纳他霉素复合涂膜剂对葡萄保鲜效果的影响

刘美迎，周会玲※，吴主莲，吴亚伟
（西北农林科技大学园艺学院，杨凌 712100）

摘　要：为了探讨不同浓度的纳他霉素复合壳聚糖涂膜处理对葡萄果实采后的保鲜效果及其作用机制，该文以“红地球”葡萄为试材，在 0℃冷藏条件下，分别用蒸馏水（CK_1）、1%壳聚糖（CK_2）、0.20%、0.40%、0.60%的纳他霉素复合 1%壳聚糖对采后果实进行了涂膜处理，并定期对各项生理生化指标进行了测定。结果表明：纳他霉素复合壳聚糖涂膜剂能显著抑制红地球葡萄的腐烂率，与对照（CK_1、CK_2）相比，处理组果实的总酚含量能维持在较高的水平。不同浓度的纳他霉素壳聚糖复合涂膜液均能增强果实苯丙氨酸解氨酶（PAL）的活性，抑制多酚氧化酶（PPO）活性和丙二醛（MDA）的含量的上升，同时提高果实超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）的活性。其中，0.40%的纳他霉素壳聚糖复合保鲜液对葡萄果实的保鲜效果最佳，在 0℃条件下冷藏 120 d 后，果实的腐烂率仅为 8.52%。同时，该复合涂膜剂能通过调控葡萄果实的呼吸作用等过程明显延缓采后果实的衰老，延长果实的贮藏时间。该文为葡萄保鲜提供新方法。

关键词：水果，保鲜，生理，纳他霉素，壳聚糖，红地球
doi：10.3969/j.issn.1002-6819.2012.10.041
中图分类号：S663.1；S609$^+$.3　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1002-6819(2012)-10-0259-08

刘美迎，周会玲，吴主莲，等. 纳他霉素复合涂膜剂对葡萄保鲜效果的影响[J]. 农业工程学报，2012，28(10)：259－266.
Liu Meiying, Zhou Huiling, Wu Zhulian, et al. Effects of natamycin coating compounds on fresh-keeping of grape during storage[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(10): 259－266. (in Chinese with English abstract)

0　引　言

葡萄鲜食品种中的红地球葡萄以个大、色艳、味甜、耐贮运等优点成为世界优良葡萄品种，但其极易发生微生物病害，如灰霉病、黑腐病、白腐病等病害，且存在许多贮藏问题，如干梗、失水、腐烂、落粒等，这些方面极大地影响了红地球葡萄的贮藏品质[1]。目前为了防治腐烂，国内外仍均采用 SO_2 熏蒸的方法处理，但是 SO_2 用量不足时防腐效果差，用量过多则易使葡萄发生漂白、斑点和浆果中 SO_2 残留量超标[2]。因此葡萄在贮藏和运输过程中保鲜技术的研究是一个热点。

纳他霉素是由链霉菌发酵生成的多烯类抗菌素，可有效地抑制酵母菌和霉菌的生长[3-4]，对哺乳动物细胞的毒性极低。美国 FDA 已把纳他霉素归类为安全产品之列，因此，作为一种天然的食品防腐剂，纳他霉素已经广泛应用在乳制品、肉类、水果和饮料中[5]。壳聚糖（CTS）属天然高分子化合物，有良好的成膜性，作为天然保鲜剂，在葡萄的保鲜方面早有研究[6-11]，但其在抑制葡萄采后致病菌方面还存在着一些不足。因此，针对葡萄在贮藏保鲜中存在的一些问题，本试验采用安全无毒、杀菌、抑菌的生物防腐剂纳他霉素，配以可食性壳聚糖制成涂膜液，以红地球葡萄为试验材料，研究了纳他霉素复合涂膜处理对葡萄果实腐烂的影响，并解明其作用机理，以期为红地球葡萄保鲜提供科学依据并建立保鲜新方法。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验用红地球葡萄，于 2010 年 10 月 3 日采自陕西省户县天桥乡雷家庄一葡萄示范园，要求果形端正、成熟一致、大小均匀，无损伤、无病虫危害。

纳他霉素（葡萄糖基，有效质量分数 50%），由郑州奇泓生物科技有限公司提供。

壳聚糖（脱乙酰度≥90%，相对分子量≥20 万，黏度＜100 mPa·s），由上海国药集团化学试剂有限公司提供。

1.2　处理方法

供试用红地球葡萄采收当日运回西北农林科技大学园艺学院实验室，剔除未成熟青果和僵果，置于 0℃冷库中。预冷 24 h 后，进行如下处理：将葡萄果实分别置于质量分数 1%的壳聚糖和质量分数为 0.20%、0.40%、0.60%的纳他霉素复合涂膜液中浸泡 1 min，分别记作 T_1、T_2、T_3，以蒸馏水（CK_1）和仅用 1%壳聚糖（CK_2）处理果作为对照。以上每处理设定 3 次重复，每次用果约 15 kg，浸泡后自然晾干，然后装入 0.03 mm 厚的红地球葡萄专用聚氯乙烯（PVC）保鲜袋中，在温度为(0±0.5)℃，相对湿度为 90%～95%的冷库中贮藏，每 15 d 取样测定一次相关指标。

收稿日期：2011-07-02　　修订日期：2012-02-10
作者简介：刘美迎（1987－），女，河北保定人，主要从事园艺产品采后生理及贮运保鲜研究。杨陵　西北农林科技大学园艺学院，712100。
Email：qq493235763@163.com
※通信作者：周会玲（1969－），女，陕西丹凤人，副教授，博士，主要从事园艺产品成熟衰老生理及其控制、园艺产品采后贮藏保鲜技术研究。杨陵　西北农林科技大学园艺学院，712100。
Email：zhouhuiling@nwsuaf.edu.cn

1.3 项目测定与方法

1.3.1 腐烂率的测定

入贮后每次从各处理重复中分别取出约 1 kg 果实，统计腐烂率。按照下列公式进行计算得出：腐烂率（%）=腐烂果粒数/果粒总数×100%。

1.3.2 呼吸强度的测定

呼吸强度采用 ETONG-7001 型 CO_2 分析仪测定，以 CO_2 质量计，单位为 mg/(kg·h)。先将真空干燥器置于（0±0.5）℃冷库，再将果实和 ETONG-7001 型 CO_2 分析仪一起放入 9.365 L 的真空干燥器中，密封，每 20 min 记录一次数据，共记录 3 次。

1.3.3 丙二醛(MDA)含量的测定

采用硫代巴比妥酸法[12]。称取 1.0 g 果肉样品，加入 5.0 mL 100g/L TCA 溶液，研磨成匀浆后，于 4℃、12 000×g 离心 20 min，收集上清液。取 2.0 mL 上清液（对照空白管中加入 2.0 mL 100g/L TCA 溶液代替缓冲液），加入 2.0 mL 0.67% TBA，混合后在沸水浴中煮沸 20 min，取出冷却后再离心一次。分别测定上清液在 450、532、600 nm 波长处的吸光值。根据丙二醛的微摩尔吸光系数，再将不同波长处吸光值的差值折算成丙二醛的含量，单位为 mmol/g。

1.3.4 超氧化物歧化酶（SOD）活性的测定

酶液提取方法：从 6 粒葡萄果实中随机称取 10g 果肉组织，放入预冷的研钵中，加入 20 mL 50 mmol/L pH 值=7.8（内含 0.5g PVPP）的磷酸缓冲液，在冰浴中研磨成匀浆，于 4℃下 12000×g 离心 30 min，分离出的上清液即为粗酶液。

酶活性测定采用四氮唑蓝法测定[13]。反应液中内含 1.7mL 50 mmol/L（pH 值=7.8）的磷酸缓冲液，0.3 mL 130 mmol/L Met 溶液（用 50 mmol/L pH 值=7.8 的磷酸缓冲液配成），0.3 mL 750 umol/L NBT 溶液，0.3 mL 100 *u*mol/L EDTA-Na_2 液，再加入 0.1 mL 的粗酶提取液（对照管中用 50 mmol/L pH 值=7.8 的磷酸缓冲液代替），最后加入 0.3 mL 20 umol/L 核黄素，在 4000 lx 日光灯下反应 20 min。反应结束后，用黑布罩盖上试管终止反应。以遮光的对照管作为空白调零，在 560 nm 波长下测定各管的吸光度，以将四氮唑蓝光化学还原反应抑制到对照 50%时所需的酶量表示为 1 个酶活单位。

1.3.5 过氧化物酶(POD)活性的测定

酶液提取方法：从 6 粒葡萄果实中随机称取 10 g 果肉组织，放入预冷的研钵中，加入 20 mL 100 mmol/L pH 值=6.4（内含 0.5gPVPP）的磷酸缓冲液，在冰浴中研磨成匀浆，于 4℃下 12000×g 离心 30 min，分离出的上清液即为粗酶液。

酶活性测定采用愈创木酚法[14]。将 0.1 mL 粗酶提取液加入 2 mL 0.05 mol/L 愈创木酚（用 100 mmol/L（pH 值=6.4）的磷酸缓冲液配成）中，在 30℃水浴中平衡 5 min，然后加 1 mL 0.2% H_2O_2（用 100 mmol/L（pH 值=6.4）的磷酸缓冲液配成）混匀，以蒸馏水作为空白调零，1 min 后扫描 1 min 内 470 nm 处吸光值变化，以反应液中每克样品每分钟吸光值变化 0.01 为一个酶活单位。

1.3.6 多酚氧化酶(PPO)活性的测定

酶液提取方法同 1.3.5。

酶活性测定采用邻苯二酚法[15]。将 0.2 mL 粗酶提取液加入 3 mL 0.05 mol/L 邻苯二酚（用 100 mmol/L（pH 值=6.4）的磷酸缓冲液配成）中。反应温度为 30℃，以蒸馏水作为空白调零，加酶液后开始扫描 30 s 内 398 nm 处吸光值变化，以反应液中每克样品每分钟吸光值变化 1 为一个酶活单位。

1.3.7 苯丙氨酸解氨酶（PAL）活性的测定

酶液提取方法：从 6 粒葡萄果实中随机称取 10 g 样品（果肉和果皮），放入预冷的研钵中，加入 20mL 50 mmol/L pH 值=8.8（内含 0.5 gPVPP 、5 mol/L *β*–巯基乙醇）的硼酸缓冲液，在冰浴中研磨成匀浆，于 4℃下 12000×*g* 离心 30 min，分离出的上清液即为粗酶液。

酶活性测定参照 Assis，Maldonado，Munoz 等的方法[16]。取 10 mL 试管，向其中依次加入 0.5 mL 酶液，0.5 mL 0.02 mol/L 的 L-苯丙氨酸（用 50 mmol/L pH 值=8.8 的硼酸缓冲液配成），100 mmol/L 的硼砂缓冲液 3 mL，在 30℃水浴上反应 60 min，在 290 nm 处测定吸光值，以反应液中每克样品每小时吸光值变化 0.1 为一个酶活单位。

1.3.8 总酚物质含量的测定

采用比色法[17]。称取 2.0 g 果肉组织加入少许经预冷的 1%的 HCl-甲醇溶液，在冰浴条件下研磨成匀浆后，转入 20 mL 刻度试管中，用 1% HCl-甲醇溶液冲洗研钵，一并转移到试管中，定容至刻度，混匀，于 4℃避光提取 20 min，期间摇动数次，然后 4℃下 12 000×g 离心 30 min，收集上清液。以 1% HCl-甲醇溶液作空白参比调零，取上清液于波长 280 nm 处测定溶液的吸光值，重复 3 次。总酚含量以每克样品在 280 nm 处的吸光值计。

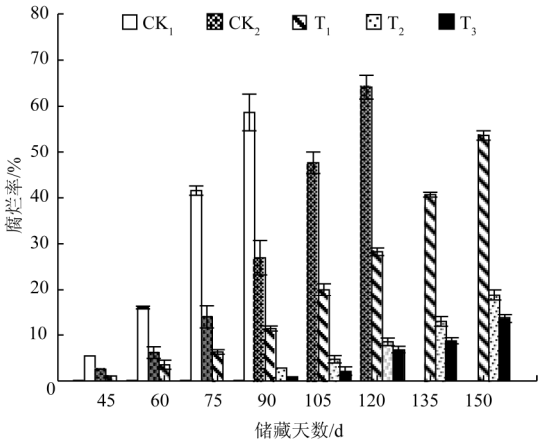
1.4 统计方法

3 次试验重复的标准误差用 Excel 进行统计计算，用 SAS 软件进行显著性统计分析，采用 Duncan 法（也称新复极差法）检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同处理对红地球葡萄采后腐烂率的影响

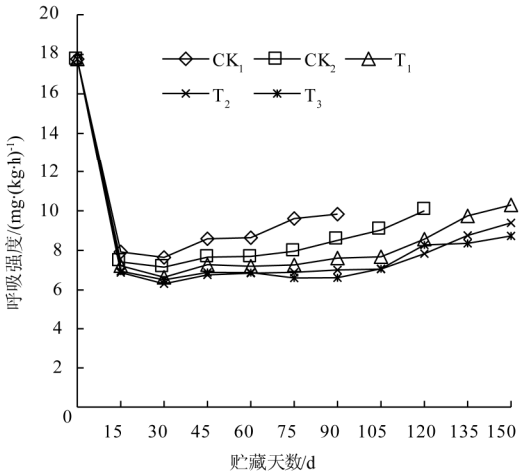
腐烂率直接反应葡萄的贮藏效果。由图 1 可知，贮藏过程中，葡萄的腐烂率均呈上升趋势，尤其以 2 个对照上升幅度最大。贮藏第 45 天时，CK_1 和 CK_2 2 组对照果实开始腐烂，而 T_1、T_2、T_3 处理果实基本未出现腐烂；贮藏第 90 天时，CK_1 的腐烂率达到了 58.68%，而 3 个复合涂膜处理组果实的腐烂率只有 9.78%，2.82%，1.00%，与对照 CK_1、CK_2 呈现了显著的差异（$P<0.05$）。多重比较结果表明：腐烂率顺序为对照组 CK_1＞对照组 CK_2＞T_1＞T_2≥T_3（$P<0.05$）。可见，纳他霉素复合涂膜处理可以很好地抑制红地球葡萄果实腐烂的发生，尤其以 0.40%和 0.60%的纳他霉素复合涂膜处理的抑制效果最好。



注：CK_1、CK_2、T_1、T_2、T_3的含义见前文中，下同。

图 1　不同处理对红地球葡萄采后腐烂率的影响

Fig.1　Effect of coating treatments on decay rate of Red -Globe grape



注：呼吸以 CO_2 质量计。

图 2　不同处理对葡萄果实采后呼吸强度的影响

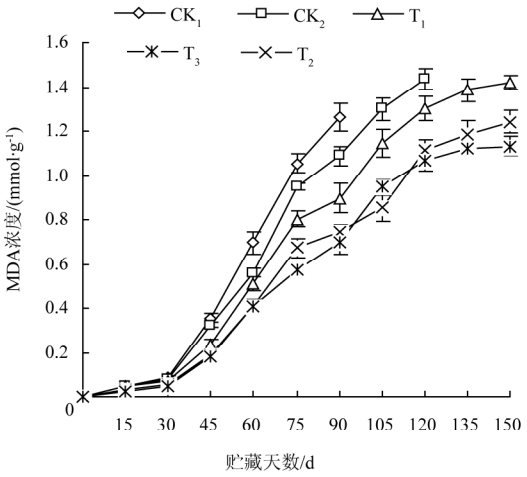
Fig.2　Effect of coating treatments on respiratory intensity of Red-Globe

2.2　不同处理对红地球葡萄采后呼吸强度的影响

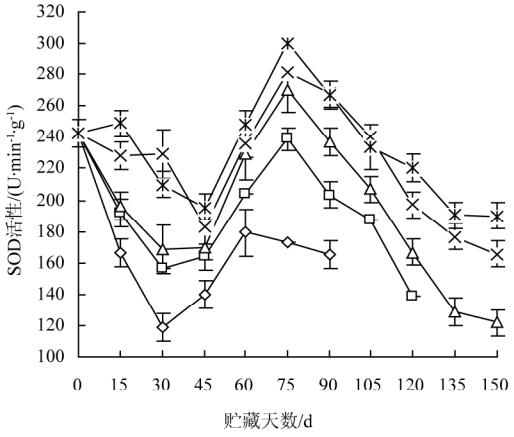
呼吸强度是表示组织新陈代谢大小的标志，过高的呼吸强度加速果蔬的成熟衰老，降低耐贮性。由图 2 可见，红地球葡萄采后呼吸没有高峰出现，属于非跃变性的果实，这与梁丽雅等[18]的研究结果一致。葡萄采后呼吸强度处于较高的水平（17.76 mg/(kg·h)），进入冷藏环境后，果实的呼吸强度迅速下降；冷藏 30 d 时葡萄果实呼吸强度降到最低；随着贮藏期的延长，果实的呼吸强度呈上升趋势。其中对照 CK_1 和 CK_2 果实的呼吸强度上升的最明显，而单独使用壳聚糖涂膜处理的葡萄呼吸强度高于 3 个复合涂膜处理组的葡萄，且呈现极显著性的差异（$P<0.01$），处理组 T_2 和 T_3 的果实呼吸强度始终保持在较低的水平。

2.3　不同处理对红地球葡萄采后丙二醛含量和超氧化物歧化酶（SOD）活性的影响

丙二醛是评价膜脂过氧化程度的重要指标，其与葡萄果实的成熟衰老同步，因此可以作为判断果实是否进入衰老阶段的指标之一[19]。由图 3a 可以看出，贮藏过程中果实丙二醛含量均呈不断上升趋势，贮藏到第 75 天时，CK_1 和 3 个涂膜处理组之间存在显著性的差异（$P<0.05$），同时，CK_2 分别和 T_2、T_3 之间葡萄果实丙二醛含量的变化差异显著，但和 T_1 之间差异并不显著。说明纳他霉素复合涂膜处理和单一的壳聚糖涂膜处理均能显著抑制丙二醛含量的增加，在相同的贮藏条件下，较高浓度的纳他霉素复合涂膜处理更能有效地抑制葡萄果实膜脂过氧化的程度，维持果实细胞的完整性。



a. MDA含量



b. SOD活性

图 3　不同处理对葡萄果实丙二醛含量、SOD 活性的影响

Fig.3　Effect of coating treatments on MDA compounds、superoxide dismutase activity of Red-Globe grape

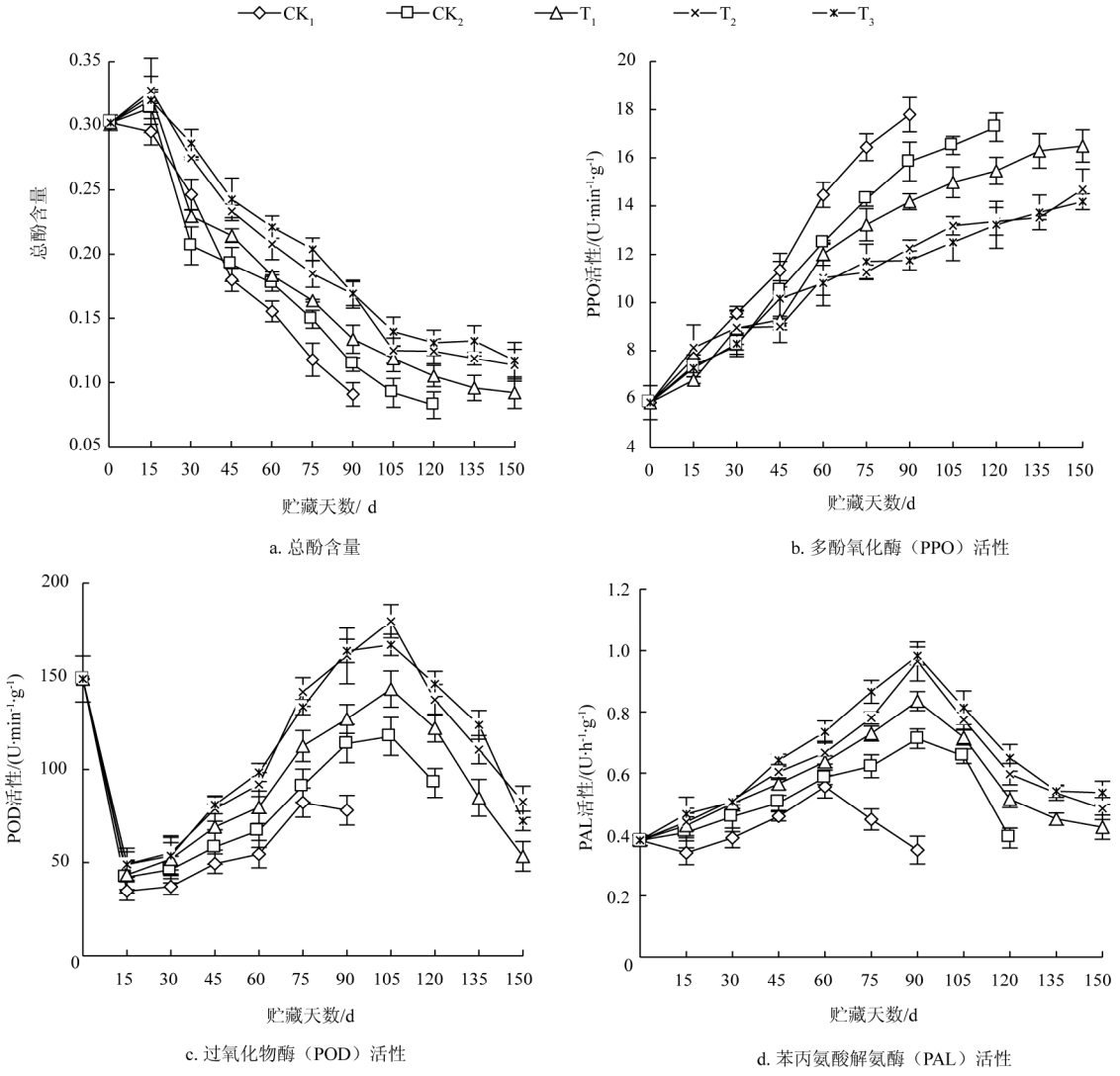
SOD 作为内源活性氧清除剂，能够在逆境胁迫或衰老过程中清除植物体内过量的活性氧，维持氧代谢的平衡并保护膜结构，从而在一定程度上延缓果实的衰老过程[20]。由图 3b 可知，SOD 活性在贮藏中期出现跃变式上升，CK_1 和 CK_2 在第 60 天和第 75 天达到最大值，分别为 194.02、204.10 U/(min·g)，后期表现为平稳下降，原

因可能是此时果肉已开始腐烂，酶活性逐渐丧失。处理组 SOD 活性变化的趋势与对照组相似，T_1、T_2、T_3的最大值比对照组 CK_1 推迟 15 d 出现，且均高于对照值。高活性的 SOD 酶是抗衰老的表现，在整个贮藏过程中，CK_1 分别和 T_1、T_2、T_3之间存在极显著的差异（$P<0.01$），CK_2 和 T_1 之间差异并不明显，但和 T_2、T_3 之间存在着极显著的差异（$P<0.01$）。

2.4 不同处理对红地球葡萄采后总酚含量、多酚氧化酶（PPO）、过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响

红地球葡萄在贮藏过程中常发生褐变，并随着贮藏期的延长，褐变越来越明显。果实褐变是多酚氧化酶和过氧化物酶作用于多酚类底物氧化所引起的一种病理反应[21]。由图 4a 所知，在整个贮藏过程中，酚类物质呈缓慢下降的趋势。在冷藏第 45 天后，对照果实 CK_1 与其他 3 个复合涂膜处理组之间呈现显著性的差异（$P<0.05$），而在冷藏第 90 天时，对照 CK_2 处理也显著低于其他 3 个复合涂膜处理组（$P<0.05$）。其中，较高浓度的纳他霉素复合涂膜处理的果实的酚类物质含量下降的最为缓慢，并在贮藏的后期第 105 天，T_2、T_3 和 T_1 之间呈现极显著的差异，表明较高纳他霉素复合涂膜处理更能抑制多酚类物质的氧化，降低葡萄果实的褐变。

多酚氧化酶（PPO）是引起果蔬酶促褐变最主要的酶，在有氧的条件下，PPO 能催化酚类物质氧化为醌，醌通过聚合反应产生有色物质导致组织褐变[22]。由图 4b 可知，在贮藏过程中葡萄果实 PPO 活性呈缓慢上升趋势，但复合涂膜组 T_1、T_2、T_3 的 PPO 活性始终低于 2 个对照组。贮藏第 75 天时，2 个对照组差异极显著（$P<0.01$），并分别与 T_1、T_2、T_3之间呈现极显著性的差异（$P<0.01$），这表明复合涂膜处理能有效防止葡萄果实在贮藏期间的酶促褐变反应。



注：总酚含量以 280 nm 吸光值计。

图 4 不同处理对葡萄果实总酚含量、PPO、POD 和 PAL 活性的影响

Fig.4 Effect of coating treatments on total phenolic compounds、polyphenol oxidase、peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase activity of Red-Globe grape

过氧化物酶（POD）可以催化清除植物组织中低浓度的 H_2O_2，从而使机体免受 H_2O_2 的毒害作用[23]。葡萄采收后，POD 活性开始出现一个明显的下降再上升的过程，并在贮藏的后期又下降的趋势。处理组和对照组果实的

POD 活性变化趋势相似，其中，对照 CK_1 果实的 POD 活性在入贮后第 75 天出现高峰，而 CK_2 和 T_1、T_2、T_3 均在第 105 天出现高峰。在整个贮藏过程中，处理果的 POD 活性始终高于对照组，虽 CK_1 和 CK_2 之间的差异不显著，但其分别都与 3 个复合涂膜处理组之间存在着显著的差异（$P<0.05$），说明纳他霉素复合涂膜处理对果实 POD 活性下降有一定的抑制作用。经比较发现，0.40%的复合涂膜处理的葡萄果实 POD 活性高于 0.60%，这可能是由于 0.60%纳他霉素复合涂膜处理的浓度过高，反而导致使 POD 活性并没有显著变化。

许多植株在遭受寒冷、伤害、紫外辐射时，植物防卫系统特别是苯丙烷类代谢被激活，苯丙氨酸解氨酶（PAL）活性迅速上升，因此 PAL 活性可以作为植物抗逆境能力的一个生理指标[24]。由图 4d 可知，果实在贮藏期间，PAL 活性基本呈先上升，达到高峰后又开始下降的趋势。在贮藏后期，处理组果实的 PAL 活性下降速度比对照慢。对照 CK_1 果实的 PAL 活性在第 60 天时出现高峰，而 CK_2 和其他 3 个处理的 PAL 峰值均推迟了 30 d 出现。试验发现，T_3 处理果实的 PAL 活性峰值最高，多重比较表明：PAL 活性顺序为 $T_3>T_2>T_1>CK_2>CK_1$（$P<0.05$）。由此可以推测，纳他霉素可以提高葡萄果实采后的抗病性。

3　讨　论

纳他霉素具有用量少，安全性高，效果明显的优点，前人张鹏[25]、张海予[26]、王敏等[27]早已深入的研究了纳他霉素对葡萄采后致病菌灰葡萄孢的较强抑菌性，胡云峰[28]等研究表明将天然保鲜剂纳他霉素加入到保鲜果蜡中，不仅可以提高果实的保鲜作用，也可以减少因加入化学防腐剂而造成的副作用。壳聚糖具有成膜性好、无毒、抑菌的优良特性，对多种果蔬具有保鲜作用，本研究结果也再一次证明了这一观点。因此，将纳他霉素配以壳聚糖作为天然保鲜剂，在采后红地球葡萄果实的冷藏过程中可起到良好的保鲜作用。

本试验中纳他霉素复合涂膜处理的果实腐烂率和呼吸强度均要显著低于 2 个对照处理的果实，这与段丹萍[29]在草莓上的研究结果一致。结果均可表明，纳他霉素复合涂膜保鲜的机制可能在于纳他霉素具有很强的杀菌能力，能有效杀死微生物，该复合涂膜处理主要是通过抑制病原菌的繁殖来延长葡萄果实的贮藏寿命，从而达到良好的保鲜效果。在果实褐变过程中，多酚氧化酶（PPO）通常直接参与酚类被氧化成醌的反应，这是褐变物质形成的关键步骤[30]，也有研究指出，PPO 活性会在植物组织感病或在逆境条件下造成伤害时升高，起到保卫组织细胞的作用[31]。本试验发现，单一的壳聚糖涂膜处理和纳他霉素复合涂膜处理均能有效地降低葡萄果实中 PPO 活性的升高，延缓果实中多酚物质含量的下降，PPO 在葡萄采后贮藏过程主要作用于天然底物酚类物质，酚类物质的降低是 PPO 酶促褐变的结果，同时白鹤等[32]在其研究中指出 PPO 活性与纳他霉素的浓度呈负相关。

过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶是与植物体抗性密切相关的 2 种酶，PAL 活性的高低是植物抗病能力大小的重要指标[33]。有研究表明，当植物受到病原菌侵害时，POD 和 PAL 的活性升高，抗氧化性加强、木质素合成、次生代谢加快，以抵抗病原菌的侵染[34]。本试验结果表明，在整个贮藏过程中，处理果的 POD 活性始终高于对照，0.60%的纳他霉素复合涂膜处理的效果最显著，这表明纳他霉素有效地提高了果实的 POD 活性，减少了果实内的 H_2O_2 积累，有效延缓了果实衰老。纳他霉素可以抑制果实 PAL 活性的下降，尤其在贮藏后期表现得更为明显，这说明纳他霉素对减少果实腐烂与诱导果实 PAL 活性的上升有密切关系。有关纳他霉素能有提高果实采后抗病性的相关研究在枇杷[35]、草莓[36]、樱桃[37]、冬枣[38]、葡萄[32]上都有报道。本研究表明纳他霉素复合涂膜处理降低了果实在冷藏期间的腐烂程度，除了其具有很强的杀菌能力，能有效杀死微生物，还可能是因为纳他霉素提高了果实的抗病能力和抗氧化能力，有效抑制了果实的腐烂变质。

4　结　论

1）纳他霉素壳聚糖复合涂膜处理能明显的抑制葡萄采后腐烂的发生，并有效的抑制贮藏期间红地球葡萄呼吸强度的上升，从而延长果实的贮藏寿命。

2）纳他霉素复合涂膜处理较对照相比能提高果实超氧化物歧化酶（SOD）的活性，抑制丙二醛含量和多酚氧化酶（PPO）活性的上升，延缓果实多酚物质含量的下降，从而防止果实的氧化衰老和褐变，并且该复合处理能维持果实的过氧化物酶（POD）和苯丙氨酸解氨酶（PAL）活性处于较高的水平，提高果实的抗病性。

3）质量分数为 0.40%和 0.60%的纳他霉素复合涂膜处理的保鲜效果都分别明显优于 0.20%的纳他霉素复合涂膜处理，但 2 个处理组之间处理效果差异并不显著。因此，基于经济角度的考虑，选取质量分数 0.40%的纳他霉素与质量分数 1%的壳聚糖复合是保鲜红地球葡萄的最佳浓度。经质量分数 0.40%的纳他霉素复合壳聚糖涂膜处理的红地球果实在(0±0.5)℃条件下贮藏 120 d 后腐烂率仅为 8.52%，仍具有一定的商品价值。

［参　考　文　献］

[1] 关文强，冯丽琴，李丽秀. 红地球葡萄贮藏保鲜技术[J]. 保鲜与加工，2007，39(2)：44－47.
Guan Wenqiang, Feng Liqin, Li Lixiu. Postharvers freshment-keeping techenology of red-globe grape[J]. Storage and Process, 2007, 39(2): 44－47. (in Chinese with English abstract)

[2] 高海燕，张华云，王善广，等. 不同用量处理对两类葡萄冷藏中抗氧化性能的影响[J]. 农业工程学报，2006，22(9)：210－214.
Gao Haiyan, Zhang Huayun, Wang Shanguang, et al. Effects of different SO_2 dosages on the antioxidation of two kinds of grape during cold storage[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2006, 22(9): 210－214. (in Chinese with English abstract)

[3] Harry B. Natamycin In Analytical Profiles of Drug Substances[M]. New York: Academic Press, 1994: 514－557.

[4] Dzvipson P M, Doan C H. Natamycin[J]. Antimicrbiol in Food, 1993, (7): 395－407.

[5] 王喜波，刘杨，姜云庆. 天然生物食品防腐剂：纳他霉素[J]. 食品研究与开发，2007，28(1)：191－194.
Wang Xibo, Liu Yang, Jiang Yunqing. Biological food preservative: Natamycin[J]. Food Research and Development, 2007, 28(1): 191－194. (in Chinese with English abstract)

[6] 王继芝，王未肖，高磊红，等. 羧甲基壳聚糖对牛奶葡萄的保鲜效果研究[J]. 河北科技大学学报，2007，28(4)：306－322.
Wang Jizhi, Wang Weixiao, Gao Leihong, et al. Study of keeping milk grape fresh by using carboxymethyl chitosan in storage[J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2007, 28(4): 306－322. (in Chinese with English abstract)

[7] 李桂峰，刘兴华. 鲜切红地球葡萄粒用壳聚糖可食性膜涂膜保鲜的研究[J]. 湖南农业科学，2006，(1)：67－70.
Li Guifeng, Liu Xinghua. Study on edible chitosan complex film in fresh-cut Red-globe grape[J]. Hunan Agriculture Sciences, 2006, (1): 67－70. (in Chinese with English abstract)

[8] 冯波，曾虹燕，袁刚，等. 壳聚糖对葡萄果实的抑菌作用和涂膜保鲜技术[J]. 福建农林大学学报：自然科学版，2006，35(1)：98－101.
Feng Bo, Zeng Hongyan, Yuan Gang, et al. Antifungal effect and filming preservation activity of chitosan on grape fruit[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2006, 35(1): 98－101. (in Chinese with English abstract)

[9] 赵玉梅. 壳聚糖对晚红葡萄采后保鲜的影响[J]. 北方园艺，2008，(11)：201－203.
Zhao Yumei. Effects of chitosan treatment on postharvest quality of grape[J]. Northern Horticulture, 2008, (11): 201－203. (in Chinese with English abstract)

[10] Meng Xianghong, Li Boqiang, Liu Jia, et al. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage[J]. Food Chemistry, 2008, 106(2): 501－508.

[11] 石磊，王世平，顾介明. 不同浓度壳聚糖膜对葡萄保鲜效果的研究[J]. 山东农业科学，2009，(8)：99－101.
Shi Lei, Wang Shiping, Gu Jieming, et al. Effect of different concentration chitosan memebranes on grape preservation[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2009, (8): 99－101. (in Chinese with English abstract)

[12] 曹建康，姜微波，赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 中国轻工业出版社，2007：131－132.

[13] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安：世界图书出版公司，2000：160－162.

[14] Wang Yousheng, Tian Shiping, Xu Yong. Effects of high oxygen concentration on pro- and anti-oxidant enzymes in peach fruits during postharvest periods[J]. Food Chemistry, 2005, 91(1): 99－104.

[15] Zhang Donglin, Quantick P C. Effects of chitosan on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi(*Litchi chinensis Sonn*.) fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 1997, 12(2): 195－202.

[16] Assis J S, Maldonado R, Munoz T, et al. Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2001, 23(1): 33－39.

[17] Pirie A, Mullins M G. Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose,nitrate, and abscisic acid[J]. Plant physiology, 1976, 58(4): 468－472.

[18] 梁丽雅，郝利平，闫师杰. 保鲜剂对红地球和巨峰葡萄呼吸强度和贮藏品质的影响[J]. 农业工程学报，2003，19(4)：205－208.
Liang Liya, Hao Liping, Yan Shijie. Effects of freshness keeping agent on respiratory intensity and storage quality of Red Globe, Kyoho grapes[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2003, 19(4): 205－208. (in Chinese with English abstract)

[19] 寇丽萍，刘兴华，赵斌，等. 热处理对轻度加工葡萄膜脂过氧化作用的影响[J]. 农业工程学报，2006，22(4)：170－173.
Kou Liping, Liu Xinghua, Zhao Bin, et al. Effects of hot air treatments on membrane lipid peroxidation of lightly processed grapes[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2006, 22(4): 170－173. (in Chinese with English abstract)

[20] 朱树华，周杰，束怀瑞，等. 一氧化氮延缓草莓成熟衰老的生理效应[J]. 中国农业科学，2005，38(7)：1418－1424.
Zhu Shuhua, Zhou Jie, Shu Huairui, et al. Effects of nitric oxide(NO) on ripening and senescence of stawberry[J]. Scientia Agricultural Sinica, 2005, 38(7): 1418－1424. (in Chinese with English abstract)

[21] 李桂峰，刘兴华. 可食性涂膜对红地球葡萄成熟衰老和果肉褐变的影响[J]. 河北农业大学学报，2006，29(2)：34－37.
Li Guifeng, Liu Xinghua. Effects of edible coating on browning and senescence of Red-globe grape[J]. Journal of Agriculture University of Hebei, 2006, 29(2): 34－37. (in Chinese with English abstract)

[22] 陆定志，傅家瑞，宋松泉，等. 植物衰老及其调控[M]. 北京：中国农业出社，1997：117－126.

[23] 田春莲，黄荣芳. 红地球葡萄壳聚糖保鲜处理的生理活性研究[J]. 食品科学，2005，26(8)：425－430.
Tian Chunlian, Hung Rongfang. Study on physiological activities of Red-globe grape by chitosan[J]. Food Science, 2005, 26(8): 425－430. (in Chinese with English abstract)

[24] 欧阳光察，应初衍，沃绍根，等. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究：Ⅵ.水稻、小麦 PAL 的纯化及基本特性[J]. 植物生理与分子生物学学报，1985，11(2)：204－214.

Ou Yang Guangcha, Ying Chuyan, Wo Shaogen, et al. Study on plant phenylalanine Ammonia-lyase(PAL): Ⅵ. purificationand some propertis of PAL from etiolated seedlings of rice (*oryz sativa*) and wheat (*triticum aestivum*)[J]. Acta photophysiologica Sinica, 1985, 11(2): 204－214. (in Chinese with English abstract)

[25] 张鹏，姜兴印，房锋，等. 纳他霉素对灰葡萄孢不同生育阶段菌体的毒力及其生物学状的影响[J]. 农药学学报，2008，10(2)：205－210.
Zhang Peng, Jiang Xingyin, Fang Feng, et al. Studies on inhibitory activity and action mechanism of natamycin to botryfis cinema[J]. Chinese Journal of Pesticide Science. 2008, 10(2): 205－210. (in Chinese with English abstract)

[26] 张海予，李婉，马磊，等. 纳他霉素、脱氢醋酸钠、碳酸氢钠与大蒜对采后病原真菌的抑制作用[J]. 北京农学院学报，2007，22(2)：43－46.
Zhang Haiyu, Li Wan, Ma Lei, et al. The inhibitive effects of natamycin, sodium dehydroacetate, sodiumbicarbonate salt and garlic on five post-harvest pathogens[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2007, 22(2): 43－46. (in Chinese with English abstract)

[27] 王敏，杨德山，刘丹，等. 生物防霉剂防治葡萄贮运期病害研究初报[J]. 中国农学通报，2006，22(12)：348－350.
Wang Min, Yang Deshan, Liu Dan, et al. Study of biologic mould inhibitor in control of fungal diseases on grape store[J]. Chinese Agriculture Science Bulletin, 2006, 22(12): 348－350. (in Chinese with English abstract)

[28] 胡云峰，刑亚阁，李喜宏，等. 含纳他霉素的紫胶保鲜蜡配方及工艺条件优化[J]. 农业工程学报，2009，25(3)：262－265.
Hu Yunfeng, Xing Yage, Li Xihong, et al. Optimization of the composition and technology for shellac preservative fruit wax Natamycin[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2009, 25(3): 262－265. (in Chinese with English abstract)

[29] 段丹萍，乔勇进，鲁莉莎，等. 纳他霉素壳聚糖复合涂膜对草莓保鲜的影响[J]. 湖南农业大学学报：自然科学版，2010，36(2)：237－241.
Duan Danping, Qiao Yongjin, Lu Llisha, et al. Fresh-keeping effect of natamycin and chitosan compound on of strawberry during storage[J]. Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences, 2010, 36(2): 237－241. (in Chinese with English abstract)

[30] 刘国强，吴锦程，唐朝晖，等. 枇杷采后酚类物质代谢与果肉木质化的关系[J]. 中国农学通报，2008，24(1)：247－251.
Liu Guoqiang, Wu Jincheng, Tang Chaohui, et al.Relationship between phenols compounds metabolism and pulp lignification of post harvest loquat[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(1): 247－251. (in Chinese with English abstract)

[31] Luza J G, Van Gorsel R, Polito V S, et al. Chilling injury in peaches: A cytochemical and ultrastructural cell wall study[J]. Amer Soc hort Sci, 1992, 117(1): 114－118.

[32] 白鹤，寇晓虹，周志江，等. 纳他霉素对葡萄贮藏品质和生理变化的影响[J]. 农产品加工(学刊)，2009，(8)：61－64.
Bai He, Kou Xiaohong, Zhou Zhijiang, et al. Effects of natamycin on the storage quality and physiology of grape Fruit[J]. Academic Preiodical of Farm Products Processing, 2009, (8): 61－64. (in Chinese with English abstract)

[33] 袁庆华，桂枝，张文淑. 苜蓿抗感褐斑病品种内超氧化物歧化酶、过氧化物酶和多酚氧化酶活性的比较[J]. 草业学报，2002，11(2)：100－104.
Yuan Qinghua, Gui Zhi, Zhang Wenshu. Comparison of the activities of SOD, OD and PPO within alfalfa cultivars resistant nad susceptible to alfalfa common leaf[J]. Acta Pratacultral Scinence, 2002, 11(2): 100－104. (in Chinese with English abstract)

[34] 刘凤权，王金生. 水杨酸对水稻防卫反应酶系的系统诱导[J]. 植物生理学通讯，2002，38(2)：121－123.
Liu Fengchai, Wang Jinsheng. Systemic induction of several defence response enzymes in rice seedlings by salicylic acid[J]. Plant Physiology Communications, 2002, 38(2): 121－123. (in Chinese with English abstract)

[35] 张春萍，徐俐. 三种天然涂膜液对枇杷保鲜效果的研究[J]. 食品科技，2010，35(2)：35－39.
Zhang Chunping, Xu Li. Study on the fresh-keeping of loquat by three kinds of natural coating fluid[J]. Food Science and Technology, 2010, 35(2): 35－39. (in Chinese with English abstract)

[36] 呼玉侠，孙远功，鲁来政，等. 纳他霉素在草莓防腐中的应用[J]. 食品研究与开发，2006，27(8)：170－174.
Hu Yuxia, Sun Yuangong, Lu Laizheng, et al. The application of natamycin in the antisepsis of strawberry[J]. Food Research and Development, 2006, 27(8): 170－172. (in Chinese with English abstract)

[37] 姜爱丽，胡文忠，李慧，等. 纳他霉素处理对采后甜樱桃生理代谢及品质的影响[J]. 农业工程学报，2009，25(12)：351－356.
Jiang Aili, Hu Wenzhong, Li Hui, et al. Effect of natamycin treatment on physiological metabolism and quality of postharvest sweet cherry[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2009, 25(12): 351－356. (in Chinese with English abstract)

[38] 王建国，姜兴印，张鹏. 纳他霉素对冬枣浆胞病菌的毒力及保鲜生理效应研究[J]. 农药学学报，2006，8(4)：313－318.
Wang Jianguo, Jiang Xingyin, Zhang Peng. The toxicity of natamycin to *Alternaria* Neesex Wallr. and physiological activity of fresh-keeping Dong Jujube using natamycin treatments[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2006, 8(4): 313－318. (in Chinese with English abstract)

Effects of natamycin coating compounds on fresh-keeping of grape during storage

Liu Meiying, Zhou Huiling※, Wu Zhulian, Wu Yawei

(*College of Horticulture ,Northwest Agriculture and Forest University, Yangling* 712100*, China*)

Abstract: In order to investigate the physiological mechanisms of natamycin combined with chitosan coating compounds on fresh-keeping of red-globe grape, 1% chitosan combined with 0.20%, 0.40%, 0.60%concentration of natamycin respectively was used to be coated on red-globe grape , which was compared with untreated control and the sample was coated with 1% chitosan in cool storage conditions. The results showed that the decay rate of the grapes in the treatment groups reduced. Coating fusion liquid with different concentration of natamycin and 1% chitosan could increase the activity of the phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and the MDA contents, with the polyphenol oxidase (PPO) activities of red-globe grape restrained. Meanwhile, the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) increased. Coating fusion liquid with 0.40% natamycin and 1% chitosan had better effect on the storage of the red-globe grape, and the decay rate is only 8.52% after 120 days in cool storage. Meantime, the compounds maintained the low activities of respiratory intensity, delayed the senescence and softening of fruit, and prolonged the storage time of the red-grape fruit. This paper provides a new method for fresh-keeping of grape.

Key words: fruits, storage, physiology, natamycin, chitosan, red-globe