

# 橄榄多酚氧化酶和过氧化物酶的抑制剂筛选及其热失活动力学

吴倩<sup>1,2</sup>, 余元善<sup>1</sup>, 刘淑媚<sup>3</sup>, 肖更生<sup>1</sup>, 徐玉娟<sup>1</sup>

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

(2. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070) (3. 广东省农业科学院茶叶研究所, 广东广州 510610)

**摘要:** 本项目研究了七种抑制剂(分别为亚硫酸钠、明矾、O-异抗坏血酸、EDTA-2Na、CaCl<sub>2</sub>、多聚磷酸钠、柠檬酸亚锡二钠)对橄榄多酚氧化酶和过氧化物酶活力的影响,并采用两段模型分析了高温处理对橄榄果实多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)的钝化动力学。结果表明,橄榄中酚类化合物氧化分解与POD和PPO活性有关,在特定的环境条件下,O-异抗坏血酸和柠檬酸亚锡二钠抑制橄榄PPO酶和POD酶活性效果最好,譬如,其浓度为0.20 g/L时,可完全抑制橄榄PPO酶和POD酶活性;热烫时间和温度对橄榄果实PPO和POD活性影响较大,并随着热烫时间和热烫温度的增加,橄榄果实PPO和POD活性呈现先下降后处于平稳的趋势,故高温处理对橄榄PPO和POD的钝化过程符合两段模型。

**关键词:** 橄榄; 多酚氧化酶; 过氧化物酶; 抑制剂; 动力学

文章编号: 1673-9078(2019)02-157-162

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.2.022

## Inhibitors of Polyphenol Oxidase and Peroxidase in Olive and Their Thermal Inactivation Kinetics

WU Qian<sup>1,2</sup>, YU Yuan-shan<sup>1</sup>, LIU Shu-mei<sup>3</sup>, XIAO Geng-sheng<sup>1</sup>, XU Yu-juan<sup>1</sup>

(1. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences; Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture; Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)(2. College of Food Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)  
(3. Tea Research Institute of Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China)

**Abstract:** The effects of seven inhibitors (sodium sulfite, alum, O-isoascorbic acid, EDTA-2Na, CaCl<sub>2</sub>, sodium polyphosphate and disodium citrate) on the activities of polyphenol oxidase and peroxidase in olive were examined in this study. The high-temperature deactivation kinetics of polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) in olive fruits were analyzed using a two-stage model. The results showed that oxidative decomposition of phenolic compounds in *Canarium album* L. was associated with activities of POD and PPO. O-isoascorbic acid and disodium citrate disodium could the most powerful inhibitors against PPO and POD in olive under certain environmental conditions, e.g. at 0.20g/L, they could deactivate PPO and POD enzyme completely. The blanching time and temperature influenced greatly the activities of PPO and POD in olive fruits. The increase of blanching time and temperature led to an initial decrease in the activities of PPO and POD followed by a plateau. Therefore, the high-temperature deactivation process of PPO and POD in olive could be described using a two-stage model.

**Key words:** olive; polyphenol oxidase; peroxidase; inhibitor; kinetics

橄榄 (*Canarium album*) 又名青榄、青果, 是我国南方的特色水果。橄榄营养丰富, 果实在医疗保健上常用作清凉甘缓之剂。其性味甘酸涩平, 主治功效

收稿日期: 2018-08-01

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0400703); 广东省自然科学基金研究团队项目(2015A030312001); 广州市科技计划项目(201803050010)

作者简介: 吴倩(1993-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品工程

通讯作者: 刘淑媚(1988-), 女, 研究实习员, 研究方向: 生物工程

为解毒生津、清肺利咽, 常用于治疗咽喉肿痛、烦渴、咳嗽吐血、肠炎痢疾、解河豚毒及解酒等<sup>[1]</sup>, 为冬春季稀有应市果品。橄榄果实为硬壳肉果, 呈纺锤形, 不论成熟与否, 均呈青色, 除少量鲜食外, 大多深加工成果脯蜜饯、果肉罐头等制品。

在橄榄中, 多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)是导致其酶促褐变的两种重要酶类。PPO是广泛存在于植物体内的一类含铜的氧化还原酶<sup>[2]</sup>, 植物组织的

褐变与 PPO 有直接的关系。POD 是活性氧抗氧化酶系统的重要保护酶之一<sup>[3,4]</sup>。同时, POD 与 PPO 一样, 参与果实的褐变, 并且在其中起着很重要的作用。且 PPO 与 POD 活性越高, 越容易引起果实褐变<sup>[5]</sup>, 酶促褐变对橄榄产品外观及营养损失影响很大。因此, 如何有效防止橄榄果及果汁褐变发生, 对橄榄果特别是其果汁饮料、果酒的开发具有重要意义。目前, 已有不少关于控制橄榄褐变的研究。詹嘉红等<sup>[6]</sup>研究发现, 一定浓度的抗坏血酸、L-半胱氨酸、亚硫酸钠、偏重亚硫酸钾对 PPO 活性有明显的抑制作用, 其中以亚硫酸钠的抑制作用最强。黄春秋等<sup>[7]</sup>用聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)、抗坏血酸钠分别处理橄榄果汁, 均有较好的防褐变护色效果。

烫漂是蔬菜加工预处理中普通使用的一种方法, 它通过水浴加热以钝化酶的活性, 从而抑制酶促褐变的发生并破坏微生物细胞以稳定品质, 而且数学模型的构建已广泛应用于食品加工领域, 为生产实践提供了很好的理论依据和技术指导。近年来, 国外已开始研究果蔬烫漂中质构、色泽变化及酶失活的动力学模型<sup>[8,9]</sup>, 有效地优化了烫漂工艺, 并预防过度烫漂对果蔬品质造成的不良影响。

本文探讨了七种抑制剂(亚硫酸钠、O-异抗坏血酸、EDTA 二钠、氯化钙、多聚磷酸钠、柠檬酸亚锡二钠)与橄榄多酚氧化酶和过氧化物酶活性的关系, 还通过数学模型分析了热烫对橄榄果实 PPO 和 POD 酶的钝化动力学, 以期控制橄榄果实加工中的酶促褐变提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

新鲜橄榄(品种为青皮榄)购自当地市场; 亚硫酸钠, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 明矾, 汕头市西陇化工厂有限公司; 无水氯化钙, 天津市福晨化学试剂厂; O-异抗坏血酸, 天津市科密欧化学试剂有限公司; EDTA 二钠、多聚磷酸钠、柠檬酸亚锡二钠、邻苯二酚、愈创木酚、双氧水、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠: 均为国产分析纯。

打浆机, 美的集团公司; 高速分散均质机, 上海标本模型厂; 紫外-可见分光光度计, 日本岛津公司; 高速冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 橄榄粗酶液制备

橄榄洗净去核后, 取 20 g 果肉与 60 mL 的 0.10

mol/L 磷酸钠盐缓冲液即 PBS(pH 6.80)混合, 同时添加 0.60 g 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)和 0.60 mL TritonX-100; 放置在打浆机中中速处理 3 min 后, 转入 250 mL 烧杯中高速均质 5 min; 将上述均质后的样品于 4 °C 条件下 10000 r/min 离心 10 min, 上清液即是粗酶液(pH 4.97), 低温保存用于酶活性分析。

#### 1.2.2 PPO 活性测定

5 mL 离心管中加入 PBS 2.30 mL、邻苯二酚 0.50 mL、粗酶液 0.20 mL, 以等量的提取液代替粗酶液作为空白对照。用紫外分光光度仪在 410 nm 下测定吸光度, 以将每毫升酶液反应后每分钟吸光度变化 0.01 为一个酶活力单位(U)。

$$\text{多酚氧化酶活性} = \frac{\Delta A_{410} \times V_T}{W \times V_S \times 0.01 \times t} \quad (1)$$

式中:  $\Delta A_{410}$ -反应时间内吸光度的变化; W-橄榄鲜质量, g; t-反应时间, min;  $V_T$ -提取酶液总体积, mL;  $V_S$ -测定时取用酶液体积, mL。

#### 1.2.2.1 不同抑制剂浓度对橄榄多酚氧化酶活性的影响

分别配制 5 g/L 的亚硫酸钠、明矾、O-异抗坏血酸、EDTA-2Na、氯化钙、多聚磷酸钠、柠檬酸亚锡二钠, 按照 3 mL 反应体系, 将上述 7 种抑制剂配制成不同浓度梯度, 按照上述方法进行酶活性测定。

#### 1.2.2.2 漂烫对橄榄多酚氧化酶活性的影响

选取 5 个温度条件(75、80、85、90、95 °C)于恒温水浴锅( $\pm 0.50$  °C)中烫漂, 样、液质量比 1:3, 时间分别为 0、2、4、6、8 min, 烫漂结束后立即取出置于冰水中降温 5 min, 沥干表面水分后, 按照 1.2.1 方法制备橄榄粗酶液, 按照上述方法进行酶活性测定。每组实验重复 3 次。

#### 1.2.3 POD 活性测定

5 mL 离心管中加入 PBS 1.80 mL、愈创木酚 0.50 mL、2%  $H_2O_2$  0.50 mL、粗酶液 0.20 mL, 以等量的提取液代替粗酶液作为空白对照。用紫外分光光度仪在 470 nm 下测定吸光度, 以将每毫升酶液反应后每分钟吸光度变化 0.01 为一个酶活力单位(U)。

$$\text{过氧化物酶活性} = \frac{\Delta A_{470} \times V_T}{W \times V_S \times 0.01 \times t} \quad (2)$$

式中:  $\Delta A_{470}$ -反应时间内吸光度的变化; W-橄榄鲜质量, g; t-反应时间, min;  $V_T$ -提取酶液总体积, mL;  $V_S$ -测定时取用酶液体积, mL。

#### 1.2.3.1 不同抑制剂浓度对橄榄过氧化物酶活性的影响

分别配制 5 g/L 的亚硫酸钠、明矾、O-异抗坏血酸、EDTA-二钠、氯化钙、多聚磷酸钠、柠檬酸亚锡

二钠，按照 3 mL 反应体系，将上述 7 种抑制剂配制成不同梯度，按照上述方法进行酶活性测定。

### 1.2.3.2 漂烫对橄榄过氧化物酶活性的影响

选取 5 个温度条件 (75、80、85、90、95 °C) 于恒温水浴锅 (±0.50 °C) 中烫漂，样、液质量比 1:3，时间分别为 0、2、4、6、8 min，烫漂结束后立即取出置于冰水中降温 5 min，沥干表面水分后，按照 1.2.1 方法制备橄榄粗酶液，按照上述方法进行酶活性测定。每组实验重复 3 次。每个实验重复测 3 次取平均值，新鲜橄榄的初始酶活力由 10 颗样品测得。

## 1.3 酶失活动力学模型和数据公式

一级动力学模型常用于酶失活动力学分析，酶失活率与处理时间成正比 (式 3)。

$$\ln(A/A_0)=Kt \quad (3)$$

式中：A<sub>0</sub> 为处理前酶活力/U；A 为处理后酶活力/U；t 为处理时间/min；K 为给定温度下的失活速率/min<sup>-1</sup>。

如果发现结果不符合一级动力学模型时，可采用两段模型，该模型包含了快速钝化期和缓慢钝化期两段 (式 4)，一般有同工酶存在时使用此模型。

$$A = A_L \exp^{-K_L * t} + A_S \exp^{-K_S * t} \quad (4)$$

式中：A<sub>L</sub> 和 A<sub>S</sub> 分别为快速钝化期和缓慢钝化期的初始酶活力/U；K<sub>L</sub> 和 K<sub>S</sub> 分别为分别为快速钝化期和缓慢钝化期的反应速率常数/min<sup>-1</sup>；A 为处理后酶活力/U；t 为处理时间/min。

在酶钝化失活过程中，当只有敏感性部分被钝化，而稳定性部分酶活保持不变时，一般采用部分转化模型 (式 5)。

$$A=A_{\infty}+(A_0-A_{\infty})\exp^{-Kt} \quad (5)$$

式中：A 为处理后酶活力/U；t 为处理时间/min；A<sub>0</sub> 和 A<sub>∞</sub> 为处理前酶活力和不变酶活力/U；K 为反应速率常数/min<sup>-1</sup>。

其他相关公式有：

$$D=\frac{\ln 10}{K} \quad (6)$$

## 1.4 数据统计分析

所有的不同处理均重复三次，数据结果采用统计软件 SPSS 19.0 进行方差分析 (Duncan's multiple range tests)，数值以平均值±SD 表示，并用 Origin 8.5.1 软件制图。

## 2 结果和分析

### 2.1 橄榄过氧化物酶和多酚氧化酶的抑制剂

#### 筛选

### 2.1.1 不同抑制剂浓度对橄榄 PPO 酶活性的影响

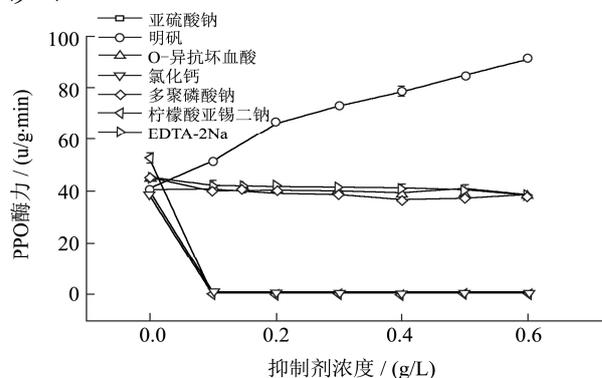


图 1 不同抑制剂浓度对橄榄 PPO 酶活性的影响

Fig.1 Effect of different inhibitor concentrations on the activity of olive PPO enzyme

不同抑制剂浓度对橄榄 PPO 酶活力的影响如图 1 所示。从图 1 可知，亚硫酸钠、O-异抗坏血酸、柠檬酸亚锡二钠对橄榄 PPO 酶活力有明显抑制作用，当其浓度为 0.10 g/L 时，可完全抑制橄榄中 PPO 酶活力，这可能是因为亚硫酸钠、O-异抗坏血酸、柠檬酸亚锡二钠都具有强还原性，能把醌类还原<sup>[5]</sup>，阻止醌类物质进一步自发聚合形成色素物质，同时柠檬酸亚锡二钠能够消除环境中的氧气，防止 PPO 发生氧化反应，从而起到抗氧护色作用。随着明矾浓度的增加，PPO 酶活力增强，说明明矾对橄榄的酶促褐变具有一定的促进作用，可能是由于明矾溶于水后电离产生了 Al<sup>3+</sup>，Al<sup>3+</sup>与水电离产生的 OH<sup>-</sup>结合生成了氢氧化铝，氢氧化铝胶体粒子带有正电荷，与样液中的负离子结合，从而促进酶促褐变的发生。当 EDTA-2Na、氯化钙、多聚磷酸钠浓度增加，橄榄 PPO 酶活力无明显的下降或增强，说明 EDTA-2Na、氯化钙、多聚磷酸钠单一的添加无法抑制橄榄 PPO 酶活力。

亚硫酸盐是抑制酶促褐变的传统方法，它可以有效抑制 PPO 的活性，但国际上已规定禁止在果蔬生产中添加亚硫酸盐，因此寻找一种安全有效的亚硫酸盐替代物成为必然；抗坏血酸是近年来研究最多的亚硫酸盐替代品，即使浓度极大也无异味，对金属无腐蚀作用；柠檬酸亚锡二钠是一种新型的护色剂，具有强还原性及抗氧化、防腐、护色的作用，毒性低于亚硫酸盐类<sup>[10]</sup>，所以 O-异抗坏血酸、柠檬酸亚锡二钠可以作为橄榄多酚氧化酶的抑制剂。

### 2.1.2 不同抑制剂浓度对橄榄 POD 酶活性的影响

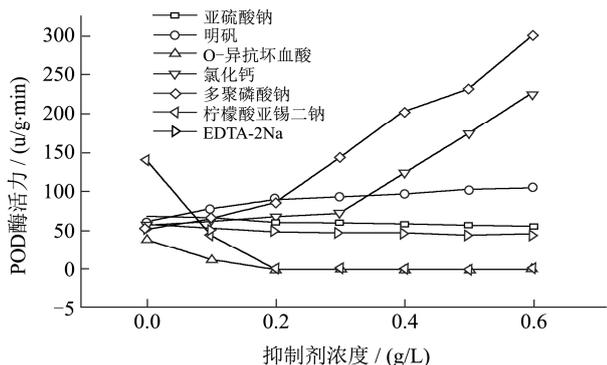


图2 不同抑制剂浓度对橄榄 POD 酶活力的影响

Fig.2 Effect of different inhibitor concentrations on the activity of olive POD enzyme

不同抑制剂浓度对橄榄 POD 酶活力的影响如图2所示。由图2可知 O-异抗坏血酸、柠檬酸亚锡二钠对橄榄 POD 酶活力有明显抑制作用，当其浓度为 0.20 g/L 时，可完全抑制橄榄中 POD 酶活力，可能是由于它们都具有强还原性，能把醌类还原<sup>[5]</sup>，阻止醌类物质进一步自发聚合形成色素物质，同时柠檬酸亚锡二钠能够消除环境中的氧气，防止 POD 发生氧化反应，从而起到抗氧护色作用。亚硫酸钠、EDTA-2Na 对抑制橄榄 POD 酶作用不明显，当亚硫酸钠、EDTA-2Na 的浓度增加，橄榄 POD 酶活力基本不变。随着明矾、氯化钙、多聚磷酸钠浓度的增加，POD 酶活力增强，说明明矾、氯化钙、多聚磷酸钠无法抑制橄榄过氧化物酶的活力。

O-异抗坏血酸和柠檬酸亚锡二钠是一种新型的护色剂，由图2可知 O-异抗坏血酸、柠檬酸亚锡二钠对橄榄 POD 酶活力有明显抑制作用，所以 O-异抗坏血酸、柠檬酸亚锡二钠可以作为橄榄过氧化物酶的抑制剂。

## 2.2 热烫温度和时间对橄榄 PPO 和 POD 酶活性的影响

### 2.2.1 热烫温度和时间对橄榄 PPO 酶活性的影响

热烫温度和时间对橄榄 PPO 酶活性的影响如图3所示。从图3可以看出，PPO 酶活性受温度影响较大，起始阶段酶活力快速下降，且下降速度随时间延长逐渐变缓直至为零。起始阶段代表酶不耐热部分失活，最终平缓阶段代表酶耐热部分失活，而中间部分则认为是一个过渡区域，尤其表现为不同耐热性的同工酶之间的相互作用<sup>[11]</sup>。实验结果表明，酶活性受热烫的温度和时间影响十分显著，随处理温度的升高、时间延长，PPO 快速变性发生失活。在 75 °C 条件下热烫

4 min，PPO 酶活力仍有 23.90% 的活力，而 95 °C 条件下，热烫 4 min，PPO 酶则完全失活。热烫时间为 4 min 时，85 °C 和 90 °C 条件下，PPO 酶相对剩余活力约为 13%。

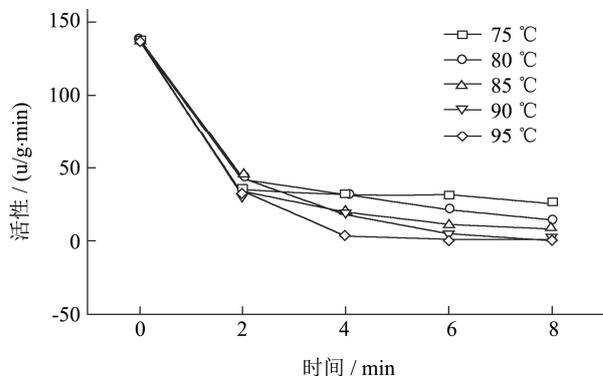


图3 热烫温度和时间对橄榄 PPO 活性的影响

Fig.3 Effect of Blanching Temperature and Time on PPO Activity of Olive

### 2.2.2 热烫温度和时间对橄榄 POD 酶活性的影响

漂烫温度和时间对橄榄 POD 活性的影响如图4。由图4可知，在5个实验温度下，POD 酶活性随热烫时间和温度的增加而降低。在 75 °C、80 °C、85 °C 条件下，POD 酶活力下降较平稳，75 °C 条件下热烫 2 min，POD 酶活力仍剩余 68.60%；热烫时间 4 min POD 酶活力剩余 19.40%，之后增加热烫时间，POD 酶活性变化不大；在 90 °C、95 °C 条件下，起始阶段 POD 酶活性急剧下降，热烫时间 2 min，POD 酶活性仅有 28.50%，热烫时间 4 min，POD 酶基本失活。

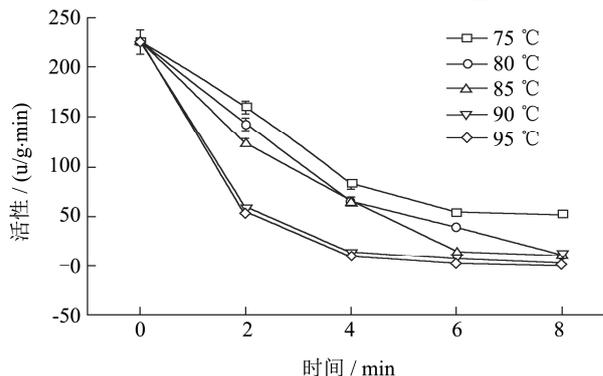


图4 热烫温度和时间对橄榄 POD 活性的影响

Fig.4 Effect of Blanching Temperature and Time on POD Activity of Olive

## 2.3 橄榄的热失活动力学

从图3和图4可以看出，橄榄 PPO 和 POD 酶活性受温度影响较大，起始阶段酶活力快速下降，且下降速度随时间延长逐渐变缓直至为零。可知一级失活模型不能很好的表征橄榄多酚氧化酶和过氧化物酶在

高温处理下的失活特性。橄榄多酚氧化酶和过氧化物酶在高温处理下呈现快速钝化期和缓慢钝化期两个阶段,它们适合用两段模型来表征(公式4),如表1、2所示。

表1 橄榄多酚氧化酶的钝化动力学参数(两段模型估算)

**Table 1 Passivation kinetic parameters of olive polyphenol oxidase (two-stage model estimation)**

温度/°C	$K_1/\text{min}^{-1}$	$D_1/\text{min}$	$K_2/\text{min}^{-1}$	$D_2/\text{min}$
75	0.6510	3.53	0.0507	45.36
80	0.7328	3.14	0.0958	24.01
85	0.7469	3.08	0.1371	16.78
90	0.7776	2.96	0.2149	10.7
95	0.7814	2.94	0.2521	9.12

注:表中的参数采用重复实验的平均值估算。

由表1可知,随着温度的升高,橄榄PPO酶达到90%失活所需的时间逐渐减少,橄榄PPO酶的失活速率常数逐渐增加,但橄榄PPO酶在快速钝化期的失活速率常数增加的并不明显。在75℃条件下,橄榄多酚氧化酶达到90%失活需要3.53 min,表明橄榄多酚氧化酶耐热性较低。研究表明<sup>[12]</sup>漂烫处理下导致PPO失活的重要原因是PPO二级结构中发生着 $\alpha$ -螺旋向 $\beta$ -转角的转化,当升高漂烫温度时, $\alpha$ -螺旋同时向 $\beta$ -转角和无规则卷曲转化,从而使PPO失活速度加快。

表2 橄榄过氧化物酶的钝化动力学参数(两段模型估算)

**Table 2 Passivation kinetic parameters of olive peroxidase (two-stage model estimation)**

温度/°C	$K_1/\text{min}^{-1}$	$D_1/\text{min}$	$K_2/\text{min}^{-1}$	$D_2/\text{min}$
75	0.3485	6.60	0.0235	97.87
80	0.3754	6.13	0.0621	37.04
85	0.3872	5.94	0.0761	30.22
90	0.7997	2.88	0.0961	23.93
95	0.8271	2.78	0.1062	21.66

注:表中的参数采用重复实验的平均值估算。

由表2可知,随处理温度的升高、时间延长,酶蛋白快速变性发生失活。85℃是高温钝化橄榄过氧化物酶的关键转折点,当温度低于80℃时,高温钝化橄榄过氧化物酶需要相对较长时间,当温度高于85℃后,高温钝化橄榄过氧化物酶的效率显著提高。另外,在95℃条件下橄榄过氧化物酶快速钝化期的反应速率常数是75℃条件下的2.37倍。在85~95℃高温条件下蛋白质二、三级结构被破坏,此时反应速度更加依赖温度的升高,即温度效应大于时间效应。黄晓杰等在研究草莓漂烫过程中过氧化物酶和Vc的失活动力学中也表明,随着温度的升高,过氧化物酶和Vc热降解的反应速率常数k值增大,并且在高于

90℃条件下过氧化物酶失活变剧烈。

### 3 结论

3.1 O-异抗坏血酸和柠檬酸亚锡二钠抑制橄榄PPO酶和POD酶活性效果最好,浓度为0.20 g/L时,PPO酶和POD酶均完全失活。添加单一的抑制剂,例如明矾、EDTA-2Na、CaCl<sub>2</sub>、多聚磷酸钠的效果不太明显,也可试探将几种抑制剂配合使用,用抑制剂控制橄榄多酚氧化酶活性将是今后橄榄生产中防止橄榄酶促褐变的重要方法<sup>[13-17]</sup>。

3.2 高温处理能有效的钝化橄榄多酚氧化酶和过氧化物酶,且高温处理对橄榄PPO酶和POD酶的钝化过程符合两段模型。提高处理温度和延长处理时间能显著提高橄榄PPO酶和POD酶的钝化速率,能否采用热处理灭活橄榄PPO酶和POD酶,关键是看能否在最短的时间达到钝化酶活性的目的,否则,如果加热过度(温度过高或时间过长)则会影响橄榄产品的质量,使产品具有不愉快的蒸煮味,甚至加重橄榄制品褐变。

### 参考文献

- [1] 许长同,余德生,陈铭. 橄榄研究进展综述(上)[J]. 福建农业科技,1998,增刊:27-29  
XU Chang-tong, YU De-sheng, CHEN Ming. A summary of the research progress of olives (I) [J]. Fujian Agricultural Science and Technology, 1998, Supplement: 27-29
- [2] Underhill S J R, Critchley C. Cellular localisation of polyphenol oxidase and peroxidase activity in *Litchi chinensis* Sonn. pericarp [J]. Australian Journal of Plant Physiology, 1995, 22:627-632
- [3] Dowd, Patrick F, Norton, et al. Browning-associated mechanisms of resistance to insects in corn callus tissue [J]. Journal of Chemical Ecology, 1995, 21: 583-600
- [4] 谢倩,陈清西,王威,等. 橄榄果实过氧化物酶和多酚氧化酶学特性研究[J]. 热带作物学报,2013,34(8):1519-1524  
XIE Qian, CHEN Qing-xi, WANG Wei, et al. Study on the enzymatic characteristics of peroxidase and polyphenol oxidase in olive fruit [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(8): 1519-1524
- [5] 詹嘉红,蓝宗辉,曾碧英. 橄榄果实多酚氧化酶特性研究[J]. 广州食品工业科技,2003,4:16-17,23  
ZHAN Jia-hong, LAN Zong-hui, ZENG Bi-ying. Study on the characteristics of polyphenol oxidase in olive fruit [J]. Guangzhou Food Industry Science and Technology, 2003, 4: 16-17, 23

- [6] 黄春秋,覃海元,林君.抑制剂控制橄榄汁酶促褐变的研究[J].食品科技,2011,36(6):54-56,65  
HUANG Chun-qiu, YAN Hai-yuan. LIN Jun. Study on the control of enzymatic browning of olive juice by inhibitor [J]. Food Science and Technology, 2011, 36(6): 54-56, 65
- [7] Gonealves E M, Pinheiro J, Abreu M, et al. Modelling the kinetics of peroxidase inactivation, colour and texture changes of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) during blanching [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 81(4): 693-701
- [8] Morales-blancas E F, Chandia V E, Cisneros-zevallos. Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxygenase from broccoli, green asparagus and carrots [J]. Journal of Food Science, 2002, 67(1): 146-154
- [9] Hong Wei Wang, Jian Xia Wang, Li Kun Yang, et al. Effects of dietary selenium supplements on the superoxide dismutase (SOD) activity of *Neocaridina heteropoda* (Crustacea Decapoda *Atyidae Caridina*) exposed to ambient sodium polyphosphate [J]. Advanced Materials Research, 2015, 3702(1073): 1073-1076
- [10] 黄春秋,杨志伟,林君,等.柠檬酸亚锡二钠抑制橄榄果汁褐变研究[J].南方农报,2015,46(2):313-316  
HUANG Chun-qiu, YANG Zhi-wei, LIN Jun. et al. Study on the inhibition of browning of olive juice by disodium citrate disodium [J]. Southern Agricultural News, 2015, 46(2): 313-316
- [11] 郑海鹰,傅玉颖,等.莴笋烫漂过程中过氧化物酶失活动力学模型的建立[J].食品科学,2011,32(17):238-242  
ZHENG Hai-ying, FU Yu-ying. et al. Establishment of a mechanical model of peroxidase loss in the process of lettuce blanching [J]. Food Science, 2011, 32(17): 238-242
- [12] Luis M Ruiz-ojeda, Francisco J Peñas. Comparison study of conventional hot-water and microwave blanching on quality of green beans [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2013, 20: 191-197
- [13] DONG Huaqiang, CHENG Liangying, TAN Jiahou, et al. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit [J]. Journal of Food Engineering, 2004, 64(3): 355-358
- [14] Valentines M C, Vilaplana, Torres, et al. Specific roles of enzymatic browning and lignifications in apple disease resistance [J]. Postharvest Biology and Technology, 2005, 36(3): 227-234
- [15] Perez-gago M B, Serram, Alonso M. Effect of whey protein and hydropropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples [J]. Postharvest Biology and Technology, 2005, 36(1): 77-85
- [16] ZHANG Likui, LU Zhaoxin, LU Fengxia, et al. Effect of gamma irradiation on quality-maintaining of fresh-cut lettuce [J]. Food Control, 2006, 17(3): 225-228
- [17] FAN Wenjiao, CHI Yuanlong, ZHANG Shuo. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver 11 carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice [J]. Food Chemistry, 2008, 108(1): 148-153