

食品用果胶酶的制备

崔福绵 刘 菡

(中国科学院微生物研究所, 北京)

摘要 以黑曲霉 CP-85211 菌株液体深层发酵滤液为材料, 采用超滤-乙醇沉淀方法, 制备出高酶活力的粉剂果胶酶。试验了乙醇添加量、温度、pH 等对酶沉淀的影响, 进行了果汁澄清等试验。

关键词 食品用果胶酶; 果汁澄清

近年来, 国内在食品加工中多使用果胶酶麸曲水浸液和液体发酵滤液。食品工业的发展, 对果胶酶的质量提出了高要求。我们用黑曲霉 (*Aspergillus niger*) CP-85211 液体深层发酵滤液, 采用超滤-乙醇沉淀方法, 进行了粉剂果胶酶制备的研究, 现将研究结果报告如下。

材 料 和 方 法

(一) 液体发酵果胶酶液的制备

使用黑曲霉 (*Aspergillus niger*) CP-85211 为菌种, 发酵制备方法见前报^[1]。发酵滤液果胶酶活力为 580 u/ml。

(二) 酶液的超滤

采用醋酸纤维膜, 在 18℃ 下操作。超滤液果胶酶活力为 4083 u/ml。

(三) 乙醇

北京化工厂产品。分析纯, 含乙醇 95%。

(四) 果胶

美国 Sigma 公司产品。由桔子制备, 含半乳糖醛酸 77.4%、甲氧基 7.7%。

(五) 果胶酶的沉淀

在 8℃ 下操作。取超滤酶液 10 ml 于离心管中, 在搅拌下滴加乙醇 40 ml, 放置 2 小时后, 3000 r/min 离心 30 分钟。弃上清, 沉淀物以冷风吹干。

(六) 果胶酶活力的测定

以果胶为底物测定, 方法见前报^[1]。在测定条件下, 每小时由底物产生 1 mg 还原糖(以

半乳糖醛酸计) 所需的酶量定义为一个酶活力单位 (u)。

(七) 蛋白质含量的测定

参照 Folin-Ciocalteu 酚^[2]试剂法测定。以牛血清白蛋白为标准计算。

(八) 果汁澄清试验

取玫瑰香葡萄汁 10 ml 于试管中, 加入 0.1% 果胶酶 (108000 u/g) 液 0.1 ml, 50℃ 保温 1 小时后, 3000 r/min 离心 10 分钟。取上清液, 在 660nm 波长测定透光度^[3], 以透光度 (%) 表示澄清度 (%)。另取上清液 5 ml, 加入乙醇 5 ml, 以上下颠倒方式轻轻混合四次, 于室温下静置。果胶分解较少, 则出现空气泡和胶样沉淀, 并且胶样沉淀上升至试管顶; 若果胶近完全分解, 则仅出现一薄层沉淀和轻度混浊^[4]。

结 果 和 讨 论

(一) 超滤对酶粉质量的影响

分别取发酵滤液和超滤液各 10 ml, 按方法(五)用乙醇沉淀酶。表 1 数据对比表明, 由超滤液获得的酶粉, 单位酶活力较高。这是由于酶液经超滤去除了一些杂质, 象无机盐、低分子蛋白、色素等所致。超滤技术用于酶的精制, 不仅提高了酶制剂的质量, 而且由于酶液浓缩还节省了大量的沉淀剂(乙醇)。

(二) 酶的沉淀

1. 乙醇添加量对酶沉淀效果的影响: 酶液分别与不同体积的乙醇相混, 进行酶的沉淀试验。由表 2 可以看出, 酶液添加 3 倍体积的乙

表1 酶粉质量的比较

酶粉来源	酶粉重(g)	酶活力(u/g)	蛋白质含量(%)
发酵滤液	0.224	23000	7
超滤液	0.356	102075	36

表2 乙醇添加量对酶沉淀效果的影响

酶液与乙醇 体积比	酶粉重* (g)	酶活力 (u/g)	酶活力回收 (%)
1:2.0	0.254	102879	64.0
1:2.5	0.299	102416	75.0
1:3.0	0.335	102014	83.7
1:3.5	0.348	101958	86.9
1:4.0	0.359	101935	89.6
1:4.5	0.361	101887	90.1
1:5.0	0.362	101849	90.3

* 由10 ml 超滤酶液得到。

醇,可使果胶酶活力回收达80%以上。

2. 温度对酶沉淀效果的影响: 在不同温度下进行酶沉淀试验中,表3表明,在所试温度范围内,沉淀处理时间较短,即不超过4小时,则温度对酶沉淀效果的影响差异不显著;沉淀处理时间较长,即超过4小时,则温度明显影响酶沉淀效果,例如,在8℃下沉淀16小时,酶活力回收为88.0%,而在28℃下沉淀相同时间,酶活力回收为45.9%。在20℃以下的温度条件下操作,可以获得满意的沉淀效果。

表3 温度对酶沉淀效果的影响

时间(小时) 酶活力*(u) 温度(℃)	0.5	2	4	8	12	16
4	35927	35844	36129	36120	36020	36000
8	35982	36043	35910	35847	35948	35941
15	35942	35974	35857	35862	35859	35823
20	35900	35940	35773	35760	35474	34413
28	35872	35870	35642	31942	27658	18723

* 由10 ml 超滤酶液得到。

3. pH对酶沉淀效果的影响

在不同pH条件下进行酶沉淀试验。表4说明,酶沉淀的适宜pH范围较宽,在3.5—5.5和自然pH(5.0)条件下进行酶的沉淀是可行的。

表4 pH对酶沉淀效果的影响

pH	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
酶活力*(u)	33940	35876	36020	36039	35967	36008	34409

* 由10 ml 超滤酶液得到。

在上述研究基础上,我们和江苏省无锡市酶制剂厂共同进行6批3000升罐发酵-压滤-超滤-乙醇沉淀工艺流程的扩大试验。所得酶粉平均单位酶活力为107768 u/g,平均酶活力回收为55%。酶粉的理化、微生物、毒性检验,酶的应用试验(见本文下面)和生产成本核算表明,超滤-乙醇沉淀是制备食品用果胶酶的一种可行方法。

(三) 果汁澄清试验

1. pH对酶促澄清的影响: 葡萄汁用硫酸和氢氧化钠溶液调pH至试验所要求的各值,进行酶促澄清试验。表5指出,酶促澄清的最适pH为3.0—4.0。一般果汁的自然pH值在此范围内,所以该果胶酶适于果汁澄清。

表5 pH对酶促澄清的影响

pH	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
澄清度(%)	90	92	95	98	98	80	48
果胶乙醇试验*	+++	+	-	-	-	+	++

* +++果胶未分解; ++果胶少量分解; + 果胶大量分解; - 果胶几乎完全分解。

2. 温度对酶促澄清的影响: 在不同温度下进行酶促澄清试验。表6表明,该果胶酶在所试温度范围内均具有澄清能力,最适温度为45—50℃。

表6 温度对酶促澄清的影响

温度(℃)	5	10	20	30	40	45	50	55	对照(5℃)
澄清度(%)	67	74	81	85	93	98	98	94	62
果胶乙醇试验*	+++	++	++	+	+	-	-	+	+++

* 同表5注解。

3. 金属离子对酶促澄清的影响: 葡萄汁中加入0.025 M金属化合物,调pH 3.5,在25℃ 16小时条件下进行酶促澄清试验。表7指出,

表 7 金属离子对酶促澄清的影响

金属化合物	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	AlCl_3	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	CaCl_2	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	ZnCl_2	$\text{SnCl}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	对照
澄清度(%)	79	94	95	90	96	95	85	78	99
果胶乙醇试验*	+++	+	+	++	—	—	+++	+++	—

* 同表 5 注解。

铁、钙、锌和锡离子对酶促澄清有强烈的抑制作用。

参 考 文 献

- [1] 崔福绵等: 微生物学报, 27(1): 37—41, 1987。
 [2] Layne, E.: Methods in Enzymology, Vol. 3,

Academic Press, Inc., Publishers New York, 1957. p. 447—450.

- [3] Endo, A.: Agr. Biol. Chem., 29(2): 129—136, 1965.
 [4] Baumann, J.W.: Enzymes and Food Processing (ed. G. G. Birch et al.), p. 129—146, London, 1981.