

热处理抑制采后龙眼果肉自溶及细胞壁物质降解

赵云峰^{1,3}, 林河通^{1,2*}, 王 静^{1,2}, 林艺芬^{1,2}, 陈艺晖^{1,2}

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福州 350002; 2. 福建农林大学农产品产后技术研究所, 福州 350002;
3. 盐城工学院化学与生物工程学院, 盐城 224051)

摘 要: 为了阐明热水处理抑制采后龙眼果实果肉自溶的作用机理, 研究热水处理对采后龙眼果实果肉自溶和细胞壁组分含量、细胞壁降解酶活性的影响。将“福眼”龙眼果实经 50℃ 热水处理 10 min, 用 0.015 mm 厚的聚乙烯薄膜袋密封包装, 贮藏于 (15±1)℃ 条件下。在贮藏期间定期测定龙眼果实果肉自溶指数、细胞壁组分含量和细胞壁降解酶活性。结果表明: 与未经热水处理, 相同贮藏条件下的对照果实比, 热处理可显著 ($P<0.05$) 抑制龙眼果实果肉自溶指数的上升, 降低果胶甲酯酶 (pectinmethylesterase, PME)、多聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase, PG)、 β -半乳糖苷酶 (β -galactosidase, β -Gal) 和纤维素酶 (cellulase, C_X) 的活性, 延缓水溶性果胶 (water-soluble pectin, WSP) 含量的上升和离子结合型果胶 (ionic-soluble pectin, ISP)、共价结合型果胶 (covalent-soluble pectin, CSP)、半纤维素和纤维素含量的下降。因此认为, 热处理可通过降低采后龙眼果实果肉细胞壁降解酶的活性而减少细胞壁组分的降解, 从而维持细胞壁结构的完整性, 抑制果肉自溶的发生。研究结果为热处理技术在采后龙眼果实保鲜中的应用提供参考。

关键词: 热处理; 果实; 降解; 龙眼; 果肉自溶; 细胞壁组分; 细胞壁降解酶

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2014.11.033

中图分类号: TS255.3; S667.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2014)-11-0268-08

赵云峰, 林河通, 王 静, 等. 热处理抑制采后龙眼果肉自溶及细胞壁物质降解[J]. 农业工程学报, 2014, 30(11): 268—275.

Zhao Yunfeng, Lin Hetong, Wang Jing, et al. Inhibiting aril breakdown and degradation of cell wall material in pulp of harvested longan fruits by heat treatment[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2014, 30(11): 268—275. (in Chinese with English abstract)

0 引 言

龙眼 (*Dimocarpus longan* Lour.) 俗称“桂圆”, 是中国亚热带名贵特产, 具有较高的营养价值和保健功效, 历史上素有南“桂圆”北“人参”之称, 自古深受人们喜爱。目前, 中国龙眼种植面积和年产量均居世界首位^[1-2]。然而中国龙眼果实采收季节正值高温高湿的气候, 采后品质劣变迅速, 常温条件下贮藏, 果肉易流汁、糜烂, 俗称“果肉自溶”, 严重影响其食用品质和商品价值^[3-7]。Jiang Y M 等^[7]认为, 龙眼果实果肉自溶类似跃变型果实的果肉软

化, 由细胞组织结构变化所致。Brummell D A 等^[8]研究表明, 细胞壁代谢是引起果实细胞组织结构改变的主要因素。所以, 研究采后龙眼果实果肉细胞壁代谢机理, 寻找有效的控制果肉自溶的措施, 对于提高果实品质, 延长保鲜期, 具有十分重要的理论和实践意义。

目前普遍认为, 果实质地主要取决于果胶、纤维素、半纤维素等细胞壁物质的含量。果实在贮藏过程中, 果胶甲酯酶 (pectinmethylesterase, PME)、多聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase, PG)、 β -半乳糖苷酶 (β -galactosidase, β -Gal) 和纤维素酶 (cellulase, C_X) 等细胞壁水解酶活性增强, 催化细胞壁物质降解, 造成细胞胞间层结构改变, 细胞壁总体结构破坏, 是导致果实质地发生变化的主要原因^[8-10]。

热处理作为一种果蔬采后技术被广泛应用于杀虫、控制腐败、延缓衰老和改善对逆境的反应。已有研究表明, 热处理可以降低香蕉^[11]、苹果^[12]等果实的衰老。适当的热处理能够抑制柿果^[13]、草莓^[14]等果实细胞壁降解酶活性上升和细胞壁物质含量下降, 有效地延长果实的货架期。目前有关热处理对采后龙眼果实果肉自溶和细胞壁代谢影响

收稿日期: 2014-01-15 修订日期: 2014-04-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30200192、30972070、31171776、31201445); 国家科技支撑计划项目 (2007BAD07B06); 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (20123515120016、20133515110014); 福建省自然科学基金项目 (2011J01079、2012J05040)

作者简介: 赵云峰 (1977—), 男, 江苏省大丰市人, 副教授, 博士生, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程。福州 福建农林大学食品科学学院, 350002。Email: zyfwsl@163.com

*通信作者: 林河通 (1967—), 男, 福建省安溪县人, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程。福州 福建农林大学食品科学学院, 350002。Email: hetonglin@163.com。
中国农业工程学会高级会员 (E041200208S)

的机理性研究未见报道。本文以福建主栽龙眼品种“福眼”果实为材料,研究经 50℃热水处理 10 min 的龙眼果实在 (15±1)℃贮藏条件下果肉自溶的发生情况、细胞壁降解酶活性和细胞壁物质含量的变化规律,旨在阐明热处理对采后龙眼果实果肉自溶的抑制及其与细胞壁代谢的关系,为控制采后龙眼果实果肉自溶、延长果实贮藏保鲜期提供科学依据,同时为该技术在采后龙眼果实保鲜的工业化生产应用提供指导。

1 材料与方法

1.1 试验处理

以福建省主栽名优龙眼品种“福眼”(*Dimocarpus longan* Lour. cv. Fuyan) 果实为试验材料,大约九成熟,采自福建省安溪县龙眼科技示范场,采收当天运至福建农林大学农产品产后技术研究所食品保鲜实验室(福州),挑选大小、色泽基本一致、无损伤、无病虫害的健康果实作为试验材料。

在前期预试验中,将龙眼果实在 40、45、50 和 55℃热水中分别处理 5 和 10 min,最后观察发现,其中以 50℃热水处理 10 min 的龙眼果实贮藏效果最佳。因此,本试验选取 50℃热水处理 10 min 为龙眼果实的热处理条件。

挑选出的龙眼果实进行以下处理:1) 热处理:用 50℃热水浸泡龙眼果实 10 min,取出后用冷水快速冷却至 (28±1)℃的室温。2) 对照(CK):用温度为 (28±1)℃水浸泡龙眼果实 10 min。经上述处理的龙眼果实取出晾干后,用 0.015 mm 厚的聚乙烯薄膜袋密封包装。每一处理重复 3 次,每重复的果样量是 750 个,每袋装果 50 个,每重复包装 15 袋,共包装 45 袋。包装后的龙眼果实置于 (15±1)℃、相对湿度 80% 的环境下贮藏。贮藏期间定期取样观察果肉自溶情况,测定果肉细胞壁组分含量和细胞壁降解酶活性等生理生化指标。

1.2 指标测定

1.2.1 果肉自溶指数

果肉自溶评价参照林河通等^[3]介绍的方法。每次随机取 50 个果实,按照果肉自溶面积与整个果肉面积比值 (A),把果肉自溶程度分为 5 级:0 级为果肉有弹性、果肉无自溶;1 级为果肉变软, $A < 1/4$; 2 级为果肉变软、流汁, $1/4 \leq A < 1/2$; 3 级为果肉变软、流汁, $1/2 \leq A < 3/4$; 4 级为果肉糜烂, $A \geq 3/4$ 。果肉自溶指数 = Σ (果肉自溶级数 × 该级果数) / 总果数。

1.2.2 果肉细胞壁组分的提取、分离及含量测定

果肉细胞壁组分提取参照 Brummell D A 等^[8]和魏建梅等^[15]的方法,依次得到果肉水溶性果胶

(water-soluble pectin, WSP)、离子结合型果胶(ionic-soluble pectin, ISP)、共价结合型果胶(covalent-soluble pectin, CSP)、半纤维素和纤维素。分别采用咔唑比色法测定果胶含量,蒽酮比色法测定半纤维素含量,质量法测定纤维素含量,结果都以 mg/g 表示。

1.2.3 果肉细胞壁降解酶活性测定

酶液提取参照 Andrews P K 等^[16]的方法。从 10 个果实中取果肉 5 g,加入 10 mL 40 mmol/L pH 值为 5.2 的醋酸钠抽提缓冲液(内含 100 mmol/L NaCl, 2% (体积分数) 巯基乙醇,质量浓度为 50 g/L 聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinyl pyrrolidone, PVP (K-30))),冰浴研磨,在 4℃下 15 000 r/min 离心 20 min,取上清液用于酶活性测定。其中, PME 活性测定按照 Lin T P 等^[17]的方法,底物为柑橘果胶(美国 Sigma 公司),以每小时消耗 1 nmol NaOH 的酶用量为 1 个 PME 酶活性单位(U),结果以 U/mg (以蛋白质计)表示; PG 活性测定按照 Gross K C^[18]的方法,底物为多聚半乳糖醛酸(美国 Sigma 公司),以每小时生成 1 μ mol 半乳糖醛酸的酶用量为 1 个 PG 酶活性单位(U),结果以 U/mg (以蛋白质计)表示,以 D-(+)半乳糖醛酸作标准曲线; β -Gal 活性测定按照 Carrington C M S 等^[19]的方法,底物为 P-硝基苯- β -D-吡喃半乳糖苷(美国 Sigma 公司),以每小时生成 1 μ mol 对-硝基苯酚的酶用量为 1 个 β -Gal 活性单位(U),结果以 U/mg (以蛋白质计)表示,以对-硝基苯酚标准溶液作标准曲线; C_x 活性的测定按照 Andrews P K 等^[16]的方法,底物为羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose, CMC)(美国 Sigma 公司),以每小时生成 1 μ mol 葡萄糖的酶用量为 1 个 C_x 活性单位(U),结果以 U/mg (以蛋白质计)表示,以 β -D-葡萄糖标准溶液作标准曲线。

1.2.4 果肉可溶性蛋白含量的测定

按照林河通等^[3]考马斯亮蓝 G250 染色法测定,以牛血清蛋白作标准曲线。

以上各指标测定均重复 3 次。

1.3 数据处理

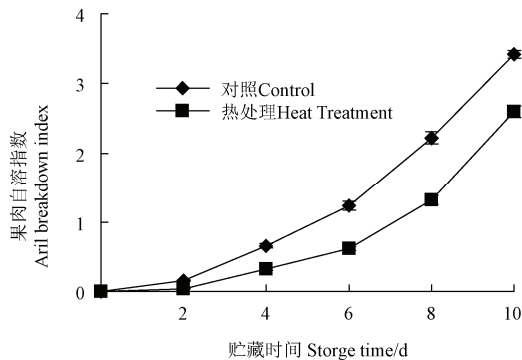
采用 Excel 和 DPS 软件进行数据统计和差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 热处理对采后龙眼果实果肉自溶指数的影响

由图 1 可知,龙眼果实贮藏期间果肉自溶指数不断上升,但不同的处理变化幅度不同。对照果实果肉自溶指数在贮藏 0~2 d 内缓慢上升,2~10 d 快速上升,贮藏至第 10 天,绝大部分果实果肉糜

烂流汁, 自溶指数达 3.42。而经热处理的果实果肉自溶指数在贮藏 0~2 d 内变化不明显, 2~6 d 较快上升, 6~10 d 快速上升, 但贮藏至第 10 天时果肉自溶指数为 2.6, 仅是对照的 76.2%。统计分析表明, 在整个贮藏期间的同一时期, 经热处理的龙眼果肉自溶指数都低于对照果实, 且除第 2 天外, 差异达到显著 ($P<0.05$) 水平。从而表明, 热处理可以显著地降低采后龙眼果肉自溶的发生, 维持果实良好品质。



注: 对照条件为用温度为 28℃ 水浸泡龙眼果实 10 min, 之后在 (15±1)℃ 下贮藏; 热处理组条件为用 50℃ 热水浸泡龙眼果实 10 min, 之后在 (15±1)℃ 下贮藏。下同。

Note: The longan fruits immersed in water with 28℃ for 10 min, and then stored at (15±1)℃ (control). The longan fruits immersed in hot water with 50℃ for 10 min, and then stored at (15±1)℃ (heat treatment). The same as below.

图 1 热处理对采后龙眼果实果肉自溶指数的影响

Fig.1 Effects of heat treatment on aril breakdown index of harvested longan fruits

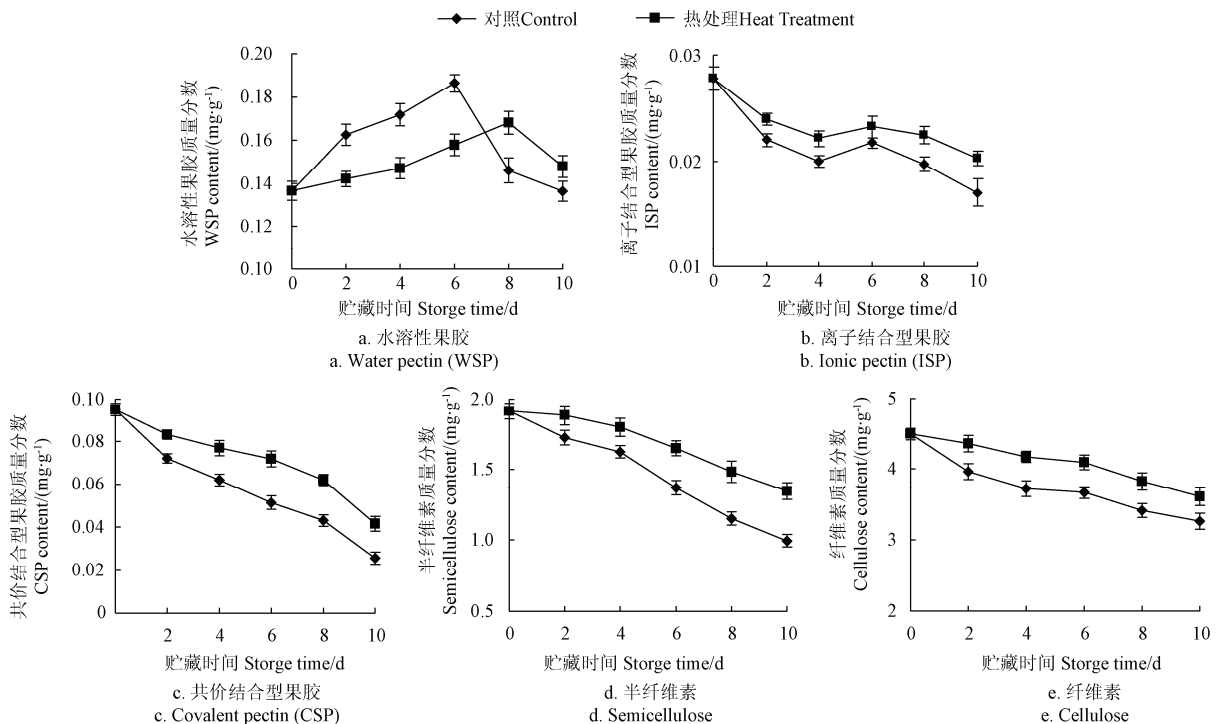


图 2 热处理对采后龙眼果实果肉水溶性果胶、离子结合型果胶、共价结合型果胶、半纤维素和纤维素含量的影响

Fig.2 Effects of heat treatment on contents of WSP, ISP, CSP, semicellulose and cellulose of harvested longan fruits

2.2 热处理对采后龙眼果实果肉细胞壁各组分含量的影响

果胶物质、纤维素、半纤维素是果实细胞壁的主要组分, 其含量是影响果实质地的重要因素, 也是果实成熟衰老的特征^[3]。

由图 2a 可见, 采后龙眼果实果肉水溶性果胶 (WSP) 含量呈先上升后下降的趋势。对照果实果肉 WSP 含量在贮藏 0~6 d 内快速上升, 至第 6 天达到最高点, 之后急剧下降。而经热处理的果实果肉 WSP 含量在贮藏 0~4 d 内缓慢上升, 4~8 d 内快速上升, 至第 8 天达到最大值, 之后快速下降。统计分析表明, 在贮藏 0~6 d 内, 经热处理的龙眼果实果肉 WSP 含量显著 ($P<0.05$) 低于对照。

由图 2b 可知, 采后龙眼果实果肉离子结合型果胶 (ISP) 含量总体呈逐步下降的趋势。2 组处理的果实果肉 ISP 含量在贮藏 0~4 d 内快速下降, 4~6 d 略有上升, 这可能与细胞壁果胶甲酯化程度降低, 使得带负电荷的游离羧基增加, 即阳离子吸附位点增多, 从而增强了果胶对 Ca^{2+} 等阳离子的吸附能力有关^[20], 之后 ISP 含量快速下降。进一步比较发现, 在整个贮藏期间, 经热处理的龙眼果实果肉 ISP 含量都高于对照, 但差异不显著 ($P>0.05$)。

由图 2c、2d、2e 可以看出, 2 组处理的龙眼果实果肉共价结合型果胶 (CSP)、半纤维素和纤维素含量随贮藏时间的延长不断减少, 但不同处理在同一贮藏时期变化速率不同。统计分析表明, 在整

个贮藏期间,经热处理的龙眼果实果肉 CSP、半纤维素和纤维素含量都显著 ($P<0.05$) 高于对照。

上述结果表明,热处理可有效抑制采后龙眼果实果肉细胞壁各组分 (ISP、CSP、半纤维素和纤维素) 含量的下降,较好地维持细胞壁结构的完整性。

2.3 热处理对采后龙眼果实果肉细胞壁降解酶活性的影响

由图 3a 可见,2 组处理的龙眼果肉 PME 活性采后呈现出不同的变化趋势。对照果实果肉 PME 活性在贮藏 0~2 d 内快速上升,至第 2 天达到最大值,之后快速下降。而经热处理的果实果肉 PME 活性在贮藏期间逐步下降。统计分析表明,在贮藏 0~8 d 内,经热处理的龙眼果实果肉 PME 活性低于对照,且除第 8 天外,差异达显著 ($P<0.05$) 水平。

由图 3b 可知,采后龙眼果实果肉 PG 活性总体呈下降趋势,但不同贮藏时期变化不同。对照果实果肉 PG 活性在贮藏 0~4 d 内缓慢下降,4~6 d 内快速上升,之后急剧下降。而经热处理的果实果肉 PG 活性在贮藏 0~2 d 内急剧下降,4~6 d 内变化不大,6~8 d 内快速上升,之后缓慢下降。统计分

析表明,在贮藏 0~6 d 内,经热处理的龙眼果实果肉 PG 活性显著 ($P<0.05$) 低于对照。

由图 3c 可以看出,2 组处理的龙眼果实果肉 β -Gal 活性在贮藏 0~8 d 内都快速下降,但经热处理的果实下降速率大于对照,之后 2 组果实果肉 β -Gal 活性持续上升。统计分析表明,在整个贮藏期间,除第 8 天外,经热处理的龙眼果实果肉 β -Gal 活性都低于对照,且在第 2 天、第 4 天和第 10 天差异达显著 ($P<0.05$) 水平。

由图 3d 可知,采后龙眼果实果肉 C_X 活性呈峰型变化趋势。对照果实果肉 C_X 在贮藏 0~6 d 内快速上升,至第 6 天达到最高点,之后急剧下降。而经热处理的果实果肉 C_X 活性在贮藏 0~4 d 内缓慢上升,4~8 d 内快速上升,至第 8 天达到最大值,之后快速下降。统计分析表明,在贮藏 0~6 d 内,经热处理的龙眼果实果肉 C_X 活性都低于对照,且在第 4 天和第 6 天差异达显著 ($P<0.05$) 水平。

上述结果表明,热处理可有效降低采后龙眼果实果肉细胞壁降解酶 (PME、PG、 β -Gal 和 C_X) 活性,抑制其对细胞壁组分的解聚。

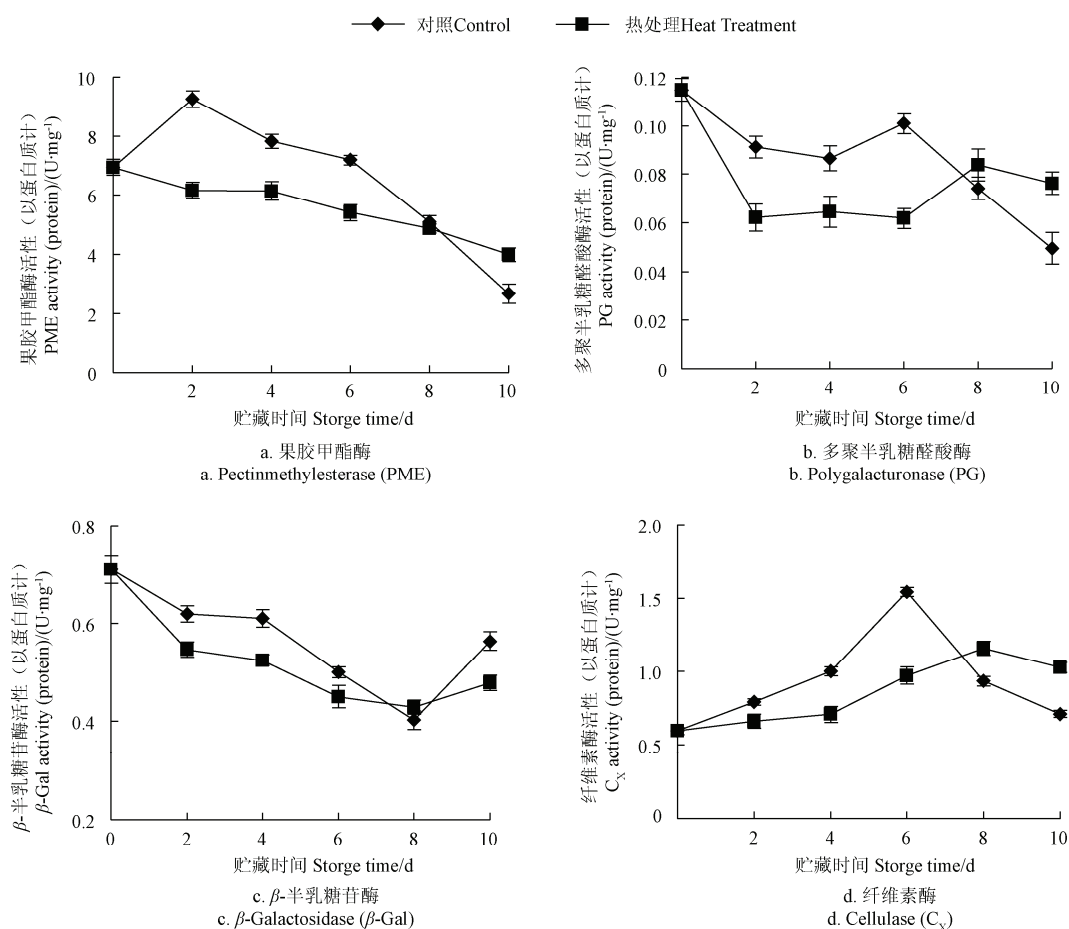


图 3 热处理对采后龙眼果实果肉果胶甲酯酶、多聚半乳糖醛酸酶、 β -半乳糖苷酶和纤维素酶活性的影响

Fig.3 Effects of heat treatment on activities of PME, PG, β -Gal, and C_X of harvested longan fruits

3 讨 论

3.1 采后龙眼果实果肉自溶与细胞壁组分含量和细胞壁降解酶活性的关系

植物细胞壁是一个复杂的网络结构,主要由纤维素、半纤维素、果胶以及少量蛋白质等成分组成,其中纤维素和半纤维素是主要的结构性多糖。“经纬模型”^[21]认为,果实细胞壁纤维素的微纤丝平行于细胞壁平面一层一层排列,微纤丝在同一层次上方向平行,不同层次上方向则不同,互成一定角度,形成独立的网络,构成细胞壁的“经”,而模型中的“纬”则是结构蛋白(富含羟脯氨酸的蛋白)通过异二酪氨酸交联而成的结构蛋白网络,这个网络垂直于细胞壁平面排列,与“经”向的微纤丝网又相互交联,纤维素微纤丝和结构蛋白之间并无共价连接,而是通过结构蛋白环绕微纤丝形成封闭环交织在一起,构成细胞壁的网络骨架,并悬浮于亲水的果胶-半纤维素胶体之中。半纤维素以氢键与纤维素结合形成“门闩”,可能控制着微纤丝在结构蛋白网络中的滑动。Orfila C 等^[22]研究表明,细胞壁组分大量分解会造成细胞壁果胶-纤维素-半纤维素(P-C-H)总体结构的破坏,对于跃变型果实而言,表现出的症状为果实软化、腐烂;而对于非跃变型果实的龙眼而言,则表现出果肉溶解、流汁并趋于糜烂。齐秀东等^[23]研究发现,常温下嘎拉苹果果实随着硬度的下降,不溶性果胶和半纤维素含量减少,同时细胞结构发生一系列变化:细胞结构松散,胞间层出现裂痕,中胶层消失,纤维素壁结构松弛,原生质体解体。水溶性果胶(WSP)含量增加,离子结合型果胶(ISP)、共价结合型果胶(CSP)和纤维素含量的减少也被认为是导致草莓果实成熟软化的重要原因^[24]。

本研究结果显示,随着贮藏时间的延长,采后龙眼果实果肉自溶指数的不断上升。在贮藏前 6 d,随着结合型果胶(ISP、CSP)转化为 WSP,对照果实果肉 WSP 含量不断上升,之后含量快速下降(图 2a),这与对京白梨^[15]和梅果^[25]的研究结果相一致。贮藏后期(6~10 d)龙眼果肉 WSP 含量的下降可能与 WSP 进一步降解作为呼吸底物被呼吸消耗有关。本研究结果还显示,在对照龙眼果实果肉自溶早期(0~6 d),纤维素和半纤维素含量快速减少,后期(6~10 d)果胶物质(WSP、ISP、CSP)含量下降迅速,这是由于纤维素和半纤维素的降解,致使细胞壁纤维素微纤丝-半纤维素交联网络结构发生松弛,导致果胶物质外露,进而更易受到细胞壁水解酶的攻击,最后进一步加速了细胞壁组分的解聚,此外,果实衰老过程中合成纤维素、

半纤维素和果胶的细胞膜、高尔基体等细胞结构受到破坏,导致细胞壁合成能力下降也是导致细胞壁组分含量减少的一个重要原因^[26]。相关性分析结果显示,自溶指数与 WSP 含量在贮藏 0~6 d 呈极显著($P<0.01$)正相关,相关系数为 $r=0.9097$,之后由于 WSP 被不断消耗,两者相关性则不显著;此外,自溶指数与 ISP、CSP、半纤维素和纤维素含量呈极显著($P<0.01$)负相关,相关系数分别为 $r=-0.7916$, -0.9335 , -0.9688 和 -0.8690 。因此认为,采后龙眼果实果肉自溶与细胞壁组分代谢密切相关。

许多研究表明,细胞壁物质的降解与细胞壁水解酶如 PME、PG、 β -Gal 和 C_x 活性相关^[10]。PME 使果胶去甲酯化,是 PG 活动的必要前提;PG 随机水解果胶分子多聚半乳糖醛酸链,使细胞壁解体,对植物器官特别是果实后期的快速软化有较大影响; β -Gal 通过降解果胶多聚醛酸侧链的半乳糖残基,使果胶降解或溶解;而 C_x 使纤维素降解,直接导致细胞壁中 P-C-H“经纬结构”的松散,与植物细胞壁降解和质地软化启动的关系更为密切^[3,13,15]。然而细胞壁降解酶在不同的果实细胞壁结构破坏和组分降解的过程中起着不同的作用。在青梅果肉硬度下降过程中,PG 和 β -Gal 是导致 WSP 含量上升的主要原因, C_x 引起难溶性的半纤维素向易溶性的半纤维素转化^[25]。薛炳烨等^[24]研究发现,随着草莓果实发育成熟,盐释放 β -Gal 和 C_x 活性逐渐升高,PME 活性在白熟期前逐渐提高,但采后在 4℃ 下贮藏 48 h,酶活性下降,并认为 β -Gal 和 C_x 在果实软化中起了重要作用。

本研究结果显示,对照龙眼果实采后果肉 PME 和 C_x 活性先上升后下降(图 3a、3d),其中贮藏前 2 d 内,PME 活性的升高可以认为是为 PG 发挥作用提供物质前提一生成低甲氧基果胶和果胶酸^[27],而 C_x 活性的上升与上述纤维素、半纤维素含量的快速下降相一致,引起细胞壁网络结构的松动,因此可以认为,PME、PG 和 C_x 在采后龙眼果肉自溶早期(0~6 d)发挥着重要作用;贮藏后期(6~10 d)由于细胞结构蛋白质合成能力降低和酶蛋白失活等因素,导致细胞壁降解酶活性快速下降(图 3a、3b、3d),唯有 β -Gal 保持较高活性(图 3c),其促进细胞壁降解产生半乳糖,而半乳糖对乙烯产生的刺激等许多反应起到引发剂的作用,而乙烯会进一步促进果实的成熟软化和衰老^[28]。此外,笔者前期的研究发现,贮藏后期(6~10 d)由于细胞代谢紊乱,产生了大量的过氧化氢和羟自由基等活性氧(reactive oxygen species, ROS),ROS 具有断裂纤维素、半纤维素和果胶等细胞壁多糖化学键,导致

细胞壁骨架的降解的功能^[4,29-30], 因此认为, β -Gal 和活性氧可能促进采后龙眼果实贮藏后期 (6~10 d) 的果肉自溶。

3.2 热处理抑制采后龙眼果实果肉自溶发生的可能机理

前人研究发现, 热处理对于不同果实细胞壁代谢的影响不尽一致。Vicente A R 等^[14]将草莓经 45℃ 热空气处理 3 h 后, 于 20℃ 下贮藏 2 d, 结果发现, 热处理抑制了内切-1,4- β -D-葡聚糖苷酶 (Endo-1,4- β -D-glucanase, EG)、PG、 β -Gal 活性和半纤维素的降解, 促进了 PME 活性的上升, 保持了较高含量的盐酸溶性果胶、乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 溶性果胶和较低含量的水溶性果胶。Martínez G A 等^[31]研究发现, 经热处理的草莓果实硬度在贮存 24 h 后显著高于对照, 但 3 d 后无显著差异; 热处理结束后果实的 EG 和 β -Gal 活性下降, 而 PG 活性与对照无显著差异, 贮存 24 h 后, 热处理果实 PG、EG 和 β -Gal 活性均低于对照, 72 h 后, 热处理果实 PG 和 β -Gal 活性与对照相近或高于对照, 但 PG 活性仍较对照低; 热处理 4 h 后, EG 基因 (*FaCell*)、PG 基因 (*FaPG1*) 表达都被抑制, 24 h 后热处理果实的这些酶蛋白基因的表达水平与对照相近或高于对照。罗自生^[13]研究表明, 热处理可明显延缓 20℃ 下柿果的软化进程, 抑制 PME、PG、 C_x 活性的上升, 原果胶、纤维素的降解和 WSP 果胶的增加。但对于一些冷敏型果实而言, 结论则与上述相反, 如热处理能诱导枇杷^[32]、桃^[33]等冷敏型果实的抗冷性, 减少果实冷害发生和促使果实正常后熟软化, 这与热处理能提高枇杷^[32]、桃^[33]等果实相关细胞壁降解酶的活性而促进细胞壁组分的降解有关。

本研究结果显示, 50℃ 热水处理 10 min 可显著抑制采后龙眼果实果肉自溶指数的上升 (图 1), 降低果肉 PME、PG、 β -Gal 和 C_x 的活性 (图 3a、3b、3c、3d), 延缓果肉 WSP 含量的上升 (图 2a) 和 ISP、CSP、半纤维素和纤维素含量的下降 (图 2b、2c、2d、2e)。由此认为, 热处理降低了采后龙眼果实果肉细胞壁降解酶的活性, 进而延缓了细胞壁组分的降解, 较好地保持了细胞壁结构的完整性, 减缓了细胞内含物的泄露, 从而抑制了果肉溶解、流汁等自溶症状的发生, 这可能是由于热处理诱导热激蛋白 (heat shock protein, HSP) 和小分子热激蛋白 (smallmolecular heat shock proteins, sHSP) 的合成与积累, 对蛋白质结构起保护和稳定作用的原因, 或是与 HSP 的诱导和合成改变了其他基因的转录和翻译有关^[34-35], 深入的机理还需要进一步探索。

此外, 本论文试验开发的龙眼果实采后热处理

最佳条件 (50℃ 热水处理 10 min) 常温下能延长采后龙眼果实保鲜期 2 d; 该热处理技术结合 0~3℃ 的低温贮藏可以使采后龙眼果实保鲜 30~35 d, 已经成功应用于采后龙眼果实保鲜的工业化生产和出口龙眼的检验杀虫处理, 具有安全、环保、成本低的优点, 有广阔的应用前景。

4 结 论

1) 采后龙眼果实果肉自溶过程中, 离子结合型果胶 (ionic-soluble pectin, ISP)、共价结合型果胶 (covalent-soluble pectin, CSP)、半纤维素和纤维素等细胞壁组分含量下降, 且采后龙眼果肉自溶指数的增加与 ISP、CSP、半纤维素和纤维素含量的下降都呈极显著 ($P<0.01$) 负相关。因此认为, ISP、CSP、半纤维素和纤维素等细胞壁组分的降解在采后龙眼果实果肉自溶发生中起重要作用。

2) 果胶甲酯酶 (pectinmethylesterase, PME)、多聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase, PG) 和纤维素酶 (cellulase, C_x) 在采后龙眼果实果肉自溶的早期 (0~6 d) 起重要作用, 而 β -半乳糖苷酶 (β -galactosidase, β -Gal) 在采后龙眼果实果肉自溶的后期 (6~10 d) 起关键作用。

3) 50℃ 热水处理 10 min 可降低采后龙眼果实果肉细胞壁降解酶 (PME、PG、 β -Gal 和 C_x) 活性, 延缓 WSP 含量的上升和 ISP、CSP、半纤维素和纤维素含量的下降, 维持细胞壁结构的完整性, 从而减轻果肉自溶的发生程度。

[参 考 文 献]

- [1] Lin Y Y, Hu Y H, Lin H T, et al. Inhibitory effects of propyl gallate on tyrosinase and its application in controlling pericarp browning of harvested longan fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(11): 2889—2895.
- [2] Chen Y H, Lin H T, Jiang Y M, et al. *Phomopsis longanae* Chi-induced pericarp browning and disease development of harvested longan fruit in association with energy status[J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 93: 24—28.
- [3] 林河通, 赵云峰, 席珣芳. 龙眼果实采后果肉自溶过程中细胞壁组分及其降解酶活性的变化[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2007, 33(2): 137—145.
Lin Hetong, Zhao Yunfeng, Xi Yufang. Changes in cell wall components and cell wall-degrading enzyme activities of postharvest longan fruit during aril breakdown[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2007, 33(2): 137—145. (in Chinese with English abstract)
- [4] Duan X W, Zhang H Y, Zhang D D, et al. Role of hydroxyl radical in modification of cell wall polysaccharides and aril breakdown during senescence of harvested longan fruit[J]. Food Chemistry, 2011, 128(1): 203—207.

- [5] Menzel C, Waite G. Litchi and Longan: Botany, Cultivation and Uses[M]. Wallingford, UK: CAB International, 2005: 273—295.
- [6] Zhong Y X, Chen J Y, Feng H L, et al. Expansin and XET genes are differentially expressed during aril breakdown in harvested longan fruit[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2008, 133(3): 462—467.
- [7] Jiang Y M, Zhang Z Q, Joyce D C, et al. Postharvest biology and handling of longan fruit (*Dimocarpus longan* Lour.)[J]. Postharvest Biology and Technology, 2002, 26(3): 241—252.
- [8] Brummell D A, Cin V D, Crisosto C H, et al. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(405): 2029—2039.
- [9] Dawson D M, Melton L D, 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.
- [10] 王聘, 郅海燕, 周拥军, 等. 减压处理对新疆白杏果实软化和细胞壁代谢的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(16): 254—258.
Wang Pin, Gao Haiyan, Zhou Yongjun, et al. Effects of hypobaric storage on softening and cell wall metabolism of Xinjiang kuqa apricot fruits[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(16): 254—258. (in Chinese with English abstract)
- [11] Ummarat N, Matsumoto T K, Wall M M, et al. Changes in antioxidants and fruit quality in hot water-treated 'Hom Thong' banana fruit during storage[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 130(4): 801—807.
- [12] Zhao Y, Tu K, Su J, et al. Heat treatment in combination with antagonistic yeast reduces diseases and elicits the active defense responses in harvested cherry tomato fruit[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(16): 7565—7570.
- [13] 罗自生. 热激处理对柿果实软化和细胞壁物质代谢的影响[J]. 中国食品学报, 2006, 6(3): 84—87.
Luo Zisheng. Effects of heat shocks on softening and cell wall material metabolism in persimmon fruits[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6(3): 84—87. (in Chinese with English abstract)
- [14] Vicente A R, Costa M L, Martínez G A, et al. Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2005, 38(3): 213—222.
- [15] 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.
Wei Jianmei, Ma Fengwang, Guan Junfeng, et al. Cell wall metabolism and its regulation in harvested *Pyrus ussuriensis* Maxim. cv. Jingbaili fruit during ripening[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(8): 2987—2996. (in Chinese with English abstract)
- [16] Andrews P K, Li S L. Cell wall hydrolytic enzyme activity development of nonclimacteric sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit[J]. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 1995, 70(4): 561—568.
- [17] Lin T P, Liu C C, Chen S W, et al. Purification and characterization of pectinmethylesterase from *Ficus awkeotsang* Makino achenes[J]. Plant Physiology, 1989, 91(4): 1445—1453.
- [18] Gross K C. A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-Cyanoacetamide[J]. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 1982, 17(6): 933—934.
- [19] Carrington C M S, Greve L C, Labavitch J M. Cell wall metabolism in ripening fruit (VI. Effect of the antisense polygalacturonase gene on cell wall changes accompanying ripening in transgenic tomatoes)[J]. Plant Physiology, 1993, 103(2): 429—434.
- [20] 郑国红, 周楠, 刘鹏, 等. 外源钾对铁胁迫下水稻细胞壁多糖含量及耐铁性的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(20): 5585—5591.
Zheng Guohong, Zhou Nan, Liu Peng, et al. Effects of exogenous potassium on cell-wall polysaccharide contents of Fe-stressed rice in relation to their iron tolerance[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(20): 5585—5591. (in Chinese with English abstract)
- [21] Lamport D T A. The primary cell wall: A new model[J]. Cellulose: structure, modification and hydrolysis, 1986: 77—90.
- [22] Orfila C, Huisman M M, Willats W G, et al. Altered cell wall disassembly during ripening of Cnr tomato fruit: Implications for cell adhesion and fruit softening[J]. Planta, 2002, 215(3): 440—447.
- [23] 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, 27(2): 55—60.
Qi Xiudong, Li Haishan, Wei Jianmei, et al. The characteristics of cell wall metabolism and key enzyme genes expression in postharvest gala apple fruit[J]. Acta Agriculture Boreali-sinica, 2012, 27(2): 55—60. (in Chinese with English abstract)
- [24] 薛炳辉, 毛志泉, 束怀瑞. 草莓果实发育成熟过程中糖苷酶和纤维素酶活性及细胞壁组成变化[J]. 植物生理与分子生物学报, 2006, 32(3): 363—368.
Xue Bingye, Mao Zhiquan, Shu Huairui. Changes in glycosidases and cellulase activities, and cell wall composition in strawberry fruits during development and ripening[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2006, 32(3): 363—368. (in Chinese with English abstract)
- [25] 陆胜民, 席均芳, 张耀洲. 梅果采后软化与细胞壁组分及其降解酶活性的变化[J]. 中国农业科学, 2003, 36(5): 595—598.
Lu Shengmin, Xi Yufang, Zhang Yaozhou. Softening of green mume flesh and changes of cell wall components and activities of their degrading enzymes during the postharvest period[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(5): 595—598. (in Chinese with English abstract)
- [26] 茅林春, 张上隆. 间歇低温胁迫对桃果实细胞壁代谢的影响[J]. 植物生理学报, 2001, 27(2): 151—155.
Mao Linchun, Zhang Shanglong. Influence of intermittent low temperature stress on cell wall metabolism in peaches[J]. Acta Phytophysiological Sinica, 2001, 27(2): 151—155. (in Chinese with English abstract)
- [27] Wakabayashi K, Chun J P, Huber D J. Extensive solubilization and depolymerization of cell wall polysaccharides during avocado (*Persea americana*) ripening involves concerted action of polygalacturonase and pectinmethylesterase[J]. Physiologia Plantarum, 2000, 108(4): 345—352.
- [28] Mwanikil M W, Mathooko F M, Hiwasa K, et al. β -galactosidase and α -L-arabinofuranosidase activities and gene expression in European and Chinese pear fruit

- during ripening[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2007, 76(1): 85—90.
- [29] Fry S C, Dumville J C, Miller J G. Fingerprinting of polysaccharides attacked by hydroxyl radicals in vitro and in the cell walls of ripening pear fruit[J]. Biochemical Journal, 2001, 357: 729—737.
- [30] O'Brien J A, Daudi A, Butt V S. Reactive oxygen species and their role in plant defence and cell wall metabolism[J]. Planta, 2012, 236(3): 765—779.
- [31] Martínez G A, Civello P M. Effect of heat treatments on gene expression and enzyme activities associated to cell wall degradation in strawberry fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 49(1): 38—45.
- [32] 芮怀瑾, 汪开拓, 尚海涛, 等. 热处理对冷藏枇杷木质化及相关酶活性的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(7): 294—298.
- Rui Huaijin, Wang Kaituo, Shang Haitao, et al. Effects of heat treatment on flesh leatheriness and related enzyme activities of loquat fruits during cold storage[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2009, 25(7): 294—298. (in Chinese with English abstract)
- [33] Mao L C, Zhang S L. Effect of heat conditioning of intermittent warming on chilling injury and pectolytic in peaches[J]. Journal of Zhejiang University (Agricultural and Life Science Edition), 2001, 27(1): 83—87.
- [34] Gómez F, Fernández L, Gergoff G, et al. Heat shock increases mitochondrial H₂O₂ production and extends postharvest life of spinach leaves[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 49(2): 229—234.
- [35] Sun J H, Chen J Y, Kuang J F, et al. Expression of *sHSP* genes as affected by heat shock and cold acclimation in relation to chilling tolerance in plum fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 55(2): 91—96.

Inhibiting aril breakdown and degradation of cell wall material in pulp of harvested longan fruits by heat treatment

Zhao Yunfeng^{1,3}, Lin Hetong^{1,2*}, Wang Jing^{1,2}, Lin Yifen^{1,2}, Chen Yihui^{1,2}

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Institute of Postharvest Technology of Agricultural Products, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. School of Chemical and Biological Engineering, Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224051, China)

Abstract: Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) is high value fruit produced in southern China. Due to its higher nutritional value and health benefit, consumers love the fruit. But longan is highly susceptible to aril breakdown during storage, which is the single most important factor affecting the quality and shelf-life of postharvest longan fruits. Previous studies have shown that aril breakdown is caused by changes in the structure of fruit cell tissue due to cell wall metabolism. Heat treatment is an environment-friendly postharvest physical treatment, which can insect disinfestation, decay control, ripening delay, modification of fruit responses to other stresses and maintain quality of harvested fruits and vegetables. The effects of hot-water treatment (HWT) on aril breakdown, cell wall component contents and cell wall-degrading enzyme activities in pulp of harvested longan fruits were investigated. This study aimed to determine the relationship between inhibition of longan cell wall metabolism by heat treatment and aril breakdown for achieving the control of aril breakdown and prolonging the storage period of harvested longan fruits. The harvested longan (cv. Fuyan) fruits were pre-treated with hot-water at 50°C for 10 minutes, air dry, and then packed into sealed polyethylene bags (0.015 mm thickness) and stored at (15±1)°C for 10 days. Aril breakdown condition was observed, cell wall component contents and cell wall-degrading enzyme activities in pulp of harvested longan fruits were determined regularly during the storage. The results showed that aril breakdown index constantly rose during storage, water-soluble pectin (WSP) content first increased and then decreased, contents of ionic-soluble pectin (ISP), covalent-soluble pectin (CSP), hemicellulose and cellulose decreased continuously. Activities of pectin pectinmethylesterase (PME) and cellulase (C_x) rose at first but then declined. polygalacturonase (PG) activity reduced, and β -galactosidase (β -Gal) activity firstly fell and then went up in the pulp of the control treatment of harvested longan fruits. Compared with the fruits in the control treatment, HWT could significantly ($P<0.05$) inhibited the rise of aril breakdown index, reduced the activities of the PME, PG, β -Gal and C_x, delayed the increase in the content of WSP and the decline in contents of ISP, CSP, semicellulose and cellulose. From the results, it can be concluded that aril breakdown and components of cell wall metabolism in the pulp of harvested longan fruits were closely related. PME, PG and C_x played an important role in the early aril breakdown, and β -Gal and reactive oxygen may play an important role in the late aril breakdown. Furthermore, the study also showed that HWT can reduce the degradation of the cell wall components by reducing cell wall-degrading enzyme activities in the pulp of harvested longan fruits, which helped to maintain the integrity of the cell wall structure, slowed down the leakage of cellular contents, and inhibited the occurrence of aril breakdown. The results provided reference of heat treatment for freshness-keeping of harvested longan fruits.

Key words: heat treatment; fruits; degradation; longan (*Dimocarpus longan* Lour.); aril breakdown; cell wall component; cell wall-degrading enzyme