

黄添舆, 罗冬兰, 王小岗, 等. 褪黑素对青椒低温贮藏品质及能量代谢影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 324–332. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040056

HUANG Tianyu, LUO Donglan, WANG Xiaogang, et al. Effects of Melatonin on Storage Quality and Energy Metabolism of Green Pepper (*Capsicum frutescens* L.) During Low Temperature Storage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 324–332. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040056

· 贮藏保鲜 ·

褪黑素对青椒低温贮藏品质及能量代谢影响

黄添舆¹, 罗冬兰¹, 王小岗¹, 李江阔², 王秀芬¹, 曹 森^{1,*}

(1. 贵阳学院食品科学与工程学院, 贵州省果品加工工程技术研究中心, 贵州贵阳 550005;

2. 国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津), 农业农村部农产品贮藏保鲜重点实验室, 天津市农产品采后生理与贮藏保鲜重点实验室, 天津 300384)

摘要:为研究褪黑素对采后青椒果实贮藏品质和能量代谢的影响, 本研究以青椒为材料, 研究了 100、200 和 300 $\mu\text{mol/L}$ 浓度褪黑素对 9 $^{\circ}\text{C}$ 下贮藏的青椒果实品质及能量代谢的影响。结果表明, 褪黑素处理能有效地降低青椒果实腐烂率, 减缓青椒果实硬度的下降, 其中, 200 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素的处理效果最好; 此外, 褪黑素能推迟青椒果实辣椒碱含量、叶绿素含量的下降, 维持较低的丙二醛(MDA)含量, 抑制青椒三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)和腺嘌呤核苷酸(AXP)的降解, 促进一磷酸腺苷(AMP)含量的积累, 维持了较高的能荷水平。褪黑素也能维持青椒中的较高的琥珀酸脱氢酶(SDH)活性、细胞色素 C 氧化酶(CCO)活性、氢离子 ATP 酶(H^{+} -ATPase)酶活性和钙离子 ATP 酶(Ca^{2+} -ATPase)酶活性。相关性分析表明, 青椒的 ATP、ADP、AXP、能荷、 H^{+} -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 活性与腐烂率呈显著负相关($P<0.05$), 与辣椒碱和叶绿素含量呈显著正相关($P<0.05$), 并且青椒的 ATP、ADP、AMP、AXP、能荷和 H^{+} -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 活性互相之间均呈现显著正相关($P<0.05$), 表明褪黑素处理能够说明采后青椒贮藏期品质与能量水平紧密相关。研究结果可为褪黑素在控制采后青椒贮藏品质方面的应用提供技术参考。

关键词: 青椒, 褪黑素, 贮藏品质, 能量代谢, 相关性分析

中图分类号: TS255.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)02-0324-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040056



本文网刊:

Effects of Melatonin on Storage Quality and Energy Metabolism of Green Pepper (*Capsicum frutescens* L.) During Low Temperature Storage

HUANG Tianyu¹, LUO Donglan¹, WANG Xiaogang¹, LI Jiangkuo², WANG Xiufen¹, CAO Sen^{1,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Guiyang College, Guizhou Engineering Research Center for Fruit Processing, Guiyang 550005, China;

2. Tianjin Key Laboratory of Postharvest Physiology and Storage of Agricultural Products, Key Laboratory of Storage of Agricultural Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Engineering and Technology Research Center for Preservation of Agricultural Products (Tianjin), Tianjin 300384, China))

Abstract: In order to study the effect of melatonin on the storage quality and energy metabolism of postharvest green pepper (*Capsicum frutescens* L.). The green pepper was used as the experiment material in this experiment with different concentrations (100, 200 and 300 $\mu\text{mol/L}$) at low temperature (9 $^{\circ}\text{C}$). To investigate the effects of melatonin treatment on the storage quality and energy metabolism of green pepper fruits. The results showed that melatonin treatment could effectively reduce decay rate and slow down the decline of fruit hardness of green pepper. In particular, the treatment effect of

收稿日期: 2023-04-07

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科中引地[2022]4050); 贵阳市科技计划项目(筑科合同[2022]3-17号); 2022年贵阳学院硕士研究生科研基金项目(GYU-YJS[2022]-14)。

作者简介: 黄添舆(1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: 2034867204@qq.com。

* 通信作者: 曹森(1988-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: cs5638myself@126.com。

200 $\mu\text{mol/L}$ melatonin was the best. In addition, melatonin could delay the decline of capsaicin and chlorophyll content, maintained a lower MDA content, inhibited the degradation of ATP, ADP and AXP, promoted the accumulation of AMP content, and maintained a higher energy charge level in green pepper. Melatonin could also maintain high SDH, CCO, H^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase activity in green pepper. Correlation analysis showed that the activities of ATP, ADP, AXP, energy charge, H^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase in green pepper were significantly negatively correlated with the decay rate ($P<0.05$), and were significantly positively correlated with the contents of capsaicin and chlorophyll ($P<0.05$). Moreover, the activities of ATP, ADP, AMP, AXP, energy charge, H^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase in green pepper were significantly positively correlated with each other ($P<0.05$), indicating that melatonin treatment could explain that the quality of post-harvest green pepper was closely related to energy level during storage. The results of this study can provide technical reference for the application of melatonin in controlling the storage quality of postharvest green pepper.

Key words: *Capsicum frutescens*; melatonin; storage quality; energy metabolism; correlation analysis

青椒(*Capsicum frutescens* L.)为茄科辣椒属,因其味道独特,且含丰富营养价值而深受消费者喜爱^[1]。但由于青椒在贮藏期前易受机械损伤,失水和感染病原菌等,从而导致青椒出现长霉、腐烂等问题,严重影响青椒的商品价值。研究表明果蔬衰老期间会出现较低的能量状态^[2],如中国菜心叶片衰老^[3],牡丹切花褐变^[4],猕猴桃软化^[5]和茭白木质化^[6]与能量代谢障碍有关。Dong 等^[7]对蔷薇果实进行富氢水处理而产生的高 ATP 含量,抑制了采后衰老并保持了品质。Chen 等^[8]研究表明,低氧处理提高了采后草莓果实能量相关酶活性,保持了果实较高的能荷水平。桃果实经 NO 处理延缓了腐烂发生,并减轻了采后桃果实冷害,同样与维持了高能量电荷水平有关^[9]。因此,保持果蔬采后较高的能量水平有助于推迟果蔬贮藏期衰老进程,延长果蔬的贮藏期。

褪黑素(Melatonin, MT)是一种内源激素^[10],可以参与果蔬的生长、成熟、衰老等多种生理活动。研究表明褪黑素可以延缓果蔬采后品质下降及保持高能量水平,如褪黑素降低果实腐烂率和延缓硬度下降以维持抗氧化活性并保持桃果实的质量^[11],保持采后红托竹荪较高的能量水平^[12],抑制蓝莓果肉的软化^[13],有效延缓水蜜桃的成熟、冷害发生^[14]和维持荔枝果实的抗病能力^[15]。目前,关于 MT 处理对采后青椒贮藏的报道较少,尤其 MT 对青椒能量代谢的影响还未见报道。因此,本研究旨在研究外源褪黑素对青椒采后贮藏期间品质和能量代谢的影响,以期 MT 改善青椒贮藏品质和采后果实能量调控提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

青椒 贵州省修文县谷堡乡实验基地,选择色泽均匀,果柄笔直鲜嫩,无机械擦伤,无病虫害的青椒备用;褪黑素、ATP、ADP、AMP 上海源叶生物科技有限公司;辣椒碱 四川省维克奇生物科技有限公司;乙醇、甲醇 天津市富宇精细化工有限公司;丙酮、三氯乙酸、硫代巴比妥酸、高氯酸 国药集团化学试剂有限公司;氢氧化钾、蔗糖、乙二醇四乙酸 成都金山化学试剂有限公司;碳酸钙、磷酸氢二钠、

磷酸二氢钠、甘露醇、聚乙烯吡咯烷酮 天津市科密欧化学试剂有限公司;琥珀酸钠、DCPIP、甲硫酚嗪、细胞色素 C、对苯二胺 上海麦克林生化科技有限公司; H^+ -ATP 酶测试盒、 Ca^{2+} -ATP 酶测试盒 南京建成生物工程研究所。

TA.XT.Plus 质构仪 英国 SMS 公司;i5 紫外可见分光光度计 上海仪电公司;PK-16A 台式高速冷冻离心机 湖南平科科学仪器有限公司;PAL-1 型迷你数显折射计 日本 ATAGO 公司;1260 Infinity II GPC/SEC 高效液相色谱 美国安捷伦公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 在辣椒采收前 3 d 时,通过便携式手持喷雾器分别对已标记好的不同褪黑素处理组(100, 200, 300 $\mu\text{mol/L}$)和对照组(对照组喷施蒸馏水)果实表面进行喷施,为了保证处理的均匀性,待处理的青椒表面开始滴液即可,处理完 3 d 后对其进行采收运回实验室,选无机械伤、无病虫害、颜色一致的青椒分别装于聚乙烯薄膜内。在 $9\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $90\%\pm 5\%$ 相对湿度下预冷 24 h 后扎袋。在贮藏 0、10、20、30、40 d 时,分别测定不同组青椒的腐烂率和硬度,剩余的青椒果肉立即用液氮冻样并储存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 用于后期品质分析。

1.2.2 青椒腐烂率测定 腐烂率按文献 [16] 方法测量,腐烂率计算公式如下:腐烂率(%)=腐烂个数/样品贮藏个数 $\times 100$ 。

1.2.3 青椒硬度测定 硬度参考高成安等^[17]方法测量,并稍作修改。采用质构仪测定,探头型号 P2;测前 1 mm/s;测中 1 mm/s;测后 2 mm/s;穿刺深度 15 mm,每个样品重复测定 12 次,结果取平均值。其中硬度的表示方法采用 kg/cm^2 。

1.2.4 青椒辣椒碱含量测定

1.2.4.1 标准溶液配制 准确称取辣椒碱 0.0500 g,用甲醇溶解准确定容至 50 mL,配制成 1 mg/mL 的标准贮备液。用甲醇逐渐稀释分别得到 0、0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.2 mg/mL 的系列标准溶液。标准液浓度(x)与吸光度(y)之间的直线方程为 $y=16335.8939x-3.8176964$,决定系数 $R^2=0.9998$ 。

1.2.4.2 样品前处理 参考王穗萍等^[18]的方法测定

辣椒碱含量。称取青椒 1.00 g 研磨均匀, 70% 乙醇定容至 50 mL, 50 ℃ 恒温水浴振荡 2 h, 取出至室温过滤, 滤液经 0.45 μm 滤膜过滤, -20 ℃ 低温贮藏备用。

1.2.4.3 色谱条件 色谱柱 Inert sil ODS-SPC₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); A(水):B(甲醇)=30:70; 流速为 0.8 mL/min, 柱温 30 ℃, 进样体积 20 μL, 检测波长 230 nm。辣椒碱含量表示为每千克青椒中所含青椒辣椒碱含量(g/kg)。

1.2.4.4 定量测定 取系列标准溶液 20 μL 以浓度-峰面积绘制标准曲线, 样品液 20 μL, 以保留时间定性, 峰面积定量。

1.2.5 青椒叶绿素含量测定 根据 Zhang 等^[19]的方法测定叶绿素含量。取 1.00 g 果肉放入预冷研钵, 加入少许石英砂和碳酸钙粉充分研磨, 继续加入 20 mL 80% 丙酮研磨至白色, 过滤并定容至 50 mL 棕色容量瓶, 摇匀。在波长 663、645 和 652 nm 处测定吸光度。叶绿素含量以每克果蔬鲜果重中所含叶绿素的质量表示(mg/g)。

1.2.6 青椒 MDA 含量测定 根据 Zhang 等^[19]的方法测定 MDA 含量。称取 1.00 g 果肉加入 5.00 mL 100 g/L(三氯乙酸)TCA 溶液研磨, 转至离心管于 4 ℃、10000×g 离心 20 min, 收集 2.00 mL 上清液与 2.00 mL 0.67%(硫代巴比妥酸)TBA 混合, 沸水浴 20 min。分别测定混合液在波长 450、532 和 600 nm 处的吸光度。丙二醛含量以每克果蔬鲜果重中所含丙二醛的含量表示(nmol/g·m_F⁻¹)。

1.2.7 ATP、ADP、AMP 含量、能荷和 AXP 的测定

1.2.7.1 标准溶液配制 分别准确称取 ATP、ADP、AMP 各 10 mg, 用 100 mL 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.0)溶解, 配制成 100 mg/L 的标准贮备液。用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.0)等分稀释, 分别得到 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L 的系列标准溶液, 现配现用。ATP、ADP、AMP 标准液浓度(x)与吸光度(y)之间的直线方程分别为 $y=56621x-45477$, 决定系数 $R^2=0.9996$; $y=59819x+25949$, 决定系数 $R^2=0.9994$; $y=148078x-469001$, 决定系数 $R^2=0.9999$ 。

1.2.7.2 样品前处理 参考 Liu 等^[20]的方法测定, 并稍作修改。取 2.00 g 青椒样品于研钵中加入 0.6 mol/L 高氯酸, 冰浴下研磨匀浆, 在 4 ℃、10000×g 离心 30 min, 取上清液, 得到待测液, 用 1 mol/L KOH 溶液调节待测液 pH 至 6.5~6.8 之间, 所得溶液经 0.45 μm 滤膜过滤进行 HPLC 分析。

1.2.7.3 色谱条件 色谱柱 Inert sil ODS-SPC₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.0), 流动相 B 为乙腈, 设置流速为 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃, 进样体积 20 μL, 检测波长 254 nm。ATP、ADP、AMP 和 AXP 含量表示为(μg/g), $AXP=ATP+ADP+AMP$; 能荷 = $\frac{ATP+1/2ADP}{ATP+ADP+AMP}$ 。

1.2.7.4 定量测定 取系列标准溶液 20 μL 以浓度-峰面积绘制标准曲线, 样品液 20 μL, 以保留时间定性, 峰面积定量。

1.2.8 SDH、CCO 和 ATP 酶活性

1.2.8.1 样品前处理 根据 Jin 等^[21]的方法略微修改。称取 5.00 g 果肉, 加入 50 mmol/L 预冷的 Tris-HCl(pH7.5) 提取缓冲液(含 0.25 mol/L 蔗糖、1 mmol/L 乙二胺四乙酸、0.3 mol/L 甘露醇和 5 g/L 聚乙烯吡咯烷酮)充分研磨, 5 层纱布过滤, 滤液于 4 ℃ 下 10000 ×g 离心 10 min, 收集上清液再次离心 20 min。向得到的沉淀中加入 10 mmol/L 的 Tris-HCl(pH7.2)洗涤液(含 0.25 mol/L 蔗糖、1 mmol/L 乙二胺四乙酸和 0.3 mol/L 甘露醇), 重复上述两次离心操作, 最终的沉淀加入 1.5 mL 洗涤液即得线粒体粗酶液, 将其保存于 4 ℃ 下。

1.2.8.2 SDH 酶活 量取 0.2 mol/L 磷酸钾缓冲液(pH7.4, 含 0.2 mol/L 琥珀酸钠)与 0.9 mol/L 的 DCPIP 混合, 30 ℃ 保温 5 min, 冷却样品加入 0.1 mL 线粒体粗酶液, 混匀并添加 3.3 g/L(甲硫酚嗪)PMS 启动反应, 于 30 ℃ 保温 10 min。在 600 nm 波长处测定 1 min 的吸光度。SDH 活性以 U/g 表示。

1.2.8.3 SDH 酶活 向试管加入 0.2 mL 线粒体粗酶液、0.4 g/L 细胞色素 c 和蒸馏水, 于 37 ℃ 保温 2 min 后加入 4 g/L 对苯二胺溶液, 再次于 37 ℃ 下保温 10 min, 在 510 nm 波长处测定 1 min 的吸光度。CCO 活性以 U/g 表示。

1.2.8.4 ATP 酶活 使用活性检测试剂盒, 按照生产商说明书检测 H⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性。1 个单位的 ATP 酶活性定义为在 660 nm 和 636 nm 处每分钟催化产生 1 μmol 磷的酶量。ATP 酶活性以 U/mg 表示。

1.3 数据处理

所有实验结果均重复 3 次, 并以平均值±标准差表示。使用 SPSS 23.0 统计软件对数据进行统计分析及其显著性水平分析($P<0.05$), 并用 Origin 2021 对数据进行作图。

2 结果与分析

2.1 MT 对青椒腐烂率的影响

腐烂率是判断果实贮藏品质最直观的指标之一。褪黑素对低温贮藏 40 d 青椒腐烂率的影响见图 1。如图 1 所示, 在贮藏期 20 d 时, CK 组青椒的腐烂率为 2%, 而处理组的青椒还未发现腐烂。在贮藏期 40 d 时, CK 组的青椒腐烂率分别是 100、200 和 300 μmol/L 处理组的 0.59、0.37 和 0.68 倍, 其中, 300 μmol/L 处理组的腐烂率迅速上升, 可能是较高浓度的外源褪黑素促进了青椒内源褪黑素的合成, 从而触发乙烯的产生, 进而促进青椒成熟衰老。这与 Mansouri 等^[22]的结果类似。而 200 μmol/L 处理组的青椒腐烂率显著低于其它组($P<0.05$)。因此, 褪

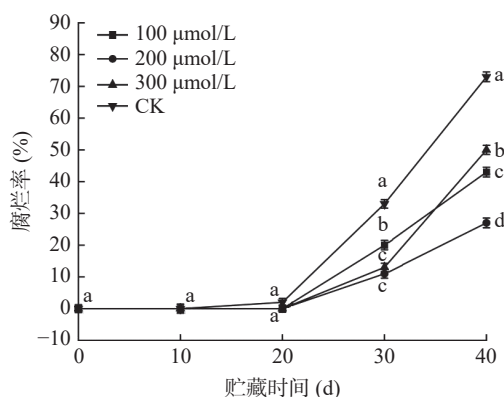


图 1 MT 处理对青椒腐烂率的影响

Fig.1 Effect of MT treatment on decay rate in green pepper

注: 不同小写字母表示不同处理在 $P<0.05$ 水平差异显著, 图 2~图 7 同。

褪黑素处理能有效降低贮藏期青椒的腐烂。

2.2 MT 对青椒硬度的影响

果实硬度可直观地反映果实的软化程度。如图 2 所示, 青椒的硬度在贮藏期间呈现逐渐降低的趋势。青椒贮藏期初始硬度为 3.21 kg/cm^2 , 在贮藏 40 d 时, $200 \mu\text{mol/L}$ 处理组果实硬度为 2.12 kg/cm^2 , 显著高于对照组 ($P<0.05$)。在整个贮藏期间, CK 组的果实硬度下降了 1.72 kg/cm^2 , 而 100、200 和 $300 \mu\text{mol/L}$ 处理组的果实硬度分别下降了 1.30、0.87 和 1.67 kg/cm^2 。结果表明, MT 处理能有效延缓果实硬度下降, 其中 $200 \mu\text{mol/L}$ 处理的果实品质最好。

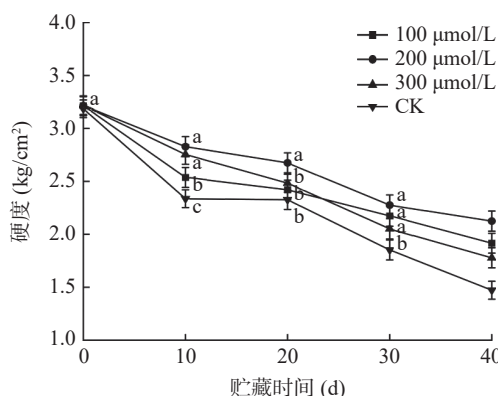


图 2 MT 处理对青椒硬度的影响

Fig.2 Effect of MT treatment on hardness in green pepper

通过以上实验结果可以得出, $200 \mu\text{mol/L}$ 褪黑素对贮藏期间青椒的外观品质和硬度的保持效果最好, 并且能够显著降低辣椒的腐烂率。因此, 在后续研究中选取 $200 \mu\text{mol/L}$ 褪黑素处理的青椒, 探讨外源褪黑素处理对青椒的贮藏品质及能量代谢的影响。

2.3 MT 对青椒辣椒碱含量的影响

辣椒碱是辣椒贮藏期间重要的品质指标。如图 3 所示, CK 组和 MT 处理组的辣椒碱含量在贮藏期间呈现先降后升最后迅速下降的趋势。在贮藏期 10 d 时, CK 组和 MT 处理组的辣椒碱含量无显著差异 ($P>0.05$)。从贮藏期 30 d 开始, CK 组辣椒碱含量

开始快速下降, 而 MT 处理组辣椒碱含量下降的缓慢。在贮藏期 40 d 时, CK 组和 MT 组的辣椒碱含量分别为 1.53 g/kg 和 0.67 g/kg , 并且 MT 组辣椒碱含量显著高于 CK 组 ($P<0.05$)。由此可见, MT 处理能有效抑制青椒辣椒碱的降解, 保持青椒的外观品质。

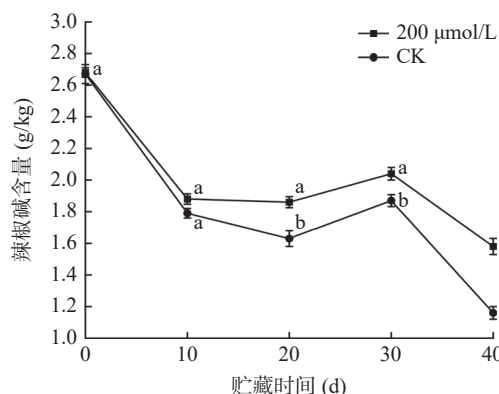


图 3 MT 处理对青椒辣椒碱含量的影响

Fig.3 Effect of MT treatment on capsaicin content in green pepper

2.4 MT 对青椒叶绿素含量的影响

果蔬色泽是构成其品质的重要因素, 不仅反映果蔬的新鲜度, 还可促进人们的食欲, 也是检验果蔬成熟衰老的依据。经过 MT 处理后, 青椒果实的叶绿素含量在低温贮藏过程中逐渐降低 (图 4), 而 CK 组的叶绿素含量迅速降低。在贮藏期 10 d 时, MT 处理果实的叶绿素含量为 0.06 mg/g , 而 CK 组迅速降低到 0.05 mg/g 。在贮藏期 20~30 d 时, MT 处理组叶绿素逐渐降解, 但与 CK 组无显著差异 ($P<0.05$), 直至贮藏期 40 d, MT 处理组叶绿素含量是 CK 组的 0.71 倍, 显著高于 CK 组 ($P<0.05$)。由此可见, MT 处理组在整个贮藏期叶绿素含量稳定高于 CK 组, 可有效减少青椒叶绿素含量的损失。这与外源 MT 处理可通过保持芥菜^[23]叶绿体结构完整性以减缓叶绿素下降的研究结果一致。

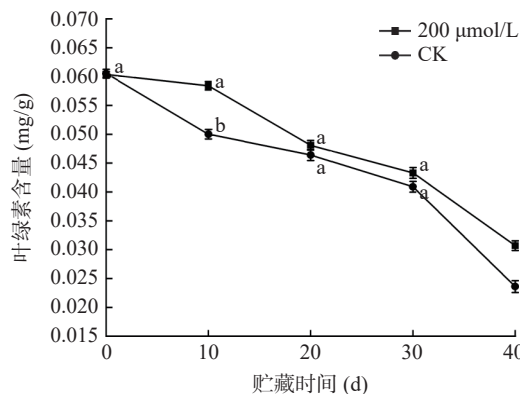


图 4 MT 处理对青椒叶绿素含量的影响

Fig.4 Effect of MT treatment on chlorophyll content in green pepper

2.5 MT对青椒MDA含量的影响

MDA是膜脂过氧化产物,是青椒衰老的一种标志。在整个贮藏期,MDA含量呈现急剧增加趋势

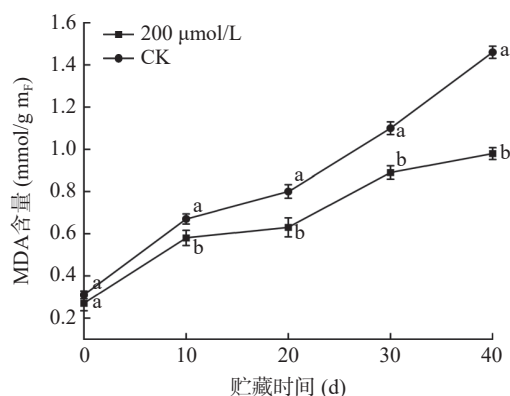


图5 MT处理对青椒MDA含量的影响

Fig.5 Effect of MT treatment on MDA content in green pepper

(图5)。贮藏期初始,MT处理组和CK组的MDA含量分别为0.27和0.31 nmol/g。从贮藏期10 d开始,MT处理的果实MDA含量显著低于CK组($P<0.05$)。在贮藏期20 d和30 d时,MT处理的果实MDA含量分别比对照降低3.53%和5.54%。30~40 d时,CK组的MDA含量增加了0.36 nmol/g,而MT处理的果实MDA含量仅增加0.09 nmol/g。结果表明,MT处理能有效降低青椒在贮藏过程中MDA含量的积累水平,进一步延缓果实品质败坏。

2.6 MT对青椒ATP、ADP、AMP、AXP含量及EC的影响

ATP作为能量的直接利用形式,是反映青椒采后衰老和能量耗竭的重要标志。在贮藏期间,青椒中ATP和AXP的含量持续下降(图6A、图6D)。贮藏期10 d时,ATP和AXP含量缓慢下降,CK组

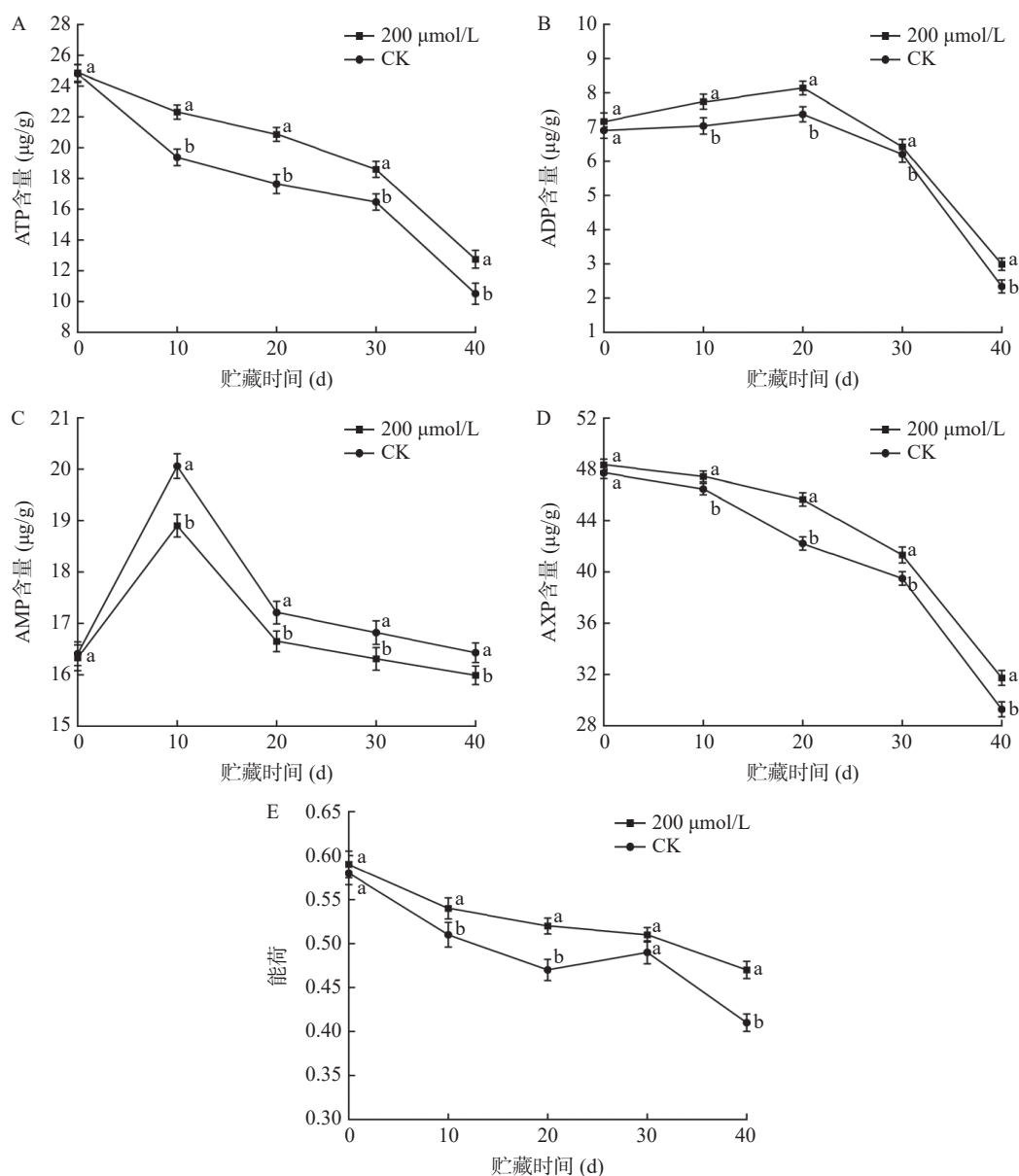


图6 MT处理对青椒ATP(A)、ADP(B)、AMP(C)含量、AXP(D)和能荷(E)的影响

Fig.6 Effects of MT treatment on ATP content (A), ADP content (B), AMP content (C), AXP content (D) and energy charge (E) in green pepper

的 ATP、AXP 含量分别为 19.37 和 46.46 $\mu\text{g/g}$, 而 MT 处理组 ATP 和 AXP 含量维持较高水平, 分别为 22.31 和 47.45 $\mu\text{g/g}$, 显著高于 CK 组 ($P<0.05$)。从贮藏期 30 d 开始, 直至 40 d, ATP 和 AXP 含量迅速下降, CK 组的 ATP 和 AXP 含量分别下降了 5.96 和 10.21 $\mu\text{g/g}$, 而 MT 处理的青椒果实 ATP 和 AXP 含量显著高于 CK 组 ($P<0.05$)。结果表明, MT 处理组相比 CK 组可以更好的保持 ATP 和 AXP 含量, 进而保护青椒的品质。

能量水平与其衰老进程和抗逆能力密切相关。如图 6B、图 6C 所示, ADP 和 AMP 水平在贮藏期间显示先缓慢上升后迅速下降的趋势。在贮藏期 20 d 时, ADP 含量达到整个贮藏期的高峰, MT 处理组和 CK 组含量分别为 7.74 和 7.03 $\mu\text{g/g}$ 。贮藏期 30~40 d, MT 处理组和 CK 组的 ADP 含量都迅速下降, 但 MT 处理组显著高于 CK 组 ($P<0.05$)。与 MT 处理组相比, 在 10 d 时, CK 组的青椒在贮藏期间的 AMP 含量急剧增加, 达到了 20.06 $\mu\text{g/g}$ 。随贮藏期延长, 在 20、30、40 d 时, CK 组中 AMP 含量不断下降, 分别为 16.65、16.31 和 15.99 $\mu\text{g/g}$, 但 CK 组 AMP 显著高于处理组 ($P<0.05$)。

能荷是能量代谢的综合指标, 青椒能量供应不足, 就会导致其加速衰老或死亡。如图 6E 所示, MT 处理组果实能荷在 0~40 d 呈下降趋势, 而 CK 组果实能荷在 0~20 d 逐渐下降, 20~30 d 时出现上升趋势, 能荷为 0.49, 但始终低于 MT 处理组能荷。在贮藏期 40 d 时, MT 处理组、CK 组能荷急剧下降, 分别为 0.47 和 0.41, 但 CK 组能荷显著低于 MT 处理组 ($P<0.05$)。这些结果表明, 青椒在贮藏期间的能量状态呈下降趋势。MT 处理有效抑制 ATP、ADP、AXP 和能荷的下降, 保持较高的能量水平, 缓解了采后青椒的能量亏缺。

2.7 MT 对青椒 SDH、CCO 和 ATP 酶活性影响

SDH、CCO 和 ATP 酶是细胞线粒体进行呼吸代谢的关键酶, 与细胞能量供应不足有着密切联系, 以上能量代谢关键酶的失活可能导致果蔬细胞衰老和死亡。在本研究中, 有或无 MT 处理的青椒, SDH 活性在整个贮藏期呈现下降趋势。贮藏期 0~20 d 时, SDH 活性缓慢下降, MT 处理组的 SDH 活性为 12.27 U/g, CK 组的 SDH 活性为 11.37 U/g。从 20 d 开始, 直至 40 d 时, SDH 活性急剧下降(图 7A)。相比之下, MT 处理后贮藏期间 SDH 活性较高, 显著高于 CK 组 ($P<0.05$)。在整个贮藏期, CCO 活性缓慢下降(图 7B)。与 SDH 活性变化相似, MT 处理抑制了 CCO 活性的下降, 在 40 d 时, 其活力值比 CK 组高 3.63 U/g。

MT 处理抑制了 H^+ -ATP 酶活性的降低, 在经过 MT 处理的青椒中维持了较高水平的 H^+ -ATP 酶活性。贮藏期 0~10 d 时, MT 处理组和 CK 组的 H^+ -ATP 酶活性分别下降到 4.00 U/mg 和 3.04 U/mg。

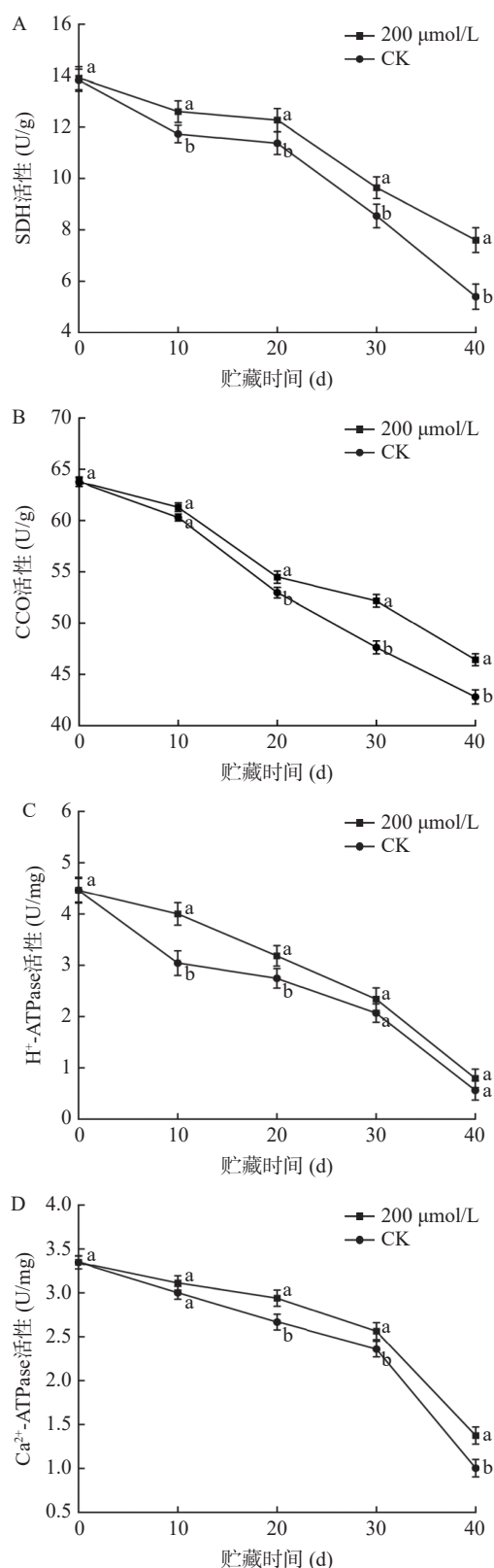


图 7 MT 处理对青椒 SDH(A)、CCO(B)、 H^+ -ATPase(C)和 Ca^{2+} -ATPase 活性(D)的影响

Fig.7 Effect of MT treatment on SDH activity (A), CCO activity (B), H^+ -ATPase activity (C) and Ca^{2+} -ATPase activity (D) in green pepper

到贮藏期 40 d 时, MT 处理组的 H^+ -ATP 酶活性降至 0.79 U/mg, 但 MT 处理组 H^+ -ATP 酶活性高于 CK 组(图 7C)。MT 处理后的青椒 Ca^{2+} -ATP 酶活性在 0~20 d 急剧下降至 2.73 U/mg, 随后逐渐下降

至 40 d, Ca^{2+} -ATP 酶活性为 1.38 U/mg(图 7D)。然而 CK 组的 Ca^{2+} -ATP 酶活性在第 40 d 仅含 1.10 U/mg。与 CK 组相比, 外源 MT 处理在整个贮藏期内显著提高了 Ca^{2+} -ATPase 活性。贮藏过程中, MT 处理的青椒 SDH、CCO、 H^{+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性均高于 CK 组, 变化趋势总体相似。总的来说, MT 增强了能量相关酶的活性, 使青椒中 ATP 含量升高。

2.8 青椒生理品质与能量指标的相关性分析

图 8 为青椒生理品质与能量代谢相关酶进行相关性分析, 由图 8 可知, 青椒的腐烂率与叶绿素、ATP、ADP、AXP、能荷、SDH、CCO 和 ATP 酶呈显著负相关($P<0.05$), 与 MDA 含量呈显著正相关($P<0.05$)。说明贮藏期间腐烂率、叶绿素、ATP、ADP、AXP、能荷、SDH、CCO 和 ATP 酶均能影响青椒的保鲜效果。另外, 辣椒碱含量与能荷水平及 CCO 活性呈显著性正相关($P<0.05$), 相关系数分别为 0.66 和 0.60, 这一结果表明, 能荷水平和能量代谢相关酶也影响着青椒的辣椒碱含量。本试验结果中, 发现青椒的叶绿素含量与腐烂率、MDA 含量呈显著负相关($P<0.05$), 相关系数分别为 -0.70 和 -0.82, 叶绿素含量与能量代谢途径相关酶呈显著性正相关($P<0.05$)。新鲜青椒的呼吸作用和能量代谢都非常旺盛, 而线粒体是生物组织发生呼吸作用和产生能量物质 ATP 的重要场所, 破坏其结构和功能就会降低能量生成效率, 从而导致细胞能量供应不足, 加速衰老或死亡。同时, 郑剑英^[24]研究发现线粒体呼吸代谢酶 H^{+} -ATPase、SDH 和 CCO 是细胞线粒体进行呼吸代谢所需的关键酶, 一旦上述几种酶活性下降会对能量合成产生影响, 导致细胞能量供应不足。ATP、ADP、AXP 和能荷与青椒的腐烂率呈显著性

负相关($P<0.05$), 青椒 SDH、CCO 活力值与辣椒碱和叶绿素含量呈显著性正相关($P<0.05$), 与 MDA 含量呈显著性负相关($P<0.05$), 相关系数分别是 -0.83 和 -0.86。 H^{+} -ATPase 活性与叶绿素含量、ATP、AXP、能荷、SDH 活性和 Ca^{2+} -ATPase 活性呈极显著性正相关($P<0.01$), 与腐烂率和 MDA 含量呈显著负相关($P<0.05$), 与 ADP 和 CCO 活性之间相关性显著。综上, 说明它们适合青椒的生理品质测定, 并且能量水平的变化一定程度上影响青椒的品质, 互相之间存在某种密切联系。

3 讨论

贮藏期果蔬的品质变化反映其衰老进程^[25-26]。本研究发现 $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ MT 处理对抑制青椒腐烂率的上升和延缓青椒硬度下降的效果最好(图 1、图 2), 这说明适宜浓度 MT 处理能够更好地维持青椒质地, 同时抑制了青椒体内叶绿素和辣椒碱的代谢分解(图 3、图 4), 降低了青椒 MDA 含量的积累(图 5)。有研究报道褪黑激素延缓了荔枝的褐变发生速率和抑制 MDA 的积累^[27], 保持了甜樱桃的采后品质^[28]。Wang 等^[23]报道称, 外源 MT 处理可以保持叶绿体结构完整性, 有效地减缓芥菜叶绿素下降和保持其品质。ATP 被认为是一切生物体活动的动力。此外, 许多研究表明, 能量不足会导致蔬菜和水果的采后品质衰败, 如龙眼果皮褐变^[29], 西兰花芽^[30], 以及芦笋的发病率^[31]。本研究表明青椒经 MT 处理后保持较高的能量状态, 说明 MT 处理能维持采后青椒中较高的能荷水平。

能量代谢的强度通过果蔬的能量状态和能量代谢相关的酶活性来反映^[32]。采后能量代谢与线粒体呼吸代谢关键酶有着重要联系, 包括 SDH、CCO 和

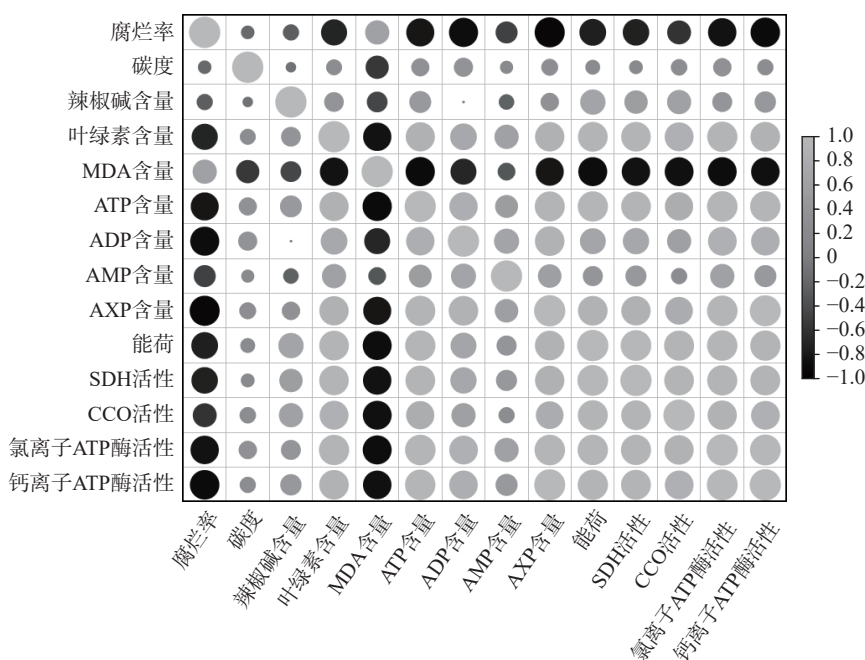


图 8 青椒生理品质与能量指标的相关分析

Fig.8 Correlation analysis of physiological quality and energy index in green pepper

ATP 酶^[33]。ATP 酶作为参与能量代谢和供应必需酶起作用^[34]。H⁺-ATP 酶是泵送质子、产生质子和产生 ATP 的主要转运蛋白^[35]。Ca²⁺-ATP 酶将 Ca²⁺从细胞质转运至线粒体和液泡以确保能量产生^[36], 电子通过 Ca²⁺依赖性的复合物 I 进入电子传递链(ETC), 将 NADH 氧化成 NAD⁺^[37]。SDH 能够催化琥珀酸氧化为延胡索酸, 并将 H⁺传递到 FAD 形成 FADH₂。CCO 为电子传递链的末端氧化酶, 能将接收到的电子传递并激发 O₂, 与线粒体基质中的 H⁺结合生成水。就本身而言, 能量代谢相关酶其活性的大小影响 ATP 生成效率, 导致能量合成不足, 加速果蔬组织的衰老和褐变。王迪^[38]报道称, 外源 MT 处理可以有效地减缓梨果实的褐变来延缓鲜切梨的衰老, 从而抑制 SDH 和 CCO 活性下降。这些作用可能是由于 MT 抑制能量代谢相关酶活性的下降, 从而调节能量代谢。在本研究中, MT 处理提高了采后青椒中 SDH、CCO、H⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶(图 7)的活性, 这有助于抑制青椒中 ATP 和 EC 的损失。因此, MT 对青椒能量代谢机制的影响有待于进一步的分子生物学研究。

通过相关性分析, 可以得出青椒的 ATP、ADP、AXP、能荷和 H⁺-ATPase 与腐烂率、MDA 含量呈显著负相关($P<0.05$), 与辣椒碱和叶绿素含量呈显著正相关($P<0.05$); ATP 含量与 AXP、能荷、SDH、H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 酶活性均呈极显著正相关($r=0.92^{**}$, $r=0.94^{**}$, $r=0.90^{**}$, $r=0.95^{**}$, $r=0.95^{**}$); 实验结果表明, MT 处理青椒果实采后生理品质与能量代谢的关系极为密切。

4 结论

采前喷施 200 $\mu\text{mol/L}$ MT 能有效降低采后青椒腐烂率的发生, 延缓硬度下降, 减少辣椒碱和叶绿素含量损失, 维持较低的丙二醛(MDA)含量, 有利于延缓青椒衰老; 同时 200 $\mu\text{mol/L}$ MT 显著增加了 ATP、ADP、AXP 和能荷水平, 提高了 SDH、CCO、H⁺-ATP 和 Ca²⁺-ATP 酶活性, 维持果实组织的正常能量代谢。相关性分析结果表明, 青椒的腐烂率与叶绿素、ATP、ADP、AXP、能荷、SDH、CCO 和 ATP 酶呈显著负相关($P<0.05$), 青椒的能量水平与 MDA 含量呈显著负相关($P<0.05$), 与辣椒碱含量呈显著正相关($P<0.05$), 这些结果表明, 能量水平是青椒果实腐烂衰败的重要原因。综上所述, 褪黑素能够有效保持青椒的贮藏品质, 保持较高的能量水平, 抑制果实的衰老进程, 但褪黑素对青椒能量代谢的分子机制影响还尚需进一步研究。

参考文献

- [1] WANG L Y, HU J P, LI D S, et al. Isolation and control of *Botrytis cinerea* in postharvest green pepper fruit[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 302: 111159.
- [2] WANG T, HU M, YUAN D B, et al. Melatonin alleviates pericarp browning in litchi fruit by regulating membrane lipid and energy metabolisms[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2020, 160:

111066.

- [3] TAN X L, FAN Z Q, ZENG Z X. Exogenous melatonin maintains leaf quality of postharvest Chinese flowering cabbage by modulating respiratory metabolism and energy status[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2021, 177: 111524.
- [4] SHI Z J, YANG H Y, JIAO J Y, et al. Effects of graft copolymer of chitosan and salicylic acid on reducing rot of postharvest fruit and retarding cell wall degradation in grapefruit during storage[J]. *Food Chemistry*, 2018, 283: 92–100.
- [5] GAO H, LU Z M, YANG Y, et al. Melatonin treatment reduces chilling injury in peach fruit through its regulation of membrane fatty acid contents and phenolic metabolism[J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 659–666.
- [6] YANG Z F, CAO S F, SU X G, et al. Respiratory activity and mitochondrial membrane associated with fruit senescence in postharvest peaches in response to UV-C treatment[J]. *Food Chemistry*, 2014, 161: 16–21.
- [7] DONG B, ZHU D Q, YAO Q P, et al. Hydrogen-rich water treatment maintains the quality of Rosa sterilis fruit by regulating antioxidant capacity and energy metabolism[J]. *LWT-Food Science Technology*, 2022, 161: 113361.
- [8] CHEN S L, LIN J Z, LIN H T, et al. Salicylic acid reduces the incidence of *Phomopsis longanae* Chi infection in harvested longan fruit by affecting the energy status and respiratory metabolism[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2020, 160: 111035.
- [9] 宋丛丛. NO 处理对不同肉质桃果实冷藏过程中呼吸作用的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2021. [SONG C C. Effects of NO treatment on the respiration of different fleshy peach fruit during cold storage[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS). 2021.]
- [10] 瞿光凡, 巴良杰, 王瑞, 等. 褪黑素在果蔬采后保鲜的应用研究进展[J]. 包装工程, 2022, 43(7): 45–51. [QU G F, BA L J, WANG R, et al. Application of melatonin in postharvest preservation of fruits and vegetables[J]. *Packaging Engineering*, 2022, 43(7): 45–51.]
- [11] 赵治兵, 黄婷婷, 吕嘉瀚, 等. 褪黑素结合丁香酚处理对红桃贮藏品质的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(23): 341–346. [ZHAO Z B, HUANG T T, LÜ J H, et al. Effect of melatonin coupling with eugenol treatment on storage quality of red *Amygdalus persica*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(23): 341–346.]
- [12] 马超, 王如福, 陈光贤, 等. 外源褪黑素处理对红托竹荪鲜品贮藏品质的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(16): 363–370. [MA C, WANG R F, CHEN G X, et al. Effect of exogenous melatonin treatments on the storage quality of *Dictyophora rubrovolvata*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(16): 363–370.]
- [13] QU G F, BA L J, WANG R, et al. Effects of melatonin on blueberry fruit quality and cell wall metabolism during low temperature storage[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 42.
- [14] 朱芹. 外源褪黑素和热处理对冷藏水蜜桃冷害发生的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2020. [ZHU Q. Effects of exogenous melatonin and heat treatment on chilling injury of peach[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020.]
- [15] WANG M C, ZHAO S W, ZHU P L, et al. Purification, characterization and immunomodulatory activity of water extractable polysaccharides from the swollen culms of *Zizania latifolia*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107: 882–890.

- [16] CAO J P, WANG C Y, XU S T, et al. The effects of transportation temperature on the decay rate and quality of postharvest Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) fruit in different storage periods [J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 247: 42–48.
- [17] 高成安, 毛奇, 万红建, 等. 不同贮藏温度对绿熟期辣椒果实品质的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 2022, 30(2): 226–235.
- [18] GAO C A, MAO Q, WAN H J, et al. Effects of temperature on the post-harvest quality of chili pepper (*Capsicum annum* L.) [J]. *Chinese Journal of Ecological Agriculture*, 2022, 30(2): 226–235.
- [19] 王穗萍, 夏廷斌, 彭进, 等. 高效液相色谱法测定富含油脂辣椒制品中的辣椒素类物质 [J]. *分析试验室*, 2007(12): 39–43.
- [20] WANG S P, XIA Y B, PENG J, et al. Determination of capsaicinoids in highly oil-containing pepper products by high performance liquid chromatography [J]. *Analytical Laboratory*, 2007(12): 39–43.
- [21] ZHANG Z K, HUBER D J, QU H X, et al. Enzymatic browning and antioxidant activities in harvested litchi fruit as influenced by apple polyphenols [J]. *Food Chemistry*, 2015, 171: 191–199.
- [22] LIU H, JIANG Y M, JIANG W B. A simple and rapid determination of ATP, ADP and AMP concentrations of pericarp tissues of litchi fruit by high performance liquid chromatography [J]. *Food Technology and Biotechnology*, 2006, 44: 531–534.
- [23] JIN P, ZHU H, WANG J, et al. Effect of methyl jasmonate on energy metabolism in peach fruit during chilling stress [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(8): 1827–1831.
- [24] MANSOURI S, SARIKHANI H, SAYYARI M, et al. Melatonin accelerates strawberry fruit ripening by triggering GAMYB gene expression and promoting ABA accumulation [J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 281: 109919.
- [25] WANG H B, CHENG X, WU C, et al. Retardation of postharvest softening of blueberry fruit by methyl jasmonate is correlated with altered cell wall modification and energy metabolism [J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 276: 109752.
- [26] 郑剑英. 不同处理对低温下甘薯糖代谢、能量代谢和酚类代谢的调控研究 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2015.
- [27] ZHENG J Y. Physiological and biochemical changes in fresh-cut bamboo shoots (*Phyllostachy pubescens*) during preservation [D]. Hangzhou: Zhejiang Agricultural and Forestry University, 2015.
- [28] SHANG F Z, LIU R L, WU W J, et al. Effects of melatonin on the components, quality and antioxidant activities of blueberry fruits [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 147(5): 111582.
- [29] GE Y H, DUAN B, LI C Y, et al. γ -aminobutyric acid delays senescence of blueberry fruit by regulation of reactive oxygen species metabolism and phenylpropanoid pathway [J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 240: 303–309.
- [30] XIE F, YUAN S Z, PAN H X, et al. Effect of yeast mannan treatments on ripening progress and modification of cell wall polysaccharides in tomato fruit [J]. *Food Chemistry*, 2017, 218: 509–517.
- [31] WANG F, ZHANG X P, YANG Q Z, et al. Exogenous melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweetcherries [J]. *Food Chemistry*, 2019, 301: 125311.
- [32] LIN Y X, LIN Y F, CHEN Y H, et al. Effect of pre-harvest spray application of diethyl Aminoethyl Hexanoate on the energy metabolism in Longan fruit pericarp during postharvest storage [J]. *Food Chemistry*, 2022, 43(5): 175–184.
- [33] LI L, LÜ F Y, GUO Y Y, et al. Respiratory pathway metabolism and energy metabolism associated with senescence in postharvest broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) florets in response to O₂/CO₂ controlled atmospheres [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 111: 330–336.
- [34] HU W Y, ZHANG X Y, GODANA E A, et al. Yarrowia lipolytica reduces the disease incidence of asparagus infected by *Fusarium proliferatum* by affecting respiratory metabolism and energy status [J]. *Biological Control*, 2021, 159: 104625.
- [35] PIECHOWIAK T, SOWA P, BALAJEJDER M. Effect of ozonation process on the energy metabolism in raspberry fruit during storage at room temperature [J]. *Food Bioprocess Technology*, 2021, 14: 483–491.
- [36] LI C T, SUO J W, XUAN L L, et al. Bamboo shoot-lignification delay by melatonin during low temperature storage [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 156: 110933.
- [37] CHEN C Y, PENG X, CHEN J Y, et al. Mitigating effects of chitosan coating on postharvest senescence and energy depletion of harvested pummelo fruit response to granulation stress [J]. *Food Chemistry*, 2021, 348: 129113.
- [38] LIN Y F, LIN Y X, LIN H T, et al. Application of propyl galate alleviates pericarp browning in harvested longan fruit by modulating metabolisms of respiration and energy [J]. *Food Chemistry*, 2018, 240: 863–869.
- [39] LIN Y F, LIN Y X, LIN H T, et al. Hydrogen peroxide-induced pericarp browning of harvested longan fruit in association with energy metabolism [J]. *Food Chemistry*, 2017, 225: 31–36.
- [40] LUO S F, HU H L, WANG Y, et al. The role of melatonin in alleviating the postharvest browning of lotus seeds through energy metabolism and membrane lipid metabolism [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2020, 167: 111243.
- [41] 王迪. 高二氧化碳处理调控鲜切梨果实品质机制的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
- [42] WANG D. Regulatory mechanism of high carbon dioxide treatment on quality of fresh-cut pears [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.