

等离子体活化水对鲜切莲藕杀菌及保鲜的影响

李 芮¹, 宋雅琪¹, 周丹丹², 屠 康^{*1}

(1. 南京农业大学 食品科技学院, 江苏 南京 210095; 2. 南京林业大学 轻工与食品学院, 江苏 南京 210037)

摘要: 为比较等离子体活化水(plasma-activated water, PAW)与常用保鲜剂(抗坏血酸、次氯酸钠)对鲜切莲藕杀菌效果以及对鲜切莲藕褐变、酚类物质和活性氧代谢等贮藏品质的影响,以‘鄂莲五号’莲藕为研究对象,以蒸馏水作为空白对照,用PAW、抗坏血酸溶液、次氯酸钠溶液分别浸泡鲜切莲藕10 min,于4℃贮藏12 d并测定相关指标。结果表明,3种处理均能有效维持莲藕的贮藏品质;其中PAW抑菌、维持水分质量分数的效果最佳,而抗坏血酸能更好地延缓莲藕硬度和VC含量下降。另外,PAW通过维持较高的活性氧代谢酶活性,有效减少了鲜切莲藕中活性氧的累积,保持了细胞膜结构的完整;同时抑制了过氧化物酶的活性,诱导了酚类物质的积累,最终减缓了褐变过程。综上,PAW能有效维持鲜切莲藕的贮藏品质,抑制微生物生长及褐变的发生,在鲜切莲藕杀菌保鲜领域具有广阔的应用前景。

关键词: 鲜切莲藕;等离子体活化水;活性氧代谢;抗氧化酶

中图分类号: TS 255.3

文章编号: 1673-1689(2023)10-0030-11

DOI: 10.12441/spyswjs.20220315007

Effects of Plasma-Activated Water on Sterilization and Preservation of Fresh-Cut Lotus Root

LI Rui¹, SONG Yaqi¹, ZHOU Dandan², TU Kang^{*1}

(1. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. College of Light Industry and Food Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: To compare the sterilization effectiveness and impact on storage quality of fresh-cut lotus root between plasma-activated water (PAW) and commonly used preservatives (*L*-ascorbic acid, sodium hypochlorite), this study investigates the effects of PAW on browning, phenolic substances, and reactive oxygen species metabolism in fresh-cut lotus root. The ‘Elian 5’ lotus root cultivar was chosen as the research subject, with distilled water treated as a blank control. The fresh-cut lotus root samples were soaked in PAW, *L*-ascorbic acid solution, or sodium hypochlorite solution for 10 minutes, followed by storage at 4℃ for 12 days. Various relevant indicators were measured during the storage period. The results showed that all 3 treatments could effectively maintain the storage quality of lotus root. Among them, PAW exhibited the best antibacterial effect and moisture retention, while *L*-ascorbic acid could better delay the decline of hardness and VC content in lotus root. Furthermore, PAW could effectively reduce the accumulation of reactive oxygen species in

收稿日期: 2022-03-15 修回日期: 2022-04-29

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。

* 通信作者: 屠 康(1968—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事农产品加工与贮藏、农产品无损检测研究。

E-mail: kangtu@njau.edu.cn

fresh-cut lotus root by maintaining higher levels of reactive oxygen species metabolism enzyme activity, preserving the integrity of cell membrane structure. Simultaneously, it inhibited the activity of peroxidase, inducing the accumulation of phenolic substances, ultimately slowing down the browning process. In conclusion, PAW can effectively maintain the storage quality of fresh-cut lotus root, inhibit microbial growth and browning, and has broad application prospects in the field of sterilization and preservation of fresh-cut lotus root.

Keywords: fresh-cut lotus root, plasma-activated water, reactive oxygen species metabolism, antioxidant

莲藕(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)属睡莲科,在我国长江以南种植最多,是我国种植面积最大的水生植物^[1]。莲藕是一种富含碳水化合物、蛋白质、维生素和微量矿物质元素的水生蔬菜,能生食也能做菜,还是一种药食两用的蔬菜^[2-3]。近年来,鲜切果蔬因为方便、新鲜的优点受到消费者喜爱,鲜切加工逐渐成为果蔬产业的热门趋势。莲藕皮薄,营养丰富,口感脆甜,易于切分,适合做成鲜切制品。然而,切分处理造成的机械损伤使莲藕细胞结构遭到破坏,容易受到微生物侵袭及发生褐变,导致感官品质和营养价值下降,货架期缩短,在一定程度上阻碍了鲜切莲藕的市场化进程^[4-5]。

研究发现,莲藕的褐变主要以酶促褐变为主,与细胞膜完整性下降、褐变相关酶作用失调、活性氧大量积累、酚类物质被氧化等多种因素相关^[6]。酚类物质是莲藕发生酶促褐变的底物,在细胞内生物膜将其与褐变相关酶隔开;逆境条件下,细胞内活性氧代谢系统的平衡被打破,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)等活性氧代谢酶活性下降,超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)等活性氧物质大量积累,导致膜脂过氧化程度加重、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量上升,细胞结构被破坏,酚类物质与酚酶结合,在氧的作用下发生酶促褐变,形成黑褐色物质。酚酶主要包括多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)等。

目前关于鲜切莲藕的保鲜集中在可食性涂膜、气调包装、有机酸浸泡、短波紫外线照射^[7-10]等方面。次氯酸钠是目前果蔬加工生产中使用最广泛的杀菌剂,价格低廉且能有效杀灭各类微生物,陈学玲

等^[11]人使用有效氯质量分数 75 mg/kg 的 NaClO 溶液浸泡鲜切莲藕 3 min,贮藏 7 d 后的菌落总数为 0;但使用次氯酸钠易造成氯残留,对果蔬气味和人体健康产生不利影响。维生素 C 是一种还原性强、安全性高的天然有机酸,能有效抑制 PPO 酶的活性、清除自由基,被广泛应用于果蔬的护色保鲜,焦小华等^[12]人使用质量分数为 1% 的 VC 溶液浸泡鲜切莲藕,有效抑制了丙二醛含量的上升和 PPO、POD 的活性,延缓了莲藕品质的下降;但存在杀菌效果不理想、难以规模化操作等缺点。

等离子体活化水(plasma-activated water, PAW)是指将等离子体在水中或水表面放电而获得的溶液^[13-15]。与等离子体杀菌技术相比,PAW 中的活性物质在较长一段时间内能够稳定存在,且由于自身性质为液体,浸泡处理对于表面不均匀的农产品的作用效果更佳。作为一种新兴的冷杀菌技术,PAW 温和、安全、环保,具有 pH 低、电导率高、氧化还原电位高的理化性质,能有效抑制食源性致病菌、腐败微生物生长繁殖^[16-18],而不影响鲜切果蔬的品质^[19-20]。袁园等^[21]人发现,用由 75 kV 电压制得的 PAW 清洗鲜切生菜 5 min,可使其表面菌落总数和大肠菌群数对数分别降低 1.15 和 1.38,而不影响生菜中叶绿素和 VC 的含量。目前 PAW 在鲜切莲藕杀菌保鲜方面的应用尚未见研究报道。因此,该研究使用 PAW、AsA、NaClO 溶液浸泡鲜切莲藕,通过测定莲藕的菌落总数、品质、褐变度、总酚含量、活性氧代谢和抗氧化酶活性等指标,比较了 PAW 与常用保鲜剂对鲜切莲藕杀菌效果及贮藏品质的影响,并进一步探究了 PAW 处理对鲜切莲藕褐变、酚类物质和活性氧代谢的影响,为 PAW 在鲜切莲藕杀菌保鲜中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

‘鄂莲五号’莲藕, 采购于南京众彩物流中心, 挑选新鲜完整、大小一致、无机械损伤的莲藕作为试验材料, 立即放入 4℃ 恒温恒湿箱预冷 24 h。

平板计数琼脂: 上海博微生物科技有限公司产品; 福林酚、聚乙烯吡咯烷酮: 上海源叶生物科技有限公司产品; 无水碳酸钠、乙二胺四乙酸二钠、次氯酸钠: 西陇科学股份有限公司产品; 邻苯二酚、愈创木酚、过氧化氢(质量分数为 30%)、无水乙醇、氢氧化钠、三氯乙酸、硫代巴比妥酸、冰醋酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、L(+)-抗坏血酸: 国药集团产品; 所有试剂均为分析纯; 过氧化氢、超氧化物歧化酶试剂盒: 南京建成有限公司产品。

1.2 仪器与设备

PG-1000 Z/D 低温等离子体喷枪射流装置: 南京苏曼等离子科技有限公司产品; UV1102 型紫外分光光度计: 上海天美科学仪器有限公司产品; 3K15 型高速冷冻离心机: 德国 Sigma 公司产品; CTHI-250B 型恒温恒湿箱: 上海施都凯设备公司产品。

1.3 研究方法

1.3.1 处理溶液的制备

1) 等离子体活化水的制备 低温等离子体射流装置的参数如表 1, 低温等离子体射流装置发生示意图如图 1。将 300 mL 蒸馏水置于 1 000 mL 的烧杯中, 将低温等离子体射流装置的喷枪口置于蒸馏水液面下方 15 mm 处, 处理时间为 80 s, 制得的 PAW (pH 2.88, 电导率为 536.43 $\mu\text{S}/\text{cm}$, H_2O_2 浓度 17.67 $\mu\text{mol}/\text{L}$, NO_3^- 浓度 356.00 $\mu\text{mol}/\text{L}$, NO_2^- 浓度 1 484.33 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 立即放入密闭容器中冷却保存。

2) VC 溶液的制备 称取 1 g VC 粉末, 溶于 100 mL 蒸馏水中, 配制成质量分数为 1% 的 AsA 溶液。

3) 次氯酸钠溶液的制备 将质量分数为 10% 的 NaClO 溶液稀释为有效氯质量浓度为 100 mg/L 的 NaClO 溶液。

以上处理溶液的制备条件均由预实验结果筛选得出。

1.3.2 样品处理 挑选外观(颜色和大小)一致、无机械损伤的新鲜莲藕, 清水洗净。去皮, 切成 4 mm

表 1 PG-1000 Z/D 低温等离子体射流装置的参数

Table 1 Parameters of PG-1000 Z/D cold plasma jet device

指标	参数
工作载气	空气
气体流量	22.5 L/min
气源压力	4~6 kg
输入电压	AC 220V
输出电压	19 kV
输出电流	0.024 mA
功率	300~1 000 W
低温等离子炬的宽度	10~15 mm
工作频率	20 kHz
喷枪处理速度	30~90 m/min
主机体积	180 mm×220 mm×430 mm

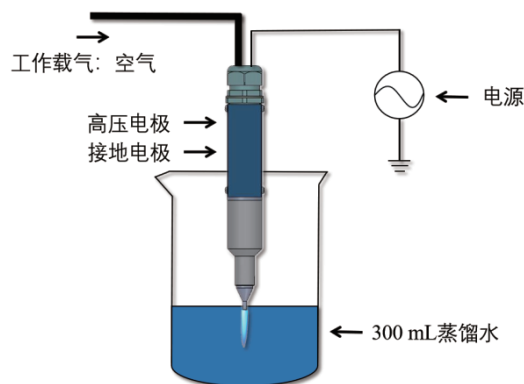


图 1 低温等离子体射流装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of cold plasma jet device

左右的薄片, 分别将其置于蒸馏水、PAW、VC、NaClO 溶液中浸泡 10 min, 取出沥干, 采用聚乙烯保鲜盒及 PE 保鲜薄膜包装, 在 4℃、相对湿度 85% 的恒温恒湿箱中贮藏 12 d, 每 3 d 取样一次。每份样品 500 g, 每个处理设置 3 个重复。

1.3.3 菌落总数 按 GB 4789.2—2016《食品微生物学检验菌落总数测定》执行^[22]。

1.3.4 品质指标

1) 失重率 采用称量法^[20]进行测定。根据公式(1)计算出鲜切莲藕的失重率(%)。

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中: W 为失重率, %; m_1 为贮藏前鲜切莲藕的质量, g; m_2 为贮藏后鲜切莲藕的质量, g。

2) 硬度 用质构仪进行测定^[21]。采用 TPA-1000 N 程序, 选用直径为 20 mm 的平底柱形 P/20

探头,测定形变量:50%;检测速度:60 mm/min;起始力:0.6 N;每个样重复测定3次。

3) L^* 值 用色差仪进行测定^[22]。测定鲜切莲藕中间部位的色度值,每个样品重复测定3次。 L^* 为黑白色度参数。

4) 抗坏血酸含量 采用钼蓝比色法测定^[6]。

1.3.5 褐变度 采用消光值法测定鲜切莲藕的褐变度^[6]。

1.3.6 细胞膜渗透率 采用曹建康的方法测定鲜切莲藕的细胞膜渗透率^[23]。取30片鲜切莲藕,用打孔器从中取直径约5 mm的圆片共2.0 g,浸没于20 mL蒸馏水中,在25℃摇床上振荡1 h,测定溶液电导率值 C_1 。再将溶液煮沸15 min,蒸馏水体积补至20 mL,冷却至25℃后,测定溶液电导率值 C_2 。根据公式(2)计算出鲜切莲藕的相对电导率。

$$C = \frac{C_1}{C_2} \times 100\% \quad (2)$$

式中: C 为相对电导率,%; C_1 为煮沸前溶液的电导率, $\mu\text{S}/\text{cm}$; C_2 为煮沸后溶液的电导率, $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

1.3.7 丙二醛含量 采用硫代巴比妥酸法测定鲜切莲藕的丙二醛含量^[23]。

1.3.8 总酚含量 采用福林酚比色法测定鲜切莲藕的总酚含量^[6],结果用 $\text{mg}/100\text{ g}$ 表示。

1.3.9 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率和 H_2O_2 含量 采用盐酸羟胺法测定^[23]。

1.3.10 抗氧化酶活性 CAT、APX、POD、PAL活性的测定采用曹建康^[23]的方法,分别以1 g莲藕样品1 min内在240、290、470、290 nm处的吸光值变化0.01为1个活性单位。SOD活性使用超氧化物歧化酶试剂盒(WST-1)测定。

1.4 数据处理

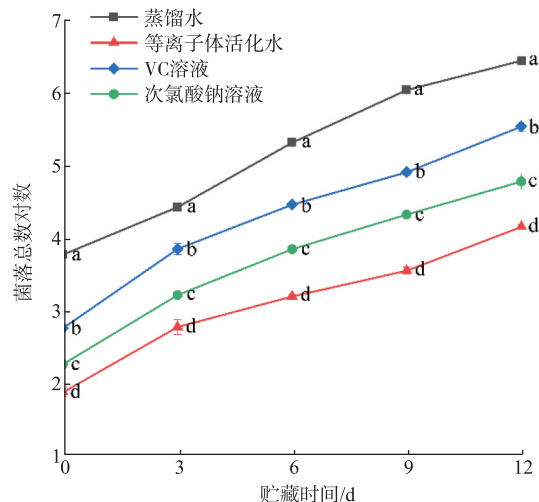
采用SPSS 23.0软件对数据进行统计分析,并采用ANOVA方差分析中的Duncan's multiple range test进行差异分析, $P < 0.05$ 表示差异显著;采用Origin 2018软件进行制图,结果以平均值 \pm 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 3种处理对鲜切莲藕菌落总数的影响

切分处理使莲藕组织受损伤,微生物的生长繁殖速度加快,导致其感官品质及营养价值下降,食品安全风险增加,因此有效控制鲜切莲藕的菌落总

数十分重要。如图2所示,鲜切莲藕在贮藏期间表面微生物数量呈逐渐上升趋势,对照组菌落总数对数在贮藏第0天为3.78,4℃贮藏12 d后达到6.44,且在整个贮藏期内均显著高于各处理组($P < 0.05$)。PAW、AsA、NaClO处理分别使菌落总数对数的初始值与对照组相比降低了1.88、1.01和1.50;在贮藏至第12天时,分别比对照组低2.28、0.90和1.66。一般认为,生鲜蔬菜的菌落总数对数超过6就会失去商业价值^[21],对照组贮藏第9天就失去商业价值,而其他处理组在第12天菌落总数对数也未达到6,说明3种处理均能有效抑制鲜切莲藕表面细菌的生长繁殖,延长其货架保鲜期,且3种处理间存在显著性差异($P < 0.05$),其中PAW效果最好,其次为NaClO溶液。



图中不同字母(a、b、c、d)表示同一贮藏时间不同处理组之间显著差异($P < 0.05$)。

图2 3种处理对鲜切莲藕菌落总数的影响

Fig. 2 Effect of three treatments on the total bacterial number of fresh-cut lotus root

2.2 3种处理对鲜切莲藕品质的影响

莲藕中的水分质量分数较高,失重率是判断鲜切莲藕新鲜度的重要指标^[25]。由表2可以看出,鲜切莲藕在贮藏过程中失重率呈上升趋势。3种处理均能显著抑制鲜切莲藕失重率的增大($P < 0.05$),在贮藏第12天,PAW、VC、NaClO组的失重率分别为1.98%、2.43%、2.66%,而对照组的失重率为3.38%,可见PAW对于维持鲜切莲藕贮藏期间的水分质量分数有较好的作用,VC次之。

硬度是评价鲜切莲藕品质最常用的指标之一。如表2所示,由于切分造成的机械损伤、微生物侵

染以及采后呼吸作用^[25],随着时间的延长,莲藕的硬度呈下降趋势,在贮藏的第3~9天下降幅度较大,对照组的硬度从第0天的510.87 N下降到第12天的286.23 N。在整个贮藏期内,3个处理组的硬度都大于对照组,其原因可能是由于果蔬的细胞壁会被细菌分泌的酶降解^[14],而3种方法均能有效杀灭微生物,从而延缓硬度的下降;其中AsA维持硬度的效果最显著($P<0.05$),PAW次之,在第12天硬度分别为357.63、346.53 N,这可能是因为这两种处理能够钝化纤维素降解酶。

新鲜莲藕呈白色,贮藏过程中逐渐发生褐变。由表2可知,鲜切莲藕的 L^* 值随时间逐渐下降,说明贮藏过程中莲藕整体色泽变暗。与对照组相比,3种处理均能延缓鲜切莲藕 L^* 值的下降,维持亮度。

贮藏末期,AsA、PAW、NaClO组的 L^* 值分别为58.78、57.88、56.08,均显著高于对照组的51.22($P<0.05$),表明3种处理对鲜切莲藕都有良好的护色效果。

VC是植物体内重要的抗氧化剂和营养物质,随着贮藏时间的延长,VC逐渐被氧化酶降解,含量下降^[26]。如表2所示,莲藕中VC的起始质量分数为62.26 mg/hg,在第12天各处理组均降为最低,对照组为24.27 mg/hg,PAW组为38.20 mg/hg,AsA组为48.75 mg/hg,NaClO组为32.24 mg/hg。结果表明,3种处理均可显著抑制鲜切莲藕VC含量的下降,其中VC的效果最佳,这可能是因为外源VC处理能够显著提高果蔬的抗氧化能力,减轻组织的氧化损伤,从而维持较高的抗氧化物质含量。

表2 3种处理对鲜切莲藕品质的影响

Table 2 Effect of 3 treatments on the quality of fresh-cut lotus root

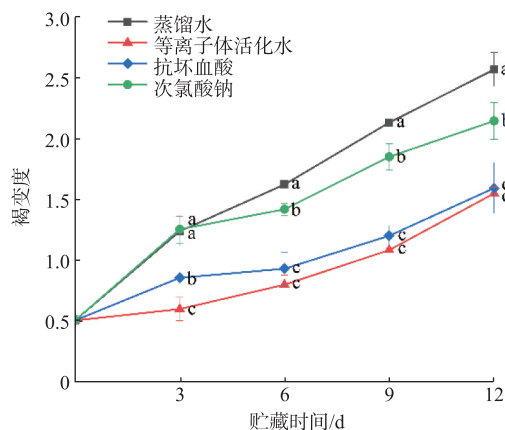
时间	失重率/%				硬度/N				L^* 值				VC 质量分数/(mg/hg)			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
第1天	0	0	0	0	510.87 $\pm 8.47^a$	510.87 $\pm 8.47^a$	510.87 $\pm 8.47^a$	510.87 $\pm 8.47^a$	67.10 \pm 0.37 ^a	67.10 \pm 0.37 ^a	67.10 \pm 0.37 ^a	67.10 \pm 0.37 ^a	62.26 \pm 3.23 ^a	62.26 \pm 3.23 ^a	62.26 \pm 3.23 ^a	62.26 \pm 3.23 ^a
第3天	1.00 \pm 0.05 ^a	0.35 \pm 0.10 ^d	0.52 \pm 0.07 ^c	0.75 \pm 0.10 ^b	465.07 $\pm 7.44^c$	487.00 $\pm 7.41^b$	503.67 $\pm 9.41^a$	473.43 $\pm 3.61^c$	60.33 \pm 1.93 ^c	65.08 \pm 1.09 ^a	66.17 \pm 1.12 ^a	62.48 \pm 1.38 ^b	49.97 \pm 1.75 ^c	55.52 \pm 0.26 ^b	64.38 \pm 0.40 ^a	51.61 \pm 1.14 ^c
第6天	1.73 \pm 0.16 ^a	0.99 \pm 0.10 ^d	1.22 \pm 0.12 ^c	1.44 \pm 0.16 ^b	389.25 $\pm 10.34^d$	452.87 $\pm 12.53^b$	473.53 $\pm 7.20^a$	418.27 $\pm 12.55^c$	56.00 \pm 1.53 ^c	63.73 \pm 1.51 ^a	64.39 \pm 1.67 ^a	59.39 \pm 1.85 ^b	39.16 \pm 1.13 ^d	48.66 \pm 0.84 ^b	56.48 \pm 0.84 ^a	43.76 \pm 0.67 ^c
第9天	2.51 \pm 0.09 ^a	1.56 \pm 0.18 ^c	1.81 \pm 0.07 ^b	1.90 \pm 0.13 ^b	327.50 $\pm 4.55^d$	418.33 $\pm 9.33^a$	401.76 $\pm 3.09^b$	371.77 $\pm 11.48^c$	53.72 \pm 0.77 ^c	58.63 \pm 0.98 ^b	60.97 \pm 0.70 ^a	57.62 \pm 1.41 ^b	32.12 \pm 1.21 ^d	42.15 \pm 1.80 ^b	50.96 \pm 0.62 ^a	37.55 \pm 1.46 ^c
第12天	3.38 \pm 0.13 ^a	1.98 \pm 0.06 ^b	2.43 \pm 0.17 ^c	2.66 \pm 0.11 ^d	286.23 $\pm 11.09^e$	346.53 $\pm 14.09^a$	357.63 $\pm 16.09^a$	318.57 $\pm 12.09^b$	51.22 \pm 0.77 ^c	57.88 \pm 0.58 ^a	58.78 \pm 1.21 ^a	56.08 \pm 1.43 ^b	24.27 \pm 0.49 ^d	38.20 \pm 2.24 ^b	48.75 \pm 2.68 ^a	32.24 \pm 1.36 ^c

注:表中A为蒸馏水,B为等离子体活化水,C为抗坏血酸溶液,D为次氯酸钠溶液。不同字母(a、b、c、d)表示同一贮藏时间不同处理组之间显著差异($P<0.05$)。

2.3 3种处理对鲜切莲藕褐变度的影响

新鲜莲藕颜色较白,贮藏过程中酚类物质被酚酶氧化,导致颜色物质积累,发生褐变。褐变度直接影响鲜切莲藕的视觉外观和消费者的接受度。如图3所示,鲜切莲藕的褐变度随时间延长逐渐增加,在6~9 d上升速度较快。对照组的褐变度在整个贮藏期内都较大,在贮藏末期达到2.56%,3种处理方法均有效延缓了褐变度的增长,其中PAW和AsA的效果最好,在第12天仅为对照组的60%、62%($P<$

0.05),表明PAW和抗坏血酸能够有效抑制鲜切莲藕的褐变,这可能是因为抗坏血酸溶液呈酸性,能有效抑制PPO的活性,从而诱导酚类物质的积累,降低可溶性鞣的含量,延缓酶促褐变的发生^[27-28];而低温等离子体在水中放电,使得PAW中含有多种活性氧物质(如 H_2O_2 、 NO_2^- 、 NO_3^- 等),且PAW的pH值为2.88,低pH和活性氧物质协同作用,钝化了果蔬的POD、PPO酶^[21-22],从而延缓了褐变的发生。



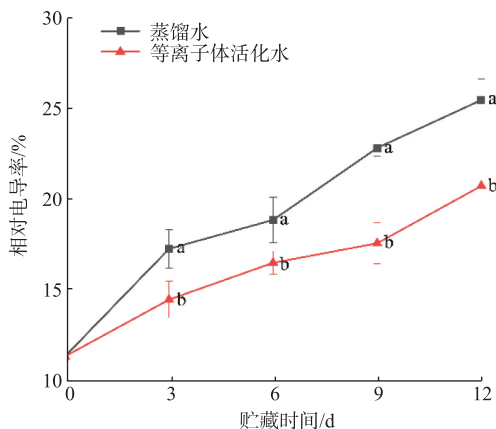
图中不同字母(a、b、c、d)表示同一贮藏时间不同处理组之间显著差异($P<0.05$)。

图3 PAW对鲜切莲藕褐变度的影响

Fig. 3 Effect of PAW treatment on the browning degree of fresh-cut lotus root

2.4 PAW对鲜切莲藕细胞膜渗透率的影响

受逆境胁迫或在衰老过程中的果蔬,细胞膜的功能活性降低,通透性增加,导致细胞内电解质向外渗漏,因此细胞膜的相对电导率能间接反映果蔬采后的细胞膜完整性和膜脂过氧化程度^[6]。如图4所示,鲜切莲藕细胞膜的相对电导率呈增大趋势。PAW处理抑制了相对电导率值的上升,在贮藏的第12天时达到最大值20.74%。以上结果表明切分处理、衰老过程和微生物繁殖导致鲜切莲藕发生氧化应激,生物膜系统被破坏,而PAW处理一定程度上能使莲藕的细胞膜保持更好的完整性。



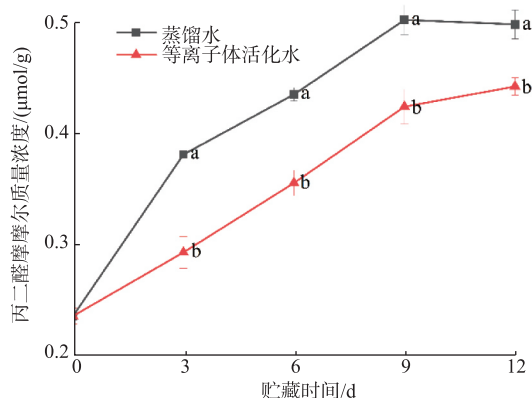
图中不同字母(a、b、c、d)表示同一贮藏时间不同处理组之间显著差异($P<0.05$)。

图4 PAW对鲜切莲藕相对电导率的影响

Fig. 4 Effect of PAW treatment on the conductivity of fresh-cut lotus root

2.5 PAW对鲜切莲藕丙二醛含量的影响

MDA是细胞膜脂质过氧化的主要产物,其含量可用于表征细胞膜氧化损伤程度^[6]。如图5所示,鲜切莲藕MDA的摩尔质量浓度先上升,在第9天达到峰值后再下降。整体来看,PAW处理抑制了鲜切莲藕MDA摩尔质量浓度的增加,在贮藏的第12天,对照组MDA摩尔质量浓度为 $0.50\text{ }\mu\text{mol/g}$,而PAW处理组MDA的摩尔质量浓度仅为 $0.44\text{ }\mu\text{mol/g}$,显著低于对照组,在一定程度上维持了鲜切莲藕抵抗逆境的能力。



图中不同字母(a、b、c、d)表示同一贮藏时间不同处理组之间显著差异($P<0.05$)。

图5 PAW对鲜切莲藕丙二醛含量的影响

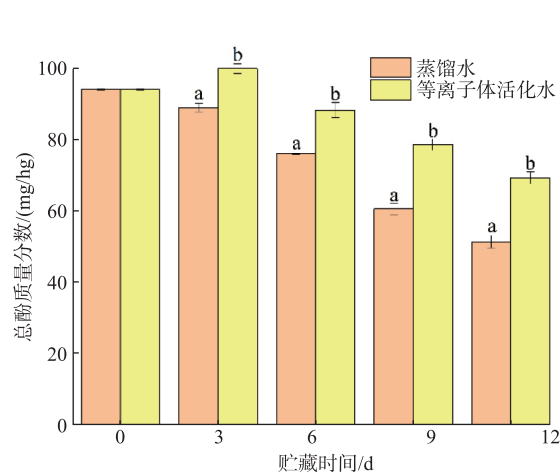
Fig. 5 Effect of PAW treatment on the MDA content of fresh-cut lotus root

2.6 PAW对鲜切莲藕总酚质量分数的影响

果蔬中酚类物质种类多,含量丰富,既是抗氧化物质,又是重要的营养成分。酚类物质极易受到褐变相关酶的催化,发生酶促褐变,引起色泽变化^[6]。由图6可知,随着时间延长,鲜切莲藕酚类物质不断被氧化,总酚质量分数下降,在6~12 d下降速度较快,而PAW处理组的总酚质量分数在整个贮藏期均显著高于对照组($P<0.05$)。在贮藏的0~3 d,PAW处理诱导了酚类物质的积累,质量分数呈上升趋势;在第12 d,PAW组总酚质量分数为 69.27 mg/hg ,而对照组总酚质量分数仅为 51.46 mg/hg 。由此可见,PAW处理能有效维持鲜切莲藕酚类物质的质量分数,对于保持莲藕抗逆性、抗病性及营养价值有积极作用。

2.7 PAW对鲜切莲藕 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量的影响

植物体受到外界环境胁迫后,会在短时间内产



图中不同字母(a、b、c、d)表示同一贮藏时间不同处理组之间显著差异($P<0.05$)。

图6 PAW对鲜切莲藕总酚质量分数的影响

Fig. 6 Effect of PAW treatment on the total phenols content of fresh-cut lotus root

生大量活性氧物质如 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 ^[6]。低水平的活性氧可以诱导防御基因的表达,参与细胞壁的交联和木质化,抵抗细菌的侵入^[25]。然而,过高水平的活性氧会造成细胞膜的氧化损伤,导致细胞膜通透性增大,细胞区域化结构被破坏,酚类物质和酚酶大量接触,加剧褐变的发生。如图7(a)所示,随着贮藏天数的增加,莲藕品质下降,对照组 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率不断增加,在第9天达到峰值 2 261.11 nmol/(min·g)后下降,而 PAW 处理能够有效延缓 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的增大,在 6~12 d 上升速率较小。如图7(b)所示,在贮藏的前 6 d,切分处理和呼吸作用导致鲜切莲藕 H_2O_2 摩尔质量浓度大幅上升;贮藏的 6~12 d, H_2O_2 的合成与消耗达到平衡,含量趋于平稳,PAW 处理减少了 H_2O_2 的积累,在第12天为 253.55 μ mol/g,显著低于对照的 298.58 μ mol/g($P<0.05$)。

2.8 PAW对鲜切莲藕超氧化物歧化酶活性、过氧化氢酶活性和抗坏血酸过氧化物酶活性的影响

SOD 是一种抗氧化金属酶,可以与 CAT、POD 等酶协同,催化 $O_2^{\cdot-}$ 生成 H_2O_2 和 O_2 ,减少活性氧对细胞膜的伤害^[6]。如图8(a)所示,在贮藏过程中,SOD 活性先上升后下降,在第6天时达到峰值,而 PAW 处理在第6天达到 183.95 U/g,显著高于对照组的 172.19 U/g。说明 PAW 处理能提高鲜切莲藕 SOD 的活力,具有清除自由基、减轻细胞损伤的作用,这与 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的变化相对应。

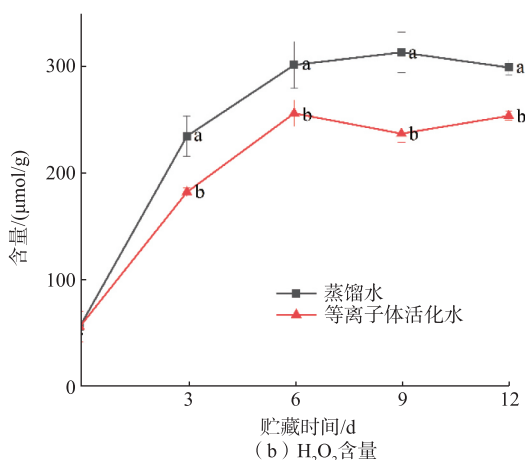
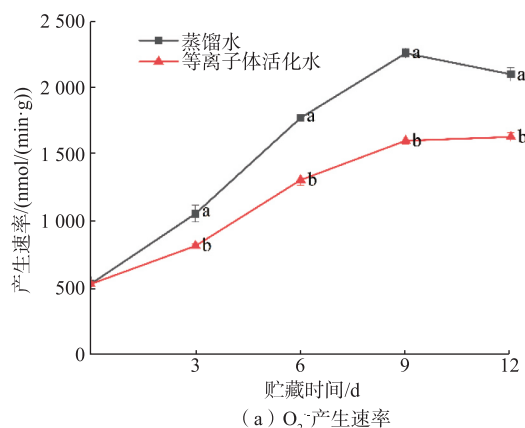
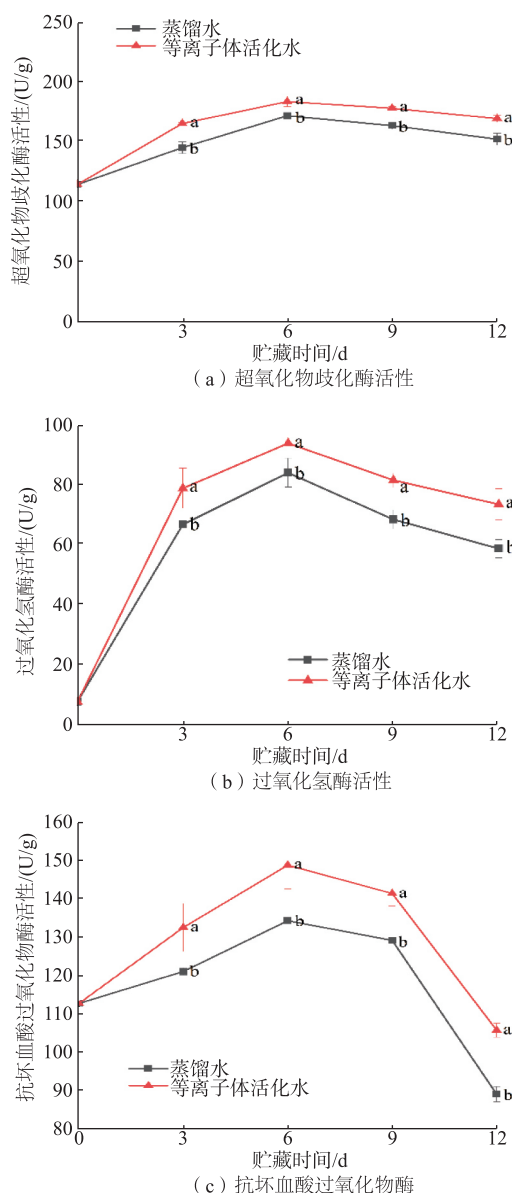


图7 PAW对鲜切莲藕 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率和 H_2O_2 含量的影响

Fig. 7 Effect of PAW treatment on the $O_2^{\cdot-}$ production rate and the H_2O_2 content of fresh-cut lotus root

CAT 是一种活性氧清除酶,能催化 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 ,维持活性氧代谢平衡,保护细胞膜结构^[23]。由图8(b)可以看出,在贮藏过程中,CAT 活性与 SOD 活性的变化趋势相似,先升高后逐渐下降,在第6天达到最大值。PAW 处理组的 CAT 活性明显高于对照组,贮藏 12 d 为 73.15 U/g,而对照组的 CAT 活性只有 58.45 U/g,说明 PAW 处理可以有效提高鲜切莲藕 CAT 的活性,清除活性氧,减轻莲藕受到的氧化伤害,这与 H_2O_2 含量的变化相对应。

APX 是植物体内重要的抗氧化酶之一,可与 CAT、POD 协同作用,催化 H_2O_2 氧化抗坏血酸,清除过量的自由基。从图8(c)可以看出,APX 活性的变化趋势与 SOD、CAT 相似,在 0~6 d 上升,第6天达到峰值,之后迅速下降。PAW 处理组 APX 的活性在第6天达到 148.5 U/g,在第12天降为 105.55 U/g,显著高于对照组的 134.05、88.90 U/g,表明 PAW 处理能提高 APX 的活性,清除 H_2O_2 ,减轻细胞损伤。



图中不同字母(a、b、c、d)表示同一贮藏时间不同处理组之间显著差异($P<0.05$)。

图 8 PAW 对鲜切莲藕超氧化物歧化酶活性、过氧化氢酶活性和抗坏血酸过氧化物酶的影响

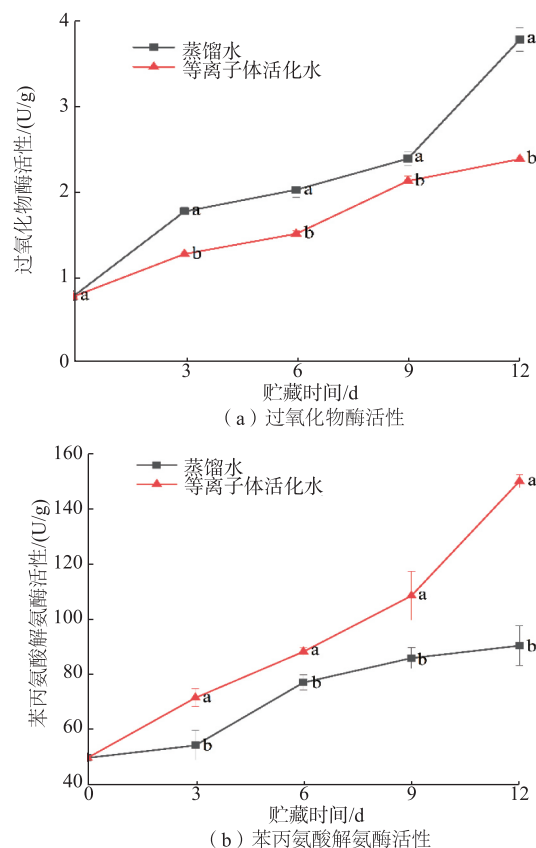
Fig. 8 Effect of PAW treatment on the SOD activity, CAT activity and APX activity of fresh-cut lotus root

2.9 PAW 对鲜切莲藕多酚氧化酶、过氧化物酶、苯丙氨酸解氨酶活性的影响

PPO 是苯丙烷代谢途径中的末端氧化酶,催化酚类物质形成醌类化合物,引发褐变。高愿军等发现‘白花’莲藕中 PPO 的最高活性仅为 12 U/g^[30];蒋娟等发现‘鄂莲五号’莲藕中 PPO 的活性几乎为零^[6]。本试验中测出的 PPO 活性也基本趋近于零,在贮藏

期间几乎没有变化。这可能与莲藕的品种有关,也可能是因为相对于其它几种褐变相关酶类,PPO 的活性始终较低。

POD 是植物体内一种重要的氧化还原酶,能催化 H_2O_2 氧化酚类物质,形成褐色物质,引起果蔬褐变^[29]。由图 9(a)可以看出,随着时间延长,鲜切莲藕细胞膜的完整性下降,POD 活性不断增大,褐变加剧。在贮藏前期,鲜切莲藕的 POD 活性缓慢上升;贮藏 9~12 d,POD 活性急剧上升,在第 12 天达到最大值,对照组 POD 活性为 3.77 U/g,而 PAW 组的 POD 活性仅为 2.38 U/g;整个贮藏期内,PAW 组的 POD 活性都显著低于对照组。说明 PAW 处理能钝化鲜切莲藕的 POD 活性,这可能是因为 PAW 中的活性物质能够破坏 POD 酶的二级空间结构^[25],导致 POD 活性下降,从而起到抑制酚类物质的氧化和褐变发生的作用。



图中不同字母(a、b、c、d)表示同一贮藏时间不同处理组之间显著差异($P<0.05$)。

图 9 PAW 对鲜切莲藕过氧化物酶活性和苯丙氨酸解氨酶活性的影响

Fig. 9 Effect of PAW treatment on the POD activity and PAL activity of fresh-cut lotus root

PAL 是苯丙烷代谢途径的关键酶^[6],可以催化合成酚类物质。如图 9(b)所示,贮藏期间 PAL 活性不断增大,催化苯丙类化合物向酚类化合物的转化。PAW 处理显著提高了 PAL 酶的活力,在贮藏第 12 天,PAL 活性急剧增大,达到最大值,对照组 PAL 活性为 90.50 U/g,而 PAW 组的 PAL 活性达到 149.83 U/g,是对照组的 1.65 倍;整个贮藏期间,PAW 组的 PAL 活性都显著高于对照组。表明 PAW 处理能提高鲜切莲藕 PAL 酶的活性,诱导酚类物质的积累,提高抗氧化能力。

表 3 鲜切莲藕褐变度与细胞膜完整性、酚类物质、活性氧代谢及抗氧化酶活性的相关性分析

Table 3 Pearson correlation coefficients of browning degree, cell membrane integrity, phenolic substances, reactive oxygen metabolism and antioxidant enzyme activity of fresh-cut lotus root

指标	褐变度	L^* 值	电导率	MDA 含量	总酚含量	O_2^- 产生速率	H_2O_2 含量	SOD 活性	CAT 活性	APX 活性	POD 活性	PAL 活性
褐变度	1											
L^* 值	-0.949**	1										
电导率	0.967**	-0.956**	1									
MDA 含量	0.786**	-0.781**	0.747*	1								
总酚含量	-0.962**	0.961**	-0.980**	-0.705*	1							
O_2^- 产生速率	0.965**	-0.893**	0.943**	0.865**	-0.919**	1						
H_2O_2 含量	0.752*	-0.804**	0.740*	0.931**	-0.680*	0.791**	1					
SOD 活性	0.334	-0.368	0.286	0.798**	-0.271	0.484	0.737*	1				
CAT 活性	0.368	-0.388	0.301	0.806**	-0.226	0.465	0.841**	0.878**	1			
APX 活性	-0.474	0.390	-0.521	0.095	0.530	-0.336	0.078	0.520	0.458	1		
POD 活性	0.930**	-0.930**	0.961**	0.755*	-0.926**	0.899**	0.744*	0.312	0.365	-0.542	1	
PAL 活性	0.639*	-0.411	0.517	0.620	-0.506	0.732*	0.481	0.500	0.454	-0.165	0.477	1

注:**:在 0.01 水平上显著相关;*:在 0.05 水平上显著相关;Pearson 相关系数 r 表示两变量的相关性, $r > 0$ 表示两变量正相关, $r < 0$ 表示两变量负相关。 $|r|$ 越接近 1,两变量相关性越强。

3 结 语

莲藕经过削皮切分后,与空气的接触面积增大,呼吸作用增强,容易遭受微生物侵染、发生褐变,造成营养物质流失和品质下降。目前对于 PAW 的研究大多集中在其杀菌性能上,作者首先比较了 PAW 与常用保鲜剂对莲藕的杀菌效果和贮藏品质的影响,再进一步研究了 PAW 处理对鲜切莲藕褐变、酚类物质及活性氧代谢的影响。结果表明,使用等离子体射流活化蒸馏水 80 s 得到的 PAW 对莲藕的杀菌效果优于质量分数为 1% 的 AsA 溶液和有效氯浓度为 100 mg/L 的 NaClO 溶液,这可能是因为等离子体在水中放电,能产生 H_2O_2 、 NO_2^- 、 NO_3^- 等活

2.10 鲜切莲藕褐变度与细胞膜完整性、酚类物质、活性氧代谢及抗氧化酶活性的相关性分析

利用相关性分析研究了莲藕的褐变度和 L^* 值、电导率、MDA 含量、总酚含量、 H_2O_2 含量、 O_2^- 产生速率、SOD 活性、CAT 活性、APX 活性、POD 活性、PAL 活性共 12 项指标之间的相关性,结果见表 3。具体来看,褐变度与 L^* 值、总酚含量呈极显著负相关关系($P < 0.01$),与电导率、MDA 含量、 H_2O_2 含量、 O_2^- 产生速率、POD 活性、PAL 活性呈显著或极显著的正相关关系($P < 0.5$ 或 $P < 0.01$)。

性氧物质,且 PAW 的 pH 在 3.0 左右,高浓度的活性氧和低 pH 值协同作用,使得其杀菌性能优于另 2 种处理方法。另外,PAW 和 AsA 均能较好地维持鲜切莲藕的品质。莲藕含水量较高,水分和硬度直接影响到藕片的口感,PAW 可能通过抑制微生物生长及莲藕的呼吸作用延缓了质量的下降;通过抑制纤维素降解酶的活性,减少纤维素的分解来维持硬度^[25]。

果蔬酶促褐变由多种原因共同作用。通过相关性分析,发现鲜切莲藕的褐变度与 L^* 值呈极显著负相关关系,即颜色越亮,褐变度越低。另外,褐变度与细胞膜完整性、活性氧含量呈极显著正相关关系,切分处理造成的机械损伤使莲藕发生一系列生

理生化反应,导致细胞内活性氧过量积累,膜脂过氧化程度加重,MDA 含量增大,细胞膜完整性下降,相对电导率增加。此外,褐变度与总酚含量呈极显著负相关关系,与 PAL 和 POD 酶呈极显著正相关关系,酚类物质是酶促褐变的底物,随着贮藏时间的延长,酚类物质被酚酶氧化,含量下降,褐变度增大。研究结果表明,在 12 d 的贮藏期内,PAW 处理有效提高了 CAT、SOD、APX 等活性氧代谢相关酶的活性,降低了 H_2O_2 的含量和 O_2^- 的产生速率,清除了细胞内过量的活性氧,从而抑制了 MDA 的积累和细胞膜相对电导率的增加,维持了细胞膜的完整性和区室化功能,减少了酚类物质和酚酶的接触,最终抑制了褐变的发生;另外,研究发现 PAW 处理提高了 PAL 酶的活性,同时抑制了酚酶 POD

的活性,从而诱导了酚类物质的积累,抑制褐变的发生,提高了莲藕的抗氧化能力。

目前,已有研究发现低温等离子体能够钝化果蔬的 POD 和 PPO 等抗氧化酶,但将 PAW 与常见杀菌保鲜剂的作用效果进行对比,以及关于 PAW 对果蔬酶促褐变、酚类物质及活性氧代谢影响的研究较少。对于 PAW 处理是如何抑制莲藕的褐变相关酶活性、维持单酚物质的含量,其调控褐变的分子机理尚不十分清楚,未来将进一步研究 PAW 对鲜切莲藕贮藏期间相关基因及蛋白质差异表达的影响以及探究 PAW 与其他技术联用以增强对莲藕的杀菌保鲜效果。综上,PAW 处理对于抑制微生物生长,维持鲜切莲藕贮藏品质并延缓褐变有积极作用,具有较高的推广价值和应用前景。

参考文献:

- [1] 漆欣,周白雪,易阳,等. 莲藕酚类物质的变化及采后贮藏对鲜切莲藕酚类物质的影响[J]. 食品科技,2021,46(2):25-32.
QI X,ZHOU B X,YI Y,et al. Changes of phenols in lotus root and effects of postharvest storage on phenols in fresh-cut lotus root[J]. **Food Science and Technology**,2021,46(2):25-32. (in Chinese)
- [2] BATA GOUDA M H,ZHANG C J,PENG S J,et al. Combination of sodium alginate-based coating with L-cysteine and citric acid extends the shelf-life of fresh-cut lotus root slices by inhibiting browning and microbial growth[J]. **Postharvest Biology and Technology**,2021,175:111502.
- [3] WEN B,LI D,TANG D,et al. Effects of simultaneous ultrasonic and cysteine treatment on antibrowning and physicochemical quality of fresh-cut lotus roots during cold storage[J]. **Postharvest Biology and Technology**,2020,168:111294.
- [4] 胡叶静,李保国,张敏,等. 鲜切果蔬保鲜技术及方法研究进展[J]. 食品与发酵工业,2020,46(22):276-281.
HU Y J,LI B G,ZHANG M,et al. Progresses on fresh-keeping techniques and methods of fresh-cut fruits and vegetables[J]. **Food and Fermentation Industries**,2020,46(22):276-281. (in Chinese)
- [5] 黄彭,丁捷,胡晓敏,等. 鲜切果蔬物理防褐保鲜的研究进展[J]. 园艺学报,2021,48(6):1217-1232.
HUANG P,DING J,HU X M,et al. Advances in fresh-cut fruit and vegetables based on physical anti-browning technology[J]. **Acta Horticulturae Sinica**,2021,48(6):1217-1232. (in Chinese)
- [6] 蒋娟. 鲜切莲藕褐变的生理生化机制及蛋白表达差异研究[D]. 南京:南京农业大学,2011.
- [7] LARA G,YAKOUBI S,VILLACORTA C M,et al. Spray technology applications of xanthan gum-based edible coatings for fresh-cut lotus root (*Nelumbo nucifera*)[J]. **Food Research International**,2020,137:109723.
- [8] CHEN J H,XU Y H,YI Y,et al. Regulations and mechanisms of 1-methylcyclopropene treatment on browning and quality of fresh-cut lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) root slices[J]. **Postharvest Biology and Technology**,2022,185:111782.
- [9] BATA GOUDA M H,ZHANG C J,PENG S J,et al. Combination of sodium alginate-based coating with L-cysteine and citric acid extends the shelf-life of fresh-cut lotus root slices by inhibiting browning and microbial growth[J]. **Postharvest Biology and Technology**,2021,175:111502.
- [10] 解新方,王晓萍,王志东,等. 短波紫外线处理对鲜切莲藕酶促褐变的影响[J]. 食品工业科技,2020,41(17):274-278.
XIE X F,WANG X P,WANG Z D,et al. Effects of ultraviolet-C (UV-C) radiation on enzymatic browning of fresh-cut lotus root [J]. **Science and Technology of Food Industry**,2020,41(17):274-278. (in Chinese)
- [11] 陈学玲,王晓芳,关健,等. 次氯酸钠和二氧化氯对莲藕杀菌效果的研究[J]. 长江蔬菜,2015(22):189-191.
CHEN X L,WANG X F,GUAN J,et al. Research of $NaClO$ and ClO_2 on the sterilization of lotus roots [J]. **Journal of Changjiang Vegetables**,2015(22):189-191. (in Chinese)
- [12] 焦小华,王艳颖,金峰,等. 抗坏血酸对鲜切莲藕品质的影响[J]. 现代园艺,2020,43(19):34-35,37.

- JIAO X H, WANG Y Y, JIN F, et al. Effect of ascorbic acid on the quality of fresh-cut lotus root[J]. **Xiandai Horticulture**, 2020, 43(19): 34-35, 37. (in Chinese)
- [13] XIANG Q S, FAN L M, LI Y F, et al. A review on recent advances in plasma-activated water for food safety: current applications and future trends[J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2022, 62(8): 2250-2268.
- [14] ZHAO Y M, PATANGE A, SUN D W, et al. Plasma-activated water: Physicochemical properties, microbial inactivation mechanisms, factors influencing antimicrobial effectiveness, and applications in the food industry[J]. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2020, 19(6): 3951-3979.
- [15] WANG Q Y, SALVI D. Evaluation of plasma-activated water (PAW) as a novel disinfectant: effectiveness on *Escherichia coli* and *Listeria innocua*, physicochemical properties, and storage stability[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2021, 149: 111847.
- [16] 李嘉慧, 成军虎, 韩忠. 低温等离子体活性水在食品领域的应用进展[J]. **保鲜与加工**, 2020, 20(4): 207-214.
- LI J H, CHENG J H, HAN Z. Applications of plasma-activated water in food field: a review[J]. **Storage and Process**, 2020, 20(4): 207-214. (in Chinese)
- [17] WANG Q Y, SALVI D. Recent progress in the application of plasma-activated water (PAW) for food decontamination[J]. **Current Opinion in Food Science**, 2021, 42: 51-60.
- [18] XIANG Q S, KANG C D, NIU L Y, et al. Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of plasma-activated water against *Pseudomonas deceptionensis* CM2[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2018, 96: 395-401.
- [19] LIU C H, CHEN C, JIANG A L, et al. Effects of plasma-activated water on microbial growth and storage quality of fresh-cut apple[J]. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 2020, 59: 102256.
- [20] CHEN C, LIU C H, JIANG A L, et al. The effects of cold plasma-activated water treatment on the microbial growth and antioxidant properties of fresh-cut pears[J]. **Food and Bioprocess Technology**, 2019, 12(11): 1842-1851.
- [21] 袁园, 黄明明, 魏巧云, 等. 等离子体活化水对鲜切生菜杀菌效能及贮藏品质影响[J]. **食品工业科技**, 2020, 41(21): 281-285, 292.
- YUAN Y, HUANG M M, WEI Q Y, et al. Effect of plasma activated water on microbial decontamination and storage quality of fresh-cut lettuce[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2020, 41(21): 281-285, 292. (in Chinese)
- [23] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
- [24] SUROWSKY B, FISCHER A, SCHLUETER O, et al. Cold plasma effects on enzyme activity in a model food system[J]. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 2013, 19: 146-152.
- [25] 解梦梦, 赵武奇, 贾梦科, 等. 低温等离子体处理对鲜切猕猴桃片质构及理化特性的影响[J]. **中国食品学报**, 2021, 21(10): 133-142.
- XIE M M, ZHAO W Q, JIA Mengke, et al. Effects of low temperature plasma treatment on texture and physicochemical properties of fresh-cut kiwi slices[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2021, 21(10): 133-142. (in Chinese)
- [26] 章潇天, 张慙, 过志梅. 超声波-气调联合处理对番茄、丝瓜混合贮藏保鲜效果的影响[J]. **食品与生物技术学报**, 2020, 39(12): 62-70.
- ZHANG X T, ZHANG M, GUO Z M. Effect of ultrasound combined with modified atmosphere packaging on preservation quality of tomato and loofah mixed storage[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2020, 39(12): 62-70. (in Chinese)
- [27] 李彩云, 李洁, 严守雷, 等. 抗坏血酸处理对鲜榨莲藕汁酶促褐变和品质特征的影响[J]. **中国食品学报**, 2021, 21(10): 151-158.
- LI C Y, LI J, YAN S L, et al. Effects of ascorbic acid treatment on enzymatic browning and quality characteristics of fresh lotus rhizome juice[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2021, 21(10): 151-158. (in Chinese)
- [28] ALI S, ANJUM M A, NAWAZ A, et al. Effect of pre-storage ascorbic acid and Aloe vera gel coating application on enzymatic browning and quality of lotus root slices[J]. **Journal of Food Biochemistry**, 2020, 44(3): e13136.
- [29] 李晓安. 鲜切火龙果酚类物质合成积累及其调控机理研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
- [30] 高愿军, 郝亚勤, 南海娟, 等. 莲藕多酚氧化酶酶学性质的研究[J]. **食品研究与开发**, 2006, 27(7): 17-19.
- GAO Y J, HAO Y Q, NAN H J, et al. Studies on enzymatic reaction dynamics of fresh-cut lotus root[J]. **Food Research and Development**, 2006, 27(7): 17-19. (in Chinese)