

豆粕双酶复合水解工艺的研究

朱雅东, 丁绍东

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 以豆粕为原料, 利用多种蛋白酶对豆粕的蛋白质进行水解, 挑选木瓜蛋白酶以及 Flavourzyme 两种蛋白酶进行复合酶解, 得出酶解的最佳工艺参数为: 木瓜蛋白酶的酶底比为 600 U/g、Flavourzyme 的酶底比为 1200 U/g、Flavourzyme 的作用时间为 14.5 h、总时间为 16 h、底物浓度为 2%。水解后, 总氮回收率达到 55.73%。

关键词: 大豆; 蛋白质; 蛋白酶; 水解

中图分类号: TS214.2; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2007)04-0058-04

Enzymatic Hydrolysis of Soybean Residue by two kinds of Proteinase

ZHU Ya-dong, DING Shao-dong

(School of Food Science & Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The protein in soybean residue was hydrolyzed by various proteinase and two enzymes, papain and flavourzyme, were chosen for this purpose. The most suitable ratio of papain to substrate, ratio of flavourzyme to substrate, the reaction time by flavourzyme, whole time of the hydrolysis and the substrate concentration were 600 U/g; 1200 U/g; 14.5 h, 16 h and 2%, respectively. After hydrolysis, the recovery of the total nitrogen reached 55.73%.

Keywords: soybean; protein; proteinase; hydrolysis

大豆水解蛋白营养丰富, 含人体所需的八种必须氨基酸, 目前工业上主要采用酸水解法对豆粕进行水解以得到水解植物蛋白。但酸水解反应条件强烈, 会破坏氨基酸, 此外酸水解会产生 1,3-二氯-2-丙醇 (1,3-DCP) 和 3-氯-1,2-丙二醇 (3-MCPD), 它们具有致癌性^[1]。酶法水解具有条件温和、副反应少、水解程度容易控制, 特别是在营养成分的保留上, 具有不可比拟的优点。

本实验先用内切酶水解豆粕生成短肽和数量不多的氨基酸, 然后再用外切酶对短肽进行水解生成氨基酸, 实验效果显著。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

豆粕: 东海粮油张家港有限公司, 蛋白质含量 46%。
酸性蛋白酶、中性蛋白酶 1398 (无锡酶制剂厂); 木瓜蛋白酶 (广州酶制品厂); Protamex (丹麦诺维信公司); 碱性蛋白酶 (丹麦诺维信公司); Flavourzyme (丹麦诺维信公司)。

其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

收稿日期: 2006-11-08

作者简介: 朱雅东, 研究方向: 粮油、植物蛋白工程

DS-1 高速组织捣碎机; FA1104 电子天平; HH-2 数显恒温水浴锅; DELTA320-S 数显 pH 计; HJ-3 恒温磁力搅拌器等。

1.3 制备水解液的工艺流程

豆粕→打浆→热处理→酶解→灭酶→离心

1.4 氨基态氮含量的测定以及总氮回收率的测定

总氮回收率% = 酶解液中的氮含量 / 原料中总氮含量 * 100%

氨基态氮含量用甲醛滴定法测定^[2]。

酶解液和原料的氮含量用微量凯氏滴定法测定^[3]。

以总氮回收率作为评价指标能够反映出蛋白酶对于蛋白质的水解效果, 总氮回收率越高, 说明蛋白质被有效的分解了, 此时的蛋白酶的水解能力最强; 反之亦然。

1.5 实验安排

1.5.1 内切酶的选择

挑选酸性蛋白酶、中性蛋白酶 1398、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶 (丹麦诺维信公司); Protamex 为实验的内切酶, 通过初步水解从五种酶中挑选出对于豆粕总氮回收率最高的内切蛋白酶作为本实验的内切酶。

通过单因素试验, 确定所挑选出的内切酶的最佳水解条件: 时间、底物浓度、酶底比等。

1.5.2 双酶复合水解的工艺确定

在内切蛋白酶的基础上, 结合内切酶和外切酶的水解条件, 通过正交实验, 优化双酶水解条件。

2 结果与讨论

2.1 内切酶的确切

在水解时间 4 h、酶底比 600 U/g、底物浓度 2% 的条件下, 比较酸性蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶 1398、木瓜蛋白酶和 Protamex 对豆粕的水解能力, 如表 1 所示。

表 1 不同蛋白酶水解能力的比较 单位:%

酶	酸性蛋白酶	碱性蛋白酶	中性蛋白酶 1398	木瓜蛋白酶	Protamex
总氮回收率	15.92	24.20	45.19	46.52	34.25
氨基态氮含量	0.1119	0.1407	0.2215	0.2301	0.1711

表 1 可看出, 木瓜蛋白酶水解效果最好, 故选择内切蛋白酶为木瓜蛋白酶。

2.2 木瓜蛋白酶酶底比的初步确定

使用木瓜蛋白酶, 在酶解时间 4 h、底物浓度 2% 的条件下, 比较不同酶用量对于酶解效果的影响, 结果如表 2 所示。

表 2 木瓜蛋白酶酶底比对酶解效果的影响

酶底比/(U/g)	300	600	900
总氮回收率/%	44.11	46.21	47.26
氨基态氮含量/%	0.2235	0.2312	0.2365

由表 2 可看出, 酶用量越大, 酶解效果越好, 但变化不大。

2.3 木瓜蛋白酶酶解时间的初步确定

使用木瓜蛋白酶, 在酶底比 600 U/g、底物浓度 2% 的条件下, 比较不同酶解时间对水解效果的影响, 结果如表 3 所示。

表 3 木瓜蛋白酶酶解时间对酶解效果的影响

时间/h	3	4	5
总氮回收率/%	39.42	45.81	46.23
氨基态氮含量/%	0.2055	0.2303	0.2315

表 3 知时间越长酶解效果越好, 但增幅随着时间的延长而降低。故酶解时间选择 4 h 为好。

2.4 底物浓度的初步确定

使用木瓜蛋白酶, 在酶解时间 4 h、酶底比 600 U/g 的条件下, 比较不同底物浓度对于酶解效果的影响, 结果如表 4 所示。

表 4 底物浓度对酶解效果的影响

底物浓度/%	2	3	4
总氮回收率/%	46.24	42.19	41.79
氨基态氮含量/%	0.2302	0.2176	0.2133

表 4 知底物浓度在 2% 的条件下, 酶解效果最好。

2.5 双酶复合水解条件的确定

从前述试验知木瓜蛋白酶的最佳酶解时间约 4h, 而 Flavourzyme 的推荐使用时间为 12~16 h, 根据工厂实际生产情况, 考虑到成本核算, 决定 16 h 为酶解的总时间。由前述试验得出木瓜蛋白酶的最佳底物浓度为 2%, 而 Flavourzyme 水解时的推荐底物浓度也为 2%, 所以决定双酶复合水解的底物浓度为 2%。在此基础上进行双酶复合水解的正交试验。

在双酶水解总时间已定为 16 h、底物浓度为 2% 的条件下, 影响双酶复合水解效果的主要因素是: 木瓜蛋白酶和 Flavourzyme 的酶底比, 及 Flavourzyme 的作用时间。

根据单因素试验, 以总氮回收率为指标, 进行三因素四水平分析, 因素水平表见表 5, 结果见表 6。

表 5 实验安排

水平	A(木瓜蛋白酶的酶底比, U/g)	B(Flavourzyme 的酶底比, U/g)	C(Flavourzyme 的作用时间, h)
1	300	600	16
2	600	1200	14.5
3	900	1800	13

表 6 正交实验结果

实验号	A	B	C	总氮回收率/%
1	1	1	1	43.59
2	1	3	2	55.02
3	1	2	3	52.81
4	1	2	1	49.75
5	2	1	1	44.52
6	2	1	3	47.27
7	2	3	1	54.96
8	2	3	3	57.98
9	3	1	2	48.92
10	3	3	2	59.21
11	3	2	2	53.26
12	3	2	3	56.24
K1	201.17	184.3	192.82	
K2	204.73	212.06	216.41	
K3	217.63	227.17	214.3	
k1	50.29	46.08	48.21	
k2	51.18	53.02	54.10	
k3	54.41	56.79	53.58	
R	4.12	10.72	5.90	

表 6 知 Flavourzyme 的酶底比对总氮回收率的影响显著。最佳水解工艺为 A₃B₃C₃, 即木瓜蛋白酶的酶底比为 900 U/g、Flavourzyme 的酶底比为 1200 U/g、Flavourzyme 的作用时间为 14.5 h (即在木瓜蛋白酶加入 1.5 h 后在加入 Flavourzyme)。豆粕蛋白的总氮回收率为 59.21%。

(下转第 74 页)