

## 弱酸性电位水结合壳聚糖对银耳活性氧代谢的影响

陈岗<sup>1</sup>, 詹永<sup>1</sup>, 杨勇<sup>1</sup>, 谢会川<sup>2</sup>, 石文娟<sup>2</sup>, 柴佳炎<sup>2</sup>, 罗杨<sup>1\*</sup><sup>1</sup>重庆市中药研究院, 重庆 400065; <sup>2</sup>重庆市银耳营养食品企业工程技术研究中心, 重庆 409003

**摘要:**为解决新鲜银耳不耐贮藏的问题,对比研究了直接贮藏、壳聚糖涂膜、弱酸性电位水(slightly acidic electrolyzed water, SAEW)浸泡清洗及 SAEW 清洗结合壳聚糖涂膜四种处理方法对新鲜银耳采后活性氧代谢相关生理特性变化的影响。研究表明:相对于直接贮藏,壳聚糖和 SAEW 处理对采后银耳具有一定的防腐保鲜作用,但在贮藏后期防腐能力均出现减弱。两种处理方式联合使用,提升了防腐保鲜效果,在 10 d 贮藏期内,微生物菌落总数、呼吸速率和细胞膜透性等指标维持在较低水平无较大波动,抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 酶活性始终处于较高水平,非酶抗氧化物 AsA 和 GSH 含量降低速度显著低于其它实验组( $P < 0.05$ ),表现出很好的贮藏效果。与单一使用壳聚糖或 SAEW 处理相比,二者结合使用能更有效地保持银耳的品质。本实验为新鲜银耳的防腐保鲜提供了一种新的技术途径。

**关键词:**弱酸性电位水;壳聚糖;银耳;活性氧代谢

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.5.005

## Influence of Slightly Acidic Electrolyzed Water and Chitosan Treatment on Activate Oxygen Metabolism of *Tremellafuciformis*

CHEN Gang<sup>1</sup>, ZHAN Yong<sup>1</sup>, YANG Yong<sup>1</sup>, XIE Hui-chuan<sup>2</sup>, SHI Wen-juan<sup>2</sup>, CHAI Jia-yan<sup>2</sup>, LUO Yang<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China;<sup>2</sup>Chongqing Engineering Research Center for Tremella Nutrition Food Enterprises, Chongqing 409003, China

**Abstract:** In order to solve the issues of intolerant preservation of *Tremellafuciformis*, the effects of different treatments on changes of physiological characteristics related to active oxygen metabolism of post-harvest *T. fuciformis* were investigated by using four different processing methods on direct storage, chitosan coating, slightly acidic electrolyzed water (SAEW) immersion cleaning and SAEW-assisted chitosan processing. The results showed that the processing of SAEW cleaning and chitosan coating can play a favorable preservation but the corrosion resistance appeared to weaken at later storage period. SAEW-assisted chitosan processing was superior to other treatments in some indexes. In the 10 d storage period, the total number of colonies, microbial respiration rate and biochemical index maintained at low levels but no greater volatility, the activity of antioxidant enzymes (SOD, POD and CAT) remained at a high level, the decreased rate of non-enzyme antioxidants (AsA and GSH) was significantly lower than that of the other experimental group ( $P < 0.05$ ). The conclusion provided a new useful method for safer preservation of *T. fuciformis*.

**Key words:** slightly acidic electrolyzed water; chitosan; *Tremellafuciformis*; activate oxygen metabolism

银耳(*Tremellafuciformis*), 又称白木耳、雪耳、银耳子等,为担子菌门真菌银耳的子实体,是我国传统名贵食用菌,其含有多糖、酚类、黄酮类和多种氨基酸等生物活性成分,被誉为“菌中之冠”。银耳含有丰富的营养成分,一般只以干制品形式出售。当前

应用较为广泛的鲜银耳干燥方式有热风干燥、远红外干燥等<sup>[1]</sup>,干燥过程不但能耗大,同时易造成银耳感官品质和营养价值的下降;而且一些不法商贩在干燥中使用含硫化合物对银耳进行护色,造成产品的食用安全隐患<sup>[2]</sup>。随着当今社会人们生活水平的逐步提高,人们越来越重视饮食的健康,对原生态、有机、绿色食材需求逐渐增大;目前,鲜食银耳在北京、上海、广州等城市悄然兴起,但银耳鲜品水分含量极高,储运过程中极易感染病害,导致霉变腐烂,因此,研究新鲜银耳采后保鲜技术具有重要意义。

收稿日期: 2016-10-14 接受日期: 2017-02-14

基金项目: 重庆市科技攻关项目 (cstc2013yykfa80004); 重庆市科技支撑示范工程项目 (cstc2015jcsf-kjfp80014); 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项 (cstc2016shmsz80077)

\* 通信作者 Tel: 86-013372684251; E-mail: zyychengang@163.com

近年来,壳聚糖涂膜和弱酸性电位水(slightly acidicelectrolyzed water, SAEW)清洗杀菌作为两类安全可靠的保鲜技术在果蔬防腐保鲜中得到广泛应用。壳聚糖是一种资源丰富的甲壳类动物天然提取物,是由甲壳素脱去乙酰基形成的带阳离子的多糖,无味、无毒、易溶解、可降解,具有良好的成膜性和抗菌性,可降低植物组织中活性氧的形成,延缓细胞衰老并保持其质量<sup>[3]</sup>。严海燕<sup>[4]</sup>试验表明,樱桃番茄和杏经壳聚糖涂膜处理后,抑制了果实的软化、失重以及腐烂,通过调节樱桃番茄和杏子果实内的SOD、CAT、POD等保护酶的活性值,有效延缓了樱桃番茄和杏果实的衰老。李冠喜等<sup>[5]</sup>研究表明,壳聚糖能诱导提高双孢蘑菇的SOD和CAT活性。SAEW是将NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub>稀溶液或稀盐酸溶液或稀氯盐与稀盐酸的混合液注入没有隔膜的电解槽中,在2V左右的直流电压电解后获得的pH值为5.0~6.5、氧化还原电位(oxidation-reduction potential, ORP)为700~1000mV、有效氯质量浓度(available chlorine concentration, ACC)约在60mg/L以下的溶液,其含有大量有效氯(HClO、Cl<sub>2</sub>、ClO<sub>2</sub>、ClO<sup>-</sup>等)和活性氧(初生态原子氧O、过氧化氢H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和臭氧O<sub>3</sub>等),可直接作用于果蔬表面微生物,减少果蔬贮藏初始微生物菌落总数,同时可刺激果蔬内防御酶活性,达到延长货架期的目的,果蔬经过其处理后活性氧和有效氯残留也低于其它消毒剂<sup>[6,7]</sup>。在果蔬贮藏保鲜中,一般采用NaCl稀溶液和稀盐酸的混合液制备SAEW。如马焱娜等<sup>[8]</sup>利用0.2%的NaCl溶液和0.04%的稀盐酸电解生成pH(6.86±0.2)、ACC(21±1)mg/L、ORP(937±1.23)mV的SAEW处理杨梅,常温23℃贮藏6d后,结果显示SAEW可以减少杨梅初始微生物的数目,在贮藏过程中能抑制微生物的生长,减弱呼吸强度,减缓总酸和总糖含量的下降速率;凌建刚等<sup>[7]</sup>利用0.1%的NaCl溶液和0.025%的稀盐酸电解生成pH(6.1±0.2)、ACC(30±2)mg/L、ORP(893±0.68)mV的SAEW处理新鲜茭白,研究结果显示,SAEW处理后茭白根部菌落总数下降1.62[lg(CFU/g)],并且在贮藏期内能有效控制微生物数量,可使新鲜茭白在贮藏过程中POD与PPO保持在较低活性,而使CAT活性提高。

目前还未有将壳聚糖和SAEW结合用于新鲜果蔬防腐保鲜的研究报道,而且壳聚糖和SAEW在果蔬防腐保鲜中的作用机理不尽相同。本文以新鲜

银耳为原料,研究了壳聚糖、SAEW单独及结合处理时,对银耳常温(25±1)℃贮藏中表面微生物、呼吸速率、细胞质膜透性、活性氧及抗氧化系统的影响,以研究壳聚糖和SAEW对银耳的活性氧代谢的影响,探讨壳聚糖和SAEW对银耳贮藏保鲜机理,为壳聚糖和SAEW在新鲜银耳保鲜领域应用提供理论参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

新鲜银耳采摘自重庆市银耳营养食品企业工程技术研究中心袋料银耳智能培养标准车间,含水量为75%~80%;菌种为银耳菌株(DD1号)和香灰菌株(XH3号),该菌种从福建古田引进。

### 1.2 主要仪器与试剂

主要仪器:SAEW生成器,北京洲际环境科学与技术有限公司;PB-10型pH-氧化还原电位测定仪,美国赛多利斯公司;手持有效氯测定仪,英国百灵达有限公司;DDS-11A型电导率仪,上海第二分析仪器厂;UV1000紫外分光光度计,上海天美科学仪器有限公司;3H16R1高速冷冻离心机,湖南赫西仪器装备有限公司;HWS-26电热恒温水浴锅,上海齐欣科学仪器有限公司;HN-08A拍打式均质机,上海汗诺仪器有限公司;DW-FL超低温冷冻储存箱,合肥菱菱股份有限公司;FA2004B电子天平,上海精科天美科学仪器有限公司。

包装材料:保鲜用圆形带盖碗盒,PP5材质,口径×底径×高=185mm×150mm×88mm,佛山市顺德区泓生吸塑包装有限公司。

主要试剂:壳聚糖(食品级,脱乙酰度50%~60%,黏度200mps),山东潍坊海之源生物科技有限公司;氮蓝四唑(nitrotetrazoliumblue chloride, NBT)、 $\alpha$ -萘胺、盐酸羟胺, Sigma公司;愈创木酚、对氨基苯磺酸、四氯化钛、抗坏血酸、核黄素、甲硫氨酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、醋酸、醋酸钠均为国产分析纯。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 样品准备

选取已成熟、朵形硬实饱满、表面光洁、大小一致、外形佳且无机械损伤的新鲜银耳,及时运回实验室,去除腐烂和损伤的样品,剩下的备用。

#### 1.3.2 SAEW的制备

用SAEW生成器电解质量分数为2.6%的氯化

钠和 0.02% 的盐酸溶液,制备得到 SAEW。用 pH-ORP 测定仪测定其 pH 值和 ORP,用有效氯测定仪测定其 ACC。本实验所用 SAEW 各项指标分别为 pH(6.3 ± 0.2), ACC(35 ± 1) mg/L, ORP(907 ± 1.8) mV。

### 1.3.3 样品处理

将样品分成 4 组,分别设为 CK、T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub> 实验组,每组设 100 个样品。其中,CK 为对照组,不经任何处理;T<sub>1</sub> 为壳聚糖涂膜组,样品喷壳聚糖保鲜液(由 0.3% 壳聚糖和 0.05% 柠檬酸配置而成)20 次(每次剂量为 5 mL),喷完之后晾干;T<sub>2</sub> 为 SAEW 处理组,将样品在 SAEW 中浸泡 5 min,取出后晾干;T<sub>3</sub> 为复合处理组,先将样品在 SAEW 中浸泡 5 min,取出晾干后用壳聚糖保鲜液喷洒 20 次(每次剂量为 5 mL),喷完之后晾干。

将各组处理后的样品分别放入 PE 材质的塑料保鲜盒中(每个盒子装 1 朵银耳),覆上 PE 保鲜膜,置于常温(25 ± 1) °C,相对湿度 80% ~ 85% 的环境中贮藏 10 d,每 2 天取样测定。取样时,每次分别从每个处理组随机抽取 3 个样品,每样重复测定 3 次。

### 1.3.4 测定方法

#### 1.3.4.1 微生物测定

取 25 g 样品与 225 mL 无菌生理盐水在无菌均质袋中混合,用拍打式均质机均质 2 min,参照 GB 4789.2<sup>[9]</sup> 进行试验操作。用琼脂培养基(PCA)进行菌落总数计数。

#### 1.3.4.2 呼吸速率、相对电导率与丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量的测定

呼吸速率的测定参考静置碱液吸收法<sup>[10]</sup>,呼吸速率以 mg CO<sub>2</sub>/(kg · h)表示。

相对电导率的测定参照张璇等<sup>[11]</sup>方法并略有改进,取银耳菌片用小刀切成 10 mm × 20 mm 块状,称取 5g 已切分好的样品用双蒸水洗 3 次,去除表面离子。用洁净滤纸吸干样品表面水分,悬浮于 40 mL 双蒸水,静置 10 min,测定电导度,煮沸 10 min,再次测定电导度,相对电导率根据式(1)计算。

$$\text{相对电导率}(\%) = \frac{\text{煮沸前溶液电导度}}{\text{煮沸后溶液电导度}} \times 100 \quad (1)$$

MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸法测定,参照 Tian 等<sup>[12]</sup>的试验方法,反应体系沸水浴 15 min,冷却离心,取上清液在 600、532 nm 下测定吸光度,计算 MDA 含量。

#### 1.3.4.3 超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)产生速率和过

#### 氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量的测定

O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率的测定参照王爱国<sup>[13]</sup>的方法并作改进。称取 2.0 g 样品,加入 4 mL 100 mM 磷酸缓冲液(pH 7.8,含 2% PVP)在冰浴条件下研磨提取,离心(12000 r, 20 min, 4 °C)。取 1 mL 上清液,加入 0.9 mL 磷酸缓冲液(pH 7.8)和 0.1 mL 10 mM 的盐酸羟胺溶液,在 25 °C 混合并培养 30 min。然后加入 1 mL 17 mM 对氨基苯磺酸和 1 mL α-萘胺,于 25 °C 保温 40 min。保温后加入 4 mL 正丁醇充分摇动,静置分层后取正丁醇相在 530 nm 处测定 OD 值,重复三次。以 KNO<sub>2</sub> 溶液作标准曲线,按 [O<sub>2</sub><sup>·-</sup>] 浓度的 2 倍为 [NO<sub>2</sub><sup>-</sup>] 的浓度,计算 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生的速率,以 μmol/min · g 表示。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的测定参照 Patterson<sup>[14]</sup>的方法并略有改进。取 1.0 g 鲜银耳样品,加入 6.0 mL 经 4 °C 预冷的丙酮,在通风厨中冰浴研磨充分,于 4 °C、12000 rpm 离心 20 min,取 0.5 mL 上清液,依次加入 0.1 mL 10% 四氯化钛-盐酸溶液和 0.2 mL 的浓氨水,混合反应 5 min,于 4 °C、12000 rpm 离心 15 min,沉淀用丙酮洗涤 3 次,以消除色素干扰。最后将沉淀加入 3.0 mL 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,待沉淀完全溶解后于 412 nm 波长处比色。以标准 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液制作标准曲线。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量以 μmol/g 表示。

#### 1.3.4.4 还原性抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)和还原性谷胱甘肽(glutathione, GSH)的测定

AsA 的测定参照 El Bulk 等<sup>[15]</sup>的方法,样品中 AsA 含量以 mg/100 g 表示;GSH 的测定参照 Huang Renhua 等<sup>[16]</sup>的方法,样品中 GSH 含量表示为 μmol/g。

#### 1.3.4.5 活性氧代谢相关酶的测定

过氧化物酶(peroxidase, POD)活性采用愈创木酚法,参照 Srivastava 等<sup>[17]</sup>的方法测定,以每克鲜样酶促反应体系每分钟在 470 nm 波长处吸光度增加 0.01 为 1 个酶活力单位(U);过氧化氢酶(catalase, CAT)活性测定参照胡琼英等<sup>[18]</sup>方法测定,以每克鲜样酶促反应体系每分钟在 240 nm 波长处吸光度增加 0.01 为 1 个酶活力单位(U);抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)活性测定参考 Nakano<sup>[19]</sup>的方法,以每克鲜样酶促反应体系每分钟在 290 nm 波长处吸光度值变化 0.01 定义为 1 个酶活性单位(U);谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)活性测定参考 Foyer 等<sup>[20]</sup>方法,以每克鲜样酶促反应体系每分钟在 340 nm 波长处吸光度值变化

0.01 定义为 1 个酶活性单位(U);超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)光还原法,参照 Rao 等<sup>[21]</sup>的方法,以每克鲜样酶促反应体系每分钟在 560 nm 波长处对 NBT 光化还原的抑制为 50% 为 1 个酶活性单位(U)。

### 1.3.5 数据统计及图形分析

采用 Excel 2007 软件统计数据,所有数据为 3 次以上重复试验的平均值和标准误差;采用 Origin 8.0 制图;采用 SPSS 18.0 对数据进行差异显著性分析,Duncan's 新复极差法比较各处理间差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对银耳菌落总数和呼吸强度的影响

微生物对果蔬的侵染是引起贮藏期果蔬腐烂的主要原因。在适合的环境条件下,微生物通过合成、分泌侵解果蔬组织细胞的酶类物质以获得营养物质。对于微生物的这种侵染,果蔬自身通过多种途径产生大量活性氧防御抵抗,如单线态氧( $^1O_2$ )、羟自由基( $\cdot OH$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )和超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot -}$ )等<sup>[22]</sup>。因此,适宜的杀菌、抑菌措施对银耳贮藏具有重要意义。如图 1 所示, $T_2$  和  $T_3$  组的银耳经 SAEW 处理后初始菌落总数分别降低了 1.17 lg(CFU/g) 和 1.39 lg(CFU/g)。随着贮藏时间的延长,空白(CK)组银耳菌落总数增长最快, $T_1$  和  $T_2$  组次之, $T_3$  组增长速度最缓慢。在贮藏 10 d 后,CK、 $T_1$ 、 $T_2$  和  $T_3$  组的菌落总数分别增长了 (4.04、2.54、2.87 和 1.18)lg(CFU/g)。结果表明,SAEW 处理能降低银耳初始微生物菌落总数,而壳聚糖涂膜能够抑制银耳表面微生物的增长,二者结合后能使银耳表面微生物菌落总数从贮藏开始到结束一直维持在一个相对较低的水平。

银耳采收后,外界营养供给中断,呼吸作用成为

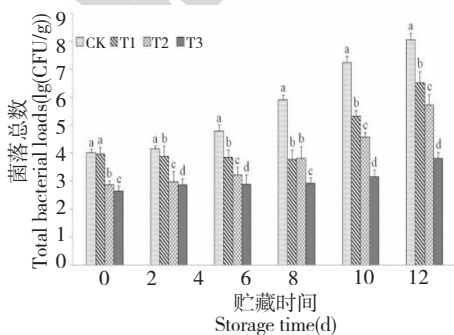


图 1 不同处理方式对银耳菌落总数的影响

Fig. 1 Effects of different treatments on the

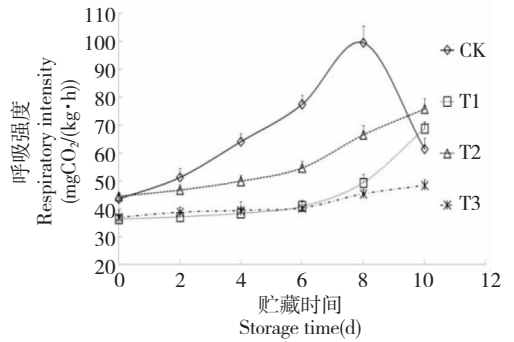


图 2 不同处理方式对银耳呼吸强度的影响

Fig. 2 Effects of different treatment methods total number of colonies on respiratory intensity

注:同一列标注相同字母表示无显著差异( $P > 0.05$ ),标注不同字母表示有显著差异( $P < 0.05$ )。下同。

Note: Same letters within the same column indicated no significant difference ( $P > 0.05$ ), different letters within the same column indicated significant difference ( $P < 0.05$ ). Same as below.

其生命活动的主要代谢过程。呼吸在为银耳采后生命活动提供能量和物质的同时,也消耗自身储存的有机物和水分,导致贮藏期银耳品质的逐渐下降。如图 2 所示,CK 组银耳的呼吸速率在贮藏第 8 d 出现高峰然后快速回落,说明银耳为呼吸跃变类型,呼吸高峰的出现说明果蔬进入完全成熟阶段,达到最佳食用品质,不宜继续贮藏,也标志着衰老的开始<sup>[22]</sup>;壳聚糖涂膜处理能显著降低呼吸作用,在贮藏(0~4)d, $T_1$  和  $T_3$  组呼吸速率差异不显著( $P > 0.05$ );SAEW 处理具有一定抑制呼吸速率的作用,CK 组与  $T_2$  组呼吸速率差异显著( $P < 0.05$ )。在 10 d 的贮藏期, $T_1$ 、 $T_2$  和  $T_3$  组均未出现呼吸高峰,说明壳聚糖涂膜和 SAEW 均能推迟银耳呼吸高峰的出现。

### 2.2 不同处理对 MDA 含量和相对电导率的影响

MDA 是膜脂过氧化作用的产物,MDA 会攻击膜、核酸、蛋白质等大分子物质,使膜结构遭到破坏、透性增加,因此其含量的多少可反映膜损伤程度的大小。由图 3 可知,MDA 含量随贮藏时间延长呈上升趋势。CK 组的 MDA 含量上升最快,贮藏 10 d 后,其含量显著高于另外 3 组( $P < 0.05$ ),说明壳聚糖涂膜和 SAEW 处理均可抑制 MDA 的产生。在贮藏 0~4 d, $T_1$ 、 $T_2$  和  $T_3$  组 MDA 含量差异不显著( $P > 0.05$ );在贮藏 6 d 之后, $T_1$  和  $T_2$  组 MDA 含量变化加快,在贮藏 10 d 时分别达到 2.41 mmol/g 和 2.80 mmol/g;在 10 d 贮藏期内, $T_3$  组 MDA 含量变

化不大,在(1.73 ~ 1.95) mmol/g 之间,说明壳聚糖涂膜和 SAEW 处理二者结合可明显降低 MDA 的生产速率。

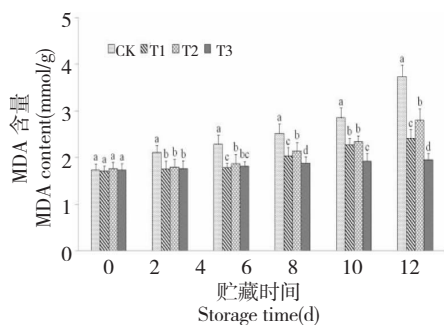


图 3 不同处理方式对 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effect of different treatment methods on the content of MDA

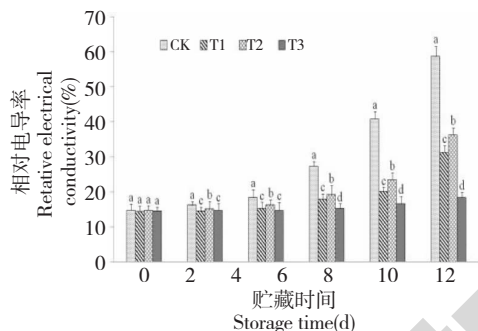


图 4 不同处理方式对相对电导率的影响

Fig. 4 Effect of different treatment methods on relative electrical conductivity

相对电导率是衡量细胞膜透性的重要指标,其值越大,表示电解质的渗漏量越多,细胞膜受害程度越重。由图 4 可知,贮藏期间各处理组相对电导率的变化与 MDA 含量相似。相对于 CK 组,壳聚糖涂膜处理和 SAEW 处理均抑制了银耳细胞膜透性的上升,贮藏 10 d 后,差异达显著水平 ( $P < 0.05$ )。涂膜处理结合 SAEW 处理抑制细胞膜透性升高的效应最好,其相对电导率始终保持最低水平,贮藏 10 d 后,其相对电导率显著低于同期 CK、T<sub>1</sub> 和 T<sub>2</sub> 组 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 不同处理对 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的影响

O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 是植物体内的一种重要自由基, O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 形成后可启动自由基连锁反应产生 ·OH、<sup>1</sup>O<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等自由基对植物组织产生伤害。由图 5 可知, CK 组 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量呈现先上升后下降趋势, 在第 8 d 时达到峰值。T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub> 和 T<sub>3</sub> 组 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量均在贮藏第 2 d 达到

峰值,说明壳聚糖处理和 SAEW 处理在贮藏初期促进了 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 积累,并将 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量峰值提前,在贮藏中期(4~6)d 显著降低了 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量;但在贮藏后期(8~10)d, T<sub>1</sub> 和 T<sub>2</sub> 组 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量又出现上升趋势; T<sub>3</sub> 组 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量在贮藏中后期(4~10)d 呈缓慢下降趋势,说明壳聚糖涂膜和 SAEW 处理二者结合能有效抑制 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率的升高,减少活性氧物质的生成和积累,从而降低了活性氧物质对银耳的损伤。

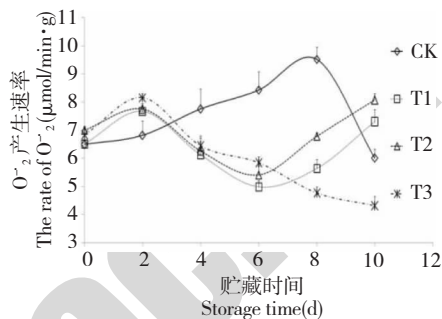


图 5 不同处理方式对 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率的影响

Fig. 5 Effect of different treatment methods on the rate of O<sub>2</sub><sup>·-</sup>

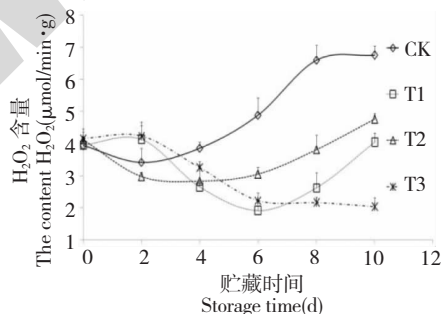


图 6 不同处理方式对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的影响

Fig. 6 Effect of different treatment methods on the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是植物体内的一种具有毒害作用的活性氧,可与 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 形成致命的单线态氧<sup>1</sup>O<sub>2</sub>,直接引发脂质过氧化。由图 6 可知,在整个贮藏期内,CK 组和 T<sub>2</sub> 组的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量变化趋势相似,呈先下降后上升。相对于 CK 组, T<sub>2</sub> 组上升趋势缓慢,与 CK 组差异显著 ( $P < 0.05$ ),说明 SAEW 处理具有一定抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 累积的作用;在贮藏的(0~6)d, T<sub>1</sub> 组和 T<sub>3</sub> 组的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量变化趋势相似,呈先上升后下降趋势,说明壳聚糖涂膜处理会诱导银耳体内 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量短期内上升,这可能是银耳的一种应激反应<sup>[23]</sup>。在贮藏 6 d 后, T<sub>1</sub> 组 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量逐渐上升,而 T<sub>3</sub> 组 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量呈缓慢下降趋势。在贮藏的 10 d 后, CK、T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub>

和 T<sub>3</sub> 组 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量分别为 (6.74、4.04、4.76 和 2.03) μmol/g, 分别是初始值的 1.71 倍、1.27 倍、1.02 倍、0.49 倍。这表明 SAEW 处理和壳聚糖涂膜处理均有利于抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的升高, 二者结合有明显的增效作用。

## 2.4 不同处理对抗氧化酶活性的影响

在植物体内具有清除自由基能力的抗氧化酶包括 SOD、POD 和 CAT 等。SOD 通过催化 O<sub>2</sub><sup>·-</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的降解、阻止 ·OH 的合成, 对氧化损伤起到防御作用; CAT 作为清除自由基最重要的酶, 通过催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的降解, 增强植物体的抗氧化性<sup>[24]</sup>; POD 在植物抗氧化反应中的作用, 一方面在催化过程中产生自由基, 加剧组织氧化, 另一方面通过催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的分解作用清除活性氧。

由图 7 可知, CK 组 SOD 的活性呈现先上升后下降趋势, 在第 8 d 时达到峰值。T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub> 和 T<sub>3</sub> 组 SOD 活性变化趋势相似, 均在贮藏第 2 天达到峰值, 说明壳聚糖处理和 SAEW 处理在贮藏初期提高了 SOD 活性; 在贮藏的第 4 d, T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub> 和 T<sub>3</sub> 组 SOD 活性呈下降趋势, 随后在 (6~10) d 逐渐上升。在 10 d 贮藏

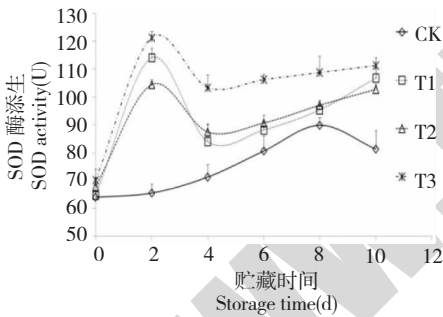


图 7 不同处理方式对 SOD 酶活性的影响

Fig. 7 Effect of different treatment methods on the enzyme activity of SOD

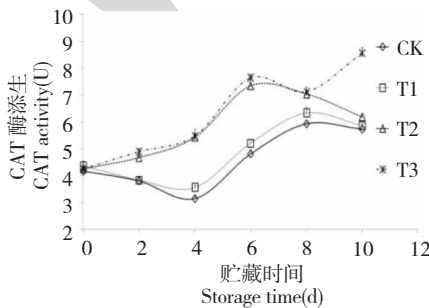


图 8 不同处理方式对 CAT 酶活性的影响

Fig. 8 Effect of different treatment methods on the enzyme activity of CAT

期内, T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub> 和 T<sub>3</sub> 组 SOD 活性始终高于 CK 组, 说明壳聚糖处理和 SAEW 处理均有效提高 SOD 活性, 以减轻 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 对组织造成的侵害。

由图 8 可知, 在贮藏 (0~8) d, CK 组和 T<sub>1</sub> 组的 CAT 酶活性变化趋势相似, 呈先下降后上升, 在 (4~10) d 时, T<sub>1</sub> 组 CAT 酶活性显著高于 CK 组 ( $P < 0.05$ ), 说明壳聚糖具有一定提高 CAT 酶活性的作用; T<sub>2</sub> 组和 T<sub>3</sub> 组的 CAT 酶活性变化趋势相似, 在 (0~6) d 呈上升趋势, 第 8 d 出现下降, CAT 酶活性在 (0-8) d 内显著高于 CK 组和 T<sub>1</sub> 组。在贮藏 (8~10) d, CK 组、T<sub>1</sub> 组和 T<sub>2</sub> 组的 CAT 酶活性均出现下降, 而 T<sub>3</sub> 组的 CAT 酶活性呈上升状态, 这说明壳聚糖涂膜和 SAEW 联合使用具有显著提升 CAT 酶活性的作用, 并使 CAT 酶活性在贮藏期间始终保持较高水平。

由图 9 可知, 在贮藏过程中, CK 组 POD 活性呈“W”折线型变化趋势, 在第 6 d 出现峰值; 而 T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub> 和 T<sub>3</sub> 处理组 POD 活性呈“上升-下降-上升”变化趋势。CK 组、T<sub>1</sub> 组、T<sub>2</sub> 组和 T<sub>3</sub> 组 POD 活性的初始值分别为 52.77 U、53.62 U、65.63 U 和 63.17 U, 说明 SAEW 处理可显著诱导提高鲜银耳贮藏前期 (0 d) 的 POD 活性。在贮藏的 (2~10) d 内, T<sub>1</sub> 和 T<sub>3</sub> 组 POD 活性显著高于其它试验组 ( $P < 0.05$ ), 说明壳聚糖涂膜处理可长期促进 POD 活性上升, 并在贮藏过程中维持较高的活性, 有效延缓组织的衰老。

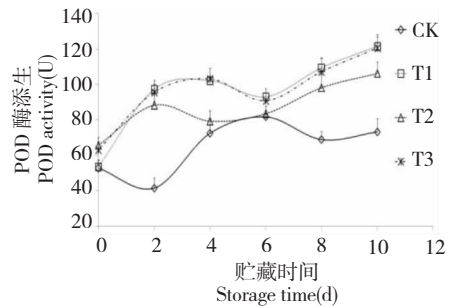


图 9 不同处理方式对 POD 酶活性的影响

Fig. 9 Effect of different treatment methods on the enzyme activity of POD

## 2.5 不同处理对 APX、GR 活性及 ASA、GSH 含量的影响

GSH 和 AsA 是植物体内存在的非酶抗氧化剂, 是非酶促抗氧化系统的重要组成部分, 在 ASA-GSH 循环体系中, ASA 与 GSH 可直接将 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 还原为 H<sub>2</sub>O, 同时在 APX 和 GR 作用下进行再生。由图 10

和图 11 可知,在贮藏过程中,各试验组中 AsA 含量的变化趋势与 APX 活性变化趋势相似。 $T_1$  组、 $T_2$  组和  $T_3$  组中 AsA 含量和 APX 活性在贮藏期(0~4) d 时呈上升趋势,在 6~10 d 时呈下降趋势, $T_3$  组中 AsA 含量、APX 活性在贮藏后期(8~10 d)显著高于  $T_1$  组和  $T_2$  组( $P < 0.05$ );CK 组中 AsA 含量和 APX 活性在整个贮藏期呈“S”型变化,且显著低于其它试验组( $P < 0.05$ )。

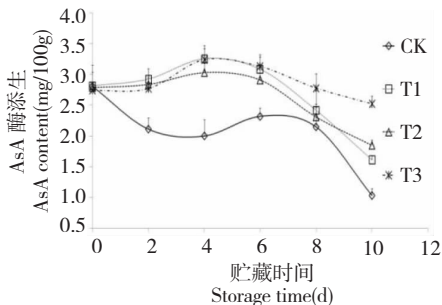


图 10 不同处理方式对 AsA 含量的影响

Fig. 10 Effect of different treatment methods on the content of AsA

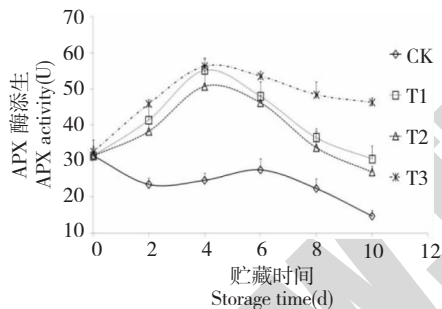


图 11 不同处理方式对 APX 酶活性的影响

Fig. 11 Effect of different treatment methods on the enzyme activity of APX

由图 12 和图 13 可知,在贮藏过程中,各试验组中 GSH 含量的变化趋势与 GR 活性变化趋势相似,均呈下降趋势。各试验组 GR 活性的初始值分别为 41.83、42.09、45.76 U 和 46.43 U,说明 SAEW 处理可显著诱导提高鲜银耳贮藏前期(0 d)的 GR 活性。在贮藏期第 10 d,各试验组 GSH 含量分别为初始值的 39.48%、53.63%、59.35% 和 72.36%,GR 活性分别为初始值的 30.60%、43.17%、62.24% 和 71.63%。结果说明,SAEW 处理可显著减缓 GSH 含量和 GR 酶活性在贮藏期间的下降速度,使银耳保持较高的清除  $H_2O_2$  能力;SAEW 处理和壳聚糖涂膜处理有明显的增效作用。

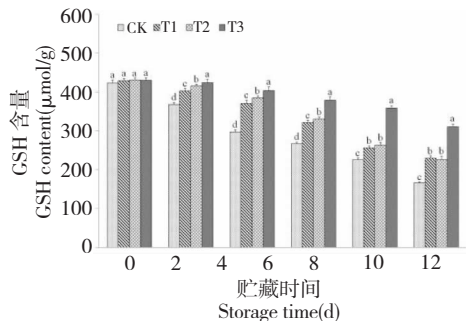


图 12 不同处理方式对 GSH 含量的影响

Fig. 12 Effect of different treatment methods on the content of GSH

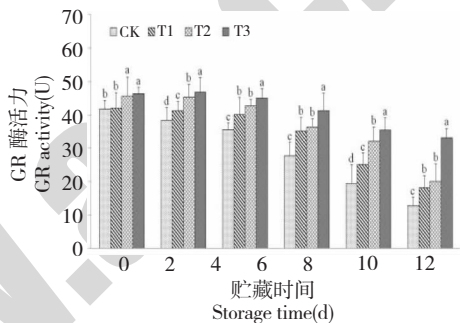


图 13 不同处理方式对 GR 酶活性的影响

Fig. 13 Effect of different treatment methods on the enzyme activity of GR

### 3 结论与讨论

本文研究了不同采后处理对新鲜银耳贮藏期间微生物菌落总数、呼吸速率和活性氧代谢系统的影响,结果表明采后处理方法对银耳采后的活性氧代谢、抗氧化酶活性、非酶抗氧化体系等具有显著影响,对银耳贮藏期间微生物菌落总数、呼吸速率和细胞膜透性等指标也有不同程度的影响。

银耳是一种采后生理活动旺盛、极易腐烂变质的食用菌。研究发现,采后银耳在常温( $25 \pm 1$ )  $^{\circ}C$  条件下,随着贮藏时间的延长主要活性氧  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  产生速率加快,诱导抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 活性升高,使细胞组织中的非酶抗氧化物 AsA 和 GSH 不断消耗减少;在贮藏第 8d 出现呼吸高峰后,银耳组织细胞加速衰老,大量的活性氧抑制了抗氧化酶的活性,造成膜脂过氧化产物 MDA 的大量积累,导致膜的损伤和破坏,引起银耳表面微生物的爆发式增长,进一步加速了银耳的衰老、腐败。由此可知,采后银耳的衰老腐败与细胞质膜透性、MDA

的积累以及活性氧代谢密切相关。

壳聚糖具有良好的成膜性,经涂膜处理的果蔬表面能形成一层半透明膜,能自动调节果蔬内外的气体交换,抑制果实的呼吸作用,降低活性氧的生成速率。但也有研究表明,在壳聚糖涂膜处理的前期,果蔬体内的活性氧水平会出现迅速升高的现象<sup>[25]</sup>,这是因为活性氧可作为第二信使参与和影响生理代谢体系,如增强植物抗病性、诱导气孔关闭、促进次生壁的分化等<sup>[26]</sup>。本实验研究结果与上述结论相似,经壳聚糖涂膜处理后,采后银耳的呼吸强度在贮藏中前期相对保持在较低水平,在贮藏期2 d时 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 的含量出现峰值后快速下降。果蔬体内活性氧防御系统包括酶促抗氧化系统和非酶抗氧化系统,通过二者的共同作用可清除组织细胞中的活性氧,减少活性氧积累对细胞膜造成的伤害,从而延缓细胞衰老<sup>[27]</sup>。在本实验中,壳聚糖提高了贮藏初期抗氧化酶SOD和POD的酶活性和非酶抗氧化物AsA的含量,减缓了抗氧化物GSH衰减的速度,使银耳贮藏中期的活性氧 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 及膜脂过氧化产物MDA的含量保持在较低水平。但在贮藏后期出现活性氧和MDA含量快速增长、呼吸强度变大、细胞质膜透性增大,而非酶抗氧化物AsA和GSH含量快速下降的现象,这可能是由于水溶性的壳聚糖膜受环境影响很大,长时间高湿环境减弱甚至破坏了膜的致密结构,造成防腐保鲜效果的减弱<sup>[28]</sup>。

现有的研究表明SAEW具有杀灭果蔬表面微生物的作用,其对新鲜番茄、卷心莴苣、平菇等<sup>[29,30]</sup>果蔬表面的微生物有很好的杀菌、抑菌效果,从而改善果蔬的贮藏品质,达到防腐保鲜的作用。本实验研究表明,SAEW处理能使银耳初始微生物菌落总数下降1.17 lg(CFU/g),但并不能完全杀灭。在贮藏前期(0~2) d提高了银耳抗氧化酶SOD、POD和CAT的酶活性,刺激了 $O_2^-$ 产生速率却降低了 $H_2O_2$ 的含量,使呼吸强度显著低于未经处理的样品;同时研究发现,SAEW对银耳的防腐能力具有时效性,在贮藏中前期(0~6) d时防腐效果较好。第6 d后,活性氧 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 产生速率加快,MDA的积累量增多,抗氧化系统作用力降低。马焱娜等<sup>[8]</sup>比较了杨梅经SAEW处理后在常温23℃和低温4℃条件下贮藏效果,实验发现温度的差异引起SAEW防腐效果的不同,在低温4℃条件下贮藏6 d,杨梅的各品种指标维持在较高水平,而常温23℃条件下的杨梅在贮藏5 d后各品种指标均出现下降。这说明温

度可能是影响SAEW防腐时效性的重要因素。

本实验研究表明,壳聚糖和SAEW处理对采后银耳具有一定的防腐保鲜作用,二者的防腐作用机理不尽相同,但在贮藏后期防腐能力均出现减弱。两种处理方式联合使用,极大提升了防腐保鲜效果,在贮藏10 d后,微生物菌落总数、呼吸速率、MDA含量和相对电导率分别为初始值的1.45、1.31、1.13和1.26倍,且在10 d贮藏期内维持在较低水平无较大波动;抗氧化酶SOD、POD和CAT酶活性始终处于较高水平,非酶抗氧化物AsA和GSH含量降低速度显著低于其它实验组,表现出很好的贮藏效果。因此,与单一使用壳聚糖或SAEW处理相比,二者结合使用能更有效地保持银耳的品质。

#### 参考文献

- 1 Wu Z(吴振),Yang Y(杨勇),Tan HJ(谭红军),*et al.* Research advances on drying technology of *Tremellafuciformis*. *Edible Fungi China*(中国食用菌),2013,32(2):1-3.
- 2 Shao P(邵平),Xue L(薛力),Hong T(洪台),*et al.* Analysis of research progress and application status of cultivation and processing technology of *Tremellafuciformis*. *Edible Med Mushrooms*(食药食用菌),2011,19(2):4-8.
- 3 Tamer CE,Erkan M,Aksoy U. Chitosan: an Edible Coating for Fresh-Cut Fruits and Vegetables. *Acta Horticult*,2010,877:619-624.
- 4 Yan HY(严海燕). Influence of chitosan treatment on storage quality of cherry tomato, apricot and active oxygen metabolism. Shihezi: Shihezi University(石河子大学),MSc. 2010.
- 5 Li GX(李冠喜),Hua GD(华国栋),Zhu PB(朱朋波),*et al.* Responses of agaricusbisporus on chitosan antistaling agent and optimization of its refreshing technology. Harbin: Journal of Northeast Agricultural University(东北农业大学学报),2012,43:110-116.
- 6 Wang J(王军),Ding T(丁甜). Research progress on application of electrolyzed water in food sterilization. *Food Sci*(食品科学),2011,32:241-246.
- 7 Ling JG(凌建刚),Li J(李娇),Kang ML(康孟利),*et al.* Application of slightly acidic electrolyzed water(SAEW) in preservation of *Zizania latifolia* stems. *Food Sci*(食品科学),2015,36:250-254.
- 8 Ma YN(马焱娜),Li J(李娇),Xu Q(徐沁),*et al.* Application of slightly acidic electrolyzed water in the preservation of *Myricarubra*. *Food Sci*(食品科学),2016,37:253-257.
- 9 National food safety standard. Food microbiological examination: Aerobic plate count. National standard of the People's



- Republic of China(中华人民共和国国家标准). Beijing: Standards Press of China,2012.
- 10 Cao JK(曹建康), Jiang WB(姜微波), Zhao YM(赵玉梅). Physiological and Biochemical Experiments of Fruits and Vegetables(果蔬采后生理生化实验指导). Beijing: Light Industry Press of China,2007. 46-48.
  - 11 Zhang X(张璇), Hu HL(胡花丽), Wang YN(王毓宁), *et al.* Multivariate analysis of the effects of controlled atmosphere treatment on quality of *Pleurotuseryngii* mushroom during shelf-life. *Food Sci(食品科学)*, 2014, 35: 265-270.
  - 12 Tian SP, Jiang AL, Xu Y, Wang YS. Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmospheres in storage. *Food Chem*, 2004, 87(1): 43-49.
  - 13 Wang AG(王爱国), Luo GH(罗广华). Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. *Plant Physiol Commun(植物生理学通讯)*, 1990, 6: 55-57.
  - 14 Patterson BD, Mackae EA, Ferguson IB. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium(IV). *Anal Biochem*, 1984, 139: 487-492.
  - 15 El Bulk RE, Babiker EFE, El Tinay AH. Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. *Food Chem*, 1997, 59: 395-399.
  - 16 Huang RH, Xia RX, Hu LM, *et al.* Antioxidant activity and oxygen-scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. *Scientia Horticult*, 2007, 113: 166-172.
  - 17 Srivastava MK, Dwived UN. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Sci*, 2000, 158(1/2): 87-96.
  - 18 Hu QY(胡琼英), Di L(狄浏). Biochemistry experiment(生物化学实验). Beijing: Chemical Industry Publishing House, 2007. 66-67.
  - 19 Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22: 867-880.
  - 20 Foyer C, Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 1976, 133: 21-25.
  - 21 Rao MV, Paliyath G, Ormrod DP. Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 1996, 110: 125-136.
  - 22 Pan YG(潘永贵), Xie JH(谢江辉). Physiology of Postharvest Fruits and Vegetables(现代果蔬采后生理). Beijing: Chemical Industry Publishing House, 2009. 82-95.
  - 23 Deng YY(邓雨艳), Ming J(明建), Zhang ZQ(张昭其), *et al.* Effect of chitosan on salicylic acid and active oxygen metabolism of navel orange fruit. *Sci Agric Sin(中国农业科学)*, 2010, 43: 812-820.
  - 24 Huang RH, Xia RX, Hu LM, *et al.* Antioxidant activity and oxygen-scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. *Sci Horticult*, 2007, 113: 166-172.
  - 25 Sanchez-Casas P, Klessig DF. A salicylic acid binding activity and a salicylic acid inhibitable catalase activity are present in a variety of plant species. *Plant Physiol*, 1994, 106: 1675-1679.
  - 26 Maolepsza U. Induction of disease resistance by acibenzolar-Smethyl and o-hydroxyethylorutin against *Botrytis cinerea* in tomato plants. *Crop Protection*, 2006, 25: 956-962.
  - 27 Wang CT(王成涛), Wang CT(王昌涛), Zhao L(赵磊), *et al.* Age-related Changes in antioxidant enzyme activities in golden needle mushroom during modified atmosphere storage under varying oxygen content conditions. *Food Sci(食品科学)*, 2011, 32: 300-304.
  - 28 Kong F(孔芳), Xue ZL(薛正莲), Yang CY(杨超英). Effect of chitosan composite coating on preservation of *Pleurotuseryngii*. *Chin Agric Sci Bull(中国农学通报)*, 2013, 29: 215-220.
  - 29 Pangloli P, Hung Y. Efficacy of slightly acidic electrolyzed water in killing or reducing *Escherichia coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> on iceberg lettuce and tomatoes under simulated food service operation conditions. *J Food Sci*, 2011, 76: 361-366.
  - 30 Tian D, Rahman SME, OH DH. Inhibitory effects of low concentration electrolyzed water and other sanitizers against foodborne pathogens on oyster mushroom. *Food Control*, 2011, 22: 318-322.

致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!

广西壮族自治区药用植物园

广西科学院

重庆市药物种植研究所

中国科学院广西植物研究所