

文章编号: 1673-1689(2011)02-0200-07

调控处理对3种食用菌特性酶的影响

黄俊丽, 马海燕, 陶菲, 张懋*

(食品科学与技术国家重点实验室 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘要: 研究了黑牛肝菌、香菇、白蘑菇3种食用菌各自特性酶活的动态变化规律。其中黑牛肝菌和香菇在4、10、20℃进行不同的温度调控,白蘑菇进行真空预冷处理调控。研究了各自特性酶如过氧化物酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶、羧甲基纤维素酶、超氧化物歧化酶、多聚半乳糖醛酸酶随着贮藏时间的变化规律。

关键词: 过氧化物酶; 多酚氧化酶; 过氧化氢酶; 羧甲基纤维素酶; 超氧化物歧化酶; 多聚半乳糖醛酸酶

中图分类号: Q 55

文献标识码: A

Effect of Controlling Treatment on Characteristic Enzymes of Three Kinds of Edible Fungi

HUANG Jun-li, MA Hai-yan, TAO Fei, ZHANG Min*

(State Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: This manuscript investigated effects of temperature and vacuum pre-cooling on the special enzyme activity of three kinds of edible fungi, such as *Boletus aereus*, *Lentinus edodes* and *Agaricus bisporus*. For *Boletus aereus* and *Lentinus edodes*, the temperature were set at 4℃, 10℃ and 20℃, while *Agaricus bisporus* were controlled by vacuum pre-cooling. The changes of edible fungi specific enzymes activities such as peroxidase, polyphenol oxidase, catalase, as well as carboxymethyl cellulase enzyme, superoxide dismutase, poly-galacturonic acid with the storage time were demonstrated in this study.

Key words: peroxidase (POD), polyphenoloxidase (PPO), catalase (CAT), carboxymethyl cellulase (CMCase), cellulase, polygalacturonase (PG), superoxide dismutase (SOD)

食用菌含有相当高的蛋白质质量分数(19%~35%,包括所有的必须氨基酸),并且脂肪含量低。食用菌干样中,含有相对较高的碳水化合物和纤维,分别是51%~88%和4%~20%^[1]。另外,食用菌含有大量的维生素,包括硫胺素、核黄素、抗坏血

酸和维生素D₂以及一些矿物质元素。食用菌具有很高的营养价值,同时有很多医用价值:抗肿瘤活性、抗病毒活性和降血脂功能^[2]。但由于各种食用菌本身的一些特有性质,如双孢蘑菇含水量高,组织非常细嫩,菌盖表面没有明显的保护结构,常温

收稿日期: 2010-04-20

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2008BA DA 1B05); 江苏省“333 高层次人才培养工程”资助项目。

* 通信作者: 张懋(1962-),男,浙江平湖人,工学博士,教授,博士研究生导师,主要从事农副产品加工与贮藏方面的研究。Email: min@jiangnan.edu.cn

下采后 1~2 d, 菇体内的水分就会大量蒸发散失, 菌盖及菌褶开始破膜、开伞、失水、萎缩、褐变, 甚至腐烂, 菌柄伸长, 商品价值下降甚至丧失^[3]; 新鲜香菇 (*Lentinus edodes*) 菇体组织柔软容易变质, 如褐变、枯萎、软化、发粘、腐败、产生异味等, 导致形态、颜色、质量、质地、营养成分及香味的变化, 最终失去商品价值, 其子实体鲜度保持期一般仅为 1~3 d^[4]; 而黑牛肝菌数量大, 商品价值最高, 但由于采集时间不集中, 保鲜条件不够, 牛肝菌品质较差^[5]。因此, 解决鲜食用菌采后保鲜问题, 延长其上市期限, 是鲜食用菌产业化发展的必由之路。

变质基本原因一是采后生理变化; 二是微生物侵染^[6], 生理变化过程中, 食用菌中的各种酶类, 如过氧化物酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶, 以及或羧甲基纤维素酶、超氧化物歧化酶、多聚半乳糖醛酸酶等, 对食用菌的感官品质营养品质具有很大的影响。过氧化物酶和多酚氧化酶对白蘑菇的褐变起了很大作用^[7]。作者通过不同调控处理对食用菌特性酶的影响, 分析各自酶活的变化规律, 同时为寻找鲜食用菌贮藏保鲜的最适温度提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

黑牛肝菌: 2009年10月17日, 采自云南食用菌研究所基地, 放冰块于包装温箱中, 当天下午空运到无锡, 晚上放于 4℃冰箱中保存; 香菇: 购于无锡雪浪菜市场; 白蘑菇: 由无锡惠山区农林局提供, 采后 1 h 内运送到实验室; 试验所用试剂均为分析纯。TDL-60 台式离心机: 上海安亭科学仪器厂制造; pH S-2C 酸度计: 上海分析仪器厂制造; FA1104 型电子天平: 上海天平仪器厂制造; 离心沉淀机: 上海医用分析仪器厂制造; 恒温水浴锅: 郑州长城科工贸有限公司制造; BCD-205UT 电冰箱: 青岛海尔股份有限公司制造; 721 型紫外可见分光光度计: 上海精密科学仪器有限公司产品; 温度数字记录仪: 浙江联泰仪表有限公司产品; 实验室常规玻璃仪器等。

1.2 试验方法

1.2.1 香菇、黑牛肝菌的调控处理 挑选大小均一、无虫无损坏的黑牛肝菌[→]进行简单整理(不用水清洗)[→]分组并放置于保鲜袋中, 封口[→]贮存于 4、10、20℃。每两天测定一次指标。香菇处理方式同黑牛肝菌。

1.2.2 白蘑菇调控处理

1) 对照样品: 白蘑菇[→]在 0℃冷库中预冷处

理, 预冷温度为 5℃[→]气调包装((15±1) KPa CO₂, (10±1) KPa O₂, 每盒 200 g 左右)[→]冷库贮藏(温度(0±1)℃, 湿度为 95%)。

2) 真空预冷样品: 白蘑菇[→]真空预冷处理(预冷温度为 5℃, 最终压力为 0.25 KPa, 水分质量分数为 5%)[→]气调包装(15 KPa CO₂, 10 KPa O₂, 每盒 200 g 左右)[→]冷库贮藏(温度(0±1)℃, 湿度为 95%)

1.3 检测指标及测定方法

1.3.1 过氧化物酶(POD)活性测定

1) 酶液的提取: 取食用菌 5.0 g, 加入 4 倍体积的 0.05 mol/L、pH 7.0 的磷酸缓冲液(含 1% PVPP), 冰浴研磨 10 min 后, 以 4 000 r/min 的转速离心 5 min, 然后将其上清液移入另一组离心内, 以 4 000 r/min 的转速离心 5 min, 取其上清液, 加入 0.2 g 的活性炭脱色, 滤纸过滤, 滤液即为提取的酶液^[8,10]。将所得酶液置于 4℃冰箱中, 待测。

2) POD 酶活测定(邻苯二胺-无水乙醇): pH 7.0 的 PBS 2.5 mL, 1% 邻苯二胺-无水乙醇溶液 0.20 mL, 0.3% H₂O₂ 0.1 mL, 最后加入 0.20 mL 酶液, 搅匀, 在 470 nm 处测定, 每 30 s 测定一次, 共测 3 min。酶活性的单位 U 以每克样品每分钟 0.001 吸光度的变化来表示, 即 1 U = 1 × 10³ OD/(min · g) (OD = 光密度)。每组试验重复 3 次。

$$POD = \frac{D}{0.001 \times F_w} \times \frac{dA}{dt} \quad (1)$$

式中: D 为稀释倍数; F_w 为样品鲜质量(g)。

1.3.2 多酚氧化酶(PPO)活性测定 酶液的提取同 POD。取 0.2% 的邻苯二酚溶液 2.1 mL 于 3 mL 比色皿中, 加 0.8 mL 的 0.1 mol/L、pH 7.0 的磷酸缓冲液, 再将 0.1 mL 的酶液加入比色皿中, 用 721 分光光度计在 420 nm 处测定吸光度, 每 10 s 记录 1 次, 共记录 3 min, 以初始直线段的斜率 ($\Delta OD/t$) 计算酶活力。1 个相对酶活力单位定义为: 在测定条件下, 酶活性的单位 U 以每克样品每分钟 0.001 吸光度的变化来表示, 即 1 U = 1 × 10³ OD/(min · g) (OD = 光密度)。每组试验重复 3 次。

$$PPO = \frac{D}{0.001 \times F_w} \times \frac{dA}{dt} \quad (2)$$

式中: D 为稀释倍数; F_w 为样品鲜质量(g)。

1.3.3 过氧化氢酶(CAT)活性测定 酶液的提取: 取食用菌 2.5 g, 加入 15 mL 50 mmol/L pH 7.8 PBS, 冰浴研磨成匀浆后, 于 4 000 r/min 离心 5 min, 然后将其上清液过滤, 移入另一组离心内, 以 4 000 r/min 的转速离心分离 5 min, 取其上清液即

为提取的酶液。取 0.2 mL 上清液, 加入 1.5 mL、0.05 mol/L、pH 7.0 PBS 和 0.3 mL 0.3% H_2O_2 , 加入后立即计时, 并在 240 nm 测吸光度^[8]。以 1 min 内 A_{240} 减少 0.001 的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$CAT = \frac{D}{0.001 \times F_w} \times \frac{dA}{dt} \quad (3)$$

式中: D 为稀释倍数, F_w 为样品鲜质量 (g)。

1.3.4 羧甲基纤维素酶 (CMCase) 测定 取鲜样 3 g, 加柠檬酸缓冲溶液 20 mL, 研磨后混匀, 置于 30 °C 浸提 4 h, 然后以 4 000 r/min 的转速离心 10 min, 上清液置于 4 °C 冰箱用于测定酶活。取 3 支 20 mL 试管, 1 支管作空白对照, 2 支管作平行样品管。每支样品管中加 1 mL 酶溶液, 置于 50 °C 水浴锅中预热 2 min, 然后在 3 支试管中分别加入 4 mL 已预热至 50 °C 的底物溶液 (底物质量浓度为 0.0625 g/dL 的羧甲基纤维素钠), 60 min 取出, 每管分别加入 1 mL、2 mol/L 氢氧化钠溶液和 2 mL DNS 显色液, 摇匀后在对照管中再加入 1 mL 酶液。将 3 支试管放入沸水浴中, 5 min 后立即取出, 流水冷却, 用蒸馏水定容至 20 mL, 于 540 nm 处测 OD 值^[9]。酶活力计算: 从标准曲线中查出葡萄糖的摩尔数:

$$CMCase = \frac{\mu}{t \cdot F_w} \quad (4)$$

式中: t 为保温时间 (酶与底物作用时间 min); F_w 为 1 mL 样品液中样品的质量 (g); μ 是指在特定条件下, 每分钟催化纤维素水解成 1 μ mol 葡萄糖的所需的样品量。

1.3.5 多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 测定 3, 5-二硝基水杨酸滴定法测定^[10]。果胶酶液的制备方法与纤维素酶的相同。取 A、B 两试管各加 1 mL、250 mg/dL 果胶溶液, 并在 A 管中加粗酶液 0.1 mL; A、B 两试管在 37 °C 保温 24 h 后, B 管也加入粗酶液 0.1 mL, 然后用 3, 5-二硝基水杨酸试剂检测还原糖的增加来检测酶活性。在上述条件下, 以每小时产生相当于 1 μ g 的葡萄糖的还原糖为 1 个活力单位。

$$PG \text{ 酶活} = \frac{B \times V_1}{V_2 \times 24 \times W} \quad (5)$$

式中: B 为由标准曲线计算出的葡萄糖质量 (μ g); V_1 为粗酶液的定容体积 (mL); V_2 为测定样品液的体积 (mL); W 为样品鲜质量 (g)。

1.3.6 超氧化物歧化酶 (SOD) 测定 参考邹琦^[11] 和 Crosti^[12] 的方法, 并加以改进。取白蘑菇样品 1 g, 加入 10 mL、50 mmol/L pH 7.8 磷酸缓冲溶液 (含 1 g/dL 聚乙烯吡咯烷酮), 冰浴研磨成匀浆后,

于 4 °C、10 000 g 离心 15 min。取 0.1 mL 上清液, 分别加入 1.5 mL 50 mmol/L、pH 7.8 磷酸缓冲溶液, 0.3 mL、130 mmol/L 甲硫氨酸 (Met) 溶液, 0.3 mL、750 μ mol/L 氮蓝四唑 (NBT) 溶液, 0.3 mL、100 μ mol/L EDTA- Na_2 溶液, 0.3 mL、20 μ mol/L 核黄素溶液, 混匀后置于日光灯下反应 30 min。反应结束后, 用黑布罩盖上试管, 在 560 nm 下测定吸光度, 计算 SOD 活性。

$$SOD \text{ 活性} = \frac{(A_0 - A_s) \times V_T}{A_0 \times 0.5 \times F_w \times V_1} \quad (6)$$

式中: A_0 为照光对照管的光吸收值; A_s 为样品管的光吸收值; V_T 为样液的总体积 (mL); V_1 为测定时样品用量 (mL); F_w 为样品鲜质量 (g)。

1.3.7 纤维素酶活性测定 试管底部预先竖放一个卷曲的滤纸条 (约 50 mg), 加入 1 mL 柠檬酸缓冲液和 0.5 mL 适当稀释的酶液, 混匀, 于 50 °C 下保温反应 1 h, 然后加入 3 mL DNS 试剂终止反应。摇匀后在沸水浴中精确放置 5 min, 用冷水冷却。加入 20 mL 蒸馏水后再充分摇匀。最后静置 20 min 以沉降浆状物。然后在波长 540 nm 处比色测定。空白以溶解酶的缓冲液或蒸馏水代替酶液。一个酶活力单位 (U) 定义为在上述条件下, 每 10 min 内释放出 1 μ mol 葡萄糖所需的酶量。

2 结果与讨论

2.1 不同调控处理对不同食用菌 POD 活性的影响

POD 在植物细胞中以两种形式存在: 以可溶形式存在于细胞浆中; 以结合形式在细胞中或细胞器相结合而存在^[14]。其是植物体内抵御活性氧伤害的重要酶类, 对减少活性氧积累、抵御膜脂过氧化和维护膜结构的完整性有重要作用^[15]。

2.1.1 温度调控处理对黑牛肝菌、香菇 POD 活性的影响 由图 1 可知, 虽黑牛肝菌与香菇均在不同温度下进行贮藏, 但是其总体的变化规律却不尽相同。在贮藏条件下, POD 的活性增加是由于采后不可避免的存在伤呼吸, 而为了修复, 常常是磷酸戊糖途径增强, 而 POD 活性的提高有利于磷酸戊糖途径的进行; 之后活性降低, 食用菌衰老, 代谢紊乱, 使活性氧自由基增多, 清除的能力下降^[16-17]。4 °C 下, 两种食用菌均是先上升后下降形成酶活低谷, 然后又上升, 而黑牛肝菌有一个下降过程, 符合衰老时活性低。20 °C 时, 黑牛肝菌活性变化方向及幅度均较大, 不似香菇的上升变化规律, 可能与品种有关。这与郭丽等^[18] 的研究规律一致。

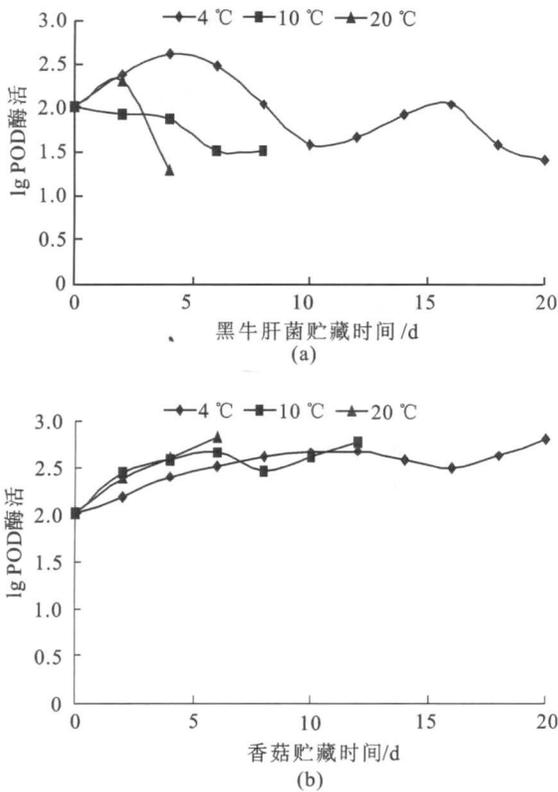


图1 不同贮藏温度对黑牛肝菌(a)、香菇(b)过氧化物酶活性的影响

Fig. 1 Effect of temperature on peroxidase of *Boletus aereus* (a) and *Lentinus edodes* (b) during storage time

2.1.2 真空预冷调控处理对白蘑菇 POD 活性的影响 由图2可以看出,双孢白蘑菇中的 POD 对真空预冷处理较为敏感,处理与未处理样品在前8天,处理样品酶活性低于未处理样品。在随后的贮藏过程中,经真空预冷处理的样品的 POD 活性始终维持在较高的水平,而未经预冷处理的样品的酶活性迅速下降。结果说明,真空预冷处理能够诱导白蘑菇产生较高 POD 活性,从而有益于延长白蘑菇的贮藏期。

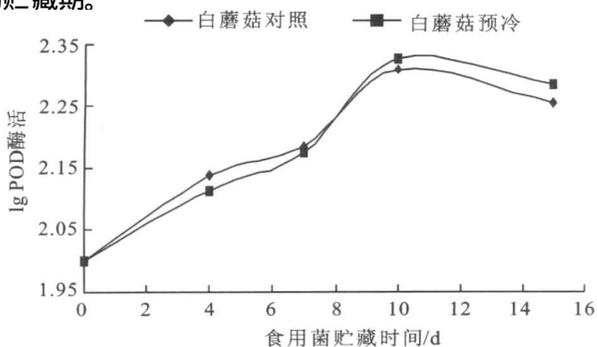


图2 真空预冷对双孢蘑菇过氧化物酶活性的影响

Fig. 2 Effect of vacuum cooling on peroxidase of *Agaricus bisporus* during storage time

2.2 不同调控处理对黑牛肝菌、香菇 PPO 活性的影响

多酚氧化酶也有两种存在形式:结合态的存在于线粒体、叶绿体内,可溶性的游离在细胞浆内^[19]。

由图3明显看出:香菇 PPO 变化规律明显“先快速上升后缓慢上升”,整体一直上升;而黑牛肝菌没有很明显的变化规律,20 °C高温使其快速衰老,PPO 变化类似其 POD 变化。这与石启龙等^[20]、郭丽等^[18]的研究规律一致。

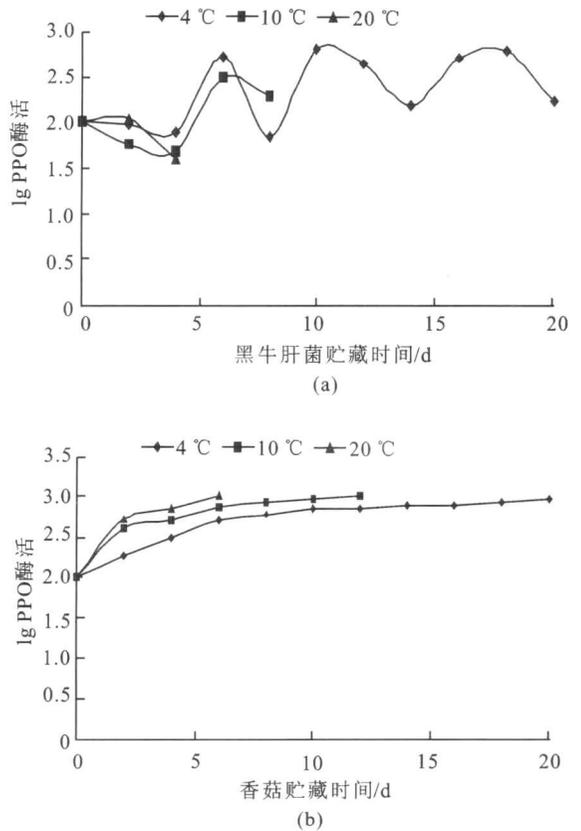


图3 不同贮藏温度对黑牛肝菌(a)、香菇(b)多酚氧化酶活性的影响

Fig. 3 Effect of temperature on polyphenol oxidase of *Boletus aereus* (a) and *Lentinus edodes* (b) during storage time

2.3 不同调控处理对不同食用菌 CAT 活性的影响

植物在衰老时,由于体内活性氧代谢加强而使 H_2O_2 发生累积。可以直接或间接的氧化细胞内核酸、蛋白质等大分子,并使细胞膜遭受损害,从而加速细胞的衰老。过氧化氢酶可以清除 H_2O_2 , 是植物体内清除活性氧的重要保护酶之一^[21]。把与消除自由基有关的过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)及超氧化物歧化酶(SOD)统称为保护性酶系统。

2.3.1 温度调控处理对黑牛肝菌、香菇 CAT 活性的影响 由图4可以发现:两种食用菌 CAT 总体

是下降趋势,香菇较黑牛肝菌规律性强,不同之处在4℃低温时,黑牛肝菌CAT下降过程中出现了极大波动,而香菇CAT波动则较缓和。这些差异与品种间活性氧代谢以及各种营养成分区别有关。在王静等^[22]的研究中,得出CAT的变化规律为先升后降,与本试验中略有差别,可能与品种有关。

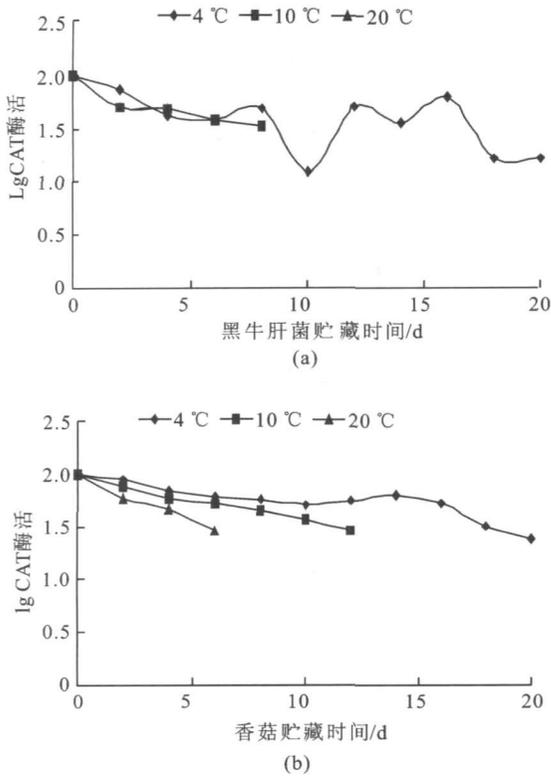


图4 不同贮藏温度对黑牛肝菌(a)、香菇(b)过氧化氢酶活性的影响

Fig. 4 Effect of temperature on catalase of *Boletus aereus* (a) and *Lentinus edodes* (b) during storage time

2.3.2 真空预冷调控处理对白蘑菇CAT活性的影响 由图5可知,在贮藏初期,过氧化氢酶活性增加可能是白蘑菇自身对冷藏和真空预冷处理的应激性反应,所以经真空预冷处理的样品的活性增加幅度较大;在后期由于H₂O₂的积累速度较快导致了过氧化氢酶活性的下降。经真空预冷处理得样品的H₂O₂积累较对照样品少,使得预冷样品的CAT活性略高于对照样品。

2.4 不同调控处理对不同食用菌纤维素酶活性的影响

2.4.1 温度调控处理对黑牛肝菌、香菇CMCase活性的影响 由图6可知,羧甲基纤维素酶是细胞壁水解酶,作用于纤维素,使组织软化。文献[22]显示,其在低温下变化明显。该试验中,所得到的CM-Case规律性很差,但是低温下变化相对较缓和。

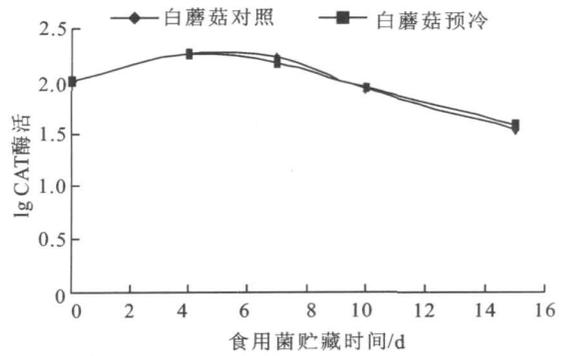


图5 真空预冷对双胞蘑菇过氧化氢酶活性的影响
Fig. 5 Effect of vacuum cooling on catalase of *Agaricus bisporus* during storage time

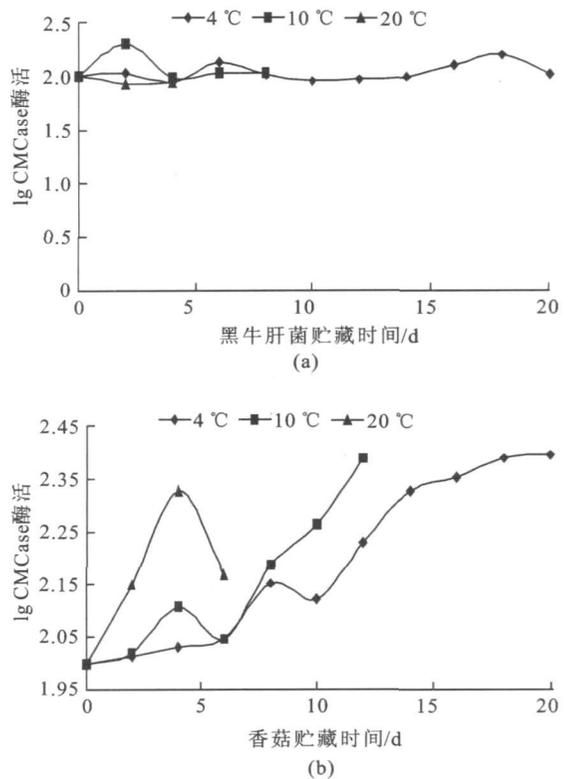


图6 不同贮藏温度对黑牛肝菌(a)、香菇(b)羧甲基纤维素酶活性的影响

Fig. 6 Effect of temperature on carboxymethyl cellulase of *Boletus aereus* (a) and *Lentinus edodes* (b) during storage time

2.4.2 真空预冷调控处理对白蘑菇纤维素酶活性的影响 由图7可知,白蘑菇两个样品的纤维素酶的活力在贮藏初期较为稳定,随后迅速增加并始终维持了较高的活力(见图7),未经真空预冷处理的样品酶活性增加幅度较大。试验结果表明,真空预冷处理在一定程度上延缓了白蘑菇的质构的衰老进程。

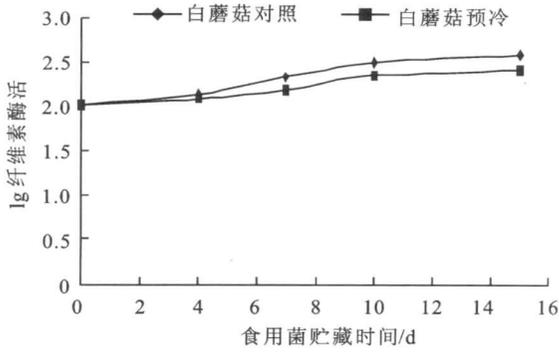


图 7 真空预冷对双孢蘑菇纤维素酶活性的影响

Fig. 7 Effect of vacuum cooling on cellulase of *Agaricus bisporus* during storage time

2.5 不同调控处理对不同食用菌 PG 活性的影响

由图 8, 黑牛肝菌 PG 酶变化规律与衰老和硬度变化有关。4 °C 时贮藏中期活性达到高峰期, 与果实硬度的快速下降有关。低温下, 先是无规律变化, 最后上升。双孢白蘑菇的对照样品与预冷样品的多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性的变化趋势都是先增加后下降, 预冷样品的酶活性的高峰较对照样品的出现的迟并且活性较低。实验结果表明, 真空预冷处理能够延缓 PG 果胶酶的活性高峰的出现, 并能够降低其活性, 从而延缓白蘑菇的软化过程。

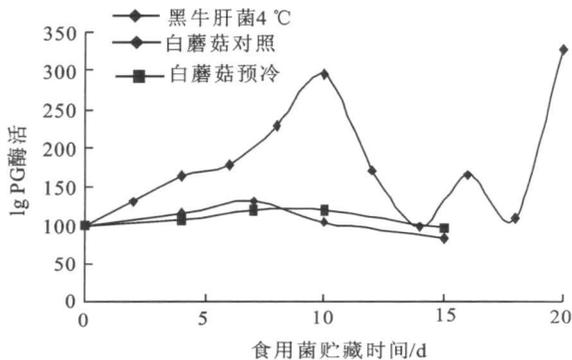


图 8 不同调控处理对不同食用菌多聚半乳糖醛酸酶的影响

Fig. 8 Effect of on polygalacturonase of different mushrooms under different regulatory treatments

2.6 不同调控处理对不同食用菌 SOD 活性的影响

SOD 是植物体内抗氧化防御体系的关键酶, 它的作用是将 $O_2^{\cdot -}$ 歧化成 H_2O_2 和 $\cdot O_2$ 。CAT 和 POD 是植物体内清除 H_2O_2 的 2 个主要酶。SOD

和 CAT 或 POD 共同作用可以清除植物体内具有潜在危险的 H_2O_2 和 $\cdot O_2$, 从而最大限度减少活性氧的形成。双孢白蘑菇经真空预冷处理后, 其活性与对照样品相比增加幅度较大, 这说明真空预冷处理胁迫增强了白蘑菇对氧自由基的清除能力。在随后的贮藏过程中, 在第 10 天, 3 个样品 SOD 的活性达到最大值, 随后白蘑菇两个样品逐渐降低, 黑牛肝菌快速下降。真空预冷处理可以使 SOD 活性保持在较高水平, SOD 通过清除氧自由基 ($O_2^{\cdot -}$), 从而减少活性氧物质对白蘑菇的损伤来延长其贮藏期, 结果见图 9。

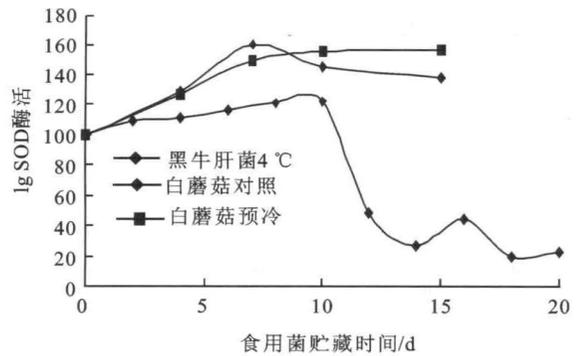


图 9 真空预冷对超氧化物歧化酶活性的影响

Fig. 9 Effect of on superoxide dismutase of different mushrooms under different regulatory treatments

3 结 语

1) 在不同温度下贮藏, 由贮藏的时间长短可以明显看出低温对食用菌品质的保藏作用。不同的温度对不同酶活的影响规律也不一样, 综观实验结果, 可以很明显发现在贮藏中期(贮藏 8~10 d), 各种酶活几乎都达到变化的拐点。研究此期间的生理变化, 对品质保持个方面可能会有不可忽略的作用。

2) 过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)是果蔬中具有清除活性氧作用的保护酶类。真空预冷处理能够使贮藏白蘑菇体内 POD、CAT 和 SOD 比对照处理高, 抗氧化酶活性升高, 或提高抗氧化酶系的活性, 菌体通过提高自身抗氧化酶活性来增强对 ROS 的清除能力。

参考文献(References):

[1] Pirjo Mattila, Karoliina Suonpää, Vieno Piironen. Functional properties of edible mushrooms[J]. *Nutrition*, 2000, 16(7, 8): 694- 696.
 [2] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
 [3] 石启龙, 王相友, 王娟, 等. 包装材料对双孢蘑菇贮藏保鲜效果的影响[J]. *食品科学*, 2005, 26(6): 253- 256.

- SHI Qi long, WANG Xiang you, WANG Juan, et al. Effect of different package material on keeping quality of *Agaricus bisporus*[J]. **Food Science**, 2005, 26(6): 253– 256. (in Chinese)
- [4] 蒋冬花, 许朝渊, 张萍华, 等. 3种保鲜剂对香菇保鲜效果[J]. **食品科学**, 2004, 25(9): 194– 197.
JIANG Dong hua, XU Chao yuan, ZHANG Ping hua, et al. Effects of three preservatives on fruit of *Lentinus edodes* for fresh keeping[J]. **Food Science**, 2004, 25(9): 194– 197. (in Chinese)
- [5] 桂明英, 郭永红, 刘蓓, 等. 采收成熟度对牛肝菌保鲜贮藏的影响[J]. **中国食用菌**, 2004, 2: 54– 55.
GUI Ming ying, GUO Yong hong, LIU Bei, et al. Influence of ripe degree of *Boletus speciosus* frost on storage and fresh keeping[J]. **Edible Fungi of China**, 2004, 2: 54– 55. (in Chinese)
- [6] 吴经纶, 黄年来. 中国香菇生产[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 33– 56.
- [7] 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: 自然科学版**, 2007, 26(2): 80– 83.
BIAN Sheng zhen, YANG Qing xiang. The physiological and chemical change of harvested *Agaricus bisporus*[J]. **Journal of Xinjiang Normal University: Natural Sciences Edition**, 2007, 26(2): 80– 83. (in Chinese)
- [8] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学试验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002.
- [9] 王琳, 刘国生, 王林嵩, 等. DNS法测定纤维素酶活力最适条件研究[J]. **河南师范大学学报: 自然科学版**, 1998, 26(3): 66– 69.
WANG Lin, LIU Guo sheng, WANG Lin song, et al. The optimal conditions for cellulase activity measurement with DNS method[J]. **Journal of Henan Normal University: Natural Science**, 1998, 26(3): 66– 69. (in Chinese)
- [10] 胡西琴, 余音, 陈力耕. 杨梅果实贮藏期间若干生理特性的研究[J]. **浙江大学学报: 农业与生命科学版**, 2001, 27(2): 179– 182.
HU Xi qin, YU Xin, CHEN Li geng. Studies of Chinese bayberry fruits on some physiological characters during the storage[J]. **Journal of Zhejiang University: Agric & Life Sci**, 2001, 27(2): 179– 182. (in Chinese)
- [11] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [12] Crosti N, Serviden T, Bajer J, et al. Modification of 6-hydroxydopamine technique for the correct determination of superoxide dismutase[J]. **Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry**, 1987, 25: 265– 272.
- [13] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997: 689– 690.
- [14] 王璋. 食品酶学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 254.
- [15] 张燕, 方力, 李天飞, 等. 钙对烟草叶片热激忍耐和活性氧代谢的影响[J]. **植物学通报**, 2002, 19(6): 721– 726.
ZHANG Yan, FANG Li, LI Tian fei, et al. Effect of calcium on the heat tolerance and active oxygen metabolism of tobacco leaves[J]. **Chinese Bulletin of Botany**, 2002, 19(6): 721– 726. (in Chinese)
- [16] 安建申, 张愨, 郭杰, 等. 6-苜氨基嘌呤对气调包装芦笋贮藏的影响[J]. **食品与生物技术学报**, 2005, 24(3): 10– 13.
AN Jian shen, ZHANG Min, GUO Jie, et al. Effect of 6-BA treatment on modified atmosphere packaging of *Asparagus*[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24(3): 10– 13. (in Chinese)
- [17] 张维一. 果蔬采后生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1990: 82.
- [18] 郭丽, 马莹. 不同贮藏温度下薄膜包装油豆角生理特性的研究[J]. **食品工业科技**, 2008, 7: 222– 225.
GUO Li, MA Ying. Study on the physiological quality of film packaged green bean under different storage temperature[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2008, 7: 222– 225. (in Chinese)
- [19] 樊建, 赵天瑞, 曹建新, 等. 冻结条件对黑牛肝菌 PPO 和 POD 活性的影响[J]. **中国食用菌**, 2007, 26(2): 47– 49.
FAN Jian, ZHAO Tian ru, CAO Jian xin, et al. Effect of freezing on PPO and POD activity in *Boletus aereus*[J]. **Edible Fungiof China**, 2007, 26(2): 47– 49. (in Chinese)
- [20] 石启龙, 王相友, 王娟, 等. 不同贮藏温度对双孢蘑菇生理特性的影响[J]. **食品工业科技**, 2005, 26(3): 165– 167.
SHI Qi long, WANG Xiang you, WANG Juan, et al. Effect of different temperature on physiological grounds characteristics of mushrooms[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2005, 26(3): 165– 167. (in Chinese)
- [21] 陆德彪, 骆耀平, 童启庆. 过氧化氢酶在干旱胁迫中的活性变化及其与茶树抗旱性关系[J]. **浙江大学学报: 农业与生命科学版**, 1992, 18(S)1: 50– 55.
LU De biao, LUO Yao ping, TONG Qi qing. The changes of CAT activity during drought stress with relation to drought resistance of tea plant[J]. **Acta Agriculturae Universitatis Zhejiangensis**, 1992, 18(S)1: 50– 55. (in Chinese)
- [22] 王静, 徐为民, 诸永志, 等. 贮藏温度对鲜切牛蒡褐变的影响[J]. **江苏农业学报**, 2008, 24(4): 492– 496.
WANG Jing, XU Wei min, ZHU Yong zhi, et al. Effects of storage temperature on browning of fresh cut burdock (*Arctium lappa*L.)[J]. **Jiang su of J of Agr Sci**, 2008, 24(4): 492– 496. (in Chinese)
- [23] 田寿乐, 周俊义, 薛晓敏. 冬枣软化衰老过程中细胞壁酶的活性变化[J]. **食品科学**, 2007, 28(4): 220– 222.
TIAN Shou le, ZHOU Jun yi, XU E Xiao min. Activity changes of cell wall enzyme in the Chinese Jujube Fruit (*Zizyphus Jujuba mill.* cv. Dong)[J]. **Food Science**, 2007, 28(4): 220– 222. (in Chinese)