

风味蛋白酶水解蛋清工艺条件的研究

陈杰, 马美湖

(湖南农业大学食品科学学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 为了研究出经济实用的酶解蛋清蛋白质的方法, 本研究使用诺维信风味蛋白酶, 对酶解工艺条件进行了探讨。结果表明, 风味蛋白酶水解蛋清蛋白质最佳工艺条件为预处理温度90 ℃、时间30 min, 水解温度55 ℃、pH值为6、时间8 h。

关键词: 蛋清蛋白质; 水解; 风味蛋白酶; 水解率

中图分类号: TS201.2⁺5; 文献标识码: A; 文章篇号:1673-9078(2007)07-0043-03

Hydrolysis of Egg White Catalyzed by Flavourzyme

CHEN Jie, MA Mei-hu

(College of Food. Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: A economical and practical method for enzymolysis of egg white was studied. Results showed that the optimal temperature and time for pre-treatment were 90 ℃ and 30 min, respectively. Besides, the pH value and time for Flavourzyme-catalyzed hydrolysis were 6 and 8 h, respectively.

Key words: egg white; hydrolysis; flavourzyme; degree of hydrolysis

蛋清中含丰富的蛋白质, 占其总量的11%~13%, 而且蛋清蛋白质的氨基酸组成模式最接近于合成人体组织蛋白的氨基酸所需的模式, 生物学价值在95以上, 吸收利用率在99.6%以上, 是食物中理想的蛋白质。但由于其本身的某些性质, 限制了它在食品加工中的应用。利用蛋白酶水解蛋清蛋白质, 可改善蛋清蛋白质的功能性质, 使其溶解性和热稳定性均增加, 凝胶性降低, 有利于进一步加工, 大大拓宽了它的应用范围^[1]。而且, 蛋白质降解物分子质量小, 比蛋白质更易消化吸收, 生物利用率得到了提高。另外, 蛋白质降解后致敏性降低, 且降解物中的小肽有可能提供潜在的生物活性, 具有显著的开发价值。本研究采用诺维信风味蛋白酶对蛋清蛋白质进行水解, 主要对其水解工艺条件进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

新鲜鸡蛋, 购于湖南农大东之源超市; 诺维信风味蛋白酶 Protamex (Novo 生物制品有限公司, 蛋白酶活力 1.5 AU/g)。

LD5-2A 型离心机 (北京医用离心机厂); DK-S28 型电热恒温水浴锅 (上海精宏实验设备有限公司); MP120 精密 pH 计 (丹麦 schwerzenbach 公司); 改良型凯氏定氮仪; 722S 分光光度计 (上海棱光技术有限

收稿日期: 2007-04-01

公司); SHZ-B 型水浴恒温振荡器 (上海浦东物理光学仪器厂); AE-200 型电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 蛋白酶活力的测定^[2]

Folin-酚法: 每克酶制剂在 37 ℃、pH 7.5 的条件下水解酪蛋白, 每分钟产生 1 μg 酪氨酸为一个酶活力单位 (IU)。

1.2.2 总氮含量的测定

改良凯氏定氮法^[3]。

1.2.3 氨基态氮的测定^[4]

吸取酶水解液 5 mL, 加 60 mL 水, 用 0.05 mol/L NaOH 标准溶液滴定至 pH 8.2, 记录数据, 再加入 10 mL 中性甲醛, 滴定至 pH 9.2, 为终点, 记录数据, 根据下面的公式, 得出氨基态氮的含量。

1.2.4 水解率的测定^[5]

水解率 (%) = 氨基氮/样品中的总氮量 × 100%

1.2.5 蛋白质收率^[6]

蛋白质收率 (%) = m/n × 100%

其中 m - 水解液中粗蛋白质量; n - 水解前蛋清中蛋白质的质量。

1.2.6 酶水解工艺

洗蛋 → 打蛋 → 取蛋清 → 预处理 → 酶解 → 终止反应 → 冷却 → 离心 → 水解蛋白液

操作要点: 取得蛋清后, 加蒸馏水调节蛋白质浓

度为 5%，在变性预处理后，在一定条件下水解。水解过程中由于氨基酸含量逐渐增加，使反应液中的 pH 值下降，可通过滴加 4 mol/L 氢氧化钠来维持其 pH 值。使其在 ± 0.02 的范围类波动。反应结束时，立即用 6 mol/L 盐酸调节水解液 pH 值为 3，抑制酶活而终止反应。离心弃沉淀即得水解蛋白液。

2 结果与讨论

2.1 蛋清预处理条件的确定

2.1.1 预处理温度对水解蛋清效果的影响

取稀释后的蛋清液 50 mL，分别在 50 °C、60 °C、70 °C、80 °C、90 °C、100 °C 下加热 15 min，然后在 50 °C、pH 7 下水解 8 h 后终止反应，测其氨基氮，得水解率，结果见图 1。

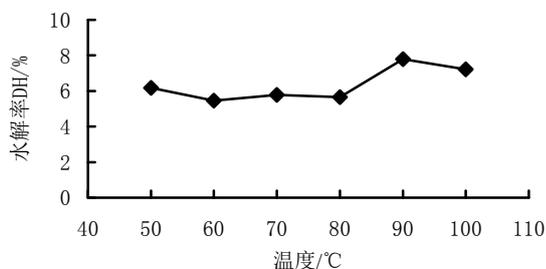


图 1 预处理温度对水解率的影响

由图 1 可知，预处理温度对酶水解效果影响明显，在 90 °C 时水解效果最好，所以预处理温度选择 90 °C。

2.1.2 预处理时间对水解蛋清效果的影响

取稀释后的蛋清液 50 mL，在 90 °C 下加热 5 min、10 min、15 min、20 min、25 min、30 min、35 min，然后在 50 °C、pH 7 下水解 8 h 后终止反应，测其氨基氮，得水解率，结果见图 2。

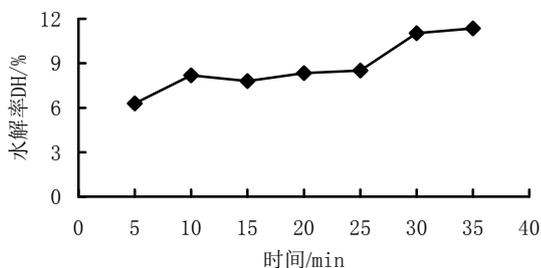


图 2 预处理时间对水解率的影响

由图 2 可知，预处理时间对酶水解效果也很明显，加热时间越长、水解率越高。考虑到经济效益等各方面的因素，以选择加热 30 min 为宜，所以预处理条件

确定为 90 °C 下加热 30 min。

2.2 蛋清酶解工艺条件的确定

2.2.1 pH 值对水解蛋清效果的影响

取蛋清底物浓度为 5%、酶底物浓度比为 6000 U/g，温度为 50 °C，分别在 pH 为 5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9 下酶解 8 h，测其酶解液的氨基氮，得出水解率，结果见图 3。

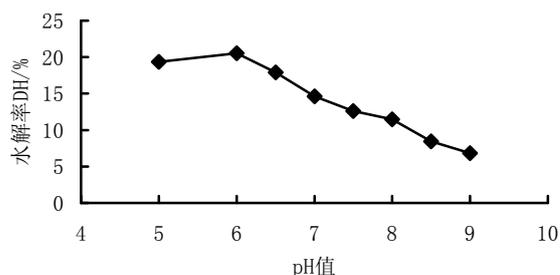


图 3 酶解 pH 值对水解率的影响

酶作为一种具有生物活性的蛋白质，受 pH 值影响很大。环境 pH 值会影响酶分子的构象和酶分子及底物的解离状态，从而影响酶的活性和酶促反应速度，pH 值过高或过低均对酶促反应有不利的影响，由图 3 可知，风味蛋白酶在 pH 6 时水解率最高，水解效果最好。所以水解时选择 pH 6 为宜。

2.2.2 酶解温度对水解蛋清效果的影响

取蛋清底物浓度为 5%，酶底物浓度比为 6000 U/g，pH 值为 6，分别在 30 °C、40 °C、45 °C、50 °C、55 °C、65 °C、70 °C、75 °C 下酶解 8 h，测其酶解液的氨基氮，得出水解率，结果见图 4。

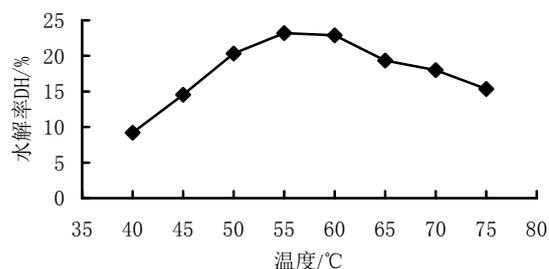


图 4 酶解温度对水解率的影响

酶对温度也比较敏感，有其最适的反应温度范围，温度过高或过低都会对酶促反应产生不利的影响，由图 4 可知风味蛋白酶在 55 °C 时水解率最高，所以酶解最适温度选择 55 °C 为宜。

2.2.3 酶解时间对水解蛋清效果的影响

(下转第 47 页)