

玉米醇溶蛋白酶解工艺的研究

赵华, 王颖, 田少然, 郭睿

(天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 利用木瓜蛋白酶和复合风味酶对玉米醇溶蛋白碱性蛋白酶解液进行酶解, 通过单因素试验和正交试验方法确定双酶法水解的最适条件为: 底物质量浓度为 70 g/L 时, 温度 55 ℃, pH 为 6.0, 木瓜蛋白酶用量为 5% (E/S), 风味酶用量为 4.5% (E/S), 水解时间 2 h。在此条件下氨基态氮含量可达到 2.5654 mg/mL。

关键词: 木瓜蛋白酶; 复合风味酶; 脱苦

中图分类号: TS201.2; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2008)01-0052-03

Study on the Hydrolysis Process of Zein

ZHAO Hua, WANG Ying, TIAN Shao-ran, GUO Rui

(College of Bioengineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The hydrolyzate of zein catalyzed by Alkaline was hydrolyzed by papain and complex flavor enzymes. The optimum hydrolysis conditions were determined by single factor and orthogonal experiments and the substrate concentration, temperature, pH, papain dosage, dosage of the complex flavor enzymes and reaction time were 70 g/L, 55 ℃, 6, 5% (E/S), 4.5% (E/S) and 2 h, respectively. Under those conditions, the content of amino nitrogen reached 2.5654 mg/mL.

Key words: Papain; enzyme complex flavor; debittering

玉米醇溶蛋白是玉米湿法生产淀粉的主要下脚料。因其缺少赖氨酸、色氨酸等人体必需氨基酸, 生物学价值较低。只有发展对玉米醇溶蛋白的深度开发, 才能更好地提高企业效率^[1]。玉米醇溶蛋白水解可以提高其溶解度, 进而制备高 F 值寡肽, 它具有消除或减轻肝性脑病症状, 补充膳食蛋白, 改善肝、肾、肠、胃疾病患者营养, 具有解酒功能, 在营养学上寡肽比蛋白质和氨基酸具有更易被人体吸收等优点, 进一步改善和提高了玉米醇溶蛋白的营养价值。制备高 F 值寡肽的酶解过程可分为两步: 首先使用碱性蛋白酶水解原料形成可溶性肽, 要求水解发生在特定的位置使得切下的肽段的 N-末端或 C-末端为芳香族氨基酸; 然后利用内切酶切断芳香族氨基酸旁的肽键, 并将其从肽链中释放出来^[2]。木瓜蛋白酶具有内切肽酶活性, 复合风味酶可用来去除水解过程中产生的苦味肽^[3]。本文运用木瓜蛋白酶和复合风味酶对经碱性蛋白酶水解后的酶解液进行进一步的水解处理和脱苦处理, 以水解后溶液中氨基酸态氮的含量为指标, 分别运用单因素试验和正交试验方法, 确定了两种酶的最佳水解条件。

1 材料和方法

收稿日期: 2007-08-17

1.1 材料

玉米醇溶蛋白碱性蛋白酶解液, 实验室制备; 木瓜蛋白酶, 酶活为 20 万 U/g, 由广西生物工程有限公司提供。复合风味酶, 酶活为 50 万 U/g, 由诺维信中国公司提供。

1.2 方法

水解度 (DH) 的测定^[4,5]: 取酶解上清液 10 mL, 加入 10 mL 的 10% 三氯乙酸 (TCA) 溶液, 混合振荡 30 min, 再将其离心 (4000 r/min) 30 min, 取上清液, 蛋白质总氮和上清液中可溶性氮由微量凯氏定氮法测得。

$$DH = (P1 - P2) / (P0 - P1) \times 100\%$$

其中: P0-玉米蛋白质中总氮; P1-酶解前玉米蛋白质中溶于 10%TCA 的氮; P2-酶解后酶解液中溶于 10%TCA 的氮。

2 结果

2.1 时间对木瓜蛋白酶水解反应的影响

以 Alcalase 碱性蛋白酶酶解产物为底物, 控制其酶用量 5% (E/S)、pH 6.0、温度 55 ℃, 考察木瓜蛋白酶水解反应随时间变化酶解液中氨基态氮含量的变化情况, 结果见图 1。

图 1 显示, 木瓜蛋白酶水解反应在前 2 h 变化显著, 2 h 时的氨基态含量几乎达到了酶解前的 2 倍, 2 h

以后的氨基态氮含量增加缓慢。说明，木瓜蛋白酶在二次酶解中确实表现出外切肽酶活性。所以，酶解反应最适时间为 2 h。

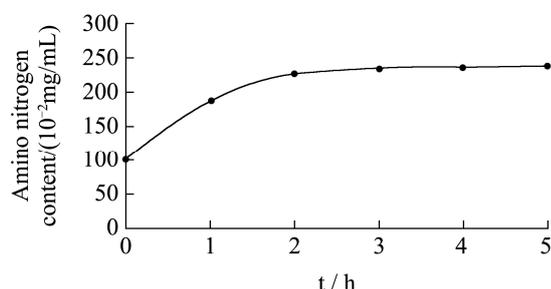


图1 时间对木瓜蛋白酶水解反应的影响

Fig.1 Effects of reacting time on the degree of hydrolysis

2.2 温度对木瓜蛋白酶水解反应的影响

以 Alcalase 碱性蛋白酶酶解产物为底物，控制其酶用量 5% (E/S)、pH 6.0、水解 2 h，分别考察木瓜蛋白酶在 45~65 °C 的温度范围内反应后酶解液中氨基态氮含量的变化情况，结果见图 2。

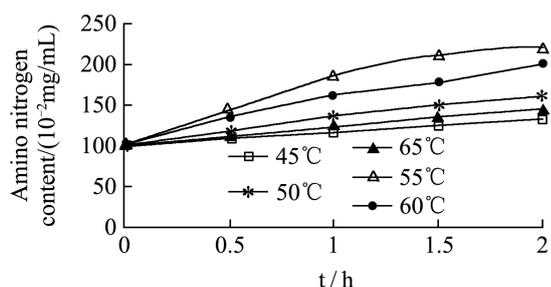


图2 温度对木瓜蛋白酶水解反应的影响

Fig.2 Effects of temperature on the degree of hydrolysis

由图 2 可知，温度对木瓜蛋白酶水解有一定的影响，在 5 种温度下均能进行二次水解，木瓜蛋白酶在温度为 55 °C 时，酶解液中氨基态氮含量最高，因此，55 °C 为木瓜蛋白酶作用的最适温度。

2.3 pH 对木瓜蛋白酶水解反应的影响

以 Alcalase 碱性蛋白酶酶解产物为底物，控制其酶用量 5% (E/S)、温度 55 °C、水解 2 h，分别考察木瓜蛋白酶在 pH 5~pH 9 范围内反应后酶解液中氨基态氮含量的变化情况，结果见图 3。

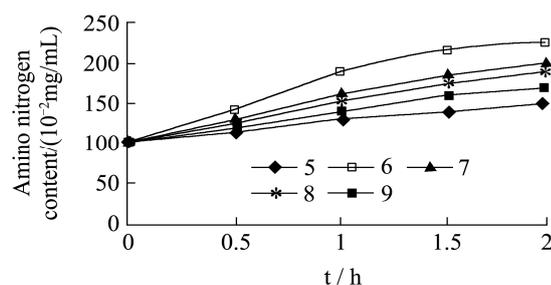


图3 pH对木瓜蛋白酶水解反应的影响

Fig.3 Effects of pH on the degree of hydrolysis

图 3 表明，当 pH 控制在 6.0 时，木瓜蛋白酶的水解作用最强，其氨基态氮含量明显高于其他 pH 条件下的值，因此，木瓜蛋白酶的最适 pH 为 6.0。

2.4 木瓜蛋白酶用量对水解反应的影响

以 Alcalase 碱性蛋白酶酶解产物为底物，控制其温度 55 °C、pH 6.0、水解 2 h，分别考察木瓜蛋白酶用量 (E/S) 2%~6% 范围内反应后酶解液中氨基态氮含量的变化情况，结果见图 4。

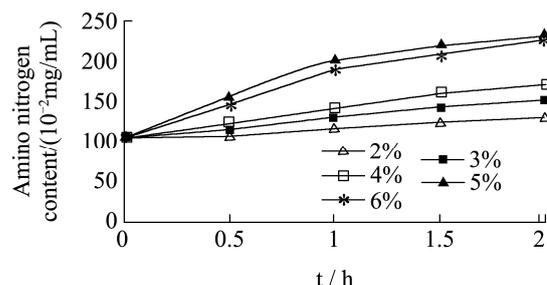


图4 木瓜蛋白酶用量对水解反应的影响

Fig.4 Effects of concentration on the degree of hydrolysis

由图 4 可知，木瓜蛋白酶用量 (E/S) 对水解反应有影响。酶用量 (E/S) 从 2% 增加到 5% 有利于水解反应的进行，酶解液中的氨基态氮含量逐渐增加。但酶用量 (E/S) 从 5% 到 6% 时，氨基态氮含量反而减少。所以，木瓜蛋白酶用量 (E/S) 5% 为最适反应酶用量。

2.5 风味酶不同加酶量对脱苦反应的影响

以 Alcalase 碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶酶解产物为底物，控制其温度 55 °C、pH 6.0、水解 2 h，分别考察复合风味酶用量 (E/S) 2.5%~5.5% 范围内反应后酶解液中氨基态氮含量的变化情况，结果见图 5。

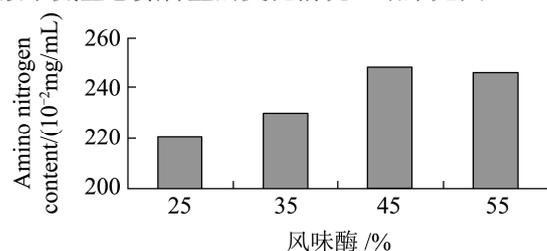


图5 风味酶用量对脱苦反应的影响

Fig.5 Effects of enzyme concentration on the degree of hydrolysis

图 5 显示，复合风味酶用量 (E/S) 从 2.5% 增加到 4.5% 有利于水解反应的进行，酶解液中的氨基态氮含量逐渐增加。但酶用量 (E/S) 从 4.5% 到 5.5% 时，氨基态氮含量开始降低。所以，复合风味酶用量 (E/S) 4.5% 为最适反应酶用量。

2.6 双酶水解反应条件优化

在单因素实验的基础上，对木瓜蛋白酶用量、风

味酶用量、温度、时间 4 个因素进行正交试验设计, 每因素选 3 个水平, 进行试验, 结果见表 1 和表 2。

表 1 实验结果及分析

Table 1 Result of the experiment and analysis

实验号	木瓜蛋白酶(E/S)	风味酶(E/S)	温度/°C	pH	实验结果(10 ⁻² mg/mL)
1	4	3.5	50	5	150.31
2	4	4.5	55	6	170.34
3	4	5.5	60	7	160.31
4	5	3.5	55	7	220.12
5	5	4.5	60	5	227.45
6	5	5.5	50	6	224.53
7	6	3.5	60	6	215.15
8	6	4.5	50	7	220.47
9	6	5.5	55	5	225.43
k1	160.320	195.193	198.437	201.063	
k2	224.033	206.087	205.297	203.340	
k3	220.350	203.423	200.970	200.300	
R	63.713	10.894	6.860	3.040	

表 2 方差分析表

Table 2 Analyses of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
木瓜蛋白酶(E/S)	7676.557	2	511.532	19.000	*
风味酶(E/S)	193.491	2	12.893	19.000	
温度/°C	72.197	2	4.811	19.000	
pH	15.007	2	1.000	19.000	
误差	15.01	2			

(上接 47 页)

4 结论

4.1 通过稳定剂实验得出海藻酸钠的效果最好, 组织状态良好。

4.2 通过酸奶配方确定实验得出最佳工艺配方为香菇汁添加量 10%, 白砂糖添加量 7%, 奶粉添加量 2%, 稳定剂添加量 0.1%。

从表 2 可以看出, 木瓜蛋白酶用量对双酶水解的影响达到显著水平, 而风味酶用量、温度、pH 均影响不大。通过表 3 比较 4 个因素的偏差平方和, 对双酶水解的影响大小顺序为: 木瓜蛋白酶用量>风味酶用量>温度>pH。

3 讨论

对两种酶单独水解以及双酶共同水解进行了比较研究, 最终确定双酶水解的最佳酶水解条件为: 底物质量浓度为 70 g/L 时, 温度 55 °C, pH 为 6.0, 木瓜蛋白酶用量为 5% (E/S), 复合风味酶用量为 4.5% (E/S), 水解时间 2 h。在此条件下氨基态氮含量可达到 2.5654 mg/mL。

参考文献

- [1] 陈涛, 刘耘, 李理, 杨晓泉. 玉米醇溶蛋白的特性与应用[J]. 粮油加工与机械, 2003(6)
- [2] 沈蓓英, 孙冀平. 高 F 值寡肽生理功能和制备[J]. 粮食与油脂, 1999(2):27-30
- [3] 周雪松. 蛋白质酶解物苦味形成机理及控制研究[J]. 粮食与油脂, 2004(8):20-24
- [4] Adler-Nissen. J. Enzymatic hydrolysis of food protein [J]. Proc. Biochem. 1997, 12 (6):18
- [5] Shinsuke Miyoshi, Hiromi Ishikawa, Toshiyuki Kaneko et al. Structures and activity of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor in an α -zein hydrolysate[J]. Agric. Biol. Chem. 1991, 55(3): 1313-1318

参考文献

- [1] 骆承庠. 乳与乳制品工艺学第二版[M]. 北京, 中国农业出版社, 2003
- [2] 杨胜放. 发酵型香菇奶的工艺研究[J]. 食用菌, 2006.6:57-58
- [3] 郭红珍, 张燕. 金针菇与香菇酸奶的研制[J]. 乳品工业, 2004, 3:37-39