

低温贮藏李子细胞壁酶活性变化对果胶降解的影响

梁洁玉, 朱丹实, 赵丽红, 葛永红, 曹雪慧, 冯叙桥, 励建荣

(渤海大学食品科学研究院, 渤海大学化学化工与食品安全学院, 辽宁省食品安全重点实验室, 辽宁锦州 121013)

摘要: 细胞壁酶活性变化对果胶降解及果实软化影响较大。本文以“半边红”李子为原料, 研究 0 °C 和 10 °C 低温贮藏时果胶物质和主要细胞壁多糖降解酶 (PE, exo-PG, endo-PG, EG) 活性变化, 通过相关性研究阐明细胞壁酶活性对果胶降解的影响。结果表明, 低温贮藏时, 四种细胞壁降解酶活性变化各不相同, 较低的温度能够在一定程度上抑制各酶活性。0 °C 和 10 °C 温度贮藏时, PE 活性变化在 5d 之后显著差异, exo-PG 活性变化在整个贮藏期差异显著。0 °C 和 10 °C 贮藏李子 endo-PG 和 EG 活性在前 10 d 贮藏过程中变化差异均不明显。endo-PG 和 EG 活性变化趋势接近, 且 endo-PG 活性峰值出现比 EG 晚。相关性分析表明, 原果胶和 SSP 与 WSP 含量变化显著负相关; PE 活性与 ASP 和 HSP 含量变化显著正相关, PG 对原果胶和 SSP 向 WSP 转化的过程中起到较为重要的作用。EG 对李子果胶降解的影响作用不大。

关键词: 李子; 果胶; 细胞壁酶; 降解; 软化

文章编号: 1673-9078(2015)5-212-218

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.5.034

Effect of Changes in Cell Wall Enzyme Activity on Degradation of Pectin during Low-temperature Storage of Plum

LIANG Jie-yu, ZHU Dan-shi, ZHAO Li-hong, GE Yong-hong, CAO Xue-hui, FENG Xu-qiao, LI Jian-rong

(Research Institute of Food Science, Bohai University; College of Chemistry, Chemical Engineering and Food Safety, Bohai University; Food Safety Key Lab of Liaoning Province, Jinzhou 121013, China)

Abstract: Changes in cell wall enzyme activity are known to significantly affect pectin degradation and fruit softening. Changes in the pectin content and activity of cell wall polysaccharide-degrading enzymes (PE, exo-PG, endo-PG, and EG) during low-temperature storage (0 °C and 10 °C) of “banbianhong” plum were investigated in this study. Correlation analysis was carried out to explore the effect of cell wall enzyme activity on pectin degradation. The results showed that the changes in the activities of four cell wall enzymes were different during low-temperature storage, indicating that lower temperatures inhibited enzyme activity to a certain extent. PE activity showed significant difference after 5 days storage under 0 °C and 10 °C, while significant differences were found in exo-PG activity during the entire storage period. When the plum was stored at 0 °C and 10 °C, activities of endo-PG and EG did not show significant difference during the first 10 days and the trend of changes in endo-PG activity was similar to that of EG, however, the peak value of endo-PG activity appeared later than that of EG. The results of correlation analysis between pectin content and cell wall enzyme activity showed that protopectin and SSP content showed a significant negative correlation with WSP content. The activity of PE exhibited a significant positive negative correlation with ASP and HSP content. Thus, PG played an important role in the conversion process from protopectin and SSP to WSP, while EG played a minor role on the degradation of pectin in plums.

Key words: plum, pectin, cell wall enzyme, degradation, softening

软化是果实成熟和贮藏期间的主要变化之一, 虽然可提高果实的风味和口感, 但是会降低其抗病性, 缩短果实的贮藏期, 影响商品价值。细胞壁组分的鉴

收稿日期: 2014-07-06

基金项目: 辽宁省食品安全重点实验室开放课题 (LNSAKF2011026); 辽宁省食品质量与安全优秀教学团队项目 (SPCX12)

通讯作者: 朱丹实 (1978-), 女, 讲师, 研究方向为农产品贮藏加工; 冯叙桥 (1961-), 男, 教授, 博士, 研究方向为果蔬贮藏保鲜技术与质量安全控制

定及表达蛋白的特性和活性是分析果实软化过程的重要方法^[1]。果胶溶解性的变化是果实软化显著特征之一, 在相关酶的作用下, 使细胞壁发生降解。多项研究表明, 果实软化受纤维素和半纤维素的分解代谢^[2-3]影响并不大。对果实软化过程的果胶溶解性变化的研究表明^[4-6], 果实成熟软化过程中原果胶和碱溶性果胶不断降解, 含量下降, 而水溶性果胶含量不断升高, 且分子量不断减小。

不同水果原料, 细胞壁降解酶类作用差别较大。

对冬枣软化过程中研究发现^[7], 果胶酯酶(PE)与冬枣快速衰老的启动有关, 而多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性在低温下受到抑制。对杏果实采后研究表明^[8], 果胶酶活性升高促进了果胶的降解, 水溶性果胶和离子型果胶含量的升高是杏果实软化的主要原因。苹果成熟过程中果胶降解的相关酶的活性与乙烯的产生密切相关, 与果胶自身的结构的变化关系不大^[9]。因此有必要针对不同水果原料, 来研究果胶降解过程及其影响因素。此外, 细胞壁酶的活性及果胶的降解除了受到果实自身酶系统作用有关, 还会受到外界环境条件的影响。

李子(*Prunus salicina Lindl.*), 是蔷薇科植物李树的果实。“半边红李子”因果实向阳面呈紫红色, 背面呈绿色而得名, 是辽宁地区特色的品质之一。“半边红李子”成熟于 6~9 月, 采后品质劣变迅速, 不耐贮藏。本文通过研究两种低温贮藏条件下“半边红”李子果胶物质及主要细胞壁酶活性的变化, 探讨李子贮藏过程中软化过程及主要影响因素, 为明晰李子软化机制提供理论借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器设备

半边红李子(*Prunus salicina Lindl. banbianhong*), 锦州北镇果园采摘后运回实验进行预冷。挑选个体大小一致, 无机械损伤、病虫害等, 成熟度均为八成熟(约 80% 转红)的果实进行实验。

TA-XT-PLUS(SMS)质构仪, 超技仪器有限公司; Sorall Bbiofuge Stators (THERMO)冷冻高速离心机, THERMO SCIENTIFIC; SHA-2 冷冻水浴恒温振荡, 金坛市瑞华仪器有限公司; UV-255 紫外-可见分光光度计, 岛津仪器(苏州)有限公司; PL303 电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; FE20 实验室 pH 计, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; DK-98-IIH 电热恒温水浴锅, 天津市泰斯特仪器有限公司; TDL-5-A 低速大容量离心机, 上海安亭科学仪器厂; MIR254 低温恒温培养箱 SANYO; 乌氏粘度计。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理

将预冷挑选进行实验的李子分别存放在 0 °C 和 10 °C 的低温恒温培养箱中, 每 4 d 取果皮和离果核 2 mm 之间的果肉组织, 经过 -80 °C 冷冻后测定细胞壁酶活性和不同溶解性果胶含量, 以分析李子果实软化的过程。

1.2.2 果实硬度的测定

每个温度处理随机取 5 个李子样品, 用 TA-XT-PLUS(SMS)质构仪进行穿刺实验分析李子贮藏过程中硬度变化。测定参数设置如下: 探头 P/2, 测试速度 1 mm/s, 测试距离 5 mm。

1.2.3 果胶酯酶(PE)、多聚半乳糖醛酸酶(PG)和葡聚糖苷酶(EG)活性测定

参考 Zhou 等^[10]的实验方法, 略有改动。取 60 g 冷冻的果肉组织, 加入 60 mL 冷的 12% 的聚乙二醇和 0.2% 的 NaHSO₄ 溶液在冰浴中研磨呈匀浆。匀浆在 13000×g, 4 °C 条件下离心 10 min, 然后用冷的 0.2% 的 NaHSO₄ 溶液洗涤沉淀。将沉淀按质量平均分成 3 份, 来提取 PE, exo-PG, endo-PG 和 EG。对于 PE, 将滤渣悬浮到 20 mL 7.5% (m/V) NaCl 溶液中, 用 0.75% 的 EDTA 溶液调节 pH 为 6.5, 在 4 °C 下放置 10 min, 离心后收集上清液作为酶提取液。对于 exo-PG 和 endo-PG, 将沉淀在 20 mL 冷的含有 0.5 mol/L NaCl 的 50 mmol/L 的醋酸钠缓冲液 (pH 5) 在 4 °C 下振荡 1 h, 离心后将上清液用 50 mmol/L 的醋酸钠缓冲液 (pH 5) 按 1:1 的比例稀释, 作为测定 exo-PG 和 endo-PG 活性的酶提取液。对于 EG, 将滤渣置于 20 mL 含有 1 mol/L NaCl 的柠檬酸磷酸盐缓冲液 (0.1 mol/L, pH 6.0) 中, 4 °C 下振荡 1 h, 离心后收集上清液作为酶提取液。

1.2.3.1 PE 活性测定

取 5 mL 酶的提取液, 加入到 20 mL 1% (m/V) 果胶液中, 在 30 °C 下用 0.01 mol/L NaOH 滴定, 保持 pH 在 7.4, 测定 10 min, 以 NaOH 的消耗量来确定酶活性。酶活力单位: 以每 10 min 单位鲜果实消耗 0.01 mol/L NaOH 的量表示酶活性, 即 1 U=1 mmol NaOH/(10 min·g)。

1.2.3.2 exo-PG 活性测定

取 0.75 mL 酶提取液, 加入到等体积的用 50 mmol/L 的醋酸钠缓冲液 (pH 4.4) 配成的 0.5% 的半乳糖醛酸溶液, 即取反应溶液 1.5 mL, 30 °C 放置 18 h。加入 10 mL 硼酸盐缓冲液 (0.1 mol/L, pH 9.0) 和 1.5 mL 1% 氰基乙酰胺, 煮沸 10 min, 冷却, 在 274 nm 下测吸光值, 重复 3 次。用半乳糖醛酸溶液做标准曲线。酶活力单位: 以每小时单位鲜果实重产生的半乳糖醛酸的量表示酶活性, 即 1 U=1 μg/(h·g)。

1.2.3.3 endo-PG 活性测定

采用粘度法。将 6 mL 酶提取液与 9 mL 用 50 mmol/L 的醋酸钠缓冲液 (pH 4.4) 配成的 2% 的半乳糖醛酸溶液反应, 30 °C 放置 18 h。酶活力单位: 以每小时单位鲜果实酶提取液反应粘度的变化量表示酶活

性, 即: 1 U=1 s/(h·g)。

1.2.3.4 EG 活性测定

采用粘度法。将 5 mL 酶提取液与 10 mL 含 0.2% (m/V) CMC 的柠檬酸磷酸盐缓冲液反应, 30 °C 放置 18 h。酶活力单位: 以每小时每单位鲜果实酶提取液反应的粘度变化量表示酶活性, 即: 1 U=1 s/(h·g)。

1.2.4 原果胶和不同溶解性果胶含量的测定

原果胶、WSP (Water soluble pectin-水溶性果胶)、ASP (Ammonium oxalate soluble pectin-盐溶性果胶)、HSP (Hydrochloric acid soluble pectin-酸溶性果胶)、SSP (Sodium hydroxide soluble pectin-碱溶性果胶) 的测定参考韩雅珊^[11]和刘丽娟等^[12]的实验方法, 分别用 0.5 mol/L 硫酸、蒸馏水、0.4 mol/L 草酸胺、0.05 mol/L 盐酸、0.05 mol/L 氢氧化钠溶液提取。用咔唑法在 530 nm 波长处测定吸光值, 果胶的含量用单位鲜重李子中所含半乳糖醛酸含量表示。

1.2.5 数据的统计分析

利用 Origin 8.5 软件制图, SPSS 19.0 对数据进行多重比较和相关性分析。

2 结果与讨论

2.1 李子贮藏过程中果实硬度的变化

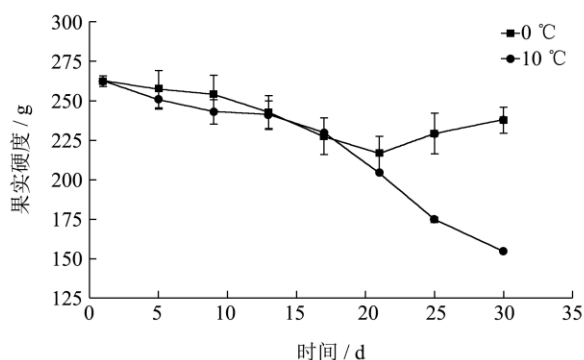


图 1 李子不同温度贮藏过程中果实硬度变化

Fig.1 Changes in plum hardness during storage at different temperatures

李子于 0 °C 和 10 °C 贮藏可以到达 30 d 的贮藏期, 此时的李子外观和食用品质仍可接受。李子于贮藏初期颜色 80% 转红, 10 °C 在贮藏至 13 d 时几乎完全转红, 随后颜色逐渐加深至贮藏末期为紫红色; 而 0 °C 贮藏至 21 d 时完全转红, 随后颜色变化不明显。10 °C 贮藏至第 8 d 时口感达到最佳, 0 °C 贮藏至 14 d 时口感最佳。李子贮藏过程中果实硬度变化如图 1 所示, 10 °C 贮藏时, 李子的硬度在前 17 d 内略有降低, 约 12.45%, 17 d 以后李子硬度开始快速降低, 至贮藏结束约下降 41.06%, 此时其感官品质下降。0 °C 贮藏条

件下, 李子的硬度在前 21 d 内变化较小, 下降约 13.20%, 21 d 之后李子的硬度开始异常升高, 可能是因为李子受到低温影响, 组织代谢开始出现异常, 原果胶含量增加, 细胞壁胞间层发生果胶凝胶所引起的^[13-14]。贮藏 30 d 之后 10 °C 李子腐烂现象开始严重增加, 而 0 °C 李子没有腐烂, 但表现出轻微冷害症状和木质化, 口感较差。

2.2 李子贮藏过程主要多糖降解酶活性变化

2.2.1 PE 活性变化

细胞壁结构改变和各成分的降解是果实质地软化的主要原因, 这一过程受多种水解酶的影响。果胶酯酶(PE)在果实软化过程中的主要作用是水解半乳糖醛酸链上的甲醇基, 催化果胶酯酸转化成果胶酸, 增加了果胶在水中的溶解性, 有利于 PG 的进一步作用^[15]。李子在不同贮藏温度过程中 PE 活性变化如图 2 所示。

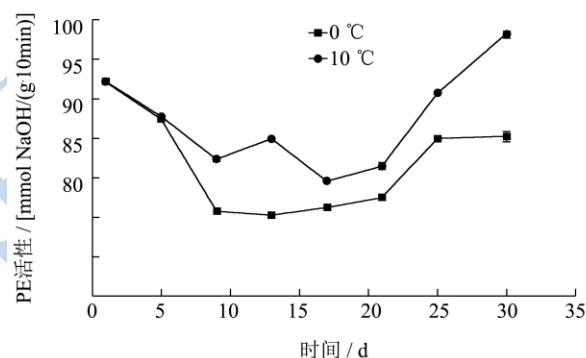


图 2 李子不同温度贮藏过程中 PE 活性变化

Fig.2 Changes in PE activity of plum during storage at different temperatures

由图 2 可以看出, 不同温度下 PE 活性变化趋势基本相同, 同一贮藏期温度越低, PE 活性较低, 这在一定程度上可以延缓果实衰老。贮藏 9 d 时由于温度影响 PE 活性下降至较低水平, 0 °C 和 10 °C 条件下李子的酶活性分别下降 10% 和 6% 左右。贮藏中期(10~20 d), PE 活性变化不大。20 d 之后 PE 活性开始升高, 可能是因为呼吸速率和乙烯释放量升高等因素诱导 PE 活性不断升高, 果实进一步衰老。与 10 °C 相比, 0 °C 李子 PE 活性升高较小, 果胶降解相对较慢, 这可能与 0 °C 贮藏李子硬度在贮藏后期没有继续降低有关。

2.2.2 PG 活性变化

多聚半乳糖醛酸酶(PG)是以脱去甲醇基的多聚半乳糖醛为作用对象, 果胶内切酶(endo-PG)以内切方式随机水解多聚半乳糖醛酸多聚链或寡聚链的非还原端, 释放出一个单体或二聚体; 果胶外切酶(exo-PG)以外切方式有顺序地从半乳糖醛酸多聚链或寡聚链的非还原端放出一个单体或二聚体。PG 酶的作用使得

多聚半乳糖醛分解,分子量变小,细胞中胶层粘合力下降,细胞分离,果实开始软化。李子在不同温度贮藏过程中 exo-PG 和 endo-PG 活性变化如图 3 和图 4。

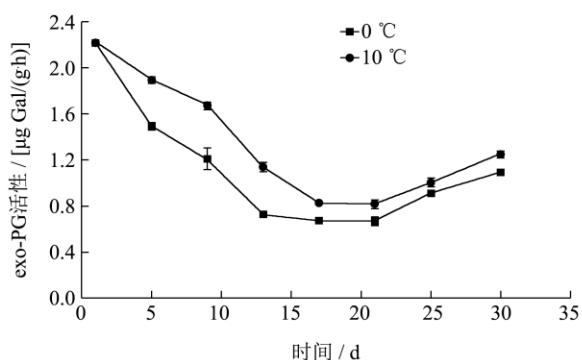


图 3 李子不同温度贮藏过程中 exo-PG 活性变化

Fig.3 Changes in exo-PG activity of plum during storage at different temperatures

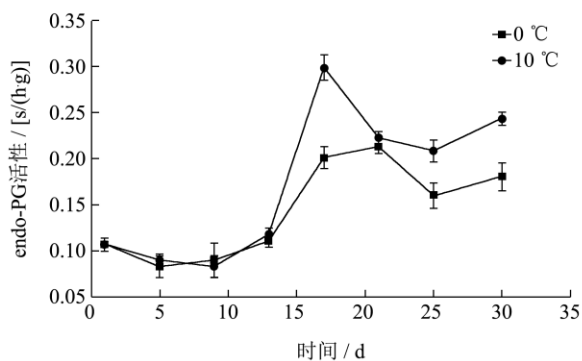


图 4 李子不同温度贮藏过程中 endo-PG 活性变化

Fig.4 Changes in endo-PG activity of plum during storage at different temperatures

从图 3 可以看出,不同温度下李子 exo-PG 活性变化趋势基本一致,先降低后升高。同一贮藏期,温度越低 exo-PG 活性越低。贮藏前期(0~13 d),exo-PG 活性下降明显,0 °C 和 10 °C 贮藏时李子 exo-PG 活性降到最低时分别降低 69.8% 和 63.3%。20 d 之后 exo-PG 活性均开始回升约 63.58% 和 53.08%。

endo-PG 活性在前 10 d 变化不大,10 d 以后不同温度下李子 endo-PG 活性均开始升高,而且 10 °C 明显比 0 °C 升高的多。0 °C 贮藏时可能是由于酶活性受到抑制,相应的物质代谢就会受到影响,大分子物质积累,积累到一定程度李子就会表现出相应的症状,不利于其继续贮藏。

2.2.3 EG 活性变化

EG 是纤维素酶的一种,与其他纤维素酶共同作用才能将纤维素彻底水解为葡萄糖。李子在不同温度下贮藏 EG 活性变化如图 5 所示。可以看出,在李子分别放入不同温度下贮藏之后,EG 活性就开始下降,第 5 d 到 10 d 基本保持稳定,10 d 之后开始升高,0 °C

和 10 °C 贮藏后期李子 EG 活性变化差异显著 ($p < 0.05$),0 °C 明显抑制了 EG 酶活性的升高。EG 酶活性变化的差异可能会影响果胶、纤维素等物质的降解过程,使得李子在 0 °C 条件下贮藏 30 d 后因代谢异常而出现品质劣变,不宜继续贮藏。

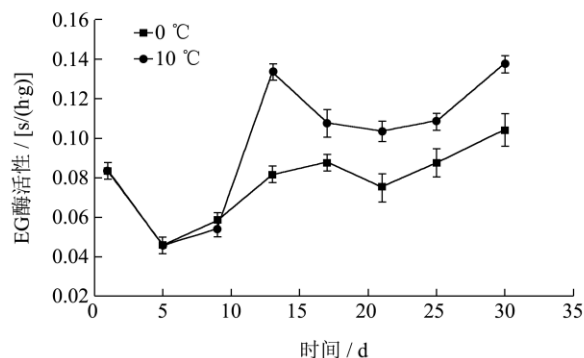


图 5 李子不同温度贮藏过程中 EG 活性变化

Fig.5 Changes in EG activity of plum during storage at different temperatures

2.3 李子贮藏过程中不同溶解性果胶含量变化

李子 在 0 °C 和 10 °C 温度下贮藏过程中不同溶解性果胶含量变化如表 1 和表 2 所示。由表 1 和表 2 可以看出,贮藏至 21 d 时 0 °C 下原果胶含量由 2.55 mg/g 下降至 1.80 mg/g,10 °C 下原果胶含量由 2.55 mg/g 下降至 1.65 mg/g,贮藏 22~30 d 期间原果胶含量又有所回升,而且各个贮藏期原果胶含量差异显著 ($p < 0.05$)。这可能是由于在果实贮藏过程中原果胶不断降解,转化为水溶性果胶等低甲氧基果胶,贮藏后期由于受到温度影响原果胶的代谢发生变化,温度越低原果胶受到的影响越大,代谢受阻,原果胶含量积累,即果实发生冷害,导致褐变和木质化等不良现象的发生。

SSP 主要由高甲氧基果胶组成,与果实软化密切相关,在果实贮藏过程中 SSP 降解及结构的改变是导致果实软化的重要原因^[16-17]。由表 1 和表 2 可以看出,李子 在 0 °C 和 10 °C 贮藏过程中,SSP 含量变化较为明显,且变化趋势与原果胶变化相似,对李子软化影响较大。

0 °C 和 10 °C 条件下贮藏至 17 d 时李子的 WSP 含量分别由 1.11 mg/g 升高至 2.23 mg/g 和 2.54 mg/g。在 17~30 d 贮藏过程中 0 °C 条件下李子 WSP 含量略有下降,这可能是由于原果胶的降解减慢,水溶性果胶的分解代谢大于生成;10 °C 下 WSP 含量基本保持不变。李子贮藏初期 ASP 和 HSP 因分解代谢其含量逐渐下降,而且 0 °C 均比 10 °C 下降较小;贮藏中期 ASP 含

量变化不大; 贮藏末期 ASP 含量略有升高。0 °C 和 10 °C 条件下 HSP 含量分别在第 17 d 和 21 d 开始明显升高, 至贮藏 30 d 分别升高 49.5% 和 40.2%。ASP 和 HSP 主要由一些低甲氧基果胶组成, 而且不同果实中

提取出的 ASP 和 HSP 中高低甲氧基果胶比例不同, 贮藏过程中变化趋势也不相同^[12, 18-19]。低温会延缓 ASP 和 HSP 的代谢, 使得其含量下降较慢。

表 1 李子 0 °C 贮藏过程中不同溶解性果胶含量的变化

Table 1 Changing of different soluble pectin content on plum fruit during storage at 0 °C

时间/d	原果胶/(mg/g)	WSP/(mg/g)	ASP/(mg/g)	HSP/(mg/g)	SSP/(mg/g)
1	2.55±0.01 ^a	1.11±0.06 ^f	2.57±0.02 ^a	2.68±0.04 ^d	2.16±0.07 ^a
5	2.43±0.02 ^b	1.28±0.01 ^e	2.17±0.01 ^b	2.68±0.02 ^d	1.94±0.07 ^b
9	2.37±0.01 ^c	1.58±0.00 ^d	1.07±0.04 ^e	2.54±0.01 ^e	1.52±0.01 ^c
13	2.04±0.01 ^f	1.78±0.00 ^c	1.08±0.00 ^e	2.26±0.01 ^f	1.39±0.01 ^d
17	1.90±0.02 ^g	2.23±0.01 ^a	1.37±0.01 ^d	3.03±0.01 ^b	1.17±0.01 ^e
21	1.80±0.01 ^h	1.90±0.01 ^b	1.34±0.02 ^d	2.93±0.01 ^c	0.89±0.01 ^f
25	2.10±0.01 ^e	1.85±0.01 ^{bc}	1.33±0.03 ^d	2.91±0.00 ^c	0.85±0.01 ^f
30	2.15±0.01 ^d	1.83±0.01 ^c	1.51±0.01 ^c	3.38±0.01 ^a	1.53±0.01 ^c

注: 不同字母表示差异显著, p<0.05。

表 2 李子 10 °C 贮藏过程中不同溶解性果胶含量的变化

Table 2 Changes in different soluble pectin content in plums during storage at 10 °C

时间/d	原果胶/(mg/g)	WSP/(mg/g)	ASP/(mg/g)	HSP/(mg/g)	SSP/(mg/g)
1	2.55±0.01 ^a	1.11±0.06 ^e	2.57±0.02 ^a	2.68±0.04 ^d	2.16±0.06 ^a
5	2.27±0.01 ^b	1.88±0.03 ^d	1.99±0.02 ^b	2.39±0.02 ^e	1.30±0.01 ^b
9	2.02±0.03 ^c	2.30±0.01 ^c	0.90±0.01 ^e	2.25±0.00 ^f	0.83±0.01 ^c
13	1.81±0.00 ^d	2.33±0.04 ^{bc}	0.88±0.00 ^e	1.96±0.01 ^g	0.76±0.01 ^d
17	1.69±0.00 ^h	2.54±0.01 ^a	0.70±0.01 ^f	1.54±0.00 ^h	0.57±0.02 ^e
21	1.65±0.01 ^g	2.39±0.01 ^b	1.23±0.01 ^c	1.89±0.02 ^c	0.56±0.01 ^e
25	1.77±0.01 ^e	2.36±0.01 ^{bc}	1.21±0.01 ^c	2.01±0.01 ^b	0.38±0.02 ^g
30	1.73±0.01 ^f	2.32±0.01 ^{bc}	0.98±0.02 ^d	2.16±0.01 ^a	0.48±0.01 ^f

注: 不同字母表示差异显著, p<0.05。

2.4 果胶与细胞壁酶活性变化的相关性分析

对李子不同溶解性果胶含量和细胞壁酶活性变

化进行相关性分析, 可以更好的揭示细胞壁酶对果胶大分子物质降解的影响。李子在 0 °C 和 10 °C 温度下贮藏过程中其相关性分析结果分别如表 3 和表 4 所示。

表 3 李子 0 °C 贮藏过程中细胞壁的果胶质和酶活性之间相关性分析

Table 3 Correlation analysis between pectin content and cell wall enzyme activity in plums during storage at 0 °C

	原果胶/(mg/g)	WSP/(mg/g)	ASP/(mg/g)	HSP/(mg/g)	SSP/(mg/g)	PE/[mmol/(g·10min)]	exo-PG/(μg/g)	endo-PG/[s/(g·h)]	EG/[s/(g·h)]
原果胶	1	-0.905 ^{**}	0.667	-0.301	0.868 ^{**}	0.657	-0.955 ^{**}	-0.833 [*]	-0.192
WSP	-0.905 ^{**}	1	-0.759 [*]	0.408	-0.840 ^{**}	0.686	0.927 ^{**}	0.787 [*]	0.251
ASP	0.667	-0.759 [*]	1	0.052	0.760 [*]	0.860 ^{**}	0.836 ^{**}	-0.329	0.080
HSP	-0.301	0.408	0.052	1	-0.260	0.233	-0.136	0.722 [*]	0.474
SSP	0.868 ^{**}	-0.840 ^{**}	0.760 [*]	-0.260	1	0.591	-0.885 ^{**}	-0.710 [*]	-0.093
PE	0.657	0.686	0.860 ^{**}	0.233	0.591	1	0.780 [*]	-0.310	0.081
exo-PG	-0.955 ^{**}	0.927 ^{**}	0.836 ^{**}	-0.136	0.885 ^{**}	0.780 [*]	1	-0.673	-0.086
endo-PG	-0.833 [*]	0.787 [*]	-0.329	0.722 [*]	-0.710 [*]	-0.310	-0.673	1	0.493
EG	-0.192	0.251	0.080	0.474	-0.093	0.081	-0.086	0.493	1

注: *表示 p<0.05, **表示 p<0.01。

表4 李子 10 °C 贮藏过程中细胞壁的果胶质和酶活性之间相关性分析

Table 4 Correlation analysis between pectin content and cell wall enzyme activity in plums during storage at 10 °C

	原果胶 /(mg/g)	WSP /(mg/g)	ASP /(mg/g)	HSP /(mg/g)	SSP /(mg/g)	PE/[mmol/ (g · 10min)]	exo-PG /(μg/g)	endo-PG /[s/(g · h)]	EG /[s/(g · h)]
原果胶	1	-0.942**	0.895**	0.480	0.958**	0.093	-0.946**	-0.674	-0.644
WSP	-0.942**	1	-0.946**	-0.196	-0.967**	0.206	0.831*	0.476	0.397
ASP	0.895**	-0.946**	1	0.308	0.890**	0.208	0.759*	-0.434	-0.473
HSP	0.048	-0.196	0.308	1	-0.307	0.711*	0.079	0.055	0.146
SSP	0.958**	-0.967**	0.890**	-0.037	1	0.301	-0.848**	-0.539	-0.493
PE	0.093	0.206	0.208	0.711**	0.00	1	0.222	0.041	0.323
exo-PG	-0.946**	0.831*	0.759*	0.079	-0.848**	0.222	1	-0.756*	-0.669
endo-PG	-0.674	0.476	-0.434	0.055	-0.539	0.041	-0.756*	1	0.619
EG	-0.644	0.397	-0.473	0.146	-0.493	0.323	-0.669	0.619	1

注: *表示 $p < 0.05$, **表示 $p < 0.01$ 。

从表3可以看出,李子0 °C贮藏时原果胶含量与WSP和SSP含量变化极相关($p < 0.01$)。SSP与WSP含量显著负相关($p < 0.01$),与ASP含量显著正相关($p < 0.05$)。在果实成熟过程中,原果胶和SSP会降解生成ASP等低甲氧基果胶,而且原果胶、SSP和ASP均会不断降解生成WSP。表4可以看出,10 °C贮藏时不同溶解性果胶含量变化的相关性与0 °C相似类似。

0 °C贮藏时PE活性与ASP含量变化显著正相关($p < 0.01$),而10 °C贮藏时PE活性与HSP含量变化显著正相关($p < 0.05$);0 °C和10 °C贮藏时,exo-PG活性与ASP变化均显著正相关。这说明,PE和exo-PG活性越高,ASP和HSP等低甲氧基果胶的生成量就越高。两种温度贮藏时,exo-PG活性变化与原果胶和SSP含量变化均为显著负相关($p < 0.01$),与WSP含量为显著正相关,而endo-PG活性影响只有在0 °C贮藏时比较明显。说明PG的作用下,使原果胶和SSP降解生产了较多的WSP。

0 °C贮藏时PE与exo-PG活性变化相关性显著($p < 0.05$),一般认为PE为PG提供作用对象,两者协调作用使得细胞壁果胶质增溶解聚,果实成熟软化^[5,20],但是也有少量研究发现,一些果实的软化跟PE活性相关性不大,如榴莲^[21]。本研究表明,PE对0 °C贮藏的李子exo-PG有一定的影响。EG与各不同溶解性果胶均无显著相关性,可能由于EG是一种果实软化的启动酶,作用对象是纤维素,EG的作用破坏细胞壁纤维素微纤丝-半纤维素-果胶质的经纬结构,进而果胶酶作用使得果胶质降解,果实软化。而且茅林春等^[22]在桃果实中研究发现endo-PG和EG具有充足的活性才能使果胶质正常降解,果实正常软化成熟。

3 结论

温度对果胶含量及相关酶活性变化影响较大,进而影响果实软化进程。0 °C和10 °C贮藏时李子果实硬度前期差异不明显,下降缓慢;贮藏后期10 °C果实硬度快速下降,而0 °C则明显回升。低温能够在一定程度上抑制各细胞壁酶的活性。0 °C下原果胶和SSP降解较慢,WSP含量升高也相对较慢。低温在一定程度上降低了ASP和HSP的代谢速率。PE、exo-PG和endo-PG活性与不同溶解性果胶含量变化均有显著相关性,明显影响果实软化进程。EG对李子果胶含量变化影响不大。

参考文献

- [1] Vicente A R, Saladie M, Rose J K, et al. The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2007, 87(8): 1435-1448
- [2] Rosli H, Civello P, Mat ńez G. Changes in cell wall composition of three fragaria x ananassa cultivars with different softening rate during ripening [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2004, 42(10): 823-831
- [3] Cordeiro N, Sousa L, Freitas N, et al. Changes in the mesocarp of annona cherimola mill. 'madeira' during postharvest ripening [J]. Postharvest Biology and Technology, 2013, 85: 179-184
- [4] Raffo M D, Ponce N, Sozzi G O, et al. Changes on the cell wall composition of tree-ripened "bartlett" pears (*Pyrus communis L.*) [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 73: 72-79

- [5] Cheng G, Jiang Y, Chen S, et al. Combined effects of pectic enzymes on the degradation of pectin polysaccharides of banana fruit [J]. Pakistan Journal of Botany, 2011, 43: 1501-1505
- [6] Sun X, Yang Q, Guo W, et al. Modification of cell wall polysaccharide during ripening of chinese bayberry fruit [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 160: 155-162
- [7] 田寿乐,周俊义,薛晓敏.冬枣软化衰老过程中细胞壁酶的活性变化[J].食品科学,2007,28(4):220-222
TIAN Shou-le, ZHOU Jun-yi, XUE Xiao-min. Activity changes of cell wall enzyme in the chinese jujube fruit (*Zizyphus jujuba* mill. cv. dong) during softening and senescence [J]. Food Science, 2007, 28(4): 220-222
- [8] 李萍,廖康,赵世荣,等.杏果实采后细胞壁组份及水解酶活性变化研究[J].新疆农业大学学报,2012,35(6):446-451
LI Ping, LIAO Kang, ZHAO Shi-rong, et al. Changes of cell wall and hydrolases activity in the apricot fruit of postharvest [J]. Journal of Xinjiang Agricultural University, 2012, 35(6): 446-451
- [9] Gwanpua S G, Van Buggenhout S, Verlinden B E, et al. Pectin modifications and the role of pectin-degrading enzymes during postharvest softening of jonagold apples [J]. Food Chemistry, 2014, 158: 283-291
- [10] 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]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2000, 125(5): 630-637
- [11] 韩雅珊.食品科学实验指导[M].北京:中国农业大学出版社,1996
HAN Ya-shan. Experiment guidance of food science [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1996
- [12] 刘丽娟,王萍,郝丽珍,等.南瓜果实贮藏期果胶含量的变化研究[J].内蒙古农业大学学报,2007,28(3):231-234
LIU Li-juan, WANG Ping, HAO Li-zhen, et al. Study on Change of the Pectin in Content in the Pumpkin Fruit during Storage[J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University, 2007, 28(3): 231-234
- [13] Zhou H-W, Sonogo L, Ben-Arie R, et al. Analysis of cell wall components in juice of "Flavortop" Nectarines during normal ripening and woolliness development [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1999, 124(4): 424-429
- [14] Dawson D M, Melton L D and Watkins C B. Cell wall changes in nectarines (*Prunus persica*) solubilization and depolymerization of pectic and neutral polymers during ripening and in mealy fruit [J]. Plant Physiology, 1992, 100(3): 1203-1210
- [15] Wei J, Ma F, Shi S, et al. Changes and postharvest regulation of activity and gene expression of enzymes related to cell wall degradation in ripening apple fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 56(2): 147-154
- [16] 辛颖,陈复生,杨宏顺.番茄中碱溶性果胶的含量和纳米结构的研究[J].食品工业科技,2010,31(5):104-106
XIN Ying, CHEN Fu-sheng, YANG Hong-shun. Study on contents and nanostructures of sodium carbonate-soluble pectin in tomatoes [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(5): 104-106
- [17] Zhang L, Chen F, Yang H, et al. Changes in firmness, pectin content and nanostructure of two crisp peach cultivars after storage [J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(1): 26-32
- [18] 韩苗苗,李范洙,张先.苹果梨果实生育期果胶物质的研究[J].食品工业科技,2010,31(6):105-107,110
HAN Miao-miao, LI Fan-zhu, ZHANG Xian. Study on pectin substances of pingguoli during the growth period [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(6): 105-107, 110
- [19] 庄军平,林焕章,陈维信.香蕉果实成熟软化过程中细胞壁物质的变化[J].热带亚热带植物学报,2006,14(3):218-221
ZHUANG Jun-ping, LIN Huan-zhang, CHEN Wei-xin. Changes of cell wall substances during ripening of banana fruit [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2006, 14(3): 218-221
- [20] Nikolić M V, Mojovic L. Hydrolysis of apple pectin by the coordinated activity of pectic enzymes [J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 1-9
- [21] Imsabai W, Ketsa S and Van Doorn W G. Effect of temperature on softening and the activities of polygalacturonase and pectinesterase in durian fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2002, 26(3): 347-351
- [22] 茅林春,张上隆.果胶酶和纤维素酶在桃果实成熟和絮败中的作用[J].园艺学报,2001,28(2):107-111
MAO Lin-chun, ZHANG Shang-long. Role of pectolytic enzymes and cellulase during ripening and woolly breakdown in peaches [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2001, 28(2): 107-111