



二氧化氯浸泡对双孢蘑菇褐变的抑制效应及其机理分析

李梅¹, 田世龙¹, 颌敏华¹, 李守强¹, 张欣², 程建新¹, 葛霞¹

(1 甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 兰州 730070; 2 兰州理工大学, 兰州 730070)

摘要:以‘W2000’双孢蘑菇为试验材料, 设清水(CK)和ClO₂浸泡(120 mg·L⁻¹)2个处理, 研究ClO₂浸泡处理在低温贮藏条件下对双孢蘑菇采后品质、生理及相关酶活性的影响。结果显示: ClO₂浸泡处理配合0℃低温贮藏可显著降低双孢蘑菇的呼吸强度, 推迟呼吸高峰的出现时间, 呼吸强度较CK降低29.2%, 并使呼吸高峰推迟5 d出现; 同时能够有效抑制子实体多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)的活性, 控制酚类氧化产物的积累, 减缓子实体褐化进程, 贮藏20 d时, 处理的总酚含量仅为0.81 μmol/mg。另外, ClO₂处理还可延缓子实体硬度的下降, 保持其可溶性固形物的含量, 并抑制开伞, 有效延长双孢蘑菇的贮藏期。研究表明, ClO₂处理+低温贮藏对双孢蘑菇具有较理想的保鲜效应, 可有效保持双孢蘑菇的外观和营养品质, 提高商品价值, 具有一定的实际应用价值。

关键词:双孢蘑菇; ClO₂浸泡处理; 褐变; 酚类氧化产物; 多酚氧化酶; 过氧化物酶

中图分类号: Q945.6⁺6

文献标志码: A

Suppression of ClO₂ Treatment on Browning and the Analysis of Browning Mechanism of *Agaricus bisporus*

LI Mei¹, TIAN Shi-long¹, XIE Min-hua¹, LI Shou-qiang¹, ZHANG Xin², CHENG Jian-xin¹, GE Xia¹

(1 Agricultural Product Storage and Processing Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China; 2 Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730070, China)

Abstract: An experiment was carried out with the objective of evaluating the effect on postharvest physiology and enzyme activities of *Agaricus bisporus* of ‘W2000’, with ClO₂ treatment in low-temperature storage. This study produced the following results: with ClO₂ treatment and storing at 0℃, respiration rate drops obviously, and the arrival of respiratory climacteric has been postponed, decreased 29.2% and delayed 5 d; Enzyme activities of PPO and POD were significantly suppressed in ClO₂-treated mushrooms, and restrained the accumulation of phenolic oxidation products, as well as slowing the browning rate of fruiting body. Stored 20 d, total phenolic content was only 0.81 μmol/mg. Besides, impregnating with ClO₂ could slow the decreasing speed of hardness of fruiting body, helps soluble solids content to be well maintained, while retarding the cap opening. ClO₂ treatment could effectively extend the storage period, maintain the high quality. Therefore, the commercial value of mushrooms has been greatly improved. In conclusion, the handling of dipping mushrooms in 120 mg·L⁻¹ ClO₂ solution and stored at 0℃ is very useful in keeping *A. bisporus* of ‘W2000’ fresh.

Key words: *Agaricus bisporus*; ClO₂ treatment; browning; phenolic oxidation products; PPO; POD

双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)又称蘑菇、洋蘑菇、白蘑菇, 颜色洁白, 组织脆嫩, 营养丰富, 它是目

① 收稿日期: 2012-03-21; 修改稿收到日期: 2012-07-23

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(1010RJZA179)

作者简介: 李梅(1978-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事农产品贮藏保鲜的研究。E-mail: limei7877@126.com

前唯一全球性栽培的食用菌,其产量占食用菌总量的50%。但双孢蘑菇含水量高,组织非常细嫩,菌盖表面没有明显的保护结构,采后常温下1~2 d,菇体内的水分就会大量蒸发散失,菌盖及菌褶开始破膜、开伞、失水、萎缩、褐变甚至腐烂,菌柄伸长,商品价值下降甚至丧失^[1]。

目前,市场上双孢蘑菇防腐保鲜多用荧光粉、苯甲酸钠和硫制剂(焦亚硫酸钠)等化学物质,这些物质不同程度地存在腐蚀性、污染以及对人体造成危害等无法解决的问题^[2]。因此,探索寻求一种更安全有效的双孢蘑菇保鲜剂及配套保鲜技术已成为当务之急。 ClO_2 是一种高效强氧化剂,具有消毒、杀菌、防腐、除臭、保鲜等多种功能。它不仅是一种杀菌剂,还是目前国际上公认的性能优良、效果最好的食品保鲜剂,且不影响被处理果蔬的风味和外观品质,其作为食品消毒剂和饮用水杀菌剂得到了美国农业部(USDA)和美国环境保护局(EPA)的认可^[3]。作者前期研究了 ClO_2 对‘W2000’双孢蘑菇的保鲜效果,在此基础上本试验进一步探讨 ClO_2 浸泡处理对‘W2000’双孢蘑菇褐变的抑制及褐变机理,以期对双孢蘑菇保鲜提供一种新方法,为 ClO_2 处理在果蔬贮藏上的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

‘W2000’双孢蘑菇于2011年8月3日采自甘肃省金昌市永昌县蘑菇试验站。选择菇体完整、颜色洁白、未开伞、无病虫害及机械伤的双孢蘑菇子实体,于当天在当地冷库预冷24 h后运回实验室。

1.2 仪器和试剂

Cary300紫外分光光度计(美国瓦里安公司);SP-3420型气相色谱仪(北京北风瑞利分析仪器(集团)有限责任公司);GXH-3051H型红外线果蔬呼吸测定仪(北京均方理化科技研究所);TGL-16LM高速冷冻离心机(湖南星科科学仪器有限公司);MC(BT 224s)电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司)。 ClO_2 (含量8%粉剂)购于天津市张大科技发展有限公司。

1.3 试验处理

在前期双孢蘑菇 ClO_2 浸泡处理浓度、处理时间、贮藏适宜温度和包装材料筛选试验的基础上,本试验设计2个处理:分别为清水(对照)和 $120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ClO_2 浸泡处理,处理时间15 min。每个处理10 kg,设3次重复。处理后的子实体晾干后用塑料泡

沫箱包装,于 $(0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 、相对湿度为85%~95%的冷库中贮藏。每5 d测1次理化指标,共计测5次。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 开伞率和失重率 从每个处理中抽取90个子实体,定期称重和统计开伞个数,并按公式计算。

失重率(%) = (初始鲜重 - 测定时重量) / 初始鲜重 $\times 100\%$

开伞率(%) = (开伞双孢蘑菇个数 / 处理双孢蘑菇个数) $\times 100\%$

1.4.2 子实体硬度和可溶性固形物含量 子实体硬度用GY-1型果实硬度计测定^[4],重复3次,每重复12个子实体;将双孢蘑菇切去表皮,然后将硬度计垂直于被测表面,在均匀力的作用下将探头压入子实体内5 mm,以此时指针的读数作为双孢蘑菇的硬度值。可溶性固形物用PR-101a糖度折射仪测定。(1)取样:从每个处理的3个重复内随机取10个子实体,每个子实体采用十字交叉法取样,切碎混匀(下同);(2)测定:取一定量(5.0 g)的子实体样品,切碎混匀后经双层纱布过滤,用滴管吸取样液进行测定,重复3次,计算平均值。

1.4.3 总酚含量和褐变度 总酚含量参考曹建康等^[5]的方法稍作修改。(1)取样:同1.4.2;(2)样液提取:称取5.0 g子实体样品,加入少许经预冷的1% HCl-甲醇溶液,在冰浴条件下研磨成匀浆,转入20 mL刻度试管中,定容混匀,于 4°C 避光提取20 min,双层纱布过滤,收集滤液待用;(3)测定:以1% HCl-甲醇溶液作空白参比调零,取滤液于波长280 nm处测定溶液吸光度值,重复3次,取平均值。焦性没食子酸标准曲线参考徐辉艳等^[6]的方法,根据标准曲线计算总酚含量。

褐变度采用比色法测定^[7]。(1)取样:同1.4.2;(2)样液制备:称取子实体样品5.0 g,冰浴条件下研磨匀浆,加10倍(质量比)预冷的蒸馏水,搅拌均匀后,3 500 r/min离心20 min,吸取上清液待用;(3)测定:以蒸馏水为空白对照,在420 nm波长处比色测定上清液吸光度,重复3次,取平均值。

1.4.4 子实体呼吸强度和乙烯释放速率^[8] 子实体呼吸强度用GXH-3051H型红外线果蔬呼吸测定仪通过气流法测定,气体流速为0.8 L/min,重复3次,每个重复15个子实体。乙烯释放速率用SP-3420型气相色谱仪测定,将15个子实体在2.5 L标本缸内密闭24 h后抽取1 mL气体测定,重复3次。色谱条件为:氢火焰检测器;GDX-502型色谱柱,柱温 50°C ;FID检测室温度 240°C ;载气为氮气,

流速 30 mL/min,外标法定量。

1.4.5 POD 和 PPO 活性 参考曹建康等^[5]的方法稍作修改。(1)取样:同 1.4.2;(2)粗酶液提取:取 5.0 g 子实体样品,置于研钵中,加入 10 mL 乙酸-乙酸钠提取缓冲液,在冰浴条件下研磨成匀浆,于 4℃、12 000×g 离心 30 min,收集上清液即为酶粗提取液;(3)POD 活性测定:取粗酶液 0.5 mL,然后加入 25 mmol/L 愈创木酚溶液 3.0 mL,0.5 mol/L H₂O₂ 溶液 200 μL 迅速混合启动反应,反应 15 s 时在 470 nm 处记录吸光值,连续测定,获取 6 个点的数据,重复测定 3 次,取平均值;(4)PPO 活性测定:取粗酶液 0.1 mL,然后加入 50 mmol/L、pH 5.5 的乙酸-乙酸钠缓冲液 4.0 mL,50 mmol/L 邻苯二酚溶液 1.0 mL 迅速混合启动反应,反应 15 s 时在 420 nm 处记录吸光值,连续测定,获取 6 个点的数据,重复测定 3 次,取平均值。

1.5 数据处理

试验数据采用 SPSS 15.0(SPSS, Inc. Chicago, USA)进行统计分析,用 Duncan's 检验法检验各处理之间在 0.05 水平下的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 ClO₂ 浸泡处理对双孢蘑菇子实体开伞率和失重率的影响

开伞情况直接决定双孢蘑菇的商品价值和食用价值,开伞率越低说明双孢蘑菇的耐贮性越好。从图 1, A 可以看出,贮藏期间处理和对照子实体的开伞率均呈逐渐上升趋势,但处理子实体的开伞率显著低于同期对照($P < 0.05$)。如对照子实体在贮藏 20 d 时开伞率达到 66.7%,较处理高 55%。由此表明,ClO₂ 处理可明显抑制双孢蘑菇子实体的开伞。

失重率是双孢蘑菇贮藏品质的另一重要衡量指标,贮藏期间双孢蘑菇通过单向蒸腾作用促进子实体表皮水分散失是导致其失重的重要原因之一。从图 1, B 可以看出,贮藏期间处理和对照子实体的失重率均呈逐渐上升趋势,但处理子实体的失重率显著低于对照($P < 0.05$)。对照子实体在贮藏 20 d 时失重率达到 5.8%,感官可见明显萎蔫症状,而处理的失重率仅为 2.1%,感官上也无可见萎蔫症状。可见,ClO₂ 处理可有效延缓双孢蘑菇子实体的萎蔫情况,降低失重率。

2.2 ClO₂ 浸泡处理对双孢蘑菇子实体硬度和可溶性固形物的影响

双孢蘑菇硬度的大小是判断子实体质地,反映

其耐贮性,衡量贮藏效果的主要指标。从图 2, A 可以看出,处理和对照子实体的硬度均呈逐渐下降趋势,且处理始终高于同期对照。如对照和处理子实体在贮藏 20 d 时硬度分别下降至 4.1 和 5.1 kg·cm⁻²,分别较入贮前下降 54.0%和 42.7%,但此时其间并不存在显著性差异($P > 0.05$)。由此表明,ClO₂ 处理在一定程度上可延缓双孢蘑菇子实体硬度的下降幅度。

同时,双孢蘑菇可溶性固形物含量随着贮藏时间的延长呈先上升后下降趋势,对照和处理子实体均在入贮 5 d 时达到最高值,且处理子实体基本上始终高于对照(图 2, B)。其中,对照和处理子实体在贮藏 20 d 时可溶性固形物含量分别为 3.87%和 5.00%,分别较入贮前下降了 37%和 18%,但两者间并不存在显著性差异($P > 0.05$)。因此,从总体上看 ClO₂ 处理较好地保持了双孢蘑菇的可溶性固形物含量。

2.3 ClO₂ 浸泡处理对双孢蘑菇子实体呼吸强度和乙烯释放量的影响

呼吸强度是衡量呼吸作用的一个指标,而呼吸作用直接影响双孢蘑菇的耐贮性和抗病性。由图 3 可以看出,对照和处理子实体依次于贮藏 5 和 10 d 时出现了呼吸高峰,且处理子实体的呼吸速率始终低于同期对照。其中,对照和处理子实体的最高呼吸速率分别为 615.74 和 435.95 mg·kg⁻¹·h⁻¹,处

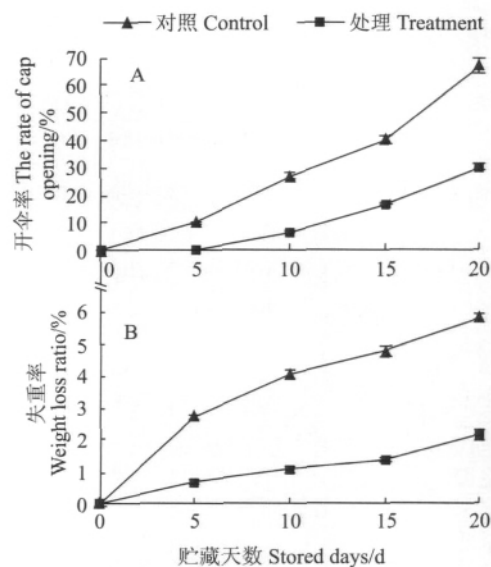


图 1 ClO₂ 处理对双孢蘑菇开伞率(A)和失重率(B)的影响

Fig. 1 Effect of ClO₂ treatment on rate of cap opening (A) and weight loss ratio (B)

理显著比对照低 29.2% ($P < 0.05$)。由此可见, ClO_2 处理可有效降低双孢蘑菇的呼吸强度并延迟呼吸高峰的到来。

双孢蘑菇属高呼吸强度食用菌类, 在贮藏过程中达到呼吸高峰之后又下降, 呼吸类型为跃变型。但整个贮藏过程中乙烯释放量均为 0, 因此乙烯有可能不是催化双孢蘑菇衰老的主要因素。

2.4 ClO_2 处理对双孢蘑菇子实体 PPO、POD 活性和总酚含量、褐变度的影响

双孢蘑菇褐变主要由酶促褐变引起, 多酚氧化酶(PPO)在双孢蘑菇褐变中起着很重要的作用, 被认为是双孢蘑菇褐变的主要因素之一^[8]。本试验结果(图 4, A)表明, 随着贮藏时间的延长, 处理和对照子实体的 PPO 活性呈现先上升后下降的趋势, 两者都在入贮 5 d 时达到峰值, 且处理子实体的活性始终小于对照。对照和处理子实体 PPO 活性峰值分别为 12.89 和 8.64 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ FW, 处理比对照显著降低 30.61% ($P < 0.05$)。可见, ClO_2 处理使双孢蘑菇子实体 PPO 活性峰值降低, 且出现的时间推迟 5 d。

活性, 从而延缓子实体的褐变速度。

POD 在细胞代谢过程中能催化酚类物质形成黑褐色物质从而引起褐变。由图 4, B 可以看出, 随着贮藏时间的延长, 对照和处理子实体的 POD 活性均呈先上升后下降的趋势, 其峰值分别出现在入贮 5 和 10 d; 对照子实体 POD 活性在入贮 10 d 前高于处理, 而后低于处理子实体。其中, 对照和处理子实体 POD 活性峰值分别为 16.78 和 11.64 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$, 处理比对照显著降低 30.61% ($P < 0.05$)。可见, ClO_2 处理使双孢蘑菇子实体 POD 活性峰值降低, 且出现的时间推迟 5 d。

从图 4, C 可以看出, 随着贮藏时间的延长, 双孢蘑菇完整组织中的氧化-还原平衡遭到破坏, 发生酚类氧化产物的积累, 总酚含量呈现先上升后下降的趋势, 但 ClO_2 处理变化幅度很小; 对照和处理子实体总酚含量分别在贮藏 5 和 10 d 时达到最大值,

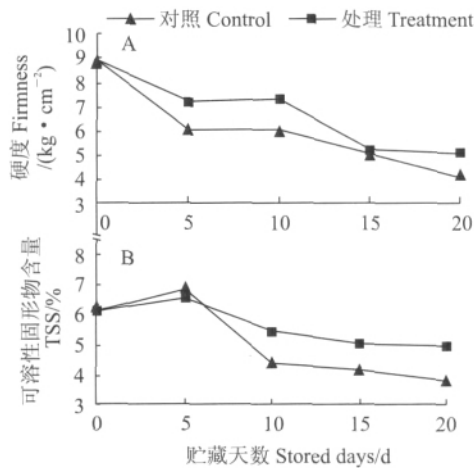


图 2 ClO_2 处理对双孢蘑菇子实体硬度(A)和可溶性固形物(B)的影响

Fig. 2 Effect of ClO_2 treatment on firmness (A) and total soluble solids (B)

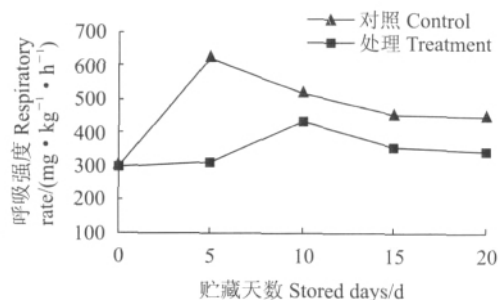


图 3 ClO_2 处理对双孢蘑菇呼吸强度的影响

Fig. 3 Effect of ClO_2 treatment on respiration rate

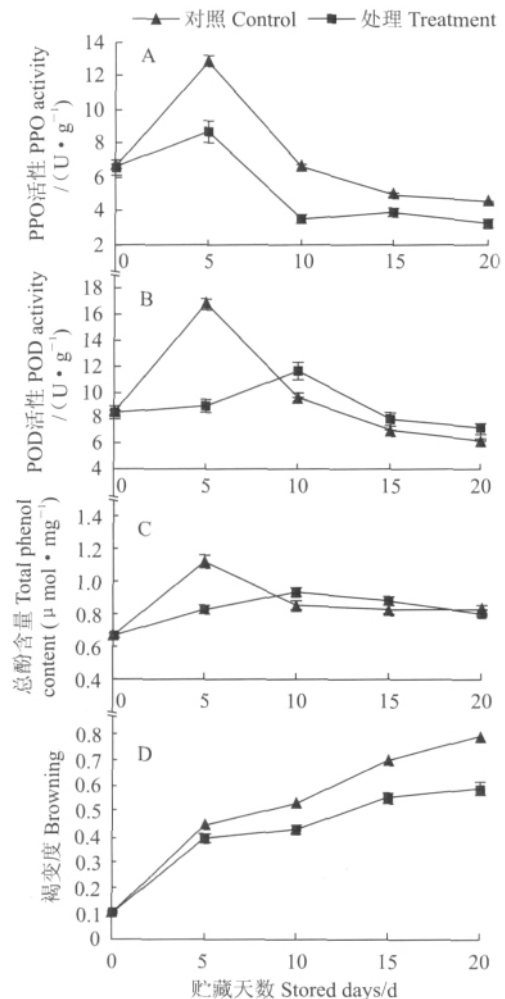


图 4 ClO_2 处理对双孢蘑菇 PPO(A)、POD(B)活性和总酚含量(C)、褐变度(D)的影响

Fig. 4 Effect of ClO_2 treatment on PPO (A), POD (B) activity and total phenol content (C), browning (D) of *A. bisporus*

峰值含量分别为 1.13 和 0.94 $\mu\text{mol}/\text{mg}$, 处理比对照显著降低 16.8% ($P < 0.05$), 但贮藏 20 d 时两者的总酚含量达到同一水平。可见, ClO_2 处理有效控制了贮藏期间双孢蘑菇酚类氧化产物的积累。

褐变是决定双孢蘑菇采后品质的首要指标, 不仅影响产品外观质量, 而且对风味和营养物质都有严重的损害。从图 4, D 可以看出, 随着贮藏时间的延长, 双孢蘑菇子实体的褐变程度均呈逐渐上升趋势, 但处理子实体的褐变程度始终明显小于对照 ($P < 0.01$)。其中, 在贮藏 20 d 时, 对照子实体的感官呈现黑褐色, 已为不可接受品质菇, 而处理子实体的褐变度值为 0.59, 感官仍具有商品价值。可见, ClO_2 处理明显减缓了双孢蘑菇贮藏过程中褐变的发生, 显著降低其褐变度, 保持其外观和营养品质。

3 讨 论

双孢蘑菇为高呼吸强度、跃变型的食用菌类, 采后最明显的变化是子实体褐变, 而褐变的主要原因是随着贮藏时间的延长, 酶促褐变使双孢蘑菇完整组织中的氧化-还原平衡遭到破坏, 发生酚类氧化产物的积累, 致使总酚含量逐渐增加, 从而引起子实体

褐变^[9]。

本试验发现, ClO_2 浸泡处理 (浓度 120 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 配合 0℃ 低温贮藏显著抑制了‘W2000’双孢蘑菇在贮藏期间的呼吸速率、PPO 和 POD 活性, 控制了酚类氧化产物的积累, 延缓了子实体褐化进程, 这与前人在油桃^[10]、樱桃^[11]、葡萄^[12] 上的研究结果相似, 与李南羿^[8]、刘吟^[13] 等在双孢蘑菇上的研究结果相吻合; 同时, ClO_2 浸泡处理延缓了子实体硬度的下降, 很好地保持了可溶性固形物的含量, 对开伞也具有很好的抑制作用, 从而较好的保持了双孢蘑菇的品质。Valerie 等^[14] 也报道, 利用 25~50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ClO_2 浸泡处理双孢蘑菇切片, 可有效减少微生物侵染和保持较好色泽, 提高商品价值, 本研究结果与之相似。

总之, ClO_2 浸泡处理配合低温贮藏对双孢蘑菇贮藏保鲜具有一定作用, 且 ClO_2 作为一种新兴保鲜剂具价格低廉、无污染、无残留等优点, 在果品贮藏中将得到越来越广泛的应用。近来有报道用固态缓释二氧化氯处理马铃薯^[15], 其防腐保鲜作用显著, 但二氧化氯在延缓果实成熟衰老方面的作用机理还有待进一步探讨, 从而更有效地指导生产实践。

参考文献:

- [1] 许英超. 双孢蘑菇气调保鲜机理的研究[D]. 山东淄博: 山东理工大学, 2006: 8-9.
- [2] 邓桂森, 周善涛. 果品贮藏与加工[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 39-41.
- [3] HWANG E S, CASH J N, ZABIK M J. Determination of denra-dation products and pathways of mancozeb and ethylenethiourea (ETU) Solutions due to ozone and chloripe dioxide treatments[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2003, **51**(5): 1 341-1 346.
- [4] ZHU J Y (朱继英), WANG X Y (王相友), et al. Effects of storage temperature on the postharvest physiology and quality of *Agaricus bisporus*[J]. *Transactions of the Chinese Society Agricultural Machinery (农业机械学报)*, 2005, **36**(11): 92-97 (in Chinese).
- [5] 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: 22-105.
- [6] XU H Y (徐辉艳), SUN X D (孙晓东), ZHANG P J (张佩君), et al. Determination of total polyphenols of chinese Jujube Juice by folin-ciocailleu method[J]. *Food Research and Development (食品研究与开发)*, 2009, **30**(3): 126-128 (in Chinese).
- [7] DENG L L (邓丽莉), MING J (明 建), TIAN W N (田维娜), et al. Effect of acetaldehyde fumigation on fresh-cut chinese water chestnut quality during room temperature storage[J]. *Food Science (食品科学)*, 2010, **31**(2): 233-236 (in Chinese).
- [8] LI N Y (李南羿), JIN Q L (金群力), LIU CH Y (刘春滢), et al. Enzymes associated with browning of *Agaricus bisporus* fruit bodies during storage[J]. *Acta Edulis Fungi (食用菌学报)*, 2009, **16**(3): 53-56 (in Chinese).
- [9] BIAN SH ZH (卞生珍), YANG Q X (杨清香). The physiological and chemical change of harvested *Agaricus bisporus*[J]. *Journal of Xinjiang Normal University (Nat. Sci. Edi.) (新疆师范大学学报·自然科学版)*, 2007, **26**(2): 80-83 (in Chinese).
- [10] DAI S Q (戴斯琴), RAO J P (饶景萍), ZHOU J (周 洁), et al. Effect of ClO_2 treatment on postharvest physiology and enzymatic activity of Nectarines[J]. *Acta Bot. Boreal. Occident. Sin. (西北植物学报)*, 2007, **27**(12): 2 466-2 470 (in Chinese).
- [11] WANG Y (汪 勇). The application of chlorine dioxide to the preservation of Xixiang Cherry[J]. *Northern Horticulture (北方园艺)*, 2008, (9): 198-201 (in Chinese).
- [12] SHENG W (盛 玮), XUE J P (薛建平), ZHANG A M (张爱民), et al. Study on the preservation of grape by chloring dioxide[J]. *Journal of Biology (生物学杂志)*, 2005, **22**(2): 43-44 (in Chinese).
- [13] 刘 吟. 双孢蘑菇采后褐变的相关生理生化变化及其保鲜技术研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010: 11-20.
- [14] VALERIE C B, DAVID O B. Effects of washing treatment on microbial and sensory quality of modified atmosphere (MA) packaged fresh sliced mushroom (*Agaricus bisporus*)[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2008, (48): 283-294.
- [15] LI M (李 梅), LI SH Q (李守强), XIE M H (谢敏华), et al. Effects of sucker controlling agent compound antiseptic on presevation of clean packing potato[J]. *Agricultural Science Technology (农业科技通讯)*, 2010, (8): 103-105 (in Chinese).