

茶多酚对酪氨酸酶的抑制作用及分子机制研究

李帅浩¹, 谭 充¹, 冯子健¹, 马秋越¹, 陈 南¹, 高浩祥^{1,2}, 曾维才^{1,2*}

(1. 四川大学轻工科学与工程学院, 成都 610065; 2. 食品科学与技术四川省高校重点实验室, 成都 610065)

摘 要: **目的** 研究茶多酚对酪氨酸酶的抑制作用及分子机制。**方法** 通过生化分析法, 测定茶多酚对酪氨酸酶的抑制作用并分析其抑制动力学; 采用荧光光谱、圆二色谱和分子模拟技术, 剖析茶多酚对酪氨酸酶抑制作用的分子机制。**结果** 茶多酚对酪氨酸酶有良好的抑制作用, 对其单酚和多酚活性的半数抑制浓度分别为 0.66 mg/mL 和 1.76 mg/mL, 为竞争性抑制; 茶多酚可使酪氨酸酶出现明显的荧光淬灭和最大发射波长红移, 并使酪氨酸酶二级结构中的 α -螺旋结构显著增加, β -折叠、 β -转角和无规则卷曲结构显著减少, 显著改变酪氨酸酶的三级和二级结构。**结论** 茶多酚主要通过氢键和静电相互作用与酪氨酸酶进行结合, 从而改变酪氨酸酶的空间结构并阻碍其与底物进行结合, 进而抑制酪氨酸酶的活性。

关键词: 茶多酚; 酪氨酸酶; 抑制作用; 空间结构; 分子对接

Inhibitory effect of tea polyphenols on tyrosinase and its molecular mechanism

LI Shuai-Hao¹, TAN Chong¹, FENG Zi-Jian¹, MA Qiu-Yue¹, CHEN Nan¹,
GAO Hao-Xiang^{1,2}, ZENG Wei-Cai^{1,2*}

(1. Department of Food Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 2. The Key Laboratory of Food Science and Technology of Sichuan Province of Education, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the inhibitory effect and molecular mechanism of tea polyphenols on tyrosinase. **Methods** The inhibitory effect of tea polyphenols on tyrosinase was determined by biochemical analysis and its inhibition kinetics were analyzed. Fluorescence spectroscopy, circular dichroism and molecular simulation techniques were used to analyze the inhibitory effect and molecular mechanism of tea polyphenols on tyrosinase. **Results** Tea polyphenols exhibited a good inhibitory effect on tyrosinase, and the half inhibitory concentrations of their monophenolic and polyphenolic activities were 0.66 mg/mL and 1.76 mg/mL, which was the competitive inhibition. Tea polyphenols could cause obvious fluorescence quenching and maximum emission wavelength redshift of tyrosinase. Meanwhile, tea polyphenols increased the α -helix structure and reduced β -folding, β -angle, random coil structure of tyrosinase significantly, which indicated that tea polyphenols significantly changed the tertiary and secondary structures of tyrosinase. **Conclusion** Tea polyphenols interacted with tyrosinase mainly by hydrogen bonds and electrostatic interactions, so as to change the spatial structure of tyrosinase and prevent its binding to the

基金项目: 四川省科技计划项目(2021YFH0072)、中央高校科技支撑计划项目(2021CDLZ-21)、四川大学创新创业训练计划项目(C2023123650)

Fund: Supported by the Science and Technology Program of Sichuan Province (2021YFH0072), the Central Science and Technology Support Program for Universities (2021CDLZ-21), and the Innovation and Entrepreneurship Training Program of Sichuan University (C2023123650)

***通信作者:** 曾维才, 博士, 教授, 主要研究方向为食品化学和绿色加工技术。E-mail: weicaizeng@qq.com

***Corresponding author:** ZENG Wei-Cai, Ph.D, Professor, Department of Food Engineering, Sichuan University, No.24, South First Section, First Ring Road, Chengdu 610065, China. E-mail: weicaizeng@qq.com

substrate, thereby inhibiting the activity of tyrosinase.

KEY WORDS: tea polyphenols; tyrosinase; inhibitory effect; spatial structure; molecular docking

0 引 言

在食品加工和贮藏过程中, 由酪氨酸酶引发的酶促褐变对鲜切的土豆、藕与苹果等食品的感官品质有较大的负面影响^[1-2]。同时, 随着酶促褐变的发生, 食品的营养价值也随之下降, 降低食品的货架期, 影响食品的销售与食用。为了降低酶促褐变对食品品质的影响, 曲酸等褐变抑制剂开始被添加到食品中^[3-4]。虽然曲酸类褐变抑制剂能有效猝灭酪氨酸酶的活性, 抑制食品褐变, 但它们对人体健康也呈现出较多的负面作用, 故而在相关国家开始被逐渐限制或禁止于食品加工中使用。因此, 从可食用资源中发现对酪氨酸酶具有抑制作用的绿色、高效和安全的天然物质并将其应用于抑制食品的酶促褐变, 已成为食品及相关领域的研究热点^[5-6]。

茶多酚是茶叶中酚类化合物的总称, 主要是由表儿茶素(epicatechin, EC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG) 4 类儿茶素类物质组成。其中, EGCG 是茶多酚中含量最高和活性最强的成分。相关研究表明, 茶多酚具有良好的抗氧化、防辐射和延缓衰老等有益人体健康的作用。同时, 茶多酚也是一种被批准能用于食品加工的食品抗氧化剂, 对油脂类食品的氧化有良好的抑制效果^[7-9]。相关研究表明, 富含茶多酚的物质对于酪氨酸酶的活性有抑制作用, 在日化产品领域具有良好的应用价值。但对于茶多酚的结构与其酪氨酸酶活性抑制作用的关系方面的研究尚未清晰, 对其在食品加工和贮藏过程中资源化利用的研究也较为稀缺^[10]。近年来, 随着对茶多酚结构和性质认识的不断深入, 进一步开发和拓展这一高效、绿色和安全的天然物质在食品加工与贮藏过程中的应用, 既有助于茶多酚资源的高值开发利用, 也有利于提升食品的品质与安全性。

本研究通过生化分析、光谱学分析与分子模拟相结合的方法, 测定茶多酚对酪氨酸酶的抑制作用, 并进一步对其抑制类型与分子作用机制进行探究, 为茶多酚在食品加工和贮藏过程中抑制食品褐变方面的应用提供实验和理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

茶多酚(纯度 $\geq 95\%$, 西安通泽生物科技有限公司); 酪氨酸酶(1100 U/mg)、L-多巴、酪氨酸(纯度 99%)(上海源叶生物科技有限公司); 二水合磷酸二氢钠、十二水合磷酸氢二钠(成都金山化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

ESJ210-4A 型电子天平(精度 0.1 mg, 沈阳龙腾电子有限公司); UV-2000 型紫外可见分光光度计(尤尼柯仪器有限公司); UPT-I-5T 型优普系列超纯水机(四川优普超纯科技有限公司); F-7000 型荧光光谱仪(日本 Hitachi 公司); Chirascan 型圆二色谱仪(英国应用光物理公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 茶多酚对酪氨酸酶抑制作用的测定

单酚活性测定: 0.3 mL 磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH=6.8)和 2.0 mL 酪氨酸溶液(1 mmol/L)混合, 25℃孵育 10 min, 分别加入 0.1 mL 的茶多酚溶液(0~1.5 mg/mL), 混匀, 加入 0.1 mL 酪氨酸酶溶液(活力 >180 U/mL), 混匀, 于 475 nm 波长处以 30 s 为时间间隔测定反应混合物在 5~10 min 内吸光度的变化, 以磷酸盐缓冲液作为空白对照。

多酚活性测定: 取 1.5 mL L-多巴溶液(1.5 mmol/L, 用 pH 为 6.8、0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液配制)与 0.8 mL 磷酸盐缓冲液混合, 25℃孵育 10 min, 加入 0.1 mL 质量浓度为 0.9~2.1 mg/mL 的茶多酚溶液, 而后向混合物中加入 0.1 mL 酪氨酸酶溶液(活力 >180 U/mL)并混匀, 于 475 nm 波长处以 30 s 为时间间隔测定反应 0~5 min 内混合物的吸光度变化, 以磷酸盐缓冲液作为空白对照。茶多酚对酪氨酸酶单酚和多酚活性的抑制率按公式(1)计算:

$$\text{抑制率}/\% = (1 - A_1/A_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_1 为实验组吸光度的变化, A_0 为空白组吸光度的变化^[11]。

1.3.2 茶多酚对酪氨酸酶抑制作用的动力学分析

取 0.1 mL 茶多酚溶液(1.5 mg/mL)、2.2 mL 磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH=6.8)、0.6 mL 多巴溶液(0.5~2.5 mmol/L)和 0.1 mL 酪氨酸酶溶液混匀, 在 475 nm 波长下记录反应溶液于 0~5 min 内的吸光度变化, 获得不同浓度底物条件下的酶促反应速率, 以磷酸盐缓冲液作为空白对照。采用 Lineweave-Burk 双倒数作图法, 以底物浓度的倒数(1/[S])为横坐标, 酶促反应速率的倒数(1/V)为纵坐标, 绘制不同底物浓度下的双倒数曲线图, 横坐标截距为 $-1/K_m$, 纵坐标截距为 $1/V_{\max}$, 根据横、纵截距值的变化判断抑制类型^[12-13]。

1.3.3 酪氨酸酶荧光光谱的测定

取 0.3 mL 酪氨酸酶(5 mg/mL)溶液与 2.7 mL 茶多酚溶液(0~1.5 $\mu\text{g/mL}$)混匀, 25℃添加下测定混合物的荧光光谱^[14]。荧光激发波长为 280 nm, 扫描范围为 290~450 nm, 激发和发射缝均为 2.5 nm, 扫描速率为 240 nm/min。

1.3.4 酪氨酸酶圆二色谱的测定

取 0.25 mL 酪氨酸酶溶液(5 mg/mL)与 3.75 mL 茶多酚

溶液(0、10 $\mu\text{g/mL}$)混和, 然后加入 1 mL 磷酸盐缓冲液混匀, 测定反应溶液的圆二色谱。扫描波长为 190~260 nm, 带宽为 1 nm, 扫描速度为 60 nm/min^[14], 通过 CDpro 软件(<https://lamar.colostate.edu/~sreeram/CDPro>)分析蛋白质二级结构含量的变化。

1.3.5 分子对接

采用 Discovery Studio 2019 (Version 16.1, San Diego, CA, USA)的 CDOCKER 模块完成酪氨酸酶与 EGCG 的分子对接模拟。酪氨酸酶的分子结构模型(ID: 2Y9X)从 RCSB 蛋白质数据库(<http://www.rcsb.org/>)中获取, 去除蛋白体系内水分子后用“Clean Protein”模块对蛋白质进行优化以去除氨基酸残基, 并为蛋白质加氢。EGCG 的分子结构模型(ID: 65064)从 Zinc 数据库(<http://zinc.docking.org/>)查询得到, 并采用 CHARMM 力场对其结构优化后使用。然后, 通过“Find Sites from Receptor Cavities”寻找酪氨酸酶和 EGCG 的潜在结合位点, 根据结果选取能量最低的位点作为最佳的结合位点, 以酪氨酸酶为受体, EGCG 为配体, 在“Receptor-Ligand Interactions”模块下的“Dock Ligands (CDOCKER)”子模块中进行分子对接, 活性区域半径为 10 Å, 其他参数按照默认设置, 对接完成后对两者间的分子相互作用力类型与结合位点进行分析^[15]。

1.4 数据处理

每组实验均重复 3 次, 所有的结果以“平均值 $\pm$ 标准偏差”的形式表示。实验结果使用 Origin 2019b 进行统计学分析与绘图, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 茶多酚对酪氨酸酶的抑制作用

酪氨酸酶是一种参与食品褐变的关键酶。在食品褐变过程中, 酪氨酸酶既表现出催化 *L*-酪氨酸生成 *L*-多巴的单酚活性, 又具有进一步催化 *L*-多巴形成多巴醌的多酚

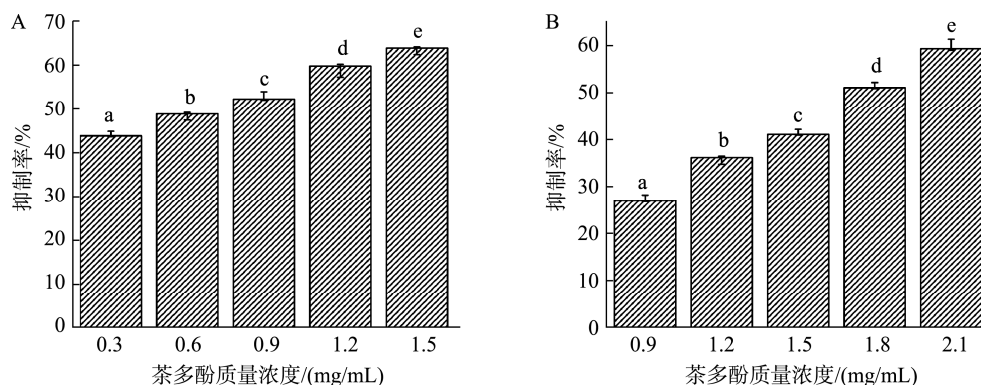
活性, 而反应生成的多巴醌进一步氧化生成黑色素, 从而导致食品颜色的变化^[2]。因此, 对酪氨酸酶单酚和多酚催化活性的抑制可有效阻断黑色素的生成, 进而抑制食品的酶促褐变。

茶多酚对酪氨酸酶单酚催化活性的抑制作用如图 1A 所示。由图 1A 可知, 茶多酚可以抑制酪氨酸酶催化 *L*-酪氨酸生成 *L*-多巴的单酚催化活性, 随着茶多酚质量浓度由 0.3 mg/mL 增加到 1.5 mg/mL, 抑制率从 44.12%增加到 64.24%, 表现出良好的剂量-效应关系, 其半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})值为 0.66 mg/mL。此外, 茶多酚对抑制酪氨酸酶催化 *L*-多巴生成多巴醌的多酚催化活性同样抑制效果明显, 结果如图 1B 所示。由图 1B 可知, 随着茶多酚浓度由 0.9 mg/mL 升高到 2.1 mg/mL, 其对于酪氨酸酶多酚催化活性的抑制率也由 27.15%升高到 59.34%, 呈现出明显的剂量-效应关系, 其 IC_{50} 值为 1.76 mg/mL。

综上, 茶多酚对酪氨酸酶的多酚和单酚活性均具有良好的抑制作用, 这可能与酚类化合物可通过其结构中的酚羟基与蛋白质之间发生强烈的分子相互作用, 从而改变酶的生物催化活性中心的结构与电子分布有关。相关研究指出, 酚类化合物具有良好的电子给予能力, 可与蛋白质的氨基酸残基之间形成数量较多的氢键, 从而影响蛋白质的结构, 干扰其电荷分布, 进而改变其理化和生物学性质^[16-17]。为分析其抑制作用, 本研究进一步测定了茶多酚对酪氨酸酶的抑制作用类型。

2.2 茶多酚对酪氨酸酶的抑制动力学分析

通常, 酶抑制剂的抑制类型分为可逆和不可逆抑制。可逆抑制又可分为竞争性抑制、非竞争性抑制、反竞争性抑制 3 类。可逆抑制的 3 种类型通常通过双倒数方程 $1/V = [K_m/V_{\max}] \times [1/S] + [1/V_{\max}]$ (其中, V 是酶反应速率, S 是底物的浓度)的动力学参数(米氏常数 K_m 和最大速度 $V_{\max}$)来区分。



注: 不同小写字母表示组间差异显著, $P < 0.05$, 图4B相同。

图1 茶多酚对酪氨酸酶单酚催化活性(A)和多酚催化活性(B)的抑制作用

Fig.1 Inhibition of tea polyphenols on the monophenolase activity (A) and diphenolase activity (B) of tyrosinase

茶多酚对酪氨酸酶的 Lineweaver-Burk 双倒数图如图 2 所示。由图 2 可知, 实验组与对照组皆与横坐标轴交于负半轴, 截距为 $-1/K_m$, 实验组 K_m 大于对照组, 表明茶多酚对酪氨酸酶催化活性的抑制作用类型为竞争性抑制。结果表明, 茶多酚可能作为酪氨酸酶的底物类似物, 竞争性地与酶的活性中心结合, 占据底物与酪氨酸酶的结合位点, 从而实现对于酪氨酸酶活性的抑制效果^[18]。此外, 相关研究表明酚类化合物可能通过改变酶的微观结构实现对于活性位点的包裹而抑制其活性^[19]。为了探究茶多酚对酪氨酸酶抑制作用的分子机制, 本研究进一步测定了茶多酚对酪氨酸酶三级和二级结构的影响。

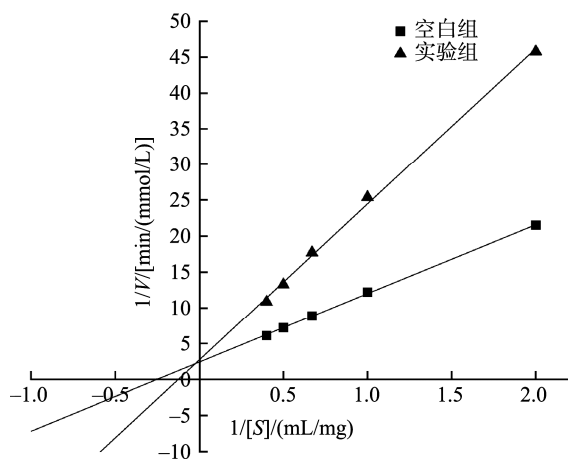


图2 茶多酚作用下酪氨酸酶的Lineweaver-Burk图
Fig.2 Lineweaver-Burk diagram of tyrosinase under the action of tea polyphenols

2.3 茶多酚对酪氨酸酶三级结构的影响

在一定的激发波长下, 蛋白质中的特定芳香族氨基酸如色氨酸、酪氨酸及苯丙氨酸可以发射一定的荧光强度, 从而使得蛋白质具有相应的荧光特性^[20]。然而, 这些氨基酸残基大多处于蛋白质的内部, 在受到外界干扰后, 这些氨基酸分子的侧链基团逐渐内埋于蛋白质内部(所处的环境极性降低)或暴露于水溶液中(所处的环境极性增加), 对

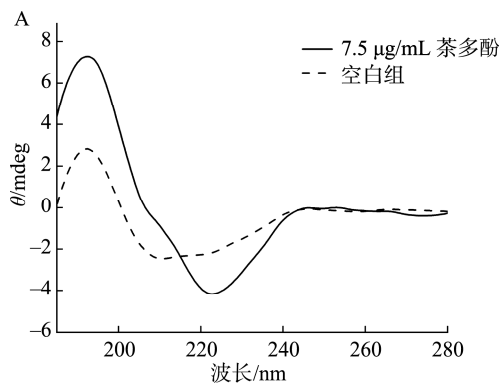


图4 茶多酚对酪氨酸酶圆二色谱(A)和二级结构(B)的影响

Fig.4 Effects of tea polyphenols on circular dichroism (A) and secondary structure (B) of tyrosinase

应的蛋白质荧光发射峰有蓝移和红移现象^[20]。因此, 可利用芳香氨基酸的荧光特性及变化反映蛋白质三级结构的变化。如图 3 所示, 与空白对照组相比, 随着茶多酚质量浓度的增大(0~5 µg/mL), 酪氨酸酶的荧光强度显著下降(由最初的 224.12 a.u.最终下降到 65.29 a.u.)说明茶多酚猝灭了酪氨酸酶的内源荧光。同时最大发射波长(λ_{max})也发生了红移(由 317 nm 红移至 322 nm)。结果表明, 茶多酚对酪氨酸酶的三级结构有较大影响。茶多酚分子可能通过疏水相互作用与酪氨酸酶结构中较强芳香性及疏水性的氨基酸结合, 使得酪氨酸酶中的氨基酸残基逐渐暴露, 从而使得它们所处的环境极性逐渐增加。此外, 荧光光谱中最大发射波长的红移意味着蛋白质的部分结构发生展开, 其空间结构发生较大改变^[21-23]。相关研究指出, 酶空间结构的显著改变会使其催化中心的活性位点, 也会影响其活性中心的电子分布, 导致其催化活性下降或丧失^[24]。

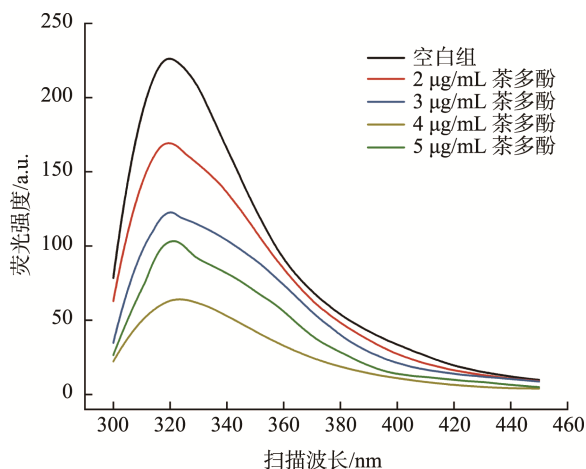
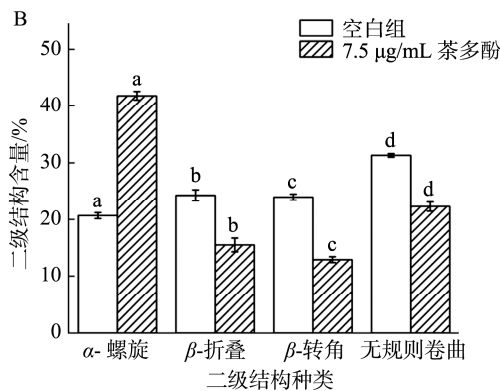


图3 茶多酚对酪氨酸酶荧光特性的影响
Fig.3 Effects of tea polyphenols on fluorescence characteristics of tyrosinase

2.4 茶多酚对酪氨酸酶二级结构的影响

本研究进一步观察了茶多酚对酪氨酸酶二级结构的影响^[25], 结果如图 4 所示。由图 4A 可知, 在茶多酚的作用



下,酪氨酸酶的圆二色谱发生明显改变。茶多酚加入后酪氨酸酶 α -螺旋在 220 nm 下出现明显特征负峰^[26],说明在茶多酚作用下酪氨酸酶的 α -螺旋含量显著升高。进一步分析了酪氨酸酶中各类二级结构的含量,结果如图 4B 所示。由图 4B 可知,茶多酚使得酪氨酸酶二级结构中 α -螺旋结构的含量由 20.7%增大至 41.8%。 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲结构显著减少。相关研究表明,随着酪氨酸酶二级结构中 α -螺旋含量的显著增加,酪氨酸酶的结构会由层状结构向螺旋结构发生转变,使得酪氨酸酶结构变得更加紧密^[27],进而导致酪氨酸酶的部分活性位点可能被包裹到蛋白质内部,从而引起酪氨酸酶活性的降低。为了进一步探究茶多酚改变酪氨酸酶空间结构的分子作用力与作用位点,实验通过分子对接的方式分析了两者间的分子相互作用。

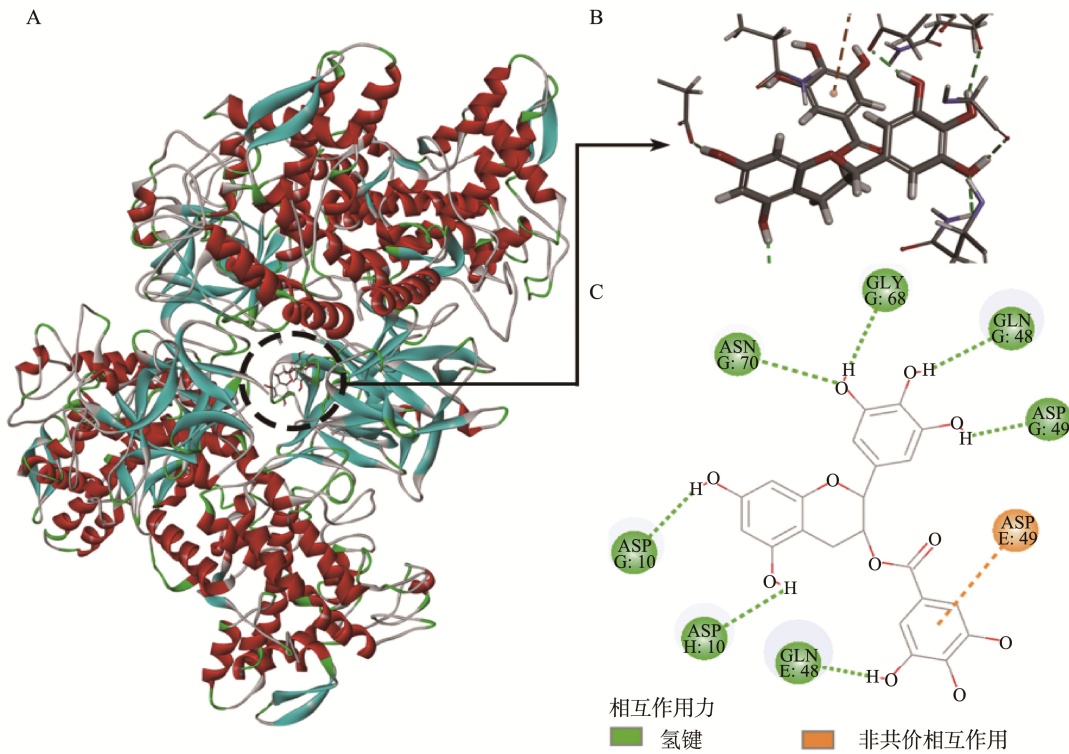
2.5 分子对接

分子对接是开展结构分子研究的一个重要工具,它常用于研究蛋白质与小分子配体间的结合模式,进而分析二者间发生分子相互作用的结合位点与分子作用力^[28]。茶多酚中主要组成成分 EGCG 与酪氨酸酶之间的分子对接结果如表 1 和图 5 所示。由对接结果可知,EGCG 与酪氨酸酶之间的结合位点主要为酪氨酸酶的 ASN70、ASP10、GLN48、ASP49、GLY68 等氨基酸残基,两者间的分子作用力主要为氢键和静电相互作用,与其他多酚类物质相似^[29]。

由此推测 EGCG 可能进入酪氨酸酶活性中心,与酪氨酸酶的氨基酸残基发生非共价结合后改变酪氨酸酶活性中心的构象,一定程度上改变了色氨酸等残基的微环境,引起酪氨酸酶三级结构的改变^[14,30],影响了底物与酶活性中心的结合。同时 EGCG 与酪氨酸酶之间形成的氢键数目较多,相关研究表明氢键数量越多越有助于提高复合物的稳定性,进而抑制酪氨酸酶与底物的结合^[19]。综合前述荧光和圆二色谱的结果分析可知,茶多酚中的酚类物质可与酪氨酸酶的氨基酸残基之间发生强烈的氢键和静电相互作用,显著改变酪氨酸酶的二级和三级结构,从而改变酪氨酸酶活性中心的构象,进而影响其催化活性的发挥。

表 1 EGCG 与酪氨酸酶之间的分子作用力类型
Table 1 Molecular force types between EGCG and tyrosinase

成键原子	作用力类型
G: ASN70: HD21-EGCG: O6	氢键
EGCG: H42-H: ASP10: OD2	氢键
EGCG: H43-G: ASP10: OD2	氢键
EGCG: H46-G: ASP49: OD2	氢键
EGCG: H47-G: GLY68: O	氢键
EGCG: H48-G: GLN48: O	氢键
EGCG: H49-E: GLN48: OE1	氢键
E: ASP49: OD2-EGCG	静电相互作用



注: A、B、C 分别为 EGCG 与酪氨酸酶相互作用 3D 图、局部图、2D 图。

图 5 EGCG 与酪氨酸酶的分子对接
Fig.5 Molecular docking of EGCG and tyrosinase

3 结 论

茶多酚对酪氨酸酶的催化活性有良好的竞争性抑制作用;茶多酚可与酪氨酸酶发生荧光猝灭效应,使得酪氨酸酶所处的环境极性增加,进而改变酶的空间结构;茶多酚还可以显著改变酪氨酸酶的二级结构,使其空间结构由无序向有序转变,破坏酶的天然结构;茶多酚主要通过氢键和静电相互作用与酪氨酸酶活性中心周围的氨基酸残基结合,从而改变其空间构象,底物与酶活性位点结合受阻,进而抑制酪氨酸酶的生物催化活性。本研究可为茶多酚在改善由酪氨酸酶引起的食品酶促褐变方面的应用提供理论参考,以期拓宽多酚类物质在抑制食品酶促褐变方面的应用前景。

参考文献

- [1] 何凤平,潘永贵.鲜切果蔬变色及其控制技术研究进展[J].食品安全质量检测学报,2015,6(7):2420-2426.
- HE FP, PAN YG. Research advances on discoloration of fresh-cut fruits and vegetables and its control [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(7): 2420-2426.
- [2] 袁瑞敏,胡铭文,闵婷,等.乙烯利通过调节酚类物质和活性氧代谢维持鲜切荸荠的贮藏品质[J].食品安全质量检测学报,2023,14(5):217-225.
- YUAN RM, HU MW, MIN T, *et al.* Ethephon maintains the storage quality of fresh-cut *Eleocharis tuberosa* by regulating phenolic and reactive oxygen species metabolism [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(5): 217-225.
- [3] WANG GC, HE M, HUANG Y, *et al.* Synthesis and biological evaluation of new acid-1,3,4-oxadiazole hybrid as tyrosinase inhibitors and their application in the anti-browning of fresh-cut mushrooms [J]. Food Chem, 2023, 409: 135275.
- [4] MOON KM, KWON EB, LEE B, *et al.* Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products [J]. Molecules. 2020, 25(12): 2754.
- [5] SAMANEH Z, ASIEH B, MAHMUD THK, *et al.* A comprehensive review on tyrosinase inhibitors [J]. J Enzym Inhib Med Chem, 2019, 34(1): 279-309.
- [6] YU ZL, ZHANG Z, ZENG WC. Investigation of antibrowning activity of pine needle (*Cedrus deodara*) extract with fresh-cut apple slice model and identification of the primary active components [J]. Eur Food Res Technol, 2014, 239: 669-678.
- [7] HU LW, LI T, LUO Q, *et al.* Antioxidant stability of colloidal tea polyphenols in tea seed oil [J]. J Food Process Pres, 2021, 45: 15130.
- [8] WU Q, ZHOU J. The application of polyphenols in food preservation [J]. Adv Food Nutr Res, 2021, 98: 35-99.
- [9] GORZYNIK DM, PRZYCHODZEN P, CAPPELLO F, *et al.* Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(3): 686.
- [10] 沈晓佳,赵黎明,周家春,等.紫娟茶提取物对酪氨酸酶活性的抑制作用[J].食品工业科技,2012,33(24):75-80.
- SHEN XJ, ZHAO LM, ZHOU JC, *et al.* Inhibitory effect of extract from zijuana tea on tyrosinase activity [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 33(24): 75-80.
- [11] 胡宇航,陈梁,罗翌元,等.三叶青茎部不同溶剂提取物的功能成分、抗氧化及酪氨酸酶抑制活性研究[J].食品安全质量检测学报,2023,14(10):173-181.
- HU YH, CHEN L, LUO YY, *et al.* Functional components, antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity of extracts from different solvent extracts from stems of *Tetragium hemsleyanum* Diels et Gilg [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(10): 173-181.
- [12] VAEZI M. Structure and inhibition mechanism of some synthetic compounds and phenolic derivatives as tyrosinase inhibitors: Review and new insight [J]. J Biomol Struct Dyn, 2023, 41(10): 4798-4810.
- [13] NAZIR Y, RAFIQUE H, KAUSAR N, *et al.* Methoxy-substituted tyramine derivatives synthesis, computational studies and tyrosinase inhibitory kinetic [J]. Molecules, 2021, 26(9): 2477.
- [14] 马蛟.酪氨酸酶抑制剂的筛选及其作用机理的研究[D].郑州:郑州大学,2018.
- MA J. Screening of tyrosinase inhibitors and study on their mechanism of action [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2018.
- [15] 张宏图,董伟进,陈南,等.茶多酚对 α -淀粉酶的抑制作用及分子机理[J].食品工业科技,2022,43(4):90-96.
- ZHANG HT, DONG WJ, CHEN N, *et al.* Inhibition effect and molecular mechanism of tea polyphenols on the α -amylase [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(4): 90-96.
- [16] 赵美娟,王芳,姜泽东,等.2种食品添加剂对酪氨酸酶的抑制作用[J].中国食品学报,2022,22(11):21-28.
- ZHAO MJ, WANG F, JIANG ZD, *et al.* The inhibitory effects of two food additives on tyrosinase [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2022, 22(11): 21-28.
- [17] 王蔚,陈琳,王伟伟,等.茶叶有效成分对黑色素形成的抑制作用[J].茶叶科学,2021,41(1):7-18.
- WANG W, CHEN L, WANG WW, *et al.* Inhibition of active compounds in tea on melanin formation [J]. J Tea Sci, 2021, 41(1): 7-18.
- [18] WANG YJ, ZHANG GW, YAN JK, *et al.* Inhibitory effect of morin on tyrosinase: Insights from spectroscopic and molecular docking studies [J]. Food Chem, 2014, 163: 226-233.
- [19] 张龙.间苯二酚类黄酮衍生物对酪氨酸酶抑制机理研究[D].无锡:江南大学,2017.
- ZHANG L. Inhibitory mechanism of resorcinol flavonoid derivatives on tyrosinase [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [20] ZHANG YZ, ZHOU B, LIU YX, *et al.* Fluorescence study on the interaction of bovine serum albumin with *p*-aminoazobenzene [J]. J Fluoresc, 2008, 18(1): 109-118.
- [21] GONG T, YANG X, BAI FT, *et al.* Young apple polyphenols as natural α -glucosidase inhibitors: *In vitro* and *in silico* studies [J]. Bioorg Chem, 2020, 96: 103625.
- [22] SUN LJ, WARREN FJ, GIDLEY MJ, *et al.* Mechanism of binding

- interactions between young apple polyphenols and porcine pancreatic α -amylase [J]. *Food Chem*, 2019, 283: 468–474.
- [23] 张国文, 石文丽, 朱苗. 欧前胡素对酪氨酸酶的抑制作用及机制[J]. 南昌大学学报(理科版), 2021, 45(5): 463–469.
- ZHANG GW, SHI WL, ZHU M. Inhibitory effect and mechanism of imperatorin on tyrosinase [J]. *J Nanchang Univ (Sci Ed)*, 2021, 45(5): 463–469.
- [24] FAN M, ZHANG G, PAN J, *et al*. An inhibition mechanism of dihydromyricetin on tyrosinase and the joint effects of vitamins B6, D3 or E [J]. *Food Funct*, 2017, 8(7): 2601–2610.
- [25] 张莉, 刘倩倩, 吴长玲, 等. 多酚与蛋白质相互作用研究方法进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24): 340–345.
- ZHANG L, LIU QQ, WU CL, *et al*. Progress research methods for the interaction between polyphenols and proteins [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2018, 39(24): 340–345.
- [26] GAO MR, XU QD, ZENG WC. Effect of tea polyphenols on the tenderness of yak meat [J]. *J Food Process Pres*, 2020, 44(5): 14433.
- [27] CAI X, YU JN, XU LM, *et al*. The mechanism study in the interactions of sorghum procyanidins trimer with porcine pancreatic α -amylase [J]. *Food Chem*, 2015, 174: 291–298.
- [28] FAN MH, ZHANG GW, HU X, *et al*. Quercetin as a tyrosinase inhibitor: Inhibitory activity, conformational change and mechanism [J] *Food Res Int*, 2017, 100: 226–233.
- [29] 杨城, 管骁, 韩飞, 等. 木犀草素抑制酪氨酸酶活性的分子机制[J]. 分析测试学报, 2015, 34(5): 532–538.
- YANG C, GUAN X, HAN F, *et al*. Molecular mechanism of inhibition on tyrosinase activity by luteolin [J]. *J Instrum Anal*, 2015, 34(5): 532–538.
- [30] 杜志云, 汤志恺, 卢宇靖, 等. 姜黄素类似物与酪氨酸酶相互作用的分子对接研究及应用[J]. 计算机与应用化学, 2011, 28(5): 531–534.
- DU ZY, TANG ZK, LU YJ, *et al*. Molecular docking study and application of interaction between curcumin analogues and tyrosinase [J]. *Comput Appl Chem*, 2011, 28(5): 531–534.

(责任编辑: 郑 丽 韩晓红)

作者简介



李帅浩, 主要研究方向为食品化学。
E-mail: 2661791239@qq.com



曾维才, 博士, 教授, 主要研究方向为食品化学与绿色加工技术。
E-mail: weicaizeng@qq.com