

冷藏对南果梨酯类香气合成关键酶活性及蛋白表达的影响

王 龙, 周 鑫, 盛 蕾, 周 倩, 王俊伟, 白丽娟, 纪淑娟*
(沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘 要:以南果梨为试材, 系统分析冷藏及冷藏后常温货架期间南果梨果实酯类香气物质的变化, 研究酯类香气物质代谢途径关键酶脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)和醇酰基转移酶(alcohol acyltransferase, AAT)活性及蛋白表达水平的变化, 探讨冷藏对南果梨酯类香气物质代谢影响的作用机制。结果表明, 与冷藏90 d相比, 冷藏180 d的南果梨在出库时以及冷藏后转入常温货架期果实后熟至最佳食用期时, 果实酯类香气成分种类、主要香气成分与总酯含量均明显减少; 冷藏过程中果实LOX和AAT活性与表达量变化不明显, 但在冷藏后常温货架期间, 冷藏180 d的处理果实LOX和AAT活性以及LOX蛋白表达高峰出现的时间较冷藏90 d的处理果实提早3 d, AAT活性显著低于冷藏90 d的处理, LOX和AAT蛋白表达水平也显著低于冷藏90 d的处理。由此可见, 长期冷藏一定程度上抑制了南果梨酯类香气物质合成关键酶活性与蛋白表达, 从而影响了果实酯类香气物质的合成, 降低了冷藏南果梨的香气品质。
关键词: 南果梨; 冷藏; 酯类香气; 蛋白表达

Effect of Cold Storage on the Activities and Protein Expression of Key Enzymes Involved in the Biosynthesis of Aroma-Related Esters in 'Nanguo' Pears

WANG Long, ZHOU Xin, SHENG Lei, ZHOU Qian, WANG Junwei, BAI Lijuan, JI Shujuan*
(College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: In order to explore the mechanism of the effect of low temperature storage on the metabolism of aroma-related esters in 'Nanguo' pears, the changes in the composition of aroma-related esters, and the activities and protein expression of lipoxygenase (LOX) and alcohol acyltransferase (AAT), the key enzymes for the metabolism of aroma-related esters, in Nanguo pears during cold storage and subsequent shelf life at ambient temperature were investigated. Results showed that compared with storage for 90 days, the number of aroma-related esters, the content of the major aroma components and total ester content after 180 days of storage and after subsequent ripening at ambient temperature until the optimal consumption date significantly decreased. There was no significant difference in the activities and protein expression of LOX and AAT during cold storage. However, during the shelf life at room temperature after cold storage, the activities and protein expression of LOX and AAT reached the maximum levels three days earlier in the 180-days stored fruits than the 90-day stored ones. Moreover, the former showed a significant reduction in AAT activity and the protein expression levels of LOX and AAT. These results indicated that long-term refrigeration could inhibit the activities and protein expression of the key enzymes for the biosynthesis of aroma-related esters to a certain extent, thus affecting the generation of aroma-related esters and reducing the aroma quality of Nanguo pears.

Key words: 'Nanguo' pears; cold storage; volatile esters; protein expression

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709034

中图分类号: TS255.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2017)09-0207-06

引文格式:

王龙, 周鑫, 盛蕾, 等. 冷藏对南果梨酯类香气合成关键酶活性及蛋白表达的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 207-212.
DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709034. <http://www.spkx.net.cn>

WANG Long, ZHOU Xin, SHENG Lei, et al. Effect of cold storage on the activities and protein expression of key enzymes involved in the biosynthesis of aroma-related esters in 'Nanguo' pears[J]. Food Science, 2017, 38(9): 207-212. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709034. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2016-06-23

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31570687)

作者简介: 王龙(1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品质量控制。E-mail: 463014013@qq.com

*通信作者: 纪淑娟(1960—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品质量控制。E-mail: jsjsyau@sina.com

南果梨 (*Pyrus ussuriensis* Maxim.) 属秋子梨系统, 为辽南地区的特产水果, 采收期为9月上、中旬, 采收时果绿肉脆、汁少味淡、无香气, 经适度后熟, 果肉绵软, 果实香气浓郁, 甜酸多汁, 深受消费者喜爱^[1]。南果梨不耐贮藏, 采后在常温条件下15 d左右就会后熟软烂, 果心褐变, 失去商品价值。目前, 国内主要通过冷藏的方式来延长其贮藏期^[2]。但冷藏的南果梨香气明显变淡, 酯类香气成分的种类及含量减少, 降低了南果梨的商品价值^[3]。因此, 研究冷藏对南果梨香气成分代谢的影响, 对探索冷藏南果梨香气品质的调控措施具有重要意义。果实中挥发性芳香成分主要分为酯类、醛类、醇类和萜类等, 南果梨果实主要香气成分为酯类香气物质^[4-5]。脂肪酸代谢为果实香气成分生成的重要途径, 其中脂氧合酶 (lipoxygenase, LOX) 和醇酰基转移酶 (alcohol acyltransferase, AAT) 是果实酯类香气代谢途径中的关键酶^[6-9]。LOX是脂肪酸代谢途径初始过程中重要的限速酶, 可以将脂肪酸转化为氢过氧化物, 为后续的转化过程提供底物, 它与植物的器官发育及果实成熟有很大关系^[10]。AAT是参与酯类香气合成途径中的最终限速酶, 它可以催化醇类底物与酰基辅酶A酯化为相应的酯类物质^[11], 从而生成果实酯类香气成分中的特征香气。

目前对南果梨香气的研究主要集中在果实的香气成分分析、生理生化、酯类香气代谢途径中关键酶基因表达水平的变化, 相关文献证明冷藏处理会导致南果梨酯类香气代谢途径中关键酶基因表达的下调^[12-13], 通过蛋白表达方面的研究鲜见报道。基因通过转录和翻译控制蛋白质的特异性, 而生物的性状差异其实就是蛋白质的特异性^[14]。因此, 研究南果梨冷藏期间及冷藏后常温货架期间的蛋白表达可以更直观地分析酯类香气代谢途径中关键酶对香气合成的影响。本研究利用蛋白质印迹 (western blot) 法研究冷藏对南果梨酯类香气代谢关键酶蛋白表达的影响, 揭示南果梨香气品质变化的分子机制, 为探索其调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试南果梨于2015年9月16日采收于辽宁省鞍山市摩云山镇南果梨果园, 采收当天立即运回沈阳农业大学实验室, 挑选成熟度和大小相对一致、无机械伤且无病虫害的果实进行实验。

Trizol Reagent 美国Invitrogen公司; 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 凝胶配制试剂盒、0.2 μ m聚偏二氟乙烯膜、脱脂奶粉、预染蛋白质Marker 美国Bio-Rad公司; 2-D QUANT KIT试剂盒

美国GE公司; 2 \times Protein loading buffer 北京天根公司; 兔抗南果梨LOX和AAT多克隆抗体、兔抗梨Actin多克隆抗体 苏州百奇生物科技有限公司; 辣根过氧化物酶标记的抗兔二抗 美国Affinity公司; ECL发光液碧云天生物技术有限公司; 氯化钠、无水乙醇、异丙醇、三氯甲烷 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

气相色谱-质谱联用仪 美国Agilent公司; 100 μ m PDMS萃取头、固相微萃取手柄 美国Supleo公司; 电泳系统、半干转印电泳槽、凝胶成像分析仪 美国Bio-Rad公司; 多功能酶标仪 瑞士Tecan公司。

1.3 方法

1.3.1 实验处理

实验随机分为两组, 每组400个果实。两组果实放入 (0 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 冷库进行冷藏之前先将果实放在 20°C 室温条件下放置3~5 d, 以便使果实适度预熟, 使南果梨出库后可以正常后熟。然后将两组果实转入 (0 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 冷库进行预冷, 预冷24 h后, 将南果梨装入厚度为0.04 mm聚乙烯薄膜袋中扎口, 再继续以此温度在冷库中贮藏。两组果实的冷藏时间分别为90 d和180 d, 出库后的南果梨置于 (20 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 常温条件下放置15 d。分别于入库当天、出库当天、常温货架期第6、9、12、15天取样, 每个实验点的样品均经液氮快速冷冻后置于 -80°C 条件下冻存。于入库当天、出库当天和转入常温货架期果实后熟至最佳食用期时进行酯类香气成分测定。以上两组处理, 均设置3次重复。

1.3.2 果实硬度测定

随机选取6个果实, 在果实的赤道处等距离的取4个点, 测定去皮后南果梨果肉硬度。质构仪测定条件为: 测试速率3 mm/s; 调整测量臂5 mm; 触发点负载0.2 N。

1.3.3 酯类香气成分测定

参照周鑫等^[15]的方法测定。

1.3.4 酶活力测定

LOX和AAT活力测定, 分别参照陈昆松^[16]、Burrell^[17]等的方法。

1.3.5 蛋白表达量测定

1.3.5.1 Trizol法提取果实总蛋白

总蛋白提取参照Pop^[18]、Young^[19]等的方法, 略作修改。取2 g果实组织, 液氮条件下研磨至粉末, 转移到添加10 mL Trizol的离心管中, 室温静置5 min。加入2 mL三氯甲烷后振荡15 s, 室温孵育2 min。在 4°C 条件下, $12\ 000\times g$ 离心15 min, 去除上层水相RNA。添加3 mL无水乙醇, 室温孵育3 min, 4°C 条件下, $20\ 000\times g$ 离心5 min。将上清液转移至新离心管中, 加入15 mL异丙醇, 室温孵育10 min, 于 4°C 、 $15\ 000\times g$ 条件下离心10 min。去除上清液, 加入20 mL漂洗液, 室温孵育

20 min, 4 ℃、20 000×g条件下离心5 min, 重复3次。去除漂洗液, 加入2 mL无水乙醇, 室温孵育20 min, 于4 ℃、20 000×g条件下离心5 min。将沉淀真空干燥, 复溶于500 μL蛋白裂解液中, 室温振荡2 h, 于4 ℃、20 000×g条件下离心沉淀1 h, 吸取部分上清液参照美国GE 2-D Quant kit使用说明测定蛋白质量浓度, 剩余部分于-80 ℃保存备用。

1.3.5.2 Western blot检测蛋白表达量

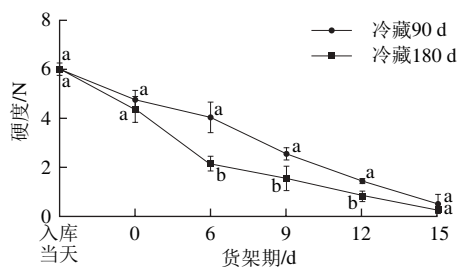
样品蛋白变性后, 取50 μg样品进行SDS-PAGE分析, 配制方法: 质量分数12%分离胶、质量分数5%浓缩胶分离蛋白; 电泳条件: 浓缩胶恒压80 V, 约10 min; 分离胶恒压120 V, 约60 min。取出凝胶, 25 V、30 min条件下转至聚偏二氟乙烯膜。将膜浸没于TBST溶液中(含5%脱脂奶粉), 室温条件下摇床封闭2 h。用TBST溶液稀释一抗至适当浓度: 兔抗LOX多克隆抗体稀释浓度1:300, 兔抗AAT多克隆抗体稀释浓度1:500, 兔抗Actin多克隆抗体稀释浓度1:200; 将膜置于抗体中, 4 ℃过夜。用TBST溶液洗膜3次, 每次10 min, 再用1:5 000稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗室温条件下摇床孵育2 h, 用TBST洗膜3次, 每次10 min。滴加ECL发光液, 反应3 min; 曝光, 显影, 定影, 照相。计算出样品灰度值与对应Actin灰度值的比值, 进行统计学分析。

1.4 数据分析

运用SPSS 16.0、One-way ANOVA软件进行实验数据的差异显著性分析, 应用Excel软件计算平均值、标准差, 图像生成采用Origin 8.1软件。

2 结果与分析

2.1 冷藏及冷藏后常温货架期间果实硬度分析



相同货架期字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

图1 冷藏及冷藏后常温货架期间南果梨果实硬度的变化

Fig. 1 Change in firmness of 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life at ambient temperature

本研究中以果实硬度判断南果梨的成熟度。南果梨属于软肉梨品种, 且为呼吸跃变型果实。刚采收的果实色绿, 质地硬, 无香气。经过适度后熟, 果实略变软时, 其特有的香气才逐渐释放出来。此时, 果实质地细腻、汁液丰富、香气浓郁, 被认为达到最佳食用期^[15]。

此后, 果实将进入过熟期, 果肉虽不腐烂但十分绵软, 不适宜食用, 且商品价值低^[2]。如图1所示, 冷藏90 d和180 d的南果梨, 出库当天的果实硬度显著低于入库当天 ($P < 0.05$), 但两组果实间硬度无显著差异。在冷藏后的常温货架期间, 随着货架期的延长, 两组果实硬度均呈显著下降趋势 ($P < 0.05$)。冷藏90 d和180 d的南果梨, 分别于常温货架第9天和第6天时均达到最佳食用期状态, 并且此时两组果实硬度无显著差异, 成熟度一致。因此, 在后续酯类香气成分分析时, 分别于常温货架第9天和第6天取样测定。

2.2 冷藏及冷藏后常温最佳食用期果实酯类香气成分分析

表1 冷藏及冷藏后常温最佳食用期南果梨果实酯类香气成分的变化
Table 1 Change in aroma-related ester production of 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life

香气成分	香气 阈值	冷藏期间		冷藏后最佳食用期	
		入库 当天	冷藏90 d 出库当天	冷藏180 d 出库当天	冷藏90 d+ 货架期9 d
乙酸乙酯	5	—	26.23 ^a	8.54 ^a	47.28 ^a
丁酸乙酯	1	—	42.31 ^a	32.96 ^b	90.24 ^a
己酸乙酯	1	7.89 ^c	343.40 ^a	248.01 ^b	1976.85 ^a
乙酸己酯	2	—	117.85 ^a	31.69 ^b	144.70 ^a
己酸甲酯	70	—	8.81	—	76.24 ^a
庚酸乙酯	2.2	—	—	—	20.98
2-己烯酸乙酯	—	—	1.14 ^b	3.82 ^a	21.20 ^a
3-甲基丙酸乙酯	7	—	6.60 ^b	13.53 ^a	—
3-羟基己酸乙酯	—	—	0.50 ^b	2.13 ^a	89.49 ^a
辛酸乙酯	15	—	1.29 ^a	2.30 ^a	—
2-辛烯酸乙酯	—	—	—	4.43	68.81 ^a
丁酸己酯	250	3.01 ^b	11.48 ^a	—	—
己酸己酯	—	—	11.15 ^a	1.15 ^b	—
乙酸庚酯	—	—	0.83	—	5.76
辛酸甲酯	—	—	—	—	4.10
乙酸辛酯	12	—	1.72 ^a	0.34 ^b	23.09 ^a
(E,Z)-2,4-癸二烯酸乙酯	—	—	7.30 ^b	29.38 ^a	95.93 ^a
(E,Z)-2,4-癸二烯酸甲酯	—	—	—	—	73.32 ^a
4-癸烯酸甲酯	—	—	—	—	3.50 ^a
苯甲酸乙酯	—	—	—	—	27.26
戊酸乙酯	—	—	—	—	2.84 ^a
邻苯二甲酸二异丁酯	—	6.22	—	—	30.24 ^a
总酯	—	28.25 ^a	580.60 ^a	378.28 ^b	2 801.83 ^a

注: —, 香气成分未检出或者阈值情况尚不明确。同行肩标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

香气成分的组成、含量及香气阈值决定了果实香气。阈值低且含量高的香气成分对果实香气的贡献较大。由表1可以看出, 高含量、低阈值的己酸乙酯是南果梨果实最主要的香气成分, 乙酸己酯、乙酸乙酯和丁酸乙酯也属于南果梨主要芳香成分。入库当天的南果梨尚处于青果期, 检测出的酯类香气成分仅有3种。随着冷藏过程中果实的缓慢后熟, 酯类香气成分的种类逐渐增加, 出库时, 冷藏90 d的南果梨果实酯类香气成分增加到14种, 而冷藏180 d的果实中的酯类香气成分种类反而变为12种; 在常温货架期果实后熟至最佳食用期时, 冷藏

90 d的南果梨酯类香气成分种类达到18种,相比之下,冷藏180 d的果实酯类香气成分却少了4种,而且南果梨果实的主要香气成分己酸乙酯、乙酸己酯、丁酸乙酯和乙酸乙酯含量均显著低于冷藏90 d的果实 ($P<0.05$);总酯含量也呈现出类似的变化趋势,在出库当天和出库后在常温货架期果实后熟至最佳食用期时,冷藏180 d的果实总酯含量均显著低于冷藏90 d的处理。由此可见,长期冷藏对南果梨酯类香气成分的形成造成一定的影响。

2.3 冷藏及冷藏后常温货架期间果实酯类香气成分代谢途径关键酶活性的变化

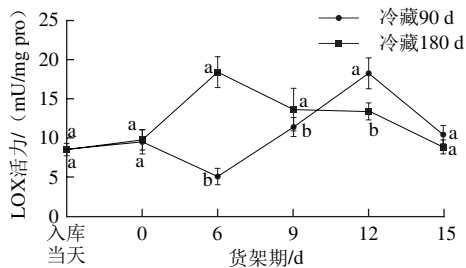


图2 冷藏及冷藏后常温货架期间南果梨果实LOX活力变化

Fig. 2 Changes in LOX activity of 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life at ambient temperature

由图2可以看出,与果实入库时相比,冷藏90 d和180 d的南果梨在出库当天,果实LOX活力均未发生显著变化。而在冷藏后常温货架期间,两个处理果实LOX活力均呈现波动变化,其中,冷藏90 d的果实LOX活力呈先小幅下降后大幅度上升再小幅下降趋势,在货架期第12天达到峰值,而冷藏180 d的果实LOX活力呈先升后降趋势,于货架期第6天达到峰值,两组果实LOX活力峰值无显著差异。

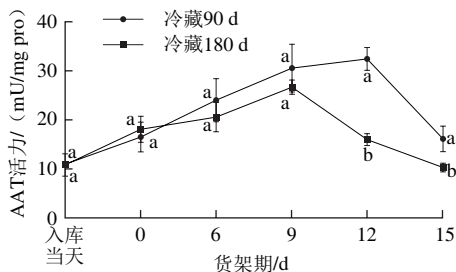
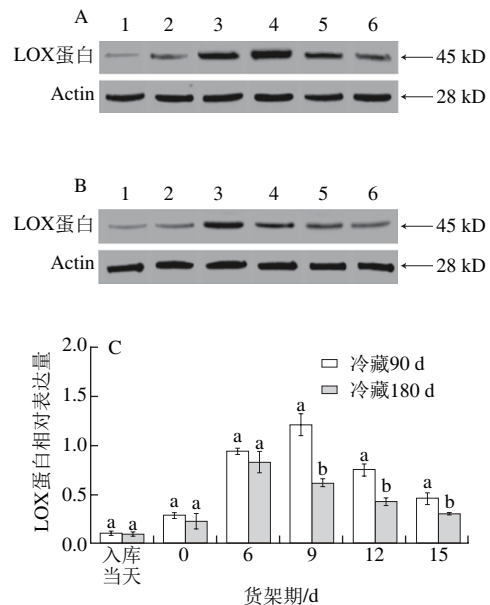


图3 冷藏及冷藏后常温货架期间南果梨果实AAT活力变化

Fig. 3 Changes in AAT activity of 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life at ambient temperature

由图3可见,出库当天,冷藏90 d和180 d的南果梨果实AAT活力均显著高于入库当天。两组果实AAT活力均呈先升后降的变化趋势,但活力高峰出现的时间和峰值有所不同,冷藏90 d果实AAT活力在货架期第12天达到峰值,而冷藏180 d的果实AAT活力提前3 d达到高峰,其活力显著低于冷藏90 d的处理。

2.4 冷藏及冷藏后常温货架期间果实酯类香气成分代谢途径关键酶蛋白表达量分析



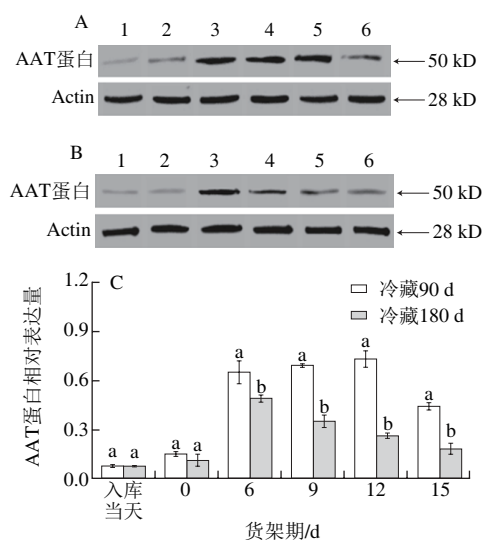
A. 冷藏90 d; B. 冷藏180 d; C. LOX蛋白相对表达量; 泳道1~6分别为入库当天及在货架期0、6、9、12、15 d。

图4 冷藏及冷藏后常温货架期间南果梨果实LOX蛋白相对表达水平的变化

Fig. 4 Changes in relative protein expression of LOX in 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life at ambient temperature

由图4可以看出,与入库时相比,冷藏90 d和180 d的果实LOX蛋白相对表达量略有上升;冷藏后转入常温货架期间,两个处理果实LOX蛋白相对表达量均呈先升后降的变化趋势,但冷藏180 d的果实LOX蛋白相对表达量高峰值出现的时间也较冷藏90 d的处理提早了3 d,冷藏180 d的果实LOX蛋白表达水平始终低于冷藏90 d的处理,尤其是在峰值出现以后,两个处理之间的差异更为明显。说明长期冷藏一定程度抑制了冷藏南果梨果实在常温后熟过程中LOX蛋白表达,从而影响了果实后熟至最佳食用期时的香气品质。

由图5可知,入库与出库时南果梨果实AAT蛋白相对表达量没有明显变化,说明在低温条件下贮藏,果实AAT蛋白相对表达量比较稳定。冷藏后转入常温货架期,随着果实的逐渐后熟,两个处理果实AAT蛋白相对表达量均发生大幅度变化,在货架期前6 d两个处理果实AAT蛋白相对表达量均大幅度上升,至货架期第6天达到高值,之后冷藏180 d的处理AAT蛋白相对表达量快速下降,而冷藏90 d的处理AAT蛋白相对表达量仍维持在较高水平,至货架期第12天之后才开始下降。可见,长期冷藏对南果梨果实中AAT的蛋白表达水平的影响主要表现在冷藏果实的后熟过程。



A. 冷藏90 d; B. 冷藏180 d; C. AAT蛋白相对表达量; 泳道1~6分别为入库当天及在货架期0、6、9、12、15 d。

图5 冷藏及冷藏后常温货架期间南果梨果实AAT蛋白相对表达水平的变化

Fig. 5 Changes in relative protein expression of AAT in 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life at ambient temperature

3 结论

香气是南果梨果实重要的品质指标之一, 其中, 酯类物质是南果梨果实的主要香气成分^[20-21]。本研究发现, 冷藏的南果梨转入常温条件下后熟至最佳食用期时, 冷藏180 d的果实酯类香气成分较冷藏90 d的处理减少了4种, 主要香气成分与总酯含量也明显减少, 对应分析LOX和AAT活力与蛋白相对表达量发现, 冷藏180 d的果实LOX蛋白表达水平、AAT活性与蛋白表达水平均显著低于冷藏90 d的处理, 而LOX活性两组处理间差异不显著。综合分析可以看出, LOX和AAT蛋白表达水平下调以及AAT活力下降与冷藏果实酯类香气物质合成减少密切相关。

目前, 已有研究发现, 梨果实中的酯类香气成分主要来源于脂肪酸代谢途径, 通过LOX作用于亚油酸和亚麻酸生成己醛, 然后被醇脱氢酶还原成醇, 最终在AAT酶作用下生成酯类香气成分^[22-23]。其中, LOX和AAT是酯类香气合成途径的关键酶^[24-27]。苹果^[28-30]研究结果证明, 己酸酯类、丁酸酯类、戊酸酯类和乙酸己酯是LOX作用于亚油酸生成的主要酯类产物。在本实验中也发现, 冷藏180 d的南果梨果实己酸乙酯、乙酸己酯、丁酸乙酯和乙酸乙酯含量均显著低于冷藏90 d的处理, 进一步说明了长期冷藏的南果梨果实香气变淡的原因可能是低温胁迫下果实LOX和AAT活性及蛋白表达受到抑制, 从而导致酯类物质合成受到影响。

参考文献:

- [1] 庄晓虹, 刘声远, 马岩松, 等. 南果梨芳香成分分析研究[J]. 保鲜与加工, 2007, 7(4): 19-21. DOI:10.3969/j.issn.1009-6221.2007.04.008.
- [2] 卜庆状, 纪淑娟, 李江阔, 等. 冷藏南果梨常温后熟期香气成分变化[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 273-276.
- [3] 纪淑娟, 李江阔, 张鹏, 等. 不同采收期对南果梨常温货架贮藏品质的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 260-263. DOI:10.3321/j.issn.1002-6630.2009.02.059.
- [4] ZHOU X, DONG L, LI R, et al. Low temperature conditioning prevents loss of aroma-related esters from 'Nanguo' pears during ripening at room temperature[J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 100: 23-32. DOI:10.1016/j.postharvbio.2014.09.012.
- [5] LI G, JIA H, LI J, et al. Emission of volatile esters and transcription of ethylene- and aroma-related genes during ripening of 'Pingxiangli' pear fruit (*Pyrus ussuriensis*, Maxim)[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 170: 17-23. DOI:10.1016/j.scienta.2014.03.004.
- [6] MASCHIETTO V, MAROCCO A, MALACHOVA A, et al. Resistance to *Fusarium verticillioides* and fumonisin accumulation in maize inbred lines involves an earlier and enhanced expression of lipoxygenase (LOX) genes[J]. Journal of the American Chemical Society, 2015, 137(37): 13088-13095. DOI:10.1021/ja51161a000.
- [7] XI W P, ZHANG B, SHEN J Y, et al. Intermittent warming alleviated the loss of peach fruit aroma-related esters by regulation of AAT during cold storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 74(6): 42-48. DOI:10.1016/j.postharvbio.2012.07.003.
- [8] TIGGEMANN L, BALLE S, BOCALON C, et al. Low-cost gas sensors with polyaniline film for aroma detection[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 180: 16-21. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2016.02.006.
- [9] BOTH V, BRACKMANN A, THEWES F R, et al. Effect of storage under extremely low oxygen on the volatile composition of 'Royal Gala' apples[J]. Food Chemistry, 2014, 156(156): 50-57. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.01.094.
- [10] 魏建梅, 齐秀东, 张海娥, 等. 京白梨采后基因PG, 糖苷酶和LOX活性变化及其基因表达特性[J]. 园艺学报, 2012, 39(1): 31-39.
- [11] 乌云塔娜, 康秀, 尚力, 等. 中国梨醇酰基转移酶基因的克隆及遗传多样性[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(4): 40-44.
- [12] SHENG L, ZHOU X, LIU Z Y, et al. Changed activities of enzymes crucial to membrane lipid metabolism accompany pericarp browning in 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life at room temperature[J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 117: 1-8. DOI:10.1016/j.postharvbio.2016.01.015.
- [13] LI M, LI L T, DUNWELL J M, et al. Characterization of the lipoxygenase (LOX) gene family in the Chinese white pear (*Pyrus bretschneideri*) and comparison with other members of the Rosaceae[J]. BMC Genomic S, 2014, 15: 444. DOI:10.1186/1471-2164-15-444.
- [14] HANEIN S, GARCIA M, FARES-TAIE L, et al. TMEM126A is a mitochondrial located mRNA (MLR) protein of the mitochondrial inner membrane[J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2013, 1830(6): 3719-3733. DOI:10.1016/j.bbagen.2013.02.025.
- [15] 周鑫, 董玲, 纪淑娟. 间歇升温诱导南果梨冷藏转常温酯类香气的变化和相关基因表达[J]. 食品科学, 2015, 36(14): 206-211. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201514040.
- [16] 陈昆松, 徐昌杰, 许文平, 等. 猕猴桃和桃果实脂氧合酶活性测定方法的建立[J]. 果树学报, 2003, 20(6): 436-438. DOI:10.3969/j.issn.1009-9980.2003.06.003.

- [17] BURRELL M, HANFREY C C, MURRAY E J, et al. Evolution and multiplicity of arginine decarboxylases in polyamine biosynthesis and essential role in *Bacillus subtilis* biofilm formation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(50): 39224-39238. DOI:10.1074/jbc.M110.163154.
- [18] POP C, AMELING S, EMPEN K, et al. Proteome analysis of heart biopsies using a TRIzol-based protein extraction[J]. Clinica Chimica Acta, 2014, 438: 246-247. DOI:10.1016/j.cca.2014.08.033.
- [19] YOUNG C, TRUMAN P. Proteins isolated with TRIzol are compatible with two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry analyses[J]. Analytical Biochemistry, 2012, 421: 330-332. DOI:10.1016/j.ab.2011.10.045.
- [20] 陈计峦, 江英, 吴继红, 等. 固相微萃取GC-MS技术在梨香气成分分析中的应用研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(3): 107-110. DOI:10.3321/j.issn:0253-990X.2007.03.028.
- [21] HAN S K, AHN B H, KIM H R, et al. Identification of sensory attributes that drive the likeability of Korean rice wines by American panelists[J]. Journal of Food Science, 2015, 80(Suppl1): 161-170. DOI:10.1111/1750-3841.12739.
- [22] QIN G, TAO S, ZHANG H, et al. Evolution of the aroma volatiles of pear fruits supplemented with fatty acid metabolic precursors[J]. Molecules, 2014, 19(12): 20183-20196. DOI:10.3390/molecules191220183.
- [23] DUNEMANN F, UIRICHI D, MALYSHEVA-OTTO L, et al. Functional allelic diversity of the apple alcohol acyl-transferase gene *MdAAT1* associated with fruit ester volatile contents in apple cultivars[J]. Molecular Breeding, 2012, 29(3): 609-621. DOI:10.1007/s11032-011-9577-7.
- [24] ZHANG B, XI W P, WEI W W, et al. Changes in aroma-related volatiles and gene expression during low temperature storage and subsequent shelf-life of peach fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 60(1): 7-16. DOI:10.1016/j.potharvbio.2010.09.012.
- [25] 申济源. 基于LOX途径的果实香气物质形成与调控解析[D]. 杭州: 浙江大学, 2013: 12.
- [26] WEI S, QIN G, ZHANG H, et al. Calcium treatments promote the aroma volatiles emission of pear (*Pyrus ussuriensis*, 'Nanguoli') fruit during post-harvest ripening process[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 215: 102-111.
- [27] 王贵章, 陈新, 赵天田, 等. 桃果实醇酰基转移酶基因的克隆及对外源乙烯的响应表达[J]. 林业科学研究, 2014, 27(2): 158-167.
- [28] 李大鹏. 苹果醇酰基转移酶基因*MdAAT2*参与酯类香气合成调控机理的研究[D]. 青岛: 山东农业大学, 2005: 10-20.
- [29] YANG X, SONG J, DU L, et al. Ethylene and 1-MCP regulate major volatile biosynthetic pathways in apple fruit[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 325-336. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.08.018.
- [30] 王传增, 张艳敏, 徐玉亭, 等. 苹果红色芽变香气组分及脂肪酸代谢相关酶活性分析[J]. 园艺学报, 2012, 39(12): 2447-2456.