

热处理对黄花梨冷藏品质和活性氧代谢的影响

千春录¹, 何志平², 林菊³, 赵宇瑛⁴, 米洪波¹, 魏露霞¹, 茅林春^{1,*}

(1.浙江大学食品科学与营养系, 浙江 杭州 310058; 2.浙江农林大学食品科学与工程系, 浙江 临安 311300;

3.江西农业大学食品工程系, 江西 南昌 330000; 4.长江大学园艺系, 湖北 荆州 434025)

摘要: 为探讨热处理对黄花梨冷藏品质及其氧化还原水平的作用, 黄花梨果实采后先经40℃热空气处理12h, 再在1℃贮藏120d, 随后20℃存放7d, 监测果实硬度、可溶性固形物、电导率、丙二醛(MDA)含量、超氧阴离子自由基(O₂⁻·)生成速率、可溶性蛋白含量和活性氧清除酶活性的变化。结果显示: 热处理可显著抑制果实可溶性蛋白分解, 提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的活性, 降低O₂⁻·生成速率和MDA含量, 同时可以保持果实硬度和可溶性固形物, 延缓电导率上升。研究表明, 贮前热空气处理(40℃, 12h)可延缓黄花梨果实的衰老变质, 其作用与较高的抗氧化水平有关。

关键词: 黄花梨; 热处理; 冷藏; 衰老; 抗氧化活性

Effect of Hot Air Treatment on the Quality and Reactive Oxygen Species Metabolism of Cold Stored Huanghua Pear Fruits

QIAN Chun-lu¹, HE Zhi-ping², LIN Ju³, ZHAO Yu-ying⁴, MI Hong-bo¹, GUO Lu-jia¹, MAO Lin-chun^{1,*}

(1. Department of Food Science and Nutrition, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. Department of Food Science and Engineering, Zhejiang Agricultural and Forest University, Lin'an 311300, China;

3. Department of Food Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330000, China;

4. Department of Horticulture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract: To explore the effect of thermal treatment on the quality and reactive oxygen species (ROS) metabolism of cold stored Huanghua pear, postharvest fruit samples were treated in hot air at 40 °C for 12 h before storage at 1 °C for 120 d followed by at 20 °C for another 7 days, and changes in fruit firmness, conductivity, MDA content and superoxide anion radical generation rate, soluble protein content and ROS scavenging enzyme activities during the whole storage period were monitored. Results showed that fruit firmness, soluble protein content, and the activities of SOD, CAT and POD in hot air treated fruits were higher than control fruits, whereas opposite results were observed for soluble solid content, electrolyte leakage, MDA content and superoxide anion radical production rate. These results indicate that hot air treatment can improve the quality of Huanghua pear fruits during storage, and the mechanism might be related to the activation of antioxidant enzymes and the reduction of ROS accumulation.

Key words: Huanghua pear; thermal treatment; cold storage; senescence; antioxidant activity

中图分类号: TS255.36

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)02-0303-04

黄花梨于8月中下旬成熟, 正值高温, 常温不耐储存。低温贮藏是黄花梨保鲜和延长货架期的主要手段, 而在冷藏过程中梨果会出现病害和软化等品质下降现象, 所以仍需探求可提高梨果冷藏品质的处理方法。

果实采后热处理指果实贮藏前将其短时间置于非致死高温中, 可以控制多种果蔬的病虫害、提高抗冷性、延缓衰老并保持品质^[1-2]。早在20世纪20年代, 热处理就已应用于果实保鲜, 因其无毒环保, 所以越来越受果蔬保鲜领域的重视。近年来热处理技术在杨

梅、橘子、甜瓜、柿子、花椰菜等果蔬采后保鲜方面已有一些报道^[3-8], 但仍需深入系统研究。热处理在梨果贮藏保鲜方面也已有一些研究, 王亚等^[1]发现35℃热空气处理36h可以有效减轻丰水梨果实腐烂, 抑制呼吸作用, 延缓果实软化和品质劣变。徐炯达等^[2]发现热空气处理可以明显降低苹果梨冷藏期间超氧阴离子自由基(O₂⁻·)生成速率, 增加抗氧化酶活性。热处理对黄花梨采后衰老和活性氧代谢影响的研究报道还不多。本实验以黄花梨为实验材料, 研究采后热空气处理对低温贮藏的黄花梨

收稿日期: 2011-11-16

基金项目: 浙江省科技计划项目(2009C12031)

作者简介: 千春录(1982—), 男, 博士, 研究方向为果蔬采后生理及加工。E-mail: qian123575@163.com

*通信作者: 茅林春(1962—), 男, 教授, 博士, 研究方向为农产品保鲜与加工。E-mail: linchun@zju.edu.cn

果实品质及氧化还原水平的影响, 探讨黄花梨采后热空气处理的保鲜效果及其作用机制。

1 材料与方 法

1.1 材料与处理

优质黄花梨(*Pyrus pyrifolia* Nakai, cv. Huanghua)采自浙江临安, 挑选大小均匀, 无机械伤、无病虫害、无畸形的果实为材料, 2h内运至实验室。本实验设置2个处理: 1)对照(CK), 梨果于(20±1)℃、85%湿度恒温箱中, 放置12h; 2)热空气处理(HA), 根据预实验得到最佳热处理条件, 梨果于(40±1)℃、85%湿度恒温培养箱中处理12h。上述每个处理设置3个重复, 每个重复约60个果实。处理结束后, 所有果实置于(1±1)℃、90%相对湿度环境中。每隔30d取样, 4月后移至(20±1)℃恒温下放置7d模拟货架期。

1.2 试剂与仪器

TA-XT2i物性测定仪 英国稳定微系统公司; PAL-1型手持折光仪 日本ATAGO(爱拓)中国分公司; DDS-II型电导仪 上海精密科学仪器有限公司; BSA-124S万分之一分析天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司; 5417R台式高速冷冻离心机 Eppendorf(中国)有限公司; UV-1750紫外-可见分光光度计 岛津(中国)有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 果实硬度测定

在果实赤道部取3个测点, 用物性测定仪测定果实硬度。实验参数为探头直径5mm, 预压和穿透速度2.00mm/s, 穿透深度5mm, 穿透特征曲线的最高峰即为果实硬度。每次测定用5个果实, 取平均值。

1.3.2 可溶性固形物

将果肉充分打碎混匀, 用四层纱布挤出滤液, 弃去最初几滴, 双层滤纸过滤后收集滤液。用手持折光仪测定可溶性固形物含量。

1.3.3 电导率测定

用打孔器和刀片将样品切成大小和形状一致的圆柱, 称取一定的质量, 放入盛有20mL去离子水的烧杯中, 振荡1h后, 立即用电导仪测定浸提液的电导度, 再将烧杯在电炉上加热煮沸10min, 杀死组织, 待冷却后再测定提取液的电导度, 两个电导度的比值为电导率。

1.3.4 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量测定

参照Mao Linchun等^[9]方法。

1.3.5 超氧阴离子自由基(O₂⁻·)生产速率测定

参照王爱国等^[10]方法。

1.3.6 可溶性蛋白质测定

称取2g样品于离心管中, 加入6mL 50mmol/L(含

0.2mmol/L EDTA) pH7.8磷酸缓冲液(PBS)。再加2%的PVP研磨, 12000r/min离心20min, 取上清液。可溶性蛋白测定采用考马斯亮蓝染色法^[11]。

1.3.7 酶活性测定

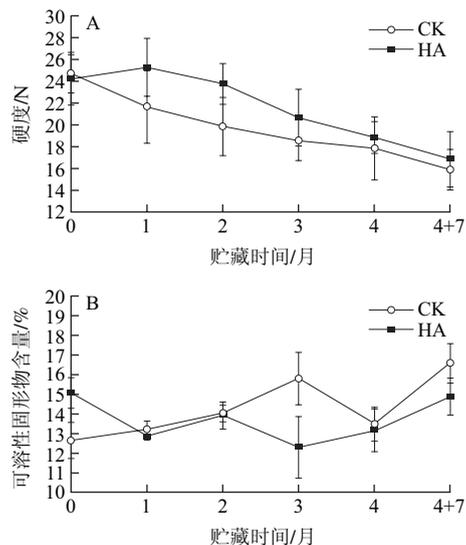
超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性: 采用Beyer等^[12]方法测定; 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性: 参照Cakmak等^[13]的方法测定; 过氧化物酶(peroxidase, POD)活性: 参照Hammerschmidt等^[14]方法测定。

1.4 数据分 析

应用SPSS 16.0统计软件进行方差分析, 差异显著性测定采用Tukey多重比较法($P<0.05$)。

2 结果与分 析

2.1 热处理对黄花梨果实硬度和可溶性固形物的影响



0~4.表示在(1±1)℃冷藏的时间; 4+7.表示在(1±1)℃冷藏4个月之后, 在(20±1)℃模拟货架期贮藏7d。

图1 热空气处理对黄花梨果实硬度(A)和可溶性固形物(B)的影响
Fig.1 Effect of hot air treatment on firmness (A) and soluble solid content (B) in Huanghua pear fruits

硬度是许多果品和蔬菜品质的一个重要指标, 也往往是成熟的标志。由图1A可知, 对照和处理果实在冷藏过程中, 果实硬度均呈下降趋势; 而对照组的硬度下降速度比热处理组的快。这一结果表明, 热处理可以减缓黄花梨软化。热处理对果实硬度的影响与果皮所含果胶含量以及细胞壁水解酶的活性有关。Luo Zisheng等^[3]认为, 热空气处理能降低杨梅多聚半乳糖醛酸酶和果胶甲基酯酶活性, 延迟果胶分解和水溶性果胶增加。

可溶性固形物含量直接影响果实的风味。由图1B可知, 在冷藏前, 热空气处理后黄花梨可溶性固形物含量显著($P<0.05$)高于对照组, 冷藏期间对照果实可溶

性固形物略为上升,而热空气处理果实则保持相对稳定的可溶性固形物含量,处理与对照之间差异不显著,表明热空气处理和低温冷藏对黄花梨果实可溶性固形物含量影响不大。可溶性固形物在冷藏后货架期都呈上升趋势,而热空气处理上升速率较低。

2.2 热空气处理对黄花梨果实电导率和MDA含量的影响

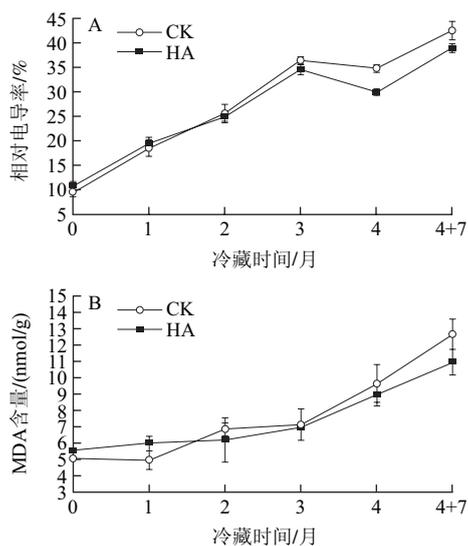


图2 热空气处理对黄花梨果实电导率(A)和MDA含量(B)的影响
Fig.2 Effect of hot air treatment on electrolyte leakage (A) and MDA content (B) in Huanghua pear fruits

由图2A可知,在贮藏过程中,热处理组与对照组的相对电导率基本上都在稳步上升。冷藏结束及货架期,热空气处理组的相对电导率显著($P < 0.05$)低于对照组,说明热处理可有效地保护细胞膜的完整性。

MDA是膜脂过氧化作用的主要产物,所以一般将MDA含量作为判断衰老程度的指标之一。热处理通过影响果蔬相关膜蛋白的活性而改变细胞膜透性,可以提高膜的耐冷性和稳定性,抑制膜渗透率的增加,从而减少MDA的积累^[4]。由图2B所示,在贮藏过程中对照组和热空气处理组的MDA含量均呈增加趋势。冷藏前1个月,热空气处理组的MDA含量高于对照组,而冷藏后期热空气处理组MDA含量则低于对照组,而且MDA含量增加速率也比对照组缓慢。该现象表明热空气处理可减轻冷藏中黄花梨膜脂氧化作用,抑制黄花梨果实MDA积累。

2.3 热空气处理对黄花梨果实 O_2^- ·生成速率的影响

由图3可见,黄花梨果实的 O_2^- ·生产速率在低温贮藏1月内略有下降,而后期迅速增加。冷藏1月内热空气处理组的 O_2^- ·生产速率高于对照组,而冷藏后期及货架期热空气处理组的 O_2^- ·生产速率低于对照组,表明热处理可延缓贮藏期果实 O_2^- ·生产速率的增加。活性氧直接或间接地启动膜脂过氧化作用,破坏细胞膜的完整性,增加细胞膜的透性,从而加速果蔬衰老进程^[15]。该研究中

O_2^- ·生产速率和MDA含量变化趋势相似,说明 O_2^- ·参与黄花梨膜脂氧化且热空气处理抑制膜脂氧化进程。

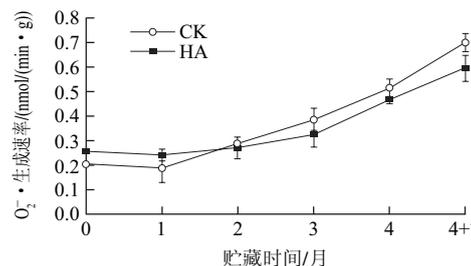


图3 热空气处理对黄花梨果实 O_2^- ·生成速率的影响
Fig.3 Effect of hot air treatment on superoxide anion radical production rate in Huanghua pear fruits

2.4 热空气处理对黄花梨果实可溶性蛋白含量、SOD、CAT、POD活性的影响

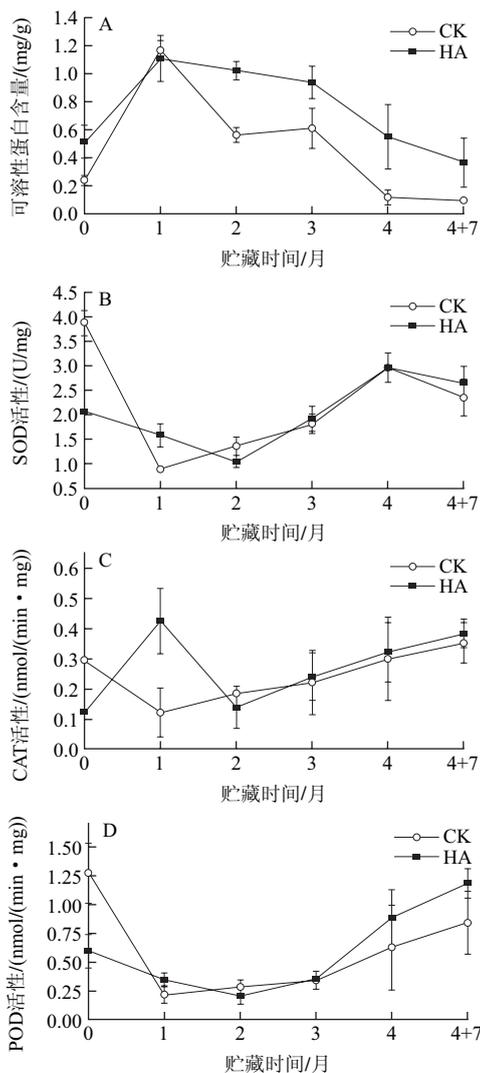


图4 热空气处理对黄花梨果实可溶性蛋白含量(A)、SOD(B)、CAT(C)、POD(D)活性的影响
Fig.4 Effect of hot air treatment on soluble protein content (A), and SOD (B), CAT (C) and POD (D) activities in Huanghua pear fruits

可溶性蛋白含量下降是果实衰老的典型生理现象。如图4A所示, 对照组和热空气处理组可溶性蛋白质含量均呈现冷藏1月内先增加而后减少的变化趋势。热空气处理组的可溶性蛋白质含量在冷藏1月后显著($P < 0.05$)高于对照组, 该现象表明热空气处理可减缓果实可溶性蛋白质含量的损失, 从而延缓果实的衰老。

SOD可以直接清除 $O_2^- \cdot$ 。如图4B所示, 对照组和热空气处理组的SOD活性在冷藏期间均呈先下降后上升的趋势, 而常温货架期两组都有不同程度的下降。在冷藏期间, 对照组酶活性下降速率较热处理组高, 总体趋势上热空气处理组的SOD酶活性稍高于对照组, 但是两者差异并不显著。

CAT是生物演化过程中建立起来的生物防御系统的关键酶之一。CAT活性升高, 说明抗氧化酶系统清除活性氧的能力增强。如图4C所示, 对照组过氧化氢酶活性在冷藏1月内下降而后上升。热空气处理黄花梨果实在冷藏1个月, 过氧化氢酶活性出现一个较对照组高3倍左右的峰值, 冷藏1~2月期间, 过氧化氢酶活性有所下降。冷藏后期以及常温货架期对照和处理组过氧化氢酶活性均有所上升。相比较而言, 经热处理的果实过氧化氢酶活性略高于对照组。

POD是活性较高的适应性酶, 能够反映植物生长发育的特性、体内代谢状况以及对外界环境的适应性, 同时也是植物体内抗氧化酶系统的重要组成部分, 它能催化有毒物质的分解^[16]。如图4D所示, 热处理组与对照组的过氧化物酶活性在冷藏前期均有所下降, 而后又缓慢上升。冷藏后期及货架期, 热处理组黄花梨过氧化物酶活性高于对照组的。

3 讨论与结论

大量研究表明果蔬采后热处理可以延缓其冷藏中冷害发生, 并可提高果蔬贮藏品质并延长保鲜时间^[5-8]。本研究发现, 40℃热空气处理12h可延缓冷藏及货架期黄花梨果实硬度下降, 但不能保持较高可溶性固形物(图1), 说明热空气处理可延缓果实衰老, 更好的保持果实冷藏品质。

自由基与植物组织逆境损伤密切相关。植物组织的逆境代谢可产生大量的自由基, 如果其清除系统不及时清除, 自由基可积累而直接对植物组织产生伤害。热处理可通过增加植物活性氧清除酶活性而减轻采后果蔬逆境伤害^[17]。该实验中黄花梨 $O_2^- \cdot$ 生成速率和SOD、CAT和POD活性在冷藏中先降后升, 表明低温可以暂时延缓氧化胁迫, 长时间低温冷藏却使活性氧代谢失衡, 积累的活性氧可攻击细胞膜导致膜脂氧化作用, 使细胞膜透性和MDA含量增加, 同时活性氧的积累则可能激发抗氧化酶活性提高来缓解氧化胁迫。冷藏后货架期常温贮藏则加速黄花梨果实衰老, 使果实硬度急剧下降, $O_2^- \cdot$ 生成速率提高, 促进膜脂氧化过程, 使MDA积累和细胞膜透性增加, 导致细胞可溶性固形物增加; 同时货架期黄花梨SOD活性降低说明黄花梨对 $O_2^- \cdot$ 清除能力降低, 而致使 $O_2^- \cdot$ 胁迫增加。热空气处理降低了贮藏前黄花梨

SOD、CAT和POD活性, 但是可以在冷藏及货架期保持相对高活性, 说明热空气处理能通过提高黄花梨抗氧化能力来减缓活性氧胁迫, 延缓蛋白分解和膜脂氧化进程从而保持果实品质, 这与热激减轻西葫芦和柿子冷害的研究结果类似^[7,18]。

综上所述, 采后热处理可以使黄花梨果实在冷藏及其后的货架期, 保持硬度, 延缓果实相对电导率、MDA含量和 $O_2^- \cdot$ 生产速率的增加, 抑制可溶性蛋白质分解及保持相对高的SOD、CAT、POD活性。这些都说明适当的热空气处理(40℃, 12h)可以使黄花梨果实在冷藏及其后货架期保持较高的抗氧化机能, 减轻活性氧对果实的氧化胁迫, 保持细胞膜的完整性, 从而延缓果实的衰老进程并保持产品的冷藏品质。因此, 热空气处理作为一种简易无毒的物理方法, 具有改进黄花梨冷藏品质的潜在推广应用价值。

参考文献:

- [1] 王亚, 郁志芳, 章镇, 等. 贮藏前热处理对丰水梨果实贮藏品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2006(4): 130-132.
- [2] 徐炯达, 刘冰雁, 朴宇, 等. 采后热处理和钙处理对苹果梨主要保护酶的影响[J]. 北方园艺, 2008(10): 29-31.
- [3] LUO Zisheng, XU Tingqiao, XIE Jing, et al. Effect of hot air treatment on quality and ripening of Chinese bayberry fruit[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2009, 89(3): 443-448.
- [4] WANG Kaituo, JIN Peng, SHANG Haitao, et al. A combination of hot air treatment and nano-packing reduces fruit decay and maintains quality in postharvest Chinese bayberries[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(14): 2427-2432.
- [5] PEROTTI V E, Del VECCHIO H A, SANSEVICH A, et al. Proteomic, metabolomic, and biochemical analysis of heat treated Valencia oranges during storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 62(2): 97-114.
- [6] CECILIA S A, AGUAYO E, CHISARI M, et al. Calcium salts and heat treatment for quality retention of fresh-cut 'Galia' melon[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 62(1): 77-84.
- [7] 罗自生, 徐晓玲, 蔡侦侦, 等. 热激减轻柿果冷害与活性氧代谢的关系[J]. 农业工程学报, 2007, 23(8): 249-252.
- [8] BUCHERT A M, CIVELLO P M, MARTINEZ G A. Effect of hot air, UV-C, white light and modified atmosphere treatments on expression of chlorophyll degrading genes in postharvest broccoli (*Brassica oleracea* L.) florets[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 127(3): 214-219.
- [9] MAO Linchun, PANG Huaqing, WANG Guoze, et al. Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress[J]. Postharvest Biology and Technology, 2007, 44(1): 42-47.
- [10] 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.
- [11] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [12] BEYER W F, FRIDOVICH I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions[J]. Analytical Biochemistry, 1987, 161(2): 559-566.
- [13] CAKMAK I, MARSCHNER H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves[J]. Plant Physiology, 1992, 98(4): 1222-1227.
- [14] HAMMERSCHMIDT R, NUCKLES E M, KUC J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to colletotrichum lagenarium[J]. Physiological Plant Pathology, 1982, 20(1): 73-82.
- [15] YANG Shaoyu, SU Xinguo, PRASAD K N, et al. Oxidation and peroxidation of postharvest banana fruit during softening[J]. Pakistan Journal of Botany, 2008, 40(5): 2023-2029.
- [16] LUO Zisheng, CHEN Chun, XIE Jing. Effect of salicylic acid treatment on alleviating postharvest chilling injury of 'Qingnai' plum fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 62: 115-120.
- [17] SALA J M, LAFUENTE M T. Catalase enzyme activity is related to tolerance of mandarin fruits to chilling[J]. Postharvest Biology and Technology, 2000, 20(1): 81-89.
- [18] WANG C Y. Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in chilled zucchini squash[J]. Postharvest Biology and Technology, 1995, 5(1): 67-76.