

饲用大豆小肽生产工艺的研究

赵红岩,单春乔,江国托

(大连三仪动物药品有限公司,大连三仪生物工程研究所,辽宁 大连 116036)

摘要:采用酶解法制备饲用大豆小肽,对反应温度、底物浓度、反应时间、pH值、酶用量等生产工艺参数及饲用大豆小肽的脱色、分离等精制工艺流程进行了系统的研究。结果表明:最适生产工艺参数为温度45~48℃,pH8.0,底物浓度6%~8%,酶用量2%(W/V),反应时间4 h。此条件下水解度高达80%左右,低聚肽(分子量≤500D)含量达到80%以上,以2~4个氨基酸链为主。此生产工艺具有成本低,工序简单,小肽含量高,质量好等优点。

关键词:酶解法;饲用大豆小肽;工艺参数;工艺流程

中图分类号:S816.3

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2010)03-0506-04

Production Technology of Feeding Soybean Small Peptide

ZHAO Hong-yan, SHAN Chun-qiao, JIANG Guo-tuo

(Dalian Sanyi Bioengineer Research Institute, Sanyi Animal Medicine Cooperation Limited, Dalian 116036, Liaoning, China)

Abstract: To produce feeding soybean small peptides by enzymatic hydrolysis method, the technology parameters of reaction temperature, substrate concentration, operating time, pH, enzyme dosage and the refining process of decolorization and separation were optimized. Results showed were temperature 45~48℃, pH 8.0, substrate concentration 6%~8%, enzyme concentration 2% (W/V), operating time 4 h. Under these conditions, the DH reached 80%, oligo-peptide (molecular weight ≤500D) content reached more than 80%, with the main chain of 2~4 amino acids. This production technology can obtain higher yield of small peptide with good quality and proved to be cost-saving and easy to operate.

Key words: Enzymatic hydrolysis; Feeding soybean small peptides; Technology parameters; Technology process

人们过去一直认为动物采食的蛋白质在消化道内蛋白酶和肽酶的作用下降解为游离氨基酸后才能被动物直接吸收利用。然而后来的一些试验发现,使用氨基酸纯日粮或低蛋白平衡氨基酸日粮,动物并不能达到最佳生产性能。经过研究发现,降解产生的某些肽也能够被吸收,而且与游离氨基酸相比,这些肽的吸收具有速度快、耗能低、吸收率高等优势^[1]。二者在动物体内具有相互独立的吸收机制,互不干扰,这就有助于减轻由于游离氨基酸间相互竞争共同的吸收位点而产生的吸收抑制,有利于蛋白质的利用^[2]。动物能直接吸收的肽主要是由10个以下氨基酸残基构成的寡肽。小肽特指由2到10个氨基酸组成的寡肽^[3]。

通常应用物理、化学和生物工程的方法将蛋白质水解成肽或小肽。前两者都要特殊设备、反应激烈、需较长时间才能完成、副产物多、产品品质较差。只有用生物工程方法,即用专用复合蛋白酶将蛋白质进行水解成肽或小肽的方法最好,具有设备简单、投资少,反应温和、易控制,副产物少、含量高、质量

好的特点。该试验以饲用豆粕为水解底物,选用3种蛋白酶进行水解并进行对比,最终确定宁夏溥源生物科技有限公司提供的大豆复合蛋白酶水解效果最好,并探讨了大豆小肽的最佳工艺参数及工业化工艺流程。

1 材料与方法

1.1 供试材料

大豆复合蛋白酶:宁夏溥源生物科技有限公司提供(1号酶);木瓜蛋白酶(2号酶)和风味蛋白酶:广州华琪生物科技有限公司提供;丹麦诺维信蛋白酶 Alcalase FG(3号酶)和风味蛋白酶 Flavourzyme:北京华章未央科技有限公司提供;饲用豆粕:大连市售;303糖用活性炭(粉末):沈阳试剂五厂。

1.2 供试仪器

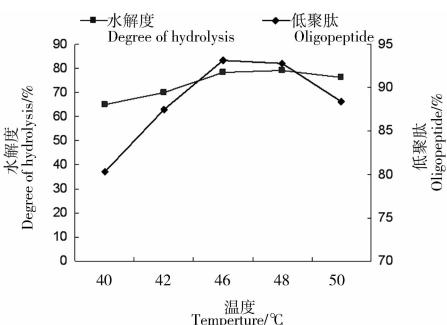
小型食品粉碎机:山东东营弘玖制药机械制造有限公司;ATN-300全自动定氮仪:上海洪纪仪器设备有限公司;生物发酵智能控制系统:镇江东方生物工程设备技术公司;机械式板框压滤机(710型):中

& a ©, t ī H Ö š > œ% • ó â - p y x J < \$ z ī a . H ' Ö š > œ% y á æW! , " 8R* ^% æ#\$Ä . . a H ' Ö š > œ& &4\$# [\ X Y
&4\$4&# ☰ ¥ " ' & i ù ú # Z ' À' p À ! a H ! a ! 3 &%Q v õ ! a À &
&4\$4! # ☰ ¥ ! " Ÿ § & ê ¼# Z ' À' p ! ; ç § y x O ! "%b " 9a a S ! r s &%? Ä% z ! Ü Y > • HP Ö% Y a Ü & ' è Ö ¼½Ö! Ö a " È Ö T M Y ! a S i Ö b " % U Ö & ? Ä! f B ¼½ç a È % ³ v E q ! v i ! p y ! a æW! µ « • ! B / & ' M Ù ! &
&4\$4# . " ¥ & i e f # ° À + f À D t & ' è Ö ¼½Ö' i - ¼½Ö j ž a . \$ x ¼½Ö - F@Ox` R!
} #& L t a N : +] ^ 0 | 3

E%7: * &# 34J9# * B9- &:9(. . \$&; * .. %4- ' B' &.. :'. " / ; "# \$%&." 4

v „ . 24	z w YK? HKLUGUK ga	HP (6TGDX F27FK7C027gd)	è 8 p w PELUZEGGØR KgB	ç a Ö TM YBK LKU KUZK2BELUZEGG gd	ç a w) 3A2KHAKF2707Cgd	i j ù p D
&	>9a	04%	O	>	=Ob Q\$	" %b " 9
!	9%a	04%	O	9	9%b 9>	' ' b=&
\$	9\$a	ù a	O	!%	>&b>9	Q&b O

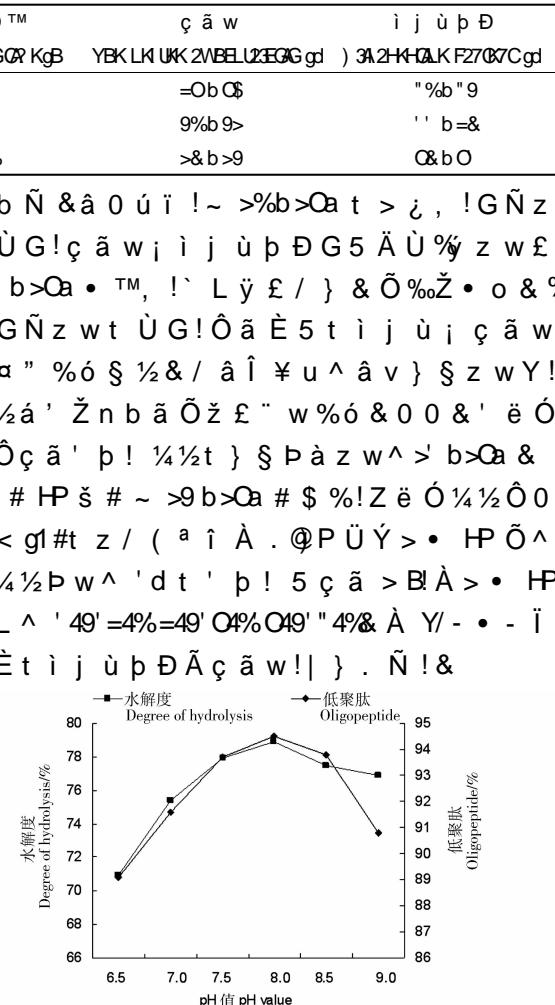
b c &â 0 ú i ! &, Ö t ç a Ö TM } p ! } À > Bl q ç a w ; ç a Y i j ù t p D D ☰ " z ! ! \$ „ Ö G % Ö ! ! \$ „ Ö c a v Y ! y C A : _ ¼½Ö è q ~ _ ! - a < g ù < • i Ö TM ! D + j - a < g ù ! ~ ! a &, Ö c a Y P « ~ _ % a % b Á _ t v š ¥ z { ! ! \$ „ Ö t v š ¥ ~ > S >%p ... + ! : _ ¼½Ö C ! ! %p ... + ! a &, Ö } ! >%p ... + ! / && Y U < g ù ! ~ & 0 0 ° Á U C ¥ c g 8 (H Ö š > œg ù t & ' è Ö ¼½Ö x y Y @ E C & ! 4! # ! " * ¼ p 0 L t a e ^ " [D i a v ! 4! 4&# ~ ö # Z & ' è Ö ¼½Ö 0 ! d " < g1 # t z / (a i À . @ P Ü Y > • HP Ö ^ O4% ¼½ p w ^ ' d t ' p ! 5 ! ' L ~ >%a ' > a ' > a ' > O a ' 9%a % c a > Bl à Y / - • - i Ö a È 5 i j ù p D Ä c a w &



^ J Y Ö t § A # \$! " À &4\$4! \ • « c x y ç a % a Y x y æ§ j z ! o » Ö s t Ö x y Y @ E C & &4\$4# C n § ö " & ; U " Y / - Ú # # S Y k + g Y ! Q = ! % y - ñ ò &
&4\$49# 0 v õ " N P # ; U # S Y k + g Y ! Q = ! % y - ñ ò &
! #] ^ + M _
! 4&# t a L i D
Z & ! ! \$ „ Ö f Ö Ö A ! d " < g1 # t D ! J Y & < Ö t § A # \$ x y ç a ! ^ À Y / - • - i Ö a È 5 i j ù p D Ä c a w ! | } . c &&

} #& L t a N : +] ^ 0 | 3

E%7: * &# 34J9# * B9- &:9(. . \$&; * .. %4- ' B' &.. :'. " / ; "# \$%&." 4



L ! # HP g | L a c i 0 ± 2
A(5? ! # > # \$% ' / ' * # \$% &, & " 4 ' B' * 4J9# %; B9- &:9(. . &%' (" 4

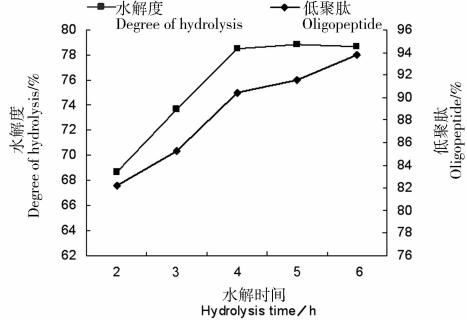
b N ! a 0 ú i ! ~ HP Ö ^ ' 49 b O4% Ö ! G N HP Ö - & ! i j ù p D i c a w € ÷ • Ä Ü § ¼ % ~ HP Ö ^ O4% Ö e L £ / } & Ö % G N HP Ö t §

L &# Á È | L a c i 0 ± 2

A(5? &# > # \$% ' / ' * # \$% &, & " 4 ' B' * 4J9# %;

B9- &:9(. . &%' (" 4

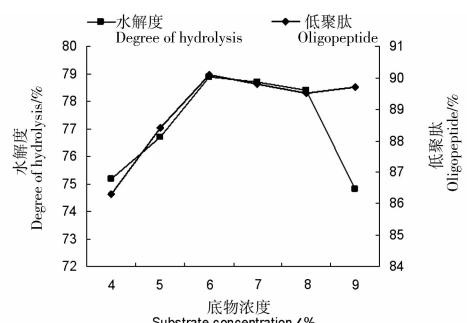
@- & !e L ÷ • %ó § ½& u Ë° » ç ã È H P O
 ^ O4%
 !4! 4\$# 0 v TM/ # ~ >9 b>Oa z w # \$ %!ë O ¼
 ¼ O 0 !d " < g1 #t z / (a i A . @P Ü Y > •
 H P O ^ O 4% p w ^ ' d t ' p ! ¼ ½ 5 ! ' L c a
 !' \$ > ' 9 j ' B Y ! A Y / - • - i O a È 5 i j ù
 p D Ä c a w ! } . N \$&



L \$# t a ë 9 | L a c i 0 ± 2

A(5? \$# ># \$%' "/ B9- &:9(. '(# * "4 'B* *4J9# %; B9- &:9(. &%'("4

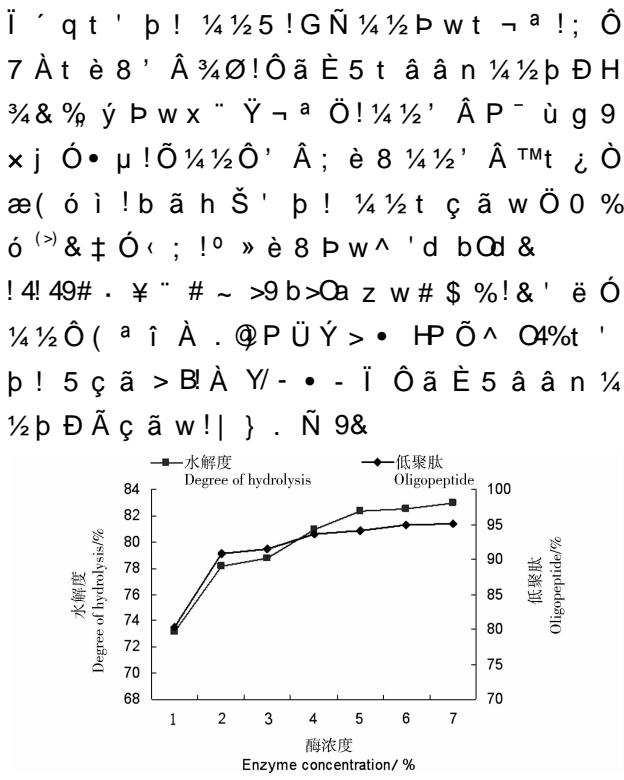
b N \$â 0 ú / ! ~ c a Ö TM > B > , ! G N
 c a Ö TM t a „ ! i j ù p D i c a w D G 5 Ä Ù %
 y z w £ / > B Ö ! e L £ / } & Ö % Y G Ö TM t
 - a i j ù p D i c a w „ (Z • o & ! S E I
 > B ^ } § z £ Ö TM &
 !4! 4# a 0 « ö # ~ >9 b>Oa # \$ %!Z e Ö ¼ ½
 O 0 !d " < g1 #t z / (a i A . @P Ü Y > •
 H P O ^ O 4% t ' p ! 5 !c a > B ' è 8 p w o f #
 Y ! A Y / - • - i O a È 5 i j ù p D i c a w ! } . N >&



L ># h i Ç È | L a c i 0 ± 2

A(5? ># ># \$%' "/ .. 7.'%&* ; "4; *4'&%("4 "4
 'B* *4J9# %; B9- &:9(. &%'("4

G N è 8 p w t - a ! O a È 5 i j ù p D D ü
 u - a ! y è 8 p w £ / ' d ... t Ö l i j ù p D £ /
 } & Ö ^ S] y i &, c a w t Z • S ½, o f ! R
 • c a w G N ¼ ½ p w t - a a - & ! y £ / ' d ...
 t Ö £ / } & Ö ! a Y ÷ • %ó t § ½ & / c a ~ "



L 9# L Ç È | L a c i 0 ± 2

A(5? 9# ># \$%' "/ *4J9# * ; "4; *4'&%("4 "4 'B* *4J9# %; B9- &:9(. &%'("4

- N 9 a , ! G N ¼ ½ Ö A D t - a ! i j ù p
 D i c a w y ü ü) G ! / ¥ u ^ G N Ö A D t - a
 ! Ö ¼ ½ Ö ; è 8 ¼ ½ ' Å ù £ t - Ö (- a ! c
 a t ù £ æ o û - a t w S % Ö A D a v 9 d Y !
 c a w - a D ü ü • a ! / ¥ u ^ Ö A D t x " Y
 - a ! è 8 . c i ! v Ø t Ö ' Å u Ö è 8 0 7 Å t
 w S &, ¥ ~ « - • g ù 5 ! © f Ö ; c a z £
 " (' ¼ ½ = c a w i j ù p D 0 Ä g ù i ~ 5
 TM t Ù p ! 0 0 " Å ! d t Ö A D ! f a £ / « - •
 g ù © ® &

!4\$# e ^ ! " í f a N N ' Å x

!4\$4&# " ' - = > i ù ú # | } c a ! p w ^
 ' d b O d ' p ! ¼ ½ Å È ~ Ö b) a z w % a S p
 à &%? A ... t ! a Ö ¼ ½ = § w Z n ! Ö q S Á t
 ' | 1 Z B ' h % i z Z ¼ ½ = t Ö a " () G !
 c a w - a \$d b 9 d &

!4\$4! # . 0 v # y p ¼ ½ = Ö a " (t u » ü Ø !
 ® c a z w ' z £ H P O ' è 8 p w ' Ö A D ' c a Ö
 TM ' è 8 ¼ ½ p w µ & j - , i t ¼ ½ Ö ! q } § H P
 Ö i z w ¥ " i t % M S > £ i) > Ö U N 2 i > Y
 E C | } ! E i < Ö z £ ' p t } ^ # \$ " N & b 9 # &
 ^ % o - i < ' Å ' p M u ' Å D \$ s Ö Ö " c ! # &

表2 饲用大豆小肽酶解液的分子量分布

Table 2 MW-arranged of hydrolyzate of feeding soybean small peptide

分子量范围 Molecular weight range	峰面积百分比 Percentage of peak area/%, $\lambda 220\text{nm}$	数均分子量 Average Molecular weight of Number	重均分子量 Average Molecular weight of Weight
>5000	0.11	7183	7507
5000~2000	2.51	2749	2925
2000~1000	4.12	1318	1356
1000~500	11.36	652	679
500~130	43.54	209	241
<130	38.56	/	/

由表2可见,饲用豆粕小肽显示分子量90%以上均在≤1000D,其中≤500D占80%以上,说明酶解彻底,为深度水解,达到了小肽的分子量范围。

2.3.3 脱色 为了改善饲用大豆小肽的成色,需要加入活性炭进行脱色,结果表明,加入1.5%~3.0%的303糖用活性炭(粉末),反应条件温度为60~70℃,脱色30~40 min,能够改善其色泽。

2.3.4 过滤 经过酶解和脱色的水解液都要经过板框压滤机进行过滤,滤材布采用的是5×5或6×6的纯棉帆布,分离得到饲用小肽水解液,然后根据沉渣的体积,按照1:1或1:1.5(V/V)用60~70℃水冲洗沉渣2次。结果表明,2次冲洗沉渣可提高2%~4%的小肽得率。

2.3.5 浓缩、干燥 经分离提纯的饲用小肽溶液由超高温瞬时杀菌装置迅速加热至135℃,进行48 s强力热杀菌处理,再用双效降膜浓缩蒸发器在68℃和55℃温度下进行双鼓真空浓缩,浓缩至固体物含量为30%~35%,最后经压力喷雾干燥塔进行喷雾干燥,设定设备进口热风温度为150℃,出口热风温度为75℃,最后制成饲用小肽精粉。

3 讨论

通过系统分析比较,发现大豆复合蛋白酶具有用量少,效率高等优点;并且确定大豆复合蛋白酶水解豆粕粉蛋白的最佳工艺条件为:最适温度为45~48℃、最适pH值为8.0、最适底物浓度为6%、最适加酶量为2%(W/V),在反应时间为4 h的条件下,酶解液中低聚肽含量为90%左右,水解度为80%左右。在李国书等^[5]和黄开红等^[6]利用复合酶法制备大豆寡肽的报道中,酶用量均需用8%,且水解度最高为73.11%,水解时间最短需要5 h;而利用该研究的复合蛋白酶和生产工艺,水解度能达到80%左右,最高能达83%;酶用量2%,水解时间4 h,即可达到深度水解。

许多文献报道的制备大豆小肽都要经过脱苦,脱盐等工序^[7,9]。为了改善其口感,均需采取如加入风味蛋白酶等一些措施来去除苦味。该研究使用的

复合酶水解饲用豆粕蛋白,未经脱苦脱盐等工序,水解液口感微甜,酱香味特点;简化了生产工序,大大节约了生产成本。

该研究生产的饲用小肽生产工艺具有设备简单、投资少,反应温和、易控制,副产物少、含量高、质量好等优点。为大豆小肽的工业化提供了有力的理论依据。

参考文献

- [1] 黄郦红. 大豆多肽的生理功能及应用[J]. 食品科技, 1999(4): 51-52. (Huang L H. The physiological function and application of soybean peptide [J]. Food Technology, 1999(4): 51-52.)
- [2] Fumio Y, Kunio S. Immunological elects of dietary peptides derived from soybean protein [J]. Journal Nutrue Biochemistry, 1993, 4(8): 450-456.
- [3] 倪倩,何东平. 大豆多肽的制备及其应用研究[J]. 粮食与食品工业, 2008, 2(15): 15-19. (Ni Q, He D P. Preparation and application of soybean polypeptides [J]. Cereal & Food Industry, 2008, 2(15): 15-19.)
- [4] 许永红. 蛋白质酶法水解物苦味的控制[J]. 食品工业科技, 1997(3): 50-51. (Xu Y H. The controlling of bitter taste of enzymatic hydrolyses of proteins [J]. Science and Technology of Food Industry, 1997(3): 50-51.)
- [5] 李国书,陈辉,庄玉婷,等. 复合酶法制备活性大豆寡肽研究[J]. 粮食与油脂, 2001(3): 5-7. (LI G S, Chen H, Zhuang Y T , et al. Preparation of soybean oligopeptide by composite proteases [J]. Cereals & Oils, 2001(3): 5-7.)
- [6] 黄开红,李莹,周剑忠,等. 复合蛋白酶水解大豆制备大豆肽工艺的研究[J]. 江苏农业科学, 2007(4): 184-186. (Huang K H, Li Y, Zhou J Z, et al. Hydrolysis of soy by protamex protease to get soy peptide [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2007(4): 184-186.)
- [7] 李忠志,袁慧君,张丙云,等. 大豆多肽的功能与开发研究[J]. 甘肃科技, 2006, 22(4): 179-181. (Li Z Z, Yuan H J, Zhang B Y, et al. Research on soybean peptide function and development [J]. Gansu Science and Technology, 2006, 22(4): 179-181.)
- [8] Otagiri K. Studies on a model of bitter peptides including Arginine, Proline and Phenylalanine residues [J]. Agricultural Biological Chemistry, 1985, 49(4): 1019-1026.
- [9] 赵国华,陈宗道. 蛋白质水解物苦味研究进展[J]. 粮食与油脂, 2000(1): 28-30. (Zhao G H, Chen Z D. Advances in study on the bitterness of protein hydrolysates [J]. Cereals & Oils, 2000(1): 28-30.)