

张若妍, 钟宇, 王丹凤, 等. 基于理化分析和机器学习研究低温气调对采后番荔枝冷害的影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(11): 20–28. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110004

ZHANG Ruoyan, ZHONG Yu, WANG Danfeng, et al. Effects of Modified Atmosphere Package on the Chilling Injury of Postharvest Atemoya Fruits Based on Physiochemical Analysis and Machine Learning[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(11): 20–28. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110004

· 特邀主编专栏—人工智能在食品工业中的应用 (客座主编: 闵巍庆、郭志明、朱金林) ·

基于理化分析和机器学习研究低温气调对采后番荔枝冷害的影响

张若妍¹, 钟宇¹, 王丹凤¹, 郭峰², 周国萍², 邓云^{1,*}

(1.上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240;

2.云南滇滇农业发展有限公司, 云南楚雄 651300)

摘要: 本文旨在探究气调包装对番荔枝冷害的影响, 并通过机器学习解析各指标与冷害的关系。以室温 (RT, 25 °C)、低温 (LT, 10 °C) 和低温气调包装 (CA, 10 °C) 贮藏条件下的果实为试验材料, 测定 7 d 内果肉硬度、冷害指数 (CI)、总酚、相对电导率 (EC)、苯丙氨酸裂解酶 (PAL) 活性等理化指标。结果表明, 低温贮藏有效延缓番荔枝后熟, 抑制软化, 但易造成冷害现象, 表现为果肉出现水浸状损伤, 细胞膜透性增加, 丙二醛积累。在此基础上, 建立多种机器学习算法, 筛选出预测 CI 的最优模型为 Ridge 回归。解释性分析 (SHapley Additive exPlanations, SHAP) 显示, 贮藏时间、可溶性固形物、失重率、可溶性蛋白和总酚对模型贡献较大, 与低温胁迫紧密联系。低温结合气调通过增加可溶性物质和酚类含量, 提高机体渗透调节和清除活性氧能力, 从而维持膜结构完整性以缓解低温冷害。

关键词: 番荔枝, 气调包装, 低温冷害, 机器学习, Ridge 回归

中图分类号: TS205.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)11-0020-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110004



本文网刊:

Effects of Modified Atmosphere Package on the Chilling Injury of Postharvest Atemoya Fruits Based on Physiochemical Analysis and Machine Learning

ZHANG Ruoyan¹, ZHONG Yu¹, WANG Danfeng¹, GUO Feng², ZHOU Guoping², DENG Yun^{1,*}

(1.School of Agriculture and Biology, Shanghai JiaoTong University, Shanghai 200240, China;

2.Yunnan Zhedian Agriculture Development Company Limited, Chuxiong 651300, China)

Abstract: The study aimed to investigate the effects of modified atmosphere package combined with low-temperature storage on the chilling injury of atemoya and analyze the relationship between the physiochemical indexes and chilling stress by machine learning. The fruits were stored at room temperature (RT, 25 °C), low temperature (LT, 10 °C) and low temperature combined with modified atmosphere package (CA, 10 °C), and quality indicators such as flesh firmness, chilling injury index (CI), total phenols, relative electrolyte conductivity (EC), and phenylalanineammonialyas (PAL) activity were measured within 7 days. The results indicated that low-temperature storage effectively delayed the ripening of atemoya, retarding the decrease of flesh firmness. But atemoya stored at low temperature suffered from chilling stress, emerging soaking spots, EC increased and the content of MDA in the flesh accumulated. On this basis, several machine learning algorithms were established and the optimal model chosen for predicting CI was Ridge regression. Explanation analysis (SHapley Additive exPlanations, SHAP) showed that storage time, soluble solids, water loss rate, soluble proteins,

收稿日期: 2023-11-03

基金项目: 云南省科技厅科技创新引导与科技型企业培育计划 (BP090031); 自然科学基金面上项目 (32072270)。

作者简介: 张若妍 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与包装, E-mail: zhangruoyan0629@sjtu.edu.cn。

* 通信作者: 邓云 (1973-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品加工与包装, E-mail: y_deng@sjtu.edu.cn。

and total phenols contributed significantly to the model and were closely related to chilling stress. Low temperature combined with modified atmosphere could increase the content of soluble substances and phenols, enhance the osmoregulation capacity and clearing-reactive-oxygen ability, and thus maintain the integrity of membrane and mitigate the chilling injury.

Key words: atemoya; modified atmosphere package; chilling injury; machine learning; Ridge regression

番荔枝属(*Annona*)起源于美洲地区,在热带和亚热带广泛分布^[1]。因其风味口感好、营养价值高而受到消费者的青睐^[1-2]。然而,番荔枝是一种呼吸跃变型水果,采后生理代谢旺盛,呼吸强度高,乙烯释放量大^[1]。在储运和销售过程中,果肉迅速软化,易受机械损伤,室温下寿命仅为 2~3 d^[1]。

低温冷藏广泛用于果蔬采后贮运,通过降低代谢水平,延缓后熟衰老,以满足消费者对产品质量安全和新鲜度的需求^[3]。但是,番荔枝是一种亚热带水果,对低温敏感,易发生冷害,典型表现为果皮褐变、风味丧失,品质下降^[4]。10℃贮藏 9 d 后番荔枝未实现完全成熟,转移到 25℃下后熟果肉立即失去正常形态^[5]。6℃低温贮藏 3 d 即可导致果实酸中毒,贮藏 20 d 果实也无法完成后熟^[6-7]。由于产地、收获季节和遗传背景等差异,番荔枝适宜的贮藏温度有所不同。*Annona squamosa* L.在 15℃贮藏可以形成正常风味,但有轻微冷害发生,对外观品质造成不利影响,但该品种在 4℃下贮藏 5 d 即表现出风味受损、表皮褐变等明显症状^[8];本研究所选用的 *A. cherimola* Mill.×*A. squamosa* L.番荔枝推荐贮藏温度为 13℃^[9-8]。有研究表明,气调包装可减缓贮藏期间冷害发生^[10]。提高番荔枝贮藏环境中 CO₂ 浓度对降低失重率、抑制总糖和总酸上升有明显效果^[11]。Alba-Jimenez 等^[12]发现 5 kPa CO₂ 有效减少低温对番石榴细胞膜损伤,从而减轻低温胁迫。2% O₂+5% CO₂ 在 5℃下对石榴的营养品质和外观品质有更好地维持,冷害程度较低^[13]。

虽然对果蔬理化特性与冷害现象的研究已广泛开展,但各指标与冷害的关联度尚未明晰。用传统模型所得结果大多是确定的点估计,然而由于气体、温湿度等条件对番荔枝冷害起加剧或削弱作用,难以获得一个可靠的模型适用于所有贮藏环境下果实冷害的预测。机器学习可用于处理大量复杂数据,在寻找数据共同点和区分差异性上有独特优势,灵活性和准确度更高。当下,机器学习已在果蔬采后领域广泛使用。张润泽等^[14]基于卷积神经网络(convolutional neural network, CNN)和门控循环单元(gated recurrent unit, GRU)判断不同温度下蓝莓的货架期,刘现等^[15]用支持向量机(SVM)构建了翠冠梨大小等级评定模型, Fan 等^[16]通过随机森林(random forest, RF)找出了不同品种猕猴桃软化过程中的差异代谢物, Colantonio 等^[17]筛选了多种机器学习模型发现分布式梯度增强库(extreme gradient boosting, XGBoost)预测蓝莓的感官评价效果最好。

本试验将气调包装与低温贮藏结合,测定了室温(RT)、低温(LT)、低温结合气调(CA)三种环境下番荔枝的多项生理指标,探究了气调对冷害的影响。在此基础上,利用大数据时代下的机器学习,通过比较 RF、SVM 和人工神经网络(ANN)等不同模型预测冷害指数(chilling injury index, CI)的性能,筛选出最优算法,进一步挖掘各指标与冷害的关系,将其与低温胁迫的关系具象化,对调控番荔枝采后生理具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

“释迦凤梨”番荔枝(*A. cherimola* Mill.×*A. squamosa* L.)由云南省滇滇农业发展有限公司提供,选取成熟度一致(可溶性固形物达 14.6±1.0°Brix,硬度为 225.32±15.22 N)、无病虫害的果实于采收后 48 h 内抵运上海交通大学农业与生物学院实验室;2-巯代巴比妥酸、福林酚、3,5-二硝基水杨酸试剂、过氧化物酶(POD)活性检测试剂盒、苯丙氨酸裂酶(PAL)活性检测试剂盒 上海源叶生物科技有限公司;考马斯亮蓝 G250 上海麦克林生化科技有限公司;三氯乙酸、氢氧化钠、碳酸钠 国药集团化学试剂有限公司。

VS-1000A 气调包装机 广东万松新材料科技有限公司;TA.XT.PlusC 物性测定仪 英国 Stable Micro Systems 公司;Multiskan SkyHigh 全波长酶标仪 美国赛默飞世尔科技公司;LabScan XE 色差仪 美国 HunterLab 公司;HH-S8 数显恒温恒速磁力搅拌水浴锅 常州国宇仪器制造有限公司;Z 326 K 冷藏桌面离心机 德国 Hermle 公司;MASTER-93H 刻度式手持折射仪 日本 ATAGO 科学仪器有限公司;SC-450G 立式冷藏柜 山东海尔公司。

1.2 实验方法

1.2.1 原材料处理 将番荔枝果实随机分为 5 组进行试验。低温气调(CA)组中,分别将果实置于 CA1(3% O₂+4% CO₂)、CA2(3% O₂+8% CO₂)、CA3(3% O₂+12% CO₂)初始气体浓度的 PE 包装袋内密封贮藏,每组处理重复 9 个袋子,每个袋内装 3 个果实。将 CA 组所有样品置于(10±1)℃,相对湿度 85%的环境中。低温对照组(LT)果实未经包装直接置于上述相同条件下贮藏。室温对照组(RT)果实未经包装置于(25±1)℃,相对湿度 85%±5%的环境下贮藏。从第 0 d 起,在第 2、5、7 d 时随机选取每种处理的番荔枝进行指标测定,并将剩余的果实用液氮迅速冷冻,保存在-80℃冰箱中备用。

1.2.2 测定指标及方法

1.2.2.1 冷害指数 参考张姣姣等^[18]的方法稍作修改。低温贮藏的果实在 10 ℃ 下持续观察,根据果皮褐斑及果肉水浸状面积,评定果实 CI。0 级,果皮呈亮绿色无褐斑,果肉无水浸状;1 级,果皮黄褐斑面积 <10%,果肉无水浸状;2 级,果皮黄褐斑面积 10%~30%,果肉水浸状 <25%;3 级,果皮黄褐斑面积 30%~50%,果肉水浸状 25%~50%;4 级,果皮黄褐斑面积 50%~70%,果肉水浸状 50%~75%;5 级,果皮黄褐斑面积 70% 以上,果肉水浸状面积大于 75%。

$$CI = \frac{\sum \text{级别数} \times \text{对应果实数}}{\text{总果实数} \times \text{最高级别数}} \quad \text{式 (1)}$$

1.2.2.2 失重率 采用称重法测定,贮藏第 0 d 果实的质量记为 W_0 , g;贮藏第 2、5、7 d 分别测定果实的质量记为 W_1 , g。结果表示为:

$$\text{失重率}(\%) = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

1.2.2.3 硬度 新鲜果实去皮后在赤道处取直径 1.4 cm,高 1 cm 的圆柱形果肉组织进行测定,靠近果皮面向上。将样品置于 TA.XT plusC Texture Analyser SMS P/100 探头下做 TPA 测试。测试参数为:测前速度 2 mm/s,试验速度 2 mm/s,2 次压缩暂停时间 5 s,触发力 5 g,压缩程度为 75%,测定参数为果肉硬度。

1.2.2.4 相对电解质渗透率(relative electrolyte conductivity, EC) 参考曹建康等^[19]的方法稍作修改。称取 0.5 g 冷冻样品,置于 10 mL 蒸馏水中浸泡振荡 60 min,使用电导率仪测定初始 EC 值并记为 EC_1 ;沸水浴 5 min 并冷却至室温后,再次测定 EC 值并记为 EC_2 ,蒸馏水的电导率记为 EC_0 ,电导率单位为 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。结果表示为:

$$EC(\%) = \frac{EC_1 - EC_0}{EC_2 - EC_0} \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

1.2.2.5 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量 参考曹建康等^[19]的方法稍作修改。称取 1 g 冷冻样品,加入 5 mL 10%(m/v)三氯乙酸,研磨匀浆后,于 4 ℃、10000 r/min 离心 10 min,收集上清液,低温保存备用。取 2 mL 上清液,加入 2 mL 0.6%(m/v)硫代巴比妥酸,混合后在沸水浴中煮沸 15 min,取出冷却后再离心一次。分别测定上清液在 450、532 和 600 nm 波长处的吸光度值。再按照下式计算出每千克鲜重样品中 MDA 的含量,以 $\mu\text{mol}/\text{kg} \cdot \text{FW}$ 表示。计算公式为:

$$C(\mu\text{mol}/\text{L}) = 6.45 \times (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56 \times \text{OD}_{450} \quad \text{式 (4)}$$

$$\text{MDA}(\mu\text{mol}/\text{kg} \cdot \text{FW}) = \frac{C \times V}{V_s \times W} \quad \text{式 (5)}$$

式中: C 为反应混合液中 MDA 含量, $\mu\text{mol}/\text{L}$;

V 为样品提取液总体积, mL; V_s 为测定时所取样品提取液体积, mL; W 为样品重量, kg。

1.2.2.6 氧化应激酶活性 采用试剂盒测定番荔枝样品中 POD、PAL 活性。

1.2.2.7 可溶性蛋白 参考曹建康等^[19]的方法稍作修改。称取 1 g 冷冻样品,加入 5 mL 蒸馏水研磨匀浆,10000 r/min,4 ℃ 离心 20 min,上清液为可溶性蛋白提取液。吸取 1 mL 提取液,加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 溶液,充分混合,放置 5 min 后于波长 595 nm 处测定吸光值。

1.2.2.8 总酚 参考曹建康等^[19]的方法稍作修改。称取 2 g 冷冻样品,加 6 mL 蒸馏水研磨匀浆,于 4 ℃ 避光提取 20 min,期间摇动数次。8000 r/min,4 ℃ 离心 5 min,取上清液。取 0.1 mL 提取液,加入 1 mL 福林试剂,再加 2 mL 20%(m/v) Na_2CO_3 溶液,最后用蒸馏水定容至 10 mL。75 ℃ 水浴加热 30 min,冷却后于 765 nm 处测定吸光度。以没食子酸毫克数表示样品中总酚的含量。

1.2.2.9 总可溶性固形物(total soluble solidis, TSS)

使用 ATAGO MASTER-93H 刻度式手持折射仪对番荔枝果实中 TSS 含量进行测定。取 5 g 果实样品研磨匀浆,4000 r/min 离心 10 min 后取上清液进行测定。

1.2.2.10 还原糖 参考曹建康等^[19]的方法稍作修改。称取 1 g 冷冻样品研磨匀浆后用蒸馏水定容至 25 mL。在 90 ℃ 恒温水浴中保温 30 min,取出冷却后,3000 r/min 离心 3 min,上清液为提取液。试管中加入 1 mL 提取液和 1.5 mL 3,5-二基水杨酸试剂,将各管摇匀,在沸水中加热 5 min,冷却至室温,再加 5.5 mL 蒸馏水稀释,测定 540 nm 波长处吸光度。

1.2.3 数据处理及机器学习

1.2.3.1 数据归一化 为了消除不同数据之间的量纲和量级的影响,首先采用最小-最大归一化法将具有不同单位和取值范围的总计 12 个特征的原始数据分别归一化在 [0,1] 之间,计算公式为:

$$Y_{\text{norm}} = \frac{Y - Y_{\min}}{Y_{\max} - Y_{\min}} \quad \text{式 (6)}$$

式中: Y_{norm} 代表转化后无量纲值; Y 代表指标的实际测定值; $Y_{\min}$ 和 $Y_{\max}$ 分别代表该指标的最小和最大测定值。

1.2.3.2 模型构建与评价 本文使用了 9 种机器学习算法: Ridge: 岭回归; ANN: Artificial Neural Network, 人工神经网络; SVR: Supported Vector Regression, 支持向量回归; RFR: Random Forest Regression, 随机森林回归; LR: Linear Regression, 线性回归; Lasso: 拉索回归; GBR: Gradient Boost Regression, 梯度提升回归; KNN: K-Nearest Neighbor, K 近邻; DTR: Decision Tree Regression, 决策树回归。模型构建借助 Python 中 Scikit-learn 机器学习库完成。

本文样本总数为 39 个,按照 7:3 的比例划分训练集和测试集,模型基于训练集建立,在测试集上验证。常用统计误差评价模型的性能,回归评价指标有平均绝对误差(MAE)、均方误差(MSE)和决定系数(R^2)。MSE 衡量衡量预测值和真实值得标准误差,其值越小代表模型准确性越高;MAE 反映算法最优值和理论最优值得差异,表征算法得勘探能力和收敛精度; R^2 是模型对数据的拟合度,越接近 1 则拟合度越高^[14]。计算公式如下:

$$MSE=\frac{1}{N}\sum_{i=1}^N(Y_{test}-Y_{pre})^2$$

式 (7)

$$MAE=\frac{1}{N}\sum_{i=1}^N|Y_{test}-Y_{pre}|$$

式 (8)

$$R^2=1-\frac{\sum_{i=1}^N(Y_{test}-Y_{pre})^2}{\sum_{i=1}^N(Y_{test}-\overline{Y_{test}})^2}$$

式 (9)

式中: Y_{test} 表示实际测得的冷害指数, Y_{pre} 表示预测冷害指数, $\overline{Y_{test}}$ 表示实际测得的冷害指数的平均值, N 表示样本数量。

1.3 数据分析

所有指标测定均至少重复 3 次,结果以平均值±标准差表示。采用 Graphpad Prism 8.0 软件进行数据处理和统计分析。应用单因素方差法(One-way ANOVA)进行显著性分析,在 $P<0.05$ 水平上检测差异显著性,并用该软件绘图。机器学习模型构建与评价通过 PyCharm Community Edition 2023.2.1 软件完成,并绘制相关图片。

2 结果与分析

2.1 低温对番荔枝冷害的影响

果皮出现褐斑是番荔枝发生冷害的主要现象,前人根据褐斑占果实表面积的比例判定 CI^[20]。如图 1A 所示,LT 组果实 CI 始终高于 CA 组,贮藏第 7 d 时达到 1.0。3 个气调处理组中,CA1 的 CI 保持相对较低水平,从 0.1 增长至 0.3。CI 结果表明气调包装果实所受冷害程度有所减轻。有研究表明,气调包装能维持过氧化氢酶、抗坏血酸氧化酶和超氧化物歧化酶等抗氧化酶的活性,从而减少果实内丙二醛、氧自由基的含量,保护细胞膜的完整性,从而减轻酶促褐变的发生^[21]。

贮藏期间,番荔枝果肉和果皮颜色变化如图 1B 所示。RT 组果实的果皮褐变最严重。番荔枝果肉颜色变化最剧烈的为 LT 组(图 1B),果肉黄化、呈半透明状,说明在该温度下发生冷害、果肉出现水浸状损伤,此现象加剧细胞失水^[22]。而经气调包装处理的果实果肉未出现明显黄化和水浸状损伤。番荔枝表型变化与图 1A 所示的 CI 相符。由表 1 可知,贮藏第 7 d,LT 组果实失重率与 CA 组产生显著差异($P<$

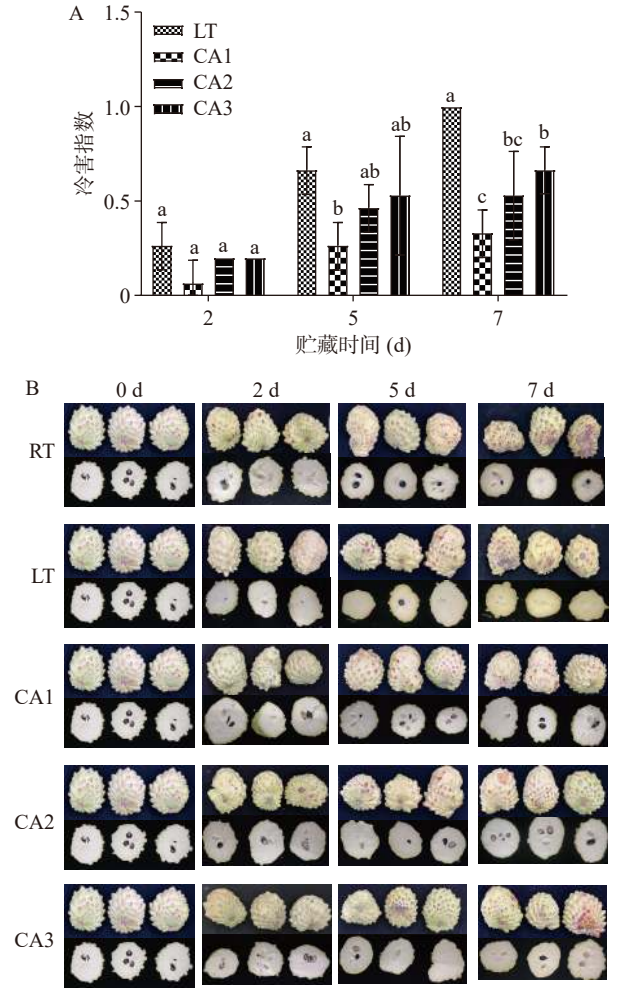


图 1 番荔枝冷害指数(A)及果肉形态(B)在贮藏期间的变化
Fig.1 Changes of chilling injury index (A) and flesh shape (B) of atemoya during storage

注: 图中小写字母表示相同贮藏天数不同组之间的差异显著性, $P<0.05$; 图 2~图 5 同。

表 1 贮藏期间番荔枝的失重率变化(%)

Table 1 Changes of weight loss of atemoya during storage (%)

组别	2 d	5 d	7 d
RT	4.06±0.48 ^a	8.57±0.93 ^a	12.08±1.34 ^a
LT	1.25±0.21 ^b	2.33±0.31 ^b	5.15±0.81 ^b
CA1	0.63±0.01 ^b	1.20±0.09 ^b	1.47±0.08 ^c
CA2	0.75±0.22 ^b	1.18±0.32 ^b	1.53±0.12 ^c
CA3	0.78±0.19 ^b	1.22±0.42 ^b	1.42±0.51 ^c

注: 表中小写字母表示相同贮藏天数不同组之间的差异显著性, $P<0.05$ 。

0.05), 超过 5%, 而此时 CA 组的失重率仅为 1.5% 左右。该指标说明气调包装对果肉组织有较好的保护作用,减轻水浸状损伤,缓解冷害。

2.2 低温下番荔枝理化指标的变化

2.2.1 低温对番荔枝硬度的影响 番荔枝采后品质变化最显著的特征是果肉软化,此现象主要是由原果胶在果胶甲酯酶和多聚半乳糖醛酸酶的作用下被降解为可溶性果胶引起的^[23]。而发生冷害的果实不能正常软化,这是因为低温扰乱细胞壁物质代谢,加剧木质化现象^[24]。本研究发现室温(RT, 25 ℃)贮藏的番荔枝 2 d 之内硬度降低了 56.44%,从 225.32 N 下

降到 10.81 N 仅需 7 d。低温显著抑制果实软化, 7 d 之内, 所有 10 °C 贮藏的果实硬度在 225.32~147.98 N 范围内波动(图 2)。结果表明 10 °C 下贮藏的番荔枝可能发生冷害, 低温影响了正常后熟, 果实不能正常软化。

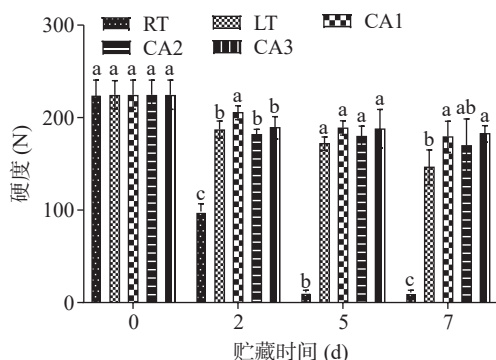


图 2 贮藏期间番荔枝硬度的变化

Fig.2 Changes of firmness of atemoya during storage

2.2.2 低温对番荔枝细胞膜的影响 EC 是表征细胞膜受损程度的重要指标, 可以用来反映所受冷害程度^[25]。贮藏期间, EC 持续上升, 初始时仅为 20.54% (图 3A)。与 RT 相比, 贮藏后期 LT 组果实的 EC 更高, 贮藏第 7 d 时达到 80.81%, 说明随着贮藏时间增加低温对果实产生胁迫。正常后熟衰老也会导致 EC 上升, 但低温加剧此现象。低温胁迫破坏细胞膜的结构和功能, 增强膜的透性, 加速电解质外渗, 导致植物组织提取液的电导率升高。LT 果实 EC 显著高于 CA 组 ($P<0.05$), 第 5 d 时差异最显著, 此时 LT 组

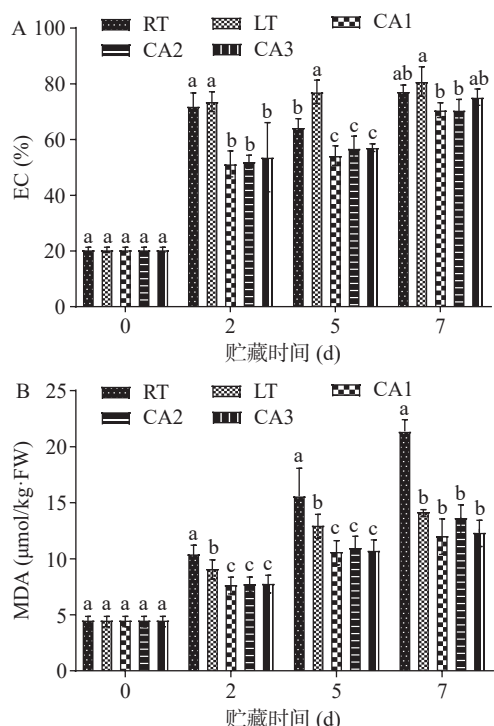


图 3 贮藏期间番荔枝 EC(A)和 MDA(B)的变化

Fig.3 Changes of EC value (A) and MDA content (B) of atemoya during storage

EC 比最低的 CA1 高出 23%, 说明气调包装有效保护了膜的完整性, 减轻低温伤害。

MDA 是脂质分子过氧化的主要产物, 该物质积累对细胞质膜和细胞器造成伤害, 其含量通常用于反映活性氧 (reactive oxygen substances, ROS) 造成的膜过氧化情况^[26]。ROS 增加会加剧膜脂过氧化, 破坏细胞结构, 导致果实软化, 降低果实的运输和贮藏性。2 种温度下, 番荔枝 MDA 含量均随时间的延长而增加(图 3B)。室温贮藏的番荔枝由于后熟和衰老迅速, MDA 显著高于低温贮藏的果实 ($P<0.05$), 第 7 d 时可达 21.38 $\mu\text{mol/kg}\cdot\text{FW}$ 。低温贮藏的第 2 和 5 d, CA 组果实所含 MDA 显著低于 LT。采后第 7 d, CA1 组的 MDA 含量最低, 仅为 12.06 $\mu\text{mol/kg}\cdot\text{FW}$ 。气调包装组果实 MDA 水平较低可能是因为该处理减轻了低温对细胞的干扰, 维持 ROS 产生和清除的平衡, 进而减少了膜脂过氧化物生成。

2.2.3 低温对氧化应激酶活性的影响 POD 参与了植物的抗逆反应, 在 H_2O_2 存在下催化酚类物质和类黄酮发生氧化聚合, 生成自由基, 形成褐色物质导致组织褐变, 对番荔枝研究发现该酶活性更高的品种果肉更易变色^[27]。CA 组果实 POD 活性处于较低水平(图 4A), 尤其是 CA1 和 CA2 对番荔枝 POD 具有明显的抑制作用, 采后第 2 d 活性仅为 LT 的 70% 左右。

PAL 是合成酚类物质的关键限速酶, 研究表明在低温环境下 PAL 活性上升, 这是细胞响应低温的表现, 激活 PAL 可以降低外界对果蔬的胁迫^[28]。图 4B 显示, PAL 活性整体呈波动下降, CA 组果实的

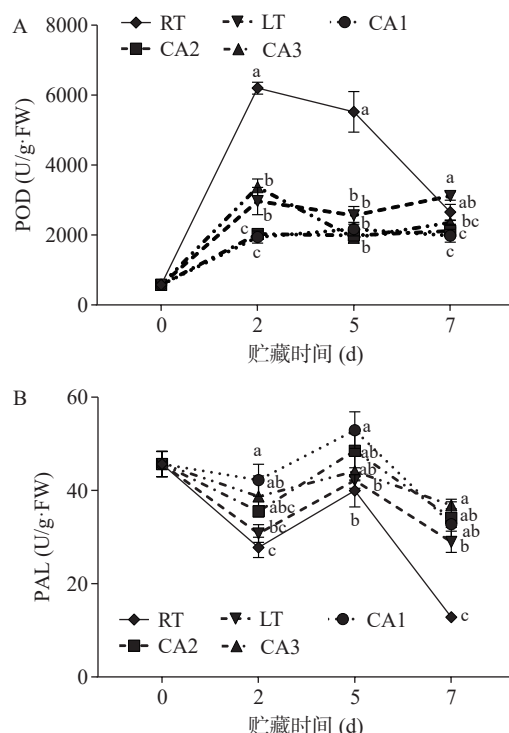


图 4 贮藏期间番荔枝 POD(A)和 PAL(B)活性的变化

Fig.4 Changes of activity of POD (A) and PAL (B) of atemoya during storage

PAL 活性高于 LT, 与前文所述气调包装的番荔枝总酚含量较高的结果相符; 尤其是在第 5 d 出现峰值时, CA1 的活性约为 LT 的 1.2 倍。PAL 活性与冷害程度呈负相关, 冷藏条件下, 橘子 PAL 活性越高则冷害症状越轻^[29]。如图 1B 所示, CA 组番荔枝果皮色泽变化小于 LT 组, 冷害程度较轻, 说明气调包装处理通过提高 PAL 活性激活果实抗逆机制, 减轻低

温损伤。

2.2.4 低温对番荔枝营养品质的影响 贮藏期间, RT 组的可溶性蛋白持续减少, 而 10 ℃ 贮藏的果实则呈现先上升后下降的趋势, 但出现转折的时间不同(图 5A)。可溶性蛋白可作为渗透物质, 增强细胞与水的结合能力, 机体通过提高可溶性蛋白水平, 降低冰点, 从而提高对低温的耐受性^[30]。贮藏第 5 d 时, LT 果实可溶性蛋白含量为 412.27 μg/g·FW, 而 CA2 组果实达到 1547.99 μg/g·FW。相同贮藏时间, CA 组的可溶性蛋白含量显著高于 LT 组($P<0.05$)。果实可溶性蛋白含量高表明具有更强的应对低温的能力。

酚类物质是氧化酶的主要底物, 参与果实褐变, 也参与抵抗逆境胁迫^[31]。总酚含量在贮藏期间整体呈下降趋势, RT 和 LT 的下降速度快, 第 2 d 时两者减少了近 60%(图 5B)。CA 组果实的总酚水平显著高于 LT($P<0.05$), 贮藏第 7 d 时, CA1 的总酚含量最高为 8.68 mg/g·FW, 而 LT 仅为 CA1 的 61.98%。酚类物质通过抑制氧化链式反应防止细胞膜脂质过氧化, 减轻氧化损伤^[32]。CA 组果实的酚类化合物含量高, 机体抗氧化性强。在低温下, 能更好地维持 ROS 产生与清除的平衡, 从而防止细胞膜遭自由基破坏^[33]。

TSS 和还原糖是影响食用品质的重要因素^[1]。有研究表明果实通过增强淀粉酶活性分解储能物质, 生成可溶性糖实现供能以维持生命活动^[34]。7 d 内, 两者均持续增加, 与前人结论一致^[35]。但室温下果实变化幅度远大于低温贮藏(图 5C、D), 说明 TSS 和还原糖的含量主要受温度影响。

2.3 基于不同模型对番荔枝冷害与各指标的探究

本试验以上述低温贮藏的番荔枝为样本, 建立 10 ℃ 下果实 CI 预测模型, 探究各指标与冷害的关系。使用不同模型对 CI 进行预测, MSE、MAE 和 R^2 可以用来评估各模型在测试集上的性能。本试验比较了 9 种不同模型, 由表 2 可以看出, Lasso 预测性能最差, R^2 仅为 0.54, 该算法易发生过拟合, 忽略数据集的关联度。Ridge 的 R^2 最接近 1, 且 MSE 和 MAE 在 9 种模型中最低, 分别为 0.01 和 0.08, 说明该模型的性能最好。Ridge 能有效避免过拟合, 对未

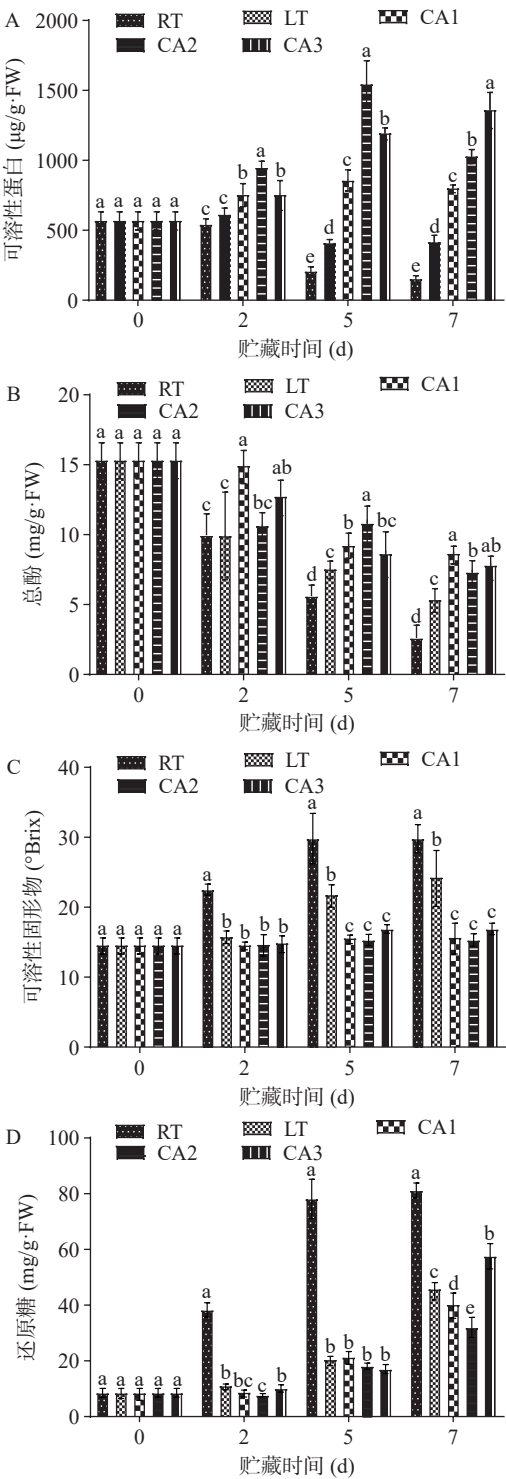


图 5 贮藏期间番荔枝可溶性蛋白(A)、总酚(B)、TSS(C)和还原糖(D)的变化

Fig.5 Changes of soluble proteins (A), total phenolics (B), total soluble solids (C) and reducing sugars (D) of atemoya during storage

表 2 不同模型对冷害指数预测的准确性

Table 2 Accuracy of different machine learning models to predict the chilling index			
模型	MSE	MAE	R^2
Ridge	0.01	0.08	0.90
ANN	0.01	0.10	0.89
RFR	0.01	0.10	0.86
SVR	0.02	0.13	0.83
LR	0.02	0.12	0.79
DTR	0.03	0.11	0.73
GBR	0.03	0.15	0.69
KNN	0.05	0.14	0.55
Lasso	0.05	0.19	0.54

知数据预测更稳健,在有共线性问题的数据集中有较高应用价值^[36]。番荔枝各理化指标之间相互关联,具有共线性,如 PAL 是合成酚类物质的酶,而 POD 又能氧化酚类物质。ANN 的 R^2 虽然与 Ridge 相近,具有较强的鲁棒性,但需大量参数;且黑盒过程导致输出结果难以解释,影响结果的可信度和接受度^[37]。基于上述模型的优缺点及 MSE、MAE 和 R^2 的值,后续分析基于 Ridge 进行。用 Ridge 模型对测试样本进

表 3 Ridge 模型下的 CI 预测结果

Table 3 CI prediction results of Ridge model

组别	贮藏时间(d)	实际CI	预测CI
LT	7	1.00	0.86
LT	5	0.67	0.52
CA3	5	0.53	0.45
CA1	2	0.07	0.11
CA3	5	0.53	0.41
CA2	2	0.20	0.22
CA1	2	0.07	0.11
CA3	7	0.67	0.65
LT	5	0.67	0.50
CA1	2	0.07	0.12
CK	0	0.00	-0.05
LT	5	0.67	0.51

行预测,如表 3 所示,在相同贮藏时间下 CA 组的预测 CI 低于 LT,说明气调包装有助于缓解低温胁迫。

在使用 Ridge 进行预测时,分析每个指标对模型的贡献可以反映其对预测 CI 的影响程度,即与果实发生冷害的紧密程度。SHAP 值可以解释模型的输出,并体现指标在每个样本中的影响力,是通过在所有样本上取该特征对模型输出影响力大小的平均值计算而来^[38]。图 6A 所示,贮藏时间的 SHAP 绝对值大小约为 0.06,为 12 个指标中最高的,对模型的贡献度达到了 20.78%。可溶性固形物(17.82%)、失重率(17.81%)、可溶性蛋白(13.25%)和总酚(11.89%)对预测 CI 也发挥较大作用。可溶性固形物和可溶性蛋白作为渗透物质,调节细胞的冰点,从而提高对低温的耐受性^[30]。结合 SHAP 值和指标取值分析,图 6B 直观地呈现了各指标在每个样本的作用,为预测模型及其对每个指标的依赖提供了潜在解释^[39]。贮藏时间对 CI 有正向推动作用,表明随着贮藏时间增加,冷害现象越严重;而总酚则具有相反规律,意味着果实内总酚含量越低,冷害症状越明显。文献表明,酚类物质通过抑制氧化链式反应防止细胞膜脂质过氧化,减轻氧化损伤^[32]。

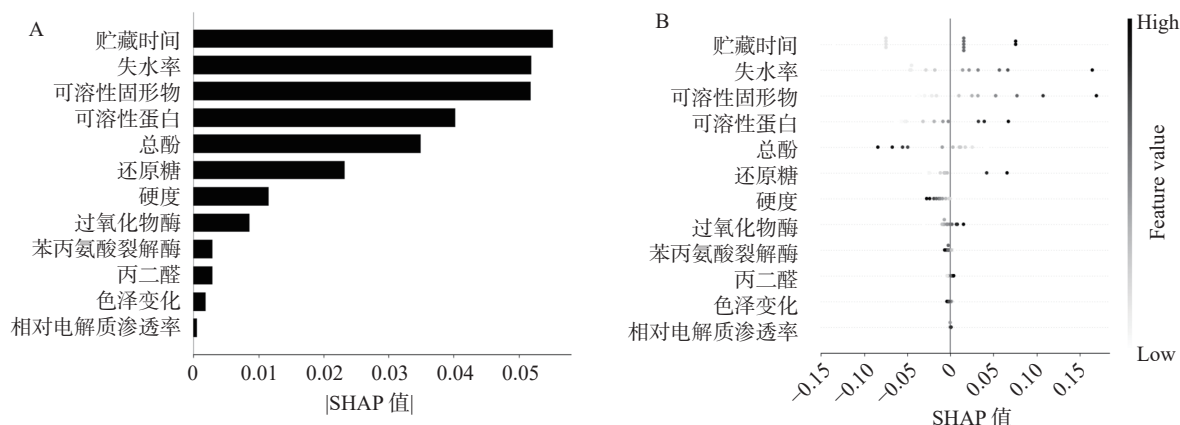


图 6 12 个指标的 SHAP 值排序(A)和 SHAP 值结合指标取值判断对 CI 预测的作用(B)

Fig.6 Rank of 12 indexes by SHAP value (A) and the contribution of 12 indexes to CI by feature value and SHAP value (B)

3 结论

虽然低温有效延缓番荔枝成熟衰老,抑制果实软化,但易造成冷害。表现为果肉组织出现水浸状损伤,EC 值和 MDA 含量上升。本研究发现气调包装处理通过激活 PAL 合成酚类物质,提高抗氧化水平,降低 EC 和 MDA,减轻氧化损伤,以维持膜结构的完整性及降低 POD 活性,增强机体应对低温的能力。此外,建立了多种机器学习算法,筛选出预测 CI 的最优模型为 Ridge 回归。该模型预测 CI 时发现在相同贮藏时间下,CA 组的 CI 低于 LT,说明气调包装有效减缓低温胁迫。分析各指标对模型的贡献,确认了贮藏时间、可溶性物质、失重率和总酚与 CI 相关度较大。本研究通过机器学习,建立了番荔枝冷害预测模型,不仅证实了传统研究的观点,还能

综合多项指标,挖掘其与低温冷害的关系。目前,对番荔枝的研究主要集中于理化指标,缺少对该果实转录组和代谢组变化的报道。机器学习在处理大量数据方面具有显著优势,未来将与组学结合,进一步探究番荔枝响应低温的基因与代谢物差异,提高果实耐低温能力。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

[1] PAREEK S, YAHIA E M, PAREEK O P, et al. Postharvest physiology and technology of *Annona* fruits[J]. *Food Research International*, 2011, 44(7): 1741-1751.

- [2] NAGY S, SHAW P E. Tropical and subtropical fruits—Composition, properties and uses[M]. Westport Avi Publishing West Point, 1980.
- [3] 唐州乐. 湖北省生鲜农产品冷链物流路线研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2021. [TANG Z L. Research on cold chain logistics route of fresh agricultural product in Hubei Province[D]. Wuhan: Central China Normal University, 2021.]
- [4] 陈蔚辉, 张福平, 林定雄, 等. 温度对采后番荔枝耐藏性的影响[J]. 园艺学报, 2003, 30(5): 571–573. [CHEN W H, ZHANG F P, LIN D X, et al. Effects of temperatures on storability of postharvest sweetsop fruit[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, 30(5): 571–573.]
- [5] PRASANNA K N V, RAO D V S, KRISHNAMURTHY S. Effect of storage temperature on ripening and quality of custard apple (*Annona squamosa* L.) fruits[J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2000, 75(5): 546–550.
- [6] MUÑOZ T, RUIZ-CABELLO J, MOLINA-GARCÍA A D, et al. Chilling temperature storage changes the inorganic phosphate pool distribution in cherimoya (*Annona cherimola*) fruit[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2001, 126(1): 122–127.
- [7] MONTERO L M, ESCRIBANO M I, DE LA PLAZA J L, et al. Chilling temperature storage induces changes in protein patterns and protease activity in cherimoya fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 1995, 5(3): 251–260.
- [8] BROUGHTON W J, TAN G. Storage conditions and ripening of the custard apple *Annona squamosa* L.[J]. *Scientia Horticulturae*, 1979, 10(1): 73–82.
- [9] WONGS-AREE C, NOICHINDA S. Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits[M]. Sawston: Woodhead Publishing, 2011: 399–427.
- [10] SANCHES A G, SILVA M B D, WONG M C C, et al. Sorbitol immersion controls chilling injury in CA stored 'Palmer' mangoes[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2022, 185: 111800–.
- [11] 张福平, 陈蔚辉, 林定雄. 气调贮藏对番荔枝果实耐藏性及品质的影响[J]. 特产研究, 2003, 2(1): 12–14. [ZHANG F P, CHEN W H, LIN D X. The effects of air-conditioned storage on the storable performance and qualities of *Annona squamosa* fruits[J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2003, 2(1): 12–14.]
- [12] ALBA-JIMENEZ J E, BENITO-BAUTISTA, NAVA P, et al. Chilling injury is associated with changes in microsomal membrane lipids in guava fruit (*Psidium guajava* L.) and the use of controlled atmospheres reduce these effects[J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 240: 94–101.
- [13] 仝瑞冉. 低温气调贮藏对‘突尼斯软籽’石榴果实品质的影响及机理分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2023. [TONG R R. The effects and mechanism analysis of 'Tunisia' pomegranate fruit quality during controlled atmosphere at cold storage[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2023.]
- [14] 张润泽, 冯国红, 付晟宏, 等. 基于 CNN-GRU-AE 的蓝莓货架期预测模型研究[J/OL]. 食品科学, 1–15 [2024-04-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20231012.1737.002.html>. [ZHANG R Z, FENG G H, FU S H, et al. Research on blueberry shelf-life prediction model based on CNN-GRU-AE[J/OL]. *Food Science*, 1–15 [2024-04-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20231012.1737.002.html>.]
- [15] 刘现, 郑华伟. 基于支持向量机的翠冠梨大小等级评定模型构建[J]. 科学技术创新, 2023(24): 221–224. [LIU X, ZHENG H W. Construction of size grading model for cuiguan pear based on supported vector machine[J]. *Scientific and Technological Innovation*, 2023(24): 221–224.]
- [16] FAN Y, RENKAI Z, JIANGTAO S, et al. Understanding quality differences between kiwifruit varieties during softening[J]. *Food Chemistry*, 2024, 430: 136983.
- [17] COLANTONIO V, FERRÃO L F V, TIEMAN D M, et al. Metabolomic selection for enhanced fruit flavor[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(7): e2115865119.
- [18] 张姣姣, 郝晓磊, 李喜宏, 等. 热空气协同茉莉酸甲酯处理对冷藏石榴冷害及果实品质的影响[J]. 中国果树, 2016(5): 29–33. [ZHANG J J, HAO X L, LI X H, et al. The effect of hot air combined with methyl jasmonate treatment on chilling injury and fruit quality of refrigerated pomegranate[J]. *China Fruits*, 2016(5): 29–33.]
- [19] 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. [CAO J K, JIANG W B, ZHAO Y M. Guidance of postharvest physiological and biochemical experiments of fruits and vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007.]
- [20] QIAN L, HAN L, HETONG L, et al. The metabolism of membrane lipid participates in the occurrence of chilling injury in cold-stored banana fruit[J]. *Food Research International*, 2023, 173: 113415.
- [21] ALI S, SATTAR KHAN A, ULLAH MALIK A, et al. Modified atmosphere packaging delays enzymatic browning and maintains quality of harvested litchi fruit during low temperature storage[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 254: 14–20.
- [22] ALI S, NAWAZ A, NAZ S, et al. Exogenous melatonin mitigates chilling injury in zucchini fruit by enhancing antioxidant system activity, promoting endogenous proline and GABA accumulation, and preserving cell wall stability[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2023, 204: 112445.
- [23] 周枫. 采收成熟度、1-MCP 和乙烯处理对番茄果实冷害和贮藏效果的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017. [ZHOU F. Effect of harvest maturity and 1-MCP, ethylene treatment on chilling injury and storage quality of the postharvest tomato fruits[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2017.]
- [24] 索江涛. 猕猴桃采后冷害木质化特点及其果实抗冷机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019. [SUO J T. Studies on linification characteristics of chilling injury and fruit cold resistance mechanisms in postharvest kiwifruit[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.]
- [25] LEI L, XUANQI W, JIEYU L, et al. Overexpression of SlymiR167a delayed postharvest chilling injury of tomato fruit under low temperature storage[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2023, 204: 112420.
- [26] SAICHAO W, JUN M, JING X. Effects of different carbon dioxide-modified atmosphere packaging and low-temperature storage at 13 °C on the quality and metabolism in mango (*Mangifera indica* L.)[J]. *British Poultry Science*, 2021, 11(7): 1–11.
- [27] LIU K D, LIU J X, LI H L, et al. Influence of postharvest citric acid and chitosan coating treatment on ripening attributes and expression of cell wall related genes in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit[J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 198: 1–11.
- [28] AGHDAM M S, ASGHARI M, FARMANI B, et al. Impact of postharvest brassinosteroids treatment on PAL activity in tomato fruit in response to chilling stress[J]. *Scientia Horticulturae*, 2012,

144: 116–120.

[29] LAFUENTE M T, ZACARIAS L, MARTÍNEZ-TÉLLEZ M A, et al. Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, 29(3): 309–318.

[30] 朱政, 蒋家月, 江昌俊, 等. 低温胁迫对茶树叶片 SOD、可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2011, 38(1): 24–26. [ZHU Z, JIANG J Y, JIANG C J, et al. Effects of low temperature stress on SOD activity, soluble protein content and soluble sugar content in *Camellia sinensis* leaves[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2011, 38(1): 24–26.]

[31] TOMAS-BARBERAN F, ESPIN J C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2001, 81(9): 853–876.

[32] SUN H J, LUO M L, ZHOU X, et al. Exogenous glycine betaine treatment alleviates low temperature-induced pericarp browning of 'Nanguo' pears by regulating antioxidant enzymes and proline metabolism[J]. *Food Chemistry*, 2020, 306: 125626.

[33] LI Z B, CHEN S Q, QI M, et al. Inhibition of postharvest rachis browning of table grapes by sulfur dioxide: Evidence from phenolic metabolism and sulfur assimilation[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2023, 204: 112413.

[34] 汤杨, 龚吉军. 低温下山苍子精油与壳聚糖复合涂膜对板栗的保鲜效果[J]. *粮食与油脂*, 2023, 36(7): 84–89. [TANG Y,

GONG J J. The preservation effect of composite coating of *Litsaea cubeba* essential oil and chitosan on chestnut at low temperature[J]. *Cereals & Oils*, 2023, 36(7): 84–89.]

[35] 邱靖一. 外源物质对采后番荔枝品质及糖代谢的影响研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2021. [QIU Q Y. Effects of exogenous substances on quality and sugar metabolism of postharvest *Annona squamosa*[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2021.]

[36] 朱尚伟, 李景华. 岭回归参数的两个预期约束[J]. *统计与决策*, 2015(22): 71–74. [ZHU S W, LI J H. Two expected constraints of ridge regression parameters[J]. *Statistics & Decision*, 2015(22): 71–74.]

[37] XIAO H, HUAKUN W, WENJIE L, et al. Prediction of loquat soluble solids and titratable acid content using fruit mineral elements by artificial neural network and multiple linear regression[J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 278: 109873.

[38] MIAO K, HOUSOU HOUNYE A, SU L, et al. Exploring explainable machine learning and Shapley additive explanations (SHAP) technique to uncover key factors of HNSC cancer: An analysis of the best practices[J]. *Biomedical Signal Processing and Control*, 2024, 89: 105752.

[39] CUI Z Y, ZHANG Z W, ZHOU T X, et al. A TastePeptides-Meta system including an umami/bitter classification model Umami_YYDS, a TastePeptidesDB database and an open-source package Auto_Taste_ML[J]. *Food Chemistry*, 2023, 405: 134812.