



果蔬采后

李卓杰
编著

生理实验手册

果蔬采后生理实验手册

李卓杰 编著

中山大学出版社

·广州·

版权所有 翻印必究

图书在版编目 (CIP) 数据

果蔬采后生理实验手册/李卓杰编著. —广州: 中山大学出版社, 1998.9

ISBN 7-306-01470-6

I. 果… II. 李… III. ① 果蔬 ② 实验 IV. S63

中山大学出版社出版发行

(广州市新港西路 135 号)

中山大学印刷厂印刷 广东省新华书店经销

850 毫米×1168 毫米 32 开本 6.875 印张 200 千字

1998 年 9 月第 1 版 1998 年 9 月第 1 次印刷

印数: 1-1000 册 定价: 13.60 元

内容提要

本书是介绍有关果蔬采后生理的实验方法和一些常用实验的基础知识。本书包括6个部分，共56个实验。第一部分果蔬采后生理的测定，主要了解果蔬贮藏期间乙醛与乙醇的产生、乙烯的释放及膜的变化；第二部分为果蔬颜色物质的测定，了解果蔬贮藏期间颜色物质的变化；第三部分为果蔬矿质元素的测定；第四部分为果蔬贮藏中代谢变化的测定；第五部分为贮藏果蔬品质的测定；第六部分为果蔬贮藏中一些新技术的应用。书中既选入了一些经典的化学测定方法，也吸收了一些新实验和新技术。

本书可作为综合性大学、农、林及师范院校有关专业教材，亦可供农、林科技人员参考。

目 录

第一部分 果蔬采后生理的测定	(1)
实验 1 果蔬贮藏中释放乙烯的测定	(1)
实验 2 贮藏果蔬呼吸强度的测定 (气相色谱法)	(4)
实验 3 果蔬贮藏环境中 CO ₂ 含量的测定 (红外 CO ₂ 分析法)	(7)
实验 4 贮藏果蔬乙醛含量的测定	(13)
实验 5 果蔬贮藏期间乙醇含量的测定	(16)
实验 6 贮藏果蔬细胞透性的测定	(18)
实验 7 贮藏果蔬类脂的测定 (薄层层析法)	(20)
实验 8 果蔬贮藏中过氧化物酶活性的测定	(26)
实验 9 果蔬贮藏中过氧化氢酶活性的测定	(29)
实验 10 贮藏果蔬超氧歧化酶 (SOD) 活性的测定	(32)
实验 11 贮藏果蔬脂质过氧化的测定	(35)
第二部分 果蔬色彩物质的测定	(38)
实验 12 果蔬叶绿素 a, b 和类胡萝卜素含量的测定 (分光光度法)	(38)
实验 13 柱层析法测定叶绿素、叶黄素和胡萝卜素的 含量	(40)
实验 14 果蔬花青素含量的测定	(43)
实验 15 果蔬茄红素含量的测定	(44)
实验 16 果蔬中酚类物质的测定	(46)

实验 17	果蔬多酚氧化酶活性的测定	(50)
第三部分	果蔬矿质元素的测定	(52)
实验 18	果蔬体内磷的测定	(52)
实验 19	果蔬体内钙的测定	(55)
实验 20	果蔬体内铁的测定	(58)
实验 21	同一份样品测定果蔬灰分、钙、镁、铁的含量	(61)
实验 22	果蔬中钾、钠含量的测定	(66)
实验 23	果蔬钾、钠的火焰光度法测定	(71)
第四部分	果蔬贮藏中代谢变化的测定	(73)
实验 24	果蔬可溶性糖的蒽酮测定法	(73)
实验 25	果蔬可溶性糖的铁氰化钾测定法	(76)
实验 26	果蔬总糖和还原糖的测定	(79)
实验 27	果蔬葡萄糖、果糖和蔗糖的测定	(82)
实验 28	果蔬淀粉含量的测定	(88)
实验 29	果蔬蔗糖酶(转化酶)活性的测定(分光光度法)	(93)
实验 30	果蔬蔗糖酶(转化酶)活性的测定(碘量法)	(95)
实验 31	果蔬淀粉酶活性的测定	(98)
实验 32	果蔬蛋白质含量的测定	(101)
实验 33	应用考马斯蓝 G ₂₅₀ 测定果蔬中的蛋白质	(106)
实验 34	果蔬蛋白酶活性的测定	(108)
实验 35	果蔬氨基酸含量的测定	(111)
实验 36	果蔬氨基酸的纸上色谱分析	(115)
实验 37	果蔬粗脂肪的测定(索氏提取法)	(119)

实验 38	果蔬核酸含量的测定	(122)
实验 39	果蔬核糖核酸酶 (RN_{ase}) 活性的测定	(126)
第五部分	贮藏果蔬品质的测定	(128)
实验 40	果实总酸量的测定	(128)
实验 41	果实中柠檬酸的测定	(131)
实验 42	果实中苹果酸和酒石酸的测定	(135)
实验 43	果蔬维生素 C 含量的测定 (2, 6-D 法) ...	(140)
实验 44	果蔬维生素 C 含量的测定 (碘酸钾法)	(143)
实验 45	果蔬维生素 A 的测定	(145)
实验 46	果蔬抗坏血酸氧化酶活性的测定	(147)
实验 47	果蔬粗纤维的测定	(149)
实验 48	果蔬半纤维素和纤维素的测定	(151)
实验 49	果蔬果胶质的测定	(154)
实验 50	柑桔皮中果胶含量的测定	(157)
实验 51	果蔬果胶酶活性的测定	(161)
附一	可溶性固形物的测定 (折光仪法)	(165)
附二	果品硬度的测定	(167)
附三	果品组成部分的测定与计算	(168)
第六部分	果蔬贮藏中一些新技术的应用	(169)
实验 52	等电聚焦电泳测定果蔬蛋白质种类	(169)
实验 53	果蔬蛋白质的双向凝胶电泳	(172)
实验 54	利用 ^{35}S -蛋氨酸测定果蔬贮藏过程中蛋白质的 代谢	(177)
实验 55	利用放射性磷 (^{32}P) 测定贮藏果蔬的核酸合成	(179)
实验 56	果蔬中 DNA、RNA 和蛋白质变化定位、定量	

测定的显微放射自显影术	(181)
附录:	(185)
一、果品、蔬菜化学成分表	(185)
二、摩尔数与摩尔浓度	(193)
三、离心力 (g) 与离心机转速测算表	(194)
四、常用缓冲液的配制	(196)
五、常用酸碱指示剂	(206)
参考文献	(208)

第一部分 果蔬采后生理的测定

实验 1 果蔬贮藏中释放乙烯的测定

一、原理

果实的成熟与脱落均受乙烯的调控。采收后的果实在一定的阶段会释放出大量的乙烯，这些乙烯对贮藏中果实的生理变化及果实的品质均有重要的影响。因而测定贮藏期间果实所释放的乙烯，在果实贮藏中具有重要的实践意义。应用气相色谱法能准确地测定微量的乙烯。

气相色谱法是利用样品组分在流动相和固定相的分配系数不同，而实现对组分分离的方法。果蔬贮藏中释放的含乙烯的多种气体在载气推动下，进入色谱柱，经反复多次的分配而把各组分分开。各组分按顺序进入氢焰检测器，并在氢焰中燃烧，生成微量正碳离子，在外电场的作用下，离子定向运动形成电子流。各组分便转变成易测量的电讯号，送入记录仪，这样便可以在记录仪中记录出各组分的含量。

二、材料与设备

1. 材料

香蕉或苹果。

2. 设备

气相色谱仪，干燥器，微量注射器，抽气机，秒表。

3. 药品

中性氧化铝（100目），1.5%阿皮松（Apiezon），氯仿，标准乙烯（纯度为99.9%）。

三、实验步骤

1. 色谱柱的制备

① 将直径为4mm，长度为1000mm的色谱柱1支，以5%氢氧化钠洗3次，用水冲洗至中性，再用乙醇、乙醚各洗3次，烘干。

② 用量筒取1.5倍于柱体积的中性氧化铝担体，置于200℃下活化2h，取出后放于烧杯中，用1.5%阿皮松-氯仿溶液浸泡氧化铝，以浸没为宜，放置过夜直至自然蒸干。

③ 将烘干的柱一端塞上少量玻璃棉，接于真空泵抽气管，另一端接上小漏斗，把氧化铝倒入漏斗中，抽气减压装柱，边装边敲柱身，使氧化铝填充均匀。

④ 柱装好后，两端柱口塞上少量玻璃棉，将柱的一端接气化室出口，于150℃下通入少量氮气，使柱老化24h。老化完毕，将柱的另一端连接于氢焰检测器上。

2. 果实中乙烯的收集

① 称取一定量的果实，用自来水将果实表面冲洗干净，然后放进真空干燥器中。

② 用胶塞把干燥器盖的口塞紧，密封1~2h，然后用注射器从干燥器中取气样进行气相分析。

3. 气相层析条件

① 用气相色谱仪测定乙烯时，层析室温为80℃，检测室温为120℃，用氢焰检测，以氮气为载气。

② 仪器调好后，用微量注射器进样 $1\ \mu\text{l}$ 1×10^{-6} 浓度的标准乙烯，用秒表计算从进样到峰高最大时所需要的时间，即为乙烯的保留值；再进样 $1\ \text{ml}$ 待测气体，于相同时间内出现的高峰，即为样品气体的乙烯峰，计算此峰值即得样品乙烯含量。

4. 乙烯含量的计算

把纯乙烯（99.9%以上）配成每 ml 含 1×10^{-6} 浓度的乙烯为标准乙烯，用微量注射器进样 $1\ \mu\text{l}$ 标准乙烯，然后按下列公式计算：

$$\text{样品乙烯量} = \frac{\frac{1\ \mu\text{l 样品乙烯量}}{1\ \mu\text{l 标准乙烯}} \times V}{W \cdot t}$$

式中：V——干燥器体积（除去果实体积）（ ml ）；

W——果实重量（ g ）；

t——收集乙烯时间（ h ）。

实验2 贮藏果蔬呼吸强度的测定

(气相色谱法)

一、原理

呼吸作用是果蔬采收后的重要生理活动，是影响果蔬贮运效果的重要因素。测定呼吸强度可衡量呼吸作用强弱，了解果蔬采后生理状态，为果蔬贮运的研究提供重要的依据。

测定果蔬组织的 CO_2 产生量或 O_2 的消耗量有许多种方法。用气相色谱法可以同时测定贮藏容器内 CO_2 及 O_2 的含量，是一种快速而准确的测定呼吸强度的方法。

二、材料与设备

1. 实验材料

柑桔或苹果的果实。

2. 设备

气相色谱仪，干燥器，微量注射器，三角瓶，秒表。

3. 药品

402 有机担体 (40~60 目)。

三、实验步骤

1. 气相层析条件

用直径 4mm，长 2 000 mm 的色谱柱装上 402 有机担体 (40~60 目)，层析室温为 80°C ，检测室温为 120°C ，用热导检测器检测，以氮气为载气，气体流量为 15 ml/min (分钟)，进样量为 1 ml

2. 标准 O₂ 及 CO₂ 的测定

用微量注射器分别抽取不同量的 O₂ 和 CO₂，注入气相色谱仪中，记录 O₂ 和 CO₂ 的出峰时间及不同量的 O₂ 及 CO₂ 的峰值。根据这些不同的峰值，描绘出进样量中 O₂ 或 CO₂ 的绝对量与峰值的相关曲线图。

3. 果蔬 O₂ 及 CO₂ 含量的测定

本实验以一干燥器为呼吸室，此室的容积预先测定。将定量的果实，经过测定体积后置于呼吸室中，盖好盖子后让其进行 2~3 h 的呼吸作用。用注射器从呼吸室中取出 1 ml 气体样品，迅速注入气相色谱仪中，分别记录 O₂ 及 CO₂ 的出峰时间及峰值。

另取呼吸室外的气体样品 1 ml 作为对照，注入气相色谱仪中，记录 CO₂ 及 O₂ 的出峰时间及峰值。

将上面所测得的各个峰值分别与相应的 O₂ 及 CO₂ 标准曲线进行比较，即可得到它们所含的 O₂ 或 CO₂ 的量。

4. 呼吸强度的计算

呼吸强度用单位鲜重材料在单位时间内消耗的 O₂ 或产生的 CO₂ 的量来表示，所以可以分别用下面的公式来计算果实的呼吸强度：

① 以消耗 O₂ 来表示：

$$O_{2\text{消耗}} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot (V_0 - V_F)}{W \cdot t}$$

式中：V₁——对照室的 O₂ 含量 (μl)；

V₂——呼吸室的含 O₂ 量 (μl)；

V₀——呼吸室容积 (ml)；

V_F——果实的体积 (ml)；

W——果实鲜重 (kg)；

t——呼吸时间 (h)。

② 以产生 CO₂ 来表示：

$$\text{CO}_2\text{产生} = \frac{(V_2 - V_1) \cdot (V_0 - V_F)}{W \cdot t}$$

式中： V_1 ——对照室的 CO_2 含量 (μl)；

V_2 ——呼吸室的 CO_2 含量 (μl)；

V_0 ——呼吸室容积 (ml)；

V_F ——果实体积 (ml)；

W ——果实鲜重 (kg)；

t ——呼吸时间 (h)。

实验3 果蔬贮藏环境中 CO₂ 含量的测定

(红外 CO₂ 分析法)

一、原理

处于贮藏条件下的果蔬在不断地进行呼吸作用，因此，必然影响到贮藏环境中 CO₂ 的含量，进而对贮藏果蔬的生命活动和贮藏效果产生重要的影响，所以果蔬贮藏过程中需要对环境中的 CO₂ 含量进行测定。

红外 CO₂ 分析仪的基本原理是利用 CO₂ 在 2.5~25 μm 这一中段红外区的吸收光谱。由异原子组成的有偶极矩的气体分子，如 CO₂，CO，H₂O，SO₂，NO，NH₃，CH₄ 等，都具有中段的红外吸收带。红外光经过这些分子则被吸收，使透过的红外光的能量减少。某一气体吸收红外光能量的多少与该气体的吸收系数、气体浓度和气体层的厚度有关。

二、材料与设备

1. 实验材料

水果或蔬菜。

2. 设备

手提式红外 CO₂ 分析仪，硅胶，无油空压机，气体缓冲瓶，干燥器，碱石灰。

三、实验步骤

手提式红外 CO₂ 分析仪的气路联接如下图所示。仪器的后面板左面部分表示仪器外部管道的连接。仪器有两个测量范围，

分别介绍如下：

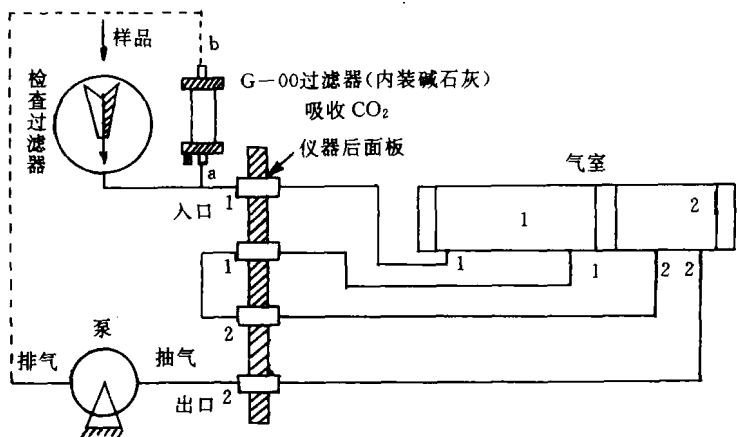


图 3-1 测量 $(0\sim 500) \times 10^{-6} \text{CO}_2$ 气路连接图

1. 测量 $(0\sim 500) \times 10^{-6} \text{CO}_2$ 范围 (图 3-1)

① 仪器调零：将气室 1 和 2 用橡皮管连接，注意管道不可太短，否则管道易拐弯而将气路阻塞。将装有碱石灰过滤器的出口（图中 a 端）与入口 1 相连，碱石灰过滤器的入口处（图中 b 端）与气室的出口 2 相连，注意不要接反。此时气路中的气体就在气路中循环使用，由于 CO_2 被碱石灰吸收，所以可以作为仪器的调零气。

② 样品测定：先拆去 G-00 过滤器，接入检测过滤器，注意入口和出口方向。 $(0\sim 500) \times 10^{-6} \text{CO}_2$ 用气室 1、1+2 和 2。

2. 测量 $(0\sim 3000) \times 10^{-6} \text{CO}_2$ 范围 (图 3-2)

气路连接见下图，只用气室 2、2，而将气室 1、1 中封入无 CO_2 的气体。

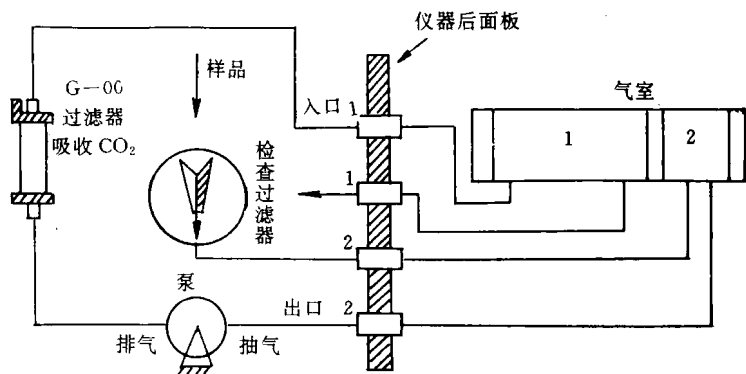


图 3-2 $(0 \sim 3000) \times 10^{-6} \text{CO}_2$ 气路连接图

3. 仪器启动

按所测量的 CO_2 浓度范围连接好气路，接通电源后，观察数分钟，仪器指示正常。如果此时抽入的是空气，仪器指示约在 300×10^{-6} 左右，用碱石灰吸收 CO_2 后，则指示在零附近，待标定。

4. 仪器标定

先将测量开关放在 1 上，启动正常后，预热 2 h，用标准气样 N_2 或被碱石灰吸收 CO_2 后的空气通入仪器，流量为 0.5 L/min 左右。调节“零点”电位器使指示为零，然后通入另一瓶满刻度约为 500×10^{-6} 的标准气样，调节“终点”电位器，使指示达满刻度。上述调整一次即可，终点不需经常标定，通常一季度标定一次。

如果测量 $(0 \sim 3000) \times 10^{-6} \text{CO}_2$ ，待用 $(0 \sim 500) \times 10^{-6} \text{CO}_2$ 标定好后，将开关置 2 位上即可。

上述步骤完成后，应记住“零点”和“终点”电位器的指示位置，以利今后测定。