

## 综述文章

## 关于“木瓜蛋白酶作为食品嫩化剂用于埃塞俄比亚食品加工的范围和机遇”的综述

Birhanu Zeleke Tilinti

*Department of Industrial Chemistry, College of Natural Sciences, Arba Minch University, Arba Minch 6050, Ethiopia; birhanzele@gmail.com*

**摘要:** 食品保鲜的基本目标是在储存过程中限制微生物的发展,从而延长保质期并降低食物中毒的风险。水果和蔬菜是人类饮食的重要补充,因为它们含有维持健康所需的维生素、矿物质和纤维。木瓜含有一种被称为木瓜蛋白酶的蛋白质分解酶,这种酶可用于各种食品加工程序,以分解蛋白质。本综述旨在仔细研究木瓜蛋白酶的提取方法,采用研磨和超声波提取技术,并确定木瓜蛋白酶作为防腐剂在未来研究中的应用。由于木瓜果实中含有半胱氨酸蛋白酶,因此可作为药理学和医学的重要工具。木瓜种子、果实和果实中都含有木瓜碱,这是一种生物碱,味道苦涩,具有强效的心脏抑制作用。食品保鲜的主要目的是保持食品的营养价值,同时还能保持其外观和延长其保质期。由于木瓜广受欢迎,且具有很高的食用价值和营养价值,因此有必要在水果中添加最佳的保鲜酶。酵素已发展成为众多行业的重要工具,其中最主要的是食品和动物饲料、生物燃料、洗涤剂、纺织品、纸浆和造纸。

**关键词:** 生物催化; 半胱氨酸蛋白酶; 酶生物技术; 固定化; 工业加工木瓜蛋白酶

## 1. 引言

与化学催化剂不同,酶是天然存在的生物催化剂。它们是催化生命所需的化学过程的聚合物,包括快速合成复杂的化学物质、分解高分子量结构以及将生物分子转化为活性形式。酶在催化能力、立体特异性以及将非手性底物转化为手性产物的能力方面优于所有其他化学催化剂。食品业正是利用了这些优势。食品行业使用的所有酶本质上都是蛋白质,食品技术专家通常在生产、加工、准备和处理食品时使用它们来保存食品。木瓜是一种可爱而美味的热带水果,具有多种保健功效。在许多国家,木瓜都是为国内和国际市场而种植的。大约有 60 个不同的国家生产木瓜,其中大多数是贫穷国家。水果和蔬菜在保障人类健康方面扮演着各种重要角色。水果和蔬菜提供抗氧化剂,这对抗击导致糖尿病、白内障、心脏病、高血压、中风和癌症的自由基至关重要。它们也是维生素 A 的主要来源,维生素 A 除了具有抗氧化功能外,对人体的各种新陈代谢过程也至关重要<sup>[1-3]</sup>。

未成熟的木瓜含有丰富的木瓜蛋白酶(消化酶)和植物胃蛋白酶,有助于在酸性、碱性或中性介质中消化。如图 1 所示,木瓜果实有不同的成熟度:未成熟、中等成熟和成熟<sup>[4]</sup>。它还可用于制药业、食品收购、皮革鞣制、造纸和粘合剂行业、污水处理,以及乳制品、烘焙、鱼类和香水行业的塑料制品。这种植物的乳汁、果实、叶子和根都可以用来提取木瓜蛋白酶,这是一种内溶性植物半胱氨酸蛋白酶。木瓜蛋白酶是一种 23.4 kDa 的单体蛋白,其最大活性温度为 37 °C,在多种条件下都具有稳定的活性。布拉德福德法通过测量纯化过程中样品中的蛋白质含量来鉴定木瓜蛋白酶<sup>[5-7]</sup>。



图 1. 木瓜果树及果实分布图<sup>[4]</sup>。  
Figure 1. The picture of Papaya fruit tree with ageing range<sup>[4]</sup>.

### 1.1. 木瓜蛋白酶的组成

未成熟的木瓜实际上是碳水化合物、蛋白质和维生素的极佳来源，因为这些营养成分的含量会随着果实的成熟而减少。下方的表 1 列出了木瓜果皮和果实 (Papaya peel and Fruit, PPF) 在不同成熟阶段的近似成分<sup>[8]</sup>。随着成熟，木瓜果皮和果实的蛋白质、脂质和碳水化合物含量急剧下降。根据对木瓜果皮和果实研究的最终分析，氮 (1.49%) 和碳 (38.10%) 都存在。当原料中的碳和氮的比例在 25 至 30 之间时，微生物就能生长和繁殖。研究表明，木瓜果皮和果实的碳氮比很高 (26:1)，这表明微生物很容易在木瓜皮和水果的表面发生相互作用<sup>[7,8]</sup>。

表 1. 木瓜果皮和果实不同成熟阶段的近似物成分<sup>[8]</sup>。  
Table 1. Proximate compositions of PPF at different stages of ripening<sup>[8]</sup>.

Sample of papaya fruit	Moisture content (%)	DM (%)	CF (%)	Ash (%)	CP (%)	Fat (%)	Carbohydrate (%)
Unripe	54.48	45.52	14.52	5.25	10.56	0.23	30.35
Hard ripe	58.22	41.78	13.67	4.84	9.04	0.31	27.87
Very ripe	68.39	31.61	9.67	3.15	6.89	0.33	20.04

在不同的成熟阶段，从未成熟的木瓜果皮和果实样品到相当成熟的木瓜果皮和果实样品，它们果皮中的维生素成分和非营养成分同样会减少。表 2 根据木瓜在室温下储存时的表皮颜色显示了木瓜的成熟阶段。一个巯基、三个二硫桥和一个称为木瓜蛋白酶的单链多肽对酶的功能是绝对必要的。预木瓜蛋白酶是木瓜蛋白酶的一种非活性前体。

要制造活性木瓜蛋白酶，必须发生许多裂解事件，包括最初裂解 18 个氨基酸前区和第二次裂解糖基化的 114 个氨基酸前区。前区具有天然抑制剂和折叠模型的功能<sup>[9]</sup>。

表 2. 在室温下储存时，根据表皮颜色划分的木瓜成熟阶段<sup>[10,11]</sup>。  
Table 2. Stages of papaya maturity according to skin color when stored at room temperature<sup>[10,11]</sup>.

Maturity stage	Score range
0	Fruit has completely developed. 100% green skin color.
1	Represent papaya with a yellow-colored cover area of between 1% and 25% of the skin fruit surface.
2	Represent papaya with ¼ mature. Fruit skin with up to 50% to 75% yellow-covered area.
3	Represent papaya with ¾ mature. The fruit surface is covered with up to 50% to 100%.
4	Mature. The fruit is covered with 76% yellow or totally yellow color, and the area near the stem is green.

## 1.2. 食品的应用及其方法

所有食品都含有食品防腐剂，但来自我们厨房菜园的食品除外。食品由每个生产商加工，同时添加食品防腐剂。一般来说，目的是避免食物在运输过程中腐烂。食品防腐的基本目标是保持食品的营养成分，同时保持其外观并延长其保质期。工业应用见图 2。

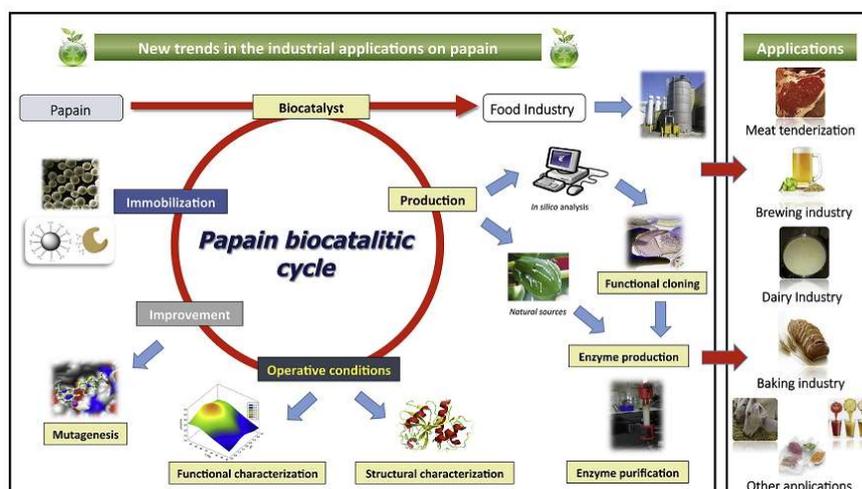


图 2. 木瓜蛋白酶的完整生物催化循环<sup>[4]</sup>。  
Figure 2. The complete bio-catalytic cycle of papain<sup>[4]</sup>.

人类最早的创新之一就是保存食物的能力，因为它可以防止食物腐烂，而这正是生存所必需的。因此，人们发现并改进了各种保存方法（传统方法包括煮沸、冷冻、冷藏、巴氏杀菌、脱水、熏制和腌制）。核辐射和改良包装方法，如真空包装和低气压包装，都是人工保存食物的方法。糖、盐、酒精和醋都是常见的食品防腐剂。一些最常见的技术是抗菌剂（可抑制或破坏细菌、霉菌、昆虫和其他生物的生长）、螯合剂和抗氧化剂处理<sup>[12]</sup>。

目前，肉类行业和消费者都在关注肉类产品质量的严重问题。嫩度、多汁性、风味、香味、色泽和质地都是影响消费者对肉类和其他食品接受程度的品质。嫩度通常被认为是最重要的适口性特征。食品啤酒防寒、奶酪制造、风味和色素提取、肉类嫩化剂和木瓜蛋白酶都是利用植物化合物应用于食品领域的<sup>[11,13]</sup>。

## 1.3. 基本目标

研究的主要目标包括利用木瓜蛋白酶这种价廉易得的食物防腐剂来保持食品的营养价值、美观和保质期。该项目的主要目标是利用当地廉价的木瓜果实制造木瓜蛋白酶，用于食品稳定和肉类嫩化。利用气相色谱-质谱法、紫外光谱法和高效液相色谱法确定木瓜蛋白酶的特性。为了避免或减少食物浪费，在用硬质食物浸泡产品之前，必须先将其弄平滑和软化。这样做的目的是使坚硬的肉变得更软，从木瓜果实中创造和评估木瓜蛋白酶。

## 1.4. 本综述的意义

基本意义在于应用木瓜蛋白酶作为一种活性防腐剂，使食品（主要是肉类）具有较长的保质期并防止变质，以区分应用于普通食品和特殊食品的防腐剂。除防腐外，本综述还论述了木瓜蛋白酶在应用过程中的其他重要作用，如在酸性、碱性或中性介质中帮助消化。木瓜蛋白酶还具有止痛特

性。这项工作将开阔高级研究人员的视野，促使他们开展进一步类似的研究，使食品科学相关的研究和调查得到更广泛的传播。

## 2. 文献综述

### 2.1. 木瓜蛋白酶的起源和应用领域

酶是一种生物催化剂，它通过降低反应的活化能来加速通常缓慢的反应，而在反应结束时不会发生任何明显的结构变化。与化学催化剂相比，酶具有更高的选择性。其主要优点之一是选择性高，副反应少，因此更容易分离。十九世纪末，Wurtz 和 Bouchut 从木瓜汁液中部分提纯了木瓜蛋白酶，并将其命名为木瓜蛋白酶。在命名木瓜蛋白酶时，人们只知道它是热带木瓜果实胶乳中的一种蛋白水解活性成分。20 世纪 80 年代，人们更新了木瓜蛋白酶活性位点的几何结构，并计算出了分辨率为 1.65 Å 的三维结构<sup>[9,11]</sup>。

自古以来，人们一直在使用酶，这使得人们对酶有了更多的了解，同时需求量和使用频次也在增加。然而，许多学术和企业研究人员仍在寻找新的用途和更好的技术。尽管学者们对结构与功能之间的关系进行了广泛的研究，但它仍然是当前酶工程领域最重要的挑战之一<sup>[14]</sup>。

#### 2.1.1. 洗涤剂工业中的酶

洗涤剂成分中含有酶，以防止含磷洗涤剂造成水体富营养化。蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶和纤维素都被用来分解衣物上的蛋白质、碳水化合物和脂质污渍。在洗涤剂领域，酶有许多好处，包括以下方面：

- 由于使用的洗涤剂浓度较低，因此成本较低。
- 环境可接受性：可生物降解，对污水处理过程无有害影响。
- 去污效率更高。
- 减少磷酸盐、漂白剂和腐蚀性等污染物的使用<sup>[14]</sup>。

#### 2.1.2. 用于生物能源的酶

尽管生物乙醇和生物柴油目前已作为流行的生物能源被生产和使用，但对其他生物能源的研究仍然十分必要。包括氮酶和氢酶在内的蓝藻可以产生氢气。必须深入研究从蓝藻中有效合成生物能源所涉及的酶，如有必要，还必须对其进行工程设计<sup>[15]</sup>。

#### 2.1.3. 用于生物医学分析的酶

临床指标如胆固醇、葡萄糖、谷氨酸、乳酸盐和尿素等都是通过酶生物传感器来检测的，这种传感器在生物医学领域得到了广泛应用。由于糖尿病和其他代谢性疾病患者人数众多，一次性血糖传感器已被积极探索和商业化。作为传统快速扫描循环伏安法的替代方法，用于实时检测大脑中多巴胺的酶生物传感器也有报道<sup>[14,15]</sup>。

由于木瓜果实中含有半胱氨酸蛋白酶，因此可用于医疗或药理。木瓜果实、种子和叶子中含有木瓜碱，这是一种带有苦味的生物碱，对心脏有强烈的抑制作用。木瓜果皮和果实含有大量营养物质，富含维生素和矿物质。木瓜果皮和果实中的膳食纤维、酚类抗氧化剂、矿物质和维生素的组合可能是其对心血管疾病、炎症和衰老等病理和生理异常现象具有保护作用的原因。如果您吸烟或经常接触二手烟，为了改善您的肺部状况，食用木瓜等维生素 A 含量高的食物可以保护你的生命，并保持肺部健康<sup>[4,8,16]</sup>。

#### 2.1.4. 农业和食品工业

生物传感器用于监测生鲜食品的新鲜度，以及在生产过程中管理质量和安全。在这种情况下，传感设备被用来检测各种成分，评估食品的酸败、成熟度、衰退和保质期<sup>[14]</sup>。

#### 2.1.5. 农药检测

除草剂、杀虫剂、杀菌剂和杀鼠剂广泛应用于农业领域，需要受到农业部门、医疗专业人员和监管组织的严格监管。用于农药的酶生物传感器有两种技术：一种是直接方法，即跟踪酶反应引起的可检测化学物质数量的变化；另一种是间接策略，即跟踪酶抑制<sup>[14,15]</sup>。

#### 2.1.6. 食品防腐剂的应用

木瓜蛋白酶的有用特性在一系列工业用途中引起了越来越多的关注，特别是在肉类嫩化、膳食、饲料、酿造和纺织工业领域。此外，木瓜蛋白酶还被用作护肤品和美白牙膏的成分。本节将概述木瓜蛋白酶的主要用途。使用酶可以帮助生产营养丰富的食品，或营养丰富但热量低的食品。这可以通过酶水解植酸盐和酶抑制剂等抗营养化合物、分解坚硬的植物性食品以释放维生素和矿物质等营养物质、转化大蒜素等底物或简单地浓缩或稳定食品中的有益成分来实现<sup>[15,16]</sup>。

#### 肉类嫩化

外源性蛋白酶正越来越多地用于提高肉的柔软度。肉类工业必须优先考虑的是，既要满足人们对肉质鲜嫩的不增长的需求，又要提高低档肉的价值。改善死后肉质柔软度的技术有很多，包括机械嫩化、提高含水量和各种酶处理。软化肉类的典型方法是自体蛋白水解，这主要是由酪蛋白和酪蛋白酶介导的。然后将肉在 4 °C 下冷藏 7-10 天。木瓜蛋白酶是一种强大的肉类嫩化剂，因为它能在理想的条件下（氢的能量（Power of Hydrogen, pH）值约为 7-8，温度在 60 °C 和 65 °C 之间）水解肌肉组织、肌腱和韧带中的几乎所有蛋白质。含有蛋白水解酶的天然物质，如许多水果和蔬菜，被称为天然嫩化剂。这些天然蛋白水解酶可用于有效分解坚硬的肉类。在这些植物蛋白分解酶中，最常被讨论的是木瓜蛋白酶。在屠宰前将这种酶注入动物体内，使木瓜蛋白酶均匀地分布在动物肉中，已经进行了许多试验来研究木瓜蛋白酶对肉类软化效果的影响。

这种方法至今仍在使用。由于注射活性木瓜蛋白酶会给动物带来痛苦和压力，因此这种方法已不再使用<sup>[15,17,18]</sup>。

另一种方法是注射非活性木瓜蛋白酶。具体做法是，在给动物注射木瓜蛋白酶之前，先用过氧化氢氧化其中的催化半胱氨酸。动物死后，缺氧条件导致催化半胱氨酸下降，从而使木瓜蛋白酶苏醒。这种死前处理方法的主要缺点是难以预测嫩化程度，这取决于动物的多种生理因素。与可接受质量的牛肉片相比，纹理不一致、过度嫩化、味道或气味不佳或器官退化等都是可能出现的问题。对于低等级牛肉片，通常允许在死后使用。木瓜蛋白酶在市场上有粉末和液体两种形式（如 PANOL LIQUIPANOLT100），也可与其他蛋白酶（如菠萝蛋白酶）混合使用（如 ENZECO DUAL PROTEASE）。某些商业配方中可能含有其他成分（如盐、磷酸盐或谷氨酸钠等增味剂）<sup>[7]</sup>。

#### 木瓜的嫩化作用

根据 Branen 等<sup>[19]</sup>的研究，木瓜是一种天然的蛋白水解酶。根据 Kang 和 Warner<sup>[20]</sup>的研究，木瓜蛋白酶、糜蛋白酶和木瓜肽酶 A 的共同作用使木瓜嫩化肉类。由于木瓜蛋白酶在中性氢的能量值下具有更强的活性，因此它是嫩化肉质的主要因素。这种木瓜蛋白酶可影响肌肉的结构成分，从而改

善肉的嫩度<sup>[21]</sup>。他们称，木瓜果实的最大深度为两毫米，收集在容器中的乳胶在低于 70 °C 的温度下干燥成粉末。将其溶于水，可提高某些酶的活性<sup>[17,22]</sup>。

### 影响触感的因素

肉的嫩度受宰前和宰后两个变量的影响。物种、品种、年龄、性别、营养和护理、遗传影响以及应激条件都是屠宰前需要考虑的因素。在经常提到的屠宰前因素中，品种是影响嫩度的最重要因素<sup>[17]</sup>。

## 2.2. 木瓜蛋白酶的特性和基本成分

木瓜蛋白酶的主要特性如下：

别名 = 木瓜肽酶 I。

特异性 = 非特异性地裂解暴露残基。

来源 = 木瓜胶乳。

储存条件 = 4 °C 保存。

分子量 = 23.000 Da。

抑制剂 = 重金属、羰基化合物、净能计量 (Net Energy Metering, NEM)、对氯间苯甲酸酯。

消光系数 = 76,630 cm<sup>-1</sup>M<sup>-1</sup>。

等电点 = pH 9.6。

酶的催化残基是

- 半胱氨酸 (C158)
- 组氨酸 (H292)
- 天冬酰胺 (N308)

一种名为木瓜蛋白酶的单链多肽具有一个巯基和三个二硫桥，而这两个巯基和三个二硫桥是木瓜蛋白酶的活性所必需的。如表 3 所示，产生活性木瓜蛋白酶需要六个阶段，其中两个阶段是先裂解 18 个氨基酸的前区，然后再裂解糖基化的 114 个氨基酸的前区。

表 3. 木瓜蛋白酶的全部氨基酸成分。

Table 3. Complete amino acid constituent of papain.

Amino acid	No.	Amino acid	No.
Lysine	10	Glycine	28
Histidine	2	Alanine	14
Arginine	12	Valine	18
Aspartic acid	7	Isoleucine	12
Asparagine	12	Leucine	11
Glutamine	8	Tyrosine	19
Threonine	13	Phenylalanine	4
Acid	12	Half cysteine	6
Serine proline	10	Cysteine	4
Glutamine	8	Tryptophan	5

注：上表中的编号代表木瓜蛋白酶分子的残基数。

这个前区既是折叠模板，也是内在抑制剂。裂隙表面是活性位点，由一个半胱氨酸和一个组氨酸组成。除了四个短螺旋段和一个短结构段外，该链的构象是不均匀的<sup>[9,17]</sup>。

### 2.3. 纯化木瓜蛋白酶的主要特征

白色或灰白色粉末，仅有轻微吸湿性的就是纯化的木瓜蛋白酶。它几乎完全不溶于其他有机溶剂，但完全溶于水和甘油。根据制备方法的不同，木瓜蛋白酶的功效也各不相同。木瓜蛋白酶可以分解成 35 倍于其重量的瘦肉。最好的木瓜蛋白酶可消化自身重量 300 倍的鸡蛋白蛋白。木瓜蛋白酶应密封保存。木瓜蛋白酶活性的最佳氢的能量值为 5.0，但在中性和碱性条件下也能发挥作用。优质木瓜蛋白酶应符合以下标准：

- 颜色应为乳白色。
- 水分含量应高于 10%。
- 以不含水分为准，总灰分不应大于 11.1%。
- 不应含有任何外来物质。
- 应具有不低于锡兰参照物的蛋白水解活性<sup>[23]</sup>。

### 2.4. 木瓜蛋白酶的结构

木瓜蛋白酶的单链由 212 个氨基酸残基组成。木瓜蛋白酶活性位点至少有三个氨基酸残基，包括 Cys25、His159 和 Asp158。当 Cys25 被氧化或与金属离子结合时，酶的活性会降低；但是，还原剂半胱氨酸（或亚硫酸盐）或乙二胺四乙酸（Ethylene Dimethylene Tetraamine, EDTA）可以恢复酶的活性。其余六个半胱氨酸残基可形成三对二硫键，但如图 3 所示，活性位点中只有一对二硫键。

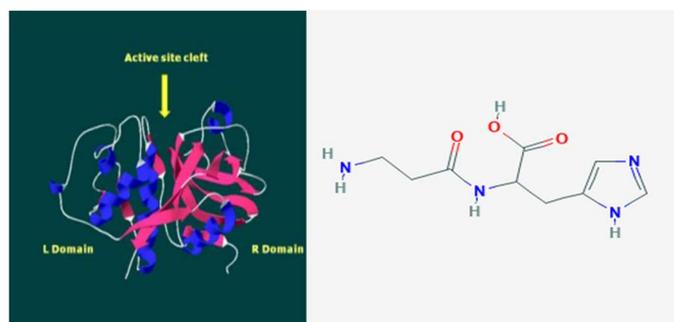


图 3. 木瓜蛋白酶的结构。  
Figure 3. Structure of papain enzyme.

### 2.5. 木瓜蛋白酶的提取和分析

选择酶源是生产酶的第一步。通过发酵方法，可以从微生物、植物和动物中获得酶。获取木瓜蛋白酶的方法是，将成熟、未成熟的果实纵切成片，并在果实还在树上时，在果实下方的容器中收集丰富的乳汁。乳胶被立即送到实验室，用蒸馏水稀释到必要的浓度，以防止凝固。整个过程有四个主要步骤：

- 1) 获取环境样本；
- 2) 分离 DNA 和处理遗传物质；
- 3) 构建元基因组文库；
- 4) 筛选新功能酶，并对来自元基因组学的遗传物质进行测序<sup>[8,14]</sup>。

传统上,木瓜蛋白酶是从绿色果皮中提取的乳状胶乳中制成的,如图 4 所示。接近成熟但仍是绿色的果实提供的乳汁最多,乳汁产量通常在采摘后的头 12 个月达到最高。第二年的产量约为第一年的 65%,以后逐年下降。这是因为果实的大小和数量以及乳胶产量会随着树龄和树高的增加而减少[24]。

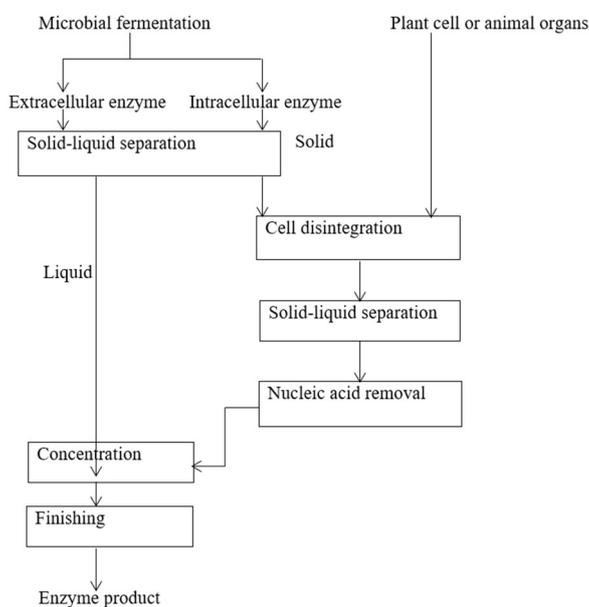


图 4. 酶制剂的制备步骤<sup>[15]</sup>。

Figure 4. The Preparation steps of enzymes<sup>[15]</sup>.

内肽酶糜蛋白酶 (EC 3.4.22.6)、肉毒蛋白酶 (EC 3.4.22.30) 和甘氨酸内肽酶 (EC 3.4.22.25) 都存在于木瓜 (番木瓜) 的乳汁中,木瓜也会产生木瓜蛋白酶。实际上,木瓜蛋白酶只占木瓜内肽酶的 5–8%。木瓜蛋白酶可通过沉淀技术从木瓜胶乳中提取,每公斤胶乳可提取高达 53 g 的粗酶。尽管这些方法在工业中经常使用,但它们只能生产纯度高达 39% 的木瓜蛋白酶。为避免游离半胱氨酸硫醇基团被氧化并保持其蛋白酶活性,粗木瓜蛋白酶通常在纯化后使用还原剂。纯化后的粗木瓜蛋白酶通常要经过还原剂处理,以保护游离半胱氨酸硫醇基团不被氧化,并保持其蛋白酶活性。必要时,可通过添加半胱氨酸或二硫苏糖醇等低分子量硫醇来再生木瓜蛋白酶的游离硫醇基团<sup>[7]</sup>。

## 2.6. 酶活性的测定

如果要将木瓜蛋白酶商业化,用于出口市场或本地食品行业,就必须测定其酶活性。为了验证结果,评估木瓜蛋白酶活性的方法必须经过验证。水解天然蛋白质或合成底物 (如酯或低分子量酰胺) 可用于检测木瓜蛋白酶活性。

在此类反应中可能会释放出染料、发色或荧光化合物,可使用分光光度计进行检测。这需要使使用酪蛋白作为蛋白酶底物,并将 0.05 g 的干燥样品溶解在 5 mL 10 mM (pH 7.5) 醋酸钠缓冲液和 5 mL 10 mM (pH 7.5) 醋酸钙缓冲液中。10 min 后,用 455 L 110 mM 的三氯乙酸使过程停止,并在热浴中再保持 30 min。为了丢弃生成的固体,在 9000 rpm 和 4 °C 下离心 20 min (Fresco 17 Thermo),分离两相。去掉上清液,对上清液进行蛋白酶检测,取 625 L 上清液与 1570 L 500 mM 碳酸钠和 250 L Folin-Ciocalteus 试剂混合。

由于释放的酪氨酸呈现蓝色，因此使用分光光度法评估蛋白酶活性。使用 660 nm 分光光度计读取每个样品。每个样品中的蛋白质数量用毕氏方法计算。无论木瓜蛋白酶是用于出口市场的经济开发，还是当地食品工业的使用，检测酶活性量的能力都是至关重要的。例如，国家标准办公室就可以开展这项工作。一种水解（或分解）蛋白质的酶被称为木瓜蛋白酶。因此，水解副产物的测定是木瓜蛋白酶活性测定的基础。检测主要有两种方法：

### 方法 1

这种方法基于木瓜蛋白酶凝固牛奶的能力。这种方法成本低，但耗时长。此外，由于缺乏确定凝固点的统一程序，再加上所用奶粉的差异，可能会导致误差。

### 方法 2

第二种方法基于光吸收科学，通常称为吸收测量法。使用这种技术可以测量化学溶液吸收的辐射量（或光的“颜色”）。例如，黄色溶液会吸收蓝光（蓝光是黄色的互补色）。溶液中黄色越多，吸收的蓝光就越多。酶活性的各项质量参数的相对重要性取决于商品或产品，以及产品是新鲜的（含或不含调味剂，如调味酱和蘸料）还是煮熟的<sup>[9,17,21,25]</sup>。

## 3. 结论

本综述表明，食品加工中常用的酶大多被视为“天然”和可生物降解的，使用它们会产生更环保，对环境的有害影响也更小。酶促反应具有选择性、可重复性、快速性和高效性，而且几乎不会产生不需要的副产品。因此，酶已成为许多行业的重要工具，尤其是那些依赖于防腐的行业，如食品和动物饲料、生物燃料、洗涤剂、纺织品、纸浆和造纸。由于木瓜的消费量很大，而且木瓜的营养和膳食功效享誉全球，因此需要添加最佳防腐酵素。

## 利益冲突

作者声明没有利益冲突。

## 缩略词

CP	Crude Protein	粗蛋白
CF	Crude Fibre	粗纤维
MC	Moisture Content	含水量
DM	Dry Matter	干物质
DNA	Deoxyribonucleic Acid PPF—Papaya Peel and Fruit	脱氧核糖核酸 PPF—木瓜果皮和果实
EDTA	Ethylene Dimethylene Tetraamine	乙二胺四乙酸
NEM	Net Energy Metering	净能计量
pH	Power of Hydrogen	氢的能量
PPE	Papaya Peel Extraction	木瓜果皮提取

## 参考文献

1. Chandrasekaran M. *Enzymes in Food and Beverage Processing*, 1st ed. CRC Press; 2016.
2. Ayele L, Etissa E, Dagne A, et al. Development of hermaphrodite papaya (*Carica papaya* L.) varieties for production in Ethiopia. *Academic Research Journal of Agricultural Science and Research* 2017; 5(7): 561–569.
3. Hailemariam T, Aregahegn A, Bekele T, Madhusudhan A. Investigation of the levels of selected metals in edible and medicinal fruits grown in Dilla, Ethiopia. *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences* 2015; 3(4): 44–53.
4. Yogiraj V, Goyal PK, Chauhan CS, et al. *Carica papaya* Linn: An overview. *International Journal of Herbal Medicine* 2014; 2(5): 1–8.
5. Varmudy V. Papaya: Waiting for a planned commercial strategy. *Facts For You*, May 2011, pp. 16–18.

6. Tigist M, Getnet B, Beza K, et al. Extraction and purification of papain enzyme from papaya leaf and the phytochemical components of the leaf. *Tigist et al Biotechnology International* 2016; 9(8): 176–184.
7. Lambri M, Roda A, Dordoni R, et al. Mild process for dehydrated food-grade crude papain powder from papaya fresh pulp: Lab-scale and pilot plant experiments. *Chemical Engineering Transactions* 2014; 38: 7–12. doi: 10.3303/CET1438002
8. Pathak PD, Mandavgane SA, Kulkarni BD. Waste to wealth: A case study of papaya peel. *Waste and Biomass Valorization* 2019; 10: 1755–1766. doi: 10.1007/s12649-017-0181-x
9. Paul B, Nasreen M, Sarker A, Islam MR. Isolation, purification and modification of papain enzyme to Ascertain industrially valuable nature. *International Journal of Bio-Technology and Research (IJBT)* 2013; 3(5): 11–22.
10. Akpan IP, Omojola AB. Quality attributes of crude papain injected beef. *Journal of Meat Science and Technology* 2015; 3(4): 42–46.
11. Malek K, Norazan M, Parasuraman R, et al. Production of cysteine proteases by recombinant microorganisms: A critical review. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 2016; 11(2): 35–40. doi: 10.9790/3008-1102043540
12. Msagati TAM. *The Chemistry of Food Additives and Preservatives*. Wiley-Blackwell; 2013.
13. Margean A, Mazarel A, Lupu MI, Canja CM. Tenderization, a method to optimize the meat sensory quality. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Series II: Forestry, Wood Industry, Agricultural Food Engineering* 2017; 10(1): 125–130.
14. Yoo YJ, Feng Y, Kim YK, Yagonia CFJ. *Fundamentals of Enzyme Engineering*. Springer; 2017.
15. Fernández-Lucas J, Castañeda D, Hormigo D. New trends for a classical enzyme: Papain, a biotechnological success story in the food industry. *Trends in Food Science & Technology* 2017; 68: 91–101. doi: 10.1016/j.tifs.2017.08.017
16. Adiaha MS. Effect of nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* Linn.) to human development: A review. *World Scientific News* 2017; 67(2): 238–249.
17. Zhang Y, He S, Simoson BK. Enzymes in food bioprocessing—Novel food enzymes, applications, and related techniques. *Current Opinion in Food Science* 2018; 19: 30–35. doi: 10.1016/j.cofs.2017.12.007
18. Patel AK, Singhanian RR, Pandey A. Novel enzymatic processes applied to the food industry. *Current Opinion in Food Science* 2016; 7: 64–72. doi: 10.1016/j.cofs.2015.12.002
19. Branen AL, Davidson PM, Salminen S, Sarngote JH. *Food Additives*. Marcel Dekker, Inc.; 2002.
20. Kang CK, Warner WD. Tenderization of meat with latex proteases. *Journal of Food Science* 2007; 39(4): 812–818. doi: 10.1111/j.1365-2621.1974.tb17985.x
21. Steen RWJ. The effect of additive treatment of grass silage and the food additive avoparcin on the response of calves to supplementation of silage-based diets with fish meal. *Animal Sciences* 2010; 47(2): 245–252. doi: 10.1017/S0003356100003329
22. Maiti AK, Ahlawat SS, Sharma DP, Khanna N. Application of natural tenderizers in meat—A review. *Agricultural Review* 2008; 29(3): 226–230.
23. Patel AK, Singhanian RR, Pandey A. Novel enzymatic processes applied to the food industry. *Current Opinion in Food Science* 2016; 7: 64–72. doi: 10.1016/j.cofs.2015.12.002
24. Isa MBM. *Extraction of Papain Enzymes from Papaya Leaves* [Bachelor's thesis]. Universiti Malaysia Pahang; 2010.
25. Rico D, Martin-Diana AB, Barat JM, Barry-Ryan C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: A review. *Trends in Food Science & Technology* 2007; 18(7): 373–386. doi: 10.1016/j.tifs.2007.03.011

---

**Review Article****Review on “scope and opportunities of papain as food tenderizing agent for food processing in Ethiopia”****Birhanu Zeleke Tilinti***Department of Industrial Chemistry, College of Natural Sciences, Arba Minch University, Arba Minch 6050, Ethiopia; birhanzele@gmail.com*

---

**Abstract:** The basic goal of food preservation is to limit microbial development during storage, which promotes a longer shelf life and lowers the risk of food poisoning. Fruits and vegetables are a crucial addition to the human diet because they include the essential vitamins, minerals, and fiber needed to sustain good health. Papaya contains the proteolytic enzyme known as papain, which is used in a variety of food processing procedures to break down proteins. The objective of this review is to carefully study the extraction methods for papain enzyme to employ grinding and ultra-sonication extraction techniques and determine the application of papain as a preservative in future studies. Because papaya fruit contains cysteine proteinases, it can be used as a significant instrument in pharmacology and medicine. Papaya seeds, fruit, and fruit all contain carpaine, an alkaloid with a bitter taste that has a potent heart-depressant effect. Food preservation primarily aims to maintain the nutritional value of food while also preserving its appearance and increasing its shelf life. Due to papaya's widespread popularity and reputation for its high food and nutritional value, it is necessary to fortify the fruit with the best preservation enzyme. Enzymes have evolved into critical tools for numerous industries, most notably food and animal feed, biofuels, detergents, textiles, pulp, and paper.

**Keywords:** bio-catalysis; cysteine proteases; enzyme biotechnology; immobilization; industrial processes papain

---