

# 双孢蘑菇酶促褐变特性及褐变的控制

王相友, 王 健, 朱继英, 赵 亚

(山东理工大学农业工程与食品科学学院, 山东 淄博 255049)

**摘 要:** 为有效控制双孢蘑菇褐变, 研究 pH 值、温度、底物浓度以及抑制剂对双孢蘑菇的多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)活性的影响。结果表明: 以邻苯二酚为底物, 双孢蘑菇 PPO 最适反应 pH 6.8, 最适反应温度 20℃, 最适反应底物浓度为 0.06mol/L, 米氏常数  $K_m$  为 0.1072mol/L。采用计算机图像处理技术对双孢蘑菇褐变程度进行定量检测, 得出对双孢蘑菇贮藏保鲜效果较好的褐变抑制剂及其最佳配比为 0.30mmol/L 半胱氨酸、0.06% 抗坏血酸、0.05% 乙酸。

**关键词:** 双孢蘑菇; 多酚氧化酶; 褐变控制; 计算机图像处理

## Enzymatic Browning Characteristics and Control of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*)

WANG Xiang-you, WANG Jian, ZHU Ji-ying, ZHAO Ya

(School of Agricultural Engineering and Food Science, Shandong University of Technology, Zibo 255049, China)

**Abstract:** In order to effectively inhibit enzymatic browning in *Agaricus bisporus*, effects of pH values, temperature, substrate concentration and inhibitors on polyphenol oxidase (PPO) activity from *Agaricus bisporus* were studied. The results showed that the optimum pH value and temperature for PPO activity from *Agaricus bisporus* were 6.8 and 15—20℃ using pyrocatechol as substrate. The Michaelis constant of PPO was  $K_m = 0.1072$  mol/L. Computational imaging analysis showed that mixture of 0.30 mmol/L sodium sulfite, 0.06% ascorbic acid and 0.05% acetic acid had effective inhibition on enzymatic browning in *Agaricus bisporus*.

**Key words:** *Agaricus bisporus*; polyphenol oxidase; enzymatic browning; computational imaging analysis

中图分类号: S646.11

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)20-0318-05

双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)是世界性栽培的重要食用真菌。其味道鲜美, 营养价值高<sup>[1]</sup>, 最近几年是我国出口量最大的食用菌之一<sup>[2-4]</sup>。但是双孢蘑菇在贮藏过程中容易发生褐变, 导致其商品品质和可销售性降低, 主要原因是双孢蘑菇组织中的多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)催化酚类物质氧化成醌<sup>[5-6]</sup>。目前测定褐变程度一般应用色差计, 其缺点是需要大块平整的表面, 破坏菇体。通过分光光度计测 PPO 的吸光度<sup>[7-8]</sup>对双孢蘑菇的色泽或褐变度做出评价, 对实验条件和设备要求较高, PPO 易失活, 不利于实际生产的推广和应用。用计算机图像处理技术快速无损检测双孢蘑菇色泽和褐变度尚未见报道。褐变控制的方法主要有低温冷藏法、亚硫酸钠浸泡保鲜法、气调贮藏法和射线辐射处理等, 但却存在着食品安全性、成本以及防褐变效果等问题<sup>[9-11]</sup>。Beaulieu 等<sup>[12]</sup>研究表明用  $\gamma$ 射线辐射处理后

的双孢蘑菇 PPO 活性降低, 贮藏期延长。李霞等<sup>[10]</sup>研究表明初始气体体积分数为 15%  $O_2$ 、10%  $CO_2$ , 0.06mm 厚 PVC 包装、2℃贮藏能明显抑制双孢蘑菇的褐变。抑制剂对双孢蘑菇 PPO 活性的影响已有较多研究, 但多采用亚硫酸钠或焦亚硫酸钠的含硫化合物<sup>[13-14]</sup>, 对身体的危害, 现已限制使用。

本实验以邻苯二酚为底物, 测定了 pH 值、底物浓度和温度对双孢蘑菇 PPO 活性的影响, 并采用计算机无损检测法, 用高倍像素相机取得图像, 导入计算机分析, 对色泽变化定量测定。研究不含硫抑制剂对双孢蘑菇褐变的影响, 为保证食品安全, 延长货价期, 获得较高的市场价值提供依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

收稿日期: 2010-12-19

基金项目: 国家自然科学基金项目面上项目(30871757); 国家农业科技成果转化资金项目(2010GB2C600253)

作者简介: 王相友(1961—), 男, 教授, 博士, 主要从事农产品加工与贮藏研究。E-mail: wxy@sdu.edu.cn

双孢蘑菇采自山东省淄博市淄川区淄河镇东石门村; 邻苯二酚(分析纯) 天津瑞金特公司; 柠檬酸, 柠檬酸钠(分析纯) 天津化学试剂三厂; 醋酸钠(分析纯) 上海联试公司; 冰乙酸(分析纯) 莱阳精细化工厂; 硼酸(分析纯) 莱阳康德公司; 磷酸氢二钠、磷酸二氢钠(分析纯) 江苏强盛公司; 抗坏血酸(VC, 分析纯) 天津博迪公司; L-半胱氨酸(分析纯) 天津科密欧开发中心。

## 1.2 仪器与设备

移液枪 上海艾晟特公司; UV-2550分光光度计 日本岛津公司; HH-6 数显恒温水浴锅 龙口先科公司; 电子天平、UB-7 酸度计 北京 Denver 公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 PPO 粗酶液的制备

每个处理从 3 个双孢蘑菇上取 20.0g, 经液氮速冻后放入在 -35℃ 预冷的研钵中充分研磨, 解冻后加 40mL 抽提缓冲液[0.05mol/L 磷酸氢二钠 - 磷酸二氢钠缓冲液(pH6.8), 3% Triton X-100(V/V), 0.25g/L PVP, 0.03g/L 聚乙二醇 M6000], 并加适量石英砂冰浴继续研磨 10min; 0℃、8500r/min 离心 20min, 取上清液得粗酶液。

### 1.3.2 PPO 活性测定

按 Zauberman 等<sup>[15]</sup>方法测定, 略有改动。在 1cm 比色皿中加入 1.95mL pH6.8 抽提缓冲液, 再加入 0.1mol/L 邻苯二酚溶液 1.0mL, 迅速加入 PPO 粗酶液 0.05mL, 混匀。室温(18℃)在 450nm 波长处测定吸光度, 实验重复 3 次。以每分钟内吸光度变化 0.001 为 1 个酶活力单位(U)。

$$\text{PPO 相对活性} / \% = \frac{\text{各处理组吸光度}}{\text{同组最佳处理组吸光度}} \times 100^{[16]}$$

### 1.3.3 pH 值对 PPO 活性的影响及 PPO 最适 pH 值的测定

配制 0.05mol/L 柠檬酸 - 柠檬酸钠缓冲溶液(pH3.0、3.5), 醋酸 - 醋酸钠缓冲溶液(pH4.0、4.5、5.0、5.5), 磷酸氢二钠 - 磷酸二氢钠缓冲溶液(pH6.0、6.5、7.0、7.5、8.0), 硼酸 - 氢氧化钠缓冲溶液(pH8.5、9.0、9.5、10.0), 测定 PPO 活性。实验重复 3 次。根据确定的 PPO 最适 pH 值的范围, 配制浓度为 0.05mol/L, pH 值梯度为 0.1 的缓冲溶液, 测定出双孢蘑菇最适反应 pH 值。

### 1.3.4 底物浓度与 PPO 活性的关系

用 1.3.3 节测定出的双孢蘑菇 PPO 最适 pH 值的缓冲溶液, 配置浓度为 0.01~0.10mol/L, 梯度为 0.01 的邻苯二酚作为底物, 在 1cm 比色皿中, 加 2.95mL 不同浓度的邻苯二酚溶液, 0.05mL PPO 粗酶液。在室温测定 PPO 的活性, 每个底物浓度重复 3 次。根据 Lineweaver-Burk 作图法<sup>[17]</sup>得米氏常数和最大反应速率  $V_{\max}$  值。

### 1.3.5 温度对 PPO 活性的影响

在 1cm 比色皿中, 加入浓度为 0.05mol/L, 双孢蘑菇 PPO 最适 pH 值下的缓冲溶液 1.95mL, 0.10mol/L 的邻苯二酚溶液 1.0mL。在 5~50℃(间隔 5℃ 一个处理)保温 10min, 加入相同温度保温 10min 的 PPO 粗酶液 0.05mL。在 10s 和 70s, 测定 OD<sub>450</sub> 值。每个温度重复 3 次。

### 1.3.6 抑制剂对 PPO 活性及褐变的影响

#### 1.3.6.1 抑制剂对 PPO 活性的影响

选用 5 种褐变抑制剂溶液, 每种抑制剂选用 5 种不同的添加水平, 分别与 PPO 酶液等体积混合, 室温静置 5min, 测定 PPO 活力  $U$ , 以未加抑制剂时的 PPO 活力为, 以  $\frac{U_0 - U}{U_0} \times 100$  为指标评价不同抑制剂对 PPO 的抑制效果, 方案见表 1, 实验重复 3 次。

表 1 单抑制剂对双孢蘑菇 PPO 活性影响的实验方案

Table 1 Experimental protocol for investigating the effects of single inhibitors on PPO activity from *Agaricus bisporus*

PPO 抑制剂	乙 酸	抗坏 血酸	柠檬 酸	L-半胱氨酸 / (mmol/L)	氯化 钠
	0.05	0.02	0.10	0.10	0.20
	0.10	0.06	0.15	0.30	0.30
质量分数 / %	0.15	0.10	0.20	0.50	0.40
	0.20	0.14	0.25	0.70	0.50
	0.25	0.20	0.30	0.90	0.60

#### 1.3.6.2 抑制剂对双孢蘑菇褐变的影响

根据单因素试验, 筛选出效果明显的抑制剂, 进行正交试验处理, 清水浸泡处理作为对照组(CK), 浸泡时间为 5min, 双孢蘑菇的体积与其浸泡液的体积比为 1:3。室温贮藏, 以褐变度作为评判指标, 应用计算机图像处理技术对褐变度进行检测, 筛选适宜的褐变抑制剂配比。

在固定的光照强度下, 使用高倍照相机 Sony DSC-HX1(像素 910 万)捕捉双孢蘑菇彩色图像, 导入电脑用 Photoshop 软件进行分析, 得出红(R)、绿(G)、蓝(B); 并继续在室温下放置 3d, 每隔 12h 测定 RGB 值。根据 RGB 与 H 值之间的换算公式<sup>[18]</sup>将 RGB 值换算成 H 值。同一图像不同时间 H 值之间的差值反映出双孢蘑菇褐变的程度。

$$H \text{ 值变化率} / \% = (0\text{h 时 } H \text{ 值} - 72\text{h 时 } H \text{ 值}) / 0\text{h 时 } H \text{ 值} \times 100$$

$$H = \begin{cases} \theta & B \leq G \\ 360 - \theta & B > G \end{cases} \quad \theta = \arccos \left\{ \frac{\frac{1}{2}[(R-G) + (R-B)]}{[(R-C)^2 + (R-G)(R-B)]^{\frac{1}{2}}} \right\}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 pH 值对 PPO 活性的影响及 PPO 活性最适 pH 值范围确定

### 2.1.1 pH 值对 PPO 活性的影响

由图 1 可知, pH6.5 和 pH8.5 处分别出现一个峰值, 说明双孢蘑菇 PPO 可能含有至少两种同工酶。在  $\text{pH} < 5.5$  或  $\text{pH} > 9.0$  时, PPO 催化活性显著下降。这是因为 PPO 含  $\text{Cu}^{2+}$ , 在 pH 值低于 3.0 的酸性环境中,  $\text{Cu}^{2+}$  被解离出来, 使酶失活; 而在强碱条件下,  $\text{Cu}^{2+}$  与溶液中的  $\text{OH}^-$  反应生成氢氧化铜, 从而使酶活性显著降低<sup>[16]</sup>。因此, 通过调节 pH 值可有效抑制双孢蘑菇 PPO 活性。

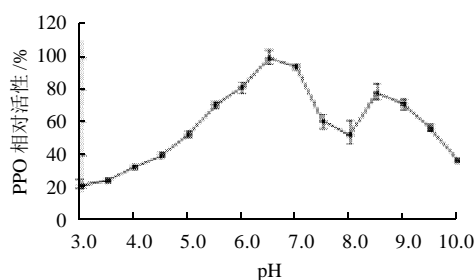


图 1 pH 值对双孢蘑菇 PPO 相对活性的影响

Fig.1 Effect of pH on PPO activity from *Agaricus bisporus*

### 2.1.2 PPO 相对活性最适 pH 值的测定

据 2.1.1 节确定的最大峰值得出 pH 值范围, 配制 pH6.0~7.0, 梯度为 0.1; 浓度均为 0.05mol/L 的磷酸盐缓冲溶液, 测定 PPO 相对活性。实验重复 3 次。测定结果见图 2。

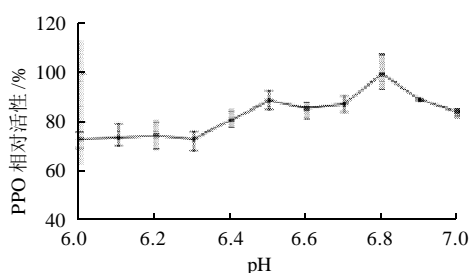


图 2 双孢蘑菇 PPO 相对活性最适 pH 值范围

Fig.2 Determination of optimal pH for PPO activity from *Agaricus bisporus*

由图 2 可知, 曲线在 pH6.8 处出现峰值, 双孢蘑菇 PPO 相对活性的最适 pH 值为 6.8, 该结果与赵东海等<sup>[19]</sup>的研究结果基本一致。朱梅等<sup>[20]</sup>的研究表明, 金针菇 PPO 相对活性最适 pH 值是 6.0; 宋莲军等<sup>[21]</sup>认为 PPO 相对活性的最适 pH 值为 5.4。可见, pH 值是影响 PPO 相对活性的重要因素, 不同生物体内 PPO 相对活性的最适 pH 值有较大差异。

### 2.2 底物浓度与双孢蘑菇 PPO 活性的关系

以邻苯二酚为反应底物, 不同的底物浓度([S])对应

的酶活性见图 3。邻苯二酚浓度较低时, 增加邻苯二酚浓度, 酶活性相应增强; 但当邻苯二酚浓度达到 0.06mol/L 时, 即使再增加邻苯二酚浓度, 酶的活力也不再增强, 而是趋于不变。根据 Henri 的解释和 Michaelis-Menten 方程, 当底物邻苯二酚的浓度  $[S] \leq 0.06\text{mol/L}$  时, 酶促反应速度  $v$  与  $[S]$  成正比关系, 反应显示为一级动力学特征; 当  $[S] > 0.06\text{mol/L}$  时, 随着  $[S]$  的增大,  $v$  不再上升, 即  $v$  与  $[S]$  已脱离关系, 反应显示为零级动力学特征, 这时  $v$  趋向于最大值  $V_{\max}$ 。由此得出双孢蘑菇 PPO 活性最适反应底物浓度为 0.06mol/L, 并且底物浓度与 PPO 活性的关系遵循 Michaelis-Menten 的酶促动力学。

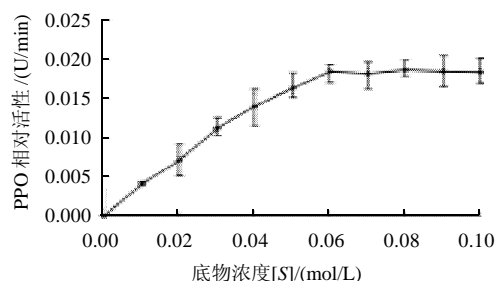


图 3 底物浓度与双孢蘑菇 PPO 活性的关系

Fig.3 Effect of substance concentration on PPO activity from *Agaricus bisporus*

根据 Lineweaver-Burk 作图法, 以  $1/[S]$  为横坐标,  $1/v$  为纵坐标作图, 见图 4, 求得米氏常数  $K_m = 0.1072\text{mol/L}$ , 最大反应速率  $V_{\max} = 0.0239\text{U/min}$ 。

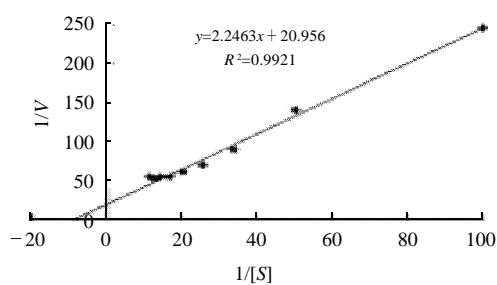


图 4 双孢蘑菇 PPO 的米氏常数的确定

Fig.4 Determination of PPO Michaelis constant

### 2.3 温度对双孢蘑菇 PPO 相对活性的影响

如图 5 所示, PPO 相对活性先随温度升高而上升, 在 20℃ 时达到最大值 100%, 而后又随温度的升高而下降; 在低于 10℃、高于 30℃ 时, PPO 相对活性较小; 反应温度为 50℃ 时 PPO 已经基本不表现出活性。原因是双孢蘑菇 PPO 在最适温度才能被完全激活, 而高温使

PPO 变性。因此, 双孢蘑菇 PPO 是一种不耐高温, 对热不稳定的酶类, 它的最适反应温度是 20℃, 可采用低温贮藏来抑制双孢蘑菇 PPO 活性, 延缓褐变。

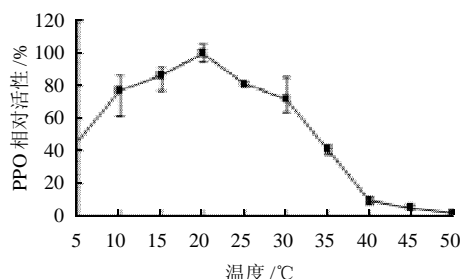


图 5 温度对双孢蘑菇 PPO 相对活性的影响

Fig.5 Effect of temperature on PPO activity from *Agaricus bisporus*

温度对双孢蘑菇 PPO 相对活性的影响表现在随温度的升高, 酶活性因被激活先升高, 而后又因酶蛋白被钝化, 活性降低。不同种类果蔬的 PPO 最适反应温度表现不一致: 王向阳等<sup>[16]</sup>的研究结果表明莲藕的最适反应温度为 35℃; 付聿成等<sup>[22]</sup>认为金帅苹果的最适反应温度为 40℃。

#### 2.4 单抑制剂对双孢蘑菇 PPO 活性的抑制作用

表 2 双孢蘑菇 PPO 抑制剂单因素试验结果

Table 2 Effect of single inhibitors at various concentrations on PPO activity from *Agaricus bisporus*

抑制剂	质量分数 / %	pH 值	抑制率 / %
乙酸	0.05	3.47	71.4
	0.10	3.30	82.4
	0.15	3.21	83.7
	0.20	3.10	70.9
	0.25	3.01	69.2
抗坏血酸	0.02	3.06	60.6
	0.06	2.88	79.7
	0.10	2.72	82.4
	0.14	2.65	90.0
	0.20	2.55	79.3
柠檬酸	0.10	2.89	65.8
	0.15	2.82	67.2
	0.20	2.78	72.4
	0.25	2.71	73.9
	0.30	2.66	75.7
L- 半胱氨酸 / (mmol/L)	0.10	5.19	82.1
	0.30	4.81	90.4
	0.50	4.77	100
	0.70	4.18	99.7
	0.90	3.59	100
NaCl	0.20	6.79	67.4
	0.30	0.79	68.6
	0.40	6.82	71.1
	0.50	6.81	72.3
	0.60	6.83	77.4

由表 2 所示, 不同褐变抑制剂对双孢蘑菇 PPO 抑制效果有较大差别。除氯化钠外, 其他 4 种抑制剂溶液的 pH 值均在 2~5 范围内, 能显著降低体系中 pH 值。L- 半胱氨酸能在低浓度下对 PPO 起到强烈抑制作用, 其机理是能与醌类物质发生加成反应, 生成无色稳定的化合物, 阻止黑色素的形成, 并可与体系中的氧发生氧化还原反应进而有效抑制褐变; 抗坏血酸、乙酸也具有较强烈的抑制作用, 抗坏血酸的作用机理是作为还原剂, 将体系中生成的醌类物质及其衍生物还原成酚类物质, 并降低体系中的含氧量<sup>[19]</sup>; 乙酸作用机理还需进一步研究; 柠檬酸和氯化钠的抑制作用较弱, 柠檬酸在双孢蘑菇表面形成一层黄色膜, 影响了商品品质, 其作用机理还有待研究。

#### 2.5 双孢蘑菇褐变的控制

根据单因素试验结果, 选用半胱氨酸、抗坏血酸, 乙酸为试验因素, 以双孢蘑菇贮藏后第 72 小时的褐变度作评判指标, 进行  $L_9(3^4)$  正交试验。正交试验因素与水平及结果见表 3, 方差分析见表 4 所示。

表 3 抑制剂对双孢蘑菇褐变度影响的正交试验设计及结果

Table 3 Orthogonal array design and corresponding experimental results for optimizing inhibition of *Agaricus bisporus* browning by combined use of three inhibitors

试验号	A 半胱氨酸 / (mmol/L)	B 抗坏血酸 / %	C 乙酸 / %	H 值(度)		H 值变化率 / %
				0h	72h	
1	1(0.10)	1(0.06)	1(0.05)	244.49	103.92	57.49
2	1	2(0.10)	2(0.10)	294.07	102.75	65.05
3	1	3(0.14)	3(0.15)	292.48	103.68	64.55
4	2(0.20)	1	2	264.13	211.03	20.10
5	2	2	3	233.20	115.81	50.34
6	2	3	1	151.10	109.50	27.53
7	3(0.30)	1	3	228.25	125.86	44.86
8	3	2	1	235.47	171.65	27.11
9	3	3	2	212.43	140.26	33.97
$K_1/3$	0.624	0.408	0.374	230.82	108.69	52.91
$K_2/3$	0.327	0.475	0.397			
$K_3/3$	0.353	0.420	0.533			
$U$	18608.02	17062.95	17427.59			
$Q$	1621.24	76.17	440.81			
$R$	0.297	0.067	0.159			
较优水平	$A_2$	$B_1$	$C_1$			
因素主次	$A > C > B$					

表 4 抑制剂对双孢蘑菇褐变度的影响试验结果方差分析

Table 4 Variance analysis of browning degree of *Agaricus bisporus* with various amounts of three inhibitors

来源	离差	自由度	均方离差	F 值
A	1621.24	2	810.62	12.88
B	76.17	2	38.085	
C	440.81	2	220.405	3.5
误差	175.66	2	87.83	
误差 $\Delta$	251.83	4	62.96	

由表3、4数据分析表明： $A$ 因素对双孢蘑菇褐变度有显著影响( $P < 0.05$ )， $B$ 、 $C$ 因素对双孢蘑菇褐变度无显著影响( $P > 0.05$ )，因此，最适合抑制剂组合为 $A_2B_1C_1$ 。

### 3 结 论

3.1 PPO催化的酶促反应时引起双孢蘑菇褐变的主要原因。双孢蘑菇PPO反应的最适pH值为6.8，最适温度是20℃。以邻苯二酚为底物时，最适底物浓度为0.06mol/L。

3.2  $L$ -半胱氨酸能在低浓度下对双孢蘑菇PPO起到强烈抑制作用，抗坏血酸、醋酸也具有极强的抑制作用，柠檬酸和氯化钠的抑制作用较弱。

3.3 防止双孢蘑菇褐变的最佳保鲜剂组合是：0.30mmol/L半胱氨酸、0.06%抗坏血酸、0.05%乙酸。

### 参考文献：

- [1] 史琦云, 邵威平. 八种食用菌营养成分的测定与分析[J]. 甘肃农业大学学报, 2003, 38(3): 336-339.
- [2] 卞生珍, 杨清香. 双孢菇采后的生理生化变化[J]. 新疆师范大学学报, 2007, 26(2): 32-35.
- [3] 沈若豪. 速冻双孢蘑菇[J]. 冷饮与速度食品工业, 2002(3): 30-32.
- [4] 吴锦文. 国外食用菌生产、进出口贸易、市场行情及发展动态[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(4): 54-58.
- [5] NOBLE R, BURTON K S. Postharvest storage and handling of mushrooms[J]. Physiology and technology Postharvest News and Information, 1993, 4(5): 125-129.
- [6] WOOD D A. Production, purification and properties of extracellular laccase of *Agaricus bisporus*[J]. J Gen Microbiol 1980, 117: 327-338.
- [7] 石启龙, 王相友, 赵亚, 等. 双孢蘑菇MA保鲜技术研究[J]. 农业机械学报, 2004, 35(6): 144-147.
- [8] 李霞, 王相友, 王娟, 等. 双孢蘑菇主动气调包装实验[J]. 农业机械学报, 2009, 40(9): 131-137.
- [9] 卞生珍, 谢俊彪, 李学英, 等. 双孢蘑菇采后贮运保鲜技术[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(增刊2): 32-35.
- [10] PILIZOTA V, SUBARIC D. Control of enzymatic browning of foods[J]. Food Technology and Biotechnology, 1998, 36(3): 219-227.
- [11] SOMASUNDARAM R, SHASHIREKHA M N, SUDHIR R. Biochemical changes associated with mushroom browning in *Agaricus bisporus*(Lange) Imbach and *Pleurotus florida* (Block & Tsao): commercial implication[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2003, 83(14): 1531-1537.
- [12] BEAULIEU M, APRANO G D, LACROIX M. Effect of dose rate of gamma irradiation on biochemical quality and browning of mushrooms *Agaricus bisporus*[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2002, 63(3/6): 311-315.
- [13] 韩永生, 翟万京. 复合液保鲜剂对双孢蘑菇保鲜机理的研究[J]. 农产品加工, 2009(1): 72-73.
- [14] 周永斌, 张志军, 王文志, 等. 双孢蘑菇盐渍加工技术[J]. 保鲜与加工, 2008, 8(4): 52-53.
- [15] ZAUBERMAN G, RONEN R, AKERMSN M, et al. Postharvest retention of the red colour of litchi fruit pericarp[J]. Scientia Horticulturae, 1991, 47: 89-97.
- [16] 王向阳, 姜丽佳, 王忠英. 莲藕的酶促褐变及其贮藏中褐变的控制[J]. 农业工程学报, 2009, 25(4): 276-280.
- [17] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学: 上册[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2002: 355-362.
- [18] 杨旭强, 冯勇, 刘洪臣. 一种基于HSI颜色模型的目标提取方法[J]. 光学技术, 2006, 32(2): 290-292.
- [19] 赵东海, 张建平, 侯菊花. 蘑菇中多酚氧化酶的酶学特性研究[J]. 食品与机械, 2004, 20(4): 12-13.
- [20] 朱梅, 王相春, 张媛. 影响金针菇多酚氧化酶活性因素研究[J]. 北华大学学报: 自然科学版, 2009, 10(4): 327-330.
- [21] 宋莲军, 唐贵芳, 赵秋艳, 等. 富士苹果多酚氧化酶的提取及特性的研究[J]. 浙江农业科学, 2009(4): 789-793.
- [22] 付聿成, 王妮娅, 杜金华. 金帅苹果多酚氧化酶提取及部分酶学特性研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27(2): 59-62.