文章编号：1009－038X(2003)04－0065－04

高压电场对毛霉蛋白酶活力的影响及应用于腐乳催熟

何 熙[1]， 胡 飞[2]
(1. 广州市珠江啤酒股分有限公司，广东 广州 510315；2. 华南理工大学 食品与生物工程学院，广东 广州 510640)

摘 要：探讨了高压电场对毛霉蛋白酶酶活的影响，结果表明一定条件下，高压电场有激活毛霉蛋白酶的作用. 将高压电场应用于进入发酵后期的瓶装腐乳，发现电场强度 300～500 V/cm 下作用 6 min，可以缩短 15% 的后发酵期.

关键词：高压电场；毛霉蛋白酶；催熟
中图分类号：Q 55 **文献标识码**：A

Study on Mucor Protease Activity Change and Furu Aging Acceleration by High Voltage Electric Field

HE Xi[1]， HU Fei[2]
(1. Zhujiang Beer Company Ltd, Guangzhou 510315, China; 2. College of Food & Bioengineering, Southern China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The effect of high voltage electric field on the activity of mucor protease was studied. The results showed high voltage electric field could increase the activity of mucor protease in a certain condition. By adopting the high voltage electric field into Furu bottling process at the post-fermentation time could be shortened by 15% and Furu aging could be accelerated when treated at electric field strength of 300, 500 V/cm for 6 mins.

Key words: electric field; mucro protease; aging accelaration

腐乳是我国传统的发酵豆制品，其滋味鲜美、营养丰富、质地细腻，故而深受海内外人民的喜爱. 但腐乳生产周期长，腐乳制品后熟期一般为 26 个月，因此占用的空间大，给扩大生产规模带来了困难；而且生产周期长会减慢企业资金周转，影响经济效益. 所以，许多腐乳生产厂家致力研究缩短腐乳生产周期这一问题.

目前，电场技术应用的研究已有较大进展. 随着环境电场的变化，生物体内物质的电荷分布、排列、运动方式将随之改变，从而成为影响生物体生命活动的主要原因[1]. Humberto 等研究了电场对纤维蛋白酶有失活的影响[2]，S. Y. Ho 等(1997)发现在一定的电压下高压脉冲电场可以提高溶菌酶和前胃蛋白酶酶活[3]. 他们提出酶活发生变化的机制可能是电场处理引发酶关键部位发生氧化反应，也可能是酶的静电性质和构象发生改变. 毛霉型腐乳生产是利用毛霉分泌的蛋白酶还有其它酶系以及微生物的协同作用，对蛋白质等大分子有机物进行

收稿日期：2003－04－07； 修回日期：2003－05－20.
作者简介：何 熙(1973－)，女，重庆人，工学硕士.

万方数据

分解并合成某些风味物质,蛋白酶活性高会加快蛋白质的分解,促进腐乳成熟.作者前期研究发现,高频电场对腐乳催熟有一定促进作用[4].作者研究高压电场对毛霉蛋白酶酶活的影响,及在盐酒水、水这两种介质中,酶活的变化情况的差异.然后,将瓶装后发酵的腐乳经高压电场处理,定期检测其理化指标,探索高压电场对它催熟效果.

1 材料和方法

1.1 材料仪器

腐乳样品:由深圳冠益食品有限公司提供;测蛋白酶活力所需仪器;高压电场试验装置:自行研制.

1.2 实验方法

1.2.1 酶活力的测定 福林—酚法[3]测中性蛋白酶活.

毛霉接种在麸皮培养基(麸皮:水质量比为1:1.1)上,28 ℃培养48 h.将毛霉曲研磨,称取一定量的曲分别加A液、B液稀释10倍,振荡后置于高压电场发生器处理,再浸提一定时间后过滤,测酶活.

A液为蒸馏水,B液为体积分数18%酒精加质量浓度为7 g/dL的盐(选择B液是为了模拟毛霉蛋白酶在腐乳后期发酵时所处的介质)

1.2.2 高压电场处理瓶装腐乳 酶活使用不同电场强度的电场对瓶装腐乳作用适当时间.

1.2.3 理化指标检验 定期取样检测腐乳理化指标.

2 结果与讨论

2.1 不同的电场强度对蛋白酶活力的影响

毛霉曲A液和B液经不同的电场强度处理6 min后蛋白酶活力的变化见图1.图中酶活A和B表示毛霉曲分别经A液和B液浸提制成的毛霉粗酶液,以下同.

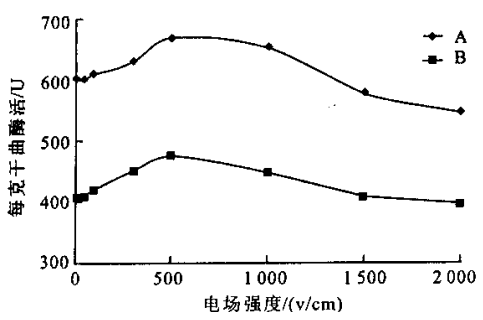


图1 高压电场强度对酶活的影响

Fig.1 Effect of strength of voltage electric field on protease activity

由图1可见,经100~1 000 V/cm的电场强度处理后,毛霉蛋白酶的活力有一定程度提高,在300~500 V/cm的高压电场处理范围内,酶活增长率较大,当施加电场强度超过1 500 V/cm则酶活力下降,说明在一定的条件下,高压电场对蛋白酶有钝化作用,如2 000 V/cm的电场强度处理6 min后,A、B液中酶活分别降低10%,3%.在B液中酶的活力受到抑制,但B液中的酶经电场处理后,酶活的增长率大于同条件下A液中酶活的增长率.经500 V/cm电场处理6 min后,酶活A增长率为10.4%,比酶活B增长率低5.7%(以相应的空白酶活为基准计算增长率).

高压电场在一定范围内活化酶,其机理可能是电场激发了酶更多的活性位点或是增大了酶现存活性位点起催化作用的范围,因此提高了反应速率.那么为何一定条件下高压电场对酶有钝化作用,可能为了防止酶失活,酶必须维持原有的结构,这就需要一定的非共价作用力(如氢键、范德瓦尔斯力、静电引力、内部的盐键、双硫键等)来达到,任何一种作用力发生大幅度的变化都可能使酶失活.高压电场的应用可能影响了维持酶三维结构的作用力,从而导致酶活下降[3].而且,电场还会使酶所处的环境(如水)的许多物理化学性质(如折射率、电导率、介电常数、表面张力、粘等)发生改变,进而影响酶催化的生化反应.

2.2 高压电场处理时间对酶活的影响

毛霉曲A液和B液分别在电场强度600 V/cm的条件下作用不同的时间对酶活的影响见图2.

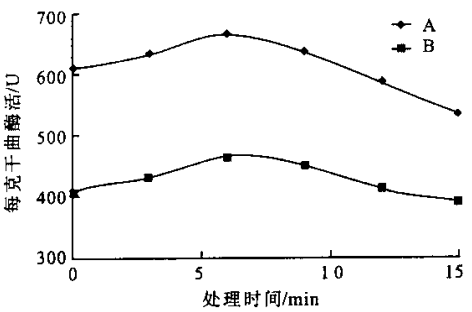


图2 高压电场处理时间对酶活的影响

Fig.2 Effect of handling time of electric field on protease activity

图2说明酶活随着处理时间的增加,其变化情况是先上升后下降,处理时间为6 min时酶活增长幅度最大,酶活A、B分别提高9.3%和14.1%.当处理时间超过12 min,酶活A下降得更快.

2.3 残存酶活的测定

按表1方案选择高压电场处理后酶活提高率

万方数据

较大的几组进行试验(0～3 组蛋白酶液是毛霉曲经 B 液浸提而得,0 组为空白对造,其它组经电场处理),结果见图 3.

表 1　试验编号

Tab.1　No. of Experiments

编号	电场强度/(V/cm)	处理时间/min
0	—	—
1	300	6
2	600	6
3	600	9

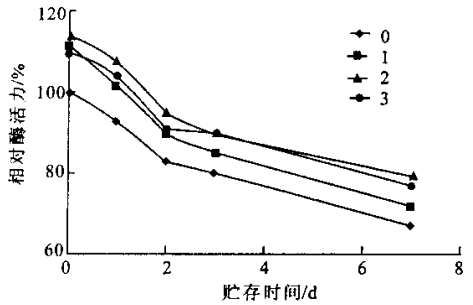


图 3　残存酶活测定图

Fig.3　Residual proteinase activity

由图 3 可见,随贮存时间的延长,蛋白酶活力逐渐下降,贮存至第 7 天,这几组的酶活分别下降至 70%.此时,经高压电场处理的酶活比空白组高,这表明高压电场对酶的激活有一定的持续性.

以上试验结果说明高压电场对毛霉蛋白酶活力有影响,虽然在 B 液中酶受到质量浓度为 7 g/dL 的盐及体积分数为 18% 酒的抑制,但经 300～500 V/cm 的电场强度处理 6 min 后,其酶活提高了 16.1%.一般腐乳生产包括制白坯、前期发酵、后期发酵、成熟这几个阶段.腐乳生产前期发酵主要是培养酶系,后期发酵则主要是酶系与微生物协同参与生化反应的过程.后期发酵包括毛坯腌制、装坛(瓶)、添加料酒等辅料、封坛(瓶)口、贮藏,让毛坯成酿后熟.那么后期发酵其实主要是利用毛霉分泌的蛋白酶对蛋白质等大分子有机物进行分解的过程,所以蛋白酶活性高会促进蛋白质分解,从而加速腐乳成熟.并且腐乳乳坯在后期发酵中所处介质近似的 B 液,因此研究 B 液中毛霉蛋白酶酶活的变化对了解后期发酵毛霉蛋白酶的作用有指导意义.既然高压电场对蛋白酶的激活作用有一定的持续性,可以推测将高压电场应用于刚进入发酵后期装入酒料的腐乳能起到一定的催熟作用.

万方数据

2.4　高压电场催熟腐乳的研究

按表 2 方案利用高压电场对瓶装进入后酵期的腐乳分组进行处理,每组有 15 瓶腐乳.腐乳经处理后放入 28 ℃的室内后发酵,定期检测腐乳的 AN(氨基态氮),结果见图 4.

表 2　高压电场处理瓶装后酵腐乳情况

Tab.2　Magnetic field treating furu in bottle

编号	电场强度/(V/cm)	处理时间/min
0	空白对照组	—
1	300	6
2	500	6
3	700	3
4	700	9
5	900	6

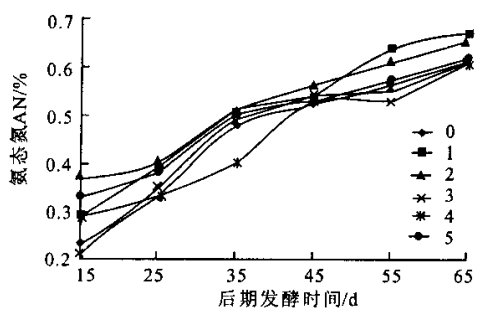


图 4　腐乳后发酵氨基酸态氮生成曲线

Fig.4　Change of amino nitrogen content in furu during aging

生产厂家制定的企业标准为腐乳后酵期其 AN(氨基态氮)质量浓度大于 0.6 g/dL 为成熟.从表 3 可见第 1、2 处理组腐乳催熟的效果最好,腐乳比空白对照组提前 10 d 成熟,第 3,4,5 处理组腐乳的成熟情况与正常生产的差不多.

空白对照组的成熟腐乳外观略带黄色,色泽均匀,具有腐乳特有的香味,滋味鲜美,质地细滑;电场处理组 1～5 组成熟腐乳的色、香味与空白对照组的无异.表 3 的数据也说明,对照组与电场处理组成熟腐乳样品其它的理化指标总体相差不大,其中第 4 处理组的细菌总数比其它组的要小一个数量级,可能是因为此组电场处理时间略长(9 min),对腐乳中的微生物有杀灭作用.

3　结　论

试验表明,高压电场对毛霉蛋白酶酶活有一定影响.蛋白酶液经 300～500 V/cm 电场强度处理 6 min,酶活提高率大.在 B 液中酶受到一定程度的抑

制,但高压电场处理后酶活增长幅度增大,有的提高 16%.在一定的条件下,发现高压电场对蛋白酶有钝化作用,如 2 000 V/cm,处理 6 min 后 A 和 B 液中酶活分别降低 10%和 3%.

对后发酵的瓶装腐乳进行高压电场处理,发现高压电场确实有一定的催熟作用,催熟适宜的条件是:电场强度 300～500 V/cm,处理 6 min.可缩短 15%的后发酵期.催熟机理还有待进一步研究.

表 3 腐乳后发酵 65 d 其它理化指标检测结果

Tab.3 Other physicochemical analyse at the ageing 65 day

项目 / 编号	水分 质量分数/%	还原糖 质量浓度/(g/dL)	总酯(乙酸乙酯)/(g/dL)	可溶性蛋白质 质量分数/%	H^+	AN 质量分数/%	NaCl 质量分数/%	每克干基细菌总数 ($\times 10^6$ 个)
0	69.7	0.28	1.8	25.4	0.55	0.61	6.6	2.0
1	69.0	0.30	1.9	24.4	0.54	0.67	7.8	3.4
2	70.0	0.45	1.3	27.1	0.61	0.65	8.2	1.4
3	69.3	0.34	3.4	25.7	0.56	0.61	7.6	1.8
4	68.3	0.30	2.8	27.8	0.52	0.60	7.8	0.7
5	68.4	0.31	2.0	23.7	0.51	0.62	8.4	4.2

注:H^+ 为酸度值,指 100 g 样品消耗 1 mol/L NaOH 的毫升数.

参考文献:

[1] 方胜.电场技术在农业和食品工程中应用的动态和前景[J].食品与机械,1996,4:4－5.

[2] Humber Vega-mercado,Joseph R Powers,*et al*. Plasmin inactivation with pulsed electric fields[J]. **Journal of food science**, 1995,60(5):1143－1146.

[3] Ho S Y, Mittal G S. Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes[J]. **Journal of food engineering**, 1997,31:69－84.

[4] 何熙.高频电场对毛霉蛋白酶的影响[J].中国调味品,2001,2:15－17.

(责任编辑 杨 萌)

(上接第 59 页)

参考文献:

[1] Janis R A, Silver P J, Triggle D. For a review on calcium channel modulators[J]. **J Adv Drug Res**, 1987, 16:309.

[2] Meyer V H. Study on synthesis of nimodiping[J]. **Drug Research**, 1983,33:106.

[3] Wollam R L, Dallas H W. Hypertension Management[M]. Chicago: Year Book Medical Publisher Inc, 1988.

[4] Joule J A. Heterocydic Chemistry[M]. London: Van Nostrand Rein Hold Company, 1972.

[5] 胡敏培. 尼卡地平的合成研究[J].医药工业,1988,19(3):140.

[6] 陈新.二氢吡啶类钙拮抗剂的合成工艺研究[J].药学进展,1990,14(3):145.

(责任编辑 朱 明)

万方数据