

# 基于正交偏最小二乘判别分析探究<sup>60</sup>Co-γ辐照对羊肚菌采后低温贮藏品质的影响

郭佳<sup>1,2</sup>, 陈谦<sup>1,2</sup>, 徐攀<sup>1,2</sup>, 王艳<sup>1,2</sup>, 何江<sup>1,2</sup>, 高鹏<sup>1,2,\*</sup>

(1.四川省原子能研究院, 四川 成都 610101; 2.辐照保藏四川省重点实验室, 四川 成都 610101)

**摘要:**目的: 探究<sup>60</sup>Co-γ辐照处理对采后低温贮藏期间羊肚菌保鲜效果的影响。方法: 以黑脉羊肚菌为试材, 分别用实际吸收剂量1.64、2.18、2.43 kGy和2.93 kGy进行辐照处理, 测定低温贮藏期间其感官品质和理化指标的变化。采用正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)建立基于羊肚菌理化品质指标的辐照处理判别模型, 并采用变异权重参数值(variable importance in the projection, VIP)筛选差异显著指标。结果: 经不同辐照剂量处理后, 羊肚菌在4℃贮藏条件下其感官品质和理化特性呈现不同的变化规律。贮藏5 d后, 与对照组相比, 1.64 kGy和2.18 kGy辐照处理能提高过氧化氢酶活力、总酚含量和类黄酮含量, 降低丙二醛含量、多酚氧化酶活力和过氧化物酶活力, 有效延缓褐变和软化现象, 其中1.64 kGy剂量处理保鲜效果最好( $P < 0.05$ ), 而2.43 kGy和2.93 kGy辐照处理样品则在贮藏末期品质劣变加剧。通过构建辐照处理判别模型, 有效区分样品因辐照处理所造成的差异, 并筛选出过氧化氢酶和过氧化物酶活力为相应的差异显著指标。结论: 1.64 kGy和2.18 kGy辐照处理可明显延缓羊肚菌采后品质的劣变, 且1.64 kGy处理组和对照组差异最大; OPLS-DA法能有效区分不同处理的样品组。

**关键词:** 羊肚菌; <sup>60</sup>Co-γ辐照; 贮藏品质; 正交偏最小二乘判别分析

## Effect of <sup>60</sup>Co-γ Irradiation on the Postharvest Quality of *Morchella angusticeps* during Cold Storage Investigated Using Orthogonal Partial Least Square Discriminant Analysis

GUO Jia<sup>1,2</sup>, CHEN Qian<sup>1,2</sup>, XU Pan<sup>1,2</sup>, WANG Yan<sup>1,2</sup>, HE Jiang<sup>1,2</sup>, GAO Peng<sup>1,2,\*</sup>

(1. Sichuan Institute of Atomic Energy, Chengdu 610101, China;

2. Irradiation Preservation Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610101, China)

**Abstract:** Objective: To investigate the effect of <sup>60</sup>Co-γ irradiation on the quality of harvested *Morchella angusticeps* during cool storage. Methods: *M. angusticeps* was irradiated with different absorbed doses of <sup>60</sup>Co-γ (1.64, 2.18, 2.43 and 2.93 kGy), and the sensory quality and physiological and biochemical indexes of the control and irradiated samples during cold storage were evaluated. Orthogonal partial least square discriminant analysis (OPLS-DA) was used to establish a discriminant model for irradiation treatment based on the physiological and biochemical indexes of *M. angusticeps*, and the significantly differential indexes between the control and irradiation groups were identified using variable importance in the projection (VIP). Results: The patterns of changes in the sensory quality and physiological and biochemical characteristics of *M. angusticeps* irradiated with different doses of <sup>60</sup>Co-γ were different during storage at 4℃. After five days of storage, the activity of catalase and the contents of total phenols and flavonoids in the 1.64 and 2.18 kGy irradiation groups were increased, malondialdehyde content and the activities of polyphenol oxidase and peroxidase were reduced, and browning and softening were retarded as compared to the control group. The dose of 1.64 kGy provided better preservation of the quality of *M. angusticeps* ( $P < 0.05$ ). On the contrary, the doses of 2.43 and 2.93 kGy increased the quality deterioration of

收稿日期: 2021-12-04

基金项目: 四川省重点研发项目(2019YFN0120); 四川省科技创新创业苗子工程项目(2021JDRC0121); 四川省重大科技专项(2019ZDZX0003); 四川省科技创新人才项目(2021JDRC0042); 成都市龙泉驿区科技项目(LQXKJ-KJXM-2021-038)

第一作者简介: 郭佳(1995—)(ORCID: 0000-0002-8989-6899), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品工程。  
E-mail: 897803482@qq.com

\*通信作者简介: 高鹏(1982—)(ORCID: 0000-0002-2875-4176), 女, 副研究员, 硕士, 研究方向为食品科学。  
E-mail: ppenggao@163.com

*M. angusticeps* at the end of storage. The developed discriminant model could distinguish the differences between the control and irradiation treatments effectively. The activities of catalase and peroxidase were identified as significantly differential indexes. Conclusion:  $^{60}\text{Co-}\gamma$  irradiation at doses of 1.64 and 2.18 kGy can delay the quality deterioration significantly and prolong the shelf life of *M. angusticeps*, the dose of 1.64 kGy being more effective. The OPLS-DA model could effectively distinguish between the different treated sample groups.

**Keywords:** *Morchella angusticeps*;  $^{60}\text{Co-}\gamma$  irradiation; storage quality; orthogonal partial least squares-discriminant analysis  
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20211204-051

中图分类号: TS255.36

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2022)21-0315-09

引文格式:

郭佳, 陈谦, 徐攀, 等. 基于正交偏最小二乘判别分析探究 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 辐照对羊肚菌采后低温贮藏品质的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(21): 315-323. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20211204-051. <http://www.spkx.net.cn>

GUO Jia, CHEN Qian, XU Pan, et al. Effect of  $^{60}\text{Co-}\gamma$  irradiation on the postharvest quality of *Morchella angusticeps* during cold storage investigated using orthogonal partial least square discriminant analysis[J]. Food Science, 2022, 43(21): 315-323. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20211204-051. <http://www.spkx.net.cn>

羊肚菌 (*Morchella* sp.) 作为珍稀的食药两用真菌, 因其独特“羊肚状”凹陷和高营养价值受到世界范围内高度重视<sup>[1]</sup>, 并作为我国重要的出口创汇食用菌, 年产量还在不断提高。但因高含水量(相对含量约90%)、高呼吸速率以及缺乏避免水分流失和抵挡微生物侵染的表皮保护组织<sup>[2]</sup>, 羊肚菌在采后贮藏、运输和销售过程中极易出现褐变、皱缩、软化等劣变现象, 严重影响其销售品质和供应量, 造成鲜菇价格的大幅度波动<sup>[3]</sup>。因此, 探索一种有效的保鲜技术以延缓羊肚菌在贮藏期间的品质劣变和延长其货架期具有重要意义。目前, 食用菌的保鲜技术大致可分为用物理、化学和现代生物技术<sup>[4]</sup>。但化学保鲜和生物保鲜商业化操作复杂, 易被病原微生物污染, 且还可能造成营养成分流失等安全隐患<sup>[5]</sup>, 所以市场上需要更加安全高效且简便的保鲜技术。

$^{60}\text{Co-}\gamma$ 辐照作为一种非热加工的物理杀菌技术, 能在保证产品品质不被破坏的基础上, 通过高能量电离辐射达到杀虫、灭菌、防霉以及抑制后熟等效果, 具有安全、环保、节能的特点<sup>[6]</sup>。作为一种食品保藏加工技术, 在延缓食用菌子实体褐变、延长食用菌货架期和增强抗氧化性等方面具有广阔的应用前景<sup>[7]</sup>。但目前研究发现, 品种的差异性和辐照剂量的选择会直接影响辐照贮藏的效果。如1 kGy处理香菇不仅能维持子实体品质, 还能促进酚类物质的积累, 增强抗氧化性, 但2 kGy处理则会加速子实体的软化导致品质劣变<sup>[8]</sup>; 同样, 2 kGy处理也会加速白灵菇子实体褐变<sup>[9]</sup>。而2 kGy处理却能明显延缓双孢磨菇菌盖开伞、菌柄伸长和子实体褐变, 并延长货架期至12 d<sup>[10]</sup>。尽管已有辐照技术对羊肚菌营养品质的探究以及选育优良菌株的报道, 但辐照技术对羊肚菌采后品质影响和辐照剂量的筛选以及辐照剂量对品质变化影响的研究尚鲜见报道。因此,

筛选合适的辐照剂量对深入推广辐照技术在食用菌贮藏保鲜中的应用具有重要意义。

正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)作为一种有监督的多元判别分析统计方法, 在产地溯源、快速分类判别和预测, 以及差异的特征指标识别方面准确性较高<sup>[11]</sup>。因此, 本研究利用 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 辐照技术对羊肚菌进行贮前处理, 分析冷藏期间辐照处理对羊肚菌生理和生化指标的影响, 并基于OPLS-DA建立辐照剂量与各品质指标间的关系模型, 从新的角度寻找不同辐照剂量组之间的差异, 以期对羊肚菌的辐照保鲜提供方法和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

黑脉羊肚菌 (*Morchella angusticeps*) 购于四川省金堂县, 采后冷链于当天运抵实验室。选取外观整齐、大小一致、无任何机械损伤和病虫害的子实体装入聚乙烯透明保鲜盒(19.5 cm×13.5 cm×5 cm)后进行实验, 每盒(100±5) g。

平板计数琼脂 青岛海博生物技术有限公司; 氯化钠、三氯乙酸、乙酸、乙酸钠、邻苯二酚、甲醇、盐酸、硫酸、乙酸乙酯 成都市科龙化工试剂厂; 硫代巴比妥酸、聚乙二醇PEG 6000、愈创木酚、蒽酮 北京索莱宝科技有限公司; 以上试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

200万居里全自动FJx424-γ型辐照装置 四川省原子能研究院辐照工程中心; TMS-Pro质构仪 美国FTC公司; CS-C600色差仪 杭州彩谱科技有限公司; Centrifuge 5810R高速冷冻离心机 德国Eppendorf公司; SpectraMax M2多功能酶标仪 美谷分子仪器(上海)



有限公司; 906GP-超低温冰箱 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; PJ-400拍打式无菌均质机 上海力辰仪器科技有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 辐照处理及贮存条件

实验组由四川省原子能研究院辐照中心的设备进行辐照处理, 初始设定辐照剂量为1.5、2.0、2.5 kGy和3.0 kGy。采用 $Ag_2Cr_2O_7$ 剂量计进行剂量追踪, 确定实际辐照吸收剂量分别是1.64、2.18、2.43 kGy和2.93 kGy。以未辐照处理为对照组, 并设定1.64 kGy和2.18 kGy为低剂量组, 2.43 kGy和2.93 kGy为高剂量组, 每个处理18盒, 贮藏期内均置于 $(4 \pm 1)^\circ C$ 、相对湿度85%冷藏室中, 每隔一天进行相关指标测定。

#### 1.3.2 质量损失率的测定

采用称质量法<sup>[12]</sup>对每个时间点羊肚菌的质量进行测定。羊肚菌质量损失率计算如公式(1)所示。

$$\text{质量损失率}/\% = \frac{\text{贮藏前质量}/g - \text{贮藏后质量}/g}{\text{贮藏前质量}/g} \times 100 \quad (1)$$

#### 1.3.3 菌柄硬度的测定

参照刘维等<sup>[13]</sup>的方法并稍作修改, 利用TMS-Pro质构仪对羊肚菌菌柄进行硬度测定, 形变量为70%。每组选择6个样, 每个样在菌柄处随机取3个点测定。

#### 1.3.4 菌柄色泽和褐变指数的测定

子实体的色泽采用色差仪垂直于羊肚菌菌柄表面测得的 $L^*$ 、 $a^*$ 和 $b^*$ 值表示, 随机取3个羊肚菌分别测定3处色泽。并参照Gao Mengsha等<sup>[14]</sup>的方法计算褐变指数(browning index, BI), 如公式(2)、(3)所示。

$$BI = \frac{100(x - 0.31)}{0.17} \quad (2)$$

$$x = \frac{a^* + 1.75L^*}{5.645L^* + a^* - 3.012b^*} \quad (3)$$

#### 1.3.5 微生物计数测定

菌落总数测定参照GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》<sup>[15]</sup>。根据平板内的菌落数目和相应的稀释倍数, 计算出每克样品所含的菌落总数(CFU/g), 结果以lg(CFU/g)表示。

#### 1.3.6 生化指标测定

在贮藏期间每隔一天取菌柄菌盖交界2~3 cm处组织, 并迅速用液氮冷冻包装后保存于 $-80^\circ C$ 超低温冰箱中, 用于以下生化指标测定。

##### 1.3.6.1 总酚、类黄酮含量和MDA含量测定

总酚、类黄酮含量的测定参照Pirie等<sup>[16]</sup>的方法稍作修改。取1.0 g样品, 加入预冷的4.0 mL体积分数1%盐酸-甲醇溶液, 冰浴研磨成浆, 定容至20 mL, 于 $4^\circ C$ 下避光提取20 min,  $12\ 000 \times g$ 低温离心15 min, 取上清液分别

在280 nm和325 nm波长处测定光密度值。体积分数1%盐酸-甲醇溶液作空白参比校准液。总酚和类黄酮含量单位分别为 $OD_{280\text{ nm}}/g\ m_f$ 和 $OD_{325\text{ nm}}/g\ m_f$ 。

丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量参照Xi Yu等<sup>[17]</sup>的方法并稍作修改。取1 g样品在7 mL体积分数10%三氯乙酸溶液中冰浴研磨,  $10\ 000 \times g$ 低温离心20 min, 收集上清液后与质量浓度6.7 g/L硫代巴比妥酸混合, 并于 $95^\circ C$ 水浴20 min, 冷却后, 分别在450、523 nm和600 nm波长处测定光密度值, 含量以nmol/g表示。

##### 1.3.6.2 PPO、POD活力和CAT活力测定

取冷冻研样后的样品, 参照Yuan Li<sup>[18]</sup>、Li Danqing<sup>[19]</sup>和Liu Qin<sup>[20]</sup>的方法分别测定多酚氧化酶(polyphenoloxidase, PPO)、过氧化物酶(peroxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活力。酶活力单位均为U/g  $m_f$ 。

### 1.4 数据统计与分析

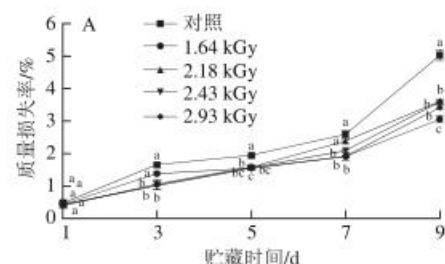
采用Excel 2010软件进行数据平均值和标准误的计算; 采用SPSS 23.0统计软件的Duncan's法进行显著差异性( $P < 0.05$ )和配对t-检验( $P < 0.05$ )分析; 采用Origin 21.0软件绘图; 采用Metabo-Analyst 5.0软件(<https://www.metaboanalyst.ca>)进行OPLS-DA模型建立。

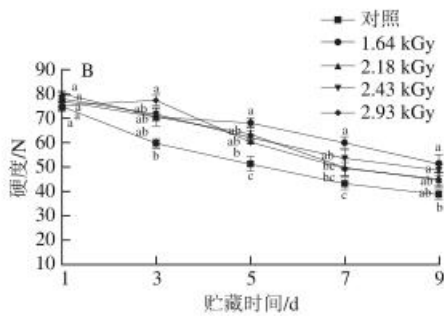
## 2 结果与分析

### 2.1 $^{60}Co-\gamma$ 辐照对羊肚菌采后生理及贮藏品质的影响

#### 2.1.1 $^{60}Co-\gamma$ 辐照对羊肚菌质量损失率和硬度的影响

子实体在贮藏期间会因蒸腾和呼吸作用发生失水现象, 导致质量下降<sup>[21]</sup>。如图1A所示, 贮藏过程中处理组和对照组的羊肚菌质量损失率均逐渐升高。贮藏至第3天时, 2.18、2.43 kGy和2.93 kGy处理组的质量损失率显著低于对照组和1.64 kGy处理组( $P < 0.05$ ), 且随着贮藏时间的延长, 1.64 kGy处理组的子实体质量损失率上升最缓慢, 贮藏到第5天时质量损失率比对照组低24.9%, 第9天时质量损失率显著低于其他辐照处理组( $P < 0.05$ )。结果表明, 辐照处理能够减少贮藏期间羊肚菌的质量损失, 且1.64 kGy处理的羊肚菌效果最好。





相同贮藏时间小写字母不同表示组间差异显著 ( $P < 0.05$ )。图3~6同。

图1 辐照剂量对羊肚菌冷藏期间质量损失率 (A) 和硬度 (B) 的影响

Fig. 1 Effects of different irradiation doses on mass loss rate (A) and hardness (B) of *M. angusticeps* during cold storage

硬度是反映子实体质地和贮藏保鲜效果的另一个重要指标<sup>[22]</sup>。由图1B可知,羊肚菌菌柄的硬度随着贮藏时间的延长而逐渐下降。与对照组相比,贮藏第3天时,除2.93 kGy处理组硬度上升外,其余各辐照处理组羊肚菌硬度缓慢下降。第5天时辐照处理组均与对照组存在显著差异 ( $P < 0.05$ ),同时,对照组表皮结构开始发生明显软化。7 d后高剂量处理组硬度下降逐渐加快,略高于对照组但差异不显著 ( $P > 0.05$ ),而1.64 kGy处理组仍维持一定硬度,显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。结果表明,贮藏前一定剂量的辐照处理能有效维持羊肚菌的硬度,减缓组织结构的软化。

### 2.1.2 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 辐照对羊肚菌色泽的影响

外观品质是影响子实体货架期和销售性的重要指标。由图2可见,随贮藏时间的延长,菌盖褶皱处开裂且褐色加深,菌柄从横断切口处褐变开始到整个菌柄发生严重褐变。与辐照处理组相比,对照组在第3天时先开始出现泛黄现象,并集中在横断切口处和菌柄菌盖交界处。第5天时,对照组羊肚菌皱缩现象最明显,且到第9天时,发生严重褐变现象。而各处理组在贮藏前5 d,羊肚菌在色泽和形态上无明显差异,但在贮藏5 d后,高剂量组菌柄泛黄和皱缩程度不断加剧,而1.64 kGy处理组仍保持一定色泽,菌柄皱缩现象也明显得到缓解。

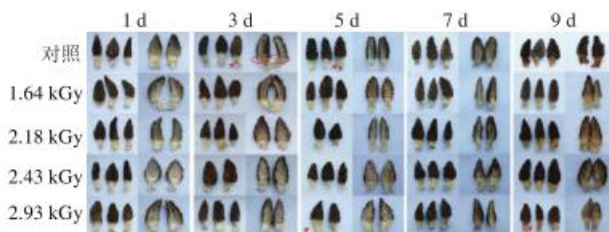


图2 不同辐照剂量下羊肚菌子实体在贮藏期间的外观变化

Fig. 2 Changes in the appearance of *M. angusticeps* irradiated at different doses during storage

如图3所示,对菌柄色泽变化的测定结果,在整个贮藏期间,对照组和处理组羊肚菌菌柄 $L^*$ 值均呈现下降趋势。

而高剂量处理组在贮藏前期 $L^*$ 值下降幅度缓慢,但在贮藏后期下降趋势逐渐增大,且在贮藏7 d时,与1.64 kGy处理组存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。羊肚菌菌柄BI在贮藏期内呈现上升趋势(图3B)。1.64 kGy处理组羊肚菌BI变化幅度最小,且在贮藏5 d后,与对照组间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。综上,辐照处理能在一定程度上延缓子实体在低温贮藏中外观品质的劣变,其中1.64 kGy处理组延缓效果最好。

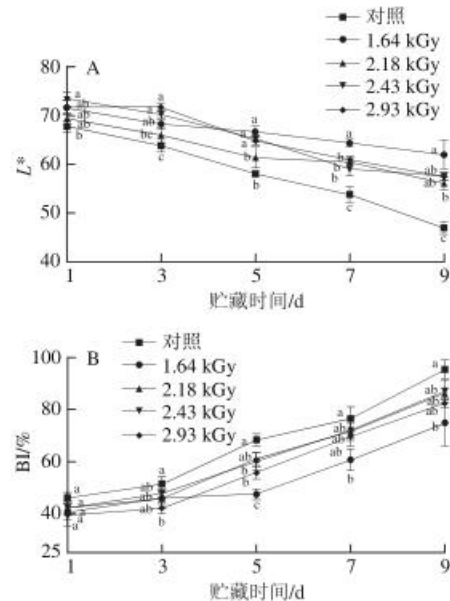


图3 辐照剂量对羊肚菌贮藏期间 $L^*$ 值 (A) 和BI (B) 的影响

Fig. 3 Effects of different irradiation doses on  $L^*$  value (A) and BI (B) of *M. angusticeps* during storage

### 2.1.3 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 辐照对羊肚菌的菌落总数影响

辐照处理通过高能射线直接影响羊肚菌子实体微生物的含量。由图4可知,辐照处理组的菌落总数均显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ),且表现出随着辐照剂量增加菌落总数逐渐降低的趋势。

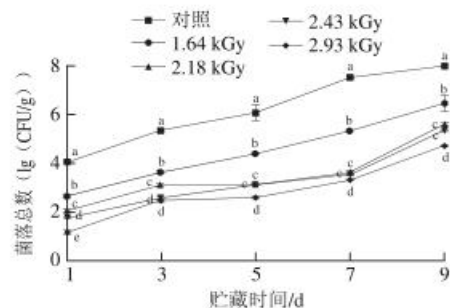


图4 辐照剂量对羊肚菌贮藏期间菌落总数的影响

Fig. 4 Effects of different irradiation doses on total bacterial count of *M. angusticeps* during storage

### 2.1.4 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 辐照对羊肚菌总酚和类黄酮含量的影响

总酚和类黄酮作为食用菌主要的抗氧化成分,



其含量变化与子实体的风味形成和褐变密切相关<sup>[23]</sup>。由图5可知,羊肚菌的总酚含量和类黄酮含量随着贮藏时间延长所有组整体大都呈现出缓慢上升后下降的趋势。贮藏第3天,高剂量处理组总酚含量和类黄酮含量均高于其他处理组和对照组,这可能是由于子实体为了抵御高剂量辐射的损伤作用,通过诱导酚类化合物的形成来增强子实体的抗性。但随着贮藏期的延长,高剂量处理组上升趋势缓慢,相反,低剂量辐照组含量迅速上升并在第7天达到峰值,1.64 kGy处理组含量最高,显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。结果表明,辐照处理能够促使子实体酚类物质合成,从而提升自身抗性,延长贮藏期。

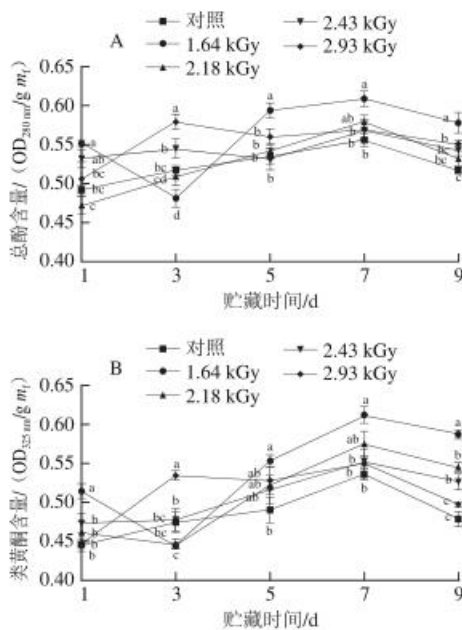


图5 辐照剂量对羊肚菌贮藏期间总酚 (A) 和类黄酮 (B) 含量的影响  
Fig. 5 Effects of different irradiation doses on the contents of total phenols (A) and flavonoids (B) in *M. angusticeps* during storage

2.1.5 <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 辐照对羊肚菌POD、CAT和PPO活力以及MDA含量的影响

如图6所示,处理组和对照组POD活力变化在整个贮藏过程中呈逐渐上升的趋势,CAT活力和PPO活力的变化均呈现先上升后下降的趋势。辐照处理能明显降低子实体POD活力,与对照组相比,5 d后1.64 kGy处理组能显著降低POD活力 ( $P<0.05$ ) (图6A)。贮藏第5天时,对照组CAT活力达到峰值,随着贮藏时间的延长迅速下降,而1.64、2.18、2.43 kGy和2.93 kGy处理组CAT活力继续上升,在第7天时达到峰值,并显著高于对照组 ( $P<0.05$ ),分别比对照组高61.5%、37.4%、26.6%和33.9% (图6B)。对照组PPO活力在贮藏第7天时到达峰值,与对照组相比,高剂量辐照处理组在贮藏前3 d显著降低PPO活力 ( $P<0.05$ ),但5 d后高剂量组仅略低于对照组 ( $P>0.05$ ),而1.64 kGy处理组差异显著

( $P<0.05$ ) (图6C)。结果表明,高剂量辐照处理组在贮藏末期能够促进PPO活力和POD活力增加,加速褐变进程。而低剂量组能够有效降低POD活力和PPO活力,增加CAT活力,从而延缓羊肚菌的衰老。

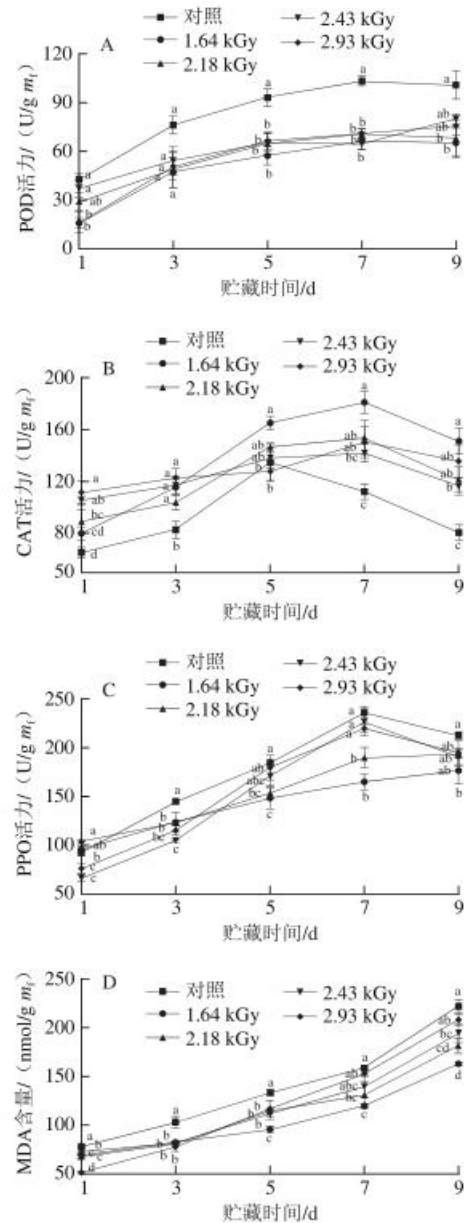


图6 辐照剂量对羊肚菌贮藏期间POD (A)、CAT (B)、PPO (C) 活力和MDA含量 (D) 的影响

Fig. 6 Effects of different irradiation doses on the activity of POD (A), CAT (B) and PPO (C) and MDA (D) content in *M. angusticeps* during storage

MDA作为膜脂过氧化反应的最终产物,其含量是衡量细胞膜透性的一个重要指标<sup>[24]</sup>。如图6D所示,贮藏期间羊肚菌MDA含量呈现上升趋势,且经辐照处理能明显抑制MDA的积累,相比于2.93 kGy处理组在贮藏后期(5~9 d)迅速累积,1.64 kGy辐照处理组上升较缓慢,且与对照组积累量存在显著差异 ( $P<0.05$ ),抑制效果

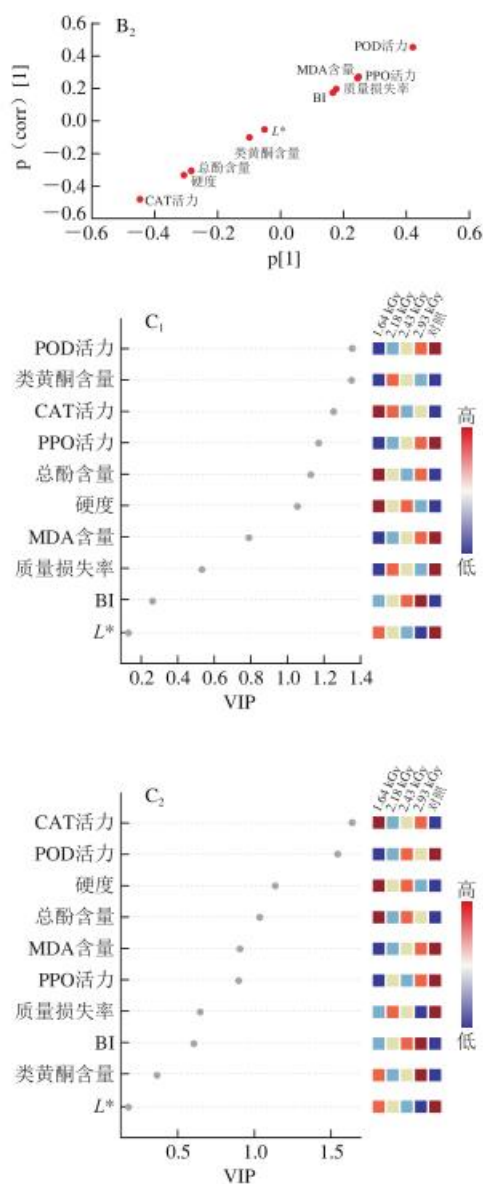
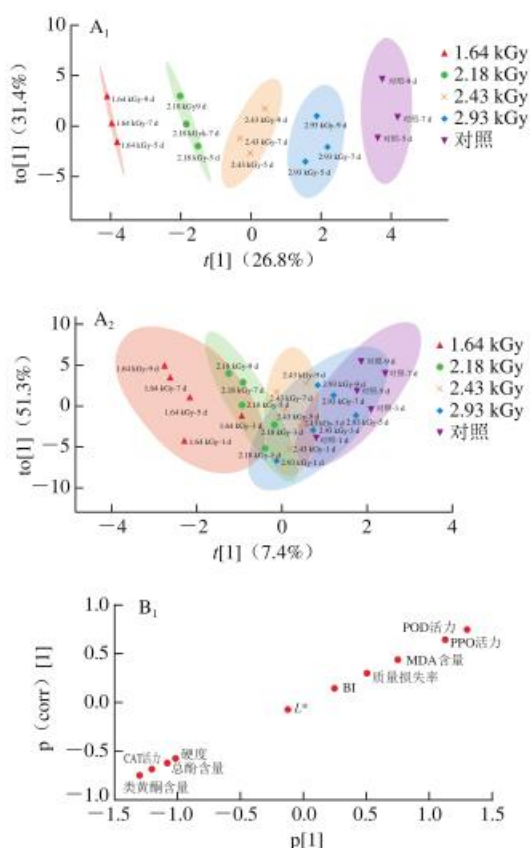
最好。结果表明,低剂量辐照处理能够有效减缓细胞膜的过氧化,减轻辐照损伤。

## 2.2 多元统计分析结果

### 2.2.1 基于OPLS-DA模型的*M. angusticeps*处理组的差异区分

OPLS-DA属于有监督统计的分析方法,相比于主成分分析方法和偏最小二乘判别分析法,其通过预设分类变量来剔除未控制变量对数据造成的影响,且能进一步挖掘数据信息和量化各处理组间的差异程度,因此,是一种非常适用于具有多线性和噪声变量数据分类的分析方法<sup>[25]</sup>。

图7展示了OPLS-DA的分析结果,两模型都有较好的矩阵解释率和模型拟合能力,贮藏末期组模型的稳定性更高<sup>[26]</sup>。贮藏末期组模型是对贮藏末期(5~9 d)辐照处理组和对照组子实体感官和理化品质指标的差异分析( $Q^2=0.915$ ;  $R^2_x=0.91$ ;  $R^2_y=0.991$ ),由图7A<sub>1</sub>可看出,各处理组单独分布、无重叠,且相比于对照组,各辐照处理组在贮藏末期差异明显,而高剂量辐照组接近对照组。而整个贮藏期组模型分析整个贮藏期(1~9 d)内辐照处理和对照组间的差异( $Q^2=0.735$ ;  $R^2_x=0.913$ ;  $R^2_y=0.86$ ),其中低剂量组分布于置信区间的左侧,对照组分布在置信区间的右侧,两者间区分明显(图7A<sub>2</sub>),而高剂量组与对照组置信区间略有重合,差异不明显。结果表明,1.64 kGy处理组的贮藏效果最好。



A. 样品得分散点图; B. S型载荷图; C. 变异权重参数值图。下标1, 贮藏末期(5~9 d); 下标2, 整个贮藏期。圆圈表示95%的置信区间。

图7 不同处理对羊肚菌贮藏末期(5~9 d)和整个贮藏期生理和生化指标的OPLS-DA

Fig. 7 OPLS-DA of physiological and biochemical indexes of *M. angusticeps* with different treatments in the late stage of storage (between days 5 and 9) and during the whole storage period

### 2.2.2 差异指标分析结果

为更深入地了解各处理组间的差异,找出对模型和各处理组分类判别影响强度和解释能力起贡献作用的变量,分别对模型预测变量中的重要性变量进行评估<sup>[27]</sup>。通过变异权重参数值(variable importance in the projection, VIP)(阈值>1)和S-plot图筛选出影响各处理组的差异指标。贮藏末期(5~9 d),POD活力、类黄酮含量、CAT活力和PPO活力、总酚含量以及硬度这6个指标是影响辐照处理组和对照组间差异的主要特征



指标(图7B<sub>1</sub>和图7C<sub>1</sub>)。此外, CAT、POD活力、硬度和总酚含量4个指标也是区别低剂量组和高剂量组间的差异指标(图7B<sub>2</sub>、C<sub>2</sub>)。其次, 通过联系配对*t*-检验, 筛选出CAT、POD活力和硬度是区分1.64 kGy处理组和对照组差异贡献度最大的显著指标( $P < 0.05$ ) (表1)。综合上述结果, 不同剂量辐照处理均能影响羊肚菌子实体贮藏效果。其中, 1.64 kGy处理组和对照组差异最大, 表现为能延缓子实体的腐烂变质, 进而延长货架期。

表1 区分1.64 kGy处理组与对照组的显著差异指标结果

Table 1 Identification of significantly differential indicators between 1.64 kGy irradiation and control groups

差异显著指标	VIP值	P值	变化趋势
CAT活力	1.64	0.017 76	↑
POD活力	1.55	0.000 09	↓
硬度	1.13	0.011 17	↑

注: ↑, 上升; ↓, 下降。

### 3 讨论

羊肚菌采后生理活动旺盛, 且具有特殊的中空结构和组织脆嫩性, 导致品质劣变造成的采后损失非常严重。辐照技术对微生物作用明显, 已被广泛应用于食品卫生和安全性领域。除此之外, 辐照保鲜作为近年来研究的热点内容, 也开始应用到食用菌的保鲜研究中。食用菌作为水分含量高的农产品, 研究发现<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 辐照技术主要是通过辐照电离食用菌细胞内的水分子, 利用产生氢自由基和羟自由基等活性成分间接作用于细胞成分, 还通过辐照射线作用于碳水化合物和脂质等化学成分影响酶活力和活性成分含量, 减慢相关生理代谢反应速率和延缓子实体的衰老, 最终达到保鲜的效果<sup>[28]</sup>。本研究发现, 辐照处理联合采后低温贮藏能通过激活羊肚菌氧化酶活力, 刺激抗氧化系统, 从而延缓羊肚菌子实体的衰老和品质劣变。

羊肚菌的褐变和软化作为采后贮藏保鲜品质劣变的主要现象, 表现为菌柄褐变上升、萎缩且硬度降低、菌盖褶皱脱落以及内容物外溢。研究表明, 引起子实体品质劣变与活性氧自由基积累、MDA等有害物质的产生密切相关<sup>[29]</sup>。在贮藏过程中由于子实体的呼吸、蒸腾等新陈代谢活动消耗了大量的营养物质, 使活性氧自由基的动态平衡被破坏<sup>[30]</sup>。而随着氧化产物的积累, 胞内的酶促反应加速, 引起膜脂过氧化及其产物MDA含量的上升, 致使细胞膜透性增加和酚-酚酶区室化分布被打破。PPO作为影响褐变发生的关键酶, 贮藏过程中其活力逐渐升高, 并与酚类物质氧化聚合生成黑色素, 导致子实体褐变发生<sup>[31]</sup>。此外, 作为反映细胞膜脂过氧化程度的MDA, 还会继续与胞内大量的游离氨基酸等成分作用生成脂褐素, 进一步加速子实体的褐变和软化<sup>[32]</sup>。本研究发现, 与对照组相比, 辐照处理能显著降低贮藏期间

羊肚菌的质量损失, 延缓子实体的褐变和MDA含量的积累。目前的研究表明, 辐照处理能通过激活植物体内的相关保护酶来应对活性氧爆发, 辐照产生的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>则作为活性氧爆发早期激活机体产生相关防御反应的信号传导分子<sup>[33]</sup>。CAT作为重要的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除剂, 其活力直接反映了细胞免受活性氧损害的程度<sup>[34]</sup>。本研究发现, CAT作为区别辐照前后羊肚菌的差异指标, 辐照处理在显著提高酶活力的同时, 还能够推迟活力峰值的出现, 推迟原因可能是非酶促抗氧化系统在贮藏前期占主导作用。总酚和类黄酮作为植物体的抗氧化成分, 经辐照处理后能通过诱导糖苷类物质和细胞壁多糖发生降解转化而引起含量上升<sup>[35]</sup>, 但随着清除过程的进行, 则又与PPO发生酶促褐变而导致含量下降。酶促和非酶促抗氧化系统共同构成细胞抗氧化防御系统的关键组成部分。而POD作为另一个清除H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的氧化酶, 本研究发现, 在整个贮藏过程中, 辐照处理均降低了羊肚菌POD活力, 这与Liu Qin等<sup>[20]</sup>研究香菇贮藏保鲜的结果一致。表明POD可能也参与了酚类物质的氧化, 与PPO一样引起果实的褐变<sup>[36]</sup>。因此, 辐照处理羊肚菌能通过增强抗氧化能力保持膜完整性, 并通过减少酚类底物的氧化来抑制酶促褐变反应发生。

此外, 本研究发现, 高剂量辐照处理的羊肚菌在贮藏前期表现出了较高的氧化酶活力、总酚含量和类黄酮含量, 这可能是由于高剂量辐照破坏子实体细胞壁, 通过诱导非生物胁迫产生活性氧, 提高了机体的抗氧化能力, 另外也有研究表明, 高剂量辐照处理可能通过诱导苯丙烷代谢, 刺激苯丙氨酸解氨酶活力升高, 调节了抗氧化系统<sup>[37]</sup>。其中, POD也作为参与苯丙烷代谢的氧化酶, 含量的上升能引起果实的木质化, 并促进采后愈伤<sup>[38]</sup>, 但在本研究中, 作为区分辐照处理间差异的显著指标, 对照组POD活力逐渐升高, 贮藏期内逐渐软化, 辐照处理则表现出较低的POD活力, 较好地维持了羊肚菌的硬度, 与Liu Qin等<sup>[20]</sup>的报道一致。而至于辐照处理如何影响苯丙烷代谢途径以及是否引起木质化尚有待进一步揭示。

### 4 结论

本研究用4种辐照剂量处理黑豚羊肚菌后进行低温贮藏保鲜实验, 并基于OPLS-DA建立指标判别模型来分析辐照处理前后以及各辐照处理间的差异。结果表明, 经低剂量辐照处理的羊肚菌, 特别是1.64 kGy处理能明显减轻子实体的质量损失, 能通过抑制褐变相关酶活力和刺激抗氧化系统, 减轻子实体的软化和褐变, 保鲜效果最好。而结合OPLS-DA多元统计模型能较好地对比羊肚菌各处理组进行区分, 筛选出影响有无辐照处理的



差异指标是CAT活力,影响各辐照处理组效果的差异指标是POD活力。研究可为后续羊肚菌辐照保鲜的工业化应用提供数据支持。

#### 参考文献:

- [1] TIETEL Z, MASAPHY S. Chemotyping of three *Morchella* species reveals species- and age-related aroma volatile biomarkers[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 154: 112587. DOI:10.1016/j.lwt.2021.112587.
- [2] JACINTO-AZEVEDO B, VALDERRAMA N, HENRÍQUEZ K, et al. Nutritional value and biological properties of Chilean wild and commercial edible mushrooms[J]. Food Chemistry, 2021, 356: 129651. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129651.
- [3] 赵瑞, 刘绍雄, 马超. 我国羊肚菌产业发展现状及市场分析[J]. 中国食用菌, 2020, 39(2): 7-10. DOI:10.13629/j.cnki.53-1054.2020.02.002.
- [4] 刘泽松, 史君彦, 左进华, 等. UV-C和LED红光复合处理对西兰花贮藏品质的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(17): 238-245. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190805-052.
- [5] MARÇAL S, SOUSA A S, TAOFIQ O, et al. Impact of postharvest preservation methods on nutritional value and bioactive properties of mushrooms[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110(2): 418-431. DOI:10.1016/j.tifs.2021.02.007.
- [6] 陈谦, 傅舒, 杨敏, 等.  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 辐照对美味牛肝菌挥发性成分的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(21): 212-217. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2018.21.038.
- [7] FERNANDES Á, ANTONIO A L, BARREIRA J C M, et al. Effects of gamma irradiation on physical parameters of *Lactarius deliciosus* wild edible mushrooms[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 74: 79-84. DOI:10.1016/j.postharvbio.2012.06.019.
- [8] JIANG Tianjia, LUO Shasha, CHEN Qiuping, et al. Effect of integrated application of gamma irradiation and modified atmosphere packaging on physicochemical and microbiological properties of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*)[J]. Food Chemistry, 2010, 122(3): 761-767. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.03.050.
- [9] 熊巧玲, 邢增涛, 冯志勇, 等.  $^{60}\text{Co}$ 辐照对白灵菇采后低温贮藏的影响[J]. 核农学报, 2007, 21(3): 273-276. DOI:10.3969/j.issn.1000-8551.2007.03.017.
- [10] WANI A M, HUSSAIN P R, MEENA R S, et al. Effect of gamma irradiation and sulphitation treatments on keeping quality of white button mushroom *Agaricus bisporus* (*J. Lge*)[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2009, 44(5): 967-973. DOI:10.1111/j.1365-2621.2008.01773.x.
- [11] GHISONI S, LUCINI L, ROCCHETTI G, et al. Untargeted metabolomics with multivariate analysis to discriminate hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars and their geographical origin[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(2): 500-508. DOI:10.1002/jsfa.9998.
- [12] DUAN Jingyun, WU Ruyi, STRIK B C, et al. Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 59(1): 71-79. DOI:10.1016/j.postharvbio.2010.08.006.
- [13] 刘维, 周智威, 白婷, 等. 外源ATP对羊肚菌采后理化性质和挥发性呈香物质的影响[J]. 中国测试, 2019, 45(8): 85-92. DOI:10.11857/j.issn.1674-5124.2019020027.
- [14] GAO Mengsha, FENG Lifang, JIANG Tianjia. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment[J]. Food Chemistry, 2014, 149: 107-113. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.10.073.
- [15] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定: GB 4789.2—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-7.
- [16] PIRIE A, MULLINS M G. Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid[J]. Plant Physiology, 1976, 58(4): 468-472. DOI:10.1104/pp.58.4.468.
- [17] XI Yu, FAN Xinguang, ZHAO Handong, et al. Postharvest fruit quality and antioxidants of nectarine fruit as influenced by chlorogenic acid[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 75: 537-544. DOI:10.1016/j.lwt.2016.10.004.
- [18] YUAN Li, BI Yang, GE Yonghong, et al. Postharvest hot water dipping reduces decay by inducing disease resistance and maintaining firmness in muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit[J]. Scientia Horticulturae, 2013, 161: 101-110. DOI:10.1016/j.scienta.2013.06.041.
- [19] LI Danqing, QIN Xiaoyi, TIAN Pingping, et al. Toughening and its association with the postharvest quality of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) stored at low temperature[J]. Food Chemistry, 2016, 196: 1092-1100. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.10.060.
- [20] LIU Qin, CUI Xiao, SONG Zhibo, et al. Coating shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) with a polysaccharide from *Oudemansiella radicata* improves product quality and flavor during postharvest storage[J]. Food Chemistry, 2021, 352: 129357. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129357.
- [21] YU Yan, SUN Yujing, QIAO Liping, et al. Effect of UV-C treatments on phenolic compounds and antioxidant capacity of minimally processed Satsuma mandarin during refrigerated storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2013, 76: 50-57. DOI:10.1016/j.postharvbio.2012.09.006.
- [22] 田平平, 王杰, 秦晓艺, 等. 采后处理对杏鲍菇贮藏品质及抗氧化酶系统的影响[J]. 中国农业科学, 2015, 48(5): 941-951. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2015.05.12.
- [23] 黎春红, 张雷刚, 罗淑芬, 等. 外源乙烯对采后杏鲍菇内源乙烯释放和衰老进程的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(23): 182-191. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201823028.
- [24] FANG Donglua, YANG Wenjian, KIMATU B M, et al. Effect of nanocomposite packaging on postharvest quality and reactive oxygen species metabolism of mushrooms (*Flammulina velutipes*)[J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 119: 49-57. DOI:10.1016/j.postharvbio.2016.04.012.
- [25] CHUNG I M, KIM J K, HAN J G, et al. Potential geo-discriminative tools to trace the origins of the dried slices of shiitake (*Lentinula edodes*) using stable isotope ratios and OPLS-DA[J]. Food Chemistry, 2019, 295: 505-513. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.05.143.
- [26] 富天昕, 冯玉超, 张丽媛, 等. 基于GC-MS技术对不同产地稻米的代谢组学分析[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 176-181. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180621-412.
- [27] 刘晗璐, 张九凯, 韩建勋, 等. 基于UPLC-QTOF-MS代谢组学技术的NFC和FC橙汁差异成分比较[J]. 食品科学, 2021, 42(6): 229-237. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20191014-106.



- [28] FAN Xuotong, WANG Wenli. Quality of fresh and fresh-cut produce impacted by nonthermal physical technologies intended to enhance microbial safety[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(2): 362-382. DOI:10.1080/10408398.2020.1816892.
- [29] 王霆, 张雨, 刘宏, 等. 臭氧熏蒸处理联合PE包装对金针菇采后贮藏品质及抗氧化能力的影响[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(4): 823-835. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2020.04.014.
- [30] 易琳琳, 应铁进. 食用菌采后品质劣变相关的生理生化变化[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(24): 434-436; 441. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2012.24.066.
- [31] LIN Xiaohui, SUN Dawen. Research advances in browning of button mushroom (*Agaricus bisporus*): affecting factors and controlling methods[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 90: 63-75. DOI:10.1016/j.tifs.2019.05.007.
- [32] 金梦阳, 危文亮.  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线辐照对续随子保护酶活性的影响[J]. *核农学报*, 2008, 22(5): 569-572; 580.
- [33] TORRES R, VALENTINES M C, USALL J, et al. Possible involvement of hydrogen peroxide in the development of resistance mechanisms in 'Golden Delicious' apple fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, 27(3): 235-242. DOI:10.1016/S0925-5214(02)00110-2.
- [34] 于德玲, 王昌留. 过氧化氢酶的研究进展[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2016, 25(2): 189-194. DOI:10.16705/j.cnki.1004-1850.2016.02.017.
- [35] SHI Defang, YIN Chaomin, FAN Xiuzhi, et al. Effects of ultrasound and gamma irradiation on quality maintenance of fresh *Lentinula edodes* during cold storage[J]. *Food Chemistry*, 2021, 373: 131478. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131478.
- [36] ALI S, KHAN A S, NAWAZ A, et al. *Aloe vera* gel coating delays postharvest browning and maintains quality of harvested litchi fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 157: 110960. DOI:10.1016/j.postharvbio.2019.110960.
- [37] YEOH W K, ALI A. Ultrasound treatment on phenolic metabolism and antioxidant capacity of fresh-cut pineapple during cold storage[J]. *Food Chemistry*, 2017, 216: 247-253. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.07.074.
- [38] 郑晓渊, 王调兰, 张静荣, 等. 二氧化氯处理促进厚皮甜瓜果实的采后愈伤[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(3): 512-520. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2019.03.011.