

摘要

水芹营养丰富,但经鲜切加工后,在贮存、运输和出售过程中容易失绿、组织褐变、感官变差,乃至腐烂,造成大量浪费。因此,开发高效、安全的保鲜护绿技术对鲜切水芹贮藏品质保持和货架期延长具有重要意义。本文以鲜切水芹为试验对象,深入探讨了臭氧预处理和柠檬酸、氯化钙和葡萄糖酸锌组成的保鲜护绿剂对鲜切水芹在低温下贮藏品质的影响,在此基础上与微孔气调包装结合,并研究其保鲜效果。研究结果如下:

(1) 研究了臭氧预处理对鲜切水芹菜低温贮藏品质和抗氧化能力的影响。采用 37.04 mg/m^3 臭氧处理鲜切水芹 15 min,每隔 5 d 处理一次,在 $5 \text{ }^\circ\text{C}$ 下贮藏 20 d。结果表明:臭氧处理能有效延缓鲜切水芹贮藏期间感官品质、颜色属性、叶绿素、失重、硬度、呼吸速率的恶化以及可溶性固形物、丙二醛、酚类物质含量的上升,同时维持抗坏血酸含量,抑制多酚氧化酶活性,以及诱导过氧化物酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性增加,但会减少还原型谷胱甘肽含量,经间歇臭氧处理后的水芹在贮藏期间保持了良好的外观、质地特征,具有较高的商业价值。

(2) 考虑到水芹在贮藏过程中容易失绿黄化,研究了柠檬酸、氯化钙和葡萄糖酸锌经响应面法优化后组成的复配剂对鲜切水芹的保鲜护绿效果。结果表明:经响应面优化后的保鲜护绿剂最佳配方为柠檬酸 3.44 g/L 、氯化钙 1.1 g/L 、葡萄糖酸锌 50.7 mg/L ;经优化后的复配剂能更好地维持鲜切水芹的贮藏品质,减少重量损失,延缓叶绿素降解和失绿现象,推迟可溶性固形物含量上升,抑制丙二醛含量的增加,对抗坏血酸含量无不利影响。

(3) 为了得到鲜切水芹微孔气调包装的微孔参数,研究了鲜切水芹在不同温度下呼吸速率模型并进行验证评价,在此基础上构建微孔膜内外气体交换平衡方程。结果表明:低温能有效抑制水芹的呼吸强度; $5 \text{ }^\circ\text{C}$ 下,化学动力学模型表征鲜切水芹的呼吸速率效果最好; $(100 \pm 1) \text{ g}$ 鲜切水芹在 $5 \text{ }^\circ\text{C}$ 、理想气氛下 PET/PE 薄膜的开孔面积为 $2.81 \times 10^{-9} \text{ m}^2$ 。

为探究臭氧预处理结合保鲜剂与微孔气调包装对鲜切水芹在低温下的保鲜效果,对经臭氧预处理后的鲜切水芹分别进行微孔气调包装、微孔气调包装联合 1-甲基环丙烯 ($2 \text{ } \mu\text{L/L}$, 12 h)、微孔气调包装联合复配剂处理。结果表明:与对照相比,微孔膜处理会加快包装内外水分交换,能延缓鲜切水芹色泽变化,减缓品质劣变。在微孔膜基础上分别联合 1-MCP 和复配剂处理可进一步提高鲜切水芹的保鲜护绿效果,两组均能有效延缓鲜切水芹叶绿素、类胡萝卜素、类黄酮含量的降解,维持色泽,降低水分的流失,推迟可溶性固形物含量上升,对总酚、花青素、pH 影响不显著,但会降低可滴定酸含量,同时能抑制苯丙氨酸解氨酶、脂氧合酶活性,从而延缓丙二醛和相对电导率的上升,减少膜脂氧化程度,延缓水芹衰老,使鲜切水芹视觉呈高品质状态。

关键词: 鲜切水芹; 臭氧; 微孔气调; 保鲜; 护绿

Abstract

Oenanthe javanica is rich in nutrition. However, it is easy to chlorosis, tissue browning, sensory deterioration, and even rot during storage, transportation, and sale after fresh-cut processing, resulting in a lot of waste. Therefore, the development of efficient and safe fresh-keeping and green-protecting technology is of great significance to maintain the storage quality and prolong the shelf life of fresh-cut *Oenanthe javanica*. Fresh-cut *Oenanthe javanica* was used as the test object in this study. The effects of ozone pretreatment and green-keeping agent composed of citric acid, calcium chloride and zinc gluconate on the storage quality of fresh-cut cress at low temperature were discussed in depth. On this basis, combined with microporous modified atmosphere packaging, and its preservation effect was studied. The results are as follows :

(1) The effects of ozone pretreatment on the low temperature storage quality and antioxidant capacity of fresh-cut *Oenanthe javanica* were studied. Fresh-cut *Oenanthe javanica* was treated with 37.04 mg/m^3 ozone for 15 min, once every 5 d, and stored at $5 \text{ }^\circ\text{C}$ for 20 d. The results showed that ozone treatment could effectively delay the deterioration of sensory quality, color attributes, chlorophyll, weight loss, hardness, respiration rate and the increase of soluble solids, malondialdehyde and phenolic content of fresh-cut *Oenanthe javanica* during storage. At the same time, the content of ascorbic acid was maintained, the activity of polyphenol oxidase was inhibited, the activities of peroxidase, catalase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase were induced, but the content of reduced glutathione was reduced. The *Oenanthe javanica* treated by intermittent ozone maintained good appearance, texture characteristics and high commercial value during storage.

(2) Considering that *Oenanthe javanica* is easy to chlorosis and yellow during storage, the effect of compound agent composed of citric acid, calcium chloride and zinc gluconate optimized by response surface method on fresh-cut *Oenanthe javanica* was studied. The results showed that the optimum formula of green-keeping compound optimized by response surface was citric acid 3.44 g/L , calcium chloride 1.1 g/L and zinc gluconate 50.7 mg/L . The optimized compound agent could better maintain the storage quality of fresh-cut *Oenanthe javanica*, reduce weight loss, delay chlorophyll degradation and chlorosis, delay the increase of soluble solids content, inhibit the increase of malondialdehyde content, and had no adverse effect on ascorbic acid content.

(3) In order to obtain the micro-pore parameters of fresh-cut *Oenanthe javanica* modified atmosphere packaging, the respiration rate model of fresh-cut *Oenanthe javanica* at different temperatures was studied and verified. On this basis, the gas exchange equilibrium equation inside and outside the microporous membrane was constructed. The results showed that low temperature could effectively inhibit the respiration intensity of *Oenanthe javanica*. At $5 \text{ }^\circ\text{C}$, the chemical kinetic model had the best effect on the respiration rate of fresh-cut *Oenanthe javanica*. The open area of PET/PE film with $(100 \pm 1) \text{ g}$ fresh-cut *Oenanthe javanica* was $2.81 \times 10^{-9} \text{ m}^2$ at $5 \text{ }^\circ\text{C}$ under ideal atmosphere.

In order to explore the preservation effect of ozone pretreatment combined with

preservative and microporous modified atmosphere packaging on fresh-cut *Oenanthe javanica* at low temperature, the fresh-cut *Oenanthe javanica* after ozone pretreatment was treated with microporous modified atmosphere packaging, microporous modified atmosphere packaging combined with 1-Methylcyclopropene (2 $\mu\text{L/L}$, 12 h), microporous modified atmosphere packaging combined with compound agent. The results showed that compared with the control, microporous membrane treatment could accelerate the water exchange inside and outside the packaging, delay the color change of fresh-cut *Oenanthe javanica* and slow down the quality deterioration. The combination of 1-MCP and compound treatment on the basis of microporous membrane can further improve the fresh-keeping and green-keeping effect of fresh-cut *Oenanthe javanica*. Both groups can effectively delay the degradation of chlorophyll, carotenoid and flavonoid content of fresh-cut *Oenanthe javanica*, maintain the color, reduce the loss of water, delay the increase of soluble solids content, and have no significant effect on total phenol, anthocyanin and pH, but will reduce the content of titratable acid. At the same time, it can inhibit the activity of phenylalanine ammonia lyase and lipoxygenase, thus delaying the increase of malondialdehyde and relative conductivity, reducing the degree of membrane lipid oxidation, delaying the senescence of *Oenanthe javanica*, and making the fresh-cut *Oenanthe javanica* have a high visual quality.

Keywords: fresh-cut *Oenanthe javanica*; ozone; microporous modified atmosphere; preservation; green-maintaining

目 录

第一章 绪论.....	1
1.1 蔬菜腐败及失绿机制.....	1
1.2 采后绿叶菜的保鲜与护绿技术研究现状	1
1.2.1 臭氧处理.....	1
1.2.2 超声波预处理及其组合技术.....	2
1.2.3 辐照.....	2
1.2.4 1-甲基环丙烯	3
1.2.5 纳米技术.....	4
1.2.6 细菌素.....	5
1.3 气调保鲜包装研究现状.....	5
1.3.1 气调包装技术.....	5
1.3.2 果蔬呼吸速率模型.....	6
1.4 本课题研究的意义.....	7
1.5 本课题研究的主要内容.....	7
第二章 臭氧预处理对鲜切水芹低温下贮藏品质和抗氧化能力的影响	9
2.1 前言.....	9
2.2 材料与仪器.....	9
2.2.1 材料.....	9
2.2.2 主要试剂.....	9
2.2.3 主要仪器与设备.....	9
2.3 试验方法.....	10
2.3.1 臭氧浓度单因素试验.....	10
2.3.2 臭氧预处理试验.....	10
2.3.3 测定指标方法.....	10
2.3.4 数据统计与分析方法.....	13
2.4 结果与分析.....	13
2.4.1 单因素试验结果.....	13
2.4.2 臭氧预处理试验结果.....	13
2.5 本章小结.....	21
第三章 鲜切水芹保鲜护绿复配剂的优化及保鲜护绿效果研究	22
3.1 前言.....	22
3.2 材料与仪器.....	22
3.2.1 材料.....	22

3.2.2 主要试剂.....	22
3.2.3 主要仪器与设备.....	23
3.3 试验方法.....	23
3.3.1 原材料处理.....	23
3.3.2 单因素试验.....	23
3.3.3 响应面试验.....	23
3.3.4 最佳复配剂处理试验.....	23
3.3.5 测定指标与方法.....	24
3.3.6 数据统计与分析方法.....	24
3.4 结果与分析.....	24
3.4.1 单因素试验结果.....	24
3.4.2 响应面试验分析.....	25
3.4.3 复配剂处理对鲜切水芹保鲜效果影响.....	29
3.5 本章小结.....	32
第四章 预处理结合保鲜剂与微孔气调包装对鲜切水芹低温保鲜效果研究.....	33
4.1 前言.....	33
4.2 鲜切水芹呼吸速率模型研究.....	33
4.2.1 材料与仪器.....	33
4.2.2 试验方法.....	33
4.2.3 结果与分析.....	34
4.3 1-MCP 保鲜剂单因素试验.....	40
4.3.1 材料与仪器.....	40
4.3.2 试验方法.....	41
4.3.3 结果与分析.....	41
4.4 预处理结合保鲜剂与微孔气调包装对鲜切水芹品质的研究.....	41
4.4.1 材料与仪器.....	41
4.4.2 微孔包装开孔方案的确定.....	42
4.4.3 试验方法.....	43
4.4.4 结果与分析.....	45
4.5 本章小结.....	51
第五章 主要结论与展望.....	52
5.1 主要结论.....	52
5.2 创新点.....	53
5.3 展望.....	53
参考文献.....	54

第一章 绪论

1.1 蔬菜腐败及失绿机制

蔬菜不可逆腐败和感官变差的主要因素与潜在的微生物和酶活性有关^[1]。蔬菜的腐烂主要是由微生物引起，根霉属、镰刀菌属、葡萄孢属、核盘菌属等霉菌，欧氏杆菌属、假单胞菌属等细菌广泛存在于其表面，这些微生物通过直接侵入、自然孔口侵入和伤口侵入等方式将多糖纤维素、半纤维素和果胶等分解成微生物生长繁殖所需的营养物质，引起腐败^[2]。此外由于采后运输等发生的机械损伤，或因为衰老引起叶绿素降解而增加细胞对光诱导氧化损伤的易感性所造成的组织损伤^[3]，使有利于微生物生长的蔬菜营养物质与空气接触，从而加快腐烂^[4]。蔬菜体内相关酶的表达也会降低蔬菜的品质，如细胞壁降解酶的表达使蔬菜质地软化，酚酶催化酚类化合物生成醌类及其聚合物引起褐变，苯丙胺酸解氨酶会加速蔬菜的衰老等^[5]。另外，乙烯对酶活性有重大影响，当乙烯含量大于 $0.01 \mu\text{L/L}$ 时，可刺激蔬菜的呼吸强度^[6]，影响糖含量的变化，细胞壁降解酶的表达，叶绿素的稳定性和酚类化合物的合成等生理变化，加速衰老，降低蔬菜的品质甚至引起腐败^[7]。

蔬菜采后失绿主要是因为叶绿素的降解，是叶绿素 a 在叶绿素酶作用下降解为叶绿素 a 酸酯，随后经一系列相关降解酶的作用下降解为非荧光叶绿素降解物^[8]，此过程也称为脱镁叶绿素 a 加氧酶途径^[9]，该过程伴随蔬菜的衰老，与叶绿素降解酶活性相关。有研究表明，叶绿素降解的另一途径是氧化降解途径^[10]，此过程可能是由于活性氧（Reactive oxygen species, ROS）的过量积累，对蔬菜生物分子如蛋白质、脂质、核酸等造成氧化损伤所引起的^[11]。此外，还有植物激素也会引起叶绿素降解，如乙烯、花青素等。有研究表明，乙烯与叶绿素降解高度相关，乙烯信号通路重要转录因子 *ETHYLENE INSENSITIVE3* 通过结合相关叶绿素代谢基因可以直接对叶绿素的降解产生影响^[12]；花青素可以通过吸收绿光和减少多余的激发能来保护光合作用系统不受光抑制，同时可作为抗氧化剂，只有在叶绿素降解开始时才有可能合成花青素，表明叶绿素降解和花青素合成之间可能有密切关系^[13]。

1.2 采后绿叶菜的保鲜与护绿技术研究现状

1.2.1 臭氧处理

臭氧是一种强氧化剂和抗菌剂，可以减少新鲜农产品表面微生物来延长保鲜期。此外，由于臭氧的降解产物是氧气，不会在农产品表面留下残留物，是一种安全高效的农产品保鲜消毒方式。美国食品药品监督管理局已确认臭氧在农产品加工中的使用是安全的^[14]。臭氧处理可以对果蔬产生多种影响，如减少果蔬水分蒸腾、保持果蔬硬度、增强果蔬抗氧化能力等，这些影响可能与臭氧介入果蔬内多种反应有关，包括酶的失活、核酸浓度的改变和膜脂的氧化等^[15]。臭氧处理农产品的主要方式一般分为臭氧水溶液和气态臭氧两大类。王雪青等^[16]研究表明，臭氧水溶液（ 4 mg/L ， 5 min ）处理可以减缓菠

菜叶绿素含量的降解,降低菠菜感官品质的劣变和营养元素的流失,提高抗氧化酶活性,降低氧化损伤,提高菠菜耐贮性。与臭氧水溶液相比,气态形式臭氧更环保,在食品加工中使用更安全。据前人研究报道,低浓度气态臭氧(200 nL/L)可以减少西兰花表面霉菌数量,延缓黄化速度,这可能与臭氧抑制叶绿素降解酶或诱导能保护叶绿素的抗氧化剂有关^[17]。然而,不适当的臭氧浓度可能会导致过量的 ROS 产生,这会严重破坏植物的细胞组成和结构并导致植物死亡。Forney 等^[17]研究发现,高浓度臭氧会导致西兰花失重增加,这可能是由于臭氧使角质层降解。

1.2.2 超声波预处理及其组合技术

超声波(Ultrasound, US)有较强的空化效应和其它同生效应,在液体中产生局部极高的温度和压力变化,破坏微生物细胞膜结构,达到灭菌和酶变性、失活的目的^[18]。据报道,经扫描超声波处理的小白菜,酵母菌和霉菌数量显著减少^[19]。另外,在生菜中的应用表明,US 可以抑制多酚氧化酶和过氧化物酶活性^[20],可能是超声空化气泡产生的剪切力可以破坏维持蛋白质空间结构稳定性的氢键、范德华力、静电力等,导致蛋白质的二级和三级结构发生变化,进而使酶变性和失活^[18]。温度、pH 等环境条件的变化也会使酶活性发生变化,因此,US 与能改变温度和 pH 等的技术结合起来,形成 US 组合技术。研究发现,US 组合技术在蔬菜上的运用不仅表现出较好的灭菌效果,还有利于维持蔬菜的贮藏品质。Zhang 等^[21]研究发现,US 和 MAP 组合技术降低了小白菜贮藏期间菌落总数的增加,减缓了其质量损失、黄化、丙二醛含量的增加,维持细胞膜通透性,减缓了可溶性固形物总量的下降和抗坏血酸和叶绿素的损失,可延长保质期至 30 d。超声-次氯酸钠-植酸联合处理生菜^[22],能有效抑制大肠杆菌 O157:H7 的生长,减轻鲜切生菜的质量损失和颜色变化,抑制多酚氧化酶和过氧化物酶活性,对 VC、总酚、叶绿素以及水分含量有维持作用。范凯^[23]发现 US 联合 MAP 处理生菜,抑制了冷藏期间微生物生长,减缓了叶绿素的降解,抑制生菜的超氧阴离子生成量和脂氧合酶活性,维持 ABTS 与 DPPH 自由基清除能力,表明组合处理对生菜的衰老具有延缓作用,且将生菜货架期延长至 12 d。

US 短时间处理灭菌效果有限,而处理时间过长,则会造成蔬菜表皮损伤、组织软化和营养流失等^[24]。有研究表明,小白菜叶片的物理损伤和 VC 的损失随着超声功率的增加而增加,随着超声频率的增加而减少^[25]。不同的蔬菜所采用的最佳处理时间、功率和频率,还有待研究,这也是限制 US 应用的因素之一。

1.2.3 辐照

辐照可以使蔬菜受到特定剂量的非电离辐射如紫外(Ultraviolet, UV)、可见光、无线电波等,或电离辐射,如 γ 射线、X 射线、加速电子束等来消灭蔬菜中的微生物,抑制某些代谢反应^[26],从而延长蔬菜贮藏期。

根据 UV 波长分为 UV-A、UV-B、UV-C 3 种类型^[26]。UV 作为一种无残留的物理杀菌方法,对蔬菜采后病害控制、生理活性、植物激素生成有重大影响^[27]。UV-A 在自然界中广泛存在,对植物的影响较小;UV-B 可以改变植物细胞的抗氧化代谢等生理活

动^[27]。有研究表明,低剂量 UV-B 的刺激作用会增强西兰花自身的保护机制,诱导酚类抗氧化剂的生成,延缓黄化,对西兰花的颜色保持和品质维持有明显作用^[28]。而 UV-C 有较短的波长(200~280 nm),是遗传物质的吸收峰值区域,因此对病毒、细菌的杀灭效果最显著,也可以影响植物代谢反应^[26]。Gogo 等研究发现^[29],UV-C (1.7 kJ/m²) 处理非洲苋菜和非洲茄叶能显著降低好氧菌、酵母菌和霉菌数量,维持矿物元素,减少碳水化合物含量的流失,延缓叶绿素降解。

γ 射线与 X 射线有较强的穿透作用,通过破坏细胞与微生物 DNA 的共价键,对酶的表达和微生物生长有显著影响^[26]。低剂量 γ 射线处理可以降低欧芹叶上的酵母和霉菌总数,也能减少产生的褐藻素类化合物含量,延缓欧芹黄化,这可能是由于 γ 辐射的灭菌作用和对叶绿素酶的部分抑制所致,在 4 °C 下 γ 射线辐照使欧芹贮藏期延长至 30 d^[30]。X 射线辐射已证实能灭活各种致病菌,且高达 2.0 kGy 的辐射量对菠菜叶的颜色和质地无不利影响^[31]。另外,有学者指出 X 射线和没食子酸联合处理生菜对食源性致病菌有协同杀菌作用,对生菜的颜色和质地有维持作用^[32]。

合适剂量的几种其它类型辐照在不同种类绿叶菜上的应用见表 1-1,表现出良好的保鲜护绿效果。然而,高剂量的辐照会对蔬菜有负面影响。高剂量 UV-B 处理的西兰花失重率较高,影响保质期^[28]。同样,高剂量 γ 射线辐射会软化欧芹植物细胞壁,使其失去硬度,让气味和风味变差^[30]。不同辐照处理对蔬菜品质包括色泽、硬度、抗氧化性以及营养成分的影响不能以一概全,而且不同处理剂量效果各异,再加上不同蔬菜自身特性的差异,对于特定品种绿色蔬菜的保鲜及护绿仍需进一步的研究。

表 1-1 几种其它类型辐照在蔬菜上的应用

Tab.1-1 Application of several other types of irradiation on vegetables

蔬菜	辐照类型及条件	效果	参考文献
西兰花	2.4 kGy 电子束辐照, 0.02 mm 聚氯乙烯保鲜袋, 4 °C	抑制冷藏期间菌落总数、霉菌和酵母的增加,减少黄化发生和总叶绿素含量下降幅度,延长保鲜期至 18~24 d	[33]
小白菜	10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 的 LED 白光 + 0.3 kJ/m ² UV-C, 0.03 mm 聚乙烯袋, 20 °C	降低损耗率和失重率,保持较高的叶绿素含量和 VC 含量,维持采后品质	[34]
西兰花	300 W 微波 40 s, 4 °C	降低过氧化物酶活性,延缓 VC、水分及叶绿素含量的下降	[35]
白菜	35 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ LED 红光 8 小时, 聚氯乙烯袋, 20 °C	抑制叶绿素降解和衰老相关基因的表达,叶绿素、VC 和总可溶性蛋白质含量得到维持,延缓衰老	[36]

1.2.4 1-甲基环丙烯

1-甲基环丙烯(1-Methylcyclopropene, 1-MCP)是乙烯抑制剂,通过与乙烯竞争乙烯受体和抑制多种转录因子的表达,来防止蔬菜过度衰老^[6]。目前其延缓衰老和品质恶化的机制尚未完全阐明,可能是 1-MCP 与乙烯受体的结合形态抑制蔬菜生理活性物质的形成,从而干扰乙烯的信号传导,抑制乙烯的生理效应^[6]。1-MCP 也能有效抑制参与

叶绿素降解的相关基因的表达,降低了叶绿素酶等酶的活性^[37],从而限制绿叶颜色的丧失。Hu 等^[38]用 1-MCP 处理甘蓝,研究发现,从储存开始到第 8 d, 1-MCP 处理组贮藏期间乙烯生成受到抑制,呼吸速率降低,延缓了抗坏血酸、总酚含量的丢失,且总叶绿素、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均比对照组多。1-MCP 在牛心甘蓝^[39]、山芹^[40]等蔬菜也有应用,均能延缓叶绿素降解,维持采后品质。

单一的使用 1-MCP 保鲜还不能完全解决如易氧化、微生物影响等问题,与其它具有灭菌和抗氧化效果的化学保鲜剂组合使用,可为蔬菜贮藏保鲜和护绿提供了新的途径和思路。张四普等^[41]采用柠檬酸和植酸复合保鲜剂结合 1-MCP 处理芥蓝,以叶绿素含量、相对电导率、过氧化物酶活性、丙二醛含量等为评价指标,结果显示,常温贮藏 6d 后,复合处理组上述指标均优于对照。金童^[37]对比了 1-MCP、ClO₂ 分别单独处理与组合处理对青椒的影响,发现组合处理组抑制青椒叶绿素降解的相关基因 (*CLH*、*PPH*、*PAO* 和 *RCCR*) 的表达能力更强,叶绿素酶等酶的活性得到抑制,延缓了叶绿素降解,且能维持可溶性糖等营养物质含量,保鲜护绿效果较好。

目前 1-MCP 对果蔬保鲜效果的研究众多,但对延缓果蔬衰老的分子机理研究不足,深入研究 1-MCP 作用的相关基因和蛋白质,对开发 1-MCP 组合技术具有重要意义。

1.2.5 纳米技术

纳米保鲜技术主要分为纳米涂膜技术和纳米包装技术^[42]。纳米涂膜技术中的纳米乳液是一个异质体系,至少由两种不相容的液体组成,一种分散在另一种小液滴中,粒径从 10 nm 到 1000 nm 不等,典型的纳米乳液包括油相、水相和乳化剂^[43]。由于其表面体积比大、粒径小,可将抗氧化剂、抗菌剂等作为纳米载体包封在一起,使包封组分在纳米乳液中的生物利用度得到提高。Huang 等^[44]将油菜素内酯和肉桂精油用乳清浓缩蛋白-高甲氧基果胶纳米双乳液包封,并对西兰花浸涂,结果表明,两种包封物利用率提高,有协同作用;双乳剂涂膜不仅抑制了叶绿素降解酶的活性,减少细胞膜的破坏,从而保持住叶绿素含量,而且也保持了较高的三磷酸腺苷含量,抑制了能量电荷的下降趋势,有效延缓西兰花的衰老。纳米涂膜技术还可以在蔬菜表面形成保护层,对氧气、二氧化碳、水分、微生物的渗入有阻碍作用,形成微气调环境^[43],可以降低蔬菜的呼吸和蒸腾作用。有研究表明,将菠菜浸入纳米纤维素悬浮液后,对叶片的外观、叶绿素、颜色和含水量均有显著的保持作用,并且使呼吸速率的降低,这归功于其亲水凝胶的吸水性能以及气体屏障特性,导致叶片水分的守恒和减少了菠菜叶片的好氧呼吸^[45]。

纳米包装技术是通过向包装材料中加入纳米粒子,使包装材料具有一定得抗菌、抗氧化等功能,也能提升包装材料的机械强度^[42]。纳米二氧化钛 (Nano-TiO₂, TiO₂ NPs)、氧化石墨烯 (Graphene oxide, GO) 添加到聚乳酸 (Polylactic acid, PLA) 中,可以显著提高 PLA 纳米纤维薄膜的拉伸强度和断裂伸长率,提高纳米纤维薄膜的阻水性能;制备的 PLA/TiO₂ NPs/GO 纳米纤维薄膜可以较好地保持青椒的感官品质,降低青椒的腐败率,减缓叶绿素流失,延缓青椒的红熟软化,延长保鲜期^[46]。

纳米粒子的比表面积较大,促进与细胞膜的接触,因此有更强的吸收和迁移能力,一旦迁移到食物中,它们可能会引起食物的感官变化^[47]。纳米技术虽可以较好地延长蔬

菜的保质期，但其潜在的毒性问题不容忽视。若将纳米技术应用在蔬菜的保鲜护绿和包装上，需进一步研究其潜在毒性。

1.2.6 细菌素

细菌素一般可以定义为抗菌肽或能够抑制某些腐败和致病微生物的蛋白质，它们能抑制细菌的生长，维持蔬菜品质^[48]。毕文慧等^[49]研制了一种由 ϵ -聚赖氨酸、乳酸链球菌素及曲酸 3 种安全性高的生物抑菌剂组成的复配液，浸涂青椒后，使青椒叶绿素和其它营养物质含量得到维持，延缓青椒相对电导率和失重率的上升，有助于维持青椒感官品质。另外，细菌素也能与其它物理保鲜方法及保鲜剂联合应用于蔬菜的保鲜，达到更好的保鲜护绿效果。Fan 等^[50]指出 ϵ -聚赖氨酸可大幅降低生菜表面霉菌、酵母菌总数以及大肠菌群总数，与超声波联合处理还可抑制多酚氧化酶和过氧化物酶活性的上升，降低生菜冷藏期间水分流动性，维持生菜的叶绿素含量，将货架期延长至 15 d。李长亮等^[51]的研究表明，溶菌酶和 1-MCP 联合处理西兰花可有效抑制霉变，提高感官品质和总酚含量，降低了叶绿素、VC 的降解速率。

由于不同蔬菜的内环境有一定差异，以及复杂的贮藏环境条件，细菌素在不同的蔬菜和不同的环境条件下发挥的作用各异，这限制了细菌素的应用。未来应深入研究细菌素的抗菌机制，并从分子水平上深入阐明保鲜机理，在此基础上，可与其它技术组合，开发持续性、广谱性和稳定性的复合保鲜护绿方法。

1.3 气调保鲜包装研究现状

1.3.1 气调包装技术

气调包装 (Modified atmosphere packaging, MAP) 是通过调整蔬菜贮藏包装内的气体成分及比例或用惰性气体替代来延长货架寿命的技术，一般结合低温贮藏，有助于抑制蔬菜的生化反应和微生物活性。传统 MAP 中最佳气氛通常有较高的 CO_2 含量，有研究表明，高水平的二氧化碳，但不超过 20%，有助于防止叶绿素在组织中的降解，这主要是通过抑制叶绿素酶的活性和叶绿素分解代谢基因的表达^[13]、调节 ROS 的代谢来实现的^[52]。Guo 等^[52]从分子水平研究了 MAP (充入气体体积分数比例分别为 10% CO_2 ，3% O_2 ，87% N_2) 在 4 °C 下对莴苣保鲜的机理，贮藏 6 d 后 CO_2 浓度上升到 17%，表现出较低的超氧阴离子和羟自由基水平，以及较高的细胞色素 c 氧化酶与琥珀酸脱氢酶活性，说明能调整电子传递链的动态平衡，保护线粒体结构和功能，从而降低 ROS 的积累，抑制叶绿素的降解并限制了莴苣细胞的损伤，6 d 后叶绿素含量和新鲜度明显优于对照组。然而，对于呼吸速率高的蔬菜来说，低浓度的 O_2 可能导致厌氧发酵，并相应地积累不利的气味和造成组织损害^[53]。此外，还由于蒸腾作用和其它生理活动会在薄膜上凝结水雾，滋生微生物，促进腐败，而微孔膜可以让气体、水分在包装的内、外环境之间以高速度实时交换，从而减少或消除这类问题的影响。Yuan 等^[54]研究表明，用有 12 微孔 (100 μm) 的薄膜包装白菜，能维持膜内理想的 O_2 与 CO_2 的浓度，让叶绿素降解酶活性明显降低，延缓叶绿素降解，且与风味相关的化学物质如异戊醛、异硫氰酸酯、3-

甲基-3-丁烯腈等得到较好地保留,提高了抗氧化能力,保持了白菜的新鲜度。而对于呼吸速率较低的蔬菜来说,通常主动气调保鲜效果更好^[53]。Torales 等^[53]评价微孔膜技术(0.3 mm)与主动气调(3 kPa O₂ + 5 kPa CO₂ 或 5 kPa O₂ + 20 kPa CO₂)在芝麻菜上的应用效果,结果表明主动气调比微孔膜技术更能有效抑制叶绿素降解酶活性,保护叶绿素,延缓芝麻菜的黄化,与对照组相比,保质期延长 15 d。

另外,与低氧气氛相比,高氧气氛包装(High oxygen atmosphere packaging, HOAP)对某些蔬菜的品质变化有相似,甚至更有利的影响^[48]。HOAP(初始 O₂ 浓度 90%)处理羽衣甘蓝的结果表明,羽衣甘蓝的感官品质得到保持,衰老过程被延缓,这可能与羽衣甘蓝贮藏过程中功能蛋白的积累有关;虽然在贮藏开始时可能由于高氧产生的氧化应激会引起叶绿素的轻微降解,但其新鲜度、气味和腐烂率均优于空气包装样品^[55]。值得注意的是,HOAP 处理也可能会对采后蔬菜产生负面影响,在高氧浓度下,卷心莴苣中乙烯的产生会增强^[56],从而会加速卷心莴苣的劣变速率。

总而言之,MAP 的处理效果很大程度上取决于蔬菜品种、储存温度、气体比例、贮藏前蔬菜的品质以及预处理等,应根据蔬菜呼吸特征来确定适宜的 MAP 方式及充入气体比例。对于大型气调贮藏系统,还可以安装制冷系统、气体控制仪表和监控系统(例如氧气、二氧化碳、乙烯、温度和湿度传感器)来提高应用效果。传统 MAP 的使用也存在白色污染的问题,将生物可降解性的材料运用在 MAP 上是今后的研究方向之一。

1.3.2 果蔬呼吸速率模型

果蔬的理论呼吸速率模型是气调包装设计的重要参考依据^[57]。主要有以下几种呼吸速率模型^[57~59]:

(1) 经验模型:

$$R = a_0 + a_1 \cdot [O_2] + a_2 \cdot [CO_2] + a_3 \cdot [O_2]^2 + a_4 \cdot [CO_2]^2 + a_5 \cdot [O_2] \cdot [CO_2] \quad (1-1)$$

式中: R 表示果蔬呼吸速率, mL/(kg·h); $[O_2]$ 、 $[CO_2]$ 分别为氧气和二氧化碳体积分数, %; a_0 、 a_1 、 a_2 、 a_3 、 a_4 、 a_5 为式中参数。

(2) 化学动力学模型:

$$R = k \cdot [O_2]^\alpha \cdot [CO_2]^\beta \quad (1-2)$$

式中: k 表示速率常数,与温度相关; α 、 β 分别为 $[O_2]$ 、 $[CO_2]$ 的反应级数,与物质浓度相关。

(3) 酶动力学模型:

非竞争型:

$$R = \frac{V_m \cdot [O_2]}{K_m + (1 + [CO_2]/K_i) \cdot [O_2]} \quad (1-3)$$

竞争型:

$$R = \frac{V_m \cdot [O_2]}{K_m \cdot (1 + [CO_2]/K_i) + [O_2]} \quad (1-4)$$

竞争-非竞争结合型:

$$R = \frac{V_m \cdot [O_2]}{K_m \cdot (1 + [CO_2]/K_i) + (1 + [CO_2]/K_j) \cdot [O_2]} \quad (1-5)$$

式中: V_m 表示果蔬最大呼吸速率, mL/(kg·h); K_m 、 K_i 、 K_j 分别为方程常数。

(4) 基于 Langmuir 吸收理论的模型:

$$R = \frac{a \cdot b \cdot [O_2]}{1 + a \cdot [O_2]} \quad (1-6)$$

式中: a 表示方程系数; b 表示果蔬最大呼吸速率, mL/(kg·h)。

当考虑 CO_2 对果蔬呼吸代谢的抑制作用时, 将式 (1-6) 变为:

$$R = \frac{a \cdot b \cdot [O_2]}{1 + a \cdot [O_2] + a \cdot i \cdot [O_2] \cdot [CO_2]} \quad (1-7)$$

式中: i 为 CO_2 对 O_2 的抑制系数。

1.4 本课题研究的意义

水芹 (*Oenanthe Javanica*) 是一种多年水生草本植物, 具有独特的香气和味道, 在中国、朝鲜和日本等地区广泛种植^[60], 经济和营养价值极高。它不仅是维生素、矿物质、挥发油和膳食纤维的极好来源, 而且富含一些生物活性成分, 如果糖、葡萄糖、邻苯二甲酸、氨基酸、芹菜素和咖啡酸等^[61]。在传统中药中, 水芹不仅可以广泛用来防治某些病症, 如黄疸和各种类型的慢性和急性肝炎等, 还能够对高血压、糖尿病、过敏、心律不齐和心血管疾病起到一定预防效果^[62-63]。

然而, 水芹含水量高, 组织脆弱^[64], 经整理、清洗等过程并加工成鲜切产品后, 其完整性遭到破坏, 会形成较大的机械损伤, 这会加剧水芹的呼吸速率和相关品质劣变酶的表达, 同时也会促进其表面微生物的生长繁殖, 造成鲜切水芹在贮存、运输和出售过程失绿、黄化、营养物质流失和腐败, 使其整体品质下降和货架期缩短, 这些负面影响会造成鲜切水芹的大量浪费, 同时会缩小其销售半径, 给当地产业造成经济损失。因此, 开发新型实用的鲜切水芹保鲜护绿技术是十分必要的。目前, 臭氧、保鲜剂、气调包装等保鲜护绿技术已应用于各类果蔬, 并显示出良好的保鲜护绿效果。然而, 由于贮藏环境的多变性和果蔬生理活动的复杂性等原因, 有时单一的保鲜护绿技术不能满足实际需求, 因此, 本研究将采用多种保鲜技术联用对鲜切水芹进行处理, 以期寻找到合适的护绿技术和保鲜包装来抑制鲜切水芹的黄化和品质劣变, 从而实现货架期延长的目的, 为鲜切水芹的保鲜技术应用提供理论依据。

1.5 本课题研究的主要内容

本课题以鲜切水芹为试验材料, 主要研究内容如下:

(1) 臭氧预处理对鲜切水芹低温贮藏品质和抗氧化能力的影响

用不同浓度臭氧处理鲜切水芹, 以失重率、叶绿素和类胡萝卜素含量为评价指标来确定最佳臭氧浓度; 研究臭氧处理对鲜切水芹在贮藏期间失重率、颜色变化、硬度、叶绿素、呼吸速率、丙二醛、可溶性固形物、抗坏血酸、还原型谷胱甘肽、总酚、类黄酮

以及抗氧化相关酶的影响，探讨了臭氧处理对鲜切水芹保鲜护绿的可能机理，以确定臭氧的使用是否是保持水芹品质的一种有效方法。

(2) 鲜切水芹保鲜护绿复配剂的优化及保鲜护绿效果研究

以柠檬酸、氯化钙和葡萄糖酸锌为试验因素，以褐变指数与叶绿素含量为响应值，采用响应面法优化 3 者试剂组成的复合溶液配比，并探讨最佳配比复配剂处理对鲜切水芹失重率、叶绿素含量、色泽、丙二醛含量、抗坏血酸、可溶性固形物含量的影响，为水芹采后保鲜技术提高参考。

(3) 预处理结合保鲜剂与微孔气调包装对鲜切水芹低温保鲜效果研究

对鲜切水芹的呼吸速率进行测定，以经验模型、3 种酶动力学模型和化学动力学模型对鲜切水芹的呼吸速率进行模型表征并评价；用不同浓度 1-MCP 处理鲜切水芹，以失重率、叶绿素、类胡萝卜素和丙二醛含量为评价指标来确定最佳 1-MCP 浓度；结合呼吸速率模型分析得出微孔膜气调包装的开孔方案；基于臭氧预处理和优化复配剂的研究，探讨了鲜切水芹经臭氧预处理后再分别结合微孔气调包装、微孔气调包装联合 1-MCP、微孔气调包装联合复配剂对鲜切水芹相关品质指标的影响。

第二章 臭氧预处理对鲜切水芹低温下贮藏品质和抗氧化能力的影响

2.1 前言

臭氧是一种活性氧，可以作用于许多饱和及不饱和有机物，并能有效地降低成熟果蔬中乙烯、乙醇和乙醛等物质的含量^[65]。臭氧因可以氧化蛋白质、脂质、酶、核酸和其他细胞成分，通常会引起果蔬的各种生理变化，提高植物的抗逆性^[66]。有研究表明，臭氧水可以抑制鲜切芹菜的多酚氧化酶活性和呼吸速率，改善感官质量^[67]；王晓等^[68]研究指出臭氧对杭白菜有较强的护绿效果，可推迟其衰老。另外，臭氧作为强氧化剂，有很强的杀菌效果。据报道，臭氧可显著降低香椿表面大肠杆菌、酵母菌、霉菌数量，保持贮藏品质^[69]。臭氧处理是果蔬采后处理的有效方法，在哈密瓜^[70]、阿克苏苹果^[71]、香椿^[72]、金针菇^[73]等果蔬中取得不错的保鲜效果。

然而，臭氧气体处理鲜切水芹保鲜的研究鲜见报道，本研究的目的是确定臭氧对鲜切水芹低温下贮藏品质的影响，并通过对抗氧化相关酶活性的测定与分析，以确定臭氧的使用是否是保持水芹采后品质的一种有效方法。

2.2 材料与仪器

2.2.1 材料

水芹采购于安徽池州，冷链运输，及时运回实验室，选择新鲜、无机械损伤、无病虫害的水芹进行试验。

2.2.2 主要试剂

三氯乙酸（TCA）、盐酸、甲醇、2-硫代巴比妥酸（TBA）、抗坏血酸、30% H_2O_2 、邻苯二酚，国药集团化学试剂有限公司；2,6-二氯靛酚钠盐、氯化硝基四氮唑蓝（NBT）、二硫代硝基苯甲酸，北京沃凯生物科技有限公司；乙醇、愈创木酚，上海泰坦科技股份有限公司；草酸、蛋氨酸、二硫苏糖醇，上海百灵威化学技术有限公司。以上试剂均为分析纯。

2.2.3 主要仪器与设备

GN-S2S 便携式水处理臭氧机，安徽杰禹电子科技有限公司；CR-400 手持色彩色差仪，柯尼卡美能达投资有限公司；LX-LX-HR165A 高速冷冻离心机，上海力辰邦西仪器科技有限公司；2WAJ 阿贝折光仪，上海光学仪器五厂；SHP-150 生化培养箱，上海精宏试验设备有限公司；UV-1800 紫外分光光度计，日本岛津公司；AX124ZH/E 型电子天平，奥豪斯仪器（常州）有限公司；C650B 顶空气体分析仪，济南兰光机电技术有限公司。

2.3 试验方法

2.3.1 臭氧浓度单因素试验

取水芹菜中粗细一致部分，切成 16 cm 左右鲜切段，然后在 5 °C 下先预冷 2 小时。臭氧发生器对相同的 60 L 密闭容器供应臭氧，控制臭氧质量浓度为分别为 18.52、37.04、55.56 和 74.07 mg/m³，将预冷好的水芹分别放入其中处理 15 min，再分别装入到 0.12 mm 厚 PE 保鲜袋折口存放，每袋 (100 ± 1.0) g，最后在 5 °C 下贮藏 10 d，以相关指标筛选出最佳臭氧浓度，每处理重复 3 次。

2.3.2 臭氧预处理试验

取水芹菜中粗细一致部分，切成 16 cm 左右鲜切段，然后在 5 °C 下先预冷 2 小时。将鲜切段随机分成两组，一组为臭氧处理组：用筛选出的最佳浓度臭氧处理预冷好的水芹 15 min；另一组为对照组：未通入臭氧，其他条件相同。接着再分别装入到 0.12 mm 厚 PE 保鲜袋折口存放，每袋 (120 ± 1) g，最后置于 5 °C 培养箱贮藏 (相对湿度 40%~50%)，每 5 d 重复上述臭氧处理，从 0 d 开始每 5 d 进行取样测定，共 20 d，每处理重复 3 次。

2.3.3 测定指标方法

2.3.3.1 感官质量评价

感官质量评价参照许学勤^[74]的评价标准加以修改。由一个经专业训练的 10 人小组对水芹的外观、质地和水芹香味进行评价，评价标准见表 2-1。

表 2-1 鲜切水芹感官质量评价标准

Tab.2-1 Fresh-cut *Oenanthe javanica* sensory quality evaluation standard

评分标准	评级
鲜绿、有光泽，质地脆嫩、有正常的水芹香味、可食用	9
茎段切口处少许变暗发黄，茎段中间略微发白，质地较脆嫩，水芹香味较浓，可食用	7
有腐烂现象出现，但绝大部分完好，组织出现软化，水芹香味较淡，极少食用	5
茎段出现少部分水浸状腐烂，茎颜色偏淡，质地偏萎蔫，腐败味较淡，不可食用	3
茎段出现严重水浸状腐烂，颜色基本变暗，色泽变浅，腐败味严重，不可食用	1

2.3.3.2 颜色变化的测定

用 CR-400 手持色彩色差仪测定鲜切水芹表面 L^* 、 a^* 、 b^* 值，并计算色度 (2-1) 与色差 ΔE (2-2) ^[75]。

$$\text{色度} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2-1)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (2-2)$$

式 (2-1)、(2-2) 中： L^* 、 a^* 、 b^* 分别代表明度、红/绿值、蓝/黄值，均由色差仪测得。

2.3.3.3 叶绿素含量的测定

叶绿素含量参照王学奎方法^[76]略作修改，称取 2 g 样品放入研钵，加入 95% 乙醇研磨提取，过滤定容至 15 mL，取滤液分别测定在 665 nm 和 649 nm 下的吸光度值。叶绿

素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量通过下列公式计算：

$$Y_a = 13.95A_{665} - 6.88A_{649} \quad (2-3)$$

$$Y_b = 24.96A_{649} - 7.32A_{665} \quad (2-4)$$

$$Y_T = Y_a + Y_b \quad (2-5)$$

式 (2-3)、(2-4)、(2-5) 中： A_{665} 、 A_{649} 为滤液在 665 nm 和 649 nm 下的吸光度值； Y_a 、 Y_b 、 Y_T 分别为叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素浓度，单位 mg/L，经过换算转化为 $\mu\text{g/g}$ 。

2.3.3.4 失重率、硬度的测定

失重率采用称重法^[75]，如下式：

$$\text{失重率} = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100\% \quad (2-6)$$

式中： M_0 是初始样品质量，g； M_1 是贮藏后样品质量，g。

硬度测定：随机选择 5 个水芹段，用 GY-5B 数显水果硬度计测量茎段中间硬度，结果取平均值，单位为牛顿，N。

2.3.3.5 可溶性固形物含量的测定

可溶性固形物含量 (Soluble solid content, SSC) 采用阿贝折光仪测定^[77]，取 5 g 样品放入研钵中磨碎，经纱布过滤后取汁液用阿贝折光仪直接读数，以质量分数表示，%。

2.3.3.6 呼吸速率的测定

呼吸速率采用密闭系统法^[59]，取各处理组 (50 ± 1) g 鲜切水芹置于密封性良好的盒子中，再放入 5 °C 贮藏室里，2 h 后用顶空分析仪测出 CO_2 释放量，以下式计算呼吸速率。

$$R_{\text{CO}_2} = \frac{([\text{CO}_2]^t - [\text{CO}_2]^0) \cdot (V - V_v)}{100 \cdot W \cdot t} \quad (2-7)$$

式中： R_{CO_2} 为 CO_2 生成速率， $\text{mL}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ ； $[\text{CO}_2]^0$ 、 $[\text{CO}_2]^t$ 分别为密封盒内初始和 t 时刻 CO_2 的体积分数，%； V 、 V_v 分别为密封罐和盒内样品的体积，mL； W 为样品质量，kg； t 为密封时间，h。

2.3.3.7 丙二醛含量的测定

丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量采用采用 TBA 法^[77]，取 1 g 样品放入研钵中，加入 5 mL 100 g/L TCA 研磨成浆，离心取上清液加入 0.67% TBA，沸水浴 20 min 后冷却再次离心，分别测定上清液在 450 nm、532 nm、600 nm 下的吸光度值，按下式计算 MDA 含量，单位 $\mu\text{mol/L}$ ，经过换算转化为 nmol/g 。

$$\text{MDA} = 6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450} \quad (2-8)$$

式中： A_{532} 、 A_{600} 、 A_{450} 为滤液在 532 nm、600 nm、450 nm 下的吸光度值。

2.3.3.8 总酚、类黄酮物质含量的测定

参照曹建康^[77]方法，取 1 g 样品于研钵中，加入 1% HCl-甲醇溶液，在冰浴条件下研磨成浆，再定容至 15 mL 后于 4 °C 避光提取 20 min，过滤后取滤液测定 280 nm 和 325 nm 吸光度值，分别表示为总酚和类黄酮含量，记为 OD_{280}/g 和 OD_{325}/g 。

2.3.3.9 抗坏血酸、还原型谷胱甘肽含量的测定

抗坏血酸 (Ascorbic acid, ASA) 采用 2,6-二氯酚靛酚滴定法^[77], 用 20 g/L 草酸溶液将 10 g 样品研磨成浆, 定容至 100 mL, 过滤后取 10 mL 用已标定的 2,6-二氯酚靛酚滴定至微红色, 用消耗染料的用量计算 ASA 含量。

还原型谷胱甘肽 (Reduced glutathione, GSH) 含量参照分光光度计法^[77]略作修改, 称取 2 g 样品, 用 3 mL 50 g/L TCA (含 5 mmol/L EDTA- Na_2) 在冰浴条件下研磨成浆后于 4 °C、12000 g 下离心 20 min。将 1 mL 上清液和 1 mL 0.1 mol/L、pH 7.7 磷酸缓冲液加入到两只试管中, 接着一只试管加入 0.5 mL 4 mmol/L 二硫代硝基苯甲酸 (DTNB), 另一只试管加入 0.5 mL 0.1 mol/L、pH 6.8 磷酸缓冲液。两只试管在 25 °C 保温 10 min 后取溶液测定在 412 nm 下的吸光度值, 计算两者的吸光度差值。以标准还原型谷胱甘肽做标准曲线 ($y=0.0018x-0.0053$, $R^2=0.9974$), 根据差值从标准曲线上查出相应的 GSH 含量, 计算每克水芹样品 (鲜重) 中 GSH 含量, 单位 $\mu\text{mol/g}$ 。

2.3.3.10 酶活性测定

多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase, PPO) 活性测定参照曹建康^[77]方法略作修改, 称取 2 g 样品于研钵中, 加入 3 mL 0.1 mol/L、pH 5.5 乙酸-乙酸钠缓冲液 (含 1 mmol PEG6000、4%PVPP、1%Triton X-100) 在冰浴条件下研磨成浆后于 4 °C、12000 g 下离心 20 min, 上清液即为粗酶液。将 1 mL 50 mmol/L 邻苯二酚溶液、3 mL pH 5.5 乙酸-乙酸钠缓冲液和 0.2 mL 粗酶液加入到比色皿中, 记录 3 min 内在 420 nm 下的吸光度 (A_{420}) 变化值。1 个 PPO 活性单位 U 表示每克水芹在每分钟 A_{420} 增加 1。

过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 活性采用愈创木酚法^[76]并略作修改, 酶提取液步骤与 PPO 相同。向比色皿中依次加入 3 mL 0.025 mol/L 愈创木酚、0.5 mL 粗酶液以及 0.2 mL 0.5 mol/L 过氧化氢溶液, 启动反应后记录 2 min 内在 470 nm 下的吸光度 (A_{470}) 变化值。1 个 POD 活性单位 U 定义为每克水芹每分钟 A_{470} 增加 1。

过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 活性测定参照曹建康^[77]方法略作修改, 称取 2 g 样品于研钵中, 加入 5 mL 0.1 mol/L、pH 7.5 磷酸钠缓冲液 (含 5 mmol/L DTT、5%PVP) 在冰浴条件下研磨成浆后在 4 °C、12000 g 离心 20 min, 上清液即为粗酶液。向比色皿中加入 2.9 mL 20 mmol/L H_2O_2 溶液和 0.1 mL 酶液, 记录 2 min 内 240 nm 下的吸光度 (A_{240}) 变化值。1 个 CAT 活性单位 U 表示每克水芹每分钟 A_{240} 减少 0.01。

抗坏血酸过氧化物酶 (Ascorbate peroxidase, APX) 活性测定参照曹建康^[77]方法略作修改, 称取 2 g 样品于研钵中, 加入 3 mL 0.1 mol/L、pH 7.5 磷酸钾缓冲液 (含 0.1 mmol/L EDTA、1 mmol/L ASA、2%PVPP) 在冰浴条件下研磨成浆后在 4 °C、12000 g 离心 20 min, 上清液即为粗酶液。向比色杯中加入 2.6 mL 50 mmol/L、pH 7.5 磷酸钾缓冲液 (含 0.1 mmol/L EDTA 和 0.5 mmol/L ASA) 和 0.5 mL 粗酶液, 再加入 0.1 mL 0.2 mol/L H_2O_2 溶液启动酶促反应, 记录 2 min 内在 290 nm 下的吸光度 (A_{290}) 变化值。1 个 APX 活性单位 U 定义为每克水芹每分钟 A_{290} 减少 0.01。

超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 活性测定参照曹建康^[77]方法略作修改, 称取 2 g 样品于研钵中, 加入 3 mL 0.1 mol/L、pH 7.8 磷酸钾缓冲液 (含 5 mmol/L DTT、

5%PVP)在冰浴条件下研磨成浆后于 4 °C、12000 g 下离心 20 min, 上清液即为粗酶液。向试管依次加入 1.7 mL 50 mmol/L、pH 7.8 磷酸缓冲液、0.3 mL 130 mmol/L MET、0.3 mL 750 μmol/L NBT、0.3 mL 100 μmol/L EDTA-Na₂、0.2 mL 酶液、0.3 mL 20 μmol/L 核黄素溶液, 置于 4000 lx 日光灯下反应 12 min 后立即测定在 560 nm 下的吸光度值。以每分钟每克水芹样品(鲜重)的反应体系对 NBT 光化还原的抑制为 50%为一个 SOD 活性单位 U。

2.3.4 数据统计与分析方法

采用 EXCEL 2016 软件进行数据整理, 利用 SPSS 27.0 软件对数据进行 Duncan's 差异显著性分析(显著性水平为 0.05, P<0.05 认为两组变量差异显著)。

2.4 结果与分析

2.4.1 单因素试验结果

机械加工会降低水芹的抗氧化能力, 增加营养损失, 导致微生物污染和保质期缩短。先前的研究表明, 暴露于最佳水平的臭氧可以积极地增强农产品的抗氧化能力并抑制微生物生长^[78], 臭氧的强氧化和抗菌性能使其成为鲜切果蔬预处理的可接受方法。表 2-2 显示了不同浓度的臭氧处理对鲜切水芹贮藏 10 d 后的失重率、叶绿素和类胡萝卜素含量的影响。

表 2-2 不同臭氧浓度对鲜切水芹失重率、叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

Tab.2-2 Effects of different ozone concentrations on weight loss rate, chlorophyll and carotenoid content of fresh-cut *Oenanthe javanica*

臭氧浓度 (mg/m ³)	失重率 (%)	叶绿素含量 (μg/g)	类胡萝卜素含量 (μg/g)
0	10.66 ± 0.83 ^a	10.50 ± 1.22 ^b	2.31 ± 0.64 ^a
18.52	8.34 ± 1.12 ^b	10.76 ± 0.75 ^b	2.13 ± 0.30 ^a
37.04	7.64 ± 0.50 ^b	14.12 ± 1.46 ^a	2.86 ± 0.20 ^a
55.56	8.40 ± 0.95 ^b	12.16 ± 1.45 ^{ab}	2.28 ± 0.44 ^a
74.07	10.47 ± 0.84 ^a	12.28 ± 1.14 ^{ab}	2.22 ± 0.10 ^a

注: 对于同一指标, 同列上标小写字母不同表示差异显著 (P<0.05)

由表可知, 18.52、37.04 和 55.56 mg/m³ 臭氧处理组中鲜切水芹的失重率显著低于对照组 (P<0.05), 而 74.07 mg/m³ 臭氧处理组中鲜切水芹的失重率与对照无显著差异 (P>0.05)。与此同时, 37.04 mg/m³ 臭氧处理组鲜切水芹叶绿素含量比对照组约高 34%, 两组差异显著 (P<0.05), 而其余浓度臭氧处理组未表现出与对照组的显著差异 (P>0.05)。此外, 所有浓度臭氧处理组鲜切水芹类胡萝卜素含量均与对照组无显著差异 (P>0.05)。由以上结果可知, 37.04 mg/m³ 臭氧处理鲜切水芹效果较优。

2.4.2 臭氧预处理试验结果

2.4.2.1 感官质量和颜色

表 2-3 臭氧处理下水芹感官质量与颜色变化值

Tab.2-3 Sensory quality and color change values of *Oenanthe javanica* under ozone treatment

指标	处理组	贮藏时间 (d)				
		0	5	10	15	20
感官质量	对照	8.36±0.05 ^a	7.54±0.26 ^a	6.62±0.27 ^b	5.65±0.29 ^b	5.04±0.44 ^b
	臭氧	8.36±0.05 ^a	7.97±0.15 ^a	7.25±0.12 ^a	7±0.06 ^a	6.39±0.06 ^a
L^*	对照	47.09±2.70 ^a	53.83±3.27 ^a	54.73±3.18 ^a	57.80±2.40 ^a	60.64±2.76 ^a
	臭氧	48.21±3.18 ^a	51.93±2.42 ^a	54.50±1.90 ^a	54.91±2.62 ^b	56.58±2.57 ^b
a^*	对照	-12.37±1.63 ^a	-11.27±2.07 ^a	-7.42±0.80 ^a	-8.41±0.88 ^a	-7.24±0.62 ^a
	臭氧	-12.47±1.12 ^a	-12.51±1.37 ^a	-8.33±0.91 ^b	-9.53±0.56 ^b	-8.66±0.87 ^b
b^*	对照	23.70±2.19 ^a	25.52±2.55 ^a	23.47±2.06 ^a	24.14±1.22 ^a	20.25±1.98 ^a
	臭氧	23.85±2.97 ^a	26.34±2.02 ^a	23.85±2.40 ^a	23.90±1.82 ^a	23.77±2.28 ^a
ΔE	对照	0	8.35±4.46 ^a	9.42±2.64 ^a	11.88±4.16 ^a	15.20±2.43 ^a
	臭氧	0	6.07±2.77 ^a	8.71±4.20 ^a	8.12±2.55 ^b	9.87±3.09 ^b
色度	对照	26.76±2.46 ^a	27.94±2.90 ^a	24.62±2.10 ^a	25.58±1.32 ^a	21.51±2.02 ^b
	臭氧	26.95±2.77 ^a	29.20±1.84 ^a	25.29±2.28 ^a	25.74±1.74 ^a	25.32±2.28 ^a

注：对于同一指标，同列上标小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

水芹在贮藏过程中的品质变化可以直接反映在茎段颜色的变化和萎焉程度的大小上。水芹在贮藏过程中的感官质量评分结果见表 2-3，对照与臭氧处理组的感官质量总体呈现相同的动态变化趋势，两者评分均持续下降。对照组在第 20 d 时已出现明显的端口褐变、萎焉现象，大部分已低于最低的可接受限度（5 分）；而臭氧处理组明显减缓了感官恶化速率，感官质量普遍比对照组好，并且在贮藏 10 d 后显著好于对照组 ($P < 0.05$)，在贮藏 15 d 后感官质量评分仍有 7 ± 0.06 ，具有一定的商品价值，说明臭氧处理有效地保持了水芹外观的质量。

颜色是影响水芹销售的关键因素，其反应了水芹的新鲜程度，任何颜色变化都可能被认为是衰老的症状^[79]。三维颜色空间中颜色的常用参数是亮度 L^* 、 a^* （正负对应红绿）和 b^* （正负对应黄蓝）值，与颜色有关的另一个变量是色度，它与存储过程中颜色强度的变化有关^[75]，这些参数已被用于评估臭氧处理后各种产品在储存期间的颜色变化。王晓等^[68]观察到 $60 \mu\text{g/L}$ 臭氧处理杭白菜可以推迟其颜色变化；张慧杰等^[80]研究也表明在储存期间臭氧也可维持西兰花的颜色。由表 2-3 可知，随着贮存时间的延长，两组水芹的 L^* 、 a^* 、 ΔE 值呈上升趋势， b^* 值在贮藏 20 d 后两组间、组内均无显著变化 ($P > 0.05$)；在贮藏 15 d 后，臭氧处理组 L^* 、 a^* 和 ΔE 值显著低于对照组 ($P < 0.05$)。此外，两组水芹的色度值则是不断波动，对照组的色度值在贮藏 20 d 后显著下降，而臭氧处理组下降不明显，且贮藏 20 d 后臭氧处理组色度值显著高于对照组 ($P < 0.05$)。以上结果说明臭氧处理不会损害水芹的原有颜色特性，甚至有维持作用。

2.4.2.2 叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量

叶绿素降解会导致水芹的绿色损失，从而使外观质量下降。叶绿素降解是叶绿素 a 在叶绿素酶作用下降解为叶绿素 a 酸酯，随后经一系列相关降解酶的作用下降解为非荧光叶绿素降解物^[8]。叶绿素 b 会在叶绿素 b 还原酶的作用下还原成叶绿素 a，之后再通

过相关酶降解^[12]。由图 2-1 可知，两组水芹叶绿素 a 含量在贮藏期间呈波动减少趋势，叶绿素 b 与总叶绿素含量则一直减少。在贮藏 10 d 后，臭氧处理组叶绿素 a 和总叶绿素含量均显著高于对照组 ($P<0.05$)，而叶绿素 b 含量除第 10 d 外两组无显著性差异。以上结果表明，臭氧主要是通过影响水芹叶绿素 a 含量的变化来影响总叶绿素含量的，臭氧处理可减缓水芹叶绿素的分解速度，可能与臭氧抑制叶绿素降解酶的活性有关^[65]。

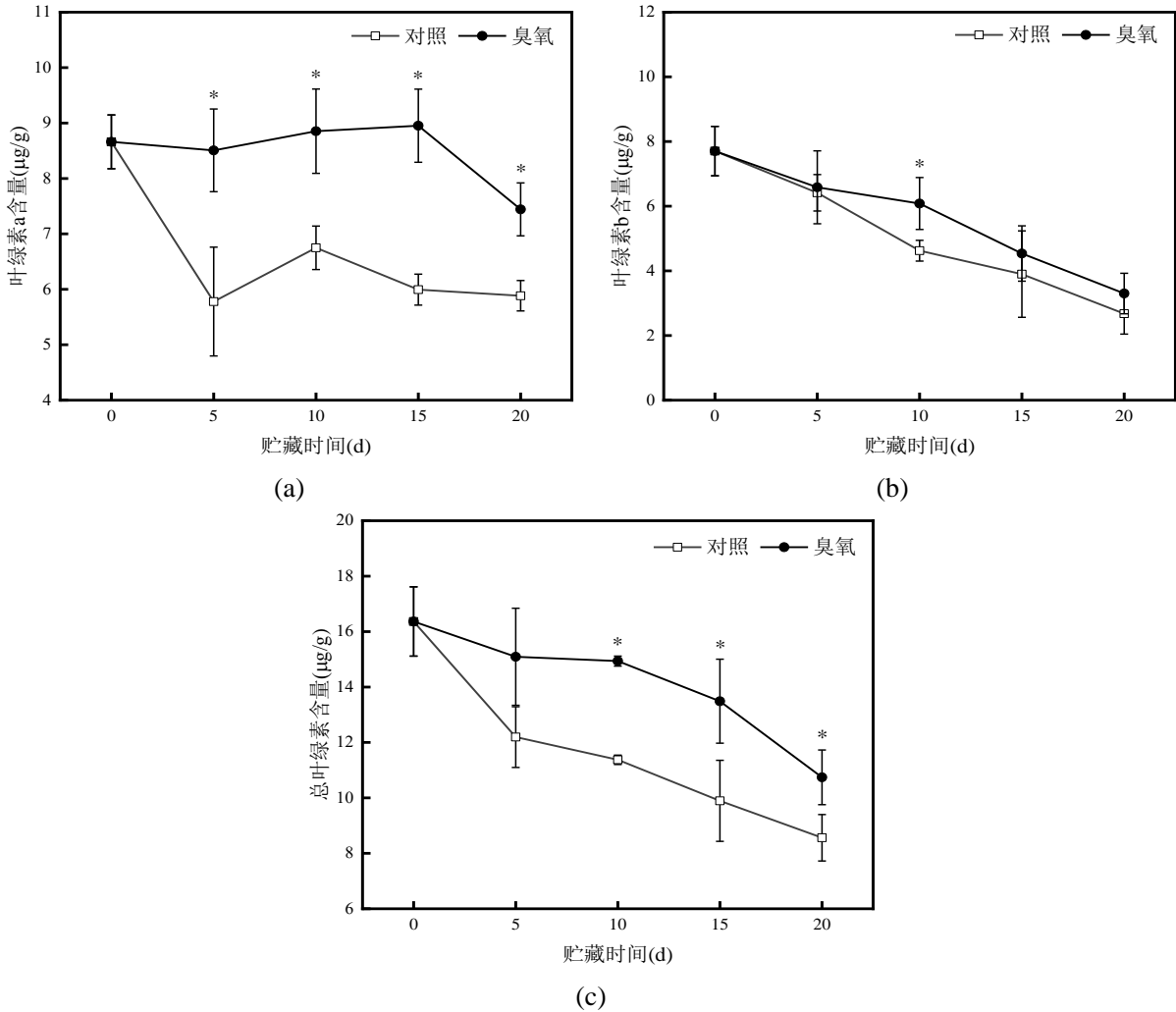


图 2-1 鲜切水芹叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量在冷藏期间的变化

Fig.2-1 Changes of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll content of fresh-cut *Oenanthe javanica* during cold storage

注：“*”表示组间差异显著 ($P<0.05$)；图 2-2~图 2-6 同

2.4.2.3 失重率、硬度和 SSC

失重率是影响新鲜蔬菜品质评价的关键感官特征之一，由于呼吸和蒸腾作用使失重率在贮藏过程中发生改变^[71]，蒸腾失水会降低重量，使水芹萎蔫和萎缩，让商品变得不可接受。如图 2-2(a)所示，在整个贮藏期间，臭氧处理组水芹的失重率显著低于对照组 ($P<0.05$)，在贮藏 20 d 后，臭氧组的失重率仅为对照的 53%左右，这可能是由于臭氧影响植物体内激素信号传递，降低气孔导度^[81]，从而影响了呼吸与蒸腾作用。臭氧处理可以延缓水芹在贮藏期间的水分流失，这与徐冬颖等^[82]用臭氧处理菠菜的结论类似。

水芹的硬度是反映其新鲜度的重要指标，与失重相关，直接影响其商品价值和消费者的接受程度。如图 2-2(b)所示，两组水芹硬度在贮藏期间总体上呈降低趋势，这可能是由于不溶性果胶降解为更易溶解的果胶酸和果胶^[83]。对照组水芹硬度在贮藏后期有升高趋势，这可能是由于贮藏过程中水芹木质素的上升使硬度增加^[84]。在整个贮藏期间，臭氧处理组鲜切水芹的硬度均高于对照组，且有显著差异 ($P<0.05$)，这可能是由于臭氧抑制了细胞壁降解酶的活性，如多聚半乳糖醛酸酶等，使细胞壁解体速率延缓^[85]，从而减缓水芹软化。

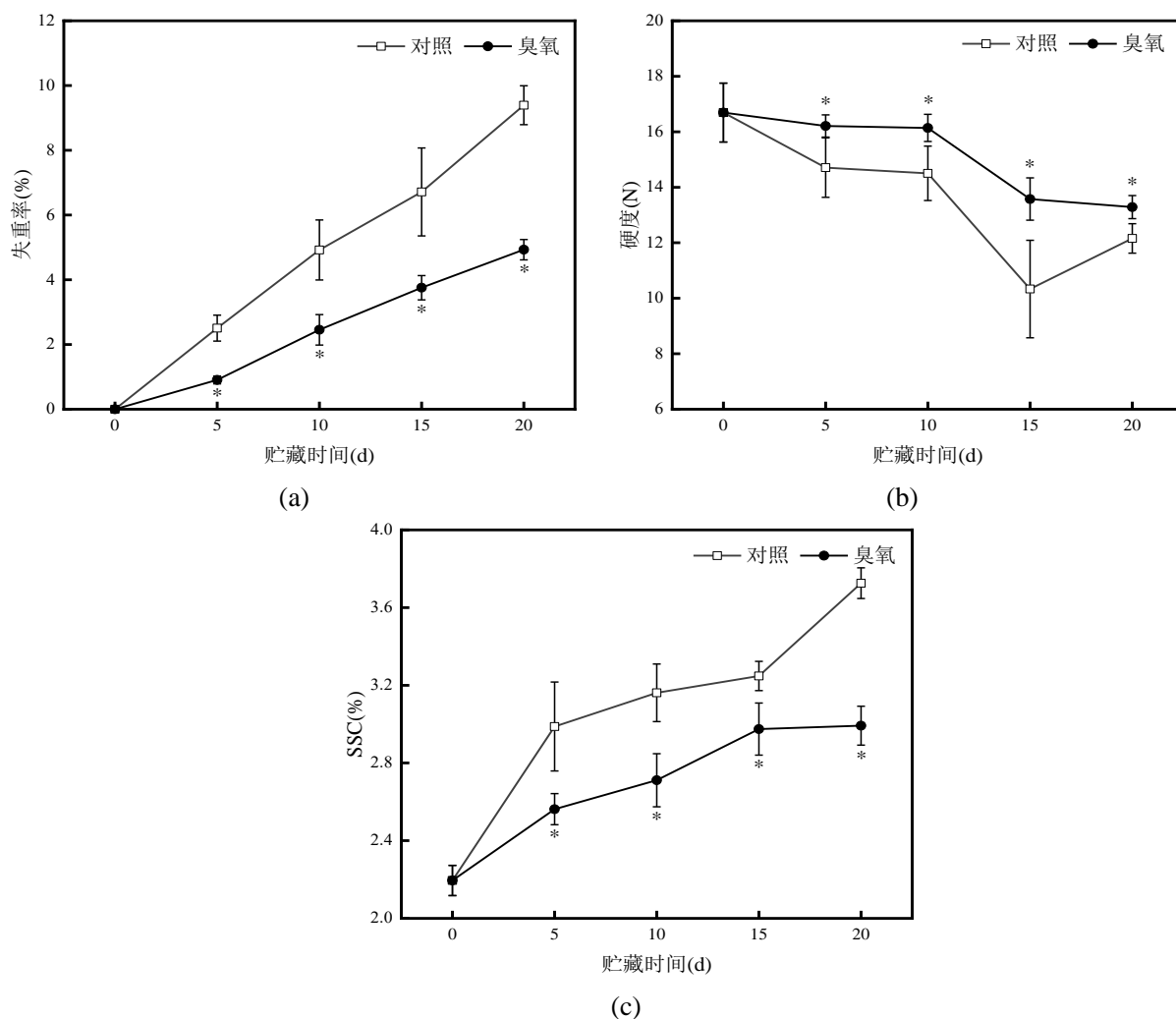


图 2-2 鲜切水芹失重率、硬度和 SSC 在冷藏期间的变化

Fig.2-2 Changes of weight loss rate, firmness and SSC of fresh-cut *Oenanthe javanica* during cold storage

如图 2-2(c)，贮藏期间两组水芹 SSC 不断增加，可能是由于水芹水分的减少以及复杂的碳水化合物转化为单糖^[86]。在整个贮藏过程中臭氧处理组 SSC 均显著低于对照组 ($P<0.05$)，可能是因为对照组失水更多。有研究表明，微加工果蔬体内通常会增加 SSC 来应对贮藏过程中的水分损失^[87]。据报道，臭氧处理胡萝卜可以防止 SSC 急剧增加，延长保质期^[75]，本文研究结果与其类似。SSC 与风味有关，能反映果蔬成熟程度与品质状况，诸如水芹这样的蔬菜，产品的高度成熟被认为是一种变质，并且不被消费者所接受。这些结果表明，臭氧处理能有效地保持水芹质地特性，延缓其衰老，增加保质期。

2.4.2.4 呼吸速率及 MDA 含量

呼吸作用是一种代谢过程，旨在将有机底物氧化分解成简单的分子，为植物生化过程提供能量^[88]，因此，降低呼吸速率是延长水芹采后寿命和优化其采后品质的重要考虑因素。图 2-3(a)显示两组水芹呼吸速率的变化，在整个贮藏期，对照组呼吸速率总体上呈先上升后下降的趋势，这可能是由于水芹逐渐成熟，产生呼吸高峰，但当水芹成熟后，呼吸速率开始逐渐降低。贮藏后期，对照组呼吸速率上升可能与水芹失水过度有关。臭氧处理组水芹呼吸速率则呈缓慢下降趋势，且除第 15 d 外均显著小于对照组 ($P < 0.05$)，这可能是因为臭氧可以延缓植物组织代谢，关闭气孔，引起表皮蜡质层超微结构的改变，从而有助于抑制呼吸速率^[89]。本研究结果表明，适量的臭氧可以抑制水芹呼吸速率，在青辣椒^[90]、芹菜^[67]上也有类似结论。

MDA 是反映果蔬采后衰老过程中膜脂过氧化的重要产物^[91]。由图 2-3(b)可知，两组水芹 MDA 含量随贮藏时间的延长不断增加。在贮藏第 5 d、15~20 d 时臭氧处理组 MDA 含量显著低于对照组 ($P < 0.05$)，表明臭氧处理组水芹细胞膜脂质过氧化程度低，细胞膜损伤程度小^[16]。这可能一方面是因为对照组水芹呼吸作用较强，生理生化反应强度较高，使 MDA 含量较高；另一方面臭氧能提高相关抗氧化酶活性，抑制果蔬体内自由基对脂肪的氧化作用^[91~92]，从而抑制 MDA 含量的快速增加。

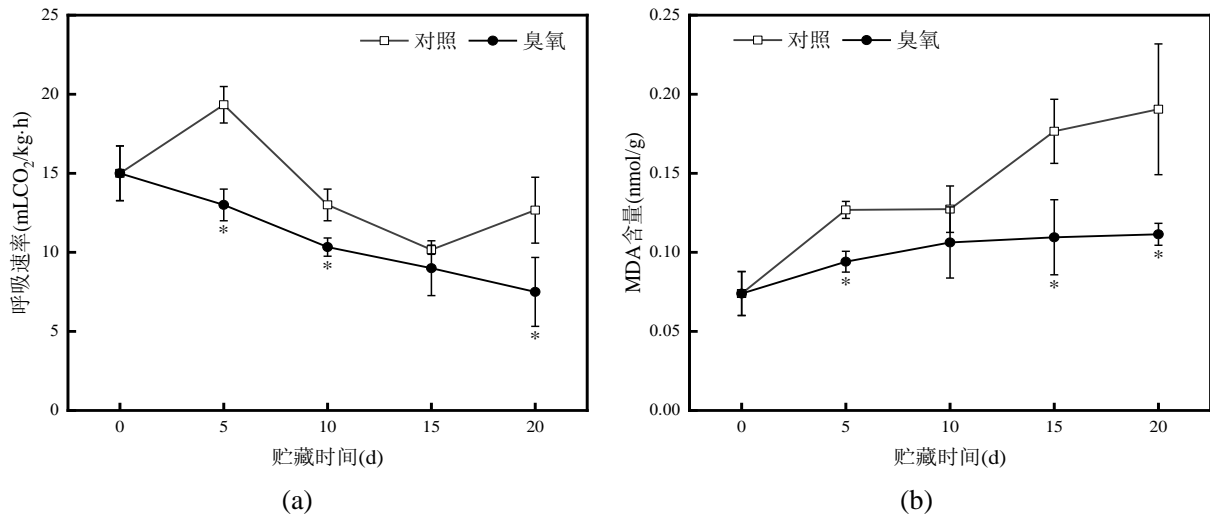


图 2-3 鲜切水芹呼吸速率和 MDA 含量在冷藏期间的变化

Fig.2-3 Changes of respiration rate and MDA content of fresh-cut *Oenanthe javanica* during cold storage

2.4.2.5 总酚、类黄酮含量

酚类化合物是植物次生代谢物，与果蔬风味、色泽、品质密切相关；类黄酮则是一种低分子量的酚类化合物^[93]。它们通过发挥自由基清除剂的作用来抑制脂质的氧化，是植物体内非常重要的抗氧化剂^[93]。从图 2-4(a)中可以看出，在整个贮藏期，对照组水芹的总酚含量先升高后降低，而臭氧处理组则呈波动上升趋势，这或许与间歇臭氧处理使水芹产生氧化应激有关。在贮藏前 15 d 臭氧处理组总酚含量均显著小于对照组 ($P < 0.05$)。图 2-4(b)中对照组与臭氧处理组中类黄酮物质含量也呈现类似的趋势。酚类化合物通常会在植物生长和发育期间以及当植物遭受胁迫时通过莽草酸途径合成，即苯丙氨酸解氨酶催化芳香族氨基酸苯丙氨酸合成酚类物质^[93~94]，因此，较高的苯丙氨酸解氨酶活性可

能导致合成更多的酚类化合物。臭氧处理对农产品酚类物质的影响已有研究，臭氧处理使番木瓜中酚类化合物增加^[95]。然而本文研究表明，臭氧处理会使水芹酚类化合物含量显著低于对照组，一方面或许是因为臭氧剂量不同，另一方面可能是由于不同种类果蔬对臭氧的响应不同。在此研究中臭氧可能抑制了水芹 PAL 活性，使这些抗氧化物质的氧化代谢大于合成代谢，这与臭氧会引起胡萝卜总酚含量的显著降解这一结果相似^[96]。已有研究表明，对于水芹这类蔬菜来说，较低的总酚含量对水芹的耐贮性是有利的^[64]，因此臭氧处理可以延长水芹的贮藏期。

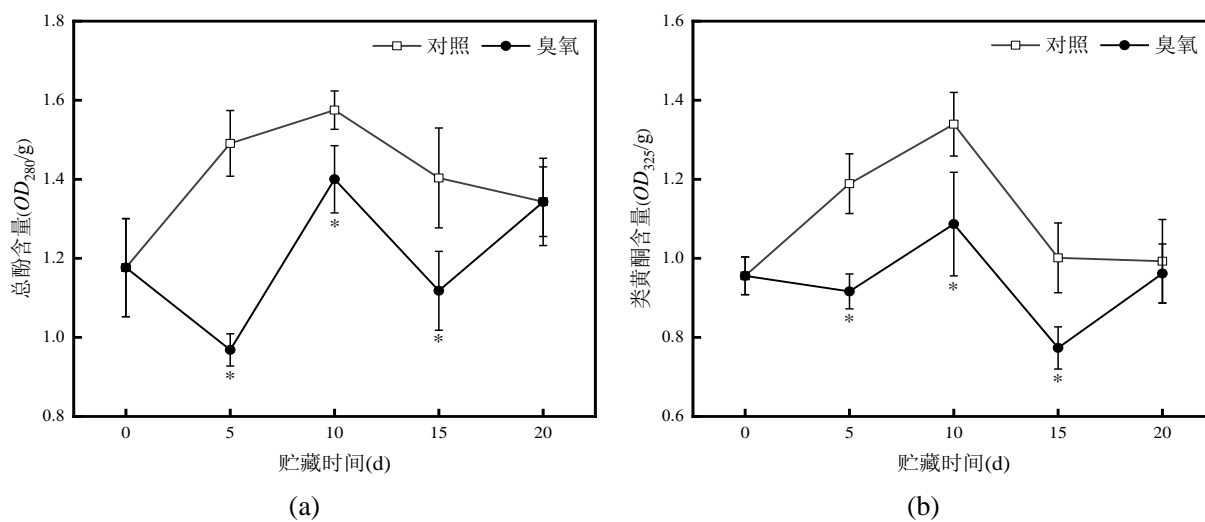


图 2-4 鲜切水芹总酚和类黄酮含量在冷藏期间的变化

Fig.2-4 Changes of total phenols and flavonoids contents in fresh-cut *Oenanthe javanica* during cold storage

2.4.2.6 ASA、GSH 含量

图 2-5(a)揭示了鲜切水芹 ASA 含量的变化，两组 ASA 含量在贮藏期间总体呈下降趋势，但臭氧处理组的 ASA 含量高于对照组，在贮藏 15 d 后达到显著水平 ($P < 0.05$)。在贮藏 20 d 时，对照组和臭氧组 ASA 含量分别为 1.41 mg/100g 和 1.80 mg/100g。由图 2-5(b)可知，处理和未处理的水芹 GSH 含量均呈先上升后下降的趋势，且臭氧处理的 GSH 含量始终低于未处理的水芹，在 15 d 后有显著差异 ($P < 0.05$)。对照组和臭氧组 GSH 含量均在第 10 d 达到峰值，分别为 71.36 $\mu\text{mol/g}$ 和 64.97 $\mu\text{mol/g}$ 。

ASA 可以降低并中和过氧化氢等 ROS，除了具有直接的抗氧化作用外，ASA 也是 APX 的底物^[97]，这一功能在植物的抗胁迫性中尤为重要。GSH 作为 ASA-GSH 循环中的重要中间物质，与 ASA 协同发挥抗氧化作用^[98]。ASA 与 GSH 的变化趋势有一定联系，在 ASA-GSH 循环中二者可间接在相关酶作用下相互转换^[99]，这可能是贮藏初期两组 ASA 与 GSH 含量变化较小的原因。据报道，臭氧处理可维持贮藏期间菠菜^[82]、西兰花^[80]ASA 含量，这可能是因为臭氧促进 ASA-GSH 循环及相关抗氧化酶活性，本研究结果与之类似。此外，有研究表明，适宜浓度的臭氧可提高香椿 GSH 含量^[72]，而在本研究中，臭氧降低了水芹 GSH 含量，在蓝莓^[100]中也观察到类似的现象，这可能是由于谷胱甘肽过氧化物酶活性的提高或者是 GSH 直接与臭氧、自由基反应。

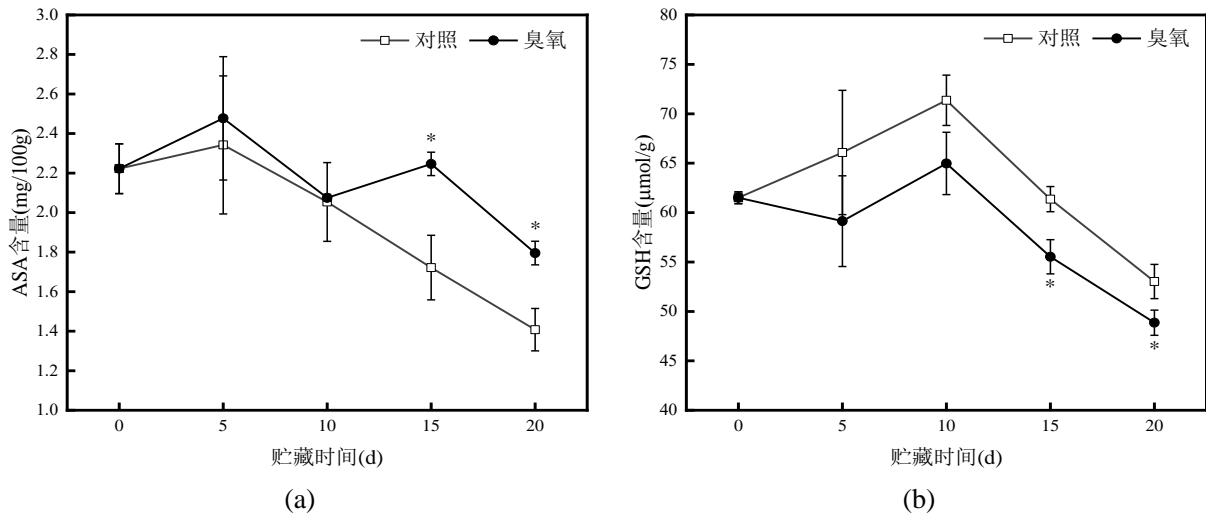


图 2-5 鲜切水芹 ASA 和 GSH 含量在冷藏期间的变化

Fig.2-5 Changes of ASA and GSH contents in fresh-cut *Oenanthe javanica* during cold storage

2.4.2.7 PPO、POD、APX、CAT、SOD 活性

PPO 与果蔬颜色变化和衰老有关，能催化多酚底物生成邻醌类物质，导致果蔬组织褐变^[101]。如图 2-6(a)所示，对照组 PPO 活性先升高，10 d 时达到最大值，接着下降后略微上升。臭氧处理组 PPO 活性在贮藏期间持续上升，在 10 d 后一直显著小于对照组 ($P < 0.05$)，说明臭氧处理可以抑制 PPO 活性，原因可能是臭氧的高氧化电位能抑制 PPO 活性^[102]。先前的研究表明，臭氧处理能抑制茺荑 PPO 活性^[65]，这与本文研究结果一致。

POD、APX、CAT、SOD 抗氧化酶，在代谢活性氧方面具有特殊作用^[69, 93]。SOD 可催化超氧自由基阴离子歧化反应为 H_2O_2 ，生成的 H_2O_2 接着可被 POD、APX 与 CAT 催化分解成水和氧气^[103]，维持植物体内较低活性氧水平。如图 2-6 所示，臭氧处理组 POD、CAT、APX 和 SOD 活性在贮藏 10 d 后均高于对照组。贮藏过程中，水芹 POD 活性波动上升，15 d 后对照和处理两组存在显著差异 ($P < 0.05$)；APX 活性在 0~5 d 期间下降，接着上升后又下降，10 d 后两组差异显著 ($P < 0.05$)；CAT 与 SOD 活性总体上均呈先上升后下降趋势，10 d 后对照和臭氧两组间差异显著 ($P < 0.05$)。臭氧是一种强氧化剂，可以激活植物中的抗氧化系统，从而影响 ROS 代谢和植物的抗氧化状态。Xu 等^[65]研究表明，臭氧可以提高茺荑 POD、CAT、APX 活性，保持茺荑体内较低的 H_2O_2 与超氧阴离子，维持茺荑品质；Lin 等^[69]研究发现臭氧可以通过增强 POD、CAT 和 SOD 的活性来增强香椿抗氧化防御系统的有效性。以上结果表明臭氧主要是通过酶抗氧化系统而不是非酶抗氧化系统来提高水芹的抗氧化能力，从而降低活性氧对水芹机体造成的氧化损害，这或许是臭氧减缓水芹品质的劣变的原因。

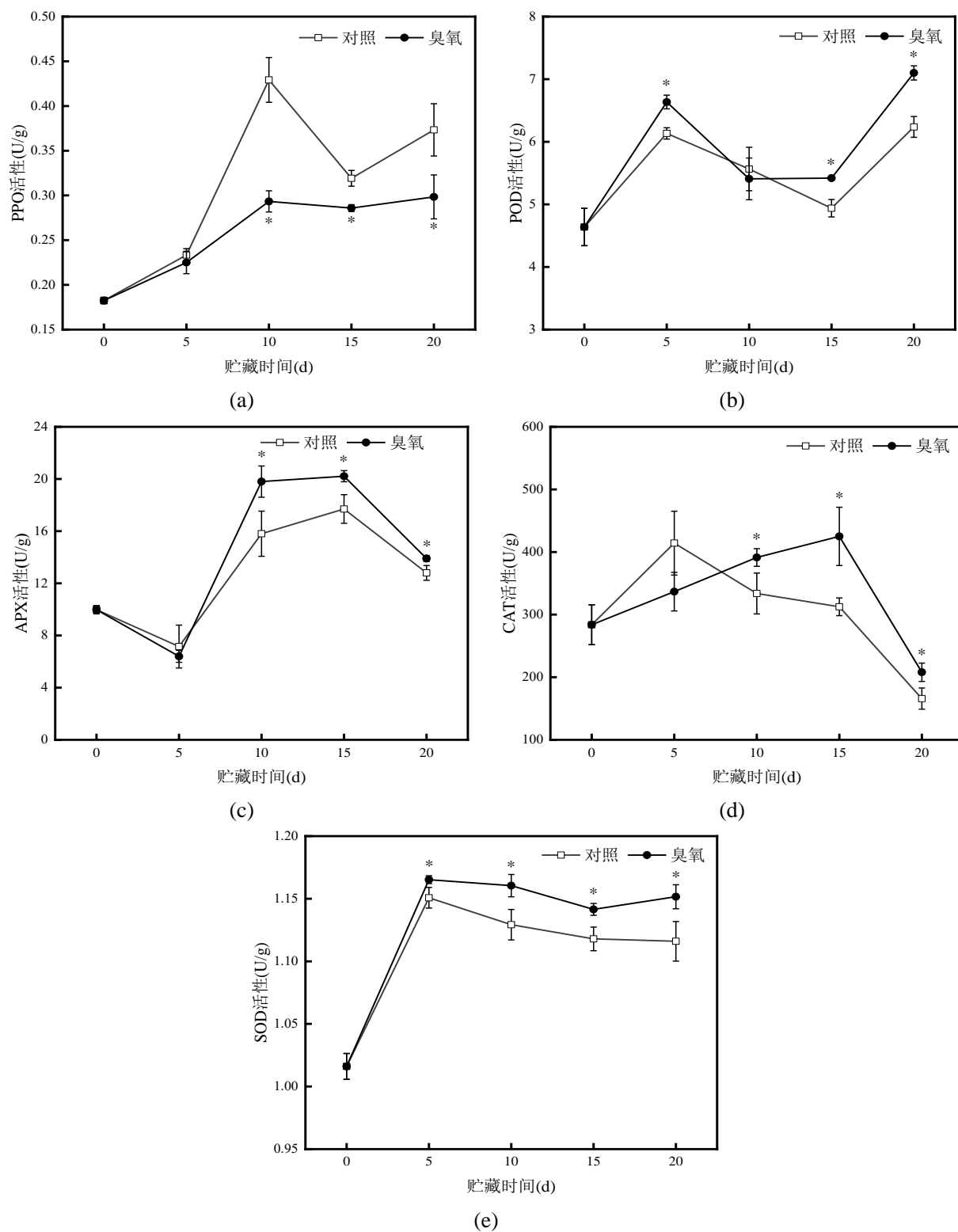


图 2-6 臭氧处理对鲜切水芹 PPO、POD、APX、CAT 和 SOD 活性的影响

Fig.2-6 Effects of ozone treatment on the activities of PPO, POD, APX, CAT and SOD in fresh-cut *Oenanthe javanica*

2.4.2.8 相关性分析

臭氧处理后鲜切水芹不同参数间的皮尔逊相关系数如图 2-7 所示, 水芹总叶绿素含量与硬度 ($P < 0.05$, $r = 0.91$)、GSH 含量 ($P < 0.05$, $r = 0.89$)、失重率 ($P < 0.05$, $r = -0.94$) 呈极高相关, 表明这些参数对水芹总叶绿素含量影响极高。同样, 硬度与呼吸速率、失

重率、SSC 含量高度联系；SSC 含量与感官质量、失重率、呼吸速率、MDA 含量、PPO 活性高度相关；MDA 含量与感官质量、呼吸速率、失重率、PPO 活性相关；PPO 活性与感官质量、呼吸速率、失重率有紧密联系。由以上相关性还可以推测出失重率大小即水芹的水分散失的多少可以决定水芹的贮藏品质。

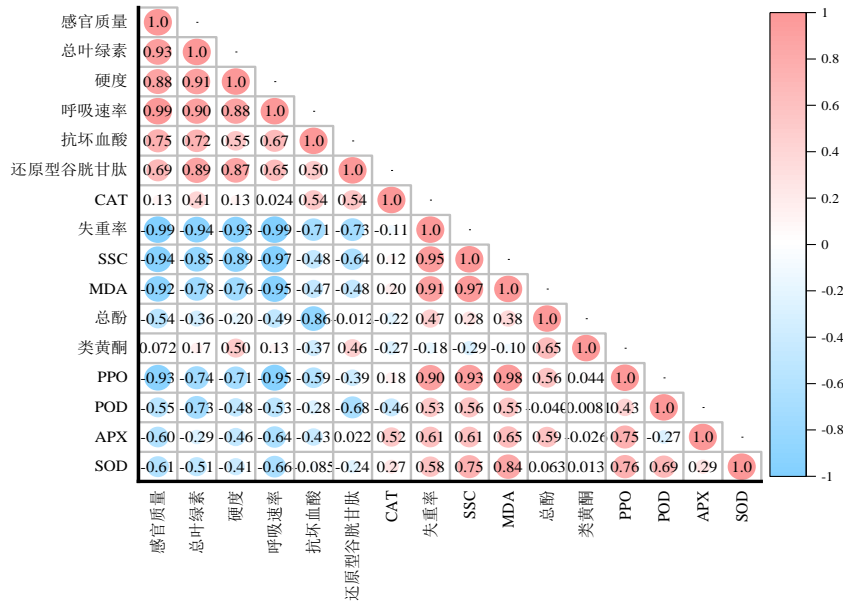


图 2-7 臭氧处理鲜切水芹不同参数间的皮尔逊相关性（粉色代表正相关，蓝色表示负相关）

Fig.2-7 Pearson correlation between different parameters after ozone treatment of fresh-cut *Oenanthe javanica* (Pink represents a positive correlation between different parameters, while blue represents a negative correlation)

2.5 本章小结

本章研究了臭氧对鲜切水芹保鲜和抗氧化能力的影响及其可能机制，得出来以下结论：

(1) 采用不同浓度臭氧处理鲜切水芹 15 min，在 5 °C 下贮藏 10 d 后分别测定各组失重率、叶绿素和类胡萝卜素含量，研究发现 37.04 mg/m³ 浓度臭氧处理效果最佳，能维持较低的失重率，延缓叶绿素和类胡萝卜素降解。

(2) 采用 37.04 mg/m³ 臭氧处理鲜切水芹，每 5 d 重复处理 1 次，可保持鲜切水芹的品质。在贮藏品质方面，臭氧处理有效延缓了鲜切水芹色泽、叶绿素、失重率和硬度的劣变，抑制了 PPO 活性、呼吸速率、MDA 和 SSC 的上升。在抗氧化能力方面，臭氧处理会降低水芹中总酚、类黄酮和 GSH 的含量，但可以维持 ASA 的含量，并通过提高 POD、APX、CAT 和 SOD 的活性来降低 ROS 积累对品质劣变的影响，这也说明臭氧主要通过酶抗氧化系统而不是非酶抗氧化系统来提高水芹的抗氧化能力。

第三章 鲜切水芹保鲜护绿复配剂的优化及保鲜护绿效果研究

3.1 前言

蔬菜是多种维生素、氨基酸、矿物质、膳食纤维、碳水化合物和天然抗氧化剂（如酚类和类黄酮）的重要来源^[104]，水芹是其中的代表之一。水芹不仅含有大量的蛋白质、维生素（如维生素 B1、维生素 B2、维生素 C 等）和膳食纤维等营养物质^[105]，还含有具有降血糖血压、抗疲劳等药理作用的挥发油、黄酮类、苯丙胺等功能性成分，具有很高的食品开发价值^[62-63]。然而，水芹水分含量高、呼吸旺盛，水芹采后会受到相关酶作用使其衰老变质，同时易受到机械损伤，使其微生物负荷加剧，导致水芹采后品质不断劣变，特别是叶绿素的大量降解造成黄化失绿，使感官质量迅速下降，影响水芹的销售。因此，水芹保鲜护绿技术的研究对延缓叶绿素降解、维持营养成分和延长贮藏寿命具有重要意义。

柠檬酸因其抗褐变特性而被广泛用于果蔬保鲜中。柠檬酸能缓解鲜切粉葛的褐变程度^[106]，常与其他保鲜剂复配，张四普等^[41]发现柠檬酸与植酸复配，结合 1-MCP 可以有效减轻失重，降低 MDA 含量，更好保持芥蓝品质。钙（Ca²⁺）在植物的生长、发育扮演着至关重要的作用，也对环境信号的反应中起着调节作用^[107]，它通过参与调节植物抗氧化系统、保持细胞壁与细胞膜结构完整性等来延缓衰老^[108]。采用外源钙处理可以对果蔬蛋白质和叶绿素的含量、细胞膜流动性和呼吸速率产生一定影响^[109]，氯化钙是果蔬采后钙处理常用的钙盐，在莴苣^[110]、茭白^[111]、生姜^[112]等蔬菜上取得较好的保鲜效果。氯化钙与其他保鲜剂常有协同作用，吴淑清等^[113]研究表明柠檬酸、VC、氯化钙和亚硫酸钠组成的复合保鲜液能维持长白榆木嫩芽色泽鲜绿，延长货架期；魏舒楠等^[114]发现氯化钙、阿魏酸、乙醇 3 者有协同增效作用，处理鲜切莲藕可以维持其硬度与微观结构。锌离子可取代叶绿素分子结构卟啉环中的镁离子，形成更加稳定的配位化合物^[115]，葡萄糖酸锌处理可有效缓解叶绿素降解。

目前尚未有将柠檬酸、氯化钙和葡萄糖酸锌复合应用于鲜切水芹的保鲜研究，本章以鲜切水芹为试验对象，采用响应面法进行优化 3 者组成的复合溶液配方，并探讨最佳配比复配剂处理对鲜切水芹贮藏品质的影响，为水芹采后保鲜技术提高参考。

3.2 材料与仪器

3.2.1 材料

水芹采购于无锡某农贸市场，及时送回实验室，选择新鲜、无病虫害、无机械损伤的水芹进行试验。

3.2.2 主要试剂

三氯乙酸、2-硫代巴比妥酸、无水氯化钙、抗坏血酸，国药集团化学试剂有限公司；2,6-二氯靛酚钠盐、柠檬酸，北京沃凯生物科技有限公司；95%乙醇，上海泰坦科技股

份有限公司；草酸，上海百灵威化学技术有限公司；98%葡萄糖酸锌，上海麦克林生化科技有限公司。以上试剂均为分析纯。

3.2.3 主要仪器与设备

CR-400 手持色彩色差仪，柯尼卡美能达投资有限公司；2WAJ 阿贝折光仪，上海光学仪器五厂；SHP-150 生化培养箱，上海精宏试验设备有限公司；UV-1800 紫外分光光度计，日本岛津公司；LX-LX-HR165A 高速冷冻离心机，上海力辰邦西仪器科技有限公司。

3.3 试验方法

3.3.1 原材料处理

取新鲜水芹中间粗细大约一致的部分，再切成 16 cm 左右的茎段，清水洗净晾干待用。

3.3.2 单因素试验

分别用 1、2、4 和 6 g/L 的柠檬酸，0.5、1、1.5 和 2 g/L 的氯化钙，25、50、75 和 100 mg/L 的葡萄糖酸锌浸泡鲜切水芹 30 min，沥干后每种药剂浓度均称取 (10 ± 0.5) g 的水芹，再用 0.12 mm PE 袋分装，每种药剂浓度 3 个重复，然后均置于温度为 23 °C、相对湿度为 40%~50%的培养箱中，在贮藏 3 d 后测定水芹的相关品质。

3.3.3 响应面试验

依据 Box-Behnken 试验设计，在单因素试验结果基础上，选取柠檬酸 (A)、氯化钙 (B)、葡萄糖酸锌 (C) 为试验因素，以褐变指数 (BI) 与叶绿素含量为响应值，对柠檬酸、氯化钙和葡萄糖酸锌复配剂各因素配比进行优化，试验因素与水平见表 3-1。试验设计使用 Design Expert 13.0.1 软件进行，见表 3-5。

称取 (10 ± 0.5) g 鲜切水芹用去离子水配置的复合保鲜溶液（具体浓度见表 3-5，共 17 组）浸泡 30 min，沥干后再分别装于 0.12 mm PE 袋中，每组 3 个重复，最后均置于温度为 23 °C、相对湿度为 40%~50%的培养箱中，在贮藏 3 d 后测水芹褐变指数、叶绿素含量。

表 3-1 Box-Behnken 试验因素与水平设计表

Tab.3-1 Box-Behnken experimental factors and level design table

水平	A (g/L)	B (g/L)	C (mg/L)
-1	2	0.5	25
0	4	1	50
1	6	1.5	75

3.3.4 最佳复配剂处理试验

将待用水芹随机分为 2 组，一组用去离子水配制的最佳复配剂溶液浸泡 30 min，另一组用去离子水（对照组）浸泡 30 min；晾干后称取 (120 ± 1) g 分别装于 0.12 mm PE

袋中，然后置于温度 5 °C、相对湿度 40%~50%的培养箱中，每组 3 个重复，每隔 3 d 测定水芹相关指标，共 15 d。

3.3.5 测定指标与方法

失重率、SSC、叶绿素含量、ASA 含量、MDA 含量测定同 2.3.3。

褐变指数的测定：采用色差仪测定其 L^* 、 a^* 、 b^* 值，褐变指数 (BI) 用下列公式计算^[116]：

$$BI = \frac{100 \cdot (x - 0.31)}{0.172} \quad (3-1)$$

$$\text{式中：} x = \frac{a^* + 1.75L^*}{5.645L^* + a^* - 3.012b^*}$$

3.3.6 数据统计与分析方法

同 2.3.4。

3.4 结果与分析

3.4.1 单因素试验结果

3.4.1.1 柠檬酸浓度对鲜切水芹品质的影响

表 3-2 显示了不同浓度下柠檬酸对贮藏 3 d 后鲜切水芹失重率、叶绿素、类胡萝卜素的影响。由表 3-2 可知，柠檬酸浓度为 1 g/L 和 4 g/L 时，鲜切水芹的失重率最小，且显著低于对照组 ($P < 0.05$)，其余浓度均与对照无显著差异 ($P > 0.05$)。此外，柠檬酸浓度为 4 g/L 时，鲜切水芹叶绿素和类胡萝卜素含量在所有组别中最高，约为对照组的 2 倍。这说明用 4 g/L 柠檬酸处理鲜切水芹最好。

表 3-2 不同浓度柠檬酸对鲜切水芹品质的影响

Tab.3-2 Effects of different concentrations of citric acid on the quality of fresh-cut *Oenanthe javanica*

柠檬酸浓度 (g/L)	失重率 (%)	叶绿素含量 (μg/g)	类胡萝卜素含量 (μg/g)
0	11.85 ± 0.44 ^a	12.74 ± 2.06 ^c	2.28 ± 0.32 ^b
1	5.99 ± 1.68 ^c	19.57 ± 0.52 ^b	3.59 ± 0.04 ^{ab}
2	10.82 ± 2.24 ^{ab}	20.03 ± 1.52 ^b	3.97 ± 0.05 ^{ab}
4	7.03 ± 1.03 ^{bc}	26.18 ± 2.42 ^a	4.91 ± 1.36 ^a
6	8.58 ± 3.79 ^{abc}	14.02 ± 1.87 ^c	2.60 ± 0.49 ^b

注：同列上标小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)，表 3-3 和表 3-4 同

3.4.1.2 氯化钙浓度对鲜切水芹品质的影响

由表 3-3 可知，相比于对照组，0.5 g/L 和 1 g/L 的氯化钙处理能较好的抑制鲜切水芹失重率的上升，但二者之间差异不显著 ($P > 0.05$)。氯化钙处理能减缓叶绿素和类胡萝卜素含量的降解。对照组叶绿素含量在贮藏期间下降最快，0.5 g/L 和 1 g/L 氯化钙处理后的鲜切水芹能维持最高的叶绿素和类胡萝卜素含量，与其他浓度组均有显著差异 ($P < 0.05$)。因此用 0.5 g/L 和 1 g/L 的氯化钙处理鲜切水芹效果最优。

表 3-3 不同浓度氯化钙对鲜切水芹品质的影响

Tab.3-3 Effects of different concentrations of calcium chloride on the quality of fresh-cut *Oenanthe javanica*

氯化钙浓度 (g/L)	失重率 (%)	叶绿素含量 (μg/g)	类胡萝卜素含量 (μg/g)
0	11.85 ± 0.44 ^a	12.74 ± 2.06 ^{bc}	2.28 ± 0.32 ^{cd}
0.5	7.27 ± 2.93 ^{bc}	32.21 ± 2.29 ^a	6.84 ± 0.53 ^a
1	5.94 ± 2.18 ^c	35.63 ± 0.88 ^a	5.91 ± 0.39 ^b
1.5	9.62 ± 0.78 ^{ab}	14.10 ± 0.14 ^b	2.70 ± 0.02 ^c
2	9.93 ± 1.49 ^{ab}	10.14 ± 0.52 ^c	1.68 ± 0.08 ^d

3.4.1.3 葡萄糖酸锌浓度对鲜切水芹品质的影响

由表 3-4 可知, 不同浓度的葡萄糖酸锌处理组中鲜切水芹的失重率均无显著差异 ($P>0.05$)。较低浓度的葡萄糖酸锌处理可以维持鲜切水芹的叶绿素和类胡萝卜素含量, 当葡萄糖酸锌浓度为 25 mg/L 和 50 mg/L 时, 处理组叶绿素含量最高, 且与其他组有显著差异 ($P<0.05$)。与此同时, 50 mg/L 葡萄糖酸锌组鲜切水芹的类胡萝卜素含量显著高于 25 mg/L 处理组, 这说明用此浓度葡萄糖酸锌处理鲜切水芹最好。

表 3-4 不同浓度葡萄糖酸锌对鲜切水芹品质的影响

Tab.3-4 Effects of different concentrations of zinc gluconate on the quality of fresh-cut *Oenanthe javanica*

葡萄糖酸锌浓度 (mg/L)	失重率 (%)	叶绿素含量 (μg/g)	类胡萝卜素含量 (μg/g)
0	16.11 ± 0.53 ^a	33.45 ± 1.74 ^b	7.63 ± 0.33 ^b
25	16.61 ± 1.31 ^a	37.02 ± 1.03 ^a	7.53 ± 0.02 ^{bc}
50	12.30 ± 1.80 ^a	39.24 ± 3.12 ^a	8.25 ± 0.43 ^a
75	14.96 ± 2.63 ^a	31.32 ± 0.84 ^b	7.01 ± 0.25 ^c
100	16.29 ± 4.25 ^a	20.47 ± 0.47 ^c	4.96 ± 0.22 ^d

3.4.2 响应面试验分析

3.4.2.1 试验结果和方差分析

响应面试验结果见表 3-5。

利用 Design Expert 13.0.1 软件回归拟合表 3-5 中的数据, 分别得到 BI 和叶绿素含量二次多项式回归方程如下:

$$Y_1 = 42.805 - 1.450A - 12.181B - 0.347C + 0.278AB - 0.010AC + 0.054BC + 0.228A^2 + 4.547B^2 + 0.003C^2$$

$$Y_2 = -1.615 + 3.918A + 6.230B + 0.617C + 0.110AB - 0.023AC + 0.062BC - 0.459A^2 - 3.151B^2 - 0.006C^2$$

式中: Y_1 、 Y_2 分别为 BI、叶绿素含量的回归方程; A、B、C 分别为柠檬酸、氯化钙、葡萄糖酸锌。

表 3-6 中的模型 1 (BI, R_1)、模型 2 (叶绿素含量, R_2) 的模型项 P 值都小于 0.01, 而失拟项 P 值都大于 0.05, 说明模型均显著, 失拟项均不显著, 可以较好地反应柠檬酸、氯化钙和葡萄糖酸锌浓度与 BI、叶绿素含量地变化关系。决定系数 R^2 分别为 0.8980、0.9041, 表明上述回归模型对 BI 和叶绿素含量的预测值与实测值接近, 有良好的拟合度, 对试验结果的预测也比较精确。

表 3-5 响应面试验设计及结果

Tab.3-5 Response surface test design and results

试验号	A	B	C	R1 BI	R2 叶绿素 $\mu\text{g/g}$
1	-1	-1	0	27.40	22.41
2	1	-1	0	27.71	20.67
3	-1	1	0	27.10	24.50
4	1	1	0	28.36	23.20
5	-1	0	-1	27.55	21.26
6	1	0	-1	28.74	18.71
7	-1	0	1	29.35	23.45
8	1	0	1	28.60	16.28
9	0	-1	-1	29.57	18.53
10	0	1	-1	29.14	21.59
11	0	-1	1	27.09	18.81
12	0	1	1	29.34	24.96
13	0	0	0	24.78	26.31
14	0	0	0	25.76	25.12
15	0	0	0	25.32	26.25
16	0	0	0	26.40	24.14
17	0	0	0	25.71	24.77

表 3-6 响应面回归模型方差分析结果

Tab.3-6 Variance analysis results of response surface regression model

方差来源	平方和		自由度	均方		F 值		P 值	
	R1	R2		R1、R2	R1	R2	R1	R2	R1
响应值									
模型	33.44	129.06	9.00	3.72	14.34	6.85	7.34	0.0095**	0.0078**
A	0.51	20.35	1.00	0.51	20.35	0.93	10.41	0.3668	0.0145*
B	0.59	23.91	1.00	0.59	23.91	1.08	12.23	0.3323	0.0100*
C	0.05	1.45	1.00	0.05	1.45	0.09	0.74	0.7747	0.4171
AB	0.23	0.05	1.00	0.23	0.05	0.42	0.02	0.5396	0.8794
AC	0.94	5.34	1.00	0.94	5.34	1.73	2.73	0.2294	0.1425
BC	1.80	2.39	1.00	1.80	2.39	3.31	1.22	0.1117	0.3057
A ²	3.50	14.18	1.00	3.50	14.18	6.45	7.26	0.0387*	0.0309*
B ²	5.44	2.61	1.00	5.44	2.61	10.03	1.34	0.0158*	0.2855
C ²	17.77	53.30	1.00	17.77	53.30	32.74	27.27	0.0007**	0.0012**
残差	3.80	13.68	7.00	0.54	1.95				
失拟项	2.37	10.10	3.00	0.79	3.37	2.21	3.76	0.2291	0.1165
纯误差	1.43	3.58	4.00	0.36	0.89				
总离差	37.24	142.74	16.00						

注："*"差异显著 (P<0.05)；"***"差异极显著 (P<0.01)

F 值可用来判断回归方程中各变量对响应指标影响的显著性，表 3-6 数据说明模型 1 (BI, R1) 中 A²、B² 显著，C² 极显著；模型 2 (叶绿素含量, R2) 中 A、B、A² 显著，

C^2 极显著。回归方程中的一阶项系数绝对值的大小可以反应各个因素对响应值影响的程度^[117]，因此模型 1 (BI, R1)、模型 2 (叶绿素含量, R2) 中各因素对响应值排列顺序均为：氯化钙>柠檬酸>葡萄糖酸锌。

3.4.2.2 响应面分析

响应面的曲面越陡,说明这个因素越能显著地影响响应值;因素间交互作用明显时,等高线图呈椭圆形^[117]。图 3-1 和图 3-2 分别代表各因素与模型 1 (BI, R1)、模型 2 (叶绿素含量, R2) 的响应面图。

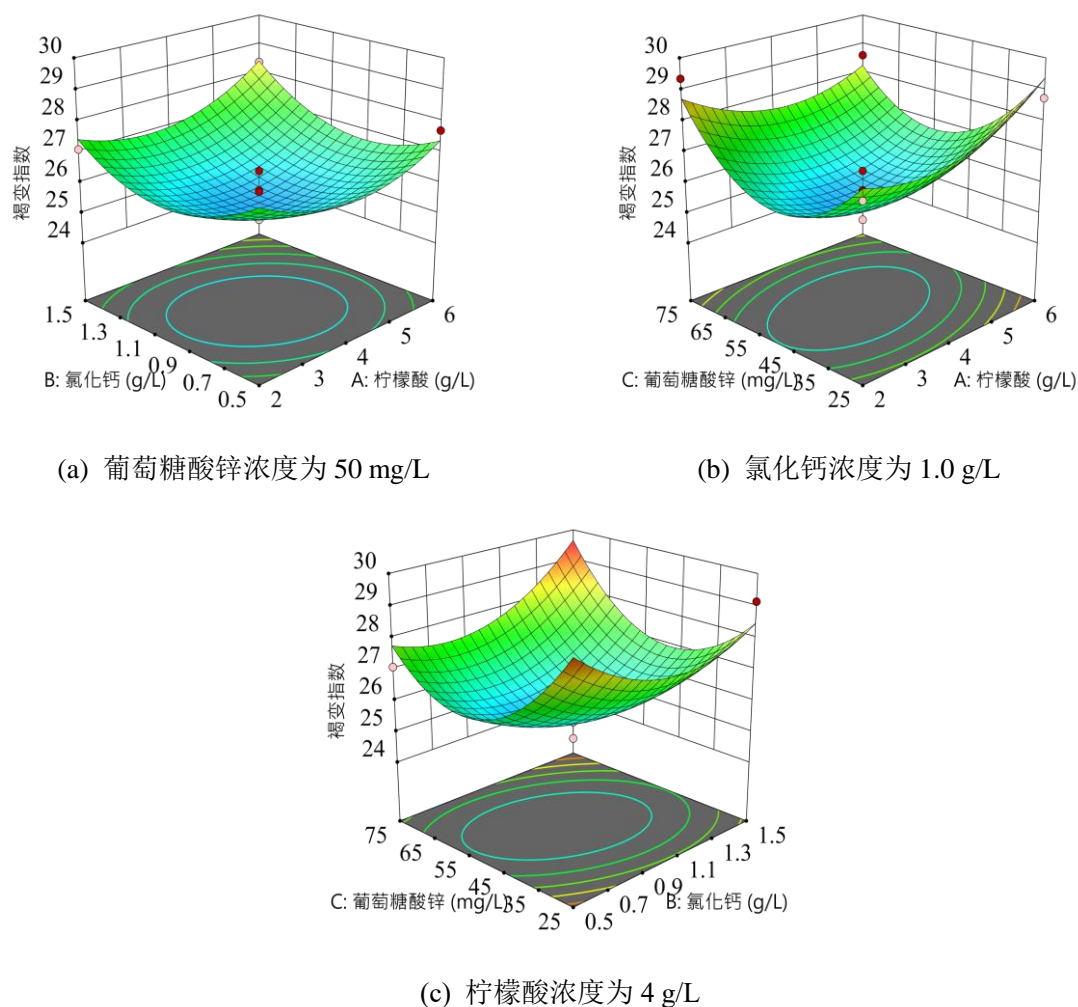


图 3-1 柠檬酸、氯化钙、葡萄糖酸锌处理对鲜切水芹褐变指数的响应面图

Fig.3-1 Response surface plots of citric acid, calcium chloride and zinc gluconate on browning index of fresh-cut *Oenanthe javanica*

从图 3-1(a)看出,当葡萄糖酸锌浓度为 50 mg/L 时,在响应面设计浓度优化范围内,与柠檬酸相比,氯化钙使响应面曲面坡度更陡,表明氯化钙对响应值 BI 影响程度更大;类似的,由图 3-1(b)和图 3-1(c)知,当氯化钙、柠檬酸浓度分别为 1、4 g/L 时,在响应面设计浓度优化范围内,柠檬酸较葡萄糖酸锌对响应值 BI 影响更为显著、氯化钙较葡萄糖酸锌对响应值影响更为显著,结合预测模型 1 回归方程可得出各成分对响应值 BI 的影响从大到小顺序依次为:氯化钙>柠檬酸>葡萄糖酸锌。

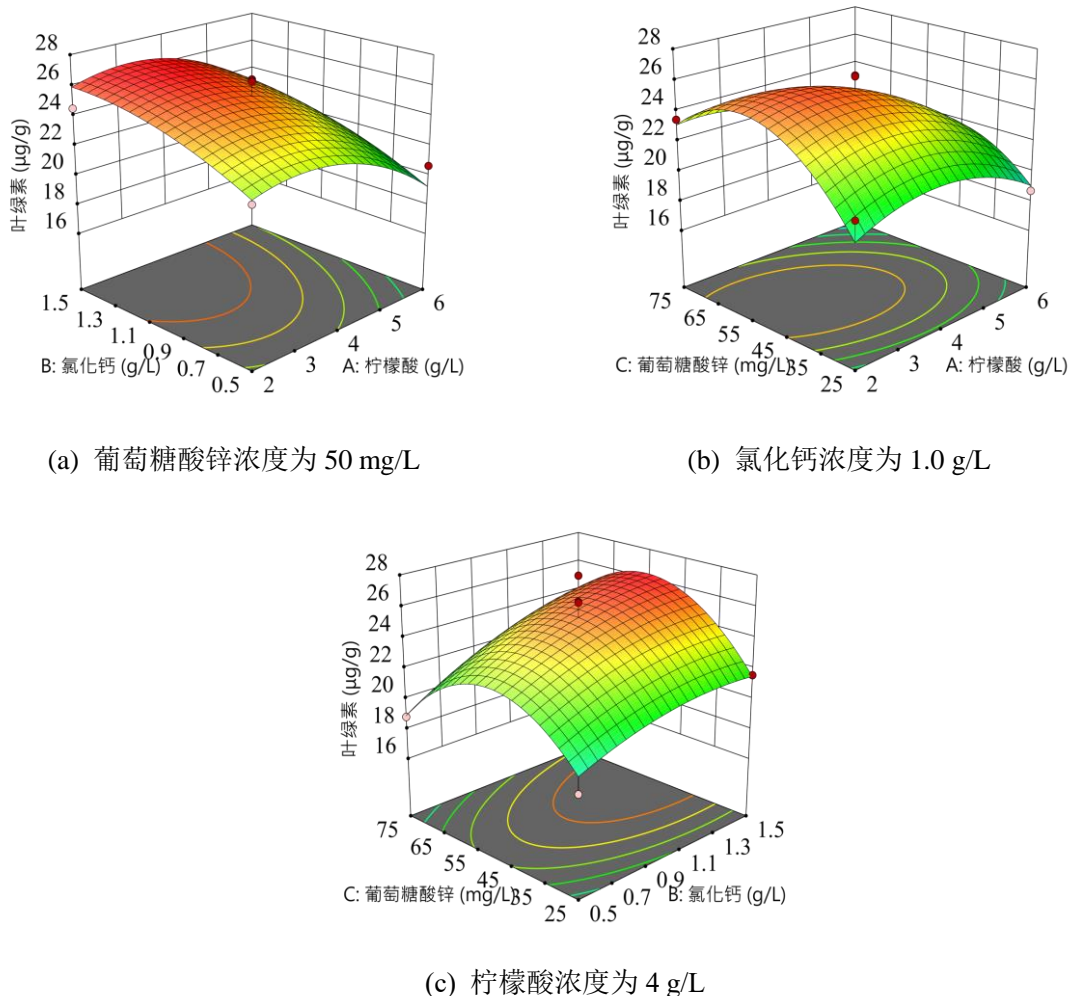


图 3-2 柠檬酸、氯化钙、葡萄糖酸锌处理对鲜切水芹叶绿素含量的响应面图

Fig.3-2 Response surface plots of citric acid, calcium chloride and zinc gluconate treatments on chlorophyll content of fresh-cut *Oenanthe javanica*

同理分析图 3-2 知，当葡萄糖酸锌、氯化钙和柠檬酸浓度分别为 50 mg/L、1 g/L 和 4 g/L 时，在响应面设计浓度优化范围内，各成分对叶绿素含量的影响从高到低顺序为：氯化钙>柠檬酸>葡萄糖酸锌。图 3-1 图 3-2 中的等高线均为椭圆形，说明柠檬酸、氯化钙和葡萄糖酸锌之间存在一定的交互作用，但并不显著（表 3-6 可知）。此外，随着氯化钙浓度的增大，褐变指数下降最明显，叶绿素含量越高，说明氯化钙浓度对鲜切水芹褐变指数以及叶绿素含量影响较大。

3.4.2.3 优化结果与验证试验

利用 Design-Expert 13.0.1 软件进行了最佳复配剂浓度优化组合，结合两个模型，最佳配比为：柠檬酸 3.44 g/L、氯化钙 1.1 g/L、葡萄糖酸锌 50.7 mg/L，在此条件下褐变指数、叶绿素含量预测值分别为 25.67、25.90 $\mu\text{g/g}$ 。在该条件下进行重复试验，测得褐变指数、叶绿素含量实际结果分别为 29.07、29.70 $\mu\text{g/g}$ ，与预测值接近，说明该模型很好地预测了鲜切水芹的褐变指数与叶绿素含量，表明响应面设计最佳条件较可靠。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/675302340103011113>