

远红外辐射对山药多酚氧化酶活性及构象的影响

Effects of far-infrared radiation on activity and conformation of polyphenol oxidase of yam

韩彦辉¹ 钟靖涵¹ 孙 雪¹ 刘云宏^{1,2,3}

HAN Yan-hui¹ ZHONG Jing-han¹ SUN Xue¹ LIU Yun-hong^{1,2,3}

(1. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471000; 2. 食品绿色加工与质量安全控制河南省国际联合实验室, 河南 洛阳 471000; 3. 食品微生物河南省工程技术研究中心, 河南 洛阳 471000)

(1. School of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China; 2. Food Green Processing and Quality and Safety Control of Henan Province International Joint Laboratory, Luoyang, Henan 471000, China; 3. Food Microbiology Engineering and Technology Research Center of Henan Province, Luoyang, Henan 471000, China)

摘要:目的:探讨远红外辐射加热对山药多酚氧化酶活性及构象的影响。方法:采用不同的远红外辐射温度对山药进行预处理,研究不同远红外辐射温度对山药多酚氧化酶(PPO)活性、褐变度、总酚含量及 PPO 构象的影响。结果:当辐射温度为 260 ℃ 时,处理 11 min 后 PPO 酶活仍未钝化,辐射温度高于 260 ℃ 时,PPO 在 3~7 min 内即可失活;褐变度与总酚含量不随辐射温度的升高和处理时间的增加而规律性变化。经远红外预处理后,随着辐射温度的升高,无规则卷曲和 α -螺旋含量有轻微的变化, β -转角减少, β -折叠增加,表明远红外改变了 PPO 的二级结构。PPO 紫外光谱蓝移,荧光光谱红移,表明 PPO 三级结构发生改变。结论:远红外辐射加热能改变山药中 PPO 构象并有效钝化 PPO 活性。

关键词:远红外辐射;山药;多酚氧化酶;酶活性;构象

Abstract: Objective: This study aimed to investigate the effect of far infrared radiation heating on the oxidase activity and conformation of polyphenol oxidase (PPO) of yam. Methods: By using different far infrared radiation temperatures, the effects of different far infrared radiation temperatures on yam PPO activity, browning degree, total phenol content and PPO conformation were studied. Results: When the radiation temperature is 260 ℃ PPO enzyme is not deactivated after 11 min. When the radiation temperature is higher than 260 ℃, PPO can be inactivated within 3~7 min. However, the browning

degree and total phenol content did not change regularly with the increase of radiation temperature and treatment time. After far-infrared pretreatment, the contents of random curling and α -helix changed slightly with the increase of radiation temperature, while β -angle decreased and β -folding increased, indicating that far-infrared radiation changed the secondary structure of PPO. The ultraviolet spectrum of PPO shifted blue and fluorescence spectrum shifted red, indicating that the tertiary structure of PPO changed. Conclusion: Far-infrared radiation heating can change the conformation of yam PPO and eventually deactivate it. Keywords: far-infrared radiation; yam; polyphenol oxidase; enzyme activity; conformation

山药(*Dioscorea opposita* Thunb.)是常用的药食同源植物。山药组织中含有丰富的多酚氧化酶(PPO),PPO 是一种普遍存在于果蔬中的酶,与食品品质密切相关^[1]。当山药组织受到伤害,PPO 与酚类物质接触,在氧气的参与下极易发生酶促褐变,从而影响山药产品色泽及品质,山药加工前需采取有效措施来钝化 PPO 以抑制酶促褐变。目前常用漂烫、蒸汽、化学试剂抑制等方法钝酶,但这些方法存在产品品质差、处理时间长等缺点。远红外辐射是利用红外辐射能对食品进行干燥的加工方法,具有干燥速率快、物料能均匀受热、减少干燥时间等优点,在干燥物料的同时远红外还具有灭菌和抑制酶促反应发生的作用^[2]。罗曜等^[3]发现,红外辐射在干燥的同时钝化了稻谷中的 PPO 酶活性,且保存较长时间后仍能维持良好的品质。Wu 等^[4]研究表明,远红外辐射能够钝化土豆片中 90% 以上的酶活。Zhang 等^[5]发现,远红外辐射在钝化中国毛虾中的 PPO 的同时,还能提高其表

基金项目:河南省科技攻关项目(编号:212102110080);河南省高校科技创新人才项目(编号:19HASTIT013)

作者简介:韩彦辉,女,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:刘云宏(1975—),男,河南科技大学教授,博士。

E-mail: beckybin@haust.edu.cn

收稿日期:2022-10-26 **改回日期:**2023-03-18

面疏水性和巯基含量。张琥等^[6]测定了红外辐射预处理后马铃薯多酚氧化酶的二级结构,结果显示红外改变了PPO的二级结构,其构象发生了变化。目前对远红外辐射加热预处理的研究多集中于脱水和钝酶,利用多种光谱技术分析远红外辐射加热对PPO构象变化的研究尚未见报道。研究拟采用不同远红外辐射温度对山药进行远红外辐射预处理,探讨远红外辐射对山药PPO活性、褐变度和总酚含量的影响,并分别利用紫外—可见光谱、傅里叶变换红外光谱、荧光光谱对PPO进行扫描,通过PPO的光谱图谱研究远红外辐射对PPO构象的影响,从分子角度研究远红外辐射钝酶机理,并结合远红外辐射对酶及褐变相关指标的影响,判断远红外辐射钝酶效果,旨在为远红外辐射钝酶提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

山药:表皮无损伤,市售;

邻苯二酚:分析纯,上海强顺化学试剂有限公司;

福林酚试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠:分析纯,天津市德恩化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

远红外真空干燥箱:BPZ-6090LC型,上海聚辰科学仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-4800型,尤尼柯上海仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-2600型,日本岛津公司;

傅里叶变换中远红外光谱仪:VERTEX70型,德国BRUKER公司;

荧光分光光度计:Cary eclipse型,美国安捷伦公司;

高速离心机:TG16-WS型,湘仪离心机仪器有限公司;

真空冷冻干燥机:FD-1A-50型,北京博医康实验仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 山药预处理 将远红外辐射干燥箱中红外辐射板温度分别设置为260,290,320,350,380℃,远红外辐射距离固定为10 cm。待温度稳定后,将新鲜怀山药清洗去皮,切成厚度约为5 mm的山药片,将切好的山药片立即放置于远红外辐射干燥箱内,分别在不同辐射温度下处理13,5,7,9,11 min,预处理结束立即将山药冰浴,防止余热继续钝化酶活。

1.3.2 PPO的提取及酶活性测定 参考袁根良等^[7]的方法,略有改动。将山药与磷酸缓冲液(0.05 mol/L, pH 6.8)以 $m_{\text{山药}}:V_{\text{磷酸缓冲液}}$ 为1:4(g/mL)混合,冰浴条件下研磨成匀浆,10 000 r/min离心15 min,上清液为PPO酶液,记录酶液总体积。依次向试管中加入2 mL磷酸缓冲液、1 mL 0.2 mol/L邻苯二酚,再加入0.1 mL

酶液后迅速摇匀,立即放入紫外分光光度计中,开始计时,每30 s记录一次398 nm处的吸光度,共记录3 min。以不加酶液的试管为空白对照,以每分钟吸光度变化0.01为一个酶活力单位。PPO酶活性及酶残留活性计算:

$$E_A = \frac{\Delta A_{398} \times V_T}{W \times V_S \times 0.01 \times t}, \quad (1)$$

$$E_R = \frac{E_{\text{FIR}}}{E_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

E_A ——PPO酶活性,U/mL;

$\Delta A_{398 \text{ nm}}$ ——反应时间内吸光度的变化;

V_T ——提取出的酶液总体积,mL;

W ——所用的山药质量,g;

V_S ——测定酶活时所需酶液体积,mL;

t ——测定时间,min;

E_R ——酶残留活性,%;

E_{FIR} ——远红外处理后酶活性,U/mL;

E_0 ——未远红外处理的酶活性,U/mL。

1.3.3 酶钝化动力学 酶钝化一般遵循一级动力学^[8],酶的钝化动力学可采用一级动力学方程表示:

$$\ln\left(\frac{A_t}{A_0}\right) = -kt, \quad (3)$$

$$D = \frac{2.303}{k}, \quad (4)$$

式中:

A_t ——处理 t 时刻的PPO酶活,U/mL;

A_0 ——新鲜山药的PPO酶活,U/mL;

k ——远红外处理时的失活速率常数;

t ——远红外预处理时间,min;

D ——使酶活降低90%所需的时间,min。

1.3.4 总酚含量测定 参考李宁^[9]的方法稍有修改。钝酶结束时即停止加热,测定钝酶过程中山药总酚含量。将经不同辐射温度预处理后的山药与70%乙醇以 $m_{\text{山药}}:V_{70\% \text{乙醇}}$ 为1:4(g/mL)打浆,10 000 r/min离心10 min,上清液为总酚提取液。取1 mL上清液,2 mL蒸馏水,0.25 mL福林酚试剂于试管中混匀,再加入1.5 mL 5% Na_2CO_3 混匀,暗处平衡2 h,以不加提取液的试管为空白对照,测定765 nm处吸光度。各样品重复测定3次,总酚含量用mg(没食子酸)/100 g表示。

1.3.5 褐变度测定 参考唐金蕾等^[10]的方法略有修改。研钵中放入1 g山药与10 mL蒸馏水,研磨成匀浆,10 000 r/min离心5 min,将上清液置于25℃水浴锅中保温5 min,测定410 nm处吸光度,以此吸光度作为褐变度。

1.3.6 紫外—可见光谱扫描 参考吴咏等^[11]的方法,将1.3.2中提取的PPO酶液冻干,冻干粉溶于磷酸盐缓冲液中(pH 6.8,0.01 mol/L),配制成质量浓度为1.0 mg/mL的酶溶液。将磷酸盐缓冲液的光谱作为空白光谱。

1.3.7 傅里叶变换红外光谱扫描 参考吴咏等^[11]的方法,将 1.3.6 中冻干粉以 $m_{\text{冻干粉}} : m_{\text{KBr}}$ 为 1 : 100 与 KBr 混合研磨、压片,将 KBr 作为空白对照,扫描波数为 $4\,000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$ 、分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.3.8 荧光光谱扫描 参考周磊等^[12]的方法稍有修改。对 1.3.6 配置的酶溶液进行荧光光谱扫描。扫描波长为 $280 \sim 450\text{ nm}$,激发波长 270 nm ,狭缝宽度 10 nm ,扫描速度、电压设为 Medium,以磷酸盐缓冲液为空白。

1.4 数据分析

采用 SPSS 26 和 Excel 软件处理数据及方差分析,使用 Origin Pro 9.1 软件绘图,傅里叶变换红外光谱谱图采用 OMNIC、peakfit 处理。

2 结果与分析

2.1 对山药 PPO 活性的影响

2.1.1 PPO 活性 由图 1 可知,不同辐射温度处理下 PPO 酶活性变化差异显著($P < 0.05$)。辐射温度越高,酶活性下降越快。钝酶初期,辐射温度越低,酶活下降越慢,可能是较低的辐射温度更接近酶的最适温度,从而产生不好的钝酶效果,与 Zhou 等^[13]的研究结果类似。当辐射温度为 $260\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,远红外处理 11 min 后仍无法将 PPO 酶钝化,酶残留活性为 35.54% ,此温度钝酶所需时间较长,不适合实际生产。当辐射温度为 $320\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,远红外辐射处理 5 min 后即可将酶残留活性降至 35.54% 以下,因此辐射温度越高,钝酶速度越快,表明辐射温度升高能显著缩短钝酶时间,与吴倩等^[14]的结果一致。当辐射温度为 $380\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,远红外处理 3 min 后酶残留活性为 17.96% ,处理 5 min 后酶残留活性降至 1.95% ,与紫外光谱结果相同,当辐射时间超过 5 min ,紫外吸光度增加,此时 PPO 失活,表明酶失活可能是由于三级结构发生了变化。综上,当辐射温度较高时,能在短时间内将 PPO 酶钝化,表明远红外有较好的钝酶效果,PPO 失活与其结构变化有关。

2.1.2 酶钝化动力学分析 由表 1 可知,不同远红外辐射温度处理下 PPO 酶钝化动力学参数差异显著($P < 0.05$)。随着辐射温度的升高,失活速率常数 k 值逐渐增

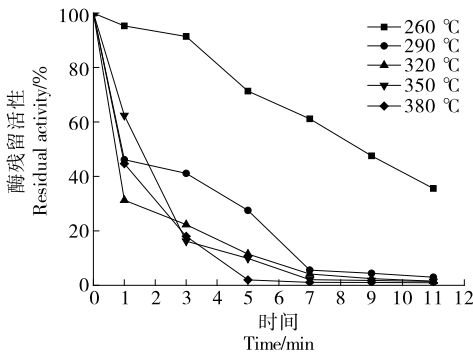


图 1 不同远红外辐射温度处理后 PPO 活性变化
Figure 1 Changes in PPO activity after treatment with different far-infrared radiation temperatures

表 1 不同远红外辐射温度处理后酶活钝化动力学参数[†]
Table 1 Kinetic parameters of thermal inactivation of PPO

辐射温度/ $^{\circ}\text{C}$	k/min^{-1}	D/min	R^2
260	$0.082\,3 \pm 0.004\,8^{\text{e}}$	$28.030\,2 \pm 1.658\,0^{\text{a}}$	$0.964\,9$
290	$0.339\,8 \pm 0.006\,0^{\text{d}}$	$6.778\,5 \pm 0.118\,6^{\text{b}}$	$0.974\,4$
320	$0.419\,0 \pm 0.011\,7^{\text{c}}$	$5.499\,6 \pm 0.155\,0^{\text{bc}}$	$0.973\,5$
350	$0.449\,7 \pm 0.009\,1^{\text{b}}$	$5.122\,2 \pm 0.102\,8^{\text{c}}$	$0.972\,9$
380	$0.530\,7 \pm 0.032\,4^{\text{a}}$	$4.349\,6 \pm 0.256\,4^{\text{c}}$	$0.947\,5$

[†] 字母不同表示差异显著($P < 0.05$); k , 酶失活速率; D , 酶活钝化 90% 所需时间。

大, D 值逐渐减小,与王富海^[15]的结论类似。当辐射温度由 $260\text{ }^{\circ}\text{C}$ 上升至 $380\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, k 值由 0.08 逐渐升高至 0.53 , k 值越大,酶失活速率越快,说明升高温度能加快钝酶速率。当辐射温度为 $260, 290\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, D 值分别为 $28.03, 6.78$,辐射温度升高明显降低了 D 值。 D 值越小,表示 PPO 酶对温度越敏感^[15],因此辐射温度越高 PPO 越敏感,酶越容易被钝化,且钝化酶活能力越强。 R^2 均在 0.94 以上,表明酶失活与远红外辐射温度呈良好的线性关系,PPO 的失活遵循一级动力学方程,模型拟合效果较好。李晓芳^[16]采用远红外辐射对金银花进行灭酶同步脱水处理,结果表明一级动力学可以很好地拟合金银花 PPO 酶的失活规律。

2.2 对山药褐变度的影响

由图 2 可知,不同辐射温度处理下山药褐变度差异显著($P < 0.05$)。山药褐变度不随辐射温度或处理时间的变化而有规律地变化。与新鲜山药相比,辐射温度为 $260, 290\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时褐变程度较轻,但 PPO 酶未被钝化,在后续干燥加工过程仍有加重褐变的可能。当辐射温度为 $320, 350\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,虽然酶活能更快被钝化,但较高的辐射温度容易诱发非酶褐变,使褐变度增加。当辐射温度为 $380\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,褐变度先增加后降低,从处理 7 min 时开始逐渐降低,此时酶活已被完全钝化,无法有效催化酚类物质氧化降解^[1],因此褐变程度轻。根据辐射温度对酶活和褐变度的影

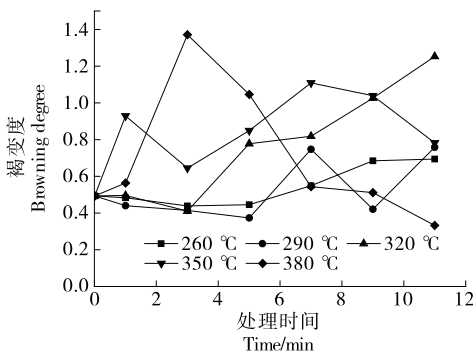


图 2 不同远红外辐射温度处理后山药的褐变度
Figure 2 Browning degree of yam treated with different far-infrared radiation temperature

响,并结合实际生产需要,选择钝酶时间短且褐变度轻的加工条件,即辐射温度为 320 ℃,处理时间为 5 min。

2.3 对山药总酚含量的影响

由图 3 可知,不同辐射温度处理下山药总酚含量差异显著($P<0.05$)。当辐射温度为 260 ℃时,总酚含量在处理 9 min 后升至最高,随后下降,此时酶未失活,PPO 和总酚在氧气的作用下会发生酶促褐变,使山药品质变差。当辐射温度高于 290 ℃时,总酚含量明显升高,Wi 等^[17]发现远红外辐射能够破坏膜的完整性,Yao 等^[18]猜测远红外辐射可以破坏结合力弱的共价键,释放并激活植物中的小分子酚类化合物,导致酚类物质含量增加,因此推断总酚含量增加可能是由于远红外辐射温度升高,山药细胞以及其中的共价键被破坏,使更多的酚类物质从细胞中流出。当辐射温度为 380 ℃时,总酚含量随处理时间的延长而减少,且低于 320,350 ℃下的,与石晓微等^[19]的研究结果类似,这一现象可能是过高的辐射温度能明显提升酚类物质降解速率^[20]。综上,总酚含量随辐射温度的升高呈先升高后降低的趋势。辐射温度过低,酶活未被完全钝化,容易发生酶促褐变;而辐射温度过高虽能有效钝化酶活,但也会加快酚类物质的降解损失。

2.4 对 PPO 酶结构的影响

2.4.1 紫外—可见光谱扫描 蛋白质的构象关系到氨基酸残基所处的微环境,氨基酸残基所处的微环境随蛋白质构象的变化而改变,其紫外光谱可以表征微环境的变化^[21]。由图 4 可知,当辐射温度为 260,290 ℃时,PPO 紫外吸光度和峰位与新鲜山药相比变化不大,可能是此温度还不足以对 PPO 结构产生显著影响。当辐射温度

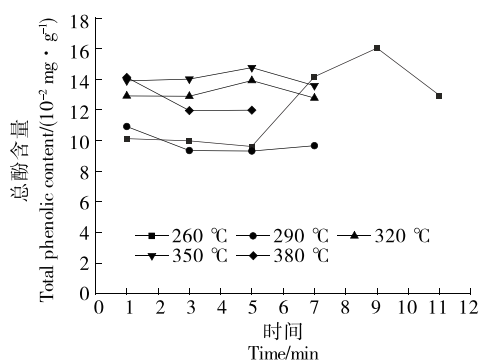


图 3 不同远红外辐射温度处理过程中山药的总酚含量
Figure 3 Total phenolic content of yam at different far-infrared radiation temperature

为 320,350 ℃时,PPO 紫外吸光度高于新鲜山药,峰形基本一致。当温度为 380 ℃时其峰位发生蓝移,紫外吸光度明显高于新鲜山药,且光谱谱图形状发生了明显变化,趋向于一条平滑的曲线,色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸的吸收峰基本消失,表明这几种氨基酸含量减少^[22]。根据 Zhou 等^[23]的分析推断紫外吸收强度增加可能是远红外导致了色氨酸(Trp)和酪氨酸(Tyr)残基的暴露,PPO 的蛋白肽链由折叠态转变为去折叠态;蓝移现象说明氨基酸残基所处的微环境被改变,表明 PPO 的三级结构发生了变化^[21]。

2.4.2 傅里叶变换红外光谱扫描 蛋白质中的 α -螺旋、 β -转角、 β -折叠及无规则卷曲可以通过红外光谱反映出二级结构的变化,因此可通过傅里叶变换红外光谱扫描获得红外光谱并计算 4 种结构的含量,判断 PPO 的二级结构变化^[5]。由图 5 可知,新鲜山药(处理时间 0 min)中无

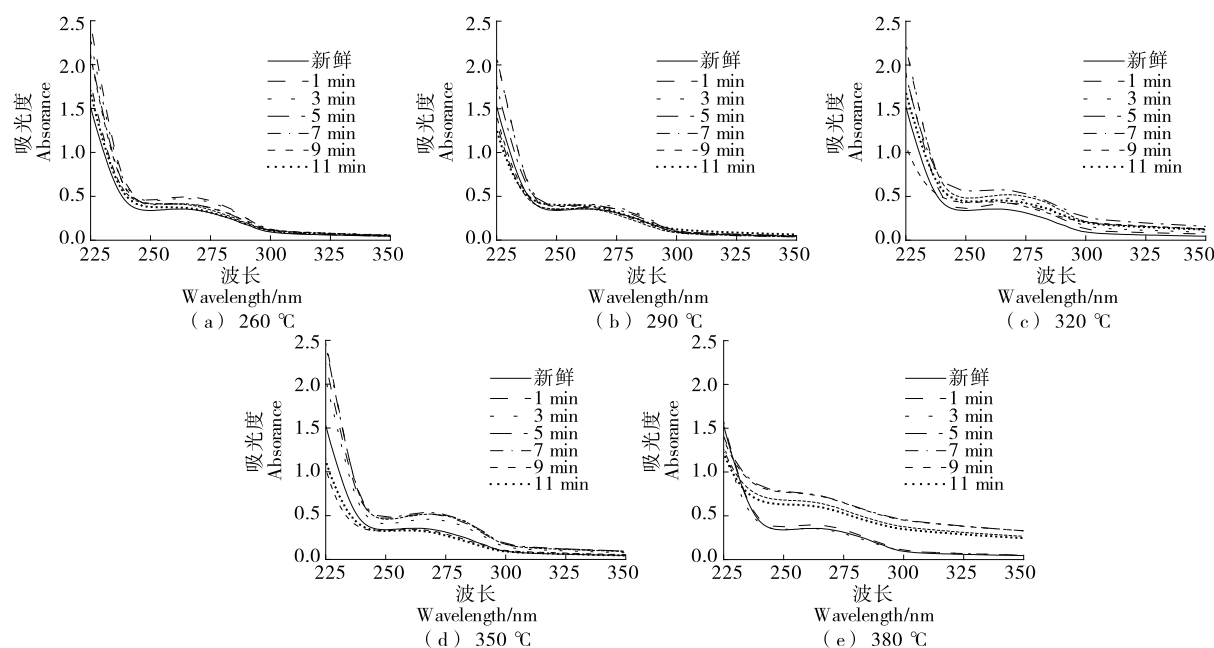


图 4 不同远红外辐射温度处理后 PPO 紫外光谱

Figure 4 UV spectrum of PPO treated at different far-infrared radiation temperatures

规则卷曲占比为 14%， α -螺旋为 15%， β -转角为 38%， β -折叠为 34%。随着辐射温度的升高，山药 PPO 酶的无规则卷曲和 α -螺旋结构含量有微小变化，远红外对 PPO 二级结构的影响主要表现为 β -转角和 β -折叠占比的变化。当远红外辐射温度为 260 °C 时，随着辐射处理时间的延长， β -转角占比由 36% 升至 46%， β -折叠占比由 34% 降至 28%；当辐射温度高于 260 °C 时，随着辐射处理时间的变化， β -转角占比在 26% 与 43% 之间不规则的浮动，总

体呈下降趋势； β -折叠占比增加，在 28% 与 46% 之间浮动，与新鲜山药相比均发生了变化。 α -螺旋和 β -折叠的作用主要为维持蛋白质的结构^[24]， β -转角含量变化可以改变 PPO 残基的自由度，其含量发生变化表明远红外辐射改变了 PPO 酶的二级结构。

2.4.3 荧光光谱扫描 酶三级结构的变化与固有荧光发射的变化有关^[25]。由氨基酸残基的变化引起的荧光光谱变化可直接反映酶三级结构的变化^[26]。由图 6 可知，与

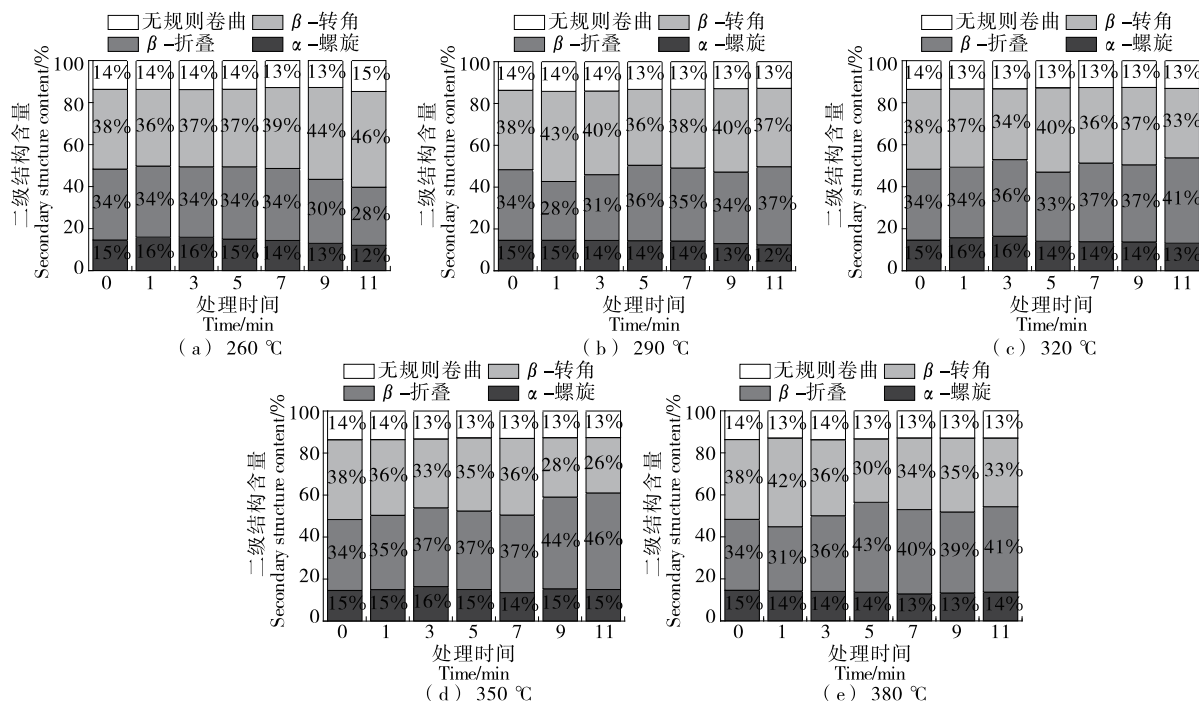


图 5 不同远红外辐射温度处理后 PPO 的二级结构含量

Figure 5 Secondary structure content of PPO treated at different far-infrared radiation temperatures

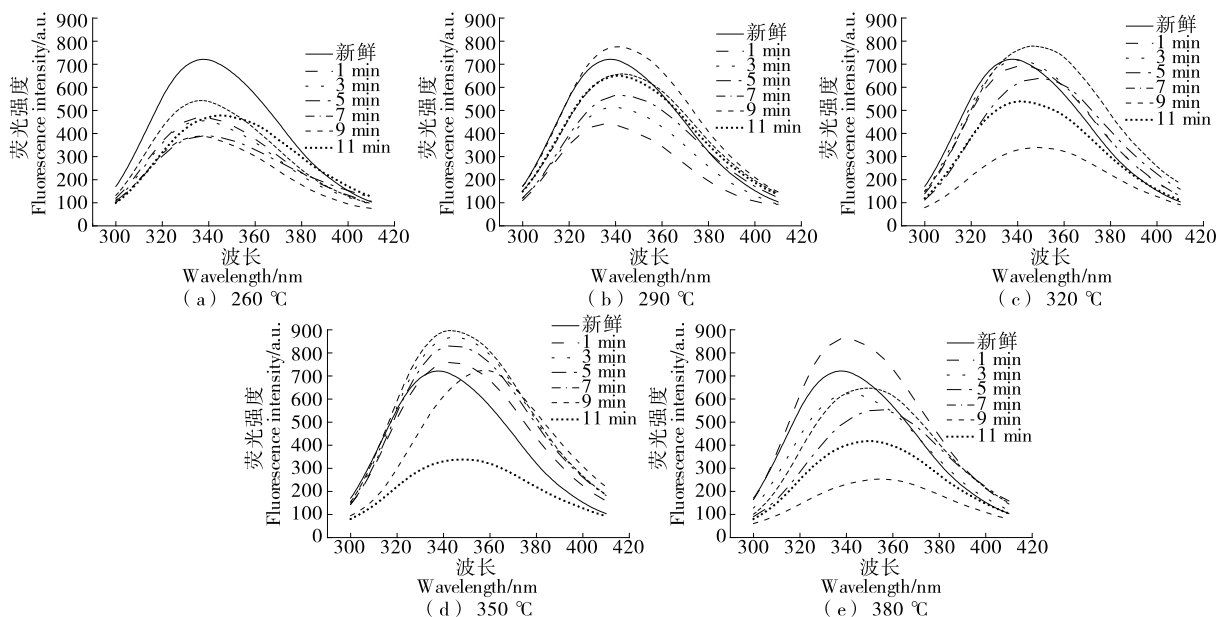


图 6 不同远红外辐射温度处理后 PPO 的荧光光谱

Figure 6 Fluorescence spectra of PPO treated at different far-infrared radiation temperatures

新鲜山药相比,经远红外辐射加热预处理后的山药 PPO 的荧光强度和最大发射峰都有不同程度的变化,且辐射温度越高,变化越明显,可能是温度升高导致氨基酸残基暴露,PPO 出现去折叠现象,使荧光强度降低和最大荧光发射峰发生移动^[17]。当辐射温度为 290 ℃ 时,荧光强度低于新鲜山药,随处理时间的延长呈先降低后升高的趋势。当辐射温度为 350 ℃ 时,与新鲜山药相比,荧光强度有所升高,可能是由于 PPO 在此温度下形成了聚集体,阻止荧光强度降低,与 Zhou 等^[18]的结果类似。其余温度处理后 PPO 荧光强度降低,且辐射温度越高,处理时间越长,荧光强度下降越明显,可能是远红外热效应使酶的疏水性残基暴露,导致荧光强度降低。PPO 荧光光谱最大荧光发射峰有不同程度的红移,根据 Murtaza 等^[27]的研究结论推测远红外导致荧光基团暴露于更极性的环境,从而导致酶的三级结构被破坏。PPO 荧光光谱谱图的变化均表明远红外辐射能在一定程度上破坏酶的三级结构。

3 结论

研究了远红外辐射加热对山药多酚氧化酶活性、褐变度、总酚含量及构象的变化。结果表明,辐射温度越高,钝酶所需时间越短,当辐射温度高于 260 ℃ 时,5~7 min 即可将多酚氧化酶活彻底钝化,说明远红外辐射有较好的钝酶效果。当辐射温度较低时,酶活未被钝化,山药褐变度高,辐射温度过高时会引起非酶褐变,使山药品质劣变。根据多酚氧化酶酶活和褐变度结果,结合实际生产需要,选择在辐射温度 320 ℃ 下处理 5 min 作为最合适的预处理条件。随着辐射温度的升高,总酚含量增加,辐射温度低不利于实际生产,辐射温度过高会使酚类物质降解。辐射温度越高,紫外吸光度升高越明显,峰形也逐渐消失,谱图发生了不同程度的蓝移;多酚氧化酶无规则卷曲和 α -螺旋含量有轻微的变化, β -转角减少、 β -折叠增加,荧光强度有升高和降低现象,荧光光谱发生了红移,这些均表明远红外辐射加热处理后多酚氧化酶二三级结构被一定程度的破坏,其构象发生变化。后续还需对同步脱水机制以及脱水对钝酶的影响进行深入探究。

参考文献

- [1] ZHAO K, XIAO Z, ZENG J, et al. Effects of different storage conditions on the browning degree, PPO activity, and content of chemical components in fresh *Lilium* Bulbs (*Lilium brownii* F.E. Brown var. *viridulum* Baker.)[J]. Agriculture, 2021, 11(2): 1-18.
- [2] 于贤龙, 褚斌, 肖红伟, 等. 红外辐射食品热处理机制及应用研究进展[J]. 食品与机械, 2022, 38(4): 213-219.
- YU X L, CHU B, XIAO H W, et al. Advance in research on heat treatment mechanism of infrared radiation and its application in foods[J]. Food & Machinery, 2022, 38(4): 213-219.

- [3] 罗曜, 杜安林, 夏宝林, 等. 红外辐射对储藏稻谷脂质、淀粉及相关酶的影响[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(4): 100-106.
- LUO Y, DU A L, XIA B L, et al. Effects of infrared radiation on lipid, starch and related enzyme of stored rice[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020, 35(4): 100-106.
- [4] WU B, WANG J, GUO Y, et al. Effects of infrared blanching and dehydrating pretreatment on oil content of fried potato chips[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2018, 42(3): e13531.
- [5] ZHANG J, ZHOU G, CHEN L, et al. Effect of infrared radiation on activity and conformation of polyphenol oxidase from *Acetosa chinensis*[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(10): 4 500-4 510.
- [6] 张璇, 王金勇. 红外与漂烫处理下马铃薯多酚氧化酶的失活机理研究[J]. 食品工业, 2017(2): 9-13.
- ZHANG H, WANG J Y. Study on inactivation mechanism of potato PPO under infrared processing and blanching processing[J]. The Food Industry, 2017(2): 9-13.
- [7] 袁根良, 杨公明, 余铭, 等. 超高压处理对香蕉果肉多酚氧化酶和过氧化物酶活性抑制的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 64-68.
- YUAN G L, YANG G M, YU M, et al. Inhibitory effect of ultra-high pressure treatment on polyphenol oxidase and peroxidase activities in banana pulp[J]. Food Science, 2010, 31(10): 64-68.
- [8] 苗文娟, 何鑫, 夏玥, 等. 滁菊多酚氧化酶和过氧化物酶热钝化动力学研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(13): 9-14.
- MIAO W J, HE X, XIA Y, et al. Thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase from Chujin[J]. Food Research and Development, 2021, 42(13): 9-14.
- [9] 李宁. 鲜切鸡皮糙山药酶促褐变及其控制研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013: 14.
- LI N. Enzymatic browning of fresh-cut Jipicao yam and its control methods[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2013: 14.
- [10] 唐金蕾, 陈媛媛, 程代, 等. 复合保鲜液对鲜切山药的护色保鲜作用[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(3): 212-220.
- TANG J L, CHEN Y Y, CHENG D, et al. Effect of compound preservation liquid on color protection and preservation of fresh-cut yam [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(3): 212-220.
- [11] 吴咏, 金建, 付秀丽, 等. 超声波、紫外线、超声波联合紫外线对鲜切香菇多酚氧化酶与过氧化物酶的钝化及其机理研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(20): 20-25.
- WU Y, JIN J, FU X L, et al. Effects of ultrasound, ultraviolet, ultrasound synchronized ultraviolet on the inactivation of polyphenol oxidase and peroxidase of fresh-cut *Lentinus edodes* and its mechanisms[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(20): 20-25.
- [12] 周磊, 邹立强, 刘伟, 等. 热处理对蘑菇多酚氧化酶活性及结构的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(17): 160-164.
- ZHOU L, ZOU L Q, LIU W, et al. Effect of heat treatment on activity and conformation of mushroom polyphenol oxidase[J]. Food Science, 2014, 35(17): 160-164.
- [13] ZHOU L, LIU W, ZOU L, et al. Aggregation and conformational

- change of mushroom (*Agaricus bisporus*) polyphenoloxidase subjected to thermal treatment [J]. *Food Chemistry*, 2017, 214: 423-431.
- [14] 吴倩, 余元善, 刘淑媚, 等. 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[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(2): 157-162.
- WU Q, YU Y S, LIU S M, et al. Inhibitors of polyphenol oxidase and peroxidase in olive and their thermal inactivation kinetics[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(2): 157-162.
- [15] 王富海. 丽江雪桃中两种形态多酚氧化酶的酶学性质和钝化效果的研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2021: 40-45.
- WANG F H. Enzymatic properties and passivation effects of two forms of polyphenol oxidase from Lijiang snow peaches [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2021: 40-45.
- [16] 李晓芳. 金银花远红外辐射干燥及品质特性研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2018: 44-45.
- LI X F. Research on the drying and quality characteristics of far-infrared radiation drying of flos *lonicerae* [D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2018: 44-45.
- [17] WI S G, CHUNG B Y, KIM J S, et al. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants[J]. *Micron*, 2007, 38(6): 553-564.
- [18] YAO L, FAN L, DUAN Z. Effect of different pretreatments followed by hot-air and far-infrared drying on the bioactive compounds, physicochemical property and microstructure of mango slices[J]. *Food Chemistry*, 2020, 305: 125477.
- [19] 石晓微, 刘云宏. 超声-远红外辐射干燥对香蕉片品质的影响[J]. *食品与机械*, 2021, 37(1): 204-209.
- SHI X W, LIU Y H. Effects of ultrasound combined far-infrared radiation drying on the quality of banana slices [J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(1): 204-209.
- [20] LIU Y, SUN C, LEI Y, et al. Contact ultrasound strengthened far-infrared radiation drying on pear slices: Effects on drying characteristics, microstructure, and quality attributes [J]. *Drying Technology*, 2019, 37(6): 745-758.
- [21] 武丹露, 杨利珠, 张燕茹, 等. 超声波和加热处理对三疣梭子蟹肝胰腺丝氨酸蛋白酶的影响[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2018, 48(10): 18-25.
- WU D L, YANG L Z, ZHANG Y R, et al. Effects of ultrasound and heat treatments on the activity of serine protease in hepatopancreas from swimming crab (*Portunus trituberculatus*) [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2018, 48(10): 18-25.
- [22] 樊佳玫. 甘油对秘鲁鲑鱼肌原纤维蛋白质构象及鱼糜凝胶的影响[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2019: 12-13.
- FAN J M. Effect of glycerol on myofibrillary protein conformation and surimi gel of Peru [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2019: 12-13.
- [23] ZHOU L, LIU W, XIONG Z, et al. Effect of ultrasound combined with malic acid on the activity and conformation of mushroom (*Agaricus bisporus*) polyphenoloxidase [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2016, 90: 61-68.
- [24] 王文宗, 李琳, 林鸿佳, 等. 超声波对多酚氧化酶酶活力的影响及其机理[J]. *食品科学*, 2010, 31(17): 331-334.
- WANG W Z, LI L, LIN H J, et al. Effect and mechanisms of ultrasonic treatment on polyphenol oxidase activity [J]. *Food Science*, 2010, 31(17): 331-334.
- [25] IQBAL A, MURTAZA A, MUHAMMAD Z, et al. Inactivation, aggregation and conformational changes of polyphenol oxidase from quince (*Cydonia oblonga* Miller) juice subjected to thermal and high-pressure carbon dioxide treatment[J]. *Molecules*, 2018, 23(7): 1743.
- [26] CHENG L, ZHU Z, SUN D W. Impacts of high pressure assisted freezing on the denaturation of polyphenol oxidase [J]. *Food Chemistry*, 2021, 335: 127485.
- [27] MURTAZA A, IQBAL A, LINHU Z, et al. Effect of high-pressure carbon dioxide on the aggregation and conformational changes of polyphenol oxidase from apple (*Malus domestica*) juice [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, 54: 43-50.

(上接第 48 页)

- [14] HAJIBABAEI M, SINGER G A C, HEBERT P D N, et al. DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics[J]. *Trends in Genetics*, 2007, 23(4): 167-172.
- [15] IVANOVA N V, DEWAARD J R, HEBERT P D N. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA[J]. *Molecular Ecology Notes*, 2006, 6: 998-1002.
- [16] 吕二盼, 周正, 周巍, 等. 动物源性食品鸭血、猪血 DNA 提取及多重 PCR 鉴别研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(16): 228-231.
- LU E P, ZHOU Z, ZHOU W, et al. DNA extraction and multiple PCR distinction research of animal food duck blood and pig blood [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(16): 228-231.
- [17] LI T T, JALBANI Y M, ZHANG G L, et al. Detection of goat meat adulteration by real-time PCR based on a reference primer[J]. *Food Chemistry*, 2019, 277: 554-557.
- [18] SOARES S, AMARAL J S, MAFRA I, et al. Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay[J]. *Meat Science*, 2010, 85(3): 531-533.
- [19] ASMAA G K. Multiplex PCR and 12Sr RNA gene sequencing for detection of meat adulteration: A case study in the Egyptian markets[J]. *Gene*, 2021, 764: 14502.
- [20] HASSAN B, HODA A S E, MAHMOUD M A. Detection of pork adulteration in processed meat by species-specific PCR-QIAxcel procedure based on D-loop and cytb genes [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98: 9805-9816.