

冰温贮藏对西梅贮藏期活性氧代谢及细胞壁代谢的变化

杨瑞, 王志鹏, 提佳艺, 杜庆萍, 李薇, 王伟*, 李学文
(新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要: 为探究冰温贮藏对西梅果实贮藏期活性氧及细胞壁代谢的影响, 以‘法兰西’西梅为试材, 在冷藏 ($2\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$)、低温 ($0\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$)、冰温 ($-2\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$) 条件下贮藏 49 d, 每 7 d 取样测定贮藏期间西梅抗氧化酶及细胞壁代谢酶活性, 以及通过透射电镜观察三组西梅果实细胞超微结构的变化。结果表明: 同冷藏与低温贮藏相比, 冰温贮藏抑制了西梅果实超氧阴离子 (Superoxide radical, $\text{O}_2^{\cdot-}$) 产生, 提高了西梅果实超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 和抗坏血酸过氧化物酶 (Ascorbate Peroxidase, APX) 的活性。同时冰温贮藏有效降低了贮藏期西梅果实原果胶 (Proto-pectin, PP) 向可溶性果胶 (Soluble-pectin, SP) 的转换, 抑制多聚半乳糖醛酸酶 (Polygalacturonase, PG)、果胶甲酯酶 (Pectin methylesterase, PME)、纤维素酶 (Cellulase, Cx)、 β -半乳糖苷酶 (β -Galactosidase, β -Gal) 和 β -葡萄糖苷酶 (β -Glucosidase, β -Glu) 的活性; 冰温贮藏 49 d 后的西梅细胞壁结构完整, 中胶层仍清晰可见, 细胞壁虽有轻微凹陷, 但凹陷程度远低于其余两组。综上, 冰温贮藏能有效提高西梅果实抗氧化活性、抑制细胞壁物质降解, 延缓西梅果实软化。

关键词: 西梅; 品质; 冰温贮藏; 活性氧代谢; 细胞壁代谢

文章编号: 1673-9078(2025)07-168-177

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.7.0697

Effects of Freezing-temperature Storage on Active Oxygen Metabolism and Cell Wall Metabolism of Prune Plums during Storage

YANG Rui, WANG Zhipeng, TI Jiayi, DU Qingping, LI Wei, WANG Wei*, LI Xuewen

(College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Ürümqi 830052, China)

Abstract: To investigate the impact of freezing-temperature storage on reactive oxygen metabolism and cell wall metabolism in prune plums, French prune plums were stored for 49 days under three conditions: refrigeration temperature ($2\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$), chilling temperature ($0\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$), and freezing temperature ($-2\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Every seven days, samples were assessed for antioxidant enzyme activities and cell wall metabolism enzymes. Transmission electron microscopy was utilized to observe ultrastructural changes in the cells of prune plums from each group. The findings reveal that freezing-temperature storage, in comparison to storage at refrigeration and chilling temperatures, suppresses the generation of superoxide radicals

引文格式:

杨瑞, 王志鹏, 提佳艺, 等. 冰温贮藏对西梅贮藏期活性氧代谢及细胞壁代谢的变化[J]. 现代食品科技, 2025, 41(7): 168-177.

YANG Rui, WANG Zhipeng, TI Jiayi, et al. Effects of freezing-temperature storage on active oxygen metabolism and cell wall metabolism of prune plums during storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(7): 168-177.

收稿日期: 2024-05-21

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目 (2022B02018-3)

作者简介: 杨瑞 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: yrui1220@163.com

通讯作者: 王伟 (1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品贮藏加工及营养学评价, E-mail: ww2shz@163.com

($O_2^{\cdot-}$) in plums. Also, this storage condition increases the activities of enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX). Moreover, freezing-temperature storage slows the conversion of proto-pectin (PP) to soluble pectin (SP) during storage and inhibits the activities of enzymes such as polygalacturonase (PG), pectin methylesterase (PME), cellulase (Cx), β -galactosidase (β -Gal), and β -glucosidase (β -Glu). After 49 days of storage at freezing temperature, the structural integrity of the prune plum cell wall was maintained, and the middle lamella remained distinctly visible. Although slight indentations were observed in the cell walls, they were markedly less pronounced than those in the other two groups. Overall, freezing temperature storage significantly enhances the antioxidant capacity of prune plums, impedes the degradation of cell wall components, and delays fruit softening.

Key words: prune plums; quality; freezing-temperature storage; reactive oxygen metabolism; cell wall metabolism

西梅 (*Prune*), 蔷薇科 (*Rosaceae*), 李属, 又称欧洲李 (*Prunes domestica* L.), 原产于美国加利福尼亚州, 营养丰富^[1]。西梅采收期集中在八月下旬至九月上旬, 同时作为呼吸跃变型果实, 采后易腐烂不耐贮藏, 常温条件下 6 d 后, 果实表皮萎蔫、果梗处出现皱缩^[2]。

冰温贮藏是指根据果实的冰点确定贮藏温度。根据课题组前期研究结果, 确定西梅的冰点为 $-4.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 所以本实验将西梅的冰温贮藏温度定在 $(-2\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ ^[2]。研究表明, 冰温贮藏可最大程度地延缓营养成分的损失, 限制果实在收获后的呼吸和延迟生理代谢, 抑制采后褐变, 提高产品质量, 延长贮藏期^[3]。目前已经应用于吊干杏^[4]、桃^[5]、西梅^[6]等果实的贮藏, 取得了较好的保鲜效果。然而随着贮藏时间的增加, 植物中活性氧 (ROS) 的含量, 特别是 $O_2^{\cdot-}$ 的产生速率明显增加, ROS 的过度积累可能导致植物细胞结构的损伤^[7]。研究表明, 植物细胞中积累的过量 ROS 可以通过各种非酶和酶抗氧化机制迅速消除, 非酶抗氧化剂主要包括酚类、花青素和抗坏血酸, 酶抗氧化剂主要有 SOD、CAT、APX^[8]。同时, 果实软化与细胞壁多糖果胶、纤维素和半纤维素的变化密切相关, 是在 PG、PME、Cx、 β -GAL 等细胞壁修饰酶的作用下, 细胞壁成分逐渐分解^[9], 此外, 果胶同样作为导致果实软化的关键之一。因此, 本研究的目的是比较不同贮藏温度对活性氧代谢及细胞壁代谢的影响, 并利用透射电镜对果实细胞壁进行超微结构观察, 探究冰温贮藏抑制西梅果实软化、延长贮藏寿命, 以期在西梅果实冰温贮藏的推广应用提供有力的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

‘法兰西’西梅购于新疆乌鲁木齐九鼎农产品

市场, 产区新疆喀什地区, 选取相同成熟度、无病无损伤, 硬度为 $(16.09\pm 0.1)\text{ N}$, 可溶性固形物质量分数为 $24.6\%\pm 0.2\%$ 的果实。

1.2 实验试剂

氢氧化钠、硫代巴比妥酸、聚乙烯吡咯烷酮, 生工生物工程股份有限公司; 二硫苏糖醇、甲硫氨酸、氮蓝四唑、核黄素、无水醋酸钠等, 阿拉丁公司, 以上试剂均为分析纯。

PHS-3CpH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; 3H16RI 高速冷冻离心机, 湖南赫西仪器装备有限公司; PV4 紫外分光光度计, 上海美普达仪器有限公司; JEM1400 透射电子显微镜, 日本电子株式会社; Leica-UC7 超薄切片机, 德国徕卡公司。

1.3 实验方法

1.3.1 材料处理

西梅果实 5 kg 为 1 筐, 放入相对湿度 (RH) 90%~95%; 温度为 $4\sim 6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的精准控温保鲜库中预冷 24 h, 散去潜热, 然后分别贮藏 in 冷藏 ($2\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 、低温 ($0\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 、冰温 ($-2\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 条件下, 每组设 3 组重复, 每组处理 5 kg, 贮藏 49 d, 每 7 d 取样, 测定各组生理生化指标。

1.3.2 活性氧代谢相关指标测定

1.3.2.1 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率测定

$O_2^{\cdot-}$ 产生速率测定参照 Lin 等^[10]的方法, 单位为: $\text{nmol}/(\text{min}\cdot\text{g FW})$ 。

1.3.2.2 APX 活性测定

APX 活性测定参照 Lin 等^[11]的方法, 略作修改。称取 1.0 g 西梅果肉, 添加 5.0 mL 50 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 值 7.5), 冰浴研磨至匀浆, 以 12 000 r/min 离心 30 min, 收集上清液, 作为酶提取液。酶促反应体系 (0.1 mmol/L EDTA 和 0.5 mmol/L

抗坏血酸混合和 100 μL 酶液) 构成, 在 290 nm 处, 吸光值每分钟下降 0.01, 记录反应系统的酶活性, 单位: $\text{U/g}\cdot\text{FW}$ 。

1.3.2.3 SOD活性测定

参照 Sun 等^[12]的方法, 通过测定硝基蓝四氮的光化学还原能力来测定 SOD 活性, 称取 1.0 g 西梅果肉, 添加 5.0 mL 0.1 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 值 7.8), 12 000 r/min 离心 20 min 收集上清液, 作为酶提取液。向提取液中加入 3 mL 13 mmol/L 蛋氨酸、100 $\mu\text{mol/L}$ 乙二胺四乙酸、63 $\mu\text{mol/L}$ 氮蓝四唑、1.3 $\mu\text{mol/L}$ 核黄素, 将试管置于 4 000 Lx 荧光灯下显色反应 10 min, 在 560 nm 下测定吸光度, 单位: $\text{U/g}\cdot\text{FW}$ 。

1.3.2.4 CAT活性测定

CAT 活性测定参照 Zhang 等^[13]的方法, 略作修改。称取 1.0 g 西梅果肉, 添加 5.0 mL 50 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH 值 7.5), 冰浴研磨至匀浆, 以 12 000 r/min 离心 20 min 收集上清液, 作为酶提取液。酶促反应体系 (2.9 mL 20 mmol/L H_2O_2 和 100 μL 酶液) 构成, 在 25 $^\circ\text{C}$ 下 3 min, 240 nm 处测定吸光度, 单位: $\text{U/g}\cdot\text{FW}$ 。

1.3.3 细胞壁果胶含量及代谢相关酶活性测定

1.3.3.1 果实原果胶 (PP) 及可溶性果胶 (SP) 含量的测定

参照李明璇等^[14]的方法, 略作修改。称取 1 g 西梅果肉于 10 mL $\varphi=95\%$ 乙醇中匀浆, 8 000 r/min 离心 15 min, 用 5 mL $\varphi=80\%$ 乙醇冲洗, 25 $^\circ\text{C}$ 下水浴 1 h, 用蒸馏水定容至 100 mL, 此为 PP。将上清液倒出, 加入 0.5 mol/L 硫酸到沉淀物中, 在沸水中煮 45 min, 冷却至室温, 8 000 r/min 离心 15 min, 即为 SP。随后采用吡啶比色法^[15]测定果胶物质含量。单位以生成半乳糖醛酸的质量分数 (%) 表示。

1.3.3.2 酶液的制备

参照 Wang 等^[16]的方法制备 PG、Cx、 β -Gal 和 β -Glu 的酶液, 将 2 g 西梅果实组织于 4 mL 预冷 $\varphi=95\%$ 乙醇冰浴均质, 在 12 000 r/min 离心 10 min。最后将上清液弃去, 再加入 4 mL 预冷的 $\varphi=80\%$ 乙醇, 在相同条件下离心。然后将组织与 8 mL 含有 2.5% 聚乙烯基聚吡咯烷酮与 8.8% 氯化钠溶液混合, 于 12 000 r/min、4 $^\circ\text{C}$ 离心 20 min 后, 取上清液即为所需酶液。

1.3.3.3 PG活性测定

PG 活性测定参照 Yang 等^[17]的方法, 稍作修改。将 50 mmol/L NaAc 缓冲液 (pH 值 5.5) 加入 0.5 mL 制备的酶溶液中, 37 $^\circ\text{C}$ 恒温水浴 1 h, 加入 1.5 mL 3,5-

二硝基水杨酸 (DNS)。将混合物置于 100 $^\circ\text{C}$ 沸水浴中 5 min。冷却至室温后, 用蒸馏水将混合物稀释至 25 mL。单位: $\text{mg}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$ 。

1.3.3.4 Cx活性测定

Cx 活性测定参照 Win 等^[18]的方法。称取 25 g 西梅果肉加入 200 mL 沸腾乙醇中, 在沸水浴中放置 30 min, 用研磨机均质, 浆液用滤纸过滤, 残留物分别用煮沸的乙醇、氯仿和丙酮洗涤两次, 将粗细胞壁提取物在 30 $^\circ\text{C}$ 下干燥。约 500 mg 干燥样品与 50 mmol/L NaAc 缓冲液 (pH 值 6.5) 在 20 $^\circ\text{C}$ 下搅拌 6 h。剩余的残渣用双重蒸馏的去离子水洗涤直到中和, 混合物用于测量 Cx 活性, 采用葡萄糖标准曲线蒽酮法测定 Cx 活性。单位: $\text{mg}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$ 。

1.3.3.5 β -Gal活性测定

β -Gal 活性测定参照李明璇等^[14]的方法。称取 1 g 西梅果肉加入 8 mL NaAc (pH 值 5.5) 和 2 mL 0.2 mol/L NaCl 溶液中, 研磨均匀, 离心 30 min 后, 将上清液作为酶提取物。将 1 mL 提取物与 0.5 mol/L 的对硝基苯基- β -D-半乳糖苷混合, 然后静置 1 h, 加入 2 mL 0.2 mol/L Na_2CO_3 , 在 400 nm 处测量吸光度。单位: $\text{nmol}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$ 。

1.3.3.6 β -Glu活性测定

β -Glu 活性测定参照 Ge 等^[19]的方法。称取 3 g 西梅果肉加入 0.2 mol/L NaHSO_3 和 6 mL 12 mol/L 聚乙二醇溶液中, 研磨均匀, 离心 10 min 后, 将上清液作为酶提取物。在反应混合物中加入 2 mL 0.1 mol/L 硼酸缓冲液 (pH 值 9.0) 和 0.3 mL 氰乙酰胺溶液, 煮沸 10 min 后冷却, 在 276 nm 处读取吸光度。单位: $\text{mg}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$ 。

1.3.3.7 PME活性测定

按照制造商说明, 使用 PME 试剂盒测定 PME 活性。参照 Wang 等^[16]的方法制备 PME 的酶液, 按照说明书加入试剂盒中的各项试剂开始检测, 以每克组织每小时消耗 1 μmol 的 NaOH 定义为一个酶活单位 U, 结果表示为: $\text{U/g}\cdot\text{FW}$ 。

1.3.4 细胞壁超微结构

根据 Cui 等^[20]的方法采用透射电子显微镜观察西梅果实组织。将西梅组织切成 1 cm^3 小块, 在 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 值 7.2) 中, 4 $^\circ\text{C}$ 固定 4 h, 再用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 值 7.0) 漂洗 3 次, 每次 15 min, 把样品放在 1% 锇酸中, 在 4 $^\circ\text{C}$ 冰箱中固定 2 h, 漂洗后的样品用分级系列的乙醇 ($\varphi=30\%\sim 100\%$) 溶液中梯度脱水, 每次 15 min,

再用环氧丙烷(100%)过渡,样品在JEM-1400电子显微镜下观察组织超微结构。

1.4 数据处理

使用Excel 2010及SPSS 20.0软件对样本实行数据分析,并经过邓肯氏多重计算分析差异, $P<0.05$ 时表示偏差显著,使用Origin 2021软件作图。

2 结果与分析

2.1 冰温贮藏对西梅活性氧代谢的影响

西梅果实的采后衰老和贮藏品质下降与ROS的产生和氧化应激有关, $O_2^{\cdot-}$ 作为ROS的代谢产物之一,在果实中大量积累,从而导致果实的细胞中毒,也是衡量细胞膜脂过氧化程度的关键指标^[20]。由图1可知,贮藏期间,三组果实的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率整体呈现先上升后下降的趋势,第21天时 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率均达到峰值,其中冷藏组的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率比低温组与冰温组分别高14.86%和20.64%($P<0.05$)。贮藏末期,第49天时近冰温组的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率仍保持在最低值。冰温组抑制 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率,这与文钰等^[21]采用冰温贮藏对西梅ROS代谢的研究结果吻合;也与李亚玲等^[22]采用冰温贮藏杏果实可以减缓其 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率结果一致。由此可知,冰温贮藏能抑制果实的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率,延缓西梅果实组织细胞受到自由基的破坏。

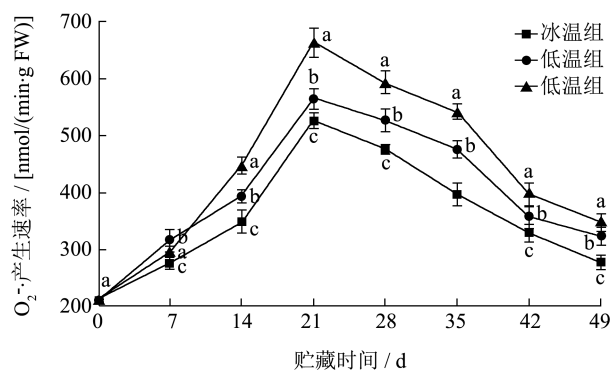


图1 贮藏期间西梅果实 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的变化

Fig.1 Changes in the $O_2^{\cdot-}$ production rate of prune fruits during storage

注:不同字母表示西梅果实不同贮藏时间下存在显著性差异, $P<0.05$ 。图2~5、7~11同。

2.2 冰温贮藏对西梅抗氧化酶活性的影响

2.2.1 冰温贮藏对西梅APX活性的影响

APX是抗坏血酸代谢的关键酶。由图2可知,三

组果实APX活性先急剧升高后降低,并在第21天达到最大值(73.12、61.3和52.46 U/g·FW)。贮藏结束时的第49 d,APX活性大小排序为:冷藏组<低温组<冰温组,存在明显差异($P<0.05$)。由此可见,冰温组更有助于维持高水平的APX以消除ROS,抑制脂质过氧化和减少应激损伤的能力。APX活性在贮藏后期的下降可能是由于果实进入了衰老阶段,而此时果实的抗性正在下降。Wang等^[23]发现,低温可以提高甜椒果实的APX活性,消除ROS的过度积累,防止氧化衰老,也与本研究相符。由此可知,冰温贮藏可以使西梅果实在贮藏期间维持APX活性在较高水平。

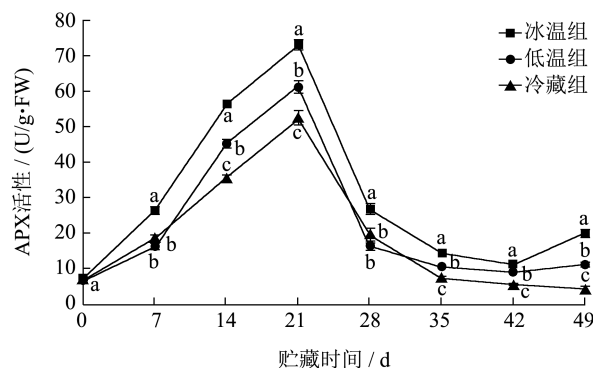


图2 贮藏期间西梅果实APX含量的变化

Fig.2 Changes in the APX content of prune fruits during storage

2.2.2 冰温贮藏对西梅SOD活性的影响

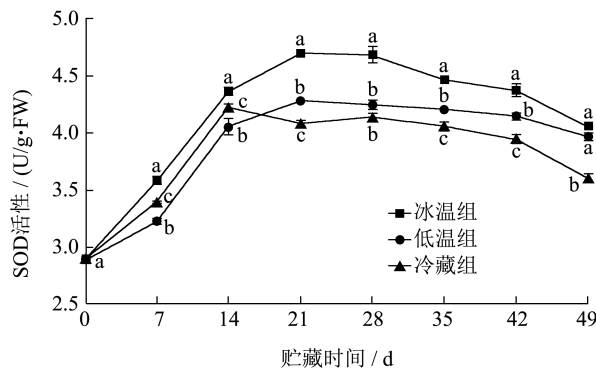


图3 贮藏期西梅果实SOD活性的变化

Fig.3 Changes in the SOD activity of prune fruits during storage

大量研究表明,在采后李^[24]、龙眼^[25]和杏^[26]等果实中,抗氧化酶活性与果实衰老率存在正相关的关系,抗氧化酶系统也被认为在细胞抵御低温损伤引起的氧化应激中发挥了重要作用。SOD分解超氧化物自由基可能是抵御果实产生ROS的主要步骤;果蔬中存在天然的抗氧化酶系统,SOD作为抗

化酶体系的第一道屏障, $O_2\cdot^-$ 先通过 SOD 歧化生成 H_2O_2 再由其他抗氧化酶等降解为水^[27], 减少果实的损伤。在该实验中, 如图 3 所示, 三组的 SOD 活性随储存时间的增加而增加后下降, 冷藏组在第 14 天达到峰值 (4.22 U/g·FW), 而冰温组和低温组的 SOD 活性在第 21 天达到最大值。此时, 冰温组中 SOD 活性的最大值分别比冷藏组和低温组高 13% 和 8.74% ($P<0.05$), 低温组和冰温组可以延缓 SOD 活性的下降, 而冰温贮藏可以将 SOD 活性维持在较高水平。

2.2.3 冰温贮藏对西梅CAT活性的影响

CAT 作为植物抗氧化酶体系中的关键酶, 可以减轻 H_2O_2 对果实组织细胞的损伤^[28]。由图 4 可知, 三组西梅果实的 CAT 活性先升高后降低, 三组的 CAT 活性在第 21 天时达到最高水平, 冰温组和低温组的最高 CAT 活性分别为冷藏组的 1.14 倍和 1.09 倍 ($P<0.05$), 贮藏中期, 三组的 CAT 活性均保持在较高水平, 而冰温组的 CAT 活性在三组中最高 ($P<0.05$), 然而, 在 21 d 后三组 CAT 活性急速下降, 在第 49 天时冰温组 CAT 活性 (7.83 U/g·FW) 仍然处在较高水平。由此可知, 冰温贮藏可以通过维持西梅 CAT 活性在较高水平。

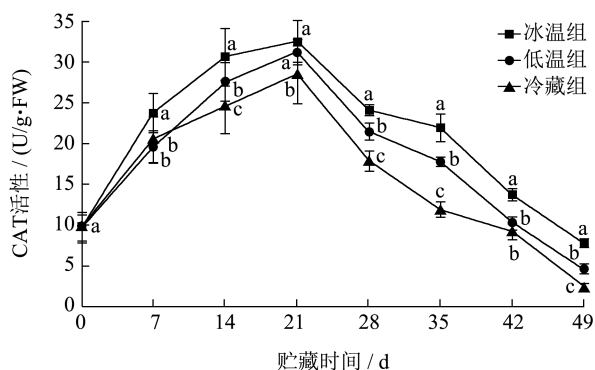


图 4 贮藏期西梅果实 CAT 活性的变化

Fig.4 Changes in the CAT activity of prune fruits during storage

2.3 冰温贮藏对西梅果胶含量及细胞壁超微结构的影响

2.3.1 冰温贮藏对西梅PP及SP含量的影响

冰温贮藏可以通过抑制果实细胞壁代谢修饰酶的活性, 进而延缓果胶物质的降解, 这已在很多研究中得到证实^[26,29]。西梅果实在呼吸跃变后趋于快速成熟, 快速成熟过程会导致果实软

化, 软化常伴随着细胞壁的松动和细胞壁多糖的修饰, 严重影响其贮藏品质。果胶物质是果实细胞壁的主要成分, 细胞壁代谢修饰酶活性的变化与 PP 的含量呈负相关、与 SP 的含量呈正相关, 当酶活性增加时促进 PP 的降解, 使其转化为 SP 或其他形式, 西梅在采后成熟过程中 PP 逐渐转化为 SP (图 5), 冰温贮藏则延缓了果胶部分的降解, 防止细胞壁结构的松动^[30]。由图 5a 可知, 整个贮藏期西梅果实 PP 含量持续下降, 第 49 天时冷藏组 PP 质量分数为 1.37%, 较低温组与冰温组质量分数别高出 19.12% 和 31.38% ($P<0.05$), 而低温组与冰温组之间 PP 含量差异不显著 ($P>0.05$); 由图 5b 可知, 贮藏期间, SP 质量分数逐渐上升, 第 49 天时冷藏组的 SP 质量分数为 4.04%, 较低温组与冰温组质量分数分别高出 6.03%、11.9% ($P<0.05$)。这表明西梅果实在贮藏过程中 PP 不断向 SP 转变, 导致果胶基质内聚力丧失, 细胞溶解和分离, 果实软化。然而, 冰温贮藏可以减缓西梅果实细胞壁成分的转化, 从而减缓果实的软化, 这也与 Ma 等^[29]的研究相互印证, 保持西梅果实的硬度。

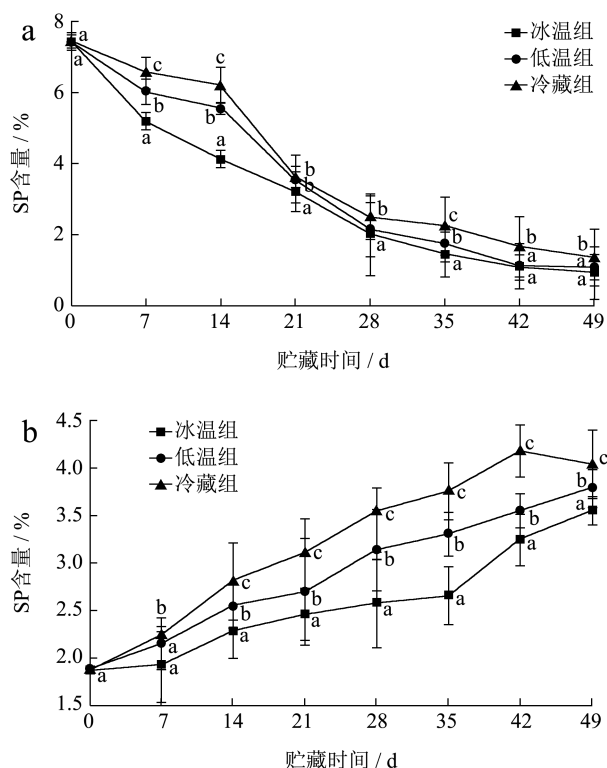


图 5 贮藏期西梅果实 PP (a) 和 SP (b) 含量的变化

Fig.5 Changes in the PP (a) and SP (b) content of prune fruits during storage

2.3.2 冰温贮藏对西梅细胞壁超微结构的影响

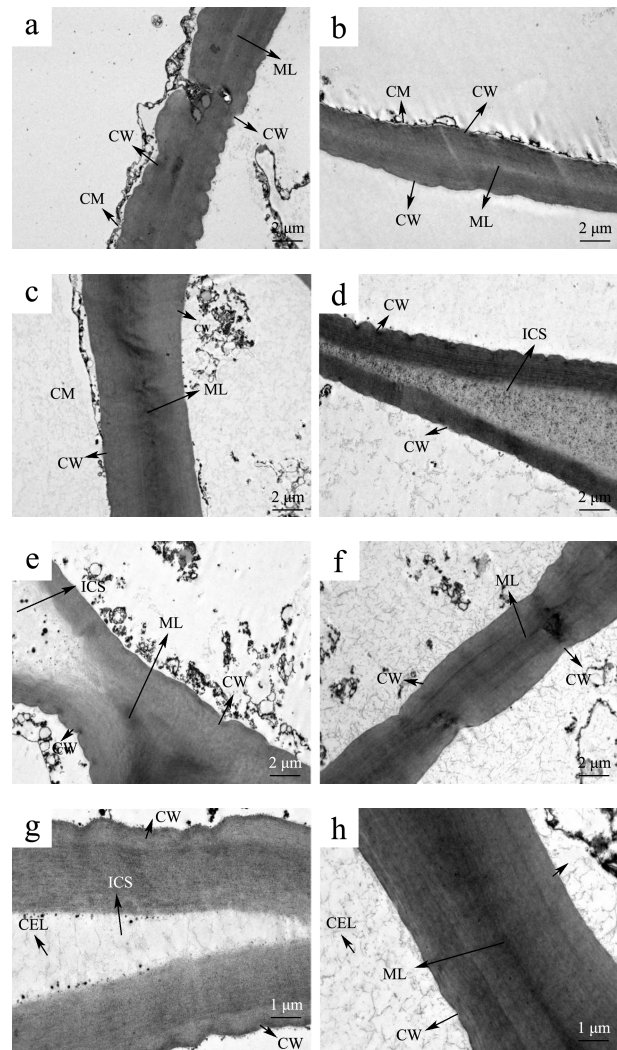


图 6 贮藏期西梅果实超微结构

Fig.6 Transmission electron microscopy images of prune fruits during the storage

注：(a) 冷藏组、(b) 低温组、(c) 冰温组，贮藏 28 d 时 2 μm 超微结构；(d) 冷藏组、(e) 低温组、(f) 冰温组，贮藏 49 d 时 2 μm 超微结构；(g) 冷藏组、(h) 冰温组，贮藏 49 d 时 1 μm 超微结构。ML：中片层；CW：细胞壁；CM：细胞膜；ICS：细胞间隙；CEL：纤维素。

透射电镜图像显示了西梅果实在冷藏过程中的细胞超微结构。如图 6 所示，从图 6a、6b、6c 中可以看出，贮藏 28 d 时西梅果实细胞壁间的中胶层保持清晰，三组均呈现出不同程度的质壁分离，冰温组与低温组出现轻微的质壁分离，而冷藏组较为严重，然而，冷藏组与低温组细胞壁结构非光滑，冷藏组的细胞壁非均质凹陷较为明显，冰温组的细胞壁电子密度高且更为平滑，值得注意的是，与低温和冷藏贮藏相比，冰温贮藏 49 d 的西梅果实具有更

完整的细胞壁结构，并且中间层，叶绿体和其他内含物降解缓慢，从而延缓了西梅果实的寒冷损伤。由图 6d、6e 中可知，冷藏组与低温组果实细胞壁间的中胶层已经开始溶解，出现细胞间隙，细胞壁凹陷严重，而从图 6f 中可知，细胞壁结构开始出现了轻微的凹陷，但中胶层仍较为清晰。冷藏组与近冰温组对比，如图 6g、6h，两组果实的细胞壁周围均出现游离的纤维素，然而冷藏组果实细胞壁更薄，电子密度更低。结果表明，冰温贮藏可以延缓西梅细胞壁成分的降解，保护细胞壁结构的完整。

2.4 冰温贮藏对西梅细胞壁代谢酶活性的影响

2.4.1 冰温贮藏对西梅PG活性的影响

由图 7 可知，随着贮藏期的延长，三组果实 PG 活性在 35 d 前持续上升，随后逐渐下降。此时，冷藏组、低温组与冰温组的 PG 活性分别比第 0 天时高出 2.62 倍、2.29 倍和 2.12 倍 ($P<0.05$)。冰温贮藏则抑制了果实中 PG 活性的增加，冰温组在贮藏结束时第 49 天时，PG 活性仅为第 0 天的 1.37 倍。PG 作为影响果实软化衰老的重要的细胞壁修饰酶，使聚半乳糖醛酸的主链水解，导致果胶降解，细胞壁结构的粘性降低，并使果实衰老老化^[31]。该研究发现，冰温组抑制了西梅果实中 PG 活性的升高，这表明冰温贮藏可以通过抑制果实细胞壁降解酶的活性来延缓果实软化的发生。

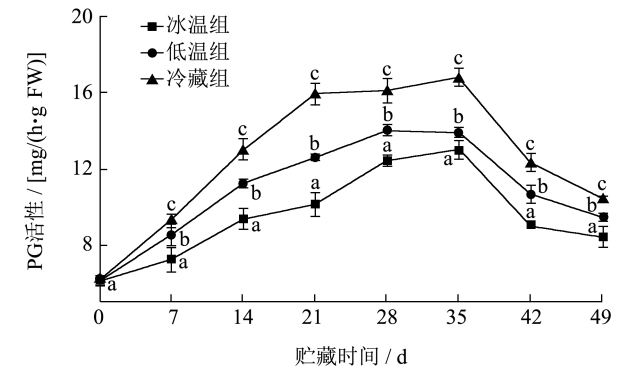


图 7 贮藏期间西梅果实 PG 活性的变化

Fig.7 Changes in the PG activity of prune fruits during storage

2.4.2 冰温贮藏对西梅Cx活性的影响

Cx 在与其他关键细胞壁修饰酶的协同作用下共同降解细胞壁多糖，从而导致果实软化品质下降^[32]。由图 8 可知，三组的 Cx 活性随着贮藏时间的延长持续上升，其中冰温组 Cx 活性始终低于其他两组，在贮藏结束第 49 天时，冷藏组的 Cx 活

性较低温组与近冰温组, 分别高于 23.2%、40% ($P<0.05$), 冰温组 Cx 活性仅是第 0 天的 2.46 倍, 显著低于其余两组 ($P<0.05$)。该研究表明, 冰温组在抑制西梅果实中 Cx 活性上升呈现积极作用, 因此, 相较于冷藏与低温贮藏, 冰温贮藏更有利于减缓西梅果实细胞壁多糖的降解。

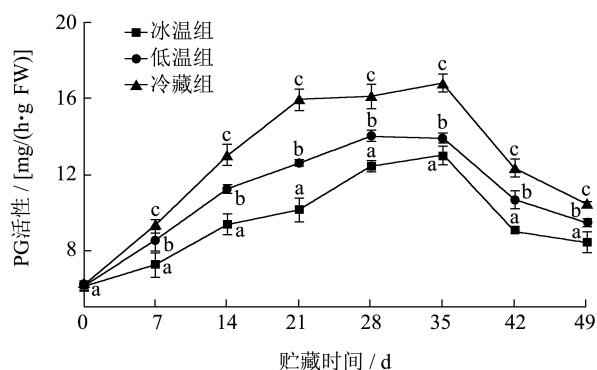
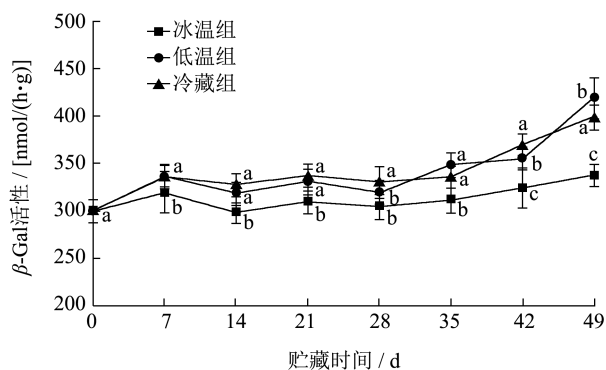


图 8 贮藏期间西梅果实 Cx 活性的变化

Fig.8 Changes in the Cx activity of prune fruits during storage

2.4.3 冰温贮藏对西梅 β -Gal活性的影响

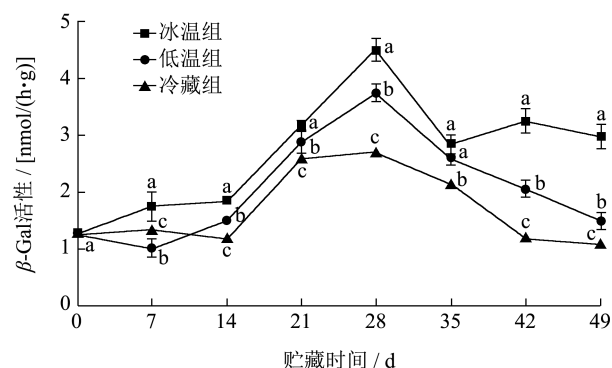
图 9 贮藏期间西梅果实 β -Gal 活性的变化Fig.9 Changes in the β -Gal activity of prune fruits during storage

β -Gal 的活性对细胞壁结构有影响, 通过从果胶的侧链上去除阿拉伯糖和半乳糖等单糖来帮助加速果胶的溶解, 提升 PG 与反应底物接触的机会^[33], 促使果实后熟软化。从图 9 可知, 西梅果实在三组温度下贮藏, β -Gal 的活性缓慢上升, 冰温组 β -Gal 的活性始终低于其他两组, 在贮藏结束第 49 天时, 冰温组 β -Gal 的活性较冷藏组和低温组, 分别低于 15.34%、19.43% ($P<0.05$)。在本实验中, 冰温贮藏可以使西梅 β -Gal 的活性在后熟的过程中显著降低。

2.4.4 冰温贮藏对西梅 β -Glu活性的影响

β -Glu 作为纤维素酶的重要组分, 与植物细胞

壁的松弛或加固有关^[34]。如图 10 所示, 各组西梅 β -Glu 活性的变化, 在贮藏中期第 28 天时到达最大值, 此时冷藏组 β -Glu 活性为 4.50 mg/(h·g FW), 低温组和冰温组分别为 3.75 与 2.69 mg/(h·g FW), 随后呈现波动下降趋势, 其中冰温组的变化较为平缓, 到第 49 天时, 冷藏组的 β -Glu 活性高于近冰温组 2.75 倍, 差异显著 ($P<0.05$)。因此, 冰温贮藏有利于抑制西梅果实的 β -Glu 活性。

图 10 贮藏期间西梅果实 β -Glu 活性的变化Fig.10 Changes in the β -Glu activity of prune fruits during storage

2.4.5 冰温贮藏对西梅PME活性的影响

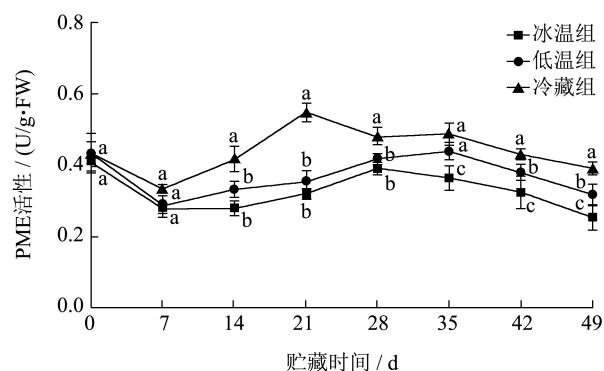


图 11 贮藏期间西梅果实 PME 活性的变化

Fig.11 Changes in the PME activity of prune fruits during storage

PME 会使果胶被去甲基化和酯化, 同时也会改变果胶分子的水化作用, 增加羟基和果胶的亲水性, 并将果胶转化为 SP^[35], 从而影响果实的软化。由图 11 可知, 在该实验中, 贮藏期间冰温和低温组差异不显著 ($P>0.05$), 但与冷藏组差异显著 ($P<0.05$), 贮藏前期 0~21 d 内, PME 活性在三个温度下有不同程度的改变, 而冷藏组的 PME 活性增加最快, 第 21 天到达峰值, 是低温组与冰温组的 1.54 倍和 1.17 倍 ($P<0.05$), 随后三组的 PME 活性变化较为平缓, 截至贮藏结束第 49 天时, 冰

温组 PME 活性为最低 ($P<0.05$)。由此可以推测,冰温贮藏显著抑制西梅果实 PME 活性,从而延缓了果胶的降解和微纤丝网状结构的解离,保持细胞壁结构的完整性,有助于西梅的贮藏保鲜。

2.5 相关性分析

2.5.1 冰温贮藏西梅抗氧化活性的相关性分析

$O_2^{\cdot-}$ 作为 ROS 的代谢产物之一,为进一步了解西梅抗氧化酶活性与 ROS 含量的相关性,我们对冰温组的各项指标进行了相关性分析。Pearson 相关分析显示(图 12),APX 活性、SOD 活性、CAT 活性分别与 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率呈正相关关系 ($P<0.05$),相关系数分别达到 0.63、0.86、0.72。这说明西梅抗氧化酶在维持西梅采后的抗氧化水平方面发挥着重要的协同作用。

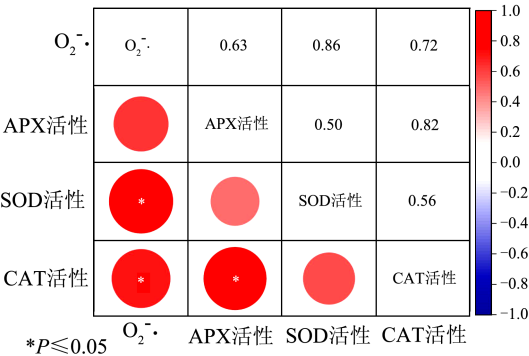


图 12 贮藏期间西梅果实抗氧化活性的相关性分析
Fig.12 Correlation analysis of antioxidant activity of
prune fruit during storage

2.5.2 冰温贮藏西梅细胞壁代谢的相关性分析

细胞壁多糖和细胞壁代谢修饰酶之间存在着不同的相关性,为进一步了解细胞壁代谢修饰酶活性与 PP、SP 含量的相关性,我们对冰温组的各项指标进行了相关性分析。Pearson 相关分析显示(图 13),西梅果实 SP 与 PG 活性 ($r=0.28$, $P<0.05$)、CX 活性 ($r=0.92$, $P<0.05$)、 β -Gal ($r=0.75$, $P<0.05$) 和 β -Glu ($r=0.58$, $P<0.05$) 呈正相关关系,与 PME ($r=-0.35$, $P<0.05$) 活性呈负相关关系;PP 与 PG 活性 ($r=-0.66$, $P<0.05$)、CX 活性 ($r=-0.65$, $P<0.05$)、 β -Gal ($r=-0.57$, $P<0.05$) 和 β -Glu ($r=-0.78$, $P<0.05$) 呈负相关关系,与 PME 活性 ($r=0.26$, $P<0.05$) 呈正相关关系。由此可以推测,西梅果实的软化与细胞壁代谢有关,细胞壁代谢修饰酶活性的变化与 PP 的含量呈负相关、与 SP 的含量呈正相关,细胞壁代谢会影响果实品质。

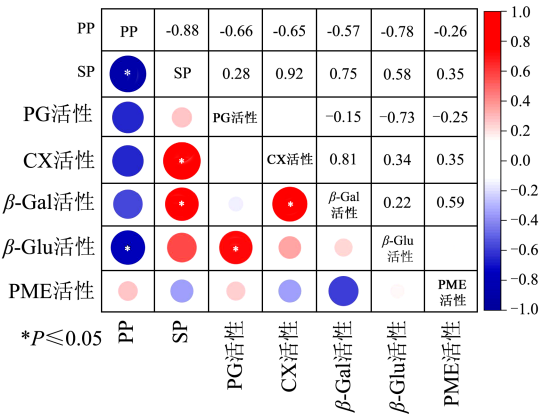


图 13 贮藏期间西梅果实细胞壁代谢各指标间的相关性分析
Fig.13 Correlation analysis of cell wall metabolism indexes
of prune fruit during storage

3 结论

本研究发现,冰温组通过提高西梅的 APX、SOD 以及 CAT 的活性,延缓果实的衰老,认为西梅的抗氧化能力与 ROS 含量成正相关,ROS 的累积导致氧化胁迫,使细胞膜结构受到破坏,导致果实采后衰老。冰温贮藏可以通过抑制 PG、Cx、 β -Gal、 β -Glu 和 PME 活性来防止果实的软化,到第 49 天时,冷藏组的 Cx 活性分别高于低温组与近冰温组 23.2%、40% ($P<0.05$),冰温组 Cx 活性是第 0 天的 2.46 倍,冰温组 β -Gal 的活性分别低于冷藏组和低温组 15.34%、19.43%,冷藏组的 β -Glu 活性高于冰温组 2.75 倍,PME 活性为最低,这可能是由于冰温贮藏在果胶溶解过程中抑制了细胞壁修饰相关酶的基因表达。综上,冰温 ($-2\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$) 贮藏与冷藏 ($2\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$) 和低温 ($0\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$) 贮藏相比,能减少 $O_2^{\cdot-}$ 的产生,诱导 SOD、CAT 和 APX 的活性提高,从而维持 ROS 的内部平衡,减轻 ROS 对果实的损伤;同时,延缓了果胶部分 PP 的降解减少其转化为 SP,增强细胞壁结构,同时抑制 PG、PME、Cx、 β -Gal 和 β -Glu 细胞壁修饰酶的活性;结合超微结构的观察,可见冰温贮藏延缓了果胶的溶解、抑制细胞壁物质降解,延缓西梅果实软化。

参考文献

[1] CELIK F, GUNDOGDU M, ALP S, et al. Determination of phenolic compounds, antioxidant capacity and organic acids contents of *Prunus domestica* L. *Prunus cerasifera* Ehrh. and *Prunus spinosa* L. fruits by HPLC [J]. Acta Chromatogr, 2017, 29: 1-4.

[2] 王志鹏,范利君,宋安康,等.近冰温贮藏及出库方式对西

- 梅果实品质的影响[J].食品科技,2023,48(4):55-61,69.
- [3] VILLALOBOS M D C, SERRADILLA M J, MARTIN A, et al. Synergism of defatted soybean meal extract and modified atmosphere packaging to preserve the quality of figs (*Ficus carica* L.) [J]. Postharvest Biol Technol, 2016, 111: 264-273.
- [4] 布丽根·加冷别克.近冰温结合红枣多糖处理对吊干杏采后贮藏品质及生理的影响[D].乌鲁木齐:新疆农业大学, 2023.
- [5] 张斌斌,陈星星,王娜,等.基于果实品质指标的不同桃品种近冰温贮藏特性比较[J].江苏农业学报,2021,37(4): 998-1009.
- [6] MA Y Y, ZHANG W D, CHENG S B, et al. Postharvest storage at near-freezing temperature maintained the quality and antioxidant properties of *Prunus domestica* L. cv. Ximei fruit [J]. Scientia Horticulturae, 2022, 293: 110720.
- [7] ZHOU Q, MA C, CHENG S, WEI B, et al. Changes in antioxidative metabolism accompanying pitting development in stored blueberry fruit [J]. Postharvest Biol Technol, 2014, 88: 88-95.
- [8] VALVERDE J M, GIMENEZ M J, GUILLEN F, et al. Methyl salicylate treatments of sweet cherry trees increase antioxidant systems in fruit at harvest and during storage [J]. Postharvest Biol Technol, 2015, 109: 106-113.
- [9] ZHANG C H, XIONG Z H, YANG H Y, et al. Changes in pericarp morphology, physiology and cell wall composition account for flesh firmness during the ripening of blackberry (*Rubus* spp.) fruit [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 250: 59-68.
- [10] LIN Y F, CHEN M Y, LIN H T, et al. DNP and ATP induced alteration in disease development of *Phomopsis longanae* Chi-inoculated longan fruit by acting on energy status and reactive oxygen species production-scavenging system [J]. Food Chemistry, 2017, 228: 497-505.
- [11] LIN Y F, LIN H T, ZHANG S, et al. The role of active oxygen metabolism in hydrogen peroxide-induced pericarp browning of harvested longan fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 96: 42-48.
- [12] SUN J, YOU X R, LI L, et al. Effects of a phospholipase D inhibitor on postharvest enzymatic browning and oxidative stress of litchi fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 62: 288-294.
- [13] ZHANG H Y, LIU F R, WANG J J, et al. Salicylic acid inhibits the postharvest decay of goji berry (*Lycium barbarum* L.) by modulating the antioxidant system and phenylpropanoid metabolites [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 178: 111358.
- [14] 李明璇,岳明,靳江平,等.1-MCP熏蒸结合不同温度对杏果实细胞壁代谢的影响[J].食品科技,2022,47(2):62-68.
- [15] ZAINY Z, FAYYAZ M, YASMIN T, et al. Antioxidant enzymes activity and gene expression in wheat-stripe rust interaction at seedling stage [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2023, 124: 101960.
- [16] WANG Z P, WANG W, LI W, et al. Effects of Near-Freezing Temperature combined with Jujube polysaccharides treatment on proteomic analysis of 'Diaogan' apricot (*Prunus armeniaca* L.) [J]. Foods, 2023, 12: 24.
- [17] YANG W T, LIU Y X, SANG Y Y, et al. Influences of ice-temperature storage on cell wall metabolism and reactive oxygen metabolism in Xinjiang (Diaogan) apricot [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 180: 111614.
- [18] WIN N M, YOO J, KWON S, et al. Characterization of fruit quality attributes and cell wall metabolism in 1-Methylcyclopropene (1-MCP)-treated 'Summer King' and 'Green Ball' apples during cold storage [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1513.
- [19] GE Y H, ZHANG J H, LI C Y, et al. Trisodium phosphate delays softening of jujube fruit by inhibiting cell wall-degrading enzyme activities during ambient storage[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 262(C): 109059-109065.
- [20] CUI K B, YANG L L, SHU C, et al. Near freezing temperature storage alleviates cell wall polysaccharide degradation and softening of apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruit after simulated transport vibration [J]. Scientia Horticulturae, 2021, 288: 110296.
- [21] 文钰,杨莉玲,刘岚,等.近冰温贮藏对西梅的采后品质及活性氧代谢的影响[J].食品与发酵工业,2024,50(11):270-276.
- [22] 李亚玲,崔宽波,石玲,等.近冰温贮藏对杏果实冷害及活性氧代谢的影响[J].食品科学,2020,41(7):177-183.
- [23] WANG Y X, GAO L P, WANG Q, et al. Low temperature conditioning combined with methyl jasmonate can reduce chilling injury in bell pepper [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 243: 434-439.
- [24] SINGH S P, SINGH Z, SWINNY E E. Climacteric level during fruit ripening influences lipid peroxidation and enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell) [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 65: 22-32.
- [25] CHOMKITICHA W, CHUMYAM A, RACHTANAPUN P, et al. Reduction of reactive oxygen species production and membrane damage during storage of 'Daw' longan fruit by chlorine dioxide [J]. Scientia Horticulturae, 2014, 170: 143-149.
- [26] 侯媛媛,朱璇,王英,等.水杨酸处理对杏果实冷害及活性氧代谢的影响[J].食品科学,2014,35(4):195-199.
- [27] 李秋雨,曾凯芳,姚世响.活性氧在果实成熟和衰老中的作用及调控机制[J].食品与发酵工业,2020,46(17):271-276.

- [28] CHO Y S, KIM S K, AHN C B, et al. Preparation, characterization, and antioxidant properties of gallic acid-grafted-chitosans [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83: 1617-1622.
- [29] MA Y Y, ZHANG X L, LI L L, et al. Delaying fruit softening of 'France' prune (*Prunus domestica* L.) using near-freezing temperature storage [J]. LWT, 2022, 172: 114165.
- [30] SONG L Y, WANG Z G, WANG Z M, et al. Screening of cell wall-related genes that are expressed differentially during ripening of pears with different softening characteristics [J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 115: 1-8.
- [31] ZHANG W D, GUO M R, YANG W T, et al. The role of cell wall polysaccharides disassembly and enzyme activity changes in the softening process of Hami melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Food, 2022, 11: 841.
- [32] CARVAJAL F, PALMA F, JAMILENA M, et al. Cell wall metabolism and chilling injury during postharvest cold storage in zucchini fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 108: 68-77.
- [33] CHEA S, YU D J, PARK J, et al. Fruit softening correlates with enzymatic and compositional changes in fruit cell wall during ripening in 'Bluecrop' highbush blueberries [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 245: 163-170.
- [34] ZHANG C H, XIONG Z H, YANG H Y, et al. Changes in pericarp morphology, physiology and cell wall composition account for flesh firmness during the ripening of blackberry (*Rubus* spp.) fruit [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 250: 59-68.
- [35] GIOVANNONI J J. Genetic regulation of fruit development and ripening [J]. Plant Cell, 2004, 16: 170-180.