

文章编号: 1003-8701(2015)01-0091-04

基于PG含量变化研究软枣猕猴桃 采摘时期及贮藏条件

李书倩^{1,2}, 辛 广², 张 博², 刘长江^{1*}

(1. 沈阳农业大学食品学院, 沈阳 110161; 2. 鞍山师范学院化学与生命科学院, 辽宁 鞍山 114007)

摘 要: 中国东北地区软枣猕猴桃每年8~9月成熟, 含有丰富的Vc和营养物质, 而耐贮性较差。本文以野生软枣猕猴桃为试验材料, 根据软枣猕猴桃中PG含量变化研究软枣猕猴桃最佳采摘时间和最佳贮藏条件。研究表明, 中国辽宁省鞍山地区野生软枣猕猴桃最适宜采摘期宜选在8月末至9月初, 果实果胶酶活性1010.72 $\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$ 左右。

关键词: 软枣猕猴桃; PG; 采摘期

中图分类号: S663.4

文献标识码: A

DOI: 10.16423/j.cnki.1003-8701.2015.01.021

The Best Harvest Period and Storage Conditions of *Actinidia Arguta* Based on Changes of PG

LI Shu-qian^{1,2}, XIN Guang², ZHANG Bo², LIU Chang-jiang^{1*}

(1. Food College of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161; 2. Chemistry and Life Science School of Anshan Normal University, Anshan 114007, China)

Abstract: *Actinidia arguta* of northeastern China bears fruits in August and September every year. The fruit is rich of VC and other nutrition but it's hard to main its freshness. With wild *Actinidia arguta* as test material, the best time for its harvest and the optimal conditions for storage based on the change of PG content of the fruit were analyzed in the paper. According to the study, the best time to harvest *Actinidia arguta* grown in the area of Anshan, Liaoning Province is from end of August to the beginning of September. The fruits at this period have pectinase content of 1010.72 $\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$.

Keywords: *Actinidia Arguta*; PG; Harvest period

软枣猕猴桃 (*Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq), 又名软枣子, 猕猴桃梨, 藤瓜, 属于猕猴桃科 (Actinidiaceae)、猕猴桃属 (*Actinidia*) 多年生落叶藤本植物, 分布于东北、华北、西北及长江流域各省, 朝鲜、日本、俄罗斯亦有分布, 但以我国东北三省的资源最为丰富^[1]。软枣猕猴桃具有丰富的营养价值、医疗功能和观赏价值, 但是极不耐贮藏, 使它的开发利用受到极大限制^[2]。

研究表明, 果实的软化是分阶段的。在果实成熟前期, 果实的软化主要是由于木聚糖的降解

或纤维素微纤丝的代谢或者是由于细胞间粘合力的下降, 引起了细胞从中胶层处相互分离^[3], 淀粉酶导致的淀粉迅速水解也可能对果实的前期软化起重要作用^[4]。在果实成熟后期, 软化则与果胶酶 (PG) 及果胶的降解密切相关, PG 主要催化多聚半乳糖醛酸的降解^[5-6]。大多数研究认为在苹果^[7]、番茄^[8]、香蕉^[9]、梨^[10]等果实成熟软化中, 主要是PG起作用, PG是果实成熟软化的关键酶。因此, PG一直是人们研究植物发育和果实成熟衰老的热点。

本文通过对不同时期采摘的软枣猕猴桃果实的PG变化与果实硬度等品质之间的变化进行研究, 从而建立一种基于PG变化的采摘调控方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

收稿日期: 2014-07-20

基金项目: 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (200903013)

作者简介: 李书倩 (1975-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术。

通讯作者: 刘长江, 男, 教授, E-mail: liucj597@sohu.com

材料:软枣猕猴桃为2010年7月中旬开始至9月10日(间隔5日)在鞍山市当地山上所采,选取表明光滑,无机械伤,硬度均一的果实,每箱5 kg装箱;贮藏试验原料由9月2日采摘,一部分常温(20±0.5)℃贮藏,一部分在(0±0.5)℃的冷库中贮藏。

仪器与设备:CR22E 冷冻离心机,日本 Hitachi 公司;UV-2450 紫外可见分光光度计,日本岛津公司;BS124S 电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;PHS-2C 型数显 pH 计,上海智光仪器仪表有限公司;Eppendorf 移液器,德国普兰德公司;FHR-5 型果实硬度计。

1.2 PG 的测定^[11]

1.2.1 标准曲线制作

合适的测定波长选择:取7支20 mL的刻度试管编号,并按表1所示加入各种试剂,在沸水浴中

加热5 min,迅速用流动水冷却,摇匀。在400~700 nm 的范围内,测定1号试管的吸光值(以蒸馏水为空白)和3号管吸光值(以1号试管为空白),根据吸光曲线确定合适的测定波长。

1.2.2 粗酶液的提取

参照 Huber^[12]等方法进行改良。称取10.0 g 软枣猕猴桃,置于经预冷的研钵中,加入20 mL 经预冷的95%乙醇,在冰浴条件下研磨成匀浆后,全部转移到离心管中,低温放置10 min,然后于4℃、11 000 rpm 离心20 min。倾去上清液,向沉淀物中加入10 mL 80%乙醇,震荡,低温放置10 min,然后在相同条件下离心。再倾去上清液,向沉淀物中加入5 mL 经预冷的提取缓冲液(0.1 mol/L NaCl, 1.0 mmol/L DTT, 50 mmol/L pH5.5 乙酸-乙酸钠缓冲液),于4℃冰箱中静置提取20 min,再经过相同条件离心后收集上清液即为酶提取液,4℃保存备用。

表1 标准样液配制

试管号	0	1	2	3	4	5	6
1g/L 葡萄糖标准液(mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2
蒸馏水(mL)	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0	0.8
DNS(mL)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
葡萄糖(mg)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2

1.2.3 PG 活力测定

取2支25 mL 具塞刻度试管,每支试管中都分别加入1.0 mL 50 mmol/L、pH5.5 乙酸-乙酸钠缓冲液和0.2 mL 10g/L 多聚半乳糖全酸溶液。再往其中一支试管中加入0.2 mL 粗酶提取液,另一支试管作为空白对照,混匀后置于40℃水浴中保温1.5 h。保温后,迅速加入1.5 mL 3,5-二硝基水杨酸试剂(DNS),在沸水浴中加热5 min。然后迅速冷却至室温,以蒸馏水稀释至25 mL 刻度处,摇匀。在波长540 nm 处按照与制作标准曲线相同的方法比色,测定各管中溶液的吸光度值。重复3次。

根据反应管和对照管的差值,从标准曲线上查得相应葡萄糖含量。PG 活性以每小时每克果蔬样品中在37℃催化多聚半乳糖醛酸水解生成半乳糖醛酸的质量表示,即μg/h·g。计算公式:

$$\text{PG活性}(\mu\text{g/h}\cdot\text{g})=\frac{M\times N\times 1.08}{V\times t}$$

式中:M—从标准曲线查得的葡萄糖质量,mg;

N—酶液的稀释倍数;

V—取样量,mL;

t—酶促反应时间,h;

1.08—葡萄糖换算成半乳糖醛酸的系数(=194/180)。

在上述条件下,每小时催化底物产生1 mg 半乳糖醛酸所需酶量定义为一个酶活力单位,即μg/h·g。

1.3 果胶(%):选取100个果实,参考曹建康等的咔唑比色法测定^[14]。

1.4 硬度(kg·cm⁻²):用FHR-5型硬度计测100个果实硬度。要求不去果皮,用力均匀,每个果实测2次,取平均值^[18]。

2 结果与分析

2.1 测定波长选择

任俊等对DNS法测定还原糖的适用波长进行了探索,结论有480,490,495,520,540 nm 等^[13-15]。400~700 nm 下,表1中葡萄糖、DNS 试剂、葡萄糖与DNS 反应终产物(简称产物,下同)吸光值(Abs)曲线见图1。由图1可知,DNS 试剂随着波长增加,DNS 试剂吸光值逐渐减少,在520 nm 之后曲线基本平缓。产物最大吸收峰处波长为485 nm。但是在485 nm 处,DNS 试剂的吸光值也较大,故测定波长应≥520 nm。

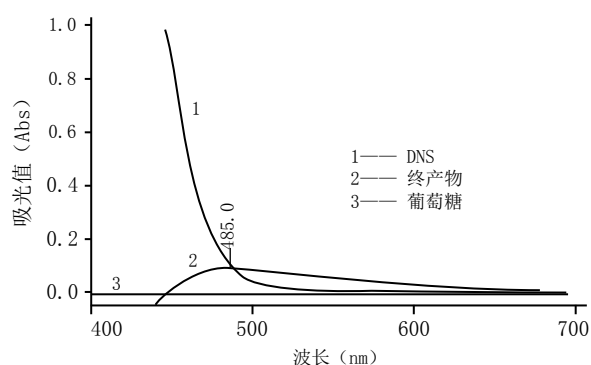


图1 葡萄糖、DNS试剂、反应终产物吸光值

在比色测定中,为减少干扰,同时考虑产物的吸光值随测定波长的增大也逐渐减小的变化情况,根据“吸收最大,干扰最小原则”^[16-17],应该选择DNS吸光值较小,产物吸光值较大的区间,故选择测定波长范围为520~540 nm。选择520、530、540 nm作为测定的波长,按表1的配制方法分别绘制不同波长下的标准曲线,结果见表2。

表2 不同波长下的标准曲线

波长(nm)	相关系数(R)	标准曲线方程
520	0.9989	$Y=1.1366X+0.0086$
530	0.9990	$Y=1.0018X+0.0066$
540	0.9993	$Y=0.8671X-0.0024$

由表2可知,540 nm的相关系数最大,因此选择540 nm作为最适波长,在此波长下DNS试剂的吸光度值较小,接近零,即使DNS试剂过量对样品的吸光值影响也会较小^[18-19]。

2.2 不同采摘期果胶、果胶酶的变化

2.2.1 不同采摘期果胶含量的变化

软枣猕猴桃不同采收期的果胶含量的变化如图2,随着采收期的延迟,软枣猕猴桃的原果胶含量呈现先上升后下降的变化趋势,原果胶含量从7月22日至8月21日呈现持续上升趋势,且上升速度由慢变快,从8月9日开始出现显著上升,在8月21日达到峰值1.15%;从8月21日至8月27日呈现快速下降趋势;从8月27日至9月5日呈缓慢下降趋势,与前一阶段比较,下降的幅度很小,变化趋势较平缓。可溶性果胶的含量在7月22日至8月18日也呈上升趋势,但上升的幅度显著小于原果胶,由0.24%上升至0.62%,在8月21日出现显著下降,从8月24日至9月5日,可溶性果胶的含量较稳定,呈缓慢的上升趋势,变化幅度很小。

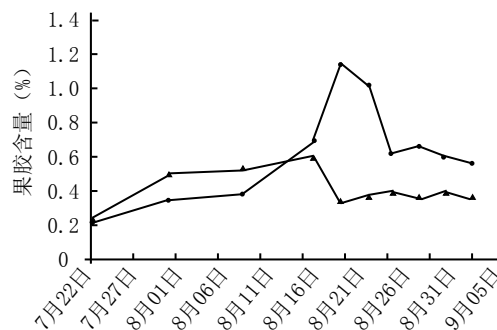


图2 软枣猕猴桃不同采收期果胶含量的变化

2.2.2 不同采摘期果胶酶活性的变化

软枣猕猴桃不同采收期果胶酶活性的变化如图3,随着采收期的延迟,软枣猕猴桃的果胶酶活性呈现先上升后下降的变化趋势。从7月22日至8月30日,果胶酶活性持续上升,且上升速度较快,在8月30日达到峰值1010.72 $\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$;从8月30日以后,果胶酶活性迅速下降,在9月2日下降至84.95 $\mu\text{g/h}\cdot\text{g}$,直至9月5日,果胶酶活性始终维持在较低水平。

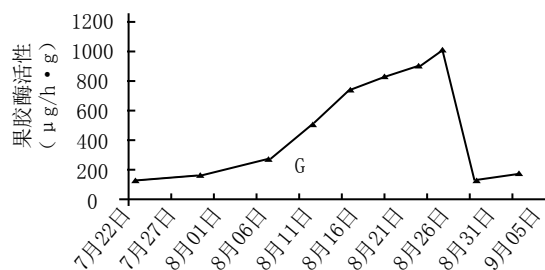


图3 软枣猕猴桃不同采收期果胶酶(PG)活性的变化

2.3 不同贮藏温度对果胶酶活力变化的影响

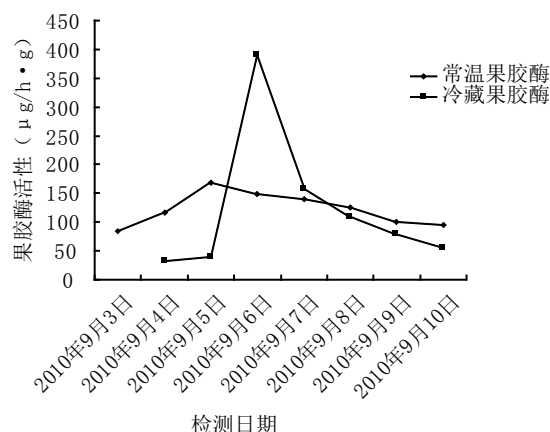


图4 软枣猕猴桃不同储藏温度果胶酶的变化

PG酶是一种细胞壁蛋白,它的主要功能是将果实细胞壁中多聚半乳糖醛酸降解为半乳糖醛

酸,使细胞壁结构解体,果实开始软化^[20]。由图4中可见,在室温贮藏条件下,软枣猕猴桃果实的果胶酶活性呈上升状态,在9月5号达到最高峰,之后逐渐下降;在低温贮藏条件下,软枣猕猴桃果实的果胶酶活性在9月7号达到最高峰。与常温贮藏相比较,在低温贮藏条件下,果胶酶活性普遍低于常温贮藏,但低温贮藏的峰值出现时间比常温贮藏出现的时间要晚一些,可见低温贮藏可以降低软枣猕猴桃果实的果胶酶活性。

3 结 论

3.1 软枣猕猴桃果实在8月末已经达到可采收成熟度,9月5日前后已经达到生理成熟度。最佳采收期宜选在8月末至9月初,采收成熟度宜选择在果实果胶酶含量1010.72 $\mu\text{g}/\text{h}\cdot\text{g}$ 左右。

3.2 低温可以增加软枣猕猴桃的贮藏时间,降低果胶酶的活力,从而延缓原果胶含量的下降及可溶性果胶含量的上升,保持果实的硬度。

参考文献:

- [1] 朴一龙,赵兰花.软枣猕猴桃研究进展[J].北方园艺,2008(3):76-78.
 - [2] 马月申,袁福贵,赵淑兰.软枣猕猴桃果实营养成分的测定[J].特产研究,1992(1):44-45.
 - [3] 吴彬彬.几个猕猴桃主栽品种适宜采收期研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008.
 - [4] 吴彩娥,王文生,寇晓虹.果实成熟软化机理研究进展[J].果树学报,2001,18(6):365-369.
 - [5] Ronald P, Vries D, Jaap V, et al. Aspergillus enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides[J]. Microbiol Mol Biol R, 2001, 65(4): 497-522.
 - [6] 杨德兴,戴京晶,庞向宇,等.猕猴桃衰老过程中PG、果胶质和细胞壁超微结构的变化[J].园艺学报,1993,20(4):341-345.
 - [7] 吴明江,张忠恒,于萍.苹果成熟软化过程中质壁互作的生理和结构研究[J].园艺学报,1995,22(2):181-182.
 - [8] 陆定志,傅家瑞.植物衰老及其调控[M].北京:中国农业出版社,1997.
 - [9] Xue YB, Kubo Yznaba A. Effects of humidity on ripening and texture in banana fruit [J]. Japan Soc Hort Sei, 1995, 64(3): 657-664.
 - [10] Ben-Arie R, Kister N, Frenkel C. Degradation and solubilization of pectin by β -galactosidases purified from avocadosomecarp[J]. Plant Physiol, 1993(87): 279-285.
 - [11] 王小敏,吴文龙,闫连飞,等.分光光度计测定果胶酶活力的方法研究[J].食品工业科技,2007,28(5):227-229.
 - [12] Huber D J. The role of cell wall hydrolases in fruit softening[J]. Hort Rev, 1983(5): 169-219.
 - [13] EAnnHagerman, JPaulAustin. Continuous spectrophotometric assay for plant pectin methyl esterase[J]. Food Chem., 1986(34): 440-444.
 - [14] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2007:30-34.
 - [15] 王文岭,黄雪松. DNS法测定木糖含量时最佳测定波长的选择[J]. 食品科学,2006,27(4):196-198.
 - [16] 齐香君,苟金霞. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定溶液中还原糖的研究[J]. 纤维素科学与技术,2004,12(3):17-19.
 - [17] 王琳,刘国生,王林嵩,等. DNS法测定纤维素酶活力最适条件研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版),1998,26(3):66-69.
 - [18] 武汉大学. 分析化学[M]. 北京:高等教育出版社,2002:232.
 - [19] 屈慧鸽,孙宪忠,赵淑兰,等.软枣猕猴桃贮藏过程中软化因素研究[J].特产研究,1999(3):25-28.
 - [20] Crooks PR, Grierson D. Ultrastructure of tomato fruit ripen and the role of polygalacturonase isoenzymes in cell wall degradation [J]. Plant Physiol, 1983(72): 1088-1093.
-
- (上接第90页)
- [7] 刘藜,喻理飞.水分胁迫对银合欢种子萌芽的影响[J].贵州农业科学,2007,35(2):49-50.
 - [8] 赵笃乐.光对种子休眠与萌发的影响(上)[J].生物学通报,1995,30(7):24-25.
 - [9] 杨期和,宋松泉,叶万辉,等.种子感光的机理及影响种子感光性的因素[J].植物学通讯,2003,20(2):238-247.
 - [10] 鱼小军,师尚礼,龙瑞军,等.生态条件对种子萌发影响研究进展[J].草业科学,2006,23(10):44-49.
 - [11] Karin M Kettenring, Gary Gardner, Susan M Galatowitsch. Effect of Light on Seed Germination of Eight Wetland *Carex* Species [J]. Annals of Botany, 2006(98): 869-874.
 - [12] 叶要妹,李新平.不同浸种温度和浸种时间对小冠花种子发芽的影响[J].种子,1997(4):53-55.
 - [13] 张凤娟,李继泉,徐兴友,等.环境因子对黄顶菊种子萌发的影响[J].生态学报,2009,29(4):1947-1953.
 - [14] 李清芳,辛天蓉,马成仓,等. pH值对小麦种子萌发和幼苗生长代谢的影响[J].安徽农业科学,2003,31(2):185-187.
 - [15] 张秀玲.盐分对夏至草种子萌发以及盐胁迫解除后种子萌发能力恢复的影响[J].植物生理学通讯,2008,44(3):436-440.
 - [16] 阎顺国,沈禹颖,任继周,等.盐分对碱茅种子发芽影响的机制[J].草地学报,1994,2(2):12-19.
 - [17] 芦站根,崔兴国,蒋文静.衡水湖黄顶菊的入侵情况的初步调查研究[J].衡水学院学报,2006,8(1):69-71.
 - [18] 段德玉,刘小京,李存桢.不同盐分与水胁迫对灰绿藜种子萌发效应研究[J].中国生态农业学报,2005,13(2):79-81.
 - [19] 方旭燕,俞慧娜,赵超.不同 Fe^{2+} 浓度对大豆种子萌发的影响[J].种子,2004,23(11):34-36.
 - [20] 周化斌,姜丹,金卫挺,等.锰对大豆种子萌发的影响[J].种子,2003(4):22-23.