

臭氧处理对晚熟柑橘的采后贮藏品质变化及杀菌效果分析

乐梨庆¹, 夏小龙², 龙勇³, 陈德勇³, 高丽¹, 曾晓丹¹, 李华佳¹, 朱永清¹, 祝进⁴, 贺红宇^{1*}

(1. 四川省农业科学院农产品加工研究所(四川省农业科学院食物与营养健康研究所), 四川成都 610066)(2. 广安市食品药品检验检测中心, 四川广安 638600)(3. 四川省眉山市农业农村局, 四川眉山 620020)(4. 四川省园艺作物技术推广总站, 四川成都 610041)

摘要: 针对柑橘采后贮藏期间存在品质下降及腐坏的问题, 该研究以晚熟柑橘为试验材料探讨不同臭氧处理时间对其采后贮藏保鲜效果。结果表明, 持续 25 d 每日固定浓度不同时间的臭氧处理对晚熟柑橘品质有显著影响: 臭氧每日处理 1 min 能显著降低柑橘失重率, 贮藏 25 d 仅为 CK 组的 59.90%; 每日处理 10 min 可较好维持柑橘可溶性固形物(TSS)含量, 贮藏结束时为 9.20%; 臭氧处理可延缓柑橘 Vc 含量的下降, 显著抑制多酚氧化酶(PPO)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性, 降低柑橘果皮表面微生物数量, 但臭氧处理时间对柑橘硬度、可滴定酸(TA)含量、固酸比没有显著影响; 每日处理 1、10、20 和 40 min 可抑制柑橘丙二醛(MDA)含量的增加, 提升过氧化物酶(POD)活性, 每日处理 40 min 还可显著提升柑橘总多酚含量(TPC)和总黄酮含量(TFC); 主成分分析臭氧每日处理 10 和 40 min 柑橘综合品质较佳, 从经济性和安全性方面考虑, 臭氧每日处理 10 min 可作为晚熟柑橘采后贮藏期间的适宜保鲜手段。

关键词: 晚熟柑橘; 臭氧; 不同处理时间; 采后保鲜; 品质

文章编号: 1673-9078(2024)10-227-238

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.10.1196

Effects of Ozone Treatment on Postharvest Storage Quality and Sterilization of Late-maturing Citrus

LE Liqing¹, XIA Xiaolong², LONG Yong³, CHEN Deyong³, GAO Li¹, ZENG Xiaodan¹, LI Huajia¹, ZHU Yongqing¹, ZHU Jin⁴, HE Hongyu^{1*}

(1. Institute of Agro-products Processing Science and Technology, Sichuan Academy of Agricultural Sciences (Institute of Food and Nutritional Health, Sichuan Academy of Agricultural Sciences), Chengdu 610066, China) (2. Guangan Center for Food and Drug Control, Guangan 638600, China) (3. Agriculture and Rural Bureau of Meishan City, Meishan 620020, China) (4. Sichuan Provincial Horticultural Crop Technology Extension Station, Chengdu 610041, China)

引文格式:

乐梨庆, 夏小龙, 龙勇, 等. 臭氧处理对晚熟柑橘的采后贮藏品质变化及杀菌效果分析[J]. 现代食品科技, 2024, 40(10): 227-238.

LE Liqing, XIA Xiaolong, LONG Yong, et al. Effects of ozone treatment on postharvest storage quality and sterilization of late-maturing citrus [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(10): 227-238.

收稿日期: 2023-10-08

基金项目: 四川省科技创新苗子工程培育项目(2022111); 四川省财政自主创新专项(2022ZZCX060); 四川省十四五育种攻关(2021YFYZ0023-14); 成都市技术创新研发项目(2021-YF05-02120-SN)

作者简介: 乐梨庆(1995-), 女, 硕士, 助理农艺师, 研究方向: 果蔬贮藏加工, E-mail: llqjymx@163.com

通讯作者: 贺红宇(1987-), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 果蔬贮藏加工, E-mail: 365603467@qq.com

Abstract: The late-maturing citrus was used as experimental material to explore the effect of different ozone treatment durations on citrus postharvest storage in an effort to counter the problem of quality decline and fruit decay during the postharvest storage of citrus. The results showed that treatment with fixed ozone concentrations every day (for different durations) for 25 days had a significant impact on the quality of late-maturing citrus. Ozone treatment for 1 min per day could significantly reduce the weight-loss rate of citrus, which was only 59.90% of that of the CK group after storage for 25 days. The contents of total soluble solids (TSS) in citrus were effectively maintained after daily treatment for 10 min; the TSS content was 9.20% at the end of storage. Ozone treatment could delay the decrease in the Vc content of citrus; it significantly inhibited the activities of polyphenol oxidase (PPO), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and reduced the number of microorganisms present on the surface of citrus peel. However, the duration of ozone treatment did not have any significant effect on citrus hardness, titratable acid (TA) content, and solid acid ratio. Treatment for 1, 10, 20, and 40 min daily could inhibit the increase in the malondialdehyde (MDA) content and enhance the activity of peroxidase (POD) in citrus. Treatment for 40 min daily also significantly increased the total polyphenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of citrus. Principal components analysis showed that the comprehensive quality of citrus treated with ozone for 10 and 40 min daily was better. From the perspective of economy and safety, daily ozone treatment for 10 min could be used as a suitable method for preserving late-maturing citrus fruits during post-harvest storage.

Key words: late-maturing citrus; ozone; processing duration; postharvest preservation; quality

柑橘属于芸香科柑桔属 (*Citrus reticulata* Blanco), 品种繁多, 果实含有丰富的可溶性糖类物质 (如葡萄糖、蔗糖、果糖等)、有机酸、维生素 C、类胡萝卜素、矿物质、类黄酮和酚酸等^[1], 具有较高的营养价值。柑橘类水果产量巨大, 是全球农业工业领域种植最广泛、最重要的工业水果^[2]。我国柑橘栽培面积居世界首位, 每年柑橘产业带来的经济效益巨大^[3]。但我国柑橘主要在冬季成熟, 产地也比较集中, 这就非常考验柑橘的采后保鲜技术, 因此, 如何在采后贮藏过程中保持柑橘的品质, 提升柑橘的市场竞争力从而提高经济收益, 相关技术研究就显得尤为重要。

臭氧是氧的三原子形式, 又称活氧, 1997 年被美国食品和药物管理局 (FDA) 宣布为 GRAS (公认安全) 物质, 并被批准在食品加工中用作消毒剂或杀菌剂^[4]。臭氧的氧化性极强, 同时具有强杀菌能力, 还具有消毒、防霉、除味、保鲜等特性^[5]。臭氧因其不会对处理过的产品产生化学残留物等安全问题, 备受有机农业种植者青睐^[6]。目前, 人们对臭氧在果蔬采后腐烂控制中的应用有着高度兴趣。研究表明, 臭氧处理可通过减少微生物数量和氧化乙烯有效延长新鲜果蔬的货架期, 如菠菜、黄瓜、花椰菜、桑葚、梨、苹果、橙子、柑橘、和草莓等^[7-10]。有报道指出, 臭氧处理能够去除贮藏环境中的毒素和有害气体, 抑制果蔬霉菌孢子的萌发生长, 延缓猕猴桃果实的软化和后熟, 减少果实中

营养物质流失, 提高其保鲜效果^[11]。Zhao 等^[12]研究发现, 梨在采摘后施用合适的臭氧浓度 (6.42 mg/m^3 处理 1 h) 可以提高果实抗氧化能力并延长保质期。Ali 等^[13]还发现番木瓜经过臭氧处理后, 其总可溶性固形物、抗坏血酸、 β -胡萝卜素和番茄红素的含量增多, 不仅增强了果实的抗氧化能力, 还提高了果实品质。目前关于臭氧对采后晚熟柑橘的贮藏保鲜研究较少。本试验以“清见”晚熟柑橘为材料, 采用不同处理时长的臭氧对果实进行处理, 评估臭氧处理对柑橘果实采后冷藏期间品质及病害控制的影响, 以为晚熟柑橘采后贮藏保鲜技术提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

“清见”晚熟柑橘, 于 2022 年 4 月 21 日采自四川省眉山市仁寿县一规范管理的果园, 采摘当天运回实验室。选择成熟度一致、果型端正、大小颜色均匀、无损伤的果实, 预冷 24 h, 清水冲洗干净并晾干。将晾干后的清见柑橘随机选取 15 个果实作为鲜样样本并测定各指标, 余下柑橘果实均分 6 组, 每组 15 个果实, 每组柑橘装入容积为 54 L 自制密封塑料箱 (通气孔为上进下出, 利用螺纹通气连接器接头和内径为 4 mm 的橡胶管组装而成) 中进行臭氧消毒。6 个塑料箱中每日分别通入 0(CK)、1、5、10、20 和 40 min 臭氧。各组试验样本均在

(4±0.5)℃, 相对湿度 85%~90% 的低温冷藏库中贮藏和处理, 持续 25 d 后测定其指标变化。

1.2 设备与试剂

1.2.1 主要设备

YX-2000 mg/H 型臭氧发生器 (臭氧产量: 2 g/h), 天津市云霄家电销售有限公司; TA. XT. Plus 物性测试仪, 英国 Stable Micro System 公司; PAL-1 型数显折射计, 日本 ATAGO 公司; CR-400 型色差仪, 日本 KONICA MINOLTA 公司; 855 型全自动滴定仪, 瑞士万通有限公司; A11 型分析用研磨仪, 德国 IKA 公司; MJ-BL25B3 型手动榨汁机: 广东美的生活电器制造有限公司; DHG-9075A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海齐新科学仪器有限公司; Sup-250 型恒温培养箱, 上海精宏实验设备有限公司; EXL-800 型酶标仪, 美国伯腾仪器有限公司; Thermo-8926 型超低温冰箱: 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司。

1.2.2 主要试剂

三氯乙酸 (Trichloroacetic Acid, TCA)、2- 硫代巴比妥酸 (2-Thiobarbituric Acid, TBA)、没食子酸标准品, 成都金山化学试剂有限公司; 平板计数培养琼脂、甲醇、乙醇、亚硝酸钠、氢氧化钠、氯化铝、Vc 标准品、碳酸钠、福林酚, 成都市科隆化学有限公司; 槲皮素标准品, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; PPO 测定试剂盒、POD 测定试剂盒、SOD 测定试剂盒、CAT 测定试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司。以上试剂等均为分析纯。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 失重率

失重率^[14]按照下式计算:

$$D = \frac{m - m_0}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

D ——失重率, %;

m ——柑橘处理前质量, g;

m_0 ——柑橘处理后质量, g。

1.3.2 硬度

硬度的测定参考魏清江等^[15]的测定方法略有改动, 使用质构仪, 选用 P/100 探头, 参数设置为: 测前速率为 3 mm/s、测试速率为 1 mm/s、测后速率为 5 mm/s, 触发力为 50 g, 压缩百分比为 20%。横向压缩, 压缩部位为柑橘中心赤道部位。

1.3.3 色差

柑橘果皮的色度采用色差仪法^[16], 选择果实最大横径处的东南西北四个位置测定颜色属性值, 用柑橘颜色指数 (Citrus Color Index, CCI) 表示:

$$B = \frac{a^*}{L^* \times b^*} \times 1000 \quad (2)$$

式中:

B ——柑橘颜色指数 (CCI);

a^* ——红 / 绿度;

b^* ——黄 / 蓝度;

L^* ——明暗度。

1.3.4 TSS (Total Soluble Solid)、TA (Titratable Acid) 和固酸比 (TSS/TA) 测定

柑橘果实去皮后, 每果取 3/4 果肉用榨汁机榨细, 两层纱布过滤取果汁, 混匀后收集果汁备用。用一次性滴管取 2 滴于便携式数显折射计测定 TSS, 结果以 % 表示; 取 1 mL 果汁加入 50 mL 蒸馏水, 用全自动滴定仪测定 TA, 以 100 mL 果汁中柠檬酸体积表示。并计算固酸比 (TSS 含量 / TA 含量)。

1.3.5 MDA 含量测定

柑橘果实去皮后, 每果取 1/4 果肉切碎混合, 液氮速冻, 研磨仪快速研磨成细粉存于 -80℃ 超低温冰箱中备用。取 1 g 柑橘果肉粉, 用硫代巴比妥酸法^[17]测定丙二醛含量。计算公式如下:

$$C = \frac{6.45 \times (OD_{532} - OD_{600}) - 0.56 \times OD_{450}}{V_s \times m_1 \times 1000} \times V_t \quad (3)$$

式中:

C ——MDA 含量, $\mu\text{mol/g}$ FW;

OD_{532} 、 OD_{600} 、 OD_{450} ——上清液在 532、600、450 nm 处的吸光度;

V_t ——样品提取液总体积, mL;

V_s ——测定时所取样品提取液体积, mL;

m_1 ——样品鲜重, g。

1.3.6 Vc 含量测定

柑橘果肉粉称取 1 g, 用分光光度计法^[17]测定 Vc 含量。计算公式如下:

$$C_1 = \frac{V \times m^2}{V_1 \times m_2 \times 1000} \times 100 \quad (4)$$

式中:

C_1 ——Vc 含量, mg/100 g;

V ——样品提取液总体积, mL;

m^2 ——由标准曲线求得的 Vc 质量, μg ;

V_1 ——测定时所取样品提取液体积, mL;

m_2 ——样品质量, g。

1.3.7 TPC和TFC的测定

TPC 和 TFC 的测定均参考 Zhang 等^[18]的方法。取 5 g 柑橘果肉粉, 加入 $\varphi=80\%$ 甲醇 30 mL 涡旋震荡 3 min, 50 °C 超声提取 30 min 后用离心机离心 (5 000 r/min, 10 min), 重复提取三次, 混合上清液, 定容至 100 mL 待测。使用福林酚试剂通过分光光度计法测定 TPC, TPC 用没食子酸当量 (GAE) 表示, 单位为 mg/100 g; 通过氯化铝法测定 TFC, TFC 用槲皮素当量 (QE) 表示, 单位为 mg/100 g。

1.3.8 PPO活性、POD活性、SOD活性和CAT活性测定

四种酶活性测定均采用北京索莱宝科技有限公司的试剂盒进行。PPO 酶活测定: 取 0.1 g 柑橘果肉粉, 按照试剂盒要求操作, 在 410 nm 处比色, 计算测定管和对照管吸光度差值并代入对应公式得出酶活性; POD 酶活测定: 取 0.1 g 柑橘果肉粉, 按试剂盒说明处理, 计算 470 nm 下 30 和 90 s 时的吸光度值差值并代入对应公式得出酶活性; SOD 酶活测定: 取 0.1 g 柑橘果肉粉, 根据试剂盒说明操作并在 560 nm 处比色; CAT 酶活测定: 取 0.1 g 柑橘果肉粉, 按要求处理后在 240 nm 下比色, 记录初始吸光度值及 1 min 时的吸光度值, 代入对应公式计算酶活性。四种酶活单位均为 U/g。

1.3.9 菌落总数的测定

臭氧处理柑橘表面菌落总数的测定参照 GB 4789.2-2016^[19]。

1.4 统计分析

理化指标至少重复测定 3 次, 数据表示为平均值 \pm 标准差 (SD)。利用 Excel 2016 软件和 IBM SPSS 26 软件对数据进行处理和统计分析, 采用 IBM SPSS 26 进行单因素 (ANOVA) 方差分析, Pearson 相关性分析及主成分分析, 并确定显著性差异 ($P < 0.05$)。运用 Origin 2018 64Bit 进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 臭氧处理不同时间对柑橘失重率的影响

果蔬在采后贮藏期间失重的主要原因是自身的呼吸代谢作用造成营养成分的损失, 同时蒸腾作用会导致其失去水分。失重率是判断果蔬贮藏期间品质的重要指标之一。如图 1 所示, 柑橘在 25 d 的贮藏期间, 各试验组果实均有一定的重量损失。与

CK 组 (2.02%) 相比, 随着臭氧处理时间的延长, 柑橘果实失重率呈现先增加后降低的趋势。每日臭氧处理 5、10 和 40 min 对柑橘失重率没有显著影响 ($P > 0.05$)。臭氧每日处理达到 20 min 时可加速柑橘果实的水分散失, 其失重率 (3.19%) 显著高于其他试验组 ($P < 0.05$), 这与 Cayuela 等^[20]的研究结果有相似之处, 他们发现, 在冷藏 30 d 后, 臭氧处理组的葡萄失重率显著升高。臭氧每日处理 1 min 能显著降低柑橘在贮藏期间的失重率 ($P < 0.05$), 在贮藏结束时, 其失重率 (1.21%) 仅为对照组的 59.90%, 表明臭氧每日处理 1 min 对抑制柑橘果实失重率的上升效果最好, 龙君^[21]也发现一定浓度的臭氧处理能够抑制柑橘贮藏期水分的散失, 延缓失重率的上升, 这可能是因为在该处理条件下, 臭氧能够诱导柑橘表皮的气孔缩小, 降低其蒸腾能力, 减少水分散失, 抑制果实在采后贮藏期间的呼吸作用, 减缓营养物质的下降, 从而降低柑橘在贮藏期间的失重率。

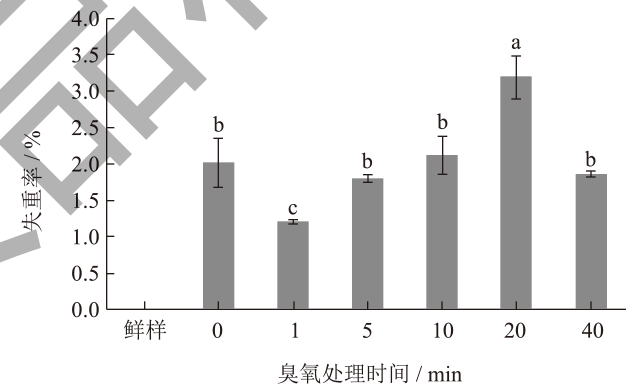


图 1 臭氧处理不同时间对柑橘失重率的影响

Fig.1 Effect of different ozone treatment time on weight loss rate of citrus

注: 不同小写字母表示臭氧不同处理时间组别之间有显著差异 ($P < 0.05$), 下同。

2.2 不同臭氧处理时间对柑橘硬度的影响

硬度可以反应果蔬在贮藏过程中的软化情况, 硬度的变化是衡量柑橘采后贮藏保鲜效果的主要指标与关键因素。从图 2 可以看出, 随着贮藏时间的延长, 柑橘的硬度均有所下降, 可能是因为自身代谢作用、呼吸作用和微生物作用导致柑橘果实品质发生劣变^[22]。在贮藏 25 d 后, 臭氧每日处理 0、1、5、10、20、40 min 组的硬度分别为 10.09、10.41、10.26、9.74、9.53 和 9.75 N。与鲜样相比, 除臭氧每日处理 1 min 组外均显著下降 ($P < 0.05$)。臭氧

每日处理 1 和 5 min 能够延缓柑橘果实硬度的降低, 而 10、20 和 40 min 处理加快了柑橘硬度的下降, 但不同臭氧处理时间对柑橘硬度的影响没有显著性差异 ($P>0.05$)。刘焕军等^[11]也发现猕猴桃在贮藏过程中硬度会逐渐下降, 而经过 90 和 170 mg/m³ 臭氧处理后果实硬度下降均变缓慢。

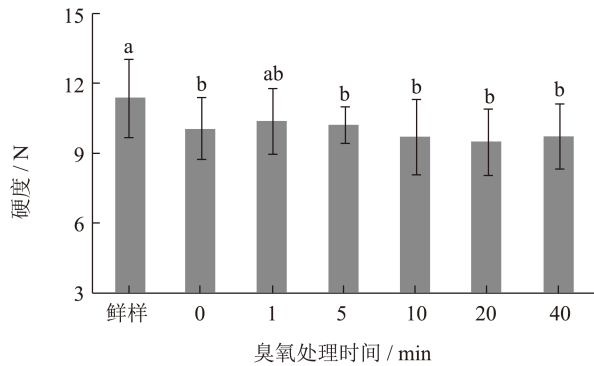


图 2 臭氧处理不同时间对柑橘硬度的影响

Fig.2 Effect of different ozone treatment time on the firmness of citrus

2.3 不同臭氧处理时间对柑橘颜色指数CCI的影响

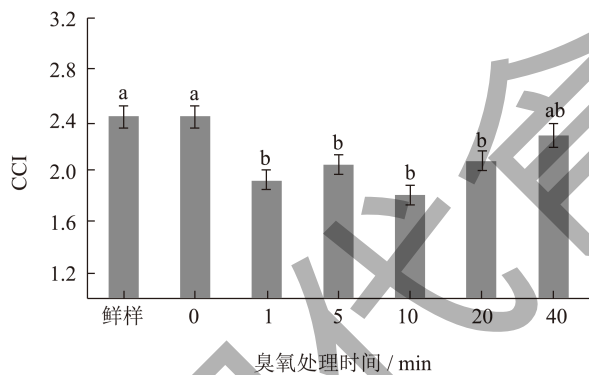


图 3 臭氧处理不同时间对柑橘颜色指数 CCI 的影响

Fig.3 Effect of different ozone treatment time on the colour index CCI of citrus

色泽是果蔬的重要感官品质之一, 用于判断果蔬新鲜程度。 L^* 值、 a^* 值和 b^* 值共同决定 CCI 值的变化, 其大小表示果实外表皮的色泽饱和程度。由图 3 可知, CK 组晚熟柑橘在 4 °C 贮藏 25 d 后, CCI 值 (2.43) 与鲜样相比无显著变化 ($P>0.05$)。除 40 min 组外, 持续每日臭氧处理 1、5、10 和 20 min 后柑橘果实的 CCI 值 (分别为 1.93、2.05、1.81 和 2.08) 显著低于 CK 组 ($P<0.05$), 但各臭氧处理组之间无显著差异 ($P>0.05$), 表明持续每日通入一定时间的臭氧对柑橘果皮色泽有一定的损伤, 且该损伤与每日处理时长无显著关系。Angelino 等^[23]也发现

臭氧处理会对橙汁的色泽产生不良影响。这些变化与臭氧浓度、气体流速和处理时间密切相关^[24]。

2.4 不同臭氧处理时间对柑橘 TSS、TA 和 TSS/TA 含量的影响

可溶性固形物可反映果蔬的成熟度和品质, 也可反映果蔬的耐贮藏性, 而可滴定酸影响果实的风味、贮藏性^[25]。柑橘果实在采收后, 由于自身的呼吸作用, 糖、酸含量会发生变化, 从而影响柑橘果实品质。不同臭氧处理时间对晚熟柑橘 TSS、TA 和 TSS/TA 含量的影响见图 4。

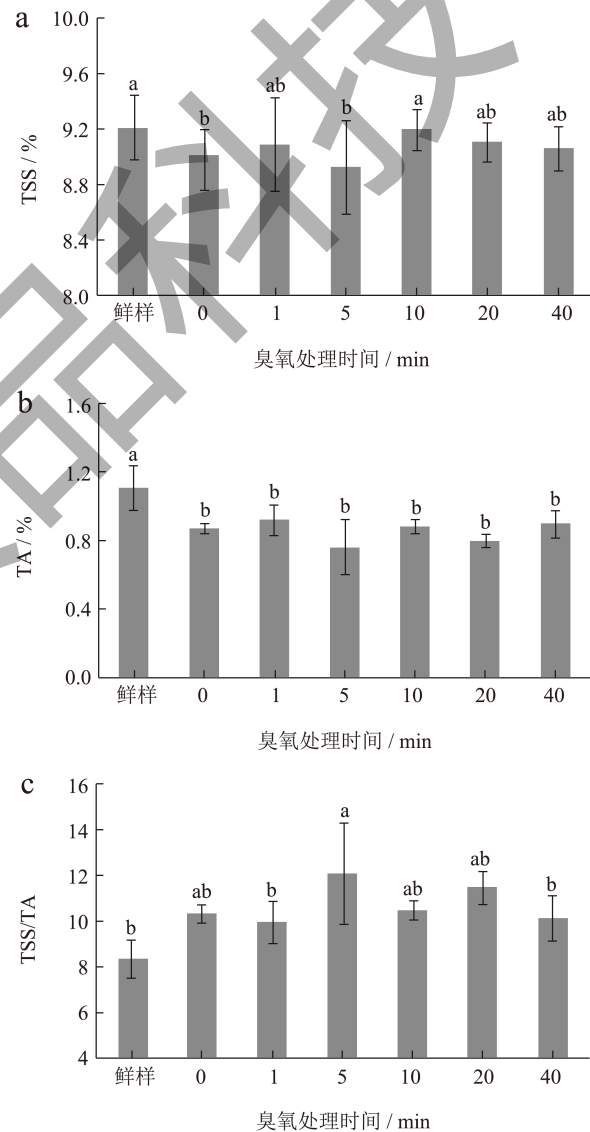


图 4 臭氧处理不同时间对柑橘 TSS (a)、TA (b) 和 TSS/TA (c) 的影响

Fig.4 Effect of different ozone treatment time on the TSS (a), TA (b) and TSS/TA (c) of citrus

由图 4a 可知, 贮藏 25 d 后的各处理柑橘果实 TSS 均低于鲜样组, 这是由于在贮藏过程中大量糖

类物质被消耗导致的。除臭氧每日处理 5 min 组外, 1、10、20、40 min 处理组的柑橘果实 TSS 含量均高于 CK 组 (8.89%), 这可能是臭氧处理可抑制晚熟柑橘果实的呼吸作用, 利于 TSS 含量的积累, 维持其风味。其中 10 min 处理组 (9.20%) 显著高于 CK 组 ($P < 0.05$), 其余处理组差异不显著 ($P > 0.05$)。1-MCP 和臭氧熏蒸协同处理后的青柠檬 TSS 含在贮藏 30 d 时高于其他处理组, 推测可能是臭氧能较好的抑制果实营养物质的消耗^[26]。

如图 4b 所示, 与鲜样 1.11% 相比, 各处理组柑橘果实的 TA 含量在贮藏 25 d 后均显著下降 ($P < 0.05$), 5 min 处理组下降最多, 降至 0.76%, CK 组的晚熟柑橘果实 TA 含量也下降至 0.87%, 1 min 处理组下降最少 (0.92%), 但各处理间晚熟柑橘果实 TA 含量的变化没有显著差异 ($P > 0.05$), 牛锐^[27]的研究也发现贮藏 20 d 时不同臭氧浓度处理的柑橘果实 TA 含量变化差异不显著, 说明每日臭氧处理一定时间对短期贮藏的晚熟柑橘的风味无显著影响。

TSS/TA 反映了柑橘的成熟度。如图 4c 所示, 贮藏 25 d 后各处理组柑橘果实的成熟度均增大, CK 组增加至 10.31%, 臭氧每日处理 1、5、10、20、40 min 组和对照组的晚熟柑橘之间成熟度没有显著差异 ($P > 0.05$)。表明同一浓度不同臭氧处理时间对晚熟柑橘的成熟度和风味品质影响不大。

2.5 不同臭氧处理时间对柑橘Vc含量的影响

柑橘富含维生素 C, 其含量是判断果实品质的重要指标之一。如图 5 所示, 在 25 d 的贮藏期间, 与鲜样 10.91 mg/100 g 相比, 各处理组晚熟柑橘果实 Vc 含量均下降, 其中 CK 组的柑橘 Vc 含量下降最多, 降至 7.99 mg/100 g, 降幅达 26.76%, 变化显著 ($P < 0.05$), 臭氧处理 1、5、10、20 和 40 min 组柑橘 Vc 含量分别为 8.38、10.77、10.87、9.70 和 10.51 mg/100 g, 除 1 min 处理组外其余臭氧处理组柑橘果实 Vc 含量显著高于 CK 组 ($P < 0.05$), 且 10 min 处理组 Vc 含量最高, 表明每日较长时间臭氧处理晚熟柑橘能够减少果实营养成分损失, 较好的维持柑橘 Vc 含量, 保证其贮藏期品质^[27]。臭氧处理 5 min 能够显著延缓柑橘贮藏期间 Vc 含量的下降并维持较高水平, 贮藏结束时含量高达 32.09 mg/100 g。这可能是因为臭氧能够抑制抗坏血酸酶对 Vc 的分解作用, 减缓柑橘果实内部的化学反应^[28]。

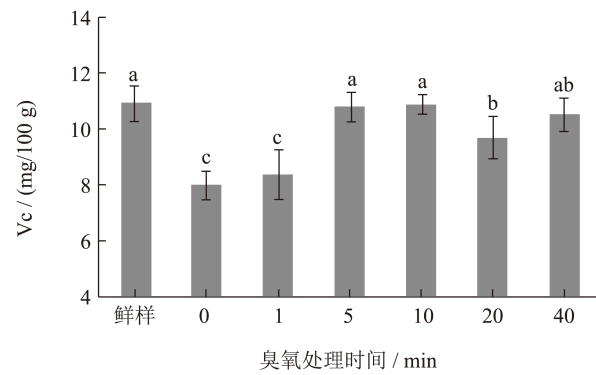


图 5 臭氧处理不同时间对柑橘 Vc 含量的影响

Fig.5 Effect of different ozone treatment time on the Vc of citrus

2.6 不同臭氧处理时间对柑橘MDA含量的影响

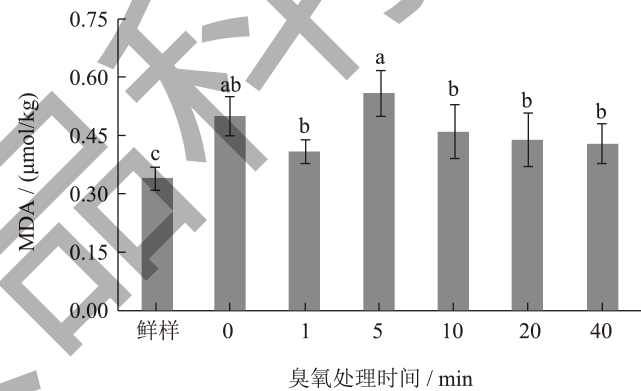


图 6 臭氧处理不同时间对柑橘 MDA 的影响

Fig.6 Effect of different ozone treatment time on the MDA of citrus

MDA 是一类有害的物质, 属于膜脂过氧化作用的主要产物, 其含量增加会使膜脂氧化的程度加重, 膜被破坏而加剧植物组织的衰老。MDA 含量的高低可作为判断果实组织衰老和膜脂过氧化标志, 也是判断果实贮藏效果的重要指标之一^[21]。由图 6 可知, 随着贮藏时间的延长, 晚熟柑橘果实存在一定程度的膜脂过氧化。CK 组的晚熟柑橘在 25 d 贮藏后 MDA 含量达到 0.50 μmol/kg, 除 5 min 处理组外其余处理组柑橘的 MDA 含量均低于对照组, 其中 1 min 处理组最低 (0.41 μmol/kg), 但各处理组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。表明臭氧处理能够抑制晚熟柑橘果实的膜脂过氧化, 延缓衰老, 但抑制程度较轻微, 而 5 min 处理会在一定程度上加快晚熟柑橘果实的膜脂过氧化进程。牛锐^[27]也发现一定时间的臭氧处理会抑制柑橘贮藏期间 MDA 含量的增加, 而臭氧处理 10 min 会促使 MDA 含量的升高。

2.7 不同臭氧处理时间对柑橘TPC和TFC含量的影响

酚类化合物作为植物的重要次生代谢产物,在消除自由基和减少衰老应激发展中起着重要作用,也被用作评判水果产品生理状态和品质潜在损害的指标^[24,29]。如图7a所示,未经任何处理的晚熟柑橘在4℃冷藏库中贮存25d后,其TPC(46.85 μmol/100 mg FW)与鲜样(46.95 μmol/100 mg FW)相比无显著差异($P > 0.05$),可能是因为在该条件下储存时间较短,总酚含量下降不明显。臭氧每日处理1、5和20 min组柑橘果实的TPC(分别为39.84、45.61和46.25 μmol/100 mg FW)均低于对照组,其中1 min处理组TPC下降最明显。Torres等^[30]发现臭氧处理苹果汁后其总酚含量在0~10 min的加工时间内下降,这可能是因为臭氧的自动分解伴随着大量自由基的产生,这些分解的副产物在不同程度上被水果中的酚类化合物清除,导致臭氧处理后酚类含量降低。10和40 min处理组柑橘的TPC(分别为49.96和55.17 μmol/100 mg FW)高于对照组,Rabie等^[31]也发现了相同的现象:香蕉果实的总酚含量在臭氧中暴露20 min后显著增加。总酚类物质含量的增加可能是由臭氧暴露期间发生细胞壁修饰而释放细胞壁中的一些共轭酚类化合物导致的^[32]。但从整体看,除臭氧每日处理40 min组外,其他各处理组柑橘果实的TPC与CK组差异不显著($P > 0.05$),说明臭氧每日处理较短时间对晚熟柑橘总酚含量影响不大。

总黄酮类物质是目前种类最多的酚类化合物,在参与调控植物抗病性、防止UV损伤等植物与环境的互作中起重要作用^[33]。由图7b可以看出,在贮藏25d后未经臭氧处理组的柑橘果实TFC为8.47 μmol/100 mg FW,显著高于新鲜柑橘(6.64 μmol/100 mg FW)($P < 0.05$),这可能是贮藏期间柑橘果肉细胞发生后熟作用导致的。臭氧处理组与CK组相比,TFC整体呈现先降低后上升的趋势,1 min处理组(6.77 μmol/100 mg FW)显著低于其他处理组($P < 0.05$),可能是短时间暴露在臭氧中激发了柑橘果实内黄酮类化合物与超阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)的反应,该反应可抑制羟基自由基($\cdot OH$)的生成^[34],从而导致TFC降低。5、10和20 min臭氧处理组晚熟柑橘的TFC分别为9.47、10.03和8.71 μmol/100 mg FW,均高于CK组,但差异不显著($P > 0.05$),40 min臭氧处理组显

著高于CK组($P < 0.05$),表明每日较长时间臭氧处理可以延缓贮藏期间晚熟柑橘总黄酮含量的变化^[34]。

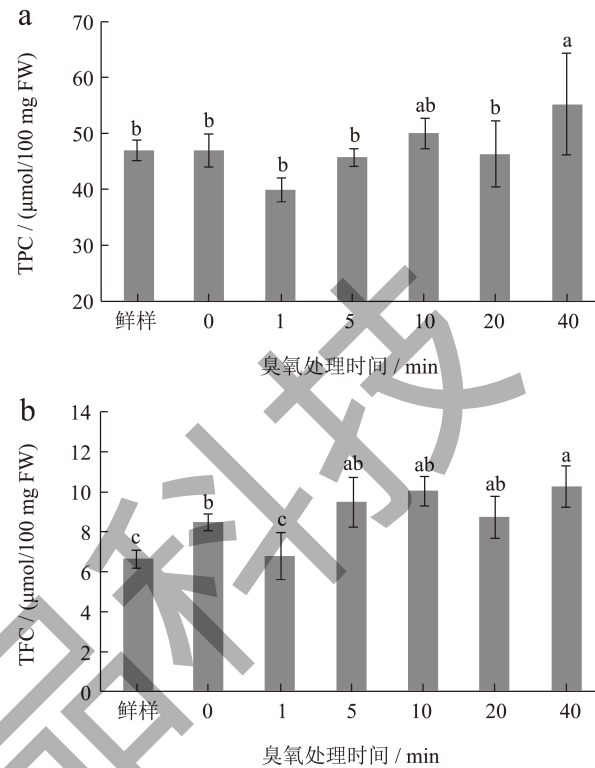


图7 臭氧处理不同时间对柑橘 TPC (a) 和 TFC (b) 的影响

Fig.7 Effect of different ozone treatment time on the TPC (a) and TFC (b) of citrus

2.8 不同臭氧处理时间对柑橘PPO、POD、SOD和CAT活性的影响

PPO、POD、SOD和CAT是植物体内参与维持氧化代谢平衡、保护细胞膜结构完整性等功能的重要酶类,与采后果蔬的成熟衰老密切相关^[35]。

PPO是与采后果实中酚类物质直接相关的调控酶,它能够氧化游离酚酸的羟基使之转变为醌类化合物,促使柑橘褐变^[36]。如图8a可以看出,对照CK组柑橘果实的PPO活性(50.44 U/g)略高于鲜样(45.69 U/g),这可能是贮藏期间果实逐渐成熟衰老发生褐变引起的。臭氧处理组柑橘果实的PPO活性均低于CK组,表明臭氧处理能够抑制PPO活性,减少贮藏期间晚熟柑橘果实褐变的发生,Liu等^[37]得出臭氧处理可以抑制鲜切苹果的PPO活性。臭氧每日处理1 min组抑制效果最明显,PPO活性为30.24 U/g,5 min处理组抑制效果最弱,PPO活性为43.11 U/g,但不同臭氧处理时间对PPO活性的影响差异不显著($P > 0.05$)。

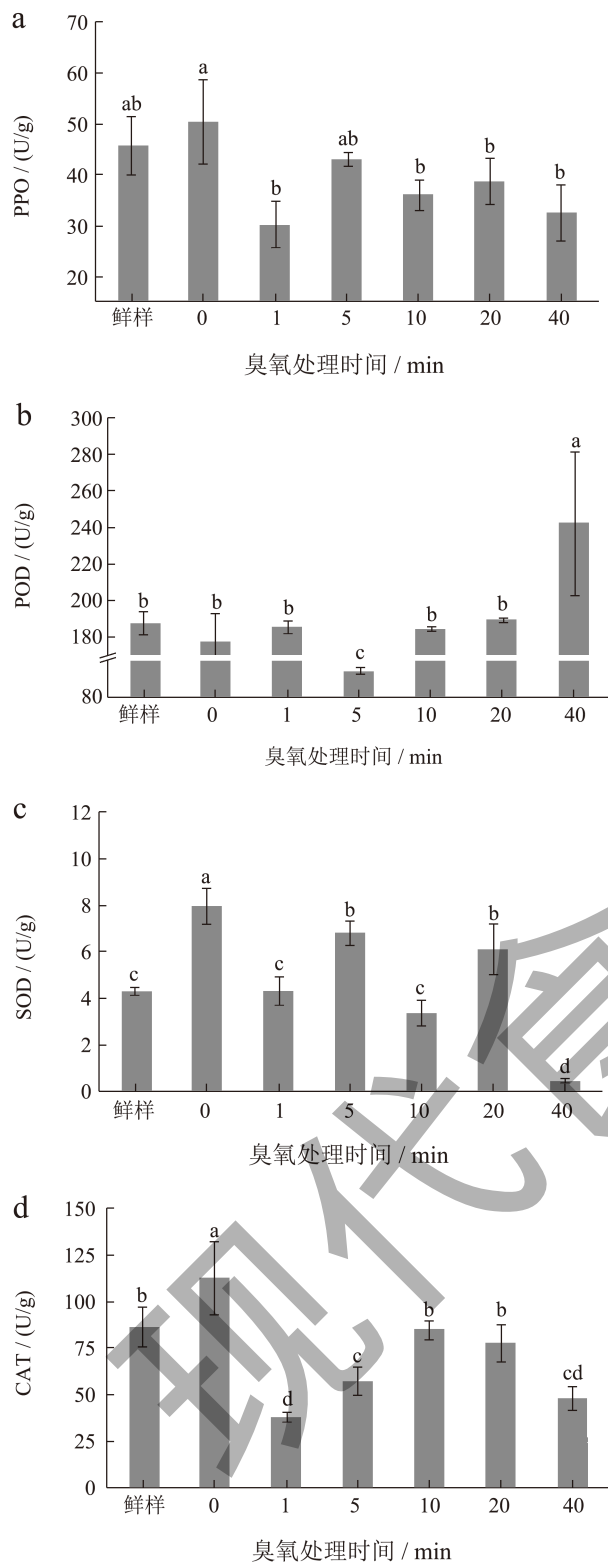


图8 臭氧处理不同时间对柑橘PPO(a)、POD(b)、SOD(c)和CAT(d)活性的影响

Fig.8 Effect of PPO (a), POD (b), SOD (c) and CAT (d) activity of the different ozone treatment time on citrus

柑橘在采后贮藏期间会发生成熟衰老, 这会使果实的活性氧 O_2^- 、 OH^- 和 H_2O_2 含量升高, 自由基增加会激发活性氧清除酶系 POD、SOD 和 CAT 的

抗氧化作用, 增强自由基清除活性来延缓果实衰老^[38]。臭氧每日处理 1、10、20 min 组柑橘果实的 POD 活性 (分别为 185.59、184.65、189.65 U/g) 比 CK 组 (177.51 U/g) 高, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 5 min 处理组柑橘的 POD 活性 (94.18 U/g) 显著低于各处理组 ($P < 0.05$), 而 40 min 处理组柑橘的 POD 活性 (242.26 U/g) 显著高于各处理组 (图 8b) ($P < 0.05$), 表明臭氧每日处理可以显著影响采后晚熟柑橘的 POD 活性, 其中臭氧每日处理 40 min 能够显著提升柑橘果实的 POD 活性, 从而减轻自由基对柑橘果实组织的损害, 延缓衰老。从图 8C 和 8D 可以看出, CK 组柑橘果实的 SOD 和 CAT 活性均显著高于鲜样 ($P < 0.05$), 说明采后贮藏期间 (25 d) 果实发生了一定程度的衰老导致体内活性氧增多, 从而激发了抗氧化酶系的活性氧清除能力。各臭氧处理组柑橘果实的 SOD 和 CAT 活性均显著低于 CK 组 ($P < 0.05$), 表明臭氧每日处理一定时间对贮藏期间果实的 SOD 和 CAT 活性有抑制作用。Zhang 等^[39]的研究结果与此结果相反, 他们发现臭氧处理能够增强采后草莓的 SOD 和 CAT 活性, 蒋宝^[35]也陈述了适宜的臭氧浓度可使葡萄、金橘、猕猴桃、蓝莓和血橙等果实在采后贮藏期间维持较高的 SOD 和 CAT 活性, 延缓衰老。本研究中臭氧处理抑制了晚熟柑橘果实中 SOD 和 CAT 的活性, 这可能是由于臭氧处理降低了活性氧的产生从而间接降低了 SOD 和 CAT 的活性, 但该抑制机理还需进一步探究。

2.9 不同臭氧处理时间对柑橘表面微生物的影响

图 9 为不同时间臭氧处理后柑橘果皮表面的菌落总数, 由图可知, 每日臭氧处理不同时间均可显著降低采后晚熟柑橘果皮表面的菌落总数, 从 CK 组的 2.0×10^2 CFU/g 分别降低至 3.3×10^1 、 2.7×10^1 、 1.3×10^1 、 1.7×10^1 和 0.2×10^1 CFU/g, 说明臭氧能够有效杀灭柑橘果实表面微生物, 且这种杀菌能力整体上是随着臭氧处理时间的延长而增强的, 李琰儒^[32]有同样的结论: 臭氧处理时间越长对柑橘果皮表面的微生物抑制效果越好。这可能是因为在臭氧处理采后晚熟柑橘果实时, 臭氧处理时间越长, 与微生物的接触更充分, 臭氧及其分解产物破坏微生物细胞壁及细胞内酶、DNA 和 RNA 的作用更强烈^[32], 所以在相同浓度下, 更长时间臭氧处理的灭菌效果更好。

表 1 臭氧处理晚熟柑橘的主要品质指标相关性分析
 Table 1 Correlation analysis among main quality indicators of late maturing citrus treated with ozone

	失重率	硬度	CCI	TSS	TA	TSS/TA	Vc	MDA	TPC	TFC	PPO	POD	SOD	CAT	菌落总数
失重率	1														
硬度	-0.829 3	1													
CCI	0.092 1	-0.035 9	1												
TSS	0.245 5	-0.535 4	-0.610 2	1											
TA	-0.501 7	0.107 6	0.008 6	0.465 2	1										
TSS/TA	0.467 3	-0.096 8	-0.127 5	-0.400 4	-0.990 8	1									
Vc	0.202 0	-0.430 4	-0.413 4	0.202 4	-0.380 5	0.450 4	1								
MDA	-0.003 6	0.291 5	0.189 7	-0.709 1	-0.728 4	0.685 6	0.232 8	1							
TPC	0.254 5	-0.656 6	0.324 9	0.144 2	0.093 8	-0.117 5	0.575 8	-0.020 3	1						
TFC	0.306 2	-0.591 5	0.077 2	0.072 5	-0.251 9	0.249 6	0.821 4	0.306 1	0.892 7	1					
PPO	0.274 3	0.072 2	0.567 0	-0.600 0	-0.494 9	0.383 3	-0.263 5	0.750 3	-0.024 4	0.092 4	1				
POD	0.104 8	-0.511 2	0.224 8	0.551 8	0.735 8	-0.744 5	-0.130 8	-0.836 5	0.492 5	0.091 9	-0.481 4	1			
SOD	0.232 3	0.311 4	0.207 8	-0.509 0	-0.570 2	0.500 8	-0.458 1	0.609 4	-0.585 5	-0.396 0	0.802 6	-0.689 6	1		
CAT	0.480 6	-0.312 0	0.375 4	-0.018 5	-0.151 4	0.048 1	-0.258 3	0.338 6	0.143 2	0.162 6	0.799 3	-0.065 2	0.562 9	1	
菌落总数	-0.064 5	0.291 3	0.662 3	-0.453 3	0.088 9	-0.208 9	-0.726 7	0.325 2	-0.180 6	-0.295 2	0.792 4	-0.110 9	0.644 3	0.726 4	1

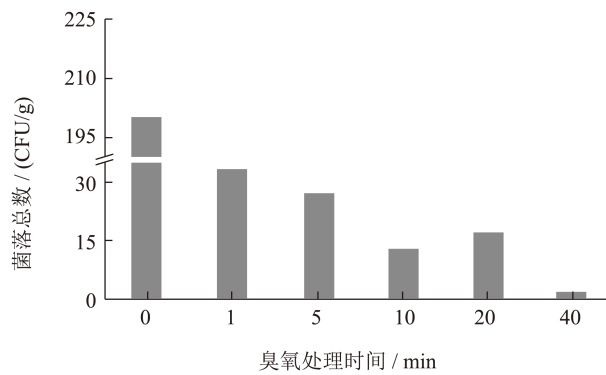


图 9 臭氧处理不同时间对柑橘菌落总数的影响

Fig.9 Effect of different ozone treatment time on the total plate count of citrus

2.10 相关性及主成分分析

对臭氧处理的晚熟柑橘果实的 15 项品质指标进行相关性分析, 结果见表 1。从表 1 可看出, 表型性状指标硬度与失重率、TSS、TPC、TFC 和 POD 呈显著负相关; CCI 指数与 TSS 呈显著负相关, 与 PPO 和菌落总数呈显著正相关; 代表果实成熟度的 TSS/TA 与 MDA 和 SOD 呈显著正相关, 而与 POD 呈显著负相关; 营养指标 Vc 与 TPC 和 TFC 呈显著正相关, 与菌落总数呈显著负相关; 与柑橘褐变相关的调控酶 PPO 和活性氧清除酶系 SOD、CAT 呈现出显著的正相关, 并与 CCI、MDA、菌落总数正相关。该相关性分析结果表明各指标间均存在不同程度的相关性, 说明 15 个品质指标间的重叠性较大, 不能准确地评价臭氧处理后晚熟柑橘的品质, 因此需要采用主成分分析对各指标进行降维和重组, 以形成新的评价指标。

对柑橘果实的 15 个品质指标进行了主成分分析 (表 2 和图 10)。特征值 >1 的有 4 个主成分, 其提供的原始信息累积贡献率为 94.39%, 可解释原始数据绝大部分信息。PC1 的方差贡献率为 36.53%, MDA、PPO、SOD 对 PC1 的贡献最大并呈正相关; PC2 的方差贡献率为 26.25%, 主要反映硬度、TA、TSS/TA、Vc 和 TFC 品质指标的变异信息, 且与硬度和 TA 呈负相关; PC3 的方差贡献率为 19.94%, 主要反映 CCI、POD、CAT 和菌落总数指标的变异信息, 均呈正相关; PC4 的方差贡献率为 11.68%, 主要反映失重率、TSS 和 TPC 指标的变异信息且与失重率和 TSS 呈负相关 (表 2)。在载荷及样品分布图中, 不同臭氧处理时间被分成 4 组 (图 10): 在右上象限的 5 和 20 min 处理组柑橘具有高失重率、TSS/TA、MDA、CAT 和 PPO 的特征; 在左上象限

的 10 和 40 min 处理组柑橘有较高的 TSS、TPC、Vc 和 TFC; 在左下象限的 1 min 处理组柑橘具有较高的 TA 和 POD; 在右下象限的 CK 组柑橘具有较高的硬度、菌落总数、CCI 和 SOD。其中失重率、MDA 含量、PPO 活性和菌落总数越高越代表采后贮藏期间的果实品质不佳, 有失水严重、衰老加速、发生褐变、易腐烂等现象。

表 2 成分矩阵

Table 2 Component matrix

品质指标	成分			
	1	2	3	4
失重率	0.054	0.318	0.220	-0.461
硬度	0.153	-0.353	-0.288	0.262
CCI	0.157	-0.062	0.402	0.316
TSS	-0.322	0.057	0.049	-0.406
TA	-0.290	-0.307	0.180	0.114
TSS/TA	0.257	0.315	-0.243	-0.126
Vc	-0.111	0.434	-0.194	0.171
MDA	0.360	0.167	-0.098	0.244
TPC	-0.153	0.318	0.293	0.352
TFC	-0.058	0.430	0.127	0.305
PPO	0.381	0.047	0.244	0.028
POD	-0.331	-0.060	0.339	-0.002
SOD	0.393	-0.080	0.010	-0.270
CAT	0.214	0.063	0.410	-0.210
菌落总数	0.268	-0.235	0.347	0.046

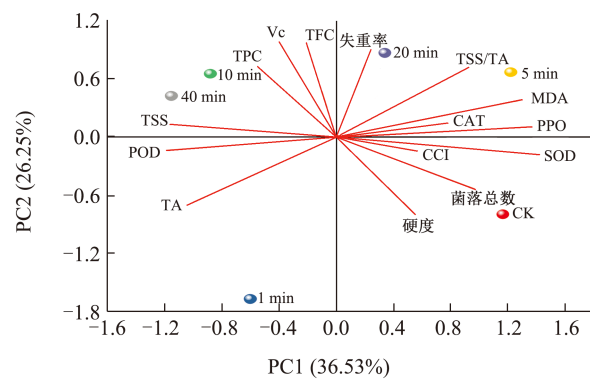


图 10 臭氧处理晚熟柑橘的品质变量载荷及样品分布图

Fig.10 Quality variable load and sample distribution map of late maturing citrus treated with ozone

3 结论

晚熟柑橘在采后贮藏过程中, 每日以固定浓度 (2 g/h, 54 L) 不同时间的臭氧处理后其品质有显

著变化。综合来看,每日臭氧处理10和40 min的柑橘品质较佳,具有高TSS、TPC、Vc和TFC含量的特征,但结合实际生产需要,更短时间臭氧处理可降低成本,同时增加实际操作过程中的安全性,因此推荐每日臭氧处理10 min作为适宜的保鲜手段来维持晚熟柑橘贮藏期间的品质。由于本次试验条件的局限性,并没有确定晚熟柑橘与臭氧的实际接触浓度及衰减浓度,仅仅控制了贮藏环境中的臭氧处理时间,同时不同柑橘品种、贮藏条件等均会影响臭氧处理效果,之后可进一步完善该试验,增加更精准的臭氧浓度控制、多组柑橘品种、典型柑橘腐败菌抑制试验等,为臭氧更准确广泛的应用到柑橘采后贮藏保鲜品质中提供技术指导。

参考文献

- [1] 张静.温州蜜柑和几种晚熟柑橘理化品质及功能成分研究[D].重庆:西南大学,2019.
- [2] HEYDARI Z K, GHODRAT K J, GHOLAMREZA K, et al. Fortification of *Chlorella vulgaris* with citrus peel amino acid for improvement biomass and protein quality [J]. *Biotechnology Reports*, 2023, 39: e00806.
- [3] LIU H, ZAKY Y M, AHMED A N, et al. An up-to-date review on citrus flavonoids: chemistry and benefits in health and diseases [J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2021, 27(4): 513-530.
- [4] KARACA H. Use of ozone in the citrus industry [J]. *Ozone Science & Engineering*, 2010, 32 (2): 122-129.
- [5] 徐维微,武祥玉,崔新仪.臭氧在果蔬生产及采后中的应用[J].*天津农业科学*,2016,22(6):56-59.
- [6] HORVITZ S, CANTALEJO M J. Application of ozone for the postharvest treatment of fruits and vegetables [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2014, 54(3): 312-339.
- [7] 徐冬颖,史君彦,郑秋丽,等.臭氧处理对菠菜采后保鲜效果的影响[J].*北方园艺*,2018,12:125-130.
- [8] ONG K M, ALI A, ALDERSON G P, et al. Effect of different concentrations of ozone on physiological changes associated to gas exchange, fruit ripening, fruit surface quality and defence-related enzymes levels in papaya fruit during ambient storage [J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 179(24): 163-169.
- [9] 韩强,郜海燕,陈杭君,等.臭氧处理对桑葚采后生理品质的影响及机理[J].*中国食品学报*,2016,16(10):147-153.
- [10] 江靖,朱向荣,苏东林,等.热激结合臭氧熏蒸对“涟红”蜜桔采后品质的影响[J].*食品与机械*,2018,34(12):120-123,171.
- [11] 刘焕军,罗安伟,牛远洋,等.臭氧处理对猕猴桃果实采后病害及品质的影响[J].*中国食品学报*,2018,18(11):175-183.
- [12] ZHAO Z, XU G M, HAN Z N, et al. Effect of ozone on the antioxidant capacity of “Qiushui” pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Qiushui) during postharvest storage [J]. *Food Quality*, 2013, 36(3): 190-197.
- [13] ALI A, ONG M K, FOMEY C F. Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage [J]. *Food Chemistry*, 2014, 142(1): 19-26.
- [14] 陈晓彤,潘艳芳,郑桂霞,等.热处理协同臭氧对沃柑贮藏品质调控研究[J].*食品研究与开发*,2020,41(12):21-25.
- [15] 魏清江,汪妙秋,曾知富,等.南丰蜜橘化渣性评价及不同结果习性果实的品质比较[J].*中国农业科学*,2014,47(6): 1162-1170.
- [16] MA Q, LIN X, WEI Q, et al. Melatonin treatment delays postharvest senescence and maintains the organoleptic quality of ‘Newhall’ navel orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) by inhibiting respiration and enhancing antioxidant capacity [J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 286(25): 110236.
- [17] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化试验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2007.
- [18] ZHANG J, ZHANG J Y, SHAN Y X, et al. Effect of harvest time on the chemical composition and antioxidant capacity of Gannan navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck ‘Newhall’) juice [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2022, 21(1): 261-272.
- [19] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.GB 4789.2-2016,食品微生物学检验:菌落总数测定[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [20] CAYUELA J A, VAZQUEZ A, PEREZ A G, et al. Control of table grapes postharvest decay by ozone treatment and resveratrol induction [J]. *Food Science and Technology International*, 2009, 15(5): 495-502.
- [21] 龙君.臭氧处理对柑橘青霉菌抑制作用及柑橘保鲜效果的研究[D].上海:上海师范大学,2013.
- [22] 朱亚猛,谢超,郑炜,等.臭氧处理协同低压静电场对青见柑橘低温贮藏品质的影响[J].*食品安全质量检测学报*,2022,13(19):6416-6422.
- [23] ANGELINO P D, GOLDEN A, MOUNT J R. Effect of ozone treatment on quality of orange juice [R]. Chicago, America: Institute of Food Technologists, 2017. In: 2003 IFT Annual Meeting Book of Abstract, Abstract No.76C-2.
- [24] SHAH N N A K, SULAIMAN A, SIDEK N S M, et al. Quality assessment of ozone-treated citrus fruit juices [J]. *International Food Research Journal*, 2019, 26(5): 1405-1415.
- [25] 刘焕军.臭氧处理对猕猴桃冷藏期主要侵染性病害的控制效果研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2021.
- [26] 邢亚阁,邓海霞,税玉儒,等.低温结合1-MCP和臭氧熏蒸协同处理对青柠檬贮藏品质的影响[J].*西华大学学报(自然科学版)*,2020,39(6):31-36.

- [27] 牛锐.臭氧处理对柑橘保鲜效果的研究[D].太原:山西农业大学,2016.
- [28] NIEN Y K, YU F T, KNAD S, et al. Effect of a high voltage electrostatic field (HVEF) on the shelf-life of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 116(C): 108532.
- [29] ZHANG Y J, SHEN Y T, CHEN C Y, et al. Loquat leaf extract and alginate based green composite edible coating for preserving the postharvest quality of Nanfeng tangerines [J]. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2022, 27: 100674.
- [30] TORRES B, TIWARI B K, PATRAS A, et al. Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice [J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 721-726.
- [31] RABIE M A, SOLIMAN A Z, DIACONEASA Z S, et al. Effect of pasteurization and shelf life on the physicochemical properties of *Physalis* (*Physalis peruviana* L.) juice [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2015, 39(6): 1051-1060.
- [32] SHAH N N A K, SUPIAN N A M, HUSSEIN N A. Disinfectant of pummelo (*Citrus Grandis* L. Osbeck) fruit juice using gaseous ozone [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56: 262-272.
- [33] 徐维微.臭氧处理对草莓果实中多菌灵、百菌清的降解及品质的影响[D].天津:天津农学院,2016.
- [34] 李琰儒.臭氧水处理对鲜切菠萝品质的影响[D].沈阳:沈阳农业大学,2020.
- [35] 蒋宝.臭氧处理对果实采后生理和贮藏品质影响的研究进展[J].食品与机械,2018,34(3):196-199.
- [36] 段艳欣,郭文武.多酚含量及多酚氧化酶活性与柑橘胚性愈伤组织褐化的关系[J].中国农学通报,2009,25(15):117-120.
- [37] LIU C, MA T, HU W, et al. Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf life extension of fresh-cut apple [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2016, 51(5): 1099-1109.
- [38] YANG R P, MIAO J Y, SHEN Y T, et al. Antifungal effect of cinnamaldehyde, eugenol and carvacrol nanoemulsion against *Penicillium digitatum* and application in postharvest preservation of citrus fruit [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 141: 110924.
- [39] ZHANG H J, LI K L, ZHANG X J, et al. Effects of ozone treatment on the antioxidant capacity of postharvest strawberry [J]. RSC Advances, 2020, 10(63): 38142-38157.