

## Effect of Storage Conditions on Membrane Lipid Peroxidation in Weixian Radish

Yuguo Wu<sup>1</sup>, Baoren Zhang<sup>2</sup>

<sup>1</sup> College of Agriculture, Shandong Agriculture University, Tai'an

<sup>2</sup> Bio-engineering College, Weifang University, Weifang

Email: [wyg8\\_88@126.com](mailto:wyg8_88@126.com)

Received: Sep. 15th, 2011; revised: Sep. 23rd, 2011; accepted: Sep. 26th, 2011.

**Abstract:** It is important to study the activities of enzyme and the content of product related to membrane lipid peroxidation for storage and preserving fresh in Weixian Radish. In the experiment the activities of peroxidase (POD), Catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and the content of malondialdehyde (MDA) were measured, and the effect of storage conditions was studied. The results were as below. The activities of POD, CAT and SOD decreased generally in Weixian Radish with the storage time delayed, but there were difference among treatments, the activities of enzymes in low temperature plus preserving fresh condition decreased most slowly, the activities of them in normal conditions decreased most quickly. The content of MDA increased gradually with the storage time delayed. In normal condition the content of MDA increased most quickly, and in low temperature plus preserving fresh condition increased most slowly.

**Keywords:** Storage Condition; Weixian Radish; Membrane Lipid Peroxidation

## 不同贮藏条件对潍县萝卜膜脂过氧化作用的影响

武玉国<sup>1</sup>, 张保仁<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 山东农业大学农学院, 泰安

<sup>2</sup> 潍坊学院生物工程学院, 潍坊

Email: [wyg8\\_88@126.com](mailto:wyg8_88@126.com)

收稿日期: 2011年9月15日; 修回日期: 2011年9月23日; 录用日期: 2011年9月26日

**摘要:** 研究不同贮藏条件下萝卜体内膜脂过氧化有关酶活性及膜质过氧化产物含量的变化对于萝卜的贮藏保鲜具有重要意义。本论文通过比色法测定过氧化物酶(POD)、滴定法测定过氧化氢酶(CAT)、氮蓝四唑法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性及硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量, 从而研究不同贮藏条件对其膜脂过氧化作用的影响。结果表明: 随着贮藏时间的延长, 萝卜体内 POD、CAT 和 SOD 的活性总体呈下降趋势, 而且不同贮藏条件下萝卜体内三种酶活性降低幅度也不一样, 其中低温保鲜贮藏条件下萝卜体内活性下降最慢, 常温条件下下降最快; 丙二醛的含量则随着贮藏时间的延长含量逐渐上升, 其中常温条件下的萝卜体内丙二醛含量上升最快, 低温保鲜贮藏条件下的萝卜体内含量上升最慢。

**关键词:** 贮藏条件; 潍县萝卜; 膜脂过氧化作用

### 1. 引言

萝卜 (*Raphanus sativas* L) 为十字花科萝卜属, 一、二年生的根类蔬菜, 原产于中国。萝卜栽培在中国历史悠久, 在日本、朝鲜、印度、欧美国家等也有大面积种植。萝卜富含多种营养元素, 自古即被认为具有

助消化、消痰止咳等功效。马德瑞<sup>[1]</sup> 研究结果表明萝卜中所含的木质素还具有降低胆固醇和防癌等作用。萝卜独特的保健作用和食用价值, 受到现代消费者的广泛喜爱。由于萝卜的生长受自然条件的制约, 具有明显的季节性和地域性, 为了提高萝卜的货架期, 更

好地满足市场的需求,萝卜的贮藏保鲜成为急需解决的一个重要课题<sup>[2]</sup>。萝卜喜冷凉多湿的环境条件,中国北方地区贮藏萝卜大多采用沟藏和窖藏。但贮藏过程中,萝卜常会出现生根发芽、水分散失、糠心、腐烂等现象,降低了食用品质,缩短了贮藏期,从而对萝卜的食用和加工产生严重的不良影响<sup>[3]</sup>。研究萝卜贮藏过程中的生理变化对萝卜产业发展具有重要意义。

在逆境或衰老条件下,植物细胞内活性氧产生与清除之间的平衡遭到破坏,膜脂过氧化作用增强,从而导致细胞质膜透性增大、离子平衡失调及代谢紊乱,其中非常重要是对细胞膜的伤害,即细胞体内活性氧和自由基含量升高<sup>[4,5]</sup>。植物体为防止自由基的伤害,产生一些活性物质,用以清除活性自由基,防止膜系统遭到破坏,维持正常的生理功能,如超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物歧化酶(POD),过氧化氢酶(CAT)等,这些酶统称为保护酶系统<sup>[6,7]</sup>。衰老引起的膜脂过氧化严重地损伤植物细胞膜系统,干扰植物细胞光合、呼吸及其他代谢过程,它们能够抑制丙二醛(MDA)的积累,维持细胞的稳定和完整,提高植物对逆境的适应性<sup>[8-10]</sup>。因此,植物体内保护酶活性的高低及MDA的含量在一定程度上反映植物的耐逆性和抗衰老能力<sup>[11]</sup>。

为此,本实验通过在不同贮藏条件下对萝卜体内过氧化物酶、过氧化氢酶及丙二醛和SOD含量的测定来对萝卜的贮藏条件进行研究,以期为进一步研究萝卜贮藏保鲜技术提供参考。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

本试验以潍县萝卜的大缨品种为试材,该品种生长势较强,叶多、叶大,基生叶14~15片,叶长50 cm、宽18 cm;肉质根长28~29 cm、横径7~9 cm,根表面白锈少,单根重1 kg左右,产量约75,000 kg/hm<sup>2</sup>;质松味淡,宜熟食。

### 2.2. 处理方法

采用常温、常温保鲜、低温、低温保鲜四种不同贮藏条件下进行贮藏。常温保存条件采用室温(25℃),低温采用4℃冰箱保存,所用保鲜膜为PE保鲜膜。从采收完放在各处理条件下起,每一周测试一次相应的

生理生化指标,研究其动态变化规律。

### 2.3. 测定与方法

#### 2.3.1. 过氧化物酶活性的测定(比色法)<sup>[12]</sup>

称取各贮藏条件下的萝卜1 g,剪碎,放入研钵中,加适量的磷酸缓冲液研磨成匀浆,以4000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,上清液转入100 mL容量瓶中,残渣再用5 mL磷酸缓冲液提取一次,上清液并入容量瓶中,定容至刻度,贮于低温下备用。

取直径1 cm比色杯2只,1只中加入反应混合液3 mL和磷酸缓冲液1 mL,作为对照,另1只中加入反应混合液3 mL和上述酶液1 mL(如酶活性过高可稀释之),立即开启秒表记录时间,于分光光度计上测量波长470 nm下吸光度值,每隔1 min读数一次。

#### 2.3.2. 过氧化氢酶的活性测定——高锰酸钾滴定法<sup>[13]</sup>

称取各贮藏条件下的萝卜2.5 g加入pH7.8的磷酸缓冲液少量,研磨成匀浆,转移至25 mL容量瓶中,用该缓冲液冲洗研钵,并将冲洗液转入容量瓶中,用同一缓冲液定容,4000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,上清液即为过氧化氢酶的粗提液。

取50 mL三角瓶4个(2个测定,2个对照),测定瓶中加入酶液2.5 mL,对照瓶中加入煮死酶液2.5 mL,再加入2.5 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,同时计时,于30℃恒温水浴中保温10 min,立即加入10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.5 mL。

用0.1 mol·L<sup>-1</sup>KMnO<sub>4</sub>标准溶液滴定H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,至出现粉红色(在30 min内不消失)为终点。

#### 2.3.3. 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定

酶液提取:称取常温、常温保鲜、低温、低温保鲜贮藏条件下的萝卜0.5 g于预冷的研钵中,加1 mL预冷的磷酸缓冲液在冰浴上研磨成匀浆,加缓冲液使终体积为5 mL。在4℃条件下10,000 r·min<sup>-1</sup>离心20 min,上清液即为SOD粗提液。

显色反应:取5 mL指形管(要求透明度好)4支,2支为测定管,另2支为对照管,按量加入各溶液。混匀后,给1支对照管照上比试管稍长的双层黑色硬纸套遮光,与其他各管同时置于4000 lx日光灯下反应10 min(要求各管照光情况一致,反应温度控制在25℃~35℃之间,使酶活性高低适当调整反应时间)。

活性测定:至反应结束后,用黑布罩盖上试管,

终止反应。以遮光的对照管作为空白,分别在 560 nm 下测定各管的 OD 值,计算 SOD 活性<sup>[14]</sup>。

#### 2.3.4. 萝卜体内丙二醛含量的测定

丙二醛的提取:称取四种不同贮藏条件下的萝卜 1 g,加入 10%三氯乙酸 2 mL 和少量石英砂,研磨至匀浆,再加 8 mL 10%三氯乙酸进一步研磨,匀浆以 4000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,其上清液为丙二醛提取液。

显色反应及测定:试管中加入提取液 2 ml,对照管用蒸馏水代替,再加入 2 mL 0.6% 硫代巴比妥酸溶液。摇匀,混合液在沸水浴中反应 15 min,迅速冷却后再离心。取上清液分别在 532 nm、600 nm 和 450 nm 波长下测定吸光度(A)值<sup>[15]</sup>。

#### 2.4. 数据分析

以上试验均设 3 次重复,采用 Excel 对数据进行统计分析。

### 3. 结果与分析

#### 3.1. 不同贮藏条件下 POD 活性的变化

如图 1 所示,随着贮藏时间的延长,贮藏在不同条件下的萝卜体内 POD 活性在达到最高值后呈下降趋势,而且不同的贮藏条件下萝卜体内 POD 含量下降的速度有快有慢,具体为常温条件下贮藏的萝卜体内 POD 含量下降最快,常温保鲜条件下次之,低温保鲜条件下活性下降最慢。

#### 3.2. 不同贮藏条件下 CAT 活性的变化

如图 2 所示,随着贮藏时间的延长,贮藏在不同条件下的萝卜体内 CAT 活性在达到最高值后呈下降趋势,而且不同的贮藏条件下萝卜体内 CAT 活性下降的速度有快有慢,具体为常温条件下贮藏的萝卜体内 CAT 活性下降最快,常温保鲜条件下次之,低温保鲜条件下活性下降最慢。

#### 3.3. 不同贮藏条件下 SOD 活性的变化

如图 3 所示,随着贮藏时间的延长,贮藏在不同条件下的萝卜体内 SOD 活性呈下降趋势,而且不同的贮藏条件下萝卜体内 SOD 活性下降的速度有快有慢,具体为常温条件下贮藏的萝卜体内 SOD 活性下降最快,

常温保鲜条件下次之,低温保鲜条件下活性下降最慢。

#### 3.4. 不同贮藏条件下 MDA 活性的变化

如图 4 所示,随着贮藏时间的延长,贮藏在不同条件下的萝卜体内 MDA 含量呈升高趋势,而且不同的贮藏条件下萝卜体内 MDA 含量升高的速度有快有慢,具体为常温条件下贮藏的萝卜体内 MDA 含量上升最快,常温保鲜条件下次之,低温保鲜条件下含量升高速度最慢。

### 4. 结论与讨论

POD、CAT 和 SOD 是影响果实膜脂氧化的主要酶<sup>[16,17]</sup>。POD 和 CAT 主要是起到酶促降解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的作用,避免因 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的过量积累而导致毒性更大的·OH 含量增加,进而对细胞膜产生伤害,是植物体内重要的酶促防御系统之一<sup>[18]</sup>。SOD 具有特殊的生理活性,是生物体内清除自由基的首要物质,在生物体内的水平高低意味着衰老与死亡的直观指标<sup>[19]</sup>。SOD 活性下降,清除活性氧自由基的能力减弱,启动膜脂过氧化,促进衰老。安莹等报道在 25℃~5℃ 温度范围下,白三叶体内 POD 活性在低温胁迫中表现先增加后降低再升高的复杂性<sup>[20]</sup>。刘雅莉等报道牡丹在低温贮藏过程中,保护酶 CAT 和 SOD 活性下降缓慢<sup>[21]</sup>。本研究结果显示,萝卜经低温保鲜膜处理能在贮藏前提高 POD 活性,并能缓解 CAT 活性下降,进而避免 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对膜的伤害,低温保鲜膜处理后能有效缓解萝卜体内 SOD 活性下降,进而降低了超氧自由基对膜的伤害,这与上述以牡丹和白三叶为试材的研究结果基本一致,说明一定低温条件下能够缓解保护酶的降解,从而延缓衰老。

膜脂的过氧化是衰老的重要指标,而 MDA 是膜脂氧化的产物,其含量表示了膜脂过氧化和果实衰老的程度<sup>[22]</sup>。可以认为减缓了 MDA 的生成,也就延缓了果实的衰老。龚荣高等报道枇杷果实内 MDA 含量随着贮藏期的延长不断升高,但壳聚糖和水杨酸 2 种保鲜剂的添加可以明显减缓膜脂过氧化反应,延缓果实衰老<sup>[23]</sup>。审琳等研究结果表明室温贮藏条件下,鲜切石榴的 MDA 的含量呈现明显上升趋势,而低温贮藏条件下,MDA 变化较平稳,并且低温条件下的 MDA 含量明显小于室温条件下的含量<sup>[24]</sup>。由此可见,

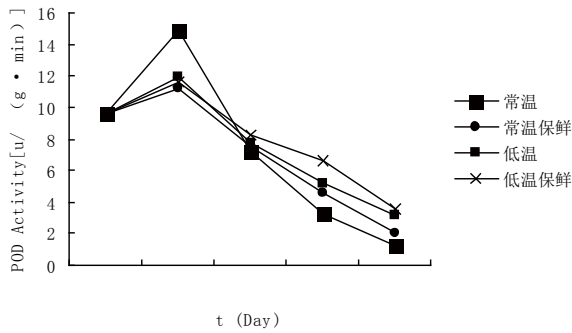


Figure 1. Change of POD under different storage condition  
图 1. 不同贮藏条件下 POD 活性变化曲线

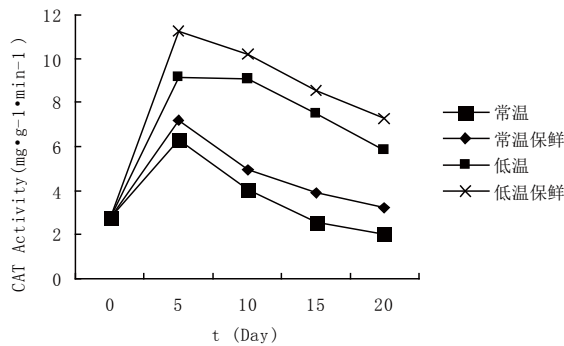


Figure 2. Change of CAT under different storage condition  
图 2. 不同贮藏条件下 CAT 活性变化曲线

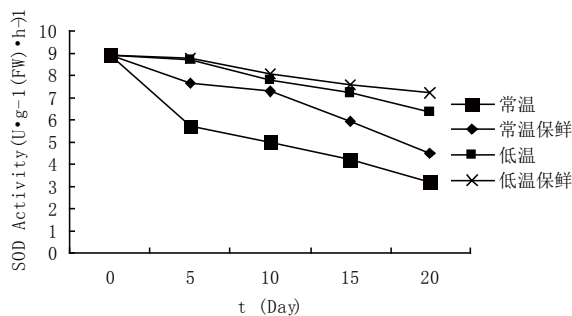


Figure 3. Change of SOD under different storage condition  
图 3. 不同贮藏条件下 SOD 活性变化曲线

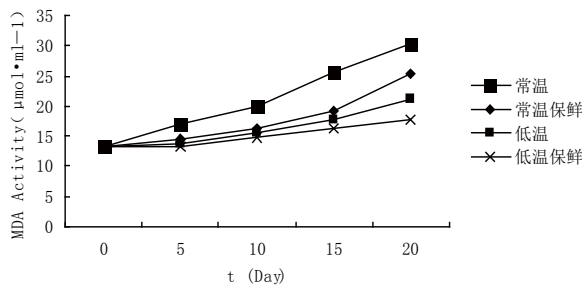


Figure 4. Change of MDA under different storage condition  
图 4. 不同贮藏条件下 MDA 含量变化曲线

低温可有效抑制膜脂过氧化作用。

萝卜贮藏前期 POD 和 CAT 活性不同程度升高, 而中后期 POD 和 CAT 均表现活性降低, 说明 POD 和 CAT 活性与 SOD 作用产生的  $H_2O_2$  多少相关, 避免  $H_2O_2$  的过量积累而对细胞膜伤害。而且, MDA 含量随 SOD、CAT 及 POD 活性下降逐渐增加。因而可以认为膜脂过氧化程度是几种酶综合作用的结果。

综上所述, 经过保鲜膜处理的萝卜在一定的低温贮藏条件下能够有效缓解体内 SOD、POD 及 CAT 等保护酶的活性下降, 减缓 MDA 的生成, 从而延缓衰老, 这为新鲜水果和蔬菜等的贮藏提供了有力的理论支撑及技术支持, 减少在贮藏过程中造成的不必要损失。

## 参考文献 (References)

- [1] 马德锐. 萝卜储藏期间生理变化的初步研究[J]. 园艺学报, 1965, 2(4): 226-228.
- [2] 潘思秩, 王可兴, 刘睿. 涂膜保鲜萝卜效果及糖心研究[J]. 食品科学, 1999, 20(12): 56-59.
- [3] 孙慧, 汪隆植. 春秋季栽培萝卜糖心机理的研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(2): 170-174.
- [4] 刘友良, 毛才良, 汪良驹. 植物耐盐研究进展[J]. 植物生理学通讯, 1987(4): 127.
- [5] A. Kalir, A. M. Poljakoff. Changes in activity of malate dehydrogenase, catalase, peroxidase and superoxide dismutase in leaves of *Halimolobos hololepis* L. Alley exposed to high sodium chloride concentration. *Annals of Botany*, 1981, 47(1): 75-285.
- [6] 高福元, 张吉立, 刘振平. 冬季低温对 4 种彩叶植物 SOD、POD 活性影响的研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(5): 169-173.
- [7] 汗良驹, 千业遵, 刘永良. 无花果耐盐机理研究逆境下脯氨酸和可溶性蛋白质的积累[J]. 南京农业大学学报, 1989, 12(4): 124-125.
- [8] 李曙轩. 蔬菜栽培生理[M]. 上海: 上海科学出版社, 1979: 409.
- [9] 赵可夫, 邹琦, 李得全等. 盐分和水胁迫对盐生和非盐生植物膜脂过氧化作用的效应[J]. 植物学报, 1993, 35(7): 519-525.
- [10] 束良佐, 刘英惠. 硅对盐胁迫下玉米幼苗叶片膜脂过氧化和保护系统的影响[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2001, 40(6): 1295-1300.
- [11] 徐为民, 郑安俭, 严少华等. 萝卜采后生理与保鲜技术研究进展[J]. 江苏农业学报, 2007, 23(4): 366-370.
- [12] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997: 163.
- [13] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 102-169.
- [14] 胡能书, 万贤国. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙: 湖南科学出版社, 1985: 74.
- [15] 曾纪晴, 刘鸿先, 王以柔. 黄瓜幼苗子叶在低温下的光抑制及其恢复[J]. 植物生理学报, 1997, 23(1): 15-20.
- [16] 高海生, 刘秀凤, 权英. 现代果蔬贮藏保鲜技术研究进展[J]. 中国食品学报, 2003(增): 491-495.
- [17] C. K. Ding, K. Chachin, Y. Ueda, et al. Inhibition of loquat enzymatic browning by sulfhydryl compounds. *Food Chemistry*,

- 2002, 76(2): 213-218.
- [18] 宗会, 胡文玉. 海藻酸钠涂膜对苹果果实活性氧代谢的影响[J]. 园艺学报, 1999, 26(4): 263-264.
- [19] 王林嵩, 李金亭, 王琳等. 萝卜贮藏期可溶性蛋白及同工酶研究[J]. 西北植物学报, 2000, 20(2): 187-192.
- [20] 安莹, 陈雅君, 赵伟等. 低温对白三叶膜质过氧化及保护酶活性的影响[J]. 草原与草坪, 2009, 134(3): 8-10.
- [21] 刘雅莉, 王荣花, 李京春. 两个牡丹切花品种低温贮藏过程中抗氧化酶活性的变化[J]. 园艺学报, 2005, 32(6): 1114-1117.
- [22] 吴锦程, 陈群, 唐朝晖等. 不同贮藏温度对枇杷果肉木质化及相关酶活性的影响[J]. 武汉植物学研究, 2006, 24(3): 235-239.
- [23] 龚荣高, 吕秀兰, 张光伦等. 天然保鲜剂对枇杷采后膜脂过氧化保护酶活性的影响[J]. 北方园艺, 2010, 34(6): 185-187.
- [24] 申琳, 王茜, 陈海荣等. 低温贮藏对鲜切石榴籽粒品质及活性氧代谢的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4336-4340.