

冷藏后不同处理对1-MCP处理南果梨酯类物质及乙烯合成关键酶的影响

张丽萍, 纪淑娟*

(沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘 要: 研究1-MCP处理的南果梨冷藏3个月后, 乙烯利、水杨酸和茉莉酸甲酯处理对果实常温货架期间酯类物质和1-氨基环丙酸-1-羧酸合成酶(ACS)以及1-氨基环丙酸-1-羧酸氧化酶(ACO)变化的影响。结果表明: 经过乙烯利处理的果实丁酸己酯、乙酸庚酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯、己酸己酯、乙酸己酯的相对含量均明显高于对照果实; 比较3种不同处理果实中ACS和ACO酶活性发现, 乙烯利处理的果实ACS酶活性极显著高于对照果实, 水杨酸处理果实ACS酶活性显著高于对照果实, 而茉莉酸甲酯处理对果实的ACS酶活性无显著影响; 乙烯利、水杨酸、茉莉酸甲酯3种处理果实ACO活性与对照差异不显著。由此可知, 经1-MCP处理的南果梨冷藏后用乙烯利进行复醒处理可有效提高ACS酶活性, 从而提高果实的酯类物质相对含量, 使果实表现出浓郁的香气。

关键词: 南果梨; 乙烯利; 水杨酸; 茉莉酸甲酯; 香气; 1-氨基环丙酸-1-羧酸合成酶; 1-氨基环丙酸-1-羧酸氧化酶

Effects of Different Treatments on the Content of Esters and the Key Enzymes for Ethylene Synthesis in Refrigerated Nanguo Pear Pretreated with 1-MCP

ZHANG Li-ping, JI Shu-juan*

(College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: After 1-MCP pretreatment and subsequent refrigerated storage for 3 months, Nanguo pear fruits (*Pyrus ussuriensis* Maxim) were immediately treated with either ethephon, salicylic acid or methyl jasmonate (MeJA) to investigate their effects on the content of esters and the activities of 1-amino cyclopropane-1-carboxylic acid synthetases (ACS) and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO) during shelf-life storage at ambient temperature. Results showed that the relative contents of ethyl acetate, butanoic acid ethyl ester, hexanoic acid ethyl ester, acetic acid hexyl ester, hexanoic acid hexyl ester, butanoic acid hexyl ester, and acetic acid heptyl ester in the fruit treated with ethephon were significantly higher than those in the control fruit. ACS activity in the fruits treated with respectively ethephon and salicylic acid were significantly higher than that in the control fruit whereas MeJA had no obvious effects on ACS activity. The effects of ethephon, salicylic acid and MeJA on ACO activity were not significant compared to the control fruit. Based on the results of this experiment, it can be seen that the treatment with ethephon can effectively increase ACS activity and ester contents in Nanguo pear pre-treated with 1-MCP and stored for 3 months, leading to heavier aroma of the fruit.

Key words: Nanguo pear; ethephon; salicylic acid; methyl jasmonate; aroma; 1-amino cyclopropane-1-carboxylic acid synthetases (ACS); 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACO)

中图分类号: TS255.3; TS255.1 文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)24-0285-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201324059

南果梨为秋子梨系(*Pyrus ussuriensis* Maxim.)的一种, 是辽宁省的特色水果。南果梨采收时果实色绿、肉脆质硬、汁少味甜、无香气。适度后熟后, 果色金黄艳丽、带红晕、香气诱人、肉质细腻、汁液丰富、酸甜适口、品质极佳, 深受消费者青睐^[1]。采后的南

果梨若不经处理, 在常温条件下半个月左右即后熟衰老, 果实软烂失去商品价值。为了将南果梨的市场供应期延长至春节, 通常采取冷藏的办法。1-甲基环丙烯(1-methylcyclopropene, 1-MCP)是一种新型的乙烯作用抑制剂, 可与细胞膜上乙烯受体优先发生不可逆的结合, 致

收稿日期: 2012-11-18

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划重点项目(2012BAD38B07); 国家农业科技成果转化资金项目(2012GB2B000085)

作者简介: 张丽萍(1985—), 女, 博士研究生, 研究方向为食品质量控制。E-mail: zhangliping_abc@163.com

*通信作者: 纪淑娟(1960—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品质量控制。E-mail: jsjsyau@sina.com

使乙烯信号传导受阻,从而延缓果实的后熟衰老进程^[2-3],冷藏结合1-MCP处理可进一步延长南果梨的冷藏期和冷藏后常温货架期。但是,长期冷藏可以抑制果实挥发性成分的产生并阻碍贮藏果实恢复到常温时挥发性成分再生的能力^[4-8]。纪淑娟等^[9]研究表明1-MCP处理的南果梨冷藏后在常温货架期间香气变淡。1-MCP处理结合冷藏虽然可以延缓南果梨果实的后熟衰老进程,降低南果梨的腐烂率,但却削弱了南果梨的香气特征,因此,有必要探索南果梨冷藏后的复醒处理技术,以提高冷藏南果梨的商品品质。果实成熟是一个复杂的生理过程,多种信号物质参与了该过程的调控^[10]。除了乙烯利之外,水杨酸和茉莉酸甲酯也是调控果实成熟的信号物质,对乙烯的释放都有一定的影响,进而影响1-氨基环丙酸-1-羧酸合成酶(1-amino cyclopropane-1-carboxylic acid synthetase, ACS)和1-氨基环丙酸-1-羧酸氧化酶(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase, ACO)的酶活性,所以本实验比较这3种不同信号物质对南果梨香气、ACS、ACO酶活性的影响效果。乙烯是植物体内一种重要的内源激素,它参与调节植物生长发育,特别是在跃变型果实成熟衰老过程中发挥着重要的作用,被认为是果实成熟衰老的启动因子^[11]。在跃变型果实中,乙烯对果实的成熟、衰老起重要的调控作用^[12-13],其生物合成也受控于果实内ACS和ACO酶活性的高低,同时又能对ACS和ACO酶活性进行反馈调节。Balbontín等^[14]研究表明木瓜果实中大多数酯类物质是通过脂肪酸和氨基酸代谢途径产生的,而这两条代谢途径都受乙烯调控,在其他跃变型果实中也得出相同的结论^[6,15]。张晓萌等^[16]研究表明,桃果实主要的香气挥发性物质的形成与乙烯、呼吸跃变的开始密切相关。Zhou等^[17]研究了外源乙烯对低温贮藏油桃、桃果实和西红柿的部分生理作用。Fan等^[18]研究发现茉莉酸甲酯可以增强乙烯和苹果香气成分的合成,但这种效应受果实采收期和品种的影响。水杨酸被认为是一种调控植物防御的信号分子^[19],也参与了果实成熟的调控^[20]。本实验旨在通过分析乙烯利、水杨酸和茉莉酸甲酯处理对经过1-MCP处理的南果梨在冷藏后常温货架期间果实酯类物质相对含量以及ACS、ACO酶活性的影响,研究不同的信号物质对南果梨冷藏后香气形成的作用,探索提高低温贮藏南果梨香气品质的处理技术。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

南果梨采自辽宁省鞍山市大孤山镇果园。采收当天运回沈阳农业大学实验室进行分级处理,挑选大小、成熟度相对一致,果质量大小均匀一致,无病虫害、机械损伤果实。

1-甲基环丙烯(1-MCP) 美国罗门哈斯公司;乙烯利、水杨酸、磷酸氢二钾、碳酸氢钠、磷酸二氢钾、乙二胺四乙酸(EDTA)、巯基乙醇、磷酸吡哆醛、氯化汞、盐酸、次氯酸钠、氢氧化钠、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、甘油、抗坏血酸钠、硫酸铁 国药集团化学试剂有限公司;硫腺苷蛋氨酸(SAM)、2-羟乙基-1-哌嗪乙磺酸(HEPES-KOH)、聚乙烯基吡咯烷酮(PVP)、二硫苏糖醇(DTT)、1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC) 上海源叶生物有限公司;茉莉酸甲酯 美国Sigma公司。

1.2 仪器与设备

100 μ m PDMS萃取头和固相微萃取手柄 美国Supleco公司;Trace DSQ MS气相色谱质谱联用仪 美国Finnigan公司;CT14RD离心机 上海天美科学仪器有限公司;TU 1810 紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 材料处理

用0.75 μ L/L 1-MCP保鲜剂处理24h,处理方法参见杨卫东等^[21]。1-MCP处理果实装入内衬0.02mm PE膜的塑料箱内,在常温(20 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C条件下放置7d(目的是使南果梨转色,由绿色转为黄色)后转入冷库,于(0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C条件下贮藏。1-MCP处理的南果梨在冷藏3个月后移出冷库,出库当天分别用2mmol/L乙烯利水溶液、2mmol/L水杨酸水溶液和2mmol/L茉莉酸甲酯水溶液浸泡处理2min,对照(CK)果实用蒸馏水浸泡处理2min,处理后放置于室温条件下,每隔7d测定1次,每个指标测定重复3次。

1.3.2 南果梨香气的测定

冷藏后的南果梨在常温货架期间最佳食用期,即果实硬度达到5kg/m²左右时测定果实的香气。

气相色谱条件:HP-INNOWAX色谱柱(30m $\times$ 250 μ m, 0.25 μ m);程序升温:40 $^{\circ}$ C保留2min,4 $^{\circ}$ C/min升至60 $^{\circ}$ C保留1min,2 $^{\circ}$ C/min升至150 $^{\circ}$ C,10 $^{\circ}$ C/min升至210 $^{\circ}$ C保留5min。传输线温度250 $^{\circ}$ C。载气为He,流速1mL/min,不分流。

质谱条件:连接杆温度280 $^{\circ}$ C,电离方式EI,离子源温度200 $^{\circ}$ C,扫描范围45~600u。

数据处理:通过检索NIST/Wiley标准谱库,进行定性分析,并用峰面积归一法测算各化学成分的相对含量。

1.3.3 ACS和ACO酶活性的测定

ACS酶活性测定:参照Fan等^[22]方法;ACO酶活性测定:参照Mohamed等^[23]方法。

1.4 数据分析

数据采用Excel 2003和SPSS 19.0软件进行统计处理。

2 结果与分析

2.1 1-MCP处理南果梨冷藏后常温货架期间最佳食用期香气相对峰面积

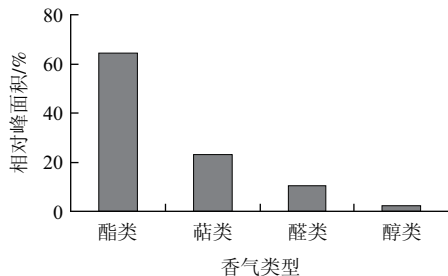


图1 1-MCP处理的南果梨冷藏3个月后常温货架期间最佳食用期香气相对峰面积

Fig.1 Relative peak areas of the main aroma components in Nanguo pears refrigerated for 3 months after being pretreated with 1-MCP at the best aroma period during shelf-life storage

由图1可知, 1-MCP处理的南果梨冷藏3个月后果实酯类物质相对峰面积65.35%、萜类23.15%、醛类10.28%、醇类1.22%。由此可知, 1-MCP处理的南果梨冷藏3个月后香气依然以酯类为主。

2.2 不同处理对1-MCP处理的南果梨冷藏后货架期间主要酯类物质含量变化的影响

表1 不同处理对1-MCP处理的南果梨冷藏后货架期间主要酯类物质含量变化的影响

Fig.1 Effect of different treatments on ester contents in Nanguo pear pretreated with 1-MCP and refrigerated during shelf-life storage

组别	货架期/d	相对含量/%						
		乙酸乙酯	丁酸乙酯	己酸乙酯	乙酸己酯	己酸己酯	丁酸己酯	乙酸庚酯
对照	0	—	1.99	2.91	5.80	—	0.15	0.10
	7	0.21	6.15	22.19	17.13	0.02	0.28	0.32
	14	2.75	6.89	27.83	10.77	0.09	0.32	0.21
	21	4.54	7.97	32.62	4.66	0.26	0.39	0.19
	28	1.02	4.42	17.32	3.19	—	—	0.11
乙烯利	0	0.18	4.17	5.24	11.78	1.13	2.01	1.36
	7	4.62	10.98	35.55	21.61	1.18	1.19	0.60
	14	7.25	15.96	39.61	14.23	0.52	0.88	0.57
	21	6.04	10.17	35.43	7.84	0.48	0.49	0.23
	28	3.81	6.04	20.73	4.04	0.23	0.11	0.18
水杨酸	0	—	3.71	6.52	9.26	0.13	0.17	0.24
	7	2.57	8.19	26.59	17.84	0.19	0.23	0.36
	14	6.51	11.08	35.28	8.53	0.36	0.32	0.35
	21	3.92	8.78	25.17	5.66	0.24	0.15	0.24
	28	2.43	5.26	19.63	2.94	0.06	0.09	0.12
茉莉酸甲酯	0	—	2.01	7.97	2.28	—	—	—
	7	0.97	4.71	15.62	9.25	0.02	0.07	0.22
	14	1.25	5.51	19.45	6.71	0.06	0.11	0.18
	21	2.98	6.29	28.17	4.36	0.15	0.19	0.18
	28	0.12	1.27	10.83	—	—	—	—

注: 表中数字为酯类物质占总挥发性物质的相对含量; —, 未检出。

由表1可以看出, 南果梨中的酯类香气成分主要有乙酸乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯、乙酸己酯、乙酸庚酯、丁酸己酯、己酸己酯。在冷藏后常温货架初期, 检测到的酯类物质相对百分含量较低, 随着后熟程度的提高, 酯类物质的相对含量逐渐增多, 在果实处于最佳食用状态时酯类物质的含量是最高的, 此后随着果实的后熟衰老, 酯类物质的相对含量又逐渐减少。与对照果实相比, 茉莉酸甲酯处理的7种酯类物质的相对含量低于对照组, 乙烯利和水杨酸处理的丁酸己酯、乙酸庚酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯、己酸己酯、乙酸己酯的相对含量均高于对照组。结果表明3种不同信号物质的处理中乙烯利处理组效果最好, 酯类香气成分的相对含量最高。

2.3 不同处理对1-MCP处理的南果梨冷藏后货架期间ACS酶活变化的影响

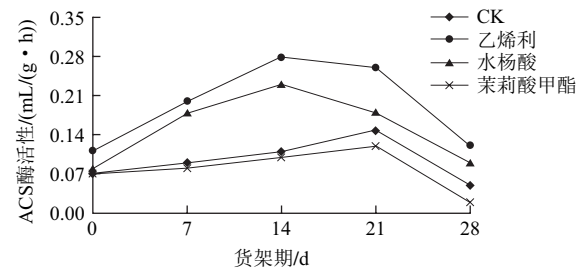


图2 不同处理对1-MCP处理的南果梨冷藏后货架期间ACS酶活性变化的影响

Fig.2 Effect of different treatments on ACS activity in Nanguo pear pretreated with 1-MCP and refrigerated during shelf-life storage

乙烯作为重要的植物激素, 在跃变型果实成熟衰老过程中发挥着重要的作用, 它调控着跃变型果实的正常成熟, ACS是乙烯生物合成途径中关键性限速酶之一^[24]。当ACS酶活性受到抑制时, 乙烯生物合成在一定程度上也会受到抑制, 这时果实的成熟过程便会减慢甚至无法正常成熟^[25]。由图2可以看出, 在货架前期, 各处理果实的ACS酶活性均表现为不同程度的增加, 在货架后期, 各处理果实的ACS酶活性均表现为不同程度的降低。乙烯利处理组的ACS酶活性极显著高于对照果实($P=0.009<0.01$), 水杨酸处理组的ACS酶活性显著高于对照果实($P=0.046<0.05$), 而茉莉酸甲酯处理组的ACS酶活性在货架期间一直低于对照组, 茉莉酸甲酯处理组的ACS酶活性和对照果实之间差异不显著($P=0.056>0.05$)。这说明乙烯利和水杨酸处理对对照果实都有较好的影响, 而这两种处理组相比较, 乙烯利处理组对CK果实的影响更显著。结果表明, 乙烯利处理对对照果实ACS酶活性的影响效果最好。

2.4 不同处理对1-MCP处理的南果梨冷藏后货架期间ACO酶活变化的影响

乙烯是一种重要的植物激素, 具有触发呼吸跃变和促进果实成熟及衰老的作用。ACO是植物体内乙烯合成

途径其中一个关键性限速酶,当ACO酶活性受到抑制时,乙烯生物合成在一定程度上也会受到抑制,这时果实的成熟过程便会减慢甚至无法正常成熟^[26]。在整个贮藏过程中,各处理果实ACO酶活性变化规律相同,都是呈先增加后减少的趋势。乙烯利、水杨酸和茉莉酸甲酯处理果实ACO酶活性与对照处理之间差异不显著($P>0.05$)。由此可见,ACO虽然起到调节果实内源乙烯生物合成的作用,但外源乙烯处理、水杨酸处理以及茉莉酸甲酯处理对果实ACO酶活性的影响作用不大。

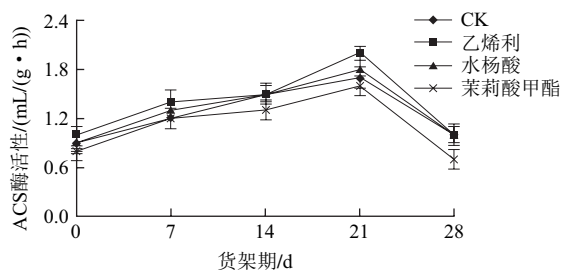


图3 不同处理对1-MCP处理的南果梨冷藏后货架期间ACO酶活性变化的影响

Fig.3 Effects of different treatments on ACO activity in Nanguo pear pretreated with 1-MCP and refrigerated during shelf-life storage

3 结论

乙烯利处理的丁酸己酯、乙酸庚酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯、己酸己酯、乙酸己酯的相对含量均显著高于对照果实,说明乙烯利处理更有利于提高1-MCP处理的南果梨果实冷藏后常温货架期间香气品质,也说明乙烯参与了南果梨果实中大多数酯类物质的代谢途径;1-MCP处理的南果梨冷藏后经过不同信号物质处理,乙烯利处理组的ACS酶活性极显著高于对照果实,水杨酸处理组的ACS酶活性显著高于对照果实,而茉莉酸甲酯处理组的ACS酶活性和对照果实之间差异不显著,说明乙烯利处理组ACS酶活性最高,效果最好;乙烯利、水杨酸和茉莉酸甲酯处理果实ACO活性与对照处理之间差异不显著。不同信号物质的处理刺激了南果梨果实内源乙烯释放量,通过对乙烯生物合成过程中ACS和ACO酶活性的分析表明,不同信号物质的处理对内源乙烯生成量的影响主要是通过提高果实ACS酶活性而引起的,ACO也在一定程度上影响着果实内源乙烯生成量,但是外源乙烯、水杨酸和茉莉酸甲酯对ACO的作用不明显。由此可知,经1-MCP处理的南果梨冷藏后用2mmol/L乙烯利和水杨酸进行复醒处理,都可以通过提高ACS酶活性从而提高果实的酯类物质含量,而乙烯利处理可以使果实在冷藏后常温货架期间表现出更好的商品品质。

参考文献:

- [1] 李江阔, 张鹏, 纪淑娟, 等. 1-MCP对不同成熟度南果梨贮藏后货架保鲜效果的研究[J]. 北方园艺, 2009(1): 212-214.
- [2] 孙令强, 李召虎, 王倩, 等. 1-MCP对低温贮藏猕猴桃果实的品质及生理特性的影响[J]. 西南农报, 2007, 20(1): 35-39.
- [3] 郑铁松, 李雪枝. 不同浓度1-MCP对番茄保鲜效果的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 552-555.
- [4] FAN X, MATTHEIS J P. Impact of 1-methylcyclopropene and methyl jasmonate on apple volatile production[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(7): 2847-2853.
- [5] DEFILIPPI B G, KADER A A, DANDEKAR A M. Apple aroma: alcohol acyltransferase, a rate limiting step for ester biosynthesis, is regulated by ethylene[J]. Plant Science, 2005, 168(5): 1199-1210.
- [6] MATTHEIS J P, FAN X, ARGENTA L C. Interactive responses of gala apple fruit volatile production to controlled atmosphere storage and chemical inhibition of ethylene action[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(11): 4510-4516.
- [7] LIDSTER P D, LIGHTFOOT H J, MCRAE K B. Production and regeneration of principle volatiles in apples stored in modified atmospheres and air[J]. Food Science, 1983, 48(2): 400-402.
- [8] DIXON J, HEWETT E W. Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: a review[J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2000, 28(3): 155-173.
- [9] 纪淑娟, 卜庆状. 1-MCP处理对南果梨冷藏后货架期果实香气的影响[J]. 果蔬学报, 2012, 29(4): 656-660.
- [10] LECLERCQ J, ADAMS-PHILLIPS L C, ZEGZOUTI H, et al. A tomato CTR1-like gene, demonstrates ethylene signaling ability in *Arabidopsis* and novel expression patterns in tomato[J]. Plant Physiology, 2002, 130(3): 1132-1142.
- [11] TONUTTI P, BONGHI C, RAMINA A. Fruit firmness and ethylene biosynthesis in three cultivars of peach[J]. Horticultural Science, 1996, 71(1): 141-147.
- [12] YANG S F, HOFFMAN N E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1998, 35(1): 155-189.
- [13] LELIÈVRE J M, LATCHÈ A, JONES B, et al. Ethylene and fruit ripening[J]. Physiologia Plantarum, 1997, 101(4): 143-159.
- [14] BALBONTÍN C, GAETE-EASTMAN C, VERGARA M, et al. Treatment with 1-MCP and the role of ethylene in aroma development of mountain papaya fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2007, 43(1): 67-77.
- [15] GOLDIN J B, SHEARER D, WYLLIE S G, et al. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 1998, 14(1): 87-98.
- [16] 张晓萌, 贾丽娟. 挥发性香气物质和乙烯生产在“湖蜜露桃”果实发育过程中的变化[J]. 植物生理与分子生物学报, 2005, 31(1): 41-46.
- [17] ZHOU H W, LURIE S, BEN-ARIE R, et al. Intermittent warming of peaches reduces chilling injury by enhancing ethylene and enzymes mediated by ethylene[J]. Horticultural Science and Biotechnology, 2001, 76(5): 620-628.
- [18] FAN X, MATTHEIS J P, FELLMAN J K, et al. Effect of methyl jasmonate on ethylene and volatile production by summered apples depends on fruit developmental stage[J]. Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(1): 208-211.
- [19] SHAHEEN N J. Raising the bar in studies of endoscopic anti-reflux procedures[J]. Gastroenterology, 2005, 128(3): 779-782.
- [20] SRIVASTAVA M K, DWIVEDI U N. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid[J]. Plant Science, 2000, 158(1/2): 87-96.
- [21] 杨卫东, 李江阔, 张平, 等. 1-MCP处理对贮藏前预熟南果梨货架期间果实衰老的影响[J]. 华北农学报, 2010, 25(2): 164-167.
- [22] FAN X, MATTHEIS T P, FELLMAN J K. A role for jasmonates in climacteric fruit ripening[J]. Planta, 1998, 204(4): 444-449.
- [23] MOHAMED A H, GEJETA T H. Striga asiatica seed conditioning and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase activity[J]. Weed Research, 2001, 41(2): 165-176.
- [24] LIEBERMAN M, KUNISHI A, MAPSON L W, et al. Stimulation of ethylene production in apple tissue slices by methionine[J]. Plant Physiology, 1966, 41(3): 376-382.
- [25] CIN V D, RIZZINI F M, BOTTON A, et al. The ethylene biosynthetic and signal transduction pathways are differently affected by 1-MCP in apple and peach fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 42(2): 125-133.
- [26] JOHNSON P R, ECKER J R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective[J]. Annual Review of Genetics, 1998, 32: 227-254.