

### 第三章 酵素與低溫關係

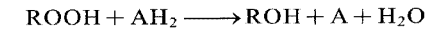
#### 第一節 冷凍食品中常見的酵素

- 一、水解酶 (hydrolase) : **protease**、**lipase**、phospholipase、**pectinase**、**cellulase**、invertase、thiaminases、 $\beta$ -D-galactosidases(乳糖酶)、amylase
- 二、氧化酶還原酶(oxidoreductase) : **lipoxygenase**、**peroxidase**、**polyphenoloxidase**、tyrosinase、**ascorbic acid oxidase**、glucose oxidase、catalase
- 三、異構酶(isomerase) : glucose isomerase
- 四、裂解酶 (lyases)
- 五、轉移酶(transferase)
- 六、連接酶(ligases)

1

#### (四) 過氧化酶(oxidases)

過氧化酶廣泛存在於高等植物中，另外也存在於牛奶中。過氧化酶含有一個血色素作為輔基，催化以下反應：



其中 ROOH 是過氧化氫或有機過氧化物，AH<sub>2</sub> 是電子供體，當 ROOH 還原時，AH<sub>2</sub> 被氧化，AH<sub>2</sub> 可以是抗壞血酸鹽、酚、胺類或其他還原性強的有機物。這些還原劑被氧化後多產生顏色，因此可用比色法來測定過氧化酶的活性。因為過氧化酶具有很高的耐熱性，而且廣泛存在植物組織中，靈敏度也極高，比色測定簡單易行，當食物進行熱處理後，如果過氧化酶的活性消失，則表示其他的酶一定受到破壞，所以可以作為殺菌或殺菌等有效性的指示劑。

過氧化酶能使維生素 C 氧化而破壞其生理功能；過氧化酶能催化不飽和脂肪酸過氧化物的裂解，產生具有不良氣味的羰基化合物，同時伴隨產生自由基，這些自由基會進一步破壞食品中的許多成分。如果食品中不存在不飽和脂肪酸，則過氧化酶會催化類胡蘿蔔素的漂白和花青素的脫色。

3

#### (一) 澱粉酶(amylases)

水解澱粉的酶通稱為澱粉酶，有  $\alpha$ -澱粉酶及  $\beta$ -澱粉酶( $\beta$ -amylase)。 $\alpha$ -澱粉酶是一種內切酶，隨機水解糖鏈的  $\alpha$ -1, 4-糖苷鍵。因此，使直鏈澱粉的黏度很快降低，故又稱液化酶，其碘液染色性質迅速消失，而且由於生成還原基團而增加了還原力(reducing power)。 $\alpha$ -澱粉酶以類似的方式攻擊支鏈澱粉，因不能水解其中的  $\alpha$ -1, 6-糖苷鍵，最後使澱粉生成麥芽糖、葡萄糖與糊精(dextrin)。

只有葡萄糖澱粉酶(glucoamylase)及聚三葡萄糖酶(pullulanase)可以水解 $\alpha$ -16糖苷鍵澱粉+ $\alpha$ 澱粉酶 $\rightarrow$ 澱粉糖漿，+ $\beta$ 澱粉酶 $\rightarrow$ 麥芽糖漿，+葡萄糖澱粉酶 $\rightarrow$ 葡萄糖漿

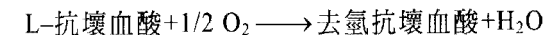
(二) $\beta$ -D半乳糖苷酶( $\beta$ -D-galactosidase)又稱乳糖酶(lactase)，可將乳糖水解，提供給乳糖不耐症患者之乳品。可由 *Aspergillus niger* 麴酶或 yeast 酵母菌製備此酵素。

(三)  $\beta$ -D-Fructofuranosidase  $\beta$ -D-果糖呋喃糖苷酶又稱轉化糖(Invertase)，由 yeast 酵母菌製備此酵素，可將蔗糖水解成轉化糖(Invert sugar)。

2

#### (五) 抗壞血酸氧化酶(ascorbic acid oxidases)

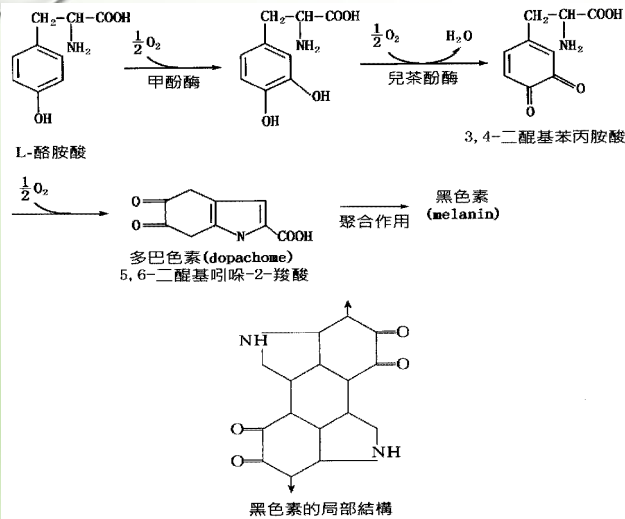
抗壞血酸氧化酶是一種含銅的酶，能氧化抗壞血酸：



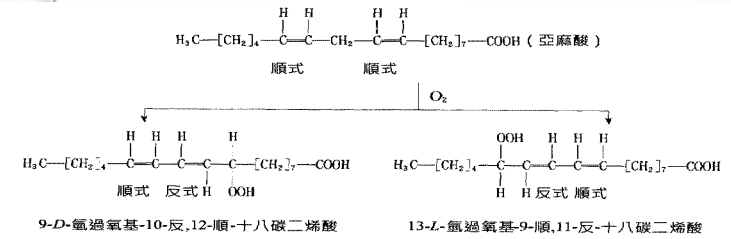
抗壞血酸氧化酶存在於瓜類、種子、穀物和水果蔬菜中。在柑橘加工中，抗壞血酸氧化酶對抗壞血酸的氧化影響很大。在完整柑橘中氧化酶與還原酶可能處於平衡狀態，但是在萃取果汁時，還原酶很不穩定，受到很大的破壞，此時抗壞血酸氧化酶的活性顯露出來。若在加工過程中採用低溫，快速榨汁、抽氣以減少氧氣，最後巴斯德殺菌使酶失活，即可減少維生素 C 的破壞。在製造橘子果醬時，橘子皮中抗壞血酸的破壞也是酶的反應，若將磨碎的橘子皮置於水中煮沸，則可以大幅降低抗壞血酸的損失。

4

## 六、多酚酶(polyphenol oxidase, PPO)



5



脂氧合酶主要存在於植物中，如在大豆、綠豆、小麥、燕麥、大麥及玉米中含量較多，另外馬鈴薯的塊莖、花椰菜、紫苜蓿和蘋果等植物的葉中也存在。

脂氧合酶在食品加工中會影響食品的色澤、風味、質地和營養價值，如大豆和大豆製品中異味就是由於脂氧合酶催化亞麻油酸，生成的氫過氧化物繼續裂解而產生的。在未經殺青而冷凍的豌豆中，巰基化合物的蓄積就是由於脂氧合酶引起的，而且殺青不完全的植物組織中仍含有此酶，同樣會產生異味。所以，為了減少蔬菜貯藏中脂氧合酶的活性，在冷凍或乾燥前必須進行殺青。另外，通心麵在加工過程中，其中的脂氧合酶能對色素產生不良的漂白效果，能催化破壞β-胡蘿蔔素、葉黃醇、葉綠素及維生素。又小麥中的脂氧合酶會影響麵粉的流變性質，因為揉麵時混入空氣中的氧，使脂氧合酶催化蛋白質中的硫氫基氧化成雙硫鍵，形成網狀結構，改善麵糰的彈性。此外，麵粉中加入大豆粉，可以增加麵粉蛋白質含量，而且可利用大豆粉中的脂氧合酶加強漂白效果，同時改善麵糰的流變性質。

7

醌素性褐變主要是酚酶催化酚類物質形成醌及其聚合物的反應過程。

植物組織中含有酚類物質，在完整的細胞中作為呼吸傳遞物質，在酚-醌之間保持動態平衡，當細胞破壞以後，氧就大量侵入，造成醌的形成和還原之間的不平衡，於是發生了醌的堆積，醌再進一步氧化聚合形成褐色色素。

酚酶主要是鄰二酚酶(o-diphenolase)，或稱兒茶酚氧化酶(catechol oxidase)為主。此酶以Cu為輔基，必需以氧為受氫體，是一種末端氧化酶。

### (七) 脂氧合酶(lipoxygenase)

脂氧合酶能催化含順、順-1,4-戊二烯系統的多元不飽和脂肪酸(或酯)及甘油酯轉化為順、反共軛雙鍵系統，具有光學活性的氫過氧化物。進行這類反應的多元不飽和脂肪酸有亞麻油酸、花生四烯酸及水產動物油中的多元不飽和脂肪酸。以亞麻油酸為例：

6

### (八) 果膠酶(pectic enzymes)

果膠是一些複雜多醣的化合物，在植物結構中充當結構物。果膠中最主要的成分是半乳糖醛酸經由α-1,4-糖苷鍵連接而成(圖3-10)，半乳糖醛酸中約有2/3的羧基和甲醇進行了酯化反應。果膠酶可分為3種類型：

1. 果膠酯酶(pectin esterase)：可以水解除去果膠上的甲氧基。果膠酯酶存在於細菌、真菌和高等植物中，在柑橘和番茄中含量非常豐富，對半乳糖醛酸酯具有專一性。圖7-10為果膠酯酶的催化反應，果膠酯酶作用的半乳糖醛酸鏈的酯化基團附近要有游離的羧基存在，此酶可沿著鏈進行降解直到遇到障礙為止。

8

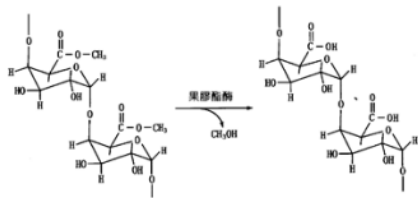


圖 7-10 果膠酶的催化反應

3. 果膠裂解酶(pectin lyases)又稱果膠轉消酶(pectin transeliminase)：其反應如圖 7-12，可在葡萄糖苷酸分子的 C<sub>4</sub> 和 C<sub>5</sub> 處經由氫的轉消除作用，將葡萄糖苷酸鏈的糖苷鍵裂解。果膠裂解酶是一種內切酶，只能從絲狀真菌即黑麴菌中得到。

果膠是一種保護性膠體，有助於維持懸浮液中的不溶性顆粒而保持果汁混濁，為了保持混濁果汁的穩定性，常用 HTST 或巴斯德殺菌法使混濁果汁中

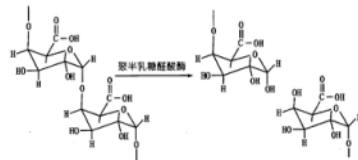


圖 7-11 聚半乳糖醛酸酶的催化反應

2. 聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonases)：反應作用於分子內部的 α-1, 4-糖苷鍵(圖 7-11)，而半乳糖醛酸外酶可沿著鏈的非還原端將半乳糖醛酸逐個水解下來。另一些半乳糖醛酸酶主要作用於含有甲基的化合物(果膠)上，而有些則主要作用於含游離羧基的物質(果膠酸)上，這些酶分別稱為多聚甲基半乳糖醛酸酶和多聚半乳糖醛酸酶。內多聚半乳糖醛酸酶存在於水果和絲狀真菌中，但不存在於酵母菌和細菌中；外半乳糖醛酸酶存在於植物如胡蘿蔔和桃，以及真菌、細菌中。

### (九) 脂解酶或稱脂肪酶(lipase)

脂解酶能水解油-水界面存在的甘油酯的酯鍵而生成酸和醇。此酶廣泛存在於微生物、動植物之中。該酶的主要作用方式如下：



脂解酶能使脂肪生成脂肪酸而引起食品酸敗，而在另一種情況下又需要脂解酶的活性而產生風味，例如乾酪生產過程中牛乳脂肪的適度水解會產生良好的風味。

脂解酶還包括磷酯酶，能水解磷酸酯類；另外，固醇酶水解膽固醇酯。

### (十) 蛋白酶(protase)

蛋白酶在許多食品加工中具有重要的作用，可以從動物、植物或微生物中得到。蛋白酶可分為 4 類：酸性蛋白酶、絲氨酸蛋白酶、硫氨基蛋白酶和金屬蛋白酶。

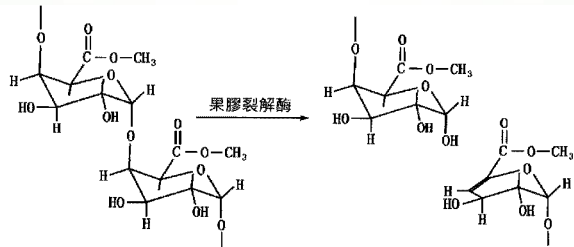


圖 7-12 果膠裂解酶的催化反應

的果膠酶失活，避免果膠被水解而呈現澄清狀。例如，在番茄汁和番茄醬的生產中，用熱打漿法可以很快破壞果膠酶的活性。

商業上果膠酶可用來澄清果汁、酒等。大多數水果在壓榨果汁時，果膠多則水分不易擠出，且榨汁混濁，如先以果膠酶處理，則可提高榨汁率而且澄清。加工水果罐頭時應先殺菌使果膠酶失活，可防止罐頭貯存時果肉過軟。許多真菌和細菌產生的果膠酶能使植物細胞間隙的果膠層降解，導致細胞的降解和分離，使植物組織軟化腐爛，在蔬果中稱為腐軟病(soft rot)。

### 第二節 低溫與酵素活性

表 1 不同溫度下 Lipase 對 Ethyl butyrate 之分解能力

溫度 (°C)	分解率 (%)
17.2	0.4
0	0.083
-8	0.025

酵素活性會因溫度、pH、基質等不同而異，每種酵素皆有最適作用溫度、pH 等。在冷凍溫度下酵素仍舊具有活性，通常需超低温下，才能抑制酵素活性。

表 2 不同溫度下 Lipase 的脂肪分解能力

溫度 (°C)	分解率 (%)
40	11.29
10	3.89
0	2.26
-10	0.70

蛋白酶等酵素通常在零下18°C可抑制其活性，然而脂肪酵素、維生素C氧化酵素、過氧化酶或tyrosinase在零下20°C仍然具有活性，溫度降至零下35°C才能抑制其活性。故，一般家用冰箱凍藏魚蝦時，仍舊會發生油脂氧化、游離脂肪酸(酸價)增加及黑變現象。

13

#### 第四章 生物與低溫關係

##### 第一節 生物的細胞組織與低溫關係

利用凍結方式可以保存精液及血液，在零下180~252°C的超低溫狀態保存的種子或細菌，在恢復正常溫度時，仍然可以發芽及繁殖。故推論，0~零下273°C下，只要能保持凍結狀態，動物的細胞組織即可獲得重生。低溫下，所有的生化反應均停頓，呈假死狀態(suspended animation)，故利用凍結方式可以保存生命。其學理可以美國Luyet學說及英國甘油添加法保存生物細胞最具代表性。

15

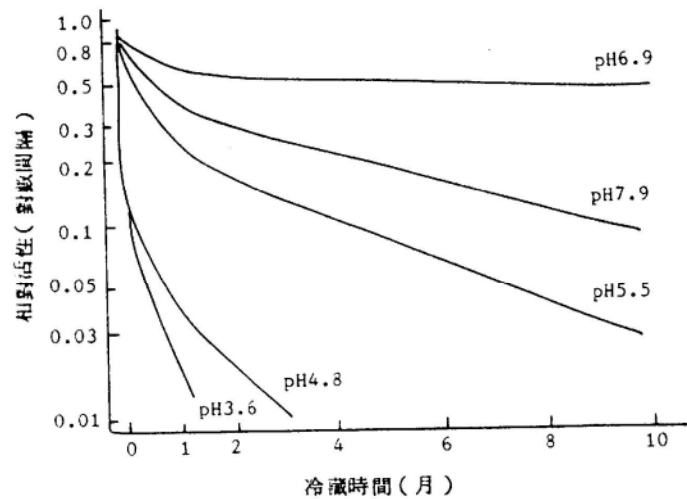


圖 1 pH 對蛋白質分解酵素不活性的影響

酵素之低溫耐性會因溫度下降而降低，食品之pH偏酸、鹼時，下降更為顯著，偏中性時，下降較不明顯。

14

##### 一、Luyet學說

在凍結溫度下，只要不生成冰結晶即可保存生命，為此學說的基本原理。

為達此目的可在凍結前脫水或維持過冷卻狀態或採用Vitrification，使水分無法變成冰晶。

微量液體在很快的速度下降至很低溫度而不形成冰結晶的一種現象稱為Vitrification。

16

## 二、甘油添加法保存生物細胞

冷凍時添加甘油來保存細胞，這種生物細胞的保存方法稱為甘油冷卻法 (Glycerol-cooling)，利用甘油冷卻法施行凍結時，所形成的冰結晶為羽毛狀或羊齒狀，細胞就集中在冰結晶之間所形成的狹小水路中，因此細胞不致被冰結晶所損傷。利用普通方法凍結時因為水會被凍結而形成冰結晶，因此溶液中的鹽類濃度將變濃，在此狀態下的血球或精蟲正如被鹽漬一樣會受到傷害，尤其當解凍鹽類濃度再度變為稀薄時所受的傷害更趨嚴重，添加甘油時可以防止細胞受到這種傷害，使細胞具有抗凍害作用，故得以恢復正常。

17

蘇俄生物學家Bachmetieff將活鯊魚放於 $-20^{\circ}\text{C}$ 。魚體由 $T_1$ 降至 $T_2$ 屬過冷卻， $T_2$ 上升至 $T_3$ (魚體凍結點)。 $T_3$ 降至 $T_4$ ，再 $T_4$ 降至 $T_5$ ，鯊魚被凍結呈假死狀態，溫度由 $T_5$ 徐徐上升則鯊魚將恢復其生命。冷凍的動物升溫後可以重新生還的現象稱為Anabiosis(復活)。若降溫至 $T_5$ (生命的回生界限)以下，則回溫後無法回復生命。

與此類似的尚有很多實驗例，例如在 $15\sim 18$ 小時內先使水溫下降到 $0^{\circ}\text{C}$ 左右，使魚的活動力降低，再將多餘的水份抽出，加輕壓使氧氣溶解在殘存在水槽中的冷卻水中，然後使溶有氧氣的水溫下降到 $-9\sim -10^{\circ}\text{C}$ 而呈凍結狀態，將魚封在冰結晶中，經過 $1\sim 2$ 個月凍藏，在 $0^{\circ}\text{C}$ 緩慢解凍(約 $10$ 小時)後魚將回復其生命。

19

## 第二節 生物的冷凍復活作用

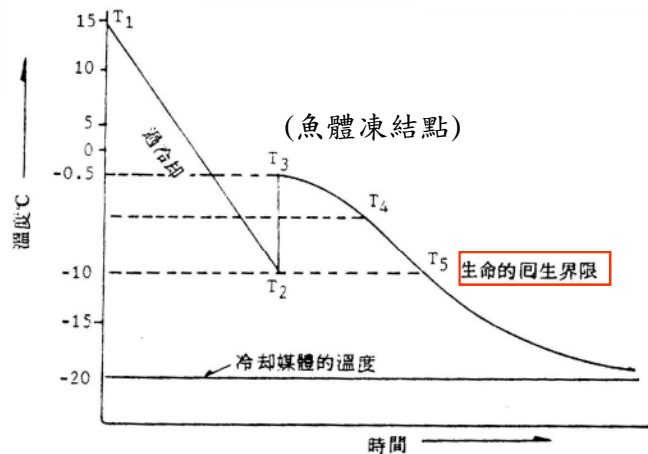


圖1 鯊魚的過冷卻及復活曲線

蘇俄生物學家Bachmetieff將活鯊魚放於 $-20^{\circ}\text{C}$ ，使魚體的溫度下降之情形如圖1。

18

## 第三節 人體與低溫關係

表1 人體溫度與氧氣消費量的關係

體溫 ( $^{\circ}\text{C}$ )	氧氣相對消耗量
37	100
25	30~40
20	18
10~12	幾近於零

表2 腦溫及血流遮斷限度

腦溫 ( $^{\circ}\text{C}$ )	血流遮斷限度(分)
37	5
25	10
20	15

人體溫度只能降低至 $20^{\circ}\text{C}$ ，再低會有生命危險。體溫下降氧氣消耗量將急速減少，呼吸變慢。人常處於低溫易發生凍傷或職災。尤其濕度高處易有低溫病，故冷藏作業人員易產生呼吸器、泌尿器發炎症。

20

#### 第四節 寄生蟲及昆蟲類與低溫關係

表3 殺滅豬肉中的旋毛蟲的必要低溫處理

凍結溫度(°C)	豬 肉 厚 度 (cm)	
	15以內	15~68
-15	20天	30天
-23.3	10	20
-29	6	16

為殺死旋毛蟲冷凍豬肉必要的低溫處理如表3。零下30°C需12天。另外，昆蟲在0°C不會活動但不死滅。在零下18°C才能殺死成蟲或其蟲卵。