

旋转。在翻料板作用下,麦根与麦芽分离,由出口 17 进入收集装置。最后成品麦芽经出料口 16 进入麦芽收集装置。

### 3 硬件设计

硬件框图见图 2。主机采用 8031 单片机,加上 EPROM(2764 或 27128)、RAM(6116 或 6264)组成单片微机的基本系统。用 74LS 系列芯片和两片 8255 作 I/O 口,通过 P<sub>2</sub> 口的 P<sub>2.5</sub>、P<sub>2.6</sub>、P<sub>2.7</sub> 线经 74LS138 译码,与 RD 或 WR 信号相或后分别作为这些 I/O 的选通信号。其中数码管显示和键盘用 74LS273 和 244 作为 I/O 口,8255 的 C 口作为“控制字”输出口至驱动电路,B 口作为多路开关的选通口,A/D 变换片(MC14433)也采用 74LS244 作为缓冲输入。第二片 8255 的 C 口送出数据,B 口作为选通信号。由于 0832 有锁存器,所以只要在 PID

运算程序每一路运算结束时将结果由 8255 输出即可。

### 4 软件设计

说程序包括设定初值、各配置初始化等,是根据发芽工艺流程制定的,基本顺序为:浸麦发芽→干燥→除根。程序的总体框图见图 3。

子程序有浸麦、温控、湿度控制、风量控制、模数转换等。

#### 参考文献

- 1 封守业等. 麦芽工艺学. 济南出版社,1991.
- 2 沈德金、陈粤初等. MCS—51 系列单片机接口电路与应用程序实例. 北京航空航天大学出版社,1990.
- 3 周明德. 微型计算机硬件、软件及其应用. 清华大学出版社,1982.

## 生物方法降低食品中胆固醇的研究趋势

张佳程 骆承痒

东北农业大学食品科学系 哈尔滨 150030

**摘 要** 利用生物方法降低食品中胆固醇的途径一般有两种;一是微生物的直接培养;二是利用微生物胆固醇氧化酶(EC 1.1.3.6)的转化作用。本文对比了两种途径并认为后者具有效率高和产物单一的特点,在实际中应用潜力较大;阐述了蛋黄和乳中胆固醇的酶法转化作用;并对今后该领域的研究方向提出了建议。

**关键词** 胆固醇 胆固醇氧化酶 乳 蛋黄

**Abstract** Biological approaches for removing cholesterol from foods have become a challenging research objective. Two biological approaches are reviewed in this paper. One is directly bacterial fermentation; the other is use of cholesterol oxidases (EC1.1.3.6). The latter is considered as a method of great potential to shorten the degradation time and to simplify the degradation products. The enzymatic degradation of cholesterol in egg-yolk or milk is also investigated

**Key words** Cholesterol Cholesterol oxidase Milk Egg-yolk

尽管膳食胆固醇与心血管疾病之间的关系尚无定论,但是,胆固醇的存在已经影响了一些动物性食品,如乳、肉、蛋等的消费<sup>[1]</sup>。而且许多研究表明,在氧分子存在下,食品中胆固

醇可被氧化成许多有害产物,可导致动脉血管壁的改变<sup>[2]</sup>。所以有必要研究脱除食品中胆固醇的方法,开发低胆固醇食品,这对于冠心病、胆道炎等疾病的患者更具重要的意义。

目前,脱除食品胆固醇的方法大体可分为:物理方法(如蒸馏、结晶和超临界流体萃取等)、化学方法(如溶剂提取、形成复合物等)和生物方法(如微生物及其胆固醇氧化酶)。其中,生物方法的效率较高,对产品风味影响较小,生产成本较低而且较简单易行。因此本文着重介绍生物方法降低食品中胆固醇的研究情况,为国内开展这一领域的研究提供参考。

### 1 具有转化胆固醇能力的微生物

胆固醇在工业上可以用作生产类固醇激素的原料,因此很早人们就发现许多微生物具有转化胆固醇的能力,并利用它们将胆固醇转化成类固醇激素的前体物质。

目前已知许多微生物具有转化胆固醇的能力,如杆菌属(*Bacillus*)节细菌(*Arthrobacter*)、棒状杆菌(*Corynebacterium*)、分枝杆菌(*Mycobacterium*)、沙雷氏菌(*Serratia*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、诺卡氏菌(*Nocardia*)、短杆菌(*Brevibacterium*)、链霉菌(*Streptomyces*)等,这些微生物许多都含有胆固醇氧化酶(EC1.1.3.6),能将胆固醇氧化降解。例如,3 $\beta$ -羟基固醇氧化酶可将胆固醇转化为4-胆甾烯-3-酮。微生物胆固醇氧化酶有一些是胞内酶,如诺卡氏菌(*Nocardia erythropolis*和*Nocardiarhodochrous*),而有一些胞外酶,如链霉菌(*Streptomyces violascens*)、短杆菌(*Brevibacterium sterolicum*)和轮枝链霉菌(*Streptoverticillium cholesterolicum*)等。因此,分离纯化时应采用不同的方法。

能转化胆固醇的微生物在食品(如蛋黄,乳等)中应用有两种途径:一是将菌体细胞在食品中直接培养;一是将微生物胆固醇氧化酶分离纯化后再应用于食品。

### 2 利用微生物降低蛋黄中的胆固醇

蛋制品是良好的蛋白质、微量元素和维生素的来源。但是由于蛋黄中胆固醇含量较高(约250mg/蛋黄)限制了蛋制品的消费和利用,所以采用微生物方法来降低蛋黄中的胆固醇可满足

大众健康和消费的需要。

Watanabe<sup>[3]</sup>等从一些动物性食品(如奶油,猪油,鸡油和培根)中分离出了胆固醇转化菌株。据鉴定多数菌株为红球菌属(*Rhodococcus*)。其中一种从奶油中分离的红球菌(*R. equi* No. 23)可用来降低蛋黄中的胆固醇。将蛋黄加在红球菌的培养基中,蛋黄胆固醇可降低70%。经薄层扫描测定,产物中仅有少量的4-胆甾烯-3-酮<sup>[4]</sup>。但是,这种方法所需时间较长(3天),若用于商业生产还需缩短转化时间。

另外,在直接利用微生物降低蛋黄中的胆固醇时,还应注意胆固醇转化产物的复杂性。例如,利用杆菌属细菌*Bacillus coagulans*在25℃发酵蛋黄,培养5天和8天后,蛋黄胆固醇分别降低了32.9%和49.6%。胆固醇氧化后的产物经鉴定主要为:7 $\beta$ -羟基胆固醇,胆三醇,7 $\alpha$ -羟基胆固醇和25-羟基胆固醇<sup>[5]</sup>。可见,在发酵过程中,蛋黄胆固醇被转化的产物并不是单一的,而且这些复杂的氧化物对人体健康的危害性可能比胆固醇还要大<sup>[2,5]</sup>。

因此,当微生物直接用于降低蛋黄胆固醇时,由于菌体的酶浓度、纯度以及多酶体系复杂性的限制,不仅使转化胆固醇的时间延长,而且使转化产物复杂化。为此,需将微生物胆固醇氧化酶分离后再应用于食品。

### 3 酶法降低食品中的胆固醇

#### 3.1 酶法降低蛋黄中的胆固醇

蛋黄中的胆固醇大多存在于低密度脂蛋白(LDL)颗粒中。颗粒表层覆盖着糖蛋白、磷脂以及胆固醇。LDL中的胆固醇约有93%可被乙醚提取。这说明LDL胆固醇不参与大分子的强相互作用,因此更容易被酶作用降解。

利用微生物酶降低蛋黄胆固醇的研究还要从具有转化胆固醇能力的微生物方面着手。Aihara等<sup>[4]</sup>由红球菌*R. equi* No. 23制备了3种胞外酶溶液,即A.培养过滤液,B.酶浓缩液,C. DEAE-Sephadex A-50不吸附部分。经测

定它们的总胆固醇氧化酶活性分别为 21.9, 3.5, 和 4.4 单位。这 3 种酶的蛋白酶活性和脂酶活性均没有检出,而且除 C 以外均具有磷脂酶 C 活性。利用这 3 种酶溶液来转化蛋黄低密度脂蛋白中的胆固醇,表明胆固醇氧化酶和磷脂酶 C 的共存可以促进胆固醇的转化作用。Johnson 和 Somkuti<sup>[6]</sup>利用红球菌 *R. equi* 21107 和 *R. equi* 33706 的声处理提取液处理蛋黄可使胆固醇降低 40%。经薄层扫描分析其转化产物主要为 4-胆甾烯-3-酮和 1.4-胆甾二烯-3-酮。Christodoulou 等报道了利用从诺卡氏菌 (*Nocardia erythrophis*, Ne)、链霉菌 (*Streptomyces* sp., Ss)、短杆菌 (*Bevibacterium* sp., Bs) 和假单菌 (*Pseudomonas fluorescens*, Pf) 分离纯化的胆固醇氧化酶可以迅速降低蛋黄中胆固醇。经研究测定,这 4 种酶降低蛋黄胆固醇的能力为: Pf>Ne>Ss>Bs; 其中 Pf 酶在 4℃ 条件下 48h 后仍可使蛋黄胆固醇降低 64.9%。在 37℃ 时这 4 种酶降解胆固醇的反应开始阶段遵循一级反应动力学;而且胆固醇降低主要发生在开始的 12h。而转化产物只有 4-胆甾烯-3-酮<sup>[7]</sup>。

综合以上研究,应用酶法降低蛋黄中胆固醇大大提高了胆固醇的转化效率,而且转化产物也相对单一。特别是在红球菌胆固醇氧化酶和假单胞菌氧化酶方面具有巨大的研究开发潜力。

### 3.2 酶法降低乳中的胆固醇

乳中胆固醇的含量大约为 140mg/kg, 其中 75% 在脂肪球内部, 10% 存在于脂肪球膜, 还有 15% 存在于乳浆中。

酶法降低乳中胆固醇的一种简便方法是将胆固醇氧化酶直接加在均质乳中。据报<sup>[8]</sup>, 链霉菌 (*Streptomyces* sp., Ss) 来源的胆固醇氧化酶转化乳中胆固醇的反应呈现两个阶段: 一是在反应开始 8h 内, 反应速度较快, 胆固醇的降低几乎与时间成正比; 二为 8h 以后, 反应速度基本不变化。该酶对乳中胆固醇转化的最佳条件是在 7℃ 或 3℃ 下反应 8h, 可使乳中胆固醇降

低 50%。

### 3.3 在不同反应体系中胆固醇氧化酶作用

综合一些研究,我们发现同一来源的胆固醇氧化酶在同一温度条件下,不同反应体系中所表现出的转化作用差别较大。如前述的 Ss 胆固醇氧化酶在 37℃ 条件下 24h 可将缓冲体系中的胆固醇完全转化;但同样条件下在蛋黄中胆固醇降低 65%, 在乳中仅为 30%。这表明了不同底物环境对酶活性有明显影响。

在缓冲液中, Ss 胆固醇氧化酶可将游离的胆固醇全部转化。但是在乳中, 膜结合状态的胆固醇是不易被酶所作用的。虽然均质作用破坏了脂肪球膜, 但是乳浆中酪蛋白还可以形成新的膜。不过, 在 7℃ 和 3℃ 这样低温条件下, 胆固醇氧化酶可能比较容易吸附在脂肪球膜上, 因此反应速度增加, 可以有效转化并降低乳中胆固醇。但是, 在低温 (4℃) 条件下, Ss 胆固醇氧化酶几乎不与蛋黄中胆固醇发生反应;可能是由于缺少酶结合位点, 但具体机理尚不清楚。据报道, Ss 胆固醇氧化酶在超临界二氧化碳反应体系中具有很高的活性;在超临界二氧化碳为 100bar/35℃ 时, 1h 内可将胆固醇全部转化<sup>[9]</sup>。由此可见, 胆固醇氧化酶的活性受反应体系的本质影响很大, 在应用酶法时应注意这一点。

## 4 展望

综上所述, 利用微生物及其胆固醇氧化酶可以有效地降低蛋黄和乳中的胆固醇含量。但是, 这方面的研究还不很成熟。所以对今后该领域的研究建议如下: (1) 对胆固醇的主要酶氧化产物 4-胆甾烯-3-酮的生物学功能以及对人体健康的影响方面进行研究。(2) 继续寻求将胆固醇转化成非固醇类物质的微生物及其酶。根据 Aihara 等人的报道, 红球菌 (*R. equi* No. 23) 可以转化蛋黄中胆固醇, 而且几乎没有固醇类中间产物的蓄积。因此, 这方面还可以深入研究。(3) 开发利用胆固醇还原酶。这种酶已经在某些绿色植物和真细菌属 (*Eubacteria*) 中发现。(4) 寻求微生物和酶法以外的生物途径。

例如,利用生物工程手段开发胆固醇结合蛋白。(5)扩大生物方法所适用的范围。除蛋黄胆固醇外,还要扩展到动物油脂如猪油、牛油等方面。

总之,利用生物方法脱除食品中胆固醇的研究正面临新的挑战。尽管脱除食品胆固醇的各种物理方法和化学方法进展十分迅速,但是我们认为随着该领域研究的逐步深入,生物方法将会成为一种最有效最简便的降低食品中胆固醇的方法。

#### 参考文献

- 1 Bringe, N. A. and Cheng, J. Low - fat, low - cholesterol egg yolk in food application. Food Technol. 1995, (5): 94 ~ 106.
- 2 Kumar, N. and Singhal, O. P. Cholesterol oxides and atherosclerosis: a review. J. Sci. Food Agric. 1991, 55: 497 ~ 510.
- 3 Watanabe, k., Shimizu, H., and Aihara, H., et al, Isolation and identification of cholesterol degrading Rhodococcus strains from food of animal origin, and their cholesterol oxidase. J. General Appl. Microbiol. 1986, 32: 1317 ~ 1417.
- 4 Aihara, H., Watanabe, K. and Nakamura, R. Degradation of cholesterol in egg yolk by Rhodococcus equi No. 23. J. Food Sci. 1988, 53: 659 ~ 660.
- 5 Przybylski, R., Eskin, N. A. M. and Cullimore, D. R. Transformation of egg cholesterol during bacterial fermentation. Food Chem. 1993, 48: 195 ~ 199.
- 6 Johnson, T. L. and Somkuti, G. A. Properties of cholesterol dissimilation by Rhodococcus equi. J. Food Protection, 1990, 53: 332 ~ 335.
- 7 Christodoulou, s., Hung, T. V. and Trehwell, M. A. et al. J. Food Protection, 1994, 57: 908 ~ 912.
- 8 Xiangsheng, w., Hung, T. V., and Drew, P. G. et al. Enzymatic degradation of cholesterol in milk Australian J. Dairy Technol. 1990, (11): 50 ~ 52.
- 9 Randolph, T. W., Clark, D. s., and Blanch, H. et al. Enzymatic oxidation of cholesterol aggregates in supercritical carbon dioxide. Science, 1988, 238: 387 ~ 390.

## 出口肉类及其制品中四环素残留量的高效液相色谱测定法

蔡宝亮 徐素荣 钱成 陆成良 沈山江 颜斌

盐城进出口商品检验局 224002

**摘要** 针对我国出口肉类和肉类制品中四环素类残留量检测法周期长、灵敏度低的状况,探索了对它的检测方法,并与现行的 SN0179—92 方法进行比较,研制出四环素族高效液相色谱测定法的最佳工作条件,其最低检测限和回收率与 SN01 79—92 法结果一致,且可节省时间 4~5 天,缩短了周期,比较适用于进出口肉类及其制品的四环素残留量的快速测定。

**关键词** 肉和肉制品 四环素族抗生素 液谱法 测定

出口食品中四环素族残留量一直是国内外食品界所关注的,日本、美国、俄罗斯先后对我出口食品提出了具体要求。国内外专家作了

大量的努力,对检测方法进行了研究,但多限于生物学方法,由于周期长、灵敏度低而影响推广应用。液相色谱检测法也因回收率低、灵敏度差