

胡花丽, 张雷刚, 李鹏霞. 高浓度 CO_2 对采后杏鲍菇乙醛和乙醇含量及其相关酶活性的影响[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(2): 432-437.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.02.030

高浓度 CO_2 对采后杏鲍菇乙醛和乙醇含量及其相关酶活性的影响

胡花丽, 张雷刚, 李鹏霞

(江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为了探讨高浓度 CO_2 对采后杏鲍菇生理变化的调控机理, 首先研究了不同薄膜包装气调处理对杏鲍菇采后品质的影响。结果表明, 低 O_2 (2%~4%) 结合高浓度 CO_2 (30%~40%) 处理可减缓采后杏鲍菇的衰老。进一步采用人工气调处理分析了 2% O_2 +30% CO_2 对杏鲍菇乙醛、乙醇和丙酮酸含量, 以及丙酮酸脱羧酶、乙醇脱氢酶和乳酸脱氢酶活性的影响。结果显示, 与对照相比, 2% O_2 +30% CO_2 处理提高了杏鲍菇中乙醛、乙醇和丙酮酸含量, 并增强了丙酮酸脱羧酶、乙醇脱氢酶和乳酸脱氢酶的活性。可见, 2% O_2 +30% CO_2 的高浓度 CO_2 处理是一种延长杏鲍菇贮藏期限的有效采后处理方法, 高浓度 CO_2 的这种作用可能与其诱发的厌氧代谢有关。

关键词: 杏鲍菇; 高浓度 CO_2 处理; 乙醛; 乙醇

中图分类号: S646.1⁺41; TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2017)02-0432-06

Effects of elevated CO_2 on aldehyde and ethanol contents and the activities of related enzymes in postharvest *Pleurotus eryngii*

HU Hua-li, ZHANG Lei-gang, LI Peng-xia

(Institute of Agro-product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: In order to elucidate the adjustment mechanism of elevated CO_2 on the physiological changes of postharvest *Pleurotus eryngii*, the effects of different film package on postharvest quality of *Pleurotus eryngii* were firstly investigated. The results showed that the combination of O_2 (2%~4%) and CO_2 (30%~40%) could reduce the senescence of postharvest *Pleurotus eryngii*. Furtherly, the effects of controlled atmosphere treatment (2% O_2 and 30% CO_2) on the content of aldehyde, ethanol and pyruvic acid, and the activities of pyruvate decarboxylase, alcohol dehydrogenase and lactate dehydrogenase of *Pleurotus eryngii* were analyzed. The results indicated that the treatment of 2% O_2 and 30% CO_2 raised the content of ethanol, aldehyde and pyruvic acid, and increased the activities of pyruvate decarboxylase, alcohol dehydrogenase and lactate dehydrogenase of *Pleurotus eryngii*. These results suggest that the treatment of elevated CO_2 (2% O_2 and 30% CO_2) is a promising postharvest strategy for *Pleurotus eryngii* to extend storage time, and the effect of elevated CO_2 is interrelated with anaerobic metabolism caused by itself.

Key words: *Pleurotus eryngii*; elevated CO_2 treatment; aldehyde; ethanol

收稿日期: 2015-05-11

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301583); 江苏省农业自主创

新基金项目 [CX(14)5060]

作者简介: 胡花丽 (1980-), 女, 陕西渭南人, 硕士, 副研究员, 主要从事果蔬采后生理生化研究。(E-mail) huhuali203@163.com

通讯作者: 李鹏霞, (E-mail) lpx213@126.com

杏鲍菇, 肉质细腻, 鲜脆可口, 是近年来新培育的一种品质超群的大型肉质伞菌, 其营养价值高, 氨基酸种类齐全, 必需氨基酸所占比例高, 特别是普通膳食中缺乏的赖氨酸、精氨酸含量丰富, 同时钙、镁、

钾、磷等无机元素含量也相当丰富,而脂肪含量偏低,是一种理想的保健食品,因而备受国内外消费者青睐^[1]。然而在室温下,杏鲍菇表面极易发生褐变,且品质劣变很快^[2]。因此,研究杏鲍菇采后安全、有效的保鲜技术显得尤为重要。许多采后处理技术,例如薄膜气调包装^[3]、化学处理^[4]及辐照处理^[5]已被广泛用于各种食用菌,以解决其采后腐烂、货架期短及品质劣变的问题。另外,寇莉萍等^[6]等研究发现 0℃低温条件可使杏鲍菇保持新鲜品质。Amodio 等^[7]也报道,3% O₂+20% CO₂气调贮藏可维持杏鲍菇较好的品质,表明杏鲍菇对 CO₂具有较高的耐性。然而,在高浓度 CO₂条件下,杏鲍菇组织中乙醛、乙醇的代谢情况尚不明确。因此,本试验以杏鲍菇为材料,研究高浓度 CO₂对杏鲍菇采后乙醛、乙醇和丙酮酸含量,以及丙酮酸脱羧酶、乙醇脱氢酶和乳酸脱氢酶活性的影响,旨在探查高浓度 CO₂调控采后杏鲍菇衰老的可能机理。

1 材料与方法

1.1 材料选择

新鲜杏鲍菇采自江苏省兴化食用菌公司。采后 1~2 h 内运回实验室,挑选大小均匀、无损伤者为试验材料。

1.2 处理方法

1.2.1 薄膜包装气调处理 采用 4 种不同规格 PE 薄膜进行气调处理。P1 处理:薄膜厚 32.70 μm, CO₂渗透系数为 31 616.57 ml/(m²·d), O₂渗透系数为 4 329.00 ml/(m²·d); P2 处理:薄膜厚 12.75 μm, CO₂渗透系数-55 3525.26 ml/(m²·d), O₂渗透系数-440 129.22 ml/(m²·d); P3 处理:薄膜厚 14.10 μm, CO₂渗透系数-287 135.57 ml/(m²·d), O₂渗透系数-306 572.65 ml/(m²·d); P4 处理:薄膜厚 15.55 μm, CO₂渗透系数-92 681.12 ml/(m²·d), O₂渗透系数-34 438.62 ml/(m²·d)。薄膜 O₂和 CO₂渗透系数由国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津)测定。将杏鲍菇用 PE 薄膜包装袋包装进行自发气调贮藏,每袋装杏鲍菇 2.5 kg,每处理设 3 组重复,贮藏温度 20~25℃。

1.2.2 人工气调处理 将杏鲍菇装入 21 L 气调保鲜箱,每箱装 40 个杏鲍菇,每处理 3 箱。保鲜箱通过三通阀连续通入混合气体(南京特气厂生产),出气口连通大气。混合气体成分配比:2% O₂+30%

CO₂(高浓度 CO₂处理),21% O₂+0 CO₂(对照)。贮藏温度为 20~25℃,每隔 1 d 取样 1 次,每次每处理从 3 个保鲜箱中分别随机取 7 个杏鲍菇,共取 21 个杏鲍菇用于各项指标的测定。

1.3 测定方法

1.3.1 感官评价 参照文献[8]的方法。

1.3.2 包装袋内 O₂、CO₂含量的测定 采用 CYES-II 型气体测定仪(上海学联仪表厂产品)。

1.3.3 呼吸速率测定 取 10 个杏鲍菇称质量后置于 21 L 密封盒中,设 3 组重复,30 min 后取气,用气相色谱仪(安捷伦 7820 型)测定。色谱条件:FID 检测器,柱温 70℃,转化炉温度 375℃,N₂压力 0.4 MPa, H₂压力 0.3 MPa,空气压力 0.5 MPa。重复 3 次,外标法定量。

1.3.4 丙酮酸含量测定 参照文献[9]的方法。

1.3.5 乙醛含量的测定 采用对羟基联苯比色法^[10]。取乙醛蒸馏液 1.00 ml 于 50 ml 试管中,加入 0.05 ml 硫酸铜溶液,将试管置于 30℃水浴中,缓慢加入 8.00 ml 浓硫酸,摇匀后加入 0.20 ml 1%对羟基联苯,摇匀,于 30℃恒温保持 30 min(中间轻轻摇动试管数次)。将试管移入沸水内加热 90 s,流水冷却后于波长 560 nm 处比色,根据标准曲线计算结果。

1.3.6 乙醇含量测定 采用氧化还原滴定法^[10]。取 20 g 样品,研磨后用 150 ml 蒸馏水转入蒸馏瓶中,100℃恒温蒸馏,蒸出 100 ml 蒸馏液。取乙醇蒸馏液 5 ml 缓缓加入内置重铬酸钾和浓硫酸的三角瓶中,循环蒸馏 20 min,冷却后用硫代硫酸钠滴定,计算乙醇含量。

1.3.7 乳酸脱氢酶(LDH)活性测定 参考姜玉梅等的方法^[11],有改进。取 5.0 g 杏鲍菇,加 15 ml 100 mmol/L MES (MES 中含 2 mmol/L DTT 和 1% PVP)缓冲液,研磨成匀浆,10 000 g 离心 30 min。测定时预先将丙酮酸溶液及 NADH 溶液放在 25℃水浴中预热。取 2 只石英比色杯,在一只比色杯中加入 3 ml 0.1 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.5),置于紫外分光光度计中,在 340 nm 处将吸光值调节至 0;另一只比色杯用于测定 LDH 活性,依次加入 1.45 ml 丙酮酸钠溶液、0.05 ml NADH 溶液,加盖摇匀后,测定 340 nm 吸光值(A)。取出比色杯加入经稀释的酶液 1.5 ml,立即计时,摇匀后,每隔 0.5 min 测定 A₃₄₀,连续测定 3 min,以 A₃₄₀对时间作图,取反应最初线性部分,计算 ΔA₃₄₀减少值,并计算酶活性,

以每 1 min A_{340} 值变化 0.001 为 1 个活性单位(U), 以 $U/(g \cdot \min)$ 表示其活性变化。

1.3.8 乙醇脱氢酶(ADH) 活性测定 参照 Ke 的方法测定^[12], 有改进。样品提取液的制备同 LDH。酶的反应体系包括 0.8 ml MES (pH 6.5)、0.2 ml 80 mmol/L 乙醛、0.2 ml 50 mmol/L 丙酮酸、0.3 ml 酶提取液和 0.1 ml 1.6 mmol/L NADH。加入乙醛后立即计时, 在 340 nm 下测定其吸光度的变化值。每 0.5 min 记录 1 次数值, 连续测定 3 min, 计算 ΔA_{340} 的减少值, 并计算酶活性, 以每 1 min A_{340} 值变化 0.001 为 1 个 ADH 活性单位(U), 以 $U/(g \cdot \min)$ 表示其活性变化。

1.3.9 丙酮酸脱羧酶(PDC) 活性测定 参照 Ke 的方法^[12], 略有修改。样品提取液的制备同 LDH。酶反应体系包括 0.45 ml MES (pH 6.5)、0.20 ml 5 mmol/L 硫胺素、0.20 ml 50 mmol/L 丙酮酸、0.20 ml 酶提液、0.20 ml 1.6 mmol/L NADH 和 0.10 ml 乙醇脱氢酶 (0.56 U)。加入丙酮酸后立即计时, 在 340 nm 下测定其吸光度的变化值。每 0.5 min 记录 1 次数值, 连续测定 3 min, 计算 ΔA_{340} 的减少值, 并计算酶活性, 以每 1 min A_{340} 值变化 0.001 为 1 个 PDC 活性单位(U), 以 $U/(g \cdot \min)$ 表示其活性变化。

1.4 数据分析

采用 SPSS 20.0 对数据进行差异显著性分析, 数据处理间差异显著性检验根据不同需求采用 Duncan's 或 *t*-test 法。

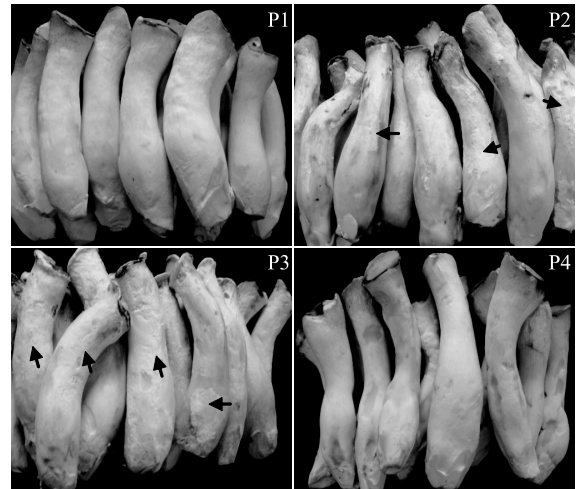
2 结果与分析

2.1 PE 薄膜包装对杏鲍菇的保鲜效果

不同规格 PE 薄膜包装处理对杏鲍菇的保鲜效果不同(图 1)。20~25 °C 贮藏 5 d 后, P2 和 P3 处理菇体出现菌丝体生长的迹象, 这是菇体衰老刺激的结果; P4 处理菇体表面出现许多凹陷斑点, 杏鲍菇采后的这种症状是由 *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* 感染所致^[13]; P1 处理可明显抑制杏鲍菇采后菌丝体的生长和相关病害的发生。感官评价结果(图 2)也表明, 与其他处理相比, P1 处理更好地维持了采后杏鲍菇的颜色、品质和特征气味。

2.2 薄膜包装袋内 O_2 、 CO_2 浓度变化及其对杏鲍菇呼吸速率的影响

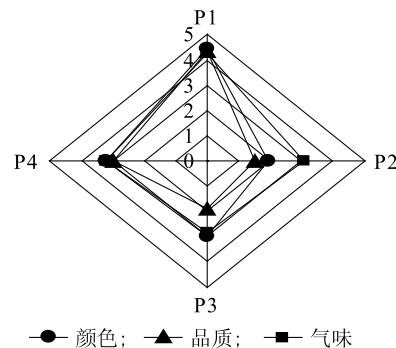
由图 3 可看出, 在贮藏过程中, 各薄膜包装处理均降低了袋内 O_2 浓度。贮藏 3 d 时, P1 处理袋内



P1 处理: 薄膜厚 32.70 μm ; P2 处理: 薄膜厚 12.75 μm ; P3 处理: 薄膜厚 14.10 μm ; P4 处理: 薄膜厚 15.55 μm 。箭头示菌丝体。

图 1 不同薄膜包装处理对杏鲍菇保鲜效果的影响

Fig.1 The effects of different modified atmosphere package on the preservation of *pleurotus eryngii*



P1~P4 见图 1 注。

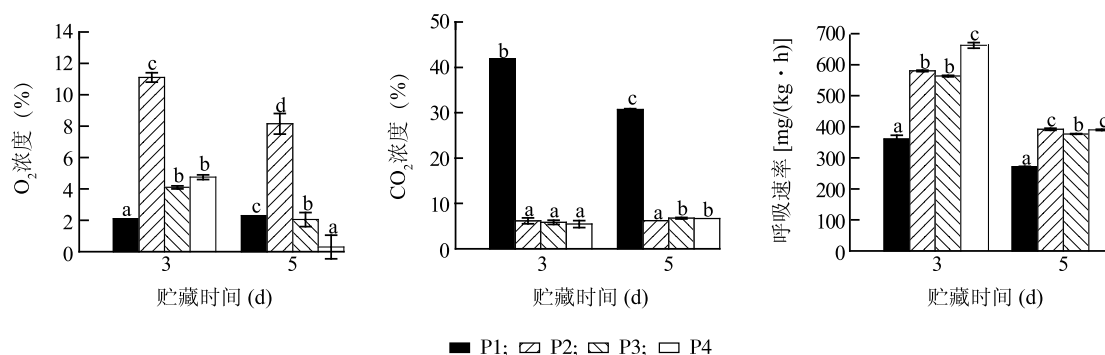
图 2 不同薄膜包装处理对杏鲍菇感官特征评分影响的雷达图

Fig.2 The radar chart of the effects of different modified atmosphere package on the sensory characteristics score in *pleurotus eryngii*

O_2 浓度为 2.1%, P2 处理最高 (11.1%), P3 和 P4 处理 O_2 浓度分别为 4.1% 和 4.7%。贮藏至 5 d 时, P1 处理袋内 O_2 的浓度为 2.3%, 与贮藏 3 d 时的相当, O_2 浓度较稳定; P2、P3 和 P4 处理袋内 O_2 浓度均明显下降, 其中 P4 处理下降最明显, 由贮藏 3 d 时的 4.7% 下降至 0.3%。贮藏 3 d 时, P2、P3 和 P4 处理之间袋内 CO_2 浓度无显著差异, 但显著低于 P1 处理, 此时 P1 处理袋内 CO_2 浓度高达 41.9%; 贮藏至 5 d 时, P1 处理袋内 CO_2 浓度下降至 30.7%, 但仍远高于其他 3 个处理。

贮藏3 d时,与P1处理相比,P2、P3和P4处理杏鲍菇的呼吸速率分别提高了60.97%、56.37%和83.78%;贮藏5 d时,P2、P3和P4处理杏鲍菇的呼吸速率较P1处理相比亦分别提高了44.52%、

39.00%和43.89%(图3)。可见,P1处理所形成的气体条件显著抑制了杏鲍菇采后的呼吸速率,说明低浓度O₂(2%~4%)结合高浓度CO₂(30%~40%)处理利于杏鲍菇采后的保鲜。



P1~P4处理见图1注。相同贮藏时间内不同字母表示处理间差异达到显著水平。

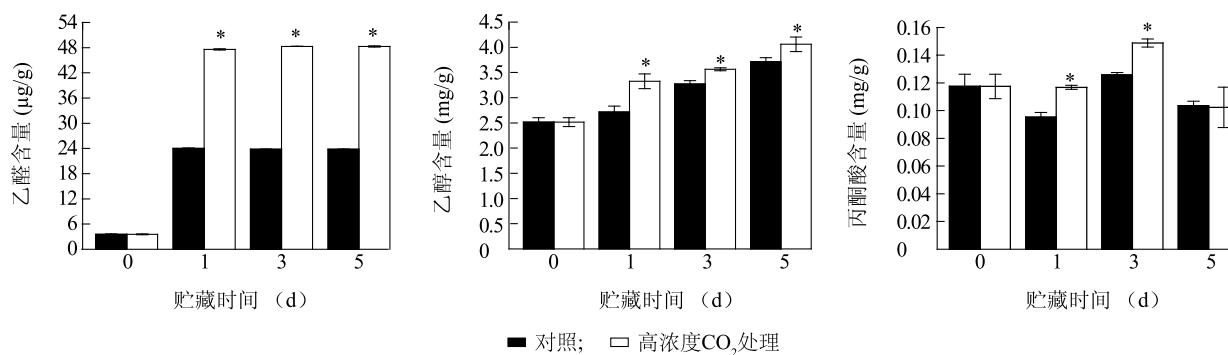
图3 不同薄膜包装袋内O₂、CO₂浓度及其对杏鲍菇呼吸速率的影响

Fig.3 The concentrations of O₂ and CO₂ in different modified atmosphere package and the effects on respiratory rate of *Pleurotus eryngii*

2.3 高浓度CO₂处理对采后杏鲍菇乙醛、乙醇和丙酮酸含量的影响

前期的研究结果也显示,2%O₂+30%CO₂处理显著减缓了采后杏鲍菇菌丝体的生长和褐变症状的发生,进而维持了菇体采后较好的食用品质^[2,14]。本研究进一步分析了2%O₂+30%CO₂处理对杏鲍菇乙醛、乙醇和丙酮酸含量的影响,结果表明贮藏期间

杏鲍菇组织中乙醛和乙醇含量呈上升趋势,说明2%O₂+30%CO₂处理显著提高了菇体中的乙醛和乙醇含量;丙酮酸含量在贮藏期间存在一峰值,2%O₂+30%CO₂处理和对照菇体中丙酮酸含量的峰值均出现在贮藏第3 d,在贮藏第1 d和3 d时高浓度CO₂处理的丙酮酸含量均显著高于对照,而在贮藏第5 d时二者之间无显著差异(图4)。



*表示与对照相比差异达到显著水平。

图4 高浓度CO₂处理对采后杏鲍菇乙醛、乙醇和丙酮酸含量的影响

Fig.4 Effects of elevated CO₂ on aldehyde, ethanol and pyruvic acid content of postharvest *Pleurotus eryngii*

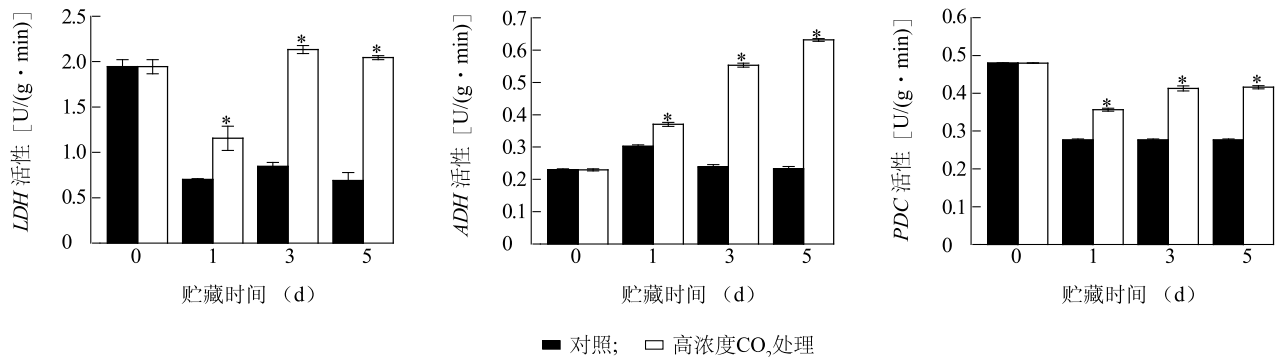
2.4 高浓度CO₂处理对采后杏鲍菇乳酸脱氢酶(LDH)、乙醇脱氢酶(ADH)和丙酮酸脱羧酶(PDC)活性的影响

由图5可看出,贮藏0 d时杏鲍菇的LDH活性

为1.94 U/(g·min),随着贮藏时间的延长,对照杏鲍菇的LDH活性在贮藏1 d时下降至0.70 U/(g·min),贮藏3 d时增加至0.84 U/(g·min),而贮藏5 d时再次下降,下降至0.69 U/(g·min);

高浓度 CO_2 处理使贮藏 1 d、3 d 和 5 d 的杏鲍菇 LDH 活性分别提高了 65.07%、152.63% 和 196.77%。可见,高浓度 CO_2 处理对杏鲍菇中 LDH 活性的诱导作用呈增加趋势。对照杏鲍菇中 ADH 活性在贮藏 1 d 时达到峰值;高浓度 CO_2 处理增强了杏鲍菇 ADH 活性,且这种增加作用随着贮藏时间的延长而呈增加趋势。贮藏 0 d 时杏鲍菇中 PDC

活性为 $0.48 \text{ U}/(\text{g} \cdot \text{min})$,至贮藏 1 d 时对照杏鲍菇 PDC 活性下降至 $0.27 \text{ U}/(\text{g} \cdot \text{min})$,在随后的贮藏过程中对照杏鲍菇的 PDC 活性基本未变;在贮藏 1 d、3 d 和 5 d 时,高浓度 CO_2 处理使杏鲍菇的 PDC 活性分别提高了 29.03%、49.34% 和 50.53%。可见,高浓度 CO_2 处理对杏鲍菇 PDC 活性的影响趋势同于 LDH 和 ADH 。



* 表示与对照相比差异达到显著水平。

图 5 高浓度 CO_2 处理对采后杏鲍菇 LDH 、 ADH 和 PDC 活性的影响

Fig.5 Effects of elevated CO_2 on the activities of lactate dehydrogenase, alcohol dehydrogenase and pyruvate decarboxylase of postharvest *Pleurotus eryngii*

3 讨论

许多方法可用来延长蘑菇的货架期,其中采后预冷处理效果最好。尽管如此,其他一些采后处理技术可以加强和补充它的作用,比如薄膜气调包装和气调贮藏。这主要是因为气体成分对蘑菇采后生理变化起关键作用,空气比例气体成分下贮藏 2 d 后杏鲍菇即出现品质劣变迹象^[2]。薄膜气调包装可在包装袋内形成低 O_2 高 CO_2 的微环境,显著延长蘑菇采后的贮藏期限, CO_2 对采后蘑菇的形态变化起着重要调节作用,然而不同品种蘑菇对 CO_2 的耐性不尽相同,例如 2.5% O_2 +9.5% CO_2 可延长双孢菇的货架寿命^[15],而 3% O_2 +20% CO_2 气调处理可提高杏鲍菇采后贮藏期限^[7]。Li 等^[2] 研究发现 2% O_2 +30% CO_2 处理能显著降低采后杏鲍菇活性氧的积累,从而减缓菇体的衰败过程。在本研究中,2.0%~4.0% O_2 与 30%~40% CO_2 组合可维持采后杏鲍菇较好的品质,可看出杏鲍菇对 CO_2 具有较高的耐性。

另外,在杏鲍菇采后贮藏过程中,影响其货架寿

命的主要问题有两点:一是采后杏鲍菇以菇体为基质,进行菌丝体的生长^[2];二是采后病害的发生^[13]。在本试验中,高浓度 CO_2 处理导致杏鲍菇中乙醇的积累,在贮藏前期,杏鲍菇中乙醛含量的提高除了与 PDC 活性的升高有关外,还与其底物丙酮酸含量的增加有关,而贮藏后期,杏鲍菇中乙醛含量的提高则主要受 PDC 活性的调控。另外,从表型上看,高浓度 CO_2 处理明显抑制了杏鲍菇菌丝体的生长,说明在厌氧状态下,杏鲍菇菌丝的生长可被抑制。此外,高浓度 CO_2 处理明显减轻了杏鲍菇表面的腐烂症状,Zhao 等^[13] 研究证明导致采后杏鲍菇腐烂的致病菌为乳酸菌。通常在缺氧情况下, LDH 催化丙酮酸还原为乳酸。本试验中,高浓度 CO_2 处理显著诱导了杏鲍菇中 LDH 活性的增强,促使菇体内乳酸的生成,从而调控乳酸菌的生理作用,抑制了采后杏鲍菇的腐烂,这即为高浓度 CO_2 处理抑制杏鲍菇采后病害的关键原因。孟庆国也研究证实乳酸含量的增加可抑制乳酸菌的生理作用^[16]。这些结果表明,2% O_2 +30% CO_2 的气调处理对杏鲍菇采后菌丝体生长和表面腐烂症状的抑制作用可能与其在一定程度上

诱发的厌氧代谢有关。

参考文献:

- [1] OKE F, ASLIM B. Protective effect of two edible mushrooms against oxidative cell damage and their phenolic composition [J]. Food Chemistry, 2011, 128:613-619.
- [2] LI P X, ZHANG X, HU H L, et al. High carbon dioxide and low oxygen storage effects on reactive oxygen species metabolism in *Pleurotus eryngii* [J]. Postharvest Biology and Technology, 2013, 85:141-146.
- [3] WANG C T, WANG C T, CAO Y P, et al. Effect of modified atmosphere packaging with low and superatmospheric oxygen on the quality and antioxidant enzyme system of golden needle mushrooms during postharvest storage[J]. European Food Research and Technology, 2011, 232:851-860.
- [4] BRENNAN M, PORT G L, GORMLEY R. Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms [J]. Lebensmittelwissenschaften, 2000, 33:285-289.
- [5] KASHIF A, JAE-JUN A, SUNG-RAN Y, et al. Quality attributes of *Pleurotus eryngii* following gamma irradiation [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 66:42-47.
- [6] 寇莉萍,王敏,侯豪豪.贮藏温度对鲜切杏鲍菇呼吸强度和贮藏品质的影响[J].食品工业科技,2012,33(5):340-343.
- [7] AMODIO M L, COLELLI G. Controlled atmosphere storage of fresh-cut 'Cardoncello' mushrooms (*Pleurotus eryngii*) [J]. Proceedings of the International Conference Postharvest Unlimited, 2003,599:731-735.
- [8] 张璇,胡花丽,王毓宁,等.气调处理对杏鲍菇货架期品质影响的多变量分析[J].食品科学,2014,35(20):265-270.
- [9] 赵亚华.生物化学实验技术教程[M].广州:华南理工大学出版社,2000:211-212.
- [10] 关文强,刘兴华,张华云,等.乙醇和乙醛含量与葡萄气体伤害关系的研究[J].食品科学,2003,24(11):136-139.
- [11] 姜玉梅,杨歌德.乳酸脱氢酶同工酶的提取及活力测[J].哈尔滨医科大学学报,1999,33(1):71-73.
- [12] KE D Y.Regulation of fermentative metabolism in avocado fruit under oxygen and carbon dioxide stresses[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1995, 120:481-490.
- [13] ZHAO Y C, LI P X, HU H L, et al. Postharvest decay of the cultivated mushroom *Pleurotus eryngii* caused by *Lactococcus Lactis* subsp. *Lactis* [J]. Journal of Plant Pathology, 2013, 95:247-253.
- [14] ZHANG L G, GAO J X, HU H L, et al. The activity and molecular characterization of a serine proteinase in *Pleurotus eryngii* during high carbon dioxide and low oxygen storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 105:1-7.
- [15] CAROLE G, ISABELLE S, EMMANUELLE G, et al. Biobased packaging for improving preservation of fresh common mushrooms (*Agaricus bisporus* L.) [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 11:690-696.
- [16] 孟庆国.发酵料栽培杏鲍菇[J].新农业,2011(2):55-56.

(责任编辑:张震林)