

# 鸡腿蘑速冻预处理工艺及护色研究\*

李君兰<sup>1</sup> 李贻华<sup>1</sup> 赵秋玲<sup>2</sup> 刘志芳<sup>1</sup> 冯九海<sup>1</sup>

1(河西学院园艺系,张掖,734000) 2(天水市小陇山林业科学研究所,天水,741022)

**摘 要** 研究了鸡腿蘑速冻保鲜工艺。在测定 PPO 活力的基础上通过对 EDTA-2Na、NaHSO<sub>3</sub>、抗坏血酸、柠檬酸 4 种护色剂对鸡腿蘑褐变度(BD)的影响及采用热处理法钝化酶活性的方法研究,确定了控制速冻鸡腿蘑酶促褐变的工艺条件。结果表明,4 种护色剂对鸡腿蘑褐变均有一定的抑制作用,其中抗坏血酸的抑制效果最好,最弱的为 EDTA-2Na;沸水加热 3 min,能有效钝化酶的活性。

**关键词** 鸡腿蘑,速冻,多酚氧化酶,褐变,护色

鸡腿蘑(*Coprinus comatus*)又名毛头鬼伞、毛头鬼盖、刺蘑菇、牛粪菌,是市场上常见的食用菌之一。其提取物和浓缩物分别含有抗癌活性物质和治疗糖尿病的有效成分。然而鸡腿蘑的子实体生长很快,原基形成后 3~5 d 即可达到生理成熟,收获集中,子实体保鲜期极短,采收后,常温下 2 d 内即发生开伞、自溶、抽空、褐变的现象,失去商品价值和食用价值。在贮藏温度为 0~5℃,相对湿度(RH)为 90%~95%的条件下,贮藏期限仅为 2 周<sup>[1]</sup>。所以罐藏、干制和速冻等方法仍是鸡腿蘑主要的加工途径,而在加工过程中鸡腿蘑又容易发生酶促褐变影响其加工品质。

蘑菇中多酚氧化酶(Polyphenol oxidase,简称 PPO)的活性很强,在褐变反应中起重要作用。酶促褐变的发生必须具备 3 个条件,即酶、底物和氧,控制 3 个条件中的任意一个因素便可以达到控制酶促褐变的发生<sup>[2~4]</sup>。生产实践中的底物和氧均不易除去,所以抑制酶的活性特别是多酚氧化酶成为加工过程中控制酶促褐变的主要方法。

## 1 材料和仪器

### 1.1 试验材料

供试新鲜鸡腿蘑为人工栽培子实体,购自张掖南关农贸市场,菌盖不发软未开伞、菌柄与菌盖结合紧密、无脱落、菇体完整无破损、无病斑、无虫伤、无畸形,形似鸡腿、口味纯正、无霉变、无异味,平均菇高 30~60 mm、直径 25~40 mm。

### 1.2 试剂

邻苯二酚, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 柠檬酸, NaH-

SO<sub>3</sub>, 抗坏血酸, EDTA-2Na, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 愈创木酚, 均为 AR 级。

### 1.3 仪器

722S 可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司; TGL-16G 台式冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂; HH-8 数显恒温水浴锅,国华电器有限公司。

## 2 实验方法

### 2.1 鸡腿蘑速冻工艺流程

原料选择→预处理→护色→烫漂→冷却→离心→速冻→包装→冻藏

### 2.2 操作要点

#### 2.2.1 护色处理

采摘后鸡腿蘑的内在品质、外观、色泽会发生一系列变化,尤其是机械损伤部位更易褐变,所以采摘后应及时用不锈钢小刀切去带泥土的根部和刮去菌盖上反卷鳞片,清洗然后浸泡于护色液中。

#### 2.2.2 烫漂

烫漂的目的是钝化组织中酶的活性,杀死部分微生物,排除组织中部分气体和水分。热烫结束后,迅速捞出,用符合饮用水标准的自来水将其分段冷却。采用中速离心机离心除去多余的水分,防止原料在速冻时相互粘结或粘结在冻结设备上。离心速度为 1 500 r/min,时间为 10~15 min。

#### 2.2.3 速冻

采用超低温冰箱或单体速冻机速冻,冻结温度为 -30℃,冻结时间 10~15 min。

#### 2.2.4 包装

速冻后的鸡腿蘑按级别定量装袋,每袋 0.5 kg。装袋后进行抽真空封口,真空度 -0.09 MPa。包装间的温度为 5~10℃。

第一作者:学士,副教授。

\* 甘肃省科技星火资助课题(No. 甘科[2002]第 03-18)

收稿日期:2006-01-21,改回日期:2006-03-15

### 2.2.5 贮藏

将包装好的产品立即放在 $-18\sim-22^{\circ}\text{C}$ 的冷藏库中贮藏,库温波动在 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,以避免重结晶和水分蒸发。注意堆放整齐,防止下部的速冻鸡腿蘑粘结。

## 3 测定项目

### 3.1 酶液的提取

称取新鲜鸡腿蘑 20 g,刮去根、鳞片,置于研钵中,加入少量的石英砂,再加入预冷的适量的 0.2 mol/L pH=6.8 磷酸缓冲溶液(PBS),在冰浴中研磨匀浆,在 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$  15 000 r/min 离心 20 min,上清液全部转入 25 mL 容量瓶中。用 0.2 mol/L pH=6.8 的 PBS 溶液定量至刻度, $4^{\circ}\text{C}$  保存,待测备用。

### 3.2 PPO 最大吸收波长的确定

取 0.2 mol/L pH=6.8 的 PBS 溶液 2 mL,加入 0.2 mol/L 邻苯二酚溶液 1.0 mL,0.1 mL PPO 粗酶液至比色杯中,室温下迅速混合均匀,然后在波长 360~450 nm 间测吸光度  $A$  的变化。每隔 60 s 记录 1 次吸光值,共记录 5 次,重复测定 3 次。

### 3.3 PPO 活性的测定

吸取 0.2 mol/L pH=6.8 的 PBS 溶液 2 mL,加入 1 mL 0.2 mol/L 的邻苯二酚溶液,再加 0.5 mL 的酶液,迅速混合均匀。在上述测定最大吸收波长处测定吸光度  $A$  的变化,每隔 60 s 记录 1 次吸光值,共记录 10 min,重复 3 次。以吸光度  $A$  的变化表示 PPO 活性的大小。一个酶活力单位(U)定义为测定条件下每 1 min 引起吸光值改变 0.001 所需的酶量。

### 3.4 PPO 的最适温度及热稳定性

在 5 mL 0.2 mol/L pH=6.8 的 PBS 缓冲液中,以浓度为 0.2 mol/L 的邻苯二酚 1.0 mL 为反应底物,加入 PPO 粗酶液 1.0 mL,分别在 25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90 $^{\circ}\text{C}$  的水浴中保温 5 min,取出迅速冷却至室温,按 3.3 的方法测定不同温度下酶活力的变化。另取相同的酶反应体系若干份在 95 $^{\circ}\text{C}$  的沸水浴中分别加热 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 s,取出后迅速冷却至室温,按 3.3 的方法测定 95 $^{\circ}\text{C}$  下加热不同时间酶活力的变化。

### 3.5 褐变度(BD)的测定

采用消光值法<sup>[5]</sup>。待测鸡腿蘑 10g 与冷却蒸馏水按质量比 1:10 混合并匀浆 30 s 后冷冻离心(1 000 r/min, 5 min),取上清液于 25 $^{\circ}\text{C}$  保温 5 min,在 3.2 测定最大吸收波长处测定其吸光值  $A$  的变化,结果以  $10\times A$  表示鸡腿蘑褐变度(BD)的值。

### 3.6 几种抑制剂对鸡腿蘑褐变度的影响

采用不同浓度的柠檬酸、 $\text{NaHSO}_3$ 、抗坏血酸、EDTA-2Na 做为护色剂浸泡鸡腿蘑进行单因素试验,处理时间为 0.5 h。按 3.5 的方法测定褐变度。

### 3.7 酶活性检测<sup>[6]</sup>

在速冻前对经过不同温度烫漂处理和沸水不同时间处理的鸡腿蘑进行酶活性检测。以最耐热的过氧化物酶为指标定性检验,用质量分数 0.1% 愈创木酚乙醇溶液和体积分数 0.5%  $\text{H}_2\text{O}_2$  做底物。方法是将热烫后鸡腿蘑切半,在切口处分别加入 2~3 滴质量分数 0.1% 愈创木酚,再滴上体积分数 0.5%  $\text{H}_2\text{O}_2$  数滴,数分钟后,观察颜色变化。若呈褐色,即酶仍有活性,用“+”表示;若不变色,即酶失去活性,用“-”表示;严重褐变者,用“++”表示。

### 3.8 数据处理

每个测定重复 3 次,分别平行取样,结果取平均值计算。

## 4 结果与分析

### 4.1 鸡腿蘑 PPO 催化反应的特征

#### 4.1.1 鸡腿蘑 PPO 最大吸收波长的确定

体系反应产物在可见光波 360~450 nm 下的吸光度如图 1 所示。鸡腿蘑 PPO 催化邻苯二酚在可见光范围内有一明显的吸收峰,即在可见波长 400 nm 处有最大吸收峰(记为  $A_{400\text{ nm}}$ ),且在波长 360~400 nm 范围内随着波长的增加吸光度值逐渐增加;在波长 400~450 nm 范围内随着波长的增加吸光度值逐渐降低,因此选择 400 nm 为工作波长,在以下的测定中均采用波长 400 nm。

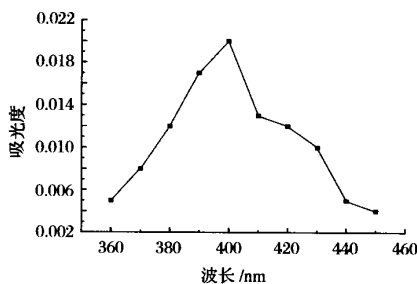


图1 鸡腿蘑最大吸收波长的确定

#### 4.1.2 鸡腿蘑 PPO 的反应速度曲线

鸡腿蘑 PPO 的提取液对邻苯二酚能够快速催化氧化,反应现象明显。从图 2 中可以看出,随反应时间的延长,单位时间内的产物生成量增加,即酶促反应速度也在逐渐增加,且在 10 min 内,反应产物与反

应时间近似呈线性关系,基本能反应酶促反应的初速度。反应至 10 min 左右时,产物生成量不再增加,以后随着反应进程的进行,反应速度降低,吸光度基本保持不变。

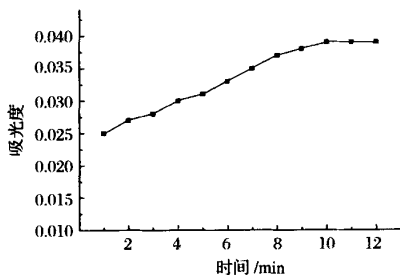


图2 鸡腿蘑 PPO 反应速度曲线

#### 4.2 鸡腿蘑 PPO 的活性与温度的关系

温度对 PPO 活性的影响是双重的。温度升高能加快催化反应的速度,另一方面也能促使酶蛋白变性,是 2 种对抗效应的综合反应。由图 3 可知,在 25~45℃ 的范围内随着温度上升,酶的活性逐渐增强;在 45℃ 时 PPO 活性最强;当温度大于 45℃ 时,随着温度的上升,PPO 的活性逐步减弱;80℃ 时反应体系处理 5 min,该酶全部失活。从图 4 可看出,酶液沸水浴钝化处理时,随着加热时间的增加,酶活性逐渐降低;当该反应体系加热到 90 s 时,酶基本没有活性,表明鸡腿蘑组织中的 PPO 全部钝化。所以采用调节温度来控制酶的催化反应速度是非常重要的。

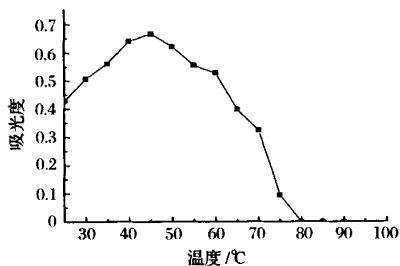


图3 温度对 PPO 活性的影响

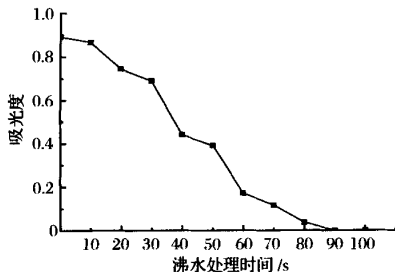


图4 沸水浴对 PPO 活力的影响

#### 4.3 不同护色剂对鸡腿蘑褐变度的影响

鸡腿蘑的褐变和 PPO 的变化密切相关。由图 5 可以看出,4 种护色剂对鸡腿蘑的褐变度均有不同的抑制作用,且浓度的增加与褐变度(BD)呈负相关。也就是说对鸡腿蘑的 PPO 活性都有抑制作用。但在护色剂浓度相同的情况下,抑制效果的排列次序为抗坏血酸>柠檬酸>NaHSO<sub>3</sub>>EDTA-2Na。实际生活中抗坏血酸也是较为理想的护色剂,又是食品中固有的营养成分,安全性高。抗坏血酸使用过程中会被氧化消耗而逐渐减少,这一变化又能加重非酶褐变。生产中使用会加大生产成本;柠檬酸的酸性较强,能使溶液的 pH 值更加远离 PPO 的最适酸度范围,对鸡腿蘑酶促褐变控制效果较好;NaHSO<sub>3</sub> 是防止果蔬酶促褐变常用的物质,同时 NaHSO<sub>3</sub> 还有漂白和抑制微生物生长的作用,但在加工过程中添加量过大会影响感官质量,并且 NaHSO<sub>3</sub> 对人体健康是有害的,大量使用亚硫酸盐类添加剂会破坏食品的营养素<sup>[7]</sup>,亚硫酸盐能与氨基酸、蛋白质等反应生成双硫键化合物,能与多种维生素如 B<sub>1</sub>、B<sub>12</sub>、C、D 结合,能够使细胞产生变异,会诱导不饱和脂肪酸的氧化<sup>[8]</sup>,使用过程中应考虑 SO<sub>2</sub> 的残留问题;EDTA-2Na 对褐变的抑制作用是因为具有较强的 Cu<sup>2+</sup> 螯合能力,能螯合 PPO 中的 Cu<sup>2+</sup>,从而抑制 PPO 的活性。在与其他抑制剂浓度相同下使用比较,它对鸡腿蘑褐变度的抑制效果最差。另外,不同护色剂的组合可能护色效果会更好,这有待于进一步研究。

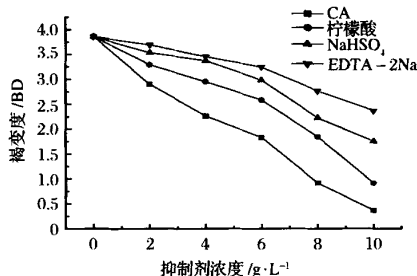


图5 几种抑制剂对鸡腿蘑褐变度的影响

#### 4.4 烫漂时间和时间的确定

大多数速冻蔬菜在冻结前要进行热烫处理以钝化其酶的活性<sup>[9]</sup>,多酚氧化酶和过氧化物酶(peroxidases,简称 POD)是果蔬中 2 种主要的氧化酶,其中多酚氧化酶会引起冷冻果蔬的褐变,而过氧化物酶与冷冻果蔬在保藏期间的风味变化有直接关系<sup>[10]</sup>。此酶活性的存在是速冻果蔬质量下降的关键原因,过氧化物酶的抗热性很强,通常用其作为灭酶工艺的参考

指标,在过氧化物酶失活的条件下可以保证其他所有的酶均受到破坏<sup>[11]</sup>。由表1、表2试验结果可以看出,鸡腿蘑在85℃烫漂5 min,90℃烫漂4~5 min和95℃烫漂3~5 min时,鸡腿蘑中的酶基本失活。为了保证烫漂中酶的失活,同时产品又不过分软烂、组织老化、弹性降低、失水失重、水溶性营养物质损失,所以确定鸡腿蘑烫漂适宜的温度为95℃(沸水),烫漂时间为3 min。通常,存在于完整组织或匀浆中的酶,由于它的结构被其他胶体物质如蛋白质、果胶、碳水化合物等所保护,加热时表现出更加耐热。经热烫后的蘑菇要迅速冷却。

表1 不同烫漂温度对鸡腿蘑酶活性的影响

烫漂温度/℃	80			85			90			95(沸水)		
烫漂时间/min	3	4	5	3	4	5	3	4	5	3	4	5
酶活性	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

表2 沸水热烫时间对鸡腿蘑酶活性的影响

沸水烫漂时间/min	0	1	2	3	4	5
酶活性	++	++	+	+	+	+

## 5 结 论

(1)鸡腿蘑多酚氧化酶的酶促褐变产物在可见光波长400 nm处有最大吸收峰。

(2)鸡腿蘑多酚氧化酶溶液对热敏感,其最适温度为45℃。80℃水浴处理5 min、95℃(沸水)加热90s多酚氧化酶全部钝化,所以在鸡腿蘑加工中可以利用高温短时热烫来控制鸡腿蘑褐变的发生。

(3)抗坏血酸、柠檬酸、NaHSO<sub>3</sub>、EDTA-2Na 4种单一护色剂对鸡腿蘑褐变度均有一定的抑制作用。护色剂浓度增加与褐变度呈负相关,且在同浓度下比较,抗坏血酸的抑制效果最好,最弱的为EDTA-2Na,

对褐变抑制排列次序是抗坏血酸>柠檬酸>NaHSO<sub>3</sub>>EDTA-2Na。但综合考虑,生产中使用柠檬酸为好。

(4)鸡腿蘑整体烫漂适宜的温度为95℃,烫漂时间为3 min。

## 参 考 文 献

- 1 李君兰,冯 谦,武治昌,等.贮藏温度和湿度对鸡腿蘑保鲜效果的影响[J].食品与发酵工业,2005,31(5):151~152
- 2 仲 飞.红星苹果多酚氧化酶某些特性及其抑制的研究[J].园艺学报,1998,25(2):25~26
- 3 胡 军.莲藕中多酚氧化酶特性及莲藕的护色[J].食品与发酵工业,1989(3):47~51
- 4 王清章,史国荣,魏承银.几种防褐变剂对去皮马铃薯贮藏的影响[J].长江蔬菜,1998(11):25~26
- 5 王清章,刘怀超,孙 颀.莲藕贮藏中褐变度及多酚氧化酶活性的初步研究[J].中国蔬菜,1997(3):4~6
- 6 吴锦铸,张昭其主编.果蔬保鲜与加工[M].北京:化学工业出版社,2001.180~412
- 7 杨剑平.二氧化硫及亚硫酸盐在食品加工中的应用[J].山东罐头科技,1990(2):14~18
- 8 周德庆,张双灵,辛胜昌.亚硫酸盐在食品加工中的作用及其应用[J].食品科学,2004,25(12):198~201
- 9 Williams D C, Lim M H, Chen A O, et al. Blanching of vegetable for freezing-which indicator enzyme to choose[J]. Food Technology, 1986, 40(6):130~140
- 10 晏绍庆,刘宝林,华泽钊.冻结速率对草莓多酚氧化酶和过氧化物酶活性影响的初步实验研究[J].制冷学报,1999(4):36~42
- 11 Ganthavorn C, Nagel C W, Power J B. Thermal inactivation of asparagus lipoxygenase and peroxidase[J]. J Food Sci, 1991, 56:47~49

## Study on the Technique of Quick-frozen and Color Protection of *Coprinus comatus*

Li Junlan<sup>1</sup> Li Yihua<sup>1</sup> Zhao Qiulin<sup>2</sup> Liu Zhifang<sup>1</sup> Feng Jiuhai<sup>1</sup>

1(Department of Horticulture Hexi University, Zhangye 734000, China)

2(Tianshuishi Xiaolongshan Institute of Forestry Science, Tianshui 741022, China)

**ABSTRACT** The processing conditions of quick-frozen and fresh-keeping of *coprinus comatus* was discussed. Based on the Measurement of the activity of PPO, we have examined the effect of four types of color protections, EDTA-2Na, NaHSO<sub>3</sub>, ascorbic acid and citric acid on browning degrees(BD)of *Coprinus comatus* and the method of thermo treating inactivate enzyme activity. Therefore we determined the process conditions of controlling quick-

frozen enzyme browning of coprinus comatus. The result shows that four types of color protection all have certain controlling effect on enzymatic browning of Coprinus comatus, in which ascorbic acid has strong effect on enzymatic browning of Coprinus comatus and EDTA-2Na has the weakest one. It is well inactivate enzyme activity for about 3 min in boiling water.

**Key words** coprinus comatus, quick freezing, polyphenol oxidase, browning, protection color

## 全国食品安全专项整治新方案出台

国家工商总局已出台《2006年流通环节食品安全专项整治工作方案》，要求继续巩固发展2005年专项整治成果，深入开展食品安全专项整治工作，加大食品市场监管力度，严厉打击制售假冒伪劣食品违法行为；全面推进食品市场监管理制度建设，积极构建食品安全长效监管体系；加强食品安全监管能力建设，不断提高依法行政水平。

《方案》强调，要坚持标本兼治、防打结合、分类监管、综合治理的原则，突出重点、全面推进，边整治边规范，整治与规范并举，着力解决存在的突出问题。通过专项整治，市场食品质量水平进一步提高，流通环节食品安全状况进一步好转。

按照《方案》的要求，2006年流通环节食品安全专项整治工作的任务和重点包括：加大食品安全专项执法检查力度，严格规范食品经营行为。针对食品季节性、节日性、区域性消费特点及消费者申诉举报多和与群众生活密切相关的品种，集中开展3项专项执法检查：一是以城市社区、农村和城乡结合部为重点，开展重点区域执法检查；二是以商场、超市、集贸市场和批发市场为重点，开展引导和监督经营者建立健全自律制度专项执法检查；三是以“五一”、“十一”、中秋、元旦、春节为重点，开展节日食品市场专项执法检查。

加大清理食品经营主体资格力度，严格规范食品市场主体准入行为。要对涉及食品生产、销售的企业和个体工商户的经营资格进行全面清理，主要内容包括证照是否齐全有效、经营事项与登记事项是否一致、年检和验照是否通过等。各地可结合2006年企业年检和个体工商户验照工作一并进行，由各级注册登记机构分别实施；由县级工商局组织，基层工商所逐户排查，坚决依法取缔无照经营。

加大日常监管力度，严格规范基层工商所食品安全监管行为。要按照国家工商总局制定下发的《工商行政管理所食品安全监督管理工作规范》和“六查六看”的要求，将食品安全监管的任务和责任认真落实到每个基层工商所，强化日常监管，确保“五个到位”。要对基层工商所落实食品安全监管工作规范情况和落实“五个到位”情况进行专项检查，逐所验收。

加大食品质量监管力度，严格规范食品质量市场准入和退市行为。一是严把食品质量市场准入关，建立健全食品质量准入体系。二是继续完善食品质量监测体系，强化对食品质量的监测。三是积极推行食品质量分类监管。四是加强对食品退市的监管。建立健全行政监管强制退市和经营者主动退市相结合的管理机制。在退市过程中，要跟踪检查，防止已退市食品改头换面二次流入市场。

各级工商管理部门要加大查办食品违法案件的力度，严格规范办案程序和行为。重点查处制售假冒伪劣食品，无证无照生产经营，经销不合格食品和有毒有害食品，食品中使用非食品添加剂，虚假食品广告，商标侵权，食品的假包装、假标识、假商标印制品等违法案件，尤其要抓好对大要案件的排查和查处工作，认真清理积案。要健全食品违法案件受理、查办、督办责任制和错案追究制。对涉嫌犯罪的案件，要依法及时移交公安机关。

《方案》要求，各地工商机关要在当地党委、政府的领导下，切实做到一把手亲自抓，主管领导具体抓，形成齐抓共管的局面。要结合专项整治的重点工作，进一步细化工作措施，明确工作职责，建立和落实责任制及责任追究制。要通过加强制度建设，不断完善工商监管、经营者自律、社会监督“三位一体”的流通环节食品安全长效监管体系。要加强区域间、地区间、内设机构间以及与食品药品、质检、卫生、农业、公安、商务等职能部门的协作配合，形成工作合力和整体优势。对专项行动中的好做法、好经验，要注意及时总结推广。