

# 翠冠梨贮藏过程中酶促褐变及生理生化的变化

陈金印<sup>1</sup>, 吴友根<sup>2</sup>

(1.江西农业大学科研处, 江西 南昌 330045; 2.海南大学农学院, 海南海口 570228)

**摘 要:** 酶促褐变是一种严重影响梨采后贮藏品质的生理病害。本文以翠冠梨为试材, 对其在 A.室温贮藏; B.冷藏(0℃); C.冷藏(0℃)+0.04mm 聚乙烯薄膜袋(PEF) 贮藏过程中酶促褐变和生理生化变化进行了研究。试验结果表明, (1) A、B 和 C 处理的翠冠梨在贮后 16d, 好果率分别为 25.12%、87.27%、98.64%。低温处理(0℃)能提高超氧化物歧化(SOD)活性, 抑制活性氧( $O_2^{\cdot-}$ )、丙二醛(MDA)的生成速率, 延缓果实衰老软化。(2)翠冠梨在贮藏期间先进行酚类物质合成, 然后发生降解, 多酚氧化酶(PPO)活性呈先升后降趋势, 酚类物质的减少和褐变同时发生, PPO 促进酚类物质氧化, 结果导致褐变。

**关键词:** 翠冠梨; 贮藏; 酶促褐变; 生理生化变化

## The Physio-Biochemical Changes and Enzymatic Browning in Cuiguan Pear during Storage

CHEN Jin-yin<sup>1</sup>, WU You-gen<sup>2</sup>

(1.Scientific Research Department, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;  
2.College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China)

**Abstract:** Enzymatic browning is a kind of physiological disease harmful to the pear postharvest qualities during storage. The enzymatic browning and physio-biochemical changes of Cuiguan pear were studied during : A, the room temperature storage; B, the cold storage (0℃) and C, the cold storage (0℃) in polyethylene film bags of 0.04mm thickness storage. The results indicated. (1) After 16 days' storage, the A、B and C treatment could keep the good fruit rate of Cuiguan pear as 25.12%, 87.27% and 98.64%, respectively. The cold storage (0℃) could increase the activity of superoxide dismutase (SOD), inhibit the producing rate of active oxygen and MDA and delay the senescence and softening. (2) During the storage the phenol compounds were synthesized in Cuiguan pear at first, then decomposed. The activity of polyphenol oxidase (PPO) took place first, then degraded. Following the decrease of phenol compounds, the browning reaction took place. The oxidization of phenol compounds promoted by PPO was considered the cause.

**Key words:** Cuiguan pear; storage; enzymatic browning; physio-biochemical change

中图分类号: TS205.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0237-05

翠冠梨是南方早熟梨主栽品种之一, 属砂梨系统。翠冠梨成熟于 7 月中旬, 果实大, 肉质细嫩松脆、味甜、汁多、品质上等, 深受消费者欢迎, 发展势头强劲。但在销售时正值酷暑高温, 果实呼吸作用很强, 极不耐贮藏<sup>[1]</sup>。并且, 翠冠梨在贮藏中后期经常出现果皮或果肉褐变, 使其品质下降。因此, 如何延缓翠冠梨在贮藏过程中的褐变、软化、腐烂是一个急需解决的问题, 然而在此方面的研究未见报道。

对于果蔬采后酶促褐变的研究, 目前普遍认为, 植物组织褐变与多酚氧化酶(PPO)有关, 在有氧条件下, 酚类物质由 PPO 催化被氧化为醌, 醌再通过聚合作用产生有色物质而引起组织褐变<sup>[2,3]</sup>。Harel 等<sup>[4]</sup>试验表明, 苹果的褐变是 PPO 和酚类物质共同作用的结果。本文研究了翠冠梨贮藏过程中酶促褐变及生理生化的变化, 旨在探讨翠冠梨酶促褐变和后熟软化的机理, 以期对翠冠梨果实采后调控技术的研究提供依据。

收稿日期: 2003-12-29

基金项目: 江西省农业厅 2002 农牧渔业科学研究计划项目(赣农字 2002183)

作者简介: 陈金印(1962-), 男, 教授, 在职博士, 主要从事果蔬采后生理的研究与教学工作。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

试验于 2001 和 2002 年进行, 供试材料来源于江西省金溪县农业区划, 生态农业示范点——蜜梨千亩示范基地, 品种为翠冠梨, 采收成熟度约九成熟。试材采后当天运抵实验室, 于阴凉处散热, 挑选出大小中等, 无病、虫、伤的正常果, 进行预冷。设有 A. 室温贮藏、B. 冷藏( $0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ )、C. 冷藏( $0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ )+0.04mm 聚乙烯薄膜袋三个处理(每处理用果 15kg), 每处理三个重复, 用于观察贮藏效果和各项生理生化指标的测定。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 贮藏效果观察 每处理定期抽样检查、观察果实贮藏效果, 以果实果皮无褐变, 不长霉不腐烂占总果数的百分数计算好果率, 以软化、腐烂、褐变的果数占总果数的百分数计算腐烂率, 每次每处理随机检查 50 个果, 重复 3 次。

1.2.2 可溶性固形物(TSS)含量、果实硬度、果实失重率 分别采用 WYT-4 型手持糖量计(每次每处理随机取果 5 个, 每果测 5 次), GY-1 型果实硬度计(每次每处理随机取果 5 个, 每果测 5 次), 称重法测定, 重复 3 次。

1.2.3 SOD 活性 采用氮蓝四唑(NBT)<sup>[5]</sup>法。

1.2.4 超氧化物阴离子自由基生成速率 参照王爱国<sup>[6]</sup>方法。

1.2.5 酚类物质含量的测定 采用 Folin- 酚试剂法, 以儿茶酚作标准曲线, 重复 3 次。

1.2.6 PPO 活性的测定 参照陈昆松<sup>[7]</sup>的方法, 从 5 个果实中取 20g 混合样品, 加入 50ml 磷酸缓冲液(pH6.8, 0.05mol/L)和 0.5gPVP。用匀浆机(12000r/min)

匀浆 2min, 用缓冲液定容到 100ml, 用离心机离心 20min, 取上清液 0.5ml, 加入 3.5ml 缓冲液, 0.5ml、0.1mol/L 脯氨酸和 0.5ml、0.1mol/L 儿茶酚, 混匀后在  $30^{\circ}\text{C}$  下保温 10min, 在 525nm 下用分光光度计比色, 重复 3 次。

1.2.7 细胞膜透性 按照冯双庆等方法<sup>[8]</sup>采用 DOS- II 型电导仪测定果实组织相对电导率, 重复 3 次。

1.2.8 MDA 含量 采用硫代巴比妥酸(TBA)法<sup>[9]</sup>, 重复 3 次。

1.2.9 数据分析方法 采用 SAS6.12 进行数据处理分析。

2 结果与分析

2.1 贮藏效果(表 1)

从表 1 可知, 室温下翠冠梨贮藏易产生褐变, 随着褐变进行, 腐烂率也逐渐增大, 好果率下降, 而低温( $0^{\circ}\text{C}$ )不仅可以延缓翠冠梨果实褐变, 而且能减轻腐烂率, 增加好果率。低温( $0^{\circ}\text{C}$ )贮藏, 同时用 0.04mm 聚乙烯薄膜袋包装效果更好。

2.2 果实硬度和 TSS

果实硬度是反映果实品质和贮藏性能的重要指标, 翠冠梨随着贮藏期延长, 果肉逐渐变软, 硬度随之下降。A 处理的翠冠梨果实硬度下降迅速, 而经冷藏的果实, 其硬度下降得到明显控制。从果实采收至贮藏后 20d, B、C 处理果实硬度极显著高于 A 处理( $p < 0.01$ ), 而 B 与 C 之间差异未达到显著水平(图 1)。这表明在维持果实硬度方面控温是一个关键因子。

采后果实随着硬度下降, TSS 呈现出上升趋势, 达到一定峰值后则趋于平缓, 采收时果实 TSS 含量为 9.58%, 当贮藏至 12d 时, A 处理为 13.19%, 而 B、C 处理分别是 11.65%, 11.27%。由此可知, 在贮藏前

表 1 翠冠梨在贮藏过程中腐烂、褐变情况  
Table 1 The rot and browning of Cuiguan pear during storage

处理 Treatment	观察指标 Indexes	贮藏天数 Storage days (d)							
		4	8	12	16	20	28	36	44
A	褐变程度	无	轻	轻	重	完全	—	—	—
	腐烂率(%)	0	18.94	27.70	74.88	94.76	—	—	—
	好果率(%)	98.32	81.06	72.30	25.12	5.24	—	—	—
B	褐变程度	无	无	轻	轻	轻	重	重	重
	腐烂率(%)	0	0	0	12.73	15.71	23.27	57.33	69.79
	好果率(%)	100	100	95.60	87.27	84.29	76.73	42.67	30.21
C	褐变程度	无	无	无	无	轻	轻	轻	重
	腐烂率(%)	0	0	0	0	4.37	9.37	18.88	59.70
	好果率(%)	100	100	100	98.64	95.63	90.63	81.12	40.30

注: “无”表示果实不产生褐变, “完全”表示果实全褐变, “--”表示果实完全腐烂。

期B、C处理的果实TSS增加速度较A处理缓慢。在贮藏后期(12d后), A处理基本保持原来的水平, 而B、C处理其TSS含量继续缓慢上升, 直至分别到达高峰期13.15%, 12.82%, 然后才趋于平缓。在整个贮藏过程中, C处理的TSS始终低于B处理(图2)。

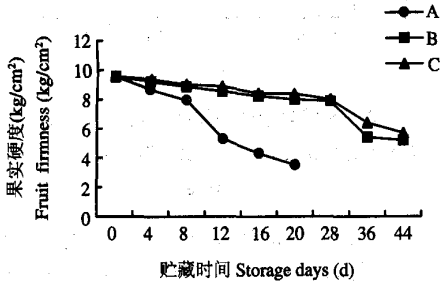


图1 翠冠梨贮藏过程中硬度变化  
Fig.1 changes of fruit firmness during storage

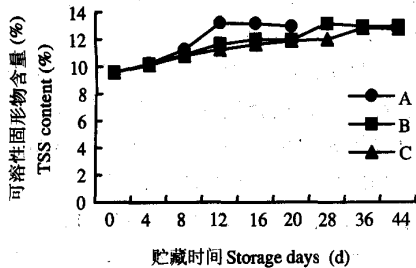


图2 翠冠梨贮藏过程中可溶性固形物含量变化  
Fig.2 Changes of TSS during storage

2.3 果实失水、失重

翠冠梨果实失重率随着贮藏期的延长而增加, 且温度越高, 失重率越大(图3), A处理失重率最大, B处理次之, C处理是在冷藏情况下用0.04mm厚的聚乙烯薄膜袋包装可有效防止果实失水、萎蔫等现象, 与A处理相比失重率差异达到极显著水平( $p < 0.01$ )。

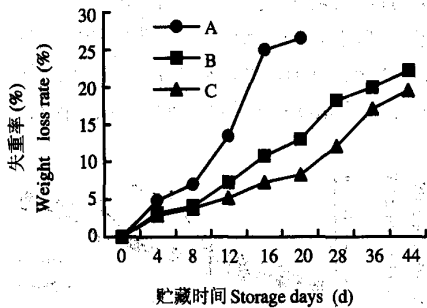


图3 翠冠梨贮藏过程中失重率变化  
Fig.3 Changes of weight loss rate during storage

2.4 SOD活性

植物对由细胞内过剩自由基而引发或加剧的膜脂过

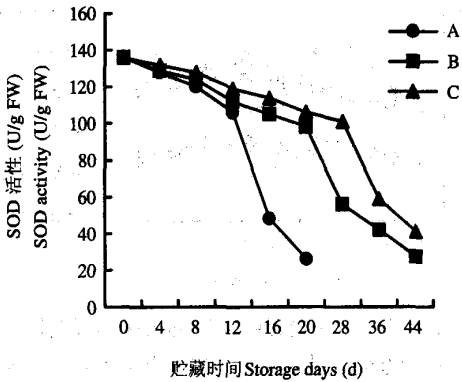


图4 翠冠梨贮藏过程中SOD活性变化  
Fig.4 Changes of SOD activity during storage

氧化作用, 有酶促和非酶促两类防御系统, SOD是酶促防御系统的重要保护酶, 本试验结果表明: 随着翠冠梨贮藏时间的延长, 各处理的SOD活性均呈下降趋势(图4), 在贮藏第16d, A、B和C处理的SOD活性分别为采收时的35.29%, 77.21%和83.82%。B、C处理的SOD活性始终高于A处理, 贮藏12d内三者均维持在较稳定的状态, 无显著性差异( $p > 0.05$ ), A处理的SOD活性12d后迅速下降, 而B、C处理的SOD活性迅速下降时期分别在20d, 28d后。这表明翠冠梨于室温下贮藏的正常生理代谢只能维持在12d左右, 之后防御系统迅速被破坏, 进入代谢紊乱和组织衰老阶段。

2.5  $O_2^{\cdot -}$ 的生成速率

B和C处理的翠冠梨在贮藏过程中 $O_2^{\cdot -}$ 的生成速率先是略有下降, 后呈上升趋势, 且低于A处理; 而A处理的 $O_2^{\cdot -}$ 的生成速率开始上升幅度较小, 12d后迅速上升, 如图5所示。贮藏过程中B和C处理差异未达到显著( $p > 0.05$ ), 而A与C处理在12d后差异达到极显著水平( $p < 0.01$ )。

2.6 翠冠梨酚类物质含量和PPO活性在贮藏期间的动态变化

翠冠梨果肉, 果心的酚类物质含量在贮藏期间的变

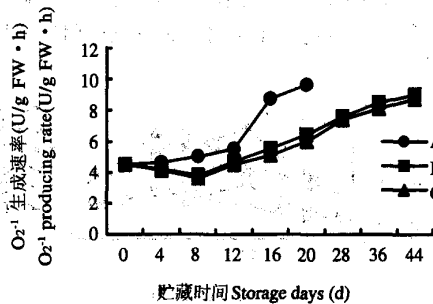


图5 翠冠梨贮藏过程中超氧化物阴离子生成速率变化  
Fig.5 Changes of  $O_2^{\cdot -}$  producing rate during storage

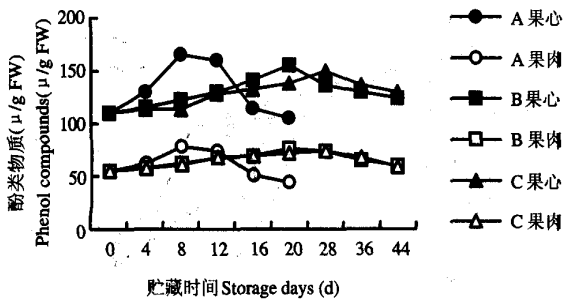


图6 翠冠梨贮藏过程中果心果肉酚类物质变化

Fig.6 Changes of phenol compounds of fruit core and flesh during storage

化曲线均先升后降,且果心的酚类物质含量总高于果肉的(如图6)。A处理在第8d时酚类物质含量峰值最大,贮存12d时其含量开始下降,后来下降幅度很大,褐变的果实也逐渐增多。B、C处理的酚类物质含量高峰分别出现在贮后20d、28d,高峰值均低于A处理,高峰过后其含量均开始下降,但下降幅度不大,这可能是由于低温推迟了酚类物质高峰出现时间及后来又延缓其含量下降的缘故。褐变的增加和酚类物质的减少呈对应关系,因而认为酚类物质可能由于参与了翠冠梨的褐变反应而在贮藏后期不断减少。

翠冠梨刚采收时,PPO活性较低,贮藏期间PPO活性逐步增加,达到最高水平后又开始下降,果心和果肉的PPO活性变化趋势基本相似(图7),但果心PPO活性始终高于果肉的PPO活性。A处理翠冠梨果肉、果心PPO活性于贮后12d时就达到最大值(果心为2.86OD/g FW·min,果肉为1.41OD/g FW·min),以后便开始迅速下降。B、C处理的翠冠梨PPO活性高峰值的出现分别在贮后20d、28d,且它们的高峰值均略低于A处理对应的高峰值(果心分别为2.81OD/g FW·min,2.79OD/g FW·min;果肉分别为1.36OD/g FW·min,1.26OD/g FW·min),以后均呈下降趋势。

本实验中A处理的翠冠梨贮藏12d时,已有部分果实出现褐变迹象,此时,正是其酚类物质含量下降的时期,此时的PPO活性也达到高峰。随着贮藏期的延长,酚类物质含量进一步下降,但PPO活性仍处于较

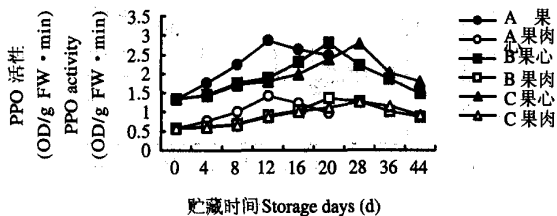


图7 翠冠梨贮藏期间PPO活性变化

Fig.7 Changes of PPO activity during storage

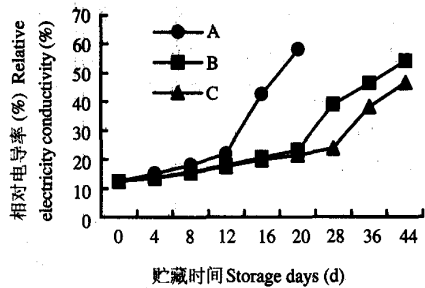


图8 翠冠梨贮藏期间相对电导率变化

Fig.8 Changes of relative electricity conductivity during storage

高水平,使得褐变反应继续进行,因而褐变的果实不断增多。在贮藏后期,随着褐变的进行,酚类物质含量和PPO活性均显著下降。B、C处理的翠冠梨其褐变反应也类似,只是由于低温和聚乙烯薄膜袋的作用,使得酚类物质含量和PPO活性出现的时间往后推移。

## 2.7 细胞膜透性与MDA含量

细胞质膜完整性的破坏是果实衰老的重要标志。膜的损伤表现为失去选择透性,电解质漏泄增大。细胞膜透性可以用相对电导率大小来衡量。试验结果表明(图8),翠冠梨采后随着贮藏时间的延长,果肉组织的相对电导率有逐渐升高的趋势。在贮后12d内,三种处理的相对电导率差异不明显,12d后,A处理的相对电导率由前期的缓慢上升变为快速增加,直至最大值58.20%,而B、C处理继续平缓上升,分别到了20d、28d后才开始急剧增加。12d后,A与B、C处理差异显著( $p < 0.05$ )。20d后,B与C处理差异也达到显著水平( $p < 0.05$ )。这说明C处理能抑制翠冠梨在贮藏过程中细胞膜透性的迅速增加,起到延缓细胞受到伤害的作用。

MDA是脂类氧化的最终产物之一,MDA可使生物膜酶蛋白发生交联、失活,致使细胞膜产生间隙。膜透性增加,其功能受损。若MDA含量低,膜受伤破坏的程度则小。随着细胞膜透性增加的同时,果实内MDA的含量也逐渐增多,从图9可知,翠冠梨采后20d内B和C处理的MDA含量始终维持在稳定状态,且低于

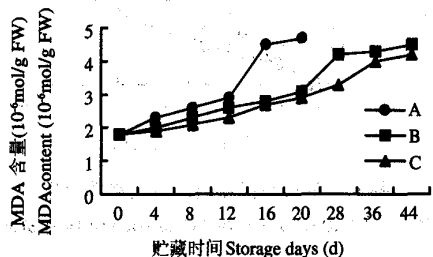


图9 翠冠梨贮藏过程中MDA含量变化

Fig.9 Changes of MDA content during storage

A 处理。而 A 处理的 MDA 含量先缓慢上升, 12d 后迅速上升, A 与 B、C 处理间差异达显著水平( $p < 0.05$ ), B 与 C 之间也达显著水平( $p < 0.05$ )。

### 3 结论与讨论

曾一度认为, 早熟品种不需作贮藏, 不存在保鲜问题。然而, 翠冠梨成熟于酷暑高温季节, 室温下贮藏极易腐烂, 人们来不及品尝, 许多果实就已失去食用价值, 而且据果农反映, 翠冠梨采后褐变、腐烂是造成经济损失的一个重要因素, 故翠冠梨在生活中也需要作短期保鲜。特别对地处偏僻, 要求长途运输的梨果, 不仅产地要保鲜, 运输过程中也要注意贮藏。本实验证明, 室温下贮藏翠冠梨只能保持很短时间, 而在低温( $0^{\circ}\text{C}$ ), 低温( $0^{\circ}\text{C}$ )+0.04mm 聚乙烯薄膜下保鲜梨果比室温下分别能延长 8d、16d。实际中需要作哪种贮藏, 视具体情况和要求而定。

褐变是植物组织普遍存在的一种生理现象, 通常认为是酚类物质的酶促氧化所致。酚类物质是植物组织代谢过程中产生的一类正常产物。它的合成是从苯丙氨酸解氨酶催化苯丙氨酸脱氨形成肉桂酸开始的, 肉桂酸进一步羟化可形成各种酚类化合物。在有氧气存在的情况下, PPO 可以将酚氧化成醌, 醌进一步聚合形成褐色色素, 导致组织褐变<sup>[10]</sup>。但是, 在正常发育的果实中, 酚类物质、氧气和 PPO 同时存在却并不发生果实褐变, 这可能是在正常的组织细胞内由于物质通过一系列膜系统实现区域性分布, 以致酚类物质不与 PPO 接触的缘故。本实验证明, 翠冠梨在贮藏期间先有酚类物质的合成过程, 而后其含量又开始下降(图 6), PPO 的活性呈先升后降趋势(图 7), 酚类物质的减少和褐变的出现同时发生。因此认为酚类物质的减少正是由于其在 PPO 催化下被氧化成有色物质而导致翠冠梨褐变, 即翠冠梨的褐变是以酚类物质为底物的 PPO 引起的酶促氧化褐变。

植物生命过程中会产生  $\text{O}_2^{\cdot-}$  (包括单线态氧、超氧阴离子等), 正常情况下植物体内的  $\text{O}_2^{\cdot-}$  处于产生与清除的动态平衡状态。逆境条件下  $\text{O}_2^{\cdot-}$  清除酶的活性下降,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  大量产生, 而其能攻击生物膜, 导致膜脂过氧化, 致使细胞膜结构破坏和功能丧失, 果实从而表现出衰老、软化与腐烂<sup>[11]</sup>。实验证明, 三种处理的果实 SOD 活性在

采后 12d 内呈下降趋势, 但下降缓慢。由于 SOD 的保护作用, 使得  $\text{O}_2^{\cdot-}$  产生速率趋于稳定的状态(图 5), MDA 含量上升也较缓慢(图 9), 由此说明翠冠梨在上述情况下采后 12d 内, 果实代谢活动正常。12d 后, A 处理果实的 SOD 活性迅速下降,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  快速产生, MDA 含量也急剧上升, 此时代谢已紊乱。说明在室温下翠冠梨只能贮藏 12d 左右。同理分析, B、C 处理的果实也分别只能保持到 20d、28d, 之后品质劣变。试验中还发现, 在贮藏后期, B、C 处理中有的果实尽管外观表现良好, 但果肉却已发绵变软, 含水量极低, 完全失去食用价值。这说明在感官上观察到果实褐变、腐烂之前, 梨果生理上已经发生了深刻的变化。有关翠冠梨贮藏后期发绵的机理有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 胡钟东, 胡正月, 金玲莉, 等. 早熟梨常温贮藏保鲜试验初报[J]. 江西园艺, 2002, 159-163.
- [2] Ben-Arie R. The development and control of husk scald on 'wonderful' pomegranate fruit during storage[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1986, 111(3): 395-399.
- [3] Siriphanich J, Kader A A. Effects of  $\text{CO}_2$  on total phenolics, phenylalanine ammonia lyase and polyphenol oxidase in lettuce tissue [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1985, 110(2): 249-254.
- [4] Harel E, Mayer A M, Shain Y. Catecholoxidase, endogenous substances and browning in developing apples[J]. J Sci Food Agr, 1996, 17: 389-392.
- [5] Robert R C S, Belley J V. Lipid peroxidation association with accelerated aging of soybean axes[J]. Plant Physiol, 1980, 65: 25-28.
- [6] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 55-57.
- [7] 陈昆松, 于梁, 周山涛. 鸭梨果实气调贮藏过程  $\text{CO}_2$  伤害机理初探[J]. 中国农业科学, 1991, 24(5): 83-88.
- [8] 冯双庆, 周丽丽. 果蔬贮藏学试验指导[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1990.
- [9] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [10] 张维一. 果蔬采后生理学[M]. 北京: 农业出版社, 1993.
- [11] Alscher R G. Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cell[J]. Physiol Plant, 1997, 100: 224-233.

百种中国杰出学术期刊

中国期刊方阵双效期刊