

草酸处理减轻芒果采后果实冷害的机理研究

薛锡佳, 李佩艳, 宋夏钦, 沈玫, 郑小林*

(浙江工商大学食品与生物工程学院, 杭州 310035)

摘要: 芒果 (*Mangifera indica* L.) ‘Zill’ 果实采后经 5 mmol · L⁻¹ 草酸溶液浸泡 10 min 后, 在低温 (10 ± 0.5) °C 下贮藏 27 d, 再移至常温 25 °C 贮藏 4 d, 冷害系数和质膜相对透性显著低于对照; 草酸处理降低了果实在贮藏后期的呼吸速率和乙烯释放速率, 抑制了多酚氧化酶 (PPO) 和过氧化物酶 (POD) 活性, 维持了较高果肉亮度值 (L^*), 可溶性固形物 (SSC)、游离脯氨酸和柠檬酸含量。说明草酸处理可提高质膜稳定性, 抑制褐变相关酶活性以及维持一些渗透调节物质含量来增加采后果实的抗冷性, 缓解果实冷害症状。

关键词: 芒果; 果实; 草酸; 低温胁迫; 冷害

中图分类号: S 667.7

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 11-2251-07

Mechanisms of Oxalic Acid Alleviating Chilling Injury in Harvested Mango Fruit Under Low Temperature Stress

XUE Xi-jia, LI Pei-yan, SONG Xia-qin, SHEN Mei, and ZHENG Xiao-lin*

(College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract: Harvested mango fruit (*Mangifera indica* L. ‘Zill’) were dipped in oxalic acid solution of 5 mmol · L⁻¹ for 10 min and then stored under low temperature stress (at 10 °C ± 0.5 °C) for 27 days and thereafter at room temperature (about 25 °C) for 4 days. The results showed that, as compared to control fruit, lower chilling injury index and relative membrane permeability were observed in treated fruit during storage. In addition, oxalic acid treatment not only decreased respiration rate and ethylene release, inhibited activities of peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO), and maintained higher flesh L^* value during period of later storage, but also maintained higher contents of SSC, free proline and citric acid in fruit during storage. It was suggested that the effects of oxalic acid in enhancing membrane integrity, inhibiting activity of enzymatic browning, and maintaining higher level of osmotic substances including SSC, free proline and citric acid, could contribute to improve cold resistance, and thus alleviate chilling injury in mango fruit during cold storage.

Key words: mango; fruit; oxalic acid; low temperature stress; chilling injury

芒果是典型的冷敏型热带水果, 果实在低于 13 °C 低温胁迫条件下贮藏, 会出现果皮凹陷或水渍状斑点, 表皮及果实内部褐变, 果实的风味和香气丧失, 不能软化成熟等冷害症状, 导致果实贮

收稿日期: 2012-06-20; 修回日期: 2012-10-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30771509); 国家高新技术研究和发展计划项目 (2012AA101607)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zheng9393@163.com)

藏期缩短, 品质及商品价值严重降低 (Nair & Singh, 2009)。研究表明, 水杨酸或 NO 等处理能够提高芒果采后果实的抗冷性, 减轻果实冷害发生 (Ding et al., 2007; Zaharah & Singh, 2011)。

草酸是一种广泛分布于植物、动物及真菌中的有机酸。研究表明, 外源草酸能有效延缓果实采后成熟衰老进程, 控制采后果实腐烂及褐变发生 (郑小林, 2010; Wu et al., 2011; 郑小林 等, 2011; Zheng et al., 2012), 而且能够缓解芒果和石榴等冷敏型果实贮藏的冷害 (Ding et al., 2007; Sayyari et al., 2010)。目前研究结果表明草酸提高了低温胁迫下采后果实的抗氧化力。为了进一步揭示草酸诱导提高冷敏型果实的采后抗冷性、缓解果实冷害发生的作用机制, 研究了草酸处理对芒果在低温 ($10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$) 胁迫下贮藏的冷害指数、膜透性、呼吸速率和乙烯释放速率、多酚氧化酶 (PPO) 和过氧化物酶 (POD) 活性、有机酸及游离脯氨酸含量的影响, 分析草酸缓解果实冷害的效应及其生理基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

试验材料为中晚熟优质芒果 (*Mangifera indica* L.) 栽培品种 ‘Zill’, 又名 ‘红芒 6 号’, 种植于四川省攀枝花市仁和区金沙镇农业部芒果绿色生产示范基地。

2011 年 8 月上旬采集约八成熟、大小和着色基本一致的无病果实, 采收当天参考 Ding 等 (2007) 的方法用 $5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 草酸溶液浸果 10 min, 以浸水为对照。果实风干后单果用吸水纸包裹装入纸箱, 第 2 天空运回杭州。

去掉果实外的吸水纸, 取无机械伤的对照和处理各 120 个果, 按每筐 30 个装入干净的塑料筐中, 筐外套上 0.05 mm 厚塑料袋, 袋不封口, 然后放入 (10 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ (预备试验发现 ‘Zill’ 果实贮藏约 2 周后便发生冷害的温度) 的恒温恒湿箱 (Sanyo, MIR-554) 中贮藏 27 d, 再移到室温 ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右) 下后熟 4 d。对照和处理各 60 个果实用于统计贮藏期间的冷害指数, 并分别在对照和处理果中固定 8 个果实测定呼吸速率和乙烯释放速率。另一部分对照和处理的各 60 个果, 每隔 7 d 随机从中分别取 8 个果实, 去皮后用直径 10 mm 的打孔器取果实横径最大处果肉, 一部分果肉切成圆片做相对膜透性分析, 另一部分果肉用于各项生理指标的测定。每项指标测定重复 3 次。

1.2 测定方法

芒果果实的冷害症状包括表皮凹陷、产生冷害斑、果肉褐变以及果实不能正常完熟等。果实冷害系数统计按果实表面的凹陷及冷害斑的面积大小分为 5 级。0 级: 未发病; 1 级: 发病面积小于果实总表面积 10%; 2 级: 发病面积为果实总表面积的 10% ~ 20%; 3 级: 发病面积为果实总表面积的 20% ~ 30%; 4 级: 发病面积大于果实总表面积的 30%。冷害系数 (%) = $\sum (\text{病级果数} \times \text{该级代表数值}) / (\text{调查总果数} \times \text{最高级代表数值}) \times 100$ 。

用电导率仪 (DDSJ-308A, 上海精密科学仪器有限公司) 测定组织细胞膜电解质渗出率。

选取大小、表面成色、成熟度一致的芒果 8 个, 放入约 5 L 与空气平衡后的干燥器中, 密封, 并在 (10 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置, 贮藏 28 d 后的果实则在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右室温下放置。用便携式红外线 CO_2 分析器 (GXH-3010E, 北京市华云分析仪器研究所) 检测 10 min 后干燥器中 CO_2 浓度变化值并计算果实呼吸速率; 再密封 4 h, 抽取平衡容器中的气体, 用气相色谱仪 (FULI 9790, 浙江福立分析仪器有限公司) 测定果实乙烯释放速率, 色谱条件: FID 检测器, 小口径毛细管填充柱, 柱温为 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样温度为 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, 检测器温度为 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

用 FHM-5 硬度计（竹村电机制作所）测果实横径最大处两侧果肉的硬度，取平均值。采用 CHROMA METER CR-400 型色差仪（CHROMA METER）测果实果心处 L^* 值，取平均值。取果肉用榨汁器榨取果汁，双层纱布过滤后，用数显阿贝折射仪（2WE-T，上海光学仪器五厂）测榨出果汁的可溶性固形物（SSC）含量。PPO 和 POD 活性测定参考曹建康等（2007）的方法，用 UV-1800 紫外分光光度计（SHIMADZU）分别在 420 和 470 nm 处检测 3 min 内吸光度的变化，以每克果肉（鲜质量）每分钟吸光值变化 1 为一个酶活单位。使用 Agilent 1100 高压液相色谱仪（Agilent）测定有机酸含量（Cevdet et al., 2009）。色谱条件：采用 C18 柱，柱温 25 °C，流动相使用超纯水配成的 $1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸溶液，流动相流速为 $0.7\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ，进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$ ，检测波长为 214 nm。参照 Bates 等（1973）的方法测定果肉的游离脯氨酸含量。

数据统计分析用 SPSS 17.0 软件。

2 结果与分析

2.1 草酸处理对芒果贮藏期间果实冷害系数和相对膜透性的影响

果实冷害系数从采后 14 d 开始急剧上升；草酸处理的果实 21 ~ 28 d 和（28 + 4）d 均显著低于对照（图 1，A）。

果实细胞膜相对透性随贮藏时间的延长而不断增加，当果实移到常温后则急剧增加；草酸处理果实的质膜相对透性在 21 ~ 28 d 显著低于对照（图 1，B）。

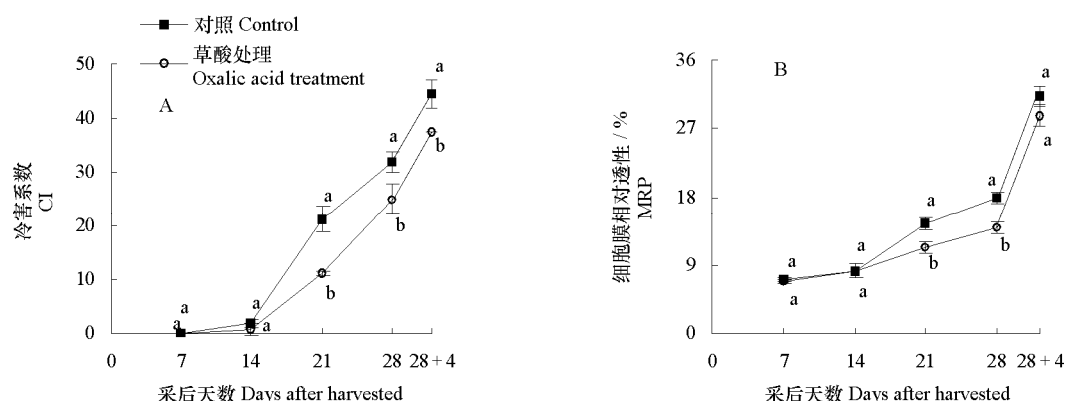


图 1 草酸处理对芒果果实贮藏期间果实冷害系数（A）和相对膜透性（B）的影响

“28 + 4”表示果实先在 10 °C 贮藏 27 d 后移至 25 °C 下贮藏 4 d， $P < 0.05$ 。

Fig. 1 Effects of oxalic acid treatment on CI (A) and membrane permeability (B) of mango fruits during storage

“28 + 4” means fruits had been stored for four days at 25 °C after transferred from at

10 °C for 27 days, $P < 0.05$.

2.2 草酸处理对芒果贮藏期间果实呼吸速率和乙烯释放速率的影响

果实呼吸速率在低温贮藏前期降低，14 d 后逐渐上升，而当果实移到常温后急剧增加，但显著低于对照（图 2，A）。

果实乙烯释放速率均呈先升高后下降再升高的变化；对照果实乙烯释放速率在 21 d 后急剧增加，但草酸处理果实在移至常温后才增加；草酸处理果实乙烯释放速率在 28 和（28 + 4）d 分别是对照果实的 73% 和 70%，显著低于对照（图 2，B）。

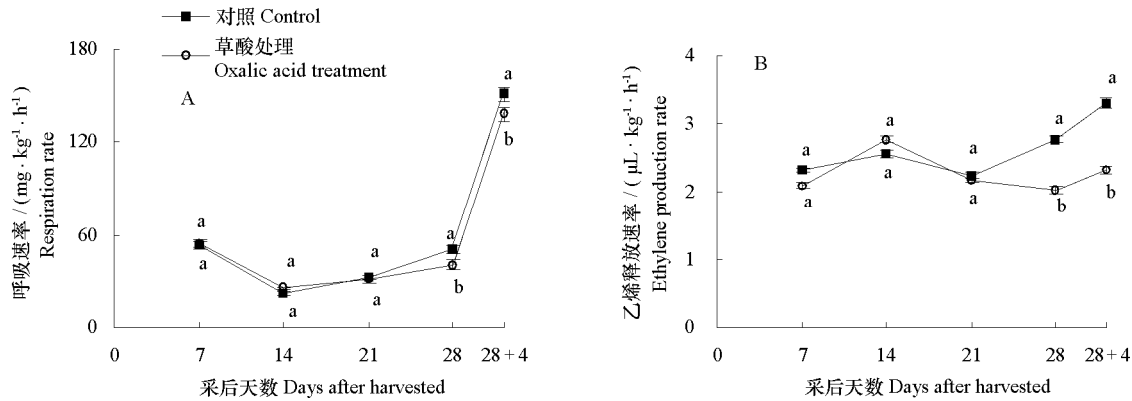


图 2 草酸处理对杧果果实贮藏期间呼吸速率 (A) 和乙烯释放速率 (B) 的影响

“28 + 4” 表示果实 在 10 ℃ 贮藏 27 d 后移至 25 ℃ 下贮藏 4 d, $P < 0.05$ 。

Fig. 2 Effects of oxalic acid treatment on respiration rate (A) and ethylene production rate (B) of mango fruits during storage

“28 + 4” means fruits had been stored for four days at 25 ℃ after transferred from at 10 ℃ for 27 days, $P < 0.05$.

2.3 草酸处理对杧果贮藏期间硬度、果肉色差和 SSC 的影响

果实硬度在采后 21 d 内变化不大, 之后则较快下降; 草酸处理果实硬度在采后 28 d 显著高于对照果实。

果肉亮度 L^* 值随贮藏期的延长不断下降, 草酸处理果肉 L^* 值在 21 和 28 d 显著高于对照。果肉的 SSC 含量先上升后下降, 草酸处理果实在贮藏期间 SSC 均显著高于对照 (表 1)。

表 1 草酸处理对杧果果实贮藏期间硬度、果肉亮度和 SSC 含量的影响
Table 1 Effects of oxalic acid treatment on firmness, lightness and SSC of mango fruits during storage

处理 Treatment	采后天数 Days after harvested	硬度/kg Firmness	L^* 值 L^* value	SSC/%
对照/Contol	7	5.02 ± 0.12 a	81.94 ± 2.09 a	10.1 ± 0.09 b
草酸处理/Oxalic acid treatment	7	5.18 ± 0.13 a	82.10 ± 1.52 a	10.5 ± 0.08 a
对照/Contol	14	5.04 ± 0.23 a	77.00 ± 3.00 a	13.1 ± 0.06 b
草酸处理/Oxalic acid treatment	14	5.05 ± 0.34 a	79.91 ± 2.64 a	13.8 ± 0.00 a
对照/Contol	21	5.08 ± 0.22 a	72.71 ± 0.92 b	14.1 ± 0.06 b
草酸处理/Oxalic acid treatment	21	5.03 ± 0.17 a	74.00 ± 0.97 a	14.3 ± 0.15 a
对照/Contol	28	3.89 ± 0.40 b	70.53 ± 1.89 b	13.9 ± 0.11 b
草酸处理/Oxalic acid treatment	28	4.67 ± 0.14 a	72.92 ± 1.81 a	14.2 ± 0.10 a
对照/Contol	28 + 4	3.18 ± 0.10 a	67.75 ± 3.73 a	13.3 ± 0.12 b
草酸处理/Oxalic acid treatment	28 + 4	3.30 ± 0.22 a	70.33 ± 2.95 a	13.9 ± 0.11 a

2.4 草酸处理对杧果贮藏期间果肉 PPO 和 POD 活性的影响

果肉 PPO 活性在采后 21 d 前保持在相对稳定的低水平状态 (图 3), 当果实移至常温下后活性急剧增加; 草酸处理果实的 PPO 活性在 28 和 (28 + 4) d 显著低于对照 (图 3, A)。果肉 POD 活性在低温贮藏期间不断增加, 当果实移至常温时略有降低; 草酸处理果实的 POD 活性在 14 d 后显著低于对照 (图 3, B)。

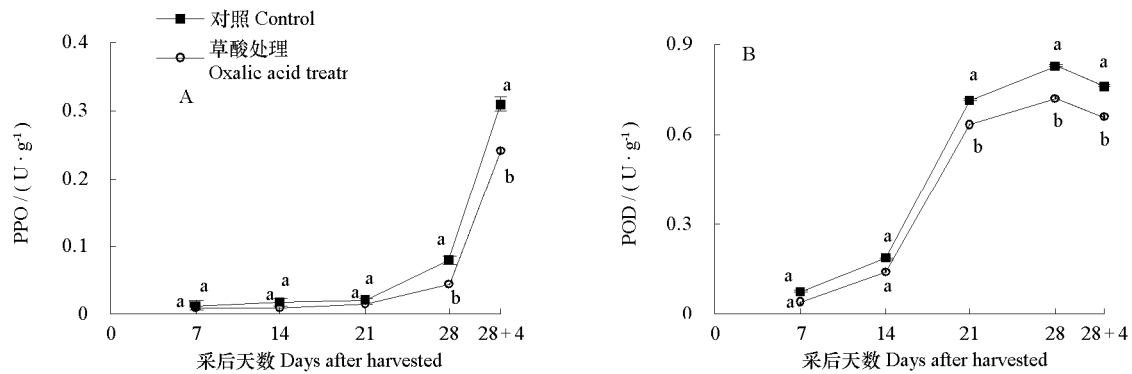


图 3 草酸处理对芒果果实贮藏期间 PPO (A) 和 POD (B) 活性的影响

“28+4”表示果实在 10℃ 贮藏 27 d 后移至 25℃ 下贮藏 4 d, $P < 0.05$ 。

Fig. 3 Effects of oxalic acid treatment on activities of PPO (A) and POD (B) of mango fruits during storage

“28+4” means fruits had been stored for four days at 25℃ after transferred from at 10℃ for 27 days, $P < 0.05$.

2.5 草酸处理对芒果贮藏期间果肉不同有机酸含量的影响

果实柠檬酸含量随贮藏时间延长而不断下降, 而草酸处理果实柠檬酸含量自采后 14 d 后显著高于对照 (图 4, A); 苹果酸含量在低温贮藏期间不断增加, 移至常温下急剧降低 (图 4, B); 酒石酸含量总体上呈下降趋势 (图 4, C)。草酸处理果实的苹果酸和酒石酸含量在 14 和 21 d 时都显著低于对照果实, 但在 7、28 和 (28+4) d 时显著高于对照 (图 4, B 和 C)。果实草酸含量在采后 7 d 时未检出, 其后含量稳定在约 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 草酸处理与对照间没有显著差异 (图 4, D)。

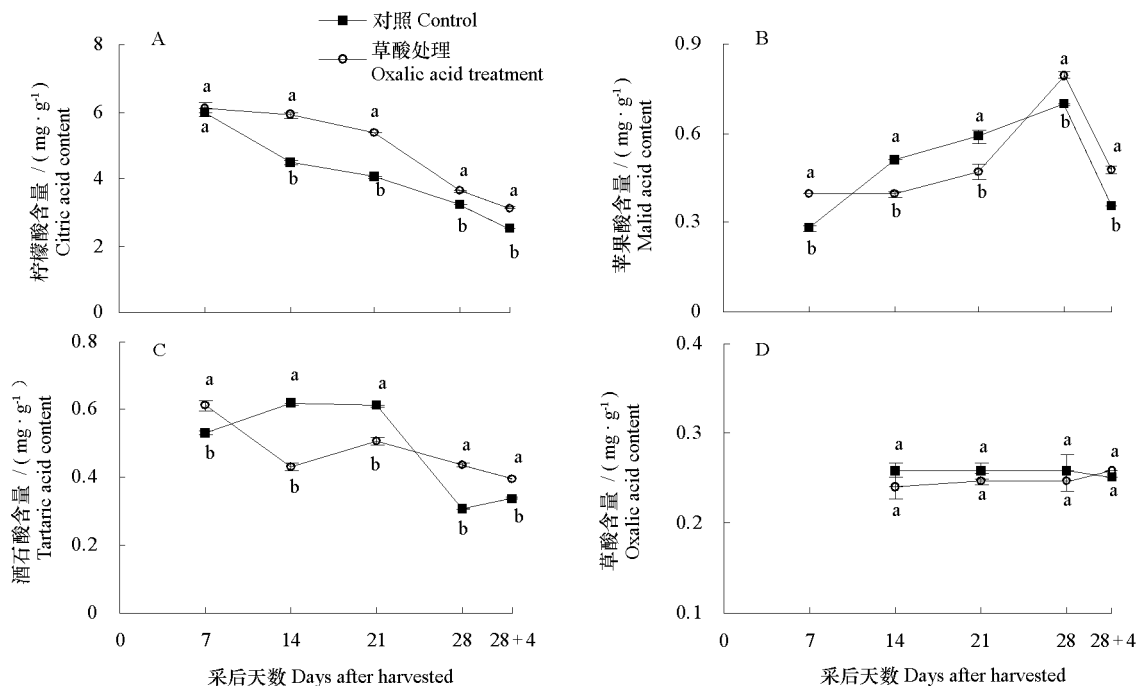


图 4 草酸处理对芒果果实贮藏期间不同有机酸含量的影响

“28+4”表示果实在 10℃ 贮藏 27 d 后移至 25℃ 下贮藏 4 d, $P < 0.05$ 。

Fig. 4 Effects of oxalic acid treatment on contents of different organic acids of mango fruits during storage

“28+4” means fruits had been stored for four days at 25℃ after transferred from at 10℃ for 27 days, $P < 0.05$.

2.6 草酸处理对芒果贮藏期间果肉的游离脯氨酸含量的影响

果实的游离脯氨酸含量在贮藏前期维持在较高的水平,但在 14 d 后急剧降低;草酸处理果实的游离脯氨酸含量在 21 和 28 d 时,分别为对照的 153%和 191%,显著高于对照(图 5)。

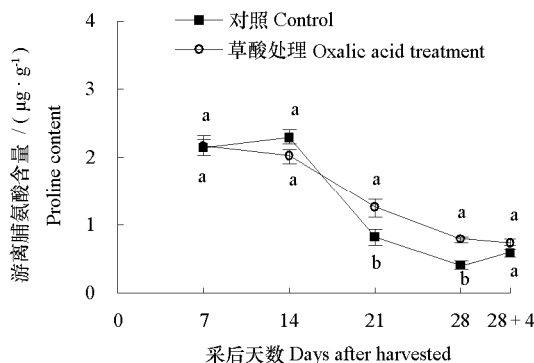


图 5 草酸处理对芒果果实贮藏期间游离脯氨酸含量的影响

“28+4”表示果实先在 10℃贮藏 27 d 后移至 25℃下贮藏 4 d, $P < 0.05$ 。

Fig. 5 Effects of oxalic acid treatment on free proline content of mango fruits during storage

“28+4” means fruits had been stored for four days at 25℃ after transferred from at 10℃ for 27 days, $P < 0.05$.

3 讨论

生物膜受伤害,呼吸代谢、乙烯生物合成代谢及细胞壁代谢等发生失调是果实采后低温胁迫的伤害反应。张建平(1992)认为质膜相对透性变化能及时准确地反映并预测果实冷害发生状况。表皮、果肉褐变是芒果果实典型的冷害症状,而褐变主要成因是酚类物质通过 PPO 和 POD 催化作用形成醌(张宇等,2010)。本试验中发现草酸处理显著降低了芒果果实在低温胁迫(10℃)及其后移到常温下贮藏的果实质膜相对透性和冷害系数(图 1),降低了果实贮藏后期的呼吸速率、伤害乙烯的释放量(图 2)、以及果肉 PPO 和 POD 活性(图 3),并延缓了贮藏后期果肉亮度 L^* 值的下降速率(表 1)。表明草酸能够有效缓解芒果采后果实低温胁迫下的冷害症状,提高果实胞膜的稳定性,抑制褐变相关酶活性,延缓了果实冷害的发生。

采后果实低温胁迫下累积可溶性糖、游离脯氨酸、有机酸、多胺等代谢产物能够提高果实采后抗冷性、缓解冷害发生(Agopian et al., 2011)。例如,Zaharah 和 Singh(2011)研究发现 NO 处理使芒果的酒石酸、莽草酸含量增加,冷害得到缓解,认为 NO 影响芒果糖代谢和有机酸代谢可能参与抗冷性的诱导。茉莉酸甲酯处理使樱桃番茄果实的精氨酸分解加强,导致游离脯氨酸和精胺积累,从而提高了果实的抗冷性(Zhang et al., 2012)。本试验中发现草酸处理增加了芒果果实在低温胁迫下的 SSC(表 1),同时延缓了果实柠檬酸和游离脯氨酸含量的下降速率,使果实的柠檬酸和游离脯氨酸含量保持在较高水平(图 4, A; 图 5)。草酸处理提高芒果果实低温胁迫下的这些渗透调节物/代谢物的含量,不仅有助于维持芒果的风味品质,可能还有助于提高果实的抗冷性,从而缓解果实的冷害发生。一些研究报道芒果果实的有机酸含量水平随冷害发生而改变,而且随因在糖酵解、TCA 循环和糖异生作用过程的消耗而降低(Selvaraj et al., 1989; O'Hare & Prasad, 1993)。芒果属于柠檬酸型果实(Gil et al., 2000),但本试验结果表明草酸处理对低温胁迫下芒果果实的苹果酸和酒石酸含量影响复杂(图 4, B、C)。因此,有关草酸对低温胁迫下芒果采后果实有机酸代谢的影响及其与果实冷害缓解效应之间的关系还需进一步的研究。

References

- Agopian R G D, Peroni-Okita F H J, Soares C A, Mainardi J A, Nascimento J R O, Cordenunsi B R, Lajolo F M, Purgatto E. 2011. Low temperature induced changes in activity and protein levels of the enzymes associated to conversion of starch to sucrose in banana fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 62: 33 – 140.
- Bates L S, Waldren R P, Teare I D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205 – 207.
- Cao Jian-kang, Jiang Wei-bo, Zhao Yu-mei. 2007. Experiment guidance of postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables. Beijing: China Light Industry Press: 101 – 103. (in Chinese)
- 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 2007. 果蔬采后生理生化实验指导. 北京: 中国轻工业出版社: 101 – 103.
- Cevdet Nergiz, Pelin Gunc, Ergonul. 2009. Organic acid content and composition of the olive fruits during ripening and its relationship with oil and sugar. *Scientia Horticulturae*, 122: 216 – 220.
- Ding Z S, Tian S P, Zheng X L, Zhou H W, Xu Y. 2007. Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. *Physiologia Plantarum*, 130: 112 – 121.
- Gil A M, Duarte I F, Delgadillo I, Colquhoun I J, Casuscelli F, Humpfer E, Spraul M. 2000. Study of compositional changes of mango during ripening by use of nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48 (5): 1524 – 1536.
- Nair S, Singh Z. 2009. Chilling injury during storage affects respiration rate and fruit quality in Kensington Pride mango fruit. *Acta Horticulture*, 820: 737 – 743.
- O'Hare T J, Prasad A. 1993. The effect of temperature and carbon dioxide on chilling symptoms in mango. *Acta Horticulturae*, 343: 244 – 250.
- Sayyari M, Valero D, Babalar M, Kalantari S, Zapata P J, Serrano M. 2010. Prestorage oxalic acid treatment maintained visual quality, bioactive compounds, and antioxidant potential of pomegranate after long-term storage at 2 °C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 6804 – 6808.
- Selvaraj Y, Kumar R, Pal D K. 1989. Changes in sugars, organic acids, amino acids, lipid constituents and aroma characteristics of ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 26 (6): 308 – 313.
- Wu F W, Zhang D D, Zhang, H Y, Jiang G Q, Su X G, Qu H X, Jiang Y M, Duan X W. 2011. Physiological and biochemical response of harvested plum fruit to oxalic acid during ripening or shelf-life. *Food Research International*, 44: 1299 – 1305.
- Zaharah S S, Singh Z. 2011. Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored 'Kensington Pride' mango. *Postharvest Biology and Technology*, 60: 202 – 210.
- Zhang X H, Sheng J P, Li F J, Meng D M, Shen L. 2012. Methyl jasmonate alters arginine catabolism and improves postharvest chilling tolerance in cherry tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 64: 160 – 167.
- Zhang Jian-ping. 1992. Study of chilling indicator on banana fruit. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 4: 56 – 59. (in Chinese)
- 张建平. 1992. 香蕉果实低温冷害指标的研究. *热带作物研究*, 4: 56 – 59.
- Zhang Yu, Rao Jing-ping, Sun Yun-jing, Li Shan-shan. 2010. Reduction of chilling injury in sweet persimmon fruit by 1-MCP. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (4): 547 – 552. (in Chinese)
- 张 宇, 饶景萍, 孙允静, 李珊珊. 2010. 1 - 甲基环丙烯对甜柿贮藏中冷害的控制作用. *园艺学报*, 37 (4): 547 – 552.
- Zheng Xiao-lin. 2010. Effects of exogenous oxalic acid on fruit during postharvest storage and its mechanism. *Journal of Fruit Science*, 27 (4): 605 – 610. (in Chinese)
- 郑小林. 2010. 外源草酸对水果的保鲜效应及其机理研究进展. *果树学报*, 27 (4): 605 – 610.
- Zheng Xiao-lin, Chen Yan, Jing Guo-xing, Li Ang, Zhang Jia-jia, Li Jian-rong. 2011. Effects of oxalic acid treatment on AsA-GSH cycle in mango fruit during storage at room temperature. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (9): 1633 – 1640. (in Chinese)
- 郑小林, 陈 燕, 敬国兴, 李 昂, 张佳佳, 励建荣. 2011. 草酸处理对芒果采后果实 AsA-GSH 循环系统的影响. *园艺学报*, 38 (9): 1633 – 1640.
- Zheng X L, Jing G X, Liu Y, Jiang T J, Jiang Y M, Li J R. 2012. Expression of expansin gene, *MiExpA1*, and activity of galactosidase and polygalacturonase in mango fruit as affected by oxalic acid during storage at room temperature. *Food Chemistry*, 132: 849 – 854.