

香菇采后贮藏期间褐变的因素研究

韩春然, 闫宝军, 唐均安

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江省普通高等学校食品科学与工程重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150076)

摘要: 褐变是影响香菇的食用品质的主要原因, 为深入了解香菇在贮藏期间褐变发生的规律和成分的变化, 本实验以新鲜香菇为原材料, 研究了贮藏期间, 香菇的多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)活性, 总酚、还原糖含量, 褐变度(BD值)及Vc含量的变化, 分析了上述指标对褐变的影响。结果表明, 总酚和PPO活性与褐变度显著相关; 还原糖和Vc的含量与香菇的非酶促褐变也有一定的关系。

关键词: 香菇; 贮藏; 褐变机理; 总酚; Vc

文章编号: 1673-9078(2012)11-1441-1444

Study on the Browning of Postharvest Mushroom

HAN Chun-ran, YAN Bao-jun, TANG Jun-an

(Harbin University of Commerce, Key Laboratory for Food Science and Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: Browning is very common in mushroom during storage and it will lead to reduced eating quality and value of goods. In order to resolve the problem, changes of PPO activity, POD activity, total phenol, reducing sugar, browning degree and vitamin c of the postharvest mushroom during storage were studied, and the effect of the components and enzyme on the browning were analyzed. The results showed that, total phenols and PPO had significant effect on the browning, and the reducing sugar and vitamin C also affected the browning.

Key words: mushroom; storage; mechanism of browning; total phenols; vitamin C

香菇 (*Lentinus edodes*(Berk.)sing), 又称香覃、花菇等, 是我国传统的食用菌, 因其营养丰富, 味道鲜美, 被视为“菇中之王”, 而且含有麦角甾醇、香菇素和香菇多糖等生物活性成分。采后的香菇常温下贮藏1~2 d后, 菌盖及菌褶就会出现褐变现象。香菇褐变常伴随着以PPO、POD参与的酶催化反应。PPO是一种广泛存在于植物体内的含铜金属酶类, 能催化酚类物质氧化生成醌。PPO所能引起的反应常会使果蔬褐变, 产生异味, 并造成营养成分损失等^[1]。张美萍等^[2]证明, 鸡腿菇在贮藏过程中褐变度逐渐增大, 其褐变度与PPO活性显著相关, 均趋于上升, PPO活性的变化是引起鸡腿菇酶促褐变的主要原因。李伟^[3]也同样认为鲜菇褐变的主要原因是因为多酚氧化酶对鲜菇中的多酚类物质氧化聚合而引起的褐色变化。而POD的作用是清除细胞内过多的过氧化物, 起到酶系协调作用, 保护膜系统免受伤害, 从而延缓衰老^[4]。也有研究表明, POD在H₂O₂存在下也能催化酚类、类黄酮的氧化和聚合, 参与酚类物质的代谢, 导致组织褐变。林植芳^[5]等报道, 在荔枝的贮藏过程中, 外果皮和内

果皮的POD活性均增加, 从而认为POD也参与了酚类物质的氧化。除此之外, 以抗坏血酸氧化分解和糖与氨基酸反应(美拉德反应)等为代表的非酶褐变也是导致果蔬褐变的重要因素。因此本文通过测定香菇在贮藏期间PPO、POD的活性以及总酚、还原糖和Vc的含量变化与褐变度(BD)的相关性来探索香菇的褐变机理, 为褐变控制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

供试香菇来自哈尔滨市红旗乡, 采收后立即运回实验室, 选取无病虫害、无开伞、大小均一和无机械损伤的香菇用于试验。

主要设备: ESJ180-4型电子天平, ALC-210.4型分析天平, 722型可见分光光度计, TGL-16G-B离心机, DK-98-HA水浴锅, A-88型组织捣碎匀浆机, TCLBCD-118KA9冰箱。

1.2 试验方法

1.2.1 样品预处理

选用新鲜、无病虫害、无机械损伤、大小均一的香菇(伞直径4~5 cm)为试验样品, 用PE薄膜保鲜袋密封包装, 每袋5个, 香菇重量120~130 g, 在4℃

收稿日期: 2012-07-04

作者简介: 韩春然(1970-), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 食品保鲜

下贮藏备用。

1.2.2 测定指标与方法

1.2.2.1 褐变度 BD 的测定

随机抽取 10g 香菇样品与煮沸蒸馏水按 1:10 混合后, 在打浆机中匀浆 30 s 后, 取出以 4000 r/min 离心 15 min, 在波长为 410 nm 处测定其吸光度值, 结果以 $10 \times A_{410}$ 表示褐变程度。

1.2.2.2 多酚氧化酶 (PPO) 活性的测定

称取切碎菇柄 5 g, 加入 6.0 mL 预冷的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (PBS) 研磨至匀浆, 用 15.0 mL PBS 洗至离心管中, 以 8000 r/min 离心 15 min 后的上清液即为 PPO 粗酶液。取 2 mL PBS 于具塞试管中, 再分别加入 2 mL 0.04 mol/L $C_6H_6O_2$ 溶液和 2 mL PPO 粗酶液, 以 PBS 代替酶液做空白对照, 在 410 nm 处测定吸光值(A), 每 30 s 记录一次, 共读 5 min。以 A 对时间作图, 取反应最初的直线部分, 计算出每分钟的减少值为

$$\Delta A_{410} = (\Delta A_{\text{样品}} - \Delta A_{\text{空白}}) / 5 \text{ min}.$$

计算: 酶活性以每分钟变化 0.01 光密度 (OD) 值为一个 PPO 酶活性单位, 用 U/g FW 表示。重复测定 3 次, 取其平均值。

1.2.2.3 过氧化物酶 (POD) 活性的测定

采用分光光度法进行测定^[6]。

1.2.2.4 还原糖含量的测定

采用 DNS(3,5-二硝基水杨酸)法测定还原糖^[7-8]。

1.2.2.5 总酚含量的测定

随机抽取香菇 10 g, 加入 40 mL 蒸馏水匀浆 30 s, 在离心机中以 4000 r/min 离心 15 min, 取 1 mL 香菇上清液于 100 mL 棕色容量瓶中, 加入 60 mL 去离子水和 5 mL 福林酚试剂, 摇匀, 在 0.5~8 min 内加入 20% Na_2CO_3 溶液 15 mL, 摇匀, 用去离子水定容至 100 mL, 20~30 °C 暗处放置 2 h, 在 765 nm 处测吸光值。以没食子酸做标准曲线加以计算总酚含量。

1.2.2.6 维生素 C 含量的测定

采用 2,6-二氯酚靛酚滴定法测定^[9]。

2 结果与分析

2.1 褐变度值 (BD) 的变化

从图 1 可以看出, 香菇在 4 °C 冷藏过程中, 其 BD 值随着贮藏时间的延长一直呈上升趋势。0~2 d 时香菇褐变较缓, 2~6 d 时褐变速度稍微变快, 直到贮藏第 6~8 d 时褐变程度开始快速上升, 第 10 d 时 BD 值则达到最大。褐变是香菇采后品质劣变的重要表现之一, 正常组织因为酚类物质与酶的区域化分布而不发生褐变, 而受衰老和贮藏环境的影响, 香菇细胞膜结

构发生变化或破坏, 酚类与酶接触, 并在空气中氧的作用下使组织褐变, 影响品质。

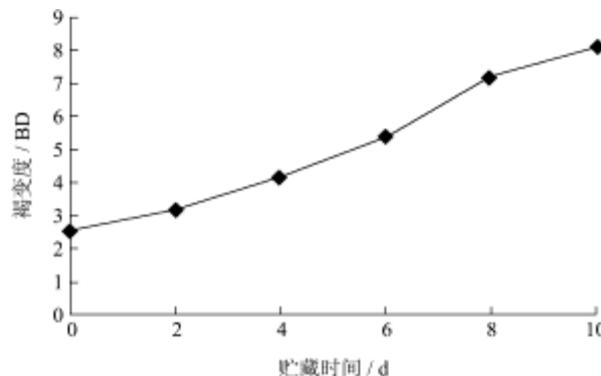


图 1 贮藏期间香菇褐变度的变化

Fig.1 Changes of browning degree of mushrooms during storage

2.2 香菇冷藏过程中 PPO 活力及总酚的变化

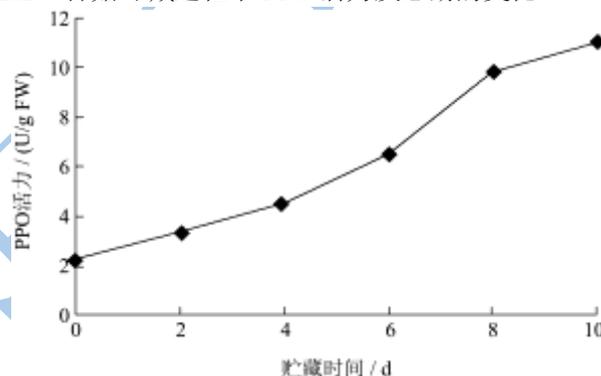


图 2 香菇在贮藏期间 PPO 活力的变化

Fig.2 Changes of PPO activity in mushroom during storage

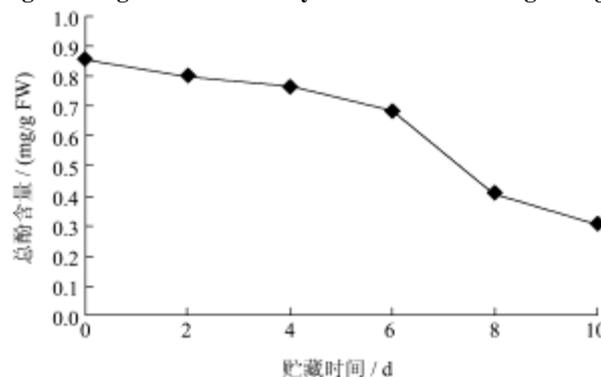


图 3 香菇贮藏期间总酚含量的变化

Fig.3 Changes in total phenols content during storage

由图 2 可以看出, 香菇在整个贮藏期间, PPO 活力一直呈上升趋势, 在贮藏初期, PPO 活力上升缓慢, 直到第 6~8 d 时 PPO 活力迅速上升, 此时的酶活力值约为第 1 d 的 4 倍, 与之相对应, 图 3 表明, 香菇中总酚含量则在贮藏期间呈下降趋势, 在 6~8 d 下降最为明显。酚类物质广泛存在于各类果蔬当中, 是果蔬酶促褐变的重要底物, 它的存在是果蔬酶促褐变发生的必要条件, 而多酚氧化酶 (PPO) 是一种含铜的金

属酶类,广泛存在于各类果蔬中,它能催化一些酚类物质生成醌,醌再经非酶促聚合,生成褐色物质,导致褐变^[10]。贮藏期间,由于香菇机体组织的衰老,原本无法接触的酶类和酚类物质相互接触,加之环境中氧气的存在,导致褐变的发生。图2和图3表明,贮藏期间,香菇中多酚氧化酶活力增加,促进香菇中酚类物质的氧化,使香菇褐变度不断增加。这与国内外许多学者对梨^[11]、荔枝^[12]、马铃薯^[13]、白色双孢蘑菇^[14]等果蔬中PPO参与酶促褐变反应研究的结论一致。

2.3 过氧化物酶(POD)的活力与褐变的关系

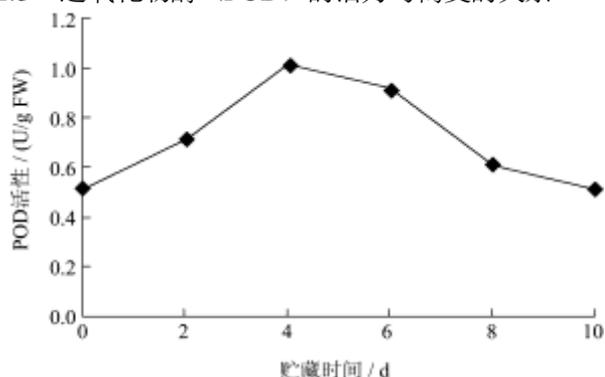


图4 香菇贮藏期间 POD 活力的变化

Fig.4 Changes of POD activity in mushroom during storage

从图4可以看出,POD的活性从0~4 d时呈上升趋势,第4 d时达到峰值,此后一直保持下降趋势,这与香菇在6~8 d褐变程度最深的趋势不一致。有研究表明^[15]过氧化物酶(POD)是保护香菇抵御活性氧伤害的一种酶,它在植物细胞中起保护酶的作用,同时可以清除 H_2O_2 ,防止细胞衰老。但也有研究表明在 H_2O_2 存在的基础上 POD 可以催化酚类及类黄酮的氧化聚合,进而导致香菇褐变。从本实验 POD 活力值与香菇褐变程度的变化趋势可以看出,二者相关性未达到显著水平,POD 在香菇酶促褐变的过程中可能是起到细胞保护酶的作用,清除 H_2O_2 ,从而抑制细胞衰老。此结论与许多其他报道的研究结果一致。

2.4 香菇贮藏期间还原糖含量变化与褐变的关系

如图5所示,香菇还原糖含量在贮藏期间呈先上升后下降趋势,在香菇贮藏第4 d时达到其含量的峰值,此后其含量则缓慢下降。这与 Hammand(1978)等对双孢蘑菇采后组分变化的研究结果基本相同。进而推测香菇贮藏初期还原糖含量上升是菇体为了满足采后机体呼吸代谢的需要由多糖降解而来,因而导致还原糖的积累,为褐变提供物质来源。贮藏4 d后,由于香菇呼吸作用的加强,还原糖作为营养物质而被消耗,导致其含量下降。还原糖含量与褐变程度之间存在不显著的正相关关系,但是并不能确定还原糖的变化是否能够促发褐变的产生。因此,只能推测此时较

高含量的还原糖可能会促使香菇发生羧氨非酶促褐变,但真正的作用机制还需进一步研究。

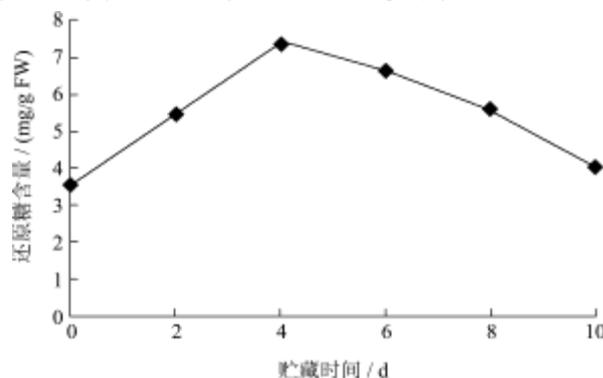


图5 香菇贮藏期间还原糖含量的变化

Fig.5 Changes of reducing sugar content in mushroom during storage

2.5 香菇贮藏期间 Vc 含量变化与褐变的关系

Vc 是果蔬中主要营养成分之一,因其具有还原性及酸性,极易氧化分解并与游离氨基酸反应,生成有色物质,形成褐变。但是,香菇子实体采后是否存在这种形式的褐变反应还未见报道,因此本文测定了香菇贮藏期间 Vc 含量的变化情况结果如图6所示。

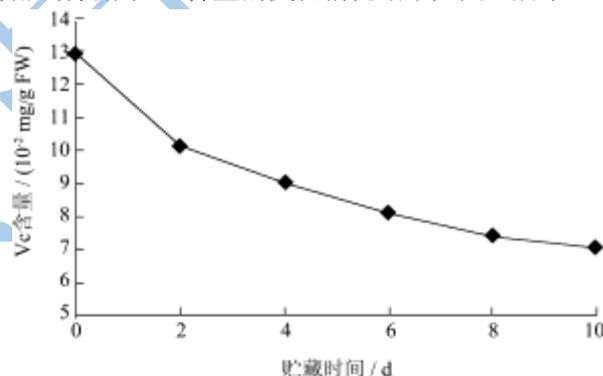


图6 香菇贮藏期间 Vc 含量的变化

Fig.6 Changes of vitamin C content in mushroom during storage

图6显示香菇贮藏期间 Vc 含量持续下降,相关性分析结果显示,Vc 含量与 BD 值呈显著负相关($P < 0.05$),说明 Vc 氧化等引起的非酶褐变可能也是造成香菇褐变的重要因素之一。

2.6 褐变度值与 PPO、POD 活力、总酚、Vc 以及还原糖含量的相关性分析

对香菇褐变度值变化与 PPO、POD 活力、总酚、Vc 和还原糖含量变化进行相关性分析,结果如表1所示。从表1可以看出香菇 BD 值与 PPO 活力和总酚的含量呈极显著相关($P < 0.01$),同时与 Vc 的含量呈显著负相关($P < 0.05$),而与 POD 的活力和还原糖的含量相关性未达到显著水平。这说明影响香菇褐变的关键酶是多酚氧化酶(PPO),它可以氧化酚类底物,导

致香菇褐变。而 Vc 含量的变化也对香菇褐变起着重要的作用。

表 1 香菇褐变度值与 PPO、POD 活力、总酚、Vc 和还原糖含量的相关性分析

Table 1 Coherence analysis of BD and PPO, POD activity, total phenols, vitamin C, reducing sugar content of mushroom

物质种类	相关系数	显著水平
PPO	r=0.998	**
POD	r=-0.233	
总酚	r=-0.980	**
Vc	r=-0.897	*
还原糖	r=0.166	

3 结论

3.1 香菇在贮藏期间,总酚含量持续下降,在 6~8 d 时下降较快,从 0.7 mg/g 迅速降至 0.4 mg/g; Vc 含量在整个贮藏期间也由最初的 0.13 mg/g 缓慢降至 0.07 mg/g; 还原糖含量则呈现先上升后下降的趋势。总酚和 Vc 的含量与 BD 值显著相关。

3.2 香菇在贮藏期间, PPO 活力值一直保持上升趋势,在 6~8 d 上涨迅速,其活力值由 6.5 U/g FW 上升至 9.9 U/g FW; POD 活力值则呈现先上升后下降的趋势。

3.3 从香菇在一个周期的贮藏来看,在香菇贮藏的 6~8 d, BD 值上升最快,褐变最严重,而此时 PPO 活力值上涨迅速,总酚含量下降趋势明显。相关性分析表明: PPO 活力值与 BD 值呈极显著正相关($P < 0.01$),与总酚含量呈极显著负相关($P < 0.01$)。这说明影响香菇褐变的关键酶是多酚氧化酶(PPO),它能够催化底物总酚,促使香菇褐变。

参考文献

- [1] 刘文山,肖凯军,郭祀远,等.苹果多酚氧化酶的提取及其抑制作用的研究[J].现代食品科技,2006,22(4):82-84
- [2] 张美萍,李月梅,陕永杰,等.鸡腿菇的酶促褐变机理及其抑制研究[J].食品工业科技,2009,30(2):84-86
- [3] 李伟.鲜菇的褐变与防护措施[J].中国食用菌,1993,12(5):46
- [4] 权俊萍,闰洁,李荣,等.月季鲜切花瓶插衰老过程中保护酶活性和脂质过氧化水平初探[J].石河子大学学报(自然科学版),2001,1:30-32
- [5] 林植芳,李双顺,张东林,等.采后荔枝果皮色素、总酚及有关酶活性的变化[J].植物学报,1988,30(1):40-45
- [6] 朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社,1990
- [7] 马乃良,许思昭,陈美洪,等.食品中糖类的测定方法探讨[J].现代食品科技,2006,22(1):139-141
- [8] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000
- [9] 刘静波.食品科学与工程专业实验指导[M].北京:化学工业出版社,2010
- [10] 林河通,席巧芳,陈绍军.果实贮藏期间的酶促褐变(综述)[J].福州大学学报(自然科学版),2002,30(z1):696-703
- [11] 郭永卫,韩漠.香水梨中多酚氧化酶活性的研究[J].烟台大学学报,2001,14(4):310-312
- [12] 陈文军,洪启征.贮藏中荔枝果皮衰老与褐变的研究[J].园艺学报,1992,19(3):227-232
- [13] 张学杰.马铃薯褐变机理及其控制途径[J].中国马铃薯,2000,14(3):158-161
- [14] 张晓聪.白色双孢蘑菇褐变机理及控制技术研究[D].福建农业大学硕士学位论文,2010,24-25
- [15] Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H. Peroxidase in roots and primary leaves of Phaseolus vulgaris copper and zinc phytoxicity a comparison[J]. Plant Physiology, 2002, 59: 869-876