

壳聚糖-罗伦隐球酵母涂膜处理对葡萄柚贮藏品质的影响

黄二宾¹, 杜嵘宇¹, 杨清¹, 吴化雨¹, 李贤忠¹, 王芳^{1,2}, 邓佳^{1,3}

(1.西南林业大学 林学院, 昆明 650224; 2.西南地区生物多样性保育国家林业和草原局重点实验室, 昆明 650224; 3.西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 昆明 650224)

摘要: **目的** 研究壳聚糖-罗伦隐球酵母生物活性膜处理对葡萄柚果实抗病保鲜及贮藏品质的影响。**方法** 以“里约红”葡萄柚为实验材料, 采用壳聚糖(10 g/L)、罗伦隐球酵母发酵液(1×10^7 CFU/mL)、壳聚糖-罗伦隐球酵母复合液对采后葡萄柚果实进行浸泡 3 min 处理, 并设置 CK 组, 在室温条件(温度为 $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 相对湿度为 85%~90%)下贮藏。测定贮藏期间葡萄柚的果实发病率、果皮几丁质酶活性、 β -1,3-葡聚糖酶活性、质量损失率、果实外观色泽、营养物质、贮藏品质等指标。通过主成分综合评分法分析最佳的抗病保鲜方式。**结果** 在室温贮藏过程中, 与 CK 组相比, 壳聚糖、罗伦隐球酵母发酵液和壳聚糖-罗伦隐球酵母复合液处理组均能有效降低葡萄柚果实青霉病的发病率和病斑直径, 在一定程度上诱导提高果皮抗病防御酶活性; 抑制葡萄柚果实失水, 增强果实的鲜亮度; 延缓营养物质的流失。其中, 壳聚糖-罗伦隐球酵母复合液处理对保持采后葡萄柚果实的贮藏品质最好。主成分分析结果表明, 葡萄柚贮藏品质的综合得分顺序为壳聚糖-罗伦隐球酵母复合膜>CTS膜>*C. laurentii*膜>CK。**结论** 采用壳聚糖-罗伦隐球酵母生物活性膜处理对采后葡萄柚果实青霉病的抗病保鲜效果最好, 能够明显降低果实的发病率, 保持更好的贮藏品质。

关键词: 生物活性膜; 葡萄柚; 抗病; 贮藏品质

中图分类号: TS255.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2023)01-0185-10

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2023.01.021

Effect of CTS-*C. laurentii* Bioactive Film on Quality of Grapefruit During Storage

HUANG Er-bin¹, DU Rong-yu¹, YANG Qing¹, WU Hua-yu¹, LI Xian-zhong¹,
WANG Fang^{1,2}, DENG Jia^{1,3}

(1. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Biodiversity Conservation in Southwest China, Kunming 650224, China;
3. Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education, Kunming 650224, China)

ABSTRACT: The work aims to investigate the effects of chitosan-*Cryptococcus laurentii* yeast bioactive film coating treatment on disease resistance, preservation and quality of grapefruit during storage. With "Rio Red" grapefruit as the experimental material, harvested grapefruit was soaked respectively with 10 g/L chitosan, fermentation broth of *Cryptococcus laurentii* yeast (1×10^7 CFU/mL) and chitosan-*Cryptococcus laurentii* yeast complex solution for 3 min. A deio-

收稿日期: 2022-10-05

基金项目: 云南省农业联合专项(202101BD070001-065); 国家自然科学基金(31960326, 32160394); 云南省高层次人才支持计划(YNWR-QNBJ-2020-205); 云南省“两类”人才培养项目(202105AC160045); 科技处科研预研基金(110822082)

作者简介: 黄二宾(1995—), 男, 硕士生, 主攻经济林栽培与利用。

通信作者: 邓佳(1983—), 女, 教授, 博士, 主要研究方向为经济林(果树)栽培与利用。

nized-water-treatment group was set as the CK group, and then they were stored at room-temperature conditions (temperature: $(20\pm 2)^{\circ}\text{C}$, relative humidity: 85%-90%). Quality indicators of fruits during storage such as disease incidence of fruits, chitinase and β -1,3-glucanase activity of peels, weight loss of fruits, color and nutrient quality were determined during storage. The best way of preservation was analyzed through the comprehensive principal component scoring method. During the storage at room temperature, the disease incidence and diameter lesions were effectively reduced in grapefruit through the treatment of chitosan, *Cryptococcus laurentii* and chitosan-*Cryptococcus laurentii* compared with the CK group. The activity of fruit peel resistance defense enzymes was enhanced to a certain extent after different treatments. These treatments also exhibited excellent preservation effects, such as the inhibition of weight loss, the enhancement of peel brightness and the delaying of nutrients loss. Among these treatments, with chitosan-*Cryptococcus laurentii* complex solution, the best postharvest quality of fruit was maintained. The results of principal component analysis showed that the comprehensive score of grapefruit storage quality was in the following order: chitosan-*Cryptococcus laurentii* composite film > CTS film > *Cryptococcus laurentii* film > CK film. Chitosan-*Cryptococcus laurentii* bioactive film treatment has the best effect on the disease resistance and preservation of green mold of harvested grapefruit, which can significantly reduce the incidence of disease and maintain fruit storage quality.

KEY WORDS: bioactive film; grapefruit; disease-resistance; storage quality

葡萄柚 (*Citrus paradisi*) 又称西柚, 系芸香科柑橘属常绿乔木果树, 是世界上柑橘四大类群之一^[1]。柑橘类果实采后贮藏过程中易感染绿霉、青霉等病害^[2]。以扩展青霉 (*Penicillium expansum*, *P. expansum*) 引起的青霉病是最为严重、发病率最高的病害^[3]。当前, 柑橘类果实的贮藏保鲜方法以化学杀菌剂和低温贮藏为主^[4]。大部分贮藏设备存在投资成本较高、操作要求较高等缺点, 甚至存在食品安全隐患。近年来, 涂膜保鲜技术在果品采后保鲜产业迅猛兴起, 探寻绿色环保的复合涂膜保鲜技术是柑橘类果品未来保鲜技术领域的发展趋势。

壳聚糖 (Chitosan, CTS) 主要来源于甲壳素, 具有可降解、抗菌性和成膜性, 在食品包装方面的应用较多^[5], 且它具有较好的附着性, 将该膜涂于果实表面, 可阻止氧气的侵入和二氧化碳的排出, 有效降低果实的呼吸作用, 延缓组织细胞的衰老, 阻止病原菌的侵入, 延长采后果品的贮藏时间^[6]。单一壳聚糖涂膜的效果不及化学杀菌剂的效果, 为了改善膜的抗菌性, 进一步提高壳聚糖涂膜的保鲜效果, 可将一些抗菌物质加入壳聚糖膜中, 制成生物活性膜液。有研究表明, 在壳聚糖中添加聚环氧乙烷可以提高膜的物理性质^[7], 向壳聚糖溶液中添加果皮提取物、植物精油、维生素 C 等可以提高其杀菌性能和抑菌性能^[8]。生防菌——罗伦隐球酵母 (*Cryptococcus laurentii*, *C. laurentii*) 具有较强的拮抗抑菌效力, 还能诱导果品抗病防御系统的形成, 既可单独用于多种果品的采后病害防治, 又能与物理方法、化学物质和生物源物质在采前、采后配合使用, 故被认为是一种具有良好应用前景的生防酵母菌。有研究表明, 在罗伦隐球酵母中添加藻朊酸盐可以有效地抑制草莓的灰霉病^[9], 在罗伦隐球酵母中添加氯化钙可以有效地抑制梨的青霉病和灰霉病^[10]。

有研究表明, 海藻酸钠-罗伦隐球酵母生物活性膜可降低蓝莓的采后发病率^[11], 显著降低果实的质量损失率和腐烂率, 维持果实的糖、酸和花青素等含量, 保持果实中 SOD、CAT 和 POD 酶的活性, 减小超氧自由基对细胞的损害, 维持采后蓝莓的品质^[12]。前期研究发现, 采用羧甲基纤维素与罗伦隐球酵母复合处理可抑制葡萄柚果实采后绿霉病的发生, 有效防止贮藏期间果实营养品质的下降, 表现出较好的保鲜效果^[13]。目前, 关于壳聚糖与罗伦隐球酵母复合膜处理对果实贮藏期外观品质的影响鲜有报道。鉴于此, 文中将壳聚糖与罗伦隐球酵母 (CTS-*C. laurentii*) 发酵液制备成生物活性膜, 研究其对葡萄柚果实贮藏期间抗病保鲜效果的影响。

1 实验

1.1 材料

主要材料: “里约红”葡萄柚, 购于云南省玉溪市嘎洒镇葡萄柚果园; 罗伦隐球酵母 (*C. laurentii*), 由笔者课题组前期分离自葡萄柚果实表面, 并保存; 扩展青霉 (*P. expansum*), 分离自葡萄柚发病果实表面, 并保存。

1.1.1 培养基配制

YM 液体培养基、PDA 固体培养基的配制参照马电通等^[2]的方法。

1.1.2 扩展青霉、罗伦隐球酵母的活化

1) 扩展青霉 (*P. expansum*) 活化。将保存在甘油管的 *P. expansum* 进行三级划线, 接种在 PDA 固体培养基上, 并置于培养箱内培养, 培养箱的温度调至 28°C 。在 3 d 后采用显微镜观察其形态, 重复 3 次活化实验, 以确保 *P. expansum* 成活, 培养至 1×10^5 CFU/mL,

备用。

2) 罗伦隐球酵母 (*C. laurentii*) 活化。将保存好的 *C. laurentii* 接种在 YM 液体培养基中,并在 28 °C、120 r/min 的摇床上培养至 1×10^7 CFU/mL, 备用。

1.2 试剂及设备

主要试剂:壳聚糖 (CTS), 河南万邦实业有限公司;蛋白胨、麦芽浸粉、葡萄糖、酵母粉、琼脂、3,5-二硝基水杨酸、酚酞、草酸、氢氧化钠、甲醇、盐酸,上海沪试实验器材股份有限公司;2,6-二氯酚靛酚钠、3,5-二硝基水杨酸、冰乙酸、氢氧化钠,国药集团;无水氯化钙,昆明华森实验设备有限公司。

主要设备:HH-B11-BS-II 恒温培养箱,上海跃进医疗器械有限公司;SW-CJ-2FD 超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;MIKRO 220R 冷冻型台式高速离心机、Nikon YS100 型电子显微镜,广州颐腾贸易有限公司。

1.3 方法

1.3.1 不同膜溶液的配制

配制 20 g/L 的壳聚糖溶液,用磁力机搅拌 1 min,再加入 7 mol/L 的冰乙酸 15 mL,继续搅拌 2 min,至壳聚糖完全溶解,再用 40 g/L 氢氧化钠调至壳聚糖溶液 pH 值为 5.5~5.8。将 20 g/L 壳聚糖溶液用蒸馏水稀释为 10 g/L 壳聚糖溶液。在 YM 液体培养基中培养 *C. laurentii*, 至 1×10^7 CFU/mL, 待用。

1.3.2 不同膜的制备

将 1.3.1 节配制的 CTS (20 g/L) 与 *C. laurentii* (1×10^7 CFU/mL) 按体积比 1:1 均匀混合,得到 CTS-*C. laurentii* 膜液。将 7 mL 的 CTS (10 g/L)、*C. laurentii* (1×10^7 CFU/mL) 和 CTS-*C. laurentii* 膜液分别倒入 60 mm 的培养皿,置于室温条件干燥成膜后,在培养皿中加入 30 g/L 的氯化钙溶液浸泡 5 min,随后将膜从培养皿上剥离下来,并置于室温条件下晾干。

1.3.3 试样处理

从购买的果实中挑选色泽、大小、成熟度基本一致,无病害,无损伤的果实。用蒸馏水将果实洗净后,再使用体积分数为 75% 的酒精擦拭果实表面,以消毒,并置于框中在室温下贮藏备用。将葡萄柚分为 4 组,每组有 6 个果实,共 24 个果实,分别置于蒸馏水(对照组,CK)、CTS(10 g/L)、*C. laurentii*、CTS-*C. laurentii* 等 4 组液体中浸泡 3 min,取出后晾干备用。

1.3.4 不同涂膜处理对葡萄柚果实抗青霉病的效果

参照王芸^[14]的操作方法,略有改动,将处理好的葡萄柚置于超净工作台上,用已灭菌消毒的打孔针在果实赤道部位的 4 个方向分别打孔(直径为 5 mm,深度约为 6 mm),每孔打入 20 μ L *P. expansum* 孢子悬浮液 (1×10^5 CFU/mL),每个处理重复 3 次,共需 24

个果实。将果实接菌完成后置于打孔的塑料盒中,并在室温下保存,在每天的同一时间观察记录果实的发病率、病斑直径,果实病斑连接即停止观察。果实发病率的计算公式:发病率 = $\frac{\text{发病孔数}}{\text{总孔数}} \times 100\%$ 。采用十字交叉法测量果实病斑的直径 (cm)。

1.3.5 生物活性膜处理对葡萄柚果实抗病防御酶活性的影响

果实浸泡涂膜处理方法同 1.3.2 节的操作方法,每个处理组有 18 个果实,共需 72 个果实。将处理后的果实置于室温条件下晾干,采用塑料保鲜袋包装果实,在室温条件下贮藏。分别在处理后的 0 (处理后 2 h)、5、10、15、20、25 d 时对果肉、果皮进行取样,并做标记,置于 -80 °C 低温冰箱中保存,待用。防御酶指标的测定采用苏州梦犀生物科技股份有限公司试剂盒,防御酶包括几丁质酶 (Chitinase, CHI) 和 β -1,3-葡聚糖酶 (β -1,3-glucanase, GLU)。

1.3.6 色差的测定

色差的测定参照王丽琼等^[15]的方法。

1.3.7 果实质量损失率的测定

在贮藏 0、5、10、15、20、25 d 时用电子秤称量果实,并记录,重复 3 次实验。质量损失率的计算公式:质量损失率 = $\frac{\text{贮藏初期质量} - \text{贮藏期质量}}{\text{贮藏初期质量}} \times 100\%$ 。

1.3.8 生物活性膜处理对葡萄柚果实贮藏品质的影响

这里的处理条件和取样时间同 1.3.5 节操作方法,测定指标包括可滴定酸 (Titrate acid, TA)、还原糖 (Reducing sugar, RS)、抗坏血酸 (Ascorbic acid, ASA)、可溶性固形物 (Soluble solid content, SSC) 等含量,参考曹建康等^[16]的实验操作方法进行测定。

1.4 数据处理与分析

采用单因素实验设计,共 4 个处理组,每组重复 3 次实验,实验重复 2 遍。采用 Excel 2010、Origin 2019、SPSS 26.0 软件对数据进行分析、制图、单因素方差分析和邓肯氏多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同膜材料的形态

从图 1 可知,不同膜的颜色、形态和韧性也不同。颜色: *C. laurentii* 膜呈现淡黄色半透明状; CTS 膜为无色透明; CTS-*C. laurentii* 复合膜呈现浅黄色半透明状,其颜色略比 *C. laurentii* 膜的颜色浅。表面光滑程度: CTS 膜的表面粗糙; *C. laurentii* 膜的表面光滑; CTS-*C. laurentii* 复合膜的表面粗糙程度略低于 CTS 膜。柔韧性: CTS-*C. laurentii* 复合膜的韧性较好,

取出后膜的形态完整; CTS膜较脆、易折, 取出后膜呈碎片状; *C. laurentii* 膜黏附在培养皿上, 取膜较困难。结果表明, CTS-*C. laurentii* 可以更好地在果实表面形成一层生物活性膜, 提高了 *C. laurentii* 在果皮上的定殖能力, 对果实的抑菌效果更好。

2.2 不同涂膜处理对葡萄柚果实青霉病的抑制效果

由图 2a 可知, 接种病原菌在 2 d 后使所有果实都开始发病, 3 个处理组与 CK 组相比, 均显著 ($P<0.05$)

抑制了葡萄柚的果实发病率。其中, 经 CTS-*C. laurentii* 处理后果实的发病率最低。如图 2b 所示, 果实病斑的变化趋势与发病率趋势相似, 各处理组果实的病斑直径均呈上升趋势。在接种后 6~7 d, *C. laurentii* 和 CTS-*C. laurentii* 处理组果实的病斑直径显著小于其他处理组果实的病斑直径 ($P<0.05$)。在接种后 8~11 d, CTS-*C. laurentii* 处理组果实的病斑直径最小 ($P<0.05$)。综合来看, 在整个贮藏期, CTS-*C. laurentii* 对葡萄柚果实青霉病 (*P. expansum*) 的抑制效果最显著 ($P<0.05$)。

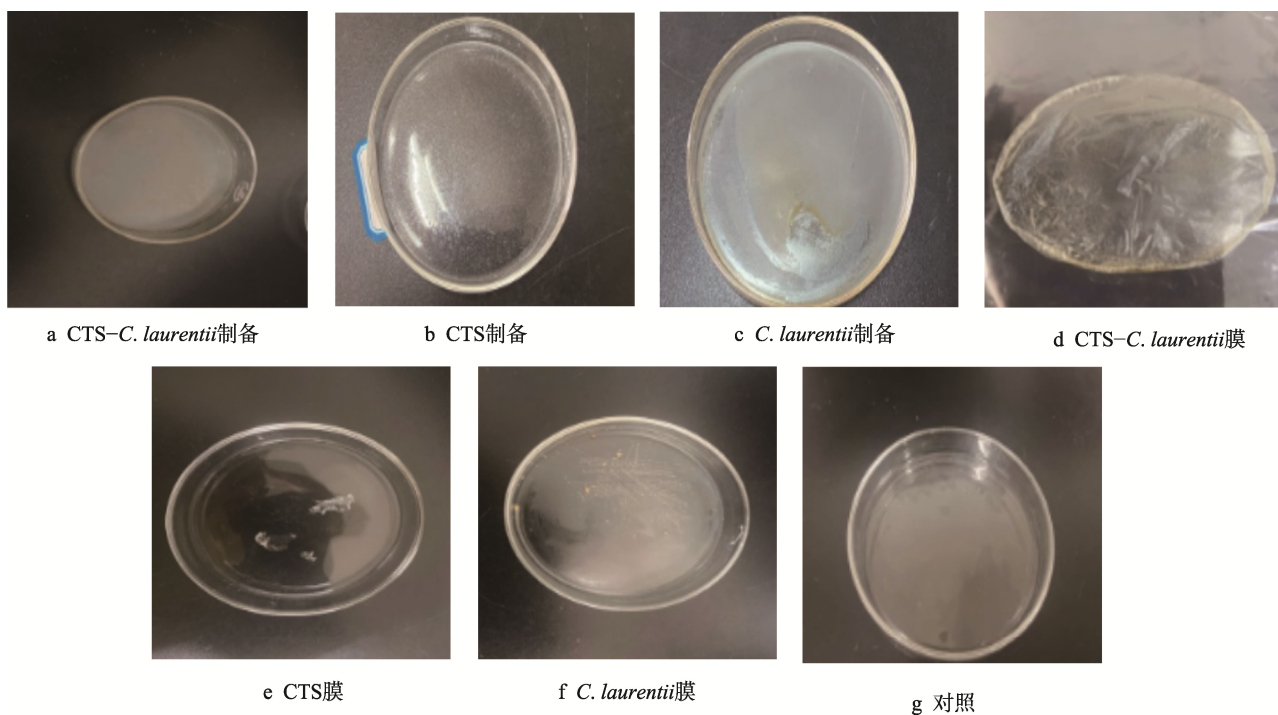


图 1 不同生物活性膜材料
Fig.1 Different bioactive film materials

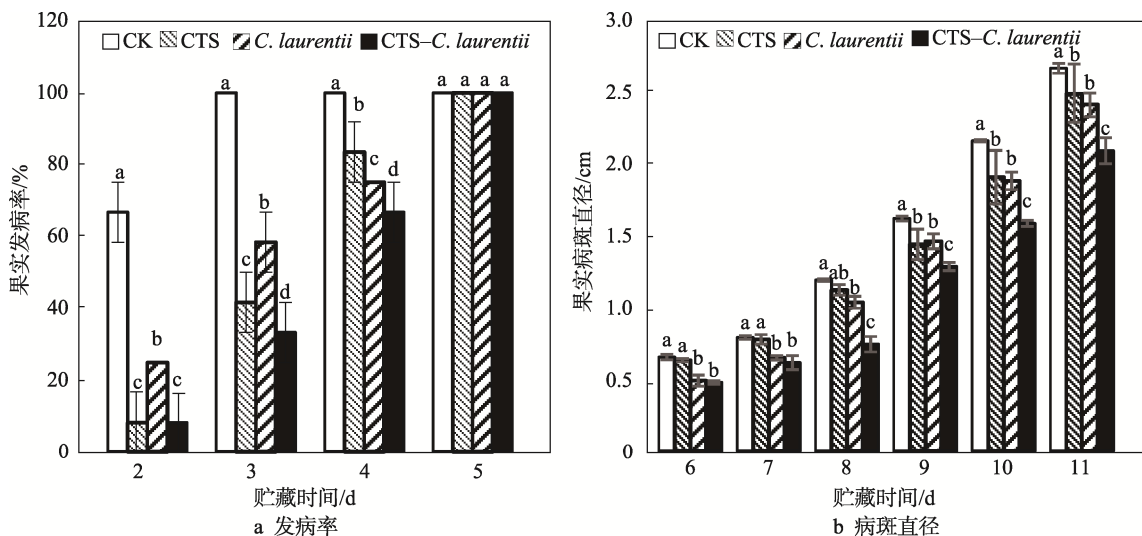


图 2 不同生物活性膜处理对贮藏期葡萄柚果实青霉病的影响
Fig.2 Effects of different bioactive film treatments on penicilliosis of grapefruit during storage
注: 同一时间不同小写字母表示在 $P<0.05$ 的水平差异性显著, 下同。

2.3 不同涂膜处理对葡萄柚果实抗病防御酶活性的影响

GLU 和 CHI 在植物抵御病原菌侵染过程中起着重要作用^[17]。由图 3a 可知, 整个贮藏期间葡萄柚果皮 GLU 酶活性总体呈先下降再上升再下降的趋势, *C. laurentii* 处理组在第 20 天、第 25 天与 CK 组无显著性差异, 其他处理组均有差异。CTS-*C. laurentii* 处理组果皮 GLU 酶活性显著 ($P<0.05$) 高于 CK 组。在贮藏期间, 所有处理组中 CTS-*C. laurentii* 的 GLU 酶活性最高。由图 3b 可知, 随着贮藏时间的延长, 葡萄柚果皮 CHI 酶活性总体呈先上升后下降的趋势。除贮藏第 15 天和 25 天外, 在贮藏期间 3 组处理组与 CK 组相比, 对果皮的 CHI 酶活性都有显著提高 ($P<0.05$)。在贮藏第 10 天, 各处理组的 CHI 酶活性达到最高值, CTS-*C. laurentii*、CTS 和 *C. laurentii* 处理组果实的酶活性分别比 CK 组果实的酶活性高 1.45、1.45 和 1.32 倍。

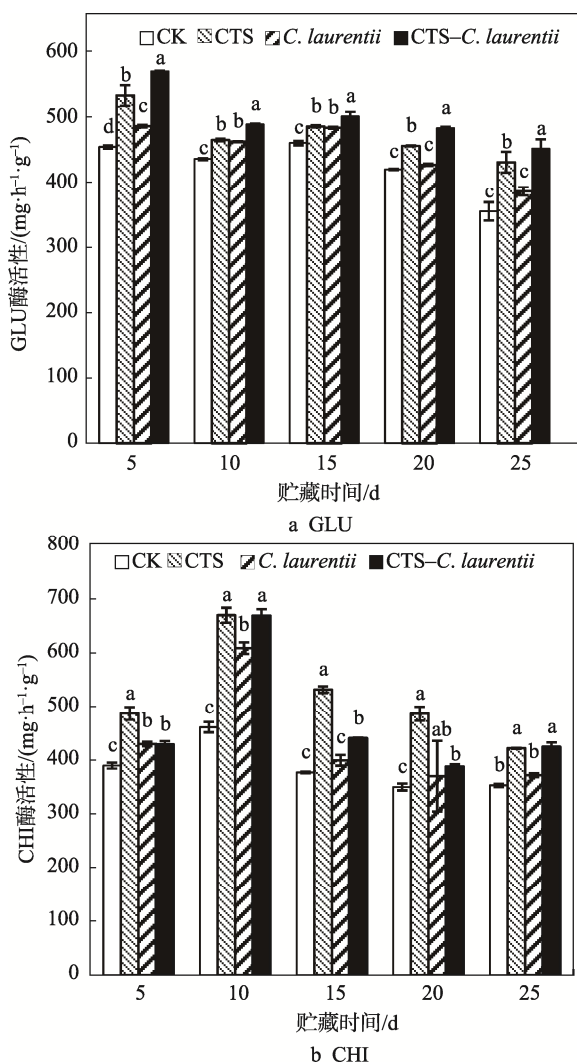


图 3 不同生物活性膜处理对贮藏期葡萄柚果皮酶活性的影响

Fig.3 Effects of different bioactive film treatments on activity of enzyme of grapefruit peel during storage

2.4 不同涂膜处理对葡萄柚果实质量损失率的影响

在贮藏期间, 果实的呼吸作用会影响水分含量, 导致水分逐渐流失, 从而影响果实的商品价值。随着贮藏时间的延长, 各处理组果实的质量损失率不断上升, 见图 4。在贮藏期间, 3 组涂膜处理组果实的质量损失率均低于 CK 组果实的质量损失率, 且差异显著 ($P<0.05$), 除第 15 天 *C. laurentii* 处理组外。在贮藏 25 d 时, CTS-*C. laurentii*、CTS 和 *C. laurentii* 组果实的质量损失率比 CK 组果实的质量损失率分别降低了 1.37%、4.12%、6.53%。

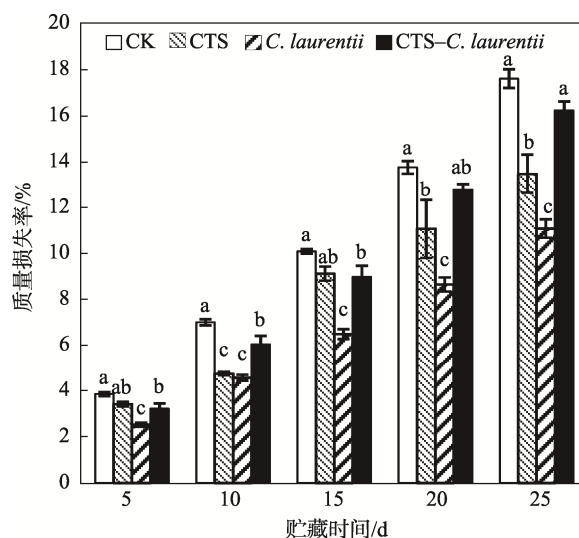


图 4 不同生物活性膜处理对贮藏期葡萄柚果实质量损失率的影响

Fig.4 Effects of different bioactive film treatments on weight loss of grapefruit during storage

2.5 不同涂膜处理对葡萄柚果实外观色泽的变化

随着贮藏时间的延长, 果实的 *L* 值总体呈下降的趋势, CTS-*C. laurentii* 处理组果皮的 *L* 值高于 CK 组的 *L* 值, 在贮藏初期 (5~10 d) 存在显著性差异 ($P<0.05$), 这表明 CTS-*C. laurentii* 处理能够提高果皮的亮度。在整个贮藏期间, 除第 20 天外, CTS-*C. laurentii* 处理组果皮的 *a* 值显著 ($P<0.05$) 低于 CK 组的 *a* 值, 这表明 CTS-*C. laurentii* 组果皮呈绿色, CK 组果皮由绿转红; 除贮藏第 5 天外, CTS-*C. laurentii* 处理组果皮的 *b* 值显著 ($P<0.05$) 高于 CK 组果实的 *b* 值, 这表明 CTS-*C. laurentii* 组与 CK 组相比, 其果皮颜色由蓝色转黄色的时间提前。此外, 单一颜色不能代表果皮色泽的真实变化, 在贮藏 10~25 d 时, CTS-*C. laurentii* 处理组果皮的 *a/b* 值显著 ($P<0.05$) 低于 CK 组的 *a/b* 值, 该处理有效延缓了果皮色泽向红黄色转变的进程。在贮藏中后期 (15~25 d), CTS-*C. laurentii* 处理组果皮的 *c* 值显著

($P<0.05$) 高于 CK 组的 c 值,有效增加了果皮的色泽饱和度,见表 1。

采后葡萄柚果实在后熟作用下,其果皮从青绿向黄红转变,CTS-*C. laurentii* 处理在一定程度上维持了果品采收时的外观光泽品质,延缓了果皮后熟转色的进程。

2.6 不同涂膜处理对葡萄柚果实营养品质的影响

在葡萄柚果实中含有丰富的糖、酸和抗坏血酸,随着果实贮藏时间的延长,以及贮藏环境的影响,这

4 种成分会随之变化,因此可以将其作为评价果实营养品质和贮藏效果的重要指标^[18]。

由图 5a 可以看出,果实的抗坏血酸含量呈先升后降的趋势。原因是,近熟果实采后在短期内其营养物质(糖、抗坏血酸等)仍会继续积累,含量会不断升高,抗坏血酸含量也会有所增加。在贮藏期间果实的呼吸作用持续进行,营养物质会作为呼吸底物被消耗。随着贮藏时间的延长,果实营养物质的消耗减少,因此抗坏血酸含量不断降低。在贮藏过程中,CTS-*C. laurentii* 与 CK 组果实的抗坏血酸含量存在显著性($P<0.05$)差异。在贮藏 20 d 时,各处理组果实的抗

表 1 不同生物活性膜处理对贮藏期葡萄柚果实外观品质的影响
Tab.1 Effects of different bioactive film treatments on exterior quality of grapefruit during storage

果实色差值	时间/d	处理组			
		CK	CTS	<i>C. laurentii</i>	CTS- <i>C. laurentii</i>
<i>L</i>	5	-0.23±0.02 ^b	-0.26±0 ^b	-0.49±0.39 ^b	0.92±0.18 ^a
	10	-0.75±0.10 ^b	-1±0.31 ^b	-0.89±0.38 ^b	0.58±0.39 ^a
	15	-0.34±0.51 ^{ab}	-1.31±0.11 ^b	-1.44±0.38 ^b	0.51±0.07 ^a
	20	-0.53±0.65 ^{ab}	-1.73±0.02 ^b ^c	-1.91±0.32 ^c	-0.17±0.19 ^a
	25	-2±0.53 ^a	-1.78±0.21 ^a	-2.1±0.35 ^a	-1.06±0.1 ^a
<i>a</i>	5	2.51±0.17 ^a	1.38±0 ^b	1.4±0.18 ^b	1.26±0.33 ^b
	10	4.52±0.19 ^a	1.89±0 ^c	2.57±0.15 ^b	1.66±0.15 ^c
	15	5.21±0.37 ^a	3.01±0.28 ^c	3.78±0.15 ^{bc}	4.06±0.33 ^b
	20	5.21±0.05 ^a	3.66±0 ^b	5.03±0.51 ^a	4.99±0.01 ^a
	25	6.91±0.02 ^a	5.19±0 ^c	6.53±0.29 ^{ab}	5.95±0.29 ^b
<i>b</i>	5	1.55±0.07 ^{ab}	1.66±0.13 ^{ab}	2.37±0.48 ^a	0.72±0.25 ^c
	10	1.94±0.31 ^{bc}	1.05±0.13 ^c	3.14±0.15 ^a	2.27±0.51 ^{ab}
	15	1.48±0.1 ^{8b}	1.15±0.13 ^b	2.76±0.14 ^a	3.41±0.64 ^a
	20	1.95±0.2 ^a	2.55±0.13 ^{bc}	3.24±0.3 ^b	4.49±0.59 ^a
	25	1.89±0.22 ^c	1.27±0.27 ^c	3.32±0.15 ^b	5.62±0.53 ^a
<i>a/b</i>	5	1.64±0.18 ^a	0.84±0.07 ^b	0.62±0.09 ^b	2.02±0.38 ^a
	10	2.49±0.54 ^a	1.86±0.25 ^a	0.82±0.03 ^b	0.8±0.16 ^b
	15	3.6±0.35 ^a	2.68±0.43 ^a	1.37±0.02 ^b	1.24±0.15 ^b
	20	2.72±0.26 ^a	1.44±0.08 ^b	1.55±0.01 ^b	1.15±0.14 ^b
	25	3.76±0.41 ^a	4.48±0.92 ^a	1.989±0.18 ^b	1.07±0.08 ^b
<i>c</i>	5	-0.24±0.08 ^c	0.472±0.17 ^b	1.95±0.01 ^a	-0.39±0.29 ^c
	10	1.11±0.29 ^b	0.33±0.03 ^c	3.13±0.33 ^a	0.93±0.12 ^{ab}
	15	1.47±0.48 ^b	-3.09±0.11 ^c	3.79±0.42 ^a	2.79±0.16 ^a
	20	2.81±0.29 ^c	-4.01±0.38 ^d	3.94±0.23 ^b	4.95±0.14 ^a
	25	2.16±0.21 ^c	-2.5±0.31 ^d	5.83±0.23 ^a	5.85±0.13 ^a

注: *L* 表示果皮的亮度; *a* 为正值表示红色, *a* 为负值表示绿色; *b* 为正值表示黄色, *b* 为负值表示蓝色; *c* 表示饱和度; *L*、*a*、*b*、*c* 越大表示颜色越深。

坏血酸含量达到了峰值, 其中 CTS-*C. laurentii* 处理组果实的抗坏血酸含量最高, 显著高于其他处理组 ($P<0.05$)。在贮藏 25 d 时, 果实的 ASA 含量开始下降, 与 CK 组相比, 采用 3 种处理均能延缓果实抗坏血酸含量的下降进程。

如图 5b 所示, 在贮藏期间, CK 组葡萄柚果实的可滴定酸含量持续减少。经 CTS-*C. laurentii* 处理后, 在贮藏早期有效维持了果实的可滴定酸含量。在贮藏期间, 除 CTS 和 *C. laurentii* 处理在第 5、15 天外, 其他处理组果实的可滴定酸含量均显著 ($P<0.05$) 高于 CK 组果实的可滴定酸含量。

由图 5c 可见, 采后葡萄柚果实的可溶性固形物含量增加。3 种处理均不同程度地促进了可溶性固形物的增加, CTS-*C. laurentii* 处理的效果最明显, 在贮藏期间, 该处理组果实的可溶性固形物含量显著高

于 CK 组果实 ($P<0.05$) 的可溶性固形物含量。

由图 5d 可知, 在贮藏期间葡萄柚果实的还原糖含量呈先升后降的趋势。经 3 种涂膜处理后, 葡萄柚果实的还原糖含量保持相同的变化趋势, 并且显著 ($P<0.05$) 提高了果实的还原糖含量。CTS-*C. laurentii* 处理的效果最优, 该处理组果实的还原糖含量明显 ($P<0.05$) 高于其他涂膜处理组果实的还原糖含量。

2.7 PCA 综合评价生物活性膜处理对葡萄柚果实贮藏性的影响

以葡萄柚在贮藏期间的果皮 *L* 值、*c* 值, 果实的抗坏血酸含量、可溶性固形物含量、可滴定酸含量、还原糖含量等指标为不同纬度, 进行 PCA 分析。由表 2 可知, 通过主成分分析, 得到累计贡献率为 95.13%, 它

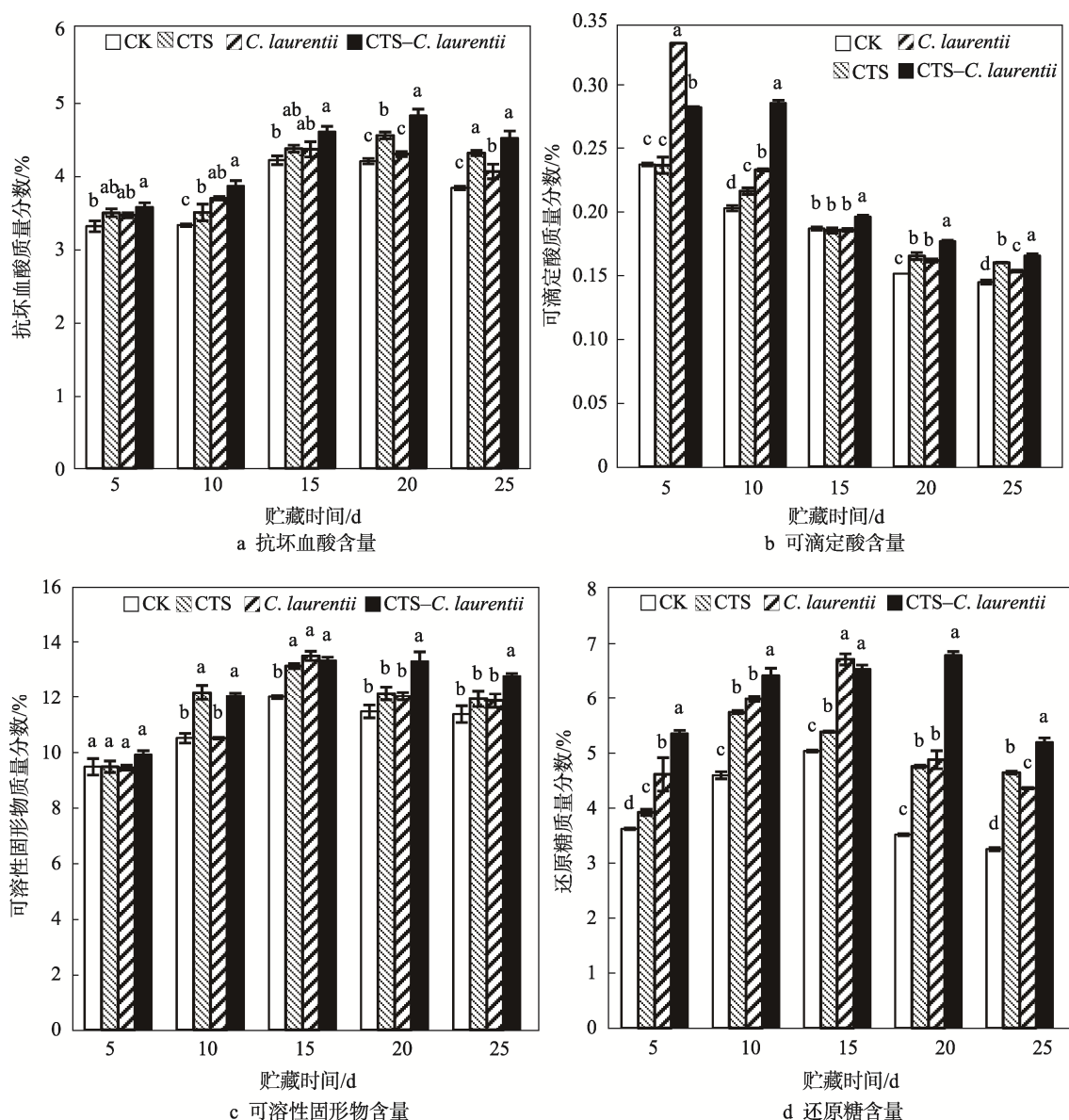


图 5 不同生物活性膜处理对贮藏期葡萄柚果实营养品质的影响

Fig.5 Effects of different bioactive film treatments on nutritional quality of grapefruit during storage

包含足够的信息来反映原始数据的主要信息, 相关综合性得分 F 值通过对应的特征值与该对应的因子得分相乘而得, 计算公式: $F = \frac{F_1 \times 77.79 + F_2 \times 17.34}{95.13}$ 。

采用综合得分来评价葡萄柚果实品质的优劣, 综合评分值越高, 其保鲜效果越佳。由表 3 可知, 综合得分顺序为 CTS-*C. laurentii* > CTS > *C. laurentii* > CK。结果表明, 采用 CTS-*C. laurentii* 处理可以较好地维持葡萄柚果实的贮藏品质。

表 2 主成分特征值和贡献率
Tab.2 Characteristic values and contribution rates of principal components

指标	主成分	
	F_1	F_2
可溶性固形物含量	0.99	0.16
抗坏血酸含量	0.98	-0.20
可滴定酸含量	0.98	-0.19
还原糖含量	0.96	-0.08
L	0.89	0.07
c	0.25	0.97
特征值	4.67	1.04
贡献率/%	77.79	17.34
累计贡献率/%	77.79	95.13

表 3 主成分得分
Tab.3 Scores of principal components

处理组	F_1	F_2	综合得分	排名
CK	-1.14	0.01	-0.93	4
CTS	0.9	-1.42	0.06	2
<i>C. laurentii</i>	-0.42	0.69	-0.21	3
CTS- <i>C. laurentii</i>	1.17	0.72	1.09	1

3 讨论

柑橘类果实在采后运输和贮藏过程中容易感染青霉病害^[19]。果实抗病性最直观的外部表现为果实发病率和病斑直径的变化^[6]。研究表明, 将拮抗生防菌与一些特殊的物质结合可以提高生防菌的抑菌能力, 如水杨酸、壳聚糖、氯化钙等^[20]。另有研究表明, 在罗伦隐球酵母中添加壳聚糖可以增强酵母的抗氧化能力, 有效提高酵母对果实采后病害的生防效力^[21]。在实验中, 采用 CTS、*C. laurentii* 复合生物活性膜处理葡萄柚果实后接种青霉菌 (*P. expansum*) 发现, 经涂膜处理后葡萄柚果实的发病率和病斑直径显著 ($P < 0.05$) 低于 CK 果实的的发病率和病斑直径, 其

中 CTS-*C. laurentii* 处理的效果最优。推测 *C. laurentii* 添加 CTS 制备的复合膜, 可以有效提高 *C. laurentii* 在果实表面的定殖能力, 延长酵母在果实表面的存活时间, 从而提高酵母的生防效力。CHI 和 GLU 是植物体内最重要的病程相关蛋白^[22], 可分别降解 β -1, 3-葡聚糖和病原真菌细胞壁的几丁质, 破坏病原菌的细胞结构, 从而抑制病原菌的侵染、繁殖和生长^[23-24]。文中实验发现, CTS-*C. laurentii* 处理对果实 GLU、CHI 酶活性的诱导提高效果显著优于 CTS、*C. laurentii* 单独处理, 有效抑制了青霉菌的繁殖和侵染。在贮藏过程中, 果实后熟软化、表皮失水皱缩、果皮转色、色泽变化是反映果实外观品质的直接指标, 经 CTS-*C. laurentii* 复合膜处理后显著推延了果实的转色期, 维持了采后果皮的亮度和饱和度, 使果实表皮更加光泽鲜亮, 降低了果实水分的损失, 延缓了果皮的皱缩。

营养品质是果实品质的重要指标。果实在采后仍然会呼吸代谢, 会消耗果实中糖、酸、抗坏血酸等呼吸作用底物, 这些物质含量的变化可以用来衡量采后果实品质的好坏^[25]。实验结果表明, 与 CK 组相比, 采用 3 种涂膜处理均能有效维持果实的抗坏血酸、可溶性固形物、还原糖等含量, 延缓可滴定酸含量的下降, 减少果实营养物质的流失。主成分 CTS-*C. laurentii* 处理的抗病保鲜效果最好, 推测可能是 CTS-*C. laurentii* 处理使果皮表面形成了多糖-酵母复合膜, 减缓了果实的呼吸强度, 降低了呼吸作用对果实营养物质的消耗, 能够防止果皮的氧化, 维持采后果实的营养品质。

4 结语

采用 CTS-*C. laurentii* 生物活性膜处理能有效诱导提高果实抗病防御酶 (β -1,3 葡聚糖酶和几丁质酶) 的活性, 明显抑制了葡萄柚果实青霉病害的发生, 延缓了果皮的皱缩, 增强了果皮的鲜亮度, 有效改善了果实的外观品质, 降低了果实可溶性固形物、抗坏血酸、可滴定酸、还原糖等含量的下降速率, 减缓了果实内在营养物质的消耗, 维持了采后葡萄柚果实的营养品质。

参考文献:

- [1] 徐娟, 刘祥义, 侯英, 等. 有机多肽酶影响下葡萄柚果实的营养成分[J]. 食品工业, 2021, 42(3): 335-337.
XU Juan, LIU Xiang-yi, HOU Ying, et al. Nutrient Composition of Grapefruit under the Influence of Organic Peptide[J]. The Food Industry, 2021, 42(3): 335-337.
- [2] 马电通, 吕鹤飞, 常雪苗, 等. 羧甲基纤维素诱导提

- 高罗伦隐球酵母对采后砂糖桔抗青霉、绿霉病的生防效果[J/OL]. 食品科学. [2022-09-11]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20211227.1955.020.html>.
- MA Dian-tong, LYU He-fei, CHANG Xue-miao, et al. Carboxymethyl Cellulose Induced Improvement of the Biological Control Effect of *C. laurentii* on Post-Harvest Citrus Shatangju Against *Penicillium* and Green Mold[J/OL]. Food Science. [2022-09-11]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20211227.1955.020.html>.
- [3] BALLESTER A R, LAFUENTE M T, FORMENT J, et al. Transcriptomic Profiling of Citrus Fruit Peel Tissues Reveals Fundamental Effects of Phenylpropanoids and Ethylene on Induced Resistance[J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12(9): 879-897.
- [4] 刘椰. 拮抗酵母新种鉴定及其对柑橘果实采后主要病害的防治机理研究[D]. 重庆: 西南大学, 2019: 1-3.
- LIU Ye. Identification of a Novel Antagonistic Yeast Species and Its Mechanisms in Controlling the Major Postharvest Diseases of Citrus Fruit[D]. Chongqing: Southwest University, 2019: 1-3.
- [5] HAN L F. Physicochemical Properties of Chitosan/Graphene Oxide Composite Films and Their Effects on Storage Stability of Palm-Oil Based Margarine[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 117: 106707.
- [6] 陈花, 王建军, 王建武, 等. 拮抗酵母结合水溶性壳聚糖对海红果采后贮藏品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(23): 147-155.
- CHEN Hua, WANG Jian-jun, WANG Jian-wu, et al. Effect of Antagonistic Yeast Combined with Water Soluble Chitosan on Postharvest Storage Quality of Malus Micromalus Fruit[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(23): 147-155.
- [7] VAN D, KNOOP R, KAPPEN F, et al. Chitosan Films and Blends for Packaging Material[J]. Carbohydr Polym, 2015, 116: 237-242.
- [8] 朱露露, 高丰衣, 李大虎. 壳聚糖涂膜技术在水果保鲜中的研究进展[J]. 农产品加工, 2022(6): 72-76.
- ZHU Lu-lu, GAO Feng-yi, LI Da-hu. Research Progress of Chitosan Coating Technology in Fruit Preservation[J]. Farm Products Processing, 2022(6): 72-76.
- [9] FAN Yan. Effect of Alginate Coating Combined with Yeast Antagonist on Strawberry (*Fragaria Ananassa*) Preservation Quality[J]. Postharvest Biology and Technology, 2009, 53(1/2): 84-90.
- [10] YU Ting, et al. Effect of *Cryptococcus Laurentii* and Calcium Chloride on Control of *Penicillium Expansum* and *Botrytis Cinerea* Infections in Pear Fruit[J]. Biological Control, 2012, 61(2): 169-175.
- [11] ROBERTS R G. Postharvest Biological Control of Gray Mold of Apple by *Cryptococcus Laurentii*[J]. Phytopathology, 1990, 80(6): 526.
- [12] BLUM L E B, AMARANTE C V T, VALDEBENITO-SANHUEZA R M, et al. *Cryptococcus Laurentii* Aplicado Em PÓS-Colheita Reduz Podridões Em Maçãs[J]. Fitopatologia Brasileira, 2004, 29(4): 433-436.
- [13] DENG Jia, LI Wen-qing, MA Dian-tong, et al. Synergistic Effect of Carboxymethylcellulose and *Cryptococcus Laurentii* on Suppressing Green Mould of Postharvest Grapefruit and Its Mechanism[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 181: 253-262.
- [14] 王芸. β -葡聚糖诱导提高 *Cryptococcus Podzolicus* 对苹果青霉病的防治效力及其机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2018: 12-13.
- WANG Yun. Exploring the Effect of B-Glucan on the Biocontrol Activity of *Cryptococcus Podzolicus* Against Postharvest Decay of Apples and the Possible Mechanisms Involved[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2018: 12-13.
- [15] 王丽琼, 林少华, 陈存坤, 等. 3 种不同的保鲜方法对香椿贮藏品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(13): 150-155.
- WANG Li-qiong, LIN Shao-hua, CHEN Cun-kun, et al. Effects of Three Different Preservation Methods on Storage Quality of *Toona Sinensis*[J]. Food Research and Development, 2019, 40(13): 150-155.
- [16] 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: 24-59.
- CAO Jian-kang, JIANG Wei-bo, ZHAO Yu-mei. Experimental Guidance of Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007: 24-59.
- [17] 潘永贵, 刘新华, 黎寿英. 采后 BTH 处理对不同品种芒果果实防御酶活性的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(20): 469-472.
- PAN Yong-gui, LIU Xin-hua, LI Shou-ying. Effect of BTH Treatment on Defense Enzymes in Postharvest Mango Fruits from Different Varieties[J]. Food Science, 2010, 31(20): 469-472.
- [18] 蔡晨晨, 马瑞佳, 刘涛, 等. 百里香精油微胶囊复合涂膜在芒果保鲜中的应用[J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 275-280.
- CAI Chen-chen, MA Rui-jia, LIU Tao, et al. Application of Thyme Oil Microcapsule Composite Coating in Mango Preservation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(10): 275-280.
- [19] 路来风. 海洋拮抗酵母 *Rhodospiridium Paludigenum*

- 对柑橘果实抗性的增强效应及其生物学机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015: 2-3.
- LU Lai-feng. Enhancement Effect of Marine Antagonistic Yeast *Rhodospiridium Paludigenum* on Citrus Fruit Resistance and Its Biological Mechanism[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015: 2-3.
- [20] 于悦. 生物活性膜的制备及其对蓝莓和甜樱桃保鲜作用的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015: 1-66.
- YU Yue. Study on the Preparation of Bioactive Membrane and the Fresh-Keeping Effects of Blueberries and Sweet Cherries[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015: 1-66.
- [21] YU T, HONG Y L, XIAO D Z. Investigation of the Biocontrol Efficacy of Antagonistic Yeast Induced by Calcium Ascorbate and Underlying Mechanisms[C]// Abstracts of the 18th Annual Meeting of CIFST, 2008: 303-305.
- [22] MAUCH F, MAUCH-MANI B, BOLLER T. Antifungal Hydrolases in Pea Tissue: II. Inhibition of Fungal Growth by Combinations of Chitinase and Beta-1,3-Glucanase[J]. Plant Physiology, 1988, 88(3): 936-942.
- [23] 刘周阳, 张红印, 陈克平. 激发子诱导培养提高拮抗酵母对水果采后病害生防效力的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(4): 450-453.
- LIU Zhou-yang, ZHANG Hong-yin, CHEN Ke-ping. Review on Improving the Biological Control Efficacy of Postharvest Fruits with Antagonistic Yeast Cultivated with Culture Added Elicitors[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(4): 450-453.
- [24] 郭欣, 林育钊, 林河通, 等. 壳聚糖处理对西番莲果实感病指数、抗病相关酶活性和抗病物质含量的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(15): 206-212.
- GUO Xin, LIN Yu-zhao, LIN He-tong, et al. Effect of Chitosan Treatment on Disease Index, Disease Resistance-Related Enzyme Activities and Disease Resistance-Related Substance Contents in *Passiflora Caerulea* L. Fruit during Storage[J]. Food Science, 2021, 42(15): 206-212.
- [25] 赵洪薇. 壳寡糖、水杨酸处理提高甜瓜耐贮性及其机理研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2016: 11-19.
- ZHAO Hong-wei. Studies on the Mechanism of Improving the Resistance of Postharvest Muskmelons with Chitosan Oligosaccharide and Salicylic Acid[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2016: 11-19.

责任编辑: 彭颀