

食品酶学导论

华南工学院食品工程系 袁振远

一、酶的定义

过去一些著名的生物化学家分别对酶作出如下的描述。1964年 Dixon 等人指出酶是具有催化功能的一种特殊的蛋白质^[1]。1975年 Stryer 指出酶是一种蛋白质,这种蛋白质显著的特性是具有催化能力、催化作用的专一性、条件限制性。催化作用还包括各种能量形式的转移^[2]。同年, Lemnigher 指出酶是一种专一地催化生物反应的蛋白质,具有非常高的催化效能和高度的专一性。1979年 Wyun 指出酶是来源于生物体的一种分子,它提高某一特殊反应的速度,而不影响已确认的最终平衡状态。酶可以从反应终了的混合物中回收^[3]。1981年 Schwimmer 指出酶作用具有高度的专一性、高度的催化效能以及高度受控性^[5]。总结起来,一般认为酶是由生物的活细胞产生的,具有催化功能的蛋白质。1969年人工合成了牛胰核糖核酸酶之后,酶就不应该局限于由生物的活细胞产生了。1982年美国 Cech 发现 RNA 分子中含有一个具有自身切接功能的片段,称为内含子 (Intron)。这种具有催化活性的 RNA 称为核酸类酶 (Ribozyme)。1983年 Atman 和 Pace 发现核糖核酸酶 P (由 RNA 和蛋白质组成) 中的 RNA 组分能单独催化前体 t-RNA 切除某些片段,成为 t-RNA。因此,酶的定义应该是:“酶是一种高效能、高专一性、高度可变性的高分子有机催化剂。”^[6]

二、酶学历史

1589年 Pancolsusa 说胃内有一种物质,可以把食物消化,分离出有用的和无用的物质。无用的排出体外,有用的送到一定的部位,这些物质是属于这部位的^[7]。这是世界上第一

个论及有关酶作用的人。Reamur (1683~1757) 把肉藏在穿孔的金属管内,让鹰吞下去,发现肉被消化了^[8]。直到1784年 Spallanzani 才明确指出从胃取出的汁液具有消化肉类的功能^[9]。

利用微生物、植物或动物体内的酶制作食品,已有几千年的历史了。我国周朝已开始制酱、酿酒、制饴糖,不自觉地利用酶的作用。1830年 Berzelius 用大麦麦芽抽提物使淀粉降解^[5]。1833年 Payen 及 Persoz 从麦芽水抽提物中用酒精沉淀,得到一种物质,它可以使淀粉水解成可溶性糖,称这种物质为糖化酶 (Diastase),并指出了它的不稳定性^[9]。这篇文章可以说是酶学先驱。1859年 Libig 第一个提出酶是一种蛋白质^[10]。但酶 (Enzyme) 这个词是1876年德国人 Kuhne 第一个引用的^[11]。Enzyme 一词来自希腊文 $\Sigma\gamma\zeta\eta\mu\alpha$, 意即“在酵母体内”。1897年 Buchner 阐述了酵母的酒精发酵以及离体酶的作用。并指出酒化酶 (Zymase) 是一种蛋白质。1902年 Pekoelhaar 指出胃蛋白酶是一种蛋白质^[12]。从酶是一种蛋白质这公认的概念出发,科学家们应用蛋白质化学的基本理论与方法,自生物体中提取酶,考察它的性质、催化反应条件及其在工业上的应用。1894年日本人高峰让吉从米曲霉中制得高峰淀粉酶 (Taka diastase) 用作消化剂^[13]。1908年法国人 Boidin 制得了细菌淀粉酶,用于纺织退浆^[15]。1911年美国人 Wallenstein 制得木瓜蛋白酶,用于除去啤酒的混浊。1926年 Sumner 第一个从大豆中制得结晶脲酶^[14]。其后酶的生产、提纯、特性研究及应用越来越广泛。1964年国际酶学委员会第一次发表的酶的分类与命名中所集录的酶有874种,1972年增加到1770种,1978年增加

到2139种^[17]。

自从1953年 Grubhofer 及 Schleith 制得固定化酶^[18]之后,酶固定化技术有很大的发展。在食品工业上得到广泛的应用。近年来出现固定化细胞的新技术,应用固定化细胞生产酶及发酵产品。

第一本系统论述酶的书是1930年伦敦出版的 Haldane, T.B.S. 所著“Enzymes”。1932年 Haldane 又和 Stern, K.G 合著,在德国出版“General Chemistry of the enzymes”。第一本酶学书的是1957年美国学术出版社出版的 Mchler, A.H. 所著“Introduction to enzymology”。第一本系统介绍食品加工用酶的书是1966年纽约学术出版社出版的 Reed, G. 所著“Enzymes in food Processing”。

三、酶学及食品酶学的任务

由于酶在生物化学上的重要位置,以及酶在医疗卫生、医药工业、轻工业和食品工业上的重要作用。因此,对酶的研究越来越深入。酶学已成为生物化学领域中的一门独立的学科。其任务是研究酶的化学本质,酶反应机理及反应动力学,酶的生产、分离、提纯及酶的应用等。食品酶学则以一般酶学为基础,重点研究酶在食品上的作用,包括酶对食品质量的影响及控制;利用酶进行食品加工;以及化验分析;食品用酶的生产;酶对食品保健与安全等。

四、酶对食品质量的影响

酶对食品质量(包括卫生、理化及感观质量)的影响是很大的。可能产生好的影响,也可能产生坏的影响。

(一)、酶作用与食品色泽

植物性食物的褐变很大程度上是酶促褐变。植物体中的酚类物质,例如酪氨酸、儿茶酚、绿原酸、花青素、黄酮、鞣质等,在酚酶(EC 1、10、3、1)的催化下,以及在分子氧的参与下发生氧化及聚合作用,成为褐色乃至黑色的类黑色素。这种褐变作用大多数使食品色

泽变劣。但象茶叶、可可等食品,适当的褐变则有助于形成良好的风味与色泽。此外,由于酶的作用使食品中色素被氧化破坏。例如脂肪氧化酶(EC 1、B、11、12)氧化类胡萝卜素,不但使其褪色,而且也使其丧失维生素A的活性。而有些酶促反应却能提高食品色泽质量。例如在蛋白粉加工中添加葡萄糖氧化酶(EC 1、1、3、4)可使存在于蛋白中的葡萄糖氧化成葡萄糖酸,避免在蛋白粉中发生迈拉德反应褐变。又如在屠宰后的动物胴体中注入触酶(EC 1、11、1、6),使过氧化氢分解,不致由于宰后肌肉中所积聚的过氧化氢使肌红蛋白氧化为褐色的高铁肌红蛋白,而能保持鲜艳的红色。

(二)、酶作用与食品风味

食品的风味(香味及滋味)物质绝大部分是食物原料在生长过程中,乃至收获后或屠宰后产生的。生物合成都是在酶催化下完成的。有些风味物质则是在贮藏及加工过程中形成的,其中也有的是酶促反应。为了积聚风味物质并防止它们劣化,必须研究下列课题:

1、风味物质的积聚和劣化是由那些酶所催化的。

2、这些酶如何引起风味物质的积聚和劣化。

3、如何控制酶作用,使风味物质积聚,以及防止其劣化。

例如蒜的辛辣成分是一些二硫化物。其中主要是二烯丙基二硫化物。它来源于蒜氨酸(S-烯丙基半胱氨酸亚砷)。当蒜的组织细胞被破损时,其中的蒜氨酸裂合酶(EC 4、4、1、4)将蒜氨酸分解为蒜素(二烯丙基次磺酸)。蒜素被还原为二烯丙基二硫化物。蒜素及二硫化物是蒜臭及辛辣味的成分。因此,如果要制备适口的大蒜饮料,则在加工前要将蒜加热,以破坏蒜氨酸裂合酶。又例如肉类在屠宰后要经过一段时间才变得鲜美,这是由于屠宰后肌肉中的三磷酸腺苷(ATP)受ATP酶(EC 3.6.1.3)水解为二磷酸腺苷(ADP)。2分子ADP在腺苷酸激酶(EC 2、7、4、3)的催化下转变为

ATP 及一磷酸腺苷 (AMP)。AMP 在 AMP 脱氨酶 (EC 3、5、4、6) 的催化下脱去氨基, 成为肌苷酸 (IMP), IMP 是肉鲜味的主要成分。鱼在屠宰后完成这一过程所需时间很短。存放时间过长则 IMP 在 5-核苷酸酶 (3、1、3、5) 的催化下水解释出磷酸成为无味的肌苷, 进一步受肌苷核糖水解酶 (EC 3、2、2、2) 的催化水解, 成为苦味的次黄嘌呤。因此, 鱼类宰后不应长时期存放, 否则将会丧失鲜味, 甚至变得无味乃至带有苦味。

(三)、酶作用与食品组织结构

所谓食品组织结构指的是食品各种成分及结构要素按不同的配置, 结合成为微结构及大结构。这些结构表现出食品的流动、变形等流变学情况。食品的组织结构不同, 使人们在咀嚼时产生不同的咬感。例如, 同样是大豆蛋白质, 在豆浆的场合下是一种溶胶, 而在豆腐的场合下则是一种凝胶。溶胶与凝胶的组织结构不同, 豆浆与豆腐的咬感就有很大的差别。许多食品组织结构的变化是和酶作用有关的。例如制造面包时, 采用溴酸钾作为氧化剂时, 要用抗坏血酸与溴酸钾协同作用。抗坏血酸在抗坏血酸氧化酶 (EC 1、10、3、3) 催化下, 被溴酸钾氧化, 成为脱氢抗坏血酸 (DHA)。DHA 受 DHA 还原酶 (EC 1、6、5、4) 作用又还原为抗坏血酸。此时参加脱氢作用的辅酶 I 成为氧化型辅酶 I, 在二硫蛋白还原酶 (EC 1、6、4、4) 的催化下使两条蛋白质多肽链上的巯基 (-SH) 氧化缩合成二硫键 (-S-S-), 从而增加了多肽链网络, 面包就松软。又例如在制饼干时, 把蛋白酶加进面团中, 以可使蛋白质受到初步水解, 达到降低筋度的目的, 制成的饼干就酥脆。又如肉类的坚韧是由于肉纤维中的胶原蛋白所致, 如果用木瓜蛋白酶 (EC 3、4、22、23), 则胶原蛋白被水解, 肉变得柔嫩可口。

五、酶作用的控制

根据酶反应动力学, 对于有损食品质量的酶作用可以采取如下措施予以防止:

(一)、低温处理以降低酶活性。

(二)、高温处理, 使酶被破坏。

(三)、将物料脱水, 使酶失去活动的条件。

(四)、采用极端的 pH 值 (高酸或高碱), 使酶钝化, 甚至被破坏。

(五)、使用化学抑制剂, 使酶钝化。

(六) 将底物改性, 或减少乃至除去酶作用的底物。

(七)、在加工预处理时予以控制, 即除去产酶较集中的组织。

(八)、采取电离辐射, 使酶被破坏。

此外, 使酶作用的产物改性或除去, 也可避免酶作用损害食品质量。

对于有助于提高食品质量的酶作用, 可选择最佳的酶作用条件, 包括温度、时间、pH、添加激活剂、酶浓度、底物浓度等。

六、在食品加工中所使用的主要酶类。

使用酶来进行食品加工, 具有如下的优点:

(一)、酶本身无毒、无味、无臭、不会损害食品的价值。

(二) 酶对底物有严格的专一性, 添加到成分复杂的原料中, 不会引起不必要的化学变化, 容易获得所期待的产品。

(三) 酶作用所要求的温度、pH 等作用条件都是很温和的, 不会损害食品的质量。

(四) 用低浓度的酶也能使反应迅速地进行。

(五) 必要时可用简单的加热方法就能使酶失活, 终止其反应, 反应终点易于控制

近年来利用酶反应进行的加工食品越来越多, 主要被利用的酶有如下各种:

(一) 氧化还原酶类

1. 触媒 (EC 1.11.1.6)

用以除去冷杀菌冷、干酪及蛋白中的 H_2O_2 , 在蛋白粉加工及其他加工食品与葡萄糖氧化酶一起使用。

2. 葡萄糖氧化酶 (EC 1.1.3.4)

用于蛋白粉加工时, 除去其中的葡萄糖, 以免在干燥时发生褐变。除去饮料及沙拉调味料中的氧, 以免变味, 并可延长保存期。

3. 脂氧合酶(EC1. B. 11. 12)

改进烘烤食品的白色及组织结构, 改善面团的机械性能。

(二) 水解酶类

1. 聚糖水解酶

(1). α -淀粉酶(EC3. 2. 1. 1)

在面包制造时为酵母提供糖分以改善产气能力; 改善面团结构, 延缓陈化时间。在制造淀粉糖时, 使淀粉液化。在制造啤酒时节省一部分麦芽, 除去啤酒中由于残存淀粉所引起的雾状混浊。在以富含淀粉的水果及蔬菜制造果蔬汁时, 降低产品的粘度, 提高其过滤性能。

(2) β -淀粉酶(EC3. 2. 1. 2)

用于饴糖及高麦芽糖浆的制造, 使淀粉水解为麦芽糖。

(3) 葡萄糖淀粉酶(EC3. 2. 1. 3)

用于葡萄糖的制造, 使淀粉水解为葡萄糖。

(4) 异淀粉酶(EC3. 2. 1. 68)

水解变链淀粉的 α -1, 6 糖苷键, 提高淀粉水解时的葡萄糖当量值。

(5) 普鲁兰酶(EC3. 2. 1. 41)

水解支链淀粉的 α -1, 6 糖苷键, 提高淀粉水解时的葡萄糖当量值。普鲁兰酶作用与异淀粉酶不同, 前者水解支链淀粉的活性仅为后者的 15%, 而水解只有 3 或 4 个葡萄糖单位的支链, 其活性比后者高 16 倍或 4 倍。

(6) 聚半乳糖醛酸酶(EC3. 2. 1. 15)

使果胶降解, 用于果汁及葡萄酒等果酒的澄清, 提高果汁的过滤性能, 增加果汁产率, 防止浓缩果汁及菜汁的凝胶化, 以免在蒸发系统中焦化, 防止果汁及菜汁发生雾状变质。在柑橘类加工中用以分片及脱络丝。

(7) 纤维素酶(EC3. 2. 1. 4)

破坏植物细胞壁, 使细胞内容物暴露出来, 便于提取及加工。提高植物香油及香辛物质的提取率。有助于脱水植物的复水性能。使纤维素水解, 增加可发酵性糖。

(8)、半纤维素酶

半纤维素的结构很复杂, 因此半纤维素酶

不是单一的酶, 而是由很多种水解糖苷键的酶所组成的酶系。其中最重要的是内切 1, 4- β -D 木聚糖酶(EC3. 2. 1. 8) 及外切 1, 4- β -D 木糖苷酶 (EC3. 2. 1. 37)。半纤维素酶用于除去种子皮衣, 特别用于除去咖啡豆的皮衣。与纤维素酶及果胶酶一起破坏细胞壁, 提高原料利用率。

(9) 溶菌酶(EC3. 2. 1. 17)

细菌的细胞壁是由 N-乙酰胞壁酸与 2-乙酰氨基-2-脱氧-D-葡萄糖以 β -1, 4 链连结而成的多糖。溶菌酶催化此 β -1, 4 键水解, 破坏细菌的细胞壁, 从而起到灭菌的作用。人乳中含有溶菌酶, 婴儿饮用母乳可提高抗菌能力。配制母乳化奶粉时要添加溶菌酶。

2. 糖苷水解酶类

(1) 转化酶(EC3. 2. 1. 48)

或称蔗糖酶。用于制备转化糖, 防止糖果返砂。

(2). 乳糖酶(EC3. 2. 1. 22)

提高乳制品的甜度及可消化性。水解乳清中的乳糖。提高含奶面包的质量。防止冰淇淋、炼奶及浓缩乳清制品中的乳糖结晶。制备供不耐乳糖症患者食用的无乳糖奶。

(3) 柚皮苷酶

柚皮苷酶实际上是两种糖苷酶。其一是 β -L-1-鼠李糖苷酶 (EC3. 2. 1. 43), 它水解柚皮苷分子中新橙皮糖末端的鼠李糖残基, 其二是 β -葡萄糖苷酶 (EC3. 2. 1. 21), 它继续水解柚皮苷析出葡萄糖。使柚皮苷脱去新橙皮糖苷基, 游离出柚皮素 (即 4', 5, 7 三羟黄酮), 使苦味的柚皮苷变为无味的柚皮素, 从而使柑橘制品清除苦味。

3. 蛋白质水解酶类

(1) 内切蛋白酶(蛋白酶)

从蛋白质肽链内部切断肽键, 生成分子量较低的蛋白质。有来自植物的, 例如木瓜蛋白酶(EC3. 4. 22. 21) 和菠萝蛋白酶 (EC3. 4. 22. 4)。用于使肉嫩化。除去啤酒雾状的蛋白质混浊。提高动植物的油和蛋白质抽出率。使蛋白质初步水解以便于加工。使饼干及华夫饼松

脆。制备蛋白水解物。从骨中分离出肉。提高蛋白质食品在水中的分散性,以及用于凝乳等。有来自动物的。例如用于干酪制造的凝乳酶。用于水解蛋白的胰蛋白酶(EC3.4.21.4)等。有来自细菌的。例如枯草杆菌中性蛋白酶(EC3.4.24.4);大量用作鸟兽类加工过程中的脱毛剂。有来自霉菌的。例如米曲霉酸性蛋白酶(EC3.4.23.6),米曲霉中性蛋白酶(EC3.4.24.4),米曲霉碱性蛋白酶(EC3.4.21.14),大量用于酱油和酱的制造。近年来从微小毛霉(*Mucor pusillus*)分离出蛋白酶代替动物来源的凝乳酶。

(2). 外切蛋白酶(肽酶)

从肽键末端逐个析出氨基酸。用于水解蛋白的制造。包括各种氨肽酶(EC3.4.11),各种羧肽酶(EC3.4.16~17),及各种二肽酶(EC3.4.13)

在蛋白酶及肽酶的协同作用下,蛋白质被完全水解为氨基酸。

(三)裂合酶类

在食品工业上所用的裂合酶,目前只有果胶裂合酶(EC4.2.2.10)。它催化半乳糖醛酸残基的C₄和C₅位上发生氢的反式消去,完成糖苷键的裂解,使果胶的半乳糖醛酸链除解。这个酶常在商品果胶酶中与半乳糖醛酸酶及果胶酯酶同时存在。

(四)异构酶类

在食品工业上所用的异构酶只有葡萄糖异构酶,它的正确名称应该是木糖异构酶(EC5.3.1.5),它催化木糖异构为木酮糖,但也催化葡萄糖异构为果糖。是制造果葡糖浆所用的酶。

另一个与葡萄糖异构化有关的酶是磷酸葡萄糖异构酶(EC5.3.1.9)。它催化6-磷酸葡萄糖异构为6-磷酸果糖,然后水解为果糖。这个酶是以6-磷酸葡萄糖为底物的,因此,需要葡萄糖激酶(EC2.7.1.2)催化葡萄糖与ATP进行磷酸化成为6-磷酸葡萄糖,在工业上无大价值。

七、酶与食品安全及保健

(一)、食品用酶的安全性

从动植物可食部分提取出来的酶,例如从小牛第四胃提取出来的凝乳酶,从木瓜提取出来的蛋白酶等,可以认为是无毒的。但从微生物提取出来的酶则要注意监测它的安全性。因为已发现不少微生物能产生毒素。例如黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和寄生曲霉(*Asp. parasitus*)产生强致癌物质黄曲霉毒素。桔绿青霉(*Penicillium Citreo-viride*)产生一种神经毒素桔绿青霉毒素。因此,在采用曲霉或青霉作为酶洞时应监测所用的种株是否产生毒素。特别是筛选新菌株物时,尤应鉴定其安全性。其次,为了提高微生物的产酶水平,常在培养基中添加促进菌体生长及酶积累,但对人体有害的物质,例如培养红曲霉时添加砷,在这情况下应对酶制剂进行残留有害物质的监测。此外,在培养、提取、精制等过程中所用的容器及管道,乃至所有与产品接触的设备、工具及包装物都要求不会使产品污染有害物质,例如不能用铁或含铅材质,以免污染铅。不能用聚氯乙烯材料以免污染氯乙烯一切涂料都应被认定是无毒无害的。总之,作为食品用的商品酶在投放市场前都要进行下列安全性的监测、微生物毒素、微生物污染、重金属、抗生素、抗体、刺激微生物及动物生长的因子,免疫与过敏效应等。

(二)酶的保健作用

一些食品中存在着对人们或某些人不适应的物质,这些食品经酶处理之后,可以把这些物质除去,保证了人们的健康(见下表)

(三)酶的杀菌作用

微生物细胞壁的主要成分是多聚N-2酰氨基葡萄糖,溶菌酶的作用是催化这种多糖的水解,从而破坏细胞壁,使微生物死亡。在天然食品(不加合成防腐剂的食品)中加入溶菌酶可以防止食品腐败变质。此外,葡萄糖氧化酶及过氧化物酶也可作为食品防腐剂。

(四)用酶除去食品中的防腐剂

为保存蛋品及奶品常添加H₂O₂,触酶可以分解H₂O₂。例如在1000份农家牛奶中添加1份33% H₂O₂,其杀菌效果和50℃加热30分钟一

除去食品中有害物质及营养抗抵物所用的酶^[19]

物质	食品	毒性	所用的酶
乳糖	奶	肠道障碍	β -半乳糖苷酶
寡聚半乳糖	豆类	气胀	α -半乳糖苷酶
核酸	单细胞蛋白	痛风	核糖核酸酶
木质素糖苷	红花籽	腹泻	β -葡萄糖苷酶
植酸	豆类、小麦	金属缺乏症	植酸酶
胰蛋白抑制物	大豆	不能利用蛋白质	胰酶
蓖麻蛋白	蓖麻籽	呼吸无力及血管系统瘫痪	蛋白酶
氰化物	果实	致死	硫氰酸酶、氰丙氨酸合成酶、腈水解酶
番茄苷	未成熟番茄	植物碱	成熟果实中的内源酶
亚硝酸	各种食品	致癌	亚硝酸还原酶
丹宁	各种食品	致癌(?)	丹宁酶
咖啡因	咖啡	过度兴奋	嘌呤脱甲基酶系
含氮的杀虫剂	各种食品	致癌(?)	谷胱甘肽-转移酶
有机磷杀虫剂	各种食品	神经毒素	酯酶

样, 残留的 H_2O_2 可加触酶并加热到 $35^\circ C$ 即可除去^[20]。市售的从动物肝脏提取出来的触酶含有亚硫酸氧化酶(EC1.8.3.1)可以除去食品中残留的 SO_2 。

(五)酶作为消化剂及药剂

1894年日本人高峰让吉从米曲霉中制得了高峰淀粉酶(Takadiastase)用作消化剂。其后陆续出现许多作为药用的酶。蛋白酶及葡聚糖酶的混合制剂, 供胃炎及胃切除的病人服用以助消化。近年来美国市售消化剂都是木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、淀粉酶的混合制剂。还有含胃蛋白酶的香口胶出售。

血栓是由于血液中的蛋白质受凝血酶作用被凝固而形成的。纤维蛋白有强烈吸附凝血酶的能力, 而尿激酶及链球菌致活酶则有使纤维蛋白原转变为纤维蛋白的能力。因此, 这两种酶可以作为抗血栓的药剂。

天冬酰胺酶已被作为抗肿瘤的药剂。从绿色木霉中提取出来的专一性尚未查明的L-赖氨酸- α -氧化酶也具有抗肿瘤的作用^[21]。

八、酶作为分析试剂

酶具有专一性的催化功能, 现时已制得酶的结晶, 或相当高度纯化的酶。利用它们可以

专一地催化某一特定的反应。测定反应生成物的含量, 或底物耗量, 即可获知待测物的含量。例如, 在葡萄糖与其他单糖共存的情况下, 用一般化学测定法(菲林氏法)无法反映出葡萄糖的真实含量, 但采用葡萄糖氧化酶则由于它专一地氧化葡萄糖成为 δ -葡萄糖酸内酯, 并旋即水解为葡萄糖酸。这过程消耗了分子氧, 用检压计测出消耗的氧量便可算出葡萄糖量。或将葡萄糖氧化酶、过氧化物酶及还原型邻联甲苯胺混合, 用明胶固定在滤纸上, 经风干制成试纸, 测试时将试纸浸入检液中, 由于葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化, 并析出 H_2O_2 , 受过氧化物酶催化, 使无色的还原型邻联甲苯胺氧化成蓝色, 由蓝色的深浅与标准色对比, 即可测知检液中的葡萄糖含量。

在味精生产中利用谷氨酸脱羧酶, 可以准确地测定发酵液中的谷氨酸含量。

利用酶进行分析的项目越来越多。1975年版的AOAC 1000页中就有30页介绍酶分析方法。

在食品加工中也常利用酶的活性来测定食品的质量。例如, 测定酚氧化酶活性可以决定面粉中麸皮含量及杀青程度。测定脲酶活性可以决定大豆食品是否热处理完善, 是否残留胰蛋白酶抑制物, 凝集素等有害物质。测定 α -淀粉酶活性可以确定麦芽的质量。测定酚氧化酶活性, 如果偏高则说明甜菜贮藏稳定性差。测定蛋白中溶菌酶的含量, 可以确定成品蛋白粉的起泡稳定性。

九、食品酶工程的进展

食品酶的生产和应用的技术过程称为食品酶工程、包括酶的生产、提取与分离提纯、酶的分子修饰、酶和细胞固定化、酶的应用等方面。

(一)、酶的生产

酶的生产方法有提取法(自动植物器官或组织中提取酶)、发酵法(利用微生物的生命活动、通过人工控制而获得人们所需要的酶)以及化学合成法(通过分析酶的氨基酸组成及顺

序,然后用化学方法合成)。由于动植物资源受气候、土壤等条件的限制,而且分离提纯较复杂,因此,只有在特定的场合下才有提取酶的价值。至于化学合成法由于成本高,目前仅处于研究阶段,现时大部分的酶都是用发酵法生产的。发酵法生产酶有如下优点:

1. 不受自然环境影响,可以大规模生产。
2. 微生物含有各种酶,可以用人工控制,大量积累目的酶。
3. 发酵产物较单纯,容易把目的酶提取出来。
4. 生产成本低。

近年来还利用基因工程、细胞工程等手段获得产酶能力高、容易培养和管理、产酶性能稳定,所产酶容易分离纯化,不产有害物质,安全可靠的菌株。

(二)、酶的分离纯化

除了胞外酶(例如水解酶类)之外,大多数酶都存在于细胞内。为了把酶提取出来,首先要将细胞破碎。破碎的方法有机械捣碎法,利用温差、渗透压、超声波等物理方法;利用溶剂、表面活性剂等处理的化学破碎法;利用溶菌酶及自溶等酶学破碎法等。

细胞破碎后用各种溶剂,例如盐、碱、酸、有机溶剂等,把酶溶解出来。然后离心过滤除去菌体及残存的培养基。近年来更采用超滤法使酶分离出来(但需要小分子物质作为辅酶的则此法不适用)。或用盐析法、有机溶剂沉淀法、复合沉淀法等,将酶从溶液中沉淀出来。将沉淀出来的粗制酶溶解,用吸附分离、离子交换层析,凝胶层析、亲和层析等方法将酶提纯。将提纯后的酶液用吸水剂脱水,或蒸发浓缩、近年来采用薄膜蒸发器浓缩可连续操作,酶的活力损失很少。经浓缩的酶液采用真空干燥、喷雾干燥、气流干燥等手段使成为固体酶。近年来采用升华干燥,对热非常敏感的酶更为有效。

将提纯及浓缩后的酶缓慢地加入硫酸铵等中性盐溶液,使其溶解至饱和状态,在低温下酶即慢慢地成结晶析出,也可在低温下缓慢地

加入乙醇或丙酮等有机溶剂使酶结晶析出。

(三)、酶分子修饰

酶分子修饰的目的在于改变酶的特性,提高其使用效果。

1. 金属离子置换修饰

例如将蛋白酶中的 Zn^{2+} 用 EDTA 螯合,将螯合物分离,再添加钙离子成为钙型蛋白酶则活力可提高20~30%。结晶的钙型 α -淀粉酶的活力比一般结晶 α -淀粉酶活力提高3倍以上,并使稳定性大大提高。

2. 大分子结合修饰

利用水溶性大分子与酶结合,使酶的空间结构发生改变。修饰后显著提高酶活力,提高稳定性、以及降低或消除抗原性。采用的修饰剂有右旋糖酐、聚乙二醇及一种称为Fioll的多聚蔗糖。例如每分子胰凝乳蛋白酶与11分子的右旋糖酐结合可使其活力提高5倍。对于药用酶来说,经修饰后提高稳定性及降低或消除抗原性更有重大意义。

3. 肽链有限水解修饰

在不影响酶活力的前提下,将酶的活性中心以外的肽链进行有限的水解出一部肽段,使其分子量降低,可降低或消除其抗原性。例如枯草菌中性蛋白酶经水解修饰后用作消炎剂不产生抗原性。

有些酶原来没有活性,水解修饰后即显示出活性。例如胰蛋白酶原经水解除去一个六肽即显示出胰蛋白酶的活性。

4. 侧链修饰

对酶蛋白的侧链进行修饰。例如用醋酸酐修饰氨基使成为乙酰氨基;用乙醇使羧基修饰为乙酯;用碘乙酸使巯基修饰为羧甲基硫,用焦碳酸二乙酯使咪唑基修饰为乙酰咪唑。用四硝基甲烷使酚基修饰为硝基酚;用N-溴代琥珀酰亚胺将咪唑基溴化,用苯乙二醛使胍基环化,用双氧水使甲硫基氧化为亚砷等。

4. 氨基酸置换修饰

将酶蛋白分子中的某一个氨基酸用另一个氨基酸置换,使酶蛋白分子空间结构发生改变。这种蛋白质工程尚未见有应用到食品酶方面。

(四)、固定化酶和固定化细胞

把酶固定在载体上, 酶的稳定性可显著提高: 可长时间反复使用, 反应液中没有或只有少量酶存在, 有利于产物的分离纯化。应用固定化酶可以连续化生产。在淀粉糖工业中已应用固定化 α -淀粉酶及葡萄糖淀粉酶用淀粉生产葡萄糖。用固定化葡萄糖异构酶, 用葡萄糖生产果葡萄糖浆。用固定化果胶酶澄清果汁。用固定化木瓜蛋白酶澄清啤酒, 用固定化乳糖酶除去乳清中的乳糖等等。

随着固定化技术的发展, 近年来出现了固定化细胞技术。即将活细胞固定在载体上进行发酵生产。例如用固定化根霉及固定化酵母, 以淀粉生产酒精。用固定化枯草杆菌生产 α -淀粉酶。用固定化黑曲霉生产果胶酶等。

1982年日本首先研究成功用固定化原生质体生产谷氨酸。我院1987年研究成功用固定化原生质体生产碱性磷酸酶、产酶水平比固定化细胞高。

参考文献

- (1) DIXON, M and WEBB: 1964, *Enzymes*, 2nd Edition Academic Press, New York
- (2) &TRYER, L 1975 *Biochemistry* W. N. Freeman and Co. San Francisco
- (3) LEMNINGER, A. L 1975 *Biochemistry*, 2nd Edition Worth
- (4) WYNN C. H 1979 *The Structure and Function of Enzymes* Edward Arnold London
- (5) SCHWIMMER 1981 *Source Book of Food Enzymology* The AVI publishing Company INC USA
- (6) 生命的化学, 1957.
- (7) PARACELUS 1589 *Volumen Medicinæ Paracelsi* Theophrasti de Medica Industria, Paranthesis

Secunda Tractus de Ente Veneni.

- (8) SPALLANZANI 1784 *Experiment on digestion* Cited by Eiffront and Prescott (1917) (French)
- (9) PAYEN F. W. and PERSOZ J. F 1833 *Treatise on diastase, the Principal Products of its reactions and their applications to industrial arts* Awn, Chim Phys 53 73—92 (French)
- (10) LIEBIG, J. 1859 *Familiar Letters on Chemistry on its Relation to Physiology Dietetics Agriculture, Commerce and Political Economy*, 4th Edition : Blyth (Editor) Walton and Maberly London
- (11) KUHNE, W. V 1876 *Behavior of Various-organized and So-Called unformed ferments Trypsin (Enzyme of the pancreas)* Proc Natl Hist and Med Soc of Heidelberg 122—126 (German)
- (12) BUCHNER E 1897 *Alcoholic fermentation Without yeast cells* Ber Dtsch Chem Ges 30 117 (German)
- (13) PEKELHARING, C. A. 1902 *Communication on pepsin* Z Physiol Chem 35 8—30 (German)
- (14) SUMNER J. B. 1926 *Note The recrystallization of Citrease* J Biol Chem 70, 97—98
- (15) 郭勇, 酶工程, 华南工学院食品工程系。
- (16) WALLERSTEIN L 1911 *Preventing the Clouding of beer on Chilling by adding papain* Lis Pat 995 825 June 20
- (17) 袁振远, 郭勇: 酶的分类与命名, 《中国调味品》。
- (18) GRUBHOFFER N and SCHLEITH 1954 *Coupling of Proteins on diazotized polyaminostyrene* Z Physiologia Chem 297 108—122 (German)
- (19) SCHWIMMER: *Source Book of Food Enzymology* 1981
- (20) Roseil J. A 1961 *Hydrogen peroxide-Catalase method for treatment of milk* Can Dairy Ice Cream 4018150-52
- (21) KUSAKABE H et al *A New antitumor enzyme L-Lysine Oxidase from trichoderma viride Purification and enzymology properties* J Biol Chem 255 976—981

任意可变温度历程转变成某个标准温度下的相当时间的过程

黑龙江商学院食品工程系 傅 斌

摘 要

许多食品在贮藏、流通和销售期间都要经受可变的大气温度。本文发展了将任意可变温度历程转变成某个标准温度下的相当时期的过程, 并给出了一系列

的转换方程。这些方程考虑了质量劣变速率的温度依赖模型(线性、指数和双曲线)和波动温度(正弦、方波、锯齿波和随机变化)的影响。举例讨论了温度的波动和温度系数对于产品的货架期和有效温度的影