

# 乙醇熏蒸对采后油豆角衰老相关生理指标的影响

## Effects of ethanol vapor treatments on related-senescence physiological indexes of postharvest snap bean during storage

郭禹<sup>1</sup> 姜宇芙<sup>1</sup> 钟佳<sup>1</sup> 王东雪<sup>1</sup>

GUO Yu<sup>1</sup> JIANG Yu-fu<sup>1</sup> ZHONG Jia<sup>1</sup> WANG Dong-xue<sup>1</sup>

汪强<sup>2</sup> 靳亚忠<sup>1</sup> 王颖<sup>3,4</sup>

WANG Qiang<sup>2</sup> JIN Ya-zhong<sup>1</sup> WANG Ying<sup>3,4</sup>

(1. 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 东北农业大学园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030;

3. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江 大庆 163319; 4. 国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319)

(1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;

2. College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China;

3. College of Food, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;

4. National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

**摘要:**为探讨乙醇处理调节采后豆角衰老的生理机制,以五常大油豆为试材,采用 1.5 mL/kg 和 3 mL/kg 乙醇熏蒸油豆角,以清水处理为对照,将处理后的豆角放置于常温(23±1)℃条件下贮藏,研究乙醇对采后豆角衰老相关生理指标的影响。结果表明:外源乙醇熏蒸处理明显降低了贮藏期间油豆角 LOX、PPO 活性,延缓了膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量的增加;延迟了 CAT 和 POD 活性峰值出现,降低 SOD 活性,进而显著抑制了超氧阴离子的生成。表明乙醇处理效果存在剂量的差异,1.5 mL/kg 乙醇熏蒸处理有利于油豆角活性氧的正常代谢,降低膜脂过氧化水平,可延缓豆角贮藏期间的衰老进程。

**关键词:**油豆角;乙醇;衰老;生理指标

**Abstract:** To investigate the physiological mechanism of exogenous ethanol vapor regulation of senescence of postharvest snap bean, the effects of related-senescence physiological indexes of postharvest snap bean applied ethanol (1.5 mL/kg and 3 mL/kg) vapor was studied with a snap bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. *chinensis* Hort.) cultivar WuChang snap bean, with the treatment of clear water

vapor as control, and treated materials were stored at room temperature (23 °C ± 1 °C). The results showed that exogenous ethanol vapor significantly reduced the activity of LOX and PPO in snap bean during the storage, and postponed the increase of MDA content. Furthermore, ethanol vapor delayed the peak of CAT and POD activity, and the activity of SOD was induced, which suppressed the synthesis of O<sub>2</sub><sup>-</sup>. These findings indicated that there were the difference between both does of ethanol, and that 1.5 mL/kg ethanol was favorable to the normal metabolism of active oxygen and reduced the level of lipid peroxidation, which suspended the speed of snap bean senescence during the storage.

**Keywords:** snap bean; ethanol; senescence; physiological indexes

油豆角(*Phaseolus vulgaris* L. var. *chinensis* Hort.)为菜豆(*Phaseolus vulgaris* Linn.)的一种软荚变种,是一种具有地方特色的优质菜豆品种,在中国东北地区栽培历史悠久,已成为北菜南运以及出口的主要蔬菜之一<sup>[1]</sup>。但在东北地区种植的油豆角,由于上市时间集中,且价格较低以及不耐贮藏,限制了油豆角的销售 and 经济效益<sup>[2]</sup>。油豆角属于呼吸跃变型蔬菜,在常温下采后贮藏期间,随着豆荚的衰老,其呼吸速率和乙烯释放强度增加,其豆荚表面易出现褐色斑点,而且豆荚黄化,木质纤维素增多,影响了豆荚的食用品质<sup>[3-4]</sup>。研究<sup>[5-6]</sup>表明,油豆角是一种冷敏感性蔬菜,虽然低温和冰温都能有效维持采后油豆角的贮藏品质和食用品质,但是不同品种对低温和冰温的响应存在差异,且长时间低温易导致豆荚发生冷害<sup>[7]</sup>。而常温下油豆角放置时又易发生退绿、脱水、腐烂、产生锈斑、木质化等现象<sup>[1]</sup>,如何维持

**基金项目:** 黑龙江省大学生创新创业计划训练(编号:201510223011);黑龙江省自然科学基金(编号:C201445);黑龙江省农垦总局“十二五”重点科技计划项目(编号:HNK125B-13-05);黑龙江省新世纪优秀人才培养计划(编号:2014-2016)

**作者简介:** 郭禹,女,黑龙江八一农垦大学在读本科生。

**通讯作者:** 王颖(1979—),女,黑龙江八一农垦大学副教授,博士。

E-mail: Wychen156@163.com

**收稿日期:** 2016-02-03

常温下豆角的贮藏品质和延长贮藏时间是促进油豆角产业发展的关键问题。连玉晶等<sup>[2]</sup>研究发现,常温下,利用壳聚糖涂膜的方式可以延长油豆角贮藏时间,较好地保持其食用品质,但是壳聚糖涂膜技术中易带入其他化学物品,在增加壳聚糖与果蔬细胞的作用效果的同时也增加了果蔬中其他化学药品含量,造成潜在的食品安全问题。乙醇是一种环境友好型、绿色无污染且安全的保鲜物质,在葡萄<sup>[8]</sup>、西兰花<sup>[9]</sup>、甜瓜<sup>[10]</sup>、樱桃<sup>[11]</sup>等果蔬上已经证明其能较好地保持采后贮藏品质,延长货架期,但能否维持常温下豆角的贮藏品质及如何调控其抗衰老代谢生理的机制还不清楚。因此,本研究拟以东北地区特有的油豆角为研究对象,采用1.5 mL/kg和3 mL/kg乙醇熏蒸油豆角,以清水处理为对照,考查乙醇对其采后贮藏期豆角体内相关抗氧化酶活性及其他抗衰老相关代谢指标的影响,明确乙醇对采后常温下贮藏豆角衰老代谢的调节作用及适宜的乙醇使用剂量,以期为生产经营者进行豆角采后商品化处理、贮藏提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试豆角为东北油豆角(*Phaseolus vulgaris* L. var. *chinensis* Hort.),品种为五常大油豆,于2015年7月采自黑龙江省大庆市大同区高台子镇蔬菜生产基地。采收时油豆角为绿色成熟期,豆荚幼嫩,绿色均匀、鲜亮。豆荚采收后立即运至黑龙江八一农垦大学农学院园艺实验室,剔除有病斑、压伤的豆荚,选择豆荚大小及绿色相近或一致的,用无菌水清洗干净,晾干。

### 1.2 试验处理

将选取的油豆角随机分组,放置于果蔬保鲜箱中,压紧保鲜箱的盖子,进行熏蒸处理。乙醇的熏蒸浓度分别为0.0(清水熏蒸为对照),1.5,3.0 mL/kg(按照豆角的质量比确定乙醇的浓度),每箱放置3 kg豆角,试验设定3次重复,熏蒸24 h,之后打开保鲜箱的盖子,将豆角放置于相对湿度为80%的人工气候箱中进行贮藏,常温贮藏12 d,在贮藏的第1、3、6、9、12天进行样品采集,并用液氮进行冷冻处理,放置于-40℃的冰箱中保存,用于各种指标的测定。

### 1.3 测定项目与方法

脂氧合酶(LOX)活性的测定参照文献<sup>[12]</sup>;丙二醛(MDA)含量的测定参照文献<sup>[13]</sup>;苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性测定参照文献<sup>[14]</sup>;过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚氧化法<sup>[15]</sup><sup>[16]</sup>;过氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法<sup>[15]</sup><sup>[16]</sup>;过氧化氢酶(CAT)活性的测定参照文献<sup>[16]</sup>;超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)生成速率采用羟胺氧化法测定<sup>[17]</sup>。

### 1.4 数据处理与统计分析

采用Excel 2010和SPSS 19软件对数据进行处理和统计分析,采用Duncan新复极差法进行显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 对采后豆角多酚氧化酶活性的影响

植物体内PPO能清除或抑制植物体内过氧化物、超氧化物自由基以及活性氧生成,降低这些物质对细胞膜的破

坏,尤其是调节植物对逆境胁迫的适应性,同时在果实衰老的过程中也发挥着同样的作用<sup>[18-21]</sup>。研究发现,1-MCP、冷藏和乙醇处理都能降低水果中PPO活性和MDA的含量,预防冷害的发生<sup>[22-23]</sup>;乙醇处理可抑制杨梅果实在贮藏期间总酚、总花色苷含量以及DPPH·清除率和还原力的下降,从而维持了果实较高的抗氧化能力<sup>[24]</sup>。由图1可知,贮藏期间不同浓度乙醇熏蒸处理的油豆角,其体内PPO活性呈先升高后降低的趋势,并且在贮藏的第9天,油豆角中PPO活性呈现出峰值,对照处理油豆角中PPO活性最高为20.42 U/g·FW,1.5 mL/kg处理的PPO活性峰值为15.68 U/g·FW,而3 mL/kg处理的PPO活性最大为19.51 U/g·FW。在乙醇熏蒸处理后的整个贮藏期间,对照处理(CK)和3 mL/kg处理的油豆角中PPO活性显著高于1.5 mL/kg处理的(P<0.05),而对照处理(CK)和3 mL/kg处理组则在贮藏的第1天、第3~9天以及第12天期间油豆角PPO活性有差异(P<0.05)。结果表明,乙醇处理能明显降低贮藏过程中油豆角PPO活性,但存在乙醇熏蒸浓度的差异,1.5 mL/kg处理能明显抑制PPO酶活性的升高。

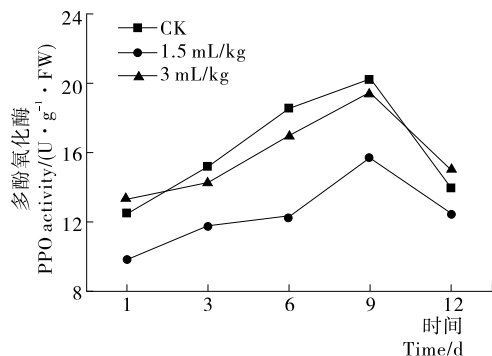


图1 乙醇熏蒸对采后豆角PPO活性的影响

Figure 1 Effects of ethanol vapor on PPO activity in postharvest snap bean

### 2.2 对采后豆角脂氧合酶活性及MDA含量的影响

植物体内的LOX酶参与了逆境胁迫下细胞膜脂过氧化反应,调节细胞膜的透性,与果蔬衰老中MDA的合成相关<sup>[18]</sup>,MDA含量升高造成细胞膜结构损伤严重,膜的功能丧失,果蔬衰老加速<sup>[19]</sup>。乙醇熏蒸抑制了甜瓜<sup>[10]</sup>、樱桃<sup>[11]</sup>中LOX酶的活性,能延缓甜瓜、樱桃的衰老速度,其作用效果似乎与1-MCP调节果实中LOX活性和MDA的生成相类似<sup>[20]</sup>。由图2、3可知,在乙醇熏蒸处理后的贮藏期间,油豆角中LOX酶活性和MDA的含量表现出相类似的变化,都呈现出先升高后降低的趋势,且在贮藏的第9天达到峰值,对照处理的LOX活性和MDA含量最大值分别为26.62 U/g·FW和11.11 μmol/g·FW。在贮藏3 d后,对照处理油豆角中LOX活性显著高于乙醇熏蒸处理,而两个乙醇处理组之间相比,在贮藏期间,3 mL/kg处理油豆角LOX活性显著高于1.5 mL/kg处理的(P<0.05);在贮藏的第3~9天,对照处理油豆角中MDA含量显著高于乙醇处理的,而乙醇处理组之间相比,贮藏6 d后,3 mL/kg处理油豆角MDA含量明显高于1.5 mL/kg处理(P<0.05)。这些结果说明1.5 mL/kg乙醇熏蒸处理能明显地抑制果实衰老中细

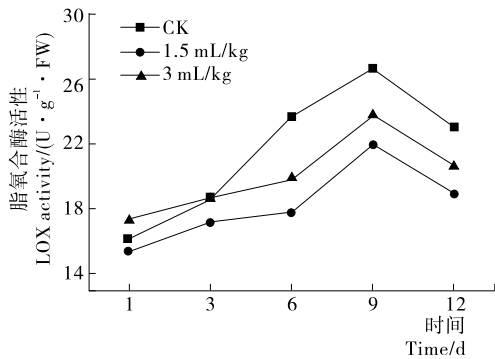


图 2 乙醇熏蒸对采后豆角 LOX 活性的影响

Figure 2 Effects of ethanol vapor on LOX activity in postharvest snap bean

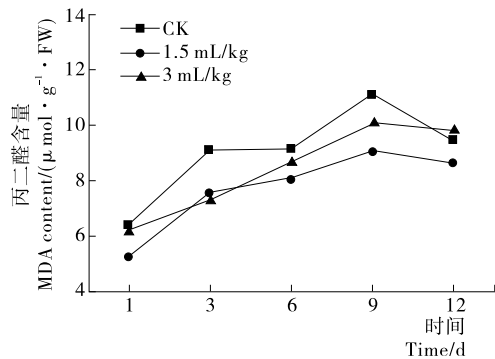


图 3 乙醇熏蒸对采后豆角 MDA 含量的影响

Figure 3 Effects of ethanol vapor on MDA content in postharvest snap bean

胞膜脂过氧化反应,一定程度缓解 MDA 对细胞膜的伤害,延缓了豆角的衰老,并且乙醇的作用效果与 1-MCP 在呼吸跃变型和非呼吸跃变型果实中研究效果相类似<sup>[18,21]</sup>,但是二者的功能作用是否相同还需进一步研究。

### 2.3 对采后豆角过氧化物酶和过氧化氢酶活性的影响

植物体内 POD、CAT 酶参与了果蔬衰老过程中组织过氧化物及超氧化物自由基的清除,延缓果蔬衰老的速度,1-MCP、壳聚糖等物质可以有效调控这些酶的活性进而影响果蔬的贮藏效果及品质,延缓衰老<sup>[18,20]</sup>。乙醇熏蒸处理樱桃桃<sup>[11]</sup>果实研究中也发现,乙醇可以通过调节这些抗氧化酶,从而影响贮藏品质。由图 4、5 可知,油豆角在采后贮藏期间,CAT 和 POD 活性均呈现出先升高后降低的变化趋势,但对对照和 3 mL/kg 乙醇处理与 1.5 mL/kg 乙醇处理之间存在显著差异( $P < 0.05$ )。在贮藏期间,对照处理和 3 mL/kg 乙醇处理的油豆角 CAT 活性上升较快,在贮藏的第 6 天都达到最大值,分别为 2.95 U/g · FW 和 2.82 U/g · FW,而 1.5 mL/kg 乙醇处理油豆角 CAT 活性则在贮藏的第 9 天到达峰值,且在贮藏的第 1~6 天,对照处理和 3 mL/kg 乙醇处理的 CAT 活性显著高于 1.5 mL/kg 乙醇处理的。另外,在贮藏的第 3 天,对照处理的油豆角 POD 活性迅速达到最高值(3.62 U/g · FW),而 2 种乙醇处理油豆角 POD 活性则是在贮藏的第 6 天出现峰值,分别为 3.52 U/g · FW 和 3.79 U/g · FW,且在贮藏 6 d 后对照(CK)处理油豆角 POD

活性显著低于其他处理( $P < 0.05$ )。这些结果说明,乙醇熏蒸处理能推迟 CAT 和 POD 酶活性峰值出现的时间,从而延迟衰老进程,但是在影响 CAT 酶活性的效果方面存在乙醇处理剂量的差异。

### 2.4 对采后豆角超氧化物歧化酶活性及超氧阴离子含量的影响

SOD 酶参与了果蔬衰老过程中组织过氧化物及超氧化物自由基的清除,参与了果蔬衰老的调节<sup>[18]</sup>。油豆角在贮藏期间,SOD 酶活性和  $O_2^-$  含量均为先升高后降低趋势(见图 6、7),在贮藏的第 6 天对照与乙醇处理油豆角 SOD 酶活性和  $O_2^-$  含量都达到最高值,其中对照处理 SOD 酶活性和

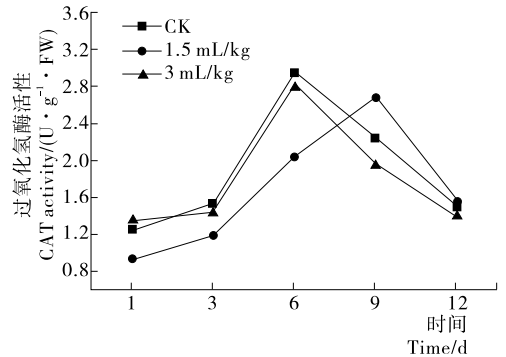


图 4 乙醇熏蒸对采后豆角 CAT 活性的影响

Figure 4 Effects of ethanol vapor on CAT activity in postharvest snap bean

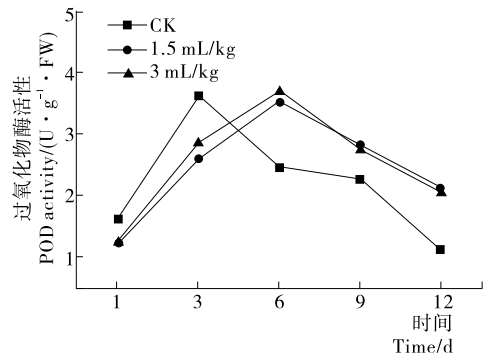


图 5 乙醇熏蒸对采后豆角 POD 活性的影响

Figure 5 Effects of ethanol vapor on POD activity in postharvest snap bean

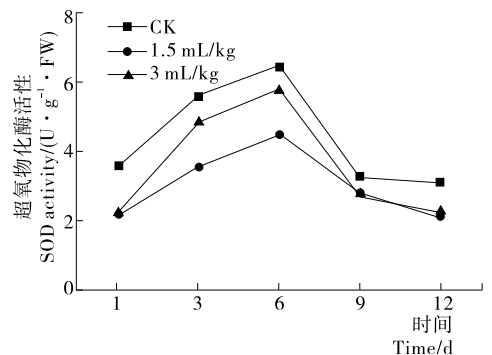


图 6 乙醇熏蒸对采后豆角 SOD 活性的影响

Figure 6 Effects of ethanol vapor on SOD activity in postharvest snap bean

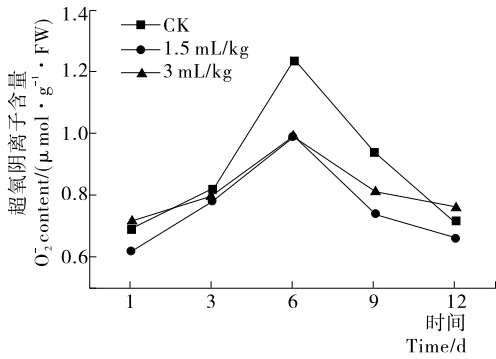


图7 乙醇熏蒸对采后豆角 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的影响

Figure 7 Effects of ethanol vapor on O<sub>2</sub><sup>-</sup> content in postharvest snap bean

O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量最大值分别为 6.45 U/g · FW 和 1.24 μmol/g · FW, 3 mL/kg乙醇处理 SOD 酶活性和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量最大值分别为 5.79 U/g · FW 和 0.99 μmol/g · FW, 这二者处理 SOD 酶活性显著大于 1.5 mL/kg 乙醇处理的 (4.52 U/g · FW) (P<0.05); 对照处理油豆角中 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量明显高于乙醇处理的, 而乙醇处理之间相比, 在贮藏的第 3~6 天期间, 油豆角中 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量无显著差异 (P<0.05)。结果说明, 乙醇熏蒸处理能通过调节 SOD 酶的活性, 从而影响 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的生成, 降低了活性氧对细胞膜的伤害, 从而能调节油豆角的衰老。

### 3 结论

研究表明, 在豆角贮藏过程中, 乙醇通过调节豆角中 LOX 活性和 MDA 含量, 能延缓细胞膜脂过氧化速度, 降低 MDA 的合成及对膜的破坏作用; 乙醇处理能明显降低贮藏过程中豆角 PPO 活性, 延迟 CAT、POD 活性高峰出现的时间, 显著抑制了 SOD 的活性和超氧阴离子的合成, 从而延缓油豆角在常温下贮藏过程中的衰老, 但是调节效果存在乙醇剂量差异, 3 mL/kg 乙醇处理效果低于 1.5 mL/kg 的, 似乎浓度过高增加了豆角的渗透胁迫效应, 在杨梅<sup>[24]</sup> 和樱桃<sup>[11]</sup> 果实研究中也发现这种现象。综上可以看出, 1.5 mL/kg 乙醇处理可以通过调节油豆角抗氧化酶活性, 进而有效调控 MDA 和超氧阴离子的合成, 延缓衰老, 维持油豆角的贮藏品质, 延长货架期。但是乙醇处理对贮藏过程中油豆角衰老代谢的调控途径、衰老激素信号转导调节以及对相关代谢基因的调控网络还不清楚, 因此, 还需进一步研究油豆角的衰老代谢, 明确乙醇调控油豆角衰老代谢的作用机理。

### 参考文献

[1] 姚淑珍. 菜豆(油豆角)优质高效栽培的几项关键技术[J]. 中国蔬菜, 2011(11): 50-51.  
 [2] 连玉晶, 赵海田, 姚磊, 等. 壳聚糖可食用膜对油豆角贮藏生理的影响[J]. 食品与生物技术, 2006, 25(3): 72-74.  
 [3] 袁成志, 高美玲, 冯泉. 不同品种油豆角生物学特性和贮藏性的比较研究[J]. 北方园艺, 2010(14): 58-59.  
 [4] 张福平. 菜豆采后贮藏期间的生理变化[J]. 湖北农业科学, 2006, 45(3): 370-371.  
 [5] 郭丽, 马莺. 油豆角冰温贮藏对淀粉与蛋白质降解速度的影响

[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(6): 160-163.  
 [6] 段玉权, 佟世生, 冯双庆, 等. 油豆角保鲜试验研究[J]. 保鲜与加工, 2001(2): 13-16.  
 [7] 郭丽, 程建军, 马莺, 等. 油豆角冰温贮藏研究[J]. 东北农业大学学报, 2004, 35(5): 568-572.  
 [8] Elif C, Ahmet E O, Onder K, et al. Modified atmosphere packaging and ethanol vapor to control decay of 'Red Globe' table grapes during storage[J]. Postharvest Biol. Technol., 2012(63): 98-106.  
 [9] Asoda T, Terai H, Kato M, et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on ethylene responsiveness in broccoli[J]. Postharvest Biol. Technol., 2009(52): 216-220.  
 [10] Liu Wen-wei, Qi Hong-yan, Xu Bing-hua, et al. Ethanol treatment inhibits internal ethylene concentrations and enhances ethyl ester production during storage of oriental sweet melons (*Cucumis melo var. makuwa Makino*) [J]. Postharvest Biol. Technol., 2012(67): 75-83.  
 [11] Bai Jin-he, Plotto A, Robert S, et al. Ethanol vapor and saprophytic yeast treatments reduce decay and maintain quality of intact and fresh-cut sweet cherries [J]. Postharvest Biol. Technol., 2011(62): 204-212.  
 [12] 陈昆松, 徐昌杰, 徐文平, 等. 猕猴桃和桃果实脂氧合酶活性测定方法的建立[J]. 果树学报, 2003, 20(6): 436-438.  
 [13] Mo Yi-wei, Gong De-qiang, Liang Guo-bin, et al. Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88(15): 2 693-2 699.  
 [14] 杨宁, 李翠霞, 李志忠, 等. 诱导子对百里香再生植株中苯丙氨酸解氨酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2012, 32(2): 330-335.  
 [15] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.  
 [16] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 163-170.  
 [17] Rauckman E J, Rosen G M, Kitchell B B. Superoxide radical as an intermediate in the oxidation of hydroxylamines by mixed function amine oxidase[J]. Molecular Pharmacology, 1979, 15(1): 131-137.  
 [18] 张鲁斌, 贾志伟, 谷会. 适宜 1-MCP 处理保持采后菠萝常温贮藏品质[J]. 农业工程学报, 2016, 32(4): 290-295.  
 [19] 罗自生. 热激减轻柿果实冷害及其与脂氧合酶的关系[J]. 果树学报, 2006, 23(3): 454-457.  
 [20] 李江阔, 曹森, 张鹏, 等. 1-MCP 采前处理对葡萄采后相关酶活性与品质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(22): 270-275.  
 [21] 李梅, 王贵禧, 梁丽松, 等. 1-甲基环丙烯处理对西洋梨常温贮藏的保鲜效果[J]. 农业工程学报, 2009, 25(12): 345-350.  
 [22] 陆振中, 徐莉, 王庆国. 乙醇和 1-MCP 熏蒸对中华寿桃贮藏期冷害发生的影响[J]. 保鲜与加工, 2009(3): 33-36.  
 [23] 郭丹, 韩英群, 郝义. 秋富红苹果冷藏期及货架期生理品质变化研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 126-129.  
 [24] 杨爱萍, 汪开拓, 金文渊, 等. 乙醇熏蒸处理对杨梅果实保鲜及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2011, 33(20): 277-281.