

# 不同相对湿度对板栗“石灰化”及 活性氧代谢的影响

顾采琴<sup>1</sup>, 张颖豪<sup>2</sup>, 张倩<sup>2</sup>, 朱冬雪<sup>1</sup>, 郑志茂<sup>1</sup>, 邱浩纯<sup>1</sup>

(1. 广州大学化学化工学院, 广东 广州 510006; 2. 贵州大学生命科学学院, 贵州 贵阳 550025)

**摘 要:**以新鲜板栗为试材, 研究在不同相对湿度(50%、70%、90%)条件下进行常温(25℃)贮藏过程中, 板栗的水分含量、“石灰化”指数、超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )产生速率、过氧化氢( $H_2O_2$ )含量、超氧化物歧化酶(super oxidase dimutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性及膜脂过氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的变化, 以探讨不同相对湿度对板栗“石灰化”及活性氧代谢的影响。结果表明: 在高湿(90%)条件下贮藏的板栗水分含量的减少和“石灰化”指数均受到显著抑制,  $O_2^{\cdot-}$ 生成速率、 $H_2O_2$ 含量和MDA含量均极显著低于在低湿(50%)条件贮藏的板栗, 而SOD活性、CAT活性则极显著高于在低湿条件下贮藏的板栗。表明板栗采后贮藏在高湿环境中能有效控制“石灰化”发生, 维持较高活性氧清除能力, 使板栗过氧化作用较低。

**关键词:**相对湿度; 板栗; “石灰化”; 活性氧代谢

## Effect of Different Levels of Relative Humidity on Calcification and Reactive Oxygen Metabolism of Chinese Chestnuts

GU Cai-qin<sup>1</sup>, ZHANG Ying-hao<sup>2</sup>, ZHANG Qian<sup>2</sup>, ZHU Dong-xue<sup>1</sup>, ZHENG Zhi-mao<sup>1</sup>, QIU Hao-chun<sup>1</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;

2. College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**Abstract:** In order to understand the effects of relative humidity on calcification and reactive oxygen species metabolism of Chinese chestnuts, the changes of moisture, calcification index, superoxide anion free radical ( $O_2^{\cdot-}$ ) production rate,  $H_2O_2$  content, SOD and CAT activities, and the content of MDA (malondialdehyde) of Chinese chestnut stored under different levels of relative humidity such as 50%, 70% and 90% and room temperature (25 °C) were determined. The results showed water loss and calcification index of Chinese chestnuts stored under high relative humidity (90%) were significantly decreased. Meanwhile,  $O_2^{\cdot-}$  production rate,  $H_2O_2$  and MDA content were significantly lower, while SOD and CAT activities of chestnuts were significantly higher as compared with Chinese chestnuts stored under low relative humidity (50%). These findings reveal that high relative humidity (90%) efficiently inhibits the occurrence of calcification, maintains higher reactive oxygen species scavenging activity and decrease lipid peroxidation in Chinese chestnuts during postharvest storage.

**Key words:** relative humidity; chestnut; calcification; reactive oxygen species

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)20-0296-04

我国板栗产量占世界板栗总产量的50%以上, 居世界第一位<sup>[1]</sup>, 板栗是我国典型的出口创汇农产品。板栗果实富含碳水化合物并且低脂<sup>[2]</sup>, 具有养胃健脾, 补肾强筋的功效<sup>[3]</sup>。但新鲜板栗采后贮藏性能较差, 易发生生理失调和品质变劣。“石灰化”是板栗贮藏期间一种常见的生理紊乱现象<sup>[4]</sup>, 组织呈“粉质”状态, 外观犹如石灰, 民间称之为“石灰化”。“石灰化”的

发生会显著破坏板栗的食用价值<sup>[5]</sup>。因此, 对板栗进行适宜方式的贮藏, 有效控制“石灰化”发生, 对板栗贮藏保鲜具有一定的实践指导作用。板栗为典型的顽拗性种子<sup>[6]</sup>, 对脱水十分敏感。板栗入贮时的含水率是影响耐贮性的重要因素之一<sup>[7]</sup>。研究表明, 常温贮藏过程中发生的“石灰化”与水分含量降低密切相关<sup>[8]</sup>。研究表明, 水分降低会使植物体内活性氧水平升高。活性

收稿日期: 2010-12-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30871760)

作者简介: 顾采琴(1964—), 女, 教授, 博士, 研究方向为果蔬采后生理及加工。E-mail: gcq86@163.com

氧的积累会引发或加剧细胞膜脂过氧化,造成膜系统的损伤,严重时导致细胞死亡<sup>[9]</sup>。因此,如何保持板栗中水分含量就成为减少板栗贮藏期间发生“石灰化”的关键。研究报道,室温散装贮藏板栗失水快,“石灰化”率高;相反,冷藏、砂藏失水较少,“石灰化”率也较低<sup>[10]</sup>,但冷藏方法投资较大,砂藏操作不便,可控制性较差。本实验研究板栗在不同相对湿度下贮藏期间“石灰化”指数、水分含量及活性氧代谢的变化,以期探讨适宜板栗贮藏的相对湿度及其作用机理,为板栗的贮藏保鲜提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及处理

供试板栗(*Castanea mollissima* Blume, ‘Youli’)品种为“油栗”,采自广东河源,以开裂脱壳的板栗种子为材料。运回后,剔除病果、虫果,挑选大小均匀、成熟度一致的种子,经防腐剂处理晾干后,置于RXZ型智能人工气候箱内,控制不同相对湿度条件(50%、70%、90%)常温(25℃)贮藏。每种处理约10kg,重复3次。实验贮藏期28d,每7d取样一次进行调查和分析。

### 1.2 试剂与仪器

愈创木酚、氯化硝基四氮唑蓝(NBT)、蛋氨酸(MET)、核黄素、高锰酸钾 上海试一化学试剂有限公司;四氯化钛、浓氨水、30%过氧化氢、丙酮、硫酸、盐酸羟胺、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、对氨基苯磺酸、 $\alpha$ -萘胺、硫代巴比妥酸 天津大茂化学试剂厂;以上试剂均为分析纯。

RXZ型智能人工气候箱 宁波东南仪器有限公司;UV2300紫外分光光度计 上海天美科学仪器有限公司;Allegra 64R冷冻离心机 美国贝克曼库尔特有限公司;DK-S22型电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司;IMS-100全自动雪花制冰机 江苏格林电器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 “石灰化”指数测定

“石灰化”程度分为三级:按“石灰化”面积占总面积的0%~20%、20%~50%、>50%分为一、二、三级。

$$\text{“石灰化”指数}/\% = \frac{\sum(\text{各“石灰化”级数值} \times \text{各组“石灰化”粒数})}{\text{“石灰化”最高级别数} \times 80} \times 100$$

式中:80指随机抽取的板栗总粒数<sup>[11]</sup>。

#### 1.3.2 生理生化指标测定

水分含量:参考黄雪梅等<sup>[12]</sup>方法测定;SOD活性:

参考曹建康等<sup>[13]</sup>方法测定;CAT活性和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率:参考曹建康等<sup>[13]</sup>和郝建军等<sup>[14]</sup>方法测定; $H_2O_2$ 含量:参考曹建康等<sup>[13]</sup>和Patterson等<sup>[15]</sup>方法测定;MDA含量:参考郝建军等<sup>[14]</sup>和刘萍等<sup>[16]</sup>方法测定。

### 1.4 数据统计及图形分析

用Excel 2003统计分析所有数据,计算标准误并制图;应用SPSS11.5软件对数据进行方差分析(ANOVA)和相关分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同相对湿度对板栗水分含量的影响

由图1可知,板栗采后初期的水分含量为45.08%,但在不同相对湿度下贮藏的板栗均有不同程度的失水,水分含量随贮藏时间的延长而减少。在相对湿度50%和90%条件下贮藏的板栗水分含量差异显著( $P < 0.05$ ),贮藏至第14天时,水分含量分别下降为13.02%和26.37%,在相对湿度70%条件下贮藏的板栗水分含量居中,说明较高的相对湿度可抑制板栗水分含量的减少。

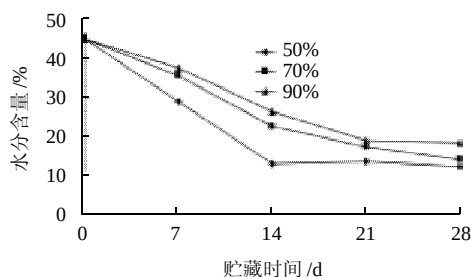


图1 板栗贮藏在不同相对湿度环境中水分含量的变化

Fig.1 Changes of moisture content in Chinese chestnut stored under different levels of relative humidity

### 2.2 不同相对湿度对板栗“石灰化”指数的影响

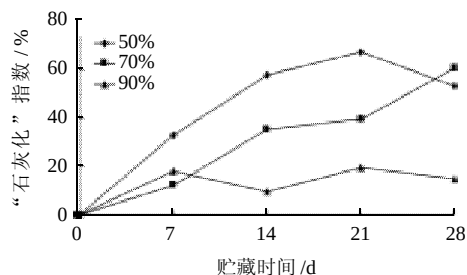


图2 板栗贮藏在不同相对湿度环境中“石灰化”指数的变化

Fig.2 Changes of calcification index of Chinese chestnut stored under different levels of relative humidity

由图2可知,在相对湿度50%条件下,板栗“石灰化”指数上升速度很快,贮藏至第21天,“石灰

化”指数已达到67.50%，而在相对湿度90%下贮藏的板栗，“石灰化”指数变化较平缓，明显低于前者。统计显示，两种相对湿度贮藏的板栗，“石灰化”指数差异极显著( $P < 0.01$ )；在相对湿度70%条件下贮藏的板栗“石灰化”指数居中，表明提高贮藏环境中的相对湿度可以明显减少板栗(石灰化)的发生。

### 2.3 不同相对湿度对 $O_2^-$ 产生速率的影响

根据在相对湿度50%和90%条件下板栗“石灰化”指数的差异，本研究进一步测定了在这两种相对湿度下贮藏板栗活性氧代谢的变化。由图3可知，板栗贮藏过程中， $O_2^-$ 产生速率呈逐渐上升趋势，贮藏至第28天时，在相对湿度90%条件下贮藏的板栗， $O_2^-$ 产生速率比在相对湿度50%条件下贮藏的板栗降低了28.64%。经统计分析，两种相对湿度下板栗  $O_2^-$  产生速率差异极显著( $P < 0.01$ )，说明较高的相对湿度能使板栗的  $O_2^-$  产生速率较低。

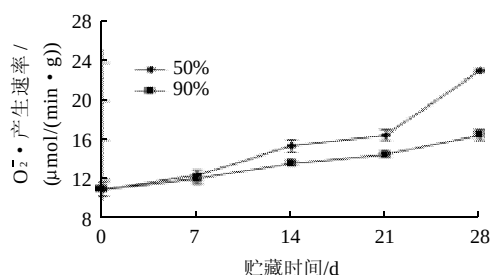


图3 板栗贮藏在不同相对湿度环境中  $O_2^-$  产生速率的变化  
Fig.3 Changes of  $O_2^-$  production rate in Chinese chestnut stored under different levels of relative humidity

### 2.4 不同相对湿度对 SOD 活性的影响

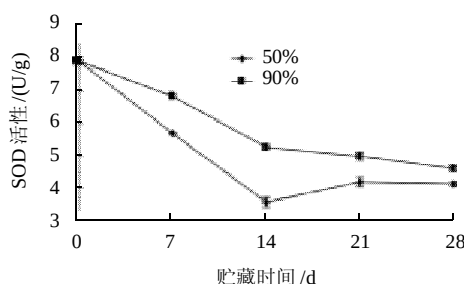


图4 板栗贮藏在不同相对湿度环境中 SOD 活性的变化  
Fig.4 Changes of SOD activity in Chinese chestnut stored under different levels of relative humidity

由图4可知，板栗采后贮藏在不同相对湿度下，SOD活性随时间延长呈下降趋势。贮藏至第14天时，在相对湿度90%条件下贮藏的板栗，SOD活性比在相对湿度50%条件下贮藏的板栗高出48.07%。经统计分析，两种相对湿度条件下贮藏板栗的SOD活性差异极

显著( $P < 0.01$ )，表明较高相对湿度环境贮藏可抑制板栗SOD活性下降，使其具有较高清除活性氧的能力，在一定程度上抑制了板栗的细胞氧化。

### 2.5 不同相对湿度对 $H_2O_2$ 含量的影响

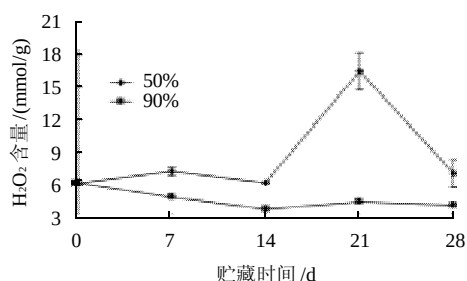


图5 板栗贮藏在不同相对湿度环境中  $H_2O_2$  含量的变化  
Fig.5 Changes of  $H_2O_2$  content in Chinese chestnut stored under different levels of relative humidity

由图5可知，在相对湿度50%条件下贮藏的板栗，其  $H_2O_2$  含量在贮藏14d后开始急剧上升，在第21天时达到高峰，是贮藏在90%条件下板栗的3.74倍，然后开始下降。贮藏在相对湿度90%条件下的板栗  $H_2O_2$  含量变化平缓。经统计分析，两种相对湿度条件下贮藏的板栗  $H_2O_2$  含量差异极显著( $P < 0.01$ )，表明较高相对湿度环境贮藏可抑制板栗  $H_2O_2$  含量上升。

### 2.6 不同相对湿度对 CAT 活性的影响

如图6所示，板栗采后贮藏在不同相对湿度下CAT活性随时间延长呈下降趋势。贮藏至第14天时，在相对湿度90%条件下贮藏的板栗的CAT活性比在相对湿度50%条件下贮藏的板栗高出45.97%。经统计分析，贮藏在两种相对湿度条件下的板栗CAT活性差异极显著( $P < 0.01$ )，表明较高的相对湿度环境可在一定程度上抑制板栗CAT活性的下降。

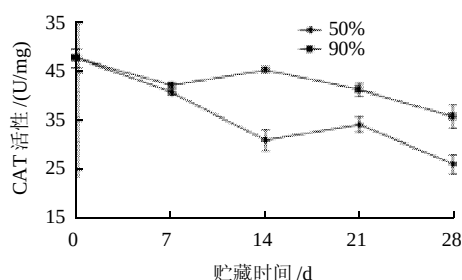


图6 板栗贮藏在不同相对湿度环境中 CAT 活性的变化  
Fig.6 Changes of CAT activity in Chinese chestnut stored under different levels of relative humidity

### 2.7 不同相对湿度对 MDA 含量的影响

由图7可知，板栗采后贮藏期间MDA含量随时间延长呈上升趋势。在贮藏第21天时，贮藏在相对湿度

90% 条件下的板栗 MDA 含量比贮藏相对湿度 50% 条件下的板栗降低了 17.86%。经统计分析, 贮藏在不同相对湿度条件下板栗的 MDA 含量差异极显著( $P < 0.01$ ), 表明较高相对湿度环境可抑制板栗 MDA 含量上升。

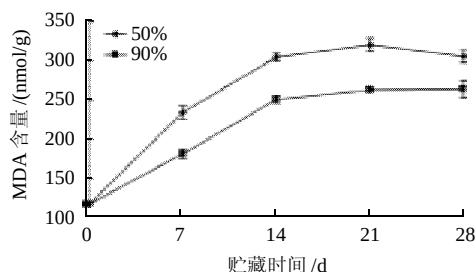


图7 板栗贮藏在不同相对湿度环境中MDA含量的变化  
Fig.7 Changes of MDA content in Chinese chestnut stored under different levels of relative humidity

### 3 讨论与结论

有研究报道, 相对湿度对板栗贮藏非常重要, 栗果贮藏期间适宜的相对湿度一般以 85%~90% 为佳<sup>[17]</sup>。本研究结果显示, 贮藏环境相对湿度直接影响板栗水分蒸发速度及其含量, 当相对湿度从 50% 提高到 90% 时, 板栗贮藏期间的水分损失得到显著抑制, 相应的“石灰化”指数也明显降低。由此可见, 提高环境相对湿度能在一定程度上减少贮藏“石灰化”的发生。

植物遭受到逆境胁迫, 植物体内的氧化代谢就会失调, 活性氧产生加快, 而清除系统的功能降低, 致使活性氧在体内积累, 植物的结构与功能就会受到损伤, 甚至导致死亡, 即植物受到了氧伤害<sup>[18]</sup>。植物细胞内活性氧的消除机制 SOD 和 CAT 活性的平衡对于细胞内  $O_2 \cdot$  及  $H_2O_2$  浓度的稳定具有重要作用<sup>[19]</sup>; 逆境条件下活性氧清除酶间的活性变化不同步, 从而导致活性氧大量产生<sup>[20]</sup>。板栗种子贮藏期间含水量降低可导致活性氧代谢失调, 导致种子的劣变<sup>[21]</sup>和“石灰化”率增加<sup>[11]</sup>。本研究结果进一步显示, 当板栗在较高相对湿度(90%)条件贮藏时, 板栗 SOD 与 CAT 活性高于贮藏在低湿(50%)环境中的板栗, 相应地, 在高湿环境中贮藏的板栗  $O_2 \cdot$  产生速率、 $H_2O_2$  和 MDA 含量则低于贮藏在低湿环境中的板栗, 从而使板栗的氧化作用及其衰老得到一定抑制, “石灰化”指数也较低。

总之, 对板栗而言, 提高贮藏环境相对湿度, 有利于保持板栗种子较高的水分含量及较强的活性氧清除

能力, 能延缓板栗细胞氧化进而延缓衰老, 使板栗“石灰化”指数明显降低。本研究将对生产实践具有一定的指导意义。

### 参考文献:

- [1] 段振军, 鲁周民, 丛永亮, 等. 失水程度对板栗贮藏中部分生理指标的影响[J]. 制冷学报, 2008, 29(3): 58-61.
- [2] ROY P, UMEHARA H, NAKAMURA N, et al. Determination of physicochemical properties of chestnuts[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 87(4): 601-604.
- [3] 李莉. 壳聚糖液膜处理对板栗贮藏效果的影响[J]. 福建林业科技, 2009, 36(3): 179-181.
- [4] YANG Bao, JIANG Guoxiang, PRASAD K N, et al. Crystalline, thermal and textural characteristics of starches isolated from chestnut (*Castanea mollissima* Bl.) seeds at different degrees of hardness[J]. Food Chemistry, 2010, 119(3): 995-999.
- [5] YANG Bao, JIANG Guoxiang, GU Caiqin, et al. Structural changes in polysaccharides isolated from chestnut (*Castanea mollissima* Bl.) fruit at different degrees of hardening[J]. Food Chemistry, 2010, 119(3): 1211-1215.
- [6] 傅家瑞. 顽拗性种子[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(6): 402-406.
- [7] 秦岭, 董清华, 王有年. 板栗贮藏期间几种生理生化指标的变化[J]. 北京农学院学报, 1995, 10(1): 54-59.
- [8] 宋雯雯, 李妍, 侯田莹, 等. 热处理对冷藏板栗石灰化的影响[J]. 果树学报, 2006, 23(4): 553-557.
- [9] 陈立松, 刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片活性氧代谢的影响[J]. 园艺学报, 1998, 25(3): 241-246.
- [10] 朱冬雪, 顾采琴, 罗大英, 等. 不同贮藏技术对板栗品质的影响[J]. 农业工程学报, 2004, 20(增刊 1): 195-199.
- [11] 宋雯雯, 侯田莹, 王亚, 等. 热处理对板栗果实石灰化和生理特性的影响[J]. 食品工业科技, 2006, 27(6): 153-155.
- [12] 黄雪梅, 傅家瑞. 测定顽拗性种子或胚轴在连续脱水中含水量的简便方法[J]. 种子, 1999(5): 48.
- [13] 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: 116-118.
- [14] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 177-179.
- [15] PATTERSON B D, MACKAE E A, FERGUSON I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV) [J]. Analytical Biochemistry, 1984, 139 (2): 487-492.
- [16] 刘萍, 李民军. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 150-152.
- [17] 蒋依辉, 陈金印, 徐小彪, 等. 板栗贮藏技术及采后生理研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2001, 23(3): 401-405.
- [18] 张刚, 李里特, 丹阳. 果蔬成熟衰老中的活性氧代谢[J]. 食品科学, 2004, 25(增刊 1): 225-230.
- [19] 徐新娟. 植物体内活性氧代谢及功能研究进展[J]. 河南科技学院学报: 自然科学版, 2007, 35(3): 10-12.
- [20] CHLOROPIASTS A K. Formation of active oxygen metabolites in lichen leaves[J]. Methods Enzymology, 1984, 105: 422-429.
- [21] 苏冬梅, 吴福金, 李旭, 等. 板栗失水对其种子细胞透性和两种酶活性的影响[J]. 种子, 2001(1): 28-30.