

# 猕猴桃果实中 PME,PG 及其抑制因子的研究(综述)

王贵禧<sup>①</sup>

(中国林业科学研究院林业研究所)

韩雅珊

(食品学院)

**摘 要** 本文综述了猕猴桃中的 PME,PG 在果实软化中的作用、分离提纯、性质和活力测定方法,以及这两种酶的抑制因子等方面的研究进展。PME 与猕猴桃果实的软化无直接关系,可能是通过为 PG 准备作用底物而起间接的促进软化的作用。猕猴桃果实内 PME 的抑制因子是一种糖蛋白,仅对 PME 有专一性的抑制作用。猕猴桃采后 PG 活性的上升促进果胶物质的水解是导致猕猴桃果实软化的重要原因。猕猴桃果实中存在一种专一性的猕猴桃蛋白酶(Actinidin),能抑制 PG 的活性,该蛋白酶可被巯基乙醇和 DTT 等所激活,也可被 leupeptin 和 PCMB 所抑制。

**关键词** 猕猴桃; 果胶甲酯酶; 多聚半乳糖醛酸酶; 抑制因子

**中图分类号** S663.9

## A Review of Pectinmethylesterase, Polygalacturonase and Their Inhibitors in *Actinidia*

Wang Guixi

(Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry)

Han Yashan

(College of Food Science)

**Abstract** The functions, isolation & purifications, properties and activities of PMG, PG and their inhibitors in kiwifruit *Actinidia* are reviewed in this paper. There is no direct relationship between the activity of PME and the softening of *Actinidia*, but PME may produce the substrate for PG so that to enhance the softening process indirectly. The inhibitor of PME in *Actinidia* is a glucoprotein and appears to be specific for PME. The increase of PG activity is the main factor to promote the destruction of pectin substance and therefore result in the softening of *Actinidia* after harvest. A specific inhibitor existed in *Actinidia* fruit that is named actinidin, which inhibits the activity of PG significantly. The activity of actinidin can be triggered by mercaptoethanol and DTT, and also be inhibited by leupeptin and PCMB.

**Key words** *Actinidia*; pectinmethylesterase(PME); polygalacturonase(PG); inhibitor

收稿日期: 1996-01-04

①王贵禧,中国林业科学研究院林业研究所,北京,100091

果实的软化与细胞壁物质的降解有关,而果胶甲酯酶(PME)和多聚半乳糖醛酸酶(PG)在此降解过程中起着重要作用<sup>[1]</sup>。番木瓜<sup>[2]</sup>、西红柿<sup>[3~6]</sup>、鳄梨<sup>[7]</sup>、黄瓜<sup>[8]</sup>、芒果<sup>[9]</sup>、桃<sup>[10]</sup>等方面的研究表明了 PME, PG 与果实软化的关系。猕猴桃果实中 PME, PG 的研究也有一些报导,由于猕猴桃采后贮运过程中的主要问题是果实的软化<sup>[11]</sup>,所以了解这两种酶的性质及其与果实软化的关系就显得格外有意义。本文拟就猕猴桃果实中的 PME, PG 及其各自抑制因子与果实软化的研究作一介绍,为今后进一步深入研究提供参考。

## 1 果胶甲酯酶(PME)及其抑制因子

### 1.1 PME 的作用

果胶甲酯酶(pectinmethylesterase, PME)[E. C. 3. 1. 11]广泛存在于高等植物中,它的作用是水解果胶分子中甲酯化的羧基,使之生成多聚半乳糖醛酸和甲醇(pectin-COOCH<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O  $\xrightarrow{\text{PME}}$  pectin-COO<sup>-</sup> + H<sup>+</sup> + CH<sub>3</sub>OH)<sup>[12]</sup>。生成的半乳糖醛酸又进一步被半乳糖醛酸酶所分解。在果实的成熟衰老过程中,PME 的活性增加,因此可能参与了果实的降解代谢<sup>[13]</sup>。但也有研究表明,PME 在果实软化过程中的作用并不是很重要的,因为在果实软化以前,或在果实未成熟前的生长发育阶段,果实内的 PME 活性就很高,因此认为 PME 可能参与了与果实软化有关的细胞壁代谢的其它方面<sup>[14,15]</sup>,如 Richard<sup>[16]</sup>发现 PME 能通过促进细胞壁的部分自溶而使细胞膨大,这可能是 PME 存在于正处在生长发育的果实中的作用之一<sup>[17,18]</sup>。研究表明,在猕猴桃果实生长期 PME 活性逐渐升高,在采后的硬果期活性也很高,但随着果实的软化,PME 的活性反而下降较快,这似乎表明 PME 与猕猴桃果实的软化没有直接关系。Redgwell 等<sup>[19]</sup>发现在猕猴桃软化过程中细胞壁果胶物质的酯化度是逐渐降低的,说明 PME 在果胶物质降解方面的生理作用可能是使果胶分子由高甲酯化转变为低甲酯化后,更有利于 PG 对果胶的水解。Wegrzyn<sup>[20]</sup>也报道用乙烯处理猕猴桃后,果实的快速软化起因于 PME 活性的快速上升,使果胶的酯化度下降,并进而转化为可溶性果胶,并由此加速了果胶的水解和果实的软化。

### 1.2 猕猴桃果实中 PME 的提取与活力测定

由于 PME 是与细胞壁结合在一起的<sup>[21]</sup>,所以在提取时要加入适量的 NaCl 使 PME 游离出来。PME 粗酶液的提取方法如下:一定重量(10 g)的果肉,加 8.8%冷 NaCl 10 mL 进行匀浆,经 20 000 g 低温离心 10 min,上清液用 NaOH 调 pH(7.5)后即可作为粗酶液测定酶活力<sup>[12]</sup>。

PME 活力的测定方法有几种,但方便、灵敏又专一的测定方法当属连续分光光度计分析法<sup>[12]</sup>。反应液含有 2.00 mL 浓度为 0.5%的果胶溶液,0.15 mL 浓度为 0.01%溴麝香草酚兰,然后加水使总体积为 3 mL。酶液是最后加入的,在加入酶液前,初始 A<sub>620</sub>约在 0.28 左右,当加入 30~100 μL 酶液后,酶与果胶即作用释放出一 COOH,使反应液的 pH 下降,指示剂溴麝香草酚兰对 pH 很敏感,颜色立即变化并使吸光度 A<sub>620</sub>发生变化,反应在一分钟内呈线性关系,可以记录 ΔA<sub>620</sub>/min 变化以表示酶的活性,也可以用半乳糖醛酸作标准曲线,以计算每分钟释放出的酸量。用此法测定 PME 酶活时要注意以下几点:一是反应时的起始

pH 值一定要一致(pH7.5);二是反应液不能用缓冲液或用很弱的缓冲液;三是反应试剂(果胶、酶液指示剂、 $H_2O$ )都要调 pH 至 7.5;四是反应物温度要恒定,最好用循环水浴保持在 25℃。

### 1.3 猕猴桃果实中 PME 的有关性质

利用 Heparin-Sepharose 亲和色谱柱可以将猕猴桃果实中的 PME 分为两类,分别定名为  $PME_1$  和  $PME_2$ <sup>[22]</sup>。以桔子粉果胶为底物,测定它们的  $K_m$  值分别为  $1.82 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $0.76 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。这两种酶分别是由一条多肽链组成,并具有相同的  $M_r$  值。超速离心试验进一步表明这两种酶是同源的。在热稳定性方面, $PME_1$  比  $PME_2$  要稳定些,当其活力下降一半时的温度分别为 72℃ 和 63℃。

经 SDS 凝胶电泳后,用舍夫试剂(Schiffs reagent)染色,这两种酶均表现出正反应,进一步研究表明,这两种酶在 conavalin A-sepharose 柱上是能分离洗脱的,其  $R_{ts}$  分别是 25 min 和 28 min,这表明它们的糖基化程度是不同的。PME 是一种糖蛋白,可能使它更有利于结合在细胞壁上。

### 1.4 猕猴桃中 PME 的抑制因子

**1.4.1 抑制因子的发现** 一般来说,用 0.3 mol/L 的 NaCl 就可以将 PME 从果实中游离出来,但当用此法从猕猴桃果实中提取 PME 时,则测不出 PME 的活性。相反,如果先将果实加水匀浆后,再离心,弃去上清液,取沉淀加 0.3 mol/L 的 NaCl 提取,则可以测出 PME 的活性。试验中还发现,当在 PME 中加入猕猴桃的匀浆液或离心上清液后,PME 的活性会大大降低;如果先将匀浆液或上清液在 100℃ 煮沸 10 min 后,再加入 PME 中,则 PME 的活性不降低。这充分证明在猕猴桃果实中有一种对热不稳定的 PME 抑制因子,这种抑制因子可能是一种蛋白质。因为如果将匀浆上清液经胰蛋白酶处理后,则不再对 PME 有抑制作用,而且,此抑制物不能透过截留量为 12 kD 的半透膜。以上试验证明,PME 的这种抑制因子(PMEI)是一种蛋白质<sup>[23]</sup>。

**1.4.2 PMEI 的纯化及组成研究** PME 抑制因子(PMEI)的纯化程序及结果列于表 2。先将猕猴桃果肉加水匀浆,离心后,PMEI 保留在上清液中,而 PME 则与细胞壁相结合而残留在沉淀中。上清液经硫酸铵沉淀、Q-sepharose 和 superose 12 纯化后,PMEI 的最终活性是 108.6 units/mg 蛋白质,比原来提高了 21 倍。

用 SDS/PAGE 分析和凝胶过滤方法测定都证明,PMEI 分子量为  $28 \pm 0.2 \text{ kD}$ 。经舍夫试剂(Schiffs reagent)染色表明,PMEI 是一种糖蛋白,含有 18 种氨基酸。糖基部分有半乳糖、阿拉伯糖和鼠李糖<sup>[23]</sup>。

**1.4.3 PMEI 的作用机理** PMEI 对 PME 的抑制作用取决于 PME/PMEI 的摩尔数之比。当 PME/PMEI 的摩尔数之比小于 1 时,则测不出 PME 的活性,当这个比值不断增大时,PME 的活性也按比例升高。很可能,PMEI 的抑制作用是通过与 PME 结合后形成一种无活性的复合物而实现的。试验还表明,PMEI 的抑制作用对 PME 有专一性,而且,猕猴桃果实中的 PMEI 对不同来源的 PME 如柑桔、苹果、西红柿、土豆、香蕉等的 PME 均有抑制作用,在对 PME 的抑制上没有表现出品种专一性。但对其它多糖水解酶如 PG 和淀粉酶均没有抑制作用。因此,PMEI 是 PME 的专一性抑制因子<sup>[23]</sup>。

关于 PMEI 在猕猴桃果实中的生理意义仍有待于研究,它存在于成熟果实中是无疑的,

在提取过程中,它很容易溶于水。设想它的生理作用是多方面的,它可能在植物对病原菌的阻碍代谢方面起作用(有些植物品种含有能抑制真菌病原体分泌的多糖水解酶抑制因子),以及在生长和成熟代谢方面起作用<sup>[23]</sup>。值得注意的是,这种抑制物质在未成熟的猕猴桃果实中是测不到的,仅存在于果实成熟期,因此推测它可能是猕猴桃果实成熟时的诱导产物,并在抑制果实的降解代谢方面起作用,如在猕猴桃果实成熟期 PME 的活性下降,可能与这一时期 PMEI 的活性上升有关,这两者之间的关系有待深入研究。PMEI 已在保持果汁的稳定性方面得以应用,Castaldo<sup>[24]</sup>从猕猴桃中提取出 PMEI,然后将其加入到桔汁中,PMEI 即阻止了 PME 对桔汁中果肉胶团的降解,从而保持了桔汁的特性和稳定性。

## 2 多聚半乳糖醛酸酶(PG)及猕猴桃蛋白酶

### 2.1 PG 的作用

多聚半乳糖醛酸酶作用于多聚半乳糖醛酸的 1,4 键,将其水解为半乳糖醛酸或半乳糖醛酸的低聚物。很久以来,研究者就发现在未成熟的果实中 PG 的活性很低或检测不到,而在成熟或软化的阶段其活性则急剧增加<sup>[13,21]</sup>。由于该酶的作用,促进了果实的软化<sup>[1]</sup>。在猕猴桃果实中,Fuke 和 Matsuoka<sup>[17]</sup>发现果实的成熟和软化过程中,可溶性的多聚糖醛酸物质增加,但当时并未检测到 PG 的活性。Soda 等<sup>[25]</sup>研究发现,经乙烯处理的 Bronno 猕猴桃迅速软化,并且在处理 4 d 后,醇不溶性物质的含量迅速下降(从 11.0%降至 4.2%),在前 7 d 内可溶性多聚糖醛酸的含量也迅速上升(从 11.1 mg 上升至 132.8 mg/g 醇不溶性物质),之后又降低到 84.2 mg。这种降低可能是醇不溶性物质转化或降解为低分子量的醇可溶性物质。凝胶过滤色谱研究表明,高分子量的多聚半乳糖醛酸在猕猴桃果实的软化过程中迅速下降,而低分子量的则上升。经乙烯处理 40 d 后,高聚物基本转变为低聚物。同时,从猕猴桃果实中分离出的聚糖醛酸的粘度下降。认为聚糖醛酸物质由高聚物变为低聚物,由不溶性变为可溶性,从而导致了猕猴桃果实的软化,这一过程是由猕猴桃果实中的 PG 的作用引起的。魏玉凝等<sup>[26]</sup>也证明猕猴桃中 PG 的上升与果实硬度的下降明显相关,并与乙烯的释放高峰相一致。在研究中发现猕猴桃果实软化分两个阶段<sup>[18]</sup>,PG 主要对第二软化阶段起作用,所有能够降低 PG 活性的贮藏处理,如钙处理或气调贮藏等措施,均能减慢果实的软化速度。以上均充分说明了 PG 与猕猴桃软化的密切关系。

### 2.2 猕猴桃果实中 PG 的提取与活力测定

有关猕猴桃果实中 PG 方面的研究还很少。Fuke 等<sup>[17]</sup>只测定了猕猴桃果实 PME 的活性,而未测到 PG 的活性。Yamaguchi<sup>[27]</sup>报导了猕猴桃果实中有很高的蛋白酶活性,而蛋白酶对其它的酶有降解作用,因此认为猕猴桃中的 PG 可能是在提取过程中被蛋白酶降解了。Soda 等<sup>[28]</sup>研究证明,在提取猕猴桃中的 PG 时,加入 10  $\mu\text{mol/L}$  的 leupeptin 可以有效地抑制蛋白酶的活性,从而成功地将 PG 提取了出来。

猕猴桃果实中 PG 的提取:经乙烯处理过的猕猴桃外果肉组织 20 g,加 50 mL 冷的 Tris-HCl 缓冲液(0.2 mol/L, pH8.0),其中还含有 5%NaCl、50  $\mu\text{mol/L}$  leupeptin; 1 mmol/L EDTA 和 4%polyclar AT,用组织捣碎器匀浆 2 min,匀浆液在低温(4 $^{\circ}\text{C}$ )下振荡提取 1 h,10 000 g 低温离心 15 min,上清液加  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  使其达到 80%的饱和度,静置

1 h后,再在10 000 g下低温离心20 min,沉淀悬浮于少量10 mmol/L的pH4.5的乙酸钠缓冲液(含50  $\mu$ mol/L leupeptin和1 mmol/L EDTA),并以同样的缓冲液透析24 h(整个过程在4℃下操作)后,即可作为酶液使用。

PG酶活力的测定:反应混和液含有2 mL 0.5%的果胶,2 mL 0.4% NaCl,2 mL 0.4 mol/L乙酸钠缓冲液(pH4.5)和2 ml酶液。反应在37℃恒温水浴中的Ostwald粘度计中进行,相对粘度根据反应液混合物在反应开始和结束后的流动时间来测定。用单位时间内粘度的变化来表示酶活的大小。同时,PG的活性也用分光光度计法测定:每隔一定时间,取1 mL反应液加入含5%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 和30%的 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 0.5 mL终止反应,再加入0.3% 3,6-dinitrophthalic acid monopyridium salt 0.5 mL,并煮沸10 min,冷却后,在450 nm下测定吸光度并根据 $\alpha$ -D半乳糖醛酸的标准曲线将OD值转换成 $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 半乳糖醛酸的释放量。

### 2.3 猕猴桃果实中的PG有关性质

与其它植物种类的PG相同,猕猴桃果实中的PG也是与细胞壁结合在一起的,因此在提取时需加入高浓度的盐(NaCl)使之游离出来。猕猴桃中PG的活性与果实的成熟状态有关,未成熟或未经乙烯处理的果实,不管加不加leupeptin,均不表现出活性,因此PG活性的表现可能是乙烯的处理促进了PG或其它蛋白质合成的结果。猕猴桃中有一种专一性的猕猴桃蛋白酶能抑制PG活性,此蛋白酶对过氧化物酶和酸性磷酸酶等无抑制作用。粘度法和分光光度法分析表明,猕猴桃果实中的PG属于内切酶(endo-PG)。通过对分解产物的分子量测定也证明了这一点<sup>[26]</sup>。

### 2.4 猕猴桃果实中PG的抑制因子

**2.4.1 蛋白酶简介** 蛋白酶广泛存在于生物界,按其活性功能基团可以分为四大类,分别是丝氨酸蛋白酶、巯基蛋白酶、含锌蛋白酶和羧基(天冬氨酸)蛋白酶。其中在植物中受到重视的主要是巯基蛋白酶,如木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶、菠萝蛋白酶和猕猴桃蛋白酶,猕猴桃蛋白酶又称猕猴桃碱<sup>[29]</sup>。

**2.4.2 Actinidin的提取和活力测定** 酶液的提取:20 g果肉组织加20 mL冷Tris-HCl缓冲液(pH8.0,0.2 mol/L)经低温均浆后在10 000 g下离心20 min,上清液水平考试-20℃下保存备用。

Actinidin活力的测定:反应混合物含有0.2 mL 1%的酪蛋白、0.4 mL 0.2 mol/L的Tris-HCl(pH8.0)缓冲液和0.4 mL酶液,在37℃下保温20 min后,加入1 mL 10%的TCA终止反应,室温静置30 min后,3000 g离心10 min以除去沉淀,上清液在340 nm比色。对照为先将酶液煮沸后加入,其它操作相同。酶的活力单位定义为在上述条件下使340 nm的吸光度产生0.1个变化所用的酶液量表示<sup>[27,29]</sup>。

**2.4.3 Actinidin的性质** 以牛碳氧血红蛋白为底物,Actinidin的最适温度为45~50℃,最行之有效pH为3.7~4.0, $K_m$ 值为 $2.78\times 10^{-5}$  mol, $K_{cat}$ 为 $2.01\times 10^{-2}$ /min。将酶制剂保存在4℃冰箱中一个月,活力基本稳定,保存4个月,酶的相对活力为90%。Actinidin的热稳定性较好<sup>[30]</sup>,Yanaguchi等<sup>[27]</sup>用酪蛋白为底物试验表明,Actinidin的最适温度为60℃,最适pH为中性或偏碱性。

**2.4.4 Actinidin的结构及功能基团** Actinidin是由12个胰蛋白酶肽组成的含有220个

氨基酸残基的多肽链, 分子量为 23 500<sup>[31]</sup>。酶的总巯基数为 7, 其中只有一个游离巯基是该酶催化活性的必需功能基团<sup>[32]</sup>。

**2.4.5 Actinidin 的激活剂与抑制剂** 象其它巯基蛋白酶一样, *Actinidin* 可被巯基乙醇和 DTT 所激活<sup>[30]</sup>, Yamaguchi<sup>[27]</sup> 还发现, 半胱氨酸(10 mmol/L), EDTA(4~10 mmol/L) 也可以提高 *Actinidin* 的活性。梁楚泗等<sup>[33]</sup> 报告用半胱氨酸( $7.5 \times 10^{-3}$  mol/L) 作猕猴桃蛋白酶的激活剂, 可明显提高猕猴桃加工产品的品质。*Actinidin* 的抑制剂有 leupeptin, 有效浓度为 10 mmol/L<sup>[28]</sup>; PCMB, 有效浓度为  $3 \times 10^{-5}$  mol/L<sup>[32]</sup>, 它们都是蛋白质侧链巯基的专一性抑制剂。而 PMSF、焦碳酸二乙酯和碘乙酰胺不能抑制 *Actinidin* 的活性<sup>[32,34]</sup>。

综上所述, 猕猴桃在采后软化过程中, PME 和 PG 各自起了不同的作用。目前的研究表明, 猕猴桃中 PME 对果实软化的作用是间接的, 它的作用是将高甲氧基果胶转变为低甲氧基果胶, 从而造成了适于 PG 作用的条件, 因而更有利于 PG 对果胶物质的水解作用。PMEI 方面的研究刚开始, 其生理意义还不太清楚, 但从理论上讲, PMEI 的存在阻碍了 PME 的作用, 因而对延长猕猴桃的贮藏保鲜期是有利的。PG 对促进果实软化的作用已经很清楚, 但猕猴桃蛋白酶(*Actinidin*) 的发现则更加有意义, *Actinidin* 对 PG 有直接的抑制作用, 因此是否可以象选择 PG 活性一样, 将 *Actinidin* 活性的高低作为选择猕猴桃耐藏品种的一种指标。当然对 *Actinidin* 在猕猴桃果实中的变化和生理作用还需作深入的研究。

## 参 考 文 献

- 1 Huber D J. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Reviews*, 1983, 5:169~219
- 2 Paull R E, Chen N J. Postharvest variation in cell wall-degrading enzymes of papaya during fruit ripening. *Plant Physiol*, 1983, 72:382~385
- 3 Pressey R. Changes in polygalacturonase isoenzymes and converter in tomato during ripening. *Hort Science*, 1986, 21(5):1183~1185
- 4 Pressey R, Avants J K. Pectic enzymes in 'Long keeper' tomatoes. *Hort Science*, 1982, 17(3):398~400
- 5 Brady C J, MoGlasson W B, Pearson J A, Meldrum S K, Kopeliovitch E. Interactions between the amount and molecular forms of galacturonase. Calcium and firmness in tomato fruits. *J Amer Soc Hort Sci*, 1985, 110(2):254~258
- 6 Tong C B S, Gross K C. Ripening characteristics of a tomato mutant, *dark green*. *J Amer Soc Hort Sci*, 1989, 114(4):635~638
- 7 Awad M, Young R E. Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase and pectin methylesterase in avocado fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiol*, 1979(64):306~308
- 8 Miller A R, Dalmasso J P, Kretchman. Developmental variation of cell wall degrading enzymes from cucumber fruit tissues. *Can J Bot*, 1989, 67:817~821
- 9 Roe B, Bruemmer J H. Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of 'keitt' mangos. *J Food Sci*, 1981, 46:186~189
- 10 Pressey R, Hinton D M, Avants J K. Development of polygalacturonase activity and solubilization of pectin in peaches during ripening. *J Food Sci* 1971, 36:1070~1073
- 11 王贵禧, 韩雅珊, 于梁. 浸钙对猕猴桃果实硬度变化影响的生化机制. *园艺学报*, 1995, 21(1):21~24
- 12 Hagerman A E, Austin P J. Continuous spectrophotometric assay for plant pectinmethylesterase. *J*

- Agric Food chem. 1986,34(3):440~444
- 13 Hultin H O, Levine A S, On the occurrence of multiple molecular forms of pectinesterase. Arch Biochem Biophys, 1963,101:396~402
  - 14 Brady C J. The pectinesterase of the pulp of the banana fruit. J Plant Physiol, 1976,3:163~172
  - 15 Tucker G A, Robertson N C, Grierson D. Purification and changes in activities of tomato pectinesterase isoenzymes. J Sci Food Agri, 1982,33:396~400
  - 16 Richard J, Noat G. Electrostatic effects and the dynamics of enzyme reactions at the surface of plant cell. Eur J Biochem, 1986,155:183~202
  - 17 Fuke Y, Matsuoka H. Changes in content of pectin substances ascorbic acid and polyphends and activity of pectinesterase in kiwifruit during growth and ripening after harvest. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 1984,31(1):31~37
  - 18 王贵禧,韩雅珊,于梁. 猕猴桃软化过程中阶段性专一酶活性变化的研究. 植物学报, 1995,37(3):198~203
  - 19 Redgwell R J, et al. Cellwall dissolution in ripening kiwifruit: solubilization of the pectic polymers. Plant Physiol, 1992,98:71
  - 20 Wegrzyn T F, MacRae E A. Pectinesterase, polygalacturonase, and  $\beta$ -galactosidase during softening of ethylene-treated kiwifruit. Hort Science, 1992,27(8):900~902
  - 21 Pressey R, Avants J K. Occurrence and properties of polygalacturonase in *Avena* and other plants. Plant Physiol, 1977,60:548~553
  - 22 Giovane A, Quagliuolo L, Castaldo D, Servillo L, Balestrieri C. Pectinmethylesterase from *Actinidia Chinensis* fruits. Phytochemistry, 1990,29(9):2821~2823
  - 23 Balestrieri C, Castaldo D, Giovane A, Quagliuolo L, Servillo L. A glycoprotein inhibitor of pectin methylesterase in kiwifruit (*Actinidia Chinensis*). Eur J Biochem, 1990, 193:183~187
  - 24 Castaldo D, Iovoli A, Quagliuolo L. Orange juices and concentrates stabilization by pectic inhibitor of pectinmethylesterase. J Food Sci, 1991,56(6):1632~1634
  - 25 Soda I, Hasegawa T, Suzuki T, Ogura N. Changes of polyuronides in kiwifruit during ripening. Agric Biol Chem, 1987,51(2):581~582
  - 26 魏玉凝,侯林林,李曜东,宋艳茹. 猕猴桃生理后熟期某些生理特性的研究. 北京植物生理学会. 中国植物学会植生专业委员会 1991 年年会论文摘要汇编.
  - 27 Yamaguchi T, Yamashita Y, Takeda I, Kiso H. Proteolytic enzymes in green asparagus, kiwifruit and miut: Occurrence and partial characterization. Agric Biol Chem 1982,46(8):1983~1986
  - 28 Soda I, Hasegawa T, Suzuki T, Ogura N. Detection of polygalacturonase in kiwifruit during ripening. Agric Biol Chem, 1986,50(12):3191~3192
  - 29 Fersht A. Enzyme structure and mechanism. second adition. W. H Freeman and Company, New York, 1985. 405~427
  - 30 林泌英,陈素丽,黄琼英,颜思旭. 中华猕猴桃蛋白酶分离提纯及性质研究. 厦门大学学报自然科学版, 1986,25(3):347~353
  - 31 Carne A, Moore C H. The amino acid sequence of the tryptic peptides from actinidin, a proteolytic enzyme from the fruit of *Actinidia Chinensis*. Biochem J, 1987,173:73~83
  - 32 林沁英,陈素丽,刘红,陈勇,颜思旭. 中华猕猴桃蛋白酶催化功能基团的研究. 厦门大学学报自然科学版,1987,26(3):348~353
  - 33 梁楚迺,黄维南,刘福平. 中华猕猴桃综合利用的研究 II. 中华猕猴桃蛋白酶的性质及其副产品的研制. 食品与发酵工业, 1989,3:52~56
  - 34 徐章雄,艾英智,郝建. 猕猴桃蛋白质的分离纯化和性质研究 I. 带 I 蛋白水解酶. 中国生化学会第五次全国生物化学学术会议论文摘要汇编. 1984,128~129