

一氧化氮熏蒸处理对双孢蘑菇采后褐变及衰老的影响

王 欣¹, 寇莉萍¹, 阎瑞香², 关文强², 丁 武¹

(1. 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 国家农产品保鲜工程技术研究中心, 农业部农产品贮藏保鲜重点实验室, 天津 300384)

摘 要:以双孢蘑菇为试材,研究了在 $(10\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 条件下,不同浓度一氧化氮(NO)(30、60、90 $\mu\text{L/L}$)气体熏蒸处理对双孢蘑菇贮藏过程中感官品质、褐变度、多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)活性的影响。结果表明:外源 NO 熏蒸处理显著抑制了 PPO 活性的升高(8.90%~33.13%),减轻贮藏期的褐变程度。提高了贮藏后期 POD 活性(12.28%~76.27%),延缓了双孢蘑菇的衰老,有效延长了货架期(2 d)。其中,NO 浓度为 60 $\mu\text{L/L}$ 时效果最好。

关键词:双孢蘑菇;一氧化氮;褐变;衰老

中图分类号:S 646.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)22-0148-04

1996 年, Leshem 等首次报道 NO 可在植物体内合成。自此到目前为止的研究已发现, NO 对植物的呼吸作用^[2]、光形态建成^[3]、种子萌发^[4]、根和叶片的生长发育^[5-8]、气孔运动^[9]、果实蔬菜等组织的成熟和衰老^[10]、各种胁迫的响应^[11]及抗病防御反应^[12-13]等生理过程都有影响。

食用菌富含蛋白质、氨基酸、维生素、矿物质等营养成分^[14-15]。采收后由于组织柔软,含水量高,呼吸强度大,存放过程中易滋生腐败菌等微生物,菇体易发生老化、纤维化,从而出现开伞和褐变等变质现象,降低食用菌的营养价值和商品价值^[16]。

近年的研究表明,用外源 NO 处理草莓^[17]、猕猴桃^[18]、番茄^[19]、番木瓜^[20]等果蔬能够增强其保鲜效果,延长货架期。然而,国内对于 NO 在食用菌贮藏上的研究较少。虽然,张少颖^[21]用硝普钠(SNP)做为 NO 供体对双孢蘑菇进行浸泡处理,研究表明 NO 能够显著延缓双孢蘑菇的褐变、衰老以及品质的下降。但是,浸泡处理会耗费大量的人力和物力,且会破坏菇体表面原有的保护层。因此,该试验利用 NO 气体熏蒸处理采后双孢蘑菇,研究其对双孢蘑菇褐变度、多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)活性的影响,旨在为 NO 气体在双孢蘑菇的贮藏应用中提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

双孢蘑菇采自天津市西青区某食用菌种植场,采后立即运回天津市国家农产品保鲜中心实验室,挑选新鲜洁白、菇体完整、未开伞、无病虫害和机械伤、菌盖直径一致的食用菌进行试验。

1.2 试验方法

1.2.1 NO 气体的制备与收集 根据以下化学反应式^[1]制备 NO 气体: $2\text{KNO}_2 + 2\text{KI} + 2\text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow 2\text{NO}\uparrow + \text{I}_2 + 2\text{K}_2\text{SO}_4$ 。制备 A 液: 0.5 mol/L KI 与 0.5 mol/L H_2SO_4 等量混合; B 液: 0.5 mol/L 的 KNO_2 。在无氧环境下,将适量 B 液注入 A 液进行反应制得的无色气体为 NO 气体,用排水法收集所得气体,贮存备用。

1.2.2 试验设计 该试验共设 4 个处理,3 次重复。每处理称取双孢蘑菇 2.5 kg,置于通气的塑料筐内。NO 处理浓度分别为 0、30、60、90 $\mu\text{L/L}$,各处理分别放在 1 000 L 的密闭大帐中,大帐密封后,打开一进气孔,同时将帐内的小风扇打开,然后用注射器分别抽取 NO 气体注入大帐中,使帐中气体浓度分别控制在 0、30、60、90 $\mu\text{L/L}$,之后立即关闭进气孔,密闭 2 h 后通风 1 h,置于 $(10\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 下贮藏。

1.3 指标测定

1.3.1 感官评定^[22] 感官评定根据表 1 进行,利用加权法计算总分,色泽的加权系数为 0.4,萎蔫程度为 0.2,开伞情况为 0.4。

1.3.2 褐变度^[23] 取新鲜的双孢蘑菇样品 1.5 g,按 1:10(质量比)的比例加入蒸馏水,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 匀浆、过滤,取滤液于 25 $^{\circ}\text{C}$ 保温 5 min 后稀释 1 倍。在波长 410 nm 处测定其吸光度,褐变程度以 $A_{410}\times 10$ 表示。

第一作者简介:王欣(1989-),女,硕士,研究方向为果蔬贮藏保鲜。
责任作者:寇莉萍(1972-),女,博士,副教授,现主要从事新鲜果品及蔬菜贮藏与加工等研究工作。
基金项目:天津市重点支撑资助项目(09ZCKFNC00600)。
收稿日期:2011-09-05

表 1 双孢蘑菇贮藏效果感官评分标准

级别	色泽	萎蔫程度	开伞情况	分值
1	无变化	无萎蔫	无开伞	6
2	轻微颜色变化	开始萎蔫	有开伞趋势	5
3	颜色加深	10%~25%萎蔫	10%~25%开伞	4
4	轻微褐色	25%~50%萎蔫	25%~50%开伞	3
5	褐色	50%以上萎蔫	50%以上开伞	2
6	深褐色	全部萎蔫	几乎全部开伞	1

1.3.3 PPO 活性 酶液提取:称取样品 5 g 于预冷的研钵中,加入适量 0.05 mol/L pH 6.5 的磷酸缓冲液,冰浴研磨成匀浆,加入缓冲液冲洗研钵,并使最终体积为 10 mL。于 4℃、10 000 r/min 下离心 20 min,上清液即为 PPO 粗提液,记下总体积。活性测定:分别移取 3.9 mL 0.05 mol/L pH 6.5 的磷酸缓冲液、1.0 mL 0.1 mol/L 邻苯二酚和 2 mL 酶液于试管中,每组做 3 次重复,用磷酸缓冲液调零。反应体系加入酶液后,于 37℃ 水浴保温 10 min,迅速放入冰浴中,立即加入 2 mL 20% 三氯乙酸终止反应,于 420 nm 下测其吸光度值。计算:酶活力 = $(A \times D) / 0.01t$ 。式中:A-吸光度值;t-反应时间;D-稀释倍数(总体积/取用体积)

1.3.4 POD 活性 酶液提取:称取样品 5 g 于预冷的研钵中,加入适量 0.05 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液,冰浴研磨成匀浆,加入缓冲液冲洗研钵,并使最终体积为 10 mL。于 4℃、转速为 10 000 r/min 离心 20 min,上清液即为 POD 粗提液,记下总体积。活性测定:分别移取 2.9 mL 0.01 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液、1.0 mL 2% H_2O_2 、1.0 mL 0.05 mol/L 愈创木酚和 2 mL 酶液于试管中,每组做 3 次重复,用磷酸缓冲液调零。反应体系加入酶液后,于 37℃ 水浴保温 15 min,迅速放入冰浴中,立即加入 2 mL 20% 三氯乙酸终止反应,于 470 nm 下测其吸光度值。计算:酶活力 = $(A \times D) / 0.01t$ 。式中:A-吸光度值;t-反应时间;D-稀释倍数(总体积/取用体积)。

1.4 数据分析

用 Excel 软件对数据进行计算处理,用 DPS 软件进行方差分析,LSD 法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NO 熏蒸处理对双孢蘑菇感官品质的影响

由表 2 可以看出,贮藏 3 d 时,各处理感官品质均有下降,至 7 d 时,双孢蘑菇基本丧失商品价值。每个观察期,60 $\mu\text{L/L}$ 熏蒸的双孢蘑菇感官品质均高于其它处理,并优于对照,至 9 d 时,其它浓度熏蒸处理的双孢蘑菇已经严重开伞褐变,而 60 $\mu\text{L/L}$ 熏蒸的双孢蘑菇仍具有一定的商品价值,感官品质明显优于其它处理。说明 60 $\mu\text{L/L}$ NO 对双孢蘑菇进行熏蒸处理,能够更好的延长双孢蘑菇的贮藏时间。

表 2 不同浓度 NO 熏蒸处理对双孢蘑菇感官品质的影响

NO 浓度 / $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$	贮藏时间/d	0	3	5	7	9
0	6	4.6	3.4	2.4	1.6	
30	6	4.6	3.4	2.4	1.6	
60	6	5.0	3.8	3.2	2.6	
90	6	4.2	3.0	2.8	2.0	

2.2 不同浓度 NO 熏蒸处理对双孢蘑菇褐变度的影响

由图 1 可知,双孢蘑菇采后贮藏期间,褐变度不断上升。CK 组双孢蘑菇褐变度显著高于其它处理($P < 0.05$),可见,NO 熏蒸处理能够有效地抑制采后双孢蘑菇褐变。30 $\mu\text{L/L}$ NO 处理与 90 $\mu\text{L/L}$ NO 处理双孢蘑菇的褐变度差异不显著($P > 0.05$),而经 60 $\mu\text{L/L}$ NO 处理的双孢蘑菇褐变度与其它组有显著差异,且低于其它处理。贮藏 3 d 时,60 $\mu\text{L/L}$ NO 处理的双孢蘑菇褐变度比对照组低 23.3%,至贮藏 7 d 时,仍比对照组低 20%。可见,60 $\mu\text{L/L}$ NO 熏蒸处理双孢蘑菇能更好的抑制其褐变。

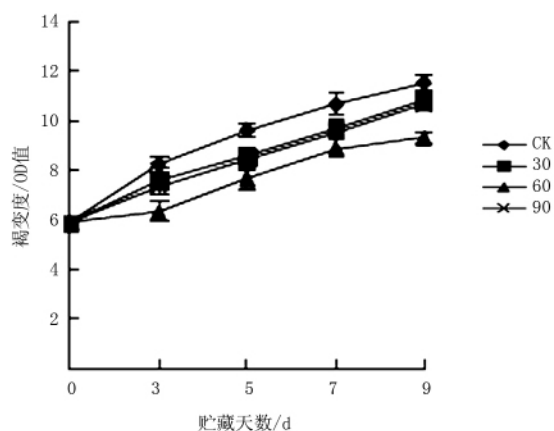


图 1 不同浓度 NO 熏蒸处理对双孢蘑菇褐变度的影响

2.3 不同浓度 NO 熏蒸处理对双孢蘑菇 PPO 活性的影响

由图 2 可知,采后贮藏期间,双孢蘑菇的 PPO 活性呈现上升趋势。CK 组双孢蘑菇 PPO 活性显著高于经 NO 处理的双孢蘑菇,表明 NO 熏蒸处理双孢蘑菇可有效抑制其贮藏期间 PPO 活性升高,延缓由于 PPO 活性上升导致的酶促褐变的进程。在贮藏前 5 d,30 $\mu\text{L/L}$ NO 处理和 90 $\mu\text{L/L}$ NO 处理双孢蘑菇 PPO 活性差异不显著($P > 0.05$),但 60 $\mu\text{L/L}$ NO 处理的双孢蘑菇活性在贮藏期间低于其它处理,且差异显著($P > 0.05$),其中在 5 d 天时,相比于对照降低了 33.13%。由此可见,60 $\mu\text{L/L}$ NO 熏蒸处理双孢蘑菇能更好的抑制其 PPO 活性的升高,延缓酶促褐变。

有研究表明,蘑菇的酶促褐变主要是由多酚氧化酶催化组织中的酪氨酸等酚类物质氧化引起的^[24],所

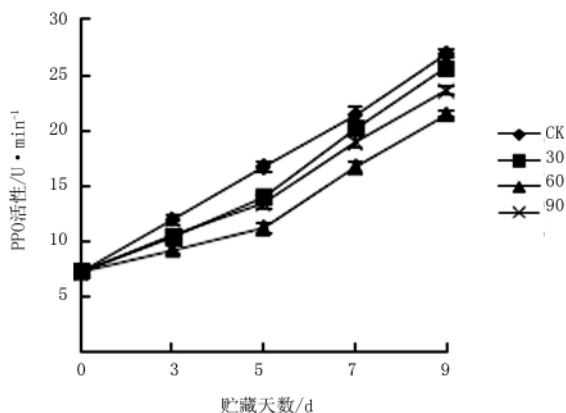


图2 不同浓度 NO 熏蒸处理对双孢蘑菇 PPO 活性的影响

以 PPO 活性增强必将导致褐变速率加快。

2.4 不同浓度 NO 熏蒸处理对双孢蘑菇 POD 活性的影响

由图 3 可知,采后贮藏期间,各处理双孢蘑菇的 POD 活性呈现不同趋势。CK 组双孢蘑菇 POD 活性在 3 d 时出现高峰值,随后呈现逐渐下降趋势。经 NO 熏蒸处理的双孢蘑菇活性在 5 d 时才出现峰值,并且呈现先下降后上升再下降的趋势。在 5 d 后,经不同浓度 NO 熏蒸处理的双孢蘑菇活性均高于对照组。由此表明,经 NO 熏蒸处理能够延缓双孢蘑菇 POD 活性峰值出现的时间,提高 POD 活性,延缓双孢蘑菇的衰老。其中 60 $\mu\text{L/L}$ NO 处理的双孢蘑菇活性在贮藏 3 d 后与其它处理差异显著 (12.28% ~ 76.27%, $P>0.05$),且活性高于其它处理。可见,60 $\mu\text{L/L}$ NO 熏蒸处理双孢蘑菇能更好的延缓双孢蘑菇的衰老。

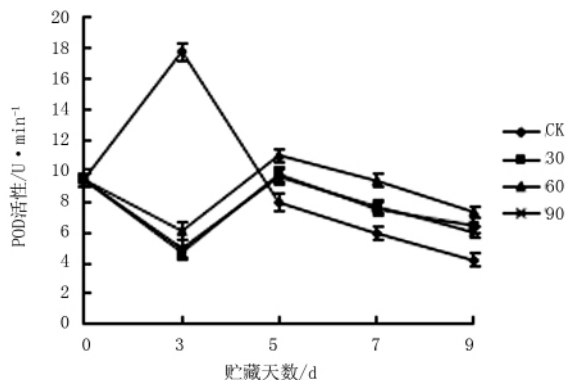


图3 不同浓度 NO 熏蒸处理对双孢蘑菇 POD 活性的影响

3 结论与讨论

新鲜的双孢蘑菇菇体干净洁白,随着贮藏时间的延长,菇体颜色加深,褐变程度加剧,严重影响其商品价值。因此,褐变是决定双孢蘑菇采后品质的首要指标。有研究表明,蘑菇的酶促褐变是以菇体内的酚醛类物质为底物,在有氧存在的条件下,经多酚氧化酶(PPO)的催化作用,将无色的酚类化合物氧化成红褐

色的醌,醌再与氨基酸反应,氧化、缩合、重生成类黑色聚合物,其化合物积聚而呈褐色^[24]。该试验结果表明,外源 NO 熏蒸处理能够明显抑制双孢蘑菇采后贮藏期间 PPO 活性的升高,延缓了双孢蘑菇贮藏期间的褐变,更好的保持了双孢蘑菇的商品价值。

POD 是植物体内活性氧自由基酶促消除体系的主要酶类之一,其作用是清除组织内低浓度 H_2O_2 ^[25]。有研究^[26-27]表明,NO 通过影响 CAT、POD 的活性调节内源 H_2O_2 的含量。该试验结果验证了这一观点。该试验结果表明,外源 NO 处理可以通过推迟 POD 活性峰值的出现时间,提高 POD 的活性,防止活性氧的积累,从而延缓双孢蘑菇的衰老,延长货架期。这可能是 NO 可以通过与 POD 的金属辅基相作用而调节其活性的结果,具体作用机理有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Leshem Y Y, Haramaty E. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn foliage [J]. Plant Physiol, 1996, 148: 258-263.
- [2] Millar A H, Day D A. Nitric oxide inhibits the cytochrome oxidase but not the alternative oxidase of plant mitochondria [J]. FEBS Lett, 1996, 398(2-3): 155-158.
- [3] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and deetiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three lightinducible responses in plants [J]. Planta, 2000, 210: 215-221.
- [4] Caro A, Puntarulo S. Nitric oxide generation by soybean embryonic axes. Possible effect on mitochondrial function [J]. Free Radic Res, 1999, 31: 205-212.
- [5] Ribeiro E A Jr, Cunha F Q, Tamashiro W M S C, et al. Growth phasedependent subcellular localization of nitric oxide synthase in maize cells [J]. FEBS Lett, 1999, 445: 283-286.
- [6] Pagnussat G C, Simontacchi M, Puntarulo S, et al. Nitric oxide is required for root organogenesis [J]. Plant Physiol, 2002, 129: 954-956.
- [7] Pacoda D, Montefusco A, Piro G, et al. Reactive oxygen species and nitric oxide affect cell ml [J]. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(10): 1143-1157.
- [8] Hu X Y, Neill S J, Zhang C C. Nitric oxide mediated gravitropic bending in soybean roots [J]. Plant Physiology, 2005, 137(2): 663-671.
- [9] Mata C G, Lamattina L. Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells [J]. Plant Physiol, 2002, 128: 790-792.
- [10] Leshem Y Y, Wills R B H, Ku V V V. Evidence for the function of the free radical gas-nitric oxide (NO₂) as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plant [J]. Plant Physiol Biochem, 1998, 36(11): 825-833.
- [11] Laxat A M, Beligni M V, Lamattina L. Mitric oxide preserves the level of chlorophyll in potato leaves infected by phytophthora infestans [J]. Eur J Plant Pathol, 1997, 103: 643-651.
- [12] Goldstein S, Squadrito G L. Direct and indirect oxidation by peroxynitrite, neither involving the hydroxyl radical [J]. Free Radic Biol Med, 1996, 21: 965-974.
- [13] 董海丽, 井金学. 活性氧和一氧化氮在植物抗病反应中的作用 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(1): 161-166.
- [14] del Tom G V, Vega R C, Garfn-Aguilar M E, et al. Biological quality of proteins from three strains of *Pleurotus* Bpp. [J]. Food Chemistry, 2006, 94(4): 494-497.

- [15] 刘振江,王红育. 食用菌功能食品的研究与开发[J]. 食品科技, 2007(1):29-31.
- [16] 段颖,耿胜荣,韩永斌,等. 蘑菇保鲜剂的筛选及其保鲜效果[J]. 食品与发酵工业, 2004,30(5):143-146.
- [17] Wills R B H, Ku V V V, Leshem Y Y. Fumigation with nitric oxide to extend the postharvest life of strawberries [J]. Postharvest Biology and Technology, 2000,18(1):75-79.
- [18] 朱树华,孙丽娜,周杰. 一氧化氮对猕猴桃果实营养品质和活性氧代谢的影响[J]. 果树学报, 2009,26(3):334-339.
- [19] 徐福乐. 外源一氧化氮熏蒸处理对番茄采后活性氧代谢的影响[J]. 食品科技, 2010,35(1):66-71.
- [20] 郭芹,吴斌,王吉德,等. NO 处理对番木瓜采后贮藏性的影响[J]. 食品科学, 2011,32(4):227-231.
- [21] 张少颖. 一氧化氮对双孢蘑菇采后生理及贮藏品质的影响[J]. 中国农学通报, 2010,26(12):40-44.
- [22] 葛林梅,邵海燕,毛金林,等. 不同包装方法对低温贮藏双孢蘑菇品质的影响[J]. 中国食品学报, 2009,9(3):129-134.
- [23] 苏新国,蒋跃明,李月标,等. 4-HR 对鲜切莲藕褐变以及贮藏品质的影响[J]. 食品科学, 2003,24(12):142-145.
- [24] 池致念,柯家耀,王泽生. 双孢蘑菇褐变的酶学机理研究(续)[J]. 中国食用菌, 1999,18(6):17-18.
- [25] 蔡以滢,陈珈. 植物防御反应中活性氧的产生和作用[J]. 植物学通报, 1999(2):83-86.
- [26] 朱树华,周杰,束怀瑞,等. 一氧化氮延缓草莓成熟衰老的生理效应[J]. 中国农业科学, 2005,38:1418-1424.
- [27] Faassen E V, Vanin A. NO trapping in biological systems with afunctionalized zeolite network[J]. Plant Physiol Biochem, 2006, 15(3): 233-240.

Effect of Nitric Oxide Fumigation on the Browning and Senescence of Postharvest *Agaricus bisporus*

WANG Xin¹, KOU Li-ping¹, YAN Rui-xiang², GUAN Wen-qiang², DING Wu¹

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest University of Agriculture and Forestry Science, Yangling, Shaanxi 712100;

2. National Agricultural Preservation Engineering Technology Research Center, Key Laboratory of Postharvest Physiology and Storage of Agricultural Products, Tianjin 300384)

Abstract: Taking *Agaricus bisporus* as test material, effect of various NO fumigation processing (30, 60, 90 $\mu\text{L/L}$) on the browning and senescence of *Agaricus bisporus* during storage at $(10 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ were studied. The results showed that NO fumigation processing could significantly suppress the PPO activity increase (8.90%~33.13%), reduced the browning level during storage period, improve the POD activity (12.28%~76.27%) in the late stage of storage, therefore, it delayed the senescence of *Agaricus bisporus* and prolonged the shelf life effectively (two days). Among the concentration tested, the best effect appeared at 60 $\mu\text{L/L}$.

Key words: *Agaricus bisporus*; nitric oxide; browning; senescence

适合秋季吃的 4 种水果

秋季是盛产水果的季节,但是很多人又不知道到底吃什么才是最具营养、最健康的。在此推荐几种水果,每种水果还有治病功效,是秋季饮食的健康之伴。

水果之一:柚子

营养专家说,每 100 g 柚子中碳水化合物的含量较其它水果低出不少,糖尿病和肥胖患者可适当多吃柚子。选购柚子最好选上尖下宽,表皮薄有光泽,色泽呈淡绿或淡黄,看起来柔软、多汁的;二要闻,芳香浓郁的柚子已熟透;三是按压叩打果实外皮,下陷没弹性的柚子质量差。但身体虚寒的人最好少吃柚子。

水果之二:鲜枣

作用:软化血管、抗癌降压。

鲜枣有健润脾胃、养血、补气的功效,相比较其它秋季水果,其维生素 C、钾、镁等含量均较高。维生素 C 可软化血管、预防高血压、冠心病和动脉硬化,并有助于阻断致癌物质的形成。但枣偏热,普通人一天吃 8~10 个就可以了。痰多、便秘、腹胀气的人,经期的女性,胃病患者和糖尿病患者都不适宜多吃。

水果之三:石榴

作用:降便秘、治腹泻。

石榴每 100 g 含 4.8 g 可食用膳食纤维。另外,它含有的膳食纤维具有水溶性,在人体消化道中不会被酶分解,既可以防止便秘,又能缓解腹泻。红石榴能够减少氧化损伤,有利美白、延缓衰老。石榴有收敛作用,便秘的人不宜多吃。

水果之四:板栗

补肾强骨但不宜多吃。

板栗是补肾强骨之果,它含有的矿物质有钾、镁、铁、锌等,其中钾元素的含量很“突出”。板栗很适合高血压患者食用,它能防治高血压、冠心病、动脉硬化、骨质疏松等疾病,用板栗炖汤、熬粥、煮饭等都是不错的选择。但食用时需要注意,板栗吃多了容易引起便秘,每天最多吃 10 个就够了。