

# 固定化糖化酶型时间-温度指示器 在酸奶质量检测上的应用

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2018.01.008

王琳<sup>1</sup> 孟晶晶<sup>1</sup>  
李园锦<sup>1</sup> 凌晨<sup>1</sup>  
钱静<sup>1,2</sup>

1. 江南大学  
机械工程学院  
江苏 无锡 214122  
2. 江苏省食品先进制造  
装备技术重点实验室  
江苏 无锡 214122

**摘要:** 研究了固定化糖化酶型时间-温度指示器(TTI)的动力学性能和反应终点,并求得了TTI的活化能;同时研究了酸奶的活化能和货架期寿命。根据TTI与食品的活化能以及反应终点的匹配原则,在恒温及变温条件下进行匹配实验。结果表明,在恒温 and 变温2种条件下,1# TTI的活化能都满足与酸奶的匹配要求,并且反应终点误差在15%以内,能够比较准确地监测酸奶品质变化,从而预测酸奶的寿命。

**关键词:** 固定化糖化酶; 时间-温度指示器; 活化能; 酸奶; 酸度

**中图分类号:** TS252.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1674-7100(2018)01-0046-08

## 0 引言

食品被消费者购买之前经过了生产、储存、运输以及货架期等环节。近年来随着生活水平的提高,人们对食品安全和质量愈加重视,这无疑对食品的各个环节,特别是流通环节提出了更高要求。冷链在全球食品运输、贸易中发挥着巨大作用,尤其是易腐败食品,在其冷链流通过程中,食品腐败受多种因素影响,其中储存时间和温度是影响最大的2个因素。比如酸奶,在其多种理化指标中,由温度和时间引起的微生物生长而导致酸奶酸度变化,是造成酸奶变质的主要原因<sup>[1-2]</sup>。蔡超<sup>[3]</sup>对酸奶在储存过程中的质量参数变化进行了探究,指出当酸度超过114 °T时,酸奶即为变质。在食品流通环节中,对温度和时间进行实时监测对保证食品品质至关重要,因此时间-温度指示器(time-temperature indicator, TTI)应运而生。TTI能够对时间和温度给出连续、累积性的响应,以不可逆的视觉变化,监测和记录生产、储存以

及货架期中食品品质的变化<sup>[4]</sup>。

根据反应原理的不同,可以将TTI分为扩散型、聚合物型、酶型、化学型、微生物型及其他类型<sup>[5]</sup>。酶型TTI是基于酶促反应原理,利用酶使底物发生水解致pH值改变,并配合pH指示剂,产生可见的颜色变化;或者是酶直接催化底物发生有颜色变化的反应,从而实现对食品品质变化的监测。与其他类型TTI相比,酶型TTI具有性能稳定、成本低廉、易于控制等优点,特别是当酶经固定化后制备的TTI,还具有回收方便、可反复使用等优点。自1984年以来,酶的固定化成为了酶工程的核心技术之一,它将酶工程提高到一个新的水平,并且被部分学者称为“新工业革命”<sup>[6]</sup>。一般情况下,酶固定化的方法可分为5种:吸附法、共价结合法、包埋法、交联法以及非传统的酶固定化法<sup>[5]</sup>。其中,H. Y. Guiavarc<sup>[7]</sup>、毕金峰<sup>[8]</sup>、吴定<sup>[9]</sup>和周剑平<sup>[10]</sup>等人尝试在不同的载体上进行酶的固定化来开发TTI。另外,A. M. Klibanov<sup>[11]</sup>、蔡华伟<sup>[12]</sup>

收稿日期: 2017-10-19

基金项目: 江苏省研究生科技与实践创新计划基金资助项目(SJ CX17\_0488)

作者简介: 王琳(1993-),女,江西吉安人,江南大学硕士生,主要研究方向为运输包装,  
E-mail: 1329641673@qq.com

通信作者: 钱静(1968-),女,江苏无锡人,江南大学教授,博士,主要从事运输包装和包装设计方面的教学与研究,  
E-mail: qj639@163.com

和 Li X. L.<sup>[13]</sup> 等人开发了各种 TTI<sup>[14]</sup> 来监测冷链食品的质量。酶型 TTI 已经成功地被应用于监测蘑菇<sup>[15]</sup>、牛奶和其他食品<sup>[16]</sup> 的品质变化。

糖化酶型 TTI 的组成成分包括糖化酶、麦芽糊精和碘<sup>[17]</sup>。糖化酶是淀粉酶的一种, 在液体体系中能促使麦芽糊精快速水解。碘作为指示剂会产生从深紫色到无色的颜色变化, 可以此表明产品的新鲜程度。当冷链运输温度在 4 °C 左右时, 这种 TTI 可以用来监测易腐食品<sup>[18]</sup>。

本研究将制作一种具有显色基底带的固定化糖化酶型 TTI, 并应用于酸奶质量的监测。在 4, 20, 37 °C 下分别测定 TTI 显色带(基底带中无色部分)长度和酸奶酸度值变化, 并根据 TTI 与酸奶的活化能以及反应终点的匹配原则, 在恒温及变温条件下进行匹配实验, 以此分析 TTI 监测的可靠性。

## 1 酸奶酸度的动力学研究

### 1.1 实验原料与仪器

#### 1) 原料

酸奶, 发酵菌种类为保加利亚乳酸杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌等, 光明乳业食品有限公司生产, 在超市冷链中购买并冷藏备用; 碘液(质量分数为 0.1%, 化学纯)、氢氧化钠(NaOH, 化学纯)、酚酞(质量分数为 0.5%, 溶于体积分数为 95% 的酒精, 化学纯), 国药集团化学试剂有限公司; 糖化酶, 酶活力为 14 万 U/mL, 无锡杰赛德生物工程有限公司; 琼脂粉, 质量分数为 99%, 分析纯, 苏州福莱德生物科技有限公司; 麦芽糊精, 罗盖特(中国)精细化工有限公司。

#### 2) 仪器

医用冷藏箱, YC-300L 型, 中科美菱低温科技有限责任公司; 生化培养箱, SPX-150B-Z 型, 上海博迅医疗生物仪器股份有限公司; 数显恒速强力电动搅拌器, JB200-SH 型, 上海标本模型厂; 电子天平, AB204-N 型, 瑞士梅特勒-托利多有限公司; 智能电热恒温水浴锅, HW.SY1-P3S 型, 常州恒隆仪器有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱, DHG-9123A 型, 上海精宏实验设备有限公司。

### 1.2 实验方法

酸奶酸度的测定方法参照 GB 5413.34—2010《食品安全国家标准 乳和乳制品酸度的测定》, 使用吉尔涅尔度(°T)对酸度进行描述。具体测定方法:

将 10 mL 酸奶放入 150 mL 锥形瓶后, 加入 20 mL 蒸馏水(新煮沸冷却至室温)稀释, 再加入 2 mL 酚酞溶液作指示剂。混合均匀后, 用浓度为 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液进行滴定, 直到体系的颜色变成微红色, 并保持 30 s 不变。按所消耗 NaOH 溶液的毫升数乘以 10, 即得到该酸奶的酸度(°T), 即消耗 0.1 mL NaOH 溶液, 其酸度为 1 °T。

将 3 组酸奶(每组 3 个样品)分别在 4, 20, 37 °C 下, 每隔一定时间(4 °C 为 48 h, 20 °C 为 24 h, 37 °C 为 6 h)测量一次酸奶酸度并记录, 直到酸度超过 114 °T, 由此确定酸奶变质的动力学参数。

根据 P. S. Taoukis 和 T. P. Labuza 在 1989 年提出的理论, 酸奶在储存过程中由于无法控制微生物生长而腐败, 遵循一级动力学反应机理<sup>[19]</sup>。由酸奶变质反应的方程式可得如下数值关系式

$$\ln N = \ln N_0 + kt, \quad (1)$$

式中:  $N$  为酸奶的酸度;

$N_0$  为酸奶的初始酸度;

$k$  为酸奶在热力学温度下的酸度变化速率;

$t$  为酸奶储存时间。

不同温度下酸奶的品质参数变化规律遵循 Arrhenius 方程, 对方程两边取对数可得数值关系式

$$\ln k = \ln k_A - \frac{E_A}{RT}, \quad (2)$$

式中:  $k_A$  为指前因子;

$E_A$  为反应的活化能;

$T$  为热力学温度;

$R$  为气体常数。

### 1.3 酸奶的动力学性能

3 组不同温度(4, 20, 37 °C)下酸奶恒温酸度变化的结果, 如图 1 所示。

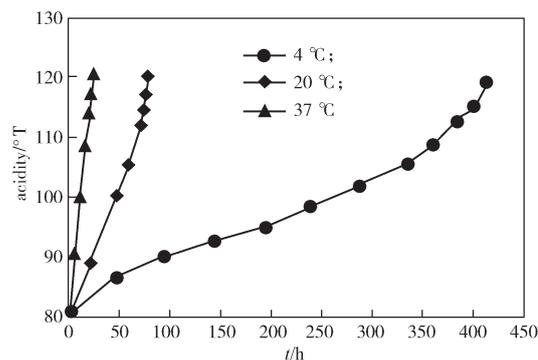


图 1 酸奶酸度在不同温度下的变化曲线

Fig. 1 The changing curve of yogurt acidity at different temperature

由图1可以看出, 温度越高酸奶酸度变化速率越快, 这与微生物繁殖速度有关。

根据式(1), 先对实验得到的酸度值取对数得到  $\ln N$ , 然后与时间  $t$  拟合, 其结果如图2所示。

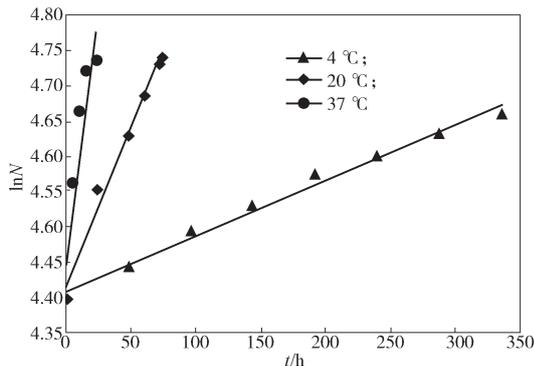


图2 不同温度下  $\ln N-t$  拟合曲线

Fig. 2 The fitting line of  $\ln N-t$

结合图2中的拟合直线和式(1)可知, 直线的斜率即为酸奶酸度在不同温度下的变化速率  $k$ 。随着温度的升高,  $k$  逐渐增大, 其具体数值及相关性系数  $r^2$  如表1所示。

表1 酸奶酸度在不同温度下的变化速率和拟合参数

Table 1 The change rate and fitting parameters of yogurt at acidity different temperature

温度 / $^{\circ}\text{C}$	$k/\text{h}^{-1}$	$r^2$
4	0.000 8	0.994 3
20	0.004 5	0.992 0
37	0.015 3	0.988 1

由表1可知, 不同温度下的拟合曲线方程相关性系数  $r^2$  均在0.95以上, 这说明酸奶的酸度与时间线性相关性显著。将表1中不同温度下酸奶酸度的变化速率值代入式(2), 求出相应的  $\ln k$ , 对  $\ln k - \frac{1}{T}$  数据进行线性拟合, 如图3所示。

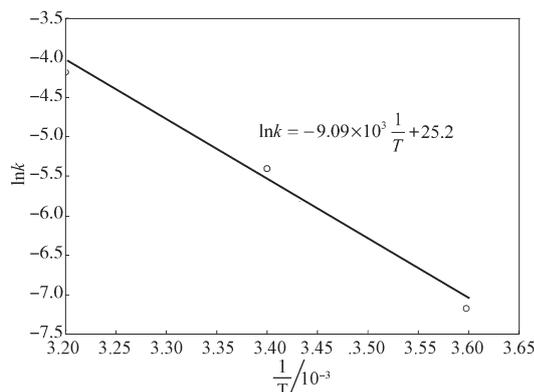


图3  $\ln k - \frac{1}{T}$  拟合曲线

Fig. 3 The linear of  $\ln k - \frac{1}{T}$

通过拟合软件计算可得拟合曲线的回归直线截距为25.2, 斜率为  $-9.09 \times 10^3$ , 其拟合方程为:

$$\ln k = -9.09 \times 10^3 \frac{1}{T} + 25.2. \quad (3)$$

根据式(3), 将不同温度下的  $\ln k$  代入式(2), 能够求得以酸奶酸度作为变质指标的活化能  $E_A$  为75.54 kJ/mol,  $\ln k_A$  为26.6, 指前因子  $k_A$  为  $8.79 \times 10^{10} \text{ h}^{-1}$ , 故酸奶酸度变化速率满足式(4):

$$k = 8.79 \times 10^{10} e^{\frac{-7.554 \times 10^4}{RT}}. \quad (4)$$

## 2 TTI 的制作及特性研究

### 2.1 TTI 的制作

固定化糖化酶型 TTI 是基于糖化酶能够促使麦芽糊精发生水解, 并结合酶的固定和扩散原理制作而成。该 TTI 由固定化酶和显色基底组成, 如图4所示。随着糖化酶向下不断扩散, 显色基底带从紫色变为无色, 可以观察到时间和温度的累积效应, 根据色带长度的变化, 从而直观显示食品品质的改变。

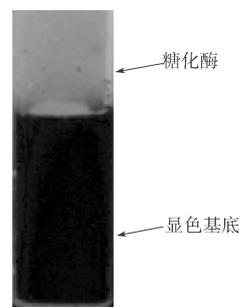


图4 TTI 的组成

Fig. 4 The composition of TTI

理想 TTI 应满足的条件如下: 1) 抗高温, 高温下能够保持原有形态而不溶解; 2) 反应时间合适。因此本研究经过单因素实验和正交试验, 选取了2组 TTI 进行分析, 其配方如表2所示。

表2 固定化糖化酶型 TTI 配方

Table 2 The formula of immobilized glucoamylase TTI

TTI 编号	糖化酶 /mL	琼脂凝胶 /mL	麦芽糊精质量浓度 / ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )
1#	1.25	3.75	40
2#	1.00	4.00	30

TTI 的制作过程如下: 将一定量的糖化酶加入适量质量分数为3%的琼脂凝胶中, 在振荡机上震荡15 min, 于4 °C冷藏12 h, 即制得固定化糖化酶。再

将 5 mL 麦芽糊精放入质量分数为 3% 的琼脂凝胶中, 加入 3 mL 质量分数为 0.1% 的碘液, 在搅拌机中以 180~220 r/min 的转速搅拌 5 min, 于 4 °C 冷藏 24 h, 显色基底即制作完毕。

## 2.2 TTI 的工作原理

使用 TTI 时, 将固定化的糖化酶放到显色基底带上方。其工作原理如下: 显色基底带中的碘液遇麦芽糊精呈现深紫色; 当糖化酶接触到基底带时, 糖化酶促使基底中的麦芽糊精发生水解反应, 随着糖化酶向下扩散, 麦芽糊精逐渐减少, 基底带的深紫色逐渐向下, 无色部分亦不断变长, 反应达到终点时, 显色基底带全变为无色, 如图 5 所示。

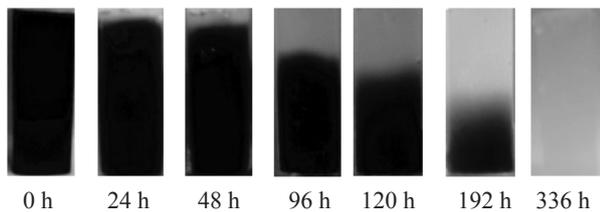


图 5 TTI 体系显色带的扩散变化

Fig. 5 The diffusion changes of color on TTI

## 2.3 显色带的测量

用游标卡尺测量显色带的长度, 即糖化酶在基底带中扩散的无色区域长度。以有色和无色区域的界限为起点, 若边界线不清晰, 则将有色和无色区域的中点作为起点。

## 2.4 TTI 的动力学性能

酶的扩散速率受温度影响较大, 温度越高, 糖化酶的扩散速度越快, TTI 的响应与时间呈线性关系<sup>[19]</sup>, 如式 (5)。

$$y = k' t, \quad (5)$$

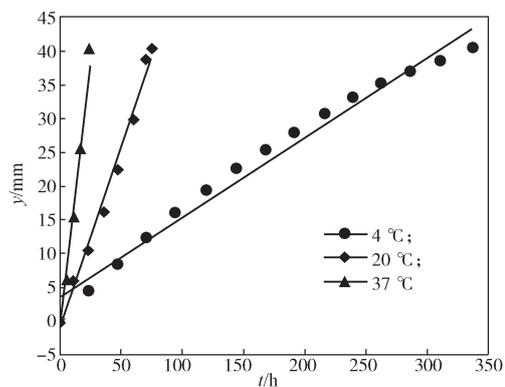
式中:  $y$  为显色带的长度;

$k'$  为具体温度下 TTI 的反应速率。

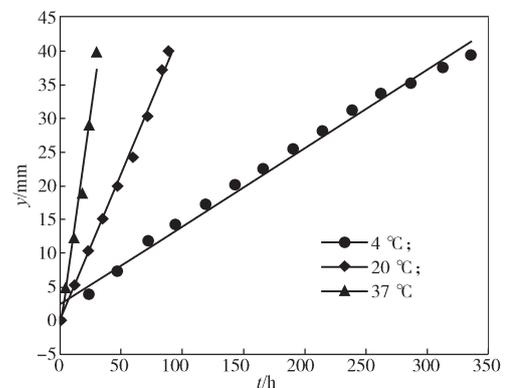
在恒温实验中, 将 2 组 TTI 分别储存在 4, 20, 37 °C 下, 以显色带的长度为指标, 观察其不同温度下的变化规律, 并以基底带全变为无色的时间作为反应终点, 每组 TTI 做 3 个试样, 记录数据。

对 2 组 TTI 重复试样的显色带长度  $y$  取平均值, 并对反应时间  $t$  作图, 如图 6 所示。

由图 6 可知, 温度越高, 直线斜率越大, 即反应速率越快, 这是因为温度越高, 糖化酶的扩散速度越快, 对麦芽糊精的水解作用越强, 故 TTI 达到反应终点时所用的时间越短。对图 6 中 TTI 数据进行线性拟合, 结果如表 3 所示。



a) 1# TTI



b) 2# TTI

图 6 TTI 数据拟合直线

Fig. 6 The fitting line of TTI data

表 3 TTI 在不同温度下的反应速率及其他拟合参数

Table 3 The reaction rate and fitting parameters of TTI at different temperature

TTI 编号	温度 / °C	$k/h^{-1}$	$r^2$	$\frac{1}{T}$	$\ln k$
1#	4	0.118 7	0.990 7	0.003 6	-2.131 2
	20	0.535 9	0.995 8	0.003 4	-0.623 8
	37	1.605 9	0.991 5	0.003 2	0.473 7
2#	4	0.116 3	0.996 5	0.003 6	-2.151 6
	20	0.437 1	0.996 5	0.003 4	-0.827 6
	37	1.326 2	0.998 0	0.003 2	0.282 3

对表 3 中的数据  $\ln k$  对  $\frac{1}{T}$  作图, 如图 7 所示。线性拟合后得到的 TTI 动力学参数见表 4, 该回归直线的复相关系数分别为 0.995 9 和 0.998 7, 均在 0.99 以上, 说明两者的线性关系很好, 回归直线达到显著水平。

从表 4 还可以发现: 1# TTI 的活化能  $E_A$  为 54.14 kJ/mol, 其指前因子为  $1.97 \times 10^9 h^{-1}$ , 故 1# TTI 反应速率满足式 (6):

$$k' = 1.97 \times 10^9 e^{\frac{-5.414 \times 10^4}{RT}} \quad (6)$$

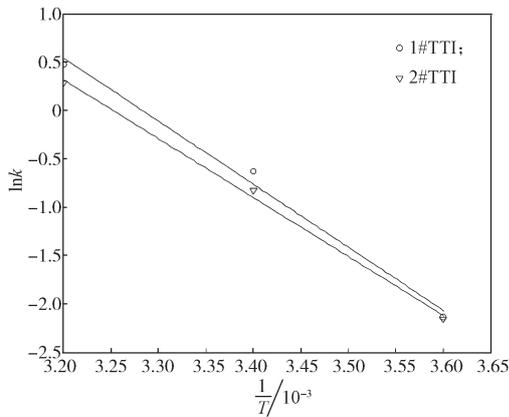


图7  $\ln k - \frac{1}{T}$  拟合曲线

Fig. 7 The linear of  $\ln k - \frac{1}{T}$

表4 TTI 的动力学参数

Table 4 The kinetic parameters of TTIs

TTI 编号	拟合方程	$r^2$	$k_A/h^{-1}$
1#	$\ln k_1 = -6.52 \times 10^3 \frac{1}{RT} + 21.4$	0.995 9	$1.97 \times 10^9$
2#	$\ln k_2 = -6.06 \times 10^3 \frac{1}{RT} + 19.8$	0.998 7	$3.97 \times 10^8$

由表3~4的数据可知,不同温度下TTI的显色带长度变化规律遵循式(2),这与酸奶酸度的变化规律相同。

### 3 TTI 与酸奶的匹配

#### 3.1 匹配原则

众所周知,没有一个特定配方的TTI可以准确地监测各种食物。因此,TTI的适用性是判断其能否准确监测和指示食品质量的重要指标。TTI与食品匹配的原则如下:首先,TTI和食品之间的活化能差不应超过25 kJ/mol;其次,TTI的反应终点与食品的货架寿命终点之间的误差小于15%<sup>[20]</sup>。

通过对酸奶及固定化糖化酶型TTI动力学性能的研究,建立了以TTI来检测酸奶质量的数学模型。根据这个数学模型和酸奶本身的活化能及预测的货架寿命,可以判断TTI是否与酸奶匹配。为了验证所开发TTI的有效性及其可靠性,分别在恒温及变温条件下进行匹配实验。

#### 3.2 恒温条件

根据TTI与食品的匹配原则,固定化糖化酶型TTI与酸奶的活化能及反应终点都应相匹配。恒温条件下,2组TTI的活化能范围( $E_A \pm 25$  kJ/mol)及酸奶的活化能如表5所示。由表5可知,2组TTI的活

化能范围都包含了酸奶的活化能,故从活化能角度分析,2组TTI都满足与该酸奶的匹配要求。

表5 TTI 及酸奶的活化能

Table 5 The activation energy range of immobilized enzyme TTIs and yogurt

产品	酸奶	1# TTI	2# TTI
$E_A / (kJ \cdot mol^{-1})$	75.54	29.14~79.14	25.59~75.59

由图1,6可知,2组TTI的反应终点及酸奶的货架寿命终点如表6所示。由表6可知,在4℃和20℃时,1#TTI的反应终点与酸奶的货架寿命终点基本一致,在37℃时两者相差也小于15%,故1#TTI满足与该酸奶匹配的要求;而2#TTI仅在4℃时终点相差小于15%,在20℃和37℃时终点误差都大于15%,不满足匹配要求,因此不能用于酸奶的质量检测。

表6 TTI 的反应终点及酸奶的货架寿命终点

Table 6 The end time of immobilized enzyme TTIs and yogurt shelf life

温度 /℃	酸奶 货架寿命终点 /h	TTI 反应终点 /h		误差 /%	
		1#	2#	1# TTI	2# TTI
4	336	336	345	0	2.68
20	74	75	90	1.35	21.62
37	22	25	30	13.63	36.36

综上所述,1#TTI的活化能和反应终点都与酸奶相匹配,因此可以用其监测酸奶的品质变化,从而预测酸奶的保质期。

#### 3.3 变温条件

食品在整个流通过程中,由于冷链的断裂很难保证温度一直恒定,因此在变温条件下检测TTI和食品的匹配性不可或缺。根据P. S. Taoukis在1989年提出的理论<sup>[21]</sup>,将37℃设为冷链断裂时的最高温度,实验中的时间-温度历程如图8所示。

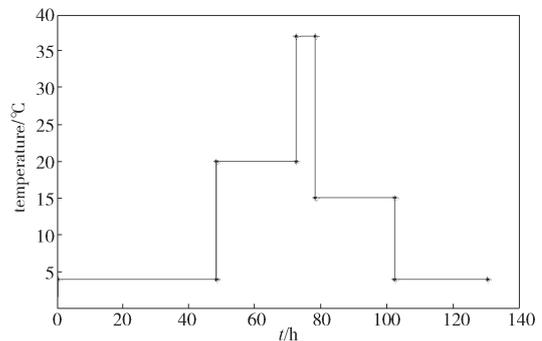


图8 变温实验的时间-温度历程

Fig. 8 The process of non-isothermal test

具体实验操作如下: 将 500 g 酸奶和制作的 1# TTI 置于生化培养箱中, 于 4 °C 下储存 48 h, 再置于 20 °C 下 24 h, 37 °C 下 6 h, 15 °C 下 24 h, 最后在 4 °C 下培养, 直到酸奶的酸度超过 114 °T。整个实验过程中每隔一段时间对酸奶的酸度及 1# TTI 显色带的长度进行测定, 记录数据。

变温实验中酸奶的酸度随时间变化曲线如图 9 所示。由图可知, 随着温度的升高, 酸奶酸度升高速率加快, 这是由于酸度变化速率与温度成正比, 温度升高, 酸度变化速率加快。在变温条件下, 酸奶在 130 h 时的酸度超过了 114 °T, 即酸奶的货架寿命终点为 130 h。

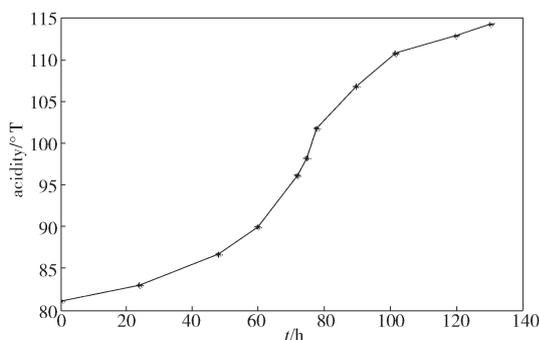


图 9 变温实验中酸奶酸度变化曲线

Fig. 9 The change of yogurt acidity in calorimetric test

变温实验中, 1# TTI 的显色带长度随时间变化曲线如图 10 所示。

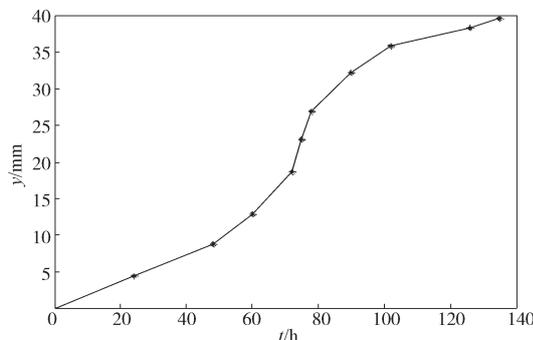


图 10 变温实验中 1# TTI 显色带长度变化曲线

Fig. 10 The ribbon diffusion length change of 1# TTI in calorimetric test

从图 10 可以发现, 1# TTI 反应速率与酸奶酸度变化趋势相似, 也随着温度的升高而加快。在变温条件下, 1# TTI 在 135 h 时整个显色基底带变为无色, 即 1# TTI 的反应终点为 135 h, 这与酸奶的货架寿命终点 130 h 基本吻合。

根据食品质量公式 (7), 可以推断出酸奶在货

架寿命终点时的质量如式 (8) [21]。

$$Q_{(A)} = k_A \cdot \exp\left(-\frac{E_A}{RT}\right) \cdot t, \quad (7)$$

$$Q_{(A)t} = \int_0^t k dt = \int_0^{48} k_4 dt + \int_{48}^{72} k_{20} dt + \int_{72}^{78} k_{37} dt + \int_{78}^{102} k_{15} dt + \int_{102}^{130} k_4 dt \quad (8)$$

式中:  $k_4, k_{20}, k_{37}, k_{15}$  分别为酸奶酸度在 4, 20, 37, 15 °C 下的变化速率。该变化速率满足式 (4), 根据不同温度求得酸奶酸度的相应变化速率, 具体数值如表 7 所示。

表 7 酸奶酸度在不同温度下的变化速率

Table 7 The reaction rate of yogurt acidity at different temperature

温度 /°C	4	15	20	37
$k/h^{-1}$	0.000 5	0.001 7	0.003 0	0.016 4

将表 7 中不同温度下酸奶酸度的变化速率代入式 (8), 就可以得到货架寿命终点时的酸奶质量  $Q_{(A)t}$ , 为 0.249。

由于活化能受温度影响, 当温度变化, 活化能也随之改变。在动态温度条件下考查 TTI 与酸奶的匹配, 要将变化的温度转化为等效温度后才能进行匹配。等效温度  $T_{\text{eff}}$  可以表示为式 (9) [21-22]:

$$T_{\text{eff}} = \frac{E_A / R}{\ln[k_A / Q_{(A)t}]} \quad (9)$$

将酸奶质量  $Q_{(A)t}=0.249$ , 指前因子  $k_A=8.79 \times 10^{10} h^{-1}$ , 活化能  $E_A=75.54 \text{ kJ/mol}$  代入式 (9), 得到该变温条件下酸奶的等效温度  $T_{\text{eff}}=288.8 \text{ K}$ 。

同样地, TTI 到达反应终点时的质量如式 (10):

$$Q'_{(A)t} = \int_0^t k' dt = \int_0^{48} k'_4 dt + \int_{48}^{72} k'_{20} dt + \int_{72}^{78} k'_{37} dt + \int_{78}^{102} k'_{15} dt + \int_{102}^{135} k'_4 dt \quad (10)$$

式中:  $k'_4, k'_{20}, k'_{37}, k'_{15}$  分别为 1# TTI 在 4, 20, 37, 15 °C 下的反应速率。该反应速率满足式 (6), 根据不同温度求得 TTI 相应的反应速率, 具体数值见表 8。

表 8 1# TTI 在不同温度下的反应速率

Table 8 The reaction rate of 1# TTI at different temperature

温度 /°C	4	15	20	37
$k'/h^{-1}$	0.121	0.298	0.438	1.482

将表 8 中不同温度下 1#TTI 的反应速率代入式 (10), 可以得到 1#TTI 达到反应终点时质量  $Q'_{(A)_t} = 37.357$ 。将该数值与 1# TTI 指前因子  $k'_A = 1.97 \times 10^9 \text{ h}^{-1}$ , 活化能  $E_A = 54.14 \text{ kJ/mol}$  代入式 (9), 得到该变温条件下 1# TTI 的等效温度  $T_{\text{eff}} = 286.7 \text{ K}$ 。

在变温实验中, 将 1#TTI 应用于酸奶质量检测, 匹配结果如表 9 所示。

**表 9 变温条件下 1# TTI 与酸奶匹配结果**  
**Table 9 Comparison of the results of 1# TTI and yogurt under variable temperature conditions**

产品	$T_{\text{eff}}/\text{K}$	反应终点/h
酸奶	288.8	130
1#TTI	286.7	135
误差率/%	0.7	3.8

从表 9 中可以看出, 在变温条件下, 1# TTI 与酸奶反应终点的误差率为 3.8%,  $T_{\text{eff}}$  的误差率为 0.7%。根据匹配原则, 1# TTI 的反应过程和酸奶的质量变化过程是一致的, 即 1# TTI 可以用于监测酸奶的质量。

## 4 结语

本文制作了一种固定化糖化酶型 TTI, 其基于糖化酶能够促使麦芽糊精发生水解反应, 并结合酶的固定和扩散原理制作而成。不仅改变了制备 TTI 的模式, 简化了 TTI 的结构, 而且保持了酶的稳定性。为了验证 TTI 的可靠性及与酸奶匹配的有效性, 本文研究了酸奶及 TTI 的动力学性能, 并且计算了二者的活化能以及反应终点; 考虑到流通环境的变化, 本文还研究了酸奶和 TTI 在恒温和变温条件下的品质变化, 并进行了匹配性研究。实验结果证明, 1# 固定化糖化酶型 TTI 满足匹配原则, 并且符合变温条件下的质量评价原则, 可以用来监测冷链运输中酸奶的质量。可以通过改变 TTI 的配方, 使其应用于不同的食品监测。

### 参考文献:

[1] AL-KADAMANY E, KHATTAR M, HADDAD T, et al. Estimation of Shelf-Life of Concentrated Yogurt by Monitoring Selected Microbiological and Physicochemical Changes During Storage[J]. LWT-Food Science and Technology, 2003, 36(4): 407-414.  
[2] ZHU Q J. Studies on Physical Qualities During Different Ages of Manufacture and Storage of Yogurt[J]. Food

Science, 2003, 24(2): 44-48.  
[3] 蔡超. 酸奶在贮存期间参数的变化和对货架寿命预测模型的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.  
CAI Chao. Prediction Model of Shelf Life of Yogurt to Various Parameters During Storage[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012.  
[4] NUIN M, ALFARO B, CRUZ Z, et al. Modelling Spoilage of Fresh Turbot and Evaluation of a Time-Temperature Integrator (TTI) Label Under Fluctuating Temperature[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 127(3): 193-199.  
[5] SUN Y, CAI H W, ZHENG L M, et al. Development and Characterization of a New Amylase Type Time-Temperature Indicator[J]. Food Control, 2008, 19(3): 315-319.  
[6] MAUGH T H. A Renewed Interest in Immobilized Enzymes[J]. Science, 1984, 223: 474-476.  
[7] GUIAVARC H Y, VAN L A, ZUBER F. Bacillus Licheniformis  $\alpha$ -Amylase Immobilized on Glass Beads and Equilibrated at Low Moisture Content: Potentials as a Time-Temperature Integrator for Sterilization Processes[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2004, 5(3): 317-325.  
[8] 毕金峰. 活性炭固定化  $\alpha$ -转移葡萄糖苷酶的研究 [J]. 河南工业大学学报 (自然科学版), 2005, 26(5): 11-14.  
BI Jinfeng. Studies on Immobilized  $\alpha$ -Transglucosidase with Activated Charcoal[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2005, 26(5): 11-14.  
[9] 吴定, 邹耀洪, 王云, 等. 固定化酶生产低聚异麦芽糖工艺研究 [J]. 食品科学, 2005, 26(3): 125-127.  
WU Ding, ZOU Yaohong, WANG Yun, et al. Technique of Isomaltooligosaccharide Preparation with Immobilizing Enzymes[J]. Food Science, 2005, 26(3): 125-127.  
[10] 周剑平, 龚伟中, 魏甲乾, 等. 聚乙烯醇复合凝胶固定化糖化酶研究 [J]. 微生物学通报, 2003, 30(3): 10-13.  
ZHOU Jianping, GONG Weizhong, WEI Jiaqian, et al. The Immobilization of Glucoamylase on Polyvinyl Alcohol Complex Gel[J]. Microbiology, 2003, 30(3): 10-13.  
[11] KLIBANOV A M, DORDICK J S. Enzymatic Temperature Change Indicator: United States, 4826762[P]. 1989-05-02.  
[12] 蔡华伟. 淀粉酶时间-温度指示卡的研制与开发 [D].

- 北京: 中国农业大学, 2006.  
CAI Huawei. Research and Development of Amylase Time-Temperature Indicator[D]. Beijing: China Agricultural University, 2006.
- [13] LI X L, WEI Z Z, ZHI Y L, et al. Development and Application of Time-Temperature Indicators Used on Food During the Cold Chain Logistics[J]. Package Technology and Science, 2013, 26(S1): 80-90.
- [14] KO C U, LEE E, BANKS D E, et al. Color Changing Device for Time Indicating Label and Methods of Making and Using the Same: US7294379[P]. 2007-11-13.
- [15] BOBELYN E, HERTOGL M L A T M, NICOLAI B M, et al. Applicability of an Enzymatic Time Temperature Integrator as a Quality Indicator for Mushrooms in the Distribution Chain[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 42(1): 104-114.
- [16] AGUIAR H D F, YAMASHITA A S, GUT J A W. Development of Enzymic Time-Temperature Integrators with Rapid Detection for Evaluation of Continuous HTST Pasteurization Processes[J]. LWT-Food Science and Technology, 2012, 47(1): 110-116.
- [17] 钱静, 郑光临, 冯钦. 基于冷鲜肉脂肪氧化的糖化酶型时间-温度指示器的研究[J]. 食品科学, 2013, 34(18): 343-348.  
QIAN Jing, ZHENG Guanglin, FENG Qin. Glucoamylase Time-Temperature Indicators Based on Fat Oxidation of Chilled Pork[J]. Food Science, 2013, 34(18): 343-348.
- [18] 郑光临, 钱静, 冯钦. 糖化酶型时间-温度指示器反应体系的制备[J]. 食品科学, 2013, 34(12): 82-85.  
ZHENG Guanglin, QIAN Jing, FENG Qin. Preparation of Time-Temperature Indicators Reaction System Based on Glucoamylase[J]. Food Science, 2013, 34(12): 82-85.
- [19] TAOUKIS P S, LABUZA T P. Applicability of Time-Temperature Indicators as Shelf Life Monitors of Food Products[J]. Journal of Food Science, 1989, 54(4): 783-788.
- [20] TAOUKIS P S. Modelling the Use of Time-Temperature Indicators in Distribution and Stock Rotation[M]// TIJSKENS, L M M. Food Process Modelling. Washington: CRC Press, 2001: 402-431.
- [21] TAOUKIS P S, LABUZA T P. Reliability of Time-Temperature Indicators as Food Quality Monitors Under Nonisothermal Conditions[J]. Journal of Food Science, 1989, 54(4): 789-792.
- [22] SHIM S D, JUNG S W, LEE S J. Mathematical Evaluation of Prediction Accuracy for Food Quality by Time Temperature Integrator of Intelligent Food Packaging Through Virtual Experiments[J]. Mathematical Problems in Engineering, 2013(5): 377-384.

## Application of Immobilized Glucoamylase Time-Temperature Indicators on Yogurt Quality Monitoring

WANG Lin<sup>1</sup>, MENG Jingjing<sup>1</sup>, LI Yuanjin<sup>1</sup>, LING Chen<sup>1</sup>, QIAN Jing<sup>1,2</sup>

(1. School of Mechanical Engineering, Jiangnan University, Wuxi Jiangsu 214122, China;

2. Jiangsu Key Laboratory of Advanced Food Manufacturing Equipment and Technology, Wuxi Jiangsu 214122, China)

**Abstract:** The kinetics of immobilized glucoamylase time-temperature indicators (TTIs) was studied, the activation energy and reaction endpoint of TTIs was achieved, with the research on yogurt activation energy and shelf life. According to the activation energy and ending point matching principle between TTIs and the perishable, the matching experiments were set up both at constant and variable temperature. As a result, 1# TTI was verified to predict the shelf life of yogurt more accurately with the activation energy matching yogurt and the errors of reaction endpoint within 15% based on experiments in yogurt quality monitoring.

**Keywords:** immobilized glucoamylase; time-temperature indicator; activation energy; yogurt; acidity