

气调贮藏过程中冬枣果实的几种生理变化

宗亦臣¹, 王贵禧^{1*}, 冯双庆²

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091; 2. 中国农业大学食品学院, 北京 100094)

摘要:以冬枣为试材,研究了在气调贮藏(CA)和冷藏(对照)条件下冬枣果实的生理变化。结果表明:与冷藏对照相比,适合的气调贮藏(O₂体积分数12%~15%,CO₂体积分数为0)能够保持冬枣果肉较高水平的酚类物质(总酚含量与果实组织电导率之间表现为极显著的负相关,CA的相关系数是-0.99);可以有效抑制冬枣果实多酚氧化酶和过氧化物酶的活性,并推迟多酚氧化酶活性高峰的来临;保持果实中细胞膜结构的完整性,并较好地减缓了冬枣果实中乙醇的积累;气调贮藏可以有效地抑制冬枣果实的褐变和酒化,延长了冬枣的贮藏时间。

关键词:气调贮藏;冬枣果实;采后生理

中图分类号:S665.1 文献标识码:A

Physiological Changes of 'Dongzao' Jujube during the Controlled Atmosphere Storage

ZONG Yi-chen¹, WANG Gui-xi¹, FENG Shuang-qing²

(1. Research Institute of Forestry, CAF; Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China;

2. College of Food Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: The changes in physiological characteristics of fresh jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. 'Dongzao') stored in controlled atmosphere (CA) and in bored film package (CK) were investigated. The results showed that the total phenols content of jujube stored in CA (O₂ 12%~15%, and no CO₂) was much more than that of the CK. There was a significant negative correlation between the total phenols content and membrane permeability in fruits ($r_{CA} = -0.99$). CA treatment showed a better benefit of inhibiting the activities of the polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD), delaying the peak time of the PPO compared to CK. Meanwhile, the results showed that the membrane permeability of jujube was kept in an integrate state by CA, and the increase of alcohol content was also slowed down by CA. The browning and fermentation of jujube could be inhibited by CA. And the jujube life was prolonged.

Key words: controlled atmosphere; jujube; post-harvest physiology

枣(*Zizyphus jujuba* Mill.)是原产我国的特有果树。近年来以冬枣(*Z. jujuba* Mill. cv. 'Dongzao')为代表的鲜食品种的快速发展以及人们对枣营养价值的重新认识,带动了国内外市场对鲜枣的需求,但是枣的采后寿命极短,常温下5~7d,外观即皱缩软化,内部果肉褐变,丧失其鲜食风味。因此,延长鲜

枣贮存时间,提高鲜枣贮藏品质已成为枣产业化中亟待解决的问题。目前气调贮藏已在苹果(*Malus pulima* Mill.)、猕猴桃(*Actinidia chinensis* Planch.)等水果上得到了成功的应用。鲜枣贮藏中极易因CO₂体积分数过高而酒化褐变,因此鲜枣贮存多采用打孔小包装结合冷藏,贮藏期只有2个月左右;有学者

收稿日期:2005-01-21

基金项目:国家十五攻关项目“经济林产品贮藏保鲜加工技术研究”

作者简介:宗亦臣(1970—),男,北京市人,硕士,助理研究员。E-mail:zongyc@forestry.ac.cn

* 通讯作者:王贵禧,研究员。

认为梨枣 (*Z. jujuba* Mill. cv. 'Lizao') 自发气调 (MA, Modified Atmosphere) 贮藏中 CO_2 体积分数不能超过 5%^[1]。作者在研究了冬枣贮藏中对 CO_2 的耐受极限, 筛选出了较适合的气调指标后^[2], 进一步研究了气调贮藏对冬枣采后生理的影响, 为其贮藏技术的进一步完善提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2000 年 10 月至 2001 年 1 月进行, 冬枣采自山东沾化。枣果采后立即运到中国林业科学研究院林业研究所林果保鲜实验室, 冷库预冷至 0。

1.2 气调贮藏

选取大小均匀、成熟度一致、无病虫害、无机械伤、带果柄的冬枣, 放置在塑料薄膜密闭大帐 (厚度为 0.08 mm) 内, 结合碳分子筛制氮机, 在 0 ~ -1℃ 下进行气调贮藏, 气体成分 O_2 体积分数 12% ~ 15%, CO_2 体积分数为 0。气调处理 (CA) 用果量 20 kg, 3 次重复, 以 0.03 mm 厚的聚乙烯薄膜打孔包装 (薄膜袋规格为 40 cm × 60 cm, 孔径 1 cm, 孔数 10 个), 冷藏的枣果作为对照 (CK), 用果量 20 kg, 3 次重复。气体成分用 CYES-1 型气体分析仪测定, 并用奥式气体分析仪校正。气调帐内放置 CaO 粉末 3 kg, 辅助吸收冬枣果实呼吸产生的 CO_2 。

1.3 测定项目与分析方法

1.3.1 总酚含量测定 参照朱广廉等^[3]的 Folin-酚法。用 $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ 标准没食子酸溶液制作浓度依次为 5, 10, 20, 30, 40, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ 没食子酸的标准曲线, 据标准曲线的吸光度值, 计算样品的总酚含量。

1.3.2 多酚氧化酶 (PPO) 活性的测定 参照 Coseteng 等^[4]的方法, 操作均在 0 ~ 4℃ 进行。以每分钟 OD 值变化 0.01 为 1 个多酚氧化酶活力单位, 酶活性以 $\text{OD}_{525\text{nm}} \text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$ (鲜质量) 表示。

1.3.3 过氧化物酶 (POD) 活性测定 参照朱广廉等^[3]的方法, 操作均在 0 ~ 4℃ 进行。以每分钟 OD 值变化 0.01 为 1 个过氧化物酶活力单位, 酶活性以 $\text{OD}_{470\text{nm}} \text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$ (鲜质量) 表示。

1.3.4 乙醇含量测定 参照冯双庆^[5]的重铬酸钾氧化法。

1.3.5 乙醇脱氢酶 (ADH) 活性测定 参考 Yiu Kay-Lai 等^[6]的方法, 略有修改。

1.3.5.1 酶提取液 0.2 mol L^{-1} Tris-HCl, pH 8.0 (含 0.02 mol L^{-1} KCl, 0.02 mol L^{-1} EDTA)。

1.3.5.2 酶液提取 称取约 2.0 g 果肉, 加入 8 mL 预冷的酶提取液, 于冰浴中匀浆, $10\,000 \times \text{g}$ 离心 20 min, 取上清液即为酶粗提液。

1.3.5.3 酶反应 酶反应总体积为 3 mL, 含 2.7 mL 0.1 mol L^{-1} Gly-NaOH 缓冲液 (pH 9.0), 0.1 mL 5 mg mL^{-1} NAD⁺, 0.1 mL 1.7 mol L^{-1} 乙醇, 25℃ 温浴 10 min 后, 加入 0.1 mL 酶粗提液启动反应, 于 752 W 分光光度计 340 nm 处观测其吸光度变化, 在连续大约 5 min 内每隔 20 s 读取 340 nm 处吸光度, 直至单位时间吸光度的增大值稳定为止。对照加入 0.1 mL 重蒸馏水代替酶粗提液。以每分钟 OD 值增加 0.01 为 1 个酶活性单位, 酶液蛋白含量按考马斯亮兰 G-250 法测定^[7], 以牛血清白蛋白制作标准曲线。酶活性以 $\text{OD}_{340\text{nm}} \text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ (蛋白质) 表示。

1.3.6 果肉组织电导率的测定 参照冯双庆^[5]的方法, 略有修改。用直径 5 mm 打孔器在枣果上均匀采集圆柱状果肉, 切成 1 mm 厚组织圆片, 精确称取 2.00 g 放入盛有 20 mL 蒸馏水的烧杯, 在真空干燥器中密闭抽气 30 min, 取出后弃去浸泡液, 用滤纸吸干附着的水分, 将组织圆片转入小三角瓶, 加入 20 mL 重蒸馏水后盖塞, 在震荡器上震荡 30 min (243次 min^{-1}) 后 25℃ 保温 5 min, 待三角瓶内温度达平衡后用 DDSJ-308 型电导率仪测定电导度 C_1 , 然后加热煮沸 10 min, 杀死果肉组织, 冷却至 25℃, 测定电导度 C_0 。

$$\text{电导率} = C_1 / C_0 \times 100\%$$

以上测定均设重复 3 次, 取其平均值。

2 结果与分析

2.1 气调贮藏对冬枣多酚氧化酶活性的影响

从图 1 可见, 冬枣在贮藏期间, PPO 活性均呈上升趋势。前 45 d 内, CA 的 PPO 活性由 5.5 上升到 9.5, CK 的 PPO 活性由 5.5 上升到 9.7, 但差异不明显。45 d 后, CK 的 PPO 活性迅速增大, 至 65 d 时达到其活性高峰 13.6, 之后又开始下降至贮藏结束 (85 d); 而 CA 贮藏的冬枣到 65 d 时 PPO 活性为 9.7, 仅比 45 d 时略有增加, 远低于同期 CK, 至 85 d 时, CA 条件下的 PPO 活性达到贮藏期内的最高值 12.9, 由此表明: 气调贮藏 (O_2 为 12% ~ 15%, CO_2 为 0) 可有效地延缓冬枣 PPO 活性高峰的到来。

2.2 气调贮藏对冬枣总酚含量的影响

由图 2 可知, 冬枣在贮藏期间, 总酚含量均呈下降趋势。前 45 d, 2 种贮藏方式下总酚下降的速度基本一致; 从 45 d 开始, CK 的总酚含量下降速度加快,

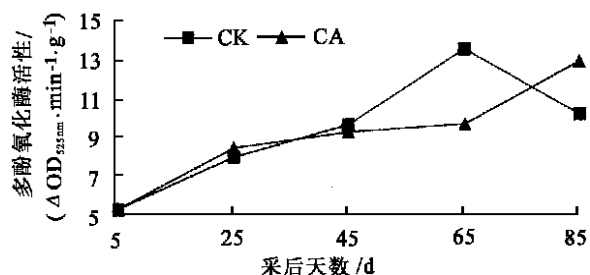


图1 气调贮藏对冬枣多酚氧化酶(PPO)活性的影响

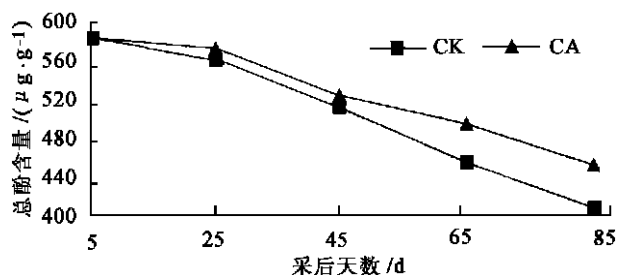


图2 气调贮藏对冬枣总酚含量的影响

至 65 d 时,总酚含量由最初的 $589.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 降为 $454.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,CK 的总酚含量下降了 22.8%;而同期的 CA 的总酚含量仅下降了 16.1%。此时 CK 的 PPO 活性正处于峰值,这说明冬枣贮藏中总酚含量的变化与 PPO 活性变化相一致。在整个贮藏期内 CA 的总酚含量始终高于 CK,85 d 气调结束时 CA 的总酚含量为 $449.9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,为贮藏初期的 76.4%;CK 总酚含量为 $406.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是贮藏初期的 69.0%,CA 比 CK 高 7.4%,差异明显。

2.3 气调贮藏对冬枣组织电导率的影响

由图 3 可知,随贮藏时间的延长,冬枣的电导率不断增大。在整个贮藏期内,CA 中冬枣的电导率始终低于 CK。运用直线回归方程的方法(y 代表总酚含量, x 代表电导率)来分析冬枣总酚含量与电导率的相关性,发现冬枣总酚含量与电导率之间表现为极显著的负相关,其中 CK 的总酚含量与电导率相关系数是 -0.98 ,相关方程为: $y = -0.18x + 161.34$;CA 中的相关系数是 -0.99 ,相关方程为 $y = -0.23x + 189.06$,即枣果实细胞膜的结构越完整,果实的总酚含量越高。上述结果表明:随着电导率的逐渐增大,冬枣细胞内的膜区域化逐步解体,从而使更多 PPO 与酚酸底物相遇,引发酶促褐变反应,并使总酚含量下降。

2.4 气调贮藏对冬枣过氧化物酶活性的影响

过氧化物酶(POD)也是与褐变相关的一种重要酶,因此研究不同贮藏方式下 POD 的活性变化,对

于探讨鲜枣的褐变机理也具有重要意义。由图 4 可知,冬枣在采后 POD 活性变化明显,CK 由贮藏初期(5 d)的 1.1 逐步上升至 1.9(45 d),而后又下降到 1.3(85 d);最大活性提高 0.8,酶的比活力升高了 74%,即在 45 d 时,CK 贮藏方式下冬枣的 POD 达到了活性高峰;但在 CA 贮藏条件下,冬枣的 POD 比活力始终低于 CK,比活力由贮藏初期(5 d)的 1.1 升至 1.6(25 d)后直到采后的第 65 天,基本维持在这一水平上,至贮藏试验结束时(85 d)比活力下降为 1.3;冬枣在气调贮藏条件下没有出现明显的 POD 活性跃变,这表明适宜的气调贮藏环境可以更好地抑制冬枣 POD 的活性。此结果与寇晓红等人^[8]在大荔圆枣(*Z. jujuba* Mill. cv. 'Daliyuanzao')、襄汾圆枣(*Z. jujuba* Mill. cv. 'Xiangfenyuanzao')等 5 个品种的研究结果不同,他们认为枣果衰老软化时,POD 活性呈双峰曲线,这可能与品种及贮藏方式不同有关。

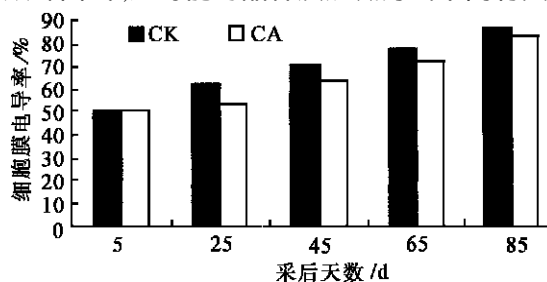


图3 气调贮藏对冬枣细胞膜电导率的影响

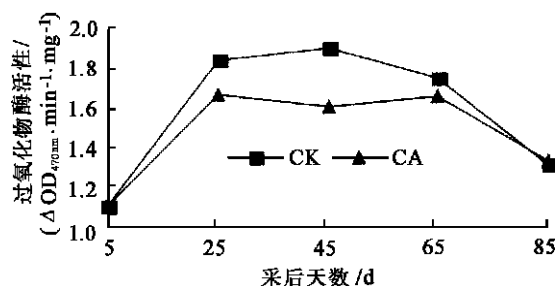


图4 气调贮藏对冬枣过氧化物酶(POD)活性的影响

2.5 气调贮藏对冬枣乙醇含量的影响

由图 5 可以看出,冬枣在采后贮藏中乙醇积累量经历了 2 个变化阶段,前 65 d 内,乙醇含量逐步增加;65 d 后至 85 d 贮藏结束,乙醇含量又略有下降。在整个贮藏期间,CA 的乙醇含量低于 CK。冬枣采后的乙醇含量非常低,只有 $0.07 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,但在贮藏中积累很快;25 d 时,CK 的乙醇含量为 $0.14 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,CA 为 $0.12 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,二者的乙醇含量增加明显;贮藏至 65 d 时,CK 为 $0.44 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,CA 为 $0.36 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,乙醇含量达最高,而此时调查,冬枣仍无酒化现象,风

味正常。由此说明 65 d 时 CA 及 CK 的冬枣乙醇含量还未达到其引发酒化的阈值,冬枣的酒化阈值可能高于 $0.44 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,但至 85 d 贮藏结束,CA 及 CK 冬枣的乙醇含量分别降为 $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.38 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,低于 65 d 时的含量,而此时观察到 CA 及 CK 冬枣均有少量酒化褐变果出现,这表明冬枣的乙醇酒化阈值可能发生在贮藏 65~85 d 之间,且冬枣酒化症状的出现可能滞后于乙醇含量的变化。

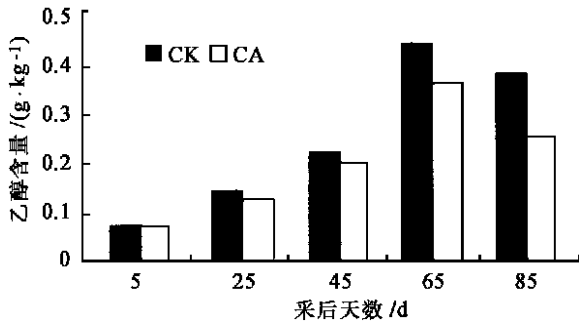


图5 气调贮藏对冬枣乙醇含量的影响

2.6 气调贮藏对冬枣乙醇脱氢酶活性的影响

由图 6 可见,在采后 85 d 内,冬枣 ADH 活性呈逐步上升趋势,但活性变化速率不同。前 45 d,CA 与 CK 的 ADH 活性处在一个极低的水平,酶活性增加缓慢,CA 与 CK 的 ADH 活性变化基本相同;从 45 d 开始,CK 的 ADH 活性由最初的 0.13 增至 0.50,CA 处理的 ADH 活性增为 1.09,是贮藏初期(5 d)的 8.6 倍,至 85 d 结束贮藏时,CA 与 CK 的 ADH 活性均达到了高峰。上述结果表明:气调处理与 CK 相比,明显增加了 ADH 活性。

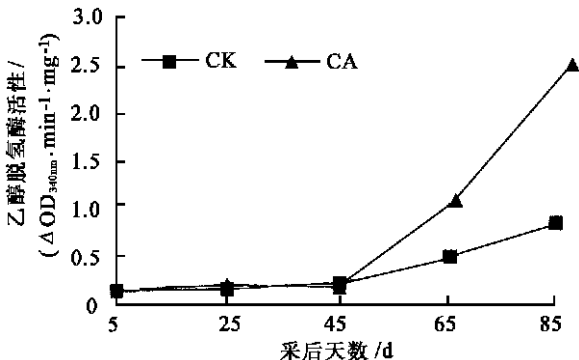


图6 气调贮藏对冬枣乙醇脱氢酶(ADH)活性的影响

3 结论与讨论

气调贮藏(O_2 体积分数为 12%~15%, CO_2 为 0)可较好地保持冬枣细胞膜系统的完整性,明显抑制多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)的活性,延緩

了酚类物质的降解和果实褐变与酒化的发生。

由于枣果实本身具有果皮蜡质层厚、表层细胞排列紧密和皮孔稀少等结构特点^[9],因此在贮藏过程中果肉细胞新陈代谢所产生的 CO_2 不能很快散失到环境中而易发生酒化褐变,因此研究气调贮藏中 ADH 活性和乙醇含量的变化就显得极为重要。

本研究表明:气调贮藏明显增加了 ADH 活性,这与周丽丽^[10]在草莓(*Fragria ananassa* Duck. cv. Chandler)上的结果相同;同时适宜的气调环境(O_2 体积分数为 12%~15%, CO_2 为 0)减少了乙醇在冬枣中的积累,在贮藏结束时乙醇含量还有所降低,这一点与周丽丽^[10]在草莓上的研究结果不同。这可能是由于贮藏初期,冬枣新陈代谢以有氧呼吸为主,乙醇积累少,对果实伤害小。到了贮藏后期,气调环境较 CK 包装内的 O_2 含量低,此时冬枣透氧能力进一步减弱,从而激活 ADH 活性,导致冬枣果肉内部发生轻微的无氧呼吸,将丙酮酸转化为乙醇,并释放出 ATP。由于这一反应是可逆的,即乙醇积累到一定量时启动了逆反应,ADH 又将乙醇转化为乙醛,同时吸收能量。这可能就是贮藏结束时 ADH 活性仍然很高而乙醇含量已有所下降的原因。这表明在适宜的气调贮藏条件下,ADH 在冬枣乙醇含量的变化过程中具有双重作用。

参考文献:

- [1] 梁小娥,王三宝,赵迎丽,等. 枣采后果肉软化的生化和细胞超微结构变化[J]. 园艺学报,1998,25(4):333~337
- [2] 宗亦臣,王贵禧,冯双庆. 冬枣气调贮藏试验初报[J]. 食品科学,2003,24(10):150~153
- [3] 朱广廉,钟海文,张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社,1990:37~39;229~231
- [4] Coseteng M Y, Lee C Y. Changes in apple polyphenol oxidase and polyphenol concentration in relation to degree of browning[J]. J Food Sci, 1987, 52(4):985~989
- [5] 冯双庆. 果蔬贮藏学实验指导[M]. 北京:北京农业大学出版社,1990:30~33;53~54
- [6] Yu KL, John Scandalios G. Differential expression of alcohol dehydrogenase and its regulation an endogenous ADH SPECIFIC inhibitor during maize development[J]. Differentiation, 1977, 9:111~118
- [7] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社,1999:392~393
- [8] 寇晓虹,王文生,吴彩娥,等. 鲜枣果实衰老与膜脂过氧化作用关系的研究[J]. 园艺学报,2000,27(4):287~289
- [9] 王勋陵. 枣果实发育解剖学的初步观察[J]. 植物学报,1974,16(2):161~168
- [10] 周丽丽. 低 O_2 和高 CO_2 对草莓采后酯类生物合成的作用模式[J]. 北京农业大学学报,1994,21(2):180~185