

可溶态和膜结合态马铃薯多酚氧化酶的性质对比

刘辉¹, 卢扬¹, 刘永翔^{1,2}, 王辉¹, 李俊¹

(1. 贵州省农业科学院食品加工研究所, 贵州贵阳 550006) (2. 贵州省生物技术重点实验室, 贵州贵阳 550006)

摘要: 以大西洋马铃薯为原料, 制备可溶态 (sPPO) 和膜结合态 (mPPO) 多酚氧化酶, 并对两种粗酶液的酶学性质进行研究。结果表明, sPPO 最适反应温度为 35 ℃, 最适 pH 值为 7, mPPO 最适反应温度为 30 ℃, 最适 pH 值为 7。以焦性没食子酸、邻苯二酚为底物时, sPPO 的米氏常数 (K_m) 分别为 10.04 mmol/L 和 24.00 mmol/L, 最大反应速度 (V_{max}) 值分别为 443 U/(mL·min) 和 965 U/(mL·min), mPPO 的米氏常数 (K_m) 分别为 4.98 mmol/L 和 48.04 mmol/L, 最大反应速度 (V_{max}) 值分别为 299 U/(mL·min) 和 912 U/(mL·min), 且对焦性没食子酸的催化效果优于邻苯二酚。6 种抑制剂对比发现, Na_2SO_3 对 sPPO 活性的抑制效果最好, Vc 对 mPPO 活性的抑制效果最好。sPPO 和 mPPO 的酶学特性有一定的差异, 对马铃薯制品加工过程中酶促褐变的控制具有指导意义。

关键词: 马铃薯; 可溶态多酚氧化酶; 膜结合态多酚氧化酶; 酶活性

文章编号: 1673-9078(2020)05-51-56

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.008

Comparison of Properties of Soluble and Membrane Bound Potato Polyphenol Oxidase

LIU Hui¹, LU Yang¹, LIU Yong-xiang^{1,2}, WNAG Hui¹, LI Jun¹

(1. Food Processing Institute of Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China)

(2. Guizhou Key Laboratory of Biotechnology, Guiyang 550006, China)

Abstract: Atlantic potato was used as raw material to prepare soluble (sPPO) and membrane bound (mPPO) polyphenol oxidase. The results showed that the optimal reaction temperature of sPPO was 35 ℃, the optimal pH value was 7. The optimal reaction temperature of mPPO was 30 ℃, and the optimal pH value was 7. When pyrogalllic acid and catechol were used as substrates, the K_m values of sPPO were 10.04 mmol/L and 24.00 mmol/L, respectively, and the V_{max} values were 443 U/mL·min and 965 U/mL·min, respectively. The K_m values of mPPO were 4.98 mmol/L and 48.04 mmol/L, respectively, and the V_{max} values were 299 U/mL·min and 912 U/mL·min, respectively, and the catalytic effect of pyrogalllic acid was better than that of catechol. The comparison of 6 inhibitors showed that Na_2SO_3 had the best inhibition effect on sPPO activity and Vc had the best inhibition effect on mPPO activity. The enzymatic characteristics of sPPO and mPPO were different. The results will be provide a guiding significance for the control of enzymatic browning in the processing of potato products.

Key words: potato; soluble polyphenol oxidase; membrane bound polyphenol oxidase; enzyme activity

引文格式:

刘辉, 卢扬, 刘永翔, 等. 可溶态和膜结合态马铃薯多酚氧化酶的性质对比[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 51-56

LIU Hui, LU Yang, LIU Yong-xiang, et al. Comparison of properties of soluble and membrane bound potato polyphenol oxidase [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 51-56

多酚氧化酶 (PPO) 是在广泛存在于动物、植物、真菌体内、腐烂的植物残渣上的一类 Cu^{2+} 辅基结合酶^[1]。PPO 是引起果蔬酶促褐变的主要内源酶, 广泛存在于植物体的各种器官或组织中, 由核基因编码且由

收稿日期: 2019-10-25

基金项目: 贵州省科技计划项目 ([2018]1153); 国家自然科学基金资助项目 (31860461)

作者简介: 刘辉 (1986-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 农产品加工

通讯作者: 李俊 (1990-), 男, 助理研究员, 研究方向: 食品加工与检测

多个核基因控制, 其数量、类型在不同物种和品种间均存在差异^[2,3]。马铃薯在加工过程中极易发生褐变, 主要由 PPO 及其底物酚类物质的存在引起, 褐变以后的马铃薯制品在色泽、风味、硬度等感官特性方面会产生较大改变, 且酶促褐变产生的类黑素聚合物不溶于水, 不利于人体消化吸收, 可使产品的营养价值降低, 甚至有可能影响食品的安全性^[4]。同时, 有研究表明, 每年全世界因褐变造成的果蔬损失超过总损失的一半, 且以多酚氧化酶引起的酶促褐变为主^[5], 有

关酶促褐变的研究也一直是果蔬采后加工研究的热点问题。

在对一些果蔬如苹果、蛇皮果等果实的多酚氧化酶研究发现,多酚氧化酶有膜结合态(mPPO)和可溶态(sPPO)两种存在形式,sPPO存在于细胞质或质体中,mPPO存在于质体、线粒体等细胞器膜上,且两者在酶活性、结构、最适底物及最佳反应条件等方面不一致,依据这些性质差异可以区分sPPO和mPPO^[6]。Liu等^[7]通过硫酸铵沉淀法及DEAE Sepharose Fast Flow阴离子交换法对苹果mPPO进行了纯化,同时与苹果的sPPO的性质进行了比较,发现它们在一定pH、温度范围内的活性有差异,mPPO的活性要显著高于sPPO,且反应的最适底物也不一致。Liu等^[8]通过分子对接技术DOCK分析了红富士苹果中mPPO的三维结构,发现苹果mPPO由6个 α -螺旋,2个短的 β -折叠,和10个无规卷曲组成。在正常状态下,细胞内的mPPO与细胞内膜结合,处于低活性状态,引起褐变的主要为sPPO,但在外界某些刺激下,mPPO活性受到激发后,其酶活力要高于sPPO^[9]。而马铃薯块茎PPO的研究,仍然停留在sPPO性质及抑制剂筛选的研究阶段,而对sPPO和mPPO的特性等方面的研究报道较少。因此,本实验通过研究马铃薯sPPO和mPPO性质以及抑制剂对其活性的影响,初步探讨sPPO和mPPO特性的差别,为有效降低马铃薯加工过程中褐变对产品品质的影响提供理论基础和技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大西洋马铃薯(*Solanum tuberosum* L.),由贵州省马铃薯研究所提供。牛血清蛋白(BSA)标准品($\geq 98\%$),北京索莱宝科技有限公司;磷酸氢二钠、三羟甲基甲烷(Tris)、盐酸、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、考马斯亮兰G-250、邻苯二酚、焦性没食子酸、亚硫酸钠、植酸、抗坏血酸(Vc)、草酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)等均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

UV-2102C型紫外可见分光光度计,尤尼科上海仪器有限公司;CR21G III型高速冷冻离心机,日本日立公司;FA2004型分析天平,上海精密科学仪器有限公司;HHS型数显恒温水浴锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

1.2 可溶态和膜结合态多酚氧化酶粗酶液的制备

原理:sPPO存在于细胞质中,具有催化活性。而mPPO束缚于细胞膜,一旦细胞膜结构被破坏,mPPO才能游离出来,转化为有活性的sPPO,从而使活性显著提高。因此,对细胞质中sPPO提取过后,破坏细胞膜结构可以将mPPO提取出来。

sPPO粗酶液制备:取新鲜马铃薯20 g,依次加入3 g PVP、60 mL预冷的柠檬酸-磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.2),冰浴研磨均匀,置于4℃冰箱中浸提12 h。浸提液于4℃、12000 r/min离心30 min后,取上清液,得sPPO粗酶液。

mPPO粗酶液制备:在残渣中加入150 mL Tris-HCl(pH 6.8)缓冲液和0.25% Triton X-100,匀浆后静置4 h。超声处理15 min,4℃下11000 r/min离心15 min。在4℃冰箱中静置30 min,然后35℃水浴保温15 min。25℃下11000 r/min离心15 min,取上清液,得mPPO粗酶液^[10]。

sPPO和mPPO粗酶液中酶蛋白含量分别为5.51 mg/mL和0.30 mg/mL。

1.3 多酚氧化酶活性测定

以邻苯二酚为反应底物,多酚氧化酶会催化邻苯二酚生成邻苯二醌,在该物质特征吸收波长处,吸光值会随着时间的延长不断升高,在反应的初始阶段,其吸光值随着时间呈线性递增,可通过吸光值对时间的斜率计算出酶的活性。在1 cm的比色皿中,用0.05 mol/L磷酸盐缓冲溶液(pH 6.5)配置成0.2 mol/L的邻苯二酚溶液作为底物溶液,取PPO粗酶液0.3 mL,与2.5 mL底物溶液混匀,在25℃条件下用分光光度计测定1 min内混合液在416 nm波长下的吸光值变化。每30 s记录一次,连续记录5 min。一个酶活力单位定义为:在测定条件下,每分钟催化1 $\mu\text{mol/L}$ 邻苯二酚为醌所需要的酶量定义为1个酶活力单位。产物的摩尔吸光系数按 $\epsilon=3700 \text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$ 计算^[11,12]。按如下公式计算粗酶液PPO活力:

$$\text{酶活力} = (N \times V_{\text{总}} \times \Delta\text{OD}_{416}) / (V_{\text{酶}} \times \epsilon \times t \times L)$$

其中N:酶液稀释倍数;V_总:PPO酶活测定反应体系的终体积(mL);V_酶:反应添加的酶液体积(mL); ΔOD_{416} :t时间内反应液在416 nm处吸光度的增加值; ϵ :416 nm处邻苯二酚转化为邻苯二醌的摩尔吸光系数[L/(mol·cm)];t:反应时

间 (min) ; L: 比色皿的直径 (cm)。

1.4 不同反应条件对 PPO 活性影响试验

1.4.1 不同反应温度对 sPPO 和 mPPO 活性的影响

分别取 sPPO 和 mPPO 粗酶液 0.3 mL, 反应温度分别设置为 20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70 °C, 依照 1.3 中的方法测定 PPO 酶活性。

1.4.2 不同 pH 值对 sPPO 和 mPPO 活性的影响

分别取 sPPO 和 mPPO 粗酶液 0.3 mL, 酶反应磷酸盐缓冲液 pH 值分别设置为 3、4、5、6、7、8, 依照 1.3 中的方法测定 PPO 酶活性。

1.4.3 不同底物对 sPPO 和 mPPO 活性的影响

分别取 sPPO 和 mPPO 粗酶液 0.3 mL, 其中底物分别为邻苯二酚和焦性没食子酸溶液, 各底物浓度设置为 10、20、30、40、50 mmol/L, 依照 1.3 中的方法测定 PPO 酶活性。

1.4.4 PPO 动力学常数测定

依照 1.3 中的方法测定 PPO 酶活性, 其中反应底物分别选用反应体系中终浓度[S]分别为 10、20、30、40、50 mmol/L 的邻苯二酚、焦性没食子酸溶液。作反应底物浓度与酶反应速度的双倒数图, 即取 $1/V$ 对 $1/[S]$ 作散点图, 当趋势线方程 $y=ax+b$ 中, 其中, $b=1/V_{max}$, $b/a=1/K_m$, 即常规米氏方程: $1/V=K_m/V_{max}/[S]+1/V_{max}$, 根据斜率公式计算米氏常数 (K_m) 和最大反应速度 (V_{max}) 值。纵坐标值即为 $1/V_{max}$, 横截距即为 $1/K_m$ ^[12]。

1.4.5 抑制剂对 sPPO 和 mPPO 活性的影响

缓冲液分别选用含有亚硫酸钠、植酸、Vc、草酸、柠檬酸、EDTA (各抑制剂在缓冲液中的终浓度设置为 1.00 mmol/L) 的 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 6.5)。依照 1.3 中的方法测定 sPPO 和 mPPO 活性。

1.5 数据处理

采用 Origin (Version 8.6) 作图, SPSS (Version 17.0) 进行统计学分析, $p<0.05$ 认为有统计学显著性差异, $p<0.01$ 认为有统计学极显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 反应温度对 sPPO 和 mPPO 粗酶液活性的影响

影响

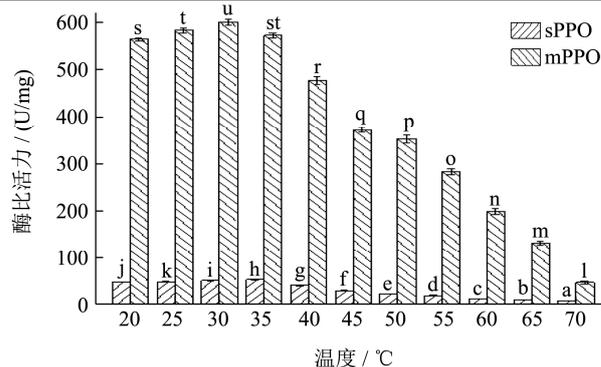


图1 马铃薯sPPO和mPPO在不同反应温度下的酶比活力

Fig.1 Enzymatic activity of sPPO and mPPO under different reaction temperatures

注: 不同字母表示在 $p<0.05$ 水平差异有统计学意义, 下同。

在不同反应温度下测定大西洋马铃薯sPPO和mPPO粗酶液的比活力, 结果见图1。由图可知, 在反应温度从20 °C增加到70 °C过程中, sPPO和mPPO酶比活力均呈现先升高后迅速降低的趋势, 且升高或降低的过程均具有显著性 ($p<0.05$)。sPPO酶比活力在35 °C达到最高, 为54.23 U/mg; mPPO酶活力在30 °C达到最高, 为600.00 U/mg。在不同温度条件下mPPO比酶活力均高于sPPO, 且两种酶均随温度升高而活力降低, 在温度达到70 °C时, sPPO酶比活力降至9.88 U/mg, mPPO酶比活力降至47.94 U/mg。马铃薯sPPO和mPPO最适反应温度随品种与生长条件的不同而各有差异: 周向军等^[13]测定了甘肃省天水市“黑美人”马铃薯的最适反应温度为35 °C; 朱新鹏等^[14]测定了陕西省安康市0402-9、费乌瑞它、秦芋32、安薯56、秦芋30、鄂5、0406-1等7个马铃薯品种的最适温度均为25 °C; 李瑜等^[15]测定了河南省郑州市中薯5号、中薯6号、费乌瑞它等3个马铃薯品种的最适温度为30 °C; 李凯等^[16]测定了宁夏固原市宁薯16号马铃薯的最适反应温度为30 °C。以上研究提取方式各异, 提取出的粗酶液主要为sPPO, 本实验所选品种sPPO和mPPO的最适反应温度与相关报道略有差别, 最适反应温度与提取条件及品种关系较大, 而PPO的稳定性也许是受酶所处环境中底物与活性中心结合的能力的影响, 因此sPPO和mPPO最适反应温度不一致。

2.2 不同pH值对sPPO和mPPO粗酶液活性的影响

在不同 pH 值的缓冲溶液中测定大西洋马铃薯sPPO 和 mPPO 粗酶液的比活力, 结果见图 2。由图可

知: 当 pH 为 7 时, sPPO 和 mPPO 酶比活力均达到最大值, 分别为 47.40 U/mg 和 583.52 U/mg。在 pH 值从 3 升高到 7 的过程中, sPPO 和 mPPO 酶比活力均显著升高 ($p < 0.05$), 随着 pH 值继续升高, sPPO 和 mPPO 酶比活力均显著降低 ($p < 0.05$)。周向军等^[13]测定了甘肃省天水市“黑美人”马铃薯的最适 pH 值为 6.3; 朱新鹏等^[14]测定了陕西省安康市 7 个马铃薯品种的最适 pH 值为 5.6~6.8; 李瑜等^[15]测定了河南省郑州市 3 个马铃薯品种的最适 pH 值为 5.5; 李凯等^[16]测定了宁夏固原市宁薯 16 号马铃薯的最适 pH 值为 6.4。本实验测定的大西洋马铃薯 sPPO 和 mPPO 最适 pH 值均为 7.0, 与上述不同品种马铃薯最适 pH 值报道结果基本一致。刘芳^[11]报道富士苹果中 sPPO 和 mPPO 最适 pH 值均为 8.0, 两种酶结构中的活性区域基本相同, 因此, 马铃薯中两种多酚氧化酶的活性区域可能差别不大。

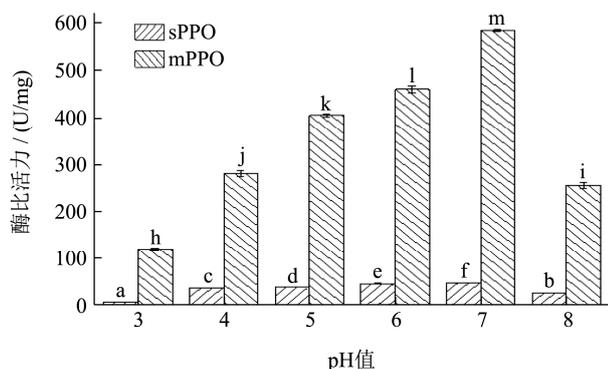


图2 马铃薯sPPO和mPPO在不同反应pH值下的酶比活力

Fig.2 Enzymatic activity of sPPO and mPPO under different reaction pH values

2.3 不同底物对 sPPO 和 mPPO 粗酶液活性的影响

选择邻苯二酚和焦性没食子酸为反应底物, 分别以不同浓度进行酶反应, 测得 sPPO 和 mPPO 粗酶液的活性见图 3a-b。由图 3a 可知: 以邻苯二酚作为底物时, sPPO 和 mPPO 的单位酶活力均随着底物浓度增加而显著升高 ($p < 0.05$), 当邻苯二酚浓度达到 50 mmol/L 时, sPPO 和 mPPO 的单位酶活力分别达到 695.0 U/mL 和 514.0 U/mL。由图 3b 可知, 以焦性没食子酸作为底物时, sPPO 和 mPPO 的单位酶活力均随着底物浓度增加而显著升高 ($p < 0.05$), 当焦性没食子酸浓度达到 50 mmol/L 时, sPPO 和 mPPO 的单位酶活力分别达到 362.0 U/mL 和 276.0 U/mL。酶的底物特异性具有很大差异, 不同的酶具有不同的最适底物^[17]。李敏等^[18]发现马铃薯多酚氧化酶仅作用于邻

苯酚, 与对苯酚、间苯酚和一元酚无作用。李瑜等^[15]以邻苯二酚为底物, 测定马铃薯多酚氧化酶最适底物浓度为 50 mmol/L。本实验结果显示马铃薯 sPPO 和 mPPO 在邻苯二酚反应体系最适底物浓度为 50 mmol/L, sPPO 在焦性没食子酸反应体系最适底物浓度为 40 mmol/L, mPPO 在焦性没食子酸反应体系最适底物浓度为 50 mmol/L, 与相关报道结果一致。

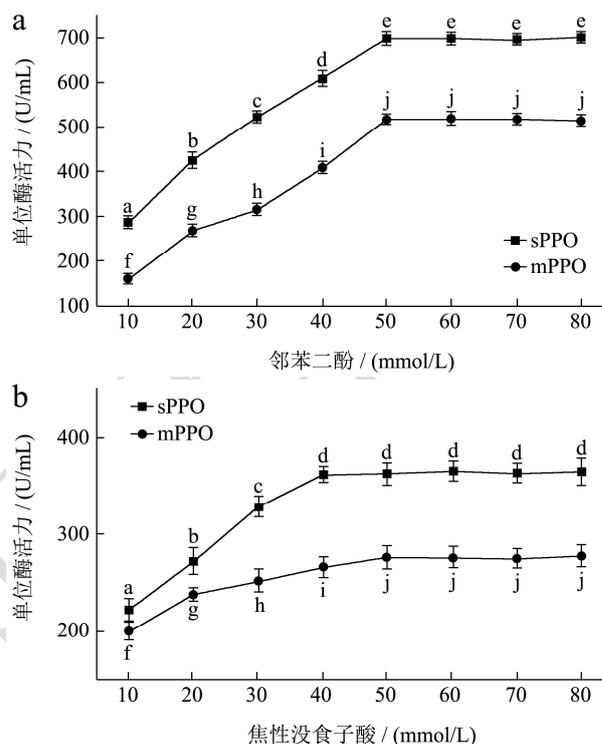


图3 马铃薯 sPPO 和 mPPO 在不同底物条件下的单位酶活力

Fig.3 Unit enzymatic activity of sPPO and mPPO under different substrate conditions

注: a: 邻苯二酚作为底物; b: 焦性没食子酸作为底物。

2.4 sPPO 和 mPPO 粗酶液动力学常数

分别以邻苯二酚、焦性没食子酸为底物, 以双倒数作图法测定马铃薯 sPPO 和 mPPO 粗酶的米氏常数 (K_m) 和最大反应速度 (V_{max}), 结果见图 4a-b。由图 4 中的趋势线方程可计算出 K_m 和 V_{max} 。以邻苯二酚为底物时, sPPO 的 K_m 为 24.00 mmol/L, V_{max} 为 965 U/(mL·min), mPPO 的 K_m 为 48.04 mmol/L, V_{max} 为 912 U/(mL·min); 以焦性没食子酸为底物时, sPPO 的 K_m 为 10.04 mmol/L, V_{max} 为 443 U/(mL·min), mPPO 的 K_m 为 4.98 mmol/L, V_{max} 为 299 U/(mL·min)。根据 V_{max}/K_m 比值, 马铃薯 sPPO 和 mPPO 粗酶对焦性没食子酸的 V_{max}/K_m 大于邻苯二酚, 表明其对底物焦性没食子酸具有更好的催化效果^[9]。 K_m 的数值等于酶促反应达到其最大速度 V_{max} 一半时的底物浓度, K_m 越小亲和力越大, 酶促反应也越快。郭宇婷等^[19]以邻苯二

酚为底物, 测定槟榔果仁 PPO 的 V_{max} 为 140.84 U/(mL·min), K_m 为 3.22 mmol/L。伍梦瑶等^[20]测定大叶种茶树多酚氧化酶特性, 以邻苯二酚为底物时, K_m 为 36.5 mmol/L, V_{max} 为 5 000 U/(mL·min); 以焦性没食子酸为底物时, K_m 为 4.2 mmol/L, V_{max} 为 2000 U/(mL·min)。本实验结果表明, 以邻苯二酚为底物时, mPPO 的酶促反应速度低于 sPPO, 以焦性没食子酸为底物时, mPPO 的酶促反应速度高于 sPPO。说明同一品种不同状态的两种 PPO 对不同底物的亲和力不同, PPO 与某一底物间的亲和力可能与酶源及同工酶构成有关。

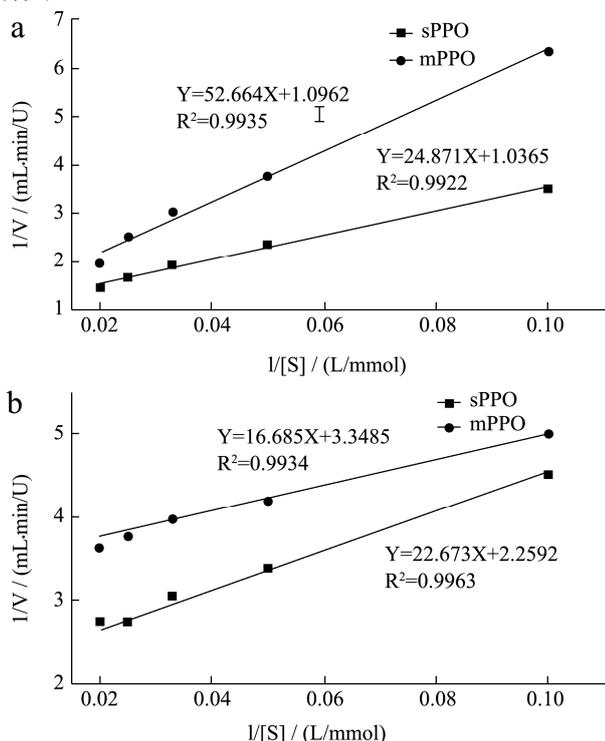


图4 马铃薯 sPPO 和 mPPO 催化不同底物的双倒数关系图

Fig.4 Double reciprocal plots of sPPO and mPPO using catechol and pyrogallol as substrate

注: a: 邻苯二酚作为底物; b: 焦性没食子酸作为底物。

2.5 不同抑制剂对 sPPO 和 mPPO 粗酶活性的影响

六种抑制剂对马铃薯 sPPO 和 mPPO 粗酶活性的影响结果见图 5。由图可知, Na_2SO_3 对 sPPO 活性的抑制效果最好, Vc 对 mPPO 活性的抑制效果最好。六种抑制剂对 sPPO 活性抑制作用大小顺序为: $Na_2SO_3 > Vc > 植酸 > 柠檬酸 > 草酸 > EDTA$, 对 mPPO 活性抑制作用大小顺序为: $Vc > Na_2SO_3 > 草酸 > 植酸 > EDTA > 柠檬酸$ 。李敏^[18]对比了几种抑制剂发现, 除了 $CaCl_2$ 和 EDTA 外, 马铃薯 PPO 对柠檬酸、Vc、

$NaHSO_3$ 、L-半胱氨酸等抑制剂均很敏感, 其中 $NaHSO_3$ 和 Vc 抑制效果较好。韩秋敏等^[21]发现抗坏血酸、柠檬酸、亚硫酸钠均对紫薯 PPO 有一定的抑制作用, 其中抗坏血酸和亚硫酸钠的抑制剂效果较好。本试验中抗坏血酸和亚硫酸钠对 sPPO 和 mPPO 抑制作用存在一定差异, 这可能是由于不同来源的 PPO 及不同 PPO 同工酶的蛋白质结构不同, 使得两种抑制剂的作用效果存在差异。

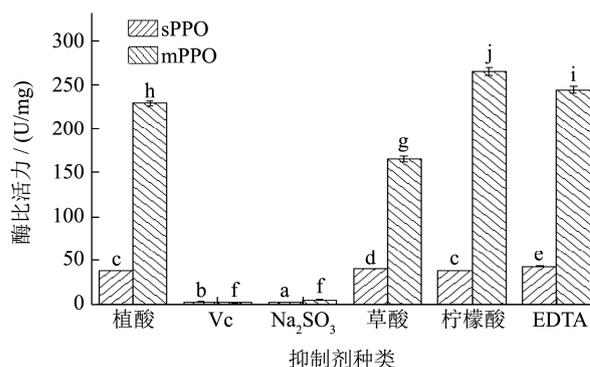


图5 不同抑制剂对马铃薯 sPPO 和 mPPO 酶比活力的影响

Fig.5 Effects of different inhibitors on the enzymatic activities of sPPO and mPPO

多酚氧化酶是一种含铜的酶, 能催化两类完全不同的反应: 一元酚羟基化, 生成相应的邻-二羟基化合物; 邻-二酚氧化, 生成邻-醌。两类反应都需要有分子氧参加^[22]。不同抑制剂对多酚氧化酶活性的抑制机理各有不同, 抗坏血酸是通过还原醌类化合物形成二酚类物质抑制促褐变, 它既可以作为醌的还原剂, 又可以作为酶分子中铜离子的螯合剂, 甚至它可以被 PPO 直接氧化, 起到竞争性抑制剂的作用。柠檬酸和植酸可使 PPO 中的一个铜原子丢失, 从而影响它的活性, 同时通过降低 pH 值来抑制 PPO 活性, 而氧气在酸性溶液中溶解度降低, 进一步增加其抗氧化作用^[23]。EDTA 作为螯合剂通过与 PPO 分子中的铜离子形成配位化合物而使其失活。

3 结论

通过对比马铃薯 sPPO 和 mPPO 之间的最适反应温度、最适 pH、底物种类、 K_m 、 V_{max} 、抑制剂种类等, 发现马铃薯 sPPO 和 mPPO 性质存在一定差异。sPPO 最适反应温度为 35 °C, 最适 pH 值为 7, mPPO 最适反应温度为 30 °C, 最适 pH 值为 7。以焦性没食子酸、邻苯二酚为底物时, 马铃薯 sPPO 和 mPPO 粗酶对焦性没食子酸的 V_{max}/K_m 大于邻苯二酚, 其对焦性没食子酸具有更好的催化效果。6 种抑制剂对比发现, Na_2SO_3 对 sPPO 活性的抑制效果最好, Vc 对 mPPO 活性的抑制效果最好, 对 sPPO 活性抑制作用大小顺

序为: $\text{Na}_2\text{SO}_3 > \text{Vc} > \text{植酸} > \text{柠檬酸} > \text{草酸} > \text{EDTA}$, 对 mPPO 活性抑制作用大小顺序为: $\text{Vc} > \text{Na}_2\text{SO}_3 > \text{草酸} > \text{植酸} > \text{EDTA} > \text{柠檬酸}$ 。通过研究 sPPO 和 mPPO 的酶学特性差异, 为下一步研究马铃薯制品加工过程中酶促褐变控制技术提供数据支撑。

参考文献

- [1] Mishra B B, Gautam S, Sharma. Purification and characterization of polyphenol oxidase (PPO) from eggplant (*Solanum melongena*) [J]. Food Chemistry, 2012, 134: 1855-1861
- [2] Baltacioglu H, Bayindirli A, Severcan M, et al. Effect of thermal treatment on secondary structure and conformational change of mushroom polyphenol oxidase (PPO) as food quality related enzyme: A FT-IR study [J]. Food Chemistry, 2015, 187: 263-269
- [3] Mayer A M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review [J]. Phytochemistry, 2006, 67: 2318-2331
- [4] 邹红梅. 微波、乙醇处理对鲜切马铃薯酶促褐变的抑制效果研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2019
ZOU Hong-mei. Effect of microwave, ethanol treatment on enzymatic browning of fresh-cut potatoes [D]. Lanzhou: Lanzhou University of Technology, 2019
- [5] Yan S, Li L, He L, et al. Maturity and cooling rate affects browning, polyphenol oxidase activity and gene expression of "Yali" pears during storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2013, 85: 39-44
- [6] Tian Y X, Yan W X, Tang Y L, et al. Inactivation of membrane-bound and soluble polyphenol oxidases in apple (*Malus domestica* Borkh) by radio frequency processing for improved juice quality [J]. Journal of Food Process Engineering, 2018, 8(4): 1-11
- [7] Liu F, Zhao J H, Gan Z L, et al. Comparison of membrane-bound and soluble polyphenol oxidase in Fuji apple (*Malus domestica* Borkh. cv. Red Fuji) [J]. Food Chemistry, 2015, 173: 86-91
- [8] Liu F, Zhao J H, Wen X, et al. Purification and structural analysis of membrane-bound polyphenol oxidase from Fuji apple [J]. Food Chemistry, 2015, 183: 72-77
- [9] Navarro J L, Tarrega A, Sentandreu M A, et al. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from persimmon [J]. Food Chemistry, 2014, 157: 283-289
- [10] 刘芳, 甘芝霖, 赵金红, 等. 富士苹果中膜结合态多酚氧化酶分离纯化方法[J]. 农业机械学报, 2015, 46(2): 193-197, 246
LIU Fang, GAN Zhi-lin, ZHAO Jin-hong, et al. Isolation and purification method of membrane-bound polyphenol oxidase in Fuji apple [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural, 2015, 46(2): 193-197, 246
- [11] 刘芳. 苹果膜结合态多酚氧化酶分离纯化及性质研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015
LIU Fang. Purification and characters analysis of membrane-bound polyphenol oxidase from apples (*Malus domestica*) [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015
- [12] 刘辉, 卢扬, 刘嘉, 等. 苦荞茎叶提取物对“红宝石”马铃薯多酚氧化酶抑制效果研究[J]. 保鲜与加工, 2017, 17(5): 1-6
LIU Hui, LU Yang, LIU Jia, et al. Inhibition Effect of Stem and Leaf Extracts of Tartary Buckwheat on Potato (*Solanum tuberosum* Ruby) Polyphenol Oxidase [J]. Storage and Process, 2017, 17(5): 1-6
- [13] 周向军, 高义霞, 袁毅君, 等. “黑美人”马铃薯多酚氧化酶的特性研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1): 115-117, 123
ZHOU Xiang-jun, GAO Yi-xia, YUAN Yi-jun, et al. Study on characteristics of PPO in Heimeiren potato [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(1): 115-117, 123
- [14] 朱新鹏, 孙敏, 高天丽. 不同条件下不同品种马铃薯 PPO、POD 活性[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8): 97-99
ZHU Xin-peng, SUN Min, GAO Tian-li. PPO and POD activity of different potato varieties under different conditions [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2015, 43(8): 97-99
- [15] 李瑜, 詹丽娟, 庞凌云, 等. 马铃薯中多酚氧化酶酶学特性的研究[J]. 粮食加工, 2012, 37(3): 39-41
LI Yu, ZHAN Li-juan, PANG Ling-yun, et al. Study on enzymatic characteristics of polyphenol oxidase in potato [J]. Grain Processing, 2012, 37(3): 39-41
- [16] 李凯, 吴林科, 余帮强, 等. 马铃薯新品种宁薯 16 号多酚氧化酶的活性研究[J]. 宁夏农林科技, 2017, 58(8): 8-9, 15
LI Kai, WU Lin-ke, YU Bang-qiang, et al. Research on the polyphenol oxidase activity of the new potato variety "Ningshu" No.16 [J]. Ningxia Journal of Agri. and Fores. Sci. & Tech. 2017, 58(8): 8-9, 15
- [17] Sener A, Umit U M. Purification and characterization of polyphenol oxidase from Akko XIII loquat (*Eriobotrya japonica* cv Akko XIII) [J]. Food Biotechnology, 2011, 25: 30-42

(下转第 294 页)