

外源乙烯和茉莉酸甲酯 对冷藏鲜切南瓜伤害生理效应的影响

穆师洋, 胡文忠*, 姜爱丽, 闫媛媛, 李晓博, 白雪
(大连民族学院生命科学院, 辽宁大连 116600)

摘要:为研究外源信号分子乙烯和茉莉酸甲酯(MeJA)对鲜切果蔬伤害生理效应的影响,以鲜切南瓜为实验材料,利用外源乙烯和茉莉酸甲酯处理鲜切南瓜,并于4℃下贮藏,分析测定贮藏期间色差值、失重率、丙二醛(MDA)含量、脂氧合酶(LOX)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的变化。结果表明:与对照相比,外源乙烯和MeJA处理可显著保持鲜切南瓜的颜色和重量($p < 0.05$)。两种处理方式均可抑制贮藏后期MDA含量的增加,抑制膜脂过氧化反应的发生。MeJA和外源乙烯对LOX活性的影响作用一致,外源乙烯对LOX抑制作用更显著($p < 0.05$)。两种外源信号分子启动了鲜切南瓜的防御反应,降低了机械伤害对组织造成的伤害。

关键词:鲜切南瓜,外源乙烯,茉莉酸甲酯,生理生化

Effect of exogenous ethylene and methyle jasmonate (MeJA) on the wounding physiological reaction of cold storage fresh-cut pumpkin

MU Shi-yang, HU Wen-zhong*, JIANG Ai-li, YAN Yuan-yuan, LI Xiao-bo, BAI Xue

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: To investigate the effect of two exogenous signal molecules—ethylene and methyle jasmonate (MeJA) on the wounding physiological reaction of fresh-cut fruit and vegetables, fresh-cut pumpkin was treated with exogenous ethylene and MeJA respectively, then stored at 4℃. Value of chromatism, weight loss, malondialdehyde (MDA) content, lipoxygenase (LOX) activity and phenylalanine ammonialyase (PAL) activity were analyzed. The results indicated that ethylene and MeJA could significantly maintain the color and weight of fresh-cut pumpkin when compared with the controlled ($p < 0.05$). The two treatment methods could inhibit the increase of MDA content during the later stage of storage and the occurrence of membrane lipid peroxidation. The effect of exogenous ethylene and MeJA on LOX were similar, but the effect of ethylene was more obvious ($p < 0.05$). The defense reaction of fresh-cut pumpkin was started and the damage of mechanical injury on plant tissue was reduced by two signal molecules.

Key words: fresh-cut pumpkin; exogenous ethylene; jasmonic acid methyl ester; physiology and biochemistry

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)15-0312-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.15.057

南瓜(*Cucurbita moschata*)为双子叶植物门葫芦科南瓜属植物,是人们生活中常见的蔬菜之一,富含淀粉、多糖、多种氨基酸、活性蛋白类胡萝卜素及多种微量元素,营养丰富,而且具有很高的药用价值。研究表明,南瓜具有防治糖尿病、降低血糖等多种功效^[1]。鲜切南瓜是指新鲜南瓜经去皮、切割或切分、修整、包装等加工过程而制成的即食果蔬加工制品。新鲜果蔬经切割后会产生一系列的生理生化变化^[2],如伤乙烯的产生、呼吸速率升高、组织结构解体、酶促褐变、自身对逆境的抵抗力降低等,这些变化会对

果蔬的新鲜度与营养品质产生很大影响^[3]。乙烯作为一种植物自然代谢产生两个碳原子的气体分子,对植物的代谢调节可贯穿其整个生活周期,是调节园艺产品成熟与衰老最重要的植物激素。切割伤害诱发产生的乙烯在生物学系统中充当着信号分子的角色,具有遇激而增,传信应变的性质与作用^[4]。茉莉酸甲酯(Methyle Jasmonate, MeJA)是茉莉酸类物质的主要代表,作为内源信号分子参与植物的抗逆反应,在植物防御反应中发挥重要作用,得到科研工作者的重视^[5-6]。近年来,随着鲜切果蔬的迅速发展,

收稿日期: 2014-10-21

作者简介: 穆师洋(1992-),女,在读硕士,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: mushiyang1992@163.com。

* 通讯作者: 胡文忠(1959-),男,博士,教授,研究方向:食品加工与质量安全控制, E-mail: hwz@dlnu.edu.cn。

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD38B05); 国家自然科学基金项目(31340038, 31172009, 31471923)。

对鲜切果蔬的种类和需求量的日益增加,对果蔬经鲜切加工后所造成的伤害刺激信号转导及其适应性响应的研究已引起采后果蔬生物学界科研人员的广泛关注。因此,本实验以南瓜为试材,研究了乙烯和 MeJA 两种信号分子处理鲜切南瓜后对其颜色、失重率、丙二醛(MDA)含量、脂氧合酶(LOX)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性等生理生化指标的影响,以期为乙烯和 MeJA 作为抗机械胁迫信号分子在鲜切果蔬中的应用研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

挑选无病虫害、无机械伤,大小和成熟度基本一致的南瓜作为实验材料,于 4 ℃ 冷库中保存备用;乙烯利、茉莉酸甲酯、95% 乙醇、三氯乙酸、硫代巴比妥酸、氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、聚乙烯吡咯烷酮、亚油酸钠、硼酸、硼砂、L-苯丙氨酸等试剂,均为分析纯。

CR400/CR410 型色差计 日本 Konica Minolta 公司;T-25 型匀浆机 德国 IKA 公司;BR4i 型台式高速冷冻离心机 法国 Jouan 公司;Lambda-25 型紫外可见分光光度计 美国 Perkin Elmer 公司;UV-2600 型紫外可见分光光度计 尤尼柯上海仪器有限公司;PL203 精密电子天平 梅特勒-托利多仪器上海有限公司;DK-S26 型电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司;SIM-F140 型制冰机 日本三洋公司;PCU-CS200ME 型组合式气调冷库 大连冷冻机股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 原料预处理 实验前,将南瓜用锋利的不锈钢刀削皮去瓤,并切成 1 cm × 1 cm × 1 cm 的立方体。将切好的南瓜块分别于 10 μmol/L 乙烯利溶液(10% 乙醇水溶液配制)与 10 μmol/L 茉莉酸甲酯溶液(10% 乙醇水溶液配制)中浸泡 10 min,以 10% 乙醇水溶液中浸泡相同时间的样品作对照,沥干后各处理的样品分别装在经过紫外线杀菌的 PE 塑料浅盘中,用 25~30 μm 聚乙烯保鲜膜密封包装。包装好的样品置于 4 ℃ 的冷库中贮藏,分别于 0、3、6、9、12、18、24 h 测定各生理生化指标,重复 3 次。

1.2.2 颜色的测定 将样品从贮藏环境中取出后在室温下平衡,然后在 20 ℃ 条件下进行颜色的测定^[4]。用 CR400/CR410 型色差计进行 L*、a*、b* 值的测定,参照 Holcroft^[7] 的方法,对鲜切南瓜的亮度 L* 值、颜色饱和度 C* 值比较分析。计算公式如下:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

1.2.3 失重率的测定 采用称重法测定,重复三次。按下式计算:

$$\text{失重率}(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100$$

式中: m_1 - 贮藏前质量, g; m_2 - 贮藏后质量, g。

1.2.4 MDA 含量的测定 参照曹建康^[8] 的方法并作修改。取 5 g 样品,加入 10.0 mL TCA 溶液(浓度为 100 g/L),研磨匀浆后,于 4 ℃、10000 × g 条件下离心 20 min,收集上清液,低温保存备用。取 2.0 mL 上

清液,加入 2.0 mL 0.67% TBA 溶液,混合均匀后在沸水浴中煮沸 20 min,取出冷却后再离心一次。分别测定上清液在 450、532、600 nm 处的吸光值,对照空白管中加入 2.0 mL 100 g/L TCA 溶液代替提取液。重复 3 次。按下式计算 MDA 含量:

$$\text{MDA 含量}(\mu\text{mol/g FW}) = \frac{c \times V}{V_s \times m \times 1000}$$

$$c = (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) \times 6.45 - 0.56 \times \text{OD}_{450}$$

式中: c - 反应混合液中丙二醛浓度, μmol/L; V - 样品提取液总体积, mL; V_s - 测定时所取样品提取液体积, mL; m - 样品质量, g。

1.2.5 LOX 活性的测定 提取液的制备:取 5 g 样品,加 0.1 g 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)于 20 mL 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH6.4)中,冰浴研磨匀浆,4 ℃ 冷冻离心机 12000 × g 离心 30 min,取上清液为酶的粗提液,低温保存备用。活性测定:参照 Cherif^[9] 的方法,2.7 mL 0.2 mol/L 的磷酸缓冲液(pH6.4)中加入 0.2 mL 0.5% 的亚油酸钠溶液(含 0.25% 的吐温 20),然后加入 0.1 mL 酶液,5 s 后扫描混合物在 234 nm 下吸光度的变化,酶活性以 $\Delta\text{OD}_{234}/\text{min} \cdot \text{g FW}$ 表示,重复 3 次。

1.2.6 PAL 活性的测定 提取液的制备:取 5 g 样品,加入 5.0 mL pH8.8 的硼酸-硼砂缓冲液,冰浴条件下匀浆后于 4 ℃、10000 × g 条件下离心 40 min。PAL 活性测定:参照曹建康^[8] 的方法。取 1 支试管,加入 3 mL 50 mmol/L、pH8.8 硼酸-硼砂缓冲液和 0.5 mL 20 mmol/L L-苯丙氨酸溶液,37 ℃ 条件下预保温 10 min,再加入 0.1 mL 酶液,混合后,迅速测定该混合液在 290 nm 处的吸光值作为反应的初始值(OD_0)。然后将反应管置于 37 ℃ 保温 60 min。保温结束时,再立即测定一次反应混合液在 290 nm 处的吸光值作为反应的终止值(OD_1)。均以蒸馏水作为参比空白进行调零。根据保温前后样品管溶液吸光值的变化,计算 PAL 活性,以 $\Delta\text{OD}_{290}/\text{h} \cdot \text{g FW}$ 表示,重复 3 次。

1.3 数据处理与分析

实验数据结果用 Excel2010 软件进行统计分析,并计算标准误差,采用 SPSS 软件进行差异显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜颜色的影响

颜色是消费者在购买产品时的主要参考指标,而南瓜经切割处理后由于失去水分、色素被氧化等因素,会有发白的现象。颜色测定中 L* 值表示样品的亮度,是贮藏过程中由于酶促褐变或色素聚集而引起表层变暗的指标性参数之一,L* 值越低,表示褐变越严重。C* 值代表颜色的饱和度,反映色彩接近自然色光的程度,越接近自然色,纯度越高,反之越低^[4]。由图 1 可知,随贮藏时间的延长,南瓜的亮度和饱和度均下降,与樊会芬^[10] 的研究趋势一致,空白组的 L* 值在贮藏初期高于其他两种处理,但随后的时间里乙烯利和 MeJA 处理减缓了 L* 值的下降速度。6 h 后乙烯利和 MeJA 处理组的 C* 值均高于对

对照组。可见,乙烯利和 MeJA 能有效减缓南瓜机械伤害造成的颜色损失。

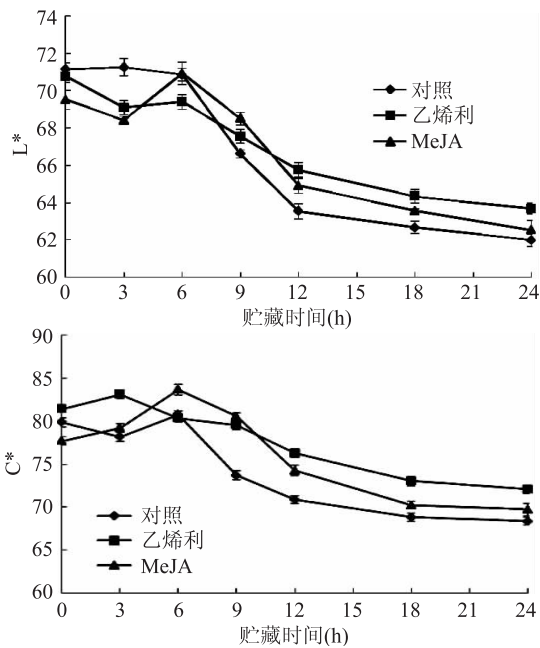


图1 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜 L* 和 C* 的影响
Fig.1 Effect of exogenous ethylene and MeJA on L* and C* of fresh-cut pumpkin

2.2 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜失重率的影响

果蔬经过鲜切加工后,表层细胞组织结构受到伤害,由于失水、物质代谢等原因会造成果蔬重量的减少。由图 2 可见,贮藏期间,各处理组的失重率均呈上升趋势。贮藏初期(0~6 h)失重率上升较快,MeJA 处理组的失重率显著低于对照和乙烯利处理组($p < 0.05$)。9 h 后,两种处理组均低于对照。贮藏 6~12 h 间乙烯利和 MeJA 延缓了失重率的升高,减缓了由于切割对果蔬造成的伤害。

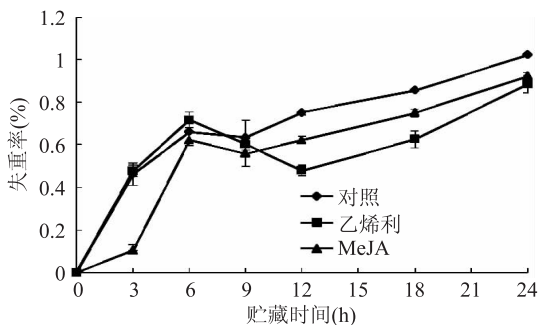


图2 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜失重率的影响
Fig.2 Effect of exogenous ethylene and MeJA on weight loss rate of fresh-cut pumpkin

2.3 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜 MDA 含量的影响

果蔬组织在后熟衰老过程中,遭受病害、冷害或其他伤害等逆境胁迫时,会产生膜脂的过氧化作用,导致细胞膜透性增加,细胞受到损伤或死亡。丙二醛是膜脂过氧化作用的主要产物之一,通常利用它的含量作为脂质过氧化指标,反映细胞膜过氧化的

程度^[11]。如图 3 所示,贮藏期间 MDA 含量整体呈下降趋势,贮藏初期略有升高,可能是由切割处理后组织的衰老所致。果蔬在受到机械伤害后,组织内的活性氧含量会增加,但同时会有许多清除活性氧机制被启动,其中抗氧化酶类在清除活性氧、抑制膜脂过氧化与维持膜系统的稳定性中起重要作用^[12]。贮藏 3 h 内及 12 h 后,MeJA 和乙烯利处理组的 MDA 含量均低于对照,抑制了膜脂过氧化反应的发生,与郑亚男^[4]等的低浓度乙烯处理可减缓膜脂过氧化作用的结果相吻合。

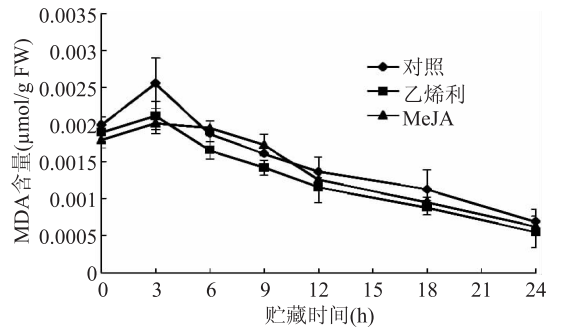


图3 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜 MDA 含量的影响
Fig.3 Effect of exogenous ethylene and MeJA on MDA content of fresh-cut pumpkin

2.4 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜 LOX 活性的影响

LOX 与果蔬细胞脂质的过氧化作用、后熟衰老过程的启动、逆境胁迫、伤诱导、病原感染信号的产生和识别等关系密切,被认为是引起果蔬后熟衰老的重要酶类之一^[13]。由图 4 可见,经切割加工后的南瓜在贮藏期间 LOX 活性呈现先升高后降低的趋势,MeJA 处理组显著高于对照和乙烯利处理组($p < 0.05$),在鲜切 6 h 差异达到最大,分别高于对照和乙烯利处理组 18.82% 和 14.65%。胡文忠等^[14]对鲜切苹果的研究表明适当浓度的茉莉酸甲酯在一定程度上增加了 LOX 活性,外源茉莉酸甲酯的添加可能启动或加强了细胞内的信号转导,增强了次生代谢物的合成能力。本实验与之得到的结论一致。与 MeJA 相比,乙烯利对 LOX 的抑制作用更为明显。

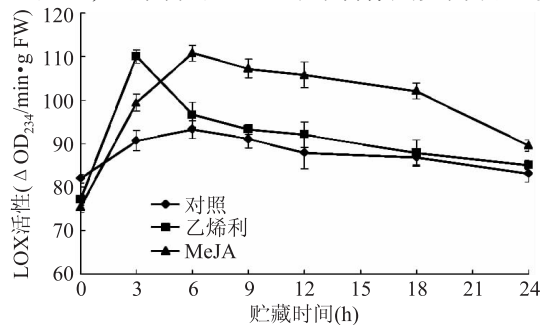


图4 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜 LOX 活性的影响
Fig.4 Effect of exogenous ethylene and MeJA on LOX activity of fresh-cut pumpkin

2.5 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜 PAL 活性的影响

鲜切果蔬加工造成的伤害会诱导苯丙烷代谢的

酶系统,造成酚类物质的积累和后期的组织褐变, PAL 是该系统的关键酶,与植物的抗逆境胁迫和抗病性密切相关,在植物的正常生长发育和抵御病原菌侵害过程中起着重要作用^[15]。由图 5 可知,各处理组对 PAL 活性的影响呈现单峰值变化,贮藏 12 h 前,MeJA 和乙烯利处理组 PAL 活性均低于对照,9 h 差异显著($p < 0.05$)。MeJA 处理组和对照组均在 9 h 达到 PAL 活性峰值,乙烯利处理组峰值出现较晚。贮藏后期(12~24 h),两处理组的 PAL 活性缓慢下降,下降速度低于对照。虽然两种信号分子未显著增强组织的抗性,但诱导了多酚类化合物的减少,从而使鲜切南瓜保持较好的感官品质。

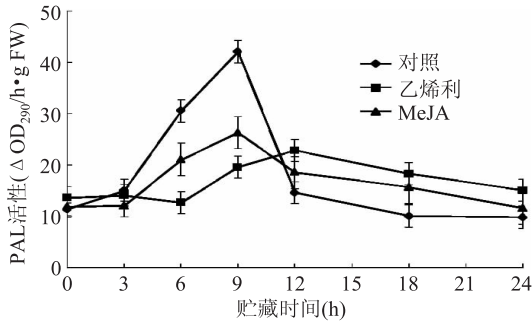


图5 外源乙烯和 MeJA 对鲜切南瓜 PAL 活性的影响
Fig.5 Effect of exogenous ethylene and MeJA on PAL activity of fresh-cut pumpkin

3 结论

本研究表明外源乙烯和 MeJA 处理能减缓鲜切南瓜失重率的上升,在一定程度上影响其色泽的变化。果蔬组织在遭受病害、冷害或其他伤害等逆境胁迫时,会发生膜脂过氧化作用,产生 MDA^[16]。而 LOX 启动膜脂过氧化,破坏膜的结构,使原本区域化的酶与底物接触而发生褐变^[17]。MDA 含量与 LOX 活性存在相关性。近年来的研究表明,采用适当浓度的外源乙烯和 MeJA 处理鲜切苹果^[14]、鲜切水晶梨^[18]、鲜切甘薯^[4]等可抑制 MDA 含量和 LOX 活性的升高,提高果蔬品质,有助于鲜切果蔬的保鲜。本研究中 MeJA 和外源乙烯处理鲜切南瓜的 MDA 含量整体上低于对照,两种处理抑制了膜脂过氧化反应的发生。而 LOX 活性呈现先升高后降低的趋势,表明 MeJA 和外源乙烯在一定程度上引起了膜脂过氧化。与 MeJA 相比,外源乙烯处理鲜切南瓜的 LOX 活性更低,由此可见,两种信号分子均降低了机械伤害引发的自由基对细胞膜产生的伤害。PAL 是苯丙烷代谢的关键酶,植物在受到伤害胁迫后,会激活苯丙烷代谢, PAL 活性上升以产生较多植保素、木质素等来减轻伤害,当合成较多次生代谢物质后,会反馈抑制 PAL 活性,从而减少营养物质的消耗。本研究表明,鲜切南瓜的 PAL 活性在贮藏期间先升高后降低,果蔬组织的抗性虽无明显提高,但减少了多酚类物质的产生,使果蔬保持较好品质。

参考文献

- [1] 常伟. 南瓜 (Cucurbitaspp) 成分分析及加工技术的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2004.
- [2] 罗海波, 姜丽, 余坚勇, 等. 鲜切果蔬的品质及贮藏保鲜技术研究进展 [J]. 食品科学, 2010, 31(1): 307-311.
- [3] 胡文忠. 鲜切果蔬科学与技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 9.
- [4] 郑亚男, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 外源乙烯对鲜切甘薯伤害生理效应的影响 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(17): 346-349.
- [5] Cheng Y H, Chang H S, Gupta R, et al. Transcriptional profiling reveals novel interactions between wounding, pathogen, abiotic stress, and hormonal responses in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2002, 129: 661.
- [6] León J, Rojo E, Sanchez-Serrano J J. Wound signaling in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 354: 1-9.
- [7] Holcroft D M. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolites may affect color of stored strawberry fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 1999(17): 19-32.
- [8] 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: 44-46.
- [9] Cherif M Y. Effect of oxygen concentration on plant growth, lipid peroxidation and receptivity of tomato roots to Pythium F under hydroponic conditions [J]. European Journal of Plant Pathology, 1997, 103(3): 255-264.
- [10] 樊会芬, 胡文忠, 庞坤, 等. 鲜切南瓜贮藏过程中生理变化的研究 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(4): 303-306.
- [11] 颜廷才, 曹森, 李江阔, 等. 不同浓度木醋液对青皮核桃生理品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(10): 76-82.
- [12] Rogers C, Davis B, Neuffer PD, et al. A transient increase in lipid peroxidation primes preadipocytes for delayed mitochondrial inner membrane permeabilization and ATP depletion during prolonged exposure to fatty acids [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2014, 67: 330-341.
- [13] Kolomiets M V, Chen H, Gladon R J, et al. A leaf lipoxygenase of potato induced specifically by pathogen infection [J]. Plant Physiology, 2000, 124(3): 1121-1130.
- [14] 胡文忠, 姜爱丽, 杨宏, 等. 茉莉酸甲酯对鲜切苹果生理生化变化的影响 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 338-346.
- [15] Ahmed L, Martin-Diana A B, Rico D C, et al. The antioxidant properties of whey permeate treated fresh-cut tomatoes [J]. Food Chemistry, 2011, 124(4): 1451-1457.
- [16] 李江阔, 刘畅, 张鹏, 等. 不同浓度 1-MCP 处理对青皮核桃质地和品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(9): 198-203.
- [17] Kolomiets M V, Chen H, Gladon R J, et al. A leaf lipoxygenase of potato induced specifically by pathogen infection [J]. Plant Physiology, 2000, 124(3): 1121-1130.
- [18] 王艳颖, 胡文忠, 姜波, 等. 茉莉酸甲酯处理抑制鲜切梨褐变机理的研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(23): 339-347.