

高浓度二氧化碳气调包装通过调节酚代谢抑制鲜切莲藕的酶促褐变

谢君¹, 代钰², 王宏勋^{1,3}, 易阳^{1,3}, 侯温甫^{1,3}, 艾有伟¹, 闵婷¹

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北武汉 430023) (2. 武汉食品化妆品检验所, 湖北武汉 430023)

(3. 湖北省生鲜食品工程技术研究中心, 湖北武汉 430023)

摘要: 鲜切莲藕褐变的主要原因是酶促褐变, 高浓度 CO₂ 气调包装 (Modified-atmosphere packaging, MAP) 可以有效延缓鲜切果蔬褐变, 而苯丙氨酸解氨酶 (L-phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase, PPO) 和过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 的编码基因是引起果蔬褐变的主要基因。然而, 高浓度 CO₂ MAP 对鲜切莲藕片 PAL、PPO、POD 酶及其编码基因表达的影响却鲜有报道。本文分析了 100% CO₂ MAP 对鲜切莲藕贮藏过程中褐变度、总酚含量、PAL、PPO 和 POD 酶活性及其编码基因表达的影响。结果表明: 100% CO₂ MAP 对延缓鲜切莲藕褐变有较好效果, 且 100% CO₂ MAP 贮藏期间鲜切莲藕 PAL、PPO 和 POD 酶活性随褐变程度的增加而同步变化。此外, *NnPAL1*, *NnPPOA* 和 *NnPOD2/3* 的表达变化与 PAL、PPO 和 POD 酶活性的变化及褐变相一致, 说明高浓度 CO₂ MAP 可能通过下调 *NnPAL1*, *NnPPOA* 和 *NnPOD2/3* 的表达来延缓鲜切莲藕褐变。

关键词: 苯丙氨酸解氨酶; 多酚氧化酶; 过氧化物酶; 基因表达

文章编号: 1673-9078(2018)07-168-174

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.7.025

High Concentration CO₂ Modified-atmosphere Packaging Inhibits Enzymatic Browning of Fresh-cut Lotus Root Slices by Regulating Phenolic Metabolism

XIE Jun¹, DAI Yu², WANG Hong-xun^{1,3}, YI Yang^{1,3}, HOU Wen-fu^{1,3}, AI You-wei¹, MIN Ting¹

(1.College of Food Science & Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)(2.Wuhan Institute Food and Cosmetic Control, Wuhan 430023, China)(3.Hubei Province Fresh Food Engineering Research Center, Wuhan 430023, China)

Abstract: The main causes of quality loss in fresh-cut lotus root is enzymatic browning, high concentrations of CO₂ MAP (Modified-atmosphere packaging) have been successfully developed to delay the browning of fresh-cut fruits and vegetables, and *PAL*(L-phenylalanine ammonia-lyase), *PPO*(Polyphenol oxidase)and *POD*(Peroxidase)genes were reported as being involved in lotus root browning. However, the effect of high concentration CO₂ MAP on PAL, PPO and POD enzymes and genes expression of fresh-cut lotus root slice has been rarely reported. This paper analyzed the effect of 100% CO₂MAP on browning, the phenolic content, PPO, PAL and POD enzyme activity and genes expression during fresh-cut lotus root slices storage. The results showed that 100% CO₂ MAP was effective in delaying browning of fresh-cut lotus root slices. The change of PAL, PPO and POD enzymatic activity occurred in parallel with the increases in browning degree during storage with 100% CO₂ MAP. Furthermore, the change in expression of *NnPAL1*, *NnPPOA* and *NnPOD2/3* occurred in parallel with the changes in PAL, PPO and POD enzyme activities and browning, which suggested that high concentration CO₂ MAP might delay fresh-cut lotus root slices browning by downregulating the expression of *NnPAL1*, *NnPPOA* and *NnPOD2/3*.

Key words: L-phenylalanine ammonia-lyase; polyphenol oxidase; peroxidase; gene expression

收稿日期: 2018-03-05

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2016YFD0400103-05)

作者简介: 谢君 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬采后品质生物学

通讯作者: 闵婷 (1987-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 果蔬采后品质生物学

莲藕 (*Nelumbonucifera* G.) 广泛种植在中国, 是全球最受欢迎的蔬菜之一^[1-3]。近来, 随着消费者生活方式的改变, 鲜切莲藕作为新型加工蔬菜受到越来越多的关注^[4,5]。然而, 鲜切产品质量下降的主要挑战是酶促褐变, 酶促褐变会影响感官和质量, 并限制了鲜切莲藕的保质期^[6-8]。因此, 了解如何延缓和防止酶促褐变是延长鲜切莲藕贮藏寿命的重要途径。

目前延缓鲜切果蔬褐变方法报道很多, 包括化学处理, 如有机酸^[9,10], 亚硫酸盐^[11], 过氧化氢^[12]和电解水^[13], 2,4-表油菜素内酯^[14]和物理处理, 如气调包装^[15], 热处理^[16]和低温储藏等^[17]。其中气调包装在保持果蔬天然质量和延长保质期效果明显^[18-21], 特别是高浓度的 CO₂ MAP^[8,22]。据报道, 100% CO₂ MAP 结合抗褐变处理和热处理延长鲜切莲藕保质期效果良好^[8]。邢等^[23]的研究结果表明, 化学浸渍, 肉桂油熏蒸和中度真空包装显著降低了鲜切莲藕褐变。

莲藕的褐变诱因主要表现为酶促褐变^[24]。其中 PAL 是苯丙烷类物质代谢中第一个关键酶, 负责合成酚类、木质素和花青素的前体物质, 其中形成的酚为果蔬酶促褐变反应提供底物^[25], PAL 基因参与鲜切果蔬的褐变已有报道。PPO 是植物体内普遍存在的一种氧化还原酶, 是引起果蔬酶促褐变最关键的酶之一^[26], PPO 作为果蔬酶促褐变关键基因已在较多果蔬中被分离鉴定, 包括甘薯和荔枝等。POD 是广泛存在于植物中的一种氧化还原酶, 在 H₂O₂ 存在的情况下, 能将酚类物质和类黄酮氧化聚合形成褐色物质参与果蔬酶促褐变^[27]。Xu 等研究发现蝴蝶兰中 PhPOD 基因上调是导致其组织培养中外植体褐变的主要原因^[28]。由此可见, PAL、PPO 和 POD 可能在果蔬褐变中起着重要作用。

前人研究报道了 PAL、PPO 和 POD 基因参与果蔬褐变^[15,29]。我们前期研究结果表明 *NnPAL1*, *NnPPOA*, *NnPOD1-6* 是高温诱导下鲜切莲藕褐变的候选基因^[17]。然而, 高浓度 CO₂ MAP 对鲜切莲藕 PAL、PPO 和 POD 酶及其编码基因的影响鲜有报道。为了进一步阐明高浓度 CO₂ MAP 抑制鲜切莲藕酶促褐变的机理, 本研究采用高浓度 CO₂ MAP 对鲜切莲藕在贮藏过程中褐变度, 总酚含量, PAL、PPO 和 POD 酶活性及基因进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜莲藕 (鄂莲五号), 采于武汉汉口北四季美农贸批发市场。

磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、乙醇、福林酚、无水碳酸钠、没食子酸、邻苯二酚、愈创木酚、H₂O₂、聚乙二醇 6000、聚乙烯吡咯烷酮, 国药集团化学试剂有限公司; Triton X-100, biosharp 生物科技有限公司; 苯丙氨酸解氨酶测定试剂盒, 南京建成科技有限公司。

cDNA 合成试剂盒、Ssofast 反应试剂盒, 美国伯乐; 50×TAE, GBC 生物科技有限公司; TaKaRaExTap 酶反应试剂盒, TaKaRa 胶回收试剂盒, DH5 α , TaKaRa 生物有限公司; 琼脂糖凝胶, BIOWEST 生物技术有限公司; 亚精胺、Agar、DEPC、氨苄青霉素, biosharp 生物科技有限公司; 去除 DNA 试剂盒, 美国 Thermo; LB 培养基, Sangon 生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

CP214 (C) 型电子天平, 上海奥豪斯仪器有限公司; V-1100D 紫外分光光度计, 上海美普达仪器有限公司; GL-20G-II 离心机, 上海安亭科学仪器厂; IMS-20 雪科制冰机, 常熟市雪科电器有限公司; XHF-D 高速分散器, 宁波新芝生物科技股份有限公司; HH-S2 数显恒温水浴锅, 金坛市医疗仪器厂; DHG-9123A 电热鼓风干燥箱、DHP-9082 型电热恒温培养箱, 上海恒一科学仪器有限公司; HYC-326A 医用冷藏箱, 青岛海尔特种电器有限公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; A360 型紫外可见分光光度计, 翱艺仪器 (上海) 有限公司; 气调包装机成套设备, 上海福帝包装机械有限公司; FHW-450 型保鲜膜封接机, 浙江江南实业有限公司; MIR-154 型低温贮藏箱, 日本三洋。DYCP-31DN 电泳仪, 北京市六一仪器厂; SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台, 苏州净化; T100 TM Thermal Cycler PCR 仪, 美国伯乐; CFX96 荧光 PCR 仪, 美国伯乐; 凝胶成像系统, 美国伯乐。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理

莲藕 (鄂莲五号) 从商业池塘 (汉口北, 武汉) 购买, 然后运送到实验室。莲藕的尺寸和地面颜色均匀, 并且没有缺陷和机械损伤。处理前, 莲藕在 4 °C 保存 24 h。用自来水冲洗莲藕以除去土壤并去皮。然后使用锋利的不锈钢刀将它们沿着莲藕的横截面切成 5 mm 厚的切片。转入清水中浸泡 2 min 后, 将这些鲜切莲藕切片用滤纸吸干水分, 进行不同 MAP (100% CO₂ 和空气), 每盒两片, 分别转入冰箱 (4 °C, 20 °C) 中。

所有处理均进行三次重复。样品在液氮中冷冻,

储存于-80℃进一步使用。

1.3.2 褐变度的测定

参考以前的文献测定褐变度^[17], 4℃下, 用30 mL 蒸馏水将3.0 g 肉组织匀浆, 在4℃下以10,000 g 离心5 min。收集上清液, 在25℃水浴中保温5 min。使用分光光度计在410 nm 测量吸光度, 褐变度表示为 $A_{410} \times 10$ 。

1.3.3 总酚含量的测定

参考以前的文献测定总酚含量^[17], 将3.0 g 新鲜的肉组织样品用30 mL 的60%乙醇匀浆, 并以10,000 r/min 离心5 min。将上清液(10 mL)用40 mL 60%乙醇稀释以进行下一次测量。将0.125 mL 溶液和0.625 mL 蒸馏水混合, 然后加入0.125 mL 福林酚试剂。充分混合后, 将混合物在室温下静置3 min, 然后加1.25 mL 7%NaCO₃ 和1.0 mL 蒸馏水H₂O。在25℃水浴中避光静置90 min 后, 使用分光光度计测量在760 nm 处的吸光度。使用没食子酸的标准曲线来量化总酚含量。结果表示为没食子酸当量/kg 鲜重(mg/kg)。

1.3.4 PAL、PPO 和 POD 酶活性的测定

PAL、PPO 和 POD 酶的提取和活性测定按照以前的文献所述进行^[17]。通过分光光度法将 PAL 酶活性单位(U) 定义为每克鲜重每分钟吸光度值在290 nm 变化0.1 所需的酶量。一个单位(U) 的 PPO 活性被定义为在420 nm 处每分钟引起吸光度改变0.001 所需的酶量。用分光光度法将 POD 酶活性单位(U) 定义为在470 nm 每分钟引起吸光度改变0.01 所需的酶量。

1.3.5 RNA 提取和 cDNA 合成

根据以前的文献制备总 RNA。TURBO Dnase (Ambion) 被用于去除总 RNA 中污染的基因组 DNA 的痕迹。用 iScript cDNA 合成试剂盒(Bio-Rad) 进行 cDNA 合成^[30]。

1.3.6 实时定量 PCR

Min 等文献描述了用于 PCR 分析的寡核苷酸引物。根据以前的文献使用 SsofastEvaGreenSupermix 试剂盒(Bio-Rad) 和 CFX96 荧光 PCR 进行实时 PCR 以进行基因表达研究^[17]。

1.3.7 数据分析

使用 Origin 8.0 软件绘制图片; 使用 DPS7.05 软件进行最小显著性差异(LSD)分析。

2 结果与分析

2.1 褐变度

不同的 MAP (100% CO₂ 和空气) 用于鲜切莲藕切片贮藏研究。研究结果表明两种 MAP 在整个储存

期间促进了不同程度的褐变(图1)。相比于对照, 100% CO₂ MAP 鲜切莲藕的褐变明显延缓, 褐变度(BD) 仅从0.260 增加到0.346, 而在贮藏35 d 后的空气对照中, 褐变程度(BD) 到0.460。

BD 作为果蔬褐变的主要指标用于评价其褐变情况。通过测定褐变度发现 100%CO₂ MAP 的褐变度值明显低于对照。因此, 这一结果进一步证明了高浓度 CO₂ 能有效延缓鲜切莲藕褐变进程^[8]。

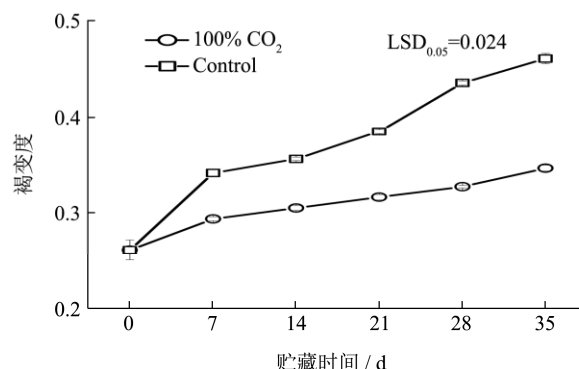


图1 不同气调包装4℃贮藏鲜切莲藕褐变度

Fig.1 BD value of modified atmosphere packaging fresh-cut lotus roots in 4℃

2.2 总酚含量

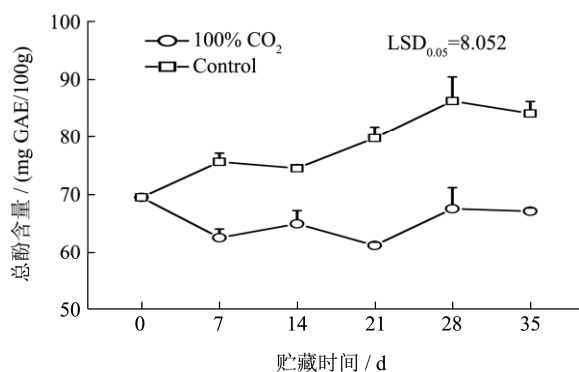


图2 不同气调包装4℃贮藏鲜切莲藕总酚含量

Fig.2 Total phenol content of modified atmosphere packaging fresh-cut lotus roots in 4℃

如图2所示不同的 MAP 对贮藏期间鲜切莲藕总酚含量的影响明显不同。100%CO₂MAP 的样品中总酚含量没有明显变化, 从第0 d 的69.491 mg/kg 到第35 d 的67.101 mg/kg。但是空气组增长较快, 从第0 d 的69.491 mg/kg 增加到第35 d 的84.050 mg/kg。结果表明, 高浓度的 CO₂MAP 在贮藏期间延缓了总酚含量的增加, 这与前期研究结果相一致^[17]。

2.3 PAL、PPO 和 POD 活性

如图3所示, 贮藏期间两种不同 MAP 对 PAL、PPO 和 POD 酶活性的影响均明显不同。两种不同

MAP 样品的 PAL 活性显示出不同程度的增加,从初始值为 5.363 U/g 至第 35 d 分别为 100%CO₂ 组的 11.418 U/g 和空气组的 17.473 U/g。其中 100%CO₂MAP 的样品 PAL 活性显示较慢的增长。

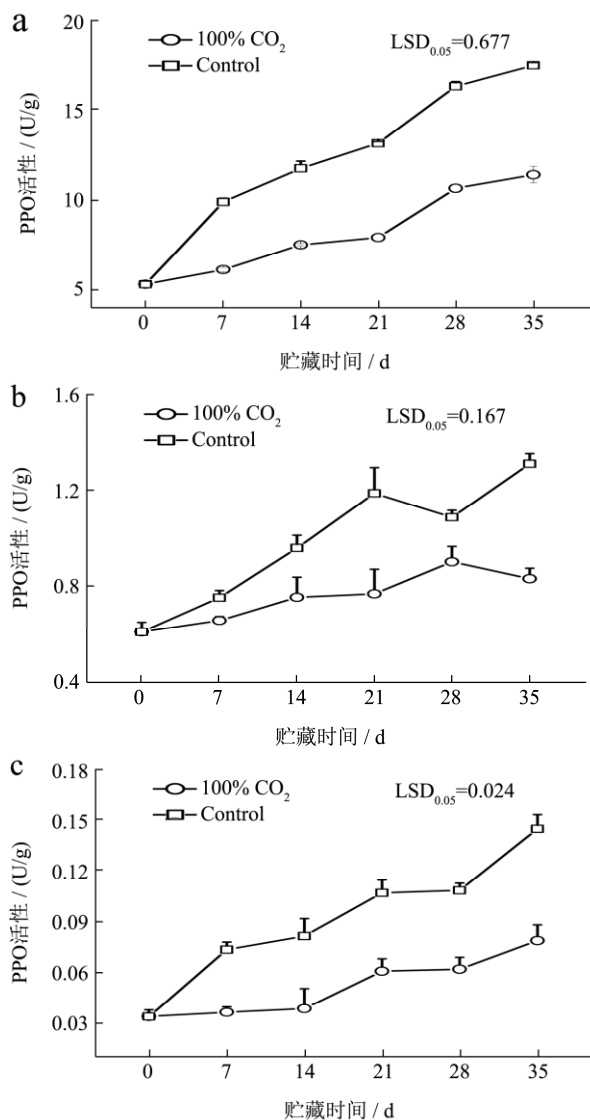


图3 不同气调包装 4 °C 贮藏鲜切莲藕 PAL、PPO 和 POD 酶活性

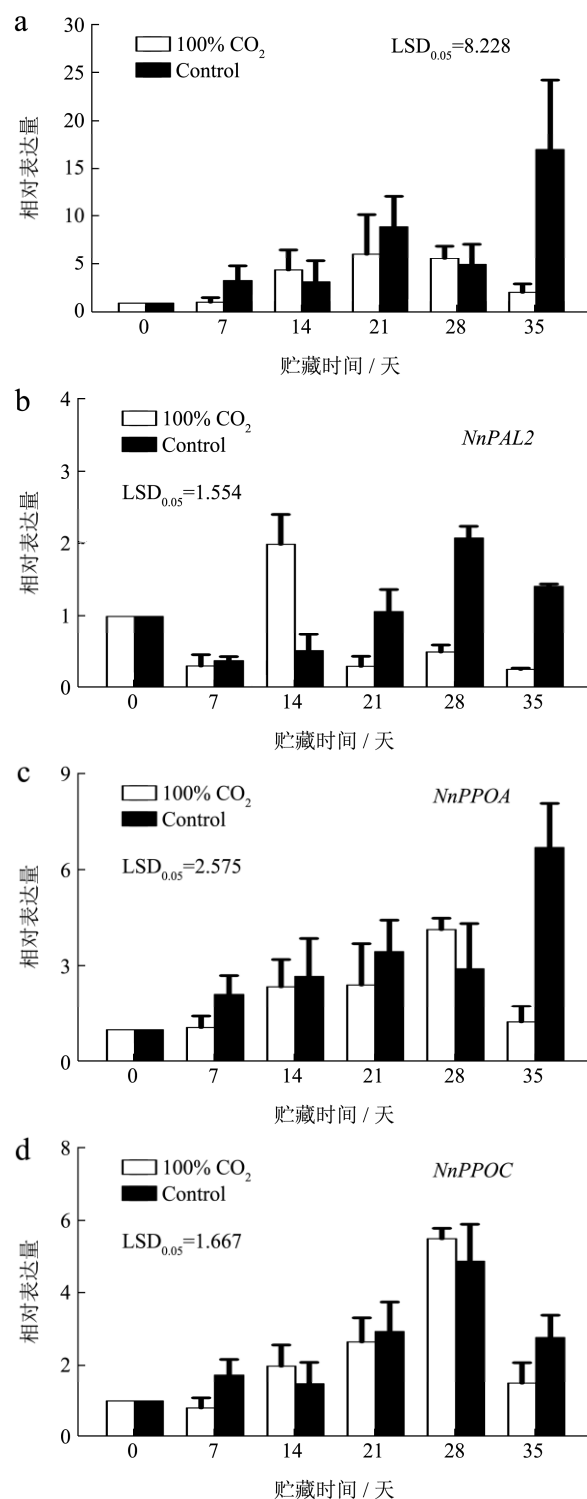
Fig.3 PAL, PPO and POD activity of modified atmosphere packaging fresh-cut lotus roots in 4 °C

与 PAL 类似,两种不同 MAP 中样品的 PPO 活性显示不同程度的增加,从初始值为 0.611 U/g 至第 35 d 分别为 100%CO₂ 组的 0.833 U/g 和空气组的 1.311 U/g。在整个贮藏期间,100%CO₂ 组样品的 PPO 活性增加缓慢。100%CO₂ 样品的 POD 活性显示出轻微的变化,并保持较低的值,从第 0 d 的 0.034 U/g 到第 35 d 的 0.078 U/g。然而,空气组中的 POD 活性迅速增加,从 0.034 U/g 至第 35 d 的 0.144 U/g。与空气组对比,在整个贮藏期间,100% CO₂ 组样品的 POD 活性增加较为缓慢。

前人研究报道了 PAL, PPO 和 POD 参与了鲜切

莲藕的酶促褐变^[18,31]。通过分析两种不同 MAP 条件下 PAL, PPO 和 POD 酶活性的变化。结果表明在 100% CO₂ 组的样品中, PAL, PPO 和 POD 活性的与贮藏过程中鲜切莲藕的褐变程度相一致,这一结果与前人报道相一致^[32~34]。然而,也有一些不同的观点, Gao 等^[5]人发现 100% O₂ 处理的鲜切莲藕,其 PPO 活性最低,其褐变抑制效果最好,这可能是由于品种的差异所致。

2.4 NnPAL、NnPPO 和 NnPOD 基因表达



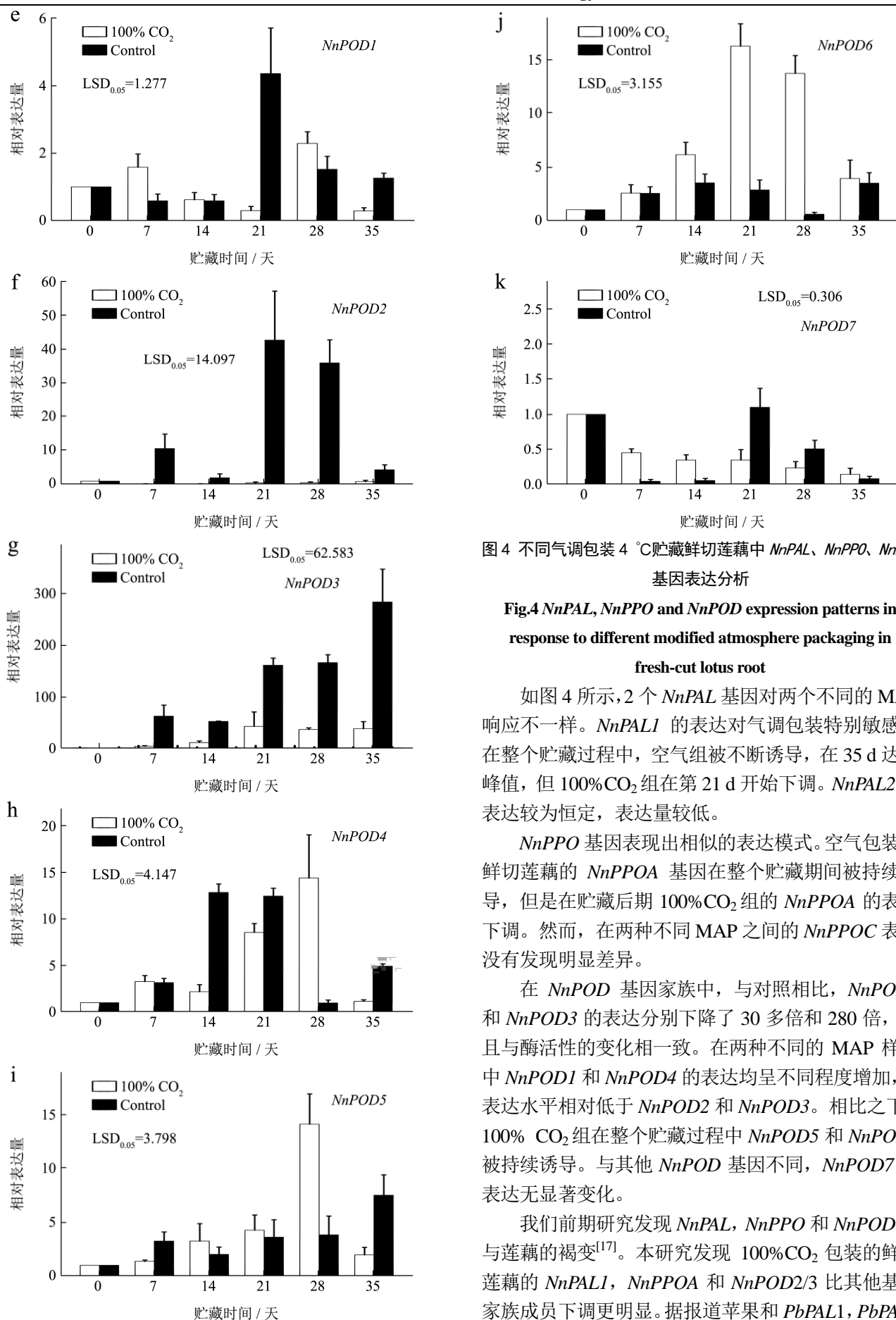


图4 不同气调包装 4 °C 贮藏鲜切莲藕中 *NnPAL*、*NnPPO*、*NnPOD* 基因表达分析

Fig.4 *NnPAL*, *NnPPO* and *NnPOD* expression patterns in response to different modified atmosphere packaging in fresh-cut lotus root

如图4所示,2个 *NnPAL* 基因对两个不同的 MAP 响应不一样。*NnPAL1* 的表达对气调包装特别敏感,在整个贮藏过程中,空气组被不断诱导,在 35 d 达到峰值,但 100%CO₂ 组在第 21 d 开始下调。*NnPAL2* 的表达较为恒定,表达量较低。

NnPPO 基因表现出相似的表达模式。空气包装的鲜切莲藕的 *NnPPOA* 基因在整个贮藏期间被持续诱导,但是在贮藏后期 100%CO₂ 组的 *NnPPOA* 的表达下调。然而,在两种不同 MAP 之间的 *NnPPOC* 表达没有发现明显差异。

在 *NnPOD* 基因家族中,与对照相比, *NnPOD2* 和 *NnPOD3* 的表达分别下降了 30 多倍和 280 倍,并且与酶活性的变化相一致。在两种不同的 MAP 样品中 *NnPOD1* 和 *NnPOD4* 的表达均呈不同程度增加,其表达水平相对低于 *NnPOD2* 和 *NnPOD3*。相比之下,100% CO₂ 组在整个贮藏过程中 *NnPOD5* 和 *NnPOD6* 被持续诱导。与其他 *NnPOD* 基因不同, *NnPOD7* 的表达无显著变化。

我们前期研究发现 *NnPAL*, *NnPPO* 和 *NnPOD* 参与莲藕的褐变^[17]。本研究发现 100%CO₂ 包装的鲜切莲藕的 *NnPAL1*, *NnPPOA* 和 *NnPOD2/3* 比其他基因家族成员下调更明显。据报道苹果和 *PbPAL1*, *PbPAL2*

和 *PbPPO1* 的梨中 *Md-PPO* 参与了组织褐变, 其表达模式与高浓度 CO_2 MAP 的表达模式相似^[15,35]。此外, *NnPAL1*, *NnPPOA* 和 *NnPOD2/3* 的表达变化与 PAL, PPO 和 POD 酶活性的变化并行发生。然而, 我们前期的研究发现在高温下 *NnPAL1*, *NnPPOA* 和 *NnPOD1-6* 的上调与新鲜莲藕褐变度的增加相一致^[17]。综合前期报道和目前结果, *NnPAL1*, *NnPPOA* 和 *NnPOD2/3* 被认为是鲜切莲藕褐变的重要候选基因, 有待进一步的功能分析。

3 结论

综上所述, 本研究分析了两种不同 MAP 对鲜切莲藕的褐变度, 总酚含量, PAL, PPO 和 POD 酶活性及其编码基因表达的影响。结果表明, 100% CO_2 MAP 对延缓鲜切莲藕褐变效果明显。PAL, PPO 和 POD 酶活性的变化与 100% CO_2 MAP 贮藏的褐变程度相一致。此外, *NnPAL1*, *NnPPOA* 和 *NnPOD2/3* 的表达变化与 PAL, PPO 和 POD 酶活性的变化以及褐变度相一致, 说明高浓度 CO_2 MAP 可能通过下调 *NnPAL1*, *NnPPOA* 和 *NnPOD2/3* 的表达延缓鲜切莲藕褐变进程。

参考文献

- [1] GUO H B. Cultivation of lotus (*Nelumbonucifera*, Gaertn. ssp. *nucifera*) and its utilization in China [J]. Genetic Resources & Crop Evolution, 2009, 56(3): 323-330
- [2] DU J, FU Y, WANG N. Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on browning of fresh-cut lotus root [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42(2): 654-659.
- [3] LI S, LI X, LAMIKANRA O, et al. Effect of cooking on physicochemical properties and volatile compounds in lotus root (*Nelumbonucifera Gaertn*) [J]. Food Chemistry, 2017, 216(20): 316
- [4] Bhandari B. Recent application of modified atmosphere packaging (MAP) in fresh and fresh-cut foods [J]. Food Reviews International, 2015, 31(2): 172-193.
- [5] GAO H, SUN J L, GAO Y J, et al. Effect of modified atmosphere packaging on preservation of fresh-cut lotus roots [J]. Food Science, 2008, 29(10): 612-614
- [6] Eissa H A, Hhm F, Ibrahim G E, et al. Thiol containing compounds as controlling agents of enzymatic browning in some apple products [J]. Food Research International, 2006, 39(8): 855-863
- [7] Toivonen M A, Delaquis P. Low-volume sprays to treat fresh-sliced apples with anti-browning solution [J]. Horttechnology, 2006, 16(2): 257
- [8] Son J, Hyun J E, Lee J W, et al. Combined application of antibrowning, heat treatment and modified-atmosphere packaging to extend the shelf life of fresh-cut lotus root [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(6): C1178-C1187
- [9] LU S, LUO Y, TUMER E, et al. Efficacy of sodium chlorite as an inhibitor of enzymatic browning in apple slices [J]. Food Chemistry, 2007, 104(2): 824-829
- [10] KWON S Y, BAEK H H. Effects of temperature, pH, organic acids, and sulfites on tagatose browning in solutions during processing and storage [J]. Food Science & Biotechnology, 2014, 23(3): 677-684
- [11] Casado F J, Sanchez A H, Beato V M, et al. Effect of sulfites and sorbates on the preservation and color of pickled blanched garlic under different storage conditions [J]. Journal of Food Processing & Preservation, 2014, 38(3): 905-911
- [12] PENG L, YANG S, LI Q, et al. Hydrogen peroxide treatments inhibit the browning of fresh-cut Chinese water chestnut [J]. Postharvest Biology & Technology, 2008, 47(2): 260-266
- [13] KIM M J, HUNG Y. Effect of alkaline electrolyzed water as an inhibitor of enzymatic browning in red delicious apples [J]. Journal of Food Biochemistry, 2015, 38(6): 542-550
- [14] GAO H, CHAI H, CHENG N, et al. Effects of 24-epibrassinolide on enzymatic browning and antioxidant activity of fresh-cut lotus root slices [J]. Food Chemistry, 2017, 217(15): 45-51
- [15] CHENG Y, LIU L, ZHAO G, et al. The effects of modified atmosphere packaging on core browning and the expression patterns of PPO, and PAL, genes in 'Yali' pears during cold storage [J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 60(2): 1243-1248
- [16] Tsouvaltzis P, Deltsidis A, Brecht J K. Hot water treatment and pre-processing storage reduce browning development in fresh-cut potato slices [J]. Hortscience A Publication of the American Society for Horticultural Science, 2011, 46(9): 1282-1286
- [17] MIN T, XIE J, ZHENG M, et al. The effect of different temperatures on browning incidence and phenol compound metabolism in fresh-cut lotus (*Nelumbonucifera*, G.) root [J]. Postharvest Biology & Technology, 2017, 123(1): 69-76
- [18] SOLIVA R C. Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2004, 5(2): 215-224

- [19] Somboonkaew N, Terry L A. Physiological and biochemical profiles of imported litchi fruit under modified atmosphere packaging [J]. Postharvest Biology & Technology, 2010, 56(3): 246-253
- [20] Oliveira M, Abadias M, Usall J, et al. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables-A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 46(1): 13-26
- [21] BELAY Z A, CALEB O J, OPARA U L. Modelling approaches for designing and evaluating the performance of modified atmosphere packaging (MAP) systems for fresh produce: A review [J]. Food Packaging & Shelf Life, 2016, 10(12): 1-15
- [22] LI T, ZHANG M. Effects of modified atmosphere package (MAP) with a silicon gum film window on the quality of stored green asparagus (*Asparagus officinalis*, L) spears [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(2): 1046-1053
- [23] XING Y, LI X, XU Q, et al. Extending The shelf life of fresh-cut lotus root with antibrowning agents, cinnamon oil fumigation and moderate vacuum packaging [J]. Journal of Food Process Engineering, 2012, 35(4): 505-521
- [24] 王清章,刘怀超,孙颀.莲藕贮藏中褐变度及多酚氧化酶活性的初步研究[J].中国蔬菜,1997,1(3):4-6
- WANG Qing-zhang, LIU Huai-chao, SUN J. A preliminary study on the browning degree and polyphenol oxidase activity in lotus root storage [J]. Chinese Vegetables, 1997, 1(3): 4-6
- [25] 程水源,陈昆松,刘卫红,等.植物苯丙氨酸解氨酶基因的表达调控与研究展望[J].果树学报,2003,20(5):351-357
- CHENG Shui-yuan, CHEN Kun-song, LIU Wei-hong, et al. Regulation and prospect of plant phenylalanine ammoniase gene expression [J]. Journal of Fruit Trees, 2003, 20(5): 351-357
- [26] Christiane Q, Marialuciamendes L, Eliane F, et al. Polyphenol oxidase: characteristics and mechanisms of browning control [J]. Food Reviews International, 2008, 24(4): 361-375
- [27] Venkatachalam K, Meenune M. Changes in physiochemical quality and browning related enzyme activity of longkong fruit during four different weeks of on-tree maturation [J]. Food Chemistry, 2012, 131(4): 1437-1442
- [28] Xu C, Sun X, Chen D, et al. Cloning and characterization of peroxidase gene in Phalaenopsis [J]. Pakistan Journal of Botany, 2011, 43(4): 2161-2167
- [29] Banerjee A, Suprasanna P, Variyar P S, et al. Gamma irradiation inhibits wound induced browning in shreddedcabbage [J]. Food Chemistry, 2015, 173(15): 38-44
- [30] MIN T, WANG M M, WANG H, et al. Isolation and expression of NAC genes during persimmon fruit postharvest astringency removal [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(1): 1894-906
- [31] HU J, YANG L, WU W, et al. Slicing increases antioxidant capacity of fresh-cut lotus root (*Nelumbonucifera* G.) slices by accumulating total phenols [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2015, 49(11): 2418-2424
- [32] Duan X, Xinguo S U, Shi J, et al. Effect of low and high oxygen- controlled atmospheres on enzymatic browning of litchi fruit [J]. Journal of Food Biochemistry, 2009, 33(4): 572-586
- [33] DONG T, SHI J, JIANG C Z, et al. A short-term carbon dioxide treatment inhibits the browning of fresh-cut burdock [J]. Postharvest Biology & Technology, 2015, 110(12): 96-102
- [34] GUO H, SUN Y, LI Y, et al. Elevated CO₂ decreases the response of the ethylene signaling pathway in *Medicago truncatula* and increases the abundance of the pea aphid [J]. New Phytologist, 2014, 201(1): 279
- [35] Di G M, Tadiello A, Farneti B, et al. A multidisciplinary approach providing new insight into fruit flesh browning physiology in apple (*Malus domestica* Borkh.) [J]. Plos One, 2014, 9(1): 65-65