

不同钙处理对采后草莓果实细胞壁酶活性、果胶含量的影响

张进献¹, 李冬杰², 张广华³, 李青云³, 葛会波¹

(1. 河北省林业局, 石家庄 050051; 2 河北科技大学, 石家庄 050051; 3 河北农业大学, 保定 071001)

摘要: 采后钙处理可有效地降低草莓果实中 Cx - cellulase、PG、 β - Gal 的活性, 抑制原果胶的降解和水溶性果胶的产生, 延缓细胞壁的水解。5% CaCl₂ + 100 mg/L GA₃ + 1.2% 壳聚糖浸果比其它处理效果更为明显。

关键词: 草莓果实; 钙处理; 细胞壁酶活性; 果胶含量

中图分类号: S668.4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001 - 0009(2006)02 - 0024 - 03

草莓果实柔软多汁, 果皮薄, 耐贮运能力极差, 鲜食市场的柜台寿命短, 仅 1~2d。且在收获和运输中容易受伤、破损, 遭受微生物侵染, 导致腐烂变质。揭示草莓果实软化机理并提出调控措施, 已经成为当前草莓生产中急需解决的重要课题。许多研究结果表明, 钙处理能够抑制采后果实细胞壁酶活性, 使非水溶性果胶物质的降解速度变慢, 有效地延缓果实衰老而达到保鲜目的^[10, 11]。现报道不同钙处理对采后草莓果实细胞壁酶活性、果胶含量的影响。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

供试草莓品种为“丰香”和“全明星”, 成熟果实采自河北农业大学标本园, 日光温室栽培。果实采收后立即送实验室做进一步挑选, 去除破损和病害果, 水洗风干。取大小均匀、成熟度一致成熟果实, 分别进行如下 3 种处理: ① 5% Ca(NO₃)₃ + 100mg/LGA₃; ② 5% CaCl₂ + 100mg/LGA₃; ③ 5% CaCl₂ + 100mg/LGA₃ + 1.2% 壳聚糖, 浸果 5min, 以不浸果为对照(CK), 置室温下进行贮藏试验, 4 次重复, 每个重复 20 个果实。逐日每种随机取样 10 个果实, 液氮速冻, -70℃ 保存。样品用于测定细胞壁酶活性和果胶含量等生理指标。

1.2 测定方法

称取去掉果皮的果肉 3g, 加 10ml 40mmol/L NaAc 缓冲液(pH5.2 含 100mmol/LNaCl、2% 巯基乙醇、5% PVP), 冰浴匀浆, 20000×g(-2℃)离心 20min, 上清液用于 Cx - cellulase、PG、 β - Gal 活性测定。PME 酶液提取用预冷的 8.8% NaCl 代替 NaAc 缓冲液, 其余步骤同上述。PG、Cx - cellulase、 β - Gal 活性测定参照 Andrews 等^[1, 2]方法。PME 活性测定参照 Hagerman^[4]的方法。

称取去果皮的果肉 30g, 切成薄片, 置 99% 乙醇中水浴沸腾回流 15 分钟, 70% 热乙醇反复冲洗, 布氏过滤, 残渣用 99% 乙醇洗涤脱水, 再用乙醚洗涤, 风干, 即得醇不溶性物质(AIS)。取 0.1g AIS 移入 150mL 蒸馏水中, 加热并保持沸腾 1h, 冷却后定容到 250mL, 过滤, 滤液即为水溶性果胶(WP)提取液。另取 0.1g AIS 移入加热至沸的 150mL 0.05 mol/L 盐酸溶液沸水浴回流 1 小时, 冷却后用 0.05 mol/L NaOH 中和, 定容到 250mL, 过滤, 滤液即为总果胶(TP)提取液。提取液中的半乳糖醛酸用咔唑显色, Beckman DU600 型分光光度 530nm 测定吸光值。

2 结果与分析

2.1 细胞壁酶的变化

2.1.1 纤维素酶(Cx - cellulase) 由表 1 可见, 采后处理抑

表 1 采后处理对草莓果实 Cx - cellulase 活性的影响 (U/gFW)

处理	丰香			全明星			
	采收日	贮 2d	贮 4d	采收日	贮 2d	贮 4d	贮 6d
1	49.049 a	67.302 ab	89.043 ab	44.492 a	42.953 ab	46.205 b	68.288 a
2	49.049 a	60.505 b	74.639 b	44.492 a	32.448 b	49.745 ab	56.650 b
3	49.049 a	60.192 b	80.658 b	44.492 a	34.394 b	43.348 b	54.673 b
CK	49.049 a	71.856 a	93.019 a	44.492 a	47.283 a	58.928 a	69.882 a

注: 1 为 5%Ca(NO₃)₃ + 100 mg/LGA₃; 2 为 5%CaCl₂ + 100 mg/LGA₃; 3 为 5%CaCl₂ + 1.2%壳聚糖 + 100mg/LGA₃; CK 为对照。同一行不相同字母表示在 P<0.05 水平差异显著。

制了果实软化过程中 Cx - cellulase 活性上升, 用 5% Ca(NO₃)₃ + 100 mg/LGA₃ 处理草莓两品种, Cx - cellulase 活性与对照相比, 在 P<0.05 水平上几乎没有显著性差异。用

100mg/LGA₃ 处理草莓两品种, Cx - cellulase 活性与对照相比, 在 P<0.05 水平上存有显著性差异。

2.1.2 多聚半乳糖醛酸酶(PG) 表 2 结果表明, 5% CaCl₂ + 1.2%壳聚糖 + 100mg/LGA₃ 处理的果实, 在软化后期 PG 活性显著低于对照(P<0.05)。另外两种处理也能够使 PG

收稿日期: 2005 - 11 - 10

表 2 采后处理对草莓果实 PG 活性的影响 (U/gFW)

处理	丰香			全明星			
	采收日	贮 2d	贮 4d	采收日	贮 2d	贮 4d	贮 6d
1	2.507 a	2.911 a	2.753 ab	2.181 a	2.450 a	2.675 a	2.468 ab
2	2.507 a	2.859 a	2.583 b	2.181 a	2.396 a	2.432 ab	2.328 ab
3	2.507 a	2.775 a	2.604 b	2.181 a	2.413 a	2.224 b	2.137 b
CK	2.507 a	3.024 a	2.906 a	2.181 a	2.487 a	2.603 a	2.531 a

注: 表注同表 1。
活性有不同程度降低。说明采后处理降低了 PG 活性, 尤以软化后期效果更明显。

2. 1.3 果胶甲酯酶(PME) 表 3 所示, 采后处理的果实, 各时期 PME 活性均未显著低于对照 (P< 0. 05), 相反 5% Ca (NO)₃+ 100 mg/LGA₃ 处理的“全明星”在贮 2d、贮 4d 酶活性还稍高于对照。表明采后处理对 PME 活性影响不大。

表 3 采后处理对草莓果实 PME 活性的影响 (U/gFW)

处理	丰香			全明星			
	采收日	贮 2d	贮 4d	采收日	贮 2d	贮 4d	贮 6d
1	1.964 a	2.206 a	2.055 a	2.181 a	2.268 a	2.657 a	2.702 a
2	1.964 a	2.136 a	2.087 a	2.181 a	2.313 a	2.482 a	2.598 a
3	1.964 a	2.081 a	2.187 a	2.181 a	2.324 a	2.593 a	2.607 a
CK	1.964 a	2.218 a	2.101 a	2.187 a	2.385 a	2.531 a	2.471 a

注: 表注同表 1。
2. 1.4 β-半乳糖苷酶(β-Gal) 由表 4 可得, 三种处理均抑制了果实软化后期β-Gal 活性的上升, 除“全明星”贮 2d 外, 其它各时期酶活性都显著 (P< 0. 05) 低于对照。

表 4 采后处理对草莓果实β-Gal 活性的影响 (U/gFW)

处理	丰香			全明星			
	采收日	贮 2d	贮 4d	采收日	贮 2d	贮 4d	贮 6d
	采收日	贮 2d	贮 4d	采收日	贮 2d	贮 4d	贮 6d
1	15.264 a	13.611 b	14.753 c	13.761 a	15.098 ab	14.897 b	14.011 b
2	15.264 a	12.381 b	11.338 b	13.761 a	14.141 b	15.290 b	13.389 b
3	15.264 a	13.050 b	12.861 b	13.761 a	14.030 b	14.798 b	14.243 b
CK	15.264 a	15.773 a	15.765 a	13.761 a	16.041 a	17.016 a	16.875 a

注: 表注同表 1。
2. 2 果胶物质的变化
2. 2. 1 总果胶 三种采后处理使“丰香”总果胶比对照提高 2. 35%~14. 60%, “全明星”也较对照高 6. 81%~11. 51%, 表明采后处理有利于草莓果实中总果胶含量的增加, 但与对照未达显著性差异 (P< 0. 05)。其中 5%CaCl₂+ 1. 2%壳聚糖+ 100mg/LGA₃ 对“丰香”的效果稍好于其它处理, 5%CaCl₂+ 100mg/LGA₃ 对“全明星”效果更明显。
2. 2. 2 原果胶 图 3 所示, 采后处理提高了果实中原果胶

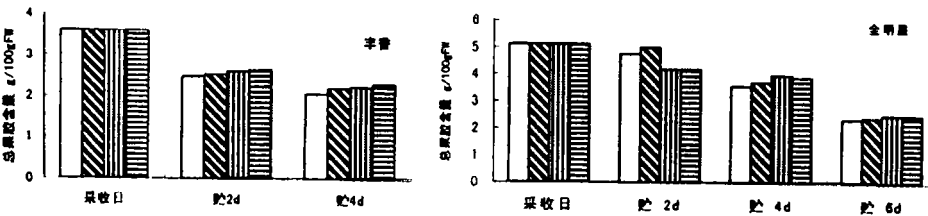


图 1 采样时期

的含量。“丰香”原果胶绝对含量是对照的 1. 16~2. 63 倍, 相对含量为 1. 13~2. 42 倍; “全明星”绝对含量为对照的 1. 05~1. 72 倍, 相对含量是 1. 02~1. 61 倍。5%CaCl₂+ 1. 2%壳聚糖+ 100mg/LGA₃ 和 5%CaCl₂+ 100mg/LGA₃ 两种处理在“丰香”贮 4d 和“全明星”4d、6d 原果胶绝对含量和相对含量均显著 (P< 0. 05) 高于对照。也说明采后处理对抑制果实软化后期的原果胶水解更为有效。
2. 2. 3 水溶性果胶 图 4 可以看出, 采后处理能够使果实中水溶性果胶含量有所下降, 但与对照差异不明显 (P< 0. 05)。
综合比较: 5%CaCl₂+ 1. 2%壳聚糖+ 100mg/LGA₃ 对控制草莓果实采后软化比 5%CaCl₂+ 100mg/LGA₃、5%Ca (NO)₃+ 100 mg/LGA₃ 效果更明显。

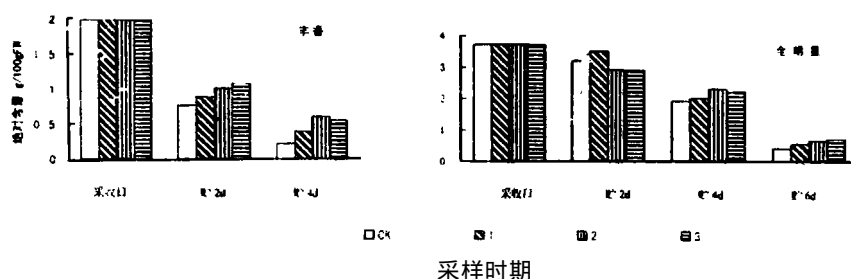


图2 采后处理对草莓果实中原果胶含量的影响

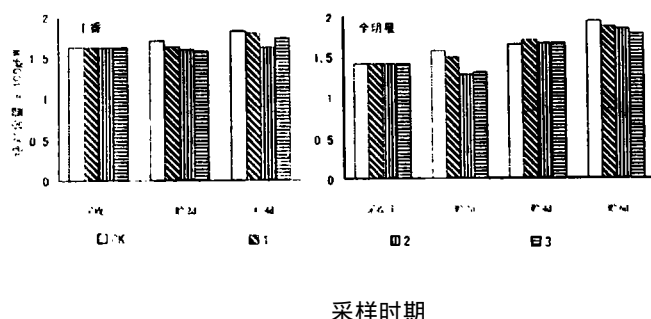


图3 采后处理对草莓果实中水溶性果胶含量的影响

3 讨论

本试验结果表明, 采用 5% $\text{CaCl}_2 + 100\text{mg/LGA}_3 + 1.2\%$ 壳聚糖、5% $\text{CaCl}_2 + 100\text{mg/LGA}_3$ 和 5% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 100\text{mg/LGA}_3$ 浸果, 能够降低果实中 Cx-cellulase 、 PG 、 $\beta\text{-Gal}$ 活性, 抑制了原果胶水解和水溶性果胶含量增加, 限制了细胞壁的水解, 减缓了果实软化进程, 与王贵禧^[10,11] 和王仁才^[12] 在猕猴桃上的结果相符合。综合比较 5% $\text{CaCl}_2 + 100\text{mg/LGA}_3 + 1.2\%$ 壳聚糖比其它处理效果更为明显。其原因: 一是钙能够抑制多种细胞壁酶活性, 限制细胞壁酶对果实软化的影响^[11]; 外源钙还参与细胞壁的形成, 增加果实细胞壁 Ca^{2+} 含量和盐桥数量, 增加原果胶的聚合度^[3], 可明显抑制中胶层过早的溶解, 维持细胞壁结构的完整性^[6]。二是 GA_3 能降低与果实有关水解酶的活性, 延缓后熟, 提高果实抗腐烂能力, 并保持其贮藏品质^[8]; GA_3 还能促进钙的吸收^[9]。三是壳聚糖能够在果实表面上形成半透性保护膜, 阻止了高浓度 O_2 的进入, 抑制了果实的呼吸作用, 减少了水分和营养的损耗^[7]。三者的共同作用, 延缓了草莓果实的软化衰老。采后处理对 PME 活性影响不明显, 可能与草莓果实中果胶甲酯化程度不高有关。

试验还测得, 采后处理较强的抑制 Cx-cellulase 活性的升高。迄今, 未见钙和 GA_3 与细胞壁半纤维结构直接相关的报道。本研究结果可能是采后处理提高了草莓果实中果胶的聚合度, 限制了 PG 对中胶层的水解, 使细胞壁的网状结构松懈延迟, 阻止了 Cx-cellulase 进入, 减少了酶与底物的接触, 进而反馈抑制了 Cx-cellulase 活性的升高^[5]。

参考文献:

[1] Andrews P. K and Shulin Li. Cell wall hydrolytic enzyme ac

tivity during development of nonclimacteric sweet cherry (*Prunus avium* L) fruit[J]. Hort. Sci., 1995, 70 (4): 561 ~ 566

[2] Andrews P. K and Shulin Li. Partial purification and characterization of $\beta\text{-D-galactosidase}$ from sweet cherry, a nonclimacteric fruit[J]. Agric. Food Chem., 1994, 42: 2177~2182

[3] Conway WS, Sams CE, and Tobias RB. Reduction of storage decay in apples by postharvest calcium infiltration[J]. Acta Hort., 1993, 326: 115~121.

[4] Hageman A E and Austin P J. Continuous spectrophotometric assay for plant pectinmethylesterase[J]. Agric. Food. Chem., 1986, 34(3): 440~444

[5] Redgwell R J, MacRae E and Hallett I. In vivo and in vitro swelling of cell walls during fruit ripening[J]. Plant, 1997, 203: 62

[6] Siddiqui Sand Bangerth F. Studies on cell wall mediated changes during storage of calcium - infiltrated apples[J]. Acta Hort., 1993, 326: 105~113

[7] 关文强. 果蔬防腐保鲜剂的类型、应用及发展方向[J]. 食品科学, 1998, 19(6): 50~52

[8] 龚国强. 芒果常温贮藏保鲜技术的研究[J]. 中国农业科学, 1994, 27(3): 82~88

[9] 缪颖. 采前石灰水加 IAA 和 GA 处理对“玉露”水蜜桃贮藏性的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1992, 18(3): 65~69

[10] 王贵禧. 浸钙对猕猴桃果实硬度变化影响的机制[J]. 园艺学报, 1995, 22(1): 21~24

[11] 王贵禧. 猕猴桃软化过程中阶段性专一酶活性变化的研究[J]. 植物学报, 1995, 37(3): 198~203

[12] 吴有梅. ABA 和乙烯在草莓采后成熟衰老中的作用[J]. 植物生理学报, 1992, 18, (2): 167~172