

# 苹果 $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯含量变化与贮藏温度的关系

胡小松<sup>1</sup> 肖华志<sup>1</sup> 王晓霞<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 中国农业大学食品学院, 北京 100083; <sup>2</sup> 中国人民大学农业经济系, 北京 100080)

**摘 要:** 以‘红星’苹果为试材, 研究  $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯的合成和转化部位, 试验表明,  $\alpha$ -法尼烯在果实表皮角质层中大量合成, 分别向外蜡质层和向内皮下细胞和果肉薄壁细胞双向转移, 在果实表皮蜡质层或角质层中与氧接触, 氧化生成共轭三烯和其它氧化产物; 虎皮病发生、 $\alpha$ -法尼烯与共轭三烯的含量都与贮藏温度呈显著的负相关。

**关键词:** 苹果; 虎皮病;  $\alpha$ -法尼烯; 共轭三烯; 贮藏; 温度

**中图分类号:** S 661.1; S 432.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 02-0169-04

## Contents of $\alpha$ -farnesene and Conjugated Trienes in Apple Superficial Scald and Their Relation with Storage Temperature

Hu Xiaosong<sup>1</sup>, Xiao Huazhi<sup>1</sup>, and Wang Xiaoxia<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China; <sup>2</sup> Department of Agricultural Economics, Renmin University of China, Beijing 100080, China)

**Abstract:** With ‘Red Delicious’ apple as a material, the specific position of  $\alpha$ -farnesene’s formation in the apple were identified, respectively, to provide experimental evidence for the proposal of the mechanism of apple superficial scald. Results showed that  $\alpha$ -farnesene was formed in large amount in horny layer, and not only diffused outward to wax layer but also inward to hypodermic and pulp cell. Once it met oxygen in horny and wax layer,  $\alpha$ -farnesene was oxidized to conjugated trienes and other products. The degree of scald development and the both contents of  $\alpha$ -farnesene and conjugated trienes were inversely proportional to store temperature.

**Key words:** Apple; Superficial scald;  $\alpha$ -farnesene; Conjugated trienes; Storage; Temperature

苹果虎皮病是贮藏后期发生的一种严重生理病害<sup>[1,2]</sup>。长期以来, 国内外采后学界认为  $\alpha$ -法尼烯的氧化产物共轭三烯在贮藏后期含量的增高是导致苹果虎皮病的直接原因<sup>[3]</sup>; 也有人认为虎皮病的发生与  $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯的关系可能受到其它因素的影响<sup>[4]</sup>。近年来还提出了冷害假说, 认为苹果经过长期低温贮藏所发生的虎皮病, 可能是低温伤害的表现<sup>[2,5,6]</sup>。苹果虎皮病与贮藏温度的关系及冷害假说有待进一步研究。

有关虎皮病致病过程的系统研究报道较少, 前苏联梅特利茨基<sup>[7]</sup>1988年在总结众多研究的基础上指出:  $\alpha$ -法尼烯是在果肉细胞内产生, 然后向果表皮迁移, 在表皮角质层中积累、氧化为共轭三烯和其它氧化产物, 共轭三烯聚合成不透氧的聚合物, 导致有害物质积累, 引发虎皮病。我国学者对虎皮病成因的研究主要集中在果皮中的天然抗氧化剂、 $\alpha$ -法尼烯的氧化中间产物及果皮的超显微结构观察等几个方面。张元湖研究发现  $\alpha$ -法尼烯与共轭三烯的比值在贮藏期间呈现规律性变化, 迅速上升至高峰, 之后随贮藏期的延长而降低; 他还发现角质层中电子密集物与虎皮病的发生有密切关系, 推测该电子密集物可能是  $\alpha$ -法尼烯氧化物反应后的混合物, 可以破坏细胞内部结构<sup>[8]</sup>。赵晨霞等研究发现, 苹果果皮中的电导率、丙二醛、 $H_2O_2$  随着贮藏时间的延长逐渐增加, 由于  $H_2O_2$  的过

量积累,诱发了膜脂过氧化,认为膜伤害与虎皮病密切相关<sup>[9]</sup>。

近年来化学防治效果最好的 DPA (二苯胺) 的禁用使虎皮病发生机制的研究更为重要。本试验拟研究  $\alpha$ -法尼烯及共轭三烯在苹果果实中的合成和转化部位及其在贮藏过程中含量的变化、虎皮病发病率与贮藏温度的关系,进一步探讨虎皮病的发病机理,为寻找可替代的天然、非化学性虎皮病抑制剂,实现从根本上控制虎皮病的发生提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

‘红星’苹果,2000 年 9 月上旬采自北京海淀区四季青三队果园。采后当天用清水浸泡 15~20 s,自然晾干后,用包装纸单果包装装入纸箱,分别在 0℃、10℃贮藏 6 个月,室温贮藏 4 个月,定期检查虎皮病病情指数,测定果皮中的  $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯含量。

### 1.2 方法

1.2.1 虎皮病的病情指数 虎皮病病情指数 (%) =  $\Sigma$  (病果数 × 病果级数) / (检查总数 × 最高级数) × 100 (正常果为 0 级;发病面积 < 1/4 为 1 级, < 1/3 为 2 级, < 1/2 为 3 级, > 1/2 为 4 级)。

1.2.2 果皮中  $\alpha$ -法尼烯、共轭三烯含量的测定 削取果皮并用单面刀片刮净内面的果肉,取 10 cm<sup>2</sup> 放入 20 mL 大试管中,加入 10 mL 正己烷提取  $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯。取 2 mL 提取液过 Florisil 柱(硅镁型吸附剂),再加 3~4 mL 正己烷洗脱并定容至 5 mL 容量瓶中密封,及时用 752 型紫外可见分光光度计于 232 nm 处比色,测定  $\alpha$ -法尼烯的含量<sup>[10]</sup>。另取提取液 2 mL,加 2 mL 正己烷于 281 nm 及 290 nm 处比色,测定共轭三烯的含量,测定结果以 nmol/cm<sup>2</sup> 表示<sup>[10]</sup>。

1.2.3  $\alpha$ -法尼烯、共轭三烯的合成和转化部位的研究 选取 0℃贮藏时三个代表性时期——虎皮病发生前(贮藏 25 d)、 $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯含量迅速上升期(贮藏 50 d)和虎皮病开始出现(贮藏 136 d),取果实样品用单面刀片轻轻刮下果面蜡质(蜡质层),然后削皮(0.2 cm 厚),用单面刀片刮净皮下数层果肉细胞(角质层及近果皮果肉细胞),再削去 0.2 cm 厚果肉(果肉细胞),最后在果核处取 0.2 cm 厚果肉(果核果肉细胞),分别测定细胞中的  $\alpha$ -法尼烯、共轭三烯含量,测定结果以 nmol/g 表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\alpha$ -法尼烯、共轭三烯的合成和转化部位

由表 1 可知,在 0℃贮藏的三个时期  $\alpha$ -法尼烯含量在不同部位存在明显差异。角质层中, $\alpha$ -法尼烯含量的变化符合典型的贮藏初期迅速上升,出现高峰,之后下降的规律;在蜡质层中表现出随贮藏期延长大量积累的趋势;在近果皮果肉细胞和果肉细胞中各时期变化不大,初期近果核果肉细胞中未检出。总体表现为在角质层中大量合成,双向扩散,在蜡质层中大量积累,由果皮向果核扩散时含量递减。

表 1 ‘红星’苹果各部位  $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯含量

Table 1 Contents of  $\alpha$ -farnesene's and conjugated trienes in various positions of 'Red Delicious' apple

果实部位 Fruit positions	$\alpha$ -法尼烯 $\alpha$ -farnesene (nmol/g)			共轭三烯 Conjugated trienes (nmol/g)		
	25 d	50 d	136 d	25 d	50 d	136 d
蜡质层 Wax layer	418.1	2310.7	1939.7	3.4	889.1	503.4
角质层 Horny layer	869.3	601.7	88.7	205.0	462.1	391.7
近果皮果肉细胞 Pulp cell close to peel	301.7	488.1	418.1	3.4	121.7	0
果肉细胞 Pulp cell	396.6	352.1	840.9	0	0	82.0
近果核果肉细胞 Pulp cell close to core	0	167.7	118.3	0	0	0

共轭三烯在角质层中含量的变化符合  $\alpha$ -法尼烯的转化规律,高峰在  $\alpha$ -法尼烯高峰之后出现,

在蜡质层中大量积累, 近果皮果肉细胞中有少量, 果肉细胞中几乎不存在。表现为  $\alpha$ -法尼烯在角质层和蜡质层中大量氧化, 之后主要向外扩散。

## 2.2 $\alpha$ -法尼烯、共轭三烯的含量与贮藏温度的关系

从图 1 可以看出, 果皮中  $\alpha$ -法尼烯、共轭三烯的含量都与贮藏温度呈显著的负相关, 温度增加,  $\alpha$ -法尼烯 (或共轭三烯) 的含量降低, 较高的贮藏温度有利于降低  $\alpha$ -法尼烯 (或共轭三烯) 的含量, 抑制  $\alpha$ -法尼烯的氧化。

0℃、10℃贮藏对  $\alpha$ -法尼烯的形成有明显的促进作用, 但 10℃以上对  $\alpha$ -法尼烯的氧化有明显的抑制作用。10℃贮藏条件下, 果皮中  $\alpha$ -法尼烯含量较高, 共轭三烯含量较低, 其比值明显高于 0℃贮藏, 说明适当高温能明显抑制  $\alpha$ -法尼烯的氧化, 也说明虎皮病决定于共轭三烯, 而非  $\alpha$ -法尼烯。

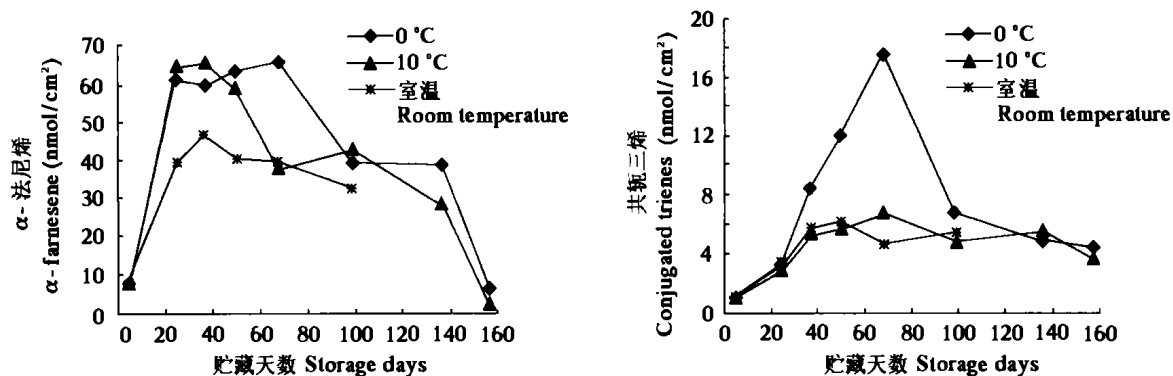


图 1 不同贮藏温度下‘红星’苹果  $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯含量的变化

Fig. 1 Contents of  $\alpha$ -farnesene and conjugated trienes of ‘Red Delicious’ apple in various storage temperature

试验结果还表明, 在各贮温下, FCR ( $\alpha$ -法尼烯/共轭三烯) 的平均值在 90% 的显著水平上没有显著差异。

## 2.3 贮藏温度对虎皮病病情指数的影响

如图 2 所示, 0℃、10℃下‘红星’苹果贮藏 70~90 d 开始出现虎皮病, 随着贮藏时间的延长, 褐变面积逐渐增加, 病情指数升高。常温贮藏 136 d 仍没有发生虎皮病。病情指数与温度呈显著的负相关, 表现出低温对虎皮病具有诱导作用。贮藏温度越低, 病情指数越高, 发病时间越早。

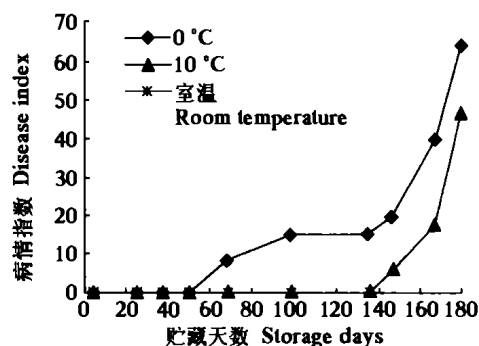


图 2 不同贮藏温度下‘红星’苹果虎皮病病情指数与贮藏时间的关系

Fig. 2 Relation of scald development of ‘Red Delicious’ apple to various storage temperature

## 3 讨论

### 3.1 $\alpha$ -法尼烯、共轭三烯合成和转化部位假设

本研究选取了虎皮病发生前、 $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯含量迅速上升期和虎皮病开始出现三个时期, 分别测定了不同部位  $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯含量, 由此提出  $\alpha$ -法尼烯和共轭三烯可能的合成和氧化模式, 如图 3。

$\alpha$ -法尼烯很可能是在果实表皮角质层中大量合成, 分别向外蜡质层和向内果肉细胞层中积累, 并向空气中扩散, 另一部分则向果肉细胞内部转移,  $\alpha$ -法尼烯的氧化大量发生在蜡质层和角质层中, 产生共轭三烯和其它氧化产物。大部分共轭三烯向空气中扩散, 少量共轭三烯和其它氧化产物由外向内扩散。这与张元湖等人发现的电子密集物由果皮向内转移现象相一致。当果实处于  $\alpha$ -法尼烯生成高峰期时, 角质层中合成量最大, 之后逐渐下降, 蜡质层中  $\alpha$ -法尼烯含量有大量积累的趋势, 在果肉细胞中有由外到内递减的趋势。

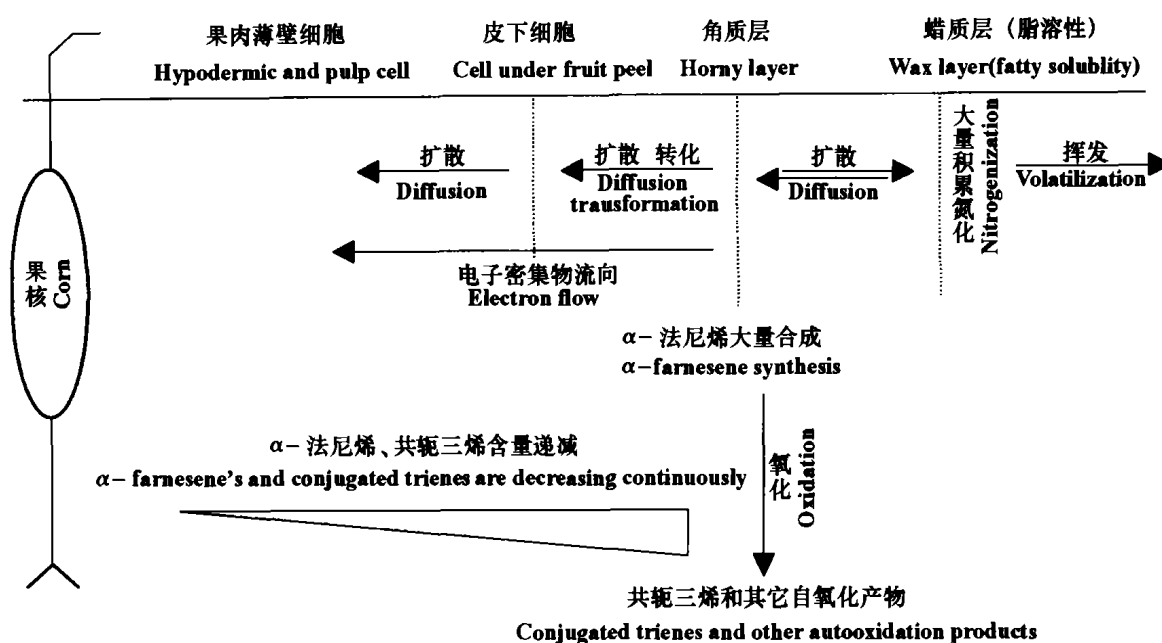


图 3 α-法尼烯和共轭三烯可能的合成和氧化模式

Fig. 3 Possible model of α-farnesene's and conjugated trienes synthesis and oxidation

在贮藏的不同阶段, 共轭三烯在蜡质层和角质层中大量存在, 在皮下数层细胞中有少量存在, 只在苹果虎皮病发生后, 在近果皮果肉细胞中有很少量 (1.64 nmol/g), 这与虎皮病只损伤皮下 1~6 层细胞的现象相符, 说明 α-法尼烯的氧化产物损伤细胞可能存在含量阈值。

### 3.2 贮藏温度与虎皮病的相关性

不论 α-法尼烯和共轭三烯是虎皮病发生的直接或间接因子, 众多研究都表明, 它们的含量和变化可作为虎皮病发生的指标。虎皮病的发生确实与贮藏温度有关, 长期低温对虎皮病的发生有明显的诱导作用, 较高的贮温有利于 α-法尼烯和共轭三烯的挥发, 并抑制 α-法尼烯的合成和氧化。绝大多数的研究都认为当温度高于 15℃ 时, 虎皮病不再出现。尽管如此, 苹果虎皮病是否属于一种“冷害”尚待进一步研究。

### 参考文献:

- 1 Ingle M, D'Souza M C. Physiology and control of superficial scald of apples: A review. Hortscience, 1989, 24: 28~31
- 2 Meigh D F. Apple scald. In: Hulme A C ed. The biochemistry of fruits and their products. London: Academic Press, 1970. 555~569
- 3 Huelin F E, Coggiola I M. Superficial scald, a functional disorder of stored apples, VII-effect of applied α-farnesene, temperature and diphenylamine on scald and the concentration and oxidation of α-farnesene in the fruit. J. Sci. Fd. Agric., 1970, 21: 584~589
- 4 Whitaker B D, Nock J F, Watkins C B. Peel tissue alpha-farnesene and conjugated trienol concentrations during storage of 'White Angel' × 'Rome Beauty' hybrid apple selections susceptible and resistant to superficial scald. Postharvest Biology and Technology, 2000, 20 (3): 231~241
- 5 Bramlage W J, Meir S. Chilling injury of crops of temperate origin. In: Wang C Y ed. Chilling injury of horticultural crops. Boca Raton: CRC Press, 1990. 37~49
- 6 Saltveit M E, Morris L L. Overview of chilling injury of horticultural crops. In: Wang C Y ed. Chilling injury of horticultural crops. Boca Raton: CRC Press, 1990. 3~15
- 7 兀. B. 梅特利茨基著, 刘幕春等译. 水果和蔬菜的生物化学基础, 北京: 科学出版社, 1988. 265~275
- 8 张元湖. 苹果虎皮的研究概况. 山东农业大学学报, 1991, 22 (2): 197~220
- 9 赵晨霞, 胡小松. 膜伤害与红星苹果虎皮病的相关性. 中国农业大学学报, 1998, 3 (5): 35~38
- 10 Anet E F L. Superficial scald, a functional disorder of stored apples IX. Effect of maturity and ventilation. J. Sci. Fd. Agric., 1972, 23: 763~769