红色 LED 光照下上海青采后硫代葡萄糖苷代谢的变化

孙莹[1]，郭峰[1]，韩颖[1]，胡花丽[2,3]，罗淑芬[2,3]，李鹏霞[2,3*]

（1.沈阳农业大学食品学院，辽宁沈阳 110866）（2.江苏省农业科学院农业设施与装备研究所，江苏南京 210014）

（3.江苏省农业科学院，农业农村部农产品冷链物流技术重点实验室，江苏南京 210014）

摘要：为研究发光二极管（Light-Emitting Diodes，LED）处理对上海青采后硫代葡萄糖苷（简称硫苷）代谢的作用机理，该研究首先采用不同颜色和光密度的光照处理上海青，得出 6.5 μmol/(m^2·s)的红色 LED 光照处理可显著抑制上海青中叶绿素降解，延缓其黄化。在此基础上，研究了 6.5 μmol/(m^2·s)红色 LED 光照处理对贮藏期间上海青中硫苷代谢相关物质及基因表达水平的影响。结果表明，上海青叶柄中总硫苷和异硫氰酸酯含量分别为叶片的 2.72 倍和 1.32 倍；红色 LED 光照处理可显著上调上海青叶柄中脂肪族合成关键基因 *MYB28*、*CYP83A1*、*GSTF11* 等的表达水平，从而促进叶柄中主要硫苷物质 3-丁烯基硫苷等的合成；由此，上海青叶柄中总硫苷含量在贮藏 4~8 d 期间为对照组的 1.62~1.99 倍；同时，该处理提升了上海青叶柄的黑芥子酶活性，从而促进了总异硫氰酸酯的积累，且在贮藏 4~8 d 期间，对照组上海青叶柄的总异硫氰酸酯含量为红光处理组的 77.43%~91.98%。综上，红色 LED 光照处理通过调控硫苷合成关键基因和黑芥子酶活性来延缓上海青中硫苷物质和异硫氰酸酯的流失。

关键词：上海青；LED 光照；硫苷代谢；异硫氰酸酯

文章编号：1673-9078(2023)09-144-154 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.9.1293

Changes in Glucosinolate Metabolism in Postharvest Pakchoi (*Brassica rapa* L subsp. *chinensis*) under Red Light-emitting Diode Irradiation

SUN Ying[1], GUO Feng[1], HAN Ying[1], HU Huali[2,3], LUO Shufen[2,3], LI Pengxia[2,3*]

(1.School of Food Science, Shenyang Agriculture University, Shenyang 110866, China) (2.Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Institute of Agricultural Facilities and Equipment, Nanjing 210014, China) (3.Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China)

Abstract: Light-emitting diode (LED) irradiation with different colors and densities was employed for investigating the effect of red light on glucosinolate metabolism in postharvest pakchoi (*Brassica rapa* L subsp. *chinensis*). The results showed that both chlorophyll degradation and pakchoi yellowing were inhibited by red LED irradiation at a density of 6.5 μmol/(m^2·s). Subsequently, the changes in glucosinolate content and relative expression level of genes involved in the glucosinolate metabolism of pakchoi after red LED irradiation (6.5 μmol/m^2·s) were analyzed to explore the underlying regulatory mechanism. The results indicated that the contents of total glucosinolate and isothiocyanate in pakchoi petiole were 2.72 and 1.32 times higher than those in leaves, respectively. Additionally, the expression of key aliphatic synthesis genes, including *MYB28*, *CYP83A1*, and *GSTF11*, was significantly upregulated by red LED irradiation, thus promoting the synthesis of glucosinolate such as 3-butenyl glucosinolate. Consequently, the total glucosinolate content in treated pakchoi petiole was 1.62~1.99 times higher than that in the control during 4~8 d of storage. The myrosinase activity was promoted, and consequently, the accumulation of total isothiocyanate was increased in pakchoi petiole following red LED irradiation. Notably, the total isothiocyanate content in the control group was 77.43%~91.98% lower than that in the irradiated group during 4~8 d. In conclusion, red LED light treatment delayed the loss of glucosinolates and

引文格式：

孙莹,郭峰,韩颖,等.红色 LED 光照下上海青采后硫代葡萄糖苷代谢的变化[J].现代食品科技,2023,39(9):144-154

SUN Ying, GUO Feng, HAN Ying, et al. Changes in glucosinolate metabolism in postharvest pakchoi (*Brassica rapa* L subsp. *chinensis*) under red light-emitting diode irradiation [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(9): 144-154

收稿日期：2022-09-27

基金项目：江苏省农业科技自主创新资金项目（CX(20)3046）；江苏省现代农业-面上项目（BE2022368）

作者简介：孙莹（1998-），女，硕士研究生，研究方向：果蔬贮藏与加工，E-mail：1414930023@qq.com

通讯作者：李鹏霞（1976-），女，博士，研究员，研究方向：果蔬保鲜流通技术及装备，E-mail：guoshubaoxian@163.com

isothiocyanates in pakchoi, as indicated by the upregulated relative gene expression levels involved in the synthesis of aliphatic glucosinolate and increased myrosinase activity.

Key words: pakchoi; red LED irradiation; glucosinolate metabolism; isothiocyanate

上海青（*Brassica rapa* L subsp. *chinensis*）属于十字花科芸苔芸薹属，是普通白菜的一个变种，常见于中国南方地区，新鲜上海青口感甘甜营养丰富[1]。内含维生素、矿物质和多酚等营养活性成分，其中硫代葡萄糖苷（硫苷），会被植物本身存在的黑芥子酶和人类的胃肠道微生物菌群转化为异硫氰酸酯（Isothiocyanate，ITC）[2]。大量研究表明异硫氰酸酯为广谱抗癌天然产物[3]。上海青在采收后，叶片极易产生黄化、萎蔫和腐烂等品质劣变现象，严重影响其商品品质，缩短其货架期，上海青在常温 23~25 ℃下货架期仅为 1~2 d[4]。因此，寻求安全有效的上海青营养品质提升技术显得尤其重要。

有研究表明，微孔包装可以延缓上海青叶绿素降解，延缓其叶片黄化，并保持较高的多酚含量和抗氧化能力[5]。外源胆固醇处理可以维持上海青中叶绿素和抗坏血酸含量[6]。亚硒酸钠溶液浸泡结合气调包装处理能够保持上海青的感官品质并维持抗坏血酸、可溶性固形物及类黄酮等的含量[7]。针对上海青的硫苷代谢，有研究证实，上海青叶柄中的硫苷含量是其叶片的 1.54 倍[8]。采前向叶片喷洒油菜素内酯和多胺可增加上海青脂肪族硫苷和总硫苷的含量，减少其吲哚族硫苷的含量[9]；但乙烯利处理会提高上海青的吲哚族硫苷含量[10]；在采后，用 1-MCP 处理上海青，其组织中硫苷含量得到了显著提升[11]。已有研究证实白色 LED 光照处理可以促进上海青硫苷物质的生成[12]。但，有关上海青叶柄采后硫苷代谢的研究报道仍较少。

LED 光照保鲜技术作为一种新型、高效、安全的物理保鲜手段。具有单色光排放高、寿命长、灵活和机械坚固性等优点。因此，LED 可用来减少农作物的热损伤和退化，并适用于冷藏应用，还可以提农产品的产量和营养成分[13]。闫志成[14]证实白色 LED 光照对上海青进行处理，可以维持其叶绿素含量。Zhou 等[15]发现白色 LED 光照处理提高了上海青中可溶性蛋白含量，降低了其游离氨基酸含量，延缓了其采后衰老。而其他学者得出白色 LED 光照还可维持上海青较高的叶绿素及抗坏血酸含量，减缓其丙二醛的累积[16]。Fan 等[17]采用转录组学手段分析出红蓝色 LED 光照可以减少上海青中亚硝酸盐的累积。红色 LED 光照可以抑制上海青叶绿素降解及相关基因的表达并促进抗坏血酸合成基因的表达[18]；在此基础上，结合气调包装可以减轻丙二醛的积累并维持叶绿素、维生素等物质的含量[19]。但红色 LED 光照对上海青硫苷代谢的影响机制目前尚不明确。

本实验以上海青为实验材料，研究了红色 LED 光照处理后的上海青中硫苷代谢合成途径及降解途径中关键物质、关键酶和关键基因表达的变化，为上海青采后保鲜及营养物质的提升提供理论和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

本实验用上海青于 2022 年 2 月 18 日移栽于江苏归来兮生态农业开发有限公司蔬菜种植基地大棚，3 月 21 日清晨进行采收，7~8 成熟，当天上午运输至江苏省农业科学院装备与设施研究所实验室内。立即挑选出大小、色泽基本一致且无病害及黄化现象的上海青作为实验材料。

1.1.2 试剂

丙酮、甲醇、无水乙醇、乙酸、活性炭、邻苯二硫醇、正己烷、葡萄糖、甲酸铵、二氯甲烷、硼酸、邻苯二硫醇（均为分析纯），上海阿拉丁生化科技股份有限公司；萝卜硫苷（Glucoraphanin，GRA）、2-羟基-3-丁烯基硫苷（Progoitrin，PRO）、3-丁烯基硫苷（Gluconapin，GNA）、黑芥子苷（Sinigrin，SIN）、4-甲硫基-丁基硫苷（Glucoerucin，GER）、4-戊烯基硫苷（Glucobrassicanapin，GBN）、萝卜硫素分析标准品购自美国 Sigma-Aldrich 公司；3-丁烯基异硫氰酸酯购自北京坛墨质检科技有限公司；葡萄糖试剂盒购自南京建成生物科技有限公司；RNA 提取试剂盒购自成都福际生物技术有限公司；cDNA 合成试剂盒购自美国 Thermo Scientific 公司；SYBR Premix Ex TaqTM Ⅱ试剂盒购自日本 TaKaRa 公司；引物序列由苏州金唯智生物科技有限公司合成。

1.2 仪器

PL202-L 电子天平，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；UV-1102 型紫外可见分光光度计，上海天美科学仪器有限公司；雪花制冰机 FM40，北京长流科学技术公司；A11 Basic 型液氮研磨器，艾卡（广州）仪器设备有限公司；3K15 高速冷冻离心机，德国 Sigma 公司；HH-S 系列数显恒温水浴锅，常州万达升

实验仪器有限公司；Seven Multi pH 计，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；Waters 2695 高效液相色谱仪，美国 Waters 公司；QTRAP 6500 高效液相色谱串联质谱分析仪，上海爱博才思分析仪器贸易有限公司；TSQ 8000 EVO 气相色谱串联质谱分析仪，美国 Agilent Technologies 公司；培清 JS-680D 全自动凝胶成像分析仪，上海培清科技有限公司。

1.3 实验设计与处理

1.3.1 试验Ⅰ：上海青适宜光照条件筛选

实验分为 9 组，具体处理方式如表 1 所示。挑选 18~20 颗大小基本一致，无黄化，无病害的上海青放置在 LED 光照货架上，并设置 3 组平行，模拟超市低温货架温度（15 ℃）下进行光照（黑暗 12 h，光照 12 h），将对照组进行遮光处理。贮藏至第 8 天时，通过观察上海青表型和测定叶片总叶绿素含量，筛选出适宜上海青贮藏的光照条件。

表 1 上海青贮藏实验条件

Table 1 Experimental conditions of pakchoi

光照颜色	光照强度/[μmol/(m^2·s)]	分组
黑暗	0	实验组 1
红色	3.25	实验组 2
红色	6.5	实验组 3
蓝色	3.25	实验组 4
蓝色	6.5	实验组 5
绿色	3.25	实验组 6
绿色	6.5	实验组 7
白色	3.25	实验组 8
白色	6.5	实验组 9

1.3.2 试验Ⅱ：红色光照 LED 处理对上海青采后硫苷代谢的影响

以实验Ⅰ筛选的光照条件作为处理组（黑暗 12 h，光照 12 h），对照组为黑暗处理，置于 15 ℃下贮藏。每个处理平行处理 15 组，每组 18~20 颗上海青。取样方式为：各组每 2 d 随机选取 3 个平行进行取样。取样部位为：外层 5~6 层叶片部分，避开主叶脉，叶柄部分去掉根部，并用液氮速冻，速存放于-80 ℃用于指标的测定。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 总叶绿素含量的测定

参考 Hu 等[20]的方法并稍作修改。取 0.2 g 上海青粉末，加入 10 mL 体积分数为 80%丙酮，避光常温浸提 6 h，过滤后取上清液，以体积分数 80%丙酮为空白校零，测定在 642 和 665 nm 处提取液的吸光值，重复测定 3 次，计算叶绿素含量（mg/g）。

1.4.2 总硫苷含量的测定

根据韩颖等[21]的方法，并稍做修改。称取 2 份上海青粉末样品各 1 g，1 份加 1.5 mL 水，另 1 份加 1.5 mL 体积分数 40%酸化甲醇（pH 值 4.0，HCl 调制），在 37 ℃下水浴浸提 1 h 后，80 ℃水浴浸提 5 min，最后均用 2 mL 100%甲醇终止反应。于 4 ℃、10 000 r/min 离心 15 min，取上清液用葡萄糖试剂盒测定葡萄糖含量，硫苷分解生成的葡萄糖的物质的量与硫苷的物质的量相等，以此计算硫苷物质的量。

1.4.3 总异硫氰酸酯含量的测定

根据 Zhang 等[22]的方法，并稍做修改。取 0.4 g 上海青粉末加入 0.8 mL 蒸馏水混匀，于 4 ℃、10 000 r/min 下离心 15 min，取 0.25 mL 上清液，加入 0.25 mL 100 mmol/L 硼酸缓冲溶液（pH 值 8.5）和 0.5 mL 10 mmol/L 邻苯二硫醇溶液，于 65 ℃水浴 2 h 后于 365 nm 处测定吸光度值。用萝卜硫素做标曲，根据标曲计算总异硫氰酸酯的含量。

1.4.4 黑芥子酶活性的测定

根据赵欢欢等[23]的方法，并稍做修改。取 1 g 上海青粉末加入 2 mL 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液（pH 值 6.5），于 4 ℃、10 000 r/min 下离心 15 min，上清液即为粗酶液。取 0.6 mL 粗酶液，加入 0.2 mL 2 mmol/L 的黑芥子苷溶液，混匀，37 ℃水浴 15 min，然后置于沸水浴中反应 5 min 以停止反应。采用葡萄糖试剂盒检测葡萄糖含量，以每分钟生成 1 nmol 葡萄糖为 1 个酶活，比活度以鲜重 U/g 表示。

1.4.5 硫苷物质含量的测定

样品制备：参照 Luo 等[24]的方法略有修改，称取 1 g 上海青粉末加入 2 mL 体积分数 75%甲醇，80 ℃水浴 20 min，冷却至 4 ℃后于 10 000 r/min 下离心 15 min，取上清液，过 0.22 μm 有机相滤膜，经 LC-20 液相色谱串联 TripleTOF® 5600+飞行时间液质联用仪鉴定。根据在全扫描模式下确定的 *m/z* 值和在 MS^2 模式下观察到的碎片信息，与相应的标准品质谱信息或参考文献质谱信息比对进行硫苷鉴定。鉴定后其中 GRA、GNA、GBN、GBR 采用标准曲线法进行定量，其中 4-羧基-吲哚-3-亚甲基硫苷（4-Hydroxy Glucobrassicin，4HGBS）、4-甲氧基-吲哚-3-亚甲基硫苷（4-Methoxy Glucobrassicin，4MGBS）和 1-甲氧基-吲哚-3-亚甲基硫苷（Neoglucobrassicin，NGBS）以其结构相似的物质 GBR 的标准曲线进行计算，其他以黑芥子苷为内标，采取内标法校正因子计算。

1.4.6 硫苷水解产物鉴定和测定

样品提取：参照 Klopsch 等[25]的方法，略作修改。

取 1 g 上海青粉末加入 2.5 mL 去离子水，于 37 ℃水浴条件下水解 3 h，加入 2 mL 二氯甲烷萃取 2 次，4 ℃、10 000 r/min 下离心 15 min 离心后，取下清液，氮吹至 300 μL，过 0.22 μm 有机滤膜，采用 GC-MS 定性及定量。

1.4.7 上海青叶柄总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

RNA 提取：上海青叶柄总 RNA 的提取按照 Plant Total RNA Isolation Kit Plus（成都福际生物技术有限公司提供）要求完成。cDNA 的合成：上海青叶柄 cDNA 的合成按照 First Strand cDNA Synthesis Kit（由 Thermo Scientific Revert Aid 提供）操作。总体系 20 μL，总 RNA 500 ng，GoldenstarTMRandomer 1 μL，5×GoldenstarTM Buffer 4 μL，dNTP Mix 1 μL，DTT 1 μL，GoldenstarTM RT6 1 μL，RNase-free water 补足至 20 μL。之后于 25 ℃反应 10 min，55 ℃反应 15 min，85 ℃反应 5 min 后置于-80 ℃冰箱备用。

1.4.8 实时荧光定量聚合酶链式反应（Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction，RT-q PCR）分析

RT-qPCR 分析：内参基因为 *Actin*，目的基因为：*MYB28*、*CYP83A1*、*UGT74C1*、$FMO_{GS\text{-}OX5}$、*GGP1*、*SUR1*、*AOP2* 等。引物序列运用 Primer 5.0 软件进行设计，最终由苏州金唯智生物科技有限公司合成，引物序列详细信息见表 2，每个样品设置 3 个重复。根据 TaKaRa SYBR Premix Ex TaqTM Ⅱ（TliRNaseH Plus）要求完成。总反应体系 20 μL，包括 2×SYBR Premix Ex Taq^{TM} Ⅱ（TliRNaseH Plus）10 μL，PCR Forward Primer 0.60 μL，PCR Reverse Primer 0.60 μL，DNA 模板 1 μL，ddH_2O（灭菌蒸馏水）7.8 μL。反应条件：预变性：95 ℃，30 s，1 个循环；PCR 反应：95 ℃，5 s，60 ℃，30 s，40 个循环。

表 2 RT-qPCR 引物序列

Table 2 Primer sequences for real time-qPCR

基因名称	上游引物序列 (5’→3’)	下游引物序列 (3’→ 5’)
MYB28	TGGCGGAGATGGTGAACAA	GCTTTCCGTCTCCATCCCG
CYP83A1	TTCATTCCCAAAGGTAGCC	AGTGAATTGCGTTTCGTGT
GSTF11	TGTGCTCGTTGACGGTGAC	GGACAAGTGGAGCAATGGC
GGP1	AGACTCTTGACCCTAGCCGTCCTA	AGGAATGTGGTCGGTGACAAAGG
SUR1	TGTGCTCGTTGACGGTGAC	GGACAAGTGGAGCAATGGC
UGT74C1	CGGACCTATGATCCCATCTGC	TTCGTTTGGTTCCTTTGGGAT
$FMO_{GS\text{-}OX5}$	AGAAACTCGGCCTTTACTTTGG	CATCCAAGGTCATCCCGAGTAT
AOP2	TTTGGCGGTTCGGTGGAGC	CGTCTATCCTTGCTTCCGCA
Actin	CGGAATGGTCAAGGCTGGTTTC	CCATGTCATCCCAGTTGCTCAC

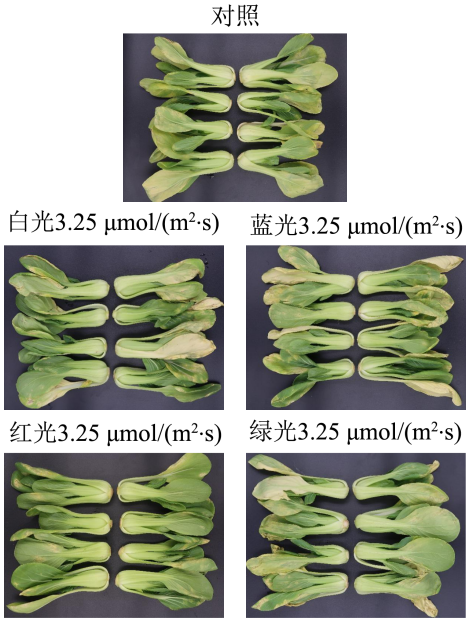
1.4.9 数据分析

所有数据均为对同一处理组 3 个平行中的样品分别测定后，所得数据取平均值±标准差表示，所有数据用 SPSS 20.0 软件进行分析，显著性采用 ANOVA 进行邓肯氏多重差异分析，$P<0.05$ 表示差异显著。用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 不同颜色和光密度 LED 光照处理下对上海青表型及总叶绿素含量的影响

如图 1 所示，在贮藏 8 d 时，对照组中上海青叶片已出现明显黄化；经过不同颜色和光密度的 LED 光照处理的上海青中，除红光处理组外的其他处理组（蓝光、绿光和白光）上海青叶片均已经出现了明显的黄化现象，红光处理组仅出现轻微黄化，其中光密度为 3.25 μmol/(m^2·s)的红光处理组较 6.5 μmol/(m^2·s)的红光处理而言，其叶片黄化更明显。



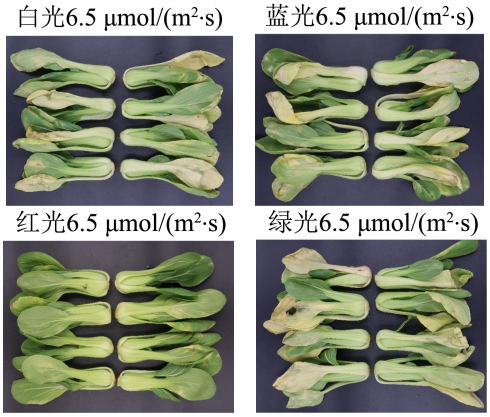


图 1 不同光照条件处理对上海青表型的影响

Fig.1 Effects of different condition of light emitting diode (LED) irradiation on phenotype of pakchoi

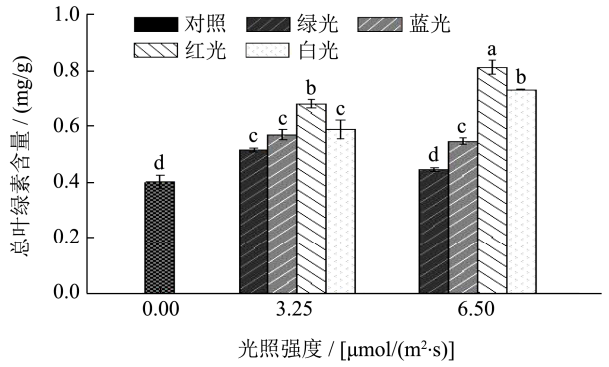


图 2 不同颜色和密度 LED 光照处理对上海青叶片总叶绿素含量的影响

Fig.2 Effects of different condition of LED irradiation on total chlorophyll content in pakchoi leaves

注: 不同小写字母表示同一贮藏时间不同处理组之间存在显著差异（P<0.05）。

由图 2 可知，不同颜色和光密度 LED 光照处理后的上海青叶片总叶绿素含量的变化不一致，可以看出红光处理的上海青叶片总叶绿素含量显著高于其他处理组，其中 6.5 μmol/(m²·s)的红光处理组显著高于 3.25 μmol/(m²·s)的红光处理（P＜0.05）。与本实验结果类似，Song 等[18]也发现红色 LED 光照可以有效保持上海青的采后品质，并且延缓上海青的叶片中叶绿素的降解。因此，结合表型分析，本实验后续选取光密度 6.5 μmol/(m²·s)的红光对上海青进行处理。

2.2 红色 LED 光照对上海青表型的影响

如表 3 所示，对照组在贮藏第 4 天叶片已经出现轻微黄化现象，在第 6 天叶片出现了明显黄化，在贮藏第 8 天叶片已严重黄化，失去商品价值。而红光处理组上海青在贮藏第 6 天仍保持较好的色泽，在第 8 天时叶片仅出现轻微黄化现象。由此可见，红色 LED 光照处理可以延缓上海青的黄化进程，保持其品质。

表 3 红色 LED 光照处理对上海青表型的影响

Table 3 Effect of red LED irradiation treatment on the phenotype of pakchoi

项目	0 d	2 d	4 d	6 d	8 d
对照					
红光					

2.3 红色 LED 光照处理对上海青总硫苷、总异硫氰酸酯含量以及黑芥子酶活性的影响

上海青中含有与抗癌相关的营养物质硫苷，在正常情况下，硫苷物质较为稳定，但随着贮藏时间的延长，植物组织逐渐衰老，细胞受到破坏，硫苷与黑芥子酶接触，从而造成了硫苷水解，生成活性物质异硫氰酸脂等物质。在本实验中，如图 3a 所示，在贮藏期间上海青叶柄中红光处理组总硫苷含量在第 2 天下降，在第 4 天显著上升，随后逐渐下降，对照组上海青叶柄总硫苷含量在第 2 天上升，随后持续下降。由此，对照组总硫苷含量虽然在第 2 天显著高于红光处理组（P＜0.05），但在贮藏 4~8 d 期间，显著低于红光处理组（P＜0.05），此时，红光处理组总硫苷含量为对照组的 1.62~1.99 倍。如图 3b 所示，上海青叶片中总硫苷的含量整体呈下降趋势。并在整个贮藏期间，红光处理组显著高于对照组（P＜0.05），是对照组的 1.69~4.65 倍。可见，红色 LED 光照可以延缓上海青贮藏期间总硫苷含量的流失，类似地，Mao 等[26]得出紫外线处理也可以有效延缓上海青中总硫苷的损失。

Wang 等[27]发现红色 LED 光照可以显著提升西兰

花幼苗中总异硫氰酸酯的含量。本实验中，图 3c 结果显示，在贮藏期间，对照组上海青叶柄中总异硫氰酸酯含量总体波动不大，但红光处理组在贮藏 2~4 d 内出现了明显上升，且在整个贮藏期间显著高于对照组（$P<0.05$）。图 3d 显示，上海青叶片中总异硫氰酸酯波动不大，在贮藏前期对照组总异硫氰酸酯含量高于处理组，但在贮藏 4~8 d 内是红光处理组的 77.43%~91.98%。由此可见，红色 LED 光照处理可以显著提高上海青中总异硫氰酸酯的含量。

如图 3e 所示，随着贮藏时间的延长，上海青叶柄中黑芥子酶活性总体呈下降趋势，但对照组波动变化较大。在贮藏的第 2、6、8 天，对照组上海青中黑芥子酶活性分别为红光处理组的 51.11%、43.42%和 23.54%。如图 3f 所示，上海青叶片中黑芥子酶的活性呈下降趋势，对照组黑芥子酶活性虽在贮藏第 2 天显著高于红光处理组（$P<0.05$），但红光处理组在贮藏 4~8 d 下降速度小于对照组，且在此期间显著高于对照组（$P<0.05$），尤其在第 6 天时，高于对照组 459.65%。可见，红色 LED 光照总体上可以维持上海青中相对较高的黑芥子酶活性，这可能是造成红色 LED 光照处理的上海青在中异硫氰酸酯含量较高的主要原因[18]。

综上，上海青叶柄中硫苷及异硫氰酸酯含量分别为叶片的 2.72 倍和 1.32 倍，与本实验结果类似，Zhu 等[8]也发现上海青叶柄中硫苷含量较叶片中更高。因此，本文后期主要关注上海青叶柄中硫苷代谢的变化。

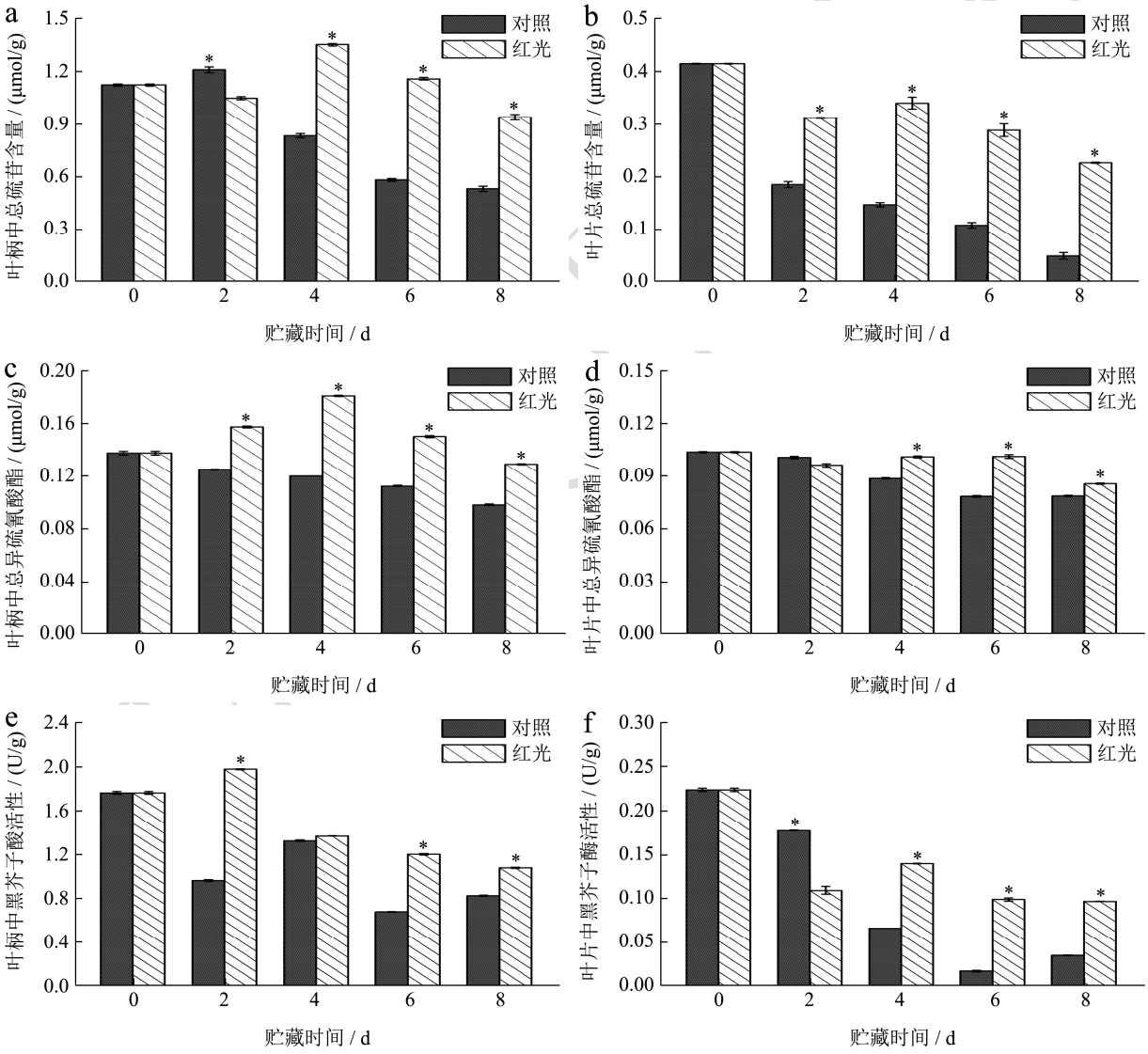


图 3 红色 LED 光照处理对上海青叶柄（a）和叶片（b）中总硫苷，叶柄（c）和叶片（d）总异硫氰酸酯含量以及叶柄（e）和叶片（f）中黑芥子酶活性的影响

Fig.3 Effect of red LED irradiation on total glucosinolate content (a: petiole, b: leaves), total isothiocyanate content (c: petiole, d: leaves) and myrosinase activity (e: petiole, f: leaves) in pakchoi

注：*指同一贮藏时间对照组与处理组之间存在显著差异（$P<0.05$），下同。

表 4 上海青叶柄中硫苷物质鉴定信息

Table 4 Identification of glucosinolate profiles in pakchoi petiole

硫苷单体		化学式	分子量/(g/mol)	保留时间/min	母离子	碎片离子	含量/(μmol/g)
					负离子模式/荷质比 $[M-H]^-/(m/z)$	二级质谱信息 $MS^2/(m/z)$	
脂肪族硫苷	GRA	$C_{12}H_{23}NO_{10}S_3$	437.05	1.32	436.04	436.04、372.04、274.99、259.01、195.03、178.02、96.96、74.99	0.00±0.00
	GIB	$C_{11}H_{21}NO_{10}S_3$	423.03	1.23	422.05	422.05、358.05、259.01、195.03、96.96、74.99	0.00±0.00
	PRO	$C_{11}H_{19}NO_{10}S_2$	389.05	3.88	388.08	388.08、342.14、259.01、195.03、135.97、96.96、74.99	0.03±0.00
	GNA	$C_{11}H_{19}NO_9S_2$	373.05	1.36	372.04	372.04、259.01、195.03、96.96、74.99	0.71±0.02
	GBN	$C_{12}H_{21}NO_9S_2$	387.07	3.84	386.08	386.08、259.01、195.03、96.96、74.99	0.11±0.00
	GAL	$C_{13}H_{25}NO_{10}S_3$	451.06	1.30	450.09	450.09、386.08、259.01、195.03、145.07、96.96、74.99	0.00±0.00
芳香族硫苷	GNS	$C_{15}H_{21}NO_9S_2$	409.05	6.59	422.06	422.06、259.01、195.03、173.04、96.96、74.99	0.00±0.00
吲哚族硫苷	4MGBS	$C_{17}H_{22}N_2O_{10}S_2$	478.07	9.60	477.06	477.07、259.01、195.03、96.96、74.99	0.07±0.00
	4HGBS	$C_{16}H_{20}N_2O_{10}S_2$	464.06	2.52	463.05	463.05、285.02、259.01、195.03、96.96、74.99	0.03±0.00
	NGBS	$C_{17}H_{22}N_2O_{10}S_2$	478.07	9.53	477.07	477.07、446.07、274.99、259.01、195.03、154.06、96.96、74.99	0.03±0.00
	GBR	$C_{16}H_{20}N_2O_9S_2$	448.06	5.23	447.06	447.06、259.01、205.05、195.03、96.96、74.99	0.03±0.00

注：“0.00±0.00”代表该硫苷单体含量小于 0.01 μmol/g。

2.4 上海青叶柄中的硫苷单体的鉴定

表 4 显示，上海青中主要含有 11 种硫苷，分别为脂肪族 6 种：GRA、GIB、PRO、GNA、GBN、GAL。芳香族 1 种：GNS。吲哚族 4 种：4MGBS、4HGBS、NGBS、GBR；其中，含量最高为 GNA，占上海青叶柄的 72.45%，其次为 GBN 占上海青叶柄的 11.22%。类似地，Wiesner 等[28]也得出上海青中的主要硫苷物质为 GNA，但其含量占总硫苷的 66.69%，这可能是品种差异造成。本研究后期主要关注上海青叶柄中含量大于 0.01 μmol/g 的硫苷单体含量变化情况，如 GNA、GBN、4MGBS、4HGBS、PRO、NGBS 等。

2.5 红色 LED 光照处理对上海青叶柄硫苷单体含量的影响

上海青中主要的硫苷组分为脂肪族硫苷，而吲哚族硫苷与芳香族硫苷含量都较少，大部分上海青中脂肪族硫苷占硫苷总含量 80%以上[29]。与本实验中硫苷单体鉴定结果一致，上海青中脂肪族硫苷含量占总硫苷含量的 86.73%。如表 5 所示，在贮藏期间上海青中各种硫苷均呈下降趋势。上海青叶柄中的主要硫苷 GNA 和 GBN 经红色 LED 光照处理后呈先降低后升高然后缓慢降低的趋势，且在贮藏的第 4、6、8 天红光处理组显著高于对照组（$P<0.05$）。对照组中另一个含量较高的单体 PRO 含量波动不大，红光处理组呈先快速升高后缓慢下降的趋势，且在贮藏的第 2~6 天显著高于对照组（$P<0.05$）。但红色 LED 光照处理对 NGBS、4MGBS、4HGBS 和 GBR 含量的影响并不显著。有相似研究[27]指出，光照处理可显著提升果蔬中硫苷物质的含量，如红色 LED 光照处理可以提高西兰花中萝卜硫苷等主要硫苷物质的含量；Demir 等[30]发现红色 LED 光照能促进萝卜中萝卜硫苷等主要硫苷物质的积累。本实验中，红色 LED 光照能有效维持上海青叶柄中主要硫苷物质的含量。

表 5 红色光照 LED 处理对上海青叶柄中硫苷物质含量的影响（μmol/g）

Table 5 Effect of red LED irradiation on the content of glucosinolate substances in pakchoi petiole (μmol/g)

硫苷物质	处理	贮藏时间/d				
		0	2	4	6	8
GNA	对照	0.710±0.02	0.759±0.01*	0.432±0.00	0.277±0.00	0.210±0.00
	红光		0.646±0.00	0.925±0.00*	0.735±0.00*	0.582±0.00*
GBN	对照	0.112±0.00	0.113±0.00*	0.079±0.00	0.068±0.00	0.068±0.00
	红光		0.103±0.00	0.133±0.00*	0.115±0.00*	0.094±0.00*
NGBS	对照	0.028±0.00	0.031±0.00*	0.029±0.00	0.028±0.00	0.031±0.00
	红光		0.027±0.00	0.029±0.00	0.030±0.00*	0.031±0.00
PRO	对照	0.034±0.00	0.056±0.00	0.018±0.00	0.027±0.00	0.018±0.00
	红光		0.067±0.00*	0.083±0.00*	0.080±0.00*	0.036±0.00
4MGBS	对照	0.072±0.00	0.084±0.00*	0.070±0.00	0.052±0.00	0.088±0.00
	红光		0.067±0.22	0.083±0.00*	0.091±0.00*	0.086±0.00
4HGBS	对照	0.033±0.00	0.045±0.00*	0.033±0.00*	0.020±0.00	0.034±0.00
	红光		0.028±0.00	0.030±0.00	0.033±0.00*	0.036±0.00*
GBR	对照	0.031±0.00	0.033±0.00*	0.030±0.00	0.031±0.00	0.033±0.00
	红光		0.027±0.00	0.030±0.00	0.030±0.00	0.032±0.00
总含量	对照	1.058±0.03	1.159±0.04*	0.724±0.01	0.543±0.00	0.513±0.00
	红光		0.997±0.01	1.347±0.01*	1.156±0.01*	0.929±0.01*

注：*表示同一贮藏时间对照组与处理组之间存在显著差异（$P<0.05$）。

2.6 红色 LED 光照处理对上海青叶柄硫苷水解产物含量的影响

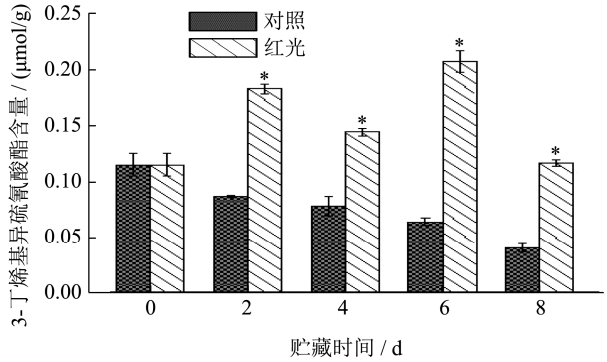


图4 红色LED光照处理对上海青叶柄中3-丁烯基异硫氰酸酯含量的影响

Fig.4 Effect of red LED irradiation on content of 3-butenyl isothiocyanate in pakchoi petiole

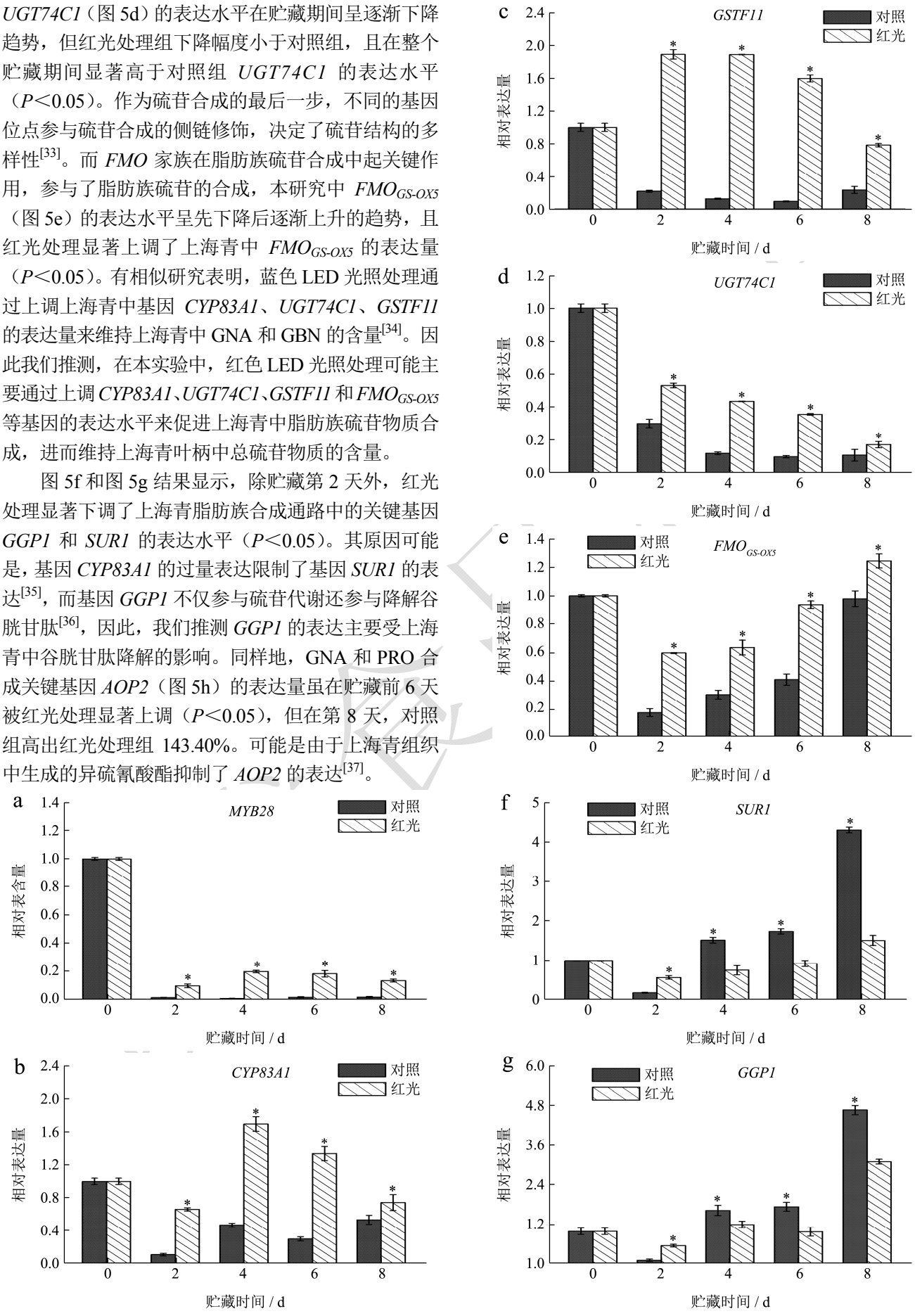
Zeng 等[31]已发现，上海青中的异硫氰酸酯主要为 3-丁烯基异硫氰酸酯（GNA 的水解产物）。与其结果一致，本文得出上海青叶柄和叶片中主要的硫苷水解产物为 3-丁烯基异硫氰酸酯，其母离子为 113.00，子离子为 113.02、85.94、72.01、62.98、45.11、30.11，含量约为 0.12 μmol/g。经红光处理后（图 4），上海青叶柄中该物质含量呈先升高后下降的趋势，且总体维持在较高水平，但对照组 3-丁烯基异硫氰酸酯含量在贮藏期间呈逐渐下降趋势。其原因可能是红色 LED 光照处理维持了上海青中较高的黑芥子酶活性，从而促进了硫苷物质的水解，由此造成了 3-丁烯基异硫氰酸酯的积累。

2.7 红色 LED 光照处理对上海青叶柄硫苷合成相关基因表达的影响

硫苷在合成过程中一系列反应都由转录因子调控，*MYB* 家族是植物转录因子最大家族之一，*MYB28* 作为脂肪族硫苷合成的关键转录因子[9]。*CYP* 家族可以将细胞色素 P450 催化为乙醛肟，为硫苷合成的第一步，其中基因 *CYP83A1* 可以催化脂肪族的乙醛肟[32]。图 5 为上海青在贮藏期间脂肪族硫苷合成相关基因表达水平的变化，结果得出，*MYB28* 的表达水平在贮藏时间呈总体下降趋势，且红光处理组在贮藏期间显著高于对照组（$P<0.05$），尤其在贮藏的第 4 天和第 6 天，红光处理组 *MYB28* 的表达水平分别是对照组的 28.97 和 11.71 倍。基因 *CYP83A1*（图 5b）和 *GSTF11*（图 5c）的表达水平在经过红光处理后呈先上升后下降的趋势，而对照组中其表达量整体下降，由此在整个贮藏期间，对照组 *CYP83A1* 和 *GSTF11* 的表达水平皆显著低于红光处理组（$P<0.05$）。基因

UGT74C1（图 5d）的表达水平在贮藏期间呈逐渐下降趋势，但红光处理组下降幅度小于对照组，且在整个贮藏期间显著高于对照组 *UGT74C1* 的表达水平（$P<0.05$）。作为硫苷合成的最后一步，不同的基因位点参与硫苷合成的侧链修饰，决定了硫苷结构的多样性[33]。而 *FMO* 家族在脂肪族硫苷合成中起关键作用，参与了脂肪族硫苷的合成，本研究中 $FMO_{GS\text{-}OX5}$（图 5e）的表达水平呈先下降后逐渐上升的趋势，且红光处理显著上调了上海青中 $FMO_{GS\text{-}OX5}$ 的表达量（$P<0.05$）。有相似研究表明，蓝色 LED 光照处理通过上调上海青中基因 *CYP83A1*、*UGT74C1*、*GSTF11* 的表达量来维持上海青中 GNA 和 GBN 的含量[34]。因此我们推测，在本实验中，红色 LED 光照处理可能主要通过上调 *CYP83A1*、*UGT74C1*、*GSTF11* 和 $FMO_{GS\text{-}OX5}$ 等基因的表达水平来促进上海青中脂肪族硫苷物质合成，进而维持上海青叶柄中总硫苷物质的含量。

图 5f 和图 5g 结果显示，除贮藏第 2 天外，红光处理显著下调了上海青脂肪族合成通路中的关键基因 *GGP1* 和 *SUR1* 的表达水平（$P<0.05$）。其原因可能是，基因 *CYP83A1* 的过量表达限制了基因 *SUR1* 的表达[35]，而基因 *GGP1* 不仅参与硫苷代谢还参与降解谷胱甘肽[36]，因此，我们推测 *GGP1* 的表达主要受上海青中谷胱甘肽降解的影响。同样地，GNA 和 PRO 合成关键基因 *AOP2*（图 5h）的表达量虽在贮藏前 6 天被红光处理显著上调（$P<0.05$），但在第 8 天，对照组高出红光处理组 143.40%。可能是由于上海青组织中生成的异硫氰酸酯抑制了 *AOP2* 的表达[37]。



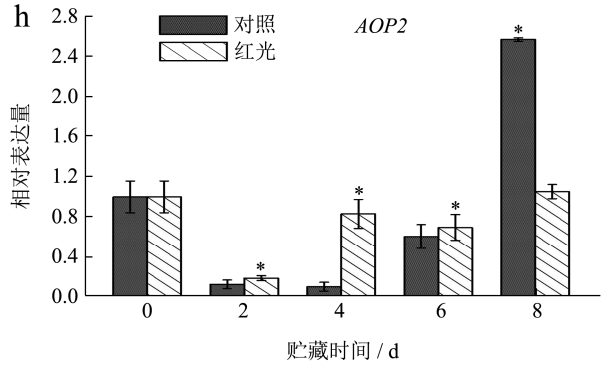


图5 红色LED光照处理对上海青叶柄中硫苷合成相关基因表达水平的影响

Fig.5 Effect of red LED light treatment on the expression level of aliphatic glucosinolate synthesis genes in pakchoi petiole

因此，红色 LED 光照处理可能主要通过上调上海青硫苷合成密切相关的转录因子 *MYB28* 的表达水平来诱导其脂肪族合成关键基因 *CYP83A1*、*UGT74C1*、*GSTF11* 和 $FMO_{GS\text{-}OX5}$ 等的上调来促进 GNA、GBN 和 PRO 的合成，但对 *AOP2* 的表达水平的影响不稳定。

3 结论

综上，红色 LED 光照处理提高了硫苷合成相关基因 *MYB28*、*CYP83A1*、*GSTF11*、*UGT74C1* 等的表达水平，促进了其主要硫苷物质 GNA、PRO 和 GBN 等的合成，由此维持了上海青中总硫苷的含量；此外，红色 LED 光照处理还维持了上海青中较高的黑芥子酶活性，促进了硫苷的水解，由此保持了上海青中主要异硫氰酸酯 3-丁烯基异硫氰酸酯的含量。因此，红色 LED 光照处理可通过调控上海青中硫苷合成关键基因和黑芥子酶活性来保持其较高的硫苷和异硫氰酸酯含量，使其在采后仍能保持较高的营养和商业价值，并为上海青的采后保鲜提供理论及技术支持。

参考文献

[1] 宋晓燕,刘宝林.真空冷却中的上海青表面温度变化规律[J].农业工程学报,2012,28(1):266-269.

[2] Fahey J W, Wehage S L, Holtzclaw W D, et al. Protection of humans by plant glucosinolates: efficiency of conversion of glucosinolates to isothiocyanates by the gastrointestinal microflora [J]. Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.), 2012, 5(4): 603-611.

[3] 林海鸣,郑晓鹤,周军,等.硫代葡萄糖苷及异硫氰酸酯的抗癌和抗氧化作用进展[J].中国现代应用药学,2015,32(4):513-520.

[4] 张梦娟.青菜采后部分衰老相关指标变化[D].杭州:浙江工商大学,2018.

[5] Yuan S, Zuo J, Li X, et al. Micro-perforated packaging delays leaf yellowing and maintains flavor of postharvest pakchoi (*Brassicarapa* subsp. *chinensis*) following low-temperature storage [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2021, 29: 100681.

[6] Gu S, Fu L, Ren H, et al. Effects of exogenous cholesterol treatment on quality characteristics of pakchoy (*Brassica chinensis* L.) during storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 156: 110926.

[7] 吕佳煜,范林林,史君彦,等.硒处理对小白菜采后贮藏品质的影响[J].食品工业科技,2016,37(19):330-333.

[8] Zhu B, Yang J, Zhu Z. Variation in glucosinolates in pakchoi cultivars and various organs at different stages of vegetative growth during the harvest period [J]. Journal of Zhejiang University. Science B, 2013, 14(4): 309-317.

[9] 祝彪.外源植物生长调节物质对小白菜硫代葡萄糖苷的影响及相关合成基因表达研究[D].杭州:浙江大学,2012.

[10] 胡克玲,朱祝军.乙烯利对小白菜硫代葡萄糖苷含量的影响[J].福建农林大学学报(自然科学版),2013,42(5):485-492.

[11] 高升.1-MCP 处理对小白菜采后生理特性及品质的影响研究[D].杭州:浙江农林大学,2013.

[12] Yan Z, Zuo J, Zhou F, et al. Integrated analysis of transcriptomic and metabolomic data reveals the mechanism by which LED light irradiation extends the postharvest quality of pakchoi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino var. *communis* Tsen et Lee) [J]. Biomolecules, 2020, 10(2): 252.

[13] D'Souza C, Yuk H G, Khoo G H, et al. Application of light-emitting diodes in food production, postharvest preservation, and microbiological food safety [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2015, 14(6): 719-740.

[14] 闫志成.LED 白光照射对采后小白菜贮藏品质的影响[D].沈阳:沈阳农业大学, 2019.

[15] Zhou F, Yue X, Xu D, et al. LED irradiation delays postharvest senescence in pakchoi by regulating amino acid metabolism [J]. Postharvest Biology and Technology, 2022, 194: 112047.

[16] Zhou F, Zuo J, Xu D, et al. Low intensity white light-emitting diodes (LED) application to delay senescence and maintain quality of postharvest pakchoi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino var. *communis* Tsen et Lee) [J]. Scientia Horticulturae, 2020, 262: 109060.

[17] Fan X, Bian Z, Bo S, et al. Transcriptome analysis reveals the differential regulatory effects of red and blue light on nitrate

metabolism in pakchoi (*Brassica campestris* L.) [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2022, 21(4): 1015-1027.

[18] Song Y, Qiu K, Gao J, et al. Molecular and physiological analyses of the effects of red and blue LED light irradiation on postharvest senescence of pakchoi [J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 164: 111155.

[19] Zhang X, Zhang M, Chitrakar B, et al. Novel combined use of red-white LED illumination and modified atmosphere packaging for maintaining storage quality of postharvest pakchoi [J]. Food and Bioprocess Technology, 2022, 15(3): 590-605.

[20] Hu H L, Luo S F, An R H, et al. Endogenous melatonin delays sepal senescence and extends the storage life of broccoli florets by decreasing ethylene biosynthesis [J]. Postharvest Biology and Technology, 2022, 188: 111894.

[21] 韩颖,安容慧,孙莹,等.微酸性电解水对采后西兰花贮藏品质的影响[J].食品工业科技,2023,44(5):338-346.

[22] Zhang Y, Makaza N, Jiang C, et al. Supplementation of cooked broccoli with exogenous moringamyrosinase enhanced isothiocyanate formation [J]. Food Chemistry, 2022, 395: 133651.

[23] 赵欢欢,罗淑芬,周宏胜,等.光照和湿度对西兰花硫苷代谢及生物活性物质的影响[J].食品与发酵工业,2022,48(7): 201-210.

[24] Luo S F, An R H, Zhou H S, et al. The glucosinolate profiles of Brassicaceae vegetables responded differently to quick-freezing and drying methods [J]. Food Chemistry, 2022, 383: 132624.

[25] Klopsch R, Baldermann S, Hanschen F S, et al. Brassica-enriched wheat bread: Unraveling the impact of ontogeny and breadmaking on bioactive secondary plant metabolites of pakchoi and kale [J]. Food Chemistry, 2019, 295: 412-422.

[26] Mao P, Duan F, Zheng Y, et al. Blue and UV-A light wavelengths positively affected accumulation profiles of healthy compounds in pakchoi [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(4): 1676-1684.

[27] Wang J, Mao S, Wu Q, et al. Effects of LED illumination spectra on glucosinolate and sulforaphane accumulation in broccoli seedlings [J]. Food Chemistry, 2021, 356: 129550.

[28] Wiesner M, Zrenner R, Krumbein A, et al. Genotypic variation of the glucosinolate profile in pakchoi (*Brassicarapa* ssp. *chinensis*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(8): 1943-1953.

[29] 吕锡山.不同品种小白菜的生物学性状及品质比较研究[D].杭州:浙江农林大学,2013.

[30] Demir K, Sarıkamış G, Seyrek G Ç. Effect of LED lights on the growth, nutritional quality and glucosinolate content of broccoli, cabbage and radish microgreens [J]. Food Chemistry, 2023, 401: 134088.

[31] Zeng W, Tao H, Li Y, et al. The flavor of Chinese kale sprouts is affected by genotypic variation of glucosinolates and their breakdown products [J]. Food Chemistry, 2021, 359: 129824.

[32] 何超超.外源谷胱甘肽对小白菜硫代葡萄糖苷生物合成影响的初步研究[D].杭州:浙江农林大学,2018.

[33] Yi G E, Robin A H K, Yang K, et al. Exogenous methyl jasmonate and salicylic acid induce subspecies-specific patterns of glucosinolate accumulation and gene expression in *Brassica oleracea* L [J]. Molecules, 2016, 21(10): 1417.

[34] Mao P, Li Q, Li Y, et al. The beneficial functions of blue light supplementary on the biosynthesis of glucosinolates in pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) under greenhouse conditions [J]. Environmental and Experimental Botany, 2022, 197: 104834.

[35] Mikkelsen M D, Naur P, Halkier B A. Arabidopsis mutants in the *C-S* lyase of glucosinolate biosynthesis establish a critical role for indole-3-acetaldoxime in auxin homeostasis [J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology 2004, 37(5): 770-777.

[36] Ito T, Kitaiwa T, Nishizono K, et al. Glutathione degradation activity of γ-glutamyl peptidase 1 manifests its dual roles in primary and secondary sulfur metabolism in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal, 2022, 111(6): 1626-1642.

[37] Wei L Y, Liu C H, Zheng H H, et al. Melatonin treatment affects the glucoraphanin-sulforaphane system in postharvest fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.) [J]. Food Chemistry, 2019, 307: 125562.