多酚氧化酶的射频加热灭活效果及动力学分析

周良付, 雷玉洁, 李宇坤, 陈香维, 牛海月, 王云阳

(西北农林科技大学食品科学与工程学院,陕西杨凌 712100)

摘要:为了阐述多酚氧化酶(PPO)射频加热对灭活规律,本文研究了板间距和溶酶磷酸盐缓冲液电导率对加热速度及酶灭活效果 的影响,进行了酶灭活动力学模型研究。结果表明:极板间距和电导率影响射频加热速度,极板间距越大升温越慢,电导率为 0.1 S/m 时,升温速度最快。在极板间距 120 mm,电导率 0.1 S/m 时,射频加热 105 s, PPO 的灭活率为 91.88%。对酶灭活的动力学曲线分别 用一级动力学模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型进行拟合。通过对模型的拟合评价参数即精确因子 A_f,偏差因子 B_f,根平均方 差 RMSE 和决定系数 R²进行比较,PPO 的灭活动力学曲线不符合一级反应动力学模型,Weibull 和 Log-Logistic 模型都能较好的拟合 PPO 失活曲线。通过衡量三种模型的预测值和实测值的一致性,Log-Logistic 模型能最好地拟合射频加热条件下多酚氧化酶的失活曲 线。

关键词:射频加热;多酚氧化酶;灭活动力学;模型拟合 文章篇号:1673-9078(2016)9-161-166

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.9.024

Inactivation Effect of Radio Frequency Heating on Polyphenol Oxidase

and the Analysis of Kinetics

ZHOU Liang-fu, LEI Yu-jie, LI Yu-kun, CHEN Xiang-wei, NIU Hai-yue, WANG Yun-yang

(College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: In order to investigate the pattern of polyphenol oxidase (PPO) inactivation by radio frequency (RF) heating, the effects of the electrode gap and the electrical conductivity of phosphate-buffered saline (PBS) on the heating rate and inactivation of PPO were studied, and the data were fitted to different models to determine the inactivation kinetics. The results showed that both the electrode gap and conductivity affected the RF heating rate. The larger the electrode gap was, the slower was the rate of temperature increase. When the electrical conductivity was 0.1 S/m, the rate of temperature increase was the fastest. At the electrode gap of 120 mm, conductivity of 0.1 S/m, and RF heating duration of 105 s, the PPO inactivation rate was 91.88%. The first-order kinetics model, Weibull model, and log-logistic model were used to fit the inactivation curve of PPO. The fitness of the three models was evaluated by using a series of indices, including the accuracy factor (A_f), bias factor (B_f), root mean square error (*RMSE*), and correlation coefficient (R^2). The curve did not show compliance with first-order kinetics, whereas both the Weibull and log-logistic models could fit the inactivation curve well. The consistencies between measured and predicted values of the three models were examined and the log-logistic model provided the best fitness for the PPO inactivation curve under RF heating.

Key words: radio frequency heating; polyphenol oxidase; inactivation kinetics; model fitting

多酚氧化酶(PPO)是广泛存在于植物体的各种 器官或组织中的一类铜结合酶,是引起果蔬褐变的关 键酶类^[1]。果蔬中的酚类物质在多酚氧化酶的催化作 用下形成醌类物质,醌类物质聚合形成大分子褐色物 质。这些褐色物质使果蔬的颜色和风味发生较大的变 化,产品营养和品质下降,对果蔬贮藏和加工过程产 收稿日期: 2015-11-02

基金项目:国家自然科学基金项目(31371854);中央高校基本科研业务费 (ZD2013016);陕西省科学技术研究发展计划项目(2014K13-14) 作者简介:周良付(1989-),男,硕士,主要研究:向为食品工程新技术 通讯作者:王云阳(1969-),男,博士,教授,研究方向:食品工程新技术、 食品安全控制技术 生十分重要的影响^[2]。

射频(Radio-Frequency, RF)是一种高频交流电磁波,其频率范围为10~300 MHz^[3]。射频能穿透到物料内部,引起物料内部的带电离子振荡迁移和极性分子往复旋转,将电能转化为热能,从而达到加热的目的^[4]。近年来,射频加热技术主要应用于食品和农产品杀菌、干燥和灭虫^[5~7]等方面的研究。

酶促褐变对果蔬加工过程中品质的影响十分重 要,酶灭活效果及其灭酶动力学是灭酶技术研究的关 键,对果蔬加工中灭酶工艺应用具有理论指导意义。 科研人员进行了红外、高静压和微波^[8~10]等对于 PPO 灭活效果的研究。马海乐^[11]等的研究表明高强度脉冲 磁场灭活多酚氧化酶符合 Weibull 模型。Lara Manzocco^[12]等研究了射频处理钝化 PPO 和 LOX 溶液,得出钝化主要是由于射频的热效应引起的,射频 电磁场所引起的非热效应未能检测出来。Ka'tia Nicolau Matsui^[13]等进行了微波灭活椰子汁中多酚氧化酶的研究,得到了椰子汁中多酚氧化酶微波灭活的 D 值和z值。目前关于射频加热对多酚氧化酶的影响研究还很少见到。本文研究了极板间距和磷酸盐缓冲 液电导率对多酚氧化酶射频加热速度及灭活效果的影响,采用一级动力学模型、Weibull、和 Log-Logistic 模型等三种模型对其灭活曲线进行拟合,通过对不同 模型的拟合评价参数进行比较,寻找最优的多酚氧化 酶灭活动力学模型,为果蔬中多酚氧化酶射频加热灭 活技术应用提供可靠数据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

试剂: 多酚氧化酶购买于 Sigma 公司; 其它均为 广东光华科技股份有限公司分析纯试剂。

仪器:射频加热设备(GF-6A-27-JY,河北华氏纪元有限公司);高速冷冻离心机(HC-3018R,安徽中科中佳科学仪器有限公司);电导率仪(FE30,梅特勒托利多仪器上海有限公司);荧光光纤测温仪(HQ-FTS-D1F00,西安和其光电科技有限公司);紫

外-可见分光光度计(UV-2100,上海菁华科技仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 射频加热系统



图 1 射频加热系统示意图

Fig.1 Schematic diagram of the RF heating system

本研究所采用的 GF-6A-27-JY 型射频加热系统 (如图1所示)由河北华氏纪元高频设备有限公司研 制,该设备由射频发生器、加热室、排气系统、热风 加热系统和自动控制系统等组成,额定功率为6kW, 频率为27.12 mHz。在系统中,样品内部温度可通过 光纤测温系统实时测量,利用光纤探头检测样品在射 频场中的温度变化,检测温度范围在-30~200 ℃,采 集数据的频率最小可达到 1 s/次,样品温度变化曲线 通过软件输出。

1.2.2 PPO 酶液的射频加热处理

配制电导率为 0.03、0.10 和 0.30 S/m 的磷酸盐缓 冲液,浓度分别为 0.002、0.008 和 0.025 mol/L,各取 400 mL 磷酸盐缓冲液与 4 mg PPO 混合,制成酶液备 用。

将 35 mL 不同电导率的酶液加入 50 mL 的离心管中(离心管直径 27 mm,高 110 mm),离心管中的酶液高度为 70 mm。将离心管放入塑料保温套中置于下极板的中心位置处,分别设置极板间距为 120、130 和 140 mm 进行加热处理。将荧光光纤探头置于酶液的中心位置处,加热处理使其升温到 70 ℃。迅速置于冰水浴中冷却 10 min。测定初始及各加热处理时间后的酶活。

1.2.3 PPO 活性测定

根据易建勇^[9]等 PPO 活测定的方法加以改进,反 应体系为: 2.00 mL 0.1 mol/L 邻苯二酚溶液+1.00 mL 酶液。将处理后的样品用紫外分光光度计在 410 nm 条件下测定其吸光度值,作为初始值。采用数据采集 软件每 1 s 记录 1 次吸光度值随时间的变化,以最初 直线段的斜率(ΔOD/t)计算酶活力。其活性残留率的计 算如公式(1)所示。

$$S(\%) = \frac{A_t}{A} \times 100\% \tag{1}$$

式中: S 为酶活残留率,%; A₁射频处理后多酚氧化酶的 活力; A 射频处理前多酚氧化酶的活力。

- 1.3 动力学模型
- 1.3.1 一级动力学模型

该模型是 Bigelow^[14]提出的,如公式(2)所示。

$$\log S = \frac{-t}{D} \tag{2}$$

式中:D为使90%酶灭活所需要的时间(s);t为处理时间(s)。

1.3.2 Weibull 模型

该模型是 Weibull 提出后, Peleg 和 Cole 进行了改进^[14],如公式(3)所示。

$$\log S = -b(t)^n \tag{3}$$

式中: b 为比例因子; n 为形状因子, 表示曲线的形状, 当 n<1 时曲线向下凹, 当 n>1 时曲线向上凸, 当 n=1 时曲线为 一条直线。

1.3.3 Log-Logistic 模型

Cole 等提出了 Log-Logistic 模型^[14],如公式(4)

现代食品科技

所示。

$$\operatorname{Log} S = \alpha_{1} + \frac{\alpha_{2} - \alpha_{1}}{1 + \exp\left[\frac{4\sigma \ (\lambda - \log t)}{\alpha_{2} - \alpha_{1}}\right]}$$
(4)

式中: σ为上渐近线; α₂渐近线; α₁失活曲线的最大斜率; λ为失活曲线达到最大斜率时的数量级时间。

1.4 数据统计分析

用 Origin Pro 9.0 软件对所得数据进行拟合分析并 作图,得到在射频加热处理过程中,酶活降低的对数 值随着时间变化的动力学方程。采用 A_f 、 B_f 、RMSE πR^2 四个参数评价动力学方程的拟合程度。其中 R^2 是模型值和实测值拟合得到直线的回归系数; A_f 表示 精确因子,表示预测值和实测值的偏离度,当 A_f 值越 小表明模型的预测值和实测值越接近; B_f 是偏差因子, $B_f > 1$ 时,实测值大于预测值,当 $B_f < 1$ 时,实测值小 于预测值, $B_f = 1$ 时,实测值等于预测值,Bf越接近 1, 模型的拟合度越高^[15]; RMSE 是根平均方差,RMSE 表示模型的可靠度,其越小模型的拟合度越高。三个 参数的计算式如公式(5)、(6)和(7)所示。

$$\mathbf{A}_{c} = 10^{\left(\sum |\lg(\tilde{m})|_{d} / \varphi_{m}|_{d}\right)/n} \tag{5}$$

$$B_{f} = 10^{\left(\sum |\lg(预测值/ y)/n\right)}$$
(6)

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum (y) (f(x) - f(x))}{n-1}}$$
(7)
式中: n为试验次数。

2 结果与分析

2.1 极板间距和电导率对 PPO 酶液升温曲线的

影响

图 2 是电导率为 0.1 S/m, 在极板间距分别为 120、 130 和 140 mm 时, PPO 酶液温度随时间变化的曲线。 由图可知改变极板间距,样品升温所需时间不同。升 至 70 ℃所需时间分别为 113、143 和 163 s。极板间距 越大,升温速度越慢,Wang^[16]等得到了类似的结果。 介电特性对电场和物料的相互作用起着决定作用。由 于空气的介电常数接近于 1,远小于溶液的介电常数。 当溶液放在两个平行电极板之间,随着极板间距的升 高,上下极板间距增大,因此使溶液内部的电场强度 减弱,带电离子前后移动幅度减小,发生碰撞产热也 减少,而使升温速率逐渐减慢。



Fig.3 RF heating curve of PPO solutions of different electrical conductivities

图 3 是在极板间距为 120 mm 的条件下,电导率 分别为 0.03、0.1 和 0.3 S/m 的 PPO 酶液温度随时间变 化的曲线。由图可知,电导率影响样品的升温速度, 不同电导率所需升温时间不同。升至 70 ℃所需时间 分别为 134、113 和 188 s。当电导率 0.1 S/m 时升温速 率最大,这与 Jiao^[17]等研究的结果相符。溶液的浓度 越高,电导率越大。当电导率较小时,溶液浓度较小, 溶液中的离子数较少,在射频波的作用下带电离子前 后移动,离子间碰撞几率随浓度升高而增大,升温速 度逐渐增大;当电导率增大,离子浓度增大到一定值 时,离子之间相互阻碍,使得碰撞产热逐渐减少,而 使升温速率逐渐减慢,随着浓度的增大阻碍作用越明 显。

2.2 极板间距和电导率对 PPO 活性的影响

为了研究射频对 PPO 活性的影响,分别测定了不同条件下 PPO 酶液加热至不同时间酶活力,相对酶活随加热时间的关系曲线如图 4 所示。由图可知,在射频处理过程中,初始时,相对酶活基本保持不变,随着处理时间的延长,相对酶活迅速降低。在不同条件下,处理温度到达 70 ℃, PPO 的灭活率不同。在极

Modern Food Science and Technology

板间距 120 mm,电导率为 0.03、0.1 和 0.3 S/m, PPO 酶液升温到 70 ℃,其酶活残留率分别为 45.5%、8.1% 和 1.1%;在电导率为 0.1 S/m,分别在 120、130 和 140 mm 的极板间距下,使 PPO 酶液升温到 70 ℃,其酶 活残留率分别为 8.1%、11.7%和 9.2%。结果表明:极 板间距相同,电导率不同时,PPO 的灭活率差异较大。 极板间距不同,电导率相同时,PPO 的灭活率差异较 小。极板间距对 PPO 灭活效果影响较小,电导率对灭 活结果有显著影响。





2.3 模型拟合分析

采用(2)~(4)三种动力学模型,一级动力学模型、 Weibull 和 Log-Logistic 对射频处理条件下,PPO 随着 时间变化的失活曲线进行模型拟合,并求得不同模型 的方程参数值,如表 1 所示。

模型的准确性常用决定系数 R²、偏差因子 B_f、精确因子 A_f和根平均方差 RMSE 评价。由表 2 可见,对于同一电导率的酶液,改变极板间距,Weibull 模型和 Log-Logistic 模型的决定系数 R²都比较接近 1,而一级动力学模型的 R²值较小。通过比较 Log-Logistic 模型和 Weibull 模型的 A_f值、B_f值和 RMSE 可以得出,Log-Logistic 模型可以更好地拟合不同极板间距下,同一电导率的 PPO 酶液的射频灭活曲线。

对于同一极板间距下,改变酶液的电导率,在电导率 0.03 S/m 时,一级动力学模型和 Weibull 模型的 决定系数 R^2 值均较小,Log-Logistic 模型的 R^2 接近 1;在电导率为 0.1 和 0.3 S/m 时,Weibull 模型和 Log-Logistic 模型的决定系数 R^2 都比较接近 1,而一级动力学模型的 R^2 值较小。通过比较 Log-Logistic 模型和 Weibull 模型的 A_f 值、 B_f 值和 *RMSE* 可以得出,Log-Logistic 模型可以更好地拟合相同极板间距下,不同电导率的 PPO 酶液的射频灭活曲线。

表1	PP0 灭活动力学三种模型拟合参数
Table 1 Kinetic parameters calculated by	three mathematical models for the survival rates of PPO treated by RF

田去		一级动力学模型	Weibull 模		Log-Logistic 模型				
		D	b	n	a_1	a_2	σ	λ	
极板间距/mm	120	164.19	3.60×10 ⁻¹¹	5.19	-2.06	-0.04	-9.58	2.02	
	130	257.92	3.20×10 ⁻¹¹	4.95	-1.8	-0.03	-6.98	2.11	
	140	295.07	1.10×10 ⁻¹¹	5.43	-2.03	-0.04	-11.61	2.2	
电导率/(S/m)	0.03	620.44	1.55×10 ⁻⁵	1.94	-1.14	-0.09	-5.88	2.26	
	0.10	164.19	3.60×10 ⁻¹¹	5.19	-2.06	-0.04	-9.58	2.02	
	0.30	831.44	3.12×10 ⁻²¹	9.37	-0.73	-0.05	-4.94	2.09	

注: 电导率为 0.1 S/m; 极板间距为 120 mm。

表 2 数学模型评价参数的比较

Table	2 (Comparison	of the	evaluation	indices	of the	mathematical	models
Lanc		Joinparison	or the	c valuation	multus	or the	manchanca	mouch

		一级动力学模型					Weibull 模型				Log-Logistic 模型			
占素		A_{f}	B_{f}	RMSE	R^2	A_{f}	B_{f}	RMSE	R^2	A_f	B_{f}	RMSE	R^2	
极板间距/mm	120	2.69	2.17	0.26	0.6259	1.98	0.54	0.02	0.9976	1.02	0.99	0.0019	0.9999	
	130	2.58	2.16	0.20	0.6236	2.66	0.54	0.05	0.9761	1.43	1.09	0.0269	0.9925	
	140	3.04	2.53	0.23	0.6144	3.56	0.32	0.03	0.9906	1.21	1.08	0.0016	0.9999	
电导率/(S/m)	0.03	1.41	1.02	0.05	0.7507	1.84	0.67	0.05	0.8332	1.03	1.00	0.0042	0.9985	
	0.10	2.69	2.17	0.26	0.6259	1.98	0.54	0.02	0.9976	1.02	0.99	0.0019	0.9999	
	0.30	3.42	2.76	0.11	0.7434	37.84	0.03	0.11	0.9797	1.04	1.00	0.0043	0.9997	

注: 电导率为 0.1 S/m; 极板间距为 120 mm。





注: a 为一级动力学模型, b 为 Weibull 模型, c 为 Log-Logistic 模型。

为了衡量预测值和实测值的一致性,以同一模型 所有实测数据为横坐标,模型预测数据为纵坐标作图, 如图 5 所示,通过线性拟合得到的决定系数 *R*²,判断 预测值和实测值的差异。

实测值和预测值的一致性越好, 拟合方程的斜率 就越接近 1, 截距越趋向于 0。由图 4 可以看出, 一级 动力学模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型的决定 系数 R²分别为 0.5958, 0.9809 和 0.9986。Weibull 模 型和 Log-Logistic 模型都可以较好的拟合射频灭活 PPO 的动力学曲线。通过比较 Weibull 模型和 Log-Logistic 模型所有数据的 A_f值、B_f值和 RMSE, 可 以得到 Log-Logistic 模型的 A_f值 Weibull 模型, 且 Bf 值更接近于 1, RMSE 也更小。因此, Log-Logistic 模 型最好的拟合了射频灭活 PPO 的动力学曲线。

3 结论

3.1 本试验中,通过改变射频极板间距和 PPO 酶液的电导率来研究不同条件对 PPO 的灭活作用。在电导率相同时,极板间距越大升温速率越慢。在极板间距相同时,电导率为 0.1 S/m 时,酶液升温速率最快。在极板间距 120 mm 和电导率 0.1 S/m 的条件下仅需 113 s, PPO 的灭活率达到 91.88%。

3.2 射频处理条件下, PPO 灭活动力学曲线不符合一级反应动力学。Weibull 和 Log-Logistic 模型都能较好的拟合射频处理条件下的 PPO 的灭活曲线,通过对模型拟合评价参数的比较,确定 Log-Logistic 模型优于其他两个模型,拟合度最好。此模型是否适用于不同 果蔬中的 PPO 酶射频灭活动力学还有待进一步研究。

参考文献

[1] 易建华,董新玲,朱振宝.PPO 酶促诱发因素对苹果多酚非 酶褐变的影响[J].现代食品科技,2015,2(31):119-127

YI Jian-hua, DONG Xin-ling ZHU Zhen-bao. Effect of polyphenol oxidase (PPO) enzymatic inducing factors on non-enzymatic browning of apple polyphenols [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 2(31): 119-127

[2] 易建华,李美利,朱振宝.苹果多酚对多酚氧化酶氧化特性的影响[J].现代食品科技,2013,11(29): 2601-2606

YI Jian-hua, LI Mei-li, ZHU Zhen-bao. Influence of apple polyphenols on the properties of polyphenol oxidase [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 11(29): 2601-2606

[3] 王云阳.澳洲坚果射频干燥技术研究[D].杨凌:西北农林科 技大学,2012

WANG Yun-yang. Study on radio frequency drying protocol of macadamia nuts [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2012

- [4] Francesco M, Zhang L, James G L. Radio frequency treatment of foods: Review of recent advances [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91(4): 497-508
- [5] 刘嫣红,唐炬明,毛志怀,等.射频-热风与热风处理保鲜白面 包的比较[J].农业工程学报,2009,25(9):323-328
 LIU Yan-hong, TANG Ju-ming, MAO Zhi-huai, et al. Comparison between combined radio frequency and hot air treatment and hot air treatment on bread fresh-keeping [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2009, 25(9): 323-328
- [6] GAO M, TANG J M, WANG Y Y, et al. Pasteurization

Modern Food Science and Technology

2016, Vol.32, No.9

process development for controlling *Salmonella* in in-shell almonds using radio frequency energy [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(2): 299-306

- [7] WANG Y Y, ZHANG L, WANG S J, et al. Developing hot air-assisted radio frequency drying for in-shell macadamia nuts [J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7: 278-288
- [8] 马海乐,王娟,刘斌,等.马铃薯片红外加热灭酶脱水试验及 动力学[J].农业工程学报,2015,31(7):304-310
 MA Hai-le, WANG Juan, LIU Bin, et al. Experiment and dynamics of dehydration and inactivation of enzyme of potato slices by simultaneous infrared dry-blanching [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(7): 304-310
- [9] 易建勇,姜斌,胡小松,等.高静压和热处理对蘑菇多酚氧化 酶的钝化动力学分析[J].农业机械学报,2012,43(9):136-142
 YI Jian-yong, JIANG Bin, HU Xiao-song, et al. Effect of high hydrostatic pressure and heat treatment on PPO inactivation and kinetic analysis [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(9): 136-142
- [10] Latorre M E, Bonelli P R, Rojas A M, et al. Microwave inactivation of red beet (*Beta vulgaris* L. var. conditiva) peroxidase and polyphenol oxidase and the effect of radiation on vegetable tissue quality [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 109(4): 197-203
- [11] 马海乐,黄六容,朱春梅.多酚氧化酶高强度脉冲磁场灭活 及动力学模型[J].农业工程学报,2010, 26(S1):325-328

MA Hai-le, HUANG Liu-rong, ZHU Chun-mei. Inactivation of polyphenol oxidase by high-intensity pulsed magnetic field and kinetic model [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2010, 26(S1): 325-328

- [12] Manzocco L, Anese M, Nicoli M C. Radiofrequency inactivation of oxidative food enzymes in model systems and apple derivatives [J]. Food Research International, 2008, 41(10): 1044-1049
- [13] Matsui K N, Gut J A W, Tadini C C, et al. Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing [J]. Journal of Food Engineering, 2008, 88(2): 169-176
- [14] Huang K, Wwng J, Gai L, et al. A review of kinetic models for inactivating microorganisms and enzymes by pulsed electric field processing [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 111(2): 191-207
- [15] Álvarez I, Virto R, Raso J, et al. Comparing predicting models for the *Escherichia coli* inactivation by pulsed electric fields [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2003, 4: 195-202
- [16] WANG Y Y, ZHANG L, WANG S J, et al. Evaluating radio frequency heating uniformity using polyurethane foams [J]. Journal of Food Engineering, 2014, 136: 28-33
- [17] Jiao Y, Tang J M, Wang S J, et al. Influence of dielectric properties on the heating rate in free-running oscillator radio frequency systems [J]. Journal of Food Engineering, 2014, 120: 197-203