

燕麦多肽的制备工艺研究

崔炳群

(广东省食品工业研究所 广东省食品工业公共实验室, 广东广州 510308)

摘要: 本实验以燕麦麸为原料, 采用酶法技术提取燕麦多肽。实验以燕麦多肽的得率为指标, 采用单因素实验与正交实验方法研究燕麦多肽提取工艺的影响因素及确定新法提取工艺的主要参数: 加水量 18 倍, 反应温度 50 °C, 以碱性蛋白酶作为水解用酶, 酶添加量为 1.0%。经过验证, 此工艺可使燕麦多肽得率达到 18.9%。膜过滤纯化后的燕麦多肽纯度可达 87.4%。

关键词: 酶法提取; 燕麦多肽; 得率; 膜过滤

文章编号: 1673-9078(2012)8-1040-1042

Extraction and Purification of Oat Peptides

CUI Bing-qun

(Guangdong Food Industry Institute, Guangdong Food Industry Public Laboratory, Guangzhou 510308, China)

Abstract: Oat bran peptiedes were using enzyme technology with the method of single factor experiments and orthogonal experiments. Alkaline protease was found as the best enzyme and the optimum extration conditions were determined as: the ratio of water to materials 18:1, temperature 50 °C, and the enzyme dosage 1.0%. After verification, oat peptide extraction rate of this process reached 18.9%. The purity of poly peptide after membrane filtration purification up to 87.4%.

Key word: enzyme preparation; oat polypeptide; extraction rate; membrane filtration

因易为人体消化吸收利用、具有较好的稳定性和良好的物理加工特性以及诸多的功能特性, 燕麦多肽已成为当前食品科学研究中的热点^[1~4]。

目前, 对于燕麦多肽的提取方法主要是碱法和酶法。碱法提取不仅可以获取大部分多肽, 而且工艺简单、成本低。但是碱法不仅存在产品淀粉含量高的问题, 而且强碱会使多肽理化性质改变, 引起化学性质变化, 使多肽变性^[5]。酶法提取则具有反应条件温和, 对环境友好, 燕麦多肽得率较高的优点。本实验通过酶法提取, 确定提取燕麦多肽的最优工艺路线, 并以膜过滤技术纯化燕麦多肽, 为燕麦多肽的工业化生产提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

燕麦麸皮: 河北鑫旺达燕麦厂; PTN 胰蛋白酶: 诺维信有限公司; Neutrase 中性蛋白酶: 诺维信有限公司; Protamax 复合蛋白酶: 诺维信有限公司; Alcalase 水解蛋白酶: 诺维信有限公司

1.2 主要仪器

恒温水浴锅: 上海申胜生物技术有限公司; 搅拌

装置 W201B; 上海标本模型厂, JB90-D; 离心机: 湖南星科科学仪器有限公司, TDL-5A; Flow Mem-0015 螺旋膜小试设备: 厦门福美科技有限公司。

1.3 实验方法

实验采用酶法提取代替传统的碱法提取获取燕麦多肽。酶法提取可在很大程度上避免碱法存在的加速设备损耗、降低多肽活性以及废液污染环境等问题, 在工业生产具备一定的优势。

1.3.1 工艺步骤

燕麦麸皮→加水反应→蛋白酶酶解→离心→等电点沉淀→离心→膜过滤纯化→干燥→燕麦多肽干品

凯氏定氮法测定燕麦多肽纯度, 燕麦多肽得率计算方法:

多肽得率 (%) = 燕麦多肽含量 × 多肽产品质量 × 100 / 燕麦麸皮质量

1.3.2 确定蛋白酶

表 1 酶种类与燕麦多肽得率关系

Table 1 Effects of different enzymes on the extraction yield of the peptide

酶种类	胰蛋白酶	胃蛋白酶	木瓜蛋白酶	碱性蛋白酶
得率/%	14.5	10.4	16.2	18.6

取四份燕麦麸皮添加 18 倍的水。然后升温至 50 °C, 分别添加 1% 的胰蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶, 搅拌反应一小时。然后离心, 喷

收稿日期: 2012-05-22

作者简介: 崔炳群 (1968-), 男, 硕士, 研究方向: 食品工艺、天然大分子功能性配料的研发

雾干燥, 计算燕麦多肽得率, 根据燕麦多肽得率选择酶解蛋白酶。

从表 1 数据可以得出, 碱性蛋白酶对于燕麦多肽得率的效果是最佳的。因此, 选用碱性蛋白酶作为工艺水解用酶。

1.3.3 加水量对燕麦多肽得率的影响

取足量燕麦麸皮各自添加 10 倍、13 倍、15 倍、18 倍、20 倍 (质量倍数) 的水。然后均升温至 50 °C, 添加 1% 碱性蛋白酶, 搅拌反应 1 h, 然后离心, 喷雾干燥, 计算燕麦多肽得率。

1.3.4 温度对燕麦多肽得率的影响

称取一定量的四个燕麦麸皮样品, 均添加 18 倍的水, 分别升温至 45 °C、50 °C、55 °C、60 °C、65 °C 添加 1% 碱性蛋白酶, 搅拌反应 1 h, 然后离心, 喷雾干燥, 计算燕麦多肽得率。

1.3.5 酶的添加量对燕麦多肽得率的影响

称取一定量的四个燕麦麸皮样品, 均添加 18 倍的水, 升温 50 °C, 分别添加 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5% 碱性蛋白酶, 搅拌反应 1 h, 然后离心, 喷雾干燥, 计算燕麦多肽得率。

1.3.6 正交试验

经过加水量、反应温度、以及酶添加量等的单因素实验, 得出各因素对于燕麦多肽得率的影响。结合结果再进行正交实验, 确定提取燕麦多肽的最优工艺路线。

2 结果与分析

2.1 加水量对燕麦多肽得率的影响

由于燕麦麸皮中含有淀粉等其它多糖物质, 致使其在与水反应时会出现糊化等黏稠现象, 对燕麦多肽的溶出有一定的影响, 因此本实验研究了加水量例对燕麦多肽得率的影响。结果如图 1。

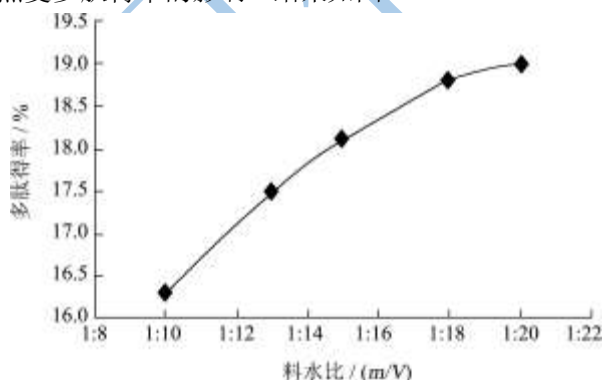


图 1 添加水量对燕麦多肽得率的影响

Fig.1 Effects of water-material ratio on the extraction yield of the peptide

从图 1 可以看到随着加水量的增加, 燕麦多肽的

得率也在增加, 但是增加到一定程度后就基本不变。这是由于在低加水量时, 反应的体系比较黏稠, 妨碍了组份间的传质速率, 限制燕麦多肽的溶出及降解, 当加水量达到一个平衡点时, 传质速率也达到平衡, 因此, 多肽的溶出及降解也达到平衡。综合考虑, 加水量采用 18 倍比较合适。

2.2 温度对燕麦多肽得率的影响

反应温度不仅对多肽的溶出产生影响, 对于蛋白酶的酶解效果也会产生一定的影响。因此, 本实验对反应温度对于燕麦多肽得率的影响也进行了研究。结果如图 2。

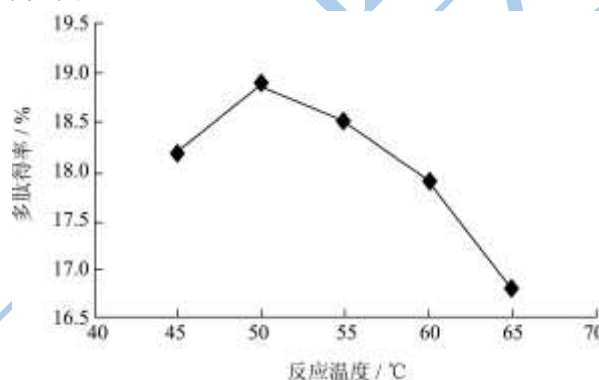


图 2 温度对多肽得率的影响

Fig.2 Effects of temperature on the extraction yield of the peptide

如图 2 所示, 反应温度对于燕麦多肽得率的影响是存在一个抛物线的规律。开始温度升高时, 得率也随之提高, 达到一定温度后, 得率却反而降低。这是由于温度刚开始升时, 随着温度的升高, 组份的传质速率增加, 蛋白酶的活性也在增大, 促进了多肽的溶出, 当温度升到一定程度时, 虽然传质速率也在增加, 但是蛋白酶的活性却受到了抑制, 甚至失去活性, 因此也就抑制了多肽的溶出。因此, 综合考虑, 反应温度定在 50 °C 比较合适。

2.3 酶量的添加对燕麦多肽得率的影响

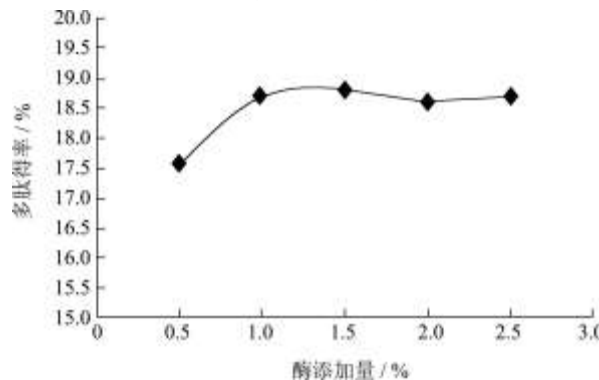


图 3 酶添加量对燕麦多肽得率的影响

Fig.3 Effects of enzyme dosage on the extraction yield of the peptide

酶的添加量不仅会影响到燕麦多肽的溶出、降解效率,也会对生产成本造成很大的影响。因此本实验对其用量对燕麦多肽得率的影响做了研究。结果如图3。

从图3可以得出随着酶添加量的增加,燕麦多肽的得率得到很大的提高,但是达到一定添加量后,得率的增幅就趋于平缓。综合效率和成本,酶的添加量选用1.0%比较合适。

2.4 正交实验确定最优提取条件

综合考虑上述单因素实验,以加水量、反应温度、酶的添加量设计正交实验。采用 $L_9(3^3)$ 进行正交实验。正交实验因素水平表如下:

表2 正交实验因素水平表

Table 2 Factors and levels of the orthogonal test

水平	A(加水量)	B(反应温度/°C)	C(酶的添加量/%)
1	15	45	0.5
2	18	50	1.0
3	20	55	1.5

表3 正交实验结果

Table 3 Results of the orthogonal test

实验号	A	B	C	得率/%
1	15	45	0.5	16.6
2	15	50	1.0	17.9
3	15	55	1.5	18.0
4	18	45	1.0	18.5
5	18	50	1.5	18.9
6	18	55	0.5	17.7
7	20	45	1.5	18.7
8	20	50	0.5	17.6
9	20	55	1.0	18.8
k_1	17.50	17.93	17.30	
k_2	18.37	18.13	18.40	
k_3	18.37	18.17	18.53	
R	0.87	0.23	1.23	

从表3的极差大小可以看出,影响燕麦多肽得率的主次顺序为:酶添加量>加水量>温度。

而提取燕麦多肽的最优工艺条件为 $C_3A_2B_3$,综合

成本,得率等因素,最后选定工艺条件为:加水量18倍,反应温度为50℃,酶的添加量为1.0%。

2.5 膜过滤纯化结果

将离心后的多肽,以纯水分散溶解。选用型号SMU-460,截留100,000 Da分子量的超滤膜对溶液进行超滤^[6]。超滤后多肽,经干燥测定纯度为87.4%。

3 结论

3.1 本实验以燕麦麸为原料,采用酶法提取燕麦多肽。经过单因素实验和正交实验方法研究燕麦多肽提取工艺的影响因素及确定新法提取工艺的主要参数:随着加水量的增加,燕麦多肽的得率也在增加,但是增加到一定程度后就基本不变。

3.2 在一定的温度范围内,随着提取液温度升高,得率也随之提高,但是提取液达到一定温度后,得率却反而降低。

3.3 随着酶添加量的增加,燕麦多肽的得率得到很大的提高,但是达到一定添加量后,得率的增幅就趋于平缓。

3.4 结合生产成本等因素综合考虑,最终确定提取燕麦多肽的最优工艺条件为加水量18倍,反应温度为50℃,碱性蛋白酶添加量为1.0%。经过实验验证,在此工艺条件下,燕麦多肽的得率可达到18.9%。膜过滤纯化后的燕麦多肽纯度可达87.4%。

参考文献

- [1] 凌关庭.食品添加剂手册[M].北京:化学工业出版社,1996
- [2] 刘婷婷.麦芽糊精在冰淇淋中增稠稳定作用的研究[J].食品科学,2006,27(11):233-236
- [3] 葛志强.青海燕麦资源的开发和利用[J].青海科技情报,1991,4
- [4] 陈菽,乐超银,刘海军,等.大豆多肽运动饮料的研制[J].现代食品科技,2010,26(1):71-75
- [5] M Wang. Preparation and Functional Properties of Rice Protein isolate [J]. Agric Food Chem, 1999, 47: 411-416
- [6] 何雨青,许晓菁,王祥河,等.大豆浓缩蛋白制备大豆多肽的研究[J].现代食品科技,2010,26(12):1361-1363