

羧甲基壳聚糖涂膜保鲜冷藏上海蜜梨的抗软化机理

周然¹, 谢晶¹, 李云飞², 陈静³

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 2001306; 2. 上海交通大学 农学院, 上海 200240; 3. 北京大发正大有限公司, 北京 101139)

摘要: 为探讨羧甲基壳聚糖涂膜对冷藏(4 °C)上海蜜梨的保脆保鲜效果, 以涂膜液浸涂上海蜜梨, 检验了在随后冷藏过程中上海蜜梨的硬度及与硬度变化相关的细胞壁水解酶和细胞壁成份变化的规律。结果表明, 经过 60 d 的冷藏, 利用羧甲基壳聚糖涂膜的上海蜜梨硬度达到对照组硬度的 1.13 倍($p < 0.05$)。其机理主要是由于羧甲基壳聚糖涂膜处理抑制了冷藏过程中上海蜜梨果实中细胞壁水解酶(果胶酯酶、多聚半乳糖醛酸酶和纤维素酶)的活性上升, 从而减少果胶、半纤维素和纤维素等细胞壁物质的降解, 进而减缓了果肉的硬度的变化。

关键词: 上海蜜梨; 硬度; 细胞壁; 水解酶

中图分类号: S 661.2, S 379.2 文献标识码: A 文章编号: 1673-1689(2012)01-090-06

Preservation Mechanism of Carboxymethyl Chitosan Coating on Pear Firmness during Cold Storage

ZHOU Ran¹, XIE Jing¹, LI Yun-fei², CHEN Jing³

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Department of Food Science and Technology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 3. Beijing Dafa Chia Tai Company Limited, Beijing 101139, China)

Abstract: In this study, the effects of carboxymethyl chitosan (CMC) coating on the crisp quality of Shanghai Pears during 60 days of storage at 4 °C were studied. The results showed that the firmness of carboxymethyl chitosan-coated pears reached 1.13 times than that of the control pears after 60 days of cold storage ($p < 0.05$). This is mainly due to carboxymethyl chitosan coating repressed the increasing activities of cell wall hydrolytic enzymes (including pectinesterase, polygalacturonase and cellulase), then reducing degradation changes in such cell wall materials as pectin, hemicellulose and cellulose, thereby delaying soft changes in Shanghai pears during cold storage.

Key words: Shanghai pears, firmness, cell wall, hydrolytic enzymes

上海蜜梨(*Pyrus Pyrifolia Nakai*)又叫黄花岗梨, 具有皮薄, 肉脆, 汁液丰富的特点^[1,2], 是上海当地主要栽培的梨品种之一。上海蜜梨采后软化迅速, 贮存及运输困难。然而, 对冷藏条件下上海蜜

梨质地变化及相关特性的研究尚不多见, 因此有必要开展此方面的工作。

可食性涂膜可以通过对贮藏过程中水果提供一个类似自发气调贮藏的内部气体环境来抑制水

收稿日期: 2011-01-03

基金项目: 上海市优秀青年教师科研专项基金(B8101-09-0025); “创新行动计划”部分地方院校计划项目(08390513900); 上海市教育委员会重点学科建设项目(J50704); 上海市教育委员会科研创新项目(11YZ160)。

作者简介: 周然(1977-), 男, 内蒙古赤峰人, 讲师, 主要从事食品冷链物流研究。Email: rzhou@shou.edu.cn

果的软化变化^[3,4,5]。羧甲基壳聚糖由于其无毒,无味,可以在任意 pH 值溶液溶解,及生物兼容性和可降解特性^[6],使其在水果涂膜保鲜上得到了越来越多的应用。然而,到目前为止,还没有利用羧甲基壳聚糖涂膜保鲜上海蜜梨的报道。作者研究了贮藏过程中上海蜜梨软化的生理变化规律,探讨了羧甲基壳聚糖涂膜对上海蜜梨的保脆保硬作用及其机理,为上海蜜梨的保脆保鲜技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 涂膜液及浸涂处理

上海蜜梨采自上海奉贤的水果生产基地。根据果皮颜色和采摘日期,取成熟、大小均匀的水果供实验用。羧甲基壳聚糖涂膜液由质量分数 2% 的 N,O-羧甲基壳聚糖(食品级,水溶性无色无味的粉末,90% 脱乙酰度:南通兴成生物制品厂产品),0.5% 甘油,1.2% 吐温 80 和 0.4% 的 DL- α -醋酸生育酚(国药化学试剂公司产品)混合制成。上海蜜梨首先在涂膜液中浸涂 15 s,随后悬挂并用风扇吹干,以使水果表面涂膜。对照样是在蒸馏水中浸渍,其余步骤与涂膜液涂布方法相同。据研究报告,上海蜜梨的最适贮藏温度是 4 °C^[1]。所以作者研究中,上海蜜梨被放置在 4 °C 条件下进行冷藏,并每隔 15 d 进行取样分析。

1.2 主要仪器设备

TA-XT2i 质构分析仪:英国 Stable Micro System 公司产品;HWS28 型电热恒温水浴锅:上海一恒科学仪器有限公司产品;SZ-93 自动双重纯水蒸馏器:上海亚荣生化仪器厂产品;UV2100 可见分光光度计:上海尤尼柯仪器有限公司产品。

1.3 测试方法

采用 TA-XT2i 质地分析仪测定上海蜜梨的果肉硬度^[7]。果胶甲酯酶(PME)活性测定采用 Nagel 等的方法^[8],多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性和纤维素酶的活性采用 Zhou 等的方法^[9]。PME 活性以在每分钟释放出 1 μmol 的 CH_3O^- 作为一个酶单位。PG 活性以每小时水解 1 μmol 半乳糖醛酸为一个单位。纤维素酶活性以每小时催化生成 1 μmol 还原性基团所需的酶量为一个酶单位。比活力单位为每克果肉所含的酶活力单位。

细胞壁物质的分离和测定采用 Deng 等的方法^[10],具体分离步骤为:取 5 g 果肉放置在 100 mL

体积分数 80% 乙醇中煮沸 20 min,冷却后以 2 000 g 离心 10 min。随后用 100 mL 体积分数 80% 的乙醇重复离心两次,再用 15 mL 体积分数 90% 的二甲基亚砷浸泡 15 h(4 °C),离心去掉淀粉。随后利用 100 mL 体积分数 100% 的乙醇离心滤渣 2 次后,再用 100 mL 的体积分数 100% 的丙酮离心 2 次。最后,将滤渣放置在 40 °C 条件下干燥 3 d。随后将干燥后的细胞壁物质加入 10 mL 50 mmol/L 乙酸钠缓冲液(pH 6.5),搅拌 6 h,随后以 10 000 g 离心 10 min,取上清液,沉渣用乙酸钠缓冲液再离心两次,合并 3 次离心的上清液,得到水溶性果胶。剩余沉渣加入 10 mL 含 50 mmol CDTA 的醋酸钠缓冲液(pH 6.5),搅拌 6 h 后,在 10 000 g 离心 10 min,取上清液,沉渣再用含 CDTA 的醋酸钠缓冲液离心两次,合并 3 次离心的上清液,即获得 CDTA 可溶性果胶(离子结合果胶)。沉淀中随后加入 10 mL 50 mmol/L 的 Na_2CO_3 溶液(含 2 mmol/L CDTA),搅拌 6 h 后 10 000 g 离心 10 min,取上清液,沉淀用含 CDTA 的碳酸钠溶液再离心两次,合并 3 次离心的上清液为 Na_2CO_3 可溶性果胶(共价结合果胶)。剩余沉渣加 10 mL 4 mol/L 的 KOH(含 100 mmol/L NaBH_4) 振荡提取 6 h,接着 10 000 g 离心 10 min 得到半纤维素。剩下的沉渣用去离子水洗两遍,得到纤维素。总果胶含量为水溶性果胶、CDTA 可溶性果胶(离子结合果胶)和 Na_2CO_3 可溶性果胶(共价结合果胶)含量之和。果肉硬度测定重复 20 次,其余生化指标均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 果肉硬度变化

如图 1 所示,上海蜜梨果肉硬度随着冷藏时间的延长而逐渐降低。与对照组相比,羧甲基壳聚糖涂膜的上海蜜梨硬度降低速度明显减缓。经过 60 d 贮藏后,对照组的上海蜜梨的硬度为 11.93 N,降低幅度达到 21.0%,而利用羧甲基壳聚糖涂膜的上海蜜梨硬度为 13.45 N,为对照组硬度的 1.13 倍,且差异显著($p < 0.05$)。研究结果表明羧甲基壳聚糖涂膜能够更好地保持贮藏过程中梨果肉硬度。

2.2 细胞壁水解酶活性

随着冷藏时间的增加,上海蜜梨的果胶酯酶活性呈现先逐渐上升,在贮藏 30 d 前后出现峰值,然

后活力逐渐下降的过程(图 2(a))。对照组的果胶酯酶活性最高,羧甲基涂膜组相对较低。经过 60 d 的贮藏后,对照组的酶活性为 1.60 U/g,达到涂膜处理组的 1.41 倍($p < 0.05$)。如图 2(b)所示,在贮藏过程中,所有样品的多聚半乳糖醛酸酶的活性逐渐上升,但在贮藏前期增长幅度不大,在贮藏后 30 d 开始到贮藏期结束,所有样品的多聚半乳糖醛酸酶活性开始快速上升,以对照组的酶活性最高,羧甲基壳聚糖涂膜组最低($p < 0.05$)。经过 60 d 的贮藏后,对照组的酶活性为 0.68 U/g,达到涂膜组的 1.14 倍。如图 2(c)所示,涂膜的上海蜜梨的纤维素酶活性呈现与多聚半乳糖醛酸酶类似的变化趋势,即活性逐渐上升。在整个贮藏过程中,对照组上海蜜梨的纤维素酶活性迅速增加。到贮藏期结束时,对照组上海蜜梨的纤维素酶活性为 1.04 U/g,是涂膜处理的上海蜜梨的酶活性的 1.23 倍。

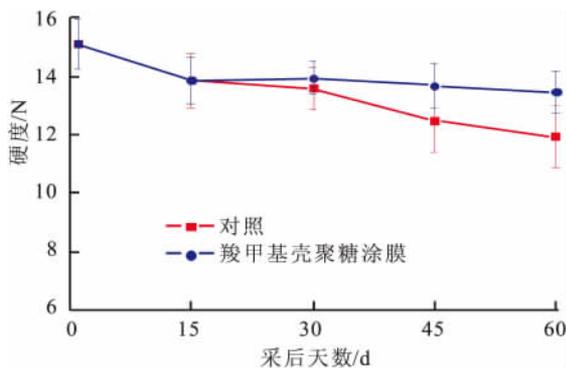
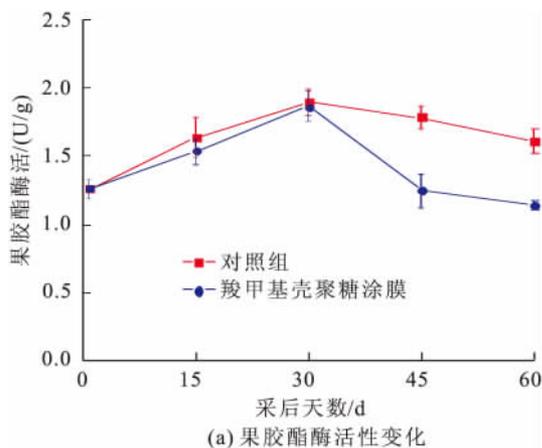
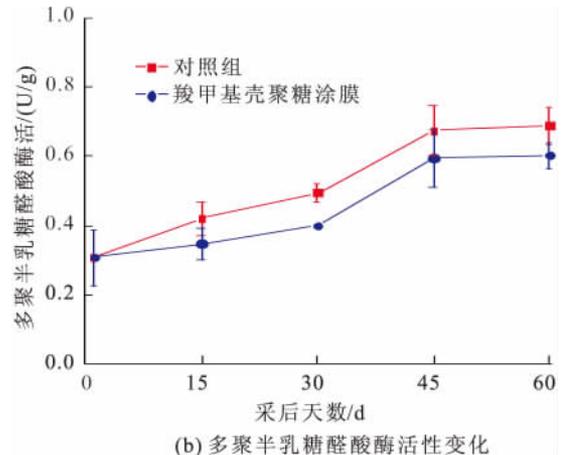


图 1 贮藏过程中上海蜜梨的硬度变化

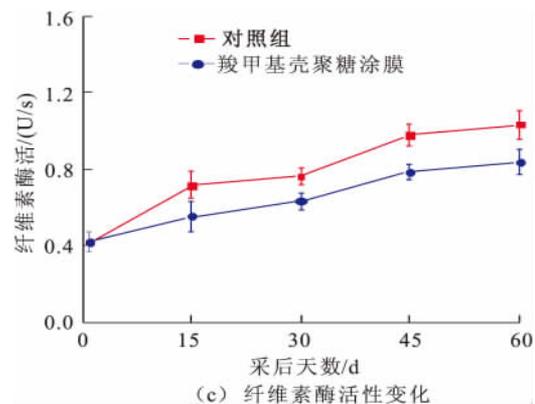
Fig. 1 Changes in firmness of Shanghai pears during 60 days of storage at 4 °C



(a) 果胶酯酶活性变化



(b) 多聚半乳糖醛酸酶活性变化



(c) 纤维素酶活性变化

图 2 贮藏过程中上海蜜梨的果胶酯酶、多聚半乳糖醛酸酶和纤维素酶的活性变化

Fig. 2 Changes in the activities of pectinesterase (a), polygalacturonase (b) and cellulase (c) of Shanghai pears during 60 days of storage at 4 °C

果胶水解酶与细胞壁中的果胶成份变化密切相关,在采后水果软化过程中起到重要作用^[11,12]。一般来讲,果胶酯酶主要对细胞壁中的果胶物质起到去甲基化的作用,而多聚半乳糖醛酸酶则以果胶酯酶的产物为底物,将果胶物质分解成小分子物质^[13,14],所以在贮藏过程中水果果实细胞壁对多聚半乳糖醛酸酶作用的敏感度是由果胶酯酶所决定的。果胶酯酶的生理意义主要在于为多聚半乳糖醛酸酶提供底物,对果胶物质的降解起到辅助作用。Brummel 等指出与果胶酯酶相比,多聚半乳糖醛酸酶的活性与果胶的解聚和溶解有较大的关系^[13]。纤维素酶能够水解植物细胞壁中的纤维素和以 β -1,4-葡聚糖为骨架的半纤维素多糖^[15]。不同水果在采后软化变化中,纤维素酶起的作用大小不同,对于梨类水果,纤维素酶在果实软化变化中起到了重要作用^[16]。Park 指出可食性包装膜对新

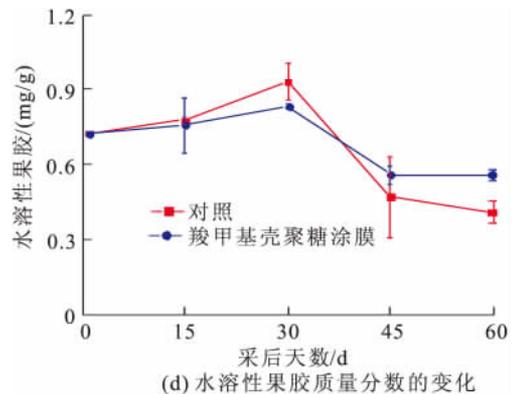
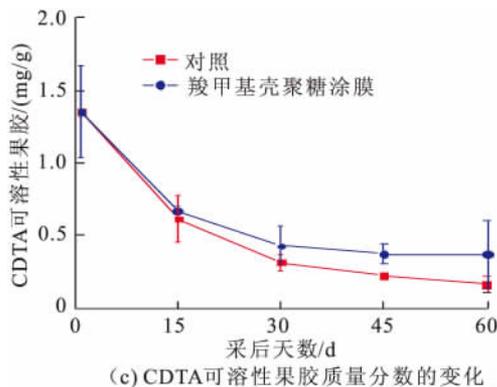
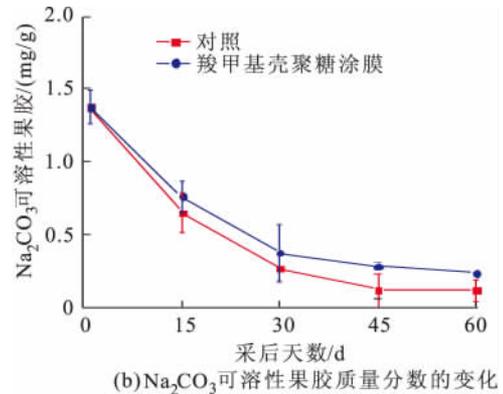
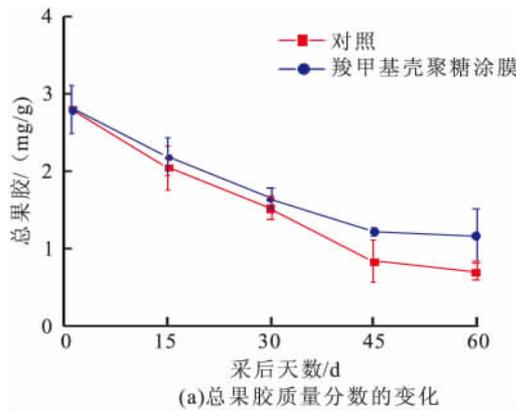
鲜果蔬提供了一个额外的保护层,可以对果蔬内部气体组成进行调节,与自发气调(Modified atmosphere packaging, MAP)贮藏具有类似的效果^[3]。涂膜由于抑制了水果的呼吸作用以及由此引起的生理变化是能够抑制果胶酯酶和多聚半乳糖醛酸酶及纤维素酶活性升高的一个原因。由以上结果(图 1 和图 2)可以发现,羧甲基壳聚糖涂膜处理较低的细胞壁水解酶活性有利于更好的保持上海蜜梨果实的硬度。

2.3 细胞壁成分变化

随着贮藏时间的增加,伴随着上海蜜梨果实硬度的降低,上海蜜梨果实的总果胶含量,CDTA 可溶性果胶(离子结合果胶)含量,Na₂CO₃ 可溶性果胶(共价结合果胶)含量,以及半纤维素和纤维素含量都呈现逐渐下降的趋势(图 1 和图 3)。这说明贮藏过程中上海蜜梨果实软化与其他水果类似,都与富含果胶,半纤维素和纤维素的果实细胞壁的降解有很大关系^[10,17]。由结果还可以发现(图 3),相对于果胶物质,纤维素含量降低速度较慢,这可能与纤维素的类似水晶的分子结构有关,这种结构对化学和酶降解具有抗性^[10]。另外,与未经涂膜处理的

对照组相比,在整个贮藏过程中,经过羧甲基壳聚糖涂膜处理的上海蜜梨具有相对较高的总果胶,CDTA 可溶性果胶含量,Na₂CO₃ 可溶性果胶含量,以及半纤维素和纤维素含量。这主要是由于涂膜处理减缓了水果的新陈代谢过程^[4],进而抑制了贮藏过程中水解酶活性的升高(图 2),减少了果实细胞壁成份的变化。

如图 3(d)所示,在整个贮藏期内,上海蜜梨所含的水溶性果胶含量在贮藏前期逐渐上升,在贮藏 30 d 后出现峰值,随后含量逐渐下降,这与以前关于桃子的研究结果相一致^[18]。从贮藏初期到贮藏中期,水溶性果胶含量逐渐升高,这主要是不溶于水的原果胶物质被果胶酶分解^[10],造成上海蜜梨的水溶性果胶的迅速升高所致。而在贮藏后期,由于水果持续的呼吸作用,以及水果所含呼吸底物逐渐减少,导致水溶性果胶加快分解为其他小分子多糖成份,具体表现为水溶性果胶含量的迅速下降^[18]。由图 3(d)果还可以发现,与对照组较为剧烈的水溶性果胶变化相比,羧甲基壳聚糖涂膜组的变化相对平缓,说明羧甲基壳聚糖涂膜对上海蜜梨水溶性果胶含量变化具有抑制作用。



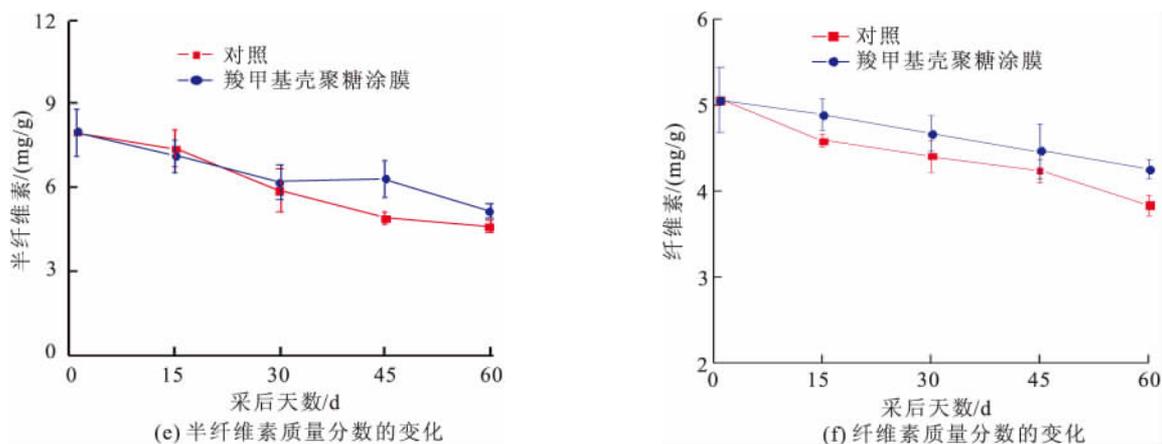


图 3 贮藏过程中上海蜜梨的总果胶(a), Na_2CO_3 可溶性果胶(b), CDTA 可溶性果胶(c), 水溶性果胶(d), 半纤维素(e)和纤维素(f)质量分数的变化

Fig. 3 Changes in contents of total pectin (a), Na_2CO_3 soluble pectin (b), CDTA soluble pectin (c), water soluble pectin (d), hemicellulose (e), and cellulose (f) of Shanghai pears during 60 days of storage at 4 °C

上海蜜梨贮藏过程中的果胶、半纤维素和纤维素的大量降解,伴随蜜梨水果发生软化,说明了这种细胞壁成份的降解可以导致水果果肉细胞壁组织内部发生变化,而使水果变软^[8,19]。研究结果说明了细胞壁中的多糖成份降解在水果软化进程中起到了重要作用^[20]。另外,与未经涂膜处理的对照组上海蜜梨相比,羧甲基壳聚糖涂膜更好地保持了贮藏过程中上海蜜梨的硬度。这可能是由于涂膜可以抑制了水果的呼吸作用,进而减慢果实的生命活动^[2,21],从而抑制了贮藏过程中细胞壁水解酶活性的升高,减少了细胞壁成份的变化。试验结果表明,羧甲基壳聚糖可以用于上海蜜梨贮运过程中的保脆保鲜。

3 结语

1) 随着冷藏时间的延长,由于上海蜜梨果实的果胶酯酶、多聚半乳糖醛酸酶和纤维素酶活性的升高,以及细胞壁中果胶成分、半纤维素和纤维素成分的大量变化,使贮藏过程中上海蜜梨果实的逐渐软化。

2) 与空气冷藏的对照组相比,羧甲基壳聚糖涂膜处理减缓了贮藏过程中上海蜜梨的硬度变化,这个过程通过抑制果胶酯酶、多聚半乳糖醛酸酶和纤维素酶的活性上升,从而减少果胶、半纤维素和纤维素等细胞壁物质的降解而得以实现。

参考文献(References):

- [1] 林河通,洪启征,袁振林,等. 黄花梨果实冷藏适温的研究[J]. 农业工程学报,1997,13(1): 206—210.
LIN He-tong, HONG Qi-zheng, YUAN Zhen-lin, et al. Study on the optimum cool storage temperature for Huanghua pear fruits [J]. *Transactions of the CSAE*, 1997, 13(1): 206—210. (in Chinese)
- [2] 周然,闫丽萍,谢晶,等. 可食性保鲜涂膜对冷藏黄花梨品质的影响[J]. 农业工程学报,2009,25(5): 275—279.
ZHOU Ran, YAN Li-ping, XIE Jing, et al. Effects of edible coatings on postharvest qualities of Huanghua pear fruits during cold storage [J]. *Transactions of the CSAE*, 2009, 25(5): 275—279. (in Chinese)
- [3] Park H J. Development of advanced edible coatings for fruits [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1999, 10(8): 254—260.
- [4] Conforti F D, Zinck J B. Hydrocolloid-lipid coating affect on weight loss, pectin content, and textural quality of green bell peppers [J]. *Journal of Food Science*, 2002, 67(4): 1360—1363.
- [5] Han C, Zhao Y, Leonard S W, et al. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and fro-

- zen strawberries (*Fragaria* × *ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*) [J]. **Postharvest Biology and Technology**, 2004, 33(1): 67–78.
- [6] 王海青,高忠良. 羧甲基壳聚糖的制备及应用现状[J]. 中国食品添加剂,2002,6: 67–70.
WANG Hai-qing, GAO Zhong-liang. Preparation & application of the carboxymethyl chitosan[J]. **China Food Additives**, 2002, 6: 67–70. (in Chinese)
- [7] 周然,李云飞. 不同强度的运输振动对黄花梨的机械损伤及贮藏品质的影响[J]. 农业工程学报,2007,23(11): 255–259.
ZHOU Ran, LI Yun-fei. Effects of different strengthes of transport vibration on mechanical damage and storage quality of Huanghua pears (*Pyrus Pyrifolia Nakai*, cv. Huanghua) [J]. **Transactions of the CSAE**, 2007, 23(11): 255–259. (in Chinese)
- [8] Nagel C W, Patterson M E. Pectin enzymes and development of the pears (*Pyrus communis*) [J]. **Journal of Food Science**, 1967, 32(3): 294–297.
- [9] Zhou R, Su S Q, Li Y F. Effects of cushioning materials on the firmness of Huanghua pears (*Pyrus pyrifolia Nakai*, cv. Huanghua) during distribution and storage [J]. **Packaging Technology and Science**, 2008, 21: 1–11.
- [10] Deng Y, Wu Y, Li Y F. Changes in firmness, cell wall composition and cell wall hydrolases of grapes stored in high oxygen atmospheres [J]. **Food Research International**, 2005, 38(7): 769–776.
- [11] Abu-Goukh A A, Bashir H A. Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening [J]. **Food Chemistry**, 2003, 83(2): 213–218.
- [12] Laratta B, Masi L D, Minasi P, et al. Pectin methylesterase in Citrus bergamia R. : purification, biochemical characterisation and sequence of the exon related to the enzyme active site [J]. **Food Chemistry**, 2008, 110(4): 829–837.
- [13] Brummell D A, Harpster M H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants [J]. **Plant Molecular Biology**, 2001, 47(2): 311–340.
- [14] Singh P, Dwivedi U N. Purification and characterisation of multiple forms of polygalacturonase from mango (*Mangifera indica* cv. Dashehari) fruit [J]. **Food Chemistry**, 2008, 111(2): 345–349.
- [15] Sethu K M P, Parbha T N, Tharanathan R N. Postharvest biochemical changes associated with the softening phenomenon in Capsicum annum fruits [J]. **Phytochemistry**, 1996, 42(4): 961–966.
- [16] 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. (in Chinese)
- [17] Roeck A D, Sila D N, Duvetter T, et al. Effect of high pressure/high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue[J]. **Food Chemistry**, 2008, 107(3): 1225–1235.
- [18] Kang R, Yu Z, Lu Z. Effect of coating and intermittent warming on enzymes, soluble pectin substances and ascorbic acid of *Prunus persica* (Cv. Zhonghuashoutao) during refrigerated storage [J]. **Food research international**, 2005, 38(3): 331–336.
- [19] Water R H. The Chemistry and Technology of Pectin [M]. San Diego: Academic Press, 1991. 1–22.
- [20] Manrique G D, Lajolo F M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*) [J]. **Postharvest Biology and Technology**, 2004, 33: 11–26.
- [21] 张剑峰,张愨,陈黎明. 香菇的涂膜保鲜[J]. 食品与生物技术学报,2004,23(1):66–70.
ZHANG Jian-feng, ZHANG Min, CHEN Li-ming. Study on coating preservation of *Lentinus edoes*[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2004, 23(1):66–70. (in Chinese)