

微真空贮藏条件对莱阳梨果实膜脂过氧化的影响

周莎莎^{1,2}, 岳本芳^{1,2}, 李文香^{*1,2}, 王士奎^{1,2}, 孙元军^{1,2}

(1. 青岛农业大学 食品科学与工程学院, 山东 青岛 266109; 2. 青岛市现代农业质量与安全工程重点实验室, 山东 青岛 266109)

摘要: 为探讨微真空贮藏条件延缓果蔬采后衰老的生理机制,以莱阳梨为试验材料,在贮藏温度为 $3\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、真空压力为 $66\ 661\sim 79\ 993.2\text{ Pa}$ 的微真空贮藏条件下,通过对莱阳梨果实中抗氧化酶 CAT、SOD、POD 活性及活性氧 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 摩尔质量浓度消长的变化、LOX 活性与 MDA 摩尔质量浓度、膜透性的分析,结果表明:与相同温度下的常压贮藏相比,微真空贮藏能显著提高 CAT、SOD、POD 活性,降低 LOX 的活性及 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 摩尔质量浓度,延缓相对电导率和 MDA 摩尔质量浓度的增加 ($P\leq 0.05$)。表明微真空贮藏条件可能通过上调莱阳梨果实中内源抗氧化酶活性和下调 LOX 活性,以减少活性氧的产生及对膜的损伤,降低膜脂过氧化程度,延缓梨果实的衰老进程。

关键词: 莱阳梨;微真空贮藏;膜脂过氧化;衰老

中图分类号: TS 255.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2012)04-0423-06

Effects of Micro-Vacuum Storage Conditions on the Membrane Lipid Peroxidation of Laiyang Pear

ZHOU Sha-sha^{1,2}, YUE Ben-fang^{1,2}, LI Wen-xiang^{*1,2}, WANG Shi-kui, SUN Yuan-jun^{1,2}

(1. School of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. Key Laboratory of Modern Agricultural Quality and Safety Engineering of Qingdao, Qingdao 266109, China)

Abstract: In this manuscript, Laiyang pear was as research model to demonstrate the physiological mechanism of aging under micro-vacuum storage. For this, pear at store under micro-vacuum storage at the pressure of $66\ 661\sim 79\ 993.2\text{ Pa}$ and the temperature of $3\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the parameters such as CAT, SOD, POD, $\text{O}_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 . The relationship among LOX activity and MDA, membrane permeability was also studied. The results showed that the micro-vacuum storage could significantly improve the activity of SOD, CAT, POD. When compared that of atmosphere storage but decrease the activity of LOX, the content of $\text{O}_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 . Furthermore, atmosphere storedelay the relative electric conductivity and the increasing of MDA ($P\leq 0.05$). The experiment indicated that the micro-vacuum storage could reduce the reactive oxygen species and the damage of membrane to decrease the lipid peroxidation degree then to maintain membrane structure and function.

Key words: Laiyang pear; micro-vacuum storage; membrane lipid peroxidation; aging

收稿日期: 2011-04-08

基金项目: 山东省自然科学基金项目(Y2007D65);青岛农业大学高层次人才启动基金项目。

*通信作者: 李文香(1963-),女,山东安丘人,工学博士,教授,硕士研究生导师,主要从事农产品贮藏加工方面的研究。

E-mail: xiang7332@126.com

莱阳梨质脆味甜,品质优良,历史上曾列为皇家贡品,名驰南北^[1]。但莱阳梨采后不耐贮运,贮藏条件不当,易引起果实腐烂及品质劣变,大大降低了莱阳梨的商品价值^[2]。梨果实的采后衰老是导致梨果实腐烂和品质变劣的重要原因,而梨果实的采后衰老是一个非常复杂的过程。衰老的自由基伤害学说^[3]认为,果蔬衰老过程是活性氧代谢失调积累的过程。活性氧可启动膜脂过氧化作用,导致膜的损伤和破坏,促进衰老。与此同时,生物体内存在的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等内源抗氧化酶系统,能清除果蔬内过量的活性氧,维持活性氧代谢平衡,保持膜的结构,延缓果蔬的衰老^[4-5]。但随着果实的衰老,其体内的内源抗氧化酶系统活性通常会不断下降,从而引起活性氧代谢失调,造成活性氧积累。当活性氧的积累超过一定阈值,会直接破坏生物膜的结构,导致膜透性的增加,破坏了膜的分室效应,最终导致果蔬组织的褐变与衰老。因此,果实活性氧代谢失衡与果蔬的衰老进程是密切相关的^[6-7]。脂氧合酶(LOX)在果实衰老过程中也起着重要作用,它通过催化游离的不饱和脂肪酸产生的脂质过氧化,使膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量增加,MDA的积累也会对膜系统造成伤害,促进果实的采后衰老^[8]。

微真空贮藏即为一种轻度减压贮藏或称一种改良式减压贮藏,能同时起到轻微减压和快速减少总氧量以及MA贮藏的多重保鲜效果。该技术是在对普通减压贮藏^[9]、“减压与常压联合”贮藏^[10-11]以及“三阶段减压”贮藏^[12-13]研究的基础上,为解决常规减压贮藏设施壁承受压力过大以及果蔬失水率偏高的难题,借鉴专利技术(ZL 03 1 06989.4)^[14]的全新理念,通过在密闭减压贮藏设施内增加一柔性气囊而开发的一种新型轻度减压贮藏技术。微真空贮藏技术通过柔性气囊的引入,抽气时气囊靠内外压差自动充气膨胀,以填补设施内空气量的减少空间,使设施内总氧量快速减少,同时排除代谢产生的有害气体,但真空压力下降幅度轻微,因而可大幅度降低设施壁的承压能力;且气囊充气膨胀后会对果蔬起到一定的包装作用,从根本上解决了真空贮藏条件下果蔬易失水的难题。微真空贮藏技术的研究和应用,对于实现真空贮藏技术由实验室阶段向大规模商业化应用的飞跃,必将起到重要的推

动作用。本试验旨在通过利用“微真空贮藏设施”对莱阳梨的贮藏试验,探讨微真空贮藏条件延缓莱阳梨果实采后褐变与衰老的机理,为推动微真空贮藏技术在更多果蔬保鲜中的应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1)莱阳梨:采自莱阳校区园艺示范果园,傍晚采收,挑选大小均匀,九成熟,无伤疤,无病虫害,采后即运回青岛农业大学食品科学与工程学院教学实习基地冷库。

2)塑料果品周转筐:规格为450 mm×300 mm×250 mm,购于城阳果品批发市场。

3)保鲜袋:规格为0.2 mm×650 mm×600 mm,购于城阳果品批发市场。

1.2 试验方法

将新采回的莱阳梨放入青岛农业大学食品科学与工程学院教学实习基地冷库过夜。按每20 kg梨果实为一个处理,装入450 mm×300 mm×250 mm的塑料果品周转筐、内衬0.2 mm×650 mm×600 mm的保鲜袋折扣包装,每个处理重复3次,分别放入“微真空贮藏设施”和常压冷库中。“微真空设施”的压力控制在66 661~79 993.2 Pa,温度为3±1℃;常压冷库的温度控制与微真空贮藏相同,相对湿度控制在85%~95%。每15天随机取出6个梨果实进行各项指标测定,结果取其平均值。

1.3 测定指标

1)超氧化物歧化酶(SOD)活性测定:参照曹建康^[15]等方法,以每分钟每克果蔬组织的反应体系对NBT光化还原的抑制为50%为一个SOD活性单位(U)表示。

2)过氧化氢酶(CAT)活性测定:参照曹建康^[15]等方法,每克样品每分钟吸光度变化值减少0.01为1个过氧化氢酶活性单位,单位是0.01ΔOD₂₄₀/(min·g)。

3)过氧化物酶(POD)活性测定:参照曹建康^[15]等方法,以每克果蔬样品每分钟吸光度变化值增加1时为1个POD活性单位,单位是ΔOD₄₇₀/(min·g)。

4)超氧阴离子(O₂⁻·)产生速率测定:参照曹建康^[15]等方法;

5)过氧化氢(H_2O_2)摩尔质量浓度测定:参照曹建康^[15]的方法;

6)脂氧合酶(LOX)活性测定:参照曹建康^[15]的方法,以每克果蔬样品每分钟吸光度变化值减少0.01为1个LOX活性单位,单位是 $0.01\Delta OD_{234}/(\min \cdot g)$

7)丙二醛(MDA)摩尔质量浓度测定:参照曹建康^[15]等的硫代巴比妥酸比色法;

8)细胞膜相对电导率摩尔质量浓度:参照曹建康^[15]的方法;

1.4 数据统计分析

采用 Excel 及 DPS7.05 数据处理软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同贮藏条件对莱阳梨 SOD 活性的影响

SOD 广泛存在于需氧代谢的生物细胞中,在机体内催化超氧阴离子发生歧化反应,是生物体内重要的氧自由基清除剂,能降低活性氧对生物膜系统的伤害,起到抗褐变与衰老的作用,不同贮藏条件下莱阳梨 SOD 活性的变化见图 1。

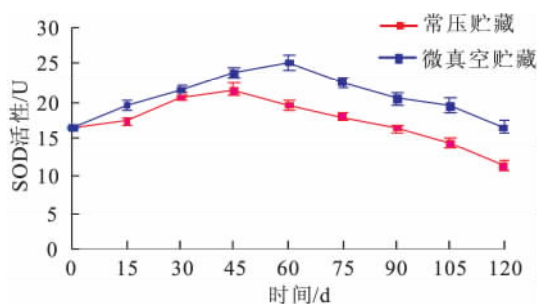


图 1 不同贮藏条件对莱阳梨 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effects on the SOD activity of Laiyang pear under different storage conditions

由图 1 可以看出,两种贮藏条件下莱阳梨 SOD 活性均呈“先升后降”的变化趋势,在整个贮藏过程中,微真空贮藏条件下梨果实 SOD 活性始终高于常压贮藏。至贮藏 60 d,微真空贮藏条件下 SOD 活性达到最大值 25.21 U,然后逐渐下降;而常压贮藏条件下,SOD 活性于贮藏 45 d,上升到最大值 19.52 U,其活性只有微真空条件下最大活性的 77%;至贮藏结束时,微真空贮藏条件下 SOD 活性仍为 16.54 U,而常压贮藏条件下 SOD 活性仅为 11.23 U,是微真空条件下的 68%,两种贮藏条件下 SOD 活性差异显著($P \leq 0.05$)。因此微真空贮藏

条件下能够保持 SOD 较高的活性。

2.2 不同贮藏条件对莱阳梨 CAT 活性的影响

CAT 是一种内源活性氧清除剂,通过分解生物体内的 H_2O_2 ,降低 H_2O_2 所引起的膜伤害,不同贮藏条件下莱阳梨 CAT 活性的变化见图 2。

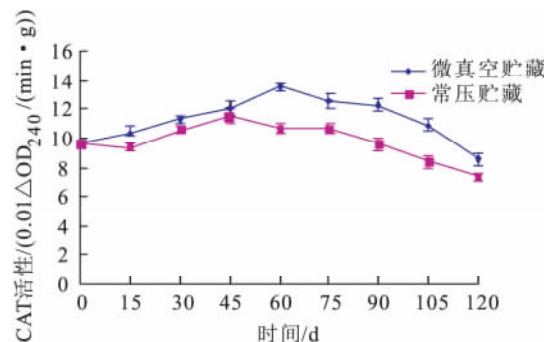


图 2 不同贮藏条件对莱阳梨 CAT 活性的影响

Fig. 2 Effects on CAT activity of Laiyang pear under different storage conditions

由图 2 可以看出,两种贮藏条件下莱阳梨 CAT 活性均呈现“先升后降”的变化趋势,在整个贮藏过程中,微真空贮藏条件下梨果实 CAT 活性始终高于常压贮藏。微真空贮藏下 CAT 活性在贮藏 60 d 达到最大值 13.62 ($0.01\Delta OD_{240}/(\min \cdot g)$),而常压贮藏下 CAT 活性在贮藏 45 d 达到最大值 10.75 ($0.01\Delta OD_{240}/(\min \cdot g)$),其最大值只有微真空贮藏条件下最大值的 79%,二者差异显著($P \leq 0.05$)。表明微真空贮藏条件能够显著提高 CAT 活性,延缓 CAT 活性的下降速度。

2.3 不同贮藏条件下莱阳梨 POD 活性的影响

POD 是植物酶促防御系统的重要保护酶之一,它可与 SOD 和 CAT 等协同作用有效防止自由基的伤害。不同贮藏条件下莱阳梨 POD 活性的变化见图 3。

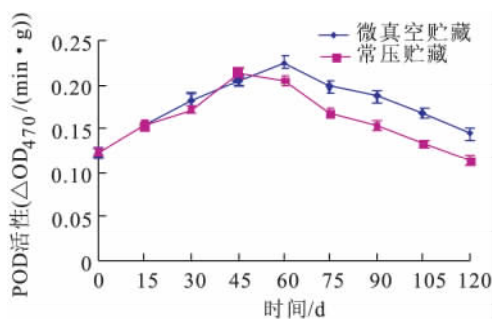


图 3 不同贮藏条件对莱阳梨 POD 活性的影响

Fig. 3 Effects on POD activity of Laiyang pear under different storage conditions

由图 3 可以看出,两种贮藏条件下莱阳梨 POD 活性均呈“先升后降”的变化趋势。常压贮藏条件下的莱阳梨的 POD 活性高峰值是微真空贮藏下的 1.05 倍。随着贮藏时间的延长,常压贮藏条件下 POD 活性显著低于微真空条件($P \leq 0.05$)。也即微真空贮藏能够显著抑制 POD 活性的下降,保持较高的酶活性。

2.4 不同贮藏条件下 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的影响

$O_2^{\cdot-}$ 是细胞在衰老或逆境条件下所大量产生的氧自由基的一种,它的大量产生会加速膜衰老的速度造成膜系统的损伤。不同贮藏条件下莱阳梨 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率见图 4。

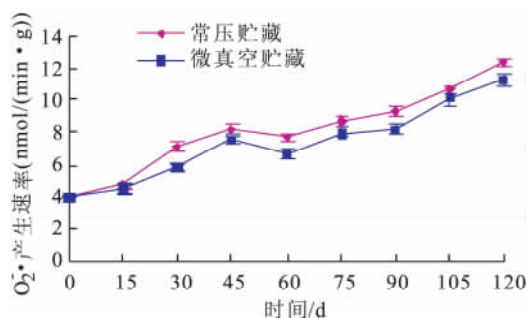


图 4 不同贮藏条件对莱阳梨 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的影响

Fig. 4 Effects on $O_2^{\cdot-}$ production rate of Laiyang pear under different storage conditions

由图 4 可以看出,两种贮藏条件下莱阳梨 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率均呈不断上升的变化趋势。贮藏过程中,微真空贮藏条件下的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率始终低于常压贮藏下的,至贮藏结束时,常压下的 $O_2^{\cdot-}$ 的产生速率是贮藏当天的 3.13 倍,微真空贮藏条件下的 $O_2^{\cdot-}$ 的产生速率则是 2.87 倍,两种贮藏下 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率差异性显著($P \leq 0.05$)。表明微真空贮藏条件能有效地抑制 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率。

2.5 不同贮藏条件下莱阳梨 H_2O_2 摩尔质量浓度的影响

由图 5 可以看出,两种贮藏条件下莱阳梨 H_2O_2 摩尔质量浓度均呈不断上升的趋势,其中微真空贮藏下 H_2O_2 的摩尔质量浓度在整个贮藏期均低于常压贮藏条件,至贮藏结束时,常压条件下 H_2O_2 的摩尔质量浓度是微真空贮藏条件下 H_2O_2 含量的 1.23 倍,微真空贮藏条件对抑制 H_2O_2 摩尔质量浓度的增加效果显著($P \leq 0.05$)。

2.6 不同贮藏条件下细胞膜相对电导率的影响

细胞膜透性的大小可用组织的相对电导率来

衡量,组织相对电导率越高,说明细胞膜透性越大,细胞膜完整性遭到破坏的程度也越大。不同贮藏条件下莱阳梨细胞膜相对电导率的变化见图 6。

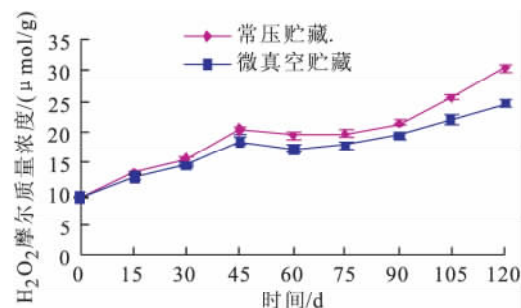


图 5 不同贮藏条件对莱阳梨 H_2O_2 摩尔质量浓度的影响

Fig. 5 Effects on H_2O_2 content of Laiyang pear under different storage conditions

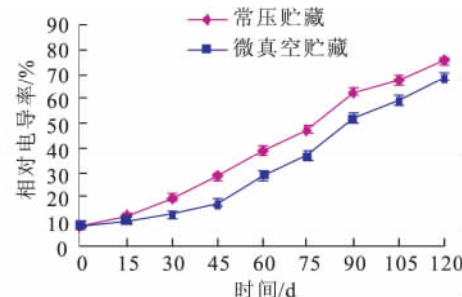


图 6 不同贮藏条件对莱阳梨相对电导率的影响

Fig. 6 Effects on relative conductivity of Laiyang pear under different storage conditions

由图 6 可知,两种贮藏条件下莱阳梨的相对电导率在贮藏初期上升均比较缓慢,但随着贮藏时间的延长,莱阳梨相对电导率上升的速度加快。在整个贮藏过程中,常压贮藏条件下莱阳梨细胞相对电导率始终高于微真空贮藏。至贮藏结束时,常压贮藏条件下的相对电导率为 75%,而微真空贮藏条件下莱阳梨相对电导率为 68%,二者差异显著($P \leq 0.05$)。

2.7 不同贮藏条件下莱阳梨 LOX 活性的影响

LOX 是催化细胞膜脂肪酸发生氧化反应的主要酶,也是启动细胞膜脂过氧化的主要因子。不同贮藏条件下莱阳梨 LOX 活性的变化见图 7。

由图 7 可以看出,随着贮藏时间的延长,两种贮藏条件下莱阳梨 LOX 活性均呈不断上升的变化趋势,常压贮藏条件下莱阳梨 LOX 活性始终高于微真空贮藏条件下 LOX 的活性($P \leq 0.05$),至贮藏结束时,常压贮藏条件下 LOX 活性为 30.75 ($0.01 \Delta OD_{234}/(\min \cdot g)$),而微真空贮藏条件下 LOX 的

活性只有 $25.51(0.01 \Delta OD_{234}/(\min \cdot g))$, 常压贮藏条件下 LOX 活性是微真空贮藏条件下的 121%, 二者差异显著 ($P \leq 0.05$)。表明微真空贮藏条件能抑制 LOX 活性的上升。

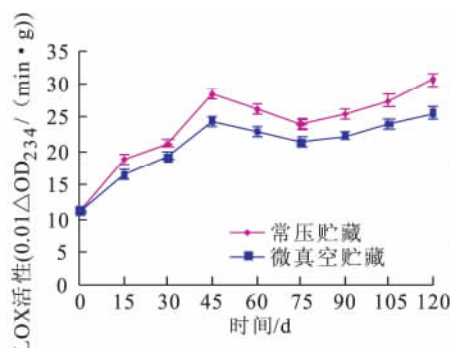


图7 不同贮藏条件对莱阳梨 LOX 活性的影响

Fig. 7 Effects on LOX activity of Laiyang pear under different storage conditions

2.8 不同贮藏条件下莱阳梨丙二醛摩尔质量浓度的影响

丙二醛是植物衰老过程中膜脂过氧化最重要的产物之一, 它的积累会进一步加速果实的衰老过程。不同贮藏条件对莱阳梨丙二醛摩尔质量浓度的影响见图 8。

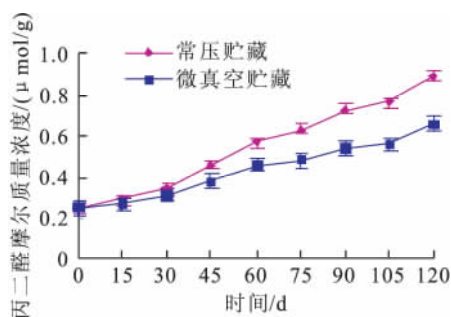


图8 不同贮藏条件对莱阳梨 MDA 摩尔质量浓度的影响

Fig. 8 Effects on MDA content of Laiyang pear under different storage conditions

由图 8 可以看出, 两种贮藏条件下莱阳梨 MDA 摩尔质量浓度均随着贮藏时间的延长而逐渐增加, 在整个贮藏过程中, 常压贮藏条件下 MDA 摩尔质量浓度始终高于微真空贮藏条件。在贮藏的前 45 d, 两种贮藏条件下 MDA 摩尔质量浓度上升缓慢, 二者差异不显著 ($P \geq 0.05$); 45 d 后, 常压贮藏条件下 MDA 摩尔质量浓度上升速度明显高于微真空贮藏, 至贮藏结束时, 常压贮藏条件下 MDA 摩尔质量浓度为 $0.89 \mu\text{mol/g}$, 是微真空贮藏下 MDA 摩尔质量浓度的 1.37 倍, 二者差异显著 ($P \leq 0.05$)。

3 结 语

膜脂过氧化是果实衰老的重要指标, LOX 及其催化的过氧化产物直接参与组织的衰老进程, 细胞膜衰败过程产生的膜脂过氧化产物, 如 MDA 和自由基进一步毒害细胞膜系统, 导致细胞膜组分降解并丧失膜的功能, 促进果实衰老和品质下降。正常状态下的梨果肉组织, 由于 SOD、CAT 和 POD 等抗氧化酶的保护作用, 使组织内活性氧维持在一个较低的水平^[16], 从而维持了生物膜的完整性。研究结果表明, 与常压贮藏相比, 微真空贮藏条件能显著上调莱阳梨果实内源抗氧化酶 (POD、SOD、CAT) 的活性, 从而抑制 $O_2^- \cdot$ 的释放及 H_2O_2 的摩尔质量浓度, 以减少对膜的伤害, 使莱阳梨果实的相对电导率显著降低; 微真空贮藏条件还可显著下调 LOX 的活性, 以降低膜脂过氧化程度, 减少膜脂过氧化产物丙二醛的积累, 从而维持膜的结构与功能, 延缓梨果实的采后衰老进程。

参考文献 (References):

- [1] 张华云, 王善广, 牟其芸. 套袋对莱阳梨果皮结构和 PPO、POD 活性的影响[J]. 园艺学报, 1996, 23(1): 23—26.
ZHANG Hua-yun, WANG Shan-guang, MU Qi-yun. Effect of cap bag on pericarp structure and activity of PPO, POD of Laiyang chi li[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1996, 23(1): 23—26. (in Chinese)
- [2] 栾明川, 宋洪波, 张华云. 湿冷系统对莱阳梨冷藏保鲜的影响[J]. 天津农业科学, 1996, (12): 11—12.
LUAN Ming-chuan, SONG Hong-bo, ZHANG Hua-yun. Effect of humidicoool system on storage of Laiyang li[J]. *Tian-*

- jin **Agricultural Sciences**, 1996(12):11—12. (in Chinese)
- [3] 陈惠萍. 活性氧与果实后熟 [J]. 华南热带农业大学学报, 2000, 6(4): 14—17.
CHEN Hui-ping. Reactive oxygen species and ripening[J]. **Journal of South China University of Tropical Agriculture**, 2000, 6(4):14—17. (in Chinese)
- [4] Ma G, Wang R, Wang C R, et al. Effect of 1-methylcyclopropene on the antioxidant enzymes of broccoli flower buds senescing during storage[J]. **Japan Crop Sci**, 2007, 224: 274—275.
- [5] 丁双阳,胡小松. 鸭梨果皮褐变过程中细胞膜伤害与超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性的关系[J]. 辽宁农业科学,1992(6):33—36.
DING Shuang-yang, HU Xiao-song. Relationship between activity of SOD and CAT and membrane injury of browning processing of Yali[J]. **Liaoning Agricultural Sciences**, 1992(6):33—36. (in Chinese)
- [6] Paliyath G, Droillard M J. The metabolism of membrane deterioration and disassembly during senescence [J]. **Plant Physiology and Biochemistry**, 1992, 30: 789—81.
- [7] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯,1991,27(2): 84—90.
CHEN Shao-yu. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell[J]. **Plant Physiology communications**, 1991, 27(2): 84—90. (in Chinese)
- [8] 关军锋. 采后鸭梨衰老与膜脂过氧化作用[J]. 沈阳农业大学学报,1994,25(4): 418—421.
GUAN Jun-feng. The relationship between senescence and membrane lipid peroxidation of yali pear after harvest[J]. **Journal of Shenyang Agricultural University**, 1994, 25(4): 418—421. (in Chinese)
- [9] 李文香,张 懋,余汉清. 绿芦笋减压保鲜试验研究[J]. 食品与生物技术学报, 2004, 23(06): 38—42.
LI Wen-xiang, ZHANG Min, Yu Han-qing. Study on hypobaric storage of green asparagus [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2004, 23(06): 38—42. (in Chinese)
- [10] Li Wen-Xiang, Zhang Min. Effect of combination hypobaric and atmosphere cold storage on the preservation of honey peach[J]. **International Agrophysics**, 2005, 19: 231—236.
- [11] 李文香,张 懋,余汉清. 不同真空处理对水蜜桃贮藏效果的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(03): 58—62.
LI Wen-xiang, ZHANG Min, YU Han-qing. Effect of different vacuum treatment on the storage of honey peach[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(03): 58—62. (in Chinese)
- [12] Li Wen-Xiang, Zhang Min. Effect of three-stage hypobaric storage on cell wall components, texture and cell structure of green asparagus[J]. **Journal of Food Engineering**, 2006, 77: 112—118.
- [13] Li Wen-Xiang, Zhang Min, Wang Shao-Jin. Effect of three-stage hypobaric storage on membrane lipid peroxidation and activities of defense enzyme in green asparagus[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2008, 41: 2175—2181.
- [14] 王世清. 微真空贮藏设施[P]. 中国专利:ZL 03 1 06989. 4, 2004-09-22.
- [15] 曹建康,姜微波,赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007.
- [16] 吴锦程,陈群,唐朝晖,等. 不同贮藏温度对枇杷果肉木质化及相关酶活性的影响[J]. 武汉植物学研究,2006,24(3): 235—239.
WU Jin-cheng, CHEN Qun, TANG Chao-hui, et al. The effects of different storage temperatures on lignification and related enzymes activities in loquat pulp[J]. **Journal of Wuhan Botanical Research**, 2006, 24(3): 235—239. (in Chinese)