

分类号：TS2

单位代码：10363

密级：公开

学号：2220530102

射频-Nisin 协同对双孢菇及其典型菜肴理化特性的影响研究

RESEARCH ON THE EFFECTS OF THE SYNERGY OF RADIO FREQUENCY AND NISIN ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF AGARICUS BISPORUS AND ITS TYPICAL DISHES

学生姓名： 黄梦琦

指导教师： 徐继成 教授

专 业： 食品科学与工程

研究方向： 农产品加工与贮藏

论文答辩日期：2025 年 5 月 15 日

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确和隐含的内容外，本论文不包含其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学术论文作者签名：黄静琦
日期：2025年5月17日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密 ☐，在 ____ 年解密后使用本版权书

本学位论文属于

不保密 ☒。

学位论文作者签名：黄静琦

日期：2025 年 5 月 17 日

指导教师签名：徐继成

日期：2025 年 5 月 17 日

射频-Nisin 协同对双孢菇及其典型菜肴理化特性的影响研究

摘 要

双孢菇 (*Agaricus bisporus*) 作为世界上商业化栽培规模最大的食用菌之一, 有着“植物肉”等美誉, 兼具高蛋白、低脂肪的食用价值和预防疾病等药用价值。但双孢菇采后极易受到微生物侵害, 出现褐变、腐败等问题, 严重影响其营养和商业价值。针对以上问题, 本研究开发了一种射频-Nisin 新型协同 (Radio frequency combined with Nisin, RF-Nisin) 的杀菌技术, 并将其应用在双孢菇及其典型菜肴的保鲜中, 系统探究其对微生物抑制、理化特性、褐变调控及挥发性风味的影响, 并阐明其作用方式。

通过单因素实验确定最佳协同参数 (Nisin 浓度 0.25 g/kg、RF 极板高度 12 cm、处理时间 15 min), 结合温度场分布与加热均匀性分析优化处理条件。通过菌落总数测定、感官评价、色差 (L^* 、 a^* 、 b^* 值)、质构、扫描电镜 (Scanning electron microscope, SEM)、气相色谱-离子迁移谱 (Gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS) 及傅里叶红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 分析, 评估 RF-Nisin 处理对双孢菇贮藏品质的影响。RF-Nisin 处理显著降低双孢菇菌落总数 (9 d 时 3.50 lg CFU/g), 货架期从 3 d 延长至 9 d, 优于单一处理 (Nisin 或 RF 单独处理)。抑制褐变指数 (Browning index, BI) 上升 32%, 降低失重率至 0.9%, 保留可溶性蛋白质 (16.79%保留率) 与固形物含量 (较对照组低 30%)。

在前期研究的基础上, 进一步对单独 Nisin、单独 RF 和 RF-Nisin 处理改善双孢菇褐变现象进行探究。测定丙二醛 (Malondialdehyde,

MDA)、可溶性醌、总酚 (Total phenol content, TPC)、类黄酮含量 (Total flavonoid content, TFC)及关键酶 (多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase, PPO)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT))活性, 结合皮尔逊相关性分析与主成分分析 (Principal components analysis, PCA), 解析酚类代谢与氧化应激通路的调控机制。结果表明, RF-Nisin 处理维持细胞膜完整性 (MDA 含量降低 25%), 协同处理钝化 PPO (活性降低 68%) 和 POD (活性降低 86%), 提升抗氧化能力 (DPPH 清除率 81.33%), 抑制酚类氧化为醌类, 延缓黑色素形成。

以“双孢菇炒肉片”为对象, 对比 RF-Nisin 与高压蒸汽灭菌 (High temperature and high-pressure sterilization, HPS)处理对菌落总数、色差、质构、蛋白质保留率及风味稳定性的影响, 优化工业化工艺参数。RF-Nisin 处理 15 min 可使双孢菇炒肉片菌落总数符合国标 ($<5 \lg$ CFU/g), 蛋白质保留率 (10.79 mg/mL) 显著高于 HPS 处理 (9.41 mg/mL), 且挥发性风味物质 (如醛酮类) 减少, 感官评分 (83.2 分) 接近新鲜样品。

RF-Nisin 协同处理通过物理-化学生物联合作用, 显著提升双孢菇及其菜肴的贮藏品质与安全性, 兼具高效抑菌、低能耗和绿色安全的优势, 为食用菌采后保鲜与加工技术创新提供了理论依据和实践参考。未来需进一步优化工艺参数并深化分子机制研究, 以推动该技术的规模化应用。

关键词: RF-Nisin 协同处理, 双孢菇, 低热杀菌, 褐变调控, 微生物抑制, 挥发性风味, 菜肴保鲜

RESEARCH ON THE EFFECTS OF THE SYNERGY OF RADIO FREQUENCY AND NISIN ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF AGARICUS BISPORUS AND ITS TYPICAL DISHES

ABSTRACT

Agaricus bisporus, one of the most commercially cultivated edible fungi in the world, is renowned as the "plant-based meat" and offers high protein, low-fat nutritional value along with medicinal benefits such as disease prevention. However, after harvest, *A. bisporus* is highly susceptible to microbial invasion, leading to issues like browning and spoilage, which severely undermine its nutritional and commercial value.

To address these problems, this study developed a novel sterilization technology combining radio frequency and nisin (RF-Nisin) and applied it to the preservation of *A. bisporus* and its typical dishes. The research systematically explored its effects on microbial inhibition, physicochemical properties, browning regulation, and volatile flavors, and elucidated its action mechanism.

The optimal synergistic parameters were determined through single-factor experiments (nisin concentration of 0.25 g/kg, RF electrode height of 12 cm, and treatment time of 15 min), and the treatment conditions were optimized by analyzing the temperature field distribution and heating uniformity. The effects of RF-Nisin treatment on the storage quality of *A. bisporus* were evaluated through methods such as total colony count determination, sensory evaluation, color difference (L^* , a^* , b^* values) measurement, texture analysis, microstructure (Scanning Electron

Microscope, SEM) observation, volatile organic compound (Gas Chromatography-Ion Mobility Spectrometry, GC-IMS) analysis, and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis. The RF-Nisin treatment significantly reduced the total colony count of *A. bisporus* (3.50 lg CFU/g at 9 days), extended the shelf life from 3 days to 9 days, outperforming single treatments (nisin or RF alone). It inhibited the increase of the browning index (BI) by 32%, reduced the weight loss rate to 0.9%, and retained soluble protein (with a retention rate of 16.79%) and solid content (30% lower than that of the control group).

Based on previous research, further investigations were conducted on the effects of nisin alone, RF alone, and RF-Nisin treatment in alleviating the browning of *A. bisporus*. The contents of malondialdehyde (MDA), soluble quinone, total phenols, flavonoids, and the activities of key enzymes (polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), catalase (CAT)) were measured. Pearson correlation analysis and principal component analysis (PCA) were used to analyze the regulatory mechanisms of phenolic metabolism and oxidative stress pathways. The results showed that the RF-Nisin treatment maintained the integrity of the cell membrane (MDA content decreased by 25%). The combined treatment inactivated PPO (with a 68% reduction in activity) and POD (with an 86% reduction in activity), enhanced antioxidant capacity (DPPH scavenging rate of 81.33%), inhibited the oxidation of phenols to quinones, and delayed the formation of melanin.

Using "Stir-fried sliced pork with *A. bisporus*" as the research object, the effects of RF-Nisin and high-pressure steam sterilization (HPS) treatments on total colony count, color difference, texture, protein retention rate, and flavor stability were compared to optimize the industrial process parameters. A 15 min RF-Nisin treatment could make the total colony count of Stir-fried sliced pork with *A. bisporus* meet the national standard (<5 lg

CFU/g), with a significantly higher protein retention rate (10.79 mg/mL) than that of the HPS treatment (9.41 mg/mL), a reduction in volatile flavor substances (such as aldehydes and ketones), and a sensory score (83.2 points) close to that of fresh samples.

The RF-Nisin combined treatment significantly improves the storage quality and safety of *A. bisporus* and its dishes through a physical-chemical-biological combined effect. It has the advantages of high antibacterial efficiency, low energy consumption, and green safety, providing a theoretical basis and practical reference for the innovation of post-harvest preservation and processing technologies for edible fungi. In the future, it is necessary to further optimize the process parameters and deepen the research on the molecular mechanism to promote the large-scale application of this technology.

Huang Mengqi (Food Science and Engineering)

Supervised by professor Xu Jicheng

KEY WORDS: RF-Nisin combined treatment, *Agaricus bisporus*, low-temperature sterilization, browning regulation, microbial inhibition, volatile flavor, dish preservation

缩略符号说明

缩略词	英文全称	中文全称
RF	Radio frequency	射频
RF-Nisin	Radio frequency combined with nisin	射频-Nisin 协同
HPS	High temperature and high-pressure sterilization	高压蒸汽灭菌
RH	Height of radio frequency	射频高度
RT	Time of radio frequency	射频时间
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	大肠杆菌
G ⁺	Gram-positive bacterium	革兰氏阳性菌
G ⁻	Gram-negative bacterium	革兰氏阴性菌
MDA	Malondialdehyde	丙二醛
SEM	Scanning electron microscope	扫描电子显微镜
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy	傅里叶红外变换光谱
PCA	Principal component analysis	主成分分析
PPO	Polyphenol oxidase	多酚氧化酶
POD	Peroxidase	过氧化物酶
CAT	Catalase	过氧化氢酶
VOCs	Volatile organic compounds	挥发性有机化合物
GC-IMS	Gas chromatography-ion mobility spectrometry	顶空-气相色谱-离子迁移谱

目 录

摘 要	I
ABSTRACT.....	III
缩略符号说明.....	VI
第 1 章 绪论	1
1.1 双孢菇	1
1.2 影响双孢菇保鲜效果的因素研究进展	1
1.2.1 贮藏温度	1
1.2.2 相对湿度	2
1.2.3 酸碱度	2
1.2.4 环境气体成分	2
1.2.5 水分	2
1.2.6 微生物侵染	3
1.3 常用保鲜技术在双孢菇加工中的应用研究进展	3
1.3.1 常用保鲜技术分类	3
1.3.1.1 低温冷藏保鲜	3
1.3.1.2 气调包装保鲜	3
1.3.1.3 臭氧保鲜	4
1.3.1.4 辐射保鲜	4
1.3.1.5 高压静电场保鲜	4
1.3.1.6 化学保鲜	4
1.3.1.7 生物保鲜	5
1.3.1.8 复合保鲜	5
1.3.2 双孢菇加工现状	6
1.4 RF 杀菌及其研究进展	7
1.4.1 RF 概述	7

1.4.2 国内外 RF 技术的研究现状	7
1.4.3 RF 与其他技术联合杀菌在食品领域的应用进展	8
1.5 Nisin 抑菌作用及研究进展	9
1.5.1 Nisin 概述	9
1.5.2 Nisin 在食品中的应用进展	9
1.5.3 Nisin 安全性研究进展	10
1.6 本课题立题背景和意义	10
1.7 本课题主要研究内容	11
第 2 章 RF-Nisin 协同对双孢菇微生物和品质的影响	13
2.1 引言	13
2.2 材料与设备	13
2.2.1 实验原料	13
2.2.2 实验试剂	13
2.2.3 仪器与设备	14
2.3 实验方法	15
2.3.1 双孢菇处理方式	15
2.3.2 单因素实验	15
2.3.4 菌落总数测定	16
2.3.5 RF 加热均匀性测定	16
2.3.6 感官评价	16
2.3.7 色差测定	16
2.3.8 质构测定	17
2.3.9 含水量测定	17
2.3.10 可溶性固形物含量测定	17
2.3.11 可溶性蛋白含量测定	17
2.3.12 微观结构测定	17
2.3.13 挥发性风味测定	17
2.3.14 傅里叶变换红外光谱测定	18

2.3.15 统计分析	18
2.4 结果与讨论	18
2.4.1 RF-Nisin 协同对双孢菇加热均匀性的影响	18
2.4.2 Nisin 浓度、RH 和 RT 对菌落总数的影响	19
2.4.3 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇菌落总数的影响	20
2.4.4 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇感官评价的影响	21
2.4.5 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇色差的影响	22
2.4.6 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇硬度的影响	24
2.4.7 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇失重率的影响	25
2.4.8 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇可溶性固形物含量的影响	25
2.4.9 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇可溶性蛋白质含量的影响	26
2.4.10 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇微观结构的影响	26
2.4.11 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇挥发性风味的影响	27
2.4.12 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 FTIR 的影响	30
2.5 本章小结	31
第 3 章 RF-Nisin 协同对双孢菇褐变作用的研究	32
3.1 引言	32
3.2 材料与设备	32
3.2.1 实验原料	32
3.2.2 实验试剂	33
3.2.3 仪器与设备	33
3.3 实验方法	33
3.3.1 样品不同处理	33
3.3.2 MDA 含量测定	33
3.3.3 可溶性醌含量测定	34
3.3.4 TPC 和 TFC 测定	34
3.3.5 DPPH 含量测定	34
3.3.6 酶活性测定	35

3.3.7 数据分析	35
3.4 结果与讨论	35
3.4.1 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 MDA 含量的影响	35
3.4.3 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 TPC 和 TFC 的影响	36
3.4.4 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇抗氧化活性的影响	36
3.4.5 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇酶活性的影响	37
3.4.6 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇品质各指标皮尔逊相关性矩阵	39
3.5 本章小结	40
第 4 章 RF-Nisin 协同对典型菜肴双孢菇炒肉片品质及挥发性风味的影响.....	41
4.1 引言	41
4.2 实验方法	41
4.2.1 实验原料	41
4.2.2 实验试剂	41
4.2.3 材料与设备	42
4.3 实验方法	42
4.3.1 双孢菇炒肉片菜肴的制备	42
4.3.2 双孢菇炒肉片的杀菌处理	42
4.3.3 杀菌温度均匀性的测定	42
4.3.4 菌落总数测定	42
4.3.5 色差测定	42
4.3.6 感官评价	42
4.3.7 质构测定	43
4.3.8 可溶性固形物含量测定	43
4.3.9 可溶性蛋白质含量测定	43
4.3.10 微观结构测定	43
4.3.11 挥发性风味测定	44
4.3.12 数据分析	44
4.4 结果与讨论	44

4.4.1 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片表面温度的影响	44
4.4.2 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片菌落总数的影响	44
4.4.4 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片感官评定的影响	46
4.4.5 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片质构的影响	47
4.4.6 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片可溶性固形物含量的影响	47
4.4.7 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片蛋白质含量的影响	47
4.4.8 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片微观结构的影响	48
4.4.9 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片挥发性风味的影响	49
4.5 本章小结	55
第 5 章 结论与展望	56
5.1 结论	56
5.2 创新点	56
5.3 展望	57
参考文献	58
攻读硕士期间学术论文发表情况.....	71
致谢.....	72

第 1 章 绪论

1.1 双孢菇简介

双孢菇 (*Agaricus bisporus*), 也被叫做纽扣蘑菇、白色蘑菇或者洋蘑菇, 隶属伞菌目、蘑菇科、蘑菇属。它的担子通常会产生包含两个异核双核体的孢子, 所以得名双孢菇^[1]。双孢菇在全球范围内商业化栽培规模极大, 分布广泛, 产量领先且备受欢迎, 有着“植物肉”“素中之王”“世界菇”的美誉^[2]。

随着科技持续进步, 国内双孢菇工厂化生产日益成为主流模式。在现代化菇房中, 温度、湿度以及光线等生长要素都能够被精准调控, 这使得双孢菇实现了全年不间断的生产。如今, 我国双孢菇的产量和产值均位居世界首位, 出口量也颇为可观。福建、山东、河南等省份是双孢菇的主要种植区域, 这些地区年栽培总面积达 6.80 亿平方米, 产量约 46 万吨, 这一数字约占全国生产总量的 75%^[3]。

双孢菇菌肉鲜嫩肥厚, 味道鲜美, 具备出色的商品价值。从食用角度来看, 它具有高蛋白、低脂肪、低热量的特性, 食用价值极高; 在药用方面, 双孢菇也表现突出^[4]。它对病毒性疾病、胃病等能起到一定的预防作用, 其含有的酪氨酸酶能够降低胆固醇和血压, 所含的胰蛋白酶、麦芽糖酶和解朊酶有助于食物消化, 从发酵提取液中获得的蘑菇多糖和异蛋白可以抑制肿瘤的发生与发展, 此外, 还具有预防血管硬化、提升人体免疫力等诸多药用功效^[5]。

不过, 双孢菇的结构组织娇嫩且富含水分, 并且其表面缺乏保护结构, 在采摘时很容易遭受机械损伤。采后双孢菇的代谢活动十分旺盛, 菇体会持续消耗自身物质进行新陈代谢。与此同时, 双孢菇还会受到各类微生物的侵害, 最终致使菇体出现褐变、失水、开伞、产生异味^[6]等一系列变质现象。这使得双孢菇极难贮藏, 严重损害了它的营养价值和商业价值, 造成了巨大的经济损失。所以, 解决双孢菇采后的贮藏难题迫在眉睫。

1.2 影响双孢菇保鲜效果的因素

1.2.1 贮藏温度

贮藏温度在双孢菇保鲜中起着最为关键的作用。双孢菇采摘后, 其代谢活动依旧十分活跃, 机体内的营养物质会在酶的作用下逐步被分解。低温环境能够有效抑

制子实体中酶的活力，进而降低其生理代谢速率，延长双孢菇的货架期。然而，温度调控需要精准把握，温度过低，双孢菇组织容易遭受冻害；温度过高，则会加速子实体的褐变、衰老进程，甚至引发腐烂现象^[7]。

1.2.2 相对湿度

相对湿度同样是影响双孢菇保鲜成效的核心要素。双孢菇对环境相对湿度有着严苛的要求，一般适宜范围处于 80%~100%之间。由于双孢菇的品种丰富多样，不同品种的最佳相对湿度也存在差异^[8]。一旦相对湿度过低，双孢菇会快速流失水分，继而出现开伞、褐变等问题，这将极大地损害保鲜效果，致使其商品价值大幅降低。

1.2.3 酸碱度

酸碱度对于酶的活性以及微生物的活动有着显著影响。导致鲜菇褐变的 PPO 能够催化酚转化为醌，醌发生聚合反应后再与氨基酸相互作用，生成黑褐色物质，从而引发褐变。PPO 的最适 pH 值处于 4.0~5.0 区间，当 pH 值低于 2.5 或者高于 10 时，酶的结构会发生改变，致使酶活力完全丧失。此外，大多数微生物生长的最适 pH 值在 6.0~7.5，过酸或过碱的环境都能对微生物活动产生抑制作用，最终达到延长双孢菇货架期的目的。

1.2.4 环境气体成分

环境气体的种类和浓度同样是左右鲜菇贮藏品质的重要因素。低浓度的 O_2 能够降低酶的活性，而高浓度的 CO_2 则会通过反馈机制降低线粒体活性，最终实现降低双孢菇代谢水平的效果^[9]。鲜菇自身携带的多数细菌以及霉菌都属于好氧型微生物，在 O_2 缺乏或者浓度极低的环境中难以存活。所以，可以通过降低环境中 O_2 的浓度，来抑制微生物的生长与繁殖，以此延长双孢菇的货架期。

1.2.5 水分

水分在双孢菇的营养吸收、废物排出以及胞外酶分泌等代谢反应中，是不可或缺的基础溶剂。影响双孢菇贮藏品质的水分相关因素，主要包含含水量和水质两个方面。含水量较高 (72%~95%) 的鲜菇，其酶活力相对较高，耐贮藏性能较差；较低的含水量则更有利于保鲜^[10]。所以，对鲜菇进行泡水增重的做法是不可取的，这会严重降低其商品价值。此外，水质会直接作用于鲜菇的色泽和褐变程度，因此应尽可能降低水中铁和铜的含量。

1.2.6 微生物侵染

微生物的侵染是导致双孢菇腐烂变质的重要因素之一。在双孢菇的生长、采收及贮藏过程中，极易受到细菌、霉菌和酵母菌等微生物的污染。这些微生物在双孢菇表面或内部生长繁殖，分泌各种酶类，分解双孢菇的细胞壁和细胞内容物，导致组织软化、变色、腐烂。例如，曲霉会分泌纤维素酶和蛋白酶，破坏双孢菇的细胞结构，引发褐变和腐烂。采后对双孢菇进行有效的杀菌处理，如采用辐照、化学杀菌剂浸泡或生物保鲜剂涂膜等方法，能够显著减少微生物数量，延长保鲜期。研究表明^[11]，经过咖啡酸接枝壳聚糖/聚乳酸包装处理，双孢菇的黄杆菌、假单胞菌、假单胞菌等腐败菌的数量显著降低。

1.3 常用保鲜技术在双孢菇加工中的应用

1.3.1 常用保鲜技术分类

双孢菇采后呼吸作用旺盛，易发生褐变、开伞、软腐及微生物侵染等问题，导致品质迅速下降。目前常见的保鲜技术主要包括物理、化学及生物保鲜方法，不同技术对双孢菇的感官特性、营养成分和贮藏期的影响存在显著差异，主要包括：

1.3.1.1 低温冷藏保鲜

在常见的保鲜方式里，低温冷藏保鲜的最佳贮藏温度范围一般处于 0~5℃，温度越是适宜，双孢菇的贮存时长就越久。Li 等^[12]人的研究成果表明，2℃ 的低温环境能够有效延缓双孢菇的褐变过程，抑制 MDA 含量的降低以及电导率的上升；而 4℃ 的低温则可延缓双孢菇品质的劣化，抑制重量减轻、开伞率升高和硬度下降，使得双孢菇的保藏期延长至 22 天^[13]。另外，为进一步提升保鲜效果，低温冷藏保鲜常常和气调保鲜、涂膜保鲜等其他保鲜手段联合运用。

1.3.1.2 气调包装保鲜

气调包装保鲜的原理是通过调整包装内部的气体组成，从而抑制双孢菇的呼吸强度，延缓其衰老。这种保鲜方式不仅能够抑制乙烯的释放，对于延缓金针菇、双孢菇等菌类品质的下降也有显著效果。不过，气调包装虽保鲜成效良好，但它对技术要求颇高，相关设施价格昂贵，而且包装材料容易引发白色污染问题。高成本和不环保这两大因素，已然成为阻碍气调包装大规模推广应用的关键难题。

1.3.1.3 臭氧保鲜

臭氧保鲜技术借助臭氧强大的氧化性，破坏病原菌的细胞膜或细胞壁，减少微生物对双孢菇的侵害，同时氧化乙烯，削弱乙烯的催熟作用，以此实现保鲜目的。这是一种零残留、活性高、渗透性强的保鲜技术，不仅成本低廉、操作简便，而且保鲜效果出色。相关研究发现，臭氧处理能够让双孢菇维持较高的色泽水平，并且不会使其他品质降低^[14]。不过需要注意的是，合适的臭氧浓度才能有效延长双孢菇的货架期，浓度不合适反而会导致双孢菇代谢紊乱，品质下滑。

1.3.1.4 辐射保鲜

辐射保鲜利用波长极短的电离射线来杀灭微生物，同时通过电离作用，将鲜菇体内的水分与其他物质分离开，进而降低双孢菇的代谢水平，延缓其衰老。研究表明， γ 射线辐照能够显著提升平菇的贮藏品质；紫外线辐照与低温联合处理则可以让香菇保持较高的硬度和总黄酮含量^[15]。辐射保鲜具备处理量大、效果显著、成本低、无残留、操作简便等诸多优点，所以常常与其他技术配合使用。

1.3.1.5 高压静电场保鲜

高压静电场是指在带电电极与接地极或者带电两极之间产生放电现象，且无电子流动的高压电场。施加外加高压静电场会改变细胞膜的跨膜电位，直接对细胞的氧化磷酸化等生理反应产生影响，从而发挥保鲜作用^[16]。研究显示，高压静电场处理能够显著抑制香菇的呼吸代谢强度，减少内源性甲醛的积累，延缓多糖和抗坏血酸的降解，降低失重率，对改善香菇采后的品质有着积极的意义。

1.3.1.6 化学保鲜

化学保鲜是运用一定浓度的化学试剂来实现保鲜，比如亚硫酸钠、山梨酸等。一方面，这些化学试剂能够推迟双孢菇呼吸强度达到顶峰的时间，阻碍其衰老进程；另一方面，还能减少有害微生物的侵害，增强双孢菇的耐贮藏性^[17]。Khan 等^[18]人指出，将 CaCl_2 、柠檬酸和山梨醇复合使用，能够有效降低双孢菇体内 H_2O_2 和 MDA 的含量，使可溶性蛋白质和抗氧化酶的活性维持在较高水平。化学保鲜法具有成本低、操作简单、效果好等优点，在水果保鲜方面也有应用。但它的安全系数较低，尤其是亚硫酸盐这类高残留的化学药剂，会对人体健康与安全构成严重威胁。

1.3.1.7 生物保鲜

在生物保鲜技术中，生物源涂膜保鲜的应用最为广泛。生物源涂膜与化学涂膜不同，它对人体无毒无害，还具备出色的杀菌和抑菌效果。通常采用喷雾、浸泡等方法，在蘑菇表面形成一层保护膜，这层膜能够减少菇体内外的气体交换，降低机械损伤，抑制双孢菇的呼吸作用，在延缓衰老、抑制病原菌生长等方面效果显著，具有天然无污染、安全、健康等优良特性。按照生物保鲜剂主要成分的来源方式，可将其分为植物源、动物源和微生物源三大类^[20]；按照使用方式，则可分为单一型和复合型^[21]，这两类在双孢菇保鲜领域都有实际应用。

植物源保鲜剂主要包含精油、茶多酚等，其中精油是应用较为广泛的植物源保鲜剂之一，它是从植物的花、叶、根、树皮等部位提取出来的具有杀菌性能的芳香物质。精油能够显著延缓双孢菇的褐变过程，抑制 PPO 和 POD 的活性，增强苯丙氨酸解氨酶 (PAL, Phenylalanine ammonialyase) 的活性，提升抗氧化物质的含量，抑制微生物活动^[22]；茶多酚能有效抑制杏鲍菇的呼吸强度，降低氧化速率^[23]；壳聚糖与茶多酚复合膜能够有效维持香菇的色泽和形态，延缓气味散失和硬度下降^[24]。

动物源保鲜剂大多属于多糖类，其保鲜有效成分通过浸泡、喷洒等方式在果蔬表面形成一层薄膜，起到保护机体、减少外界氧化和微生物侵害的作用。壳聚糖基复合膜可以减缓蘑菇的呼吸作用，抑制微生物的生长，保护抗氧化成分，调节相关酶的活性，进而改善蘑菇的品质，延长其保质期。

微生物源保鲜剂通过抑制有害细菌生长或者直接将其杀灭的方式，延缓果蔬的衰老。目前，Nisin、纳他霉素和 ϵ -聚赖氨酸的应用较为广泛。 ϵ -聚赖氨酸能够抑制金针菇水分减少和细胞渗透率上升，维持其亮度^[25]；壳聚糖、乙酸和 Nisin 复合涂膜能有效延迟杏鲍菇褐变，降低失重率^[26]。

1.3.1.8 复合保鲜

联合应用多种技术可发挥协同效应。比如超声波功率为 200 W，微波功率为 800 W 时联合处理均降低白玉菇失重率、硬度损失和还原糖含量变化幅度，并且白度值在贮藏期间几乎不低于 80^[27]；气调包装 (40% O₂ + 60% N₂) 结合 10 μ L 天然抑菌剂和 2 g 吸湿剂更有效地延缓了双孢菇的品质恶化，包括颜色、形状、质地，并延长至 8 d 的货架期^[28]；50%富氢水浸泡处理联合纳米膜包装在贮藏 9~15 d 内总体感官质量良好，外观较饱满，与常规商品化 PE 膜包装相比延长低温货架期 5~6 d^[29]。臭氧熏蒸联合聚乙烯纳米包装改善了贮藏期间双孢菇的软化，在抑制褐变相关酶 (PPO、

酪氨酸酶和漆酶)活性以减少褐变的同时,与常规 PE 包装相比,使其低温货架期延长了 6~9 d^[30]。

1.3.2 双孢菇加工现状

双孢菇作为全球消费量最高的蘑菇之一,其加工技术及产品开发对延长产业链、提升附加值具有重要意义。目前,双孢菇加工主要集中于初加工和深加工两大方向,但仍面临技术瓶颈、产品同质化及资源利用率低等问题^[31]。双孢菇加工主要包括传统和现代加工:

(1) 干制加工

热风干燥 (50-60°C)和真空冷冻干燥是常见的干制工艺。冻干双孢菇可保留 90% 以上的维生素 C 和 80%的蛋白质,但能耗较高;热风干燥成本低,但易导致褐变和质构硬化。

(2) 腌制与罐藏

盐水腌制或醋渍可延长保质期至 6~12 个月,但高盐/高酸配方可能导致营养流失。罐藏加工通过高温灭菌实现商业化流通,但风味和质构劣化明显 (如硬度下降 30%-40%)。

(3) 初级分选与切分

机械化分选(按大小、颜色分级)和切片加工(鲜切菇片)占加工总量的 60%以上,主要供应餐饮和预制菜市场,但对原料新鲜度要求较高。

(4) 超微粉碎与功能成分提取

超微粉碎技术 (粒径 $\leq 50\ \mu\text{m}$) 可提高双孢菇粉的溶解性和生物利用率,用于开发冲调饮品或功能性食品。同时,通过酶解或超声辅助提取多糖、多酚等活性物质,提取率可达 15%~20%。

(5) 即食与休闲食品开发

即食调味蘑菇片 (真空油炸、低温膨化)和菇脆零食市场份额逐年增长,2022 年全球市场规模达 8.7 亿美元^[32]。但产品含油量 (15%~25%)和添加剂使用引发健康争议。

(6) 冻干与重组技术

冻干双孢菇复水性好 (复水比 1:4~1:5),常用于即食汤料包;通过质构重组技术开发的“素牛排”“蘑菇丸”等仿生食品,可替代部分动物蛋白来源。

然而，双孢菇加工产业仍存在一些突出问题：资源利用低效，加工副产物综合利用率低于 30%，大量残渣被迫填埋焚烧；标准化程度薄弱，干燥温度、灭菌时间等关键工艺参数缺乏统一标准，导致产品质控波动显著；市场创新乏力，即食产品同质化竞争激烈，功能性食品研发滞后。为此，建议实施四大发展战略：引入 AI 分选系统和高压脉冲电场等非热杀菌技术提升智能化水平；构建“种植-加工-副产物利用”，实现零废弃加工目标；制定双孢菇加工技术国家标准，规范产品质量与安全性指标，推动产业向高值化、智能化、可持续方向转型升级。

1.4 RF 杀菌及其研究进展

1.4.1 RF 概述

RF 属于电磁波，是一种 30 KHz~300 GHz 之间的新型介电技术，在医学、雷达和通信等领域得到广泛应用，使其成为现代生活中的关键技术之一^[33]。RF 处理食品主要是利用上下平行电极板之间的高频交流电场，改变处在两极板中间食品物料的分子或离子运动，这种运动会促使物料中的水分子相互摩擦与碰撞，从而产生热量，实现快速升温的效果。与微波加热不同的是，RF 技术具有强大的穿透能力，能够深入到被加工物料的内部进行加热，实现均匀加热的效果。此外，RF 技术具备出色的穿透能力，电磁波能够在空间中自由传播。这不仅使其在医疗和食品行业得到广泛应用，同时也被应用于通信、航空航天以及医疗美容等领域^[34]。

1.4.2 国内外 RF 技术的研究现状

RF 作为一种柔性杀菌方式，在一定极板高度和处理时间内，不仅能对果蔬中的微生物进行有效杀菌，还能钝化果蔬中酶活性，保持果蔬颜色、营养成分和口感等。Wang 等^[35]研究发现，RF 处理花椰菜时，花椰菜的平均温度、加热速率、加热均匀性、平均质量变化率均随着 RF 极板间隙的增大而减小，花椰菜的平均温度随着体积密度的增加而升高。因此，在生产中需要通过降低极板高度和增大产品体积密度，来提高对高湿性产品加热的均匀性。Yang 等^[36]以辣根为研究对象，通过改变酶蛋白中两个空间结构，使辣根 POD 失去活性。研究发现，长时间和低极板高度更有利于酶的失活，主要表现在二级结构缺失、蛋白质去折叠和血红素喷射等。上述结果都证明，RF 对果蔬处理的效果与 RF 极板高度、处理时间和果蔬体积有关系。

此外，单独 RF 处理并不能满足市场对食品微生物安全和品质的要求，往往需要和其他处理方式联合，达到延长产品货架期的目的。Jiao 等^[37]通过将 RF 和烤箱烘烤进行联合，对甘薯进行烘焙。结果发现，RF 和烤箱联合能将烘焙总时间从

35.9 min 减少到 25.1 min, 大大缩短烘烤时间、节约能源, 且获得重量、高度、直径损失率低和品质好的甘薯。Cui 等^[38]以豆腐为研究对象, 将 RF 与抗菌剂进行结合。结果发现, 食品微生物如: *B. subtilis*、*S. aureus*、*E. coli* 在 80°C 下完全灭活需要 20 min, 但是并不能杀死细菌孢子。当加入抗菌剂后, 总活菌数低于 2 lg CFU/g, 同时提高了消费者对豆腐质构、颜色和挥发性成分等感官接受度。

以上研究表明, RF 处理果蔬能够解决果蔬中存在的加热不均匀、微生物杀菌不彻底、品质差等问题。但是, 由于果蔬品类多样性, 在实际加工生产中还会面临很多问题, 如: 果蔬原料不同, 介电性质就会不同, 导致加热效果不同, 造成局部过热或者杀菌不彻底。因此, 我们需要进一步探究和其他技术联合处理, 实现果蔬食品安全和保持货架期品质的目的。

1.4.3 RF 与其他技术联合杀菌在食品领域的应用进展

在食品加工领域, 当单纯依靠 RF 处理无法充分满足微生物安全性的严格要求时, 将 RF 技术与其他杀菌技术协同使用成为常见选择。通过技术联用, 能够强化杀菌成效, 保障食品在贮藏阶段的安全性, 有效延长食品的保质期。

Gevekes^[39]针对果汁开展了杀菌研究工作, 他对紫外线杀菌、RF 杀菌单独使用以及二者联合使用时的杀菌效果进行了对比分析。研究发现, 紫外线与 RF 联合杀菌的方式, 对于大肠埃氏菌和酿酒酵母的杀灭能力, 要远远高于 RF 单独杀菌和紫外线单独杀菌。Xu 等^[40]人则将研究对象锁定为猪肉糜, 深入分析比较了 RF-纳米氧化锌联合杀菌与高压蒸汽杀菌的效果, 同时评估了这两种杀菌方式对猪肉糜质构和风味的影响。结果显示, 经过 RF-纳米氧化锌联合灭菌处理后的样品, 其质构和风味明显优于 HPS 后的样品, 而且样品中的残留菌量也符合国家标准限定范围。Yang 等^[41]人的研究证明, RT4.5 min 与 RT15 min 56.7°C 水浴处理, 联合使用时, 杀菌效果显著强于 RF 单独处理, 这种联合处理方式能够将鸡蛋中的鼠伤寒沙门氏菌数量降低 5 个对数以上。Nagaraj^[42]把大肠杆菌接种到牛肉糜中, 探究 RF (27.12MHz, 20 min) 与碳酸氢钾和柠檬酸联合处理的杀菌效果。结果表明, 联合处理使得牛肉糜中的大肠杆菌数量降低了 5 个对数, 显著优于仅采用 RF 处理的样品。在利用 RF 技术对预制菜进行杀菌处理时, 由于预制菜原料种类繁杂, 且不同原料的内部结构和介电特性差异很大, 这就导致 RF 加热的实际效果各不相同。所以, 当把原料放置在 RF 场中时, 为了让不同原料都能处于 RF 加热的最佳状态, 在最大程度实现理想

杀菌效果的同时，减少原料加热后品质受损，就需要采取更为精细的操作方法，对参数进行精准调整。

RF 技术可以通过与其他杀菌技术组合的方式来提升杀菌效果，比如热空气联合 RF 杀菌、RF 联合水浴杀菌、RF 联合抑菌剂等。其中，RF 联合抑菌剂是目前较新的一个研究方向。在果蔬加工过程中，需要依据加热食材的介电性质以及食品加工工艺的具体要求，选择合适的抑菌剂，并对抑菌剂浓度和 RF 参数进行优化调整，以此提高杀菌效率，降低杀菌强度，最大程度保留果蔬的营养成分和感官特性。

1.5 Nisin 抑菌作用及研究进展

1.5.1 Nisin 概述

Nisin 是一种由 34 个氨基酸组成的多肽链，这种多肽链是由一种具有生物活性、常见的乳酸链球菌在发酵过程中分泌出来的^[43]。在 Nisin 结构中，还包含多个稀有的非标准氨基酸和特殊功能的环状结构，这些结构赋予 Nisin 强大的抗菌活性，使其成为一种备受研究和应用的天然抗菌肽，尤其对 G^+ 具有特别的调控作用，原因是 G^+ 的细胞膜上含有 Nisin 作用靶点^[44]，这些靶点是一种叫做脂多糖的分子，Nisin 与其发生生化反应后会形成“Nisin 孔道”，使细胞膜通透性增加，细胞内部重要的离子和有机分子等泄露到外部环境，细胞裂解死亡。此外，世界卫生组织 (WHO) 经过严格的安全评估认可 Nisin 加入食品加工中，可以提高食品的安全性和质量，归因于 Nisin 进入人体消化道内被迅速分解成氨基酸或更小的片段，这些片段可以在胃肠道中被进一步代谢或吸收，不会对人体产生毒害或者副作用^[45]。

1.5.2 乳酸链球菌素在食品中的应用进展

Nisin 作为一种广为人知的细菌素，具有安全、热稳定性强和不改变食品品质的特点。由于这些特性，Nisin 在乳制品、肉制品和果蔬制品等^[46-47]诸多食物中，具有防腐和保鲜效果。Liu 等^[48]制备了 Nisin 包埋果胶的微胶囊 (NPM)，并将其应用在芒果保鲜中。结果发现，NPM 微胶囊具有生物相容性，不会产生毒性或引起排斥反应，还能对球孢霉生长有明显抑制作用。此外，它还被观察到对一些酶活性产生影响，如：SOD、POD、CAT 等，这种影响导致细胞活性氧清除自由基能力降低，进一步破坏了氧化还原平衡，以此来减少芒果的腐烂率 (28%)，将芒果保鲜延长到 8 d ($25 \pm 2^\circ\text{C}$)。李斯特菌是一种存在于果蔬中常见的耐热病原体，为了保证辣椒酱牛肉的食品安全性，发现用 120 IU Nisin 和 0.4% 食盐混合辣椒酱 (3:2) 进行接种，可以降低李斯特菌的耐热性，在 63°C 热灭活辣椒酱腌制的碎牛肉产品中的单核细胞增生

李斯特菌，从而确保其安全性^[49]。Zhang 等^[50]研究了用肉桂精油纳米胶囊与 Nisin 复合涂膜处理冷藏牛肉片，发现经过单独 Nisin 处理的冷藏牛肉比未处理的货架期从 9 d 延长至 12 d，联合处理可以延长至 15 d，并改善了牛肉抗氧化、抗菌和感官特性，为延缓冷藏牛肉片货架期提供一种有效方法。这些结果都证明了 Nisin 对延长食品货架期品质是有效果的。此外，Nisin 最早被应用于奶制品中杀菌，原因是在巴氏杀菌条件下 Nisin 仍旧能发挥自身优势。近期 Ning 等^[51]研究发现，月桂酸蔗糖联合 Nisin 对牛奶饮品中的 *S. aureus* 具有协同作用，可以通过阻断肽聚糖合成促使细胞壁破裂、膜电位消散，细胞内容物外泄。最后，进入细胞干扰蛋白质和 DNA 的合成，最终导致 *S. aureus* 的死亡。

通过以上研究可以发现，Nisin 已经被广泛用在食品各个领域，对抑制食品中存在的病原微生物具有一定的效果。但是，如何将 Nisin 这种天然抗菌肽发挥更大的作用，需要研究者们进一步探究，以应对市场需求。

1.5.3 乳酸链球菌素安全性研究进展

Nisin 作为天然生物防腐剂，其安全性已通过多维度毒理学研究和长期实践验证。在法规限定剂量内，其对人体健康风险极低，美国 FDA、欧洲 EFSA 等批准其用于食品工业，2023 年 WHO 强调 Nisin 对儿童、孕妇无特殊风险。在协同应用的安全性上，Nisin 与化学防腐剂苯甲酸钠、山梨酸钾联用可降低单一防腐剂用量，但需控制总添加量以避免潜在协同毒性^[52]。与物理杀菌技术如 RF 协同使 Nisin 降解率 $<5\%$ ，未产生有害副产物^[53]。与高压处理 (HPP) 协同对 Nisin 结构无破坏，杀菌效果提升 3-5 倍^[54]。未来需重点关注耐药性演化、特殊人群适应性及环境行为研究，以支撑其在食品工业中的可持续应用。

1.6 本课题立题背景和意义

双孢菇营养丰富，但采后易受微生物侵染，引发褐变、腐败等问题，传统保鲜技术因化学残留或营养损失等缺陷难以满足绿色保鲜需求^[55]。传统热杀菌与化学防腐技术虽能延长保质期，但易造成质构劣化、营养流失及化学残留问题，难以满足消费者对食品“天然、营养、安全”的核心诉求。近年来，低热加工技术与生物保鲜剂因其高效杀菌、低能耗和绿色安全的特性备受关注。然而，单一技术存在杀菌不彻底或抑菌谱有限等缺陷，且二者协同作用对双孢菇及其加工菜肴（如即食汤品、罐头）的理化特性（质构、色泽、风味保留率）及作用机制尚未明晰，制约了其在

产业中的应用。本课题聚焦 RF 与 Nisin 协同处理对双孢菇及其典型菜肴的影响，具有重要科学价值与应用前景：

1.理论层面：揭示 RF 电场与 Nisin 协同增效的分子机制，阐明其对微生物灭活、酶活性抑制及细胞膜通透性的调控规律，为新型低热协同保鲜技术提供理论支撑；

2 技术层面：优化 RF-Nisin 协同工艺参数，突破传统加工对双孢菇质构与营养的破坏瓶颈，为开发高品质即食菜肴提供技术范式；

3.产业层面：推动双孢菇加工向“低损耗、高附加值”方向转型，助力解决采后损失与同质化竞争问题，契合国家“绿色制造”与“健康中国”战略需求；

本课题将 RF 物理场与生物保鲜剂协同应用于双孢菇全产业链（鲜菇贮藏-菜肴加工），通过多尺度解析（宏观理化特性-微观结构-分子互作）阐明协同效应，为食用菌精深加工与保鲜技术创新提供一些理论依据。

1.7 本课题主要研究内容

本课题围绕 RF-Nisin 协同处理对双孢菇及其典型菜肴理化特性与褐变调控作用展开系统性研究，具体内容分为以下四部分：

(1) RF-Nisin 协同处理双孢菇的最佳工艺参数优化

基于单因素实验，以菌落总数为核心指标，探究 Nisin 浓度、RH 及处 RT 对杀菌效果的影响规律，筛选出杀菌效率最高的协同工艺条件。通过温度场分布与 RF 加热均匀性分析，优化 RF 电极间距与作用时间，为后续实验提供基础参数支持。

(2) RF-Nisin 协同处理对双孢菇理化特性及贮藏品质的影响

分析协同处理对双孢菇菌落总数、质构、失重率及挥发性有机化合物 (VOCs) 组成及感官品质的影响，结合 SEM 观察细胞微观结构变化，阐明 RF-Nisin 协同作用对双孢菇货架期延长的关键调控路径。

(3) RF-Nisin 协同抑制双孢菇采后褐变作用研究

探究处理对褐变关键酶 (PPO、POD) 活性、TPC 与 TFC、抗氧化能力 (DPPH 自由基清除率、CAT 活性) 及代谢产物 (可溶性蛋白、固形物) 的动态变化，通过 Pearson 相关性分析与 PCA，解析 RF-Nisin 协同处理对酚类代谢网络及氧化应激通路的调控机制，揭示其抑制酶促褐变与维持品质的分子基础。

(4) RF-Nisin 协同处理在双孢菇典型菜肴保鲜中的应用

以中式菜肴“双孢菇炒肉”为对象，对比空白组、高压灭菌组及不同 RF-Nisin 处理组的杀菌效果与品质变化。通过测定菌落总数、色差 (L^* 、 a^* 、 b^* 值)、蛋白质

保留率、风味物质 (GC-IMS 分析) 及微观结构 (SEM), 结合感官评价 (色泽、风味、质地), 优化菜肴工业化生产的协同工艺参数, 验证 RF-Nisin 技术对即食菜肴风味稳定性与营养保持的可行性。

第 2 章 RF-Nisin 协同对双孢菇微生物和品质的影响

2.1 引言

RF 技术通过高频电磁波产热实现低热杀菌，但对双孢菇可能造成热损伤；Nisin 作为天然抗菌肽，可抑制 G^+ ，但对 G^- 效果有限。已有研究表明，两者协同作用可弥补单一技术缺陷，通过物理-化学联合机制增强抑菌效能，同时降低处理强度以减少对品质的影响。

目前，RF 与 Nisin 协同在食用菌保鲜中的应用研究较少，协同机制、参数优化及其对双孢菇理化特性（如色泽、硬度、风味物质含量）的综合影响尚不明确。本章探究采用单因素试验确定 RF-Nisin 最优组合，对储存在 4°C 的双孢菇进行 9 d 的品质测定，以此说明 RF-Nisin 用于延长双孢菇货架期的可行性。

2.2 材料与设备

2.2.1 实验原料

从中国芜湖镜湖新城中心菜市场购买大小一致且无可见损伤的双孢菇(直径 4-5cm)，装在规格为 500 mL 的聚丙烯塑料容器中备用。

2.2.2 实验试剂

表 2-1 主要实验试剂与药品

Table 2-1 Main experimental reagents and drugs

药品名称	规格	厂家
Nisin	食品级	浙江银象生物工程有限公司
柠檬酸	食品级	山东阳泉实业有限公司
氯化钙(CaCl_2)	AR	上海国药化学试剂有限公司
氯化钠(NaCl)	AR	上海国药化学试剂有限公司
三氯乙酸 (TCA)	AR	上海国药化学试剂有限公司
2-硫代巴比妥酸 (TBA)	AR	上海国药化学试剂有限公司
甲醇	AR	上海国药化学试剂有限公司
平板计数琼脂	AR	北京陆桥技术股份有限公司

2.2.3 仪器与设备

表 2-2 主要实验仪器及设备

Table 2-2 Main experimental instruments and equipment

设备名称	型号	厂家
射频仪	HGJL-10RFS	合肥哈工金浪装备科技有限公司
恒温培养箱	DHP-9272	上海一恒科学仪器有限公司
干燥箱	DHG-9203A	上海一恒科学仪器有限公司
色差计	HP-C210	上海谱熙光电科技有限公司
质构仪	TA New Plus	上海保圣实业发展有限公司
数字阿贝折射仪	SW-55T	广州速为电子科技有限公司
紫外-可见分光光度计	L3S	上海仪电分析仪器有限公司
红外热成像仪	Tis60	上海福禄克测试仪器有限公司
真空冷冻干燥机	DZF-6050	上海慧泰仪器制造有限公司
高速匀浆仪	JT-C	漯河金田试验设备研究所
扫描电子显微镜	S-4800	日立股份有限公司
傅里叶变换红外光谱仪	IRPrestige-21	日本株式会社岛津制作所
气相色谱质谱联用仪	FlavourSpec®	山东海能科学仪器有限公司
涡旋混合器	VORTEX 3	德国 IKA 集团

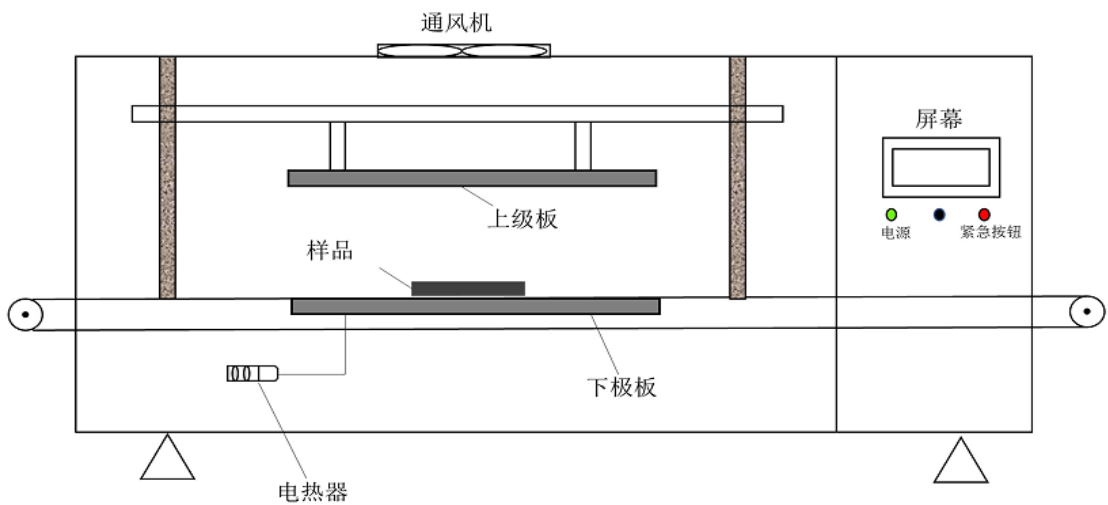


图 2-1 RF 加热系统示意图

Figure 2-1 Schematic diagram of RF heating system

2.3 实验方法

2.3.1 双孢菇处理方式

新鲜双孢菇经流动的自来水清洗后，在 65°C 10 g/L CaCl_2 溶液中漂洗 2 min ，此步骤可有效去除杂质，且不影响样品质量^[56]。所有容器采用 75% 乙醇喷洒进行消毒并用紫外灯照射处理 1 h 。将样品均匀切成 5 mm 的薄片并随机分成四组，每组进行不同处理：(1) CK 组：蒸馏水浸泡 15 min ，沥干水分真空封口；(2) Nisin 组：在 0.25 g/kg 的 Nisin 溶液中浸泡 2 min ，沥干水分真空封口；(3) RF 组：重复 CK 组步骤后，在 $\text{RH}=12\text{ cm}$ 下处理 15 min ；(4) RF-Nisin 组：重复 Nisin 组步骤后，分别在 $\text{RH}=12\text{ cm}$ 和 $\text{RH}=13\text{ cm}$ 下处理 15 和 17.5 min ，依次记为 RFN1、RFN2、RFN3、RFN4。

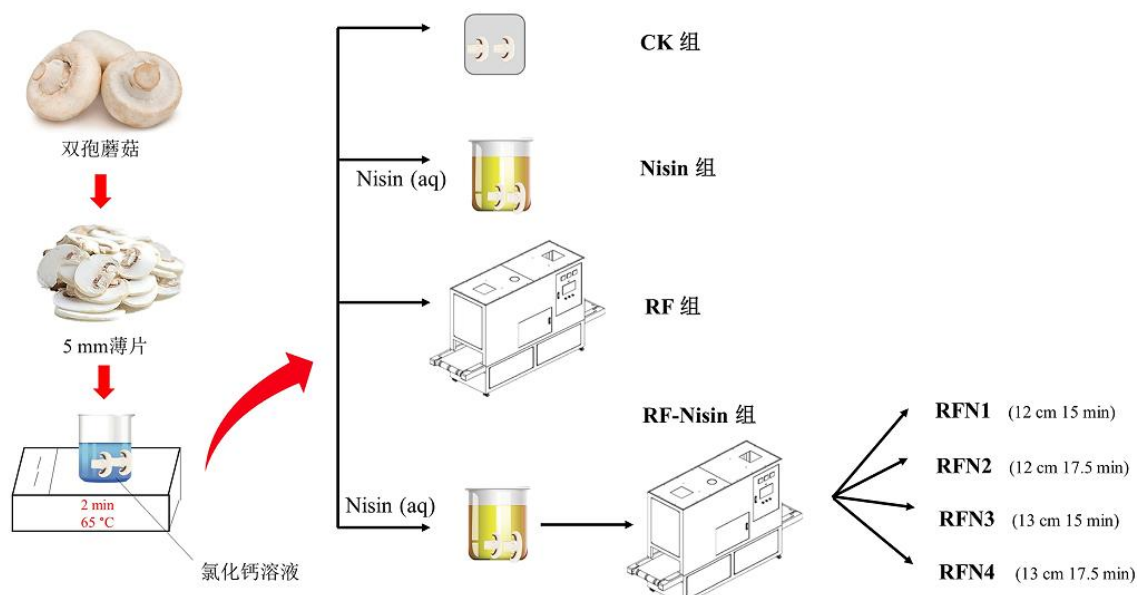


图 2-2 样品制备和处理简化示意图

Figure 2-2 Schematic diagram of RF heating system

2.3.2 单因素实验

采用单因素实验，研究 RF-Nisin 对双孢菇的最佳抑菌效果。通过预实验确定在以下条件进行单因素实验：(1) 双孢菇片浸泡在不同浓度 Nisin (g/kg) 溶液 (0.05 、 0.15 、 0.25 、 0.35 、 0.45)；(2) 双孢菇片在 RF 不同极板高度 (cm) (8 、 10 、 12 、 14 、 16)；(3) 双孢菇片在 RF 下不同处理时间 (min) (10 、 12.5 、 15 、 17.5 、 20)。所有经过处理的双孢菇片在 4°C 贮藏，以备后续测定。

2.3.4 菌落总数测定

菌落总数参照国家标准 GB 4789.2-2022 略做修改。将 25 g 双孢菇与生理盐水进行十倍稀释，在高速匀浆仪中匀浆 75 s，取 1 mL 不同样品的匀浆液，将匀浆液均匀涂布在不同的平板计数琼脂表面，随后在 36°C 恒温条件下倒置培养 48 h。以每 g 菌落形成单位 lg CFU/g 表示。

2.3.5 RF 加热均匀性测定

根据 Wang^[57]和 Li^[58]等人的研究方法略作修改，具体操作如下。将 RF 处理后的样品放置于桌面，立刻使用测温仪在样品表面 500 mm 处进行拍照，并在样品中心位置、对角线上选取 3 点进行测定，热图像被储存以便后续分析。

2.3.6 感官评价

在标准感官室中，由 10 名 (5 男 5 女，平均年龄 35 岁) 受过专业训练的感官人员对双孢菇 0、3、6、9 d 进行感官评价。准备如下：样品随机分组，每组 5 g 待评价样品，间隔休息 15 min。小组成员要求使用规定表格对颜色、开伞形状、异味、质地弹性和消费者接受度进行评价。

表 2-3 双孢菇的感官评价标准

Table 2-3 Sensory evaluation standard of *A. bisporus*.

得分	色泽	开伞形状	异味	质地弹性	消费者接受度	感官评价
10-8	白色	闭合	无	有弹性	强烈	-
8-6	轻微褐变	微微张开	轻微	轻微偏软	可接受	-
6-4	中度褐变	半张开	明显	中度偏软	勉强接受	-
< 4	褐变严重	完全张开	严重	严重偏软	不可接受	-

2.3.7 色差测定

根据 Anshul 和 Snehasis^[59]的方法，测定双孢菇样品的 L*、a*、b*和 BI 值，其中 L*代表亮度，a*代表红色到绿色，b*代表黄色到蓝色，BI 代表褐变指数。每个蘑菇上测量多个点，每个处理一式三份。BI 计算公式如下：

$$BI = \frac{100(x - 0.31)}{0.172} \quad (2-1)$$

$$x = \frac{(a^* + 1.75L^*)}{(5.645L^* + a^* - 3.012b^*)} \quad (2-2)$$

2.3.8 质构测定

根据 Pu^[60]等人的方法略作修改。随机选出 3 片双孢菇，依次放置在探头下进行检测，检测的参数如下：探头为 TA/25，预测试速度为 5.0 mm/s，测试速度为 1.0 mm/s，返回速度为 5.0 mm/s，应变压缩率为 50%，二次压缩间隔为 5.0 s，触发力为 5.0 g。双孢菇菇盖测试 3 次，共 6 次平行试验，剔除偏差明显的测试，取平均值。

2.3.9 含水量测定

采用 Liu 等^[61]人的方法做了一些修改。将储存在冰箱中的双孢菇样品分别于第 0、3、6、9 d 取出，并记录各组的质量，每组重复 3 次，重量损失率公式如下：

$$w\% = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100 \quad (2-3)$$

式中： m_0 —处理前双孢菇净重，g； m_1 —处理后双孢菇净重，g；

2.3.10 可溶性固形物含量测定

采用 Zhao 等^[62]人的方法稍作修改，具体操作如下：数字阿贝折射仪根据当前室温被校正后，将 3 g 双孢菇样品制成的研磨液滴加 2~3 滴至样品池，读取示数。

2.3.11 可溶性蛋白含量测定

根据 Xu 等^[63]人的方法略作修改，具体操作如下：将 400 μ L 过滤后的双孢菇汁液与 1.6 mL 蒸馏水和 10 mL 考马斯亮蓝溶液混匀，静置 2 min，在 595 nm 波长处测量吸光度。根据牛血清白蛋白标准曲线计算蛋白质含量。

2.3.12 微观结构测定

根据 Yan 等^[64]人的方法，略作改进。双孢菇样品被切成薄片，放置在真空冷冻干燥箱中处理 48 h。剪成 5 × 5 mm 大小的干制双孢菇样品粘于碳导胶条上，检查粘合无飞粉后，喷金处理。最后，在放大倍数 400 倍下观察双孢菇的微观结构。

2.3.13 挥发性风味测定

根据 Hu 和 Xu 等^[65-66]人的方法使用 GC-IMS 进行测定分析。取 1 g 均质后的样品置于 20 mL 顶空固相瓶中，立即用聚四氟乙烯涂层的盖子密封，将所有样品瓶放入样品盘中，等待测试。控制主机设置了培养温度、时间和振荡速度等条件，具体参数见表 2-4。实验采用非分流模式，注射针用高纯氮气清洗 15 min，每个样品分析时间为 30 min，获得全部原始数据后，通过 GC-IMS 的内置实验室数据分析软件进行分析。报告插件用于绘制检测到的风味峰的地形图，图库绘图插件用于获取样品风味谱的指纹图谱，GC×IMS 库搜索插件用于定性分析。通过比较保留指数(美国国

家标准技术研究院数据库)和漂移时间(IMS 数据库), 使用二维交叉定性方法来确保可靠性。

表 2-4 GC-IMS 系统的分析条件

Table 2-4 Analysis conditions of GC-IMS systems

FlavorSpec [®]		
分析时间		15 min
色谱柱类型		MX-T-5 (0.53 mm)
色谱柱温度		75°C
载气流速		10 mL/min
漂移气流量		75 mL/min
载气/漂移气		N ₂
离子迁移谱 (IMS)		温度 45°C
进样针温度		45°C
	自动顶空进样装置	
进样体积		500 μ L
孵育时间		20 min
孵育温度		70°C

2.3.14 傅里叶变换红外光谱测定

根据 Nesakumar 等^[67]人的方法稍加修改。测量前样品进行冷冻干燥 48 h, 用傅里叶变换红外光谱仪上的 ATR 模块收集 400⁻¹—4000⁻¹ cm 范围内的光谱。将样品放在 ATR 探针之间进行分析。每张干涉图以 2 cm⁻¹ 的分辨率扫描 20 次。

2.3.15 统计分析

所有实验重复三次 (n = 3) 进行, 结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。使用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 利用邓肯多重比较法对数据进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。使用 Origin 2021 进行作图。

2.4 结果与讨论

2.4.1 RF-Nisin 协同对双孢菇加热均匀性的影响

在 RF 加热过程中, 各个处理组都存在边角效应, 即样品温度高于中心部分^[68]。图 2-2 显示了双孢菇样品在 RT=15 min 和 RT=17.5 min 时的温度热图, 样品的中心温度随着 RT 的增长而上升。对于 RH=12 cm, 温度从 $31.4 \pm 0.32^\circ\text{C}$ 上升到 $44.1 \pm 0.13^\circ\text{C}$; RH=13 cm 时, 温度从 $37.6 \pm 0.24^\circ\text{C}$ 增加到 $43.3 \pm 0.17^\circ\text{C}$, 说明 12 cm 极板高度下样品温度变化更显著。观察可知, RFN1 和 RFN2 组棱角 (红框标注) 的亮点较其他两组暗, 则 RH=12 cm 时的边角效应较 RH=13 cm 轻, 根据 Zheng 和 Zhou 等^[69-70]的研究, 验证了 RF 加热均匀性随 RH 的增大而减小。因此, RH=12 cm, RT=17.5 min 条件下双孢菇温度均匀性最好。在实际应用中, 加热均匀性直接关系到双孢菇各部分

的处理效果一致性。若加热不均匀，部分区域可能杀菌不彻底，影响保鲜效果；而部分区域过度加热，则会导致品质下降，如口感变差、营养成分流失等。因此，确定最佳的 RF 处理参数，如极板高度和处理时间，对于保证双孢菇的品质和安全性至关重要。

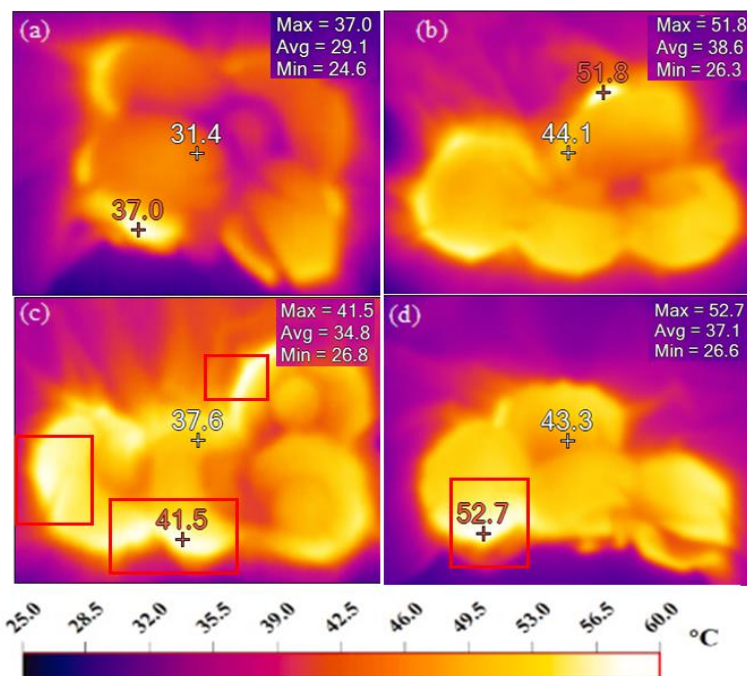


图 2-2 RF-Nisin 处理对双孢菇表面温度分布随加热时间的变化

Figure 2-2 Changes of surface temperature distribution of *A. bisporus* treated by RF-Nisin with heating time

2.4.2 Nisin 浓度、RH 和 RT 对菌落总数的影响

Nisin 浓度、RH 和 RT 对双孢菇菌落总数的影响呈现出一定规律。由图 2-3(a)可知，随着 Nisin 浓度增加，菌落总数降低，且在极板高度为 12 cm 时杀菌效果最佳，此时菌落总数最低可达 3.21 lg CFU/g，符合国标 GB 29921-2021 规定的限量残留菌量标准不超过 5.00 lg CFU/g，这表明在该极板高度下，Nisin 能更好地发挥其抑菌作用，可能是因为特定的电场环境增强了 Nisin 与微生物细胞膜的作用效果。图 2-3 (b) 显示 TBC 随着 RT 的增加而降低，RF 与 Nisin 协同作用对 TBC 的影响更显著，固定 Nisin 浓度为 0.25 g/kg，RT 由 10 min 提升至 22.5min 时，TBC 下降 2.71 lg CFU/g；固定 RT 为 22.5 min，Nisin 浓度由 0.05g/kg 增加到 0.35g/kg，TBC 下降 1.52 lg CFU/g。但当 RT 达到 22.5 min 时，样品出现流汁现象，这可能是由于过度加热导致细胞结构破坏，细胞内物质渗出。这不仅影响实验后续研究，还可能为微生物生长提供更有利的环境，降低保鲜效果。因此，综合考虑，确定 Nisin 浓度为 0.25g/kg、RH12 cm，

RT15 min 为最佳协同参数，以在保证杀菌效果的同时，避免对样品品质造成不良影响。

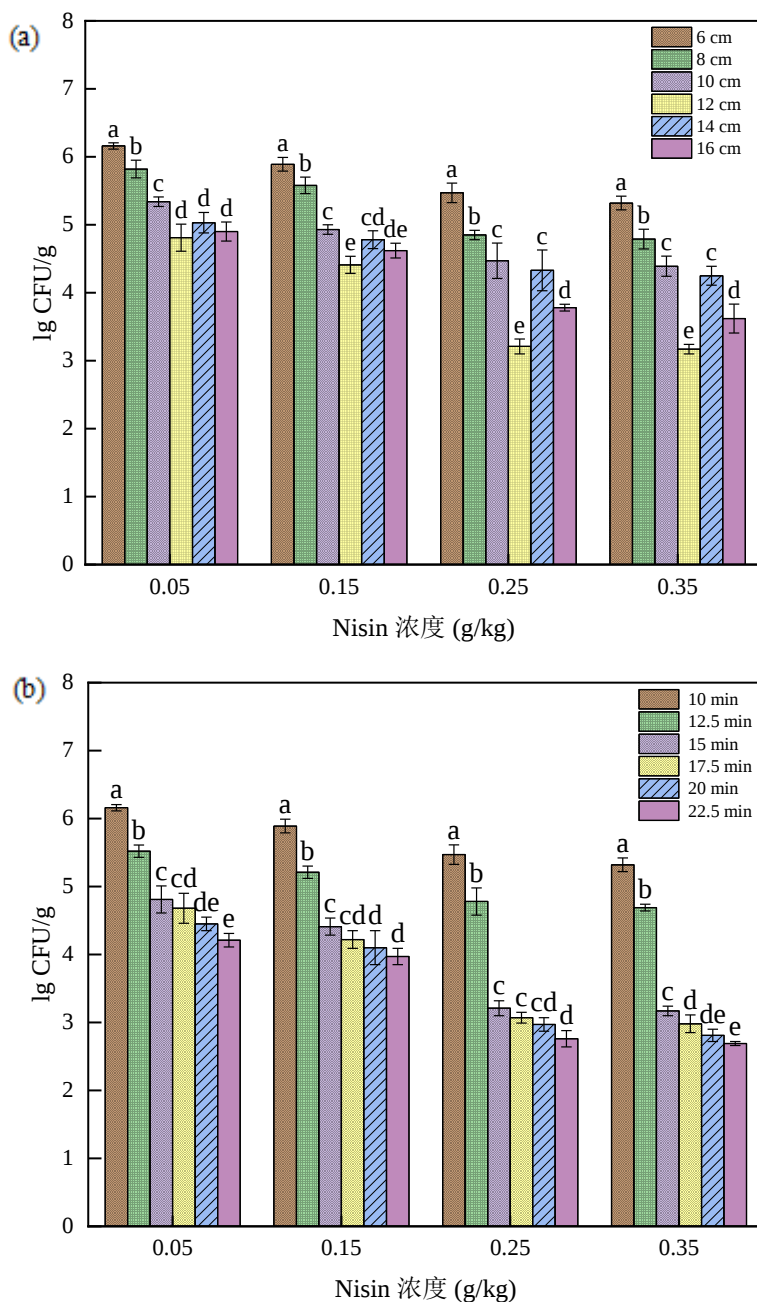


图 2-3 RH (a), RT (b)对双孢菇细菌总数的影响

Figure 2-3 Effects of RF electrode height (a) and treatment time (b) on the total bacterial count of *A. bisporus*

2.4.3 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇菌落总数的影响

在双孢菇的贮藏过程中，微生物繁殖是导致品质下降的重要因素。果蔬水分流失、内部组织暴露于空气中与氧气接触，为微生物生长创造了条件，致使菌落总数超标，货架期缩短^[71]。由图 2-4 可知，对比不同处理组，RF-Nisin 处理展现出最佳

的抑菌效果。在货架期 9 d 时, 经 RF-Nisin 处理的样品菌落总数为 3.50 lg CFU/g, 仍未超过果蔬微生物限度标准 5.00 lg CFU/g^[72]。CK 组、Nisin 组和 RF 组记录到较短的货架期, 其中 CK 组发现最高的菌落总数, 在第 9 d 菌落总数从最初的 5.29 lg CFU/g 增加到 5.80 lg CFU/g 且在第 6 d 出现异味, 这表明未经处理的双孢菇极易受到微生物污染, 品质快速劣变。Nisin 组和 RF 组的货架期也较短, 说明单一处理方式在抑制微生物方面存在局限性。RF-Nisin 协同处理通过 RF 的物理作用和 Nisin 的生物抑菌作用, 破坏微生物的细胞膜结构、干扰其代谢过程, 从而有效抑制微生物生长, 延长双孢菇的货架期, 保障其品质 and 安全性。此外, 在火龙果中也发现了类似的现象, 未经任何处理的火龙果比绿茶提取物、大气 RF 等离子体或两者联合处理的火龙果变质更快^[73]。

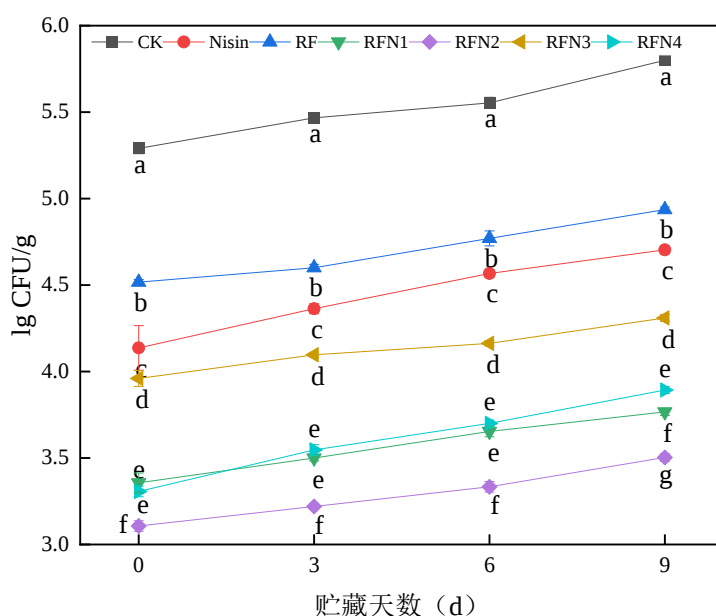


图 2-4 单独及协同 RF-Nisin 处理对双孢菇菌落总数的影响

Figure 2-4 Impact of individual and synergistic RF-Nisin treatments on the total bacterial count of *A. bisporus*

2.4.4 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇感官评价的影响

消费者对双孢菇的感官品质要求较高, 外观颜色、气味和质地等因素直接影响其购买意愿^[74]。由图 2-5 和 2-6 可知, CK 和 Nisin 组褐变明显, CK 组的双孢菇在第 3 d 开始微微褐变, 第 6 d 褐变加剧, 颜色明显加深, 第 6 d 时感官评分仅为 27, 失去商业价值。这是因为双孢菇在贮藏过程中, PPO 等酶类被激活, 催化酚类物质氧化为醌类, 进而聚合形成黑色素, 导致褐变发生。RF 处理虽能一定程度上控制褐变和软化, 但无法抑制萎蔫现象。而 RF-Nisin 处理中的 RFN3 组在第 6 d 只有轻微的

颜色变化, 总体感官品质优于其他几组。这得益于 RF-Nisin 协同作用抑制了酶活性, 减少了酚类物质的氧化, 同时维持了细胞结构的完整性, 减少水分流失, 从而较好地保持了双孢菇的感官品质, 与单独 Nisin 和低温处理相比, 货架期延长至 9 d, 为双孢菇的市场流通提供了更有利的条件。

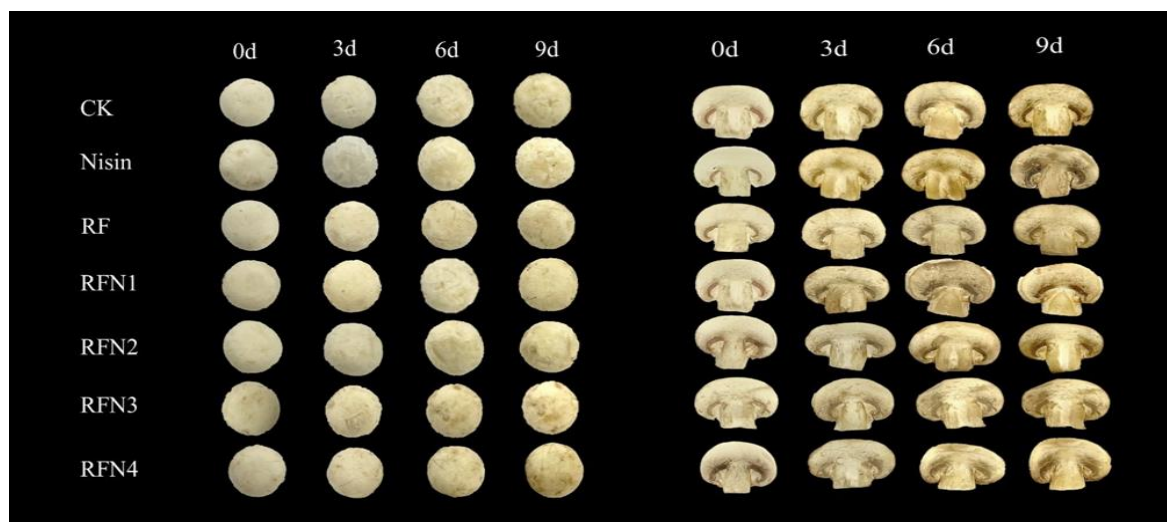


图 2-5 单独及协同 RF-Nisin 处理双孢菇的真实变化

Figure 2-5 Real changes of *A. bisporus* under individual and synergistic RF-Nisin

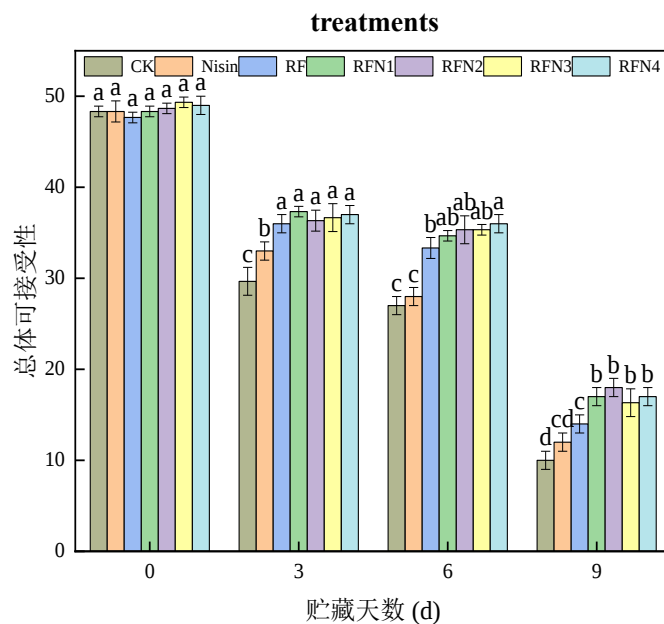


图 2-6 单独及协同 RF-Nisin 处理对双孢菇总体可接受性的影响

Figure 2-6 Impact of individual and synergistic RF-Nisin treatments on fragrance overall acceptability of *A. bisporus*

2.4.5 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇色差的影响

色差是衡量双孢菇品质的重要指标, L 和 BI 值是评价其褐变的关键参数。不同处理对双孢菇的 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE 的影响如表 2-5 所示。各处理组 a^* 和 b^* 值在贮藏

期间略有增加, 其中 CK 组变化较大, a^* 和 b^* 值分别增加了 3.5 倍和 1 倍。 L^* 和 BI 是评价双孢菇褐变的主要质量指标^[75], 如图 2-7 所示, L^* 值随着贮藏时间增加而下降, BI 值则上升, 表明双孢菇色泽变暗, 褐变加剧^[76]。RF-Nisin 处理有效地延缓了亮度下降和褐变进程, 在 6 d 时, RFN1 和 CK 的 BI 值差异明显, 分别为 37.31 ± 2.59 , 52.49 ± 3.46 , 褐变抑制率达 32%。贮藏第 9 d, RFN1、RFN2、RFN3 和 RFN4 的 L^* 值分别比 CK 组低 16.14%、13.73%、14.06%和 16.03%。RF-Nisin 处理护色效果良好, 可能是由于其降低了双孢菇褐变相关酶 PPO、POD 的活性, 减少了酚类物质向醌类的转化, 进而抑制了黑色素的形成。此外, RF 处理可能改变了细胞结构, 减少了氧气与酚类物质的接触机会, 进一步延缓了褐变, 保持了双孢菇的色泽品质^[77]。

表 2-5 RF-Nisin 处理对双孢菇 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE 值的影响Table 2-5 Effects of RF-Nisin treatments on L^* , a^* , b^* and ΔE values of *A. bisporus*

贮藏天数 (d)	指标	CK	Nisin	RF	RFN1	RFN2	RFN3	RFN4
0	L^*	90.23±0.51 ^{cd}	92.37±0.74 ^a	89.80±0.36 ^d	91.17±0.74 ^{abc}	91.87±0.81 ^{ab}	91.07±0.51 ^{bc}	91.27±0.57 ^{abc}
	a^*	1.93±0.31 ^{ab}	1.10±0.60 ^{bc}	2.20±0.40 ^a	1.63±0.55 ^{ab}	0.43±0.40 ^c	1.40±0.53 ^{ab}	1.23±0.40 ^{bc}
	b^*	16.13±1.40 ^a	14.23±1.14 ^{ab}	16.10±1.83 ^a	15.90±0.46 ^{ab}	13.47±0.60 ^b	14.63±0.85 ^{ab}	14.43±1.30 ^{ab}
	ΔE	—	3.37±3.41 ^b	7.80±2.44 ^b	3.40±1.55 ^a	2.23±1.19 ^b	2.27±0.85 ^b	3.00±0.86 ^b
3	L^*	77.50±1.73 ^c	79.57±1.15 ^{bc}	83.77±4.30 ^{ab}	86.80±2.25 ^a	83.37±1.59 ^{ab}	82.60±0.70 ^{ab}	83.47±2.86 ^{ab}
	a^*	4.87±0.90 ^{ab}	5.03±0.67 ^a	4.07±0.91 ^{ab}	3.43±0.64 ^b	3.53±0.40 ^b	4.40±0.26 ^{ab}	3.70±0.85 ^{ab}
	b^*	24.67±1.10 ^{ab}	20.63±2.01 ^c	25.77±0.67 ^a	21.07±1.94 ^{bc}	22.87±1.80 ^{abc}	23.23±0.12 ^{abc}	22.27±3.44 ^{abc}
	ΔE	—	9.17±4.20 ^b	3.90±1.31 ^{cd}	6.17±1.00 ^{bc}	4.43±0.38 ^{cd}	4.00±1.30 ^{cd}	14.57±3.84 ^a
6	L^*	71.67±1.46 ^c	76.83±1.42 ^d	78.60±1.18 ^{cd}	83.53±0.72 ^a	80.80±1.04 ^{bc}	79.77±0.92 ^{bc}	81.23±1.56 ^{ab}
	a^*	7.27±0.67 ^a	5.97±0.46 ^b	5.27±0.15 ^{bc}	4.43±0.51 ^c	4.97±0.68 ^{bc}	4.93±0.42 ^{bc}	5.00±0.95 ^{bc}
	b^*	27.73±1.07 ^a	26.67±1.43 ^{ab}	27.70±0.10 ^a	24.37±1.08 ^c	26.70±0.87 ^{ab}	25.17±1.38 ^{bc}	25.70±0.56 ^{abc}
	ΔE	—	9.17±2.55 ^{ab}	5.43±3.10 ^{bc}	3.77±3.01 ^{cd}	4.07±3.07 ^{cd}	7.80±2.60 ^{abc}	12.73±2.03 ^a
9	L^*	65.97±0.95 ^d	73.07±1.80 ^c	74.53±3.04 ^{bc}	78.67±0.32 ^a	76.53±2.25 ^{ab}	76.83±0.55 ^{ab}	78.63±1.46 ^a
	a^*	8.73±0.25 ^a	7.33±0.84 ^{ab}	6.07±0.74 ^b	5.87±0.60 ^b	6.20±1.48 ^b	6.30±0.53 ^b	6.07±0.32 ^b
	b^*	31.87±1.56 ^a	30.47±2.00 ^{ab}	29.07±1.10 ^{ab}	29.53±0.83 ^{ab}	29.63±1.57 ^{ab}	28.60±0.53 ^b	28.83±0.96 ^b
	ΔE	—	6.83±3.85 ^b	2.57±1.02 ^{bc}	3.23±2.36 ^{bc}	4.13±2.43 ^{bc}	5.63±1.88 ^b	13.53±4.90 ^a

注: 结果以平均值±标准差表示。相同指标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

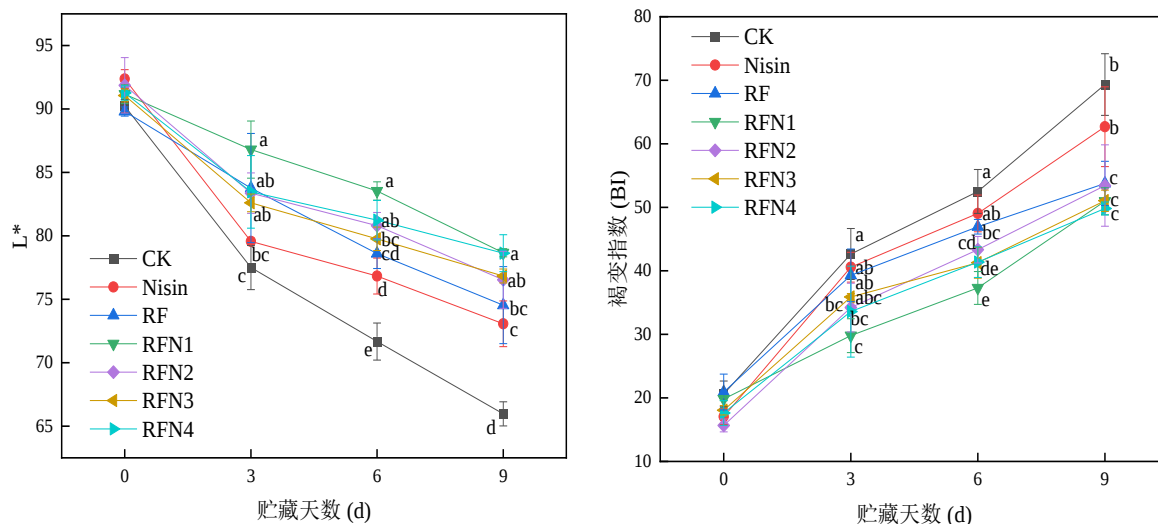


图 2-7 单独及协同 RF-Nisin 处理对双孢菇 L* 和 BI 的影响

Figure 2-7 Impact of individual and synergistic RF-Nisin treatments on L* and BI of *A.**bisporus*

2.4.6 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇硬度的影响

质地是影响双孢菇品质与消费者接受度的重要因素。如图 2-8 (a) 所示, 在整个采后贮藏期间来看, 各处理组的硬度呈下降趋势。Nisin 组保持了相对较好的组织硬度, Nisin、RF 和 RFN1 组的硬度分别比 CK 组高 37.51%、30.84%和 28.99%, 这可能是因为 Nisin 能够抑制某些细菌分泌破坏细胞膜的毒素, 维持了细胞的完整性, 从而使双孢菇保持较高的硬度^[78]。在贮藏第 6 d, RFN1 组的硬度高于其他处理组, 并保持在 100 N 以上, 显示出 RF-Nisin 协同处理在一定时间内对硬度的良好维持效果。然而, 随着贮藏时间的延长, 所有处理组的硬度仍会下降, 这可能与细胞内的生理变化、水分流失以及微生物的潜在影响有关。未来研究可以进一步探讨如何通过优化处理条件或结合其他保鲜技术, 更有效地维持双孢菇在整个贮藏期的硬度。

2.4.7 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇失重率的影响

含水量对食用菌品质至关重要，不同处理组的失重率随贮藏时间逐渐增加。如图 2-8 (b) 所示，当失重率超过 4-6% 时，双孢菇会出现明显萎蔫症状^[79]。CK 组的失重率在第 9 d 达到 4.7%，而其他处理组均低于 3%，其中 RFN2 组仅为 0.9%。RF-Nisin 处理延缓失水的机制较为复杂。一方面，RF 使参与呼吸代谢的关键酶（如己糖激酶）失活，降低了呼吸速率，减少了水分消耗^[80]；另一方面，乳酸链球菌素增强了细胞膜的稳定性，减少了通过细胞膜的水分损失^[81]。这种协同作用有效地保持了双孢菇的水分含量，维持了其饱满的外观和良好的口感。但不同处理组之间的失水差异表明，处理条件对水分保持效果影响显著。后续研究可进一步优化处理参数，以实现更好的水分保持效果。

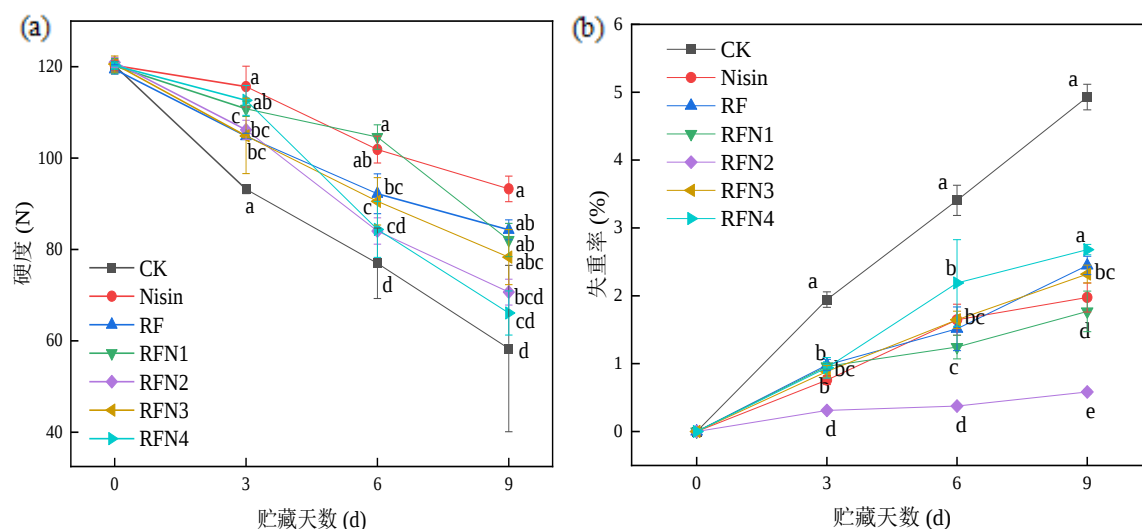


图 2-8 单独及协同 RF-Nisin 处理对双孢菇硬度(a)和失重率(b)的影响

Figure 2-8 Impact of individual and synergistic RF-Nisin treatments on firmness (a) and weight loss rate (b) of *A. bisporus*

2.4.8 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇可溶性固形物含量的影响

可溶性固形物含量是衡量双孢菇质量的重要参数之一^[82]。如图 2-9 (a) 所示，在储存期间，CK 组的 TSS 迅速增加，且显著高于 RF-Nisin 组。贮藏第 9d，RFN1 的 TSS 为 3.17%，分别低于 CK、Nisin 和 RF 组 30%、25%和 23%。TSS 的增加与失水和呼吸速率密切相关，较低的呼吸速率会减少碳水化合物向糖的水解，从而降低 TSS 含量^[83-84]。RF-Nisin 处理通过降低呼吸速率，减少了双孢菇中碳水化合物的分解，进而降低了 TSS 含量。这一结果表明，RF-Nisin 处理有助于保持双孢菇的营养成分，避免因 TSS 过高导致的品质下降。然而，TSS 含量的变化还可能受到其他因

素的影响，如微生物代谢、细胞内物质的转化等。因此，进一步研究这些因素在 RF-Nisin 处理下的变化规律，将有助于更深入地理解其对双孢菇品质的影响机制。

2.4.9 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇可溶性蛋白质含量的影响

蛋白质是双孢菇维持新陈代谢的重要物质，其含量减少是组织老化的关键指标^[85]。如图 2-9 (b) 所示，在第 9 d 各处理组蛋白质含量较贮藏初期均有所降低，其中 RFN1 组对蛋白质的保留效果最好，蛋白质降解率为 16.79%，这表明 RF-Nisin 处理减缓了蛋白质降解，延缓了双孢菇的组织老化。RF-Nisin 协同处理可能通过抑制微生物生长，减少了微生物分泌的蛋白酶对蛋白质的分解作用；同时，RF 处理可能改变了蛋白质的结构，使其更稳定，不易被降解。此外，RF-Nisin 处理对细胞内环境的调节作用，也可能影响了蛋白质的代谢途径，从而减少了蛋白质的损失。未来研究可以从蛋白质代谢相关基因和酶的角度，深入探究 RF-Nisin 处理对双孢菇蛋白质含量影响的分子机制。

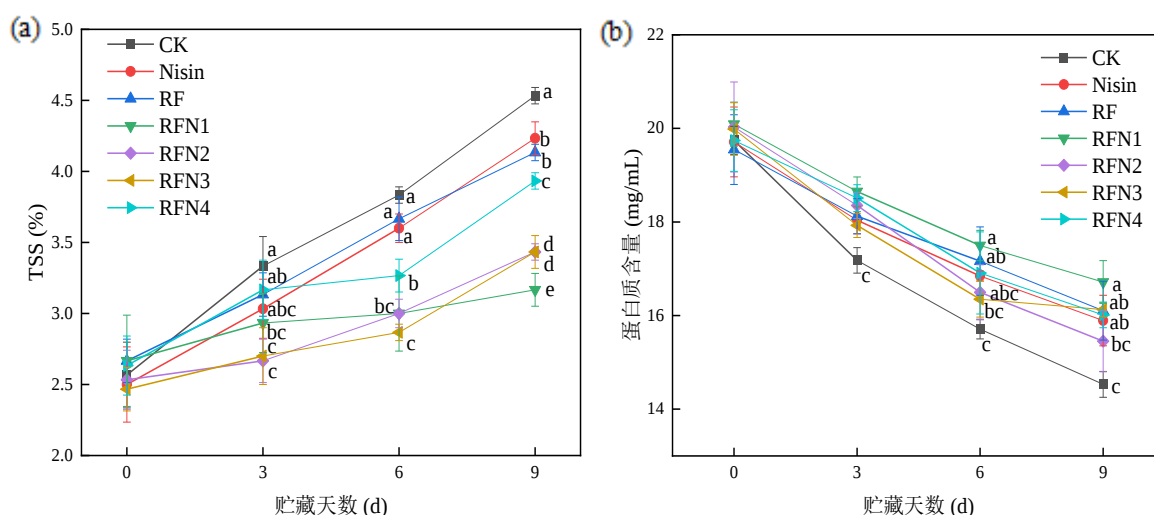


图 2-9 单独及协同 RF-Nisin 处理对双孢菇可溶性固形物 (a) 和蛋白质含量 (b) 的影响

Figure 2-9 Impact of individual and synergistic RF-Nisin treatments on total soluble solids (a) and protein content (b) of *A. bisporus*

2.4.10 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇微观结构的影响

通过 SEM 观察发现，CK 组细胞表面结构规则、致密、平坦，并轻微卷曲，这可能是切片对组织造成的损伤^[86]。而 RF-Nisin 处理样品表面细胞结构表现不同程度的收缩和塌陷。与 RFN1 和 RFN3 组相比，RFN2 和 RFN4 组样品细胞结构更无序和疏松。随着 RT 增加，在均匀加热过程中积累的热量增多，导致细胞壁破坏和细胞结构不规则，这与之前对枣切片的 RF 处理研究结果相似^[87]。RFN1 和 RFN3 组对细胞结构破坏较小，在一定程度上保持了细胞的完整性。这说明 RF-Nisin 处理在保证

杀菌效果的同时，不同处理条件对细胞结构的影响存在差异。合适的处理参数能够在抑制微生物生长的同时，减少对双孢菇细胞结构的破坏，从而维持其品质。后续研究可以利用更先进的微观分析技术，进一步观察细胞结构在分子层面的变化，为优化处理条件提供更精准的依据。

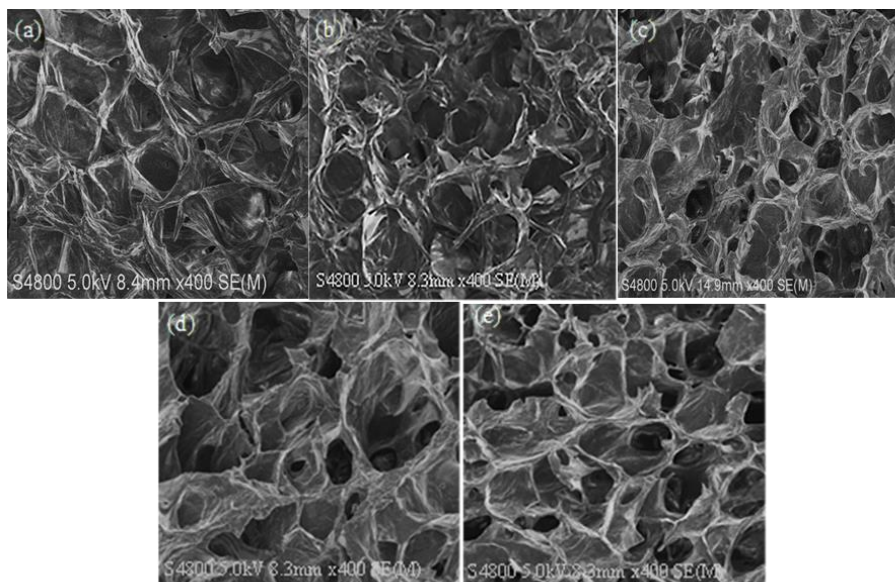


图 2-10 未经处理和 RF-Nisin 处理对双孢菇 SEM (400 倍放大)的影响

Figure 2-10 Effects of untreated and RF-Nisin treatments on SEM (400 times magnification) of *A. bisporus*

2.4.11 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇挥发性风味的影响

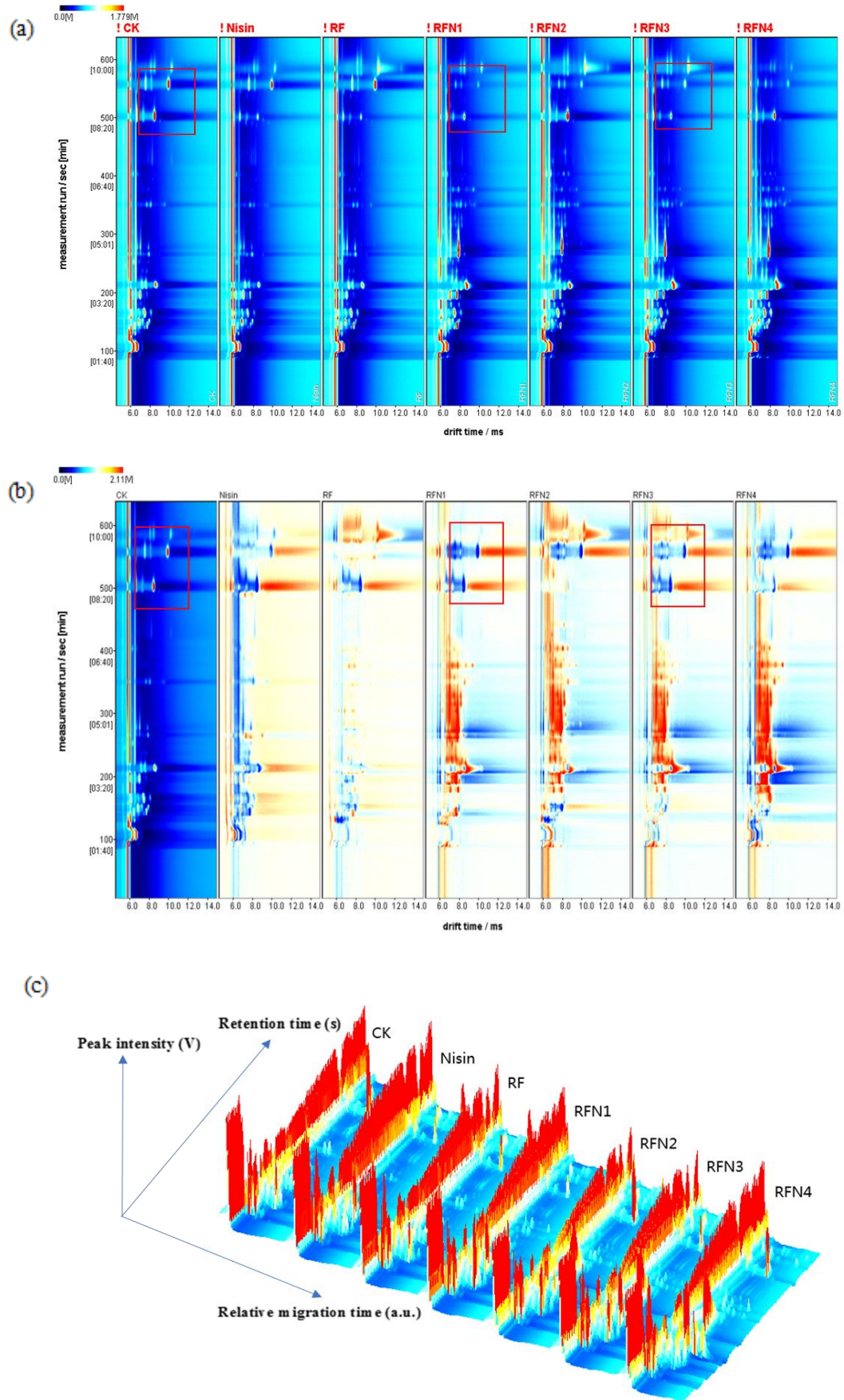
双孢菇在贮藏过程中释放的醛类、醇类和酮类物质会影响其品质。1-辛烯-3-醇、苯甲醇和 3-辛酮是其风味的主要特征成分，具有强烈的熟蘑菇气味^[88]，其含量变化指示品质劣变情况。如表 2-6 所示，CK 组在储存 9 d 时共检出 17 种 VOCs，包括醇类、醛类、酮类和酯类，贮藏 3-9 d 时，1-辛烯-3-醇、苯甲醛和 3-辛酮的含量大大增加，产生较多不良气味物质。

表 2-6 CK 组在贮存过程中主要挥发性有机化合物的相对含量

Table 2-6 Relative content of main VOCs in CK group samples during storage

序号.	化合物	保留时间 (s)	漂移时间(ms)	相对含量 (%)				变化趋势
				0d	3d	6d	9d	
1	1-辛烯-3 醇	545.532	1.15672	4.59±0.31 ^a	6.24±1.02 ^b	6.69±1.08 ^c	10.77±0.94 ^c	↑
2	1-己醇	351.037	1.32532	1.82±0.82 ^c	1.67±1.24 ^a	1.59±0.9 ^b	1.44±1.02 ^b	↓
3	2,3-丁二醇	278.912	1.36105	0.83±0.56 ^d	1.65±0.68 ^a	5.63±0.90 ^{bc}	12.13±0.69 ^b	↑
4	2-苯乙醛	676.32	1.25749	7.57±1.04 ^d	2.93±0.74 ^c	3.11±1.15 ^b	5.80±0.93 ^b	-
5	苯甲醛	503.581	1.46434	4.54±0.67 ^b	6.52±0.48 ^b	11.69±1.22 ^{ab}	14.76±0.89 ^{ab}	↑
6	3-辛酮	559.094	1.3047	4.66±0.38 ^d	3.9±0.78 ^a	6.24±1.86 ^{bc}	7.31±1.54 ^b	-
7	3-辛酮 (二聚体)	558.006	1.71153	8.62±0.63 ^a	7.06±0.63 ^d	13.77±1.36 ^{bc}	15.37±1.82 ^c	-
8	2,3-戊二酮	197.69	1.22261	1.23±0.82 ^d	2.04±0.47 ^a	6.96±1.09 ^c	7.03±1.33 ^b	↑
9	乙酸乙酯	144.49	1.3344	2.11±1.01 ^c	3.24±1.23 ^{ab}	4.75±0.93 ^{ab}	13.02±1.46 ^b	↑

通过 GC-IMS 分析不同处理的 VOCs，数据以三维地形可视化的形式呈现。图 2-11 (a) 中光谱中的颜色表示化合物的信号强度，白色表示低强度，红色表示高强度^[89]，由图可知，红框框选位置两种化合物 RF-Nisin 组较其他组不明显，相对含量较低，其对应的物质分别是苯甲醛和 3-辛酮。图 2-11 (b) 为 CK 组光谱中减去参考值，蓝色表示物质的含量低于对照，红色表示高于对照^[90]。更直观看框选位置 RFN1 和 RFN3 组的蓝色更深，说明 RF-Nisin 组较其他组，苯甲醛和 3-辛酮的相对含量较低。在图 2-11 (c) 中，x 轴表示离子迁移时间，y 轴表示检测物质的保留时间，z 轴表示峰高^[91]，在 RF-Nisin 处理中含有的大多数挥发物种类相似，但信号强度不同。图 2-11 (d) 为贮藏初期 (0d) 和 9 d 时双孢菇 VOCs 的指纹图谱，贮藏初期各处理组风味特征物质 1-辛烯-3-醇和 3-辛酮的含量相近，贮藏第 9 d 时，RF-Nisin 组均明显低于 CK 组，其中，RFN1 显示蓝色最暗，此外，Nisin 和 RF 组 3-辛酮的含量高于 CK 组，RF 组 1-辛烯-3-醇含量高于 CK 组，因此在所有处理组中，RFN1 对不良气味物质抑制最大。这表明 RF-Nisin 处理能够有效抑制双孢菇贮藏过程中不良气味物质的产生，保持其良好的风味。其作用机制可能是 RF 处理改变了细胞的代谢途径，减少了不良风味物质的合成；Nisin 的抑菌作用也可能间接影响了微生物产生风味物质的过程。未来研究可以结合代谢组学技术，全面分析 RF-Nisin 处理对双孢菇风味物质代谢网络的影响，为提升双孢菇风味品质提供更深入的理论支持。



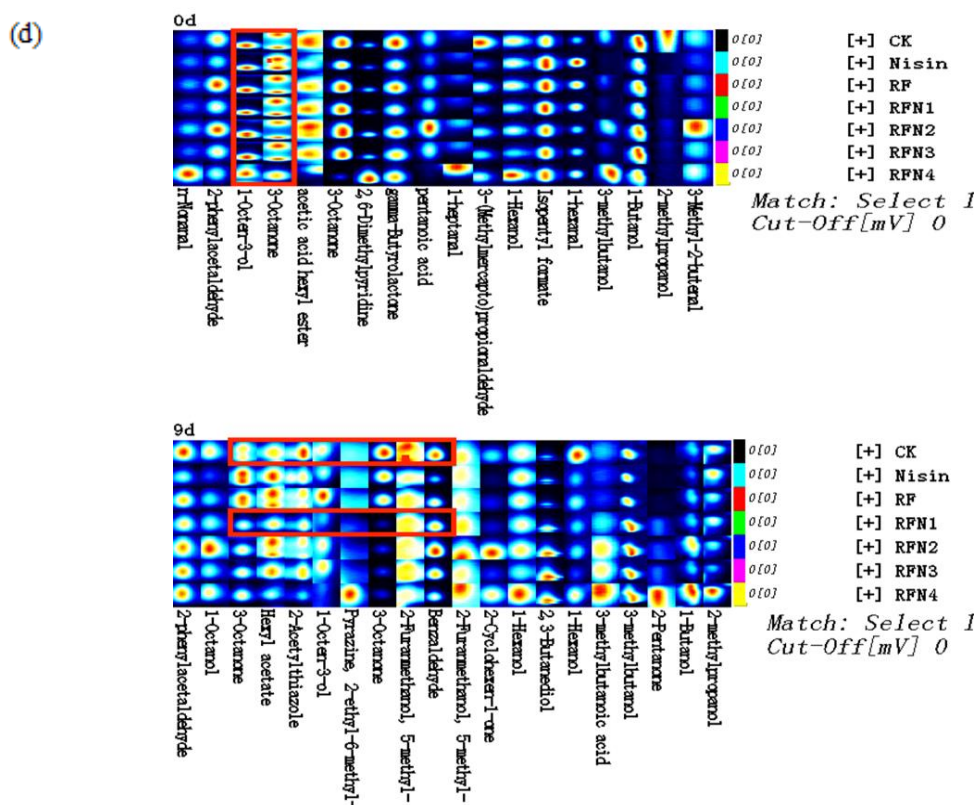


图 2-11 不同处理条件下贮藏 9 d 的双孢菇挥发物的 (a) GC-IMS 二维垂直地形图; (b) 对比地形图; (c) 三维地形图和 (d) 指纹图谱

Figure 2-11 GC-IMS two-dimensional vertical topographic map (a), comparative topographic map (b), three-dimensional topographic map (c) and (d) fingerprints of *A. bisporus* VOCs stored for 9 days under different treatment conditions

注: [+]代表迁移管的外部正电场。

2.4.12 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 FTIR 的影响

图 2-12 显示了室温下在 $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ 波长范围内记录的不同处理样品的典型 FTIR 光谱。由图可知, FTIR 光谱在 1045 、 1410 和 1644 cm^{-1} 处的峰尖锐而强烈, 表明存在对应的基团。以往的研究表明, 1644 cm^{-1} 处对应 H-O-H 基团的对称振动, 反映样品的水分含量^[92]。以 1644 cm^{-1} 为中心研究 $1400\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$ 透射峰的 FTIR 指纹区域, 观察到 CK 组的透光率最高, 其次是 Nisin、RF、RFN4、RFN3、RFN1, 最后是 RFN2。透射峰强度的降低是由于样品在 4°C 储存期间水含量的损失^[93], 这之前对水分含量的讨论结果一致。这表明 RF-Nisin 处理会影响双孢菇的化学组成和结构, 进而影响其水分保持能力。不同处理组之间的光谱差异, 反映了它们在分子层面的变化, 为深入理解 RF-Nisin 处理对双孢菇品质影响的机制提供了有力证据。未来可通过对比不同贮藏阶段的光谱变化, 动态监测双孢菇在 RF-Nisin 处理后的品质变化过程。

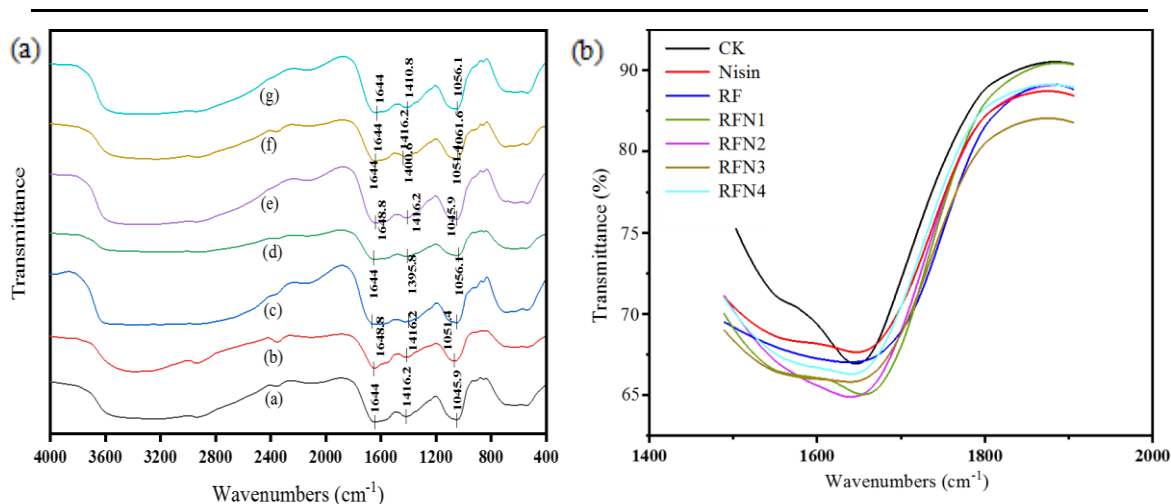


图 2-12 (a) 不同处理条件下双孢菇的 FTIR 光谱和(b)在 1,400-2,000 cm^{-1} 范围内的 FTIR 光谱

Figure 2-11 (a) FTIR spectra of *A. bisporus* under different treatment conditions, and (b) FTIR spectra in the range of 1,400-2,000 cm^{-1}

2.5 本章小结

RF-Nisin 的最佳组合: Nisin 溶液浓度 0.25 g/kg, RH12 cm, RT 15 min。RF-Nisin 处理将双孢菇的保质期从 3 d 延长到 9 d。此外, 将 RF-Nisin 处理与单独 RF 和 Nisin 处理进行比较, 结果表明, RF-Nisin 处理加强了细菌的灭活效果, 降低了 BI、失水率、MDA 生成, 并保留蛋白质、色泽和质地等感官品质。总的来说, RF-Nisin 可作为一种新型抑制双孢菇微生物生长, 延长货架期的方法。

第 3 章 RF-Nisin 协同对双孢菇褐变作用的研究

3.1 引言

双孢菇的质量取决于颜色、质地和风味，颜色是决定消费者购买行为最明确的质量指标^[94]。果蔬的褐变是由酶促反应引起的，果蔬采收后，体内的酚类物质被酶氧化生成醌类，醌类聚合形成黑色素，最终导致褐变，而酚类和类黄酮是苯丙烷途径的产物。有研究表明，短期厌氧处理结合微穿孔膜包装 (AT-MAP) 通过抑制酶活性和苯丙烷途径的相关基因表达减少黑色素和棕色素的形成，以此来延迟双孢菇褐变^[95]。

PPO 和 POD 是双孢菇褐变过程中两类主要的酶，PPO 在果蔬中主要有两种反应途径：通过催化酚类物质和木质素生成氧化产物形成保护屏障来抵抗病原菌的入侵和通过酶促反应形成醌类物质进一步合成黑色素，催化酶促褐变反应发生。POD 主要在过氧化氢存在下催化酚类和类黄酮的氧化和聚合，并参与酚类物质的代谢，导致组织褐变^[96]。在黑色素的产生过程中，主要的酚类物质是 γ -L-邻氨基-4-羟基苯 (GHB) 和 γ -L-邻氨基-3, 4-二羟基苯 (GDHB)，一些通过苯丙烷途径产生的酚类物质，如邻苯二酚，是黑色素途径的底物，GHB 和 GDHB 形成 GHB-黑色素是双孢菇变色的主要途径。研究表明，纳米复合包装 (nano-PM) 处理双孢菇可以延迟 GHB 向 GDHB 的转化，这最终减少了黑色素的形成并延迟了蘑菇褐变，从而延长了保质期^[97]。

本研究的主要目的是：(1) 探究 7 种处理方式对抗氧化能力的影响；(2) 分析 7 种处理方式对褐变酶活性的影响；(3) 采用皮尔逊相关性研究分析不同指标之间的关系对褐变的调控作用，为双孢菇开发和产业化提供理论依据。

3.2 材料与设备

3.2.1 实验原料

从中国芜湖镜湖新城中心菜市场购买大小一致且无可见损伤的双孢菇 (直径 4-5 cm)，样品装在规格为 500 mL 的聚丙烯塑料容器中，4°C 贮藏备用。新鲜双孢菇经流动的自来水洗净后，在 65°C 10 g/L CaCl₂ 溶液中漂洗 2 min 去除杂质，均匀切成 5 mm 的薄片。

3.2.2 实验试剂

表 3-1 主要实验试剂与药品

Table 3-1 Main experimental reagents and drugs

药品名称	规格	厂家
DPPH 试剂	AR	国药集团化学试剂有限公司
福林酚试剂	AR	国药集团化学试剂有限公司
考马斯亮蓝	AR	上海联迈生物工程有限公司
牛血清白蛋白	AR	北京索莱宝科技有限公司
PPO 活性检测试剂盒	AR	北京索莱宝科技有限公司
POD 活性检测试剂盒	AR	北京索莱宝科技有限公司
CAT 活性检测试剂盒	AR	北京索莱宝科技有限公司

3.2.3 仪器与设备

表 3-2 主要实验仪器及设备

Table 3-2 Main experimental instruments and equipment

设备名称	型号	厂家
数字阿贝折射仪	WAY-2S	上海仪电物理光学仪器有限公司

3.3 实验方法

3.3.1 样品不同处理

双孢菇被随机分成 7 组，每组进行不同处理，具体如下：(1) CK 组：蒸馏水浸泡 15 min，沥干水分真空封口；(2) Nisin 组：在 0.25 g/kg 的 Nisin 溶液中浸泡 2 min，沥干水分真空封口；(3) RF 组：重复 Control 组步骤后，在 RH=12 cm 下处理 15 min；(4) RF-Nisin 组：重复 Nisin 组步骤后，分别在 RH=12 cm 和 RF=13 cm 下处理 15 min 和 17.5 min，依次记为 RFN1、RFN2、RFN3、RFN4。所有器具均经过 75%酒精消毒和紫外灯杀菌处理。所有处理好的样品放在 4℃ 贮藏，以备测试。

3.3.2 MDA 含量测定

根据 He 等^[98]人的方法并稍加修改。将 9 mL 100 g/L 的 TCA 与 1.2g 经过不同处理的双孢菇均匀搅拌混合后，置于离心机中 20min (5550 g)，结束后取 6 mL 上清液，再加入 6 mL 0.67% 的 TBA 溶液，混合均匀，置于 95℃ 水浴锅中加热处理 20 min。处理完成后，迅速将混合物放入冰水浴中冷却。混合物继续在离心机中处理 10 min

(3000 g) 获取上清液。最后，将上清液分别在 450 nm、532 nm 和 600 nm 下测量吸光值。MDA 计算公式如下：

$$C = 0.45 \times (A_{532nm} - A_{600nm}) - 0.56A_{450nm} \quad (2-4)$$

$$MDA \text{ content}(\mu\text{mol g}^{-1}) = \frac{c \times V}{V_i \times m \times 1000} \quad (2-5)$$

式中：c—混合体系中 MDA 的浓度， $\mu\text{mol/g}$ ；V—样品提取物的总体积，ml； V_i —测定所需样品提取物的体积，ml；m—样品质量，g。

3.3.3 可溶性醌含量测定

根据 Liu 等^[99]人的方法，操作如下。将 1.5 g 样品与 3 mL 甲醇混合，5000 g 离心 10 min 后，于 437 nm 处测量吸光度。获得的光密度值用于定量可溶性醌的含量。

3.3.4 TPC 和总黄酮含量测定

根据 Yan 等^[100]人研究的方法，具体操作如下。在 0.2 g 样品中加入 6 ml 80% 的乙醇溶液，在冰浴中研磨均匀，5000 g 离心 10 min，收集上清液，以备后续使用。将 1.2 mL 上清液加入 6 mL 10% 福林酚试剂中，摇匀，并在暗处静置 5 min，以测定 TPC 含量。然后加入 5.4 mL 7.5% Na_2CO_3 溶液，摇匀，暗处静置 1 h 后，在 765 nm 处测量吸光度。使用没食子酸标准溶液，得到标准曲线。TPC 通过以下公式获得：

$$TPC(g \text{ kg}^{-1}) = \frac{C_1 \times V}{m \times V_1} \quad 3-1$$

其中 C_1 —从标准曲线获得的没食子酸的质量，g；V—样品提取物的总体积，L； V_1 —用于分析的提取物的体积，L；M—样品的质量，g。

TFC 测定方法如下：在 2 mL 上清液中加入 0.6 mL 5% NaNO_2 溶液，摇匀，置于暗处 5 min，然后加入 0.6 mL 10% AlCl_3 溶液。均匀摇动混合物，并在暗处静置 5 min，然后加入 4 ml 1 mol/L NaOH 溶液和 6.8 mL 蒸馏水。再次摇匀并静置 1 h，在 510 nm 处测量吸光度。使用芦丁标准溶液，得到标准曲线。TFC 通过以下公式获得：

$$TFC(g \text{ kg}^{-1}) = \frac{C_2 \times V}{m \times V_2} \quad (3-2)$$

式中， C_2 —从标准曲线得到的芦丁的质量，g；V—样品提取物的总体积，L； V_2 —待测萃取液的体积，L；M—样品的质量，g。

3.3.5 DPPH 含量测定

根据 Subrahmanyam 等^[101]人的研究方法稍加修改。将 1 g 样品与 5 mL 甲醇混合并提取 24 h，在 4°C 下以 6000 g 离心 15 min。将 300 μL 上清液与 11.7 mL 25 mg/L

甲醇 DPPH 溶液混合。在室温下黑暗孵育 30 min 后，在 515 nm 处读取吸光度。以甲醇为空白，甲醇 DPPH 溶液为对照，DPPH 结果计算公式如下：

$$DPPH\ radical\ scavenging\ activity(\%) = (1 - \frac{A_i}{A_0}) \quad (3-3)$$

其中 A_i —样品与 DPPH 反应后的吸光值， A_0 —样品对照吸光值

3.3.6 酶活性测定

3.3.6.1 PPO 活性测定

PPO 的活性根据市售检测试剂盒制造商的指南进行测定，在 420 nm 测量吸光度值。结果以 μg^{-1} 鲜重表示，记录 0.01 光密度(OD)变化/min。

3.3.6.2 POD 活性测定

POD 的活性根据市售检测试剂盒制造商的指南进行测定。

3.3.6.3 CAT 活性测定

CAT 的活性根据市售检测试剂盒制造商的指南进行测定。

3.3.7 数据分析

同 2.3.15。

3.4 结果与讨论

3.4.1 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 MDA 含量的影响

MDA 是脂质过氧化的最终产物，可作为细胞膜损伤的指标^[102]。如图 3-1(a)所示，不同处理组的 MDA 含量在贮藏期间持续增加，CK 组显著高于各处理组。RFN1 和 RFN2 处理显著降低 MDA 含量，CK、Nisin 和 RF 分别是 RF-Nisin 组的 1.33、1.12 和 1.13 倍，说明 RF-Nisin 对细胞膜完整性有保持作用。

3.4.2 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇可溶性醌含量的影响

可溶性醌为酶促褐变产物，直接反映果蔬的褐变程度^[103]。如图 3-1(b)所示，可溶性醌的含量在贮藏过程中逐渐增加。与 CK 相比，RF-Nisin 显著($P < 0.05$)抑制了可溶性醌的增加。在贮藏第 6 d RFN1 组分别比 CK、Nisin、RF 低 48%、46%和 38%。这是由于 RF 和 Nisin 的协同作用，RF-Nisin 处理保持了细胞膜的最佳完整性，减少

了多酚与酶的接触。RF 处理诱导了酶结构的变化,使活性中心难以与底物结合^[104]。与单一处理相比,RF-Nisin 具有保持良好颜色的显著效果。

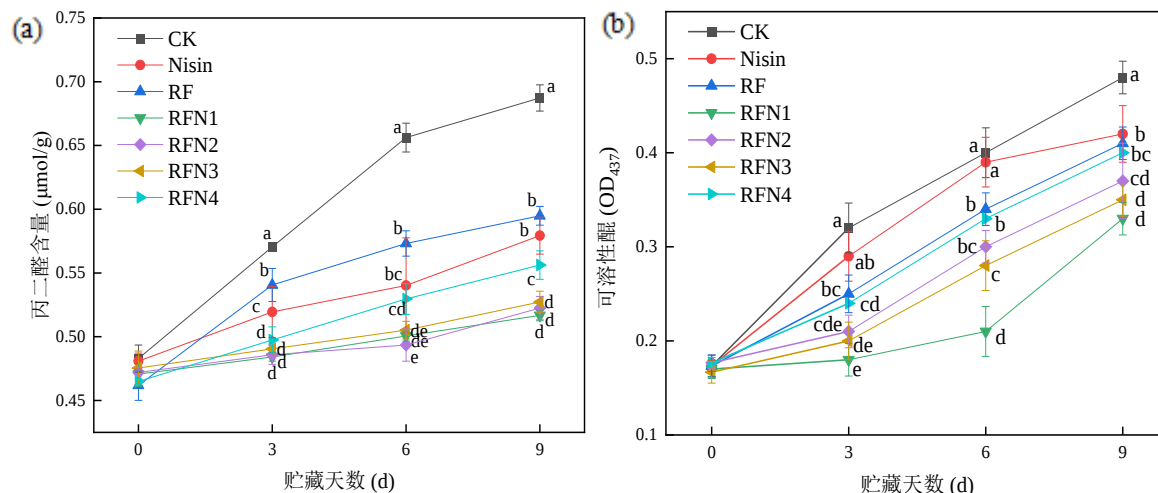


图 3-1 单独及协同 RF-Nisin 处理对双孢菇(a)MDA 和(b)可溶性醌含量的影响

Figure 3-1 Impact of individual and synergistic RF-Nisin methods on the (a) MDA and (b) soluble quinone of *A. bisporus*

3.4.3 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 TPC 和 TFC 的影响

TPC 和类黄酮 (TFC) 是双孢菇抗氧化能力的重要指标。如图 3-2 (a) 所示,在储存期间不同处理组的 TPC 呈下降趋势,但均高于 CK 组($P < 0.05$)。贮藏第 6 d,由于褐变严重,CK 组的 TPC 比贮藏前下降了 77%,而 RFN1 下降了 11%,TPC 保留率为 72.86%。研究表明,纳米复合包装 (nano-PM) 处理双孢菇增加了类苯丙酸途径的酶活性,催化酚类物质和木质素生成氧化产物形成保护屏障来抵抗病原菌的入侵,同理,猜测 RF-Nisin 处理下酚类物质的积累增强了双孢菇对恶劣环境的抗性,从而抑制褐变。如图 3-2 (b) 所示,各处理组黄酮类化合物在贮藏期间的变化呈下降趋势。RFN1 处理组的 TFC 在贮藏第 3 d 比 CK、Nisin 组分别高 1.63 和 0.47 g/kg,到第 6 d 这些差异增加到 2.30 和 1.75 g/kg。这表明 RF-Nisin 处理促进了酚类物质的积累,增强了双孢菇对恶劣环境的抗性,从而抑制褐变。

3.4.4 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇抗氧化活性的影响

采用 DPPH 自由基清除能力法评价双孢菇的抗氧化能力,当暴露于质子自由基清除剂时,DPPH 自由基阳离子可以被快速清除^[105]。如图 3-2 (c) 所示,在贮藏前期,各处理组对 DPPH 自由基的清除能力呈上升趋势,随后,CK、Nisin 和 RF 组在贮藏第 6 d 时逐渐下降,RF-Nisin 呈缓慢下降趋势,且 RF-Nisin 处理抗氧化能力高于 CK

组, RFN1 在第 3 d 达到 79%-81.33%。这说明 RF-Nisin 处理提升了双孢菇的抗氧化能力, 有效减缓了氧化应激反应, 抑制了褐变。

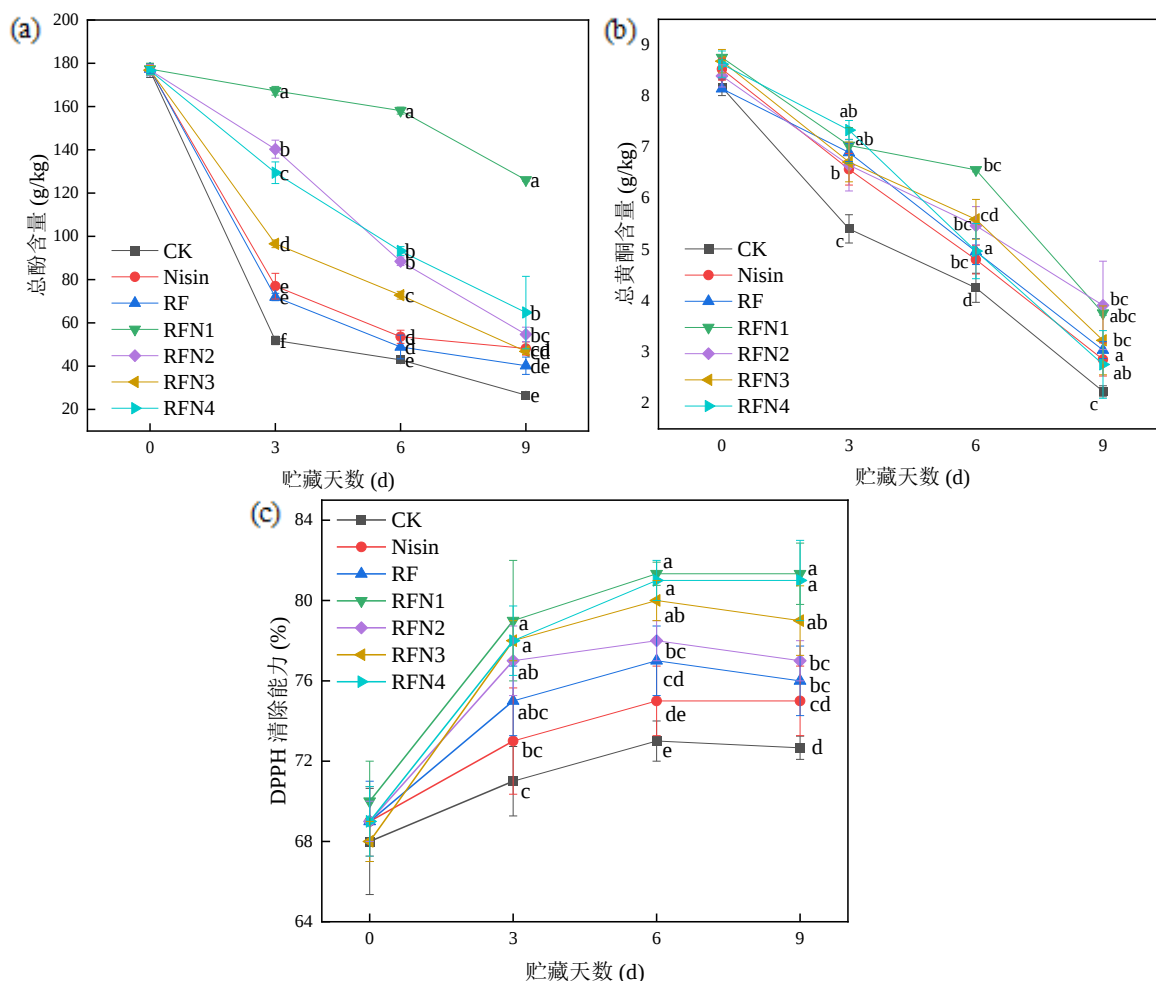


图 3-2 单独及协同 RF-Nisin 处理对双孢菇 (a) TPC、(b) TFC 和 (c) DPPH 自由基清除能力的影响

Figure 3-2 Impact of individual and synergistic RF-Nisin methods on the (a) total phenols, (b) flavonoids and (c) DPPH radical scavenging ability of *A. bisporus*

3.4.5 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇酶活性的影响

双孢菇的褐变是 PPO 作用的结果, POD 和 CAT 是评价食用菌抗逆性的重要酶学指标。双孢菇的正常生理代谢产生活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS), 为了减少 ROS 积累的产生, 菇体激活了相应的防御调节系统, 其中 POD 和 CAT 具有明显的清除作用^[106]。如图所示, PPO、POD 和 CAT 活性在整个贮藏期间呈现先升高后降低的趋势。

3.4.5.1 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 PPO 活性的影响

机械损伤会诱导 PPO 活性, 引起果蔬褐变。由图 3-3 (a) 可知, PPO 活性在第 6 d, CK、Nisin、RF、RFN1、RFN2、RFN3 和 RFN4 组分别为 1410、1230、1220、1240、1070、960 和 1270 U/g, RFN3 组在贮藏期间具有最低的 PPO 活性, 贮藏第 3

d 比 CK 组低 32%，到第 9 d 低 68%。与 CK 组相比，RF-Nisin 处理的双孢菇在贮藏期间的褐变程度较低，这可能与 PPO 基因表达的抑制有关^[107]。

3.4.5.2 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 POD 活性的影响

POD 是果蔬中常见的氧化还原酶，促使果蔬发生变色现象。如图 3-3 (b) 所示，各处理组的 POD 活性在储存前期增加，第 6 d 达到峰值后下降。整个贮藏期间 Nisin、RF 和 RF-Nisin 组的 POD 活性显著低于 CK 组 ($P < 0.05$)。第 6 d，CK、Nisin、RF、RFN1、RFN2、RFN3 和 RFN4 组的 POD 活性分别为 5.76、2.93、2.34、1.6、1.52、0.82 和 1.14 U/g，RFN3 处理的双孢菇 POD 活性最低，低于 CK 组 86%，贮藏第 9 d，RFN2 的 POD 活性为 0.35 U/g 最低，低于 CK 组 80%。

3.4.5.3 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇 CAT 活性的影响

CAT 是果蔬抗氧化防御系统中的关键酶之一，可以催化过氧化氢分解氧和水，防止腐败变质^[108]。图 5C 反映了贮藏期间 CAT 活性的变化，各处理组呈先上升后下降的趋势，第 6 d 各处理组活性达到最高，CK、Nisin、RF、RFN1、RFN2、RFN3 和 RFN4 组分别为 2.16、2.60、2.55、2.97、2.71、2.87 和 2.65 U/mg，第 9 d 分别下降了 13%、13%、8%、13%、9%、12%和 10%。9 d 后，CK 组 CAT 活性显著 ($P < 0.05$) 低于其他处理组，主要表现为萎蔫和严重褐变。RF-Nisin 处理通过降低 PPO 和 POD 的活性，减少了酚类物质氧化为醌类物质，进而抑制黑色素的形成；同时提高了 CAT 活性，增强了对过氧化氢的分解能力，减少了活性氧积累，从多方面抑制了褐变反应。

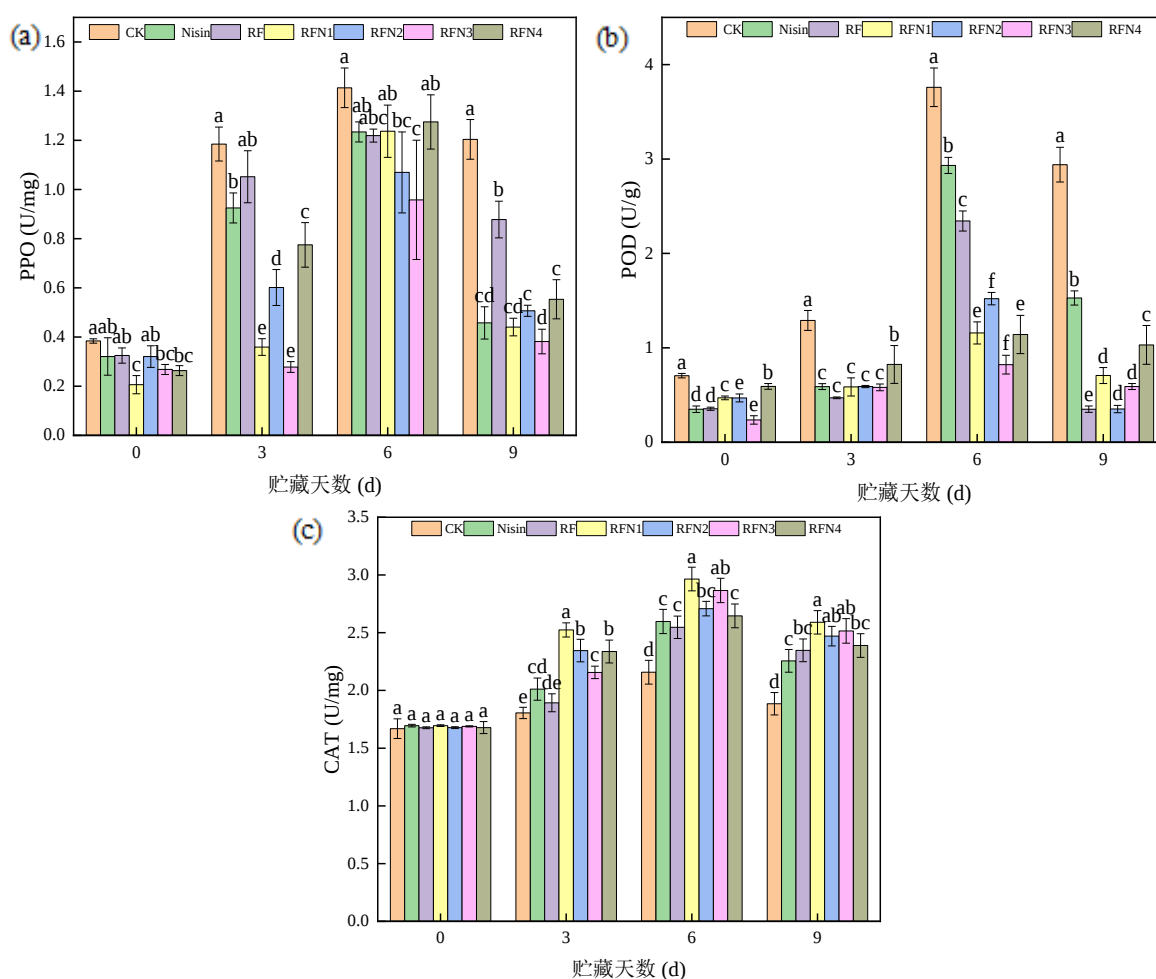


图 3-3 单独及协同 RF-Nisin 处理对双孢菇(a)PPO、(b)POD 和(c) CAT 活性的影响

Figure 3-2 Impact of individual and synergistic RF-Nisin methods on the activities of (a) PPO, (b) POD, (c) CAT in *A. bisporus*

3.4.6 RF-Nisin 单独及协同对双孢菇品质各指标皮尔逊相关性矩阵

对不同处理方式下双孢菇的外观特征和内外品质进行 Pearson 相关性分析^[109], 研究对双孢菇褐变影响机制。由图可知, 失水、MDA、TSS、可溶性醌、DPPH、CAT、PPO、POD 与 BI 呈正相关, 硬度、L*、蛋白质含量、TPC、TFC 与 BI 呈负相关, 与 BI 的相关强度由高到低为 TFC> TPC> L*值>硬度> MDA>蛋白质含量>失重。硬度与 L*、蛋白质含量、TPC、TFC 呈正相关, 与 MDA、可溶性醌含量、失水率、PPO、POD、CAT 呈负相关, 与硬度的相关性由高到低依次为 TPC>TFC>BI>MDA> L*值>可溶性醌含量>硬度, 因此, TPC 和 TFC、BI 和色差是影响双孢菇褐变和质地的主要因素。以往的研究表明, 双孢菇在贮藏期间生成酚类物质和 MDA, 作为酶促褐变底物引起了组织褐变^[110]。RF-Nisin 协同抑制双孢菇褐变作用方式较为复杂, 从酶活性抑制的角度来看, RF 的体积加热会降低 PPO 和 POD 的活性, 减少酚类物质氧化为醌类物质, 进而抑制黑色素的形成^[111]。在抗氧

化能力方面, TPC 和黄酮的保留以及 DPPH 自由基清除能力的提高, 有效减缓了氧化应激反应, 抑制了褐变^[112]。从细胞结构保护的角度来看, RF-Nisin 处理减少了 MDA 的积累, 维持了细胞膜的完整性, 减少了酚类物质与酶的接触机会, 从而抑制了褐变反应。未来可从基因表达调控层面进一步探究这些因素之间的相互作用关系, 为优化保鲜技术提供更深入的理论依据。

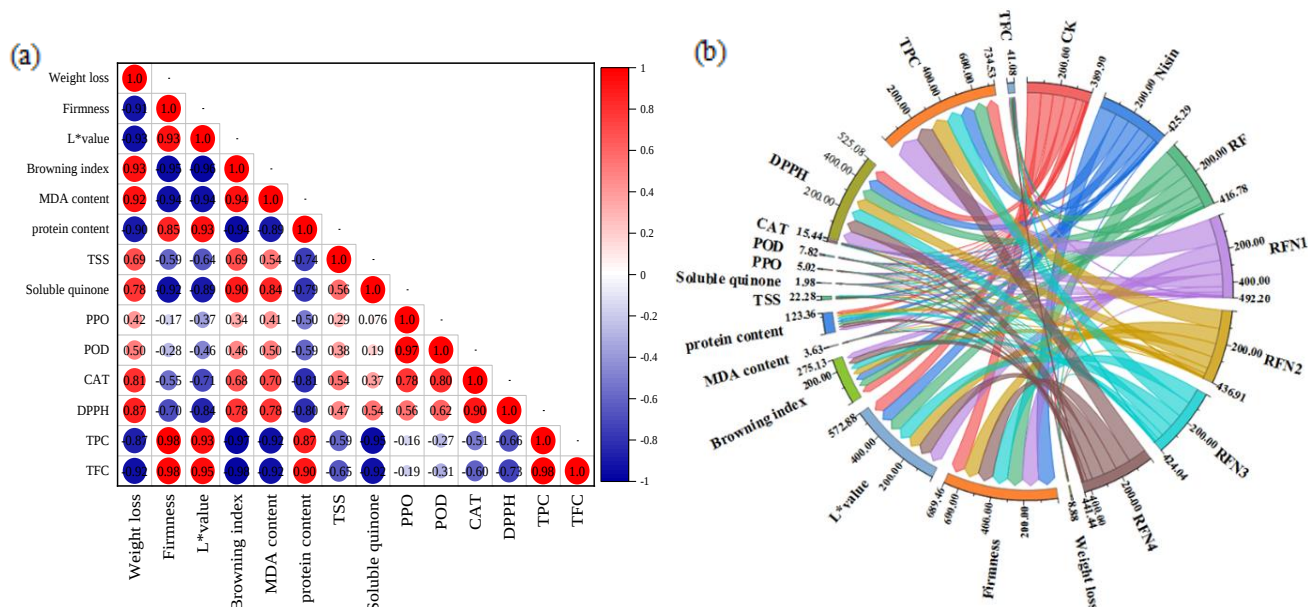


图 3-4 RF-Nisin 处理双孢菇各指标的相关分析 (a) 热图和 (b) 弦图

Figure 3-4 Correlation analysis of various indexes of *A. bisporus* treated by RF-Nisin (a) thermogram and (b) chord diagram

3.5 本章小结

RF-Nisin 对双孢菇褐变现象抑制效果好, 经过 RF-Nisin 处理过的双孢菇, 其可溶性固形物、TPC、DPPH 清除自由基能力得到显著提高, 通过 RF 处理的双孢菇钝化了酶活性, 抑制双孢菇褐变现象的出现。RF-Nisin 协同抑制褐变作用包括抑制酶活性、提升抗氧化能力、保护细胞结构等。未来可从基因表达调控层面进一步探究各因素间相互作用, 为优化双孢菇保鲜技术提供理论依据。

第 4 章 RF-Nisin 协同对典型菜肴双孢菇炒肉片品质及挥发性风味的影响

4.1 引言

前文研究中，先经单因素实验确定 RF-Nisin 协同处理双孢菇的最佳参数为 Nisin 浓度 0.25g/kg、RH12cm、RT15min。研究发现该处理能延长双孢菇货架期，抑制褐变，保持营养成分。然而，双孢菇不仅以鲜品形式存在，还广泛应用于各类菜肴制作中^[113]。双孢菇典型菜肴在市场上颇受消费者喜爱，但传统的保鲜和加工方式往往难以兼顾其安全性、风味和营养。比如，常见的罐头包装采用 HPS 处理，虽能延长保质期，但会导致菜肴营养价值和感官品质下降^[114]；真空包装结合冷链运输贮藏，又存在安全隐患和资源浪费问题。因此，探索一种适用于双孢菇典型菜肴的高效保鲜技术迫在眉睫。相关研究数据表明 Nisin 作为天然生物防腐剂，在法规限定剂量内对人体健康风险极低，美国 FDA、欧洲 EFSA 等批准其用于食品工业，2023 年 WHO 强调 Nisin 对儿童、孕妇无特殊风险。同时说明在本研究中 Nisin 溶液的使用浓度符合安全标准，且与射频协同处理未产生有害副产物，确保该技术在双孢菇典型菜肴保鲜中的安全性。

本章节基于上述成果，研究 RF-Nisin 协同处理在“双孢菇炒肉”保鲜中的应用，通过对比不同处理组，评估该技术对菜肴杀菌效果、品质变化及挥发性风味的影响，从而验证其在保持即食菜肴风味稳定性与营养方面的可行性。

4.2 实验方法

4.2.1 实验原料

新鲜猪瘦肉、双孢菇和青椒均购自当地的芜湖市鸠江区镜湖新城中心菜市场。大豆油、盐、生抽等调味品均购自当地的芜湖市鸠江区润生超市。

4.2.2 实验试剂

表 4-1 主要实验试剂与药品

Table 4-1 Main experimental reagents and drugs

药品名称	规格	厂家
考马斯亮蓝	AR	上海源叶生物科技有限公司
牛血清白蛋白	AR	北京索莱宝科技有限公司

注：其余同 2.2.2

4.2.3 材料与设备

表 4-2 主要实验仪器及设备

Table 4-2 Main experimental instruments and equipment

设备名称	型号	厂家
远红外热成像仪	TiS60	福禄克电子仪器仪表公司

注：其余同 2.2.3

4.3 实验方法

4.3.1 双孢菇炒肉片菜肴的制备

将冷鲜猪瘦肉和双孢菇清洗干净，切成 5 mm 的薄片，青椒切成 2 cm 的丁。将锅中水烧开加入双孢菇 2 min 后，取出备用，然后将猪肉在平底锅中与大豆油炒制 6 min，与双孢菇、青椒混合翻炒 3 min。每份双孢菇炒肉片由 60 g 双孢菇、青椒和肉片各 20 g 组成。待双孢菇炒肉片冷却至室温后，添加 2 mL 0.25 g/kg Nisin 溶液，混合均匀后进行真空包装 (100 g/袋)，贮藏在 4℃ 以备后续测试。

4.3.2 双孢菇炒肉片的杀菌处理

将包装好的双孢菇炒肉片样品放入射频仪内，射频仪极板间距设置为 12 cm，分别对制备好的样品杀菌 10、15 和 20 min，并命名为 RFN10、RFN15 和 RFN20。以未杀菌和高压蒸汽杀菌 (HPS, 121℃, 30min) 处理的样品为对照。

4.3.3 杀菌温度均匀性的测定

使用红外热成像相机来测量样品的表面温度。在 RF-Nisin 协同杀菌 10、15 和 20 min 时取出样品，立即测量表面温度，被测量的样品位于成像相机镜头的 50 cm 处。整个测量过程在 3 s 内完成。

4.3.4 菌落总数测定

称取 5 g 双孢菇和 5 g 猪肉共计 10 g 样品，与生理盐水按 1:10 进行稀释。其他操作具体方法见 2.3.4。

4.3.5 色差测定

具体方法见 2.3.7。

4.3.6 感官评价

感官评价采用 9 分制，分数越高，感官评价者越喜欢该样品 (5 分是最低可接受限度)。由 20 名实验室教师和研究生组成的感官评价小组对外观、气味、味道、质

地和总体可接受性进行了分析。在感官评价之前，在 60℃ 水浴中重新加热炒过的双孢菇猪肉片 5 min。每次感官评价前，要求所有感官评价者用纯水漱口 30 s，彻底清洁口腔，避免两个样品之间的相互影响。双孢菇炒肉片的感官评定标准见表 4-3。

表 4-3 双孢菇炒肉片感官评定标准

评价项目	评价标准	分数
外观	猪肉、双孢菇和青椒色泽鲜亮	7-9
	猪肉、双孢菇和青椒色泽略暗	4-6
	猪肉、双孢菇和青椒颜色不佳	1-3
气味	具有双孢菇炒肉应有的宜人香气	7-9
	香气适中，无异味	4-6
	无香味，无气味	1-3
味道	具有双孢菇炒肉的恰当风味，口中余味悠长	7-9
	味道适中，口中余味适中	4-6
	味道差，口中余味不佳	1-3
口感	嚼劲好，肉质紧实无松散，配菜口感极佳	7-9
	嚼劲适中，肉质略松散，配菜口感略软	4-6
	嚼劲差，肉质松散软烂，配菜口感不佳	1-3

4.3.7 质构测定

具体方法见 2.3.8。猪肉片测试前、测试中、测试后的速度和触发力分别设置为 3.00、1.00、5.00 mm/s 和 5.00 g，每个样品压缩压缩两次^[115]。

4.3.8 可溶性固形物含量测定

具体方法见 2.3.10。

4.3.9 可溶性蛋白质含量测定

具体方法见 2.3.11。测定猪肉片蛋白质含量操作如下^[116]。取 200 μ L 样品汤汁，加入 800 μ L 蒸馏水和 5 mL 考马斯亮蓝溶液，混合均匀后室温下静置 2 min。随后，在 595 nm 波长下测定吸光值，根据牛血清蛋白标准曲线，计算蛋白质含量。

4.3.10 微观结构测定

具体方法见 2.3.12。

4.3.11 挥发性风味测定

顶空瓶内依次加入 0.5 g 双孢菇, 0.5 g 猪肉片和 1 g 汤汁, 其余操作同 2.3.13。

4.3.12 数据分析

同 2.3.15。

4.4 结果与讨论

4.4.1 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片表面温度的影响

在双孢菇炒肉片的研究中, RF-Nisin 协同时间对其表面温度有显著影响。如图 4-1 所示, 当 RT 从 10 min 增加到 20 min 时, 样品温度持续增加, 平均表面中心温度迅速升至 74.3°C, 随后稳定保持在 73.0°C 之间。从物料内的温度分布来看, 中心到边缘逐渐降低, 加热相对较均匀^[117]。这得益于双孢菇炒肉片中较高的含水量和介电损耗因子, 使得 RF 对食品物料选择性加热, 防止食品包装和物料一起过度升温, 减少有害物质挥发, 保障食品安全^[118]。但不同处理时间下温度的变化可能会对食品的品质产生不同影响, 需要进一步研究适宜的温度范围对双孢菇炒肉片品质的影响。

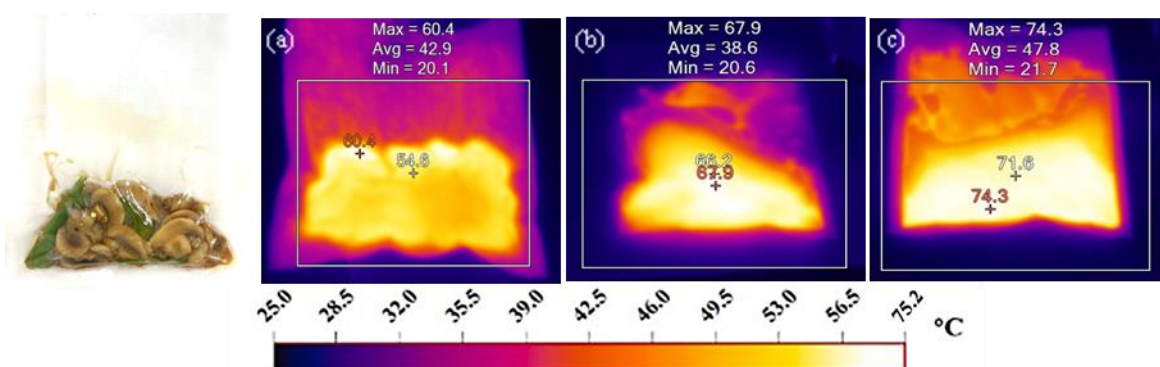


图 4-1 双孢菇炒肉表面温度分布随 RF 加热时间的变化

Figure 4-1 Variation of surface temperature distribution of Stir-fried sliced pork with *A. bisporus* with RF heating time

4.4.2 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片菌落总数的影响

菌落总数是衡量食品安全性的重要指标。如图 4-2 所示, 在所有的处理方式中, HPS 杀菌效果最好, 细菌均未检出。第二章讨论结果表明, 通过调节 RT 影响对双孢菇炒肉的杀菌效果, RT 越长, 杀死细菌的效果越好^[119]。在 RF-Nisin 处理中, RT=10 min 时, 抑菌效果最差, 菌落总数仅降低 0.58 lg CFU/g, 在 RT=15 min 时, 符合国标 GB 29921-2021 限量残留菌量标准不超过 5.00 lg CFU/g。这表明 RF-Nisin 处理时间对杀菌效果影响显著, 适当延长处理时间可有效杀灭细菌, 但过长时间可

能会对食品品质造成不利影响。后续研究可进一步优化处理时间，在保证杀菌效果的同时，最大程度减少对食品品质的损害。

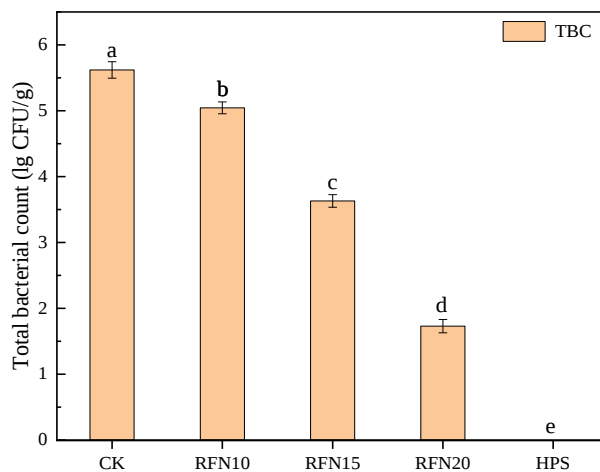


图 4-2 不同处理对双孢菇炒肉片细菌生长的影响

Figure 4-2 Effects of different methods on bacterial growth of Stir-fried sliced pork with *A. bisporus*

4.4.3 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片色差的影响

RF-Nisin 处理对双孢菇炒肉片的色差有明显影响。如表 4-4 和图 4-3 所示，RF-Nisin 处理的双孢菇 L^* 、 a^* 和 b^* 值随着处理时间的增加显著降低 ($P < 0.05$)，说明 RF-Nisin 处理对双孢菇的颜色产生了影响。这可能是由于双孢菇经过炖煮后再经 RF 处理，导致酶的活性下降，发生褐变^[120]。在肉片的处理过程中，由于受到煎炒和 RF 热处理， L^* 、 a^* 和 b^* 值均随着 RT 延长显著下降，在其他研究中也发现了类似的现象^[121]，原因可能是肌红蛋白和其他蛋白变性，变性蛋白光散射引起的光反射增加而亮度降低，导致红度降低。随着 RT 的增加 ΔE 均大于 1.5，表明 RF 处理的样品与 CK 组有显著性差异^[122]。色差的变化不仅影响产品的外观，还可能反映出内部品质的改变，例如，颜色的改变可能暗示着营养成分的损失或化学反应的发生。 L^* 值的下降可能意味着水分流失和细胞结构的破坏； a 和 b^* 值的变化则反映了颜色偏向的改变，与酚类物质氧化、美拉德反应等相关，需要综合考虑处理条件对色差和其他品质指标的影响，以优化处理工艺。

表 4-4 不同处理对双孢菇炒肉片色差的影响

Table 4-4 Impact of various methods on color difference of Stir-fried sliced pork with *A. bisporus*

不同样品	双孢菇颜色				猪肉片颜色			
	L*	a*	b*	ΔE	L*	a*	b*	ΔE
CK	39.70±1.11 ^a	17.33±1.53 ^a	15.6±1.05 ^b	/	27.43±1.17 ^a	14.67±0.57 ^{bc}	14.93±1.15 ^a	/
RFN10	33.27±1.07 ^b	17.00±1.00 ^a	17.73±1.10 ^a	8.77±0.49 ^d	27.37±1.01 ^a	17.33±1.15 ^a	12.73±0.72 ^b	1.90±0.62 ^c
RFN15	27.63±0.92 ^c	16.67±1.53 ^a	11.77±0.31 ^c	10.30±0.70 ^c	25.03±0.47 ^b	16.00±1.00 ^{ab}	12.33±1.26 ^b	2.33±0.35 ^c
RFN20	27.53±0.64 ^c	7.33±0.58 ^b	11.33±1.00 ^{cd}	15.20±0.75 ^b	24.37±0.55 ^b	13.33±1.15 ^c	12.17±0.60 ^b	4.30±0.61 ^b
HPS	26.87±1.46 ^c	7.00±1.00 ^b	9.90±0.80 ^d	20.87±0.12 ^a	22.30±0.56 ^c	10.00±1.00 ^d	10.23±0.55 ^c	7.80±0.46 ^a

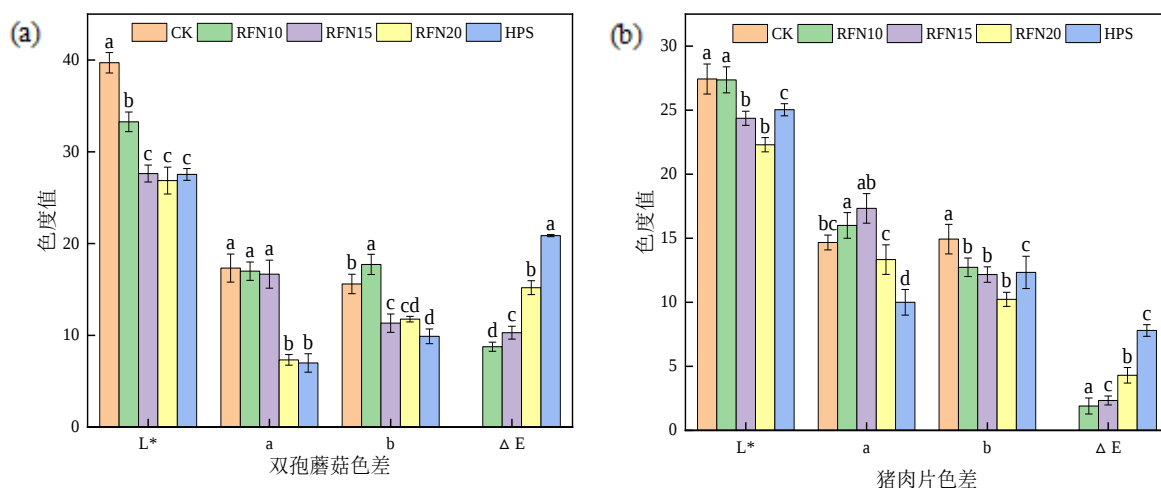


图 4-3 不同处理对 (a) 双孢菇和 (b) 猪肉片色差的影响

Figure 4-3 Impact of various methods on color difference of (a) *A. bisporus* and (b) pork slices

4.4.4 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片感官评定的影响

感官评价是评定消费者接受程度的重要手段之一^[125]。经过 RF-Nisin 和 HPS 处理后的双孢菇炒肉感官各项评价 (a) 和总评 (b) 如图 4-4 所示。经过不同杀菌处理后的双孢菇炒肉在气味、咀嚼度、外观颜色、口味和可接受度均有不同程度的降低。其中 RF 处理 10 min 和未处理的 CK 组区别不大, HPS 处理后口感变化最明显。对消费者而言, 双孢菇炒肉菜肴应该具备基本的适口性、质地紧致和丰富口感, 才会刺激消费者的味蕾和食欲^[126]。在本研究中, 随着 RF-Nisin 处理时间的增加, 感官评价总得分低于 Control 组, 分别是 89.7 分、83.2 分和 79.5 分, 而 HPS 组仅为 66.9 分。这表明 HPS 处理对产品感官质量影响较大, 而 RF-Nisin 处理在一定程度上能保持产品的感官品质, 但处理时间过长也会导致品质下降。在实际生产中, 需要平衡杀菌效果和感官品质, 确定最佳的处理时间。

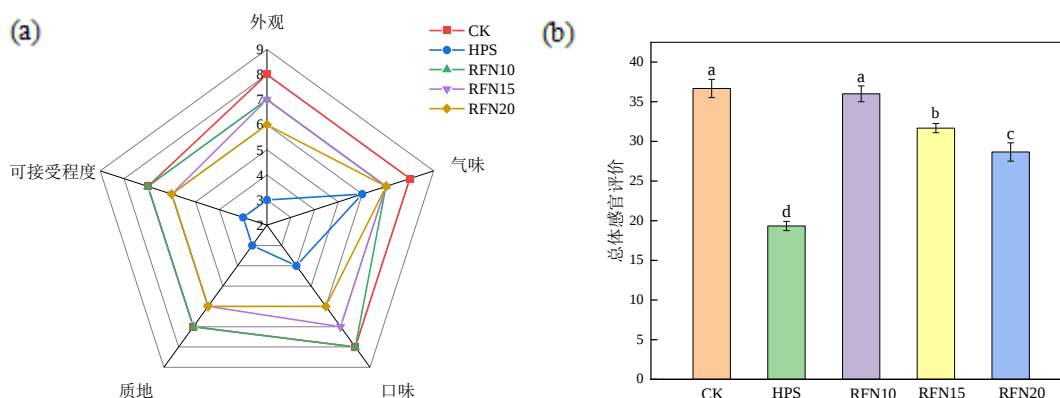


图 4-4 不同处理对双孢菇和猪肉片感官质量 (a) 和总体感官评价 (b) 的影响

Figure 4-4 Impact of various methods on (a) sensory quality and (b) total sensory evaluation of Stir-fried sliced pork with *A. bisporus*

4.4.5 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片质构的影响

如表 4-3 所示, 样品硬度随着 RT 增加显著降低, RT=10 min 时对质地影响较小。此外, RF 对猪肉片硬度的影响高于双孢菇, 可能是由于瘦肉细胞壁结构受热后失去支撑力^[123]。从 RF-Nisin 和 HPS 两种处理方式来看, RF 处理 20 min 时对猪肉片硬度的影响低于 HPS, 说明 HPS 处理不利于蛋白质三维网状结构和水分的维持, 导致猪肉失去咀嚼性能^[124]。这表明 RF-Nisin 处理在保持产品质地方面具有一定优势, 但仍需进一步优化处理条件, 以更好地维持产品的质构品质。

4.4.6 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片可溶性固形物含量的影响

可溶性固形物含量可反映食品的营养价值。长时间高温处理会造成可溶性固形物分解, 导致其可食性降低^[127]。从表 4-3 可以看出, 随着 RT 的增加, 可溶性固形物含量逐渐降低, 当 RT 达到 20 min 时, 总可溶性固形物含量为 11.2%。显而易见, HPS 处理中对可溶性固形物的影响最大。根据 Cai 等^[128]人的研究发现, TSS 的变化与失水有关, 与本研究结果发现一致。这提示在实际生产中, 应避免过度加热, 以减少可溶性固形物的损失, 保持产品的营养价值。RF-Nisin 处理在一定程度上能够减少可溶性固形物的损失, 但其效果还可通过优化处理参数进一步提升。

4.4.7 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片蛋白质含量的影响

双孢菇炒肉中的猪肉蛋白质对人体健康有重要作用, 可以维持肌肉生长、补充必须氨基酸和控制饥饿感^[129]。如表 4-5 所示, 与 CK 组相比, RT=10 min 和 15min 时可以最大程度保留猪肉片中的蛋白质含量, 分别为 11.62 mg/mL 和 10.79 mg/mL。当 RT=20 min 或者 HPS 处理后, 会显著降低猪肉中的蛋白质含量, 原因可能是高温造成蛋白质变性和水解, 从而导致蛋白流失^[130]。因此, 采用 HPS 处理双孢菇炒肉

不仅会对质地、口感和风味造成影响，还会降低其营养价值。这表明 RF-Nisin 处理在蛋白质保留方面具有一定优势，但处理时间的选择尤为关键。未来可进一步研究不同处理条件下蛋白质的变化规律，寻找更有效的蛋白质保护方法。

表 4-5 不同处理对双孢菇炒肉片硬度、可溶性固形物含量和蛋白质含量的影响

Table 4-5 Impact of various methods on hardness, TSS content and protein content of Stir-fried sliced pork with *A. bisporus*

不同样品	双孢菇硬度 (N)	猪肉片硬度 (N)	可溶性固形物含量 (%)	蛋白质含量 (mg/mL)
CK	31.61±1.32 ^a	53.09±1.12 ^a	13.13±0.80 ^a	11.65±1.14 ^a
RFN10	26.55±0.91 ^b	45.66±0.58 ^b	12.30±0.95 ^{ab}	11.62±0.63 ^a
RFN15	23.53±0.97 ^c	30.88±0.66 ^c	11.80±0.92 ^{ab}	10.79±1.46 ^{ab}
RFN20	23.06±0.99 ^{cd}	27.22±0.36 ^d	11.20±0.70 ^b	9.87±0.56 ^{ab}
HPS	21.46±0.93 ^d	26.26±0.34 ^d	10.73±0.55 ^b	9.41±1.08 ^b

4.4.8 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片微观结构的影响

为了判断不同处理方式下双孢菇炒肉表面微观结构的变化，将双孢菇和猪肉置于不同倍数的 SEM 下观察（双孢菇 400 倍；猪肉 800 倍）。根据图 4-5 发现，双孢菇和猪肉在 RF-Nisin 处理方式相同的条件下，表面结构均随着处理时间的增加发生明显变化，处理 10 min 时，对结构影响较小，处理 20 min 时，观察到结构被破坏。图 4-7 (a)~(e) 中显示双孢菇细胞壁结构由原来结构完整到变形和破裂，出现空化现象；图(f)~(j) 可以看出猪肉的肌纤维由原来紧密有序、明带暗带独立明显到结构松散、间隙增大，明暗带消失，其中，HPS 破坏最严重，经过长时间加热处理肉制品失去韧劲^[131]。这说明 RF-Nisin 处理时间对双孢菇炒肉片的微观结构有显著影响，需要在保证杀菌效果的同时，尽量减少对微观结构的破坏，以维持产品的品质。未来可利用更先进的微观结构分析技术，深入研究处理过程中微观结构的动态变化，为优化处理工艺提供更精确的依据。

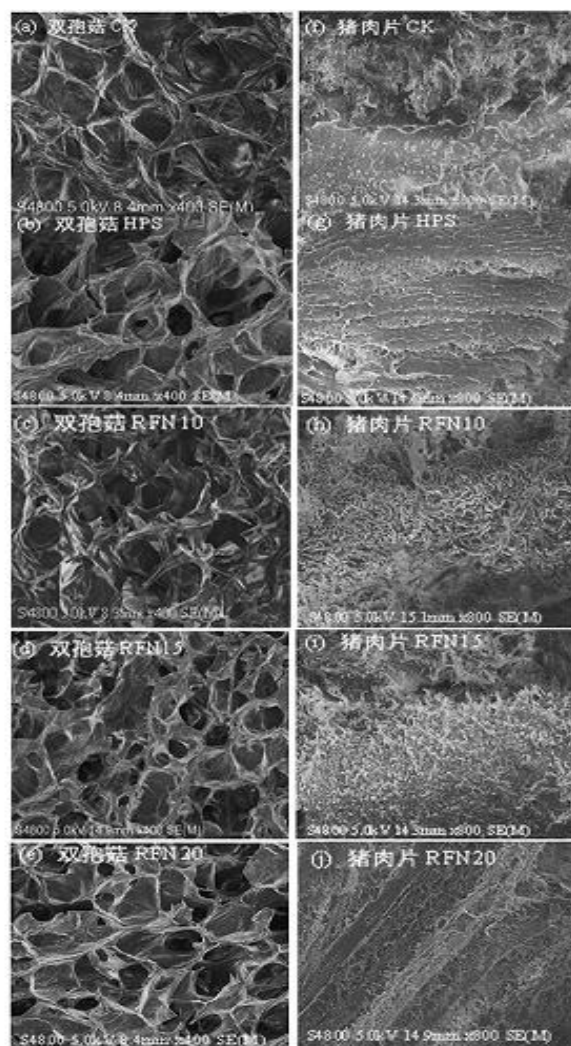


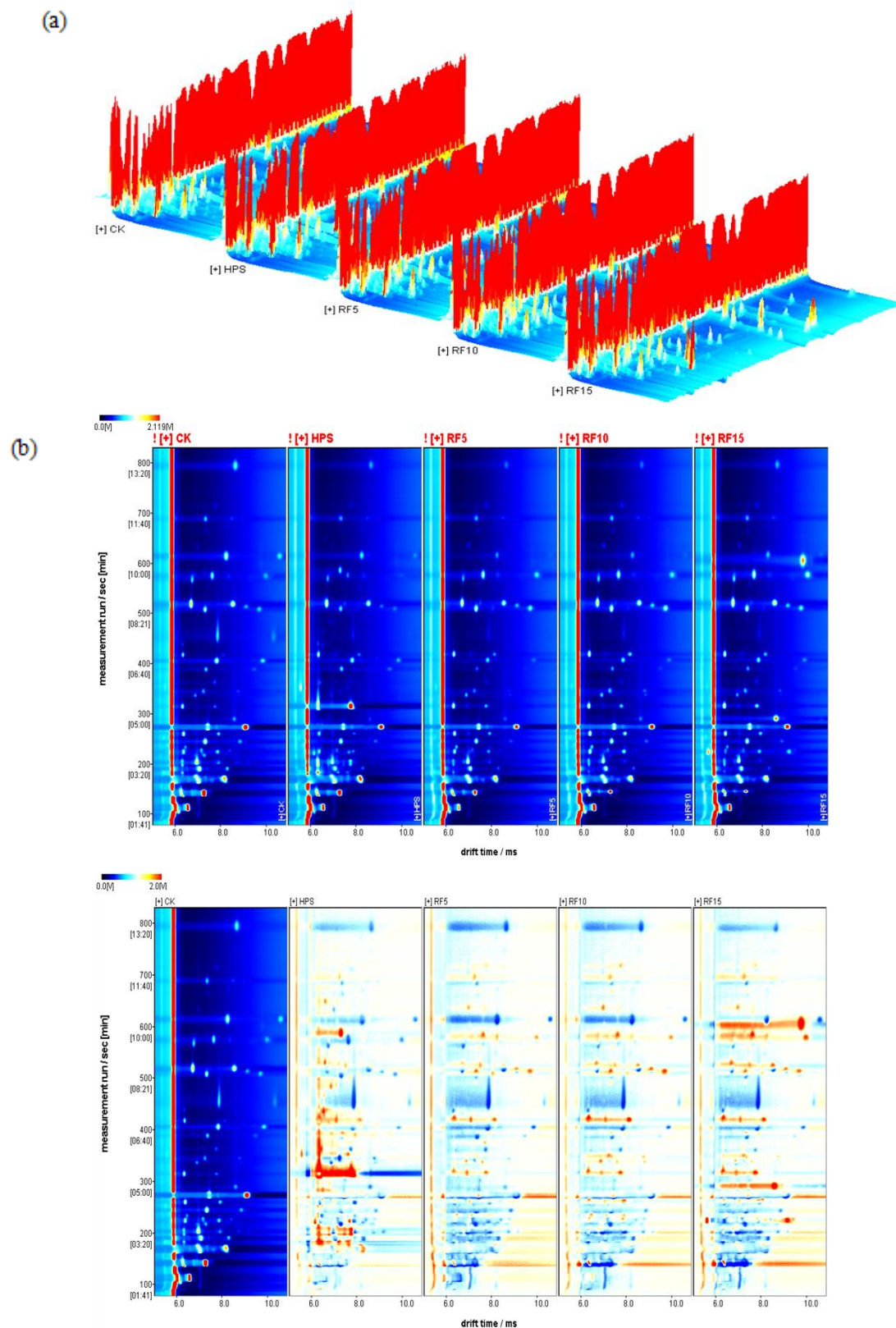
图 4-5 不同处理对双孢菇(400 倍)和猪肉片(800 倍)微观结构的影响

Figure 4-5 Effects of different treatments on the microstructure of *A. bisporus* (400 times) and pork slices (800 times).

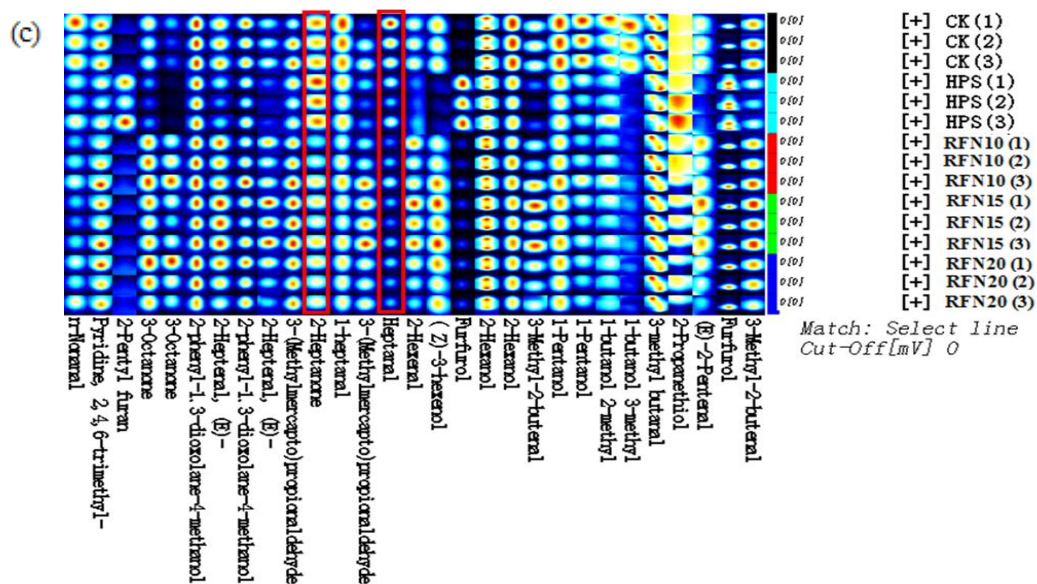
4.4.9 RF-Nisin 协同时间对双孢菇炒肉片挥发性风味的影响

利用 GC-IMS 研究 RF-Nisin 和 HPS 处理下 VOCs 成分变化。图 4-6 (a) 显示了不同处理方式 VOCs 的峰强度，对于每个点来说，其在 3D 图中的位置由漂移时间、保留时间和峰强度共同决定，反映了被检测出 VOCs 的特征。高温处理会导致猪肉进一步脂质氧化，产生更多的 VOCs。双孢菇炒肉经过 HPS 处理后释放出更多 VOCs，这一发现与 Li 等^[132]人研究结果类似。RF-Nisin 处理双孢菇炒肉片的 VOCs 种类与 CK 组相似，但是峰强度即 VOCs 浓度存在差异。为了进一步评估经过 RF-Nisin 和 HPS 处理双孢菇炒肉 VOCs 的差异，采用差异比较模型，可以将气相色谱法的离子迁移时间和保留时间分别映射到图表的横纵坐标上，以便进行进一步的数据分析和比较。如图 4-6 (b) 所示，以 CK 组地形图作为参考组，RF-Nisin 和 HPS 处

理分别减去 CK 组，如果 VOCs 减少，扣除后的背景是蓝色，而红色则代表该物质浓度高于 CK 组。结果显示，HPS 组在 300~350s 的保留时间范围内红色和蓝色都较多，这表明 HPS 处理后，虽然增加了一些 VOCs 浓度但也降低了一些敏感性化合物信号，而 RF-Nisin 处理不会显著改变双孢菇炒肉中的 VOCs。



为深入分析 RF-Nisin 和 HPS 处理差异, 将所有分析信号通过 GC-IMS 插件 Gallery Plot 生成指纹图谱, 如图 4-6 (c), 每一行代表一种处理方式, 每一列代表一种 VOCs, 小点代表物质浓度, 红色表示浓度较高。本次实验采用 GC-IMS 技术共鉴定出 34 种 VOCs, 其中 11 种由于数据库的局限性未匹配到具体物质, 具体可分为: 12 种醛类, 7 种醇类, 2 种酮类, 1 种呋喃类, 和 1 种芳香有机物, 如表 4-6 所示。其次, 有些高浓度的 VOCs 可以形成多种信号, 表现为二聚体或者三聚体, 在本研究中识别了 7 种二聚体。2-庚酮是亚油酸氧化的产物, HPS 处理样品的 2-庚酮、糠醛含量高于空白和 RF-Nisin 处理, 同时降低了反式-2-戊烯醛甘油缩醛、3-甲基-2-丁烯醛、(E)-2-庚烯醛、己烯醛、3-辛酮的含量, RF-Nisin 和 HPS 均降低了庚醛和异戊醇的含量。加工过程中脂类 (主要是表面游离脂肪中的不饱和脂肪酸) 氧化会形成挥发性羰基物质, 如醛类和酮类^[133]。因此, 样品中产生的挥发性醛类和酮类可以作为油脂氧化程度的指标, 根据系统导出 VOCs 的峰高可以计算其相对含量, 如表所示。与 CK 组相比, HPS、RFN10、RFN15、RFN20 降低庚醛的含量分别为 21.3%、28.7%、31.3%和 29.3%, 即 RF-Nisin 处理 10 min 时降低醛含量最显著。



PCA 是一种非监督模式识别方法，能够解释实验样本组间和组内差异。一般来说，如果 PC1 和 PC2 贡献率超过 80%，表示有显著差异^[134]。图 4-6 (d) 显示了 CK、RF-Nisin 和 HPS 处理方式对 VOCs 的 PCA 结果，包括 PC1 和 PC2 累计贡献率，其贡献率分别占 50%和 31%，这表明 RF-Nisin 和 HPS 不同处理方式对 VOCs 有显著差异性。

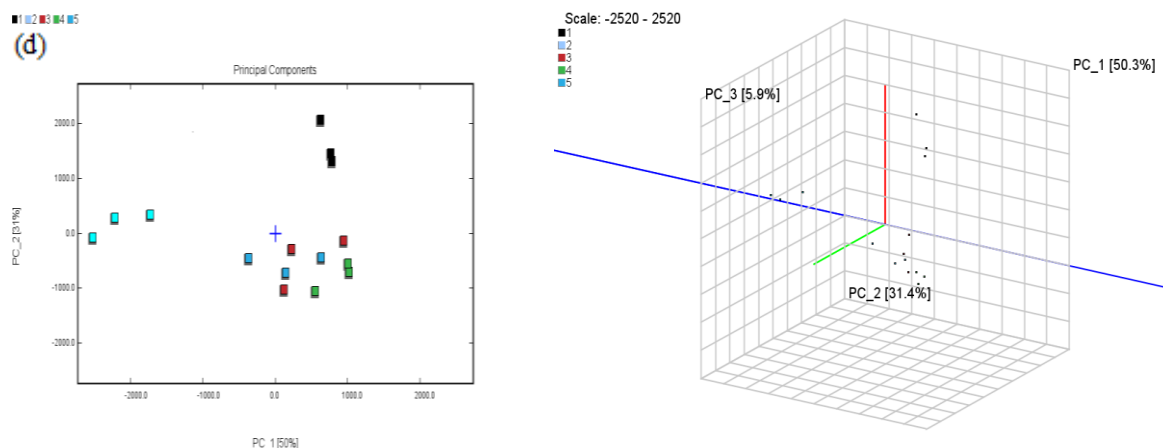


图 4-6 不同处理下双孢菇炒肉片的 VOCs (a) 3D 图; (b) 地形图; (c) 指纹图; (d) PCA 图

Figure 4-6 VOCs of Stir-fried sliced pork with *A. bisporus* under different treatments: (a) 3D graph, (b) Topographic graph, (c) Fingerprint graph, and (d) Principal Component Analysis (PCA) graph

表 4-6 不同处理的双孢菇炒肉中 29 种典型挥发性成分的相对含量

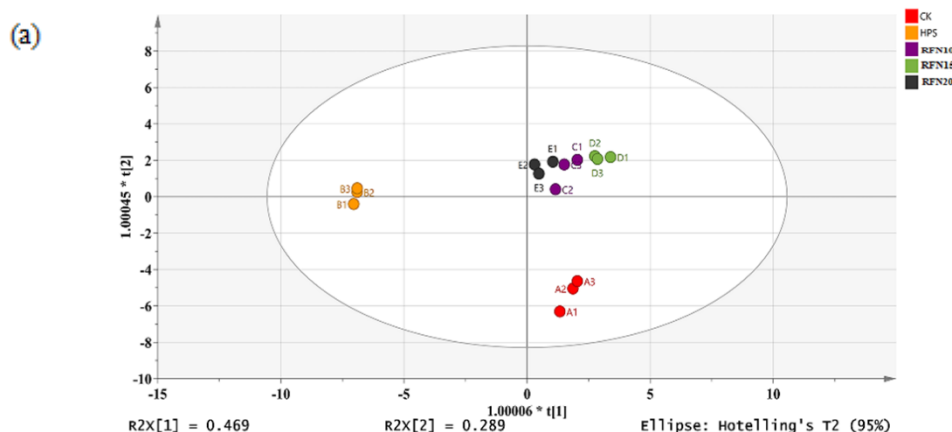
Table 4-6 Relative contents of 29 typical VOCs in Stir-fried sliced pork with *A. bisporus* with different treatments

序号	化合物	峰高				
		CK	RFN10	RFN15	RFN20	HPS
1	正壬醛	0.59±0.06 ^a	0.37±0.08 ^{bc}	0.30±0.04 ^c	0.44±0.11 ^b	0.42±0.06 ^{bc}
2	2,4,6-三甲基吡啶	0.74±0.01 ^a	0.71±0.11 ^a	0.75±0.07 ^a	0.75±0.06 ^a	0.57±0.05 ^b
3	2-戊基呋喃	0.16±0.01 ^b	0.23±0.02 ^b	0.20±0.01 ^b	0.20±0.03 ^b	0.69±0.14 ^a
4	3-辛酮-M	0.78±0.05 ^b	1.07±0.04 ^a	0.98±0.05 ^a	1.05±0.10 ^a	0.39±0.06 ^c
5	3-辛酮-D	0.24±0.05 ^{bc}	0.58±0.13 ^a	0.45±0.08 ^{ab}	0.58±0.17 ^a	0.06±0.01 ^c
6	2-苯基-1,3-二氧戊烷-4-甲醇-M	1.56±0.01 ^a	1.52±0.03 ^{ab}	1.52±0.02 ^{ab}	1.47±0.10 ^{ab}	1.42±0.03 ^b
7	(E)-2-庚烯醛-M	1.09±0.04 ^b	1.17±0.04 ^{ab}	1.28±0.01 ^a	1.04±0.14 ^b	0.61±0.13 ^c
8	2-苯基-1,3-二氧戊烷-4-甲醇-D	1.32±0.08 ^a	1.25±0.26 ^a	1.17±0.12 ^a	1.29±0.11 ^a	1.05±0.11 ^a
9	(E)-2-庚烯醛-D	0.57±0.04 ^b	0.66±0.08 ^b	0.87±0.05 ^a	0.51±0.17 ^b	0.22±0.06 ^c
10	3-(甲硫基)丙醛-M	1.18±0.23 ^{bc}	1.31±0.11 ^{ab}	1.44±0.02 ^a	1.32±0.01 ^{ab}	1.01±0.10 ^c
11	2-庚酮	0.67±0.03 ^{ab}	0.49±0.09 ^c	0.58±0.05 ^{bc}	0.56±0.02 ^c	0.73±0.03 ^a
12	1-庚醛	1.01±0.04 ^a	0.82±0.10 ^b	0.80±0.07 ^b	0.82±0.03 ^b	0.85±0.06 ^b
13	3-(甲硫基)丙醛-D	0.45±0.20 ^{bc}	0.57±0.17 ^{ab}	0.75±0.05 ^a	0.57±0.02 ^{bc}	0.3±0.07 ^c
14	庚醛	0.49±0.07 ^a	0.25±0.09 ^b	0.23±0.05 ^b	0.24±0.03 ^b	0.33±0.07 ^b
15	2-己烯醛	0.51±0.01 ^b	0.57±0.07 ^b	0.70±0.05 ^a	0.45±0.10 ^b	0.21±0.03 ^c
16	(Z)-3-己烯醇	0.50±0.03 ^{ab}	0.47±0.07 ^b	0.56±0.04 ^a	0.49±0.05 ^{ab}	0.11±0.01 ^c

续表 4-6 不同处理的双孢菇炒肉中 29 种典型挥发性成分的相对含量

序号	化合物	峰高				
		CK	RFN10	RFN15	RFN20	HPS
17	糠醛-M	0.39±0.05 ^c	0.73±0.16 ^b	0.76±0.05 ^b	0.89±0.07 ^b	3.04±0.15 ^a
18	2-己醇-M	1.29±0.02 ^a	1.28±0.01 ^a	1.30±0.02 ^a	1.28±0.03 ^a	1.16±0.04 ^b
19	2-己醇-D	2.69±0.03 ^a	2.32±0.15 ^b	2.37±0.07 ^b	2.26±0.12 ^b	2.23±0.11 ^b
20	3-甲基-2-丁烯醛-D	0.69±0.01 ^b	0.69±0.16 ^b	0.94±0.12 ^b	0.67±0.05 ^b	0.27±0.07 ^c
21	1-戊醇-M	1.26±0.01 ^a	1.11±0.79 ^{bc}	1.12±0.04 ^b	1.09±0.04 ^{bc}	1.0±0.06 ^c
22	1-戊醇-D	0.45±0.01 ^a	0.28±0.06 ^b	0.27±0.04 ^b	0.25±0.03 ^b	0.27±0.03 ^b
23	2-甲基-1-丁醇	0.44±0.05 ^a	0.35±0.06 ^b	0.33±0.03 ^b	0.30±0.01 ^b	0.34±0.06 ^b
24	3-甲基-1-丁醇	0.45±0.03 ^a	0.17±0.03 ^a	0.19±0.01 ^a	0.19±0.01 ^a	0.16±0.01 ^b
25	3-甲基丁醛	1.44±0.01 ^a	1.43±0.01 ^b	1.45±0.02 ^b	1.44±0.02 ^b	1.34±0.07 ^b
26	2-丙硫醇	0.23±0.01 ^b	0.45±0.12 ^a	0.53±0.01 ^a	0.51±0.04 ^a	0.47±0.09 ^a
27	(E)-2-戊烯醛	0.52±0.04 ^{bc}	0.61±0.58 ^{ab}	0.72±0.20 ^a	0.50±0.13 ^{bc}	0.45±0.04 ^c
28	糠醛-D	1.07±0.51 ^c	1.36±0.08 ^b	1.40±0.02 ^b	1.45±0.03 ^{ab}	1.50±0.39 ^a
29	3-甲基-2-丁烯醛-M	1.17±0.01 ^{ab}	1.21±0.08 ^{ab}	1.34±0.04 ^a	1.14±0.13 ^b	0.73±0.11 ^c

OPLS-DA 是一种有监督的判别统计方法，用于识别样品差异并确定与这些差异相关的特征标记^[135]。OPLS-DA 生成了有效的区分图该模型表现出良好的拟合，自拟合指数 $R^2 X = 0.968$ ，响应拟合指数 $R^2 Y = 0.867$ ，预测能力 $Q^2 = 0.587$ ，均大于 0.5，四组均在 95%置信区间内，表明模型具有良好的预测能力。模型的可靠性通过置换测试进一步验证，以避免过度拟合。由图 4-7 (b) 可知，经过 200 次置换后， R^2 的范围为 (0.0, 0.53)， Q^2 的范围为 (0.0, -1.31)。Y 轴上相交于零以下的 Q^2 回归线表明模型没有过度拟合。基于 OPLS-DA 模型中的变量重要性投影 (VIP) 和挥发性化合物，进一步量化了各挥发性化合物对双孢菇炒肉整体风味的贡献。



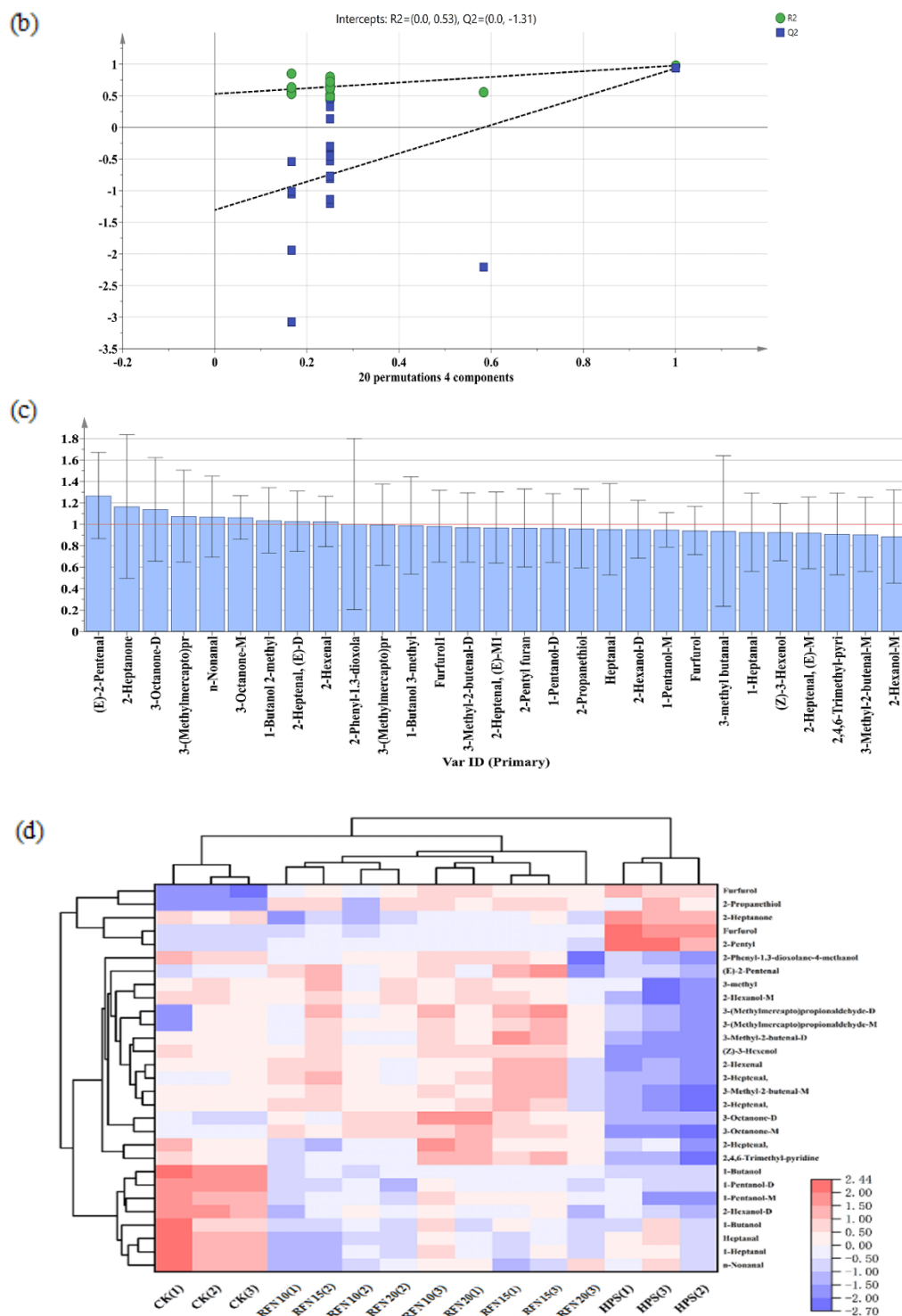


图 4-7 双孢菇炒肉片挥发性成分 OPLS-DA 分析(a) OPLS-DA 评分图; (b) 置换检验图; (c) VIP 值分布; (d) 聚类热图

Figure 4-7 VOCs OPLS-DA analyzed of Stir-fried sliced pork with *A. bisporus*. (a) OPLS-DA scores plot; (b) Displacement test plot; (c) Distribution of VIP values; (d) Clustering heatmap.

基于 $VIP > 1.0$ 和 $P < 0.05$ 选择挥发性化合物作为特征，在判别分析中被认为是显著的。该变量在判别分析中被认为是重要的。VIP 值反映了每个自变量对模型的

贡献。VIP 值越高，表明该变量在解释目标变量方面的作用越大。根据图 4-7(c)，这种筛选方法已被应用于从 5 组双孢菇炒肉样品中检测到的 29 种挥发性物质中，筛选出 11 种特征性挥发性物质，包括 5 种醛 ((E)-2-戊烯醛-M、(E)-2-戊烯醛-D、3-丙醛、正壬醛、2-己烯醛)，3 种酮 (2-庚酮、3-辛酮-M、3-辛酮-D) 和 2 种醇 (2-甲基-1-丁醇、2-苯基-1,3-二氧戊烷-4-甲醇)，在 11 种特征挥发性物质中，(E)-2-戊烯醛的 VIP 值最高，其次是 2-庚酮。这些特征化合物大多来源于涉及不饱和脂肪酸的反应，表明 5 组双孢菇炒肉样品之间的差异主要源于脂肪含量。

基于 11 种挥发性化合物的信号强度值，创建了聚类热图，以说明 5 组双孢菇炒肉组之间特征挥发性化合物的差异。如图 4-7 (d) 所示，醛类化合物对 5 组双孢菇炒肉都有显著贡献，庚醛在 CK 组占主导地位，酮类化合物在 HPS、RFN10 和 RFN20 组都有显著贡献，醇类化合物对 CK 组有显著贡献。

4.5 本章小结

RF-Nisin 和 HPS 两种处理方式都会对双孢菇炒肉片品质、VOCs 和微观结构产生影响。其中 RF-Nisin 处理是在 RH 一定的前提下，改变处理时间，从而得到不同的处理结果。研究发现，当处理 15 min 时，即可达到灭菌要求，且对双孢菇炒肉片品质、微观结构和挥发性风味影响较小，且 RF-Nisin 处理 15 min 能够维持总可溶性固形物和蛋白质含量，这项研究将为延长菜肴货架期提供一种新思路。

第 5 章 结论与展望

5.1 结论

本研究以新鲜双孢菇为原料，创新性地采用 RF-Nisin 方法处理双孢菇，并对双孢菇货架期内的感官品质、营养品质、微观结构、抑制褐变现象酶活性变化和挥发性风味变化进行初步探究。在此方法基础上，应用到更复杂的中式典型菜肴——双孢菇炒肉片中。

(1) 采用单因素实验考察了 Nisin 浓度、RH 和 RT 对双孢菇菌落总数的影响，得到最优的 RF-Nisin 杀菌组合条件为：Nisin 溶液 0.25 g/kg，RH=12 cm，RT=15 min；

(2) 在确定 RF-Nisin 处理双孢菇最优组合的基础上，对双孢菇进行感官评价，对色差、质构、蛋白质、MDA、可溶性固形物和 SEM 进行测定。结果表明，RF-Nisin 处理比单独 RF 或 Nisin 对双孢菇的感官品质、营养品质和微观结构具有更好的效果，将货架期从 3 d 延长至 9 d。此外，GC-IMS 共测定出 34 种 VOCs，经 RF-Nisin 处理的双孢菇能更好的抑制不良气味物质——醛酮类物质；

(3) 针对 RF 和 RF-Nisin 处理对双孢菇褐变现象发生和抗氧化能力相关性的影响，进行抗氧化活性、酶活性和香气成分测定。结果发现：RF-Nisin 处理能够钝化双孢菇中的酶活性，增强抗氧化活性，延缓褐变现象；

(4) 将 RF-Nisin 处理与传统 HPS 处理进行对比，实验结果表明，HPS 虽然具有较好的灭菌效果，但不能满足消费者对口感和营养的需求。RF-Nisin 处理在保证双孢菇炒肉片货架期的基础上，可以让双孢菇炒肉片具有原始特色、维持可溶性固形物和蛋白质含量、对微观结构和香气成分破坏程度小。

5.2 创新点

本研究围绕 RF-Nisin 协同处理双孢菇展开，其创新点可从技术应用和保鲜机制两方面概括。技术应用上，首次将该协同技术用于双孢菇保鲜；保鲜机制上，发现其钝化酶技术能维持果蔬品质。具体内容如下：

(1) 创新保鲜技术应用：创新性地将 RF-Nisin 协同杀菌技术应用于双孢菇保鲜，突破传统单一保鲜技术局限。此前双孢菇保鲜多采用低温冷藏、气调包装等常规手段，存在保鲜效果有限、成本高或易造成营养流失等问题。本研究首次将 RF 与 Nisin 协同，为双孢菇保鲜提供新方案，显著延长货架期，从 3 d 提升至 9 d，还能维持其感官和营养品质，为食用菌保鲜技术发展开拓新思路。

(2) 揭示独特保鲜机制：发现 RF-Nisin 协同处理可钝化双孢菇中的酶活性，抑制褐变并维持品质。以往研究未深入探讨此协同处理对双孢菇酶活性及品质影响机制。本研究通过实验证实，该处理能降低 PPO、POD 活性，减少酚类氧化，提升抗氧化能力，维持细胞膜完整性，为双孢菇保鲜提供更科学合理的理论依据，有助于推动新型保鲜技术研发。

5.3 展望

(1) 品质安全性评估：随着消费者对食品安全与品质要求提高，未来需系统评估 RF-Nisin 协同处理对双孢菇及其菜肴中营养成分生物利用率、潜在有害物质生成等方面的影响，确保该技术在提升保鲜效果的同时，不影响食品的安全性和营养价值，满足消费者对健康食品的需求。

(2) 深入作用机制研究：虽然已初步揭示部分作用方式，但对于 RF-Nisin 协同作用下，双孢菇细胞内信号传导通路的变化、相关基因表达的动态调控等分子层面机制还了解甚少。借助转录组学、蛋白质组学等技术，将有助于从基因和蛋白表达层面深度解析，为技术完善提供坚实理论依据。

参考文献

- [1] 高翔. 双孢菇大棚高产栽培技术 [J]. 长江蔬菜,2024,11(04):66-68.
- [2] 刘雪. 双孢菇生产智能控制技术研究现状及发展趋势[J]. 智慧农业导刊,2023,3(02):7-12.
- [3] 崔晨露. 脱酰胺和磷酸化改性双孢菇蛋白质及其性质研究[J]. 食品与发酵工业,2025,11:1-8.
- [4] 孙晓燕.自溶对双孢菇多糖体外抗氧化和抗肿瘤活性的影响[J]. 食品科学,2022,43(17):74-83.
- [5] 崔媛. 电子束转靶 X 射线预处理对双孢菇采后贮藏品质的影响[J]. 食品科学,2024,45(23):242-249.
- [6] 刘军平. 葛根提取物对双孢菇防褐变保鲜的影响[J]. 食品与发酵工业,2024,50(17):310-317.
- [7] Rorato C A, Longhi A D, Biz P A, et al. Enhancing quality of dried *Agaricus bisporus*: Advanced techniques in vacuum impregnation and freeze-drying[J]. Drying Technology,2025,43(4):653-667.
- [8] Lina H, Jinfeng B, Xin J, et al. Impact of physical changes in mushroom on variation in moisture sorption[J]. Journal of Food Engineering,2023,351,11-15.
- [9] Yasaman E, Nafiseh Z, Roya M. The effect of polypropylene film containing nano-hydroxyapatite on Physicochemical and microbiological properties of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) under Modified atmosphere packaging[J]. Journal of Food Measurement and Characterization,2022,17(1):773-786.
- [10] Ye S, Chen M, Liu Y, et al. Effects of nanocomposite packaging on postharvest quality of mushrooms (*Stropharia rugosoannulata*) from the perspective of water migration and microstructure changes[J]. Journal of Food Safety,2023,43(4)10-11.
- [11] Shi B, Ping H, Zhi Z, et al. Caffeic acid-grafted chitosan/polylactic acid packaging affects bacterial infestation and volatile flavor of postharvest *Agaricus bisporus*[J]. Journal of Food Composition and Analysis,2023,122,10-15.
- [12] Li D, Qin X, Tian P, 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.

- [13] Gholami R, Ahmadi E, Farris S. Shelf life extension of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) by low temperatures conditioning, modified atmosphere, and nanocomposite packaging material[J]. Food Packaging and Shelf Life,2017,14,88-95.
- [14] Magdalena Z, Elzbieta G, Monika M. Effect of applied ozone dose, time of ozonization, and storage time on selected physicochemical characteristics of mushrooms (*Agaricus bisporus*) [J]. Agriculture,2021,11(8):748-748.
- [15] Yeom J S, Lee A G, Kim S S, et al. Effect of gamma irradiation on post-harvest quality of king oyster mushrooms (*Pleurotus eryngii*) [J]. Food Science and Preservation,2023,30(5):729-742.
- [16] Saideh F, Nasser H, Javad K. Qualitative attributes of button mushroom (*Agaricus bisporus*) frozen under high voltage electrostatic field[J]. Journal of Food Engineering,2021,293: 0260-8774.
- [17] Olotu O I, Obadina O A, Sobukola P O, et al. Effect of chemical preservatives on shelf life of mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivated on cassava peels[J]. International Journal of Food Science & Technology,2015,50(6):1477-1483.
- [18] Khan Z, Ullah B, Jianwen K, et al. Integrated treatment of CaCl₂, citric acid and sorbitol reduces loss of quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage[J]. Journal of Food Processing and Preservation,2015,39(6):2008-2016.
- [19] Mahshid N, Mohsen B, Ali M S, et al. Efficiency of *Tragacanth* gum coating enriched with two different essential oils for deceleration of enzymatic browning and senescence of button mushroom (*Agaricus bisporus*) [J]. Food science & nutrition,2019,7(4):1520-1528.
- [20] Gholami P, Chadorshabi S, Shamloo E, et al. Phlorotannins extracted from *Sargassum ilicifolium* as a way to control spoilage molds and extend the shelf life of *Agaricus bisporus* mushrooms[J]. Postharvest Biology and Technology,2025,219,113267-113267.
- [21] Kalita P, Kalita T, Bora S N, et al. A review on natural polymer-based film/coating in postharvest mushroom preservation[J]. Food Control,2025,172,111185-111185.
- [22] Tanhaş E, Martin E, Korucu N E, et al. Effect of aqueous extract, hydrosol, and essential oil forms of some endemic *Origanum L. (Lamiaceae)* taxa on polyphenol oxidase activity in fresh-cut mushroom samples[J]. Journal of Food Processing and Preservation,2020,44(10): 1-8.

- [23] Wang X, Huang X, Zhang F, et al. Characterization of chitosan/zein composite film combined with tea polyphenol and its application on postharvest quality improvement of mushroom (*Lyophyllum decastes* Sing) [J]. Food Packaging and Shelf Life,2022,33: 2214-2894.
- [24] Zhang Y, Feng X, Shi D, et al. Properties of modified chitosan-based films and coatings and their application in the preservation of edible mushrooms: A review. [J]. International journal of biological macromolecules,2024,270(P1):132265-132265.
- [25] Liu S, Zheng S, Zhang W. Modeling the effects of ϵ -poly- l- lysine, chitosan, and temperature as hurdles on the prevention and control of indicator bacteria in a submerged culture of the commercially important *Flammulina velutipes* for liquid spawn production[J]. Scientia Horticulturae,2020,270: 0304-4238.
- [26] 赵春燕,叶春苗,李成莹,等.壳聚糖复合涂膜处理对采后杏鲍菇贮藏品质影响[J].食品研究与开发,2017,38(03):202-207.
- [27] 黄清华,王帅博,苏琪琪,等.超声波预处理对微波处理白玉菇品质的影响[J].农产品加工,2024,(17):25-29.
- [28] 潘艳娟,王建清,王猛.气调与精油等包装技术联合应用对双孢菇品质的影响[J].包装工程,2015,36(09):33-37.
- [29] 申佳微,负建民,卿纯,等.富氢水浸泡联合聚乙烯纳米包装对双孢菇采后贮藏品质和抗氧化能力的影响[J].食品科学,2025,219:1-11.
- [30] 王彪.臭氧熏蒸联合聚乙烯纳米包装处理对双孢菇采后褐变、软化及滋味物质的影响[D].甘肃农业大学,2024,219.
- [31] Gómez B P, López F J, Clavijo P M, et al. Optimization of Mushroom (*Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*) by-products processing for prospective functional flour development[J]. Foods,2024,13(24):4046-4046.
- [32] Vattapparambil A, Ajithkumar P A, Dubey P, et al. Exploring the potential of mushrooms in ready-to-eat snack formulations[J]. International Journal of Food Science & Technology,2024,59(12):9562-9570.
- [33] Wang W, Zheng C, Yang B, et al. Effect of radio frequency pretreatment on the component of rapeseed and its product: Comparative study with microwave pretreatment under different oil extraction methods [J]. Food Chemistry,2025,474:143167-143167.

- [34] Yan G, Fu X, Wang Y, et al. Radio frequency fingerprint identification towards statistical and deep learning features: Review, recent results and future directions[J]. Peer-to-Peer Networking and Applications,2025,18(3):116-116.
- [35] Wang Z, Li Q, Jiang S Y, et al. Improving radio frequency heating uniformity in cauliflower by changing density in different zones[J]. Food and Bioproducts Processing, 2024, 143: 1-8.
- [36] Yao Y, Zhang B, Pang H, et al. The effect of radio frequency heating on the inactivation and structure of horseradish peroxidase[J]. Food Chemistry, 2023, 398: 133875.
- [37] Jiao Q Q, Lin B Y, Mao Y x, et al. Effects of combined radio frequency heating with oven baking on product quality of sweet potato[J]. Food Control, 2022,139:0956-7135.
- [38] Cui B z, Wang K, Hu N, et al. Combination of radio frequency heating and antibacterial agents for microorganism control in the production of packaged tofu[J]. Food Control, 2023,154: 0956-7135.
- [39] Geveke D J. Inactivation of yeast and bacteria using combinations of radio frequency electric fields and ultraviolet light[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2020,44(4): 0145-8892.
- [40] Xu J C, Zhang M, Cao P, et al. Pasteurization of flavored shredded pork using ZnO nanoparticles combined with radio frequency pasteurization technology[J]. Journal of Food Science and Technology-Mysore,2021,58(1): 216-222.
- [41] Yang Y S, Geveke D J. Shell egg pasteurization using radio frequency in combination with hot air or hot water[J]. Food Microbiology,2020,85: 20-74.
- [42] Nagaraj G, Purohit A, Harrison M, et al. Radiofrequency pasteurization of inoculated ground beef homogenate[J]. Food Control,2016,59: 59-67.
- [43] Zhai X C, Feng Y X, Zhao R J, et al. Nisin as a safe and effective alternative to sulfur dioxide in enhancing dateplum persimmon (*Diospyros lotus L.*) wine quality [J]. LWT -Food Science and Technology, 2024,193:23-38.
- [44] Guo L, Stoffels K, Broos J, et al. Altering specificity and enhancing stability of the antimicrobial peptides nisin and rombocin through dehydrated amino acid residue engineering [J]. Peptides,2024,174: 1873-5169.
- [45] Mohamed B E M, Sebaei S A, Mahmoud M N, et al. Electrochemical and chromatographic methods for the determination of some natural food preservatives—A review[J]. Food Chemistry,2025,468: 142491-142491.

- [46] Wu J, Zang M, Wang S, et al. Nisin: From a structural and meat preservation perspective[J]. Food Microbiol, 2023,111:104-207.
- [47] Mendes-Oliveira G, Gu G Y, Luo Y G, et al. Edible and water-soluble corn zein coating impregnated with nisin for *Listeria monocytogenes* reduction on nectarines and apples [J]. Postharvest Biology and Technology, 2022,185:111-181.
- [48] Liu W Q, Huang K Y, Tan Z M, et al. Application of nisin-embedded pectin microcapsules for ‘Guiqi’ mango fruit postharvest preservation[J]. Food Packaging and Shelf Life,2024,42: 2214-2894.
- [49] Hernandez-Mendoza E, Aida Pena-Ramos E, Juneja V K, et al. Optimizing the effects of nisin and NaCl to thermal inactivate *Listeria monocytogenes* in ground beef with chipotle sauce during sous-vide processing[J]. Journal of Food Protection,2023,86(5): 1944-9097.
- [50] Zhang M, Luo W, Yang K, et al. Effects of sodium alginate edible coating with cinnamon essential oil nanocapsules and nisin on quality and shelf life of beef slices during refrigeration[J]. Journal of Food Protection, 2022,85(6): 896-905.
- [51] Ning Y W, Hou L L, Ma M G, et al. Synergistic antibacterial mechanism of sucrose laurate combined with nisin against *Staphylococcus aureus* and its application in milk beverage[J]. LWT-Food Science and Technology,2022,158: 113-145.
- [52] Sevgin D, Burcu E G, Sevim K. Sorption, diffusivity, permeability and mechanical properties of chitosan, potassium sorbate, or nisin incorporated active polymer films[J]. Journal of food science and technology,2020,57(10):3708-3719.
- [53] Zhang B J, Gao P Z, Liu H X, et al. The effect of RF treatment combined with nisin against *Alicyclobacillus Spores* in kiwi fruit juice[J]. Food and Bioprocess Technology,2017,10(2):340-348.
- [54] Souhir K, Chloé M, Chedia A, et al. Inhibitory effect of high hydrostatic pressure, nisin, and moderate heating on the inactivation of *Paenibacillus* and *Terribacillus aidingensis* spores isolated from UHT milk[J]. High Pressure Research,2021,41(3):328-340.
- [55] Kalita P, Kalita T, Bora S N, et al. A review on natural polymer-based film/coating in postharvest mushroom preservation[J]. Food Control,2025,172:111185-111185.
- [56] Wang B, Yun J, Ye C, et al. A novel polyethylene nanopackaging combined with ozone fumigation delayed the browning and softening of *Agaricus bisporus* during postharvest storage[J]. Postharvest Biology and Technology,2024,210:112-171.
- [57] Wang C, Kou X, Zhou X, et al. Effects of layer arrangement on heating uniformity and

- p>product quality after hot air assisted radio frequency drying of carrot[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies,2021,69: 1466-8564.
- [58] Li Q, Zuo Y, Wang X, et al. Sensitivity analysis of container properties to heating uniformity of soybeans during radio frequency treatment[J]. Journal of Food Engineering,2024,365:118-122.
- [59] Anshul D, and Snehasis C. Impact of pulsed light treatment on enzyme inactivation and quality attributes of whole white button mushroom (*Agaricus bisporus*) and its storage study[J]. Food Chemistry,2024,463: 141-142.
- [60] Pu H, Yu J, Liu Z, et al. Evaluation of the effects of vacuum cooling on moisture contents, colour and texture of mushroom (*Agaricus Bisporus*) using hyperspectral imaging method[J]. Microchemical Journal,2023,190: 026-265.
- [61] Liu F, Xu Y, Zeng M, et al. A novel physical hurdle technology by combining low voltage electrostatic field and modified atmosphere packaging for long-term stored button mushrooms (*Agaricus bisporus*) [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies,2023,90:1466-8564.
- [62] Zhao Z, Wang X, Ma T. Properties of plasma-activated water with different activation time and its effects on the quality of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) [J]. LWT-Food Science and Technology,2021,147: 0023-6438.
- [63] Xu Y, Tian Y, Ma R, et al. Effect of plasma activated water on the postharvest quality of button mushrooms, *Agaricus bisporus*[J]. Food Chemistry,2016,197: 436-444.
- [64] Yan M, Yuan B, Xie Y, et al. Improvement of postharvest quality, enzymes activity and polyphenoloxidase structure of postharvest *Agaricus bisporus* in response to high voltage electric field[J]. Postharvest Biology and Technology,2020,166: 111-230.
- [65] Hu D, Wang Y, Kong F, et al. Analysis of volatile aroma components in different parts of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) treated with ultravioletc light-Emitting diodes based on gas chromatography-ion mobility spectroscopy[J]. Molecules,2024,29(8): 1420-3049.
- [66] Xu J, Zhang Y, Hu C, et al. The flavor substances changes in *Fuliang* green tea during storage monitoring by GC–MS and GC-IMS[J]. Food Chemistry X,2024,21: 1575-2590.
- [67] Nesakumar N, Chanthini B, Srinivasan K, et al. Analysis of moisture content in beetroot using fourier transform infrared spectroscopy and by principal component analysis[J]. Scientific Reports,2018,8.1:1-10.

-
- [68] Yao Y, Zhang B, Zhou L, et al. Steam-assisted radio frequency blanching to improve heating uniformity and quality characteristics of stem lettuce cuboids[J]. Food and Bioprocess Technology,2022(8),1907-1917.
 - [69] Zheng J, Jiang L, Ye X, et al. Developing a spouted bed for combined radio frequency-hot air treatments to improve the heating uniformity in high-moisture carrot cubes[J]. Journal of Food Engineering,2024,375: 077-112.
 - [70] Zhou B, Zuo Y, Yang H, et al. Modelling radio frequency heating of randomly stacked walnut kernels with different particle size[J]. Biosystems Engineering,2023,228: 56-66.
 - [71] Akuleti S, Anupama S, Ankita D, et al. A review on the impact of physical, chemical, and novel treatments on the quality and microbial safety of fruits and vegetables[J]. Systems Microbiology and Biomanufacturing,2023,4(2):575-597.
 - [72] Josiel M C, and Francesco M. Advances in food processing through radio frequency technology: Applications in pest control, microbial and enzymatic inactivation. Food Engineering Reviews,2024,16(3): 422-440.
 - [73] Matan N, Puangjinda K, Phothisuwan S, et al. Combined antibacterial activity of green tea extract with atmospheric radio-frequency plasma against pathogens on fresh-cut dragon fruit [J]. Food Control, 2015, 50: 291-6.
 - [74] Lin Q, Lu Y, Zhang J, Liu W, Guan W, Wang Z. Effects of high CO₂ in-package treatment on flavor, quality and antioxidant activity of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2017,123: 112–118.
 - [75] Lei, M., Guo, L., Zhang, Y, et al. Effectiveness of anaerobic treatment combined with microperforated film packaging in reducing *Agaricus bisporus* postharvest browning. Postharvest Biology and Technology,2024,211:112-833.
 - [76] Inla K, Bunchan S, Krittacom B, et al. Drying behavior, color change and rehydration of lingzhi mushroom (*Ganoderma lucidum*) under convection-assisted microwave drying[J]. Case Studies in Thermal Engineering,2023,49: 103-348.
 - [77] Zhang X, Shi Q, Gao T, et al. Developing radio frequency blanching process of apple slice[J]. Journal of Food Engineering,273:109832-109832.
 - [78] Liu F, Xu Y, Zeng M, et al. A novel physical hurdle technology by combining low voltage electrostatic field and modified atmosphere packaging for long-term stored

- hr/>
- button mushrooms (*Agaricus bisporus*). Innovative Food Science & Emerging Technologies,2023,90: 1466-8564.
- [79] Guo W, Tang X, Cui S, et al. Recent advance in quality preservation of non-thermal preservation technology of fresh mushroom: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition,2024,64: 1–17.
- [80] Wang B, Yun J, Guo W, et al. Transcriptomic analysis reveals the mechanism of ozone fumigation combined with polyethylene nanopackaging for delaying the browning and softening of mushrooms (*Agaricus bisporus*) [J]. Postharvest Biology and Technology,2024,219: 113272-113272.
- [81] Giovana C L, Larissa T, Jeannine B, et al. Application of bi-layers active gelatin films for sliced dried-cured *Coppa* conservation. Meat Science,2022,89: 108821-108821.
- [82] Ni Y, Yu H, Shao P, et al. Preservation of *Agaricus bisporus* freshness with using innovative ethylene manipulating active packaging paper[J]. Food Chemistry,2021,345: 0308-8146.
- [83] Krishan K, Aradhita R B. Development and shelf-life evaluation of tomato-mushroom mixed ketchup [J]. Journal of Food Science and Technology,2016,53(5):2236-43.
- [84] Chen C W, Chen W J, Dai F Q, et al. Development of packaging films with gas selective permeability based on poly (butylene Adipate-coterephthalate)/poly (butylene succinate) and its application in the storage of white mushroom (*Agaricus bisporus*) [J]. Food and Bioprocess Technology, 2022, 15(6): 1268–1283.
- [85] Marcal S, Sousa S, Taofiq O, et al. Impact of postharvest preservation methods on nutritional value and bioactive properties of mushrooms[J]. Trends in Food Science & Technology,2021,110,2021,418–431.
- [86] Popa M, Ioan T, Olga D, et al. Influence of convective and vacuum-type drying on quality, microstructural, antioxidant and thermal properties of pretreated boletus edulis mushrooms[J]. Molecules,2022,27(13):4063-4063.
- [87] Yao X, Zang Y, Gu J, et al. Microstructure analysis and quality evaluation of jujube slices dried by hot air combined with radio frequency heat treatment at different drying stages[J]. Foods,2022(19),3086-3086.
- [88] Elena B, Paulina Z, Vytaute S, et al. Changes in lacto-fermented *Agaricus bisporus* (white and brown varieties) mushroom characteristics, including biogenic amine and volatile compound formation[J]. Foods,2023,12(13):24-41.
- [89] Xie Y, Liu Q, Mao C, et al. Radio frequency drying and puffing of composite purple

- p sweet potato chips[J]. Journal of Food Composition and Analysis,2023,29:105-736.
-
- [90] Wang D, Zhang J, Zhu Z, et al. Effect of ageing time on the flavor compounds in Nanjing water-boiled salted duck detected by HS-GC-IMS[J]. LWT,2022,155: 112-870.
-
- [91] Yan X, Meng F, Van T T, et al. Impact of chitosan, trans-cinnamaldehyde, poly (vinyl alcohol) and TiO
- ₂
- bio-nanocomposites on preservation and flavor of postharvest button mushroom (
- Agaricus bisporus*
-) [J]. LWT,2025,217: 117377-117377.
-
- [92] Baskar C, Nesakumar N, Kesavan S, et al. ATR-FTIR as a versatile analytical tool for the rapid determination of storage life of fresh
- Agaricus bisporus*
- via its moisture content. Postharvest Biology and Technology,2019,154: 159-168.
-
- [93] Anshul D, Snehasis C. Optimization of active pectin coating formulation and its effect on surface morphology and shelf-life of white button mushroom (
- Agaricus bisporus*
-). Measurement: Food,2024,13: 2772-2759.
-
- [94] Kalita P, Kalita T, Bora S N, et al. A review on natural polymer-based film/coating in postharvest mushroom preservation[J]. Food Control,2025,172: 111185-111185.
-
- [95] Lei M, Guo L, Zhang Y, et al. Effectiveness of anaerobic treatment combined with microperforated film packaging in reducing
- Agaricus bisporus*
- postharvest browning[J]. Postharvest Biology and Technology,2024,211: 112-833.
-
- [96] Aydin S, Naghshiband R H, Soleimani M A, et al. The effects of melatonin treatment on cap browning and biochemical attributes of
- Agaricus bisporus*
- during low temperature storage[J]. Food Chemistry,2021,348: 129074-129074.
-
- [97] Panrong Z, Donglu F, Fei P, et al. Nanocomposite packaging materials delay the browning of
- Agaricus bisporus*
- by modulating the melanin pathway[J]. Postharvest Biology and Technology,2022,192: 0925-5214.
-
- [98] He X, Zhong J, Wei R, et al. Enhancement of quality and self-defense capacity of
- Agaricus bisporus*
- by UV-C treatment[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2023,104(1):400-408.
-
- [99] Liu F, Xu Y, Zeng M, et al. A novel physical hurdle technology by combining low voltage electrostatic field and modified atmosphere packaging for long-term stored button mushrooms (
- Agaricus bisporus*
-) [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies,2023,90: 1466-8564.
-
- [100] Yan X, Cheng Meng, Wang Y, et al. Evaluation of film packaging containing mesoporous nanosilica and oregano essential oil for postharvest preservation of

- mushrooms (*Agaricus bisporus*) [J]. Postharvest Biology and Technology,2023,198:0925-5214.
- [101] Bahndral A, Shams R, Dash K K, et al. Microwave assisted extraction of chitosan from *Agaricus bisporus*: techno-functional and microstructural properties[J]. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications,2025,9: 100730-100730.
- [102] Zeng L, Fan A, Yang G, et al. Nisin and ϵ -polylysine combined treatment enhances quality of fresh-cut jackfruit at refrigerated storage[J]. Frontiers in Nutrition,2024,11: 1299810-1299810.
- [103] Li L, Mu Y, Chen J, et al. Molecular mechanism by which StSN2 overexpression inhibits the enzymatic browning of potato[J]. Postharvest Biology and Technology,2023,203:112-416.
- [104] Kadavakollu S, Khalid G, Rachna S, et al. Impact of in-package cold plasma treatment on the physicochemical properties and shelf life of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) [J]. Food Bioscience,2023,52: 102-425.
- [105] Raman K, Moovendran S, Ulagan P M, et al. Dietary nutrients in edible mushroom, *Agaricus bisporus* and their radical scavenging, antibacterial, and antifungal effects[J]. Process Biochemistry,2022,121:10-17.
- [106] Jin J, Deng X, Zhou J, et al. The mechanisms of inactivation of polyphenol oxidase in fresh-cut *Agaricus bisporus* by dual-frequency ultrasound combined with electrolytic water[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2025,114: 107-277.
- [107] Lara G, Chieko T, Miku N, et al. Application of radio frequency heating in water for extending the shelf-life of fresh-cut Japanese loquat fruit (*Eriobotrya japonica*): Original papers[J]. Food Science and Technology Research,2021,27(6),847-857.
- [108] Guo Y, Chen X, Gong P, et al. Effect of shiitake mushrooms polysaccharide and chitosan coating on softening and browning of shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) during postharvest storage[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2022,218,816–827.
- [109] Wang T, Yun J, Zhang Y. et al. Effects of ozone fumigation combined with nano-film packaging on the postharvest storage quality and antioxidant capacity of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) [J]. Postharvest Biology and Technology,2021,176, 111-501.

- [110] Jiang T, Zheng X, Li J, et al. Integrated application of nitric oxide and modified atmosphere packaging to improve quality retention of button mushroom (*Agaricus bisporus*) [J]. Food Chemistry,2011,126,1693–1699.
- [111] Aydin S, Naghshiband R H, Soleimani M A, et al. The effects of melatonin treatment on cap browning and biochemical attributes of *Agaricus bisporus* during low temperature storage[J]. Food Chemistry,2021,348: 129074-129074.
- [112] Yang L, Li Z, Ping S, et al. Phase-change materials and exogenous melatonin treatment alleviated postharvest senescence of *Agaricus bisporus* by inhibiting browning and maintaining cell membrane integrity[J]. Postharvest Biology and Technology,2022,192.
- [113] Mehmet O, Emin Y, Riza T, et al. Effectiveness of different packaging films and trays on mushrooms (*Agaricus bisporus*) subjected to simulated transportation conditions at different vibration frequencies[J]. Journal of Food Processing and Preservation,2021,45(5):0145-8892.
- [114] Bai F T, Guo D, Wang Y et al. The combined bactericidal effect of nisin and thymoquinone against *Listeria monocytogenes* in *Tryptone Soy Broth* and sterilized milk[J]. Food Control, 2022,135:108-771.
- [115] Qin X, Chen L, Zhao J, et al. Crosslinked protein-polysaccharide nanocomposite coating for pork preservation: Impact on physicochemical properties and microbial structure[J]. Food Chemistry,2025,470:142721-142721.
- [116] Khoder M R, Deng X, Zhang L, et al. Effect of cinnamaldehyde and tannic acid nano-emulsions on meat quality and protein oxidation during cold storage[J]. Food Packaging and Shelf Life,2025,48:101462-101462.
- [117] Xie Y. M, Liu Q, Mao C, et al. Radio frequency puffing of purple sweet potato nutritious snacks[J]. Journal of Food Engineering,2024,367:111-894.
- [118] Mao C, Ye P F, Liu T, et al. Evaluation of mechanical properties, heating rate and radio frequency explosive puffing (RFEP) quality of purple sweet potato under different moisture contents and moisture equilibrium process[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies,2024,93: 1466-8564.
- [119] Xu J, Zhang M, Cao P, Adhikari B, et al. Microorganisms control and quality improvement of stewed pork with carrots using ZnO nanoparticels combined with radio frequency pasteurization[J]. Food Bioscience,2019,32: 2212-4292.
- [120] Pang H, Jia Y, Zhang Z, et al. Mushroom polyphenol oxidase inactivation kinetics and structural changes during radiofrequency heating[J]. Food Bioscience,2024,62: 2212-

4292.

- [121] Werenska M. Comparative study on the effects of sous-vide, microwave cooking, and stewing on functional properties and sensory quality of goose meat[J]. Journal of Poultry Science,2023,102(11): 0032-5791.
- [122] Du T, Jiang J, Suo M, et al. Nisin combined with radio frequency: Effectiveness on microbial growth, physiological quality, and structure of freshcut carrots[J]. Food Control,2024,160: 0956-7135.
- [123] Muhialdin B J, and Ubbink J. Effect of cooking time and conditions on the textural properties of meat analogues developed for stew-based dishes[J]. International Journal of Gastronomy and Food Science,2024,35: 100-861.
- [124] Xu J, Zhang M, Cao P, et al. Pasteurization of flavored shredded pork using ZnO nanoparticles combined with radio frequency pasteurization technology[J]. Journal of Food Science and Technology,2020,58(1):1-7.
- [125] Zang Z, Wan F, Ma G, et al. Enhancing peach slices radio frequency vacuum drying by combining ultrasound and ultra-high pressure as pretreatments: Effect on drying characteristics, physicochemical quality, texture and sensory evaluation[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2024,103: 1350-4177.
- [126] Ahn S, Yu S, Kim Y, et al., Heat penetration and quality attributes of superheated steam sterilization (SHS) home meal replacement (HMR) meat products stew[J]. LWT, 2024,191:115-621.
- [127] Ni, Y, Yu H, Shao P, et al. Preservation of *Agaricus bisporus* freshness with using innovative ethylene manipulating active packaging paper[J]. Food Chemistry,2021,345,128-757.
- [128] Cai M, Zhong H Z, Ma Q H, et al. Physicochemical and microbial quality of *Agaricus bisporus* packaged in nano-SiO₂/TiO₂ loaded polyvinyl alcohol films[J]. Food Control,2022,131,108-452.
- [129] He Y, Zhang Z, Hu B, et al. Synergistic effects of pulsed electric field and NaCl on myofibrillar proteins and flavor of marinated pork[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2024,292:139-272.
- [130] Majzinger K, Bányász B, Mezőfi Z, et al. The effects of high hydrostatic pressure treatment on the quality characteristics and the protein structure of vacuum-packed fresh pork and wild boar meats[J]. Applied Sciences,2025,15(4):1766-1766.
- [131] Zhang Z, Sun H, Liu J, et al. Changes in eating quality of Chinese braised beef

- produced from three different muscles[J]. International Journal of Gastronomy and Food Science,2022,29,100-584.
- [132] Li J, Han D, Huang F, et al. Effect of reheating methods on eating quality, oxidation and flavor characteristics of Braised beef with potatoes dish[J]. International Journal of Gastronomy and Food Science,2023,31:100-659.
- [133] Yang X, Chen Q, Liu S, et al., Characterization of the effect of different cooking methods on volatile compounds in fish cakes using a combination of GC–MS and GC-IMS[J]. Food Chemistry X,2024,22:101-291.
- [134] Li C, Zou Y, Liao G, et al. Identification of characteristic flavor compounds and small molecule metabolites during the ripening process of *Nuodeng* ham by GC-IMS, GC-MS combined with metabolomics[J]. Food Chemistry,2024,440:138-188.
- [135] Bi J, Zhang J, Chen Z, et al. Analysis of the influence of different cuts of pork on the quality and flavor characteristics of *Bazi* Pork[J]. International Journal of Gastronomy and Food Science,2025,39: 101109-101109.

攻读硕士期间学术论文发表情况

- [1] **Huang M**, Adhikari B, Lv W, et al. Application of novel-assisted radio frequency technology to improve ready-to-eat foods quality: A critical review[J]. Food Bioscience,2024,59104182-. (**IF=5.1**)
- [2] **Huang M**, Zhang G, Li W, et al. Effect of radio frequency combined with nisin on the physicochemical properties and volatile compounds of Stir-fried sliced pork with *Agaricus bisporus*[J]. Sustainable Food Technology,2025,10.1039.
- [3] **Huang M**, Zhang G, Li W, et al. Effect of radio frequency combined with nisin treatment on the color and flavor of *Agaricus bisporus*. (under submission) (投稿中).
- [4] **Huang M**, Zhang G, Li W, et al. Radio frequency-assisted nisin treatment: A novel approach to inhibit browning in stored *Agaricus bisporus*. (under submission) (投稿中).
- [5] 徐继成、**黄梦琦**、荀瑜、曹春松、陈群帅、严东升，一种高凝胶性咸鸭蛋清蛋白粉的制备。专利申请号：CN202211386126.8.

致谢

正如致谢是研究生学位论文的最后一节，三年的研究生生涯也是我的学生时代最后一个自然段。在这段充满挑战与成长的旅程中，我得到了许多人的帮助与支持，心中满是感恩，借这篇致谢向他们表达我最诚挚的谢意。

得遇良师，人生之幸。很幸运，在我的研究生学习阶段，遇到了我的导师徐继成教授。无论是在学习上还是在科研中，徐老师都给予了极大的帮助，从我撰写第一篇综述时逐字批注，到文献逻辑和图表配色倾囊相授；从课程学习、选题开题，到实验指导、论文撰写各个方面都离不开徐老师的悉心指导。老师渊博的学识和开放的视野，让我尝试了许多我从没有接触的板块，横向项目、洛阳访学、公众号运营。在此，由衷地感谢徐老师对我在科研以及生活上的鼓励、信任和包容。感谢食品科学与工程专业的老师们，研一期间精彩的课程让我能够深入理解专业知识，将其运用到实际研究中。

时光清浅，幸之相遇。感谢已经毕业的师兄师姐们，感谢姚鑫钧师兄和杜田莹师姐在研一研二的指导，感谢我的师妹师弟以及学弟，实验室的同门、朝夕相处的室友，以及身边的朋友们。一路走来，你们的陪伴让这段时光鲜活多彩。

焉得谖草，言树之背。无论是这三年研学还是这二十多年来的成长，都离不开父母对我的支持与培养，感谢你们在我遇到挫折时鼓励我，让我认识到自己的问题并坚定走下去；感谢你们一直爱我、关心我，让我心无旁骛地踏出走向未来的每一步。

饮其流者怀其源。感谢我的学校，这是我在安徽工程大学生物与食品工程学院的第七年，北京中路 8 号是除了家以外承载我记忆最多的地方，春日的绣球美景到冬日的热鱼汤，我在日复一日中从本科读到硕士，也愈加感受到“尚德敏学、唯实惟新”的强大力量。

往事暗沉不可追，来日之路光明灿烂。感谢奔赴这一程中慢慢成长的自己，这一路虽有彷徨有失意，但前路漫漫亦灿烂，勇敢与坚定是我交付给青春的答案。愿自己在未来依旧保持执着与热情，不忘初心。

道阻且长，行则将至。最后，诚挚感谢参与论文评阅和答辩付出辛勤劳动的各位专家教授，感谢你们为本人拙作付出的时间与建议。

2025 年 3 月 20 日于芜湖