

A 21

Champignononderzoek door het
onderzoeksinstituut ATO-
Agrotechnologie in samenwerking met
het CNC

Dr. W.M.F. Jongen

ato-dlo



2251227

INHOUDSOPGAVE

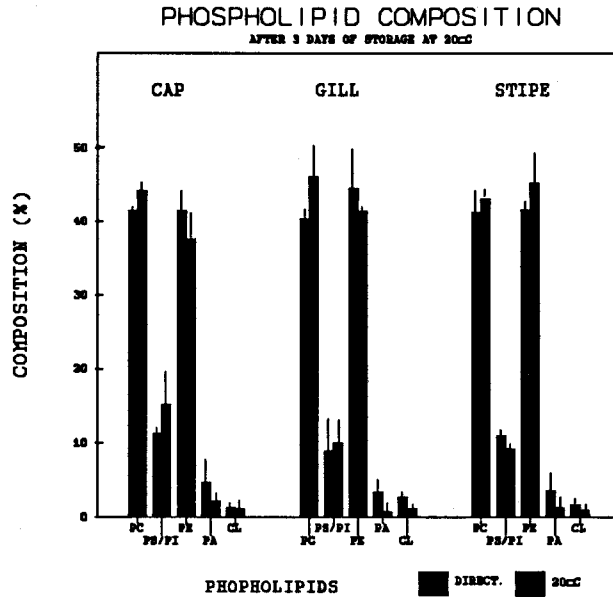
	Pag.:
Veroudering van Champignons	2.
Enzymatische melanogenese van de champignon	5.
Stevigheidsmeting champignons	6.
Technieken voor produktontwikkeling bij de champignons	8.
Verwerking van champignons; slinkverlies	9.

Samenvatting: "Veroudering van Champignons" Dr.A.Braaksma

Een drietal onderwerpen van het lopende onderzoek zijn aan de orde geweest, te weten:

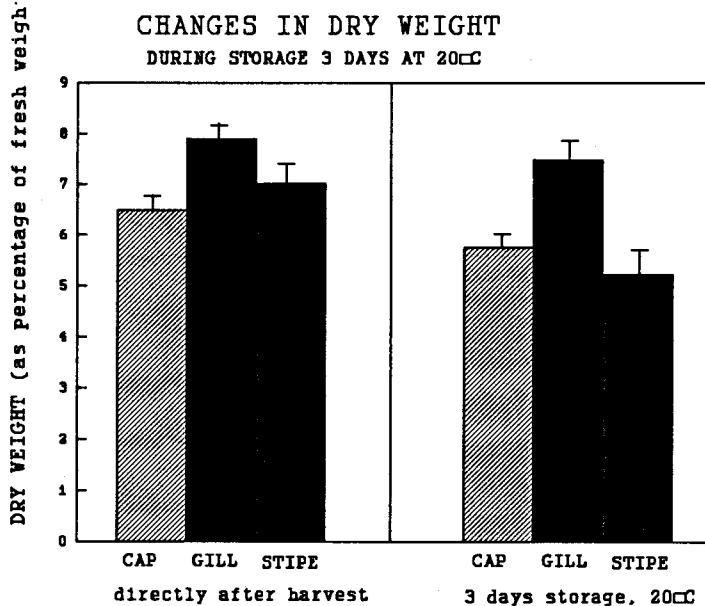
- Het membraanonderzoek
- Het NMR onderzoek
- Inleidend histologisch onderzoek

Het membraanonderzoek gaat van de werkhypothese uit, dat de membraansamenstelling bij veroudering verandert. Hiertoe zijn uitgebreide analyses gedaan op het fosfolipidengehalte. Deze zijn vrijwel afgerond. (zie figuur 1)



Figuur 1. Fosfolipidensamenstelling van vers geoogste en verouderde champignons. Veroudering bij 20°C gedurende 3 dagen en hoge luchtvochtigheid.

De samenstelling blijft gelijk, ongeacht bij welke temperatuur de champignons zijn bewaard. Het totaalgehalte neemt echter wel af. Deze waarden zijn uitgedrukt in μ molen per gram drooggewicht. In figuur 2 is de afname in drooggewicht in de tijd evident. Dus ook de gehalten van fosfolipiden nemen af.



Figuur 2. Drooggewichtsverdeling van vers geoogste en verouderde champignons. Veroudering bij 20°C gedurende 3 dagen en hoge luchtvochtigheid.

De gehalten van de vrije sterolen, een belangrijke membraancomponent, zijn niet eenvoudig op gaschromatografische wijze te bepalen. Uit GC-Mass experimenten is naar voren gekomen dat de belangrijkste sterolcomponent het ergosterol is. Omdat ergosterol een vrije OH-groep op de 3-positie heeft, kan gebruik worden gemaakt van een enzymatische bepaling die berust op de oxidatie van deze groep door cholesteroxidase.

Met de aldus verkregen (voorlopige) waarden zouden de verhoudingen sterolen/fosfolipiden kunnen worden berekend. Deze parameter bepaalt in sterke mate de vloeibaarheid van de membraanstructuur. In tabel 1 staan de resultaten van de eerste enzymatisch bepaalde sterol-gehaltenes.

Tabel 1. Het gehalte aan sterolen in hoed (H), plaat (P) en steel (S) tijdens veroudering bij 20°C. Het nummer achter de letter geeft de batch aan.

De eenheid is $\mu\text{molen/gram}$ drooggewicht.

Monster- nummer	<u>VERS</u>	<u>OUD</u>
	$\mu\text{molen/g.DW}$	
H013	1.002	3.085
H014	1.209	2.221
H015	2.721	1.643
P013	2.000	4.777
P014	1,769	4,350
P015	3,206	1,379
S013	0,718	2,226
S014	1,614	1,373
S015	2,171	0,875

In de komende tijd zullen deze waarden worden geverifieerd. Vervolgens zullen van de lipid/sterol extracten vesicles worden gemaakt en zal worden nagegaan of de verandering in samenstelling ook een verandering in membraanvloeibaarheid ten gevolge heeft.

In de intacte cel zijn membranen zeer belangrijk om lek te voorkomen. In geval van de gehele celinhoud betreft dit het plasmamembraan, en in het geval van de vacuole-inhoud is dit de tonoplast. Daarom zal in een later stadium ook vesicles worden gemaakt van de totale biologische membraanstructuur uit de champignon. Deze vesicles, een directe afspiegeling van de situatie in vivo, zullen getest worden op lekkage en hoe de veroudering dit beïnvloedt.

Het NMR-onderzoek (in samenwerking met LUW) richt zich op de koolhydraatsamenstelling in de champignon. Gezien de hoge respiratiesnelheid en drooggewichtsverschuivingen met name tussen steel en plaatjes verwachten we dit (in zekere mate) in de NMR-spectra weerspiegeld te zien. Het belangrijkste koolhydraat in de champignon lijkt mannitol te zijn. Met NMR is dit goed te kwantificeren. In table 2 is het mannitolgehalte in hoed, plaat en steel vermeld.

Tabel 2. Mannitolgehalte in hoed plaat en steel uitgedrukt als percentage van het drooggewicht in vers geogste champignons en in verouderde champignons (drie dagen, 20°C)

VERS	OUD	
HOED	51%	41%
PLAAT	47%	21%
STEEL	53%	40%

Deze waarden zijn het resultaat van metingen aan één batch en moeten dus als voorlopig worden beschouwd. Duidelijk is dat het gehalte in de plaatjes drastisch daalt. Een mogelijkheid is, dat de mannitol wordt aangewend als bron voor de synthese van sporewanden. Desalniettemin neemt het absolute drooggewicht niet af. Nader onderzoek naar de rol van mannitol staat daarom op het (NMR-)programma.

Tot slot een aantal resultaten van inleidend histologisch onderzoek, dat in samenwerking met de LUW werd uitgevoerd.

Eén van de eerste taken was te achterhalen of de krimp van het weefsel bij fixatie en inbedding niet is te voorkomen of drastisch te verminderen. In de literatuur is daar zelden aandacht aan besteed, waarschijnlijk omdat men slechts was geïnteresseerd in grote effecten, bijvoorbeeld na bestraling of blancheren. Met behulp van computer beeld analyse technieken kon vrij snel en eenvoudig de fixatie en inbedding worden geoptimaliseerd, waarbij de krimp niet alleen verminderd, maar ook (indien gewenst) kan worden gekwantificeerd.

Met behulp van de gevonden receptuur zal een vervolgonderzoek plaats vinden waarbij het accent zal liggen op morfometrische veranderingen op cellulair niveau, te weten gemiddelde celgrootte, verhouding vacuole en cytoplasma en de verhouding inter- en intracellulaire ruimten.

ENZYMATISCHE MELANOGENESE VAN DE CHAMPIGNON.

H.J. Wichers, 27 juni 1991.

Een analyse van de verdeling van tyrosinase, laccase en peroxidase over mycelium en vruchtlichamen van *Agaricus bisporus* U1 toont aan, dat in de vruchtlichamen voornamelijk tyrosinase aanwezig is en dus voor melanogenese verantwoordelijk kan zijn.

Tyrosinase blijkt (in U1) in relatief grote hoeveelheden in de huid (d.w.z. de buitenste 1.5 à 2 mm) van de hoed voor te komen: 3.0 μ kat/gDW, tegen 1.28, 1.90 en 1.93 μ kat/gDW in resp. het vlees van de hoed, de plaatjes en de steel. Voor de oplosbare fenolen (substraten voor tyrosinase) wordt 0.15, 0.19, 0.21 en 0.12 mmol/gDW gevonden in resp. de huid, het vlees van de hoed, de plaatjes en de steel.

De zgn. kastanjerassen (onderzocht zijn Le Lion C33, Royal 101, Claron C4, Le Lion C9, Somycel 456, Tauber 850) blijken in alle gevallen zowel aanzienlijk meer tyrosinase (4-5x meer) als meer fenolen (ongeveer 30X meer) te bevatten dan ras U1.

Tyrosinase wordt uit ras U1 gezuiverd (t.b.v. o.a. het bereiden van antilichamen en t.b.v. het genetisch onderzoek) m.b.v. diverse vormen van kolomchromatografie. De maximale zuiveringsfactor die tot dusver is bereikt is ongeveer 70; elektroforese toont echter aan dat deze preparaten nog niet zuiver zijn, zodat additionele stappen nodig zullen zijn.

Stevigheid Champignons.

Een nieuwe meetmethode?

H. Peppelenbos, L. Tijskens.

21 juni 1991

ATO Agrotechnologie

Wageningen

Kwaliteit van champignons is erg belangrijk, niet alleen voor de uiteindelijke consument, maar ook voor de schakels in de keten: teler, groothandel, detailhandel enz.

Het belangrijkste kenmerk waarop gekeurd wordt (lees indicator voor "overall" kwaliteit) is de kleur of witheid. Het belangrijkste kwaliteit kenmerk van champignons met een reële sensorische (smaak-) betekenis is de stevigheid.

Tot nu toe wordt de stevigheid van champignons meestal gemeten met de zogenaamde Kramer Shear Press. De voordelen hiervan zijn:

- weinig afhankelijk van grootte van de monsterstukjes.
- weinig afhankelijk van de ligging van de monsterstukjes in de meetcel.
- geeft in alle situaties (en voor alle produkten) een maat die verband heeft met fysische en sensorische stevigheid.

Nadelen van de Shear Press zijn:

- onduidelijk wat er nu eigenlijk gemeten wordt (setting, compressie, shearing, extrusie, wrijving)
- hierdoor weinig specifiek
- moeilijk verschil te maken in de bijdrage van de verschillende onderdelen
- bij bepaalde structuren (bv steel) wel afhankelijk van de gemiddelde ligging in de meetcel.
- kleine respons op verandering in stevigheid: de range waarover de getalswaarde kan veranderen is meestal klein.

Om aan deze nadelen tegemoet te komen is getracht een nieuwe meettechniek te ontwikkelen, naar analogie met de meetmethode aan groente en fruit nl. de plaatcompressie aan uitgesneden, geometrisch bepaalde monsters produkt: met een broodsnijmachine wordt door de hoed en door de steel, loodrecht op de steel-as een plak produkt gesneden van 10 mm dikte. Uit deze plak wordt met behulp van een kurkboor een cilinder gesneden van 11 mm diameter. Hierbij dienen de messen steeds zeer goed schoon gehouden te worden om beschadiging van het monsterstukje te voorkomen.

Deze stukjes worden vervolgens met een vaste snelheid (10 mm/min ?) samengedrukt tussen 2 vlakke platen. Het kracht-afstand patroon wordt geregistreerd (zie sheet 1).

Hierin is veel duidelijker (dan bij Shear Press) wat er geregistreerd wordt:

- compressie van materiaal structuur.
- de meest gevoelige structuur onderdelen geven het eerst mee: Yield point.
- compressie (lineair volgen wet van Hooke) tot ..
- breuk cq scheur optreedt door te grote spanning.
- compressie van onregelmatige brokstukken met een onregelmatig verloop.

Bij gebruik van deze meetmethode blijkt dat de kracht bij het yield punt (Yield Load) een goede indicator zou kunnen zijn voor een bepaling van de stevigheid als kwaliteitskenmerk. Ook de Top Load geeft de indruk een bepaald deel van de sensorisch waarneembare mechanische eigenschappen te beschrijven (zie sheets 2-4).

- de invloed van de temperatuur (8° en 18°C) op de bewaarbaarheid van champignons (bij zeer hoge RV) is duidelijk te zien, vooral bij Yield Load.
- Yield Load neemt eerst toe gedurende de eerste 2 dagen van de bewaring, ogenschijnlijk onafhankelijk van de temperatuur. Toenemende taatheid (vgl Shear Press)
- daarna een daling in stevigheid, waarbij de snelheid zeer sterk afhankelijk is van de temperatuur.

onafhankelijk van de temperatuur. Toenemende taatheid (vgl Shear Press)

- daarna een daling in stevigheid, waarbij de snelheid zeer sterk afhankelijk is van de temperatuur. Dit effect is niet waar te nemen bij Top Load noch bij Shear Press.
- niveau van zowel steel als hoed gegevens zijn voor beide temperaturen hetzelfde. Dit is zeer bemoedigend en vertrouwenwekkend: een stelselmatige meetfout wordt onwaarschijnlijk.
- de verandering in Yield Load ligt in het juiste tijdsbereik, nl. in het tijdsgebied dat Yield Load verandert is ook de houdbaarheid verstreken.
- Strain gegevens (relatieve verplaatsing) zijn minder spectaculair: er is verandering waar te nemen, maar niet erg veel, en minder duidelijk. De verandering is in dezelfde richting als de Yield Load. Hierdoor ook weinig verandering in modulus of helling.

Verwachte voordelen van de nieuwe methode:

- grote differentiatie in het waarnemen van kwaliteit en stevigheid
- sterke relatie met tijd, temperatuur en dus houdbaarheid
- mogelijk opsplitsen van stevigheid in aangename stevigheid (knapperigheid) en onaangename stevigheid (taaiheid), door combinatie van Yield Load, Top Load en Shear Press.

Nadelen van de methode en mogelijke valkuilen:

- monster preparatie uniform en operator onafhankelijk maken
- mogelijk moeilijkheden met detectie van Yield Point.
- optreden van Yield Point mogelijk afhankelijk van ras, herkomst, bewaarduur en bewaaromstandigheden. Dit is (nog) niet onderzocht.

TECHNIEKEN VOOR PRODUKTONTWIKKELING BIJ DE CHAMPIGNON

In het ontwikkelen van werkwijzen voor champignonprodukten is duidelijk vooruitgang geboekt door verbetering van de coating en invriezen. De nadruk in het onderzoek is minder gelegd op verhoging van het gewichtsrendement en meer op verbetering van de sensorische kwaliteit. Door toepassing van nieuwe, industriële evacuatievloeistoffen en nieuwe coatings is de krimp als gevolg van de thermische behandelingen blancheren en frituren aanzienlijk verminderd. Ook de negatieve invloed van het invriezen op de eindkwaliteit is door deze veranderingen verkleind. Vermindering van de krimp resulteert eveneens in een beter uiterlijk. Door monsters met een hoge wateropname uit te sluiten, wordt het aantal, dat als sponsachtig beoordeeld wordt, verkleind.

Verlenging van de bewaartijd voor de verwerking geeft wel een beter rendement maar sensorisch wordt het produkt na enkele dagen aanzienlijk slechter beoordeeld. Het sensorisch panel heeft meer ervaring met deze produkten opgedaan waardoor de spreiding in de uitkomsten minder is en beter overeenkomen met de bewerkingen. Het produkt wordt zonder de korst beoordeeld wat een beter beeld van vooral de textuur en kleur eigenschappen oplevert.

VERWERKING VAN CHAMPIGNONS; SLINKVERLIES

E. Schijvens

H. Ruisch

1. Technologisch onderzoek:

Het verwerkingsproces van champignons tot gesteriliseerd product is stap voor stap doorgelicht op alle varianten die denkbaar zijn. De resultaten van dit onderzoek zijn samengevat in onderstaande tabel.

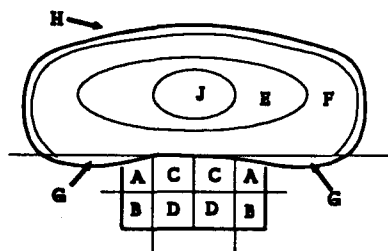
Processtappen in de verwerking van champignons, en het effect dat ze hebben op het verwerkingsrendement.

processtap	niveau's	Vershil in rendement (%)
Evacuëren	:wel-niet	4.2
Medium	:citroenz-water	n.s.
Blancheren	:0 - 5 minuten	7.6
Blancheren	:15 - 5 minuten	1.0
Koelen	:wel-niet	0.7
Snijden	:wel-niet	- 1.3
Staan	:wel-niet	n.s.
Opgiet	:water-1% NaCl	4.2

Het positieve effect van evacueren was al bekend en het negatieve effect van snijden en staan was al eerder aangetoond. Nieuw zijn de effecten van niet blancheren, van langer blancheren en van de samenstelling van de opgieter. Het effect van koelen is een artefact veroorzaakt door de proefomstandigheden. Uit experimenten ter bevestiging, zijn bij herhaling dezelfde resultaten verkregen. Hierbij is echter wel gebleken dat het effect van de samenstelling van de opgieter in de praktijk minder zal zijn (1%) dan in bovenstaande tabel door een andere verhouding tussen champignon en opgieter in pot of blik.

2. Histologisch onderzoek.

Het weefsel in de champignon blijkt lokaal te variëren in dichtheid en het slinkverlies als het wordt gekookt.



Het weefsel aan de buitenkant van de hoed (G en H) slinkt nauwelijks en wordt zelfs zwaarder bij het koken (+30%). Het grootste verlies (-40%) treedt op in het centrum van de champignon (J).

3. (Bio)-chemisch onderzoek.

Uit analyses van champignons vers en na 4 dagen bewaren bij 20 °C blijkt dat tijdens het bewaren de hoeveelheid celwand toeneemt (van 23 tot 28% van het totaal drogestof). Tijdens de verwerking slaat oplosbaar eiwit neer op de celwand. Het (bio)-chemisch onderzoek wordt voorlopig getemporeerd ten gunste van het verwerkings- en histologisch onderzoek.