

文章编号:1000-8551(2020)01-0085-09

热处理对低温胁迫下黄瓜活性氧代谢和膜脂组分的影响

许婷婷 张婷婷 姚文思 朱慧文 金 鹏 郑永华*

(南京农业大学食品科技学院,江苏 南京 210095)

摘 要:为探讨热处理减轻黄瓜果实低温冷害的作用机理,本试验研究了47℃热水浸泡5 min处理对黄瓜果实在4℃贮藏期间活性氧代谢和膜脂组分的影响。结果表明,47℃热水5 min处理可显著抑制黄瓜果实冷害的发生,贮藏15 d后果实冷害指数较对照(CK)低20.87%。此外,热处理还可抑制黄瓜相对电导率及丙二醛(MDA)含量的上升,提高黄瓜果实超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(DOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性,抑制超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)及过氧化氢(H_2O_2)的产生,同时降低脂氧合酶的活性,保持较低的饱和脂肪酸含量、较高的不饱和脂肪酸含量和膜脂不饱和度。综上,热处理可维持黄瓜果实活性氧代谢的平衡,抑制膜脂的过氧化作用,从而提高黄瓜果实的抗冷性,减轻果实冷害损伤。

关键词:黄瓜;冷害;热处理;活性氧代谢;膜脂组分

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2020.01.0085

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)种植广泛,果实富含水分和维生素C,但其代谢旺盛,采后常温贮藏过程中极易失水萎蔫。冷藏是黄瓜果实保鲜的有效手段,它可以抑制果实的生理代谢,延长贮藏期,但黄瓜是一种冷敏性蔬菜,当贮藏温度低于7~10℃时就会产生表面凹陷等冷害症状,进而使其商品价值降低,限制了黄瓜果实的冷链流通^[1-2]。目前,有关采用物理方法和化学方法减轻果实冷害的研究已有诸多报道,特别是在化学方法的研究上,多种化学试剂,如茉莉酸甲酯、水杨酸和NO等,均能够提高果实的抗冷性,减轻低温冷害的发生^[3-4],而甜菜碱^[5]和6-苄氨基嘌呤(6-Benzylaminopurine, 6-BA)^[6]处理也都对黄瓜冷害的发生起到了抑制作用,但化学药剂因其潜在的食品安全和环境污染等问题而受到极大限制。热处理技术作为代替化学保鲜剂的采后贮藏方法,具有安全、高效和操作简便等优点,对减轻黄瓜贮藏冷害具有重要的现实意义。

热处理作为一种无毒、无化学残留的物理处理方

法,通过适宜温度(一般在35~60℃)的热水或热空气处理采后果蔬,能起到杀死或抑制病原菌,抑制果蔬后熟衰老相关酶活性并减轻其贮藏冷害的作用^[7]。研究表明,热处理可提高无花果^[8]、柿子^[9]、柑橘^[10]及枇杷^[11]等多种果实的抗冷性,降低果实冷害的发生,但目前热处理减轻果实冷害的机制尚不完全清楚,热处理减轻果实冷害机制的研究主要集中于活性氧的清除机制,如热空气处理能提高黄瓜果实超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)和过氧化氢酶(catalase, CAT)3种保护酶的活性,抑制活性氧的产生,从而减轻果实冷害的发生^[12]。此外,也有研究将低温导致细胞膜系统受到损伤作为出发点,如孔祥佳等^[13]发现热空气处理可显著抑制橄榄果实膜脂不饱和脂肪酸的降解、维持较高的膜脂脂肪酸不饱和程度和较大膜流动性,使膜发生相变的温度较低,从而增强冷藏橄榄果实的抗冷性,降低冷害的发生。而有关热处理提高黄瓜果实抗冷性及其与膜脂组分的关系尚未见报道。本研

收稿日期:2018-04-19 接受日期:2018-07-23

基金项目:“十三五”国家重点研发计划重点专项(2016YFD0400901)

作者简介:许婷婷,女,主要从事农产品加工与贮藏研究。E-mail:2015108083@njnu.edu.cn

* 通讯作者:郑永华,男,教授,主要从事农产品加工与贮藏研究。E-mail:zhengyh@njau.edu.cn

究以黄瓜果实为试验材料,采用 47℃ 热水处理黄瓜 5 min,分析 4℃ 冷藏期间黄瓜活性氧代谢和膜脂组分的变化情况,并探讨热处理提高黄瓜果实抗冷性的机理,以为热处理在黄瓜采后保鲜中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验材料为达到商业成熟度的托尼 102 水果黄瓜,购自南京众彩农副产品物流中心。采购后 1 h 内运回实验室,选择瓜条饱满、顺直、粗细均匀、无机械伤、带 1 cm 果柄的黄瓜。

儿茶酚、甲硫氨酸、 α -萘胺、亚硝酸钾、四氯化钛、核黄素、对氨基苯磺酸,购自国药集团化学试剂有限公司;抗坏血酸、福林酚试剂、碳酸钙、碳酸钠、硫代巴比妥酸、过氧化氢、氢氧化钠、硼酸、三氯乙酸、甲醇、硼砂、磷酸二氢钠,购自南京杰汶达试剂器材有限公司。

1.2 主要仪器与设备

HH-6 恒温水浴锅,上海精密仪器仪表有限公司;FA1104 电子天平,上海精密科学仪器有限公司;GL-20G-H 型冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;MIR-253 三洋恒温培养箱,上海恒逸实业有限公司;UV-1600 型分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;FE30 电导仪,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 处理方法

将黄瓜果实随机分为 2 组,其中一组用 47℃ 热水浸泡 5 min(此为前期预试验结果得出的最佳热处理条件),自然晾干以除去表面水分;另一组不作任何处理(对照组,CK),每组处理 300 个果实,随机分装至塑料盒中,每盒 12 个果实,塑料盒外套 0.01 mm 的聚乙烯袋(30 cm×38 cm,南京新天源纸塑制品有限公司)进行挽口处理以保湿,然后于 4±1℃ 贮藏 15 d。每试验重复 3 次。贮藏期间每隔 3 d 取样,每次取 60 个果实,其中 30 个果实用于评价黄瓜的冷害指数,30 个果实去头去尾去皮剥碎,用液氮速冻于冰箱保存,用于测定黄瓜活性氧代谢相关指标及膜脂组分。

1.4 黄瓜各项指标的测定

1.4.1 冷害指数的测定 参照 Ding 等^[14]的方法。将黄瓜冷害分为 5 级:冷害面积为 0% 定为 0 级;冷害面积在 0%~25% 定为 1 级;冷害面积在 25%~50% 定为 2 级;冷害面积在 50%~75% 定为 3 级;冷害面积在 75%~100% 定为 4 级。黄瓜果实在 4℃ 贮藏 3、6、9、12、15 d 后均于 20℃ 贮藏 2 d,按照公式计算黄瓜的冷

害指数:

$$\text{冷害指数} = \Sigma (\text{冷害级别} \times \text{该级别果数}) / (4 \times \text{总果数}) \times 100\% \quad (1)$$

1.4.2 相对电导率和丙二醛含量的测定 相对电导率:用 6 mm 打孔器取黄瓜果皮小圆片放入刻度试管中,加入 25 mL 蒸馏水,采用电导仪测其电导率,记作 C_0 ,然后静置 30 min,再次测量电导率,记作 C_1 ,最后将装有黄瓜小圆片的刻度试管煮沸 10 min,冷却后测定电导率,记作 C_2 。按照公式计算黄瓜的相对电导率:

$$\text{相对电导率} = (C_2 - C_0) / (C_1 - C_0) \times 100\% \quad (2)$$

丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量:参考曹建康等^[15]的方法,采用硫代巴比妥酸法测定。称取 2 g 果肉,加入 100 g·L⁻¹三氯乙酸溶液作为缓冲液冰浴研磨,12 000 r·min⁻¹离心 20 min 后取 0.2 mL 上清液加入 2 mL 硫代巴比妥酸溶液,混合煮沸后冷却离心(2 000 r·min⁻¹, 20 min),分别测定上清液在 450、532、600 nm 波长处的吸光度值,结果以 nmol·g⁻¹FW 表示。

1.4.3 超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)产生量及过氧化氢(H_2O_2)含量的测定 $O_2^{\cdot-}$ 产生量:参照林捷等^[16]的方法, $O_2^{\cdot-}$ 生成速率根据亚硝酸钠的标准曲线计算。称取 2 g 果肉,加入提取液后冰浴研磨,12 000 r·min⁻¹离心 20 min 后取 1 mL 上清液加入磷酸缓冲液和盐酸羟胺溶液各 1 mL,摇匀后于 25℃ 保温 1 h,取出后进行显色反应,测定显色液在 530 nm 波长处的吸光度值,结果以 nmol·min⁻¹·g⁻¹FW 表示;

H_2O_2 含量:参照王慧等^[17]的方法,称取 2 g 果肉,加入适量丙酮作为提取液冰浴研磨,12 000 r·min⁻¹离心 20 min 后取 1 mL 上清液,加入反应液(0.1 mL 10% 四氯化钛-盐酸溶液和 0.2 mL 浓氨水),将反应得到的沉淀物反复洗涤 3 次,向沉淀中加入 3 mL 2 mol·L⁻¹硫酸进行比色测定,结果以 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FW 表示。

1.4.4 相关酶活性的测定

1.4.4.1 SOD 活性的测定 参照 Dhindsa 等^[18]的方法,采用氮蓝四唑光还原法。称取 2 g 果肉,磷酸溶液作为提取液冰浴研磨,12 000 r·min⁻¹离心 20 min 后取 0.1 mL 上清液,加入反应液(1.7 mL 50 mmol·L⁻¹磷酸钠缓冲液、0.3 mL 130 mmol·L⁻¹蛋氨酸溶液、0.3 mL 750 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氮蓝四唑溶液、0.3 mL 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA- Na_2 溶液和 0.3 mL 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 核黄素)后于 560 nm 波长处测得吸光度值,单位活性以每克样品每分钟抑制氮蓝四唑光化还原的 50% 表示,结果以 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ FW 表示。

1.4.4.2 过氧化物酶(peroxidase, POD)活性的测定

参照 Murr 等^[19]的方法。称取 2 g 果肉,加入提取液冰浴研磨后 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min,取 0.1 mL 上清液加入 $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 愈创木酚和 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ H}_2\text{O}_2$ 溶液,单位活性以每克样品每分钟在 410 nm 波长处的吸光度值变化 0.001 表示,结果以 $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示。

1.4.4.3 APX 活性的测定 参照 Nakano 等^[20]的方法。称取 2 g 果肉,加入 $50\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸钾溶液(pH 值 7.5)作为缓冲液冰浴研磨, $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min 后取 0.1 mL 上清液加入反应缓冲液(含 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA 和 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗坏血酸)与 $0.3\text{ mL } 2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ H}_2\text{O}_2$ 溶液,单位活性以每克样品每分钟在 290 nm 波长处的吸光度值降低 0.001 表示,结果以 $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示。

1.4.4.4 CAT 活性的测定 参照 Cakmak 等^[21]的方法。称取 2 g 果肉,加入 $50\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸钾溶液(pH 值 7.5)作为缓冲液冰浴研磨, $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min 后取 0.2 mL 上清液加入 2.9 mL 体积分数为 0.75%的 H_2O_2 溶液,单位活性以每克样品每分钟在 240 nm 波长处吸光度值变化 0.001 表示,结果以 $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示。

1.4.5 脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)活性的测定 参考曹建康等^[15]的方法。称取 2 g 果肉,加入磷酸缓冲液冰浴研磨, $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min 后取 0.2 mL 上清液,加入已在 30°C 保温 10 min 的反应缓冲液($2.7\text{ mL } 0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸钠缓冲液)及 $100\text{ }\mu\text{L } 0.5\%$ 亚油酸钠溶液中,以反应体系每分钟在 234 nm 波长处吸光度值变化 0.01 为 1 个酶活力单位,结果以 $\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示。

1.4.6 膜脂脂肪酸含量及不饱和度的测定 称取 10 g 黄瓜果肉,液氮研磨,加入 10 mL 氯仿-甲醇(1:2, v/v),振荡 15 min 混匀, $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,保留上清液;沉淀中加入 5 mL 氯仿-甲醇(1:2, v/v)再次萃取离心,合并两次离心所得上清液,然后加入 5 mL $0.76\%\text{ NaCl}$,振荡 15 min 混匀后静置分层。收集下层部分并加入 1 mL 三氟化硼甲醇($\text{CH}_3\text{BF}_3\text{O}$)溶液,煮沸 10 min,冰浴终止反应,氮吹后加入适量正己烷(色谱纯),振荡混匀后收集正己烷相进行气相色谱检测。检测条件为: N_2 流速 $1.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,分流比 10:1,进样口温度 220°C ,FID 检测器温度 22°C 。按照公式计算黄瓜膜脂脂肪酸不饱和度:

不饱和度 = 不饱和脂肪酸相对含量/饱和脂肪酸相对含量 (3)。

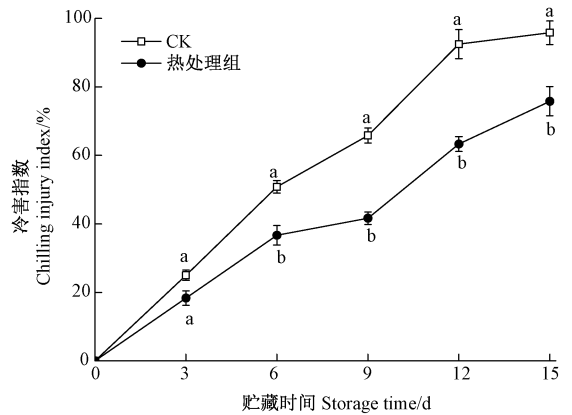
1.5 数据分析

采用 Origin 9.1 和 SPSS 22.0 软件进行数据处理。单因素方差分析采用邓肯氏多重比较方法进行差异显著性分析,差异显著性水平取 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 热处理对黄瓜冷害指数的影响

由图 1 可知,黄瓜果实在 4°C 贮藏 3 d(并于 20°C 贮藏 2 d)后即出现冷害症状,CK 和热处理组黄瓜果实的冷害指数均随着贮藏时间的延长而不断增加。贮藏 6 d(并于 20°C 贮藏 2 d)后热处理组黄瓜果实的冷害指数显著低于 CK,贮藏 12 d 后热处理组的黄瓜冷害指数较 CK 低 32.36%,表明热处理能使黄瓜果实冷害程度降低。



注:不同小写字母表示同一贮藏时间不同处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference among treatments at 0.05 level in the same storage time.

The same as following.

图 1 热处理对黄瓜冷害指数的影响

Fig.1 Effect of heat treatment on chilling injury index of cucumber fruits

2.2 热处理对黄瓜相对电导率及 MDA 含量的影响

电导率反映了黄瓜果实细胞膜损伤程度。由图 2-A 可知,随着贮藏时间的延长,CK 和热处理组黄瓜果实相对电导率逐渐增加,说明低温贮藏时间越长对果实细胞膜系统破坏越严重。其中,热处理组黄瓜果实相对电导率上升较为平缓,贮藏中后期黄瓜相对电导率明显低于 CK,表明热处理可有效减轻黄瓜果实细胞膜的损伤,提高果实抗冷性。MDA 是膜脂过氧化作用产物,其含量高低是衡量膜脂过氧化程度的重要指标。由图 2-B 可知,黄瓜果实 MDA 含量随着贮藏时间

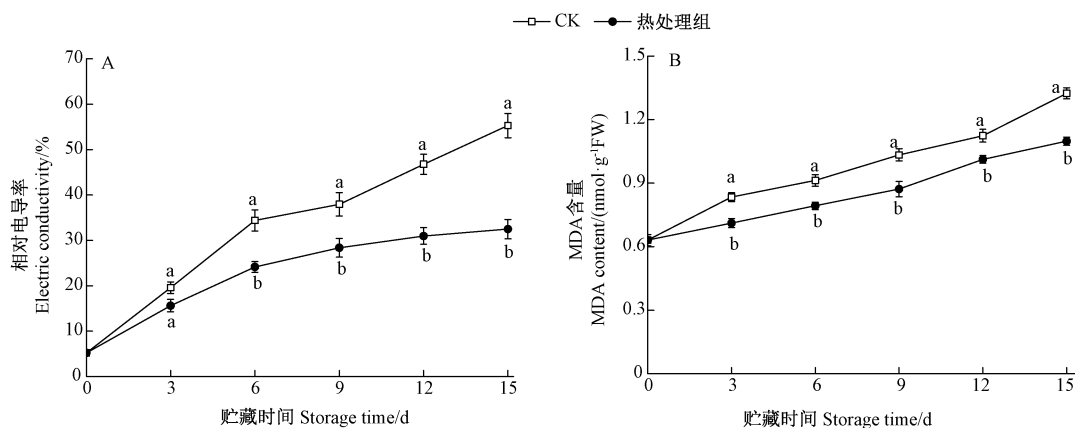


图2 热处理对黄瓜相对电导率及MDA含量的影响

Fig.2 Effect of heat treatment on relative electric conductivity and MDA content in cucumber fruits

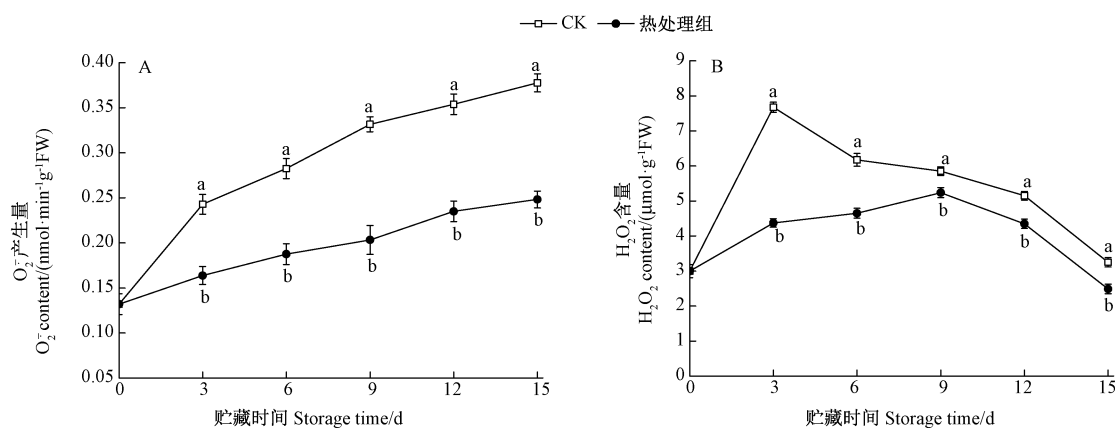


图3 热处理对黄瓜O₂⁻产生量及H₂O₂含量的影响

Fig.3 Effect of heat treatment on the of O₂⁻ and H₂O₂ content in cucumber fruits

的延长而升高,说明膜脂过氧化程度随着贮藏时间延长而加剧。4℃条件下贮藏3 d时,CK黄瓜果实的MDA含量已明显上升,而热处理组MDA含量仍保持在较低水平。且整个贮藏期间热处理组黄瓜果实的MDA含量均显著低于CK,表明热处理能够减缓黄瓜膜脂过氧化程度,减轻其冷害损伤。

2.3 热处理对黄瓜O₂⁻产生量及H₂O₂含量的影响

由图3-A可知,随着贮藏时间的延长,CK和热处理组黄瓜果实O₂⁻产生量不断增加,其中,CK黄瓜果实O₂⁻产生量始终高于热处理组,贮藏15 d时CK的O₂⁻产生量为热处理组的1.52倍,差异达显著水平,表明热处理显著抑制了O₂⁻的产生,从而减轻O₂⁻对黄瓜果实细胞膜的伤害。由图3-B可知,贮藏第3天时,CK黄瓜果实的H₂O₂含量快速升高到峰值,其含量为原始值的2.5倍,而热处理组黄瓜果实的H₂O₂含量在贮藏前中期缓慢上升,至贮藏第9天时达到最高值且显著低于

CK。整个贮藏期间CK黄瓜果实的H₂O₂含量始终高于热处理组,这可能是低温诱导了黄瓜果实中H₂O₂含量的迅速增加,而热处理能够抑制黄瓜果实中H₂O₂的积累,使H₂O₂含量保持在较低水平。

2.4 热处理对黄瓜抗氧化酶活性的影响

随着贮藏时间的延长,黄瓜果实的SOD、POD活性均呈降低趋势(图4-A、B)。CK和热处理组的SOD活性在贮藏前期无显著性差异,可见热处理并没有在贮藏前期显著发挥诱导SOD的作用,贮藏9 d后两组SOD活性呈显著差异,热处理组黄瓜的SOD活性显著高于CK,说明热处理可以延缓黄瓜冷藏后期SOD活性的下降。热处理在黄瓜果实整个贮藏期间延缓了POD活性的降低,贮藏15 d时热处理组黄瓜果实的POD活性为CK的1.06倍,表明热处理可以诱导POD活性的上升,从而减轻黄瓜的冷害。由图4-C可知,热处理组和CK黄瓜果实CAT活性均呈先上升后下降的趋势,且均在贮藏第6天出现活性高峰,这可能是贮

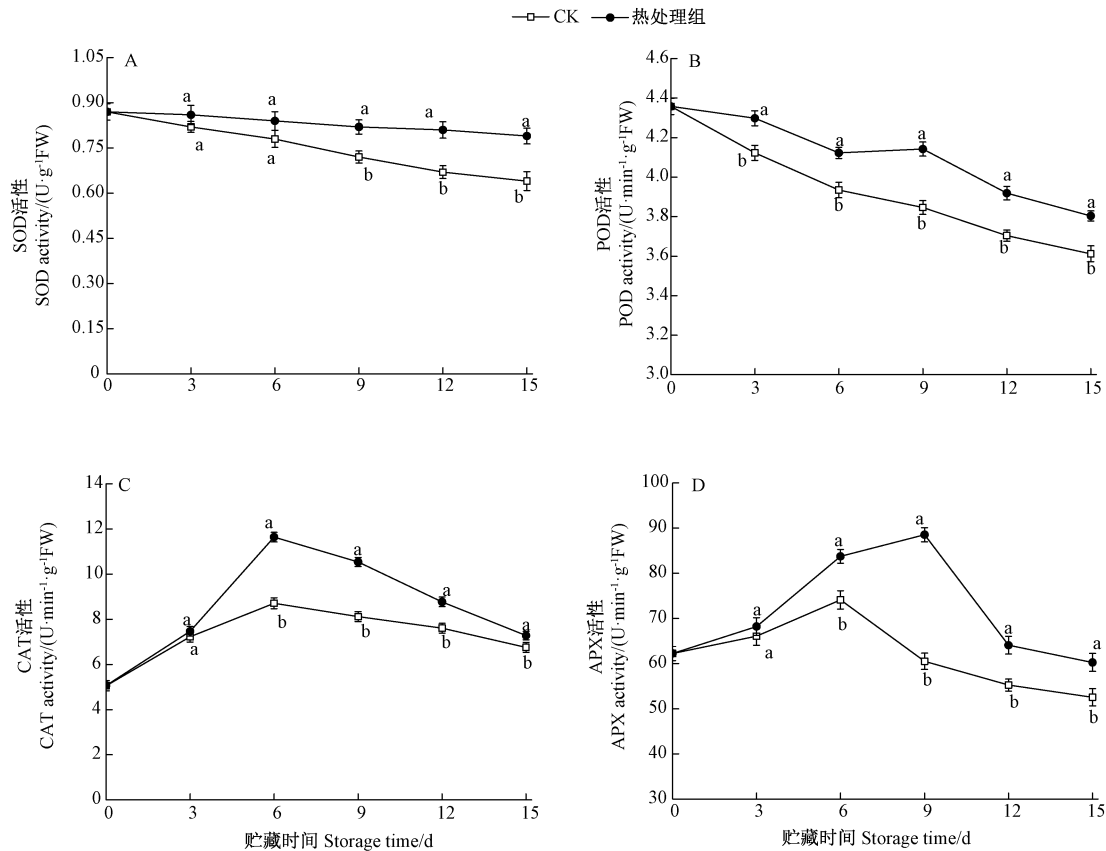


图 4 热处理对黄瓜抗氧化酶活性的影响

Fig.4 Effect of heat treatment on the activity of SOD、POD、CAT and APX in cucumber fruits

藏前期 H_2O_2 诱导的结果;从贮藏第 6 天开始,热处理组黄瓜果实的 CAT 活性显著高于 CK。热处理组和 CK 果实黄瓜 APX 活性也呈先上升后下降的趋势(图 4-D),CK 在贮藏第 6 天达到高峰,而热处理组则在贮藏第 9 天时达到最大活性,贮藏期间热处理组黄瓜 APX 活性均高于 CK,贮藏结束时热处理组黄瓜 APX 活性是 CK 的 1.15 倍。综上表明,热处理可以显著提

高黄瓜 CAT 和 APX 的活性,提高黄瓜果实对活性氧的清除能力,从而减轻黄瓜冷害的发生。

2.5 热处理对黄瓜 LOX 活性的影响

LOX 是催化膜脂上的不饱和脂肪酸发生过氧化作用的酶,低温可诱导果蔬 LOX 活性的上升。由图 5 可知,CK 黄瓜果实在 4℃ 贮藏前中期 LOX 活性不断上升,贮藏第 9、第 15 天时,CK 黄瓜果实的 LOX 活性分别为热处理组的 1.75 倍和 2.25 倍,两者差异均达显著水平。表明热处理可以抑制黄瓜果实 LOX 活性的升高,抑制黄瓜膜脂过氧化程度,从而减轻黄瓜冷害。

2.6 热处理对黄瓜细胞膜脂脂肪酸组分及不饱和度的影响

气相色谱检测结果表明,黄瓜果实细胞膜脂脂肪酸主要由棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)2 种饱和脂肪酸及油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)、亚麻酸(C18:3)3 种不饱和脂肪酸组成。其中,饱和脂肪酸中棕榈酸含量较高,而不饱和脂肪酸主要为亚麻酸和亚油酸。

由图 6-A、B 可知,随着贮藏时间的延长,黄瓜果实中棕榈酸、硬脂酸 2 种饱和脂肪酸的相对含量均逐渐增加,贮藏 15 d 时 CK 和热处理组棕榈酸含量分别

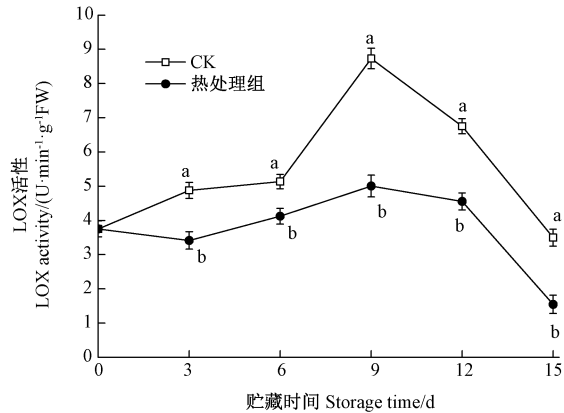


图 5 热处理对黄瓜 LOX 活性的影响

Fig.5 Effect of heat treatment on LOX activity in cucumber fruits

上升了 43.13% 和 28.11%, 硬脂酸含量分别上升了 85.02% 和 63.29%, 热处理组黄瓜果实的 2 种饱和脂肪酸含量均显著低于 CK, 表明热处理可抑制黄瓜果实低温贮藏期间棕榈酸和硬脂酸含量的上升。由图 6-C 可知, 黄瓜果实的油酸相对含量整体较低, 贮藏期间 CK 和热处理组中黄瓜果实油酸相对含量呈上升趋势, 但热处理对黄瓜果实油酸相对含量的变化无显著影响 (贮藏 9、12 d 除外)。由图 6-D、E 可知, 随着贮藏时间的延长, 黄瓜果实中亚油酸、亚麻酸含量整体均呈下降趋势。其中 CK 黄瓜果实的亚油酸相对含量下降较快, 贮藏第 15 天时其亚油酸含量仅有原来的 69.82%,

而热处理组黄瓜果实的亚麻酸相对含量下降趋势平缓, 始终保持在较高水平。贮藏 6 d 后热处理组黄瓜果实的亚麻酸相对含量显著高于 CK, 表明热处理延缓了黄瓜不饱和脂肪酸含量的下降。

不饱和度反映了黄瓜果实细胞膜脂中不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比例。由图 6-F 可知, 随着贮藏时间的延长, 黄瓜果实细胞膜脂不饱和度呈下降趋势。CK 和热处理组黄瓜果实的细胞膜脂不饱和度均在贮藏 9~12 d 期间下降最快, 贮藏第 15 天时, 热处理组的不饱和度为 CK 的 1.7 倍, 表明热处理可以有效抑制黄瓜膜脂不饱和度的下降。

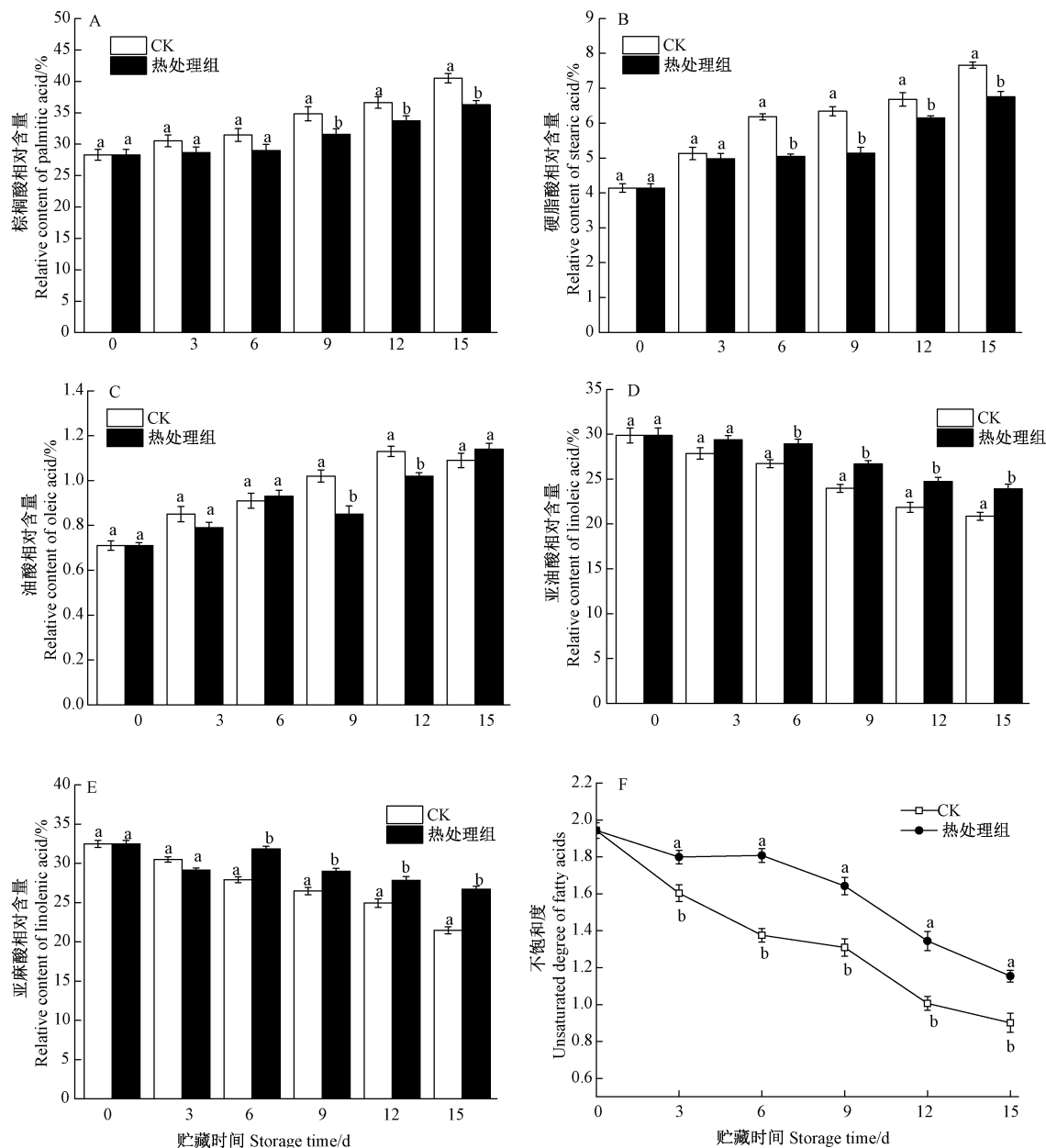


图 6 热处理对黄瓜细胞膜脂组分相对含量及不饱和度的影响

Fig.6 Effect of heat treatment on content of membrane lipid and unsaturated degree of fatty acids in cucumber fruits

3 讨论

低温贮藏是果蔬保鲜最有效的方法,但黄瓜作为冷敏性果菜,不适宜的低温会使黄瓜在采后贮运过程发生冷害而失去商品性。因此,如何控制冷害的发生是黄瓜采后低温流通中迫切需要解决的问题。研究表明,采用适当热处理可提高哈密瓜^[22]和猕猴桃^[23]果实的抗冷性,显著延缓果实冷害的发生,延长贮藏期。本试验结果表明,采用 47℃ 热水浸泡 5 min 能显著抑制黄瓜果实在 4℃ 贮藏期间冷害的发生,保持较低的冷害指数。

目前,有多种冷害机制的假说,但公认低温导致的细胞膜结构损伤是产生冷害的根本原因^[24]。当冷敏性果蔬在不适当的低温下贮藏时,体内活性氧清除系统的活性下降,而活性氧的产生增加,使活性氧在组织内过度积累而产生毒害作用,促进膜脂的过氧化反应,进而导致细胞膜结构的破坏和膜透性的增大、新陈代谢紊乱或异常,最终导致冷害的发生。SOD、POD、CAT 和 APX 是果蔬体内主要的抗氧化酶,在维持活性氧代谢平衡中起到关键作用。保持较高的抗氧化酶活性,可抑制活性氧在组织中的积累,减轻冷害的发生。如采用茉莉酸甲酯结合低温预贮处理可显著提高枇杷果实 SOD 的活性,维持果实中活性氧代谢的平衡,减轻冷害的发生^[25];采用亚精胺和冰温处理也显著提高了青椒果实中 SOD 的活性,提高果实的抗冷性,从而降低果实冷害,延长贮藏期^[26];1% 壳聚糖涂膜处理使砂糖橘在冷藏期间保持了较高的 SOD、POD 和 CAT 活性,降低了膜脂过氧化作用,进而减轻了果实的冷害症状^[27]。本试验中,热处理显著提高了黄瓜果实的 CAT 和 APX 活性,抑制了 SOD、POD 活性下降,使 O_2^- 和 H_2O_2 含量始终维持在较低水平,减轻了黄瓜的冷害损伤。综上表明,热处理可以维持黄瓜活性氧代谢平衡,减少自由基对细胞膜的损害,从而减轻黄瓜冷害损伤。

低温会引起细胞膜的物理相变,构成膜的脂类由液晶态结构变为凝胶态,膜流动性减小,同时膜脂相变引起膜收缩,膜透性增大,从而使细胞膜结构受到破坏导致冷害发生^[28]。果蔬中不饱和脂肪酸的存在有利于维持细胞膜在低温下的稳定性,降低膜的相变温度,保护细胞结构,减轻冷害损伤。LOX 以不饱和脂肪酸为底物,催化亚油酸和亚麻酸等多元不饱和脂肪酸的加氧反应,引发膜脂的过氧化作用,降低不饱和脂肪酸比例从而降低膜脂不饱和度,使膜流动性减小,最终破坏膜结构并促进冷害的发生^[29]。冷害的发生常伴随

着 LOX 活性的升高,如猕猴桃于 0℃ 贮藏 50 d 后其 LOX 活性不断上升,而冷害症状自贮藏 40 d 开始逐渐加重^[30];冷藏期间甜椒 LOX 活性和 MDA 含量不断上升,其冷害程度也不断加深^[31],通过抑制 LOX 活性则可减轻冷害损伤^[32]。报道证实,耐冷的哈密瓜果实中不饱和脂肪酸含量高于不耐冷的果实^[33];冷激处理可有效抑制香蕉果实中不饱和脂肪酸特别是亚油酸和亚麻酸含量的下降,减轻果实冷害的发生^[34];茉莉酸甲酯和水杨酸甲酯处理使鳄梨果实保持了较高的不饱和脂肪酸比例,从而减轻了冷害损伤的发生^[35]。本研究结果表明,热处理可抑制黄瓜果实的 LOX 活性,延缓其油酸、亚麻酸、亚油酸 3 种不饱和脂肪酸含量的下降及棕榈酸、硬脂酸含量的上升,同时降低了果实冷害的发生率,表明热处理可通过抑制 LOX 活性的升高从而抑制不饱和脂肪酸的降解,维持较高的细胞膜脂不饱和度,降低膜的相变温度,保护细胞膜结构,从而减轻黄瓜果实冷害损伤。

4 结论

本研究结果表明,热处理(47℃ 热水浸泡 5 min)能显著减轻黄瓜冷藏期间冷害的发生,同时可提高黄瓜果实抗氧化酶的活性,维持其活性氧代谢平衡,减少活性氧对细胞膜的损害;此外,热处理通过抑制黄瓜果实的 LOX 活性减轻了膜脂的过氧化作用,维持了细胞膜结构的稳定性,从而减轻了果实冷害损伤。冷害是冷敏型果蔬低温贮运的主要制约因素,探索黄瓜抗冷机制具有重要的理论和实践意义,本研究证实了热处理可以维持黄瓜活性氧代谢平衡,更进一步发现热处理可以诱导低温条件下黄瓜不饱和脂肪酸含量升高,使黄瓜保持较高的不饱和脂肪酸比例,创新地从细胞膜结构角度阐述了热处理减轻黄瓜冷害的原因。

参考文献:

- [1] Hakim A, Purvis A C, Mullinix B G. Differences in chilling sensitivity of cucumber varieties depends on storage temperature and the physiological dysfunction evaluated[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 1999, 17(2): 97-104
- [2] Liu Y F, Yang X X, Zhu S J, Wang Y Q. Postharvest application of MeJA and NO reduced chilling injury in cucumber (*Cucumis sativus*) through inhibition of H_2O_2 accumulation[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 119: 77-83
- [3] 黄琦辉, 蔺凯丽, 黄琦, 姜天甲, 郑小林. 丁香酚熏蒸对青茄采后冷害和脯氨酸代谢的影响[J]. *核农学报*, 2018, 32(5): 907-915
- [4] 徐利伟, 岑啸, 李林香, 沈子明, 陈景丹, 陈馨, 陈伟, 杨震峰.

- 外源褪黑素对低温胁迫下桃果实蔗糖代谢的影响[J]. 核农学报, 2017, 31(10): 1963-1971
- [5] Xu L, Chen X N, Zhang H Y, Han T, Wang F. Effects of exogenous glycine betaine on oxidation metabolism in cucumbers during low-temperature storage [J]. Agricultural Science and Technology, 2015, 16(5): 857-861
- [6] Chen B X, Yang H Q. 6-Benzylaminopurine alleviates chilling injury of postharvest cucumber fruit through modulating antioxidant system and energy status [J]. Journal of the Science of Food and Technology, 2013, 93(8): 1915-1921
- [7] 王利斌, 刘升, 冯双庆, 郁志芳. 采后热处理降低果蔬贮藏冷害研究进展[J]. 农产品加工, 2011(4): 38-42
- [8] Shadmani N, Ahmada S H, Saari N, Ding P, Tajidin N E. Chilling injury incidence and antioxidant enzyme activities of *Carica papaya* L. 'Frangi' as influenced by postharvest hot water treatment and storage temperature[J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 99(1): 114-119
- [9] 罗自生, 徐晓玲, 蔡侦侦, 席玛芳. 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
- [10] Bassal M, El-Hamahmy M. Hot water dip and preconditioning treatments to reduce chilling injury and maintain postharvest quality of navel and valencia oranges during cold quarantine[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 60(3): 186-191
- [11] Shao X F, Tu K. Hot air treatment improved the chilling resistance of loquat fruit under cold storage[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2014, 38(2): 694-703
- [12] 郑鄂燕, 代晓霞, 生吉萍, 申琳. 热处理与内源 H_2O_2 对黄瓜抗冷性和抗氧化酶活性的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(22): 314-318
- [13] 孔祥佳, 林河通, 郑俊峰, 林艺芬, 陈艺晖. 热空气处理诱导冷藏橄榄果实抗冷性及其与膜脂代谢的关系[J]. 中国农业科学, 2012, 45(4): 752-760
- [14] Ding C K, Wang C, Gross K C, Smith D L. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit [J]. Planta, 2002, 214(6): 895-901
- [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] 林婕, 王则金, 林震山, 练彬斌, 萧国庆, 祁营利. 冷激处理对甘薯冷害及活性氧代谢的影响[J]. 粮食与饲料业, 2016, 12(9): 12-16
- [17] 王慧, 张艳梅, 王大鹏, 刘达玉, 张正周, 秦文. 热激处理对青椒耐冷性及抗氧化体系的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 312-316
- [18] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. Journal of Experimental Botany, 1981, 32(126): 93-101
- [19] Murr D P, Morris L L. Influence of O_2 and CO_2 on o-diphenol oxidase activity in mushrooms[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1974, 99(2): 155-158
- [20] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant and Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880
- [21] Cakmak I, Strbac D, Marschner H. Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds[J]. Journal of Experimental Botany, 1993, 44(1): 127-132
- [22] 王静, 茅林春, 李学文, 张辉, 张明明, 鞠国栋. 热处理降低哈密瓜果实活性氧代谢减轻冷害[J]. 农业工程学报, 2016, 32(2): 280-286
- [23] 马秋诗, 饶景萍, 李秀芳. 贮前热水处理对‘红阳’猕猴桃果实冷害的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(14): 256-260
- [24] Marangoni A G, Palma T, Stanley D W. Membrane effects in postharvest physiology [J]. Postharvest Biology and Technology, 1996, 7(3): 193-221
- [25] 金鹏, 吕慕雯, 孙萃萃, 郑永华, 孙明. MeJA 与低温预贮对枇杷冷害和活性氧代谢的影响[J]. 园艺学报, 2012, 39(2): 461-468
- [26] Liu D J, Sui G L, He Y Z, Qin W, Liu J. Effect of ice-temperature and spermidine on chilling sensitivity of pepper [J]. Food and Nutrition Sciences, 2013, 4(2): 156-162
- [27] 耿红兰, 刘亚平, 王晓闻, 郝利平. 壳聚糖涂膜处理对冷藏砂糖橘冷害和品质影响[J]. 核农学报, 2016, 30(10): 1952-1958
- [28] Lyons J M. Chilling injury in plants [J]. Annual Review of Plant Physiology, 1973, 24(1): 445-446
- [29] 曹嵩晓, 张冲, 汤雨凡, 齐红岩. 植物脂氧合酶蛋白特性及其在果实成熟衰老和逆境胁迫中的作用[J]. 植物生理学报, 2014, 50(8): 1096-1108
- [30] 梁春强, 吕荭, 饶景萍. 草酸处理对采后‘华优’猕猴桃果实耐冷性的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(19): 230-235
- [31] Wang Q, Ding T, Zuo J H, Gao L P, Fan L L. Amelioration of postharvest chilling injury in sweet pepper by glycine betaine [J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 112: 114-120
- [32] Malekzadeh P, Khosravi-Nejad F, Hatamnia A A, Sheikhabari M R. Impact of postharvest exogenous γ -aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2017, 23(4): 827-836
- [33] 张婷, 车凤斌, 潘俨, 刘河疆, 饶景萍. 哈密瓜果实耐冷性与细胞膜脂肪酸的关系[J]. 园艺学报, 2015, 42(12): 2421-2428
- [34] 邱佳容, 张良清, 陈纯, 林震山, 王则金. 冷激处理对香蕉果实脂氧合酶和膜脂脂肪酸的影响及其与抗冷性的关系[J]. 现代食品科技, 2015, 31(11): 212-218
- [35] Glowacz M, Bill M, Tinyane P P, Sivakumar D. Maintaining postharvest quality of cold stored 'Hass' avocados by altering the fatty acids content and composition with the use of natural volatile compounds-methyljasmonate and methyl salicylate [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(15): 5186-5193

Effect of Heat Treatment on Reactive Oxygen Species Metabolism and Membrane Lipid Constituents of Cucumber Fruit Under Low Temperature Stress

XU Tingting ZHANG Tingting YAO Wensi ZHU Huiwen JIN Peng ZHENG Yonghua *

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095)

Abstract: In order to investigate the mechanism of heat treatment in reduce chilling injury of cucumber fruit under low temperature, the effects of immersion treatment with 47°C hot water for 5 minutes on the active oxygen metabolism and membrane lipid constituents of cucumber fruit during storage at 4°C were studied. The results showed that treatment with 47°C hot water for 5 min significantly inhibited the occurrence of chilling injury, and the chilling injury index of treated cucumber was 20.87% lower than that of the control after 15 days of storage. The treatment also inhibited the increase of relative electrical conductivity and MDA content, and increased the activities of superoxide dismutase, peroxidase, catalase and ascorbate peroxidase, and inhibited the production of superoxide anion and hydrogen peroxide. Moreover, the treatment inhibited lipoxygenase activity, maintained lower content of saturated fatty acid and kept higher content of unsaturated fatty acid and membrane lipid unsaturation. These results suggested that heat treatment could keep the balance of active oxygen metabolism and inhibit the peroxidation of membrane lipids in cucumber fruit, thereby improve the cold resistance of cucumber fruit and reduce the incidence of chilling injury.

Keywords: cucumber, chilling injury, heat treatment, reactive oxygen species metabolism, membrane lipid constituents