

# 短时高压二氧化碳对双孢蘑菇褐变和活性氧代谢的影响

李 静, 李顺峰, 田广瑞, 王安建, 刘丽娜, 魏书信  
(河南省农业科学院农副产品加工研究中心, 河南郑州 450002)

**摘要:**为了探讨短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)褐变和活性氧代谢的影响,采用优化好的0.3 MPa二氧化碳短时处理双孢蘑菇,然后于4℃条件下贮藏8 d,测定双孢蘑菇褐变度、细胞膜透性、 $O_2^- \cdot$ 生成速率、MDA、抗氧化物质和 $H_2O_2$ 的含量以及自由基清除酶活性等指标。结果表明,短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇的短期保鲜效果并不理想。与对照相比,在4 d贮藏期内,0.3 MPa二氧化碳短时处理提高了双孢蘑菇的褐变度、相对电导率、脂质过氧化产物MDA的含量,促进了 $O_2^- \cdot$ 、 $H_2O_2$ 等活性氧物质的积累,同时降低了CAT和SOD活性。然而随着贮藏时间的延长,逐渐显现出短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇的保鲜效果。在贮藏后期,0.3 MPa二氧化碳短时处理抑制了双孢蘑菇的褐变,降低了相对电导率和MDA、 $O_2^- \cdot$ 、 $H_2O_2$ 等的含量,提高了CAT和SOD的活性。此外,0.3 MPa二氧化碳短时能够减少双孢蘑菇体内总酚和抗坏血酸的损失,进而抑制双孢蘑菇的褐变。

**关键词:**双孢蘑菇,短时高压二氧化碳处理,褐变,活性氧

## Effect of treatment with short-time high-pressure carbon dioxide on browning and activate oxygen metabolism of *Agaricus bisporus*

LI Jing, LI Shun-feng, TIAN Guang-ru, WANG An-jian, LIU Li-na, WEI Shu-xin

(Institute of Agro-products Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Mushrooms (*Agaricus bisporus*) were dipped for short time in 0.3 MPa  $CO_2$ , then stored at 4℃ for 8 d. Changes of the browning, membrane permeability, lipid peroxidation, reactive oxygen species, and free radical scavenging enzyme activity in the mushroom tissue were measured. The results indicated that the short-term preservation effect of 0.3 MPa  $CO_2$  treatment on *A. bisporus* was not ideal. Browning, relative leakage rate, the production rate of  $O_2^- \cdot$  and the contents of MDA and  $H_2O_2$  of *A. bisporus* dipped for short time in 0.3 MPa  $CO_2$ , were increased with lower CAT and SOD activity during the first four days. However, the short-time high-pressure  $CO_2$  treatment showed the preservation effect on *A. bisporus* as time prolonged. In the late storage, 0.3 MPa  $CO_2$  treatment inhibited the browning and decreased the relative leakage rate, the production rate of  $O_2^- \cdot$ , and the contents of MDA and  $H_2O_2$ . Moreover, the corresponding oxygen radical scavenging enzyme activities including CAT and SOD in mushroom dipped for short time in 0.3 MPa  $CO_2$  were higher than those in the control. In addition, 0.3 MPa  $CO_2$  treatment could reduce the loss of total phenolic and ascorbic acid of *A. bisporus*, and then inhibit the browning.

**Key words:** *Agaricus bisporus*; high-pressure carbon dioxide; browning; reactive oxygen species

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)14-0308-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.14.053

双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)是以有氧呼吸为主的呼吸跃变型园艺产品,采后极不耐贮藏,常温仅可保存1~3 d,其中褐变是导致双孢蘑菇感官品质降低的一个非常重要的因素<sup>[1-5]</sup>。研究发现,呼吸作用使双孢蘑菇贮藏期间产生活性氧,活性氧能够启动脂质过氧化反应,使维持细胞区域化的膜系统受到瓦解或损伤,进而诱发或加重褐变的发生<sup>[5-6]</sup>。为了免

受活性氧的伤害,蘑菇体内同样存在着超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(CAT)等活性氧清除系统和总酚、抗坏血酸等抗氧化物质<sup>[7]</sup>。Liu等人<sup>[8]</sup>发现80%的高氧处理能够降低双孢蘑菇体内 $O_2^- \cdot$ 、 $H_2O_2$ 等活性氧的积累,同时提高SOD、CAT的活性和总酚、抗坏血酸的含量,延缓细胞膜透性和脂质过氧化进程,进而达到抑制褐变的效果。

收稿日期: 2015-12-22

作者简介: 李静(1981-),女,博士,副研究员,研究方向:农产品贮藏及加工, E-mail: ruochenjl@163.com。

基金项目: 河南省农业科学院科研发展专项资金项目(20148409)。

高压二氧化碳在低温条件下能有效杀菌和钝化酶的活性<sup>[9-10]</sup>,从而抑制果蔬及其产品的品质劣变,目前已有高压二氧化碳处理应用到果汁、鲜切果蔬褐变控制和保鲜的相关报道<sup>[9-14]</sup>。前期研究发现短时高压二氧化碳处理能较好的保持双孢蘑菇贮藏品质,但是该处理对双孢蘑菇脂质过氧化和活性氧代谢的影响还不清楚。本研究旨在确定短时高压二氧化碳对双孢蘑菇褐变、细胞膜透性、丙二醛(MDA)、抗氧化物质、活性氧积累、活性氧清除系统酶活性的影响,进一步探讨该处理对双孢蘑菇的作用机理,为短时高压二氧化碳在双孢蘑菇保鲜中的应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

双孢蘑菇 购自洛阳奥达特食用菌技术开发有限公司,采收后分层放入贮运保鲜箱预冷后立即运回实验室进行处理,选取大小、成熟度一致、颜色洁白、无开伞、无病虫害和机械损伤的蘑菇进行实验;硫代巴比妥酸、三氯乙酸、氢氧化钠、没食子酸、2,6-二氯酚、抗坏血酸、偏磷酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠、乙二胺四乙酸(EDTA)、聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、盐酸羟胺、对氨基苯磺酸、 $\alpha$ -萘胺、过氧化氢( $H_2O_2$ )、福林酚、牛血清蛋白 分析纯; $H_2O_2$ 、SOD 测试盒 南京建成生物工程研究所。

FA2004C 分析天平 上海越平科学仪器有限公司;SHZ-B 水浴恒温振荡器 上海博远实业有限公司医疗设备厂;H2050R 高速冷冻离心机 湘仪离心机仪器有限公司;UV1800 紫外分光光度计 日本岛津公司;FE30 电导率仪 梅特勒-托利多(上海)有限公司;Color Flex EZ 色差仪 美国 Hunterlab 公司;TMS-Pro 质构仪 美国 Food Technology Corporation (FTC) 公司;本实验室定制的高压二氧化碳装置。

### 1.2 实验方法

1.2.1 样品的处理 常温( $20 \pm 1$ ) $^{\circ}C$ 条件下,将双孢蘑菇放入高压二氧化碳装置的反应釜内,抽真空后分别在 0.3 MPa 二氧化碳条件下处理 3 min,恢复常压后取出,放置于塑料筐内并用保鲜膜覆盖后在( $4 \pm 1$ ) $^{\circ}C$ 下贮藏,以未处理的双孢蘑菇为对照。每 2 d 随机取样测定贮藏期间颜色、相对电导率、脂质过氧化、 $O_2^{\cdot-}$ 生成速率、 $H_2O_2$ 、总酚和抗坏血酸含量以及 SOD、CAT 等酶活性的变化。

1.2.2 褐变度测定 Hunterlab ColorFlex EZ 色差仪用标准白板( $L^* = 94.11; a^* = -1.08; b^* = 2.13$ )校正,测定双孢蘑菇盖的 CIE-Lab 表色系中  $L^*$  值(从 0~100 变化,0 是黑色,100 是白色),表示样品褐变度, $L^*$  值越大,表示样品颜色越白。每个处理测定 12 个整菇,结果取平均值。

1.2.3 细胞膜透性测定 采用相对电导率评价双孢蘑菇的细胞膜透性,相对电导率的测定参照 Liu 等<sup>[15]</sup>的方法。用打孔器将双孢蘑菇切成直径为 15 mm、厚度为 2 mm 的圆片,称取 1.0 g 切好的圆片放入一定体积去离子水中浸泡 1 h ( $25 \pm 1$ ) $^{\circ}C$ ,用电导率仪测定活组织提取液的电导率,然后将含有样品组织的

浸泡液煮沸 30 min 并用去离子水补足体积后,测定总电导率。活组织电导率占总电导率的百分比即相对电导率。

1.2.4 脂质过氧化测定 采用 MDA 含量评价双孢蘑菇脂质过氧化程度,MDA 含量的测定参照 Liu 和 Wang<sup>[8]</sup>的方法并略作修改。准确称取 1.0 g 双孢蘑菇样品加 7.0 mL 三氯乙酸,冰浴条件下研磨匀浆,12000  $\times$  g 离心 20 min ( $4^{\circ}C$ ),取 1.0 mL 上清液与 5.0 mL 0.67% 硫代巴比妥酸(用 0.05 mol $\cdot$ L $^{-1}$  NaOH 溶解)混合后在 100  $^{\circ}C$  加热 20 min,快速冷却后在 12000  $\times$  g 离心 10 min,分别测定上清液在 450、532、600 nm 处的吸光值。MDA 的计算公式如下:

$$\text{MDA 含量} (\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}) = [6.45 (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56\text{OD}_{450}] \times \text{提取液总体积} / \text{样品质量} \times 1000$$

1.2.5 总酚含量测定 参照 Gonçalves 等<sup>[16]</sup>的方法,修改如下:取双孢蘑菇冻干粉 1.0 g,加入 60% 甲醇 7 mL,在 40  $^{\circ}C$  下振荡(100 r/min)提取 2 h,15000  $\times$  g 离心 10 min。取 0.1 mL 上清液加入稀释至 1/10 的福林酚试剂 4.9 mL,反应 8 min 后,加入质量分数为 20% 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1.5 mL,在 760 nm 处测量吸光值,每组样品做 3 次平行求平均值,以吸光度为纵坐标、以质量分数为横坐标,根据标准曲线( $y_1 = 0.0171x_1 - 0.0057, R^2 = 0.9977$ ,  $y_1$  为吸光值、 $x_1$  为没食子酸质量分数,单位为  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 计算样品中总酚的质量分数,样品中总酚的质量分数用没食子酸当量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 表示。

1.2.6 抗坏血酸含量测定 参照 Vaz 等<sup>[17]</sup>的方法,修改如下:取双孢蘑菇冻干粉 1.0 g,加入质量分数为 1% 的偏磷酸 7 mL,室温下提取 45 min,然后在 10000  $\times$  g 下离心 5 min。取 1 mL 的上清液和 9 mL 浓度为 0.5 mg/mL 的 2,6-二氯酚反应 30 min 再在 515 nm 处测量吸光值,每组样品做 3 次平行求平均值,根据标准曲线( $y_2 = -4.556x_2 + 0.7488, R^2 = 0.9999$ , 其中  $y_2$  为吸光值、 $x_2$  为抗坏血酸质量分数,单位为  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 计算样品中抗坏血酸质量分数,结果以  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  表示。

1.2.7  $O_2^{\cdot-}$ 产生速率测定 参照 Yan 等<sup>[18]</sup>的方法并略作修改。称取 1.0 g 双孢蘑菇样品,加 5.0 mL 50 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  pH7.8 的磷酸缓冲液(含 1.0 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  EDTA,0.3% Triton X-100 和 2% PVP),冰浴条件下研磨匀浆,12000  $\times$  g 离心 20 min ( $4^{\circ}C$ ),取 1.0 mL 上清液,加入 1.0 mL 50 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  pH7.8 的磷酸缓冲液和 1.0 mL 1.0 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  盐酸羟胺溶液,混合均匀,25  $^{\circ}C$  条件下保温 1 h。取出后加入 1.0 mL 17 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  对氨基苯磺酸和 1.0 mL 7 mmol $\cdot$ L $^{-1}$   $\alpha$ -萘胺,混匀后于 25  $^{\circ}C$  条件下保温 20 min 进行显色反应,测定 530 nm 波长下 OD 值,以不进行保温 1 h 的测定作为参比对照,根据标准曲线( $y_3 = 0.005x_3 - 0.004, R^2 = 0.9998$ , 其中  $y_3$  为吸光值、 $x_3$  为  $O_2^{\cdot-}$  浓度,单位为  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 计算  $O_2^{\cdot-}$  产生速率,单位以  $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  表示。计算公式如下:

$$\text{超氧阴离子产生速率} (\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}) = (\text{OD}_{530} + 0.004) \times \text{提取液总体积} \times 1000 / 0.005 \times \text{吸取样品液体积} \times \text{反应时间} \times \text{样品质量}$$

1.2.8  $H_2O_2$  含量测定 采用  $H_2O_2$  测试盒测定。

1.2.9 抗氧化酶活性测定 准确称取 1.0 g 双孢蘑菇样品加 5.0 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup> pH7.4 的磷酸缓冲液(含 0.8 g·L<sup>-1</sup> PVP 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA),冰浴条件下研磨匀浆,12000 × g 离心 20 min (4 °C),上清液即为粗酶液。

SOD 活性测定:采用 SOD 测试盒测定。

CAT 活性测定:参照 Liu 等<sup>[15]</sup>的方法并略作修改。取 2.4 mL 50 mmol·L<sup>-1</sup> pH7.0 磷酸钠缓冲液加 0.1 mL 酶提液于 25 °C 水浴预热 2~3 min,再加入 0.5 mL 40 mmol·L<sup>-1</sup>  $H_2O_2$ ,摇匀,立即计时, $H_2O_2$  的降解表示为 240 nm 处吸光度的下降。每 30 s 记录 1 次,记录 5 min。以 1 min 内 OD<sub>240</sub> 降低 0.01 为一个酶活力单位(U),CAT 活性表示为 U·mg<sup>-1</sup> 蛋白。

蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝染色法。

1.2.10 数据处理 采用 SPSS 17.0 和 SigmaPlot12.5 软件对数据进行分析处理,所有实验均重复 3 次。

## 2 结果与讨论

### 2.1 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇褐变度的影响

颜色是消费者判断双孢蘑菇是否可接受的重要参数,采后贮藏期间菌盖的褐变现象十分普遍,是导致商品价值下降的重要原因。从图 1 可以看出,双孢蘑菇的  $L^*$  值随着贮藏时间的延长逐渐下降,对照的  $L^*$  值下降速度较快,贮藏 8 d 后  $L^*$  值从 87.34 降到 77.61;0.3 MPa 二氧化碳短时处理的双孢蘑菇在贮藏前期  $L^*$  值下降明显,2 d 后波动不大,且 0~4 d 的  $L^*$  值均低于对照,仅 8 d 后的  $L^*$  值高于对照,其中 0.3 MPa 二氧化碳短时处理的双孢蘑菇贮藏 8 d 后的  $L^*$  值比对照组高 3.96%,存在显著差异 ( $p < 0.05$ )。从短期护色效果来看,短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇的护色效果并不理想,这可能与短时高压二氧化碳处理破坏了双孢蘑菇的细胞结构有关。研究表明微生物的侵染能够活化双孢蘑菇多酚氧化酶,进而加速酶促褐变的发生<sup>[19]</sup>,而高压二氧化碳处理能够抑制微生物生长<sup>[10]</sup>,这可能是处理组双孢蘑菇在贮藏后期的颜色好于对照的原因之一。

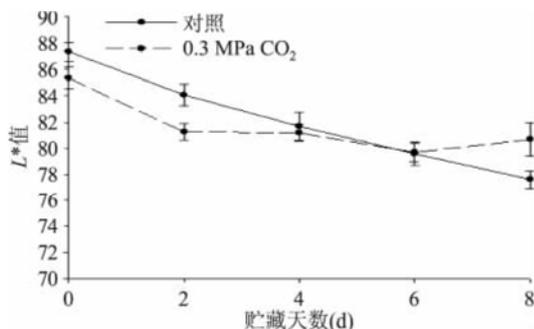


图1 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇色泽的影响

Fig.1 Effect of short-time HPCD treatment on color of button mushroom during storage

### 2.2 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇细胞膜透性和脂质过氧化的影响

相对电导率和 MDA 含量是衡量细胞膜透性和

稳定性的两个主要指标。通常认为相对电导率可以间接反映细胞膜的损伤程度,而 MDA 作为脂质过氧化主要产物,其含量的多少可间接反映细胞脂质氧化的程度。短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇相对电导率和 MDA 含量的影响分别如图 2 和图 3 所示。从图 2 中可以看出,随着贮藏时间的延长,对照组双孢蘑菇的相对电导率从 22.86% 逐渐增大到 28.33%;0.3 MPa 二氧化碳短时处理组的双孢蘑菇相对电导率在贮藏期间则变化平稳,且贮藏 0~6 d 均高于对照,这可能与高压对细胞的破坏作用有关,而 8 d 后的相对电导率为 26.43,比对照低 6.71%。如图 3 所示,在 8 d 贮藏期内,对照组双孢蘑菇的 MDA 从最初的 0.43 nmol·g<sup>-1</sup> 增长到 2.45 nmol·g<sup>-1</sup>,而 0.3 MPa 二氧化碳短时处理组的 MDA 含量则从 1.01 nmol·g<sup>-1</sup> 增长到 2.01 nmol·g<sup>-1</sup>。贮藏前期处理组相对电导率和 MDA 含量均高于对照组,说明高压处理对细胞结构造成了伤害,加速了膜脂过氧化进程,而在贮藏后期处理组的相对电导率和 MDA 含量低于对照组,这可能与高压二氧化碳处理抑制了双孢蘑菇表面微生物数量的增长有关<sup>[10,20]</sup>。

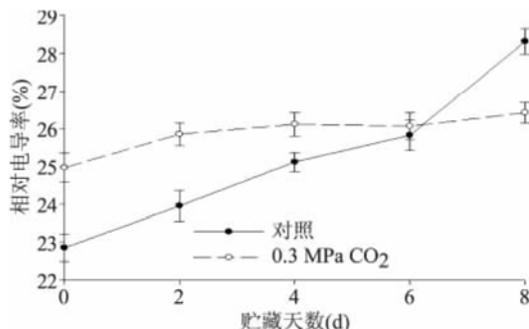


图2 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇相对电导率的影响

Fig.2 Effect of short-time HPCD treatment on relative leakage rate of button mushroom during storage

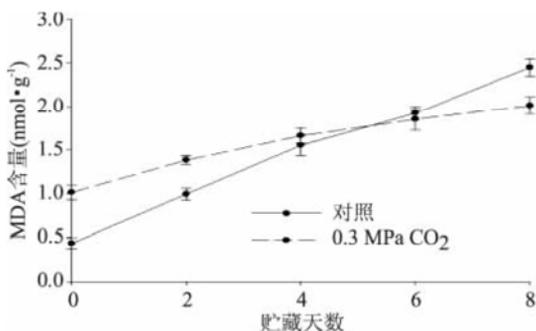


图3 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇 MDA 含量的影响

Fig.3 Effect of short-time HPCD treatment on MDA content of button mushroom during storage

### 2.3 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇总酚和抗坏血酸含量的影响

多酚是双孢蘑菇体内主要的抗氧化物质,该类物质具有维护健康、预防癌症和心血管疾病的有益作用。抗坏血酸是双孢蘑菇体内重要的营养成分之一,然而该物质不稳定,易被氧化,是双孢蘑菇褐变的原因之一。本研究表明双孢蘑菇体内的总酚和抗

坏血酸含量在整个贮藏期呈下降趋势(图4和图5)。由图4可知,贮藏初期(2 d) 0.3 MPa 二氧化碳短时处理组的总酚含量低于对照的含量,随着贮藏时间的延长,0.3 MPa 高压二氧化碳短时处理组的总酚含量逐渐高于对照的含量,尤其是贮藏8 d时 0.3 MPa 二氧化碳短时处理组总酚含量比对照高。如前所述,在贮藏前期,0.3 MPa 二氧化碳短时处理对双孢蘑菇的褐变抑制效果并不明显,而贮藏后期该处理对褐变的抑制效果则逐渐显现,这表明低褐变程度与高总酚含量有关,总酚含量是双孢蘑菇褐变的限制因素<sup>[21-22]</sup>。由图5可知,0.3 MPa 二氧化碳处理组可显著降低抗坏血酸含量的损失,贮藏8 d后抗坏血酸含量分别为  $0.28 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$ , 比对照组的高18.12%,这说明0.3 MPa 二氧化碳处理可以较好的保持双孢蘑菇体内的抗坏血酸含量。

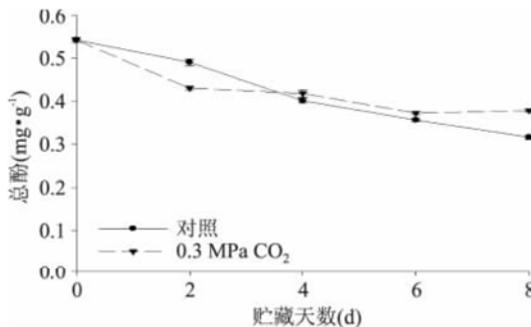


图4 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇总酚含量的影响

Fig.4 Effect of short-time HPCD treatment on total phenolics content of button mushroom during storage

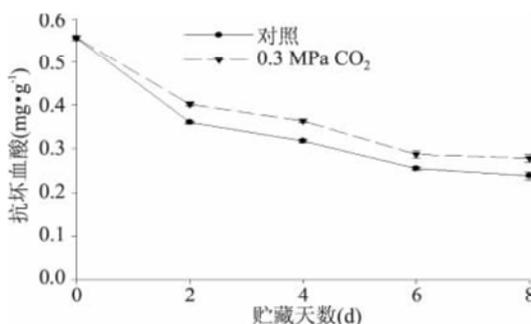


图5 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇抗坏血酸含量的影响

Fig.5 Effect of short-time HPCD treatment on ascorbic acid content of button mushroom during storage

#### 2.4 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇活性氧的影响

$\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  等活性氧导致的脂质过氧化对细胞膜具有严重的伤害作用,导致衰老<sup>[5-6]</sup>。短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇  $\text{O}_2^{\cdot-}$  产生速率和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量的影响分别如图6和图7所示。从图中可以看出随着贮藏时间的延长,双孢蘑菇  $\text{O}_2^{\cdot-}$  产生速率和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量均呈增加趋势,其中0.3 MPa 二氧化碳处理组的变化趋势较对照组平缓,贮藏4 d内处理组双孢蘑菇  $\text{O}_2^{\cdot-}$  产生速率和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量均高于对照组,而贮藏6 d后处理组又低于对照组,这种影响趋势与短时高压二氧化碳处理对相对电导率和MDA含量的影响趋

势基本一致,这说明活性氧的积累与膜透性和脂质过氧化程度的增大密切相关。

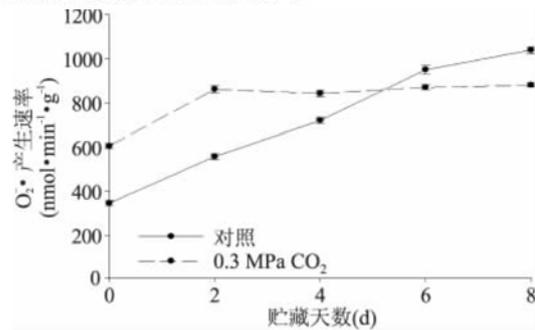


图6 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇  $\text{O}_2^{\cdot-}$  产生速率的影响

Fig.6 Effect of short-time HPCD treatment on superoxide production rate of button mushroom during storage

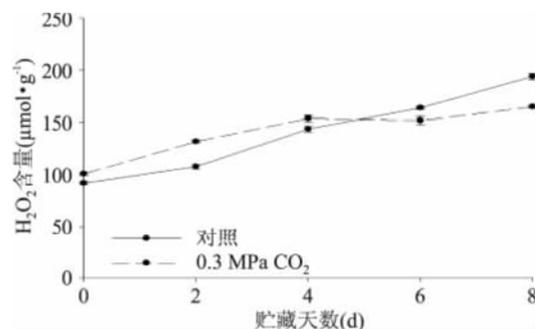


图7 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量的影响

Fig.7 Effect of short-time HPCD treatment on  $\text{H}_2\text{O}_2$  content of button mushroom during storage

活性氧的过剩是衰老和果实成熟的内在特征<sup>[19]</sup>。活性氧的积累不仅能启动脂质过氧化,使维持细胞区域化的膜系统受到瓦解或损伤,而且能与膜结合酶的色氨酸残基或巯基反应导致酶失活<sup>[23]</sup>。该结果同样说明短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇短期的保鲜效果并不理想,但随着贮藏时间的延长,短时高压二氧化碳处理的保鲜效果逐渐显现。Jiménez等<sup>[19]</sup>报道番茄成熟过程中  $\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  积累程度的增加伴随着膜脂过氧化的加剧。Liu和Wang<sup>[8]</sup>研究发现高氧处理能够显著降低双孢蘑菇  $\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  的积累,可能与高氧对抗氧化系统的保护作用有关。本研究发现由于短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇细胞结构的破坏作用,导致在贮藏前期  $\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  的积累较多,加重了活性氧物质对双孢蘑菇的损伤,而在贮藏后期  $\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  的积累较对照减少,因此短时高压二氧化碳对双孢蘑菇的短期保鲜效果并不理想,但从长期来看又具有一定的保鲜效果。

#### 2.5 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇抗氧化酶活性的影响

SOD能够催化超氧阴离子生成  $\text{O}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,而CAT能够催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解成  $\text{O}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ 。两种自由基清除酶能够协同作用来防御活性氧或其它过氧化物

自由基对细胞膜系统的伤害,从而减少自由基对有机体的毒害<sup>[24]</sup>,这些酶活性的变化如图8和图9所示。从图8和图9可以看出,随着贮藏时间的延长,双孢蘑菇CAT和SOD的活性均呈先升高后下降的趋势,CAT和SOD活性分别在贮藏6d和4d时达到峰值。在贮藏前期,0.3 MPa二氧化碳短时处理组的CAT和SOD活性均低于对照组,而在贮藏后期两者活性反而高于对照,这与双孢蘑菇 $O_2^- \cdot$ 和 $H_2O_2$ 的积累趋势相符。

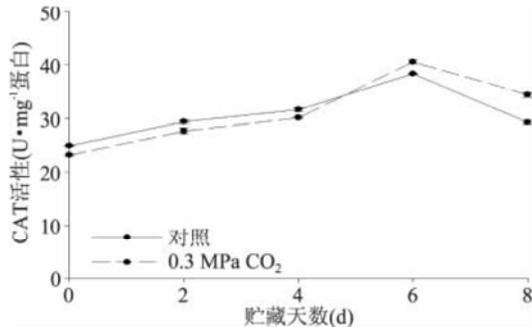


图8 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇CAT活性变化的影响

Fig.8 Effect of short-time HPCD treatment on CAT activity change of button mushroom during storage

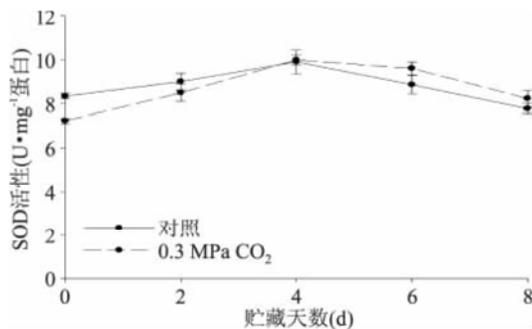


图9 短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇SOD活性变化的影响

Fig.9 Effect of short-time HPCD treatment on SOD activity change of button mushroom during storage

### 3 结论

由于高压对细胞结构的破坏作用,短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇的短期保鲜效果并不理想。与对照相比,在4d贮藏期内,0.3 MPa二氧化碳短时处理降低了双孢蘑菇CAT和SOD活性,促进了 $O_2^- \cdot$ 、 $H_2O_2$ 等活性氧物质的积累,进而加速了细胞膜透性和脂质过氧化进程,导致双孢蘑菇的褐变加重。

随着贮藏时间的延长,逐渐显现出短时高压二氧化碳处理对双孢蘑菇的保鲜效果。在贮藏后期,0.3 MPa二氧化碳短时处理抑制了双孢蘑菇的褐变,降低了相对电导率和MDA、 $O_2^- \cdot$ 、 $H_2O_2$ 等的含量,提高了CAT和SOD的活性,这可能与高压二氧化碳对双孢蘑菇表面微生物数量的抑制作用有关。

此外,双孢蘑菇体内的总酚和抗坏血酸含量在整个贮藏期呈下降趋势,但是0.3 MPa二氧化碳短时处理能够减少双孢蘑菇体内总酚和抗坏血酸的损

失,进而抑制双孢蘑菇的褐变。

### 参考文献

- [1] Brennan M, Le Port G, Gormley R. Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms [J]. LWT-Food Science and Technology, 2000, 33(4): 285-289.
- [2] Gao MS, Feng LF, Jiang TJ. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment [J]. Food Chemistry, 2014, 139: 107-113.
- [3] Fernandes Á, Antonio AL, Oliveira MBPP, et al. Effect of gamma and electron beam irradiation on the physico-chemical and nutritional properties of mushrooms: A review [J]. Food Chemistry, 2012, 135(2): 641-650.
- [4] 倪焱, 马紫英, 夏斌, 等. 巨大口蘑和双孢蘑菇采后生理特性的比较研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(24): 317-321, 365.
- [5] Singh P, Langowski H, Wanib AA, et al. Recent advances in extending the shelf life of fresh *Agaricus* mushrooms: a review [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(9): 1393-1402.
- [6] Jolivet S, Aapin N, Wichers HJ, et al. *Agaricus bisporus* browning: a review [J]. Mycological Research, 1998, 102(12): 1459-1483.
- [7] Lacan D, Baccou J C. High levels of antioxidant enzymes correlate with delayed senescence in nonnetted muskmelon fruits [J]. Planta, 1998, 204(3): 377-382.
- [8] Liu ZL, Wang XY. Changes in color, antioxidant, and free radical scavenging enzyme activity of mushrooms under high oxygen modified atmospheres [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 69: 1-6.
- [9] Spilimbergo S, Bertuecco A. Non-thermal bacteria inactivation with dense  $CO_2$  [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2003, 84: 627-638.
- [10] Garcia-Gonzalez L, Geeraerd AH, Spilimbergo S, et al. High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 117: 1-28.
- [11] 廖红梅, 丁占生, 钟葵, 等. 高压二氧化碳对鲜榨梨汁杀菌效果及动力学研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(24): 83-87.
- [12] Bi XF, Wu JH, Zhang Y, et al. High pressure carbon dioxide treatment for fresh-cut carrot slices [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2011, 12: 298-304.
- [13] Chen JL, Zhang J, Song LJ, et al. Changes in microorganism, enzyme, aroma of hami melon (*Cucumis melo* L.) juice treated with dense phase carbon dioxide and stored at 4 °C [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 11: 623-629.
- [14] Niu S, Xu ZH, Fang YD, et al. Comparative study on cloudy apple juice qualities from apple slices treated by high pressure carbon dioxide and mild heat [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 11: 91-97.

(下转第319页)

565-573.

[15] 胡飞华, 陆海霞, 陈青, 等. 超高压处理对梅鱼鱼糜凝胶特性的影响 [J]. 水产学报, 2010, 34(3): 329-335.

[16] Yagiz Y, Kristinsson H G, Balaban M O, et al. Effect of high pressure processing and cooking treatment on the quality of Atlantic salmon [J]. Food Chemistry, 2009, 116(4): 828-835.

[17] Nasopoulou C, Stamatakis G, Demopoulos C A, et al. Effects of olive pomace and olive pomace oil on growth performance, fatty acid composition and cardio protective properties of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 1108-1113.

[18] Scapigliati G, Buonovore F, Randelli E, et al. Cellular and molecular immune responses of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) experimentally infected with betanodavirus [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2010, 28(2): 303-311.

[19] Buonocore F, Randelli E, Trusolino P, et al. Molecular characterization, gene structure and antibacterial activity of a g-type lysozyme from the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Molecular Immunology, 2014, 62(1): 10-18.

[20] 雒莎莎, 童彦, Jahangir MM, 等. 超高压处理对鲷鱼质构特性的影响 [J]. 中国食品学报, 2012, 12(5): 182-187.

[21] Duflos G, Leduc F, Nguessan A, et al. Freshness characterization of whiting (*Merlangius merlangus*) using an SPEM-GC-MS method and a statistical multivariate approach [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(15): 2568-2575.

[22] 徐永霞, 刘滢, 张朝敏, 等. 超高压处理对冷藏鲈鱼品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(1): 85-89.

[23] Hernández M D, López M B, Alvarez A, et al. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage [J]. Food Chemistry, 2009, 114(1): 237-245.

[24] Ocaño-Higuera V M, Maeda-Martínez A N, Marquez-Ríos E, et al. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods [J]. Food Chemistry, 2011, 125(1): 49-54.

2011, 125(1): 49-54.

[25] 丁婷, 李婷婷, 励建荣. 0℃冷藏三文鱼片新鲜度综合评价 [J]. 中国食品学报, 2014, 14(11): 252-259.

[26] Grossi A, Søltoft-Jensen J, Knudsen J C, et al. Synergistic cooperation of high pressure and carrot dietary fibre on texture and colour of pork sausages [J]. Meat Science, 2011, 89(2): 195-201.

[27] Ramirez-Suarez J C, Morrissey M T. Effect of high pressure processing (HPP) on shelf life of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) minced muscle [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2006, 7(1): 19-27.

[28] Selli S, Cayhan G G. Analysis of volatile compounds of wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by simultaneous distillation-extraction (SDE) and GC-MS [J]. Microchemical Journal, 2009, 93(2): 232-235.

[29] 王璐, 王锡昌, 刘源. 草鱼不同部位气味研究 [J]. 食品科学, 2010, 31(6): 158-164.

[30] 章超桦, 解万翠. 水产风味化学 [M]. 中国轻工业出版社, 2012: 41.

[31] Mottram D S. Flavor formation in meat and meat products: a review [J]. Food Chemistry, 1998, 62(4): 415-424.

[32] 张青, 王锡昌, 刘源. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱-嗅觉测量联用初探鲢鱼肉的挥发性风味物质 [J]. 水产学报, 2009, 33(4): 692-696.

[33] 李淑荣, 王丽, 张春红, 等. 烘烤花生中关键香味化合物的研究 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(15): 3199-3203.

[34] Josephson D B, Lindsay R C, Stuibler D A. Identification of compounds characterizing the aroma of fresh whitefish (*Coregonus clupeaformis*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1983, 31(2): 326-330.

[35] Shahidi F, 李洁. 肉制品与水产品的风味 [M]. 中国轻工业出版社, 2001: 143-164.

[36] 杨华, 娄永江, 杨震峰. GC-MS法分析养殖大黄鱼脱腥前后挥发性成分的变化 [J]. 中国食品学报, 2008, 8(3): 147-151.

(上接第312页)

[15] Liu ZL, Wang XY, Zhu JY, et al. Effect of high oxygen modified atmosphere on post-harvest physiology and sensorial qualities of mushroom [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2010, 45: 1097-1103.

[16] Gonçalves E M, Pinheiro J, Abreu M, et al. Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 97(4): 574-581.

[17] Vaz J A, Barros L, Martins A, et al. Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions [J]. Food Chemistry, 2011, 126(2): 610-616.

[18] Yan B, Dai Q, Liu X, et al. Flooding-induced membrane damage lipid oxidation and activated oxygen generation in corn leaves [J]. Plant Soil, 1996, 179: 261-268.

[19] Jiménez A, Creissen G, Baldeep K, et al. Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening [J]. Planta, 2002, 214: 751-758.

[20] 李静, 李顺峰, 田广瑞, 等. 高压二氧化碳瞬时处理对双孢蘑菇的保鲜效果 [C]. 山西太原: 中国农学会农产品贮藏加工分会, 第二届农产品产地初加工科技交流大会会议论文集, 2015: 90-97.

[21] Zivanovic S, Buescher R W, Kim K S. Textural changes in mushrooms (*Agaricus bisporus*) associated with tissue ultrastructure and composition [J]. Journal of Food Science, 2000, 65(8): 1404-1408.

[22] Sapers G M. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means [J]. Food Technology, 1993, 47(10): 75-84.

[23] Bartoli CG, Simontacchi M, Montaldi E, et al. Oxidative stress, antioxidant capacity and ethylene production during aging of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*) petals [J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47: 595-601.

[24] Lee DH, Lee CB. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays [J]. Plant Science, 2000, 159: 75-85.