

Study on Antibrowning Agents for Fresh-Cut White Mushroom (*Agaricus bisporus*)

Ya Liu, Yu Chen, Shoujiang Chen*, Dan Shi, Yue Chen, Lili Zhang

College of Food Science, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing Jiangsu
Email: *sjchen@njxzc.edu.cn

Received: Jun. 6th, 2017; accepted: Jun. 19th, 2017; published: Jun. 28th, 2017

Abstract

Latent tyrosinase exists in fresh white mushroom and the amount of active tyrosinase increases during storage. Latent tyrosinase can be activated by sodium dodecylsulfate (SDS), and inhibited by citric acid, ascorbic acid, ethanol, sodium hypochlorite and hydrogen peroxide in a proper concentration. The amount of active tyrosinase can be related to browning degree of fresh-cut mushrooms, so the tyrosinase inhibitor can be used to alleviate browning of fresh-cut mushrooms. Fresh-cut mushrooms are treated by those inhibitors and browning degree is measured during storage. Results show that 5 mmol/L ascorbic acid, citric acid, 0.1% hydrogen peroxide, ethanol and sodium hypochlorite can decrease the browning degree. The better anti-browning agents for fresh-cut mushrooms are a mixed solution of 2.5 mmol/L ascorbic acid and 2.5 mmol/L citric acid and 5 mmol/L ascorbic acid.

Keywords

White Mushroom (*Agaricus bisporus*), Tyrosinase, Activating Agent, Inhibitor, Fresh-Cut

鲜切蘑菇防褐变剂的研究

刘雅, 陈雨, 陈守江*, 史丹, 陈跃, 张丽丽

南京晓庄学院食品科学学院, 江苏 南京
Email: *sjchen@njxzc.edu.cn

收稿日期: 2017年6月6日; 录用日期: 2017年6月19日; 发布日期: 2017年6月28日

摘要

新鲜双孢蘑菇中的酪氨酸酶大多以非活性形式存在, 随着贮藏期的延长、新鲜度的下降, 其活性呈逐渐

*通讯作者。

上升趋势, 且其活性可被十二烷基硫酸钠(SDS)激活, 被适宜浓度的柠檬酸、抗坏血酸、乙醇、次氯酸钠以及过氧化氢等抑制。由于酪氨酸酶的活性与鲜切蘑菇贮藏期间的褐变有着非常密切的关系, 因此将酪氨酸酶抑制剂用于鲜切蘑菇的保鲜, 并对鲜切蘑菇贮藏期间的褐变情况进行测定, 试图确定最佳的鲜切蘑菇褐变抑制剂。结果表明, 5 mmol/L的抗坏血酸、柠檬酸、0.1%过氧化氢、乙醇和次氯酸钠均具有一定的防止褐变发生的效果, 其中以2.5 mmol/L的抗坏血酸和2.5 mmol/L的柠檬酸的复合液以及5 mmol/L的抗坏血酸溶液处理效果较好。

关键词

双孢蘑菇, 酪氨酸酶, 激活剂, 抑制剂, 鲜切

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

酪氨酸酶(EC1.14.18.1, Tyrosinase)也称为多酚氧化酶(PPO), 是结构复杂的含铜氧化酶, 广泛存在于动植物和微生物中[1]。酪氨酸酶具有单酚酶和二酚酶活性, 能将酪氨酸羟化, 产生 L-3,4-二羟基苯丙氨酸(L-DOPA, L-多巴)(单酚酶活性), 然后再将 L-DOPA 进一步氧化成多巴醌(二酚酶活性), 进一步形成黑色素[2]。

在果蔬中, 酪氨酸酶作为果蔬褐变的关键酶[3], 氧化生成的黑色素不仅能引起果蔬的褐变, 而且中间产物醌能与果蔬中的胺、氨基酸、肽和蛋白质等成分发生反应, 造成果蔬营养的损失[4]。

双孢蘑菇是一种品质高度易变的食用菌, 褐变是影响其商品品质最主要的原因之一[5], 引起蘑菇褐变的主要原因是蘑菇中多酚类物质在自身酪氨酸酶的作用下产生了褐色产物。因此, 如果能够通过酪氨酸酶活性抑制剂的使用, 有效抑制酪氨酸酶活性, 那么就能够防止蘑菇保鲜加工过程中的褐变及营养损失[6] [7] [8]。

本文以双孢蘑菇为研究对象, 对蘑菇中的酪氨酸酶的特性进行研究, 并试图筛选出有效抑制酶活性的抑制剂, 用于鲜切蘑菇的生产中, 防止鲜切蘑菇保鲜过程的褐变, 更好地维持其品质。

2. 材料与方法

2.1. 试剂

柠檬酸、抗坏血酸、乙醇、次氯酸钠、过氧化氢、十二烷基硫酸钠(SDS)、左旋多巴(L-DOPA), 均为国产化学纯。

2.2. 仪器

色差仪(深圳市三恩时科技有限公司, NH301), 紫外可见分光光度计(上海谱元仪器有限公司, Alpha-1860), 离心机(上海精密仪器仪表有限公司, 80-2B)。

2.3. 原料及处理方法

市售新鲜双孢蘑菇, 采收后快速运至实验室小型冷库中预冷, 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双孢蘑菇进行实验。

2.3.1. 酪氨酸酶抑制剂的筛选

取 3~4 片蘑菇切片分别浸入一定浓度的柠檬酸、抗坏血酸、乙醇、次氯酸钠、过氧化氢和 SDS 溶液, 处理 5 分钟, 将处理后的蘑菇切片用吸水纸吸干表面水分后再浸入 10 mmol/L L-DOPA 溶液中(溶于 0.1 mol/L 磷酸缓冲液, pH = 6.0) [9], 反应 5 分钟后, 用吸水纸吸干蘑菇切片表面水分, 立即测定蘑菇切片的颜色变化和浸泡液的褐变度, 以颜色变化和褐变程度最小的为最佳的酪氨酸酶抑制剂。

2.3.2. 鲜切蘑菇保鲜实验

将蘑菇纵切为厚度 2~3 mm 的菇片, 取约 100 g 菇片分别用柠檬酸, 抗坏血酸, 乙醇, 次氯酸钠, 过氧化氢, 以及柠檬酸和抗坏血酸的混合液处理 5 分钟, 冷库低温条件下沥干, 保鲜袋密封包装。每隔一天测一次切片的颜色变化。

2.4. 指标测定

2.4.1. 蘑菇切片的色差测定

色泽测定: 蘑菇切片的色泽用色差计测定, 总色差(ΔE)通过下式计算[10]:

$$\Delta E = \left[(a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2 + (L^* - L_0^*)^2 \right]^{1/2}$$

式中: L_0^* , a_0^* , b_0^* 和 L^* , a^* , b^* 分别表示贮藏开始和贮藏期间某一时点的测定值。

2.4.2. 蘑菇切片浸液褐变度测定

蘑菇切片浸液褐变度采用比色法[10], 反应液经 5000 转/分钟离心 5 分钟后, 取上清液于 410 nm 测量其吸光值, 褐变度以 410 nm 下的吸光值大小 A_{410} 表示。

3. 结果与分析

3.1. 酪氨酸酶抑制剂的筛选

经过前期大量的单因素实验表明, 所选择的不同种类的试剂在不同浓度下对酪氨酸酶活性的影响不同, 总体表现为浓度高时对酶活性均具有一定的激活作用, 随着浓度的降低, 激活作用下降, 当浓度达到某一值时, 有些试剂则表现为抑制作用。

图 1 所示为用不同种类的试剂对蘑菇切片处理后, 再与 L-DOPA 反应所得到的蘑菇切片的色差变化及反应液的褐变度情况。由图 1 可见, 5 mmol/L 柠檬酸和抗坏血酸、0.1% 乙醇、过氧化氢和次氯酸钠均显示一定的抑制酶活性的作用[11], 其中 5 mmol/L 抗坏血酸抑制效果最佳。而 SDS 有明显的激活酪氨酸酶的作用, 这一结果与 Pérez-Gilabert 等的研究结果是一致的[9]。

3.2. 原料新鲜度对酪氨酸酶活性的影响

图 2 显示了不同新鲜状态下的蘑菇切片的色差变化情况。新鲜采收的蘑菇色差变化较小, 随着贮藏时间的延长, 蘑菇的新鲜度逐渐下降, 其色差变化明显变大。可见, 蘑菇越新鲜, 蘑菇的酪氨酸酶活性越低, 随着蘑菇贮藏时间的延长, 新鲜度下降, 蘑菇中酪氨酸酶活性增强, 这可能表明新鲜蘑菇的酪氨酸酶大多以非活性形式存在[12] [13]。

3.3. 鲜切蘑菇防褐变剂的选择

上述试验表明, SDS 具有激活酪氨酸酶的作用, 因此不适用于鲜切蘑菇的保鲜, 柠檬酸、抗坏血酸、过氧化氢、次氯酸钠、乙醇均表现为具有抑制酪氨酸酶的作用, 因此用于鲜切蘑菇的保鲜试验。经过前

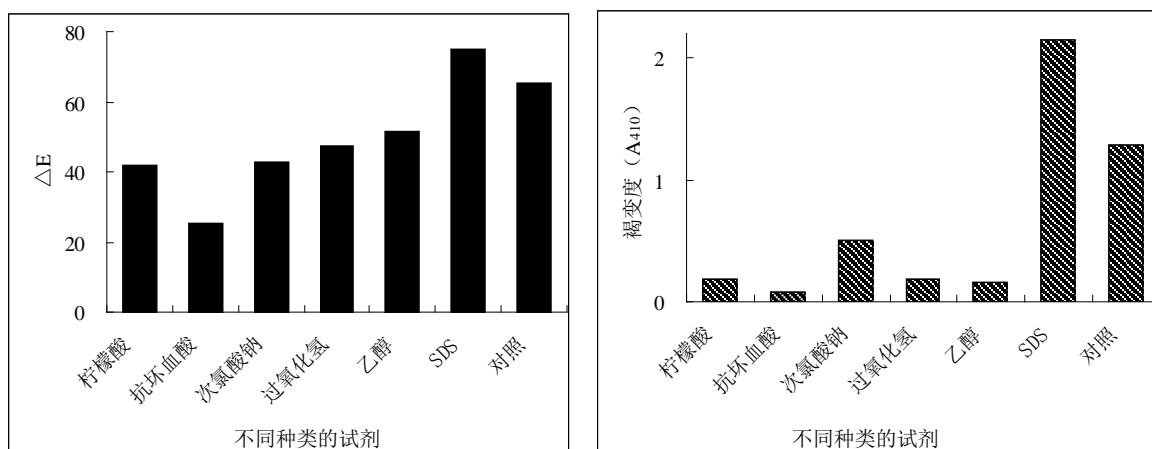


Figure 1. Effect of different agents on the tyrosinase activity

图 1. 不同试剂对酶活性的影响

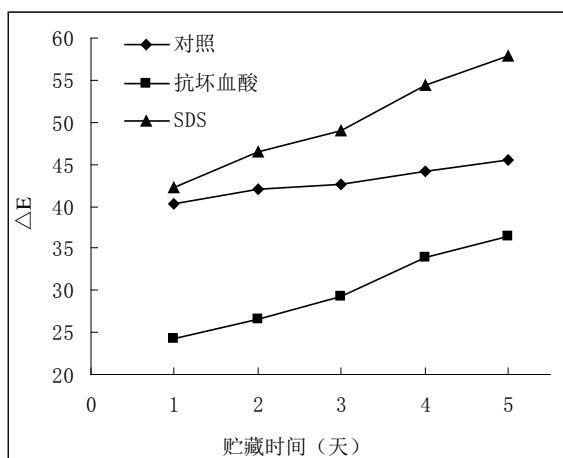


Figure 2. Effect of fresh degree of mushroom on the tyrosinase activity

图 2. 原料新鲜度对酶活性的影响

期单因素实验摸索, 我们选择了最适浓度酶抑制剂(5 mmol/L 柠檬酸和抗坏血酸, 0.1%过氧化氢、次氯酸钠和乙醇, 以及 2.5 mmol/L 柠檬酸和 2.5 mmol/L 抗坏血酸的复合液)用于鲜切蘑菇保鲜试验, 贮藏过程中的色差变化情况如图 3 所示。随着贮藏时间的延长, 色差均呈上升趋势, 所用试剂均有一定的抗褐变作用, 其中 2.5 mmol/L 柠檬酸和 2.5 mmol/L 抗坏血酸的复合液以及 5 mmol/L 抗坏血酸抗褐变效果较好。

4. 结论

酪氨酸酶的活性与蘑菇的新鲜度有关, 蘑菇越新鲜, 酪氨酸酶的活性越低。SDS 具有激活酪氨酸酶的作用, 而柠檬酸、抗坏血酸、过氧化氢、次氯酸钠、乙醇均表现为具有抑制酪氨酸酶的作用。将具有抑制酪氨酸酶活性的试剂用于鲜切蘑菇的保鲜试验, 结果表明, 5 mmol/L 的抗坏血酸、柠檬酸、0.1%过氧化氢、乙醇和次氯酸钠均具有一定的防止褐变发生的效果, 其中以 2.5 mmol/L 的抗坏血酸和 2.5 mmol/L 的柠檬酸的复合液以及 5 mmol/L 的抗坏血酸溶液处理效果较好, 能够有效的防止了鲜切蘑菇保鲜期间的颜色变化, 更好的保持了产品的品质。

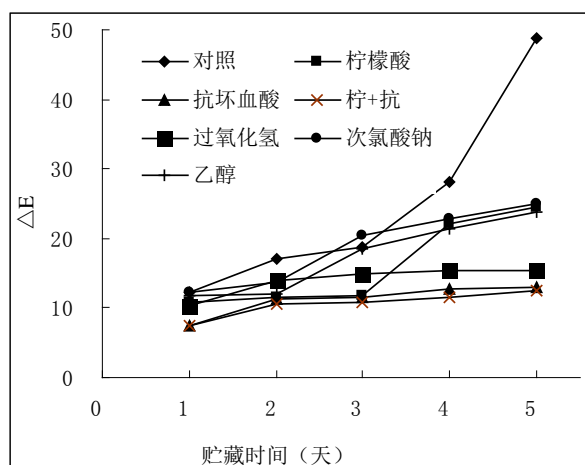


Figure 3. Effect of antibrowning agents on browning degree of fresh-cut mushroom

图 3. 不同抗褐变剂对鲜切蘑菇褐变度的影响

基金项目

江苏省大学生实践创新训练计划项目(201511460029Y)。

参考文献 (References)

- [1] Xing, R., Zheng, A., Wang, F., Wang, L., Yu, Y. and Jiang, A. (2015) Functionality Study of $\text{Na}_6\text{PMo}_{11}\text{FeO}_{40}$ as a Mushroom Tyrosinase Inhibitor. *Food Chemistry*, **175**, 292-299.
- [2] Yi, W., Dubois, C., Yahiaoui, S., Haudecoeur, R., Belle, C., Song, H., Hardré, R., Réglie, M. and Boumendjel, A. (2011) Refinement of Arylthiosemicarbazone Pharmacophore in Inhibition of Mushroom Tyrosinase. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **46**, 4330-4335.
- [3] 郑成已, 郭云集, 梁戈, 左麒暄, 杨美花, 孙黎, 陈清西. 苯丙酸对蘑菇酪氨酸酶活力的抑制作用[J]. 厦门大学学报(自然版), 2012, 51(1): 117-120.
- [4] Lin, L., Dong, Y., Zhao, H., Wen, L., Yang, B. and Zhao, M. (2011) Comparative Evaluation of Rosmarinic Acid, Methyl Rosmarinate and Pedalitin Isolated from *Rabdosia serra* (MAXIM) HARA as Inhibitors of Tyrosinase and α -Glucosidase. *Food Chemistry*, **129**, 884-889.
- [5] 王乐芬. 酪氨酸酶与蘑菇(*Agaricus bisporus*)褐变的相关性及其编码基因片段的克隆[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2002.
- [6] 李娜, 鲁晓翔. 酪氨酸酶抑制剂的研究进展[J]. 食品工业科技, 2010, 31(7): 406-409.
- [7] 陈清西, 林建峰, 宋康康. 酪氨酸酶抑制剂的研究进展[J]. 厦门大学学报(自然版), 2007, 46(2): 274-282.
- [8] 张晓聪. 白色双孢蘑菇褐变机理及控制技术[D]: [硕士学位论文]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- [9] Perezgilbert, M., Morte, A. and Garcíacarmona, F. (2004) Histochemical and Biochemical Evidences of the Reversibility of Tyrosinase Activation by SDS. *Plant Science*, **166**, 365-370.
- [10] Oliveira, F., Sousa-Gallagher, M.J., Mahajan, P.V. and Teixeira, J.A. (2012) Development of Shelf-Life Kinetic Model for Modified Atmosphere Packaging of Fresh Sliced Mushrooms. *Journal of Food Engineering*, **111**, 466-473.
- [11] Özoğlu, H. and Bayındırılı, A. (2002) Inhibition of Enzymic Browning in Cloudy Apple Juice with Selected Anti-browning Agents. *Food Control*, **13**, 213-221.
- [12] Yamaguchi, M., Hwang, P.M. and Campbell, J.D. (1970) Latent O-Diphenol Oxidase in Mushrooms (*Agaricus bisporus*) Can. *Canadian Journal of Biochemistry*, **48**, 198-202.
- [13] Leeuwen, J.V. and Wichers, H.J. (1999) Tyrosinase Activity and Isoform Composition in Separate Tissues during Development of *Agaricus bisporus* Fruit Bodies. *Mycological Research*, **103**, 413-418.

期刊投稿者将享受如下服务：

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：hjas@hanspub.org