

脂氧合酶与枣果成熟软化的关系

寇晓虹, 闫师杰, 吴彩娥, 王如福, 梁丽雅, 郭春绒, 李 臣, 张爱琳

(山西农业大学)

摘 要: 以梨枣和郎枣为试验材料, 测定了枣果成熟衰老过程中脂氧合酶(LOX)、SOD、CAT、PE 活性以及呼吸动态、硬度等的变化。结果表明, 枣果采后在 20℃ 下贮藏, 后熟软化进程很快, 随枣果成熟软化, 呼吸强度、LOX、PE 活性呈上升趋势; 硬度、SOD、CAT 活性呈逐渐下降趋势。0℃ 低温可显著抑制 LOX、PE 活性, 有效延缓软化。同时试验表明, LOX 活性与呼吸强度、PE 活性呈正相关关系($r=0.19805, 0.19471$), 而与 SOD、CAT 活性呈负相关关系($r=-0.18907, -0.17172$)。LOX 是引起枣果成熟衰老的关键因素。

关键词: 鲜枣; 脂氧合酶; 成熟软化

中图分类号: S379

文献标识码: A

文章编号: 1002-2689(2002)02-0127-04

脂氧合酶(Lipoxygenase)简为 LOX 是近 20 年发现的与植物代谢有密切关系的一种酶, 它广泛存在于植物体中。脂氧合酶又称脂肪氧化酶或胡萝卜素氧化酶, 是一种含血红素铁的蛋白质, 它专一催化分子中含顺、顺21、42戊二烯结构的多聚不饱和脂肪酸, 生成具有共轭双键的氢过氧化物, 其主要底物在植物中主要是亚油酸和亚麻酸, 主要产物为过氧羟基脂肪酸。它能够通过氧化多聚不饱和脂肪酸来降解细胞的结构, 从而破坏细胞膜的完整性以及改变膜的通透性, 对果实的质地变化及成熟衰老有着重要影响。研究认为, 它能参与植物生长、发育、成熟、衰老的各个过程, 特别是成熟衰老过程中自由基的产生以及乙烯的生物合成都发现有 LOX 的参与^[1,2]。

枣(*Zizyphus jujuba* Mill.)果实肉脆味美, 酸甜适口, 营养丰富, 被人们称为“生物药丸”。常温下枣果易失水皱缩、腐烂、不耐贮藏。鲜枣一经软化, 营养成分尤其是维生素 C 含量大大下降, 生产中多将其制成干枣及其它加工品, 降低其营养及医药疗效价值。因此如何控制衰老老化是鲜枣贮藏的关键所在, 延长鲜枣贮藏寿命, 提高鲜枣贮藏质量, 已成为枣产业化中亟待解决的问题^[3]。

随着果实采后生理的深入研究, 发现 LOX 与果实成熟衰老密切相关, 它调节某些物质的合成, 如参与乙烯的生物合成, 并与果蔬的抗病性、风味、颜色、硬度等密切相关, 但其生理作用机理还不清楚, 对枣果的成熟软化的研究仍为空白。本文研究了

枣果采后在不同温度下不同成熟时期脂氧合酶的活性变化以及与呼吸强度、硬度和耐藏性、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、果胶甲酯酶(PE)等一些生理生化指标间的相互关系, 以期了解 LOX 对枣果采后代谢的影响及作用机理, 为进一步揭示枣果采后品质变化、衰老软化的机制提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为郎枣和梨枣, 采自山西省太谷县北张村, 2000 年 9 月 16 日采摘, 为半红果。设置两个贮藏温度: 0℃ 和 20℃。20℃ 处理组: 采收当日挑选无病伤、带果柄枣果装入 01035 mm 聚乙烯打孔薄膜塑料袋中。20℃ 恒温箱中贮存。0℃ 处理组: 采收当日在 12~13℃ 预冷间预冷 12 h, 然后在 8~9℃ 预冷间预冷 12 h。最后挑选装袋, 放置于(0±1)℃ 冷库中贮存。

1.2 测定方法

20℃ 处理的枣果, 每隔 3~4 d 测定一次; 0℃ 处理的枣果每隔 10 d 测定一次, 随机取样, 重复 3 次。

1.2.1 脂氧合酶(LOX)活性

参照罗云波方法^[2]

底物的配制: 0125 mL Tween20, 加蒸馏水 10 mL, 亚油酸 015 mL, 加 1N KOH 至清亮, 加入 45 mL pH=7.14 硼酸缓冲液, 用 1N HCl 调到 pH=8.16, 用蒸馏水定容到 100 mL。

酶活性测定: 50 mM 磷酸缓冲液(pH=6.18) 514 mL, 底物 400 mL, 25℃ 下保温 5 min, 加入 LOX 提取液 200 mL, 立即记时, 记录 0~1 min、2 min 的 OD 值, 在 234 nm 下以 50 mM 磷酸缓冲液

收稿日期: 2001121212

基金项目: 山西省青年基金项目(20001040)

作者简介: 寇晓虹, 女(1970-), 中国农业大学食品学院博士生, 山西 太谷, 山西农业大学食品科学与工程学院, 030801

(pH= 6.18) 为空白。用 $OD_{600}(\text{min} \cdot \text{g})$ 表示酶活性。

1.2.2 果实硬度

用 GY21 型硬度计测定。

1.2.3 呼吸强度

用广东佛山分析仪器厂生产的 FQW 型红外气体分析仪测定。流量为 500 mL/min。

1.2.4 CAT 活性测定

参照韩雅珊的测定方法, 稍作改进^[3]。酶活力单位以 H_2O_2 mg $OD_{600}(\text{min} \cdot \text{gFW})$ 表示。

1.2.5 果胶甲酯酶(PE)

参照陈冬兰^[4]方法。单位: 将 30 min 内释放出 1 mM 的 CH_3O^- 定为一个酶活力单位。

1.2.6 好果率

好果率(%) = (无软烂的硬果粒数/检查总果数) × 100%

1.2.7 SOD 活性测定

硝基四唑蓝法^[5]。酶活力单位为每小时每克鲜果重的酶活力单位。

2 结果与分析

2.1 枣果采后呼吸强度的变化

如图 1 所示, 两种枣果采收当日呼吸强度较高, 郎枣呼吸强度高于梨枣。0℃ 低温明显抑制了枣果的呼吸, 使得在贮藏前、中期呼吸强度保持低而平缓的变化, 贮藏后期随枣果衰老软化呈上升趋势。另外实验还发现两种枣果在两种贮藏温度下都无明显的呼吸高峰出现, 均为非跃变型果实。

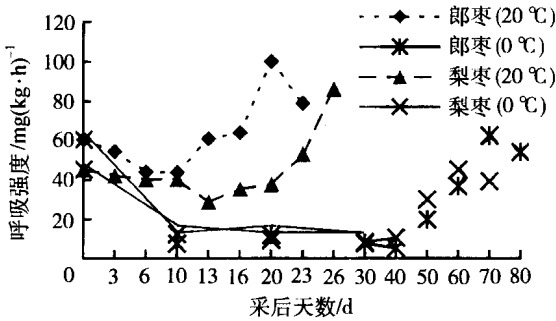


图 1 枣果采后呼吸强度的变化

Fig 1 Change of respiratory of post-harvest jujube

2.2 枣果采后 LOX 和果胶甲酯酶(PE) 活性变化

枣果采后脂氧合酶活性变化如图 2 所示。LOX 活性在贮藏中随枣果成熟软化呈逐渐升高趋势, 郎枣的变化快于梨枣。0℃ 低温明显抑制了枣果的 LOX 活性, 贮藏后期 LOX 活性迅速升高。如图 3 所示, 采后郎枣的 PE 活性比梨枣的大, 分别为 3176 u/g 和 0164 u/g。在不同的贮藏温度下 PE 活性呈现上升趋势, 在采前、中期 PE 活性变化平缓, 贮藏后

期迅速增大, 这与 LOX 活性变化趋势一致。

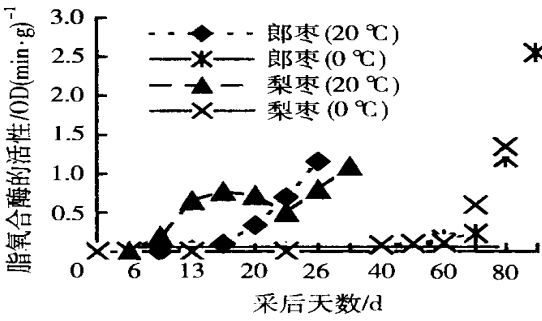


图 2 枣果采后 LOX 活性的变化

Fig 2 Change of LOX activity of post-harvest jujube

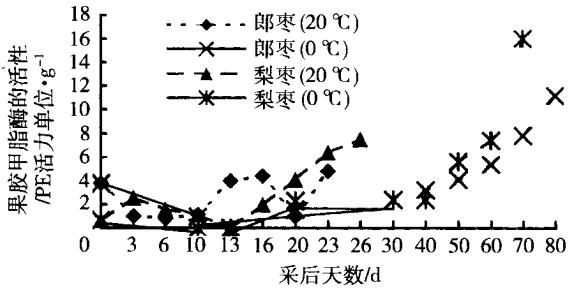


图 3 枣果采后果胶甲酯酶(PE) 活性变化

Fig 3 Change of PE activity of post-harvest jujube

2.3 枣果采后好果率和硬度的变化

郎枣和梨枣在不同温度下的贮藏效果用好果率的变化趋势来衡量。由图 4 可知, 在 20℃ 下, 郎枣贮藏 13 d 时, 好果率为 72.18%, 之后好果率直线下降, 枣果迅速软烂褐变, 郎枣软烂速度大于梨枣。0℃ 低温明显延长了枣果的保鲜期。两种枣果均在贮藏 40 d 后品质才开始迅速下降, 不同温度下枣果采后果肉硬度呈下降趋势(图 5)。20℃ 下两种枣果硬度下降均快于 0℃ 枣果。0℃ 下两种枣在贮藏前 30 d 中, 硬度变化不大, 之后硬度下降较快, 两种枣果差异不显著。

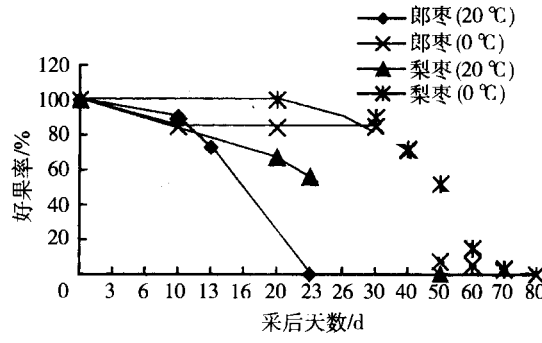


图 4 枣果采后好果率的变化

Fig 4 Change of fresh rate of post-harvest jujube

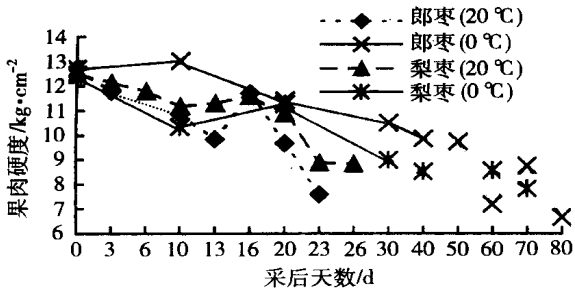


图 5 枣果采后果实硬度的变化

Fig. 5 Change of fruit hardness of postharvest jujube

214 枣果采后 SOD 和 CAT 活性变化

从图 6 可知,在贮藏前期郎枣 SOD 活性较高约为 380 酶活力单位,而梨枣只有 220 酶活力单位。郎枣 SOD 活性明显高于梨枣。在贮藏期间,郎枣和梨枣在 0 和 20 下 SOD 活性都呈下降趋势。0 SOD 活性下降较为平缓,下降速度明显缓于 20 下枣果,说明低温抑制了 SOD 活性的下降。郎枣的 SOD 活性比梨枣 SOD 活性下降速度快。

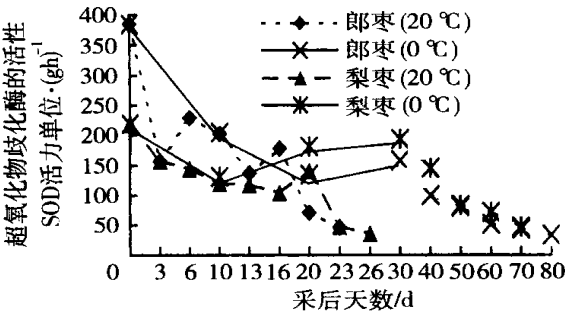


图 6 枣果采后超氧化物歧化酶活性变化

Fig. 6 Change of SOD activity of postharvest jujube

如图 7 所示,刚采收时,郎枣和梨枣 CAT 活性都较高,大约 H_2O_2 111 $mg \cdot g^{-1} \cdot min$ 左右,之后呈下降趋势。20 下, CAT 活性下降较快。郎枣在贮藏前期 CAT 活性变化较为缓慢,后期下降较快;梨枣在前期下降较快而后期下降缓慢。

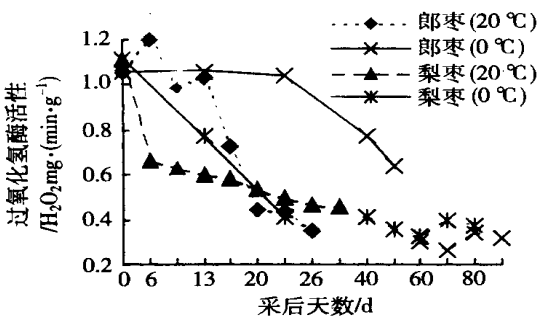


图 7 枣果采后过氧化氢酶活性变化

Fig. 7 Change of CAT activity of postharvest jujube

3 讨论

3 1 脂氧合酶活性与枣果生理状况及耐藏性的关系

3 1 1 LOX 与枣果呼吸强度的关系

LOX 活性变化与呼吸强度变化趋势相同,郎枣在 20 下二者的相关系数为 01765 2, 0 下的相关系数为 01980 5,说明 LOX 活性和枣果呼吸代谢呈显著正相关关系。通过调控活性变化可以控制枣果呼吸代谢,延缓其成熟衰老进程。

3 1 2 LOX 和 SOD、CAT 活性变化的关系

LOX 活性随贮藏期的延长,活性显著升高, SOD 活性却显著下降, 20 下郎枣、梨枣的 LOX 与 SOD 的相关系数分别为: - 01691 4 和 - 01651 9, 0 下二者的相关系数为: - 01890 7 和 - 01717 2。可见,枣果 LOX 与 SOD 活性变化趋势相反,呈显著负相关关系。20 下郎枣、梨枣的 LOX 与 CAT 活性变化呈负相关关系,相关系数分别为 - 01833 5 和 - 01725 1。

不同枣品种在不同的贮温下 LOX 活性在贮藏后期都呈上升趋势且上升速度较快。LOX 在果实成熟衰老过程中启动了细胞内膜系统的脂质过氧化导致了细胞膜透性增加,加剧了细胞膜降解,促进了组织衰老^[6, 8, 11]。它与脂质过氧化中的 SOD、POD、CAT 活性有着一定联系。SOD 与 CAT 活性在贮藏中呈明显下降趋势,说明枣果清除活性氧的能力下降,标志着果实的衰老。说明 LOX 启动的膜脂过氧化作用可能直接启动了果实的后熟软化。

3 1 3 脂氧合酶与枣果硬度变化及 PE 酶的关系

LOX 与硬度、PE 的关系密切。LOX 与 PE 活性变化趋势一致, 0 下郎枣、梨枣的 LOX 与 PE 的相关系数分别为 01931 69 和 01947 0, 20 下 LOX 与郎枣硬度变化的相关系数为 - 01800 3, 0 下为 - 01664 8。

PE 酶也是引起一些果蔬软化的主要酶之一^[7]。随枣果硬度缓慢下降, PE 活性相对应呈缓慢上升趋势,同时硬度下降较快阶段, PE 酶也呈现较高的活性, 20

下郎枣和梨枣的硬度与 PE 的相关系数分别为 - 01798 1 和 - 01567 2; 0 下为 - 01807 3 和 - 01606 0,这说明枣果软化与 PE 的活性呈一定负相关性。

3 1 4 LOX 与枣果耐藏性的关系

LOX 在植物的生长代谢中起着重要的作用,对果实的质地变化及成熟衰老有着重要影响^[8]。20 下的郎枣、梨枣分别在贮藏第 16 d、20 d 后 LOX 迅速增高,同时好果率也迅速下降,枣果很快软化腐烂。郎枣和梨枣的 LOX 与耐藏性的相关系数分别为 - 01968 6

和-0.01990 2, 0 下为-0.01507 9 和 0.01848 7, 说明 LOX 与枣的好果率呈显著负相关关系。软腐果的增多与枣果的 LOX 活性的升高有着密切的关系。而且郎枣比梨枣 LOX 活性升高的快, 在同一贮藏时期郎枣的好果率比梨枣低, 这也说明 LOX 活性与枣果耐藏性有关。

SOD 与好果率趋势一致, 20 和 0 下郎枣与梨枣的相关系数分别为 0.01824 3、0.01828 7、0.01945 6、0.01951 2, 呈显著正相关。CAT 与好果率也有一定的正相关性, 20 和 0 下郎枣与梨枣的相关系数分别为 0.01970 4、0.01951 6、0.01980 0、0.01517 0。

3.2 其他条件对枣果成熟软化的影响

3.2.1 温度对枣果采后生理变化的影响

适当的低温是保证果实安全贮藏的重要手段。在不干扰破坏果实缓慢而正常的代谢机能的前提下, 温度愈低, 愈能延缓果实成熟、软化和衰老的进程, 贮藏寿命就愈长。研究看出 0 很好地抑制了枣果 LOX、PG 和 PE 活性, 延缓了枣果硬度下降, 保持了较高的好果率。郎枣在 20 下 23 d LOX 活性为 $11155.0 \text{ OD}(\text{min} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW})$, 而 0 下 70 d LOX 为 $112 \text{ OD}(\text{min} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW})$; 可见 0 低温明显延迟了 LOX 活性的增高, 延缓枣果成熟软化。

3.2.2 微生物对枣果采后贮藏的影响

微生物的作用对枣果的贮藏有影响。许多腐败微生物在贮藏后期的出现, 可以加快枣果的软化和腐烂变质。在梨枣贮藏的中后期, 果面上出现许多红褐色斑点, 使得大量梨枣腐烂霉变, 使得好果率很快下降。造成这种褐斑的原因有可能是衰老或者冷害发生后感染灰霉病菌造成的。深入的机理还有待于进一步研究。

3.2.3 包装袋气孔面积大小对枣果耐贮性的影响

陈祖钺等认为枣不能忍受大于 5% 的 CO_2 。试验材料所用的塑料薄膜袋上的打孔面积, 直接影响袋内 CO_2 的含量。在实验中发现, 郎枣贮藏后期, 枣果大量变软, 果肉有褐斑而并未霉烂, 说明可能是通气量不足引起 CO_2 伤害, 建议增大包装通气量或选用透气性能好的特殊薄膜材料, 也可以采用减压贮藏。有关这方面的研究我们正在进行。

[参 考 文 献]

- [1] 生吉萍, 申琳, 罗云波. 果蔬成熟和衰老中的重要酶——脂氧合酶[J]. 果树科学, 1999, 16(1): 72~77.
- [2] 罗云波. 脂氧合酶与番茄采后成熟的关系[J]. 园艺学报, 1994, 21(4): 357~360.
- [3] 寇晓虹, 王文生, 吴彩娥等. 鲜枣冷藏过程中生理生化变化[J]. 中国农业科学, 2000, 33(6): 44~49.
- [4] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1985.
- [5] 王金胜等. 实用生物化学技术[M]. 太原: 山西高校联合出版社, 1994.
- [6] 吴敏, 陈昆松, 张上隆. 桃果实采后成熟过程中脂氧合酶活性变化[J]. 园艺学报, 1999, 26(4): 227~231.
- [7] 梁小娥等. 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.
- [8] Siedovo J N. Plant Lipoxygenase: structure and function[J]. Annu Rev Physical Mol Biol, 1991, 42: 145~188.
- [9] 关军锋等. 苹果果实衰老与膜脂过氧化作用关系[J]. 河北农业大学学报, 1991, 14(1): 50~54.
- [10] 林植芳等. 采后荔枝果实中氧化和过氧化作用的变化[J]. 植物学报, 1988, 30(4): 382~387.
- [11] Brennan T C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear[J]. Plant Physical, 1977, 59: 411~416.

Effects of Lipoxygenase on Ripening and Softening of Jujube Fruit

Kou Xiaohong, Yan Shijie, Wu Cai e, Wang Rufu, Liang Liya, Guo Chunrong, Li Chen, Zhang Ailing

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Shanxi Taiyuan 030801, China)

Abstract: For understanding the role of lipoxygenase (LOX) in fresh jujube ripening and softening, the Chinese jujube (*Zizyphus Jujuba* Mill.) cultivars, 'Langzao' and 'Lizao', were used to investigate the changes of LOX, SOD, CAT, PE activities and the rising of respiratory intensity related to fruits softening after harvest. The result showed that LOX, PE activities increased with the senescence and softening of jujube, but SOD, CAT and fresh rate decreased. When jujube fruit were stored at 0, LOX, PE and respiratory intensity were markedly inhibited while the fruit softening was delayed. The experiments also show that there are significant negative correlation between LOX and SOD, CAT ($r = 0.019805, 0.019471$) respectively, and positive correlation between LOX and respiratory intensity, PE activity. LOX is a key factor related to the ripening and softening of jujube.

Key words: fresh jujube; lipoxygenase; ripening and softening