

УДК 63.637

ЛАККАЗА И ТИРОЗИНАЗА: СВОЙСТВА, ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ В МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Литвинова Елена Викторовна

кандидат технических наук, доцент кафедры «Технологии и биотехнологии мяса и мясных продуктов» ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»

г. Москва

e-mail: litvinovaev@mgupp.ru

Лапшина Виктория Леонидовна

ассистент кафедры «Технологии и биотехнологии мяса и мясных продуктов» ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»

г. Москва

e-mail: lapshinavl@mgupp.ru

Кидяев Сергей Николаевич

кандидат технических наук, доцент кафедры «Технологии и биотехнологии мяса и мясных продуктов» ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»

г. Москва

e-mail: kidaevsn@mgupp.ru

Аннотация

В статье рассмотрены различные источники для получения ферментных препаратов лакказы и тиразиказы, а также возможность и перспективы использования их в биотехнологии мясных продуктов. Традиционные технологии производства мясной продукции предусматривают вовлеченность эндогенных ферментов сырья, но развитие науки в области питания бросает вызов по усовершенствованию существующих технологий, расширению ассортимента ферментных препаратов, способных связывать белковые молекулы наряду с трансглутаминазой.

Ключевые слова: лакказа, тирозиназа, трансглутаминаза, ферменты, мясная отрасль.

LACCASE AND TYROSINASE: PROPERTIES, SOURCES OF PRODUCTION AND APPLICATION IN THE MEAT INDUSTRY

Elena V. Litvinova

candidate of technical sciences, assistant professor of the department of technologies and biotechnology of meat and meat products, BIOTECH University

Moscow

e-mail: litvinovaev@mgupp.ru

Victoria L. Lapshina

assistant of the department of technologies and biotechnology of meat and meat products,
BIOTECH University

Moscow

e-mail: lapshinavl@mgupp.ru

Sergey N. Kidyaev

candidate of technical sciences, assistant professor of the department of technologies and
biotechnology of meat and meat products, BIOTECH University

Moscow

e-mail: kidaevsn@mgupp.ru

ABSTRACT

The article discusses various sources for obtaining enzyme preparations of laccase and tyrosinase, as well as the possibility and prospects of using them in the biotechnology of meat products. Traditional technologies for the production of meat products involve the involvement of endogenous enzymes of raw materials, but the development of science in the field of nutrition poses a challenge to improve existing technologies and expand the range of enzyme preparations capable of binding protein molecules along with transglutaminase.

Keywords: laccase, tyrosinase, transglutaminase, enzymes, meat industry.

Агропромышленный комплекс РФ направлен на обеспечение всех слоев населения страны продуктами питания. Мясная промышленность входит в число социально значимых отраслей, так как мясное сырье относится к продовольственным товарам первой необходимости, согласно Постановлению Правительства РФ от 15 июля 2010 г. № 530.

Необходимость развития мясной отрасли АПК объясняется ростом потребительского спроса на мясо и мясные продукты ввиду того, что продукты питания животного происхождения отвечают современным представлениям о здоровом питании. Производство мясной продукции предусматривает использование пищевых добавок, в частности полисахаридов, с целью улучшения структурно-механических свойств готовой продукции, которые коррелируют с органолептическими показателями, а также снижения себестоимости выпускаемого продукта. Альтернативой применения полисахаридных добавок как в мясной, так в молочной и рыбной отрасли является использование пищевой энзимологии, а именно модификация структуры белков пищевых систем путем молекулярной конъюгации за счет использования ферментных препаратов, относящихся к классу оксидоредуктаз и трансфераз.

Трансглутаминаза – популярный представитель класса трансфераз. Фермент впервые был описан в 1959 г., а полное биохимическое описание его строения и механизма действия было изучено на основе тканевой ТГ, которую также называют фактором свертывания крови. Фермент катализирует три типа реакций: ацильного переноса, образования ковалентных связей между аминокислотными остатками лизина и глутамина в белках и реакцию дезаминирования [1].

Результатом основной химической реакции, где вышеописанный фермент является катализатором, – ковалентное сшивание белков поперечными связями. Если более

подробно описать химизм реакций, то происходит интенсификация переноса ацильной группы от γ -карбоксамидных остатков глутамина и в результате химическая модификация белков посредством образования изопептидных связей внутри или между полипептидными цепями. Если в качестве ацильного акцептора выступает ϵ -аминогруппа лизина, это приводит к полимеризации и меж- или внутримолекулярным сшивкам белков путем формирования ϵ -(γ -глутамил)-лизиновой поперечной связи между двумя белками, как показано на рисунке 1.

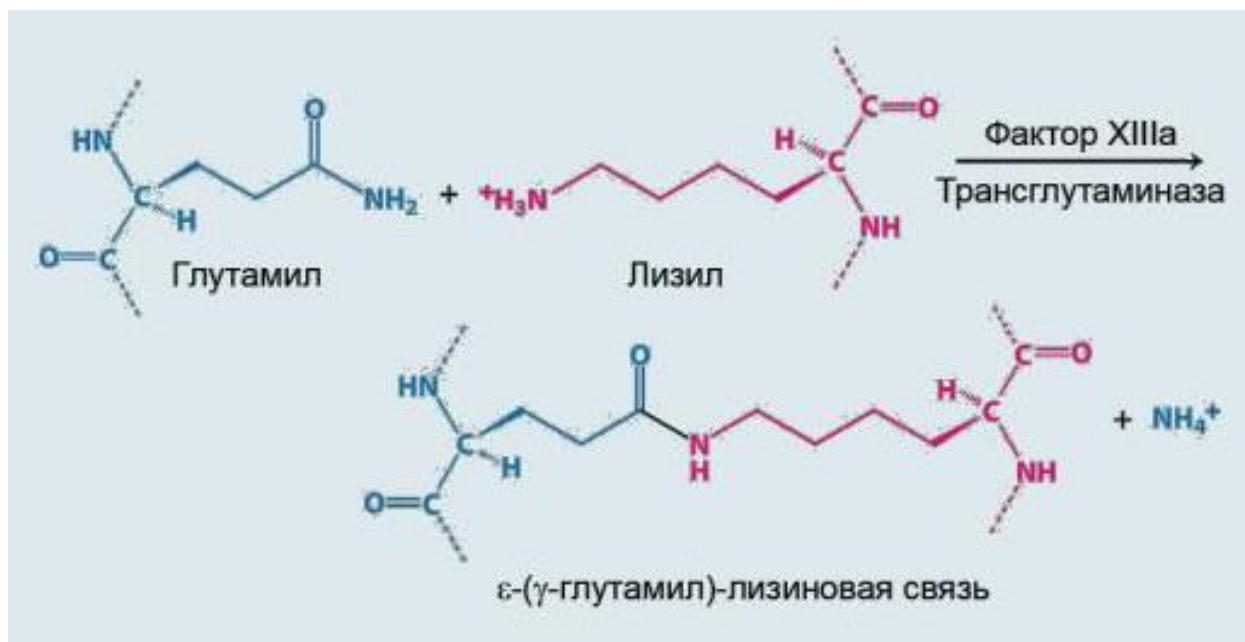


Рисунок 1 – Реакция поперечного связывания лизина и глицина

ТТазы широко распространены в различных тканях, органах и биологических жидкостях животных, поэтому их называют тканевым. В листьях растений активация фермента происходит при повышении уровня доступной энергии, поэтому считается, что фермент участвует в процессах фотосинтеза.

Для некоторых внеклеточных трансглутаминаз участие в физиологически важных функциях организма точно установлено, например, фактор XIII – трансглутаминаза плазмы крови (фибрин-стабилизирующий фактор), катализирует реакцию лигирования.

Первоначально препараты получали в основном из бычьего тромбина и плазмы крови, но стоит дать первенство компании Ajinomoto (Япония) за производство первого коммерческого препарата, предназначенного для использования в пищевой отрасли, из анаэробного микроорганизма *Streptovorticillium mobaraense*, в 90-х годах. Для получения ферментного препарата штаммы микроорганизмов семейства *Streptovorticillium mobaraense* культивируют на специальных средах. Затем фермент отделяют от культуры путем центрифугирования, ультрафильтрации, осаждением спиртом, повторного центрифугирования и лиофилизации. Фермент подвергается очистке с помощью хроматографии на СМ-целлюлозе, а далее проводят иммобилизацию, где в качестве носителей используют мальтодекстрин или лактозу [5].

Тканевые трансглутаминазы имеют существенные различия по строению в зависимости от локализации в организме и выполняемой функции. Существует прямая зависимость, что активность зависит от концентрации ионов, а для ее максимальной активности уровень ионов кальция должен составлять 2–5 мМ. Связывание Ca^{2+} приводит к конформационным изменениям, которым подвергаются цистеиновые остатки.

Вследствие чего цистеин реагирует с глутаминовым субстратом и образует ацилферментное промежуточное соединение. Ацилферментный комплекс затем реагирует с первичным амином с формированием γ -глутамил-амино поперечной связи, после чего фермент высвобождается.

Существуют существенные различия между эндогенными тТГазами, широко распространенными в тканях растений и животных, и ферментами микробного происхождения – мТГазами, секретируемыми *Streptovercillium mobaraense* или *Streptomocetes mobaraense*. Большое преимущество микробных ферментов перед эндогенными тканевыми заключается в том, что активность первых не зависит от присутствия ионов кальция. Кроме того, мТГазами является более стабильной, катализирует реакцию при более высоких температурах и более активна, чем эндогенная тТГаза животного происхождения. Для микробных транслугтаминаз оптимум действия составляет около 20–50 °С в зависимости от конкретного ферментного препарата и субстрата [5, 6].

Транслугтаминазы характеризуются относительной реакционной специфичностью по отношению к различным субстратам. При этом миозин является наиболее чувствительным среди мышечных белков к действию, в то время как актин не реагирует с этим ферментом. Тропомиозин и тропонин -Т также были предложены в качестве возможных субстратов, хотя и в ограниченной степени. Реакционная способность мТГаз представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Реакционная способность мТГаз по отношению к различным субстратам

Источник	Название белка	Реакционная способность
Мышечная ткань	Коллаген	Высокая
	Желатин	Очень высокая
	Миоглобин	Низкая
	Миозин	Очень высокая
	Актин	Отсутствует
Яйца	Овальбумин	Низкая
	Вителлин	Высокая
Соя	11S глобулин	Очень высокая
	7S глобулин	Очень высокая
Пшеница	Глиадин	Высокая
	Глютенин	Высокая
Молоко	Казеин	Очень высокая
	Казеинат натрия	Очень высокая
	α -лактоальбумин	Низкая
	β -лактоглобулин	Низкая

До сих пор основной областью применения мТГаз в переработке морепродуктов была холодная реструктуризация, холодное желирование паст и повышение прочности геля путем сшивания миозина. В настоящий момент применение обширно адаптировано и в мясных технологиях, например:

- колбасных изделий, в частности вареных, варено-копченых и полукопченых колбас, для увеличения функционально-технологических свойств (ВУС) фаршевой системы, для улучшения структурно-механических свойств готового продукта;

- цельнокусковых продуктов из мяса для создания монолитности, устранения разрывов мышечной ткани после инъектирования, снижения синерезиса в процессе хранения;
- реструктурированных мясных продуктов для «склеивания» крупных фрагментов сырья, сформованных в цельнокусковой продукт с монолитной структурой.

Ферменты, используемые для сшивания белков in vitro

Способность ферментов сшивать белки *in vivo* предполагают их использование для разнообразных применений *in vitro*. На сегодняшний момент изучены ферменты, относящиеся к классу, оксидоредуктаз, – лакказы и тирозиназы.

Оксидоредуктазы широко исследовались на предмет их способности сшивать белки *in vitro*, поскольку они не обладают ярко выраженной субстратной специфичностью. Этот класс ферментов реагируют с широким спектром небольших молекул, таких как низкомолекулярные фенолы и/или макромолекулярные субстраты, включая функциональные аминокислотные боковые цепи белков. Образование ковалентной связи между белками, инициированное действием оксидоредуктаз, включает как минимум две последовательные химические стадии: первая стадия – начальная окислительно-восстановительная реакция с первичным субстратом непосредственно катализируется ферментом; вторая – образовавшиеся реакционноспособные частицы, т. е. хиноны, радикалы или альдегиды, могут впоследствии подвергаться неферментативным превращениям с образованием различных типов ковалентных связей.

Особенности строения тирозиназы

Тирозиназа – медьсодержащий фермент, катализирующий процессы окисления фенолов и родственных им соединений, которые широко распространены в про- и эукариотических организмах. Строение активного центра представляет собой два катиона меди, каждый из которых ориентирован с помощью трех гистидиновых остатков. Медь служит переносчиком электронов от водорода окисляемого субстрата на кислород воздуха, тем самым происходит окисление молекулярным кислородом. Наиболее важными органическими соединениями, окисление которых регулирует тирозиназа являются тирозин и дофамин [1, 5, 6].

Тирозиназы катализируют различные реакции: гидрокселирование монофенолов до о-дифенолов (монофенолазная или крезолозная активность) и последующее окисление дифенолов до хинонов (дифенолазная или катехолазная активность). Хиноны являются высокореактивными веществами и могут подвергаться неферментативным реакциям, подобным тем, которые отвечают за синтез меланинов или потемнению плодоовощной продукции.

В белках тирозиназа может окислять остатки тирозина до соответствующих хинонов, которые далее неферментативно реагируют с другими аминокислотами в той же или другой молекуле, что приводит к образованию межмолекулярных и внутримолекулярных поперечных связей.

Предполагается, что они самопроизвольно реагируют в основном посредством 1,4-присоединения с боковыми цепями остатков лизина, тирозина, гистидина и цистеина, в зависимости от их количества и доступности на целевом белке, с образованием ковалентных поперечных связей. Белки со слабо выраженной трехмерной структурой белки являются предпочтительными мишенями для сшивания тирозиназами [2, 3, 8].

Известны и другие различные функции, включая детоксикацию фенола у бактерий и склеротизацию кутикулы у беспозвоночных.

Перспективные источники тирозиназ

Одним из ключевых факторов устойчивости лишайников к неблагоприятным условиям являются редокс-ферменты, которые участвуют в образовании меланина, защитного пигмента, синтезируемого микобиотом. В талломах лишайника *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. (Лобария легочная) с разной степенью меланизации выявлена активность лакказы, пероксидазы и тирозиназы. Определены изоэлектрические точки и молекулярные массы отдельных изоформ лакказы и тирозиназы [4, 8].

Лакказа – оксидоредуктаза, относящаяся к семейству голубых медьсодержащих белков и катализирующая окисление фенолов и ароматических аминов, а также неорганических соединений с восстановлением молекулы кислорода до двух молекул воды, минуя стадию образования пероксида водорода.

Медьсодержащие оксидазы имеют сложно устроенный активный центр, содержащий от четырех до семи ионов меди. Лакказы являются простейшими представителями этой группы белков. Они содержат четыре иона меди на молекулу и представляют интерес в качестве модельных белков. Аналитический литературный обзор показал, что строению и свойствам активного центра лакказ посвящено большое количество научных исследований. Строение активного центра изучали методами оптической и ЭПР спектроскопии, рентгеноструктурного анализа [7, 8].

Особенности строения лакказ

Активный центр содержит 4 атома меди, которые формируют моно-ядерный T1 центр, несущий 1 атом меди, T2, содержащий 1 атом меди и T3, несущий 2 атома меди. Три иона меди T2- и T3-центров сближены на расстояние, не превышающее 3,8 Å, образуя T2/T3-трехъядерный кластер, а T1 расположен от них на расстоянии не менее 13 Å.

Вблизи T1-центра происходит окисление первого субстрата, а в зоне трехядерного T2/T3 кластера окисление молекулы кислорода до воды. Редокс потенциал T1 центра является важной характеристикой, которая определяет спектр окисляемых субстратов. В зависимости от величины редокс потенциала делятся на высоко- (>720 мВ), средне - (450-720 мВ) и низко- (<450 мВ).

Во всех лакказах ион меди T1 центра имеет плоскую треугольную координацию двумя остатками гистидина и остатком цистеина. T1 центры лакказ различаются по типу остатка в аксиальном положении. Высоко- и среднепотенциальные лакказы в аксиальном положении T1 центра содержат остаток лейцина или фенилаланина, а низкопотенциальные содержат – метионина. К настоящему моменту не сформировалось единого мнения в научном сообществе как строение и ближнее окружение T1 центра влияют на способность химического вещества присоединять электроны [5, 8, 9].

Как было ранее сказано, активные центры лакказ содержат в общей сложности четыре атома меди, организованные в трех различных местах (T1, T2 и T3), которые можно различить по их спектральным свойствам. Они катализируют одноэлектронное отщепление от широкого спектра фенолов и анилинов среди других субстратов. Окисление четырех молекул субстрата лакказами сопровождается одновременным восстановлением одного эквивалента молекулярного кислорода до воды, которая является единственным побочным продуктом реакции. Образовавшиеся радикалы могут вступать в последующие реакции, приводящие к образованию ковалентных связей. В белках в основном открытые тирозильные боковые цепи служат субстратами для окисления лакказами, и образующиеся феноксирадикалы могут спонтанно инициировать последующие реакции перекрестного связывания белков [10].

Лакказы представляют чрезмерный интерес для биотехнологии. Основные требования, предъявляемые к лакказам с точки зрения биотехнологии:

- операционная стабильность;

- высокий редокс потенциал T1-центра;
- низкая стоимость препарата;
- широкая рабочая область рН и устойчивость к ингибиторам.

Источники лакказ различного происхождения

Первое представление о ферменте возникло в начале 19 в., в Японии, после изучения густого серого сока, который выделяется при надрезе коры дерева *Toxicodendron vernicifluum*. Деревья культивируют с целью получения лакового сока, который при контакте с воздухом полимеризуется и меняет свое агрегатное состояние, после подвергается ряду технологических операций и поступает в продажу в качестве высокопрочного лака. Ореолом произрастания принято считать страны Азии – Япония, Китай, Индия и Корея. Позже после длительного изучения получены сведения, что лакказы имеют широкое распространения в природе. Они были обнаружены в грибах, растениях, бактериях и насекомых.

Обнаружение участия лакказы в лигнификации клеточных стенок указывает на возможно более широкое распространение у растений. Лакказная активность описана для многих растений и в том числе для семейства *Acer* (клён), *Pinus* (сосна), *Aesculus* (каштан), *Populus* (осина), ксерофита опунции, резуховидки из семейства капустные. В растениях фермент чаще всего локализован в ксилеме. Основной ролью лакказ в растениях является участие в процессах лигнификации и защиты от патогенных организмов.

Лакказа растительного происхождения из сока японского лакового дерева *Rhus vernicifera* – самая первая лакказа, охарактеризованная еще в 1883 г. Растительные лакказы встречаются у различных видов лакового дерева рода *Rhus*, у бирманского лакового дерева рода *Melanorrhoea*, клёна, сосны, ксерофита опунции, резуховидки из семейства капустные. Обнаружение участия лакказы в лигнификации клеточных стенок указывает на возможно более широкое распространение лакказы у растений.

Также активность охарактеризована для фермента, выделенного из насекомых, тутовый шелкопряд, бражник табачный и переносчика возбудителя малярии, термита, в слюнных железах зелёной рисовой цикадки. У насекомых неактивная форма лакказы экспрессируется в эпидермисе, активация фермента происходит в процессе линьки или сразу после него. Основная роль ферментов в организме насекомых – участие в склеротизации кутикулы.

Появились данные о наличии лакказы у водорослей и губок. Охарактеризованный фермент с лакказными свойствами получен из зелёной водоросли *Tetracystis aerea*, а также из морской губки *Suberites domuncula*.

Анализ *in silico* бактериальных геномов выявил широкое распространение предположительно лакказ у представителей α -, ϵ - и γ -протеобактерий и других прокариот. Первая бактериальная лакказа была обнаружена и выделена у бактерии рода *Azospirillum lipoferum*, ассоциированных с корнями растений, в частности риса.

Одна из наиболее изученных бактериальных лакказ выделена из «сенной палочки» *Bacillus subtilis*, являющаяся компонентом оболочки эндоспор. Фермент участвует в процессах патогенеза, биосинтезе пигментов и образовании защитного покрытия спор, защищающего бактерии от действия пероксида водорода и УФ-излучения.

Ферменты были идентифицированы также у представителей родов *Bacillus*, *Streptomyces*, *Thermus* и др. Большая часть изученных бактериальных лакказ являются внутриклеточными, но существуют и экзоферменты.

Впервые грибковую лакказу открыл Бертран, который отметил факт изменения цвета грибов рода *Boletus* при контакте с кислородом воздуха. Это открытие положило начало изучению высших грибов как продуцентов лакказ. Лакказы встречаются в грибах,

вызывающих различные типы порчи, во многих почвенных сапрофитных грибах, в патогенных грибах и агариковых. В грибах лакказы является частью комплекса делигнификации и патогенеза, участвует в процессах морфогенеза, защиты от стресса, образовании плодовых тел. Наиболее распространенными и изученными продуцентами лакказ являются грибы, вызывающие белую гниль. Они отличаются высоким уровнем экспрессии. Большинство этих грибов относятся к базидиомицетным грибам родов *Trametes*, *Cerrena*, *Coriolopsis*, *Pleurotis*, *Lentinus*. Грибы-аскомицеты преимущественно относятся к бурой гнили, для которой характерен низкий уровень экспрессии. Лакказы из аскомицетов описаны для меньшего числа видов и изучены менее подробно, чем лакказы базидиомицетов.

Таким образом, опираясь на способность окислительных ферментов, в частности тирозиназ и лакказ, создавать белковые поперечные связи, поэтому перспективно исследовать синергетический эффект их совместного использования для *in vitro* конъюгирования белков мяса. Это позволит расширить ассортимент ферментных препаратов, применяемых в мясной отрасли, а также в качестве аналога транглутаминазы ввиду «сомнительной» репутации у потребителей.

Список литературы:

1. Пивненко, Т.Н. Применение транглутаминазы в пищевой промышленности / Т.Н. Пивненко // Научные труды Дальрыбвтуза. – 2021. – №55 (1). – С. 5-22.
2. Пивненко, Т.Н. Ферментные системы водно-биологических ресурсов и их роль в формировании качества продукции // Т.Н. Пивненко, Ю.М. Позднякова, Ю.М., Е.В. Михеев Е.В. - СПб.: Лань, – 2020. – 248 с.
3. Глазунова, О.А. Структурно-функциональные исследования лакказ базидиомицетов: автореф. дис. ...канд. хим. наук / Глазунова Ольга Александровна; ФГУ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук. – Москва, 2019. – 26 с.
4. Трубицина, Л.И. Двухдоменные лакказы бактерий рода *Streptomyces*: клонирование, экспрессия, характеристика ферментов: автореф. дис...канд. биол. наук: 03.01.04 / Трубицина Любовь Игоревна; Ин-т биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН. – Пущино, 2017. – 20 с.
5. Викторова, Л.С. Лакказы и тироназы в толломах лишайника *Lobaria Pulmonaria* (L.) NOFFM / Л.С. Викторова, Е.И. Галеева, Ф.В. Минибаева // Экобиотех. – 2020. – Т.3 (2). – С. 220-228.
6. Yoshida, H. Chemistry of lacquer (Urushi). Part I. Communication from the Chemical Society of Tokio: article / H. Yoshida // J. Chem. Soc. Trans. The Royal Society of Chemistry. – 1883. – Т. 43. – С. 472–486.
7. Heck, T. Enzyme-catalyzed protein crosslinking / T.Heck, G. Faccio, M. Richter, L. Thöny-Meyer // Appl Microbiol Biotechnol. 2013 Jan. - № 97(2). – PP. 461-75. doi: 10.1007/s00253-012-4569-z.
8. Hellman, M. Effect of protein structural integrity on cross-linking by tyrosinase evidenced by multidimensional heteronuclear magnetic resonance spectroscopy/ M. Hellman, M.L. Mattinen, B. Fu, J. Buchert, P. Permi // J Biotechnol. – 2011. V. 151 (1): 143-50. doi: 10.1016/j.jbiotec.2010.11.006.

9. Xueqi, Li. Applications of oxidases in modification of food molecules and colloidal systems: Laccase, peroxidase and tyrosinase / Li, Xueqi, Li, Siqi, L. Xiuping, D. J. McClements, L. Xuebo, L. Fuguo // Trends in Food Science & Technology. – 2020. – V.103 – PP. 78-93.
10. Loi, M. Application of a recombinant laccase-chlorogenic acid system in protein crosslink and antioxidant properties of the curd / M. Loi, L. Quintieri, F. Fanelli, L. Caputo, G. Mulè // Food Research International. – 2018. – V.106. – PP. 763-770. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.050>.

References:

1. Pivnenko, T.N. Application of transglutaminase in the food industry / T.N. Pivnenko // Scientific works of Dalrybvtuz. – 2021. – No. 55 (1). – P. 5-22.
2. Pivnenko, T.N. Enzyme systems of water-biological resources and their role in the formation of product quality // T.N. Pivnenko, Yu.M. Pozdnyakova, Yu.M., E.V. Mikheev E.V. - St. Petersburg: Lan, – 2020. – 248 p.
3. Glazunova, O.A. Structural and functional studies of basidiomycete laccases: abstract. dis. ...cand. chem. Sciences / Glazunova Olga Aleksandrovna; Federal State Institution Federal Research Center «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences. – Moscow, 2019. – 26 p.
4. Trubitsina, L.I. Two-domain laccases from bacteria of the genus Streptomyces: cloning, expression, characterization of enzymes: abstract. dis...cand. biologist. Sciences: 03.01.04 / Trubitsina Lyubov Igorevna; Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms named after. G.K. Scriabin RAS. – Pushchino, 2017. – 20 p.
5. Viktorova, L.S. Laccases and tyronases in tollomes of the lichen Lobaria Pulmonaria (L.) HOFFM / L.S. Viktorovna, E.I. Galeeva, F.V. Minibaeva // Ecobiotech. – 2020. – T.3 (2). – PP. 220-228.
6. Yoshida, H. Chemistry of lacquer (Urushi). Part I. Communication from the Chemical Society of Tokio: article / H. Yoshida // J. Chem. Soc. Trans. The Royal Society of Chemistry. – 1883. – T. 43. – PP. 472-486.
7. Heck, T. Enzyme-catalyzed protein crosslinking / T.Heck, G. Faccio, M. Richter, L. Thöny-Meyer // Appl Microbiol Biotechnol. 2013 Jan. - № 97(2). – PP. 461-75. doi: 10.1007/s00253-012-4569-z.
8. Hellman, M. Effect of protein structural integrity on cross-linking by tyrosinase evidenced by multidimensional heteronuclear magnetic resonance spectroscopy/ M. Hellman, M.L. Mattinen, B. Fu, J. Buchert, P. Permi // J Biotechnol. – 2011. V. 151 (1): 143-50. doi: 10.1016/j.jbiotec.2010.11.006.
9. Xueqi, Li. Applications of oxidases in modification of food molecules and colloidal systems: Laccase, peroxidase and tyrosinase / Li, Xueqi, Li, Siqi, L. Xiuping, D. J. McClements, L. Xuebo, L. Fuguo // Trends in Food Science & Technology. – 2020. – V.103 – PP. 78-93.
10. Loi, M. Application of a recombinant laccase-chlorogenic acid system in protein crosslink and antioxidant properties of the curd / M. Loi, L. Quintieri, F. Fanelli, L. Caputo, G. Mulè

// Food Research International. - 2018. - V.106. - PP. 763-770.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.050>.