

枸杞采后细胞壁组分及其降解酶活性的变化

冯 美¹, 张 宁², 张宏宝¹, 刘听利¹, 张锦涛¹

(1. 宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏大学化学化工学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要: 将枸杞果实采后在室温下贮藏 10 d, 测定分析果实腐烂、细胞壁组分及果胶代谢酶类活性的变化。结果表明, 采后 2 d, 果实开始腐烂, 8~10 d 腐烂最快。贮藏期间, 可溶性果胶含量呈现先上升, 后降低, 最后又上升的趋势; 离子型果胶含量呈逐渐上升趋势。两者含量与果实腐烂指数呈极显著正相关。共价结合的果胶含量呈现先降低, 后上升, 最后急剧降低的趋势, 与果实腐烂指数呈负相关。纤维素、半纤维素含量均呈逐渐下降趋势, 与果实腐烂指数呈极显著负相关。PME 活性呈逐渐下降趋势, 与果实腐烂指数呈显著负相关。PG 活性呈现先降低, 后上升, 最后又降低的趋势, 与果实腐烂指数负相关。

关键词: 枸杞; 采后; 细胞壁组分; 细胞壁降解酶

中图分类号: S567.1*9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2011)05-0111-04

枸杞 (*Lycium barbarum* L.) 属茄科枸杞属, 是多年生双子叶落叶灌木。宁夏枸杞含有多种活性物质, 是理想的药用食用植物资源^[1]。近几年来, 枸杞国际市场范围不断扩大, 不仅表现出对枸杞干果需求的增加, 而且诸如枸杞酒、枸杞粉、枸杞鲜汁、枸杞鲜果的市场也在不断拓展。枸杞为浆果, 果实采后在常温条件下, 贮藏时间最多维持 2~3 天。生产上主要通过鲜果制干, 进行果实贮藏及深加工利用, 但由于鲜果制干过程会造成大量营养物质和活性成分的损失, 从而严重制约枸杞产品质量的提高。

果实软化是大多数果实从成熟到衰老的一个必然生理过程。关于果实软化的研究报道很多, 目前认为果实软化主要是由细胞间层结构改变, 细胞壁总体结构破坏及胞壁物质降解等引起的^[2]。有关果实成熟软化过程中细胞壁组分的降解特性的研究已有许多报道, 例如苹果^[3]、草莓^[4]、香蕉^[5], 细胞壁组分在整个软化过程中降解非常轻微; 番茄^[6]和番木瓜果^[7]等, 在果实软化初期比较慢, 在果实软化后期, 降解作用非常明显。大多研究认为果实的软化是细胞壁水解酶引起的细胞壁组分降解引起的, 尤其与多聚半乳糖醛酸酶密切相关^[8]。也受果胶甲酯酶影响^[9]。

目前系统全面地研究枸杞果实成熟软化过程中细胞壁组分的降解特性, 相关多糖降解酶在枸杞果实软化中的作用鲜有报道。本研究以黄熟期的枸杞果实为材料, 研究采后常温贮藏期间, 枸杞细胞壁成分及其降解酶活性的变化, 为枸杞果实软化调控、延

长果实保鲜期提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料与处理

试验于 2010 年 5~9 月在宁夏农科院园艺研究所枸杞基地进行, 以宁杞 1 号为材料, 按照叶力勤^[10]对枸杞果实发育时期的确定方法, 取黄熟期果实(果体外表黄红色), 选择无损伤、无病虫的枸杞果实为试材, 裸放在室温下, 3 个重复, 每隔 2 天取一定数量果实保存于 -80℃ 超低温冰箱中用于生理生化指标测定。

1.2 果实腐烂指数测定

以果实表面出现病斑作为果实腐烂的判别依据。按果实腐烂面积大小将果实划分为 5 级, 0 级: 无腐烂; 1 级: 果面有 1~3 个小腐烂斑点; 2 级: 腐烂面积占果实面积的 25%~50%; 3 级: 腐烂面积占果实面积的 50%~75%; 4 级: 腐烂面积占果实面积的 75%~100%; 按下式计算腐烂指数: 腐烂指数 = $\sum [(\text{腐烂级别} \times \text{该级果实数}) / (\text{总果实数} \times \text{最高腐烂级别})] \times 100\%$

1.3 果胶含量的测定

参考 Zhou^[11], Fishman^[12]的方法, 取 5 g 果实, 放在 100 mL 80% 乙醇中煮 20 min, 冷却后 3 000 rpm 离心 10 min, 用 20 mL 乙醇和丙酮各重新离心洗 2 遍, 得到粗细胞壁, 用 15 mL 90% 的二甲基亚砜浸泡 15 h, 去掉淀粉, 在低温冰箱中冻干 72 h, 然后在 45℃ 条件下干燥。用 50 mmol/L 的乙酸钠 (pH 6.5) 加到

收稿日期: 2011-03-10

基金项目: 宁夏自然科学基金资助项目“枸杞果实成熟软化过程中生理生化变化研究”(NZ0923)

作者简介: 冯 美 (1970—), 女, 宁夏盐池人, 副教授, 硕士, 主要从事果树栽培与生理研究。

粗细胞壁中,离心提取得到水溶性果胶。用 50 mmol/L CDTA 和乙酸钠(pH6.5)提取 6 h,离心得到离子型果胶。50 mmol/L 的碳酸钠(含 2 mmol/L CDTA)4℃下提取 18 h,再在室温下放 2 h,离心得到共价结合的果胶,4 mol/L 的氢氧化钾(含 1% 硼氢化钠)振荡提取 5 h,得到半纤维素,最后剩下的残渣用无离子水洗两遍,得到纤维素。用咔唑硫酸比色法测定果胶类物质含量^[13],用蒽酮比色法测定纤维素含量^[14]。

1.4 果胶甲酯酶(PME)、多聚半乳糖醛酸酶(PG)的测定

PME 活性参照朱广廉等^[15]的方法测定,一个 PME 活性单位表示 30 min 内每克果肉释放出 1 mmol 甲氧基(-OCH₃)。PG 活性的测定方法参考 Pressey R^[16],以单位重量果实中单位时间内产生的半乳糖醛酸含量表示酶活性。

1.5 数据处理

数据用 SPSS 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 枸杞果实采后室温条件下腐烂指数的变化

由图 1 可以看出,采后室温下,枸杞果实第 2 天开始腐烂,4 天后腐烂指数开始上升,存放第 8 天,果实腐烂指数急剧增加,到第 10 天几乎全部腐烂。

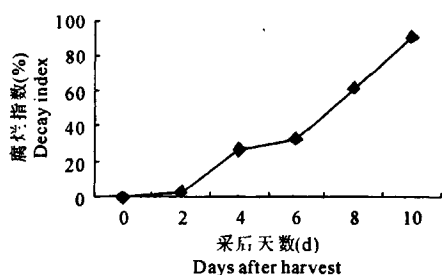


图 1 枸杞果实室温条件下腐烂指数变化

Fig.1 Changes of of fruit decay index of *Lycium barbarum* L. fruit during ambient temperature storage

2.2 枸杞果实采后室温条件下果胶含量的变化

由图 2 可以看出在室温条件下,枸杞果实可溶性果胶含量在贮藏过程中呈现先上升,后降低,最后急剧增加的趋势。刚采收时,含量为 0.0054%,随后逐渐上升,第 4 天增加到 0.0529%,第 6 天又降低到 0.0430%,随后急剧上升,采后第 10 天,其含量为 0.1643%,比采收时增加了 29.9 倍。离子型果胶含量在贮藏过程中呈逐渐上升趋势。果实刚采收时,

含量为 0.00485%,采后第 10 天,其含量增加到 0.0438%,比采收时增加了 9.03 倍。共价结合的果胶含量在贮藏过程中呈现先降低,后上升,最后急剧降低的趋势。刚采收时,含量为 0.0235%,第 2 天降到 0.0176%,到第 4 天又开始上升,随后缓慢变化,采后第 10 天,其含量急剧降到 0.0062%,比采收时降低了 3.8 倍。

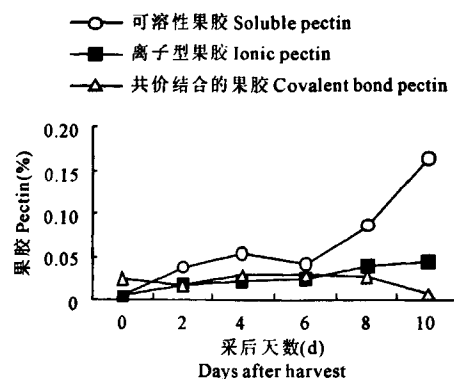


图 2 枸杞果实室温条件下果胶含量变化

Fig.2 Changes of pectin contents of *Lycium barbarum* L. fruit during ambient temperature storage

2.3 枸杞果实采后室温条件下纤维素、半纤维素含量的变化

由图 3 可知,在整个贮藏期间,纤维素、半纤维素含量均呈逐渐下降趋势。纤维素含量由 0.475% 降到 0.1166%,降低了 4.07 倍;半纤维素含量由 0.568% 降到 0.2099%,降低了 2.71 倍。

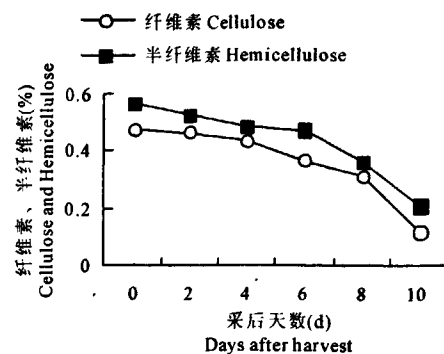


图 3 枸杞果实室温条件下纤维素、半纤维素含量变化

Fig.3 Changes of Cellulose and Hemicellulose contents of *Lycium barbarum* L. fruit during ambient temperature storage

2.4 枸杞果实采后室温条件下 PME、PG 活性的变化

由图 4 可知,在整个贮藏期间,PME 活性呈逐渐下降趋势。由 0.8211 U 降到 0.3205 U,降低了 2.56 倍。

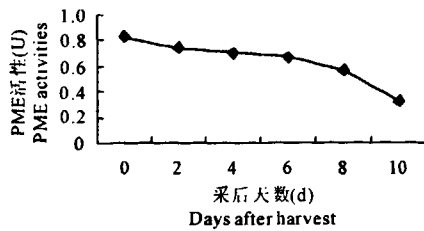


图4 枸杞果实室温条件下 PME 活性变化

Fig.4 Changes of PME activities of *Lycium barbarum* L. fruit during ambient temperature storage

由图5可知,在整个贮藏期间,PG活性在贮藏过程中呈现先降低,后上升,最后又降低的趋势。刚采收时,活性 $0.7717 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,第2天降到 $0.4309 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,第4天又开始上升,随后缓慢变化,采后第10天,其活性降到 $0.2814 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,活性降低了2.74倍。

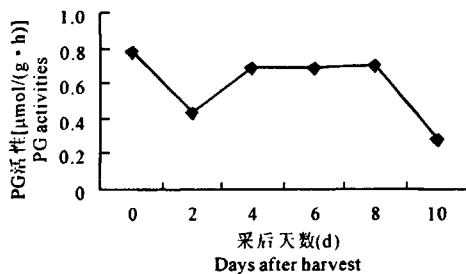


图5 枸杞果实室温条件下 PG 活性变化

Fig.5 Changes of PG activities of *Lycium barbarum* L. fruit during ambient temperature storage

3 讨论

果实质地的变化与细胞壁组分的降解密切相关,本研究结果显示,随着果实在贮藏期间的腐烂,可溶性果胶、离子型果胶含量不断上升,并且与采后果肉腐烂指数呈明显的相关性,相关系数分别为: $r = 0.95^*$ 、 $r = 0.952$,与共价结合的果胶呈负相关性,但并不显著,相关系数为 $r = -0.48$ 。说明枸杞果实采后腐烂过程中,在果胶降解相关酶的作用下,果胶物质发生降解,一些高分子量的、高甲氧基化的果胶多糖转变为低分子的、可溶于水的果胶多糖。周培根等^[17]的研究结果表明桃果实的软化与水溶性果胶含量的增加有密切的关系。欧洲梨、沙梨、白梨3个主要系统果实软化期间的可溶性果胶也增加^[18]。

纤维素是细胞壁的骨架,细胞壁结构的改变不仅与共价结合的果胶降解有关,而且也与纤维素的结构变化有关。枸杞采后腐烂过程中纤维素、半纤维素降解,相关分析结果表明,枸杞果实腐烂指数与

纤维素、半纤维素呈明显负相关($r = -0.965^*$ 、 $r = -0.986^*$),这表明纤维素、半纤维素的下降在枸杞果肉腐烂中起重要作用。这和梨的研究结果类似^[19]。

在本研究中,枸杞果实采后贮藏初期和果实开始腐烂时,PME和PG具有较高活性,起了使果胶等大分子物质降解的作用。且PME的活性高峰在贮藏当天,PG的活性高峰持续时间在采后4天到8天,说明对果胶的水解是由PME首先启动的,PME酶活性增加,使果胶去甲酯化,随后PG酶活性增加,枸杞果实开始腐烂,失去保鲜意义。相关分析表明,枸杞果实腐烂与PME成极显著的负相关($r = -0.967^*$),这表明PME可能在枸杞果实的前期软化腐烂中起重要作用。枸杞果实贮藏期间PG活性降低缓慢,相关分析表明,枸杞果树腐烂与PG活性呈负相关($r = -0.488$),并不显著,这与果胶降解的实际进度不对应。表明PG可能不是引起枸杞果实腐烂的主要原因。

细胞壁的结构破坏,主要是由细胞壁物质大量分解造成的,包括果胶物质、纤维素、半纤维素的降解,同时还伴随细胞其它成分的分解。而细胞壁中的这些成分降解依赖于一系列分解这些物质的酶的活性。除了PME和PG酶以外,还有 β -半乳糖苷酶、纤维素酶、木葡聚糖内糖基转移酶等。国外对一些采后水果的软化研究表明,不同树种、品系间软化速度差异较大,软化的主要因素也不尽相同,所以对于枸杞,应该进行细胞壁多糖成分的变化、细胞壁多糖各单糖含量的变化、细胞壁多糖水解酶、果肉细胞超微结构变化等系统的研究,才能有助于找出关键的影响因子,为枸杞果实采后软化调控、延长果实保鲜期提供理论依据。

参考文献:

- [1] 齐宗韶.枸杞化学成分的研究[J].中药通报,1986,11(3):35—36.
- [2] 陆定志,傅家瑞,宋松泉.植物衰老及其调控[M].北京:中国农业出版社,1997:4—5.
- [3] Yoshioka H, Aoba K, Kashimura Y. Molecular weight and degree of methoxylation in cell wall polyuronide during softening in pear and apple fruit[J]. American Society for Horticultural Science, 1992, 117: 600—606.
- [4] Huber D J. Strawberry fruit softening: the potential roles of polyuronides and hemicelluloses[J]. Food Science, 1984, 49: 1310—1315.
- [5] Wade N L, Kavanagh E E, Hockley D G, et al. Relationship between softening and the polyuronides in ripening banana fruit[J]. Science of Food and Agriculture, 1992, 60: 61—68.
- [6] Huber D J, O'Donoghue E M. Polyuronides in avocado (*Persea ameri-*

- cana*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits exhibit markedly different patterns of molecular weight downshifts during ripening[J]. *Plant Physiology*, 1993, 102:473—480.
- [7] Pauly M, Albersheim P, Darvill A, et al. Molecular domains of the cellulose /xyloglucan network in the cell walls of higher plants[J]. *The Plant Journal*, 1999, 20:629—639.
- [8] Nikolic M V, Mojovic L. Hydrolysis of apple pectin by the coordinated activity of pectic enzymes[J]. *Food Chemistry*, 2007, 101:1—9.
- [9] Lazan H, Ng S Y, Goh L Y, et al. Papaya β -galactosidase/galactanase is forms in differential cell wall hydrolysis and fruit softening during ripening[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, 42: 847—853.
- [10] 叶力勤.枸杞果实发育时期及特性观察[J]. *宁夏农林科技*, 2009, (2):18—19.
- [11] Zhou H W, Sonogo L, Khalchitski A, et al. Cell wall enzymes and cell wall changes in 'Flavortop' nectarines: mRNA abundance, enzyme activity, and changes in pectic and neutral polymers during ripening and in woolly fruit[J]. *Am Soc Hortic Sci*, 2000, 125(5): 630—637.
- [12] Fishman M L, Levaj B, Gillespie D, et al. Changes in the physico-chemical properties of peach fruit pectin during on tree ripening and storage[J]. *Am Soc Hortic Sci*, 1993, 118(3):343—349.
- [13] 韩雅珊.食品化学实验指导[M].北京:北京农业大学出版社, 1992:32—33.
- [14] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社, 2000:211—212.
- [15] 朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社, 1988:235—239.
- [16] Pressey R, Avants J K. Differences in polygalacturonase composition of clingstone and freestone peaches[J]. *Food Sci*, 1978, 43:1415—1417.
- [17] 周培根.桃成熟期间果实软化与果胶及有关酶的关系[J]. *南京农业大学学报*, 1992, 14(2):33—37.
- [18] Redgwell R J, MacRae E, Hallett I. In vivo and invitro swelling of cell walls during fruit ripening[J]. *Plant*, 1997, 203:162—173.
- [19] Murayama H, Katsumata T, Horiuchi O, et al. Relationship between fruit softening and cell wall polysaccharides in pears after different storage periods[J]. *Postharvest Biol Technol*, 2002, 26:15—21.

Changes in cell wall component and hydrolases in the fruit of *Lycium barbarum* during the postharvest period

FENG Mei¹, ZHANG Ning², ZHANG Hong-bao¹, LIU Ting-li¹, ZHANG Jin-tao¹

(1. Agriculture School, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China;

2. Chemistry and chemicalengineering School, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

Abstract: *Lycium barbarum* L. fruits were stored for 10 days in ambient temperature to study changes of fruit decay, cell wall components and activity of pectin-degrading enzyme in relation to their texture. The results show that fruit decay began decreasing 2 days after harvest and the most rapid period was 8 ~ 10 days after harvest. During the period of storage, the contents of water-soluble pectin (WSP) followed the high - low - high trending. and Ionic bond pectin increased. Significant positive correlation was observed between WSP, Ionic bond pectin and fruit decay index. The content of covalent bond pectin followed the low - high - low trending, was negatively with fruit decay index. The contents of cellulose and hemicellulose were decreased, was significant positive correlation with fruit decay index. Pectin-methylesterase (PME) activity was decreased, was significant negatively correlation with fruit decay index. Polygalacturonase (PG) activity followed the low - high - low trending, was negatively correlation with fruit decay index.

Keywords: *Lycium barbarum* L.; postharvest; cell wall components; cell wall-degrading-enzyme