O_2 含量远高于低温贮藏。说明低温贮藏有助于抑制草莓果实中 H_2O_2 的大量积累。

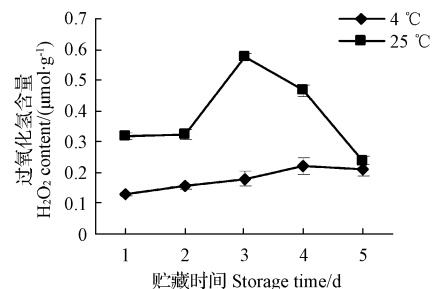


图3 草莓果实衰老过程中 H_2O_2 含量的变化

Fig.3 The change of H_2O_2 content during the process of fruit senescence in strawberry

草莓果实采后衰老过程中,MDA含量积累,膜脂过氧化程度逐渐加剧,膜受伤导致质膜透性增大。由图4可知,在常温和低温贮藏条件下,随着贮藏时间的延长,MDA含量均呈现上升趋势。其中常温下MDA含量上升迅速,低温下MDA含量上升缓慢,且常温贮藏下MDA含量均远高于低温贮藏。由图5可知,在常温和低温贮藏条件下,随着贮藏时间的延长,质膜透性均呈上升趋势,且均

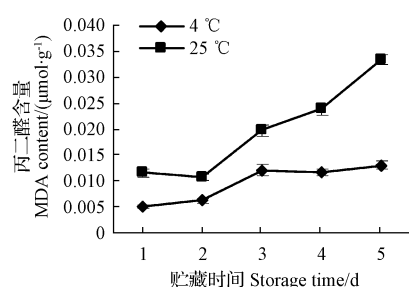


图4 草莓果实衰老过程中丙二醛含量的变化

Fig. 4 The change of MDA content during the the process of fruit senescence in strawberry

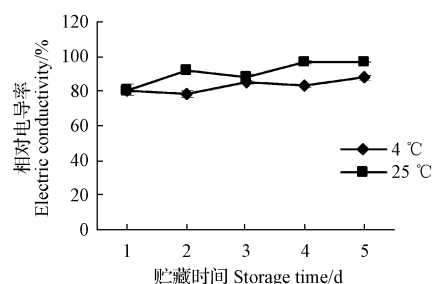


图5 草莓果实衰老过程中相对电导率的变化

Fig. 5 The change of electric conductivity during process of fruit senescence in strawberry

上升缓慢;低温贮藏的质膜透性平均值低于常温贮藏,说明低温贮藏可以减轻膜脂过氧化程度。

2.2 草莓果实采后衰老过程中保护酶的变化

由图6可知,在常温和低温贮藏条件下,随着贮藏时间的延长,草莓果实中SOD活性整体变化不大。其中,常温贮藏SOD活性最低值出现在第3天,为 $107.13 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,低温贮藏最低值出现在第4天,为 $33.88 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。常温贮藏下SOD活性高于低温贮藏。由图7可知,2种贮藏条件下草莓果实中POD活性呈逐渐上升的趋势,且常温贮藏下POD活性明显高于低温贮藏。

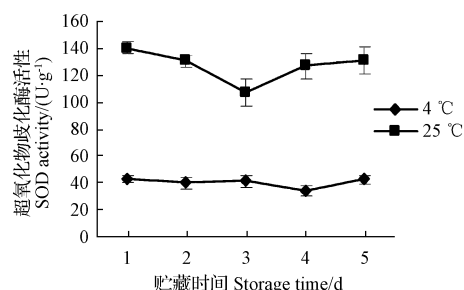


图6 草莓果实衰老过程中超氧化物歧化酶活性的变化

Fig. 6 The change of SOD activity during the process of fruit senescence in strawberry

由图8可知,2种贮藏条件下CAT活性均呈现先上升后下降的趋势,低温贮藏条件下,峰值出现在第4天,为 $320 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,之后下降,常温贮藏条件下,峰值出

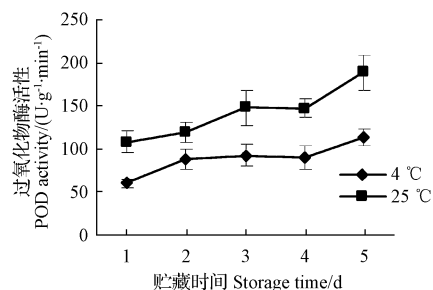


图7 草莓果实衰老过程中过氧化物酶活性的变化

Fig. 7 The change of POD activity during the process of fruit senescence in strawberry

现在第3天,为 $235 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,之后下降;且低温贮藏条件下的CAT活性高于常温贮藏。由图9可知,2种贮藏条件下APX活性变化趋势与CAT相似,为先上升后下降,整体呈上升趋势;常温贮藏APX活性远高于低温贮藏。常温贮藏条件下,APX活性在前3d增长幅度较大,之后缓慢下降,峰值出现在第3天,为 $170 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$;低温贮藏条件下,衰老前期APX活性上升缓慢,在第4天达到最大值,为 $83 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,之后下降较快。

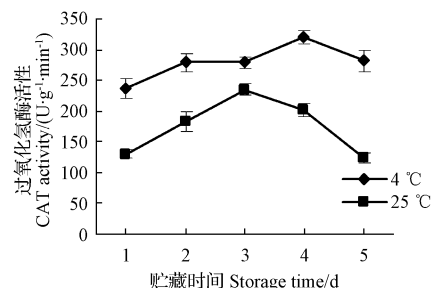


图8 草莓果实衰老过程中过氧化氢酶活性的变化

Fig. 8 The change of CAT activity during the process of fruit senescence in strawberry

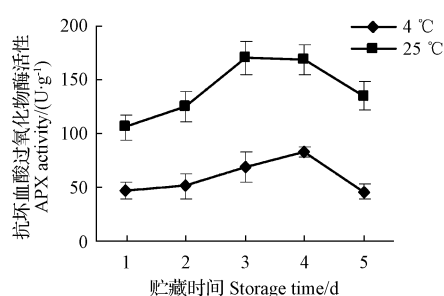


图9 草莓果实衰老过程中抗坏血酸过氧化物酶活性的变化

Fig. 9 The change of APX activity during the process of fruit senescence in strawberry

3 讨论与结论

在正常情况下,由于植物细胞内存在酶促和非酶促两大类自由基清除系统,细胞内自由基水平很低,所以不会引起伤害。在衰老组织中,由于正常状态下抵抗氧化伤害的不同防御系统清除自由基的能力下降,植物体内超氧阴离子自由基(O_2^-)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)、过氧化氢(H_2O_2)、过氧自由基($\cdot\text{ROOH}$)以及单线态氧($^1\text{O}_2$)

等活性氧生成能力增强,因而氧自由基水平升高,对植物产生伤害。SOD、POD、CAT、APX 是植物酶促系统的重要成员,四者协同作用以清除活性氧,其中 SOD 催化 O_2^- 发生歧化反应而生成 H_2O_2 ,从而清除 O_2^- ;CAT、POD、APX 又可分解 H_2O_2 为 H_2O 和 O_2 ,从而限制 O_2^- 与 H_2O_2 反应生成 $\cdot OH$ 等过氧化物^[12-14]。许多研究表明,活性氧代谢失调与积累是果实衰老的重要原因,衰老果实中各种活性氧明显累积,致使果实膜脂过氧化过程加剧,该过程伴随着 MDA 的产生和蛋白质的降解,从而对质膜产生伤害,加速了果实的衰老^[15-16]。其中,LOX 作为果蔬成熟和衰老过程中的一类关键酶,是果实成熟衰老过程中各种相关因子变化的先锋者^[17-18];MDA 积累量的变化反映了植物组织膜脂过氧化程度。

该研究中,LOX 活性在草莓果实贮藏前 3 d 快速上升,启动和加速草莓果实的衰老;相应地, O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量快速增加,于草莓果实贮藏第 3、4 天达到峰值,之后下降;活性氧的大量积累刺激脂质过氧化过程加剧,脂质过氧化产物 MDA 含量持续积累,相对电导率不断加大,导致质膜透性不断增加,细胞膜功能丧失,促使果实衰老。与此同时,随着草莓果实的衰老,2 种贮藏温度下 SOD 活性整体变化不大,POD 活性上升,CAT 活性和 APX 活性先上升后下降,整体呈上升趋势。说明随着草莓果实的衰老,果实中保护酶活性相应上升,用以清除细胞内过多的活性氧自由基,从而有效缓解活性氧自由基对细胞的伤害及膜脂过氧化程度。低温贮藏下草莓果实的 LOX 活性、 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 和 MDA 含量、相对电导率均低于常温贮藏,且低温贮藏延后了各活性氧物质峰值出现的时间,说明低温贮藏有利于减弱和延缓自由基积累、膜脂过氧化过程及对细胞膜的损坏,从而延缓草莓果实衰老进程。

参考文献

- [1] 阙娟,王红梅,金昌海,等. 桃果实成熟过程中活性氧和线粒体呼吸代谢相关酶的变化[J]. 食品科学,2009,30(8):275-279.
- [2] 许家辉,余东,许玲,等. 晚熟龙眼果实挂树期果皮活性氧代谢及抗氧化酶活性[J]. 热带作物学报,2009,30(6):725-729.
- [3] 朱冬雪,顾采琴,陶华,等. 番茄果实采后 NAD 激酶活性与活性氧代谢的关系[J]. 园艺学报,2007,34(6):1431-1436.
- [4] 杜正顺,巩惠芳,汪良驹,等. 热水预处理对草莓果实采后生理与品质的影响[J]. 江西农业学报,2008,20(1):52-55.
- [5] 陈学红,郑永华,杨震峰,等. 高氧处理对草莓果实采后活性氧代谢和腐烂的影响[J]. 南京农业大学学报,2005,28(1):99-102.
- [6] 李英华,袁海英,张辉,等. 采后正己醇处理对草莓果实活性氧代谢和衰老的影响[J]. 食品科学,2010,31(4):272-275.
- [7] 李玲. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京:科学出版社,2009.
- [8] 孙群,胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2006.
- [9] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2002.
- [10] 张治安,陈展宇. 植物生理学实验技术[M]. 长春:吉林大学出版社,2008.
- [11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2004.
- [12] 张海新,宁久丽,及华. 果实采后品质和生理变化研究进展[J]. 河北农业科学,2010,14(2):54-56.
- [13] 罗娅,汤洁茹. 丰香草莓果实发育过程中抗氧化物质与活性氧代谢研究[J]. 园艺学报,2011,38(8):1523-1530.
- [14] 周春华,刘红霞,韦军. 活性氧与果实成熟衰老[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2002,20(1):77-84.
- [15] 樊秀彩,关军锋,张继涛,等. 草莓采后微粒体膜 Ca^{2+} -ATPase 活性与膜脂过氧化水平[J]. 园艺学报,2003,30(1):15-18.
- [16] 顾采琴,朱冬雪,李棋. 草莓果实采后 NAD 激酶活性与 NAD(H)、NADP(H)含量及活性氧代谢的关系[J]. 中国农业科学,2007,40(2):352-357.
- [17] 李志强,刘春泉,李大婧,等. 脂氧合酶在果实后熟衰老中的功能研究进展[J]. 江西农业学报,2009,21(7):123-126.
- [18] 张波,李鲜,陈昆松. 脂氧合酶基因家族成员与果实成熟衰老研究进展[J]. 园艺学报,2007,34(1):245-250.

The Dynamic Variation of Reactive Oxygen and Protective Enzyme Activity During the Ageing Process in Strawberry Fruit

NAN Haifeng¹, ZHU Guanyu², FAN Li², LIU Yan², LIU Huan², GUO Jinli²

(1. Department of Architecture and Planning, Inner Mongolia Technical College of Construction, Hohhot, Inner Mongolia 010070; 2. College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018)

Abstract: Taking 'Hongyan' strawberry fruit as material, packaging with plastic wrap, the dynamic variation of reactive oxygen and protective enzyme activities were studied during ageing process under different temperature (4 °C, 25 °C) treatment. The results showed that in storage process of strawberry fruit under the conditions of normal temperature and low temperature, LOX activity and H_2O_2 content increased first and then decreased. O_2^- production rate, electric conductivity, MDA content increased continuously. SOD activity remained little change, POD activity increased continuously, activities of CAT and APX increased first and then decreased. LOX activity, O_2^- production rate, contents of H_2O_2 and MDA, electric conductivity under low temperature storage were all lower than these under normal temperature storage, also the peaks of these reactive oxygen were late under low temperature storage compared with these under normal temperature storage. In conclusion, reactive oxygen accumulation and lipid peroxidation intensified ageing of strawberry fruit, low temperature storage delayed the process of strawberry fruit ageing by weakening reactive oxygen accumulation and lipid peroxidation extent.

Keywords: strawberry fruit; ageing; reactive oxygen; protective enzyme