

减压预处理对松茸采后酶活性和品质的影响初探

罗晓莉^{1,2}, 张沙沙², 邓雅元¹, 郭永红^{1,2,*}

(1. 云南云菌科技(集团)有限公司, 云南昆明 650223;

2. 中华全国供销合作总社昆明食用菌研究所, 云南昆明 650223)

摘要:为探究减压预处理对松茸的保鲜效果,采用不同的压力(1500Pa、800Pa)和时间(36h、48h)对松茸进行预处理,然后放入冰箱($2 \pm 0.5^\circ\text{C}$)中继续冷藏,同时分别测定过氧化物酶(POD)活性、多酚氧化酶(PPO)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、可溶性蛋白质和游离氨基酸含量。结果表明:与对照组相比,三种减压预处理条件均抑制了松茸贮藏过程的PPO活性,保持POD、CAT、SOD活性在较高水平,延缓可溶性蛋白质的降解和游离氨基酸含量的上升,有效延长了松茸的贮藏保鲜期,其中以1500Pa处理48h的保鲜效果较佳。

关键词:松茸,减压预处理,酶活性,可溶性蛋白质,游离氨基酸

Preliminary effect of pretreatment with hypobaric on enzyme activities and quality of *Tricholoma matsutake*

LUO Xiao-li^{1,2}, ZHANG Sha-sha², DENG Ya-yuan¹, GUO Yong-hong^{1,2,*}

(1. Yunnan Yunjun Sci-Tech group Co., Ltd., Kunming 650223, China;

2. Kunming Edible Fungi Institute of All China Federation of Supply and Marketing Cooperatives, Kunming 650223, China)

Abstract: In order to clarify the fresh-keeping effect of pretreatment with hypobaric action in stored *Tricholoma matsutake*, *Tricholoma matsutake* was treated with different pressure(1500Pa,800Pa) and time(36h,48h), then put in the ordinary cold storage($2 \pm 0.5^\circ\text{C}$). At the same time, peroxidase activity, polyphenol oxidase activity, catalase activity, superoxide dismutase activity, soluble protein and free amino acid content were determined respectively. The results showed that three kinds of hypobaric pretreatment could inhibit PPO activity of *Tricholoma matsutake* storage process, keep POD, CAT, SOD activities a higher level and delay the degradation of soluble protein and the increase of free amino acid content, which was good for extending the freshness of *Tricholoma matsutake*. Pretreatment effect with 1500Pa and 48h was better than others.

Key words: *Tricholoma matsutake*; hypobaric pretreatment; enzyme activity; soluble protein; free amino acid

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)17-0329-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.17.065

松茸(*Tricholoma matsutake*)营养丰富,是全球名贵野生食用菌之一,被誉为“菌中之王”^[1]。其粗蛋白含量达11%,含有17种氨基酸,总氨基酸含量为24.73%,粗纤维6.28%,另外还含有丰富的维生素和微量元素,具有抗肿瘤、降糖、增加肠胃运动功能等保健作用^[2]。松茸属于呼吸跃变型野生食用菌,子实体含水量较高,组织脆嫩,并且由于生长于偏远的山林中,运输路途遥远,在运输过程中极易损伤,采摘后常温下2d左右即出现褐变,开伞等现象,导致商品性降低。目前我国在松茸保鲜技术方面的研究还很欠缺。

减压保鲜技术在难以贮藏果蔬保鲜方面比普通冷藏和气调贮藏有很大进步,被誉为“21世纪保鲜技术”。减压保鲜的原理是将果蔬放在密闭容器内,抽出容器内的部分空气,使果蔬始终处于恒定的低压、低温和湿润新鲜的气体中,它能迅速的改变贮藏容器内的空气压力,并能控制超低氧环境稳定,具有抑制细菌、杀灭昆虫,降低失水率,延长贮藏期2~9倍,不会对商品造成伤害,延长货架期等优点^[3-4]。目前报道较多的是减压保鲜在生菜、青葱、菠菜、番茄、青枣等果蔬上的一些应用^[5],在松茸保鲜上的应用还鲜见报道。基于此,本文以云南珍稀野生食用菌松茸为实验材料,采用不同的减压预处理压力和时间,对松茸采后酶活性和品质的影响进行了研究,旨在为松茸保鲜提供一种新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

收稿日期:2014-01-25 *通讯联系人

作者简介:罗晓莉(1981-),女,硕士研究生,助理研究员,研究方向:农产品贮藏与加工。

基金项目:国家科技支撑计划课题(2012BAD36B05)。

松茸 购于云南剑川,运输过程中放入4℃冰箱;磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、愈创木酚、乙醇、儿茶酚、过氧化氢、蛋氨酸、NBT、EDTA、核黄素、氢氧化钠、考马斯亮蓝、牛血清蛋白等均为分析纯。

电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;冷冻离心机 上海安亭科学仪器厂;UV1000 紫外可见分光光度计 上海天美科学仪器有限公司;磁力搅拌器 常州国华电器有限公司;pH计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;JYL0.09 * 4A 减压冷藏实验机 上海善如水保鲜科技有限公司。

1.2 实验方法

选择大小一致,成熟度相同,无明显虫眼、无机械伤害、质地硬实的松茸,置于减压冷藏实验机内,分为四个处理,每个处理设三个重复。对照(记为CK):常压,(2 ± 0.5)℃;处理1(记为A1):压力1500Pa,(2 ± 0.5)℃,36h;处理2(记为A2):压力1500Pa,(2 ± 0.5)℃,48h;处理3(记为A3):压力800Pa,(2 ± 0.5)℃,48h。三个处理组A1,A2,A3从减压冷藏实验机中取出后存放于(2 ± 0.5)℃的冰箱中,定期测定各项指标。

1.3 指标测定方法

1.3.1 酶液的提取 取4g鲜样,加入少量石英砂、PVP,50mL 0.05mol/L的4℃冰箱中预冷过夜的pH7.0磷酸缓冲溶液,冰浴研磨成匀浆,于4℃ 4000r/min离心20min,上清液即为粗酶提取液。4℃下保存备用,用于酶活性的测定。

1.3.2 酶活性测定 过氧化物酶(POD)的测定 参考朱广廉等^[6]的方法,并稍作修改。反应体系包括2.9mL的磷酸缓冲液,1.0mL 2% H₂O₂,1.0mL愈创木酚和0.1mL的酶液。在4支试管中加入反应混合液后,1支于沸水中水浴(对照),另3支于37℃水浴中保温15min,于470nm处测定5min内吸光度值的变化。以酶促反应体系吸光度值变化0.01为一个POD活力单位(U)。

多酚氧化酶(PPO)的测定 采用朱广廉等^[6]的儿茶酚比色法测定。

过氧化氢酶(CAT)的测定 参考董树刚等^[7]的方法,并稍作修改:反应体系包括0.2mL的粗酶液,2mL的蒸馏水,1.5mL pH7.8的磷酸缓冲溶液,空白加煮沸过的酶液,将反应体系于25℃水浴中预热3min后,加入0.6mL的H₂O₂溶液于240nm下测定反应体系3min内的吸光度值的变化,以酶促反应体系吸光度值变化0.01为一个CAT活力单位(U)。

超氧化物歧化酶(SOD)的测定 参照王晶英等^[8]的氮蓝四唑法。

1.3.3 品质指标检测 可溶性蛋白质含量的测定 参照Bradford^[9]的方法,以牛血清蛋白为标准蛋白,并作标准曲线,计算可溶性蛋白质的含量。

游离氨基酸含量的测定 采用茚三酮溶液显色法^[10]。

1.4 数据统计分析

所有数据均是三次实验的平均值,采用 Microsoft

Excel 2007 进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 减压预处理对多酚氧化酶(PPO)活性的影响

PPO是一种含铜的金属酶类,其把食用菌体内的多酚物质氧化成醌,醌再转化成羟醌,然后再进一步聚合成黑色素^[11]。经过减压预处理的松茸 PPO 活性变化如图1所示,对照组的PPO活性大体呈现先增大后降低的趋势,而处理组在前9d一直处于缓慢下降的趋势,在第9d后呈缓慢上升的趋势,而且在贮藏期间对照组基本上都高于处理组。可能是因为减压预处理营造了恒定的低温、低氧、高湿、低压等优良的贮藏环境,从而抑制了PPO活性的增加,最终延缓了松茸的褐变。

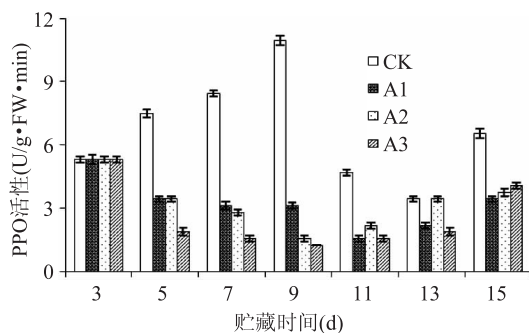


图1 不同压力处理后松茸贮藏期间PPO活性的变化
Fig.1 Changes of the PPO activity in storage period of *Tricholoma matsutake* with different pressure

2.2 减压预处理对过氧化物酶(POD)活性的影响

POD是一种复杂的氧化还原酶,在果蔬的成熟衰老过程、抗逆境胁迫中,POD活性不断发生变化。一方面,POD对减少活性氧的积累、抵御膜脂过氧化和维护膜结构的完整性具有重要的作用^[12];另一方面,POD在H₂O₂存在的情况下,又可以催化类黄酮、酚类的氧化聚合,从而导致组织的褐变^[13]。由图2可以看出,处理组和对照组POD活性先升高,而后出现下降趋势。POD活性在贮藏前期的上升可能是采后逆境的胁迫所致,诱发细胞产生POD来抵御活性氧的伤害。到贮藏后期,POD活性又有增加,说明减压预处理通过降低贮藏环境中的氧分压,抑制病原菌侵染,维护了细胞膜的完整性,使处理组的POD活性始终高于对照组,从而有益于延长松茸的贮藏期。

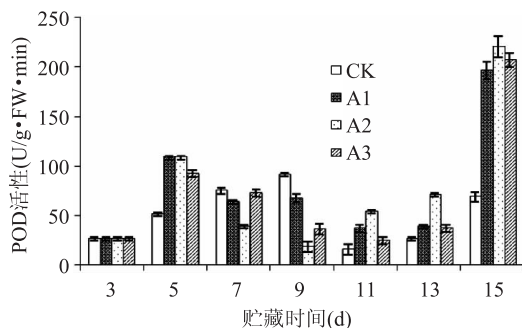


图2 不同压力处理后松茸贮藏期间POD活性的变化
Fig.2 Changes of the POD activity in storage period of *Tricholoma matsutake* with different pressure

2.3 减压预处理对超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

SOD 是重要的抗氧化酶,其广泛存在于生物体内,可以通过歧化反应清除超氧阴离子自由基,生成 H_2O_2 和 O_2 , H_2O_2 再由 CAT 进一步催化生成 H_2O 和 O_2 ,其主要作用是防御生物分子损伤和机体的衰老。由图 3 可以看出,在贮藏期内,SOD 活性总体呈现出先增加、后减少,最后又增加的趋势。经减压预处理后,SOD 活性比对照的增加幅度大,且对照组的 SOD 活性一直低于处理组。说明了减压预处理对保持 SOD 高活性有促进作用,可以使松茸的 SOD 活性保持在较高的水平,从而通过减少活性氧对松茸的损伤来保持品质。

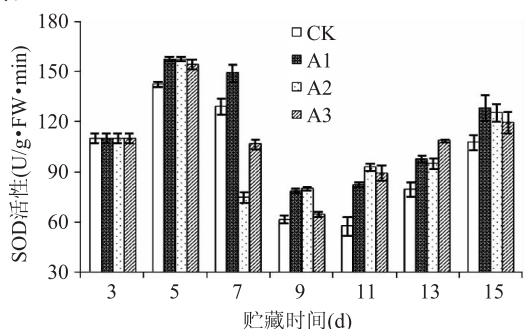


图3 不同压力处理后松茸贮藏期间 SOD 活性的变化
Fig.3 Changes of the SOD activity in storage period of *Tricholoma matsutake* with different pressure

2.4 减压预处理对过氧化氢酶(CAT)活性的影响

CAT 普遍存在于真菌细胞中,其能够将 H_2O_2 降解为 H_2O 和 O_2 ,而 H_2O_2 是一种超氧自由基,可以促进松茸的衰老,所以过氧化氢酶是植物体内清除活性氧的重要保护酶之一^[14]。由图 4 可以看出,对照组和处理组的 CAT 活性都是呈先增加后减少,后期又增加的趋势。处理组的 CAT 活性一直高于对照组,保持着对 H_2O_2 较强的清除能力,延长了松茸贮藏期。

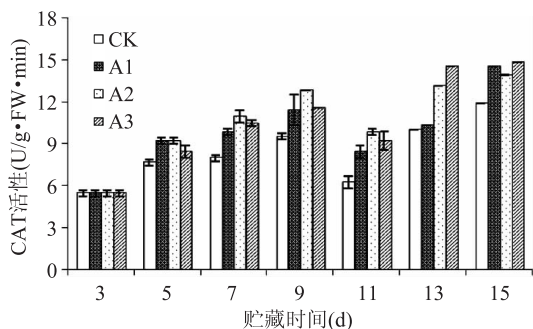


图4 不同压力处理后松茸贮藏期间 CAT 活性的变化
Fig.4 Changes of the CAT activity in storage period of *Tricholoma matsutake* with different pressure

2.5 减压预处理对可溶性蛋白质含量的影响

松茸含有的可溶性蛋白质是其采后代谢作用的营养物质,可溶性蛋白质含量的下降可以作为其组织衰老的重要指标之一。由图 5 可以看出,各处理的可溶性蛋白质含量均呈逐渐下降的趋势,对照组的下降较快,处理组的可溶性蛋白质含量总体上高

于对照组,一直处于较高水平。可见减压预处理能够降低贮藏期间松茸可溶性蛋白质的损失,以 1500Pa 处理 48h 的损失最少。

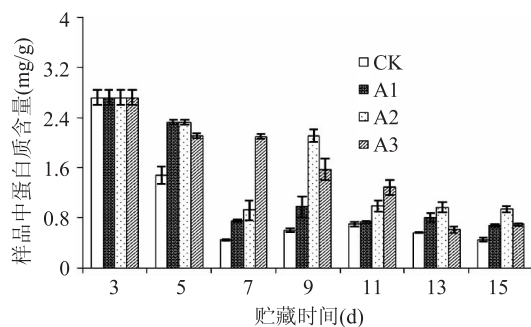


图5 不同压力处理后松茸贮藏期间可溶性蛋白含量的变化

Fig.5 Changes of the soluble protein in storage period of *Tricholoma matsutake* with different pressure

2.6 减压预处理对游离氨基酸含量的影响

研究表明,食用菌的风味独特,味道鲜美与菇体中所含的多种游离态氨基酸和一些糖类有关,但是蛋白质过分被分解后,游离氨基酸积累到一定量时,松茸就会变质。由图 6 可以看出,对照组和处理组游离氨基酸的含量均呈上升的趋势,前期上升较慢,后期上升较快,且处理组一直低于对照组。说明减压预处理可延缓蛋白质的降解,降低游离氨基酸含量的上升速度,以 1500Pa 处理 48h 的效果最佳。

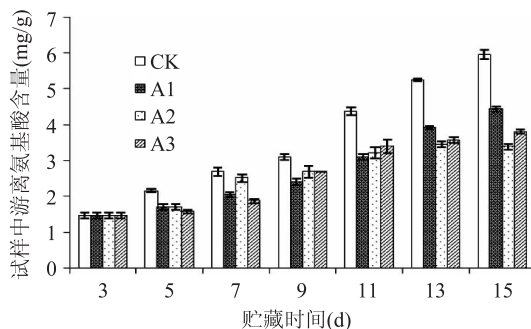


图6 不同压力处理后松茸贮藏期间游离氨基酸含量的变化
Fig.6 Changes of the free amino acid in storage period of *Tricholoma matsutake* with different pressure

3 结论

减压预处理在一定程度上延长了松茸采后保鲜期。相比于对照组,三种减压预处理条件都延缓了可溶性蛋白质的降解和游离氨基酸含量的上升,抑制了松茸贮藏过程的 PPO 活性,同时提高了 POD、CAT、SOD 的活性,增强了对氧自由基的清除能力,减少自由基对有机体的伤害,从而有效延缓松茸的后熟和衰老,提高贮藏品质,其中以 1500Pa 处理 48h 的保鲜效果最佳。

参考文献

[1] 黄年来,林志彬,陈国良,等.中国食药菌学[M].上海:上海科学技术文献出版社,2010:1110-1133.
[2] 刘萍,陶文沂,尹光耀.松口蘑及其活性物质研究进展(下转第 336 页)

最好。

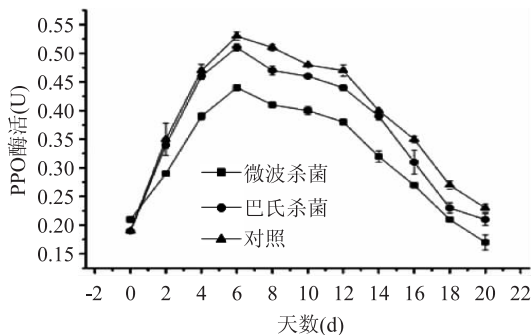


图10 杀菌方式对哈密瓜汁在贮藏期间PPO活性影响

Fig.10 Effect of sterilization methods on

PPO activity in Cantaloupe juice during storage

3 结论

3.1 从杀菌的基础上对比分析微波杀菌和巴氏杀菌对哈密瓜汁在贮藏过程中杀菌效果的影响,其中,利用微波杀菌技术不但抑菌效果显著而且可以相对较好地保持哈密瓜汁特有的风味和营养成分,其产品质量优于传统热杀菌果蔬汁。

3.2 哈密瓜汁经过两种不同的杀菌方式处理后在贮藏过程中,总糖、pH、可溶性固形物、总酚均呈下降趋势,而褐变度、可滴定酸和透光率呈上升趋势;其中,微波处理不但显著地降低了pH、总糖以及总酚的下降趋势,延缓了可滴定酸的上升,更有效地抑制了哈密瓜汁中微生物生长以及过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的失活,达到了杀菌的目的。

参考文献

[1] Yang B I, Yonghong G E, Chunling W, *et al.* Melon production in China[C]. III International Symposium on Cucurbits 731.2005: 493-500.

[2] 金基石.薄皮甜瓜主要种质资源遗传多样性的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2001.

[3] Bouzo C A, Küchen M G. Effect of temperature on melon development rate [J]. *Agronomy Research*, 2012, 10 (1-2): 283-294.

[4] 王博,李光乐,林茂,等.减压贮藏保鲜技术优点及问题探析[J].*广东农业科学*,2012(2):79-82.

[5] 郭润姿,白阳,郭文岚,等.减压贮藏对番茄果实抗氧化物质和抗氧化酶的影响[J].*食品工业科技*,2013,34(8):338-341.

[6] 薛梦林,张继澍,张平,等.减压对冬枣采后生理生化变化的影响[J].*中国农业科学*,2003,36(2):196-200.

[7] 董树刚,吴以平.植物生理学实验技术[M].青岛:中国海洋大学出版社,2006:280-281,169-171.

[8] 王晶英,敖红,张杰,等.植物生理生化实验技术与原理[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,2003:136-138.

[4] 邹训重,张莉杰,刘亚杰,等.微波灭菌的研究进展[J].*广东微量元素科学*,2013,20(6):67-70.

[5] Rosaspina S, Salvatorelli G, Anzanel D. The bactericidal effect of microwaves on *Mycobacterium bovis* dried on scalpel blades [J]. *Journal of Hospital Infection*, 1994, 26(1):45-50.

[6] 廖小军.果蔬汁非热加工技术进展[J].*饮料工业*,2002,5(6):4-7.

[7] 刘佳,王海钢,岳鹏翔,等.热处理与微波处理对蓝莓汁品质的影响[J].*食品工业科技*,2012,33(17):235-239.

[8] 杨艾青,艾启俊,张霞.微波处理用于采后番茄保鲜效果研究初探[J].*食品工业科技*,2010,31(1):340-343.

[9] Martinon M E, Moreira R G, Castell-Perez M E, *et al.* Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe stored at 4°C [J]. *Food Science and Technology*, 2013.

[10] 马永昆,陈计峦,胡小松,等.超高压鲜榨哈密瓜汁加工工艺的研究[J].*食品工业科技*,2004,25(4):75-77.

[11] 张墨英,滕玉萍.草莓酚类和褐变度的研究[J].*食品科学*,1992,9:9-13.

[12] 连志超.百香果汁的褐变研究[D].柳州:广西工学院,2012.

[13] 张兰杰,谷昊,随晓慧.野生软枣猕猴桃总黄酮含量的测定[J].*中国野生植物资源*,2005,24(4):49-51.

[14] 冯会君,童军茂.外源水杨酸处理对贮藏期哈密瓜后熟作用机理研究初探[J].*食品工业科技*,2007,28(9):192-194.

[15] 代丽,官长荣,史霖,等.植物多酚氧化酶研究综述[J].*中国农学通报*,2007,23(6):312-316.

[16] 王静,李学文,廖新福,等.热处理结合壳聚糖对哈密瓜生理活性的影响[J].*食品研究与开发*,2013,34(16):107-111.

[17] 王志华,丁丹丹,王文辉,等.黄金梨气调贮藏中CO₂对果实组织褐变及品质的影响[J].*农业机械学报*,2010,41(7):114-118.

[18] 阎瑞香,李宁,朱志强,等.不同保鲜膜对双孢菇采后褐变及相关酶活性的影响[J].*北方园艺*,2010(13):196-198.

[19] 刘红梅.壳聚糖和果胶酶澄清桑椹果汁作用的比较[J].*食品工业*,2006,27(2):16-18.

(上接第331页)

[1] 食用菌学报,2001(4):65-62.

[3] 王博,李光乐,林茂,等.减压贮藏保鲜技术优点及问题探析[J].*广东农业科学*,2012(2):79-82.

[4] 郭润姿,白阳,郭文岚,等.减压贮藏对番茄果实抗氧化物质和抗氧化酶的影响[J].*食品工业科技*,2013,34(8):338-341.

[5] 薛梦林,张继澍,张平,等.减压对冬枣采后生理生化变化的影响[J].*中国农业科学*,2003,36(2):196-200.

[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,1990:37-40.

[7] 董树刚,吴以平.植物生理学实验技术[M].青岛:中国海洋大学出版社,2006:280-281,169-171.

[8] 王晶英,敖红,张杰,等.植物生理生化实验技术与原理[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,2003:136-138.

[9] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J].*Anal Biochem*,1976,72:248-254.

[10] 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,2007:41-44.

[11] 李胤楠,刘程惠,胡文忠,等.柠檬酸处理抑制鲜切香蕉褐变的研究[J].*食品工业科技*,2013,34(16):304-307.

[12] 陶菲.真空预冷处理延长白蘑菇贮藏期的研究[D].无锡:江南大学,2006.

[13] 庞坤,胡文忠,姜爱丽,等.鲜切苹果贮藏期间生理生化变化的影响[J].*食品与机械*,2008,24(1):50-54.

[14] 马杰,胡文忠,毕阳,等.外源乙烯和茉莉酸甲酯处理对鲜切莴苣活性氧代谢的影响[J].*食品工业科技*,2013,34(17):338-341.