

香蕉多酚氧化酶的纯化、酶学性质及活性抑制的研究进展

袁德保¹, 杨昭², 李芬芳¹, 谭琳^{1*}, 李奕星¹, 陈娇¹, 郑晓燕¹, 郑丽丽¹
(1.中国热带农业科学院海口实验站, 海南省香蕉遗传改良重点实验室, 海南 海口 570102;
2.海南大学食品学院, 海南 海口 570228)

摘要: 多酚氧化酶(PPO)是引起香蕉酶促褐变的关键酶。在香蕉采后及加工过程中, PPO与香蕉的品质有重要关系。本文综述香蕉PPO的分离纯化、酶学性质以及活性抑制等方面的研究进展, 以期对香蕉加工科研工作提供一定的借鉴。

关键词: 香蕉多酚氧化酶; 纯化; 特性; 活性抑制

Research Progress in Purification, Enzymatic Characteristics and Activity Inhibitory of Banana Polyphenol Oxidase

YUAN De-bao¹, YANG Zhao², LI Fen-fang¹, TAN Lin^{1*}, LI Yi-xing¹, CHEN Jiao¹, ZHENG Xiao-yan¹, ZHENG Li-li¹
(1. Hainan Key Laboratory of Banana Genetic Improvement, Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 570102, China; 2. College of Food Science and Technology, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Polyphenol oxidase (PPO) plays a key role in the enzymatic browning of banana. The state of PPO shows a close relationship with the quality in the post-harvesting and storage of banana. The article has summarized the research progress in separation and purification, enzymatic characteristics, enzyme activity control of banana PPO, which will provide a reference for the future studies on banana.

Key words: polyphenol oxidase of banana; purification; characteristics; inhibition of activity

中图分类号: TS255.36

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)19-0330-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201319068

香蕉是世界贸易量最大的水果。酶促褐变是香蕉贮运保鲜及深加工中亟待解决的难题^[1]。酶促褐变是指香蕉皮或者香蕉果肉中的酚类物质在多酚氧化酶(PPO)的作用下, 被氧化变成醌并形成黑色素的现象。抑制香蕉的酶促褐变对维系其采后贮运中的商品价值、经济价值及改善其加工性能具有重要的意义^[2]。PPO是由核酸编码的含铜金属酶, 其存在3种形式: 甲酚酶、儿茶酚酶或邻二酚类氧化酶、漆酶。当存在于质粒体中的PPO与存在于细胞液泡中酚类区室化被打破, 酚类和PPO接触, 在有氧存在下, 酚类被PPO氧化成醌并聚合成褐色聚合物^[3]。1937年, Kubowitz在Warburg实验室中第1次分离得到多酚氧化酶。半个世纪以来, 人们对多酚氧化酶进行了大量的研究^[4]。基于香蕉多酚氧化酶方面的研究也有大量报道, 但目前尚未见对香蕉多酚氧化酶的文獻进行系统总结及综述的报道。因此, 本文综述香蕉PPO的分离纯

化、酶学特性及酶活性抑制等方面的研究进展, 以期对香蕉加工的科研工作提供一定的借鉴。

1 香蕉PPO的分离纯化

Palmer^[5]以*Musa acuminata*香蕉为研究对象, 用含有1%清洁剂的磷酸缓冲液(PBS)匀浆法提取成熟果肉中的PPO, 丙酮沉淀后, 用DEAE纤维素柱进行, 纯化倍数接近12倍。塔卡基等^[6]以广东芝麻香蕉为研究对象, 采用含有1%聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和1%聚乙二醇(PEG)的磷酸缓冲液通过匀浆法提取果肉中的PPO, 分别得到PPO α 和PPO β 溶液, 接着用交联葡聚糖G-75凝胶色谱分离PPO α , 得到A I和A II两种组分, 并证实A II的比活力远超过A I。Galeazzi等^[7]用含1%可溶性PVP、0.25% Triton X-100的PBS提取一种矮小品种的香蕉果肉中的PPO, 粗酶液通过

收稿日期: 2013-04-11

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31101328); 海南省自然科学基金项目(311063)

作者简介: 袁德保(1982—), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为农产品贮藏与加工。E-mail: yuandebao@163.com

*通信作者: 谭琳(1974—), 女, 副研究员, 博士, 研究方向为农产品贮藏与加工。E-mail: tanlin7402@126.com

丙酮沉淀、Sephadex G-100柱层析纯化得到4种PPO同工酶, 纯化倍数达38.8倍。Gros Michel香蕉果肉PPO粗酶液经80%硫酸铵沉淀、葡聚糖凝胶S-200 HR柱层析和Mono Q柱纯化, 纯化倍数达6.6倍, 酶活回收率为9.6%^[8]。香蕉根的最优提取溶液为含体积分数0.25% Triton X-100和5g/100mL聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)的PBS^[9]。可以看出, 在提取PPO粗酶液的过程中, 上述研究都加入了多酚吸附剂, 如PVP或PVPP, 该吸附剂能吸附酚类物质, 从而阻止醌类聚合物与酶结合从而改变酶构象并降低酶活性^[10]。

添加抗坏血酸或异抗坏血酸钠等常用的还原剂也是一种有效的辅助提取方式。Nematpour等^[11]用含2% PVP、1% Triton X-100和0.01%抗坏血酸的PBS匀浆提取香蕉PPO, 经过透析、硫酸铵分级沉淀、DEAE柱和Sephadex柱纯化得到两种同工酶, 分子质量为58.2 kD^[11]。Oba等^[12]以香蕉雄花为研究对象, 使用含0.5%异抗坏血酸钠和12g PVPP的PBS进行研磨提取, 离心得到的粗酶液经过70%硫酸铵沉淀、Butyl-Toyopearl 650、DEAE-cellulose等纯化步骤, 纯化倍数达15倍, 酶活回收率为7.9%。Yang等^[13-14]分别以香蕉果皮与果肉为研究对象, 用含糖化酶、吐温-80和抗坏血酸的PBS在5℃条件下均质, 然后在37℃条件下水解3h。离心得到的粗酶液, 经过80%硫酸铵沉淀、DEAE-toyopearl 650mol/L、Butyl-toyopearl 650mol/L、SuperQ-toyopearl 650mol/L、Hydroxyapatite、Toyopearl HW55-S纯化。果皮PPO纯化了467.2倍, 酶活回收率为2.2%, 相对分子质量为41000。果肉PPO纯化了635.7倍, 酶活回收率为3%, 相对分子质量为41000~42000。

超声波产生的快速机械振动波可以提高目标物从固相转移到液相的传质速率。香蕉果肉与PBS固液比为30%, 在温度30℃条件下用400W的超声破碎机提取300s, PPO活力提高3倍以上^[15]。闪式提取是近些年发展起来的快速提取技术。曲留柱等^[16]以含1.13% PVPP、pH5.58的磷酸-柠檬酸为提取液, 液料比为1.57:1(V/m), 闪式提取器提取2.5min, 得到酶比活力为3123U/mg的粗酶液。双水相萃取操作条件温和, 分离迅速, 易于规模化扩大, 蛋白质在其中可以保持较好的活性。Sojo等^[17]用PEG 8000(质量分数5%)/磷酸钾缓冲液(pH7.0)双水相萃取香蕉果肉PPO, 磷酸盐相经过15%和35%硫酸铵沉淀, 纯化倍数约5倍, 回收率约50%。Carlos等^[18]用含有质量分数5% PEG8000、28.5%磷酸盐、56.5%(水和10%粗酶液的PEG8000/磷酸盐双水相体系萃取香蕉(Cavendish Valery)果肉中的PPO, 纯化倍数达12.99, 酶活回收率达82.14%。

2 香蕉PPO酶学特性

2.1 香蕉PPO的属性

未熟的香蕉果皮和果肉PPO主要以“潜在”形式存在, 在催熟的香蕉果实中, 果肉PPO以“潜在”和“可溶”两种形式存在, 而果皮PPO仍以“潜在”形式存在^[19]。小果野芭蕉(*Musa acuminata*)PPO对单酚类如酪氨酸、对羟基苯乙胺、邻甲苯酚、对甲酚无氧化作用^[5]。Land等^[20]检测*Musa cavendishii*香蕉PPO对酪氨酸、酪胺、对羟基苯甲醚、对甲基苯酚的氧化速率均为0, 认为香蕉多酚氧化酶缺乏单酚酶活性, 只有邻苯二酚酶活性。而*Musa cavendishii*香蕉PPO具有甲酚酶和儿茶酚酶活性, 没有过氧化物酶活性, Nematpour等^[11]认为该香蕉果肉PPO是酪氨酸酶。Sojo等^[21]也发现Spanish Pequena Enana香蕉果肉PPO具有单酚酶活性。Thomas等^[22]研究未熟的Dwarf Cavendish香蕉果肉, 发现14种同工酶都具有单酚酶(甲酚底物)和二酚酶(多巴胺和邻苯二酚底物)的功能, 认为部分研究没有检测到单酚酶的活性的原因可能是单酚酶在提取和纯化过程中损失或失活。

2.2 温度对香蕉PPO活性和稳定性的影响

温度对不同品种香蕉的PPO活性和稳定性的影响存在一定差异, 同时温度对同一品种香蕉的果皮和果肉PPO的影响也不一样。李健等^[23]研究发现威廉斯蕉、大蕉及粉蕉PPO的最适温度分别是60、30、30℃。威廉斯蕉PPO的热稳定性最高, 100℃水浴处理30min仍残存活性3.91%, 大蕉和粉蕉PPO在80℃水浴处理10min已基本失活。滕建文等^[24]研究得出, PPO耐热性依次为威廉斯>巴西蕉>那隆蕉>西贡蕉>牛蕉。巴西蕉PPO最适温度为30℃。在80、90℃和100℃处理10min时, PPO酶活抑制率分别为50.34%、91.73%和99.46%^[25]。Dwarf Variety香蕉PPO 85℃处理5min酶活损失90%以上, 95℃处理5min酶完全失活^[7]。Gros Michel香蕉PPO 70℃处理30min, 酶活损失50%, 90℃处理5min, 酶完全失活^[8]。*Musa sapientum*香蕉果皮和果肉PPO最适温度是30℃。果皮PPO热稳定性与Gros Michel香蕉PPO相似, 而果肉PPO 70℃处理30min酶活稳定^[13-14]。Saba香蕉雄花PPO I和PPO II 70、80℃处理60min, PPO I和PPO II酶活分别保持80%和95%^[12]。Anamur香蕉PPO最适温度为30℃, 温度超过40℃活性急剧下降。温度从60℃升到70℃, 酶的半衰期从85.6min减少到7.3min, D值(指在给定温度和压力条件下, 灭活90%原有残存酶活力所需要的时间)从286min减少到24min。酶的活化能和Z值(指在加热灭活曲线中, 加热时间缩短90%, 所需升高的温度)分别为155kJ/mol和14.2℃^[26]。张文灿^[27]认为温度对威廉斯蕉果肉和果皮PPO活性和稳定性的影响存在差异。果肉PPO的最适温度是40℃, 果皮PPO最适温度是60℃。20~60℃以

及60~80℃范围对果肉和果皮PPO活力影响不同。此外,酶液的浓度也影响PPO的稳定性。Palmer^[5]发现未稀释*Musa acuminata*香蕉PPO粗酶液在室温条件下24h是稳定的,粗酶液稀释后,在2~5℃条件下贮存1周,酶活损失30%。

2.3 pH值对香蕉PPO活性和稳定性的影响

不同品种间PPO的最适pH值存在较大差异。威廉斯蕉、大蕉及粉蕉PPO的最适pH值分别是8.5、6.5、6.5,粉蕉PPO对pH值变化的敏感性高于威廉斯蕉PPO和大蕉PPO。威廉斯蕉、大蕉及粉蕉PPO的pH值稳定范围较广,pH6.0~11.0都比较稳定,当pH值大于6.0时活性最为稳定^[23]。巴西蕉^[25]PPO在pH5.5和6.5有2个酶活力峰,pH6.5时出现最高酶活力。Gros Michel香蕉^[8]最适pH值为7,在pH6.5~7.5之间保持高活性,在酸性pH值条件下酶活迅速减小。5℃放置24h后,发现pH6~9之间PPO活性较稳定,pH7.0时最稳定。*Musa sapientum*香蕉果皮和果肉PPO最适pH值为6.5,在5~11之间是稳定的^[13-14]。Saba香蕉雄花2个同工酶PPO I和PPO II最适pH值分别为6.8和5.5,且都在碱性环境下更稳定^[12]。Anamur香蕉^[26]PPO在pH5.5和7.0处有活性峰,而最高峰出现在pH7.0。*Musa acuminata*香蕉PPO在pH6时是稳定的,而酶促反应的最适pH值为6.5^[28]。威廉斯蕉果肉PPO在pH4.0和pH7.0时有2个活力较高的峰,而pH7.0时活力最高。果皮PPO仅有1个活力最高的峰,出现在pH7.0处。自然状态下香蕉的pH值在4.5~5.0之间,此时2组酶均有一定的活力,且果皮的PPO活力大于果肉^[27]。张勇等^[29]研究发现,香蕉果肉PPO活力在pH5.0和6.0处有吸收峰。pH值小于5.0时,酶活力随pH值降低逐渐减小。pH值小于3.0时,PPO活性显著被抑制。pH值大于6.5时,酶活力随pH值升高也逐渐降低。当pH值大于8.5时,PPO活性显著被抑制。香蕉果皮PPO最适pH值为5.5,在pH4.5、5.5处有吸收峰^[30]。

2.4 底物对香蕉PPO活性的影响

香蕉果肉、果皮、根中含有高浓度的多巴胺^[31-32]。香蕉PPO对不同底物的催化速率不同,多巴胺是香蕉PPO的最适底物。Anamur香蕉PPO对邻苯二酚的 K_m 为8.5mmol/L, V_{max} 为0.754 OD_{410nm}/min^[26]。巴西蕉、威廉斯蕉、那龙蕉、红大卡蕉、米蕉、贡蕉、鸡蕉、粉蕉、大蕉9个品种果肉和果皮PPO对多巴胺和对羟基苯乙胺氧化速率最快,对邻苯二酚的催化速率约是多巴胺的一半,对儿茶素、表儿茶素、L-多巴的催化速率低于多巴胺速率的1/4^[33]。*Musa acuminata*香蕉PPO对多巴胺、L-多巴、D-多巴、邻苯二酚 K_m 值分别为0.63、66、30、2.6mmol/L。3mmol/L多巴胺达到酶促反应底物的饱和浓度,12mmol/L抑制反应^[5]。Grand Naine香蕉根PPO对多巴胺 K_m 为0.6mmol/L^[9]。Gros Michel香蕉果肉PPO对多巴胺的氧化速率最快,分别是对邻苯二酚、表儿茶素、D-儿茶素的氧化速率的2、3和4倍。PPO对多巴胺的 K_m

和 V_{max} 分别为2.08mmol/L和0.124mmol/(L·min)^[8]。*Musa sapientum*香蕉果皮和果肉PPO对底物的氧化速率与此相似。果皮PPO对多巴胺的 K_m 为3.9mmol/L,果肉PPO对多巴胺的 K_m 为2.8mmol/L^[13-14]。Saba香蕉雄花PPO对多巴胺催化速率最快(100%),其次是绿原酸(45.5%)、L-多巴(15.5%),而对咖啡酸、儿茶素则低于10%。PPO II对多巴胺催化速率最快(100%),其次是L-多巴(96%)、绿原酸(44%)和儿茶素(48%),而对咖啡酸则低于5%。PPO I和PPO II对多巴胺的 K_m 为0.5mmol/L,多巴胺浓度超过1.25mmol/L和5mmol/L分别抑制PPO I和PPO II活性^[12]。*Musa cavendishii*香蕉PPO对咖啡酸的 K_m 为18.6μmol/L, V_{max} 为2.8μmol/(L·min),对多巴胺的 K_m 为0.94mmol/L, V_{max} 为14.8μmol/(L·min)^[11]。Sojo等^[21]认为Spanish Pequena Enana香蕉果肉单酚酶活性和迟滞期与反应体系中SDS、底物、酶浓度、pH值、邻苯二酚的存在有关。还原剂或邻苯二酚的存在会减少或消除单酚酶活的迟滞期,邻苯二酚对单酚酶的活化常数 K_{act} 为2.4μmol/L。

2.5 成熟度对香蕉PPO活性的影响

果实发育过程中,威廉斯蕉、巴西蕉和米蕉果肉和果皮PPO比活力在成熟度低时相对较高,如坐果25d时,酶比活力最高,100d后,酶比活力降到稳定状态^[33]。李健^[34]发现威廉斯蕉、大蕉、鸡蕉和粉蕉PPO活性变化也呈同样趋势。贮藏时,随着乙烯利催熟果实,威廉斯蕉、鸡蕉、粉蕉和红大卡蕉均呈现先升高后降低趋势,而大蕉呈现降低-升高-降低趋势。属于AAA基因组的红大卡蕉、威廉斯蕉PPO活性要高于属于ABB基因组的大蕉、粉蕉PPO和属于AAB基因组的鸡蕉。随乙烯处理时间延长,*Musa nana*香蕉^[35]果肉和果皮PPO活性先升高再降低,第10天达到高值。果皮出现芝麻点褐斑时,果肉PPO活性却比果皮高2~3倍。而*Musa sapientum*香蕉^[19]进行催熟处理后,果肉PPO的总活性(潜在活性+可溶性活性)和可溶性活性均显著增加,出现活性先升高再降低的趋势。果皮PPO的总活性和可溶性活性几乎未受催熟影响。对威廉斯蕉^[36]而言,创伤和茉莉酸甲酯处理,不会明显提高果肉和果皮PPO活性。此外,6℃条件下用CaCl₂处理巴西香蕉果实,PPO活性明显高于对照,而用钙离子通道阻塞剂异博定(Vp)处理,PPO活性下降约32%^[37]。大蕉、粉蕉和香牙蕉在20℃条件下贮藏13d,随时间延长,PPO比活力逐渐增大^[38]。18℃和24℃条件下贮藏巴西蕉,PPO活性都呈现先上升后下降趋势,且24℃条件下的PPO活性一直高于18℃^[25]。而22℃和6℃条件下贮藏巴西蕉,6℃条件下的PPO活性始终高于22℃^[37]。Kluai Khai和Kluai Hom Thong香蕉在6℃条件下的PPO活性比10℃条件下增长更快^[39]。容易看出,低温诱导的冷害,促使PPO活性的提高。

3 香蕉PPO活性的控制

目前对PPO活性的控制,主要有物理法、添加外源抑制剂、物理和抑制剂结合等手段。

3.1 物理法

香蕉的果皮、果肉上的丝络、果心部位均比果肉易于褐变。在香蕉加工中,采用剥皮除丝络工艺,尽量将果心部位避免暴露空气中也是一种较好的物理控制办法^[40]。不同机械处理方式对香蕉酶促褐变的影响程度为:打浆>切片>去皮^[41]。采用添加液氮排氧打浆技术,可以有效降低香蕉浆体的温度并驱排氧气,同时可降低PPO酶活性及氧气含量^[42]。采用热处理钝化酶时,把温度控制在酶的变性温度之上时就能使酶失活,如广东芝麻香蕉PPOA I和PPOA II的蛋白质变性温度分别在93.03℃和89.42℃^[6]。微波处理(功率密度2W/g)4min就能将香蕉片中的PPO活力降至5%以下,大大短于热蒸汽处理的8min^[43]。池建伟等^[44]发现同功率微波条件下等质量不同厚度香蕉片PPO的钝化速率、效果相同。超高压处理钝化香蕉果肉PPO的影响因素的主次顺序为压力>温度>保压时间。压力480MPa、温度55℃、保压时间10min时,PPO的酶活残存率为0.90%^[45]。γ辐照剂量低于1kGy时,不会引起香蕉PPO活性下降^[46]。

3.2 外源抑制剂

L-半胱氨酸、抗坏血酸、柠檬酸能显著地抑制香蕉PPO活性^[47]。威廉斯蕉PPO活性的最佳抑制剂是盐酸-L-半胱氨酸,其次是抗坏血酸和NaHSO₃,而大蕉和粉蕉PPO活性的最佳抑制剂都是抗坏血酸,其次是NaHSO₃和盐酸-L-半胱氨酸^[23]。2mmol/L半胱氨酸、2mmol/L焦亚硫酸钠、4mmol/L抗坏血酸、100mmol/L 4-己基间苯二酚分别可使Gros Michel香蕉PPO酶活被完全抑制^[8]。1mmol/L二乙基二硫代氨基甲酸钠、1mmol/L半胱氨酸和1mmol/L抗坏血酸均可完全抑制Musa sapientum香蕉果皮和果肉PPO的活性^[13-14]。王梅等^[48]发现亚硫酸氢钠、二乙胺硫代甲酸钠、抗坏血酸对PPO有较强的抑制作用。二硫苏糖醇、焦亚硫酸钠、半胱氨酸和抗坏血酸完全抑制香蕉根PPO活性的最低浓度分别是150、109、973μmol/L和900μmol/L^[9]。0.2mmol/L抗坏血酸、0.01mmol/L焦亚硫酸钠均可以完全抑制Anamur香蕉PPO酶活^[26]。0.1~0.5g/kg抗坏血酸、SO₂对巴西香蕉PPO酶活的抑制率分别为97.5%~98.35%和11.85%~16.77%^[25]。有十二烷基磺酸钠(SDS)存在时,抗坏血酸、半胱氨酸和焦亚硫酸钠对Spanish Pequena Enana香蕉PPO表现很强的抑制作用,1mmol/L环庚三烯酚酮可以完全抑制酶活,曲酸的抑制作用依赖SDS。无SDS存在时,二乙基二硫代氨基甲酸钠和焦亚硫酸钠是最有效的抑制剂^[17]。庄远红等^[49]发现L-半胱氨酸、异

抗坏血酸等的复配使用能有效控制冻藏香蕉片褐变。SO₂、抗坏血酸及低pH值的协同作用能有效抑制香蕉果酒中PPO的活性^[25]。60mmol/L的草酸溶液和柠檬酸溶液对鲜切香蕉片具有很好的抑制效果,草酸溶液在贮存期内抑制褐变效果逐渐降低,而柠檬酸的效果则相对稳定^[50]。0.3g/mL米糠提取物对香蕉PPO有47.63%的抑制作用,其表现为直接作用于PPO结构^[51]。新鲜菠萝汁和热处理菠萝汁具有相同的酶褐变抑制效果^[52]。菠萝汁具有与8mmol/L抗坏血酸同等抑制鲜切Gros Michel香蕉片酶促褐变的效果。菠萝汁固相萃取组分抑制低温香蕉泥褐变的能力高于8mmol/L抗坏血酸。菠萝汁中的苹果酸和柠檬酸以及半胱氨酸和巯基化合物可能起着重要的作用^[53]。环糊精在香蕉PPO反应体系中具有双重作用。环糊精对以多巴胺为底物的酶促褐变没有影响,而当底物为疏水性的叔丁基儿茶酚时,反应被β-环糊精、羟丙基-β-环糊精或麦芽糖基-β-环糊精强烈地抑制,此种抑制是由于环糊精中心对叔丁基儿茶酚的络合。当在以多巴胺为底物的体系中,增加环糊精的浓度,环糊精中心会络合碘苯酚和肉桂酸,致使2种抑制剂失去对PPO的抑制能力^[54]。López-Nicolás等^[55]研究了环糊精对香蕉中天然褐变抑制剂的络合动力学模型,得到羟丙基-β-环糊精对香蕉中天然PPO抑制剂的络合常数K_{ci}为(27.026±0.212)mmol/L。

3.3 物理方法结合抑制剂

香蕉组织在加工和烹饪过程中,NaCl的存在可以提高加热对PPO抑制的效果^[12]。抑制剂的添加能降低热钝化香蕉PPO的作用温度。香蕉片浸入含有质量分数0.05%抗坏血酸与质量分数0.05%柠檬酸亚锡二钠的护色剂中,于85℃保温9min,可基本保证香蕉果浆在后续加工过程中不发生明显褐变^[56]。香蕉酱在100℃加热8min后,再使用0.4%柠檬酸、0.3%抗坏血酸和0.04%NaHSO₃组成的复配抑制剂护色,能起到很好的防褐效果^[57]。香蕉片用0.2% L-半胱氨酸和0.3%抗坏血酸的复配护色液,浸泡30min后,495W微波处理30s,能有效抑制褐变,又能较好地保持香蕉产品的品质^[58]。当香蕉汁杀菌温度≥90℃、杀菌时间≥15min时,添加量≥0.4%的柠檬酸发酵,对香蕉酒的褐变有较好的抑制效果^[59]。

4 结 语

综上,目前对香蕉PPO的分离纯化、酶学性质和化学抑制剂进行了广泛而深入的研究,同时对多酚氧化酶的应用也进行了一些探讨。然而目前对香蕉PPO的结构、构效关系、抑制剂的抑制机理等方面研究尚缺乏,需要进一步加强对这些方面的研究,以期对香蕉多酚氧化酶的基础研究和应用奠定坚实的理论基础。

参考文献:

- [1] 袁德保, 李芬芳, 郑晓燕, 等. 香蕉深加工在香蕉产业中的作用、发展现状与趋势及存在问题[J]. 热带农业科学, 2012, 32(8): 54-57.
- [2] 郑杰琼, 李芬芳, 袁德保, 等. 初始pH值对果糖-赖氨酸模型美拉德产物抑制香蕉酶促褐变相关性质的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(21): 24-27.
- [3] VAUGHN K C, DUKE S O. Function of polyphenol oxidase in higher plants[J]. *Physiologia Plantarum*, 1984, 60(1): 106-112.
- [4] MAYER A M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review[J]. *Photochemistry*, 2006, 67(21): 2318-2331.
- [5] PALMER J K. Banana polyphenoloxidase: preparation and properties[J]. *Pant Physiology*, 1963, 38(5): 508-513.
- [6] 塔卡基, 杨方琦, 高福成. 广东芝麻香蕉加工中的酶褐变研究(I)-多酚氧化酶的提取、分离及其特性研究[J]. 无锡轻工业学院学报, 1994, 13(1): 10-20.
- [7] GALEAZZI M A M, SCIARBIERI V C, CONSTANTINIDES S M. Isolation, purification and physicochemical characterization of polyphenoloxidases (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendish* L.)[J]. *Journal of Food Science*, 1981, 46(1): 150-152.
- [8] CHAISAKDANUGULL C, THEERAKULKAIT C. Partial purification and characterization of banana [*Musa* (AAA Group) 'Gros Michel'] polyphenol oxidase[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2009, 44(4): 840-846.
- [9] WUYTS N, WAELE DD, SWENEN R. Extraction and partial characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa acuminata* Grand naine) roots[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, 44(5): 308-314.
- [10] APPEL H M. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1993, 19(7): 1521-1552.
- [11] NEMATPOUR F S, HAGHBEEN K, BABAEI M K, et al. The banana pulp polyphenol oxidase is a tyrosinase[J]. *Journal of Biological Sciences*, 2008, 8(3): 526-533.
- [12] OBA K, LWATSUKI N, URITANI L, et al. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase isozymes in banana bud[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1992, 56(7): 1027-1030.
- [13] YANG C P, FUJITA S, KOHNO K L, et al. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musaspientum* L.) peel[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(3): 1446-1449.
- [14] YANG C P, FUJITA S, ASHRAFUZZAMAN M D, et al. Purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa sapientum* L.) pulp[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(7): 2732-2735.
- [15] 熊海涛, 郑行望, 唐志华. 超声诱导法提取香蕉中多酚氧化酶的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(5): 24-26.
- [16] 曲留柱, 金世超, 崔洁, 等. 响应面优化闪式提取香蕉多酚氧化酶[J]. 食品科学, 2012, 33(2): 136-142.
- [17] SOJO M M, NUNEZ-DELICADO E, GARCIA-CARMONA F, et al. Partial purification of a banana polyphenoloxidase using Triton X-114 and PEG 8000 for removal of polyphenols[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(12): 4924-4930.
- [18] CARLOS A, GUERRERO E. Inhibition of polyphenol oxidase in banana (Cavendish Valery) extracted using aqueous two phase system with isoespintanol and ascorbic acid[D]. Sede Medellin: Universidad Nacional de Colombia, 2009.
- [19] FUJITA S, YANG C P, MATSUFUJI K, et al. Changes of polyphenol oxidase of banana fruits during ripening treatment by ethylene[J]. *Journal of the Japan Association of Food Preservation Scientists*, 2001, 27(2): 79-82.
- [20] LAND E J, RAMSDEN C A, RILEY P A, et al. Evidence consistent with the requirement of cresolase activity for suicide inactivation of tyrosinase[J]. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2008, 216(3): 231-238.
- [21] SOJO M M, NUNEZ-DELICADO E, GARCIA-CARMONA F, et al. Monophenolase activity of latent banana pulp polyphenol oxidase[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(12): 4931-4936.
- [22] THOMAS P, JANAVE M T. Isoelectric focusing evidence for banana isoenzymes with mono and diphenolase activity[J]. *Journal of Food Science*, 1986, 51(2): 384-386.
- [23] 李健, 杨昌鹏, 陈智理, 等. 3个蕉类品种果实多酚氧化酶的特性研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(22): 13509-13512.
- [24] 滕建文, 黄丽, 夏宁, 等. 香蕉品种对香蕉果酱加工质量的影响[J]. 食品与机械, 2008, 24(1): 133-135.
- [25] 柳素洁. 香蕉多酚氧化酶性质及在果酒发酵中褐变控制的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- [26] UNAL U. Properties of polyphenol oxidase from Anamur banana (*Musa cavendish*) [J]. *Food Chemistry*, 2007, 100(3): 909-913.
- [27] 张文灿. 香蕉全果实生产澄清型香蕉原汁的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2010.
- [28] PERONE C A S, QUEIROZ A S, DALOSSO V M, et al. Partial purification and kinetics characterization of enzyme polyphenol oxidase of stunted banana (*Musa acuminata*) [J]. *Rev Inst Ciênc Saúde*, 2007, 25(3): 239-246.
- [29] 张勇, 池建伟, 温其标, 等. 香蕉酶促褐变的研究[J]. 食品科学, 2004, 25(3): 46-47.
- [30] 鲍金勇, 赵国建, 梁淑如, 等. 香蕉皮多酚氧化酶和过氧化物酶特性的研究[J]. 食品科技, 2005(11): 17-20.
- [31] RIGGIN R M, MCCARTHY M J, KISSINGER P T. Identification of salsolinol as a major dopamine metabolite in the banana[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1976, 24(1): 189-191.
- [32] MACE M E. Histochemical localization of phenols in healthy and diseased banana roots[J]. *Physiologia Plantarum*, 1963, 16(4): 915-925.
- [33] YANG C P, NONG Z R, LU J L, et al. Banana polyphenol oxidase: occurrence and change of polyphenol oxidase activity in some banana cultivars during fruit development[J]. *Food Science and Technology Research*, 2004, 10(1): 75-78.
- [34] 李健. 蕉类果实中多酚含量及酶促特性的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2010.
- [35] 陈坤荣, 文方德. 香蕉后熟过程中多酚氧化酶活性和酚类物质含量的分布变化[J]. 植物生理学通讯, 1987, 23(2): 31-33.
- [36] GOODING P S, BIRD C, ROBINSON S P. Molecular cloning and characterization of banana fruit polyphenol oxidase[J]. *Planta*, 2001, 213(5): 748-757.
- [37] 刘彩霞, 顾彩琴, 朱冬雪. 香蕉果实贮藏冷害与NAD激酶活性变化的关系[J]. 园艺学报, 2008, 35(10): 1425-1430.
- [38] 白永亮, 余铭, 袁根良, 等. 大蕉后熟期的褐变相关性及其褐变底物鉴定[J]. 食品科学, 2012, 33(4): 271-275.
- [39] NGUYEN T B T, KETSA S, van DOORN W G. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, 30(2): 187-193.
- [40] 马菽浩, 郑泽雄, 刘长海. 香蕉果汁的防褐变技术研究[J]. 广东农业科学, 2010, 37(4): 142-145.
- [41] 谢绍萍, 欧阳学智. 香蕉加工过程酶促褐变控制的研究[J]. 电子科技大学学报, 2003, 32(6): 642-644.
- [42] 杜冰, 梁淑如, 程燕锋. 香蕉液氮低温排氧打浆技术研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(2): 122-125.

- [43] 张立彦, 芮汉明, 刘锋. 香蕉中多酚氧化酶的灭酶条件研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(2): 105-107.
- [44] 池建伟, 张勇, 魏振承. 微波处理对香蕉多酚氧化酶活性的影响[J]. 广东农业科学, 2006, 33(11): 86-88.
- [45] 袁根良, 杨公明, 余铭, 等. 超高压处理对香蕉果肉多酚氧化酶和过氧化物酶活性抑制的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 64-68.
- [46] THOMAS P, NAIR P M. Effect of gamma irradiation on polyphenol oxidase activity and its relation to skin browning in bananas[J]. Photochemistry, 1971, 10(4): 771-772.
- [47] 杨昌鹏. 澄清型香蕉汁加工过程中酶褐变的抑制[J]. 广西轻工业, 2006(5): 29-30.
- [48] 王梅, 何其能, 莫长耕. 香蕉中多酚氧化酶活性的测定及抑酶药剂的筛选[J]. 卫生研究, 1993, 22(6): 373-375.
- [49] 庄远红, 刘静娜, 林娇芬, 等. 护色处理对冻藏香蕉片多酚氧化酶活性的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 77-80.
- [50] 覃海元, 杨昌鹏, 陈智理, 等. 草酸与柠檬酸抑制鲜切香蕉酶褐变的比较研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(4): 75-77.
- [51] SUKHONTHARA S, THEERAKULKAIT C. Inhibitory effect of rice bran extract on polyphenol oxidase of potato and banana[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2012, 47(3): 482-487.
- [52] 覃海元. 菠萝果汁抑制香蕉加工过程中酶褐变的初步研究[J]. 食品科学, 2006, 31(3): 45-46.
- [53] CHAISAKDANUGULL C, THEERAKULKAIT C, WROLSTAD R E. Pineapple juice and its fractions in enzymatic browning inhibition of banana [*Musa* (AAA Group) Gros Michel][J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(10): 4252-4257.
- [54] SOJO M M, NUNEZ-DELICADO E, GARCIA-CARMONA F, et al. Cyclodextrins as activator and inhibitor of banana pulp polyphenol oxidase[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(2): 518-523.
- [55] LÓPEZ-NICOLÁS M, PÉREZ-LÓPEZ A J, CARBONELL-BARRACHINA Á, et al. Kinetic study of the activation of banana juice enzymatic browning by the addition of maltosyl-cyclodextrin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(23): 9655-9662.
- [56] 李丹. 速溶香蕉粉制备工艺研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [57] 杨志娟, 雷晓凌, 孔嘉碧. 降低香蕉酱褐变度的工艺条件研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(9): 962-964.
- [58] 陈启聪, 曾霖霖, 黄慧华. 不同添加剂对香蕉褐变的抑制作用研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(11): 149-152.
- [59] 黄华梅, 杨昌鹏, 陈智理, 等. 香蕉果酒褐变抑制研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(21): 13091-13093.

欢迎订阅2014年《中国粮油学报》

《中国粮油学报》2013年成为美国《工程索引》(Engineering Index)源刊, 是全国食品工业类中文核心期刊。主要刊载谷物、油脂化学、工艺学等方面的研究成果。栏目包括: 稻谷、小麦、玉米、大豆、杂粮、淀粉、蛋白、油脂、饲料、储藏、加工工艺、粮食物流、信息自动化、标准与检测方法及综述。

《中国粮油学报》是国内外公开发行的—级刊物, 邮发代号: 80-720, 国内统一刊号: CN 11-2864/TS, 国际标准连续出版物刊号: ISSN 1003-0174。月刊, 每月25日出版, 铜版印刷, 大16开128页, 每期定价56元, 全年定价672元(含平刷邮费)。

地址: 北京市西城区百万庄大街11号粮科大厦(100037)

银行汇款开户行: 交通银行北京百万庄支行, 户名: 中国粮油学会

账号: 110060774018010013416

电话: 010-68357510 010-68357507

网址: www.lyxuebao.net

E-mail: lyxuebao1@ccoaoonline.com, bjb@ccoaoonline.com