

木瓜蛋白酶水解大豆分离蛋白研究^{*}

吴建中 赵谋明 宁正祥 姚玉静

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州 510641)

摘要 本文研究了木瓜蛋白酶对大豆分离蛋白的有限水解作用, 分析了酶浓度、反应时间、温度、底物浓度、半胱氨酸、异 Vc 钠、亚硫酸钠浓度等因素对大豆蛋白水解作用的影响, 试验得出木瓜蛋白酶水解大豆分离蛋白的较佳条件是酶浓度为 8000U/g 底物、反应时间 150~200min、温度 50℃、大豆蛋白浓度为 4.5%~8%、半胱氨酸浓度 0.25%。

关键词 大豆分离蛋白; 木瓜蛋白酶; 水解

中图分类号 S565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2002)03-0187-04

大豆分离蛋白中必需氨基酸含量在植物蛋白中较为合理, 营养价值较高, 有着良好的胶凝、乳化、起泡能力, 在肉类制品、饮料和冰淇淋等的生产中具有广泛的应用, 但是大豆分离蛋白的使用也存在等电点易沉淀, 粘度随浓度增大迅速升高等不利因素, 影响了大豆分离蛋白在食品工业中的应用, 为此食品科学家试图通过酶改性来改善大豆分离蛋白的理化性质, 木瓜蛋白酶价廉易得, 改性产品口味较好, 适宜于大豆分离蛋白改性, 但其酶水解效率较低、易失活。为充分发挥木瓜蛋白酶的水解效率, 本文研究了木瓜蛋白酶水解大豆分离蛋白的最佳条件, 并探讨了半胱氨酸、亚硫酸钠、异 Vc 钠等添加剂对木瓜蛋白酶的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料

木瓜蛋白酶: 选用广东省阳江市港阳食品添加剂香料厂产品大豆分离蛋白: 选用哈尔滨市哈高科大豆食品有限公司产品。

1.2 分析方法

1.2.1 木瓜蛋白酶酶活力测定方法: Q/HN01-94

1.2.2 大豆分离蛋白中蛋白质含量测定: 凯氏定氮法

1.2.3 DH 值测定方法: pH-stat 法

$$DH = \frac{B \times N}{\alpha \times m \times h} \times 100\%$$

B: 消耗碱量; N: NaOH 摩尔浓;

α : 大豆蛋白氨基的平均解离度, 当 pH 值为 6.91 时, $\alpha = 0.365$ $h = 7.75$ 。

2 结果与分析

2.1 样品蛋白质测定

经凯氏定氮法测定, 样品蛋白质含量为 87.9%。

2.2 酶活测定

依据 Q/HN01-94 标准, 测定酶活为 50 万单位/克。

2.3 不同加酶量条件下反应时间与水解度(DH)的关系

底物浓度为 4.5%, 反应温度为 50℃, 分别按酶和底物之比为 2000 U/g、8000U/g、16000U/g 加入不同量的酶进行酶解, 结果发现未加酶前酶解液 pH 值为 6.91, 随着水解的进行, 酶解液 pH 逐渐下降, 滴加 0.1mol/l 的 NaOH 保持 pH 为 6.91, 记录消耗碱量与时间关系, 换算成 DH 值与时间关系, 如图 1。

从图 1 可发现水解初期水解度增加很快, 至反应 30~60min 水解逐渐停滞, 酶和底物之比值越高, 快速水解期越长, 可达到的最大水解度越大。分析出现这种情况的原因可能有如下几方面: (1)随着水解的进行, 可作用底物减少。(2)水解过程中酶受热失活。(3)木瓜蛋白酶的自水解作用。(4)木瓜蛋白

* 收稿日期: 2001-07-16

作者简介: 吴建中(1964-), 男, 2000 级博士生, E-mail: scutwzj@sina.com

酶受重金属离子影响失活或被氧化失活。然而作

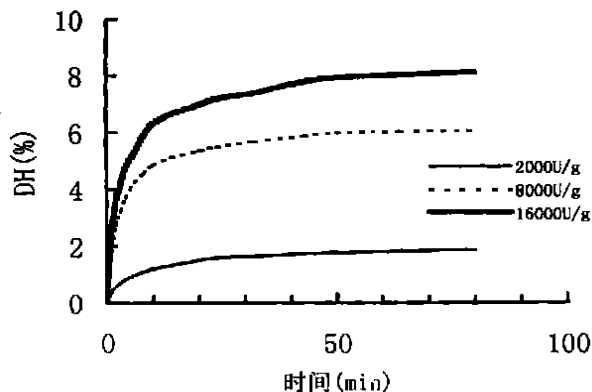


图1 酶浓度对大豆蛋白水解度的影响

Fig.1 Hydrolytic curves for soy protein with different enzyme-substrate ratio

者曾采用按 2000U/g 添加酶的方法, 至水解进入停滞期后继续按 2000U/g 添加酶, 如此反复, 直至酶总浓度达到 10000U/g 以上时酶的加入才对水解度没有显著影响, 由此可以肯定在加酶量较少时(低于 8000U/g)可作用底物减少不是水解速度减慢的主要原因。另外我们在 50℃条件下将木瓜蛋白酶保存 3h 后测得酶活力为 44 万 U/g, 显示受热失活和自水解作用也不是木瓜蛋白酶失活的主要原因。因此可以推断氧化及重金属离子影响导致的失活是木瓜蛋白酶失活的主要原因。

2.4 不同温度条件下时间与水解度的关系

在底物浓度为 4.5%、酶和底物之比为 8000U/g 条件下, 按实验 2.3 方法检测不同温度条件下反应时间与消耗碱量关系, 再换算成 DH 值与反应时间的关系, 如图 2。

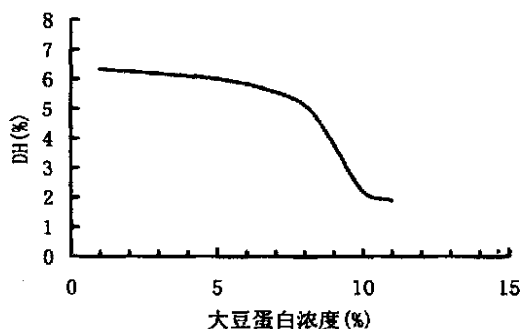


图2 温度对大豆蛋白水解度的影响

Fig.2 Hydrolytic curves for soy protein with different temperature

从图 2 可看出温度对水解有一定影响, 从 40℃—60℃伴随着温度升高水解速度增大, 但相应水解

时间缩短, 温度升高引起水解速度增大被水解时间缩短抵消。实验结果显示 50℃条件下反应, 水解时间合适, 水解度较大。

2.5 底物浓度对大豆蛋白水解度(DH)的影响

在反应温度为 50℃, 酶和底物之比为 8000U/g、反应时间 80min 条件下测得采用不同底物浓度与大豆蛋白的水解度的关系, 如图 3。

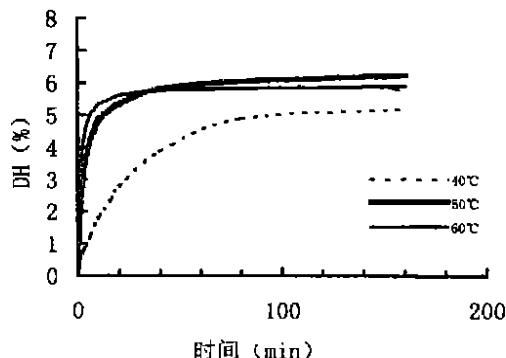


图3 底物浓度对大豆蛋白水解度的影响

Fig.3 Hydrolytic curves for soy protein with different substrate

图 3 显示高底物浓度有利于酶解反应进行, 但同时过高底物浓度又造成水解液粘度增大, 影响木瓜蛋白酶扩散, 降低水份活度, 对水解反应有抑制作用, 而从实际生产考虑又希望底物浓度较大, 因此在保证有较高水解度(5%—6%)情况下, 底物浓度选择 4.5%—8%为宜。由于作者在实验室选用的集热式磁力搅拌器搅拌力量较弱, 底物浓度选择 4.5%。

2.6 添加剂对木瓜蛋白酶活性影响

木瓜蛋白酶属于巯基蛋白酶, 至少有三个氨基酸残基存在于酶的活性部位, 它们分别是 Cys25、His159、和 Asp158。当 Cys25 被氧化或与重金属离子结合时酶活力被抑制, 因此木瓜蛋白酶易受到氧化剂和金属离子影响。有资料显示一些还原剂、络合剂对木瓜蛋白酶有保护作用, 本文对此进行了研究。

2.6.1 半胱氨酸对酶解的影响

半胱氨酸是一种在人体及动植物体内均广泛存在的常见氨基酸, 作为酶解的辅助试剂使用, 安全可靠。本文研究了半胱氨酸对木瓜蛋白酶水解大豆分离蛋白的影响, 实验在木瓜蛋白酶浓度 4.5%、酶和底物之比为 8000U/g、温度 50℃条件下, 加入 0.25%(w/v)半胱氨酸, 保持加酶前后反应液的 pH 值为 6.91。记录加酶后消耗碱量与反应时间关系

再换算成 DH 值与反应时间的关系, 并和未加半胱氨酸样品对照, 如图 4。

2.6.2 异 Vc 钠对酶解的影响

异 Vc 钠属于国家批准食品添加剂, 兼具良好

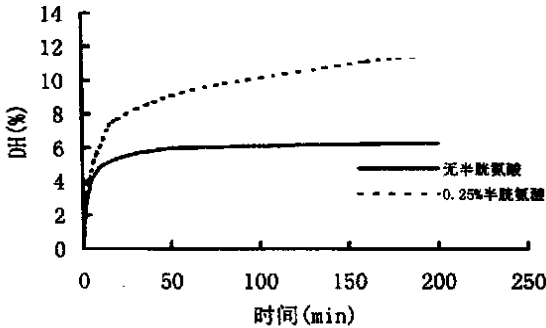


图 4 半胱氨酸对大豆蛋白水解度的影响

Fig. 4 Influence of cysteine on the hydrolytic curves for soy protein

的还原性和络合能力。本文研究了异 Vc 钠对木瓜蛋白酶水解大豆分离蛋白的影响。实验所用底物浓度、酶浓度、酶解温度同实验 2.6.1, 分别加入 0.1% 和 0.25% (w/v) 异 Vc 钠, 记录消耗碱量与反应时间关系再换算成 DH 值与反应时间的关系, 并和未加异 Vc 钠样品对照, 如图 5。

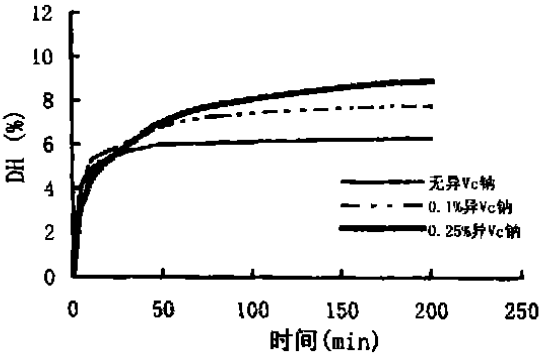


图 5 Vc 钠对大豆蛋白水解度的影响

Fig. 5 Influence of the sodium isoascorbic acid on hydrolysis for soy protein

2.6.3 亚硫酸钠对酶解的影响

亚硫酸钠是食品工业常用还原剂, 国家规定在罐头等食品中的残留不超过 0.05g/kg (以 SO₂ 计), 为保证安全, 实验中亚硫酸钠加入量仅为 0.01% (仅相当于国家规定食品中允许残留的标准), 其余实验条件同实验 2.6.1, 记录消耗碱量与反应时间关系再换算成 DH 值与反应时间的关系, 并和未加亚硫酸钠样品对照, 如图 6。

木瓜蛋白酶对大豆分离蛋白的水解作用, 最高水解度可达到 11% 左右。异 Vc 钠、亚硫酸钠对木瓜蛋白酶水解大豆分离蛋白也有一定促进作用, 但效果不如半胱氨酸。从图中曲线可看出在酶解反应初始阶段添加剂的作用并不明显, 直到反应约 15 分钟后, 未加添加剂的酶解反应已接近停滞期, 添加剂的作用才逐渐显现出来, 添加剂的作用表现在能显著推迟水解到达停滞期的时间。该结果提示添加适当的抗氧化剂、络合剂对木瓜蛋白酶有一定保护作用, 能够延长木瓜蛋白酶的作用时间。

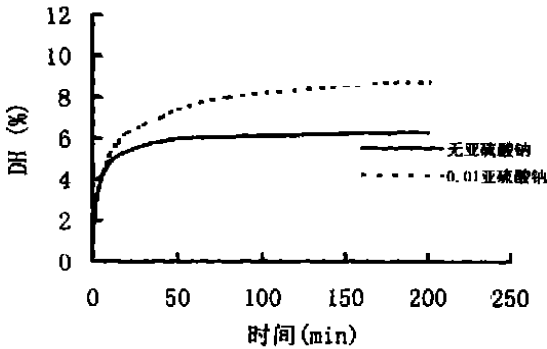


图 6 亚硫酸钠对大豆蛋白水解度的影响

Fig. 6 Influence of the sodium sulfite on hydrolytic for soy protein

因此在综合考虑各因素的影响后, 我们推荐的木瓜蛋白酶水解大豆分离蛋白的条件是: 水解温度 50℃、底物浓度为 4.5% ~ 8%、酶和底物之比为 8000U/g、半胱氨酸浓度为 0.25% (w/v)、反应时间 150—200min。

参 考 文 献

- 1 刘福岭, 戴行钧. 食品物理与化学分析方法 [J]. 轻工业出版社, 1987.
- 2 赵新淮. 酶促水解大豆分离蛋白的研究 [J]. 食品与发酵工业, 1994(5): 7—10.
- 3 刘焱. 大豆分离蛋白酶法有限水解工艺过程及动力学分析 [J]. 食品科学, 2001(4): 36—39.
- 4 肖凯军. 大豆分离蛋白的酶法改性 [J]. 食品科学, 1995(9): 30—34.
- 5 翟瑞文. 玉米渣中蛋白质的酶水解 [J]. 食品工业科技, 1997(3): 38—40.
- 6 宋焕禄. 动物蛋白酶解研究 [J]. 食品科学, 2001(5): 21—26.
- 7 Jens Adler-Nissen. Enzymic Hydrolysis of Food Proteins [J]. Elsevier, London, 1985, 132—152.
- 8 Ortiz Sem, Anon M c. Analysis of Products, Mechanisms of Reaction, and Some Functional Properties of Soy Protein Hydrolysates [J]. Journal of The American Oil Chemists Society, 2000, Vol. 77, 1293—1301.

9

Netto FM, Galeazzi AM. Production and Characterization of Enzymatic Hydrolysate From Soy Protein Isolate[J]. Food Sci. Technol — Leb. 1998(7—8), 31: 624—631.

STUDY ON PAPAIN HYDROLYSATE FOR SOY PROTEIN ISOLATE

Wu Jianzhong Zhao Mouming Ning Zhengxiang

(College of Food and Bology Engineering of Huanan Polytechnic University, Guangzhou 510641)

Abstract The limited hydrolysis process for soy protein isolate with papain was studied. And the effects of the main parameters including enzyme—substrate ratio, the substrate concentration, the cysteine concentrate, the sodium isoascorbic acid concentrate, the sodium sulfite concentrate and hydrolysis time, hydrolysis temperature on hydrolysis reaction were investigated. Finally a optimum hydrolysis condition was given in this paper.

key words Soy protein isolate; Papain; Hydrolysate

《大豆科学》在中国农业科技期刊中的排序

按影响因子排序			按总被引频次排序		
名次	期刊名称	影响因子	名次	期刊名称	总被引频次
1	棉花学报	0.782	1	中国农业科学	976
2	中国农业科学	0.681	2	作物学报	864
3	中国水稻科学	0.679	3	园艺学报	729
4	园艺学报	0.656	4	土壤学报	626
5	作物学报	0.609	5	植物保护学报	456
6	土壤学报	0.510	6	植物病理学报	415
7	水土保持学报	0.504	7	南京农业大学学报	411
8	植物病理学报	0.439	8	土壤通报	347
9	茶叶科学	0.417	9	西北农业大学学报	306
10	昆虫天敌	0.404	10	杂交水稻	301
11	果树学报	0.370	11	中国水稻科学	300
12	干旱地区农业研究	0.364	12	华中农业大学学报	300
13	植物保护学报	0.385	13	农业工程学报	287
14	水土保持通报	0.350	14	中国农业大学学报	277
15	大豆科学	0.341	15	水土保持学报	276
16	中国生物防治	0.339	16	中国棉花	247
17	土壤肥料	0.313	17	干旱地区农业研究	246
18	土壤	0.310	18	土壤	237
19	中国棉花	0.293	19	浙江大学学报农业与生命科学报	236
20	农业现代化研究	0.277	20	大豆科学	234
21	农业生物技术学报	0.274	21	水土保持通报	233

引自 2000 年《中国科技期刊引证报告》