

中文摘要

本文探索了超声波作为一种食品保藏手段在水果采后的应用潜力,以鸭梨为试材,研究超声波单独处理及其和药剂、和热结合处理对鸭梨果实采后病害的控制效果、可能的原因分析以及对鸭梨果实特性的影响,为超声波及其与其他技术结合处理在水果采后保鲜方面的应用做出了开拓性的探索。

研究表明:采用频率 40~60 KHz 的超声波处理鸭梨果实,在贮藏过程中果实硬度、可溶性固形物含量和可滴定酸含量变化与对照无差别;并且未降低接种发病果实的病斑面积。

分别采用 1 mM、5 mM 水杨酸结合超声波处理 15~20 min 能够明显降低损伤接种 *Penicillium expansum* 的发病率和病斑面积,提高过氧化物酶活性,且随着超声波结合水杨酸处理时间的增加抑制效果明显。在 20℃贮藏条件下,超声波结合水杨酸处理对鸭梨硬度、可溶性固形物含量和可滴定酸含量变化无明显影响。

超声波结合热 50±2℃处理 5 min 对鸭梨常见的两种采后病害 *Penicillium expansum* 和 *Alternaria alternata* 有很好的控制效果,显著优于单独热处理效果,能够明显降低损伤接种发病率和病斑面积,提高受侵染果肉组织中的过氧化物酶、多酚氧化酶活性,在处理后能够明显抑制病原菌在侵染发生前病斑的形成和阻断侵染发生后的病斑的扩展,抑制病原菌生长、减低病害的严重程度;并且可以明显降低采后鸭梨的自然发病率。

超声波结合 50℃热水处理 5 min 没有引起果实表面伤害和果实不良反应。于室温下贮藏,在不改变鸭梨正常后熟前提下,提高了固酸比改善了食用品质。

关键词: 超声波, 水杨酸, 热, 鸭梨, 病害

Abstract

This paper explores the potentials of using ultrasonic waves to preserve fruits after harvest. By using *Ya* pear as the material, the effects of ultrasound treatment, ultrasound combined with salicylic acid treatment or ultrasound plus heat treatment on postharvest disease of *Ya* pear had been researched. Also we evaluated the effect of these treatments on the edible property of *Ya* pear. This is a pioneering effort in using ultrasound and ultrasound combined with other preservation methods to treat fruits after harvest.

It showed that there wasn't any difference between the *Ya* pear treated by ultrasound at frequency 40-60KHz and control fruit in fruit firmness, in soluble solid content and in titratable acidity during storage at room temperature. There was no difference of lesion diameter size in ultrasound treated fruit and in control fruit.

Treatment with ultrasound combined with 1 mM and 5 mM salicylic acid for 15 to 20 minutes respectively could distinctly reduce incidence of the disease *penicillim expansum* and the lesion area by inoculation and increased the activity of peroxidase. And the effect of inhibition increased with increasing the time of treatment with ultrasound in combination with salicylic acid. No significant difference appears between the *Ya* pear treated by ultrasound combined with salicylic acid and the control one in fruit firmness and in the content of soluble solids and titratable acid during storage at room temperature.

Ultrasound combined with heat at $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 5 mins had good effects on inhibiting the development of the disease caused by *Penicillim expansum* or *Alternaria alternate*. It was far more effective than heat treatment alone. The lesion incidence and lesion diameter could be decreased significantly and POD or PPO activity was enhanced by ultrasound combined with heat treatment. It was able to control the pathogen and prevent the formation of lesions before infection has occurred and stop the spread of lesions after infection has occurred.

Ultrasound combined with 50°C hot water treatment neither caused surface damage to fruits nor impaired quality parameters of fruit. It increased the ratio between soluble solids and titratable acid and the edibility of the fruit by storing under room temperature without changing the normal ripening of the fruit.

Key words: Ultrasound, Salicylic acid, Heat, *Ya* pear, Disease

图表目录

表 2-1 水杨酸不同浓度结合超声波处理对损伤接种果实病斑面积的影响	8
表 2-2 水杨酸结合超声波处理对果实接种发病率的影响	9
表 3-1 不同超声波处理时间对鸭梨损伤接种 <i>A.alternata</i> 果实发病率影响	17
表 3-2 不同超声波热处理时间对鸭梨损伤接种 <i>P.expansum</i> 果实病斑面积和发病率的影响	19
表 3-3 超声波结合热处理对果实自然腐烂发病率的影响	21
图 2-1 水杨酸结合超声波不同处理时间在损伤接种 <i>Penicillim expansum</i> 后对果实病斑面积的影响	10
图 2-2 超声波结合水杨酸处理对损伤接种 <i>P.expansum</i> 后鸭梨果实过氧化物酶活性变化的影响	11
图 2-3 水杨酸结合超声波处理对鸭梨 20℃ 贮藏过程中硬度、可溶性固形物、可滴定酸含量的影响	13
图 3-1 超声波不同处理时间对鸭梨损伤接种 <i>A.alternata</i> 后病斑面积的影响	16
图 3-2 超声波结合 50℃ 热处理不同处理时间对鸭梨损伤接种 <i>A.alternata</i> 后病斑面积和发病率的影响	17
图 3-3 超声波结合 44℃ 热处理不同处理时间对鸭梨损伤接种 <i>A.alternata</i> 后病斑面积和发病率的影响	18
图 3-4 超声波结合不同热处理温度对鸭梨损伤接种 <i>Penicillim expansum</i> 后发病率和病斑面积的影响	20
图 3-5 超声波结合不同热处理温度对鸭梨损伤接种 <i>Alternaria alternata</i> 后病斑面积和发病率的影响	21
图 3-6 损伤接种 <i>Penicillim expansum</i> 后不同培养时间下超声波结合热处理对病斑面积和接种发病率的影响	24
图 3-7 损伤接种 <i>Alternaria alternata</i> 后不同培养时间下超声波结合热处理对病斑面积和接种发病率的影响	25
图 3-8 热结合超声波前处理对鸭梨损伤接种 <i>Penicillim expansum</i> 和 <i>Alternaria alternata</i> 病斑面积的影响	27
图 3-9 热结合超声波预处理 <i>Penicillim expansum</i> 孢子悬浮液后对鸭梨损伤接种病斑面积和发病率的影响	28
图 3-10 热结合超声波预处理 <i>Alternaria alternata</i> 孢子悬浮液后对鸭梨损伤接种病斑面积和发病率的影响	29
图 3-11 超声波结合热处理对鸭梨损伤接种 <i>P.expansum</i> 后果实过氧化物酶活性的影响	30
图 3-12 超声波结合热处理对鸭梨损伤接种 <i>P.expansum</i> 后果实多酚氧化酶活性的影响	31
图 3-13 超声波结合热处理对鸭梨果实硬度、可溶性固形物含量、可滴定酸含量的影响	34
图 3-14 超声波结合热处理对鸭梨呼吸强度的影响	35
图 3-15 超声波结合热处理对鸭梨乙烯释放的影响	35
图 3-16 超声波结合热处理对鸭梨贮藏过程中果实过氧化物酶活性的影响	36
图 3-17 超声波结合热处理对鸭梨贮藏过程中果实多酚氧化酶活性的影响	36

独创性声明

本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得中国农业大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

研究生签名：姚松

时间：2005年6月14日

关于论文使用授权的说明

本人完全了解中国农业大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。同意中国农业大学可以用不同方式在不同媒体上发表、传播学位论文的全部或部分内容。

(保密的学位论文在解密后应遵守此协议)

研究生签名：姚松

时间：2005年6月14日

导师签名：



时间：2005年6月14日

第一章 引言

1.1 研究目的、意义和内容

鸭梨是我国的传统名牌品种,是我国主要的出口水果种类之一。果实外观美,肉质细,丰产,耐贮性好,深受人们的喜爱。

鸭梨采后贮藏过程中容易遭受青霉菌(*Penicillium expansum*)、链格孢(*Alternaria alternata*)等病原微生物的侵染,通常采后鸭梨贮藏前使用一些化学药剂,如扑海因、施保克等杀菌剂进行处理来控制采后微生物引起的腐烂。目前世界上对于控制果蔬采后腐烂的化学杀菌剂的使用仍然较为广泛,然而,长期的使用化学药剂导致病菌产生的抗药性降低了化学药剂的防病效果,同时生产上频繁和高浓度的使用化学药剂造成农药在果蔬上的残毒量增加而威胁着人类的健康、对环境造成不可预计的后果,使得人们越来越不提倡在采后新鲜的产品贮藏保鲜过程中使用化学合成杀菌剂,因此,利用非传统方法来控制果蔬采后腐烂逐渐成为研究的重点。

目前国内外研究工作的重点都集中在通过物理的、化学的、生物诱导的方法来增强果蔬自身对病原菌侵染的抵抗能力^[1, 2, 3]。水杨酸(Salicylic Acid),简称SA,化学名称邻羟基苯甲酸,是一种植物体内天然产生的简单酚类化合物。SA广泛存在于高等植物中,被看作一种新的植物内源激素,在果实上施用SA可以起到诱导果实自身产生对抗病原微生物侵染的抗病性,降低腐烂发生率,对果实具有一定的保鲜作用^[2, 4]。

采后热处理方法(包括热水处理和热愈伤)被认为是控制采后腐烂的最有前景的方法之一,目前被广泛地实验,并被视为是一种控制果蔬采后病害的有效方法,热处理能够对细菌和某些病原菌孢子起到杀灭作用,同时它也通过对病原菌的直接抑制作用和通过刺激寄主某些防御反应起作用^[5]。

近年来,人们发现食品工业中超声波在食品加工和产品评价中有着广泛的应用。从食品鉴定检测、食品工艺过程的改善技术到逐步发展为食品保藏杀菌技术中的一种方式,超声波在食品工业领域中有着更为日益广泛的应用范围。为了抑制微生物,很多研究不断地对超声波抑制食品中微生物的效果以及对食品品质特性的影响进行评价,认为超声波的空化效应具有扰乱微生物细胞的作用^[6]。低频率高能量超声波(20-100 KHz)在空化过程中压力迅速的交替产生的影响能够打破微生物的结构并且引起细胞壁破裂^[7]。高强度、低频率超声波在物质中产生的强烈的压力、切削力和瞬间高温,可以物理性地损坏细胞结构,当在足够高强度下可以引起细胞死亡^[8]。这意味着超声波可以作为一种抑制微生物的潜在有效的方法。

超声波的引入应用是对传统食品杀菌方式的大力支持,超声波与抗菌剂、与热结合处理则显示了相当乐观的前景。超声波的结合使用使得对能量利用更加有效,当和传统热处理比较,结合处理加强了对微生物的扰乱作用而使杀灭率更高。这个过程耗能强度很少,因此比传统热处理过程投资更有效,对环境更温和^[9]。超声波结合热处理可以降低加工温度和处理时间,显著提高热处理效率,而使用传统的热处理方法要达到同样致死率所需条件更加强烈。处理温度或处理时间的降低使得产品品质得到改进。

本文的主要目的是以鸭梨为研究材料,探索超声波作为一种食品保藏的处理方式在采后的应用,研究其单独处理以及和药剂、和热结合处理对鸭梨果实的采后病害的控制效果、可能的原因分析以及对鸭梨果实特性的影响,为超声波及其结合处理技术在水果采后保鲜方面的应用做开拓性探索研究。

1.2 国内外研究现状

超声波作为一种物理能量形式的机械波广泛应用于医学、工业、化学和化工领域。在医学领域中,超声波被用作进行超声诊断和超声治疗;在工业中利用超声波进行流体流量的测量、超声金属焊接、超声无损探伤、超声钻孔、超声乳化、超声清洗等等^[9];在化学工业中超声波可用来加速化学反应速度,起催化剂作用^[10]。在农业中,超声波处理可以提高种子的发芽率,出苗率、提高产量^[11]。

同其他领域一样,在食品工业中超声波应用的课题也已经得到了多年的研究和发展。目前,在食品工业中,超声波主要用于食品分析及食品评价;并且越来越多地作为一种食品加工的技术广泛应用于食品加工生产领域;现在,超声波技术已开始逐步被发展作为一种新型的保藏技术应用于食品保藏领域。

1.2.1 超声波的应用特性

超声波本身是一类频率高于 20KHz 的弹性机械波,根据超声波的特性,超声波在食品工业中的应用可以被分为截然不同的两类,依据是否属于低强度或是高强度的超声波。

低强度超声波其频率以 MHz 为单位,使用的能量水平很低 ($<1 \text{ W/cm}^2$),在传递过程中不会引起介质的物理或化学性质改变。低强度的超声波常作为一种分析技术来提供食品物理化学特性的信息,如组成、结构、物理状态和流速等^[7]。例如,利用超声波脉冲的衰减来监测含脂乳的均匀度,利用超声波衰减检测乳化度,检测果汁的稳定性,分析结晶程度及评价水果的成熟度和水果探伤;并且被成功地应用于测量管道厚度、巧克力薄厚、脂肪含量,作为肉中瘦肉部分含量、罐藏液体和带壳鸡蛋组织的检测方法;食物中金属、玻璃、木渣等杂物的探测,测量管道中液体流速;检测食物成分和测定分散体系中微粒大小分布的方法^[12, 13, 14]。

相反,能量强度高的高强度超声波,频率以 KHz 为单位,应用范围很广泛,能够改变被作用物体的物理特性,或是可以促进某种化学反应。高强度超声波在实验室中被广泛使用,用于产生乳化,干扰细胞和分散物料^[7]。随着不断研究又发展出了新的应用,包括改变和控制结晶过程,抑制酶活,肉的嫩化,增强干燥过滤和促进氧化反应等^[15]。近年来,这种功率超声波广泛应用于食品加工和保藏中,日益得到食品技术专家的关注。

功率超声波在液体介质中传播时的显著特点是会产生空化现象^[10,16,17]。低频机械波由于机械振动产生的正压力波会在液体介质中产生上百万计的微小气泡,在负压过程中小气泡会由于拉伸而膨胀并且在下一次压力波到来时迅速剧烈地爆裂,伴有大量能量的释放。这种能量的释放会使周围溶液形成微射流,能够对物体表面造成冲击和腐蚀^[18]。这种气泡破裂(空化)还伴随有机效应和热效应。

根据空化泡的变化,空化现象又可分为瞬态空化(声强大于 10 W/cm^2 时产生的生存周期较短的空化泡)与稳态空化(声强小于 10 W/cm^2 声强度较低时产生的空化泡,其大小在其平衡尺寸附近震荡,生成周期达数个循环)^[19]。瞬态空化是短暂而剧烈的,空化泡迅速涨大并破裂,破裂时发出高压冲击波和高温。稳态空化是指空化泡的大小变化是有规律和缓和的。在较高声强下较易导致空化泡的破裂,发生瞬态空化。然而两种空化现象在超声波处理时几乎同时存在。空化泡破裂时发出的冲击波能引起空化泡周围物质的机械破坏作用,同时也引起围绕小泡的液体物质的剧烈流动,即微声流现象的发生。低速微声流可使空化泡周围的物质混匀,然而高速的微声流能对周围物质产生剪切作用,足以破坏大分子以至于细胞^[20, 21]。

1.2.2 功率超声波的研究现状

由于功率超声波的声化学效应,使其在食品工业的不同应用领域中具有不同的作用效果,起到不同作用。比如超声波可以激发细胞的活性、激发或是抑制酶的活性、具有抑制和杀灭微生物的作用、能够起到辅助提取、结晶、冷冻和过滤的作用等等,这些特性的运用在具体应用中都有具体体现。

1.2.2.1 功率超声波在生产加工中应用

功率超声波具有激发细胞的活性作用,因此很多研究利用功率超声波促进细胞的生长代谢、提高产率。很多研究表明,超声波能够在不破坏细胞壁的情况下促进细胞生长。

低频率高能量的超声波能够对细胞产生刺激作用^[22, 23, 24]。超声波通过改进细胞的质量传输机制,加速细胞的新陈代谢过程提高细胞内相关酶的活性,从而促进细胞生长和相应代谢产物的积累。超声波能够提高营养介质中海藻细胞的生长速率,可使海藻蛋白的产量提高三倍^[25]。用超声波辅助生产酸乳酪能够提高乳酸菌活性,改善产品的均匀性和质地,而且减少了原料奶的使用量^[26, 27]。

超声波作用能够显著影响鱼卵的孵化率,每天用频率为 1 MHz 的超声波辐照鱼卵三次,每次 35 分钟,会使泥鳅孵化时间从 72 小时减少到 60 小时。不仅如此,超声辐照还能提高鱼卵的孵化率和孵出小鱼的成活率^[11]。

此外,超声波还能够刺激种子萌发。在农业生产中,作物的产量主要取决于植株品种的优劣和种子的发芽率及生长率,因此超声波的应用为提高大规模农业作物和普通园艺植物的产量提供了一种可能途径。多篇研究报告表明^[11],在播种以前对种子进行超声波处理能够有效地提高农作物产量。通常种子是浸泡在水里的,以帮助结束其休眠状态。实验结果证明,采用这种超声波处理方法确实缩短了大豆和大米的发芽时间。以强度为 0.7 W/cm^2 的超声波对浸在水中的莲花种子进行 10 分钟处理,能将其发芽率提高 30%。经过超声波处理的向日葵种子在土壤中的发芽率提高了 3 倍,使番茄的成熟时间缩短了 10 天。用 20 KHz , 0.5 W/cm^2 的超声波处理白术块根的出苗率随超声波处理时间的延长而增加。

由上看出,这项技术的前景广泛,超声波除了可以增加发芽率,刺激生长,缩短成熟时间等,也是对化学处理技术的一大挑战,它可以引领无害的有机农业发展。

1.2.2.2 抑制和杀灭微生物的研究

长期以来, 超声清洗和杀灭微生物一直作为工业中的有效方法为人熟知。由于低频率高能量的超声波在液体介质中会产生空化效应, 对于不规则表面的清洗和杀菌是非常有效的。空化效应在物体表面产生的射流能够清除表面污物和细菌, 而且可以达到传统清洗杀菌所不能及的表面缝隙中。在食品消毒杀菌过程中, 超声波和杀菌剂结合使用能够高效的清除和杀灭食品表面的细菌。超声表面清洁的一项最新应用实例是利用超声波配合杀菌剂清洁待孵化的蛋, 与目前所使用的喷药或气熏方法相比, 超声辅助清洁的效果更好^[28]。超声波与氯水结合处理使得新鲜水果蔬菜表面的细菌数量明显降低, 空化作用也使得细菌对杀菌剂更为敏感^[29]。

传统的热杀菌和消毒是目前食品生产中最常用的抑制微生物的方法; 但是消费者需要一种能够对营养成分和整体食物品质影响最小的新型杀菌方法。超声波处理是替代技术中的一种, 既能够抑制微生物活性又可以显著降低或消除热的参与^[6], 在食品工业中表现出了应用前景。

高能超声波的杀菌作用是通过破坏细胞结构来杀死活细胞, 但是, 如果单独利用超声波作用达到完全杀菌效果所需的能量是极高的, 并且是一项非常有难度的工作。除了上面提到的与杀菌剂配合使用外, 研究热点更集中在超声波与酸、氯、过氧化氢结合使用^[30]; 超声波结合热杀菌、结合压力杀菌和结合热和压力的物理方式抑制食品中微生物方面。利用超声波协同作用能够提高杀菌效果, 并且极大程度提高能量利用效率。超声和热的协同作用杀菌的机理的报道是由Ordenez等在1984年首次报道的, 当时所采用20KHz, 160W的超声波结合5~62℃的温度条件进行杀灭葡萄球菌实验, 发现热声配合使用无论从处理时间还是能量消耗方面都比分别单独使用两个杀菌条件更为有效^[31]。

国外超声波及其结合技术用于抑制食品中病原物的报道、讨论有很多。Wrigley & Llorca (1992) 研究了超声波及结合热处理对肉汤、脱脂乳、液体鸡蛋中的*S. Typhimurium*的杀灭效果^[32]。Munkacsi & Elhami (1976)研究了超声波处理及超声波结合UV处理对牛奶中大肠杆菌的杀灭效果^[33]。Manas等(2000a)研究了超声波及结合技术对鸡蛋中沙门氏菌的抑制作用^[34]。有很多关于结合超声波使用杀灭食品中及表面的细菌^[35-42]、产芽孢菌^[43, 44]、真菌^[45]的研究报道。

1.2.2.3 影响酶活性方面的研究

超声波不仅能激发酶的活性, 而且也能够抑制酶的活性。实验发现, 以酪蛋白为底物, 在20 KHz超声波的作用下, 在凝胶支持物中的 α -糜蛋白酶活性提高了2倍。这种活性增强的原因是由于超声波空化效应使得凝胶表面的底物向凝胶内渗透增加造成的^[46]。超声波(20 KHz、10 W)可以使得脆壁克鲁维氏酵母葡萄糖酶产量提高1倍以上^[24]; 1982年yoshio等用频率20 KHz, 声功率15 W, 时间15h提取细胞内的葡萄糖氧化酶, 提高了酶产率, 且未失活。并得出以温和的超声波条件应用于胞内酶的生产^[47]。利用超声波处理 α -淀粉酶和糖化酶对淀粉和糖原水解活性的变化的影响发现酶催化反应速率和转化酶对蔗糖的水解活性显著升高^[48]。国外这方面研究开展的较早也相对较多。

Wiltshire 将过氧化物酶(大多数果蔬中主要的氧化酶, 与果蔬变味和褐变密切相关) sigma-P8000 溶解于0.1 M、20℃、pH 7.0的磷酸钾缓冲溶液中, 加以20 KHz的超声波3h,

酶的活性下降了 90 %^[11]。近来, L.De Gennaro 等人研究了热声共同抑制过氧化物酶活性的效果, 实验表明, 热声作用的效率比常用的加热方法高^[49]。

1.2.2.4 超声辅助提取

在传统工艺中, 用溶剂浸提植物原料需要选择适当的溶剂, 还需进行加热或搅动。能量超声波由于空化效应产生的微射流和传质作用, 能够增大溶剂向原料细胞的渗透量并强化传质, 因此它可以明显地加速植物体和种子中有机成分的提取过程^[50]。此外, 由于细胞的破坏也使得胞内物释放。

超声辅助提取法还可用于提取中草药中的药物成分。而且超声提取法最大的优点是效率较常规方法高, 能够在更低的温度下, 更短的时间内获得更纯的产品。例如: 用超声提取大黄中大黄萜酮 10 min 比用煎煮法提取 3 h 的提取率还高^[51]。从中药槐米中提取芦丁, 用超声提取 10 min 比热碱提取 50 min 的提出率高, 而且没有改变槐米中芦丁的化学成分^[51]。

此外, 用超声技术还可以提高小牛胃中凝乳酶的提取率, 且活性高^[52]。在豆奶的工业化生产中, 采用能量超声波处理大豆浆体可以有效地提高其蛋白质及固形物的萃取率, 从而提高豆奶的消化吸收率^[53]。速溶茶生产前利用超声波提取茶内固体成分可使提纯率提高 20 %^[52]。

1.2.2.5 超声波促进渗透作用的应用

超声波的空化作用及其伴随效应可以起到促进溶液渗透作用。在花卉培养方面, 利用超声波及保鲜液处理可以明显增加切花菊、香石竹和切花月季切花花枝鲜重, 推迟鲜重始降天数, 增大最大花径, 延长瓶插寿命^[54]; 保鲜液超声波处理能保持扶郎切花的鲜重、使其花梗伸长, 瓶插期生命力旺盛, 瓶插寿命延长^[55]。在果脯加工中, 与常规渗糖方法相比, 超声波可以显著提高果蔬组织的渗糖速率, 同时可以明显降低糖煮对果蔬组织细胞结构的破坏作用^[56]。超声波应用于咸蛋的腌制过程中能够降低蛋清粘度, 明显促进氯化钠的渗透与扩散, 缩短了腌制时间^[57]。

超声波还能增加一些大分子、多肽类如胰岛素等的药物透皮吸收强度, 起着药物促溶、促渗的作用^[58]。

1.2.2.6 其他方面应用^[13, 14, 48, 52]

在肉制食品加工中, 超声波可以用于破坏肉的肌原纤维, 破坏后的肌原纤维会分泌粘液, 增加肉的粘度, 起到嫩化肉质作用, 较之传统的滚揉工艺对肉处理效果更好。室温下对牛腰肉超声处理 (40 KHz, 2 W/cm²) 2h 肉中结缔组织明显减少。Reynolds 等 (1983) 用超声波处理火腿肠时发现经超声波处理的样品在所有品质方面是最好的。

在辅助结晶方面, 超声波能够改善溶液的结晶过程, 控制结晶过程, 形成晶体的大小由超声频率与强度所控制; 超声波还可以加速酒类的催陈过程, 使得酒味醇厚; 影响冻结过程的冰核形成, 在食品解冻过程中用超声波加热食品可以有效地缩短解冻时间, 起到良好解冻效果;

由于空化效应，气泡破裂产生的冲击波可以起到搅拌混匀作用用于乳化加工过程中，如用于番茄酱、蛋黄酱、果酱、人造奶油、婴儿食品、巧克力、色拉油、油糖水及其它类混合食品；另外，超声辅助过滤技术已被应用于果汁加工业，有利于浆液细化，使得浆液的出汁率提高。

另外，超声波也越来越多地被用于基因工程中，用于诱导基因转移，将外源基因导入植物、动物细胞和组织^[21]。

由此看出，超声波在加工过程中的应用带来了方法学上的创新，对传统的技术形成了有益的补充。超声波在杀菌、提取、结晶、冷冻和过滤等工艺方面尤其有用。采用这些技术可以缩短加工时间，提高加工效率。目前的超声波应用又分出了一些新的领域，包括刺激活细胞和酶，改进肉类加工和谷物处理方法等。但是有些技术目前还限于实验室内，应用于工业生产时会遇到一些实际困难，如大规模处理时难以找到适合的超声源。

总的说来，超声波在食品领域的应用国内相关报道多集中于论述其生物效应，应用于生物工程，成分提取方面。国外研究的报道多集中在超声波作为食品检测的技术应用以及在功率超声波在食品加工中的应用，目前的热点趋向于研究超声波或与其他技术结合处理作为食品保藏的一种手段抑制食品中的微生物以保障食用安全性。鉴于如上述超声波所能产生的声效应及其协同效应，为其在采后水果保鲜方面应用提供了可能性。尤其在协同化学药剂渗透，以及配合热处理来更为有效地控制采后病害方面都有值得研究之处。

第二章 超声波结合水杨酸处理对鸭梨采后贮藏病害以及品质的影响

鸭梨采后贮藏过程中容易遭受*P. expansum*、*A. alternata*等病原微生物的侵染，通常采后鸭梨贮藏前使用一些化学药剂，如扑海因、施保克等杀菌剂进行处理来控制采后微生物引起的腐烂。然而，长期的使用化学药剂导致病菌产生的抗药性降低了化学药剂的防病效果，同时生产上频繁和高浓度的使用化学药剂造成农药在果蔬上的残毒量增加而威胁着人类的健康，化学药剂对人体的毒害已越来越受到社会的关注，迫使人们去寻求更安全有效的采后防病新术。水杨酸 (Salicylic Acid)，简称SA，化学名称邻羟基苯甲酸，是一种植物体内天然产生的简单酚类化合物广泛存在于高等植物中，被看作一种新的植物内源激素，在果实上施用SA可以起到诱导果实自身产生对抗病原微生物侵染的抗病性，降低腐烂发生率，对果实具有一定的保鲜作用。

由于不同果实的特性不同，SA产生的作用效果不同，本章研究了超声技术结合水杨酸处理对鸭梨采后病害控制作用以及对常温贮藏下品质的影响。

2.1 超声波结合水杨酸处理对鸭梨抗病性作用的影响

2.1.1 超声波结合水杨酸对病害控制的影响

2.1.1.1 材料与方法

2.1.1.1.1 材料

超声波发生器：超声波清洗器 SK8200H 型（上海科导超声仪器有限公司），工作频率 59 KHz，消耗功率 500 W，槽内尺寸 50×30×15cm，外形尺寸 51×32×31cm，容量 22.5 L。

鸭梨 (Ya-pear) 2003 年 11 月购于北京郊区果园，选择色泽，大小均匀一致，无机械损伤和病虫害果实备用。

Penicillium expansum 分离、纯化自腐烂果病健交界处，经鉴定和回接实验后，重新从发病的梨果病健交界处再次分离纯化 *P. expansum*，挑取单菌落将菌种扩大培养（培养温度为 27 ℃，纯化好的菌种于斜面 PDA 上 4 ℃保存待用）。

2.1.1.1.2 方法

(1)水杨酸、超声波处理方法

将鸭梨分别进行 4 组处理。①对照：置于清水中浸泡；②超声波处理 (US)：将鸭梨浸于清水中进行超声波处理。③水杨酸 (SA) 处理：浸泡在水杨酸溶液中。④水杨酸结合超声波处理 (US+SA)：浸泡在水杨酸溶液中同时进行超声波处理。处理完毕自然晾干，20 ℃放置。

(2)损伤接种

将上述处理的鸭梨于 48 h 后进行病原菌接种。

接种前，取在 27 °C 条件下培养 14 天的 PDA 平板 *P. expansum* 菌种，用无菌水配成 10⁴ 个孢子/mL 的孢子悬浮液（血球计数板计数）。

接种时，各处理鸭梨先用 70 %酒精进行表面擦拭消毒后，用灭菌钉（直径 3 mm）环赤道线刺孔 4 个（深 4 mm，直径 3 mm），待刺孔略干后，用微量移液器向每孔注入 10 μL 孢子悬浮液。待孔中液体略干后装入塑料网筐，在 20 °C 下放置（外罩塑料袋保湿）。定期观测发病率及记录病斑面积变化。每处理 18 个果实、重复三次，共进行三批处理。

(3)测定方法

病斑直径测量：十字交叉法测量病斑直径

发病：接种点外围可见的腐烂组织宽度≥1 mm，即按发病统计。

接种发病率 (%) = (果实发病总孔数/果实接种总孔数) × 100%

果实病斑面积 (mm²) = π × (d/2)²

(4)数据处理

用 EXCEL 软件分析所有数据，计算标准误并制图，SPSS 软件采用 Duncan 多重比较法进行差异性分析。

2.1.1.2 结果与分析

2.1.1.2.1 超声波结合水杨酸处理对损伤接种果实病斑面积和发病率的影响

表 2-1 水杨酸不同浓度结合超声波处理对损伤接种果实病斑面积的影响

Table 2-1 Changes of lesion area in pear fruits inoculated with *P. expansum* by SA combined with US treatment

处 理	病斑面积 (mm ²)		
	接种后第 3 天	接种后第 5 天	接种后第 7 天
对照	19.4d	86.8d	146.1c
US	18.4d	85.3d	144.6c
1 mM SA	15.1c	76.8c	128.9b
1 mM SA+US	13.1ab	67.3ab	114.8a
5 mM SA	13.6b	69.4b	117.6a
5 mM SA+US	12.2a	63.7a	110.4a

处理时间均为 20 min

鸭梨损伤接种 *P. expansum* 后，果实病斑面积不断扩大。与对照相比，在统计的整个发病过程中，经过 SA 处理明显降低了果实损伤接种病斑面积。SA 以及 SA+US 处理对抑制病斑扩展的效果均随着处理浓度升高抑制效果更为明显。如表 2-1，接种后第 3 天时，5 mM SA 处理果实病斑面积低于 1 mM SA 处理果实 10 % (P=0.05)，并在整个发病过程中基本保持了差异性。

SA+US 的结合处理不同程度上都比 SA 单独处理效果好。如，接种后第 3 天时，1 mM SA+US

处理果实病斑面积比 1 mM SA 处理果实低 13.2 % (P=0.05); 5 mM SA+US 处理果实病斑面积低于 5 mM SA 处理果实病斑面积 10 % (P=0.05), 接种后的前 5 天里基本保持了这种差异性。

此外, 由表 2-1 可以看出: 1 mM SA+US 效果显著好于 1mM SA 处理, 且效果与 5 mM SA 处理的效果水平相当。5 mM SA +US 是处理中对病斑面积控制效果最好的。

表 2-2 水杨酸不同浓度结合超声波处理对果实接种发病率的影响

Table 2-2 Effects of SA combined with US treatments on disease incidence of pear fruits inoculated with *P. expansum*

处 理	接种发病率 (%)	
	接种后第 3 天	接种后第 7 天
对照	95.8d	100
US	96.8d	100
1 mM SA	92.7c	100
1 mM SA+US	84.3b	100
5 mM SA	84.3b	100
5 mM SA+US	77.0a	100

处理时间均为 20 min

实验结果表明, 在发病初期, 经过 SA 处理后的果实发病率均显著低于对照果实, 并且以 SA+US 处理效果最好。如表 2-2 所示, 接种后第 3 天, 5 mM SA+US 处理果实的发病率比 5 mM SA 处理果实发病率低 8.7 %, 比对照果实低 20 %。随着发病进程, 处理间差异消失, 接种后第 7 天发病率均为 100 %。

2.1.1.2.2 超声波结合水杨酸不同处理时间对损伤接种果实病斑面积的影响

随着处理时间的延长, 水杨酸处理以及水杨酸结合超声波处理的鸭梨病斑面积均有减小。由图 2-1A 可看出, 接种后第 5 天, SA+US 处理 25 min 的病斑面积比 SA+US 处理 15 min 的病斑面积减小 4 %, 比 SA+US 处理 5 min 减小 15 %, 比对照减小 32.4 % (P=0.05), SA 处理 25 min 的病斑面积比 SA 处理 15 min 减小 20 %, 比 SA 处理 5 min 减小 25 %, 比对照减小 30 % (P=0.05)。

在发病过程中, SA+US 处理果实病斑面积都明显小于单独 SA 浸泡处理果实。接种第 5 天时, SA+US 处理 15 min 比 SA 处理 15 min 处理病斑面积减小了 19 % (P=0.05), 接种后第 8 天这种差异仍然保持。

此外, 在病斑面积基本相似, 能达到相似抗病效果条件下, SA+US 处理 15 min 比 SA 处理 25 min 所用时间缩短了 40 %。随着果实发病进程的延长, SA+US 和 SA 处理的果实病斑面积差异逐渐缩小, 不同时间处理间的差异缩小, 但均好于对照。

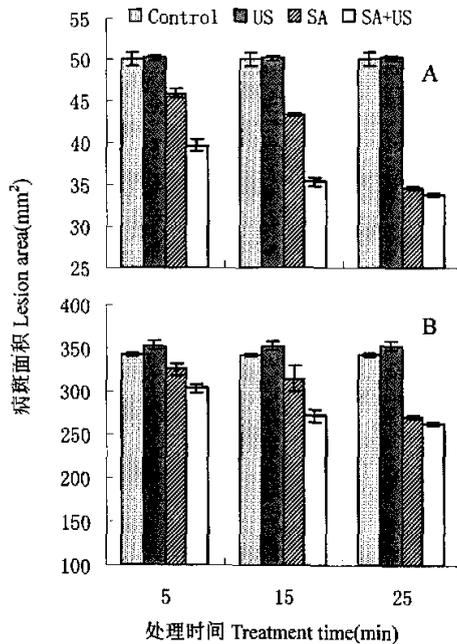


图 2-1 水杨酸结合超声波不同处理时间在损伤接种 *Penicillium expansum* 后第五天 (A) 和接种后第八天 (B) 对果实病斑面积的影响。(水杨酸浓度 1mM)

Figure 2-1 Effects of different treatment time of SA combined with US on lesion area of inoculated with spores of *Penicillium expansum* in Ya pear at 5 days inoculation(A) and 8 days inoculation(B) respectively
图中竖线代表标准误。Bar indicated standard error

2.1.2 超声波结合水杨酸处理对过氧化物酶活性的影响

2.1.2.1 材料与方法

2.1.2.1.1 材料

鸭梨的选择及 *P. expansum* 的分离、纯化和保存均同 2.1.1.1.1

2.1.2.1.2 方法

(1)水杨酸结合超声波处理方法：将鸭梨浸入 1 mM 的水杨酸溶液中同时进行超声波处理 15 min, 控制果实放入数量避免重叠; 1 mM 的水杨酸溶液浸泡处理 15 min; 超声波单独处理 15 min 及对照。不同处理完毕后自然晾干 20 °C 下放置 48 h。

(2)损伤接种:

同 2.1.1.1.2 中 (2) 方法

(3)取样方法:

果实接种后, 根据发病情况取样, 取病健交界处果肉组织 (宽深均为 1-2 cm 左右), 剔除腐烂组织。每处理每次取 36 个发病点病健交界处果肉。取样组织经液氮冷冻后再破碎混合, -20

℃下保存待用。

(4)POD 酶的提取及活性测定

过氧化物酶 (POD) 活性测定

称取 5.0 g 果实样品, 加入 2 ml 100 mM、pH 5.5 的醋酸缓冲液 (含 8 % (w/v) PVPP, 1 mM 聚乙二醇 6000, 1 mM 苯甲基磺酰氟 (PMSF) 和 0.01 % (v/v) Triton X-100) 在冰浴条件下充分研磨匀浆, 然后于 4℃、12,000×g 离心 30 min, 收集上清液用于 POD 活性测定。

参考 Lurie 等 (1997) 方法^[59]测定 POD 活性并改进。反应体系由 2.5 ml 25 mM 愈创木酚溶液 (用 50 mM、pH 5.5 的醋酸缓冲液溶解)、0.2 ml 250 mM H₂O₂ 溶液和 0.5 ml 酶液组成。从加酶液后 1 min 开始记录每分钟反应体系在 470 nm 的吸光度值, 连续测定 4 min。酶活性表示为 $\Delta OD_{470} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 冻样。重复 3 次。

2.1.2.2 结果与分析

图 2-2 所示, 接种后第 3 天, 经 SA+US 处理的果实 POD 活性明显增加, 比对照果实的 POD 活性提高了 34 % (P=0.05), 比 SA 处理后的 POD 活性提高了 29 %; 在发病第 6 天, 可以看出, 4 个处理的 POD 活性均有增加, SA+US 处理果实的 POD 活性仍明显高于其他处理。发病过程中, 对照和 US 处理果实的 POD 活性变化相当, 并无明显差异。

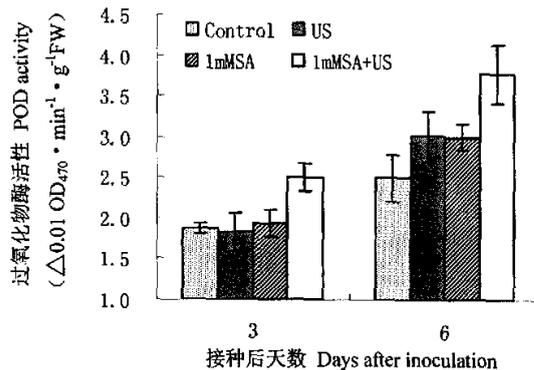


图 2-2 超声波结合水杨酸处理对损伤接种后鸭梨果实过氧化物酶活性变化的影响 (处理时间均 15min)

Figure 2-2 Effects of SA combined with US treatment for 15mins on peroxidase (POD) activity of Ya pear inoculated with *P. expansum*.

2.1.3 讨论

研究结果表明, 单独的功率超声波处理不能降低鸭梨损伤接种 *P. expansum* 发病率、病斑面积和影响 POD 活性明显变化, 并未引起鸭梨果实本身的抗病性变化。这与超声波在酶工程、细胞工程、发酵工程等生物技术方面应用产生的效果有所不同, 在这种频率强度及处理条件下, 超声波产生的空化作用没能刺激起具有一定体积的果实产生生物学反应, 可能由于鸭梨果实的表皮覆盖

有较厚的角质层和蜡质、果实的体积比较大，超声波产生的空化泡和微射流不能直接作用于果肉细胞上而未能使果实产生对外界机械冲击振动信号的反应。这也与UV-C照射引起的生物学作用原理不同。

但是功率超声波结合水杨酸处理能够明显提高鸭梨抗病性，减小了损伤接种*P. expansum*病斑的面积、降低了发病率，明显提高了抗病相关防御酶POD的活性。水杨酸是一种植物体内产生的简单酚类化合物，被看作一种新的植物内源激素，对植物和果实施用外源水杨酸时会诱导其自身产生抵御微生物侵染的抗病性。采后水杨酸处理可以增强鸭梨^[60]、番茄^[60]、桃^[61]、苹果梨^[62]、樱桃^[2]的抗病性，减少腐烂发生。本试验研究发现，对鸭梨果实施用水杨酸浸泡处理能够在一定程度上降低发病果实的病斑面积和发病率，随着水杨酸使用浓度的增加和处理时间的延长对病斑面积扩展和发病率的控制效果越好，可见这与水杨酸是否能够有效地渗透入鸭梨果实内部发挥作用密切相关。当水杨酸结合超声波处理时，超声波在液体介质中产生空化作用使气泡产生瞬间破裂，在鸭梨表面形成微射流，从而使水杨酸溶液更有效地进入蜡质裂缝和皮孔与果肉细胞接触，从而产生了较好的抗病效果、提高了水杨酸的处理效率。同样，随着处理浓度和处理时间的增加效果越好。Seymour (2002) 研究发现在含氯的水中加入超声波处理能够更为有效地杀灭水果上微生物^[29]。郭维明 (2003) 实验表明，超声波与保鲜剂结合处理切花月季“萨曼莎”能够比单独保鲜剂处理更好地延长切花的瓶插寿命^[63]。

综上，超声波处理能够明显地促进水杨酸作用的效果，增强果实抵抗微生物侵染的能力。而单独功率超声波并未对鸭梨抗病性提高起到作用。

2.2 超声波结合水杨酸处理对采后鸭梨品质的影响

2.2.1 材料与方法

2.2.1.1 材料

鸭梨 (Ya-pear) 2003 年 10 月采自北京郊区果园，短期放置后，挑选大小均匀，成熟度一致无机械损伤和病虫害果实备用。

2.2.1.2 方法

2.2.1.2.1 处理方法：同 2.1.1.2(1)方法

2.2.1.2.2 测定方法

果实硬度：果实硬度用 HG-12 型果实硬度计测定（测头直径 8 mm）

可溶性固形物含量：果实可溶性固形物含量用 WYT-1 型手持糖量计测定。

可滴定酸含量：酸碱滴定法。参考韩雅珊 (1992) 方法^[64]并改进。准确称取混合均匀磨碎的样品 5.0 g，经低温下研磨匀浆后离心 (10,000×g, 10 min)，取 3 mL 上清液，再加入 2 mL 蒸馏水和 1 滴 1%酚酞溶液，用 0.01M NaOH 滴定。果实可滴定酸含量以苹果酸（折算系数为 0.067）进行计算。每处理每次测定 10 个果实，重复 3 次。计算方法：

可滴定酸 (%) = (提取液总体积 × NaOH 消耗体积 × NaOH 浓度 × 0.067 × 100) / (样品重量 × 样品滴定体积)

2.2.2 结果与分析

超声波结合水杨酸处理对鸭梨品质的影响

鸭梨采收后硬度、可溶性固形物含量以及可滴定酸含量均呈逐渐下降趋势。由图 2-3 可以看出，在整个 45 天的室温贮藏过程中，US 处理和 SA+US 处理果实的硬度，可溶性固形物含量和可滴定酸含量分别与对照果实无明显差异。

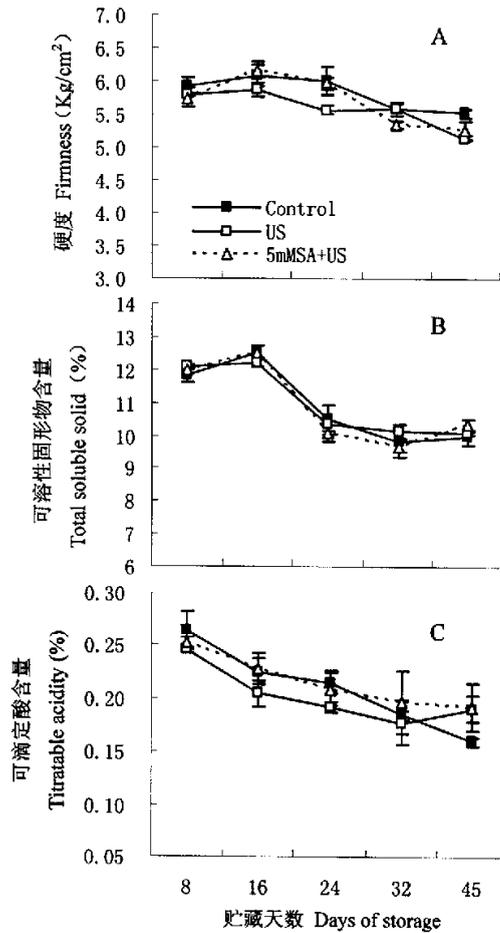


图 2-3 水杨酸结合超声波处理对鸭梨 20℃ 贮藏过程中硬度 (A)、可溶性固形物 (B)、可滴定酸含量 (C) 的影响 (处理时间均 15min)

Figure 2-3 Effects of SA combined with US treatment for 15mins on the firmness (A), total soluble solid (B), titratable acidity (C) of Ya pear during storage at 20°C

图中竖线代表标准误。Bar indicated standard error

2.2.3 讨论

实验表明,单独的功率超声波处理没有引起鸭梨果实硬度、可溶性固形物含量和可滴定酸含量的变化,对果实基本品质没有造成影响。Seymour (2002)的研究中表明,超声波水浴清洗器的超声波能量密度不会对黄瓜、胡萝卜、草莓、卷心菜等果蔬造成品质影响^[29]。这种容积和能量密度的超声波容器中产生的空化效应不会引起具有一定体积的鸭梨品质特性的改变。

水杨酸能够起到一定的保鲜作用,但对不同产品的作用不同^[65]。SA可以延缓13℃下芒果和20℃下绿熟番茄前11d的转色^[66],这些结果说明SA对延缓果实后熟有一定的作用。但是超声波结合水杨酸处理在常温存放条件下并未引起鸭梨硬度、可溶性固形物和可滴定酸含量的明显变化。类似报道见于水杨酸处理对“国光”苹果^[67]、大久保桃^[68]的研究中,发现对贮藏过程中硬度、可溶性固形物和可滴定酸含量无明显影响,对品质无明显改变。这可能由于不同果肉组织pH值不同造成对SA的反应不同造成的。

第三章 超声波结合热处理对鸭梨病害和贮藏品质影响的研究

采后腐烂是限制很多新鲜果蔬产品贮存寿命的主要因素。所有新鲜的水果蔬菜不论是销往国内还是出口都应当保证在包装前不受污物、灰尘、病原菌和化学药剂的污染。随着贮藏期的延长由于果蔬自身生理特性的改变使得病原微生物得以繁殖,使得果蔬对采后病害的敏感性增加^[5]。目前世界上对用于控制果蔬采后腐烂的化学杀菌剂的使用仍然较为广泛,杀菌剂残留对人体健康构成的巨大威胁、对环境造成不可预计的后果,使得人们越来越不提倡在采后新鲜的产品上使用化学合成杀菌剂^[6],因此,利用非传统方法来控制农产品采后的腐烂成为人们研究的兴趣点。为了降低采后农用化学品,如杀真菌剂、除虫剂、抗氧化剂的使用,目前国内外研究工作的重点都集中在通过物理的、化学的、生物诱导的方法来增强果蔬自身对病原菌侵染的抵抗能力。而采后热处理方法则成为控制采后腐烂的最有前景的方法之一^[5]。除了物理处理方法之外,采后热处理(包括热水处理和热愈伤)目前被广泛地实验,并被视为是一种对采后病害控制的有效方法,它通过对病原菌的直接抑制作用和通过刺激寄主某些防御反应起作用^[5]。热处理能够对细菌和某些孢子起到杀灭作用,但是抑制效果取决于处理的时间和温度^[8]。

近年来超声波技术在食品工业中得以广泛应用,超声波处理在抑制微生物数量方面有着潜在的应用价值,在一些食品加工过程中已被用作杀灭和抑制微生物生长的处理手段。超声波结合热处理技术被视为是对传统热处理的强有力支持,它依靠着低频率超声波的空化作用、空化作用对微生物的破坏作用和热对微生物抑制的协同作用能极为高效地起到控制微生物引起的食品败坏作用。一些研究也已经成功地报道了热和超声波结合处理具有降低不同食品中的微生物数量的作用^[9, 30]。

本章以危害鸭梨贮藏安全性、导致腐烂的两种常见真菌病原微生物为例,探讨了鸭梨采后利用超声波与热结合处理控制贮藏期中病害发生的效果、可行性、原因以及对鸭梨品质生理方面所带来的影响。

3.1 不同超声波结合热处理条件对鸭梨采后病害控制的影响

3.1.1 不同超声波热处理条件对病害控制的影响

3.1.1.1 材料和方法

3.1.1.1.1 材料

鸭梨(Ya-pear)2004年9月起购于北京郊区果园,选择色泽,大小均匀一致,无机械损伤和病虫害果实备用。

Penicillium expansum 和 *Alternaria alternata* 两种病原菌分别分离、纯化自青霉和黑斑病腐烂果病健交界处,经鉴定和回接实验后,重新从发病的梨果病健交界处再次分离纯化 *Penicillium expansum* 和 *Alternaria alternata*,挑取单菌落将菌种扩大培养(培养温度为 27℃,纯化好的菌

种于斜面 PDA 上 4 ℃ 保存待用。

3.1.1.1.2 方法

(1) 损伤接种

接种前, 取在 27℃ 条件下培养 14 天的 PDA 平板 *Penicillium expansum* 和 *Alternaria alternata* 菌种, 两种病原菌分别用无菌水配成 10^4 个孢子/ml 的 *Penicillium expansum* 孢子悬浮液和 *Alternaria alternata* 孢子悬浮液 (血球计数板计数)。

鸭梨分为两批, 分别进行两种病原菌接种实验。接种时, 将鸭梨先用 70% 酒精进行表面擦拭消毒后, 用灭菌钉 (直径 3 mm) 环赤道线刺孔 4 个 (深 4 mm, 直径 3 mm), 待刺孔略干后, 用微量移液器向每孔注入 10 μL 孢子悬浮液。待孔中液体略干后装入塑料网筐, 在 25 ℃ 下放置 12 h (外罩塑料袋保湿) 后准备进行处理。

(2) 热及超声波结合热进行处理

将接种后的鸭梨分组进行处理。①对照: 不做任何处理; ②超声波处理 (US): 将鸭梨浸于清水中进行超声波处理。③热处理: 浸泡在设定温度和时间的热水中。④超声波结合热处理 (heat + US): 浸泡在热水中同时进行超声波处理。控制果实放入个数避免重叠 (每次放入 8 个)。处理完毕自然晾干, 25 ℃ 放置。每处理 16 个果实、重复两次, 共进行两批实验。

(3) 测定方法

病斑直径测量: 十字交叉法测量病斑直径; 果实病斑面积 (mm^2) = $\pi \times (d/2)^2$

发病: 接种点外围可见的腐烂组织宽度 ≥ 1 mm, 即按发病统计。接种发病率 (%) = (果实发病总孔数/果实接种总孔数) $\times 100\%$

自然发病果: 在贮藏过程中, 单个果实出现病斑点的累积直径大于 10 mm 以上, 即统计为发病果。自然发病率 (%) = (自然发病果实总个数/果实个数总和) $\times 100\%$

(4) 数据处理

用 EXCEL 软件分析所有数据, 计算标准误并制图, SPSS 软件用 Duncan 多重比较法法进行差异性分析。

3.1.1.2 结果与分析

3.1.1.2.1 超声波单独处理不同时间对鸭梨损伤接种后病斑面积和发病率的影响

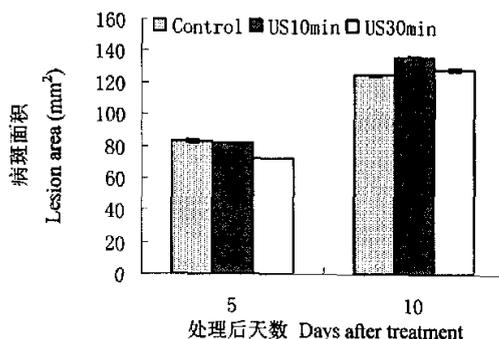


图 3-1 超声波不同处理时间对鸭梨损伤接种 *A. alternata* 后病斑面积的影响

Figure 3-1 The effects on lesion area of different treatment time of ultrasound after inoculation of Ya pear fruit with *A. alternata*. Fruits were evaluated for lesion diameter after 5 and 10 days at 20℃.

图中竖线代表标准误。Bar indicated standard error

单独超声波处理并未降低发病果实的病斑面积，并且随着超声波单独处理时间的增加病斑面积并无明显改变。如图 3-1，超声波处理 10 min 和超声波处理 30 min 在果实发病过程中病斑面积变化并无明显差别，与清水浸泡 20 min 处理果实和对照组果实病斑面积变化均无明显差异 (P=0.05)。

表 3-1 不同超声波处理时间对鸭梨损伤接种 *A. alternata* 果实发病率影响

Table 3-1 Effects of different ultrasound treatment time on fruit incidence of inoculation with *A. alternata*

处 理	接种后发病率 (%)	
	接种后第 5 天	接种后第 10 天
未做任何处理	100	100
超声波 10 min	100	100
超声波 30 min	98	100

由表 3-1，损伤接种的鸭梨果实经超声波单独处理后并未引起发病率变化；接种后发病率也未随超声波处理时间的增加而降低。

3.1.1.2.2 超声波结合热不同处理时间对鸭梨损伤接种后病斑面积和发病率的影响

3.1.1.2.2.1 US+50℃不同处理时间对鸭梨损伤接种病斑面积和发病率的影响

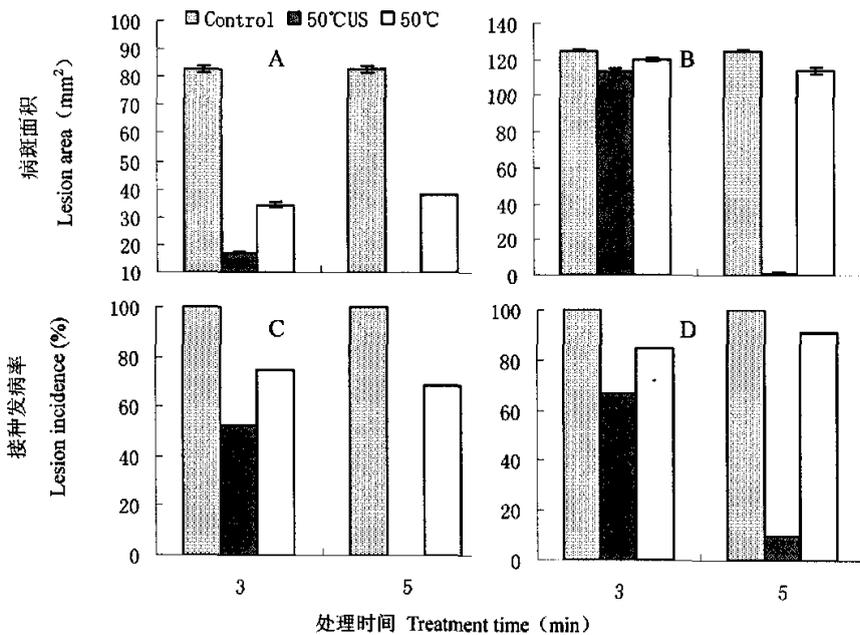


图 3-2 超声波结合热处理不同处理时间对鸭梨损伤接种 *A. alternata* 后病斑面积和发病率的影响

Figure 3-2 The effects on lesion area or lesion incidence of different treatment time of heat combined with ultrasound(50°CUS) or heat(50°C) after inoculation of Ya pear fruit with *A. alternata*. Fruits were evaluated for lesion area after 5(A) and 10 days (B). Lesion incidence was determined after 5(C) and 10 days (D) at 20°C.

图中竖线代表标准误. Bar indicated standard error

鸭梨损伤接种 *A. alternata* 后, 果实病斑面积不断扩大, 随超声波结合 50 °C 热处理时间的增加, 病斑面积减小, 病斑扩展受到抑制。如图 3-2A 接种后第 5 天时, 超声波结合热处理 5 min 的果实无发病情况, 而超声波结合热处理 3 min 果实病斑面积达到 17.1 mm², 但比对照低 79 %; 图 3-2B 接种后第 10 天, 声热结合处理 5 min 比声热结合 3 min 处理果实的病斑面积小 99 %, 而声热结合 3 min 处理果实病斑面积与对照已无明显差别。

随处理时间的延长, 果实损伤接种发病率明显降低。图 3-2C, 接种后第 5 天, 超声波结合热处理 3 min 果实的发病率 52 %, 比对照降低了 48 %, 而超声波结合热处理 5 min 无发病果实。图 3-2D, 接种后第 10 天, 超声波结合热处理 5 min 果实发病率比对照低 90 %, 比超声波结合热处理 3 min 低 55 %。

3.1.1.2.2.2 US+44 °C 不同处理时间对鸭梨损伤接种病斑面积和发病率的影响

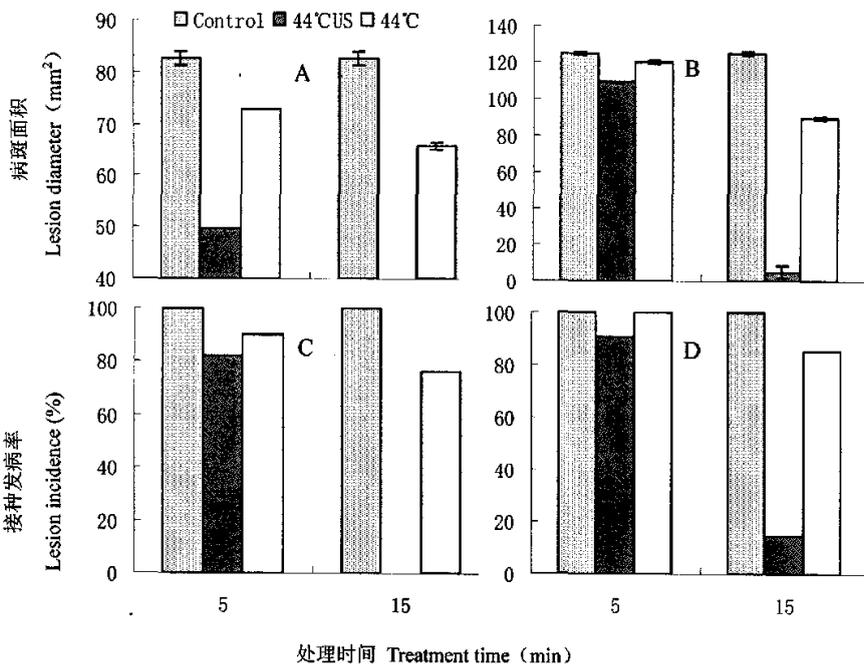


图 3-3 超声波结合热处理不同处理时间对鸭梨损伤接种 *A. alternata* 后病斑面积和发病率的影响

Figure 3-3 The effects on lesion area or lesion incidence of different treatment time of heat combined with ultrasound(44°CUS) or heat(44°C) after inoculation of Ya pear fruit with *A. alternata*. Fruits were evaluated for lesion area after 5(A) and 10 days (B). Lesion incidence was determined after 5(C) and 10 days (D) at 20°C.

图中竖线代表标准误。Bar indicated standard error

鸭梨损伤接种 *A. alternata* 后, 经过超声波结合 44 °C 热处理病斑面积和发病率明显降低, 并随着处理时间的增加病斑面积减小, 发病率降低。从图 3-3A 可见, 接种后第 5 天果实已经发病, 超声波结合热处理 5 min 病斑面积比对照降低了 40 %, 而超声波结合热处理 15 min 的果实还未出现发病情况。图 3-3B 接种后第 10 天时, 超声波结合热处理 15 min 果实病斑面积比超声波结合热处理 5 min 病斑面积低 95 %。

随处理时间的延长,果实损伤接种发病率明显降低。图 3-3C,接种后第 5 天,超声波结合热处理 5 min 果实发病率为 80%,比对照低 20%,而超声波结合热处理 15 min 无发病果实;图 3-3D,接种后第 10 天,超声波结合热处理 15 min 果实发病率为 15%,比超声波结合热处理 5 min 果实发病率低 70%,比对照低 85%。

3.3.1.1.2.1.1 不同超声波热处理时间对鸭梨损伤接种后病斑面积和发病率的影响

表 3-2 不同超声波热处理时间对鸭梨损伤接种 *P. expansum* 果实病斑面积和发病率的影响*

Table 3-2 Effects of different treatment time of heat combined with ultrasound on lesion area or fruit incidence of

inoculation with <i>P. expansum</i>		
处理	病斑面积 (mm ²)	发病率 (%)
对照	408f	92e
Heat+US 5min	119d	65c
Heat+US 10min	53a	47a
Heat 5min	243e	83d
Heat 10min	82c	58b
Heat 20min	68b	50a

*接种后第 14 天测定值

鸭梨损伤接种 *P. expansum* 后,经超声波结合热处理及单独热处理的病斑面积和发病率均有降低,并且病斑面积和发病率随处理时间的延长而减小。由表 3-2 中所示,单独热处理 20 min 后, *P. expansum* 在鸭梨上引起的病斑面积明显降低,比对照、单独热处理 5 min、单独热处理 10 min 后的病斑面积分别减小了 83%、40%和 17% ($P=0.05$)。超声波结合热处理 10 min 的病斑面积比对照减小了 87%,比超声波结合热处理 5 min 病斑面积减小了 55%。

同样可以发现,超声波结合 10 min 热处理的鸭梨病斑面积比单独热处理 20 min 的病斑面积小 22%,发病率略有减小但不显著。鸭梨果皮在单独热处理 20 min 后有轻微褐变出现,而超声波结合热处理 10 min 后的鸭梨果皮未有肉眼可见的褐变出现。

3.1.1.2.3 超声波结合不同热处理温度对病害的影响

3.1.1.2.3.1 超声波结合不同热处理温度对鸭梨损伤接种 *P. expansum* 后病斑面积和发病率的影响

鸭梨损伤接种 *P. expansum* 并经过不同方式处理后发病率和病斑面积如图 3-4 所示。与对照相比,热处理以及热结合超声波处理方式不同程度上均显著降低了损伤接种鸭梨果实的发病率和病斑面积大小。图 3-4A,第 4 天时,与对照果实发病率为 100%相比,超声波结合 50 °C 热处理的果实发病率为 0,超声波结合 44 °C 热处理果实发病率仅为 8%;第 8 天时发病率略有增加,但仍保持低发病率,超声波结合 50 °C 热处理的果实发病率比对照低 98%;超声波结合 44 °C 热处理的果实发病率显著低于对照 79%。

超声波结合热处理明显降低了发病果实的病斑面积。图 3-4B,在接种后第 8 天,超声波结合 44 °C 热处理果实的病斑面积低于对照 98%。而超声波结合 50 °C 热处理果实基本没有发病。

超声波结合 50 °C 热处理以及超声波结合 44 °C 热处理分别比其相应温度单独热处理果实的发病率低、病斑面积小 ($P \leq 0.05$) 并且极明显优于对照组。超声波结合 50 °C 热处理对青霉病控制效果好于超声波结合 44 °C 热处理。

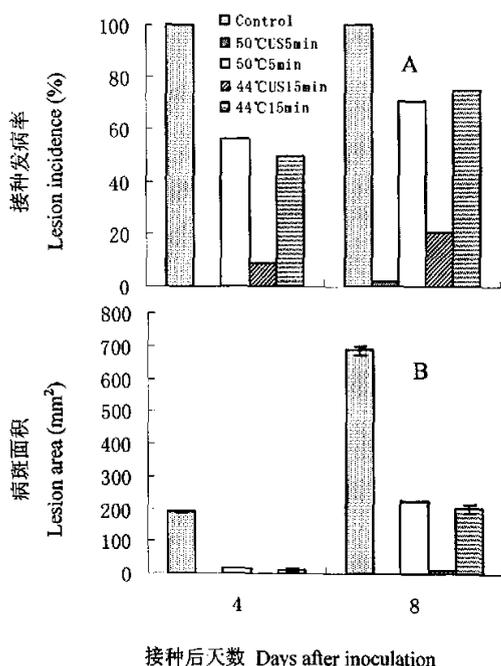


图 3-4 超声波结合不同热处理温度对鸭梨损伤接种 *Penicillium expansum* 后发病率 (A) 和病斑面积 (B) 的影响

Figure 3-4 The effects on lesion incidence (A) and lesion area (B) of different treatment temperature of heat combined with ultrasound after inoculation of Ya pear fruit with *P.expansum*. Fruit were evaluated at 20°C.

图中竖线代表标准误. Bar indicated standard error

3.1.1.2.3.2 超声波结合不同热处理温度对鸭梨损伤接种 *A. alternata* 后病斑面积和发病率的影响

鸭梨损伤接种 *Alternaria alternata* 并经过不同方式处理后, 病斑面积均呈不断扩大趋势。与对照相比, 热处理以及热结合超声波处理方式不同程度上均明显降低了损伤接种鸭梨果实的病斑面积大小。如图 3-5 A 所示, 在第 4 天时, 超声波结合 50 °C 热处理果实的病斑面积低于对照果实 96%, 超声波结合 44 °C 热处理低于对照 91%; 第 8 天时, 超声波结合热处理的病斑面积增加, 但仍明显小于对照 ($P \leq 0.05$)。

超声波结合热处理明显降低了损伤接种果实的发病率。从图 3-5 B 可见, 在接种后第 4 天, 超声波结合 50 °C 热处理果实发病率为 40%, 比对照降低了 60%; 超声波结合 44 °C 热处理果实发病率为 59%, 比对照降低了 41%。第 8 天时, 超声波结合 50 °C 热处理果实发病率比对照低 21%; 超声波结合 44 °C 热处理果实发病率比对照降低了 10%。

如图可见, 在发病过程中, 超声波和热结合处理的果实病斑面积、发病率均明显小于单独热处理病斑面积。

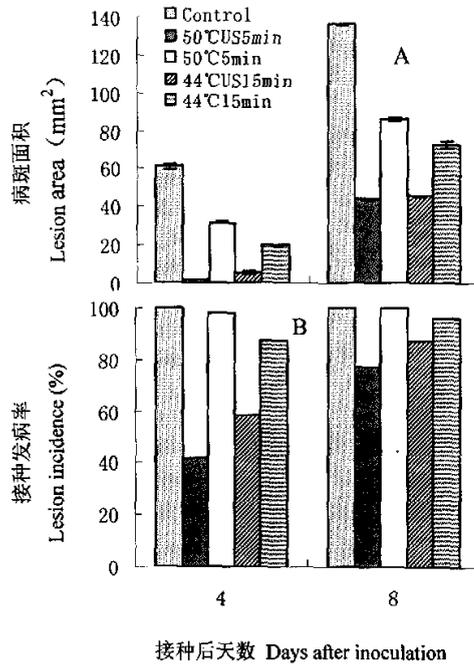


图 3-5 超声波结合不同热处理温度对鸭梨损伤接种 *Alternaria alternata* 后病斑面积 (A) 和发病率 (B) 的影响

Figure 3-5 The effects on lesion area (A) and lesion incidence (B) of different treatment temperature of heat combined with ultrasound after inoculation of Ya pear fruit with *A.alternata*. Fruit were evaluated at 20°C. 图中竖线代表标准误. Bar indicated standard error

3.1.1.2.4 超声波结合热处理对果实自然腐烂发病率的影响

表 3-3 超声波结合热处理对果实自然腐烂*发病率的影响

Table 3-3 Effects of ultrasound combined with heat treatments on naturally infected, unwounded pears at 20 °C

贮藏期 (天)	处理	自然腐烂发生率 (%)
45	对照	71c
	50 °C 热处理 5 min	37b
	超声波结合 50 °C 热处理 5 min	29a
60	对照	83c
	50 °C 热处理 5 min	50b
	超声波结合 50 °C 热处理 5 min	40a

*引起鸭梨采后自然发病的主要病原菌有：链格孢 (*Alternaria alternata*) ,扩展青霉 (*Penicillium expansum*) , 分别引起鸭梨果实的黑斑病、青霉病。

实验表明,完好果实经处理后 20 °C 条件下放置受病原物侵染的情况及其严重程度受果实预先处理的影响。如表 3-3 所示,超声波结合热处理明显降低了鸭梨果实的自然发病率,发病率最低。放置 60 天时,超声波结合热处理果实的自然发病率仅为 40%,比单独热处理低 20%,比对照低 52%。

3.1.1.3 讨论

研究表明,鸭梨损伤接种后单独使用功率超声波处理未对鸭梨病害的发生及发展造成可见影响,随着功率超声波单独处理时间的增加也并未见到病斑面积和发病率有所变化。在这种频率强度及处理条件下超声波不能起到对真菌孢子萌发生长的抑制作用。超声波单独作用并不能有效地杀灭食物中的细菌^[6]。有报道指出,超声波室温处理不能有效抑制 *L.monocytogenes* ^[69]。超声波处理鸡肉实验中,对鸡皮表面的 *Salmonella* 未起到任何作用^[70]。用 20KHz 超声波分别处理 *L.monocytogenes*、*S.typhimurium* 和 *E.coli* 水溶液,病原菌生存无明显不同^[29]。在非致死温度下超声波对 *Saccharomyces cerevisiae* 的生长无影响^[71]。也有一些关于超声波本身可以杀死、抑制微生物的报道。Ince 和 Belen (2001) ^[42]发现用 20KHz 超声波处理大肠杆菌水溶液随处理时间增加大肠菌数降低。Scherba et al^[72]研究中发现,不同超声波强度和不同处理时间对 *P.aeruginosa*、*B.subtilis*、*S.aureus* 具有不同程度的抑制效果。

超声波对细菌^[73,39,41,69]、对产生芽孢微生物^[74]和对霉菌^[75]作用效果已有所研究,然而由于物理参数,如超声波频率、强度,超声波水浴的大小、形状、深度、液体的体积、温度和液体介质的特性、处理时间等的不同,各研究间很难做出比较^[76]。另外不是所有微生物对超声波具有相同敏感性,不同种类的微生物对于超声波的抗性也有着广泛不同,因为不同种类的微生物细胞壁结构有所不同,超声波的作用效果不同。细菌芽孢比营养体对超声波更具抵抗力,真菌比营养体细菌对超声波的抗性强,通常真菌对高强度超声波有较强的抵抗力^[77]。超声波处理,只有在足够高强度下可以引起细胞的死亡^[78,79,80];在不会对食品的营养和感官特性上引起改变的超声波水平上,不可能有效地杀死目前出现的微生物^[8]。

低频率高强度超声波由于具有空化作用,可以产生清洗效果,本实验中未做出超声波对鸭梨果实上损伤接种病原孢子清洗效果的试验,但是从单独超声波处理的作用效果来看,病斑面积和发病率与对照并无明显差异,这种清洗作用对控制病害并无明显作用。有研究报道,超声波处理频率 25, 32-40, 62-70KHz 对于新鲜果菜上的微生物净化作用无明显影响,因此通过此法来延长货架期是根本不可能的^[81]。这同样与使用超声波的特性、处理的水的硬度,溶解的气体密切相关以及病原孢子在寄主上黏附的状况有关。

由上,实验中单独超声波处理损伤接种病原孢子后的鸭梨果实,未引起病害状况的改变也是不足为奇的。本实验表明,使用单独热处理可以降低鸭梨果实的损伤接种发病率和自然发病率,能够抑制损伤接种病原菌后果实病斑面积的扩大,明显降低自然发病率。分别采用 44 °C 和 50 °C 单独热处理条件均可以对 *P.expansum* 和 *A.alternata* 病原菌侵染起到一定的控制作用。单独热处理能够直接抑制、杀死萌发的孢子或对芽管的伸长有明显直接的抑制效果^[5],对采后果实病害起到抑制作用,但是有效性则依靠处理的时间和温度。随着处理时间的增加,发病率和腐烂的严重程度降低,对病斑扩展抑制效果增强;随处理温度的升高,对病害控制效果更好。

采用 50 °C 处理 20 min 病情虽得到明显控制，但是鸭梨表皮已有可见的褐变发生，对果实外观造成了一定影响。

当超声波和热结合处理，则表现出对鸭梨采后病害的发生及发展极好的控制效果。超声波结合热处理能够较长时间延缓损伤接种 *P. expansum* 和 *A. alternata* 病原菌病害的发生时间、明显降低发病率，并且可以减轻发病的严重程度。由于同时结合超声波的使用，热处理的有效性被极大地提高；类似的发现在以前的研究中有所报道^[30,82,83,32]。Ordonez et al. (1984)^[31] 研究表明热声结合处理与单独的热处理和单独超声波处理相比，在处理时间和能量消耗上更为有效的多。McClements(1995)^[7]也表示当超声波和其他抑菌技术如热、pH 或氯结合使用时对微生物的抑制作用才是十分有效的。有研究表明，超声波结合热处理 *Aspergillus flavus* 和 *Penicillium expansum* 的营养悬浮液获得的 D 值比单独热处理的低。通常超声波被用作增强其他抗微生物手段的效力^[11,7,83]，因为超声波和其他保藏技术如结合热使用时加强了对微生物的扰乱作用而使其受到更为强烈的抑制^[84]。真菌孢子抗逆境能力比较强，不易受到外界因素的影响，但由于超声波空化效应产生的微射流、爆炸、强烈的涡流和切削作用，使得萌发的孢子及潜伏侵染的孢子更易受到外界逆境环境的影响，对热更为敏感，因此使得热杀灭的有效性显著提高。

研究中发现，较低温度热（44 °C）结合超声波长时间处理对鸭梨采后病害有较好的控制效果，但是超声波结合较高热处理温度（50 °C），在较短时间内就能够十分有效的抑制鸭梨采后病害，而这种抑制效果是延长单独热处理时间所不能达到的。图 3-2、图 3-3 及表 3-2 中均有体现。表 3-2 中，在接种后 14 天时，超声波结合 10 min 热处理的鸭梨病斑面积比单独热处理 20 min 的病斑面积小 22 %，50 °C 热单独处理 20 min 对病情虽得到明显控制，但是鸭梨表皮已有可见的褐变发生，对果实品质、外观造成了一定影响。超声波结合热处理可以缩短处理时间，处理时间的降低使得产品品质得到了改进^[6,85]。

3.1.2 接种后不同培养时间下超声波结合热处理对腐烂的控制

3.1.2.1 材料和方法

3.1.2.1.1 材料

鸭梨，2004 年 11 月购于北京明光村水果市场。挑选大小一致，无机械伤、病虫害果实备用。

将 4 °C 冰箱冷藏的 *P. expansum* 和 *A. alternata* 保藏菌种于新配制的 PDA 培养基上转接活化，于 27 °C 恒温培养箱培养 2-3 周后备用。

3.1.2.1.2 方法

(1) 损伤接种：

P. expansum 和 *A. alternata* 孢子悬浮液配制及鸭梨损伤接种方法同 3.1.1.1.2 (1) 中方法。损伤接种后的鸭梨置于 20 °C 下放置培养不同时间后进行热及超声波结合热处理。

(2) 热及超声波结合热进行处理

将接种后放置培养不同时间的鸭梨按照设定的时间分别进行处理。操作同 3.1.1.1.2 (2) 中方法。

(3)测定方法

病斑直径测量：十字交叉法测量病斑直径

接种发病率 (%) = (果实发病总孔数/果实接种总孔数) × 100%

(4)数据处理

用 EXCEL 软件分析所有数据，计算标准误并制图，SPSS 软件 Duncan 多重比较法进行差异性分析。

3.1.2.2 结果与分析

3.1.2.2.1 超声波结合热处理对鸭梨损伤接种 *P. expansum* 后病斑面积和发病率的影响

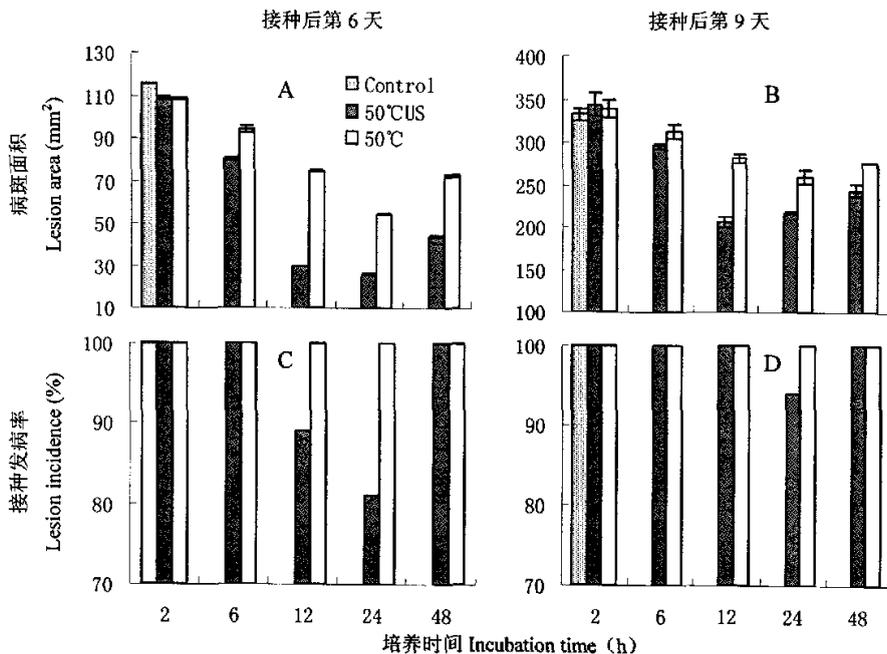


图 3-6 损伤接种 *Penicillium expansum* 后不同培养时间下超声波结合热处理对病斑面积 (A、B) 和接种发病率 (C、D) 的影响 (处理时间均 5min)

Figure 3-6 The effects on lesion area(A、B) and lesion incidence(C、D) of heat combined with ultrasound treatment for 5mins, applied at various times after inoculation of Ya pear fruit with *P. expansum*. Fruit were evaluated after 6 and 9 days inoculation at 20°C.

图中竖线代表标准误. Bar indicated standard error

由图 3-6A、B 所示，鸭梨损伤接种 *P. expansum* 后，超声波结合热处理的果实在发病过程中一直保持最小的病斑面积。随着对损伤接种后鸭梨果实上病原菌培养时间的增加，这种对病原菌扩展的抑制效果更为明显。鸭梨损伤接种青霉菌病原菌培养一定时间后进行处理果实的病斑面积均分别有所降低。第 6 天时，损伤接种培养 2 h 后经超声波结合热处理果实病斑面积大小与对照无明显差别，6 h 培养后经声热结合处理果实病斑面积已有所降低，比对照减小了 31%，培养 12h 后经声热处理比对照明显减小了 75%，培养 24 h 后明显减小了 78%，培养 48 h 后减

小了 62%；第 9 天时，不同培养时间处理后果实病斑面积的差异性仍然明显存在，以培养 12 h 和 24 h 后进行超声波结合热处理的果实病斑面积最低，分别比对照小 38%和 35%。

鸭梨损伤接种 *P. expansum* 培养不同时间后，超声波结合热处理果实的发病率也明显降低，并随着培养时间的增加处理的发病率降低。图 3-6C，第 6 天，培养 24 h 后超声波结合热处理果实的发病率为 81%，比培养 12 h 后同处理果实的发病率低 9%，其他处理均已完全发病。随着病程的增加，图 3-6D，第 9 天时，各处理的果实基本完全发病。

超声波结合热处理在果实损伤接种 *P. expansum* 培养 12 h 和 24 h 处理效果最好。超声波结合热处理果实的病斑面积和发病率都明显小于单独热处理。但随着发病时间的增加，差异性逐渐缩小。

3.1.2.2.2 超声波结合热处理对鸭梨损伤接种 *A. alternata* 后病斑面积和发病率的影响

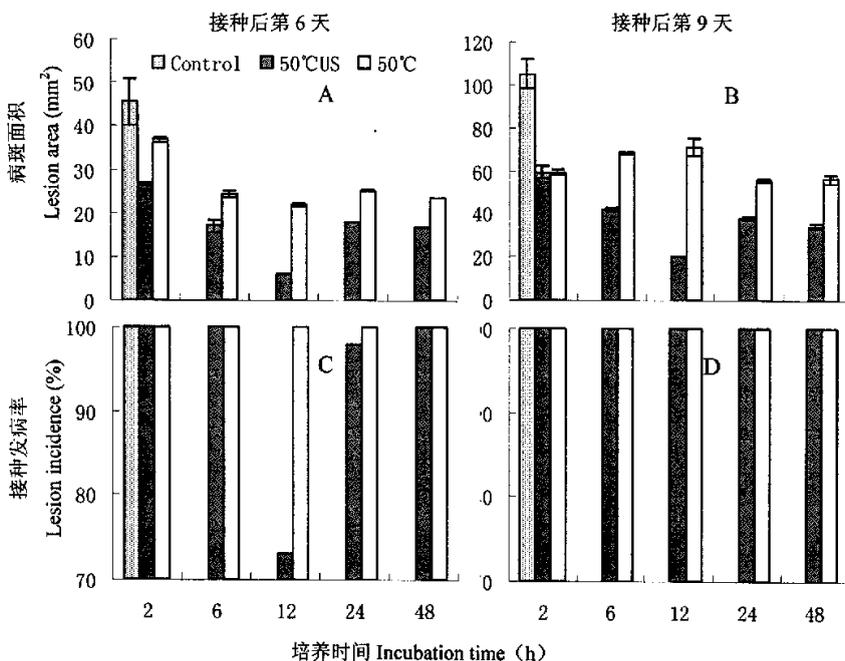


图 3-7 损伤接种 *Alternaria alternata* 后不同培养时间下超声波结合热处理对病斑面积 (A、B) 和接种发病率 (C、D) 的影响 (处理时间均 5min)

Figure 3-7 The effects on lesion area(A、B) and lesion incidence(C、D) of heat combined with ultrasound treatment for 5mins, applied at various times after inoculation of Ya pear fruit with *A. alternata*. Fruits were evaluated after 6 and 9 days inoculation at 20°C.

图中竖线代表标准误。Bar indicated standard error

鸭梨损伤接种 *A. alternata* 后，超声波结合热处理的果实发病过程中一直保持最小的病斑面积。随着对损伤接种后鸭梨果实上病原菌培养时间的增加抑制效果更为明显。如图 3-7A、B，鸭梨损伤接种 *A. alternata* 病原菌按不同培养时间进行处理，果实的病斑面积均分别明显降低。第 6 天时，损伤接种培养 2 h 后经超声波结合热处理果实病斑面积已有所降低，比对照减小 41%，6 h 培养后经声热结合处理果实比对照减小了 63%，培养 12 h 后经声热处理后果实病斑面积已达到最小，比对照明显减小了 86%，培养 24 h 后减小了 60%，培养 48 h 后减小了 63%；第 9

天时,不同培养时间处理后果实病斑面积的差异性仍然明显存在,以培养 12 h 后进行超声波结合热处理的果实病斑面积最低,比对照小 81%。

由此可见,鸭梨损伤接种 *A. alternata* 培养 12 h 以内进行超声波结合热处理随着培养时间的增加病斑面积减小,而超过 12 h 后处理,对病斑面积扩展效果的抑制并不是最佳。

鸭梨损伤接种 *A. alternata* 培养不同时间后,超声波结合热处理果实的发病率有所降低。图 3-7C、D,第 6 天时,培养 12 h 后超声波结合热处理果实的发病率最低,为 74%,而对照已全部发病。随着病程的进展,第 9 天时,各处理的果实完全发病。

超声波结合热处理在果实损伤接种 *A. alternata* 培养 12 h 后处理效果最好。在整个病程中,鸭梨损伤接种在不同培养时间后,经过超声波结合热处理果实的病斑面积和发病率都明显小于单独热处理,并且随着发病时间的增加,显著的差异性仍得到保持。

3.1.2.3 讨论

有研究表明,果实在损伤接种后一定时间进行热处理会对病害的发生有较好的控制效果。损伤接种 *P. italicum* 的柚子试验表明柚子在接种后 36 h 后于 50 °C 热水中浸泡 2 min 能有有效的对抗病原菌生长^[86]。苹果上损伤接种 *P. expansum* 6 h 和 12 h 后进行热处理导致了最小的病斑直径^[87]。本实验表明,鸭梨在分别损伤接种了 *P. expansum* 和 *A. alternata* 后,随着培养时间的延长,经热处理后的鸭梨病斑直径和发病率呈减小趋势,培养 12 h 进行热处理得到了较小的病斑面积和发病率,随着培养时间的继续增加,病斑面积和发病率呈增加趋势。

由于超声波的结合使用,显著提高了热作用效率,将接种的两种病原菌在培养 12 h 进行声热结合处理均得到了最小的病斑面积和最低的发病率。在这段时间内,病原菌孢子的芽管正在萌发,处于对外界影响最敏感的阶段,热处理本身就可以对萌发的孢子和对芽管的伸长有直接明显的抑制效果^[87],由于超声波的使用,空化对萌发中的孢子产生了扰乱作用,空化过程中压力的迅速交替以及产生的微型机械冲击可能造成细胞壁的破裂,芽管细胞伸长过程中细胞膜受到影响^[88]而使热的作用更为有效地表现出来。

在整个实验中,由于空化效应的协助,使得结合了超声波的热处理均比相应的单独热处理对病害抑制效果好,这也同样和孢子萌发情况有密切关系。在接种后培养前 6 个小时内,孢子还未萌发对热作用不敏感;在接种的 48 h 后,有肉眼可见的菌丝体生成,由于菌丝体的相互缠绕集结削弱了超声波空化效果,降低了热杀灭和抑制的效率。鸭梨损伤接种培养 12 h 后的病原菌经超声波结合热处理后在发病后期依然能够保持相对较轻的病情,但热也不能提供长效保护^[87]。

对于采后处理而言这些发现是十分重要的。通常采后处理都要在采收的随后天里进行的。接种后 48-72 h 后的处理不能十分有效地对控制腐烂的发展。然而,接种体的生长潜能能够被处理显著影响,果实受霉菌孢子侵染的发生率显著降低。当损伤接种后 5-72 h 进行处理,病原菌生长同样可被抑制^[5]。

3.2 超声波结合热处理对鸭梨抗病性的影响原因分析

3.2.1 超声波结合热处理对鸭梨抗性诱导的影响

3.2.1.1 材料和方法

3.2.1.1.1 材料

鸭梨及病原菌的准备同 4.1.2.1.1 材料。

3.2.1.1.2 方法

(1)热及超声波结合热处理：将新鲜鸭梨先按照设定的热处理温度和时间进行热、超声波结合热处理。处理完毕室温下放置，待果实温度与室温基本相同时装筐，外罩 PE 袋于 20℃ 下放置 48h 后进行接种。接种后待孔中液体稍干装入塑料管外罩 PE 袋室温放置。

(2)损伤接种：同 3.1.1.1.2(1)。

(3)测定方法：同 3.1.2.1.2(3)。

(4)数据处理：同 3.1.2.1.2(4)。

3.2.1.2 结果与分析

鸭梨果实经过各处理后分别进行 *P.expansum* 和 *A.alternata* 接种并未引起明显的抗性增强效果。由图 3-8 可见，在整个病程中，各处理与对照间的病斑面积并无明显差异。单独超声波处理、热处理和超声波结合热处理并未增加果实对病原菌侵染的抗性。

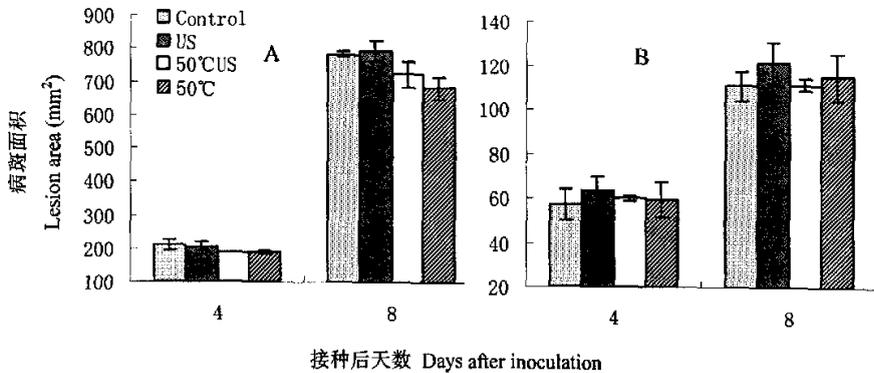


图 3-8 热结合超声波前处理对鸭梨损伤接种 *Penicillium expansum* (A)和 *Alternaria alternata* (B)病斑面积的影响(处理时间均 5min)

Figure 3-8 Effect of heat combined with ultrasound prestorage treatment for 5mins on lesion area of fruit inoculated with spores of *P.expansum* (A) and *A.alternata* (B) respectively.

3.2.2 孢子液热处理后再损伤接种到果实上

3.2.2.1 材料和方法

3.2.2.1.1 材料

鸭梨及病原菌的准备同 3.2.1.1 材料。

3.2.2.1.2 方法

(1)配制孢子悬浮液：取活化后的 *P. expansum* 和 *A. alternata* 的 PDA 平板培养基，用无菌水分别将两种病原菌配制成 10^4 个孢子/mL 的孢子悬浮液（血球计数板计数）。现用现配。

(2)处理孢子悬浮液：取同样量的孢子悬液置于同一型号的不同玻璃锥形瓶内，分以下几组处理：浸泡于 50 °C 水浴中、浸泡于 50 °C 水浴同时结合超声波处理。室温孢子悬液做对照。处理后的孢子悬液随即用于鸭梨的损伤接种。

(3)损伤接种：同 3.1.1.1.2(1)中接种方法。接种后的鸭梨在 20 °C 下保湿放置。

(4)数据处理：同 3.1.2.1.2(4)。

3.2.2.2 结果与分析

3.2.2.2.1 *P. expansum* 孢子悬浮液经超声波结合热处理后对损伤接种病斑面积和发病率的影响

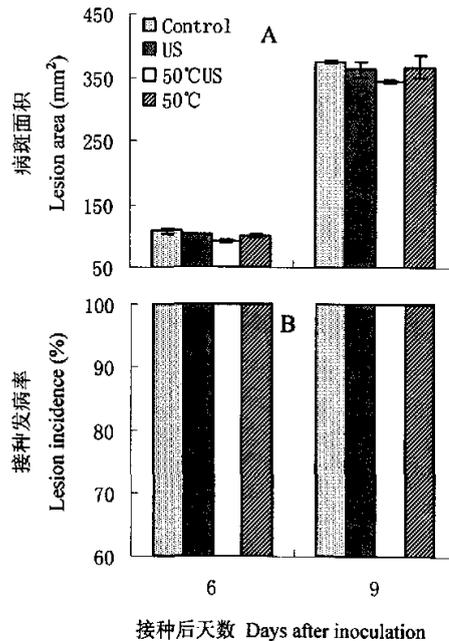


图 3-9 热结合超声波预处理 *Penicillium expansum* 孢子悬浮液后对鸭梨损伤接种病斑面积 (A) 和发病率 (B) 的影响 (处理时间均 5min)

Figure 3-9 The effects on fruit lesion area (A) and lesion incidence (B) of heat combined with ultrasound treatment for 5mins on *P. expansum* spore suspend before the inoculation.

图中竖线代表标准误。Bar indicated standard error.

从图 3-9A 可以看到, 在接种后第 6 天发病前期, 经过超声波结合热处理的 *P. expansum* 孢子液接种在鸭梨果实上的病斑面积比对照小 15%, 随着发病时间的增加, 病斑面积扩展的大小和对照基本一致。

经超声波结合热处理的 *P. expansum* 孢子液接种在鸭梨果实上并未延缓腐烂的发生时间, 如图 3-9B 所示, 从发病初期接种后第 6 天, 各处理的果实和对照果实均已完全发病。

单独超声波处理以及单独热处理后的 *P. expansum* 孢子液接种在鸭梨果实上的病斑面积与对照无明显差别。

3.2.2.2.1 *A. alternata* 孢子悬浮液经超声波结合热处理后对损伤接种病斑面积和发病率的影响

经过超声波结合热处理的 *A. alternata* 孢子液接种在鸭梨果实上引起的病斑面积在发病初期明显受到抑制, 随后与对照的差异减小。由图 3-10A, 在第 6 天时, 比对照的病斑面积减小 58%。经过单独热处理的 *A. alternata* 孢子液接种在鸭梨果实上引起的病斑面积也有减小, 比对照低 46%, 随着发病时间的增加, 接种后第 9 天时, 病斑面积的大小与对照无明显差别。

经超声波结合热处理的 *A. alternata* 孢子液接种在鸭梨果实上降低了腐烂发病率。图 3-10B 接种后第 6 天, 发病率比对照降低了 33%, 第 9 天比对照降低 12%。

经过单独超声波处理的 *A. alternata* 孢子液所引起的病斑面积大小和发病率与对照并无明显差别。

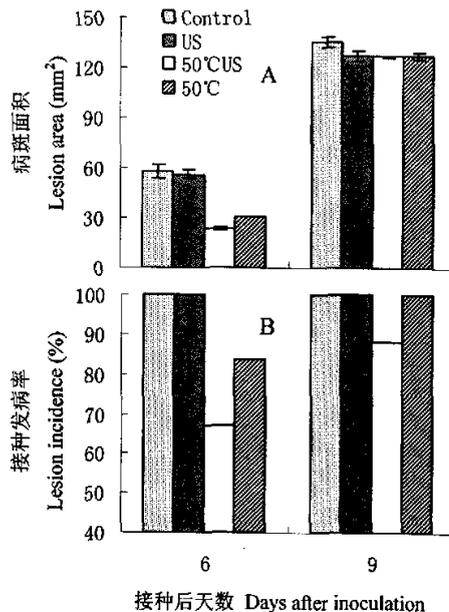


图 3-10 热结合超声波预处理 *Alternaria alternata* 孢子悬浮液后对鸭梨损伤接种病斑面积 (A) 和接种发病率 (B) 的影响 (处理时间均 5min)

Figure 3-10 The effects on fruit lesion diameter (A) and lesion incidence (B) of heat combined with ultrasound treatment for 5mins on *A. alternata* spore suspend before the inoculation.

3.2.3 损伤接种后进行热处理对鸭梨果实酶活性的影响

3.2.3.1 材料和方法

3.2.3.1.1 材料

鸭梨及 *Penicillium expansum* 病原菌的准备同 3.1.2.1.1 材料。

3.2.3.1.2 方法

(1)损伤接种：同 3.1.1.1.2(1)方法

(2)热及超声波结合热进行处理：同 3.1.1.1.2(2)

(3)取样方法：果实接种经处理后，根据发病情况和病斑大小定期取样，取病健交界处果肉组织（宽深均为 1-2 cm 左右），剔除腐烂组织。每处理每次取 36 个发病点病健交界处果肉。取样组织经液氮冷冻后再破碎混合，-20 ℃下保存待用。

(4)POD、PPO 酶的提取及活性测定：

称取 5.0 g 果实样品，加入 2 ml 100 mM、pH 5.5 的醋酸缓冲液（含 8% (w/v) PVPP，1 mM 聚乙二醇 6000，1 mM 苯甲基磺酰氟（PMSF）和 0.01% (v/v) Triton X-100）在冰浴条件下充分研磨匀浆，然后于 4 ℃、12,000×g 离心 30 min，收集上清液用于 POD、PPO 酶活性测定。

参考 Lurie 等（1997）方法^[59]测定 POD 活性并改进。反应体系由 2.5 ml 25 mM 愈创木酚溶液（用 50 mM、pH 5.5 的醋酸缓冲液溶解）、0.2 ml 250 mM H₂O₂ 溶液和 0.5 ml 酶液组成。从加酶液后 1 min 开始记录每分钟反应体系在 470 nm 的吸光度值，连续测定 4 min。酶活性表示为 $\Delta OD_{470} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 冻样。重复 3 次。

参考 Chen 等（2000）方法^[89]测定 PPO 活性并改进。反应体系由 5 ml 50 mM、pH 5.5 的醋酸缓冲液、0.5 ml 0.1 mM 邻苯二酚溶液和 100 μl 酶液组成。从加入酶液 1min 开始记录每分钟反应体系在 420 nm 的吸光度值，连续测定 4 min。酶活性表示为 $\Delta OD_{420} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 冻样。重复 3 次。

(5)数据统计：用 EXCEL 软件进行数据分析，计算平均值以及标准误。

3.2.3.2 结果与分析

3.2.3.2.1 超声波结合热处理对损伤接种果实 POD 活性的影响

损伤接种后的鸭梨果实经过超声波结合热处理后，果肉组织中的 POD 酶活性高于经热单独处理果实中 POD 酶活性，并明显高于对照。图 3-11，发病前期，接种后第 7 天，超声波结合热处理的果肉 POD 活性比对照明显增加 21%，高于单独热处理 13%。随发病时间的增加，接种后第 14 天，超声波结合热处理的果肉 POD 活性高于对照 11%。

3.2.3.2.1 超声波结合热处理对损伤接种果实 PPO 活性的影响

鸭梨损伤接种后，经过超声波结合热处理的果实中 PPO 活性最高。接种后第 7 天，声热结合处理果肉中 PPO 活性明显高于对照果实 27%，接种后第 14 天，仍高于对照 17%。

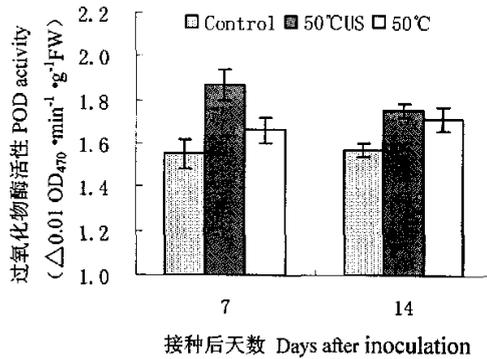


图 3-11 超声波结合热处理对鸭梨损伤接种 *P. expansum* 后果实过氧化物酶活性的影响 (处理时间均 5min)

Figure 3-11 Effects of heat combined with ultrasound treatment for 5mins on peroxidase (POD) activity of Ya pear inoculated with spores of *P. expansum*

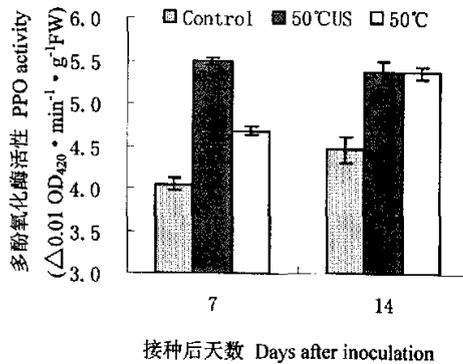


图 3-12 超声波结合热处理对鸭梨损伤接种 *P. expansum* 后果实多酚氧化酶活性的影响 (处理时间均 5min)

Figure 3-12 Effects of heat combined with ultrasound treatment for 5mins on polyphenol oxidase (PPO) activity of Ya pear inoculated with spores of *P. expansum*

3.2.4 讨论

损伤接种后的鸭梨经超声波结合热处理具有低发病率和较小的病斑面积,对病害发生具有较好控制效果,减轻病害发生程度的原因分析如下。

(1) 有研究报道指出,热处理本身可以诱导完好果实增强抵抗病原物侵染的能力^[90]。但我们的研究发现,完好的鸭梨果实先经过热处理(50°C+US, 5 min或44°C+US, 15 min)后再接种病原菌(*P. expansum*, *A. alternata* respectively)并未引起病害发生情况的改变,即完好的鸭梨果实经过热处理并未明显增加自身整体对病原菌侵染的抵抗能力,对侵染性病害并未起到预防控

制作用。Leverentz et al. (2000)^[91] 表示, 如果在热处理前对果实先进行接种, 接下来的热处理确实可以明显降低果实发生腐烂的程度, 但是将果实先进行热处理后再接种病原物则会增加果实的腐烂。除非果实受到病原菌的侵染或是受到损伤, 热处理本身并不会刺激完好柠檬和柚子果实内部对抗病原的木质素和植物抗毒素含量的增加^[5]。超声波的使用可以显著提高热杀菌的效率, 但是, 并不能引起鸭梨整个果实自身对热反应的敏感性改变。

本实验模拟商业上热水处理条件 (50-58℃, 数秒至数分钟), 采用50℃热水结合超声波5 min能明显降低自然发病率和减轻损伤接种的病情, 但不是由鸭梨整果本身抗病性的增加造成的。

(2) 热处理具有植物杀菌剂的作用^[87], 可以直接抑制或直接杀死萌发的孢子, 对芽管的伸长有明显直接的抑制效果, 但热水处理对于杀灭休眠的孢子无效^[5, 92]。

实验中采用热处理对 *P. expansum* 和 *A. alternata* 孢子水悬浮液进行体外实验表明, 单独热处理不能有效地抑制 *P. expansum* 孢子的侵染能力, 超声波和热结合处理也未出现明显的抑制效果。单独热处理对 *A. alternata* 孢子的侵染力具有一定的抑制效果。当超声波和热结合处理, 则对 *A. alternata* 孢子产生了更为明显的抑制效果, 降低了病斑直径和发病率。超声波的空化作用协同热的效应在一定程度上抑制了孢子萌发, 减轻了病害。

超声波结合热处理孢子水悬浮液体现了不同的作用效果, 因为超声波对于不同种类微生物以及不同种类微生物细胞壁结构的作用效果不同^[93]。通常, 小圆形, 革兰氏阳性细菌, 芽孢, 真菌孢子对空化作用抵抗较强; 杆状, 原生质体和革兰氏阴性细菌则相对敏感^[9]。 *P. expansum* 孢子呈小圆形, 较 *A. alternata* 长棒状孢子对超声波空化作用的耐受强。另外, 空化作用对孢子外壁产生的机械冲击, 微射流以及搅动可能影响了孢子的水分活度使之升高, 更增加了孢子对热的敏感性。Palacios et al. (1991)^[44] 发现 *Bacillus Stearothermophilus* 由于受到超声波处理而对热的抗性降低, 表示对热抗性的降低是由于超声波改变了芽孢的水分活度状态造成的。由此, 超声波结合热处理可以较有效的抑制孢子萌发, 对减轻病害一定程度上起了积极作用。

(3) 由上, 超声波结合热处理可直接杀灭孢子、抑制孢子的萌发、抑制芽管的伸长, 这样产生了降低侵染病斑大小、降低腐烂的效果, 同样可以通过受侵染果实组织产生的生理反应来间接地影响腐烂的发展, 这种反应包括组织中产生抗真菌的物质, 防御酶活性的升高或是促进伤口愈合^[5, 94]。有人认为寄主细胞膜尤其是膜脂上具有感温体系, 接受高温后释放某种诱变剂, 诱导热击蛋白的合成, 产生植物体组织或细胞的结构变化及化学成分变化, 形成机械和化学屏障, 提高热击材料的免疫力。关于诱导剂有人认为是乙烯, 它能诱导POD及PPO的代谢氧化^[95]。实验中发现, 损伤接种经超声波结合热处理后的果肉组织中参与抗病的防御酶POD、PPO活性明显高于单独热处理和对照。果实在损伤接种后处理时, 伤口暴露于超声波条件下, 空化效应直接作用于寄主细胞, 超声波的刺激更增强了寄主细胞的这种生理反应, 同时结合热处理使自身细胞的抵抗力明显增加。

低频率高能量的超声波能够对细胞产生刺激作用^[22, 23, 24]。超声波通过改进细胞的质量传输机制, 加速细胞的新陈代谢过程提高细胞内相关酶的活性, 从而促进细胞生长和相应代谢产物的积累^[22]。超声波处理植物细胞可以在保持细胞生长的前提下有效刺激胞内次生代谢物。研究指出, 细胞内酶和底物的区域化也可因超声引起变化, 部分酶促反应得到激活; 超声的热效应也有可能影响植物细胞的主次代谢^[23]。由此, 超声波和热的协同作用使得寄主细胞本身抵抗力增加, 能够有效抑制病原菌的侵染扩张。

综上, 超声波的加入使用是产生较好地控制病害效果的关键。虽然它的单独使用在短时间对伤口上的病原物孢子无明显清洗作用, 对休眠的孢子不能起到有效地杀灭作用, 但是当结合热处理使用时, 通过空化作用提高了热的效率, 不仅能够非常有效地抑制孢子萌发, 芽管、菌丝的伸长, 同时刺激寄主细胞做出相应的抗病生理反应, 增强了受侵染部位的防御抵抗能力, 起到控制病原菌侵染发生前病斑的形成和阻断侵染发生后病斑的扩展。

3.3 超声波结合热处理对采后鸭梨品质生理生化影响

3.3.1 材料和方法

3.3.1.1 材料

鸭梨, 2004年9月采于北京郊区果园, 选择色泽, 大小均匀一致, 无机械损伤和病虫害果实备用。

3.3.1.2 方法

(1)处理方法: 鸭梨自果园运回后室温短期放置后进行处理。

对照: 不做任何处理; 超声波结合热处理。处理完毕外罩 PE 袋于 20℃下放置。

(2)测定方法:

果实硬度, 可溶性固形物含量, 可滴定酸含量测定方法同 3.2.1.2.2。

呼吸强度测定

用气相色谱法测定。称取鸭梨果实 1 kg 左右, 置于经空气平衡的 8 L 玻璃真空干燥器中, 密闭 30 min, 用 10 mL 注射器从干燥器顶部取出部分气体, 再从注射器中取 1 mL 气体, 用气相色谱测定, 根据制作的 CO₂ 标准曲线计算果实呼吸释放出的 CO₂ 含量, 果实呼吸强度以 mLCO₂·kg⁻¹·h⁻¹ 表示, 重复 3 次。气相色谱 (GC7890F, 上海天美公司) 配置有 CO₂ 转化炉、氢火焰检测器 (FID) 和不锈钢填充柱 (Porapak 80-100), 柱长 2 m。载气 N₂。进样温度 120 °C, 柱温 60 °C, 检测温度 360 °C。

$$\text{呼吸强度 (ml CO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}) = \frac{\text{测得的CO}_2\text{含量} \times (\text{玻璃罐体积} - \text{果实体积})}{\text{果实总重量} \times \text{密闭时间}}$$

乙烯释放量测定

用气相色谱法测定。称取鸭梨果实 1 kg 左右, 置于经空气平衡的 8 L 玻璃真空干燥器中, 密闭 60 min, 用 10 mL 注射器从干燥器顶部取出部分气体, 再从注射器中取 1 mL 气体, 用气相色谱测定, 根据制作的乙烯标准曲线计算果实释放出的乙烯含量, 以 μL·kg⁻¹·h⁻¹ 表示, 重复 3 次。气相色谱 (GC7890F, 上海天美公司) 配置 FID 检测器和不锈钢填充柱 (Porapak 80-100), 柱长 2 m, 内径 2 mm。载气 N₂。进样温度 120 °C, 柱温 60 °C, 检测温度 150 °C。

$$\text{乙烯释放量} (\mu\text{l kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{\text{测得的} C_2H_2 \text{含量} \times (\text{玻璃罐体积} - \text{果实体积})}{\text{果实总重量} \times \text{密闭时间}}$$

过氧化物 (POD)、多酚氧化酶 (PPO) 活性测定：取新鲜鸭梨果肉，经液氮冷冻后再破碎混合，-20℃下保存待用。测定方法同 3.2.3.1.2(4)方法。

3.3.2 结果与分析

3.3.2.1 品质

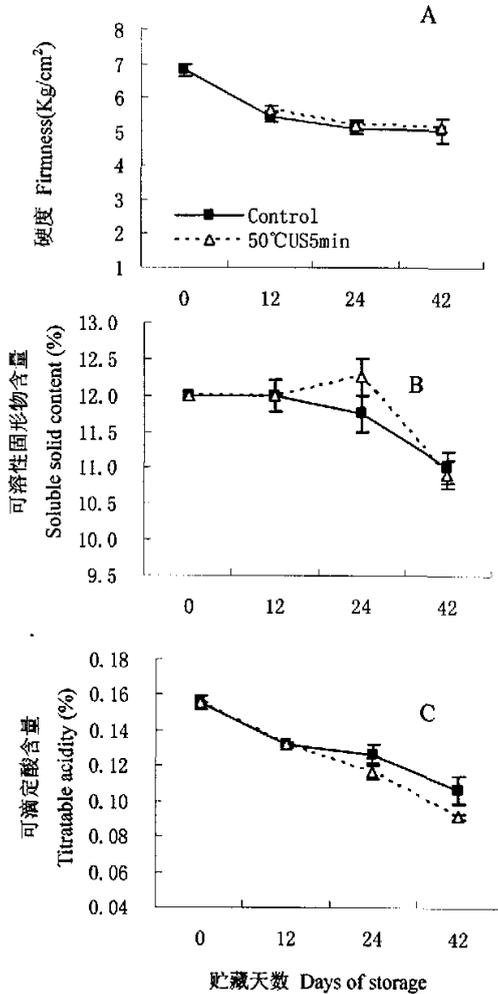


图 3-13 超声波结合热处理对鸭梨果实硬度 (A)、可溶性固形物含量 (B)、可滴定酸含量 (C) 的影响

Figure 3-13 Effects of heat combined with ultrasound on the firmness (A), total soluble solid (B), titratable acidity (C) of Ya pear fruit during storage at 20°C.

图中竖线代表标准误差 Bar indicated standard error of mean (n=3).

鸭梨采收后果实硬度呈逐渐下降趋势，在 20℃贮藏条件下，超声波结合热处理的果实硬度变化与对照相似，并无明显改变。

在贮藏过程中鸭梨果实中可溶性固形物含量呈下降趋势，图 3-13B 所示，在贮藏 24 天时，超声波结合热处理果实的可溶性固形物含量高于对照 4.1%；贮藏末期与对照无明显差异。

鸭梨果实在贮藏过程中可滴定酸含量也呈逐渐下降趋势。图 3-13C 所示, 从贮藏第 24 天开始, 超声波结合热处理果实可滴定酸含量低于对照果实, 贮藏 24 天时, 超声波结合热处理果实比对照低 8%, 贮藏第 42 天时, 处理比对照低 18%。

3.3.2.2 呼吸、乙烯

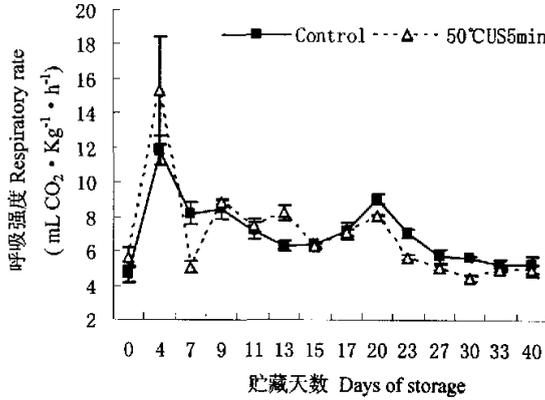


图 3-14 超声波结合热处理对鸭梨呼吸强度的影响 (20±1℃存放条件下)
 Figure 3-14 Effect of heat combined with ultrasound on respiratory rate at 20±1℃.
 图中竖线代表标准误差 Bar indicated standard error of mean (n=3).

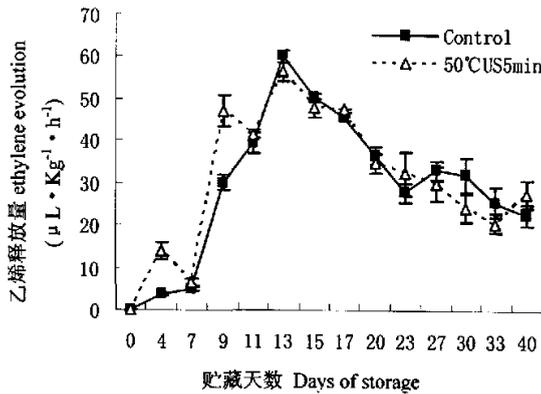


图 3-15 超声波结合热处理对鸭梨乙烯释放的影响 (20±1℃存放条件下)
 Figure 3-15 Effect of heat combined with ultrasound treatment on ethylene evolution of Ya pear fruit.
 图中竖线代表标准误差 (n=3) Bar indicated standard error of Mean (n=3)

如图 3-14, 鸭梨采收后呼吸强度急剧增加, 于第 4 天达到峰值, 此后呼吸强度变化不大, 但一直维持在较高水平, 随着贮藏时间的增加, 呼吸强度逐渐下降。在处理第 4 天, 经过超声波结合热处理的果实呼吸强度高于对照 30%, 超声波结合热处理刺激了果实的呼吸作用。随后, 经超声波结合热处理的果实呼吸变化与对照基本一致, 但从贮藏第 17 天开始, 经处理果实的呼吸强度明显一直低于对照果实的呼吸强度。

鸭梨采收后乙烯释放量不断增加, 达峰值后又不断下降。如图 3-15, 鸭梨果实经处理后 9 天以内的乙烯释放量一直较对照高。第 4 天时, 超声波结合热处理果实的乙烯释放量比对照高出 2.8 倍, 第 7 天比对照高出 30%, 第 9 天时比对照高出 57%。随着乙烯高峰的来临, 第 13 天时, 超声波结合热处理果实和对照果实乙烯释放量分别同时达到最高峰, 但是超声波结合热处理果实乙烯释放量比对照降低了 6%, 随后二者分别下降, 经超声波结合热处理果实的乙烯释放量比对照组低。

3.3.2.3 超声波结合热处理对贮藏过程中鸭梨果肉中酶活性变化的影响

3.3.2.3.1 对贮藏过程中 POD 酶活性的影响

如图 3-16, 对照果实在贮藏过程中 POD 活性呈先上升后下降、末期活性上升趋势, 超声波结合热处理果实的 POD 活性低于对照。贮藏第 12 天时, 超声波结合热处理果实的 POD 活性比对照降低了 35.6%, 酶活性受到抑制, 并在随后的贮藏过程中 POD 活性未发生明显变化。

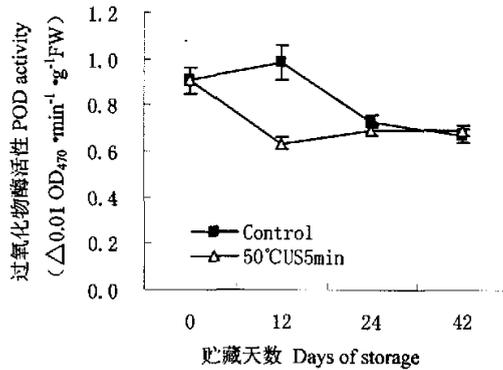


图 3-16 超声波结合热处理对鸭梨贮藏过程中果实过氧化物酶活性的影响
Figure 3-16 Effects of heat combined with ultrasound treatment on peroxidase (POD) activity of Ya pear during storage at 20°C.

图中竖线代表标准误。Bar indicated standard error.

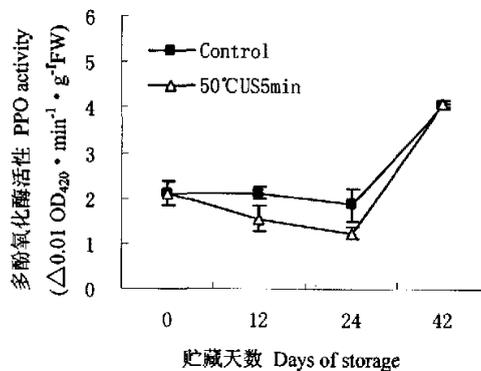


图 3-17 超声波结合热处理对鸭梨贮藏过程中果实多酚氧化酶活性的影响
Figure 3-17 Effects of heat combined with ultrasound treatment on polyphenol oxidase (PPO) activity of Ya pear during storage at 20°C.

图中竖线代表标准误。Bar indicated standard error.

3.3.2.3.2 对贮藏过程中 PPO 酶活性的影响

在贮藏过程中, 对照果实和超声波结合热处理果实的 PPO 活性都呈上升趋势。由图 3-17 可见, 在贮藏 42 天过程中, 超声波结合热处理果实的 PPO 活性一直明显低于对照。第 12 天时, 超声波结合热处理果实的 PPO 活性比对照降低 27%, 第 24 天时, 比对照低 33%。在随后的贮藏过程中超声波结合热处理果实的 PPO 活性逐渐升高, 达到对照水平。

3.3.3 讨论

热处理作为一种保藏技术应用到水果采后的贮藏保鲜方面已有很多报道。热处理不仅可以控制采后病原菌引起的水果腐烂^[5,95,96,97,98], 也可以对水果的成熟产生作用, 这包括对水果的软化、风味物质的改变、呼吸速率、乙烯生成量和芳香物质的合成方面产生影响^[99]。通常水果采后热处理的方式有: 热水浸泡处理、热蒸汽、干热空气处理或热水涂刷处理^[100, 101, 102]。处理方式不同产生的效果也不尽相同。商业上采用热水浸泡方式处理果实大多为高温短时^[5,97], 大多数果实热处理所用水温都在 46-55 °C, 时间从 30 s-10 min^[5, 98]。

本实验中发现, 采用 50 °C 热水结合超声波 5 min 处理鸭梨果实, 于室温下贮藏, 在不改变鸭梨正常后熟前提下, 改善了食用品质。

由鸭梨 CO₂ 释放量、乙烯含量及变化趋势可知, 在热处理后的 4 天内, 鸭梨 CO₂ 和乙烯释放量迅速增加, 随后下降, 随着贮藏时间的延长, 一直低于对照水平。表明热处理后初期刺激了鸭梨果实的呼吸强度和乙烯生成量, 随后又受到一定程度抑制, 但并未改变呼吸高峰和乙烯高峰出现的时间。

在室温存放条件下, 经过热处理的鸭梨硬度与对照相比并无明显改变; Mccollum 用热处理芒果得到类似发现^[98]。

有研究报道经热处理的果实酸度下降较快而固形物含量不受影响^[97, 98]。本实验中发现, 随贮存时间的增加, 经热处理的鸭梨果实的可溶性固形物含量下降、与对照无明显差异; 可滴定酸含量不断下降, 处理后 12 天起, 鸭梨果实可滴定酸含量一直低于对照。这样造成了处理鸭梨果实的固酸比含量明显高于对照, 固酸比的增加对果实风味起到了一定的改善作用。

超声波结合热处理降低了鸭梨贮藏过程中 POD、PPO 的活性, 在贮藏前期尤为明显。果实的 POD 活性受到热处理抑制后始终保持在一个较低水平; PPO 活性也得到明显的抑制, 随贮藏后期果实的衰老逐渐恢复至对照水平。热处理荔枝^[103]、大久保桃^[104]、“OKUBA”桃^[105]时同样发现 PPO、POD 活性受到抑制; 用 45-55 °C 处理叶片 1 min 显著降低了 PPO 活性和酚类物质的合成^[106]。POD、PPO 活性的降低在一定程度上可以减缓果实的成熟衰老^[99, 104]。

由于受到采前环境、果实的品种、种类、果实大小和其形态学特性、成熟阶段以及热的传导速率、处理时间、贮存条件的影响而使得果实对热的敏感性不同^[96], 因此不同报道间存在差异。本实验中采用超声波结合 50 °C 热水 5 min 处理鸭梨, 没有引起果实表面伤害和果实不良反应, 同时改善了鸭梨的风味。超声波的结合使用虽能明显提高热的杀菌效率(前述), 但是在短时间内并未明显影响热对果实成熟的作用效果。

第四章 全文总结与展望

4.1 结论

4.1.1 超声波单独作用对鸭梨常温贮存的影响

单独的功率超声波处理没有引起鸭梨果实硬度、可溶性固形物含量和可滴定酸含量的变化,对果实基本品质没有造成影响。这种容积和能量密度的超声波容器中产生的空化效应不会引起具有一定体积的鸭梨品质特性的改变。

单独超声波处理并未降低接种发病果实的病斑面积,随着超声波单独处理时间的增加病斑面积无明显改变,低频率高强度超声波由于具有空化作用,可以产生清洗效果,但是从单独超声波处理的作用效果来看,病斑面积和发病率与对照并无明显差异,这种清洗作用对控制病害并无明显作用。

4.1.2 超声波结合水杨酸处理对鸭梨常温贮存下病害控制以及对品质的影响

超声波结合水杨酸处理能够明显提高鸭梨果实自身抵抗病原菌 *Penicillium expansum* 侵染的能力,降低接种发病率和病斑面积,提高防御酶 POD 活性。随着超声波结合水杨酸处理时间的增加抑制效果明显。但随发病时间的增加,这种抵抗能力逐渐削弱。

超声波结合水杨酸处理对鸭梨硬度、可溶性固形物含量和可滴定酸含量变化无明显影响。

4.1.3 超声波结合热处理对鸭梨常温贮存下病害控制以及对品质的影响

超声波结合热处理对鸭梨常见的两种采后病害 *P. expansum* 和 *A. alternata* 有很好的控制效果,效果远远优于单独热处理效果。它能够明显降低损伤接种发病率和病斑面积,提高受侵染果肉组织中的抗病相关酶 POD、PPO 活性,在处理后能够明显抑制病原菌在侵染发生前病斑的形成和阻断侵染发生后的病斑的扩展,抑制病原菌生长减低病害发生的腐烂程度;并且可以明显降低采后鸭梨的自然发病率。使用单独热处理能够对鸭梨采后病害起到一定控制作用,而超声波的结合使用使得热杀菌的效率显著提高,明显缩短了热处理的时间、增强抑制效果。因此可以消除长时间的热处理对果实品质、风味产生的不良影响。

超声波结合 50℃ 热水处理 5min 没有引起果实表面伤害和果实不良反应。于室温下贮藏,在不改变鸭梨正常后熟前提下,提高了固酸比改善了食用品质。

4.2 展望

在食品工业中,超声波在食品加工和食品检测方面有着广泛的应用,但是作为一种食品保

藏技术的研究仍处于起步阶段。超声波的空化作用可以起到促进溶液渗透和抑制微生物的效果。超声波处理作为抑制食品中微生物方法的效果和有效性有很多人研究，但在食品保藏中单独使用超声波也是一项非常有难度的工作，因为在不会对食品的营养和感官特性引起改变的超声水平上，不可能有效地杀死目前出现的微生物。在食品工业中单独超声波本身作为抑制真菌活性的使用目前是不可能的。超声波处理的关键因素与超声波的特性、处理时间、微生物种类、被处理食品的体积、食物成分和处理温度有关。这种限制意味着超声波当与其他外界多重抑制方法结合使用时会更加有效。将超声波与抗菌剂、与热结合处理则显示了相当乐观的前景。如果要实际应用的话，超声波作为抑制真菌和细菌手段有赖于多因素过程结合，结合杀菌剂、低 pH 值或高水活度和声热处理，声压力处理或声热结合压力处理，因为结合使用对能量利用更加有效，当和传统热处理比较，结合处理加强了对细胞的扰乱作用而使杀灭率更高。对多因素结合处理需更深一步研究以便发明一种可行的超声波杀菌处理。超声波技术将在未来的食品工业中得以大范围的使用。但需要在以下几方面进行研究：

- 1, 超声波和其他处理过程结合使用（与高压、热或其他手段）时对于微生物活性抑制有效性的决定因素；
- 2, 超声波和其他技术相结合使用对于微生物抑制作用机理的阐释；
- 3, 超声波用于关键技术中的操作关键工艺参数；
- 4, 对微生物抑制的同时对食品特性的影响；
- 5, 对杀菌剂（天然的、合成的）的使用，气泡产生剂的使用及研究活性吸附表面都有待探索。

超声波处理技术仍然在起步阶段，是不成熟的，仍要在未来进行大量研究以便实现工业化应用。

参考文献

- [1] Lurie, S. Postharvest heat treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 1998, 14:257~269
- [2] Qin, G. Z., Tian S. P., Xu, Y., Wan, Y. K. Enhancement of biocontrol efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2003, 62:147~154
- [3] Janisiewicz, W. J., Tworowski, T. J., Kurtzman, C. P. Biocontrol potential of *Metchnikowia pulcherrima* strains against blue mold of apple. *Phytopathology*, 2001, 91:1098~1108
- [4] 原永兵, 曹宗巽. 水杨酸在植物体内的作用. *植物学通报*, 1994, 11 (3): 1~9
- [5] Schirra, M., D'hallewin, G., Ben-Yehoshua, S., Fallik, E. Host-pathogen interactions modulated by heat treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 2000, 21:71~85
- [6] Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R.C. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, 87:207~216
- [7] McClements, D. J. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science and Technology*, 1995, 6:293~299
- [8] López-Malo, A., Palou, E., Jiménez-Fernández, M., Alzamora, S.M., Guerrero, S. Multifactorial fungal inactivation combining thermosonication and antimicrobials. *Journal of Food Engineering*, 2005, 67:87~93
- [9] 田燕. 超声波的物理特性及应用. *现代物理知识*, 1999, 11 (1): 24~26
- [10] Kenneth, S. S. Sonochemistry. *Science*, 1990, 247:439~445
- [11] Mason, T. J., Paniwnyk, L., Lorimer, J. P. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1996, 3:253~260
- [12] 麻建国, 周建军. 超声波技术在食品检测中的应用. *食品与发酵工业*, 1998, 24(5): 52~58
- [13] 葛飞. 超声波技术在食品工业中的应用. *肉类工业*, 1999, 9: 43~45
- [14] 付陈梅, 赵国华, 阚建全, 陈宗道. 超声波技术在食品工业中的应用. *四川食品与发酵*, 2002, 3: 31~33
- [15] 石秀东. 超声作用在食品加工中的应用. *包装与食品机械*, 1998, 16 (1): 10~11
- [16] Raso, J., Pagan, R., Condon, S., Sala, J. F. Influence of the temperature and pressure on the lethality of ultrasound. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64:465~471
- [17] Doktyca, S. J., Kenneth, S. S. Interparticle collision driven by ultrasound. *Science*, 1990, 247:1067~1069
- [18] Hagenson, L. C., Doraiswamy, L. Comparison of the effects of ultrasound and mechanical agitation on a reacting solid-liquid system. *Chemical Engineering Science*, 1998, 53:131~148
- [19] 时兰春, 王伯初, 杨艳红, 戴传云. 低强度超声波在生物技术中应用的研究进展. *重庆大学学报*, 2002, 25 (10): 140~142
- [20] 邱树毅, 姚汝华, 宗敏华. 超声波在生物工程中的应用. *生物工程进展*, 1999, 19 (3): 45~48

- [21] 丁志山, 沃兴德. 超声波的生物学效用及其在转基因中的应用. 生命科学, 1997, 9 (4): 187~189
- [22] 张元标, 李文权, 王清池, 陈清花. 超声辐射对海水小球藻的生物效应, 2001, 40 (3): 653~657
- [23] 张姝, 余斐, 王传贵, 梅兴国. 超声波对红豆杉悬浮细胞生长及紫杉醇释放的研究. 生物技术, 2001, 11 (2): 14~17
- [24] 林影, 高大维, 梁宏, 李国基. 微超声波对脆壁克鲁维氏酵母菊糖酶生产的作用. 华南理工大学学报(自然科学版), 1997, 25 (10): 110~113
- [25] 张元标, 李文权, 王清池, 陈清花. 超声辐射对海水小球藻的生物效应. 厦门大学学报(自然科学版), 2001, 40 (3): 654~657
- [26] Benedito, J., Carcel, J. A., Gonzalez, R., Mulet, A. Application of low intensity ultrasonics to cheese manufacturing processes. Ultrasonics, 2002, 40:19~23
- [27] Tobat, Hayasakai, Taguchi, S. A new method for manufacture of lactose-hydrolysed fermented milk. Journal Science Food Agriculture, 1990, 52:403~407
- [28] Slapp P. Production Line Cleaning, British patent 9500587 2
- [29] Seymour, I. J., Burfoot, D. Smith, R. L., Cox, L. A., & Lockwood, A. Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. International Journal of Food Science and Technology, 2002, 37: 547~557
- [30] Guerrero, S., Lopez-Malo, A., Alzamora. Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae*: influence of temperature, pH and amplitude, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2001, 2:31~39
- [31] Ordóñez, J. A., Sanz, B., Hernández, P. E., López-Lorenzo, P. A note on the effect of combined ultrasonic and heat treatments on the survival of thermotolerant streptococci. Journal of Applied Bacteriology, 1984, 54:175~177
- [32] Wrigley, D. M., Llorca, N. G. Decrease of *Salmonella Typhimurium* in skim milk and egg by heat and ultrasonic wave treatment. Journal of Food Protection, 1992, 55 (9):678~ 680
- [33] Munkacsi, F., Elhami, M. Effect of ultrasonic and ultraviolet irradiation on chemical and bacteriological quality of milk. Egyptian Journal of Dairy Science, 1976, 4:1~6
- [34] Manas, P., Pagan, R., Raso, J., Sala, F. J., Condon, S. Inactivation of *Salmonella Typhimurium*, and *Salmonella Senftenberg* by ultrasonic waves under pressure. Journal of Food Protection, 2000, 63 (4):451~456
- [35] Sams, A. R., Ferial, R. Microbial effects of ultrasonication of broiler drumstick skin. Journal of Food Science, 1991, 56 (1):247~ 248
- [36] Lillard, H. S. Bactericidal effect of chlorine on attached salmonellae with and without sonication. Journal of Food Protection, 1993, 56 (8):716~717
- [37] Lillard, H. S. Decontamination of poultry skin by sonication. Food Technology, 1994, Dec., 72~73
- [38] Kim, B. -S., Kim, O. -W., Kim, D. -C., Kim, G. -H., 1999. Development of a surface

- sterilization system combined with a washing process technology for leafy lettuce. In: Lee, J.M., Gross, K.C., Watada, A. E., Lee, S. K. (Eds.), Proceedings of the International Symposium on Quality of Fresh and Fermented Vegetables, Seoul, Korea Republic, 27-30 October 1997. Acta-Horticulture, 483:311~317
- [39] Scherba, G., Weigel, R. M., O'Brien, W. D. Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57 (7):2079~2084
- [40] Raso, J., Pagan, R., Condon, S., Sala, F. J. Influence of treatment and pressure on the lethality of ultrasound. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64 (2):465~471
- [41] Pagan, R., Manas, P., Alvarez, I., Condon, S. Resistance of *Listeria monocytogenes* to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures. Food Microbiology, 1999, 16:139~148
- [42] Ince, N. H., Belen, R. Aqueous phase disinfection with power ultrasound: process kinetics and effect of solid catalysts. Environmental Science and Technology, 2001, 35(9):1885~1888
- [43] Garcia, M. L., Burgos, J., Sanz, B., Ordonez, J. A. Effect of heat and ultrasonic waves on the survival of two strains of *Bacillus subtilis*. Journal of Applied Bacteriology, 1989, 67:619~628
- [44] Palacios, P., Burgos, J., Hoz, L., Sanz, B., Ordonez, J. A. Study of substances released by ultrasonic treatment from *Bacillus stearothermophilus* spores. Journal of Applied Bacteriology, 1991, 71:445~451
- [45] Lopez-Malo, A., Jimenez-Fernandez, M., Palou, E. *Penicillium digitatum* spores inactivation by combining thermoultrasonication treatments and antimicrobial agents. IFT 2001 Annual Meeting Technical Program Abstracts, 151
- [46] 冯若, 赵逸云, 李化茂, 王进. 超声在生物技术中应用的研究进展. 生物化学与生物物理进展, 1994, 21 (6): 500~503
- [47] Yoshio, T., Isao, K., Shuichi, S. Continuous production of glucose oxidase with aspergills sp under ultrasound waves. Enzyme Microbiology Technology, 1982, 4:85~88
- [48] 王武, 杨海麟, 吕霞付, 杨胜利. 超声波在生物发酵工程中的应用. 无锡轻工大学学报, 2002, 21 (3): 323~326
- [49] De Gennaro, L., Cavella, S., Romano, R., Masi, P. The use of ultrasound in food technology I: inactivation of peroxidase by thermosonication. Journal of Food Engineering, 1999, 39:401~407
- [50] Zhu, C., Liu, G. L. Modeling of ultrasonic enhancement on membrane distillation. Journal of Membrane Science, 2000, 176:31~41
- [51] 曾里, 夏之宁. 超声波和微波对中药提取的促进和影响. 化学研究与应用, 2002, 14 (3): 246~248
- [52] 雷德柱, 高大维, 于淑娟. 超声波在食品技术中的应用. 应用声学, 2000, 19 (5): 44~48
- [53] 梁汉华. 超声处理大豆浆体对提高蛋白质和固形物萃取率的作用. 食品工业科技, 1998, 5: 4~6
- [54] 陈素梅, 曾武清, 李永生, 郭维明. 超声波预处理对3种切花瓶插品质改良的初步研究. 江

- 苏林业科技, 2000, 27 (增): 53~54
- [55] 郑丽, 张颖, 蒲燕, 熊丽, 赵晖. 不同采后处理方法对扶郎切花贮藏品质的影响, 西南农业大学学报, 2002, 24 (4): 347~380
- [56] 李军生, 何仁, 侯革非, 阎柳娟. 超声波对果蔬渗糖及组织细胞的影响. 食品与发酵工业, 1998, 28 (8): 32~36
- [57] 郑玉锴, 刘树涛, 陈躬瑞, 李建才, 陈儒明, 李珑, 饶平凡. 超声波技术在咸蛋腌制中的应用及其机理初探. 福州大学学报 (自然科学版), 1996, 24 (3): 71~74
- [58] 张笑意, 张仲源. 超声波促进植物药透皮吸收机理. 中医外治杂志, 2002, 11 (2): 5
- [59] Lurie, S., Fallik, E., Handros, A., Shapira, R. The possible involvement of peroxidase in resistance to *Botrytis cinerea* in heat treated tomato fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1997, 50:141~149
- [60] 阎田, 沈全光, 刘存德. 水杨酸 (SA) 对果实成熟的影响. 植物学通报, 1998, 15(3): 61~64
- [61] 李丽萍, 韩涛. 水杨酸保鲜大久保桃初探. 食品科学, 1999, 20(7): 61~63
- [62] 曹建康, 毕阳, 李永才, 赵劫. 水杨酸处理对苹果梨采后黑斑病及贮藏品质的影响. 甘肃农业大学学报. 2001, 36 (4): 438~442
- [63] 郭维明, 安晓芹, 陈素梅. 超声波与保鲜剂对切花月季“萨曼莎”水分状况的影响. 园艺学报, 2003, 30 (6): 695~698
- [64] 韩雅珊 主编 食品化学实验指导 北京农业大学出版社 1992, 6-7 可滴定酸 (总酸) 含量
- [65] 韩涛, 李丽萍, 王有年, 冯双庆. 水杨酸处理对采后园艺产品的作用. 植物学通报, 2002, 19 (5): 560~566
- [66] 荣瑞芬, 佟世生, 冯双庆. 水杨酸对采后芒果和番茄保鲜效果的初步研究. 食品科学, 2001, 22(3): 79~81
- [67] 韩涛, 李丽萍. 水杨酸对短期贮藏苹果的生理效应. 植物生理学通讯, 1997, 33 (5): 347~348
- [68] 李丽萍, 韩涛. 水杨酸对大久保桃贮藏期品质的影响. 果树科学. 2000, 17 (2): 97~100
- [69] Pagan, R., Manas, P., Alvarez, I., Condon, S. Resistance of *Listeria monocytogenes* to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures. *Food Microbiology*, 1999, 16:139~148
- [70] Sams, A. R., Ferial, R. Microbial effects of ultrasonication of broiler drumstick skin. *Journal of Food Science*, 1991, 56 (1):247~248
- [71] Ciccolini, L., Taillandier, P., Wilhem, A. M., Delmas, H. & Strehaiano, P. Low frequency thermo-ultrasonication of *Saccharomyces cerevisiae*: effects of temperature and ultrasonic power. *Chemical Engineering Journal*, 1997, 65:145~149
- [72] Scherba, G., Weigel, R. M., O'Brien, W. D. Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57 (7):2079~2084
- [73] Ordonez, J. A., Aguilera, M. A., Garcia, M. L. & Sanz, B. Effect of combined ultrasonic and heat treatment (thermoultrasonication) on the survival of a strain of *Staphylococcus aureus*.

- Journal of Dairy Research, 1987, 54:61~67
- [74] Sanz, P., Palacios, P., Lopez, P. & Ordóñez, J. A., 1985. Effect of ultrasonic waves on the heat resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores. In: Fundamentals and Applied Aspects of Bacterial Spores (edited by G. J. Dring, D. J. Ellars & G. W. Gould). pp. 251 - 259. New York: Academic Press.
- [75] Idrissi, F. Z., Agut, M., Larrondo, J. & Calvo, M. A. Effect of ultrasound on fungal cells. *Cytobios*, 1996, 88:119~122
- [76] Jeng, D. K., Lin, L. I. & Harvey, L. V. Importance of ultrasonication conditions in recovery of microbial contamination from material surfaces. *Journal of Applied Bacteriology*, 1990, 68:479~484
- [77] Earnshaw, R. G., Appleyard, & Hurst, R. M. Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 1995, 28:197~219
- [78] Harvey, E. & Loomis, A. The destruction of luminous bacteria by high frequency sound waves. *Journal of Bacteriology*, 1929, 17:373~379
- [79] Hughes, D. E., & Nyborg, W. L. Cell disruption by ultrasound. *Science*, 1962, 138:108~144
- [80] Williams, A. R., Stafford, D. A., Callely, A. G., & Hughes, D. E. Ultrasonic dispersal of activated sludge flocks. *Journal of Applied Bacteriology*, 1970, 33:656~663
- [81] Seymour, I. J. Review of current industry practice on fruit and vegetable decontamination. Campden and Chorleywood Food Research Association. Glos, UK: CCFRA Review, 1999, NO. 14
- [82] Lo'pez-Malo, A., Guerrero, S. & Alzamora, S. M. *Saccharomyces cerevisiae* thermal inactivation kinetics combined with ultrasound. *Journal of Food Protection*, 1999, 62:1215~1217
- [83] Sala, F. J., Burgos, J., Condo' n, S., Lo'pez, P. & Raso, J., 1995. Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In: G. W. Gould (Ed.), *New methods of food preservation* (pp. 176 - 204). London: Blackie Academic & Professional.
- [84] Alzamora, S. M., Guerrero, S., Lo'pez-Malo, A. & Palou, E., 2003. Plant antimicrobials combined with conventional preservatives for fruit products. In: S. Roller (Ed.), *Natural antimicrobials for the minimal processing of foods* (pp. 235 - 249). Boca Raton, FL: CRC Press.
- [85] Zenker, M., Heinz, V. & Knorr, D. Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods. *Journal of Food Protection*, 2003, 66:1642~1649
- [86] Dettori, A., D'hallewin, G., Agabbio M., Marceddu, S., Schirra, M., 1996. S.E.M. studies on *Penicillium italicum*— 'Star Ruby' grapefruit interactions as affected by fruit hot water dipping. Proc. VIII Int. Citrus Congress, 12~17 May 1996, Sun City Resort, South Africa. Vol. 2, pp.1158~1163.
- [87] Leverentz, B., Conway, W. S., Janisiewicz, W. J., Saftner, R. A., Camp, M. J. Effect of combining MCP treatment, heat treatment, and biocontrol on the reduction of postharvest decay of 'Golden

- Delicious' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, 27:221~233
- [88] Guerrero, S., Tognon, M. & Alzamora, S. M. Ultrasound and natural antimicrobials: inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by the combined treatment. In: Institute of Food Technologists Annual Meeting, 2001, New Orleans, USA
- [89] Chen C., Bélanger R. R., Benhamou N., Paulitz, T. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2000, 56:13~23
- [90] Pavoncello, D., Lurie, S., Droby, S., Porat, R. A hot water treatment induces resistance to *Penicillium digitatum* and promotes the accumulation of heat shock and pathogenesis-related proteins in grapefruit flavedo. *Physiological Plant*, 2001, 111:17~22
- [91] Leverentz, B., Janisiewicz, W. J., Conway, W. S., Saftner, R. A., Fuchs, Y., Sams, C. E., Camp, M. J. Combining yeasts or a bacterial biocontrol agent and heat treatment to reduce postharvest decay of 'Gala' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 2000, 12:87~94
- [92] Barkai-Golan, R. Postharvest heat treatment to control. *Alternaria tenuis* Auct. rot in tomato. *Phytopathol. Medit*, 1973, 12:108~111
- [93] Alliger, H. Ultrasonic disruption. *American Laboratory*, 1975, 10:75~85
- [94] Barkai-Golan, R., Phillips, D. S. Postharvest heat treatment of fresh fruits and vegetables for decay control. *Plant Disease*, 1991, 75:1085~1089
- [95] 莫开菊. 热处理在果蔬贮藏保鲜方面的应用与机理. *湖北民族学院学报(自然科学版)*, 1997, 15 (6): 20~22
- [96] 刘秀娟, 黄圣明, 黄智辉, 杨叶, 胡美姣, 王向社. 热处理对2种潜伏炭疽菌生长和致病性的影响. *植物病理学报*, 1999, 29 (1): 91~95
- [97] 陈洪国, 彭永宏. 果实热处理保鲜技术研究(综述). *亚热带植物通讯*, 2000, 29 (2): 58~64
- [98] 陈金印, 吴友根. 采后热处理与果实贮藏. *植物生理学通讯*, 2003, 39 (1): 83~88
- [99] Paull, R. E., Chen, N. J. Heat treatment and fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 2000, 21:21~37
- [100] Lurie, S. Postharvest heat treatments of horticultural crops. *Horticultural Review*, 1998, 22:91~121
- [101] Schirra, M., Ben-Yehoshua, S., 1999. Heat treatments: a possible new technology in citrus handling — Challenges and prospects. In: Schirra, M. (Ed.), *Advances in Postharvest Diseases and Disorders Control of Citrus Fruit*. Research Signpost Publisher, Trivandrum, India, pp. 133~147
- [102] Fallik, E., Aharoni, Y., Yekutieli, O., Wiseblum, A., Regev, R., Beres, H., and Bar-Lev, E. 1996a. A method for simultaneously cleaning and disinfecting agricultural produce. Israel patent No. 116965
- [103] 彭永宏, 等. 热水结合浸酸处理对荔枝果皮色素含量与酶活性的影响. *果树科学*, 1999, 16 (2): 92~97
- [104] 韩涛, 李丽萍, 葛兴. 热激处理对冷藏桃果实的生理效应. *植物生理学通讯*, 1996, 32 (3):

184~186

- [105] Li, L. P., Han, T., Storage response of 'Okuba' peaches after heat shock treatment. *Acta-Horticulture*, 1998, 464:315~319
- [106] Loaiza-Velarde, J. G., Tomas-Barbera, F. A., Saltveit, M. E. Effect of intensity and duration of heat shock treatments on wound-induced phenolic metabolism in Iceberg lettuce. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 1997, 122:873~877

致 谢

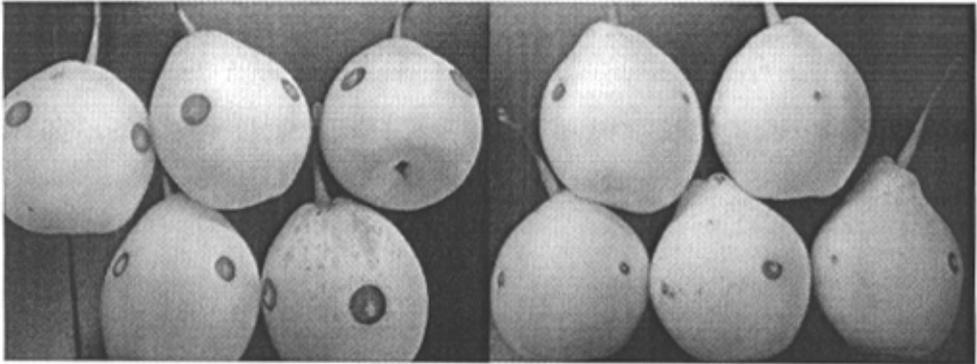
本研究是在我的导师姜微波教授的亲切关怀和悉心指导下完成的。姜老师在传授我知识的同时更注重培养我解决问题的思路和方法及创新能力，开阔了我的视野，为我今后学习和工作打下了坚实的基础。同时，姜老师严谨的科研态度，细致耐心的工作精神以及积极乐观、博大的胸襟深深地感染了我，也使我在今后的学习工作中受益匪浅。感谢姜老师在生活上、学习上、思想上给予我的关怀和帮助！

感谢中国农业大学微生物实验室的老师、同学(梁启美、贾洁、周云、江志杰)对本实验给予的大力帮助和支持。

感谢中国农业大学食品学院果蔬采后生理实验室的全体成员对我在实验、生活中的关心与帮助。感谢赵玉梅老师在我的实验、论文过程中给与的耐心指导和帮助。感谢本实验室已毕业的师姐刘红霞博士、感谢实验室现有成员：博士生曹健康、曾凯芳、朱璇、王建晖、赵志磊、王连缜、王宝刚；硕/博生：孙静、王蒙、林琳；硕士生：李庆鹏；付利军、齐璐璐等同门师兄弟、师姐妹对我实验中的帮助和生活上的关心，使我在这个大家庭中感到无比温暖，能够成为其中一员我感到无比自豪。

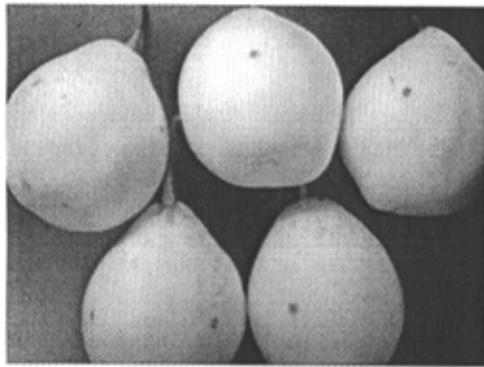
最后，我要感谢我的家人和朋友在我学习生活中给与的大力支持和鼓励，你们永远是我最强大的后盾！

附录

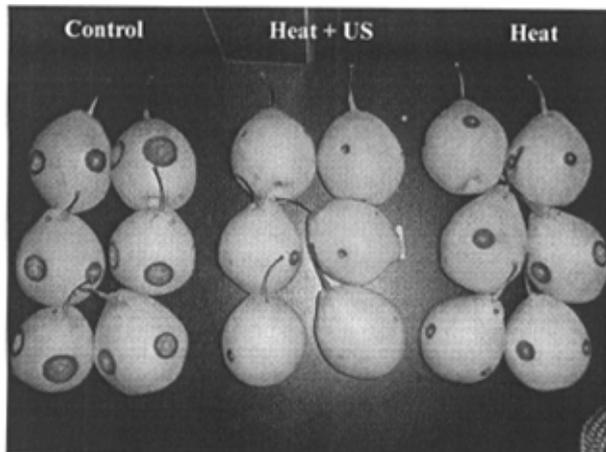


Control

Heat



Heat + US
(接种后第 7 天)



(接种后第 14 天)

超声波 (US) 结合 50°C (Heat) 处理 5min 对鸭梨损伤接种 *P. expansum* 病斑大小的影响

个人简历

姓 名：姚松

性 别：女

出生日期：1979年3月4日

籍 贯：四川成都

最后学历：硕士研究生

硕士毕业院校：中国农业大学

主要研究项目：

研究生期间：参与国家 863 资助项目（2002AA245081）的研究，主要研究超声波技术在鸭梨采后贮藏保鲜方面的应用，以及植物提取物对鸭梨采后病原菌生长的抑制。

发表论文：

1. Yao, S., Jiang, W.B. Effects of salicylic acid combining with ultrasound treatment on disease resistance in Chinese pear. CIGR 2004 International Conference, 2004, Section II-129
2. 姚松, 姜微波. 超声波结合水杨酸处理对采后鸭梨抗病性影响的研究. 食品科学增刊, 2004, 172~175