|  |  |
| --- | --- |
| 学 校 代 码 ： | 1 0 2 6 4 |
| 研 究 生 学 号 ： | M 1 0 0 2 0 2 3 1 5 |

**上 海 海 洋 大 学硕 士 学 位 论 文**

|  |  |
| --- | --- |
| **题** **目：** | 低温贮藏黄瓜组织Th理Th化特性、传热  特性及组织细胞结构变化研究 |
| **英文题目：** | **Research of physiological and biochemical characteristics, heat transfer characteristics and cell structure of cucumber tissue during low temperature storage** |
| **专** **业：** | **制 冷 及 低 温 工 程** |
| **研究方向：** | **果蔬冷害研究** |
| **姓** **名：** | **卢佳华** |
| **指导教师：** | **张 敏** 教 **授** |

**二 O 一三年四月**

**上海海洋大学学位论文原创性声明**

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：

日期： 年 月 日

**上海海洋大学学位论文版权使用授权书**

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权上海海洋大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

本学位论文属于

保密 □ ，在 年解密后适用本版权书。 不保密 □

学位论文作者签名： 指导教师签名：

日期： 年 月 日 日期： 年 月 日

**上海海洋大学硕士学位论文**

**答辩委员会成员名单**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 姓名 | 工作单位 | 职称 | 备注 |
| 章学来 | 上海海事大学 | 教授 | 主席 |
| 陈天及 | 上海海洋大学 | 教授 | 委员 |
| 谢晶 | 上海海洋大学 | 教授 | 委员 |
| 万金庆 | 上海海洋大学 | 教授 | 委员 |
| 刘艳玲 | 上海海洋大学 | 讲师 | 秘书 |
|  |  |  |  |
| 答辩地点 | 上海海洋大学食品学  院 A209 | 答辩日期 | 2013 年 5 月 22 日 |

低温贮藏黄瓜组织Th理Th化特性、传热特性及组织细胞结构变化研究

摘 要

包括黄瓜在内的许多亚热带果蔬，都属于喜温性植物。由于喜温这一特性决定了亚热带果蔬对低温特别敏感，在不适宜的温度下贮藏一定时间就会造成冷害症状的发生，进而导致果蔬生理代谢失常，营养流失，低温胁迫时间继续延长更将导致病原菌侵入发生腐败，影响果蔬品质。

黄瓜是典型的亚热带作物，本实验以黄瓜作为研究对象，研究黄瓜组织在受到低温胁迫后其生理生化参数（膜透性、酶活性、Vc、可溶性固形物、冰点、细胞壁结构、热导率等）的变化规律。从而为我国对亚热带果蔬贮藏技术以及国家标准的完善提供可靠的数据和理论依据。主要研究结果如下：

1．对黄瓜的可溶性固形物、Vc和可滴定酸含量进行研究，实验结果表明黄瓜可溶性固形物、Vc、可滴定酸含量都随着贮藏时间的延长而减少。但是可溶性固形物含量的减少与贮藏温度、黄瓜品种和成熟度无关，与贮藏时间成反比。可溶性固形物含量较低的冷害程度较高，有待确定是否有直接联系。

而Vc和可滴定酸含量都受到贮藏温度的影响，温度越低，两者的含量下降速率越快。在1℃下贮藏的黄瓜Vc和可滴定酸含量下降最快，

8℃、10℃、12℃下贮藏的下降速率依次减小。

同时，不同品种的黄瓜所含Vc和可滴定酸含量各不相同，其中津优较申青和瑞青含量最少，瑞青各含量最多，但是在2℃下贮藏6d后都达到最低水平。

不同成熟度的黄瓜可滴定酸含量相近，在2℃低温胁迫后下降速率也相近。黄瓜Vc含量与黄瓜的成熟度成反比。

复温后比复温前可滴定酸含量平均下降20.4%, Vc含量平均下降

15.4%。

2．对黄瓜抗氧化酶活性进行研究，实验结果表明1℃下贮藏的黄瓜

POD、SOD和CAT活性完全受到抑制，8℃下贮藏的各活性酶活性均低于10℃和12℃的。10℃和12℃下贮藏8d后SOD活性仍接近常温处理组。

在低温胁迫前期MDA累积量的降低，是因为SOD酶能够清除体内超氧自由基的表现。随着胁迫时间的延长，黄瓜因低温造成生理机能的下降和过氧化作用的加剧，SOD、POD和CAT三者联合已不能抵抗逆境伤害，MDA含量直线上升。温度越低，各酶活性受抑制程度越严重。

3．对黄瓜膜透性与MDA含量进行研究，结果表明不同贮藏温度下，温度越低，黄瓜MDA含量越高，相对应的膜透性也是最高。

不同品种黄瓜在受到低温胁迫后MDA 的累积量各不相同，申青

MDA含量稍小于津优和瑞青，同时膜透性上升趋势与MDA含量趋势

一致。

不同成熟度的黄瓜在受到低温胁迫后则表现为，成熟度越高的

MDA含量和膜透性相对较小。

复温后MDA 含量要比复温前高出12.2%，膜透性比复温前升高

9.8%。12℃下贮藏的黄瓜在复温1d后的膜透性增大速率相较于4℃和

8℃的是最慢的。

4．对黄瓜冷害指数与细胞结构进行研究，结果表明贮藏温度越低，冷害指数越大，且冷害指数的上升趋势与膜透性以及MDA含量的上升趋势一致，但对于冷害的反应要晚于MDA和膜透性指标，复温后冷害症状加重。

通过细胞微观结构的观测发现，黄瓜细胞壁在受到低温胁迫后细胞间层厚度增大，次生壁厚度逐渐减小。2℃下贮藏10d后细胞间层厚度比第0d 增大了68.5%，

次生壁厚度比第0d减小了35.3%。分别比贮藏于12℃的高出45.5%和

17%。贮藏温度越低对黄瓜细胞壁的损伤也越严重。

5．对黄瓜冰点以及热导率进行研究，结果表明黄瓜冰点与可溶性固形物含量成负相关。黄瓜果肉热导率随着低温胁迫时间延长而升高，上升速率与膜透性上升速率相近，推断热导率增大的原因可能是黄瓜细胞受到低温胁迫后膜透性增大，细胞中电解质大量渗出，细胞内的空隙全都被电解质占据，导致密度增大从而热导率增大。

关键词：黄瓜； 膜透性； MDA； 热导率； 细胞结构； 酶活性

**Research of physiological and biochemical characteristics, heat transfer characteristics and cell structure of cucumber tissue during low temperature storage**

Abstract

Many subtropical fruits and vegetables, including cucumbers belong to the thermophilic plants. Because of this feature, it will determine the subtropical fruits and vegetables particularly sensitive to low temperature, so the symptoms of chilling injury will occur when they are stored under the inappropriate temperature for some periods. This will cause fruits and vegetables physiological metabolic disturbance, nutrient loss and the time of low temperature stress that continues to extend more corruptions will lead to pathogen invasion as well as affecting the qualities of fruits and vegetables.

Cucumber is one of the typical subtropical crops, these experiments take cucumbers as the research object. The purpose is to study the cucumber's organization using its physiological and biochemical parameters when they are under low temperature stress, such as membrane permeability, enzymatic activity, Vc, soluble solids, freezing point, cell wall structure, thermal conductivity, etc.). As for our country's subtropical fruits and vegetables storage technology and the improvement of the national standards, the study provides reliable data and theoretical basis. The main results were as follows:

1. Total soluble solids of cucumber, Vc and titratable acid content were mainly studied. The experimental results show that the cucumbers' soluble solids, Vc, and titratable acid content decreased with the extension of storage time. But containing soluble solid content and storage temperature, cucumber varieties has nothing to do with maturity, and the storage time is inversely proportional to it. Soluble solids content is higher when reach at a low level of chilling injury, but it is not sure whether there is a direct link between them and it needs to be determined later.

Both Vc and titratable acid content were influenced by temperature, the lower the temperature, the faster the decline rate of the content. Under 1℃storage temperature, cucumbers' Vc and titratable acid content is falling the fastest, meanwhile at the

Temperature 8 ℃，10 ℃and 12 ℃, the declining rate of storage decreases in turn.

At the same time, different varieties of cucumbers' containment are not the same, Vc and titratable acid content of JinYou is the least compared with ShenQing and RuiQing. RuiQing has the most abundant content among others, but under 2℃storage temperature, it will reach the lowest level of the content after 6 d.

Since the Cucumbers are at the different degree of maturity under 2℃low temperature stress, the declining rate of the content of titratable acid are similar. Vc content in cucumbers is inversely proportional to the maturity.

After rewarming, titratable acid content fell by 20.4% on average as well as Vc levels fell by 15.4% on average.

2. Study of cucumber antioxidant enzymatic activity, the experimental results show that cucumbers' activity of POD, SOD and CAT under 1℃storage temperature are completely suppressed, the activity of the enzyme under 8℃storage temperature is below that of 10℃and 12 ℃. SOD's activity is close to the room temperature after the treatment under 10 ℃and 12 ℃storage temperature for 8 d.

The total amounts of SOD decreased the superoxide radical that damages the organization, the related performance in previous quantity of the MDA's accumulation is reduced. As the extension of stress time, cucumbers caused by low temperature decreases in physiological function but the peroxidation increase, so SOD, POD and CAT 's combination cannot resist adversity, meanwhile MDA's content also increased. The lower the temperature, the more serious the degree of inhibition of the enzymatic activity.

3. The study of membrane permeability and MDA's content in cucumbers, the results show that under different storage temperature, the lower the temperature, the higher the cucumber's MDA content, this is correspond to the membrane permeability.

Different varieties of cucumbers under low temperature stress after the accumulation of MDA's quantity are not the same, ShenQing is slightly less than JinYou and RuiQing, the rising trend of the MDA content and membrane permeability is consistent with the MDA content.

Different maturity of cucumbers under low temperature stress is characterized by the maturity, the more mature of the cucumber, the less content of MDA and membrane permeability.

After rewarming, MDA content was increased by 12.2%, membrane permeability is also increases by 9.8%. After rewarming for 1d, the membrane permeability increased

Under 12℃storage temperature, which is the slowest compared with 8 ℃and 4℃.

4. From the study of cucumber chilling injury's index and cellular structure, the results show that the lower the storage temperature, the larger the chilling injury's index, and the chilling injury index's rising trend, the membrane permeability and MDA's content of rising trend are all consistent, but for the response to chilling injury, it is later in MDA and membrane permeability index. Through experimental analysis, but symptoms of chilling injury will be aggravated after rewarming.

Through the observation of the cellular microstructure, it is found that the cell walls under low temperature stress, the intercellular layer thickness will increases and the secondary wall thickness will decrease. Stored under the storage temperature of

2℃for 10 d, the intercellular layer thickness will increase by 68.5% then 0 d, the

Secondary wall thickness will decrease by 35.3%, respect to 45.5% and 17% higher than in the storage at 12 ℃. The lower the storage temperature, the more serious.

5. Study of cucumbers' freezing point and the thermal conductivity, the results showed

That cucumber is negatively related to the soluble solids content and the freezing point. Cucumbers' thermal conductivity increased with the prolong of the low temperature stress, the rising rate is close to the increased rate of membrane permeability, thus infers that the reason of the increase of the thermal conductivity may be that cucumbers' cells under low temperature stress increased membrane permeability, cell electrolyte leakage were in great quantities, which resulted in the increase of the density as well as thermal conductivity.

Key Words: cucumber; Membrane permeability; MDA; Thermal conductivity; Cellular structure; Enzymatic activity

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | [4.3.2 低温胁迫对不同品种黄瓜可滴定酸和 Vc 含量的影响 .........](#_bookmark83) | [33](#_bookmark83) |
| [4.3.3 低温胁迫对不同品种黄瓜 MDA 含量和膜透性的影响 ..........](#_bookmark84) | [34](#_bookmark84) |
| [4.3.4 低温胁迫对不同品种黄瓜热导率的影响 ....................](#_bookmark85) | [35](#_bookmark85) |
| [4.3.5 低温胁迫对不同品种黄瓜冷害指数的影响 ..................](#_bookmark86) | [35](#_bookmark86) |
| [4.4](#_bookmark87) | [本章小结....................................................](#_bookmark87) | [37](#_bookmark87) |
| [第五章](#_bookmark88) | [不同成熟度黄瓜低温胁迫下生理生化特性、传热特性变化研究 ......](#_bookmark88) | [38](#_bookmark88) |
| [5.1](#_bookmark89) | [材料与设备..................................................](#_bookmark89) | [38](#_bookmark89) |
| [5.2](#_bookmark90) | [实验方法....................................................](#_bookmark90) | [38](#_bookmark90) |
| [5.3](#_bookmark91) | [结果与讨论..................................................](#_bookmark91) | [38](#_bookmark91) |
|  | [5.3.1 低温胁迫对不同成熟度的黄瓜可溶性固形物含量及冰点的影响](#_bookmark92) | [38](#_bookmark92) |
|  | [5.3.2 低温胁迫对不同成熟度的黄瓜可滴定酸和 Vc 的影响 .........](#_bookmark93) | [39](#_bookmark93) |
|  | [5.3.3 低温胁迫对不同成熟度的黄瓜 MDA 含量以及膜透性的影响 ....](#_bookmark94) | [40](#_bookmark94) |
|  | [5.3.4 低温胁迫对不同成熟度的黄瓜热导率的影响 ................](#_bookmark95) | [40](#_bookmark95) |
|  | [5.3.5 低温胁迫对不同成熟度的黄瓜冷害指数的影响 ..............](#_bookmark96) | [41](#_bookmark96) |
| [5.4](#_bookmark97) | [本章小结....................................................](#_bookmark97) | [42](#_bookmark97) |
| [第六章](#_bookmark98) | [低温胁迫下黄瓜复温前后生理生化特性、传热特性变化研究 ........](#_bookmark98) | [44](#_bookmark98) |
| [6.1](#_bookmark99) | [材料与设备..................................................](#_bookmark99) | [44](#_bookmark99) |
| [6.2](#_bookmark100) | [实验方法....................................................](#_bookmark100) | [44](#_bookmark100) |
| [6.3](#_bookmark101) | [结果与讨论..................................................](#_bookmark101) | [44](#_bookmark101) |
|  | [6.3.1 复温后黄瓜可溶性固形物含量的影响 ......................](#_bookmark102) | [44](#_bookmark102) |
|  | [6.3.2 复温后黄瓜可滴定酸和 Vc 含量的影响 .....................](#_bookmark103) | [45](#_bookmark103) |
|  | [6.3.3 复温后黄瓜 MDA 含量和膜透性的影响 ......................](#_bookmark104) | [46](#_bookmark104) |
|  | [6.3.4 复温后黄瓜冷害指数的影响 ..............................](#_bookmark105) | [47](#_bookmark105) |

目 录

[摘 要](#_Toc686371060) 4

[Abstract](#_Toc686371061) 4

[第一章 绪论](#_Toc686371062) 9

[1.1 研究背景](#_Toc686371063) 9

[1.2 国内外研究现状](#_Toc686371064) 9

[1.2.1 冷害发Th机理](#_Toc686371065) 9

[1.2.2 低温对果蔬细胞膜透性的影响](#_Toc686371066) 9

[1.2.3 低温对果蔬抗氧化酶活性的影响](#_Toc686371067) 10

[1.2.4 低温对果蔬细胞结构的影响](#_Toc686371068) 10

[1.2.5 低温对果蔬热导率的影响](#_Toc686371069) 10

[1.2.6 低温对果蔬冰点的影响](#_Toc686371070) 10

[1.2.7 低温对果蔬Vc的影响](#_Toc686371071) 10

[1.3 本课题研究内容及解决的问题](#_Toc686371072) 10

[第二章 黄瓜Th理Th化特性、传热特性及组织细胞结构测试方法与装置](#_Toc686371073) 10

[2.1 可溶性固形物的测试](#_Toc686371074) 10

[2.1.1 实验原理](#_Toc686371075) 11

[2.1.2 实验仪器](#_Toc686371076) 11

[2.1.3 实验步骤](#_Toc686371077) 11

[2.2 可滴定酸含量的测试](#_Toc686371078) 11

[2.2.1 实验原理](#_Toc686371079) 11

[2.2.2 实验仪器](#_Toc686371080) 11

[2.2.3 实验步骤](#_Toc686371081) 11

[2.3 抗坏血酸含量的测试](#_Toc686371082) 11

[2.3.1 实验原理](#_Toc686371083) 11

[2.3.2 实验仪器](#_Toc686371084) 11

[2.3.3 实验步骤](#_Toc686371085) 11

[2.4 果蔬中过氧化物酶（POD）活性的测定](#_Toc686371086) 12

[2.4.1 实验原理](#_Toc686371087) 12

[2.4.2 实验仪器](#_Toc686371088) 12

[2.4.3 实验步骤](#_Toc686371089) 12

[2.4.3.1 测试溶液制备](#_Toc686371090) 12

[1） 0.1mol/L pH5.5乙酸-乙酸钠缓冲溶液](#_Toc686371091) 12

[2） 25mmol/L愈创木酚溶液](#_Toc686371092) 12

[2.4.3.2 吸光度测定](#_Toc686371093) 12

[2.5 果蔬中过氧化氢酶（CAT）活性的测定](#_Toc686371094) 13

[2.5.1 实验原理](#_Toc686371095) 13

[2.5.2 实验仪器](#_Toc686371096) 13

[2.5.3 实验步骤](#_Toc686371097) 13

[2.6.3.1 测试溶液制备](#_Toc686371098) 13

[1） 0.1mol/L pH7.5磷酸钠缓冲液](#_Toc686371099) 13

[2） 50mmol/L pH7.5磷酸钠缓冲液](#_Toc686371100) 13

[3） 提取缓冲液](#_Toc686371101) 13

[2.5.3.2 吸光度测定](#_Toc686371102) 13

[2.6 果蔬中超氧化物歧化酶（SOD）活性的测定](#_Toc686371103) 14

[2.6.1 实验原理](#_Toc686371104) 14

[2.6.2 实验仪器](#_Toc686371105) 14

[2.6.3 实验步骤](#_Toc686371106) 15

[2.6.3.1 测试溶液制备](#_Toc686371107) 15

[2.6.3.2 吸光度测定](#_Toc686371108) 15

[2.7 果蔬中丙二醛（MDA）含量的测定](#_Toc686371109) 16

[2.7.1 实验原理](#_Toc686371110) 16

[2.7.2 实验仪器](#_Toc686371111) 16

[2.7.3 实验步骤](#_Toc686371112) 16

[2.7.3.1 测试溶液制备](#_Toc686371113) 16

[1） 6.7g/L硫代巴比妥酸（TBA）溶液](#_Toc686371114) 16

[2） 100g/L三氯乙酸（TCA）溶液](#_Toc686371115) 16

[2.7.3.2 吸光度测定](#_Toc686371116) 16

[2.8 细胞膜电解质渗透率（电导率）测试](#_Toc686371117) 17

[2.8.1 实验原理](#_Toc686371118) 17

[2.8.2 实验仪器](#_Toc686371119) 17

[2.8.3 实验步骤](#_Toc686371120) 17

[2.9 果蔬组织的热导率测定](#_Toc686371121) 17

[2.9.1 实验原理](#_Toc686371122) 17

[2.9.2 实验仪器](#_Toc686371123) 18

[2.9.3 实验步骤](#_Toc686371124) 18

[2.10 果蔬细胞结构的观察](#_Toc686371125) 19

[2.10.1 实验原理](#_Toc686371126) 19

[2.10.2 实验仪器](#_Toc686371127) 19

[2.10.3 实验步骤](#_Toc686371128) 19

[1） 取材和固定：](#_Toc686371129) 19

[2） 冲洗：](#_Toc686371130) 19

[3） 脱水：](#_Toc686371131) 19

[2.11 本章小结](#_Toc686371132) 19

[第三章 不同低温条件下黄瓜组织Th理Th化特性及组织细胞结构变化研究](#_Toc686371133) 19

[3.1 材料与设备](#_Toc686371134) 20

[3.2 实验方法](#_Toc686371135) 20

[1） 选择成熟度一致、无病害及机械损伤的黄瓜果实分为28组，每组为13根，分](#_Toc686371136) 20

[2） 将每组黄瓜称重后装于打了孔的PE保鲜袋内贴上标签，分别放入2℃、8℃、](#_Toc686371137) 20

[3） 分别在0d、1d、2d、4d、6d、8d、10d和12d测定各项生理生化等参数。](#_Toc686371138) 20

[3.3 结果与讨论](#_Toc686371139) 20

[3.3.1 不同贮藏温度对黄瓜可溶性固形物含量的影响](#_Toc686371140) 20

[3.3.2 不同贮藏温度对黄瓜可滴定酸和Vc含量的影响](#_Toc686371141) 20

[3.3.3 不同贮藏温度对黄瓜细胞内活性酶的影响](#_Toc686371142) 20

[3.3.3.1 不同贮藏温度对黄瓜POD活性的影响](#_Toc686371143) 20

[3.3.3.2 不同贮藏温度对黄瓜CAT活性的影响](#_Toc686371144) 21

[3.3.3.3 不同贮藏温度对黄瓜SOD活性的影响](#_Toc686371145) 21

[3.3.4 不同贮藏温度对黄瓜MDA含量和膜透性的影响](#_Toc686371146) 21

[3.3.4.1 不同贮藏温度对黄瓜MDA含量的影响](#_Toc686371147) 21

[3.3.4.2 不同贮藏温度对黄瓜细胞膜透性的影响](#_Toc686371148) 21

[3.3.5 不同贮藏温度对黄瓜细胞结构和冷害指数的影响](#_Toc686371149) 21

[3.3.5.1 不同贮藏温度对黄瓜细胞结构的影响](#_Toc686371150) 21

[3.3.5.2 不同贮藏温度下黄瓜冷害指数的变化](#_Toc686371151) 22

[3.4 本章小结](#_Toc686371152) 22

[第四章 不同品种黄瓜低温胁迫下Th理Th化特性、传热特性变化研究](#_Toc686371153) 23

[4.1 材料与设备](#_Toc686371154) 23

[4.2 实验方法](#_Toc686371155) 23

[1） 选择成熟度一致、无病害及机械损伤的三种黄瓜果实，每个品种8组，每组为](#_Toc686371156) 23

[4.3 结果与讨论](#_Toc686371157) 23

[4.4 本章小结](#_Toc686371158) 24

[第五章 不同成熟度黄瓜低温胁迫下Th理Th化特性、传热特性变化研究](#_Toc686371159) 24

[5.1 材料与设备](#_Toc686371160) 24

[5.2 实验方法](#_Toc686371161) 24

[3） 分别在0d、1d、2d、4d、6d、8d、10d和12d测定各项生理生化参数及热导率参数。](#_Toc686371162) 24

[5.3 结果与讨论](#_Toc686371163) 24

[5.4 本章小结](#_Toc686371164) 26

[第六章 低温胁迫下黄瓜复温前后Th理Th化特性、传热特性变化研究](#_Toc686371165) 26

[6.1 材料与设备](#_Toc686371166) 26

[6.2 实验方法](#_Toc686371167) 26

[6.3 结果与讨论](#_Toc686371168) 27

[6.4 本章小结](#_Toc686371169) 27

[结论与展望](#_Toc686371170) 28

[结 论](#_Toc686371171) 28

[展 望](#_Toc686371172) 28

[参考文献](#_Toc686371173) 28

[攻读学位期间发表的学术论文及专利](#_Toc686371174) 30

# 第一章 绪论

### 1.1 研究背景

中国是农业大国，同时也是果蔬生产大国，近十几年我国果蔬产业发展十分迅速。根据我国农业部以及联合国粮农组织（FAO）统计，我国水果（不包括瓜类）年总产量从2000年的6450.3万t上升到2009年的11587.6万t，2011年我国蔬菜

播种面积达到2.9亿亩，总产量6.8亿t，均居世界第一[1]。而根据2010年国家发改委作的报告，在运输贮藏期间果蔬损耗达20%-30%，由此引起的经济损失将近

1000亿元[2]。同时，我国果蔬贮藏能力不足以及采后商品化处理意识不够，2003年我国果蔬加工转化能力才10%左右，而欧美等发达国家果蔬商品化处理率已达到60%-80%[5] 。

由于季节以及地域等因素，果蔬的采后运输和贮藏是调节由季节和地域引起的供需矛盾、保障市场供给的有效手段。果蔬含水量高、组织脆弱的特性决定了果蔬在贮藏与运输中对温度的要求。温度是影响果蔬采后贮藏期的重要因素，适宜的冷藏可以有效抑制微生物的生长，降低果蔬呼吸作用等，延长果蔬的新鲜度。但不适的温度对果蔬正常生理代谢造成影响，导致内部细胞膜组织结构性损伤，即会产生冷害症状影响果蔬品质。冷害（Chilling injury）是指果蔬在其冰点以上的受到低温胁迫后正常生理代谢受到影响，导致果蔬品质下降、劣变甚至腐败变质。而在我国销售的果蔬中大约有一半是冷敏性果蔬，冷害将导致果蔬抗病性下降，造成严重腐烂和品质劣变，最终导致贮藏期缩短[4]。另外冬春季正是果蔬生长和贮藏阶段，同时冬春季冷空气活动频繁，作物容易受到冷害的影响，造成减产、绝收等经济损失[3]。

同时，我国贮藏果蔬品种单一，主要有苹果、梨、大蒜、洋葱等，其他品种的果蔬贮藏技术不成熟，对不同果蔬的贮藏温度控制不精确，且我国的果蔬贮藏标准极少，多数果蔬的保鲜、贮藏、运输等仍停留在实验室阶段，并未成为国家标准而执行[6]。

可见果蔬受到低温胁迫后其生理生化的变化的研究，直接反映了贮藏条件对果蔬品质的影响，揭示了果蔬在不适宜的低温贮藏下其品质变化的机理，为将来果蔬贮藏制定标准提供理论依据。

### 1.2 国内外研究现状

#### 1.2.1 冷害发Th机理

在低温胁迫下，组织细胞在不断发生一些生理变化，开始这些变化可能是对低温的适应或者抵抗性的反应，但随着低温胁迫时间的延长，当胁迫达到一定程度时，就会发生一些不可逆的生理变化。这时，果蔬组织就表现出一定程度的冷害症状，当冷害引起的损伤继续加剧就会导致严重冷害，最终果蔬组织解体，大量细胞质外渗，微生物大量繁殖浸染组织，出现组织崩溃性腐烂[11, 12]。

目前国内外许多学者对冷害发生的机理进行了大量的研究，由Lyons提出的“膜脂相变”理论[10]为大多数人认可。该理论认为，果实遭受低温胁迫后首先是膜脂在低温下由液晶相转变为凝胶相的一个过程，当果实细胞膜系统受到伤害后进一步影响到果实的正常生理代谢，如营养成分的输送、能量转换、酶代谢等正常生理代谢受到影响[29]。当膜脂发生物理相变后，使细胞膜透性增加，细胞中电解质平衡遭到破坏也会进一步破坏果实正常生理代谢[10]。

#### 1.2.2 低温对果蔬细胞膜透性的影响

细胞膜具有选择性通过性质，只允许某些分子或者离子通过，而这些物质通过的程度或者速度就是膜透性（Membrane permeability）[30]。果蔬细胞的膜脂流动性主要受到果蔬细胞中不饱和脂肪酸的组成成分和含量的影响[33,34]。因此，细胞膜透性的异常增大可以作为冷害的重要标志。

陈发河[13]研究发现，甜椒在0～l℃低温下贮藏，细胞膜结构受到损伤，膜透性增大，细胞内电解质大量渗出。黄晓钰等[14]指出，细胞中电解质的泄漏可以作为荔枝的抗冷害能力和冷害程度的重要指标。逯明辉、娄群峰等[31]报到了，黄瓜冷害主要表现为细胞膜脂流动性降低及膜透性增加。Ketchie[35]发现柑桔幼苗在受到低温胁迫后组织的膜透性增大。Wheaton[36]研究发现菜豆和玉米受到低温胁迫后，钾离子渗透率明显增加。

膜透性增大的程度或速率与贮藏温度以及低温胁迫时间有着密切关系。赵迎丽等[40]研究发现，缓慢降温处理的石榴比在0℃下贮藏的石榴果皮的膜透性升高来的缓慢。高慧，饶景萍等[43]研究发现，受到低温胁迫后油桃果实膜透性逐渐增大，在贮藏10d后膜透性增大速率更快。周云等[15]发现，在0℃下贮藏的龙眼果实，随着贮藏时间的延长，膜透性也逐渐增大。季作梁等[28]研究芒果在不同冷害温度下贮藏14d期间，结果表明贮藏温度越低，膜透性增大越快。甘薯在14℃下贮藏10d后细胞膜透性无明显增大，而在4℃下贮藏7～10d后膜透性明显增大[37]。在10～

12℃下贮藏的甜椒，细胞膜透性缓慢增大，而在0～1℃下贮藏8d后膜透性迅速增大[38] 。

于梁等[45]研究表明，黄瓜受到低温胁迫后膜透性明显增大，这种现象要早于升温后腐烂指数的变化。张建平[39]等发现果实冷害症状的产生要晚于膜透性的增大，膜透性能够及时准确地反映香蕉受冷害程度。但Mikal E. Saltveit[46]发现，当质膜发生相变时，膜透性不会立刻发生变化，而是当膜脂氧化达到一定程度后膜透性才发生变化。

#### 1.2.3 低温对果蔬抗氧化酶活性的影响

低温胁迫下黄瓜生理代谢产生的自由基无法被完全清除，导致膜脂过氧化产物丙二醛（MDA）的积累，细胞膜受到破坏，最终导致细胞膜的功能紊乱[47]。而常见保护酶中，过氧化氢酶（CAT）、过氧化物酶（POD）及超氧化物歧化酶（SOD）等保护酶系统能够帮助果蔬清除体内的自由基，防止细胞膜受到伤害，有效抵抗冷害的发生[48]。Kang和潘永贵等[30, 52]研究发现通过变温处理后的黄瓜，SOD、

CAT和POD等酶的活性增大，膜脂过氧化程度有所减轻，膜透性升高速率得到减缓，延缓了黄瓜果实冷害的产生。在0℃下贮藏14d后的荔枝果皮POD、SOD 和

CAT活性明显下降[53]。茄子受到低温胁迫后，体内的SOD和CAT活性受到抑制，使超氧物阴离子和H2O2等自由基不能被有效的清除，MDA大量累积，膜透性增大[54]。曹宗巽[55]研究认为POD和CAT能够起到对H2O2的清除作用，降低对果蔬的伤害。Omran[56]研究发现黄瓜叶片中H2O2的积累是由于CAT活性的迅速下降所致。黄建安[54]等研究指出，茶树中的SOD能有效地清除自由基，维持膜结构的正常代谢，提高茶树的抗寒能力。

#### 1.2.4 低温对果蔬细胞结构的影响

郑国华，张贺英等[58]通过4个不同温度梯度处理，使用透射电镜对枇杷结果小苗进行观察，研究发现枇杷小苗的叶绿体膜首先出现冷害现象，其次是线粒体膜、原生质膜、液胞膜等。Navari[59]等认为叶绿体是对低温较敏感的组织，因为叶绿体能够产生活性氧，在低温胁迫下，活性氧的产生与清除不能达到平衡，活性氧积聚，从而引发或加剧膜脂过氧化。乔勇进[60]等研究了冷藏黄瓜果皮的超微结构，发现在整个低温胁迫下的过程中，黄瓜细胞结构的变化是一个逐渐衰变、解体的过程。在低温胁迫初期黄瓜细胞表现少量的冷害症状，随着胁迫时间的延长，冷害加重导致细胞结构解体，电解质大量外渗，病原菌侵入就会导致组织腐烂[11, 12]。而杜艳等[61]认为液泡是低温胁迫中最危险的部分，因为液泡占据了细胞中大部分

的空间，富含大量的细胞液。

有学者认为低温分解（LTB）是导致果蔬软化最终腐败的主要原因[62]，在0.8℃下贮藏24个星期后，98%的猕猴桃果实发生低温分解。如桃子、西红柿等冷敏性果蔬品种，在受到低温胁迫后细胞壁结构随着冷害程度的变化而变化[62]。

#### 1.2.5 低温对果蔬热导率的影响

热探针法有装置简单，测量周期短，对样品组织损伤小，精度高，测量范围广等优点，是测量果蔬等食品的热导率较为理想的方法，因此得到了广泛的应用

[63,64]. 张敏[66]等研制了微热探针法测量装置，经过实验研究认为，当样品尺寸足

够大时，装置的输入电压最佳为2.5～6.5V，加热时间为20～50s时测试结果较准确。周国燕等[67]研究认为温度、含水量和结构质地是影响鱼肉、牛肉和猪肉热导率主要因素。黄国纲[68]等发现当温度相同时，土豆的热导率与含水量呈正相关；当含水量相同时，对于未冻结的土豆，热导率与温度呈正相关；对于冻结了的土豆，则刚好相反。彭海柱[65]等发现含水量是影响水果热导率的重要因素之一，热导率与含水量呈正相关。

#### 1.2.6 低温对果蔬冰点的影响

在低温贮藏运输过程中，首先要确定果蔬的冰点温度，防止温度过低导致果蔬发生冻害，再在冰点温度以上确定果蔬发生冷害的临界温度。由于贮藏运输过程中果蔬还是活体，并且活组织的冰点温度与死亡组织的冰点温度是不同的[7,8]，因此必须测得果蔬活组织的冰点。E. Hernández [9]等研究认为果汁冰点的不同是由于果汁中葡萄糖、蔗糖等含量的不同导致的。王颉[7]等研究番茄、萝卜、大蒜等果蔬冰点，确定果蔬中可溶性固形物含量与冰点有直接联系，并建立了回归方程。而申春苗[26]等研究发现梨的冰点温度受到可溶性固形物含量的影响最大，其次是果实的密度。钟志友[74]等研究了35种果蔬的冰点温度，结果发现果蔬含水量和可溶性固形物含量是决定果蔬冰点温度的主要因素，而冰点温度与密度没有达到显著的相关性。

#### 1.2.7 低温对果蔬Vc的影响

果蔬具有低脂肪、低能量，高碳水化合物和纤维素特点，是人类摄取微量元素的重要来源。果蔬贮藏的温度及时间决定了果蔬的品质。不适宜的温度将导致果蔬品质劣变，营养成分的减少，主要表现为Vc含量的下降[29]。研究发现采后果蔬过高的呼吸作用会导致果蔬中Vc含量的快速下降，适宜的低温可以抑制果蔬的呼吸作用，延缓体内Vc含量的损失[24]。同时Vc是一种强抗氧化剂，它虽然不属

于抗氧化酶类，但是对抵抗果蔬体内过氧化过程也起着重要作用，特别是对果蔬褐变有较好的抑制作用[20]。

### 1.3 本课题研究内容及解决的问题

前人在研究黄瓜冷害机理时只是研究了单一品种，或者是黄瓜幼苗等，对不同品种黄瓜之间冷害表现的研究较为少见，同时成熟度和复温处理对黄瓜冷害症状的影响的研究也较为少见。因此本研究以冷敏性果蔬的典型——黄瓜作为研究对象。本文主要对黄瓜在不同温度下的生理生化、热物性参数以及细胞结构进行测定、分析，揭示黄瓜在贮藏过程中冷害发生机理，以及研究哪些理化参数对温度较为敏感，能够反映黄瓜受到冷害的程度。为我国果蔬贮藏技术与国家标准提供可靠的数据以及理论依据。

本课题为基础研究，主要研究以下4个方面的内容：

1．不同贮藏温度下黄瓜生理生化参数及组织细胞结构变化研究

以瑞青黄瓜（新一代全雌性华南系黄瓜品种，非嫁接栽种，果长23cm左右，单瓜重220g左右，上海市临港新城大棚种植）为研究对象，在1℃、8℃、10℃和

12℃下贮藏12d，测试其生理生化参数（包括可溶性固形物、可滴定酸、Vc、POD等酶活性、膜透性等），观察相应的组织细胞结构分析不同温度以及不同贮藏时间下黄瓜生理生化参数及组织细胞结构变化规律。

2．不同品种黄瓜低温胁迫下生理生化特性及传热特性变化研究

以瑞青黄瓜（新一代全雌性华南系黄瓜品种，非嫁接栽种，果长23cm左右，单瓜重220g左右，上海市临港新城大棚种植）；申青1号（属华南型黄瓜一代杂种，瓜长23cm左右，单瓜重220g左右，上海市临港新城大棚种植）；津优1号（华北杂交品种，瓜条长直，果长36cm左右，单瓜重约280g左右，ft东大棚种植）为研究对象，在2℃下贮藏12d，测试其生理生化参数（包括可溶性固形物、可滴定酸、Vc、POD等酶活性、膜透性等）和热导率参数，分析不同品种黄瓜在低温胁迫后生理生化参数及传热特性变化规律。

3．不同成熟度黄瓜低温胁迫下生理生化特性及传热特性变化研究

以申青1号（属华南型黄瓜一代杂种，瓜长23cm左右，单瓜重220g左右，上海市临港新城大棚种植）为研究对象，在2℃下贮藏12d，测试其生理生化参数

（包括可溶性固形物、可滴定酸、Vc、POD等酶活性、膜透性等）和热导率参数，分析不同成熟度的黄瓜在低温胁迫后生理生化参数及传热特性变化规律。

4．低温胁迫下黄瓜复温前后生理生化特性及传热特性变化研究

以津优1号（华北杂交品种，瓜条长直，果长36cm左右，单瓜重约280g 左

右，ft东大棚种植）为研究对象，在4℃、8℃和12℃下贮藏12d，测试其生理生化参数（包括可溶性固形物、可滴定酸、Vc、POD等酶活性、膜透性等）和热导率参数，分析黄瓜在低温胁迫后在室温下复温1d前后的生理生化参数及传热特性变化规律。

# 第二章 黄瓜Th理Th化特性、传热特性及组织细胞结构测试方法与装置

### 2.1 可溶性固形物的测试

#### 2.1.1 实验原理

测试原理是光束从一种介质进入另一种介质时，在分界面上，光线的传播方向会发生改变，折射率取决于不同物质以及该物质的浓度。

#### 2.1.2 实验仪器

可溶性固形物含量的测试采用WAY(2WAJ)型阿贝折射仪测定。其测量范围nD: 1.3000-1.7000，可溶性固形物含量：0-95%，准确度：±0.0002 。



#### 2.1.3 实验步骤

图2-1 WAY阿贝折射仪

Fig. 2-1 WAY Abbe Refract Meter

参考王学奎和曹建康[69, 70]的方法，在进光棱镜的磨砂面上滴上2滴组织液，合上棱镜调节反射镜，转动棱镜旋钮使视野出现明暗两部分，然后旋转色散补偿旋钮使视野中只有黑白两色，再旋转棱镜旋钮使明暗分界线处于十字线交叉点，

从目镜中读取折射率。

### 2.2 可滴定酸含量的测试

#### 2.2.1 实验原理

果蔬中可滴定酸含量的测定其实就是酸碱中和原理[69, 70]，即用已知浓度的氢氧化钠溶液滴定果蔬提取液，根据氢氧化钠的消耗量计算果蔬中可滴定酸的含量。

#### 2.2.2 实验仪器

滴定管（25mL）、容量瓶（100mL、1000mL）、大龙移液器、锥形瓶（100mL）、滤纸、漏斗、电子天平、铁架台、研钵等。

#### 2.2.3 实验步骤

参考王学奎和曹建康[69, 70]的方法，称取4.0g分析纯氢氧化钠，用新煮沸过的蒸馏水溶解，冷却后定容至1000mL，保存在塑料瓶中。测定前使用邻苯二甲酸氢钾溶液对氢氧化钠溶液进行标定，得到标定值*c*。称取10.0g果实样品，研磨后用蒸馏水定容至100mL，静置30min后过滤，取20.0mL滤液，使用已标定了的氢氧化钠溶液进行滴定。按照以下公式进行计算得出可滴定酸含量。

 （2-1）式中—样品提取液总体积，mL；

—滴定时所取滤液体积，mL；

—滴定蒸馏水消耗的氢氧化钠溶液体积，mL；

—滴定滤液消耗的氢氧化钠溶液体积，mL；

—氢氧化钠溶液浓度，mol/L；



—样品质量，g；

—折算系数，g/mmol。



### 2.3 抗坏血酸含量的测试

#### 2.3.1 实验原理

抗坏血酸具有很强的还原性，而2, 6-二氯酚靛酚染料具有较强的氧化性，且在酸性溶液中呈现红色，在中性或者碱性溶液中呈现蓝色。当蓝色的2, 6-二氯酚靛酚溶液滴定还有抗坏血酸的草酸溶液时，2, 6-二氯酚靛酚可被抗坏血酸还原成无色的还原性化合物，当溶液中抗坏血酸完全被氧化时，继续滴加的染料在草酸溶液中呈现浅粉色，即滴定终点。根据滴定时染料的消耗量计算出果蔬样品中抗坏血酸的含量[69, 70]。

#### 2.3.2 实验仪器

滴定管（25mL）、容量瓶（1000mL、500mL、100mL）、锥形瓶（100mL）、研钵、大龙移液器、滤纸、漏斗等。

#### 2.3.3 实验步骤

参考王学奎和曹建康[69, 70]的方法，称取100mg2,6-二氯酚靛酚钠盐，溶于

100mL含有26mgNaHCO3的沸水中，充分摇匀过夜后过滤，用蒸馏水定容至

1000mL，存放于棕色试剂瓶中。取10.0mL标准抗坏血酸溶液至锥形瓶中，用2,6-二氯酚靛酚溶液滴定至微粉色，根据消耗的2, 6-二氯酚靛酚溶液的量计算出每1mL染料溶液相当的抗坏血酸质量。称取果蔬样品10.0g，加入20g/L的草酸溶液，研磨用草酸溶液定容至100mL，静置10min后过滤。吸取10.0mL滤液于锥形瓶中，用已标定过的2,6-二氯酚靛酚溶液滴定至出现微粉色，15s不褪色即为滴定终点。以10mL20g/L草酸溶液作为空白样。用以下公式计算出果蔬样品中的抗坏血酸含量。

 （2-2）式中—样品提取液总体积，mL；

—滴定时所取滤液体积，mL；

ρ—1mL染料溶液消耗的抗坏血酸的质量，mg/mL；

—滴定滤液消耗的染料溶液体积，mL；

—滴定空白消耗的染料溶液体积，mL；



—样品质量，g；



### 2.4 果蔬中过氧化物酶（POD）活性的测定

#### 2.4.1 实验原理

本实验采用愈创木酚法测定果蔬组织中的过氧化物酶活性[69,70]。实验原理是利用过氧化物酶催化H2O2氧化酚类物质产生醌类化合物，再与其他物质缩合形成红棕色化合物。使用分光光度计在470nm处读取样品的吸光度值，通过计算得出过氧化物酶的活性。

#### 2.4.2 实验仪器

UV-1901型紫外可见分光光度计、CT14RD高速台式冷冻离心机、PHS-3C 型

PH计、秒表、大龙移液器、离心管、容量瓶。

##### （1） UV-1901型紫外可见分光光度计

本实验所用的紫外分光光度计是上海奥析科学仪器有限公司生产的UV-1901

型紫外可见分光光度计。波长范围：190-1100nm，波长精度：±0.3nm。

##### （2） CT14RD高速台式冷冻离心机

本实验所用离心机为上海天美科学仪器有限公司生产的CT14RD高速台式冷冻离心机。最高转速：14000rpm，最大相对离心加速度：20290×g，速控范围：300～

14000rpm。时间范围：1～5999min，温度范围：-20℃～40℃，温控精度：±2℃。

##### （3） PHS-3C型PH 计

本实验所用PH计为上海雷磁仪器有限公司生产的PHS-3C型PH计。测量范围：pH：(0.00～14.00) pH，分辨率：pH: 0.01pH，基本误差：pH：±0.01 PH±1个字，温度补偿范围：(0.0～60.0)℃。

#### 2.4.3 实验步骤

采用王学奎和曹建康[69, 70]的方法，针对本实验测试对象对实验方法进行了修改。

## 2.4.3.1 测试溶液制备

### 1） 0.1mol/L pH5.5乙酸-乙酸钠缓冲溶液

### 2） 25mmol/L愈创木酚溶液

取0.32mL愈创木酚，用50mmol/L、PH5.5乙酸缓冲液稀释至100mL 3）提取缓冲液

称取340mgPEG6000、4gPVPP、1mL曲拉通X-100，用0.1mol/L、pH5.5乙酸

-乙酸钠缓冲液定容至100mL.4）0.5mol/L H2O2溶液

取1.42mL 30％H2O2溶液，用50mmol/L、pH5.5乙酸-乙酸钠缓冲液稀释至

50mL，现用现配，避光保存。

## 2.4.3.2 吸光度测定

称取5.0g果蔬样品，加入5.0mL提取缓冲液，冰浴研磨成均浆，研磨时速度均匀避免气泡产生。将均浆加入离心管中称重配平，置于4℃、13000rpm离心机中离心30min。向比色皿中依次加入3.0mL 25mmol/L愈创木酚溶液、200μL酶提取液、加入200μL蒸馏水稀释，最后加入200μL 0.5mol/L H2O2溶液后启动反应，同时开始计时。以蒸馏水作为参比，反应15s时开始记录样品在波长为470nm处的吸光度值，作为初始值，然后每隔30s记录一次，直至反应终止。计算公式如下：

 （2-3）式—每分钟吸光度值的变化；

—反应终止时的吸光度值；

—反应开始时的吸光度值；

—反应终止的时间，min；

—反应开始的时间，min。计算公式如下：

 （2-4）式中—样品提取液总体积，mL；

—测定时所取样品提取液体积，mL；

—样品质量，g。



### 2.5 果蔬中过氧化氢酶（CAT）活性的测定

#### 2.5.1 实验原理

过氧化氢酶能够催化分解H2O2产生水合氧分子，可根据反应中H2O2的消耗量计算出过氧化氢酶的活性。

2*H*2*O*2

氧化氢酶2*H*

2*O**O*2

(2-5)

#### 2.5.2 实验仪器

UV-1901型紫外可见分光光度计、CT14RD高速台式冷冻离心机、PHS-3C 型

PH计、秒表、大龙移液器、离心管、容量瓶。

（1）UV-1901 型紫外可见分光光度计本实验所用分光光度计同2.4.2（1）。

（2）CT14RD高速台式冷冻离心机本实验所用离心机同2.4.2（2）。

（3）PHS-3C型pH 计

本实验所用pH计同2.4.2(3)。

#### 2.5.3 实验步骤

参考王学奎和曹建康[69, 70]的方法。

## 2.6.3.1 测试溶液制备

### 1） 0.1mol/L pH7.5磷酸钠缓冲液

### 2） 50mmol/L pH7.5磷酸钠缓冲液

### 3） 提取缓冲液

称取77mg DTT、5g PVP，用0.1mol/L、pH7.5磷酸钠缓冲液定容至100mL.4）20mmol/L H2O2溶液

取227μL 30％H2O2溶液，用50mmol/L、pH7.5磷酸钠缓冲液稀释至100mL。

## 2.5.3.2 吸光度测定

称取果实样品5.0g，加入提取缓冲液5.0mL，冰浴研磨成均浆，研磨时速度均匀避免气泡产生。将均浆加入离心管中称重配平，置于4℃、13000rpm离心机中离心30min。比色皿中先加入2.9mL 20mmol/L H2O2溶液，加入100μL酶提取液后，反应迅速开始同时进行计时，以蒸馏水作为参比空白，当反应15s时开始读取波长

240nm处的吸光度值，每隔30s记录1次。计算公式如下：



式—每分钟吸光度值的变化；

—反应终止时的吸光度值；

—反应开始时的吸光度值；



—反应终止的时间，min；

—反应开始的时间，min。计算公式如下：



式中—样品提取液总体积，mL；

—测定时所取样品提取液体积，mL；

—样品质量，g。

### 2.6 果蔬中超氧化物歧化酶（SOD）活性的测定

（2-6）

（2-7）

#### 2.6.1 实验原理

本实验采用NBT光还原法测定果蔬中超氧化物歧化酶的活性[69, 70]。果蔬体内普遍都含有超氧化物歧化酶。果蔬细胞的日常生理代谢会产生超氧阴离子自由基

（O2—），会对动植物细胞的细胞膜系统产生伤害，影响果蔬的正常生理代谢。超氧化物歧化酶可以通过歧化反应清除果蔬细胞中的超氧阴离子自由基（O2—），分解成少量的H2O2和无害的O2。

2*O*2

2*H* 

**** *H*

2*O*2

*O*2

（2-8）

其原理为核黄素在有氧和光照条件下极易产生超氧阴离子自由基（O2—），在光照条件下，加入的NBT能与超氧阴离子自由基发生反应，将NBT还原成蓝色的甲腙，该产物在560nm处吸收峰最大。当有SOD存在时，可以通过歧化反应清

除超氧阴离子自由基，抑制了NBT的光还原反应，继而抑制了蓝色的甲腙的生成速度。通过在560nm处的吸光度值，计算出果蔬中超氧化物歧化酶的活性。

#### 2.6.2 实验仪器

UV-1901型紫外可见分光光度计、CT14RD高速台式冷冻离心机、PHS-3C 型

PH计、大龙移液器、离心管、容量瓶、自制4100xl光照箱。

（1）UV-1901 型紫外可见分光光度计本实验所用分光光度计同2.4.2（1）。

（2）CT14RD高速台式冷冻离心机本实验所用离心机同2.4.2（2）。

（3）PHS-3C型pH 计

本实验所用pH计同2.4.2(3)。

#### 2.6.3 实验步骤

参考王学奎和曹建康[69, 70]的方法。

## 2.6.3.1 测试溶液制备

1）0.1mol/L、pH7.8磷酸钠缓冲液

2）130mmol/L L型蛋氨酸（MET）溶液

3）50mmol/L、pH7.8磷酸钠缓冲液

4）750μmol/L氮蓝四唑（NBT）溶液

5）100μmol/L EDTA-Na2溶液

6）20μmol/L核黄素溶液

7）提取缓冲液（5mmol/L DTT和5% PVP）

称取5gPVP、77mgDTT，用0.1mol/L、pH7.8磷酸缓冲液溶解定容至100mL。

## 2.6.3.2 吸光度测定

称取果蔬样品5.0g，加入提取缓冲液5.0mL，冰浴研磨成均浆，研磨时速度均匀避免气泡产生。将均浆加入离心管中称重配平，置于4℃、13000rpm离心机中离心30min。取5支形状大小以及透光度一致的指形试管，其中3支为测试组，2

支为对照组，分别依次加入按照表2-1所列出的溶液，注意的是核黄素最后加入，

2支对照管不加入酶提取液，以缓冲液代替。将其中1支对照管置于暗处，其他试管放入光照箱内光照15min后取出，立刻置于暗处终止反应。

表2-1 试剂摄取表

Tab 2-1. Reagents Ingestion table

| 试剂 | 用量/mL |
| --- | --- |
| 50mmol/L、pH7.8 磷酸缓冲液 | 1.7 |
| 130mmol/L MET 溶液 | 0.3 |
| 750μmol/L NBT 溶液 | 0.3 |
| 100μmol/L EDTA-Na2 溶液 | 0.3 |
| 20μmol/L 核黄素溶液 | 0.3 |
| 酶液 | 0.1 |
| 总体积 | 3.0 |

以不光照管作为参比空白，在560nm处测定各试管中溶液的吸光度值，以每分钟每克果蔬样品反应体系对NBT光还原抑制50%为一个SOD活性单位。

*SOD*活性 

( *ODC* *ODS*)*V*

（2-9）

0.5*ODC* *VS* *t* *m*

式中—照光对照管反应混合液的吸光度值；

—样品管反应混合液的吸光度值；



—提取液总体积，mL；

—测定时样品提取液体积，mL；

—样品质量，g；

—光照时间，min。

### 2.7 果蔬中丙二醛（MDA）含量的测定

#### 2.7.1 实验原理

本实验中MDA含量使用TBA法测定[69, 70]。通过加热MDA，在酸性环境下与硫代巴比妥酸（TBA）反应生成三甲基化合物（棕红色），该化合物在波长532nm处吸收峰最大，同时为了消除果蔬中可溶性固形物对TBA反应的影响，利用如下经验公式消除误差：

 (2-10)

#### 2.7.2 实验仪器

UV-1901型紫外可见分光光度计、CT14RD高速台式冷冻离心机、大龙移液器、HH-4数显四孔恒温水浴锅、电子天平、离心管。

（1）UV-1901 型紫外可见分光光度计本实验所用分光光度计同2.4.2（1）。

（2）CT14RD高速台式冷冻离心机本实验所用离心机同2.4.2（2）。

（3）HH-4数显四孔恒温水浴锅

本实验所用恒温水浴锅同2.1.2（4）。

#### 2.7.3 实验步骤

参考王学奎和曹建康[69, 70]的方法。

## 2.7.3.1 测试溶液制备

### 1） 6.7g/L硫代巴比妥酸（TBA）溶液

称取0.67g TBA，用0.05mol/L NaOH溶液溶解定容至100mL。

### 2） 100g/L三氯乙酸（TCA）溶液

称取10g TCA，用蒸馏水溶解定容至100mL。

## 2.7.3.2 吸光度测定

称取果蔬样品5g，加入5mL 100g/L TCA溶液，冰浴研磨成均浆。再将均浆加入离心管中称重配平，置于4℃、13000rpm离心机中离心30min。取两支试管分别加入2.0mL 6.7g/L TBA，一支加入2.0mL提取液，另一支作为对照组加入2.0mL 100g/L TCA溶液用来代替提取液。然后在沸水浴中煮沸20min，冷却到室温后测定各吸光度值，计算公式如下：

 (2-11)

式中—样品提取液总体积，mL；

—测定时所取样品提取液体积，mL；

—样品质量，g；



—样品溶液中MDA浓度，μmol/L。



### 2.8 细胞膜电解质渗透率（电导率）测试

#### 2.8.1 实验原理

细胞膜对于维持果蔬正常生理代谢起着至关重要的作用。正常细胞的细胞膜具有良好的选择通过性，能够维持果蔬细胞与细胞、细胞与外界之间的正常物质交换。果蔬采后贮藏期间，受到各种外界因素影响，比如不适合的贮藏温度，机械损伤后受到细菌的侵染、贮藏环境的湿度和果蔬的呼吸作用等，果蔬细胞膜产生不同程度的损伤，膜透性随之增加，从而产生电解质外渗的现象，最终反映为电导率的增加。

果蔬电导率为所测果蔬活组织提取液的电导值（*R*）除以组织被杀死后提取液的电导值(*R'*)的百分数，用*I*来表示即：

*I*  *R*100%

*R*'

（2-12）

值得注意的是，由于温度以及去离子水等因素对电导率的测量影响很大，为了减小这些因素对实验产生的误差，能够更准确的反映果蔬细胞电解质的电导率与细胞受损程度之间的关系，在测量过程中将每个测试样品控制在25℃左右的电导率测试最佳温度，同时考虑到测试液体初始电导值（*R0*），得到修正了的电导率

*I'*为所测材料活体组织提取液的电导值（*R*）与测试液体初始电导值（*R0*）的差值与上组织被杀死后提取液的电导值（*R'*）与液体初始电导值（*R0*）的差值的百分比：

*I* '(*R**R*0)100% (*R*'*R*0 )

（2-13）

#### 2.8.2 实验仪器

电导率测定所用仪器主要有DDS-307 电导率仪、TW-4L 旋片式真空泵、

THZ-82（A）气浴摇床、SJH-4S数控精密恒温水浴锅、100mL烧杯等。

##### （1） DDS-307电导率仪

本实验采用上海笛柏实验设备有限公司生产的DDS-307型电导率仪。使用前提前预热30min并在25℃刻度下校准。电极常数：0.01、0.1、1.0、10，为确保实验精度，实验用水应采用小于0.5μS/cm的去离子水。温度补偿：被测电导率按显示读数×C计算，C为电极常数。

##### （2） TW-4L旋片式真空泵

本实验所用真空泵是由上海予正仪器设备有限公司生产的TW-4L型单级真空油泵。抽气速率达到8CFM，压力范围0～10Pa。

##### （3）THZ-82(A）气浴摇床

本实验采用金坛市科析仪器有限公司生产的THZ-82（A）型气浴摇床。控温范围为室温～50℃，温控精度±1℃。

#### 2.8.3 实验步骤

基于王学奎等[69, 70]的方法，针对本实验测试对象对实验方法进行了修改。选取靠近黄瓜瓜把处果肉，用切片器切取厚度为0.7mm的果肉。使用打孔器在果肉上打取5片直径为6mm的组织圆片，置于100mL的烧杯中，加入适量去离子水后，将烧杯放入转速150rpm，温度25℃的摇床中振荡10min，用去离子水将组织原片冲洗3次后，置于100mL烧杯中，准确加入20mL去离子水，用DDS-307电导率仪测得初始电导率（*R0*）。然后将烧杯置于玻璃真空干燥皿中抽真空，控制真空压力，使压力表读数在0.06～0.08MP之内，维持20min缓慢恢复至大气压，目的是为了使去离子水充分渗入细胞组织内部。再次放入摇床振荡渗透1h。取出测的样品电导值（*R*），然后在沸水浴中煮沸10min，以杀死细胞，样品冷却至25℃左右后测得样品电导值（*R'*），用公式2-13计算出电导率，即细胞电解质渗透率。

### 2.9 果蔬组织的热导率测定

#### 2.9.1 实验原理

本实验采用热探针法测定果蔬组织的热导率，其原理与热丝法类似。但是由于热探针的直径和热熔都比热丝大，所以不能被视作无限小[71]。基本原理是：在被测样品中插入一根长度远大于半径的探针（如图2-2），探针内埋入细铜丝作为加热元件。当对探针施加一定的电流时，探针中的铜丝发热升温，热量以导热的形式向果蔬组织传递，由于果蔬组织不同导致热量传递给果蔬组织的时间也不同，通过果蔬组织的温度随时间的变化关系就可计算出不同果蔬的热导率。通过如下公式计算导热系数：

*q**d*(*t*)1

*m*4***d* (ln *t*) 

（2-14）



式中*q*为单位长度电阻丝的发热功率，W/m；**为热探针的温升，℃；*t*为加热时

间，s。



#### 2.9.2 实验仪器

图2-2 探针示意图

Fig. 2-2 Diagram of thermal probe

探针、稳压电源、惠斯登电桥、2700型数据采集仪、计算机等。

1）探针

基于热物理学中的线热源瞬态模型理论[71]，本实验采用长20mm，内径为0.3mm、外径0.7mm的不锈钢针管作为热探针，以保证探针的长度与直径比不小于25[71]。针管中使用漆包铜丝作为加热元件，并且填充导热硅脂，用环氧树脂将探针两端进行密封。

2）稳压电源

本实验采用淮安亚光电子有限公司生产的HY1791-2S型电源，在实验过程中为热探针提供恒定电压。量程：0-30V；波动偏差：<0.01%。

3）惠斯登电桥

本实验采用上海电表厂出产的常值电阻，其阻值为10000，精度为0.01级；

ZX2Sa型旋转式直流电阻箱，阻值为0.01-99999.99 。

4）数据采集系统

本实验采用的数据采集仪是美国keithley生产的2700型数据测试采集仪。扫描速率：500通道/秒（单通道可达3500次读数/秒；灵敏度：100nV；基本精度：

0.002%。保证了实验精度。

#### 2.9.3 实验步骤

在测试前为了保证测试精度首先要对探针进行标定，然后将探针垂直插入果蔬样品中，在Excel中对电压差*ΔV*与时间对数*lnτ*作图，求得斜率*dΔν/dτ*，保证相关度R最大。代入公式2-15计算得出热导率：

** *V* *C*

3

*R*

2

*m*

*s*

*D* *V*  *d* ln** 

（2-15）

式中： —探针的仪器常数，由探针材料及长度决定，与加热功率及测试温度无关

[72]；

**  0.7816*s*0.6115—电路输出电压差，V；

** —加热时间，s；

*m*— 待测样品的热导率，*W* / *m**K* ；

—稳压电源的电压，V；



*Rs* — 探针的初始电阻，  。

### 2.10 果蔬细胞结构的观察

#### 2.10.1 实验原理

在组织学、生理学，细胞学等诸多科研研究中都要用到石蜡切片技术。由于大多数动植物组织在自然条件下或者手工切片下很难清楚看到起内部结构。为了使切片能够有较好的透光度，同时保证切片时不会损伤细胞结构，在切片观察前需要经过固定、脱水、透明，包埋等一系列程序，才能做到清楚观察细胞结构。

#### 2.10.2 实验仪器

CUT4062型手动旋转式石蜡切片机、恒温箱、石蜡、镊子、染缸、载玻片、

NIKON [ECLIPSE E200](http://www.nikon-instruments.com.cn/products/index.html?tp1=44&amp;tp2=56&amp;pid=322)显微镜等。

1）本实验采用的显微镜是尼康仪器（上海）有限公司生产的NIKON [ECLIPSE](http://www.nikon-instruments.com.cn/products/index.html?tp1=44&amp;tp2=56&amp;pid=322)

[E200](http://www.nikon-instruments.com.cn/products/index.html?tp1=44&amp;tp2=56&amp;pid=322)型显微镜。借助于尼康先进的CFI60光学力量，E200在任何放大率下可以得到高对比和清晰的图像，加装数码摄像头后可以通过计算机成像拍照。



图2-3 NIKON [ECLIPSE E200](http://www.nikon-instruments.com.cn/products/index.html?tp1=44&amp;tp2=56&amp;pid=322)型显微镜

Fig. 2-3 NIKON ECLIPSE E200 microscope

2）本实验采用的石蜡切片机是由德国SLEE生产的CUT4062型手动旋转式石蜡切片机。切片厚度：0.5～60μm；步进：0～2μm，0.5μm步进；2～10μm，1μm步进；

10～60μm，2μm步进；水平行程：28mm；垂直行程；60mm。

#### 2.10.3 实验步骤

参考郑国华[58]的方法，并针对本实验稍作修改。

### 1） 取材和固定：

切取0.3cm×0.3cm×0.3cm的果蔬组织，并快速投入固定液中固定24h。固定液用FAA(50%乙醇90mL + 冰醋酸5mL + 福尔马林(37%~40%甲醛) 5mL)。

### 2） 冲洗：

经固定了的组织，用50%的乙醇冲洗，以洗去固定液，否则固定液留在组织会有碍染色。

### 3） 脱水：

脱水时，采用不同浓度的乙醇进行脱水。具体方法是，将组织经50%乙醇→60%乙醇→75%乙醇→85%乙醇→95%乙醇→无水乙醇（Ⅰ）→无水乙醇（Ⅱ），各级维持1h。脱水不彻底的话，材料无法透明，影响浸蜡效果，致使难以切片。4）透明：

由于乙醇与石蜡不溶，脱水后的组织在浸蜡前必须经过透明。透明剂起到替代组织中的乙醇，石蜡与透明剂互溶，使浸蜡时石蜡能进入组织。本实验采用二甲苯作为透明剂。

将脱水后的组织经无水乙醇与二甲苯1: 1→二甲苯（Ⅰ）→二甲苯（Ⅱ），各级维持0.5h，保证组织充分透明。

5）浸蜡：

将已透明的组织浸入熔化的石蜡内，其目的是置换出组织中的透明剂，使石

蜡渗入整个组织，凝固后获得一定的硬度和韧度，便于切片。

先将装有56-58℃石蜡的三个蜡杯置于60℃的熔蜡箱内熔化，然后将透明了的组织放入二甲苯与石蜡1: 1的蜡杯（Ⅰ）→石蜡杯（Ⅱ）→石蜡杯（Ⅲ）浸渍2h。6）包埋：

将浸完蜡的组织包埋于石蜡中，并使它凝固成蜡块，便于切片。采用自制纸制包埋框，将熔化的石蜡倒入，并且迅速将浸完蜡的组织放入其中，使组织位于正中。待石蜡完全凝固后，取出蜡块。 7）切片：

切片前首先修整蜡块。调整切片厚度为8μm，切出一片接一片的蜡带，贴于载玻片上。 8）切片脱蜡：

用二甲苯脱蜡，再经无水乙醇及梯度乙醇逐级复水。经二甲苯Ⅰ→二甲苯Ⅱ→无水乙醇Ⅰ→无水乙醇Ⅱ→95%乙醇→85%乙醇→75%乙醇→60%乙醇

→50%乙醇。保证石蜡完全脱干净否则无法染色，复水时间不宜过长防止脱片。

9）染色

藏红乙醇溶液：藏红0.5 g +50%乙醇100mL，染色5min。10）切片脱水、透明和封片

染色后的组织尚不能在显微镜下观察，需经梯度乙醇脱水，二甲苯透明后，迅速擦去材料周围多余液体，最后封片观察。

### 2.11 本章小结

本章主要介绍了测试黄瓜生理生化指标、热物性以及细胞结构的实验方法，并且结合黄瓜含水量多、易损伤腐烂等特点对实验方法进行了一定的修改，保证实验所得数据能够清楚地反映黄瓜受到低温胁迫后的生理反应，综合考虑各个参数之间的关系，分析哪些参数是反映冷害的重要指标，为黄瓜冷害机理的研究提供依据。

# 第三章 不同低温条件下黄瓜组织Th理Th化特性及组织细胞结构变化研究

### 3.1 材料与设备

瑞青黄瓜（新一代全雌性华南系黄瓜品种，非嫁接栽种，果长23cm左右，单瓜重220g左右，上海市临港新城大棚种植）；CT14RD高速台式冷冻离心机（上海天美科学仪器有限公司）；UV-1901型紫外可见分光光度计（上海奥析科学仪器有限公司）；自行研制的热导率测试装置；恒温恒湿箱LHS-100L（上海一恒科学仪器有限公司）；CUT4062型手动旋转式石蜡切片机（德国SLEE）；NIKON [ECLIPSE E200](http://www.nikon-instruments.com.cn/products/index.html?tp1=44&amp;tp2=56&amp;pid=322)显微镜（尼康仪器（上海）有限公司）等。

### 3.2 实验方法

#### 1） 选择成熟度一致、无病害及机械损伤的黄瓜果实分为28组，每组为13根，分

别贮藏于2℃、8℃、10℃、12℃下，每个温度7组，每组中10根作为观察冷害症

状用，3 根用于测定各项生理生化等参数。另外常温（20℃-25℃）对照组分为 8

组，每组3根，其中3根作为第0天。

#### 2） 将每组黄瓜称重后装于打了孔的PE保鲜袋内贴上标签，分别放入2℃、8℃、

10℃、12℃的恒温恒湿箱内。

#### 3） 分别在0d、1d、2d、4d、6d、8d、10d和12d测定各项生理生化等参数。

### 3.3 结果与讨论

#### 3.3.1 不同贮藏温度对黄瓜可溶性固形物含量的影响

果蔬组织内可溶性固形物有糖、有机酸、盐、葡萄糖等元素，可溶性固形物是反映果蔬生理生化和品质变化的重要指标之一[73]。不同贮藏温度下黄瓜的可溶性固形物的变化如图3-1。



图3-1 不同贮藏温度下可溶性固形物含量变化

Fig3-1 Variation of soluble solids content under different storage temperature

如图3-1，黄瓜体内可溶性固形物含量的绝对值不高，在不同贮藏温度下贮藏12d，黄瓜体内可溶性固形物含量总体呈下降趋势，1℃、8℃、10℃和12℃下贮藏的黄瓜与常温下贮藏的黄瓜可溶性固形物含量下降趋势保持一致。说明黄瓜体内可溶性固形物含量的下降与贮藏温度无明显关系，只随贮藏时间的延长而下降。

#### 3.3.2 不同贮藏温度对黄瓜可滴定酸和Vc含量的影响

果蔬体内可滴定酸含量和Vc含量同样是反映果蔬生理生化和品质变化的重要指标之一。



图3-2 不同贮藏温度下可滴定酸含量变化

Fig3-2 Variation of titratable acidity content under different storage temperature

如图3-2所示，黄瓜在不同贮藏温度下贮藏2d后，黄瓜体内可滴定酸含量总体呈下降趋势，在1℃下贮藏2d后的黄瓜体内可滴定酸含量下降斜率为-0.1036，可滴定酸含量下降速率最快。在8℃、10℃和12℃下贮藏2d后，各处理组的下降速率依次减小，12℃处理组下降速率与常温对照组最近接。可见黄瓜体内可滴定

酸含量的下降速率随着贮藏温度的降低而增大。



图3-3 不同贮藏温度下Vc含量变化

Fig3-3 Variation of Vc content under different storage temperature

如图3-3所示，黄瓜体内Vc含量的绝对值较小，常温下贮藏一周后黄瓜体内Vc含量就已经达到最低水平，当受到低温胁迫后Vc含量下降的更快。在1℃下贮藏1d后黄瓜Vc含量就降到最低水平，8℃下贮藏4d后降到最低水平，10℃下贮藏8d后达到最低水平，12℃下贮藏的下降速率比常温对照组略慢，斜率分别为

-0.0218和-0.0221。可见随着贮藏温度的下降黄瓜体内Vc含量下降速率越快。

#### 3.3.3 不同贮藏温度对黄瓜细胞内活性酶的影响

## 3.3.3.1 不同贮藏温度对黄瓜POD活性的影响

过氧化物酶（POD）可以分解植物组织中的H2O2等过氧化物，可防止膜脂氧化，减轻H2O2对果实组织造成的损伤。如图3-4所示，经过不同温度贮藏12d后，除了1℃下POD活性完全受到抑制而无较大变化外，其余各处理组黄瓜POD活性均呈现上升趋势。在贮藏前2 d，各处理黄瓜果肉的POD活性都比较接近。随着贮藏时间的延长，黄瓜POD活性表现为12℃＞常温＞10℃＞8℃＞1℃。1℃下贮藏的黄瓜POD活性一直处于最低水平；12℃处理的POD活性在第6 d后一直处于最高水平，12 d后活性比1℃处理组高出452.2%，比8℃和10℃处理组分别高出40.5%和38.1%。12℃处理组的POD活性与常温对照组上升趋势一致，12℃下处理

12 d后POD活性比常温对照组略高，为8.7%，而1℃处理组的POD活性相较于其他处理组的一直处于最低水平，1℃处理12 d的POD活性比常温对照组低408.2%，可见黄瓜在1℃下贮藏后POD活性完全受到抑制。



图3-4 不同贮藏温度下POD活性的变化

Fig3-4 Variation of POD activity under different storage temperature

## 3.3.3.2 不同贮藏温度对黄瓜CAT活性的影响

过氧化氢酶（CAT）可以分解植物组织中的H2O2，可减轻H2O2对果实组织造成的损伤防止膜脂氧化。由图3-5可知，在不同贮藏温度处理后，除了常温对照组和1℃处理外，其他处理组CAT活性呈现上升趋势，12℃、10℃和8℃下CAT活性上升趋势一致，12℃和10℃处理活性十分接近，而8℃活性略低于12℃和10℃。常温对照组CAT活性在前6 d呈缓慢上升趋势，之后缓慢下降，1℃的总体呈缓慢下降趋势。12℃下贮藏的黄瓜在处理4d后CAT活性比1℃高33.3%，处理12d后活性分别比1℃和常温对照高383.3%、222.2%，8℃下处理12d的CAT活性分别比10℃和12℃处理的高46.7%、51.7%。可见1℃处理的黄瓜果实CAT活性受到抑制，而8℃、10℃、12℃处理下的CAT活性随着胁迫时间的加长而逐渐增大，清除H2O2能力较强，这与潘永贵[30]研究结果一致。



图3-5 不同贮藏温度下CAT活性的变化

Fig3-5 Variation of CAT activity under different storage temperature

## 3.3.3.3 不同贮藏温度对黄瓜SOD活性的影响



图3-6 不同贮藏温度下SOD活性的变化

Fig3-6 Variation of SOD activity under different storage temperature

如图3-6所示，各处理组黄瓜的SOD活性呈现先减小后增大再减小的趋势且10℃、12℃处理组和常温对照组的SOD活性要高于8℃和1℃处理组。常温对照组SOD活性在第8 d达到峰值然后下降，10℃和12℃处理的在第10 d达到峰值，分别是未受到低温胁迫即第0 d时的19.8%和20.9%，然后开始下降。8℃处理下的SOD活性在第4 d就达到峰值并开始下降接近1℃处理组，1℃处理下的SOD活性从一开始就呈下降趋势，1℃处理12 d的SOD活性比第0 d时下降了40.6%。同时1℃与8℃下处理12 d的SOD活性分别比常温对照组的低48.4%、41.2%。可见10℃、12℃的SOD活性较高接近常温对照组，而8℃的在第4 d后受到抑制，1℃的则完全受到抑制。

### 3.3.4 不同贮藏温度对黄瓜MDA含量和膜透性的影响

## 3.3.4.1 不同贮藏温度对黄瓜MDA含量的影响

如图3-7所示，在不同贮藏温度处理后，各处理组黄瓜的MDA含量呈现先上升后下降再上升的趋势。MDA是膜脂氧化过程中的主要产物之一，MDA的含量可以反映膜脂氧化的严重程度[59]。1℃处理的第12 d时MDA含量比第0 d时高146.5%，可见1℃处理组膜脂氧化最严重。8℃的12 d时MDA含量比第0 d时高

83.2%，8℃处理组MDA含量相对低于1℃处理组高于10℃和12℃处理组，说明8℃处理的膜脂氧化程度小于1℃的但是大于10℃和12℃的。10℃、12℃处理组和常温对照组在整个贮藏过程中MDA含量都十分接近，且第10天开始低于常温对照组，膜脂氧化程度最小。



图3-7 不同贮藏温度下MDA含量的变化

Fig3-7 Variation of MDA content under different storage temperature

## 3.3.4.2 不同贮藏温度对黄瓜细胞膜透性的影响

如图3-8所示，常温对照组膜透性最小且上升最缓慢，1℃处理组电导率值在第6 d后迅速上升，增幅达到36.7%，到第12 d时比第0 d未受到低温胁迫时高332.8%，而8℃、10℃和12℃处理组的膜透性比较接近，但是8℃的在第8 d后比

10℃和12℃上升幅度高出11～16个百分点。细胞膜在受到低温胁迫后质膜损伤导致膜透性增大，电解质外渗速度加快，由此可见1℃处理组的瑞青黄瓜受到低温胁迫最严重。10℃和12℃处理组的膜透性在第12 d还是较接近常温对照组，说明10℃和12℃温度下贮藏的黄瓜受到低温胁迫影响最小，而8℃处理组在第8 d后受到低温胁迫影响加重。



图3-8 不同贮藏温度下MDA含量的变化

Fig3-8 Variation of membrane permeability under different storage temperature

### 3.3.5 不同贮藏温度对黄瓜细胞结构和冷害指数的影响

## 3.3.5.1 不同贮藏温度对黄瓜细胞结构的影响



图3-9（a）正常黄瓜果肉细胞壁

Fig3-9(a) Normal cell wall of cucumber pulp



图3-9（c）8℃10d黄瓜果肉细胞壁

Fig3-9(c) Pulp cell wall of cucumber pulp under 8℃10d

图3-9（b）2℃10d黄瓜果肉细胞壁

Fig3-9(b) Pulp cell wall of cucumber pulp under 2℃10d



图3-9(d) 12℃10d黄瓜果肉细胞壁Fig3-9(d) Pulp cell wall of cucumber pulp under 12℃10d



图3-10 不同温度贮藏下细胞间层厚度的变化

Fig3-10 Variation of the thickness between cells under different storage temperature

图3-11 不同温度贮藏下细胞次生壁厚度的变化

Fig3-11 Variation of the secondary wall thickness under different storage temperature

如图3-10所示，随着贮藏时间的延长黄瓜果肉细胞的细胞间层厚度随之增大，

其中2℃下贮藏的增大幅度最大，2℃、8℃和12℃分别贮藏10d后细胞间层比第

0d增大了68.5%, 48.1%和23%。

如图3-11所示，随着贮藏时间的延长黄瓜果肉细胞次生壁逐渐降解，厚度逐渐减小。在2℃下贮藏的黄瓜次生壁厚度减小幅度是最大的，2℃、8℃和12℃分别贮藏10d后细胞次生壁比第0d减小了35.3%，23.7%和18.3%，12℃贮藏的黄瓜次生壁厚度减小幅度最小。可见黄瓜细胞壁的正常生理结构受到低温胁迫后，细胞壁结构产生变化，贮藏温度越低黄瓜细胞间层厚度越大，次生壁降解的越快，加速细胞壁结构的瓦解，最后导致细胞死亡。

## 3.3.5.2 不同贮藏温度下黄瓜冷害指数的变化

冷害指数：据果面上冷害斑程度确定。正常为1级，占总面积0~25%冷害面积为2级，26%～50%为3级，51%～75%为4级，76%～100%为5级。检查结果按下列公式计算。

 （3-1）在1℃下的黄瓜贮藏1d后表皮就出现冷害症状，到第6d已经严重冷害，冷害

级别达到4.6级，这与MDA含量趋势吻合。8℃下贮藏的黄瓜受到冷害程度较低于1℃下贮藏的，在第8d开始冷害指数达到3级，冷害较严重。而10℃和12℃下贮藏的黄瓜在前4d基本没有冷害症状，之后也只是表皮随着贮藏时间的加长而收

缩变干，产生的原因可能是恒温恒湿箱中的风速过大导致。



图3-12 不同贮藏温度下冷害指数的变化

Fig3-12 Variation of chilling injury index under different storage temperature

### 3.4 本章小结

通过对不同温度贮藏的黄瓜进行研究，实验结果表明黄瓜各项生理生化参数的变化与贮藏温度有着密切的联系。随着贮藏温度的降低，黄瓜中可滴定酸、Vc含量迅速下降，且温度越低下降速率越快；POD、SOD、CAT等酶活性受到抑制，三者无法协同清理黄瓜组织内的自由基，导致MDA含量大量累积，最后表现为细胞膜透性的增大，以及细胞壁结构的瓦解。最终的黄瓜的品质变化与冷害指数相吻合。

# 第四章 不同品种黄瓜低温胁迫下Th理Th化特性、传热特性变化研究

## 4.1 材料与设备

瑞青黄瓜（新一代全雌性华南系黄瓜品种，非嫁接栽种，果长23cm左右，单瓜重220g左右，上海市临港新城大棚种植）；申青1号（属华南型黄瓜一代杂种，瓜长23cm左右，单瓜重220g左右，上海市临港新城大棚种植）；津优1号（华北杂交品种，瓜条长直，果长36cm左右，单瓜重约280g左右，ft东大棚种植）；CT14RD高速台式冷冻离心机（上海天美科学仪器有限公司）；UV-1901型紫外可见分光光度计（上海奥析科学仪器有限公司）；恒温恒湿箱LHS-100L（上海一恒科学仪器有限公司）；自行研制的热导率测试装置等。

## 4.2 实验方法

### 1） 选择成熟度一致、无病害及机械损伤的三种黄瓜果实，每个品种8组，每组为

13根，分别贮藏于2℃下，每组中10根作为观察冷害症状用，3根用于测定各项生理生化参数及热导率参数。

2）将每组黄瓜称重后装于打了孔的PE保鲜袋内贴上标签，放入2℃的恒温恒湿箱内。

3）分别在0d、1d、2d、4d、6d、8d、10d和12d测定各项生理生化参数及热导率。

## 4.3 结果与讨论

4.3.1低温胁迫对不同品种黄瓜可溶性固形物含量及冰点的影响

如图4-1和4-2，不同品种黄瓜所含可溶性固形物含量也不同，瑞青含量最高，其次是申青和津优，3个品种的可溶性固形物含量都随贮藏时间的延长而降低。而在2℃下贮藏的3种黄瓜冰点都随贮藏时间的延长而升高，有研究发现冰点与果蔬可溶性固形物有显著关系[74]，冰点的升高是由于各品种黄瓜可溶性固形物含量随贮藏时间延长而下降所致。



图4-1 低温胁迫下不同品种黄瓜可溶性固形物含量变化

Fig4-1 Changes in soluble solids content of different varieties of cucumber under low temperature stress

图4-2 低温胁迫下不同品种黄瓜冰点变化

Fig4-2 Changes in freezing point of different varieties of cucumber under low temperature stress

4.3.2低温胁迫对不同品种黄瓜可滴定酸和Vc含量的影响

如图4-3、4-4，不同品种黄瓜所含可滴定酸含量也各不相同，瑞青含量较高于申青和津优，前4d申青可滴定酸含量下降速率最快，津优含可滴定酸含量相对较低，在2℃低温胁迫下下降速率也最慢。3种黄瓜Vc含量从高到低依次为瑞青、申青和津优，瑞青Vc含量下降速率最快，第6d后瑞青和申青Vc含量下降到与津优相近，而津优贮藏1d后就降到较低水平，之后继续缓慢下降，一直处于较低水平。



图4-3 低温胁迫下不同品种黄瓜可滴定酸含量变化

Fig4-3 Changes in titratable acidity content of different varieties of cucumber under low temperature stress

图4-4 低温胁迫下不同品种黄瓜Vc含量变化

Fig4-4 Changes in Vc content of different varieties of cucumber under low temperature stress

4.3.3低温胁迫对不同品种黄瓜MDA含量和膜透性的影响

如图4-5、4-6所示，3种黄瓜的MDA含量呈上升趋势与膜透性上升趋势一致，瑞青与津优在受到低温胁迫后MDA的积累比申青严重，而且瑞青与津优MDA的含量十分接近。从图4-6可见，瑞青与津优的膜透性也十分接近，申青的膜透性同样较低于其他两个品种。同时申青、瑞青和津优三者的膜透性上升速率依次为

0.039、0.041和0.049，可见同样津优黄瓜组织受到的低温伤害最严重，导致膜透性迅速增大。膜透性的增大趋势与MDA含量的增大趋势一致，再次验证了黄瓜细胞膜透性的增大是由于MDA的积聚导致膜脂氧化的理论[**30**]。



图4-5 低温胁迫下不同品种黄瓜MDA含量变化

Fig4-5 Changes in MDA content of different varieties of cucumber under low temperature stress



图4-6 低温胁迫下不同品种黄瓜膜透性含量变化

Fig4-6 Changes in membrane permeability of different varieties of cucumber under low temperature

stress

4.3.4低温胁迫对不同品种黄瓜热导率的影响

如图4-7所示，正常黄瓜细胞内有许多空隙以及细胞壁等组织细胞器关系，热导率与果蔬组织密度呈正相关，与果蔬含水量也呈正相关[74]，本实验中，在2℃下贮藏的3种黄瓜热导率随着贮藏时间的延长而增大。推断热导率增大的原因是黄瓜细胞受到低温胁迫后膜透性增大，细胞中电解质大量渗出，细胞内的空隙全都被电解质占据，导致密度增大从而热导率增大。申青膜透性上升速率与热导率上升速率都是最小，瑞青与津优膜透性上升速率相近，热导率上升速率也十分接近。



图4-7 低温胁迫下不同品种黄瓜热导率变化

Fig4-7 Changes in conductivity of different varieties of cucumber under low temperature stress

4.3.5低温胁迫对不同品种黄瓜冷害指数的影响

如图4-8所示，各品种黄瓜的冷害指数随着贮藏时间的延长从第2d开始直线上升，津优与瑞青的冷害指数较接近且比高于申青，这与MDA含量及膜透性趋势一致。如图4-9，低温贮藏12d后津优表皮出现的冷害斑面积最大。



图4-8 低温胁迫下不同品种黄瓜冷害指数变化

Fig4-8 Changes in chilling injury index of different varieties of cucumber under low temperature stress

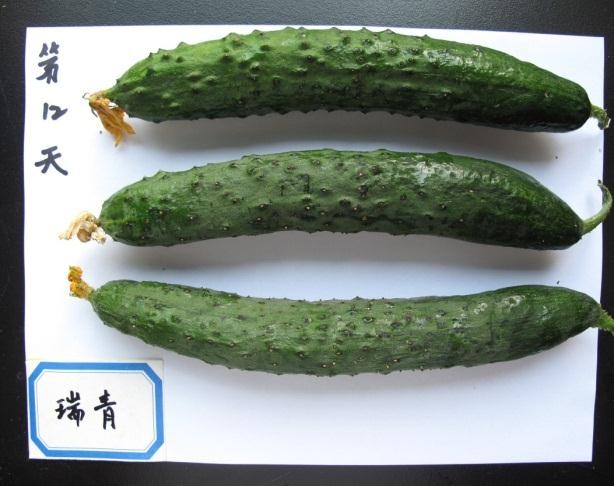
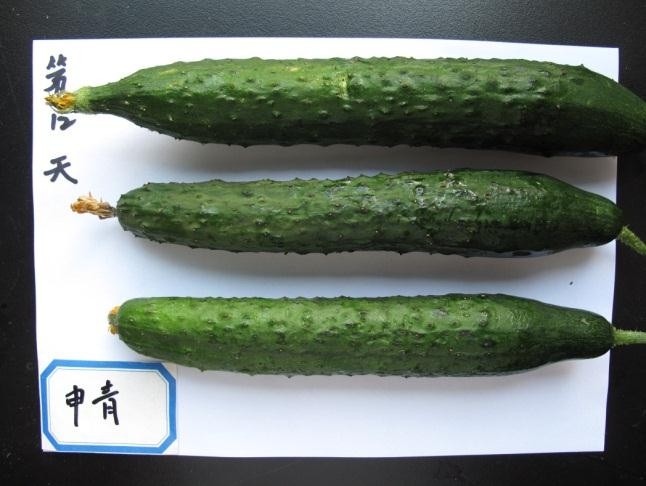


图4-9 低温胁迫12d后的3种黄瓜

Fig4-9 Three kinds of cucumbers under low temperature stress 12d

## 4.4 本章小结

本章研究了不同品种的黄瓜在受到低温胁迫后生理生化特性和热物性的变化。其中黄瓜的可溶性固形物含量与冰点呈负相关，3种黄瓜可滴定酸和Vc含量都较少，其中津优含量最少，且在受到低温胁迫6d后均达到最低水平。3种黄瓜的冷害指数与MDA含量以及膜透性趋势一致，验证了膜脂氧化引起细胞膜损伤的理论。热导率的增大可能是由于膜透性的增大，电解质大量渗出使黄瓜果肉密度增大所致。结合以上各参数可以得出申青相较于另两个品种耐冷性较强，而津优抗冷害能力最弱。

# 第五章 不同成熟度黄瓜低温胁迫下Th理Th化特性、传热特性变化研究

#### 5.1 材料与设备

申青1号（属华南型黄瓜一代杂种，瓜长23cm左右，单瓜重220g左右，上海市临港新城大棚种植）；CT14RD高速台式冷冻离心机（上海天美科学仪器有限公司）；UV-1901型紫外可见分光光度计（上海奥析科学仪器有限公司）；恒温恒湿箱LHS-100L（上海一恒科学仪器有限公司）；自行研制的热导率测试装置等。

# 5.2 实验方法

1）本实验选取从结果日算起生长了4d、7d和10d的无病害及机械损伤的黄瓜果实，以下称之为小、中、大黄瓜，每个成熟度分为8组，每组为13根，分别贮藏于2℃下，每组中10根作为观察冷害症状用，3根用于测定各项生理生化参数及热导率参数。 2）将每组黄瓜称重后装于打了孔的PE保鲜袋内贴上标签，放入2℃的恒温恒湿箱内。

### 3） 分别在0d、1d、2d、4d、6d、8d、10d和12d测定各项生理生化参数及热导率参数。

# 5.3 结果与讨论

5.3.1低温胁迫对不同成熟度的黄瓜可溶性固形物含量及冰点的影响

如图5-1、5-2，可溶性固形物是反应果蔬成熟度的指标，随着黄瓜果实的生长，黄瓜果实成熟度与可溶性固形物成反比，并且随着贮藏时间的延长，果蔬继续衰老，其可溶性固形物含量持续下降。同时可溶性固形物与冰点成反比，随着贮藏时间的延长，可溶性固形物含量平均下降幅度为24.5%，而冰点从-1.6℃左右上升到-0.8℃左右，平均上升幅度达88.7%，可溶性固形物含量对冰点温度的影响较显著。





图5-1 低温胁迫下不同成熟度黄瓜冰点变化

Fig5-1 Changes in freezing point of different grade of maturity of cucumber under low temperature stress

图5-2 低温胁迫下不同成熟度黄瓜可溶性固形物含量变化

Fig5-2 Changes in soluble solids content of different grade of maturity of cucumber under low temperature stress

5.3.2低温胁迫对不同成熟度的黄瓜可滴定酸和Vc的影响

如图5-3、5-4，不同成熟度的黄瓜可滴定酸含量十分接近，在2℃低温胁迫下，随着贮藏时间的延长，可滴定酸含量前4d快速下降后基本达到最低水平。同时不同成熟度的黄瓜所含Vc含量也各不相同，小黄瓜的Vc含量最高，分别是中和大黄瓜的1.47和3.66倍。随着成熟度增大，Vc含量逐渐下降，大黄瓜是生长过熟的黄瓜，Vc含量一直处于最低水平。在采摘后随着低温胁迫时间的延长，小黄瓜Vc含量下降最快。



图5-3 低温胁迫下不同成熟度黄瓜可滴定酸变化

Fig5-3 Changes in titratable acidity content of different grade of maturity of cucumber under low temperature stress

图5-4 低温胁迫下不同成熟度黄瓜Vc变化

Fig5-4 Changes in Vc content of different grade of maturity of cucumber under low temperature stress

5.3.3低温胁迫对不同成熟度的黄瓜MDA含量以及膜透性的影响

如图5-5、5-6，不同成熟度的黄瓜在受到低温胁迫后MDA的积累趋势相同，随着胁迫时间的延长而逐渐增加，贮藏4d后小黄瓜和中黄瓜MDA含量十分相近，大黄瓜MDA含量稍小于其他两者，且上升速率也小于其他2者，分别是小和中黄瓜的0.8和0.7倍。同时小黄瓜和中黄瓜的膜透性十分接近，大黄瓜膜透性在贮藏

4d后明显低于小黄瓜和中黄瓜，可见成熟度不同对低温胁迫的抵抗能力也不同，成熟度高的抵抗低温胁迫能力较强。



图5-5 低温胁迫下不同成熟度黄瓜MDA含量变化

Fig5-5 Changes in MDA content of different grade of maturity of cucumber under low temperature stress



图5-6 低温胁迫下不同成熟度黄瓜膜透性变化

Fig5-6 Changes in membrane permeability of different grade of maturity of cucumber under low temperature stress

5.3.4低温胁迫对不同成熟度的黄瓜热导率的影响

如图5-7所示，由于黄瓜的成熟度的不同，其组织结构肯定也不同，成熟度越

大的黄瓜组织结构越松散，细胞中的空隙越大，而较小的黄瓜组织结构致密，细胞中的空隙相对也较小，这可能是导致不同成熟度的黄瓜热导率各不同，且成熟度越大热导率越小。然后随着2℃低温胁迫时间的延长，细胞膜损伤程度加重，细胞中电解质大量外渗，这可能是导致热导率随之升高的原因。



图5-7 低温胁迫下不同成熟度黄瓜热导率变化

Fig5-7 Changes in conductivity of different grade of maturity of cucumber under low temperature stress

5.3.5低温胁迫对不同成熟度的黄瓜冷害指数的影响

如图5-8所示，可能由于生长了4天的与生长了7天的黄瓜成熟度较为接近，冷害指数也较为接近，但小黄瓜和中黄瓜冷害指数较大于大黄瓜，说明成熟度越大抗冷害能力越强。冷害指数相对滞后于MDA含量和膜透性，在2d后才反映出冷害症状。如图5-9，左边分别是生长4天、7天和10天的刚采摘的新鲜黄瓜，右边分别是低温贮藏12d后的各不同成熟度的黄瓜，生长4天的小黄瓜和生长7天的中黄瓜表皮冷害斑面积较大，生长10天的黄瓜表皮冷害斑只占表面积的50%。



图5-8 低温胁迫下不同成熟度黄瓜冷害指数变化

Fig5-8 Changes in chilling injury index of different grade of maturity of cucumber under low temperature



图5-9 不同成熟度黄瓜

Fig5-9 Different grade of maturity of cucumber

# 5.4 本章小结

本章研究了不同成熟度的黄瓜在受到低温胁迫后生理生化的变化。申青黄瓜

Vc和可溶性固形物含量随着成熟度的增大而下降，从MDA含量、膜透性以及冷

害指数可以看出，成熟度较大的黄瓜抗冷害能力较强。同时MDA含量和膜透性第2d就开始明显上升，冷害指数则相对滞后于MDA含量和膜透性的上升。不同成熟度的黄瓜热导率不同，可能与黄瓜的密度有关，随着低温胁迫时间的延长，电解质大量外渗，导致密度增大，热导率升高。

# 第六章 低温胁迫下黄瓜复温前后Th理Th化特性、传热特性变化研究

## 6.1 材料与设备

津优1号（华北杂交品种，瓜条长直，果长36cm左右，单瓜重约280g左右，ft东大棚种植）；恒温恒湿箱LHS-100L（上海一恒科学仪器有限公司）；UV-1901型紫外可见分光光度计（上海奥析科学仪器有限公司）；CT14RD高速台式冷冻离心机（上海天美科学仪器有限公司）；自行研制的热导率测试装置等。

## 6.2 实验方法

1）选择成熟度一致、无病害及机械损伤的黄瓜果实分为21组，贮藏于4℃、8℃和12℃下，每个温度7组，每组为13根，每组中10根作为观察冷害症状用，3根用于测定各项生理生化参数。 2）将每组黄瓜称重后装于打了孔的PE保鲜袋内贴上标签，分别放入4℃、8℃和

12℃的恒温恒湿箱内。

3）分别在贮藏1d、2d、4d、6d、8d、10d和12d后取出放于室温下复温1d后测定各项生理生化参数。

## 6.3 结果与讨论

6.3.1复温后黄瓜可溶性固形物含量的影响

如图6-1所示，黄瓜经复温后可溶性固形物含量进一步下降，平均下降3.3%，且总体还是呈下降趋势。而且可以看出3个不同温度下贮藏的黄瓜可溶性固形物含量接近，复温后同样接近，可见黄瓜可溶性固形物含量的下降与温度无关，只随贮藏时间的延长而下降。





图6-1 复温1天后黄瓜可溶性固形物含量变化

Fig6-1 Variation of soluble solids content of cucumber after rewarming 1day

6.3.2复温后黄瓜可滴定酸和Vc含量的影响

如图6-2、6-3，复温1天后黄瓜可滴定酸含量总体比复温前平均下降20.4%。同时在4℃、8℃和12℃下贮藏的黄瓜复温1天后可滴定酸含量还是呈下降趋势，且与复温前下降趋势一致。复温1天后黄瓜种Vc含量比复温前平均下降了15.4%，总体还是呈下降趋势，且还是4℃下贮藏的的含量下降最快，2d后复温前后的Vc含量就十分接近，说明已达到最低水平。



图6-2 复温1天后黄瓜可滴定酸含量变化

Fig6-2 Variation of titratable acidity content of cucumber after rewarming 1day



图6-3 复温1天后黄瓜Vc含量变化

Fig6-3 Variation of Vc content of cucumber after rewarming 1day

6.3.3复温后黄瓜MDA含量和膜透性的影响

如图6-4，复温1天后黄瓜MDA含量明显高于复温前，平均高出12.2%。随着贮藏时间的延长，MDA含量逐渐增大，温度越低MDA含量上升越快，积聚越多。从图6-5可见，复温1天后黄瓜膜透性比复温前平均升高9.8%，4℃贮藏的黄瓜膜透性最大，且增大趋势最快。12℃下贮藏的黄瓜膜透性最低，膜透性增大速率最慢，即使是复温1天后，且前6d复温前与复温后膜透性十分接近，可见12℃下贮藏的黄瓜前6d基本未受到低温的影响。



图6-4 复温1天后黄瓜MDA含量变化

Fig6-4 Variation of MDA content of cucumber after rewarming 1day



图6-5 复温1天后黄瓜膜透性变化

Fig6-5 Variation of membrane permeability of cucumber after rewarming 1day

6.3.4复温后黄瓜冷害指数的影响

如图6-6，在各温度下贮藏1d后拿出复温1d，各温度都没有出现冷害症状。随着贮藏时间的延长，黄瓜冷害症状开始出现，且复温后黄瓜冷害症状都要比复温前严重。在4℃下贮藏的黄瓜的受到低温胁迫最严重，贮藏2d其实就已经发生冷害，但是刚取出来时症状并未表现出来，当复温1d后才表现出冷害症状。而12℃下贮藏的可能由于恒温恒湿箱的风速过大，黄瓜表皮略有收缩干瘪，但并未出现水浸斑或者组织塌陷。通过黄瓜冷害症状隔天在显现的现象说明冷害指数用来衡量果蔬冷害程度是相对滞后的。



图6-6 复温1天后黄瓜冷害指数变化

Fig6-6 Variation of chilling injury index of cucumber after rewarming 1day

## 6.4 本章小结

本章研究了黄瓜复温前后生理生化及热物性参数的变化。再次证明了黄瓜可溶性固形物含量的下降与贮藏温度无明显关系，只随贮藏时间的延长而下降。冷害症状在复温后才显现，说明冷害指数滞后于冷害的发生。通过MDA含量和膜透性可以在冷害指数之前反映出冷害的发生程度。

结论与展望

结 论

本实验对黄瓜在低温胁迫时其生理生化参数受到的影响进行了研究，探讨了黄瓜哪些理化参数对温度较敏感，进一步分析了黄瓜冷害发生的机理，得到以下结论：

1）黄瓜可溶性固形物含量与贮藏温度无明显关系，只随着贮藏时间的延长而下降，且可溶性固形物含量对冰点温度的影响较显著，冰点与可溶性固形物含量成反比。

2）黄瓜可滴定酸与Vc含量绝对值较小，受贮藏温度影响较大，贮藏温度越低各含量下降越快。其中津优较申青和瑞青各含量最少，瑞青各含量最多，但是贮藏6d后都达到最低水平。同时不同成熟度的黄瓜可滴定酸含量相近，受到低温胁迫后下降速率也相近，黄瓜Vc含量则随着成熟度增大而减少。复温后比复温前可滴定酸含量平均下降20.4%, Vc含量平均下降15.4%，可见复温后低温胁迫对组织影响仍在持续。

3）黄瓜组织中MDA累积量在前期有所降低是因为SOD、POD和CAT协同作用，一定程度降低了自由基对组织的损伤，随着胁迫时间的延长，低温造成黄瓜正常生理代谢的紊乱，各酶活性受到抑制，膜脂氧化程度加重，从MDA含量上表现为含量直线上升。

4）贮藏温度越低膜脂氧化程度越严重，膜透性越大。从膜透性可以看出瑞青和申青比津优抗冷害能力强；成熟度高的比成熟度低的抗冷害能力强；复温后比复温前膜脂氧化程度严重，膜透性平均高出9.8%。

5）黄瓜果肉热导率随着低温胁迫时间延长而升高，上升速率与膜透性上升速率相近，推断热导率增大的原因可能是黄瓜细胞受到低温胁迫后膜透性增大，细胞中电解质大量渗出，细胞内的空隙全都被电解质占据，导致密度增大从而热导率增大。

6）冷害指数与MDA、膜透性趋势一致，但是滞后于MDA和膜透性指标的反映，复温后冷害症状加重。

研究结果显示：经过以上研究发现可溶性固形物含量的下降与贮藏温度无关，因此无法通过可溶性固形物的含量来衡量冷害的程度。且冰点与可溶性固形物含量成负相关[74]，因此冰点的变化是随可溶性固形物含量的变化而变化，无法通过

冰点的变化来衡量冷害发生的程度。黄瓜中Vc含量、可滴定酸含量对贮藏的温度较为敏感，贮藏温度越低，Vc和可滴定酸含量下降的越快。但是对于不同品种和不同成熟度的黄瓜，由于含量很少也存在差异，很难通过含量的减少率来衡量冷害的程度。而对于单一品种成熟度基本一致的黄瓜Vc含量是对温度较为敏感的一个指标可以作为衡量冷害程度一个参考指标，以不同贮藏温度下Vc含量下降到最低水平的速率与常温贮藏下的Vc含量下降速率比较作为一个衡量冷害程度的指标，可以与膜透性、MDA含量以及冷害指数结合，综合衡量黄瓜冷害发生的时间和程度。相对来说，黄瓜组织细胞壁的观察由于前期处理过程过于繁琐，对于快速测试黄瓜冷害程度则不太适用。更快的方法是使用热导率的变化程度来反应冷害程度，但是本实验尚未完全证实，需进一步验证其可靠性。

展 望

1．本研究找出瑞青黄瓜（华南品种）冷害的临界温度为10℃-12℃，下一步实验可以研究冷害温度以上温度对黄瓜品质的影响，找出最适温度。 2．由于我国果蔬贮藏品种比较单一，新品种的贮藏技术缺乏，标准太少且不够完善[6]。之后的研究方向可以针对其他品种果蔬，对果蔬进行分类研究，找出各类果蔬贮藏期间共同的特点，完善我国的贮藏技术与标准。

3. 黄瓜在低温胁迫后热导率呈现上升趋势，之后的研究有待进一步确认是否是由于膜透性增大，电解质大量外渗，导致密度增大所致。

参考文献

[1]中国种植业信息网. [http: //202.127.42.157/moazzys/nongqing. aspx](http://202.127.42.157/moazzys/nongqing.aspx)

[2]中国新闻网[. http: //www. chinanews. com/cj/2010/07-28/2431755. shtml.](http://www.chinanews.com/cj/2010/07-28/2431755.shtml)

[3]高懋芳，邱建军等. 我国低温冷冻害的发生规律分析[J]. 中国生态农业报.2008，16（5），1167-1172.

[4]周娴，郁志芳，杜传来，等.几种林果低温贮藏的冷害及其调控研究进展[J].南京林业大学学报（自然科学版）,2004,28(3)：105-109

[5]高海生.我国果蔬贮藏保鲜业待突破.中国食品报，2003.07. O7.

[6]金长娟，弭道彬等.我国果品蔬菜贮藏保鲜的现状与发展对策[J].中国园艺文摘，2010,1,51-52.

[7]王颉等.果品蔬菜冰点同可溶性固形物含量关系的研究[J].制冷学报, 2005（1）：

14-18.

[8] Wang Jie. The correlation between freezing point and soluble solids of fruits [J].

Journal of Food Engineering,60(2003):481–484

[9] E. Hernández, M. Raventós. Concentration of apple and pear juices in a multi-plate freeze concentrator [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2009,3(10):348-355

[[10] J. K. Raison](http://www.jbc.org/search?author1=J.%2BK.%2BRaison&amp;sortspec=date&amp;submit=Submit), [J. M. Lyons.](http://www.jbc.org/search?author1=J.%2BM.%2BLyons&amp;sortspec=date&amp;submit=Submit) The influence of membranes on the temperature-induced changes in the kinetics of some respiratory enzymes of mitochondria [J]. [Archives of Biochemistry and Biophysics.](http://www.sciencedirect.com/science/journal/00039861)1971,1(142):83-90.

[11]潘永贵，李正国.降低采后果蔬冷害研究进展[J ].中国果品研究,1997 (2)：21 -22

[12] 王善广.果蔬冷害研究进展[J].保鲜与加工,2004,4(4):3-5.

[13]陈发河.贮前热处理对甜椒品质和腐烂率的影响（英文）[C].园艺作物采后技术国际学术讨论会论文集,1995: 27-31.

[14]黄晓钰，康德妹，季作粱.荔枝果实的冷藏适温与冷害[J]. 华南农业大学学报，1990, 11(3)：13-18.

[15]周云，季作梁，林伟振.龙眼冷藏适温及其冷害的研究[J].园艺学报，1997, 24(1)：13-18.

[16] 张海燕.植物冷害机理综述. ft西师大学报.1998,12（1）:64-67.

[17]王克安，王冰，顾三军. 低温对黄瓜生理生化，代谢功能及形态的影响. ft东农业科学. 1998(4)：52-55.

[18] Lew, L. L. Morris. Alleviation of chiiling injury of okra[J]. Hortseienee,1975,10:324

[19]宋述尧，刘晓明，任锡仑.黄瓜不同品种耐冷力的初步研究[J].吉林农业大学学报，1992(1)：27-32

[20]王艳颖，胡文忠等. 机械损伤对富士苹果抗氧化酶活性的影响[J].食品与机械，2007, 23(5):26-30.

[21] 赵锋.新疆杏资源与生产考察[J]. ft西果树，2003，(3)：25～26

[22]中国食品工业标准汇编[M].北京：中国出版社，1999: 439～529

[23]赵华，胡鸿，吴肇志.西瓜冷害与贮藏温度和贮藏期的关系[J].园艺学报,1992,19 (2)：140～146

[24] Seung K. Lee, Adel A. Kader, Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops [J]. Postharvest Biology and Technology,2000,20(3):207-220.

[25]于明，张谦，刘冬文. 果蔬冷害及御冷措施综述[J]. 新疆农业科学，2001，38(6)：332～334

[26]申春苗；汪良驹等. 12个梨品种果实冰点温度的测定与影响因素分析[J].南京农业大学学报,2011, 1 (34)：35-40.

[27] Pantastico. E. B, W. Grierson, J. Soule. Chilling injury in tropical fruits: I, Banana[J]. Proc. Amer. Soc. Hort. 1938,36:609～613.

[28]季作梁，张昭其，王燕等.芒果低温贮藏及冷害的研究[J].园艺学报, 1994, 21(2)：111～116

[29] MC Giannakourou, PS Taoukis. Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions [J]. Food Chemistry, 2003,83(1):33-41

[30]潘永贵，李正国．变温处理对黄瓜果实生物膜保护系统的影响[J].热带作物学

报,2003,24(2):30-32.

[31]逯明辉，娄群峰等.黄瓜的冷害及耐冷性[J]；植物学通报2004，21(5)：578-58

[32] Murata, T. Relation of chilling stress to membrane permeability. In: Wang, C. Y. (Ed.), Chilling Injury of Horticultural Crops. CRC Press, Boca Raton, FL, 1990 pp. 201–209.

[33] Rab A, Saltveit M E. Sensitivity of seedling radicles to chilling and heat—shock induced chilling Tolerance. [J] Am Soc Hortic Sci, 1996, 121:711～71

[34]高慧，饶景萍.冷害对贮藏油桃膜脂脂肪酸及相关酶活性的影响[J].[西北植物学报](http://dlib.edu.cnki.net/KNS50/Navi/Bridge.aspx?LinkType=BaseLink&amp;DBCode=cjfd&amp;TableName=cjfdbaseinfo&amp;Field=BaseID&amp;Value=DNYX&amp;NaviLink=%e8%a5%bf%e5%8c%97%e6%a4%8d%e7%89%a9%e5%ad%a6%e6%8a%a5)，2007(4)：710-714.

[35] Ketehie. D. O. Methods of determing cold hardiness and cold injury in citrus[J]. proceeding of the first international citrus symposium, 1969, Vol. 2.559-563

[36] Wheaton. T. A. physioloqical comparisom of plant sensitive and insensitive to chilling temperatures. [phD thesis]. univ californian Davis. 1963

[37] Morrls Lieberman. Biochemical Studies of chilling injury in sweet potatoes[J]. Plant physiology 1958, 33(5):307~311.

[38]韩素江.间歇加温缓解冷藏甜椒冷害的研究[J]，华北农学报，1991,6（4）111～116.

[39]张建平. 香蕉果实低温冷害指标的研究[J].热带作物研究，1992,4: 56～59.

[40]赵迎丽，李建华等.缓慢降温对石榴果实冷害发生及生理变化的影响[J]；中国农学通报2009, 25(18)：102—105

[41]杨阿明，沈征言.低温锻炼提高黄瓜幼苗耐害性效应[J].园艺学报，1992(1)：61-66.

[42]刘建辉，崔鸿文.电导法鉴定黄瓜抗寒性的研究[J].西北农业大学学报, 1995, 23(4)：74-77.

[43]高慧，饶景萍等.冷害与油桃果实采后生理及贮藏品质的关系[J][.食品与发酵工](http://dlib.edu.cnki.net/KNS50/Navi/Bridge.aspx?LinkType=BaseLink&amp;DBCode=cjfd&amp;TableName=cjfdbaseinfo&amp;Field=BaseID&amp;Value=SPFX&amp;NaviLink=%e9%a3%9f%e5%93%81%e4%b8%8e%e5%8f%91%e9%85%b5%e5%b7%a5%e4%b8%9a)

[业](http://dlib.edu.cnki.net/KNS50/Navi/Bridge.aspx?LinkType=BaseLink&amp;DBCode=cjfd&amp;TableName=cjfdbaseinfo&amp;Field=BaseID&amp;Value=SPFX&amp;NaviLink=%e9%a3%9f%e5%93%81%e4%b8%8e%e5%8f%91%e9%85%b5%e5%b7%a5%e4%b8%9a), 2010(9):181-185.

[45]于梁，冯双庆等. 黄瓜冷藏中冷害发生与温度及时间的关系[J].北京农业大学学报，1982,8（8）:57-62.

[46] Mikal E. Saltveit. The rate of ion leakage from chilling-sensitive tissue does not immediately increase upon exposure to chilling temperatures[J]. Postharvest Biology and Technology 26 (2002) 295–304.

[47]王新华.黄瓜低温适应性评价方法的研究[D].哈尔滨：东北农业大学,2000。

[48] Hariyadi P, Parkin K L. Chilling-induced oxidative stress in cucumber fruits [J]. Postharvest Biol Technol, 1991(1): 33-45.

[49]周艳虹，喻景权，钱琼秋，等.低温弱光对黄瓜幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J].

应用生态学报,2003(6): 921-924

[50] Lee D H, Lee C B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays [J]. Plant Science, 2000, 159(1): 75-85.

[51]侯建设，席玙芳，李中华，等.青椒果实冷害及诱导抗冷性与氧化胁迫关系的研究

[J].食品科学,2005,2 44(26):244-248

[52] Kang H M, Saltveit M E．Activity of enzymatic antioxidant defense systems in

Chilled and heat shocked cucumber seedlings radicles．Physiol Plant．2001, 113: 548～556

[53]胡位荣，张昭其，季作梁等.冷害对荔枝果皮膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. 华南农业大学学报，2004,25(3)：6～9.

[54]席芳，余挺，钱冬梅.茄子果实冷害生理的研究[J].园艺学报，1998,25(3)：303～305

[55]曹宗翼，吴相钮.植物生理学[M].科学技术出版社,1980

[56] Omran R G. Peroxide levels and the activities of catalase, Peroxidase and indoleacetie acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings[J]. Plant Physiol.1980,65(2):407~408

[57]黄建安.茶树保护性酶类与抗寒性的关系[J].茶树科学，1990,10(l):35～40

[58]郑国华，张贺英等.低温胁迫下枇杷叶片细胞超微结构及膜透性和保护酶活性的变化[J]. 中国生态农业学报，2009,17(4)：739—745

[59] Navari Izzo F., Rascid N. Plant responses to water—deficit conditions[M] Pessarakli M．Handbook of Plant and Crop Stress r2 edition)．New York: Marcel Dekker, 1999: 231-270.

[60]乔勇进，冯双庆等. 冷藏黄瓜果皮超微结构变化的研究[J]. [保鲜与加工](http://dlib.edu.cnki.net/kns50/Navi/Bridge.aspx?DBCode=CJFD&amp;LinkType=BaseLink&amp;Field=BaseID&amp;TableName=CJFDBASEINFO&amp;NaviLink=%e4%bf%9d%e9%b2%9c%e4%b8%8e%e5%8a%a0%e5%b7%a5&amp;Value=BXJG)[,2008,8(01)](http://dlib.edu.cnki.net/kns50/Navi/Bridge.aspx?DBCode=CJFD&amp;LinkType=IssueLink&amp;Field=BaseID%2Ayear%2Aissue&amp;TableName=CJFDYEARINFO&amp;Value=BXJG%2A2004%2A04&amp;NaviLink=%e4%bf%9d%e9%b2%9c%e4%b8%8e%e5%8a%a0%e5%b7%a5).25-27

[61]杜艳，喻方圆等.低温胁迫下两种七叶树苗木超微结构的比较[J][.南京林业大学学报（自然科学版）](http://dlib.edu.cnki.net/kns50/Navi/Bridge.aspx?DBCode=CJFD&amp;LinkType=BaseLink&amp;Field=BaseID&amp;TableName=CJFDBASEINFO&amp;NaviLink=%e5%8d%97%e4%ba%ac%e6%9e%97%e4%b8%9a%e5%a4%a7%e5%ad%a6%e5%ad%a6%e6%8a%a5(%e8%87%aa%e7%84%b6%e7%a7%91%e5%ad%a6%e7%89%88)&amp;Value=NJLY)[,2007,（03）](http://dlib.edu.cnki.net/kns50/Navi/Bridge.aspx?DBCode=CJFD&amp;LinkType=IssueLink&amp;Field=BaseID%2Ayear%2Aissue&amp;TableName=CJFDYEARINFO&amp;Value=NJLY%2A2007%2A03&amp;NaviLink=%e5%8d%97%e4%ba%ac%e6%9e%97%e4%b8%9a%e5%a4%a7%e5%ad%a6%e5%ad%a6%e6%8a%a5(%e8%87%aa%e7%84%b6%e7%a7%91%e5%ad%a6%e7%89%88))。

[62] A. D. Bauchot, I. C. Hallett. Cell wall properties of kiwifruit affected by low temperature breakdown[J]. Postharvest Biology and Technology.

1999(16):245–255

[63] Cooper TE, Trezek GJ. Correlation of Thermal Properties of Some Human Tissue with Water Content[J]. Aerospace Medicine, 1971, 42(2)：4-7.

[64] Shi, Datta, Throop. Mechanical property changes during freezing of biomaterials[J]. Transaction of the ASAE, 1998, 41(5)：1407-1417.

[65]彭海柱，王刚，陶乐仁等. [热线法测量食品热导率的实验研究](http://dlib.edu.cnki.net/kns50/detailref.aspx?filename=SPKX200101005&amp;dbname=cjfd2001&amp;filetitle=%e7%83%ad%e7%ba%bf%e6%b3%95%e6%b5%8b%e9%87%8f%e9%a3%9f%e5%93%81%e7%83%ad%e5%af%bc%e7%8e%87%e7%9a%84%e5%ae%9e%e9%aa%8c%e7%a0%94%e7%a9%b6)[J]. [食品科学](http://dlib.edu.cnki.net/kns50/Navi/Bridge.aspx?DBCode=CJFD&amp;LinkType=BaseLink&amp;Field=BaseID&amp;TableName=CJFDBASEINFO&amp;NaviLink=%e9%a3%9f%e5%93%81%e7%a7%91%e5%ad%a6&amp;Value=SPKX), [2001,（01）。](http://dlib.edu.cnki.net/kns50/Navi/Bridge.aspx?DBCode=CJFD&amp;LinkType=IssueLink&amp;Field=BaseID%2Ayear%2Aissue&amp;TableName=CJFDYEARINFO&amp;Value=SPKX%2A2001%2A01&amp;NaviLink=%e9%a3%9f%e5%93%81%e7%a7%91%e5%ad%a6)

[66]张敏，钟志友，赵惠忠等. 番茄果实热导率测试装置参数实验[J]. 农业机械学

报.2009，40: 93-96.

[67]周国燕，黄国纲，李彩侠等. 探针法测量低温下生物材料导热系数研究[J]. 工程热物理学报.2006，27(2)：110-112.

[68]黄国纲，周国燕，李彩侠等. 探针法测量低温下食品热导率研究[J]制冷学报，

200,27(4) .

[69]王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].高等教育出版社,2006

[70]曹建康等.果蔬采后生理生化实验指导[M].中国轻工业出版社2007, 9

[71]张敏. 采后果蔬热导率测试系统研究及其内部传热温度场模拟[D]. 河南农业大学,2005, 38。

[72]谢华清，王锦昌，程曙霞等. 热探针法测量材料热导率研究[J ]. 应用科学学报, 2002, 20 (1)：6- 9.

[73] 张敏, 张杰, 张雷杰. 生鲜食品导热系数影响因素的实验研究[J]. 河南农业大学学报. 2007, 41(6): 680-683.

[74]钟志友，张敏等.果蔬冰点与其生理生化指标关系的研究[J].食品工业科技.2011(2)：76-78.

## 攻读学位期间发表的学术论文及专利

1. Min Zhang, Jiahua Lu, Jianhua Chen, Zhenhua Che, Huizhong Zhao. Effect Study of Bridge Voltage on Measurement of Thermal Conductivities of Liquids by Thermal Probe Method, Proceedings-2010 3rd International Congress on Image and Signal

Processing, CISP, v9: 4217-4220. （EI收录）

2. 张敏，卢佳华，杨乐，陈健华，车贞花.采后果实表面对流换热系数测定.农业机械学报，2011,42(10)：150-153+149,（EI收录）

3. 卢佳华，张敏，谢晶，袁海涛，黄汝国.低温胁迫下黄瓜果实膜透性和保护酶活性的变化.广东农业科学，2012(12)：42-44.（CSCD）

4. 陈健华，张敏，车贞花，卢佳华. 黄瓜果实不同贮藏温度及时间对冷害发生的影响. 食品工业科技，2012. （CSCD）

5. 张敏，卢佳华，车贞花，陈健华，杨乐，钟志友.一种果实表面换热系数的测量装置（专利号: 201120157144. X）

6. 张敏，车贞花，陈健华，卢佳华，杨乐，钟志友.一种低损且能精确定位的多点测温探针。（专利号: ZL201120016923.8）

7. 张敏，卢佳华，车贞花，陈健华.一种果蔬活组织过冷点、冰点的测量装置。

（专利号：201120551507.8）

8. 张敏，卢佳华，陈健华，车贞花.一种精确控制恒温水浴箱温度波动的多点温度标定装置。（专利号: 201120551489.3）

9. 张敏，卢佳华，车贞花，陈健华.一种能够实现恒温箱低温高湿要求的装置。（专利号: 201220332900.2）

10. 张敏，卢佳华，车贞花，陈健华.一种果蔬活组织过冷点、冰点的测量装置及其测量方法（专利号: 201110442772.7）（已进入实审阶段）

11. 张敏，卢佳华，陈健华，车贞花.精确控制恒温水浴箱温度波动的多点温度标定装置及方法（专利号: 201110441817.9）（已进入实审阶段）

致 谢

在此感谢上海海洋大学张敏教授对我三年来的悉心指导，让我能够顺利完本课题的研究任务。这三年中，张老师以其渊博的知识和丰富的人生经验，不管是科研上还是生活上都给我无微不至的关怀，是我人生道路上的良师益友。作为研究生最重要的特质就是能够发现问题，并且通过自学等手段独立分析问题、解决问题。在这方面张老师是我的榜样，她在遇到问题时开放的思维方式，多学科知识的运用，较强的动手能力，是这三年中我能从她身上学到的最宝贵的财富。张老师平时亲和友善，乐于助人的为人处世方式也是我今后努力的方向。

同时我也要感谢我的师兄陈健华和师姐车贞花，他们也是把我带上科研道路的良师益友。还有师弟袁海涛、黄汝国和解越在科研和生活上都给了我很多的帮助和关怀，在此表示衷心的感谢。

最后，再次感谢所有帮助过我的老师、同学和我的家人朋友们！