

运输中的机械损伤对贮藏初期苹果活性氧代谢的影响^①

申琳^②

生吉萍 罗云波

(北京市农业技术推广站)

(中国农业大学食品学院)

摘要 通过测定红富士苹果运输损伤后的生理生化变化,发现机械损伤不仅使果实表面出现褐色斑块,果实呼吸强度迅速增加,而且细胞内促进活性氧产生的脂氧合酶的活性增加,果皮增加的幅度高于果肉;具有消除自由基作用的SOD和CAT的活性在损伤后也突然升高,但在损伤后第2~6天活性逐渐下降,同时,损伤后POD活性、MDA含量以及膜透性都有显著的增加,说明机械损伤破坏了膜的完整性、促进了脂质过氧化的产生,导致衰老性状的提前出现。本试验从理论上进一步证明减少运输中的机械损伤对延长贮藏寿命、提高果品品质具有重要的意义。

关键词 苹果; 活性氧; 脂氧合酶; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 机械损伤

分类号 S661.1; S379.7

Influence of Mechanical Stress on the Active Oxygene Metabolism System of Apple during Transportation

Shen Lin

Sheng Jiping Luo Yunbo

(Beijing Agricultural Technology Extension Center,100101)

(College of Food Sciences,CAU)

Abstract Treated with mechanical stress (during transportation by truck) for 14 hours, the Fuji apple fruits appeared brown (20%) on the surface. The activity of SOD, CAT and POD, MDA level and electrolytes leakage were investigated. The results showed that the activity of SOD, CAT and POD increased after mechanical stress, and decreased during the storage whereas the control almost kept the same level in the 6 days. The activity of LOX reached its peak in the first day after mechanical stress, and the content of MDA, the electrolytes leakage increased greatly at the same time. The data suggested that mechanical stress during the transportation affected the balance of the free radicals metabolism of apple, the integrity of membrane and made it easy to breakdown and senescence in the storage of apple. It also showed the significance of the package of apple during transportation.

Key words apple; active oxygene; lipoxygenase; SOD; CAT; mechanical stress

运输过程中的处理不当,不可避免地会对新鲜园艺产品造成机械损伤,使果实组织受到破坏,引起呼吸加强、膜透性增加、品质下降,并可导致有关代谢物质的改变^[1]。近年来,人们发现活性氧与逆境条件有一定的相关性^[2],还有人认为活性氧是造成果蔬衰老的重要原因^[3]。关于运输中的机械损伤对果实活性氧代谢系统的影响报道不多,特别是脂氧合酶参与机械胁迫的研究报道较少^[4]。我们以跃变型果实的代表苹果为试材,研究了机械损伤前后活性氧产生系统与活性氧消除系统的变化,以期对果蔬机械损伤机制有更深入的了解。

收稿日期: 1998-03-11

①本项目得到中澳合作课题 ACIAR Project 9105 的资助

②申琳,北京市农业技术推广站,100101

1 材料和方法

1.1 试材及处理方法

供试品种为红富士苹果(cv. Fuji),于成熟期1997年10月20日采自山东省成武县果园。选择成熟度、着生部位、着色程度、果实大小一致的果实,以单果塑料泡沫网袋包装、纸箱运输的作为对照;以10 kg一袋装入尼龙网袋直接运输的果实作为处理。采收后立即液氮冷冻后置于冰壶中保存作为第0天的样品。果实经汽车夜间(温度6~10℃)14 h的运输后,到达实验室。选择果实受伤面积相同的果实(出现褐色斑块面积约为总果面积的20%)为伤害处理果,以纸箱中的果实为对照果。以运输后到达实验室作为第1天,将受伤果和对照果贮藏于室温下(10~18℃)5 d,分别测定相应的指标。

1.2 测定方法

呼吸速率用红外线二氧化碳分析仪测定^[5]。

脂氧合酶(LOX)的测定采用氧电极法^[6],略有改进。在脂肪氧合酶活性分析前所配制反应混合液:50 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH6.8)2.7 mL,底物200 μL,在25℃下保温30 min。取酶提取液100 μL加至反应混合液中,立即开启秒表记录时间,充分摇匀,用752C型紫外可见分光光度计于234 nm处记录3~4 min的吸光值,以0.05 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH6.8)作空白对照。以每分钟吸光度变化值表示酶活性大小,即以 $\Delta A_{234} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}(\text{fw})$ 表示。以每分钟吸光度变化0.1为1个活力单位(U)。

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用NBT法^[7,8]。

过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用愈伤木酚比色法^[5]。

过氧化物酶(POD)活性的测定采用碘量法^[6]。

丙二醛(MDA)含量的测定采用TAB法^[9,10]。

细胞膜渗透率(EL)的测定采用电极法^[5]。

试验每处理设3次重复。

2 结果与分析

2.1 机械胁迫对果实呼吸的影响

从图1可以看出,对照果实的呼吸强度保持较低的水平,在采后的6 d中变化不大,说明此时的果实处于呼吸高峰的前期。机械损伤促进了果实的呼吸作用,在运输后果实1 d的呼吸速率陡然增加,且贮存期中一直保持较高的水平。可见机械损伤同其他逆境一样^[2],使果实呼吸加强以适应不良的环境。

2.2 机械损伤对LOX活性的影响

从图2表明,运输中的机械胁迫促进了LOX活性增加,并且在后来的6 d里,LOX活性仍有增加,但增加幅度不大。同样果肉中的LOX活性也有同样的变化趋势,但LOX的含量比果皮中低得多。而对照果皮和果肉中的LOX活性都没有很大的变化,LOX活性水平也较低。

2.3 机械损伤对SOD、CAT活性的影响

从图3可以看出,果皮的SOD活性比果肉大,相差近10个活力单位。在果实受机械损伤

后,果皮在 1 天中 SOD 活性增加了 10 个活力单位,随后活性很快下降,到第 3 天与对照相等,之后又继续下降,到第 6 天仅有 $10.6 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}(\text{fw})$ 。果肉中的 SOD 活性在机械损伤后也有增加,但变幅比果皮小,并且在贮藏期下降较慢。

从图 4 可见,果皮中 CAT 活性对机械损伤的响应甚为敏感,受伤后的第 1 天,CAT 活性增加了 7 倍多,然后又逐渐下降,到第 6 天 CAT 的活性与处理前相近。果肉中的 CAT 活性也有增加,但到贮藏的第 2 天才达到高峰,之后缓慢下降,第 6 天仍有较高的活性,说明果肉的 CAT 活性较稳定,发挥作用的时间也更长。

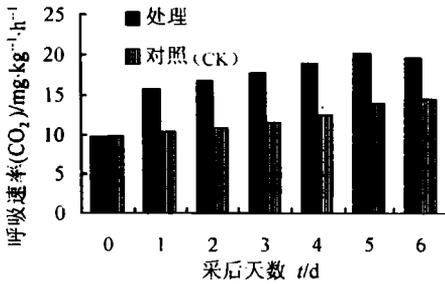


图 1 机械损伤对贮藏期苹果呼吸速率的影响

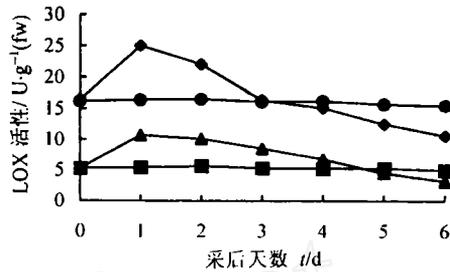


图 2 机械损伤对苹果脂氧合酶活性的影响

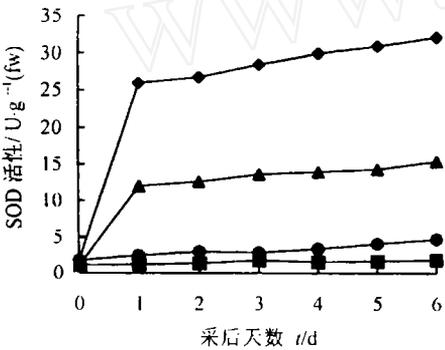


图 3 机械损伤对 SOD 活性的影响

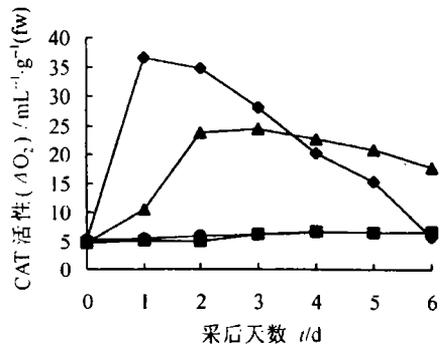


图 4 机械损伤后 CAT 活性的变化

图 2, 3, 4 注: ●—CPE 对照果皮; ●—TPE 处理果皮; ▲—CPU 对照果肉; ■—TPU 处理果肉

2.4 机械损伤对 POD, MDA 及膜透性的影响

由表 1 可以看出,果皮的 POD 活性在机械损伤后增加了 3 倍,果肉的 POD 活性增加了 2 倍。脂质过氧化产物 MDA 的含量在损伤后增加了 35.2% (果皮) 和 20.9% (果肉),膜透性在运输后是运输前的 2.6 倍 (果肉) 和 4.1 倍 (果皮)。可见,运输中的机械伤害对果实组织的破坏作用不仅表现在外观褐色斑块的出现,而且果实内部细胞膜的完整性受到影响,脂质过氧化作用加剧。有人认为 POD 可作为果实后熟衰老的指标,POD 的大量增加,表明机械胁迫加速了衰老的速度和进程,果实组织趋于瓦解和崩溃。

表1 机械损伤后6天POD,MDA及膜透性的变化

| 样 品 | POD 活性 | | MDA 含量 | | 膜透 | |
|-----|---|-----|-----------------------------|-------|-----|------|
| | /U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ ·(fw) | | /nmol·g ⁻¹ ·(fw) | | φ/% | |
| | 对照 | 处理 | 对照 | 处理 | 对照 | 处理 |
| 果皮 | 0.7 | 2.0 | 110.1 | 148.9 | 5.1 | 21.1 |
| 果肉 | 0.4 | 0.8 | 62.5 | 75.6 | 3.3 | 8.7 |

3 讨论

①机械损伤可能是因为破坏了细胞中酶与底物的空间隔离,使酶与底物结合,而使LOX, SOD, CAT, POD等酶的活性增加,这与杏^[1]和桃^[4]上的试验结果相一致。

②脂氧合酶是一种以多不饱和脂肪酸为底物的酶,它专一催化1,4-戊二烯结构的多不饱和脂肪酸的过氧化反应,产生多种自由基^[6]。成熟期果实出现较高的LOX活性对于细胞膜结构的破坏及衰老有促进作用。机械损伤同样促进了LOX活性的升高,并且果皮中LOX的活性的上升的趋势早于果肉,强度也大于果肉。

③超氧化物歧化酶和过氧化氢酶是果实中具有清除活性氧作用的保护酶^[11],它们在不同的逆境下活性下降^[1]。果皮在伤害初期,2种酶的活性突然升高,这是果实本身的一种应激反应。严重伤害以后,2种酶的活性下降,并伴随着丙二醛的积累,这一趋势与鸭梨上的试验相似^[12]。

④运输中包装不当造成的机械损伤,导致了自由基代谢平衡的破坏。LOX活性增加,加速了自由基的产生,而活性氧消除系统中SOD和CAT短时的活性升高,仍不能消除过剩的自由基,引起膜脂过氧化的加剧,最终导致果实早衰。果实呼吸强度的增加,引起细胞内物质消耗的加剧,加速了果实的衰老进程。

可见,果蔬运输中包装及运输方式的选择非常重要,应尽量避免果实损伤,减少机械损伤对果实的不利影响,这对后期果实贮藏保鲜及贮藏质量的提高有着重要的意义。

参 考 文 献

- 1 关军峰. 机械振动胁迫对杏果实生理特性的影响. 食品科学, 1994, 10: 6~8
- 2 陈昆松, 张上隆, 李三玉, 叶明儿. 高温处理对温州蜜柑幼果脂质过氧化作用和乙烯生成的影响. 果树科学, 1994, 11(4): 225~228
- 3 陈少裕. 脂质过氧化对植物细胞的伤害. 植物生理学通讯, 1991, 27(2): 84~90
- 4 席与芳, 应铁进, 郑永华, 茅林春, 钱冬梅. 震动胁迫对桃果实衰老的影响. 园艺学报, 1997(2): 137~140
- 5 冯双庆, 于梁, 周丽丽, 赵玉梅. 果蔬贮藏学实验指导. 北京农业大学出版社, 1991: 35~36
- 6 Axelrod B, Cheesbrough T M, Leakso S. Lipoyxygenase from soybeans. Methods Enzyme, 1981, 71: 441
- 7 何钟佩. 农作物化学控制实验指导. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 36~39
- 8 Stewart R C, Benlew J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiol, 1980, 65: 245~248
- 9 王爱国, 邵从本, 罗广华. 丙二醛作为植物脂质过氧化指标的探讨. 植物生理学通讯, 1986, (2) 55~57
- 10 李柏林, 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系. 植物生理学报, 1989, 15(1): 6~12
- 11 霍君生, 佟代言, 刘彩莉, 史吉平. 鸭梨果心褐变过程中脂质过氧化及细胞内膜微粘度的变化. 园艺学报, 1995, 22(3): 221~224
- 12 丁双阳, 胡小松. 鸭梨果皮褐变过程中细胞的膜伤害与超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性的关系. 辽宁农业科学, 1992(6): 33~36