

解偶联剂 DNP 处理对采后龙眼果实果皮褐变 和活性氧代谢的影响

陈 莲^{1,2}, 陈梦茵¹, 林河通¹, 陈艺晖¹, 林艺芬¹, 陈绍军¹

(¹福建农林大学食品科学学院, 福州 350002; ²漳州职业技术学院食品与生物工程系, 福建漳州 363000)

摘要: 【目的】研究呼吸解偶联剂 2, 4-二硝基苯酚 (DNP) 对采后龙眼果实果皮褐变和活性氧代谢的影响。【方法】采后龙眼果实用 0.1 mmol·L⁻¹ 的 DNP 浸泡 0.5 h, 以蒸馏水处理的果实为对照, 果实晾干后用 0.015 mm 厚的聚乙烯薄膜袋密封包装, 在 (28±1) °C 下贮藏。定期测定贮藏期间果皮褐变指数、三磷酸腺苷 (ATP) 和丙二醛 (MDA) 含量、超氧自由基 (O₂⁻) 产生速率、活性氧清除酶 [超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)] 活性、内源抗氧化物质 [还原型谷胱甘肽 (GSH) 和还原型抗坏血酸 (AsA)] 含量的变化。【结果】与对照果实相比, 经 DNP 处理的龙眼果实果皮褐变指数增大, 果皮 ATP 含量降低。同时, DNP 处理促进龙眼果皮产生 O₂⁻ 的速率增加, 且在整个贮藏期间维持较高水平。APX 活性下降, SOD 和 CAT 活性上升, 内源抗氧化物质 GSH 和 AsA 含量明显下降, MDA 含量增加。【结论】DNP 促进龙眼果皮褐变可能是由于 DNP 降低活性氧清除能力、导致活性氧积累而破坏细胞膜系统, 同时 DNP 导致的能量亏缺使细胞膜系统的损伤修复能力下降, 其结果破坏细胞膜结构, 使酚酶 (多酚氧化酶, PPO) 与酚类物质接触、酚类物质氧化而形成褐变聚合体的结果。

关键词: 龙眼; 果皮; 褐变; 活性氧代谢; 能量亏缺; ATP; DNP

Effects of Uncouple Agent DNP Treatment on Browning and Active Oxygen Metabolism in Pericarp of Harvested Longan Fruit

CHEN Lian^{1,2}, CHEN Meng-yin¹, LIN He-tong¹, CHEN Yi-hui¹, LIN Yi-fen¹, CHEN Shao-jun¹

(¹College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002; ²Department of Food Science and Biological Engineering, Zhangzhou Institute of Technology, Zhangzhou 363000, Fujian)

Abstract: 【Objective】Effects of DNP (2,4-dinitrophenol), the uncouple agent for respiratory, on browning and active oxygen metabolism in pericarp of harvested longan fruits were investigated in this paper. 【Method】The harvested longan fruits were dipped in 0.1 mmol·L⁻¹ DNP for 0.5 h, while, the control fruits were dipped in distilled water. The fruits were dried prior to packaging and stored at (28±1)°C. During fruit storage, pericarp browning index, contents of adenosine triphosphate (ATP) and malondialdehyde (MDA), O₂⁻ production rate, activities of active oxygen scavenging enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX), contents of endogenous antioxidant substances such as ascorbic acid (AsA) and glutathione (GSH) were determined. 【Result】As compared with the control fruits, there were higher browning index and lower ATP content in pericarp of DNP-treated longan fruits. The longan fruits treated with DNP resulted in increased rate of O₂⁻ production and kept higher rate of O₂⁻ production during the whole storage, reduced the activity of APX and increased the activities of SOD and CAT, significantly decreased the amounts of AsA and GSH, and increased MDA content. 【Conclusion】From the results it can be concluded that DNP-induced browning of longan pericarp may be due to the decrease of active-oxygen-scavenging capacity and the accumulation of active oxygen caused by DNP treatment, which may destroy cell membrane system. And limited energy availability caused by DNP may lead to weaken repair capacity of the damage of cell membrane system. All these factors may disrupt cellular membrane structure, allowing phenolase (polyphenol oxidase, PPO) to react with phenolic substrates and oxidation phenolics to form brown polymers.

Key words: longan (*Dimocarpus longan* Lour.); pericarp, browning; active oxygen metabolism; limited energy availability; ATP; DNP

收稿日期: 2009-01-12; 接受日期: 2009-03-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30200192、30671464、30972070)、国家科技支撑计划专项 (2007BAD07B06)、福建省自然科学基金项目 (F0310023、B0510019、2008J0044)、福建省重点科技项目 (2006S0003)、国家大学生创新性实验计划资助项目 (010844)

作者简介: 陈 莲 (1978—), 女, 福建漳州人, 讲师, 博士研究生, 研究方向为果蔬采后生物学与保鲜技术。通信作者林河通 (1967—), 男, 福建安溪人, 教授, 博士, 研究方向为果蔬采后生物学与保鲜技术。E-mail: hetonglin@163.com

0 引言

【研究意义】龙眼 (*Dimocarpus longan* Lour.)，属无患子科，其果实采收期集中，短时间内大量上市，再加上果实成熟于夏季高温季节，代谢旺盛，常温下 2~3 d 就发生褐变，严重影响其商品品质及其食用品质，传统的保鲜技术已不能满足国内外对龙眼鲜果日益增长的需求^[1-2]。因此，有必要深入研究采后龙眼果皮褐变的生理机制，为控制龙眼果皮褐变、延长果实保鲜期提供理论依据。【前人研究进展】前人研究认为，龙眼贮藏期间褐变与果皮的构造、果皮失水程度、能荷状况及病菌侵染等关系密切^[3-7]。林河通等^[8]研究发现，采后龙眼果皮失水导致果皮活性氧清除酶 (SOD、CAT、APX、GR) 活性和内源抗氧化物质 (AsA、GSH) 含量下降， O_2 积累，MDA 含量增加，细胞膜透性增大，褐变程度增大，认为龙眼果实采后失水导致果皮褐变与活性氧代谢平衡的破坏密切相关；Su 等^[7]研究认为，活性氧代谢的失衡导致活性氧积累，诱导膜脂过氧化作用加强及膜结构的破坏，从而导致细胞膜系统的区室化功能丧失，最终使 PPO、POD 与酚类物质 (含类黄酮) 接触、酚类物质氧化而发生褐变^[8]。【本研究切入点】纯氧贮藏可以延缓采后龙眼和荔枝果实的果皮褐变，而且果皮中的三磷酸腺苷 (ATP)、二磷酸腺苷 (ADP)、一磷酸腺苷 (AMP) 含量和能荷水平较高，推测纯氧贮藏能较好地保持细胞膜结构的完整性，防止细胞区室化结构的破坏，阻止酶与酚类底物接触从而抑制果皮褐变，保持果实较高的品质，延长果实保鲜期^[7,9]。Rawlyer 等^[10]认为，ATP 可能在植物性产品褐变过程中的细胞膜系统损伤修复中起重要作用。线粒体是果实采后呼吸代谢、能量和活性氧产生的主要场所^[11]，而活性氧导致的细胞膜系统结构破坏是引起果实褐变的一个重要原因^[8]。2, 4-二硝基苯酚 (DNP) 是氧化磷酸化的解偶联剂，能阻止 ATP 的形成^[12]。目前，有关 DNP 处理与龙眼果皮褐变、活性氧代谢和 ATP 产生的关系未见报道。【拟解决的关键问题】本文以‘福眼’龙眼果实为材料，研究 DNP 处理对采后龙眼果皮褐变、活性氧代谢和 ATP 产生的影响，旨在阐明能量和活性氧代谢在龙眼果皮褐变发生中的作用。

1 材料与amp;方法

1.1 试验处理

以约九成熟的福建省主栽名优龙眼品种‘福眼’

(*Dimocarpus longan* Lour. cv. Fuyan) 果实为材料，供试材料采自福建省南安市龙眼科技示范场，于 2007 年 8 月 30 日上午采取，采收当天运至福建农林大学食品贮藏保鲜实验室，选择大小均匀、色泽一致、无病虫害、无损伤的健康果实进行以下处理。(1) DNP 处理：果实用浓度为 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DNP 浸泡 0.5 h；(2) 对照：果实用蒸馏水浸泡 0.5 h。果实晾干后用 0.015 mm 厚的聚乙烯薄膜袋密封包装，每袋装果 50 个，在 $(28\pm 1)^\circ\text{C}$ 下贮藏。定期取样观察和测定果皮褐变指数和生理生化指标。

1.2 指标测定

1.2.1 果皮褐变评价 参照林河通等^[13]的方法。每次随机取 50 个果实，按照果皮内表面褐变面积大小把果皮褐变程度分为 6 级：1 级为褐变面积为 0；2 级为褐变面积 $< 1/4$ ；3 级为 $1/4 \leq$ 褐变面积 $< 1/2$ ；4 级为 $1/2 \leq$ 褐变面积 $< 3/4$ ；5 级为 $3/4 \leq$ 褐变面积 < 1 ；6 级为全部褐变。果皮褐变指数 = \sum (褐变级数 \times 该级果数) / 总果数。

1.2.2 ATP 含量测定 参照 Ozogul 等^[14]的方法提取 ATP。从 30 个果实中取果皮 5 g，加入 25 ml $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高氯酸，冰浴研磨 1 min， $3\ 000\times g$ 冷冻 (4°C) 离心 10 min。取上清液 10 ml，用 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 KOH 调节 pH 到 6.5，在冰浴下放置 30 min，使高氯酸盐沉淀，之后经 $10\ 000\times g$ 冷冻 (4°C) 离心 5 min，取上清液用于 ATP 含量测定。ATP 含量测定按照 Su 等^[7]的方法，结果以 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示。

1.2.3 超氧自由基 (O_2^-) 产生速率和丙二醛 (MDA) 含量测定 从 10 个果实中取果皮组织 2 g，按照林河通等^[8]的方法测定 O_2^- 产生速率，结果以 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$ 表示。按照林河通等^[8]的方法测定 MDA 含量，结果以 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示。

1.2.4 酶活性测定 从 10 个果实中取果皮组织 2 g，加入 10 ml $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 7.0) 的磷酸缓冲液 (内含 0.1% PVP) 和适量石英砂，冰浴研磨， $15\ 000\times g$ 冷冻 (4°C) 离心 20 min，取上清液用于活性氧清除酶活性测定。按照林河通等^[8]的方法测定超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性，SOD 活性单位以抑制氮蓝四唑光化还原的 50% 为 1 个 SOD 酶活性单位、以每分钟 OD_{240} 下降 0.01 的酶用量为 1 个 CAT 酶活性单位、以每分钟消耗 $1 \mu\text{mol AsA}$ 的酶用量为 1 个 APX 酶活性单位，结果以 $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}$ 表示。

1.2.5 还原型抗坏血酸 (AsA) 和还原型谷胱甘肽

(GSH)含量测定 从 10 个果实中取果皮组织 2 g, 按照林河通等^[8]的方法测定 AsA 和 GSH 含量, 结果以 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示。

1.2.6 蛋白质含量测定 按照林河通等^[8]考马斯亮蓝 G250 染色法测定, 以牛血清蛋白作标准曲线。

以上各指标测定均重复 3 次, 采用 DPS 数据分析软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 DNP 处理对龙眼果实果皮褐变指数和 ATP 含量的影响

由图 1-A 可知, 龙眼果实的果皮褐变指数随贮藏时间的延长而增加。其中经 DNP 处理的果皮褐变指数呈快速增加趋势; 而对照果实的果皮褐变指数变化在采后不同贮藏时期变化不同, 0~2 d 内缓慢上升, 之

后较快上升。统计分析表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮褐变指数显著高于对照 ($P<0.05$)。上述结果表明, DNP 处理能显著促进采后龙眼果实的果皮褐变。

由图 1-B 可知, 龙眼果皮 ATP 含量随贮藏时间的延长而下降。其中经 DNP 处理的龙眼果皮 ATP 含量呈快速下降趋势。对照果实的果皮 ATP 含量在采后不同贮藏时期的下降速率不同, 0~2 d 内缓慢下降, 2~3 d 内快速下降, 之后较快下降。统计分析表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮 ATP 含量极显著低于对照 ($P<0.01$)。上述结果表明, DNP 处理能显著减少采后龙眼果实的果皮 ATP 水平。

2.2 DNP 处理对龙眼果实果皮 O_2^- 产生速率和 MDA 含量的影响

由图 2-A 可知, DNP 处理促进龙眼果皮 O_2^- 产生速率增加, 且在整个贮藏期间保持较高水平。对照果

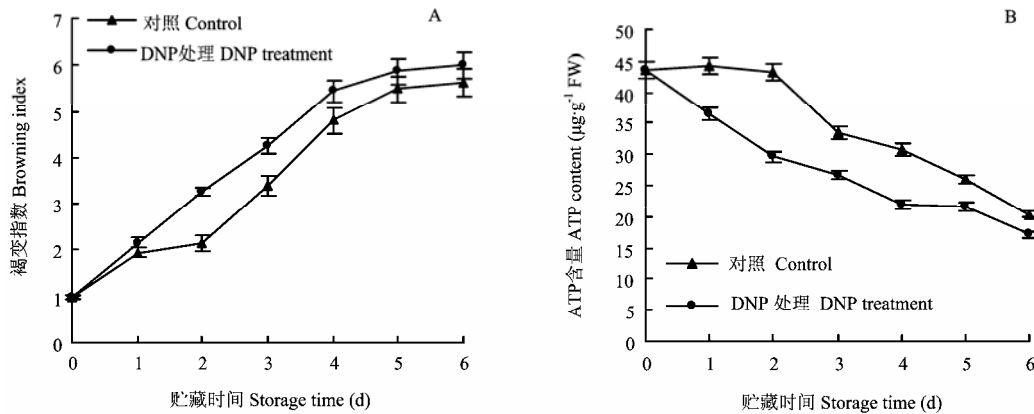


图 1 DNP 处理对采后龙眼果实果皮褐变指数和 ATP 含量的影响

Fig. 1 Effects of DNP treatment on browning index and ATP content in pericarp of harvested longan fruit

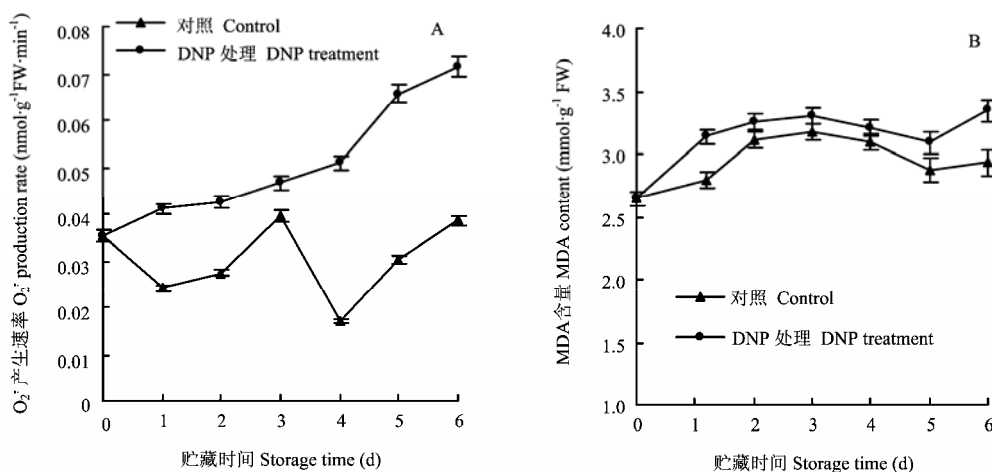


图 2 DNP 处理对采后龙眼果实果皮 O_2^- 产生速率和 MDA 含量的影响

Fig. 2 Effects of DNP treatment on O_2^- production rate and MDA content in pericarp of harvested longan fruit

实的果皮 O_2^- 产生速率在 0~1 d 内较快下降, 1~3 d 内缓慢上升, 3~4 d 内快速下降, 之后又快速上升。统计分析表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮 O_2^- 产生速率极显著高于对照 ($P<0.01$)。上述结果表明, DNP 处理能显著地增加采后龙眼果皮的 O_2^- 产生速率和积累活性氧。

MDA 是膜脂过氧化作用生成的初级产物, 其含量的多少反映膜脂过氧化作用的程度^[15]。图 2-B 表明, 龙眼果皮 MDA 含量随贮藏时间的延长而增加。其中经 DNP 处理的果皮 MDA 含量在 0~1 d 内快速增加, 1~3 d 内缓慢增加, 3~5 d 内缓慢下降, 5~6 d 内快速增加; 而对照果实的果皮 MDA 含量变化在 0~1 d 内缓慢增加, 1~2 d 内快速增加, 2~3 d 内缓慢增加, 之后缓慢下降。统计分析表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮 MDA 含量显著高于对照 ($P<0.05$)。上述结果表明, DNP 处理能显著促进采后龙眼果皮的膜脂过氧化作用。

2.3 DNP 处理对龙眼果实果皮活性氧清除酶活性的影响

SOD、APX 和 CAT 是植物体内重要的活性氧清除酶, 与活性氧清除密切相关^[15]。图 3-A 表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮 SOD 活性在贮藏 0~2 d 内快速下降, 2~3 d 内快速上升, 随后快速下降。而对照果实的果皮 SOD 活性在贮藏 0~1 d 内快速下降, 1~3 d 内缓慢下降, 3~5 d 内较快上升, 5~6 d 内快速下降。图 3-B 表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮 CAT 活性在贮藏 0~2 d 内快速上升, 2~4 d 内快速下降, 4~6 d 内缓慢下降。对照果实的果皮 CAT 活性在贮藏 0~4 d 内缓慢上升, 4~5 d 内快速上升, 5~6 d 内快速下降。

进一步比较发现, 经 DNP 处理的龙眼果皮 SOD 活性在贮藏 0~4 d 内 (图 3-A)、CAT 活性在贮藏 0~3 d 内 (图 3-B) 比对照龙眼果实高, 这与 DNP 处理促进龙眼果皮 O_2^- 产生速率增加 (图 2-A), 诱导活性氧清除酶 SOD 和 CAT 活性的增强而有利于进一步清除活性氧有关。

由图 3-C 可知, 经 DNP 处理的龙眼果皮 APX 活性在贮藏 0~1 d 内快速下降, 1~3 d 内缓慢下降, 3~4 d 内快速上升, 4~5 d 内快速下降。而对照果实的果皮 APX 酶活性在贮藏 0~1 d 内快速下降, 1~2 d 内快速上升, 2~3 d 内缓慢下降, 3~6 d 内较快下降。统计分析表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮 APX 活性显著低于对照 ($P<0.05$)。

2.4 DNP 处理对龙眼果实果皮 AsA 和 GSH 含量的影响

AsA 和 GSH 是植物体内重要的内源抗氧化物质, 与活性氧清除密切相关^[15]。由图 4-A 可知, 龙眼果皮 AsA 含量总体呈下降趋势。其中对照果实的果皮 AsA 含量在贮藏 0~4 d 内缓慢上升, 4~6 d 内较快下降, 第 4 天、6 天分别为采收当天的 1.09 倍和 0.88 倍。经 DNP 处理的 AsA 含量在贮藏 0~1 d 内较快下降, 1~3 d 内缓慢回升, 3~4 d 内快速下降, 4~5 d 内缓慢回升, 5~6 d 内缓慢下降, 第 4 天为采收当天的 0.78 倍。统计分析表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮 AsA 含量显著低于对照 ($P<0.05$)。上述结果表明, DNP 处理能显著减少采后龙眼果皮抗氧化物质 AsA 的含量。

由图 4-B 表明, 龙眼果皮 GSH 含量随贮藏时间的延长而下降。对照果实的果皮 GSH 含量随贮藏时间的延长缓慢下降。而 DNP 处理 GSH 含量在采后不同贮藏时期下降幅度不同, 0~1 d 内快速下降, 1~3 d 内

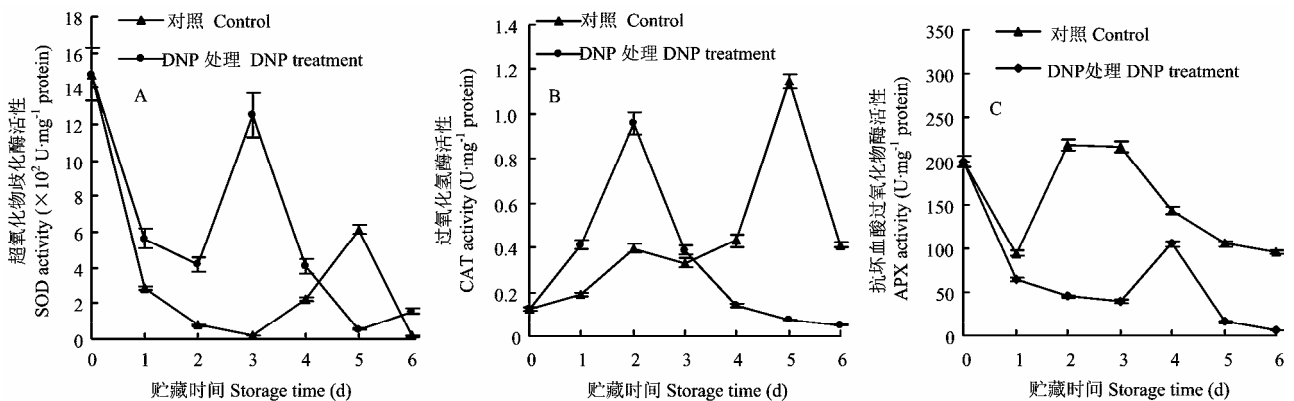


图 3 DNP 处理对采后龙眼果实果皮 SOD、CAT 和 APX 活性的影响

Fig. 3 Effects of DNP treatment on the activities of SOD, CAT and APX in pericarp of harvested longan fruit

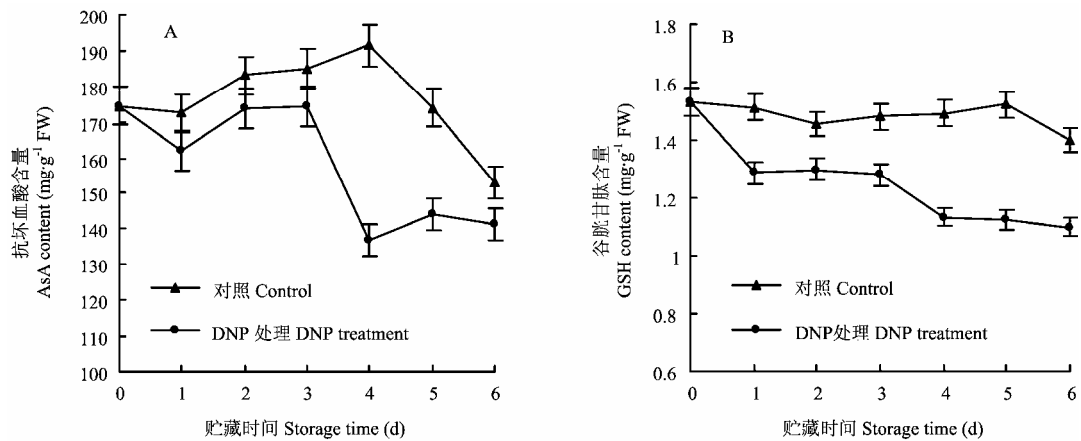


图 4 DNP 处理对采后龙眼果实果皮 AsA 和 GSH 含量的影响

Fig. 4 Effects of DNP treatment on the contents of AsA and GSH in pericarp of harvested longan fruit

缓慢下降, 3~4 d 内快速下降, 4~6 d 内缓慢下降。统计分析表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮 GSH 含量显著低于对照 ($P < 0.05$)。上述结果表明, DNP 处理能显著减少采后龙眼果皮抗氧化物质 GSH 的含量。

3 讨论

3.1 活性氧代谢在龙眼果实采后果皮褐变中的作用

自从 Fridovich 等^[16]1969 年提出活性氧自由基伤害学说以来, 越来越多的研究证明, 果实褐变与活性氧代谢密切相关^[7,17]。正常情况下, 在活性氧清除酶的作用下, 活性氧的产生与清除处于动态平衡, 一旦这种平衡被打破, 生物膜中的不饱和脂肪酸在自由基诱发下发生过氧化反应, 产生过氧化产物 MDA 及其类似物^[18]; 而膜脂过氧化作用的加强及膜结构的破坏, 最终会导致膜的区室化功能丧失, 使酚酶与酚类物质接触而发生酶促褐变^[19-20]。Pintó 等^[17]研究认为, 氧化伤害是梨果实发生褐变的原因之一。外源活性氧诱导物质百草枯可促进苹果果实膜脂过氧化作用加强^[21]; 而外源抗氧化剂如倍酸丙酯或 GSH 处理可减少荔枝、香蕉果皮过氧化物的积累, 减缓膜脂过氧化作用和细胞膜透性的增加, 在一定程度上延缓果皮褐变的发生, 表明果皮褐变与过氧化作用和膜损伤有关^[3,22]。林河通等^[8]的研究认为, 采后龙眼果实的果皮褐变可能是由于果皮组织的抗氧化能力下降而积累活性氧, 加剧了细胞的膜脂过氧化作用而破坏细胞膜结构, 使定位在质体和其它细胞器的酚酶(多酚氧化酶, PPO)与定位在液泡的酚类物质接触而发生酶促褐变。

线粒体是采后果实呼吸代谢、能量和活性氧产生

的主要场所^[11]。解偶联剂 DNP 能使线粒体中的电子传递正常进行, 但不发生偶联作用, 从而不产生 ATP^[23]。果实由于正常的能量需求得不到满足, 要求线粒体加速运转, 产生满足正常需求的能量物质 ATP, 导致呼吸代谢电子传递途径中的电子漏增加, 这是造成超氧自由基 (O_2^-) 产生速率上升和细胞内活性氧积累的主要原因。 O_2^- 不能透过细胞膜且在植物细胞体内半衰期很短, 易自我歧化或在 SOD 酶作用下生成 H_2O_2 或生成更活跃的 $\cdot OH$, 这些活性氧可作为信号因子穿越细胞膜、扩散到细胞内^[11], 适度的 O_2^- 产生速率增加和累积可作为一种信号因子刺激抗氧化酶活性和诱导抗氧呼吸^[24]。彭丽桃等^[25]研究发现, DNP 处理可增加新鲜马蹄切片总呼吸速率; 而呼吸速率的上升可致呼吸链电子漏产生更多的活性氧(包括 H_2O_2 、 O_2^- 、 $\cdot OH$ 和 1O_2 等)^[26], 活性氧代谢平衡被打破, 活性氧自由基攻击细胞膜, 启动膜脂过氧化, 膜脂过氧化产物 MDA 含量明显增加, 细胞膜结构被破坏, 细胞膜透性增大^[18]。本试验结果表明, 与对照果实相比, DNP 处理的龙眼果皮细胞内的 ATP 含量下降(图 1-B), 活性氧清除酶 APX 活性(图 3-C)和内源抗氧化物质 AsA、GSH 含量下降(图 4-A, 图 4-B), O_2^- 产生速率增加(图 2-A), 膜脂过氧化产物 MDA 含量明显增加(图 2-B)。因此认为, DNP 处理导致的活性氧代谢失调与能量物质 ATP 的亏缺有关; 而活性氧的积累对细胞膜结构的破坏会引起细胞区室化功能的丧失, 使酚酶(PPO)与酚类物质接触, 其结果发生酚类物质的酶促氧化和黑褐色高聚物的形成而引起果皮褐变(资料待发表)。

3.2 龙眼果实果皮褐变发生与能量水平的关系

果实褐变过程中细胞膜系统的伤害可能与细胞内能量亏缺有关。前人的研究结果表明, 细胞膜系统的伤害可能与细胞内能量亏缺有关, 其中 ATP 在脂类的合成和细胞膜的修复中起重要作用^[27]。Rawlyer 等^[10,28]研究发现, 无氧胁迫处理的马铃薯块茎的 ATP 合成和膜降解之间存在直接关系, 当 ATP 的合成速率低于一定阈值时, 膜脂水解, 表现为其水解产物自由脂肪酸、N-乙酰磷脂酰乙醇胺的含量明显增加。由于脂类是细胞膜的主要组分, 细胞膜脂组分的变化可能会改变膜的生物物理和生物化学特性, 导致细胞膜系统区室化功能的丧失和细胞膜透性的增加^[29-30]。Su 等^[7]研究认为, 经纯氧处理的龙眼果实的果皮细胞内 ATP 含量和能荷水平较高, 能较好地维持细胞膜结构的完整性, 从而延缓龙眼果皮褐变的发生; 而外源 ATP 处理可以降低细胞膜透性, 减少荔枝果皮褐变指数^[31]。正常情况下, 电子传递和磷酸化是紧密结合的, 伴随电子从底物到氧的传递, ADP 被磷酸化形成 ATP^[23]。DNP

等化合物能使线粒体中的电子传递正常进行, 但不发生偶联, 从而不产生 ATP^[23]。杨根平等^[32]研究发现, DNP 能减少大豆下胚轴细胞内 ATP 的产生和增加细胞膜透性。因此认为, 细胞内 ATP 含量和能荷水平的高低影响细胞膜结构的完整性^[7,9,28], 而细胞膜结构的完整性对维持酚类物质和 PPO 在细胞中的区室化分布, 避免正常果实褐变的发生起着重要作用^[3]。本试验结果表明, 经 DNP 处理的龙眼果皮细胞内的能量物质 ATP 含量快速下降 (图 1-B) 而果皮褐变指数快速上升 (图 1-A)。相关分析表明, 龙眼果皮褐变指数 (y) (图 1-A) 与 ATP 含量 (x) (图 1-B) 呈极显著负相关 ($y = -0.2065x + 9.8133$, $r = 0.9867$, $P < 0.01$)。因此认为, 龙眼果皮褐变的发生可能与 ATP 的亏缺有关。

有关 ATP 亏缺与膜系统区室化功能丧失而导致的龙眼果皮褐变机理有待进一步研究。作者将经 DNP 处理促进能量亏缺和活性氧代谢失调而导致的龙眼果皮褐变的可能机理概括如图 5。

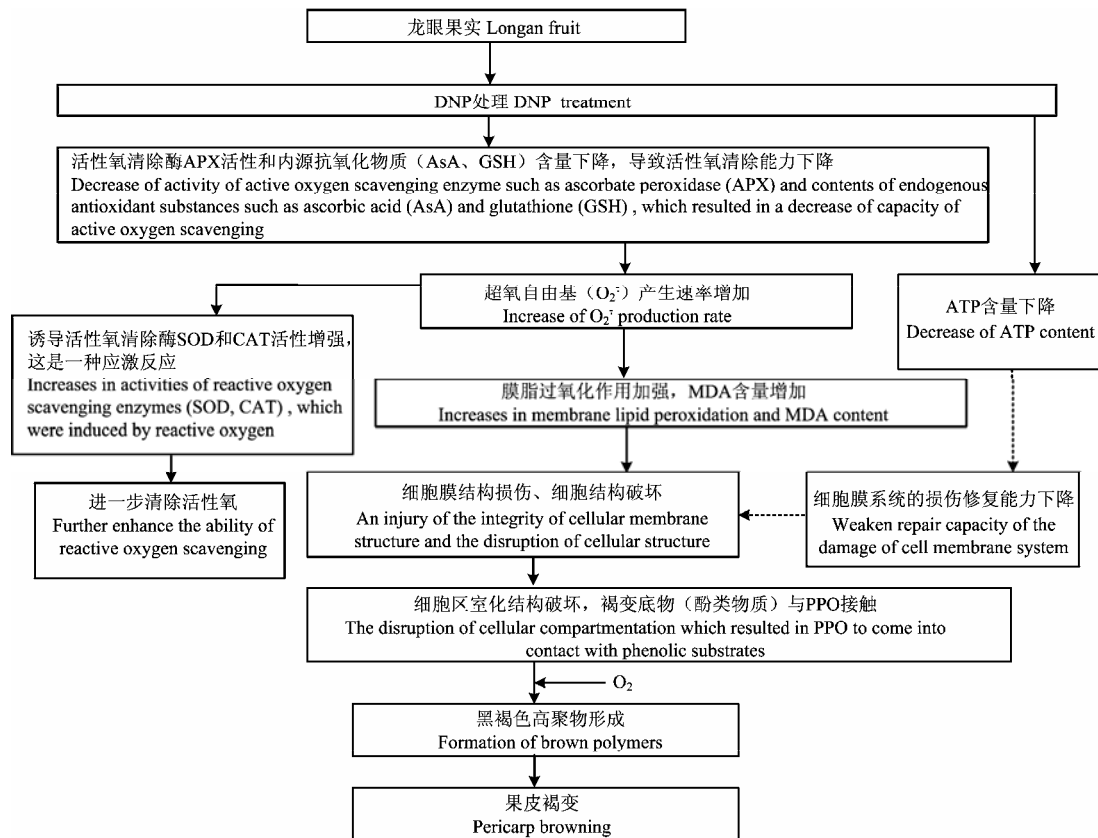


图 5 DNP 处理引起龙眼果实果皮褐变的可能机理

Fig. 5 The probable mechanism of pericarp browning of longan fruit caused by DNP treatment

4 结论

DNP 促进龙眼果皮褐变可能是由于 DNP 降低活性氧清除能力, 导致活性氧积累而破坏细胞膜系统, 同时 DNP 导致的能量亏缺 (ATP 含量减少) 使细胞膜系统的损伤修复能力下降, 破坏细胞膜结构, 使酚酶 (多酚氧化酶, PPO) 与酚类物质接触、酚类物质氧化而形成褐变聚合物。

References

- [1] Lin H T, Chen S J, Chen J Q, Hong Q Z. Current situation and advances in postharvest storage and transportation technology of longan fruit. *Acta Horticulturae*, 2001, 558: 343-351.
- [2] Jiang Y M, Zhang Z Q, Joyce D C, Ketsa S. Postharvest biology and handling of longan fruit (*Dimocarpus longan* Lour.). *Postharvest Biology and Technology*, 2002, 26(3): 241-252.
- [3] 林河通, 席珣芳, 陈绍军. 果实贮藏期间的酶促褐变. 福州大学学报(自然科学版), 2002, 30: 696-703.
Lin H T, Xi Y F, Chen S J. A review of enzymatic browning in fruit during storage. *Fuzhou University (Natural Science Edition)*, 2002, 30: 696-703. (in Chinese)
- [4] 林河通, 席珣芳, 陈绍军, 陈锦权, 洪启征. 龙眼采后生理和病理及贮藏技术研究进展. 农业工程学报, 2002, 18(1): 185-190.
Lin H T, Xi Y F, Chen S J, Chen J Q, Hong Q Z. Research advances of postharvest physiology, postharvest pathology and storage and transport technologies for Longan fruit. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2002, 18(1): 185-190. (in Chinese)
- [5] Jiang Y M, Li Y B. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chemistry*, 2001, 73: 139-143.
- [6] Lin H T, Chen S J, Hong Q Z. A study of the shelf-life of cold-stored longan fruit. *Acta Horticulturae*, 2001, 558: 353-357.
- [7] Su X G, Jiang Y M, Duan X W, Liu H, Li Y B, Lin W B, Zheng Y H. Effects of pure oxygen on the rate of skin browning and energy status in longan fruit. *Food Technology and Biotechnology*, 2005, 43 (4): 359-365.
- [8] 林河通, 席珣芳, 陈绍军. 龙眼果实采后失水果皮褐变与活性氧及酚类代谢的关系. 植物生理与分子生物学报, 2005, 31(3): 287-297.
Lin H T, Xi Y F, Chen S J. The relationship between the desiccation-induced browning and the metabolism of active oxygen and phenolics in pericarp of postharvest longan fruit. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(3): 287-297. (in Chinese)
- [9] Duan X W, Jiang Y M, Su X G, Liu H, Li Y B, Zhang Z Q, Zheng Y H, Jiang W B. Role of pure oxygen treatment in browning of litchi fruit after harvest. *Plant Science*, 2004, 167 (3): 665-668.
- [10] Rawlyer A, Arpagaus S, Braendle R. Impact of oxygen stress and energy availability on membrane stability of plant cells. *Annals of Botany*, 2002, 90(4): 499-507.
- [11] Bhattacharjee S. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science*, 2005, 89(7): 1113-1121.
- [12] Wedding R T, Black M K. Response of oxidation and coupled phosphorylation in plant mitochondria to 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant Physiology*, 1962, 37: 364-370.
- [13] 林河通, 陈绍军, 席珣芳, 郭素枝. 龙眼果皮微结构的扫描电镜观察及其与果实耐贮性的关系. 农业工程学报, 2002, 18(3): 95-99.
Lin H T, Chen S J, Xi Y F, Guo S Z. Observation on pericarp ultrastructure by scanning electron microscope and its relation to keeping quality of longan fruit. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2002, 18 (3): 95-99. (in Chinese)
- [14] Ozogul F A, Taylor K D, Qunantick P C, Ozogul Y. A rapid HPLC determination of ATP-related compounds and its application to herring stored under modified atmosphere. *International Journal of Food Science and Technology*, 2000, 35: 549-554.
- [15] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Breusegem F V. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(10): 490-498.
- [16] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase. an enzymic function for erythrocyte (hemocypre). *The Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244: 6049-6055.
- [17] Pintó E, Lenthalic I, Vendrell M, Larrigaudière. Role of fermentative and antioxidant metabolisms in the induction of core browning in controlled-atmosphere stored pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2001, 81: 364-370.
- [18] 李合生. 现代植物生理学. 北京: 高等教育出版社, 2002: 415-420.
Li H S. *Modern Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 2002: 415-420. (in Chinese)
- [19] Jiang Y M, Duan X W, Joyce D, Zhang Z Q, Li J R. Advances in understanding of enzymatic browning in harvested Litchi fruit. *Food Chemistry*, 2004, 88: 443-446.
- [20] Saquet A A, Streif J, Bangerth F. Energy metabolism and membrane lipid alterations in relation to brown heart development in 'Conference' pears during delayed controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, 30: 123-132.
- [21] 关军锋, 李艾君, 束怀瑞, 王玉贞. 百草枯对采后苹果生理变化的影响. 河北农业科学, 2000, 4 (1): 65-68.
Guan J F, Li A J, Shu H R, Wang Y Z. The effects of paraquat on

- physiological changes in postharvest apple fruits. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2000, 4 (1): 65-68. (in Chinese)
- [22] 林植芳, 李双顺, 陈芳, 林桂珠, 刘淑娟, 李月标, 陈绵达. 几种抗氧化剂对荔枝果实生理特性的影响. *中国果树*, 1988, (2): 12-15.
Lin Z F, Li S S, Chen F, Lin G Z, Liu S X, Li Y B, Chen M D. Effect of anti-oxidant on physiology in postharvest litchi fruit. *China Fruits*, 1988, (2): 12-15. (in Chinese)
- [23] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学. 第3版. 下册. 北京: 高等教育出版社, 2002: 137-145.
Wang J Y, Zhu S G, Xu C F. *Biochemistry. (Third Edition. Volume B)*. Beijing: Higher Education Press, 2002: 137-145. (in Chinese)
- [24] Klaus A, Heribert H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, 55: 373-399.
- [25] 彭丽桃, 蒋跃明, 彭长连, 柯德森, 徐志防. 马蹄切片呼吸代谢特性研究. *热带亚热带植物学报*, 2004, 12(1): 69-73.
Peng L T, Jiang Y M, Peng C L, Ke D S, Xu Z F. Characteristics of respiration metabolism in fresh-sliced Chinese water chestnut. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2004, 12(1): 69-73. (in Chinese)
- [26] 刘树森, 焦选茂, 王孝铭. 线粒体呼吸链电子漏与质子漏的相互作用: 电子漏引起质子漏. *中国科学: B辑*, 1995, 25: 596-603.
Liu S S, Jiao X M, Wang X M. Mitochondrial respiratory chain leakage and the proton leakage of electronic interaction: electronic leakage caused by proton leakage. *Science in China (Series B: Chemistry)*, 1995, 25: 596-603. (in Chinese)
- [27] Harwood J L. Fatty acid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1988, 39: 101-138.
- [28] Rawlyer A, Pavelic D, Gianinazzi C, Oberson J, Braendle R. Membrane lipid integrity relies on a threshold of ATP production rate in potato cell cultures submitted to anoxia. *Plant Physiology*, 1999, 120: 293-300.
- [29] Marangoni A G, Palma T, Stanley D W. Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology*, 1996, 7: 193-217.
- [30] Saquet A A, Streif J, Bangerth F. Changes in ATP, ADP and pyridine nucleotide levels related to the incidence of physiological disorders in "Conference" pears and "Jonagold" apples during controlled atmosphere storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2000, 75: 243-249.
- [31] Song L L, Jiang Y M, Gao H Y, Li C T, Liu H, You Y L, Sun J. Effects of adenosine triphosphate on browning and quality of harvested litchi fruit. *American Journal of Food Technology*, 2006, 1(2): 173-178.
- [32] 杨根平, 荆家海. 渗透胁迫和呼吸抑制剂对细胞透性的影响. *华北农学报*, 1993, 8(2): 50-53.
Yang G P, Jing J H. The effects of osmotic stress and respiration inhibitors on cell permeability in soybean hypocotyls. *Journal of North China Agriculture*, 1993, 8(2): 50-53. (in Chinese)

(责任编辑 曲来娥)