

库尔勒香梨贮藏期间黑头病发病与果实软化指标的相关性

程少波,杨 琪,张伟达,陈 诺,江 英,陈国刚*

(石河子大学食品学院,新疆石河子 832000)

摘 要:目的:研究库尔勒香梨采后贮藏期间黑头病发病与果实软化的相关性研究,为库尔勒香梨黑头病发病机制的进一步研究提供理论依据。方法:以接种黑头病致病菌的香梨果实为实验组(不接种黑头病致病菌的香梨为对照组),分别贮藏和普通冷库和气调冷库中。在贮藏的不同阶段分别测定不同贮藏条件下香梨果实中纤维素、果胶含量以及纤维素酶、果胶酶的活性,同时对与果实软化相关的基础理化指标进行测定。结果:与对照组相比,接种致病菌的果实软化程度更大,果实的硬度、可溶性固形物含量、果胶含量、粗纤维和木质素含量均明显低于对照组,与果实软化程度呈负相关;果实的多聚半乳糖醛酸酶和纤维素酶活性明显高于对照组,与果实软化呈正相关。两种贮藏条件相比,气调贮藏库中的果实各项理化指标均优于普通冷库贮藏,同时气调贮藏库中病果的发病明显滞后于普通冷库。结论:黑头病的发病加剧了库尔勒香梨果实的软化;气调贮藏果实发病速度较慢,更有利于果实的贮藏保鲜。

关键词:库尔勒香梨,细胞壁代谢,黑头病,气调贮藏,酶活性

Correlation of Blackhead Disease and Fruit Softening Index during Storage of Korla Pear

CHENG Shao-bo, YANG Qi, ZHANG Wei-da, CHEN Nuo, JIANG Ying, CHEN Guo-gang*

(Food College of Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract: Objective: This experiment was aimed to discuss the correlation between blackhead disease and fruit softening during postharvest storage of Korla pear, so as to provide a theoretical basis for further research on the pathogenesis of blackhead disease in Korla pear. Methods: The fragrant pear fruit inoculated with the pathogen of blackhead disease was used as the experimental group (the healthy pear as the control group), and stored in the cold storage and the controlled atmosphere storage. At different storage stages, the contents of cellulose, pectin and cellulase and pectinase activities in pears under different storage conditions were determined, and the basic physical and chemical indexes related to fruit softening were determined. Results: Compared with the control group, the softening degree of the fruit inoculated with the pathogen was greater, and the firmness, soluble solids content, pectin content, crude fiber and lignin content of the pears were significantly low, in negative correlation to fruit softening; and the polygalacturonase and cellulase activity of the pears were significantly high, in positive correlation to fruit softening. Compared with the two storage conditions, the physical and chemical indexes of pears in the controlled atmosphere storage were better than those in cold storage. Meanwhile, the incidence of disease pear in controlled atmosphere storage lagged behind the cold storage. Conclusion: The disease of blackhead aggravates the softening of the Korla pears, and the rate of fruit onset was slow in the atmosphere storage and was more conducive to the storage and preservation of pears.

Key words: Korla pear; cell wall metabolism; blackhead disease; controlled atmosphere (CA) storage; enzyme activity

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)13-0268-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.13.049

引文格式:程少波,杨琪,张伟达,等.库尔勒香梨贮藏期间黑头病发病与果实软化指标的相关性[J].食品工业科技, 2018, 39(13): 268-274.

库尔勒香梨是新疆特色果品,因其香浓多汁、水分及糖分含量较高、口感优良等特点,受到广大消费

者的喜爱^[1],在国际市场上享有“中华蜜梨”、“梨中王子”等美誉^[2]。成熟的库尔勒香梨蜡质层较厚,表

收稿日期: 2017-11-09

作者简介:程少波(1991-),男,博士研究生,研究方向:果蔬贮藏与加工, E-mail: 1312303432@qq.com。

* 通讯作者:陈国刚(1977-),男,博士,教授,研究方向:果蔬贮藏与加工, E-mail: Cgg611@163.com。

基金项目:国家自然科学基金项目(31560468)。

面光滑,果皮为青黄色,含糖量较高,入口甘甜,有着其他品种不可取代的优势,具有良好的市场竞争力^[3]。在新疆,香梨的种植产业发展有着悠久的历史,主要产地分布在新疆库尔勒地区及阿克苏地区。据统计,新疆香梨总种植面积到2015年已经达到了70265公顷,年总产量高达1139823 t,库尔勒地区作为典型示范区及核心种植区,其香梨的种植面积为38873公顷、年总产量374831 t^[4]。随着新疆香梨种植面积的日益扩增和产量的不断提高,少部分香梨采后直接流向附近的市场。大多数香梨采后需要进行贮藏:一方面运往更多的销售地,扩大销售规模;另一方面,贮藏到一定时期再流入市场,可以提高香梨的商品价值。库尔勒香梨耐贮性较好,其销售时间长,可销售范围广,如采后保藏得当可以获得更好的经济效益,对于提高地区经济有很大的帮助,拥有广阔的市场前景^[5]。因此,优化香梨贮藏保鲜技术是新疆特色果蔬产业循环发展的关键所在。

库尔勒香梨的黑头病是一种常见病害,有很多研究学者也称它为顶腐病,这种病害在香梨贮藏期间会严重影响其品质,降低其商品价值。在香梨贮藏过程中,其果实品质及其内部组成的变化主要取决于果胶、纤维素等细胞壁组成成分的含量以及纤维素酶、多聚半乳糖醛酸酶等细胞壁降解酶活性的变化^[6]。当果实发生劣变或病害后,其细胞间层结构会发生变化,导致细胞壁的总体结构被破坏,果实组织软化、衰老,继而易发生病害。本实验以库尔勒香梨为试材,通过测定香梨黑头病发病后果实的硬度、可溶性固形物、可滴定酸、果胶、粗纤维和木质素等的含量以及多聚半乳糖醛酸酶和纤维素酶等酶活性,研究在气调贮藏和普通冷库贮藏条件下果实品质的变化,以期了解细胞壁代谢与果实发病之间的关系以及贮藏条件对果实品质的影响,为进一步优化香梨保鲜技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜库尔勒香梨 采自新疆生产建设兵团第二师二十八团香梨果园;黑头病菌 从病梨中分离、纯化、鉴定后保存在PDA斜面培养基上,4℃冰箱保藏备用;浓硫酸、氢氧化钠、酚酞、乙酸、乙酸钠、氯化钠、柠檬酸、柠檬酸钠、酒石酸钾钠、3,5-二硝基水杨酸、结晶酚、亚硫酸钠、羧甲基纤维素钠、乙醇、葡萄糖标准液、呋唑、半乳糖醛酸、多聚半乳糖醛酸 以上试剂均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

PHSJ-6L 上海雷磁精密酸度计 上海仪电科学仪器股份有限公司;UV2450 岛津紫外可见分光光度计 杭州瑞析科技有限公司;德国Eppendorf 5810 高速冷冻离心机 广州雷得生物技术有限公司;HH-4 型数显恒温水浴锅 国华电器有限公司;TA.XT 质构仪 北京微讯超技仪器技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 当季采收的新鲜库尔勒香梨,选择成熟度基本一致、大小均匀、无病虫害、无机械损伤的一级香梨,包装好后运回石河子大学食品学院

果蔬贮藏保鲜中心实验室。

1.2.2 损伤接种 将黑头病菌制备成 1×10^6 的孢子悬浮液,吸取30 μL的菌悬液接种在无损果的萼部,分别放置在普通冷库以及气调库中,以正常无损果为对照。实验所用病菌分离自典型的发病果实。将病原菌经单孢分离、纯化、鉴定后保存在PDA斜面培养基上,4℃冰箱保藏备用。

1.2.3 贮藏方法 参照项目前期研究将气调贮藏条件设定为氧气浓度2%~3%、二氧化碳浓度1%~2%、贮存温度-1~1℃,将库内的湿度保持在90%~95%;普通冷藏库温度设置为-1~1℃,湿度80%~95%。每种贮藏条件下设置无损好果为对照组,病果为实验组。每10 d取一次样,共取6次,根据实验测定指标,每个指标每次取3个果实作为平行。

1.3 测定方法

1.3.1 果实发病率及病斑面积 果实发病率(%) = (果实发病总孔数/果实接种总孔数) × 100。病斑面积则直接利用游标卡尺通过十字交叉法进行测定,每个病斑测量3次,取平均值作为测量值。病斑面积 = $3.14 \times (\text{病斑直径}/2)^2$ 。

1.3.2 果实硬度、可溶性固形物、果胶以及呼吸强度的测定 随机取10个果实,用GY-B型硬度计测定果肉硬度;用RHB-32ATC型手持测糖仪测定果实的可溶性固形物含量;果肉中原果胶含量采用呋唑比色法测定,参考曹建康^[7],略改;呼吸强度用碱吸收法测定。

1.3.3 纤维素酶活性和多聚半乳糖醛酸酶活性的测定 库尔勒香梨细胞壁酶活性的测定参考曹建康^[6]方法略改。准确称取3 g香梨果肉,液氮研磨,加入6 mL 0.2%的亚硫酸钠摇匀,4℃离心15 min,弃上清,然后加入15 mL 100 mmol/L的醋酸钠缓冲液,调整pH至5.2,冰水浴中摇匀,4℃离心15 min,上清液用于酶活性的测定。纤维素酶活性的测定^[7]:底物为羧甲基纤维素,以D-葡萄糖为标样,以37℃每克样品每分钟分解羧甲基纤维素产生1 μg葡萄糖为1个酶活力单位(U)。

多聚半乳糖醛酸酶活性的测定^[8]:底物为多聚半乳糖醛酸,以D-(+)半乳糖醛酸为标样,以37℃每克样品每分钟分解产生1 μg游离半乳糖醛酸为1个酶活力单位(U)。

1.3.4 粗纤维以及木质素含量的测定 粗纤维含量的测定参考GB/T 5009.10-2003。准确称量20 g捣碎的样品于500 mL三角瓶中,加入200 mL煮沸的1.25%硫酸,微沸30 min。然后将瓶内的物质用亚麻布过滤,用沸水洗涤至洗液不呈酸性。再用200 mL煮沸的1.25%氢氧化钾溶液将亚麻布上的残留物质洗入原三角瓶中,加热微沸30 min,再次用亚麻布过滤,沸水洗涤3次,转移至已干燥称重的垂融坩埚中,热水洗涤后,抽干。再依次用乙醇和乙醚洗涤,最终将坩埚和内容物放置在105℃烘箱中烘干至恒重,差量法计算残渣的重量,记为粗纤维的含量。木质素含量的测定^[9-10]:准确称取1 g捣碎样品于20 mL反应瓶中,加入8 mL 72%硫酸,25℃水解3 h,每30 min振荡一次,以保证瓶内物质混合均匀,水解

产物转入 500 mL 三角瓶中,加入 200 mL 双蒸水,于 121 ℃ 反应 1 h,冷却后转移至已干燥称重的垂融坩埚中抽滤,滤渣用 200 mL 热水反复洗涤,最终将坩埚和内容物放置在 105 ℃ 烘箱中,烘干至恒重,差量法计算残渣的重量,记为酸不溶性木质素的含量。将前期抽滤得到的滤液补至 500 mL,在 205 nm 处测定滤液吸光度,样品吸光值在 0.2~0.8 之间具有可信度,根据公式计算酸溶性木质素含量 ρ (mg/g),每组样本重复 3 次,取平均值。

$$\rho = \frac{A \times D}{110W} \times 10^3$$

式中:A-吸光值;D-样品溶液稀释倍数;W-样品质量。

1.3.5 数据统计分析 以上各指标测定均重复 3 次,取其平均值,采用 Origin 8.5 和 Excel 2010 进行数据统计和差异显著性分析。

2 结果和分析

2.1 不同贮藏条件下香梨接种病菌后发病率及病斑面积变化

由图 1 和图 2 可知,冷库贮藏果实的发病率和病斑面积扩大速度明显高于气调贮藏。在贮藏前 20 d,可能由于低温的抑制作用,延缓了香梨致病菌的侵染,所以贮藏的前 20 d 两组香梨的发病率均较低,且病斑面积的扩大速度较为缓慢。贮藏 20 d 后,香梨的发病率开始逐渐增加,病斑面积的扩大速度也开始加快,可能是由于黑头病致病菌已经逐渐适应了低温环境,恢复了致病性;另一方面,贮藏过程中存在的已发病的果实对周围存放的好果也有一定的影响,所以导致了贮藏时间越长,其发病率越高,病斑面积越大。实验中发现,在冷库贮藏的香梨比气调库贮藏的香梨发病更快,这可能与贮藏条件的自身特性有关,冷库贮藏只控制温度和相对湿度,而气调贮藏则对库内气体成分也有控制,可能气调贮藏库中二氧化碳浓度对于香梨致病菌的生长繁殖存在一定的抑制作用,才使得气调贮藏库中香梨发病率较低,范珏^[14]等人的研究也证明了二氧化碳是很好的天然抑菌剂,具有抑制微生物生长的作用。根据实验结果判断,香梨在接种一定浓度的黑头病致病菌后,贮藏和普通冷库中的发病速率以及病斑扩大速率均高于气调贮藏,说明在普通冷藏库贮藏条件下

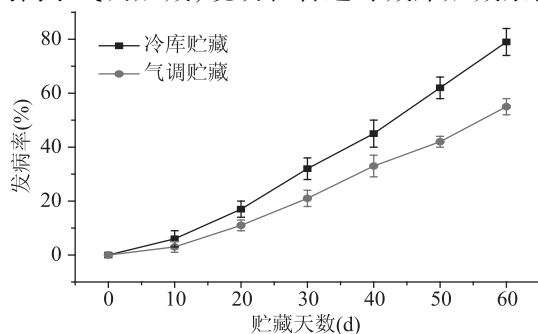


图 1 不同贮藏条件下库尔勒香梨发病率变化

Fig.1 Changes of incidence of Korla pear under different storage conditions

其更容易受到黑头病致病菌的侵染,相比之下,气调贮藏更有利于香梨的贮藏。

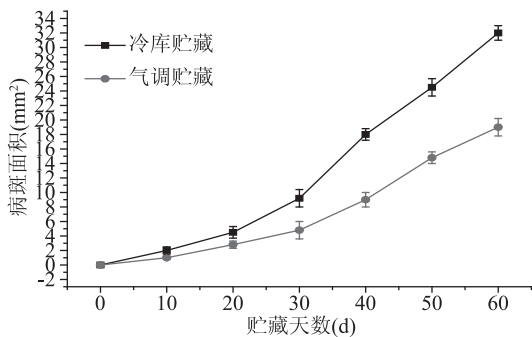


图 2 不同贮藏条件下库尔勒香梨黑头病病斑面积变化

Fig.2 Variation of lesion area of blackhead disease of Korla pear under different storage conditions

2.2 库尔勒香梨黑头病发病后果实硬度和可溶性固形物含量的变化

硬度是果实软化的直观表现。由图 3 可知,香梨果实硬度随贮藏时间的延长呈显著下降趋势($p < 0.05$),香梨硬度(y)与贮藏时间(x)呈极显著线性负相关($y = -0.0083x + 7.7338, R^2 = 0.9601$),与魏建梅等^[12]对京白梨后熟期果实硬度测试结果一致。图 3 显示,香梨果实经有伤接种黑头病致病菌后贮藏在不同的环境中其硬度的变化显著($p < 0.05$),对照组的初始硬度为(7.75 ± 0.02) kg/cm²,接种黑头病致病菌后,实验组的硬度为(7.70 ± 0.02) kg/cm²。在贮藏初期(贮至第 20 d),对照组(好果)和实验组(病果)果实硬度均缓慢下降,下降幅度分别为气调库对照组 1.9%、实验组 2.1%、冷藏库对照组 2.8%、实验组 3.7%,冷藏库实验组下降最明显,其次是冷藏库对照组和气调库实验组。贮藏至第 40 d,不同贮藏环境中的实验组和对照组的香梨硬度均呈明显下降趋势。尤其是贮藏在冷藏库中的病梨,其硬度的下降幅度为 13.5%,而气调库中贮藏的病梨硬度下降幅度为 8.5%。在贮藏末期(贮至第 50 d),对照组和实验组果实硬度下降幅度分别是气调库对照组 5.4%、实验组 13.19%;冷藏库对照组 9.29%、实验组 21.88%。根据实验结果判断,随着贮藏时间的延长,接种致病菌的香梨更容易发生腐败溃烂,从而导致整个香梨品质变差,病果硬度下降趋势显著($p <$

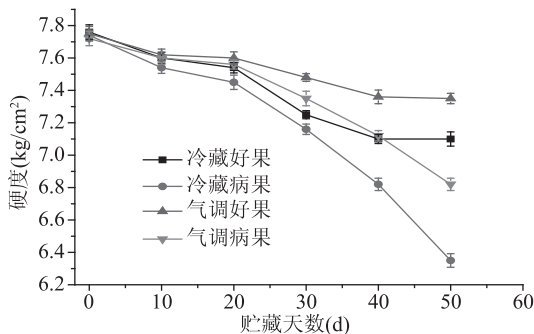


图 3 不同贮藏条件下库尔勒香梨果实硬度变化

Fig.3 Changes of hardness of Korla pear under different storage conditions

0.01),对照组的香梨硬度虽然也在下降,但是其下降的幅度较小。此外,贮藏在气调库的病果其硬度下降幅度明显低于贮藏在冷藏库中的病果硬度下降幅度;同时贮藏在气调库的好果的硬度下降幅度也是明显低于冷藏库中贮藏好果的硬度下降幅度的。这说明,在同样的贮藏条件下,黑头病致病菌会导致香梨在贮藏过程中硬度大幅度的下降,极大地影响香梨的品质;在不同的贮藏条件下,气调贮藏更有利于香梨的贮藏保鲜,同时也能有效地延缓黑头病的侵染进程。

香梨中的可溶性固形物对香梨果实的品质有非常大的作用,是衡量香梨果实品质变化情况的重要指标之一。从图4可知,四组香梨可溶性固形物的含量呈现下降的趋势,下降程度分别为冷藏病果>气调病果≥冷藏好果>气调好果。在贮藏初期(0~10 d),贮藏在冷藏库和气调库的对照组和实验组果实可溶性固形物含量均缓慢下降,且其下降的幅度极低。自第10 d开始,冷藏库和气调库中贮藏的实验组和对照组果实可溶性固形物含量开始迅速下降,差异越来越显著。冷藏库贮藏的病果在第10 d时可溶性固形物含量为13.8%,第50 d时可溶性固形物含量为12.31%,下降幅度12.1%;气调库贮藏的病果在第10 d时可溶性固形物含量为13.85%,第50 d时可溶性固形物含量为13.2%,下降幅度4.92%;而气调库和冷藏库贮藏的好果可溶性固形物含量最终下降幅度分别为2.51%和3.52%。根据实验结果判断,黑头病菌的侵染会导致香梨可溶性固形物含量大幅度的下降,无论贮藏在何种条件下,与贮藏的好果相比,病果的可溶性固形物含量均较低。此外,贮藏在气调库中的病果可溶性固形物含量下降的幅度明显低于冷藏库中的病果可溶性固形物含量下降的幅度,说明气调贮藏条件更有利于果实的贮藏,同时减缓致病菌的侵染作用。

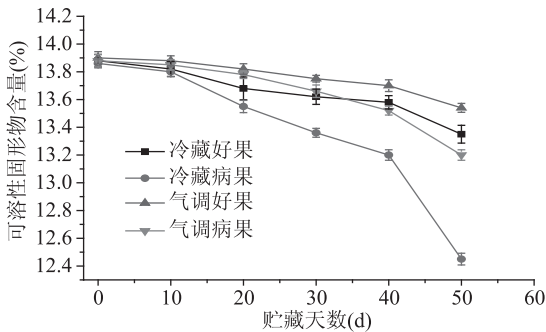


图4 不同贮藏条件下库尔勒香梨果实 SSC 变化
Fig.4 Changes of SSC of Korla pear under different storage conditions

2.3 库尔勒香梨黑头病发病后果实呼吸强度的变化以及果胶含量的变化

香梨果实在采后贮藏期间的呼吸作用强弱与果实的品质变化、成熟衰老过程、贮藏时间的长短都有着密切的联系,呼吸强度反映出果实呼吸作用的速度,是果实贮藏时一个很重要的生理特性。图5描述的是好果和接种黑头病菌的病果在不同贮藏条件

下呼吸强度的变化规律。冷藏条件下:实验组和对照组香梨果实呼吸强度迅速升高,第10 d时,对照组香梨出现了跃变高峰(9 mg/kg·h),自此果实由成熟走向后熟衰老,之后呼吸强度开始下降;而实验组接种了黑头病致病菌的病果呼吸强度急速上升,在贮藏的第20 d时才出现呼吸高峰(9.25 mg/kg·h),后期呼吸强度虽然也在下降,但是呼吸强度的整体水平还是偏高。目前关于接种致病菌导致呼吸跃变型果实跃变高峰滞后的研究还未见报道,具体的原因还有待进一步研究。气调贮藏条件下:由于低温和二氧化碳的作用,使得果实呼吸强度显著($p < 0.05$)减弱,始终处于较低水平,无明显的呼吸高峰。贮藏至第30 d时,气调贮藏的果实呼吸强度达到最低。气调贮藏虽然可以延缓果实成熟和软化、抑制成熟酶的活性,但是随着贮藏时间的延长,它并不能阻止果实软化、腐败、变质等的发生,果实不可能始终都处于完好的状态^[13]。贮藏至第30 d时,已经有部分香梨开始发生病变,导致香梨果实内部的平衡被打破,即使是低温和二氧化碳也无法继续抑制病害的发生,导致在贮藏末期(40~50 d)香梨呼吸强度不断上升,最终气调贮藏的对照组和实验组的呼吸强度分别是:6.53 mg/kg·h 和7.5 mg/kg·h。这与魏建梅^[12]低温贮藏京白梨所获得的呼吸强度变化趋势一致。呼吸强度的强弱会对果实在贮藏期间的衰老程度产生很大的影响,呼吸强度越高,表明香梨果实衰老的速度越快。总体而言,冷库贮藏的香梨呼吸强度普遍高于气调贮藏。陈国刚^[14]等研究发现,由于库尔勒香梨是典型的呼吸跃变型水果,在贮藏过程中有两次呼吸高峰,呼吸高峰后果实开始加速衰老。可见,气调贮藏的环境能够在一定程度上抑制香梨的呼吸作用。

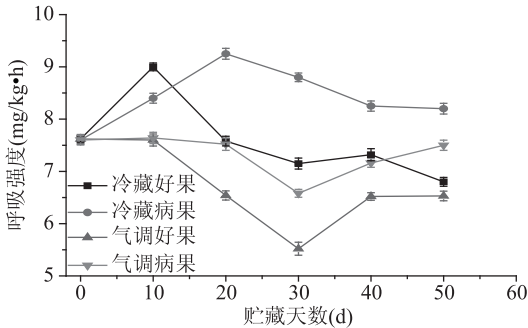


图5 不同贮条件下库尔勒香梨呼吸强度变化
Fig.5 Respiration changes of Korla pear under different storage conditions

果胶是构成细胞初生壁和胞间层的主要成分,原果胶将胞间层和蛋白质、钙、镁等结合,从而赋予了香梨脆硬的质地^[15]。因此,原果胶含量对于香梨的果肉的质地是至关重要的。图6是不同贮藏条件下香梨果实原果胶含量的变化。由图6中可知,不同贮藏条件下的好果和病果随着贮藏时间的延长,其原果胶含量呈下降趋势,主要是因为长时间的贮藏在低温环境下使得细胞膜结构被破坏,细胞结构解体,导致原果胶分解^[15-16]。其中,气调贮藏的好果及病果原果胶含量均明显高于冷藏好果,这说明气

调贮藏条件可以延缓果实衰老,尽可能维持果实细胞壁结构,延缓果实原果胶的分解。在贮藏的前20 d,接种致病菌的病果原果胶含量迅速下降;20 d以后,随着贮藏时间的延长,气调贮藏的病果原果胶含量下降幅度逐渐变小,而冷库贮藏的病果原果胶含量下降幅度依然很大。四组果实原果胶含量均呈现下降趋势,下降程度分别为气调好果 55.81%、冷藏好果 62.35%、气调病果 72.09%、冷藏病果 82.35%,其中两组病果的下降程度明显大于好果的下降程度,冷藏条件的好果及病果下降程度明显大于气调贮藏。这说明,接种黑头病致病菌确实会导致原果胶含量明显下降,气调贮藏的环境能够在一定程度上抑制原果胶含量的降低。

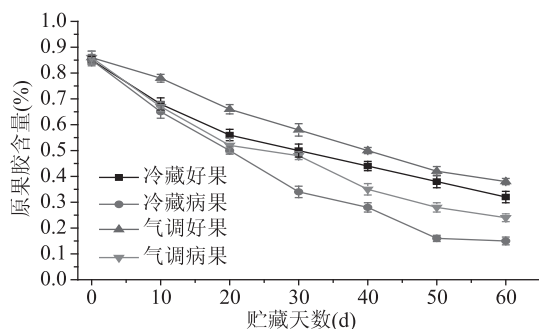


图6 不同贮藏条件下库尔勒香梨原果胶含量变化

Fig.6 TA content changes of Korla pear under different storage conditions

2.4 库尔勒香梨黑头病发病后多聚半乳糖醛酸酶和纤维素酶活性变化

多聚半乳糖醛酸酶在果实体内可以降解果胶使得果实细胞壁破裂,加剧果实的衰老程度,降低果实的抗逆性^[17]。图7表明,多聚半乳糖醛酸酶的活性在前20 d内,四组均呈现出上升的趋势,在贮存至20 d时,四组值均达到了监测范围内的峰值。气调贮藏好果的酶活性最低,冷库贮藏病果的酶活性最高,其变化趋势也和果胶含量的变化趋势吻合。在此之后,各组酶活性开始大幅度降低。在整个贮藏期间,气调贮藏好果和冷藏好果的酶活性变化趋势较为相似,除了在第40 d时冷库贮藏的香梨酶活偏高以外,其他均和气调贮藏差距较小。而两种贮藏条件下的病果之间的变化趋势相近、差距较大,在第40 d以后,气调贮藏病果的酶活性下降幅度开始变小,而冷藏病果的酶活下降幅度依然较大,在第60 d时两组病果酶活差距 3898 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ 。根据上述结果可以看出,接种黑头病致病菌确实会导致果实中多聚半乳糖醛酸酶活性的增加,加快果实细胞壁破裂,最终导致果实腐败变质。冷藏贮藏确实可以有效降低该酶的活性,但从贮藏效果以及相关酶活性指标来看,气调贮藏更有利于抑制多聚半乳糖醛酸酶的活性,从而延长果实的贮藏期。

图8是不同贮藏条件下香梨好果和病果的纤维素酶活性随着贮藏时间延长的变化。如图8可知,不同贮藏条件下,病果的纤维素酶活性始终大于好果,在贮藏的0~20 d内,所有的酶活性均呈现上升的

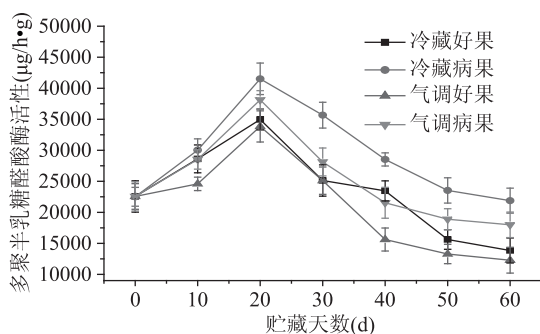


图7 不同贮藏条件下库尔勒香梨多聚半乳糖醛酸活性变化

Fig.7 PG activity changes of Korla pear under different storage conditions

趋势。在贮藏的第10~20 d,病果的纤维素酶活性迅速上升,尤其是冷库贮藏的病果前20 d纤维素酶活性升高了1.9倍,而此时好果的酶活只升高了1倍。在贮藏第20 d时,纤维素酶活性均达到峰值。在酶活性到达峰值后,好果在20~40 d纤维素酶活性受到抑制,开始迅速下降,40~60 d纤维素酶活性变化趋势趋于平稳;病果在20~60 d纤维素酶活性始终处于下降的趋势,同时病果的纤维素酶活性始终高于好果的酶活。气调贮藏的酶活性始终低于冷藏贮藏。王英超^[18]的研究表明,纤维素酶在柿果的软化和衰老中起关键作用,随着果实后熟衰老,果实中纤维素酶的活性在逐渐上升。番茄在采后的贮藏过程中,纤维素酶的活性表现出峰形的变化,贮藏前期酶的活性较低,然后不断增强,在果实衰老到一定程度时开始下降。这一结果,与本实验中香梨果实纤维素酶活性变化趋势一致。

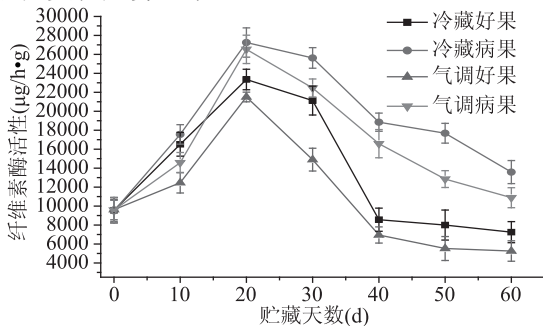


图8 不同贮藏条件下库尔勒香梨纤维素酶活性变化

Fig.8 Cellulase activity changes of Korla pear under different storage conditions

2.5 库尔勒香梨黑头病发病后粗纤维和木质素含量的变化

纤维素是香梨果实细胞壁的主要构成物质之一,纤维素可以与半纤维素在果实细胞内一起构成完整的细胞壁骨架^[19],所以果实在贮藏过程中,纤维素含量的降低会导致细胞壁结构变得松散,使果实更容易受到病菌的侵染。由图9可知,随着贮藏时间的延长,香梨果实粗纤维的含量在不断下降,且在0~30 d下降的幅度较大,30~60 d下降趋势趋于平稳,这和纤维素酶在前期活性的迅速提升有一定的相关性,纤维素酶活性越高,对纤维素的分解能力越强,纤维素含量下降至较低水平,与水果软化相一

致。由图9可知,病果的粗纤维含量远低于好果,说明黑头病致病菌对于香梨的侵染极大地破坏了香梨的细胞壁结构,造成其粗纤维含量降低。气调贮藏的病果粗纤维含量和冷藏的病果存在明显差异。整体而言,香梨粗纤维含量的变化和纤维素酶活性的变化趋势吻合。

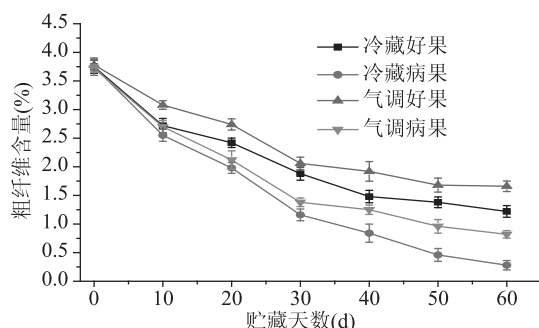


图9 不同贮藏条件下库尔勒香梨粗纤维含量的变化
Fig.9 Cellulose content changes of Korla pear under different storage conditions

木质素广泛存在于植物细胞中,是香梨果实细胞壁的另一主要成分。木质素的存在起到了硬化细胞壁的作用,可以增加果实的抗压性。由图10可知,发病果实贮藏的10~20 d,木质素含量下降速度很慢,第20 d以后,随着果实病斑面积的扩大果实中木质素的含量急剧下降。这可能是因为,前期致病菌对细胞结构的破坏刺激果实产生抗逆性,但随着侵染加剧,果实腐烂严重,细胞壁结构也严重被破坏,所以贮藏后期木质素下降幅度增加。而香梨好果在整个贮藏期间木质素含量下降速率较慢。贮藏至第60 d时,各贮藏环境中的果实木质素含量分别为气调好果0.362%、气调病果0.24%、冷藏好果0.33%、冷藏病果0.2%。对比两种贮藏条件下的果实,发病果实贮藏的0~20 d木质素含量的差别较小;随着贮藏时间的延长,两者的差异越来越大,在贮藏20 d时两者相差0.023%,贮藏到第60 d时差距扩大到0.04%。以上说明,贮藏条件以及黑头病发病对于果实木质素含量都有着较大的影响,接种黑头病致病菌确实会导致木质素含量明显下降,气调贮藏的环境能够在一定程度上抑制木质素含量的降低。

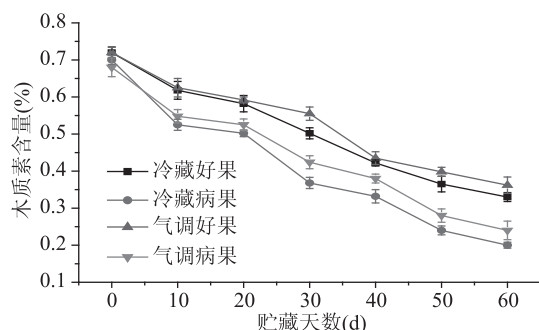


图10 不同贮藏条件下库尔勒香梨木质素含量的变化
Fig.10 Lignin content changes of Korla pear under different storage conditions

3 结论

植物细胞壁物质主要由纤维素、果胶、木质素等物质组成,它们互相交联成稳定的网状结构,在外围对果实起到了重要的保护作用,同时又使果实维持较好的形状和硬度。因此,细胞壁组成成分发生变化,对果实软化有极大的影响^[20-21]。本研究比较了冷库贮藏和气调贮藏条件下香梨好果和接种致病菌的病果的各理化指标的变化以及细胞壁代谢的变化。研究发现:随着贮藏时间的延长,黑头病致病菌对香梨的侵染会使香梨粗纤维、木质素、原果胶等物质的含量大大降低,导致香梨细胞壁结构被破坏,果实的硬度下降,呼吸强度增加,最终在致病菌的作用下,果实发生腐败变质。果实软化程度与果实硬度、可溶性固形物含量、原果胶含量、粗纤维含量、木质素含量等呈负相关。此外,黑头病致病菌还会直接影响细胞壁降解酶的活性,本研究中病果的多聚半乳糖醛酸酶以及纤维素酶的活性均出现大幅度的增加,使得果实细胞壁被降解,加快了果实的病变腐败。果实软化与多聚半乳糖醛酸酶活性和纤维素酶活性呈正相关。通过对比两种贮藏条件下病果各指标的变化发现:气调贮藏条件下,病果的粗纤维、原果胶含量较高,与同时期贮藏在普通冷库的病果相比,多种酶的活性均较低。可见,黑头病致病菌的侵染加剧了库尔勒香梨果实的软化;气调贮藏对黑头病菌的侵染起到了一定的抑制作用,在延缓果实成熟衰老方面存在一定的优势。

参考文献

- [1] 祁世梅.“库尔勒香梨”区域品牌战略研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2014.
- [2] 玉苏甫·阿不力提甫(Yusuf Ablitif).新疆的梨种质资源评价及核心种质库构建[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2014.
- [3] 刘艳,吴运建.库尔勒香梨研究进展[J].新疆农垦科技,2015,38(2):23-26.
- [4] 张旭升,李青.果农施肥用药认知与安全生产行为的关系分析——基于库尔勒香梨种植户的调查[J].塔里木大学学报,2017,29(3):62-70.
- [5] 中国农业统计资料[M].北京:中国农业出版社,2010:106-113.
- [6] 孔祥佳,任思琪,林河通,等.不同成熟度橄榄果实冷藏期间细胞壁代谢对采后冷害的响应特性[J].食品科学:2017,1-8.
- [7] 曹建康,姜微波.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2007.
- [8] 李忠福,徐建国.分光光度法测定果胶酶活性方法的研究[J].黑龙江医药,2002(6):428-430.
- [9] 任世学,姜贵全,屈红军.植物纤维化学实验教程[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,2008:27-28.
- [10] 宋银,武玉翠,张媛,等.丹参木质素及其单体含量的测定[J].分析科学学报,2011,27(5):586-590.
- [11] 范璐.二氧化碳抑菌技术在乳制品保鲜中的应用[J].食品安全导刊,2017(31):52-54.
- [12] 魏建梅,马锋旺,关军锋,等.京白梨果实后熟软化过程中细胞壁代谢及其调控[J].中国农业科学,2009,42(8):

2987-2996.

[13] 马海军.大果水晶梨冷藏适温及其贮藏特性研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2007.

[14] 陈国刚,王祯丽,童军茂.不同贮藏条件对库尔勒香梨采后果实品质的影响[J].中国农学通报,2005(6):110-112.

[15] 曹雪慧,张方方,李雨露,等.冷冻处理对草莓质构、水分分布及果胶含量的影响[J].食品工业科技,2016,37(5):320-323,328.

[16] Andrews PK, Li S L. Cell wall hydrolytic enzyme activity during development of nonclimacteric sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit[J]. Journal of Horticultural Science Biotechnology, 1995, 70(4):561-567.

(上接第229页)

表2 超声处理固定化木瓜蛋白酶条件优化的均匀实验结果

Table 2 Uniform design matrix and corresponding results

因子	超声 频率 (kHz)	超声 功率 (W/cm ²)	超声 温度 (℃)	超声 时间 (min)	相对酶活 (%)
N1	3	1	2	4	135.48 ± 10.39
N2	2	3	1	4	118.31 ± 4.10
N3	1	5	4	2	205.78 ± 9.60
N4	2	2	4	3	266.08 ± 8.44
N5	2	4	5	1	197.85 ± 0.78
N6	4	3	4	2	171.11 ± 5.16
N7	1	2	3	4	168.74 ± 8.50
N8	3	4	3	3	272.50 ± 11.25
N9	4	5	5	4	166.86 ± 3.61
N10	3	3	5	2	160.40 ± 3.44
N11	3	2	4	5	185.57 ± 1.54
N12	1	3	2	1	153.66 ± 10.22
N13	3	5	1	1	131.84 ± 6.14
N14	2	5	3	5	186.23 ± 8.48
N15	4	4	2	5	150.48 ± 7.75
N16	2	1	2	2	145.47 ± 10.02
N17	1	1	5	5	127.45 ± 0.90
N18	4	1	3	1	118.26 ± 8.67
N19	4	2	1	3	110.41 ± 10.03
N20	1	4	1	3	178.04 ± 6.21

参考文献

- [1] 刘海洲,张媛媛,张广柱,等.固定化酶制备技术的研究进展[J].化学工业与工程技术,2009,30(1):21-23.
- [2] 侯瑾,李迎秋.固定化酶的研究进展及其在食品工业中的应用[J].江苏调味副食品,2017(1):9-12.
- [3] 张茜,刘涛,侯红萍.提高固定化酶活力方法的研究进展[J].酿酒,2008(2):15-18.
- [4] 黎刚.固定化技术进展[J].中国生物工程杂志,2002(5):45-48.
- [5] 王超,曹雁平,王蓓,等.超声对包埋-交联法固定化木瓜蛋白酶催化活性的影响[J].食品科学,2012,33(21):264-266.

[17] 许娟.库尔勒香梨果实生长发育期及贮藏期生理生化特性研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2015.

[18] 王英超,张桂霞,赵汐琼,等.柿果软化过程中 α -淀粉酶活性与Cx纤维素酶活性变化研究[J].安徽农业科学,2007,28:8815-8816.

[19] 齐秀东,李海山,魏建梅,等.采后嘎拉苹果果实细胞壁代谢及关键酶基因表达特性研究[J].华北农学报,2012(2):55-60.

[20] 齐秀东,魏建梅,高海生,等.梨果实发育软化与果胶多糖降解特性的关系[J].中国农业科学,2015,15:3027-3037.

[21] 张呈峰.果蔬气调贮藏的发展与特点[J].中国食品工业,2001(1):36-38.

[6] 袁易全.《近代超声原理及应用》正式出版[J].声学技术,1996(2):77.

[7] 林影,高大维,李国基,等.超声波对菊糖酶催化作用的影响[J].华南理工大学学报:自然科学版,1997(9):142-144.

[8] J L Luque - Garcia, M D Luque de Castro. Ultrasound: A powerful tool for Leaching [J]. Trends Anal Chem, 2003, 22: 41-47.

[9] Alves J S, Cristina G, Danellia D, et al. Use of Lecitase - Ultra immobilized on styrene - divinylbenzene beads as catalyst of esterification reactions: Effects of ultrasounds [J]. Catalysis Today, 2015, 255(10):27-32.

[10] 张单单,白鸽,王琳,等.戊二醛改性明胶耐酶解条件的优化[J].食品工业科技,2016,37(6):133-136,141.

[11] 刘丽英,王圣洁.海藻酸钙凝胶微球的制备和pH敏感释放[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(42):8303-8306.

[12] Leonard K, Wildi B S. Proteases of the genus *Bacillus* I. neutral proteases. [J]. Biotechnology & Bioengineering, 1970, 12(2):179.

[13] Mohammad H E, Christian P. A combination of ultrasound and oxidative enzyme: sono-biodegradation of phenol [J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2004, 53(4):257-263.

[14] 杨进妹,王婷,何荣海.超声对酶解反应的影响[J].农产品加工,2010(7):70-71,73.

[15] 杨宏伟,洒荣波.超声波对固定化 α -淀粉酶催化活性的影响[J].中国酿造,2009(10):76-78.

[16] 吴葛洋,曹雁平,王蓓,等.超声场对固定化木瓜蛋白酶的影响研究[J].食品工业科技,2011,32(10):142-145.

[17] M Bashari, P Wang, A Eibaid, et al. Ultrasound - assisted dextranase entrapment onto Ca-alginate gel beads [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20(4):1008-1016.

[18] Wang Z, Lin X, Li P, et al. Effects of low intensity ultrasound on cellulase pretreatment [J]. Bioresource Technology, 2012, 117(10):222-227.

[19] Ma H, Huang L, Jia J, et al. Effect of energy - gathered ultrasound on Alcalase. [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2011, 18(1):419-424.

[20] 肖琼,姚春才,勇强,等.玉米秸秆超声辅助酶水解[J].南京林业大学学报:自然科学版,2007,31(4):85-88.