

网络出版时间:2013-10-22 19:56

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20131022.1956.020.html>

菊苣根多酚氧化酶的酶学特性研究

尚红梅, 韩淑君, 陈 诚, 高 岩, 兰红秋

(吉林农业大学 动物科学技术学院, 吉林 长春 130118)

【摘 要】 【目的】研究菊苣根多酚氧化酶(PPO)酶学特性的影响因素,为菊苣根加工过程中酶促褐变的控制提供参考。【方法】以菊苣新鲜根为材料,从供试的 3 种三元酚、5 种二元酚和 4 种单元酚底物中选出最佳反应底物,分析所选择底物的浓度、PPO 提取液添加量、pH、温度及抑制剂对菊苣根 PPO 活性的影响,同时研究 PPO 的酶促动力学特征。【结果】菊苣根 PPO 的最适底物为焦性没食子酸,其最佳浓度为 40 mmol/L,菊苣根 PPO 的最适粗酶液添加量为 0.4 mL,最适 pH 和反应温度分别为 7.0 和 35 ℃。PPO 酶促反应动力学符合米氏方程,酶促反应的米氏常数为 0.39 mmol/L,最大反应速率为 217.39 U/min。控制 pH 在 4.8 以下,采用 0.4 mmol/L 柠檬酸和 0.8 mmol/L L-抗坏血酸复配,90 ℃处理 10 min 或者 100 ℃处理 6 min,均可基本抑制菊苣根 PPO 的活性。【结论】通过选择合适的 pH 和温度,同时结合化学抑制剂调控菊苣根 PPO 活性,可以减少菊苣根加工过程中的酶促褐变,从而提高加工产品的品质。

【关键词】 菊苣根;多酚氧化酶;酶学特性

【中图分类号】 S567.23⁺9.909

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)11-0179-06

Characterization of polyphenol oxidase in chicory root

SHANG Hong-mei, HAN Shu-jun, CHEN Cheng, GAO Yan, LAN Hong-qiu

(College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: 【Objective】 The aim of this research was to study the factors influencing the polyphenol oxidase (PPO) characteristics of chicory root, so as to improve the browning control in chicory root processing. 【Method】 Using fresh chicory roots as experimental materials, the optimum substrate was selected from 3 trihydroxyphenols, 5 diphenols, and 4 monophenols, and the effects of the optimum substrate concentration, PPO extracting solution amount, pH value, temperature, and inhibitors on PPO activity, and the kinetics of the enzyme-catalyzed reaction of PPO were determined. 【Result】 The optimum substrate of PPO was pyrogalllic acid, and the optimum concentration was 40 mmol/L. The optimal PPO extracting solution was 0.4 mL. The optimum pH value and reaction temperature were 7.0 and 35 ℃, respectively. Michaelis-Menten equation was obtained to express the kinetics of enzyme-catalyzed reaction of PPO with Michaelis constant and maximum reaction rate values of 0.39 mmol/L and 217.39 U/min, respectively. The enzyme activity was greatly inhibited when pH value was below 4.8, combination of 0.4 mmol/L citric acid and 0.8 mmol/L L-ascorbic acid, temperature at 90 ℃ for 10 min, or 100 ℃ for 6 min. 【Conclusion】 Browning phenomenon in chicory root processing can be controlled and the quality of products can be improved by selecting appropriate pH, temperature, and combining with chemical inhibitors.

【收稿日期】 2012-12-17

【基金项目】 吉林省科技发展计划青年科研基金项目(20100144);国家级大学生创新创业训练计划项目(201210193011);吉林农业大学大学生科技创新基金项目(2012ZR0504)

【作者简介】 尚红梅(1981—),女(满族),吉林四平人,讲师,硕士,主要从事饲草资源开发与利用研究。
E-mail: shangmei2000@163.com

Key words: chicory root; polyphenol oxidase; enzymology characteristics

菊苣(*Cichorium intybus* L.)为菊科菊苣属多年生草本植物,原产于欧洲、西亚、中亚和北美洲,我国西北、华北及东北等地也有分布^[1-2]。菊苣全身都是宝,其叶片可用作蔬菜或饲料;肉质根含有占其干物质质量 70% 的菊粉,可作为菊粉、低聚果糖和高果糖浆的生产原料,具有较高的营养价值和保健作用^[3-4]。菊苣作为一种宝贵的植物资源,开发利用前景十分广阔。然而,菊苣肉质根加工过程中容易发生褐变,严重影响产品的商品价值,也因此制约了菊苣加工业的发展。很多研究表明,植物加工和贮藏过程中发生的褐变主要是酶促褐变,是由于酚类物质在多酚氧化酶(PPO)作用下氧化成褐色物质所致,且不同植物 PPO 的特性各不相同^[5]。目前,国内外学者已经对无核白葡萄^[6]、牡丹^[7]、马铃薯^[8]、芡实^[9]、西葫芦^[10]、红枣^[11]、紫薯^[12]、中华寿桃^[13]、双孢蘑菇^[14]、白花菜^[15]、金银花^[16]等植物和真菌的 PPO 活性进行了研究,但关于菊苣根 PPO 活性及其影响因素的研究尚未见报道。因此,本研究以菊苣根为试验材料,探讨底物类型和浓度、pH、温度、PPO 粗酶液添加量及抑制剂对 PPO 活性的影响,旨在为菊苣根加工过程中酶促褐变的控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

菊苣生长 5 个月时,于 2011-10 从吉林农业大学牧草园采收,取其新鲜根备用。

主要试剂有 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 、焦性没食子酸、柠檬酸、L-抗坏血酸、丙酮、间苯三酚、阿魏酸、愈创木酚、间苯二酚、对苯二酚、苯酚、没食子酸、邻苯二酚、绿原酸、酪胺、咖啡酸、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮等,均为国产分析纯。

主要仪器有高速组织捣碎机(型号 SS-2,常州华普达教学仪器有限公司)、冷冻离心机(型号 3K30, Sigma, Germany)、紫外-可见分光光度计(型号 732,上海现科分光仪器有限公司)等。

1.2 方法

1.2.1 菊苣根 PPO 粗酶液的制备 采用丙酮法提取菊苣根 PPO^[17]。称取 100 g 清洗干净的新鲜菊苣根,加入 0.8 g 聚乙二醇 6000 和聚乙烯吡咯烷酮作为酚类物质去除剂,迅速加入 200 mL 冰丙酮(−20 ℃左右),用高速组织捣碎机(捣碎杯及刀片

在 4 ℃下预冷)匀浆 5 min,混合液用布氏漏斗抽滤,残渣用冰丙酮反复冲洗,抽滤,直至成为白色粉末,得菊苣根丙酮粉;于真空干燥器中干燥 1 d 后称质量,用滤纸包好,放入干燥器于 0 ℃左右冰箱中保存。

PPO 粗酶液的制备参照唐鸿宇^[18]的方法并适当改进。取 2 g 丙酮粉,加入 50 mL 0.2 mol/L (pH=7.0) 的磷酸盐缓冲液,用电子恒速搅拌器于 4 ℃下搅拌 30 min。用 2 层纱布过滤后于冷冻离心机中 4 ℃下 12 000 r/min 离心 20 min,上清液即为 PPO 粗酶液,于 4 ℃条件下保存。

1.2.2 PPO 活性的测定 PPO 活性测定参照张百刚^[17]的方法并适当改进。底物为磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH=7.0)配制的焦性没食子酸溶液,参比池:取底物 2.5 mL,加入磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH=7.0)0.5 mL;反应池:取底物 2.5 mL,迅速加入 PPO 粗酶液 0.5 mL。然后用紫外-可见分光光度计迅速测定其在 330 nm 波长下的吸光值(OD),每隔 20 s 读取 1 次,依据曲线最初直线段的斜率($\Delta\text{OD}/t$)计算酶活性。以在 1 min 内引起吸光值增加 0.001 为 1 个酶活性单位,用“U”表示。重复测定 3 次取平均值。

1.2.3 菊苣根 PPO 的酶学特性 1)底物类型及最适底物浓度对 PPO 活性的影响。分别用 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 7.0)配制浓度为 0.1 mol/L 的焦性没食子酸、间苯三酚、没食子酸、间苯二酚、对苯二酚、邻苯二酚、绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、愈创木酚、苯酚和酪胺溶液作为反应底物,取底物 2.5 mL 加入 PPO 粗酶液 0.5 mL 进行酶促反应,参比对照中加入 0.5 mL 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH 7.0),室温下在 240~490 nm 进行波长扫描,确定最佳吸收波长。在每个底物的最佳吸收波长下分别测定上述 12 个底物的 PPO 活性,将酶活性最大底物的酶活性视为 100%,计算各个底物的相对酶活性,考察菊苣根 PPO 的底物特异性^[15,19]。

用 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH=7.0),分别配制浓度为 2.0, 2.5, 3.3, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0, 50.0, 60.0 mmol/L 的焦性没食子酸溶液,用量为 2.5 mL,测定 PPO 活性,考察最适底物的浓度对 PPO 活性的影响。

2)PPO 的酶促反应动力学分析。对焦性没食子酸浓度和 PPO 活性进行分析,根据米氏方程 Lineweaver-Burk^[20]得直线方程:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

式中: V 为酶促反应速率, $[S]$ 为底物浓度, $V_{\max}$ 为酶的最大反应速率, K_m 为米氏常数(即酶促反应速率达到最大反应速率一半时的底物浓度)。以 $1/[S]$ 为横坐标, $1/V$ 为纵坐标作图,得出菊苣根 PPO 催化焦性没食子酸的双倒数曲线,由直线斜率和截距求得 K_m 及 $V_{\max}$ 。

3)PPO 粗酶液添加量对 PPO 活性的影响。取 40 mmol/L 的焦性没食子酸溶液(pH 7.0)2.5 mL,分别加入 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 mL 的 PPO 粗酶液(pH 7.0),室温下测定 PPO 活性,考察酶提取液添加量对 PPO 活性的影响。

4)pH 对 PPO 活性的影响。用 Na_2HPO_4 (0.2 mol/L)和柠檬酸(0.1 mol/L)配制 pH 分别为 2.4,3.0,3.6,4.2 的缓冲液,同时用 Na_2HPO_4 (0.2 mol/L)和 NaH_2PO_4 (0.2 mol/L)溶液配制 pH 分别为 4.8,5.4,6.0,6.5,6.8,7.0,7.5,8.0 的缓冲液^[21]。用不同 pH (2.4~8.0)的缓冲液配制浓度为 40 mmol/L 的焦性没食子酸溶液作为底物,用量为 2.5 mL,室温下测定 PPO 活性,考察 pH 对 PPO 活性的影响。

5)温度对 PPO 活性的影响。根据胡艳妮^[22]对杨桃果实多酚氧化酶的研究方法并作改进,研究温度对 PPO 活性的影响,设定反应温度分别为 15,20,25,30,35,40,45 和 50 ℃,测定 PPO 活性,底物为 40 mmol/L 的焦性没食子酸溶液(pH 7.0),用量为 2.5 mL,确定最适温度。

1.2.4 高温及抑制剂对菊苣根 PPO 活性的影响

1)高温。将 PPO 粗酶液分别在 90,100 ℃处理 1~10 min,处理时间间隔为 1 min,到设定时间立即取出于冰浴中降温,测定 PPO 活性,底物为 40 mmol/L 的焦性没食子酸溶液(pH 7.0),以未处理的 PPO 活性为 100%,计算相对酶活性,确定高温处理对酶活性的影响,考察 PPO 的热稳定性^[19]。

2)抑制剂。采用 0.2,0.4,0.8 mmol/L 的柠檬酸和 L-抗坏血酸复配^[23],共 9 个处理,用复配抑制剂配制 40 mmol/L 的焦性没食子酸溶液(pH 7.0)作为反应底物,用量为 2.5 mL,室温下测定 PPO 活性,以未处理的 PPO 活性为 100%,计算相对酶活性,考察抑制剂对 PPO 活性的影响。

2 结果与分析

2.1 菊苣根 PPO 的底物特异性

在每个底物的最佳吸收波长下测定菊苣根的 PPO 活性,结果如表 1 所示。由表 1 可以看出,菊

苣根 PPO 对不同酚类底物的敏感性有明显差异,相对酶活性大小依次为:三元酚>二元酚>单酚。在三元酚底物中,以焦性没食子酸和间苯三酚为底物时 PPO 的相对酶活性较高,分别为 100.00%和 53.11%。在二元酚中,以咖啡酸(35.49%)、绿原酸(31.91%)和邻苯二酚(22.87%)为底物时,PPO 的相对酶活性较高。而以单酚为底物时,PPO 的相对酶活性均较低。由此判定,焦性没食子酸为最适底物,其最佳吸收波长为 330 nm。

表 1 菊苣根 PPO 的底物特异性
Table 1 Substrate specificity of chicory root polyphenol oxidase

类别 Class	底物 Substrates	最佳 波长/nm The best wavelength	PPO 相对酶 活性/% Relative activity
三元酚 Tri- hydroxy- phenols	焦性没食子酸 Pyrogallic acid	330	100.00
	间苯三酚 Phloroglucinol	300	53.11
	没食子酸 Gallic acid	320	19.61
	间苯二酚 Hydroxyphenol	290	8.03
二元酚 Diphenols	对苯二酚 Hydroquinone	320	7.46
	邻苯二酚 Pyrocatechol	300	22.87
	绿原酸 Chlorogenic acid	400	31.91
	咖啡酸 Caffeic acid	390	35.49
单酚 Monophe- nols	阿魏酸 Ferulic acid	320	6.37
	愈创木酚 Guaiacol	300	6.07
	苯酚 Phenol	290	10.12
	酪胺 Tyramine	390	25.98

2.2 菊苣根 PPO 的酶促反应动力学分析

由图 1 可见,菊苣根 PPO 对焦性没食子酸的催化作用符合典型的一级酶促反应曲线^[6]。在 PPO 酶液添加量(0.5 mL)不变的条件下,底物焦性没食子酸的浓度较低时,随着底物浓度增加,PPO 活性增加;当底物浓度≥40 mmol/L,随着底物浓度的增大,酶的活性中心被底物饱和,反应速率 V 达到最大值并趋于不变。由此可得,菊苣根 PPO 活性的底物最适反应浓度为 40 mmol/L。对图 1 数据用 Lineweaver-Burk 方程进行处理,结果如图 2 所示。由图 2 可见,在本试验条件下,菊苣根 PPO 的 K_m 和 $V_{\max}$ 值分别为 0.39 mmol/L 和 217.39 U/min。

2.3 PPO 粗酶液添加量对菊苣根 PPO 活性的影响

由图 3 可知,当底物焦性没食子酸的用量(2.5 mL)保持不变,PPO 粗酶液添加量为 0.4 mL 时其活性最大。当 PPO 粗酶液添加量为 0.1~0.4 mL 时,酶活性随着提取液添加量的增加迅速增大,之后继续增加粗酶液添加量,酶活性缓慢下降,说明此时底物已经反应完毕。因此,PPO 粗酶液的最适添加

量为 0.4 mL。

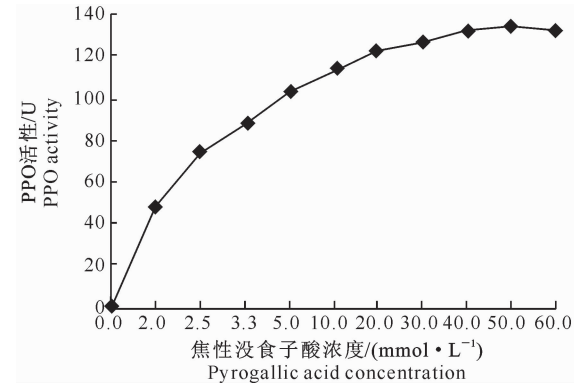


图 1 最适底物浓度对菊苣根 PPO 活性的影响
Fig.1 Effect of optimum substrate concentration on PPO activity of chicory root

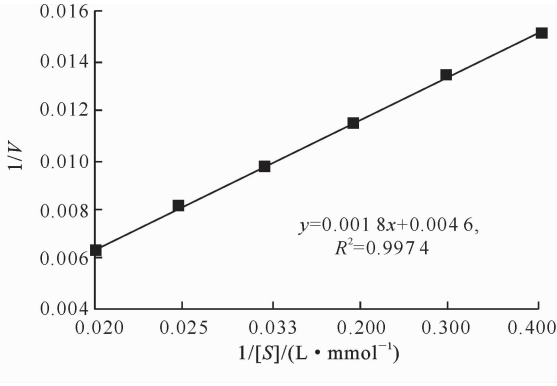


图 2 菊苣根 PPO 催化焦性没食子酸的双倒数曲线
Fig.2 Double reciprocal plots of chicory root PPO with pyrogallol as substrate

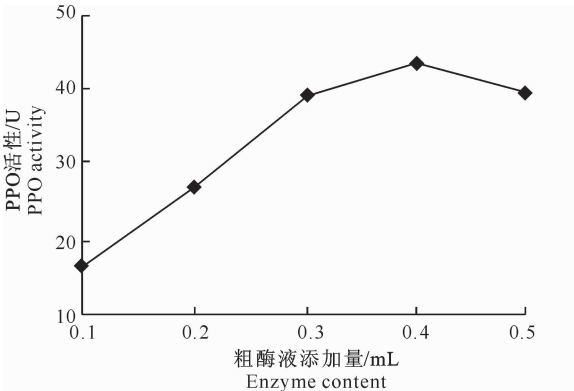


图 3 PPO 粗酶液添加量对菊苣根 PPO 活性的影响
Fig.3 Effect of enzyme content on PPO activity of chicory root

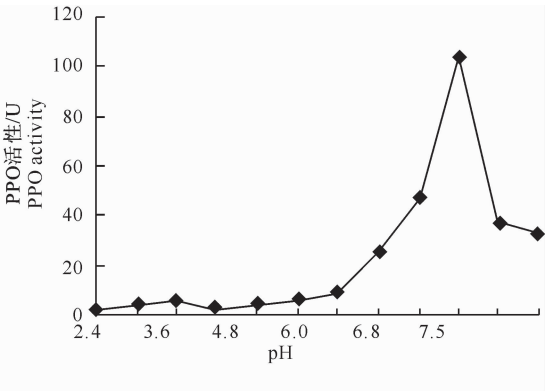


图 4 pH 对菊苣根 PPO 活性的影响
Fig.4 Effect of pH on PPO activity of chicory root

2.4 pH 对菊苣根 PPO 活性的影响

从图 4 可以看出,菊苣根 PPO 活性随 pH 的升高呈先增大后降低的趋势,pH 为 7.0 时最高,说明菊苣根 PPO 的最适 pH 为 7.0。这主要是由于 PPO 是一种含铜蛋白,在 pH 较低的酸性环境下,酶中的铜会被解离出来,使 PPO 失去活性;而在碱性环境中,铜会解离成为不溶性的氢氧化铜,使 PPO 活性显著降低^[7],因此,调节 pH 能有效抑制 PPO 活性。从图 4 可以看出,pH 在 4.8 以下时,菊苣根 PPO 活性接近于 0。因此,在菊苣根加工过程中应将 pH 控制在 4.8 以下,以减轻菊苣根的酶促褐变程度。

2.5 温度对菊苣根 PPO 活性的影响

温度对 PPO 活性的影响是双重的。温度升高能加快催化反应的速度,但也能促使酶蛋白变性。因为 PPO 是蛋白质,不适宜的温度会破坏活性部位三维结构的完整性和稳定性,从而使 PPO 失活;但

温度又是保持酶活性的关键^[24]。从图 5 可以看出,在 15~35 ℃,随着温度上升,PPO 活性逐渐增强,在 35 ℃时达到最强;当温度大于 35 ℃时,随着温度的上升,PPO 活性逐渐减弱。因此,菊苣根 PPO 活性达最高时的最适温度为 35 ℃。

2.6 高温对菊苣根 PPO 活性的影响

由图 6 可以看出,在 90 和 100 ℃下,菊苣根 PPO 的相对酶活性随着处理时间的延长而降低,且温度越高,相对酶活性降低越快,在 100 ℃条件下处理 6 min 或 90 ℃条件下处理 10 min,PPO 相对酶活性接近于 0,表明菊苣根中的 PPO 全部钝化。说明高温处理是抑制 PPO 活性的一种有效方法。

2.7 抑制剂对菊苣根 PPO 活性的影响

由表 2 可知,采用柠檬酸和 L-抗坏血酸复配的抑制剂可明显抑制菊苣根 PPO 的相对酶活性,且以 0.4 mmol/L 柠檬酸和 0.8 mmol/L L-抗坏血酸复配的效果最好,可使菊苣根 PPO 相对酶活性降至

0.79%。

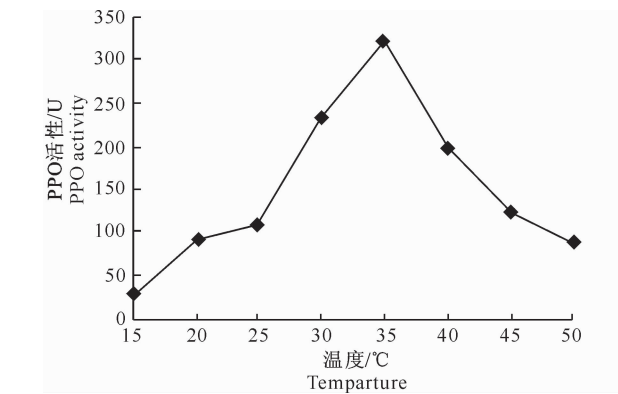


图 5 温度对菊苣根 PPO 活性的影响
Fig. 5 Effect of temperature on PPO activity of chicory root

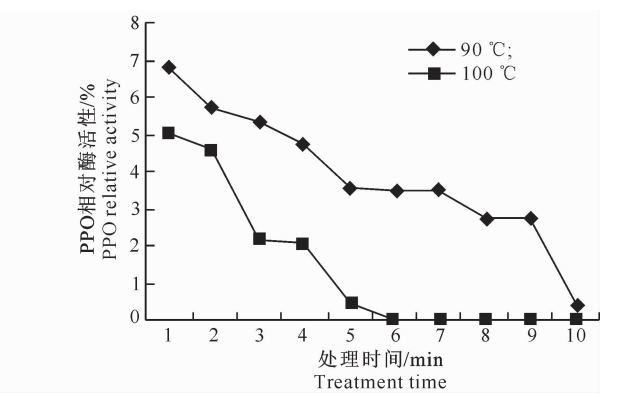


图 6 菊苣根 PPO 的热稳定性
Fig. 6 Thermal stability of PPO activity of chicory root

表 2 柠檬酸和 L-抗坏血酸复配对菊苣根 PPO 活性的影响

试验序号 Experiment number	柠檬酸/(mmol · L ⁻¹) Citric acid	L-抗坏血酸/(mmol · L ⁻¹) L-ascorbic acid	PPO 相对酶活性/% Relative activity
1	0.8	0.2	6.83
2	0.8	0.4	4.98
3	0.8	0.8	1.19
4	0.4	0.2	1.47
5	0.4	0.4	2.49
6	0.4	0.8	0.79
7	0.2	0.2	24.00
8	0.2	0.4	40.63
9	0.2	0.8	9.85
对照 CK	0.0	0.0	100.00

3 结论与讨论

本研究结果显示,菊苣根 PPO 的最适底物为焦性没食子酸,其最佳浓度为 40 mmol/L;其次是间苯三酚,而常被用于植物 PPO 酶促反应研究的底物邻苯二酚却未显示出明显优势。陈静等^[7]报道,牡丹品种“乌龙捧盛”PPO 的最适作用底物为咖啡酸;Zhao 等^[15]报道,白菜花叶 PPO 的最适作用底物为左旋多巴。这些研究结果表明,不同植物 PPO 的最适反应底物不尽相同。

有研究表明,不同植物 PPO 的最适温度不同,如无核白葡萄^[6]、牡丹^[7]、金银花芽^[16] PPO 的最适反应温度为 25 ℃,紫薯为 30 ℃^[12],西葫芦为 35 ℃^[10],马铃薯为 40 ℃^[8],紫花苏芡和紫花刺芡 PPO 的最适反应温度为 45 ℃^[9],而白花菜叶为 60 ℃^[15]。本试验结果显示,菊苣根 PPO 的最适反应温度为 35 ℃。不同植物 PPO 的最适反应温度不同,可能与其生长环境及品种有关^[7]。

很多研究表明,褐变是由于酚类物质在 PPO 的催化作用下形成了醌类物质,并通过聚合作用导致

组织呈褐色,因此 PPO 是引起植物褐变的基本条件之一。通过对菊苣根 PPO 酶学特性的探讨,进一步阐明植物褐变的生理机制,可为科学控制菊苣根加工过程中的褐化发生提供理论基础。本试验初步探讨了底物浓度、pH、温度、PPO 粗酶液添加量及抑制剂对菊苣根 PPO 活性的影响,结果显示,菊苣根 PPO 的最适底物为焦性没食子酸,其最佳浓度为 40 mmol/L,PPO 酶促反应动力学符合米氏方程,酶促反应的动力学米氏常数为 0.39 mmol/L,最大反应速率为 217.39 U/min。菊苣根 PPO 的最适粗酶液添加量为 0.4 mL,最适 pH 和反应温度分别为 7.0 和 35 ℃。在菊苣根加工过程中,将 pH 控制在 4.8 以下,采用柠檬酸 0.4 mmol/L 和 L-抗坏血酸 0.8 mmol/L 复配,90 ℃处理 10 min 或 100 ℃处理 6 min,均可基本抑制菊苣根 PPO 活性,达到减少褐变发生、提高加工产品品质的目的。而关于菊苣根 PPO 的分离、纯化以及活性影响因素间的交互作用等,还有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 吴洪新,呼天明,张存莉,等. 菊苣粉提取与纯化研究 [J]. 西

- 北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(6):91-95.
- Wu H X, Hu T M, Zhang C L, et al. Study on the extraction and purification of puna chicory inulin [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2006, 34(6): 91-95. (in Chinese)
- [2] 呼天明, 吴洪新, 张存莉, 等. 菊苣系列产品的开发研究述评 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2006, 34(2): 34-38.
- Hu T M, Wu H X, Zhang C L, et al. A review of the development of chicory products [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2006, 34(2): 34-38. (in Chinese)
- [3] 尚红梅, 呼天明, 张存莉, 等. 大孔树脂用于菊苣菊粉的脱色研究 [J]. 西北植物学报, 2006, 26(9): 1916-1920.
- Shang H M, Hu T M, Zhang C L, et al. Decolorization of chicory inulin by macro-porous resins [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(9): 1916-1920. (in Chinese)
- [4] Van W C, Baert J, Carlier L, et al. A rapid determination of the total sugar content and the average inulin chain length in root of chicory (*Cichorium intybus* L.) [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998, 76(1): 107-110.
- [5] 胡建锋, 邱树毅, 胡秀沂, 等. 菊芋多酚氧化酶的酶学特性研究 [J]. 食品科技, 2007, 32(9): 22-25.
- Hu J F, Qiu S Y, Hu X Y, et al. Research on the characterization of polyphenol oxidase from *Jerusalem artichoke* [J]. Food Science and Technology, 2007, 32(9): 22-25. (in Chinese)
- [6] 郑永菊, 师俊玲, 刘延琳. 无核白葡萄多酚氧化酶的酶学特性 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2012, 40(2): 171-175.
- Zheng Y J, Shi J L, Liu Y L. Characterization of polyphenol oxidase extracted from Thompson seedless grape [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2012, 40(2): 171-175. (in Chinese)
- [7] 陈 静, 符真珠, 王 政. 牡丹多酚氧化酶的酶学特性 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2012, 40(3): 154-157, 162.
- Chen J, Fu Z Z, Wang Z. Study on characteristics of polyphenol oxidase in penoy [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2012, 40(3): 154-157, 162. (in Chinese)
- [8] 王 磊, 阮 征, 骆成尧, 等. 马铃薯多酚氧化酶酶学特性及热稳定性模型的研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 92-96.
- Wang L, Ruan Z, Luo C Y, et al. Enzymatic characteristics and thermal stability model of polyphenol oxidase from potato [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(19): 92-96. (in Chinese)
- [9] 刘 静, 钱建亚, 李成良, 等. 芡实多酚氧化酶的酶学性质 [J]. 食品科学, 2012, 33(7): 176-181.
- Liu J, Qian J Y, Li C L, et al. Enzymatic properties of polyphenol oxidase from gordon euryale seed [J]. Food Science, 2012, 33(7): 176-181. (in Chinese)
- [10] 王国英, 董海洲, 王兆升, 等. 西葫芦多酚氧化酶酶学特性研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(2): 154-156, 159.
- Wang G Y, Dong H Z, Wang Z S, et al. Study on characteristics of polyphenol oxidase of *Cucurbita pepo* L. [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(2): 154-156, 159. (in Chinese)
- [11] 倪文兵, 童军茂. 红枣多酚氧化酶酶促褐变控制研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(4): 205-208.
- Ni W B, Tong J M. Study on enzymatic browning control of polyphenol oxidase for Chinese jujube [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(4): 205-208. (in Chinese)
- [12] 刘军伟, 胡志和, 苏 莹. 紫薯中多酚氧化酶活性的研究及褐变控制 [J]. 食品科学, 2012, 33(17): 207-211.
- Liu J W, Hu Z H, Su Y. Activity and browning inhibition of polyphenol oxidase from purple sweet potato [J]. Food Science, 2012, 33(17): 207-211. (in Chinese)
- [13] 段玉权, 冯双庆, 马秋娟, 等. 中华寿桃果肉多酚氧化酶的纯化研究 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(4): 588-591.
- Duan Y Q, Feng S Q, Ma Q J, et al. Purification of polyphenol oxidase of 'Zhonghuashoutao' peach flesh [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37(4): 588-591. (in Chinese)
- [14] 朱继英, 王 健, 王相友. 双孢蘑菇多酚氧化酶的分离、纯化及特性分析 [J]. 园艺学报, 2012, 39(4): 763-768.
- Zhu J Y, Wang J, Wang X Y. Extraction, purification and property of polyphenol oxidase from *Agaricus bisporus* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2012, 39(4): 763-768. (in Chinese)
- [15] Zhao J G, Jian B L, Xing G X. Purification and characterisation of polyphenol oxidase from leaves of *Cleome gynandra* L. [J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 1012-1018.
- [16] Liu N N, Liu W, Wang D J, et al. Purification and partial characterization of polyphenol oxidase from the flower buds of *Lonicera japonica* Thunb [J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 478-483.
- [17] 张百刚. 红枣多酚氧化酶(PPO)特性及抑制其酶促褐变的研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2006.
- Zhang B G. Study on the characteristics of PPO and enzymatic browning control for Chinese jujube [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2006. (in Chinese)
- [18] 唐鸿宇. 环境生态因子对蕨菜多酚氧化酶影响的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- Tang H Y. Study on the effects of environment and ecological factors by pteridium aquilinum polyphenol oxidase [D]. Changchun: Jilin University, 2007. (in Chinese)
- [19] 周家华, 翟佳佳, 赵 毅, 等. 杏子多酚氧化酶动力学特性研究 [J]. 食品科技, 2011, 36(8): 69-72, 76.
- Zhou J H, Zhai J J, Zhao Y, et al. Kinetic characterization of polyphenol oxidase from apricot [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(8): 69-72, 76. (in Chinese)
- [20] 庞凌云, 祝美云, 詹丽娟, 等. 菜花多酚氧化酶的酶学特性研究 [J]. 河南农业大学学报, 2013, 47(1): 83-86, 91.
- Pang L Y, Zhu M Y, Zhan L J, et al. Study on enzymatic properties of polyphenol oxidase from cauliflower [J]. Journal of Henan Agricultural University, 2013, 47(1): 83-86, 91. (in Chinese)