DOI:10.12441/spyswjs.20250310001 [文章编号] 1673-1689(2026)01-0033-10

微波加热对酿酒酵母发糕中果聚糖降解作用的机制研究

应晓悦[1,2] 陶 源[1,2] 袁 源[1,2] 李子廷[3] 闫博文[1,2*] 赵建新[1,2] 陈 卫[1,2] 范大明[1]

(1. 江南大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室,江苏 无锡 214122; 2. 江南大学食品学院,江苏 无锡 214122; 3. 无锡乐佩斯营养科技有限公司,江苏 无锡 214111)

摘要:【目的】探究微波加热对酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)发糕中果聚糖质量分数的影响,揭示微波加热激活转化酶活性的分子机制。【方法】通过调控微波功率密度(3.40~5.10 W/g)和加热时间(2~5 min)制备发糕,比较微波加热与传统蒸制发糕中果聚糖质量分数的差异;测定微波加热和水浴加热条件下酿酒酵母来源的转化酶活性;结合分子动力学模拟,解析微波场下转化酶与蔗果三糖的相互作用。【结果】微波处理可显著降低酿酒酵母发糕中果聚糖质量分数,当微波功率密度≥4.25 W/g且加热时间>2 min时,果聚糖质量分数降至0.30%以下,远低于传统蒸制组。微波场下转化酶活性显著提高,其与蔗果三糖的平均氢键数由10.6增至14.3,结合自由能由(−44.78±1.81) kJ/mol降至(−55.60±1.90) kJ/mol。【结论】微波加热通过增强转化酶与底物的氢键网络及库仑相互作用提高酶-底物复合物的稳定性,进而提高转化酶活性,促进酿酒酵母发糕中果聚糖的降解。

关键词:微波;转化酶;果聚糖;分子动力学模拟

Mechanism of the Effect of Microwave Heating on the Degradation of Fructans in Steamed Cakes Prepared with *Saccharomyces cerevisiae*

YING Xiaoyue[1,2] *TAO Yuan*[1,2] *YUAN Yuan*[1,2] *LI Ziting*[3] *YAN Bowen*[1,2*] *ZHAO Jianxin*[1,2] *CHEN Wei*[1,2] *FAN Daming*[1]

(1. State Key Laboratory of Food Science and Resources, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Wuxi Lipids Nutrition Technology Co., Ltd., Wuxi 214111, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to investigate the effect of microwave heating on the fructan mass fraction in steamed cakes prepared with *Saccharomyces cerevisiae* and elucidate the molecular mechanism of the activation of invertase by microwave. [**Method**] Steamed cakes were prepared under varying microwave power density (3.40~5.10 W/g) and heating time (2~5 min), and the fructan mass fraction was compared between steamed cakes prepared by microwave heating and conventional steaming. The activity of invertase from *Saccharomyces cerevisiae* was measured under microwave heating and water bath heating conditions. Molecular dynamics simulations were performed to explore the invertase-kestose interactions under microwave fields. [**Result**] Microwave treatment significantly reduced fructan mass fraction in steamed cakes prepared with *Saccharomyces cerevisiae*. At the microwave power density ≥4.25 W/g and heating time >2 min, the fructan mass

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32272472)。

通信作者:闫博文(1987—),男,博士,研究员,博士研究生导师,主要从事冷冻调理食品基础理论和绿色加工技术研究。E-mail: yanbowen@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2025-03-10 **修回日期:**2025-04-19

fraction decreased to below 0.30%, which was much lower than that under conventional steaming. Microwave enhanced the invertase activity, increasing hydrogen bonds between invertase and kestose from 10.6 to 14.3 and lowering binding free energy from (−44.78±1.81) kJ/mol to (−55.60±1.90) kJ/mol. [**Conclusion**] Microwave heating strengthens hydrogen bonding and coulombic interactions to stabilize enzyme-substrate complexes, thereby enhancing invertase activity and promoting fructan degradation in steamed cakes prepared with *Saccharomyces cerevisiae*.

Keywords: microwave; invertase; fructan; molecular dynamics simulation

可发酵的低聚糖、二糖、单糖及多元醇（fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols, FODMAPs）包括果聚糖、半乳糖、寡糖、乳糖、果糖和多元醇。摄入过量的FODMAPs会加重肠易激综合征（irritable bowel syndrome, IBS）患者的胃肠道不适症状。由于人类小肠缺乏水解果聚糖所需的内源性酶，FODMAPs在小肠中难以被有效吸收，随后进入结肠并被肠道菌群快速发酵。该发酵过程产生的气体（如氢气、二氧化碳及甲烷）及果聚糖的渗透效应共同诱发IBS的典型症状，包括腹胀、腹痛、腹泻等[1]。已有大量临床研究表明，低FODMAPs饮食对IBS患者的肠道健康有益[2]。一项采用双盲、安慰剂对照、随机设计的临床试验显示，与安慰剂或麸质相比，摄入FODMAPs显著提高了IBS症状严重程度评分（IBS-SSS），而安慰剂组与麸质组的IBS-SSS无显著差异[3]。低FODMAPs饮食可显著改善中国西部地区IBS患者的胃肠道不适症状[4]。小麦制品通常含有大量的FODMAPs，其中果聚糖占小麦制品干质量的0.7%~2.9%，远高于低FODMAPs食品的临界值（0.3%）[5]。小麦制品是我国饮食文化中常见的主食，其每日摄入量较高。因此，开发低FODMAPs主食类小麦制品具有重大意义。

小麦制品中的果聚糖质量分数受小麦品种、发酵条件及加热方式的影响[6]。微生物发酵可降低小麦基质食品中的果聚糖质量分数。酿酒酵母是最常用的发酵剂，其表达的转化酶（EC3.2.1.26）优先水解蔗糖的α-1,2-糖苷键，对β-*D*-果糖组成的果聚糖分子中非还原性末端的β-2,1-糖苷键也具有一定的水解能力[7]，但催化效率较低[8]。因此，采用传统发酵方法获得的小麦制品无法达到低FODMAPs食品的要求。马克思克鲁维酵母（*Kluyveromyces marxianus*）能表达高酶活性的菊粉酶，可在发酵过程中降解全麦面粉中90%以上的果聚糖。然而，马克思克鲁维酵母的产气能力较弱，单独使用会导致面团结构塌陷[9]。酸面团是另一种常见的发酵剂，由乳酸菌和酵母等多种微生物群落组成。据报道，酸面团发酵可降低小麦制品中的果聚糖质量分数[10]。此外，添加乳酸菌进行发酵不仅能提高小麦制品的营养价值[11-12]，还能改善其风味和口感[13-14]。在酸面团发酵系统中，果聚糖的降解主要依赖微生物分泌的多种糖苷水解酶的协同作用。β-果糖苷酶对低聚合度的果聚糖具有较高的水解能力，但对大分子果聚糖的降解能力较弱；外切菊粉酶可以随机水解果聚糖内部的β-2,1-糖苷键，产生三糖、四糖、五糖等低聚果糖[15]。

小麦制品中的果聚糖会在烘焙过程中发生降解。在180 ℃烘烤50 min后，面团中额外添加的菊粉型果聚糖约有30%发生了降解[16]。微波加热具有高效、绿色的特点。在微波加热发糕中添加酸面团可改善其质构特性（如比容、硬度和咀嚼性等）[17]，这是由于酸面团的添加增强了面团的介电效应，同时弱化了浆料的面筋网络结构[18]。

已有研究证实微波对酶促反应具有激活作用，微波场下脂肪酶的催化活性提高了7~12倍，而底物特异性保持不变[19]。微波场可直接作用于蛋白质分子的极性基团，将微波能转化为分子的动能和内能，进而促进自由基的形成[20]。这些自由基与氨基酸残基的相互作用可能会改变蛋白质的二级结构。蛋白质的微波吸收特性由其结构特征决定，当氨基酸的偶极矩大于水的偶极矩时，碱性氨基酸的介电极化能力和微波吸收能力更强[21]。

本研究将微波技术应用于低FODMAPs发糕的加工，探究了微波功率密度、加热时间对发糕中果聚糖质量分数的影响，测定了转化酶在微波场下的催化特性，并采用分子动力学模拟解析了微

波场对转化酶的激活机制，为低FODMAPs小麦制品的加工提供了新思路。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

小麦粉：五得利面粉集团有限公司，其中蛋白质质量分数（9.6±0.2）%、水分质量分数（13.10±0.03）%、灰分质量分数（0.42±0.02）%；高活性干酵母：安琪酵母股份有限公司；复合膨松剂（无铝）：山东展艺食品有限公司；转化酶（来源于酿酒酵母）：美国Sigma公司；菊粉（来源于大丽花）：上海麦克林生化科技有限公司；低聚果糖（质量分数>90%）：上海创赛科技有限公司；Levan型果聚糖（质量分数90%）：河南阿尔法化工有限公司；乙酸钠：上海国药集团有限公司；果聚糖（HK法）检测试剂盒：爱尔兰Megazyme有限公司。

1.2　仪器与设备

微波炉：NE-1753型，松下电器（中国）有限公司；微波合成仪：MultiSYNTH型，意大利Milestone公司；电蒸箱：HB24D554W型，西门子股份公司；厨师机：KM080型，英国KENWOOD有限公司。

1.3　方法

1.3.1　发糕制作方法

发糕的配方见表1，根据配方称取小麦粉和复合膨松剂（无铝），加入厨师机中。酿酒酵母组：用480 g温水（约37 ℃）活化7.2 g高活性干酵母；空白对照组中仅加入480 g温水（约37 ℃）。先以1档搅拌约1 min至无明显干粉，逐渐将转速调至3档，搅拌至面团光滑（约6 min），随后取100 g发糕浆料置于PP模具中，振荡模具以排出浆料内部的气泡。发糕浆料在37 ℃、相对湿度85%的醒发箱内醒发40 min，待后续微波或蒸制加热。

表1　发糕配方

Table 1　Formulations of steamed cakes　　单位：g

组别	小麦粉质量	水质量	酵母质量	复合膨松剂（无铝）质量
空白对照组	600	480	0	3.0
酿酒酵母组	600	480	7.2	3.0

1）传统蒸制模型：醒发完成后的发糕浆料在预热后的蒸箱中以100 ℃蒸制15 min。蒸制完成后自然冷却30 min，脱模后得到蒸制发糕样品。

2）微波快速加热模型：由于低功率密度、短时间（如3.40 W/g加热1 min）的微波加热条件并不能使发糕浆料熟化，故将微波功率密度分别设定为3.40、4.25、5.10 W/g；微波加热时间分别设定为2、3、4、5 min。微波加热完成后自然冷却30 min，进行后续指标的测定。

3）微波等速加热模型：为模拟传统蒸制的升温过程，建立微波等速加热模型，确保微波与蒸制的升温曲线一致。具体操作为：称取3 g发糕浆料置于石英试管中，放入蒸箱中以100 ℃蒸制15 min，蒸制期间使用光纤温度探针记录样品几何中心的温度变化。基于该温度变化曲线设定微波合成仪的温度控制程序，使微波加热的升温速率与蒸制条件保持一致。该微波合成仪输出频率为2.45 GHz，采用PID算法，通过比对设定温度曲线与探针反馈数据动态调节输出功率，确保微波加热过程的升温速率与蒸制过程相匹配，典型的温度、输出功率曲线见图1。称取3 g空白对照组或酿酒酵母组发糕浆料置于石英试管中，放入微波合成仪中加热15 min，加热结束后自然冷却30 min，即可得到微波等速加热模型条件下的熟化发糕。

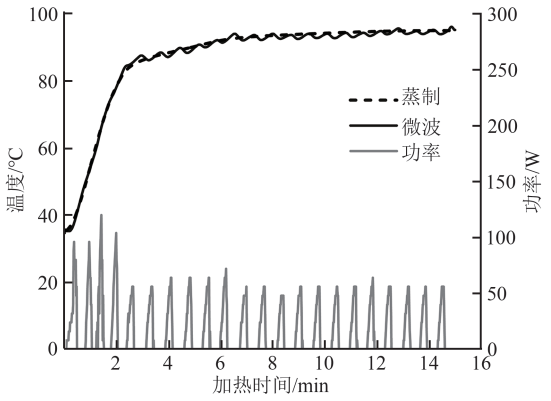


图1　微波等速加热与蒸制过程中发糕温度及微波功率随时间的变化曲线

Fig. 1　Temperature and microwave power curves of steamed cakes over time during microwave isokinetic heating and steaming

1.3.2　果聚糖质量分数的测定

将发糕样品冷冻干燥后粉碎，准确称取1 g样品，加入25 mL蒸馏水，置于100 ℃沸水浴中加热5 min，混匀后继续加热5 min。冷却后定容至50 mL，取1.0 mL提取液于13 000 r/min离心5 min。取

0.2 mL上清液，加入0.2 mL蔗糖酶-麦芽糖酶工作液，于30 ℃孵育30 min，再加入0.5 mL pH 4.5的乙酸钠缓冲液，混合均匀。分别取0.2 mL反应液置于2支比色皿中，测定组加入0.1 mL果聚糖酶工作液，空白对照组加入等体积乙酸钠缓冲液，于40 ℃孵育30 min。随后依次加入2.00 mL蒸馏水、0.20 mL试剂瓶1缓冲液、0.10 mL $NADP^+$-ATP溶液，充分混匀后，于340 nm处测定初始吸光度（A_1）；再加入0.02 mL HK-PGI-G6PDH酶悬液，于25 ℃反应15 min后，在相同波长下读取终吸光度（A_2）。使用Megazyme Mega-Calc™工具，根据吸光度及样品稀释因子计算样品中的果聚糖质量分数。

1.3.3 微波、水浴加热条件下转化酶活性的测定

根据Ispiryan等[22]的方法提取小麦果聚糖。使用50 mmol/L乙酸钠缓冲液（pH 5.0）制备质量浓度为5 g/L的底物（菊粉、低聚果糖、Levan型果聚糖、小麦果聚糖）溶液，同时用该缓冲液配制10 mg/mL的转化酶溶液。在石英试管中加入0.1 mL酶液与1.9 mL底物溶液，混匀后置于55 ℃水浴中孵育30 min，随后沸水浴5 min终止反应。对于微波加热组，采用与水浴相同的反应体系，在微波合成仪中于55 ℃保温30 min，随后进行沸水浴灭活处理终止反应。采用DNS法测定还原糖质量浓度。在pH 5.0、55 ℃条件下，每分钟水解特定底物生成1 μmol还原糖所需的转化酶质量定义为一个酶活力单位（U）。将微波场下转化酶水解低聚果糖的酶活力设为100%，计算相对酶活力。

1.3.4 分子对接和分子动力学模拟

从PDB数据库获取酿酒酵母来源的转化酶八聚体的晶体结构（ID 4EQV），使用PyMol软件（v 3.0.2）去除结晶水，并提取转化酶单体结构。蔗果三糖的三维结构从PubChem数据库（CID 440080）获取，通过Chem3D（v 19）软件对其结构进行初步能量最小化处理，以转化酶活性口袋为中心，构建尺寸为58 nm×58 nm×58 nm的对接盒子，采用Autodock Vina 1.6软件将蔗果三糖与转化酶活性中心进行分子对接。

采用Gromacs（2018.8）软件开展分子动力学模拟，选用AMBER99SB力场和TIP3P水模型。将转化酶单体置于立方体水盒子中，确保蛋白质距离盒子边缘的最短距离为0.8 nm；添加22个Na^+以维持体系电中性。首先采用最速下降算法将体系进行能量最小化处理，随后进行100 ps的限制性动力学模拟，使体系中的水分子充分弛豫。在此基础上，在2.5 ns内将体系温度逐步升至55 ℃（328 K）。鉴于常规微波炉可达到的最大场强为1×10^4~1×10^5 V/m，在盒子的X方向施加1×10^5 V/m、频率为2.45 GHz的交变电场。对每个反应体系进行100 ns的分子动力学模拟，随后使用GROMACS软件自带的gmx hbond、gmx energy程序，分别分析氢键、相互作用能，并绘制自由能形貌图；采用gmx_MMPBSA程序的MM/GBSA方法计算两者的结合自由能；使用PyMol（v 3.0.2）和$LigPlot^+$（v 2.2.8）对酶和底物之间的相互作用进行二维可视化分析。

1.3.5 数据分析与处理

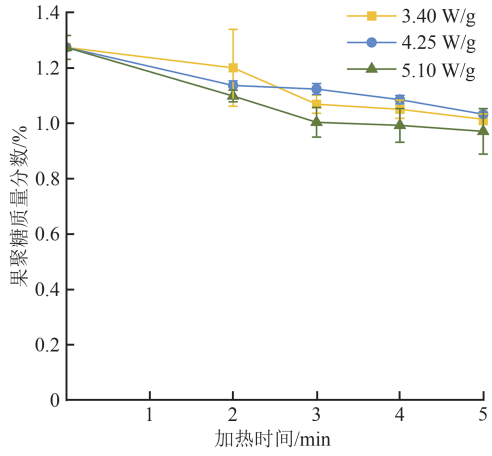
所有测试均进行3次重复，数据均用平均值±标准差表示。使用Origin 2022软件作图，采用SPSS 21.0软件对数据进行显著性分析，$P<0.05$表示差异显著。

2 结果与讨论

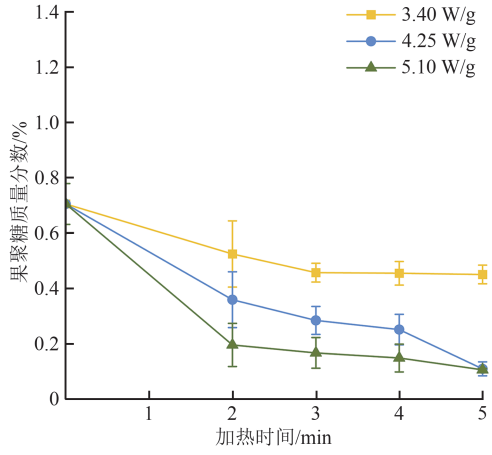
2.1 微波快速加热对发糕中果聚糖质量分数的影响

微波功率密度和加热时间对米面制品的品质特性具有重要影响。不同微波功率密度与加热时间组合制备的发糕中的果聚糖质量分数见图2。在传统蒸制条件下，空白对照组发糕浆料的果聚糖质量分数由加热前的1.27%降至加热后的1.17%；酿酒酵母组的果聚糖质量分数则由0.70%降至0.59%，但均无显著差异（$P>0.05$）。随着微波功率密度的增加和加热时间的延长，空白对照组发糕的果聚糖质量分数均略有降低，这表明单独改变热处理方式或提高微波热处理强度仅能降低少量果聚糖质量分数，这可能源于微波非特异性热效应导致的物理溶出。然而，酿酒酵母组发糕中的果聚糖质量分数受微波功率密度、加热时间的影响较大，尤其在较高功率密度（5.10 W/g）下表现更为突出。当微波功率密度≥4.25 W/g且加热时间>2 min时，发糕中的果聚糖质量分数降至0.30%（以干物质计）以下，与传统蒸制发糕（0.59%）存在显著差异，且已达到低FODMAPs食品对果聚糖质量分数的要求。

酿酒酵母发糕中果聚糖质量分数的变化受多种因素影响。一方面，微波加热具有快速加热效应，使得蒸制和微波加热的升温过程存在显著差



(a) 空白对照组果聚糖质量分数



(b) 酿酒酵母组果聚糖质量分数

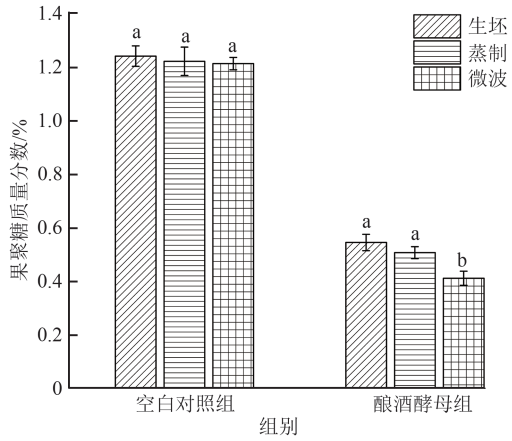
图 2　微波快速加热制备的发糕中果聚糖质量分数

Fig. 2　Fructan mass fractions of steamed cakes prepared by microwave rapid heating

异。微波加热主要通过分子极化和分子间摩擦、碰撞使物料升温，随着微波功率密度的提高和加热时间的延长，分子间碰撞频率增加[23]，有利于菊粉的溶出。在一定范围内，微波场可引发物质的介电极化效应，进而改变果聚糖的分子结构，降低水解所需的活化能，使其更容易被水解。同时，微波场能改变果聚糖与水分子的相互作用，使水分子更有序地排列在果聚糖分子周围，形成更稳定的水合结构，这种增强的水合作用有助于果聚糖分子的溶出及水解反应的进行。尽管微波对果聚糖分子的一级结构影响较小，但在一定程度上可能改变其空间构象，使分子中的部分基团更容易受到水解作用的影响。另一方面，果聚糖的降解主要通过酶的水解作用实现，微波可能通过激活酶的催化能力，促进发糕中果聚糖的降解。类似地，研究表明，微波功率会影响微生物转谷氨酰胺酶（MTGase）介导的食品凝胶体系的交联，从而改变微观结构的致密和均匀程度[24]。因此，要深入理解微波影响酵母发糕果聚糖降解的具体机制，仍需通过更严谨的试验设计进行分析验证。

2.2　微波等速加热对发糕中果聚糖质量分数的影响

为排除微波快速加热效应对果聚糖降解的影响，本研究参考蒸制过程的升温曲线，制备了微波等速加热发糕。如图 3 所示，空白对照组发糕浆料的果聚糖质量分数在加热前后基本保持一致，表明蒸制和该强度的微波均不会引起果聚糖的显著降解。采用微波等速加热模型制备的酿酒酵母组发糕，其果聚糖质量分数显著低于蒸制组，表明微波对果聚糖水解相关酶的激活作用独立于热效应。



同组不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

图 3　蒸制及微波等速加热模型对发糕中果聚糖质量分数的影响

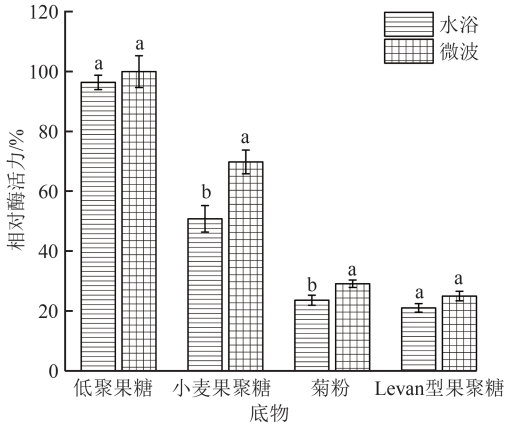
Fig. 3　Effects of steaming and microwave isokinetic heating on the fructan mass fraction of steamed cakes

尽管转化酶对果聚糖的水解能力较弱，但该酶是酿酒酵母代谢果聚糖的关键酶[25]。在加热过程中，酿酒酵母表达的转化酶仍能有效促进果聚糖降解。在微波场中进行胰蛋白酶水解反应时，若采用强制冷却装置控制体系温度恒定，可显著提高蛋白质水解速率[26]。已有研究表明，微波处理会改变葡萄糖淀粉酶的二级结构，使α螺旋占比降低，β片层和β转角占比增加，导致蛋白质的部分有序结构转变为无序线圈结构。这些结构变化可减小酶活性中心的空间位阻，使其更容易与底物结合，进而提高酶活性[27]。因此，微波加热可能通过激活酿酒酵母转化酶活性加速发糕加热过程中果聚糖的降解。

然而，发糕加热过程涉及复杂的传质和传热过程，包含淀粉糊化、蛋白质变性、水分蒸发等多个物理和化学变化。因此，为了更清晰地理解微波对转化酶的激活作用，还需进一步简化试验体系，以深入探究其作用机制。

2.3 微波加热对转化酶酶学特性的影响

为验证微波处理协同转化酶水解果聚糖的假设，本研究构建了酶解反应体系，利用微波合成仪控制反应温度，测定了微波和水浴条件下转化酶的相对酶活力，见图 4。转化酶对小分子果聚糖（如低聚果糖和小麦果聚糖）的水解能力较强，以低聚果糖为底物时，其酶活力为 233.77 U/mg；而对大分子果聚糖及以 β-2，6-糖苷键连接的果聚糖的水解能力较弱。糖苷水解酶的底物特异性，与底物结合口袋的结构特征以及特定氨基酸残基与底物之间的非共价相互作用密切相关。如 His52 残基决定了 *Glutamicibacter mishrai* NJAU-1 来源的菊粉酶 INU1 对蔗果三糖的高度特异性，该残基可与蔗果三糖的+2 位点葡萄糖残基形成氢键[28]。在 GH32 家族酶中，非催化结构域也会影响底物的识别与结合。如 M117 位于 KcINU1 的 β 折叠结构域，尽管远离底物结合口袋，但该残基仍决定了该外切菊粉酶对菊粉的高度特异性[29]。



同组不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

图 4 微波、水浴条件下转化酶在不同底物下的相对酶活力

Fig. 4 Relative activity of invertase treated by microwave and water bath with different substrates

与水浴加热相比，微波加热显著提高了转化酶对小麦果聚糖、菊粉和 Levan 型果聚糖的水解能力，这一发现进一步印证了 2.2 节提出的假设。目前，微波处理激活酶促反应的具体机制尚未完全阐明。Cao 等[30]通过光谱分析研究微波处理后谷氨酰胺酶的特征，提出 TG 酶活性的增强可能与其二级结构的变化相关，即微波处理后，TG 酶的 α 螺旋占比降低，而 β 折叠和 β 转角占比有所提升。分子动力学模拟结果表明，微波处理对蛋白质三级结构的影响大于二级结构[31]。尽管现有的研究结果存在差异，但可以确定的是，微波场中偶极子和偶极矩的变化及其取向转变会导致蛋白质构象发生变化并形成新的稳态。基于以上研究推测，微波对转化酶水解小麦果聚糖的特异性激活作用，可能是由于微波增强了催化口袋内特定氨基酸残基与底物之间的相互作用。由于传统光谱分析方法无法直接揭示分子层级的相互作用，本研究将采用分子动力学模拟进一步阐明微波场下酶与底物相互作用的具体细节。

2.4 转化酶和蔗果三糖的分子对接

本研究采用半柔性对接方法，预测了蔗果三糖与转化酶结合的三维结构，并选择 Asp22-Asp150-Glu203 催化三联体作为对接位点。将最低结合自由能（−7.0 kJ/mol）对应的构象作为分子动力学模拟的初始构象。结果显示，蔗果三糖的非还原端位于催化口袋内且更靠近催化活性中心，而还原端则处于靠外的位置，该现象表明转化酶具有一定的外切菊粉酶活性，见图 5。氢键在

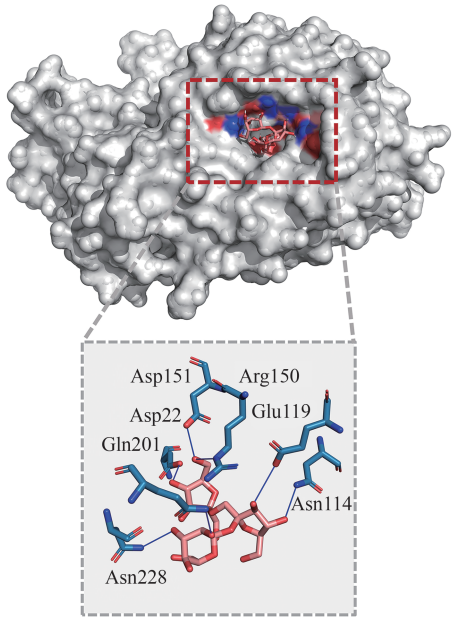


图 5 转化酶与蔗果三糖的分子对接结果

Fig. 5 Molecular docking result of the interaction between invertase and kestose

维持转化酶与底物结合稳定性方面发挥着关键作用。在该构象中，蔗果三糖与转化酶中的多个氨基酸残基（Asp22、Asn114、Glu119、Arg150、Asp151、Gln201、Asn228）形成了氢键，这些相互作用对转化酶的催化过程至关重要[32]。因此，该对接构象合理且稳定。

2.5　转化酶与蔗果三糖的相互作用

以初始结合自由能最低的构象为初始构象，分别在0、1×10^5 V/m的微波场下进行100 ns分子动力学模拟。如图6所示，在微波场作用下，转化酶和蔗果三糖共形成111种氢键，复合物之间的平均氢键数为14.3个；而在无微波场条件下，仅形成83种氢键，平均氢键数仅为10.6个。这一结果表明，复合物在微波场下可维持较为稳定的氢键网络，进而有助于维持活性位点的构象与底物的紧密结合。氢键是一种相对较强的分子间作用力，更多的氢键可优化酶与底物的结合模式，使底物在酶活性位点处的取向和位置更合理，从而有利于催化反应的进行[33]。此外，氢键还可稳定酶-底物复合物在过渡态时的结构，降低反应活化能，进一步促进反应的发生[34]。

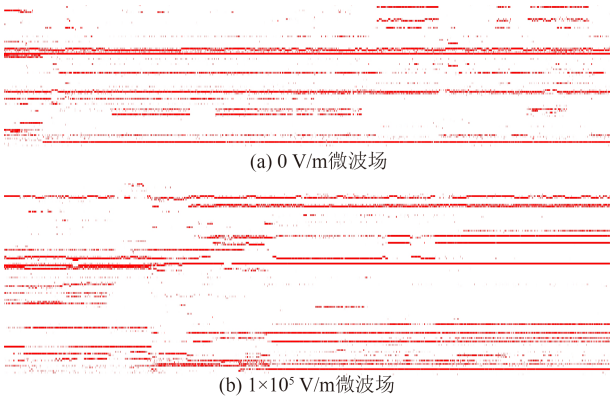


图6　转化酶与蔗果三糖的氢键图

Fig. 6　Hydrogen bonds between invertase and kestose

采用LigPlot$^+$软件对自由能形貌图中能量最低的构象进行分析，见图7。在微波场作用下，Ser83、Glu119、Gln148、Arg150与底物之间形成了稳定的氢键，这些氢键在底物结合中发挥了重要作用[33]。极性氨基酸（如Gln148）与酿酒酵母中β-呋喃果糖苷酶中的Gln288具有相似的功能特性，可参与底物+2位点的氢键作用[35]。这些氢键的形成可能是由于极性基团的分子取向在电场作用下发生了改变[36]。交变电场会改变极性氨基酸残基的电荷分布和分子取向，进而影响酶与底物之间的氢键网络[34]。芳香族氨基酸虽不属于催化三联体的组成部分，但对酶的活性和特异性同样具有至关重要的作用。Phe82、Trp291位于活性位点的疏水区域，在底物定向过程中发挥着至关重要的作用[29]。已有研究表明，适当强度的微波会导致部分疏水残基暴露[37]，这一现象可能是微波诱导非极性基团发生重排所致。

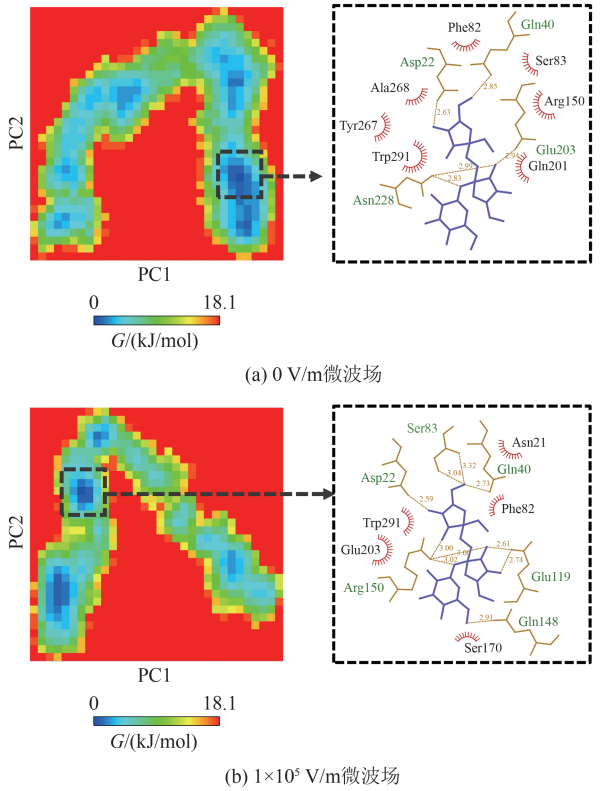


图7　复合物的吉布斯自由能形貌图及能量最低处转化酶与蔗果三糖的相互作用

Fig. 7　Gibbs free energy landscape of the complex and the interaction between invertase and kestose at the lowest energy

2.6　转化酶与蔗果三糖的能量作用

为深入解析微波场对转化酶活性增强的作用机制，本研究计算了转化酶与蔗果三糖之间的相互作用能，并绘制了频率分布图，见图8。结果显示，微波处理提升了转化酶与蔗果三糖间的结合自由能绝对值，表明酶-底物复合物的稳定性增强。这可能是由于微波能量转化为分子内的势能和动能，具体表现为相互作用能的增强[38]。在此过程中，库仑相互作用力和范德华力均呈正

态分布，其中库仑相互作用力占主导地位。微波处理明显增强了库仑相互作用力，却略微削弱了范德华力。推测微波处理可能通过诱导蛋白质分子发生极化效应，改变其表面电荷分布，从而增强了静电相互作用。库仑相互作用力的增强可促进底物与酶活性位点的结合，使反应过渡态更加稳定[39]，从而影响反应的热力学性质。结果表明，微波处理通过调控酶-底物体系的静电相互作用网络，优化催化微环境的电荷分布特征，进而在分子水平上强化了酶-底物复合物的稳定性。

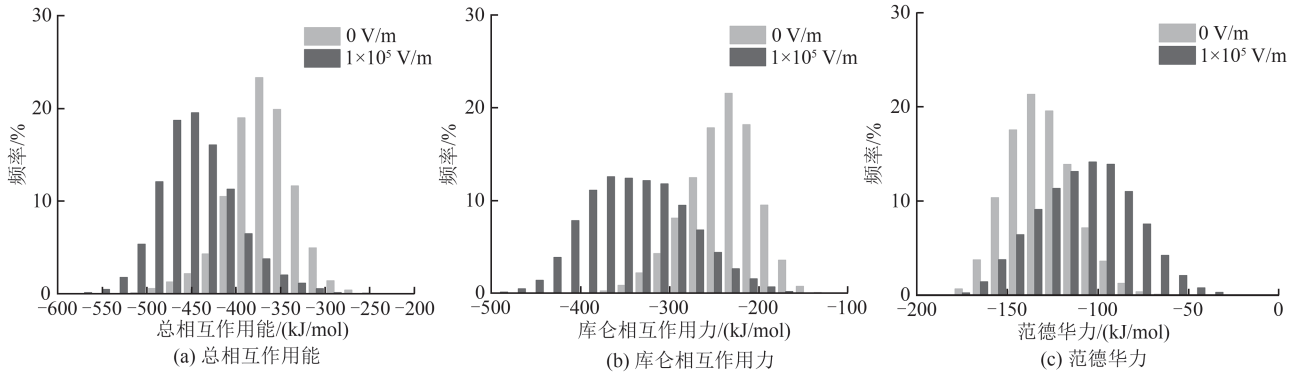


图 8　转化酶与蔗果三糖的相互作用能频率分布图

Fig. 8　Probability distribution of the interaction energy between invertase and kestose

转化酶与蔗果三糖的结合自由能见表 2。酶与底物之间的结合主要依赖库仑相互作用力，范德华力和非极性溶剂化能也起到一定的贡献作用，而极性溶剂化能对复合物的稳定性会产生负面作用。与 0 V/m 条件相比，在 1×10^5 V/m 微波场下转化酶与蔗果三糖之间的结合自由能明显增强。微波处理显著提升了库仑相互作用力的贡献，而范德华力对结合自由能的贡献则略有降低。此外，微波场下溶剂化能对结合的抑制作用略有增强，这可能与微波场导致亲水基团的取向改变及亲水基团的暴露程度增加有关。由此可推断，微波场下酶与底物的结构及相互作用的变化有利于两者的结合，进而推动水解反应的顺利进行。

表 2　转化酶和蔗果三糖的结合自由能

Table 2　Binding energy between invertase and kestose

场强/(V/m)	范德华力/(kJ/mol)	库仑相互作用力/(kJ/mol)	极性溶剂化能/(kJ/mol)	非极性溶剂化能/(kJ/mol)	结合自由能/(kJ/mol)
0	−38.87±1.86	−66.84±2.63	67.23±2.34	−6.30±0.21	−44.78±1.81
1×10^5	−30.15±3.12	−107.46±3.68	88.21±1.42	−6.19±0.33	−55.60±1.90

3　结论

作者通过试验与分子动力学模拟揭示了微波加热对发糕中果聚糖降解的强化作用及其分子机制。结果表明，当微波功率密度≥4.25 W/g 且加热时间>2 min 时，酿酒酵母发糕中果聚糖质量分数降至 0.30% 以下，满足低 FODMAPs 食品的相关要求。分子动力学模拟显示，微波场可通过增加转化酶与蔗果三糖的氢键数量、增强两者的库仑相互作用力、降低复合物的结合自由能，从而显著提高酶-底物复合物的稳定性。另外，微波还可以通过优化酶活性口袋的构象和底物取向提高催化效率。本研究为微波技术在低 FODMAPs 小麦制品加工中的应用提供了理论依据。

参考文献

[1] WU J, MASUY I, BIESIEKIERSKI J R, et al. Gut-brain axis dysfunction underlies FODMAP-induced symptom generation in irritable bowel syndrome[J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2022, 55(6): 670-682.

[2] MUIR J G, VARNEY J E, AJAMIAN M, et al. Gluten-free and low-FODMAP sourdoughs for patients with coeliac disease and irritable bowel syndrome: a clinical perspective [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 290: 237-246.

[3] NORDIN E，BRUNIUS C，LANDBERG R，et al. Fermentable oligo- ，di- ，monosaccharides，and polyols（FODMAPs），but not gluten，elicit modest symptoms of irritable bowel syndrome：a double-blind，placebo-controlled，randomized three-way crossover trial[J]. The American Journal of Clinical Nutrition，2022，115（2）：344-352.

[4] LIU Y Y，JIN D，HE T，et al. Effect of the combined intervention of low-FODMAPs diet and probiotics on IBS symptoms in Western China：a randomized controlled trial[J]. Food Science & Nutrition，2024，12（6）：3993-4004.

[5] VARNEY J，BARRETT J，SCARLATA K，et al. FODMAPs：food composition，defining cutoff values and international application[J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology，2017，32（S1）：53-61.

[6] PEJCZ E，SPYCHAJ R，GIL Z. Technological methods for reducing the content of fructan in wheat bread[J]. Foods，2019，8（12）：663.

[7] LAURENT J，TIMMERMANS E，STRUYF N，et al. Variability in yeast invertase activity determines the extent of fructan hydrolysis during wheat dough fermentation and final FODMAP levels in bread[J]. International Journal of Food Microbiology，2020，326：108648.

[8] VERSPREET J，HEMDANE S，DORNEZ E，et al. Maximizing the concentrations of wheat grain fructans in bread by exploring strategies to prevent their yeast（*Saccharomyces cerevisiae*）-mediated degradation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2013，61（6）：1397-1404.

[9] STRUYF N，VANDEWIELE H，HERRERA-MALAVER B，et al. *Kluyveromyces marxianus* yeast enables the production of low FODMAP whole wheat breads[J]. Food Microbiology，2018，76：135-145.

[10] MENEZES L A A，MOLOGNONI L，DE SÁ PLOÊNCIO L A，et al. Use of sourdough fermentation to reducing FODMAPs in breads[J]. European Food Research and Technology，2019，245（6）：1183-1195.

[11] 胡莉萍，孙锋，张均叶，等. 乳酸菌发酵饼干的品质特性[J]. 食品与生物技术学报，2024，43（1）：29-35.
HU L P，SUN F，ZHANG J Y，et al. Quality characteristics of lactic acid bacteria fermented crackers[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43（1）：29-35.（in Chinese）

[12] 魏涛涛，左云洋，王令，等. 不同乳酸菌发酵对刺梨汁品质及风味影响[J]. 食品与生物技术学报，2024，43（4）：90-97.
WEI T T，ZUO Y Y，WANG L，et al. Effects of fermentation with different lactic acid bacteria on quality and fragrance of *Rosa roxburghii* tratt juice[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43（4）：90-97.（in Chinese）

[13] 黄璟，梁丽婷，OMEDI Jacob Ojobi，等. 戊糖片球菌发酵猕猴桃对面包香气与烘焙特性的影响[J]. 食品与机械，2022，38（1）：3-14.
HUANG J，LIANG L T，OMEDI J O，et al. Aroma and baking characteristics of kiwifruit and its bread fermented by *Pediococcus pentosaceus*[J]. Food and Machinery，2022，38（1）：3-14.（in Chinese）

[14] 邹奇波，程新，陈诚，等. 混菌发酵酸面团对全麦面包风味与烘焙特性的影响[J]. 食品与机械，2020，36（4）：32-39.
ZOU Q B，CHENG X，CHEN C，et al. Effects on flavor and baking characteristics of whole wheat bread by fermented sourdough with the mixed culture[J]. Food & Machinery，2020，36（4）：32-39.（in Chinese）

[15] 张晓琦，徐炜，倪大伟，等. 具有极高热稳定性的β-（2，6）果聚糖蔗糖酶的挖掘、鉴定及应用[J]. 食品与生物技术学报，2023，42（4）：57-68.
ZHANG X Q，XU W，NI D W，et al. Characterization of an extreme thermostable levansucrase and its application[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2023，42（4）：57-68.（in Chinese）

[16] CAPRILES V D，ARÊAS J A G. Effects of prebiotic inulin-type fructans on structure，quality，sensory acceptance and glycemic response of gluten-free breads[J]. Food & Function，2013，4（1）：104-110.

[17] ZHOU J，YAN B W，WU Y J，et al. Effects of sourdough addition on the textural and physiochemical attributes of microwaved steamed-cake[J]. LWT-Food Science and Technology，2021，146：111396.

[18] WU Y J，YAN B W，ZHOU J，et al. Effects of sourdough on improving the textural characteristics of microwave-steamed cake：a perspective from dielectric properties and water distribution[J]. Journal of Food Science，2020，85（10）：3282-3292.

[19] WANG S Y，YANG Z W，PENG N，et al. Optimization of ionic liquids-based microwave-assisted hydrolysis of puerarin and daidzein derivatives from Radix *Puerariae lobatae* extract[J]. Food Chemistry，2018，256：149-155.

[20] FAN D M，HU B，LIN L F，et al. Rice protein radicals：growth and stability under microwave treatment[J]. RSC Advances，2016，6（100）：97825-97831.

[21] CHEN M，FAN D M，HUANG luelue，et al. A new approach to microwave food research：analyzing the electromagnetic response of basic amino acids[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies，2017，41：100-108.

[22] ISPIRYAN L, HEITMANN M, HOEHNEL A, et al. Optimization and validation of an HPAEC-PAD method for the quantification of FODMAPs in cereals and cereal-based products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(15): 4384-4392.

[23] 王月霞,周佳栋,曹飞,等. 盐碱滩涂菊芋菊糖的提取纯化及其聚合度分布[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 164-168.
WANG Y X, ZHOU J D, CAO F, et al. Extraction, purification and polymerization degree distribution of inulin from *Jerusalem artichoke* grown in saline-alkaline soil[J]. Food Science, 2011, 32(12): 164-168. (in Chinese)

[24] QIN X S, LUO S Z, CAI J, et al. Effects of microwave pretreatment and transglutaminase crosslinking on the gelation properties of soybean protein isolate and wheat gluten mixtures[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(10): 3559-3566.

[25] WANG S A, LI F L. Invertase SUC2 Is the key hydrolase for inulin degradation in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(1): 403-406.

[26] MAZINANI S A, DELONG B, YAN H B. Microwave radiation accelerates trypsin-catalyzed peptide hydrolysis at constant bulk temperature[J]. Tetrahedron Letters, 2015, 56(42): 5804-5807.

[27] ZHANG X Y, CAO T L, TIAN X D, et al. Effect of microwave irradiation on the structure of glucoamylase [J]. Process Biochemistry, 2012, 47(12): 2323-2328.

[28] LIAN D, ZHUANG S, SHUI C, et al. Characterization of inulolytic enzymes from the Jerusalem artichoke-derived *Glutamicibacter mishrai* NJAU-1 [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(17): 5525-5538.

[29] MA J Y, LI T, TAN H D, et al. The important roles played in substrate binding of aromatic amino acids in exo-inulinase from *Kluyveromyces cicerisporus* CBS 4857 [J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2020, 7: 569797.

[30] CAO H W, FAN D M, JIAO X D, et al. Intervention of transglutaminase in surimi gel under microwave irradiation [J]. Food Chemistry, 2018, 268: 378-385.

[31] BROZ M, OOSTENBRINK C, BREN U. The effect of microwaves on protein structure: molecular dynamics approach [J]. Journal of Chemical Information and Modeling, 2024, 64(6): 2077-2083.

[32] ÁLVARO-BENITO M, POLO A, GONZÁLEZ B, et al. Structural and kinetic analysis of *Schwanniomyces occidentalis* invertase reveals a new oligomerization pattern and the role of its supplementary domain in substrate binding[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(18): 13930-13941.

[33] LIU G L, CHI Z, CHI Z M. Molecular characterization and expression of microbial inulinase genes[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2013, 39(2): 152-165.

[34] SAMARANAYAKE C P, SASTRY S K. Molecular dynamics evidence for nonthermal effects of electric fields on pectin methylesterase activity[J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2021, 23(26): 14422-14432.

[35] ÁLVARO-BENITO M, SAINZ-POLO M A, GONZÁLEZ-PÉREZ D, et al. Structural and kinetic insights reveal that the amino acid pair Gln-228/Asn-254 modulates the transfructosylating specificity of *Schwanniomyces occidentalis* β-fructofuranosidase, an enzyme that produces prebiotics [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(23): 19674-19686.

[36] WU S Y, YANG X Q, JING H, et al. Experiment and molecular dynamics simulation of methylglyoxal aqueous solution under weak microwave irradiation[J]. Chemical Physics Letters, 2022, 795: 139541.

[37] WANG Y C, LIU C H, LANG H Y, et al. Effects of microwave on the structural and emulsifying properties and interfacial properties of oxidized soybean protein aggregates[J]. Food Chemistry, 2023, 19: 100861.

[38] TANAKA M, SATO M. Microwave heating of water, ice, and saline solution: molecular dynamics study[J]. The Journal of Chemical Physics, 2007, 126(3): 034509.

[39] FRIED S D, BOXER S G. Electric fields and enzyme catalysis[J]. Annual Review of Biochemistry, 2017, 86: 387-415.

（责任编辑：刘冬梅）