

纤维素酶在食品工业中的应用进展

(军事医学科学院生物工程研究所,北京 100071)

闫训友¹ 刘志敏⁴

(西南农业大学园艺园林学院,重庆 400716)

史振霞²

(西南农业大学食品科学学院,重庆 400716)

张惟广³

摘要 纤维素酶在食品工业中具有广泛的应用价值。本文就纤维素酶的理化性质进行了阐述,探讨了纤维素酶的来源、制备及提取方法,重点论述了纤维素酶在发酵、食品加工以及其他方面的应用;对该酶在食品工业中的潜在应用价值作了展望。

关键词 纤维素酶,食品工业,应用

中图分类号:TS202.3 文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2004)10-0140-03

纤维素酶(cellulase)是降解纤维素生成葡萄糖的一组酶的总称,它不是单成分酶,而是由多个酶起协同作用的多酶体系。人们已对纤维素酶的作用机制及工业化应用等方面进行了大量的研究,为纤维素酶的生产和应用打下了良好的基础,在扩大食品工业原料和植物原料的综合利用,提高原料利用率,净化环境和开辟新能源等方面具有十分重要的意义。

1 纤维素酶的性质、组成成分和特性

1.1 纤维素酶的性质^[1,4]

1.1.1 纤维素酶的最适 pH 纤维素酶系中,大多数酶作用于底物的最适 pH 为 4.0~6.0, pH 稳定范围大多在 4.0~9.0。另外,最适 pH 与反应温度有关。

1.1.2 纤维素酶的最适温度 大多数纤维素酶都具有较高的热稳定性,一般最适温度为 40~65℃,温度稳定范围为 50~70℃,但各组分酶的热稳定性也有差异,并受到 pH 的影响。

1.2 纤维素酶的组成成分^[3,4]

纤维素酶是降解纤维素生成葡萄糖的一组酶的总称,是起协同作用的多组分酶系。一般将纤维素酶分为三类:a. 葡聚糖内切酶(exo-1,4-β-D-

glucanase, EC.3.2.1.4, 简称 EG)。这类酶作用于纤维素分子内部的非结晶区,随机水解 β-1,4-糖苷键,将长链纤维分子切断,产生大量非还原性末端的小分子纤维素;b. 葡聚糖外切酶(exo-1,4-β-D-glucanase, EC.3.2.1.19, 简称 CBH)。这类酶作用于纤维素线状分子末端,水解 β-1,4-糖苷键,每次切下一个纤维二糖分子,故又称纤维二糖水解酶;c. β-葡萄糖苷酶(β-glucanase, EC.3.2.1.21, 简称 BG)。大分子首先在 EG 酶和 CBH 酶的作用下逐步降解成纤维素二糖,再由 BG 酶水解成 2 个葡萄糖。

1.3 纤维素酶的作用机制过程^[4]

见图 1。

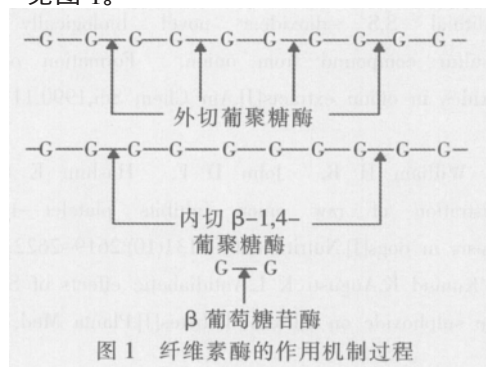


图 1 纤维素酶的作用机制过程

1.4 纤维素酶的特性^[14]

酶的催化效率高,比一般催化剂高 $10^6 \sim 10^{13}$ 倍;酶的催化反应具有高度的专一性,酶对其作用底物有严格的选择性,酶催化反应的条件温和,酶的催化活力可被调节控制,无毒性。

2 纤维素酶的来源及生产

2.1 纤维素酶的来源

纤维素酶的来源非常广泛,昆虫、微生物、细菌、放线菌、真菌、动物体内等都能产生纤维素酶。由于放线菌的纤维素酶产量极低,所以研究很少。细菌产量也不高,主要是葡聚糖内切酶,但大多数对结晶纤维素没有活性,并且所产生的酶是胞内酶或吸附在

收稿日期:2004-05-08

作者简介:闫训友(1978-),男,西南农业大学在读硕士研究生,研究方向:微生物工程。

基金项目:国家重大科技专项(No. 2002AA2Z345B)资助。

菌壁上,很少能分泌到细胞外,增加了提取纯化的难度,在工业上很少应用^[3]。目前,用于生产纤维素酶的微生物菌种较多的是丝状真菌,其中酶活力较强的菌种为木霉属(*Trichoderma*)、曲霉属(*Aspergillus*)和青霉属(*Penicillium*),特别是绿色木霉(*Trichoderma viride*)及其近缘菌株等较为典型,是目前公认的较好的纤维素酶生产菌。现已制成制剂的有绿色木霉、黑曲霉、镰刀霉等纤维素酶^[2]。同时,反刍动物依靠瘤胃微生物可消化纤维素,因此可以利用瘤胃液获得纤维素酶的粗酶制剂。卜登攀较系统地阐述了瘤胃微生态体系中,细菌、真菌、纤毛虫及其纤维素酶系统对植物细胞壁纤维素进行的消化^[4]。张晓华等报道了一个厌氧中温分解纤维素的瘤胃梭菌新种。另外,也可利用组织培养法获得所需要的微生物^[10]。

2.2 纤维素酶的生产方法

目前,纤维素酶的生产主要有固体发酵和液体发酵两种方法。

2.2.1 固体发酵法 固体发酵法是以玉米等农作物秸秆为主要原料,其投资少,工艺简单,产品价格低廉,目前国内绝大部分纤维素酶生产厂家均采用该技术生产纤维素酶。然而固体发酵法存在着根本上的缺陷,以秸秆为原料的固体发酵法生产的纤维素酶很难提取、精制。目前,我国纤维素酶生产厂家只能采用直接干燥粉碎得到固体酶制剂或用水浸泡后压滤得到液体酶制剂,其产品外观粗糙且质量不稳定,发酵水平不稳定,生产效率较低,易污染杂菌,不适于大规模生产。

2.2.2 液体发酵法 液体发酵生产工艺过程是将玉米秸秆粉碎至20目以下进行灭菌处理,然后送发酵釜内发酵,同时加入纤维素酶菌种,发酵时间约为70h,温度低于60℃。采用除菌后的无菌空气从釜底通入进行通气搅拌,发酵完毕后的物料经压滤机板框过滤、超滤浓缩和喷雾干燥后制得纤维素酶产品。液态深层发酵由于具有培养条件容易控制,不易染杂菌,生产效率高等优点^[6],已成为国内外重要的研究和开发方向。

2.3 纤维素酶的分离提取

为了便于纤维素酶的保存和应用,经固态发酵或液态发酵制备的粗纤维素酶液,通常需要采用一定的分离提取手段并制成一定纯度的纤维素酶制剂。纯纤维素酶液的提纯可采用蛋白质提纯的常用技术,包括热失活分离提纯法、分级沉淀法、层析法、离子交换法和超滤法等。工业生产纤维素酶制剂常采用硫酸铵盐析法、酒精沉淀法及单宁沉淀法等。

3 纤维素酶在食品工业中的应用

3.1 纤维素酶在食品发酵工业中的应用

3.1.1 纤维素酶在制酒行业中的应用 在进行酒精发酵时添加纤维素酶可显著提高酒精和白酒的出酒率和原料的利用率,降低溶液的粘度,缩短发酵时间,而且酒的口感醇香,杂醇油含量低。纤维素酶提高出酒率的原因可能有两方面:一是原料中部分纤维素分解成葡萄糖供酵母使用;另外,由于纤维素酶对植物细胞壁的分解,有利于淀粉的释放和被利用。

将纤维素酶应用于啤酒工业的麦芽生产中可增加麦粒溶解性,加快发芽,减少糖化液中单一葡萄糖含量,改进过滤性能,有利于酒精蒸馏^[7,8,20]。

3.1.2 纤维素酶在酱油酿造中的应用 在酱油的酿造过程中添加纤维素酶,可使大豆类原料的细胞膜膨胀软化破坏,使包藏在细胞中的蛋白质和碳水化合物释放,这样既可提高酱油浓度,改善酱油质量,又可缩短生产周期,提高产率,并且使其各项主要指标提高3%^[7,15]。

3.1.3 纤维素酶在饮料行业中的应用 日本有专利报道,用纤维素酶处理豆腐渣后接入乳酸菌进行发酵,可制得高营养、高品质的发酵饮料^[5]。将纤维素酶应用于果蔬榨汁、花粉饮料中,可提高汁液的提取率(约10%)和促进汁液澄清,使汁液透明,不沉淀,提高可溶性固形物的含量,并可将果皮渣综合利用。目前,有报道已成功地将柑桔皮渣酶解制取全果饮料,其中的粗纤维有50%降解为短链低聚糖,即全果饮料中的膳食纤维,具有一定的保健医疗价值^[2,12]。

3.1.4 纤维废渣的回收利用 应用纤维素酶或微生物把农副产品和城市废料中的纤维素转化成葡萄糖、酒精和单细胞蛋白质等,这对于开辟食品工业原料来源,提供新能源和变废为宝具有十分重要的意义。

3.2 纤维素酶在食品加工中的应用

3.2.1 果品与蔬菜加工 在果品和蔬菜加工过程中如果采用纤维素酶适当处理,可使植物组织软化膨松,能提高可消化性和口感^[5]。

3.2.2 大豆加工 纤维素酶用于处理大豆,可促使其脱皮,同时,由于它能使胞壁破坏,使包含其中的蛋白质、油脂完全分离,增加其从大豆和豆饼中提取优质水溶性蛋白质和油脂的获得率,既降低了成本,缩短了时间,又提高了产品质量^[2]。

3.2.3 茶叶加工 速溶茶饮用方便,可同其它饮料调用,要求速溶后不留渣。生产上常用热水浸提法提取茶叶中的有效成分。若用沸水浸泡和酶法结合,既可缩短抽提时间,又可提高水溶性较差的茶单宁、咖啡因等的抽提率,并能保持茶叶原有的色、香、味^[7]。

3.2.4 生产单细胞蛋白(single-cell protein SCP) 用纤维素酶生产单细胞蛋白的方法主要有两种:一种是先将纤维素经纤维素酶等水解后再由微生物生产单细胞蛋白;另一种是直接利用纤维分解菌,如纤维杆菌等发酵生产单细胞蛋白^[15]。Han等将

具有较强纤维素酶活力的纤维杆菌属的细菌培养在含纤维废料的培养基中,得到原料重量 50% 的菌体,其蛋白质含量为 45%^[6]。

3.3 纤维素酶在植物纤维原料降解利用中的应用

植物纤维原料是地球上最丰富、最廉价而又可再生的资源,其主要成分是纤维素和半纤维素,纤维素和半纤维素的利用一直是国际国内的研究热点课题。利用的途径和整体思路是利用纤维素酶和半纤维素酶先将纤维素和半纤维素降解成可发酵糖,进而通过发酵制取酒精、单细胞蛋白、有机酸、甘油、丙酮及其它重要的化学化工原料^[18]。此外,纤维素、半纤维素通过纤维素酶的限制性降解还可制备成功能性食品添加剂,如微晶纤维素、膳食纤维和功能性低聚糖等。

3.4 纤维素酶在其他方面的应用

纤维素酶可以作为动物饲料的添加剂,利用纤维素酶能将粗饲料中的一部分纤维素转化为适合消化吸收的菌体蛋白,从而可提高饲料的应用价值。纤维素酶在纺织、造纸等方面均有很大的应用潜力,还可应用于医药保健、石油开采、新型能源、环保以及用于洗涤剂等行业^[3,9,11,13,16,17],而且还有一些很有价值的应用领域正在开拓。

4 小结

纤维素酶具有非常大的应用前景,但由于液态发酵生产技术含量较高,在大规模生产上还有一定的困难,因此对纤维素酶液态发酵的研究与开发具有重要的现实意义。今后若能加强这方面的研究,则可以使之早日进入工业化生产,一方面可以提高纤维素酶的产量和质量;另一方面可以较好地解决纤维素的生物转化问题,创造良好的社会效益和经济效益。

参考文献:

[1] Bayer E A, Chanzy H, Lamed R, Shoham Y. Cellulose, cellulases and cellulosomes[J]. Curr Opin Struct Biol,1998,8

(5):548~557.

[2] Rabinovich M L, Melnik M S, Bolobova A V. Cellulases from microorganisms[J]. Prikl Biokhim Mikrobiol,2002,38(4): 355~373.

[3] Rabinovich M L, Melnick M S, Bolobova A V. The structure and mechanism of action of cellulolytic enzymes[J]. Biochemistry,2002,67(8):850~871.

[4] 卜登攀. 纤维素酶的降解机制及纤维素酶分子结构与功能研究进展[J]. 自然科学进展,2003,13(1):21~32.

[5] 刘翔,何国庆. 纤维素酶及相关酶在食品生物技术中的应用[J]. 粮油加工与机械,2003(6):61~63.

[6] 阎伯旭,齐飞,张颖舒,等. 纤维素酶分子结构和功能研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展,1999,26(3):233~237.

[7] 邱雁临. 纤维素酶的研究和应用前景[J]. 粮食与饲料工业,2001(8):30~31.

[8] Han Y W, et al. Food Technol[J]. 1971(2):32~35.

[9] Lee, YL T. Fan Biotechnology and Bioengineering[J]. 1982,24(11):2383~2406.

[10] 张晓华,等. 一个分解纤维素的瘤胃梭菌新种[J]. 微生物学报,1995,35(6):397~399.

[11] 田胜艳. 纤维素酶在白酒生产上的应用研究[J]. 广东化工,1999(2):17~18.

[12] 刘耘. 纤维素酒精发酵的研究进展[J]. 广州食品工业科技,2000,15(2):51~54.

[13] 张勇,等. 纤维素酶的应用进展[J]. 中国饲料,2002(4):17~19.

[14] 汪维云,朱金华,吴守一. 纤维素科学及纤维素酶的研究进展[J]. 江苏理工大学学报,1998,19(3):20~28.

[15] 吴长青,何国庆,董爱茶. 纤维素酶的液态深层发酵研究进展[J]. 食品与发酵工业,2001(2):60~64.

[16] 李华,吴拾荆. 纤维素酶的研制及在动物饲料中的应用[J]. 湖北化工,2000(5):25~26.

[17] 殷祥刚. 生物酶及其在纤维素纤维中的应用[J]. 人造纤维,2002(1):20~22.

[18] 袁铸. 纤维素酶的发酵及应用前景[J]. 四川食品与发酵,1999(3):1~4.

(上接第 119 页)

[9] Feron, G, et al. Fatty acid accumulation in the yeast *Sporidiobolus salmonicolor* during batch production of γ -decalactone[J]. FEMS Microbiology Letters, 1997,149(1):17~24.

[10] Farbood, M I, Willis, B J. Production of Gamma-Decalactone[P]. International Patent PCT WO 83/01072,1983.

[11] Wache, Y, et al. Involvement of acyl coenzyme A oxidase isozymes in biotransformation of methyl ricinoleate into γ -

decalactone by *Yarrowia lipolytica* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000,66(3):1233~1236.

[12] Nicaud, Jean Marc, et al. New procedure for microbial bioconversion. Fr Ddmande FR 2,734,843.

[13] Satoshi TAHARA, et al. Neutral Constituents of Volatiles in Cultured Broth of *Sporobolomyces odoratus* [J]. Agr Biol Chem, 1973, 37(12): 2855~2861.