

气调贮藏对“紫花”芒果 SOD, POX, CAT 等酶活性的影响^①

石海燕 冯双庆^②
(食品科学系)

摘 要 研究了“紫花”芒果(*Mangifera indica* L.)的低温冷藏,气调冷藏条件下其活性氧代谢反应。结果表明,后熟过程中,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POX)和过氧化氢酶(CAT)的活性呈上升趋势;气调贮藏显著抑制了这三种酶的活性。

关键词 芒果; 气调贮藏; SOD; POX; CAT

中图分类号 S667.7; S609.3

Effects of CA Storage on Activity of SOD, POX, CAT of “Zihua” Mango

Shi Haiyan Feng Shuangqing
(Dept. of Food Science)

Abstract Changes of SOD, POX and CAT activities during Zihua mango at low-temperature storage and low-temperature controlled atmosphere (CA) storage were studied. The results indicated that during the fruit ripening, activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POX), catalase (CAT) were increased, and the activities of three enzymes were suppressed remarkably under CA storage.

Key words mango; CA storage; SOD; CAT; POX

果实的后熟和衰老是一个复杂的生理生化过程。自由基学说认为衰老过程即活性氧代谢失调与累积的过程。SOD 就是存在于植物细胞中最为重要的清除自由基的酶类之一,它的主要功能是消除 O_2^- ; POX 和 CAT 具有分解 H_2O_2 的作用,只有三者协调一致,才能使生物体的自由基维持在一个较低的水平,从而防止自由基毒害。为此, Fridovich 等把以上三种酶系统称为保护酶系统,它们的活性变化与衰老有着密切关系^[1]。近年来,已有人开始研究果实的成熟衰老与活性氧代谢系统的关系,分析了荔枝^[2]、雪梨^[3]、苹果^[4]和猕猴桃^[5,6]成熟时自由基清除剂的变化。芒果是一种易腐烂,衰老快的名贵水果,尤其是炭疽病(*Colletotrichum gloeosporioides*)和蒂腐病(*Diplodia natalensis*)的采前潜伏侵染,成熟过程中发病,给

收稿日期: 1996-09-13

①本课题是农业部八五攻关资助项目(“紫花”芒果综合保鲜技术)

②冯双庆,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

芒果生产与贮运造成了严重的威胁^[7]。目前较好的贮藏方法仍以低温冷藏为主^[8],但芒果冷敏性强,易受冷害,在适温下气调是当今世界上最先进的贮藏技术之一。经过多年的实验证明,采用 $13\text{ }^{\circ}\text{C}+5\% - 10\% \text{O}_2 + 2\% - 8\% \text{CO}_2$ 可以大大延长紫花芒果的采后寿命^[9~11]。一般认为气调之所以能延缓衰老主要是由于它抑制了呼吸速率的缘故,但最近的研究表明有许多其他与呼吸无关的生理生化因素都会受到气调贮藏的影响^[12]。本试验旨在探索气调冷藏下紫花芒果后熟过程中 SOD, POX 和 CAT 的活性变化规律,并为气调冷藏方法的进一步完善与应用提供理论依据。

1 材料与方 法

供试紫花芒果产于广西田阳县,树龄 4~5 年,随机挑选大小适中,无病、虫、机械伤的达到生理成熟的绿熟果实为试材。

采后处理:采收后立即用洗洁净清洗,然后用水漂洗,水干后用保鲜剂(AI)处理,晾干,纸箱包装空运至京。

贮藏处理:冷藏果置于 $(13 \pm 0.5)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 控温冰柜中。气调果放入塑料箱内,用 0.06 mm 厚聚氯乙烯袋密封箱子,置于 $(13 \pm 0.5)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 控温冰柜中,用 FD-1000 型碳分子筛制氮机和奥氏气体分析仪调节和检测袋内气体成分,使 O_2 为 5%~10%, CO_2 为 2%~8%。以冷藏果为对照。每个处理 4 个重复,每个重复 20 个果。

统计转黄率和转黄指数:果皮颜色分为 0~4 级,0——全绿;1——果蒂黄;2——果面局部发黄;3——果面大部分变黄,只有少量绿色;4——全黄,少量绿点。

统计发病率和发病指数:炭疽病的分级方法,0——无病斑;1——病斑少于 5 个(最大直径 $< 5\text{ mm}$);2——病斑 5 个左右(最大直径 $< 8\text{ mm}$);3——病斑 5 个以上(直径 8~15 mm)病斑达到果肉;4——有较多 3 级病斑或有大量散在病斑(最大直径 15 mm)。蒂腐病的分级方法,0——无病斑;1——病斑直径 $> 3\text{ mm}$;2——病斑直径在 4~13 mm;3——病斑直径 14~25 mm;4——病斑直径 $> 25\text{ mm}$ 。

酶的提取和活性测定:

SOD:取果肉样品 3 g,加入 9 mL $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH7.8 磷酸缓冲液,冰浴研磨, $13\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 冷冻离心 20 min,取上清液待测。SOD 活性的测定参照 Robert 的方法,抑制 NBT 还原率达 50% 的酶量定义为一个酶活单位^[13]。

POX:取果肉 2 g,加入 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 2 mL 及少量石英砂研磨, $1\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上清液待测。POX 活性的测定参照何钟佩的方法,以 $OD_{470}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 表示^[14]。

CAT:取果肉 5 g,加 1 g CaCO_3 ,10 mL 蒸馏水,移入 100 mL 容量瓶中,用重蒸水定容,振荡后静置,过滤取上清液待测。CAT 活性的测定参照放氧法,用一定量的 CAT 与足够 3% 的 H_2O_2 反应,以产生 O_2 的体积代表 CAT 活力,单位为 $\text{O}_2\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ^[15]。

2 结果与分析

2.1 冷藏与气调贮藏的后熟情况及贮藏效果

从表 1 看出气调冷藏的效果明显优于冷藏,采后 10 d,冷藏果转黄率和转黄指数分别

为 9.65% 和 3.85%，气调果的转黄率和转黄指数分别为 7.27% 和 1.82%，均无发病。采后 20 d，冷藏果出现病斑，发病率达 3.8%，发病指数 1.9%；而气调果无病斑出现。采后 35 d，冷藏的发病率为 26.7%，发病指数为 14.0%，商品率为 80.0%，好果率为 73.3%，果实全部转黄，而此时气调的发病率只有 7.6%，发病指数 1.3%，商品率和好果率则高达 95.0% 和 92.4%，果实基本转黄。

由此可见，气调贮藏明显延缓了果实的转黄和后熟。原因可能是气调抑制了活性氧代谢系统，进而延缓了叶绿素的氧化与降解及胡萝卜素的形成^[12]。气调贮藏控制病害蔓延的原因之一是低温+气调+保鲜剂三者复合作用延缓了果实的后熟衰老，增强了果实本身的抗病能力；其次是保鲜剂抑制了蒂腐病和炭疽病的发生，三者是低氧、高二氧化碳条件直接抑制了病原菌的生长与发育。关于这方面的研究有待于进一步探讨。

表 1 低温冷藏和气调贮藏+保鲜剂对“紫花”芒果贮藏效果的影响 /%

采后天数 <i>t</i> /d	贮藏条件	转黄率	转黄指数	发病率	发病指数	商品率	好果率
10	13℃+CA	7.27	1.82	0	0	100	100
10	13℃	9.65	3.85	0	0	100	100
20	13℃+CA	40.8	10.6	0	0	100	100
20	13℃	85.7	24.3	3.8	1.9	97.0	96.2
30	13℃+CA	75.0	27.7	3.4	0.9	100	96.6
30	13℃	96.8	69.0	9.3	4.5	92.0	90.7
35	13℃+CA	97.8	61.2	7.6	1.3	95.0	92.4
35	13℃	100	90.0	26.7	14.0	80.0	73.3

2.2 气调贮藏对 SOD 活性的影响

随果实后熟衰老，SOD 活性逐渐上升，气调贮藏明显抑制了 SOD 酶活性的上升幅度，处理之间差异显著 ($P < 0.01$, 图 1)。采后 5 d，对照的 SOD 活性为 $44.58 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ ，随着贮藏期的延长酶活性逐步升高，采后 30 d，酶活性达高峰为 $121.43 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。气调贮藏的 SOD 活性一直呈上升趋势，采后 35 d，酶活性为 $89.23 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.3 气调贮藏对 POX 活性的影响

采后 15 d 前酶活性均很低，随着贮藏期的延长，POX 活性逐渐上升，气调贮藏显著抑制 POX 活性 ($P < 0.01$, 图 1)。采后 20 d，对照的 POX 活性为 $0.052 \text{ OD}_{470} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ，是气调的 4.3 倍；采后 30 d 对照的酶活性达到峰值 (为 $0.206 \text{ OD}_{470} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)，是气调的 3 倍。

2.4 气调贮藏对 CAT 活性的影响

在紫花芒后熟衰老过程中，CAT 活性一直呈现上升趋势，而气调贮藏则大大降低了 CAT 活性，尤其是在贮藏后期，采后 25 d，对照的 CAT 活性是气调的 1.4 倍；而到采后 30 d 和 35 d 时，对照的 CAT 活性则分别是气调处理的 2.7 倍和 4.5 倍。两者之间的差异显著 ($P < 0.01$, 图 1)。

3 讨论

3.1 “紫花”芒果后熟过程中活性氧代谢的变化规律

关于 CAT, POX 和 SOD 在果蔬采后后熟过程中的活性变化不尽一致。植物衰老期间, SOD 和 CAT 活性下降, 氧吸取量增加, 以致形成了过量的 O_2 , H_2O_2 , HO 和 O_2^- 活性氧^[16]。采后 7 d 的荔枝果皮 SOD 活性约为采收当天的一半, 而过氧化物的含量则上升了 2 倍^[2]。在苹果的研究中发现, POX 活性可以作为后熟和衰老的参数^[17], 但也有相反的报道^[18]。芒果在跃变前期, 果肉中的 POX 活性上升, 跃变高峰之后, 酶活性下降, 并且发现在后熟过程中有三种不同的同工酶^[19]; 呼吸跃变前的芒果切片经 10 或 50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 乙烯处理, POX 和 CAT 活性分别比对照升高 3 和 4 倍^[20], GA_3 明显降低芒果 POX 活性^[21]。“紫花”芒果在 10℃ 贮藏 20 d, 开始启动成熟, 后熟过程中, 果皮 SOD 和 CAT 活性达到高峰^[22]。在猕猴桃软化衰老过程中, CAT, POX 和 SOD 属于后期上升型酶, 即在果实软化时, 其活性开始上升, 果实越衰老, 它们的活性越高^[6]。在草莓上, 四个不同品种采后在 25℃ 下, SOD 酶的活性持续上升, 乙烯处理后, 可显著地促进它们活性的上升^[23]。因而有人认为, SOD 为诱导酶, 当生物体内自由基含量上升时, 就会诱导 SOD 这类氧化还原酶活性的上升^[24]。

从以上分析, 我们认为 SOD 等酶活性的上升, 是果实衰老的产物和指标, 在衰老早期, 清除剂能有效地清除活性氧自由基, 而在衰老后期, 由于活性氧自由基太多, 就不能很有效地清除它, 芒果这类衰老很快的果实, 自由基的产量可能很多, 被诱导产生的 SOD 的活性也很高, 但是由于自由基的产生早于 SOD 等酶活性的上升, 并且由于自由基的数量大大超出了 SOD 等自由基清除剂的清除能力, 导致这类果实的衰老。

3.2 气调贮藏对自由基清除剂的影响

关于气调处理影响衰老进程的酶的研究已有报道, 萘茜、洋菇的多酚氧化酶的活性会被高 CO_2 或低 O_2 所抑制。高 CO_2 能抑制琥珀酸脱氢酶的活性, 另外气调也会抑制其他酶的活性, 例如酯酶、纤维素酶、多聚半乳糖醛酸酶等活性^[12]。

关于气调对于芒果 SOD, CAT 和 POX 的活性的影响尚未见报道。本试验表明气调贮藏明显抑制了这三种酶的活性, 从而抑制了氧代谢与衰老的进程。前面已经谈到衰老越快的

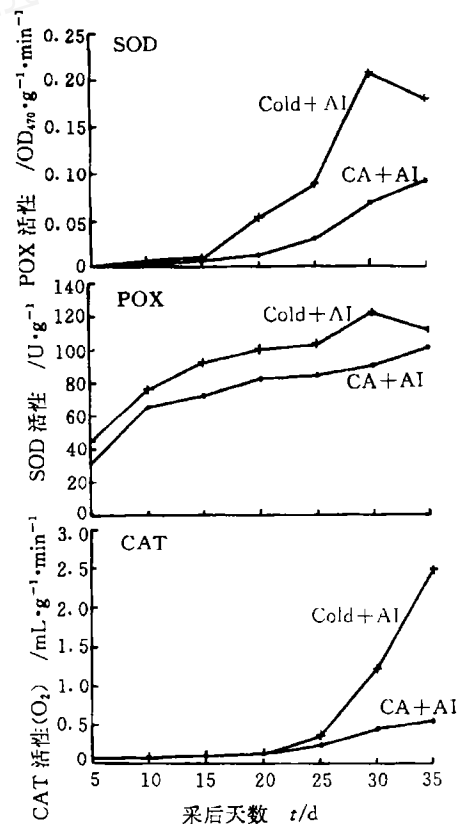


图 1 “紫花”芒果在 13℃ 和 13℃+CA 下 SOD, POX 和 CAT 活性的变化

果实其自由基的产生量越大,被诱导的SOD等活性也越高,因为气调处理明显地延缓了果实的后熟衰老,其自由基的产生量相对要少一些,因此也就会降低被诱导的酶的活性。另外一个原因可能是在气调环境中外界氧气浓度低,活性氧自由基的产生也会受到抑制。那么自由基清除剂也会相对较少,反之这些也为气调贮藏明显延缓果实后熟衰老提供了理论依据。

参 考 文 献

- 1 Fridovich I. In: Pryor W A ed. Free Radical Biology, Vol 1. New York: Academic Press, 239,976
- 2 林植芳,李双顺,张东林,刘淑娴,李月标,林桂珠,陈锦达. 采后荔枝果实中氧化和过氧化作用的变化. 植物学报,1988,30(4):382~387
- 3 关军峰. 采后雪梨衰老与过氧化作用. 河北农业大学学报,1994,17(1):6~9
- 4 关军峰. 苹果果实衰老与膜脂过氧化作用的关系. 河北农业大学学报,1991,14(1):50~53
- 5 吕均良. 猕猴桃果实后熟过程中乙烯生成和超氧化物歧化酶及过氧化物酶的活性变化. 浙江农业大学学报,1993,19(2):135~138
- 6 王贵禧. 猕猴桃软化过程中阶段专一性酶的研究. 北京农业大学博士毕业论文,1993
- 7 冷怀琼,曹若彬,刘秀娟,沈言章,罗文华. 果品贮藏的病害防治及保鲜技术. 成都:四川科学技术出版社,1991
- 8 Medlicott A P, Sigrist J M M, Sy O. Mango ripening during cold storage. J Amer Hort Sci, 1990, 430~434
- 9 冯双庆. 芒果贮藏研究进展. 绿化与生活,1991,(2):16~18
- 10 冯双庆. 芒果贮藏保鲜研究初试. 园艺学报,1992,19(1):76~78
- 11 冯双庆,于梁,周山涛,李桂生. 延缓芒果后熟和控制采后病害的方法. 北京农业大学学报,1991,17(1):19~22
- 12 王健一. 大气成分对园艺产品生理生化之影响. 中国园艺,1988,34(4):220~248
- 13 Robert R C S, et al. Lipid peroxidation association with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiol, 1980,65:245~248
- 14 何钟佩. 农作物化学控制实验指导. 北京农业大学出版社,1993
- 15 冯双庆,周丽丽. 果蔬贮运学实验指导. 北京农业大学出版社,1990
- 16 Parrish D J, Leopold A C. On the mechanism of aging in soybean seeds. Plant Physiol, 1978,61:365~368
- 17 Gorin, et al. Peroxidase activity in golden delicious apples as a possible parameter of ripening and senescence. J Agri and Food Chem, 1976,24(1):200
- 18 Ford T W, et al. Peroxidase and glucose-6-phosphate dehydrogenase levels in cotyledons of *Cucumis sativum*. J Exp Bot, 1972,23:423
- 19 Marin M A, Cano M P. Patterns of peroxidase in ripening mango Fruits. J Food Sci, 1992, 57(3): 690~692
- 20 Mattoo A K, Modi V V. Ethylene and ripening of mangoes. Plant Physiol, 1969, 44:308~310
- 21 Khader S E S A. Effect of GA₃ as a post-harvest treatment of mango fruit on ripening amylase and peroxidase activity and quality during storage. Sci Hort, 1988, 36(4):261~266
- 22 王燕,李雪萍,季作梁. 芒果冷害对两种自由基清除剂的影响. 园艺学报,1995,22(3):235~239
- 23 刘先舜. 乙烯诱导下采后草莓与衰老有关的酶的研究. 北京农业大学硕士毕业论文,1994
- 24 方允中. 自由基与酶. 北京:科学技术出版社,1989