



西北农业学报
Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica
ISSN 1004-1389, CN 61-1220/S

《西北农业学报》网络首发论文

题目: 1-MCP 结合低温通过调控脆性、叶绿素降解缓解叶类蔬菜采后衰老
作者: 李雪瑞, 李宏, 冯艳芳, 普红梅, 杨芳, 金鹏程, 王海丹, 于丽娟
收稿日期: 2021-08-11
网络首发日期: 2022-05-19
引用格式: 李雪瑞, 李宏, 冯艳芳, 普红梅, 杨芳, 金鹏程, 王海丹, 于丽娟. 1-MCP 结合低温通过调控脆性、叶绿素降解缓解叶类蔬菜采后衰老[J/OL]. 西北农业学报. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20220518.1335.015.html>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

1-MCP 结合低温通过调控脆性、叶绿素降解缓解叶类蔬菜采后衰老

李雪瑞¹, 李 宏¹, 冯艳芳², 普红梅¹, 杨 芳¹,
金鹏程¹, 王海丹¹, 于丽娟¹

(1. 云南省农业科学院 农产品加工研究所, 昆明 650205; 2. 云南农业大学 热带作物学院, 云南普洱 665000)

摘 要 为探究 1-MCP 结合低温通过调控影响品质变化的相关酶来缓解叶类蔬菜采后软化与黄化。分析 4℃ 及 4、6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP + 4℃ 复合处理 2 种叶菜(生菜和瓢儿菜)后, 其失水率、膜透性(电导率、丙二醛(MDA)、脆性[脆性、 β -半乳糖苷酶(β -GAL)酶活性]、黄化程度[叶绿素、叶绿素酶(CLH)酶含量、脱镁叶绿素酶(PPH)酶含量]的变化。结果表明: 常温下 2 种叶菜贮藏 4 d 后严重萎蔫失去商业价值, 1-MCP + 4℃ 保鲜处理后能贮藏至 12 d, 1-MCP + 4℃ 复合处理能有效地降低叶类蔬菜水分散失程度、缓解电导率和 MDA 升高、缓解叶片脆度降低和叶绿素降解, 其中 6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP + 4℃ 复合处理效果最为理想。6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP + 4℃ 复合处理 12 d 时生菜、瓢儿菜的脆性下降率(14.48%、28.12%)均比对照组 4 d 时(82.89%、80.12%)低, 其 β -GAL 酶活性分别为 15.01 nmol/(min·g)、19.53 nmol/(min·g), 分别上升 41.86%、12.74%, 而对照组仅 4 d 就上升 2 倍左右。贮藏 12 d 时, 6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP + 4℃ 复合处理两种叶菜叶绿素含量降解率(23.45%、30.13%)低于第 4 天时对照组(65.76%、72.37%)。相关的酶活含量数据也正好对应, 6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP + 4℃ 复合处理生菜贮藏 12 d 后其 CLH、PPH 酶含量分别降低 42.33%、67.11%, 常温贮藏 4 d 后其 CLH、PPH 酶含量分别降低 55.99%、74.50%。6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP + 4℃ 复合处理瓢儿菜后其 CLH、PPH 酶含量分别降低 44.93%、51.49%, 常温贮藏 4 d 后其 CLH、PPH 酶活则降低 53.03%、52.04%。6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP + 4℃ 通过有效调控 β -GAL 酶活性从而延缓叶菜软化的速度, 通过影响 CLH 和 PPH 酶含量而缓解叶绿素降解, 这为探索叶类蔬菜的保鲜机制, 进一步利用采后处理技术延长叶类蔬菜贮藏期提供理论依据。

关键词 1-MCP; 贮藏温度; 叶类蔬菜; 脆性; 叶绿素

中图分类号 G210.4040

文献标志码 A

叶菜是以菜叶和叶柄为食用部分的蔬菜, 含有富碳水化合物、维生素和无机盐等营养成分, 是种植面积最广、品种最多、消费量最大的一类蔬菜。但因该类蔬菜具有叶表面积大、含水量高、组织脆嫩等特点, 采后水分蒸发快, 易受机械损伤, 呼吸作用旺盛, 细胞膜被破坏, 影响了其采后电导率、MDA 值的变化, 同时组织的伤愈合产生萎蔫、软化^[1], 影响叶菜的脆度及其 β -GAL 酶活性, 通过影响脱镁叶绿素酶(PPH)酶含量、叶绿素酶(CLH)酶含量影响叶绿素的降解^[2], 导致叶菜褐变、黄化, 这 3 个问题使得叶菜成为生鲜农产品中最难保鲜的一类产品^[3]。因此, 采取有针对性的采后贮藏保鲜技术对降低采后损失和提高质量都

具有重要意义。

生菜(lettuce)即叶用莴苣, 菊科, 莴苣属, 1~2 a 生草本, 绿叶菜类蔬菜, 以叶球或叶片供食用, 宜生食, 故称生菜。生菜营养丰富, 是一种低热量、高营养的蔬菜。生菜采收后, 由于旺盛的呼吸作用和蒸腾作用, 易失水、萎蔫、褐变, 同时由于生菜极富脆性且含水量高, 在收获、运输及存储过程中, 易受损伤, 更加速其品质的下降^[4]。对于生菜保鲜的研究一直以来都很多, 余江涛等人对生菜保鲜方法进行了综述, 有物理保鲜方法(真空预冷保鲜、包装膜及气调保鲜、低温保鲜、热处理、光照、辐照、高压保鲜), 化学保鲜(消毒剂清洗、化学保鲜剂), 生物保鲜(生物杀菌剂、天然提取物)

收稿日期: 2021-08-11 **修回日期:** 2021-11-08

基金项目: 云南省李普旺专家工作站(202005AF50007); “绿色食品品牌”打造科技支撑行动(精深加工)专项经费; 农产品加工团队培育(202002AE320007-03)。

第一作者: 李雪瑞, 女, 助理研究员, 研究方向为农产品初加工。E-mail: lxr@yaas.org.cn

通信作者: 于丽娟, 女, 副研究员, 研究方向为农产品贮藏保鲜。E-mail: ylj@yaas.org.cn

等^[5],叶类蔬菜保鲜也大体都是这些技术^[6-7]。姜文利等^[8]研究了低温加湿保鲜对生菜贮藏品质的影响,有研究者研究了不同包装材料对生菜采后生理及保鲜效果的影响^[9-10]。瓢儿菜由芸薹进化而来,被称为“维他命”菜,常吃可以预防便秘,增强人体防病抗病的能力,但在贮藏销售过程中易受温度、微生物等影响发生黄化萎蔫、腐烂,是采后损失较严重的叶菜之一^[11]。谢晶等^[12]建立了以时间、温度和品质指标值为变量的瓢儿菜货架期预测方程,拟定不同的品质终点值得到对应的货架期,测定了在 5、10、15 和 20 °C 4 个温度下贮藏的瓢儿菜的还原型抗坏血酸、叶绿素、颜色参数 L^* (亮度)、 b^* (黄度)、 ΔE (色差) 和感官评价,具体的保鲜方法研究较少。高建晓等^[13]研究了 6-苜氨基嘌呤处理对瓢儿菜贮藏品质的影响。曾顺德等^[14]研究了 4 °C 冷藏下普通 PE 袋、4 孔 OPP 自粘袋、微孔气调保鲜袋对瓢儿菜保鲜效果的影响。但保鲜方法对叶菜的作用机制还不得而知。

温度是果蔬贮藏保鲜中极为关键的一个因素。适宜的低温可以抑制采后病原菌的繁殖和生长^[15]。果蔬低温贮藏技术是通过降低温度来抑制果蔬呼吸,延缓生命活动,达到保鲜的效果^[16]。同时,乙烯是促进成熟的重要激素,而 1-甲基环丙烯(1-MCP, 1-Methylcyclopropene)可以阻断乙烯的合成,降低其呼吸速率,达到缓解成熟与衰老的效果,从而延长其产品保鲜期与货架期^[17]。目前,有关 1-MCP 应用于果蔬保鲜的研究报道日益增多。研究表明,1-MCP 处理常与低温、气调及其他保鲜剂等联合使用,在果蔬贮藏过程中取得了明显的效果^[17-18]。前人研究结果表明:1-MCP 能保持叶类蔬菜较高的叶绿素和 Vc 含量,延缓衰老进程^[19]。因此,本试验在研究叶类蔬菜保鲜效果的基础上,探究低温(4 °C)条件下,不同浓度 1-MCP 处理对叶类蔬菜采后品质的影响及酶活变化,为进一步利用采后处理技术延长叶类蔬菜贮藏期提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

原材料:生菜(意大利生菜)和瓢儿菜(瓢儿菜),2 种带根活体叶类蔬菜,购于云南省农业科学院农产品加工研究所农产品展示平台;剔除有机械损伤、病虫害的个体,选择大小一致的个体常

温放置;定期取样测定相关指标。

试剂:1-MCP (1-甲基环丙烯)($\geq 4.0\%$, 上海麦克林生化科技有限公司);2-硫代巴比妥酸(上海展云化工有限公司);丙酮(分析纯,四川西陇科学有限公司)。

仪器:MULTISKAN GO 酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司);5424R 离心机(德国 Eppendorf 公司);TMS-TOUCH 质构仪(美国 FTC 公司);BSA223S 电子分析天平(德国 Sartorius 公司);DK-98-II 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 保鲜处理 将生菜和瓢儿菜两种叶类蔬菜分别置于 4、6 $\mu\text{L/L}$ 的 1-MCP 环境中密闭熏蒸 24 h,将样品取出后用保鲜袋包装,不束口,分别置于常温及 4 °C 条件下贮藏。贮藏期间定期取样,测定相关指标含量变化。

1.2.2 失水率的测定 取样后测定样品初始质量,之后分别贮藏 24、48 h 后测定样品质量,按下式计算失水率。

$$\text{失水率} = (m_0 - m) / m_0 \times 100\%$$

式中: m_0 为样品贮藏前的质量(g), m 为样品贮藏后的质量(g)。

1.2.3 相对电导率的测定 用打孔器将样品制成厚薄均匀,大小一致的组织圆片,精确称取 2 g 放在盛有 20 mL 蒸馏水的烧杯中,振荡后浸泡 1 h,测定提取液电导率 C_1 ;测定后煮沸 5 min,冷却后加蒸馏水补充至 20 mL,测定电导率 C_0 ;按下式计算相对电导率。

$$Le = C_1 / C_0 \times 100\%$$

1.2.4 MDA 的测定 称取样品 2 g,加入三氯乙酸 5 mL,冰浴研磨、离心,取上清即为 MDA 提取液。取 2 mL MDA 提取液,加 2 mL 2% 硫代巴比妥酸,混匀后放置于 100 °C 水浴中保温 30 min,静置冷却后于波长 450、532 和 600 nm 下测定吸光值。按下式计算 MDA 的质量摩尔浓度。

$$C = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$$

1.2.5 脆性测定 利用质构仪以单刀剪切模式测定两种叶菜脆性。测量最大剪切力(N)和最大位移(mm),用曲线斜率表示其脆性,即斜率(脆性)=最大剪切力/最大位移,斜率越大,说明样品的硬度或脆性越大,反之则越小。测定参数设置为 0.1 N 的起始力,40 mm/s 的测试速度,10 mm 的行程距离。

1.2.6 叶绿素含量的测定 取 0.5 g 样品,用提取液(丙酮:乙醇体积比为 2:1)研磨、过滤、定容至 25 mL。以提取液为对照,测定 663、645 nm 处的吸光值。按下式计算叶绿素含量(mg/g)。

$$\text{叶绿素总含量} = (20.20 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}) \times V / (100 \times W)$$

式中:V 为提取液体积,W 为样品鲜质量。

1.2.7 β -半乳糖苷酶(β -GAL)酶活性,叶绿素酶(CLH)及脱镁叶绿素酶(PPH)酶含量的测定

取 0.1 g 生菜及瓢儿菜组织鲜样,加入提取液冰浴研磨,高速离心后取上清液分别采用 β -GAL 酶活性测定试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司),CLH 酶含量测定试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)及 PPH 酶含量测定试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),参照试剂盒说明书测定各酶的活性。测定 400 nm 处的吸光度值,以每克组织每分钟产生 1 nmol 对-硝基苯酚定义为 1 个 β -GAL 酶活性单位。在 450 nm 波长下分别测定吸光度值,根据标准曲线 $y = 0.0086x + 0.0532$ ($R^2 = 0.9988$;其中, x 均为浓度, y 均为吸光度值)计算样品中植物 CLH 酶含量,根据标曲 $y = 0.0199x + 0.2459$ ($R^2 = 0.9994$;其中, x 为浓度, y 为吸光度值)计算 PPH 酶活含量。

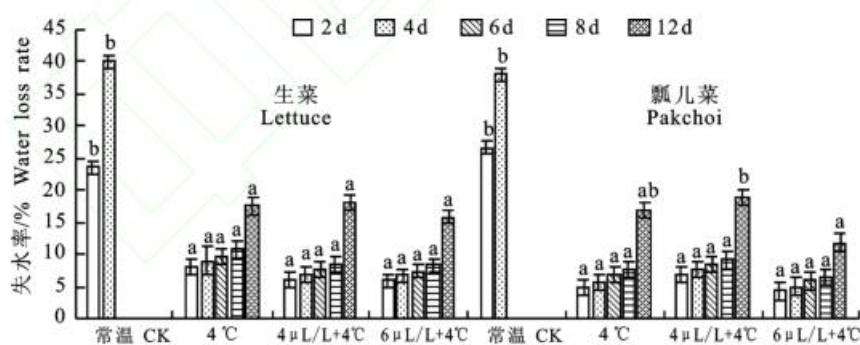
1.2.8 数据分析 采用 Excel 2010 软件处理数据,SPSS20.0 软件进行标准差及差异显著性分析

(当 $P < 0.05$ 时,认为差异显著),Origin 2018 软件作图。

2 结果与分析

2.1 4℃+1-MCP 对 2 种叶菜失水率的影响

水分是保持果蔬新鲜的重要因素,新鲜生菜中水分含量很高,一般在 90%~95%^[20],瓢儿菜叶片肥厚,常温储藏 3~4 d 就会黄化萎蔫^[14]。伴随着呼吸作用和蒸腾作用,果蔬采后水分不断散失,重量不断下降,且切割之后叶片受到损伤,更容易失水,外在表现为萎蔫、皱缩、质量下降。由图 1 可以看出,常温条件下两种叶类蔬菜均快速失水,贮藏 4 d 后样品严重萎蔫,失水率分别高达 40.03%、38.05%,而 4℃ 和不同浓度 1-MCP+4℃ 处理均能有效缓解叶菜失水现象,具有较好的保鲜效果。其中,4℃ 和不同浓度 1-MCP+4℃ 处理生菜保鲜效果差异不明显,而 6 μ L/L 1-MCP+4℃ 处理瓢儿菜能更有效地缓解水分散失。6 μ L/L 1-MCP+4℃ 处理条件下,贮藏 12 d 后,两种叶菜失水率分别为 15.74%、11.81%。曾顺德研究显示瓢儿菜在微孔气调包装袋中于 4℃ 下贮藏,至第 9 d 时,其失水率达到 16%^[14],但 6 μ L/L 1-MCP+4℃ 处理瓢儿菜至第 8 天时,失水率仅为 6.48%。从上可以看出,6 μ L/L 1-MCP+4℃ 处理确实能有效缓解叶菜水分散失。



不同小写字母的柱值表示各处理的平均值($n=3$)在 $P < 0.05$ 水平上差异显著,下同。

Values on columns followed by different lowercase letters indicate averages ($n=3$) of different treatments at level of $P < 0.05$, the same below.

图 1 2 种叶菜在贮藏过程中的失水情况

Fig. 1 Water loss rate in two kinds of leafy vegetables during storage

2.2 4℃+1-MCP 对 2 种叶菜膜透性的影响

电导率的大小可以反映细胞膜的完整性和果实的衰老程度。由图 2-A 可以看出,贮藏过程中,两种叶类蔬菜的电导率均随贮藏时间延长呈上升趋势;但与对照相比,4℃ 和不同浓度

1-MCP+4℃ 复合处理能够显著缓解电导率的升高。其中,6 μ L/L 1-MCP+4℃ 复合处理,两种叶菜电导率上升速率最慢,至第 12 天,分别上升至 17.41%、16.01%,对于缓解电导率上升、细胞膜透性增加均具有最佳效果。

MDA 含量作为判断衰老程度的指标之一^[21]。由图 2-B 可以看出,在两种叶类蔬菜中,常温对照组的 MDA 明显积累,贮藏 4 d 时,两种叶菜的 MDA 分别上升至 0.025、0.013 $\mu\text{mol/g}$,而经 4 $^{\circ}\text{C}$ 或不同浓度 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 复合处理的样品中 MDA 增加相对缓慢,该现象表明 4 $^{\circ}\text{C}$ 或不

同浓度 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 复合处理可以抑制 MDA 的积累,与电导率的变化规律相似。6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 复合处理对于缓解两种叶类蔬菜 MDA 上升均具有最佳效果。贮藏 12 d 后,两种叶菜 MDA 分别为 0.0037、0.0139 $\mu\text{mol/g}$,保鲜效果最佳。

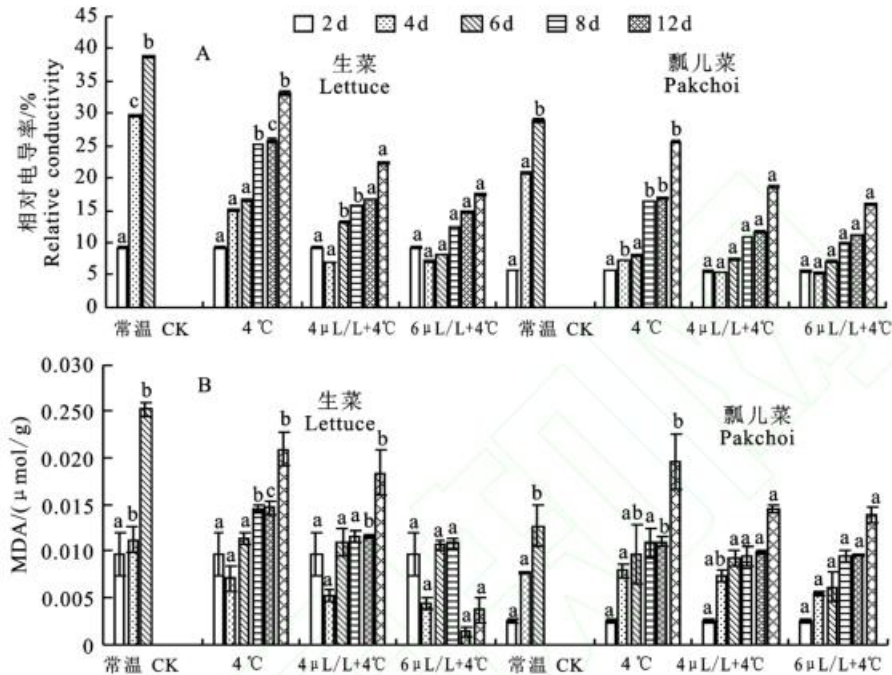


图 2 2 种叶菜在贮藏过程中电导率、丙二醛的变化

Fig. 2 Electrical conductivity and MDA in two kinds of leafy vegetable during storag

2.3 4 $^{\circ}\text{C}$ +1-MCP 对 2 种叶菜 β -半乳糖苷酶(β -GAL)酶活性和脆性的影响

β -半乳糖苷酶(β -GAL)是细胞壁降解的关键酶之一,其可催化果胶聚合体降解,破坏细胞壁结构,从而使果实软化,而软化是果蔬衰老的重要表现之一。由图 3 可以看出,脆性与 β -GAL 酶活性呈负相关关系, β -GAL 酶活性越大,叶菜细胞衰老、软化的速度随之增快,脆性便随之减弱。由图 3-A 可以看出,常温贮藏下,2 种叶类蔬菜 β -GAL 的酶活性上升速度非常快,在贮藏第 4 d 时,分别上升至 22.85、30.91 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot \text{g})$,上升了约 2 倍。而 4 $^{\circ}\text{C}$ 及不同浓度 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 处理过的样品组 β -GAL 酶活性上升速度都相对较慢,其中 6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 上升速度最慢,贮藏至第 12 天时,2 种叶菜 β -GAL 酶活性分别为 15.01、19.53 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot \text{g})$,分别上升了 41.86%、12.74%。由图 3-B 可以看出,常温条件下,2 种叶菜的脆性下降最快,至第 4 天,下降了 82.89%、80.12%。4 $^{\circ}\text{C}$ 及不同浓度 1-MCP+

4 $^{\circ}\text{C}$ 处理可以较好地保持两种叶菜的脆性,减缓其衰老的速度。这与缓解电导率上升、MDA 积累的作用类似。6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 低温复合处理在保持两种叶类蔬菜脆性中的效果最佳,12 d 后,2 种叶菜的脆度分别降低 14.48%、28.12%,4 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 处理则降低 47.60%、40.55%。

2.4 叶绿素含量的变化

叶绿素降解是植物叶片衰老最明显的标志^[22]。由图 4 可以看出,常温条件下,两种叶类蔬菜的叶绿素降解速率较快,贮藏至第 4 天时,分别降至 0.3、0.32 mg/g ,降低 65.76%、72.37%。而 4 $^{\circ}\text{C}$ 及不同浓度 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 复合处理叶绿素降解均相对缓慢,贮藏 12 d 时,4 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 处理后叶菜的叶绿素则分别降低 32.71%、35.55%,而 6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 复合处理后 2 种叶菜叶绿素含量分别为 0.68、0.82 mg/kg ,各自降低 23.45%、30.13%,由此可见,6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 $^{\circ}\text{C}$ 复合处理保鲜效果最佳。

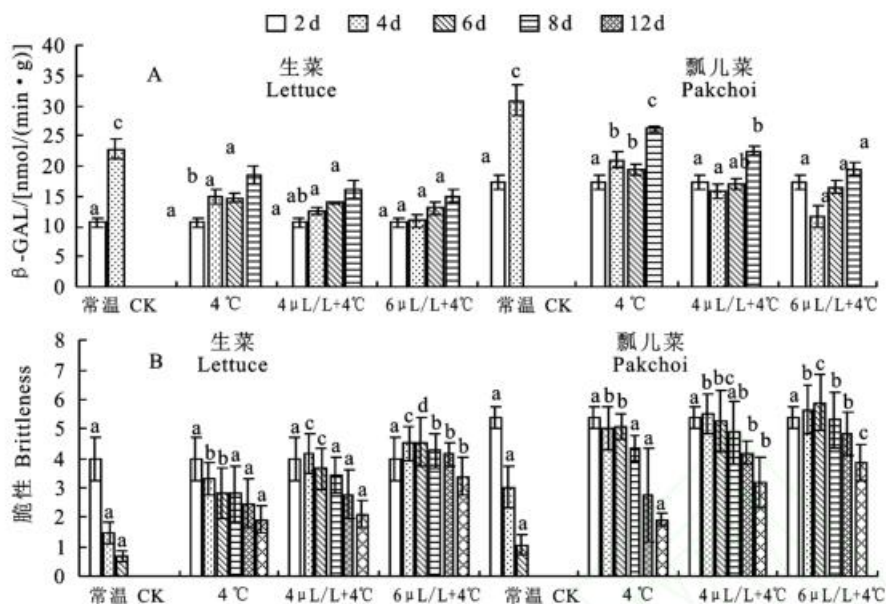
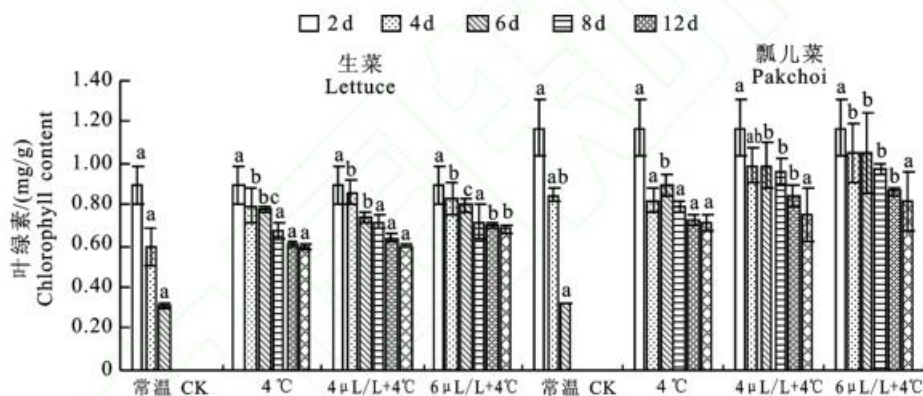
图3 贮藏过程中2种叶菜 β -半乳糖苷酶活性和脆性的变化Fig. 3 β -GAL enzyme activity and brittleness in two varieties of leafy vegetable during storage

图4 2种叶菜贮藏过程中叶绿素含量的变化

Fig. 4 Chlorophyll content in two kinds of leafy vegetables during storage

2.5 CLH、PPH 酶含量的变化

绿叶蔬菜采后失绿直接影响产品感官品质和货架寿命。相关研究表明,CLH 酶和 PPH 酶是叶绿素降解途径中的关键酶^[23-24]。由图 5 可以看出,随着贮藏时间的延长,2 种叶菜中 CLH、PPH 酶含量都有所降低。CLH 酶活变化,生菜常温贮藏 4 d 后降至 526.79 ng/g,降低 55.99%,而 6 μ L/L 1-MCP+4℃复合处理后其 CLH 酶含量降低得却很慢,至第 12 天,降至 690.30 ng/g,降低 42.33%;飘儿菜常温贮藏 4 d 后降至 600.61 ng/g,降低 53.03%,其他经各处理后第 12 天,其 CLH 酶活分别降至 600.75、633.62、704.19 ng/g,分别降低 53.02%、50.45%、44.93%,由

此可见 6 μ L/L 1-MCP+4℃复合处理能缓解其 CLH 酶的降解。PPH 酶活变化,生菜常温贮藏 4 d 后,其 PPH 酶活降至 0.06 nmol/g,降低 74.50%,其他各处理 12 d 时分别降低 73.27%、72.05%、67.11%;飘儿菜常温贮藏 4 d 后,其 PPH 酶活降低 52.04%,12 d 时,各处理后其酶活分别降至 0.08、0.09、0.10 nmol/g,降低 59.16%、55.22%、51.49%,依旧是 6 μ L/L 1-MCP+4℃复合处理其 CLH 酶降低最少,这表明 1-MCP 可以调节叶绿素降解途径相关酶表达水平,从而延缓叶绿素降解^[25],且对于生菜和飘儿菜来说,6 μ L/L 1-MCP 比 4 μ L/L 1-MCP 的效果要好。

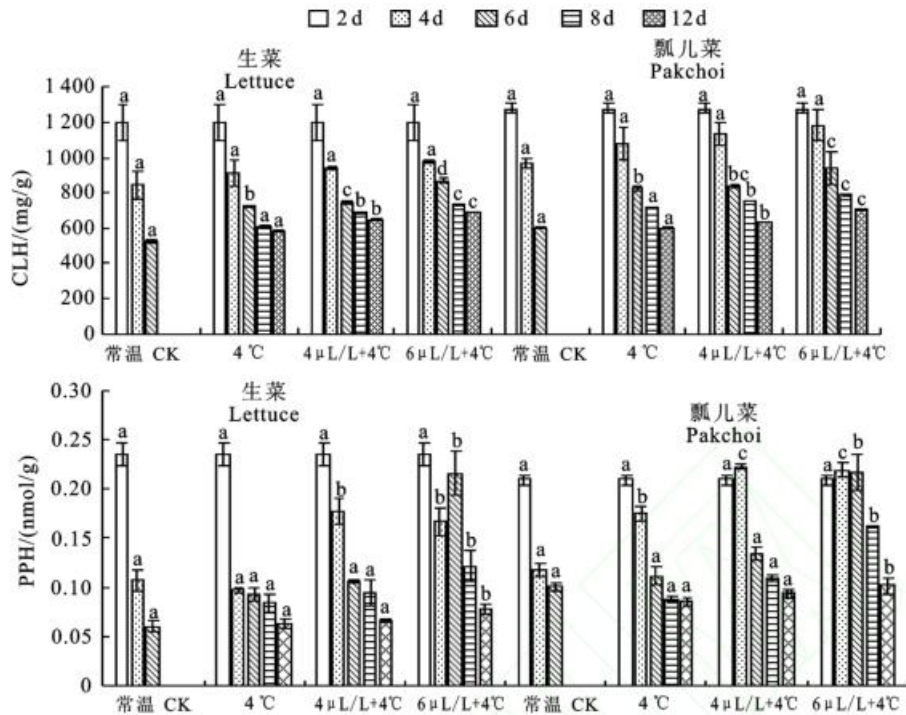


图5 2种叶菜贮藏过程中叶绿素酶(C LH)、脱镁叶绿素酶(PPH)含量的变化

Fig. 5 CLH and PPH enzyme content in two kinds of leafy vegetables during storage

3 结论与讨论

保鲜处理后,在常温和低温条件下,两个品种叶类蔬菜失水率、电导率、MDA含量均呈现上升趋势,1-MCP结合低温冷藏处理可以延缓电导率和MDA等含量增加的时间和速率,这刚好与李剑峰等^[26]研究一致。 β -半乳糖苷酶活性随贮藏时间增加,脆性则不断下降,这一现象表明 β -GAL酶活性越大,叶菜细胞衰老、软化的速度随之增快,脆性便随之减弱,且1-MCP结合低温处理可以有效抑制 β -GAL酶活性,进而延缓果蔬软化的速度^[27]。王森等^[28]研究证实,1-MCP处理可以明显减缓果蔬贮藏中硬度与脆度的下降,对延长果蔬货架期具有积极作用,本试验结果与前人研究相吻合,且1-MCP可减缓果蔬脆度下降有可能与它能抑制 β -GAL酶活性增加有关。叶绿素含量、CLH酶、PPH酶含量等随着贮藏时间的延长均呈不同的下降,这表明1-MCP+4 °C复合处理可以调节叶绿素降解途径中相关酶的含量及表达水平来延缓叶绿素降解,从而在叶类蔬菜上具有较好的保鲜效果。这与前面失水率、脆性等品质正好对应,焦莉等^[29]的研究发现,生菜采后使用包装水分散失减少,所以其叶绿素降解得也相对较缓慢,这在本研究结果中也被证实,6

$\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 °C复合处理后其失水率最低,叶绿素降解得也最缓慢。也有研究者在探究5 °C低温储藏瓢儿菜时推测叶绿素主要因为脱镁反应而降解,低温抑制了该反应^[12,30]。曾顺德等的研究表明微孔气调保鲜袋包装瓢儿菜贮藏9 d后,其SPAD值相比散装对照低10.83%^[14],6 $\mu\text{L/L}$ 1-MCP+4 °C处理在抑制瓢儿菜采后黄化方面仍然显示出其优势,同时这为后面将气调包装与1-MCP、低温结合保鲜瓢儿菜提供了思路,也为其作用机制分析做了铺垫。蔬菜在采后贮藏过程中叶绿素合成作用停止,但代谢作用仍然旺盛,随着贮藏时间延长,叶绿素因受CLH酶和PPH酶主导的代谢途径的影响逐渐被分解,绿色消退并逐渐黄化。CLH和PPH是脱去叶绿素a的植醇,是叶绿素降解途径中的2个关键酶,能够特异性水解脱镁叶绿素a生成脱镁叶绿素a,其表达水平与衰老程度呈正相关^[31]。田雪婷等^[25]探讨了1-MCP处理对采后“澳洲青苹”苹果叶绿素降解的影响,发现1-MCP能够延缓果皮黄化,这与本实验结果一致,其认为可能是1-MCP抑制了叶绿素a、b的降解,并减少果实中脱镁叶绿素a与脱镁叶绿素a含量的积累,从而达到延缓黄化的效果,1-MCP抑制叶菜叶绿素降解的具体原因需要进一步的探究。未来的研究也将集中于探究影响

β -GAL 酶、CLH 酶、PPH 酶的基因,为 1-MCP+4 °C 方法保鲜叶菜提供理论依据。

参考文献 Reference:

- [1] RICO D, MARTÍN-DIANA A B, BARAT J M, *et al.* Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2007, 18(7): 373-386.
- [2] 刘 振, 唐 蕾, 王海鹏, 等. 低温贮藏和短波紫外线辐照对芥蓝采后叶绿素降解及脱镁叶绿素酶活性的影响[J]. *食品工业科技*, 2013(15): 332-334.
LIU ZH, TANG L, WANG H O, *et al.* Effect of chlorophyll degradation and pheophytinase activity of Chinese kale under low temperature storage and ultraviolet-C irradiation [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013(15): 332-334.
- [3] 朱军伟, 谢 晶. 叶类蔬菜保鲜技术研究进展[J]. *湖南农业科学*, 2011, (21): 90-93.
ZHU J W, XIE J. Advances in preservation techniques of leafy vegetables [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2011, (21): 90-93.
- [4] 范双喜, 陈湘宁. 我国叶类蔬菜采后加工现状及展望[J]. *食品科学技术学报*, 2014, 32(5): 1-5.
FAN SH X, CHEN X N. Present aspects and prospect of post-harvest processing and preservation of China leafy vegetables [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, 32(5): 1-5.
- [5] 余江海, 谢 晶. 生菜保鲜技术研究现状[J]. *食品与机械*, 2013(5): 226-229.
YU J T, XIE J. Current advances in preservation technology of lettuce [J]. *Food and Machinery*, 2013(5): 226-229.
- [6] 郭振龙, 陈湘宁, 许 丽, 等. 叶类蔬菜气调包装保鲜技术及其机理的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2016, 32(21): 161-165.
GUO ZH L, CHEN X N, XU L, *et al.* Research progress on preservation technology and mechanism of leaf vegetables under MAP [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(21): 161-165.
- [7] 高海生, 赵希艳, 李润丰. 果蔬采后处理与贮藏保鲜技术研究进展[J]. *农业工程学报*, 2007, 23(2): 273-278.
GAO H SH, ZHAO X Y, LI R F. Review of postharvest treatment and preservation technologies of fruit and vegetable [J]. *Transactions of the CSAE*, 2007, 23(2): 273-278.
- [8] 姜文利, 刘金光, 孙 艳, 等. 低温加湿保鲜对叶类蔬菜贮藏品质的影响[J]. *保鲜与加工*, 2018, 18(4): 43-48.
JIANG W L, LIU J G, SUN Y, *et al.* Effect of low temperature and humidification preservation on storage quality of leaf vegetables [J]. *Storage and Process*, 2018, 18(4): 43-48.
- [9] 周 婧, 韩 涛, 陈湘宁, 等. 不同包装材料对生菜采后生理及保鲜效果的影响[J]. *蔬菜*, 2017(11): 61-66.
ZHOU J, HAN T, CHEN X N, *et al.* The influence of different packaging materials on the postharvest physiology and fresh-keeping effect of the lettuce [J]. *Vegetables*, 2017, (11): 61-66.
- [10] 马涌航, 刘建新, 陈湘宁, 等. 不同阻隔性包装材料对生菜保鲜效果的影响[J]. *食品与机械*, 2017, 3(8): 122-125.
MA Y H, LIU J X, CHEN X N, *et al.* Effects of different barrier packaging materials on preservation of lettuce [J]. *Food and Machinery*, 2017, 3(8): 122-125.
- [11] 张雪梅, 曾志红, 高伦江, 等. 瓢儿菜采后微生物生长动力学模型研究[J]. *南方农业*, 2017, 11(10): 17-19.
ZHANG X M, ZENG ZH H, GAO L J, *et al.* The kinetics model of microorganism growth on postharvest of pakchoi [J]. *South China Agriculture*, 2017, 11(10): 17-19.
- [12] 谢 晶, 张利平, 苏 辉, 等. 瓢儿菜蔬菜的品质变化动力学模型及货架期预测[J]. *农业工程学报*, 2013, 29(15): 271-278.
XIE J, ZHANG L P, SU H, *et al.* Quality kinetic model and shelf life prediction of green vegetable (*Brassica rapa* var. *chinensis*) [J]. *Transactions of the CSAE*, 2013, 29(15): 271-278.
- [13] 高建晓, 刘 丹, 古荣鑫, 等. 6-苄氨基嘌呤处理对瓢儿菜贮藏品质的影响[J]. *食品科学*, 2015, 36(4): 247-253.
GAO J X, LIU D, GU R X, *et al.* 6-benzyl aminopurine treatment delays the quality deterioration of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) during storage [J]. *Food Science*, 2015, 36(4): 247-253.
- [14] 曾顺德, 高伦江, 曾小峰, 等. 不同包装材料对瓢儿菜贮藏保鲜效果的影响[J]. *西南大学学报*, 2019, 41(6): 1-7.
ZENG SH D, GAO L J, ZENG X F, *et al.* Effect of packaging materials on preservation of pakchoi during storage and transportation [J]. *Journal of Southwest University*, 2019, 41(6): 1-7.
- [15] 梁琪琪, 张润光, 刘皓涵, 等. 低温结合薄膜包装对石榴果实采后生理及贮藏品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(8): 187-191.
LIANG Q Q, ZHANG R G, LIU H H. Effects of low temperature combined with film packaging on postharvest physiology and storage quality of pomegranate fruit [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(8): 187-191.
- [16] 曾庆孝. 食品加工与保藏原理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.
ZENG Q X. Principles of Food Processing and Storage [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015.
- [17] 胡 筱, 潘 浪, 丁胜华, 等. 1-MCP 作用机理及其在果蔬贮藏保鲜中的应用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(8): 304-316.
HU X, PAN L, DING SH H, *et al.* Research progress on the mechanism of action of 1-MCP and its application in postharvest fruits and vegetables storage [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(8): 304-316.
- [18] 陈 浩, 张润光, 付露莹, 等. 1-MCP 与 Na₂S₂O₅ 复合保鲜剂对‘红提’葡萄采后生理及贮藏品质的影响[J]. *中国农*

- 业科学, 2019, 52(7): 1192-1204.
- CHENG H, ZHANG R G, FU L Y, *et al.* Effects of 1-MCP and Na₂S₂O₅ composite preservative on postharvest physiology and storage quality of red globe grapes[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(7): 1192-1204.
- [19] 杜传来, 高 会. 1-MCP 对几种叶菜保鲜效果的影响[J]. 食品与机械, 2010, 26(3): 57-61.
- DU CH L, GAO H. Effect on fresh-keeping of leaf vegetables by 1-MCP[J]. *Food and Machinery*, 2010, 26(3): 57-61.
- [20] 尹晓婷, 赵葵儿, 蒋星仪, 等. 超声波处理结合纳米包装对鲜切生菜品质的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(2): 250-254.
- YIN X T, ZHAO K E, JIANG X Y, *et al.* Effect of ultrasonic treatment combined with nano-packaging on the quality of fresh-cut lettuce[J]. *Food Science*, 2015, 36(2): 250-254.
- [21] 陈欢欢, 邓玉璞, 冯建华, 等. 青椒 MAP 保鲜效果研究[J]. 食品科技, 2013(10): 36-39.
- CHEN H H, DENG Y P, FENG J H, *et al.* MAP preservation effect of different preservative films on green pepper[J]. *Food Science And Technology*, 2013(10): 36-39.
- [22] 魏 珑. 果蔬叶绿素降解机理研究进展[J]. 食品安全导刊, 2016(9): 49-50.
- WEI L. Research progress of chlorophyll degradation mechanism in fruit and vegetable[J]. *China Food Safety*, 2016(9): 49-50.
- [23] 唐 蕾, 毛忠贵. 植物叶绿素降解途径及其分子调控[J]. 植物生理学报, 2011, 47(10): 936-942.
- TANG L, MAO ZH G. Degradation pathway of plant chlorophyll and its molecular regulation[J]. *Plant Physiology Journal*, 2011, 47(10): 936-942.
- [24] 王绘艳, 王曙光, 史雨刚, 等. 小麦叶绿素酶及脱镁叶绿素水解酶活性测定条件的优化[J]. 山西农业科学, 2019, 47(4): 541-544.
- WANG H Y, WANG SH G, SHI Y G, *et al.* Optimization of determination conditions of chlorophyllase and pheophytin hydrolase activity in wheat leaf[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2019, 47(4): 541-544.
- [25] 田雪婷, 吴晗笑, 王 雷, 等. 1-MCP 处理对采后‘澳洲青苹’苹果叶绿素降解的影响[J]. 果树学报, 2020, 37(5): 734-742.
- TIAN X T, WU H X, WANG L, *et al.* Effect of 1-MCP treatment on chlorophyll degradation in postharvest ‘Granny Smith’ apple fruit[J]. *Journal of Fruit Science*, 2020, 37(5): 734-742.
- [26] 李剑峰, 杨月琴, 李 婷, 等. 1-甲基环丙烯在果实采后保鲜中应用的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2020, 39(9): 33-38.
- LI J F, YANG Y Q, LI T, *et al.* Research progress in the application of 1-methylcyclopropene in postharvest fruit preservation[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2020, 39(9): 33-38.
- [27] 张元薇, 辛 颖, 陈复生. 果实软化过程中果胶降解酶及相关基因研究进展[J]. 保鲜与加工, 2019, 19(2): 147-153.
- ZHANG Y W, XIN Y, CHEN F SH. Research progress of pectin degrading enzymes and related genes in fruit softening[J]. *Storage and Process*, 2019, 19(2): 147-153.
- [28] 王 森, 谢碧霞. 1-甲基环丙烯对货架期中秋酥脆枣鲜果质构特性的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2011, 31(11): 137-141.
- WANG S, XIE B X. Effect of 1-MCP on texture properties of fresh fruit in storage shelf period of *Zizyphus jujube* cv. Zhongqiusucui[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2011, 31(11): 137-141.
- [29] 焦 莉, 王大平. 赤霉素对生菜保鲜的品质影响研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(1): 324-325.
- JIAO L, WANG D P. Effects of gibberellin on the quality of lettuce in storage[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2013, 41(1): 324-325.
- [30] MARTINS R C, LOPES I C, SILVA C. Accelerated life testing of frozen green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) quality loss kinetics: colour and starch[J]. *Journal of Food Engineering*, 2005, 67(3): 339-346.
- [31] SCHELBERT S, AUBRY S, BURLA B, *et al.* Pheophytin pheophorbide hydrolase (Pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(3): 767-785.

Alleviation of Post-harvest Senescence in Leafy Vegetables by Regulating Brittleness and Chlorophyll Degradation Under Combination of 1-MCP and Low Temperature

LI Xuerui¹, LI Hong¹, FENG Yanfang², PU Hongmei¹, YANG Fang¹,
JIN Pengcheng¹, WANG Haidan¹ and YU Lijuan¹

(1. Agro-products Processing Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;

2. College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Puer Yunnan 665000, China)

Abstract Combined 1-MCP with low temperature, the softening and yellowing of leafy vegetables af-

ter harvest were alleviated by regulating quality-related enzymes. The changes in the water loss rate, membrane permeability (conductivity and malondialdehyde, MDA), brittleness (brittleness, β -galactosidase (β -GAL), and enzyme activity), and yellowing degree (chlorophyll, chlorophyllase (CLH) enzyme content, and pheophytinase (PPH) enzyme content) in two kinds of leafy vegetables (lettuce and pakchoi) were analyzed under combined treatment at 4 °C and 4 and 6 μ L/L 1-MCP+4 °C. The results showed that after 4-day storage at room temperature, the two kinds of leafy vegetables tended to wilt severely and lose their commercial value, the storage period of these two kinds of leafy vegetables could be extended to 12 days. Under combined fresh-keeping treatment at 4 °C, the degree of water loss of leafy vegetables was effectively reduced and the increase of electrical conductivity and MDA was alleviated, leaf brittleness and chlorophyll degradation were also alleviated, in which the 6 μ L/L 1-MCP+4 °C combined treatment had optimal effect. Specifically, after 12 days' 6 μ L/L 1-MCP+4 °C combined treatment, the decrease rate of brittleness in lettuce and pakchoi was (14.48% and 28.12%) lower than that in the control group (82.89%, 80.12%) on day 4, and the β -GAL enzyme activity was 15.01 nmol/(min · g) and 19.53 nmol/(min · g), increasing by 41.86% and 12.74%, while this enzyme activity increased by about 2 times only on day 4 in the control group. The chlorophyll degradation rate in the two kinds of leafy vegetables under 6 μ L/L 1-MCP+4 °C combined treatment group (23.45% and 30.13%) on day 12 was lower than that in the control group (65.76% and 72.37%) on day 4, which was highly consistent with the related change of enzyme activity content. After the 12 days' 6 μ L/L 1-MCP+4 °C combined treatment, the CLH and PPH enzyme content in lettuce decreased by 42.33% and 67.11%, respectively, while it decreased by 55.99% and 74.50%, respectively in the control group after 4-day storage at room temperature. After 6 μ L/L 1-MCP+4 °C combined treatment, the CLH and PPH enzyme content in pakchoi decreased by 44.93% and 51.49%, respectively, but it decreased by 53.03% and 52.04% after 4-day storage at room temperature. The softening of leafy vegetables was delayed by effectively regulating β -GAL enzyme activity with 6 μ L/L 1-MCP+4 °C combined treatment, thus the degradation of chlorophyll was alleviated by means of affecting the CLH and PPH enzyme content. The results provide a theoretical basis for further exploring the preservation mechanism of leafy vegetables and further using post-harvest processing technology to extend the storage period of leafy vegetables.

Key words 1-MCP; Storage temperature; Leaf vegetables; Brittleness; Chlorophyll

Received 2021-08-11

Returned 2021-11-08

Foundation item LI Puwang Expert Work Station of Yunnan Province(No. 202005AF50007); Green Food Brand Construction (Intensive Processing); Agricultural Product Processing Team Cultivation (No. 202002AE320007-03).

First author LI Xuerui, female, assistant researcher. Research area: primary processing of agricultural products. E-mail: lxr@yaas.org.cn

Corresponding author YU Lijuan, female, associate research fellow. Research area: storage and preservation of agricultural products. E-mail: ylj@yaas.org.cn

(责任编辑: 成 敏 Responsible editor: CHENG Min)