

臭氧微纳米气泡处理对黄豆芽“绿化”的影响及机制

高红豆, 史君彦, 刘海涛, 左进华, 袁树枝, 岳晓珍, 王清

Effect of Ozone Micro-Nano-Bubbles Treatment on “Green” and the Mechanism in Soybean Sprout

GAO Hongdou, SHI Junyan, LIU Haitao, ZUO Jinhua, YUAN Shuzhi, YUE Xiaozhen, and WANG Qing

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020059>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

超高压对鲜切胡萝卜硬度的影响及机制研究

Study on effect and mechanism of high pressure processing on hardness of fresh-cut carrot

食品工业科技. 2017(11): 200-204 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.11.029>

基于酪蛋白酸钠/EGCG/阿拉伯胶自组装构建EGCG纳米粒及其形成机制研究

Fabrication and Formation Mechanism of EGCG-loaded Nanoparticles Based on the Self-assembly of Sodium Caseinate, EGCG and Gum Arabic

食品工业科技. 2019, 40(10): 93-101, 108 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.10.016>

D-手性肌醇对高糖导致氧化损伤线虫延缓衰老的作用及机制

Anti-aging Effects and Underling Mechanism of D-chiro-inositol on Glucose-Induced Oxidative Damage in *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2019, 40(2): 282-286 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.02.049>

酪蛋白酸钠和阿拉伯胶相互作用的研究及纳米粒的制备

Studies on the interaction of sodium caseinate and gum arabic and preparation of nanoparticles

食品工业科技. 2017(15): 68-77 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.15.015>

枸杞蛋白酶解液对自发性高血压大鼠的降血压机制研究

Anti-hypertensive Mechanism of the Enzymatic Hydrolysate of *Lycium barbarum* Protein on Spontaneously Hypertensive Rats

食品工业科技. 2019, 40(10): 308-313, 344 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.10.051>

732阳离子交换树脂对全细胞谷氨酸脱羧酶活性的促进机制

Mechanism of 732 Cation-Exchange Resins on the Promotion of Whole Cells' Glutamate Decarboxylase Activity

食品工业科技. 2018, 39(20): 105-111 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.20.018>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

高红豆, 史君彦, 刘海涛, 等. 臭氧微纳米气泡处理对黄豆芽“绿化”的影响及机制 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(1): 295–302. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020059

GAO Hongdou, SHI Junyan, LIU Haitao, et al. Effect of Ozone Micro-Nano-Bubbles Treatment on “Green” and the Mechanism in Soybean Sprout[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(1): 295–302. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020059

· 贮运保鲜 ·

臭氧微纳米气泡处理对黄豆芽“绿化”的影响及机制

高红豆¹, 史君彦¹, 刘海涛², 左进华¹, 袁树枝¹, 岳晓珍¹, 王清^{1,*}

(1.北京市农林科学院农产品加工与食品营养研究所, 农业农村部蔬菜产后处理重点实验室,

果蔬农产品保鲜与加工北京市重点实验室, 北京 100097;

2.北京方圆平安生物科技股份有限公司, 北京 100097)

摘要:为研究臭氧微纳米气泡 (ozone micro-nano-bubbles, Ozone MNBs) 处理黄豆芽对 LED 白光照射下黄豆芽“绿化”的影响及其调控机制, 本实验以黄豆芽为材料, 采用 4 mg/L Ozone MNBs 处理黄豆芽, 测定 LED 白光照射下黄豆芽生理品质, 叶绿素合成和分解相关酶及物质变化。结果表明: 与蒸馏水处理对照组相比, 4 mg/L Ozone MNBs 处理可以显著降低 LED 白光照射下黄豆芽的“绿化”现象, 诱导提高黄豆芽中叶绿素降解酶 [叶绿素酶 (Chlase)、叶绿素降解过氧化酶 (Chl-POX)、脱镁螯合酶 (MD) 和脱镁叶绿素酶 (PPH)] 活性, 降低了叶绿素合成前体物 [δ -氨基乙酰丙酸 (ALA) 和尿卟啉原 III (Urogen III)], 叶绿素、叶绿素 a (Chl a) 和叶绿素 b (Chl b) 含量。降低了 ADP、ATP 和辅酶 II [NADP⁺和 NADPH] 含量。4 mg/L Ozone MNBs 处理可影响黄豆芽叶绿素合成和分解相关酶的活性和相关物质的含量, 对抑制 LED 白光照射下黄豆芽“绿化”有较好的效果。

关键词: 黄豆芽, 臭氧微纳米气泡, LED 白光照射, 叶绿素合成, 机制

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)01-0295-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020059

本文网刊:



Effect of Ozone Micro-Nano-Bubbles Treatment on “Green” and the Mechanism in Soybean Sprout

GAO Hongdou¹, SHI Junyan¹, LIU Haitao², ZUO Jinhua¹, YUAN Shuzhi¹, YUE Xiaozhen¹, WANG Qing^{1,*}

(1. Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Key Laboratory of the Vegetable

Postharvest Treatment of Ministry of Agriculture, Beijing Key Laboratory of Fruits and

Vegetable Storage and Processing, Beijing 100097, China;

2. Beijing Fangyuan Ping'an Biotechnology Co., Ltd., Beijing 100097, China)

Abstract: In order to explore the effect of ozone micro-nano-bubbles (Ozone MNBs) on “green” and the regulative mechanism in soybean sprout, this study took soybean sprout as the experimental material, treated with 4 mg/L Ozone MNBs and stored in white LED condition. Physical quality, synthesizing and decomposing of chlorophyll (enzyme activity and substance) were measured in soybean sprout. Compared with control group, 4 mg/L Ozone MNBs treatment could significantly inhibit the “green”, enhance the activities of chlorophyllase (Chlase), chlorophyll degrading peroxidase (Chl-POX), Mg-dechelataase (MD) and pheophytinase (PPH). And it decreased the levels of precursors in chlorophyll synthesis [δ -aminolevulinic acid (ALA) and Urogen III], chlorophyll, chlorophyll a and chlorophyll b. Additionally, it declined the

收稿日期: 2023-02-07

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-23); 北京市农林科学院协同创新中心建设 (KJCX201915); 北京市农林科学院创新能力建设专项 (KJCX20220418, 20210402, 20200427 和 20210437); 国家自然科学基金项目 (31772022 和 32001763); 北京市农林科学院青年基金 (QNJJ202235)。

作者简介: 高红豆 (1994-) (ORCID: 0000-0003-1912-1518), 女, 博士研究生, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: ghd1396677078@163.com。

*** 通信作者:** 王清 (1979-) (ORCID: 0000-0003-2524-299X), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: wangqing@iapn.org.cn。

content of ADP, ATP, NADP⁺ and NADPH in soybean sprout. Thus, 4 mg/L Ozone MNBs treatment affected the substance and enzyme activity of synthesizing and decomposing of chlorophyll, effectively hindered “green” in soybean sprout under white LED.

Key words: soybean sprout; Ozone MNBs; white LED; synthesizing of chlorophyll; mechanism

黄豆中含有丰富的营养物质,例如:蛋白质、脂肪、碳水化合物以及一些矿物质等营养元素。在发芽过程中,会增加一些维生素类物质的产生,并且蛋白质的利用率大大提高,此外,一些棉籽糖、鼠李糖等不利于人体吸收利用的物质也得到分解,以上变化对人体是极有利的,避免了吃黄豆后人体产生胀气现象^[1]。但黄豆芽在售卖过程中无法保持持续避光,极易发生光合作用出现“绿化”现象,会影响消费者的购买欲,对黄豆芽产业发展有不利影响。其中光照是导致黄豆芽“绿化”最直接的因素,故抑制“绿化”是提高黄豆芽商品价值的重要条件。Ozone MNBs是近年来一项新兴的保鲜技术,已有研究发现,臭氧具有抑制植物光合作用发生的功能,而将 Ozone MNBs 技术应用在抑制黄豆芽“绿化”上的报道较少。

微纳米气泡由微米和纳米气泡组成,直径小于 50 μm,具有较强的溶水能力,并且在水中具有稳定性^[2]。臭氧是一种强氧化剂,具有杀菌作用,目前已广泛应用在果蔬采后保鲜方面^[3-4]。但是臭氧在水中具有不稳定、易分解的特性^[5],通过与微纳米气泡结合可增加臭氧在水中的溶解量和保持其浓度恒定的作用^[6-7],很好地解决了臭氧在水中不稳定易分解的弊端。研究发现 Ozone MNBs 在果蔬保鲜方面有一定的应用,王雪青等^[8]采用 4 mg/L Ozone MNBs 处理菠菜,发现处理组能够提高菠菜的抗氧化能力,减缓菠菜营养物质损耗,提高了菠菜的耐贮性。运用 1.8 mg/L Ozone MNBs 处理番茄苗,显示两种空气传播病原菌分生孢子受到明显的抑制,说明 Ozone MNBs 在番茄空气传播病害防治中的应用是可行的^[7]。对板栗进行多种水洗处理时,与自来水冲洗相比,Ozone MNBs 处理显著降低了采后板栗的腐烂率和相关微生物群落(好氧细菌、霉菌/丝状真菌和酵母)生长,提高了板栗的贮藏品质^[9]。然而,Ozone MNBs 处理对芽菜类的研究尚少。

本实验以黄豆芽为材料,在 20 ℃ 下,用 LED 白光照射,探究 4 mg/L Ozone MNBs 处理对黄豆芽叶绿素降解酶,叶绿素合成前体物,叶绿素含量,ADP、ATP 和辅酶 II 含量等指标的影响,以期延长黄豆芽货架期提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄豆芽 购买于北京市超市发连锁有限公司,挑选当日新鲜折损率较小的袋装黄豆芽,20 min 内运回实验室,进行实验;丙酮、无水乙醇、石油醚、甲醇、二胺四乙酸(EDTA)、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠 天津市科密欧化学试剂有限公司;酚酞指示剂、

NaOH、KCl、NaCl 西陇科学股份有限公司;HCL、Triton X-100、Tris 北京化学试剂有限公司;叶绿素 a 美国 Sigma 公司;Tricine 翌圣生物科技(上海)股份有限公司;噻唑蓝溴化四唑(MTT)、葡萄糖-6-磷酸、吩嗪乙硫酸盐(PES)、4-香豆酸 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;ATP、ADP 上海源叶生物科技有限公司;5-氨基乙酰丙酸、胆色素原、尿卟啉原 III、1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶试剂盒 上海酶联生物科技有限公司;以上试剂均为分析纯。

3S-T 臭氧发生器、3S-J5000 臭氧检测仪 北京同林科技有限公司;MF-5000 微纳米气泡发生装置 上海行恒科技有限公司;UV-1800 紫外分光光度计 日本岛津公司;IKA M20 研磨机 德国艾卡仪器设备有限公司;D-37520 离心机 北京诚茂兴业科技发展有限公司;XMTD-6000 型数显恒温水浴锅 余姚金电仪表有限公司;Varioskan LUX 多功能酶标仪 赛默飞世尔科技(中国)有限公司;KQ-50TDB 超声波清洗机 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 Ozone MNBs 处理 本实验以黄豆芽为材料,以 0.5~5 mg/L 浓度的 Ozone MNBs 对其进行预实验筛选适宜浓度,多次重复实验证明 4 mg/L 处理对抑制黄豆芽“绿化”效果最佳。随后在臭氧检测仪监测下将臭氧浓度调至 4 mg/L,随后接入微纳米气泡发生器,用产生的 4 mg/L 浓度的 Ozone MNBs 处理黄豆芽,对照组用蒸馏水代替 Ozone MNBs。将 12 kg 黄豆芽用 Ozone MNBs 处理 5 min 后取出,吸水纸吸干表面多余水分,装入厚度为 0.03 mm 的自封袋,置于温度 20 ℃,湿度 95%,稳定 LED 白光照射条件下模拟货架期销售环境,并于 0、12、24、36、48 h 取样测定相应指标。剩余样品液氮冷冻,置于-80 ℃冰箱,后续指标测定时研磨成粉。

1.2.2 失重率和可滴定酸(TA)含量的测定 失重率和 TA 遵循 Martínez-Romero 等^[10]的方法。TA 含量利用酸碱电位滴定法测定,酚酞作为指示剂,样品:蒸馏水按照 1:10 比例均浆,过滤,取滤液。用 0.1 mol/L NaOH 滴定样品滤液至溶液变红为止,结果以 % 表示。

$$\text{失重率}(\%) = (W_1 - W_2) / W_1 \times 100$$

式中, W_1 为 0 h 样品重量; W_2 为取样点样品重量。

1.2.3 ADP、ATP、Urogen III、ALA、胆色素原(PBG)和 1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(RuBisCO)含量 根据酶联免疫试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)方法进行实验测定。

1.2.4 NADP(H)含量测定 NADP(H)含量测定根

据陈梦茵等^[11]和 Zhang 等^[12]的实验方法进行测定。1 g 样品加入 5 mL 0.1 mol/L HCl 用于 NADP 测定,1 g 样品加入 5 mL 0.1 mol/L NaOH 用于 NADPH 测定。混和液沸水浴 5 min,冰浴冷却,4 ℃,10000×g 离心 10 min。上层清液分别用 0.1 mol/L NaOH 或 HCl 中和至 pH 为 7,随后进行离心,离心条件同上。最终上层清液即为提取液。

50 μL 上层清液加入 60 μL 1 mol/L Tricine-NaOH 缓冲液,60 μL 40 mmol/L 乙二胺四乙酸(EDTA),60 μL 4.2 mmol/L MTT,60 μL 16.6 mmol/L 吩嗪乙硫酸盐(PES),60 μL 25 mmol/L 葡萄糖-6-磷酸和 450 μL 0.1 mol/L NaCl 溶液中,37 ℃ 水浴 5 min。随后加入 50 μL 200 U/mL 的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PDH)溶液,37 ℃ 下孵育 40 min。最后加入 600 μL 6 mol/L NaCl 溶液终止反应。将所获得的反应混合物 4 ℃,10000×g 离心 10 min,用 4 mL 95% 乙醇溶解的沉淀,570 nm 下测定吸光值。结果以 nmol/mL 为单位表示(全程弱光操作)。

1.2.5 叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素含量测定 根据 Shi 等^[13]的方法来测定黄豆芽叶绿素 a,叶绿素 b 和叶绿素含量。称取 1 g 组织样品加入 10 mL 丙酮-乙醇(2:1)溶液中,摇匀。4 ℃ 条件下 12000×g 离心 10 min 取上层清液,然后用紫外分光光度计测定上层清液在 645 nm 和 663 nm 下的吸光值,叶绿素 a 和叶绿素 b 的质量浓度:

$$\rho_a = 12.72A_{663} - 2.59A_{645}$$

$$\rho_b = 22.88A_{645} - 4.67A_{663}$$

$$\text{叶绿素总量 } \rho_T = \rho_a + \rho_b = 20.29A_{645} + 8.05A_{663}$$

$$\text{叶绿素含量(mg/kg)} = \frac{\rho \times V}{m \times 1000}$$

式中, ρ 为由公式计算得叶绿素的质量浓度,mg/L; V 为样品提取液总体积,mL; m 为样品质量,kg。

1.2.6 叶绿素降解酶活性测定

1.2.6.1 底物的制备 以下前处理均采用 Shi 等^[13]的方法制备。纯叶绿素 a(Chla)试剂 10 mg,根据所需的浓度用丙酮溶液配制。叶绿素 a(Chlin a)的制备:40 mL 石油醚加入到 6 mL 200 μg/mL 叶绿素 a 丙酮溶液中,将被分离出来的醚相用蒸馏水(20 mL)冲洗三次,最后加入 1.33 mL 300 mg/mL KOH 甲醇溶液制备成 Chlin a。分离出 Chlin a 的沉淀并溶解在蒸馏水中。脱镁叶绿素 a(Phy a)制备:叶绿素丙酮溶液中加入一滴 0.1 mol/L 的 HCl,2 min 后加入一滴 0.1 mol/L NaOH 中和。Phy a 浓度的确定通过测定消光系数为 156000 mol/L/cm 的波长为 409 nm 处吸光值计算。

1.2.6.2 丙酮粉的制备 3 g 样品在 22.5 mL 冷丙酮(-20 ℃)溶解,-20 ℃ 静置 15 min,然后于 4 ℃,12000×g 下离心 5 min,取沉淀再加 22.5 mL 冷丙酮,

重复 2~3 次至沉淀中绿色褪去,沉淀即为丙酮粉。

1.2.6.3 粗酶液提取 Chlase 提取:0.2 g 丙酮粉与 3 mL 50 mmol/L PBS(pH7.0)缓冲液混合,其中缓冲液包括 50 mmol/L KCl 和 0.24% Triton X-100,放入 30 ℃ 恒温条件,搅拌 30 min,然后 12000×g 离心 5 min,取上层清液。MD 提取:0.1 g 丙酮粉与 1 mL 50 mmol/L PBS(pH7.0)缓冲液混合,缓冲液配制与叶绿素酶提取过程中所用相同,混合液放入 0 ℃ 下搅拌 1 h,随后在 4 ℃,12000×g 离心 20 min,取上层清液。Chl-POX 提取:0.15 g 丙酮粉与 10 mL 10 mmol/L PBS(pH7.0)缓冲液混合,0 ℃ 下搅拌 1 h。4 ℃,10000×g 离心 20 min,取上层清液。PPH 提取:0.15 g 丙酮粉与 1.5 mL 50 mmol/L pH8.0 Tris-HCl 缓冲液混合,0 ℃ 下搅拌 1 h,4 ℃,15000×g 离心 15 min,取上层清液。

1.2.6.4 Chlase 活性的测定 Chlase 活性的测定采用 Han 等^[14]的方法。反应液由 0.5 mL pH7.5 100 mmol/L PBS(含 0.24% Triton X-100),0.5 mL 酶液以及 0.2 mL 200 μg/mL Chla 丙酮溶液组成。反应液 25 ℃ 水浴 40 min,随后加入 4 mL 冷丙酮终止反应,再加 4 mL 正己烷,充分混合,4 ℃,12000×g 离心 5 min。测定下层相 667 nm 处的吸光值,单位为 nmol/(g·h)。

1.2.6.5 Chl-POX 活性测定 Chl-POX 活性测定运用 Asumi 等^[15]的方法,反应液:0.5 mL 酶液,0.2 mL Chla 丙酮溶液(80 μg/mL),0.1 mL H₂O₂(0.3%),0.1 mL Triton X-100(1%),0.1 mL 4-香豆酸(5 mmol/L)、1.5 mL pH5.5 PBS 缓冲液(0.1 mol/L)。反应液 25 ℃ 保温 10 min 后测定 668 nm 处吸光值,单位为 nmol/(g·min)。

1.2.6.6 MD 活性测定 MD 活性测定运用 Suzuki 等^[16]的方法,反应液包含:0.2 mL 酶液,0.75 mL Tris-HCl 缓冲液(50 mmol/L pH8.0)和 0.3 mL Chlin a。反应液 37 ℃ 保温 10 min 后测定 686 nm 处吸光值,单位为 OD/(g·min)。

1.2.6.7 PPH 活性测定 PPH 活性测定运用 Aiamlaor 等^[17]的方法,反应液由 0.35 mL 酶液,75 μL Triton X-100(2.0%),0.1 mL Phy a,0.7 mL Tris-HCl 缓冲液(50 mmol/L pH8.0)构成。反应液 25 ℃ 保温 90 min 后加入 4 mL 冷丙酮终止,再加入 4 mL 正己烷,充分混合,4 ℃,12000×g 离心 5 min。测定丙酮层在 667 nm 处的吸光值,单位为 nmol/(kg·min)。

1.3 数据处理

采用 WPS 2022 软件进行数据处理,利用 SPSS 22.0 软件对数据进行单因素方差分析($P < 0.05$)。运用 Origin 2022 软件制图,不同字母表示显著性差异($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 Ozone MNBs 处理对黄豆芽外观品质的影响

外观品质是反映果蔬品质变化最直观的指标。

由图 1 可以看出在 LED 白光照射 24 h 后对照和 Ozone MNBs 处理组黄豆芽均出现“绿化”现象,其中对照组“绿化”程度较 Ozone MNBs 处理组更明显。这是因为臭氧本身具有抑制光合作用的能力,同时微纳米气泡可进入果蔬内部的缝隙,从而加强了臭氧抑制光合作用发生的效果^[18-19]。说明 Ozone MNBs 处理可有效维持黄豆芽的外观品质,减弱“绿化”发生。

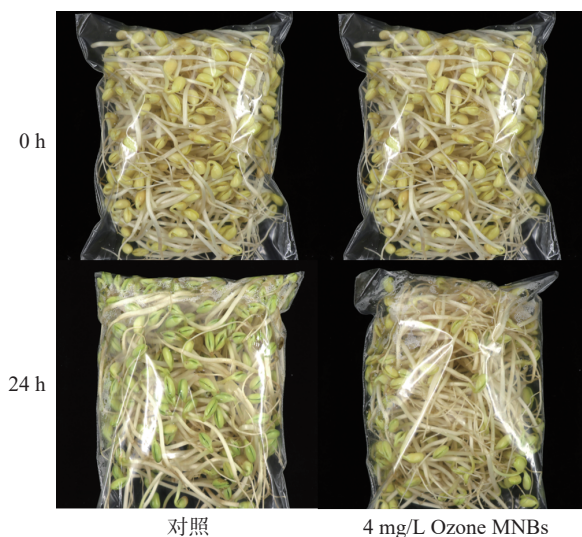


图 1 Ozone MNBs 处理对黄豆芽外观品质的影响
Fig.1 Effect of Ozone MNB treatment on exterior quality of soybean sprout

2.2 Ozone MNBs 处理对黄豆芽失重率和 TA 的影响

失重是所有果蔬贮藏过程中不可避免的一个基础变化,对果蔬品质影响较大。有研究表明,臭氧能够有效地抑制植物进行光合作用,但持续的臭氧处理会促进植物衰老,造成不可逆损伤^[20]。因此利用 Ozone MNBs 技术进行短时处理可能会降低臭氧对黄豆芽的损伤。图 2A 显示,整个 LED 白光照射贮藏过程中,Ozone MNBs 处理组和对照组失重率均呈一直增长趋势。Ozone MNBs 处理后,失重率明显较对照组大。可能是因为黄豆芽含水量高,并且细胞膜较薄,受到 Ozone MNBs 刺激后破坏细胞膜结构,加速了水分损失^[21]。另外,图 2B 显示 TA 含量变化在 Ozone MNBs 处理组和对照组中均较为稳定,除 12 和 48 h 外,整个过程中两组差异不显著($P>0.05$),说明 Ozone MNBs 对 TA 含量的影响相对较小。

2.3 Ozone MNBs 处理对黄豆芽 ADP、ATP、NADP⁺ 和 NADPH 含量的影响

黄豆芽“绿化”主要是发生了光合作用,此过程较为复杂,涉及光吸收、电子传递、光合磷酸化、碳同化等重要反应步骤。此过程伴随着能量变化,叶绿体类囊体膜催化 ADP 与 Pi 结合形成 ATP。在形成 ATP 的同时,还释放了氧并形成还原型辅酶 II (NADPH)^[22]。若光合作用增强时,会促进能量的产生。如图 3A 显示,整个 LED 白光照射贮藏过程中,Ozone MNBs 处理组和对照组 ADP 含量均呈先升

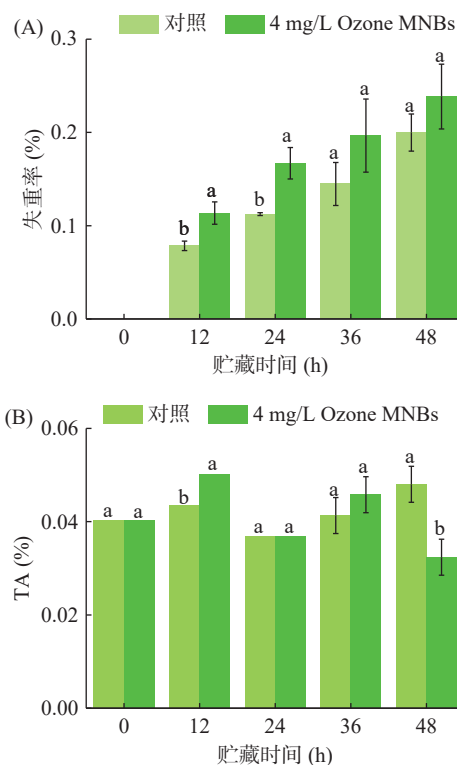


图 2 Ozone MNBs 处理对黄豆芽失重率(A)和 TA(B)含量的影响

Fig.2 Effect of Ozone MNB treatment on weight loss rate (A) and TA (B) content of soybean sprout

注:图中不同小写字母表示同一贮藏时间内,两组差异显著 $P<0.05$;图 3~图 7 同。

后降趋势,36 h 时 Ozone MNBs 处理组和对照组均达到峰值分别为 711.167 nmol/L 和 710.733 nmol/L,对照组含量整体高于 Ozone MNBs 处理组,12 h 和 48 h 差异显著($P<0.05$)。图 3B 的 ATP 含量变化均呈先增长然后缓慢下降的趋势,并且对照组含量高于 Ozone MNBs 处理组。由图 3C 可知,NADP⁺含量整体呈一直增长趋势,12~48 h 对照组和 Ozone MNBs 处理组差异显著($P<0.05$),48 h 时两组达到最大值,分别为 14.23 nmol/mL 和 8.84 nmol/mL。图 3D 显示,NADPH 含量整体呈先升后降趋势,整个贮藏期间对照组含量高于 Ozone MNBs 处理组,且 12~48 h 对照组含量明显更高($P<0.05$)。ADP、ATP、NADP⁺、NADPH 在 Ozone MNBs 组较对照组含量低,说明 Ozone MNBs 降低了光合磷酸化过程,从而降低光合作用的发生,有效延缓了黄豆芽的“绿化”。

2.4 Ozone MNBs 处理对黄豆芽 Urogen III、ALA 和 PBG 含量的影响

Urogen III、ALA 和 PBG 作为叶绿素合成前体物,能够对叶绿素合成过程具有较好的调控作用^[23-24],这些前体物质含量降低可能会降低叶绿素的合成速率。当黄豆芽叶绿素含量降低时,“绿化”现象会减弱。图 4A 显示,整个 LED 白光照射贮藏过程中,Ozone MNBs 处理组 Urogen III 含量呈下降趋势,对照组则为先升后降。对照组含量始终高于 Ozone MNBs 处

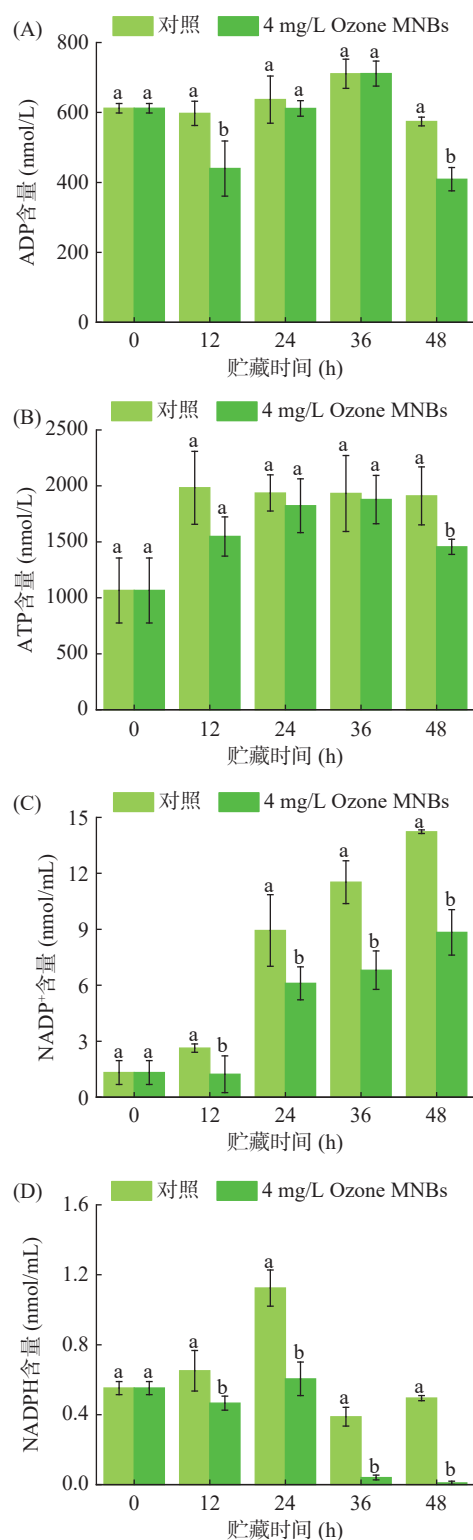


图3 Ozone MNBs 处理对黄豆芽 ADP(A)、ATP(B)、NADP⁺(C)和 NADPH(D)含量的影响

Fig.3 Effect of Ozone MNB treatment on ADP (A), ATP (B), NADP⁺ (C) and NADPH (D) content of soybean sprout

理组, 在 12 h 时 Ozone MNBs 处理组和对照组之间差异显著($P < 0.05$), 此时两组含量分别为 20.175 ng/mL 和 28.252 ng/mL。图 4B 的 ALA 含量变化均呈先增长后下降的趋势, 对照组在 36 h 达到峰值为 46.323 ng/mL, 而 Ozone MNBs 处理组在 12 h 已达到最大值为 42.207 ng/mL。此过程中对照组含量高

于 Ozone MNBs 处理组, 尤其在 24 h 以后效果明显。由图 4C 可知, PBG 含量呈一个较为稳定的趋势, 除 24 h Ozone MNBs 处理组大于对照组外, 其余贮藏时间对照组均大于 Ozone MNBs 处理组。Urogen III 和 ALA 含量变化说明 Ozone MNBs 会降低叶绿素合成前体物质, 可能对黄豆芽“绿化”具有抑制效果。

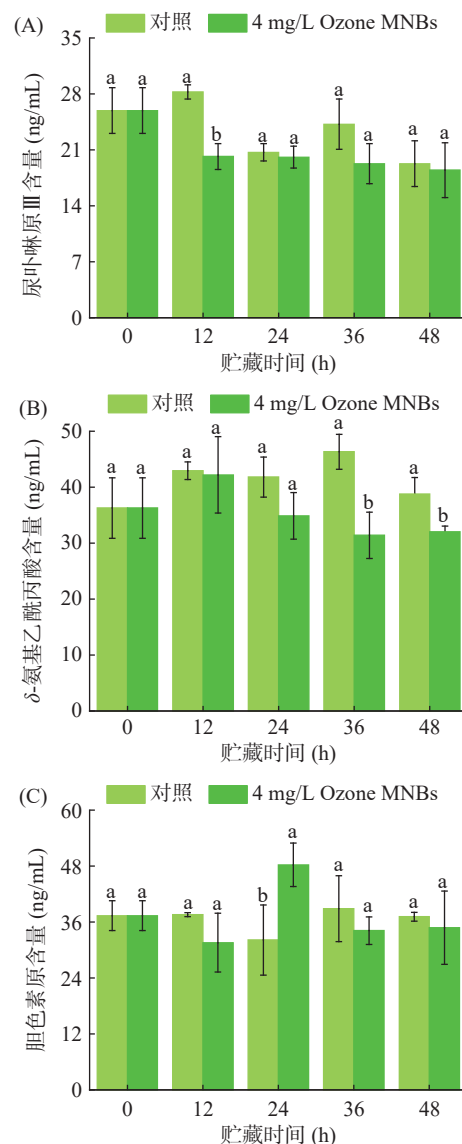


图4 Ozone MNBs 处理对黄豆芽 Urogen III (A)、ALA(B)和 PBG(C)含量的影响

Fig.4 Effect of Ozone MNB treatment on Urogen III (A), ALA (B) and PBG (C) content of soybean sprout

2.5 Ozone MNBs 处理对黄豆芽叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素含量的影响

叶绿素是反映植物颜色变化的关键因素, 其作为光系统的重要组成部分, 具有捕获和转换光能的基本功能^[23]。叶绿素合成过程首先由谷氨酸合成叶绿素 a, 随后叶绿素 a 和叶绿素 b 的相互转换, 最后叶绿素 a 降解^[25]。因此, 叶绿素 a 和叶绿素 b 含量变化是光合作用是否发生的重要指标。图 5A 显示, LED 白光照射贮藏过程中, 叶绿素 a 含量均呈一直增长趋势, 除 36 h 外, 对照组含量明显高于 Ozone MNBs

处理组($P<0.05$), 48 h 时 Ozone MNBs 处理组和对照组达到最大值分别为 58.460 mg/kg 和 77.598 mg/kg。图 5B 的叶绿素 b 含量变化趋势同叶绿素 a 变化趋势相似, 对照组含量一直明显高于 Ozone MNBs 处理组($P<0.05$), 在 48 h 达到最大值分别为 18.739 mg/kg 和 15.597 mg/kg。由图 5C 可知, 叶绿素含量变化趋势同叶绿素 a、b 含量变化趋势相似, 除 36 h Ozone MNBs 处理组与对照组含量相似外, 其余贮藏时间内对照组均显著大于 Ozone MNBs 处理组($P<0.05$)。以上叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量的变化说明 Ozone MNBs 处理降低了叶绿素合成, 同时也回应了光合作用减弱, 黄豆芽“绿化”的延缓。

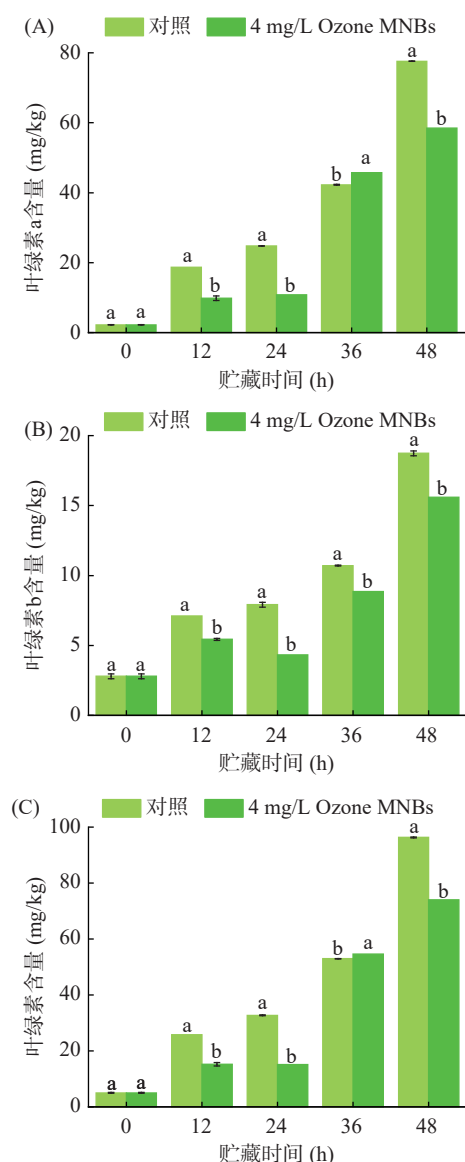


图5 Ozone MNBs 处理对黄豆芽叶绿素 a(A)、叶绿素 b(B) 和叶绿素(C)含量的影响

Fig.5 Effect of Ozone MNB treatment on chlorophyll a (A), chlorophyll b (B) and chlorophyll (C) content of soybean sprout

2.6 Ozone MNBs 处理对黄豆芽 RuBisCO 活性的影响

RuBisCO 酶是光合作用反应中重要的羧化酶, 光呼吸中不可缺少的加氧酶, 在光合作用过程中,

RuBisCO 最大羧化速率决定了光合作用的能力, 臭氧可通过抑制蛋白合成、加速蛋白分解来降低 RuBisCO 的活性^[26]。由图 6 可知, LED 白光照射过程中, RuBisCO 活性均呈先升后降趋势, 对照组和 Ozone MNBs 处理组活性分别在 24 h 和 36 h 达到峰值, 分别为 15.641 U/L 和 14.507 U/L, 然而整个过程 Ozone MNBs 处理组和对照组两组差异不显著, 这说明 Ozone MNBs 对 RuBisCO 活性影响相对较小。

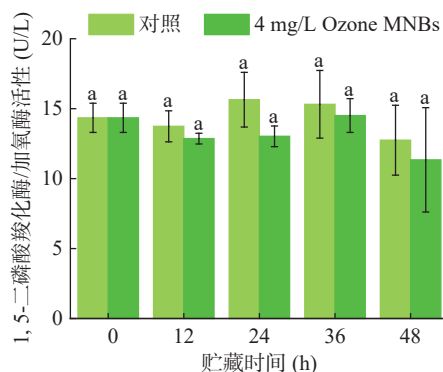


图6 Ozone MNBs 处理对黄豆芽 RuBisCO 活性的影响
Fig.6 Effect of Ozone MNB treatment on RuBisCO activity of soybean sprout

2.7 Ozone MNBs 处理对黄豆芽 Chl-POX、PPH、MD 和 Chlase 活性的影响

产生黄豆芽“绿化”现象除了与光合作用有关外, 也可能是叶绿素降解相关酶的影响。Chlase 是叶绿素降解代谢途径中的第一酶, 催化 Chl a 生成脱镁叶绿素 a; Chl-POX 可以在体外降解 Chl a, 生成中间产物 OHChl a, 然后 MD 会进一步催化叶绿素降解, 通过去除脱植基叶绿素 a 的 Mg^{2+} 产生脱镁叶绿素 a, PPH 则会促进生成脱镁叶绿素 a/b^[13]。这些催化的产物会加速叶绿素降解, 降低果蔬绿色色素产生。图 7A 显示, Chlase 活性呈一直下降趋势, 整个过程中, 对照组活性低于 Ozone MNBs 处理组, 且 12~36 h 对照组活性显著低于 Ozone MNBs 处理组($P<0.05$)。图 7B 表明, 整个 LED 白光照射贮藏过程中, Ozone MNBs 处理组的 Chl-POX 活性呈先升后降趋势, 在 36 h 时达到最大值 83.016 nmol/(g·min), 但是对照组 Chl-POX 活性变化不明显, 其中 12、24 和 36 h 两组差异显著($P<0.05$), Ozone MNBs 处理组明显高于对照组。图 7C 显示, MD 活性整体呈先升后降趋势, 12 h 时活性最大, 分别为 0.890 OD/(g·min) 和 1.496 OD/(g·min), 另外, Ozone MNBs 处理组活性也是高于对照组, 其中 12~36 h 对照组和 Ozone MNBs 处理组差异显著($P<0.05$)。由图 7D 知, 除 24 h 外, Ozone MNBs 处理组达到 944.116 nmol/(kg·min), 其余时间点 PPH 活性整体呈下降趋势, 并且 Ozone MNBs 处理组活性高于对照组。结果说明 Ozone MNBs 提高了叶绿素的一系列降解酶活性, 使得叶绿素合成受到抑制, 可能是臭氧本身具有抑制光合作用的能力, 微纳米气泡可促进其进入果蔬

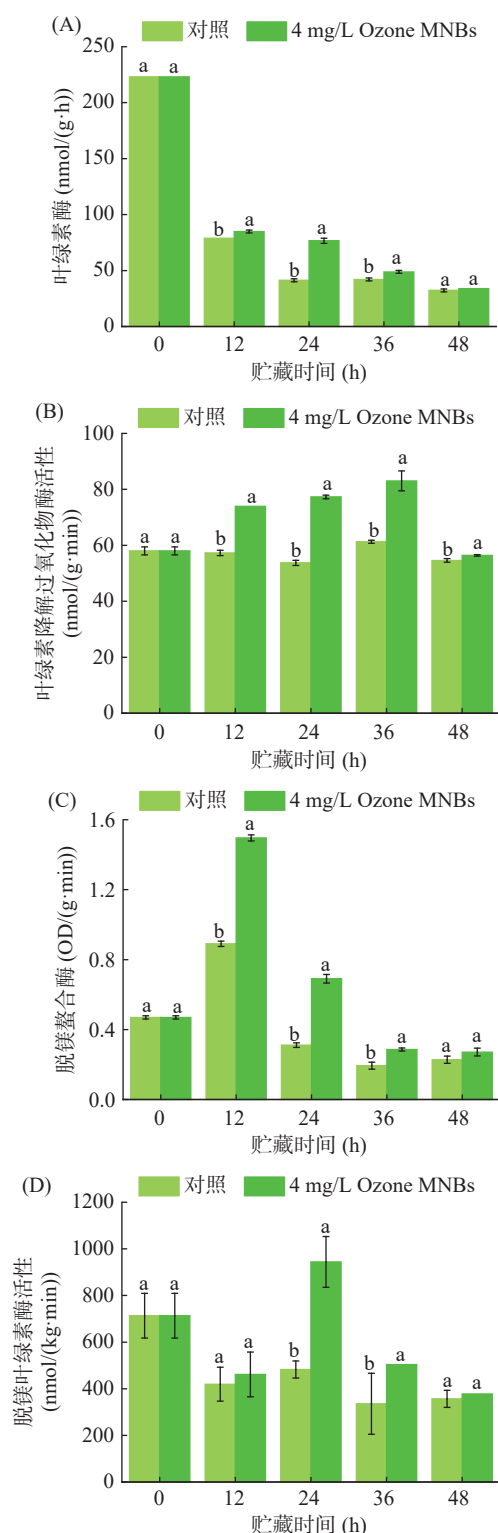


图7 Ozone MNBs 处理对黄豆芽 Chlase(A)、Chl-POX(B)、MD(C)和 PPH(D)活性的影响

Fig.7 Effect of Ozone MNB treatment on Chlase (A), Chl-POX (B), MD (C) and PPH (D) activities of soybean sprout

内部,从而抑制了光合作用的发生^[18-19],降低了黄豆芽“绿化”的发生。

3 结论

本文以黄豆芽为原料,探究了 Ozone MNBs 技术对黄豆芽生理品质和叶绿素合成和分解的调控作用。研究结果表明,LED 白光照射下, Ozone MNBs

处理的黄豆芽光合作用受到显著抑制,“绿化”程度明显降低。处理组黄豆芽失水较对照组严重,但在货架期内整体失重率变化较小。同时 Ozone MNBs 处理还降低了黄豆芽 ALA、Urogen III、叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b、ADP、ATP、NADP⁺和 NADPH 含量,诱导提升了 Chl-POX、PPH、MD 和 Chlase 酶活性。据此认为, Ozone MNBs 技术可降低黄豆芽“绿化”现象,与降低黄豆芽光合作用相关酶活性和物质积累、提升叶绿素降解酶活性有关。以上发现对其应用在调节绿叶植物生长具有重要意义。

参考文献

- [1] 刘飞, 麻成金. 预处理对冻干黄豆芽品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(6): 87-89. [LIU F, MA C J. Effect of pretreatment technology on quality of soybean sprout in freeze-drying condition[J]. Food Research and Development, 2005, 26(6): 87-89.]
- [2] TAKAHASHI M. ζ Potential of microbubbles in aqueous solutions: Electrical properties of the gas-water interface[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2005, 109(46): 21858-21864.
- [3] 白华飞, 张昭其. 臭氧在果蔬贮藏保鲜上的应用[J]. 食品科技, 2003(1): 80-82. [BAI H F, ZHANG Z Q. The application of ozone on storage of fruits and vegetables[J]. Food Science and Technology, 2003(1): 80-82.]
- [4] 姚开, 贾冬英, 谭敏. 臭氧在果蔬加工中的应用[J]. 食品科学, 2002, 23(5): 149-151. [YAO K, JIA D Y, TAN M. Study on sterilization mechanism of ozone and its application to processing fruits and vegetables[J]. Food Science, 2002, 23(5): 149-151.]
- [5] KARACA H, VELIOGLU Y S. Ozone applications in fruit and vegetable processing[J]. Food Reviews International, 2007, 23(1): 91-106.
- [6] HE H M, ZHENG L, LI Y F, et al. Research on the feasibility of spraying micro/nano bubble ozonated water for airborne disease prevention[J]. Ozone: Science & Engineering, 2015, 37(1): 78-84.
- [7] IKEURA H, KOBAYASHI F, TAMAKI M. Removal of residual pesticides in vegetables using ozone microbubbles[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186(1): 956-959.
- [8] 王雪青, 左进华, 闫志成, 等. 臭氧微纳米气泡处理对菠菜采后保鲜的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(23): 190-196. [WANG X Q, ZUO J H, YAN Z C, et al. Effect of ozone micro-nano-bubble treatment on postharvest preservation of spinach[J]. Food Science, 2020, 41(23): 190-196.]
- [9] LEE U, JOO S, KLOPFENSTEIN N B, et al. Efficacy of washing treatments in the reduction of post-harvest decay of chestnuts (*Castanea crenata* 'Tsukuba') during storage[J]. Canadian Journal of Plant Science, 2016, 96(1): 1-5.
- [10] MARTÍNEZ-ROMERO D, ALBURQUERQUEN, VALVERDE J M, et al. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 39(1): 93-100.
- [11] 陈梦茵, 林河通, 洪延康, 等. DNP 和 ATP 对 *Phomopsis longanae* Chi 侵染的龙眼果实病害发生、能荷状态和呼吸代谢的调控[J]. 现代食品科技, 2015, 31(5): 49-58, 89. [CHEN M Y, LIN H T, HONG Y K, et al. Regulation of 2, 4-dinitrophenol and adenosine triphosphate on disease development, energy status, and respiratory metabolism of *Phomopsis longanae* Chi-infected longan fruit[J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(5): 49-58, 89.]
- [12] ZHANG S, LIN H T, LIN Y F, et al. Energy status regulates

- disease development and respiratory metabolism of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. -infected longan fruit[J]. *Food Chemistry*, 2017, 231: 238-246.
- [13] SHI J Y, GAO L P, ZUO J H, et al. Exogenous sodium nitroprusside treatment of broccoli florets extends shelf life, enhances antioxidant enzyme activity, and inhibits chlorophyll-degradation[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 116: 98-104.
- [14] HAN C, ZUO J, WANG Q, et al. Effects of chitosan coating on postharvest quality and shelf life of sponge gourd (*Luffa cylindrica*) during storage[J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 166: 1-8.
- [15] ASUMI F, YASUO S, HIROFUMI T, et al. Effects of postharvest ethanol vapor treatment on activities and gene expression of chlorophyll catabolic enzymes in broccoli florets[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2010, 55: 97-102.
- [16] SUZUKI T, SHIOI Y. Re-examination of Mg-dechelation reaction in the degradation of chlorophylls using chlorophyll in a as a substrate[J]. *Photosynthesis Research*, 2002, 74: 217-223.
- [17] AIAMLA-OR S, NAKAJIMA T, SHIGYO M, et al. Pheophytinase activity and gene expression of chlorophyll-degrading enzymes relating to UV-B treatment in postharvest broccoli (*Brassica oleracea* L. Italica Group) florets[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2012, 63: 60-66.
- [18] AMAKI K. 小气泡水的流动特性及用于洗涤的可能性[J]. *中国洗涤用品工业*, 2018, 213(11): 71-76. [AMAKI K. The flow behaviors of fine-bubble mixture water and its application in cleaning[J]. *China Cleaning Industry*, 2018, 213(11): 71-76.]
- [19] 马艳泽, 杨熙来, 徐彦森, 等. 四种常见树木叶片光合模型关键参数对臭氧浓度升高的响应[J]. *植物生态学报*, 2022, 46(3): 9.
- [MA Y Z, YANG X L, XU Y S, et al. Response of key parameters of leaf photosynthetic models to increased ozone concentration in four common trees[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2022, 46(3): 9.]
- [20] TARJA S, ELINA H, MATTI R, et al. Interactive effects of elevated ozone and springtime frost on growth and physiology of birch (*Betula pendula*) in field conditions[J]. *Trees*, 2008, 22(3): 291-301.
- [21] 李景, 王欣, 王振华, 等. 臭氧和气溶胶复合污染对杨树叶片光合作用的影响[J]. *植物生态学报*, 2020, 44(8): 854-863. [LI J, WANG X, WANG Z H, et al. Effects of ozone and aerosol pollution on photosynthesis of poplar leaves[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2020, 44(8): 854-863.]
- [22] NIKKANEN L. Dynamic regulation of photosynthesis by chloroplast thioredoxin systems[D]. Finland: University of Turku, 2018: 9-10.
- [23] HIROSHI Y, TAKESHI I, KENJI N, et al. Genetic analysis of chlorophyll synthesis and degradation regulated by balance of chlorophyll metabolism[J]. *Plant Physiology*, 2022, 189(1): 419-432.
- [24] ALAMRI S, SIDDIQUI M, MUKHERJEE S, et al. Molybdenum-induced endogenous nitric oxide (NO) signaling coordinately enhances resilience through chlorophyll metabolism, osmolyte accumulation and antioxidant system in arsenate stressed-wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings[J]. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 2022, 292(Pt A): 118268.
- [25] GAO J L, WANG H, YUAN Q P, et al. Structure and function of the photosystem supercomplexes[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 357.
- [26] DIZENGREMEL P, LE THIEC D, HASENFRATZ-SAUDER M-P, et al. Metabolic-dependent changes in plant cell redox power after ozone exposure[J]. *Plant Biology*, 2009(11): 35-42.