

# 食用菌采后品质劣变相关的生理生化变化

易琳琳, 应铁进\*

(浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江杭州 310029)

**摘要:**食用菌已经成为现代饮食结构中的重要组成部分。但是采后食用菌不耐储存,会发生许多生理生化变化,包括组织褐变,细胞壁结构变化,最终导致褐变、子实体老化等品质劣变。这些生理生化变化是按照一定程序,因此伴随着相关基因表达的变化,这些基因表达的变化促进了生理生化的变化。本文主要简述了采后食用菌老化、细胞壁结构变化以及褐变相关的生理生化变化。

**关键词:**食用菌,褐变,老化

## Physiological and biochemical variations in postharvest mushrooms related to their quality deterioration

YI Lin-lin, YING Tie-jin\*

(School of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** Mushroom has become an important part in modern dietary structure. But collected mushrooms are not easy to store due to rapid physiological and biochemical changes, including tissue browning and change of cell wall, which would result in some quality deterioration like browning, ageing of sporocarp, etc. These physiological and biochemical changes are generated on the basis of genetic procedures, so they are driven by relative gene expression variations. This review mainly summarized changes in post harvest mushrooms such as ageing, cell wall change, and browning in association with physiological and biochemical variations.

**Key words:** mushroom, browning, senescence

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)24-0434-04

食用菌大多属于担子菌亚门,少数属于子囊菌亚门一类的可食用真菌,主要包括双孢菇、香菇、金针菇、平菇等。食用菌营养丰富,含有大量的多糖、蛋白质、多不饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和维生素E等营养元素<sup>[1]</sup>。食用菌具有很强的呼吸强度和超过90%的含水量<sup>[2]</sup>,因此不耐贮藏,容易发生褐变、软化、菇柄伸长、开伞、老化、细菌或病毒感染等品质劣变。最常见的双孢菇在发育的第4阶段采摘或者菌盖直径在50~60mm<sup>[3-4]</sup>,此时双孢菇孢子还未形成,为了完成孢子形成和释放,柄组织延长,帽组织面积增大、开放并释放孢子。双孢菇采后基因表达变化的研究发现:表达量增加的基因编码的蛋白质涉及到多聚物的降解和代谢,细胞壁合成,压力应激,细胞色素P450活性和DNA结合,这些变化表明了采后双孢菇的多重生理变化<sup>[5]</sup>。香菇是另一种常见食用菌,关于香菇采后基因表达变化的研究也较多,涉及到子实体老化、酪氨酸酶编码基因和漆酶基因表达增加、

混合型葡聚糖酶基因和 $\beta$ -1,6-葡聚糖酶基因表达增加、降解细胞壁的一种几丁质酶的表达增加、两种转录因子的基因表达增加,还涉及到碳代谢的核黄素形成酶基因、苹果酸酶基因和MAP激酶表达增加<sup>[6]</sup>,这些采后高表达的基因涉及到多种生理生化变化,最终导致子实体褐变、细胞壁裂解和子实体老化。本文主要总结了采后食用菌的一些生理生化变化,主要包括组织褐变、细胞壁降解和子实体老化等,并涉及到这些变化中部分基因的表达所起的作用。

### 1 采后食用菌的组织褐变

组织褐变是食用菌一种常见品质损失现象。催化子实体褐变过程的主要酶类是多酚氧化酶(PPOs)和氧化酶类,多酚氧化酶主要是指酪氨酸酶,双酚氧化酶、漆酶<sup>[7]</sup>等,其中起主要作用的是酪氨酸酶,而漆酶作用很微小<sup>[8]</sup>。研究发现,PPO活性在采后前5d逐渐增加而后下降,POD活性先增加然后随着褐变的发生逐渐下降,而后期大部分褐变发生时又有所增加<sup>[9]</sup>。酪氨酸酶催化单酚化合物酪氨酸形成二元酚即3,4-二羟基苯丙氨酸,之后进一步被氧化成多巴醌,在非酶催化条件下,醌转化成多巴色素(红色)、5,6-二羟基吲哚和5,6-吲哚醌(黄色),在经过聚合工程形成黑色素(紫色)和黑素(黑色)<sup>[10-11]</sup>。

收稿日期:2012-06-25 \* 通讯联系人

作者简介:易琳琳(1984-),女,硕士研究生,主要从事香菇采后木质化相关基因方面的研究。

基金项目:国家自然科学基金(31171766)。

酪氨酸酶是一种双核含铜酶,是4聚体,含有2个大约43ku(H亚基)和2个大约14ku(L亚基),引发酪氨酸酶活性的是H亚基<sup>[12]</sup>。双孢菇酪氨酸酶的H亚基来于*ppo3*基因,L亚基是*orf239342*的产物。H亚基在脱氧状态包含双核铜结合位点,三个组氨酸残基结合一个铜离子,组氨酸侧链则通过氢键或者通过胱氨酸的二硫键固定方向,而钙离子能够稳定酶的4聚体结构<sup>[13]</sup>。双孢菇酪氨酸酶的H亚基的同源基因*ppo1*、*ppo2*、*ppo3*和*ppo4*都已经克隆和鉴定出来<sup>[14-16]</sup>,但是其同源基因能不能代替*ppo3*基因的功能还不清楚。降低酪氨酸酶可以抑制褐变过程,食用菌本身可以产生抗酪氨酸酶活性的化合物,减缓自身褐变过程。研究发现食用菌合成抗酪氨酸酶活性的主要物质是脂肪酸类,特别是三酰甘油,合成这些脂肪酸酶类基因的表达情况,能影响子实体褐变过程<sup>[17]</sup>。

影响子实体褐变因素很多,除了酪氨酸外, $\gamma$ -谷酰基-4-酚也涉及到子实体褐变,这个化合物主要由 $\gamma$ -谷酰基-转移酶合成<sup>[18]</sup>。此外,采后储存条件也显著影响着子实体褐变,特别是储存温度和湿度。降低采后储存食用菌的酪氨酸酶活性能有效地延长食用菌货架寿命。很多人研究了降低采后食用菌多酚氧化酶的储存条件,提高CO<sub>2</sub>浓度、降低O<sub>2</sub>浓度能够降低香菇呼吸速率及多酚氧化酶活性、延长储存时间<sup>[19]</sup>。现阶段,降低采后储存的双孢菇呼吸速率和多酚氧化酶主要策略是冷藏和气调包装,即较高的CO<sub>2</sub>浓度和较低的O<sub>2</sub>浓度<sup>[20]</sup>。

除了采后食用菌的自身催化的组织褐变外,细菌<sup>[21]</sup>和病毒<sup>[22]</sup>入侵也会促进组织的褐变,其中的机制也主要涉及到酪氨酸酶。

## 2 采后食用菌的细胞壁结构变化

食用菌细胞壁降解主要是细胞壁多糖的分解和代谢,降解细胞壁多糖的主要是葡聚糖酶,葡聚糖降解涉及到外切葡聚糖酶和内切葡聚糖酶,从香菇克隆到外切- $\beta$ -1,3-葡聚糖酶(*exg1*)和外切- $\beta$ -1,3-葡聚糖酶(*exg2*),纯化的EXG I不能降解香菇多糖,且采后*exg1*基因表达下降,表明*exg1*基因不涉及到采后细胞壁多糖降解<sup>[23]</sup>,而EXG II蛋白质具有外切葡聚糖降解活性,能够降解细胞壁葡聚糖为单糖,*exg2*基因在成熟子实体中表达量不高,但在采后子实体中菌褶组织有高水平表达<sup>[24]</sup>。细胞壁葡聚糖带有 $\beta$ -1,6-支链,单独的外切- $\beta$ -1,3-葡聚糖酶不足以完全降解细胞壁葡聚糖,从金针菇中克隆出一种新的外切- $\beta$ -1,3-1,6-葡聚糖酶,能够降解 $\beta$ -葡聚糖和 $\beta$ -1,3和1,6-葡聚糖为葡萄糖<sup>[25]</sup>。还发现类奇异果甜蛋白在采后香菇中表达量增加,同时发现也具有部分内切葡聚糖降解活性,它也涉及到细胞壁降解和子实体老化<sup>[26]</sup>。

食用菌细胞壁不同于植物细胞壁,相对于植物细胞壁,食用菌细胞壁含有较少的木质素和纤维素,却含有较多的多糖和几丁质。蘑菇细胞壁主要包括葡聚糖、几丁质和蛋白质,支链的 $\beta$ -1,3/1,6-葡聚糖位于细胞壁表面,主要连接细胞,而 $\beta$ -1,3葡聚糖主要起着连接几丁质作用, $\alpha$ -1,3-葡聚糖是细胞壁之

间的不定性组织;几丁质,即 $\beta$ -1,4-乙酰葡聚糖胺均聚物,形成微纤维,主要起着支持细胞壁作用,类似于植物中的纤维素<sup>[27]</sup>。对香菇采后储存的细胞壁结构变化进行研究发发现:随着储存时间的延长,香菇硬度增加,几丁质含量增加,纤维素含量随储存条件而变化,超过75%蛋白质和58%的多糖被降解,降解的蛋白质和多糖进行细胞代谢和几丁质合成,并伴随着原生质膜崩解<sup>[28]</sup>。

## 3 采后食用菌的子实体老化

食用菌采摘之后,就会进入老化过程,老化过程也是导致子实体褐变的原因。子实体老化被认为不单是一个被动过程,也是一系列遗传学程序化发育变化,涉及到组织的细胞分解,发育阶段形成的聚合体被分解等过程<sup>[29]</sup>。收获后子实体的营养被限制,进而消耗体内储存的碳与氮,以利于活性区域生长。收获后子实体继续生长形成孢子,通过分解代谢提供能量。碳源主要包括甘露醇、海藻糖和甘油,氮源主要是蛋白质,采后子实体可溶性蛋白质迅速下降,其他氮源也包括几丁质和其他的细胞壁成分。分解蛋白质需要蛋白酶,主要的蛋白酶是丝氨酸蛋白酶和金属蛋白酶<sup>[30]</sup>。

子实体老化开始于采摘之后,老化是一个很复杂的程序化过程,伴随一系列生理生化变化,包括多糖与蛋白质降解、食用菌木质化、组织褐变、各种营养元素的降解、有毒物质的积累等。老化子实体丝氨酸蛋白酶在柄中活性增加最显著,而且这种蛋白酶是由衰老子实体从头合成,而且是主要蛋白酶类<sup>[31]</sup>。丝氨酸蛋白酶在新鲜采摘的双孢菇子实体没有表达,但是采后不久表达水平明显上调,最多的部位是柄部,在菌盖和菌褶中发现低水平表达<sup>[32]</sup>。

尿素的积累也是老化的一个重要的方面,采后子实体中尿素的积累,尿素的形成降低了食用菌品质,涉及尿素形成的主要酶类是琥珀酸合成酶和精氨基琥珀酸裂解酶,根据研究这两种酶的基因在双孢菇采摘后表达量增加,尿素积累也增加<sup>[33]</sup>,尿素和铵积累主要在双孢菇柄部,在采后第1d,发现柄部尿酶基因表达水平增加,之后有回归到正常表达水平<sup>[34]</sup>。

采后食用菌生理生化变化不是独立的,而是相互关联、相互促进的。采后食用菌营养缺乏,促使食用菌利用储存氮源和碳源,导致可溶性蛋白质和细胞壁多糖迅速降解,这些启动了食用菌老化,老化诱导了食用菌组织褐变,反过来促进食用菌的老化。

研究采后食用菌生理生化变化的根本目的在于通过改变采后食用菌基因表达变化,提高采后食用菌质量和品质,降低老化和褐变过程。RNA沉默(RNAi)技术将是食用菌基因改造的首选。采用RNAi技术对香菇漆酶(*lcc1*)基因的研究,发现成功抑制了*lcc1*基因表达,香菇细胞壁变薄<sup>[35]</sup>。研究表明降低食用菌子实体尿素循环水平能有效改善采后子实体品质,已有研究发现降低精氨基琥珀酸裂解酶基因的表达不能明显降低采后子实体尿素水平,但是明显降低了精氨基琥珀酸裂解酶活性,这些研究为通过基因手段改善食用菌品质打开了思路。

## 4 展望

食用菌具有很高的呼吸强度与含水量,但食用菌采后不耐储存,品质变化速度快,营养和价值降低速度比水果要快。食用菌采后主要生理生化变化包括组织褐变、细胞壁蛋白质和多糖的降解、子实体老化等,这些变化严重影响了食用菌品质。而且这些变化不是孤立的,而是相互关联的,这些变化也不是随机的,而是有一定程序和时序的。采后食用菌营养缺乏,促使利用食用菌储存的营养元素和能量,这需要降解体内一些生物大分子和牺牲一些不重要的组织,这些促进了子实体老化,老化过程反过来引起了组织褐变、细胞壁多糖、蛋白质降解、有毒物质积累等一系列生理生化变化。这些生理生化变化也伴随相应基因表达的变化,主要包括:酪氨酸酶和丝氨酸蛋白酶基因的表达随采后储存时间而变化、尿素循环过程中酶基因表达的变化、细胞壁多糖和蛋白质降解基因表达的变化。关于采后食用菌基因表达变化的研究还不够充分,许多与生理生化变化相关的基因还没有研究,包括采后孢子形成和帽的开放、细胞壁纤维素和几丁质的增加、细胞代谢基因表达的变化等,因此,采后食用菌生物学还有很多工作需要完成。

## 参考文献

[1] Filipa SR, Lillian B, Anabela M, et al. Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50: 191-197.

[2] Leixuri A, Jesus M F, Catherine B R, et al. Modelling browning and brown spotting of mushrooms (*Agaricus bisporus*) stored in controlled environmental conditions using image analysis[J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91: 280-286.

[3] 刘灿, 生吉萍, 申琳. 不同成熟度双孢菇子实体主要营养元素与矿物质的光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(10): 2820-2823.

[4] 李成华, 张永丹, 刘吟, 等. 采收期对双孢蘑菇采后耐贮性品质影响研究[J]. 中国食用菌, 2009, 28(5): 46-49.

[5] Eastwood DC, Kingsnorth CS, Jones HE, et al. Genes with increased transcript levels following harvest of the sporophore of *Agaricus bisporus* have multiple physiological roles[J]. Mycol Res, 2001, 105(10): 1223-1230.

[6] Sakamoto YC, Nakade KK, Sato TS. Characterization of the post-harvest changes in gene transcription in the gill of the *Lentinula edodes* fruiting body[J]. Curr Genet, 2009, 55: 409-423.

[7] Nagai M, Kawata M, Watanabe H, et al. Important role of fungal intracellular laccase for melanin synthesis: purification and characterization of an intracellular laccase from *Lentinula edodes* fruit bodies[J]. Microbiology, 2003, 149: 2455-2462.

[8] Van Leeuwen J, Wichers HJ. Tyrosinase activity and isoform composition in separate tissues during development of *Agaricus bisporus* fruit bodies[J]. Mycol Res, 1999, 103(4): 41-418.

[9] 刘吟, 李成华, 吴关威, 等. 双孢蘑菇子实体采后褐变及相关生化变化研究[J]. 中国食用菌, 2010, 29(3): 48-51.

[10] Jolivet S, Arpin N, Wichers HJ, et al. *Agaricus bisporus* browning: a review[J]. Mycol Res, 1998, 102(12): 1459-1483.

[11] Stoop JMH, Mooibroek H. Advances in genetic analysis and biotechnology of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 52: 474-483.

[12] Inlow JK. Homology models of four *Agaricus bisporus* tyrosinases[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50: 283-293.

[13] Ismaya WT, Rozeboom HJ, Weijn A, et al. Crystal Structure of *Agaricus bisporus* Mushroom Tyrosinase: Identity of the Tetramer Subunits and Interaction with Tropolone[J]. Biochemistry, 2011, 50: 5477-5486.

[14] Wichers HJ, Recourt K, Hendriks M, et al. Cloning, expression and characterisation of two tyrosinase cDNAs from *Agaricus bisporus*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 61: 336-341.

[15] Wu JJ, Chen HB, Gao JY, et al. Cloning, characterization and expression of two new polyphenol oxidase cDNAs from *Agaricus bisporus*[J]. Biotechnol Lett, 2010, 32: 1439-1447.

[16] Li NY, Cai WM, Jin QL, et al. Molecular Cloning and Expression of Polyphenoloxidase Genes from the Mushroom, *Agaricus bisporus*[J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10(2): 185-194.

[17] Kim SY, Kong WS, Cho JY. Identification of Differentially Expressed Genes in *Flammulina velutipes* with Anti-Tyrosinase Activity[J]. Curr Microbiol, 2011, 62: 452-457.

[18] Jolivet S, Mooibroek H, Wichers HJ. Space-time distribution of  $\gamma$ -glutamyl transferase activity in *Agaricus bisporus*[J]. FEMS Microbiol Lett, 1998, 163: 263-267.

[19] Ye JJ, Li JR, Han XX, et al. Effects of Active Modified Atmosphere Packaging on Postharvest Quality of Shiitake Mushrooms (*Lentinula edodes*) Stored at Cold Storage[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2012, 11(3): 474-482.

[20] 孟德梅, 申琳, 陆军, 等. 双孢菇采后感官品质变化的因素分析与保鲜技术研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(15): 283-287.

[21] Michèle L, Largeteau, Jean-Michel S. Microbially induced diseases of *Agaricus bisporus*: biochemical mechanisms and impact on commercial mushroom production[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 86: 63-73.

[22] Elibuyuk IO, Bostan H. Detection of a Virus Disease on White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) in Ankara, Turkey[J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2010, 12(4): 597-600.

[23] Sakamoto Y, Irie T, Sato T. Isolation and characterization of a fruiting body-specific  $\text{exo-}\beta$ -1,3-glucanase-encoding gene, *exg1*, from *Lentinula edodes*[J]. Curr Genet, 2005, 47: 244-252.

[24] Sakamoto Y, Minato K, Nagai M, et al. Characterization of the *Lentinula edodes* *exg2* gene encoding a lentinan-degrading  $\text{exo-}\beta$ -1,3-glucanase[J]. Curr Genet, 2005, 48: 195-203.

[25] Fukuda K, Hiraga M, Asakuma S, et al. Purification and Characterization of a novel  $\text{exo-}\beta$ -1,3-1,6-glucanase from the fruiting body of the edible mushroom *enoki* (*Flammulina velutipes*) [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2008, 72: 1-7.

(下转第441页)

- [J]. Journal of Chromatography A, 1998, 808:247-252.
- [28] Chen K, Locke DC, Maldacker T, et al. Separation of ergot alkaloids by micellar electrokinetic capillary chromatography using cationic Gemini surfactants[J]. Journal of Chromatography A, 1998, 822(2):281-290.
- [29] Roberts CA, Benedict HR, Hill NS, et al. Determination of ergot alkaloid content in tall fescue by near-infrared spectroscopy[J]. Crop Science, 2005, 45(2):778-783.
- [30] Berry AJ, Games DE, Perkins JR. Supercritical fluid chromatographic and supercritical fluid-mass spectrometric studies of some polar compounds[J]. Journal of Chromatography, 1986, 363:147-158.
- [31] FLIEGER M, WURST M, SHELBY R. Ergot alkaloids: sources, structures and analytical methods[J]. Folia Microbiol, 1997, 42(1):3-30.
- [32] Kleimola TT. Quantitative determination of ergot alkaloids in biological fluids by radioimmunoassay[J]. Br J Clin Pharmacol, 1978, 6(3):255-260.
- [33] Taunton-Rigby A, Sher SE, Kelley PR. Lysergic acid diethylamide: radioimmunoassay[J]. Science, 1973, 181:165-166.
- [34] Shelby RA, Kelley VC. An immunoassay for ergotamine and related alkaloids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990, 38(4):1130-1134.
- [35] Shelby RA, Kelley VC. Detection of ergot alkaloids from *Claviceps species* in agricultural products by competitive ELISA using a monoclonal antibody[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(6):1090-1092.
- [36] Shelby RA, Kelley VC. Detection of ergot alkaloids in tall fescue by competitive immunoassay with a monoclonal antibody[J]. Food and Agricultural Immunology, 1991(3):169-177.
- [37] John B Molloy, Chris J Moore, Anthea G Bruyeres, et al. Determination of dihydroergosine in sorghum ergot using an immunoassay[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51:3916-3919.

(上接第436页)

- [26] Sakamoto Y, Watanabe H, Nagai M, et al. Lentinula edodes tlg1 Encodes a Thaumatin-Like Protein That Is Involved in Lentinan Degradation and Fruiting Body Senescence[J]. Plant Physiology, 2006, 141:793-801.
- [27] Zivanovic S, Buescher R, Kim SK. Mushroom texture, cell wall composition, color and ultrastructure as affected by pH and temperature[J]. J Food Sci, 2003, 68:1860-1865.
- [28] Jiang TJ, Wang QH, Xu SS, et al. Structure and composition changes in the cell wall in relation to texture of shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) stored in modified atmosphere packaging[J]. J Sci Food Agric, 2010, 90:742-749.
- [29] King GA, O'Donoghue EM. Unravelling senescence: New opportunities for delaying the inevitable in harvested fruit and vegetables[J]. Trends Food Sci Technol, 1995(6):385-389.
- [30] Burton KS, Partis MD, Wood DA, et al. Accumulation of serine proteinase in senescent sporophores of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*[J]. Mycol Res, 1997, 101:146-152.
- [31] Burton KS, Smith JF, Wood DA, et al. Mycelial proteinases of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*[J]. Mycol Res, 1997, 101:1341-1347.
- [32] Kingsnorth CS, Eastwood DC, Burton KS. Cloning and Postharvest Expression of Serine Proteinase Transcripts in the Cultivated Mushroom *Agaricus bisporus*[J]. Fungal Genetics and Biology, 2001, 32:135-144.
- [33] Wagemaker MJM, Eastwood DC, van der Drift C, et al. Argininosuccinate synthetase and argininosuccinate lyase: two ornithine cycle enzymes from *Agaricus bisporus*[J]. Mycological Research, 2007, 111:493-502.
- [34] Wagemaker MJM, Eastwood DC, van der Drift C, et al. Expression of the urease gene of *Agaricus bisporus*: a tool for studying fruit body formation and post-harvest development[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2006, 71:486-492.
- [35] Nakade K, Watanabe H, Sakamoto Y, et al. Gene silencing of the *Lentinula edodes* lcc1 gene by expression of a homologous inverted repeat sequence[J]. Microbiological Research, 2011, 166:484-493.

## 一套《食品工业科技》在手 纵观食品工业发展全貌