

# 苹果多酚对多酚氧化酶氧化特性的影响

易建华, 李美利, 朱振宝

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西西安 710021)

**摘要:** 本文以富士苹果中含量较多的绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮苷为苹果多酚氧化酶 (PPO) 作用底物, 以磷酸盐缓冲液为苹果汁酶促褐变模拟体系, 通过连续测定酶促褐变模拟体系吸光度  $A_{420}$  值的变化趋势, 研究不同苹果多酚底物对 PPO 酶促催化特性的影响, 并确定多酚氧化酶对该 4 种底物较适作用条件。结果表明, 苹果多酚底物对 PPO 反应特性影响较大; PPO 酶促氧化绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮苷 4 种多酚底物适宜的 pH 分别为 5.0、4.0、4.5、4.5; 适宜的温度分别为 55、70、60、50 °C; PPO 作用适宜的底物浓度分别为 5、0.5、2、10 mM; 适当提高酶活可促进酶促褐变反应, 且该 4 种底物对多酚氧化酶的亲和力大小为: 儿茶素>表儿茶素>绿原酸>根皮苷。该研究为苹果汁褐变控制提供理论依据。

**关键词:** 多酚氧化酶 (PPO); 苹果汁; 苹果多酚; 褐变; 酶促氧化

**文章编号:** 1673-9078(2013)11-2601-2606

## Influence of Apple Polyphenols on the Properties of Polyphenol Oxidase

YI Jian-hua, LI Mei-li, ZHU Zhen-bao

(College of Life Science and Engineering, Shanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

**Abstract:** Influence of different apple polyphenols on the properties of polyphenol oxidase (PPO) was investigated and the suitable conditions of PPO enzymatic oxidation were obtained by employing chlorogenic acid, catechin, epicatechin and phlorizin as substrates and by determining the change of absorbance in the phosphate buffer model system. The results showed that the substrates had an important impact on the reactive characteristics of PPO. The optimum pH of enzymatic oxidation of chlorogenic acid, catechin, epicatechin and phlorizin by PPO were 5.0, 4.0, 4.5 and 4.5, respectively. The best temperature of enzymatic oxidation of the above-mentioned substrates were 55, 70, 60 and 50 °C, respectively. And the polyphenol substrate concentration for the four substrates were 5, 0.5, 2 and 10 mM, respectively. Furthermore, appropriate increase of enzyme activity could promote the enzymatic browning reaction. The affinity of the four substrates for PPO was in the order of catechin > epicatechin > chlorogenic acid > phlorizin. This study will supply a basis for browning control of apple juice.

**Key words:** polyphenol oxidase; apple juice; apple polyphenols; browning; enzymatic oxidation

中国是世界苹果生产第一大国, 年产苹果约 3000 万吨, 约为世界 40% 左右。自二十世纪 90 年代起, 中国浓缩苹果汁加工业异军突起, 由年产量不足 10 万吨猛增至 2010~2011 榨季 100 多万 t。2012 年中国浓缩苹果汁出口额超过 11.4 亿美元, 约占全球苹果汁贸易额的 60%, 苹果汁出口贸易不仅在中国食品工业中占有举足轻重的地位, 而且直接牵涉到几千万果农的利益, 但是, 褐变至今是困扰中国苹果汁加工业的主要质量问题, 也是果蔬加工业普遍存在的四大关键性技术难题之一<sup>[1]</sup>。褐变不仅影响果汁的外观、风味, 而且还会造成营养物质丢失, 甚至变质<sup>[2]</sup>。因此, 如何控制褐变, 提高我国苹果汁的品质, 对提升我国苹果汁市场竞争力, 具有极为重要的意义。

收稿日期: 2013-07-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31101326); 咸阳市科技局自然科学基金项目 (2010k12-16)

作者简介: 易建华 (1971-), 女, 副教授, 主要研究现代果汁加工体系研究

果汁褐变包括酶促褐变和非酶褐变。酶促褐变是苹果破碎后以及巴氏杀菌前褐变的主要原因, 而非酶褐变是引起贮藏过程中苹果汁色泽加深的主要因素<sup>[3]</sup>。现有研究表明, 果汁的褐变与果汁中多酚物质密切相关, 酚类物质在多酚氧化酶 (PPO) 的催化作用下聚合形成大分子褐色物质<sup>[4]</sup>。苹果中多酚类物质主要有五类: 黄烷-3-醇类 (儿茶素或表儿茶素单体、原花青素)、羟基肉桂酸类 (绿原酸、对香豆酸)、二氢查尔酮类 (根皮苷、木糖根皮苷)、花青素 (矢车菊 3-O-半乳糖苷), 类黄酮 (槲皮苷、芦丁等)<sup>[5]</sup>。以往专家学者主要从研究 PPO 生物活性着手, 从而寻求控制酶促褐变的方法。但是, 我们前期研究发现, 不同苹果多酚底物影响 PPO 的催化性质, 目前在该方面的研究报道较少, 基于此, 本研究以苹果中多酚类物质含量较多的绿原酸 (CA)、儿茶素 (C)、表儿茶素 (EC) 和根皮苷 (PTC) 为多酚底物, 以磷酸缓冲液为苹果汁模拟体系, 通过模拟试验研究不同苹果

多酚对 PPO 催化特性的影响, 从而进一步阐明 PPO 酶促催化机理, 为准确控制 PPO 活性以及苹果汁酶促褐变提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 原料与试剂

富士苹果, 购于西安当地市场; 绿原酸 ( $C_{16}H_{18}O_9$ ), 儿茶素 ( $C_6H_6O_2$ ), 根皮苷 ( $C_{12}H_{24}O_{10} \cdot 2H_2O$ ), 纯度均为 80%, 成都曼斯特责任有限公司; 表儿茶素 ( $C_{15}H_{14}O_6$ ), 纯度 85%, 南京景竹生物科技有限公司;

柠檬酸、磷酸氢二钠、邻苯二酚、乙醇, 分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 丙酮, 分析纯, 西安化学试剂厂; 吐温 80, 化学纯, 天津市天力化学试剂有限公司; 牛血清蛋白 (BSA Purity  $\geq 98\sim 99\%$ ), 考马斯亮蓝 G250, 北京爱普华美生物科技有限公司。

#### 1.1.2 仪器设备

PB-10 型精密酸度计, 赛多利斯科学仪器有限公司; 高速冷冻离心机, Beck Man Coulter; 7200 型可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; BS323S-电子天平, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; 501A 型超级恒温器, 上海实验仪器厂有限公司; ALPHA1-2/LD-2 型冷冻干燥机, 德国 Martin Christ 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 PPO 的提取

称取 150 g 果肉, 加入 300 mL 含 2% PVPP pH 6.8 的磷酸盐缓冲液 (4 °C 预冷), 打浆榨汁后于 4 °C、12000 r/min 离心 30 min, 取上清液, 加入 500 mL 丙酮 (4 °C 预冷), 搅拌待沉淀产生, 置于 4 °C、12000 r/min 离心 15 min, 取沉淀物, 冷冻干燥, 再加入含 1% Tween 80 的磷酸盐缓冲液, 再次离心 15 min, 得上清液, 即为 PPO 粗酶液。

#### 1.2.2 PPO 活性测定

根据 Christiane<sup>[9]</sup>的方法, 有所改进, 具体方法为: 420 nm 波长条件下, 比色皿中加入 2.5 mL pH 6.8 的缓冲液, 0.1 mL PPO 粗酶液, 平衡 30 s 后加入 1 mL 0.2 M 的邻苯二酚溶液后, 开始计时测定 420 nm 下的吸光值 ( $A_{420}$ ), 并且每隔 15 s 连续测定 3 min。以时间为横坐标所做曲线的直线段的斜率 ( $\Delta OD/t$ ) 计算酶活力。一个酶活单位是使吸光度值每分钟增加 0.001 所需要的酶量, 酶活计算公式如下:

$$PPO(\text{units}/\text{mL}) = \frac{Abs(1) - Abs(0)}{t(1) - t(0)} / \text{mL of PPO}$$

注: Abs(1): 曲线线性部分终点的吸光值; Abs(0): 加入邻苯二酚溶液之前的吸光值。

#### 1.2.3 PPO 蛋白含量的测定

考马斯亮蓝法<sup>[7]</sup>。

蛋白质含量测定标准曲线方程为  $y=0.01082x+1.09851$ ,  $R^2=0.9991$ , 线性范围为 0~101.80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 测得提取 PPO 的蛋白含量范围为 36~38  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

#### 1.2.4 不同多酚体系中 pH 对 PPO 酶促氧化的影响

参考 Jan<sup>[8]</sup>的方法, 有所修改, 其具体方法为, 室温下 ( $25\pm 1$  °C), 配置不同 pH 绿原酸、表儿茶素和根皮苷溶液各 2 mM, 由于根皮苷在水中溶解性较差, 缓冲液中加入 20% 的无水乙醇以促进其溶解; 预实验中发现儿茶素与 PPO 反应较快, 因此配置不同 pH 儿茶素溶液 1 mM, 需现用现配。移取 3 mL 底物溶液于比色皿中, 以相应 pH 值的缓冲液为空白对照, 测其 0 min 时的吸光值  $A_0$ , 加入 0.1 mL 的 PPO (酶活 30 u/mL, 蛋白含量 36.23  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 后开始计时, 一定时间间隔内在 420 nm 波长条件下连续测定 n min 时的吸光值  $A_n$ , 以  $A_n - A_0$  的差值作图, 研究不同多酚底物条件下不同 pH 对 PPO 酶促氧化的影响。

#### 1.2.5 不同多酚体系中温度对 PPO 酶促反应速率的影响

室温下, 各底物溶液浓度同 1.2.4, 且根据 1.2.4 实验结果, 用相应 PPO 较适作用 pH 缓冲液配制底物溶液, 将其置于不同温度水浴后, 迅速操作, 移取 3 mL 于比色皿中, 加 0.1 mL (酶活 35.5 u/mL, 蛋白含量 37.83  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) PPO 后开始计时, 2 min 内每隔 15 s 连续测其吸光值的变化, 求得体系在不同反应温度下, PPO 作用不同多酚底物的反应速率, 探索反应体系温度对 PPO 酶促氧化的影响。

#### 1.2.6 不同多酚体系中酶活对 PPO 酶促氧化的影响

室温下, 较适 pH 缓冲液配制底物溶液同上, 移取 2 mL 于比色皿中, 分别加粗酶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.5 mL, 缓冲液补加至总体积 3.5 mL。测定方法同 1.2.4。

#### 1.2.7 底物浓度对 PPO 酶促氧化动力学的影响

配置不同浓度多酚溶液, 其他实验条件及测定方法同 1.2.4, 研究不同底物对 PPO 酶促氧化动力学的影响, 并以底物浓度 [S] 的倒数 1/S 为横坐标, 以及反

应速率  $V$  的倒数  $1/V$  为纵坐标作 Lineweaver-Burk 图, 根据 Michaelis-Menten 公式求得  $K_m$ 、 $V_{max}$ 。

### 1.3 数据分析

采用 SPSS 14.0 软件中 One-Way ANOVA 进行处理和显著性分析检验, 数据结果以均数±标准差 ( $\bar{x} \pm SD$ ) 表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 pH 对 PPO 酶促反应的影响

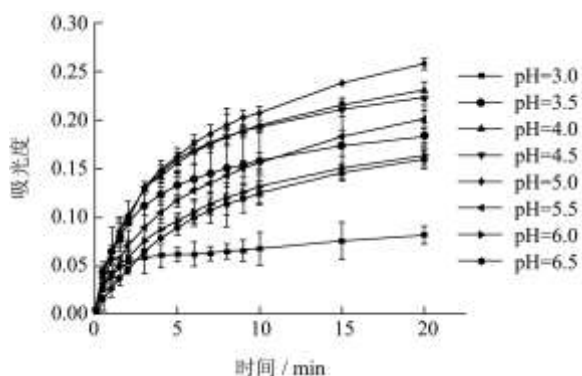


图1 绿原酸模拟体系 pH 对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.1 Effects of different pH on enzymatic oxidation of PPO in chlorogenic acid model system

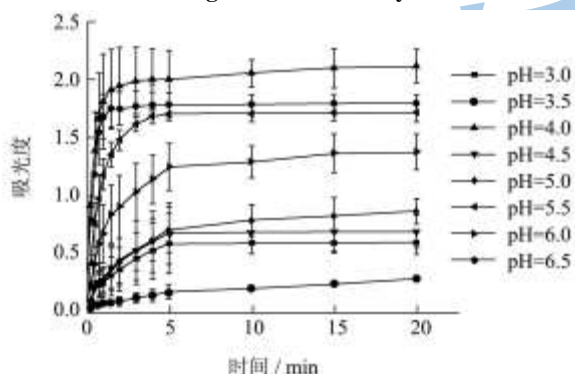


图2 儿茶素模拟体系 pH 对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.2 Effects of different pH on enzymatic oxidation of PPO in catechin model system

pH 值是影响酶催化的重要因素, 这是因为只有在适宜的 pH 值下酶活性中心才能保持正常的电离状态而具有生物活性。pH 值过低或过高会影响酶分子的构象, 致使酶变性失活<sup>[9]</sup>。pH 影响 PPO 活性, 从而影响其酶促反应动力学, 图 1~4 看出 pH 3.0~6.5, PPO 活性呈现先上升后下降的趋势, 且 PPO 作用于 4 种多酚底物适宜的 pH 值在 4.0~5.0 之间, 表明弱酸性环境对酶的辅基铜离子的稳定性有利。pH 值过高或过低, 酶促反应速率下降, 说明可以通过调节果汁的 pH 值抑制 PPO 的活性, 达到控制果汁酶促褐变的目的。由

图 1~4 同时可以看出, 相同温度下, PPO 催化不同苹果多酚发生酶促反应, 因底物不同其适宜的 pH 有较大差异, 其中绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮苷酶促反应适宜的 pH 值分别为 5.0、4.0、4.5 和 4.5。

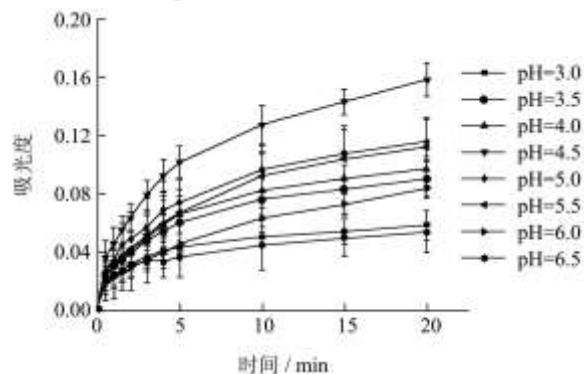


图3 表儿茶素模拟体系 pH 对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.3 Effects of different pH on enzymatic oxidation of PPO in epicatechin model system

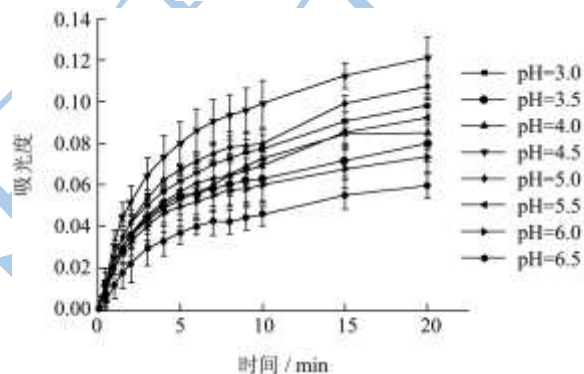


图4 根皮苷模拟体系 pH 对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.4 Effects of different pH on enzymatic oxidation of PPO in phlorizin model system

### 2.2 温度对 PPO 酶促反应的影响

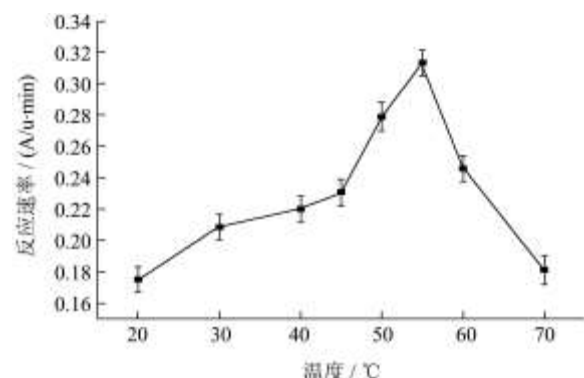


图5 绿原酸模拟体系温度对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.5 Effect of different temperature on enzymatic oxidation of PPO in chlorogenic acid model system

为研究在不同多酚底物体系中温度对 PPO 活性的影响, 根据 2.1 研究结果, 在 4 种底物较适宜酶促反应 pH 条件下, 选取 30~90 °C 的温度范围, 测其反

应速率的变化, 结果如图 5~8 所示。以往研究表明<sup>[9]</sup>, 在酶促反应中, 温度升高, 催化反应速度加快, 但同时温度升高促使酶蛋白变性, 因此温度对 PPO 的影响是以上两方面作用叠加的结果。

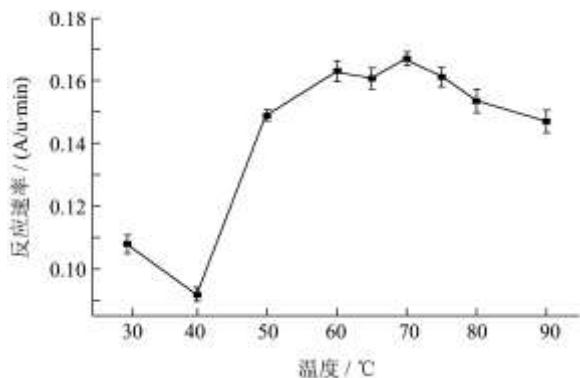


图 6 儿茶素模拟体系 pH 对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.6 Effect of different temperatures on enzymatic oxidation of PPO in catechin model system

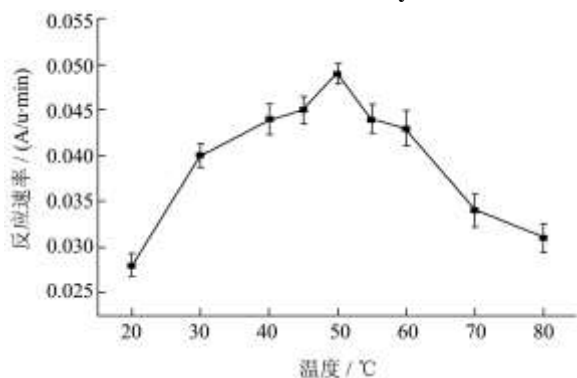


图 7 表儿茶素模拟体系温度对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.7 Effect of different temperatures on enzymatic oxidation of PPO in epicatechin model system

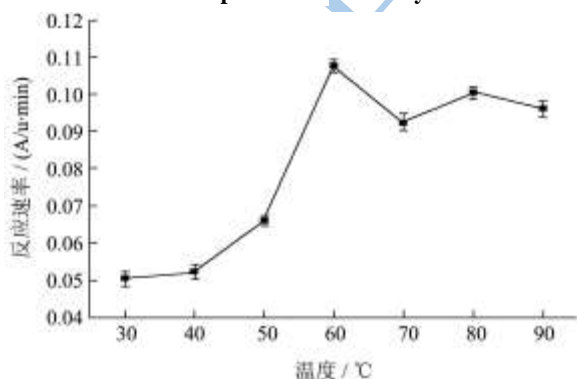


图 8 根皮苷模拟体系温度对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.8 Effect of different temperatures on enzymatic oxidation of PPO in phlorizin model system

图 5~8 表明, 温度对酶促反应的影响呈先增大再减小的总趋势, 整体呈钟形变化, 温度较低时, PPO 作用 4 种底物的反应速率均较小, 可见低温有利于抑制 PPO 的活性, 进一步证明了低温加工可以减少果汁的褐变。由图 5~8 同时发现, PPO 作用于 4 种底物的

最适温度  $\geq 50$  °C, 这与 Deirdre<sup>[10]</sup>等研究的 PPO 最适温度为 30 °C 和田玉庭<sup>[11]</sup>研究的澳洲青苹 PPO 最适温度 16 °C 有较大差别, 这可能的原因是苹果品种和底物不同。图 5~8 结果同时表明, PPO 作用于不同多酚底物, 较适宜的温度有显著性差异 ( $p < 0.05$ ), 且 PPO 作用于绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮苷的较适反应温度分别是 55、70、60、50 °C。

### 2.3 酶活对 PPO 酶促反应的影响

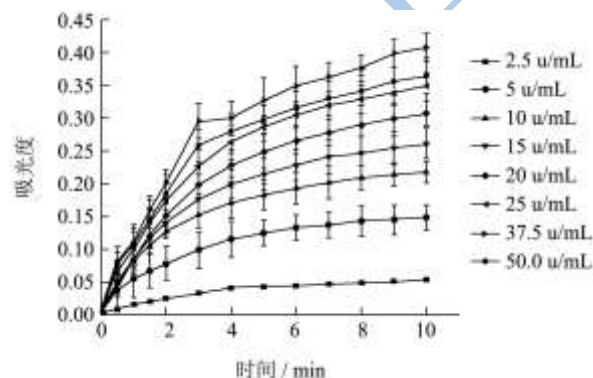


图 9 绿原酸模拟体系酶活对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.9 Effect of different PPO activities on enzymatic oxidation of PPO in chlorogenic acid model system

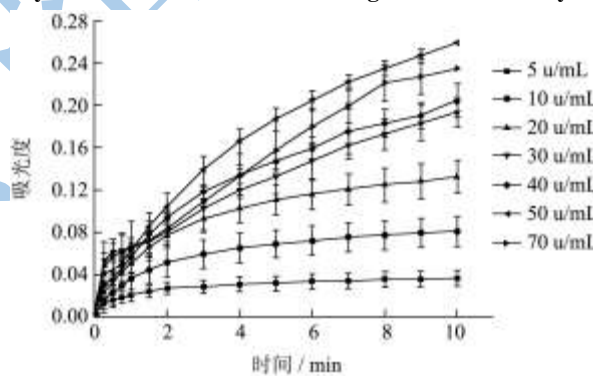


图 10 儿茶素模拟体系酶活对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.10 Effect of different PPO activities on enzymatic oxidation of PPO in catechin model system

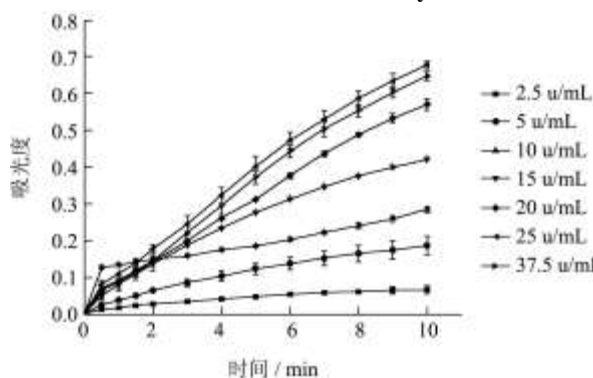


图 11 表儿茶素模拟体系酶活对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.11 Effect of different PPO activities on enzymatic oxidation of PPO in epicatechin model system

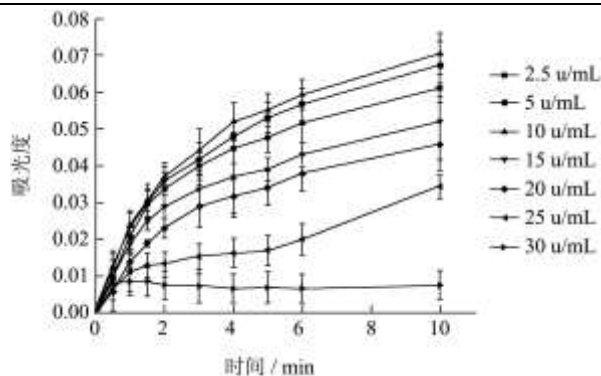


图 12 根皮苷模拟体系酶活对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.12 Effects of different PPO activities on enzymatic oxidation of PPO in phlorizin model system

该实验通过控制不同反应体系中酶的浓度来控制酶活,图 9~12 表明,在 4 种多酚底物体系中,酶促反应速率随酶活增大而变大,但酶活增到某一值后,多酚的酶促反应趋于平缓以及出现下降的现象,这可能是由于在一定底物浓度下,随着酶浓度提高即体系酶活增大,底物与酶活性中心的接触机率增多,因而反应速率增大,当酶浓度增加到一定值时,底物逐渐被饱和,进一步提高酶浓度(酶活),底物不能完全反应或是底物浓度增大产生的反馈抑制作用,导致反应速率变化缓慢或减小<sup>[9]</sup>。

#### 2.4 底物浓度对 PPO 酶促反应动力学的影响

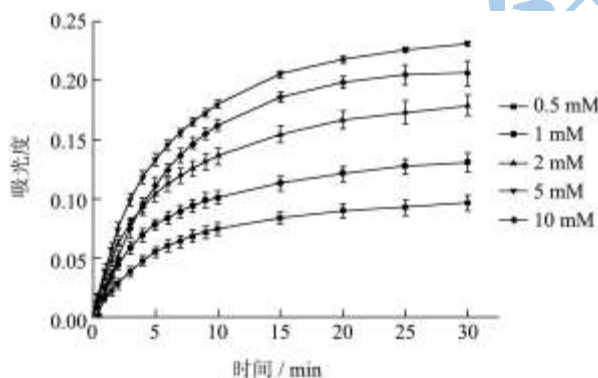


图 13 绿原酸模拟体系底物浓度对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.13 Effect of different concentrations on enzymatic oxidation of PPO in chlorogenic acid model system

苹果多酚底物浓度对 PPO 酶促反应动力学影响如图 13~16 所示,从图中看出,随着底物浓度的增大,PPO 催化反应呈现先加速后平稳的趋势,说明随着底物浓度的增加,酶分子与底物的结合增多,反应加快,但过量的多酚底物使得反应速率趋于稳定。由图 13~16 可知,绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮苷较适底物浓度分别是 5、0.5、2 和 10 mM,表明不同多酚底物与 PPO 发生的酶促反应速率存在较大差异,且该 4 种多酚与 PPO 反应速度的快慢顺序为儿茶素>表

儿茶素>绿原酸>根皮苷;另外,由于吸光度的变化可以反应果汁的褐变程度,图 13~16 同时揭示 4 种多酚对褐变程度影响的大小顺序为儿茶素>绿原酸>表儿茶素>根皮苷,这与刘金豹等<sup>[12]</sup>发现儿茶素是引起苹果果实褐变主要物质的结论相一致。另外,以往研究也表明儿茶素、绿原酸是苹果多酚氧化酶的良好褐变底物<sup>[13]</sup>,与本研究结果相符。可见 PPO 与多酚反应速率及其引起的果汁褐变程度并非完全一致。

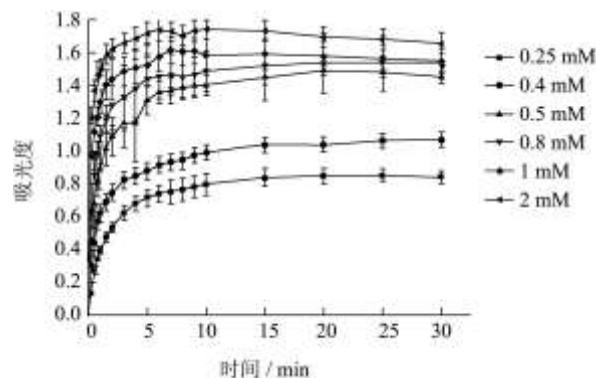


图 14 儿茶素模拟体系底物浓度对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.14 Effect of different concentrations on enzymatic oxidation of PPO in catechin model system

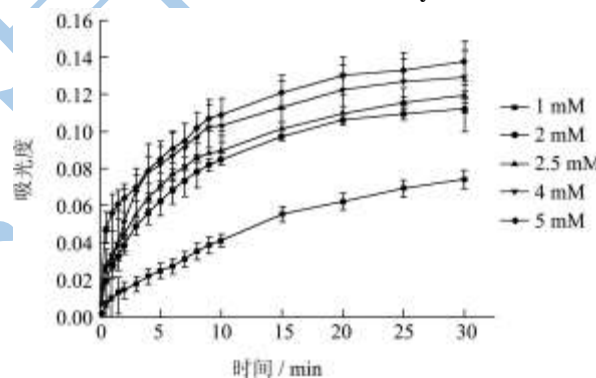


图 15 表儿茶素模拟体系中底物浓度对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.15 Effect of different concentrations on enzymatic oxidation of PPO in epicatechin model system

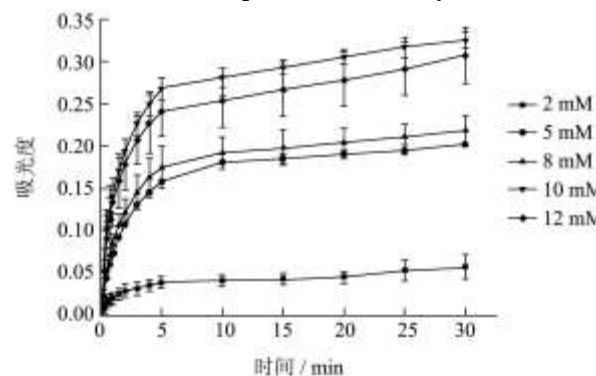


图 16 根皮苷模拟体系中底物浓度对 PPO 酶促氧化的影响

Fig.16 Effect of different concentrations on enzymatic oxidation of PPO in phlorizin model system

## 2.5 PPO 催化 4 种底物的米氏常数

$K_m$  值在酶促反应中, 是某一给定底物的动力学常数, 表示酶对底物的亲和力, 是酶学研究中的重要参数。 $K_m$  是特征常数, 一般只与酶的性质、底物种类及反应条件有关, 与酶的浓度无关, 一种酶对不同底物的  $K_m$  值不同,  $K_m$  值愈小, 表示酶对底物的亲和力愈大<sup>[4]</sup>。它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[S]。

表 1 四种苹果多酚的米氏常数

Table 1 Michaelis constant of PPO for four apple polyphenols

苹果多酚	$K_m$	$V_{max}$
绿原酸	0.7864±0.0115 <sup>b</sup>	0.0164±0.0123 <sup>c</sup>
儿茶素	0.4337±0.0141 <sup>d</sup>	0.2364±0.0125 <sup>a</sup>
表儿茶素	0.6722±0.0081 <sup>c</sup>	0.0126±0.0096 <sup>c</sup>
根皮苷	11.1248±0.0203 <sup>a</sup>	0.0536±0.0187 <sup>b</sup>

注: 1.显著水平 $p<0.05$ ; 2.标准差右上角相同字母表示统计不显著, 不同字母表示统计显著。

由表 1 知, 4 种底物的  $K_m$  值大小: 儿茶素<表儿茶素<绿原酸<根皮苷, 表明儿茶素为 PPO 较适作用底物, 这与 Oktay<sup>[14]</sup>等的研究结果相一致; Christiane<sup>[6]</sup>等的研究也表明 PPO 的最优底物为儿茶素, 但最适 pH 为 6.5, 与本研究结果有一定差异。

## 3 结论

PPO 酶促氧化苹果汁中含量较多多酚底物即绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮苷表现出不同的催化特性。PPO 作用于绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮苷较适合的 pH 分别为 5.0、4.0、4.5 和 4.5; 温度分别为 55、70、60 和 50 °C; 底物浓度分别为 5、0.5、2 和 10 mM; 该 4 种底物对多酚氧化酶的亲和力大小: 儿茶素>表儿茶素>绿原酸>根皮苷, 且儿茶素对褐变的影响最大, 绿原酸与表儿茶素次之, 而根皮苷对苹果汁酶促褐变影响较小。

## 参考文献

- 葛毅强, 蔡同一, 胡小松. 果汁中酚类物质的研究新思路[J]. 饮料工业, 2003, 6(4): 1-4  
Ge Yi-qiang, Cai Tong-yi, Hu Xiao song. New Research Approach on Phenolics of Fruit Juice [J]. Beverage Industry, 2003, 6(4): 1-4
- Anh L Q, Martin M, François L, et al. Optimization of Electrodialysis with Bipolar Membranes Applied to Cloudy Apple Juice: Minimization of Malic Acid and Sugar Losses [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(1): 45-49
- 易建华, 仇农学, 朱振宝. 树脂法生产无色浓缩苹果汁的初步研究[J]. 饮料工业, 2001, 4(4): 6-8  
Yi Jian-hua, Qiu Nong-xue, Zhu Zhen-bao. Preliminary Study on colourless Apple Juice Concentrate by Resin Method [J]. Beverage Industry, 2001, 4(4): 6-8
- Víctor F, Jordi P, Albert I. Effect of UV Irradiation on Enzymatic Activities and Physicochemical Properties of Apple Juices from Different Varieties [J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44(1): 115-119
- Alonso-Salces R M, Herrero C, Barranco A, et al. Classification of Apple Fruits according to their Maturity State by the Pattern Recognition Analysis of their Polyphenolic Compositions [J]. Food Chemistry, 2005, 93: 113-123
- Christiane Q, Antonio J R S, Maria L M L, et al. Polyphenol Oxidase Activity, Phenolic Acid Composition and Browning in Cashew Apple (*Anacardium occidentale*, L.) after Processing [J]. Food Chemistry, 2011, 125: 128-132
- Marion M B. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1): 248-254
- Jan O, Chang Y L. Enzymatic Oxidative Reaction of Catechin and Chlorogenic Acid in a Model System [J]. Agric. Food Chem, 1990, 38: 1202-1204
- 罗耀红. 漆酶对苹果多酚的酶促氧化及其产物分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008  
Luo Yao-hong. Study on Laccase Catalyzed Oxidation of Phenolic Compounds from Apple Fruit and the Characterization of its End Products [D]. Yangling: Master's thesis of North West Agriculture and Forestry University, 2008
- Deirdre M N E, Eileen M, David O. Polyphenol Oxidase from Apple (*Malus domestica* Borkh. cv Bramley's Seedling): Purification Strategies and Characterization [J]. Food Science, 2006, 71(1): 51-58
- 田玉庭. 源于澳洲青苹果的多酚氧化酶-PPO 特性及阻氧抑制特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.  
Tian Yu-ting. Studies on the Characteristics and the Inhibition by Blocking Oxygen of PPO from Granny Smith [D]. Yangling: Master's thesis of North West Agriculture and Forestry University, 2006
- 刘金豹. 加工苹果果实中糖、酸和酚类物质的研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士论文, 2004

- Liu Jin-bao. Study on Sugar Organic acid and Phenolic Compounds of Processing Apple Fruit [D]. Taian: Master's thesis Shandong Agricultural University, 2004
- [2] Awad M A, de Jager A. Flavonoid and chlorogenic acid concentrations in skin of 'Jonagold' and 'Elstar' apples during and after regular and ultra low oxygen storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2000, 20: 15-24
- [3] Oktay M, Kufrevioglu I, Kocacaliskan I, et al. Polyphenoloxidase from Amasya Apple [J]. Food Science, 1995, 60(3): 494-496

现代食品科技